



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2014년11월19일

(11) 등록번호 10-1463661

(24) 등록일자 2014년11월13일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 31/445 (2006.01) A61P 31/12 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2012-7000433

(22) 출원일자(국제) 2010년06월11일

심사청구일자 2014년02월25일

(85) 번역문제출일자 2012년01월06일

(65) 공개번호 10-2012-0038960

(43) 공개일자 2012년04월24일

(86) 국제출원번호 PCT/US2010/038247

(87) 국제공개번호 WO 2010/144759

국제공개일자 2010년12월16일

(30) 우선권주장

61/186,614 2009년06월12일 미국(US)

(56) 선행기술조사문헌

WO2006077427 A2*

ChemBioChem. Vol. 10, Issue. 6, pp.1101-1105*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

유나이티드 세라퓨틱스 코오포레이션

미국 메릴랜드 20910 실버 스프링 스프링 스트리트 1040

더 챔슬러 마스터즈 앤드 스칼라스 오브 더 유니버시티 오브 옥스퍼드

영국 옥스퍼드 오에스1 2제이디 웨링톤 스퀘어 유니버시티 오피스

(72) 발명자

람스테드, 어반

미국 20910 메릴랜드 실버 스프링 스프링 스트리트 1040 유나이티드 세라퓨틱스 코오포레이션 내

클로스, 브레난

미국 20910 메릴랜드 실버 스프링 스프링 스트리트 1040 유나이티드 세라퓨틱스 코오포레이션 내

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

양영준, 양영환

전체 청구항 수 : 총 31 항

심사관 : 정의준

(54) 발명의 명칭 면역당 및 분야바이러스 및 토가바이러스 질환의 치료 방법

(57) 요약

면역당, 예컨대 DNJ 유도체를 사용하여 분야바이러스과(Bunyaviridae) 또는 토가바이러스과(Togaviridae)에 속하는 바이러스에 의해 야기되거나 그 바이러스와 연관된 질환 또는 병태를 치료 및/또는 예방하는 신규 방법을 제공한다.

대 표 도 - 도5

화합물	활성 대 바이러스 과들		
	IC50, μ M		
	분야	토가	
	RVFV	VEEV CHIKV	
NB-DNJ	250	156	>500
NN-DNJ	58	12	56
N7-0-DNJ	220	>250	500
N9-DNJ	250	>250	500
NAP-DNJ	49	2	22

바이러스 약어:

RVFV - 리프트 계곡 열병 바이러스

VEEV - 베네주엘라 말의 뇌염 바이러스

CHIKV - 치쿤구니야 바이러스

(72) 발명자

지츠만, 니콜

영국 오엑스1 4티엘 옥스포드 오스웨스트리 로드
12

드웩, 레이몬드, 에이.

영국 오엑스2 9에이유 옥스포드 버논 애비뉴 앰블
사이드

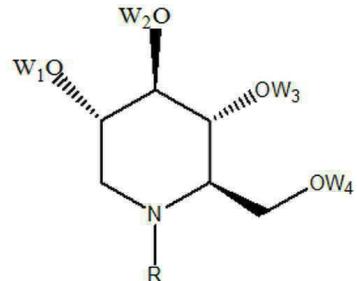
버터스, 테리, 디.

영국 오엑스44 9비에스 옥스포드 가싱톤 파인 클로
스 1

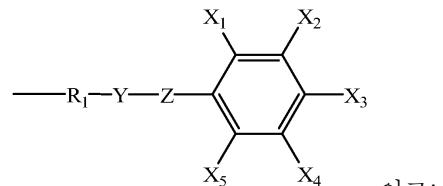
특허청구의 범위

청구항 1

하기 식의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 포함하는, 대상체에서 분야바이러스(Bunyaviridae) 과에 속하는 바이러스에 의해 야기된 질환 또는 병태의 치료를 위한 제약 조성물:



여기서,



R은 C₁-C₁₆ 알킬 기 또는 C₁-C₁₆ 옥사알킬 기로부터 선택되거나; 또는 R은

R₁-Y는 C₂-C₂₀ 알킬 기이고;

X₁₋₅는 H, NO₂, N₃ 또는 NH₂로부터 독립적으로 선택되고;

Z는 NH이고;

W₁₋₄는 각각 수소이다.

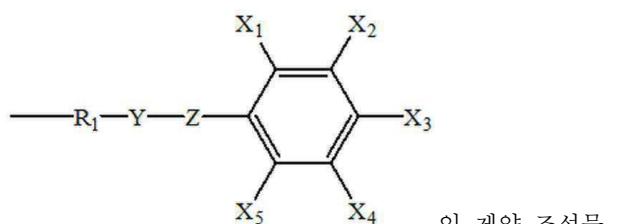
청구항 2

제1항에 있어서, R은 C₈-C₁₆ 알킬 기인 제약 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 화합물은 N-노닐-데옥시노지리마이신 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염인 제약 조성물.

청구항 4



제1항에 있어서, R은

청구항 5

제4항에 있어서, X₁은 NO₂이고 X₃은 N₃인 제약 조성물.

청구항 6

제4항에 있어서, 각각의 X_2 , X_4 및 X_5 는 수소인 제약 조성물.

청구항 7

제4항에 있어서, 상기 화합물은 $N-(N\{4'-아지도-2'-니트로페닐\}-6-아미노헥실)데옥시노지리마이신$ 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염인 제약 조성물.

청구항 8

제1항에 있어서, 상기 대상체는 포유동물인 제약 조성물.

청구항 9

제1항에 있어서, 상기 대상체는 인간인 제약 조성물.

청구항 10

제1항에 있어서, 상기 바이러스는 안데스(Andes) 바이러스; 한탄(Hantaan) 바이러스; 푸말라(Puumala) 바이러스; 서울(Seoul) 바이러스; 신님브레(Sin Nombre) 바이러스; 더그비(Dugbe) 바이러스; 크림 - 콩고 출혈성 열병(Crimean-Congo hemorrhagic fever) 바이러스; 라 크로세(La Crosse) 바이러스 및 라프트 계곡 열병(Raft Valley Fever) 바이러스로부터 선택되는 제약 조성물.

청구항 11

제1항에 있어서, 상기 바이러스는 플레보바이러스(Phlebovirus)속에 속하는 제약 조성물.

청구항 12

제1항에 있어서, 상기 바이러스는 리프트 계곡 열병(Rift Valley Fever) 바이러스인 제약 조성물.

청구항 13

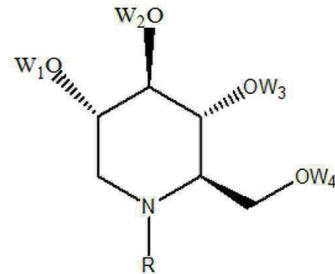
제1항에 있어서, 상기 질환 또는 병태는 신장 증후군을 갖는 출혈성 열병; 한타바이러스(Hantavirus) 심폐증후군; 유행성 신병증; 서울(Seoul) 바이러스에 의해 야기되는 출혈성 열병; 발한병; 크림 - 콩고 출혈성 열병(Crimean-Congo hemorrhagic fever); 라 크로세(La Crosse) 뇌염; 플레보토무스(Phlebotomus) 열병; 및 리프트 계곡 열병으로부터 선택되는 제약 조성물.

청구항 14

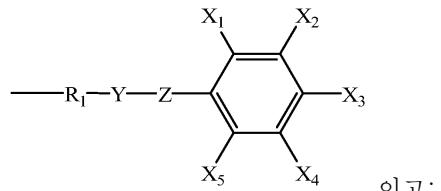
제1항에 있어서, 상기 질환 또는 병태는 리프트 계곡 열병인 제약 조성물.

청구항 15

하기 식의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 포함하는, 대상체에서 토가바이러스(Togaviridae)에 속하는 바이러스에 의해 야기된 질환 또는 병태의 치료를 위한 제약 조성물:



여기서,



R은 C₁-C₁₆ 알킬 기 또는 C₁-C₁₆ 옥사알킬 기로부터 선택되거나; 또는 R은 ○고;

R₁-Y는 C₂-C₂₀ 알킬 기이고;

X₁₋₅는 H, NO₂, N₃ 또는 NH₂로부터 독립적으로 선택되고;

Z는 NH이고;

W₁₋₄는 각각 수소이다.

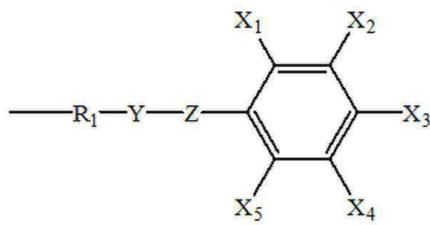
청구항 16

제15항에 있어서, R은 C₈-C₁₆ 알킬 기인 제약 조성물.

청구항 17

제16항에 있어서, 상기 화합물은 N-노닐-데옥시노지리마이신 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염인 제약 조성물.

청구항 18



제15항에 있어서, R은 인 제약 조성물.

청구항 19

제18항에 있어서, X₁은 NO₂○고, X₃은 N₃인 제약 조성물.

청구항 20

제18항에 있어서, 각각의 X₂, X₄ 및 X₅는 수소인 제약 조성물.

청구항 21

제18항에 있어서, 상기 화합물은 N-(N-{4'-아지도-2'-니트로페닐}-6-아미노헥실)데옥시노지리마이신 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염인 제약 조성물.

청구항 22

제15항에 있어서, 상기 대상체는 포유동물인 제약 조성물.

청구항 23

제15항에 있어서, 상기 대상체는 인간인 제약 조성물.

청구항 24

제15항에 있어서, 상기 바이러스는 신드비스(Sindbis) 바이러스; 셈리키 삼림(Semliki Forest) 바이러스; 오농(O'nyong'nyong) 바이러스; 치쿤군야(Chikungunya) 바이러스; 마야로(Mayaro) 바이러스; 로스강(Ross River) 바이러스; 바마 삼림(Barmah Forest) 바이러스; 동부 말의 뇌염 바이러스; 서부 말의 뇌염 바이러스; 베네수엘

라 말의 뇌염 바이러스 및 풍진 바이러스로부터 선택되는 제약 조성물.

