

(72) 발명자

맥도날드, 사이몬, 제이., 에프.

영국에스지12엔와이허트포드셔셔어, 스테베네지, 구
넬스우드로드, 글락소스미스클라인피엘씨

메이슨, 앤드류, 엠씨엠.

영국에스지12엔와이허트포드셔셔어, 스테베네지, 구
넬스우드로드, 글락소스미스클라인피엘씨

사나한, 스테판, 이.

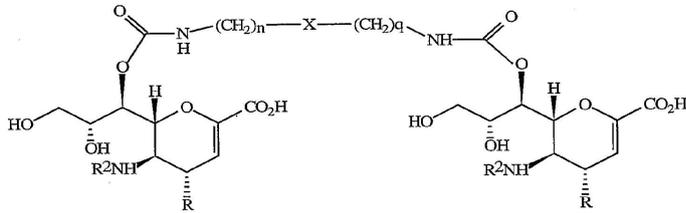
영국에스지12엔와이허트포드셔셔어, 스테베네지, 구
넬스우드로드, 글락소스미스클라인피엘씨

특허청구의 범위

청구항 1

하기 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염화합물, 또는 이의 알킬 에스테르, 아릴 에스테르, 벤조일 에스테르, 또는 아세틸 에스테르 화합물 :

[화학식 I]



(I)

상기 화학식 I에서,

R은 아미노 또는 구아니디노 그룹이고;

R²는 아세틸 또는 트리플루오로아세틸이고;

n 및 q는 동일하거나 상이하고, 0, 1 및 2 중에서 선택되며;

X는 페닐, 나프틸, 또는 페닐-Y-페닐(여기에서 Y는 공유 결합, CH₂, CH₂CH₂, O 및 SO₂ 중에서 선택된다)이며, 상기 X상의 페닐 또는 나프틸은 C₁₋₆ 알킬, C₂₋₆ 알케닐, C₂₋₆ 알키닐 및 C₁₋₆ 알콕시 중에서 선택된 치환체가 치환 또는 비치환된 페닐 또는 나프틸이나; 단, X가 페닐 또는 나프틸인 경우, n 및 q는 모두 2이고, X가 페닐-Y-페닐(이때 Y는 공유 결합이다)인 경우, n 및 q는 모두 0은 아니다.

청구항 2

제 1 항에 있어서, R이 구아니디노 그룹인 화합물.

청구항 3

제 1 항에 있어서, R²가 아세틸 그룹인 화합물.

청구항 4

제 1 항에 있어서, n 및 q가 동일한 화합물.

청구항 5

제 4 항에 있어서, X 상의 치환체가 C₁₋₆ 알콕시인 화합물.

청구항 6

삭제

청구항 7

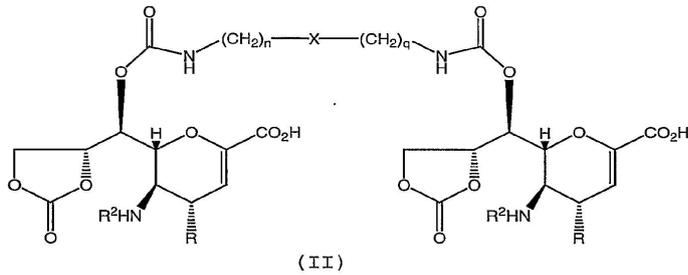
제 1 항에 있어서, 상기 알킬 에스테르는 C₁₋₃ 알킬 에스테르이고, 상기 아릴 에스테르는 페닐 에스테르인 화합물.

청구항 8

하기 화학식 II의 화합물을 탈보호시키는 단계를 포함하는, 제 1 항 내지 제 5 항 및 제 7 항 중 어느 한 항에

다른 화합물의 제조방법:

화학식 II



상기 화학식 II에서,

R은 아미노 또는 구아니디노 그룹이고;

R²는 아세틸 또는 트리플루오로아세틸이고;

n 및 q는 동일하거나 상이하고, 0, 1 및 2 중에서 선택되며;

X는 페닐, 나프틸, 또는 페닐-Y-페닐(여기에서 Y는 공유 결합, CH₂, CH₂CH₂, O 및 SO₂ 중에서 선택된다)이며, 상기 X상의 페닐 또는 나프틸은 C₁₋₆ 알킬, C₂₋₆ 알케닐, C₂₋₆ 알키닐 및 C₁₋₆ 알콕시 중에서 선택된 치환체가 치환 또는 비치환된 페닐 또는 나프틸이나; 단, X가 페닐 또는 나프틸인 경우, n 및 q는 모두 2이고, X가 페닐-Y-페닐(이때 Y는 공유 결합이다)인 경우, n 및 q는 모두 0은 아니다.

청구항 9

제 1 항에서 정의된 화학식 I의 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염화합물, 또는 이의 알킬 에스테르, 아틸 에스테르, 벤조일 에스테르, 또는 아세틸 에스테르 화합물을 하나 이상의 약학적으로 허용 가능한 담체와 함께 포함하는 바이러스 감염의 예방 또는 치료용 약학 제형.

청구항 10

제 9 항에 있어서, 하나 이상의 다른 치료학적, 예방학적 또는 치료 및 예방학적 성분을 또한 포함하는 바이러스 감염의 예방 또는 치료용 약학 제형.

청구항 11

제 10 항에 있어서, 다른 치료학적, 예방학적 또는 치료 및 예방학적 성분이 감염 억제제인 바이러스 감염의 예방 또는 치료용 약학 제형.

청구항 12

제 11 항에 있어서, 감염 억제제가 항바이러스제 또는 항균제인 바이러스 감염의 예방 또는 치료용 약학 제형.

청구항 13

제 12 항에 있어서, 항바이러스제 또는 항균제가 호흡기 감염의 치료에 사용되는 것인 바이러스 감염의 예방 또는 치료용 약학 제형.

청구항 14

제 13 항에 있어서, 약제가 자나미비어, 오셀타미비어, 아만타딘, 리만타딘, 리바비린, 및 플루백스(Fluvax) 중에서 선택되는 바이러스 감염의 예방 또는 치료용 약학 제형.

청구항 15

제 1 항 내지 제 5 항 및 제 7 항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 제 9 항 내지 제 14 항 중 어느 하나의 항에 따른 제형을 포함하는 바이러스 감염의 예방 및 치료용 흡입기.

청구항 16

제 15 항에 있어서, 자유 흐름 분말로서 경구 투여용으로 적합한 바이러스 감염의 예방 및 치료용 흡입기.

청구항 17

제 15 항에 있어서, 용량 계량식 에어로졸 흡입기인 바이러스 감염의 예방 및 치료용 흡입기.

청구항 18

바이러스 감염의 예방 또는 치료를 필요로 하는 인간을 제외한 포유동물에게 유효량의 제 1 항에서 정의된 화합물을 투여하는 단계를 포함하는 상기 바이러스 감염의 예방 또는 치료 방법.

청구항 19

제 18 항에 있어서, 바이러스 감염이 오르토크소바이러스 또는 파라믹소바이러스 감염인 바이러스 감염의 예방 또는 치료 방법.

청구항 20

제 18 항에 있어서, 바이러스 감염이 A형 또는 B형 인플루엔자 감염, 파라인플루엔자, 유행성 이하선염 또는 뉴캐슬 병인 바이러스 감염의 예방 또는 치료 방법.

청구항 21

제 18 항 내지 제 20 항 중 어느 하나의 항에 있어서, 투여가 흡입, 취입 또는 비 내 또는 이들의 조합에 의해 호흡기 관으로 수행되는 바이러스 감염의 예방 또는 치료 방법.

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

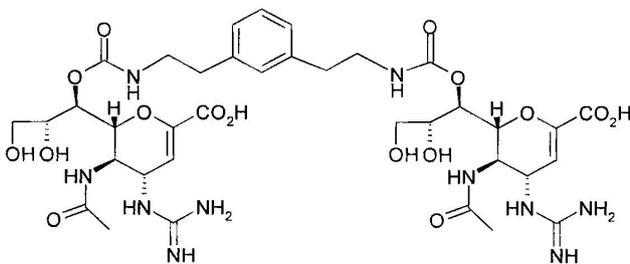
삭제

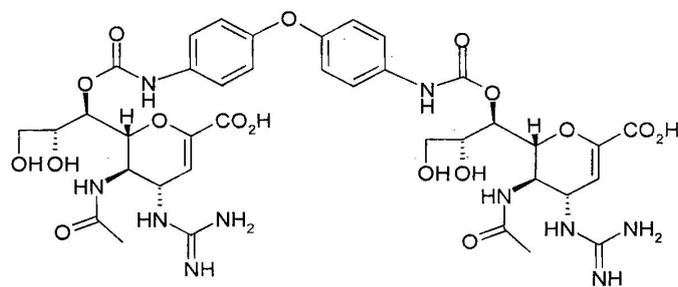
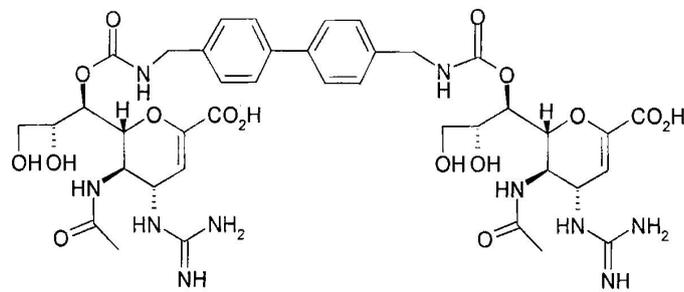
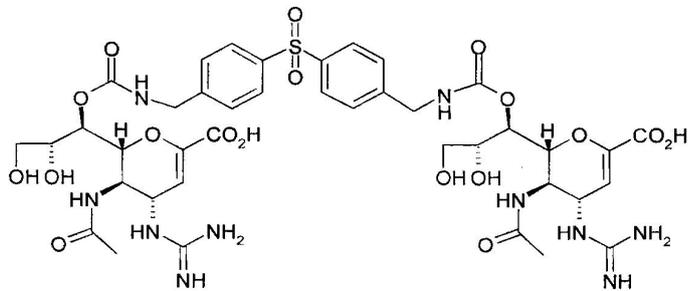
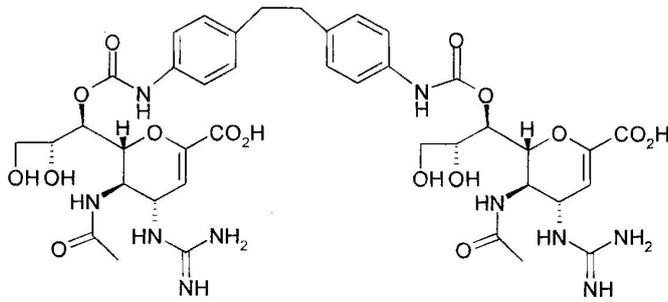
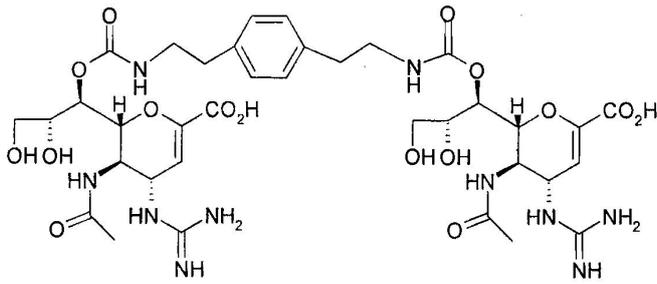
청구항 25

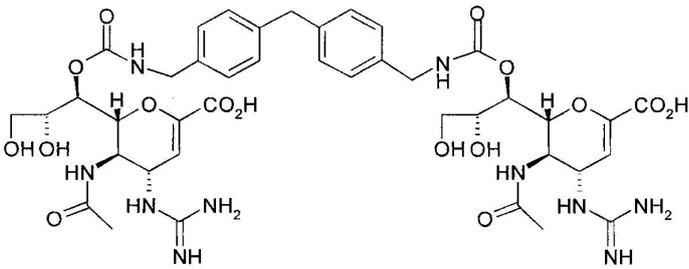
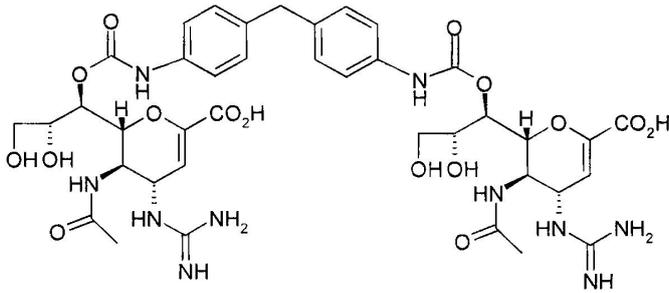
삭제

청구항 26

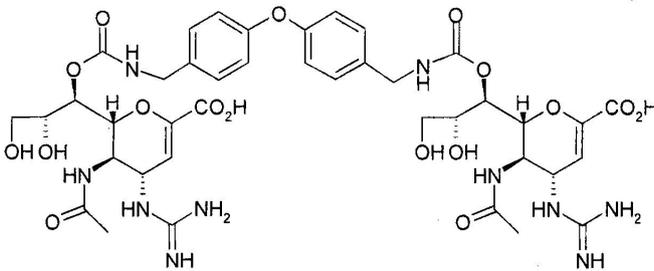
제 1 항에 있어서, 하기로부터 선택된 화합물 :







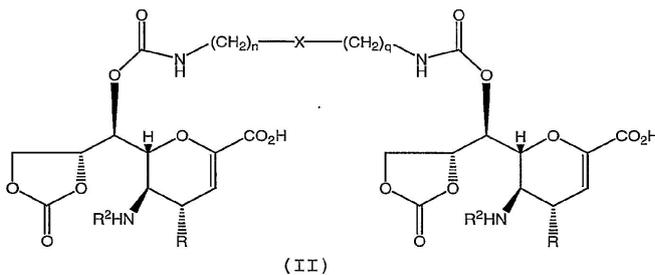
, 및



청구항 27

하기 화학식 II의 화합물 :

[화학식 II]



상기 화학식 II에서,

R은 아미노 또는 구아니디노 그룹이고;

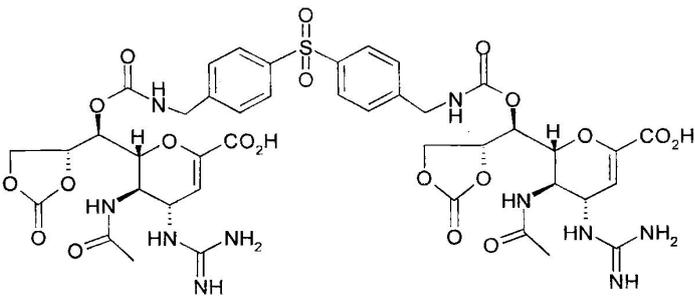
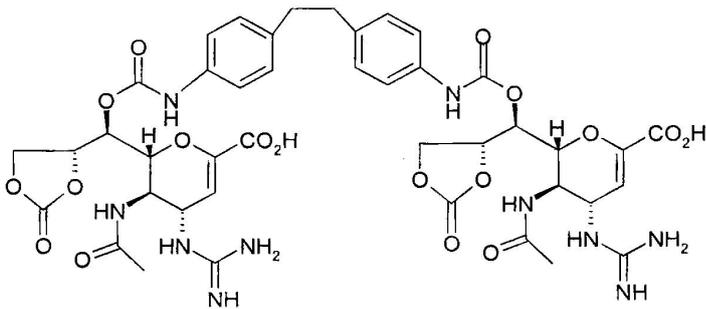
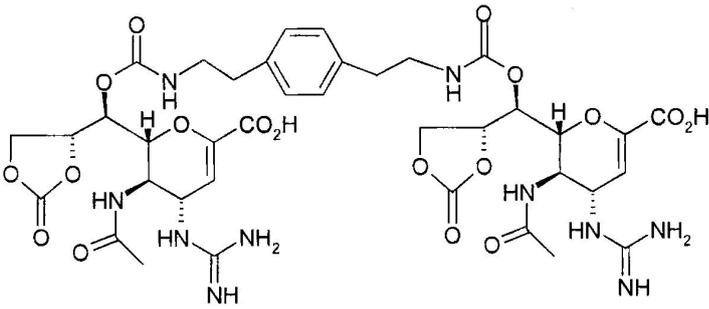
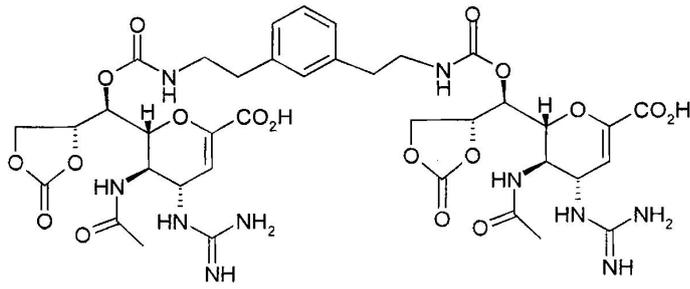
R²는 아세틸 또는 트리플루오로아세틸이고;

