



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0082359
(43) 공개일자 2024년06월10일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/53 (2006.01) A61K 31/5377 (2006.01)
A61P 31/14 (2006.01) A61P 43/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/53 (2013.01)
A61K 31/5377 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2024-7013026
(22) 출원일자(국제) 2022년09월27일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2024년04월19일
(86) 국제출원번호 PCT/JP2022/035803
(87) 국제공개번호 WO 2023/054292
국제공개일자 2023년04월06일
(30) 우선권주장
JP-P-2021-157929 2021년09월28일 일본(JP)
(뒷면에 계속)

(71) 출원인
시오노기 앤드 컴파니, 리미티드
일본국 오사카, 오사카-시, 추오-쿠, 도쇼-마치
3-초메 1-8
국립대학법인 홋카이도 다이카쿠
일본 홋카이도 삿포로시 기따쿠 기따 8쵸 니시 5
쵸메
(72) 발명자
다치바나 유키
일본 오사카후 오사카시 주오쿠 도쇼마치 3초메
1반 8고 시오노기 앤드 컴파니, 리미티드 내
우에하라 쇼타
일본 오사카후 오사카시 주오쿠 도쇼마치 3초메
1반 8고 시오노기 앤드 컴파니, 리미티드 내
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
제일특허법인(유)

전체 청구항 수 : 총 12 항

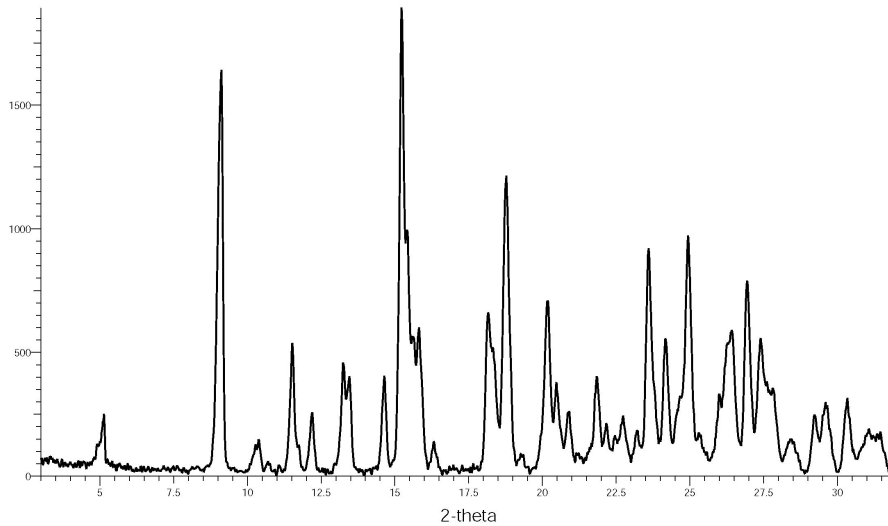
(54) 발명의 명칭 **트라이아진 유도체를 함유하는 의약 조성물**

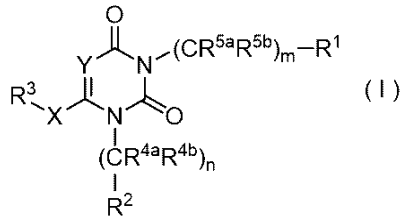
(57) 요약

본 발명은, 코로나 바이러스 증식 저해 활성을 나타내는 화합물을 함유하는 의약 조성물을 제공한다.

(뒷면에 계속)

대표도





(식 중, Y는 N이고; R¹은, 치환 또는 비치환된 방향족 헤테로환식기이고; R²는, 치환 또는 비치환된 6원 방향족 탄소환식기이고; R³은, 치환 또는 비치환된 방향족 헤테로환식기이고; -X-는, -NH-이고; m은, 0 또는 1이고; R^{5a}는, 수소 원자이고; R^{5b}는, 수소 원자이고; n은, 1이고; R^{4a}는, 수소 원자이고; R^{4b}는, 수소 원자이다)로 표시되는 화합물 또는 그 제약상 허용되는 염을 함유하는 의약 조성물.

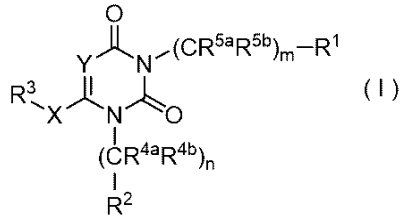
- | | | | | | | | | | | | | | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|-------------|--------|------------------|-------------|--------|------------------|-------------|--------|------------------|-------------|--------|
| <p>(52) CPC특허분류
 A61P 31/14 (2018.01)
 A61P 43/00 (2018.01)</p> <p>(72) 발명자
 우노 유토
 일본 오사카후 오사카시 주오쿠 도쇼마치 3초메 1
 반 8고 시오노기 앤드 컴파니, 리미티드 내
 나카하라 겐지
 일본 오사카후 오사카시 주오쿠 도쇼마치 3초메 1
 반 8고 시오노기 앤드 컴파니, 리미티드 내
 다오다 요시유키
 일본 오사카후 오사카시 주오쿠 도쇼마치 3초메 1
 반 8고 시오노기 앤드 컴파니, 리미티드 내
 가사마쓰 고지
 일본 오사카후 오사카시 주오쿠 도쇼마치 3초메 1
 반 8고 시오노기 앤드 컴파니, 리미티드 내
 야마쓰 유키코
 일본 오사카후 오사카시 주오쿠 도쇼마치 3초메 1
 반 8고 시오노기 앤드 컴파니, 리미티드 내
 안도 시게루
 일본 오사카후 오사카시 주오쿠 도쇼마치 3초메 1
 반 8고 시오노기 앤드 컴파니, 리미티드 내
 후카오 게이타
 일본 오사카후 오사카시 주오쿠 도쇼마치 3초메 1
 반 8고 시오노기 앤드 컴파니, 리미티드 내
 노보리 하루아키
 일본 오사카후 오사카시 주오쿠 도쇼마치 3초메 1
 반 8고 시오노기 앤드 컴파니, 리미티드 내
 구로다 다카유키
 일본 오사카후 오사카시 주오쿠 도쇼마치 3초메 1
 반 8고 시오노기 앤드 컴파니, 리미티드 내
 도바 신스케
 일본 오사카후 오사카시 주오쿠 도쇼마치 3초메 1
 반 8고 시오노기 앤드 컴파니, 리미티드 내
 우에무라 겐타로
 일본 오사카후 오사카시 주오쿠 도쇼마치 3초메 1
 반 8고 시오노기 앤드 컴파니, 리미티드 내
 마루야마 유키
 일본 오사카후 오사카시 주오쿠 도쇼마치 3초메 1
 반 8고 시오노기 앤드 컴파니, 리미티드 내
 사사키 미치히토
 일본 홋카이도 삿포로시 기타쿠 기타 8쥬 니시 5초
 메 국립대학법인 홋카이도 다이가쿠 내
 사와 히로후미
 일본 홋카이도 삿포로시 기타쿠 기타 8쥬 니시 5초
 메 국립대학법인 홋카이도 다이가쿠 내</p> | <p>(30) 우선권주장</p> <table border="0"> <tr> <td>JP-P-2021-171725</td> <td>2021년10월20일</td> <td>일본(JP)</td> </tr> <tr> <td>JP-P-2022-000723</td> <td>2022년01월05일</td> <td>일본(JP)</td> </tr> <tr> <td>JP-P-2022-015035</td> <td>2022년02월02일</td> <td>일본(JP)</td> </tr> <tr> <td>JP-P-2022-131590</td> <td>2022년08월22일</td> <td>일본(JP)</td> </tr> </table> | JP-P-2021-171725 | 2021년10월20일 | 일본(JP) | JP-P-2022-000723 | 2022년01월05일 | 일본(JP) | JP-P-2022-015035 | 2022년02월02일 | 일본(JP) | JP-P-2022-131590 | 2022년08월22일 | 일본(JP) |
| JP-P-2021-171725 | 2021년10월20일 | 일본(JP) | | | | | | | | | | | |
| JP-P-2022-000723 | 2022년01월05일 | 일본(JP) | | | | | | | | | | | |
| JP-P-2022-015035 | 2022년02월02일 | 일본(JP) | | | | | | | | | | | |
| JP-P-2022-131590 | 2022년08월22일 | 일본(JP) | | | | | | | | | | | |
-

명세서

청구범위

청구항 1

식(I):



(식 중, Y는 N이고;

R¹은, 치환 또는 비치환된 방향족 헤테로환식기이고;

R²는, 치환 또는 비치환된 6원 방향족 탄소환식기이고;

R³은, 치환 또는 비치환된 방향족 헤테로환식기이고;

-X-는, -NH-이고;

m은, 0 또는 1이고;

R^{5a}는, 수소 원자이고;

R^{5b}는, 수소 원자이고;

n은, 1이고;

R^{4a}는, 수소 원자이고;

R^{4b}는, 수소 원자이다)로 표시되는 화합물 또는 그 제약상 허용되는 염을 함유하는 의약 조성물.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

R¹이, 치환 또는 비치환된 5~6원 방향족 헤테로환식기인, 의약 조성물.

청구항 3

제 1 항 또는 제 2 항에 있어서,

R²가, 치환기군 G로부터 선택되는 1, 2 또는 3개의 치환기로 치환된 6원 방향족 탄소환식기이고;

여기에서 치환기군 G는, 할로젠, 사이아노 및 비치환 알킬로 이루어지는 군인, 의약 조성물.

청구항 4

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 있어서,

R³이, 치환 또는 비치환된 9~10원 방향족 헤테로환식기인, 의약 조성물.

청구항 5

제 1 항에 있어서,

식(I)로 표시되는 화합물이, 화합물 I-003, 화합물 I-005, 화합물 I-017 및 화합물 I-023으로 이루어지는 군으로부터 선택되는, 의약 조성물.

청구항 6

제 1 항 내지 제 5 항 중 어느 한 항에 있어서,

3CL 프로테아제 저해제인, 의약 조성물.

청구항 7

제 1 항 내지 제 6 항 중 어느 한 항에 있어서,

SARS-CoV-2의 바이러스 증식을 저해하기 위해서 이용되는, 의약 조성물.

청구항 8

제 1 항 내지 제 7 항 중 어느 한 항에 있어서,

신형 코로나 바이러스 감염증(COVID-19)의 치료제 및/또는 예방제인, 의약 조성물.

청구항 9

제 1 항 내지 제 8 항 중 어느 한 항에 있어서,

SARS-CoV-2에 의한 감염증의 증증화 억제를 위해서 이용되는, 의약 조성물.

청구항 10

제 1 항 내지 제 9 항 중 어느 한 항에 있어서,

SARS-CoV-2에 의한 감염증의 증상이 발현되고 나서, 또는, SARS-CoV-2 양성 판정으로부터, 72시간 이내에 투여를 개시하도록 이용되는, 의약 조성물.

청구항 11

제 1 항 내지 제 9 항 중 어느 한 항에 있어서,

SARS-CoV-2에 의한 감염증의 증상이 발현되고 나서, 또는, SARS-CoV-2 양성 판정으로부터, 24시간 이내에 투여를 개시하도록 이용되는, 의약 조성물.

청구항 12

제 1 항 내지 제 9 항 중 어느 한 항에 있어서,

SARS-CoV-2의 바이러스 전파를 억제하기 위해서 이용되는, 의약 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은, 코로나 바이러스 3CL 프로테아제 저해 활성을 나타내는 화합물을 함유하는 의약 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 니도바이러스목 코로나 바이러스과 오쏘코로나 바이러스아과에 속하는 코로나 바이러스는, 약 30킬로베이스의 게놈 사이즈를 가져, 기지의 RNA 바이러스 중에서는 최대급의 1분쇄 +쇄 RNA 바이러스이다. 코로나 바이러스는 알파 코로나 바이러스속, 베타 코로나 바이러스속, 감마 코로나 바이러스속 및 델타 코로나 바이러스속의 4개로 분류되고, 인간에게 감염되는 코로나 바이러스로서, 알파 코로나 바이러스속의 2종류(HCoV-229E, HCoV-NL63) 및 베타 코로나 바이러스속의 5종류(HCoV-HKU1, HCoV-OC43, SARS-CoV, MERS-CoV, SARS-CoV-2)의 합계 7종류가 알

려져 있다. 이 중, 4종류(HCoV-229E, HCoV-NL63, HCoV-HKU1, HCoV-OC43)는 감기의 병원체이지만, 나머지 3종류는 중증 폐렴을 일으키는 중증 급성 호흡기 증후군(SARS) 코로나 바이러스(SARS-CoV), 중등 호흡기 증후군(MERS) 코로나 바이러스(MERS-CoV) 및 신형 코로나 바이러스(SARS-CoV-2)이다.

[0003] 2019년 12월에 중국 우한에서 발생한 신형 코로나 바이러스 감염증(COVID-19)은 급속히 국제 사회에 만연하여, 2020년 3월 11일에 WHO로부터 팬데믹이 표명되었다. 2022년 9월 21일 시점에서 확인된 감염자수는 6.1억명 이상, 사망자수는 650만명 이상에 이른다(비특허문헌 1). SARS-CoV-2의 주된 감염 경로로서 비말 감염, 접촉 감염 및 에어로졸 감염이 보고되어 있고, SARS-CoV-2는 3시간 정도 에어로졸과 함께 공기 중을 계속 감돌아, 감염력을 유지함이 확인되어 있다(비특허문헌 2). 잠복 기간은 2~14일 정도이며, 발열(87.9%), 마른기침(67.7%), 권태감(38.1%), 담(33.4%) 등의 감기양 증상이 전형적이다(비특허문헌 3). 중증예에서는, 급성 호흡 궁박 증후군이나 급성 폐 장애, 간질성 폐렴 등에 의한 호흡기 부전이 일어난다. 또한, 신부전이나 간부전 등의 다장기 부전도 보고되어 있다.

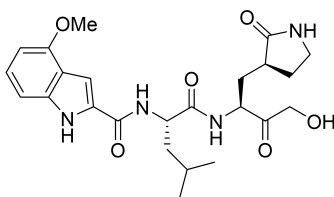
[0004] 일본에 있어서는, 기존약의 드루그 리포지셔닝으로부터, 항바이러스약인 렘데시비르, 항염증약인 텍사메타존, 류머티즘약인 바리시티니브가 COVID-19에 대한 치료약으로서 승인되고, 2022년 1월에 항IL-6 수용체 항체인 토실리주마브가 추가 승인되어 있다. 또한, 2021년 7월에, 항체 콕테일 요법인 로나프리브(카시리비마브/임테비마브)가 특례 승인되고, 2021년 9월에 소트로비마브가 특례 승인되고 2021년 12월에 몰누피라비르가 특례 승인되었다. 이들 약제에 대한 유효성이나 안전성에 대해서는, 충분한 에비던스(evidence)가 얻어져 있지 않다. 따라서, COVID-19에 대한 치료약, 특히 경구약의 창제는 급무이다.

[0005] 코로나 바이러스는, 세포에 감염하면, 자기 복제에 필요한 다양한 단백질을 합성한다. 그 중에 2개의 폴리단백질이 있고, 바이러스 계놈을 만드는 복제 복합체, 2개의 프로테아제가 포함되어 있다. 프로테아제는, 바이러스로부터 합성된 폴리단백질을 절단하여, 각각의 단백질을 기능시키기 위해서 불가결한 작용을 한다. 2개의 프로테아제 중, 폴리단백질의 절단의 대부분을 담당하는 것이, 3CL 프로테아제(메인 프로테아제)이다(비특허문헌 4).

[0006] 3CL 프로테아제를 표적으로 한, COVID-19 치료약으로서는, 2021년 6월, Pfizer사에 의한 PF-00835231의 프로드러그인 Lufotrelvir(PF-07304814)의 Phase1b 시험의 완료가 ClinicalTrials.gov에 게재되었다(NCT04535167). 또한, 2021년 3월, Pfizer사는 신형 코로나 바이러스 감염증에 대한 치료약 PF-07321332의 Phase1 시험을 개시한다고 발표했다. PF-00835231, Lufotrelvir 및 PF-07321332의 구조식은 이하에 나타내는 바와 같으며, 본 발명에 따른 화합물과는 화학 구조가 상이하다(비특허문헌 5, 12 및 13, 및 특허문헌 5 및 6).

[0007] PF-00835231:

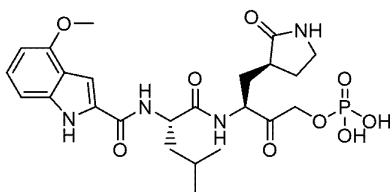
[0008] [화학식 1]



[0009]

[0010] Lufotrelvir(PF-07304814):

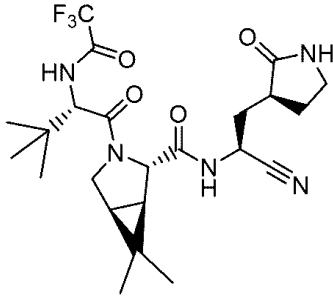
[0011] [화학식 2]



[0012]

[0013] PF-07321332:

[0014] [화학식 3]



[0015]

[0016] 더욱이 2021년 7월, 하이리스크 인자를 가지는 COVID-19 환자를 대상으로 한, PF-07321332 및 리토나비르 병용의 Phase2/3 시험이 개시됨이 ClinicalTrials.gov에 게재되었다(NCT04960202). 또한, 2021년 11월, Pfizer사의 홈페이지에 있어서, PAXLOVID(TM)(PF-07321332; 리토나비르)는, 성인의 하이리스크 환자에 있어서, 플라시보와 비교하여 입원 또는 사망의 리스크를 89% 감소시켰던 것이 보고되었다(비특허문헌 14). 더욱이, 2021년 12월, PAXLOVID(TM)는 미국에서 긴급 사용 허가가 승인되고, 2022년 2월 10일, 팍스로비드(등록상표) 팩이 일본에서 특례 승인되었다.

[0017] 3CL 프로테아제 저해 활성을 갖는 화합물이 비특허문헌 5~8에 개시되어 있지만, 어느 문헌에 있어서도 본 발명에 따른 화합물을 포함하는 의약 조성물은 기재도 시사도 되어 있지 않다.

[0018] P2X₃ 및/또는 P2X_{2/3} 수용체 길항 작용을 갖는 트리아진 유도체가 특허문헌 1~4에 개시되어 있지만, 어느 문헌에 있어서도, 3CL 프로테아제 저해 활성 및 항바이러스 효과를 갖는 화합물을 포함하는 의약 조성물에 대해서는 기재도 시사도 되어 있지 않다.

[0019] 항종양 효과를 갖는 트리아진 유도체가 비특허문헌 9~11에 개시되어 있지만, 어느 문헌에 있어서도, 코로나바이러스 3CL 프로테아제 저해 활성 및 항바이러스 효과에 대해서는 기재되어 있지 않고, 또한, 본 발명에 따른 화합물을 포함하는 의약 조성물은 기재도 시사도 되어 있지 않다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0020] (특허문헌 0001) 국제 공개 제2012/020749호
- (특허문헌 0002) 국제 공개 제2013/089212호
- (특허문헌 0003) 국제 공개 제2010/092966호
- (특허문헌 0004) 국제 공개 제2014/200078호
- (특허문헌 0005) 국제 공개 제2021/205298호
- (특허문헌 0006) 국제 공개 제2021/250648호

비특허문헌

- [0021] (비특허문헌 0001) “COVID-19 Dashboard by the Center for Systems Science and Engineering at Johns Hopkins University”, [online], Johns Hopkins University, [2022년 9월 21일 검색], 인터넷 <URL:https://coronavirus.jhu.edu/map.html>
- (비특허문헌 0002) The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE(2020년), 382권, 1564~1567페이지
- (비특허문헌 0003) “Report of the WHO-China Joint Mission on Coronavirus Disease 2019 (COVID-19)”, [online], 2020년 2월 28일, WHO, [2022년 9월 21일 검색], 인터넷<URL:https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/who-china-joint-mission-on-covid-19-final-report.pdf>
- (비특허문헌 0004) Science(2003년), 300권, 1763~1767페이지

- (비특허문헌 0005) "A comparative analysis of SARS-CoV-2 antivirals characterizes 3CLpro inhibitor PF-00835231 as a potential new treatment for COVID-19", Journal of Virology, [online], 2021년 2월 23일, [2022년 9월 21일 검색], 인터넷<URL: <https://jvi.asm.org/content/early/2021/02/19/JVI.01819-20>><doi: 10.1128/JVI.01819-20>
- (비특허문헌 0006) Cell Research(2020년), 30권, 678~692페이지
- (비특허문헌 0007) Science(2020년), 368권, 409~412페이지
- (비특허문헌 0008) ACS Central Science(2021년), 7권, 3호, 467~475페이지
- (비특허문헌 0009) Cancer Treatment Reviews(1984년), 11권, Supplement 1, 99~110페이지
- (비특허문헌 0010) Contributions to Oncology(1984년), 18권, 221~234페이지
- (비특허문헌 0011) Arzneimittel-Forschung(1984년), 11권, 6호, 663~668페이지
- (비특허문헌 0012) 261st Am Chem Soc (ACS) Natl Meet · 2021-04-05 / 2021-04-16 · Virtual, N/A · Abst 243
- (비특허문헌 0013) Science(2021년), 374권, 1586~1593페이지
- (비특허문헌 0014) "Pfizer's Novel COVID-19 Oral Antiviral Treatment Candidate Reduced Risk Of Hospitalization Or Death By 89% In Interim Analysis Of Phase 2/3 EPIC-HR Study", [online], 2021년 11월 5일, Pfizer Press Release, [2022년 9월 21일 검색], 인터넷<URL: <https://www.pfizer.com/news/press-release/press-release-detail/pfizers-novel-covid-19-oral-antiviral-treatment-candidate>>

발명의 내용

해결하려는 과제

[0022] 본 발명의 목적은, 코로나 바이러스 3CL 프로테아제 저해 활성을 갖는 화합물을 함유하는 의약 조성물을 제공하는 것에 있다. 바람직하게는, 본 발명은, 항바이러스 작용, 특히 코로나 바이러스의 증식 저해 작용을 갖는 화합물을 함유하는 의약을 제공한다.

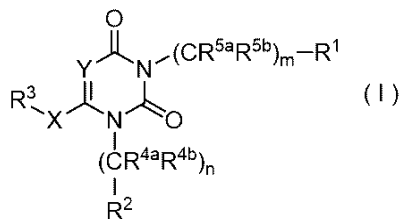
과제의 해결 수단

[0023] 본 발명은, 이하에 관한 것이다.

[0024] (1)

[0025] 식(I):

[0026] [화학식 4]



[0027]

[0028] (식 중, Y는 N이고;

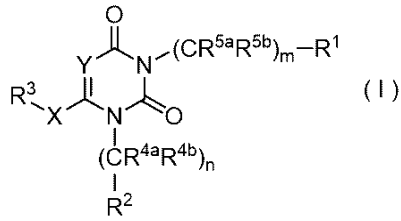
[0029] R¹은, 치환 또는 비치환된 방향족 헤테로환식기이고;

[0030] R²는, 치환 또는 비치환된 6원 방향족 탄소환식기이고;

[0031] R³은, 치환 또는 비치환된 방향족 헤테로환식기이고;

- [0032] -X-는, -NH-이고;
- [0033] m은, 0 또는 1이고;
- [0034] R^{5a}는, 수소 원자이고;
- [0035] R^{5b}는, 수소 원자이고;
- [0036] n은, 1이고;
- [0037] R^{4a}는, 수소 원자이고;
- [0038] R^{4b}는, 수소 원자이다)로 표시되는 화합물 또는 그 제약상 허용되는 염을 함유하는 의약 조성물.
- [0039] (2) R¹이, 치환 또는 비치환된 5~6원 방향족 헤테로환식기인, 상기 항목(1)에 기재된 의약 조성물.
- [0040] (3) R²가, 치환기군 G로부터 선택되는 1, 2 또는 3개의 치환기로 치환된 6원 방향족 탄소환식기이고;
- [0041] 여기에서 치환기군 G는, 할로젠, 사이아노 및 알킬로 이루어지는 군인, 상기 항목(1) 또는 (2)에 기재된 의약 조성물.
- [0042] (4) R³이 치환 또는 비치환된 9~10원 방향족 헤테로환식기인, 상기 항목(1)~(3) 중 어느 하나에 기재된 의약 조성물.
- [0043] (5) 식(I)로 표시되는 화합물이, 화합물 I-003, 화합물 I-005, 화합물 I-017 및 화합물 I-023으로 이루어지는 군으로부터 선택되는, 상기 항목(1)에 기재된 화합물 또는 그 제약상 허용되는 염을 함유하는 의약 조성물.
- [0044] (6) 3CL 프로테아제 저해제인, 상기 항목(1)~(5) 중 어느 하나에 기재된 의약 조성물.
- [0045] (7) SARS-CoV-2의 바이러스 증식을 저해하기 위해서 이용되는, 상기 항목(1)~(6) 중 어느 하나에 기재된 의약 조성물.
- [0046] (8) 신형 코로나 바이러스 감염증(COVID-19)의 치료제 및/또는 예방제인, 상기 항목(1)~(7) 중 어느 하나에 기재된 의약 조성물.
- [0047] (9) SARS-CoV-2에 의한 감염증의 중증화 억제를 위해서 이용되는, 상기 항목(1)~(8) 중 어느 하나에 기재된 의약 조성물.
- [0048] (10) SARS-CoV-2에 의한 감염증의 증상이 발현되고 나서, 또는, SARS-CoV-2 양성 판정으로부터, 72시간 이내에 투여를 개시하도록 이용되는, 상기 항목(1)~(9) 중 어느 하나에 기재된 의약 조성물.
- [0049] (11) SARS-CoV-2에 의한 감염증의 증상이 발현되고 나서, 또는, SARS-CoV-2 양성 판정으로부터, 24시간 이내에 투여를 개시하도록 이용되는, 상기 항목(1)~(9) 중 어느 하나에 기재된 의약 조성물.
- [0050] (12) SARS-CoV-2에 의한 감염증의 증상이 발현되고 나서, 또는, SARS-CoV-2 양성 판정으로부터, 120시간 이내에 투여를 개시하도록 이용되는, 상기 항목(1)~(9) 중 어느 하나에 기재된 의약 조성물.
- [0051] (13) SARS-CoV-2에 의한 감염증의 증상이, COVID-19의 12증상 중 어느 1항목 이상을 갖고, 당해 증상이 중등도 이상의 증상인, 상기 항목(1)~(12) 중 어느 하나에 기재된 의약 조성물.
- [0052] (14) SARS-CoV-2의 바이러스 전파를 억제하기 위해서 이용되는, 상기 항목(1)~(9) 중 어느 하나에 기재된 의약 조성물.
- [0053] (15) SARS-CoV-2의 바이러스 증식 저해 방법으로서, 신형 코로나 바이러스 감염증(COVID-19)의 치료 및/또는 예방을 필요로 하는 개체에게, 식(I):

[0054] [화학식 5]



[0055]

[0056] (식 중, Y는 N이고;

[0057] R¹은, 치환 또는 비치환된 방향족 헤테로환식기이고;

[0058] R²는, 치환 또는 비치환된 6원 방향족 탄소환식기이고;

[0059] R³은, 치환 또는 비치환된 방향족 헤테로환식기이고;

[0060] -X-는, -NH-이고;

[0061] m은, 0 또는 1이고;

[0062] R^{5a}는, 수소 원자이고;

[0063] R^{5b}는, 수소 원자이고;

[0064] n은, 1이고;

[0065] R^{4a}는, 수소 원자이고;

[0066] R^{4b}는, 수소 원자이다)로 표시되는 화합물 또는 그 제약상 허용되는 염을 투여하는 것을 포함하는,

[0067] SARS-CoV-2의 바이러스 증식 저해 방법.

[0068] (16) R¹이, 치환 또는 비치환된 5~6원 방향족 헤테로환식기인, 상기 항목(15)에 기재된 SARS-CoV-2의 바이러스 증식 저해 방법.

[0069] (17) R²가, 치환기군 G로부터 선택되는 1, 2 또는 3개의 치환기로 치환된 6원 방향족 탄소환식기이고;

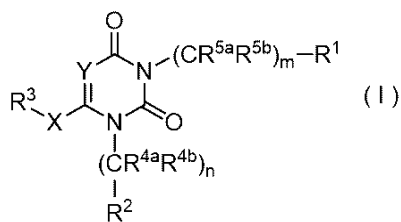
[0070] 여기에서 치환기군 G는, 할로젠, 사이아노 및 비치환 알킬로 이루어지는 군인, 상기 항목(15) 또는 (16)에 기재된 SARS-CoV-2의 바이러스 증식 저해 방법.

[0071] (18) R³이, 치환 또는 비치환된 9~10원 방향족 헤테로환식기인, 상기 항목(15)~(17) 중 어느 하나에 기재된 SARS-CoV-2의 바이러스 증식 저해 방법.

[0072] (19) 식(I)로 표시되는 화합물이, 화합물 I-003, 화합물 I-005, 화합물 I-017 및 화합물 I-023으로 이루어지는 군으로부터 선택되는, 상기 항목(15)에 기재된 SARS-CoV-2의 바이러스 증식 저해 방법.

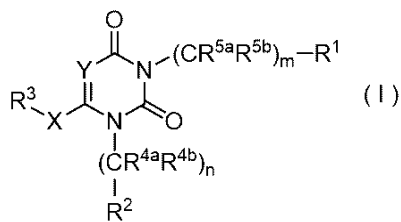
[0073] (20) 신형 코로나 바이러스 감염증(COVID-19)의 치료 및/또는 예방 방법으로서, 신형 코로나 바이러스 감염증(COVID-19)의 치료 및/또는 예방을 필요로 하는 개체에게, 식(I):

[0074] [화학식 6]



[0075]

- [0125] R^{4a}는, 수소 원자이고;
- [0126] R^{4b}는, 수소 원자이다)로 표시되는 화합물 또는 그 제약상 허용되는 염을 SARS-CoV-2에 의한 감염증의 증상이 발현되고 나서, 또는, SARS-CoV-2 양성 판정으로부터, 72시간 이내에 투여하는 것을 포함하는,
- [0127] 신형 코로나 바이러스 감염증(COVID-19)의 치료 방법.
- [0128] (31) R¹이, 치환 또는 비치환된 5~6원 방향족 헤테로환식기인, 상기 항목(30)에 기재된 신형 코로나 바이러스 감염증(COVID-19)의 치료 방법.
- [0129] (32) R²가, 치환기군 G로부터 선택되는 1, 2 또는 3개의 치환기로 치환된 6원 방향족 탄소환식기이고;
- [0130] 여기에서 치환기군 G는, 할로젠, 사이아노 및 비치환 알킬로 이루어지는 군인, 상기 항목(30) 또는 (31)에 기재된 신형 코로나 바이러스 감염증(COVID-19)의 치료 방법.
- [0131] (33) R³이, 치환 또는 비치환된 9~10원 방향족 헤테로환식기인, 상기 항목(30)~(32) 중 어느 하나에 기재된 신형 코로나 바이러스 감염증(COVID-19)의 치료 방법.
- [0132] (34) 식(I)로 표시되는 화합물이, 화합물 I-003, 화합물 I-005, 화합물 I-017 및 화합물 I-023으로 이루어지는 군으로부터 선택되는, 상기 항목(30)에 기재된 신형 코로나 바이러스 감염증(COVID-19)의 치료 방법.
- [0133] (35) 신형 코로나 바이러스 감염증(COVID-19)의 치료 및/또는 예방 방법으로서, 신형 코로나 바이러스 감염증(COVID-19)의 치료 및/또는 예방을 필요로 하는 개체에게, 식(I):
- [0134] [화학식 9]



- [0135] (식 중, Y는 N이고;
- [0136] R¹은, 치환 또는 비치환된 방향족 헤테로환식기이고;
- [0138] R²는, 치환 또는 비치환된 6원 방향족 탄소환식기이고;
- [0139] R³은, 치환 또는 비치환된 방향족 헤테로환식기이고;
- [0140] -X-는, -NH-이고;
- [0141] m은, 0 또는 1이고;
- [0142] R^{5a}는, 수소 원자이고;
- [0143] R^{5b}는, 수소 원자이고;
- [0144] n은, 1이고;
- [0145] R^{4a}는, 수소 원자이고;
- [0146] R^{4b}는, 수소 원자이다)로 표시되는 화합물 또는 그 제약상 허용되는 염을 SARS-CoV-2에 의한 감염증의 증상이 발현되고 나서, 또는, SARS-CoV-2 양성 판정으로부터, 24시간 이내에 투여하는 것을 포함하는,
- [0147] 신형 코로나 바이러스 감염증(COVID-19)의 치료 방법.
- [0148] (36) R¹이, 치환 또는 비치환된 5~6원 방향족 헤테로환식기인, 상기 항목(35)에 기재된 신형 코로나 바이러스

감염증(COVID-19)의 치료 방법.

[0149] (37) R²가, 치환기군 G로부터 선택되는 1, 2 또는 3개의 치환기로 치환된 6원 방향족 탄소환식기이고;

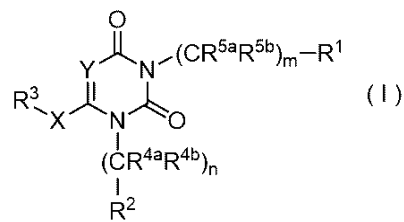
[0150] 여기에서 치환기군 G는, 할로젠, 사이아노 및 비치환 알킬로 이루어지는 군인, 상기 항목(35) 또는 (36)에 기재된 신형 코로나 바이러스 감염증(COVID-19)의 치료 방법.

[0151] (38) R³이, 치환 또는 비치환된 9~10원 방향족 헤테로환식기인, 상기 항목(35)~(37) 중 어느 하나에 기재된 신형 코로나 바이러스 감염증(COVID-19)의 치료 방법.

[0152] (39) 식(I)로 표시되는 화합물이, 화합물 I-003, 화합물 I-005, 화합물 I-017 및 화합물 I-023으로 이루어지는 군으로부터 선택되는, 상기 항목(35)에 기재된 신형 코로나 바이러스 감염증(COVID-19)의 치료 방법.