청구항 25

제15항에 있어서, 상기 바이러스는 알파바이러스(Alphavirus)속에 속하는 제약 조성물.

청구항 26

제15항에 있어서, 상기 바이러스는 치쿤군야 바이러스인 제약 조성물.

청구항 27

제15항에 있어서, 상기 바이러스는 베네수엘라 말의 뇌염 바이러스인 제약 조성물.

청구항 28

제15항에 있어서, 상기 질환 또는 병태는 신드비스 열병; 오농농 열병; 치쿤군야 질환; 로스강 열병; 바마 삼림 바이러스 감염; 동부 말의 뇌염; 서부 말의 뇌염; 베네수엘라 말의 뇌염 및 풍진으로부터 선택되는 제약 조성물.

청구항 29

제15항에 있어서, 상기 질환 또는 병태는 치쿤군야 질환인 제약 조성물.

청구항 30

제15항에 있어서, 상기 질환 또는 병태는 말의 뇌염인 제약 조성물.

청구항 31

제15항에 있어서, 상기 질환 또는 병태는 베네수엘라 말의 뇌염인 제약 조성물.

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

명세서

기술분야

[0001] 관련 출원에 대한 교차-참조

[0002] 본원은 그 전체가 본원에 참고로 통합된 U.S. 가출원 No. 61/186,614 (2009년 6월 12일 출원)의 우선권을 주장 한다.

[0003] 분야

[0004] 본원은 면역당, 및 면역당에 의한 바이러스성 질환의 치료, 및 특히, 분야바이러스과(Bunyaviridae) 또는 토가 바이러스과(Togaviridae)에 속하는 바이러스에 의해 야기되거나 그 바이러스에 연관된 질환의 치료 및 예방을 위한 면역당의 용도에 관한 것이다.

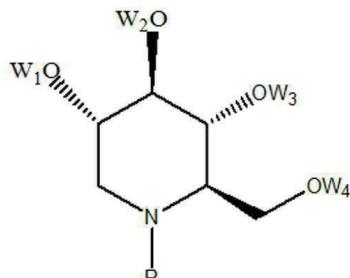
발명의 내용

[0005]

요약

[0006]

일 구현예는 분야바이러스파에 속하는 바이러스에 의해 야기되거나 그 바이러스와 연관된 질환 또는 병태의 치료 또는 예방 방법을 제공하고,

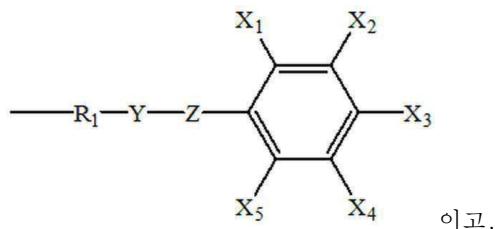


[0007]

상기 방법은 그 치료가 필요한 대상체에게 식 허용가능한 염을 투여하는 것을 포함하고,

[0008]

상기 식에서, R은 치환 또는 비치환된 알킬 그룹, 치환 또는 비치환된 시클로알킬 그룹, 치환 또는 비치환된 아릴 그룹, 또는 치환 또는 비치환된 옥사알킬 그룹으로부터 선택되고; 또는 R은



이고,

[0009]

여기서, R1은 치환 또는 비치환된 알킬 그룹이고;

[0010]

X1-5는 H, NO2, N3, 또는 NH2로부터 독립적으로 선택되고;

[0011]

Y는 부재이거나, 카보닐 이외의 치환 또는 비치환된 C1-알킬 그룹이고;

[0012]

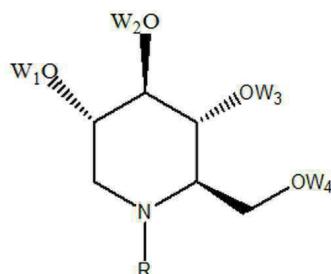
Z는 결합 또는 NH로부터 선택되고; 단, Z가 결합일 때, Y는 부재이고, 단, Z가 NH일 때, Y은 카보닐 이외의 치환 또는 비치환된 C1-알킬 그룹이고;

[0013]

여기서, W1-4는 수소, 치환 또는 비치환된 알킬 그룹, 치환 또는 비치환된 할로알킬 그룹, 치환 또는 비치환된 알카노일 그룹, 치환 또는 비치환된 아로일 그룹, 또는 치환 또는 비치환된 할로알카노일 그룹으로부터 독립적으로 선택된다.

[0014]

다른 구현예는 토가바이러스파에 속하는 바이러스에 의해 야기되거나 그 바이러스와 연관된 질환 또는 병태를 예방 또는 치료하는 방법을 제공하고,



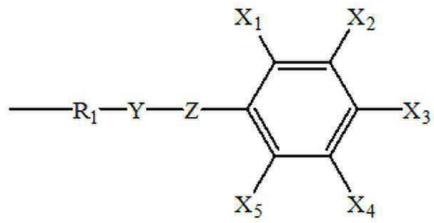
[0015]

상기 방법은 그 치료가 필요한 대상체에게 식 허용가능한 염을 투여하는 것을 포함하고,

의 화합물 또는 이의 약제학적으로

[0016]

상기 식에서, R은 치환 또는 비치환된 알킬 그룹, 치환 또는 비치환된 시클로알킬 그룹, 치환 또는 비치환된 아릴 그룹, 또는 치환 또는 비치환된 옥사알킬 그룹으로부터 선택되고; 또는 R은



이고; R_1 은 치환 또는 비치환된 알킬 그룹이고;

[0017] X_{1-5} 는 H, NO_2 , N_3 , 또는 NH_2 로부터 독립적으로 선택되고;

[0018] Y는 부재이거나, 카보닐 이외의 치환 또는 비치환된 C_1 -알킬 그룹이고;

[0019] Z는 결합 또는 NH로부터 선택되고; 단, Z가 결합일 때, Y는 부재이고, 단, Z가 NH일 때, Y은 카보닐 이외의 치환 또는 비치환된 C_1 -알킬 그룹이고;

[0020] 여기서, W_{1-4} 는 수소, 치환 또는 비치환된 알킬 그룹, 치환 또는 비치환된 할로알킬 그룹, 치환 또는 비치환된 알카노일 그룹, 치환 또는 비치환된 아로일 그룹, 또는 치환 또는 비치환된 할로알카노일 그룹으로부터 독립적으로 선택된다.

도면의 간단한 설명

[0021] 도 1(a)-(e)는 하기 면역당의 화학식을 나타낸다: A) N -부틸 데옥시노지리마이신 (NB-DNJ 또는 UV-1); B) N -노닐 데옥시노지리마이신 (NN-DNJ 또는 UV-2); C) N -(7-옥사데실)데옥시노지리마이신 (N7-0-DNJ 또는 UV-3); D) N -(9-메톡시노닐) 데옥시노지리마이신 (N9-DNJ 또는 UV-4); E) N -(N -{4'-아지도-2'-니트로페닐}-6-아미노헥실)데옥시노지리마이신 (NAP-DNJ 또는 UV-5).

도 2은 NN-DNJ에 대한 합성 도식이다.

도 3a-d는 N7-0-DNJ의 합성을 설명한다. 특히, 도 3a는 N7-0-DNJ로 되는 반응의 순서를 보여주고; 도 3b는 6-프로필옥시-1-헥사놀의 제조를 설명하고; 도 3c는 6-프로필옥시-1-헥사닐의 제조를 설명하고; 도 3d는 N7-0-DNJ의 합성을 설명한다.

도 4a-c는 N -(9-메톡시노닐) 데옥시노지리마이신의 합성에 관한 것이다. 특히, 도 4a는 9-메톡시-1-노난올의 제조를 설명하고; 도 4b는 9-메톡시-1-노난알의 제조를 설명하고; 도 4c는 N -(9-메톡시노닐) 데옥시노지리마이신의 합성을 설명한다.

도 5는 선택된 분야바이러스 (리프트 계곡 열병 바이러스 (Rift Valley Fever Virus; RVFV)) 및 토가바이러스 (베네수엘라 말의 뇌염 바이러스 (VEEV)) 및 치쿤군야 바이러스 (CHIKV))에 대항하는 NB-DNJ; NN-DNJ; N7-0-DNJ; N9-DNJ 및 NAP-DNJ에 대한 시험관내 IC50 (μ m) 데이터를 갖는 표를 나타낸다.

도 6는 리프트 계곡 열병 바이러스 (RVFV)에 대한 복용 반응 곡선을 나타낸다.

도 7는 베네수엘라 말의 뇌염 바이러스 (VEEV)에 대한 복용 반응 곡선을 나타낸다.

도 8는 치쿤군야 바이러스 (CHIKV)에 대한 복용 반응 곡선을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

용어의 정의

[0022] 달리 특정되지 않으면, 본원의 영문의 관사는 "하나 이상"을 의미한다.

[0023] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "바이러스성 감염"은 질환 상태를 나타내고, 여기서, 바이러스는 건강한 세포에 침입하고, 세포 사멸, 바이러스 입자의 방출 및 새로 생성된 자손 바이러스에 의한 다른 세포의 감염으로 귀결되는 세포를 증가시키거나 복제하고 궁극적으로 용해시키기 위해 세포의 재생 기수를 사용한다. 어떤 바이러스에 의한 잠재성 감염도 바이러스성 감염의 가능한 결과이다.

[0024] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "바이러스성 감염의 치료 또는 예방하는"이란, 특정 바이러스의 복제를 억제하고, 바이러스 전염을 억제하고, 또는 바이러스가 숙주에서의 자체 생성되는 것을 억제하고, 바이러스성 감염에 의해 야기된 증상을 개선하거나 완화하는 것을 의미한다. 처리는, 바이러스 개수(viral load)의 감소, 사망률

및/또는 질병률의 감소가 있으면, 치료로 간주된다.