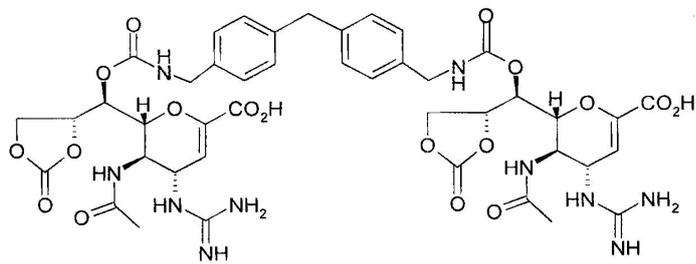
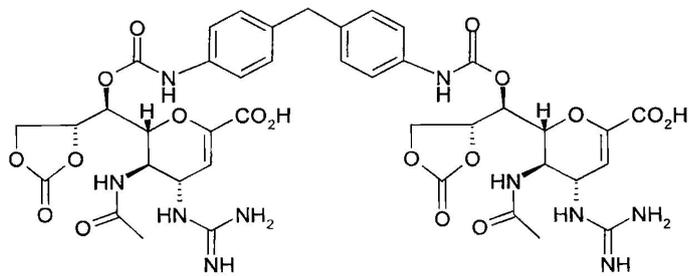
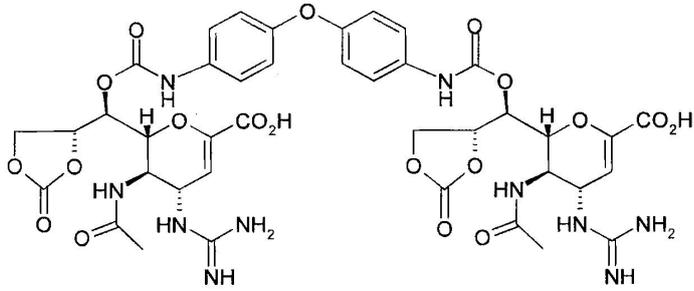
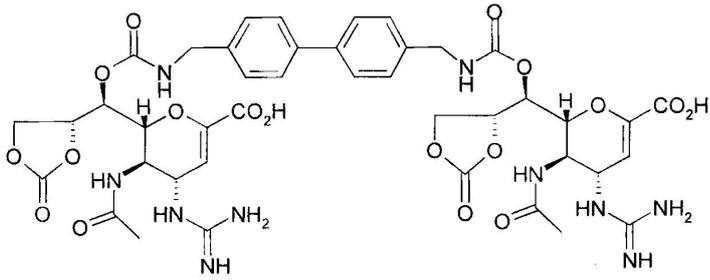
n 및 q는 동일하거나 상이하고, 0, 1 및 2 중에서 선택되며;

X는 페닐, 나프틸, 또는 페닐-Y-페닐(여기에서 Y는 공유 결합, CH₂, CH₂CH₂, O 및 SO₂ 중에서 선택된다)이며, 상기 X상의 페닐 또는 나프틸은 C₁₋₆ 알킬, C₂₋₆ 알케닐, C₂₋₆ 알키닐 및 C₁₋₆ 알콕시 중에서 선택된 치환체가 치환 또는 비치환된 페닐 또는 나프틸이나; 단, X가 페닐 또는 나프틸인 경우, n 및 q는 모두 2이고, X가 페닐-Y-페닐(이때 Y는 공유 결합이다)인 경우, n 및 q는 모두 0은 아니다.

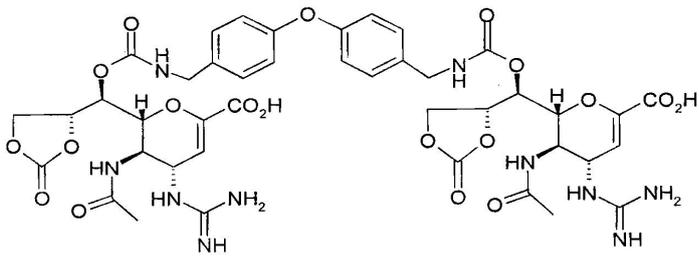
청구항 28

제 27 항에 있어서, 하기로부터 선택된 화합물 :



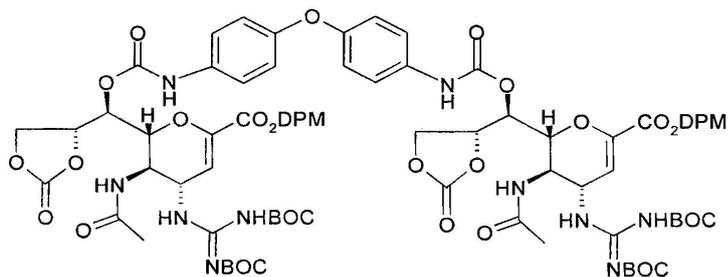
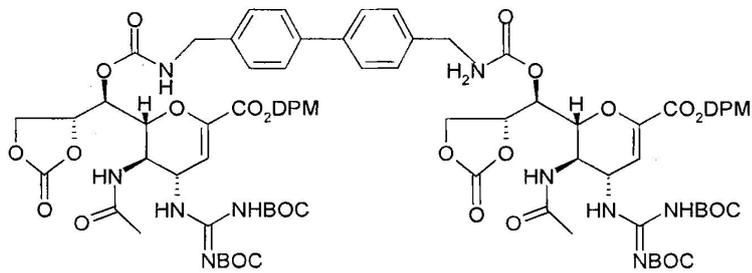
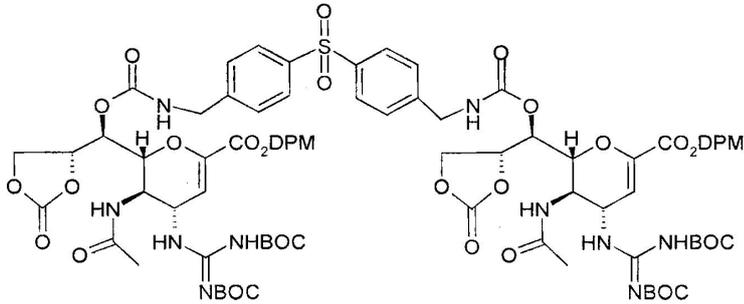
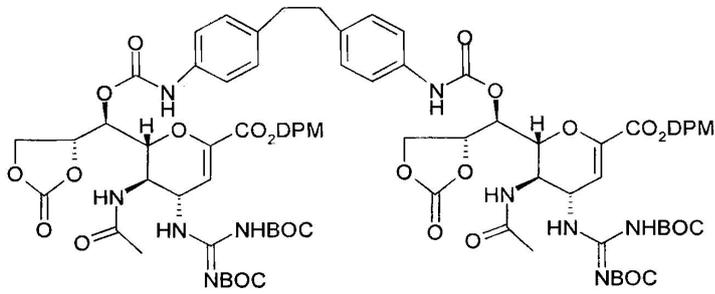
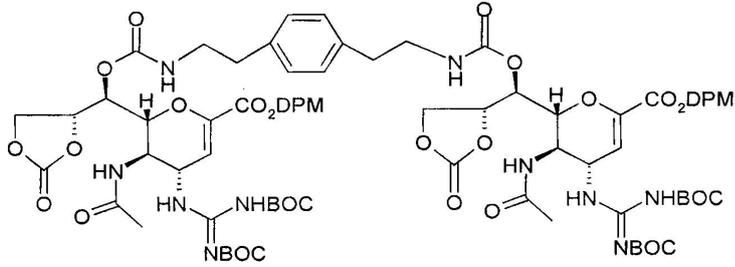
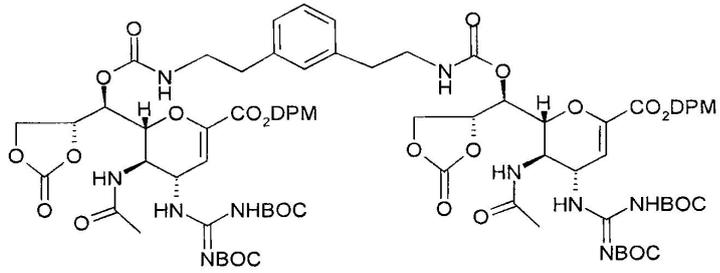


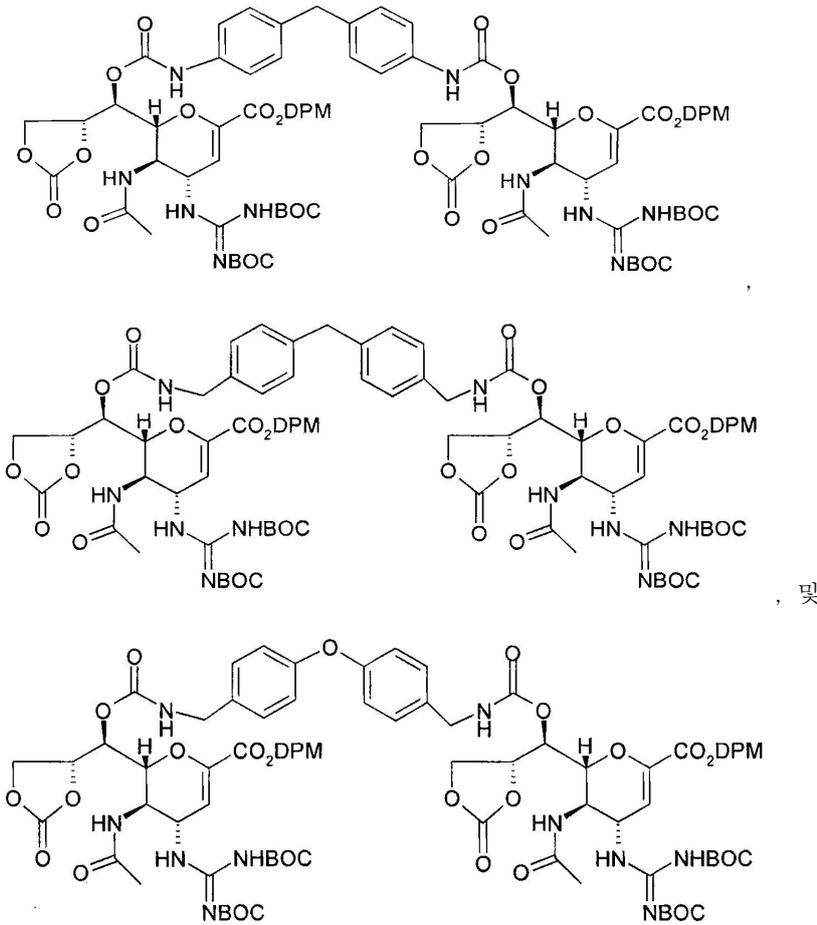
, 및



청구항 29

하기로부터 선택된 화합물 :





청구항 30

제 9 항에 있어서, 상기 알킬 에스테르는 C₁₋₃ 알킬 에스테르이고, 상기 아릴 에스테르는 페닐 에스테르인 바이러스 감염의 예방 또는 치료용 약학 제형.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 신규의 화합물 및 약제에서 그의 용도에 관한 것이다. 특히 본 발명은 신규의 이량체 화합물, 그의 제조 방법, 그의 약학 제형, 및 항바이러스제로서의 그의 용도에 관한 것이다.

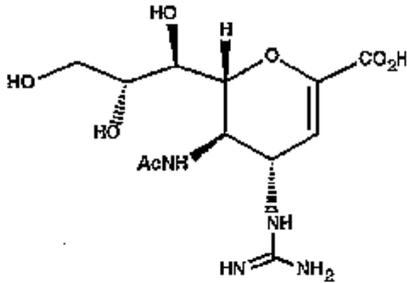
배경기술

[0002] 다른 탄수화물로부터 N-아세틸 뉴라민산(NANA)(또한 시알산으로서 공지됨)을 절단하는 능력을 갖는 효소가 다수의 미생물들 중에 존재한다. 여기에는 비브리오 콜레라에(*Vibrio cholerae*), 클로스트리듐 페르프린젠스(*Clostridium perfringens*), 스트렙토코커스 뉴모니아에(*Streptococcus pneumoniae*) 및 아르쓰로박터 시알로필루스(*Arthrobacter sialophilus*)와 같은 세균, 및 인플루엔자 바이러스, 파라인플루엔자 바이러스, 유행성 이하선염 바이러스, 뉴캐슬병 바이러스 및 센다이 바이러스와 같은 바이러스가 포함된다. 이들 바이러스 중 대부분은 오르토믹소바이러스 또는 파라믹소바이러스 그룹의 것이며, 상기 바이러스 입자의 표면에 뉴라미니다제 활성을 지닌다. 다수의 이들 뉴라미니다제 함유 유기체들은 인간 및/또는 동물의 주요 병원체이며, 인플루엔자 바이러스 및 뉴캐슬병 바이러스와 같은 일부 유기체는 대단히 중요한 질병을 일으킨다.

[0003] 오랫동안 뉴라미니다제의 억제제들이 뉴라미니다제-함유 바이러스에 의한 감염을 예방할 수 있을지도 모른다는 생각을 해왔다. 대부분의 공지된 뉴라미니다제 억제제들은 뉴라민산, 예를 들어 2-데옥시-2,3-데하이드로-N-아세틸뉴라민산(DANA)의 동족체들 및 그의 유도체들 중 일부이다(Meindl et al, Virology, 1974 58 457).

본 출원인들의 국제 특허 공보 WO 91/16320에는 바이러스성 뉴라미니다제에 대해 활성인 다수의 DANA의 동족체들이 개시되어 있으며, 특히 4-구아니디노-2-데옥시-2,3-데하이드로-N-아세틸뉴라민산(화합물 A, 코드 번호 GG167)이 A 형 및 B 형 인플루엔자의 치료에 유용함이 입증되었다(N. Engl. J. Med., 1997 337 874-880). 다른 특허 출원들에는 밀접하게 관련된 다양한 시알산 유도체들이 개시되어 있으며(예를 들어 PCT 공보 WO 95/18800, WO 95/20583 및 WO 98/06712), GG167의 항 바이러스성 거대분자 집합체들이 또한 개시되었다(국제 특허 출원 PCT/AU97/00771).

[0004] 화합물 A



[0005]

[0006] (Ac=아세틸)

[0007] 국제 특허 공보 WO 00/55149에는 길이가 100 원자 이하인 공통의 이격자 또는 결합 그룹에 부착된, 2 개의 뉴라미니다제 결합 분자를 포함하는 이량체 화합물, 예를 들어 화합물 A가 개시되어 있다.

