(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0073372
(43) 공개일자 2016년06월24일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07H 15/26 (2006.01) *A61K 31/7056* (2006.01)
A61K 9/08 (2006.01) *A61K 9/48* (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07H 15/26 (2013.01)
A61K 31/7056 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2016-7007981
(22) 출원일자(국제) 2014년08월28일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2016년03월25일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2014/068252
(87) 국제공개번호 WO 2015/028548
국제공개일자 2015년03월05일
(30) 우선권주장
1350991-4 2013년08월28일 스웨덴(SE)

(71) 출원인
아데노비르 파마 에이비
스웨덴 에스-252 20 헬싱보르그, 쿨라가탄 8
(72) 발명자
아른버그, 니클라스
스웨덴, 에스-907 50 우메오, 코파르바겐 22
카라발로, 레미
스웨덴, 에스-913 31 홀름순드, 1티알, 스베드베리스가탄 16
엘로프손, 미카엘
스웨덴, 에스-907 51 우메오, 스요프루바겐 13
(74) 대리인
손민

전체 청구항 수 : 총 23 항

(54) 발명의 명칭 **다가의 시알산 유도체**

(57) 요 약

3 또는 4개의 시알산 잔기가 링커를 통해 연결된 코어 모이어티를 포함하는 3가 또는 4가의 시알산 유도체가 기재된다. 이러한 유도체는 아데노바이러스의 인간 세포에 대한 결합을 억제하므로 3가 또는 4가의 시알산 유도체의 투여로 유행성 각결막염과 같은 감염이 치료 또는 예방될 수 있다.

(52) CPC특허분류
A61K 9/08 (2013.01)
A61K 9/48 (2013.01)

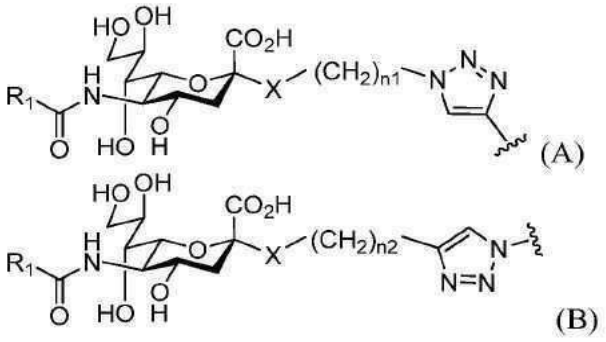
명 세 서

청구범위

청구항 1

유리 염기, 비하전 양성자 형태의 산, 쯔비터이온, 약학적으로 허용가능한 부가 염, 용매화물 또는 이들 염의 용매화물로서의 3가 또는 4가 시알산 유도체로서,

상기 유도체는 화학식 A 또는 B에 따른 3 또는 4개의 그룹들이 부착된 코어 모이어티를 포함하는 시알산 유도체:



여기서,

"X"는 O(산소), NH, 또는 S(황)이고;

R1은 C1-C3 알킬, 페닐, OC1-2 알킬, CF3, 또는 NHC1-2 알킬이고;

정수 "n1"은 2 내지 8이고;

정수 "n2"는 1 내지 8이고;

파선은 코어 모이어티의 부착 지점을 나타낸다.

청구항 2

제1항에 있어서, "X"는 O(산소)인, 시알산 유도체.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, R1은 메틸기인, 시알산 유도체.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 정수 "n1"은 2 내지 3이고, 정수 "n2"는 1, 2, 또는 3인, 시알산 유도체.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 그룹들은 화학식 A인, 시알산 유도체.

청구항 6

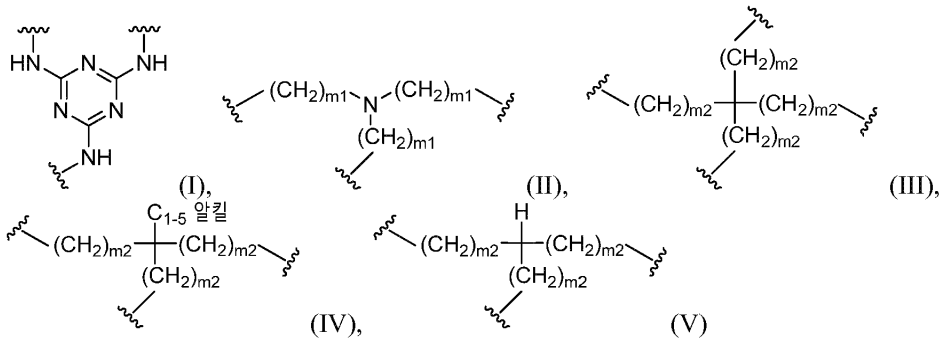
제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 그룹들은 화학식 B인, 시알산 유도체.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 유도체의 유리 형태의 분자량이 1,500Da 이하인, 시알산 유도체.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 코어 모이어티는 화학식 I 내지 V 중 어느 하나에 따른 모이어티인, 시알산 유도체:



여기서,

모이어티 I에 부착된 그룹들은 화학식 A에 따른 그룹이고;

모이어티 II에 부착된 그룹들이 화학식 A에 따른 그룹들인 경우, 화학식 II의 정수 "m1"은 1 내지 8이고;

모이어티 II에 부착된 그룹들이 화학식 B에 따른 그룹들인 경우, 화학식 II의 정수 "m1"은 2 내지 8의 정수이고;

"m2"는 1 내지 8의 정수이고;

파선은 화학식 A 또는 B에 따른 그룹들이 부착되는 지점을 나타낸다.

청구항 9

제8항에 있어서, 코어 모이어티는 화학식 (II)에 따른 모이어티인, 시알산 유도체.

청구항 10

제9항에 있어서, 정수 "m1"은 1 내지 3인, 시알산 유도체.

청구항 11

제9항 또는 제10항에 있어서, 상기 그룹들은 화학식 A에 따른 그룹들인, 시알산 유도체.

청구항 12

제9항 또는 제10항에 있어서, 상기 그룹들은 화학식 B에 따른 그룹들인, 시알산 유도체.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 시알산 유도체는

트리스((2-O-(5-N-아세트아미도-3,5-디데옥시-D-글리세로-α-D-갈락토-2-노눌로피라노실론산)-2-옥소에틸-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메틸)아민;

트리스((3-O-(5-N-아세트아미도-3,5-디데옥시-D-글리세로-α-D-갈락토-2-노눌로피라노실론산)-3-옥소프로필-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메틸)아민;

트리스((2-O-(5-N-프로파노일아미도-3,5-디데옥시-D-글리세로-α-D-갈락토-2-노눌로피라노실론산)-옥소에틸-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메틸)아민;

트리스((3-O-(5-N-프로파노일아미도-3,5-디데옥시-D-글리세로-α-D-갈락토-2-노눌로피라노실론산)-3-옥소프로필-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메틸)아민;

트리스((4-(2-O-(5-N-아세트아미도-3,5-디데옥시-D-글리세로-α-D-갈락토-2-노눌로피라노실론산))-2-옥소메틸-

1H-1,2,3-트리아졸-1-일)에틸)아민;

트리스((4-(2-O-(5-N-아세트아미도-3,5-디데옥시-D-글리세로-α-D-갈락토-2-노눌로피라노실론산))-2-옥소에틸-1H-1,2,3-트리아졸-1-일)에틸)아민

으로 이루어진 군에서 선택되는, 시알산 유도체.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 시알산 유도체는 순수한 입체이성질체 또는 상기 화합물을 포함하고 α-아노머(α-anomer)가 우세한 아노머 혼합물로 존재하는, 시알산 유도체.

청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 따른 시알산 유도체와 적어도 하나의 약학적으로 허용가능한 부형제를 포함하는, 눈 투여용 약학 조성물.

청구항 16

제15항에 있어서, 상기 조성물은 0.001 내지 10 mM, 예를 들어 0.01 내지 0.1mM의 제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 따른 시알산 유도체를 포함하는 수성 조성물이고, 상기 수성 조성물은 바람직하게는 적어도 90중량%의 물 함량을 가지고 선택적으로 등장액을 제공하기 위한 제제, 예를 들어 글리세롤 또는 염화나트륨을 포함하는, 약학 조성물.

청구항 17

제16항에 있어서, 상기 수성 조성물은 등장액을 제공하기 위해 염화나트륨을 포함하는, 약학 조성물.

청구항 18

제16항 또는 제17항에 있어서, 상기 수성 조성물은 완충된 것인, 약학 조성물.

청구항 19

제17항에 있어서, 상기 수성 조성물의 pH는 6.5 내지 8인, 약학 조성물.

청구항 20

치료에 이용하기 위한, 제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 따른 시알산 유도체 또는 제15항 또는 제19항에 따른 약학 조성물.

청구항 21

감염될 세포 표면에 존재하는 말단 시알산 잔기에 결합하는 바이러스에 의한 눈 감염의 치료 및/또는 예방에 이용하기 위한, 제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 따른 시알산 유도체 또는 제15항 또는 제19항 중 어느 한 항에 따른 약학 조성물.

청구항 22

제21항에 있어서, 상기 감염은 HAdV-8, HAdV-19, HAdV-37, HAdV-53, HAdV-54, 및 HAdV-56으로 이루어진 군에서 선택되는 바이러스에 의해 야기되는 것인, 시알산 유도체 또는 약학 조성물.

청구항 23

제21항 또는 제22항에 있어서, 상기 감염은 유행성 각결막염인, 시알산 유도체 또는 약학 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 신규한 다가의 시알산 유도체, 이러한 유도체를 포함하는 약학 조성물, 및 이러한 화합물을 사용하여 세포 표면에 존재하는 말단 시알산 잔기에 결합하는 바이러스에 의한 유행성 각결막염(EKC)과 기타 눈 질환을 치료하거나 예방하는 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 인간 아데노바이러스(HAdV:s)는 포유류 아데노바이러스 속(*Mastadenovirus*)에 속하는 것으로, 흔히 만나는 감염제이다. 인간에서, 아데노바이러스는 결막염과 유행성 각결막염(EKC)과 같은 눈 질환을 포함하는 다양한 임상적 증상과 관련이 있다.

[0003] 현재까지, 불행히도 아데노바이러스 감염의 치료에 사용할 수 있는 특정한 항바이러스제는 없다. 아데노바이러스는 편성 세포내 기생체라서 세포의 복제 기구에 완전히 의존함을 보인다. 항바이러스 화합물에 의한 아데노바이러스의 선택적 억제를 달성하기 매우 어려운데 이는 숙주 세포의 필수 기능 중 일부가 함께 변경될 수 있기 때문이다. 그러나 오늘날의 항바이러스 약물 연구에서 하나의 접근은 바이러스의 세포 수용체를 차단하여 세포에 부착하고 침투하는 것을 배제하는 데에 있다. 이러한 차단에 기초한, 유행성 각결막염(EKC)의 치료에 사용되는 약물은 등록이 되어 있지 않다.

[0004] 아데노바이러스는 자연 어느 곳에나 있고, 따라서 새로운 혈청형들이 여전히 발견되고 있다. 즉, 최초의 HAdV:s의 분리 이후 약 60년간 7개의 종(A-G)으로 분류되는 50개 이상의 새로운 혈청형이 밝혀졌다.

[0005] EKC은 매년 수백만명이 걸리는 심각하고 매우 전염성 있는 눈 감염이다. EKC의 원인이 되는 아데노바이러스 혈청형 중에서, HAdV-8, HAdV-19, 및 HAdV-37은 감염의 주요 원인제이나, 최근에는 HAdV-53, HAdV-54, 및 HAdV-56이 신규한 EKC-유발 유형으로 등장하였다. 관련 증상으로는 각막염, 결막염, 부종, 통증, 눈물 흘림, 위막(pseudomembranes) 형성, 및 시야 감퇴가 있다. 이 바이러스는 접촉(예를들어 눈과 손의 접촉)에 의해 확산되기 때문에, EKC는 인구밀집지역과 위생주의가 부족한 의료병동에서 빈번하다. 감염은 일반적으로 최대 2주 동안 지속되나, 몇몇 환자들은 몇달, 몇년 동안, 또는 심지어 영구적으로 시각 장애로 계속 고통받는다.

[0006] 바이러스의 라이프 사이클은 아데노바이러스가 그 동형삼량체 파이버 노브(homotrimeric fiber knob)를 통해 각막 및/또는 결막의 상피세포에 위치한 시알산-포함 글리칸에 결합함으로써 개시된다. 아데노바이러스 비리온으로부터 돌출된 12개의 섬유 각각의 최원위부에 위치한 파이버 노브는 탄수화물 인식 도메인을 가지고 있다. 최근, GD1a 강글리오사이드에 있는 글리칸에 상응하는 글리칸을 갖는 당단백질은 EKC-유발 아데노바이러스에 의한 눈 세포 감염에 대한 기능적 수용체로 밝혀졌다. HAdV-37 - GD1a 복합체의 결정 구조로부터, GD1a 글리칸의 2개의 분지 각각에 위치한 말단 시알산 잔기가 HadV-37의 파이버 노브 상단의 3개의 탄수화물 인식 부위 중 2개에 수용되는 것으로 드러났다.

[0007] 따라서, 천연 또는 합성 시알산 유도체를 통한 아데노바이러스의 억제로 비리온이 새로운 세포에 부착하고 침투하고 감염하는 것을 막을 수 있다(특히 WO 01/037846 참조). 결과적으로, 감염이 제한될 것이다. 중요한 것은 특히 EKC의 경우에, 빠른 혈청 제거와 저조한 세포 재흡수를 수반하는 탄수화물계 약물의 저조한 약리학적 특성은 국소 투여 방식의 사용에 의해 우회될 수 있다(예를 들어, 크림, 연고, 점안약).

[0008] WO 01/037846은, 시알산과 같은 물질을 치료 유효량으로 투여하여 바이러스와 시알산 수용체 사이의 상호결합을 방해함으로써 아데노바이러스의 감염, 특히 눈의 아데노바이러스 감염(예를 들어, 각결막염)을 완화시키거나 치료할 수 있다고 밝힌다. 불행히도 탄수화물과 단백질 사이의 약한 상호작용은 약물로서 탄수화물의 사용을 제한한다.

[0009] 상기 제한을 극복하기 위한 시도가 인간 혈청 알부민(SA-HSA)에 연결된 여러 시알산 유도체와의 당콘쥬게이트(glycoconjugate)를 사용하여 이루어져왔다. 그러나, 이러한 다가의 당콘쥬게이트는 여러 이유에서 약제로서 부적합하다. SA-HSA의 정확한 구조와 조성은 다른 분자들 마다 다를 수 있다. 따라서, SA-HSA는 구조적으로 정의하기 어려운 유형의 구조를 나타낸다. 게다가 SA-HSA 유도체의 조성은 동일한 방식으로 제조되더라도 상이한 배치에 따라서 달라질 것이다. 안전 및 조절의 측면에서 이것은 상당한 단점이다. 게다가 인간 혈장으로부터 얻어진 단백질, 즉 HSA의 사용이 주요한 단점이다. HSA의 기원은 HSA에 기초한 많은 양의 약제를 만들기 어렵게 한다. 게다가, 바이러스나 프리온과 같은 감염제에 의한 오염이 인간 혈장으로부터 얻은 HSA에서 배제될 수 없다. 따라서, HSA에 기초한 제품은 약학 제품으로서 적합하지 않으며, 다가의(polyvalent) 대안이 매우 바람직할 것이다.

[0010] WO 2011/003876는, 수용액에서 다가의 응집체를 형성하는 신규한 양친매성 시알산 유도체를 개시한다. 응집체는

SA-HSA와 관련된 결점을 극복함으로써 EKC를 치료하는데 유용하다고 기재되어 있다. 이러한 유도체의 또 다른 측면은 문헌(Aplander *et al* in *J. Med. Chem.* 2011, 54, 6670)에 개시되었다.

[0011] 또한, 인간 각막 상피(HCE) 세포의 HAdV-37 감염에 대한, 공유 결합하는 다가의 효율적인 시알산계 억제제들이 문헌에 보고되었다(참조: Spjut et al. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2011, *50*, 6519; Johansson et al. *Chembiochem* 2005, *6*, 358; 및 Johansson et al *Antivir. Res.* 2007, *73*, 92). 1가의 시알산 유도체의 상대적으로 낮은 효능을 피하기 위해서, 저자들은 HAdV-37 파이버 노브의 삼량체 결합 부위를 이용하였다. Spjut 등이 개시한 것처럼, 노브당 복수의 탄수화물 인식 도메인에 동시에 결합할 수 있는 3가 또는 4가의 시알산 유도체의 사용은 1가의 시알산 화합물과 비교하여 억제 효능을 상당히 향상시켰다.

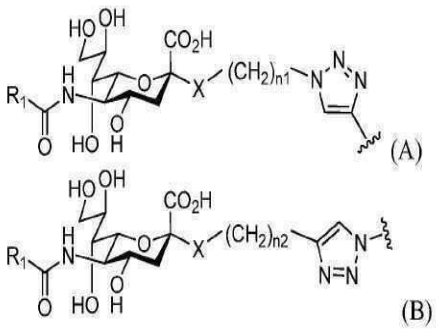
[0012] 예를 들어, ME0322로 표시된 화합물은, 시알산을 중심 코어 유닛에 연결하기 위해 스쿠아르산(squaric acid)이 사용된 합성 3가 시알산 유도체로서, 천연 시알산 단당류보다 네 자릿수 더 강력한 것으로 보고되었다. 또한, ME0322는 바이러스가 파이버 노브에 결합하는 것을 막는데에 있어 17가 시알산-HSA 콘쥬게이트와 같이 효과적이었다. 흥미롭게도, ME0322는 HAdV-37에 의한 인간 각막 상피(HCE)세포의 감염을 억제하는데 있어 HSA-콘쥬게이트보다 훨씬 더 강력한 것으로 나타났다.

[0013] 상기 화합물은 정말 흥미로운 특성을 나타내나, HAdV-37 비리온이 인간 각막 상피(HCE) 세포에 부착하는 것을 억제하는 데 있어 훨씬 향상된 효능을 나타내는 다가의 시알산 유도체를 제공하는 것은 여전히 유용할 것이다.

[0014] 따라서, HAdV-37 비리온이 인간 각막 상피(HCE) 세포에 부착하는 것을 막는데 높은 효능을 보이는 저분자량의 다가 시알산 유도체가 당해 분야에서 여전히 필요하다. 이러한 유도체는 EKC를 치료하고 예방하는데 유용할 것이다.

[0015] **요약**

[0016] 따라서, 본 발명은 3가 또는 4가의 시알산 유도체를 제공함으로써 단독 또는 임의의 조합으로 당해 분야의 전술한 결함과 난점 중 하나 이상을 완화, 경감, 제거, 또는 우회하기 위한 것으로서, 상기 유도체는 유리 염기, 비하전 양성자 형태의 산, 쯔비터이온, 약학적으로 허용가능한 부가 염, 용매화물 또는 이들 염의 용매화물로서 화학식 A 또는 B에 따른 3 또는 4개의 그룹이 부착된 코어 모이어티를 포함한다:



[0017]

[0018] 여기서,

[0019] "X"는 O(산소), NH, 또는 S(황)이고;

[0020] R1은 C1-C3 알킬, 페닐, OC1-2 알킬, CF3, 또는 NHC1-2 알킬이고;

[0021] 정수 "n1"은 2 내지 8이고;

[0022] 정수 "n2"는 1 내지 8이고;

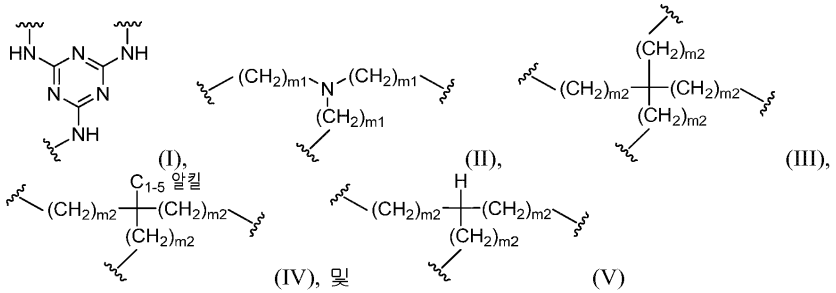
[0023] 파선은 코어 모이어티의 부착 지점을 나타낸다.