[0153] (40) SARS-CoV-2의 바이러스 전파를 억제하는 방법으로서, 신형 코로나 바이러스 감염증(COVID-19)의 치료 및/또는 예방을 필요로 하는 개체에게, 식(I):

[0154] [화학식 10]



[0155] (식 중, Y는 N이고;

[0157] R¹은, 치환 또는 비치환된 방향족 헤테로환식기이고;

[0158] R²는, 치환 또는 비치환된 6원 방향족 탄소환식기이고;

[0159] R³은, 치환 또는 비치환된 방향족 헤테로환식기이고;

[0160] -X-는, -NH-이고;

[0161] m은, 0 또는 1이고;

[0162] R^{5a}는, 수소 원자이고;

[0163] R^{5b}는, 수소 원자이고;

[0164] n은, 1이고;

[0165] R^{4a}는, 수소 원자이고;

[0166] R^{4b}는, 수소 원자이다)로 표시되는 화합물 또는 그 제약상 허용되는 염을 투여하는 것을 포함하는,

[0167] SARS-CoV-2의 바이러스 전파를 억제하는 방법.

[0168] (41) R¹이, 치환 또는 비치환된 5~6원 방향족 헤테로환식기인, 상기 항목(40)에 기재된 SARS-CoV-2의 바이러스 전파를 억제하는 방법.

[0169] (42) R²가, 치환기군 G로부터 선택되는 1, 2 또는 3개의 치환기로 치환된 6원 방향족 탄소환식기이고;

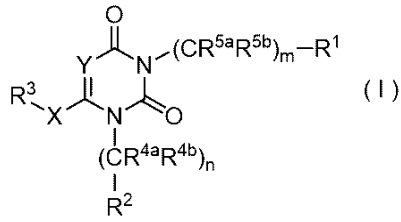
[0170] 여기에서 치환기군 G는, 할로젠, 사이아노 및 비치환 알킬로 이루어지는 군인, 상기 항목(40) 또는 (41)에 기재된 SARS-CoV-2의 바이러스 전파를 억제하는 방법.

[0171] (43) R³이, 치환 또는 비치환된 9~10원 방향족 헤테로환식기인, 상기 항목(40)~(42) 중 어느 하나에 기재된 SARS-CoV-2의 바이러스 전파를 억제하는 방법.

[0172] (44) 식(I)로 표시되는 화합물이, 화합물 I-003, 화합물 I-005, 화합물 I-017 및 화합물 I-023으로 이루어지는 군으로부터 선택되는, 상기 항목(40)에 기재된 SARS-CoV-2의 바이러스 전파를 억제하는 방법.

[0173] (45) SARS-CoV-2의 바이러스 증식 저해를 위한, 식(I):

[0174] [화학식 11]



[0175] (식 중, Y는 N이고;
 [0176] R¹은, 치환 또는 비치환된 방향족 헤테로환식기이고;
 [0177] R²는, 치환 또는 비치환된 6원 방향족 탄소환식기이고;
 [0178] R³은, 치환 또는 비치환된 방향족 헤테로환식기이고;
 [0180] -X-는, -NH-이고;
 [0181] m은, 0 또는 1이고;
 [0182] R^{5a}는, 수소 원자이고;
 [0183] R^{5b}는, 수소 원자이고;
 [0184] n은, 1이고;
 [0185] R^{4a}는, 수소 원자이고;
 [0186] R^{4b}는, 수소 원자이다)로 표시되는 화합물 또는 그 제약상 허용되는 염의 사용.

[0187] (46) R¹이, 치환 또는 비치환된 5~6원 방향족 헤테로환식기인, 상기 항목(45)에 기재된 사용.

[0188] (47) R²가, 치환기군 G로부터 선택되는 1, 2 또는 3개의 치환기로 치환된 6원 방향족 탄소환식기이고;

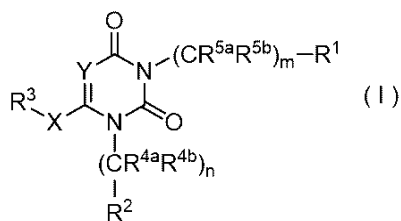
[0189] 여기에서 치환기군 G는, 할로젠, 사이아노 및 비치환 알킬로 이루어지는 군인, 상기 항목(45) 또는 (46)에 기재된 사용.

[0190] (48) R³이, 치환 또는 비치환된 9~10원 방향족 헤테로환식기인, 상기 항목(45)~(47) 중 어느 하나에 기재된 사용.

[0191] (49) 식(I)로 표시되는 화합물이, 화합물 I-003, 화합물 I-005, 화합물 I-017 및 화합물 I-023으로 이루어지는 군으로부터 선택되는, 상기 항목(45)에 기재된 사용.

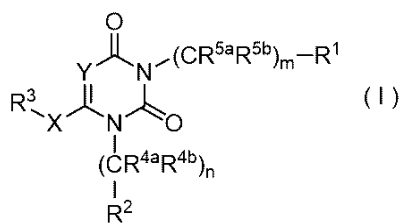
[0192] (50) 신형 코로나 바이러스 감염증(COVID-19)의 치료 및/또는 예방용 의약을 제조하기 위한, 식(I):

[0193] [화학식 12]



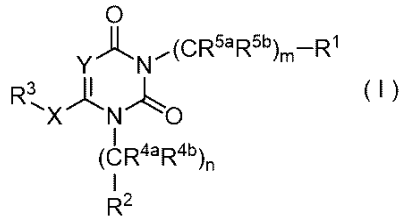
[0194]

- [0195] (식 중, Y는 N이고;
- [0196] R¹은, 치환 또는 비치환된 방향족 헤테로환식기이고;
- [0197] R²는, 치환 또는 비치환된 6원 방향족 탄소환식기이고;
- [0198] R³은, 치환 또는 비치환된 방향족 헤테로환식기이고;
- [0199] -X-는, -NH-이고;
- [0200] m은, 0 또는 1이고;
- [0201] R^{5a}는, 수소 원자이고;
- [0202] R^{5b}는, 수소 원자이고;
- [0203] n은, 1이고;
- [0204] R^{4a}는, 수소 원자이고;
- [0205] R^{4b}는, 수소 원자이다)로 표시되는 화합물 또는 그 제약상 허용되는 염의 사용.
- [0206] (51) R¹이, 치환 또는 비치환된 5~6원 방향족 헤테로환식기인, 상기 항목(50)에 기재된 사용.
- [0207] (52) R²가, 치환기군 G로부터 선택되는 1, 2 또는 3개의 치환기로 치환된 6원 방향족 탄소환식기이고;
- [0208] 여기에서 치환기군 G는, 할로젠, 사이아노 및 비치환 알킬로 이루어지는 군인, 상기 항목(50) 또는 (51)에 기재된 사용.
- [0209] (53) R³이, 치환 또는 비치환된 9~10원 방향족 헤테로환식기인, 상기 항목(50)~(52) 중 어느 하나에 기재된 사용.
- [0210] (54) 식(I)로 표시되는 화합물이, 화합물 I-003, 화합물 I-005, 화합물 I-017 및 화합물 I-023으로 이루어지는 군으로부터 선택되는, 상기 항목(50)에 기재된 사용.
- [0211] (55) SARS-CoV-2에 의한 감염증의 중증화 억제를 위한, 식(I):
- [0212] [화학식 13]



- [0213]
- [0214] (식 중, Y는 N이고;
- [0215] R¹은, 치환 또는 비치환된 방향족 헤테로환식기이고;
- [0216] R²는, 치환 또는 비치환된 6원 방향족 탄소환식기이고;
- [0217] R³은, 치환 또는 비치환된 방향족 헤테로환식기이고;
- [0218] -X-는, -NH-이고;
- [0219] m은, 0 또는 1이고;
- [0220] R^{5a}는, 수소 원자이고;

[0269] [화학식 16]



[0270]

[0271]

(식 중, Y는 N이고;

[0272]

R¹은, 치환 또는 비치환된 방향족 헤테로환식기이고;

[0273]

R²는, 치환 또는 비치환된 6원 방향족 탄소환식기이고;

[0274]

R³은, 치환 또는 비치환된 방향족 헤테로환식기이고;

[0275]

-X-는, -NH-이고;

[0276]

m은, 0 또는 1이고;

[0277]

R^{5a}는, 수소 원자이고;

[0278]

R^{5b}는, 수소 원자이고;

[0279]

n은, 1이고;

[0280]

R^{4a}는, 수소 원자이고;

[0281]

R^{4b}는, 수소 원자이다)로 표시되는 화합물 또는 그 제약상 허용되는 염의 사용.

[0282]

(71) R¹이, 치환 또는 비치환된 5~6원 방향족 헤테로환식기인, 상기 항목(70)에 기재된 사용.

[0283]

(72) R²가, 치환기군 G로부터 선택되는 1, 2 또는 3개의 치환기로 치환된 6원 방향족 탄소환식기이고;

[0284]

여기에서 치환기군 G는, 할로젠, 사이아노 및 비치환 알킬로 이루어지는 군인, 상기 항목(70) 또는 (71)에 기재된 사용.

[0285]

(73) R³이, 치환 또는 비치환된 9~10원 방향족 헤테로환식기인, 상기 항목(70)~(72) 중 어느 하나에 기재된 사용.

[0286]

(74) 식(I)로 표시되는 화합물이, 화합물 I-003, 화합물 I-005, 화합물 I-017 및 화합물 I-023으로 이루어지는 군으로부터 선택되는, 상기 항목(70)에 기재된 사용.

발명의 효과

[0287]

본 발명에 따른 화합물은, 코로나 바이러스 3CL 프로테아제에 대한 저해 활성을 가져, 본 발명에 따른 화합물을 함유하는 의약 조성물은, 코로나 바이러스 감염증의 치료제 및/또는 예방제로서 유용하다.

[0288]

또한, 본 발명에 따른 화합물 중, 화합물(I-003) 또는 화합물(I-005)를 함유하는 의약 조성물은, 의약품체로서 유용하다.

[0289]

더욱이, 화합물(I-003)의 p-톨루엔설폰산염 결정 또는 화합물(I-005)의 푸마르산 공결정을 함유하는 의약 조성물은, 신형 코로나 바이러스 감염증(COVID-19)의 치료제로서 매우 유용하다.

도면의 간단한 설명

[0290]

[도 1] 식(I-A)로 표시되는 화합물의 p-톨루엔설폰산염 I형 결정(Form I)의 분말 X선 회절 패턴을 나타낸다. 가로축은 2θ(°)이고, 세로축은 강도(Count)를 나타낸다.

[도 2] 식(I-A)로 표시되는 화합물의 p-톨루엔설폰산염 I형 결정의 비대칭 단위 중의 구조를 나타낸다.

[도 3] 식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형(Form I)의 분말 X선 회절 패턴을 나타낸다. 가로축은 $2\theta(^{\circ})$ 이고, 세로축은 강도(Count)를 나타낸다.

[도 4] 식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형(Form I)의 비대칭 단위 중의 구조를 나타낸다.

[도 5a] hCoV-19/Japan/TY7-501/2021 감염 마우스(1.00×10^4 TCID₅₀/마우스를 경비 접종)에 대해, 매체를 하루 2회 또는 (I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정을 단회로 감염 직후부터 투여했을 때의, 감염 1일 후의 폐내 바이러스 역가를 나타낸다. 세로축은 폐내 바이러스 역가, 가로축은 각 투여군을 나타낸다.

[도 5b] hCoV-19/Japan/TY7-501/2021 감염 마우스(1.00×10^4 TCID₅₀/마우스를 경비 접종)에 대해, 매체 및 (I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정을 하루 2회로 감염 직후부터 투여했을 때의, 감염 1일 후의 폐내 바이러스 역가를 나타낸다. 세로축은 폐내 바이러스 역가, 가로축은 각 투여군을 나타낸다.

[도 6a] hCoV-19/Japan/TY7-501/2021 감염 마우스(1.00×10^4 TCID₅₀/마우스를 경비 접종)에 대해, 매체 및 (I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정을 하루 2회로 감염 1일 후부터 2일간 투여했을 때의, 감염 1-3일 후의 폐내 바이러스 역가를 나타낸다. 세로축은 폐내 바이러스 역가, 가로축은 감염 후부터의 일수를 나타낸다.

[도 6b] hCoV-19/Japan/TY7-501/2021 감염 마우스(1.00×10^4 TCID₅₀/마우스를 경비 접종)에 대해, 매체 및 (I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정을 하루 2회로 감염 3일 후부터 2일간 투여했을 때의, 감염 1-5일 후의 폐내 바이러스 역가를 나타낸다. 세로축은 폐내 바이러스 역가, 가로축은 감염 후부터의 일수를 나타낸다.

[도 7] hCoV-19/Japan/TY7-501/2021 감염 마우스(1.00×10^4 TCID₅₀/마우스를 경비 접종)에 대해, 매체 및 (I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정을 하루 3회로 감염 1일 후부터 2일간 투여했을 때의, 감염 1-3일 후의 폐내 바이러스 역가를 나타낸다. 세로축은 폐내 바이러스 역가, 가로축은 감염 후부터의 일수를 나타낸다.

[도 8a] hCoV-19/Japan/TY7-501/2021 감염 마우스(1.00×10^5 TCID₅₀/마우스를 경비 접종, 고주령 35-45주령 리타이어 마우스)에 대해, 매체 및 (I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정을 하루 2회로 감염 1일 후부터 5일간 투여했을 때의, 감염 7일 후에까지의 체중 변동을 나타낸다. 세로축은 감염 당일의 체중을 100%로 했을 경우의 체중 변동(%), 가로축은 감염 후부터의 일수를 나타낸다.

[도 8b] hCoV-19/Japan/TY7-501/2021 감염 마우스(1.00×10^5 TCID₅₀/마우스를 경비 접종, 고주령 35-45주령 리타이어 마우스)에 대해, 매체 및 (I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정을 하루 2회로 감염 1일 후부터 5일간 투여했을 때의, 감염 7일 후에까지의 생존율을 나타낸다. 세로축은 생존율(%), 가로축은 감염 후부터의 일수를 나타낸다.

[도 8c] hCoV19/Japan/TY/WK-521/2020주 마우스 순화주 MA-P10 감염 마우스(1.00×10^3 or 1.00×10^4 TCID₅₀/마우스를 경비 접종, 15주령 마우스)에 대해, 매체 및 (I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정을 하루 2회로 감염 1일 후부터 5일간 투여했을 때의, 감염 7일 후에까지의 체중 변동을 나타낸다. 세로축은 감염 당일의 체중을 100%로 했을 경우의 체중 변동(%), 가로축은 감염 후부터의 일수를 나타낸다.

[도 8d] hCoV19/Japan/TY/WK-521/2020주 마우스 순화주 MA-P10 감염 마우스(1.00×10^3 or 1.00×10^4 TCID₅₀/마우스를 경비 접종, 15주령 마우스)에 대해, 매체 및 (I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정을 하루 2회로 감염 1일 후부터 5일간 투여했을 때의, 감염 7일 후에까지의 생존율을 나타낸다. 세로축은 생존율(%), 가로축은 감염 후부터의 일수를 나타낸다.

[도 8e] hCoV19/Japan/TY/WK-521/2020주 마우스 순화주 MA-P10 감염 마우스(1.00×10^3 TCID₅₀/마우스를 경비 접

중, 고주령 35-45주령 리타이어 마우스)에 대해, 매체 및 (I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정을 하루 2회로 감염 1일 후부터 5일간 투여했을 때의, 감염 7일 후에까지의 체중 변동을 나타낸다. 세로축은 감염 당일의 체중을 100%로 했을 경우의 체중 변동(%), 가로축은 감염 후부터의 일수를 나타낸다.

[도 8f] hCoV19/Japan/TY/WK-521/2020주 마우스 순화주 MA-P10 감염 마우스(1.00×10^3 TCID₅₀/마우스를 경비 접종, 고주령 35-45주령 리타이어 마우스)에 대해, 매체 및 (I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정을 하루 2회로 감염 1일 후부터 5일간 투여했을 때의, 감염 7일 후에까지의 생존율을 나타낸다. 세로축은 생존율(%), 가로축은 감염 후부터의 일수를 나타낸다.

[도 9] hCoV19/Japan/TY11-927/2021 감염 햄스터(5.00×10^3 PFU/햄스터를 경비 접종)과 바이러스를 접종하지 않는 투약 햄스터를 동거시켰을 때의 감염 6일 후의 투약 햄스터의 폐내 바이러스 역가를 나타낸다. 투약 햄스터는 매체 및 (I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정을 하루 2회로 감염 직후부터 투여했다. 세로축은 폐내 바이러스 역가, 가로축은 각 투여군을 나타낸다.

[도 10] hCoV19/Japan/TY11-927/2021 감염 햄스터(5.00×10^3 PFU/햄스터를 경비 접종)에 화합물을 투약하고, 바이러스를 접종하지 않는 비감염 햄스터를 감염 직후부터 동거시켰을 때의 감염 6일 후의 감염(Infected) 및 비감염(Contact) 햄스터의 폐내 바이러스 역가를 나타낸다. 투약 햄스터는 매체 및 (I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정을 하루 2회로 감염 직후부터 투여했다. 세로축은 폐내 바이러스 역가, 가로축은 각 투여군을 나타낸다.

[도 11a] hCoV19/Japan/TY11-927/2021 감염 햄스터(1.00×10^2 TCID₅₀/햄스터를 경비 접종)에 화합물을 투약하고, 바이러스를 접종하지 않는 비감염 햄스터를 감염 2일 후부터 동거시켰을 때의 감염 5일 후의 감염(Infected) 및 비감염(Contact) 햄스터의 폐내 바이러스 역가를 나타낸다. 투약 햄스터는 매체 및 (I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정을 하루 2회로 감염 1일 후부터 투여했다. 세로축은 폐내 바이러스 역가, 가로축은 각 투여군을 나타낸다.

[도 11b] hCoV19/Japan/TY11-927/2021 감염 햄스터(1.00×10^2 TCID₅₀/햄스터를 경비 접종)에 화합물을 투약하고, 바이러스를 접종하지 않는 비감염 햄스터를 감염 2일 후부터 동거시켰을 때의 감염 5일 후의 감염(Infected) 및 비감염(Contact) 햄스터의 폐내 바이러스 역가를 나타낸다. 투약 햄스터는 매체 및 (I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정을 하루 2회로 감염 1일 후부터 투여했다. 세로축은 비감개중 바이러스 역가, 가로축은 각 투여군을 나타낸다.

[도 12a] hCoV19/Japan/TY/WK-521/2020주 마우스 순화주 MA-P10 감염 마우스(3.00×10^2 TCID₅₀/마우스를 경비 접종, 37-57주령 마우스)에 대해, 매체 및 (I-B)로 표시되는 화합물을 감염 24시간 전에 피하 투여했을 때의, 감염 14일 후에까지의 체중 변동을 나타낸다. 세로축은 감염 당일의 체중을 100%로 했을 경우의 체중 변동(%), 가로축은 감염 후부터의 일수를 나타낸다.

[도 12b] hCoV19/Japan/TY/WK-521/2020주 마우스 순화주 MA-P10 감염 마우스(3.00×10^2 TCID₅₀/마우스를 경비 접종, 37-57주령 마우스)에 대해, 매체 및 (I-B)로 표시되는 화합물을 감염 24시간 전에 피하 투여했을 때의, 감염 14일 후에까지의 생존율을 나타낸다. 세로축은 생존율(%), 가로축은 감염 후부터의 일수를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0291] 이하에 본 명세서에 있어서 이용되는 각 용어의 의미를 설명한다. 각 용어는 특별히 예외가 없는 한, 단독으로 이용되는 경우도, 또는 다른 용어와 조합하여 이용되는 경우도, 동일한 의미로 이용된다.
- [0292] 「로 이루어지는」이라고 하는 용어는, 구성 요건만을 갖는 것을 의미한다.
- [0293] 「포함하는」이라고 하는 용어는, 구성 요건으로 한정되지 않고, 기재되어 있지 않은 요소를 배제하지 않는 것을 의미한다.
- [0294] 이하, 본 발명에 대해 실시형태를 나타내면서 설명한다. 본 명세서의 전체에 걸쳐, 단수형의 표현은, 특별히 언급하지 않는 한, 그 복수형의 개념도 포함하는 것이 이해되어야 한다. 따라서, 단수형의 관사(예를 들어, 영어

의 경우는 「a」, 「an」, 「the」 등)는, 특별히 언급하지 않는 한, 그 복수형의 개념도 포함하는 것이 이해되어야 한다.

[0295] 또한, 본 명세서에 있어서 사용되는 용어는, 특별히 언급하지 않는 한, 당 상기 분야에서 통상 이용되는 의미로 이용되는 것이 이해되어야 한다. 따라서, 달리 정의되지 않는 한, 본 명세서 중에서 사용되는 모든 전문 용어 및 과학기술 용어는, 본 발명이 속하는 분야의 당업자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 모순되는 경우, 본 명세서(정의를 포함하여)가 우선한다.

[0296] 「할로젠」이란, 불소 원자, 염소 원자, 브로민 원자, 및 아이오딘 원자를 포함한다. 특히 불소 원자 및 염소 원자가 바람직하다.

[0297] 「알킬」이란, 탄소수 1~15, 바람직하게는 탄소수 1~10, 보다 바람직하게는 탄소수 1~6, 더 바람직하게는 탄소수 1~4의 직쇄 또는 분기상의 탄화수소기를 포함한다. 예를 들어, 메틸, 에틸, n-프로필, 아이소프로필, n-뷰틸, 아이소뷰틸, sec-뷰틸, tert-뷰틸, n-펜틸, 아이소펜틸, 네오펜틸, n-헥실, 아이소헥실, n-헵틸, 아이소헵틸, n-옥틸, 아이소옥틸, n-노닐, n-데실 등을 들 수 있다.

[0298] 「알킬」의 바람직한 태양으로서, 메틸, 에틸, n-프로필, 아이소프로필, n-뷰틸, 아이소뷰틸, sec-뷰틸, tert-뷰틸, n-펜틸을 들 수 있다. 더 바람직한 태양으로서, 메틸, 에틸, n-프로필, 아이소프로필, tert-뷰틸을 들 수 있다.

[0299] 「알켄일」이란, 임의의 위치에 1 이상의 이중 결합을 갖는, 탄소수 2~15, 바람직하게는 탄소수 2~10, 보다 바람직하게는 탄소수 2~6, 더 바람직하게는 탄소수 2~4의 직쇄 또는 분기상의 탄화수소기를 포함한다. 예를 들어, 바이닐, 알릴, 프로펜일, 아이소프로펜일, 뷰텐일, 아이소뷰텐일, 프렌일, 뷰타다이엔일, 펜텐일, 아이소펜텐일, 펜타다이엔일, 헥센일, 아이소헥센일, 헥사다이엔일, 헵텐일, 옥텐일, 노넨일, 데센일, 운데센일, 도데센일, 트라이데센일, 테트라데센일, 펜타데센일 등을 들 수 있다.

[0300] 「알켄일」의 바람직한 태양으로서, 바이닐, 알릴, 프로펜일, 아이소프로펜일, 뷰텐일을 들 수 있다. 더 바람직한 태양으로서, 에텐일, n-프로펜일 등을 들 수 있다.

[0301] 「알킨일」이란, 임의의 위치에 1 이상의 삼중 결합을 갖는, 탄소수 2~10, 바람직하게는 탄소수 2~8, 더 바람직하게는 탄소수 2~6, 더 바람직하게는 탄소수 2~4의 직쇄 또는 분기상의 탄화수소기를 포함한다. 추가로 임의의 위치에 이중 결합을 갖고 있어도 된다. 예를 들어, 에틴일, 프로핀일, 뷰틴일, 펜틴일, 헥신일, 헵틴일, 옥틴일, 노닌일, 데신일 등을 포함한다.

[0302] 「알킨일」의 바람직한 태양으로서, 에틴일, 프로핀일, 뷰틴일, 펜틴일을 들 수 있다. 더 바람직한 태양으로서, 에틴일, 프로핀일 등을 들 수 있다.

[0303] 「방향족 탄소환식기」란, 단환 또는 2환 이상의, 환상 방향족 탄화수소기를 의미한다. 예를 들어, 페닐, 나프틸, 안트릴, 페난트릴 등을 들 수 있다.

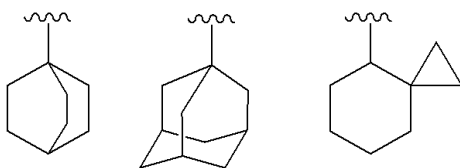
[0304] 「방향족 탄소환식기」의 바람직한 태양으로서, 페닐을 들 수 있다.

[0305] 「6원 방향족 탄소환식기」란, 단환의 환상 방향족 탄화수소기를 의미한다. 예를 들어, 페닐을 들 수 있다.

[0306] 「비방향족 탄소환식기」란, 단환 또는 2환 이상의, 환상 포화 탄화수소기 또는 환상 비방향족 불포화 탄화수소기를 의미한다. 2환 이상의 「비방향족 탄소환식기」는, 단환 또는 2환 이상의 비방향족 탄소환식기에, 상기 「방향족 탄소환식기」에 있어서의 환이 축합한 것도 포함한다.

[0307] 더욱이, 「비방향족 탄소환식기」는, 이하와 같이 가교하고 있는 기, 또는 스피어로환을 형성하는 기도 포함한다.

[0308] [화학식 17]



[0309]

[0310] 단환의 비방향족 탄소환식기로서는, 탄소수 3~16이 바람직하고, 보다 바람직하게는 탄소수 3~12, 더 바람직하게

는 탄소수 4~8이다. 예를 들어, 사이클로프로필, 사이클로뷰틸, 사이클로펜틸, 사이클로헥실, 사이클로헵틸, 사이클로옥틸, 사이클로노닐, 사이클로데실, 사이클로프로펜일, 사이클로뷰텐일, 사이클로펜텐일, 사이클로헥센일, 사이클로헵텐일, 사이클로헥사다이엔일 등을 들 수 있다.

[0311] 2환 이상의 비방향족 탄소환식기로서는, 탄소수 8~20이 바람직하고, 보다 바람직하게는 탄소수 8~16이다. 예를 들어, 인단일, 인텐일, 아세나프틸, 테트라하이드로나프틸, 플루오렌일 등을 들 수 있다.

[0312] 「방향족 헤테로환식기」란, O, S 및 N으로부터 임의로 선택되는 동일 또는 상이한 헤테로원자를 환 내에 1 이상 갖는, 단환 또는 2환 이상의, 방향족환식기를 의미한다.

[0313] 2환 이상의 방향족 헤테로환식기는, 단환 또는 2환 이상의 방향족 헤테로환식기에, 상기 「방향족 탄소환식기」에 있어서의 환이 축합한 것도 포함하고, 해당 결합손은 어느 환에 갖고 있어도 된다.

[0314] 단환의 방향족 헤테로환식기로서는, 5~8원이 바람직하고, 보다 바람직하게는 5원 또는 6원이다. 5원 방향족 헤�테로환식기로서는, 예를 들어, 피롤릴, 이미다졸릴, 피라졸릴, 트리아졸릴, 테트라졸릴, 퓨릴, 싸이엔일, 아이속사졸릴, 옥사졸릴, 옥사다이아졸릴, 아이소싸이아졸릴, 싸이아졸릴, 싸이아다이아졸릴 등을 들 수 있다. 6원 방향족 헤테로환식기로서는, 예를 들어, 피리딘, 피리다진일, 피리미딘일, 피라진일, 트리아진일 등을 들 수 있다.

[0315] 2환의 방향족 헤테로환식기로서는, 8~10원이 바람직하고, 보다 바람직하게는 9원 또는 10원이다. 예를 들어, 인돌릴, 아이소인돌릴, 인다졸릴, 인돌리진일, 퀴놀린일, 아이소퀴놀린일, 신놀린일, 프탈라진일, 퀴나졸린일, 나프티리딘일, 퀴녹살린일, 퓨린일, 프테리딘일, 벤즈이미다졸릴, 벤즈아이속사졸릴, 벤즈옥사졸릴, 벤즈옥사다이아졸릴, 벤즈아이소싸이아졸릴, 벤조싸이아졸릴, 벤조싸이아다이아졸릴, 벤조퓨릴, 아이소벤조퓨릴, 벤조싸이엔일, 벤조트리아졸릴, 이미다조피리딘, 트리아아졸로피리딘, 이미다조싸이아졸릴, 피라지노피리다진일, 옥사졸로피리딘, 싸이아졸로피리딘 등을 들 수 있다. 9원 방향족 헤테로환식기로서는, 인돌릴, 아이소인돌릴, 인다졸릴, 인돌리진일, 퓨린일, 벤즈이미다졸릴, 벤즈아이속사졸릴, 벤즈옥사졸릴, 벤즈옥사다이아졸릴, 벤즈아이소싸이아졸릴, 벤조싸이아졸릴, 벤조싸이아다이아졸릴, 벤조트리아졸릴, 벤조퓨란일, 이미다조피리딘, 트리아아졸로피리딘, 옥사졸로피리딘, 싸이아졸로피리딘 등을 들 수 있다. 10원 방향족 헤테로환식기로서는, 퀴놀린일, 아이소퀴놀린일, 신놀린일, 프탈라진일, 퀴나졸린일, 나프티리딘일, 퀴녹살린일, 프테리딘일, 피라지노피리다진일 등을 들 수 있다.

[0316] 3환 이상의 방향족 헤테로환식기로서는, 13~15원이 바람직하다. 예를 들어, 카바졸릴, 아크리딘일, 잔텐일, 페노싸이아진일, 페녹사싸이인일, 페녹사진일, 다이벤조퓨릴 등을 들 수 있다.

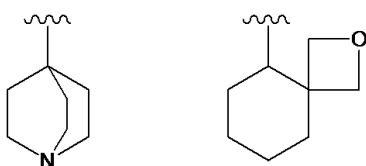
[0317] 「5~6원 방향족 헤테로환식기」란, 상기 「방향족 헤테로환식기」 중, 5원 또는 6원의 방향족 헤테로환식기를 의미한다.

[0318] 「9~10원 방향족 헤테로환식기」란, 상기 「방향족 헤테로환식기」 중, 9원 또는 10원의 방향족 헤테로환식기를 의미한다.

[0319] 「비방향족 헤테로환식기」란, O, S 및 N으로부터 임의로 선택되는 동일 또는 상이한 헤테로원자를 환 내에 1 이상 갖는, 단환 또는 2환 이상의, 비방향족환식기를 의미한다. 2환 이상의 비방향족 헤테로환식기는, 단환 또는 2환 이상의 비방향족 헤테로환식기에, 상기 「방향족 탄소환식기」, 「비방향족 탄소환식기」, 및/또는 「방향족 헤테로환식기」에 있어서의 각각의 환이 축합한 것, 더욱이, 단환 또는 2환 이상의 비방향족 탄소환식기에, 상기 「방향족 헤테로환식기」에 있어서의 환이 축합한 것도 포함하고, 해당 결합손은 어느 환에 갖고 있어도 된다.

[0320] 더욱이, 「비방향족 헤테로환식기」는, 이하와 같이 가교하고 있는 기, 또는 스피어로환을 형성하는 기도 포함한다.