[0026] IC50 또는 IC90 (억제 농도 50 또는 90)은 바이러스 개수의 50% 또는 90% 감소각각을 달성하기 위해 사용된 치료제, 예컨대 면역당의 농도이다.

발명의 개시

[0028] 본 발명자들은, 어떤 면역당, 예컨대 데옥시노지리마이신 유도체가 분야바이러스과 또는 토가바이러스과에 속하는 바이러스에 대항하여 효과적일 수 있고, 따라서, 이들 면역당은 분야바이러스과 또는 토가바이러스과에 야기되거나 그 바이러스와 연관된 질환 또는 병태를 치료 또는 예방하는데 유용할 수 있다는 것을 발견했다.

[0029] 분야바이러스과는 하기 속을 포함한다: 한타바이러스(*Hantavirus*)속; 나이로바이러스(*Nairovirus*)속; 오르토분야바이러스(*Orthobunyavirus*)속; 플레보바이러스(*Phlebovirus*)속; 토스포바이러스(*Tospovirus*)속; 테뉴이바이러스(*Tenuivirus*)속. 이들 속 중에서, 모든 것은 절지동물 및 식물만을 감염시킬 수 있는 토스포바이러스(*Tospovirus*)를 제외하고 척추동물을 감염시킬 수 있다.

[0030] 한타바이러스속은 하기 바이러스를 포함한다: 안데스(Andes) 바이러스 (ANDV); 바이유(Bayou) 바이러스 (BAYV); 블랙 크릭 카날(Black Creek Canal) 바이러스 (BCCV); 카노 델가디토(Cano Delgadito) 바이러스 (CADV); 초클로(Choclo) 바이러스 (CHOV); 도브라바 벨그라드(Dobrava-Belgrade) 바이러스 (DOBV); 한탄(Hantaan) 바이러스 (HNTV); 이슬라 비스타(Isla Vista) 바이러스 (ISLAV); 카바로브스크(Khabarovsk) 바이러스 (KHAV); 라구나 네그라(Laguna Negra) 바이러스 (LANV); 뮬레쇼(Muleshoe) 바이러스 (MULV); 뉴욕(New York) 바이러스 (NYV); 프로스펙트 힐(Prospect Hill) 바이러스 (PHV); 푸말라(Puumala) 바이러스 (PMV); 리오 마모르(Rio Mamore) 바이러스 (RIOMV); 리오 세군도(Rio Segundo) 바이러스 (RIOSV); 도시형(Seoul) 바이러스 (SEOV); 신 놈브르(Sin Nombre) 바이러스 (SNV); 타일란드(Thailand) 바이러스 (THAIV); 토타팔라얌(Thottapalayam; TPMV); 토포그라포브(Topografov) 바이러스 (TOPV); 툴라(Tula) 바이러스 (TULV); 바카우(Bakau) 바이러스.

[0031] 나이로바이러스속은 하기 바이러스를 포함한다: 크림 - 콩고 출혈성 열병(Crimean-Congo hemorrhagic fever) 바이러스; 더그비(Dugbe) 바이러스; 칼류브(Qalyub) 바이러스; 사칼린(Sakhalin) 바이러스; 데라 가지 칸(Dera Ghazi Khan); 티아포르(Thiafor)바이러스; 및 휴지(Hughes) 바이러스.

[0032] 오르토분야바이러스속은 하기를 포함한다: 라 크로세(La Crosse) 바이러스; 캘리포니아(California) 뇌염 바이러스 및 제임스타운 캐년(Jamestown Canyon) 바이러스.

[0033] 플레보바이러스속은 하기를 포함한다: 알렌쿠에르(Alenquer) 바이러스, 칸디루(Chandiru) 바이러스, 챠그레스(Chagres) 바이러스, 샌드플라이 피버 네이플(Sandfly Fever Naples) 바이러스, 샌드플라이 피버 시칠리안(Sandfly Fever Sicilian) 바이러스, 샌드플라이 피버 네이플 토스카나(Sandfly Fever Toscana) 바이러스, 리프트 계곡 열병 바이러스 및 푼타 토로(Punta Toro) 바이러스.

[0034] 분야바이러스과에 속하는 바이러스에 의해 야기되거나 그 바이러스와 연관될 수 있는 질환 또는 병태는 비제한적으로 하기를 포함한다: 한타바이러스(*Hantavirus*) 감염; 한타바이러스속의 바이러스, 예컨대 한탄(Hantaan) 바이러스, 푸말라(Puumala) 바이러스, 도시형(Seoul) 바이러스 및 도브라바(Dobrava) 바이러스에 의해 야기될 수 있는 신장 증후군 (HFRS)을 갖는 출혈성 열병; 한타바이러스속의 바이러스, 예컨대 신 놈브레(Sin Nombre) 바이러스, 안데스(Andes) 바이러스, 뉴욕(New York) 바이러스, 베이유(Bayou) 바이러스, 및 블랙 크릭 카날(Black Creek Canal) 바이러스에 의해 야기될 수 있는 한타바이러스(*Hantavirus*) 심폐증후군 (HCPS 또는 HPS); 푸말라(Puumala) 바이러스에 의해 야기될 수 있는 유행성 신병증; 도시형(Seoul) 바이러스에 의해 야기되는 출혈성 열병; 빨한병; 크림 - 콩고 출혈성 열병(Crimean-Congo hemorrhagic fever); 라 크로세(La Crosse) 뇌염; 오르토분야바이러스(*Orthobunyavirus*)속의 바이러스, 예컨대 라 크로세(La Crosse) 바이러스, 캘리포니아(California) 뇌염 바이러스 및 제임스타운 캐년(Jamestown Canyon) 바이러스에 의해 야기될 수 있는 캘리포니아(California) 뇌염; 플레보토무스(*Phlebotomus*) 열병; 및 리프트 계곡 열병(Rift Valley fever).

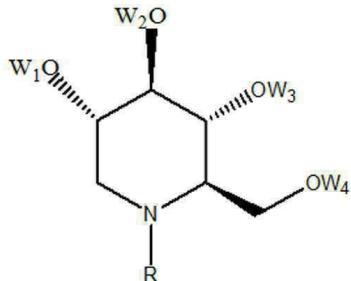
[0035] 토가바이러스과는 하기를 포함한다: 알파바이러스(*Alphavirus*)속 및 루비바이러스(*Rubivirus*)속.

[0036] 알파바이러스(*Alphavirus*)속 하기 바이러스를 포함한다: 신드비스(Sindbis) 바이러스; 셈리키 삼림(Semliki Forest) 바이러스; 오농농(O'nyong'nyong) 바이러스; 치쿤군야(Chikungunya) 바이러스; 마야로(Mayaro) 바이러스; 로스강(Ross River) 바이러스; 바마 삼림(Barmah Forest) 바이러스; 동부 말의 뇌염 바이러스; 서부 말의 뇌염 바이러스; 및 베네수엘라 말의 뇌염 바이러스. 루비바이러스(*Rubivirus*)속은 풍진 바이러스를 포함한다.

[0037] 토가바이러스과에 속하는 바이러스에 의해 야기되거나 그 바이러스와 연관될 수 있는 질환 및 병태는, 비제한적

으로, 신드비스 열병(Sindbis fever); 오농농 열병(O'nyong'nyong fever); 치쿤군야(Chikungunya) 질환; 로스 강 열병(로스강(Ross River) fever); 바마 삼림(Barmah Forest) 바이러스 감염; 동부 말의 뇌염; 서부 말의 뇌염; 베네수엘라 말의 뇌염 및 풍진을 포함한다.

[0038] 면역당은 하기 식의 화합물일 수 있다:



[0039]

[0040] 상기 식에서, W_{1-4} 는 수소, 치환 또는 비치환된 알킬 그룹, 치환 또는 비치환된 할로알킬 그룹, 치환 또는 비치환된 알카노일 그룹, 치환 또는 비치환된 아로일 그룹, 또는 치환 또는 비치환된 할로알카노일 그룹으로부터 독립적으로 선택된다.

[0041]

일부 구현예에서, R은 치환 또는 비치환된 알킬 그룹, 치환 또는 비치환된 시클로알킬 그룹, 치환 또는 비치환된 아릴 그룹, 또는 치환 또는 비치환된 옥사알킬 그룹으로부터 선택될 수 있다.

[0042]

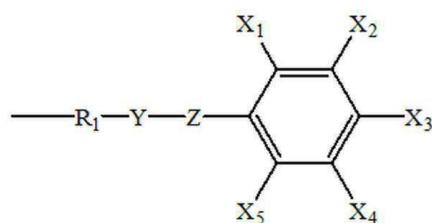
일부 구현예에서, R은 치환 또는 비치환된 알킬 그룹일 수 있고/있거나 치환 또는 비치환된 옥사알킬 그룹은 1 내지 16개의 탄소원자, 4 내지 12개의 탄소원자 또는 8 내지 10개의 탄소원자를 포함한다. 용어 "옥사알킬"이란 알킬 유도체를 의미하고, 이는 1 내지 5 또는 1 내지 3 또는 1 내지 2개의 산소원자를 가질 수 있다. 용어 "옥사알킬"은 히드록시말단의 및 메톡시말단의 알킬 유도체를 포함한다.

[0043]

일부 구현예에서, R은 $-(CH_2)_6OCH_3$, $-(CH_2)_6OCH_2CH_3$, $-(CH_2)_6O(CH_2)_2CH_3$, $-(CH_2)_6O(CH_2)_3CH_3$, $-(CH_2)_2O(CH_2)_5CH_3$, $-(CH_2)_2O(CH_2)_6CH_3$, 및 $-(CH_2)_2O(CH_2)_7CH_3$ 로부터 선택될 수 있지만, 이들로 한정되지 않는다.