[0024] 본 발명의 양태에 따르면:

[0025] "X"는 O(산소)일 수 있으며; R1은 메틸일 수 있고, 정수 "n1"은 2 내지 3일 수 있으며; 상기 그룹은 화학식 A에 따른 그룹일 수 있으며; 및/또는 상기 유도체의 유리 형태의 분자량은 1,500Da 이하이다; 또는

[0026] "X"는 O(산소)일 수 있으며; R1은 메틸일 수 있고, 정수 "n2"는 1, 2, 또는 3일 수 있으며; 상기 그룹은 화학식 B에 따른 그룹일 수 있으며; 및/또는 상기 유도체의 유리 형태의 분자량이 1,500Da이하이다.

[0027] 또한, 상기 코어 모이어티는 화학식 I 내지 V 중 어느 하나에 따른 모이어티일 수 있다:



[0028]

[0029] 여기서,

[0030] 모이어티 I에 부착된 그룹은 화학식 A에 따른 그룹이고;

[0031] 모이어티 II에 부착된 그룹이 화학식 A에 따른 그룹인 경우, 화학식 II의 정수 "m1"은 1 내지 8이고;

[0032] 모이어티 II에 부착된 그룹이 화학식 B에 따른 그룹인 경우, 화학식 II의 정수 "m1"은 2 내지 8의 정수이고;

[0033] "m2"는 1 내지 8의 정수이고;

[0034] 파선은 화학식 A 또는 B에 따른 그룹에 대한 부착 지점을 나타낸다.

[0035] 또 다른 양태에 따라, 상술한 유형의 시알산 유도체와 적어도 하나의 약학적으로 허용가능한 부형제를 포함하는, 눈 투여용 약학 조성물이 제공된다. 이 약학 조성물은 0.001 내지 10 mM(예를들어, 0.01 내지 0.1mM)의 시알산 유도체를 포함하는 수성 조성물일 수 있다. 이러한 수성 조성물의 함수량은 적어도 90중량%일 수 있다. 또한, 이러한 수성 조성물은 등장액을 제공하기 위하여 글리세롤과 같은 제제를 포함할 수 있다.

[0036] 또 다른 양태에 따라, 상술한 시알산 유도체 또는 이러한 유도체를 포함하는 약학 조성물은 치료에 사용된다.

[0037] 또 다른 양태에 따라, 상술한 시알산 유도체 또는 이러한 유도체를 포함하는 약학 조성물은, 감염될 세포 표면에 존재하는 말단 시알산 잔기에 결합하는 바이러스에 의한 눈 감염의 치료 및/또는 예방에 이용된다. 감염은 HAdV-8, HAdV-19, HAdV-37, HAdV-53, HAdV-54, 및 HAdV-56으로 이루어진 군에서 선택되는 바이러스에 의한 감염일 수 있다. 또한 감염은 유행성 각결막염일 수 있다.

[0038] 또한, 본 발명의 다양한 실시형태의 유용한 특징은 종속 청구항들 및 이하의 상세한 설명에서 정의된다.

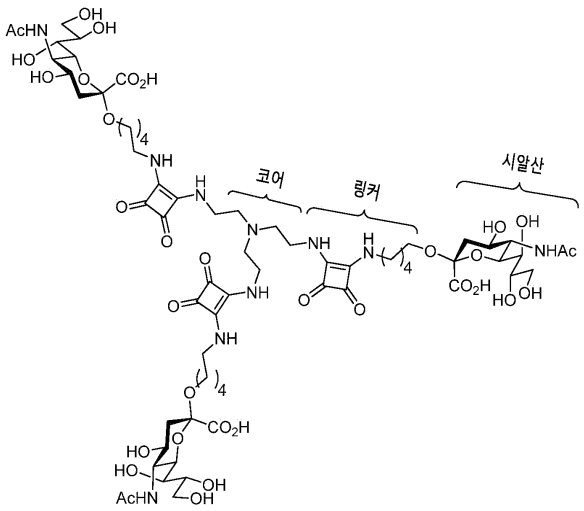
발명의 내용

[0039] 본원에서 사용된 용어 "부가 염"은 약학적으로 허용가능한 산, 예를 들어 유기 또는 무기산, 또는 약학적으로 허용가능한 염기의 첨가에 의해 형성되는 염을 의미한다. 유기산은 아세트산, 프로피온산, 메탄설폰산, 벤젠설폰산, 락트산, 말산, 시트르산, 타르타르산, 숙신산, 또는 말레산일 수 있지만 이에 한정되지 않는다. 무기산은 염산, 브롬화수소산, 황산, 질산, 또는 인산일 수 있지만 이에 한정되지 않는다. 염기는 암모니아 및 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속의 수산화물일 수 있지만 이에 한정되지 않는다. 용어 "부가 염"은 또한 수화물 및 용매 부가 형태, 예를 들어 수화물 및 알코올레이트를 포함한다.

[0040] 본원에서 사용된 "알킬"은 단독으로 또는 접미사나 접두사로서 사용되는데, 특정한 수의 탄소 원자를 갖는 포화 지방족 탄화수소기의 분지쇄 및 직쇄 모두를 포함하는 것으로 의도된다. 예를 들어, "C1-6 알킬"은 1, 2, 3, 4, 5 또는 6 개의 탄소 원자를 갖는 알킬을 나타낸다.

[0041] *화합물*

[0042] ME0322(아래 참조)로 표시되는 3가 시알산 유도체는, HAdV-37의 인간 각막 상피 세포에 결합을 억제하는 것으로 당해 분야에 공지된 것으로, 3개의 주요 요소인 코어 모이어티, 시알산 잔기, 및 코어 모이어티와 시알산 잔기를 연결하는 링커를 갖는다. 링커에 스쿠아르산(squaric acid)을 기초로 한 커플링 잔기가 존재한다. 3가의 시알산 유도체 ME0322는, 파이버 노브의 3개의 모든 시알산 결합 부위와 동시에 상호작용하기에 충분한 유연성을 제공하는 방식으로 설계되었다. 외견상으로, HAdV-37 섬유 헤드와 ME0322의 복합체의 분석된(resolved) 결정 구조는, 이 화합물이 실제로 3개의 시알산 결합 부위 모두에 동시에 결합할 수 있음을 입증하며, 이는 링커에 의해 제공된 유연성이 충분하다는 것을 확증한다.

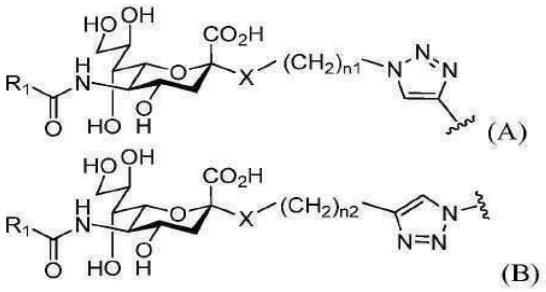


[0043]

[0044] **ME0322**

[0045] 스쿠아르산 잔기를 다른 커플링 잔기로 대체(HAdV-37 파이버 노브의 탄수화물 인식 부위와 추가적인 접촉을 확립하기 위한 수단을 제공)하면 잠재적으로 결합 친화도를 훨씬 증가시킬 것이라고 추측하였다. 놀랍게도, 본 발명자들은 ME0322에 존재하는 스쿠아르산 커플링 잔기를 트리아졸산 커플링 잔기로 교체하면 실제 HAdV-37의 인간 결막 상피 세포에 결합을 방지하는 효능이 증가된 다가의 시알산 유도체가 생성된다는 것을 확인하였다.

[0046] 따라서, 하나의 실시형태는 화학식 A 또는 B에 따른 3 또는 4개의 그룹이 부착된 코어 모이어티를 포함하는 3가 또는 4가의 시알산 유도체에 관한 것이다.



[0047]

[0048] 여기서,

[0049] "X"는 O(산소), NH, 또는 S(황)이고;

[0050] R1은 C1-C3 알킬, 페닐, OC1-2 알킬, CF3, 또는 NHC1-2 알킬이고;

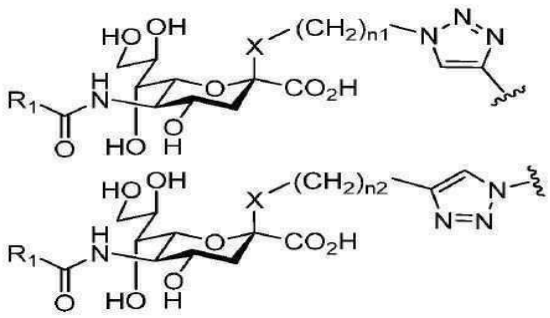
[0051] 정수 "n1"은 2 내지 8이고;

[0052] 정수 "n2"는 1 내지 8이고;

[0053] 파선은 코어 모이어티의 부착지점을 나타낸다.

[0054] 이러한 화합물은 유리 염기로서, 비하전 양성자 형태의 산으로서, 약학적으로 허용가능한 부가 염으로서, 용매화물로서, 또는 약학적으로 허용가능한 부가 염의 용매화물로서 존재할 수 있다. 화합물은 산성의 카르복실산 모이어티 뿐만 아니라 염기성 트리아졸 잔기를 포함하므로, 쯔비터이온으로도 존재할 수 있다. 또한, 상기 화합물은 순수한 입체이성질체로서 또는 상기 화합물을 포함하는 라세미체, 디아스테레오머, 스칼레믹(scalemic), 아노머 혼합물로 존재할 수 있다. 바람직하게는, 화합물은 순수한 입체이성질체로서 또는 아노머 혼합물로서 존재한다.

[0055] 아노머 혼합물로서 존재한다면, α-아노머가 우세한 경우가 바람직하다. 따라서, 75% 이상(예를 들어, 90%, 95%, 99% 초과 또는 심지어 99,9% 초과)의 화합물이 α-아노머로 존재하는 경우가 바람직하다. 상응하는 β-아노머는 아래와 같다:



[0056]

[0057] 또한 N- 및 S-글리코시드도 고려되지만, O-글리코시드가 바람직하다. 즉, 화학식 A와 B의 "X"는 하나의 실시형태에 따라 "O"(산소)이다.

[0058] 다소 본원과 관련이 있는 이전의 HSA 유도체와 관련하여, HAdV-37 파이버 노브의 탄수화물 인식 부위에 대해 친화성 갖는 화합물에서 R1은 메틸로 한정되지 않는다고 이미 밝혀졌다(Johansson et al. *J. Med. Chem.* 2009, 52, 366). 본원에 개시된 3가 또는 4가의 시알산 유도체의 R1은 메틸로 제한되지 않으나, 메틸인 경우 바람직하다.

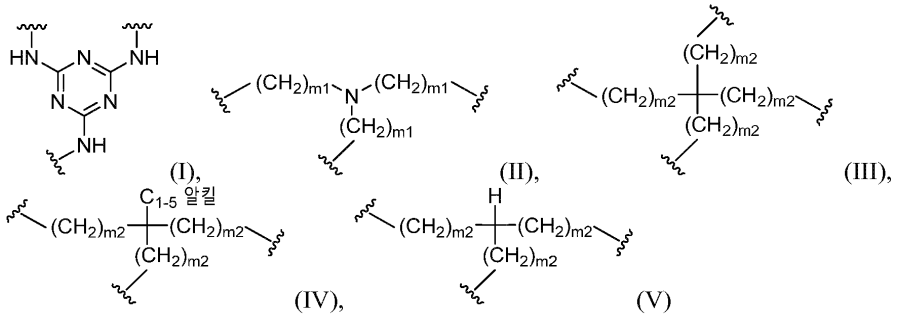
[0059] 본원에 개시된 3가 또는 4가의 시알산 유도체에서, 시알산 잔기는 알킬렌을 통해 트리아졸에 부착된다. 알킬렌이 바람직하지만, 알킬렌을 예를 들어 짧은 PEG-링커 또는 사이클로알킬 모이어티를 포함하는 링커로 대체하는 것을 예상할 수 있다. 알킬렌은 다양한 길이일 수 있다(예를 들어, 화학식 A에 따른 그룹을 포함하는 3가 또는 4가의 시알산 유도체에 대해서는 에틸렌 내지 옥틸렌 및 화학식 B에 따른 그룹을 포함하는 3가 또는 4가의 시알산 유도체의 메틸렌 내지 옥틸렌). 그러나, 알킬렌이 에틸렌이나 프로필렌인 경우가 바람직하다. 즉, 화학식 A에 따른 그룹을 포함하는 3가 내지 4가의 시알산 유도체에서 정수 "n1"은 2 또는 3인 것이 바람직하다. 이와 유사하게 화학식 B를 포함하는 3가 내지 4가의 시알산 유도체에서 정수 "n2"는 1, 2, 또는 3인 것이 바람직하다.

[0060] 구리(I) 촉매된 아지드-알킨 후이스겐(Huisgen) 고리화 첨가 반응(후술하는 실험 설명 참조)으로 에틴 그룹을 포함하는 코어 모이어티와 아지드 그룹을 포함하는 시알산 잔기의 커플링으로 본원에 개시된 3가 또는 4가의 시알산 유도체를 얻을 수 있다. 이와 유사하게, 에틴 그룹을 포함하는 시알산 잔기는 아지드 그룹을 포함하는 코어 모이어티와 구리(I)의 존재하에 커플링될 수 있다. 하나의 실시형태에 따르면, 본원에 개시된 3가 또는 4가의 시알산 유도체는 화학식 A에 따른 그룹을 포함한다. 다른 실시형태에 따르면, 본원에 개시된 3가 또는 4가의 시알산 유도체는 화학식 B에 따른 그룹을 포함한다. 외견상, 화학식 B에 따른 그룹을 포함하는 화합물이 화학식 A에 따른 그룹을 포함하는 화합물보다, 적어도 특정 링커의 길이에 따라, 다소 더 강력할 수 있다.

[0061] 비록 트리프로파길아민 및 트리스(2-아지도에틸)아민 각각이 코어 모이어티로서 HAdV-37 파이버 노브의 탄수화물 인식 부위에 대해 증가된 친화도를 갖는 3가 또는 4가의 시알산 유도체를 얻는데 유용하다고 밝혀졌으나, 본 발명이 단지 이런 유형의 3가 코어 모이어티로만 한정되는 것은 결코 아니다. 3 또는 4개의 에틴 또는 아지드 그룹을 포함하는 구조적으로 잘 규명된 화합물인 다른 소분자 역시 구리(I)의 존재하에 시알산 잔기와 커플링하여 3가 또는 4가의 시알산 유도체를 얻을 수 있다.

[0062] 하나의 실시형태에 따르면, 3가 또는 4가의 시알산 유도체의 유리 형태의 분자량은 2,500Da 이하(예를 들어, 2,000Da 이하, 또는 1,500Da 이하)이다. 파이버 노브의 3개의 시알산 결합 부위는 서로 매우 가까이 위치하므로(즉, 대략 10Å), 3가 또는 4가의 시알산 유도체의 시알산 잔기가 서로 너무 떨어져 있지 않는 것이 바람직하다. 또한, 코어 모이어티가 너무 유연하거나 시알산 잔기 사이의 길이가 너무 길면 유도체가 파이버 노브에 결합하는 것에 부정적인 영향을 미칠 수 있다. 또한, 작고 보다 견고한 유도체가 파이버 노브 단백질 결합 시 낮은 엔트로피 손실을 보여 결과적으로 향상된 효능에 기여할 것이다.

[0063] 전술한 바와 같이, 다양한 유형의 코어 모이어티가 있을 수 있다. 하나의 실시형태에 따르면, 코어 모이어티는 화학식 I 내지 V 중 어느 하나에 따른 모이어티이다:

[0064] 

[0065] 여기서,

[0066] 모이어티 I에 부착된 화학식 A 또는 B에 따른 그룹은 화학식 A에 따른 그룹이고;

[0067] 모이어티 II에 부착된 화학식 A 또는 B에 따른 그룹이 화학식 A에 따른 그룹인 경우, 화학식 II의 정수 "m1"은 1 내지 8이고;

[0068] 모이어티 II에 부착된 화학식 A 또는 B에 따른 그룹이 화학식 B에 따른 그룹인 경우, 화학식 II의 정수 "m1"은 2 내지 8의 정수이고;

[0069] "m2"는 1 내지 8의 정수이고;

[0070] 파선은 화학식 A 또는 B에 따른 그룹이 부착되는 지점을 나타낸다.

[0071] 코어 모이어티의 정확한 특성은 결합 친화도에 덜 중요하지만, 어쨌든 코어 모이어티가 화학식 II에 따른 모이어티인 것이 바람직하다고 밝혀졌다. 게다가, 바람직하게 정수 "m1"은 1 내지 3이고, 정수 "m2"는 1 내지 3이다. 또한, 실시예에 따르면, 모이어티 II에 부착되는 화학식 A 또는 B에 따른 그룹들은 화학식 A에 따른 그룹이다. 또 다른 실시형태에 따르면, 이들은 화학식 B에 따른 그룹이다.

[0072] 하나의 실시형태에 따르면, 화학식 A에 따른 그룹을 포함하는 본원에 개시된 3가 또는 4가의 시알산 유도체는 다음으로 이루어진 군에서 선택된다:

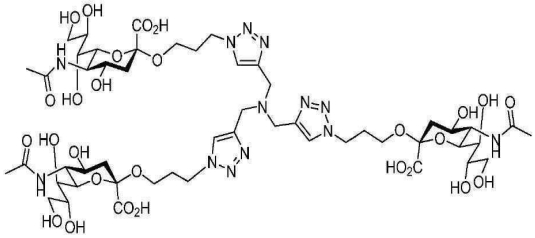
[0073] 트리스((1-(2-O-(5-N-아세트아미도-3,5-디데옥시-D-글리세로-α-D-갈락토-2-노눌로피라노실론산))-2-옥소에틸-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메틸)아민;

[0074] 트리스((1-(2-O-(5-N-아세트아미도-3,5-디데옥시-D-글리세로-α-D-갈락토-2-노눌로피라노실론산))-3-옥소프로필-1H -1,2,3-트리아졸-4-일)메틸)아민;

[0075] 트리스((1-(2-O-(5-N-프로파노일아미도-3,5-디데옥시-D-글리세로-α-D-갈락토-2-노눌로피라노실론산))-2-옥소에틸-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메틸)아민; 및

[0076] 트리스((1-(2-O-(5-N-프로파노일아미도-3,5-디데옥시-D-글리세로-α-D-갈락토-2-노눌로피라노실론산))-3-옥소프로필-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메틸)아민.

[0077] 이러한 실시형태에 따르면, 3가 또는 4가의 시알산 유도체가 트리스((1-(2-O-(5-N-아세트아미도-3,5-디데옥시-D-글리세로-α-D-갈락토-2-노눌로피라노실론산))-3-옥소프로필-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메틸)아민, 즉

[0078] 
가 바람직하다.