[0321] [화학식 18]



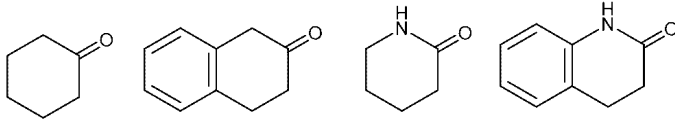
[0322]

- [0323] 단환의 비방향족 헤테로환식기로서는, 3~8원이 바람직하고, 보다 바람직하게는 5원 또는 6원이다.
- [0324] 3원 비방향족 헤테로환식기로서는, 예를 들어, 싸이이란일, 옥시란일, 아지리딘일을 들 수 있다. 4원 비방향족 헤테로환식기로서는, 예를 들어, 옥세탄일, 아제티딘일을 들 수 있다. 5원 비방향족 헤테로환식기로서는, 예를 들어, 옥사싸이올란일, 싸이아졸리딘일, 피롤리딘일, 피롤린일, 이미다졸리딘일, 이미다졸린일, 피라졸리딘일, 피라졸린일, 테트라하이드로퓨릴, 다이하이드로싸이아졸릴, 테트라하이드로아이소싸이아졸릴, 다이옥솔란일, 다이옥솔릴, 싸이올란일 등을 들 수 있다. 6원 비방향족 헤테로환식기로서는, 예를 들어, 다이옥산일, 싸이안일, 피페리딜, 피페라진일, 모폴린일, 모폴리노, 싸이오모폴린일, 싸이오모폴리노, 다이하이드로피리딜, 테트라하이드로피리딜, 테트라하이드로피란일, 다이하이드로옥사진일, 테트라하이드로피리다진일, 헥사하이드로피리미딘일, 다이옥사진일, 싸이인일, 싸이아진일 등을 들 수 있다. 7원 비방향족 헤테로환식기로서는, 예를 들어, 헥사하이드로아제핀일, 테트라하이드로디아아제핀일, 옥세판일을 들 수 있다.
- [0325] 2환 이상의 비방향족 헤테로환식기로서는, 8~20원이 바람직하고, 보다 바람직하게는 8~13원, 더 바람직하게는 8~10원이다. 예를 들어, 인돌린일, 아이소인돌린일, 크로만일, 아이소크로만일 등을 들 수 있다.
- [0326] 본 명세서 중, 「치환기군 α 로 치환되어 있어도 되는」이란, 「치환기군 α 로부터 선택되는 1 이상의 기로 치환되어 있어도 되는」 것을 의미한다. 치환기군 β , γ 및 γ' 에 대해서도 마찬가지이다.
- [0327] 치환기군 α : 할로젠, 하이드록시, 카복시, 알킬옥시, 할로알킬옥시, 알켄일옥시, 알킨일옥시, 설펜일, 및 사이아노.
- [0328] 치환기군 β : 할로젠, 하이드록시, 카복시, 사이아노, 치환기군 α 로 치환되어 있어도 되는 알킬, 치환기군 α 로 치환되어 있어도 되는 알켄일, 치환기군 α 로 치환되어 있어도 되는 알킨일, 치환기군 α 로 치환되어 있어도 되는 알킬카보닐, 치환기군 α 로 치환되어 있어도 되는 알켄일카보닐, 치환기군 α 로 치환되어 있어도 되는 알킨일카보닐, 치환기군 α 로 치환되어 있어도 되는 알킬설펜일, 치환기군 α 로 치환되어 있어도 되는 알켄일설펜일, 치환기군 α 로 치환되어 있어도 되는 알킨일설펜일, 치환기군 α 로 치환되어 있어도 되는 알킬설펜일, 치환기군 α 로 치환되어 있어도 되는 알켄일설펜일, 치환기군 α 로 치환되어 있어도 되는 알킨일설펜일, 치환기군 α 로 치환되어 있어도 되는 알킬설펜일, 치환기군 α 로 치환되어 있어도 되는 알켄일설펜일, 치환기군 α 로 치환되어 있어도 되는 알킨일설펜일, 치환기군 α 로 치환되어 있어도 되는 알킬설펜일, 치환기군 α 로 치환되어 있어도 되는 알켄일설펜일, 치환기군 α 로 치환되어 있어도 되는 알킨일설펜일,
- [0329] 치환기군 γ 로 치환되어 있어도 되는 방향족 탄소환식기, 치환기군 γ' 로 치환되어 있어도 되는 비방향족 탄소환식기, 치환기군 γ 로 치환되어 있어도 되는 방향족 헤테로환식기, 치환기군 γ' 로 치환되어 있어도 되는 비방향족 헤테로환식기, 치환기군 γ 로 치환되어 있어도 되는 방향족 탄소환 알킬, 치환기군 γ' 로 치환되어 있어도 되는 비방향족 탄소환 알킬, 치환기군 γ 로 치환되어 있어도 되는 방향족 헤테로환 알킬, 치환기군 γ' 로 치환되어 있어도 되는 비방향족 헤테로환 알킬, 치환기군 γ 로 치환되어 있어도 되는 방향족 탄소환 카보닐, 치환기군 γ' 로 치환되어 있어도 되는 비방향족 탄소환 카보닐, 치환기군 γ 로 치환되어 있어도 되는 방향족 헤테로환 카보닐, 치환기군 γ' 로 치환되어 있어도 되는 비방향족 헤테로환 카보닐, 치환기군 γ 로 치환되어 있어도 되는 방향족 탄소환 옥시카보닐, 치환기군 γ' 로 치환되어 있어도 되는 비방향족 탄소환 옥시카보닐, 치환기군 γ 로 치환되어 있어도 되는 방향족 헤테로환 옥시카보닐, 치환기군 γ' 로 치환되어 있어도 되는 비방향족 헤테로환 옥시카보닐, 치환기군 γ 로 치환되어 있어도 되는 방향족 탄소환 설펜일, 치환기군 γ' 로 치환되어 있어도 되는 비방향족 탄소환 설펜일, 치환기군 γ 로 치환되어 있어도 되는 방향족 헤테로환 설펜일, 치환기군 γ' 로 치환되어 있어도 되는 비방향족 헤테로환 설펜일, 치환기군 γ 로 치환되어 있어도 되는 방향족 탄소환 설펜일, 치환기군 γ' 로 치환되어 있어도 되는 비방향족 탄소환 설펜일, 치환기군 γ 로 치환되어 있어도 되는 방향족 헤테로환 설펜일, 치환기군 γ' 로 치환되어 있어도 되는 비방향족 헤테로환 설펜일, 치환기군 γ 로 치환되어 있어도 되는 방향족 탄소환 설펜일, 치환기군 γ' 로 치환되어 있어도 되는 비방향족 탄소환 설펜일, 치환기군 γ 로 치환되어 있어도 되는 방향족 헤테로환 설펜일 및 치환기군 γ' 로 치환되어 있어도 되는 비방향족 헤테로환 설펜일.
- [0330] 치환기군 γ : 치환기군 α , 알킬, 할로알킬, 하이드록시알킬, 알켄일, 알킨일, 알킬카보닐, 할로알킬카보닐, 알켄일카보닐 및 알킨일카보닐.
- [0331] 치환기군 γ' : 치환기군 γ 및 옥소.
- [0332] 「치환 방향족 탄소환식기」 및 「치환 방향족 헤테로환식기」의 「방향족 탄소환」 및 「방향족 헤테로환」의 환상의 치환기로서는, 다음의 치환기군 B를 들 수 있다. 환상의 임의의 위치의 원자가 다음의 치환기군 B로부터 선택되는 1 이상의 기와 결합하고 있어도 된다.

[0338] 치환기군 C: 치환기군 B 및 옥소.

[0339] 「비방향족 탄소환」 및 「비방향족 헤테로환」이 「옥소」로 치환되어 있는 경우, 이하와 같이 탄소 원자 상의 2개의 수소 원자가 치환되어 있는 환을 의미한다.

[0340] [화학식 19]



[0341]

[0342] R¹에 있어서의 「치환 혹은 비치환된 방향족 헤테로환식기」 또는 「치환 혹은 비치환된 5~6원 방향족 헤테로환식기」의 치환기로서는, 예를 들어,

[0343] 할로젠;

[0344] 치환 혹은 비치환된 알킬;

[0345] 을 들 수 있다. 이들로부터 선택되는 1 이상의 기로 치환되어 있어도 된다.

[0346] R¹에 있어서의 「치환 혹은 비치환된 방향족 헤테로환식기」 또는 「치환 혹은 비치환된 5~6원 방향족 헤테로환식기」의 치환기로서는, 예를 들어,

[0347] 할로젠;

[0348] 치환 알킬(치환기로서는, 하이드록시); 비치환 알킬;

[0349] 을 들 수 있다. 이들로부터 선택되는 1 이상의 기로 치환되어 있어도 된다.

[0350] R²에 있어서의 「치환 혹은 비치환된 6원 방향족 탄소환식기」의 치환기로서는, 예를 들어,

[0351] 할로젠; 사이아노;

[0352] 치환 혹은 비치환된 알킬;

[0353] 을 들 수 있다. 이들로부터 선택되는 1 이상의 기로 치환되어 있어도 된다.

[0354] R²에 있어서의 「치환 혹은 비치환된 6원 방향족 탄소환식기」의 치환기로서는, 예를 들어,

[0355] 할로젠; 사이아노;

[0356] 치환 알킬(치환기로서는, 할로젠); 비치환 알킬;

[0357] 을 들 수 있다. 이들로부터 선택되는 1 이상의 기로 치환되어 있어도 된다.

[0358] R³에 있어서의 「치환 혹은 비치환된 방향족 헤테로환식기」 또는 「치환 혹은 비치환된 9~10원 방향족 헤테로환식기」의 치환기로서는, 예를 들어,

[0359] 할로젠;

[0360] 치환 혹은 비치환된 알킬;

[0361] 치환 혹은 비치환된 비방향족 헤테로환식기;

[0362] 를 들 수 있다. 이들로부터 선택되는 1 이상의 기로 치환되어 있어도 된다.

[0363] R³에 있어서의 「치환 혹은 비치환된 방향족 헤테로환식기」 또는 「치환 혹은 비치환된 9~10원 방향족 헤테로환식기」의 치환기로서는, 예를 들어,

[0364] 할로젠;

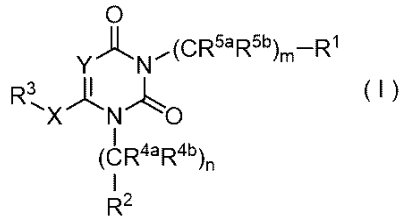
[0365] 치환 알킬(치환기로서는, 할로젠, 하이드록시, 알킬카보닐아미노, 비방향족 헤테로환식기); 비치환 알킬;

[0366] 치환 비방향족 헤테로환식기(치환기로서는, 알킬카보닐); 비치환 비방향족 헤테로환식기;

[0367] 를 들 수 있다. 이들로부터 선택되는 1 이상의 기로 치환되어 있어도 된다.

[0368] 식(I):

[0369] [화학식 20]



[0370]

[0371] 로 표시되는 화합물에 있어서의, R¹, R², R³ 및 m의 바람직한 태양을 이하에 나타낸다. 식(I)로 표시되는 화합물로서는, 이하에 나타나는 구체예의 모든 조합의 태양이 예시된다. 한편, Y, -X-, R^{5a}, R^{5b}, n, R^{4a} 및 R^{4b}는, 상기 항목(1)에 나타내는 대로이다.

[0372] R¹은, 치환 또는 비치환된 방향족 헤테로환식기를 들 수 있다(이하, A-1로 한다).

[0373] R¹은, 치환 또는 비치환된 5~6원 방향족 헤테로환식기를 들 수 있다(이하, A-2로 한다).

[0374] R¹은, 할로젠, 치환 알킬(치환기: 하이드록시) 혹은 비치환 알킬로 치환된 방향족 헤테로환식기 또는 비치환 방향족 헤테로환식기를 들 수 있다(이하, A-3으로 한다).

[0375] R¹은, 할로젠, 치환 알킬(치환기: 하이드록시) 혹은 비치환 알킬로 치환된 5~6원 방향족 헤테로환식기 또는 비치환 5~6원 방향족 헤테로환식기를 들 수 있다(이하, A-4로 한다).

[0376] R¹은, 비치환 알킬 혹은 할로젠으로 치환된 방향족 헤테로환식기 또는 비치환 방향족 헤테로환식기를 들 수 있다(이하, A-5로 한다).

[0377] R¹은, 비치환 알킬 혹은 할로젠으로 치환된 5~6원 방향족 헤테로환식기 또는 비치환 5~6원 방향족 헤테로환식기를 들 수 있다(이하, A-6으로 한다).

[0378] R¹은, 비치환 알킬 또는 할로젠으로 치환된 방향족 헤테로환식기를 들 수 있다(이하, A-7로 한다).

[0379] R¹은, 비치환 알킬 또는 할로젠으로 치환된 5~6원 방향족 헤테로환식기를 들 수 있다(이하, A-8로 한다).

[0380] R¹은, 비치환 알킬로 치환된 방향족 헤테로환식기 또는 비치환 방향족 헤테로환식기를 들 수 있다(이하, A-9로 한다).

[0381] R¹은, 비치환 알킬로 치환된 5~6원 방향족 헤테로환식기 또는 비치환 5~6원 방향족 헤테로환식기를 들 수 있다(이하, A-10으로 한다).

[0382] R¹은, 비치환 알킬로 치환된 방향족 헤테로환식기를 들 수 있다(이하, A-11로 한다).

[0383] R¹은, 비치환 알킬로 치환된 5~6원 방향족 헤테로환식기를 들 수 있다(이하, A-12로 한다).

[0384] R²는, 치환 또는 비치환된 6원 방향족 탄소환식기를 들 수 있다(이하, B-1로 한다).

[0385] R²는, 할로젠, 사이아노, 치환 알킬(치환기: 할로젠) 또는 비치환 알킬로 치환된 6원 방향족 탄소환식기를 들 수 있다(이하, B-2로 한다).

[0386] R²는, 할로젠, 사이아노, 또는 비치환 알킬로 치환된 6원 방향족 탄소환식기를 들 수 있다(이하, B-3으로 한다).

- [0387] R^2 는, 치환기군 G(치환기군 G: 할로젠, 사이아노 및 비치환 알킬)로부터 선택되는 2~4개의 치환기로 치환된 6원 방향족 탄소환식기를 들 수 있다(이하, B-4로 한다).
- [0388] R^2 는, 치환기군 G(치환기군 G: 할로젠, 사이아노 및 비치환 알킬)로부터 선택되는 2~3개의 치환기로 치환된 6원 방향족 탄소환식기를 들 수 있다(이하, B-5로 한다).
- [0389] R^2 는, 치환기군 G(치환기군 G: 할로젠, 사이아노 및 비치환 알킬)로부터 선택되는 3~4개의 치환기로 치환된 6원 방향족 탄소환식기를 들 수 있다(이하, B-6으로 한다).
- [0390] R^2 는, 3개의 할로젠으로 치환된 6원 방향족 탄소환식기를 들 수 있다(이하, B-7로 한다).
- [0391] R^3 은, 치환 또는 비치환된 방향족 헤테로환식기를 들 수 있다(이하, C-1로 한다).
- [0392] R^3 은, 치환 또는 비치환된 9~10원 방향족 헤테로환식기를 들 수 있다(이하, C-2로 한다).
- [0393] R^3 은, 할로젠 또는 치환 혹은 비치환 알킬로 치환된 방향족 헤테로환식기를 들 수 있다(이하, C-3으로 한다).
- [0394] R^3 은, 할로젠 또는 치환 혹은 비치환 알킬로 치환된 9~10원 방향족 헤테로환식기를 들 수 있다(이하, C-4로 한다).
- [0395] R^3 은, 할로젠 또는 비치환 알킬로 치환된 방향족 헤테로환식기를 들 수 있다(이하, C-5로 한다).
- [0396] R^3 은, 할로젠 또는 비치환 알킬로 치환된 9~10원 방향족 헤테로환식기를 들 수 있다(이하, C-6으로 한다).
- [0397] R^3 은, 할로젠 또는 비치환 알킬로 치환된 인다졸릴을 들 수 있다(이하, C-7로 한다).
- [0398] R^3 은, 할로젠 및 비치환 알킬로 치환된 인다졸릴을 들 수 있다(이하, C-8로 한다).
- [0399] m은 0 또는 1을 들 수 있다(이하, D-1로 한다).
- [0400] m은 0을 들 수 있다(이하, D-2로 한다).
- [0401] m은 1을 들 수 있다(이하, D-3으로 한다).
- [0402] 식(I)로 표시되는 화합물로서는, 이하에 나타나는 태양이 예시된다.
- [0403] (a-1)
- [0404] R^1 은, (A-12)이고;
- [0405] R^2 는, (B-7)이고;
- [0406] R^3 은, (C-8)이고;
- [0407] m은, (D-2)이다.
- [0408] (a-2)
- [0409] R^1 은, (A-12)이고;
- [0410] R^2 는, (B-7)이고;
- [0411] R^3 은, (C-8)이고;
- [0412] m은, (D-3)이다.
- [0413] (a-3)
- [0414] R^1 은, (A-12)이고;

[0415] R²는, (B-7)이고;

[0416] R³은, (C-8)이고;

[0417] m은, (D-1)이다.

[0418] (a-4)

[0419] R¹은, (A-4)이고;

[0420] R²는, (B-4)이고;

[0421] R³은, (C-4)이고;

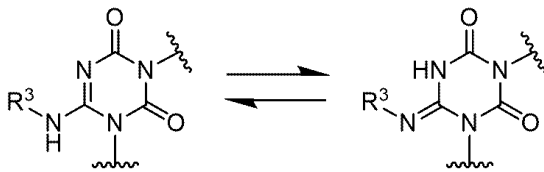
[0422] m은, (D-1)이다.

[0423] 식(I)로 표시되는 화합물로서는, 식(I-A)로 표시되는 화합물, 식(I-B)로 표시되는 화합물이 바람직하다.

[0424] 식(I), 식(I-A) 및 식(I-B)로 표시되는 화학 구조식도, 각각의 식에 있어서 통일하여 이용된다.

[0425] 식(I)로 표시되는 화합물은, 특정의 이성체로 한정하는 것은 아니고, 모든 가능한 이성체(예를 들어, 케토-엔올 이성체, 이민-엔아민 이성체, 다이아스테레오 이성체, 광학 이성체, 회전 이성체 등), 라세미체 또는 그들의 혼합물을 포함한다. 예를 들어, 식(I)로 표시되는 화합물은, 이하와 같은 호변 이성체를 포함한다.

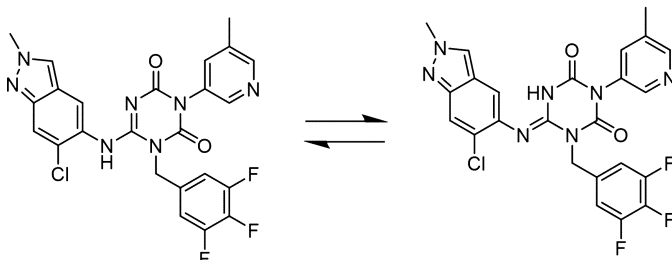
[0426] [화학식 21]



[0427]

[0428] 예를 들어, 식(I-A)로 표시되는 화합물이나 화합물(I-003)은, 이하와 같은 호변 이성체 및 그들의 혼합물을 포함한다.

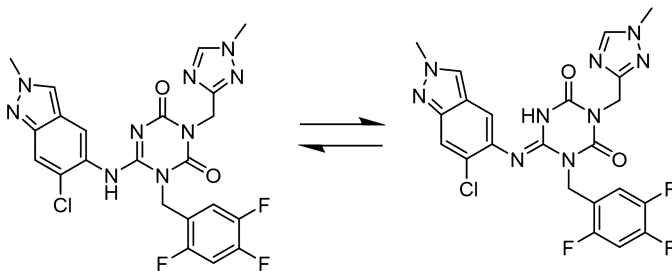
[0429] [화학식 22]



[0430]

[0431] 예를 들어, 식(I-B)로 표시되는 화합물이나 화합물(I-005)는, 이하와 같은 호변 이성체 및 그들의 혼합물을 포함한다.

[0432] [화학식 23]



[0433]

[0434] 식(I)로 표시되는 화합물의 1개 이상의 수소, 탄소 및/또는 다른 원자는, 각각 수소, 탄소 및/또는 다른 원자의

동위체로 치환될 수 있다. 그와 같은 동위체의 예로서는, 각각 ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}O , ^{17}O , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{18}F , ^{123}I 및 ^{36}Cl 과 같이, 수소, 탄소, 질소, 산소, 인, 황, 불소, 아이오딘 및 염소가 포함된다. 식(I)로 표시되는 화합물은, 그와 같은 동위체로 치환된 화합물도 포함한다. 해당 동위체로 치환된 화합물은, 의약품으로서도 유용하고, 식(I)로 표시되는 화합물의 모든 방사성 표지체를 포함한다. 또한 해당 「방사성 표지체」를 제조하기 위한 「방사성 표지화 방법」도 본 발명에 포함되고, 해당 「방사성 표지체」는, 대사 약물동태 연구, 결합 어세이에 있어서의 연구 및/또는 진단의 툴로서 유용하다.

[0435] 또한, 본 발명의 결정은 중수소 변환체여도 된다. 본 발명의 결정은 동위 원소(예, ^3H , ^{14}C , ^{35}S , ^{125}I 등)로 표시되어 있어도 된다.

[0436] 식(I)로 표시되는 화합물의 방사성 표지체는, 당해 기술 분야에서 주지의 방법으로 조제할 수 있다. 예를 들어, 식(I)로 표시되는 트리튬 표지 화합물은, 트리튬을 이용한 촉매적 탈할로젠화 반응에 의해, 식(I)로 표시되는 특정의 화합물에 트리튬을 도입함으로써 조제할 수 있다. 이 방법은, 적절한 촉매, 예를 들어 Pd/C의 존재하, 염기의 존재하 또는 비존재하에서, 식(I)로 표시되는 화합물이 적절히 할로젠 치환된 전구체와 트리튬 가스를 반응시키는 것을 포함한다. 트리튬 표지 화합물을 조제하기 위한 다른 적절한 방법은, “Isotopes in the Physical and Biomedical Sciences, Vol. 1, Labeled Compounds (Part A), Chapter 6(1987년)”을 참조할 수 있다. ^{14}C -표지 화합물은, ^{14}C 탄소를 갖는 원료를 이용하는 것에 의해 조제할 수 있다.

[0437] 식(I)로 표시되는 화합물의 제약상 허용되는 염으로서는, 예를 들어, 식(I)로 표시되는 화합물과, 알칼리 금속(예를 들어, 리튬, 나트륨, 칼륨 등), 알칼리 토류 금속(예를 들어, 칼슘, 바륨 등), 마그네슘, 전이 금속(예를 들어, 아연, 철 등), 암모니아, 유기 염기(예를 들어, 트라이메틸아민, 트라이에틸아민, 다이사이클로헥실아민, 에탄올아민, 다이에탄올아민, 트라이에탄올아민, 메글루민, 에틸렌다이아민, 피리딘, 피롤린, 퀴놀린 등) 및 아미노산의 염, 또는 무기산(예를 들어, 염산, 황산, 질산, 탄산, 브로민화 수소산, 인산, 아이오딘화 수소산 등), 및 유기산(예를 들어, 폼산, 아세트산, 프로피온산, 트라이플루오로아세트산, 시트르산, 락트산, 타르타르산, 옥살산, 말레산, 푸마르산, 석신산, 만델산, 글루타르산, 말산, 벤조산, 프탈산, 아스코르브산, 벤젠설폰산, p-톨루엔설폰산, 메테인설폰산, 에테인설폰산, 트라이플루오로아세트산 등)의 염을 들 수 있다. 이들 염은, 통상 행해지는 방법에 의해 형성시킬 수 있다.

[0438] 식(I-A)로 표시되는 화합물의 제약상 허용되는 염으로서는, 예를 들어, 식(I-A)로 표시되는 화합물과 카운터 분자 또는 카운터 이온으로 이루어지고, 임의의 수의 카운터 분자 또는 카운터 이온을 포함하고 있어도 된다. 식(I-A)로 표시되는 화합물의 제약상 허용되는 염은, 화합물과 카운터 분자 또는 카운터 원자 사이에서 양성자 이동하는 것에 의해, 이온 결합을 개재시키는 것을 말한다.

[0439] 식(I-A)로 표시되는 화합물의 제약상 허용되는 염으로서는, 식(I-A)로 표시되는 화합물의 p-톨루엔설폰산염이 바람직하다.

[0440] 본 발명의 제제에 있어서는, 식(I)로 표시되는 화합물 또는 그 제약상 허용되는 염의 복합체를 이용할 수 있다. 식(I)로 표시되는 화합물 또는 그 제약상 허용되는 염은, 용매화물(예를 들어, 수화물 등), 공결정 및/또는 포접 화합물을 형성하는 경우가 있고, 본 명세서 중에서는 그들을 「복합체」라고 기재한다.

[0441] 본 명세서 중에서 이용하는 「용매화물」이란, 예를 들어 식(I)로 표시되는 화합물에 대해, 임의의 수의 용매 분자(예를 들어, 물 분자 등)와 배위하고 있어도 된다. 식(I)로 표시되는 화합물 또는 그 제약상 허용되는 염을, 대기 중에 방치하는 것에 의해, 수분을 흡수하여, 흡착수가 부착되는 경우나, 수화물을 형성하는 경우가 있다.

[0442] 용매 분자로서는, 예를 들어, 아세토나이트릴, 클로로벤젠, 클로로폼, 사이클로헥세인, 1,2-다이클로로에텐, 다이클로로메테인, 1,2-다이메톡시에테인, N,N-다이메틸아세트아마이드, N,N-다이메틸폼아마이드, 1,4-다이옥세인, 2-에톡시에탄올, 에틸렌 글라이콜, 폼아마이드, 헥세인, 메탄올, 2-메톡시에탄올, 메틸 뷰틸 케톤, 메틸사이클로헥세인, N-메틸피롤리돈, 나이트로메테인, 피리딘, 설펜올레인, 테트라린, 톨루엔, 1,1,2-트라이클로로에텐, 자일렌, 아세트산, 아니솔, 1-뷰탄올, 2-뷰탄올, 아세트산 n-뷰틸, t-뷰틸 메틸 에터, 큐멘, 다이메틸설포사이드, 아세트산 에틸, 다이에틸 에터, 폼산 에틸, 폼산, 헵테인, 아세트산 아이소뷰틸, 아세트산 아이소프로필, 아세트산 메틸, 3-메틸-1-뷰탄올, 메틸 에틸 케톤, 메틸 아이소뷰틸 케톤, 2-메틸-1-프로판올, 펜테인, 1-펜탄올, 1-프로판올, 2-프로판올, 아세트산 프로필, 테트라하이드로퓨란, 물(즉 수화물), 에탄올, 아세톤, 1,1-다이메톡시프로페인, 1,1-다이메톡시메테인, 2,2-다이메톡시프로페인, 아이소옥테인, 아이소프로필

에터, 메틸 아이소프로필 케톤, 메틸테트라하이드로퓨란, 석유 에터, 트라이클로로아세트산 및 트라이플루오로아세트산, 바람직하게는, 아세트산, 아니솔, 1-부탄올, 2-부탄올, 아세트산 n-부틸, t-부틸 메틸 에터, 큐멘, 다이메틸설폭사이드, 아세트산 에틸, 다이에틸 에터, 폼산 에틸, 폼산, 헵테인, 아세트산 아이소부틸, 아세트산 아이소프로필, 아세트산 메틸, 3-메틸-1-부탄올, 메틸 에틸 케톤, 메틸 아이소부틸 케톤, 2-메틸-1-프로판올, 펜테인, 1-펜탄올, 1-프로판올, 2-프로판올, 아세트산 프로필, 테트라하이드로퓨란, 물(즉 수화물), 에탄올, 아세톤, 1,1-다이에톡시프로페인, 1,1-다이메톡시메테인, 2,2-다이메톡시프로페인, 아이소옥테인, 아이소프로필 에터, 메틸 아이소프로필 케톤, 메틸테트라하이드로퓨란, 석유 에터, 트라이클로로아세트산 및 트라이플루오로아세트산 등을 들 수 있다.

- [0443] 본 명세서 중에서 이용하는 「공결정」이란, 카운터 분자가 동일 결정 격자 내에 규칙적으로 배열되는 것을 의미하고, 임의의 수의 카운터 분자를 포함하고 있어도 된다. 또한, 공결정이란, 화합물과 카운터 분자의 분자간 상호작용이, 수소 결합, 반데르발스힘 등의, 비공유 결합성이고 또한 비이온성인 화학적 상호작용을 개재시키는 것을 말한다.
- [0444] 예를 들어, 식(I-B)로 표시되는 화합물의 공결정으로서, 식(I-B)로 표시되는 화합물과 카운터 분자로 이루어지고, 임의의 수의 카운터 분자를 포함하고 있어도 된다. 바람직하게는, 식(I-B)로 표시되는 화합물과 푸마르산으로 이루어지고, 임의의 수의 푸마르산을 포함하고 있어도 된다. 더 바람직하게는, 식(I-B)로 표시되는 화합물 및 푸마르산이 1:1의 몰비인 공결정이다.
- [0445] 공결정은, 화합물이 본질적으로 무전하 또는 중성인 체라고 하는 점에서, 염과 구별된다.
- [0446] 공결정은, 카운터 분자가 물 혹은 용매는 아니라고 하는 점에서 수화물 또는 용매화물과 구별된다.
- [0447] 본 명세서 중에서 이용하는 「결정」이란, 구성하는 원자, 이온, 분자 등이 삼차원적으로 규칙적으로 배열된 고체를 의미하고, 그와 같은 규칙적인 내부 구조를 갖지 않는 비정질 고체와는 구별된다. 본 발명의 결정은, 단결정, 쌍정, 다결정 등이어도 된다.
- [0448] 더욱이, 「결정」에는, 조성이 동일하면서 결정 중의 배열이 상이한 「결정 다형」이 존재하는 경우가 있고, 그들을 포함하여 「결정 형태」라고 한다.
- [0449] 결정 형태 및 결정화도는, 예를 들어, 분말 X선 회절 측정, 라만 분광법, 적외 흡수 스펙트럼 측정법, 수분 흡착 측정, 시차 주사 열량 측정, 용해 특성을 포함시킨 많은 기술에 의해 측정할 수 있다.
- [0450] 또한, 식(I)로 표시되는 화합물, 그 제약상 허용되는 염 또는 그들의 복합체를, 재결정함으로써 「결정 다형」을 형성하는 경우가 있다.
- [0451] 본 발명 제제에 있어서는, 그와 같은 각종의 염, 복합체(수화물, 용매화물, 공결정, 포집 화합물), 결정 다형을 이용할 수 있고, 또한, 그들의 2개 이상의 혼합물이어도 이용할 수 있다.
- [0452] (분말 X선 회절(XRPD))
- [0453] 분말 X선 회절(XRPD)은, 고체의 결정 형태 및 결정성을 측정하기 위한 가장 감도가 좋은 분석법의 하나이다. X선이 결정에 조사되면, 결정 격자면에서 반사되고, 서로 간섭하여, 구조의 주기에 대응한 질서 정연한 회절선을 나타낸다. 한편, 비정질 고체에 대해서는, 통상, 그 구조 중에 질서 정연한 반복 주기를 갖지 않기 때문에, 회절 현상은 일어나지 않고, 특징이 없는 브로드한 XRPD 패턴(할로 패턴이라고도 불린다)을 나타낸다.
- [0454] 식(I-A) 및 식(I-B)로 표시되는 화합물의 결정 형태는, 분말 X선 회절 패턴 및 특징적인 회절 피크로부터 식별 가능하다. 식(I-A) 및 식(I-B)로 표시되는 화합물의 결정 형태는, 특징적인 회절 피크의 존재에 의해 다른 결정 형태와 구별할 수 있다.
- [0455] 본 명세서 중에서 이용하는 특징적인 회절 피크는, 관측된 회절 패턴으로부터 선택되는 피크이다. 특징적인 회절 피크는, 바람직하게는 회절 패턴에 있어서의 약 10개, 보다 바람직하게는 약 5개, 더 바람직하게는 약 3개로부터 선택된다.
- [0456] 복수의 결정을 구별하는 데 있어서는, 피크의 강도보다도, 당해 결정에서 확인되고, 다른 결정에서는 확인되지 않는 피크가, 그 결정을 특정하는 데 있어서 바람직한 특징적인 피크가 된다. 그러한 특징적인 피크이면, 1개 또는 2개의 피크로도, 당해 결정을 특정지을 수 있다. 측정하여 얻어진 차트를 비교하여, 이들 특징적인 피크가

일치하면, 분말 X선 회절 패턴이 실질적으로 일치한다고 말할 수 있다.

- [0457] 일반적으로, 분말 X선 회절에 있어서의 회절 각도(2θ)는 $\pm 0.2^\circ$ 의 범위 내에서 오차가 생길 수 있기 때문에, 분말 X선 회절의 회절 각도의 값은 $\pm 0.2^\circ$ 정도의 범위 내의 수치도 포함하는 것으로서 이해될 필요가 있다. 따라서, 분말 X선 회절에 있어서의 피크의 회절 각도가 완전히 일치하는 결정뿐만 아니라, 피크의 회절 각도가 $\pm 0.2^\circ$ 정도의 오차로 일치하는 결정도 본 발명에 포함된다.
- [0458] 이하의 표 및 도에 있어서 표시되는 피크의 강도는, 일반적으로, 많은 인자, 예를 들어 X선 빔에 대한 결정의 선택 배향의 효과, 조대 입자의 영향, 분석되는 물질의 순도 또는 샘플의 결정화도에 따라 변동할 수 있음이 알려져 있다. 또한, 피크 위치에 대해서도, 샘플 높이의 변동에 기초하여 시프트할 수 있다. 더욱이, 상이한 파장을 사용하여 측정하면 브래그식($n\lambda=2d\sin\theta$)에 따라 상이한 시프트가 얻어지지만, 이와 같은 다른 파장의 사용에 의해 얻어지는 다른 XRPD 패턴도, 본 발명의 범위에 포함된다.
- [0459] (단결정 구조 해석)
- [0460] 결정을 특징하는 방법의 하나로, 당해 결정에 있어서의 결정학적 파라미터, 더욱이, 원자 좌표(각 원자의 공간적인 위치 관계를 나타내는 값) 및 3차원 구조 모델을 얻을 수 있다. 사쿠라이 도시오 저 「X선 구조 해석의 안내」 쇼카보 발행(1983년), Stout & Jensen 저 X-Ray Structure Determination: A Practical Guide, Macmillan Co., New York (1968) 등을 참조. 본 발명과 같은 복합체, 염, 광학 이성체, 호변 이성체, 기하 이성체의 결정의 구조를 동정할 때에는, 단결정 구조 해석이 유용하다.
- [0461] 본 발명에 따른 화합물은, 코로나 바이러스 3CL 프로테아제 저해 활성을 갖기 때문에, 코로나 바이러스 3CL 프로테아제가 관여하는 질환의 치료 및/또는 예방제로서 유용하다. 본 발명에 있어서 「치료제 및/또는 예방제」라고 하는 경우, 증상 개선제도 포함한다. 코로나 바이러스 3CL 프로테아제가 관여하는 질환으로서, 바이러스 감염증을 들 수 있고, 바람직하게는 코로나 바이러스 감염증을 들 수 있다.
- [0462] 하나의 태양으로서, 코로나 바이러스로서는, 인간에게 감염하는 코로나 바이러스를 들 수 있다. 인간에게 감염하는 코로나 바이러스로서는, HCoV-229E, HCoV-NL63, HCoV-HKU1, HCoV-OC43, SARS-CoV, MERS-CoV, 및/또는 SARS-CoV-2를 들 수 있다.
- [0463] 하나의 태양으로서, 코로나 바이러스로서는, 알파 코로나 바이러스 및/또는 베타 코로나 바이러스, 보다 바람직하게는 베타 코로나 바이러스, 더 바람직하게는 사르베코 바이러스를 들 수 있다.
- [0464] 하나의 태양으로서, 알파 코로나 바이러스로서는, HCoV-229E 및 HCoV-NL63을 들 수 있다. 특히 바람직하게는, HCoV-229E를 들 수 있다.
- [0465] 하나의 태양으로서, 베타 코로나 바이러스로서는, HCoV-HKU1, HCoV-OC43, SARS-CoV, MERS-CoV, 및/또는 SARS-CoV-2를 들 수 있다. 바람직하게는 HCoV-OC43 또는 SARS-CoV-2, 특히 바람직하게는 SARS-CoV-2를 들 수 있다.
- [0466] 하나의 태양으로서, 베타 코로나 바이러스로서는, 베타 코로나 바이러스 A 계통(β -coronavirus lineage A), 베타 코로나 바이러스 B 계통(β -coronavirus lineage B), 및 베타 코로나 바이러스 C 계통(β -coronavirus lineage C)을 들 수 있다. 보다 바람직하게는, 베타 코로나 바이러스 A 계통(β -coronavirus lineage A), 및 베타 코로나 바이러스 B 계통(β -coronavirus lineage B), 특히 바람직하게는 베타 코로나 바이러스 B 계통(β -coronavirus lineage B)을 들 수 있다.
- [0467] 베타 코로나 바이러스 A 계통(β -coronavirus lineage A)으로서, 예를 들어 HCoV-HKU1 및 HCoV-OC43, 바람직하게는, HCoV-OC43을 들 수 있다. 베타 코로나 바이러스 B 계통(β -coronavirus lineage B)으로서, 예를 들어 SARS-CoV 및 SARS-CoV-2, 바람직하게는 SARS-CoV-2를 들 수 있다. 베타 코로나 바이러스 C 계통(β -coronavirus lineage C)으로서, 바람직하게는 MERS-CoV를 들 수 있다.
- [0468] 하나의 태양으로서, 코로나 바이러스로서는, HCoV-229E, HCoV-OC43, 및/또는 SARS-CoV-2, 특히 바람직하게는 SARS-CoV-2를 들 수 있다.
- [0469] 한편, 바이러스는 증식이나 감염을 반복하는 가운데 변이함이 일반적으로 알려져 있다. 상기 코로나 바이러스에는, 본 발명에 따른 화합물이, 코로나 바이러스 3CL 프로테아제 저해 활성을 발휘할 수 있는 주인 한, 당해 분야에서 공지된 변이주뿐만 아니라, 향후 출현하는 변이주도 포함된다. SARS-CoV-2의 공지된 변이주로서는, 예를 들어, 본 명세서의 실시예에서 사용한 변이주를 들 수 있다.
- [0470] 코로나 바이러스 감염증으로서, HCoV-229E, HCoV-NL63, HCoV-OC43, HCoV-HKU1, SARS-CoV, MERS-CoV, 및/또는

SARS-CoV-2에 의한 감염증을 들 수 있다. 바람직하게는, HCoV-229E, HCoV-OC43, 및/또는 SARS-CoV-2에 의한 감염증, 특히 바람직하게는, SARS-CoV-2에 의한 감염증을 들 수 있다.

