



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2021년12월03일

(11) 등록번호 10-2335193

(24) 등록일자 2021년11월30일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C07H 19/20 (2006.01) A61K 31/7076 (2006.01)

A61K 31/708 (2006.01) A61K 45/06 (2006.01)

A61P 31/14 (2006.01)

(52) CPC특허분류

C07H 19/20 (2013.01)

A61K 31/7076 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2019-7025222

(22) 출원일자(국제) 2018년01월31일

심사청구일자 2021년01월28일

(85) 번역문제출일자 2019년08월28일

(65) 공개번호 10-2019-0113864

(43) 공개일자 2019년10월08일

(86) 국제출원번호 PCT/US2018/016301

(87) 국제공개번호 WO 2018/144640

국제공개일자 2018년08월09일

(30) 우선권주장

62/453,437 2017년02월01일 미국(US)

(뒷면에 계속)

(56) 선행기술조사문헌

US20100286083 A1*

(뒷면에 계속)

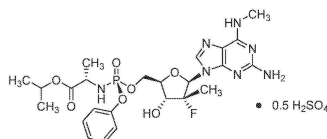
전체 청구항 수 : 총 62 항

심사관 : 조호정

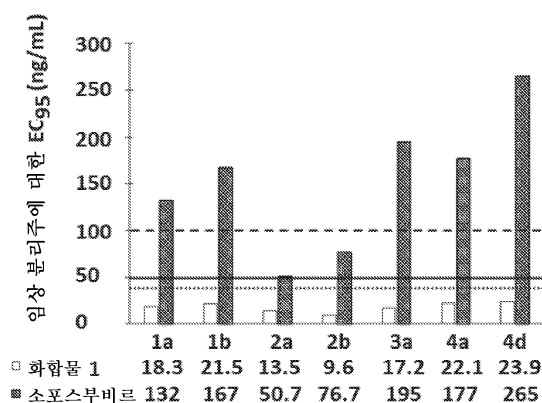
(54) 발명의 명칭 C형 간염 바이러스를 치료하기 위한 뉴클레오타이드 헤미-술페이트 염

(57) 요약

C형 간염에 감염된 숙주를 치료하기 위한 하기 구조의 헤미-술페이트 염, 뿐만 아니라 그의 제약 조성물, 및 고체 투여 형태를 포함한 투여 형태.



대표도 - 도24



(52) CPC특허분류

A61K 31/708 (2013.01)

A61K 45/06 (2013.01)

A61K 9/2054 (2013.01)

A61P 31/14 (2018.01)

C07B 2200/13 (2013.01)

(56) 선행기술조사문헌

US20160257706 A1*

US20110257121 A1

US20110015146 A1

US20160271162 A1

KR1020140130140 A

US20130252932 A1

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(30) 우선권주장

62/469,912 2017년03월10일 미국(US)

62/488,366 2017년04월21일 미국(US)

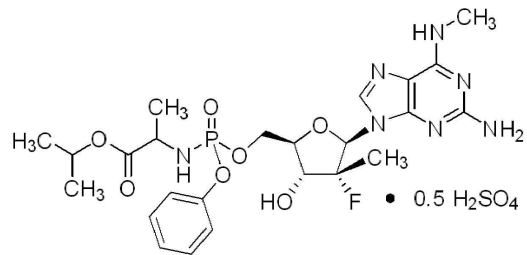
62/575,248 2017년10월20일 미국(US)

명세서

청구범위

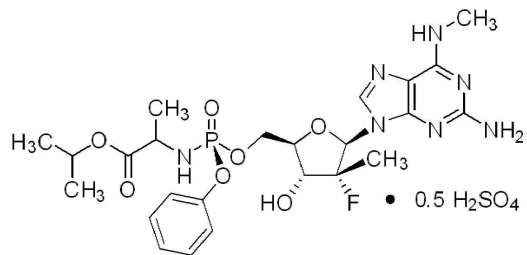
청구항 1

하기 화학식의 화합물.



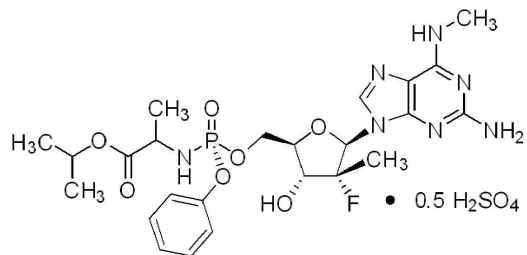
청구항 2

제1항에 있어서, 하기 화학식의 화합물.



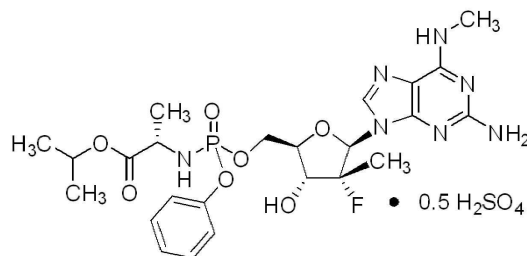
청구항 3

제1항에 있어서, 하기 화학식의 화합물.



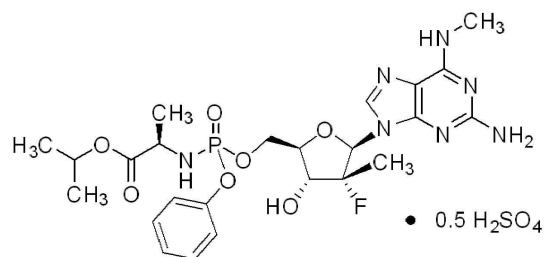
청구항 4

제1항에 있어서, 하기 화학식의 화합물.



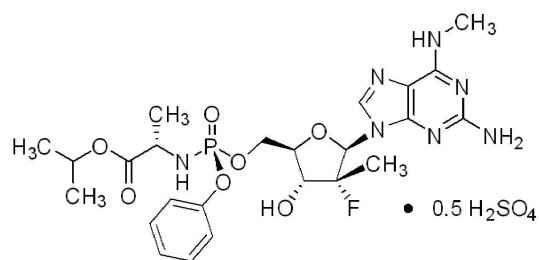
청구항 5

제1항에 있어서, 하기 화학식의 화합물.



청구항 6

하기 화학식의 화합물.



청구항 7

제6항에 있어서, 반대 인 R-거울상이성질체가 적어도 90% 없는 화합물.

청구항 8

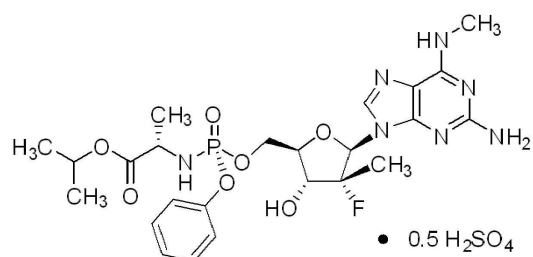
제6항에 있어서, 반대 인 R-거울상이성질체가 적어도 98% 없는 화합물.

청구항 9

제6항에 있어서, 반대 인 R-거울상이성질체가 적어도 99% 없는 화합물.

청구항 10

하기 화학식의 화합물.



청구항 11

제10항에 있어서, 반대 인 S-거울상이성질체가 적어도 90% 없는 화합물.

청구항 12

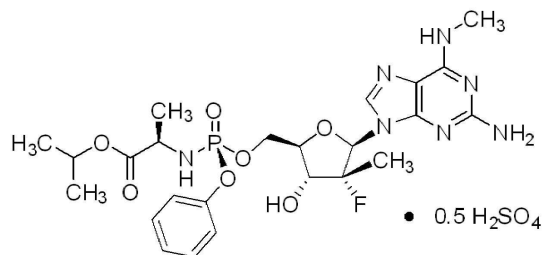
제10항에 있어서, 반대 인 S-거울상이성질체가 적어도 98% 없는 화합물.

청구항 13

제10항에 있어서, 반대 인 S-거울상이성질체가 적어도 99% 없는 화합물.

청구항 14

제5항에 있어서, 하기 화학식의 화합물.

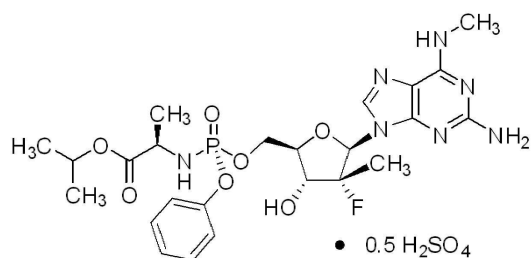


청구항 15

제14항에 있어서, 반대 인 R-거울상이성질체가 적어도 90% 없는 화합물.

청구항 16

제5항에 있어서, 하기 화학식의 화합물.



청구항 17

제16항에 있어서, 반대 인 S-거울상이성질체가 적어도 90% 없는 화합물.

청구항 18

바이러스 감염의 치료를 필요로 하는 인간에서 바이러스 감염의 치료에 사용되는, 제1항 내지 제17항 중 어느 한 항의 화합물을 제약상 허용되는 담체 중에 포함하는 제약 조성물.

청구항 19

바이러스 감염의 치료를 필요로 하는 인간에서 바이러스 감염의 치료에 사용되는, 제1항 내지 제5항 및 제14항 내지 제17항 중 어느 한 항의 화합물을 제약상 허용되는 담체 중에 포함하는 제약 조성물.

청구항 20

바이러스 감염의 치료를 필요로 하는 인간에서 바이러스 감염의 치료에 사용되는, 제6항의 화합물을 제약상 허용되는 담체 중에 포함하는 제약 조성물.

청구항 21

바이러스 감염의 치료를 필요로 하는 인간에서 바이러스 감염의 치료에 사용되는, 제7항 내지 제9항 중 어느 한 항의 화합물을 제약상 허용되는 담체 중에 포함하는 제약 조성물.

청구항 22

바이러스 감염의 치료를 필요로 하는 인간에서 바이러스 감염의 치료에 사용되는, 제10항의 화합물을 제약상 허용되는 담체 중에 포함하는 제약 조성물.

청구항 23

바이러스 감염의 치료를 필요로 하는 인간에서 바이러스 감염의 치료에 사용되는, 제11항 내지 제13항 중 어느 한 항의 화합물을 제약상 허용되는 담체 중에 포함하는 제약 조성물.

청구항 24

제18항에 있어서, 경구 투여 형태의 제약 조성물.

청구항 25

제24항에 있어서, 경구 투여 형태가 고체 투여 형태인 제약 조성물.

청구항 26

제25항에 있어서, 고체 투여 형태가 정제인 제약 조성물.

청구항 27

제25항에 있어서, 고체 투여 형태가 캡슐인 제약 조성물.

청구항 28

제24항에 있어서, 경구 투여 형태가 액체 투여 형태인 제약 조성물.

청구항 29

제28항에 있어서, 액체 투여 형태가 현탁액 또는 용액인 제약 조성물.

청구항 30

제18항에 있어서, 정맥내 제제인 제약 조성물.

청구항 31

제18항에 있어서, 비경구 제제인 제약 조성물.

청구항 32

제18항에 있어서, 적어도 400 mg의 화합물을 전달하는 제약 조성물.

청구항 33

제18항에 있어서, 적어도 500 mg의 화합물을 전달하는 제약 조성물.

청구항 34

제18항에 있어서, 적어도 600 mg의 화합물을 전달하는 제약 조성물.

청구항 35

제18항에 있어서, 적어도 700 mg의 화합물을 전달하는 제약 조성물.

청구항 36

C형 간염 바이러스 감염의 치료를 필요로 하는 인간에서 C형 간염 바이러스 감염의 치료에 사용되는, 제1항 내지 제17항 중 어느 한 항의 화합물을 제약상 허용되는 담체 중에 포함하는 제약 조성물.

청구항 37

C형 간염 바이러스 감염의 치료를 필요로 하는 인간에서 C형 간염 바이러스 감염의 치료에 사용되는, 제1항 내지 제5항 및 제14항 내지 제17항 중 어느 한 항의 화합물을 제약상 허용되는 담체 중에 포함하는 제약 조성물.

청구항 38

C형 간염 바이러스 감염의 치료를 필요로 하는 인간에서 C형 간염 바이러스 감염의 치료에 사용되는, 제6항의 화합물을 제약상 허용되는 담체 중에 포함하는 제약 조성물.

청구항 39

C형 간염 바이러스 감염의 치료를 필요로 하는 인간에서 C형 간염 바이러스 감염의 치료에 사용되는, 제7항 내지 제9항 중 어느 한 항의 화합물을 제약상 허용되는 담체 중에 포함하는 제약 조성물.

청구항 40

C형 간염 바이러스 감염의 치료를 필요로 하는 인간에서 C형 간염 바이러스 감염의 치료에 사용되는, 제10항의 화합물을 제약상 허용되는 담체 중에 포함하는 제약 조성물.

청구항 41

C형 간염 바이러스 감염의 치료를 필요로 하는 인간에서 C형 간염 바이러스 감염의 치료에 사용되는, 제11항 내지 제13항 중 어느 한 항의 화합물을 제약상 허용되는 담체 중에 포함하는 제약 조성물.

청구항 42

제36항에 있어서, 화합물이 경구로 투여되는 것인 제약 조성물.

청구항 43

제36항에 있어서, 화합물이 정맥내로 투여되는 것인 제약 조성물.

청구항 44

제36항에 있어서, 화합물이 비경구로 투여되는 것인 제약 조성물.

청구항 45

제36항에 있어서, 적어도 400 mg의 화합물이 투여되는 것인 제약 조성물.

청구항 46

제36항에 있어서, 적어도 500 mg의 화합물이 투여되는 것인 제약 조성물.

청구항 47

제36항에 있어서, 적어도 600 mg의 화합물이 투여되는 것인 제약 조성물.

청구항 48

제36항에 있어서, 적어도 700 mg의 화합물이 투여되는 것인 제약 조성물.

청구항 49

제36항에 있어서, 화합물이 최대 12주 동안, 최대 8주 동안, 또는 최대 6주 동안 투여되는 것인 제약 조성물.

청구항 50

제36항에 있어서, 화합물이 1일 1회 투여되는 것인 제약 조성물.

청구항 51

제36항에 있어서, 화합물이 1일 2회 투여되는 것인 제약 조성물.

청구항 52

제36항에 있어서, C형 간염 바이러스가 유전자형 1a 또는 1b인 제약 조성물.

청구항 53

제36항에 있어서, C형 간염 바이러스가 유전자형 2a 또는 2b인 제약 조성물.

청구항 54

제36항에 있어서, C형 간염 바이러스가 유전자형 3a인 제약 조성물.

청구항 55

제36항에 있어서, C형 간염 바이러스가 유전자형 4a 또는 4d인 제약 조성물.

청구항 56

제36항에 있어서, C형 간염 바이러스가 유전자형 5a인 제약 조성물.

청구항 57

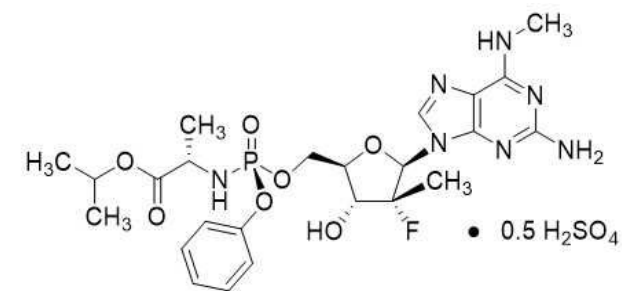
제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 무정형 고체인 화합물.

청구항 58

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 결정질 고체인 화합물.

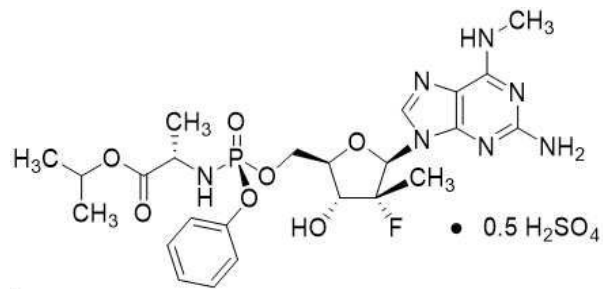
청구항 59

무정형 고체인 하기 화학식의 화합물.



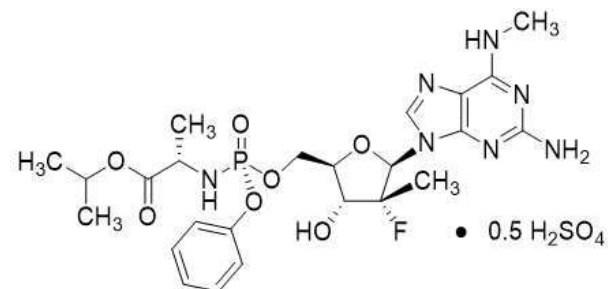
청구항 60

결정질 고체인 하기 화학식의 화합물.



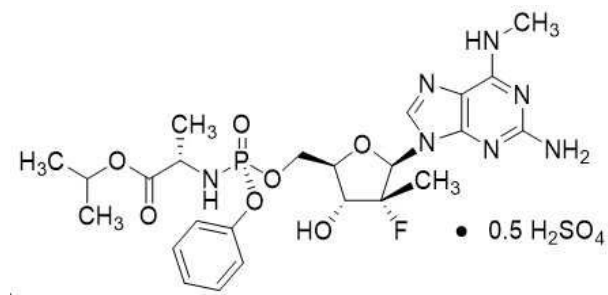
청구항 61

무정형 고체인 하기 화학식의 화합물.



청구항 62

결정질 고체인 하기 화학식의 화합물.



청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

청구항 69

삭제

청구항 70

삭제

청구항 71

삭제

청구항 72

삭제

청구항 73

삭제

청구항 74

삭제

청구항 75

삭제

청구항 76

삭제

청구항 77

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원에 대한 상호 참조

[0002] 본 출원은 2017년 2월 1에 출원된 미국 가출원 번호 62/453,437; 2017년 3월 10일에 출원된 62/469,912; 2017년 4월 21일에 출원된 62/488,366; 및, 2017년 10월 20일에 출원된 62/575,248의 이익을 주장한다. 이들 출원의 전문은 본원에 참조로 포함된다.

[0003] 발명의 분야

[0004] 본 발명은 C형 간염에 감염된 숙주를 치료하기 위한, 예상외의 치료적 특성을 갖는 선택된 뉴클레오타이드 화합물의 헤미-술페이트 염, 뿐만 아니라 그의 제약 조성물 및 투여 형태이다.

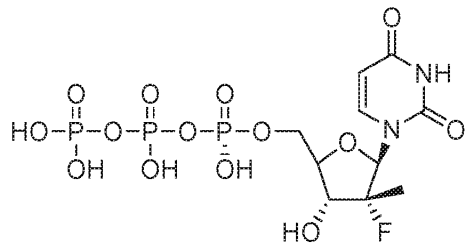
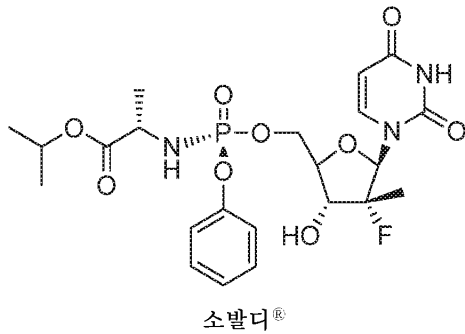
배경 기술

[0005] C형 간염 (HCV)은 RNA 단일-가닥 바이러스이며, 헤파시바이러스(Hepacivirus) 속의 구성원이다. 간 질환의 모든 사례의 75%가 HCV에 의해 유발되는 것으로 추정된다. HCV 감염은 간경변증 및 간암으로 이어질 수 있고, 진행이 방치되면, 간 이식이 필요할 수 있는 간부전으로 이어질 수 있다. 전세계 대략 71백만명의 사람이 만성 HCV 감염 상태로 살고 있고, 대략 399,000명의 사람이 매년 HCV로 사망하며, 대부분 간경변증 및 간세포암종으로 사망한다.

[0006] RNA 폴리머라제는 RNA 단일 가닥 바이러스에 대한 약물 개발을 위한 주요 표적이다. HCV 비-구조 단백질 NS5B RNA-의존성 RNA 폴리머라제는 바이러스 RNA 합성의 개시 및 촉매작용을 담당하는 주요 효소이다. NS5B 억제제의 2종의 주요 하위부류: 뉴클레오시드 유사체 및 비-뉴클레오시드 억제제 (NNI)가 존재한다. 뉴클레오시드 유사체는 폴리머라제에 대한 대안적 기질로서 작용하는 활성 트리포스페이트로 동화되고, 비-뉴클레오시드 억제제 (NNI)는 단백질 상의 알로스테릭 영역에 결합한다. 뉴클레오시드 또는 뉴클레오타이드 억제제는 천연 폴리머라제 기질을 모방하고 쇠 종결제로서 작용한다. 이들은 RNA 전사의 개시 및 신생 RNA 쇠의 신장을 억제한다.

[0007] RNA 폴리머라제를 표적화하는 것에 더하여, 다른 RNA 바이러스 단백질도 또한 조합 요법에서 표적화될 수 있다. 예를 들어, 치료 접근법을 위한 추가의 표적인 HCV 단백질은 NS3/4A (세린 프로테아제) 및 NS5A (HCV 레플리카제의 필수 성분이며 세포 경로에 대해 다양한 효과를 발휘하는 비-구조 단백질)이다.

[0008] 2013년 12월에, 제1 뉴클레오시드 NS5B 폴리머라제 억제제 소포스부비르 (소발디(Sovaldi)®, 길리아드 사이언시스(Gilead Sciences))가 승인되었다. 소발디®는 간세포에 의해 수용되고, 세포내 활성화를 거쳐 활성 대사물, 2'-데옥시-2'-α-플루오로-β-C-메틸우리딘-5'-트리포스페이트를 제공하는 우리딘 포스포르아미데이트 전구약물이다.



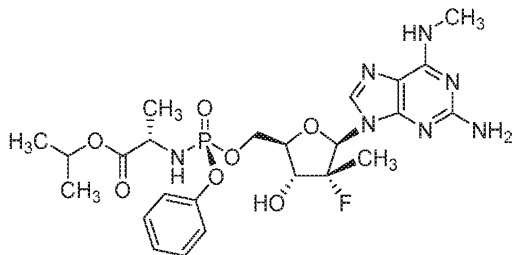
2'-데옥시-2'- α -플루오로- β -C-메틸우리딘-5'-트리포스페이트

- [0009]
- [0010] 소발디®는 인터페론의 공투여를 필요로 하지 않으면서 HCV 감염의 특정 유형을 치료하기 위한 안전성 및 효능이 입증된 제1 약물이다. 소발디®는 FDA 승인을 받은 획기적인 요법 지정을 갖는 제3 약물이다.
- [0011] 2014년에, 미국 FDA는 만성 C형 간염 바이러스 유전자형 1 감염을 치료하기 위한 하르보니(Harvoni)® (레디파스비르, NS5A 억제제, 및 소포스부비르)를 승인하였다. 하르보니®는 만성 HCV 유전자형 1 감염을 치료하기 위해 승인된 제1 조합 환제이다. 이는 또한 인터페론 또는 리바비린의 투여를 필요로 하지 않는 제1 승인된 요법이다. 또한, FDA는 유전자형 1 HCV 감염을 갖는 성인을 위한 1일-1회, 모두 경구의, 인터페론 및 리바비린-무함유 치료로서 소포스부비르 (소발디®)와 조합된 시메프레비르 (올리시오(Olysio)™)를 승인하였다.
- [0012] 미국 FDA는 또한 2014년에, 다사부비르 (비-뉴클레오타이드 NS5B 폴리머라제 억제제), 옴비타스비르 (NS5A 억제제), 파리티프레비르 (NS3/4A 억제제), 및 리토나비르를 함유하는 다중-환제 팩인, 아브비(AbbVie)의 비키라 팩(VIEKIRA Pak)™을 승인하였다. 비키라 팩™은 보상성 간경변증을 갖는 환자를 포함한 유전자형 1 HCV 감염 환자를 치료하기 위해 리바비린과 함께 또는 리바비린 없이 사용될 수 있다. 비키라 팩™은 인터페론 공동요법을 필요로 하지 않는다.
- [0013] 2015년 7월에, 미국 FDA는 각각 HCV 유전자형 4 및 HCV 유전자형 3의 치료를 위해 테크니비에(Technivie)™ 및 다클린자(Daklinza)™를 승인하였다. 테크니비에™ (옴비타스비르/파리티프레비르/리토나비르)는 반흔형성 및 간경변증이 없는 환자에서 HCV 유전자형 4의 치료를 위해 리바비린과 조합하여 사용하기 위한 것으로 승인되었고, 인터페론과의 공투여를 필요로 하지 않는 HCV-4 감염 환자를 위한 제1 옵션이다. 다클린자™는 HCV 유전자형 3 감염을 치료하기 위해 소발디®와 함께 사용하기 위한 것으로 승인되었다. 다클린자™는 인터페론 또는 리바비린의 공투여에 대한 필요 없이 HCV 유전자형 3을 치료하는 것에 대한 안전성 및 효능이 입증된 제1 약물이다.
- [0014] 2015년 10월에, 미국 FDA는 HCV 치료 비키라 팩 및 테크니비에가 주로 기저 진행성 간 질환을 갖는 환자에서 심각한 간 손상을 유발할 수 있다고 경고하였고, 라벨에 안전성에 대한 추가의 정보를 추가할 것을 요구하였다.
- [0015] 다른 현재 승인된 HCV에 대한 요법은 리바비린 (레베톨(Rebetol)®), NS3/4A 텔라프레비르 (인시백(Incivek)®, 버텍스(Vertex) 및 존슨 & 존슨(Johnson & Johnson)), 보세프레비르 (빅트렐리스(Victrelis)™, 머크(Merck)), 시메프레비르 (올리시오™, 존슨 & 존슨), 파리티프레비르 (아브비), 옴비타스비르 (아브비), NNI 다사부비르 (ABT-333) 및 머크의 제파티에르(Zepatier)™ (2종의 약물 그라조프레비르 및 엘바스비르의 단일-정제 조합)와 함께 투여될 수 있는 인터페론 알파-2b 또는 PEG화 인터페론 알파-2b (페그인트론(Pegintron)®)를 포함한다.
- [0016] 추가의 NS5B 폴리머라제 억제제가 현재 개발 하에 있다. 머크는 우리딘 뉴클레오타이드 전구약물 MK-3682 (이전에 아이데닉스 IDX21437)를 개발 중이고, 약물은 현재 II상 조합 시험 중이다.

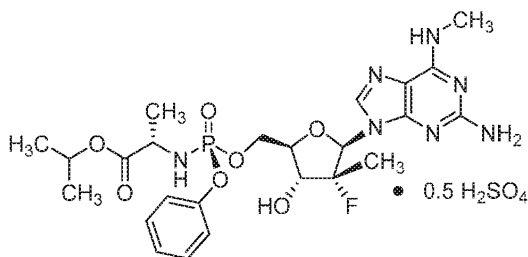
- [0017] HCV를 포함한 플라비비리다에(Flaviviridae)의 치료를 위한 뉴클레오시드 폴리머라제 억제제를 기재한 미국 특허 및 WO 출원은 아이데닉스 파마슈티칼스(Idenix Pharmaceuticals) (6,812,219; 6,914,054; 7,105,493; 7,138,376; 7,148,206; 7,157,441; 7,163,929; 7,169,766; 7,192,936; 7,365,057; 7,384,924; 7,456,155; 7,547,704; 7,582,618; 7,608,597; 7,608,600; 7,625,875; 7,635,689; 7,662,798; 7,824,851; 7,902,202; 7,932,240; 7,951,789; 8,193,372; 8,299,038; 8,343,937; 8,362,068; 8,507,460; 8,637,475; 8,674,085; 8,680,071; 8,691,788, 8,742,101, 8,951,985; 9,109,001; 9,243,025; US2016/0002281; US2013/0064794; WO/2015/095305; WO/2015/081133; WO/2015/061683; WO/2013/177219; WO/2013/039920; WO/2014/137930; WO/2014/052638; WO/2012/154321); 머크 (6,777,395; 7,105,499; 7,125,855; 7,202,224; 7,323,449; 7,339,054; 7,534,767; 7,632,821; 7,879,815; 8,071,568; 8,148,349; 8,470,834; 8,481,712; 8,541,434; 8,697,694; 8,715,638, 9,061,041; 9,156,872 및 WO/2013/009737); 에모리 유니버시티(Emory University) (6,348,587; 6,911,424; 7,307,065; 7,495,006; 7,662,938; 7,772,208; 8,114,994; 8,168,583; 8,609,627; US 2014/0212382; 및 WO2014/1244430); 길리아드 사이언시스/파마셋 인크.(Pharmasset Inc.) (7,842,672; 7,973,013; 8,008,264; 8,012,941; 8,012,942; 8,318,682; 8,324,179; 8,415,308; 8,455,451; 8,563,530; 8,841,275; 8,853,171; 8,871,785; 8,877,733; 8,889,159; 8,906,880; 8,912,321; 8,957,045; 8,957,046; 9,045,520; 9,085,573; 9,090,642; 및 9,139,604) 및 (6,908,924; 6,949,522; 7,094,770; 7,211,570; 7,429,572; 7,601,820; 7,638,502; 7,718,790; 7,772,208; RE42,015; 7,919,247; 7,964,580; 8,093,380; 8,114,997; 8,173,621; 8,334,270; 8,415,322; 8,481,713; 8,492,539; 8,551,973; 8,580,765; 8,618,076; 8,629,263; 8,633,309; 8,642,756; 8,716,262; 8,716,263; 8,735,345; 8,735,372; 8,735,569; 8,759,510 및 8,765,710); 호프만 라-로슈(Hoffman La-Roche) (6,660,721), 로슈 (6,784,166; 7,608,599, 7,608,601 및 8,071,567); 알리오스 바이오파마 인크.(Alios BioPharma Inc.) (8,895,723; 8,877,731; 8,871,737, 8,846,896, 8,772,474; 8,980,865; 9,012,427; US 2015/0105341; US 2015/0011497; US 2010/0249068; US2012/0070411; WO 2015/054465; WO 2014/209979; WO 2014/100505; WO 2014/100498; WO 2013/142159; WO 2013/142157; WO 2013/096680; WO 2013/088155; WO 2010/108135), 에난타 파마슈티칼스(Enanta Pharmaceuticals) (US 8,575,119; 8,846,638; 9,085,599; WO 2013/044030; WO 2012/125900), 바이오타(Biota) (7,268,119; 7,285,658; 7,713,941; 8,119,607; 8,415,309; 8,501,699 및 8,802,840), 바이오크리스탈 파마슈티칼스(Biocryst Pharmaceuticals) (7,388,002; 7,429,571; 7,514,410; 7,560,434; 7,994,139; 8,133,870; 8,163,703; 8,242,085 및 8,440,813), 알라 켐, 엘엘씨(Alla Chem, LLC) (8,889,701 및 WO 2015/053662), 인히비텍스(Inhibitex) (8,759,318 및 WO/2012/092484), 얀센 프로덕츠(Janssen Products) (8,399,429; 8,431,588, 8,481,510, 8,552,021, 8,933,052; 9,006,29 및 9,012,428) 더 유니버시티 오브 조지아 파운데이션 (6,348,587; 7,307,065; 7,662,938; 8,168,583; 8,673,926, 8,816,074; 8,921,384 및 8,946,244), 알에프에스 파마, 엘엘씨(RFS Pharma, LLC) (8,895,531; 8,859,595; 8,815,829; 8,609,627; 7,560,550; US 2014/0066395; US 2014/0235566; US 2010/0279969; WO/2010/091386 및 WO 2012/158811) 유니버시티 칼리지 카디프 컨설턴츠 리미티드 (WO/2014/076490, WO 2010/081082; WO/2008/062206), 아킬리온 파마슈티칼스, 인크.(Achillion Pharmaceuticals, Inc.) (WO/2014/169278 및 WO 2014/169280), 코크리스탈 파마, 인크.(Cocrystal Pharma, Inc.) (US 9,173,893), 카톨릭에케 유니베르시테이트 뢰벤(Katholieke Universiteit Leuven) (WO 2015/158913), 카타바시스(Catabasis) (WO 2013/090420) 및 더 리젠츠 오브 더 유니버시티 오브 미네소타(the Regents of the University of Minnesota) (WO 2006/004637)가 출원한 것을 포함한다.
- [0018] 아테아 파마슈티컬즈, 인크.(Atea Pharmaceuticals, Inc.)는 미국 특허 번호 9,828,410 및 PCT 출원 번호 WO 2016/144918에 HCV의 치료를 위한 β -D-2'-데옥시-2'- α -플루오로-2'- β -C-치환된-2-변형된-N⁶-(모노- 및 디-메틸) 퓨린 뉴클레오티드를 개시하였다. 아테아는 또한 US 2018/0009836 및 WO 2018/009623에 파라믹소바이러스 및 오르토믹소바이러스 감염의 치료를 위한 β -D-2'-데옥시-2'-치환된-4'-치환된-2-N⁶-치환된-6-아미노퓨린 뉴클레오티드를 개시하였다.
- [0019] 안전하고, 효과적이고, 내약성이 우수한 항-HCV 요법을 개발하는 것에 대한 강한 의료적 필요가 남아있다. 필요는 약물 저항성의 예상으로 인해 강조된다. 보다 강력한 직접-작용 항바이러스제는 치료 지속기간을 유의하게 단축시킬 수 있고, 모든 HCV 유전자형에 감염된 환자에 대해 순응도 및 SVR (지속적인 바이러스 반응) 율을 개선시킬 수 있다.
- [0020] 따라서 본 발명의 목적은 HCV 감염을 치료 및/또는 예방하기 위한 화합물, 제약 조성물, 방법, 및 투여 형태를 제공하는 것이다.

발명의 내용

[0021] 하기에서 화합물 2로서 제공되는 화합물 1의 헤미설페이트 염이, 그의 유리 염기 (화합물 1)에 비해, 증진된 생체이용률 및 표적 기관 선택성을 포함하여 예상외의 유리한 치료적 특성을 나타낸다는 것이 놀랍게도 발견되었다. 이들 예상외의 이점은 사전에 예측할 수 없었다. 화합물 2는 따라서, C형 간염의 치료를 위해 그를 필요로 하는 숙주, 전형적으로 인간에게 유효량으로 투여되는 치료상 뛰어난 물질 조성물이다. 화합물 2는 이소프로필((S)-(((2R,3R,4R,5R)-5-(2-아미노-6-(메틸아미노)-9H-퓨린-9-일)-4-플루오로-3-히드록시-4-메틸테트라히드로푸란-2-일)메톡시)(페녹시)포스포릴)-L-알라니네이트의 헤미-설페이트 염으로 지칭된다. 화합물 1은 미국 특허 번호 9,828,410에 개시되어 있다.



화합물 1



화합물 2

[0022]

[0023] 화합물 2는, 화합물 1로서, 세포 내에서 그의 상응하는 트리포스페이트 뉴클레오타이드 (화합물 1-6)로 전환되고, 이는 활성 대사물이며 RNA 폴리머라제의 억제제이다 (하기 반응식 1 참조). 화합물 1-6은 세포에서 생산되고, 세포를 벗어나지 않기 때문에, 혈장에서 측정가능하지 않다. 그러나, 5'-OH 대사물 화합물 1-7 (반응식 1 참조)은 세포로부터 유출되고, 따라서 혈장에서 측정가능하며, 세포내 활성 대사물 화합물 1-6의 농도의 대용물로서의 역할을 한다.

[0024] 대용물 화합물 1-7, 및 이에 따른 세포내 화합물 1-6의 생체내 혈장 농도는, 화합물 1을 생체내 투여한 경우보다 화합물 2를 생체내 투여한 경우에 실질적으로 더 높은 것으로 발견되었다. 화합물 1 및 화합물 2를 투여한 개의 직접-대면 비교에서 (실시에 19, 표 28), 화합물 2의 투여는 화합물 1 투여 후 AUC보다 2배 높은, 궁극적인 구아닌 5'-OH 뉴클레오시드 대사물 (1-7)의 AUC_(0-4hr)를 달성하였다. 비-공유 염이 모 약물 (화합물 1)의 혈장 농도에 대해 이러한 효과를 갖는다는 것은 예상외의 것이다.

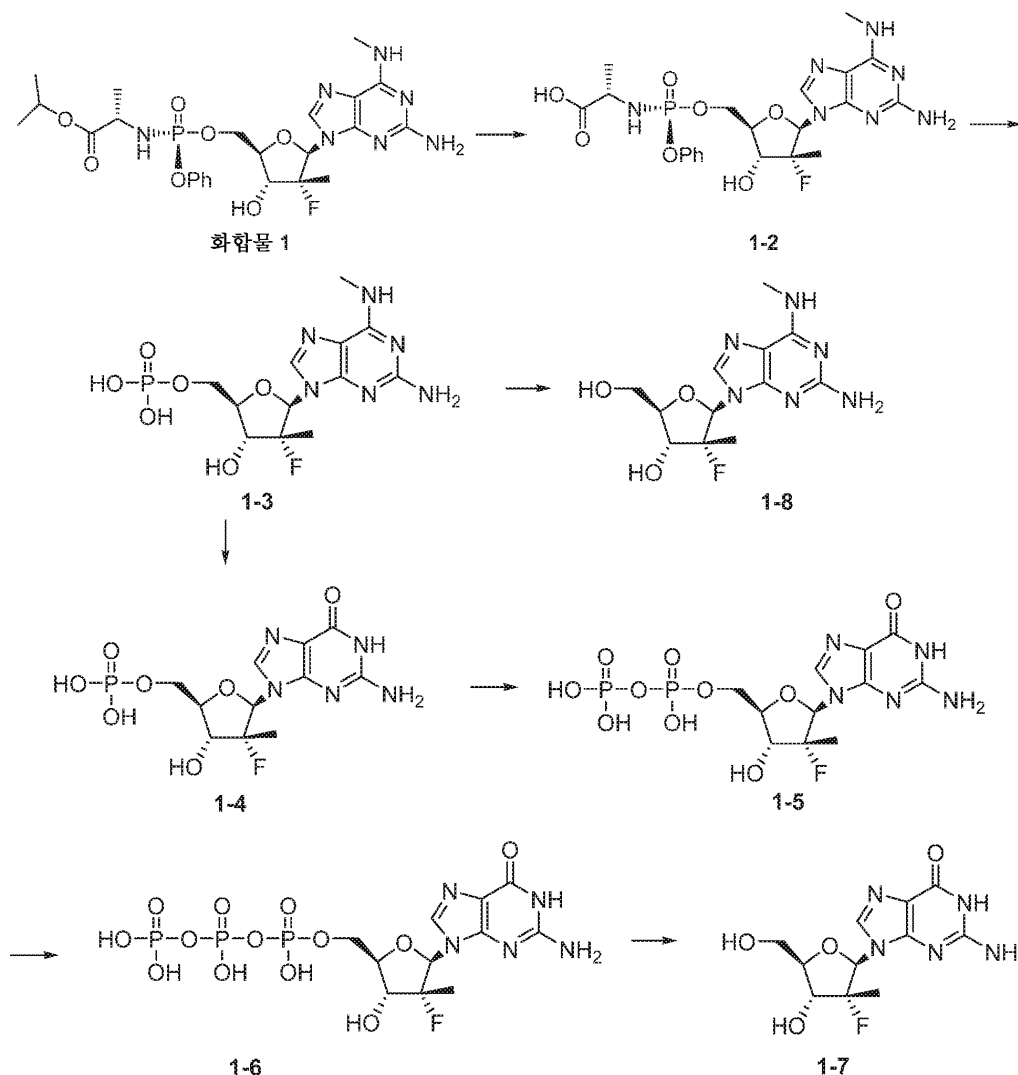
[0025] 추가적으로, 화합물 2는 생체내에서 심장에 비해 간으로 선택적으로 분할되고 (실시에 19, 표 29), 간은 HCV에 감염된 숙주에서의 이환 기관이기 때문에 이는 유익하다. 개에게 화합물 1 또는 화합물 2를 투여하고, 간 및 심장에서 활성 트리포스페이트 (1-6)의 농도를 측정하였다. 활성 트리포스페이트 농도의 간 대 심장 비는 표 29에 제시된 바와 같이 화합물 1과 비교하여 화합물 2를 투여한 후에 더 높았다. 구체적으로, 화합물 2의 경우 간/심장 분할 비는, 화합물 1의 경우의 간/심장 분할 비 3.1과 비교하여, 20이다. 이러한 데이터는, 예상외로, 화합물 2의 투여가, 화합물 1과 비교하여, 심장에 비해 간에서 활성 구아닌 트리포스페이트 (화합물 1-6)의 우선적인 분포를 발생시키고, 이는 잠재적인 오프-타겟 효과를 감소시킨다는 것을 나타낸다. 화합물 2의 투여가 바람직하지 않은 오프-타겟 분할을 유의하게 감소시킬 것이라는 것은 예상외의 것이었다. 이는 원하는 경우에 건강관리 진료의에 의한 화합물 1보다 높은 용량의 화합물 2의 투여를 가능하게 한다.