[0079] 또 다른 실시형태에 따르면, 화학식 B에 따른 그룹을 포함하는 본원에 개시된 3가 또는 4가의 시알산 유도체는 다음으로 이루어진 군에서 선택된다:

[0080] 트리스(*(4-(2-O-(*5-N-아세트아미도-3,5-디데옥시-D-글리세로-α-D-갈락토-2-노눌로피라노실론산))-2-옥소메틸-

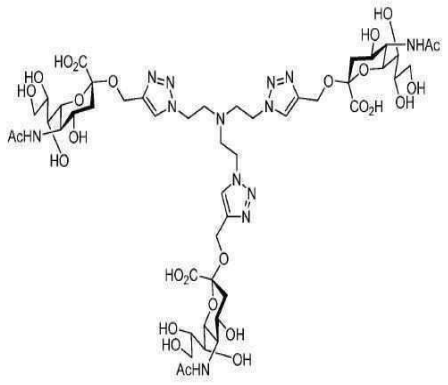
1H-1,2,3-트리아졸-1-일)에틸)아민;

[0081] 트리스((*4-(2-0-(*5-N-프로파노일아미도-3,5-디데옥시-D-글리세로-α-D-갈락토-2-노눌로피라노실론산))-2-옥소메틸-1H-1 ,2,3-트리아졸-1-일)에틸)아민;

[0082] 트리스((4-(2-0-(5-N-아세트아미도-3,5-디데옥시-D-글리세로-α-D-갈락토-2-노눌로피라노실론산))-2-옥소에틸-1H-1 ,2,3-트리아졸-1-일)에틸)아민; 및

[0083] 트리스((*4-(2-0-(*5-N-프로파노일아미도-3,5-디데옥시-D-글리세로-α-D-갈락토-2-노눌로피라노실론산))-2-옥소에틸-1H-1,2,3-트리아졸-1-일)에틸)아민.

[0084] 이러한 실시형태에 따르면, 3가 또는 4가의 시알산 유도체가 트리스((4-(2-0-(5-N-아세트아미도-3,5-디데옥시-D-글리세로-α-D-갈락토-2-노눌로피라노실론산))-2-옥소메틸-1H-1,2,3-트리아졸-1-일)에틸)아민, 즉



[0085] 인 경우가 바람직하다.

[0086] *약학 조성물*

[0087] 본 발명의 다른 실시형태는 본원에 개시된 3 또는 4가의 시알산 유도체를 포함하는 약학 조성물, 예를 들어 EKC의 치료 및/또는 예방을 위한 약제에 관한 것이다. 이러한 약학 조성물은 담체, 희석제 및/또는 안정제와 같은 약학적으로 허용가능한 부형제를 더 포함할 수 있다. 적용 기준에 따라 약학 조성물을 눈 감염의 치료 또는 예방을 위한 약제 또는 의료 기기(medical device)로 분류할 수 있다. 조성물이 약학 조성물로 지칭된다는 사실만으로 의료 기기로서의 조성물의 등록을 배제하는 것으로 해석되어서는 안된다. 3가 또는 4가의 시알산 유도체의 바이러스 결합 특성은, 예를 들어 렌즈 용액의 형태에서 콘택트 렌즈의 오염을 방지하기 위해 사용될 수 있음을 나타낸다.

[0088] 이러한 맥락에서 "약학적으로 허용가능한"은 채용된 용량 및 농도에서 투여된 피험자에게 원하지 않는 효과를 야기하지 않는 부형제를 의미한다. 이러한 약학적으로 허용가능한 부형제는 당해 기술 분야에서 널리 알려져있다.

[0089] 하나의 실시형태에 따르면, 본원에 개시된 이러한 약학 조성물은 눈에 투여하기 적합한 약학 조성물이다. 눈에 투여하기 적합한 약학 조성물에 대한 일반적인 비제한적인 예시는 안약, 연고, 스프레이, 드레싱, 젤을 포함한다.

[0090] 눈에 투여하기 적합한 약학 조성물은 수성 조성물일 수 있다. 이러한 수성 조성물은 90중량% 이상(예를 들어, 90 내지 99.9, 95 내지 99, 또는 95 내지 98중량%)의 함수량을 가질 수 있다. 또한, 본원에 개시된 3가 또는 4가의 시알산 유도체를 포함하는 수성 조성물은 0.001 내지 10mM(예를 들어, 0.01 내지 1mM)의 3가 또는 4가의 시알산 유도체를 포함할 수 있다.

[0091] 게다가, 수성 조성물은 등장액을 제공하는 제제를 포함할 수 있다. 따라서, 수성 조성물은 염화나트륨, 글리세롤, 폴리에틸렌글리콜, 모노사카라이드(예를들어, 포도당 및 만니톨) 및 디사카라이드(예를 들어, 설탕)와 같은 사카라이드로 이루어진 군에서 선택된 제제를 포함할 수 있다.

[0092] 하나의 실시형태에 따르면, 본원에 개시된 약학 조성물은 염화나트륨과 같은 전해질을 포함하는 수성 조성물이다. 바람직하게, 전해질의 양은 염화나트륨에 대해 대략 0.9중량%과 같은 등삼투압 농도(iso-osmotic)에 근접하여야 한다.

[0093] 또 다른 실시형태에 따르면, 본원에 개시된 약학 조성물은 글리세롤을 포함하는 수성 조성물이다. 글리세롤의

양은 2 내지 3% 중량(예를 들어, 2.3 내지 2.3 또는 2.5 내지 2.7 중량%)일 수 있다. 바람직하게는, 상기 양은 등삼투압 농도, 예를 들어 2.6 중량%에 근접한다.

[0094] 또한, 생리적 pH에 근접한 pH를 갖는 조성물을 제공하기 위해 약학 조성물의 pH를 조정하는 것이 흥미로울 것이다. 즉, 하나의 실시형태에 따른 약학 조성물은 6,5 내지 8의 pH를 갖는 수성 조성물이다. 바람직하게, 상기 pH는 생리적 pH(예를 들어, 7.2 내지 7.8)에 근접한다.

[0095] 본원에 개시된 3가 또는 4가의 시알산 유도체는 트리아졸 모이어티를 포함하는 염기성 모이어티뿐만 아니라 산성의 카르복실산 모이어티를 포함하므로, 약학 조성물은 pH를 원하는 수준으로 조정하기 위해 약학적으로 허용가능한 산 및/또는 염기를 포함할 수 있다. 또한, 약학 조성물은 완충될 수 있다. 완충된 약학 조성물은 일반적으로 HCO_3^-/CO_3^{2-} 또는 $H_2PO_4^-/HPO_4^{2-}$와 같은 완충 종들을 포함한다. 또한, 완충된 약학 조성물은 붕산으로 완충될 수 있다.

[0096] 또 다른 실시형태에 따르면, 약학 조성물의 pH는 약 5 내지 7과 같이 생리적인 것보다 약간 낮다. 7 미만의 산성의 pH를 갖는 조성물은 미생물의 성장에 덜 민감하다는 장점이 있다. 또한, 약학 조성물에 보존제를 부가함으로써 미생물의 증식을 방지할 수 있다. 하나의 실시형태에 따르면 본원에 개시된 약학 조성물은 보존제를 포함할 수 있다. 보존제의 예로는 염화벤잘코늄, 벤조산, 부틸화된 하이드록시아니솔; 부틸파라벤, 프로필파라벤, 에틸파라벤, 메틸파라벤, 및 이들의 혼합물과 같은 파라벤류; 페녹시에탄올, 페닐에틸알코올, 또는 소르브산이 있다. 보존제를 포함하는 약제학적 조성물은 저장에 더욱 적합할 수 있다. 또한, 본원에 개시된 약학 조성물을 가열 멸균 또는 멸균 여과로 멸균할 수 있다.

[0097] 본원에 개시된 약학 조성물은 또한 항산화제, 추가적인 등장화제, 착색제 등과 같은 다른 약학적으로 허용가능한 부형제를 포함할 수 있다.

[0098] 수성 약학 조성물과 관련한 실시형태로서, 조성물은 비이온성 계면활성제, 친수성 중합체 등과 같은 현탁제 및 안정화제를 포함할 수 있다.

[0099] 하나의 실시형태에 따르면, 본원에 개시된 약학 조성물은 증점제를 포함할 수 있다. 일반적으로 증점시키는 약학 조성물은 수성이다. 증점된 용액, 겔, 시럽, 크림, 또는 연고를 생성하기 위하여 증점제를 채용할 수 있다. 증점용 액 또는 겔을 형성하기 위해서, 하이드로겔-형성 물질을 채용할 수 있다. 이러한 하이도르겔-형성 물질은 합성 폴리머, 반합성 폴리머, 천연 검으로 이루어진 군에서 선택될 수 있다.

[0100] 합성 중합체의 예로는 폴리비닐알코올, 폴리비닐피롤리돈, 폴리아크릴산, 폴리에틸렌 글리콜, 폴록사머 블록 공중합체를 포함한다. 반합성 고분자의 예로는 카르복시메틸셀룰로오스, 하이드록시에틸셀룰로오스, 하이드록시프로필셀룰로오스, 및 에틸하이드록시셀룰로오스와 같은 셀룰로오스 에테르를 포함한다. 천연 검의 예로는 아카시아, 알긴산, 카라기난(carragenan), 키토산, 펙틴, 전분, 크산탄 검을 포함한다.

[0101] 증점용 액 또는 겔은 히알루론산과 이들의 유도체와 같은 물질, 카보머 및 폴리카보필 유형의 가교된 폴리아크릴산, 및 점막에 강하게 부착하는 것으로 알려진 쉽게 겔을 형성하는 폴리머의 채용으로 점막부착성을 부여할 수 있다.

[0102] 하나의 실시형태에 따르면, 본원에 개시된 약학 조성물은 폴록사머 유형의 블록 공중합체를 포함할 수 있다. 폴리에틸렌글리콜 및 폴리프로필렌글리콜 블록을 포함하는 폴리머들과 같은 폴록사머 유형의 블록 공중합체를 사용하는 것이 유리한데, 이는 물에 분산된 특정한 폴록사머들이 열가역적이기 때문이다. 열가역적인 폴록사머 예로서 폴록사머 188 및 폴록사머 407이 있다.

[0103] 물에 분산된 열가역적인 폴록사머는 낮은 점성을 가지나 승온에서 현저한 점도 증가를 나타내어 체온에서 겔을 형성한다. 이에 따라 상대적으로 따뜻한 각막에 투여된 약제학적 제형의 접촉시간을 연장할 수 있다. 따라서, 본 발명의 하나의 실시형태는 본원에 개시된 바와 같이 열가역적인 약학 조성물에 관한 것이다.

[0104] 하나의 실시형태에 따르면, 본원에 개시된 약학 조성물은 추가적인 항바이러스 화합물을 포함할 수 있다. 이러한 화합물의 예로 N-클로로타우린 및 포비돈-요오드(PVP-I)를 포함한다.

[0105] N-클로로타우린(Cl-HN-CH2-CH2-SO3H)은 내인성 항미생물제이다. 이는 산화적 파열(burst) 동안 과립구와 단핵구에 의해 생성되는 순한 활성 염소이다. 비특이적 반응 메커니즘(예를 들어, 아미노기, 티오, 및 방향족 화합물의 산화) 때문에 소독약과 유사한 광범위 살미생물 활성을 갖는다. N-클로로타우린의 나트륨 염(Cl-HN-CH2-CH2-SO3Na)은 시험관 내에서 세균 및 진균을 죽이는 것으로 밝혀졌다. 게다가 살바이러스 효과가 밝혀졌다. 포비돈-

요오드는 폴리비닐피롤리돈(포비돈, PVP)과 요오드 원소의 안정적인 화학 복합체이다.

[0106] 하나의 실시형태에 따르면, 본원에 개시된 약학 조성물은 부가적인 항바이러스 화합물을 포함할 수 있는데, 상기 항바이러스 화합물은 헤르페스에 의해 야기된 감염을 국소적으로 치료하는데 유용하다. 이러한 화합물의 예로서 아시클로버, 발아시클로버, 펜시클로버, 및 팜시클로버의 구아노신 유사체와 포스카르네트(sodium phosphoneformate hexahydrate)를 포함한다.

[0107] 하나의 실시형태에 따르면, 본원에 개시된 약학 조성물은 국소 마취제를 포함할 수 있다. EKC는 매우 고통스러운 질환이라서, 국소 마취제를 포함하는 것이 고통 완화를 위해 유용할 것이다. 게다가, 이러한 고통 완화는 환자로 하여금 비록 투여 자체가 매우 고통스럽더라도 계속해서 치료받을 수 있도록 하는데 유용할 것이다. 게다가, 신속하게 개시되는 국소 마취제의 사용은 환자에게 조성물의 각막으로의 직접 투여를 더 많이 허용할 수 있도록 실제로 눈을 여는 것을 가능하게 할 수 있다. 유용한 국소 마취제의 예로서 리도카인, 프릴로카인, 로피바카인이 포함된다.

[0108] *치료*

[0109] 다른 실시형태에 따르면, 본원에 개시된 3가 또는 4가의 시알산 유도체, 또는 약학 조성물은 치료를 위해 사용될 수 있다.

[0110] *눈 감염의 치료*

[0111] 전술한 바와 같이, 본원에 개시된 3가 또는 4가의 시알산 유도체는 HAdV-37의 인간 각막 세포의 결합을 억제하는 것으로 밝하졌다.

[0112] 따라서, 본 발명의 하나의 실시형태는, 감염될 세포 표면에 존재하는 말단 시알산 잔기에 결합하는 바이러스에 의한 눈 감염의 치료 및/또는 예방에 이용하는, 본원에 개시된 3가 또는 4가의 시알산 유도체 또는 약학 조성물과 관한 것이다.

[0113] 유사하게, 본 발명의 하나의 실시형태는, 감염될 세포표면에 존재하는 말단 시알산 잔기에 결합하는 바이러스에 의한 눈 감염의 치료 및/또는 예방에 이용하는 약제의 제조를 위한, 본원에 개시된 3가 또는 4가의 시알산 유도체 또는 약학 조성물의 용도에 관한 것이다.

[0114] 또 다른 실시형태는, EKC와 같은, 감염될 세포표면에 존재하는 말단 시알산 잔기에 결합하는 바이러스에 의한 눈 감염의 예방 및/또는 치료 방법으로서, 이는 이러한 예방 및/또는 치료가 필요한 인간을 포함한 포유류에게, 치료하는데 효과적인 양의 본원에 개시된 3가 또는 4가의 시알산 유도체 또는 치료하는데 효과적인 양의 본원에 개시된 3가 또는 4가의 시알산 유도체를 포함하는 약학 조성물을 투여하는 것을 포함한다. 바람직하게는, 상기 3가 또는 4가의 시알산 유도체 또는 약학 조성물은 이러한 방법으로 눈에 투여된다.

[0115] 세포 표면에 존재하는 말단 시알산 잔기에 결합하여 이에 따라 상기 세포의 눈 감염과 같은 감염을 야기하도록 허용하는 바이러스의 예로는 HAdV-8, HAdV-19, HAdV-37, HAdV-53, HAdV-54, 및 HAdV-56를 포함한다. 세포표면에 존재하는 말단 시알산 잔기에 결합하여 눈 감염을 야기하는 아데노바이러스의 예는 HAdV-8, HAdV-19, 및 HAdV-37를 포함하며 대표적인 예는 HAdV-37이다.

[0116] 하나의 실시형태는, 3가 또는 4가의 시알산 유도체 또는 조성물의 사용에 의해 치료 및/또는 예방되는 눈 감염은 유행성 각결막염(EKC)이다.

[0117] 본원의 실시형태에 따른 약학 조성물은 약학적 유효량으로 환자에게 투여될 수 있다. "약학적 유효량"은 투여되는 조건과 관련하여 바람직한 효과를 생산하기에 충분한 용량을 의미한다. 정확한 용량은 3가 또는 4가의 시알산 유도체의 활성, 투여방식, 장애 및/또는 질병의 특성 및 중증도, 및 환자의 나이와 몸무게와 같은 일반 조건에 따라 달라질 수 있다.

[0118] 하나의 실시형태에 따르면, 본원에 개시된 약학 조성물은 하루에 한 번 또는 수 번 투여된다. 비록 다른 투여요법 역시 사용될 수 있지만, 일반적으로 이러한 약학 조성물은 하루에 3번 투여될 것이다.

[0119] 본원에서 사용될 때, "예방하다/예방하는"은 예방을 달성하기 위해 본원에 개시된 실시형태에 따른 화합물 또는 약학 조성물의 사용 이후에 질환 및/또는 질병이 결코 다시 나타나지 않을 것이라는 것을 의미하는 것으로 해석되어서는 안된다. 또한, 이 용어는 상기 질환을 예방하기 위해 사용한 후 적어도 어느 정도까지 질환이 나타나지 않을 것이라는 것으로 역시 해석되어서도 안된다. 오히려, "예방하다/예방하는"은 예방될 질환이 이러한 사용에도 불구하고 질환이 발생하는 경우, 사용하지않는 경우보다 예방되어야 할 질환이 덜 심각할 것이라는 것을

의미하고자 한다.

[0120] 하나의 실시형태에 따르면, 치료란 전처치(pre-treatment) 즉, 예방적 처치를 또한 포함한다.

[0121] 총론

[0122] 본 발명을 특정한 예시적인 실시형태를 참조해서 설명하였지만, 본 발명이 본원에 설명된 특정 형태에 한정되는 것은 아니다. 상술한 실시형태의 어떠한 조합도 본 발명의 범위 내에 있는 것으로 이해하여야 한다. 오히려, 본 발명은 오직 첨부된 청구범위에 의해서만 제한되며, 특정된 것과 다른 양태도 첨부된 청구항의 범위 내에서 동등하게 가능하다.

[0123] 청구범위에서, 용어 "포함하다/포함하는"은 다른 종류나 단계의 존재를 배제시키지 않는다. 게다가, 비록 개별적인 특징들이 다른 청구항에 포함될 수는 있지만, 이들은 아마도 유리하게 조합될 수 있으며, 다른 청구항에 포함되는 것이 특징의 조합이 실현가능하지 않고/않거나 유리지 않다는 것을 의미하는 것은 아니다. 게다가, 단수 참조는 복수를 배제하지 않는다. 용어 "하나", "제1", "제2" 등은 복수를 배제하지 않는 것으로 이해되어야 한다. "적어도 1이상", 또는 "하나 이상"은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10과 같은 1 또는 1보다 큰 수를 의미한다.

[0124] **실험**

[0125] 하기의 실시예는 단순한 예시이며 결코 본 발명의 범위를 한정하는 것으로 해석되어서는 안된다. 오히려, 본 발명은 첨부된 청구범위에 의해서만 한정된다.

도면의 간단한 설명

[0126] 도 1a, 2a, 및 2b : 3가의 시알산 유도체 세트의 HCE 세포에 대한 HAdV-37의 결합 및 감염에 대한 효과 - 상이한 농도의 억제제 존재하에서의 비리온 결합(데이터는 억제제의 부재하에 얻어진 값의 대조군에 대한 %로 표현된다.)

도 1b, 3a, 및 3b : 3가의 시알산 세트의 HCE 세포에 대한 HAdV-37의 결합 및 감염에 대한 효과 - 상이한 농도의 억제제에서의 감염(데이터는 억제제의 부재하에 얻어진 값의 대조군에 대한 %로 표현된다.)

일반적인 화학적 과정

^{1}H NMR 및 ^{13}C NMR 의 스펙트럼은 각각 400 MHz와 100 MHz에서 Bruker DRX-400 분광계로 기록되었다. NMR 실험은 $CDCl_3$ 존재하에 298K로 행해졌다(잔류 용매 피크 = 7.26 ppm (δH)), CD_3OD(잔류 용매 피크 = 3.31 ppm (δH) 및 49.00 ppm (δC)) 및 D_2O (잔류 용매 피크 = 4.79 ppm (δH)).

LCMS는 Xterra C18 컬럼(50 x 19 mm, 5 ㎛, 125 Å)이 장착된 Waters LC 시스템에서 수행되었고, 물 중 CH_3CN의 선형 구배로 용출되었으며, 둘다 포름산(0.2%)를 함유하였다. 1.5 mL/min의 유속이 사용되었고 214nm에서 검출이 수행되었다. 질량 스펙트럼은 양성 및 음성 전기분무 이온화를 이용하여 Water micromass ZQ 2000에서 수득되었다.

반-제조용 HPLC 분리는 Gilson 시스템에서 수행되었으며, 20mL/분 유속의 Nucleodur C-18 컬럼 HTEC 5㎛ (VP 250/21) 214nm에서의 검출 및 용리액 시스템(A. 수성 0.005% CF_3COOH, 및 B. CH_3CN 중 0.005% CF_3COOH)을 사용하였다.