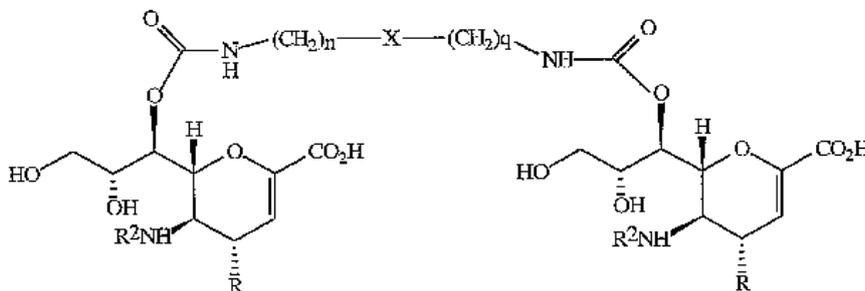
[0008] 본 발명에 이르러, 국제 특허 공보 WO 00/55149의 일반적인 범위 내에 있지만 상기 중에 구체적으로 개시되어 있지 않고, 긴 폐 체류 시간과 높은 효능을 포함하는 놀랍게도 유리한 항-인플루엔자 활성 프로파일을 나타내는 새로운 부류의 화합물들을 발견하였다.

[0009] 다시 이론에 얽매이려는 것은 아니지만, 폐에서의 긴 체류 시간에 대한 근거는 호흡기 상피에서 빈틈없는 연결 부를 통한 침입을 방지하는 화합물의 크기 및 분자량, 및 세포막을 통한 이동이 매우 비 효율적으로 일어나도록 하는 상기 화합물의 극성으로 인한 것으로 생각된다. 또 다른 이론은 화합물들 자체가 세포막 중의 인지질 또는 호흡기 상피의 다른 성분들과 상호작용하여 폐에서의 체류 시간을 증가시킨다는 것이다.

[0010] 발명의 요약

[0011] 하기 화학식 I의 화합물 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 유도체:

화학식 I



[0012]

[0013] 상기 식에서,

[0014] R은 아미노 또는 구아니디노 그룹이고;

[0015] R²는 아세틸 또는 트리플루오로아세틸이고;

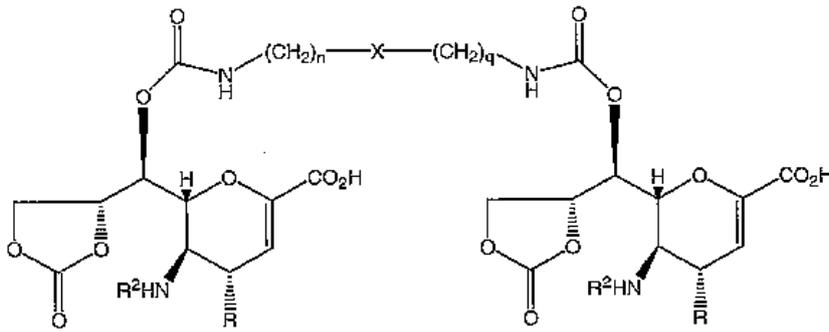
[0016] n 및 q는 동일하거나 상이하고, 0, 1 및 2 중에서 선택되며;

[0017] X는 임의로 치환된 페닐, 임의로 치환된 나프틸 또는 임의로 치환된 페닐-Y-임의로 치환된 페닐(여기에서 Y는

공유 결합, CH₂, CH₂CH₂, O 및 SO₂ 중에서 선택된다)이나; 단, X가 페닐 또는 나프틸인 경우, n 및 q는 모두 2이고, X가 페닐-Y-페닐(이때 Y는 공유 결합이다)인 경우, n 및 q는 모두 0은 아니다.

- [0018] 바람직하게는 R은 구아니디노 그룹이다.
- [0019] 바람직하게는 R²는 아세틸 그룹이다.
- [0020] 바람직하게는 n 및 q는 동일하다.
- [0021] 바람직하게는 X는 오르토, 메타 또는 파라 치환될 수 있는 페닐, 나프틸 또는 페닐-Y-페닐(이때 각각의 페닐 고리는 알콕시로 임의로 치환된다)이다.
- [0022] "임의로 치환된"이란 용어는 알킬, 알케닐, 알키닐, 아릴, 할로, 할로알킬, 할로알케닐, 할로알키닐, 할로아릴, 하이드록시, 알콕시, 알케닐옥시, 아릴옥시, 카복시, 벤질옥시, 할로알콕시, 할로알케닐옥시, 할로아릴옥시, 니트로, 니트로알킬, 니트로알케닐, 니트로알키닐, 니트로아릴, 니트로헤테로사이클릴, 아지도, 니트로소, 아미노, 알킬아미노, 알케닐아미노, 알키닐아미노, 아릴아미노, 벤질아미노, 아실아미노, 아실, 알케닐아실, 알킬아실, 아릴아실, 아실아미노, 아실옥시, 알데히도, 알킬설포닐, 아릴설포닐, 설포닐아미노, 알킬설포닐아미노, 아릴설포닐아미노, 알킬설포닐옥시, 아릴설포닐옥시, 헤테로사이클릴, 헤테로사이클록시, 헤테로사이클릴아미노, 할로헤테로사이클릴, 알킬설포닐, 아릴설포닐, 카보알콕시, 카보아릴옥시, 머캅토, 설펜산, 알킬티오, 아릴티오 및 아실티오가 있다.
- [0023] 바람직하게는 상기 알킬, 알케닐, 알키닐 및 알콕시 치환체는 6 개 이하의 탄소 원자를 함유한다.
- [0024] 당해 분야의 숙련가들은 화학식 I의 화합물을 상기 화합물의 약학적으로 허용 가능한 유도체를 제공하도록 상기 화합물 중의 임의의 하나 이상의 작용기에서 변경을 수행할 수 있음을 인지할 것이다. 상기와 같은 유도체로서 특히 관심 있는 것은 카복시 작용기, 하이드록시 작용기 또는 아미노 그룹에서 변경된 화합물이다. 따라서, 관심 화합물에는 화학식 I 화합물의 알킬 에스테르, 예를 들어 메틸, 에틸, 프로필 또는 이소프로필 에스테르, 아릴 에스테르, 예를 들어 페닐, 벤조일 에스테르, 및 아세틸 에스테르가 포함된다.
- [0025] "약학적으로 허용 가능한 유도체"란 용어는 화학식 I 화합물의 임의의 약학적으로 허용 가능한 염, 에테르, 에스테르 또는 상기와 같은 에스테르의 염, 또는 수용자에게 투여 시 화학식 I의 화합물 또는 그의 바이러스 억제 성 활성 대사산물 또는 잔사를 제공할 수 있는 임의의 다른 화합물을 의미한다. 유도체로서 특히 관심이 있는 것은 시알산 카복시 또는 글리세롤 하이드록시 그룹, 또는 아미노 및 구아니디노 그룹이 변경된 화합물이다.
- [0026] 화학식 I 화합물의 약학적으로 허용 가능한 염에는 약학적으로 허용 가능한 무기 및 유기 산 및 염기로부터 유도된 것들이 있다. 적합한 산의 예로는 염산, 브롬화수소산, 황산, 질산, 과염소산, 푸마르산, 말레인산, 인산, 글리콜산, 젖산, 살리실산, 숙신산, 톨루엔-p-설포산, 타르타르산, 아세트산, 시트르산, 메탄설포산, 포름산, 벤조산, 말론산, 나프탈렌-2-설포산 및 벤젠설포산이 있다. 다른 산, 예를 들어 옥살산이, 그 자체는 약학적으로 허용 가능하지 않지만, 본 발명의 화합물 및 그의 약학적으로 허용 가능한 산 부가염을 수득하는데 중간체로서 유용한 염의 제조에 유용할 수 있다.
- [0027] 적합한 염기로부터 유도된 염에는 알칼리 금속(예: 나트륨), 알칼리 토금속(예: 마그네슘), 암모늄, 및 NR₄⁺(이때 R은 C₁₋₄ 알킬이다) 염이 포함된다.
- [0028] 본 발명의 화합물을 본원에 개시된 방법에 의해 제조할 수 있다. 단량체들을 아릴 이격자 그룹에 부착시키는 공정 동안 뉴라미니다제 결합 분자의 하나 이상의 작용기를 보호하기 위해서 보호 그룹들을 사용할 필요가 있는 것은 당해 분야의 숙련가들에게 자명할 것이다. 예를 들어 문헌[T.W. Green and P.G.M. Nuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", John Wiley & Sons, 1991]을 참조하십시오. 화학식 I 화합물의 약학적으로 허용 가능한 염을 공지된 과정에 따라 제조할 수 있다.
- [0029] 처리 및 제조의 용이성을 위해서, 화학식 I의 화합물이 결정 형태인 것이 바람직하다.
- [0030] 따라서, 본 발명은 또한 하기 화학식 II의 화합물을 보호하는 단계를 포함하는, 상기 정의된 바와 같은 화학식 I 화합물의 제조 방법을 제공한다:

화학식 II



- [0031]
- [0032] 상기 식에서,
- [0033] R , R^2 , n , q 및 x 는 상기 정의한 바와 같다.
- [0034] 화학식 I의 화합물은 항바이러스 활성을 갖는다. 특히 이들 화합물은 오르토믹소바이러스 또는 파라믹소바이러스의 바이러스성 뉴라미니다제, 예를 들어 A형 및 B형 인플루엔자, 파라인플루엔자, 유행성 이하선염 및 누캐슬병의 바이러스성 뉴라미니다제의 억제제이다.
- [0035] 따라서, 본 발명의 두 번째 태양에서 바이러스 감염, 예를 들어 오르토믹소바이러스 및 파라믹소바이러스 감염의 치료에서 유효 치료제로서 사용하기 위한 화학식 I의 화합물 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 유도체를 제공한다.
- [0036] 본 발명의 세 번째 태양에서, 유효량의 화학식 I의 화합물 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 유도체를 바이러스 감염의 예방 또는 치료가 필요한 대상자에게 투여하는 단계를 포함하는, 상기 바이러스 감염의 치료 또는 예방을 위한 방법을 제공한다.
- [0037] 바람직하게는, 상기 바이러스 감염은 오르토믹소바이러스 또는 파라믹소바이러스 감염이다. 보다 바람직하게는 상기 바이러스 감염은 A형 또는 B형 인플루엔자 감염이다.
- [0038] 바람직하게는 상기 대상자는 동물, 예를 들어 포유동물, 보다 바람직하게는 인간, 또는 마체 속의 일원, 예를 들어, 말, 당나귀 또는 노새이다. 가장 바람직하게는 상기 대상자는 인간이다.
- [0039] 네 번째 태양에서 본 발명은 바이러스 감염 치료용 약제의 제조를 위한 본 발명 화합물의 용도를 제공한다.
- [0040] 당해 분야의 숙련가들은 본 발명에서 치료에 관한 것을 감염에 대한 예방뿐만 아니라 확립된 감염 또는 증상의 치료로 확장시킴을 알 것이다.
- [0041] 본 발명의 화합물을 또한 진단 방법, 특히 인플루엔자 바이러스의 검출 방법에 사용할 수 있다. 상기와 같은 방법에 사용하기 위해서, 본 발명의 화합물을 표지, 예를 들어 방사성, 형광 또는 화학발광 표지에 결합시키는 것이 유리할 수 있다.
- [0042] 본 발명의 화합물이 적합한 진단 방법들이 예를 들어 본 출원인들의 선행 출원인 PCT/AU97/00109 및 PCT/AU97/00771에 개시되어 있다.
- [0043] 다섯 번째 태양에서, 본 발명은 본 발명의 화합물을 바이러스를 함유하는 것으로 의심이 가는 샘플과 접촉시키는 단계를 포함하는 바이러스 감염의 검출 방법을 제공한다.
- [0044] 치료에 사용하는데 필요한 본 발명 화합물의 양은 선택되는 특정 화합물뿐만 아니라 투여 경로, 치료하려는 상태의 성질, 및 환자의 연령 및 조건에 따라 변할 것이며, 최종적으로는 주치의나 수의학자의 재량에 있음을 또한 알 것이다. 그러나, 일반적으로 적합한 용량은 약 0.001 내지 100 mg/체중 kg/일, 바람직하게는 0.01 내지 10 mg/kg/일, 가장 바람직하게는 0.1 내지 1 mg/kg/일의 범위일 것이다.
- [0045] 치료를 바람직하게는 감염 전 또는 감염 시에 개시하여 바이러스가 호흡기 관에 더 이상 존재하지 않을 때까지 지속시킨다. 그러나, 상기 화합물은 또한 감염 후, 예를 들어 확립된 증상이 나타난 후에 효과적이다.
- [0046] 적합한 치료는 1 내지 2 회, 바람직하게는 오직 치료를 위해서는 단지 1 회, 및 바람직하게는 예방을 위해 1 주

일에 1 회 제공된다.

- [0047] 상기 화합물을 편의상 예를 들어 단위 투여형 당 1 내지 100 mg, 보다 편리하게는 1 내지 20 mg의 유효 성분을 함유하는 단위 투여형으로 투여한다.
- [0048] 치료에 사용하기 위해서는 본 발명의 화합물을 원료 화합물질로서 투여하는 것도 가능하지만, 유효 성분을 약학 제형으로서 제공하는 것이 바람직하다.
- [0049] 따라서 여섯 번째 태양에서 본 발명은 화학식 I의 화합물 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 유도체를 그의 하나 이상의 약학적으로 허용 가능한 담체, 및 임의로 다른 치료학적 및/또는 예방학적 성분들과 함께 포함하는 약학 제형을 제공한다. 상기 담체(들)는 제형 중의 다른 성분들과 혼화성이고 그의 수용자에게 유해하지 않다는 의미에서 "허용 가능"해야 한다.
- [0050] 본 발명의 화합물을 또한 다른 치료제 및/또는 예방제, 예를 들어 다른 감염 억제제와 함께 사용할 수 있다. 특히 본 발명의 화합물을 다른 항바이러스제와 함께 사용할 수 있다. 따라서, 일곱 번째 태양에서 본 발명은 화학식 I의 화합물 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 유도체를 또 다른 치료학적 및/또는 예방학적으로 활성인 작용제, 특히 항바이러스제와 함께 포함하는 배합물을 제공한다.
- [0051] 상기 언급한 배합물은 편의상 약학 제형의 형태로 제공될 수 있으며, 따라서 상기 정의한 바와 같은 배합물을 그의 약학적으로 허용 가능한 담체와 함께 포함하는 상기와 같은 제형은 본 발명의 추가의 태양을 나타낸다.
- [0052] 상기와 같은 배합물에 사용하기 적합한 치료제 및/또는 예방제로는 다른 감염 억제제, 특히 항균제 및 항바이러스제, 예를 들어 호흡기 감염의 치료에 사용되는 것들이 있다. 예를 들어, 인플루엔자 바이러스에 대해 효과적인 다른 화합물 또는 백신, 예를 들어 상기에서 언급한 시알산 동족체, 예를 들어 자나미비어, 오셀타미비어, 아만타딘, 리만타딘 및 리바비린 및 플루백스(FluVax)를 상기와 같은 배합물에 포함시킬 수 있다.
- [0053] 상기와 같은 배합물의 개별적인 성분들을 별도로, 연속적으로 또는 동시에 별도의 또는 결합된 약학 제형으로 투여할 수 있다.
- [0054] 본 발명의 화합물을 동일한 바이러스에 대해 활성인 제 2 치료제 및/또는 예방제와 함께 사용하는 경우, 각 화합물의 용량은 상기 각 화합물이 단독으로 사용되는 경우와 동일하거나 또는 이와 상이할 수 있다. 적합한 용량을 당해 분야의 숙련가들은 쉽게 알 것이다.
- [0055] 약학 제형은 경구, 직장, 코, 국소(구강 및 설하 포함), 질 또는 비 경구(근육 내, 피하 및 정맥 내) 투여에 적합한 것, 또는 예를 들어 흡입 또는 취입에 의해 호흡기 관(코 통로 포함)에 투여하기 적합한 형태의 것들을 포함한다. 상기 제형은 경우에 따라 편의상 별도의 투여 단위로 존재하며, 제약 분야에 널리 공지된 임의의 방법에 의해 제조될 수 있다. 상기 방법은 유효 화합물을 액체 담체 또는 미분된 고체 담체 또는 이들 모두와 합하고, 이어서 경우에 따라 생성물을 목적하는 제형으로 성형시키는 단계를 포함한다.
- [0056] 경구 투여에 적합한 약학 제형을 편의상 소정량의 유효 성분을 각각 함유하는 캡슐, 교각 또는 정제와 같은 별도의 단위로서; 분말 또는 과립으로서; 용액, 현탁액 또는 유화액으로서 제공할 수 있다. 상기 유효 성분을 또한 환괴, 연약 또는 페이스트로서 제공할 수도 있다. 경구 투여용 정제 및 캡슐은 통상적인 부형제, 예를 들어 결합제, 충전제, 윤활제, 붕해제 또는 습윤제를 함유할 수 있다. 상기 정제를 당해 분야에 널리 공지된 방법에 따라 코팅할 수도 있다. 경구 액체 제제는 예를 들어 수성 또는 유질 현탁액, 용액, 유화액, 시럽 또는 엘릭서의 형태이거나, 또는 사용 전에 물 또는 다른 적합한 비히클로 조성하기 위한 건조 제품으로서 제공될 수 있다. 상기와 같은 액체 제제는 통상적인 첨가제, 예를 들어 현탁제, 유화제, 비 수성 비히클을 함유할 수 있으며, 이들은 식용 오일 또는 보존제를 포함할 수 있다.
- [0057] 본 발명에 따른 화합물을 또한 주사, 예를 들어 일시 주사, 또는 연속적인 주입에 의해 비 경구 투여용으로 제형화할 수 있으며, 앰플, 사전 충전된 주사기, 작은 부피의 주입, 또는 보존제가 첨가된 다 용량 용기의 단위 투여형으로 제공할 수 있다. 상기 조성물은 유성 또는 수성 비히클 중의 현탁액, 용액 또는 유화액과 같은 형태를 취할 수 있으며, 현탁제, 안정화제 및/또는 분산제와 같은 제형화제를 함유할 수도 있다. 한편으로, 유효 성분은 사용 전에 적합한 비히클, 예를 들어 멸균의 발열물질 비 함유 수로 조성하기 위해, 멸균 고체의 무균적 단리 또는 용액으로부터의 동결건조에 의해 수득된 분말 형태일 수 있다.
- [0058] 표피로의 국소 투여를 위해서, 본 발명에 따른 화합물을 연고, 크림 또는 로션으로서, 또는 경피 패치로서 제형화할 수 있다. 연고 및 크림은 예를 들어 적합한 증점제 및/또는 겔화제를 첨가하여 수성 또는 유성 베이스와 함께 제형화할 수 있다. 로션을 수성 또는 유성 베이스와 함께 제형화할 수 있으며, 이는 일반적으로 하나 이