- [0026] 또한, 화합물 2의 활성 구아닌 트리포스페이트 유도체 (대사물 1-6)의 간 및 심장 조직 수준을 래트 및 원숭이에서 화합물 2의 경구 용량 후에 측정하였다 (실시에 20). 높은 수준의 활성 구아닌 트리포스페이트 (1-6)가 시험된 모든 종의 간에서 측정되었다. 중요한 것으로, 정량화불가능한 수준의 구아닌 트리포스페이트 (1-6)가 원숭이 심장에서 측정되었고, 이는 활성 트리포스페이트의 간-특이적 형성을 나타낸다. 이에 따라, 화합물 1 투여와 비교하여, 화합물 2 투여는 구아닌 트리포스페이트 (1-6) 분포를 개선시키는 것으로 발견되었다.
- [0027] 건강한 자 및 C형 간염 감염된 환자에게 투여한 경우에, 화합물 2는 단일 경구 용량 후에 내약성이 우수하였고, C_{max} , T_{max} 및 AUC_{tot} 약동학적 파라미터는 둘 다의 군에서 대등하였다 (표 34 및 35). 실시예 24에 기재된 바와 같이, HCV-감염된 환자에서 화합물 2의 단일 용량은 유의한 항바이러스 활성을 발생시켰다. 대사물 1-7의 혈장 노출은 연구된 범위에 걸쳐 대부분 용량-비례하였다.
- [0028] 화합물 2가 투여된 환자의 개별 약동학적/약역학적 분석은 바이러스 반응이 화합물 2의 대사물 1-7의 혈장 노출과 상관된다는 것을 보여주었고 (실시에 24, 도 23a-23f), 이는 현저한 바이러스 반응이 화합물 2의 강건한 용량에 의해 달성가능하다는 것을 나타낸다.
- [0029] 실시예 24는, 비제한적 실시양태로서, 300 mg, 400 mg, 및 600 mg의 단일 경구 용량이 인간에서 유의한 항바이러스 활성을 발생시킨다는 것을 확인시켜준다. 600 mg 용량의 화합물 2 후에 대사물 1-7의 C_{24} 최저 혈장 농도는 300 mg 용량의 화합물 2 후에 대사물 1-7의 C_{24} 최저 혈장 농도의 2배였다.
- [0030] 도 24 및 실시예 25는 놀랍게도 본 발명이 화합물 2에 의해 C형 간염의 치료를 제공하였음을 강조한다. 도 24에 제시된 바와 같이, 인간에서 화합물 2 투여 후 (600 mg QD (550 mg 유리 염기 당량) 및 450 mg QD (400 mg 유리 염기 당량)) 대사물 1-7의 정상-상태 최저 혈장 수준 ($C_{24,ss}$)이 예측되었고, 이를 소정 범위의 HCV 임상 분리주에 걸쳐 화합물 1의 EC_{95} 와 시험관내 비교하여 정상 상태 혈장 농도가 EC_{95} 보다 일관되게 더 높은지, 다중 임상 분리주에 대해 생체내 높은 효능을 발생시킬 것인지 결정하였다. 화합물 1에 대한 EC_{95} 는 화합물 2의 EC_{95} 와 동일하다. 화합물 2가 효과적이기 위해서는, 대사물 1-7의 정상-상태 최저 혈장 수준이 EC_{95} 를 초과해야 한다.
- [0031] 도 24에 제시된 바와 같이, 모든 시험된 임상 분리주에 대한 화합물 2의 EC_{95} 는 대략 18 nM 내지 24 nM 범위였다.
- [0032] 도 24에 제시된 바와 같이, 인간에서 450 mg QD (400 mg 유리 염기 당량) 용량의 화합물 2는 대략 40 ng/mL의 예측된 정상 상태 최저 혈장 농도 ($C_{24,ss}$)를 제공한다. 인간에서 600 mg QD (550 mg 유리 염기 당량) 용량의 화합물 2는 대략 50 ng/mL의 예측된 정상 상태 최저 혈장 농도 ($C_{24,ss}$)를 제공한다.
- [0033] 따라서, 대용물 대사물 1-7의 예측된 정상 상태 혈장 농도는 모든 시험된 임상 분리주 (심지어 치료가 어려운 GT3a)에 대해 EC_{95} 의 거의 2배이고, 이는 뛰어난 성능을 나타낸다.
- [0034] 대조적으로, 표준 관리 뉴클레오타이드 소포스부비르 (소발디)의 EC_{95} 는 모든 시험된 HCV 임상 분리주에 걸쳐 50 nM 내지 265 nM 범위이고, EC_{95} 는 400 mg의 상업적 투여량에서 오직 2종의 분리주, GT2a 및 GT2b에 대해서만 예측된 정상 상태 농도보다 더 낮다. 소포스부비르의 400 mg의 상업적 투여량에 대한 EC_{95} 는 다른 임상 분리주, GT1a, GT1b, GT3a, GT4a, 및 GT4d의 경우 예측된 정상 상태 농도보다 더 높다.
- [0035] 도 24에서 효능 및 약동학적 정상 상태 파라미터를 비교한 데이터는 C형 간염의 치료를 위한 화합물 2의 예상외의 치료상 중요성을 분명하게 입증한다. 실제로, 화합물 2의 투여 후 예측된 정상-상태 ($C_{24,ss}$) 혈장 수준은 시험된 모든 유전자형에 대해 EC_{95} 보다 적어도 2-배 더 높은 것으로 예측되고, GT2에 대해서는 3- 내지 5-배 더 강력하다. 이러한 데이터는 화합물 2가 인간에서 강력한 범-유전자형 항바이러스 활성을 갖는다는 것을 나타낸다. 도 24에 제시된 바와 같이, GT1, GT3, 및 GT4에 대한 소포스부비르의 EC_{95} 는 100 ng/mL 초과이다. 따라서 놀랍게도, 화합물 2는 등가의 투여 형태의 소포스부비르에 의해 달성되는 정상-상태 최저 농도 (대략 100 ng/mL)보다 더 낮은 정상-상태 최저 농도 (40-50 ng/mL)를 전달하는 투여 형태에서 HCV에 대해 활성이다.
- [0036] 한 실시양태에서, 따라서, 본 발명은 대략 15-75 ng/mL 사이, 예를 들어, 20-60 ng/mL, 25-50 ng/mL, 40-60 ng/mL, 또는 심지어 40-50 ng/mL의 대사물 1-7 정상-상태 혈장 최저 농도 ($C_{24,ss}$)를 제공하는 화합물 2의 투여 형태를 포함한다. 이는 소포스부비르의 등가의 대사물의 정상 상태 농도가 대략 100 ng/mL라는 사실에 비추어

예상외의 것이다.

- [0037] 추가적으로, 화합물 2는 HCV에 대해 활성을 갖는, 비통상적으로 안정하고, 고도로 가용성이고, 비-흡습성인 염이라는 것이 발견되었다. 모노-술페이트 염 (화합물 3)을 포함한 헤미-술페이트 염 (화합물 2) 외의 화합물 1의 수많은 염이 물리적으로 안정하지 않지만, 대신 조해성이거나 또는 점착성 고체가 되어 (실시예 4), 이에 따라 안정한 고체 제약 투여 형태에 적합하지 않기 때문에, 이는 놀라운 것이다. 놀랍게도, 화합물 2는 점착성이 되지 않는 한편, 물에서 화합물 1과 비교하여 최대 43배 더 가용성이고, 인공 위액 (SGF) 조건 하에 화합물 1보다 6배 더 초과하여 가용성이다 (실시예 15).
- [0038] 실시예 16에 논의된 바와 같이, 화합물 2는 가속 안정성 조건 (40℃/75% RH) 하에 6개월 동안 참조 표준물에 상응하는 IR을 가지며 백색 고체로 유지된다. 화합물 2는 주위 조건 (25℃/60% RH) 및 냉장온도 조건 (5℃)에서 9개월 동안 안정하다.
- [0039] 화합물 2의 고체 투여 형태 (50 mg 및 100 mg 정제)도 또한 가속 (40℃/75% RH) 및 냉장온도 조건 (5℃) 하에 6개월 동안 화학적으로 안정하다 (실시예 26). 화합물 2는 주위 조건 (25℃/60% RH) 하에 고체 투여 형태로 적어도 9개월 동안 안정하다.
- [0040] 반응식 1은 화합물 1 및 화합물 2의 대사 경로를 제공하며, 이는 포스포르아미데이트 (대사물 1-1)의 초기 탈-에스테르화에 의한 대사물 1-2의 형성을 수반한다. 대사물 1-2는 이어서 N⁶-메틸-2,6-디아미노퓨린-5'-모노포스페이트 유도체 (대사물 1-3)로 전환되고, 이는 차례로 유리 5'-히드록실-N⁶-메틸-2,6-디아미노퓨린 뉴클레오시드 (대사물 1-8) 및 5'-모노포스페이트로서 ((2R,3R,4R,5R)-5-(2-아미노-6-옥소-1,6-디히드로-9H-퓨린-9-일)-4-플루오로-3-히드록시-4-메틸테트라히드로푸란-2-일)메틸 디히드로젠 포스페이트 (대사물 1-4)로 대사된다. 대사물 1-4는 상응하는 디포스페이트 (대사물 1-5)에 이어서 활성 트리포스페이트 유도체 (대사물 1-6)로 동화된다. 5'-트리포스페이트는 추가로 대사되어 2-아미노-9-((2R,3R,4R,5R)-3-플루오로-4-히드록시-5-(히드록시메틸)-3-메틸테트라히드로푸란-2-일)-1,9-디히드로-6H-퓨린-6-온 (1-7)을 생성할 수 있다. 대사물 1-7은 혈장에서 측정가능하고, 따라서 혈장에서 측정가능하지 않은 활성 트리포스페이트 (1-6)의 대용물이다.

[0041] 반응식 1



[0042]

[0043] 한 실시양태에서, 본 발명은, 임의로 제약상 허용되는 담체 중의, 화합물 2, 및 C형 간염 (HCV)의 치료를 필요로 하는 숙주에서 HCV를 치료하기 위한 그의 용도이다. 한 측면에서, 화합물 2는 무정형 고체로서 사용된다. 또 다른 측면에서, 화합물 2는 결정질 고체로서 사용된다.

[0044] 본 발명은 추가로, 하기를 포함하는 화합물 2의 제조를 위한 예시적인 비제한적 방법을 포함한다:

[0045] (i) 플라스크 또는 용기에서, 유기 용매, 예를 들어, 아세톤, 에틸 아세테이트, 메탄올, 아세토니트릴, 또는 에테르 등 중에 화합물 1을 용해시키는 제1 단계;

[0046] (ii) 제2 플라스크 또는 용기에 단계 (i)의 유기 용매와 동일하거나 상이할 수 있는 제2 유기 용매를 채우고, 임의로 제2 용매를 0-10℃로 냉각시키고, 제2 유기 용매에 H₂SO₄를 적가하여 H₂SO₄/유기 용매 혼합물을 생성하는 단계이며; 여기서 용매는 예를 들어 메탄올일 수 있는 것인 단계;

[0047] (iii) 단계 (ii)로부터의 0.5/1.0 몰비의 H₂SO₄/용매 혼합물을 단계 (i)의 화합물 1의 용액에 주위 온도 또는 약간 증가되거나 감소된 온도 (예를 들어 23-35℃)에서 적가하는 단계;

[0048] (iv) 단계 (iii)의 반응물을 화합물 2의 침전물이 형성될 때까지, 예를 들어 주위 온도 또는 약간 증가되거나 감소된 온도에서 교반하는 단계;

[0049] (v) 임의로 단계 (iv)로부터 생성된 침전물을 여과하고 유기 용매로 세척하는 단계; 및

[0050] (vi) 임의로 생성된 화합물 2를 진공 하에 임의로 승온, 예를 들어, 55, 56, 57, 58, 59, 또는 60℃에서 건조시키는 단계.

- [0051] 한 실시양태에서, 단계 (i)의 유기 용매는 3-메틸-2-펜타논이다. 한 실시양태에서, 단계 (i)의 유기 용매는 에틸 이소프로필 케톤이다. 한 실시양태에서, 단계 (i)의 유기 용매는 메틸 프로피오네이트이다. 한 실시양태에서, 단계 (i)의 유기 용매는 에틸 부티레이트이다.
- [0052] 항바이러스 뉴클레오시드 문헌 및 특허 출원 분량에도 불구하고, 화합물 2는 구체적으로 개시되어 있지 않다. 따라서, 본 발명은 본원에 기재된 바와 같은, 화합물 2 또는 그의 제약상 허용되는 조성물 또는 투여 형태를 포함한다.
- [0053] 화합물, 방법, 투여 형태, 및 조성물은 유효량의 화합물 2의 투여를 통한 HCV 바이러스에 감염된 숙주의 치료를 제공한다. 특정 실시양태에서, 화합물 2는 적어도 약 100, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 또는 1000 mg의 용량으로 투여된다. 특정 실시양태에서, 화합물 2는 최대 12주 동안, 최대 10주 동안, 최대 8주 동안, 최대 6주 동안, 또는 최대 4주 동안 투여된다. 대안적 실시양태에서, 화합물 2는 적어도 4주 동안, 적어도 6주 동안, 적어도 8주 동안, 적어도 10주 동안, 또는 적어도 12주 동안 투여된다. 특정 실시양태에서, 화합물 2는 적어도 1일 1회 또는 격일 1회 투여된다. 특정 실시양태에서, 화합물 2는 대략 15-75 ng/mL 사이의 대사물 1-7의 정상-상태 최저 혈장 수준 ($C_{24,ss}$)을 달성하는 투여 형태로 투여된다. 한 실시양태에서, 화합물 2는 대략 20-60 ng/mL 사이의 대사물 1-7의 정상-상태 최저 혈장 수준 ($C_{24,ss}$)을 달성하는 투여 형태로 투여된다. 특정 실시양태에서, 화합물 2는 대략 1,200 ng*h/mL 및 3,000 ng*h/mL 사이의 대사물 1-7의 AUC를 달성하는 투여 형태로 투여된다. 한 실시양태에서, 화합물 2는 대략 1,500 및 2,100 ng*h/mL 사이의 대사물 1-7의 AUC를 달성하는 투여 형태로 투여된다.
- [0054] 화합물, 조성물, 및 투여 형태는 또한 관련 병태 예컨대 항-HCV 항체 양성 및 항원 양성 병태, 바이러스-기반 만성 간염, 진행성 C형 간염에 기인한 간암 (간세포성 암종 (HCC)), 간경변증, 만성 또는 급성 C형 간염, 전격성 C형 간염, 만성 지속성 C형 간염 및 항-HCV-기반 피로를 치료하는데 사용될 수 있다. 화합물 또는 화합물을 포함하는 제제는 또한 항-HCV 항체- 또는 항원-양성이거나 또는 C형 간염에 노출된 개체에서 임상 질병을 예방하거나 또는 그의 진행을 제한하기 위해 예방적으로 사용될 수 있다.
- [0055] 따라서 본 발명은 하기 특색을 포함한다:
- [0056] (a) 본원에 기재된 바와 같은 화합물 2;
- [0057] (b) 화합물 2의 전구약물;
- [0058] (c) C형 간염 바이러스 감염의 치료를 위한 의약의 제조에서의 화합물 2의 용도;
- [0059] (d) C형 간염을 치료하는데 사용하기 위한, 임의로 제약상 허용되는 담체 중의 화합물 2;
- [0060] (e) 본원에 기재된 바와 같은 화합물 2 또는 제약상 허용되는 염이 제조에 사용되는 것을 특징으로 하는, C형 간염 바이러스 감염을 치료하기 위한 치료 용도로 의도되는 의약을 제조하는 방법;
- [0061] (e) 효과적인 숙주-치료량의 화합물 2를 제약상 허용되는 담체 또는 희석제와 함께 포함하는 제약 제제;
- [0062] (f) 유효량의 화합물 2를 함유하는 치료 생성물의 제조 방법;
- [0063] (g) 유리한 약동학적 프로파일을 제공하는 것을 포함한 고체 투여 형태; 및
- [0064] (h) 본원에 기재된 바와 같은, 화합물 2의 제조 방법.

도면의 간단한 설명

- [0065] 도 1a는 실시예 2 및 실시예 5에 기재된 바와 같은 특징화 목적을 위한 안정성 연구 전 샘플 1-1 (무정형 화합물 1), 1-2 (결정질 화합물 1), 및 1-3 (무정형 화합물 2)의 XRPD 회절도의 오버레이이다. x-축은 도 단위로 측정된 2세타이고, y-축은 카운트 단위로 측정된 강도이다.
- 도 1b는 실시예 2에 기재된 바와 같은 순도 결정을 위한 무정형 화합물 1 (샘플 1-1)의 HPLC 크로마토그램이다. 샘플의 순도는 98.7%였다. x-축은 분 단위로 측정된 시간이고, y-축은 카운트 단위로 측정된 강도이다.
- 도 2a는 실시예 2에 기재된 바와 같은 순도 결정을 위한 결정질 화합물 1 (샘플 1-2)의 HPLC 크로마토그램이다. 샘플의 순도는 99.11%였다. x-축은 분 단위로 측정된 시간이고, y-축은 카운트 단위로 측정된 강도이다.
- 도 2b는 실시예 2에 기재된 바와 같은 특징화 목적을 위한 임의의 안정성 연구 전 결정질 화합물 1 (샘플 1-

2)의 DSC 및 TGA 그래프이다. x-축은 $^{\circ}\text{C}$ 단위로 측정된 온도이고, 좌측 y-축은 (W/g) 단위로 측정된 열 유량이고, 우측 y-축은 퍼센트 단위로 측정된 중량이다.

도 3은 실시예 2에 기재된 바와 같은 절대 입체화학을 보여주는 화합물 1의 X선 결정학 영상이다.

도 4a는 실시예 2에 기재된 바와 같은 25°C 및 60% 상대 습도에서 14일 동안 저장한 후의 샘플 1-1 (무정형 화합물 1), 1-2 (결정질 화합물 1), 및 1-3 (무정형 화합물 2)의 XRPD 회절도의 오버레이이다. x-축은 도 단위로 측정된 2세타이고, y-축은 카운트 단위로 측정된 강도이다.

도 4b는 실시예 4에 기재된 바와 같은 25°C 및 60% 상대 습도에서 7일 동안 저장한 후의 샘플 1-4, 1-5, 1-6, 1-7, 및 1-9의 XRPD 회절도의 오버레이이다. x-축은 도 단위로 측정된 2세타이고, y-축은 카운트 단위로 측정된 강도이다.

도 5a는 실시예 4에 기재된 바와 같은 25°C 및 60% 상대 습도에서 14일 동안 저장한 후의 샘플 1-4, 1-6, 1-7, 및 1-9의 XRPD 회절도의 오버레이이다. x-축은 도 단위로 측정된 2세타이고, y-축은 카운트 단위로 측정된 강도이다.

도 5b는 실시예 5에 기재된 바와 같은 무정형 화합물 2 (샘플 1-3)의 XRPD 패턴이다. x-축은 도 단위로 측정된 2세타이고, y-축은 카운트 단위로 측정된 강도이다.

도 6a는 실시예 5에 기재된 바와 같은 순도 결정을 위한 무정형 화합물 2 (샘플 1-3)의 HPLC 크로마토그래프이다. 샘플의 순도는 99.6%였다. x-축은 분 단위로 측정된 시간이고, y-축은 카운트 단위로 측정된 강도이다.

도 6b는 실시예 5에 기재된 바와 같은 특정화 목적을 위한 임의의 안정성 연구 전 무정형 화합물 2 (샘플 1-3)에 대한 DSC 및 TGA 그래프이다. x-축은 $^{\circ}\text{C}$ 단위로 측정된 온도이고, 좌측 y-축은 (W/g) 단위로 측정된 열 유량이고, 우측 y-축은 퍼센트 단위로 측정된 중량이다.

도 7a는 화합물 2의 결정화로부터 확인된 결정질 샘플 (샘플 2-2, 2-6, 및 2-7) 및 저 결정질 샘플 (샘플 2-3, 2-4, 2-5, 및 2-8)의 XRPD 회절도의 오버레이이다 (실시예 6). x-축은 도 단위로 측정된 2세타이고, y-축은 카운트 단위로 측정된 강도이다.

도 7b는 화합물 2의 결정화로부터 확인된 무정형 샘플 (샘플 2-9, 2-10, 및 2-11)의 XRPD 회절도의 오버레이이다 (실시예 6). x-축은 도 단위로 측정된 2세타이고, y-축은 카운트 단위로 측정된 강도이다.

도 8a는 25°C 및 60% 상대 습도에서의 6일 저장 후 샘플 (샘플 2-2, 2-3, 2-4, 2-5, 2-6, 2-7 및 2-8)의 XRPD 회절도의 오버레이이다 (실시예 6). x-축은 도 단위로 측정된 2세타이고, y-축은 카운트 단위로 측정된 강도이다.

도 8b는 샘플 2-2에 대한 DSC 및 TGA 그래프이다 (실시예 6). x-축은 $^{\circ}\text{C}$ 단위로 측정된 온도이고, 좌측 y-축은 (W/g) 단위로 측정된 열 유량이고, 우측 y-축은 퍼센트 단위로 측정된 중량이다. DSC 및 TGA 수집에 대한 실험 절차는 실시예 2에 주어진다.

도 9a는 샘플 2-3에 대한 DSC 및 TGA 그래프이다 (실시예 6). x-축은 $^{\circ}\text{C}$ 단위로 측정된 온도이고, 좌측 y-축은 (W/g) 단위로 측정된 열 유량이고, 우측 y-축은 퍼센트 단위로 측정된 중량이다. DSC 및 TGA 수집에 대한 실험 절차는 실시예 2에 주어진다.

도 9b는 샘플 2-4에 대한 DSC 및 TGA 그래프이다 (실시예 6). x-축은 $^{\circ}\text{C}$ 단위로 측정된 온도이고, 좌측 y-축은 (W/g) 단위로 측정된 열 유량이고, 우측 y-축은 퍼센트 단위로 측정된 중량이다. DSC 및 TGA 수집에 대한 실험 절차는 실시예 2에 주어진다.

도 10a는 샘플 2-5에 대한 DSC 및 TGA 그래프이다 (실시예 6). x-축은 $^{\circ}\text{C}$ 단위로 측정된 온도이고, 좌측 y-축은 (W/g) 단위로 측정된 열 유량이고, 우측 y-축은 퍼센트 단위로 측정된 중량이다. DSC 및 TGA 수집에 대한 실험 절차는 실시예 2에 주어진다.

도 10b는 샘플 2-6에 대한 DSC 및 TGA 그래프이다 (실시예 6). x-축은 $^{\circ}\text{C}$ 단위로 측정된 온도이고, 좌측 y-축은 (W/g) 단위로 측정된 열 유량이고, 우측 y-축은 퍼센트 단위로 측정된 중량이다. DSC 및 TGA 수집에 대한 실험 절차는 실시예 2에 주어진다.

도 11a는 샘플 2-7에 대한 DSC 및 TGA 그래프이다 (실시예 6). x-축은 $^{\circ}\text{C}$ 단위로 측정된 온도이고, 좌측 y-축은 (W/g) 단위로 측정된 열 유량이고, 우측 y-축은 퍼센트 단위로 측정된 중량이다. DSC 및 TGA 수집에 대한

실험 절차는 실시예 2에 주어진다.

도 11b는 샘플 2-8에 대한 DSC 및 TGA 그래프이다 (실시예 6). x-축은 °C 단위로 측정된 온도이고, 좌측 y-축은 (W/g) 단위로 측정된 열 유량이고, 우측 y-축은 퍼센트 단위로 측정된 중량이다. DSC 및 TGA 수집에 대한 실험 절차는 실시예 2에 주어진다.

도 12a는 실시예 7에 논의된 바와 같은 무정형 화합물 4 (샘플 3-12)의 XRPD 패턴이다. x-축은 도 단위로 측정된 2세타이고, y-축은 카운트 단위로 측정된 강도이다. 사용된 용매에 관계 없이, 말로네이트 염의 어떠한 결정화도 관찰되지 않았다.

도 12b는 말로네이트 염과 함께 화합물 1의 시도된 결정화로부터 확인된 무정형 샘플 (샘플 3-6, 3-10, 3-11, 및 3-12)의 XRPD 회절도의 오버레이이다 (실시예 7). x-축은 도 단위로 측정된 2세타이고, y-축은 카운트 단위로 측정된 강도이다.

도 13a는 실시예 7에 기재된 바와 같은 말로네이트 염과 함께 화합물 1의 시도된 결정화로부터의 샘플 3-12의 HPLC 크로마토그램이다. 샘플은 99.2% 순수하였다. x-축은 분 단위로 측정된 시간이고, y-축은 mAu 단위로 측정된 강도이다.

도 13b는 실시예 8에 기재된 바와 같은 화합물 1 (샘플 1-2)과 비교하여 LAG를 사용한 결정화로부터 수득된 고체 샘플 (샘플 4-13, 4-12, 4-9, 4-3, 및 4-1)의 XRPD 회절도의 오버레이이다. 모든 XRPD는 결정질 산 반대이온의 패턴과 매칭되었고, 어떠한 추가의 피크도 없었다. x-축은 도 단위로 측정된 2세타이고, y-축은 카운트 단위로 측정된 강도이다.

도 14a는 실시예 10에 기재된 바와 같은 결정질 화합물 1 (샘플 1-2)과 비교하여 결정화 용매로서 에틸 아세테이트를 사용한 것으로부터 수득된 샘플 (샘플 6-13, 6-12, 6-11, 6-10, 6-8, 6-7, 6-6, 6-5, 6-4, 및 6-2)의 XRPD 회절도의 오버레이이다. XRPD 패턴은 일반적으로, 약간의 차이를 나타낸 샘플 6-2, 6-4, 및 6-5를 제외하고, 화합물 1 패턴과 매칭되는 것으로 확인되었다. x-축은 도 단위로 측정된 2세타이고, y-축은 카운트 단위로 측정된 강도이다.

도 14b는 실시예 9에 기재된 바와 같은 MEK 중의 제2 용해 및 역용매 시클로헥산 및 파모산의 첨가 후 샘플 5-1의 XRPD 회절도의 오버레이이다. 파모산 중에서 결정화된 샘플 5-1은 숙성 후 고체였지만, XRPD 패턴은 파모산의 패턴과 매칭되었다.

도 15a는 실시예 10에 기재된 바와 같은 결정질 화합물 1 (샘플 1-2)과 비교하여 결정화 용매로서 에틸 아세테이트를 사용한 것으로부터 수득된 샘플 (샘플 6-5, 6-4, 및 6-2)의 XRPD 회절도의 오버레이이다. XRPD 패턴은 일반적으로, 약간의 차이를 나타낸 샘플 6-2, 6-4, 및 6-5를 제외하고, 화합물 1 패턴과 매칭되는 것으로 확인되었다. x-축은 도 단위로 측정된 2세타이고, y-축은 카운트 단위로 측정된 강도이고, 결정화에 사용된 산이 라벨링된다.

도 15b는 실시예 14에 기재된 바와 같은 화합물 2에 대한 XRPD 패턴이다. x-축은 도 단위로 측정된 2세타이고, y-축은 카운트 단위로 측정된 강도이다.

도 16a는 래트, 개, 및 원숭이의 간 및 심장에서의 활성 TP (대사물 1-6) 농도 수준의 그래프이다 (실시예 18). x-축은 각각의 종에 대해 mg/kg 단위로 측정된 투여량이고, y-축은 ng/g 단위로 측정된 활성 TP 농도이다.

도 16b는 화합물 1 또는 화합물 2의 단일 경구 용량의 4시간 후에 측정된 개 (n=2)의 간 및 심장에서의 활성 TP (대사물 1-6) 농도 수준의 그래프이다 (실시예 19). x-축은 mg/kg 단위로 측정된 각각의 화합물의 투여량이고, y-축은 ng/g 단위로 측정된 활성 TP 농도이다.

도 17은 투여 72시간 후에 측정된, 화합물 2의 단일 500 mg/kg 경구 용량이 주어진 래트에서의 화합물 1 및 대사물 1-7의 혈장 프로파일이다 (실시예 20). x-축은 시간 단위로 측정된 시간이고, y-축은 ng/mL 단위로 측정된 혈장 농도이다.

도 18은 투여 72시간 후에 측정된, 30 mg, 100 mg, 또는 300 mg의 화합물 2의 단일 경구 용량이 주어진 원숭이에서의 화합물 1 및 대사물 1-7의 혈장 프로파일이다 (실시예 20). x-축은 시간 단위로 측정된 시간이고, y-축은 ng/mL 단위로 측정된 혈장 농도이다.

도 19는 HCV 임상 분리주에 대한 소포스부비르 및 화합물 1의 nM 단위로 측정된 EC₉₅의 그래프이다. 화합물 1에

대한 EC_{95} 값은 소포스부비르보다 7-33배 더 낮다 (실시예 22). x-축은 유전자형으로 라벨링되고, y-축은 nM 단위로 측정된 EC_{95} 이다.

도 20은 HCV 유전자형 1a, 1b, 2a, 3a, 4a, 및 5a의 실험실 균주에 대한 소포스부비르 및 화합물 1의 nM 단위로 측정된 EC_{50} 의 그래프이다. 화합물 1은 유전자형 1-5에서 소포스부비르보다 대략 6-11배 더 강력하다 (실시예 22). x-축은 유전자형으로 라벨링되고, y-축은 nM 단위로 측정된 EC_{50} 이다.

도 21은 실시예 24에 기재된 바와 같은 연구의 파트 B의 모든 코호트에서의, 화합물 2의 단일 용량의 투여 후 화합물 1의 평균 혈장 농도-시간 프로파일의 그래프이다. 화합물 1은 파트 B로부터의 모든 코호트에서 대략 8 시간 내에 급속하게 흡수되고 신속하게 대사되었다. x-축은 시간 단위로 측정된 시간이고, y-축은 ng/mL 단위로 측정된 기하 평균 혈장 농도이다.

도 22는 실시예 24에 기재된 바와 같은 연구의 파트 B의 모든 코호트에서의, 화합물 2의 단일 용량의 투여 후 대사물 1-7의 평균 혈장 농도-시간 프로파일의 그래프이다. 대사물 1-7은 파트 B로부터의 모든 코호트에서 지속되는 혈장 농도를 나타내었다. x-축은 시간 단위로 측정된 시간이고, y-축은 ng/mL 단위로 측정된 기하 평균 혈장 농도이다.

도 23a는 실시예 24에 기재된 바와 같은 1b 코호트에 등록된 대상체의 개별 약동학적/약역학적 분석이다. 그래프는 혈장 대사물 1-7 노출 및 HCV RNA 감소 수준을 보여준다. 파선은 GT1b에 대한 EC_{95} 값보다 더 큰 바이러스 반응을 지속시키는데 요구되는 대사물 1-7의 최소 농도를 나타낸다. x-축은 시간 단위로 측정된 시간이다. 좌측 y-축은 ng/mL 단위로 측정된 대사물 1-7 혈장 농도이고, 우측 y-축은 $\log_{10}$ IU/mL 단위로 측정된 HCV RNA 감소이다.

도 23b는 실시예 24에 기재된 바와 같은 1b 코호트에 등록된 대상체의 개별 약동학적/약역학적 분석이다. 그래프는 혈장 대사물 1-7 노출 및 HCV RNA 감소 수준을 보여준다. 파선은 GT1b에 대한 EC_{95} 값보다 더 큰 바이러스 반응을 지속시키는데 요구되는 대사물 1-7의 최소 농도를 나타낸다. x-축은 시간 단위로 측정된 시간이다. 좌측 y-축은 ng/mL 단위로 측정된 대사물 1-7 혈장 농도이고, 우측 y-축은 $\log_{10}$ IU/mL 단위로 측정된 HCV RNA 감소이다.

도 23c는 실시예 24에 기재된 바와 같은 1b 코호트에 등록된 대상체의 개별 약동학적/약역학적 분석이다. 그래프는 혈장 대사물 1-7 노출 및 HCV RNA 감소 수준을 보여준다. 파선은 GT1b에 대한 EC_{95} 값보다 더 큰 바이러스 반응을 지속시키는데 요구되는 대사물 1-7의 최소 농도를 나타낸다. x-축은 시간 단위로 측정된 시간이다. 좌측 y-축은 ng/mL 단위로 측정된 대사물 1-7 혈장 농도이고, 우측 y-축은 $\log_{10}$ IU/mL 단위로 측정된 HCV RNA 감소이다.

도 23d는 실시예 24에 기재된 바와 같은 3b 코호트에 등록된 대상체의 개별 약동학적/약역학적 분석이다. 각각의 그래프는 혈장 대사물 1-7 노출 및 HCV RNA 감소 수준을 보여준다. 파선은 GT1b에 대한 EC_{95} 값보다 더 큰 바이러스 반응을 지속시키는데 요구되는 대사물 1-7의 최소 농도를 나타낸다. x-축은 시간 단위로 측정된 시간이다. 좌측 y-축은 ng/mL 단위로 측정된 대사물 1-7 혈장 농도이고, 우측 y-축은 $\log_{10}$ IU/mL 단위로 측정된 HCV RNA 감소이다.

도 23e는 실시예 24에 기재된 바와 같은 3b 코호트에 등록된 대상체의 개별 약동학적/약역학적 분석이다. 각각의 그래프는 혈장 대사물 1-7 노출 및 HCV RNA 감소 수준을 보여준다. 파선은 GT1b에 대한 EC_{95} 값보다 더 큰 바이러스 반응을 지속시키는데 요구되는 대사물 1-7의 최소 농도를 나타낸다. x-축은 시간 단위로 측정된 시간이다. 좌측 y-축은 ng/mL 단위로 측정된 대사물 1-7 혈장 농도이고, 우측 y-축은 $\log_{10}$ IU/mL 단위로 측정된 HCV RNA 감소이다.

도 23f는 실시예 24에 기재된 바와 같은 3b 코호트에 등록된 대상체의 개별 약동학적/약역학적 분석이다. 각각의 그래프는 혈장 대사물 1-7 노출 및 HCV RNA 감소 수준을 보여준다. 파선은 GT1b에 대한 EC_{95} 값보다 더 큰 바이러스 반응을 지속시키는데 요구되는 대사물 1-7의 최소 농도를 나타낸다. x-축은 시간 단위로 측정된 시간이다. 좌측 y-축은 ng/mL 단위로 측정된 대사물 1-7 혈장 농도이고, 우측 y-축은 $\log_{10}$ IU/mL 단위로 측정된

HCV RNA 감소이다.

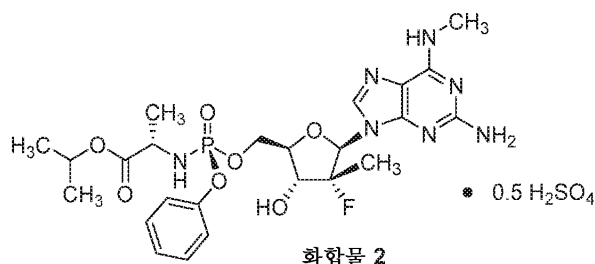
도 24는 GT1, GT2, GT3, 및 GT4 HCV-감염된 환자의 임상 분리주에 대한 화합물 1 및 소포스부비르의 EC₉₅ 값의 그래프이다. 파선 수평선 (-----)은 소포스부비르의 400 mg QD 용량 후 소포스부비르 뉴클레오시드의 정상-상태 최저 농도 (C_{24,ss})를 나타낸다. 실선 수평선 (——)은 화합물 2의 600 mg (화합물 1의 550 mg와 등가) 후 대사물 1-7의 정상-상태 최저 농도 (C_{24,ss})를 나타낸다. 점선 수평선 (-----)은 화합물 2의 450 mg (화합물 1의 400 mg와 등가) 후 대사물 1-7의 정상-상태 최저 농도 (C_{24,ss})를 나타낸다. 실시예 25에 논의된 바와 같이, 화합물 2의 600 mg 및 450 mg 후 대사물 1-7의 예측된 정상-상태 최저 혈장 수준 (C_{24,ss})은 모든 시험된 임상 분리주에 대해 화합물 1의 시험관내 EC₉₅를 초과한다. 소포스부비르의 정상 상태 최저 혈장 수준 (C_{24,ss})은 오직 GT2 임상 분리주에서만 EC₉₅를 초과한다. x-축은 임상 분리주로 라벨링되고, x-축 아래의 표는 화합물 1 및 소포스부비르에 대한 EC₉₅ 값을 열거한다. y-축은 ng/mL 단위로 측정된 임상 분리주에 대한 EC₉₅이다. EC₉₅는 뉴클레오시드 당량으로 표현된다. 소포스부비르 및 화합물 2는 매일 투여되었다 (QD).

도 25는 실시예 26에 기재된 바와 같은 화합물 2의 50 mg 및 100 mg 정제의 제조 방법을 보여주는 흐름도이다. 단계 1에서, 미세결정질 셀룰로스, 화합물 2, 락토스 1수화물, 및 크로스카르멜로스 소듐은 600 μM 스크린을 통해 여과된다. 단계 2에서, 단계 1로부터의 내용물은 V-블렌더 내로 로딩되고, 25 rpm에서 5분 동안 혼합된다. 단계 3에서, 스테아르산마그네슘이 600 μM 스크린을 통해 여과된다. 단계 4에서, 스테아르산마그네슘은 단계 2로부터의 내용물 (미세결정질 셀룰로스, 화합물 2, 락토스 1수화물, 및 크로스카르멜로스 소듐)을 함유하는 V-블렌더 내로 로딩되고, 25 rpm에서 2분 동안 혼합된다. 이어서 통상의 블렌드는 50 mg 정제 및 100 mg 정제의 생성을 위해 나뉘어진다. 50 mg 정제를 생성하기 위해, 단계 4로부터의 블렌드는 6 mm 원형 표준 오목 도구에 의해 압축된다. 100 mg 정제를 생성하기 위해, 단계 4로부터의 블렌드는 8 mm 원형 표준 오목 도구에 의해 압축된다. 이어서 정제는 건조제가 담긴 PP 캡에 의해 유도-밀봉되는 HDPE 병 내로 포장된다.

도 26은 HCV 바이러스의 치료를 위한, 그의 상응하는 유리 염기보다 유리한 약리학적 특성을 나타내는 헤미-솔페이트 염이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0066] 본원에 개시된 본 발명은 본원에 기재된 바와 같은, 임의로 제약상 허용되는 담체 중의, 이소프로필((S)-(((2R,3R,4R,5R)-5-(2-아미노-6-(메틸아미노)-9H-퓨린-9-일)-4-플루오로-3-히드록시-4-메틸테트라히드رو퓨란-2-일)메톡시)(페녹시)포스포릴)-L-알라니네이트의 헤미-솔페이트 염 (화합물 2)의 유효량을 투여하는 것을 포함하는, HCV 바이러스의 인간 및 다른 숙주 동물의 감염 또는 그에 대한 노출을 치료하기 위한 화합물, 방법, 조성물, 및 고체 투여 형태이다. 한 실시양태에서, 화합물 2는 무정형 고체이다. 또 다른 실시양태에서, 화합물 2는 결정질 고체이다.



[0067] 화합물, 조성물, 및 투여 형태는 또한 HCV 바이러스 노출에 관련되거나 또는 그의 결과로서 발생하는 병태를 치료하는데 사용될 수 있다. 예를 들어, 활성 화합물은 HCV 항체 양성- 및 HCV 항원-양성 병태, 바이러스-기반 만성 간염, 진행성 C형 간염에 기인한 간염 (예를 들어, 간세포성 암종), 간경변증, 급성 C형 간염, 전격성 C형 간염, 만성 지속성 C형 간염, 및 항-HCV-기반 피로를 치료하는데 사용될 수 있다.

[0069] 활성 화합물 및 조성물은 또한 소정 범위의 HCV 유전자형을 치료하는데 사용될 수 있다. 각각 다중 하위유형을 갖는, HCV의 적어도 6종의 별개의 유전자형이 세계적으로 확인되었다. 유전자형 1-3은 전세계에 보편적이고, 유전자형 4, 5, 및 6은 지리적으로 보다 제한된다. 유전자형 4는 중동 및 아프리카에서 흔하다. 유전자형 5는

대부분 남아프리카에서 발견된다. 유전자형 6은 동남 아시아에 우세하게 존재한다. 미국에서 가장 흔한 유전자형은 유전자형 1이지만, 유전자형 및 하위유형을 규정하는 것은 치료 유형 및 지속기간에 도움이 될 수 있다. 예를 들어, 상이한 유전자형은 상이한 의약에 상이하게 반응하고, 최적의 치료 시간은 유전자형 감염에 따라 달라진다. 유전자형 내에서, 하위유형, 예컨대 유전자형 1a 및 유전자형 1b도 또한 치료에 상이하게 반응한다. 1종의 유형의 유전자형에 의한 감염은 상이한 유전자형에 의한 이후의 감염을 배제하지 않는다.

[0070] 실시예 22에 기재된 바와 같이, 화합물 2는 유전자형 1-5를 포함한 소정의 범위의 HCV 유전자형에 대해 활성이다. 한 실시양태에서, 화합물 2는 HCV 유전자형 1, HCV 유전자형 2, HCV 유전자형 3, HCV 유전자형 4, HCV 유전자형 5, 또는 HCV 유전자형 6을 치료하는데 사용된다. 한 실시양태에서, 화합물 2는 HCV 유전자형 1a를 치료하는데 사용된다. 한 실시양태에서, 화합물 2는 HCV 유전자형 1b를 치료하는데 사용된다. 한 실시양태에서, 화합물 2는 HCV 유전자형 2a를 치료하는데 사용된다. 한 실시양태에서, 화합물 2는 HCV 유전자형 2b를 치료하는데 사용된다. 한 실시양태에서, 화합물 2는 HCV 유전자형 3a를 치료하는데 사용된다. 한 실시양태에서, 화합물 2는 HCV 유전자형 4a를 치료하는데 사용된다. 한 실시양태에서, 화합물 2는 HCV 유전자형 4d를 치료하는데 사용된다.

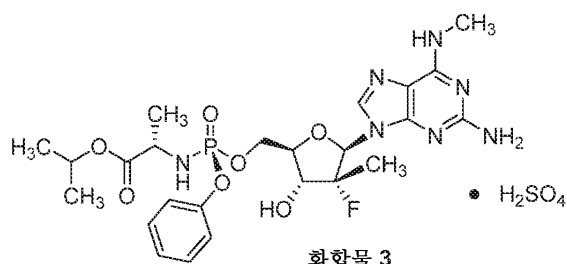
[0071] 한 실시양태에서, 화합물 1 또는 화합물 2는 HCV 유전자형 5a를 치료하는데 사용된다. 한 실시양태에서, 화합물 1 또는 화합물 2는 HCV 유전자형 6a를 치료하는데 사용된다. 한 실시양태에서, 화합물 1 또는 화합물 2는 HCV 유전자형 6b, 6c, 6d, 6e, 6f, 6g, 6h, 6i, 6j, 6k, 6l, 6m, 6n, 6o, 6p, 6q, 6r, 6s, 6t, 또는 6u를 치료하는데 사용된다.