컬럼 크로마토그래피는 실리카겔(Merck, 60Å, 70-230 mesh ASTM) 상에서 수행되었다. 박층 크로마토그래피(TLC)는 Silica gel 60 F_{254}(Merck) 상에서 UV 광하에서의 검출 및/또는 EtOH 중의 5%의 H_2SO_4 및 열로의 현상과 함께 수행되었다.

광회전은 20℃에서 Perkin-Elmer 343 편광계를 이용하여 측정되었다. 유기용매는, 분자체 3Å로 건조된 CH_3CN와 MeOH를 제외하고는, Glass Contour Solvent Systems (SG Water USA)를 사용하여 건조시켰다.

모든 시판 시약들은 받은 대로 사용하였다.

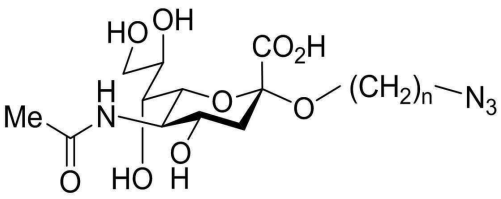
ME0322로 표시된 화합물은 공개된 절차에 따라 합성되었다(참조: Spjut et al Angew. Chem. Int. Ed. 2011, 50, 6519). 모든 표적 화합물은 HPLC UV-트레이스에 따라 95% 이상의 순도였다. 통계는 GraphPad Prism

(GraphPad Software, Inc, La Jolla, CA)을 사용하여 계산되었다.

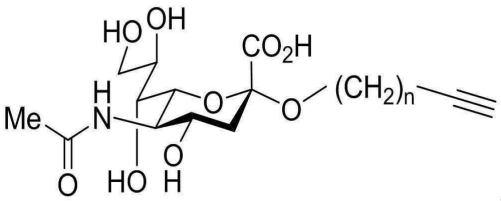
합성 절차

일반

본 발명의 화합물은 시알산에, 반응성 있는 말단그룹, 즉, 아지드 그룹(하기 묘사된 화합물 참조) 또는 에틴 그룹(하기 묘사된 화합물 참조)을 갖는 링커(일반적으로 알킬렌 링커)를 제공함으로써 수득될 수 있다.



"*아지드*"



"*에틴*"

반응성 말단-그룹이 제공된 시알산을 3개 또는 4개의 반응성 그룹을 갖는 코어 모이어티(즉, 아지드 또는 에틴 모이어티)와 일반적으로 촉매로서 작용하는 구리(I)의 존재하에 아지드-알킨 후이스겐(Huisgen) 고리화 첨가 반응으로 반응시켜, 본 발명과 같은 화합물을 얻을 수 있다. 당업자에 의해 용이하게 인식되듯이, 합성의 다양한 단계에서 다양한 그룹을 보호하는 것은 유용하거나 심지어 필수적일 수 있다. 당업자는 어떤 그룹이 사용되어야 하는지에 대해 친숙하다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

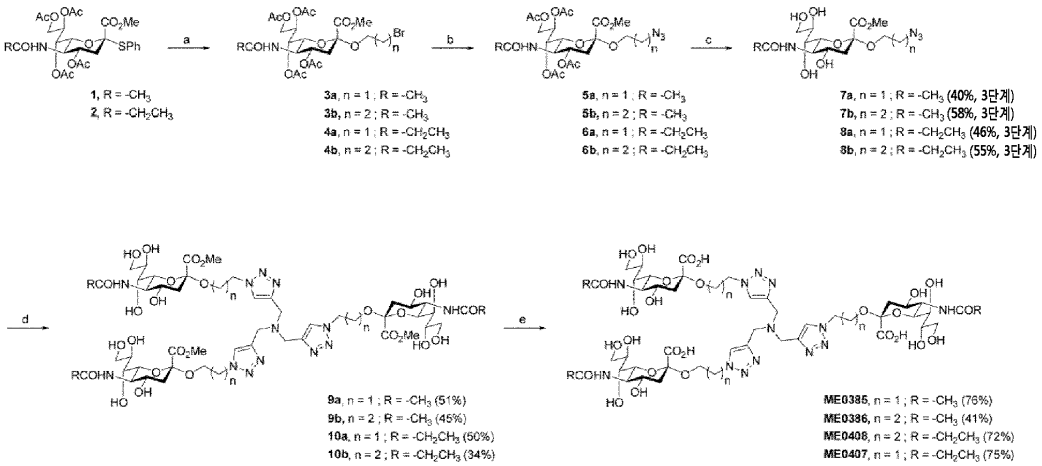
[0127] **실시예 1**

[0128] *코어 모이어티로서 트리프로파길아민의 사용*

[0129] 트리스((1-(2-O-(5-N-아세트아미도-3,5-디데옥시-D-글리세로-α-D-갈락토-2-노눌로피라노실론산))-2-옥소에틸-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메틸)아민(**ME0385**) 및 트리스((1-(2-O-(5-N-아세트아미도-3,5-디데옥시-D-글리세로-α-D-갈락토-2-노눌로피라노실론산))-3-옥소프로필-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메틸)아민 (**ME0386**) 과 같은 비변경 N-아실 3가의 시알산에 대한 경로는 간단한 것으로 입증되었으며, 이는 시판되는 화학물질로부터 8단계 또는 키 중간체 **1**(반응식 1)로부터 5단계로 얻을 수 있었다. 시판 시알산으로부터 용이하게 제조되는 시알산 티오페닐 유도체 **1**의 합성은 공지된 절차에 따라 수행하였다(Marra et al Carbohydr. Res. 1989, 187, 35). 시알로사이드 **3a** 및 **3b**는, 상응하는 알코올(각각 2-브로모에탄올 및 3-브로모프로판-1-올)을 화합물 **1**로 글리코실화하여 양호한 전환율로 수득되었다. 다른 브로모알코올의 사용은 빌딩 블록에 다른 길이를 갖는 링커를 제공한다. 이 반응은 이 단계에서 더 이상 정제되지 않는 생성된 제거 물질과 함께 분리할 수 없는 아노머 혼합물을 수득하였다. 브로모유도체 **3a** 및 **3b**는 쉽게 이들의 아지도 유사체로 전환되었다. 이후 표준 젬플렌(Zemplen) 조건을 이용한 O-디아실화로 세 단계에 걸쳐 아노머적으로 순수한 **7a** 및 **7b**를 각각 40% 및 58%의 수율로 수득하였다. 다음, 구리-촉매된 아지드 알킨 고리화 첨가 반응("클릭(click)" 반응)을 통해 화합물 **7a** 및 **7b**를 트리프로파길아민과 반응시켰다. 이로써, 메틸 에스테르 **9a** 및 **9b**를 각각 51% 및 45% 수율로 얻었다. 이어지는 비누화 반응으로 최종 표적 화합물인 **ME0385**와 **ME0386**을 각각 76% 및 41%의 수율로 얻었다.

[0130] 구리-촉매된 아지드 알킨 고리화 첨가 반응에서 트리프로파길아민 대신 에틴 유도체의 사용은 다른 유형의 3가 또는 4가의 시알산 유도체에 대한 접근을 제공하였다.

[0131] [반응식 1]



[0132]

[0133] **ME0385** 및 **ME0386**의 합성[a]

[0134] [a]*시약 및 조건 : (a) i: 분자 체 3Å, 2-브로모에탄올 또는 3-브로모프로판-1-올*, CH_3CN/CH_2Cl_2 (3:2), rt, 2시간, ii: AgOTf, lBr, -73, 4.5시간, iii: DlPEA, -73℃, 30분. (b) NaN_3, TBAl, DMSO, rt, 6시간. (c) i: NaOMe, MeOR, rt, 3시간, ii: H^+ 이온교환수지. (d) 트리프로파길아민, $CuSO_4$, 아스코르빈산 나트륨, THF/H_2O(1:1), 50℃, 3시간 이어서 rt, 18시간. (e) i: LiOH, MeOH, rt, 9시간, ii: H^+ 이온교환수지.

[0135] N-변형된 3가의 시알산인 트리스((1-(2-O-(5-N-프로파노일아미도-3,5-디데옥시-D-글리세로-α-D-갈락토-2-노눌로피라노실론산))-2-옥소에틸-lH-1,2,3-트리아졸-4-일)메틸)아민 **ME0408** 및 트리스((1-(2-O-(5-N-프로파노일아미도-3,5-디데옥시-D-글리세로-α-D-갈락토-2-노눌로피라노실론산))-3-옥소프로필-lH-1,2,3-트리아졸-4-일)메틸)아민 **ME0407**은 시판되는 시알산으로부터 13단계 또는 키 중간체 **2**(반응식 1)로부터 5단계에 따라 생성될 수 있었다. 화합물 **2**의 합성은 공개된 절차(Johansson et al J. Med. Chem. 2009, 52, 3666)에 따라 수행하였다. 다음 단계는 화합물 **ME0385** 및 **ME0386**에 대한 전술한 합성 경로와 유사하였다. 이어서, 연속적인 글리코실화, 아지드 형성, 및 O-디아실화반응으로 3단계에 걸쳐 아노머적으로 순수한 생성물 **8a** 및 **8b**을 각각 46% 및 55% 수율로 얻었다. 이후 "클릭"반응으로 3가의 화합물 **10a** 및 **10b**를 각각 50% 및 34%의 수율로 제공하였다. 마지막으로, 메틸에스테르 **10a** 및 **10b**의 비누화반응으로 표적 생성물인 **ME0408** 및 **ME0407**을 양호한 수율로 생성하였다.

[0136] *글리코실화 반응의 일반적인 방법*

[0137] 글리코실 공여체 **1** 또는 **2**(1.0 당량) 및 갓 분쇄된 분자체 3Å (1.5 g/mmol)를 실온에서 질소 대기 하에 CH_3CN/CH_2Cl_2 (3:2; 35 mL/mmol)의 혼합물에 용해/현탁하였다. 2-브로모에탄올 또는 3-브로모프로판-1-올 (4.5 당량)을 첨가하고 혼합물은 2시간 동안 교반하였다. 이 반응은 빛으로부터 보호되었으며 CH_3CN중의 실버 트리플레이터 용액 (2.0 당량)을 첨가하였다. 혼합물을 -73℃ (-70℃ < t < -75℃)까지 냉각시키고 IBR(1.4 당량, CH_2Cl_2 중 1M)을 첨가하였다. 이 반응은 -73℃에서 4.5시간 동안 진행하였다. 종료 후, DIPEA(6.0 당량)를 첨가하였다. 이 반응 혼합물을 -73℃에서 추가 30분간 교반한 후 실온으로 가온하였다. 혼합물은 Celite® 패드를 통해 여과하고, CH_2Cl_2 또는 CH_3CN로 세척하고 용매를 농축건조시켰다.

[0138] *메틸(2-브로모에톡시(5-N-아세트아미도-4,7,8,9-테트라-O-아세틸-3,5-디데옥시*-D-글리세로-α-D-갈락토-2-노닐로피라노실))-오네이트(**3a**). 글리코실화 반응에 대한 일반적인 방법에 따라 화합물 **3a**를 합성하였다. 칼럼 크로마토그래피 (n-헵탄/EtOAc 구배)에 의한 정제로 화합물 **3a** 및 이에 상응하는 반대(Reverse) 아노머를 얻었다. 화합물 **3a**를 추가적인 정제 없이 다음 단계에 사용하였다.

[0139] *메틸(3-브로모-프로필옥시(5-N-아세트아미도-4,7,8,9-테트라-O-아세틸-3,5-*디데옥시-D-글리세로-α-D-갈락토-2-노닐로피라노실))-오네이트(**3b**). 글리코실화 반응에 대한 일반적인 방법에 따라 화합물 **3b**를 합성하였다. 컬럼 크로마토 그래피 (n- 헵탄 / EtOAc 구배)에 의한 정제로 화합물 **3b** 및 이에 상응하는 반대 아노머를 얻었다.

화합물 **3b**를 추가적인 정제 없이 다음 단계에 사용하였다.

[0140] *메틸(2-브로모에톡시(5-N-프로파노일아미도-4,7,8,9-테트라-O-아세틸-3,5-디*데옥시-D-글리세로-α-D-갈락토-2-노닐로피라노실))-오네이트(**4a**). 글리코실화 반응에 대한 일반적인 방법에 따라 *화합물* **4a**를 합성하였다. 컬럼 크로마토 그래피 (톨루엔/EtOH, 10:1)에 의한 정제로 화합물 **4a** 및 이에 상응하는 반대 아노머를 얻었다(390 mg, 95%; α/β (6:1)). 화합물 **4a**를 추가적인 정제 없이 다음 단계에 사용하였다.

[0141] *메틸(3-브로모-프로필옥시(5-N-프로파노일아미도-4,7,8,9-테트라-O-아세틸*-3,5-디데옥시-*D-글리세로-α-D-갈락토-2-노닐로피라노실))-오네이트(**4b**).* 글리코실화 반응에 대한 일반적인 방법에 따라 화합물 **4b**를 합성하였다. 컬럼 크로마토 그래피 (톨루엔/EtOH, 8:1)에 의한 정제로 화합물 **4b** 및 이에 상응하는 반대 아노머를 얻었다 (400 mg, 98%; α/β (22:3)). 화합물 **4b**를 추가적인 정제 없이 다음 단계에 사용하였다.

[0142] *아지도 유도체 합성의 일반적인 방법*

[0143] DMSO(40mL/mmol)에 용해된 브로모 유도체(1.0 당량)에 소듐아지드(6.0 당량) 및 TBAI(2.0 당량)를 분할하여 (portion-wise) 연속적으로 첨가하였다. 이 반응을 실온에서 질소 대기 하에 6시간 동안 진행하도록 두었다. 종료 후, 혼합물을 CH_2Cl_2 로 희석하고, 물과 염수로 세척하고, $MgSO_4$로 건조하고, 여과하고, 농축 건조하였다.

[0144] *메틸(2-아지도에톡시(5-N-아세트아미도-4,7,8,9-테트라-O-아세틸-3,5-디데옥*시-D-글리세로-α-D-갈락토-2-노닐로피라노실))-오네이트(**5a**). 아지도 유도체 합성에 대한 일반적인 방법에 따라 화합물 **5a**를 합성하였다. 컬럼 크로마토 그래피 (CH_2Cl_2/MeOH, 95:5)에 의한 정제로 화합물 **5a** 및 이에 상응하는 반대 아노머를 얻었다(α/β (5:1)). 화합물 **5a**를 추가적인 정제 없이 다음 단계에 사용하였다.

[0145] *메틸(3-azido-프로필옥시(5-N-아세트아미도-4,7,8,9-테트라-O-아세틸-3,5-디*데옥시-D-글리세로-α-D-갈락토-2-노닐로피라노실))-오네이트(**5b**). 아지도 유도체 합성에 대한 일반적인 방법에 따라 화합물 **5b**를 합성하였다. 컬럼 크로마토 그래피 (CH_2Cl_2/MeOH, 95:5)에 의한 정제로 화합물 **5b** 및 이에 상응하는 반대 아노머를 얻었다(α/β (n.d.)). 추가적인 정제 없이 화합물 **5b**를 다음 단계에 사용하였다.

[0146] *메틸(2-아지도에톡시(5-N-프로파노일아미도-4,7,8,9-테트라-O-아세틸-3,5-디*데옥시-D-글리세로-α-D-갈락토-2-노닐로피라노실))-오네이트(**6a**). 아지도 유도체 합성에 대한 일반적인 방법에 따라 화합물 **6a**를0 합성하였다. 컬럼 크로마토 그래피 (톨루엔 /CH_2Cl_2/MeOH, 10:2:0.5)에 의한 정제로 화합물 **6a** 및 이에 상응하는 반대 아노머를 얻었다(366 mg, 정량적; α/β (6:1)). 화합물 **6a**를 추가적인 정제 없이 다음 단계에 사용하였다.

[0147] *메틸(3-아지도-프로필옥시(5-N-프로파노일아미도-4,7,8,9-테트라-O-아세틸*-3,5-디데옥시-*D-글리세로-α-D-갈락토-2-노닐로피라노실))-오네이트(**6b**).* 아지도 유도체 합성에 대한 일반적인 방법에 따라 화합물 **6b**를 합성하였다. 컬럼 크로마토 그래피 (톨루엔/CH_2Cl_2/MeOH, 8:2:0.5)에 의한 정제로 화합물 **6b** 및 이에 상응하는 반대 아노머를 얻었다(419 mg, 정량적; α/β (22:3)). 화합물 **6b를** 추가적인 정제 없이 다음 단계에 사용하였다.

[0148] *시알로사이드의 O-디아실화의 일반적인 방법.*

[0149] MeOH(70mL)에 용해된 과아실화 시알로사이드(1.0 당량)에 메톡사이드 나트륨(3.9 당량)을 첨가하였다. 이 반응은 실온에서 질소 대기 하에 3시간 동안 진행하였다. 종료 후, 빙초산의 적가 또는 Amberlyst® 15에 의해 용액을 중화하였다. 용매는 그 후 농축 건조하였다.

[0150] *메틸(2-아지도에톡시(5-N-아세트아미도-3,5-디데옥시-D-글리세로-α-D-갈락*토-2-노닐로피라노실))-오네이트(**7a**). 시알로사이드의 O-디아실화에 대한 일반적인 방법에 따라 화합물 **7a**를 합성하였다. 컬럼 크로마토 그래피 (EtOAc/EtOH/H_2O, 4:1:0.1)에 의한 정제로 화합물 **7a**를 얻었다(256 mg, 세 단계에 걸쳐 46% 수율).

[0151] ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 3.93-4.02 (m, 1H, $-OCH_{2b}-$), 3.85 (s, 3H, OCH_3), 3.80-3.84 (m, 2H, H-8, H-9_b), 3.77 (t, $J_{5,4} \approx J_{5,6}$ = 10.2 Hz, 1H, H-5), 3.60-3.73 (m, 3H, H-4, H-9_a, $-OCH_{2a}-$), 3.58 (dd, $J_{6,5}$ = 10.7 및 $J_{6,7}$ = 1.8 Hz, 1H, H-6), 3.51 (dd, $J_{7,8}$ = 8.7 및 $J_{6,7}$ = 1.8 Hz, 1H, H-7), 3.27-3.43 (m, 2H, $-CH_2N_3$), 2.72 (dd, $J_{3eq,3ax}$ = 12.8 및 $J_{3eq,4}$ = 4.6 Hz, 1H, H-3_{eq}), 2.00 (s, 3H, $COCH_3$), 1.77 (dd, $J_{3eq,3ax}$ = 12.8 및 $J_{3ax,4}$ = 11.8 Hz, 1H, H-3_{ax}).

[0152] ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD): δ 175.22, 170.71, 100.20, 75.05, 72.37, 70.18, 68.49, 64.74, 64.47, 53.79, 53.42, 51.74, 41.57, 22.66.

[0153] $C_{14}H_{26}N_4O_9(M+H)^+$에 대한 ESI-MS *m/z* 이론치 392.15; 실측치 392.56 및 $C_{14}H_{25}N_4NaO_9(M+Na)^+$에 대한 ESI-MS *m/z* 이론치 415.14; 실측치 415.31

[0154] *메틸(3-아지도-프로필옥시(5-N아세트아미도-3,5-디데옥시-D-글리세로-α-D-*갈락토-2-노닐로피라노실))-오네이트 (**7b**). 시알로사이드의 O-디아실화에 대한 일반적인 방법에 따라 화합물 **7b**를 합성하였다. 컬럼 크로마토 그래피 (EtOAc/EtOH/H_2O, 4:1:0.1)에 의한 정제로 화합물 **7b**를 얻었다(289 mg, 세 단계에 걸쳐 55% 수율).