상의 유화제, 안정화제, 분산제, 현탁제, 증점제 또는 착색제를 또한 함유할 것이다.

- [0059] 구강 내의 국소 투여에 적합한 제형은 풍미 베이스, 대개는 슈크로즈 및 아카시아 검 또는 트라가칸트 검 중에 유효 성분을 포함하는 로젠지; 불활성 베이스, 예를 들어 젤라틴 또는 슈크로즈 및 아카시아 검 중에 유효 성분을 포함하는 향정; 및 적합한 액체 담체 중에 유효 성분을 포함하는 구강 청정제를 포함한다.
- [0060] 직장 투여에 적합한 약학 제형(이때 담체는 고체이다)은 단위 용량 좌약으로서 제공되는 것이 가장 바람직하다. 적합한 담체로는 코코아 버터 및 당해 분야에 통상적으로 사용되는 다른 물질이 있으며, 좌약을 편의상 유효 화합물과 연화되거나 용융된 담체(들)와의 혼합에 이어 냉장 및 금형 성형에 의해 제조할 수 있다.
- [0061] 질 투여에 적합한 제형은 유효 성분 이외에 당해 분야에 적합한 것으로 공지된 상기와 같은 담체를 함유하는 페서리, 탐폰, 크림, 젤, 페이스트, 포움 또는 스프레이로서 제공될 수 있다.
- [0062] 비 내 투여를 포함하여 호흡기 관에 투여하기 위해, 뉴라미니다제 억제제를 호흡기 관에의 투여에 대해 당해 분야에서 사용되는 임의의 방법 및 제형에 의해 투여할 수 있다.
- [0063] 따라서, 일반적으로 상기 화합물을 용액 또는 현탁액의 형태로 또는 건조 분말의 형태로서 투여할 수 있다.
- [0064] 용액 및 현탁액은 일반적으로 수성이며, 예를 들어 물 단독(예를 들어 멸균수 또는 발열원이 없는 수) 또는 물 및 생리학적으로 허용 가능한 공용매(예를 들어 에탄올, 프로필렌 글리콜 또는 폴리에틸렌 글리콜, 예를 들어 PEG 400)로부터 제조될 것이다.
- [0065] 상기와 같은 용액 또는 현탁액은 다른 부형제들, 예를 들어 보존제(예: 벤즈알코늄 클로라이드), 가용화제/계면활성제, 예를 들어 폴리소르베이트(예: 트윈 80, 스판 80, 벤즈알코늄 클로라이드), 완충제, 등장성 조절제(예: 염화 나트륨), 흡수 촉진제 및 점도 향상제를 추가로 함유할 수도 있다. 현탁액은 현탁제(예: 미정질 셀룰로즈, 카복시메틸 셀룰로즈 나트륨)를 추가로 함유할 수 있다.
- [0066] 용액 또는 현탁액을 통상적인 수단에 의해, 예를 들어 점적기, 피펫 또는 스프레이를 사용하여 비 강에 직접 적용한다. 상기 제형을 단일 형태 또는 다 용량 형태로 제공할 수 있다. 상기 다 용량 형태의 경우에 바람직하게는 용량 계량 수단을 제공한다. 점적기 또는 피펫의 경우에는 이를 환자가 적합한 조정 부피의 용액 또는 현탁액을 투여함으로써 수행한다. 스프레이의 경우에는 이를 예를 들어 계량 분무 스프레이 펌프에 의해 수행한다.
- [0067] 호흡기 관에의 투여를 또한 화합물이 적합한 분사제, 예를 들어 클로로플루오로카본(CFC), 예를 들어 디클로로디플루오로메탄, 트리클로로플루오로메탄 또는 디클로로테트라플루오로에탄, 이산화 탄소 또는 다른 적합한 기체로 가압된 팩에 제공되어 있는 에어로졸 제형에 의해 수행할 수 있다. 상기 에어로졸은 편의상 또한 레시틴과 같은 계면활성제를 함유할 수도 있다. 상기 약물의 용량을 계량된 밸브를 설치하여 조절할 수 있다.
- [0068] 한편으로, 상기 화합물을 건조 분말, 예를 들어 적합한 분말 베이스, 예를 들어 락토오스, 전분, 전분 유도체, 예를 들어 하이드록시프로필메틸 셀룰로즈 및 폴리비닐피롤리딘(PVP) 중의 화합물의 분말 믹스의 형태로 제공할 수 있다. 편의상 상기 분말 담체는 비 강에서 젤을 형성할 것이다. 상기 분말 조성물은 단위 투여형, 예를 들어 젤라틴의 캡슐 또는 카트리지로, 또는 분말이 흡입기에 의해 투여될 수 있는 발포 팩으로 제공될 수 있다.
- [0069] 호흡기관에 투여하도록 되어 있는 제형, 예를 들어 비 내 제형에서, 화합물은 일반적으로 작은 입자 크기, 예를 들어 5 μ 이하 정도의 크기를 가질 것이다. 상기와 같은 입자 크기는 당해 분야에 공지된 수단, 예를 들어 미분화에 의해 얻을 수 있다.
- [0070] 경우에 따라, 유효 성분의 지속적인 방출을 제공하기에 적합한 제형을 사용할 수 있다.
- [0071] 바람직하게는 본 발명의 화합물을 흡입, 취입 또는 비내 투여, 또는 이들의 조합에 의해 호흡기관에 투여한다.
- [0072] "렐렌자"를 "디스크흡입기(Diskhaler)"(GlaxoSmithKline group of companies의 상표명)를 통해 자유 흐름 분말로서 경구 흡입에 의해 투여한다. 유사한 제형이 본 발명에 적합할 것이다.
- [0073] 따라서, 본 발명의 여덟 번째 태양에 따라 상기 정의한 바와 같은 제형을 함유하는 흡입기를 제공한다.
- [0074] 상기 흡입기가 또한 용량 계량 에어로졸 흡입기의 형태일 수 있음을 알 것이다.
- [0075] 본 명세서의 목적을 위해서, "포함하는"이란 어구가 "비 제한적으로 포함하는"을 의미하며 "포함한다"라는 어구가 상응하는 의미를 가짐을 분명히 이해할 것이다.

[0076] 비 제한적으로 특허 및 특허 출원을 포함하여, 본 명세서에 인용된 모든 공보들은 각각의 개별적인 공보가 본 발명에 참고로 인용됨을 구체적이고 개별적으로 언급한 바와 같이 충분히 본 발명에 참고로 인용된다.

발명의 상세한 설명

[0077] 이제 본 발명을 오직 하기의 비 제한적인 실시예만을 참고로 상세히 개시할 것이다.

[0078] 기계적 방법

[0079] 방법 A(LC/MS)

[0080] 양이온 전기분무 방식으로 작동되는 마이크로매스 플랫폼 II 질량 분광계, 질량 범위 100 - 1000 amu.

[0081] 컬럼: 3.3 cm x 4.6 mm ID, 3 μ m ABZ + PLUS

[0082] 유속: 3 ml/분

[0083] 주입 부피: 5 μ l

[0084] 용매 A: 95% 아세토니트릴 + 0.05% 포름산

[0085] 용매 B: 0.1% 포름산 + 10 밀리몰 암모늄 아세테이트

[0086] 구배: 0% A/0.7 분, 0 - 100% A/3.5 분, 100% A/1.1 분, 100 - 0% A/0.2 분

[0087] 방법 B(LC/MS)

[0088] 양이온 전기분무 방식으로 작동되는 워터스 ZQ 질량 분광계, 질량 범위 100 - 1000 amu.

[0089] 컬럼: 3.3 cm x 4.6 mm ID, 3 μ m ABZ + PLUS

[0090] 유속: 3 ml/분

[0091] 주입 부피: 5 μ l

[0092] 용매 A: 95% 아세토니트릴 + 0.05% 포름산

[0093] 용매 B: 0.1% 포름산 + 10 밀리몰 암모늄 아세테이트

[0094] 구배: 0% A/0.7 분, 0 - 100% A/3.5 분, 100% A/1.1 분, 100 - 0% A/0.2 분

[0095] 방법 C(자동 예비 HPLC)

[0096] 사용된 예비 컬럼은 Supelcosil ABZplus(10 cm x 2.12 cm)였다.

[0097] UV 파장: 230 nm

[0098] 유속: 4 ml/분

[0099] 주입 부피: 2 ml

[0100] 용매 A: 아세토니트릴 + 0.05% TFA

[0101] 용매 B: 물 + 0.1% TFA

[0102] 구배: 5-40% A/20 분, 40% A/20 분, 40-100% A/0.3 분, 100% A/15 분, 100-0% A/3 분

[0103] 방법 D(질량 지시된 자동 예비 HPLC)

[0104] 사용된 예비 컬럼은 Supelcosil ABZplus(10 cm x 2.12 cm)였다.

[0105] UV 파장: 200-320 nm

- [0106] 유속: 20 ml/분
- [0107] 주입 부피: 1 ml
- [0108] 용매 A: 0.1% 포름산
- [0109] 용매 B: 95% 아세트니트릴 + 5% 포름산
- [0110] 구배: 100% A/1 분, 100-80% A/9 분, 80-1% A/3.5 분, 1% A/1.4 분, 1-100% A/0.1 분

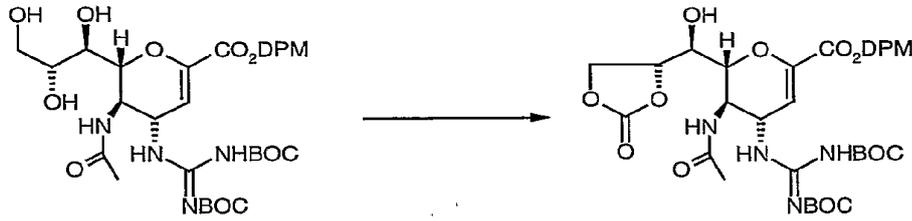
- [0111] 방법 E(예비 HPLC)
- [0112] 사용된 예비 컬럼은 Dynamax 60 Å C18(25 cm x 4.14 cm)였다.
- [0113] UV 파장: 230 nm
- [0114] 유속: 40 ml/분
- [0115] 용매 A: 아세트니트릴 + 0.05% 포름산
- [0116] 용매 B: 물 + 0.1% TFA
- [0117] 구배: 0-50% A/25 분, 50-100% A/0.3 분, 100% A/15 분, 100-0% A/3 분

- [0118] 방법 F(예비 HPLC)
- [0119] 사용된 예비 컬럼은 Kromasil C18(20 cm x 5 cm)였다.
- [0120] UV 파장: 230 nm
- [0121] 유속: 80 ml/분
- [0122] 용매 A: 1% TFA
- [0123] 용매 B: 80% 아세트니트릴 + 1% TFA
- [0124] 구배: 0-100% B/70 분
- [0125] HPLC에 따라, 적합한 분획들을 합하고 휘발성 성분들을 감압 하에서 증발에 의해 제거하였다. 수성 물질을 암 버크롬(Amberchrom) CG-161 수지(10 x 2.5 cm)에 적용시키고 이를 물(500 ml), 이어서 2:2:1의 아세트니트릴:MeOH:물의 혼합물(500 ml)로 용출시켰다.