[0072] 실시예 25에 논의되고 도 24에 제시된 바와 같이, 화합물 2의 450 mg (400 mg 유리 염기)의 용량 및 600 mg (550 mg 유리 염기)의 용량 후 대사물 1-7의 예측된 정상-상태 최저 농도 ($C_{24,ss}$)는 대략 40 ng/mL 내지 50 ng/mL이다. 이러한 $C_{24,ss}$ 수준은 HCV 유전자형 1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 4a, 및 4d에서 화합물 1의 EC_{95} 를 초과한다. 이러한 데이터는 화합물 2가 강력한-범 유전자형 활성을 갖는다는 것을 확인시켜준다. 이는 화합물 2가, 등가의 소포스부비르 투여 후 소포스부비르의 뉴클레오시드 대사물의 정상-상태 최저 농도 ($C_{24,ss}$)보다 더 적은 정상-상태 최저 농도 ($C_{24,ss}$)를 달성하기 때문에 놀라운 것이다. 소포스부비르의 상응하는 뉴클레오시드 대사물의 정상-상태 최저 농도 ($C_{24,ss}$)는 대략 100 ng/mL이지만, 이러한 수준은 단지 GT2 임상 분리주에 대해서만 소포스부비르의 EC_{95} 를 초과한다 (도 24). 화합물 2는 GT1, GT2, GT3, 및 GT4에 대해 소포스부비르보다 더 강력하고, 따라서 그의 대사물의 보다 적은 정상-상태 최저 농도를 전달하는 투여 형태가 가능하며, 이는 그림에도 불구하고 HCV의 모든 시험된 유전자형에 대해 효과적이다. 한 실시양태에서, 대략 15-75 ng/mL 사이의 대사물 1-7 정상-상태 최저 농도 ($C_{24,ss}$)를 달성하는 화합물 2의 투여 형태가 전달된다. 한 실시양태에서, 대략 20-60 ng/mL, 20-50 ng/mL, 또는 20-40 ng/mL 사이의 대사물 1-7 정상-상태 최저 농도 ($C_{24,ss}$)를 달성하는 화합물 2의 투여 형태가 전달된다.

[0073] 한 실시양태에서, 화합물, 화합물을 포함하는 제제, 또는 고체 투여 형태는 또한 HCV 항체- 또는 HCV 항원-양성 이거나 또는 C형 간염에 노출된 개체에서 임상 질병을 예방하거나 또는 그의 진행을 지연시키기 위해 예방적으로 사용될 수 있다.

[0074] 특히, 화합물 2는 HCV에 대해 활성이고, 그의 유리 염기 (화합물 1)와 비교하여 뛰어난 약물-유사 및 약리학 특성들을 나타낸다는 것이 발견되었다. 놀랍게도, 화합물 2는 보다 생체이용가능하고, 화합물 1보다 높은 AUC를 달성하고 (실시예 19), 화합물 2는 화합물 1보다 더 표적 기관, 간에 대해 선택적이다 (실시예 19).

[0075] 화합물 2는 또한 용해도 및 화학적 안정성의 관점에서 화합물 1보다 유리하다. 이는 이소프로필((S)-(((2R,3R,4R,5R)-5-(2-아미노-6-(메틸아미노)-9H-퓨린-9-일)-4-플루오로-3-히드록시-4-메틸테트라히드로푸란-2-일)메톡시)(페녹시)포스포릴)-L-알라니네이트 (화합물 3)의 모노-суль페이트 염이 불안정하고 점착성 검의 외관을 나타내기 때문에 놀라운 것이며, 한편 화합물 2, 헤미-суль페이트 염은 안정한 백색 고체이다. 헤미-суль페이트 염은, 고체로서 및 고체 투여 형태 둘 다로, 9개월에 걸쳐 매우 안정하고 흡습성이 아니다.



[0076]

[0077]

[0078]

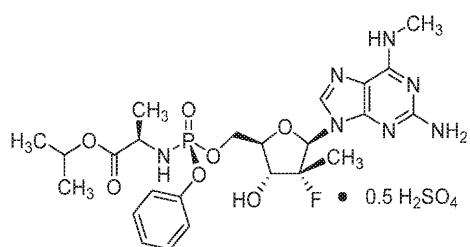
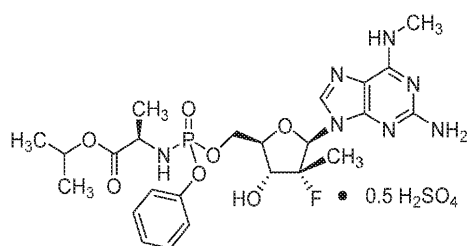
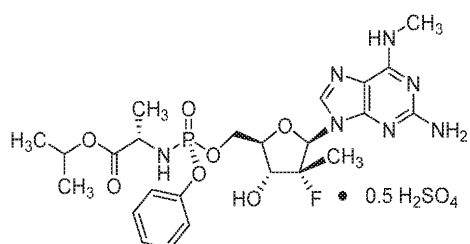
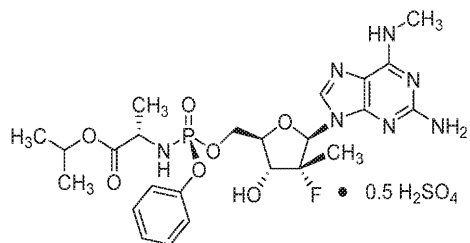
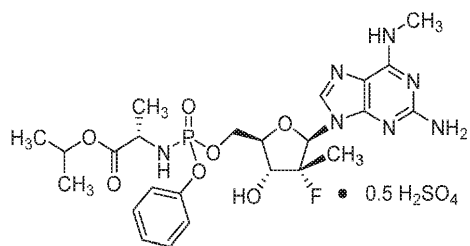
항바이러스 뉴클레오시드 문헌 및 특허 출원 분량에도 불구하고, 화합물 2는 구체적으로 개시되어 있지 않다.

화합물 2는 X선 결정학에 의해 확인된, 인 원자에서 S-입체화학을 갖는다 (도 3, 실시예 2). 대안적 실시양태에서, 화합물 2는 순수한 거울상이성질체까지 포함하여, 임의의 목적하는 비의 인 R- 및 S-거울상이성질체의 형태로 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 화합물 2는 반대 거울상이성질체가 적어도 90% 없는 형태로 사용되고, 반대 거울상이성질체는 적어도 98%, 99%, 또는 심지어 100% 없을 수 있다. 달리 기재되지 않는 한, 거울상이성질체적으로 풍부한 화합물 2는 반대 거울상이성질체가 적어도 90% 없다. 또한, 대안적 실시양태에서, 포스포라미데이트의 아미노산은 D- 또는 L-배위, 또는 라세미 혼합물을 포함한 그의 혼합물로 존재할 수 있다.

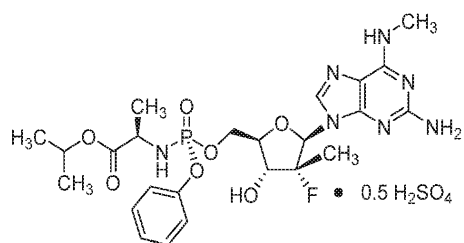
[0079]

달리 명시되지 않는 한, 본원에 기재된 화합물은 β-D-배위로 제공된다. 대안적 실시양태에서, 화합물은 β-L-배위로 제공될 수 있다. 마찬가지로, 키랄성을 나타내는 임의의 치환기는 라세미, 거울상이성질체, 부분입체이성질체 형태, 또는 그의 임의의 혼합물로 제공될 수 있다. 포스포라미데이트가 키랄성을 나타내는 경우에, 이는 R 또는 S 키랄 인 유도체 또는 라세미 혼합물을 포함한 그의 혼합물로서 제공될 수 있다. 이들 입체배위의 모든 조합은 본원에 기재된 본 발명의 대안적 실시양태이다. 또 다른 실시양태에서, 화합물 2 (뉴클레오타이드 또는 헤미-суль페이트 염)의 수소 중 적어도 하나는 중수소로 대체될 수 있다.

[0080] 이들 대안적 배위는 하기를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.



[0081]



[0082]

[0083] I. 이소프로필 ((S)-(((2R,3R,4R,5R)-5-(2-아미노-6-(메틸아미노)-9H-퓨린-9-일)-4-플루오로-3-히드록시-4-메틸 테트라히드로푸란-2-일)메톡시)(페녹시)포스포릴)-L-알라니네이트의 헤미-술페이트 염 (화합물 2)

[0084] 본 발명의 활성 화합물은 화합물 2이고, 이는 제약상 허용되는 조성물 또는 그의 고체 투여 형태로 제공될 수 있다. 한 실시양태에서, 화합물 2는 무정형 고체이다. 추가 실시양태에서, 화합물 2는 결정질 고체이다.

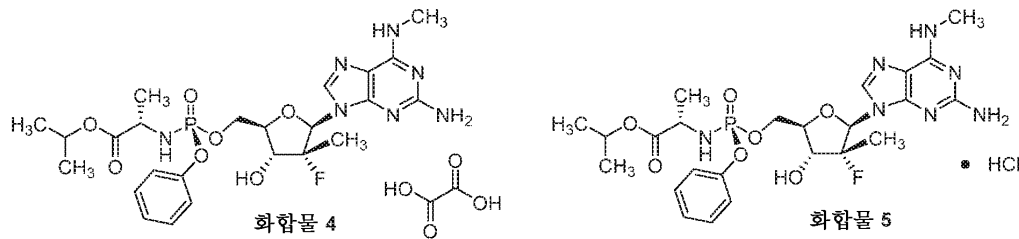
[0085] 화합물 2의 합성

- [0086] 본 발명은 추가로, 하기를 포함하는 화합물 2의 제조를 위한 비제한적 예시적인 방법을 포함한다:
- [0087] (i) 플라스크 또는 용기에서, 유기 용매, 예를 들어, 아세톤, 에틸 아세테이트, 메탄올, 아세토니트릴, 또는 에테르 등 중에 화합물 1을 용해시키는 제1 단계;
- [0088] (ii) 제2 플라스크 또는 용기에 단계 (i)의 유기 용매와 동일하거나 상이할 수 있는 제2 유기 용매를 채우고, 임의로 제2 용매를 0-10℃로 냉각시키고, 제2 유기 용매에 H₂SO₄를 적가하여 H₂SO₄/유기 용매 혼합물을 생성하는 단계이며; 여기서 용매는 예를 들어 메탄올일 수 있는 것인 단계;
- [0089] (iii) 단계 (ii)로부터의 0.5/1.0 몰비의 H₂SO₄/용매 혼합물을 단계 (i)의 화합물 1의 용액에 주위 온도 또는 약간 증가되거나 감소된 온도 (예를 들어 23-35℃)에서 적가하는 단계;
- [0090] (iv) 단계 (iii)의 반응물을 화합물 2의 침전물이 형성될 때까지, 예를 들어 주위 온도 또는 약간 증가되거나 감소된 온도에서 교반하는 단계;
- [0091] (v) 임의로 단계 (iv)로부터 생성된 침전물을 여과하고 유기 용매로 세척하는 단계; 및
- [0092] (vi) 임의로 생성된 화합물 2를 진공 하에 임의로 승온, 예를 들어, 55, 56, 57, 58, 59, 또는 60℃에서 건조시키는 단계.
- [0093] 특정 실시양태에서, 상기 단계 (i)은 아세톤 중에서 수행된다. 추가로, 단계 (ii)에서 제2 유기 용매는 예를 들어 메탄올일 수 있고, 단계 (v)에서 유기 용매의 혼합물은 메탄올/아세톤이다.
- [0094] 한 실시양태에서, 화합물 1은 단계 (i)에서 에틸 아세테이트 중에 용해된다. 한 실시양태에서, 화합물 1은 단계 (i)에서 테트라히드로푸란 중에 용해된다. 한 실시양태에서, 화합물 1은 단계 (i)에서 아세토니트릴 중에 용해된다. 추가의 실시양태에서, 화합물 1은 단계 (i)에서 디메틸포름아미드 중에 용해된다.
- [0095] 한 실시양태에서, 단계 (ii)에서 제2 유기 용매는 에탄올이다. 한 실시양태에서, 단계 (ii)에서 제2 유기 용매는 이소프로판올이다. 한 실시양태에서, 단계 (ii)에서 제2 유기 용매는 n-부탄올이다.
- [0096] 한 실시양태에서, 단계 (v)에서의 세척을 위해 용매의 혼합물, 예를 들어, 에탄올/아세톤이 사용된다. 한 실시양태에서, 단계 (v)에서의 세척을 위한 용매의 혼합물은 이소프로판올/아세톤이다. 한 실시양태에서, 단계 (v)에서의 세척을 위한 용매의 혼합물은 n-부탄올/아세톤이다. 한 실시양태에서, 단계 (v)에서의 세척을 위한 용매의 혼합물은 에탄올/에틸 아세테이트이다. 한 실시양태에서, 단계 (v)에서의 세척을 위한 용매의 혼합물은 이소프로판올/에틸 아세테이트이다. 한 실시양태에서, 단계 (v)에서의 세척을 위한 용매의 혼합물은 n-부탄올/에틸 아세테이트이다. 한 실시양태에서, 단계 (v)에서의 세척을 위한 용매의 혼합물은 에탄올/테트라히드로푸란이다. 한 실시양태에서, 단계 (v)에서의 세척을 위한 용매의 혼합물은 이소프로판올/테트라히드로푸란이다. 한 실시양태에서, 단계 (v)에서의 세척을 위한 용매의 혼합물은 n-부탄올/테트라히드로푸란이다. 한 실시양태에서, 단계 (v)에서의 세척을 위한 용매의 혼합물은 에탄올/아세토니트릴이다. 한 실시양태에서, 단계 (v)에서의 세척을 위한 용매의 혼합물은 이소프로판올/아세토니트릴이다. 한 실시양태에서, 단계 (v)에서의 세척을 위한 용매의 혼합물은 n-부탄올/아세토니트릴이다. 한 실시양태에서, 단계 (v)에서의 세척을 위한 용매의 혼합물은 에탄올/디메틸포름아미드이다. 한 실시양태에서, 단계 (v)에서의 세척을 위한 용매의 혼합물은 이소프로판올/디메틸포름아미드이다. 한 실시양태에서, 단계 (v)에서의 세척을 위한 용매의 혼합물은 n-부탄올/디메틸포름아미드이다.
- [0097] II. 이소프로필((S)-(((2R,3R,4R,5R)-5-(2-아미노-6-(메틸아미노)-9H-퓨린-9-일)-4-플루오로-3-히드록시-4-메틸테트라히드로푸란-2-일)메톡시)(페녹시)포스포틸)-L-알라니네이트 (화합물 2)의 대사
- [0098] 화합물 1 및 화합물 2의 대사는 5'-모노포스페이트의 생산 및 N⁶-메틸-2,6-디아미노퓨린 염기 (1-3)의 후속 동화작용을 수반하고, 이는 ((2R,3R,4R,5R)-5-(2-아미노-6-옥소-1,6-디히드로-9H-퓨린-9-일)-4-플루오로-3-히드록시-4-메틸테트라히드로푸란-2-일)메틸 디히드로젠 포스페이트 (1-4)를 5'-모노포스페이트로서 생성한다. 이어서 모노포스페이트는 활성 트리포스페이트 중: 5'-트리포스페이트 (1-6)로 추가로 동화된다. 5'-트리포스페이트는 추가로 대사되어 2-아미노-9-((2R,3R,4R,5R)-3-플루오로-4-히드록시-5-(히드록시메틸)-3-메틸테트라히드로푸란-2-일)-1,9-디히드로-6H-퓨린-6-온 (1-7)을 생성할 수 있다. 대안적으로, 5'-모노포스페이트 1-2가 대사되어 퓨린 염기 1-8을 생성할 수 있다. 이소프로필((S)-(((2R,3R,4R,5R)-5-(2-아미노-6-(메틸아미노)-9H-퓨린-9-일)-4-플루오로-3-히드록시-4-메틸테트라히드로푸란-2-일)메톡시)(페녹시)포스포틸)-L-알라니네이트에 대한

대사 경로를 반응식 1 (상기 제시됨)에 예시한다.

III. 화합물 1의 추가의 염

대안적 실시양태에서, 본 발명은 화합물 1을 옥살레이트 염 (화합물 4) 또는 HCl 염 (화합물 5)으로서 제공한다.



1:1 옥살레이트 염 및 1:1 HCl 염 둘 다는 숙주 예컨대 C형 간염을 갖는 인간의 치료를 위한 고체 투여 형태에 대해 합리적인 특성을 갖는 고체를 형성한다. 그러나, 옥살레이트 염은 덜 바람직할 수 있고, 환자가 신장 결석에 걸리기 쉽다면 아마도 적합하지 않을 수 있다. HCl 염은 헤미수레이트 염보다 더 흡습성이다. 따라서, 헤미수레이트 염은 예상외의 특성을 갖는, 화합물 1의 가장 바람직한 염 형태로 남는다.

IV. 정의

본 발명의 문맥에 사용된 용어 "D-배위"는 비자연 발생 뉴클레오시드 또는 "L" 배위와는 대조적으로 당 모이어티의 천연 배위를 모방하는 주요 배위를 지칭한다. 용어 " β " 또는 " β 아노머"는 뉴클레오시드 염기가 뉴클레오시드 유사체 내에서 푸라노스 모이어티의 평면 위에 배위된 (배치된) 것인 뉴클레오시드 유사체와 관련하여 사용된다.

용어 "공투여하다" 및 "공투여" 또는 조합 요법은 본 발명에 따른 화합물 2를 적어도 1종의 다른 활성 작용제, 예를 들어 적절한 경우에 적어도 1종의 추가의 항-HCV 작용제와 조합하여 투여하는 것을 기재하는데 사용된다. 공투여의 시기는 환자를 치료하는 의학 전문가에 의해 가장 잘 결정된다. 때때로, 작용제들을 동시에 투여하는 것이 바람직하다. 대안적으로, 조합 요법을 위해 선택된 약물은 환자에게 상이한 시간에 투여될 수 있다. 물론, 1종 초과 바이러스 또는 다른 감염 또는 다른 병태가 존재하는 경우, 본 발명의 화합물은 필요에 따라 다른 감염 또는 병태를 치료하기 위한 다른 작용제와 조합될 수 있다.

본원에 사용된 용어 "숙주"는 세포주 및 동물, 및 전형적으로 인간을 포함한, HCV 바이러스가 복제될 수 있는 단세포 또는 다세포 유기체를 지칭한다. 용어 숙주는 구체적으로 감염된 세포, HCV 계놈의 전부 또는 일부로 형질감염된 세포, 및 동물, 특히 영장류 (침팬지 포함) 및 인간을 지칭한다. 본 발명의 대부분의 동물 적용에서, 숙주는 인간 환자이다. 그러나, 특정 적응증에서는, 수의학적 적용이 본 발명에 의해 명백히 예상된다 (예컨대 침팬지). 숙주는 예를 들어 소, 말, 조류, 개, 고양이 등일 수 있다.

동위원소 치환

본 발명은 동위원소의 천연 존재비 초과, 즉 풍부한 양의 원자의 목적하는 동위원소 치환을 갖는 화합물 및 화합물 2의 용도를 포함한다. 동위원소는, 원자 번호가 동일하지만 질량수가 상이한, 즉 양성자의 수가 동일하지만 중성자의 수가 상이한 원자이다. 일반적 예로서 및 비제한적으로, 수소의 동위원소, 예를 들어 중수소 (^2H) 및 삼중수소 (^3H)가 기재된 구조 내의 어느 곳에서나 사용될 수 있다. 대안적으로 또는 추가로, 탄소의 동위원소, 예를 들어 ^{13}C 및 ^{14}C 가 사용될 수 있다. 바람직한 동위원소 치환은 약물의 성능을 개선시키기 위해 분자 상의 1개 이상의 위치에서의 수소의 중수소로의 치환이다. 중수소는 대사 동안의 결합 파손 위치에서 (α -중수소 동역학적 동위원소 효과) 또는 결합 파손 부위 옆 또는 근처에서 (β -중수소 동역학적 동위원소 효과) 결합될 수 있다. 아킬리온 파마슈티칼스, 인크.(Achillion Pharmaceuticals, Inc.) (WO/2014/169278 및 WO/2014/169280)는 그의 약동학 또는 약역학을 개선시키기 위한, 예컨대 분자의 5-위치에서의 뉴클레오티드의 중수소화를 기재한다.

동위원소 예컨대 중수소로의 치환은 더 큰 대사 안정성으로부터 생성된 특징의 치료 이점, 예컨대 예를 들어 증가된 생체내 반감기 또는 감소된 투여량 요건을 제공할 수 있다. 대사 파손 부위에서의 수소의 중수소로의 치환은 그러한 결합에서 대사 속도를 감소시키거나, 또는 대사를 제거할 수 있다. 수소 원자가 존재할 수 있는

화합물의 임의의 위치에서, 수소 원자는 경수소 (^1H), 중수소 (^2H) 및 삼중수소 (^3H)를 포함한 수소의 임의의 동위원소일 수 있다. 따라서, 화합물에 대한 본원의 언급은 문맥이 달리 명백하게 지시하지 않는 한, 모든 잠재적 동위원소 형태를 포괄한다.

[0110] 용어 "동위원소-표지된" 유사체는 "중수소화 유사체", " ^{13}C -표지된 유사체" 또는 "중수소화/ ^{13}C -표지된 유사체"인 유사체를 지칭한다. 용어 "중수소화 유사체"는 H-동위원소, 즉 수소/경수소 (^1H)가 H-동위원소, 즉 중수소 (^2H)에 의해 치환된 본원에 기재된 화합물을 의미한다. 중수소 치환은 부분 또는 완전 치환일 수 있다. 부분 중수소 치환은 적어도 1개의 수소가 적어도 1개의 중수소에 의해 치환된 것을 의미한다. 특정 실시양태에서, 동위원소는 임의의 관심 위치에서 동위원소가 90, 95 또는 99% 또는 그 초과로 풍부화된다. 일부 실시양태에서, 이는 목적하는 위치에서 90, 95 또는 99% 풍부화된 중수소이다. 달리 나타내지 않는 한, 중수소화는 선택된 위치에서 적어도 80%이다. 뉴클레오시드의 중수소화는 목적하는 결과를 제공하는 임의의 대체가능한 수소에서 일어날 수 있다.

[0111] V. 치료 또는 예방 방법

[0112] 본원에 사용된 치료는 HCV 바이러스에 감염된 또는 감염될 수 있는 숙주, 예를 들어 인간에게 화합물 2를 투여하는 것을 지칭한다.

[0113] 용어 "예방적" 또는 방지적이 사용되는 경우, 이는 바이러스성 장애를 예방하거나 또는 그의 발생 가능성을 감소시키기 위해 화합물 2를 투여하는 것을 지칭한다. 본 발명은 치료 및 예방적 또는 방지적 요법 둘 다를 포함한다. 한 실시양태에서, 화합물 2는 C형 간염 바이러스 감염에 의한 감염에 노출되고 따라서 감염의 위험이 있는 숙주에게 투여된다.

[0114] 본 발명은 약물 저항성 및 다중약물 저항성 형태의 HCV 및 관련 질환 상태, 병태, 또는 간경변증 및 관련 간독성, 뿐만 아니라 HCV 감염에 속발성인 다른 병태, 예컨대 특히 허약, 식욕 상실, 체중 감소, 유방 비대 (특히 인간에서), 발진 (특히 손바닥 상), 혈액 응고 곤란, 피부 상의 거미-유사 혈관, 혼란, 혼수 (뇌병증), 복강내액 (복수)의 축적, 식도 정맥류, 문맥 고혈압, 신부전, 비장 비대, 혈액 세포의 감소, 빈혈, 혈소판감소증, 황달, 및 간세포성 암을 포함한 HCV 감염의 합병증을 포함한 C형 간염 바이러스의 치료 또는 예방 방법에 관한 것이다. 방법은 유효량의 본원에 기재된 바와 같은 화합물 2를, 임의로 적어도 하나의 추가의 생물활성제, 예를 들어 추가의 항-HCV 작용제와 조합하여, 추가로 제약상 허용되는 담체 첨가제 및/또는 부형제와 조합하여 이를 필요로 하는 숙주, 특히 인간에게 투여하는 것을 포함한다.

[0115] 또 다른 측면에서, 본 발명은 HCV 감염 또는 질환 상태 또는 관련 또는 후속 질환 상태, 병태 또는 특히 간경변증 및 관련 간독성, 허약, 식욕 상실, 체중 감소, 유방 비대 (특히 인간에서), 발진 (특히 손바닥 상), 혈액 응고 곤란, 피부 상의 거미-유사 혈관, 혼란, 혼수 (뇌병증), 복강내액 (복수)의 축적, 식도 정맥류, 문맥 고혈압, 신부전, 비장 비대, 혈액 세포의 감소, 빈혈, 혈소판감소증, 황달, 및 간세포성 (간) 암을 포함한 HCV 감염의 합병증의 예방 또는 방지를 위한 방법이며, 상기 방법은 위험에 있는 환자에게 유효량의 상기 기재된 바와 같은 화합물 2를 제약상 허용되는 담체, 첨가제, 또는 부형제와 조합하여, 임의로 또 다른 항-HCV 작용제와 조합하여 투여하는 것을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 활성 화합물은 간염-관련 간 이식 후에 새로운 기관을 보호하기 위해 환자에게 투여될 수 있다.

[0116] 대안적 실시양태에서, 화합물 2는 화합물 설명에 기재된 특정 포스포라미데이트 이외의, 화합물 1의 포스포라미데이트의 헤미술피이트 염으로서 제공된다. 다양한 에스테르 및 포스포-에스테르를 포함한 넓은 범위의 포스포라미데이트가 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지되어 있고, 그의 임의의 조합이 본원에 기재된 바와 같은 활성 화합물을 헤미술피이트 염의 형태로 제공하는데 사용될 수 있다.

[0117] VI. 제약 조성물 및 투여 형태

[0118] 본 발명의 한 측면에서, 본 발명에 따른 제약 조성물은 항-HCV 바이러스 유효량의 본원에 기재된 바와 같은 화합물 2를, 임의로 제약상 허용되는 담체, 첨가제, 또는 부형제와 조합하여, 추가로 임의로 적어도 하나의 다른 활성 화합물과 조합하거나 그와 교대로 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명은 제약상 허용되는 담체 중의 화합물 2의 고체 투여 형태를 포함한다.

[0119] 본 발명의 한 측면에서, 본 발명에 따른 제약 조성물은 항-HCV 유효량의 본원에 기재된 화합물 2를, 임의로 제약상 허용되는 담체, 첨가제, 또는 부형제와 조합하여, 추가로 임의로 적어도 하나의 다른 항바이러스제, 예컨

대 항-HCV 작용제와 조합하여 포함한다.

- [0120] 본 발명은 제약상 허용되는 담체 또는 부형제 중에, C형 간염 바이러스 감염을 치료하기 위한 유효량의 본 발명의 화합물 2 또는 전구약물을 포함하는 제약 조성물을 포함한다. 대안적 실시양태에서, 본 발명은 제약상 허용되는 담체 또는 부형제 중에, C형 간염 바이러스 감염을 예방하기 위한 유효량의 본 발명의 화합물 2 또는 전구약물을 포함하는 제약 조성물을 포함한다.
- [0121] 관련 기술분야의 통상의 기술자는 치료 유효량이 치료될 감염 또는 병태, 그의 중증도, 사용될 치료 요법, 사용되는 작용제의 약동학, 뿐만 아니라 치료될 환자 또는 대상체 (동물 또는 인간)에 따라 달라질 것이며, 이러한 치료량은 담당 의사 또는 전문가에 의해 결정될 수 있다는 것을 인식할 것이다.
- [0122] 본 발명에 따른 화합물 2는 제약상 허용되는 담체를 함유하는 혼합물 중에 제제화될 수 있다. 일반적으로, 경구로-투여가능한 형태, 특히, 고체 투여 형태 예컨대 환제 또는 정제로 제약 조성물을 투여하는 것이 바람직하다. 특정 제제는 비경구, 정맥내, 근육내, 국소, 경피, 협측, 피하, 좌제, 또는 비강내 스프레이를 포함한 다른 경로를 통해 투여될 수 있다. 정맥내 및 근육내 제제는 종종 멸균 염수 중에서 투여된다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 제제가 물 또는 다른 비히클 중에 보다 가용성이 되도록 제제를 변형시킬 수 있고, 이는 예를 들어 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 익숙한 부차적 변형 (염 제제화, 에스테르화 등)에 의해 용이하게 달성될 수 있다. 본원에 보다 상세하게 기재된 바와 같이, 환자에서의 최대의 유익한 효과를 위한 본 발명의 화합물의 약동학을 다루기 위해 화합물 2의 투여 경로 및 투여 요법을 변형시키는 것이 또한 통상의 기술자에게 익숙하다.
- [0123] 특정 제약 투여 형태에서, 특히 아실화 (아세틸화 또는 다른), 및 에테르 (알킬 및 관련) 유도체, 포스페이트 에스테르, 티오포스포르아미데이트, 포스포르아미데이트, 및 본 발명의 화합물의 다양한 염 형태를 포함한 화합물의 전구약물 형태가 목적하는 효과를 달성하기 위해 사용될 수 있다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 숙주 유기체 또는 환자 내의 표적화된 부위로의 활성 화합물의 전달을 용이하게 하기 위해 본 발명의 화합물을 전구약물 형태로 용이하게 변형시키는 방법을 인식할 것이다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 또한 적용가능한 경우에, 화합물의 의도된 효과를 최대화하기 위해 숙주 유기체 또는 환자 내의 표적화된 부위로 본 발명의 화합물을 전달하는데 있어서 전구약물 형태의 유리한 약동학적 파라미터를 이용할 것이다.
- [0124] 본 발명에 따른 치료 활성 제제 내에 포함된 화합물 2의 양은 본 발명에 따른 목적하는 결과, 예를 들어 HCV 감염의 치료, HCV 감염 가능성의 감소, 또는 HCV 또는 그의 속발성 효과, 예를 들어 HCV에 속발성으로 발생하는 질환 상태, 병태 및/또는 합병증의 억제, 감소 및/또는 제거를 달성하기 위한 유효량이다. 일반적으로, 제약 투여 형태에서 본 발명의 화합물의 치료 유효량은 사용된 화합물, 치료되는 병태 또는 감염 및 투여 경로에 따라 1일에 약 0.001 mg/환자 kg 내지 약 100 mg/환자 kg 또는 그 초과, 보다 종종 1일에 약 0.1 mg/환자 kg 약 간 미만 내지 약 25 mg/환자 kg 초과 또는 그보다 상당히 초과하는 범위일 수 있다. 화합물 2는 종종 환자에서 작용제의 약동학에 따라 1일에 약 0.1 mg/환자 kg 내지 약 15 mg/환자 kg 범위의 양으로 투여된다. 이러한 투여량 범위는 일반적으로 환자에서 약 0.001 내지 약 100, 약 0.05 내지 약 100 마이크로그램/혈액 cc 범위일 수 있는 활성 화합물의 유효 혈액 수준 농도를 생성한다.
- [0125] 종종, 이들 감염의 치료, 예방, 또는 그의 발병의 지연 및/또는 HCV 바이러스 감염, 또는 HCV의 속발성 질환 상태, 병태 또는 합병증 가능성의 감소를 위해, 화합물 2는 건강관리 제공자의 지침에 따라 고체 투여 형태로 약 250 마이크로그램 내지 약 800 밀리그램 또는 그 초과 범위의 양으로 적어도 1일 1회, 예를 들어, 적어도 약 5, 10, 20, 25, 50, 75, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 또는 800 밀리그램 또는 그 초과가, 1일 1회, 2회, 3회, 또는 최대 4회 투여될 것이다. 화합물 2는 종종 경구로 투여되지만, 비경구로, 국소로, 또는 좌제 형태로, 뿐만 아니라 비강내로, 비강 스프레이로서 또는 본원에 달리 기재된 바와 같이 투여될 수 있다. 보다 일반적으로, 화합물 2는 정제, 캡슐, 주사, 정맥내 제제, 현탁액, 액체, 에멀전, 임플란트, 입자, 구체, 크림, 연고, 좌제, 흡입가능한 형태, 경피 형태, 협측, 설하, 국소, 겔, 점막 등으로 투여될 수 있다.
- [0126] 본원에서 투여 형태가 밀리그램 중량 용량을 지칭하는 경우에, 달리 명시되지 않는 한, 이는 화합물 2의 양 (즉, 헤미-수페이트 염의 중량)을 지칭한다.
- [0127] 특정 실시양태에서, 제약 조성물은 약 1 mg 내지 약 2000 mg, 약 10 mg 내지 약 1000 mg, 약 100 mg 내지 약 800 mg, 약 200 mg 내지 약 600 mg, 약 300 mg 내지 약 500 mg, 또는 약 400 mg 내지 약 450 mg의 화합물 2를 단위 투여 형태로 함유하는 투여 형태이다. 특정 실시양태에서, 제약 조성물은 최대 약 10, 약 50, 약 100, 약

125, 약 150, 약 175, 약 200, 약 225, 약 250, 약 275, 약 300, 약 325, 약 350, 약 375, 약 400, 약 425, 약 450, 약 475, 약 500, 약 525, 약 550, 약 575, 약 600, 약 625, 약 650, 약 675, 약 700, 약 725, 약 750, 약 775, 약 800, 약 825, 약 850, 약 875, 약 900, 약 925, 약 950, 약 975, 또는 약 1000 mg 또는 그 초과와 화합물 2를 단위 투여 형태로 함유하는 투여 형태, 예를 들어 고체 투여 형태이다. 한 실시양태에서, 화합물 2는 적어도 약 300 mg을 전달하는 투여 형태로 투여된다. 한 실시양태에서, 화합물 2는 적어도 약 400 mg을 전달하는 투여 형태로 투여된다. 한 실시양태에서, 화합물 2는 적어도 약 500 mg을 전달하는 투여 형태로 투여된다. 한 실시양태에서, 화합물 2는 적어도 약 600 mg을 전달하는 투여 형태로 투여된다. 한 실시양태에서, 화합물 2는 적어도 약 700 mg을 전달하는 투여 형태로 투여된다. 한 실시양태에서, 화합물 2는 적어도 약 800 mg을 전달하는 투여 형태로 투여된다. 특정 실시양태에서, 화합물 2는 최대 12주 동안 적어도 1일 1회 투여된다. 특정 실시양태에서, 화합물 2는 최대 10주 동안 적어도 1일 1회 투여된다. 특정 실시양태에서, 화합물 2는 최대 8주 동안 적어도 1일 1회 투여된다. 특정 실시양태에서, 화합물 2는 최대 6주 동안 적어도 1일 1회 투여된다. 특정 실시양태에서, 화합물 2는 최대 4주 동안 적어도 1일 1회 투여된다. 특정 실시양태에서, 화합물 2는 적어도 4주 동안 적어도 1일 1회 투여된다. 특정 실시양태에서, 화합물 2는 적어도 6주 동안 적어도 1일 1회 투여된다. 특정 실시양태에서, 화합물 2는 적어도 8주 동안 적어도 1일 1회 투여된다. 특정 실시양태에서, 화합물 2는 적어도 10주 동안 적어도 1일 1회 투여된다. 특정 실시양태에서, 화합물 2는 최대 12주, 최대 10주, 최대 8주, 최대 6주, 또는 최대 4주 동안 적어도 격일로 투여된다. 특정 실시양태에서, 화합물 2는 적어도 4주, 적어도 6주, 적어도 8주, 적어도 10주, 또는 적어도 12주 동안 적어도 격일로 투여된다. 한 실시양태에서, 적어도 약 600 mg의 화합물 2가 최대 6주 동안 적어도 1일 1회 투여된다. 한 실시양태에서, 적어도 약 500 mg의 화합물 2가 최대 6주 동안 적어도 1일 1회 투여된다. 한 실시양태에서, 적어도 약 400 mg의 화합물 2가 최대 6주 동안 적어도 1일 1회 투여된다. 한 실시양태에서, 적어도 300 mg의 화합물 2가 최대 6주 동안 적어도 1일 1회 투여된다. 한 실시양태에서, 적어도 200 mg의 화합물 2가 최대 6주 동안 적어도 1일 1회 투여된다. 한 실시양태에서, 적어도 100 mg의 화합물 2가 최대 6주 동안 적어도 1일 1회 투여된다.

[0128] 대사물 1-6은 화합물 2의 활성 트리포스페이트이지만, 대사물 1-6은 혈장에서 측정가능하지 않다. 대사물 1-6에 대한 대응물은 대사물 1-7이다. 대사물 1-7은 혈장에서 측정가능한 뉴클레오시드 대사물이고, 따라서 대사물 1-6의 세포내 농도의 지표이다. 최대 HCV 항바이러스 활성을 위해, 화합물 2의 투여 형태는 화합물 2의 EC₉₅ 값을 초과하는 대사물 1-7 정상-상태 최저 농도 (C_{24,ss})를 달성해야 한다. 도 24에 제시된 바와 같이, 임상 분리주 GT1, GT2, GT3, 및 GT4에 대한 화합물 1의 EC₉₅는 25 ng/mL 미만이다 (화합물 1 EC₉₅ 및 화합물 2 EC₉₅ 값은 동일함). 한 실시양태에서, 대략 15 내지 75 ng/mL인 대사물 1-7의 정상-상태 최저 농도 (C_{24,ss})를 달성하는 화합물 2의 투여 형태가 전달된다. 한 실시양태에서, 대략 20 내지 60 ng/mL인 대사물 1-7의 정상-상태 최저 농도 (C_{24,ss})를 달성하는 화합물 2의 투여 형태가 전달된다. 한 실시양태에서, 대략 30 내지 60 ng/mL인 대사물 1-7의 정상-상태 최저 농도 (C_{24,ss})를 달성하는 화합물 2의 투여 형태가 전달된다. 한 실시양태에서, 대략 20 내지 50 ng/mL인 대사물 1-7의 정상-상태 최저 농도 (C_{24,ss})를 달성하는 화합물 2의 투여 형태가 전달된다. 한 실시양태에서, 대략 30 내지 50 ng/mL인 대사물 1-7의 정상-상태 최저 농도 (C_{24,ss})를 달성하는 화합물 2의 투여 형태가 전달된다. 한 실시양태에서, 대략 20 내지 45 ng/mL인 대사물 1-7의 정상-상태 최저 농도 (C_{24,ss})를 달성하는 화합물 2의 투여 형태가 전달된다. 한 실시양태에서, 대략 20 내지 30 ng/mL인 대사물 1-7의 정상-상태 최저 농도 (C_{24,ss})를 달성하는 화합물 2의 투여 형태가 전달된다. 한 실시양태에서, 대략 20 내지 35 ng/mL인 대사물 1-7의 정상-상태 최저 농도 (C_{24,ss})를 달성하는 화합물 2의 투여 형태가 전달된다. 한 실시양태에서, 대략 20 내지 25 ng/mL인 대사물 1-7의 정상-상태 최저 농도 (C_{24,ss})를 달성하는 화합물 2의 투여 형태가 전달된다. 대략적 투여 형태는 정상-상태 최저 농도의 $\pm 10\%$ 이다.

[0129] 한 실시양태에서, 화합물 2는 대략 1,200 내지 3,000 ng/mL의 대사물 1-7 AUC (곡선하 면적)를 달성하는 양으로 투여된다. 한 실시양태에서, 화합물 2는 대략 1,500 내지 3,000 ng/mL의 대사물 1-7 AUC를 달성하는 양으로 투여된다. 한 실시양태에서, 화합물 2는 대략 1,800 내지 3,000 ng/mL의 대사물 1-7 AUC를 달성하는 양으로 투여된다. 한 실시양태에서, 화합물 2는 대략 2,100 내지 3,000 ng/mL의 대사물 1-7 AUC를 달성하는 양으로 투여된다. 바람직한 실시양태에서, 화합물 2는 대략 2,200 ng·h/mL의 대사물 1-7 AUC를 달성하는 양으로 투여된다. 대략적 투여 형태는 AUC의 $\pm 10\%$ 이다.