[0155] ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 3.80-3.92 (m, 6H, $-OCH_{2b}-$, H-9_b, H-8, OCH_3), 3.77 (t, $J_{5,4} \approx J_{5,6}$ = 10.2 Hz, 1H, H-5), 3.61-3.69 (m, 2H, H-9_a, H-4), 3.59 (dd, $J_{6,5}$ = 10.3 및 $J_{6,7}$ = 2.0 Hz, 1H, H-6), 3.51 (dd, $J_{7,8}$ = 9.2 및 $J_{6,7}$ = 1.9 Hz, 1H, H-7), 3.43-3.50 (m, 1H, $OCH_{2a}-$), 3.38 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H, $-CH_2N_3$), 2.68 (dd, $J_{3eq,3ax}$ = 12.8 및 $J_{3eq,4}$ = 4.7 Hz, 1H, H-3_{eq}), 2.00 (s, 3H, $COCH_3$), 1.75-1.85 (m, 2H, $-CH_2-$), 1.74 (dd, $J_{3eq,3ax}$ = 12.8 및 $J_{3ax,4}$ = 11.8 Hz, 1H, H-3_{ax}).

[0156] ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD): δ 175.22, 171.06, 100.21, 74.97, 72.45, 70.20, 68.52, 64.71, 62.09, 53.83, 53.38, 48.98, 41.69, 30.14, 22.65.

[0157] $C_{15}H_{26}N_4O_9(M+H)^+$에 대한 ESI-MS *m/z* 이론치 407.17; 실측치 406.87 및 $C_{15}H_{25}N_4NaO_9(M+Na)^+$에 대한 ESI-MS *m/z* 이론치 429.16; 실측치 428.56

[0158] *메틸(2-아지도에톡시(5-N-프로파노일아미도-3,5-디데옥시-D-글리세로-α-D-*갈락토-2-노닐로피라노실))-오네이트 (**8a**). 시알로사이드의 O-디아실화에 대한 일반적인 방법에 따라 화합물 **8a**를 합성하였다. 컬럼 크로마토 그래피 (Toluene/CH_2Cl_2/MeOH, 3.5:6:0.5 에서 3:6:1)에 의한 정제로 화합물 **8a**를 얻었다(120 mg, 세 단계에 걸쳐 46% 수율).

[0159] ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 3.94-4.00 (m, 1H, $-OCH_{2b}-$), 3.85 (s, 3H, OCH_3), 3.80-3.84 (m, 2H, H-8, H-9_b), 3.77 (t, $J_{5,4} \approx J_{5,6}$ = 10.4 Hz, 1H, H-5), 3.67-3.72 (ddd, $J_{4,3ax}$ = 11.6, $J_{5,4}$ = 10.4, $J_{4,3eq}$ = 4.6 Hz, 1H, H-4), 3.60-3.66 (m, 2H, H-9_a, $-OCH_{2a}-$), 3.57 (dd, $J_{6,5}$ = 10.2 및 $J_{6,7}$ = 1.6 Hz, 1H, H-6), 3.49 (dd, $J_{7,8}$ = 8.9 및 $J_{6,7}$ = 1.6 Hz, 1H, H-7), 3.32-3.35 (m, 1H, $-CH_{2b}N_3$), 2.72 (dd, $J_{3eq,3ax}$ = 12.8 및 $J_{3eq,4}$ = 4.6 Hz, 1H, H-3_{eq}), 2.27 (q, *J* = 7.6 Hz, 2H, $-COCH_2-$), 1.76 (dd, $J_{3eq,3ax}$ = 12.8 및 $J_{3ax,4}$ = 11.6 Hz, 1H, H-3_{ax}), 1.14 (t, *J* = 7.6 Hz, 3H, $-COCH_2$).

[0160] ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD): δ 179.01, 170.73, 100.19, 75.09, 72.36, 70.17, 68.40, 64.72, 64.47, 53.64, 53.43, 51.73, 41.64, 30.16, 10.28.

[0161] $C_{15}H_{27}N_4O_9(M+H)^+$에 대한 ESI-MS *m/z* 이론치 407.18; 실측치 407.09 및 $C_{15}H_{26}N_4NaO_9(M+Na)^+$에 대한 ESI-MS *m/z* 이론치 429.16; 실측치 429.02

[0162] *메틸(3-아지도-프로필옥시(5-N-프로파노일아미도-3,5-디데옥시-D-글리세로-α-D-*갈락토-2-노닐로피라노실))-오네이트(**8b**). 시알로사이드의 O-디아실화에 대한 일반적인 방법에 따라 화합물 **8b**를 합성하였다. 컬럼 크로마토 그래피 (Toluene/CH_2Cl_2/MeOH, 3.5:6:0.5 에서 3:6:1)에 의한 정제로 화합물 **8b**를 얻었다(157 mg, 세 단계에 걸쳐 55% 수율).

[0163] ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 3.80-3.89 (m, 3H, $-OCH_{2b}-$, H-9_b, H-8), 3.84 (s, 3H, OCH_3), 3.76 (t, $J_{5,4} \approx J_{5,6}$ = 10.2 Hz, 1H, H-5), 3.60-3.69 (m, 2H, H-9_a, H-4), 3.58 (dd, $J_{6,5}$ = 10.2 및 $J_{6,7}$ = 1.6 Hz, 1H, H-6),

3.49 (dd, $J_{7,8}$ = 8.9 및 $J_{6,7}$ = 1.6 Hz, 1H, H-7), 3.43-3.50 (m, 1H, OCH_{2a}-), 3.38 (t, J = 6.6 Hz, 2H, $-CH_2N_3$), 2.68 (dd, $J_{3eq,3ax}$ = 12.8 및 $J_{3eq,4}$ = 4.6 Hz, 1H, H-3_{eq}), 2.27 (q, J = 7.6 Hz, 2H, $-COCH_2$-), 1.75-1.83 (m, 2H, $-CH_2$-), 1.74 (dd, $J_{3eq,3ax}$ = 12.8 및 $J_{3ax,4}$ = 11.8 Hz, 1H, H-3_{ax}), 1.13 (t, J = 7.6 Hz, 3H, $COCH_2CH_3$).

[0164] ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD): δ 178.99, 171.08, 100.20, 75.01, 72.43, 70.18, 68.42, 64.69, 62.07, 53.68, 53.39, 48.78, 41.76, 30.16, 30.13, 10.28.

[0165] $C_{16}H_{29}N_4O_9(M+H)^+$에 대한 ESI-MS *m/z* 이론치 421.19; 실측치 420.99 및 $C_{15}H_{26}N_4NaO_9(M+Na)^+$에 대한 ESI-MS *m/z* 이론치 443.18; 실측치 442.93

[0166] *3가의 시알산 합성의 일반적인 방법.*

[0167] THF/H_2O (1:1, 81 mL/mmol)에 용해된 아지도 유도체 (3.7 당량)에 트리프로파길아민(1.0 당량), $CuSO_4$(0.9 당량), 및 아스코르브산 나트륨(0.9 당량)을 연속적으로 첨가하였다. 이 반응은 실온에서 50℃에서 3시간 및 이후 실온에서 18시간 동안 진행하였다. 출발물질 아지드의 완전한 소비 후, THF를 진공상태에서 증발시키고 조물질(crude)을 동결 건조하였다. 조물질 고체를 용해하고 HPLC(A: H_2O중의 수성 0.005% CF_3COOH, B: CH_3CN중의 수성 0.005% CF_3COOH, 7% 에서 25%의 유기상 구배)로 정제하였다. 수집된 화합물을 포함하는 분획을 동결 건조하여 순수한 생성물을 수득하였다.

[0168] *트리스((1-(2-O-((메틸(5-N-아세트아미도-3,5-디데옥시-D-글리세로-α-D-갈락토-2-노닐로피라노실)-오네이트))-2-옥소에틸-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메틸)아민*(**9a**). 3가의 시알산 합성에 대한 일반적인 방법에 따라 화합물 **9a**를 합성하였다(40mg, 51% 수율).

[0169] ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 8.08 (s, 3H, 3ArCH), 8.01 (d, $J_{5,NH}$ = 8.4 Hz, 3H, 3NH), 4.60 (t, J = 5.0 Hz, 6H, 3-CH_2-ArN), 4.15-4.27 (m, 3H, 3-OCH_{2b}), 3.70-3.97 (m, 27H, 3-OCH_{2a}, 3H-9_b,-$N(CH_2)_3$, 3H-8, 3H-5, 3-OCH_3), 3.55-3.67 (m, 9H, 3H-4, 3H-9_b, 3H-6), 3.48 (dd, $J_{7,8}$ = 8.8 및 $J_{6,7}$ = 1.4 Hz, 3H, H-7), 2.58 (dd, $J_{3eq,3ax}$ = 12.8 및 $J_{3eq,4}$ = 4.7 Hz, 3H, 3H-3_{eq}), 1.99 (s, 9H, 3-$COCH_3$), 1.71 (dd, $J_{3eq,3ax}$ = 12.8 및 $J_{3ax,4}$ = 11.7 Hz, 3H, 3H-3_{ax}).

[0170] ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD): δ 175.12, 170.47, 144.25, 126.94, 100.28, 75.07, 72.25, 70.16, 68.40, 64.84, 63.91, 53.68, 53.55, 51.47, 48.73, 41.44, 22.70.

[0171] $C_{51}H_{82}N_{13}O_{27}(M+H)^+$ 에 대한 ESI-MS *m/z* 이론치 1308.54; 실측치 1309.47

[0172] *트리스((1-(2-O-(메틸(5-N-아세트아미도-3,5-디데옥시-D-글리세로-α-D-갈락토-2-노닐로피라노실)-오네이트))-3-옥소프로필-1H-1,2,3-트리아졸-4,1-일)메틸)아민*(**9b**). 3가의 시알산 합성에 대한 일반적인 방법에 따라 화합물 **9b**를 합성하였다(60mg, 45% 수율).

[0173] ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 8.01 (s, 3H, 3ArCH), 4.50 (t, J = 6.6 Hz, 6H, 3-CH_2-ArN), 3.70-3.88 (m, 27H, 3-OCH_{2b}-,3H-9_b, 3-OCH_3, -$N(CH_2)_3$, 3H-8, 3H-5), 3.54-3.69 (m, 9H, 3H-4, 3H-9_b, 3H-6), 3.49 (dd, $J_{7,8}$ = 9.0 및 $J_{6,7}$ = 1.3 Hz, 3H, 3H-7), 3.35-3.43 (m, 3H, 3-OCH_{2a}), 2.68 (dd, $J_{3eq,3ax}$ = 12.8 및 $J_{3eq,4}$ = 4.7 Hz, 3H, 3H-3_{eq}), 2.09-2.20 (m, 6H, 3-CH_2-), 2.00 (s, 9H, 3-$COCH_3$), 1.74 (dd, $J_{3eq,3ax}$ = 12.7 및 $J_{3ax,4}$ = 11.8 Hz, 3H, 3H-3_{ax}).

[0174] ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD): δ 175.20, 170.86, 145.26, 125.97, 100.12, 74.92, 72.43, 70.19, 68.50, 64.77, 61.77, 53.80, 53.54, 48.48, 48.10, 41.65, 31.29, 22.72.

[0175] $C_{54}H_{88}N_{13}O_{27}(M+H)^+$ 에 대한 ESI-MS *m/z* 이론치 1350.58; 실측치 1350.21

[0176] *트리스((1-(2-O-(메틸(5-N-프로파노일아미도-3,5-디데옥시-D-글리세로-α-D-*갈락토-2-노닐로피라노실)-오네이트))-2-옥소에틸-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메틸)아민(**10a**). 3가의 시알산 합성에 대한 일반적인 방법에 따라 화합물 **10a**를 합성하였다(60mg, 50% 수율).

[0177] ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 8.04 (s, 3H, 3ArCH), 4.50 (t, J = 5.1 Hz, 6H, 3-CH_2-ArN), 4.16-4.23 (m, 3H, 3-OCH_{2b}), 3.86-3.92 (m, 3H, 3-OCH_{2a}), 3.74-3.84 (m, 15H, 3H-9_b,-N(CH_2)$_3$, 3H-8, 3H-5), 3.72 (s, 9H, 3-OCH_3), 3.59-3.67 (m, 6H, 3H-4, 3H-9_b), 3.57 (dd, $J_{6,5}$ = 10.4 및 $J_{6,7}$ = 1.3 Hz, 3H, 3H-6), 3.47 (dd, $J_{7,8}$ = 8.9 및 $J_{6,7}$ = 1.3 Hz, 3H, H-7), 2.58 (dd, $J_{3eq,3ax}$ = 12.4 및 $J_{3eq,4}$ = 4.6 Hz, 3H, 3H-3_{eq}), 2.25 (q, J = 7.6 Hz, 6H, 3-$COCH_2$-), 1.74 (appear as t, $J_{3eq,3ax} \approx J_{3ax,4}$ = 12.4 Hz, 3H, 3H-3_{ax}), 1.12 (t, J = 7.6 Hz, 9H, 3-$COCH_2CH_3$).

[0178] ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD): δ 178.88, 170.43, 145.08, 126.66, 100.23, 75.04, 72.15, 69.97, 68.29, 64.73, 63.95, 53.60, 53.45, 51.43, 49.07, 41.52, 31.15, 10.36.

[0179] $C_{54}H_{88}N_{13}O_{27}(M+H)^+$ 에 대한 ESI-MS *m/z* 이론치 1350.59 실측치 1351.56

[0180] *트리스((1-(2-O-(메틸(5-N-프로파노일아미도-3,5-디데옥시-D-글리세로-α-D-*갈락토-2-노닐로피라노실)-오네이트))-3-옥소프로필-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메틸)아민(**10b**). 3가의 시알산 합성에 대한 일반적인 방법에 따라 화합물 **10b**를 합성하였다(45mg, 34% 수율).

[0181] ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 8.03 (s, 3H, 3ArCH), 7.89 (d, $J_{5,NH}$ = 8.5 Hz, 3H, 3NH), 4.50 (t, J = 6.5 Hz, 6H, 3-CH_2-ArN), 3.73-3.86 (m, 18H, 3-OCH_{2b}-,3H-9_b,-N(CH_2)$_3$, 3H-8, 3H-5), 3.81 (s, 9H, 3-OCH_3), 3.58-3.70 (m, 6H, 3H-4, 3H-9_b), 3.56 (dd, $J_{6,5}$ = 10.4 및 $J_{6,7}$ = 1.3 Hz, 3H, 3H-6), 3.47 (dd, $J_{7,8}$ = 8.9 및 $J_{6,7}$ = 1.3 Hz, 3H, 3H-7), 3.35-3.43 (m, 3H, 3-OCH_{2a}), 2.68 (dd, $J_{3eq,3ax}$ = 12.4 및 $J_{3eq,4}$ = 4.6 Hz, 3H, 3H-3_{eq}), 2.27 (q, J = 7.6 Hz, 6H, 3-$COCH_2$-), 2.10-2.20 (m, 6H, 3-CH_2-), 1.74 (appear as t, $J_{3eq,3ax} \approx J_{3ax,4}$ = 12.4 Hz, 3H, 3H-3_{ax}), 1.13 (t, J = 7.6 Hz, 9H, 3-$COCH_2CH_3$).

[0182] ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD): δ 178.92, 170.88, 143.82, 126.16, 100.12, 75.01, 72.44, 70.22, 68.44, 64.72, 61.73, 53.67, 53.52, 49.28, 49.07, 41.75, 31.28, 30.17, 10.32.

[0183] $C_{57}H_{94}N_{13}O_{27}(M+H)^+$에 대한 ESI-MS *m/z* 이론치 1392.64; 실측치 1392.50 및 $C_{57}H_{93}N_{13}NaO_{27}(M+Na)^+$에 대한 ESI-MS *m/z* 이론치 1414.62; 실측치 1414.47

[0184] *메틸 에스테르의 비누화 반응의 일반적인 방법.*

[0185] MeOH (135mL/mmol)에 용해된 3가의 메틸에스테르 유도체에(1.0 당량) LiOH 수용액 (1M, 9.0 당량)을 첨가하였다. 9시간동안 실온에서 혼합을 진행하도록 두었다. 종료 후, 반응 혼합물은 Dowex 50W8 (H^+)으로 중화하였다. Dowex 수지의 제거 후에, 용매를 진공상태에서 증발시키고, 물에 용해된 원물질을 C-18플러그에서 H_2O로 용출하였다. 분획물을 포함하는 화합물을 냉각건조하여 순수한 3가의 시알산 유도체를 수득하였다.

[0186] 트리스((1-(2-O-(5-N-아세트아미도-3,5-디데옥시-D-글리세로-α-D-갈락토-2-노닐로피라노실론산))-2-옥소에틸-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메틸)아민(**ME0385**). 메틸에스테르의 비누화에 대한 일반적인 방법에 따라서 **ME0385**를 합성하였다(22 mg, 76% 수율). $[\alpha]_D^{20}$ -15.77 (c 4.8 mg/mL, H_2O).

[0187] ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O): δ 8.40 (s, 3H, 3ArCH), 4.72 (t, J = 5.2 Hz, 6H, 3-CH_2-ArN), 4.60 (bs, 6H, -N(CH_2)$_3$), 4.14-4.27 (m, 3H, 3-OCH_{2b}), 3.93-4.02 (m, 3H, 3-OCH_{2a}), 3.85 (dd, $J_{9a,9b}$ = 11.7 및 $J_{9b,8}$ = 2.3 Hz

3H, 3H-9_b), 3.73-3.82 (m, 6H, 3H-8, 3H-5), 3.59-3.72 (m, 9H, 3H-4, 3H-6, 3H-9_a), 3.56 (dd, $J_{7,8}$ = 9.3 및 $J_{6,7}$ = 1.7 Hz, 3H, H-7), 2.66 (dd, $J_{3eq,3ax}$ = 12.5 및 $J_{3eq,4}$ = 4.6 Hz, 3H, 3H-3_{eq}), 2.04 (s, 9H, 3-$COCH_3$), 1.67 (appear as t, $J_{3eq,3ax} \approx J_{3ax,4}$ = 12.0 Hz, 3H, 3H-3_{ax}).

[0188] ^{13}C NMR (100 MHz, D_2O): δ 175.05, 172.55, 135.87, 128.64, 100.05, 72.72, 71.42, 68.10, 67.88, 62.68, 62.58, 51.73, 50.57, 46.49, 39.64, 22.0.

[0189] $C_{48}H_{76}N_{13}O_{27}(M+H)^+$에 대한 ESI-MS *m/z* *이론치* 1266.49; 실측치 1266.29

[0190] *트리스((1-(2-O-(5-N-아세트아미도-3,5-디데옥시-D-글리세로-α-D-갈락토-2-*노닐로피라노실론산))-3-옥소프로필-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메틸)아민(**ME0386**). 메틸에스테르의 비누화에 대한 일반적인 방법에 따라 **ME0386**를 합성하였다(27 mg, 75% 수율). $[\alpha]_D^{20}$ -3.83 (c 3.9 mg/mL, H_2O).

[0191] ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O): δ 8.02 (s, 3H, 3ArCH), 4.45-4.64 (m, 6H, 3-CH_2-ArN), 3.92 (bs, 6H, $N(CH_2)_3$), 3.56-3.87 (m, 24H, 3H-9_b, 3-OCH_2-, 3H-8, 3H-5, 3H-4, 3H-6, 3H-9_a), 3.46-3.54 (m, 3H, 3H-7), 2.73 (dd, $J_{3eq,3ax}$ = 12.5 및 $J_{3eq,4}$ = 4.7 Hz, 3H, 3H-3_{eq}), 2.15-2.25 (m, 6H, 3-CH_2-), 2.05 (s, 9H, $COCH_3$), 1.63 (appear as t, $J_{3eq,3ax} \approx J_{3ax,4}$ = 12.1 Hz, 3H, 3H-3_{ax}).

[0192] ^{13}C NMR (100 MHz, D_2O): δ 175.05, 173.52, 142.34, 125.79, 100.48, 72.56, 71.71, 68.28, 68.16, 62.51, 61.22, 51.89, 47.54, 47.30, 40.29, 29.64, 22.02.