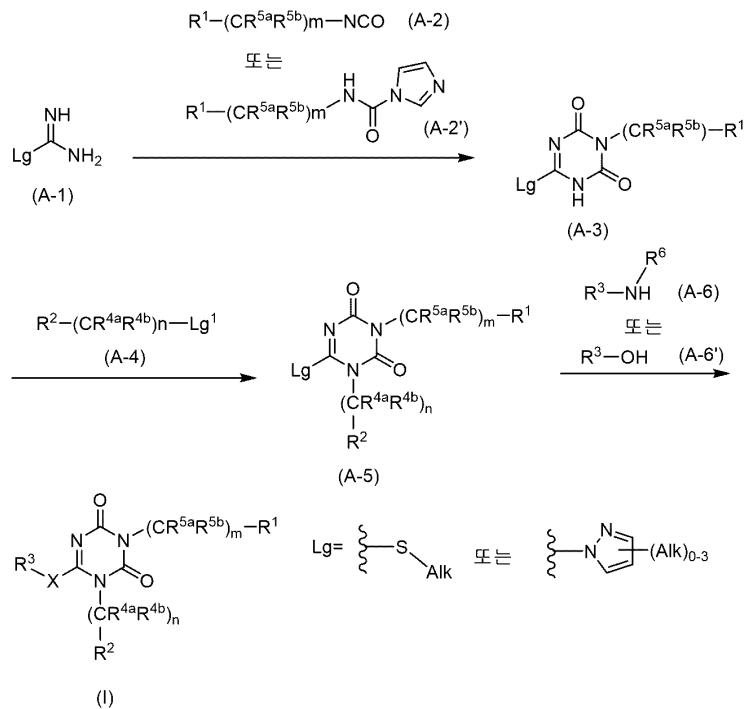
- [0471] 코로나 바이러스 감염증으로서는, 특히 바람직하게는, 신형 코로나 바이러스 감염증(COVID-19)을 들 수 있다.
- [0472] 신형 코로나 바이러스 감염자의 중증도 분류는, 예를 들어 이하에 예시된다. (참고: 신형 코로나 바이러스 감염증 COVID-19 진료의 안내 제5.2판(후생노동성))
- [0473] (경증)
- [0474] 산소 포화도가 96% 이상이다. 임상 상태는, 호흡기 증상은 없거나, 또는 기침만으로 호흡 곤란은 없고, 어느 경우여도 폐렴 소견을 인정하지 않는다.
- [0475] (중등증 I)
- [0476] 산소 포화도가 96% 미만~93% 초과이다. 호흡 곤란이 있고, 폐렴 소견이 있다.
- [0477] (중등증 II)
- [0478] 산소 포화도가 93% 미만이다. 호흡 부전이 있고, 산소 투여가 필요하다.
- [0479] (중증)
- [0480] ICU에 입실하고 있다, 또는, 인공 호흡기가 필요하다.
- [0481] 상기의 분류는 일본에 있어서의 중증도 분류의 정의이며, 예를 들어, 중국이나 미국 NIH의 중증도 분류를 원용하는 것이 가능하다.
- [0482] 또한, 무증후의 SARS-CoV-2 감염자란, 무증상 병원체 보유자를 의미한다. 예를 들어, COVID-19 증상의 14증상이 인정되지 않은 자를 들 수 있다.
- [0483] (COVID-19의 14증상: 피로감, 근육 또는 몸의 통증, 두통, 오한, 고열, 미각 이상, 후각 이상, 콧물 또는 코막힘, 목의 통증, 기침, 혈떡임, 구역질, 구토, 설사)
- [0484] 본 명세서 중, COVID-19의 12증상이란, 피로감, 근육 또는 몸의 통증, 두통, 오한, 고열, 콧물 또는 코막힘, 목의 통증, 기침, 혈떡임, 구역질, 구토, 설사를 들 수 있다.
- [0485] 본 명세서 중, 중증화 억제란, 무증후의 SARS-CoV-2 감염자가, 경증, 중등증 I, 중등증 II 또는 중증으로 분류되는 중증도로 끌어 올려지는 것을 억제하는 것이다.
- [0486] 본 명세서 중, 중증화 억제란, 무증후의 SARS-CoV-2 감염자 또는 경증의 SARS-CoV-2 감염자가, 중등증 I, 중등증 II 또는 중증으로 분류되는 중증도로 끌어 올려지는 것을 억제하는 것이다.
- [0487] 본 명세서 중, 중증화 억제란, 무증후의 SARS-CoV-2 감염자, 경증의 SARS-CoV-2 감염자 또는 중등증 I의 SARS-CoV-2 감염자가, 중등증 II 또는 중증으로 분류되는 중증도로 끌어 올려지는 것을 억제하는 것이다.
- [0488] 본 명세서 중, 중증화 억제란, 무증후의 SARS-CoV-2 감염자, 경증의 SARS-CoV-2 감염자, 중등증 I의 SARS-CoV-2 감염자 또는 중등증 II의 SARS-CoV-2 감염자가, 중증으로 분류되는 중증도로 끌어 올려지는 것을 억제하는 것이다.
- [0489] 본 명세서 중, 중증화 억제란, 본체의 바이러스 증식 억제 효과를 개재시켜, SARS-CoV-2 감염자의 입원이나 사망 리스크가 감소하는 것을 의미한다.
- [0490] 본 명세서 중, 중증화 억제란, 본체의 바이러스 증식 억제 효과를 개재시켜, SARS-CoV-2 감염자의 폐에서의 염증을 경감하는 것을 의미한다.
- [0491] 본 명세서 중, 중증화 억제란, 본체의 바이러스 증식 억제 효과를 개재시켜, SARS-CoV-2의 바이러스 감염에 의해 야기되는 폐렴을 억제하는 것을 의미한다.
- [0492] 본 명세서 중, 중증화 억제란, 본체의 바이러스 증식 억제 효과를 개재시켜, SARS-CoV-2의 바이러스 감염에 의해 야기되는 숙주의 과잉한 면역 반응을 억제하는 것을 의미한다.
- [0493] 하나의 실시태양으로서, 본 발명의 의약 조성물은, SARS-CoV-2 감염자 중, 다음에 나타내는 중증화 리스크 인자를 적어도 1개 갖는 감염자에게 투여하는 것을 들 수 있다.

- [0494] · 50세 이상
- [0495] · 비만(BMI $30\text{kg}/\text{m}^2$ 이상)
- [0496] · 심혈관 질환(고혈압, 선천성 심 질환을 포함하는 심혈관계 질환을 포함한다)
- [0497] · 만성 폐 질환(천식, 간질성 폐 질환을 포함한다)
- [0498] · 1형 또는 2형 당뇨병
- [0499] · 만성 신장 장애(투석 환자를 포함한다)
- [0500] · 만성 간 질환
- [0501] · 면역 억제 상태(예: 악성 종양 치료, 골수 또는 장기 이식, 면역 부전, 컨트롤 불량의 HIV, AIDS, 겸상 적혈구 빈혈, 탈라세미아, 면역 억제제의 장기 투여)
- [0502] · 만성 폐색성 폐 질환(COPD)
- [0503] · 지질 이상증
- [0504] · 흡연
- [0505] · 고형 장기 이식 후의 면역 부전
- [0506] · 임신
- [0507] · 신경 발달 질환이나 복잡한 병태를 안는 환자(예: 뇌성 마비, 선천성 질환)
- [0508] · 의료 의존도가 높은 환자(예: 기관 절개, 위루, 양압 환기)
- [0509] 하나의 실시태양으로서, 본 발명의 의약 조성물은, 중증화 리스크 인자를 적어도 1개 갖는 감염자에게 투여되어, COVID-19 증상의 중증화를 억제하기 위해서 이용된다.
- [0510] 하나의 실시태양으로서, 본 발명의 의약 조성물은, SARS-CoV-2에 의한 폐렴을 갖는 환자에게 이용된다.
- [0511] 하나의 실시태양으로서, 본 발명의 의약 조성물은, SARS-CoV-2 감염자 중, 다음에 나타내는 중증화 리스크 인자를 적어도 1개 갖는 감염자에게 투여하는 것이 들 수 있다.
- [0512] · ECMO(체외식 막형 인공 폐) 장착 환자
- [0513] · 인공 호흡기 장착 환자
- [0514] · ICU 입실중의 환자
- [0515] · 산소 포화도(SpO_2) 93%(실내기(室內氣)) 이하 또는 산소 흡입이 필요한 환자
- [0516] 하나의 실시태양으로서, 본 발명의 의약 조성물은, SARS-CoV-2 감염자 중, 다음에 나타내는 중증화 리스크 인자를 적어도 1개 갖는 감염자에게 투여하는 것을 들 수 있다.
- [0517] · 산소 포화도(SpO_2) 94% 미만(실내기, 해면위(海面位))
- [0518] · $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ 가 300mmHg 미만
- [0519] · 호흡수가 30 이상/분
- [0520] · 폐 침윤이 50% 이상
- [0521] (식(I)로 표시되는 화합물의 제조법)
- [0522] 식(I)로 표시되는 화합물은, 예를 들어, 하기에 나타내는 일반적 합성법에 의해 제조할 수 있다. 추출, 정제 등은, 통상의 유기 화학의 실험에서 행하는 처리를 행하면 된다. 당해 분야에 있어서 공지된 수법을 참고로 하면서 합성할 수 있다. 추출, 정제 등은, 통상의 유기 화학의 실험에서 행하는 처리를 행하면 된다.
- [0523] 식(I)로 표시되는 화합물은, 당해 분야에 있어서 공지된 수법을 참고로 하면서 제조할 수 있다. 예를 들어, W02010092966, W02012020749, W02013089212, W02014200078, W02012020742 및 W02013118855 등을 참고로 하여

제조할 수 있다.

[0524] (A법)

[0525] [화학식 24]



[0526] (I)

[0527] (식 중, Alk는 C1-C3 알킬이고, Lg^1 은 탈리기이고, R^6 은 수소 원자이고, 그 외의 기호는 상기와 동의이다.)

[0528] (제1 공정)

[0529] 화합물(A-1) 또는 그의 염산염 혹은 브로민산염 등을, N,N-다이메틸폼아마이드, N,N-다이메틸아세트아마이드, N,N'-다이메틸이미다졸리딘온, 다이메틸설폭사이드, THF 등의 용매 중, DBU, 트라이에틸아민, N,N-다이아이소프로필에틸아민, 피리딘 등의 염기(바람직하게는, DBU)의 존재하, $-20^{\circ}C \sim 50^{\circ}C$, 바람직하게는 $-10^{\circ}C \sim$ 빙랭하에서, 아이소사이아네이트(A-2) 또는 1-카바모일이미다졸(A-2')과 반응시킨다. 계속해서, 반응 혼합물을, 1,1'-카보닐 다이이미다졸, 포스젠, 트라이포스젠 등의 카보닐화제, 및 DBU, 트라이에틸아민, N,N-다이아이소프로필에틸아민, 피리딘 등의 염기(바람직하게는, DBU)와 $-20^{\circ}C \sim 50^{\circ}C$, 바람직하게는 $-10^{\circ}C \sim$ 빙랭하에서, 반응시키는 것에 의해 화합물(A-3)을 제조할 수 있다.

[0530] (제2 공정)

[0531] 화합물(A-3)을 아세토나이트릴, 아세톤, DMF, DMSO 등의 용매 중, 탄산 칼륨, 탄산 나트륨, N,N-다이아이소프로필에틸아민 등의 염기의 존재하, $50^{\circ}C \sim$ 가열 환류하, 바람직하게는 가열 환류하에서, 화합물(A-4)와 반응시킴으로써, 화합물(A-5)를 제조할 수 있다.

[0532] 탈리기로서는, 예를 들어, 할로젠 및 $-OSO_2(C_tF_{2t+1})$ (식 중, t는 1~4의 정수) 등을 들 수 있다. 할로젠으로서는, 염소, 아이오딘 및 브로민이 바람직하고, $-OSO_2(C_tF_{2t+1})$ 기로서는, $-OTf$ 기(트라이플루오로메테인설포산 에스터)가 바람직하다.

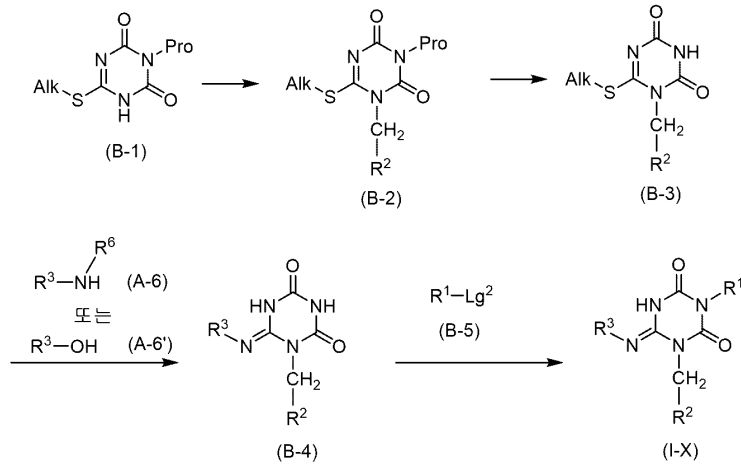
[0533] (제3 공정)

[0534] 화합물(A-5)을 NMP, DMF, DMA, DMSO, tert-부탄올, 2-메틸-2-부탄올 등의 용매 중, 아세트산 등의 산의 존재하 또는 비존재하, $60^{\circ}C \sim 150^{\circ}C$, 바람직하게는 $80^{\circ}C \sim 120^{\circ}C$ 에서, 화합물(A-6) 또는 화합물(A-6')와 반응시키는 것에 의해, 화합물(I)로 표시되는 화합물을 제조할 수 있다.

[0535] 광학 활성인 아이소사이아네이트(A-2)를 이용함으로써, 광학 활성인 화합물(I)로 표시되는 화합물을 제조할 수 있다.

[0536] (B법)

[0537] [화학식 25]



[0538]

[0539] (식 중, Alk는 C1-C3 알킬이고, Pro는 C1-C4 알킬 또는 tert-부톡시카보닐, Lg²는 탈리기이고, R⁶은 수소 원자이고, 그 외의 기호는 상기와 동의이다.)

[0540] (제1 공정)

[0541] 상기 A법의 제2 공정과 마찬가지로 하여, 화합물(B-1)로부터 화합물(B-2)를 제조할 수 있다.

[0542] (제2 공정)

[0543] 화합물(B-2)를 유기 용매의 존재하 또는 비존재하에 있어서, -20°C~실온, 바람직하게는 실온에서, TFA 등의 강산으로 처리하는 것에 의해, 화합물(B-3)을 제조할 수 있다.

[0544] (제3 공정)

[0545] 상기 A법의 제3 공정과 마찬가지로 하여, 화합물(B-3)으로부터 화합물(B-4)를 제조할 수 있다.

[0546] (제4 공정)

[0547] 화합물(B-4) 및 화합물(B-5)를 이용한 골드버그 아미노화 반응에 의해, 화합물(I-X)을 제조할 수 있다.

[0548] 탈리기로서는, 상기 A법 공정 1에 기재된 탈리기를 들 수 있다.

[0549] 촉매로서는, 예를 들어, 아이오딘화 구리, 사이안화 구리, 브로민화 구리 등, 시판되는 구리 촉매를 이용할 수 있다.

[0550] 배위자로서는, 1,2-다이메틸에틸렌디아민, trans-N,N'-다이메틸사이클로헥세인-1,2-다이아민 등을 이용할 수 있다.

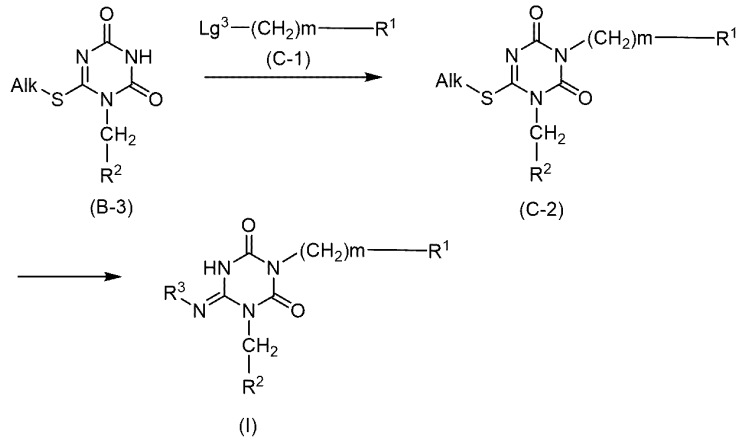
[0551] 염기로서는, 탄산 칼륨, 인산 칼륨 등을 이용할 수 있다.

[0552] 용매로서는, NMP, 다이옥세인, DMSO 등을 이용할 수 있다.

[0553] 반응 온도는, 실온 내지 용매가 환류하는 온도에서 반응을 행하면 되고, 바람직하게는, 가열 환류하에서 반응하면 된다.

[0554] (C법)

[0555] [화학식 26]



[0556]

[0557] (식 중, Alk는 C1-C3 알킬이고, Lg³은 탈리기이고, 그 외의 기호는 상기와 동의이다.)

[0558] (제1 공정)

[0559] 상기 A법의 제2 공정과 마찬가지로 하여, 화합물(C-2)를 제조할 수 있다.

[0560] 탈리기로서는, 상기 A법 공정 1에 기재된 탈리기를 들 수 있다.

[0561] (제2 공정)

[0562] 상기 A법의 제3 공정과 마찬가지로 하여, 화합물(I)로 표시되는 화합물을 제조할 수가 있다.

[0563] 본 발명에 따른 화합물은, 코로나 바이러스 3CL 프로테아제 저해 활성을 갖기 때문에, 바이러스 감염증의 치료 및/또는 예방제로서 유용하다.

[0564] 더욱이 본 발명에 따른 화합물은, 의약으로서의 유용성을 구비하고 있고, 바람직하게는, 하기의 어느 하나, 또는 복수의 우수한 특징을 갖고 있다.

[0565] a) CYP 효소(예를 들어, CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4 등)에 대한 저해 작용이 약하다.

[0566] b) 높은 바이오에베일러빌리티, 적당한 클리어런스 등 양호한 약물 동태를 나타낸다.

[0567] c) 대사 안정성이 높다.

[0568] d) CYP 효소(예를 들어, CYP3A4)에 대해, 본 명세서에 기재하는 측정 조건의 농도 범위 내에서 불가역적 저해 작용을 나타내지 않는다.

[0569] e) 변이원성을 갖지 않다.

[0570] f) 심혈관계의 리스크가 낮다.

[0571] g) 높은 용해성을 나타낸다.

[0572] h) 단백질 비결합률(fu치)이 높다.

[0573] i) 높은 코로나 바이러스 3CL 프로테아제 선택성을 갖고 있다.

[0574] j) 높은 코로나 바이러스 증식 저해 활성을 갖고 있다. 예를 들어, 인간 혈청(HS) 또는 인간 혈청 알부민(HSA) 첨가하에 있어서, 높은 코로나 바이러스 증식 저해 활성을 갖고 있다.

[0575] 코로나 바이러스 증식 저해제로서는, 예를 들어 후술하는 CPE 억제 효과 확인 시험(SARS-CoV-2)에 있어서, 예를 들어 EC₅₀이 10 μM 이하, 바람직하게는 1 μM 이하, 보다 바람직하게는 100nM 이하인 태양을 들 수 있다.

[0576] 또한, 식(I)로 표시되는 화합물의 염·결정·복합체(공결정)는, 의약으로서의 유용성을 구비하고 있고, 바람직하게는, 하기의 어느 하나, 또는 복수의 우수한 특징을 갖고 있다.

[0577] A) 높은 바이오에베일러빌리티, 적당한 클리어런스, 높은 AUC, 높은 최고 혈중 농도 등, 양호한 약물 동태를 나

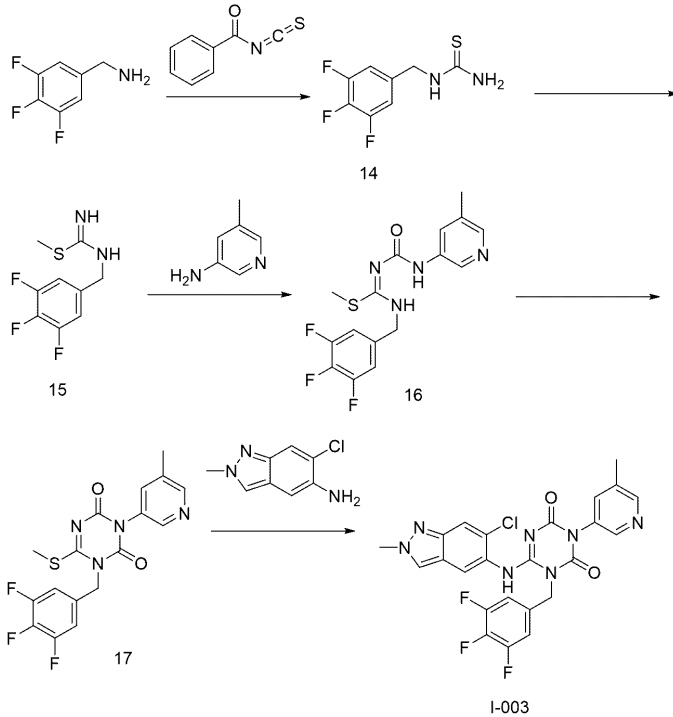
타낸다.

- [0578] B) 높은 용해성, 높은 화학 안정성, 낮은 흡습성을 나타낸다.
- [0579] 본 발명의 의약 조성물은, 경구적, 비경구적의 어느 방법으로도 투여할 수 있다. 비경구 투여의 방법으로서는, 경피, 피하, 정맥내, 동맥내, 근육내, 복강내, 경점막, 흡입, 경비, 점안, 점이, 질내 투여 등을 들 수 있다.
- [0580] 경구 투여의 경우는 통상적 방법에 따라, 내용 고형 제제(예를 들어, 정제, 산제, 과립제, 캡슐제, 환제, 필름제 등), 내용 액제(예를 들어, 현탁제, 유제, 엘릭실제, 시럽제, 리모나데제, 주정제, 방향수제, 익스트랙트제, 전제, 팅크제 등) 등의 통상 이용되는 어느 제형으로 조제하여 투여하면 된다. 정제는, 당의정, 필름 코팅정, 장용성 코팅정, 서방정, 트로키정, 설하정, 버컬정, 추어블정 또는 구강내 붕괴정이어도 되고, 산제 및 과립제는 드라이시립이어도 되고, 캡슐제는, 소프트캡슐제, 마이크로캡슐제 또는 서방성 캡슐제여도 된다.
- [0581] 비경구 투여의 경우는, 주사제, 점적제, 외용제(예를 들어, 점안제, 점비제, 점이제, 에어졸제, 흡입제, 로션제, 주입제, 도포제, 함수제, 관장제, 연고제, 경고제, 젤리제, 크림제, 첩부제, 파프제, 외용 산제, 좌제 등) 등의 통상 이용되는 어느 제형으로도 호적하게 투여할 수 있다. 주사제는, O/W, W/O, O/W/O, W/O/W형 등의 에멀션이어도 된다.
- [0582] 본 발명에 따른 화합물의 유효량에 그 제형에 적합한 부형제, 결합제, 붕괴제, 활택제 등의 각종 의약품 첨가제를 필요에 따라서 혼합하여, 의약 조성물로 할 수 있다. 더욱이, 해당 의약 조성물은, 본 발명에 따른 화합물의 유효량, 제형 및/또는 각종 의약품 첨가제를 적절히 변경하는 것에 의해, 소아용, 고령자용, 중증 환자용 또는 수술용의 의약 조성물로 할 수도 있다. 예를 들어, 소아용 의약 조성물은, 신생아(출생 후 4주 미만), 유아(乳兒)(출생 후 4주~1세 미만), 유아(幼兒)(1세 이상 7세 미만), 소아(7세 이상 15세 미만) 혹은 15세~18세의 환자에게 투여될 수 있다. 예를 들어, 고령자용 의약 조성물은, 65세 이상의 환자에게 투여될 수 있다.
- [0583] 본 발명의 의약 조성물(예를 들어, 식(I-A)로 표시되는 화합물의 p-톨루엔설폰산염 I형 결정체를 포함하는 의약 조성물, 또는, 식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형을 포함하는 의약 조성물)의 투여량은, 환자의 연령, 체중, 질병의 종류나 정도, 투여 경로 등을 고려한 다음에 설정하는 것이 바람직하지만, 경구 투여하는 경우, 통상 0.05~200mg/kg/일이며, 바람직하게는 0.1~100mg/kg/일의 범위 내이다. 비경구 투여의 경우에는 투여 경로에 따라 크게 상이하지만, 통상 0.005~200mg/kg/일이며, 바람직하게는 0.01~100mg/kg/일의 범위 내이다. 이것을 1일 1회~수회로 나누어 투여하면 된다.
- [0584] 본 발명에 따른 화합물은, 해당 화합물의 작용의 증강 또는 해당 화합물의 투여량의 저감 등을 목적으로 하여, 예를 들어, 다른 신형 코로나 바이러스 감염증(COVID-19)의 치료약(해당 치료약으로서, 승인을 받은 약제, 및 개발중 또는 향후 개발되는 약제를 포함한다)(이하, 병용 약제라고 칭한다)과 조합하여 이용해도 된다. 이 때, 본 발명에 따른 화합물과 병용 약제의 투여 시기는 한정되지 않고, 이들을 투여 대상에 대해, 동시에 투여해도 되고, 시간차를 두고 투여해도 된다. 더욱이, 본 발명에 따른 화합물과 병용 약제는, 각각의 활성 성분을 포함하는 2종류 이상의 제제로서 투여되어도 되고, 그들의 활성 성분을 포함하는 단일 제제로서 투여되어도 된다.
- [0585] 병용 약제의 투여량은, 임상상 이용되고 있는 용량을 기준으로 하여 적절히 선택할 수 있다. 또한, 본 발명에 따른 화합물과 병용 약제의 배합비는, 투여 대상, 투여 루트, 대상 질환, 증상, 조합 등에 따라 적절히 선택할 수 있다. 예를 들어, 투여 대상이 인간인 경우, 본 발명에 따른 화합물 1중량부에 대해, 병용 약제를 0.01~100중량부 이용하면 된다.
- [0586] **실시예**
- [0587] 이하에 실시예 및 참고예, 및 시험예를 들어 본 발명을 더 상세히 설명하지만, 본 발명은 이들에 의해 한정되는 것은 아니다.
- [0588] 또한, 본 명세서 중에서 이용하는 약어는 이하의 의미를 나타낸다.
- [0589] Boc: tert-부톡시카보닐
- [0590] CDI: 카보닐다이이미다졸
- [0591] DBU: 1,8-다이아자바이사이클로[5.4.0]-7-운데센
- [0592] DIEA: N,N-다이아이소프로필에틸아민
- [0593] DMA: N,N-다이메틸아세트아마이드

- [0594] DMF: N,N-다이메틸폼아마이드
- [0595] DMSO: 다이메틸설폭사이드
- [0596] DTT: 다이싸이오프트레이톨
- [0597] EDC: 1-에틸-3-(3-다이메틸아미노프로필)카보다이이미드
- [0598] EDT: 1,2-에테인다이싸이올
- [0599] EDTA: 에틸렌다이아민 사아세트산
- [0600] FBS: 소 태아 혈청
- [0601] HOBT: 1-하이드록시벤조트리아아졸
- [0602] LHMSD: 리튬 비스(트라이메틸실릴)아마이드
- [0603] MEM: 이글 최소 필수 배지
- [0604] NMP: N-메틸피롤리돈
- [0605] Pd(OAc)₂: 아세트산 팔라듐
- [0606] TFA: 트라이플루오로아세트산
- [0607] TMSCl: 클로로트라이메틸실레인
- [0608] Xantphos: 4,5'-비스(다이페닐포스포노)-9,9'-다이메틸잔텐
- [0609] mM: mmol/L
- [0610] μM: μmol/L
- [0611] nM: nmol/L
- [0612] (화합물의 동정 방법)
- [0613] 각 실시예에서 얻어진 NMR 분석은 400MHz에서 행하고, DMSO-d₆, CDCl₃, MeOH-d₄를 이용하여 측정했다. 또한, NMR 데이터를 나타내는 경우는, 측정된 모든 피크를 기재하고 있지 않는 경우가 존재한다.
- [0614] 명세서 중에 RT라고 있는 것은, LC/MS: 액체 크로마토그래피/질량 분석에서의 리텐션 시간을 나타내고, 이하의 조건에서 측정했다.
- [0615] (측정 조건 1)
- [0616] 칼럼: ACQUITY UPLC(등록상표) BEH C18(1.7 μm i.d. 2.1x50mm) (Waters)
- [0617] 유속: 0.8mL/분
- [0618] UV 검출 파장: 254nm
- [0619] 이동상: [A]는 0.1% 폼산 함유 수용액, [B]는 0.1% 폼산 함유 아세트나이트릴 용액
- [0620] 그래디언트: 3.5분간으로 5%-100% 용매[B]의 리니어 그래디언트를 행한 후, 0.5분간, 100% 용매[B]를 유지했다.
- [0621] (측정 조건 2)
- [0622] 칼럼: Shim-pack XR-ODS(2.2 μm, i.d. 3.0x50mm) (Shimadzu)
- [0623] 유속: 1.6mL/분
- [0624] UV 검출 파장: 254nm
- [0625] 이동상: [A]는 0.1% 폼산 함유 수용액, [B]는 0.1% 폼산 함유 아세트나이트릴 용액
- [0626] 그래디언트: 3분간으로 10%-100% 용매[B]의 리니어 그래디언트를 행하고, 0.5분간, 100% 용매[B]를 유지했다.
- [0627] 한편, 명세서 중, MS(m/z)라는 기재는, 질량 분석으로 관측된 값을 나타낸다.

- [0628] (분말 X선 회절 패턴의 측정)
- [0629] 일본 약국방의 일반 시험법에 기재된 분말 X선 회절 측정법에 따라, 각 실시예에서 얻어진 결정의 분말 X선 회절 측정을 행했다. 측정 조건을 이하에 나타낸다.
- [0630] (장치)
- [0631] 리가쿠사제 SmartLab
- [0632] (조작 방법)
- [0633] 측정법: 반사법
- [0634] 사용 파장: CuK α 선
- [0635] 관 전류: 200mA
- [0636] 관 전압: 45kV
- [0637] 시료 플레이트: 알루미늄
- [0638] X선의 입사각: 2.5°
- [0639] 샘플링 폭: 0.02°
- [0640] 검출기: HyPix-3000(2차원 검출 모드)
- [0641] (단결정 구조 해석의 측정과 해석 방법)
- [0642] 단결정 구조 해석의 측정 조건 및 해석 방법을 이하에 나타낸다.
- [0643] (장치)
- [0644] 리가쿠사제 XtaLAB P200 MM007
- [0645] (측정 조건)
- [0646] 측정 온도: 25℃
- [0647] 사용 파장: CuK α 선($\lambda=1.5418\text{\AA}$)
- [0648] 소프트웨어: CrysAlisPro 1.171.39.46e (Rigaku Oxford Diffraction, 2018)
- [0649] (데이터 처리)
- [0650] 소프트웨어: CrysAlisPro 1.171.39.46e (Rigaku Oxford Diffraction, 2018)
- [0651] 데이터는 로렌츠 및 편광 보정, 흡수 보정을 행했다.
- [0652] (결정 구조 해석)
- [0653] 직접법 프로그램 ShelXT(Sheldrick, G.M., 2015)를 이용하여 위상 결정을 행하고, 정밀화는 ShelXL(Sheldrick, G.M., 2015)을 이용하여, full-matrix 최소 이승법을 실시했다. 비수소 원자의 온도 인자는 모두 이방성으로 정밀화를 행했다. 수소 원자는 ShelXL의 디폴트 파라미터를 이용하여 계산에 의해 도입하고, riding atom으로서 취급했다. 모든 수소 원자는, 등방성 파라미터로 정밀화를 행했다.
- [0654] 도 2 및 도 4의 작도에는 PLATON(Spek, 1991)/ORTEP(Johnson, 1976)를 사용했다.
- [0655] **실시예 1**
- [0656] 화합물(I-003)의 합성

[0657] [화학식 27]



[0658]

[0659] 공정 1 화합물 14의 합성

[0660] 3,4,5-트라이플루오로벤질아민(3.34g, 20.7mmol)을 다이클로로메테인(33.4mL)에 용해하고, 수욕에서 냉각했다. 반응 용액에 아이소싸이오사이안산 벤조일(2.93mL, 21.8mmol)을 가하고, 실온에서 30분간 교반했다.