[0044]

일부 구현예에서, R은 분자 또는 비분자된, 치환 또는 비치환된 알킬 그룹일 수 있다. 어떤 구현예에서, 알킬 그룹은 장쇄 알킬 그룹일 수 있고, 이는 C6-C20 알킬 그룹; C8-C16 알킬 그룹; 또는 C8-C10 알킬 그룹일 수 있다.



[0045]

일부 구현예에서, R은 식
비치환된 알킬 그룹이고;

[0046]

X_{1-5} 는 H, NO_2 , N_3 , 또는 NH_2 로부터 독립적으로 선택되고;

[0047]

Y는 부채이거나, 카보닐 이외의 치환 또는 비치환된 C_1 -알킬 그룹이고;

[0048]

Z는 결합 또는 NH로부터 선택되고; 단, Z가 결합일 때, Y는 부채이고, 단, Z가 NH일 때, Y은 카보닐 이외의 치환 또는 비치환된 C_1 -알킬 그룹이다.

[0049]

일부 구현예에서, Z은 NH이고, R_1-Y 은 치환 또는 비치환된 알킬 그룹, 예컨대 C2-C20 알킬 그룹 또는 C4-C12 알킬 그룹 또는 C4-C10 알킬 그룹이다.

[0050]

일부 구현예에서, X_1 은 NO_2 이고, X_3 은 N_3 이다. 일부 구현예에서, 각각의 X_2 , X_4 및 X_5 는 수소이다.

[0051]

일부 구현예에서, 면역당은 참고로 본원에 통합된 U.S. 특허출원공보 번호 2007/0275998에 개시된 DNJ 유도체이다.

- [0052] 일부 구현예에서, 테옥시노지리마이신 유도체는 도 1에서 나타낸 화합물들 중의 하나일 수 있다.
- [0053] 테옥시노지리마이신 유도체를 합성하는 방법은, 예를 들어 U.S. 특허 번호 5,622,972, 5,200,523, 5,043,273, 4,994,572, 4,246,345, 4,266,025, 4,405,714, 및 4,806,650 및 U.S. 특허출원공보 번호 2007/0275998에 개시되어 있고, 이들 모두는 참고로 본원에 통합되어 있다.
- [0054] 일부 구현예에서, 면역당은 무기 또는 유기 산으로부터 유도된 염의 형태일 수 있다. 약제학적으로 허용가능한 염 및 이 염 형태의 제조 방법은 예를 들어, Berge et al. (*J. Pharm. Sci.* 66:1-18, 1977)에 개시되어 있다. 적당한 염의 예는 비제한적으로 하기 염을 포함한다: 아세테이트, 아디페이트, 알기네이트, 시트레이트, 아스파르테이트, 벤조에이트, 벤젠설포네이트, 바이설페이트, 부티레이트, 카포레이트, 카포르설포네이트, 디글루코네이트, 사이클로펜탄프로피오네이트, 도데실설페이트, 에탄설포네이트, 글루코헵타노에이트, 글리세로포스페이트, 헤미설페이트, 헵타노에이트, 헥사노에이트, 푸마레이트, 히드로클로라이드, 히드로브로마이드, 히드로아이오다이드, 2-히드록시에탄설포네이트, 락테이트, 말레이트, 메탄설포네이트, 니코티네이트, 2-나프탈렌설포네이트, 옥살레이트, 팔모에이트, 펙티네이트, 퍼설페이트, 3-페닐프로피오네이트, 피크레이트, 피발레이트, 프로피오네이트, 석시네이트, 타르트레이트, 티오시아네이트, 토실레이트, 메실레이트, 및 운데카노에이트.
- [0055] 일부 구현예에서, 면역당은 또한 전구약물의 형태로 사용될 수 있다. DNJ 유도체, 예컨대 6-포스포릴화된 DNJ 유도체의 전구약물은 U.S. 특허 번호 5,043,273 및 5,103,008에 개시되어 있다.
- [0056] 일부 구현예에서, 면역당은 조성물을 동물에 전달하는데 유용한 약제학적으로 허용가능한 담체 및/또는 성분을 추가로 포함하는 조성물의 일부로서 사용될 수 있다. 조성물을 인간에게 전달하는데 유용한 수많은 약제학적으로 허용가능한 담체 및 조성물을 다른 동물, 예컨대 소(cattle)에 전달하는데 유용한 성분은 당해 분야에 공지되어 있다. 그와 같은 담체 및 성분의 본 발명의 조성물에의 첨가는 당해 분야의 숙련가의 수준 내에 있다.
- [0057] 일부 구현예에서, 면역당은 리포좀 조성물, 예컨대 US 공보 2008/0138351; US 출원 No. 12/410,750 (2009년 3월 25일 출원) 및 US 가출원 번호 61/202,699 (2009년 3월 27일 출원)에 개시되어 있는 것들에서 사용될 수 있다.
- [0058] 면역당, 예컨대 DNJ 유도체는, 바이러스에 감염된 세포 또는 동물에 투여될 수 있다. 면역당은 바이러스의 형태 형성을 억제할 수 있고, 또는 동물을 치료할 수 있다. 그 치료는 동물의 바이러스 감염을 감소, 완화, 또는 줄일 수 있다.
- [0059] 분야바이러스과 또는 토가바이러스과에 속하는 바이러스에 감염될 수 있는 동물은, 척추동물, 예컨대 새 및 영장류, 인간, 설치류, 가축, 예컨대 양 및 염소, 및 말 종류(equine), 예컨대 말(horse), 얼룩말 및 당나귀를 포함하는 포유동물, 뿐만 아니라 무척추동물을 포함한다.
- [0060] 세포, 또는 동물에 투여되는 면역당의 양은 분야바이러스과 또는 토가바이러스과에 속하는 바이러스의 형태 형성을 억제하는데 효과적인 양일 수 있다. 본원에 사용된 용어 "억제하는"이란, 면역당의 부재에서 나타낸 생물학적 활성의 검출가능 감소 및/또는 제거를 의미할 수 있다. 용어 "효과적인 양"이란, 지정된 효과를 달성하는데 필요한 면역당의 양을 의미할 수 있다. 본원에 사용된 용어 "치료"란, 대상체의 증상의 감소 또는 완화, 증상의 악화 또는 진행의 방지, 병원체의 억제 또는 제거, 또는 바이러스가 없는 대상체에서 분야바이러스과 또는 토가바이러스과에 속하는 바이러스와 관련된 감염 또는 장애의 예방을 의미할 수 있다.
- [0061] 따라서, 예를 들어, 바이러스에 의해 야기되거나 그 바이러스와 연관된 질환의 치료는 감염 에이전트(agent)의 파괴, 그의 성장 또는 돌연변이의 억제 또는 방해, 및 그의 병리적 영향의 중화를 포함할 수 있다. 세포 또는 동물에 투여될 수 있는 면역당의 양은 바람직하게는, 그의 투여를 수반하는 이점을 능가하는 임의의 독성 효과를 유도하지 않는 양이다.
- [0062] 약제학적 조성물 중 활성 성분의 실제 복용 수준은 특정 환자를 위한 원하는 치료 방법을 달성하는데 효과적인 활성 화합물(들)의 양을 투여하도록 변할 수 있다.
- [0063] 선택된 복용 수준은 면역당의 활성, 투여 경로, 치료될 병태의 중증도, 및 치료된 환자의 병태 및 이전 병력에 좌우될 수 있다. 그러나, 원하는 치료 효과를 달성하고 원하는 효과를 달성할 때까지 복용량을 점차 증가시키기 위해 필요한 것보다 낮은 수준에서 화합물(들)의 복용을 개시하는 것은 당해 분야의 숙련가 능력 내에 있다. 필요하다면, 효과적인 1일 복용은 투여를 위한 다중 복용, 예를 들어, 2회 내지 4회 복용/1일로 나눌 수 있다. 그러나, 임의의 특정 환자에 대한 특정 복용 수준은 체중, 일반적인 건강, 다이어트, 투여 시점 및 경로 및 다른

치료제와의 병용 및 치료될 병태 또는 질환의 중증도를 포함하는 다양한 인자에 좌우될 수 있다는 것을 이해할 것이다. 성인 1일 복용량은 약 1 μg 내지 약 1 그램, 또는 약 10 mg 내지 100 mg의 면역당/체중 10 kg의 범위일 수 있다. 물론, 세포 또는 동물에 투여되어야 하는 면역당의 양은 당해 기술분야의 숙련가가 잘 이해하는 수많은 인자, 예컨대 면역당의 분자량 및 투여 경로에 좌우될 수 있다.

[0064] 본 발명의 방법에 유용한 약제학적 조성물은 경구 고형 제형, 안약, 좌약, 에어로졸, 국소 또는 다른 유사한 제형으로 전신으로 투여될 수 있다. 예를 들어, 분말, 정제, 캡슐, 마름모꼴 알약(1ozenge), 젤, 용액, 서스펜션, 시럽 등의 물리적 형태일 수 있다. 면역당 외에, 그와 같은 약제학적 조성물은 약물 투여를 향상시키고 편리하게 하기 위해 공지된 약제학적으로 허용가능한 담체 및 다른 성분을 함유할 수 있다. 다른 가능한 제형, 예컨대 나노입자, 리포좀 재밀폐 적혈구, 및 면역 기반 시스템이 또한 면역당을 투여하기 위해 사용될 수 있다. 그와 같은 약제학적 조성물은 수많은 경로로 투여될 수 있다. 본원에 사용된 용어 "비경구"는 피하, 정맥내, 동맥내, 경막내, 및 주사 및 주입 기술을 비제한적으로 포함한다. 예로써, 약제학적 조성물은 경구로, 국소로, 비경구로, 전신으로, 또는 폐 경로로 투여될 수 있다.

