(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0151643
(43) 공개일자 2022년11월15일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 11/02 (2006.01) *A61K 31/138* (2006.01)
A61K 31/341 (2006.01) *A61K 31/4178* (2006.01)
A61K 31/573 (2021.01) *A61K 38/15* (2006.01)
A61P 31/14 (2006.01) *A61P 31/16* (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 11/02 (2013.01)
A61K 31/138 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2022-7034317
(22) 출원일자(국제) 2021년03월02일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2022년09월30일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2021/055147
(87) 국제공개번호 WO 2021/175831
국제공개일자 2021년09월10일
(30) 우선권주장
20382152.5 2020년03월02일
유럽특허청(EPO)(EP)
(뒷면에 계속)

(71) 출원인
파르마 마르, 에스.에이.
스페인 마드리드 이-28770 콜메나르 비에죠 애브다. 드 로스 리예스 1 폴리고노 인더스트리얼 라 미나
(72) 발명자
아빌레스 마린 파블로
스페인 28770 마드리드 콜메나르 비에죠 애브다. 드 로스 리예스 1 폴리고노 인더스트리얼 라 미나 파르마 마르, 에스.에이.
로사다 곤잘레스 알레한드로
스페인 28770 마드리드 콜메나르 비에죠 애브다. 드 로스 리예스 1 폴리고노 인더스트리얼 라 미나 파르마 마르, 에스.에이.
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
리앤목특허법인

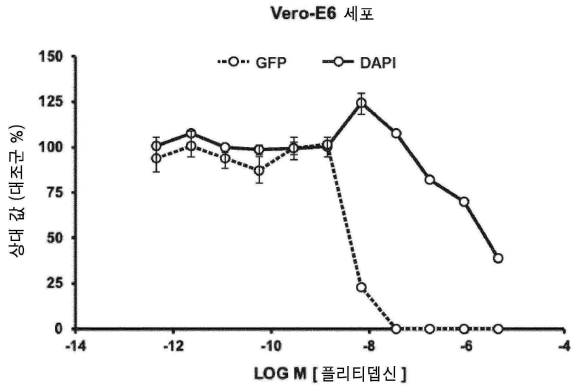
전체 청구항 수 : 총 60 항

(54) 발명의 명칭 **바이러스 감염에 사용하기 위한 화합물**

(57) 요 약

본 발명은 바이러스 감염의 치료에서 화합물의 용도에 관한 것으로서, 상기 바이러스는 오르토믹소비리데과로부터 선택되거나, 또는 상기 바이러스는 웨스트 나일 바이러스이다.

대 표 도 - 도9



(52) CPC특허분류
A61K 31/341 (2013.01)
A61K 31/4178 (2013.01)
A61K 31/573 (2013.01)
A61K 38/15 (2013.01)
A61P 31/14 (2018.01)
A61P 31/16 (2018.01)
A61K 2300/00 (2013.01)

(72) 발명자
페르난데즈 소사-파로 호세 마리아
스페인 28770 마드리드 콜메나르 비에죠 애브다. 드 로스 리예스 1 폴리고노 인더스트리얼 라 미나 파르마 마르, 에스.에이.
푸디오 무뇨스 살바도르
스페인 28770 마드리드 콜메나르 비에죠 애브다. 드 로스 리예스 1 폴리고노 인더스트리얼 라 미나 파르마 마르, 에스.에이.