- [0126] 약어
- [0127] TFA 트리플루오로아세트산
- [0128] DMAP 4-디메틸아미노피리딘
- [0129] DCM 디클로로메탄
- [0130] EtOAc 에틸 아세테이트
- [0131] Et₂O 디에틸 에테르
- [0132] MeOH 메탄올
- [0133] HPLC 고 성능 액체 크로마토그래피
- [0134] DPM 디페닐메틸
- [0135] SPE 고상 추출
- [0136] NMR 핵 자기 공명

[0137] LC/MS 액체 크로마토그래피/질량 분광학

[0138] 중간체 1

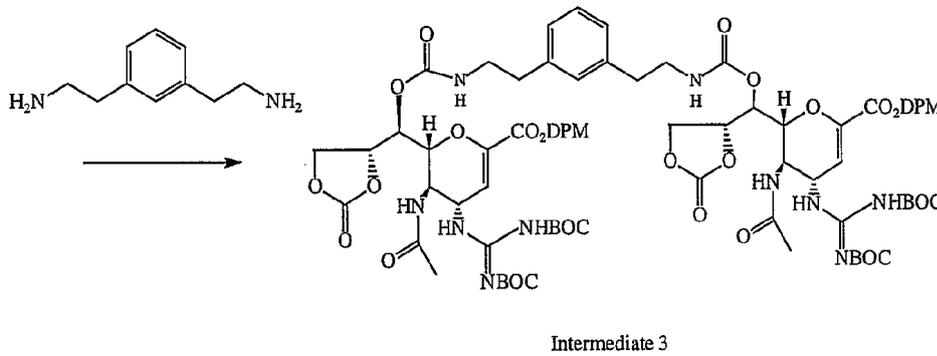
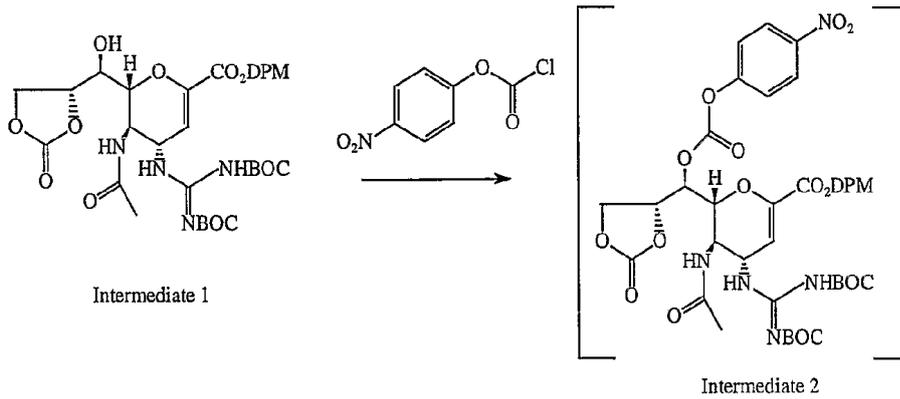


Intermediate 1

[0139]

[0140] 벤즈히드릴 (2R,3R,4S)-3-(아세틸아미노)-4-({(E)-[(3급-부톡시카보닐)아미노][(3급-부톡시카보닐)이미노]메틸}아미노)-2-[(1R,2R)-1,2,3-트리하이드록시프로필]-3,4-디하이드로-2H-피란-6-카복실레이트(문헌[J. Med. Chem. 1998, 41, 787-797] 참조)(12.38 g; 17.7 밀리몰)를 실온에서 질소 하에 무수 아세트니트릴(130 ml)에 용해시켰다. 상기 용액을 교반하고 1,1'-카보닐디이미다졸(2.87 g; 17.7 밀리몰)을 가하였다. 16 시간 후에, LC/MS는 출발 트리올의 존재를 보였으며 따라서 추가로 1,1'-카보닐디이미다졸(총 0.493 g; 3 밀리몰)을 가하였다. 수 시간 후에 LC/MS는 트리올이 존재하지 않음을 보였다. 용매를 증발시키고 잔사를 실리카 상에서 1:1 에틸 아세테이트/40-60 석유 에테르로 용출시키면서 플래시 컬럼 크로마토그래피에 의해 정제시켰다. 생성물을 함유하는 분획들을 증발시키고 이어서 디클로로메탄에 용해시키고, 황산 나트륨으로 건조시키고, 여과하고 증발시켜 회색 고체로서 중간체 1(벤즈히드릴 (2R,3R,4S)-3-(아세틸아미노)-4-({[(3급-부톡시카보닐)아미노][(3급-부톡시카보닐)이미노]메틸}아미노)-2-((S)-하이드록시[(4R)-2-옥소-1,3-디옥솔란-4-일]메틸)-3,4-디하이드로-2H-피란-6-카복실레이트)(11.05 g; 86%)를 수득하였다.

[0141] 중간체 3



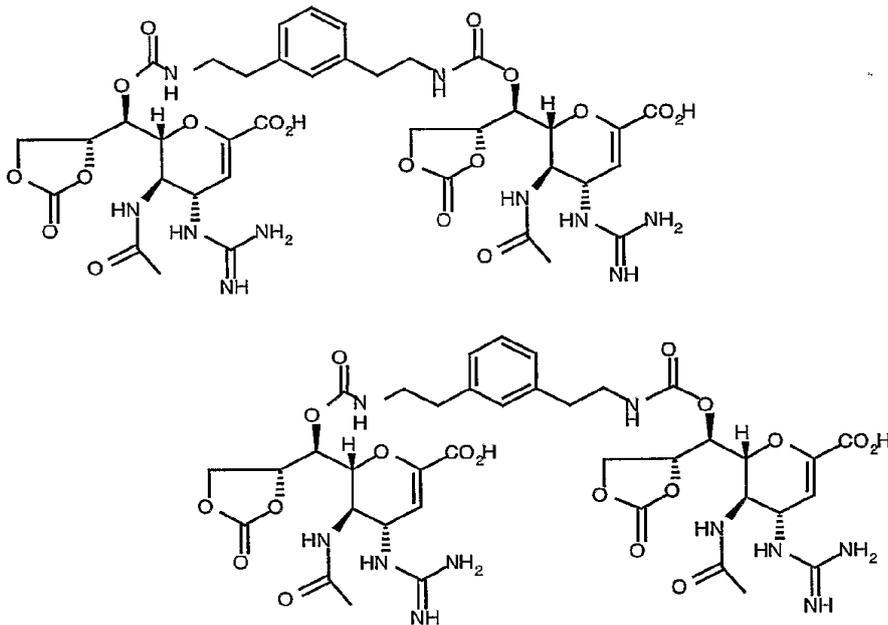
[0142]

[0143] 중간체 1(2.0 g, 2.76 밀리몰)을 무수 톨루엔(3 x 20 ml)과의 공비 증류에 의해 건조시키고, 이어서 무수 피리딘(8 ml)에 용해시켰다. 여기에 DMAP(1.01 g, 8.29 밀리몰) 및 p-니트로페닐 클로로포르메이트(0.67 g, 3.3 밀리몰)를 가하고 상기 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 추가 분취량의 p-니트로페닐 클로로포르메이트(0.28 g, 1.38 밀리몰)를 가하고 2 시간 동안 계속 교반하였다. LCMS(방법 B)는 중간체 2에 상응하게 MH^+ = 890; T_{RET} = 4.19 분을 나타내었다.

[0144]

1 회 분취량의 상기 혼합물(1.6 ml)을 또 다른 반응 용기로 옮기고 DMAP(0.20 g; 1.66 밀리몰), 트리에틸아민(0.08 ml, 0.55 몰), 이어서 1,3-벤젠디에탄아민 디하이드로클로라이드(65 mg, 0.27 밀리몰)[제법에 대해서 문헌[Chem. Ber. 1984, 117(4), 1487-1496]을 참조하십시오]로 처리하고 상기 혼합물을 70 시간 동안 교반하고 이어서 진공 하에서 농축시키고 DCM(10 ml)과 물(5 ml) 사이에 분배시켰다. 유기 층을 소수성 프릿 카트리지를 사용하여 분리시켰다. 상기 DCM 층을 질소 하에서 취입에 의해 농축시키고, 이어서 5 g 실리카 SPE 카트리지에 걸어 먼저 사이클로헥산:Et₂O(1:1), 이어서 Et₂O, 이어서 Et₂O:EtOAc(9:1), 이어서 Et₂O:EtOAc(5:1), 이어서 Et₂O:EtOAc(3:1), 이어서 Et₂O:EtOAc(1:1), 및 최종적으로 EtOAc로 용출시켜 백색 고체로서 중간체 3(0.29 g; 63% 수율)을 수득하였다. LC/MS(방법 A)는 $(M+2H^+)/2$ = 834; T_{RET} = 4.56 분을 나타내었다.

[0145] 중간체 4



Intermediate 4

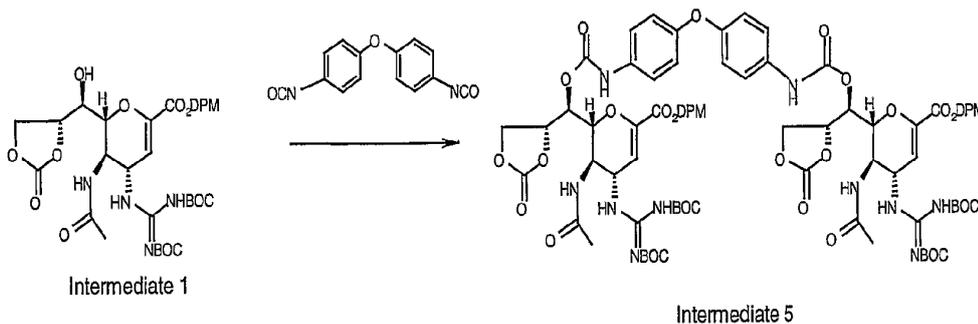
[0146]

[0147]

중간체 3(0.29 g, 0.2 밀리몰)을 10:1의 DCM:아니솔 혼합물(0.80 ml)에 용해시키고 TFA(0.73 ml)로 처리하였다. 생성 용액을 실온에서 2 시간 동안 교반하고 이어서 질소 하에서 취입에 의해 증발 건조시켰다. 잔사를 디에틸 에테르로 연마하여 백색 고체로서 중간체 4의 비스-TFA 염(0.142 g, 76% 수율)을 수득하였다. LC/MS(방법 B)는 $(M+2H^+)/2 = 467$; $T_{RET} = 2.05$ 분을 나타내었다.

[0148]

중간체 5

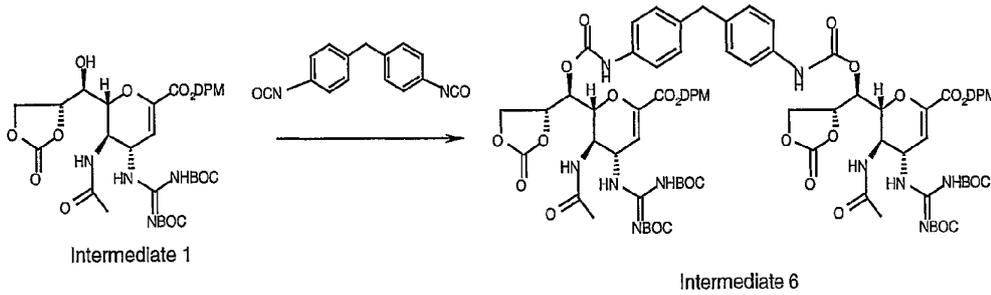


[0149]

[0150]

중간체 1(0.10 g, 0.14 밀리몰)을 무수 톨루엔과의 3 회 공비 증류에 의해 건조시키고, 이어서 무수 DCM(0.5 ml)에 용해시켰다. 생성 용액에 DMAP(0.005 g, 촉매), 이어서 1,1'-옥시비스[4-이소시아네이토벤젠](0.012 g, 0.046 밀리몰) 및 약간의 3 Å 분자 체 펠릿을 가하였다. 혼합물을 밤새 환류시키고 이어서 냉각시키고 5 g 실리카 SPE 카트리지에 직접 걸었다. 이를 먼저 Et₂O(10 x 20 ml), 이어서 EtOAc(5 x 20 ml)로 용출시켜 무색 유리로서 중간체 5(0.025 g, 33% 수율)를 수득하였다. LC/MS(방법 A)는 $(M+2H^+)/2 = 852$; $T_{RET} = 4.55$ 분을 나타내었다.

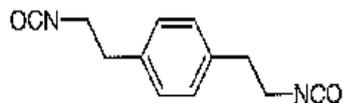
[0151] 중간체 6



[0152]

[0153] 중간체 1(4.0 g, 5.6 밀리몰)을 무수 톨루엔과의 공비 증류에 의해 건조시키고 이어서 무수 DCM(5 ml)에 용해시켰다. 생성 용액에 질소 하에서 교반하면서 4,4'-메틸렌비스[페닐이소시아네이트](0.48 g, 1.9 밀리몰), 약간의 3 Å 분자 체 펠릿 및 DMAP(0.2 g, 1.9 촉매)를 가하고, 이어서 상기 혼합물을 20 시간 동안 환류시켰다. 냉각시킨 후에 상기 혼합물을 진공 하에서 농축시키고 실리카 상에서 플래시 컬럼 크로마토그래피에 의해 정제시켰다. 용출을 먼저 DCM, 이어서 Et₂O, 이어서 Et₂O:EtOAc(95:5), Et₂O:EtOAc(90:10) 및 Et₂O:EtOAc(80:20)로 순차적으로 용출시켜 백색 고체로서 중간체 6(2.60 g, 80% 수율)을 수득하였다. LC/MS(방법 B)는 (M+2H⁺)/2 = 850; T_{RET} = 4.57 분을 나타내었다.

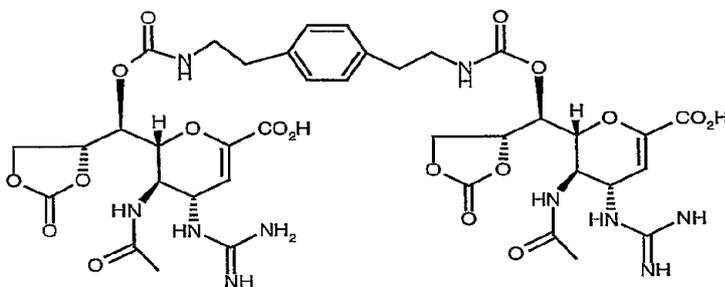
[0154] 중간체 7



[0155]

[0156] 1,4-페닐렌디프로피온산(0.50 g, 2.25 밀리몰)을 톨루엔과 공비증류시키고 이어서 약간의 3 Å 분자 체 펠릿 상에서 디옥산(5 ml)에 현탁시키고 질소 하에서 10 분간 교반하였다. 트리에틸아민(0.68 ml, 4.90 밀리몰)을 가하고, 이어서 디페닐포스포릴 아지드(0.96 ml, 4.50 밀리몰)를 가하고, 상기 혼합물을 실온에서 2 시간 동안 교반하였다. 이어서 상기 온도를 80 °C로 상승시키고 상기 혼합물을 45 분간 교반한 후에 냉각시키고 여과하여 불용성 물질을 제거하였다. 고체를 석유 에테르(40-60 °C)로 세척하고 합한 여액을 진공 하에서 농축시켰다. 생성 오일을 석유 에테르(40-60 °C)로 추출하여 무색 오일로서 중간체 7(0.12 g, 25% 수율)을 수득하였다. ¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7.12(s, 4H), 3.45(t, 4H), 2.83(t, 4H).

[0157] 중간체 8

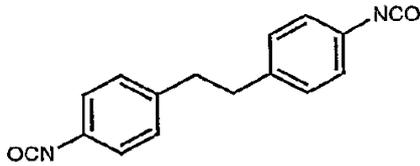


[0158]

[0159] 완전히 보호된 중간체 8을 중간체 5 및 6과 동일한 과정에 따라 중간체 7 및 1로부터 제조하고 이어서 하기와 같이 탈보호시켰다: (0.09 g, 0.05 밀리몰)을 DCM(0.37 ml)과 아니솔(0.037 ml)의 혼합물에 용해시키고 빙욕에서 냉각시켰다. 혼합물을 TFA(0.37 ml)로 처리하고 생성 용액을 실온으로 가온하고, 이어서 2.5 시간 동안 교반한 후에 진공 하에서 농축시켰다. 상기 혼합물을 Et₂O로 연마시켜 백색 고체로서 중간체 8의 비스-TFA 염

(0.05 g; 93% 수율)을 수득하였다. LC/MS(방법 B)는 $(M+2H^+)/2 = 467$; $T_{RET} = 2.01$ 분을 나타내었다.

[0160] 중간체 9



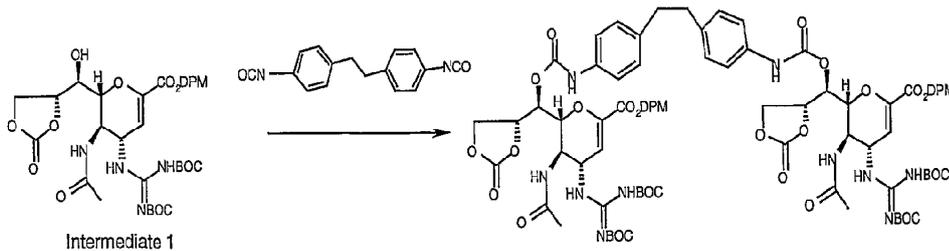
Intermediate 9

[0161]

[0162] 무수 톨루엔(100 ml) 중의 4,4'-에틸렌 디아닐린(0.50 g, 2.36 밀리몰) 용액을 트리포스겐(1.40 g, 4.70 밀리몰)으로 처리하고 혼합물을 4 시간 동안 가열 환류(120 °C)시켰다. 상기 혼합물을 냉각시키고 중력 하에서 여과하여 불용성 잔사를 제거하였다. 여액을 진공 하에서 농축시켜 황색 고체로서 중간체 9(0.54 g, 86% 수율)를 수득하였다.