[0193] $C_{51}H_{82}N_{13}O_{27}(M+H)^+$에 대한 ESI-MS *m/z* 이론치 1308.54; 실측치 1308.51

[0194] *트리스((1-(2-O-(5-N-프로파노일아미도-3,5-디데옥시-D-글리세로-α-D-갈락*토-2-노닐로피라노실론산))-2-옥소에틸-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메틸)아민(**ME0408**). 메틸에스테르의 비누화에 대한 일반적인 반응에 따라 **ME0408**을 합성하였다 (19 mg, 72% 수율). $[\alpha]_D^{20}$ -14.34 (c 4.6 mg/mL, H_2O).

[0195] ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O): δ 8.17 (s, 3H, 3ArCH), 4.64 (bs, 6H, 3-CH_2-ArN), 4.07-4.20 (m, 9H, 3-OCH_{2b}, -$N(CH_2)_3$), 3.87-3.93 (m, 3H, 3-OCH_{2a}), 3.82 (dd, $J_{9a,9b}$ = 11.7 및 $J_{9b,8}$ = 2.4 Hz 3H, 3H-9_b), 3.75 (ddd, $J_{8,7}$ = 8.9, $J_{8,9a}$ = 5.6 Hz , $J_{9b,8}$ = 2.4 Hz 3H, 3H-8), 3.72 (t, $J_{5,6} \approx J_{5,4}$ = 10.1 Hz, 3H, 3H-5), 3.63-3.69 (m, 3H, 3H-4), 3.56-3.63 (m, 6H, 3H-6, 3H-9_a), 3.51 (dd, $J_{7,8}$ = 8.9 and $J_{6,7}$ = 1.6 Hz, 3H, H-7), 2.66 (dd, $J_{3eq,3ax}$ = 12.3 및 $J_{3eq,4}$ = 4.6 Hz, 3H, 3H-3_{eq}), 2.28 (q, J = 7.6 Hz, 6H, 3-$COCH_2$-), 1.74 (appear as t, $J_{3eq,3ax} \approx J_{3ax,4}$ = 12.3 Hz, 3H, 3H-3_{ax}), 1.10 (t, J = 7.6 Hz, 9H, 3-$COCH_2CH_3$).

[0196] ^{13}C NMR (100 MHz, D_2O): δ 179.90, 174.12, 127.82, 101.35, 73.50, 72.50, 69.00, 68.91, 63.74, 63.40, 52.51, 51.39, 49.84, 40.87, 30.05, 10.36.

[0197] $C_{51}H_{82}N_{13}O_{27}(M+H)^+$에 대한 ESI-MS *m/z* 이론치 1308.54; 실측치 1308.44

[0198] *트리스((1-(2-O-(5-N-프로파노일아미도-3,5-디데옥시-D-글리세로-α-D-갈락*토-2-노닐로피라노실론산)-3-옥소프로필-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메틸)아민(**ME0407**). 메틸에스테르의 비누화에 대한 일반적인 방법에 따라 **ME0407**을 합성하였다(27 mg, 75% 수율). $[\alpha]_D^{20}$ -0.76 (c 4.8 mg/mL, H_2O).

[0199] ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O): δ 8.31 (s, 3H, 3ArCH), 4.53-4.63 (m, 12H, 3-CH_2-ArN, $N(CH_2)_3$), 3.82 (dd, $J_{9b,9a}$ = 11.8 및 $J_{9b,8}$ = 2.4 Hz, 3H, H-9_b), 3.74-3.83 (m, 12H, 3-OCH_{2b}-, 3H-8, 3H-5), 3.67-3.73 (m, 3H, 3H-4), 3.67 (dd, $J_{6,5}$ = 10.4 및 $J_{6,7}$ = 1.5 Hz, 3H, 3H-6), 3.60 (dd, $J_{9a,9b}$ = 11.8 및 $J_{9a,8}$ = 5.9 Hz, 3H, 3H-9_a),

3.53 (dd, $J_{7,8}$ = 8.9 및 $J_{6,7}$ = 1.5 Hz, 3H, 3H-7), 3.42-3.50 (m, 3H, 3-OCH_{2a}), 2.69 (dd, $J_{3eq,3ax}$ = 12.4 및 $J_{3eq,4}$ = 4.5 Hz, 3H, 3H-3_{eq}), 2.29 (q, J = 7.6 Hz, 6H, 3-$COCH_2$-), 2.15-2.25 (m, 6H, 3-CH_2-), 1.65 (appear as t, $J_{3eq,3ax} \approx J_{3ax,4}$ = 12.4 Hz, 3H, 3H-3_{ax}), 1.11 (t, J = 7.6 Hz, 9H, 3-$COCH_2\underline{CH_3}$).

[0200] ^{13}C NMR (100 MHz, D_2O): δ 178.87, 173.77, 136.66, 128.98, 100.86, 73.47, 72.34, 69.04, 68.66, 63.47, 61.82, 52.52, 48.52, 47.57, 40.83, 30.17, 30.01, 10.30.

[0201] $C_{54}H_{88}N_{13}O_{27}(M+H)^+$에 대한 ESI-MS *m/z* 이론치 1350.59; 실측치 1350.28

[0202] **실시예 2**

[0203] *코어 모이어티로서 트리스(2-아지도에틸)아민의 사용*

[0204] *트리스((4-(2-O-(5-N-아세트아미도-3,5-디데옥시-D-글리세로-α-D-갈락토-2-*노눌로피라노실론산))-2-옥소에틸-1H-1,2,3-트리아졸-1-일)에틸)아민(**ME0461**) 및 *트리스((4-(2-O-(5-N-아세트아미도-3,5-디데옥시-D-글리세로-α-D-갈락토-2-노눌로피라노실론산))-2-옥소메틸-1H-1,2,3-트리아졸-1-일)에틸)아민*(**ME0462**)과 같은 N-아실 3가의 시알산에 대한 경로는 간단한 것으로 입증되었으며, 이는 시판되는 화학물질로부터 7단계 또는 키 중간체 **1**(반응식 2)로부터 4단계로 얻을 수 있었다. 시판 시알산으로부터 용이하게 제조할 수 있는 시알산 티오페닐 유도체 **1**의 합성은 공개된 절차에 따라 수행하였다(Marra et al Carbohydr. Res. 1989, 187, 35). 시알로사이드 **11a** 및 **11b**는, 상응하는 알코올(각각 프로파길 알코올 및 3-부틴-1-올)을 화합물 1로 글리코실화하여 적절한 전환율로 수득되었다. 다른 알킨 알코올의 사용은 빌딩 블록에 다른 길이를 갖는 링커를 제공한다. 이 반응으로 이 단계에서 더 이상 정제되지 않는 생성된 제거 물질과 함께 분리할 수 없는 아노머 혼합물을 수득한다.

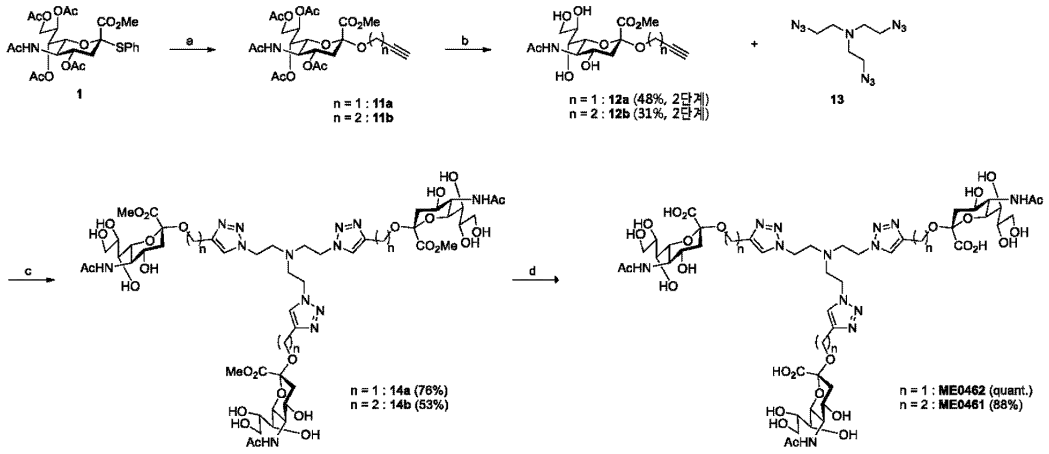
[0205] 이어서 표준 젬플렌(Zemplen) 조건을 이용한 O-디아실화로 아노머 선택적으로 순수한 **12a** 및 **12b**를 각각 48% 및 31%의 수율로 2단계에 걸쳐 수득하였다.

[0206] 다음, 화합물 구리-촉매 아지드 알킨 고리화 반응("click" 반응)을 통해 화합물 **12a** 및 **12b**를 트리스(2-아지도에틸)아민(**13**)과 반응하였다.

[0207] 시판되는 트리에탄올아민으로부터 2단계에 걸쳐 트리스 아지도 유도체 **13**을 합성하였다. 먼저, 트리에탄올아민을 공개된 절차(M. Sun et al *J. Am. Chem. Soc.* 2012, 134(51), 20581)에 따라 트리스(2-클로로에틸)아민으로 전환하였다. 다음, 클로로 유도체는 이것의 아지도 유사체 **13**으로 쉽게 변형되었다(주목: **13**은 높은 폭발성이 있으므로, 항상 용액 및 암소에 보관하는 것이 중요하다). 메틸에스테르 **14a** 및 **14b**를 각각 76% 및 53%의 수율로 얻었다.

[0208] 이어지는 비누화 반응은 최종 표적 화합물인 **ME0462** 및 **ME0461** 를 각각 정량적으로 및 88%의 수율로 얻었다.

[0209] [반응식 2]

[0210] 

[0211] **ME0462** 및 **ME0461**의 합성[a]

[0212] [a]*시약 및 조건 : (a) i: 분자체 3Å, 3-부틴-1올 또는 프로파길 알코올,* CH_3CN/CH_2Cl_2 (3:2), rt, 2시간, ii : AgOTf, IBr, -73℃, 4.5시간, iii: DIPEA, -73℃, 30분, (b) i: NaOMe, MeOH, rt, 3시간, ii: H^+ 이온교환수지. (c) $CuSO_4$, 소듐 아스코르브산, *THF/*H_2O *(1:1), 50℃, 3시간 이어서 rt, 18시간. (d) i: LiOH, MeOH, rt, 9시간, ii:* H^+ *이온교환수지.*

[0213] *글리코실화 반응의 일반적인 방법.*

[0214] 글리코실 공여체 **1**(1.0 당량) 및 갓 분쇄된 분자체 3Å (1.5 g/mmol)를 실온에서 질소 대기 하에 CH_3CN/CH_2Cl_2 (3:2; 35mL/mmol)의 혼합물에 용해/현탁하였다. 3-부틴-1-올 또는 프로파길 알코올 (4.5 당량)을 첨가하고 혼합물을 2시간 동안 교반하였다. 이 반응은 빛으로부터 보호되었으며 CH_3CN 중의 실버 트리플레이트 용액 (2.0 당량)을 첨가하였다. 혼합물을 -73℃(-70℃ < t < -75℃)까지 냉각시키고 IBr (1.4 당량, CH_2Cl_2 중 1M)을 첨가하였다. 이 반응을 -73℃에서 4.5시간 동안 진행하였다. 종료 후, DIPEA (6.0 당량)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 -73℃에서 추가 30분동안 교반한 후 실온으로 가온하였다. 혼합물을 Celite® 패드를 통해 여과하고, CH_2Cl_2 또는 CH_3CN로 세척하고 용매를 농축건조시켰다.

[0215] *메틸 2-(프로프-2-이닐옥시(5-N-아세트아미도-4,7,8,9-테트라-O-아세틸-3,5-*디데옥시-D-글리세로-α*-D-갈락토-2-노눌로피라노실))-오네이트(**11a**).* 글리코실화 반응에 대한 일반적인 방법에 따라 화합물 ***11a*** 를 합성하였다. 칼럼 크로마토그래피 (n-헵탄/EtOAc 구배)에 의한 정제로 화합물 **11a** 및 이에 상응하는 반대 아노머를 얻었다. 화합물 **11a**를 추가적인 정제 없이 다음 단계에 사용하였다.

[0216] *메틸 2-(부트-3-이닐옥시(5-N-아세트아미도-4,7,8,9-테트라-O-아세틸-*3,5-디데옥시-D-글리세로-α*-D-갈락토-2-노눌로피라노실))-오네이트(**11b**).* 글리코실화 반응에 대한 일반적인 방법에 따라 화합물 ***11b***를 합성하였다. 칼럼 크로마토그래피 (n-헵탄/EtOAc 구배)에 의한 정제로 화합물 **11b** 및 이에 상응하는 반대 아노머를 얻었다. 화합물 **11b**를 추가적인 정제 없이 다음 단계에 사용하였다.

[0217] *시알로사이드의 O-디아실화의 일반적인 방법.*

[0218] MeOH(70mL)에 용해된 과아실화 시알로사이드(1.0 당량)에 메톡사이드 나트륨(3.9 당량)를 첨가하였다. 이 반응을 실온에서 질소 대기 하에 3시간 동안 진행하였다. 종료 후, 빙초산의 적가 또는 Amberlyst®15에 의해 용액을 중화하였다. 이후 용매를 농축 건조하였다.

[0219] *메틸 2-(프로프-2-이닐옥시(5-N-아세트아미도-3,5-디데옥시-D-글리세로-α*-D-갈락토-2-노눌로피라노실))-오네이트(**12a**). 시알로사이드의 O-디아실화에 대한 일반적인 방법에 따라 화합물 **12a**를 합성하였다. HPLC(A: H_2O중의 수성 0.005% HCOOH, B: CH_3CN중의 수성 0.005% HCOOH, 5% 에서 20%의 유기상 구배)에 의한 정제로 화합물 **12a**를 얻었다(178 mg, 두 단계에 걸쳐 48% 수율).

[0220] ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 4.40 (dd, *J*=4.3 Hz, *J*=15.9 Hz, 1H), 4.33 (dd, *J*=4.3 Hz, *J*=15.9 Hz, 1H), 3.81-3.91 (m, 5H), 3.78 (d, *J*=10.3 Hz, 1H), 3.63-3.72 (m, 2H), 3.60 (dd, *J*=1.5 Hz, *J*=10.4 Hz, 1H), 3.52 (dd, *J*=1.4 Hz, *J*=9.0 Hz, 1H), 2.86 (t, *J*=2.4 Hz, 1H), 2.72 (dd, $J_{3eq,4}$ =4.6 Hz, $J_{3eq,3ax}$ =12.7 Hz, 1H), 2.01 (s, 3H), 1.75 (dd, $J_{3eq,3ax}$ =12.7 Hz, $J_{3ax,4}$ = 11.8 Hz, 1H).

[0221] *메틸 2-(부트-3-이닐옥시(5-N-아세트아미도-3,5-디데옥시-D-글리세로-α-D-*갈락토-2-노눌로피라노실))-오네이트(**12b**). 시알로사이드의 O-디아실화에 대한 일반적인 방법에 따라 화합물 **12b**를 합성하였다. 칼럼 크로마토그래피 (EtOAc/EtOH/H_2O, 4:1:0.1)에 의한 정제로 화합물 **12b**를 얻었다(218 mg, 두 단계에 걸쳐 31% 수율).

[0222] ^{1}H NMR (360 MHz, CD_3OD): δ 3.72-3.95 (m, 7H), 3.45-3.71 (m, 6H), 2.69 (dd, $J_{3eq,4}$ =4.6 Hz, $J_{3eq,3ax}$ =12.8 Hz, 1H), 2.35-2.45 (m, 2H), 2.26 (t, *J* = 2.7 Hz, 1H) 2.00 (s, 3H), 1.73 (dd, $J_{3eq,3ax}$ =12.3 Hz, $J_{3ax,4}$ = 12.0 Hz, 1H).

[0223] *트리스 (2-아지도에틸)아민 (**13**)*

[0224] $CHCl_3$ 0.5mL 내 트리에탄올아민(0.298 g, 2.0 mmol) 용액을 $CHCl_3$ 0.8mL 내 치오닐클로라이드 (0.52 mL, 7.0 mmol)에 천천히 첨가하였다. 첨가 후, 반응 혼합물은 4시간 동안 환류 온도로 가열하였다. 실온으로 냉각한 후 백색 고체 생산물을 여과하고 디클로로메탄(1.0 mL × 2)으로 세척하여 밤새 진공상태에서 건조한 후 트리스(2-클로로에틸)아민 하이드로클로라이드를 0.395g(82%)의 수율로 제공하였다. 이어서, 트리스(2-클로로에틸)아민 하이드로클로라이드 (0.198 g, 0.82 mmol)및 소듐 아지드 (0.320 g, 4.92 mmol)를 DMSO (7.0 mL)에 첨가하였고 결과 혼합물을 92℃에서 22시간동안 교반하였다. 냉각한 후, 혼합물을 증류수(40.0 mL)에 붓고, 용액은 Na_2CO_3 (10% aq.)로 pH=10까지 중화하였고, 디클로로메탄(15.0 mL × 3)으로 추출하였다. 유기상을 물(20.0 mL)로 세척한 후 Na_2SO_4로 건조하였다. 디클로로메탄을 1mL로 농축한 후, 15.0mL의 THF을 첨가하고 1.0mL까지 다시 농축한 후, 15.0mL의 THF를 첨가하고 1.8mL로 농축하였다. 0.8 mmol의 트리스(2-아지도에틸)아민을 포함하는 THF 용액이 다음 단계에 사용될 것이다(주목 : **13**은 높은 폭발성이 있으므로, 항상 용액 및 암소에 보관하는 것이 중요하다).

[0225] ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 3.33 (t, *J*=6.2 Hz, 6H), 2.76 (t, *J*=6.2 Hz, 6H).

[0226] $C_6H_{13}N_{10}(M+H)^+$ 에 대한 ESI-MS *m/z* 이론치 225.13; 실측치 225.33

[0227] 참조 : M. Sun, C-Y. Hong, C-Y. Pan, *Journal of the American Chemical* society **2012**, 134(51), 20581-20584

[0228] *트리스((4-(2-O-(메틸(5-N-아세트아미도-3,5-디데옥시-D-글리세로-α-D-갈락*토-2-노눌로피라노실)-오네이트))-2-옥소메틸-1H-1,2,3-트리아졸-1-일)에틸)아민(**14a**)

[0229] 물(1.7 mL) 및 THF (1.7 mL)의 1:1 혼합물내 트리스(2-아지도에틸)아민 용액(0.075 mL, 0.033 mmol)에 메틸 2-(프로프-이닐옥시(5-N-아세트아미도-3,5-디데옥시-D-글리세로-α-D-갈락토-2-노눌로피라노실))-오네이트(0.0538 g, 0.149 mmol), 아스코르브산 나트륨(5.9 mg, 0.030 mmol), 및 구리(II) 설페이트(4.8 mg, 0.030 mmol)를 교반하며 첨가하였다. 혼합물을 처음에 3.5시간 동안 50℃로 가열하였고 추가 18시간 동안 실온에 두었다. 감압하에 THF를 증발시킨 후, 잔사물을 증류수로 2.6mL까지 희석하였고 이후 제조용 HPLC로(A: H_2O중의 수성 0.005% HCOOH, B: CH_3CN중의 0.005% HCOOH, 유기상 구배 5% 에서 20%/30분) 정제하여 동결건조 후 백색 생성물을 76%의 수율로 얻었다.

[0230] ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7.78 (s, 3H), 4.92 (d, *J*=12.6 Hz, 3H), 4.64 (d, *J*=12.1 Hz, 3H), 4.30 (t, *J*=6.2 Hz, 6H), 3.79-3.93 (m, 18H), 3.60-3.74 (m, 9H), 3.47-3.58 (m, 3H), 3.03 (t, *J*=5.9 Hz, 6H), 2.67 (dd, $J_{3eq,4}$ =4.6 Hz, $J_{3eq,3ax}$ =12.8 Hz, 3H), 2.00 (s, 9H), 1.74 (t, $J_{3eq,3ax}$ =12.3 Hz, 3H).