- [0130] 본원의 다른 곳에 기재된 바와 같이 화합물 2를 또 다른 항-HCV 화합물과 조합하여 공투여하는 경우에, 본 발명에 따른 화합물 2의 양은, 공투여될 제2 작용제 및 바이러스에 대한 그의 효력, 환자의 병태 및 치료될 질환 또는 감염의 중증도 및 투여 경로에 따라, 약 0.01 mg/환자 kg 내지 약 800 mg/환자 kg 또는 그 초과 또는 상당히 더 초과하는 범위로 투여된다. 다른 항-HCV 작용제는 예를 들어 약 0.01 mg/kg 내지 약 800 mg/kg 범위의 양으로 투여될 수 있다. 제2 활성제의 투여량의 예는 적어도 1일 1회 약 250 마이크로그램 내지 약 750 mg 또는 그 초과까지, 예를 들어, 최대 1일 4회 적어도 약 5, 10, 20, 25, 50, 75, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 600, 700, 또는 800 밀리그램 또는 그 초과 범위의 양이다. 특정의 바람직한 실시양태에서, 화합물 2는, 일반적으로 환자에서 2종의 작용제의 약동학에 따라, 종종 약 0.5 mg/kg 내지 약 50 mg/kg 또는 그 초과 (통상적으로 최대 약 100 mg/kg)의 범위의 양으로 투여될 수 있다. 이들 투여량 범위는 일반적으로 환자에서 활성 화합물의 유효 혈액 수준 농도를 생성한다.
- [0131] 본 발명의 목적상, 본 발명에 따른 조성물의 예방 또는 방지 유효량은 치료 유효량에 대해 상기 제시된 것과 동일한 농도 범위 내에 속하며, 통상적으로 치료 유효량과 동일하다.
- [0132] 화합물 2의 투여는 연속적 (정맥내 점적) 내지 1일에 수회의 경구 또는 비강내 투여 (예를 들어, Q.I.D.) 또는 경피 투여 범위일 수 있고, 다른 투여 경로 중에서 경구, 국소, 비경구, 근육내, 정맥내, 피하, 경피 (이는 침투 증진제를 포함할 수 있음), 흡입, 및 좌제 투여를 포함할 수 있다. 장용 코팅 경구 정제가 또한 경구 투여 경로에 대한 화합물의 생체이용률을 증진시키는데 사용될 수 있다. 가장 유효한 투여 형태는 선택된 특정한 작용제의 생체이용률/약동학뿐만 아니라 환자에서의 질환의 중증도에 좌우될 것이다. 경구 투여 형태가 투여의 용이성 및 기대되는 유리한 환자 순응도로 인해 특히 바람직하다.
- [0133] 본 발명에 따른 제약 조성물을 제조하기 위해, 치료 유효량의 본 발명에 따른 화합물 2는 종종 용량을 생성하기 위한 통상적인 제약 배합 기술에 따라 제약상 허용되는 담체와 친밀하게 혼합된다. 담체는 투여, 예를 들어 경구 또는 비경구 투여에 바람직한 제조의 형태에 따라 매우 다양한 형태를 취할 수 있다. 경구 투여 형태의 제약 조성물의 제조에서, 통상의 제약 매질 중 임의의 것이 사용될 수 있다. 따라서, 액체 경구 제제 예컨대 현탁액, 엘릭시르, 및 용액의 경우, 물, 글리콜, 오일, 알콜, 향미제, 보존제, 착색제 등을 포함한 적합한 담체 및 첨가제가 사용될 수 있다. 고체 경구 제제 예컨대 분말, 정제, 캡슐의 경우, 및 고체 제제 예컨대 좌제의 경우, 전분, 당 담체, 예컨대 텍스트로스, 매니폴드, 락토스, 및 관련 담체, 희석제, 과립화제, 윤활제, 결합제, 붕해제 등을 포함한 적합한 담체 및 첨가제가 사용될 수 있다. 원하는 경우에, 정제 또는 캡슐은 표준 기술에 의해 장용-코팅 또는 지속 방출될 수 있다. 이들 투여 형태의 사용은 환자에서 화합물의 생체이용률을 유의하게 증진시킬 수 있다.
- [0134] 비경구 제제의 경우, 담체는 통상적으로 멸균수 또는 수성 염화나트륨 용액을 포함할 것이나, 분산을 보조하는 것을 포함한 다른 성분이 또한 포함될 수 있다. 물론, 멸균수가 사용되어야 하고 멸균으로 유지되어야 하는 경우에, 조성물 및 담체는 또한 멸균되어야 한다. 주사가 가능한 현탁액이 또한 제조될 수 있고, 이 경우에 적절한 액체 담체, 현탁화제 등이 사용될 수 있다.
- [0135] 리포솜 현탁액 (바이러스 항원에 대해 표적화된 리포솜 포함)이 또한 제약상 허용되는 담체를 생성하기 위해 통상적인 방법에 의해 제조될 수 있다. 이는 본 발명에 따른 뉴클레오시드 화합물의 유리 뉴클레오시드, 아실/알킬 뉴클레오시드 또는 포스페이트 에스테르 전구약물 형태의 전달에 적절할 수 있다.
- [0136] 본 발명에 따른 전형적 실시양태에서, 본원에 기재된 화합물 2 및 조성물은 HCV 감염 또는 HCV의 속발성 질환 상태, 병태 또는 합병증을 치료, 예방 또는 지연시키는데 사용된다.
- [0137] VII. 조합 및 교대 요법
- [0138] 항바이러스제를 사용한 장기간의 치료 후에 바이러스의 약물-저항성 변이체가 출현할 수 있다는 것이 널리 인식되어 있다. 약물 저항성은 때때로 바이러스 복제에 사용되는 효소를 코딩하는 유전자의 돌연변이에 의해 발생한다. HCV 감염에 대한 약물의 효능은 화합물을 주요 약물의 그것과 상이한 돌연변이를 유도하거나 또는 상이한 경로를 통해 작용하는 또 다른 및 아마도 심지어 2 또는 3종의 다른 항바이러스 화합물과 조합하여 또는 그와 교대로 투여함으로써 연장, 증대, 또는 회복될 수 있다. 대안적으로, 약동학, 생체분포, 반감기, 또는 약물의 다른 파라미터는 이러한 조합 요법 (이는 협력이 고려되는 경우에 교대 요법을 포함할 수 있음)에 의해 변경될 수 있다. 개시된 화합물 2는 NS5B 폴리머라제 억제제이기 때문에, 이는 화합물을 예를 들어 하기와 조합하여 숙주에게 투여하는데 유용할 수 있다:
- [0139] (1) 프로테아제 억제제, 예컨대 NS3/4A 프로테아제 억제제;

- [0140] (2) NS5A 억제제;
- [0141] (3) 또 다른 NS5B 폴리머라제 억제제;
- [0142] (4) NS5B 비-기질 억제제;
- [0143] (5) PEG화될 수 있거나 또는 달리 변형될 수 있는 인터페론 알파-2a, 및/또는 리마비린;
- [0144] (6) 비-기질-기반 억제제;
- [0145] (7) 헬리카제 억제제;
- [0146] (8) 안티센스 올리고데옥시뉴클레오티드 (S-ODN);
- [0147] (9) 압타머;
- [0148] (10) 뉴클레아제-저항성 리보자임;
- [0149] (11) iRNA, 마이크로RNA 및 SiRNA 포함;
- [0150] (12) 바이러스에 대한 항체, 부분 항체 또는 도메인 항체, 또는
- [0151] (13) 숙주 항체 반응을 유도하는 바이러스 항원 또는 부분 항원.
- [0152] 단독으로 또는 이러한 목록으로부터의 다중 약물과 함께, 본 발명의 화합물 2와 조합되어 투여될 수 있는 항-HCV 작용제의 비제한적 예가 하기 제시된다.
- [0153] (i) 프로테아제 억제제 예컨대 텔라프레비르 (인시백®), 보세프레비르 (빅트렐리스™), 시메프레비르 (올리시오™), 파리타프레비르 (ABT-450), 글레카프레비르 (ABT-493), 리토나비르 (노르비르(Norvir)), ACH-2684, AZD-7295, BMS-791325, 다노프레비르, 필리부비르, GS-9256, GS-9451, MK-5172, 세트로부비르, 소바프레비르, 테고부비르, VX-135, VX-222, 및, ALS-220;
- [0154] (ii) NS5A 억제제 예컨대 ACH-2928, ACH-3102, IDX-719, 다클라타스비르, 레디파스비르, 벨파타스비르 (엠클루사(Epclusa)), 엘바스비르 (MK-8742), 그라조프레비르 (MK-5172), 및 옴비타스비르 (ABT-267);
- [0155] (iii) NS5B 억제제 예컨대 AZD-7295, 클레미줄, 다사부비르 (엑스비에라(Exviera)), ITX-5061, PPI-461, PPI-688, 소포스부비르 (소발디®), MK-3682, 및 메리시타빈;
- [0156] (iv) NS5B 억제제 예컨대 ABT-333, 및 MBX-700;
- [0157] (v) 항체 예컨대 GS-6624;
- [0158] (vi) 조합 약물 예컨대 하르보니 (레디파스비르/소포스부비르); 비에키라 팩 (옴비타스비르/파리타프레비르/리토나비르/다사부비르); 비에키락스 (옴비타스비르/파리타프레비르/리토나비르); G/P (파리타프레비르 및 글레카프레비르); 테크니비에 (옴비타스비르/파리타프레비르/리토나비르) 및 엠클루사 (소포스부비르/벨파타스비르) 및 제파티에르 (엘바스비르 및 그라조프레비르).
- [0159] 화합물 2가 간암 또는 간경변증으로 이어지는 진행성 C형 간염 바이러스를 치료하기 위해 투여되는 경우에, 한 실시양태에서, 화합물은 예를 들어 문헌 [Andrew Zhu in "New Agents on the Horizon in Hepatocellular Carcinoma" Therapeutic Advances in Medical Oncology, V 5(1), January 2013, 41-50]에 기재된 바와 같이 간세포성 암종 (HCC)을 치료하기 위해 전형적으로 사용되는 또 다른 약물과 조합되어 또는 그와 교대로 투여될 수 있다. 숙주가 HCC를 앓고 있거나 그의 위험이 있는 경우에 조합 요법에 적합한 화합물의 예는 항혈관신생제, 수니티닙, 브리마닙, 리니파닙, 라무시루맙, 베바시주맙, 세디라닙, 파조파닙, TSU-68, 렌마티닙, EGFR에 대한 항체, mTor 억제제, MEK 억제제, 및 히스톤 데아세틸라제 억제제를 포함한다.
- [0160] 실시예
- [0161] 일반적 방법
- [0162] ^1H , ^{19}F 및 ^{31}P NMR 스펙트럼을 400 MHz 푸리에 변환 브루커 분광계 상에 기록하였다. 스펙트럼은 달리 언급되지 않는 한 DMSO- d_6 에서 획득하였다. 스핀 다중도는 기호 s (단일선), d (이중선), t (삼중선), m (다중선) 및 br (넓음)로 나타내어진다. 커플링 상수 (J)는 Hz로 보고된다. 반응을 일반적으로 건조 질소 분위기 하에 시그마-알드리치(Sigma-Aldrich) 무수 용매를 사용하여 수행하였다. 모든 통상의 화학물질은 상업적 공급원으로부터

구입하였다.

[0163] 하기 약어가 실시예에 사용된다:

[0164] AUC: 곡선하 면적

[0165] C_{24} : 24시간 시점의 혈장 내 약물의 농도

[0166] $C_{24,ss}$: 투여 후 24시간 시점의 정상 상태에서의 농도

[0167] C_{max} : 혈장에서 달성된 약물의 최대 농도

[0168] DCM: 디클로로메탄

[0169] EtOAc: 에틸 아세테이트

[0170] EtOH: 에탄올

[0171] HPLC: 고압 액체 크로마토그래피

[0172] NaOH: 수산화나트륨

[0173] Na_2SO_4 : 황산나트륨 (무수)

[0174] MeCN: 아세토니트릴

[0175] $MeNH_2$: 메틸아민

[0176] MeOH: 메탄올

[0177] Na_2SO_4 : 황산나트륨

[0178] $NaHCO_3$: 중탄산나트륨

[0179] NH_4Cl : 염화암모늄

[0180] NH_4OH : 수산화암모늄

[0181] PE: 석유 에테르

[0182] Ph_3P : 트리페닐포스핀

[0183] RH: 상대 습도

[0184] 실리카 겔 (230 내지 400 메쉬, 흡착제)

[0185] t-BuMgCl: t-부틸 염화마그네슘

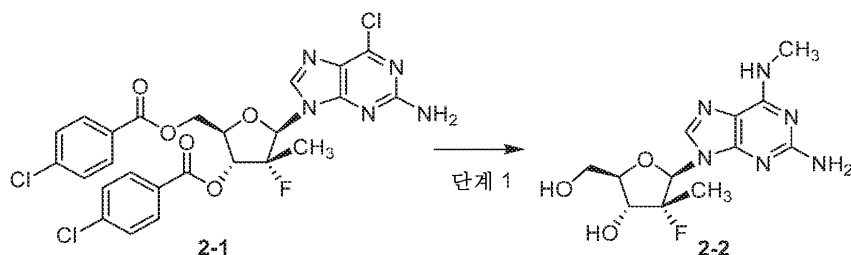
[0186] T_{max} : C_{max} 가 달성된 시간

[0187] THF: 테트라히드로푸란 (THF), 무수

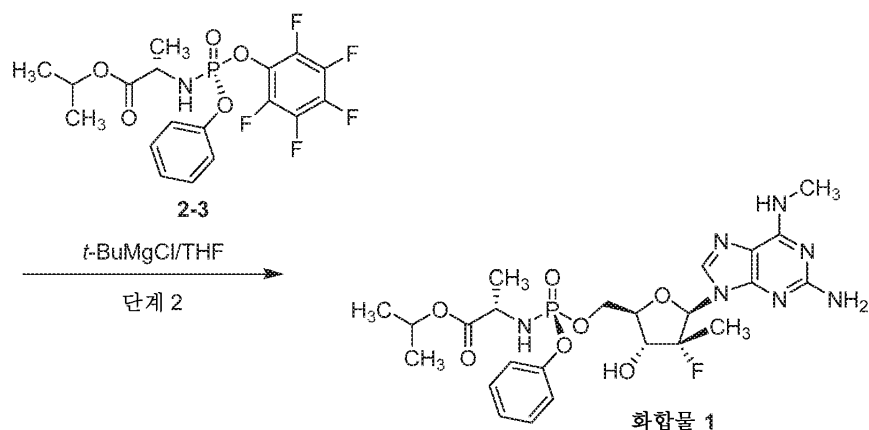
[0188] TP: 트리포스페이트

[0189] 실시예 1. 화합물 1의 합성

[0190] 반응식 2



[0191]



[0192]

[0193] 단계 1: (2R,3R,4R,5R)-5-(2-아미노-6-(메틸아미노)-9H-퓨린-9-일)-4-플루오로-2-(히드록시메틸)-4-메틸테트라히드로퓨란-3-올 (2-2)의 합성

[0194] 50 L 플라스크에 메탄올 (30 L)을 채우고, $10 \pm 5^\circ\text{C}$ 에서 교반하였다. $10 \pm 5^\circ\text{C}$ 에서 NH_2CH_3 (3.95 Kg)을 천천히 반응기 내로 환기시켰다. 화합물 2-1 (3.77 kg)을 배치에 $20 \pm 5^\circ\text{C}$ 에서 첨가하고, 1시간 동안 교반하여 투명한 용액을 수득하였다. 반응물을 추가의 6 - 8 시간 동안 교반하였으며, 그 시점에 HPLC는 중간체가 0.1% 미만의 용액임을 나타내었다. 반응기에 고체 NaOH (254 g)를 채우고, 30분 동안 교반하고, $50 \pm 5^\circ\text{C}$ (진공 정도: -0.095)에서 농축시켰다. 생성된 잔류물에 EtOH (40 L)를 채우고, 60°C 에서 1시간 동안 재-슬러리화하였다. 이어서, 혼합물을 셀라이트를 통해 여과하고, 필터 케이크를 EtOH (15 L)로 60°C 에서 1시간 동안 재-슬러리화하였다. 여과물을 1회 더 여과하고, 이전 여과로부터의 여과물과 합한 다음, $50 \pm 5^\circ\text{C}$ (진공 정도: -0.095)에서 농축시켰다. 다량의 고체가 침전되었다. EtOAc (6 L)를 고체 잔류물에 첨가하고, 혼합물을 $50 \pm 5^\circ\text{C}$ (진공 정도: -0.095)에서 농축시켰다. 이어서, DCM을 잔류물에 첨가하고, 혼합물을 환류 하에 1시간 동안 재-슬러리화하고, 실온으로 냉각시키고, 여과하고, 진공 오븐 내에서 $50 \pm 5^\circ\text{C}$ 에서 건조시켜 화합물 2-2를 회백색 고체로서 수득하였다 (1.89 Kg, 95.3%, 순도 99.2%).

[0195] 화합물 2-2에 대한 분석 방법: 애질런트 포로셀 120 EC-C18 4.6*150mm 4-마이크로미터 칼럼이 장착된 애질런트 1100 HPLC 시스템을 사용하여 하기 조건으로 화합물 2-2 (15 mg)의 순도를 수득하였다: 1 mL/분 유량, 254 nm에서 판독, 30°C 칼럼 온도, 15 μL 주입 부피, 및 31분 실행 시간. 샘플을 아세토니트릴 - 물 (20:80) (v/v) 중에 용해시켰다. 구배 방법을 하기에 나타내었다.

시간 (분)	A% (물 중 0.05 TFA)	B% (아세토니트릴)
0	95	5
8	80	20
13	50	50
23	5	95
26	5	95
26.1	95	5
31	95	5

[0196]

[0197] 단계 2: 이소프로필((S)-(((2R,3R,4R,5R)-5-(2-아미노-6-(메틸아미노)-9H-퓨린-9-일)-4-플루오로-3-히드록시-

4-메틸테트라히드로푸란-2-일)메톡시)(페녹시)포스포릴)-L-알라니네이트 (화합물 1)의 합성

[0198]

화합물 2-2 및 화합물 2-3 (이소프로필 ((퍼플루오로페녹시)(페녹시)포스포릴)-L-알라니네이트)을 THF (1 L) 중에 용해시키고, 질소 하에 교반하였다. 이어서, 현탁액을 -5℃ 미만의 온도로 냉각시키고, 5-10℃의 온도로 유지시키면서 t-BuMgCl 용액의 1.7 M 용액 (384 mL)을 1.5시간에 걸쳐 천천히 첨가하였다. NH₄Cl (2 L) 및 물 (8 L)의 용액을 실온에서 현탁액에 첨가하고, 이어서 DCM을 첨가하였다. 혼합물을 5분 동안 교반한 후, K₂CO₃의 5% 수용액 (10 L)을 첨가하고, 혼합물을 추가로 5분 동안 교반한 후, 디아토마이트 (500 g)를 통해 여과하였다. 디아토마이트를 DCM으로 세척하고, 여과물을 분리하였다. 유기 상을 5% 수성 K₂CO₃ 용액 (10 L x 2), 염수 (10 L x 3)로 세척하고, Na₂SO₄ (500 g)상에서 대략 1시간 동안 건조시켰다. 한편, 이 전체 공정을 7회 병행 반복하고, 8개의 배치를 합하였다. 유기 상을 여과하고, 45 ± 5℃ (진공 정도 0.09 Mpa)에서 농축시켰다. EtOAc를 첨가하고, 혼합물을 60℃에서 1시간 동안 교반한 다음, 실온에서 18시간 동안 교반하였다. 이어서, 혼합물을 여과하고, EtOAc (2 L)로 세척하여 조 화합물 1을 수득하였다. 조 물질을 DCM (12 L) 중에 용해시키고, 헵탄 (18 L)을 10-20℃에서 첨가하고, 혼합물을 이 온도에서 30분 동안 교반되도록 하였다. 혼합물을 여과하고, 헵탄 (5 L)으로 세척하고, 50 ± 5℃에서 건조시켜, 순수한 화합물 1 (1650 g, 60%)을 수득하였다.

[0199]

화합물 1에 대한 분석 방법: 워터스 엑스텔라 페닐 5 μm 4.6*250mm 칼럼이 장착된 애질런트 1100 HPLC 시스템을 사용하여 하기 조건으로 화합물 1 (25 mg)의 순도를 수득하였다: 1 mL/분 유량, 254 nm에서 관독, 30℃ 칼럼 온도, 15 μL 주입 부피, 및 25분 실행 시간. 샘플을 아세트오니트릴 - 물 (50:50) (v/v) 중에 용해시켰다. 구배 방법을 하기에 나타내었다.

시간 (분)	A% (물 중 0.1% H ₃ PO ₄)	B% (아세트오니트릴)
0	90	10
20	20	80
20.1	90	10
25	90	10

[0200]

[0201]

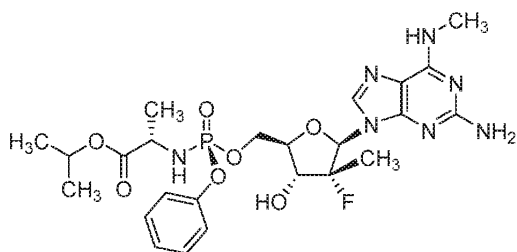
실시예 2. 무정형 및 결정질 화합물 1의 특징화

[0202]

무정형 화합물 1 및 결정질 화합물 1을 처음에 XRPD, ¹HNMR, 및 HPLC에 의해 분석하였다. 둘 다의 화합물에 대한 XRPD 패턴을 도 1a에 제시하고, 순도를 결정하기 위한 HPLC 트레이스를 각각 도 1b 및 2a에 제시한다. 표 1은 결정질 화합물 1의 XRPD로부터의 피크의 목록이고, 표 2는 HPLC 트레이스로부터의 상대 체류 시간 (RTT)의 목록이다. 무정형 화합물 1은 98.61% 순수하였고, 결정질 화합물 1은 99.11% 순수하였다. 둘 다의 화합물은 백색 고체였다. 도 2b는 결정질 화합물 1의 TGA 및 DSC 그래프이다. 결정질 화합물 1의 경우에, 흡열은 88.6℃에서 관찰되었고, 80 - 110℃에서 7.8% 질량 손실이 존재하였다.

[0203]

화합물 1의 샘플을 EtOAc/헥산으로부터 재결정화하고, ORTEP로 도시하였다. 화합물 1의 절대 구조를 단결정의 재결정화에 의해 확인하였다. 도 3은 화합물 1의 ORTEP 도면이다. 결정 데이터 및 측정 데이터를 표 3에 제시한다. X선 결정학에 기초한 화합물 1의 절대 입체화학을 하기 제시한다:



[0204]

[0205]

DSC 데이터를 50 위치 오토-샘플러가 장착된 TA 기기 Q2000 상에서 수집하였다. 열 용량에 대한 보정은 사파이어를 사용하여 수행하였고, 에너지 및 온도에 대한 보정은 공인된 인듐을 사용하여 수행하였다. 핀-홀 알루미늄 팬 내에서 전형적으로 대략 3 mg의 각 샘플을 25℃에서 200℃까지 10℃/분으로 가열하였다. 샘플에 대해 50 ml/분의 건조 질소 퍼징을 유지시켰다. 기기 제어 소프트웨어는 어드밴티지 포 큐 시리즈(Advantage for Q Series) v2.8.0.394 및 써멀 어드밴티지(Thermal Advantage) v5.5.3이었고, 데이터는 유니버설 어널리시스(Universal Analysis) v4.5A를 사용하여 분석하였다.

- [0206] TGA 데이터는 16 위치 오토-샘플러가 장착된 TA 기기 Q500 TGA 상에서 수집하였다. 기기는 공인된 알루미늄 및 니켈을 사용하여 온도 보정되었다. 전형적으로 각각의 샘플의 5 - 10 mg을 사전-칭량한 알루미늄 DSC 팬에 로딩하고, 주위 온도에서 350℃까지 10℃/분으로 가열하였다. 샘플에 대해 60 ml/분의 질소 퍼징을 유지시켰다. 기기 제어 소프트웨어는 어드밴티지 포 큐 시리즈 v2.5.0.256 및 써멀 어드밴티지 v5.5.3이었고, 데이터는 유니버설 어널리시스 v4.5를 사용하여 분석하였다.
- [0207] 무정형 화합물 1 (1-1):
- [0208] ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1.01 - 1.15 (m, 9 H), 1.21 (d, J=7.20 Hz, 3 H), 2.75 - 3.08 (m, 3 H), 3.71 - 3.87 (m, 1 H), 4.02 - 4.13 (m, 1 H), 4.22 - 4.53 (m, 3 H), 4.81 (s, 1 H), 5.69 - 5.86 (m, 1 H), 6.04 (br d, J=19.33 Hz, 4 H), 7.12 - 7.27 (m, 3 H), 7.27 - 7.44 (m, 3 H), 7.81 (s, 1 H)
- [0209] 결정질 화합물 1 (1-2):
- [0210] ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0.97 - 1.16 (m, 16 H), 1.21 (d, J=7.07 Hz, 3 H), 2.87 (br s, 3 H), 3.08 (s, 2 H), 3.79 (br d, J=7.07 Hz, 1 H), 4.08 (br d, J=7.58 Hz, 1 H), 4.17 - 4.55 (m, 3 H), 4.81 (quin, J=6.25 Hz, 1 H), 5.78 (br s, 1 H), 5.91 - 6.15 (m, 4 H), 7.10 - 7.26 (m, 3 H), 7.26 - 7.44 (m, 3 H), 7.81 (s, 1 H)

[0211] 표 1. 결정질 화합물 1에 대한 피크 목록

각도 / °2θ	d 간격 / Å	강도 / 카운트	강도 / %
6.03	14.64	1005	39.0
7.36	12.00	315	12.2
7.94	11.13	1724	66.9
9.34	9.47	2500	97.0
9.51	9.29	860	33.4
9.77	9.05	1591	61.8
11.08	7.98	2576	100.0
12.02	7.36	171	6.6
12.95	6.83	319	12.4
13.98	6.33	241	9.4
14.30	6.19	550	21.4
14.69	6.03	328	12.7
15.20	5.82	2176	84.5
15.94	5.56	1446	56.1
16.75	5.29	1009	39.2
17.29	5.13	700	27.2
17.72	5.00	1213	47.1
18.11	4.89	1565	60.8
18.46	4.80	302	11.7
18.89	4.69	385	14.9
19.63	4.52	636	24.7
20.37	4.36	1214	47.1
20.74	4.28	1198	46.5
21.24	4.18	640	24.8
22.31	3.98	961	37.3
22.88	3.88	806	31.3
23.43	3.79	355	13.8
24.08	3.69	573	22.2
24.49	3.63	159	6.2
25.00	3.56	351	13.6
25.36	3.51	293	11.4
26.09	3.41	235	9.1
26.26	3.39	301	11.7
26.83	3.32	696	27.0
27.35	3.26	436	16.9
27.46	3.25	363	14.1
28.07	3.18	200	7.8
28.30	3.15	195	7.6
28.82	3.10	599	23.3
29.85	2.99	217	8.4
30.26	2.95	186	7.2

[0212]

30.75	2.91	333	12.9
31.12	2.87	149	5.8
31.85	2.81	238	9.2
33.28	2.69	261	10.1
34.77	2.58	171	6.6
35.18	2.55	175	6.8
36.83	2.44	327	12.7
37.41	2.40	172	6.7

[0213]

[0214] 표 2. 무정형 화합물 1 및 결정질 화합물 1의 HPLC 크로마토그래프로부터의 상대 체류 시간

무정형 화합물 1		결정질 화합물 1	
RRT	면적 %	RRT	면적 %
0.48	0.15	0.48	0.17
0.51	0.04	0.48	0.17
0.48	0.15	0.94	0.12
0.51	0.04	1.00	99.11
0.94	0.13	1.04	0.22
0.98	0.21	1.37	0.07
1.00	98.61		
1.04	0.29		
1.37	0.31		

[0215]

[0216] 표 3. 화합물 1의 결정 및 데이터 측정

결합 정밀도	C-C = 0.0297Å, 확장 = 1.54184	
셀	a=10.1884(3) b=28.6482(9) c=12.9497(5) 알파=90 베타=113.184(4) 감마=90	
온도	150K	
	계산치	보고치
부피	3474.5(2)	3474.5(2)
공간 군	P21	P 1 21 1
홀 군	P 2yb	P 2yb
모이어티 화학식	C24 H34 F N7 O7 P	2(C24 H34 F N7 O7 P)
합산 화학식	C24 H34 F N7 O7 P	C48 H68 F2 N14 O14 P2
Mr	582.55	1165.10
Dx, g cm ⁻³	1.114	1.114
Z	4	2
Mu (mm ⁻¹)	1.139	1.139
F000	1228.0	1228.0
F000'	1233.21	
h, k, l _{max}	12,34,15	12,34,15
N _{ref}	12742 [6510]	8259
T _{min} , T _{max}	0.790, 0.815	0.808, 1.000
T _{min} '	0.716	
교정 방법	# 보고된 T 제한: T _{min} = 0.808 T _{max} = 1.00	
AbsCorr	멀티-스캔	
데이터 완전성	1.27/0.65	
세타 (max)	68.244	
R (반사)	0.2091 (7995)	

wR2 (반사)	0.5338 (8259)
S	2.875
Npar	716

이러한 초기 특징화에 이어 25℃ / 60% 상대 습도 (RH)에서 14일 동안 저장하였고, 7 및 14일 후에 HPLC 및 XRPD에 의해 분석하였다. 도 4a는 25℃ / 60% (RH)에서의 14일 후 XRPD이다. 무정형 화합물 1 (샘플 1-1)은 저 결정질인 상태로 남은 반면에, 결정질 화합물 1 (샘플 1-2)은 그의 결정화도를 유지하였지만, 둘 다의 화합물은 25℃ / 60% (RH)에서의 14일 후에 안정하였다.

실시예 3. 옥살레이트 염 화합물 4의 형성

먼저, 옥살산 염을 용매 (5 vol, 100 μL)와 혼합하고, 임의의 용액이 실온에서 증발되게 함으로써 화합물 1의 옥살레이트 염, 화합물 4를 형성하였다. 임의의 현탁액을 3시간 동안 숙성시켰고 (실온 - 50℃), 결정화도에

접근하였다.

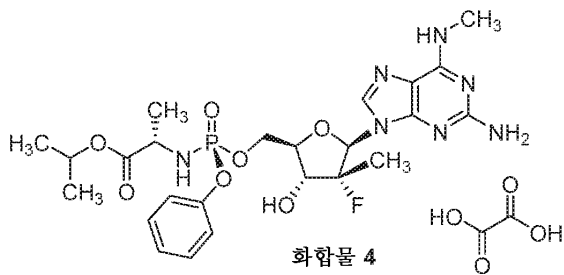


표 4는 화합물 4의 생산에 사용된 상이한 용매를 보여준다. 2중 (시클로헥산 및 n-헵탄)을 제외한 모든 용매는 결정질 생성물을 제공하였다. 화합물 4의 높은 결정화도 및 용해도에도 불구하고, 옥살레이트 염은 신장 결석의 잠재적 형성으로 인해 임상 개발용으로 허용되지 않았고, 화합물 1의 다른 염을 연구하였다.

표 4. 옥살레이트 화합물 4의 형성

용매	실온에서의 산 첨가 후 관찰	숙성/증발 후 관찰
EtOH	용액	OXA - 형태 1
IPA	용액	OXA - 형태 1
아세톤	용액	OXA - 형태 1
MEK	용액	OXA - 형태 1
EtOAc	현탁액	OXA - 형태 1
iPrOAc	현탁액	OXA - 형태 1
THF	용액	OXA - 형태 1
톨루엔	용액	OXA - 형태 1
MeCN	용액	OXA - 형태 1
IPA:10%물	용액	OXA - 형태 1
TBME	현탁액	OXA - 형태 1
시클로헥산	현탁액	무정형
n-헵탄	현탁액	무정형

실시예 4. 무정형 화합물 1의 염 화합물

옥살레이트 염 화합물 4 (실시예 3)는 신장 결석을 형성하는 그의 잠재력으로 인해 임상 시험에서 추진될 수 없기 때문에, 표 5에 열거된 반대 이온을 사용하여 화합물 1의 무정형 염을 형성하였다. 화합물 1을 t-부탄올 (20 vol, 6 ml) 중에 용해시키고, 용액을 산 반대-이온으로 처리하였다 (0.5 당량의 술페이트를 갖는 샘플 1-9를 제외하고, 각각의 샘플의 경우 1 당량). 이어서 샘플을 동결시켰고, 용매를 동결건조에 의해 제거하였다. 샘플 1-4, 1-5, 1-6, 1-7, 1-8, 및 1-9 중의 잔류 고체를 초기에 XRPD 및 HPLC에 의해 분석하였다.

표 5. 무정형 염 형성 세부사항

샘플 ID	샘플 세부사항	원액 세부사항	관찰	NMR
1-4	HCl (1:1)	THF 1M	백색 고체	3개 더 적은 양성자 ~0.3 eq <i>t</i> -BuOH
1-5	황산 (1:1)	THF 1M	백색 고체	3개 더 적은 양성자 ~0.3 eq <i>t</i> -BuOH
1-6	푸마르산 (1:1)	MeOH:THF (1:1) 0.5M	유리질 고체	1.05 eq 푸마르산 0.84 eq <i>t</i> -BuOH
1-7	벤조산 (1:1)	THF 1M	백색 고체	1.0 eq 벤조산 0.34 eq <i>t</i> -BuOH
1-8	숙신산 (1:1)	MeOH 1M	점착성 백색 고체	~ 1.1 eq 숙신산 0.37 eq <i>t</i> -BuOH
1-9	황산 (0.5:1 산:API)	THF 1M	백색 고체	3개 더 적은 양성자 ~0.3 eq <i>t</i> -BuOH

모든 샘플에 대해 ^1H NMR 스펙트럼을 취하였다.

샘플 1-4, HCl (1:1) 염:

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0.93 - 1.39 (m, 16 H), 2.97 (br s, 2 H), 3.70 - 3.88 (m, 1 H), 4.10 (br s, 1 H), 4.18 - 4.49 (m, 3 H), 4.70 - 4.88 (m, 1 H), 5.71 - 5.94 (m, 1 H), 6.07 (br d, J=19.07 Hz, 2 H), 7.14 - 7.27 (m, 3 H), 7.29 - 7.44 (m, 2 H), 7.83 - 8.19 (m, 1 H)

샘플 1-5, 황산 (1:1) 염:

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0.97 - 1.38 (m, 15 H), 2.96 (br s, 2 H), 4.06 - 4.18 (m, 1 H), 4.19 - 4.49 (m, 3 H), 4.66 - 4.91 (m, 1 H), 5.70 - 5.95 (m, 1 H), 5.96 - 6.16 (m, 2 H), 7.10 - 7.27 (m, 3 H), 7.30 - 7.43 (m, 2 H), 7.88 - 8.19 (m, 1 H)

샘플 1-6, 푸마르산 (1:1) 염:

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0.95 - 1.31 (m, 21 H), 2.87 (br s, 3 H), 3.79 (br d, J=7.20 Hz, 1 H), 4.01 - 4.13 (m, 1 H), 4.16 - 4.23 (m, 1 H), 4.16 - 4.24 (m, 1 H), 4.20 (s, 1 H), 4.18 - 4.23 (m, 1 H), 4.24 - 4.52 (m, 1 H), 4.24 - 4.52 (m, 1 H), 4.24 - 4.49 (m, 1 H), 4.72 - 4.88 (m, 1 H), 5.68 - 5.86 (m, 1 H), 6.04 (br d, J=19.33 Hz, 4 H), 6.63 (s, 1 H), 6.61 - 6.66 (m, 1 H), 7.12 - 7.27 (m, 3 H), 7.27 - 7.45 (m, 3 H), 7.81 (s, 1 H), 13.16 (br s, 2 H)

샘플 1-7, 벤조산 (1:1) 염:

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0.96 - 1.30 (m, 15 H), 2.87 (br s, 3 H), 3.79 (br d, J=7.07 Hz, 1 H), 4.07 (br s, 1 H), 4.20 (s, 1 H), 4.25 - 4.52 (m, 3 H), 4.81 (s, 1 H), 5.71 - 5.85 (m, 1 H), 6.04 (br d, J=19.33 Hz, 4 H), 7.08 - 7.27 (m, 3 H), 7.27 - 7.43 (m, 3 H), 7.45 - 7.57 (m, 2 H), 7.63 (s, 1 H), 7.81 (s, 1 H), 7.95 (dd, J=8.27, 1.33 Hz, 2 H), 12.98 (br s, 1 H)

샘플 1-8, 숙신산 (1:1) 염:

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0.98 - 1.28 (m, 15 H), 2.42 (s, 5 H), 2.87 (br s, 3 H), 3.57 - 3.62 (m, 1 H), 3.70 - 3.86 (m, 1 H), 4.02 - 4.14 (m, 1 H), 4.20 (s, 1 H), 4.24 - 4.51 (m, 3 H), 4.70 - 4.88 (m, 1 H), 5.69 - 5.86 (m, 1 H), 6.04 (br d, J=19.33 Hz, 4 H), 7.12 - 7.27 (m, 3 H), 7.27 - 7.44 (m, 3 H), 7.81 (s, 1 H), 11.95 - 12.58 (m, 2 H)

샘플 1-9, 황산 (0.5:1) 염:

[0242] ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1.02 - 1.31 (m, 15 H), 2.94 (br s, 3 H), 3.79 (br d, $J=7.20$ Hz, 2 H), 4.09 (br s, 1 H), 4.22 - 4.48 (m, 3 H), 4.72 - 4.90 (m, 1 H), 5.71 - 5.92 (m, 1 H), 6.07 (br d, $J=19.07$ Hz, 2 H), 7.12 - 7.28 (m, 3 H), 7.31 - 7.44 (m, 2 H), 7.75 - 8.19 (m, 1 H).

[0243] 이어서 샘플을 25°C / 60% 상대 습도 (RH)에서의 14일 동안의 저장에 적용하였고, 7일 후 (도 4b) 및 14일 후 (도 5a)에 HPLC 및 XRPD에 의해 분석하였다. 모든 제조된 염은 무정형인 상태로 남았고, 관찰내용을 표 6에 제시한다. 모노 술페이트 (샘플 1-5) 및 숙시네이트 염 (샘플 1-8)은 연구 과정 동안 물리적으로 불안정하고 조해되거나, 또는 검이 되는 것으로 확인되었다. 푸마레이트 (샘플 1-6) 및 벤조에이트 염 (샘플 1-7)은 둘 다 유리질 고체인 것으로 확인되었다. HCl 염 (샘플 1-4)은 그의 물리적 외관을 유지하는 것으로 확인되었다. 놀람게도, 헤미-술페이트 염 (샘플 1-9)은 또한, 점착성 검인 모노-술페이트 화합물 (샘플 1-5)과 대조적으로, 그의 물리적 외관을 백색 고체로서 유지하였다. 결과를 표 6에 나타낸다. 모노 HCl 염 (샘플 1-4) 및 헤미-술페이트 염 (샘플 1-9)은 25°C / 60% 상대 습도 (RH)에서의 2주 저장 후, 물리적으로 및 화학적으로 안정한 것으로 확인되었다. 둘 다의 염은 2주 넘게 안정하였지만, HCl 염은 흡습성이어서, 장기간 저장 또는 사용에 대해 헤미-술페이트 염과 비교하여 덜 유용하기 때문에 헤미-술페이트 염이 HCl 염보다 뛰어나다.

[0244] 표 6. 25°C / 60% RH에서의 7일 및 14일 후 샘플의 안정성

샘플 ID	25°C / 60% RH에 노출된 시간 (일)					
	0		7		14	
	HPLC	관찰	HPLC	관찰	HPLC	관찰
1-1	98.6	백색 고체	98.7	백색 고체	98.5	백색 고체
1-2	99.1	백색 고체	99.2	백색 고체	99.0	백색 고체
1-3	99.7	백색 고체	99.6	백색 고체	99.4	백색 고체
1-4	98.7	백색 고체	98.8	백색 고체	98.6	백색 고체
1-5	98.4	백색 고체	55.7	점착성 백색 고체	-	점착성 검
1-6	98.7	유리질 고체	98.6	투명한 유리질 고체	98.4	백색 유리질 고체
1-7	98.8	백색 고체	98.8	투명한 유리질 고체	98.7	투명한 유리질 고체
1-8	98.7	점착성 백색 고체	-	조해됨 / 점착성 오일	-	조해됨
1-9	98.7	백색 고체	98.1	백색 고체	96.4	백색 고체

[0245]

[0246] 실시예 5. 무정형 화합물 2의 특징화

[0247] 무정형 화합물 2를 처음에 XRPD, ^1H NMR, DSC, TGA, 및 HPLC에 의해 분석하였다. 무정형 화합물 2에 대한 XRPD 패턴을 무정형 화합물 1 및 결정질 화합물 1과 오버레이한 것을 도 1a에 제시하고, 무정형 화합물 2 단독의 XRPD 패턴을 도 5b에 제시한다. 표 7은 도 5b에 제시된 XRPD 패턴으로부터의 피크 목록이다. 순도를 결정하기 위한 HPLC 트레이스를 도 6a에 제시한다. 표 8은 도 6a에 제시된 HPLC 트레이스로부터의 상대 체류 시간 (RT)의 목록이다. 무정형 화합물 2는 99.68% 순수하였다. 도 6b는 무정형 화합물 2의 TGA 및 DSC 그래프이다. TGA 및 DSC 실험에 대한 실험 세부사항은 실시예 2에 제공되었다.

[0248] 표 7. 무정형 화합물 2에 대한 피크 목록

각도 / °2 θ	d 간격 / Å	강도 / 카운트	강도 / %
4.20	21.03	486	81.8
4.67	18.91	482	81.0
5.16	17.10	595	100.0
9.13	9.68	547	92.0

[0249]

[0250] 표 8. 무정형 화합물 2의 HPLC 크로마토그램

무정형 화합물 2	
RRT	면적 %
0.48	0.02
0.48	0.02
0.67	0.01
0.94	0.13
1.00	99.68
1.04	0.06

[0251]

[0252] 무정형 화합물 2:

[0253] ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0.93 - 1.29 (m, 13 H), 2.94 (br s, 3 H), 3.79 (td, $J=10.04$, 7.07 Hz, 2 H), 4.05 - 4.19 (m, 1 H), 4.19 - 4.50 (m, 3 H), 4.81 (quin, $J=6.25$ Hz, 1 H), 5.71 - 5.94 (m, 1 H), 5.97 - 6.16 (m, 2 H), 7.14 - 7.28 (m, 3 H), 7.31 - 7.44 (m, 2 H), 7.82 - 8.09 (m, 1 H)

[0254]

실시예 6. 무정형 화합물 2의 결정화

[0255]

헤미-수레이트 염이 표 6에 제시된 바와 같이 14일 안정성 연구 후에 고체로 유지되는 것으로 확인되었기 때문에, 11종의 상이한 용매를 사용하여 결정화 조건을 연구하는 예비 시험을 수행하였다. 무정형 화합물 2를 5 부피의 용매 중에 25°C에서 현탁시켰다 (샘플 2-1, 2-2, 2-3, 2-4, 2-5, 2-6, 2-7, 2-8, 2-9, 2-10, 및 2-11). 자유 유동하지 않는 그러한 샘플 (2-1, 2-2, 2-3, 2-4, 2-5, 2-6, 2-7, 2-8, 및 2-10)에, 추가의 5 부피의 용매를 첨가하였다. 이어서, 1일 후에 투명한 용액인 것으로 관찰되어 주위 조건 하에 증발되도록 한 샘플 2-1을 제외하고, 샘플을 25 - 50°C (온도 사이에서 1°C/분 및 각각의 온도에서 4시간)에서 6일 동안 숙성시켰다. 결과를 표 9에 제시한다. 결정질 패턴은 이소부탄올 (샘플 2-1), 아세톤 (샘플 2-2), EtOAc (샘플 2-6), 및 iPrOAc (샘플 2-7)에 의한 결정화로부터 생성되었다. MEK (샘플 2-4) 및 MIBK (샘플 2-5)에 의한 결정화로부터 2종의 저 결정질 샘플이 또한 확인되었다. XRPD 패턴을 도 7a에 제시한다.