[0661] 용매를 증류제거하고, 잔사를 메탄올로 희석하고, 1mol/L 수산화 나트륨 수용액(7.45mL, 7.45mmol)을 가했다. 반응 용액을 실온에서 30분간 교반하고, 2mol/L 염산 수용액을 가했다. 수층을 아세트산 에틸로 추출하고, 유기층을 포화 탄산수소나트륨 수용액 및 포화 식염수로 세정했다. 유기층을 황산 나트륨으로 건조하고, 용매를 감압 증류제거하여 화합물 14의 조생성물(8.3g)을 얻었다. 이 조생성물은 더 이상 정제하지 않고 수율 100%로 하여 다음의 공정에 이용했다.

[0662] LC/MS(ESI): m/z=221, RT=1.45min, LC/MS 측정 조건 2

[0663] 공정 2 화합물 15의 합성

[0664] 화합물 14의 조생성물(8.3g), DMF(85mL), 아이오딘화 메틸(4.84mL, 77mmol)을 혼합하고, 반응 용액을 50°C에서 40분간 교반했다. 반응 용액에 물을 가하고, 아세트산 에틸로 추출하고, 물로 세정했다. 수층에 2mol/L 수산화 나트륨 수용액을 가하고, 수층을 아세트산 에틸로 추출했다. 유기층을 물 및 포화 식염수로 세정하고, 황산 나트륨으로 건조했다. 용매를 감압 증류제거하여, 화합물 15의 조생성물(3.86g, 16.5mmol, 수율 80%)을 얻었다.

[0665] LC/MS(ESI): m/z=235, RT=0.84min, LC/MS 측정 조건 2

[0666] 공정 3 화합물 16의 합성

[0667] 트라이포스젠(0.507g, 1.71mmol) 및 THF(6mL)를 혼합하고, 반응 용액을 빙욕에서 냉각했다. 3-아미노-5-메틸피리딘(0.462g, 4.27mmol) 및 트라이에틸아민(1.48mL, 10.7mmol)을 THF(6mL) 중에서 혼합하고, 얻어진 용액을 반응 용액에 적하했다. 반응 용액을 실온에서 40분간 교반한 후, 빙욕 중에서 냉각했다. 화합물 15(1g, 4.27mmol)를 반응 용액에 가하고, 실온에서 55분간 교반했다. 물을 가하고, 수층을 아세트산 에틸로 추출하고, 유기층을 물로 세정했다. 유기층을 황산 마그네슘으로 건조하고, 용매를 감압 증류제거하여, 화합물 16의 조생성물(1.57g, 4.26mmol, 수율: 정량)을 얻었다.

[0668] LC/MS(ESI): m/z=369, RT=1.52min, LC/MS 측정 조건 1

[0669] 공정 4 화합물 17의 합성

[0670] CDI(2.78g, 17.2mmol), 화합물 16(1.58g, 4.29mmol) 및 DMF(12.6mL)를 혼합했다. 반응 용액에 다이아이소프로

필에틸아민(3.00mL, 17.2mmol)을 가하고, 110℃에서 교반하면서 30분간 마이크로웨이브를 조사했다. 반응 용액을 얼음에 붓고, 생성된 침전물을 여과분별하고, 물로 세정했다. 얻어진 잔사를 감압 건조하여, 화합물 17의 조 생성물(649mg, 1.51mmol, 수율 35%)을 얻었다.

[0671] LC/MS(ESI): m/z=395, RT=1.74min, LC/MS 측정 조건 1

[0672] 공정 5 화합물(I-003)의 합성

[0673] 6-클로로-2-메틸-2H-인다졸-5-아민(55.3mg, 0.304mmol), 화합물 17(100mg, 0.254mmol) 및 THF(1mL)를 혼합했다. 반응 용액을 빙욕 중에서 냉각하고, LHMDS(0.761mL, 0.761mmol)를 가했다. 반응 용액을 빙욕 중에서 40분간 교반하고, 포화 염화 암모늄 수용액을 가했다. 유기층을 아세트산 에틸로 추출하고, 감압 농축했다. 잔사를 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피(클로로폼/메탄올)에 의해 정제하여, 화합물(I-003)(80mg, 0.145mmol, 수율 57.4%)을 얻었다.

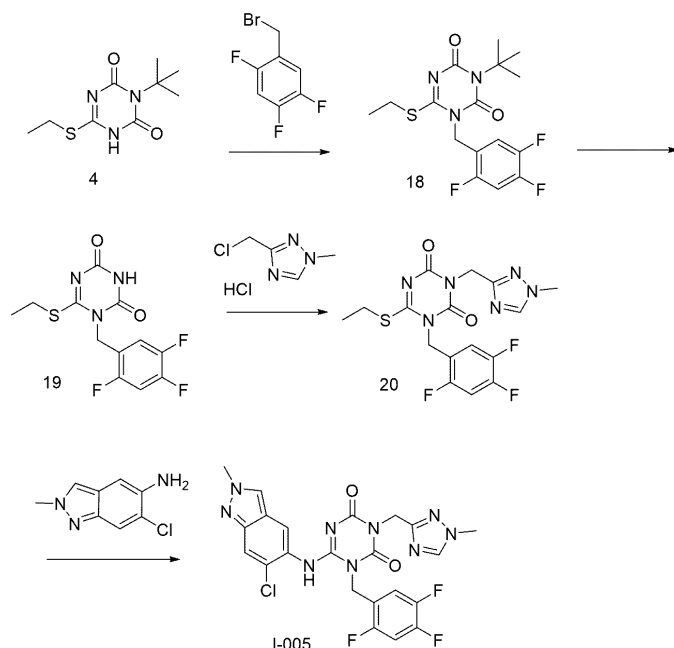
[0674] ¹H-NMR (Methanol-d₄) δ: 8.43 (d, J = 1.0 Hz, 1H), 8.36 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 8.18 (s, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.72 (br s, 1H), 7.48-7.35 (m, 3H), 5.32 (s, 2H), 4.20 (s, 3H), 2.42 (s, 3H).

[0675] LC/MS(ESI): m/z=528, RT=1.93min, LC/MS 측정 조건 1

[0676] 실시예 2

[0677] 화합물(I-005)의 합성

[0678] [화학식 28]



[0679]

[0680] 공정 1 화합물 18의 합성

[0681] 화합물 4(926mg, 4.04mmol)(합성법은 W02012020749, W02013089212 및 W02014200078 참조), 아세트나이트릴(7.41mL), 탄산 칼륨(726mg, 5.25mmol) 및 2,4,5-트라이플루오로벤질 브로마이드(1000mg, 4.44mmol)를 혼합했다. 반응 용액을 80℃에서 40분간 교반하고, 방랭 후, 아세트산 에틸로 희석했다. 불용물을 여과분별 후, 여과액을 농축하여, 화합물 18의 조 생성물(1.51g, 4.04mmol, 수율: 정량)을 얻었다.

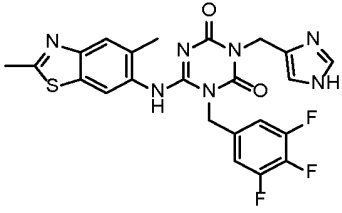
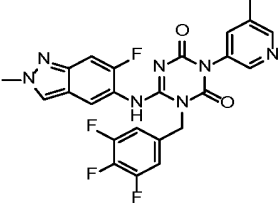
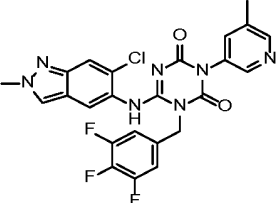
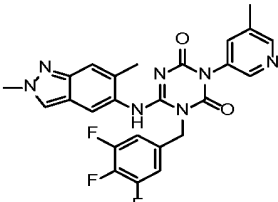
[0682] LC/MS(ESI): m/z=374, RT=2.54min, LC/MS 측정 조건 1

[0683] 공정 2 화합물 19의 합성

[0684] 화합물 18(1.51g, 4.04mmol) 및 TFA(3.02mL)를 혼합했다. 반응 용액을 실온에서 4시간 교반하고, 하룻밤 정지했다. TFA를 감압 증류제거하고, 잔사에 톨루엔을 가하고 공비했다. 잔사에 아이소프로필 에터를 가하여 현탁 후, 여과하여 취하여, 화합물 19(1.22g, 3.84mmol, 수율 95%)를 얻었다.

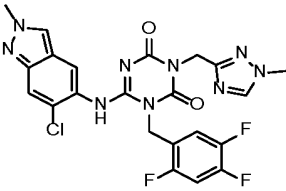
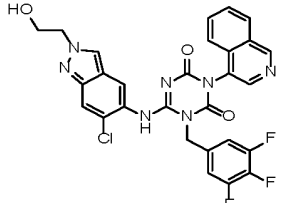
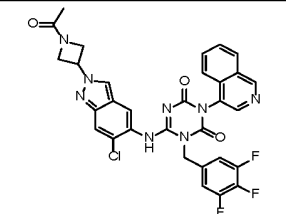
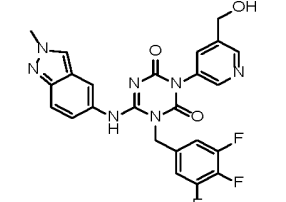
- [0685] LC/MS(ESI): m/z=318, RT=1.68min, LC/MS 측정 조건 1
- [0686] 공정 3 화합물 20의 합성
- [0687] 화합물 19(200mg, 0.63mmol), DMF(1.8mL), 탄산 칼륨(261mg, 1.89mmol) 및 3-(클로로메틸)-1-메틸-1H-1,2,4-트리아졸 염산염(159mg, 0.946mmol)을 혼합했다. 반응 용액을 60°C에서 2시간 교반하고, 포화 염화 암모늄 수용액을 가했다. 수층을 아세트산 에틸로 추출하고, 유기층을 포화 식염수로 세정했다. 유기층을 황산 마그네슘으로 건조하고, 여과하고 농축했다. 잔사를 아이소프로필 에터, 헥세인, 아세트산 에틸 및 클로로폼의 혼합 용매로 현탁하고, 여과하여 취했다. 잔사, DMF(1.8mL), 탄산 칼륨(261mg, 1.89mmol) 및 3-(클로로메틸)-1-메틸-1H-1,2,4-트리아졸 염산염(159mg, 0.946mmol)을 혼합했다. 반응 용액을 60°C에서 6시간 교반하고, 포화 염화 암모늄 수용액을 가했다. 수층을 아세트산 에틸로 추출하고, 유기층을 포화 식염수로 세정했다. 유기층을 황산 마그네슘으로 건조하고, 여과하고 농축했다. 잔사를 아이소프로필 에터, 헥세인, 아세트산 에틸 및 클로로폼의 혼합 용매로 현탁하고 여과하여 취하여, 화합물 20(116mg, 0.281mmol, 수율 45%)을 얻었다.
- [0688] LC/MS(ESI): m/z=413, RT=1.84min, LC/MS 측정 조건: 1
- [0689] 공정 4 화합물(I-005)의 합성
- [0690] 화합물 20(115mg, 0.279mmol), THF(2.30mL) 및 6-클로로-2-메틸-2H-인다졸-5-아민(60.8mg, 0.335mmol)을 혼합했다. 반응 용액에, LHMDS(558 μ L, 0.558mmol)를 0°C에서 적하했다. 반응 용액을 0°C에서 2시간 반, 실온에서 40분간 교반하고, 포화 염화 암모늄 수용액을 가했다. 클로로폼으로 추출하고, 유기층을 농축했다. 잔사를 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피(클로로폼/메탄올)로 정제하여, 화합물(I-005)(61.8mg, 0.116mmol, 수율 42%)를 얻었다.
- [0691] $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ : 7.96 (s, 1H), 7.82 (d, J = 2.5Hz, 2H), 7.48 (br s, 1H), 7.45-7.37 (m, 1H), 7.08 (s, 1H), 6.97-6.88 (m, 1H), 5.35 (s, 2H), 5.17 (s, 2H), 4.21 (s, 3H), 3.89 (s, 3H).
- [0692] LC/MS(ESI): m/z=532, RT=1.70min, LC/MS 측정 조건 1
- [0693] 상기 일반적 합성법 및 실시예 1 및 2에 기재된 방법에 준하여, 본 발명에 이용할 수 있는 화합물을 합성했다. 실시예 1 및 2에서 제조한 화합물을 포함시켜, 각 화합물의 구조 및 물성(LC/MS 데이터)을 이하의 표에 나타낸다. 표 중에 아미노 구조로 기재한 화합물은 이미노 구조를 취하는 경우도 있고, 이미노 구조로 나타낸 화합물도 아미노 구조를 취하는 경우가 있다. 즉, 동일한 화합물이라도, 결정화 조건 등에 따라, 이미노 구조를 취하는 경우와 아미노 구조를 취하는 경우가 존재하고, 염이나 복합체를 형성하고 있는 경우에 있어서도, 그의 염이나 복합체의 카운터 분자의 종류에 따라, 이미노 구조를 취하는 경우와 아미노 구조를 취하는 경우가 존재하고, 동일 카운터 분자여도, 결정화 조건 등에 따라, 이미노 구조를 취하는 경우와 아미노 구조를 취하는 경우가 존재한다. 또한, 이미노 구조를 취하는 화합물, 그의 염 또는 그들의 복합체와 아미노 구조를 취하는 화합물, 그의 염 또는 그들의 복합체의 혼합물인 경우도 있다.

표 1

화합물 번호	구조식	LC/MS 측정 조건	유지 시간 (분)	m/z
I-001		1	1.74	514.05
I-002		1	1.80	512
I-003		1	1.93	528
I-004		1	1.68	508

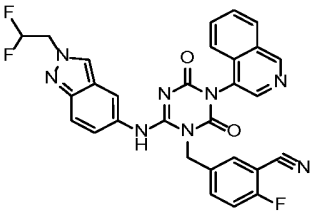
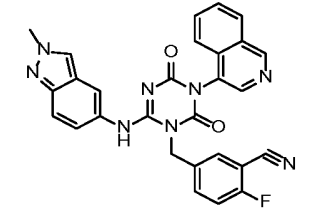
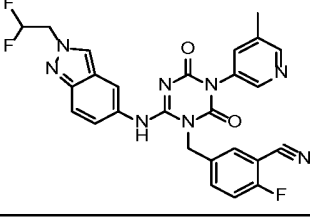
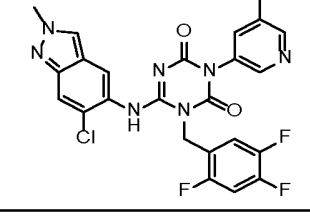
[0694]

표 2

화학물 번호	구조식	LC/MS 측정 조건	유지 시간 (분)	m/z
I-005		1	1.70	532
I-006		2	1.82	593.95
I-007		1	1.93	647.15
I-008		1	1.54	510.2

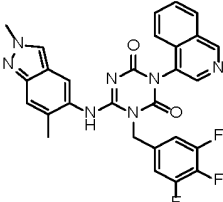
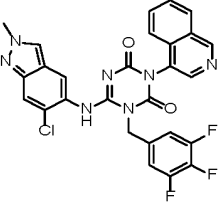
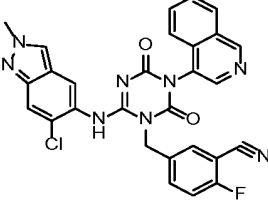
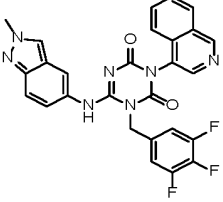
[0695]

표 3

화합물 번호	구조식	LC/MS 측정 조건	유지 시간 (분)	m/z
I-009		1	1.83	569.2
I-010		1	1.68	519.2
I-011		1	1.68	533
I-012		1	1.85	528

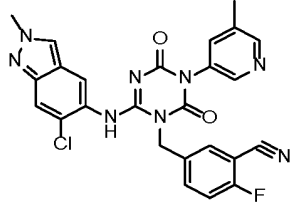
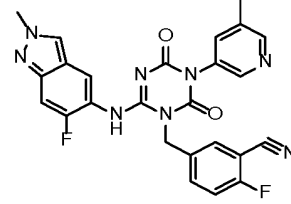
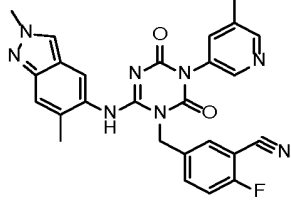
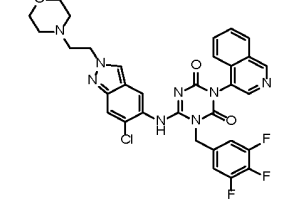
[0696]

표 4

화합물 번호	구조식	LC/MS 측정 조건	유지 시간 (분)	m/z
I-013		1	1.81	544
I-014		2	1.96	564
I-015		2	1.76	553
I-016		2	1.70	530

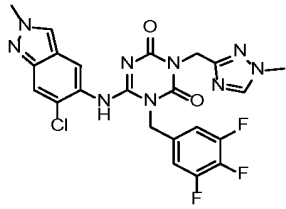
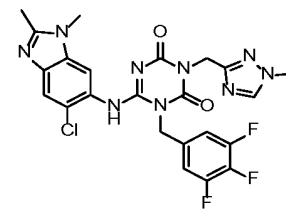
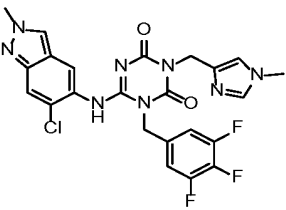
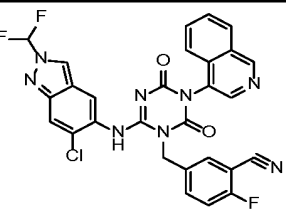
[0697]

표 5

화합물 번호	구조식	LC/MS 측정 조건	유지 시간 (분)	m/z
I-017		2	1.64	517
I-018		2	1.54	501
I-019		2	1.49	497
I-020		1	1.68	663.25

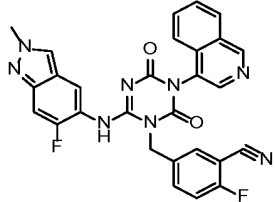
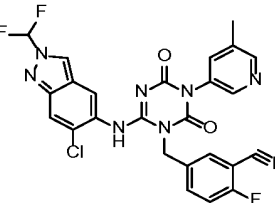
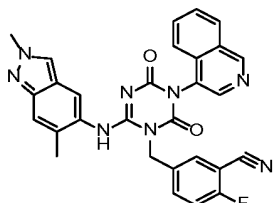
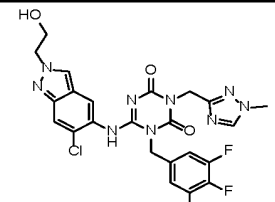
[0698]

표 6

화합물 번호	구조식	LC/MS 측정 조건	유지 시간 (분)	m/z
I-021		2	1.80	532
I-022		2	1.49	546
I-023		2	1.31	531
I-024		2	2.04	589

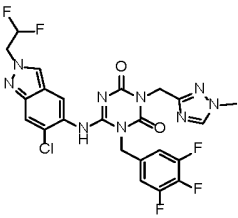
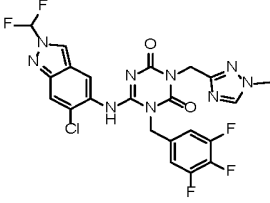
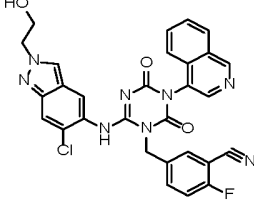
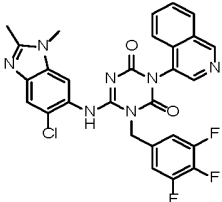
[0699]

표 7

화합물 번호	구조식	LC/MS 측정 조건	유지 시간 (분)	m/z
I-025		2	1.76	537
I-026		2	2.05	553
I-027		2	1.61	533
I-028		2	1.69	562

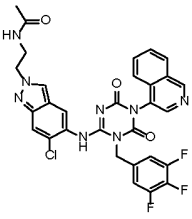
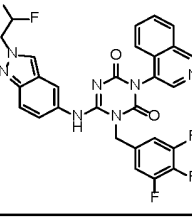
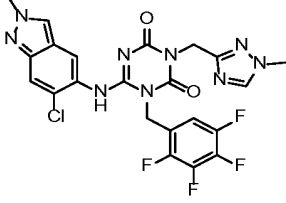
[0700]

표 8

화합물 번호	구조식	LC/MS 측정 조건	유지 시간 (분)	m/z
I-029		2	1.98	582
I-030		2	2.00	568
I-031		2	1.74	583
I-032		1	1.71	578.2

[0701]

표 9

화합물 번호	구조식	LC/MS 측정 조건	유지 시간 (분)	m/z
I-033		1	1.94	635
I-034		2	1.87	579.95
I-035		1	1.93	550

[0702]

[0703] 실시예 3

[0704] 화합물(I-003) 1400mg에, 아세트산 에틸 7mL 및 5mol/L의 p-톨루엔설폰산 수용액 557 μL(1.05eq)를 가했다. 60 °C에서 15분간 교반한 후, 25°C에서 2시간 교반했다. 고체를 여과하여 취하고, 건조함으로써, 식(I-A)로 표시되는 화합물의 p-톨루엔설폰산염 I형 결정(1289.6mg, 69%)을 얻었다.

[0705] 식(I-A)로 표시되는 화합물의 p-톨루엔설폰산염 I형 결정의 단결정 구조 해석의 결과를 이하에 나타낸다.

[0706] R1 (I>2.00s(I))은 0.0444이며, 최종의 차(差) 푸리에로부터 전자 밀도의 결여도 오차도 없음을 확인했다.

[0707] 결정학적 데이터를 표 10에 나타낸다.

표 10

공간군	P-1
a (Å)	8.7844(2)
b (Å)	10.2991(2)
c (Å)	18.0182(3)
α (°)	103.727(2)
β (°)	97.411(2)
γ (°)	100.358(2)
Volume (Å ³)	1532.43(6)
Z	2
밀도 (계산치) (g/cm ³)	1.517
측정 온도(K)	298

[0708]

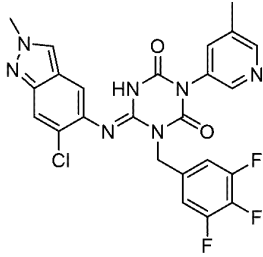
[0709] 여기에서, Volume은 단위 격자 체적, Z는 단위 격자 중의 분자수를 의미한다.

[0710] 식(I-A)로 표시되는 화합물의 p-톨루엔설펜산염 I형 결정의, 비대칭 단위 중의 구조를 도 2에 나타낸다.

[0711] 비대칭 단위 중에는, 식(I-A)로 표시되는 화합물, p-톨루엔설펜산이, 각각 1 분자 존재하고 있었다. p-톨루엔설펜산의 O3, O4 및 O5로 나타나는 산소 원자에는 수소 원자가 결합하고 있지 않고, 식(I-A)로 표시되는 화합물의 N7의 질소 원자에 수소 원자가 결합하고 있는 것으로부터, 염을 형성하고 있음을 확인했다.

[0712] N3-C9의 결합 거리는 약 1.27Å이며, N4-C9의 결합 거리는 약 1.37Å이었다. 이 결합 거리로부터, p-톨루엔설펜산염 I형 결정 중의 식(I-A)로 표시되는 화합물은, 이미노 구조:

[0713] [화학식 29]



[0714]

[0715] 라고 동정했다.

[0716] 또한, 식(I-A)로 표시되는 화합물의 p-톨루엔설펜산염 I형 결정의 분말 X선 회절의 결과를 나타낸다.

[0717] 분말 X선 회절 패턴에 있어서, 회절 각도(2θ): 9.1±0.2°, 11.5±0.2°, 14.6±0.2°, 15.2±0.2°, 18.8±0.2°, 20.2±0.2°, 23.6±0.2°, 24.2±0.2°, 24.9±0.2° 및 26.9±0.2° 에 피크가 인정되었다.

[0718] 상기 분말 X선 회절 패턴에 있어서, 회절 각도(2θ): 9.1±0.2°, 15.2±0.2°, 18.8±0.2°, 23.6±0.2° 및 24.9±0.2° 의 피크가 식(I-A)로 표시되는 화합물의 p-톨루엔설펜산염 I형 결정으로서 특히 특징적이다.

[0719] **실시예 4**

[0720] 화합물(I-005) 1170mg에 푸마르산 278mg(1.1eq) 및 아세트산 에틸 5.85mL를 가하고, 실온하에서 45분간 교반했다. 고체를 여과하여 취하고, 건조함으로써, 식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정(1369.4mg, 94.6%)을 얻었다.

[0721] 식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형의 단결정 구조 해석의 결과를 이하에 나타낸다.

[0722] R1 (I>2.00s(I))은 0.0470이며, 최종의 차 푸리에로부터 전자 밀도의 결여도 오차도 없음을 확인했다.

[0723] 결정학적 데이터를 표 11에 나타낸다.

표 11

공간군	P-1
a (Å)	8.4374(2)
b (Å)	11.6780(3)
c (Å)	15.1612(4)
α (°)	83.827(2)
β (°)	78.868(2)
γ (°)	77.147(2)
Volume (Å ³)	1425.77(6)
Z	2
밀도 (계산치) (g/cm ³)	1.509
측정 온도(K)	298

[0724]

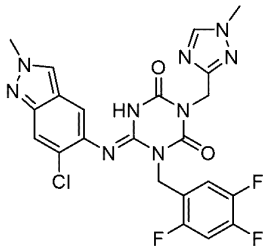
[0725] 여기에서, Volume은 단위 격자 체적, Z는 단위 격자 중의 분자수를 의미한다.

[0726] 식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형의, 비대칭 단위 중의 구조를 도 4에 나타낸다.

[0727] 비대칭 단위 중에, 식(I-B)로 표시되는 화합물, 푸마르산이 각각 1분자 존재하고 있었다. 이온성의 화학적 상호작용은 확인되지 않고, 1:1의 몰비의 공결정임을 확인했다.

[0728] N10-C9의 결합 거리는 약 1.26Å이며, N16-C9의 결합 거리는 약 1.37Å이었다. 이 결합 거리로부터, 푸마르산 공결정 I형의 식(I-B)로 표시되는 화합물은, 이미노 구조:

[0729] [화학식 30]



[0730] 라고 동정했다.

[0732] 또한, 식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정의 분말 X선 회절의 결과를 나타낸다.

[0733] 분말 X선 회절 패턴에 있어서, 회절 각도(2θ): 7.8±0.2°, 9.5±0.2°, 10.1±0.2°, 10.9±0.2°, 13.8±0.2°, 14.7±0.2°, 18.6±0.2°, 22.6±0.2°, 23.5±0.2° 및 24.6±0.2° 에 피크가 인정되었다.

[0734] 상기 분말 X선 회절 패턴에 있어서, 회절 각도(2θ): 9.5±0.2°, 10.9±0.2°, 18.6±0.2°, 23.5±0.2° 및 24.6±0.2° 의 피크가 식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정으로서 특히 특징적이다.

[0735] 이하에, 본 발명에 따른 화합물의 생물 시험예를 기재한다. 본 발명 화합물은, 본질적으로 하기 시험예와 같이 시험할 수 있다.

[0736] 본 발명에 따른 식(I)로 표시되는 화합물은, 코로나 바이러스 3CL 프로테아제 저해 작용을 가져, 코로나 바이러스 3CL 프로테아제를 저해하는 것이면 된다.

[0737] 구체적으로는, 이하에 기재하는 평가 방법에 있어서, IC50은 50μM 이하가 바람직하고, 보다 바람직하게는, 1μM 이하, 보다 더 바람직하게는 100nm 이하이다.

[0738] 시험예 1: human TMPRSS2 발현 Vero E6 세포(Vero E6/TMPRSS2 세포)를 이용한 Cytopathic effect(CPE) 억제 효과 확인 시험

[0739] <조작 수순>

[0740] · 시험 시료의 희석, 분주

[0741] 미리 시험 시료를 DMSO로 적당한 농도로 희석하여, 2~5배 단계 희석 계열을 제작 후, 384웰 플레이트에 분주한다.

[0742] · 세포 및 SARS-CoV-2의 희석, 분주

[0743] VeroE6/TMPRSS2 세포(JCRB1819, 5×10³ cells/well)와 SARS-CoV-2(100-300TCID₅₀/well)를 배지(MEM, 2% FBS, 페니실린-스트렙토마이신)에서 혼합하고, 시험 시료가 들어간 웰에 분주한 후, CO₂ 인큐베이터에서 3일간 배양한다.

[0744] · CellTiter-Glo(등록상표) 2.0의 분주 및 발광 시그널의 측정

[0745] 3일간 배양한 플레이트를 실온으로 되돌린 후, CellTiter-Glo(등록상표) 2.0을 각 웰에 분주하고, 플레이트 믹서로 혼화한다. 일정 시간 둔 후, 플레이트 리더로 발광 시그널(Lum)을 측정한다.

[0746] <각 측정 항목치의 산출>

- [0747] · 50% SARS-CoV-2 감염 세포사 저해 농도(EC₅₀) 산출
- [0748] x를 화합물 농도의 대수치, y를 %Efficacy로 했을 때, 이하의 Logistic 회귀식으로 저해 곡선을 근사하여, y=50(%)을 대입했을 때의 x의 값을 EC₅₀으로서 산출한다.
- [0749] $y = \min + (\max - \min) / \{1 + (X_{50}/x)^{Hill}\}$
- [0750] $\%Efficacy = \{(Sample - virus\ control) / (cell\ control - virus\ control)\} * 100\%$
- [0751] cell control: the average of Lum of cell control wells
- [0752] virus control: the average of Lum of virus control wells
- [0753] min: y축 하한치, max: y축 상한치, X₅₀: 변곡점의 x 좌표, Hill: min과 max의 중간점에서의 커브의 기울기
- [0754] 본 발명 화합물을 본질적으로 상기와 같이 시험했다. 결과를 이하의 표에 나타낸다.
- [0755] 한편, EC₅₀치는, 1 μM 미만을 「A」, 1 μM 이상 10 μM 미만을 「B」로 한다.
- [0756] 화합물 I-003: 0.177 μM
- [0757] 화합물 I-005: 0.328 μM
- [0758] 화합물 I-006: 0.747 μM
- [0759] 화합물 I-010: 0.306 μM
- [0760] 화합물 I-012: 0.131 μM
- [0761] 화합물 I-017: 0.0960 μM
- [0762] 화합물 I-023: 1.03 μM
- [0763] 화합물 I-035: 0.395 μM

표 12

화합물 번호	EC50	화합물 번호	EC50	화합물 번호	EC50	화합물 번호	EC50
I-002	A	I-015	A	I-024	A	I-031	B
I-004	B	I-016	A	I-025	A	I-032	B
I-007	C	I-018	A	I-026	A	I-033	B
I-009	A	I-019	A	I-027	A	I-034	A
I-011	A	I-020	B	I-028	B		
I-013	B	I-021	A	I-029	A		
I-014	A	I-022	B	I-030	B		

- [0764]
- [0765] 시험예 1-2: human TMPRSS2 발현 VeroE6 세포(Vero E6/TMPRSS2 세포)를 이용한 Cytopathic effect(CPE) 억제 효과 확인 시험
- [0766] <조작 수순>
- [0767] · 시험 시료의 희석, 분주
- [0768] 미리 시험 시료를 DMSO로 적당한 농도로 희석하고, 3배 단계 희석 계열을 제작 후, 96웰 플레이트에 분주한다.
- [0769] · 세포 및 SARS-CoV-2의 희석, 분주
- [0770] VeroE6/TMPRSS2 세포(JCRB1819, 1.5×10^4 cells/well)와 SARS-CoV-2 hCoV-19/Japan/TY/WK-521/2020, hCoV-19/Japan/QK002/2020, hCoV-19/Japan/QHN001/2020, hCoV-19/Japan/QHN002/2020, hCoV-19/Japan/TY7-501/2021, hCoV-19/Japan/TY7-503/2021, hCoV-19/Japan/TY8-612/2021, hCoV-19/Japan/TY11-927-P1/2021, hCoV-19/Japan/TY33-456/2021, hCoV-19/Japan/TY28-444/2021, hCoV-19/Japan/TY26-717/2021(30-3000TCID₅₀/well)을

배지(MEM, 2% FBS, 페니실린-스트렙토마이신)에서 혼합하고, 피험 시료가 들어간 웰에 분주한 후, CO₂ 인큐베이터에서 3일간 혹은 4일간 배양한다.

[0771] · CellTiter-Glo(등록상표) 2.0의 분주 및 발광 시그널의 측정

[0772] 3일간 배양한 플레이트를 실온으로 되돌린 후, CellTiter-Glo(등록상표) 2.0을 각 웰에 분주하고, 플레이트 믹서로 혼화한다. 일정 시간 둔 후, 플레이트 리더로 발광 시그널(Lum)을 측정한다.

[0773] <각 측정 항목치의 산출>

[0774] · 50% SARS-CoV-2 감염 세포사 저해 농도(EC₅₀) 산출

[0775] x를 화합물 농도의 대수치, y를 %Efficacy로 했을 때, 이하의 Logistic 회귀식으로 저해 곡선을 근사하여, y=50(%)을 대입했을 때의 x의 값을 EC₅₀으로서 산출한다.

[0776]
$$y = \min + (\max - \min) / \{1 + (X50/x)^{Hill}\}$$

[0777]
$$\%Efficacy = \{(Sample - virus\ control) / (cell\ control - virus\ control)\} * 100\%$$

[0778] cell control: the average of Lum of cell control wells

[0779] virus control: the average of Lum of virus control wells

[0780] min: y축 하한치, max: y축 상한치, X50: 변곡점의 x 좌표, Hill: min과 max의 중간점에서의 커브의 기울기

[0781] 본 발명 화합물을 본질적으로 상기와 같이 시험했다. 결과를 이하에 나타낸다.