[0065] 이들 조성물은 상이한 시점에 투여되는 단일 복용 또는 다중 복용으로 투여될 수 있다. 분야바이러스과 또는 토가바이러스과에 속하는 바이러스에 대한 조성물의 억제 효과가 지속되기 때문에, 복용 계획은, 바이러스 증식이 숙주세포가 최소로 효력이 있는 동안에 지연되도록, 맞출 수 있다. 예로써, 동물은 주당 1회 본 발명의 조성물의 복용으로 투여될 수 있고, 이로써 바이러스 증식은 전체 주 동안에 지연되고 한편, 숙주세포 기능은 주당 1회 짧은 기간 동안 억제된다.

[0066] 본원에 기재된 구현예는 비제한적인 방식으로, 하기 실시예에 의해 추가 설명된다.

실시예

1. N-노닐 DNJ의 합성

표 1. NN-DNJ 합성을 위한 물질

명칭	양
DNJ	500 mg
노난알	530 mg
에탄올	100 mL
AcOH	0.5 mL
Pd/C	500 mg

[0067] 절차: 자석 교반기가 구비된 50-mL의 1목 등근바닥플라스크에 DNJ (500 mg), 에탄올 (100 mL), 노난알 (530 mg), 및 아세트산 (0.5 mL)을 실온에서 충전했다. 반응 혼합물을 40-45°C로 가열하고, 30-40분 동안 질소 하에서 교반했다. 반응 혼합물을 주위 온도로 냉각시키고, Pd/C을 첨가했다. 반응 플라스크를 비우고, 밸룬 중 수소 가스로 대체했다. 이 과정을 3회 반복했다. 마지막으로, 반응 혼합물을 주위 온도에서 냉새 교반했다. 반응의 진행을 TLC (각주 1)로 모니터링했다. 반응 혼합물을 셀라이트의 패드를 통해 여과하고, 에탄올로 세정했다. 여과물을 진공에서 농축하여 미정제 생성물을 얻었다. 미정제 생성물을 칼럼 크로마토그래피 (230-400 메쉬 실리카겔)로 정제했다. 디클로로메탄 중 메탄올의 용매 구배(10-25%)를 사용하여 칼럼으로부터 생성물을 용리했다. 원하는 생성물을 함유하는 모든 분획을 조합시키고, 진공에서 농축하여 순수한 생성물 (420mg)을 얻었다. 반응의 완료를 박층 실리카겔 플레이트; 용리액; 메탄올 : 디클로로메탄 = 1:2 을 사용하여 박층 크로마토그래피 (TLC)로 모니터했다.

2. N-7-옥사데실 DNJ의 합성

2a. 6-프로필옥시-1-헥사놀의 합성

표 2. 6-프로필옥시-1-헥사놀의 합성을 위한 물질

명칭	양
1,6-헥산디올	6.00 g
1-아이오도프로판	8.63 g
칼럼 tert-부톡시드	5.413 mg
THF	140 mL

[0075]

[0076] 절차: 자석 교반기가 구비된 500-mL의 1목 등근바닥플라스크에 1,6-헥산디올 (6.00 g), 칼륨 tert-부톡시드 (5.413 g)을 실온에서 충전했다. 반응 혼합물을 1시간 동안 교반하고, 그 다음, 1-아이오도프로판 (8.63 g)을 첨가했다. 반응 혼합물을 70-80°C로 가열하고, 밤새 교반했다. 반응의 진행을 TLC (각주 1)로 모니터링했다. 반응의 완료 후, 물을 반응 혼합물에 첨가하고, 에틸 아세테이트 (2 x 100 mL)로 추출했다. 조합된 유기 층을 진공에서 농축하여 미정제 생성물을 얻었다. 미정제 생성물을 디클로로메탄에서 용해시키고, 물, 그 다음 염수로 세정하고, 황산나트륨 상에서 건조시켰다. 유기 층을 진공에서 농축하여 미정제 생성물을 얻었다. 미정제 생성물을 230-400 메쉬 실리카겔을 사용하는 칼럼 크로마토그래피로 정제했다. 헥산 중 에틸 아세테이트의 용매 구배 (10-45%)를 사용하여 칼럼으로부터 생성물을 용리했다. 원하는 순수한 생성물을 함유하는 모든 분획을 조합하고, 진공에서 농축하여 순수한 6-프로필옥시-1-헥사놀 (로트 D-1029-048, 1.9 g, 25%)을 얻었다. 반응의 완료를 박층 크로마토그래피 (TLC); (용리액: 헥산 중 60% 에틸 아세테이트)로 모니터했다.

2b. 6-프로필옥시-1-헥사날의 제조

표 3. 6-프로필옥시-1-헥사날의 제조를 위한 물질

명칭	양
6-프로필옥시-1-헥사놀	1.00 g
PDC	4.70 g
셀라이트	1.00 g
NaOAc	100 mg
CH ₂ Cl ₂	10 mL

[0079]

[0080] 절차: 자석 교반기가 구비된 50-mL의 1목 등근바닥플라스크에 6-프로필옥시-1-헥사놀 (1.0 g), PDC (4.7 g), 디클로로메탄 (10 mL), 셀라이트 (1.0 g), 및 아세트산나트륨 (100 mg)을 충전했다. 반응 혼합물을 실온에서 질소 하에서 5분 동안 교반했다. PDC (4.70 g)를 반응 혼합물에 첨가하고, 밤새 교반했다. 반응의 진행을 TLC (각주 1)로 모니터링했다. 반응의 완료 후, 반응 혼합물을 칼럼 (230-400 메쉬 실리카겔) 상에 직접 적재했다. 에틸 아세테이트 중 디클로로메탄의 용매 구배 (10-20%)를 사용하여 칼럼으로부터 생성물을 용리했다. 원하는 순수한 생성물을 함유하는 모든 분획을 조합하고, 진공에서 농축하여 순수한 6-프로필옥시-1-헥사날 (로트 D-1029-050, 710 mg, 71%). 반응의 완료를 박층 크로마토그래피 (TLC); (용리액: 헥산 중 60% 에틸 아세테이트)로 모니터했다.

2c N-7-옥사데실-DNJ의 합성

표 4. N-7-옥사데실-DNJ의 합성을 위한 물질

명칭	양
DNJ	500 mg
6-프로필옥시-1-헥사날	585 mg
Pd/C	125 mg
에탄올	15 mL
아세트산	mL

[0083]

[0084] 절차: 자석 교반기가 구비된 50-mL의 1목 등근바닥플라스크에 DNJ (500 mg), 에탄올 (15 mL), 6-프로필옥시-1-헥사날 (585 mg), 및 아세트산 (0.1mL)을 실온에서 충전했다. 반응 혼합물을 40-45°C로 가열하고, 30-40분 동안 질소 하에서 교반했다. 반응 혼합물을 주위 온도로 냉각시키고, Pd/C를 첨가했다. 반응 플라스크를 비우고, 밸룬 중 수소 가스로 대체했다. 이 과정을 3회 반복했다. 마지막으로, 반응 혼합물을 주위 온도에서 밤새 교반했다. 반응의 진행을 TLC (각주 1)로 모니터링했다. 반응 혼합물을 셀라이트의 패드를 통해 여과하고, 에탄올로 세정했다. 여과물을 진공에서 농축하여 미정제 생성물을 얻었다. 미정제 생성물을 칼럼 크로마토그래피 (230-400 메쉬 실리카겔)로 정제했다. 디클로로메탄 중 메탄올의 용매 구배 (10-40%)를 사용하여 칼럼으로부터 생성물을 용리했다. 원하는 생성물을 함유하는 모든 분획을 조합시키고, 진공에서 농축하여 순수한 생성물을 얻었다. (로트: D-1029-052 (840 mg)). 반응의 완료를 박층 크로마토그래피 (TLC); (용리액: 디클로로메탄 중 50% 메탄올)로 모니터했다.

3. N-(9-메톡시)-노닐 DNJ의 합성

3a 9-메톡시-1-노난올의 제조

[0087]

표 5. 9-메톡시-1-노난올의 제조를 위한 물질

명칭	양
1,9-노난디올	10.0 g
디메틸 살레이트	41.39 g
나트륨 히드록시드	5.0g
DMSO	100 mL

[0088]

절차: 자석 교반기 및 교반 바가 구비된 500-mL의 1목 동근바닥플라스크에 디메틸 살레이트 (100 mL) 및 H₂O (100 mL) 중 1,9-노난디올 (10.00 g, 62.3 mmol)을 충전했다. 이것에 H₂O (10 mL) 중 나트륨 히드록시드 (5.0 g, 125.0 mmol)의 용액을 실온에서 서서히 첨가했다. 나트륨 히드록시드의 첨가 동안에, 반응 혼합물을 열이 발생되었고, 온도는 ~40°C로 상승했다. 혼합물을 1시간 동안 교반하고, 그 다음, 디메틸 살레이트 (16.52 g, 131 mmol)를, 반응 혼합물의 온도를 ~ 40°C에서 유지하면서, 4번에 걸쳐 첨가했다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 첨가했다. 반응의 진행을 TLC (각주 1)로 모니터링했다. TLC 모니터링은, 반응이 25 % 전환되었다는 것을 나타내었다. 이 단계에서, 추가 디메틸 살레이트 (24.78g, 196.44 mmol)를 첨가하고, 수득한 혼합물을 실온에서 추가 24시간 동안 교반했다. 반응의 완료 후, 나트륨 히드록시드 (물 중 10% 용액)을 반응 혼합물에 첨가하여, 용액의 pH를 11-13으로 조정했다. 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하고, 디클로로메탄 (3 x 100 mL)로 추출했다. 조합된 유기 층을 H₂O (200 mL), 염수 (150 mL)로 세정하고, 무수 나트륨 살레이트 (20 g) 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공에서 농축하여 미정제 생성물 (14 g)을 얻었다. 미정제 생성물을 250-400 메쉬 실리카겔을 사용하여 칼럼 크로마토그래피로 정제했다. 헥산 중 에틸 아세테이트의 용매 구배 (10-50%)를 사용하여 칼럼으로부터 생성물을 용리했다. 원하는 순수한 생성물을 함유하는 모든 분획을 조합하고, 진공에서 농축하여 순수한 9-메톡시-1-노난올 (로트 D-1027-155, 2.38 g, 21.9 %). 반응의 완료를, 박층 실리카겔 플레이트; 용리액: 헥산 중 60% 에틸 아세테이트를 사용하여 박층 크로마토그래피 (TLC)로 모니터했다.