[0256] 표 9. 화합물 2의 결정화 조건

샘플 ID	용매	5 부피 후 관찰	10 부피 후 관찰	1일 숙성 후 관찰	XRPD
2-1	IPA	고체 - 자유 유동하지 않음	자유 유동 현탁액	용액, RT에서 증발되어 검을 생성함	검
2-2	이소부탄올	고체 - 자유 유동하지 않음	자유 유동 현탁액	현탁액	결정질 - 패턴 2
2-3	아세톤	고체 - 자유 유동하지 않음	자유 유동 현탁액	현탁액	결정질 - 패턴 3
2-4	MEK	고체 - 자유 유동하지 않음	자유 유동 현탁액	현탁액	저 결정질 - 패턴 4
2-5	MIBK	고체 - 자유 유동하지 않음	자유 유동 현탁액	현탁액	저 결정질 - 패턴 4
2-6	EtOAc	고체 - 자유 유동하지 않음	자유 유동 현탁액	현탁액	결정질 - 패턴 1
2-7	iPrOAc	고체 - 자유 유동하지 않음	자유 유동 현탁액	현탁액	결정질 - 패턴 1
2-8	THF	고체 - 자유 유동하지 않음	자유 유동 현탁액	현탁액	저 결정질
2-9	TBME	자유 유동 현탁액	-	현탁액	무정형
2-10	톨루엔	고체 - 자유 유동하지 않음	자유 유동 현탁액	현탁액	무정형
2-11	헵탄	자유 유동 현탁액	-	현탁액	무정형

[0257]

[0258]

25℃ / 60% 상대 습도 (RH)에서의 6일 저장 후 7종의 샘플 (샘플 2-2, 2-3, 2-4, 2-5, 2-6, 2-7 및 2-8)을 DSC, TGA, ¹H-NMR 및 IC에 의해 (표 10, 도 8a, 도 8b, 도 9a, 도 9b, 도 10a, 도 10b, 도 11a, 및 도 11b) 뿐만 아니라 XRPD에 의해 분석하였다 (모든 샘플은 안정성에 따라 결정질 / 저 결정질로 유지됨). 모든 샘플은 대략 절반의 술페이트의 당량을 보유하였지만, 상대적으로 많은 양의 잔류 용매를 함유하였다. 무정형 샘플 2-9, 2-10, 및 2-11의 X선 회절도의 오버레이를 도 7b에 제시한다.

[0259] 표 10. 결정질 화합물 2 샘플의 특징화

샘플 ID	용매	DSC	TGA	¹ HNMR	IC (TGA에 대해 교정됨)
2-2	이소부탄올	흡열 113.8 °C	8.3% 주위-140 °C	1.1 eq 이소부탄올	0.45 eq
2-3	아세톤	흡열 30-95 °C 흡열 100-145 °C	7.6% 주위 -140 °C	0.5 eq 아세톤	0.46 eq
2-4	MEK	넓은 복합 흡열 30-115 °C 흡열 115-145 °C	8.5 % 주위 -140 °C	0.8 eq MEK	0.45 eq
2-5	MIBK	넓은 흡열 30-105 °C 흡열 114.7 °C	5.2% 주위 -110 °C	0.2 eq MIBK	0.46 eq
2-6	EtOAc	급격한 흡열 113.6 °C	2.0% 주위-100 °C	0.9 eq EtOAc	0.46 eq
2-7	iPrOAc	흡열 30-90 °C	1.6% 주위-90 °C	0.8 eq iPrOAc	0.45 eq
2-8	THF	흡열 30-100 °C 급격한 흡열 115.6 °C	4.2% 주위-130 °C	0.7 eq THF	0.45 eq

[0260]

[0261] 모든 샘플에 대해 ¹HNMR 스펙트럼을 취하여 하기에 열거하였다.

[0262] 샘플 2-2:

[0263] ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 0.83 (d, J=6.69 Hz, 7 H), 0.99 - 1.26 (m, 14 H), 1.61 (dt, J=13.26, 6.63 Hz, 1 H), 3.73 - 3.87 (m, 2 H), 4.03 - 4.18 (m, 1 H), 4.18 - 4.51 (m, 4 H), 4.66 - 4.92 (m, 1 H), 4.70 - 4.90 (m, 1 H), 4.72 - 4.88 (m, 1 H), 5.81 (br s, 1 H), 5.93 - 6.11 (m, 2 H), 7.10 - 7.26 (m, 3 H), 7.14 - 7.26 (m, 1 H), 7.30 - 7.41 (m, 2 H), 7.94 (br s, 1 H)

[0264] 샘플 2-3:

[0265] ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.00 - 1.26 (m, 13 H), 2.09 (s, 3 H), 3.74 - 3.87 (m, 2 H), 4.10 (br d, J=7.70 Hz, 1 H), 4.22 - 4.50 (m, 3 H), 4.81 (quin, J=6.28 Hz, 1 H), 5.71 - 5.90 (m, 1 H), 5.96 - 6.15 (m, 2 H), 7.12 - 7.26 (m, 3 H), 7.31 - 7.41 (m, 2 H), 7.79 - 8.07 (m, 1 H)

[0266] 샘플 2-4:

[0267] ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 0.91 (t, J=7.33 Hz, 3 H), 1.01 - 1.28 (m, 13 H), 2.08 (s, 2 H), 3.72 - 3.89 (m, 2 H), 4.10 (br d, J=8.08 Hz, 1 H), 4.23 - 4.47 (m, 3 H), 4.81 (quin, J=6.25 Hz, 1 H), 5.69 - 5.89 (m, 1 H), 5.94 - 6.13 (m, 2 H), 7.14 - 7.25 (m, 3 H), 7.32 - 7.41 (m, 2 H), 7.79 - 8.11 (m, 1 H)

[0268] 샘플 2-5:

[0269] ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 0.86 (d, J=6.69 Hz, 1 H), 0.98 - 1.33 (m, 13 H), 2.02 - 2.09 (m, 1 H), 4.03 - 4.17 (m, 1 H), 4.22 - 4.50 (m, 3 H), 4.81 (quin, J=6.25 Hz, 1 H), 5.81 (br s, 1 H), 5.93 - 6.15 (m, 2 H), 7.11 - 7.27 (m, 3 H), 7.31 - 7.41 (m, 2 H), 7.77 - 8.21 (m, 1 H)

[0270] 샘플 2-6:

[0271] ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 0.98 - 1.28 (m, 15 H), 2.00 (s, 3 H), 3.99 - 4.14 (m, 3 H), 4.21 - 4.49 (m, 3 H), 4.81 (quin, J=6.22 Hz, 1 H), 5.82 (br s, 1 H), 5.93 - 6.14 (m, 2 H), 7.11 - 7.26 (m, 3 H), 7.29 - 7.42 (m, 2 H), 7.79 - 8.17 (m, 1 H)

[0272] 샘플 2-7:

[0273] ^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 0.92 - 1.28 (m, 17 H), 1.97 (s, 2 H), 4.04 - 4.16 (m, 1 H), 4.20 - 4.51 (m, 3 H), 4.71 - 4.93 (m, 2 H), 5.82 (br s, 1 H), 5.95 - 6.14 (m, 2 H), 7.11 - 7.28 (m, 3 H), 7.31 - 7.43 (m, 2 H), 7.75 - 8.21 (m, 1 H)

[0274] 샘플 2-8:

[0275] ^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 0.81 - 1.11 (m, 13 H), 1.19 (s, 1 H), 1.53 - 1.66 (m, 1 H), 3.87 - 4.01 (m, 1 H), 4.06 - 4.32 (m, 3 H), 4.64 (quin, $J=6.25$ Hz, 1 H), 5.55 - 5.75 (m, 1 H), 5.77 - 5.97 (m, 2 H), 6.94 - 7.10 (m, 3 H), 7.13 - 7.26 (m, 2 H), 7.66 - 7.96 (m, 1 H)

[0276] 실시예 7. 무정형 말로네이트 염 (화합물 4) 결정화의 실패

[0277] 실시예 3에 제시된 바와 같이, 화합물 1에 대한 적절한 염을 결정할 때 결정질 옥살레이트 염이 확인되었지만, 옥살레이트 염 화합물 4는 신장 결석을 유발하는 그의 잠재력으로 인해 임상 시험에서 추진될 수 없었다. 따라서, 헤미-술포이트 염의 경우에서와 동일한 11종의 용매를 사용하여 화학적으로 관련된 말로네이트 염 (화합물 5)의 결정화를 시도하였다. 화합물 1 (12 x 50 mg, 샘플 3-1, 3-2, 3-3, 3-4, 3-5, 3-6, 3-7, 3-8, 3-9, 3-10, 3-11, 및 3-12)을 t-부탄올 (20 vol) 중에 용해시키고, 이어서 용액을 1 당량의 말론산 원액 (THF 중 1 M)으로 처리하였다. 이어서 샘플을 동결시켰고, 용매를 동결건조에 의해 제거하였다. 샘플 3-1, 3-2, 3-3, 3-4, 3-5, 3-6, 3-7, 3-8, 3-9, 3-10, 및 3-11에, 관련 용매 (5 부피)를 실온에서 첨가하였다. 임의의 생성된 용액이 주위 조건 하에 증발되게 하는 한편, 검 또는 고체를 25 - 50°C (온도 사이에서 1°C/분 및 각각의 온도에서 4시간)에서 5일 동안 숙성시켰다. 고체를 XRPD에 의해 분석하였지만 (도 12b), 모든 샘플은 검을 형성하거나, 또는 무정형인 것으로 확인되었다 (도 12b). 결과를 표 11에 제시한다. 1개의 고체 (무정형) 샘플 (3-12)을 ^1H -NMR 및 HPLC에 의해 분석하였고, 약 1 당량의 말론산 (피크 중첩) 뿐만 아니라 0.6 eq. t-BuOH를 함유하는 것으로 확인되었다. 화합물은 99.2% 순수하였다 (도 13a). 도 12a는 샘플 3-12의 XRPD이고, 도 13a는 샘플 3-12의 HPLC 크로마토그램이다.

[0278] 샘플 3-12:

[0279] ^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 0.81 - 1.11 (m, 13 H), 1.19 (s, 1 H),

[0280] 1.53 - 1.66 (m, 1 H), 3.87 - 4.01 (m, 1 H), 4.06 - 4.32 (m, 3 H), 4.64 (quin, $J=6.25$ Hz, 1 H), 5.55 - 5.75 (m, 1 H), 5.77 - 5.97 (m, 2 H), 6.94 - 7.10 (m, 3 H), 7.13 - 7.26 (m, 2 H), 7.66 - 7.96 (m, 1 H)

[0281] 표 11. 무정형 말로네이트 염 화합물 4의 결정화 조건

샘플 ID	용매	5 부피 후 관찰	5일 숙성 / 증발 후 관찰	XRPD
3-1	IPA	투명한 용액*	투명한 검	-
3-2	이소부탄올	투명한 용액*	투명한 검	-
3-3	아세톤	투명한 용액*	투명한 검	-
3-4	MEK	투명한 용액*	투명한 검	-
3-5	MIBK	용액 & 일부 검	투명한 검	-
3-6	EtOAc	투명한 용액*	투명한 검 & 결정- 유사 외관	무정형
3-7	iPrOAc	검	투명한 검	-
3-8	THF	투명한 용액*	투명한 검	-
3-9	TBME	농후한 현탁액	투명한 검	-
3-10	톨루엔	백색 검 / 고체	백색 검	무정형
3-11	헵탄	백색 고체 (정적)	백색 검	무정형
3-12	-	(백색 고체 - 용매 없음)	(점착성 백색 고체 - 주위 조건)	무정형

[0282]

[0283] *실온에서 증발됨

[0284] 실시예 8. 액체 보조 분쇄 (LAG)를 사용한 알맞은 염 형성의 실패

[0285] 표 12의 14종의 산성 반대 이온을 사용하여 헤미-술페이트 외의 적절한 염을 결정하기 위한 액체 보조 분쇄 (LAG) 연구를 수행하였다.

[0286] 표 12. LAG 결정화에 사용된 반대-이온 원액

반대-이온	용매 (1 M)
과모산	DMSO
말론산	THF
D-글루쿠론산	물
DL-만델산	THF
D-글루콘산	THF
글리콜산	THF
L-락트산	THF
올레산	THF
L-아스코르브산	물
아디프산	THF (열)
카프로산	THF
스테아르산	THF
팔미트산	THF
메탄술폰산	THF

[0287]

[0288] 화합물 1 (30 mg)을, 2개의 3 mm 볼 베어링을 갖는 HPLC 바이알에 넣었다. 물질을 용매 (15 μ l 에탄올, 샘플 4-1, 4-2, 4-3, 4-4, 4-5, 4-6, 4-7, 4-8, 4-9, 4-10, 4-11, 4-12, 4-13, 및 4-14)로 습윤시키고, 1 당량의 산 반대-이온을 첨가하였다. 이어서 샘플을 오토맷시온(Automaxion) 어댑터가 달린 프리치 밀링 시스템을 사용하여 650 rpm에서 2시간 동안 분쇄하였다. 분쇄 후 샘플의 대부분은 투명한 검인 것으로 확인되었고, 추가로 분석하지 않았다 (표 13). 고체를 함유하는 것으로 관찰된 것을 XRPD에 의해 분석하고, 모든 경우에서, 수득된 패턴은 추가의 피크가 없는 결정질 산 반대 이온의 것과 매칭되는 것으로 확인되었다 (도 13b).

[0289] 표 13. 화합물 1의 LAG로부터의 관찰 및 XRPD 결과

샘플 ID	산	분쇄 후 관찰	XRPD
4-1	과모산	황색 검/고체	과모산 & 무정형 할로
4-2	말론산	투명한 검	-
4-3	D-글루쿠론산	백색 검/고체	D-글루쿠론산 & 무정형 할로
4-4	DL-만델산	투명한 검	-
4-5	D-글루콘산	투명한 검	-
4-6	글리콜산	투명한 검	-
4-7	L-락트산	투명한 검	-
4-8	올레산	투명한 검	-
4-9	L-아스코르브산	백색 검/고체	L-아스코르브산 & 무정형 할로
4-10	아디프산	투명한 검	-
4-11	카프로산	투명한 검	-
4-12	스테아르산	백색 검/고체	스테아르산 & 무정형 할로
4-13	팔미트산	백색 검/고체	팔미트산 & 무정형 할로
4-4	메탄술폰산	투명한 검	-

[0290]

[0291] 실시예 9. 메틸 에틸 케톤 (MEK)을 사용한 알맞은 염 형성 수득의 실패

[0292] 다음으로 용매로서 메틸 에틸 케톤 (MEK)을 사용하여 헤미-술페이트 염 외의 적절한 염을 연구하였다. 표 12의

14종의 산성 반대 이온을 사용하여, 화합물 1 (50 mg)을 MEK (20 vol) 중에 실온에서 용해시킴으로써 연구를 수행하였다. 용액을 1 당량의 선택된 반대-이온으로 처리하였다 (표 12). 이어서 샘플을 0.1℃/분으로 5℃로 냉각시키고, 이 온도에서 밤새 교반하였다. 모든 샘플이 주위 조건 하에 증발되도록 하고, 관찰되는 임의의 고체를 XRPD에 의해 분석하였다. 이러한 증발은 주로 검을 생성하였고, 스테아르산 (샘플 4-12) 및 팔미트산 (샘플 5-13)에 의한 샘플이 그 예외로, 이는 유리질 용매를 제공하였다. 이들 고체는 XRPD에 의하면 무정형이었지만, 염의 결정질 형태는 수득되지 않았다. 결과를 표 14에 제시한다. (도 13a).

표 14. MEK (20 부피) 중 화합물 1의 용해로부터의 결과

샘플 ID	산	산에 대한 용매, 1 M	산 첨가 시 관찰	냉각 시 관찰	증발 시 관찰
5-1	파모산	DMSO	황색 용액	황색 용액	황색 검
5-2	말론산	THF	용액	용액	투명한 검
5-3	D-글루쿠론산	물	용액	용액	투명한 검
5-4	DL-만델산	THF	용액	용액	투명한 검
5-5	D-글루콘산	THF	백색 침전물	혼탁 용액	투명한 검
5-6	글리콜산	THF	용액	용액	투명한 검
5-7	L-락트산	THF	용액	용액	투명한 검
5-8	올레산	THF	용액	용액	투명한 검
5-9	L-아스코르브산	물	용액	용액	황색 검
5-10	아디프산	THF (열)	용액	용액	투명한 검
5-11	카프로산	THF	용액	용액	투명한 검
5-12	스테아르산	THF	용액	혼탁 용액	투명한 유리질 고체*
5-13	팔미트산	THF	용액	용액	투명한 유리질 고체*
5-14	메탄술폰산	THF	용액	용액	투명한 검

원액은 산 첨가 전에 제조함

*샘플을 XRPD에 의해 분석하였고, 무정형 패턴 플러스 산 반대 이온으로부터의 피크가 주어짐

모든 샘플이 무정형이었기 때문에, 모든 샘플을 MEK (5 vol) 중에 재용해시키고, 시클로헥산을 실온에서 첨가한 다음 (20 vol 역용매), 25℃에서 1시간 교반하였다. 이어서 샘플을 50 - 5℃ (온도 사이에서 1℃/분, 각각의 온도에서 4시간)에서 2일 동안 숙성시킨 후 사이클을 추가의 4일 동안 50 - 25℃로 변화시켰다. 숙성 후 샘플을 육안으로 관찰하였다. 결과를 표 15에 제시한다. 숙성 후, 5-1 (파모산에 의함)을 제외한 모든 샘플은 검인 것으로 확인되었다. 황색 고체인 샘플 5-1을 XRPD에 의해 분석하였고, 패턴은 파모산의 공지된 형태와 매칭되는 것으로 확인되었고 (도 14b), 따라서 염의 어떠한 결정질 형태도 수득되지 않았다.

[0298] 표 15. MEK (5 부피) 및 역용매 중 화합물 1의 용해로부터의 결과

샘플 ID	즉시 관찰	10분 후 관찰	60분 후 관찰	숙성 후 관찰
5-1	침전물	검	검	황색 현탁액**
5-2	침전물	검	검	검
5-3	침전물/검	검	검	검
5-4	침전물	검	검	검
5-5	침전물/검	검	검	검
5-6	침전물	검	검	검
5-7	침전물	검	검	검
5-8	침전물	연한 현탁액	검	검
5-9	침전물	검	검	검
5-10	침전물	검	검	검
5-11	침전물	연한 현탁액	검	검
5-12	침전물	연한 현탁액	검	검
5-13	침전물	연한 현탁액	검	검
5-14	침전물	검	검	검

[0299]

[0300] **샘플을 XRPD에 의해 분석하였고, 패턴은 파모산의 공지된 형태와 매칭됨 (추가 피크 없음)

[0301] 실시예 10. 에틸 아세테이트를 사용한 알맞은 염 형성 수득의 실패

[0302] 다음으로 에틸 아세테이트를 사용하여 헤미-수화염 염 외의 적절한 염을 연구하였다. 표 12의 14종의 산성 반대 이온을 사용하여, 화합물 1 (50 mg)을 에틸 아세테이트 (20 vol) 중에 50℃에서 용해시켜 연구를 수행하였다. 용액을 선택된 반대-이온 1 당량으로 처리하였다 (표 12). 이어서 샘플을 0.1℃/분으로 5℃로 냉각시키고, 이 온도에서 4일 동안 교반하였다. 용액을 주위 조건 하에 증발되게 하는 한편 임의의 고체를 XRPD에 의해 분석하였다. 에틸 아세테이트를 사용한 결정화로부터의 결과를 표 16에 제시한다. MEK가 용매였던 실시예 8과 대조적으로, 대부분의 샘플은 산:화합물 혼합물의 냉각 후 현탁액인 것으로 관찰되었다 (용액인 것은 주위 조건 하에 증발되게 함). 그러나, XRPD 회절도는 일반적으로 결정질 화합물 1에 매칭되는 것으로 확인되었다. 샘플 6-2, 6-4, 및 6-5는 일부 약간의 차이를 갖는다 (도 14a 및 도 15a). 염의 결정질 형태는 수득되지 않았다.

[0303] 표 16. EtOAc (20 부피) 중 화합물 1 용해로부터의 결과

샘플 ID	산	산에 대한 용매, 1 M	산 첨가 시 관찰	냉각 시 관찰	XRPD	증발 시 관찰
6-1	파모산	DMSO	황색 용액	황색 용액*	-	검
6-2	말론산	THF	용액	백색 현탁액	유리 염기와 약간 상이함	-
6-3	D-글루쿠론산	물	용액	용액*	-	검
6-4	DL-만델산	THF	용액	백색 현탁액	유리 염기와 약간 상이함	-
6-5	D-글루콘산	THF	백색 침전물	가능한 백색 검	유리 염기와 약간 상이함	-
6-6	글리콜산	THF	용액	백색 현탁액	유리 염기	-
6-7	L-락트산	THF	용액	백색 현탁액	유리 염기	-
6-8	올레산	THF	용액	백색 현탁액	유리 염기	-
6-9	L-아스코르브산	물	용액	용액*	-	측면 백색 고체 / 황색 검 - 무정형
6-10	아디프산	THF (열)	용액	백색 현탁액	유리 염기	-
6-11	카프로산	THF	용액	백색 현탁액	유리 염기	-
6-12	스테아르산	THF	용액	백색 현탁액	유리 염기	-
6-13	팔미트산	THF	용액	백색 현탁액	유리 염기	-
6-14	메탄술폰산	THF	백색 침전물	용액 / 투명한 검*	-	투명한 검

[0304]

[0305] 실시예 11. HPLC에 의한 화학적 순도 결정

[0306] 실시예 2 및 실시예 4의 순도 분석을 표 17에 제시된 방법을 사용하여, 다이오드 어레이 검출기가 장착된 애질런트 HP1100 시리즈 시스템 상에서 캄스테이션 소프트웨어 vB.04.03을 사용하여 수행하였다.

[0307] 표 17. 화학적 순도 결정을 위한 HPLC 방법

파라미터	값		
방법의 유형	역상, 구배 용리		
샘플 제제	아세토니트릴 : 물 1:1 중 0.5 mg/ml		
칼럼	슈펠코 아센티스 익스프레스 C18, 100 x 4.6 mm, 2.7 μ m		
칼럼 온도 (°C)	25		
주입 (l)	5		
파장, 대역폭 (nm)	255, 90		
유량 (ml/분)	2		
상 A	물 중 0.1% TFA		
상 B	아세토니트릴 중 0.085% TFA		
시간표	시간 (분)	% 상 A	% 상 B
	0	95	5
	6	5	95
	6.2	95	5
	8	95	5

[0308]

[0309]

실시예 12. X선 분말 회절 (XRPD) 기술

[0310]

실시예 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 및 9의 XRPD 패턴을 Cu K α 방사선 (45 kV, 40 mA)을 사용하여 패널리티컬 엠피리언(PANalytical Empyrean) 회절계 상에 투과 기하구조로 수집하였다. 포커싱 거울과 함께 0.5° 슬릿, 4 mm 마스크 및 0.4 라드 솔러(Soller) 슬릿이 입사 빔 상에서 사용되었다. 회절된 빔 상에 위치시킨 PIXcel^{3D} 검출기에 수광 슬릿 및 0.04 라드 솔러 슬릿을 피팅하였다. 기기는 매주 기준으로 규소 분말을 사용하여 성능 체크하였다. 데이터 수집을 위해 사용된 소프트웨어는 엑스퍼트 데이터 콜렉터 (X'Pert Data Collector) v. 5.3이고, 데이터는 디프락 플러스 에바(Diffrac Plus EVA) v. 15.0.0.0 또는 하이스코어 플러스(Highscore Plus) v. 4.5를 사용하여 분석하고 제공하였다. 샘플은 금속 또는 밀리포어(Millipore) 96 웰-플레이트에서 투과 모드로 제조하고 분석하였다. 금속 웰-플레이트 상의 금속 시트 사이에 X선 투명 필름을 사용하였고, 분말 (대략 1-2 mg)을 제공받은 대로 사용하였다. 밀리포어 플레이트는 여과 전 가벼운 진공 하에 소량의 현탁액을 플레이트에 직접 첨가함으로써 현탁액으로부터 고체를 분리하고 분석하기 위해 사용되었다.

[0311]

금속 플레이트를 위한 스캔 모드는 측각 스캔 축을 사용한 반면에, 밀리포어 플레이트를 위해서는 2 θ 스캔을 활용하였다. 성능 체크는 규소 분말 (금속 웰-플레이트)를 사용하여 수행하였다. 데이터 수집의 세부사항은, 각도 범위 2.5 내지 32.0° 2 θ , 스텝 크기 0.0130° 2 θ , 및 총 수집 시간 2.07분이었다.

[0312]

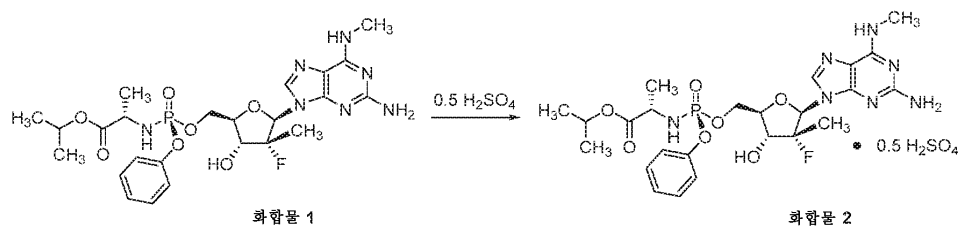
샘플을 또한 Cu K α 방사선 (40 kV, 40 mA), θ - 2 θ 측각기, 및 V4의 발산을 사용한 브루커 D8 회절계, 및 수광 슬릿, Ge 단색기 및 링스아이(Lynxeye) 검출기 상에서 수집하였다. 공인된 강옥 표준물 (NIST 1976)을 사용하여 기기를 성능 체크하였다. 데이터 수집을 위해 사용된 소프트웨어는 디프락플러스 XRD 커맨더 v2.6.1이고, 데이터는 디프락 플러스 에바 v15.0.0.0을 사용하여 분석하고 제공하였다.

[0313]

샘플을 제공받은 대로의 분말을 사용하여 편평한 플레이트 시편으로서 주위 조건 하에 구동하였다. 샘플을 연마된, 제로-배경 (510) 실리콘 웨이퍼 내의 절단된 공간 내로 조심스럽게 패킹하였다. 샘플을 분석 동안 그 자체의 평면에서 회전시켰다. 데이터 수집의 세부사항은, 각도 범위 2 내지 42° 2 θ , 스텝 크기 0.05° 2 θ , 및 수집 시간 0.5 s/단계였다.

[0314]

실시예 13. 무정형 화합물 2의 합성



[0315]

[0316] 250 mL 플라스크에 MeOH (151 mL)를 채우고, 용액을 0-5℃로 냉각시켰다. H₂SO₄의 진한 용액을 10분에 걸쳐 적가하였다. 분리형 플라스크에 화합물 1 (151 g) 및 아세톤 (910 mL)을 채우고, H₂SO₄/MeOH 용액을 25-30℃에서 2.5시간에 걸쳐 적가하였다. 다량의 고체가 침전되었다. 용액을 25-30℃에서 12-15시간 동안 교반한 후, 혼합물을 여과하고, MeOH/아세톤 (25 mL/150 mL)으로 세척하고, 진공 하에 55-60℃에서 건조시켜 화합물 2 (121 g, 74%)를 수득하였다.

[0317] 화합물 2에 대한 분석 방법: 워터스 엑스테라 페널 5 μm 4.6*250mm 칼럼이 장착된 애질런트 1100 HPLC 시스템을 사용하여 하기 조건으로 화합물 2의 순도를 수득하였다: 1 mL/분 유량, 254 nm에서 관독, 30℃ 칼럼 온도, 10 μL 주입 부피, 및 30분 실행 시간. 샘플을 ACN:물 (90:10, v/v) 중에 용해시켰다. 분리를 위한 구배 방법을 하기에 나타내었다. 화합물 2의 R_t (분)는 대략 12.0분이었다.

시간 (분)	물 중 0.1% H ₃ PO ₄ (A)%	아세토니트릴 (B)%
0	90	10
20	20	80
20.1	90	10
30	90	10

[0318]

[0319] ¹HNMR: (400 MHz, DMSO-d₆): δ 8.41 (br, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.36 (t, J = 8.0 Hz, 2H), 7.22 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.17 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 6.73 (s, 2H), 6.07 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.00 (dd, J = 12.0, 8.0 Hz, 1H), 5.81(br, 1H), 4.84-4.73 (m, 1H), 4.44-4.28 (m, 3H), 4.10 (t, J = 8.0 Hz, 2H), 3.85-3.74 (m, 1H), 2.95 (s, 3H), 1.21 (s, J = 4.0 Hz, 3H), 1.15-1.10 (m, 9H).

[0320] 실시예 14. 화합물 2의 특징화

[0321] 화합물 2를 육안, ¹HNMR, ¹³CNMR, ¹⁹FNMR, MS, HPLC, 및 XRPD에 의해 추가로 특징화하였다 (도 15b). GC에 의해 잔류 용매가 측정되었다. 물 함량은 칼 피서 적정에 의해 측정하였고, 물 함량은 단지 0.70%였다. 데이터를 표 18에 요약한다.

[0322] 표 18. 화합물 2의 추가의 특징화 데이터의 요약

시험	결과
외관	백색 고체
NMR	¹ HNMR 피크는 실시예 4에 열거됨
MS	MS(ESI+ve) [M+H] ⁺ = 582.3 - 구조와 일치함
HPLC	AUC에 의해 99.8%, 254 nm (2개의 제제의 평균)
GC에 의한 잔류 용매	메탄올 - 57 ppm 아세톤 - 752 ppm 디클로로메탄 - 50 ppm 에틸 아세테이트 - 176 ppm
물 함량	0.70%

[0323]

[0324] 실시예 15. 화합물 1 및 화합물 2의 용해도

[0325] 화합물 1 및 화합물 2를 둘 다, 인공 위액 (SGF), 공복 상태의 인공 위액 (FaSSIF), 및 섭식 상태의 인공 위액 (FeSSIF)을 포함하는 생체관련 시험 매질에서 용해도에 대해 시험하였다. 화합물 1에 대한 결과를 표 19에 제시하고, 화합물 2에 대한 결과를 표 20에 제시한다. 샘플을 실온 (20 - 25℃)에서 교반하였다. 화합물 2는 물에서 2시간째에 화합물 1보다 40-배를 초과하여 더 가용성이었고, 24시간째에 25-배를 초과하여 더 가용성이었

다. SGF 조건에서, 화합물 2는, 24시간째의 화합물 1의 용해도 15.6 mg/mL와 비교하여, 동일한 시점에 84.2 mg/mL의 용해도를 가졌다. 화합물 2는 또한 SGF 조건에서 2시간째에 화합물 1보다 더 가용성이었고, 화합물 1을 사용하여 48시간째 시험은 수행하지 않았지만, 심지어 48시간 후에도 시험을 가능하게 하도록 충분히 가용성이었다.

[0326] 표 19. 화합물 1 용해도 시험 결과

시험 배지	용해도 (mg/mL 단위)		외관	서술적 용어
	2시간	24시간		
물	1.5	2.5	투명한 용액*	약간 가용성
SGF	13.8	15.6	투명한 용액, 바닥에 검 존재	난용성
FaSSIF	1.7	1.7	혼탁	약간 가용성
FeSSIF	2.8	2.9	혼탁	약간 가용성

[0327]

[0328] *샘플은 투명한 것으로 보였지만, 단지 1.5 mg/mL의 용해도가 달성되었다. 추가 조사 시, 점착성 필름이 교반 막대 상에 형성된 것으로 나타났다. 화합물 1 활성 제약 성분은 완전한 용해를 위해 긴 초음파처리 시간을 필요로 하는 표준 제조 동안 희석제 (90% 물/10% 아세트니트릴) 중에 점착성 불을 형성했다.

[0329] 표 20. 화합물 2 용해도 시험 결과

시험 배지	용해도 (mg/mL 염 염기 단위)			외관	서술적 용어
	2시간	24시간	48시간		
물	65.3	68.0	N/A	혼탁	가용성
SGF	89.0	84.2	81.3	혼탁	가용성
FaSSIF	1.9	2.0	N/A	혼탁	약간 가용성
FeSSIF	3.3	3.4	N/A	혼탁	약간 가용성

[0330]

[0331] 실시예 16. 화합물 2의 화학적 안정성

[0332] 화합물 2를 25 및 40℃에서 6개월의 시간 주기에 걸쳐 유기물 순도, 물 함량, ¹HNMR, DSC, 및 라멘 IR을 모니터링함으로써 화학적 안정성에 대해 시험하였다. 연구를 위한 용기 밀폐 시스템은 파우치 상에 제약 적층 필름 및 2개의 층 사이에 건조제 실리카 겔을 갖는 조합 의약 밸브 백이었다. 화합물 2 (1 g)를 각각의 용기 내에서 측정하였다. 이어서 백을 25℃/60%RH (상대 습도) 및 40℃/75%RH (상대 습도)에서 저장하였다. 유기물 순도, 물 함량, ¹HNMR, DSC 및 라멘을 시간 0, 제1개월, 제2개월, 제3개월 및 제6개월에 측정하였다.

[0333] 워터스 엑스테라 페널, 5 μm, 4.6x250mm 칼럼이 장착된 시마즈 LC-20AD 시스템을 사용하여 하기 조건으로 화합물 2의 순도를 획득하였다: 1 mL/분 유량, 254 nm에서 관독, 35℃ 칼럼 온도, 및 10 μL 주입 부피. 샘플을 아세트니트릴 - 물 (90:10) (v/v) 중에 용해시켰다. 구배 방법을 하기 제시한다.

시간 (분)	A% (ACN)	B% (물)
0	90	10
20	20	80
20.1	90	10
30	90	10

[0334]

[0335]

화합물 2 (250 mg)의 물 함량은 칼 피셔 적정 방법을 사용하여 물 적정 장치에 의해 결정하였다.

[0336]

결과를 표 21 및 표 22에 제시한다. 화합물 2를 25 및 40℃에서 6개월 동안 저장한 경우에, 분해 속도는 최소였다. 3개월째에, 화합물 2는 25℃ 조건에서 99.75% 퍼센트 순수하였고, 40℃ 조건에서 99.58% 순수하였다. 6개월째에, 화합물 2는 여전히 25℃ 조건에서 99.74% 순수하였고, 40℃ 조건에서 99.30% 순수하였다. 25℃에서, 분해 생성물의 퍼센트는 제0일에 0.03%에서 6개월에 0.08%로 증가하였다. 40℃에서, 분해 생성물의 퍼센트는 0.03%에서 0.39%로 증가하였다. 6개월 과정에 걸쳐, 물의 퍼센트는 25℃에서 대략 0.6% 증가하였고, 40℃에서 대략 0.7% 증가하였다.

[0337]

화합물 2의 1, 2, 3, 및 6개월째의 ¹HNMR, 라만, 및 DSC에 의한 특징화는 둘 다의 온도 조건에서 제0일째의 화합물 2의 특징화와 동일하였고 (표 22), 이는 화합물 2의 장기 안정성을 강조한다.

[0338]

표 21. 25 및 40℃에서 6개월에 걸친 화합물 2 분해 속도

	시험 시간	퍼센트 물	퍼센트 순도	분해 생성물의 퍼센트	최대 불순물 퍼센트
25 °C	제0일	1.2	99.82	0.03	0.12
	제1개월	1.9	99.77	0.04	0.12
	제2개월	1.8	99.75	0.06	0.12
	제3개월	1.8	99.75	0.06	0.12
	제6개월	1.8	99.74	0.08	0.13
40 °C	제0일	1.2	99.82	0.03	0.12
	제1개월	2.0	99.71	0.09	0.12
	제2개월	1.9	99.63	0.15	0.12
	제3개월	1.9	99.58	0.20	0.12
	제6개월	1.9	99.30	0.39	0.14

[0339]

[0340] 표 22. 분해 연구 동안 화합물 2의 특징화

	시험 시간	¹ HNMR	라만	DSC
25 °C	제0일	초기 시험	초기 시험	초기 시험
	제1개월	제0일과 동일	제0일과 동일	제0일과 동일
	제2개월	제0일과 동일	제0일과 동일	제0일과 동일
	제3개월	제0일과 동일	제0일과 동일	제0일과 동일
	제6개월	제0일과 동일	제0일과 동일	제0일과 동일
40 °C	제0일	초기 시험	초기 시험	초기 시험
	제1개월	제0일과 동일	제0일과 동일	제0일과 동일
	제2개월	제0일과 동일	제0일과 동일	제0일과 동일
	제3개월	제0일과 동일	제0일과 동일	제0일과 동일
	제6개월	제0일과 동일	제0일과 동일	제0일과 동일

[0341]

[0342] 불순물 및 물 수준을 결정하기 위해 화합물 2의 추가의 화학적 안정성 연구를 측정하였다. 3가지 조건을 시험하였다: 6-개월 시간 기간에 걸친 가속 안정성 ($40 \pm 2^\circ\text{C}$ / $75 \pm 5\%$ RH), 9-개월 기간에 걸친 주위 안정성 ($25 \pm 2^\circ\text{C}$ / $60 \pm 5\%$ RH), 및 9-개월 시간 기간에 걸친 냉장온도 조건 하에서의 안정성 ($5 \pm 3^\circ\text{C}$). 가속 안정성, 주위 안정성, 및 냉장온도 조건에 대한 결과를 각각 표 23, 표 24, 및 표 25에 제시한다. 이들 연구의 결과에 기초하면, 화합물 2는 매우 화학적으로 안정하다.

[0343] 가속 안정성 연구 (표 23)에서, 화합물 2를 측정된 각각의 시점 (제1개월, 제3개월, 및 제6개월)에, 화합물 2의 외관은 항상 백색 고체였고, IR은 표준 참조물과 매칭되었다. 6개월 후, 총 관련 물질 1 불순물은 단지 0.08%였고, 관련 물질 2 및 이성질체는 검출되지 않았다.

[0344] 표 23. 화합물 2의 가속 안정성 ($40 \pm 2^{\circ}\text{C}$ / $75 \pm 5\%$ RH)

항목		세부사항	시험 시점			
			제0개월	제1개월	제3개월	제6개월
외관		백색 또는 회백색 고체	백색 고체	백색 고체	백색 고체	백색 고체
IR		참조 표준물과 상응함	참조 표준물과 상응함	/	참조 표준물과 상응함	참조 표준물과 상응함
물		$\leq 2.0\%$	0.45%	0.21%	0.36%	0.41%
관련 물질 1	불순물 A	$\leq 0.15\%$	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	불순물 B	$\leq 0.15\%$	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	불순물 F	$\leq 0.15\%$	N.D.	N.D.	N.D.	0.01%
	불순물 H	$\leq 0.15\%$	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	임의의 다른 단일 불순물	$\leq 0.10\%$	0.01%	0.02%	0.01%	0.05%
	총 불순물	$\leq 0.2\%$	0.01%	0.02%	0.02%	0.08%
관련 물질 2	불순물 G	$\leq 0.15\%$	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
이성질체	불순물 C	$\leq 0.15\%$	N.D.	/	N.D.	N.D.
	불순물 D	$\leq 0.15\%$	N.D.	/	N.D.	N.D.
	불순물 E	$\leq 0.15\%$	N.D.	/	N.D.	N.D.
검정		98.0%~102.0%	98.8%	101.5%	99.6%	99.5%
미생물 시험	TAMC	$\leq 1000\text{cfu/g}$	$<1\text{cfu/g}$	/	/	/
	곰팡이 및 효모	$\leq 100\text{cfu/g}$	$<1\text{cfu/g}$	/	/	/
	이.콜라이	검출되지 않음	N.D.	/	/	/

[0345]

[0346] N.D.: 검출되지 않음.

[0347] 9개월 동안 외관, IR, 물 및 불순물 수준을 측정한 주위 안정성 연구에서, 화합물 2의 외관은 항상 백색 고체였고, IR은 항상 참조 샘플과 상응하였다. 결과 (표 24)는 화합물 2가 얼마나 화학적으로 안정한지를 강조한다. 9개월 후, 샘플 중 물의 백분율은 단지 0.20%였고, 총 관련 물질 1 불순물은 단지 0.02%였다. 가속 안정성 연구와 유사하게, 관련 물질 2 및 화합물 2의 임의의 이성질체는 검출되지 않았다.

[0348] 표 24. 화합물 2의 주위 안정성 ($25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ / $60 \pm 5\% \text{RH}$)

항목		세부사항	시험 시점				
			제0개월	제1개월	제3개월	제6개월	제9개월
외관		백색 또는 회백색 고체	백색 고체	백색 고체	백색 고체	백색 고체	회백색 고체
IR		참조 표준물과 상응함	참조 표준물과 상응함	/	참조 표준물과 상응함	참조 표준물과 상응함	참조 표준물과 상응함
물		$\leq 2.0\%$	0.45%	0.19%	0.29%	0.46%	0.20%
관련 물질 1	불순물 A	$\leq 0.15\%$	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	불순물 B	$\leq 0.15\%$	N.D.	N.D.	0.03%	N.D.	N.D.
	불순물 F	$\leq 0.15\%$	N.D.	N.D.	0.02%	0.01%	N.D.
	불순물 H	$\leq 0.15\%$	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	임의의 다른 단일 불순물	$\leq 0.10\%$	0.01%	0.01%	0.03%	0.02%	0.02%
	총 불순물	$\leq 0.2\%$	0.01%	0.02%	0.11%	0.05%	0.02%
관련 물질 2	불순물 G	$\leq 0.15\%$	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
이성질체	불순물 C	$\leq 0.15\%$	N.D.	/	N.D.	N.D.	N.D.
	불순물 D	$\leq 0.15\%$	N.D.	/	N.D.	N.D.	N.D.
	불순물 E	$\leq 0.15\%$	N.D.	/	N.D.	N.D.	N.D.
검정		98.0%~102.0 %	98.8%	101.1%	99.6%	99.7%	100.9%
미생물 시험	TAMC	$\leq 1000\text{cfu/g}$	$< 1\text{cfu/g}$	/	/	/	/
	곰팡이 및 효모	$\leq 100\text{cfu/g}$	$< 1\text{cfu/g}$	/	/	/	/
	이.콜라이	검출되지 않음	N.D.	/	/	/	/

[0349]

[0350] N.D.: 검출되지 않음.