[0782] [표 13-1]

바이러스주	식(I-A)로 표시되는 화합물의 p-톨루엔설폰산염 1형 결정 EC ₅₀ (μM)	식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 1형 결정 EC ₅₀ (μM)
WT strain (WK-521)	0.12	0.37
Alpha strain (QHN001/QHN002/QK002)	0.14/0.13/0.16	0.31/0.46/0.33
Beta strain (TY8-612)	0.16	0.40
Gamma strain (TY7-501/TY7-503)	0.22/0.15	0.50/0.43
Delta strain (TY11-927-P1)	Not tested	0.41
Lambda strain (TY33-456)	Not tested	0.27
Theta strain (TY28-444)	Not tested	0.29
Mu strain (TY26-717)	Not tested	0.43

[0783]

[0784] 시험예 1-3: human TMPRSS2 발현 Vero E6 세포(Vero E6/TMPRSS2 세포)를 이용한 Cytopathic effect(CPE) 억제 효과 확인 시험

[0785] <조작 수순>

[0786] · 피험 시료의 희석, 분주

[0787] 미리 피험 시료를 DMSO로 적당한 농도로 희석하여, 3배 단계 희석 계열을 제작 후, 96웰 플레이트에 분주한다.

[0788] · 세포 및 SARS-CoV-2의 희석, 분주

[0789] VeroE6/TMPRSS2 세포(JCRB1819, 1.5×10⁴ cells/well)와 SARS-CoV-2 hCoV-19/Japan/TY38-873/2021, hCoV-19/Japan/TY38-871/2021, hCoV-19/Japan/TY40-385/2022, hCoV-19/Japan/TY41-716/2022, hCoV-19/Japan/TY41-703/2022, hCoV-19/Japan/TY41-702/2022, hCoV-19/Japan/TY41-686/2022(300-3000TCID₅₀/well)를 배지(MEM, 2% FBS, 페니실린-스트렙토마이신)에서 혼합하고, 피험 시료가 들어간 웰에 분주한 후, CO₂ 인큐베이터에서 4일간 배양한다.

[0790] · CellTiter-Glo(등록상표) 2.0의 분주 및 발광 시그널의 측정

[0791] 3일간 배양한 플레이트를 실온으로 되돌린 후, CellTiter-Glo(등록상표) 2.0을 각 웰에 분주하고, 플레이트 믹서로 혼화한다. 일정 시간 둔 후, 플레이트 리더로 발광 시그널(Lum)을 측정한다.

[0792] <각 측정 항목치의 산출>

[0793] · 50% SARS-CoV-2 감염 세포사 저해 농도(EC50) 산출

[0794] x를 화합물 농도의 대수치, y를 %Efficacy로 했을 때, 이하의 Logistic 회귀식으로 저해 곡선을 근사하여, y=50(%)을 대입했을 때의 x의 값을 EC₅₀으로서 산출한다.

[0795]
$$y = \min + (\max - \min) / \{1 + (X50/x)^{Hill}\}$$

[0796]
$$\%Efficacy = \{(\text{Sample} - \text{virus control}) / (\text{cell control} - \text{virus control})\} * 100\%$$

[0797] cell control: the average of Lum of cell control wells

[0798] virus control: the average of Lum of virus control wells

[0799] min: y축 하한치, max: y축 상한치, X50: 변곡점의 x 좌표, Hill: min과 max의 중간점에서의 커브의 기울기

[0800] 본 발명 화합물을 본질적으로 상기와 같이 시험했다. 결과를 이하에 나타낸다.

[0801] [표 13-2]

바이러스주 Omicron Strain	식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정 EC ₅₀ (μM)
TY38-873 (BA. 1)	0.29
TY38-871 (BA. 1.1)	0.36
TY40-385 (BA. 2)	0.52
TY41-716 (BA. 2.75)	0.30
TY41-703 (BA. 4)	0.22
TY41-702 (BA. 5)	0.40
TY41-686 (XE)	0.44

[0802] 시험예 2: SARS-CoV-2 3CL 프로테아제에 대한 저해 활성 시험

[0803] <재료>

[0804] · 시판되는 Recombinant SARS-CoV-2 3CL Protease

[0805] · 시판되는 기질 펩타이드

[0806] Dabcyl-Lys-Thr-Ser-Ala-Val-Leu-Gln-Ser-Gly-Phe-Arg-Lys-Met-Glu(Edans)-NH₂(서열 번호: 1)

[0807] · Internal Standard 펩타이드

[0808] Dabcyl-Lys-Thr-Ser-Ala-Val-Leu(13C6, 15N)-Gln(서열 번호: 2)

[0809] Dabcyl-Lys-Thr-Ser-Ala-Val-Leu(13C6, 15N)-Gln은, 문헌(Atherton, E.; Sheppard, R. C., "In Solid Phase Peptide Synthesis, A Practical Approach", IRL Press at Oxford University Press, 1989. 및 Bioorg. Med. Chem., 5권, 9호, 1997년, 1883-1891페이지 등)을 참고로 합성할 수 있다. 이하에 일례를 나타낸다.

[0810] Rink 아마이드 수지를 이용하여, Fmoc 고상 합성에 의해, H-Lys-Thr-Ser-Ala-Val-Leu(13C6, 15N)-Glu(resin)-O_tBu(Lys 측쇄는 Boc 보호, Thr 측쇄는 tert-부틸기로 보호, Ser 측쇄는 tert-부틸기로 보호, Glu의 C말단 OH는 tert-부틸기로 보호되어 있고, Glu 측쇄의 카복실산을 수지에 축합)를 합성한다. N말단 Dabcyl기의 수식은 4-다이메틸아미노아조벤젠-4'-카복실산(Dabcyl-OH)을 EDC/HOBT를 이용하여 수지 상에서 축합한다. 최종 탈보호,

및 수지로부터의 절출은 TFA/EDT=95:5로 처리함으로써 행한다. 그 후, 역상 HPLC에 의해 정제한다.

- [0812] · RapidFire Cartridge C4 typeA
- [0813] <조작 수순>
- [0814] · 어세이 버퍼의 조제
- [0815] 본 시험에서는, 20mM Tris-HCl, 100mM 염화 나트륨, 1mM EDTA, 10mM DTT, 0.01% BSA로 이루어지는 어세이 버퍼를 사용한다. IC₅₀치가 10nM 이하인 화합물에 대해서는, 20mM Tris-HCl, 1mM EDTA, 10mM DTT, 0.01% BSA로 이루어지는 어세이 버퍼를 사용한다.
- [0816] · 시험 시료의 희석, 분주
- [0817] 미리 시험 시료를 DMSO로 적당한 농도로 희석하여, 2~5배 단계 희석 계열을 제작 후, 384웰 플레이트에 분주한다.
- [0818] · 효소와 기질의 첨가, 효소 반응
- [0819] 준비한 화합물 플레이트에, 8μM의 기질, 및 6 또는 0.6nM의 효소 용액을 첨가하고, 실온에서 3~5시간 인큐베이션을 행한다. 그 후, 반응 정지액(0.067μM Internal Standard, 0.1% 폼산, 10 또는 25% 아세트나이트릴)을 가하여 효소 반응을 정지시킨다.
- [0820] · 반응 산물의 측정
- [0821] 반응 완료된 플레이트는 RapidFire System 360 및 질량분석기(Agilent, 6550 iFunnel Q-TOF), 또는 RapidFire System 365 및 질량분석기(Agilent, 6495C Triple Quadrupole)를 이용하여 측정한다. 측정 시의 이동상으로서 A 용액(75% 아이소프로판올, 15% 아세트나이트릴, 5mM 폼산 암모늄)과 B 용액(0.01% 트라이플루오로아세트산, 0.09% 폼산)을 이용한다.
- [0822] 질량분석기에 의해 검출된 반응 산물은, RapidFire Integrator 또는 동등한 해석이 가능한 프로그램을 이용하여 산출하여 Product area치로 한다. 또한, 동시에 검출된 Internal Standard도 산출하여 Internal Standard area치로 한다.
- [0823] <각 측정 항목치의 산출>
- [0824] · P/IS의 산출
- [0825] 앞 항목에서 얻어진 area치를 하기의 식에 의해 계산하여, P/IS를 산출한다.
- [0826] $P/IS = \text{Product area치} / \text{Internal Standard area치}$
- [0827] · 50% SARS-CoV-2 3CL 프로테아제 저해 농도(IC₅₀) 산출
- [0828] x를 화합물 농도의 대수치, y를 %Inhibition으로 했을 때, 이하의 Logistic 회귀식으로 저해 곡선을 근사하여, y=50(%)을 대입했을 때의 x의 값을 IC₅₀으로서 산출한다.
- [0829] $y = \min + (\max - \min) / \{1 + (X50/x)^{Hill}\}$
- [0830] $\%Inhibition = \{1 - (\text{Sample} - \text{Control}(-)) / (\text{Control}(+) - \text{Control}(-))\} * 100$
- [0831] Control(-): the average of P/IS of enzyme inhibited condition wells
- [0832] Control(+): the average of P/IS of DMSO control wells
- [0833] min: y축 하한치, max: y축 상한치, X50: 변곡점의 x 좌표, Hill: min과 max의 중간점에서의 커브의 기울기
- [0834] 본 발명 화합물을 본질적으로 상기와 같이 시험했다. 결과를 이하의 표에 나타낸다.
- [0835] 한편, IC₅₀치는, 0.1μM 미만을 「A」, 0.1μM 이상 1μM 미만을 「B」, 1μM 이상 10μM 미만을 「C」로 한다.
- [0836] 화합물 I-003: 0.014μM
- [0837] 화합물 I-005: 0.010μM

- [0838] 화합물 I-006: 0.0058 μ M
- [0839] 화합물 I-010: 0.0054 μ M
- [0840] 화합물 I-012: 0.0091 μ M
- [0841] 화합물 I-017: 0.0034 μ M
- [0842] 화합물 I-023: 0.0063 μ M
- [0843] 화합물 I-035: 0.0098 μ M
- [0844] [표 14-1]

화합물 번호	IC50	화합물 번호	IC50	화합물 번호	IC50	화합물 번호	IC50
I-001	C	I-013	A	I-021	A	I-029	A
I-002	A	I-014	A	I-022	A	I-030	A
I-004	A	I-015	A	I-024	A	I-031	A
I-007	A	I-016	A	I-025	A	I-032	A
I-008	B	I-018	A	I-026	A	I-033	A
I-009	A	I-019	A	I-027	A	I-034	A
I-011	A	I-020	A	I-028	A		

- [0845]
- [0846] 시험예 2-2: SARS-CoV-2 3CL 프로테아제에 대한 저해 활성 시험
- [0847] < 재료 >
- [0848] · 시판되는 Recombinant SARS-CoV-2 3CL Protease
- [0849] · SARS-CoV-2 3CL Protease 각 변이(G15S, T21I, T24I, K88R, L89F, K90R, P108S, P132H, A193V, H246Y, A255V)
- [0850] · 시판되는 기질 펩타이드
- [0851] Dabcyl-Lys-Thr-Ser-Ala-Val-Leu-Gln-Ser-Gly-Phe-Arg-Lys-Met-Glu(Edans)-NH₂(서열 번호: 1)
- [0852] · Internal Standard 펩타이드
- [0853] Dabcyl-Lys-Thr-Ser-Ala-Val-Leu(13C6, 15N)-Gln(서열 번호: 2)
- [0854] Dabcyl-Lys-Thr-Ser-Ala-Val-Leu(13C6, 15N)-Gln은, 문헌(Atherton, E.; Sheppard, R. C., "In Solid Phase Peptide Synthesis, A Practical Approach", IRL Press at Oxford University Press, 1989. 및 Bioorg. Med. Chem., 5권, 9호, 1997년, 1883-1891페이지 등)을 참고로 합성할 수 있다. 이하에 일례를 나타낸다.
- [0855] Rink 아마이드 수지를 이용하여, Fmoc 고상 합성에 의해, H-Lys-Thr-Ser-Ala-Val-Leu(13C6, 15N)-Glu(resin)-O α TtBu(Lys 측쇄는 Boc 보호, Thr 측쇄는 tert-부틸기로 보호, Ser 측쇄는 tert-부틸기로 보호, Glu의 C말단 OH는 tert-부틸기로 보호되어 있고, Glu 측쇄의 카복실산을 수지에 축합)를 합성한다. N말단 Dabcyl기의 수식은 4-다이메틸아미노아조벤젠-4'-카복실산(Dabcyl-OH)을 EDC/HOBT를 이용하여 수지 상에서 축합한다. 최종 탈보호, 및 수지로부터의 절출은 TFA/EDT=95:5로 처리함으로써 행한다. 그 후, 역상 HPLC에 의해 정제한다.
- [0856] · RapidFire Cartridge C4 typeA
- [0857] < 조작 수순 >
- [0858] · 어세이 버퍼의 조제
- [0859] 본 시험에서는, 20mM Tris-HCl, 1mM EDTA, 10mM DTT, 0.01% BSA로 이루어지는 어세이 버퍼를 사용한다.
- [0860] · 시험 시료의 희석, 분주
- [0861] 미리 시험 시료를 DMSO로 적당한 농도로 희석하여, 3배 단계 희석 계열을 제작 후, 384웰 플레이트에 분주한다.
- [0862] · 효소와 기질의 첨가, 효소 반응
- [0863] 준비한 화합물 플레이트에, 최종 농도 2-4 μ M의 기질, 및 최종 농도 2-6nM의 효소 용액을 첨가하고, 실온에서 2-3시간 인큐베이션을 행한다. 그 후, 반응 정지액(0.072 μ M Internal Standard, 0.1% 폼산, 10% 아세트나이트

릴)을 가하여 효소 반응을 정지시킨다.

[0864]

· 반응 산물의 측정

[0865]

반응 완료된 플레이트는 RapidFire System 360 및 질량분석기(Agilent, 6550 iFunnel Q-TOF)를 이용하여 측정한다. 측정 시의 이동상으로서 A 용액(75% 아이소프로판올, 15% 아세토나이트릴, 5mM 폼산 암모늄)과 B 용액(0.01% 트라이플루오로아세트산, 0.09% 폼산)을 이용한다.

[0866]

질량분석기에 의해 검출된 반응 산물은, RapidFire Integrator를 이용하여 산출하여 Product area치로 한다. 또한, 동시에 검출된 Internal Standard도 산출하여 Internal Standard area치로 한다.

[0867]

<각 측정 항목치의 산출>

[0868]

· P/IS의 산출

[0869]

앞 항목에서 얻어진 area치를 하기의 식에 의해 계산하여, P/IS를 산출한다.

[0870]

$P/IS = \text{Product area치} / \text{Internal Standard area치}$

[0871]

· 50% SARS-CoV-2 3CL 프로테아제 저해 농도(IC₅₀) 산출

[0872]

x를 화합물 농도의 대수치, y를 %Inhibition으로 했을 때, 이하의 Logistic 회귀식으로 저해 곡선을 근사하여, y=50(%)을 대입했을 때의 x의 값을 IC₅₀으로서 산출한다.

[0873]

$y = \min + (\max - \min) / \{1 + (X50/x)^{\text{Hill}}\}$

[0874]

$\%Inhibition = \{1 - (\text{Sample} - \text{Control}(-)) / (\text{Control}(+) - \text{Control}(-))\} * 100$

[0875]

Control(-): the average of P/IS ratio in the wells without SARS-CoV-2 3CL protease and test substance

[0876]

Control(+): the average of P/IS ratio in the wells with SARS-CoV-2 3CL protease and without test substance

[0877]

min: y축 하한치, max: y축 상한치, X50: 변곡점의 x 좌표, Hill: min과 max의 중간점에서의 커브의 기울기

[0878]

본 발명 화합물을 본질적으로 상기와 같이 시험했다. 결과를 이하에 나타낸다.

[0879]

[표 14-2]

3CL 프로테아제 변이	식(I-A)로 표시되는 화합물의 p- 톨루엔설폰산염 I형 결정 EC ₅₀ (μM)	식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정 IC ₅₀ (μM)
WT	0.0167	0.0132
G15S	Not tested	0.0080
T21I	Not tested	0.0143
T24I	Not tested	0.0140
K88R	Not tested	0.0121
L89F	Not tested	0.0150
K90R	Not tested	0.0097
P108S	Not tested	0.0132
P132H	Not tested	0.0144
A193V	Not tested	0.0102
H246Y	Not tested	0.0125
A255V	Not tested	0.0101

[0880]

시험예 3: 식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정의 투여에 의한 SARS-CoV-2 감염 마우스의 폐 내 바이러스 역가 증식 억제 시험

[0882]

<재료와 방법>

[0883]

· 화합물

[0884]

식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정은, 0.5% 메틸셀룰로스(0.5% MC) 용액을 이용하여 조제했다. 투여 용량은, 10mL/kg으로 했다. 투여량은 프리체로 환산한 양을 나타낸다.

[0885]

· 바이러스

[0886]

국립 감염증 연구소에서 분리된 SARS-CoV-2 hCoV19/Japan/TY7-501/2021주를 이용했다.

- [0887] · 마우스 폐 감염, 투약, 폐 회수
- [0888] 특정 병원체 부재의 5주령의 자성 BALB/c 마우스(CLEA Japan, Inc.)를 본 연구에 있어서 사용했다. 바이러스 접종 시, PBS 중에 0.03mg/mL의 염산 메테토미딘, 0.4mg/mL의 미다졸람, 0.5mg/mL의 타르타르산 부토르프놀을 포함하는 100 μ L의 마취액의 근내 투여에 의해 마우스를 마취했다. 마우스에게, 마취하에서, 50 μ L의 hCoV19/Japan/TY7-501/2021(1.00×10^4 TCID₅₀)을 경비 접종했다. 바이러스 감염 직후를 개시점으로 하여, 마우스(n=5-10/군)에게, 식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정을 2mg/kg, 4mg/kg, 8mg/kg, 16mg/kg, 32mg/kg, 64mg/kg으로 단회 혹은 1mg/kg, 2mg/kg, 4mg/kg, 8mg/kg, 16mg/kg, 32mg/kg의 용량으로 1일 2회 경구 투여했다. 대조 마우스에게는, 0.5% MC를 1일 2회 경구 투여했다. 바이러스 감염 1일 후에 마우스 폐를 회수하고, 2mL의 PBS를 첨가, 동질화하고, 원심 후 상청을 회수했다.
- [0889] · 폐내 바이러스 역가의 측정
- [0890] 폐 호모지네이트액을 배지(MEM, 2% FBS, 페니실린-스트렙토마이신)로 10배 희석 계열을 제작 후, VeroE6/TMPRSS2 세포(JCRB1819, 1.5×10^4 cells/well)와 혼합하고, 96웰 플레이트에 과중했다. CO₂ 인큐베이터에서 4일간 배양 후, Cytopathic effect(CPE)를 관찰하여, 폐 호모지네이트액 중에 포함되는 바이러스 역가를 산출했다.
- [0891] · 통계 해석
- [0892] 폐 호모지네이트액 중 바이러스 역가의 군간 차를, 더넷 검정에 의해 분석했다. 통계 해석은, 통계 해석 소프트웨어 SAS 버전 9.4 Windows용(SAS Institute(Cary, NC))을 사용하여 실시했다. 조정 완료 후 양측 P치 0.05 미만은, 통계적으로 유의하다고 간주했다.
- [0893] 본 발명 화합물을 본질적으로 상기와 같이 시험했다. 결과를 이하에 나타낸다.
- [0894] 식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정 투여군은, 단회 혹은 1일 2회 어느 투여에 있어서도 용량 의존적으로 감염 1일 후의 폐내 바이러스 역가를 저하시키고, 2mg/kg 이상의 모든 투여량에 있어서 0.5% MC 투여군과 비교하여 유의하게 낮은 바이러스 역가를 나타냈다(도 5a 및 도 5b). 단회 투여에서는 32, 64mg/kg 투여군, 1일 2회 투여에서는 16, 32mg/kg 투여군에서 폐내 바이러스 역가가 대략 정량 하한($1.80 - \log_{10} \text{TCID}_{50}/\text{mL}$)에 이르렀다.
- [0895] 시험예 4: 식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정의 지연 투여에 의한 SARS-CoV-2 감염 마우스의 폐내 바이러스 역가 증식 억제 시험
- [0896] <재료와 방법>
- [0897] · 화합물
- [0898] 본 발명 화합물(식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정)은, 0.5% 메틸셀룰로스(0.5% MC) 용액을 이용하여 조제했다. 투여 용량은, 10mL/kg으로 했다. 투여량은 프리체로 환산한 양을 나타낸다.
- [0899] · 바이러스
- [0900] 국립 감염증 연구소에서 분리된 SARS-CoV-2 hCoV19/Japan/TY7-501/2021주를 이용했다.
- [0901] · 마우스 폐 감염, 투약, 폐 회수
- [0902] 특정 병원체 부재의 5주령의 자성 BALB/c 마우스(CLEA Japan, Inc.)를 본 연구에 있어서 사용했다. 바이러스 접종 시, PBS 중에 0.03mg/mL의 염산 메테토미딘, 0.4mg/mL의 미다졸람, 0.5mg/mL의 타르타르산 부토르프놀을 포함하는 100 μ L의 마취액의 근내 투여에 의해 마우스를 마취했다. 마우스에게, 마취하에서, 50 μ L의 hCoV19/Japan/TY7-501/2021(1.00×10^4 TCID₅₀)을 경비 접종했다. 바이러스 감염 1일 후 혹은 3일 후를 개시점으로 하여, 마우스(n=5/군)에게, 식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정을 30mg/kg, 150mg/kg의 용량으로 1일 2회 경구 투여했다. 대조 마우스에게는, 0.5% MC를 1일 1회 경구 투여했다. 화합물 투여는 투여 개시부터 2일간으로 했다. 투여 개시부터 2일 후에 마우스 폐를 회수하고, 2mL의 PBS를 첨가, 동질화하고, 원심 후 상청을 회수했다.

- [0903] · 폐내 바이러스 역가의 측정
- [0904] 폐 호모지네이트액을 배지(MEM, 2% FBS, 페니실린-스트렙토마이신)로 10배 희석 계열을 제작 후, VeroE6/TMPRSS2 세포(JCRB1819, 1.5×10^4 cells/well)와 혼합하고, 96웰 플레이트에 파종했다. CO₂ 인큐베이터에서 4일간 배양 후, Cytopathic effect(CPE)를 관찰하여, 폐 호모지네이트액 중에 포함되는 바이러스 역가를 산출했다.
- [0905] 본 발명 화합물을 본질적으로 상기와 같이 시험했다. 결과를 이하에 나타낸다.
- [0906] 감염 1일 후부터 투여 개시한 군에서는, 투여 개시 2일 후의 폐내 바이러스 역가는 0.5% MC 투여군에서는 $6.47 - \log_{10} \text{TCID}_{50}/\text{mL}$ 를 나타내고, 식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정 30, 150mg/kg 투여군에서는 각각 $4.47 - \log_{10} \text{TCID}_{50}/\text{mL}$, $2.90 - \log_{10} \text{TCID}_{50}/\text{mL}$ 를 나타냈다(도 6a). 감염 3일 후부터 투여 개시한 군에서는, 투여 개시 2일 후의 폐내 바이러스 역가는 0.5% MC 투여군에서는 $4.83 - \log_{10} \text{TCID}_{50}/\text{mL}$ 를 나타내고, 식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정 30, 150mg/kg 투여군에서는 각각 $3.63 - \log_{10} \text{TCID}_{50}/\text{mL}$, $3.35 - \log_{10} \text{TCID}_{50}/\text{mL}$ 를 나타냈다(도 6b).
- [0907] 투여 개시가 감염 1일 후, 3일 후의 어느 쪽의 경우에 있어서도 식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정 투여군에서는 폐내 바이러스 역가가 0.5% MC 투여군에 비해 낮은 값을 나타낸 것으로부터, 감염부터 투여까지의 기간이 멀어도 폐내 바이러스 역가를 저감하는 효과가 있음이 시사되었다.
- [0908] 시험예 4-2: 식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정의 지연 투여에 의한 SARS-CoV-2 감염 마우스의 폐내 바이러스 역가 증식 억제 시험
- [0909] <재료와 방법>
- [0910] · 화합물
- [0911] 식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정은, 0.5% 메틸셀룰로스(0.5% MC) 용액을 이용하여 조제했다. 투여 용량은, 10mL/kg으로 했다. 투여량은 프리체로 환산한 양을 나타낸다.
- [0912] · 바이러스
- [0913] 국립 감염증 연구소에서 분리된 SARS-CoV-2 hCoV19/Japan/TY7-501/2021주를 이용했다.
- [0914] · 마우스 폐 감염, 투약, 폐 회수
- [0915] 특정 병원체 부재의 5주령의 자성 BALB/c 마우스(CLEA Japan, Inc.)를 본 연구에 있어서 사용했다. 바이러스 접종 시, PBS 중에 0.03mg/mL의 염산 메테토미딘, 0.4mg/mL의 미다졸람, 0.5mg/mL의 타르타르산 부토르파놀을 포함하는 100 μL 의 마취액의 근내 투여에 의해 마우스를 마취했다. 마우스에게, 마취하에서, 50 μL 의 hCoV19/Japan/TY7-501/2021(1.00×10^4 TCID₅₀)을 경비 접종했다. 바이러스 감염 1일 후를 개시점으로 하여, 마우스(n=5/군)에게, 식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정을 8, 16, 32, 64mg/kg의 용량으로 1일 3회 경구 투여했다. 대조 마우스에게는, 0.5% MC를 1일 1회 경구 투여했다. 화합물 투여는 투여 개시부터 2일간으로 했다. 투여 개시부터 2일 후에 마우스 폐를 회수하고, 2mL의 PBS를 첨가, 동질화하고, 원심 후 상청을 회수했다.
- [0916] · 폐내 바이러스 역가의 측정
- [0917] 폐 호모지네이트액을 배지(MEM, 2% FBS, 페니실린-스트렙토마이신)로 10배 희석 계열을 제작 후, VeroE6/TMPRSS2 세포(JCRB1819, 1.5×10^4 cells/well)와 혼합하고, 96웰 플레이트에 파종했다. CO₂ 인큐베이터에서 4일간 배양 후, Cytopathic effect(CPE)를 관찰하여, 폐 호모지네이트액 중에 포함되는 바이러스 역가를 산출했다.
- [0918] 본 발명 화합물을 본질적으로 상기와 같이 시험했다. 결과를 이하에 나타낸다.
- [0919] 감염 1일 후부터 투여 개시한 군에서는, 투여 개시 2일 후의 폐내 바이러스 역가는 0.5% MC 투여군에서는 $6.57 - \log_{10} \text{TCID}_{50}/\text{mL}$ 를 나타내고, 식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정 8, 16, 32, 64mg/kg 투여군

에서는 각각 5.55, 4.66, 2.85, 2.40- \log_{10} TCID₅₀/mL를 나타냈다. 식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정 투여군에서는 폐내 바이러스 역가가 0.5% MC 투여군에 비해 낮은 값을 나타낸 것으로부터, 감염부터 투여까지의 기간이 멀어도 폐내 바이러스 역가를 저감하는 효과가 있음이 시사되었다(도 7).

- [0920] 시험예 5: 식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정의 투여에 의한 SARS-CoV-2 감염 마우스의 치사, 체중 감소 억제 시험
- [0921] <재료와 방법>
- [0922] · 화합물
- [0923] 본 발명 화합물(식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정)은, 0.5% 메틸셀룰로스(0.5% MC) 용액을 이용하여 조제했다. 투여 용량은, 10mL/kg으로 했다. 투여량은 프리체로 환산한 양을 나타낸다.
- [0924] · 바이러스
- [0925] 국립 감염증 연구소에서 분리된 SARS-CoV-2 hCoV19/Japan/TY7-501/2021주(TY7-501) 및 홋카이도 대학에서 분리한 SARS-CoV-2 hCoV19/Japan/TY/WK-521/2020주 마우스 순화주 MA-P10을 이용했다.
- [0926] · 마우스 폐 감염, 투약, 체중 측정
- [0927] 특정 병원체 부재의 15주령 혹은 35-45주령 리타이어의 자성 BALB/c 마우스(CLEA Japan, Inc.)를 본 연구에 있어서 사용했다. 바이러스 접종 시, PBS 중에 0.03mg/mL의 염산 메테도미딘, 0.4mg/mL의 미다졸람, 0.5mg/mL의 타르타르산 부토르프놀을 포함하는 100 μ L의 마취액의 근내 투여에 의해 마우스를 마취했다. 마우스에게, 마취하에서, 50 μ L의 TY7-501(1.00×10^5 TCID₅₀), MA-P10(1.00×10^3 TCID₅₀ 혹은 1.00×10^4 TCID₅₀)을 경비 접종했다. TY7-501은 35-45주령 리타이어 마우스만 사용했다. 바이러스 감염 1일 후부터, 마우스(n=4/군)에게, 식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정을 50mg/kg으로 1일 2회 경구 투여했다. 대조 마우스에게는, 0.5% MC를 1일 2회 경구 투여했다. 체중을 1일 1회 모니터링하고, 생존율의 평가에 있어서는, 감염 직전의 체중을 기준으로 하여 80% 미만이 되었을 경우에는 사망으로 간주했다.
- [0928] 본 발명 화합물을 본질적으로 상기와 같이 시험했다. 결과를 이하에 나타낸다.
- [0929] 고주령 35-45주령 리타이어 마우스에게 TY7-501 1.00×10^5 TCID₅₀을 감염시켰을 경우, 감염 3일 후부터 체중이 감소하여, 감염 5일 후에 전 예가 사망했다. 이때 식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정 50mg/kg 투여군에서는 관찰한 감염 7일 후에까지 전 예가 생존하고, 체중 감소가 억제되었다(도 8a 및 도 8b). 15주령 마우스에게 MA-P10 1.00×10^3 TCID₅₀을 감염시켰을 경우, 감염 3일 후부터 체중 감소를 인정되었지만, 사망에는 인정되지 않았다. 한편으로, 15주령 마우스에게 MA-P10 1.00×10^4 TCID₅₀을 감염시켰을 경우, 감염 3일 후부터 체중이 감소하여, 감염 4일 후에 일부의 개체에서 사망예가 인정되고, 감염 6일 후에 전 예가 사망했다. 이때 식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정 50mg/kg 투여군에서는 관찰한 감염 7일 후에까지 전 예가 생존하고, 체중 감소가 인정되지 않았다(도 8c 및 도 8d).
- [0930] 다음에, 고주령 35-45주령 리타이어 마우스에게 MA-P10 1.00×10^3 TCID₅₀을 감염시켰을 경우, 감염 3일 후부터 체중이 감소하여, 감염 5일 후에 일부의 개체에서 사망예가 인정되고, 감염 6일 후에 전 예가 사망한 것으로부터, 고주령인 35-45주령 리타이어 마우스에서는 보다 저감염량으로도 중증화되기 쉽다고 생각된다. 이때 식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정 50mg/kg 투여군에서는 관찰한 감염 7일 후에까지 전 예가 생존하고, 체중 감소가 억제되었다(도 8e 및 도 8f).
- [0931] 이상의 결과로부터, 15주령 마우스 및 고주령 35-45주령 리타이어 마우스의 어느 것에 있어서도, 식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정 투여에 의해 치사 및 체중 감소 억제 효과가 있음이 시사되었다.
- [0932] 약령(若齡) 마우스와 비교하면, 가령(加齡) 마우스에서는, 인간과 마찬가지로, SARS-CoV-2의 수용체로서 알려져 있는 ACE2 수용체의 발현량이 증가함이 알려져 있고(참고 문헌: Scientific Reports (2020)10:22401 및 Molecular Therapy Methods & Clinical Development, Vol. 18, P1-6, 2020), 또한 감염원으로부터 신체를 방어하고, 그들을 배제하는 정상적인 면역 응답이 저하되기 때문에, 바이러스 감염에 의해 치사에 이르는 것이 상정된다. 그렇지만, 상기에 나타내는 바와 같이, 가령 마우스를 이용한 SARS-CoV-2 감염 마우스 모델에 있어서, 식

(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정의 투여에 의해, 감염 7일 후의 마우스의 생존율은 100%를 나타냈다. 가령 마우스를 이용한 비임상 시험은, 기초 질환을 갖는 하이리스크 환자가 중증화에 이르는 과정을 모방한 비임상 평가계의 하나로서 자리매김되기 때문에, 중증화 리스크가 높은 환자에 대한 치료 옵션으로서, 식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정의 유용성을 지지한다.

- [0933] 또한, 상기 시험 결과는, 식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정 투여군에 있어서 바이러스 감염에 의한 중증화가 억제되었음을 시사하고 있어, 식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정의 SARS-CoV-2에 대한 항바이러스 효과뿐만 아니라, SARS-CoV-2에 의한 감염증의 중증화 억제를 의약으로서의 유용성을 지지한다.
- [0934] 시험예 6: SARS-CoV에 대한 항바이러스 효과
- [0935] <재료>
- [0936] · 유지 배지(2% FBS in MEM)
- [0937] 1000mL의 Minimum Essential Medium에 8.5% NaHCO₃을 10mL, FBS를 20mL, L-Glutamine을 10mL 가하여 조제했다.
- [0938] · MTT액
- [0939] 3-(4,5-dimethyl-2-thiazol)-2,5-diphenyl-2H-tetrazoliumbromide를 5 μg/mL가 되도록 PBS로 용해 후, 0.45 μm 혹은 0.22 μm 필터로 여과했다.
- [0940] · 세포 용해액(바이러스 불활화액)
- [0941] 500mL 아이소프로판올에 50mL의 Triton X, 4mL의 염산(12mol/L)을 넣어 조제했다.
- [0942] · Dimethyl sulfoxide(DMSO)
- [0943] · 플레이트 리더(서모 피셔사, 퍼킨엘머사 등)
- [0944] <조작 수순>
- [0945] · 시험 시료의 희석, 분주
- [0946] 미리 시험 시료를 DMSO로 적당한 농도로 희석하여, 3배 단계 희석 계열을 제작했다. 추가로 유지 배지로 희석하여 50 μL/well이 되도록 96웰 플레이트에 분주했다.
- [0947] · 세포 및 바이러스의 희석, 분주
- [0948] 바이러스(SARS-CoV Hanoi strain(1000TCID₅₀/well))를 각각 유지 배지로 희석하고, 시험 시료가 들어간 96well 플레이트에 50 μL/well씩 분주했다.
- [0949] 유지 배지로 조제한 VeroE6/TMPRSS2 세포(1.5×10⁴ cells/well)를, 시험 시료 및 바이러스가 들어간 96well 플레이트에 100 μL/well씩 분주했다. 플레이트 믹서로 혼화하고, CO₂ 인큐베이터에서 3일간 배양했다.
- [0950] · MTT액, 세포 용해액의 분주
- [0951] 3일간 배양한 96 well 플레이트를 육안, 현미경하에서 관찰하여, 세포의 형태·결정의 유무 등을 확인했다. MTT액을 각 well에 30 μL씩 분주하고, CO₂ 인큐베이터에서 4~6시간 배양했다. 플레이트로부터 세포를 흡수하지 않도록 상청을 150 μL씩 제거했다. 세포 용해액(바이러스 불활화액)을 각 well에 150 μL씩 분주했다. 건조하지 않도록 플레이트를 랩으로 싸고, 실온에서 하룻밤 방치했다.
- [0952] · 흡광도의 측정(96 well 플레이트)
- [0953] 다음날 플레이트를 플레이트 믹서로 혼화했다. 96well 플레이트는, 플레이트 리더를 이용하여 570nm와 630nm의 2파장의 흡광도를 측정했다.
- [0954] <각 측정 항목치의 산출>
- [0955] · 50% 바이러스 감염 세포사 저해 농도(EC₅₀) 산출
- [0956] x를 화합물 농도의 대수치, y를 %Efficacy로 했을 때, 이하의 Logistic 회귀식으로 저해 곡선을 근사하여,

y=50(%)을 대입했을 때의 x의 값을 EC₅₀으로서 산출했다.