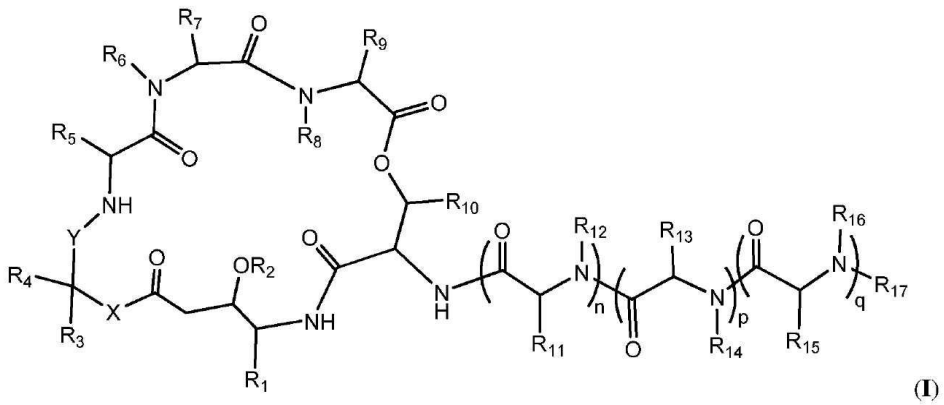
(30) 우선권주장
20382192.1 2020년03월13일
유럽특허청(EPO)(EP)
20382266.3 2020년04월02일
유럽특허청(EPO)(EP)
20382339.8 2020년04월27일
유럽특허청(EPO)(EP)
20382816.5 2020년09월16일
유럽특허청(EPO)(EP)
20382815.7 2020년09월16일
유럽특허청(EPO)(EP)
21382059.0 2021년01월25일
유럽특허청(EPO)(EP)

명 세 서

청구범위

청구항 1

바이러스 감염의 치료에 사용하기 위한, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 입체이성질체로서,



(I)

상기에서

X는 O 및 NH로부터 선택되고;

Y는 CO 및 -COCH(CH_3)CO-로부터 선택되며;

각 n 및 p는 독립적으로 0 및 1로부터 선택되고, q는 0, 1 및 2로부터 선택되며;

각 R_1, R_3, R_5, R_9, R_{11}, 및 R_{15}는 독립적으로 수소, 치환 또는 비치환된 C_1-C_6 알킬, 치환 또는 비치환된 C_2-C_6 알케닐, 및 치환 또는 비치환된 C_2-C_6 알키닐로부터 선택되고;

R_2는 수소, COR_a, $COOR_a$, 치환 또는 비치환된 C_1-C_6 알킬, 치환 또는 비치환된 C_2-C_6 알케닐, 및 치환 또는 비치환된 C_2-C_6 알키닐로부터 선택되며;

각 R_4, R_8, R_{10}, R_{12}, 및 R_{16}은 독립적으로 수소, 및 치환 또는 비치환된 C_1-C_6 알킬로부터 선택되고;

각 R_7 및 R_{13}은 독립적으로 수소, 치환 또는 비치환된 C_1-C_6 알킬, 치환 또는 비치환된 C_2-C_6 알케닐, 및 치환 또는 비치환된 C_2-C_6 알키닐로부터 선택되며;

각 R_6 및 R_{14}는 독립적으로 수소, 및 치환 또는 비치환된 C_1-C_6 알킬로부터 선택되거나; 또는 R_6 및 R_7 및/또는 R_{13} 및 R_{14}는 이들이 부착되는 해당하는 N 원자 및 C 원자와 함께 치환 또는 비치환된 헤테로사이클릭 기를 형성할 수 있고;

R_{17}은 수소, COR_a, $COOR_a$, $CONHR_b$, $COSR_c$, $(C=NR_b)OR_a$, $(C=NR_b)NHR_b$, $(C=NR_b)SR_c$, $(C=S)OR_a$, $(C=S)NHR_b$, $(C=S)SR_c$, SO_2R_c, SO_3R_c, 치환 또는 비치환된 C_1-C_{12} 알킬, 치환 또는 비치환된 C_2-C_{12} 알케닐, 치환 또는 비치환된 C_2-C_{12} 알키닐, 치환 또는 비치환된 아릴, 및 치환 또는 비치환된 헤테로사이클릭 기로부터 선택되고, 단, n, p 및 q가 0인 경우, R_{17}은 수소가 아니며;

각 R_a, R_b 및 R_c는 독립적으로 수소, 치환 또는 비치환된 C_1-C_{12} 알킬, 치환 또는 비치환된 C_2-C_{12} 알케닐, 치환 또는 비치환된 C_2-C_{12} 알키닐, 치환 또는 비치환된 아릴, 및 치환 또는 비치환된 헤테로사이클릭 기로부터 선택되고;

상기 바이러스는 오르토믹소비리데 (Orthomyxoviridae) 과로부터 선택되거나, 또는 상기 바이러스는 웨스트 나일 바이러스 (West Nile virus)인 것인 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 입체이성질체.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 R_3 및 R_4는 독립적으로 수소, 및 치환 또는 비치환된 C_1-C_6 알킬로부터 선택되고; 바람직하게는 상기 R_3은 이소프로필이고, R_4는 수소인 것인 화합물.