[0351] 냉장온도 조건 하에 안정성을 측정한 결과를 표 25에 제시한다. 심지어 9개월 후에 검출된 유일한 불순물은 관련 물질 1 및 물로부터의 것이었다. 9개월 후 물 함량은 0.32%였고, 관련 물질 1의 총 불순물은 단지 샘플의 0.01%였다. 화합물 2는 냉장온도 조건 하에 매우 화학적으로 안정하였다.

[0352] 표 25. 화합물 2의 냉장온도 조건 ($5 \pm 3^{\circ}\text{C}$) 하에서의 안정성

항목		세부사항	시험 시점				
			제0개월	제1개월	제3개월	제6개월	제9개월
외관		백색 또는 회백색 고체	백색 고체	백색 고체	백색 고체	백색 고체	회백색 고체
IR		참조 표준물과 상응함	참조 표준물과 상응함	/	참조 표준물과 상응함	참조 표준물과 상응함	참조 표준물과 상응함
물		$\leq 2.0\%$	0.45%	0.19%	0.32%	0.42%	0.32%
관련 물질 1	불순물 A	$\leq 0.15\%$	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	불순물 B	$\leq 0.15\%$	N.D.	N.D.	0.01%	N.D.	N.D.
	불순물 F	$\leq 0.15\%$	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	불순물 H	$\leq 0.15\%$	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	임의의 다른 단일 불순물	$\leq 0.10\%$	0.01%	0.01%	0.01%	0.01%	0.01%
	총 불순물	$\leq 0.2\%$	0.01%	0.01%	0.03%	0.03%	0.01%
관련 물질 2	불순물 G	$\leq 0.15\%$	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
이성질체	불순물 C	$\leq 0.15\%$	N.D.	/	N.D.	N.D.	N.D.
	불순물 D	$\leq 0.15\%$	N.D.	/	N.D.	N.D.	N.D.
	불순물 E	$\leq 0.15\%$	N.D.	/	N.D.	N.D.	N.D.
검정		98.0%~102.0 %	98.8%	101.1%	100.2%	98.6%	101.4%
미생물 시험	TAMC	$\leq 1000\text{cfu/g}$	$< 1\text{cfu/g}$	/	/	/	/
	곰팡이 및 효모	$\leq 100\text{cfu/g}$	$< 1\text{cfu/g}$	/	/	/	/
	이.콜라이	검출되지 않음	N.D.	/	/	/	/

[0353]

[0354] N.D.: 검출되지 않음.

[0355] 실시예 17. 화합물 2의 단일 경구 용량 후 대사물의 혈장 수준

[0356] 화합물 2의 단일 경구 용량을 래트, 개, 및 원숭이에게 투여하고, 반응식 1에 제시된 특정 대사물의 혈장 수준을 측정하였다.

[0357] 화합물 2의 화합물 1 및 대사물 1-7로의 전환이 표 26에 제시되고, 대사물 1-8 및 대사물 1-2에 대한 결과가 표 27에 제시된다. 래트에서, 낮은 수준의 화합물 1 노출이 관찰되었지만, 활성 트리포스페이트 (대사물 1-6)의 뉴클레오시드 대사물인 대사물 1-7의 높은 수준이 관찰되었다. 원숭이에서, 화합물 1의 대략 용량-비례 노출이 측정되었다. 개에서, 간에서의 1차 통과 대사 클리어런스를 나타내는 과-비례 화합물 1 노출이 측정되었다. 연구 전체에 걸쳐, 원숭이에서보다 (고용량 군에서 1/5) 개에서 (고용량 군에서 5/5) 유의하게 더 많은 구토가 관찰되었다.

[0358] 표 26. 화합물 2의 단일 경구 용량 후 화합물 1 및 대사물 1-7의 혈장 수준

종	용량* (mg/kg)	화합물 1			대사물 1-7	
		C _{max} (ng/mL)	T _{max} (hr)	AUC _{0-마지막} (hr*ng/mL)	C _{max} (ng/mL)	AUC _{0-마지막} (hr*ng/mL)
랫 ^a	500	70.5	0.25	60.9	748	12000
개 ^b	30	1530	0.25-1	1300	783	9270
	100	8120	0.5-1	10200	2030	24200
	300	21300	204	44300	4260	60800
원숭이 ^b	30	63.5	0.5-2	176	42.5	1620
	100	783	1-2	1100	131	3030
	300	501	204	1600	93.6	3660

[0359]

[0360] 종당 용량당 3마리의 수컷; *용량 제제: ^a물 중 0.5% CMC, 0.5% 트윈 80; ^b캡슐 내 분말

[0361] 표 27. 화합물 2의 단일 경구 용량 후 대사물 1-8 및 1-2의 혈장 수준

종	용량* (mg/kg)	대사물 1-8		대사물 1-2	
		C _{max} (ng/mL)	AUC _{0-마지막} (hr*ng/mL)	C _{max} (ng/mL)	AUC _{0-마지막} (hr*ng/mL)
랫 ^a	500	5060	35100	9650	20300
개 ^b	30	291	905	196	610
	100	1230	4370	886	2830
	300	5380	35300	2380	8710
원숭이 ^b	30	209	5690	300	1730
	100	406	12300	1350	8160
	300	518	16800	1420	11400

[0362]

[0363] 종당 용량당 3마리의 수컷; *용량 제제: ^a물 중 0.5% CMC, 0.5% 트윈 80; ^b캡슐 내 분말

[0364] 실시예 18. 화합물 2 경구 용량 후 활성 트리포스페이트의 조직 노출

[0365] 화합물 2의 활성 트리포스페이트 (TP) (대사물 1-6)의 심장 및 간 조직 수준을 화합물 2의 경구 용량의 4시간 후에 측정하였다. 간 및 심장의 샘플을 화합물 2의 단일 용량의 4시간 후에 수득하고, 급속-동결시키고, 균질

화하고, 활성 TP의 세포내 수준에 대해 LC-MS/MS에 의해 분석하였다. 조직 수준을 도 16a에 제시된 바와 같이 래트, 개, 및 원숭이에서 측정하였다. 높은 수준의 활성 TP가 시험된 모든 종의 간에서 측정되었다. 1차 통과 간 대사의 포화로 인해 상대적으로 낮은 수준의 활성 TP가 개의 심장에서 측정되었고, 정량화불가능한 수준의 TP가 래트 및 원숭이 심장에서 측정되었으며, 이는 활성 TP의 간-특이적 형성을 나타낸다. 제시되지 않았지만, 화합물 1 투여와 비교하여, 화합물 2 투여는 TP 분포를 개선시켰다.

[0366] 실시예 19. 개에서의 화합물 1 및 화합물 2의 약리학적 비교

[0367] 화합물 1 및 화합물 2를 투여한 개의 직접-대면 비교를 수행하였다. 연구는 화합물 1 (25 mg/kg) 및 화합물 2 (30 mg/kg)를 투여한 후 4시간까지 화합물 1 및 대사물 1-7 (반응식 1로부터의 것)의 혈장 수준을 측정하였고 (표 28), 대사물 1-7의 $AUC_{(0-4hr)}$ 는 화합물 1과 비교하여 화합물 2에서 2배 더 컸다. 화합물 1 및 대사물 1-7에 대한 용량-정규화된 노출을 표 28에 제시한다. 화합물 1, 대사물 1-7, 및 화합물 1 + 대사물 1-7 합산에 대한 $AUC_{(0-4hr)}$ 값은 화합물 2를 투여한 후에 더 컸다.

[0368] 표 28. 화합물 1 및 화합물 2의 투여 후 혈장 수준의 비교

투여된 화합물	평균 용량-정규화된 $AUC_{(0-4hr)}^a$ ($\mu M \cdot hr$):		
	화합물 1	대사물 1-7	화합물 1 + 대사물 1-7
화합물 1 (25 mg/kg)	0.2	1.9	2.1
화합물 2 (30 mg/kg)	1.0	4.1	5.1

[0369]

[0370] ^a $AUC_{(0-4hr)}$ 값은 25 mg/kg의 용량으로 정규화됨

[0371] 간/심장 비 트리포스페이트 농도는, 표 29에 제시된 바와 같이, 화합물 2를 투여하는 것이 화합물 1과 비교하여 간으로의 트리포스페이트의 선택적 전달을 증가시킨다는 것을 나타낸다. 심장에서 측정된 화합물 1의 투여 후 활성 구아닌 대사물 (1-6)의 $AUC_{(0-4hr)}$ 는 174 $\mu M \cdot hr$ 이었고, 한편 심장에서 측정된 화합물 2의 투여 후 활성 구아닌 대사물 (1-6)의 $AUC_{(0-4hr)}$ 는 28 $\mu M \cdot hr$ 이었다. 화합물 2의 경우의 간/심장 비는, 화합물 1의 경우의 간/심장 비 3.1과 비교하여, 20이었다.

[0372] 표 29. 화합물 1 및 화합물 2의 투여 후 간 및 심장 노출의 비교

투여된 화합물	평균 용량-정규화된 $AUC_{(0-4hr)}^a$ ($\mu M \cdot hr$):		
	간	심장	간 / 심장
화합물 2	565	28 ^b	20
화합물 1	537	174	3.1

[0373]

[0374] ^a 활성 TP 농도 (1-6; 반응식 1)는 25 mg/kg의 용량으로 정규화됨

[0375] ^b 보정 곡선의 정량 하한치 미만으로 외삽됨

[0376] 화합물 1과 비교하여 화합물 2를 투여한 경우 심장에 비해 간에 대한 증가된 선택성의 효과가 또한 도 16b에 제시된다. 화합물 2의 투여량 (30 mg/kg) 후 활성 트리포스페이트의 심장 및 간 조직 수준을 화합물 1의 투여량 (25 mg/kg) 후 활성 트리포스페이트의 조직 수준과 비교하였다. 활성 TP의 농도는 화합물 1 및 화합물 2 둘 다의 경우에 심장보다 간에서 더 높았지만, 활성 TP는 화합물 1과 비교하여 화합물 2를 투여한 경우에 심장에 비해 간에 대해 보다 선택적이었다.

[0377] 실시예 20. 래트 및 원숭이에서의 화합물 2 대사물의 혈장 프로파일

[0378] 수컷 스프라그-돌리 래트 및 시노물구스 원숭이 (용량 군당 3마리의 동물)에게 화합물 2의 단일 경구 용량을 제공하였다. 디클로르보스로 처리된 혈액 샘플로부터 제조된 혈장의 분취물을 LC-MS/MS에 의해 화합물 1 및 대사물 1-7 (반응식 1에 제시된 화합물 2의 활성 트리포스페이트의 뉴클레오시드 대사물)의 농도에 대해 분석하였고, 윈론린(WinNonlin)을 사용하여 약동학적 파라미터를 결정하였다. 래트에서의 단일 500 mg/kg 용량에 대한 결과를 도 17에 제시하고, 원숭이에서의 단일 30, 100 또는 300 mg/kg 용량에 대한 결과를 도 18에 제시한다. 결과를 또한 표 30에 요약한다.

[0379] 화합물 2의 활성 트리포스페이트 (TP)의 뉴클레오시드 대사물인 대사물 1-7의 높은 혈장 수준은, 래트 혈액에서의 화합물 1의 짧은 반감기 (<2분)로 인해 매우 낮은 혈장 농도의 모 뉴클레오티드 전구약물이 관찰된 래트에서조차도, 높은 수준의 TP가 형성되었음을 나타낸다. 대사물 1-7의 지속적인 혈장 수준은 TP의 긴 반감기를 반영한다.

[0380] 원숭이에서, 화합물 1의 혈장 노출 (AUC)은 대략적으로 용량-비례하였지만, 대사물 1-7 노출은, 모 약물 및 활성 TP의 뉴클레오시드 대사물 둘 다에 대한 AUC 값이 시험한 최고 용량 (300 mg/kg)까지 계속해서 증가하였더라도, 다소 덜 용량-비례하였다.

[0381] 래트 및 원숭이에서의 화합물 2의 경구 투여는 대사물 1-7 (화합물 2의 세포내 활성 트리포스페이트의 뉴클레오시드 대사물)에 대한 높은, 용량-의존성 혈장 노출을 생성하였고; 대사물 1-7 노출은, 이들 중에서의 활성 TP의 실질적인 형성을 반영하여, 시험된 최고 용량까지 계속해서 증가하였다.

[0382] 표 30. 화합물 2의 단일 경구 용량 후 화합물 1 및 1-7의 혈장 수준

	종	래트 ^a	원숭이 ^b		
	용량 (mg/kg)	500	30	100	300
화합물 1	C _{max} (ng/mL)	60.8	63.5	783	501
	T _{max} (hr)	0.25	0.5-2	1-2	204
	AUC _{0-마지막} (hr*ng/mL)	78.2	176	1100	1600
대사물 1-7	C _{max} (ng/mL)	541	42.5	131	93.6
	AUC _{0-마지막} (hr*ng/mL)	9640	1620	3030	3660
	T _{max} (hr)	6-8	12-24	4	4-24
	T _{1/2} (hr)	15.3	11.5	15.0	18.8

[0383]

[0384] 용량 제제: ^a물 중 0.5% CMC, 0.5% 트윈 80; ^b캡슐 내 분말

[0385] 실시예 21. 미토콘드리아 완전성에 대한 화합물 1 및 화합물 2의 활성 트리포스페이트의 효과

[0386] 인간 미토콘드리아 RNA 폴리머라제에 의한 화합물 1 및 화합물 2의 활성 트리포스페이트 (TP), 대사물 1-6 (반응식 1)의 혼입의 상대 효율을 소포스부비르의 활성 TP 및 INX-189의 활성 TP의 상대 효율과 비교하였다. 화합물 1 및 화합물 2는 그의 활성 트리포스페이트가 소포스부비르의 트리포스페이트의 효율과 유사한 효율로 인간 미토콘드리아 RNA 폴리머라제에 의해 거의 혼입되지 않았기 때문에 미토콘드리아 완전성에 영향을 미치지 않을 것이고; INX-189의 트리포스페이트의 혼입의 상대 효율은 최대 55배 더 컸다. 결과를 표 31에 제시한다. 인간 미토콘드리아 RNA-의존성 RNA 폴리머라제 (POLRMT)에 의한 이들 유사체의 혼입은 문헌 [Arnold et al. (Sensitivity of Mitochondrial Transcription and Resistance of RNA Polymerase II Dependent Nuclear Transcription to Antiviral Ribonucleotides. PLoS Pathog., 2012, 8, e1003030)]에 따라 결정하였다.

[0387] 표 31. 인간 미토콘드리아 RNA 폴리머라제에 의해 평가된 뉴클레오타이드 유사체에 대한 동역학적 파라미터

뉴클레오타이드 유사체	$K_{pol} (s^{-1})$	$K_{d,app} (\mu M)$	$K_{pol}/K_{d,app}$ ($\mu M^{-1}s^{-1}$)	상대 효율*
2'-데옥시-2'-F-2'- C-메틸 UTP (소포스부비르의 활성 TP)	$0.00034 \pm$ 0.00005	590 ± 250	$5.8 \times 10^{-7} \pm$ 2.6×10^{-7}	1.0×10^{-6}
2'-C-메틸 GTP (INX-189 의 활성 TP)	0.051 ± 0.002	240 ± 26	$2.1 \times 10^{-4} \pm$ 0.2×10^{-4}	5.5×10^{-5}
화합물 1 및 화합물 2의 활성 TP (대사물 1-6)	$0.0017 \pm$ 0.0002	204 ± 94	$8.3 \times 10^{-6} \pm$ 4.0×10^{-6}	2.2×10^{-6}

[0388]

[0389] *상대 효율 = $(K_{pol}/K_{d,app})_{\text{유사체 뉴클레오타이드}} / (K_{pol}/K_{d,app})_{\text{천연 뉴클레오타이드}}$

[0390] 실시예 22. NS5B 서열을 함유하는 레플리콘에 대한 화합물 1의 활성

[0391] 6종의 실험실 참조 균주 (GT1a, 1b, 2a, 3a, 4a 및 5a) (도 19) 및 8종의 HCV 환자 혈장 샘플 (GT1a, 1b, 2a, 2b, 3a-1, 3a-2, 4a 및 4d) (도 20)로부터 유래된 다양한 HCV 유전자형으로부터의 NS5B 서열을 함유하는 한 패널의 레플리콘을 사용하여 화합물 1 및 소포스부비르의 효력을 결정하였다.

[0392] 화합물 1은 HCV의 임상 및 실험실 균주에 대해 소포스부비르보다 더 강력하였다. 화합물 1은 야생형 임상 분리주에 대해 $EC_{95} < 80$ nM로 시험관내 강력한 범-유전자형 항바이러스 활성을 나타내었고, 이는 소포스부비르보다 4- 내지 14배 더 강력하였다. 도 20에 제시된 바와 같이, 화합물 1에 대한 EC_{95} 값은 시험된 모든 HCV 유전자형의 임상 분리주에 대해 소포스부비르보다 7-33배 더 낮았다. HCV 유전자형 1-5의 실험실 균주에 대해, 화합물 1에 대한 EC_{50} 값은 소포스부비르보다 6-11배 더 낮았다 (도 19).

[0393] 실시예 23. 건강한 지원자 (파트 A) 및 GT1-HCV 감염된 환자 (파트 B)에서의 화합물 2의 단일 상승 용량 (SAD) 연구

[0394] 화합물 2를 건강한 대상체에서의 그의 안전성, 내약성, 및 약동학을 측정하기 위해 단일 상승 용량 (SAD) 연구에서 시험하였다 (파트 A). 파트 A는 무작위, 이중-맹검, 위약-대조 SAD 연구였다. 파트 A의 건강한 대상체에게 공복 상태에서 화합물 2 또는 위약의 단일 용량을 제공하였다. 대상체는 제-1일에서 제6일까지 클리닉에 머물렀다.

[0395] 각각의 코호트에서의 투여는 2명의 대상체 (1 활성:1 위약)가, 코호트의 나머지에의 투여 전에, 투여 후 48시간

동안 평가되도록 교차시켰다. 각각의 코호트에게 화합물 2를 오름차순으로 제공하였다. 순차적 코호트의 투여는 이전 코호트의 이용가능한 안전성 데이터 (제5일까지) 및 혈장 약동학적 데이터 (24시간까지)의 검토에 기초하여 이루어졌다.

[0396] 용량 증량은 이들 데이터의 만족스러운 검토 후에 진행되었다. 약동학적 데이터 및 안전성 데이터가 이전 코호트에서 생성되었기 때문에, 코호트 3a-4a에서 평가된 용량은 100 mg 이하의 증분만큼 조정되었다. 파트 A에서 평가된 전체 최대 용량은 800 mg을 초과하지 않았다. 파트 A에 대한 투여 요법을 표 32에 제시한다.

[0397] 표 32. 연구의 파트 A에서의 화합물 2 투여에 대한 투여 요법

코호트	집단	N (활성: 위약)	화합물 2 (화합물 1)*
1a	건강함	6:2	50 (45) mg x 1일
2a	건강함	6:2	100 (90) mg x 1일
3a	건강함	6:2	200 (180) mg x 1일
4a	건강함	6:2	400 (360) mg x 1일

[0398] *임상 용량은 화합물 2와 관련하여, 괄호 안의 대략적 화합물 1 염기 당량과 함께 표현된다

[0400] 연구의 파트 A 부분의 건강한 지원자는 18 내지 65세의 남성 및 여성 대상체였다. 연구 맹검상태 보존을 위해 활성 및 위약 수용자를 각각의 파트 A 코호트 내로 풀링하였다.

[0401] 화합물 2를 또한, GT1-HCV 감염된 환자에서의 그의 안전성, 내약성, 약동학적, 및 항바이러스 활성을 측정하기 위해 단일 상승 용량 (SAD) 연구에서 시험하였다 (파트 B). 파트 B의 대상체에게 공복 상태에서 화합물 2의 단일 용량을 제공하였다. 환자는 제-1일에서 제6일까지 클리닉에 머물렀다.

[0402] 파트 B는 파트 A의 코호트 3a로부터의 안전성 (제5일까지) 및 혈장 약동학적 (24시간까지) 데이터 검토 후에 개시하였다. 후속 파트 B 코호트 등록 전에 파트 B의 제1 코호트 (코호트 1b)에 대해 이용가능한 안전성 데이터 (제5일까지) 및 약동학적 데이터 (24시간까지)를 검토하였다. 후속 파트 B 코호트에는, 파트 A에서의 각각의 용량으로부터의 이용가능한 안전성 및 약동학적 데이터뿐만 아니라 이전 파트 B 코호트로부터의 이용가능한 안전성 (제5일까지)의 검토 후에만 투여하였다.

[0403] HCV-감염된 환자에서의 600 mg까지의 용량 증량은 이들 데이터의 만족스러운 검토 후에 진행되었다. 파트 B에 대한 투여 요법을 표 33에 제시한다.

[0404] 표 33. 연구의 파트 B에서의 화합물 2에 대한 투여 요법

코호트	집단	N (활성)	화합물 2 (화합물 1)*
1b	GT1 HCV-감염됨	3	100 (90) mg x 1일
2b	GT1 HCV-감염됨	3	300 (270) mg x 1일
3b	GT1 HCV-감염됨	3	400 (360) mg x 1일
4b	GT1 HCV-감염됨	3	600 (540) mg x 1일

[0405] *임상 용량은 화합물 2와 관련하여, 괄호 안의 대략적 화합물 1 염기 당량과 함께 표현된다

[0406] HCV에 감염된 환자는 바이러스 로드가 $\geq 5 \log_{10}$ IU/mL인, 치료-나이프, 비-간경변성 GT1-감염된 대상체였다.

[0407] 파트 A 또는 파트 B에서 어떠한 심각한 유해 사건도 기록되지 않았고, 어떠한 조기 중단도 필요하지 않았다. 모든 유해 효과는 강도면에서 경도 내지 중등도였고, 실험실 파라미터, 활력 징후, 및 ECG를 포함하여 어떠한 용량-관련 패턴도 명백하지 않았다.

[0408] 실시예 24. 화합물 2의 단일 상승 용량 (SAD) 연구의 결과

[0409] 화합물 2의 단일 용량 후 화합물 1 및 뉴클레오시드 대사물 1-7의 약동학을 측정하였다. 화합물 2의 600 mg 용량 후 HCV-감염된 환자에서의 대사물 1-7의 C_{24} 최저 혈장 농도 (C_{24h})는 25.8 ng/mL였고, 이는 화합물 2의 300 mg 용량 후 혈장 농도 용량의 2배를 초과하였다. 대사물 1-7 (반응식 1에 제시됨)은 활성 중인 세포내 포스페이트 대사물 1-4, 대사물 1-5, 및 대사물 1-6의 탈인산화를 통해서만 생성될 수 있다. 따라서, 대사물 1-7은 활성 종의 대용물로 간주될 수 있다. 모든 코호트에 대한 약동학적 데이터를 표 34 및 표 35에 제시한다. 중

양값 (범위)을 보고한 T_{max} 를 제외하고, 값은 평균 $\pm$ SD로서 보고된다. 약동학적 파라미터는 건강한 자와 HCV-감염된 환자에서 대등하였다.

표 34. 건강한 지원자에서의 화합물 2의 단일 용량의 투여 후 화합물 1 및 대사물 1-7의 인간 약동학

	용량 (mg)	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (h)	AUC_{tot} (ng*h/mL)	$T_{1/2}$ (h)	C_{24h} (ng/mL)
파트 A, 건강한 대상체						
화합물 1	50	46.4 $\pm$ 17.6	0.5 (0.5-0.5)	36.4 $\pm$ 12.3	0.32 $\pm$ 0.02	--
	100	156 $\pm$ 96.3	0.5 (0.5-1.0)	167 $\pm$ 110	0.53 $\pm$ 0.24	--
	200	818 $\pm$ 443	0.5 (0.5-3.0)	656 $\pm$ 255	0.71 $\pm$ 0.16	--
	400	1194 $\pm$ 401	0.5 (0.5-1.0)	1108 $\pm$ 326	0.86 $\pm$ 0.15	--
대사물 1-7	50	27.9 $\pm$ 5.62	3.5 (3.0-4.0)	285 $\pm$ 69.4	7.07 $\pm$ 4.59	2.28 $\pm$ 0.95
	100	56.6 $\pm$ 14.0	4.0 (3.0-6.0)	663 $\pm$ 242	17.7 $\pm$ 14.7	4.45 $\pm$ 1.87
	200	111 $\pm$ 38.8	5.0 (3.0-6.0)	1524 $\pm$ 497	15.9 $\pm$ 7.95	13.7 $\pm$ 5.09
	400	153 $\pm$ 49.4	6.0 (4.0-8.0)	2342 $\pm$ 598	15.6 $\pm$ 6.37	23.5 $\pm$ 6.31

*24-시간 프로파일에 기초함.

표 35. GT1-HCV 감염된 환자에서의 화합물 2의 투여 후 화합물 1 및 대사물 1-7의 인간 약동학

	용량 (mg)	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (h)	AUC_{tot} (ng*h/mL)	$T_{1/2}$ (h)	C_{24h} (ng/mL)
화합물 1	100	212 $\pm$ 32.0	0.5 (0.5-1.0)	179 $\pm$ 54.4	0.54 $\pm$ 0.12	--
	300	871 $\pm$ 590	0.5 (0.5-1.0)	818 $\pm$ 475	0.64 $\pm$ 0.20	--
	300	2277 $\pm$ 893	0.5 (0.5-1.0)	1856 $\pm$ 1025	0.84 $\pm$ 0.18	--
	400	2675 $\pm$ 2114	1.0 (1.0-2.0)	2408 $\pm$ 1013	0.86 $\pm$ 0.18	--
	600	3543 $\pm$ 1649	1.0 (0.5-1.0)	4132 $\pm$ 1127	0.70 $\pm$ 0.13	--
대사물 1-7	100	50.2 $\pm$ 15.4	6.0 (4.0-6.0)	538 $\pm$ 103*	8.4 $\pm$ 4.3*	3.60 $\pm$ 0.40
	300	96.9 $\pm$ 38.9	6.0 (3.0-6.0)	1131 $\pm$ 273*	8.1 $\pm$ 2.4*	10.9 $\pm$ 3.51
	300	123 $\pm$ 16.6	4.0 (3.0-6.0)	1420 $\pm$ 221	--	18.0 $\pm$ 8.83
	400	160 $\pm$ 36.7	4.0 (4.0-4.0)	2132 $\pm$ 120	11.6 $\pm$ 1.21	22.5 $\pm$ 3.29
	600	198 $\pm$ 19.3	4.0 (4.0-6.0)	2176 $\pm$ 116	--	25.8 $\pm$ 4.08

*24-시간 프로파일에 기초함.

화합물 1 및 대사물 1-7의 평균 혈장 농도-시간 프로파일을 또한 연구의 파트 A 및 파트 B의 모든 코호트에 대해 계산하였다. 도 21은 화합물 2의 단일 용량 후의 화합물 1의 평균 혈장-농도이고, 도 22는 화합물 2의 단일 용량 후의 대사물 1-7의 평균 혈장-농도이다. 도 21에 제시된 바와 같이, 화합물 1은 파트 B로부터의 모든 코호트에서 급속하게 흡수되었고, 신속하고/광범위하게 대사되었다. 도 22에 제시된 바와 같이, 대사물 1-7은 주요 대사물이었고, 지속적인 혈장 농도를 나타내었다. 화합물 1의 혈장 노출은 용량-관련된 한편, 대사물 1-7의 노출은 용량-비례하였다.

파트 B의 HCV-감염된 대상체에 대해, 화합물 2의 투여 전, 투여 동안, 및 투여 후에 HCV RNA 정량화의 측정을

수행하였다. 검증된 상업적 검정을 사용하는 것을 통해 혈장 HCV RNA 결정을 수행하였다. 기준선은 제-1일 및 제1일 (투여전)의 평균으로서 정의하였다. 화합물 2의 단일 300 mg 용량 (화합물 1의 270 mg과 등가)은 GT1b-HCV 감염된 대상체에서 유의한 항바이러스 활성을 발생시켰다. 단일 300 mg 용량 후, 투여 24시간 후의 평균 최대 HCV RNA 감소는 $1.7 \log_{10}$ IU/mL였고, 이는 GT1a HCV-감염된 대상체에서의 400 mg의 소포스부비르 단독요법 1일 후 $-2 \log_{10}$ IU/mL 감소와 비교되었다. 단일 100 mg 용량 후, 투여 24시간 후의 평균 최대 HCV RNA 감소는 $0.8 \log_{10}$ IU/mL였다. 단일 400 mg 용량 후의 평균 최대 HCV RNA 감소는 $2.2 \log_{10}$ IU/mL였다. 연구의 파트 B로부터의 개별 대상체에 대한 개별 약동학적/약역학적 분석을 도 23a-23f에 제시한다. 대사물 1-7 농도를 HCV RNA 감소 농도에 대해 플롯팅하였고, 도 23a-23f에 제시된 바와 같이, 혈장 HCV RNA 감소는 혈장 대사물 1-7 노출과 상관되었다. 바이러스 반응은, GT1b에 대해, EC_{95} 값을 초과하는 대사물 1-7 혈장 농도로 지속되었다. 혈장 농도와 HCV RNA 감소 수준 사이의 상관관계는, 보다 높은 용량의 화합물 2에 의해 보다 현저한 반응이 달성가능할 것임을 나타낸다.

- [0419] 실시예 25. 대사물 1-7의 예측된 정상-상태 최저 수준은 HCV GT 1-4의 임상 분리주에 대한 화합물 1 EC_{95} 값을 초과한다
- [0420] 도 24에 제시된 바와 같이, 인간에서 화합물 2 투여 후 (600 mg QD (550 mg 유리 염기 당량) 및 450 mg QD (400 mg 유리 염기 당량)) 대사물 1-7의 정상-상태 최저 혈장 수준 ($C_{24,ss}$)이 예측되었고, 이를 모든 시험된 임상 분리주에 걸쳐 화합물 1의 EC_{95} 와 시험관내 비교하여 정상 상태 혈장 농도가 EC_{95} 보다 일관되게 더 높은지, 임의의 또는 모든 시험된 임상 분리주에 대해 생체내 높은 효능을 발생시킬 것인지 결정하였다. 화합물 1에 대한 EC_{95} 는 화합물 2의 EC_{95} 와 동일하다. 화합물 2가 효과적이기 위해서는, 대사물 1-7의 정상-상태 최저 혈장 수준이 EC_{95} 를 초과해야 한다.
- [0421] 도 24에 제시된 바와 같이, 모든 시험된 임상 분리주에 대한 화합물 2의 EC_{95} 는 대략 18 내지 24 nM 범위였다.
- [0422] 도 24에 제시된 바와 같이, 인간에서 450 mg QD (400 mg 유리 염기 당량) 용량의 화합물 2는 대략 40 ng/mL의 예측된 정상 상태 최저 혈장 농도 ($C_{24,ss}$)를 제공한다. 인간에서 600 mg QD (550 mg 유리 염기 당량) 용량의 화합물 2는 대략 50ng/mL의 예측된 정상 상태 최저 혈장 농도 ($C_{24,ss}$)를 제공한다.
- [0423] 따라서, 대용물 대사물 1-7의 예측된 정상 상태 혈장 농도는 모든 시험된 임상 분리주 (심지어 치료가 어려운 GT3a)에 대해 EC_{95} 의 거의 2배이고, 이는 뛰어난 성능을 나타낸다.
- [0424] 대조적으로, 표준 관리 뉴클레오타이드 소포스부비르의 EC_{95} 는 모든 시험된 HCV 임상 분리주에 걸쳐 50 내지 265 nM 범위이고, EC_{95} 는 400 mg의 상업적 투여량에서 오직 2종의 분리주, GT2a 및 GT2b에 대해서만 예측된 정상 상태 농도보다 더 낮다. 소포스부비르의 400 mg의 상업적 투여량에 대한 EC_{95} 는 다른 임상 분리주, GT1a, GT1b, GT3a, GT4a, 및 GT4d의 경우 예측된 정상 상태 농도보다 더 높다.
- [0425] 화합물 2 450 mg 정상 상태 최저 혈장 농도 ($C_{24,ss}$)를 300 mg 정상 상태 최저 혈장 농도 ($C_{24,ss}$)를 사용하여 예측하였다. 300 mg에서의 평균 정상 상태 최저 혈장 농도 ($C_{24,ss}$)는 26.4 ng/mL였고, 따라서 $26.4 \times 450 / 300 = 39.6$ ng/mL로 계산된다.
- [0426] 600 mg 정상 상태 최저 혈장 농도 ($C_{24,ss}$)는 3가지 접근법을 사용하여 예측하였다: 1) 600 mg 제1일 C_{24} 평균은 25.8 ng/mL였고, 60% 증가는 정상 상태에 도달한 것으로 가정됨. 따라서 $25.8 \times 1.6 = 41.3$ ng/mL로 계산됨; 2) 400 mg 제1일 C_{24} 평균은 22.5 ng/mL였고, 60% 증가는 정상 상태에 도달한 것으로 가정됨. 용량 비례 PK를 고려하면, $22.5 \times 1.6 \times 600 / 400 = 54$ ng/mL로 계산됨; 3) 300 mg 정상 상태 최저 혈장 농도 ($C_{24,ss}$)는 26.4 ng/mL였고, 비례 PK가 가정됨. 따라서 $26.4 \times 2 = 52.8$ ng/mL로 계산됨. 600 mg 정상 상태 최저 혈장 농도 ($C_{24,ss}$)는 3개의 데이터 포인트의 평균이다 ($(41.3 + 54 + 52.8) / 3 = 49.3$ ng/mL). 단일 용량 후 C_{24} 와 비교하여 정상 상태에서 C_{24} 에서 일반적으로 약 60% 증가가 존재한다.
- [0427] 도 24에서 효능 및 약동학적 정상 상태 파라미터를 비교한 데이터는 C형 간염의 치료를 위한 화합물 2의 예상외의 치료상 중요성을 분명하게 입증한다. 실제로, 화합물 2의 투여 후 예측된 정상-상태 혈장 수준은 시험된 모

은 유전자형에 대해 EC₉₅보다 적어도 2-배 더 높은 것으로 예측되고, GT2에 대해서는 3- 내지 5-배 더 강력하다. 이러한 데이터는 화합물 2가 인간에서 강력한 범-유전자형 항바이러스 활성을 갖는다는 것을 나타낸다. 도 24에 제시된 바와 같이, GT1, GT3, 및 GT4에 대한 소포스부비르의 EC₉₅는 100 ng/mL 초과이다. 따라서 놀랍게도, 화합물 2는 유사한 투여 형태의 소포스부비르에 의해 달성되는 정상-상태 최저 농도 (대략 100 ng/mL)보다 더 낮은 정상-상태 최저 농도 (40-50 ng/mL)를 전달하는 투여 형태에서 HCV에 대해 활성이다.

[0428] 실시예 26. 제제화 기재 및 화합물 2의 제조

[0429] 화합물 2 정제 (50 mg 및 100 mg)를 위한 대표적인 비제한적 배치 조성을 표 36에 제시한다. 정제를 도 25에 제시된 바와 같이 직접 압축 공정을 사용하여 통상의 블렌드로부터 생성하였다. 활성 제약 성분 (API)을 검정 그 자체에 기초하여 조정하였고, 조정은 미세결정질 셀룰로스의 백분율로 이루어졌다. API 및 부형제 (미세결정질 셀룰로스, 락토스 1수화물, 및 크로스카르멜로스 소듐)를 스크리닝하고, V-블렌더 (PK 블렌드마스터(PK Blendmaster), 0.5L 보울)에 넣고, 25 rpm에서 5분 동안 혼합하였다. 이어서 스테아르산마그네슘을 스크리닝하고, 첨가하고, 블렌드를 추가로 2분 동안 혼합하였다. 통상의 블렌드를 50 mg 및 100 mg 정제를 생성하는데 사용하기 위해 나누었다. 이어서 유효화한 블렌드를 단일 펀치 연구용 정제 프레스 (코르쉬(Korsch) XP1) 및 중력 분말 공급기를 사용하여 10개 정제/분의 속도로 압축하였다. 원형 표준 오목 6 mm 도구 및 3.5 kN 강도를 사용하여 50 mg 정제를 생성하였다. 100 mg 정제는 8 mm 원형 표준 오목 도구 및 3.9-4.2 kN 강도를 사용하여 생성하였다.

[0430] 표 36. 50 mg 및 100 mg 화합물 2 정제의 제제화

원료	% w/w	g/배치	Mg/단위	
			50 mg 정제	100 mg 정제
화합물 2	50.0	180.0	50.0	100.0
미세결정질 셀룰로스, USP/NF, EP	20.0	72.0	20.0	40.0
락토스 1수화물, USP/NF, BP, EP, JP	24.0	86.4	24.0	48.0
크로스카르멜로스 소듐, USP/NF, EP	5.0	18.0	5.0	10.0
스테아르산마그네슘, USP/NF, BP, EP JP	1.0	3.6	1.0	2.0
총			100.0	200.0

[0431]

[0432] 화합물 2를 검정 그 자체에 기초하여 조정하였고, 조정은 미세결정질 셀룰로스의 백분율로 이루어졌다. 화합물 2 및 부형제 (미세결정질 셀룰로스, 락토스 1수화물, 및 크로스카르멜로스 소듐)를 스크리닝하고, V-블렌더 (PK 블렌드마스터, 0.5L 보울)에 넣고, 25 rpm에서 5분 동안 혼합하였다. 이어서 스테아르산마그네슘을 스크리닝하고, 첨가하고, 블렌드를 추가로 2분 동안 혼합하였다. 통상의 블렌드를 50 mg 및 100 mg 정제를 생성하는데 사용하기 위해 나누었다. 이어서 유효화한 블렌드를 단일 펀치 연구용 정제 프레스 (코르쉬 XP1) 및 중력 분말 공급기를 사용하여 10개 정제/분의 속도로 압축하였다. 원형 표준 오목 6 mm 도구 및 3.5 kN 강도를 사용하여 50 mg 정제를 생성하였다. 100 mg 정제는 8 mm 원형 표준 오목 도구 및 3.9-4.2 kN 강도를 사용하여 생성하였다. 50 mg 및 100 mg 정제의 세부사항을 표 37에 제시한다.

[0433] 표 37. 화합물 2의 50 mg 및 100 mg 정제의 세부사항

	50 mg 정제	100 mg 정제
평균 중량 (n=10)	100 ± 5 mg	200 ± 10 mg
개별 중량	100 ± 10 mg	200 ± 20 mg
경도	5.3 kp	8.3 kp
붕해	< 15분	< 15분
마손도	NMT 0.5%	NMT 0.5%

[0434]

[0435] 상기 기재된 바와 같이 생성된 50 mg 및 100 mg 정제를 3가지 조건: 5℃ (냉장온도), 25℃/60% RH (주위), 및 40℃/75% RH (가속) 하에서의 6개월 안정성 연구에 적용하였다. 50 mg 및 100 mg 정제 둘 다는 시험된 모든 3가지 조건 하에 화학적으로 안정하였다.

[0436]

냉장온도 조건 (5℃) 하에, 50 mg 및 100 mg 정제는 둘 다 T=0에서 T=6개월까지 외관상 변화되지 않고 백색 고체로 유지되었다. 6-개월 연구 내내, 50 mg 정제 또는 100 mg 정제에 대해 0.05%를 초과하는 불순물은 보고되지 않았다. 6개월 후 물 함량은 또한 둘 다의 정제에 대해 3.0 % w/w 미만이었다. 정제를 주위 조건 (25℃/60% RH)에 적용한 경우에 유사한 결과가 보고되었고; 0.05%를 초과하는 불순물은 둘 다의 정제에 대해 6개월 내내 보고되지 않았고, 물 함량은 6-개월 지점에 3.0 % w/w를 초과하지 않았다. 정제를 가속 조건 (40℃/75% RH)에 적용한 경우, 50 mg 및 100 mg 정제의 외관은 백색, 원형 정제에서 변화되지 않았다. 3개월 후에 1종의 불순물이 보고되었지만, 불순물은 단지 0.09%였다. 제2 불순물이 6개월 후에 보고되었지만, 총 불순물 백분율은 50 mg 및 100 mg 정제 둘 다에 대해 단지 0.21%였다. 물 함량은 50 mg 정제의 경우 6개월째에 3.4 % w/w였고, 100 mg 정제의 경우 3.2 % w/w였다.

[0437]

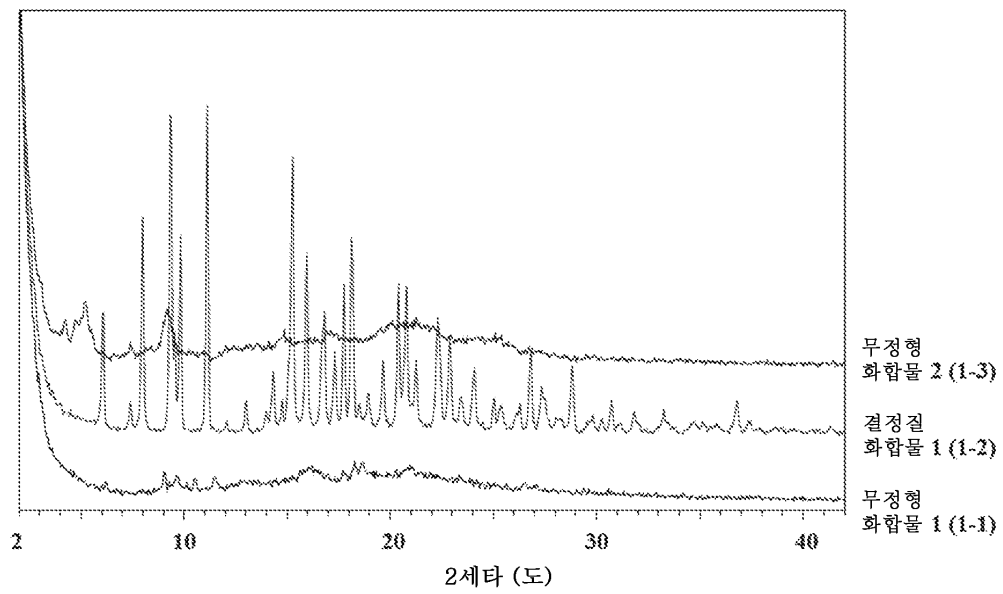
별개의 연구에서, 주위 조건 (25℃/60% RH)에서 화합물 2의 50 mg 및 100 mg 정제의 안정성을 9개월에 걸쳐 측정하였다. 50 mg 및 100 mg 정제의 외관은 9개월의 과정에 걸쳐 백색 원형 정제에서 변화되지 않았다. 50 mg 정제에서의 불순물은 9개월 후 0.10% 미만이었고, 100 mg 정제에서의 불순물은 0.05% 미만이었다. 50 mg 정제 및 100 mg 정제의 물 함량은 9개월 후 단지, 각각 2.7 % w/w 및 2.6 % w/w였다.