- [0957] $y = \min + (\max - \min) / \{1 + (X50/x)^{Hill}\}$
- [0958] %Efficacy = {(Sample - virus control) / (cell control - virus control)} * 100%
- [0959] Sample: the average of ODs of Sample wells
- [0960] cell control: the average of ODs of cell control wells
- [0961] virus control: the average of ODs of virus control wells
- [0962] OD: OD(570 nm)-OD(630 nm)
- [0963] min; y축 하한치, max; y축 상한치, X50; 변곡점의 x 좌표, Hill; min과 max의 중간점에서의 커브의 기울기
- [0964] 본 발명 화합물을 본질적으로 상기와 같이 시험했다. EC₅₀을 이하에 나타낸다.
- [0965] 식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정: SARS-CoV 0.209 μM
- [0966] 시험예 7: HCoV-OC43에 대한 항바이러스 효과
- [0967] <조작 수순>
- [0968] · 피험 시료의 회석, 분주
- [0969] 미리 피험 시료를 DMSO로 적당한 농도로 회석하여, 3배 단계 희석 계열을 제작 후, 96웰 플레이트에 분주하고 유지 배지(MEM, 2% FBS, 페니실린-스트렙토마이신)로 회석한다.
- [0970] · 세포 및 HCoV-OC43의 회석, 분주
- [0971] 계대 배지(DMEM, 10% FBS, 페니실린-스트렙토마이신)에 현탁한 MRC-5 세포(2×10^4 cells/well)를 감염 전일에 96well 플레이트에 파종하고, 다음날, 유지 배지(MEM, 2% FBS, 페니실린-스트렙토마이신)에 현탁한 HCoV-OC43(100TCID₅₀/well)을 1시간으로 감염시킨다. 그 후, 유지 배지로 1회 세정 후, 피험 시약이 들어간 유지 배지를 첨가하고, CO₂ 인큐베이터에서 42시간 배양한다. 또한 피험 시약의 세포 독성을 조사하기 위해서, 바이러스 비존재하에서 마찬가지로의 조작을 실시한다.
- [0972] · 바이러스양의 정량
- [0973] 42시간 배양한 플레이트 상청을 회수하고, Quick-RNA Viral Kit(ZYMO RESEARCH, #R1041)를 이용하여 RNA를 추출한다. 추출 후의 RNA 용액을 리얼타임 PCR(Applied BioSystems QuantStudio3)로 정량한다. 프라이머는 문헌을 참조한다(Journal of Clinical Microbiology., 2005, Jun 43(11), 5452-5456).
- [0974] <각 측정 항목치의 산출>
- [0975] · 90% HCoV-OC43 바이러스 복제 저해 농도(EC₉₀) 산출
- [0976] x를 화합물 농도의 대수치, y를 바이러스의 카피수(Log copies/mL)로 한 농도 의존성 곡선에 있어서 바이러스 컨트롤로부터의 1 log reduction에 상당하는 값을 그 전후의 2농도의 카피수로부터 2점법으로 산출한다. 즉,
- [0977] $X = \log_{10}(\text{high conc.})$
- [0978] $x = \log_{10}(\text{low conc.})$
- [0979] $Y = \log_{10}(\text{low copies/mL}) - \log_{10}(\text{control copies/mL})$
- [0980] $y = \log_{10}(\text{high copies/mL}) - \log_{10}(\text{control copies/mL})$
- [0981] EC₉₀ value was calculated by the following formula.
- [0982] $EC_{90} = 10[x + (-1 - y) \times (X - x) / (Y - y)]$
- [0983] 본 발명 화합물을 본질적으로 상기와 같이 시험했다. 결과를 이하에 나타낸다.

- [0984] 식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정: EC₉₀ 0.074 μM
- [0985] 시험예 8: HCoV-229E에 대한 항바이러스 효과
- [0986] <조작 수순>
- [0987] · 피험 시료의 희석, 분주
- [0988] 미리 피험 시료를 DMSO로 적당한 농도로 희석하여, 3배 단계 희석 계열을 제작 후, 96웰 플레이트에 분주하고 유지 배지(MEM, 2% FBS, 페니실린-스트렙토마이신)로 희석한다.
- [0989] · 세포 및 HCoV-229E의 희석, 분주
- [0990] 계대 배지(DMEM, 10% FBS, 페니실린-스트렙토마이신)에 현탁한 MRC-5 세포(2×10⁴ cells/well)를 감염 전일에 96well 플레이트에 파종하고, 다음날, 유지 배지(MEM, 2% FBS, 페니실린-스트렙토마이신)에 현탁한 HCoV-229E(1000TCID₅₀/well)를 1시간으로 감염시킨다. 그 후, 바이러스액을 제거하고, 피험 시약이 들어간 유지 배지를 첨가하고, CO₂ 인큐베이터에서 72시간 배양한다. 또한 피험 시약의 세포 독성을 조사하기 위해서, 바이러스 비존재하에서 마찬가지로의 조작을 실시한다.
- [0991] · CellTiter-Glo(등록상표) 2.0의 분주 및 발광 시그널의 측정
- [0992] 72시간 배양한 플레이트를 실온으로 되돌린 후, CellTiter-Glo(등록상표) 2.0을 각 웰에 분주하고, 플레이트 믹서로 혼화한다. 일정 시간 둔 후, 플레이트 리더로 발광 시그널(Lum)을 측정한다.
- [0993] <각 측정 항목치의 산출>
- [0994] · 50% HCoV-229E 감염 세포사 저해 농도(EC₅₀) 산출
- [0995] x를 화합물 농도의 대수치, y를 %Efficacy로 했을 때, 이하의 Logistic 회귀식으로 저해 곡선을 근사하여, y=50(%)을 대입했을 때의 x의 값을 EC₅₀으로서 산출한다.
- [0996] $y = \min + (\max - \min) / \{1 + (X50/x)^{Hill}\}$
- [0997] %Efficacy = $\{(Sample - virus\ control) / (cell\ control - virus\ control)\} * 100\%$
- [0998] cell control: the average of Lum of cell control wells
- [0999] virus control: the average of Lum of virus control wells
- [1000] min: y축 하한치, max: y축 상한치, X50: 변곡점의 x 좌표, Hill: min과 max의 중간점에서의 커브의 기울기
- [1001] · 50% 세포 독성 농도의 산출
- [1002] x를 화합물 농도의 대수치, y를 %Cytotoxicity로 했을 때, 이하의 Logistic 회귀식으로 저해 곡선을 근사하여, y=50(%)을 대입했을 때의 x의 값을 CC₅₀으로서 산출한다.
- [1003] $y = \min + (\max - \min) / \{1 + (X50/x)^{Hill}\}$
- [1004] %Cytotoxicity = $\{(Sample - medium\ control) / (cell\ control - medium\ control)\} * 100\%$
- [1005] cell control: the average of Lum of cell control wells
- [1006] medium control: the average of Lum of medium control wells
- [1007] min: y축 하한치, max: y축 상한치, X50: 변곡점의 x 좌표, Hill: min과 max의 중간점에서의 커브의 기울기
- [1008] 본 발명 화합물을 본질적으로 상기와 같이 시험했다. 결과를 이하에 나타낸다.
- [1009] 식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정: EC₅₀ 5.53 μM, CC₅₀ > 200 μM
- [1010] 시험예 9: 항SARS-CoV-2 활성에 대한 인간 혈청 및 마우스 혈청의 영향
- [1011] <조작 수순>

- [1012] · 피험 시료의 희석, 분주
- [1013] 미리 피험 시료를 DMSO로 적당한 농도로 희석하여, 3배 단계 희석 계열을 제작 후, 96웰 플레이트에 분주한다.
- [1014] · 혈청 첨가 배지의 첨가
- [1015] 0, 6.25%, 12.5, 25, 50% 인간 혈청 혹은 0, 3.125, 6.25, 12.5, 25% 마우스 혈청이 되도록 배지(MEM, 2% FBS, 페니실린-스트렙토마이신)로 조정하여, 피험 시료가 들어간 웰에 분주하고, 실온에서 1시간 인큐베이트한다.
- [1016] · 세포 및 SARS-CoV-2의 희석, 분주
- [1017] VeroE6/TMPRSS2 세포(JCRB1819, 1.5×10^3 cells/well)와 SARS-CoV-2 hCoV-19/Japan/TY7-501/2021(인간 혈청에서는 1000TCID₅₀/well, 마우스 혈청에서는 10000TCID₅₀/well)을 배지(MEM, 2% FBS, 페니실린-스트렙토마이신)에서 혼합하고, 피험 시료 및 인간 혈청, 마우스 혈청이 들어온 웰에 등량 분주한 후, CO₂ 인큐베이터에서 3일간 배양한다.
- [1018] · CellTiter-Glo(등록상표) 2.0의 분주 및 발광 시그널의 측정
- [1019] 3일간 배양한 플레이트를 실온으로 되돌린 후, CellTiter-Glo(등록상표) 2.0을 각 웰에 분주하고, 플레이트 믹서로 혼화한다. 일정 시간 둔 후, 플레이트 리더로 발광 시그널(Lum)을 측정한다.
- [1020] <각 측정 항목치의 산출>
- [1021] · 50% SARS-CoV-2 감염 세포사 저해 농도(EC₅₀) 산출
- [1022] x를 화합물 농도의 대수치, y를 %Efficacy로 했을 때, 이하의 Logistic 회귀식으로 저해 곡선을 근사하여, y=50(%)을 대입했을 때의 x의 값을 EC₅₀으로서 산출한다.
- [1023] $y = \min + (\max - \min) / \{1 + (X50/x)^{Hill}\}$
- [1024] %Efficacy = $\{(Sample - virus\ control) / (cell\ control - virus\ control)\} * 100\%$
- [1025] cell control: the average of Lum of cell control wells
- [1026] virus control: the average of Lum of virus control wells
- [1027] min: y축 하한치, max: y축 상한치, X50: 변곡점의 x 좌표, Hill: min과 max의 중간점에서의 커브의 기울기
- [1028] · Protein-Adjusted EC₅₀(PA-EC₅₀)의 산출
- [1029] 각 혈청 농도에서의 EC₅₀을 산출 후, 선형 회귀에 의해 혈청 100% 조건에서의 PA-EC₅₀치를 계산했다.
- [1030] 본 발명 화합물을 본질적으로 상기와 같이 시험했다. 결과를 이하에 나타낸다.
- [1031] 식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정: 인간 혈청 PA-EC₅₀ 3.02 μM, 마우스 혈청 PA-EC₅₀ 3.93 μM
- [1032] 시험예 10-1: human ACE2, TMPRSS2 발현 HEK293T 세포(HEK293T/ACE2-TMPRSS2 세포)를 이용한 Cytopathic effect(CPE) 억제 효과 확인 시험
- [1033] <조작 수순>
- [1034] · 피험 시료의 희석, 분주
- [1035] 미리 피험 시료를 DMSO로 적당한 농도로 희석하여, 3배 단계 희석 계열을 제작 후, 96웰 플레이트에 분주한다.
- [1036] · 세포 및 SARS-CoV-2의 희석, 분주
- [1037] HEK293T/ACE2-TMPRSS2 세포(SL222, 1.5×10^4 cells/well)와 SARS-CoV-2 hCoV-19/Japan/TY/WK-521/2020, hCoV-19/Japan/QK002/2020, hCoV-19/Japan/TY7-501/2021, hCoV-19/Japan/TY8-612/2021, hCoV-19/Japan/TY11-927-P1/2021(3000-9000TCID₅₀/well)을 배지(MEM, 2% FBS, 페니실린-스트렙토마이신)에서 혼합하고, 피험 시료가 들어간 웰에 분주한 후, CO₂ 인큐베이터에서 3일간 배양한다.

- [1038] · CellTiter-Glo(등록상표) 2.0의 분주 및 발광 시그널의 측정
- [1039] 3일간 배양한 플레이트를 실온으로 되돌린 후, CellTiter-Glo(등록상표) 2.0을 각 웰에 분주하고, 플레이트 믹서로 혼화한다. 일정 시간 둔 후, 플레이트 리더로 발광 시그널(Lum)을 측정한다.
- [1040] <각 측정 항목치의 산출>
- [1041] · 50% SARS-CoV-2 감염 세포사 저해 농도(EC₅₀) 산출
- [1042] x를 화합물 농도의 대수치, y를 %Efficacy로 했을 때, 이하의 Logistic 회귀식으로 저해 곡선을 근사하여, y=50(%)을 대입했을 때의 x의 값을 EC₅₀으로서 산출한다.
- [1043] $y = \min + (\max - \min) / \{1 + (X50/x)^{Hill}\}$
- [1044] %Efficacy = $\{(Sample - virus\ control) / (cell\ control - virus\ control)\} * 100\%$
- [1045] cell control: the average of Lum of cell control wells
- [1046] virus control: the average of Lum of virus control wells
- [1047] min: y축 하한치, max: y축 상한치, X50: 변곡점의 x 좌표, Hill: min과 max의 중간점에서의 커브의 기울기
- [1048] 본 발명 화합물을 본질적으로 상기와 같이 시험했다. 결과를 이하에 나타낸다.
- [1049] 식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정: 0.026-0.058 μM
- [1050] 시험예 10-2: human ACE2, TMPRSS2 발현 HEK293T 세포(HEK293T/ACE2-TMPRSS2 세포)를 이용한 Cytopathic effect(CPE) 억제 효과 확인 시험
- [1051] <조작 수순>
- [1052] · 피험 시료의 희석, 분주
- [1053] 미리 피험 시료를 DMSO로 적당한 농도로 희석하여, 3배 단계 희석 계열을 제작 후, 96웰 플레이트에 분주한다.
- [1054] · 세포 및 SARS-CoV-2의 희석, 분주
- [1055] HEK293T/ACE2-TMPRSS2 세포(SL222, 1.5×10^4 cells/well)와 SARS-CoV-2 hCoV-19/Japan/TY38-873/2021(9000TCID₅₀/well)을 배지(MEM, 2% FBS, 페니실린-스트렙토마이신)에서 혼합하고, 피험 시료가 들어간 웰에 분주한 후, CO₂ 인큐베이터에서 3일간 배양한다.
- [1056] · CellTiter-Glo(등록상표) 2.0의 분주 및 발광 시그널의 측정
- [1057] 3일간 배양한 플레이트를 실온으로 되돌린 후, CellTiter-Glo(등록상표) 2.0을 각 웰에 분주하고, 플레이트 믹서로 혼화한다. 일정 시간 둔 후, 플레이트 리더로 발광 시그널(Lum)을 측정한다.
- [1058] <각 측정 항목치의 산출>
- [1059] · 50% SARS-CoV-2 감염 세포사 저해 농도(EC₅₀) 산출
- [1060] x를 화합물 농도의 대수치, y를 %Efficacy로 했을 때, 이하의 Logistic 회귀식으로 저해 곡선을 근사하여, y=50(%)을 대입했을 때의 x의 값을 EC₅₀으로서 산출한다.
- [1061] $y = \min + (\max - \min) / \{1 + (X50/x)^{Hill}\}$
- [1062] %Efficacy = $\{(Sample - virus\ control) / (cell\ control - virus\ control)\} * 100\%$
- [1063] cell control: the average of Lum of cell control wells
- [1064] virus control: the average of Lum of virus control wells
- [1065] min: y축 하한치, max: y축 상한치, X50: 변곡점의 x 좌표, Hill: min과 max의 중간점에서의 커브의 기울기
- [1066] 본 발명 화합물을 본질적으로 상기와 같이 시험했다. 결과를 이하에 나타낸다.

- [1067] 식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정: 0.083 μM
- [1068] 시험예 11: 식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정의 예방 투여에 의한 SARS-CoV-2 감염 동물로부터 비감염 동물에의 바이러스 전파 억제 시험
- [1069] <재료와 방법>
- [1070] · 화합물
- [1071] 식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정은, 0.5% 메틸셀룰로스(0.5% MC) 용액을 이용하여 조제했다. 투여 용량은, 10mL/kg으로 했다. 투여량은 프리체로 환산한 양을 나타낸다.
- [1072] · 바이러스
- [1073] 국립 감염증 연구소에서 분리된 SARS-CoV-2 hCoV19/Japan/TY11-927/2021주를 이용했다.
- [1074] · 햄스터 폐 감염, 투약, 폐 회수
- [1075] 특정 병원체 부재의 5주령의 웅성 시리안 햄스터(Japan SLC, Inc.)를 본 연구에 있어서 사용했다. 바이러스를 접종하는 감염 햄스터 1마리와 바이러스를 접종하지 않는 투약 햄스터 3마리를 동일 케이지 내에서 사육하여, 감염 햄스터와 동거하는 투약 햄스터에의 바이러스 전파를 시험했다. 바이러스 접종 시, 아이소플루레인의 흡입 투여에 의해 햄스터를 마취했다. 햄스터에게, 마취하에서, 200 μL의 hCoV19/Japan/TY11-927/2021(5.00×10^3 PFU)을 경비 접종했다. 바이러스 접종을 하지 않는 투약 햄스터에게는, 감염 햄스터에의 바이러스 접종 시를 개시점으로 하여, 식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정을 30, 200mg/kg의 용량으로 1일 2회 경구 투여했다. 대조 햄스터에게는, 0.5% MC를 1일 2회 경구 투여했다. 화합물 투여는 투여 개시부터 6일간으로 했다. 투여 개시부터 6일 후에 햄스터 폐를 회수하고, 5mL의 PBS를 첨가, 동질화하고, 원심 후 상청을 회수했다.
- [1076] · 폐내 바이러스 역가의 측정
- [1077] 폐 호모지네이트액을 배지(MEM, 2% FBS, 페니실린-스트렙토마이신)로 10배 희석 계열을 제작 후, 미리 24웰 플레이트에 배양한 VeroE6/TMPRSS2 세포(JCRB1819, 2.0×10^5 cells/well)에 접종했다. CO₂ 인큐베이터에서 2일간 배양 후, 바이러스 플라크를 관찰하여, 폐 호모지네이트액 중에 포함되는 바이러스 역가를 산출했다.
- [1078] 본 발명 화합물을 본질적으로 상기와 같이 시험했다. 결과를 이하에 나타낸다.
- [1079] 감염 햄스터와의 동거 개시 6일 후, 투약 햄스터의 폐내 바이러스 역가는 0.5% MC 투여군에서는 $6.12 - \log_{10}$ PFU/mL를 나타내고, 식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정 30, 200mg/kg 투여군에서는 각각 $3.48 - \log_{10}$ PFU50/mL, 검출 한계치 이하를 나타냈다(도 9). 식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정 투여군에서는 폐내 바이러스 역가가 0.5% MC 투여군에 비해 낮은 값을 나타낸 것으로부터, 감염 햄스터로부터의 바이러스 전파를 저감하는 효과가 있음이 시사되었다.
- [1080] 시험예 12: 식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정의 감염 직후 투여에 의한 SARS-CoV-2 감염 동물로부터 비감염 동물에의 바이러스 전파 억제 시험
- [1081] <재료와 방법>
- [1082] · 화합물
- [1083] 식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정은, 0.5% 메틸셀룰로스(0.5% MC) 용액을 이용하여 조제했다. 투여 용량은, 10mL/kg으로 했다. 투여량은 프리체로 환산한 양을 나타낸다.
- [1084] · 바이러스
- [1085] 국립 감염증 연구소에서 분리된 SARS-CoV-2 hCoV19/Japan/TY11-927/2021주를 이용했다.
- [1086] · 햄스터 폐 감염, 투약, 폐 회수
- [1087] 특정 병원체 부재의 5주령의 웅성 시리안 햄스터(Japan SLC, Inc.)를 본 연구에 있어서 사용했다. 바이러스를 접종하는 감염 햄스터 1마리와 바이러스를 접종하지 않는 비감염 햄스터 2마리를 동일 케이지 내에서 사육하여, 감염 햄스터와 동거하는 비감염 햄스터에의 바이러스 전파를 시험했다. 바이러스 접종 시, 아이소플루레인의 흡

입 투여에 의해 햄스터를 마취하고, 200 μ L의 hCoV-19/Japan/TY11-927/2021(5.00×10^3 PFU)을 경비 접종했다. 감염 햄스터에게는, 바이러스 접종 시를 개시점으로 하여, 식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정을 200mg/kg의 용량으로 1일 2회 경구 투여했다. 대조의 감염 햄스터에게는, 0.5% MC를 1일 2회 경구 투여했다. 화합물 투여는 투여 개시부터 4일간으로 했다. 감염 6일 후에 비감염 햄스터 폐를 회수하고, 5mL의 PBS를 첨가, 동결화하고, 원심 후 상청을 회수했다.

- [1088] · 폐내 바이러스 역가의 측정
- [1089] 폐 호모지네이트액을 배지(MEM, 2% FBS, 페니실린-스트렙토마이신)로 10배 희석 계열을 제작 후, 미리 24웰 플레이트에 배양한 VeroE6/TMPRSS2 세포(JCRB1819, 2.0×10^5 cells/well)에 접종했다. CO₂ 인큐베이터에서 2일간 배양 후, 바이러스 플라크를 관찰하여, 폐 호모지네이트액 중에 포함되는 바이러스 역가를 산출했다.
- [1090] 본 발명 화합물을 본질적으로 상기와 같이 시험했다. 결과를 이하에 나타낸다.
- [1091] 감염 햄스터와의 동거 개시 6일 후, 비감염 햄스터의 폐내 바이러스 역가는 0.5% MC 투여군에서는 $6.36 - \log_{10}$ PFU/mL를 나타내고, 식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정 200mg/kg 투여군에서는 검출 한계치 이하를 나타냈다(도 10). 식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정 투여군에서는 폐내 바이러스 역가가 0.5% MC 투여군에 비해 낮은 값을 나타낸 것으로부터, 감염 햄스터로부터의 바이러스 전파를 저감하는 효과가 있음이 시사되었다.
- [1092] 시험예 13: 식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정의 감염 후 지연 투여에 의한 SARS-CoV-2 감염 동물로부터 비감염 동물에의 바이러스 전파 억제 시험
- [1093] <재료와 방법>
- [1094] · 화합물
- [1095] 식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정은, 0.5% 메틸셀룰로스(0.5% MC) 용액을 이용하여 조제했다. 투여 용량은, 5mL/kg으로 했다. 투여량은 프리체로 환산한 양을 나타낸다.
- [1096] · 바이러스
- [1097] 국립 감염증 연구소에서 분리된 SARS-CoV-2 hCoV19/Japan/TY11-927/2021주를 이용했다.
- [1098] · 햄스터 폐 감염, 투약, 폐 및 비갑개 회수
- [1099] 특정 병원체 부재의 6주령의 웅성 시리안 햄스터(Japan SLC, Inc.)를 본 연구에 있어서 사용했다. 바이러스를 접종하는 감염 햄스터 1마리와 바이러스를 접종하지 않는 비감염 햄스터 1마리를, 감염 2일 후를 개시점으로 하여 동일 케이지 내에서 사육하여, 감염 햄스터와 동거하는 비감염 햄스터에의 바이러스 전파를 시험했다. 각 군 n=3으로 실시했다. 바이러스 접종 시, 0.07mg/mL의 염산 메테토미딘, 6.98mg/mL의 알파살론, 1.16mg/mL의 타르타르산 부토르파놀을 포함하는 200 μ L의 마취액의 피하 투여에 의해 햄스터를 마취하고, 100 μ L의 hCoV-19/Japan/TY11-927/2021(1.00×10^2 TCID₅₀)을 경비 접종했다. 감염 햄스터에게는, 바이러스 접종 1일 후를 개시점으로 하여, 식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정을 50mg/kg의 용량으로 1일 2회 경구 투여했다. 대조의 감염 햄스터에게는, 0.5% MC를 1일 2회 경구 투여했다. 화합물 투여는 투여 개시부터 4일간으로 했다. 감염 5일 후에 감염 및 비감염 햄스터 폐 및 비갑개를 회수하고, 각각 5mL 혹은 1mL의 PBS를 첨가, 동결화하고, 원심 후 상청을 회수했다.
- [1100] · 폐내 및 비갑개내 바이러스 역가의 측정
- [1101] 폐 혹은 비갑개 호모지네이트액을 배지(MEM, 2% FBS, 페니실린-스트렙토마이신)로 10배 희석 계열을 제작 후, 미리 96웰 플레이트에 배양한 VeroE6/TMPRSS2 세포(JCRB1819, 1.5×10^4 cells/well)에 접종했다. CO₂ 인큐베이터에서 5일간 배양 후, Cytopathic effect(CPE)를 관찰하여, 폐 혹은 비갑개 호모지네이트액 중에 포함되는 바이러스 역가를 산출했다.
- [1102] 본 발명 화합물을 본질적으로 상기와 같이 시험했다. 결과를 이하에 나타낸다.
- [1103] 감염 햄스터와의 동거 개시 3일 후, 비감염 햄스터의 폐내 바이러스 역가는 0.5% MC 투여군에서는 $5.30 -$

$\log_{10}\text{TCID}_{50}/\text{mL}$ 를 나타내고, 식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정 50mg/kg 투여군에서는 $2.97-\log_{10}\text{TCID}_{50}/\text{mL}$ 를 나타냈다(도 11a). 또한, 감염 햄스터와의 동거 개시 3일 후, 비감염 햄스터의 비감개 내 바이러스 역가는 0.5% MC 투여군에서는 $6.06-\log_{10}\text{TCID}_{50}/\text{mL}$ 를 나타내고, 식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정 50mg/kg 투여군에서는 $2.89-\log_{10}\text{TCID}_{50}/\text{mL}$ 를 나타냈다(도 11b). 식(I-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 I형 결정 투여군에서는 폐내 및 비감개 내의 바이러스 역가가 0.5% MC 투여군에 비해 낮은 값을 나타낸 것으로부터, 감염 햄스터로부터의 바이러스 전파를 저감하는 효과가 있음이 시사되었다.

- [1104] 시험예 14: 식(I-B)로 표시되는 화합물의 예방 투여에 의한 SARS-CoV-2 감염 마우스의 치사, 체중 감소 억제 시험
- [1105] <재료와 방법>
- [1106] · 화합물
- [1107] 본 발명 화합물(식(I-B)로 표시되는 화합물)은, 0.5% 메틸셀룰로스(0.5% MC) 용액을 이용하여 조제했다. 투여 용량은, 10mL/kg×2개소로 했다.
- [1108] · 바이러스
- [1109] 홋카이도 대학에서 분리한 SARS-CoV-2 hCoV19/Japan/TY/WK-521/2020주 마우스 순화주 MA-P10을 이용했다.
- [1110] · 마우스 폐 감염, 투약, 체중 측정
- [1111] 특정 병원체 부재의 37-57주령 리타이어의 자성 BALB/c 마우스(CLEA Japan, Inc.)를 본 연구에 있어서 사용했다. 바이러스 접종 시, PBS 중에 0.03mg/mL의 염산 메테도미딘, 0.4mg/mL의 미다졸람, 0.5mg/mL의 타르타르산 부토르프놀을 포함하는 100 μL 의 마취액의 근내 투여에 의해 마우스를 마취했다. 마우스에게, 마취하에서, 50 μL 의 MA-P10($3.00 \times 10^2 \text{TCID}_{50}$)을 경비 접종했다. 바이러스 감염 1일전에, 마우스(n=15/군)에게, 식(I-B)로 표시되는 화합물을 32, 64, 96, 128mg/kg으로 1회 피하 투여했다. 대조 마우스에게는, 0.5% MC를 1회 피하 투여했다. 체중을 1일 1회 모니터링하고, 생존율의 평가에 있어서는, 감염 직전의 체중을 기준으로 하여 80% 미만이었다는 경우에는 사망으로 간주했다.
- [1112] 본 발명 화합물을 본질적으로 상기와 같이 시험했다. 결과를 이하에 나타낸다.
- [1113] 고주령 37-57주령 리타이어 마우스에게 MA-P10 $3.00 \times 10^2 \text{TCID}_{50}$ 을 감염시켰을 경우, 감염 다음날부터 체중이 감소하여, 감염 4일 후에 일부의 개체에서 사망예가 인정되고, 감염 8일 후에 전 예가 사망했다. 이때 식(I-B)로 표시되는 화합물 32, 64, 96, 128mg/kg 투여군에서는 감염 14일 후에까지의 생존율은 각각 6.7%, 60%, 80%, 100%이며, 32mg/kg 이상의 투여군에서는 체중 감소가 억제되었다(도 12a, b). 한편, 감염 직전, 결국은 투여 1일 후의 혈장중 농도를 측정할 바, 각각 1740, 2990, 3110, 3370 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 였다.
- [1114] 이상의 결과로부터, 고주령 37-57주령 리타이어 마우스에 있어서, 감염 1일전에 식(I-B)로 표시되는 화합물을 64mg/kg 이상을 피하 투여하여, 바이러스 감염 시의 혈장중 농도가 2990 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이상에서 치사 및 체중 감소 억제 효과가 있음이 나타났다.
- [1115] 상기 시험 결과는, 식(I-B)로 표시되는 화합물의 예방적인 피하 투여에 있어서 바이러스 감염에 의한 중증화가 억제되었음을 나타내고 있어, 식(I-B)로 표시되는 화합물의 SARS-CoV-2에 의한 감염증의 예방약으로서의 유용성을 지지한다.
- [1116] 시험예 15: human airway epithelial cells 세포를 이용한 바이러스 증식 억제 효과 확인 시험
- [1117] <조작 수순>
- [1118] · 피험 시료의 희석, 분주
- [1119] 미리 피험 시료를 DMSO로 적당한 농도로 희석하여, 3배 단계 희석 계열을 제작 후, MucilAir™ 배양액으로 200배 희석하고, 24웰 플레이트에 분주했다.
- [1120] · SARS-CoV-2 감염

[1121] Transwell에 과중되어 있는 MucilAir™(Nasal cavity, 약 5.0×10^5 cells/well)에 SARS-CoV-2 hCoV-19/Japan/TY11-927-P1/2021, hCoV-19/Japan/TY38-873/2021(5000 TCID₅₀/well)을 감염시키고, CO₂ 인큐베이터에서 2시간 배양했다. 그 후 MucilAir™ 배양액으로 세정하고, transwell을 피험 시료가 들어간 웰에 놓고, CO₂ 인큐베이터에서 배양했다. hCoV-19/Japan/TY11-927-P1/2021은 감염 2, 3일 후, hCoV-19/Japan/TY38-873/2021은 감염 1, 2일 후에, transwell에 MucilAir™ 배양액을 첨가하고, 상청을 회수했다.

[1122] · 상청 중 바이러스 역가의 측정

[1123] 회수한 상청을 배지(MEM, 2% FBS, 페니실린-스트렙토마이신)로 10배 희석 계열을 제작 후, VeroE6/TMPRSS2 세포(JCRB1819, 1.5×10^4 cells/well)와 혼합하고, 96웰 플레이트에 과중했다. CO₂ 인큐베이터에서 4일간 배양 후, Cytopathic effect(CPE)를 관찰하여, 상청 중에 포함되는 바이러스 역가를 산출했다.

[1124] <각 측정 항목치의 산출>

[1125] · 90% SARS-CoV-2 바이러스 산생 저해 농도(EC₉₀) 산출

[1126] x를 화합물 농도의 대수치, y를 바이러스 역가(Log₁₀ TCID₅₀/mL)로 한 농도 의존성 곡선에 있어서 바이러스 컨트롤로부터의 1 log₁₀ reduction에 상당하는 값을 그 전후의 2농도의 바이러스 역가로부터 2점법으로 산출한다.

[1127] [수학적식 1]

X = the lowest conc. at the average of reduction from control viral titer of <-1
 x = the highest conc. at the average of reduction from control viral titer of ≥-1
 Y = the average of reduction from control viral titer at x
 y = the average of reduction from control viral titer at X
 EC₉₀ value were calculated by the following formula.

[1128]
$$EC_{90} = 10^{[\log(x) + (-1 - Y) \times (\log(x) - \log(X)) / (Y - y)]}$$

[1129] 본 발명 화합물을 본질적으로 상기와 같이 시험했다. 결과를 이하에 나타낸다.

표 15

바이러스주	배양일수 (일후)	식(1-B)로 표시되는 화합물의 푸마르산 공결정 1형 결정 EC ₉₀ (μM)
Delta TY11-927-P1	2	0.0514
	3	0.117
Omicorn BA.1 TY38-873	1	0.0660
	2	0.160

[1130]

[1131] 이하에 나타내는 제제에는 예시에 지나지 않는 것이고, 발명의 범위를 전혀 한정하는 것을 의도하는 것은 아니다.