청구항 3

청구항 1 또는 2에 있어서, 상기 R_3 및 R_4는 메틸인 것인 화학식 II의 화합물.

청구항 4

청구항 1 내지 3 중 어느 항에 있어서, 상기 R_{11}은 수소, 및 치환 또는 비치환된 C_1-C_6 알킬로부터 선택되고; 바람직하게는 상기 R_{11}은 메틸 또는 이소부틸인 것인 화합물.

청구항 5

청구항 1 내지 4 중 어느 항에 있어서, 상기 R_{11}은 메틸이고, n=1인 것인 화학식 III의 화합물.

청구항 6

청구항 1 내지 5 중 어느 항에 있어서, 상기 R_1, R_5, R_9, 및 R_{15}는 독립적으로 수소, 및 치환 또는 비치환된 C_1-C_6 알킬로부터 선택되고; 바람직하게는 상기 R_1은 sec-부틸 및 이소프로필로부터 선택되며, R_5는 이소부틸이고, R_9는 p-메톡시벤질이며, R_{15}는 메틸 및 벤질로부터 선택되는 것인 화합물.

청구항 7

청구항 1 내지 6 중 어느 항에 있어서, 상기 R_8, R_{10}, R_{12}, 및 R_{16}은 독립적으로 수소, 및 치환 또는 비치환된 C_1-C_6 알킬로부터 선택되고; 바람직하게는 상기 R_8, R_{10} 및 R_{12}는 메틸이고, R_{16}은 수소인 것인 화합물.

청구항 8

청구항 1 내지 7 중 어느 항에 있어서, 상기 R_6 및 R_{14}는 독립적으로 수소, 및 치환 또는 비치환된 C_1-C_6 알킬로부터 선택되고; 바람직하게는 상기 R_6은 수소 및 메틸로부터 선택되며, 상기 R_{14}는 수소인 것인 화합물.

청구항 9

청구항 1 내지 8 중 어느 항에 있어서, 상기 R_7 및 R_{13}은 독립적으로 수소, 및 치환 또는 비치환된 C_1-C_6 알킬로부터 선택되고; 바람직하게는 상기 R_7은 메틸이고, R_{13}은 수소, 메틸, 이소프로필, 이소부틸 및 3-아미노-3-옥소프로필로부터 선택되는 것인 화합물.

청구항 10

청구항 1 내지 7 중 어느 항에 있어서, 상기 R_6 및 R_7 및/또는 R_{13} 및 R_{14}는 이들이 부착되는 해당하는 N 원자 및 C 원자와 함께 치환 또는 비치환된 피롤리딘 기를 형성하는 것인 화합물.

청구항 11

청구항 1 내지 10 중 어느 항에 있어서, 상기 R_2는 수소, 치환 또는 비치환된 C_1-C_6 알킬, 및 COR_a로부터 선택되고, 상기 R_a는 치환 또는 비치환된 C_1-C_6 알킬이며; 바람직하게는 상기 R_2는 수소인 것인 화합물.