[0231] ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD): δ 175.05, 170.75, 145.52, 126.09, 100.06, 74.98, 72.26, 70.33, 68.53, 64.93, 58.51, 55.09, 53.71, 53.59, 41.65, 22.75.

[0232] $C_{51}H_{82}N_{13}O_{27}(M+H)^+$에 대한 ESI-MS *m/z* 이론치 1308.54; 실측치 1309.13

[0233] *트리스((4-(2-O-(메틸(5-N-아세트아미도-3,5-디데옥시-D-글리세로-α-D-갈락*토-2-노눌로피라노실)-오네이트))-2-옥소에틸-1H-1,2,3-트리아졸-1-일)에틸)아민(**14b**)

[0234] 물(2.5 mL) 및 THF (2.5 mL)의 1:1 혼합물내 트리스(2-아지도에틸)아민 용액(0.113 mL, 0.05 mmol)에 메틸 2-(부트-3-이닐록시(5-N-아세트아미도-3,5-디데옥시-D-글리세로-α-D-갈락토-2-노눌로피라노실))-오네이트 (0.0845 g, 0.225 mmol), 아스코르브산 나트륨(8.9 mg, 0.0449 mmol), 및 구리(II) 설페이트(7.2mg, 0.0451 mmol)를 교반하며 첨가하였다. 혼합물을 처음에 3.5시간 동안 50℃로 가열하였고 추가 18시간 동안 실온에 두었다. 감압하에 THF를 증발시킨 후, 잔여물을 증류수로 3.0 mL까지 희석하였고 이후 준비된 HPLC로(A: H_2O중의 수성 0.005% HCOOH, B: CH_3CN중의 0.005% HCOOH, 5% 에서 20%/30분 유기상 구배) 정제하여 동결건조 후 백색 생성물을 35.9 mg (53.2%) 얻었다.

[0235] ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 8.02 (d, *J*=8.5 Hz, 3H), 7.66 (s, 3H), 4.30 (t, *J*=5.9 Hz, 6H), 4.06 (dt,

J=9.3 Hz, *J*=6.5 Hz, 3H), 3.74-3.87 (m, 18H), 3.57-3.72 (m, 12H), 3.50 (dd, *J*=1.2 Hz, *J*=8.7 Hz, 3H), 3.04 (t, *J*=5.7 Hz, 6H), 2.93 (t, *J*=6.1 Hz, 6H), 2.65 (dd, $J_{3eq,4}$ =4.6 Hz, $J_{3eq,3ax}$ =12.7 Hz, 3H), 2.00 (s, 9H), 1.72 (t, $J_{3eq,3ax}$ =12.3 Hz, 3H).

[0236] ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD): δ 175.16, 170.90, 146.05, 124.81, 100.22, 74.94, 72.44, 70.25, 68.52, 64.86, 64.05, 54.85, 53.80, 53.48, 41.74, 27.27, 22.72.

[0237] $C_{54}H_{88}N_{13}O_{27}(M+H)^+$에 대한 ESI-MS *m/z* 이론치 1350.59; 실측치 1351.70

[0238] *트리스((4-(2-O-(5-N-아세트아미도-3,5-디데옥시-D-글리세로-α-D-갈락토-2-*노눌로피라노실론산))-2-옥소메틸-1H-1,2,3-트리아졸-1-일)에틸)아민(**ME0462**)

[0239] 상기에서 얻어진 메틸 에스테르(**14a**)를 용액 MeOH (1.9 mL) 및 LiOH (0.15 mL, 1.0M)에 용해하였다. 혼합물을 실온에서 44시간동안 교반하였고, LCMS 이후, 앰벌라이트(amberlite) IR120로 pH=7.0까지 중화하고, 농축시키고, 동결시켜, 백색 생성물 20.2mg를 얻었다. $[\alpha]_D^{20}$ -11.7 (c 1.0 mg/mL, H_2O).

[0240] ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O): δ 7.84 (s, 3H), 4.85 (d, *J*=12.0 Hz, 3H), 4.61 (d, *J*=12.0 Hz, 3H), 4.35 (t, *J*=6.0 Hz, 6H), 3.77-3.94 (m, 9H), 3.49-3.76 (m, 12H), 3.04 (t, *J*=6.0 Hz, 6H), 2.73 (dd, $J_{3eq,4}$ =4.5 Hz, $J_{3eq,3ax}$ =12.4 Hz, 3H), 2.03 (s, 9H), 1.66 (t, $J_{3eq,3ax}$ =12.3 Hz, 3H).

[0241] ^{13}C NMR (100 MHz, D_2O): δ 174.99, 173.20, 143.93, 125.23, 100.66, 72.64, 71.61, 68.25, 68.21, 62.58, 57.31, 52.67, 51.81, 48.17, 40.23, 22.00.

[0242] $C_{48}H_{76}N_{13}O_{27}(M+H)^+$에 대한 ESI-MS *m/z* 이론치 1266.50; 실측치 1267.10

[0243] *트리스((4-(2-O-(5-N-아세트아미도-3,5-디데옥시-D-글리세로-α-D-갈락토-2-*노눌로피라노실론산))-2-옥소에틸-1H-1,2,3-트리아졸-1-일)에틸)아민(**ME0461**)

[0244] 메틸 에스테르(25.8 mg, **14b**)를 용액 MeOH (2.5 mL) 및 LiOH (0.17 mL, 1.0M)에 용해시켰다. 혼합물을 실온에서 72시간동안 교반하고, LCMS 한 후, ㅇ애앰rl버ite IR120로 중화 하였고, 냉각건조하여 백색 생성물 22.0mg(88.0%)를 얻었다. $[\alpha]_D^{20}$ -5.3 (c 1.0 mg/mL, MeOH).

[0245] ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O): δ 7.68 (s, 3H), 4.47 (t, *J*=5.3 Hz, 6H), 3.96-4.10 (m, 3H), 3.66-3.87 (m, 18H), 3.59-3.66 (m, 3H), 3.52-3.58 (m, 3H), 3.30 (t, *J*=5.3 Hz, 6H), 2.99 (t, *J*=5.8 Hz, 6H), 2.63 (dd, $J_{3eq,4}$ =4.4 Hz, $J_{3eq,3ax}$ =12.7 Hz, 3H), 2.03 (s, 9H), 1.67 (t, $J_{3eq,3ax}$ =12.5 Hz, 3H).

[0246] ^{13}C NMR (100 MHz, D_2O): δ 175.01, 173.49, 144.82, 124.00, 100.60, 72.54, 71.68, 68.27, 68.16, 63.21, 62.55, 52.48, 51.85, 48.02, 40.20, 25.67, 22.00.

[0247] $C_{51}H_{82}N_{13}O_{27}(M+H)^+$ 에 대한 ESI-MS *m/z* 이론치 1308.54 실측치 1309.29

[0248] **생물학적 평가**

[0249] *세포-결합 검정*

[0250] 새로 합성된 화합물(**ME0385**, **ME0386**, **ME0407**, **ME0408**, **ME0461**, 및 **ME0462**)이 HAdV-37 비리온의 HCE 세포와 결합을 방지하는 효율을 조사하기 위해, ^{35}S -표지된 비리온에 기초한 세포-결합 검정을 행하였다. 이전의 연구에 기초하여, **ME0322** 시알산 및 GD1a 글리칸을 대조군 화합물로 사용하였다(Nilsson et al N. Nat. Med. 2011, 17, 105 및 Spjut et al Angew. Chem. Int. Ed. 2011, 50, 6519). 기본적으로 이미 기재된 바와 같이(Arnberg 등 J. Virol. 2000, 74, 42 및 Arnberg et al J. Virol. 2000, 74, 7691) 검정(자세한 내용은 아래 참조)을 수행하였다.

[0251] 간단히 말해, ^{35}S-표지된 HAdV-37 비리온을 다양한 농도의 3가의 시알산 유도체, GD1a 글리칸, 및 시알산과 함께 또는 이들 없이 사전 항온처리(pre-incubation)하였다. 혼합물을 HCE세포와 함께 항온처리하고 결합하지 않는 비리온을 세척하여 제거하였다. 마지막으로, 세포-결합 방사능을 섬광계수기를 사용하여 계수하였다.

[0252] 도 1a 및 2a에 표시된 결과는 매우 두드러져, 새로 설계된 3가의 시알산 유도체의 존재하에서 HAdV-37의 HCE세포에 대한 부착이 극적으로 억제되었다. 실제로, 새로운 화합물의 세트를 평가하였고 1가의 시알산(IC_{50} = 1.2 mM)보다 네 자릿수 이상 더 강력한 것으로 나타났다. 또한, 새로운 3가의 화합물은 2가의 GD1a 글리칸(IC_{50} = 91 μM)보다 상당히 더 강력하였다.

[0253] 알 수 있는 바와 같이 **ME0385, ME0386**, 및 **ME0461**은 HAdV-37 비리온이 HCE 세포에 결합하는 것을 억제하는데 있어, 각각 107 nM, 40 nM, 및 376 nM의 IC_{50} 값으로, 효과적이다. 초기 선도 물질(**ME0322**, IC_{50} = 3.2 μM)은 효능이 낮은 것으로 밝혀졌다. 따라서, 본 발명의 화합물들이 당해 분야에서 알려진 것보다 뛰어난 것으로 결론지을 수 있다. 더 나아가 유사체 **ME0462** (IC50=1.4 nM)는 **ME0385**, **ME0386**, 및 **ME0461** 보다 훨씬 더 강력한 것으로 나타났다(도 2b 참조).

[0254] 마지막으로, 각각 23.4 μM 및 4.5 μM의 IC_{50}값을 갖는 N-아실 변형된 유도체 **ME0407** 및 **ME0408**로 시리즈를 완성하였다. 불행히도, N-아실 모이어티에 있는 리간드의 친유성 증가는 각각 이전 조사에 의해 뒷받침되는 (Johansson et al. *J. Med. Chem.* 2009, 52, 3666) **ME0385** 및 **ME386과** 비교하여 효능을 증가시키지 않았다.

[0255] *실험 세부 사항 - 세포-결합 검정*

[0256] S-표지된 HAdV-37 비리온 (5x10^{8}/웰)을 96-웰 마이크로플레이트에서 다양한 농도의 3가의 시알산 유도체, GD1a 글리칸, 또는 시알산과 함께 또는 이들 없이(도 1a 참조) 결합 버퍼[50 μL; BB: 1% BSA (Roche AB, Stockholm, Sweden)을 포함하는 둘베코 변형 이글배지] 및 HEPES (20 mM, EuroClone, Milan, Italy), pH 7.5)에서 1시간 동안 +4℃에서 사전 항온처리하였다. 96-웰 마이크로플레이트에서 예비-펠리화된(pre-pelleted) HCE 세포에 이 혼합물을 첨가하였다. 재현탁 후, 혼합물을 +4℃에서 1시간 동안 항온처리하였다. 마지막으로, 결합하지 않은 비리온을 BB로 세척하여 제거하고 세포-결합 방사능을 Wallac 1409 섬광 계수기를 사용하여 계수하였다.

[0257] *감염 검정*

[0258] 세포-결합 검정으로부터 결과를 확인하고 화합물 세트를 추가로 평가하기 위하여, 감염 실험을 수행하였다(도 1b, 3a, 및 3b). 기본적으로 이미 기재된 바와 같이(Arnberg et al. J. *Virol.* 2000, 74, 42 및 Arnberg et al. *J. Virol.* 2000, 74, 7691) 검정(자세한 내용은 아래 참조)을 수행하였다.

[0259] 간단히 말해, 비-표지된 비리온을 다양한 농도의 3가의 시알산 유도체, GD1a 글리칸, 및 시알산과 함께 또는 이들 없이 사전 항온처리하였다. 이들 혼합물을 HCE세포에 첨가하고 +4℃에서 항온처리하였다. 결합하지 않은 비리온을 세척하여 제거하였고 생성된 혼합물을 +37℃에서 항온처리하였고 동기화 감염물-모든 비리온이 동시에 세포에 들어간다-을 얻었다. 44시간의 감염 후, 세포를 세정하고 고정시킨 후 토끼의 폴리클로날 항-HAdV-37항체와 함께 항온처리하고, 이어서 세척하고 염색하였다. 마지막으로, 세포를 세척하고 면역 형광 현미경으로 조사하였다.

[0260] 따라서, 세포 결합 검정(도 1a, 2a, 및 2b)의 경향이 감염 실험(도 1b, 3a, 및 3b)에서 확인되었다. 화합물 **ME0386** 및 **ME0385**는 각각 118 nM and 166 nM의 IC50값으로 **ME0322**보다 더 효율적으로 HCE 세포의 HAdV-37 비리온에 의한 감염을 방지하였다. 종전에 380 nM로 추정되었던 **ME0322**의 최대 절반 억제 농도가 본원에서 228nM로 계산되었다. 또한, **ME0461** 및 **ME0462**는 **ME0322** 보다 효율적으로 HAdV-37 비리온에 의한 HCE 세포감염을 억제했다. 또한, 감염검정에서도(도 3b 참조), 유사체 **ME0462**(IC50=2.1 nM)가 가장 강력했다.

[0261] *실험 세부 사항 - 감염 검정*

[0262] 48-웰 플레이트중의 7x10^{7}비표지 비리온/웰을 다양한 농도의 3가의 시알산 유도체, GD1a 글리칸, 또는 시알산과 함께 또는 이들 없이(도면 2b 참조) 무혈청 성장 배지(200 μL)에서 +4℃에서 사전 항온처리하였다. 1시간 후, 혼합물을 1x10^{5}개의 부착성 HCE 세포/웰을 포함하는 새로운 48-웰 플레이트로 옮기고 +4℃에서 항온처리하였다. 1시간 후, 결합하지 않은 비리온을 무혈청 배지에서 세척하여 제거하고 생성된 혼합물을 1% 소 태아 혈청(FBS)

을 포함하는 성장 배지에서 + 37℃에서 항온처리하였다. 44시간의 감염 후, 세포를 PBS에서 세정하고, 차가운(-20℃) 99% 메탄올에서 10분간 고정하고, PBS(pH 7.4)중의 1:200 희석된 토끼 폴리클로날 항-HAdV-37 항체와 함께 실온에서 항온처리하였다. 1시간 후, 세포를 PBS로 세척하고 PBS로 1:100 희석된 FITC-표지된 돼지 항-토끼 IgG 항체 (Dako-cytomation, Glostrup, Denmark)로 염색하였다. 마지막으로, 세포를 PBS로 세척하였고 면역형광 현미경(Axiovert 25, Carl Zeiss, Germany; 10x 배율)으로 조사하였다.

[0263] *표면 플라즈마 공명(SPR)*

[0264] 마지막으로, ME0385, ME0386, 및 ME0322를 표면 플라즈마 공명(SPR) 실험으로 조사하고 고정된 HAdV-37 파이버 노브에 대한 각각의 친화도(Kd)를 측정하였다(자세한 내용은 아래 참조). SPR 데이터는 세포 결합 및 세포 감염 조사 모두의 경향을 잘 뒷받침하였고, 세개의 화합물은 HAdV-37 파이버 노브와 1대1 결합 모드로서 상호작용함이 밝혀졌다. 따라서, ME0386(Kd = 69 μM)은 HAdV-37 파이버 노브와 가장 상호작용을 잘하는 것으로 밝혀졌고, ME0385 및 ME0322가 뒤따랐다(각각 Kd = 76 M 및 Kd = 126 μM). 또한, HAdV-37 파이버 노브 구성이 Kd값에 주는 영향을 주목할 가치가 있다. 결합 및 감염 검정과 유사하게, ME0462는 가장 결합 친화도가 높았다(Kd = 9.5 μM).

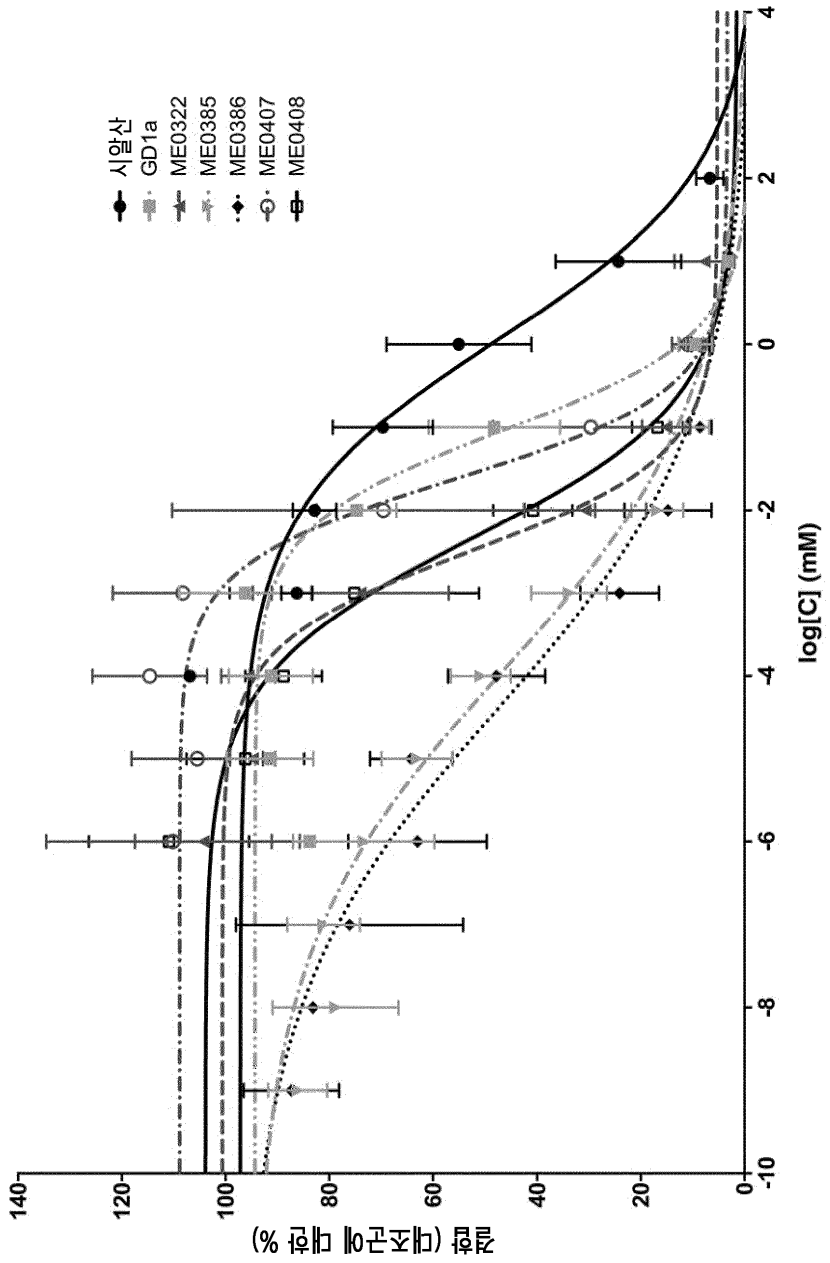
[0265] *실험 세부 사항 - 표면 플라즈마 공명*

[0266] 표면 플라즈마 공명 BIAcore T100 기기를 사용하여 동역학 측정을 수행하였다. HAdV-37 노브 단백질을 아민 커플링 키트(GE Healthcare)를 사용하여 14-15 ng/mm^2 (약 15000RU)의 농도로 CM5 센서칩에 공유 결합시켰다. 10 mM HEPES, 0.15 M NaCl 및 0.05 % P20 pH 7.4 (1x HBS-EP+, GE Healthcare) 중에서 3가의 시알산 콘쥬게이트 **ME0322**, **ME0385**, 및 **ME0386**의 고정된 노브로의 결합을 수행하였다. 3가의 시알산 농도로 400, 200, 100, 50 (2번), 25, 12.5 (2번), 6,25, 3,125, 1,56, 및 0.78 μM를 사용하였다. 결합 친화도(Kd)를 Biacore T100 평가 소프트웨어를 사용하여 계산하였다.