[0090]

3b 9-메톡시-1-노난알의 제조

[0091]

표 6. 9-메톡시-1-노난알의 제조를 위한 물질

명칭	양
9-메톡시-1-노난올	1.0 g
PDC	4.7 g
분자체, 3A	1.0 g
NaOAc	0.1g
CH ₂ Cl ₂	10 mL

[0092]

절차: 자석 교반기 및 교반 바가 구비된 50-mL의 1목 동근바닥플라스크에 9-메톡시-노난올 (1.0 g, 5.9 mmol), 디클로로메탄 (10 mL), 분자체 (1.0 g, 3A), 아세트산나트륨 (0.1 g)을 실온에서 충전했다. 반응 혼합물을 실온에서 질소 하에서 5분 동안 교반했다. 반응 혼합물에 피리디늄 디크로메이트 (4.7 g, 12.5 mmol)을 충전하고, 밤새 교반했다. 반응의 진행을 TLC (각주 1)로 모니터링했다. 반응의 완료 후, 반응 혼합물을 실리카겔의 베드 (~15 g)를 통해 여과했다. 여과물을 진공에서 증발시켜 미정제 화합물을 얻었다. 이것을 실리카겔 칼럼 (250-400 메쉬, 40 g)를 사용하는 칼럼 크로마토그래피로 정제했다. 헥산 중 에틸 아세테이트의 용매 구배 (10-50%)를 사용하여 칼럼으로부터 생성물을 용리했다. 원하는 순수한 생성물을 함유하는 모든 분획을 조합하고, 진공에서 농축하여 순수한 9-메톡시-노난알 (로트 D-1027-156, 553 mg, 54.4%). 반응의 완료를 박층 실리카겔 플레이트; 용리액: 헥산 중 60% 에틸 아세테이트를 사용하여 박층 크로마토그래피 (TLC)로 모니터했다.

[0094]

3c N-(9-메톡시)-노닐 DNJ의 합성

[0095]

표 7. N-(9-메톡시)-노닐 DNJ의 합성을 위한 물질

명칭	양
DNJ	300 mg
9-메톡시-1-노난알	476 mg
Pd/C	200 mg
에탄올	20 mL

[0096]

- [0097] 절차: 자석 교반기 및 교반 바가 구비된 50-mL의 2목 등근바닥플라스크에 DNJ (300 mg, 1.84 mmol), 에탄올 (20 mL), 9-메톡시-1-노난알 (476 mg, 2.76 mmol)을 실온에서 충전했다. 반응 혼합물을 5-10분 동안 절소 하에서 교반하고, Pd/C을 실온에서 첨가했다. 반응 혼합물을 비우고, 밸룬을 사용하여 수소 가스로 대체했다. 이 과정을 3회 반복하고, 그 다음, 반응 혼합물을 수소 분위기 하에서 실온에서 교반했다. 반응의 진행을 TLC (각주 1)로 모니터링했다. 반응 혼합물을 셀라이트의 베드를 통해 여과하고, 에탄올 (20 mL)로 세정했다. 여과물을 진공에서 농축하여 미정제 생성물을 얻었다. 미정제 생성물을 250-400 메쉬 실리카겔 (20 g)을 사용하는 칼럼 크로마토그래피로 정제했다. 에틸 아세테이트 중 메탄올의 용매 구배 (5-25%)를 사용하여 칼럼으로부터 생성물을 용리했다. 원하는 순수한 생성물을 함유하는 모든 분획을 조합시키고, 진공에서 농축하여 희백색 고형물을 얻었다. 고형물을 에틸 아세테이트 (20 mL)로 분쇄하고, 여과하고, 고진공에서 건조하여 백색 고형물 [로트: D-1027-158 (165.3 mg, 28.1%)]을 얻었다. 반응의 완료를, 박층 실리카겔 플레이트; 용리액: 디클로로메탄 중 50% 메탄올을 사용하여 박층 크로마토그래피 (TLC)로 모니터했다.
- [0098] 4. 선택된 분야바이러스 및 토가바이러스의 억제
- [0099] 도 5는 분야바이러스인 리프트 계곡 열병 바이러스 (RVFV), 및 토가바이러스인 베네수엘라 말의 뇌염 바이러스 (VEEV) 및 치쿤군야 바이러스 (CHIKV)에 대항하는 NB-DNJ; NN-DNJ; N7-O-DNJ; N9-DNJ 및 NAP-DNJ에 대한 시험 관내 IC50 (μM) 데이터를 갖는 표를 나타낸다.
- [0100] 화합물. 하기 화합물의 기재 스톡(stock)을 0.5%의 최종 최대 DMSO 농도로 디메틸설폐시드 (DMSO)에서 준비했다: NB-DNJ, NN-DNJ, N7-O-DNJ, N9-DNJ, 및 NAP-DNJ. 모든 화합물을 기재 스톡(stock)으로부터 그의 실험 농도로 희석했다.
- [0101] 바이러스. 화합물을, 리프트 계곡 열병 바이러스 (분야바이러스) MP12 균주, 치쿤군야(Chikungunya) (토가바이러스과) 181/25 균주, 및 베네수엘라 말의 뇌염 (토가바이러스과) TC-83 균주에 대항하는 억제를 위해 스크리닝 했다. 바이러스 스톡(stock)을 2% 우태혈청, 2 mM L-글루타민, 100 U/mL 폐니실린, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 스트렙토마이신이 보충된 변형된 이글(Eagle) 배지 (MEM, Sigma)를 사용하여 베로(Vero) 세포에서 증식으로 만들었고, 표준 플라크 검정 (하기에 제시된 방법)을 사용하여 적정했다. 바이러스 스톡(stock)을, 사용할 때까지 -80°C 에서 보관했다.
- [0102] 바이러스 수득 환원 검정. 바이러스 수득 검정을, UV 화합물의 상이한 농도로 배양된 바이러스 감염된 세포로부터 산출된 상청액 시료에 대한 표준 플라크 검점으로 수행했다. 24-웰 세포 배양 플레이트를, 2 mM L-글루타민, 100U/mL 폐니실린/스트렙토마이신, 및 2% 열 불활성화된 우태혈청이 보충된 얼(Ear1) 염 (Sigma, St Louis, MO)을 갖는 MEM 중 10% 우태혈청 베로(Vero) 세포 (ATCC, Mannassas, VA; ATCC 번호 CCL-81)을 갖는 1mL MEM에서 세포화 함께 씨딩하고, 37°C 에서 24시간 동안 또는 ~80% 포화도까지 배양했다. 배지를, 250 μM (또는 125 μM)에서 개시된 사용될 2% 우태혈청 및 화합물 농도로 보충된 배지로 대체하고, 8개의 희석물을 사용하는 트리플리케이트에서 시험했다. 250 또는 125 μM 희석물에서 개시하는 화합물을 적당한 웰에 추가하고, 1시간 동안 37°C , 5% CO_2 에서 배양했다. 배양 1시간 후, 배양 바이러스를 각 웰에 추가했다. RVFV에 대해서는 4일, CHIKV에 대해서는 3일, 및 VEE 바이러스 감염에 대해서는 2일이 필요하였다. 감염의 완료 시, 상청액을 거두어 들이고, 적정을 위해 0.5mL MCF 튜브에 수집했다.
- [0103] RVFV MP12, CHIKV 181/25, 및 VEE TC-83를 적정하기 위해, 성장 배지 중 80% 응합성 베로 세포를 갖는 12-웰 플레이트를 사용했다. 바이러스성 상청액을 10^{-3} 내지 10^{-8} 로 희석하고, 그의 (100uL)를 세포에 첨가하고, 매 5-10분에 걸쳐 흔들면서 37°C 에서 1시간 동안 배양했다. 바이러스성 감염 배지 (100uL)에 공기를 공급하고, 2X MEM (5% 우혈청)과 1:1 혼합된 1mL 미리 따뜻해진 2% 저용융 아가로스로 대체하고, 37°C , 5% CO_2 에서 6일 동안 배양하고, 그 다음, 중석 적색 염색으로 플라크 시각화를 수행했다. IC50를 화합물의 농도로서 측정하고, 그 결과 50% 바이러스가 억제되었다.
- [0104] 도 6는 리프트 계곡 열병 바이러스 (RVFV)에 대한 복용 반응 곡선을 나타낸다. 바이러스 수득 검정은 도 5에 대해 개시된 바와 같이 수행되었다. RVFV MP12 바이러스 억제는 58, 218, 및 49 μM 의 EC50을 갖는 화합물 UV-2 (NN-DNJ), -3 (N7-O-DNJ), 및 -5 (NAP-DNJ)에 대해 발견되었다. UV-2는 최고 농도 (250 μM)에서 세포에 대한 독성이 있었다. 화합물 UV-1 (NB-DNJ) 및 -4 (N9-DNJ) 모든 것은 250 μM 초과의 EC50을 갖는다.
- [0105] 도 7는 베네수엘라 말의 뇌염 바이러스 (VEEV)에 대한 복용 반응 곡선을 나타낸다. 바이러스 수득 검정은 도 5에 대해 상기와 개시된 바와 같이 수행되었다. VEE 바이러스 억제는 156, 12, 및 2 μM 의 EC50을 갖는 화합물

UV-1 (NB-DNJ), -2 (NN-DNJ), 및 -5 (NAP-DNJ)에 대해 발견되었다. UV-2는 최고 농도 (250 μM)에서 독성이 있었다. 화합물 UV-3 (N7-O-DNJ) 및 -4 (N9-DNJ) 모든 것은 250 μM 초과의 EC50을 가졌다.