청구항 12

청구항 1 내지 11 중 어느 항에 있어서, 상기 R_{17}은 수소, COR_a, $COOR_a$, $CONHR_b$, $(C=S)NHR_b$, 및 SO_2R_c로부터 선택되고, 상기 각 R_a, R_b, 및 R_c는 독립적으로 치환 또는 비치환된 C_1-C_6 알킬, 치환 또는 비치환된 C_2-C_6 알케닐, 치환 또는 비치환된 C_2-C_6 알키닐, 치환 또는 비치환된 아릴, 및 치환 또는 비치환된 헤테로사이클릭 기로부터 선택되며; 바람직하게는 상기 R_{17}은 수소, COO벤질, CO벤조[b]티오펜-2-일, SO_2(p-메틸페닐), $COCOCH_3$ 및 $COOC(CH_3)_3$으로부터 선택되는 것인 화합물.

청구항 13

청구항 1 내지 12 중 어느 항에 있어서, 상기 X는 NH인 것인 화합물.

청구항 14

청구항 1 내지 12 중 어느 항에 있어서, 상기 X는 O인 것인 화합물.

청구항 15

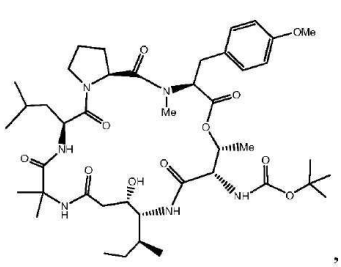
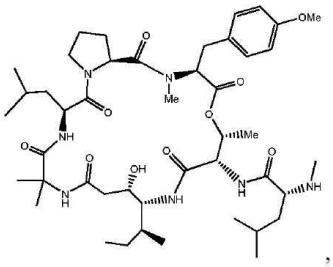
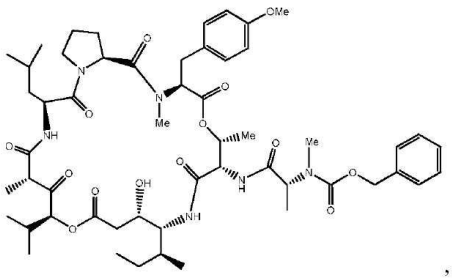
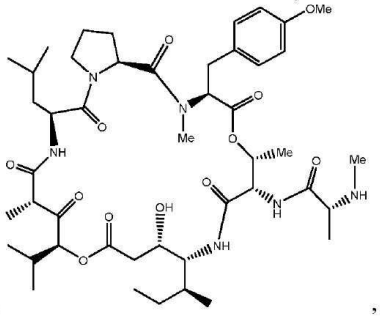
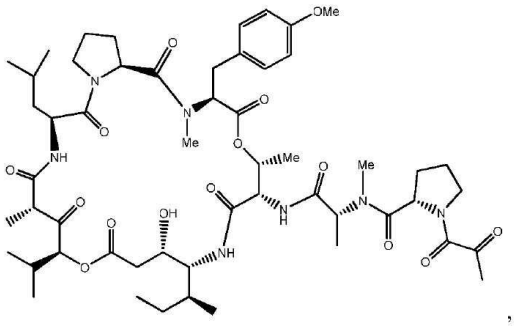
청구항 1 내지 14 중 어느 항에 있어서, 상기 Y는 CO인 것인 화합물.

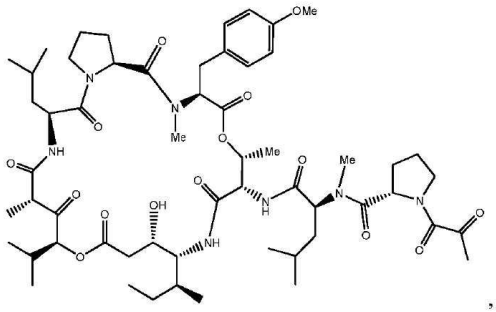
청구항 16

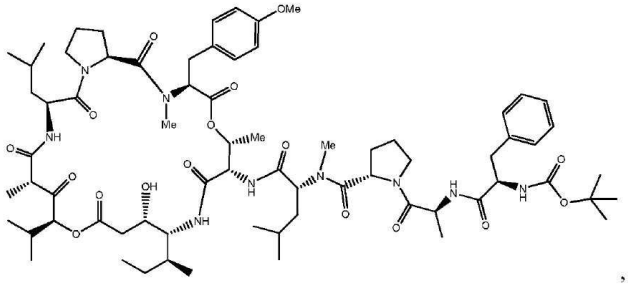
청구항 1 내지 14 중 어느 항에 있어서, 상기 Y는 $-COCH(CH_3)CO-$인 것인 화합물.