[1132] 본 발명에 따른 화합물은, 임의의 종래의 경로에 의해, 특히, 경장, 예를 들어, 경구로, 예를 들어, 정제 또는 캡슐제의 형태로, 또는 비경구로, 예를 들어 주사액제 또는 현탁제의 형태로, 국소로, 예를 들어, 로션제, 젤제, 연고제 또는 크림제의 형태로, 또는 경비 형태 또는 좌제 형태로 의약 조성물로서 투여할 수 있다. 적어도 1종의 약학적으로 허용되는 담체 또는 희석제로 하나로 하여, 유리 형태 또는 약학적으로 허용되는 염의 형태의 본 발명의 화합물을 포함하는 의약 조성물은, 종래의 방법으로, 혼합, 조립 또는 코팅법에 의해 제조할 수 있다. 예를 들어, 경구용 조성물로서는, 부형제, 붕괴제, 결합제, 활택제 등 및 유효 성분 등을 함유하는 정제, 과립제, 캡슐제로 할 수 있다. 또한, 주사용 조성물로서는, 용액제 또는 현탁제로 할 수 있고, 멸균되어 있어도 되고, 또한, 보존제, 안정화제, 완충화제 등을 함유해도 된다.

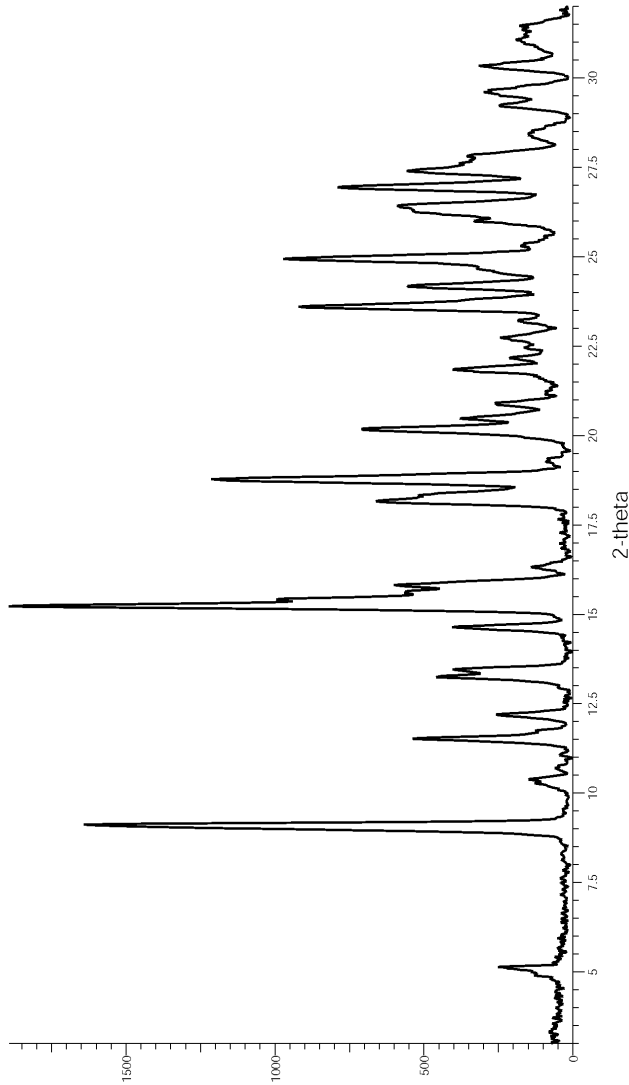
산업상 이용가능성

[1133]

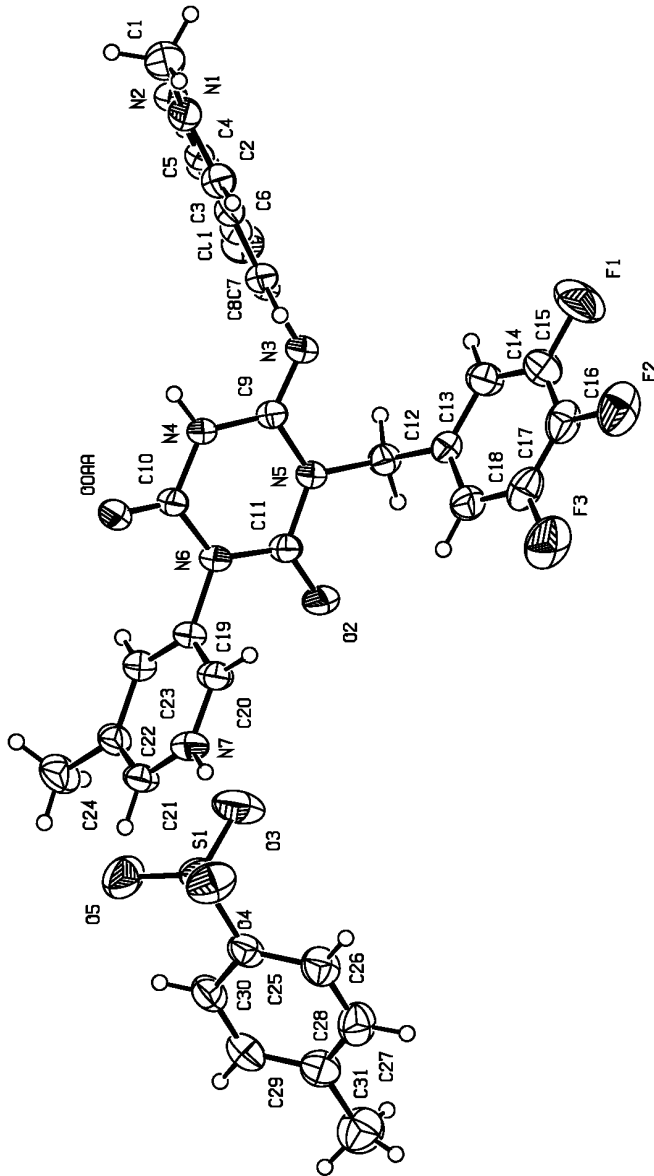
본 발명에 따른 화합물은, 코로나 바이러스 3CL 프로테아제에 대한 저해 활성을 가져, 본 발명에 따른 화합물을 함유하는 의약 조성물은, 코로나 바이러스 감염증의 치료제 및/또는 예방제로서 유용하다.

도면

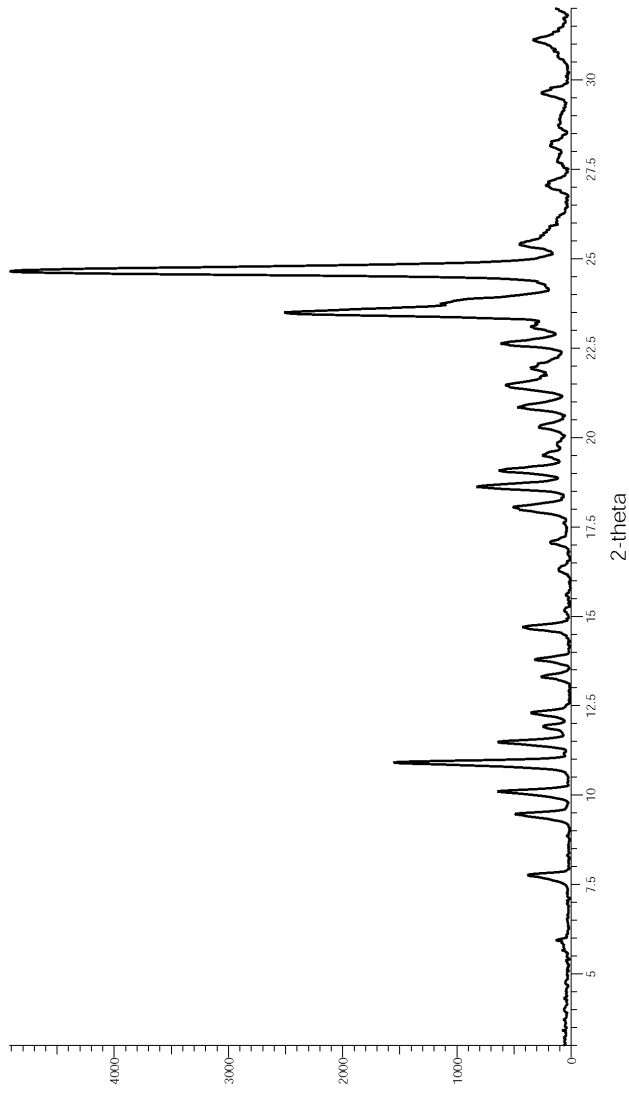
도면1



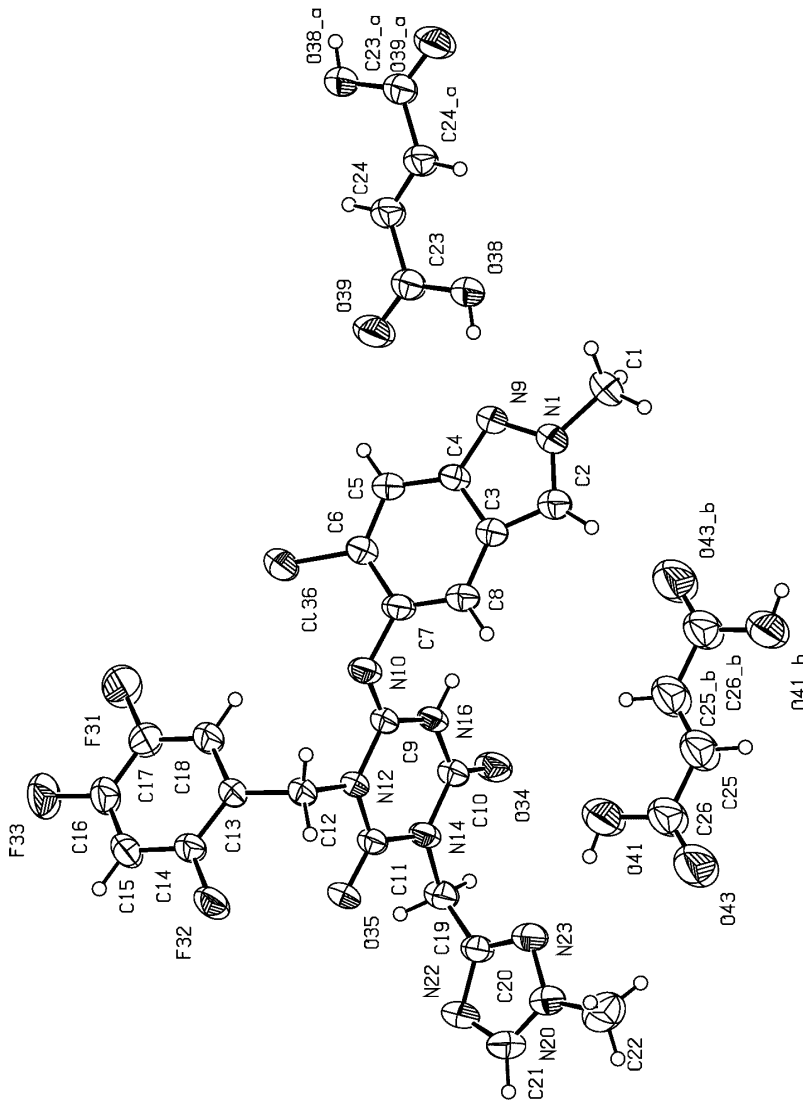
도면2



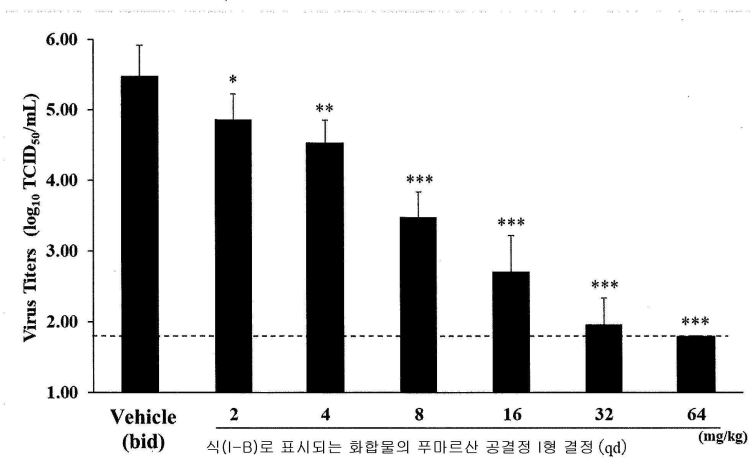
도면3



도면4

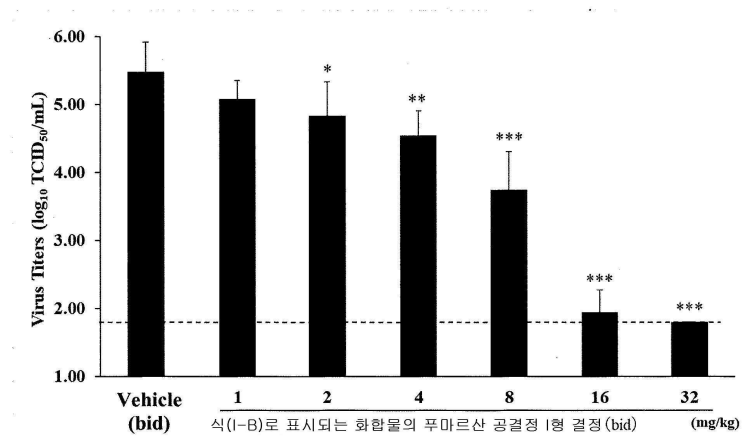


도면5a



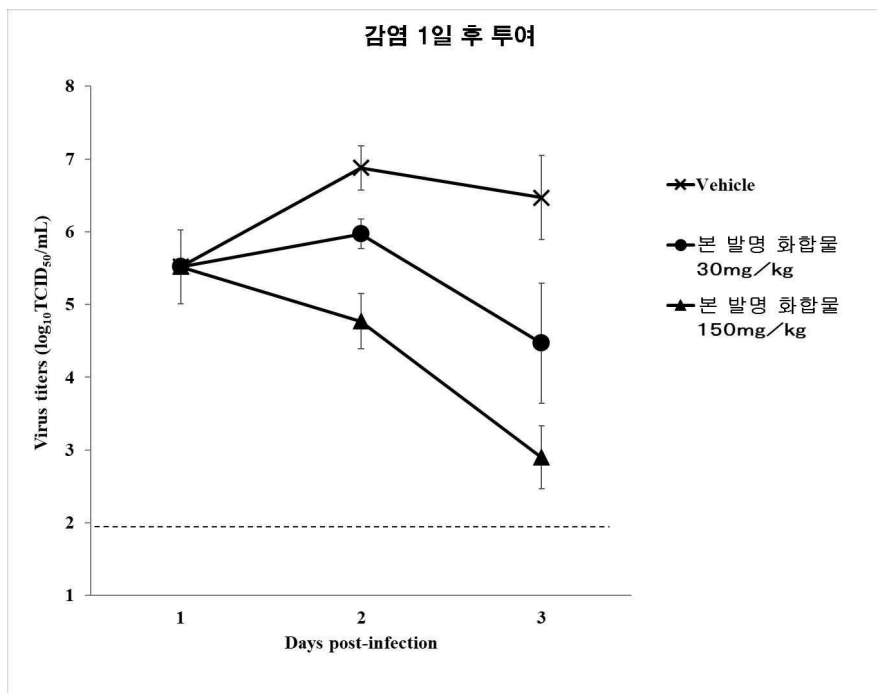
* P<0.05, ** P<0.001, *** P<0.0001 vs vehicle (dunnett's method)

도면5b

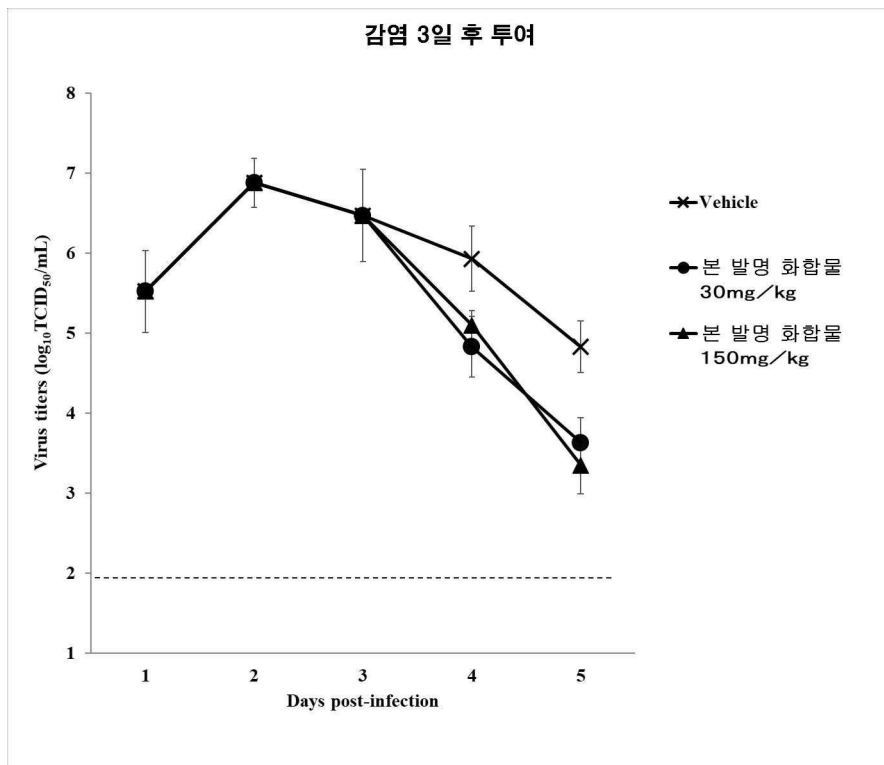


* P<0.05, ** P<0.001, *** P<0.0001 vs vehicle (dunnett's method)

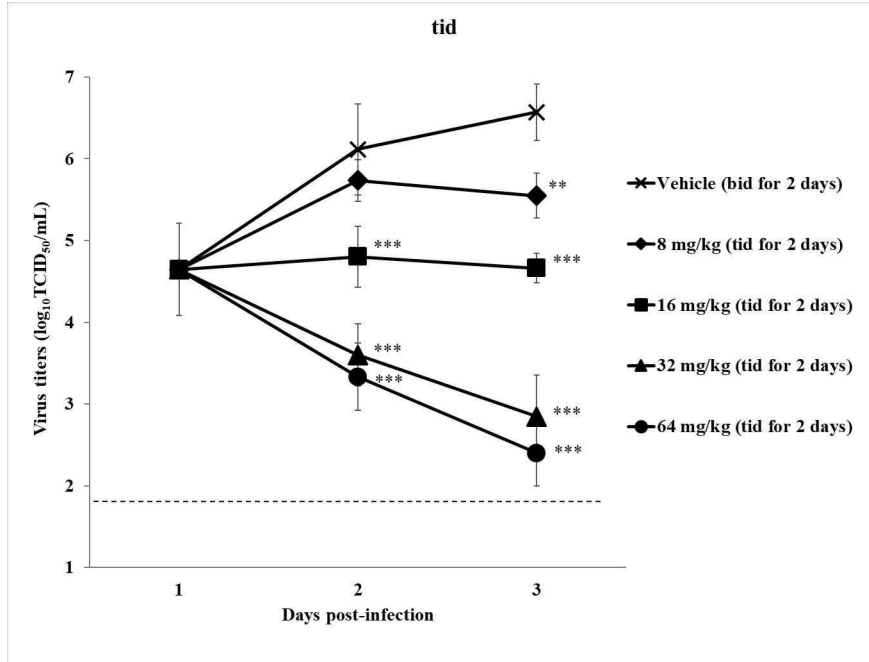
도면6a



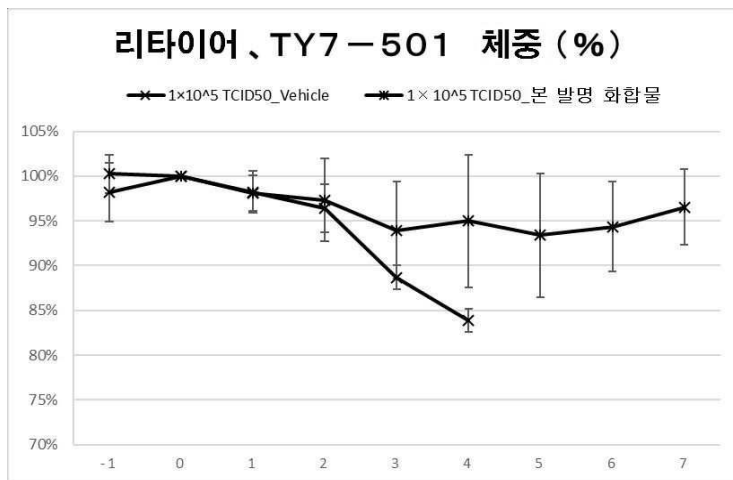
도면6b



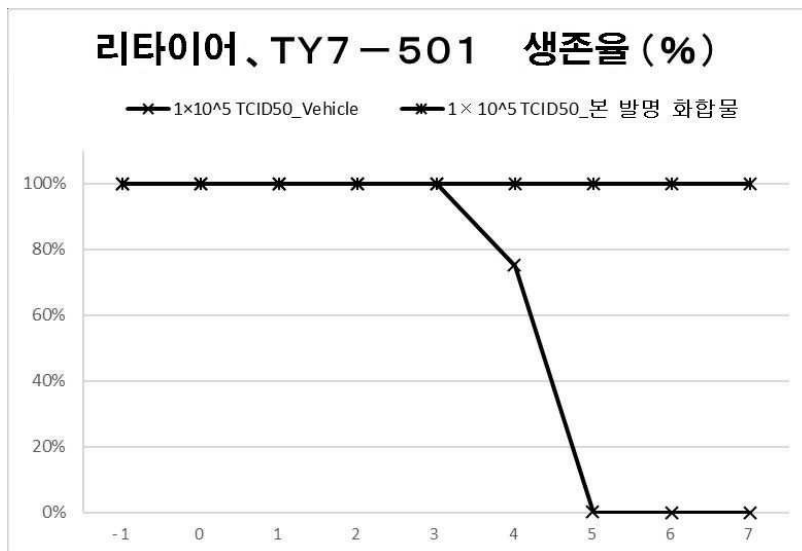
도면7



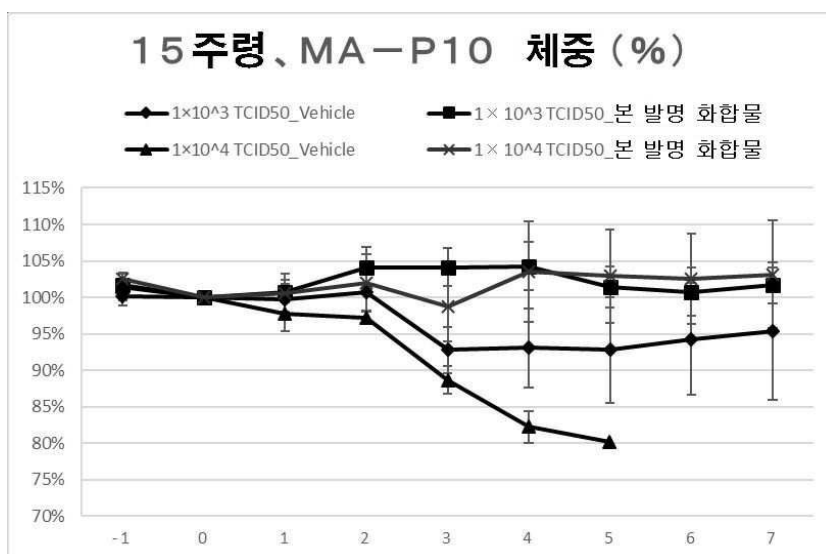
도면8a



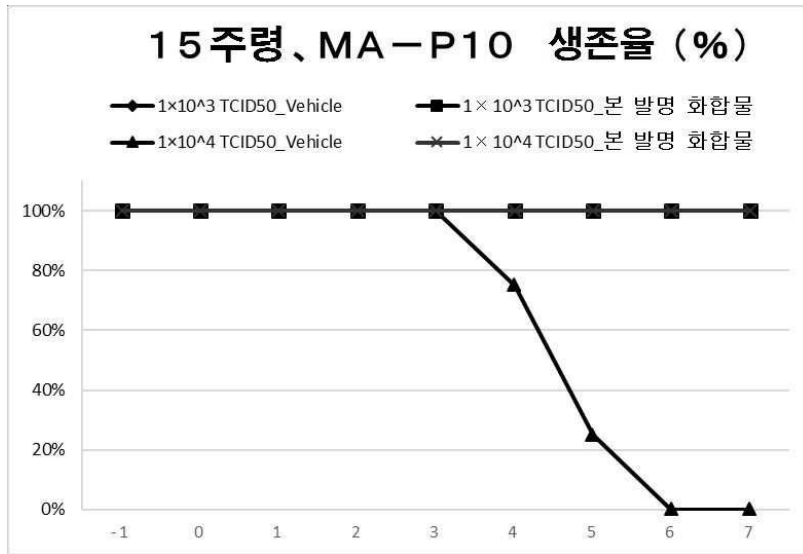
도면8b



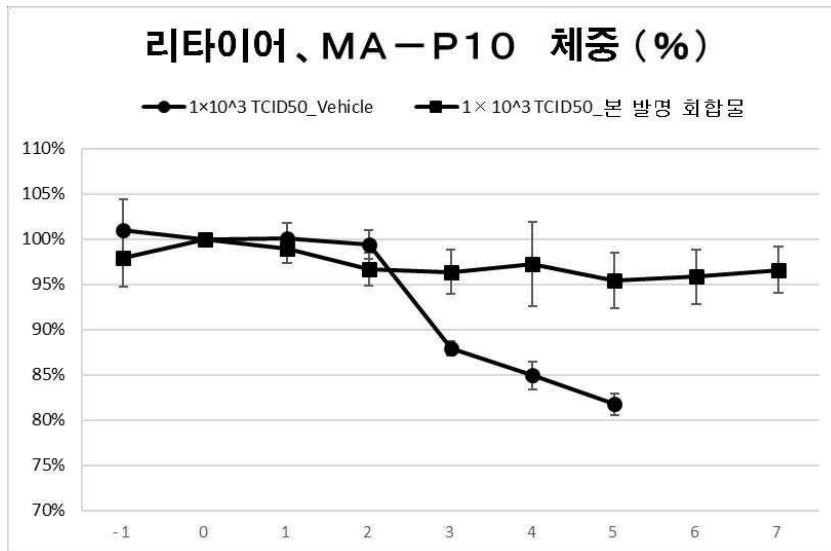
도면8c



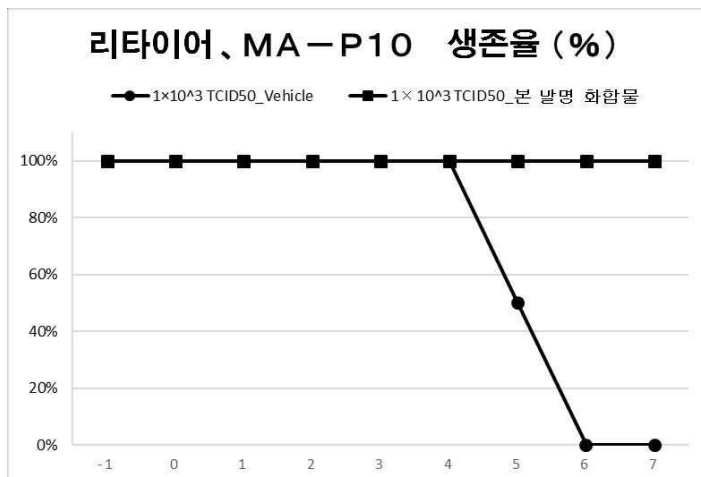
도면8d



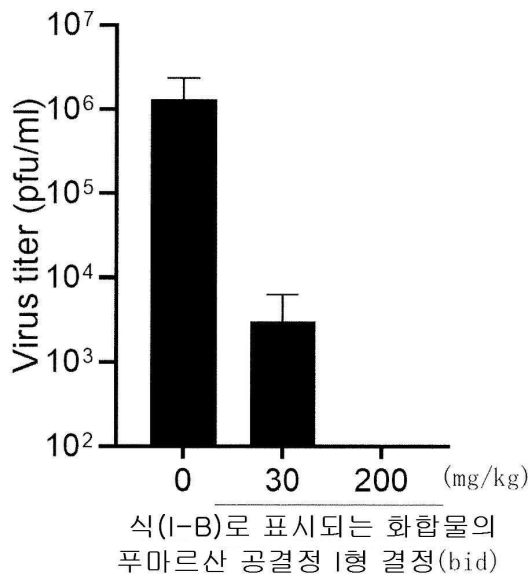
도면8e



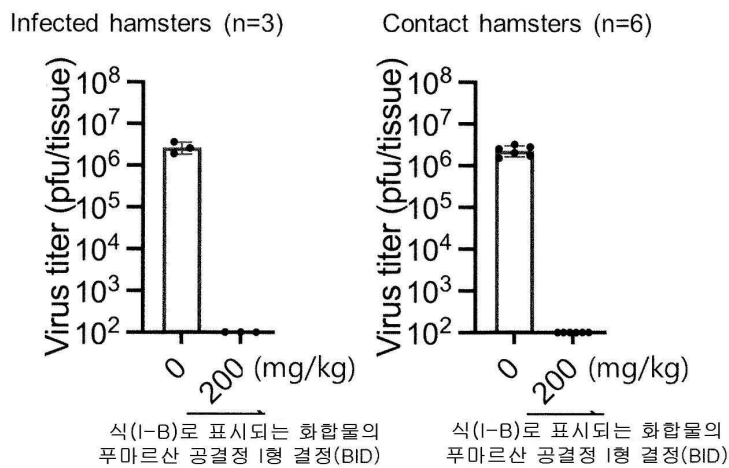
도면8f



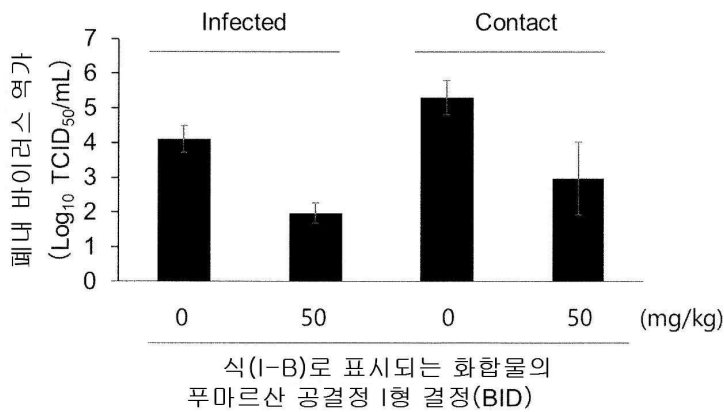
도면9



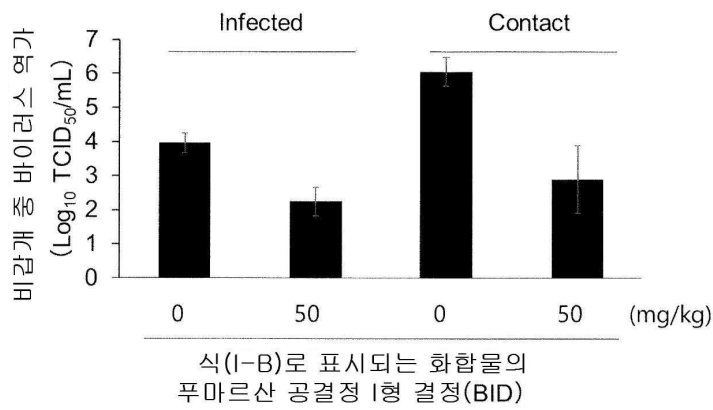
도면10



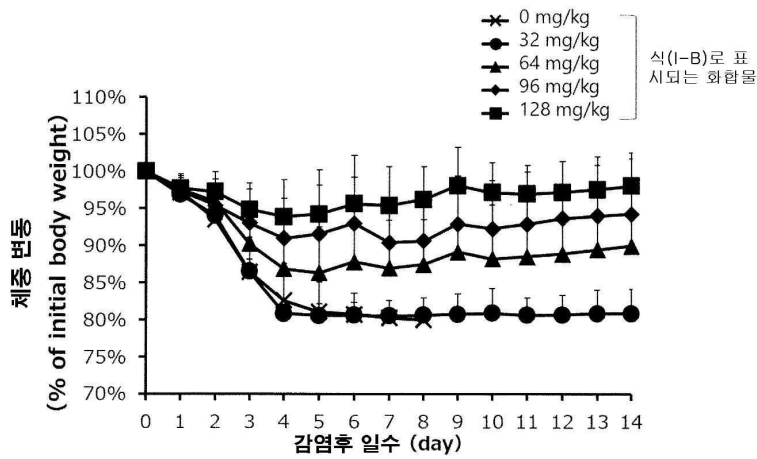
도면11a



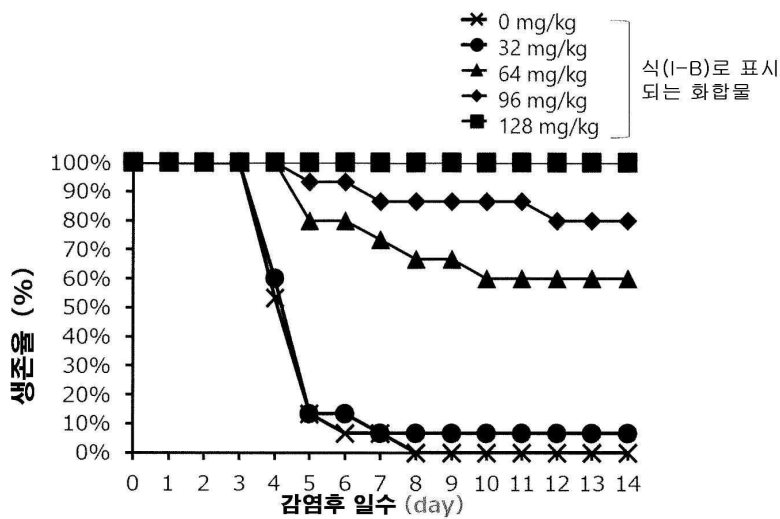
도면11b



도면12a



도면12b



서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

본 공보 PDF는 첨부파일을 가지고 있습니다. Acrobat Reader PDF뷰어를 제공하지 않는 브라우저(크롬, 파이어폭스, 사파리 등)의 경우 첨부파일 열기가 제한되어 있으므로 Acrobat Reader PDF뷰어 설치 후 공보 PDF를 다운로드 받아 해당 뷰어에서 조회해주시기 바랍니다.