도 8은 치쿤군야 바이러스 (CHIKV)에 대한 복용 반응 곡선을 나타낸다. 바이러스 수득 검정은 도 5에서와 같이 수행되었다. 치쿤군야(Chikungunya) 바이러스 억제는 22 μ m의 EC50를 갖는 화합물 UV-5 (NAP-DNJ)에 대해 발견되었다. UV-2 (NN-DNJ)는 56 μ m의 EC50로 보호를 보여주었다. 화합물 UV-1 (NB-DNJ), -3 (N7-O-DNJ), -4 (N9-DNJ) 모든 것은 500 μ m 초과의 EC50을 갖는다.

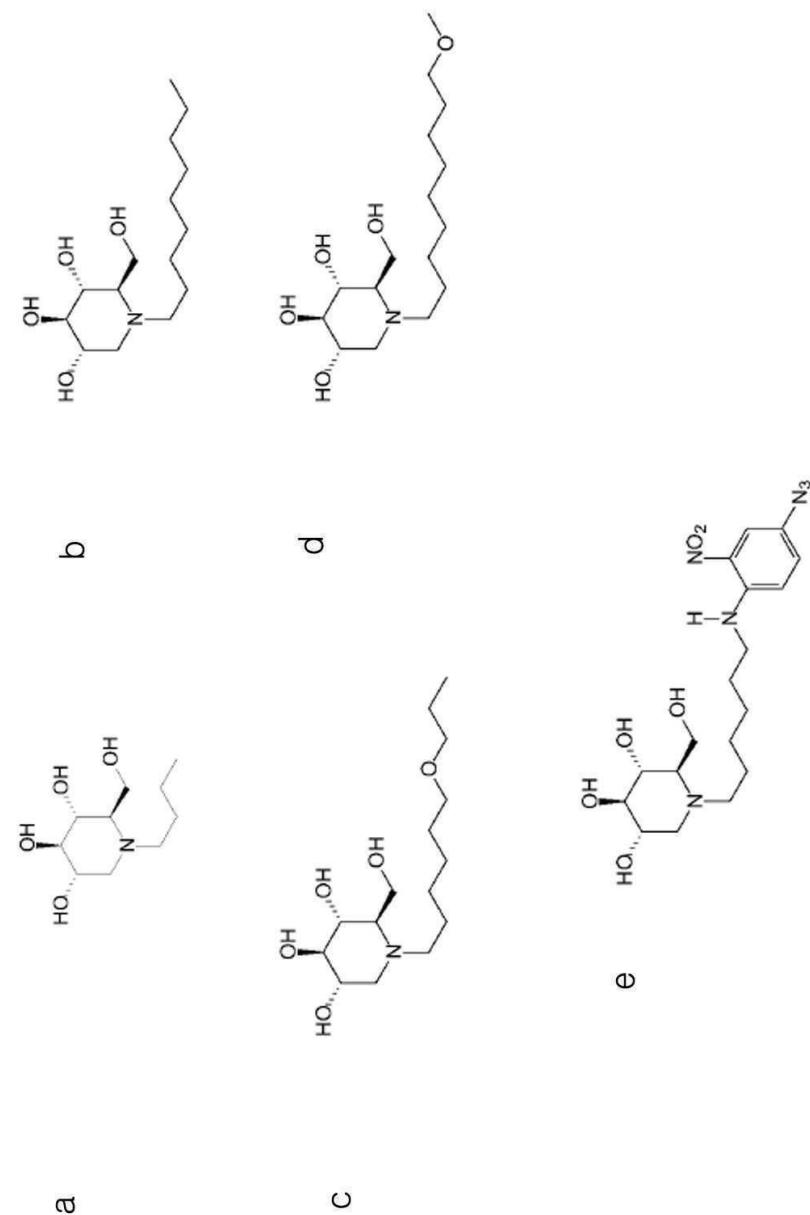
* * *

상가가 특히 바람직한 구현예를 참조하지만, 본 발명이 그렇게 한정되지 않는 것으로 이해될 것이다. 개시된 구현예가 다양하게 변형될 수 있고, 그와 같은 변형은 본 발명의 범위 내에 있는 것으로 의도되는 것으로 당해 분야의 숙련가는 생각할 것이다.

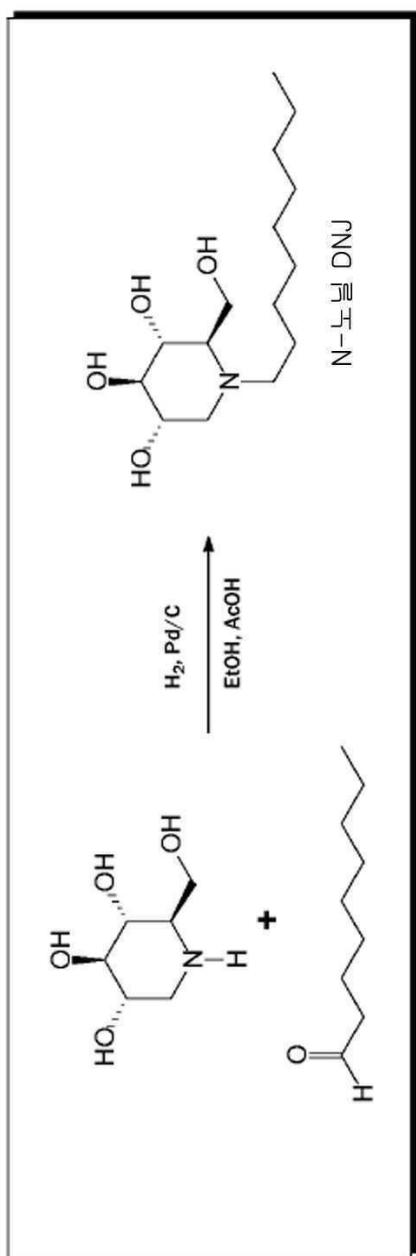
본 명세서에서 이용된 모든 품목은 특히 출원 및 특허는 그 자체가 참고로 본원에 통합되어 있다.