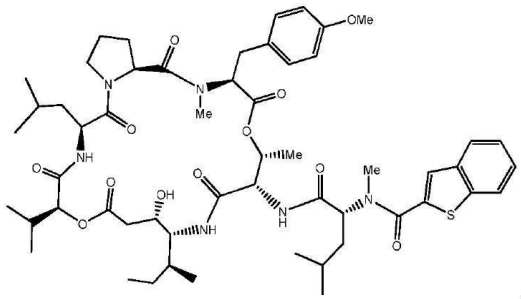
청구항 17

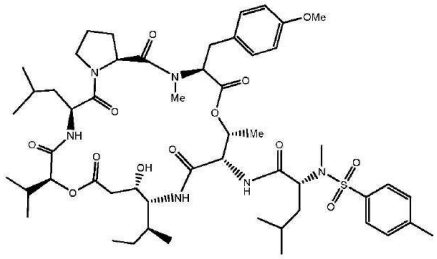
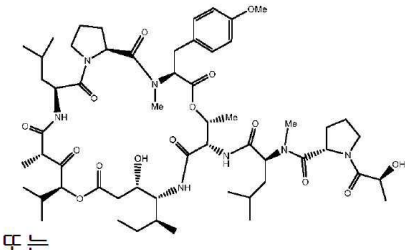
청구항 1에 있어서, 하기 구조를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 입체이성질체:


,

,

,

,

,


,


,


,



, 또는

.

청구항 18

청구항 1에 있어서, 상기 화합물은 PLD, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 입체이성질체인 것인 화합물.

청구항 19

청구항 1에 있어서, 상기 화합물은 디뎀닌B (didemninB), 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 입체이성질체인 것인 화합물.

청구항 20

청구항 1 내지 19 중 어느 항에 있어서, 상기 바이러스는 오르토믹소비리데 바이러스인 것인 화합물.

청구항 21

청구항 1 내지 20 중 어느 항에 있어서, 상기 오르토믹소비리데 바이러스는 인플루엔자바이러스 A (Influenzavirus A), 인플루엔자바이러스 B (Influenzavirus B), 인플루엔자바이러스 C (Influenzavirus C), 토고토바이러스 (Thogotovirus), 콰란자바이러스 (Quaranjavirus) 및 이사바이러스 (Isavirus)로부터 선택되는 것인 화합물.

청구항 22

청구항 21에 있어서, 상기 오르토믹소비리데 바이러스는 인플루엔자 A이고, 바람직하게는 H1N1, H1N2 및 H3N2로부터 선택되거나; 또는 상기 오르토믹소비리데 바이러스는 인플루엔자 B이고, 바람직하게는 야마가타 (Yamagata) 또는 빅토리아 (Victoria) 계통으로부터 선택되는 것인 화합물.

청구항 23

청구항 1 내지 19 중 어느 한 항에 있어서, 상기 바이러스는 웨스트 나일 바이러스인 것인 화합물.

청구항 24

청구항 1 내지 23 중 어느 항에 있어서, 상기 화합물은 코르티코스테로이드, 바람직하게는 덱사메타손과 병용 투여되는 것인 화합물.

청구항 25

청구항 24에 있어서, 상기 화합물 및 코르티코스테로이드는 동시에, 개별적으로 또는 순차적으로 투여되는 것인 화합물.

청구항 26

청구항 1 내지 25 중 어느 항에 있어서, 상기 화합물은 10일, 9일, 8일, 7일, 6일, 5일, 4일, 3일, 2일 또는 1일; 바람직하게는 2-5일, 3-5일, 또는 3, 4 또는 5일; 가장 바람직하게는 3일 또는 5일; 가장 바람직하게는 3일 동안 1일 용량의 용법에 따라 투여되는 것인 화합물.