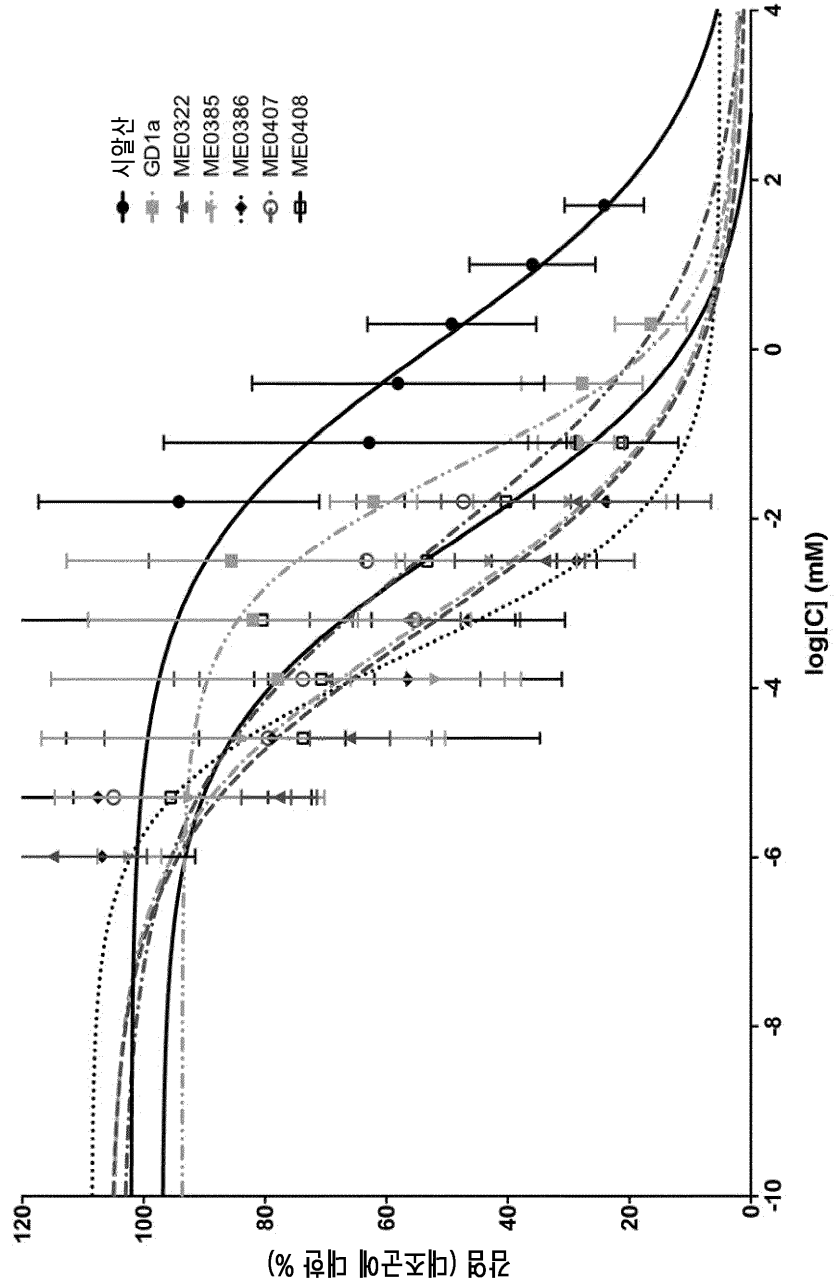
[0267] 요약하면, **ME0385**, **ME0386**, **ME0461**, 및 **ME0462**와 같은 본 발명의 화합물들은 **ME0322**와 같은 당해 분야의 화합물과 비교하여, HAdV-37과 같은, 감염될 세포 표면에 존재하는 말단 시알산 잔기에 결합하는 바이러스에 의한 눈 감염을 방지하는데 있어 뛰어난 효능을 나타내는 것으로 밝혀졌다. 따라서 본 발명의 화합물은 유행성 각결막염의 치료에 매우 유용한 것으로 여겨진다.

도면

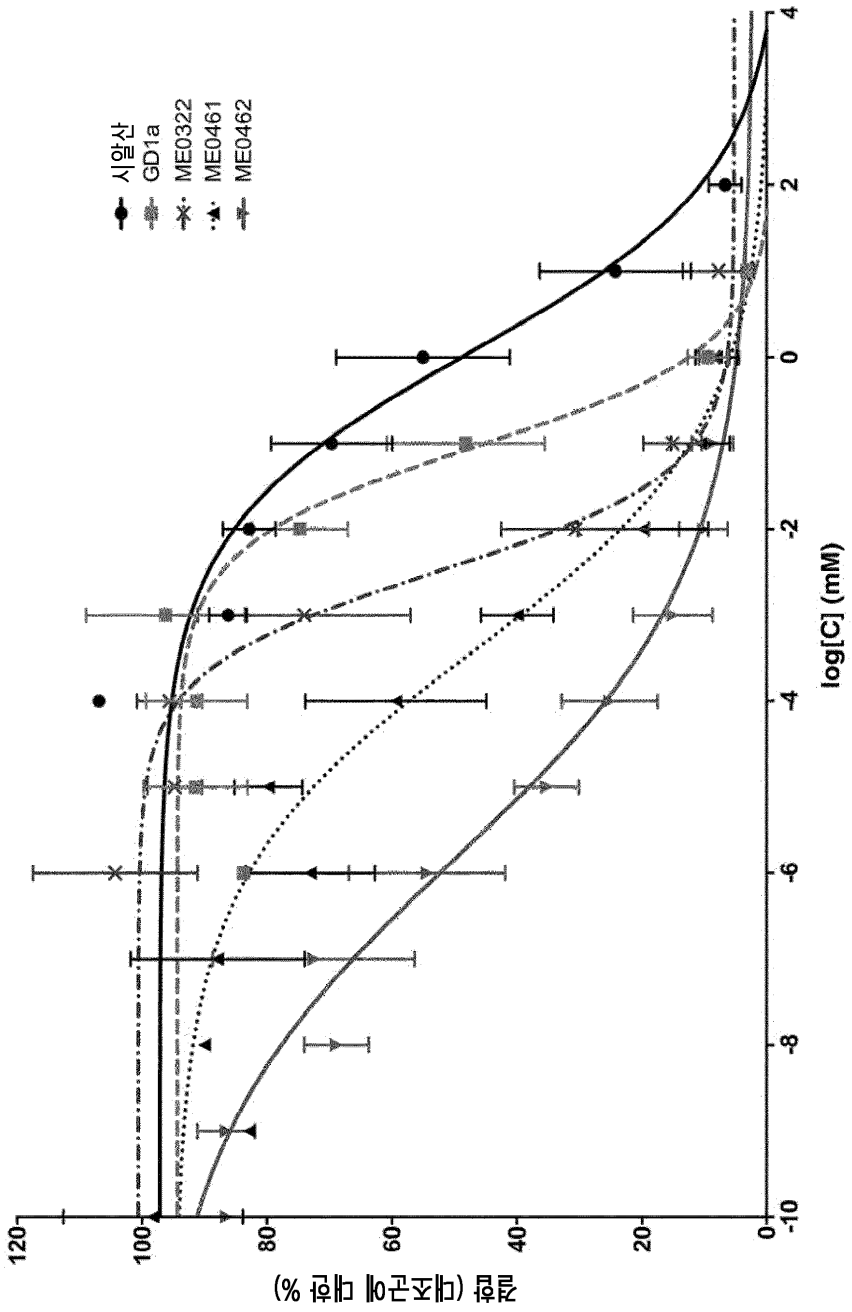
도면1a


시알산
GD1a
ME0322
ME0385
ME0386
ME0407
ME0408
결합 (대조군에 대한 %)
log[C] (mM)
140
120
100
80
60
40
20
0
-10
-8
-6
-4
-2
0
2
4

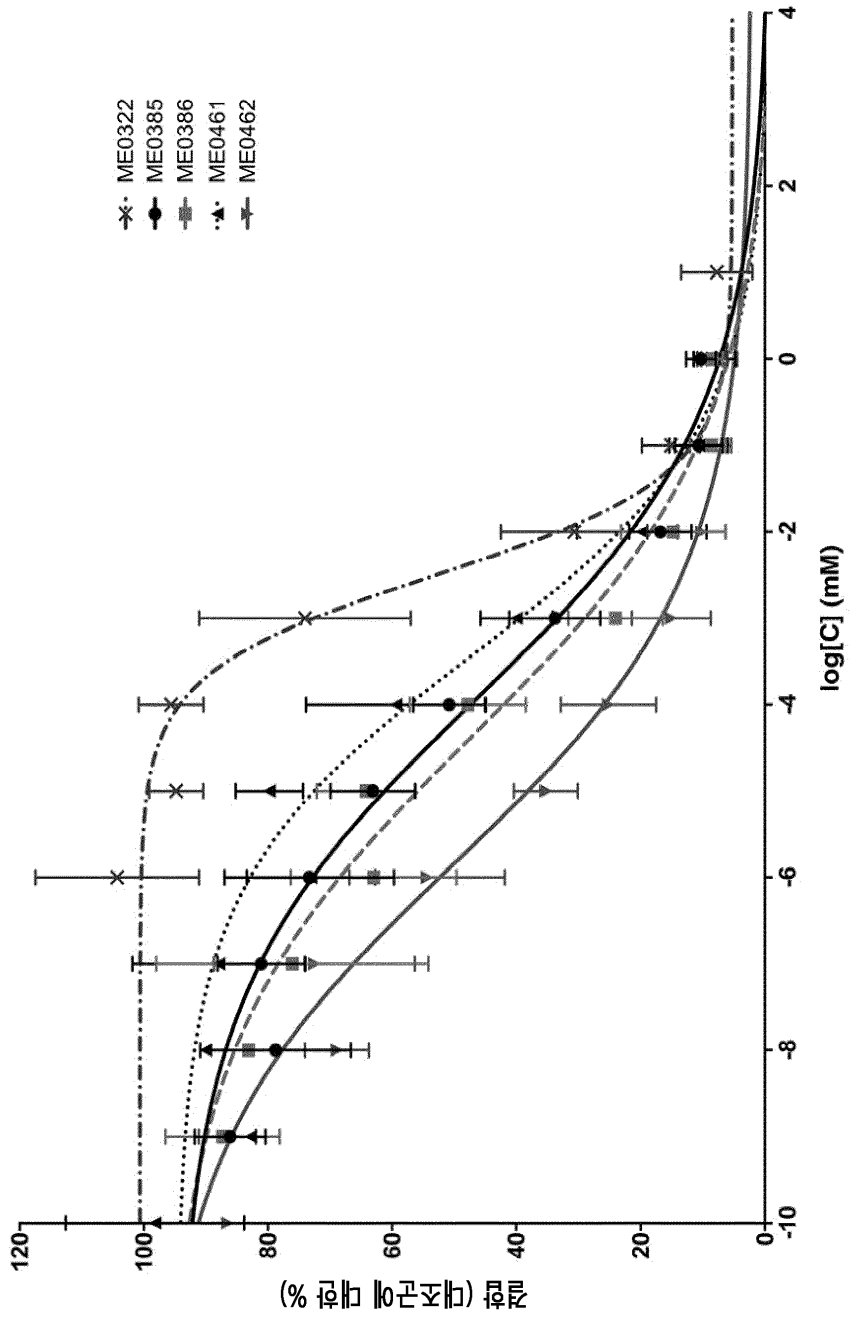
도면1b


시알산
GD1a
ME0322
ME0385
ME0386
ME0407
ME0408
결합 (대조군에 대한 %)
120
100
80
60
40
20
0
-10
-8
-6
-4
-2
0
2
4
log[C] (mM)

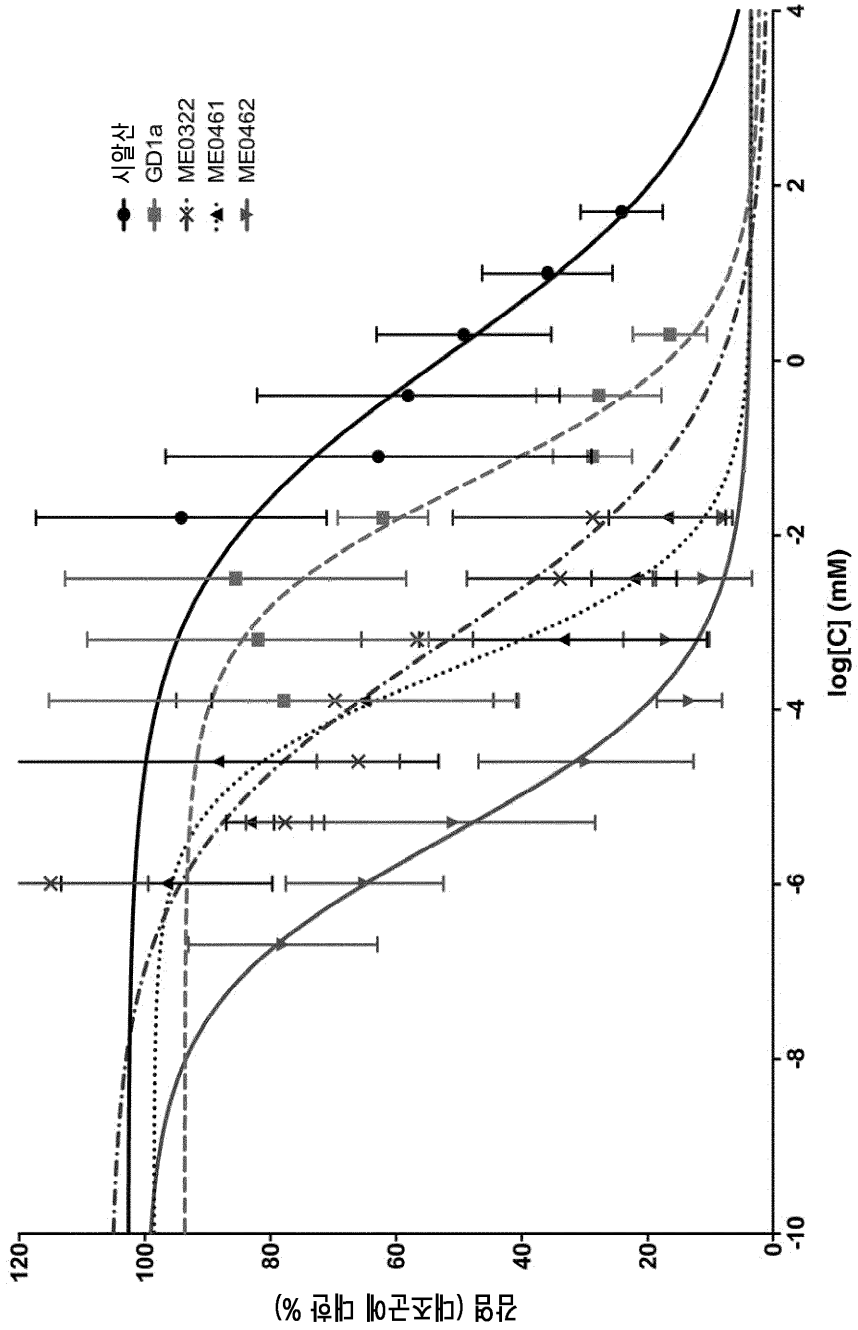
도면2a


시알산
GD1a
ME0322
ME0461
ME0462
결합 (대조군에 대한 %)
log[C] (mM)
120
100
80
60
40
20
0
-10
-8
-6
-4
-2
0
2
4

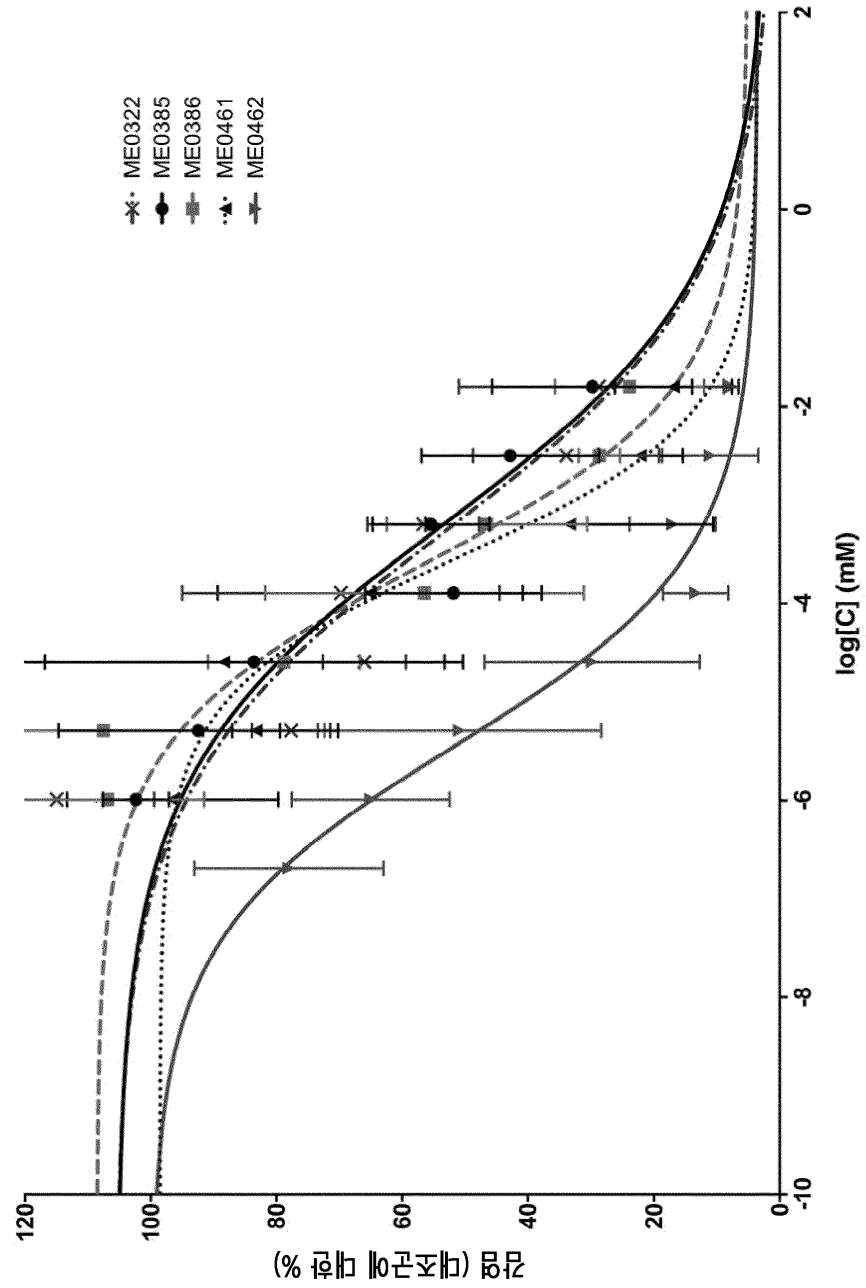
도면2b


ME0322
ME0385
ME0386
ME0461
ME0462
결합 (대조군에 대한 %)
120
100
80
60
40
20
0
-10
-8
-6
-4
-2
0
2
4
log[C] (mM)

도면3a


시알산
GD1a
ME0322
ME0461
ME0462
억압 (대조군에 대한 %)
log[C] (mM)
120
100
80
60
40
20
0
-10
-8
-6
-4
-2
0
2
4

도면3b


ME0322
ME0385
ME0386
ME0461
ME0462
log[C] (mM)
2
0
-2
-4
-6
-8
-10
120
100
80
60
40
20
0
감염 (대조군에 대한 %)