[0438]

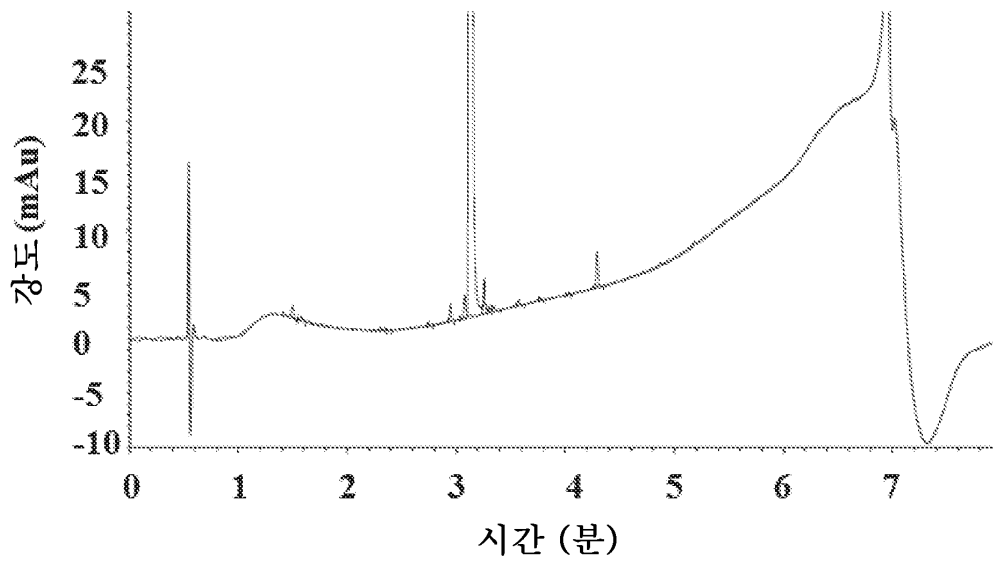
본 명세서는 본 발명의 실시양태와 관련하여 기재되었다. 그러나, 관련 기술분야의 통상의 기술자는 하기 청구 범위에 제시된 바와 같은 본 발명의 범주를 벗어나지 않으면서 다양한 변형 및 변화가 이루어질 수 있다는 것을 인지한다. 따라서, 본 명세서는 제한적 관점이 아니라 예시적 관점으로 간주되어야 하며, 모든 이러한 변형은 본 발명의 범주 내에 포함되는 것으로 의도된다.