도면

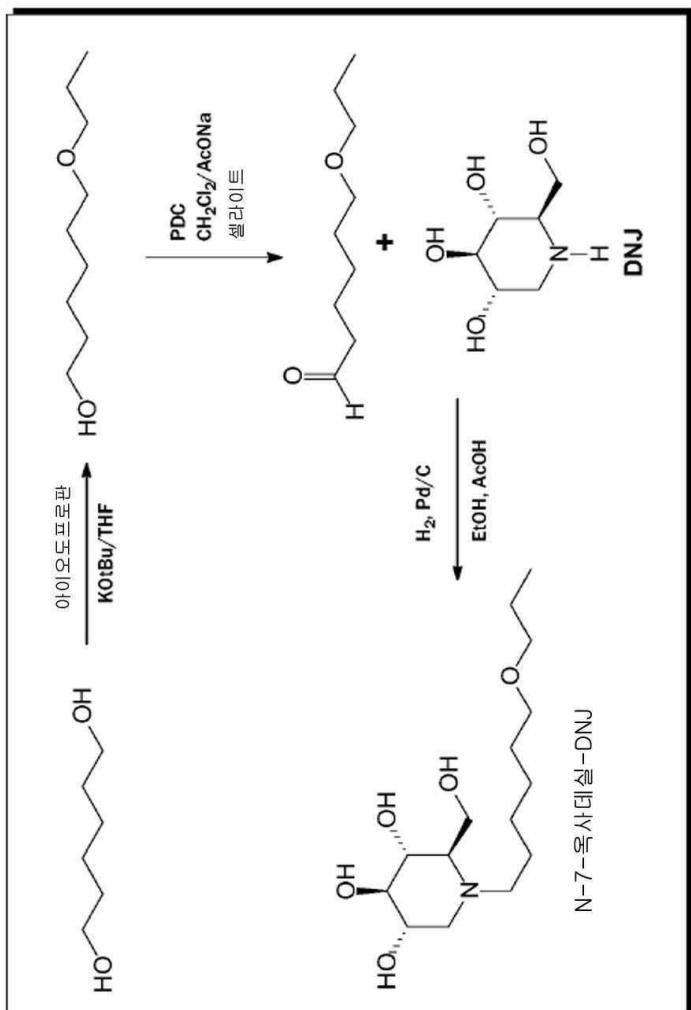
도면1



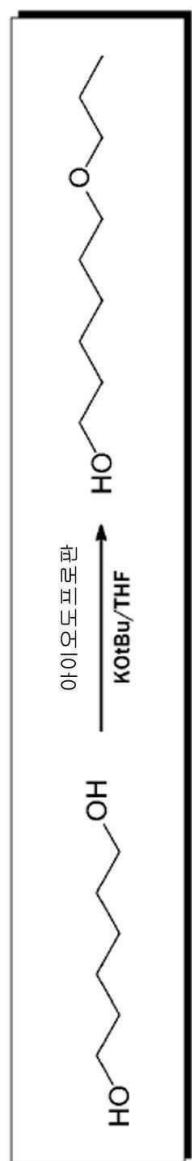
도면2



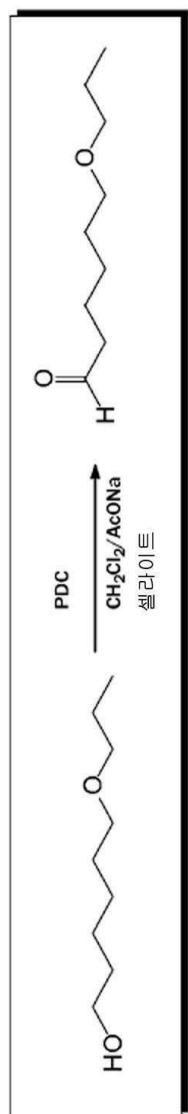
도면3a



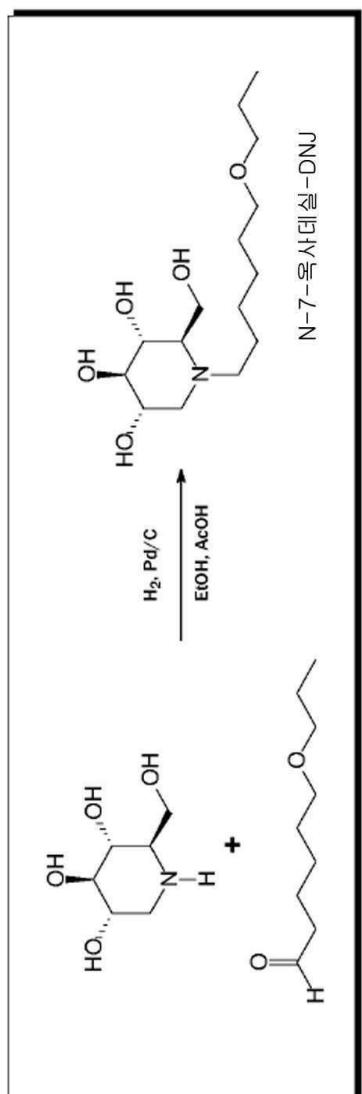
도면3b



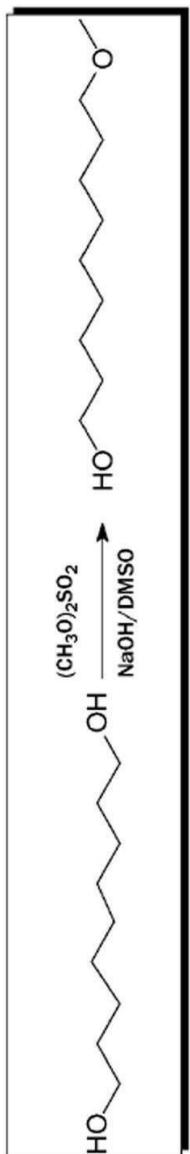
도면3c



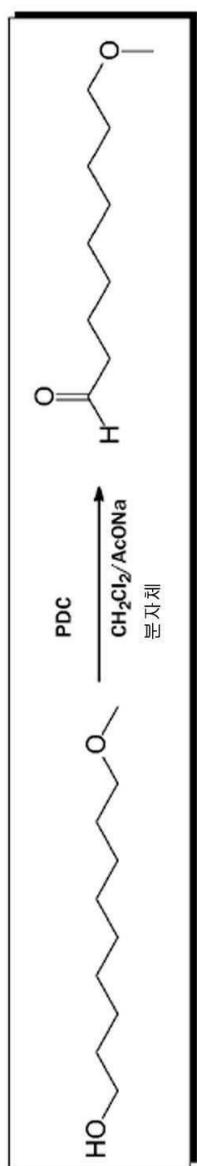
도면3d



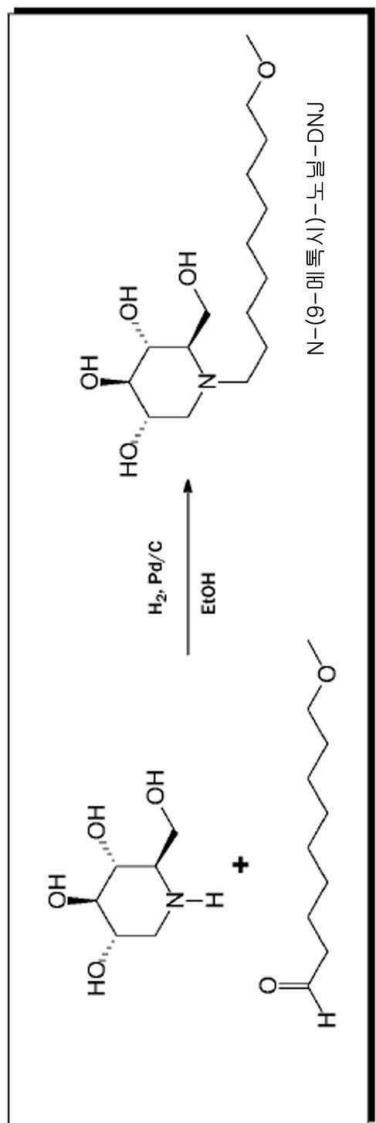
도면4a



도면4b



도면4c



도면5

화합물	활성 대 바이러스 과들		
	IC50, μM	분야	토가
	RVFV	VEEV	CHIKV
NB-DNJ	250	156	>500
NN-DNJ	58	12	56
N7-0-DNJ	220	>250	500
N9-DNJ	250	>250	500
NAP-DNJ	49	2	22

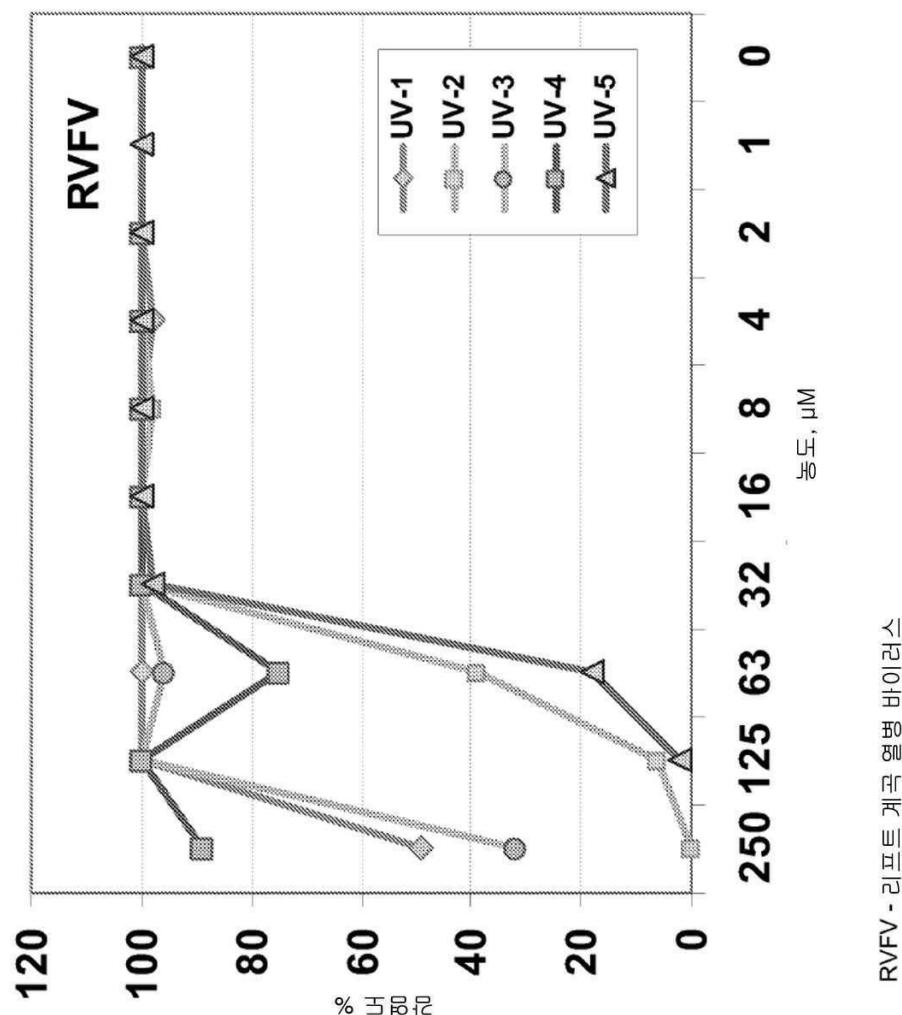
바이러스 약어:

RVFV - 리프트 계곡 열병 바이러스

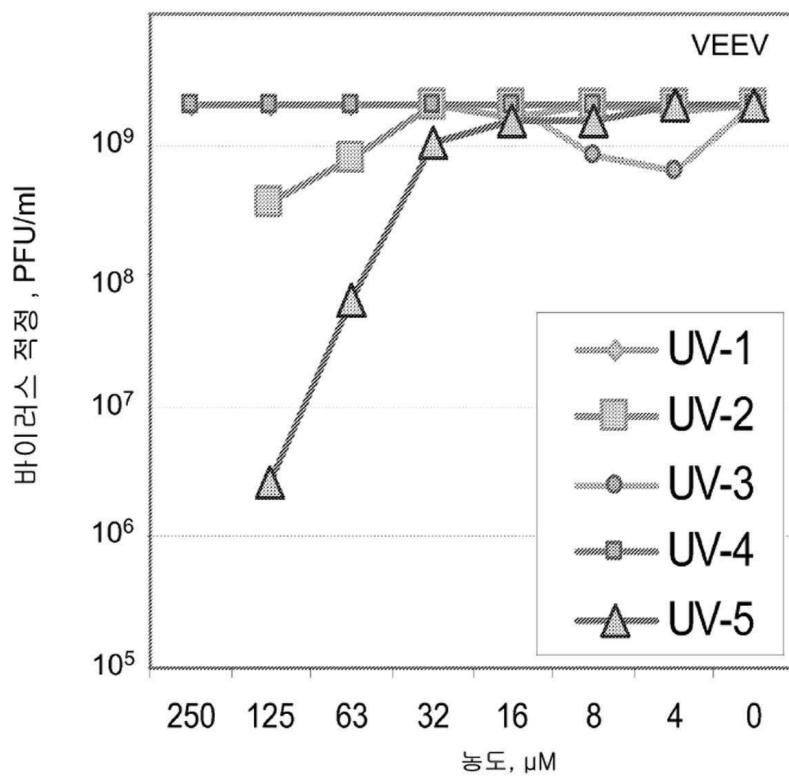
VEEV - 베네주엘라 말의 뇌염 바이러스

CHIKV - 치쿤구니야 바이러스

도면6



도면7



VEEV - 베네주엘라 말의 뇌염 바이러스
공급원: Unither Virology

도면8