[0163] 1H NMR(400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 6.98-7.05(8H, ABq) 및 2.86(4H, s)

[0164] 중간체 10



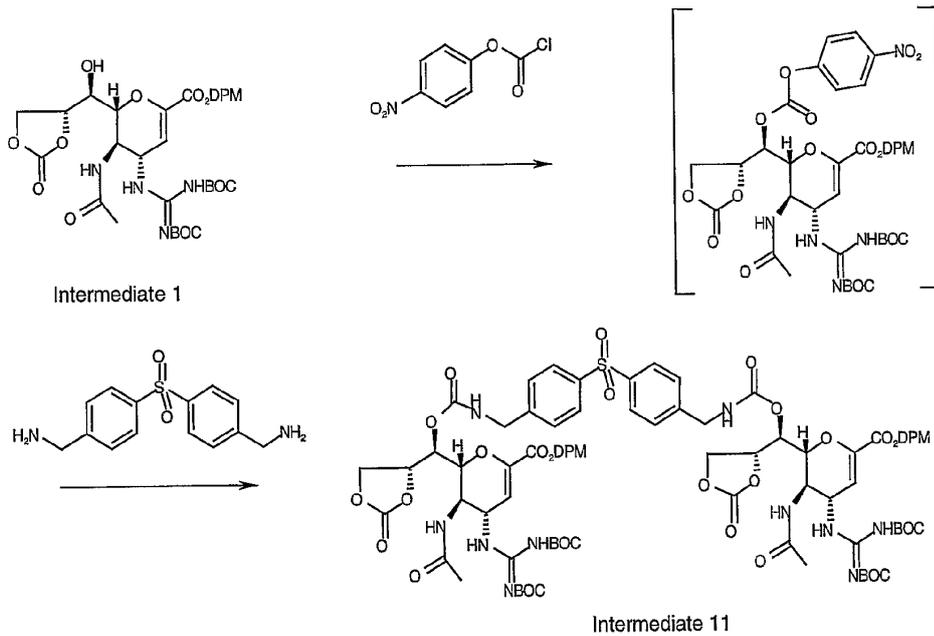
Intermediate 10

[0165]

[0166] 중간체 1(0.40 g, 0.56 밀리몰)을 무수 톨루엔으로부터 2 회 공비 증류시키고 이어서 무수 DCM(0.4 ml)에 용해시켰다. 생성 용액에 DMAP(0.02 g, 촉매)를 가하고 이어서 중간체 9(0.05 g, 0.19 밀리몰) 및 약간의 3 Å 분자체 펠릿을 가하였다. 상기 혼합물을 18 시간 동안 환류시키고 이어서 40 g 바이오테이지 카트리지에 직접 걸었다. 이를 $Et_2O:EtOAc(6:1)$ 로 용출시켜 백색 고체로서 중간체 10(0.10 g, 31% 수율)을 수득하였다.

LC/MS(방법 B)는 $(M+2H^+)/2 = 858$; $T_{RET} = 4.57$ 분을 나타내었다.

[0167] 중간체 11



[0168]

[0169] 중간체 1(2.0 g, 2.76 밀리몰)을 무수 톨루엔으로부터 3 회 공비 증류에 의해 건조시키고, 이어서 무수 피리딘 (8 ml)에 용해시켰다. 여기에 DMAP(1.01 g, 8.29 밀리몰) 및 p-니트로페닐 클로로포르메이트(0.67 g, 3.30 밀리몰)를 가하고 혼합물을 실온에서 18 시간 동안 교반하였다. 추가 분취량의 p-니트로페닐 클로로포르메이트(0.28 g, 1.38 밀리몰)를 가하고 2 시간 동안 계속 교반하였다. LC/MS(방법 B)는 중간체 2에 상응하게 MH^+ = 890; T_{RET} = 4.19 분을 나타내었다.

[0170]

1 회 분취량의 상기 혼합물(1.6 ml)을 또 다른 반응 용기로 옮기고 DMAP(0.20 g, 1.66 밀리몰), 트리에틸아민 (0.08 ml, 0.55 밀리몰), 이어서 4,4'-설포닐비스-벤질아민 디하이드로클로라이드(0.10 g, 0.28 밀리몰)[제법에 대해서 문헌[J. Chem. Soc., 1946, 466]을 참조하시오]로 처리하고 혼합물을 70 시간 동안 교반하였다. 상기 혼합물을 진공 하에서 농축시켜 DCM(10 ml)과 물(5 ml) 사이에 분배시켰다. 상기 두 상을 50 ml 소수성 프릿 카트리지를 사용하여 분리시켰다. 상기 DCM 층을 질소 하에서 취입에 의해 농축시키고, 이어서 5 g 실리카 SPE 카트리지에 걸어 먼저 사이클로헥산:Et₂O(1:1), 이어서 Et₂O, 이어서 Et₂O:EtOAc(9:1), 이어서 Et₂O:EtOAc(5:1), 이어서 Et₂O:EtOAc(3:1), 이어서 Et₂O:EtOAc(1:1), 및 최종적으로 EtOAc로 용출시켜 회색 고체로서 중간체 11(0.15 g; 30% 수율)을 수득하였다. LC/MS(방법 A)는 $(M+2H^+)/2 = 890$; $T_{RET} = 4.47$ 분을 나타내었다.

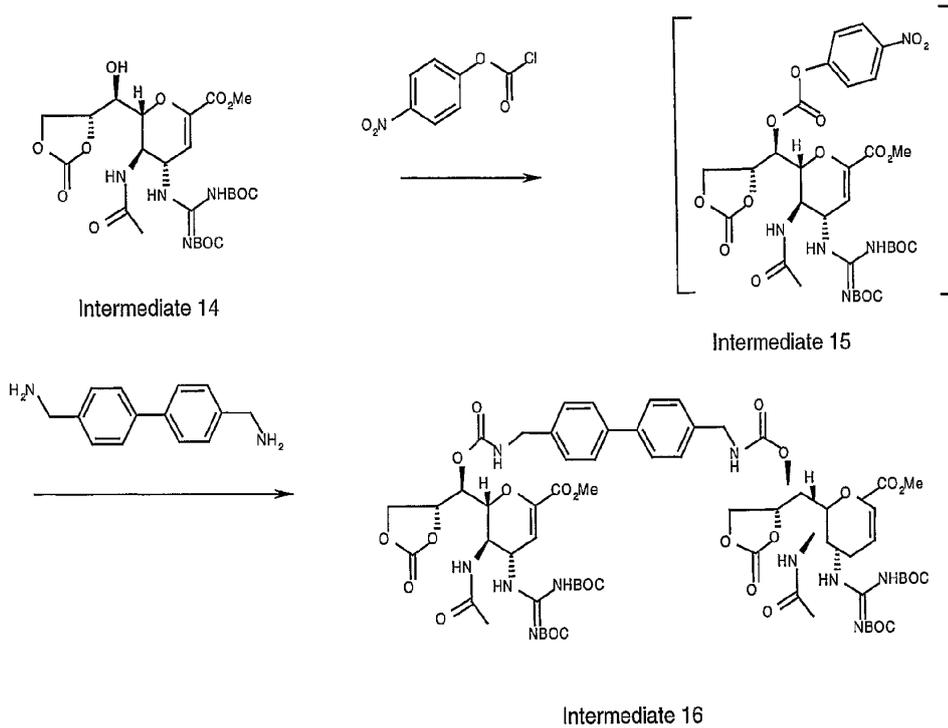
[0171]

유사하게 하기를 제조하였다:

[0172]

X	출발 아민	생성물	LC/MS 방법	$(M+2H^+)/2$	T_{RET} (분)
O	4,4'-옥시비스벤질아민 디하이드로클로라이드(Chem. Comm., 1998, 2297-2298)	중간체 12	A	866	4.48
CH ₂	4,4'-메틸렌비스벤질아민 디하이드로클로라이드(J. Med. Chem., 1998, 41, 2-5)	중간체 13	A	865	4.51

[0173] 중간체 16



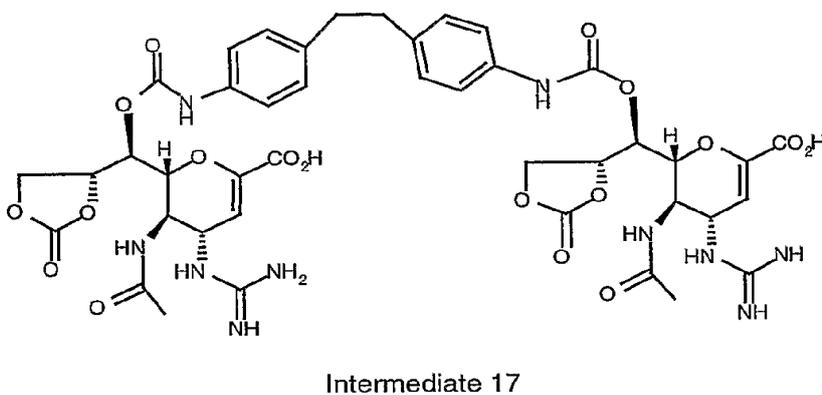
[0174]

[0175] 중간체 14(2.74 g, 4.79 밀리몰)를 무수 톨루엔으로부터 4 회 공비 증류에 의해 건조시키고, 이어서 무수 피리딘(13.75 ml)에 용해시켰다. 여기에 DMAP(1.46 g, 11.98 밀리몰) 및 p-니트로페닐 클로로포르메이트(1.06 g, 5.27 밀리몰)를 가하고 혼합물을 실온에서 3 시간 동안 교반하였다. LC/MS(방법 B)는 중간체 15에 상응하게 $MH^+ = 738$; $T_{RET} = 3.87$ 분을 나타내었다.

[0176]

이어서 상기 혼합물에 추가의 피리딘(8.25 ml)을 가하고 이어서 [1,1'-비스페닐]-4,4'-디메탄아민(0.51 g, 2.4 밀리몰)(문헌[J. Med. Chem., 2000, 43, 420-431]에 따라 제조)을 가하고 추가로 16 시간 동안 계속 교반하였다. 상기 혼합물을 진공 하에서 농축시키고 DCM 중의 용액으로서 90 g 실리카 바이오테이지 카트리지에 걸었다. 상기를 디에틸 에테르, 이어서 $Et_2O:EtOAc(1:1)$, 이어서 $Et_2O:EtOAc(1:2)$, 및 최종적으로 EtOAc로 용출시켜 백색 고체로서 중간체 16(1.92 g; 57% 수율)을 수득하였다. LC/MS(방법 A)는 $(M+2H^+)/2 = 705$; $T_{RET} = 3.96$ 분을 나타내었다.

[0177] 중간체 17

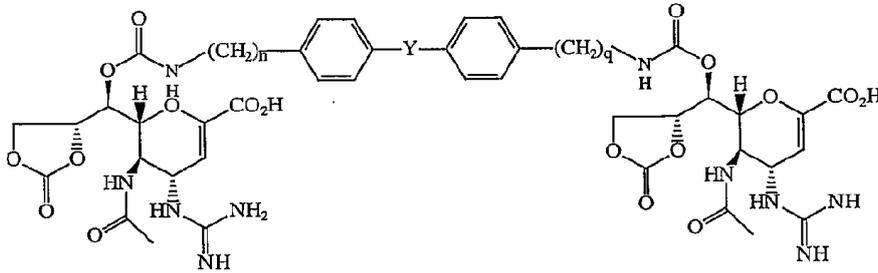


[0178]

[0179] 중간체 10(0.1 g, 0.06 밀리몰)을 유리 바이알 중에서 10:1의 DCM:아니솔 혼합물(0.44 ml)에 용해시키고

TFA(0.04 ml)로 처리하였다. 생성 용액을 실온에서 2 시간 동안 교반하고 이어서 진공 하에서 농축시켰다. 잔사를 디에틸 에테르로 연마시켜 백색 고체로서 중간체 17의 비스-TFA 염(0.06 g, 87% 수율)을 수득하였다. LC/MS(방법 A)는 $(M+2H^+)/2 = 491$; $T_{RET} = 2.38$ 분을 나타내었다.

[0180] 유사하게 하기를 제조하였다:



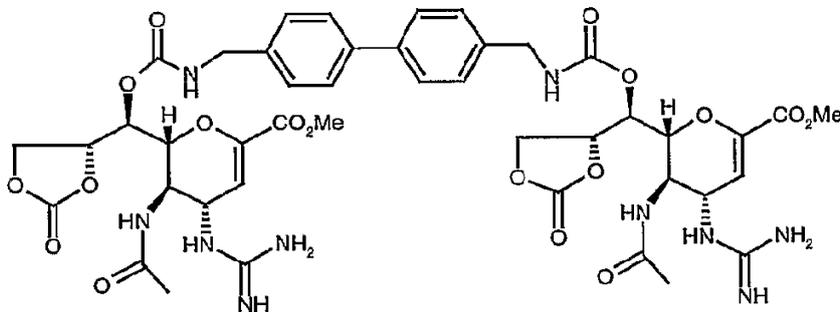
[0181]

[0182]

X	n	q	출발 물질	생성물	LC/MS 방법	$(M+2H^+)/2$	T_{RET} (분)
0	0	0	중간체 5	중간체 18	A	485	2.25
CH ₂	0	0	중간체 6	중간체 19	B	484	2.26
SO ₂	1	1	중간체 11	중간체 20	A	523	2.08
0	1	1	중간체 12	중간체 21	A	499	2.21
CH ₂	1	1	중간체 13	중간체 22	A	498	2.25

[0183]

중간체 23



[0184]

[0185]

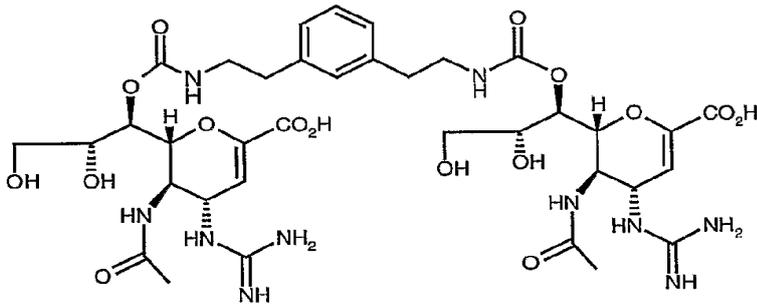
중간체 16(1.92 g, 1.36 밀리몰)을 10:1의 DCM:아니솔 혼합물(27.5 ml)에 용해시키고 TFA(25 ml)로 처리하였다. 생성 용액을 실온에서 2 시간 동안 교반하고 이어서 진공 하에서 농축시켰다. 잔사를 디에틸 에테르로 연마시켜 백색 고체로서 중간체 23의 비스-TFA 염(1.59 g, 94% 수율)을 수득하였다. LC/MS(방법 A)는 $(M+2H^+)/2 = 505$; $T_{RET} = 2.27$ 분을 나타내었다.