도면

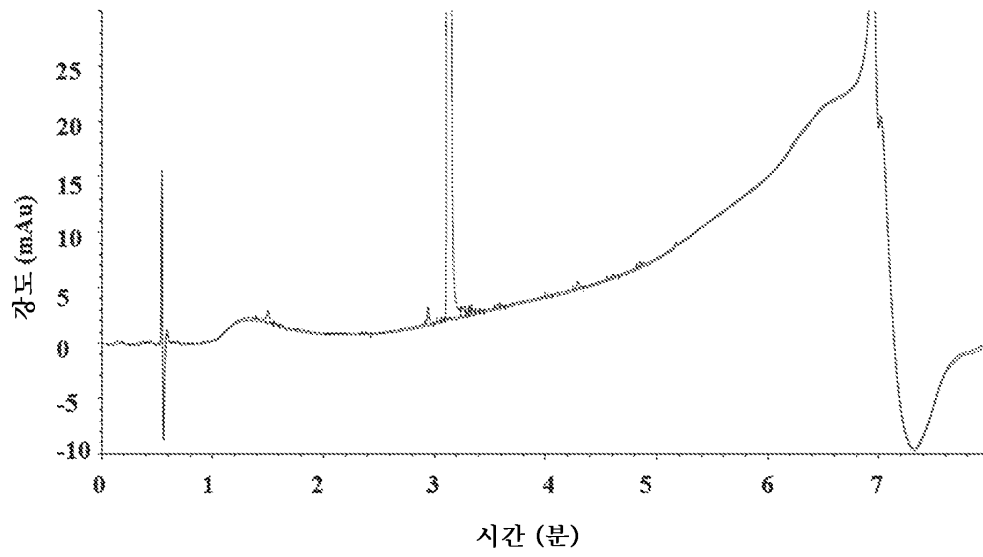
도면1a



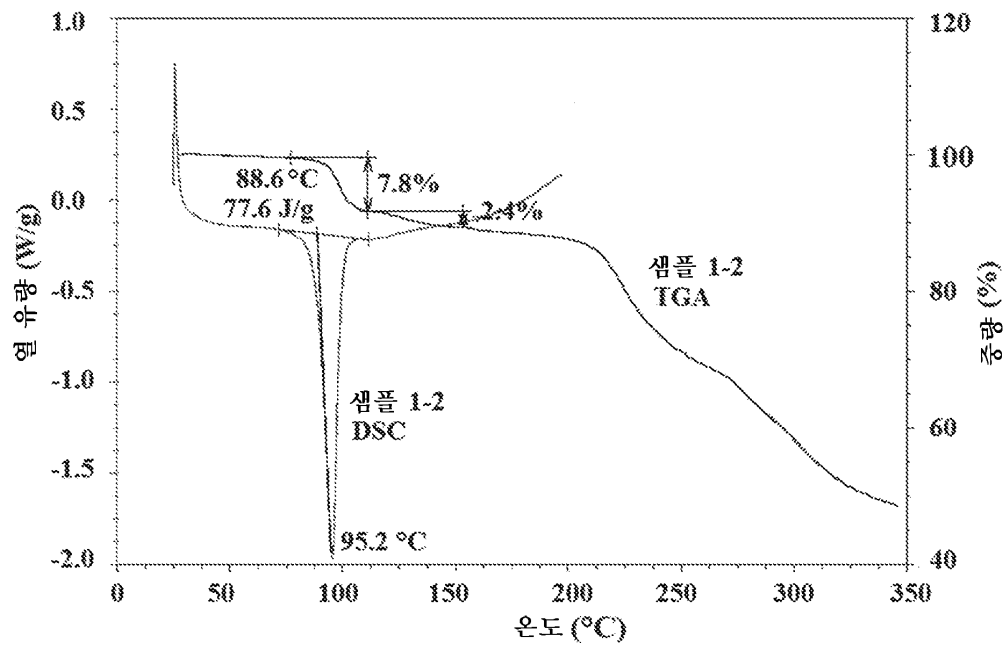
도면1b



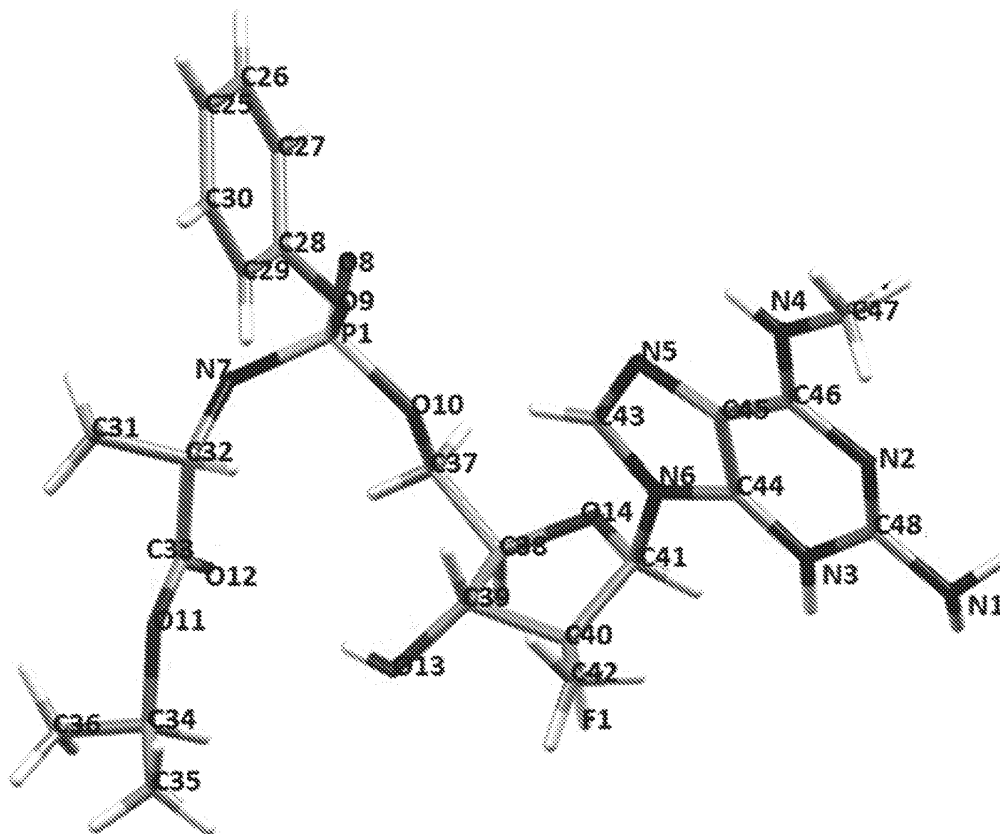
도면2a



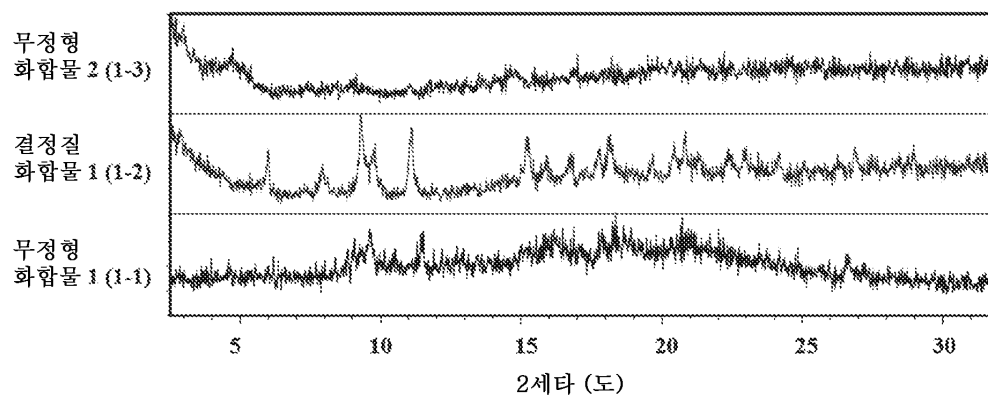
도면2b



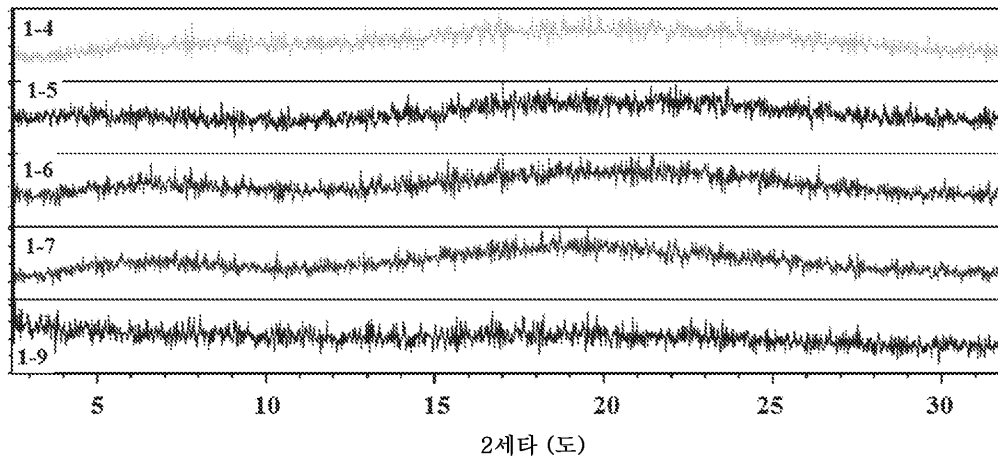
도면3



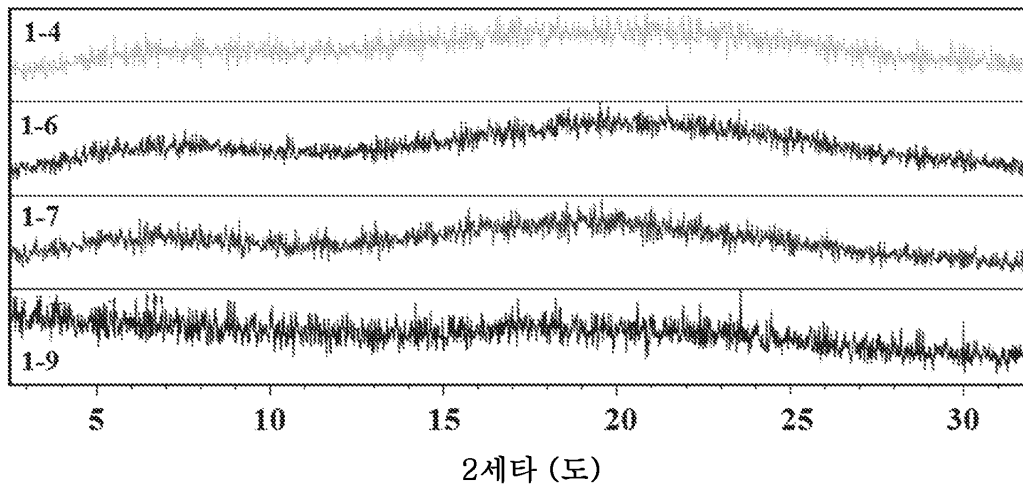
도면4a



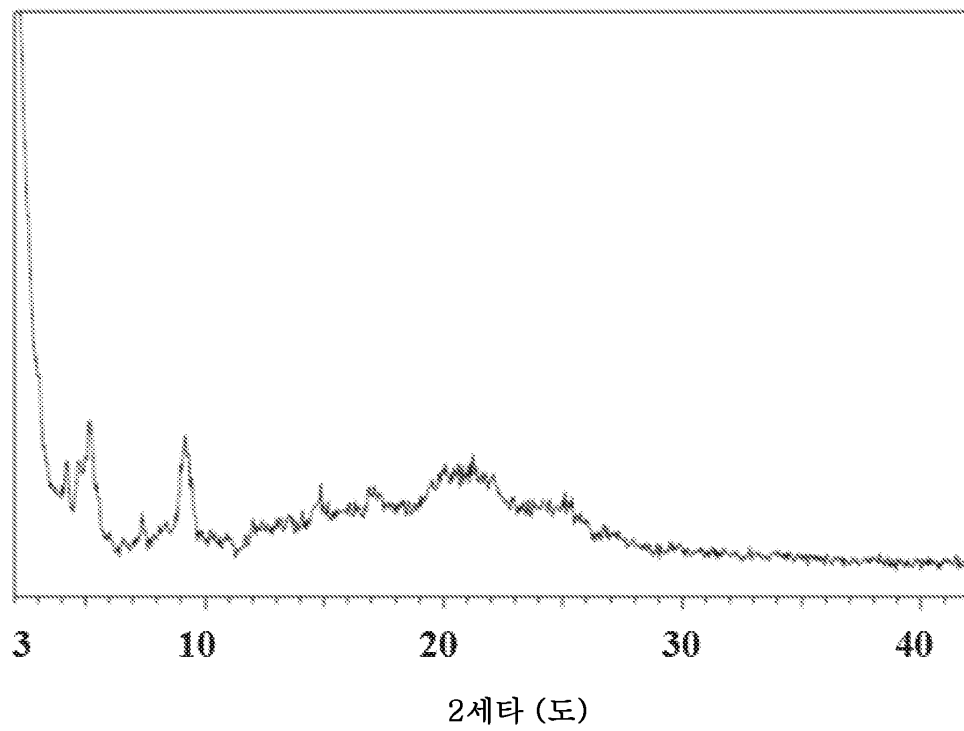
도면4b



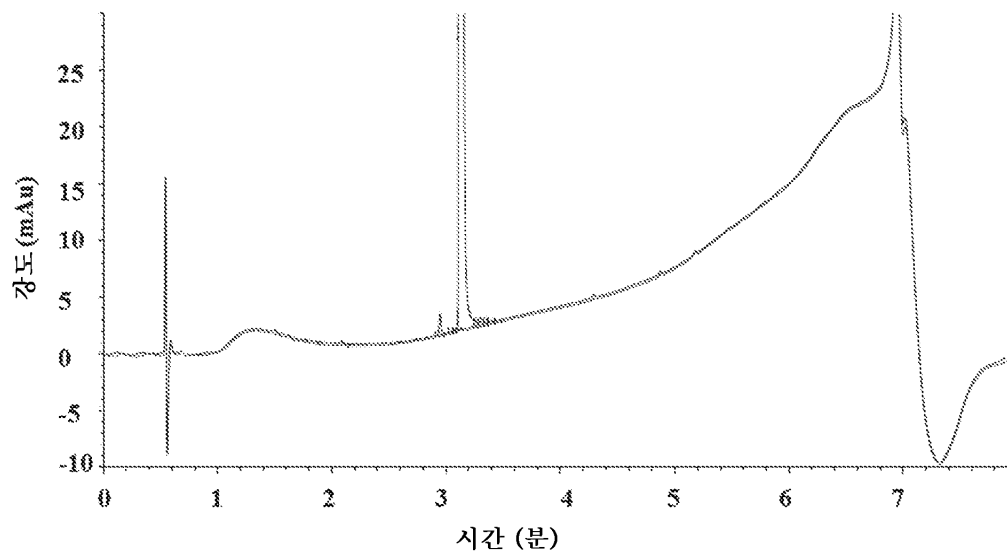
도면5a



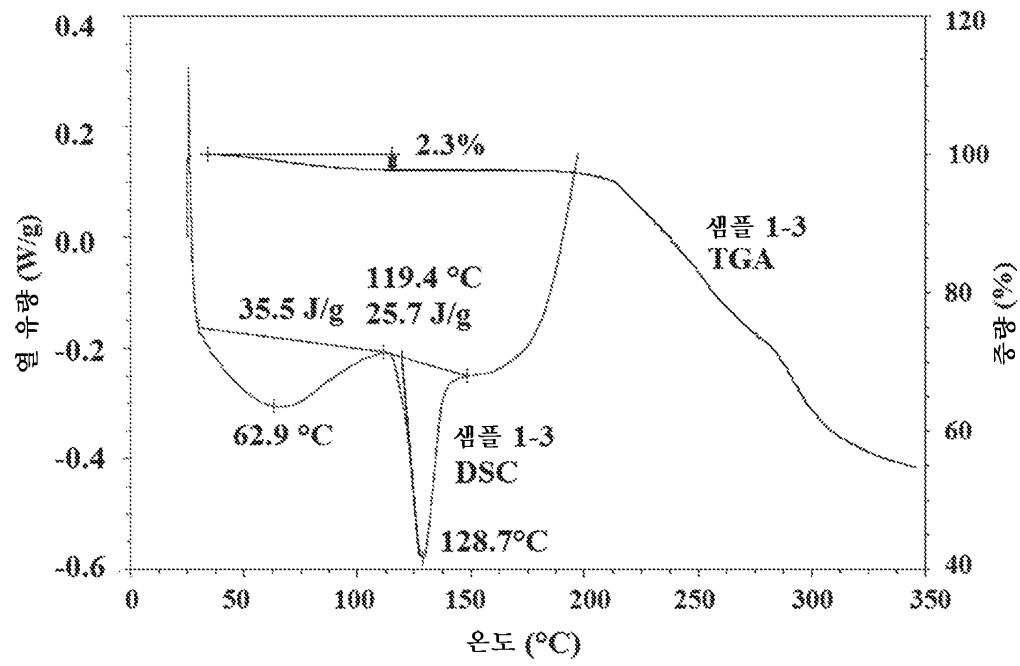
도면5b



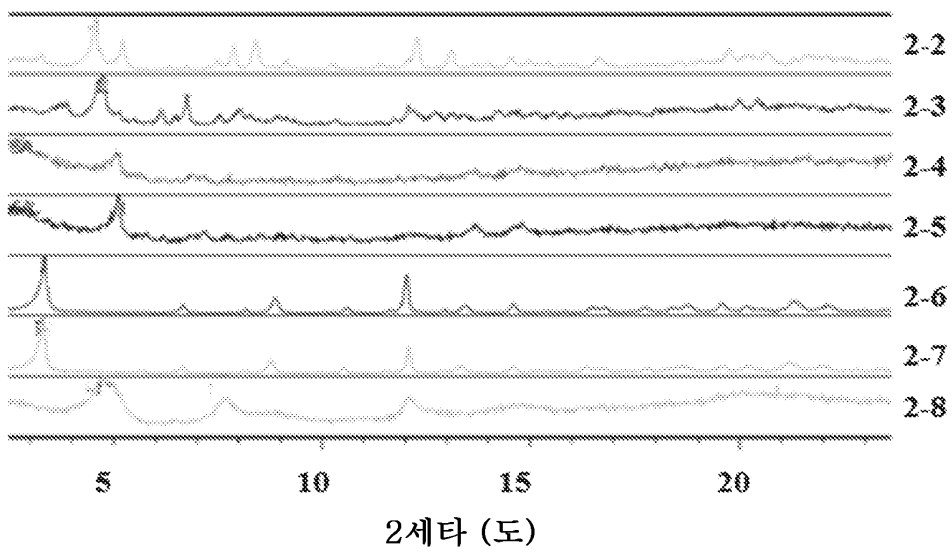
도면6a



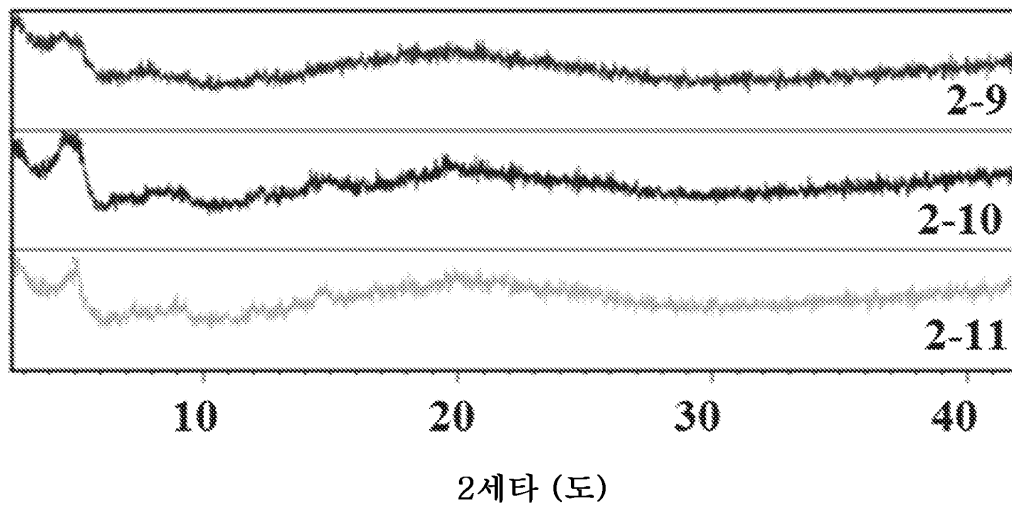
도면6b



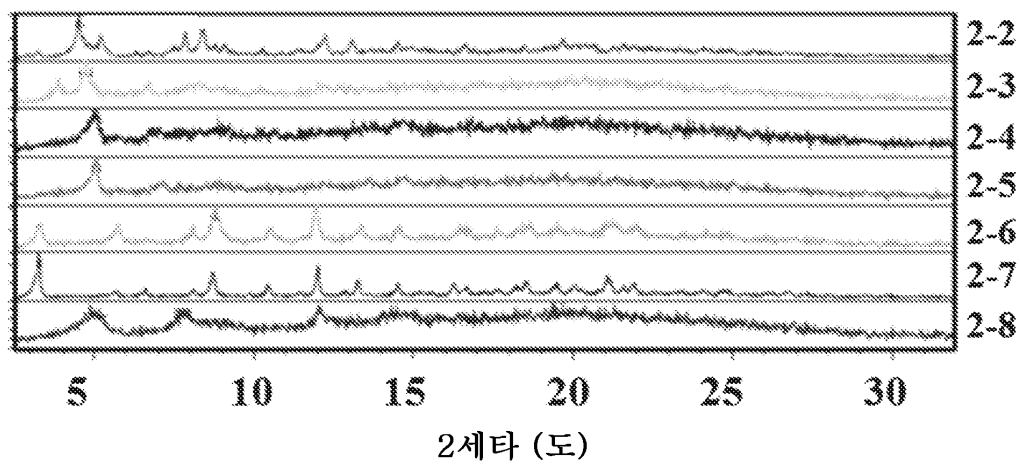
도면7a



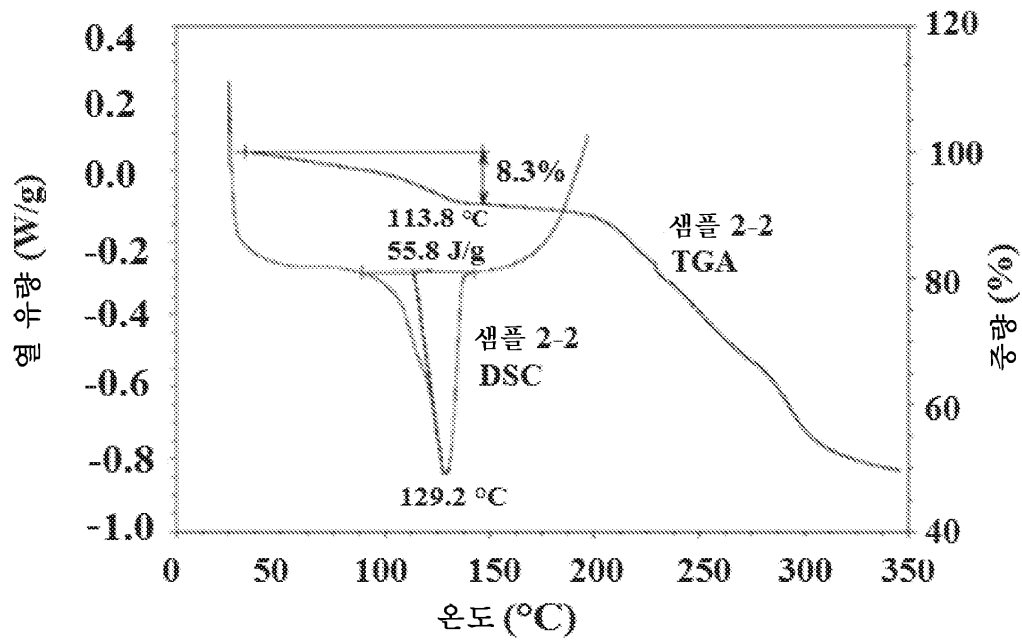
도면7b



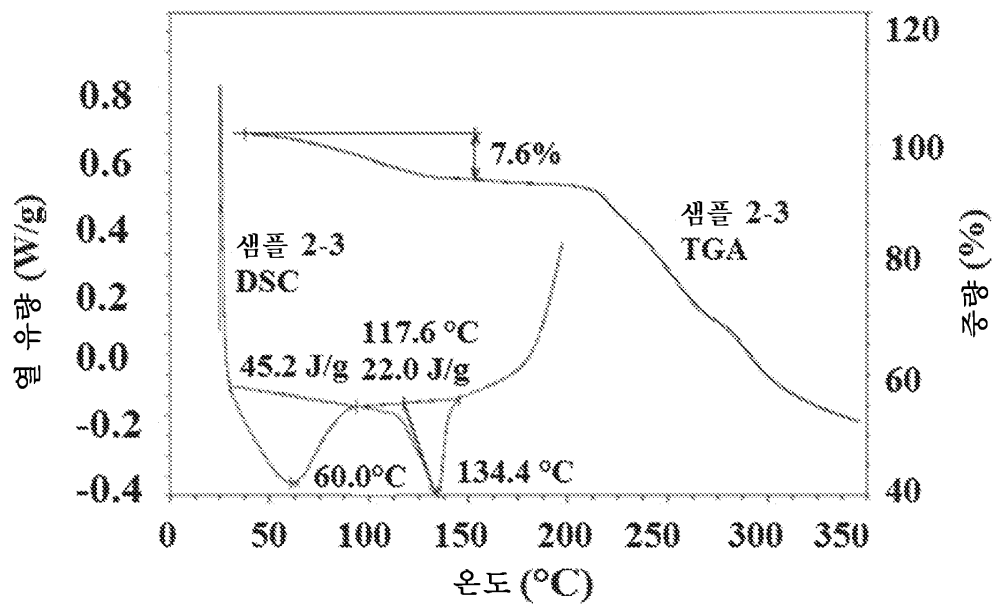
도면8a



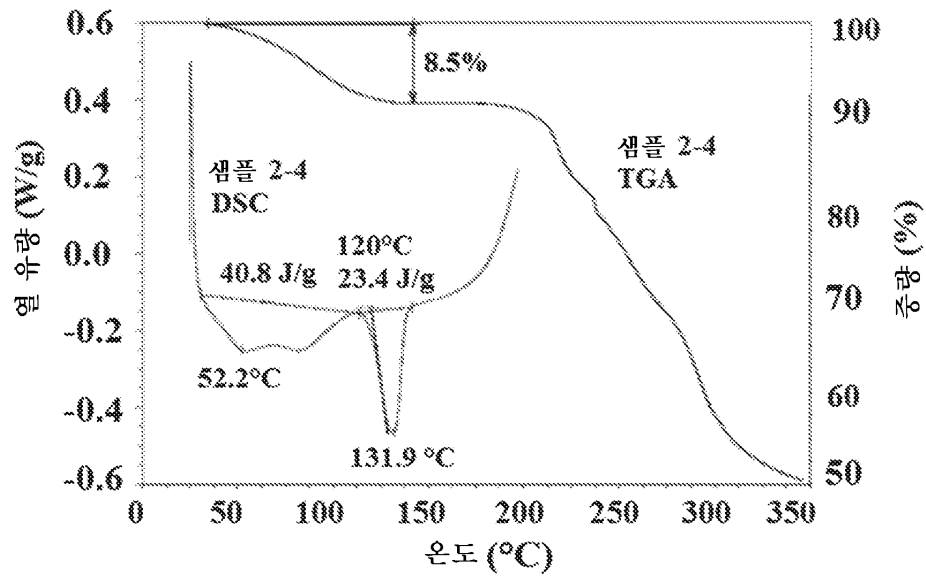
도면8b



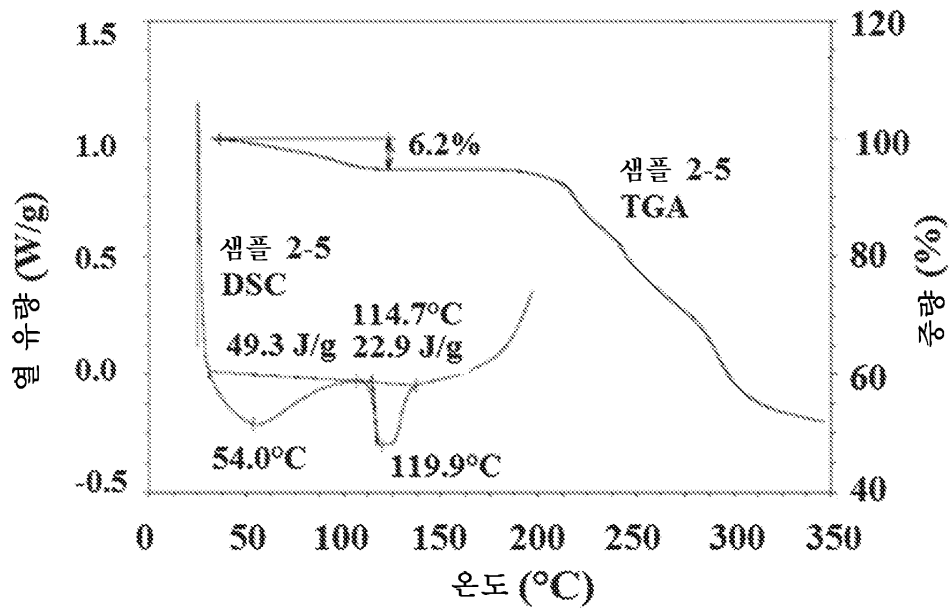
도면9a



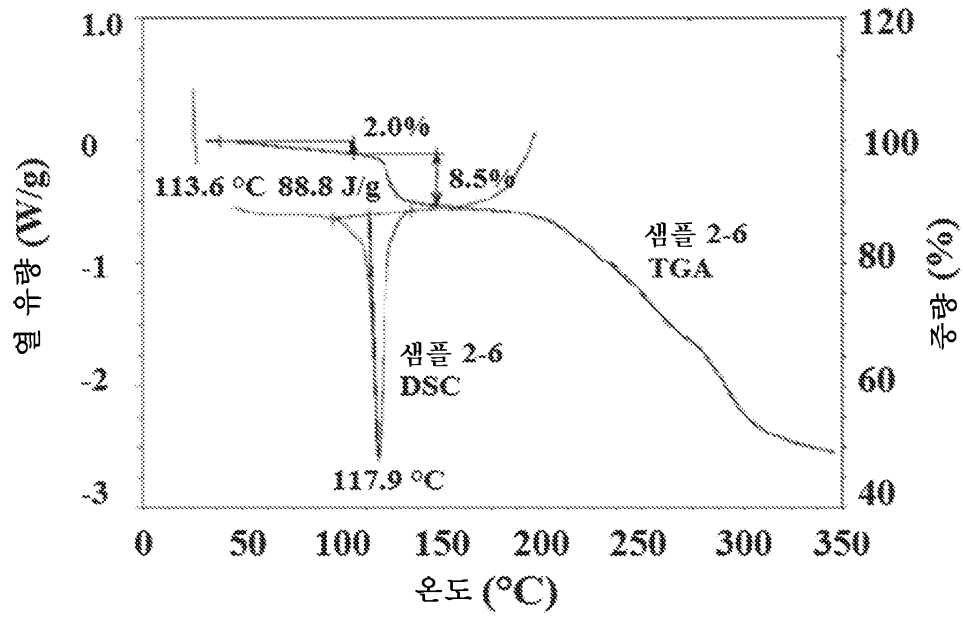
도면9b



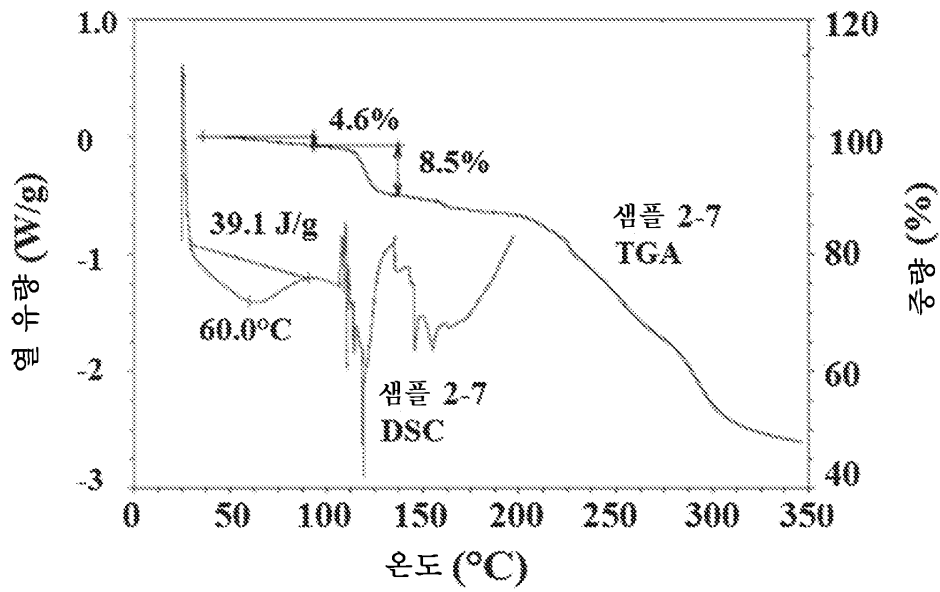
도면10a



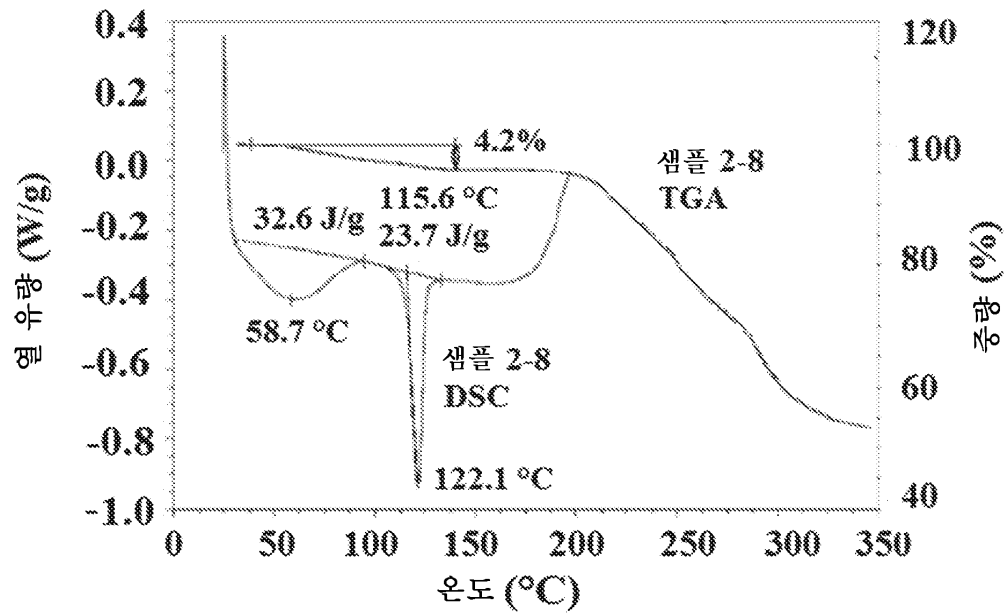
도면10b



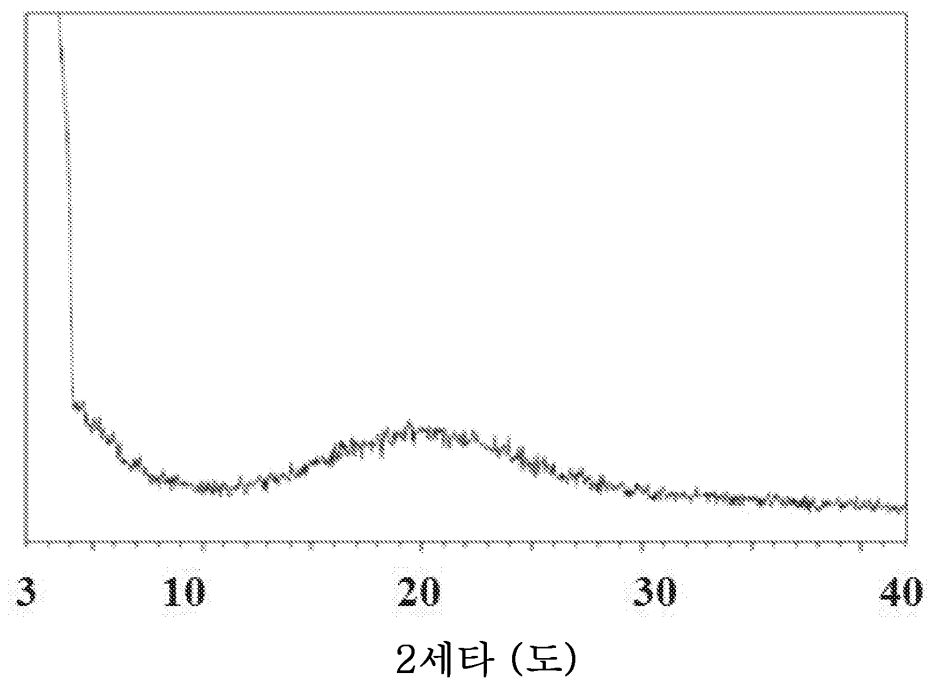
도면11a



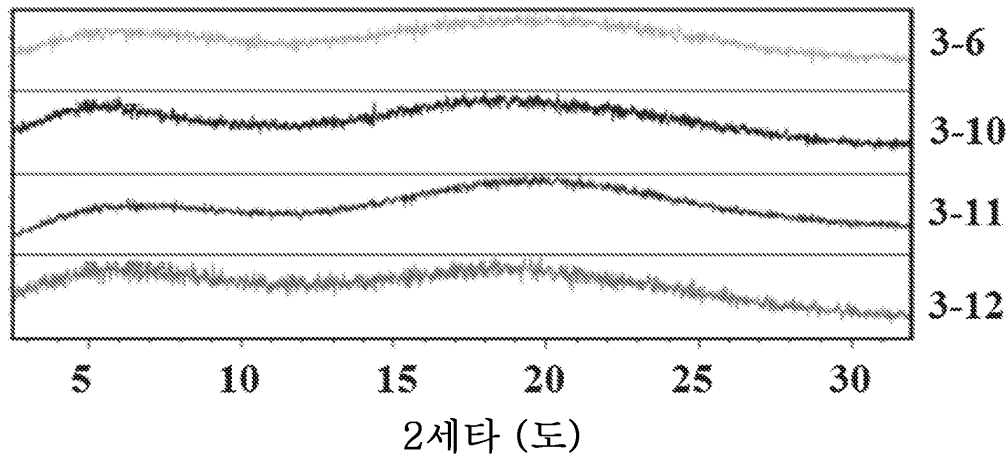
도면11b



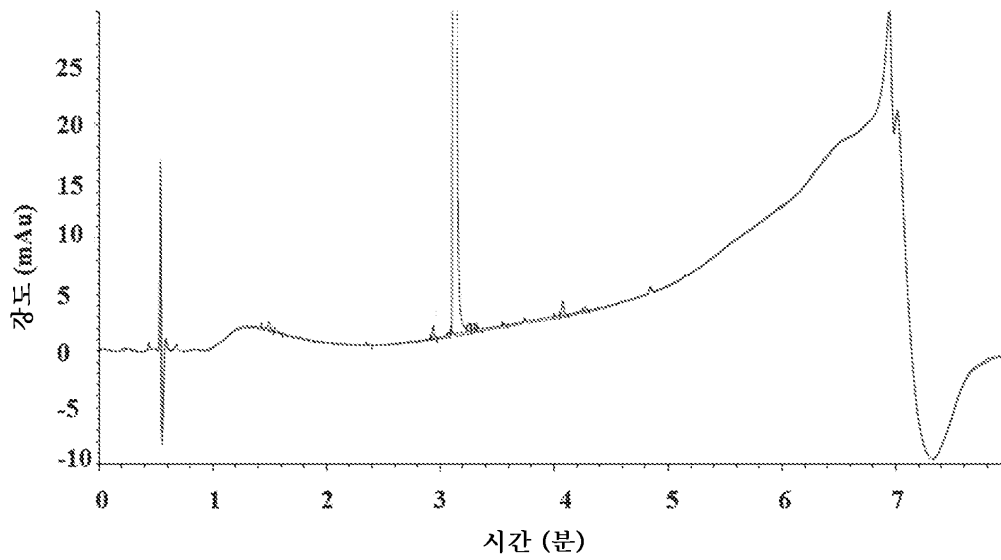
도면12a



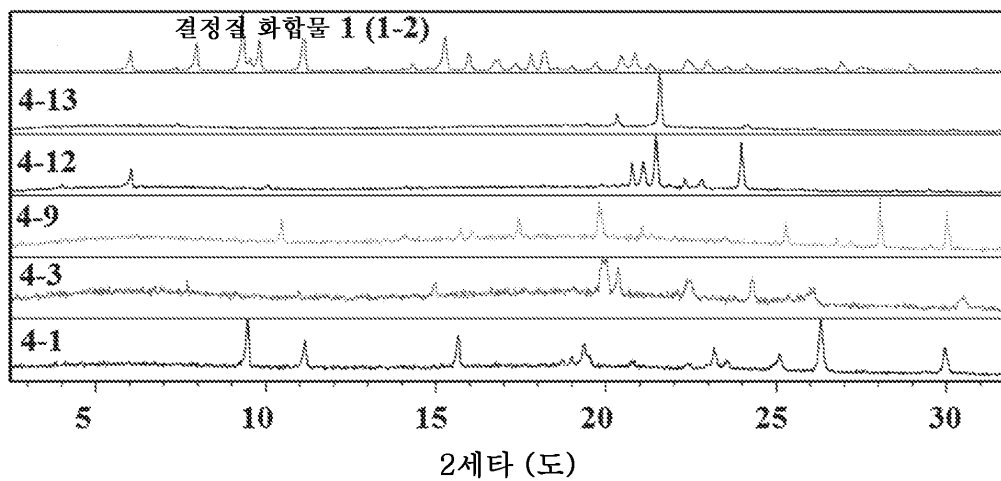
도면12b



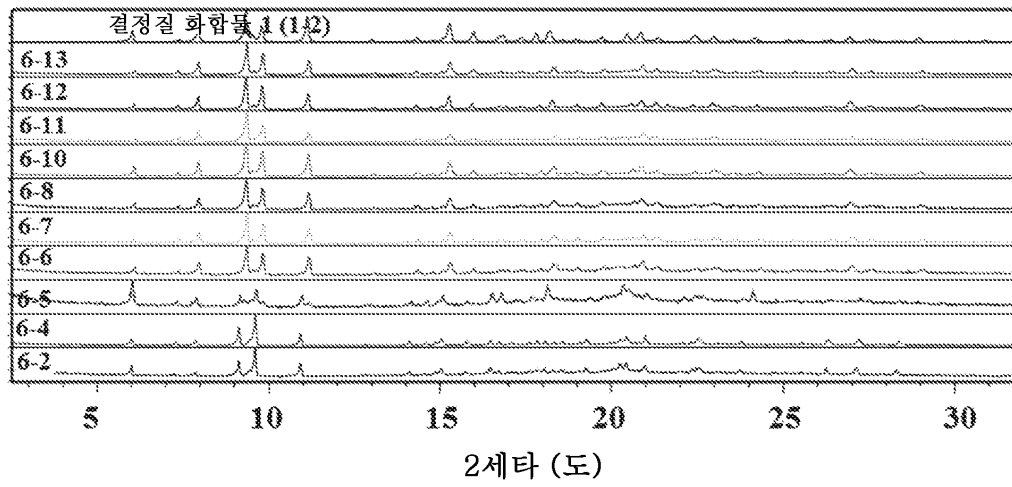
도면13a



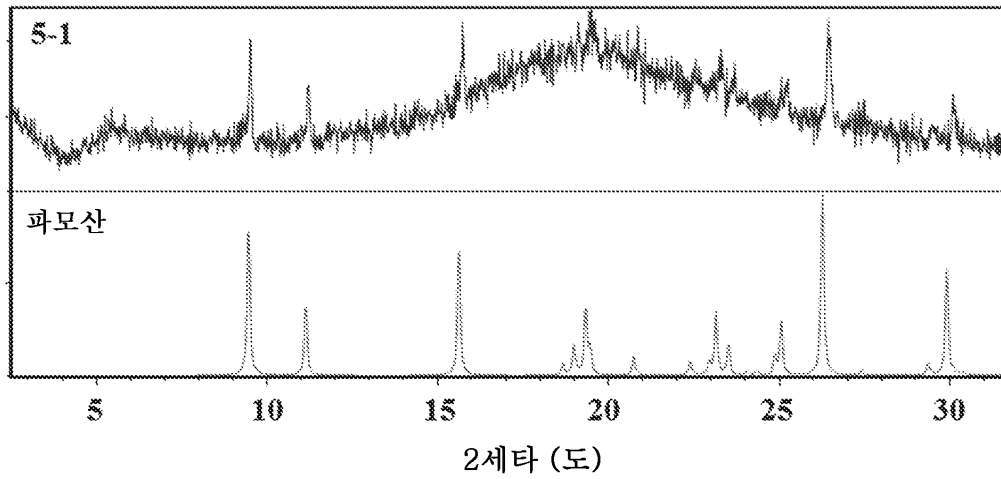
도면13b



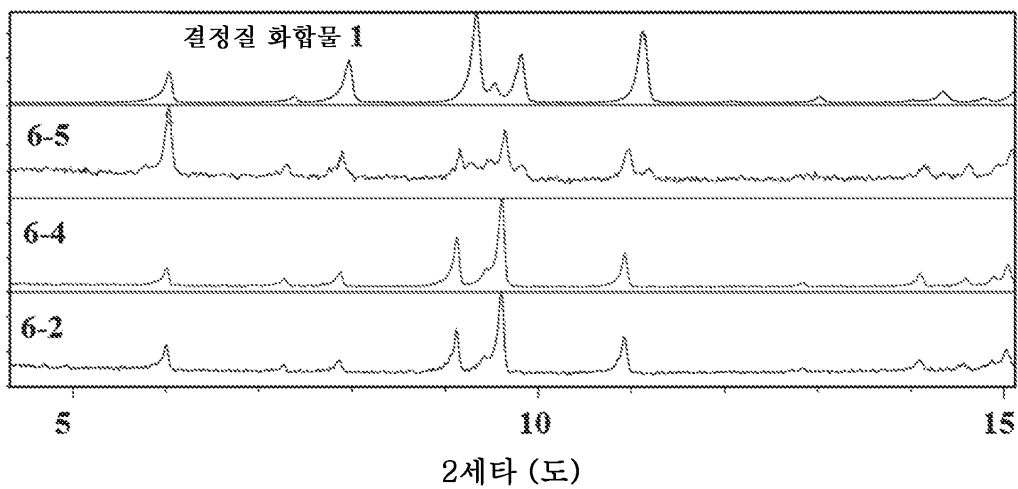
도면14a



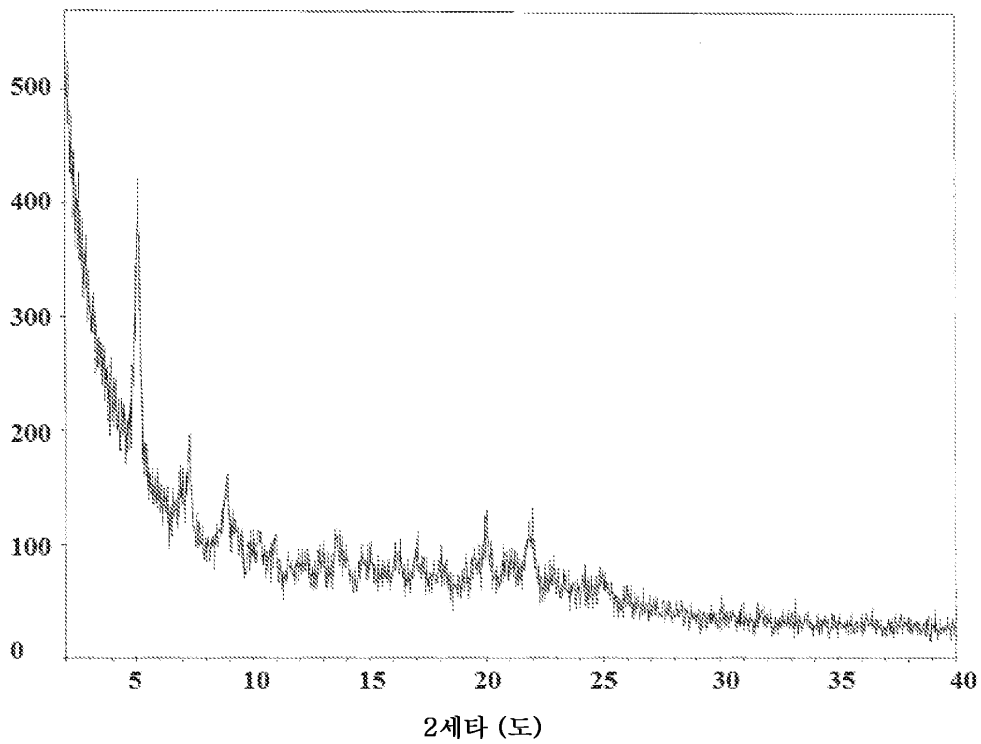
도면14b



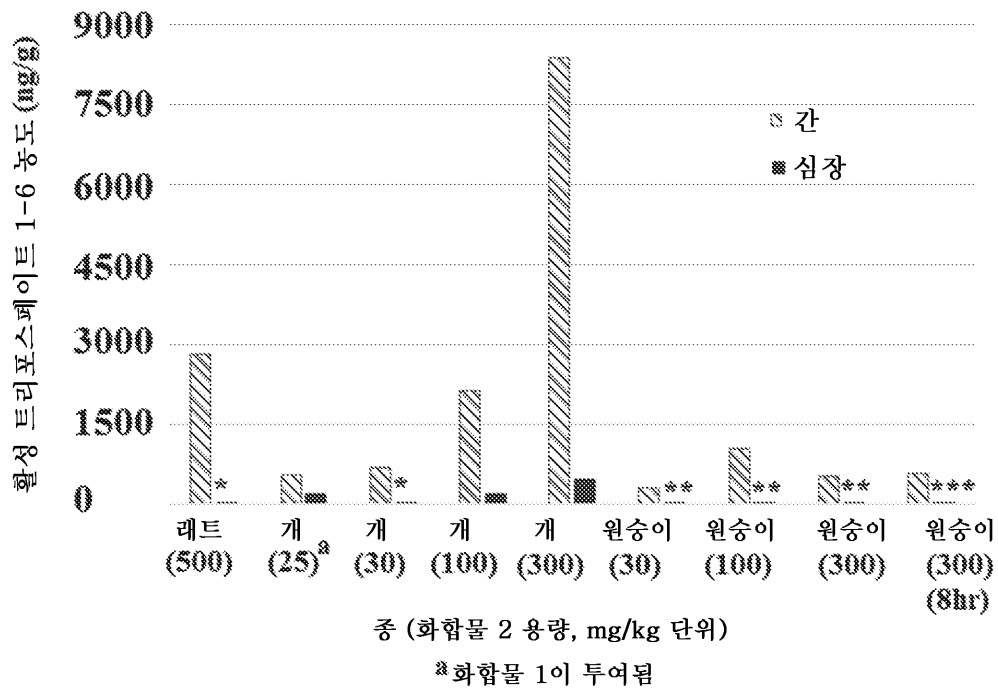
도면15a



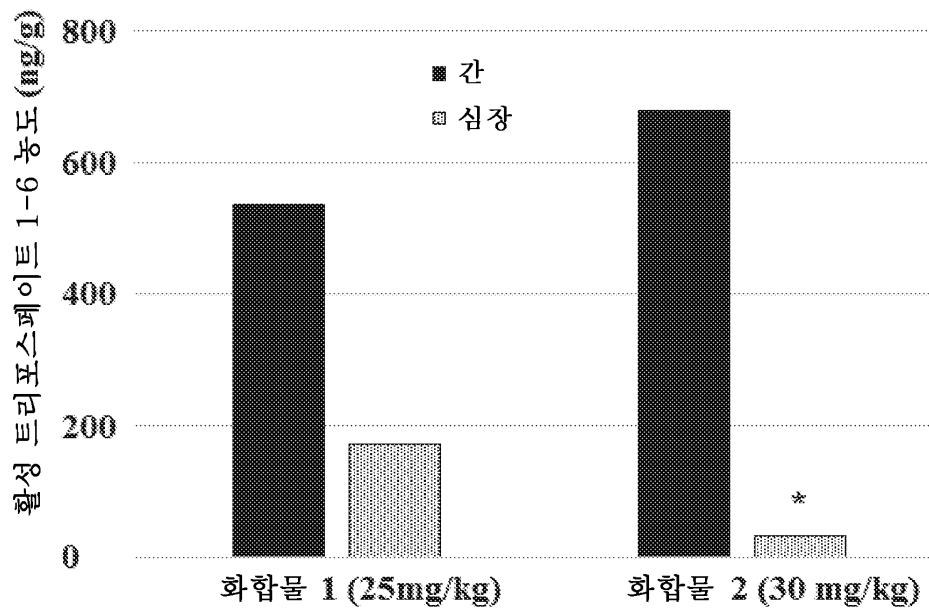
도면15b



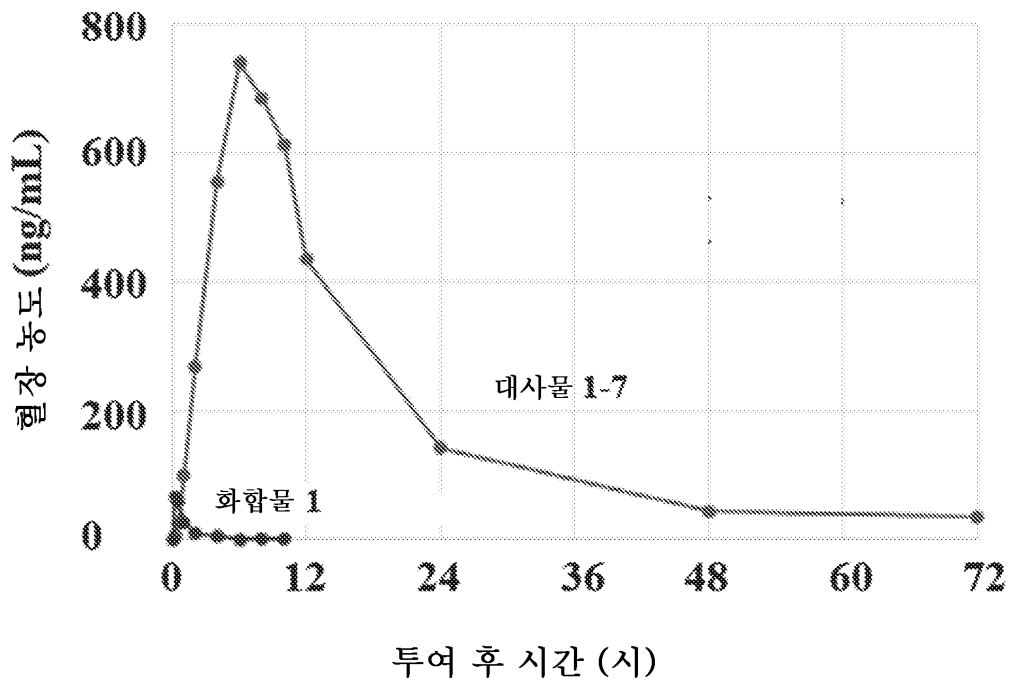
도면16a



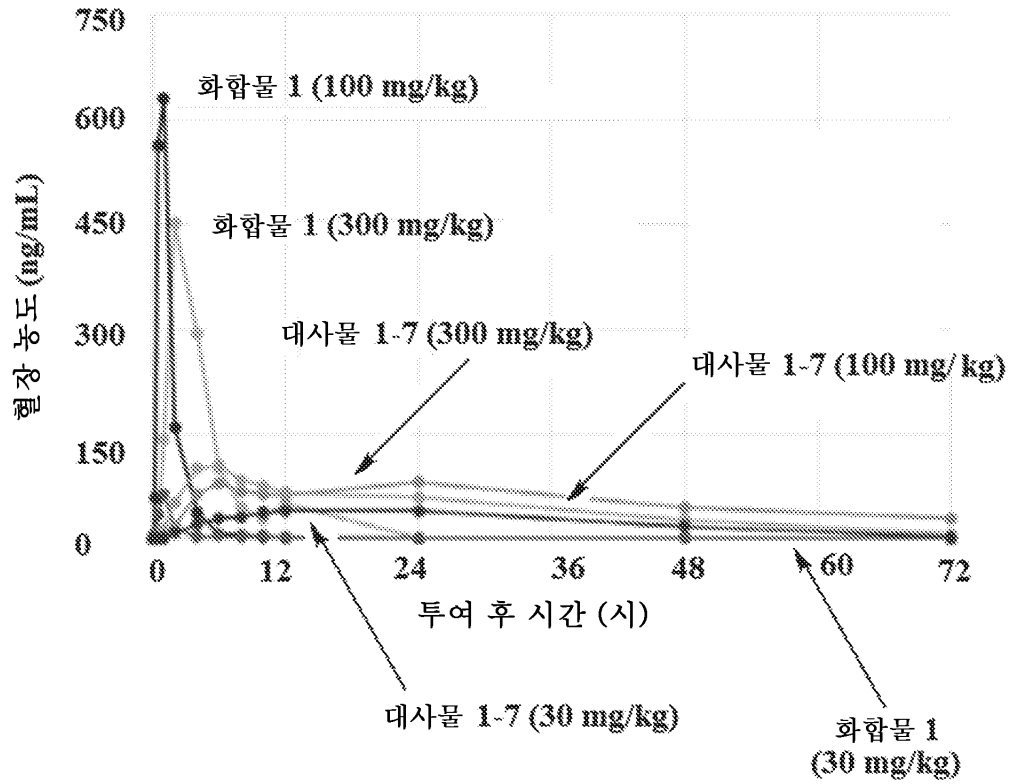
도면16b



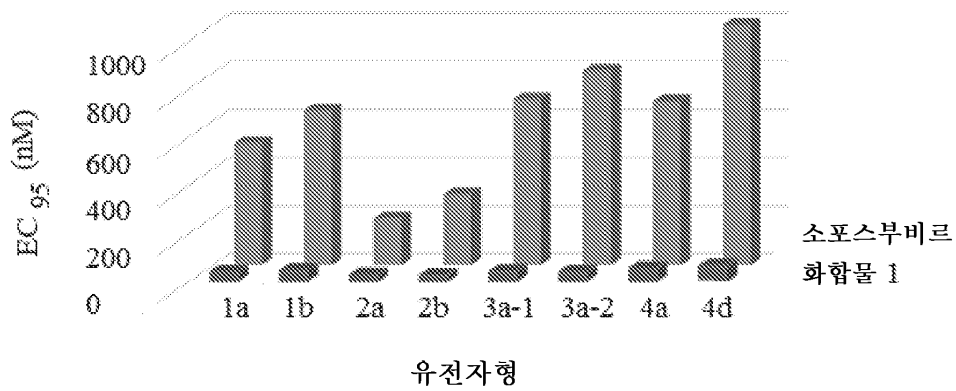
도면17



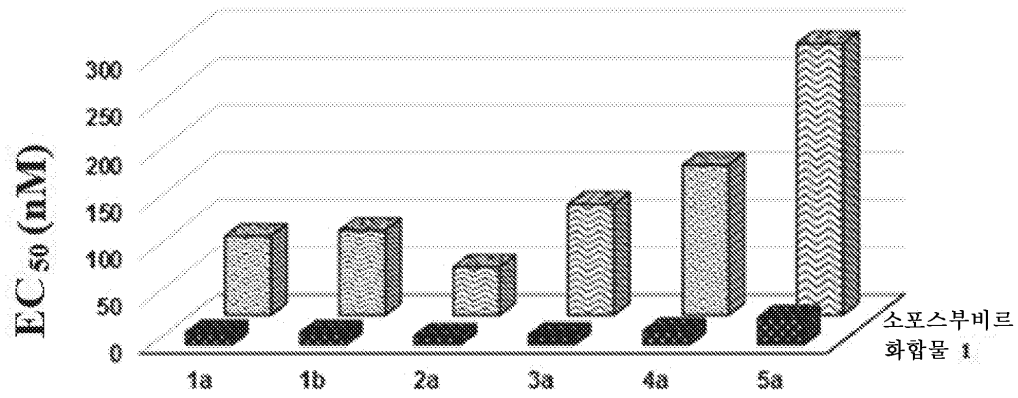
도면18



도면19

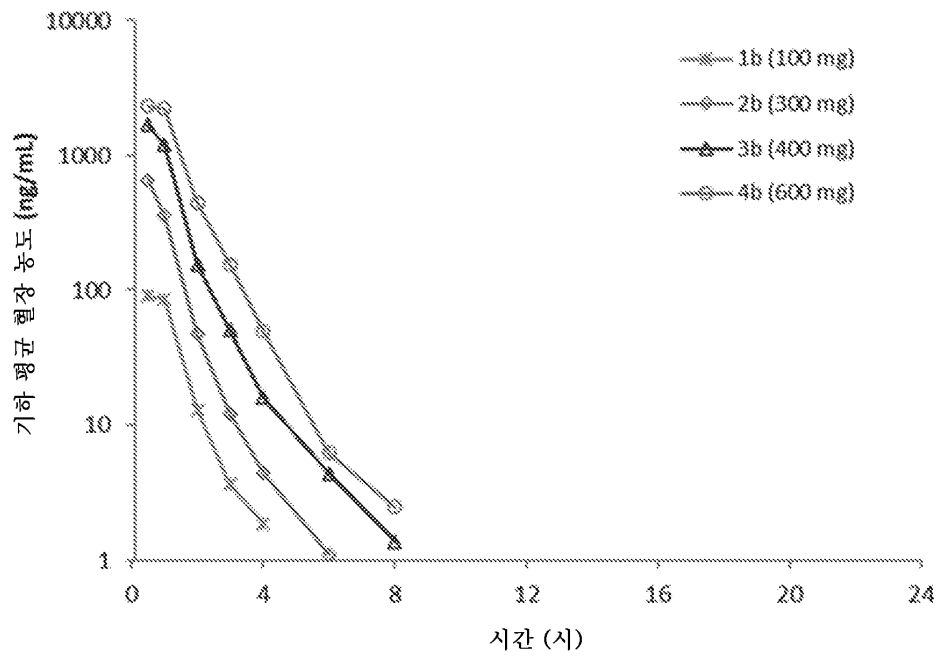


도면20



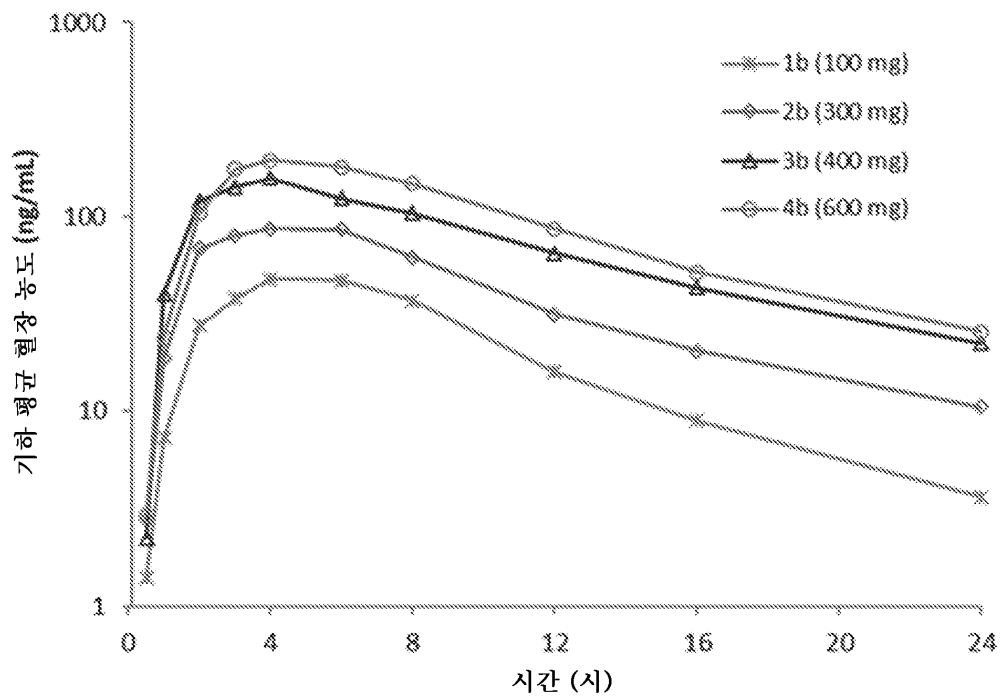
도면21

화합물 1의 혈장 PK



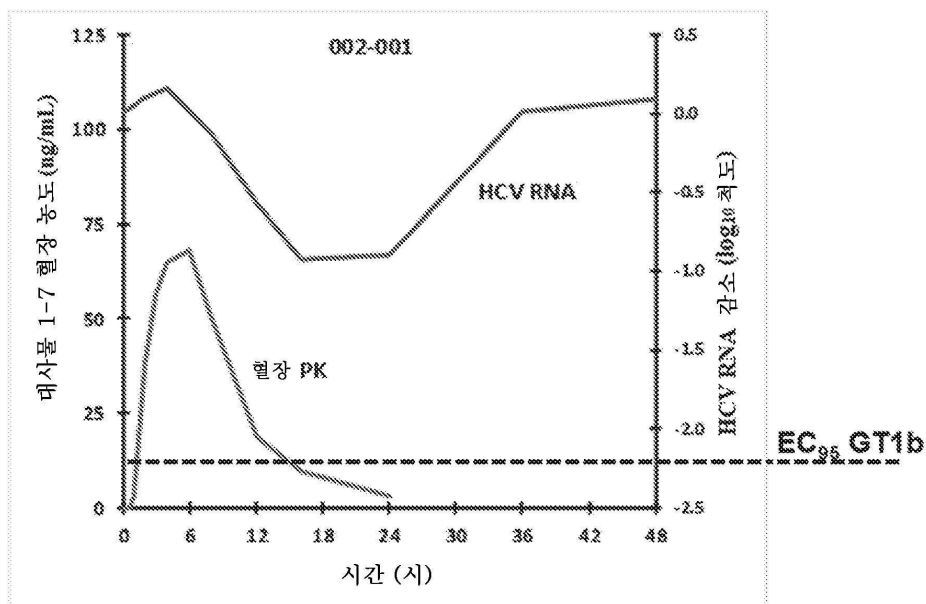
도면22

대사물 1-7의 혈장 PK

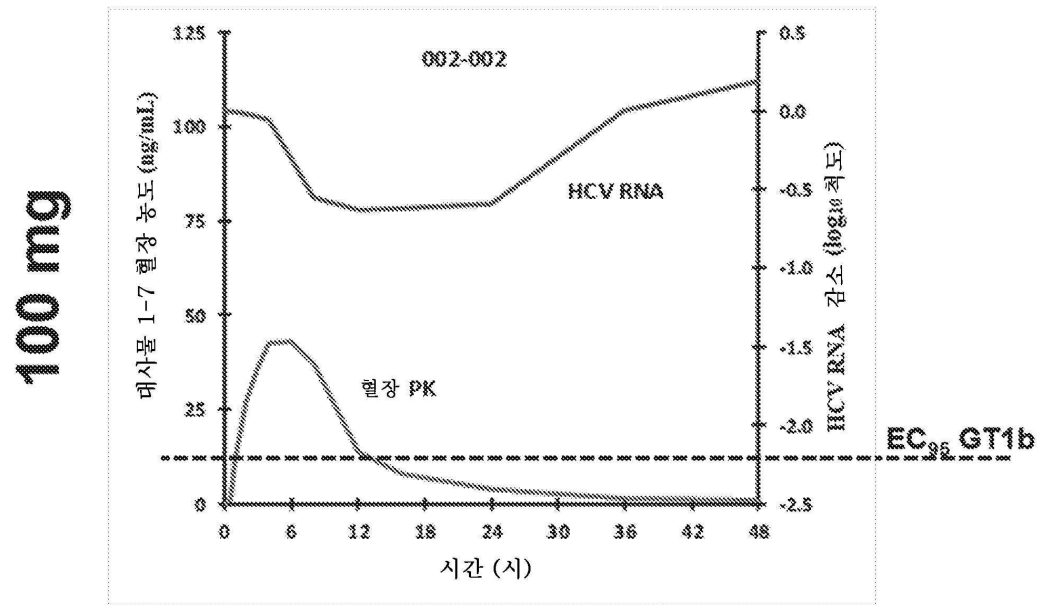


도면23a

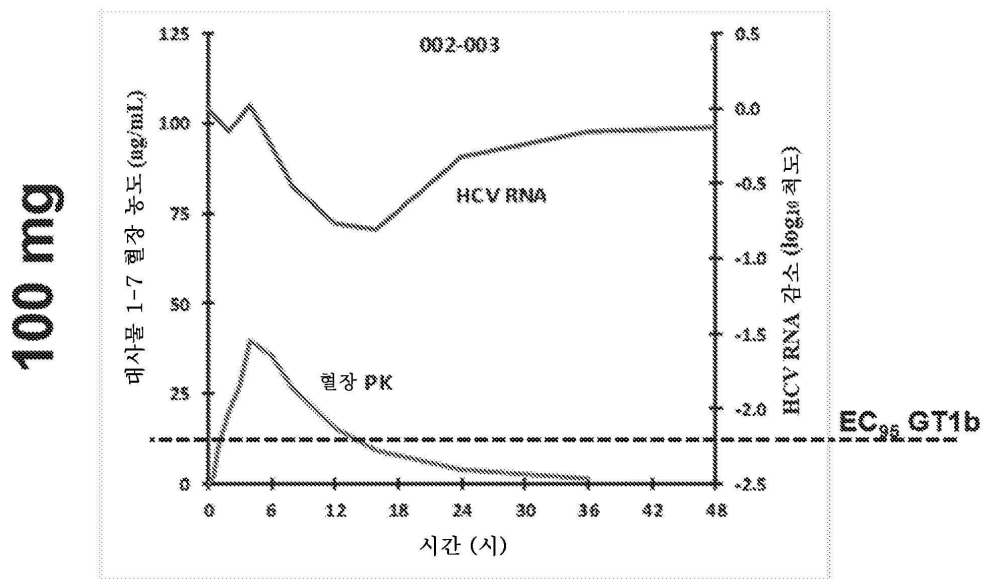
100 mg



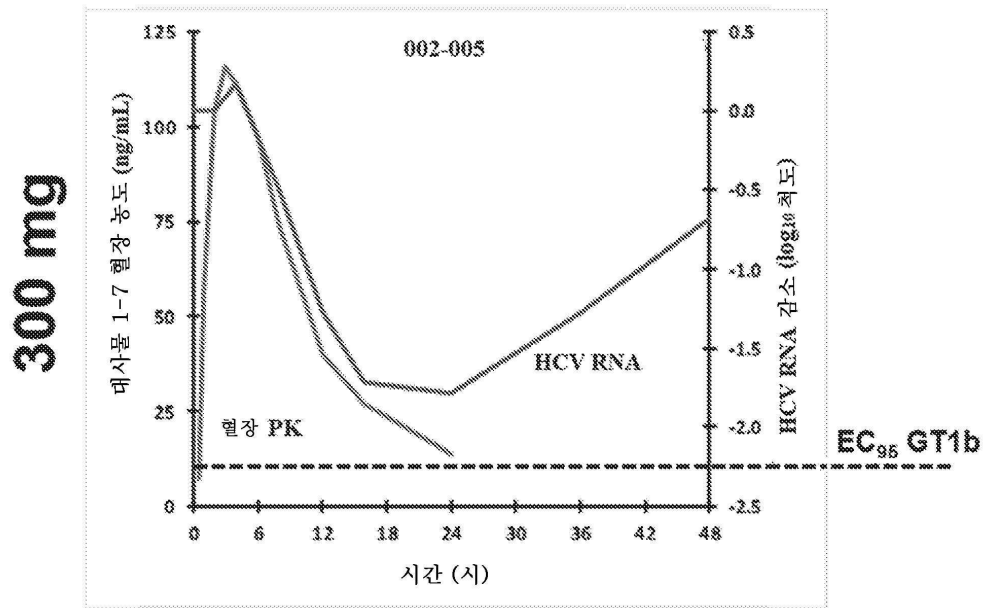
도면23b



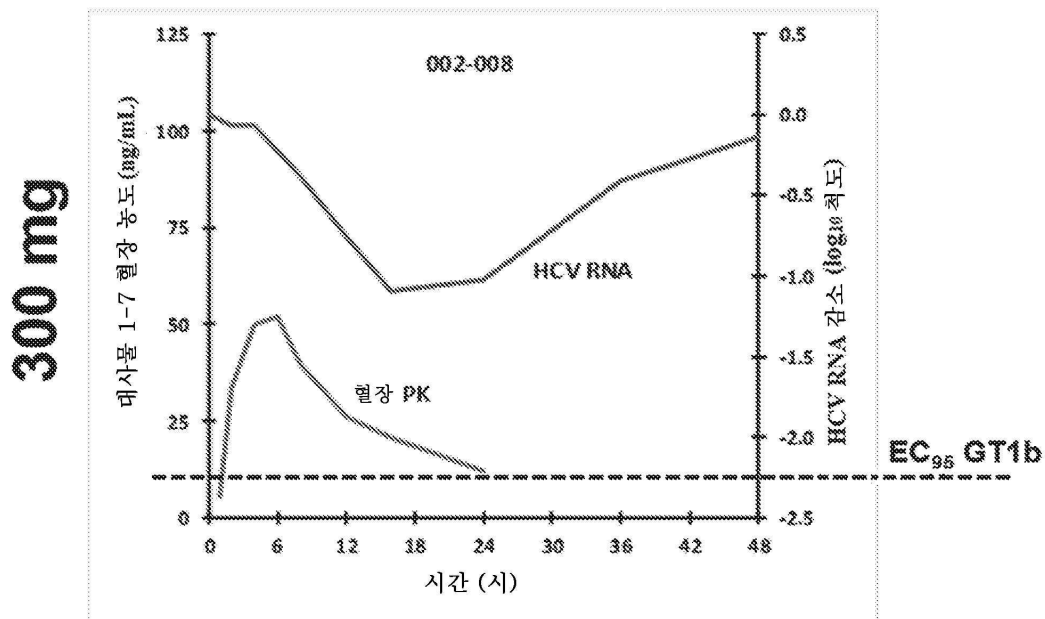
도면23c



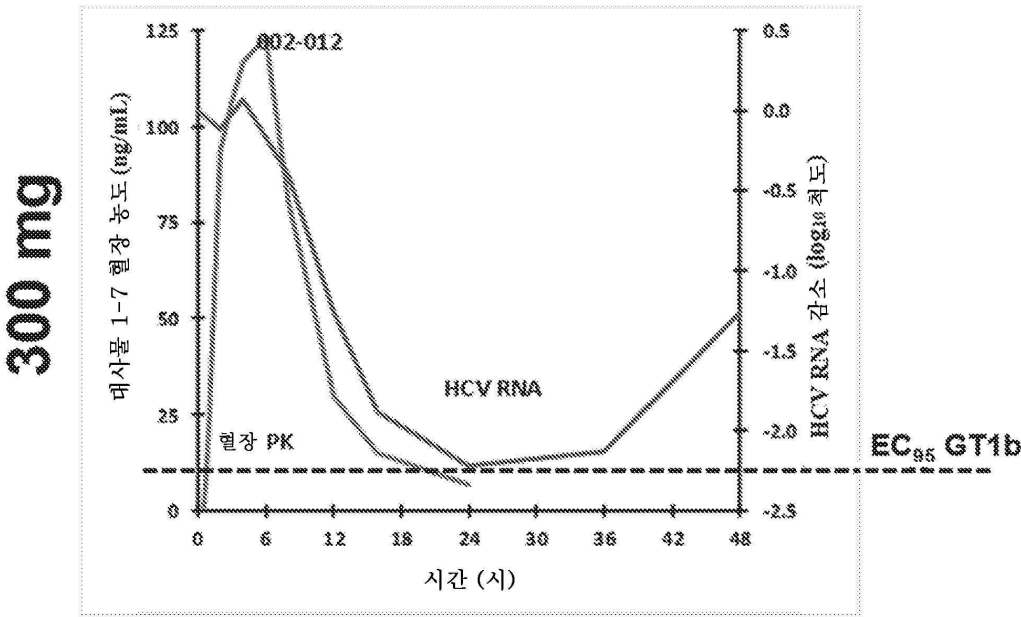
도면23d



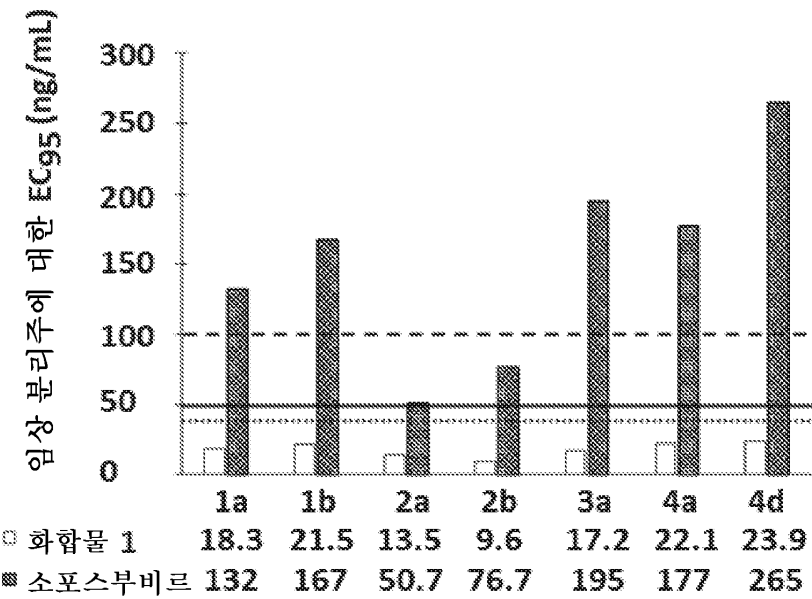
도면23e



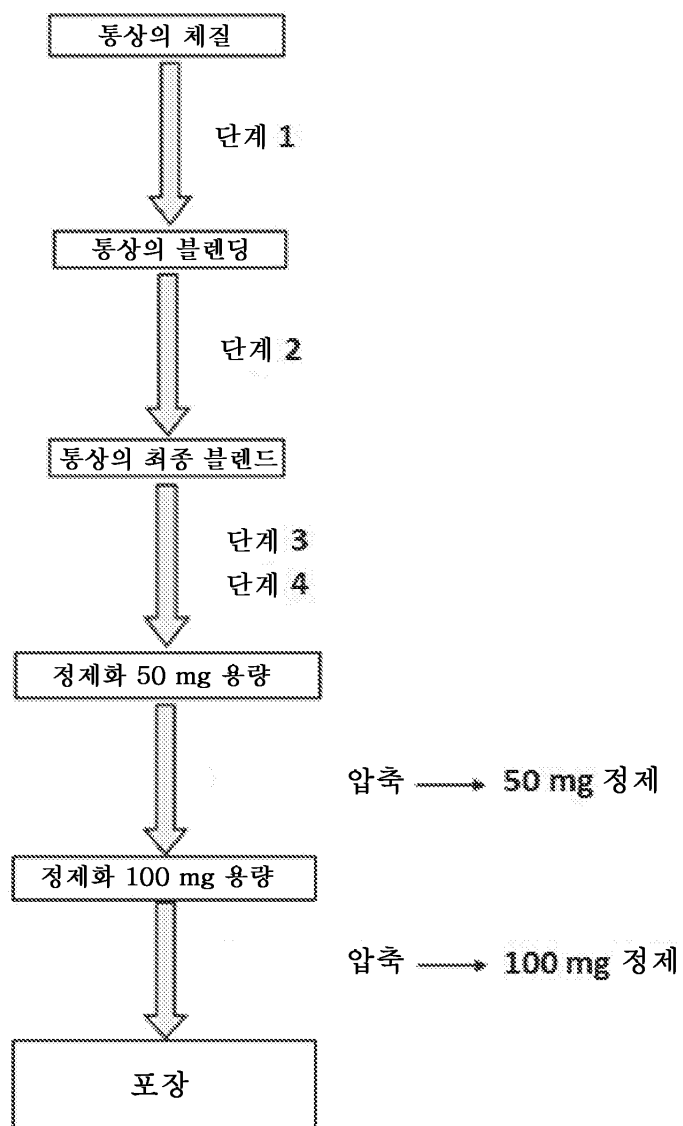
도면23f



도면24



도면25



도면26