청구항 27

청구항 1 내지 26 중 어느 항에 있어서, 상기 화합물은 1일 5 mg 이하, 1일 4.5 mg 이하, 1일 4 mg 이하, 1일 3.5 mg 이하, 1일 3 mg 이하, 1일 2.5 mg 이하 또는 1일 2 mg 이하; 0.5 mg/day, 1 mg/day, 1.5 mg/day, 2 mg/day, 2.5 mg/day, 3 mg/day, 3.5 mg/day, 4 mg/day, 4.5 mg/day, 또는 5mg/day; 바람직하게는 1 mg/day, 1.5 mg/day, 2 mg/day 또는 2.5 mg/day; 더 바람직하게는 1.5-2.5 mg/day; 가장 바람직하게는 1.5 mg/day, 2.0 mg/day 또는 2.5 mg/day의 용량으로 투여되는 것인 화합물.

청구항 28

청구항 1 내지 27 중 어느 항에 있어서, 상기 화합물은 1-50 mg, 1-40 mg, 1-30 mg, 1-20 mg, 1-15 mg, 3-15 mg, 3-12 mg, 4-12 mg, 4-10 mg, 또는 4.5-10 mg; 4mg, 4.5mg, 5mg, 5.5mg, 6mg, 6.5mg, 7mg, 7.5mg, 8mg, 8.5mg, 9mg, 9.5mg 또는 10mg; 바람직하게는 4.5mg, 5mg, 6mg, 7.5mg, 8mg, 9mg 또는 10mg; 더 바람직하게는 4.5-7.5 mg/day의 총 용량으로 투여되는 것인 화합물.

청구항 29

청구항 1 내지 28 중 어느 항에 있어서, 상기 화합물은 주입 (infusion)에 의해 투여되는 것인 화합물.

청구항 30

청구항 29에 있어서, 상기 주입은 1시간 주입, 1.5시간 주입, 2시간 주입 또는 3시간 주입; 바람직하게는 1.5시간 주입인 것인 화합물.

청구항 31

청구항 1 내지 30 중 어느 항에 있어서, 1.5 mg의 플리티뎁신 (plitidepsin)이 연속 3일 동안 1일 1회 1.5-시

간 주입으로 투여되거나; 또는 2 mg의 플리티뎁신이 연속 3일 동안 1일 1회 1.5-시간 주입으로 투여되거나; 또는 2.5 mg의 플리티뎁신이 연속 3일 동안 1일 1회 1.5-시간 주입으로 투여되거나; 또는 1 mg의 플리티뎁신이 연속 5일 동안 1일 1회 1.5-시간 주입으로 투여되거나; 또는 2 mg의 플리티뎁신이 연속 5일 동안 1일 1회 1.5-시간 주입으로 투여되는 것인 화합물.

청구항 32

청구항 1 내지 31 중 어느 항에 있어서, 상기 화합물은 로딩 용량 (loading dose) 및 유지 용량 (maintenance dose)을 사용하여 투여되는 것인 화합물.

청구항 33

청구항 32에 있어서, 상기 투여 용법 (dosage regimen)은 하기인 것인 화합물:

로딩 용량 1일차에 2.5 mg, 그 다음에 유지 용량 후속 일수 동안 2 mg/day;

로딩 용량 1일차에 2.5 mg, 그 다음에 유지 용량 후속 일수 동안 1.5 mg/day;

로딩 용량 1일차에 2.5 mg, 그 다음에 유지 용량 후속 일수 동안 1 mg/day;

로딩 용량 1일차에 2.5 mg, 그 다음에 유지 용량 후속 일수 동안 0.5 mg/day;

로딩 용량 1일차에 2 mg, 그 다음에 유지 용량 후속 일수 동안 1.5 mg/day;

로딩 용량 1일차에 2 mg, 그 다음에 유지 용량 후속 일수 동안 1 mg/day;

로딩 용량 1일차에 2 mg, 그 다음에 유지 용량 후속 일수 동안 0.5 mg/day;

로딩 용량 1일차에 1.5 mg, 그 다음에 유지 용량 후속 일수 동안 1 mg/day;

로딩 용량 1일차에 1.5 mg, 그 다음에 유지 용량 후속 일수 동안 0.5 mg/day; 또는

로딩 용량 1일차에 1 mg, 그 다음에 유지 용량 후속 일수 동안 0.5 mg/day.