[0186]

실시예 1

[0187]

(2R,3R,4S)-3-(아세틸아미노)-2-((1R,2R)-1-(((2-(3-{2-[[{(1R,2R)-1-((2R,3R,4S)-3-(아세틸아미노)-4-[[아미노(이미노)메틸]아미노]-6-카복시-3,4-디하이드로-2H-피란-2-일)-2,3-디하이드록시프로필]옥시}카보닐)아미노]에틸]페닐)에틸]아미노)카보닐)옥시)-2,3-디하이드록시프로필)-4-[[아미노(이미노)메틸]아미노]-3,4-디하이드로-2H-피란-6-카복실산

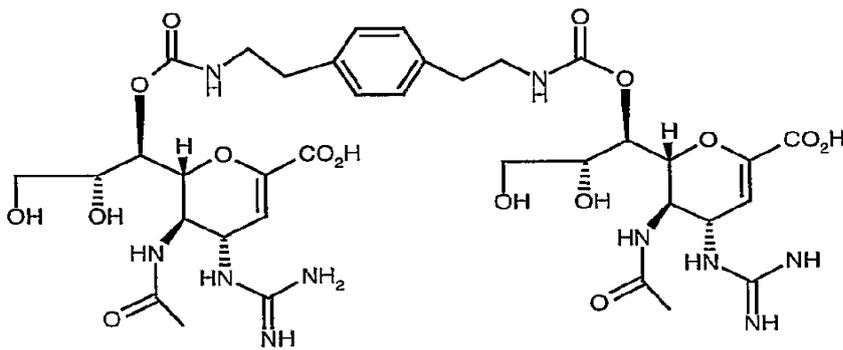


[0188]

[0189] 중간체 4(0.14 g, 0.15 밀리몰)를 물(1.20 ml)과 메탄올(1.20 ml)의 혼합물에 용해시켰다. 여기에 트리에틸아민(0.30 ml)을 가하고 상기 용액을 2 시간 동안 진탕시키고 이어서 진공 하에서 농축시켰다. 역상 예비 HPLC (방법 D)에 의해 실시예 1(0.048 g; 44% 수율)을 수득하였다. LC/MS(방법 A)는 $(M+2H^+)/2 = 441$; $T_{RET} = 1.83$ 분을 나타내었다.

[0190] 실시예 2

[0191] (2R,3R,4S)-3-(아세틸아미노)-2-((1R,2R)-1-([2-(4-{2-([[(1R,2R)-1-((2R,3R,4S)-3-(아세틸아미노)-4-([아미노(이미노)메틸]아미노)-6-카복시-3,4-디하이드로-2H-피란-2-일)-2,3-디하이드록시프로필]옥시)카보닐]아미노)에틸]페닐)에틸]아미노)카보닐]옥시)-2,3-디하이드록시프로필)-4-([아미노(이미노)메틸]아미노)-3,4-디하이드로-2H-피란-6-카복실산

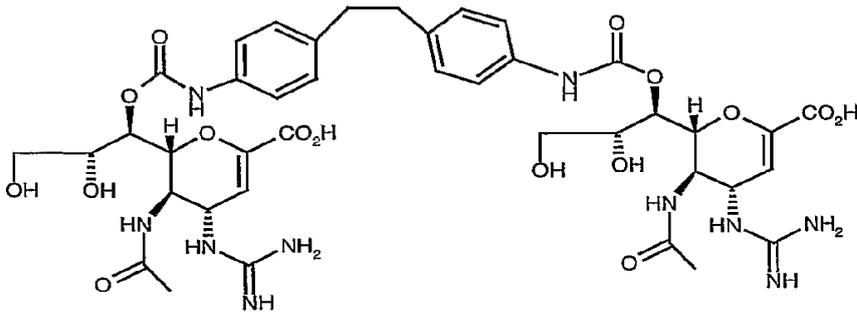


[0192]

[0193] 중간체 8(0.03 g, 0.06 밀리몰)을 물(1 ml)과 메탄올(1 ml)의 혼합물에 용해시켰다. 여기에 트리에틸아민(0.25 ml)을 가하고 상기 용액을 1 시간 동안 교반하고 이어서 진공 하에서 농축시켰다. 잔사를 수성 용액으로서 C18 SPE 카트리지를(메탄올로 예비 처리됨)에 걸었다. 상기 컬럼을 아세트오니트릴:물(5:95)(3 x 5 ml), 이어서 아세트오니트릴:물(7.5:93.5)(3 x 5 ml) 및 최종적으로 아세트오니트릴:물(15:85)(3 x 5 ml)로 용출시켜 백색 고체로서 실시예 2(0.005 g; 9% 수율)를 수득하였다. LC/MS(방법 B)는 $(M+2H^+)/2 = 441$; $T_{RET} = 1.79$ 분을 나타내었다.

[0194] 실시예 3

[0195] (2R,3R,4S)-3-(아세틸아미노)-2-((1R,2R)-1-([4-(2-{4-([[(1R,2R)-1-((2R,3R,4S)-3-(아세틸아미노)-4-([아미노(이미노)메틸]아미노)-6-카복시-3,4-디하이드로-2H-피란-2-일)-2,3-디하이드록시프로필]옥시)카보닐]아미노)페닐]에틸]페닐]아미노)카보닐]옥시)-2,3-디하이드록시프로필)-4-([아미노(이미노)메틸]아미노)-3,4-디하이드로-2H-피란-6-카복실산 비스 TFA 염



[0196]

[0197]

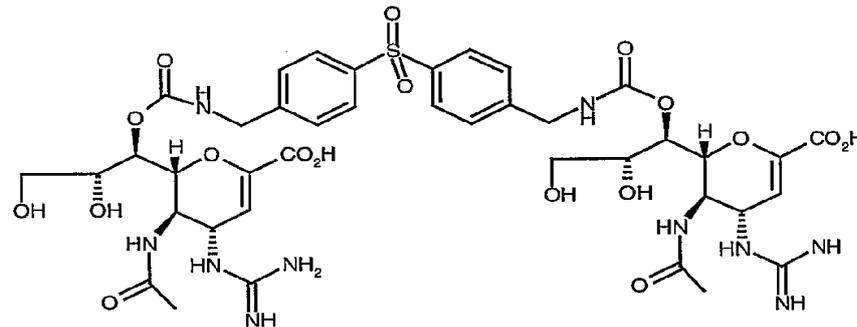
2:1의 디옥산:물(3 ml) 혼합물 중의 중간체 17(0.06 g, 0.06 밀리몰) 용액을 트리에틸아민(1 ml)으로 처리하고 혼합물을 실온에서 18 시간 동안 교반하였다. 역상 HPLC(방법 C)에 의해 정제시켜 백색 고체로서 실시예 3(0.01 g, 22% 수율)을 수득하였다. LC/MS(방법 A)는 $(M+2H^+)/2 = 465$; $T_{RET} = 2.16$ 분을 나타내었다.

[0198]

실시예 4

[0199]

(2R, 3R, 4S)-3-(아세틸아미노)-2-[(1R, 2R)-1-({(4-[(4-[(1R, 2R)-1-((2R, 3R, 4S)-3-(아세틸아미노)-4-[[아미노(이미노)메틸]아미노]-6-카복시-3,4-디하이드로-2H-피란-2-일)-2,3-디하이드록시프로필]옥시}카보닐)아미노]메틸]페닐]설폰닐]페닐]메틸)아미노]카보닐]옥시)-2,3-디하이드록시프로필]-4-[[아미노(이미노)메틸]아미노]-3,4-디하이드로-2H-피란-6-카복실산



[0200]

[0201]

중간체 20(0.09 g, 0.07 밀리몰)을 물(0.70 ml)과 메탄올(0.70 ml)의 혼합물에 용해시켰다. 여기에 트리에틸아민(0.18 ml)을 가하고 상기 용액을 2 시간 동안 진탕시키고 이어서 진공 하에서 농축시켰다. 역상 예비 HPLC(방법 D)에 의해 비스-TFA 염으로서 실시예 4(0.014 g, 20% 수율)를 수득하였다. LC/MS(방법 B)는 $(M+2H^+)/2 = 497$; $T_{RET} = 1.93$ 분을 나타내었다.

[0202]

유사하게 하기를 제조하였다:

[0203]

Y	출발 물질	생성물	LC/MS 방법	$(M+2H^+)/2$	T_{RET} (분)
0	중간체 21	실시예 5	A	473	2.07
CH ₂	중간체 22	실시예 6	A	472	2.11

[0204]

실시예 5

[0205]

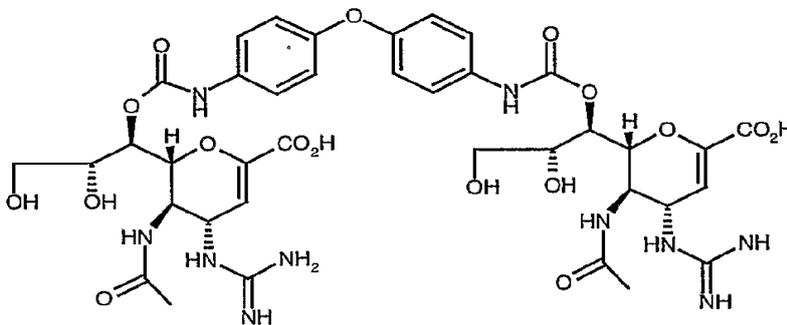
(2R, 3R, 4S)-3-(아세틸아미노)-2-[(1R, 2R)-1-({(4-[(4-[(1R, 2R)-1-((2R, 3R, 4S)-3-(아세틸아미노)-4-[[아미노(이미노)메틸]아미노]-6-카복시-3,4-디하이드로-2H-피란-2-일)-2,3-디하이드록시프로필]옥시}카보닐)아미노]메틸]옥시]페닐]옥시]페닐]메틸)아미노]카보닐]옥시)-2,3-디하이드록시프로필]-4-[[아미노(이미노)메틸]아미노]-3,4-디하이드로-2H-피란-6-카복실산

[0206] 실시예 6

[0207] (2R, 3R, 4S)-3-(아세틸아미노)-2-[(1R, 2R)-1-({[4-({4-([[(1R, 2R)-1-((2R, 3R, 4S)-3-(아세틸아미노)-4-{{아미노(이미노)메틸}아미노}-6-카복시-3, 4-디하이드로-2H-피란-2-일)-2, 3-디하이드록시프로필]옥시}카보닐)아미노]메틸}페닐)메틸}페닐)메틸]아미노}카보닐]옥시]-2, 3-디하이드록시프로필]-4-{{아미노(이미노)메틸}아미노}-3, 4-디하이드로-2H-피란-6-카복실산

[0208] 실시예 7

[0209] (2R, 3R, 4S)-3-(아세틸아미노)-2-[(1R, 2R)-1-({[4-({4-([[(1R, 2R)-1-((2R, 3R, 4S)-3-(아세틸아미노)-4-{{아미노(이미노)메틸}아미노}-6-카복시-3, 4-디하이드로-2H-피란-2-일)-2, 3-디하이드록시프로필]옥시}카보닐)아미노]페닐]옥시}페닐]아미노}카보닐]옥시]-2, 3-디하이드록시프로필]-4-{{아미노(이미노)메틸}아미노}-3, 4-디하이드로-2H-피란-6-카복실산 비스 TFA 염

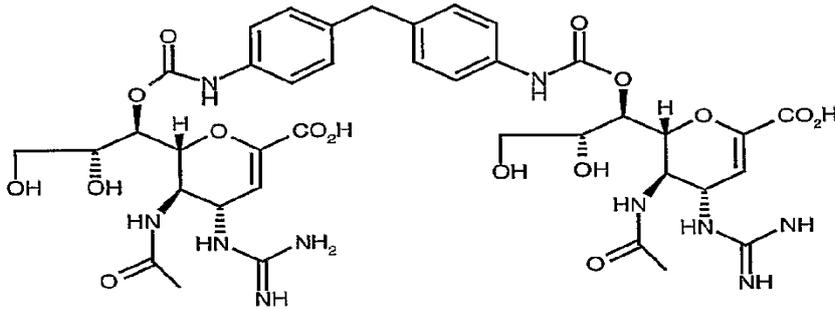


[0210]

[0211] 중간체 18(0.005 g, 0.004 밀리몰)을 물(1 ml)에 용해시키고 40 °C에서 8 시간 동안 가열하였다. 상기 혼합물을 냉각시키고 500 mg C18 SPE 카트리지(메탄올로 예비 처리됨)에 직접 걸었다. 상기 컬럼을 물(5 ml), 이어서 아세토니트릴:물(15:85)(2 x 5 ml)로 용출시켰다. 아세토니트릴 함유 분획들은 불순한 생성물을 함유하였으며 따라서 합하여 진공 하에서 농축시켰다. 잔사를 한 방울의 TFA를 함유하는 물(1 ml)에 재 용해시켜 용해를 돕고 다시 500 mg C18 SPE 카트리지(메탄올로 예비 처리됨)에 걸었다. 상기 컬럼을 아세토니트릴:물(2:98)(2 x 5 ml), 이어서 아세토니트릴:물(4:96)(2 x 5 ml), 이어서 아세토니트릴:물(6:94)(2 x 5 ml), 이어서 아세토니트릴:물(8:92)(2 x 5 ml) 및 최종적으로 아세토니트릴:물(10:90)(2 x 5 ml)로 용출시켜 백색 고체로서 실시예 7(0.002 g; 47% 수율)을 수득하였다. LC/MS(방법 A)는 (M+2H⁺)/2 = 459; T_{RET} = 2.01 분을 나타내었다.

[0212] 실시예 8

[0213] (2R, 3R, 4S)-3-(아세틸아미노)-2-[(1R, 2R)-1-({[4-({4-([[(1R, 2R)-1-((2R, 3R, 4S)-3-(아세틸아미노)-4-{{아미노(이미노)메틸}아미노}-6-카복시-3, 4-디하이드로-2H-피란-2-일)-2, 3-디하이드록시프로필]옥시}카보닐)아미노]페닐}메틸}페닐]아미노}카보닐]옥시]-2, 3-디하이드록시프로필]-4-{{아미노(이미노)메틸}아미노}-3, 4-디하이드로-2H-피란-6-카복실산 비스 TFA 염

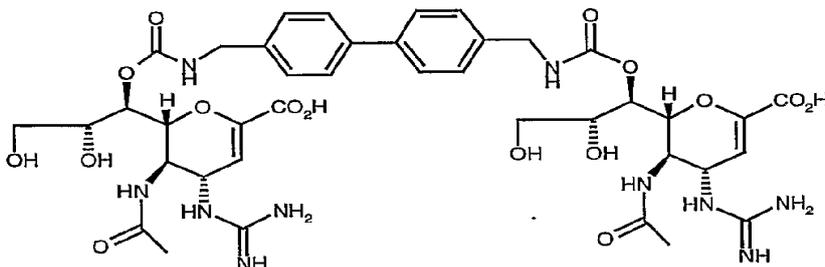


[0214]

[0215] 중간체 19(1.0 g, 1.0 밀리몰)를 물(4 ml)과 메탄올(4 ml)의 혼합물에 용해시켰다. 여기에 트리에틸아민(1 ml)을 가하고 용액을 3.5 시간 동안 교반하였다. 휘발성 성분을 감압 하에서 증발에 의해 제거하고 나머지 수용액의 pH를 TFA의 첨가에 의해 pH3으로 조절하였다. 역 상 예비 HPLC(방법 E)에 의해 백색 고체로서 실시예 8의 비스-TFA 염(0.29 g; 24% 수율)을 수득하였다. LC/MS(방법 B)는 $(M+2H^+)/2 = 458$; $T_{RET} = 2.08$ 분을 나타내었다.

[0216] **실시예 9**

[0217] (2R,3R,4S)-3-(아세틸아미노)-2-((1R,2R)-1-([4'-{[(1R,2R)-1-((2R,3R,4S)-3-(아세틸아미노)-4-{[아미노(이미노)메틸]아미노}-6-카복시-3,4-디하이드로-2H-피란-2-일)-2,3-디하이드록시프로필]옥시]카보닐]아미노]메틸)-1,1'-비페닐-4-일)메틸]아미노]카보닐]옥시)-2,3-디하이드록시프로필)-4-{[아미노(이미노)메틸]아미노}-3,4-디하이드로-2H-피란-6-카복실산 비스 TFA 염



[0218]

[0219] 중간체 23(1.59 g, 1.3 밀리몰)을 물(28.5 ml)과 메탄올(28.5 ml)의 혼합물에 용해시켰다. 여기에 트리에틸아민(2.85 ml)을 가하고 용액을 4 시간 동안 교반하였다. 휘발성 유기 성분을 진공 하에서 제거하고 나머지 용액의 pH를 TFA의 첨가에 의해 pH2로 조절하였다. 역 상 예비 HPLC(방법 F)에 의해 쓰비터이온 실시예 9(0.70 g; 57% 수율)를 수득하였다. LC/MS(방법 A)는 $(M+2H^+)/2 = 465$; $T_{RET} = 2.00$ 분을 나타내었다.