청구항 34

청구항 1 내지 33 중 어느 항에 있어서, 상기 화합물은 코르티코스테로이드와 조합하여 투여되고, 상기 코르티코스테로이드는 청구항 1 내지 19 중 어느 한 항에 따른 화합물의 투여와 동일한 일자들에 투여되는 것인 화합물.

청구항 35

청구항 34에 있어서, 상기 코르티코스테로이드는 또한 1일 이상의 후속 일수에 투여될 수 있고; 바람직하게는 상기 코르티코스테로이드는 1-3일차에 상기 화합물과 투여되고, 상기 코르티코스테로이드는 4-10일차 중 1일 이상의 일수에 추가로 투여되는 것인 화합물.

청구항 36

청구항 35에 있어서, 상기 코르티코스테로이드는 상기 화합물이 투여되는 일자에 정맥내로 투여되지만, 후속 일수에는 경구 투여 또는 IV로 투여되는 것인 화합물.

청구항 37

청구항 34 내지 36 중 어느 한 항에 있어서, 상기 코르티코스테로이드는 덱사메타손이고; 바람직하게는 상기 덱사메타손은 청구항 1 내지 19 중 어느 한 항에 따른 화합물이 투여되는 일자에 6.6 mg/day의 용량으로 IV 투여되는 것인 화합물.

청구항 38

청구항 37에 있어서, 상기 덱사메타손은 후속 일, 바람직하게는 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10일차 중 1일 이상에 6 mg/day의 용량으로 경구 투여 또는 IV 투여되는 것인 화합물.

청구항 39

청구항 1 내지 38 중 어느 항에 있어서,

PLD는 1.5 mg/day 정맥내 (IV)로 1 내지 3일차에 덱사메타손 6.6 mg/day IV와 투여한 후에, 4일차부터 최대 10일차까지 (환자의 임상 병태 및 전개에 따른 의사의 판단에 따라) 덱사메타손 6 mg/day 경구 투여 (PO)/IV 투여하거나; 또는

PLD는 2.0 mg/day 정맥내 (IV)로 1 내지 3일차에 덱사메타손 6.6 mg/day IV와 투여한 후에, 4일차부터 최대 10일차까지 (환자의 임상 병태 및 전개에 따른 의사의 판단에 따라) 덱사메타손 6 mg/day 경구 투여 (PO)/IV 투여하거나; 또는

PLD는 2.5 mg/day 정맥내 (IV)로 1 내지 3일차에 덱사메타손 6.6 mg/day IV와 투여한 후에, 4일차부터 최대 10일차까지 (환자의 임상 병태 및 전개에 따른 의사의 판단에 따라) 덱사메타손 6 mg/day 경구 투여 (PO)/IV 투여하는 것인 화합물.

청구항 40

청구항 34 내지 39 중 어느 한 항에 있어서, 상기 코르티코스테로이드는 청구항 1 내지 19 중 어느 한 항에 따른 화합물로 치료를 시작하기 20 내지 30분 전에 투여되는 것인 화합물.

청구항 41

청구항 1 내지 40 중 어느 항에 있어서, 상기 환자는 바람직하게는 청구항 1 내지 19 중 어느 한 항에 따른 화합물로 치료를 시작하기 20 내지 30분 전에, 하기 약물을 추가로 투여받는 것인 화합물:

온단세트론 8 mg IV (또는 등가물);

디펜하이드라민 염산염 25 mg IV (또는 등가물); 및

라니티딘 50 mg IV (또는 등가물).

청구항 42

청구항 1 내지 41 중 어느 항에 있어서, 4일 및 5일차에, 환자는 온단세트론 (또는 등가물) 4 mg을 1일 2회 PO로 투여받는 것인 화합물.