[0220] **실시예 10: 화학식 I의 화합물에 대한 평가 - 인플루엔자 바이러스 복제의 억제**

[0221] 세포 병원성 효과(CPE) 분석을 필수적으로 문헌[Watanabe et al., J. Virological Methods, 1994 48 257]에 개시된 바와 같이 수행하였다. MDCK 세포를 본 발명 화합물의 일련의 희석물의 존재 하에서 규정된 바이러스 접종물(72 시간 안에 적합한 CPE를 일으키기에 충분히 최소이고 공개된 표준과 일치하는 것으로 간주되는 농도에서 대조용 화합물에 민감한 것으로 실험에 의해 측정된 것)로 감염시켰다. 배양액을 5% CO₂ 분위기 하에 37 °C에서 72 시간까지 배양시켰다. CPE의 정도 및 따라서 바이러스 복제를 공개된 방법(예를 들어 문헌 [Watanabe et al., 1994]을 참조하시오)에 따라 바이러스 염료 3-(4,5-디메틸티아졸-2-일)-2,5-디페닐테트라졸륨 브로마이드(MTT)의 대사를 통해 측정하였다. CPE를 50%까지 억제하는 화합물의 농도(ID₅₀)를 곡선 정합용 컴퓨터 프로그램을 사용하여 계산하였다. 인플루엔자 A/시드니/5/97 및 B/하얼빈/7/95 바이러스를 분석하였으며 결과를 표 1에 나타낸다. WO 00/55149에 구체적으로 개시된 화합물 및 화합물 A에 대해 필적할만한 데이터를 또한 표 1에 나타낸다.

표 1

	ID ₅₀ µg/ml	ID ₅₀ µg/ml
설명	A/시드니/5/97+	B/하얼빈/7/95
화합물 A	0.023 +/- 0.024	0.013 +/- 0.011
화합물 1	0.084	0.0002
화합물 4	>0.100	<0.00005
화합물 8	0.013	<0.00005
화합물 9	>0.100	0.00008
화합물 번호 8 *	0.0007, 0.0005	0.007 +/- 0.01
화합물 번호 10 *	0.057	>0.1
* WO 00/55149에 언급된 바와 같음		
+ WO 00/55149에 제공된 데이터는 A H3N2 단리물 A/시드니/5/97보다는 바이러스 H3N2 단리물 A/빅토리아/3/75와 관련이 있다. 상기와 같은 데이터의 비교 시 당해 분야의 숙련가는 항바이러스 효능의 차이가 생체 외에서 다수의 상이한 바이러스들에 대해 분석 시 주어진 화합물에 대해 특이하지 않음을 알 것이다. 예를 들어 문헌[Woods et al, Antimicrob Agents Chemother 1993 37:1473-9]에는 화합물 A가 최근의 임상 단리물을 수반하는 생체 외 분석에서 광범위한 EC50 값(0.02 내지 0.16 µM)을 나타냄이 보고되어 있다. 따라서 화합물 8은 선행 H3N2 단리물 A/빅토리아/3/75보다는 최근의 인플루엔자 A H3N2 단리물 A/시드니/5/97을 수반하는 CPE 분석에서 보다 효능이 있는 것으로 밝혀졌다.		

[0222]

[0223]

표 1에 제공된 데이터는 화합물 E1 내지 E5가 매우 활성인 화합물 A보다 실질적으로 더 효능이 있다는 것 이외에 A/시드니/5/97에 대해 훨씬 더 효능이 있으며, WO 00/55149의 화합물 8 및 10보다 최근의 인플루엔자 B 단리물 B/하얼빈/7/95에 대해 실질적으로 더 효능이 있음을 입증한다.

[0224]

실시예 11: 플라크 감소 분석

[0225]

매딘 다비 캐닌 신장(Madin Darby Canine Kidney, MDCK) 세포를 6 웰 조직 배양 플레이트에 시딩하고 표준 방법을 통해 융합점으로 증식시켰다. 인플루엔자 바이러스를 0.2% 소 혈청 알부민이 보충된 최소 부피의 인산염 완충된 염수로 희석하여 웰 당 50 내지 100 플라크 형성 단위(pfu)의 추정 역가를 얻었다. 5% CO₂ 분위기 하에 37 °C에서 1 시간 동안 MDCK 세포에 흡착시킨 후에 상기 바이러스 접종물을 흡입하고 플라크가 나타날 때까지(일반적으로 2 내지 4 일) 5% CO₂ 분위기 하에 실온 및 37 °C에서 배지가 겔화되기에 충분한 아가 또는 아가로스(일반적으로 1 내지 2%)를 함유하는 바이러스 증식 배지(BSA, 트립신 및 인슐린/트렌스페린/셀레늄이 최적 농도로 보충된 최소 이글 배지)로 대체시킨다. 플라크를 카운팅 전에 적합한 염료(예를 들어 정규 염수 중의 0.4% 크리스탈 바이올렛)로 가시화시킬 수 있다. 항바이러스 효능을 플라크 수를 처리되지 않은 대조용 값의 50%까지 감소시키는 시험 제품의 농도(EC₅₀)로서 나타낸다.

Example	EC ₅₀ ng/ml					
	PRA					
	A/WSN*	A/Vic*	A/Syd*	A/New*	A/Pan*	A/Bay*
Compound A	56, >100	5.5 +/- 8.2	2.4	0.27, 0.23	2.7, 3	35
Compound 8		0.003	0.19, >1	0.0001		
Compound 9	<0.0001, 0.001	0.000141, 0.038	3.7	0.003	1.8, >10	>1
Amantadine		220		11	157	
Oseltamivir		0.11		0.23	0.3	

*A/WSN/33 BVLV09 (H1N1)
 A/Victoria/3/75 BVLV017 (H3N2)
 A/Sydney/5/97 BVLV015 (H3N2)
 A/New Caledonia/20/99 BVLV008 (H1N1)
 A/Panama/2007/99 BVLV008 (H3N2)
 A/Bayern/7/95 BVLV006 (H1N1)

Example	EC ₅₀ ng/ml			
	PRA			
	B/Vic*	B/Harb*	B/HongK*	B/Yam*
Compound A	3, 20	0.19	21 +/- 6	0.2, 3.1
Compound 8	0.01, 0.2	<0.0001		0.02
Compound 9			0.23	0.006
Amantadine			>10000	2061
Oseltamivir			32	0.7

*B/Victoria/1/67
 B/Hong Kong/5/72 BVLV012
 B/Harbin/7/95 BVLV008
 B/Yamanashi/166/98 BVLV007

[0226]

[0227]

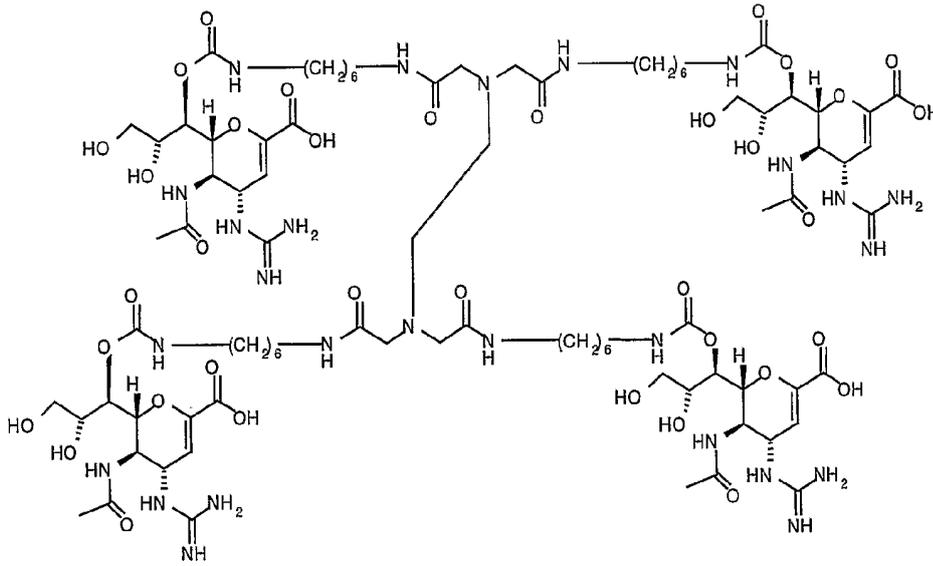
실시예 12: 장기적인 작용 지속성에 대한 평가

[0228]

설치류를 마취시키고 관심 화합물을 0.8 ml/kg의 용량으로 기관 내 경로에 의해 투여한다. 이어서 상기 설치류를 완전히 회복될 때까지 곧추세운다. 상이한 시점에서, 예를 들어 투여 후 2, 8, 24 및 48 시간째에 폐 조직 중의 화합물의 수준을 분석학적 방법에 의해 평가한다. 이러한 유형의 화합물 검출에 적합한 임의의 분석 방법을 사용할 수 있다. 화합물의 수준이 확인된 분석 기법의 감도 이하인 시간이 폐 조직 중의 상기 화합물의 체류 시간을 결정할 것이다.

[0229]

선택된 화합물들에 대한 래트 폐 체류 데이터를 하기에 나타낸다. 모든 실험들이 비교를 허용하기 위해서 동시 투여된 내부 표준, 즉 국제 특허 공보 WO 02/20514의 화합물 3을 포함함에 주목하시오. 이들 데이터를 상기 화합물에 대한 비로서 나타내며, 그의 구조를 하기에 나타낸다.



Compound 3

[0230]

[0231]

화합물 A에 대한 데이터를 비교를 위해 포함시킨다. 본 발명의 화합물은 표준 농도에 대한 화합물 농도의 비로서 나타낼 때 화합물 A보다 7 일째에 현저하게 더 많이 체류하였다.

[0232]

라트 폐 체류 분석 결과

Rat lung retention assay results

time point	Compound	dose	Mean (crmpd)	Mean (crmpd)	(PCT AU01/01128 compound 3)	Mean (PCT AU01/01128 compound 3)	Ratio Mean (lung)
hrs		mg/kg	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g	(crmpd)/PCT AU01/01128 compound 3
48	Example 2	0.1	740		1944		
48	Example 2	0.1	667	603	1258	1366	0.44
48	Example 2	0.1	403		894		
168	Example 2	0.1	350		807		
168	Example 2	0.1	172	259	653	755	0.34
168	Example 2	0.1	254		804		
48	Example 9	0.1	570		1346		
48	Example 9	0.1	2389	1405	4101	2710	0.52
48	Example 9	0.1	1255		2684		
168	Example 9	0.1	724		1486		
168	Example 9	0.1	465	835	1253	1849	0.45
168	Example 9	0.1	1317		2806		
48	Compound A (zanamivir)	0.1	421		698		
48	Compound A (zanamivir)	0.1	369	352	1901	1368	0.26
48	Compound A (zanamivir)	0.1	267		1507		
168	Compound A (zanamivir)	0.1	91		815		
168	Compound A (zanamivir)	0.1	47	61	925	750	0.08
168	Compound A (zanamivir)	0.1	45		512		

[0233]

time point	Compound	dos e	(lung)	Mean (lung)	Ratio mean (lung) (cmpd) / PCT AU01/01128 compound 3
hrs		mg /kg	ng/g	ng/g	
48	PCT AU01/01128 compound 3	0.4	-		
48	PCT AU01/01128 compound 3	0.4	3689	3111	-
48	PCT AU01/01128 compound 3	0.4	2534		
168	PCT AU01/01128 compound 3	0.4	1205		
168	PCT AU01/01128 compound 3	0.4	-	1491	-
168	PCT AU01/01128 compound 3	0.4	1777		
48	Example 8	0.4	3795		
48	Example 8	0.4	2704	3253	1.05
48	Example 8	0.4	3259		
168	Example 8	0.4	-		
168	Example 8	0.4	3234	3403	2.28
168	Example 8	0.4	3571		

[0234]

[0235] 실시예 13: 장기적인 작용 지속성 및 효능에 대한 또 다른 평가

[0236] 마우스 감염 프로토콜이 앞서 개시되었다(1-4). 온화하게 마취시킨 마우스에게 인플루엔자 바이러스를 외부 콧구멍을 통해 접종한다.

[0237] 치료 과정 및 섭생.

[0238] 단일 용량의 화합물을 감염 전 10 일 이하, 바람직하게는 감염 전 4 내지 7 일째 또는 감염에 이어서, 바람직하게는 감염 직후 내지 감염 후 48 시간까지의 한정된 시점으로 투여한다. 대부분의 실험들에서, 치명적이지 않은 인플루엔자 균주를 사용하며, 효능을 폐 바이러스 역가의 감소에 의해 평가한다. 감염 전에 화합물이 제공된 마우스에 대해서, 폐를 감염 후 하루째에, 또는 감염에 이어서, 바람직하게는 감염 후 1 내지 4 일째에 제거한다. 균질화시킨 폐 샘플을 확립된 방법을 사용하여 바이러스에 대해 분석하고, 바이러스 부하의 역가를 평가하고 처리되지 않은 마우스 폐 중의 바이러스의 역가와 비교한다.

[0239] 마우스에 적합한 치명적인 인플루엔자 균주가 사용된 실험들에서, 효능을 처리되지 않은 마우스와 비교된 생존율 및/또는 생존자 수의 증가에 의해 평가한다.

[0240] 참고문헌

[0241] 1. Ryan, D.M., J. Ticehurst, M.H. Dempsey, and C.R. Penn, 1994. GG167(4-구아니디노-2,4-디테옥시-2,3-데하이드로-N-아세틸뉴라민산)에 의한 마우스에서 인플루엔자 바이러스 복제의 억제는 바이러스 뉴라미니다제(시알리다제)의 세포외 활성과 일치한다. *Antimicrob. Agents and Chemother.* 38(10): 2270-2275.

[0242] 2. von Itzstein M., W. -Y. Wu, G.B. Kok, M.S. Pegg, J.C. Dyason, B. Jin, T.V. Phan, M.L. Smythe, H.F. White, S.W. Oliver, P.M. Colman, J.N. Varghese, D.M. Ryan, J.M. Woods, R.C. Bethell, V.J. Hogham, J.M. Cameron, and C.R. Penn. 1993. 인플루엔자 바이러스 복제의 효능있는 시알리다제-계 억제제의 합리적인 구상. *Nature(London)* 363:418-423.

[0243] 3. Woods, J.M. R.C. Bethell, J.A.V. Coates, N. Healey, S.A. Hiscox, B.A. Pearson, D.M. Ryan, J. Ticehurst, J. Tilling, S.A. Walcott, and C.R. Penn. 1993. 4-구아니디노-2,4-디테옥시-2,3-데하이드로-N-아세틸뉴라민산은 시알리다제(뉴라미니다제) 및 광범위한 인플루엔자 A 및 B 바이러스의 성장 모두에 대한 매우 효과적인 생체 외 억제제이다. *Agents Chemother.* 37:1473-1479.

[0244] 4. Robert J Fenton, Peter J Morley, Ian J Owens, David Gower, Simon Parry, Lee Crossman and Tony Wong(1999). 단일 용량의 자나미비어에 의한 인플루엔자 A 바이러스 감염의 화학적 예방법은 자나미비어가 호흡기관으로부터 서서히 제거됨을 입증한다. *Antimicrob. Agents and Chemother.* 43, 11, 2642-2647.