청구항 43

청구항 1 내지 30 중 어느 한 항에 있어서, 상기 화합물은 단일 용량 (1일차)으로 투여되는 것인 화합물.

청구항 44

청구항 43에 있어서, 상기 단일 용량은 1-10 mg, 4-10 mg, 4.5-10 mg, 4mg, 4.5mg, 5mg, 5.5mg, 6mg, 6.5mg, 7mg, 7.5mg, 8mg, 8.5mg, 9mg, 9.5mg 또는 10mg, 바람직하게는 4.5mg, 5mg, 6mg, 7.5mg, 8mg, 9mg 또는 10mg, 더 바람직하게는 5-9 mg, 6.5-8.5 mg, 7-8 mg 또는 가장 바람직하게는 7.5 mg인 것인 화합물.

청구항 45

청구항 43 내지 44 중 어느 한 항에 있어서, 상기 화합물은 1.5-시간 주입으로 투여되는 것인 화합물.

청구항 46

청구항 43 내지 45 중 어느 한 항에 있어서, 코르티코스테로이드가 청구항 34 내지 40 중 어느 한 항에 따른 용법에 따라 투여되는 것인 화합물.

청구항 47

청구항 43 내지 46 중 어느 한 항에 있어서, 하기 예방 약물은 본 발명의 화합물이 투여되기 20-30분 전에 투여되는 것인 화합물:

온단세트론 8 mg IV (또는 등가물), 구체적으로 15분의 저속 주입;

디펜하이드라민 염산염 25 mg IV (또는 등가물);

라니티딘 50 mg IV (또는 등가물).

청구항 48

청구항 43 내지 47 중 어느 한 항에 있어서, 상기 온단세트론 4 mg은 본 발명의 화합물을 투여한 후 3일 동안 12시간 마다 경구로 제공되는 것인 화합물.

청구항 49

청구항 1 내지 48 중 어느 항에 있어서, 상기 덱사메타손은 덱사메타손 포스페이트이고, 본 발명의 화합물이 투여되는 일자에 투여되는 경우 8 mg의 용량 (염기 6.6 mg의 용량과 동일함)으로 투여되고, 이 후에 투여되는 경우 7.2 mg의 용량 (염기 6 mg의 용량과 동일함)으로 투여되는 것인 화합물.

청구항 50

바이러스 감염의 치료에 사용하기 위한, 청구항 1 내지 49 중 어느 항에 정의된 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 입체이성질체, 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학적 조성물로서, 상기 바이러스는 오르토믹소비리데과로부터 선택되거나, 또는 상기 바이러스는 웨스트 나일 바이러스인 것인 약학적 조성물.

청구항 51

바이러스 감염의 치료를 위한 의약 (medicament)의 제조에 있어서, 청구항 1 내지 49 중 어느 항에 정의된 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 입체이성질체의 용도로서, 상기 바이러스는 오르토믹소비리데과로부터 선택되거나, 또는 상기 바이러스는 웨스트 나일 바이러스인 것인 용도.

청구항 52

바이러스 감염을 치료하는 방법으로서, 상기 바이러스는 오르토믹소비리데과로부터 선택되거나, 또는 상기 바이러스는 웨스트 나일 바이러스이며, 청구항 1 내지 49 중 어느 항에 정의된 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 입체이성질체의 치료적으로 유효한 양을 치료를 필요로 하는 개체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 53

바이러스 감염의 치료를 위한 설명서와 함께, 청구항 1 내지 49 중 어느 항에 정의된 화합물을 포함하는 키트로서, 상기 바이러스는 오르토믹소비리데과로부터 선택되거나, 또는 상기 바이러스는 웨스트 나일 바이러스인 것인 키트.

청구항 54

바이러스 감염의 치료에 사용하기 위한 코르티코스테로이드로서, 상기 바이러스는 오르토믹소비리데과로부터 선택되거나, 또는 상기 바이러스는 웨스트 나일 바이러스이며, 상기 코르티코스테로이드는 청구항 1 내지 49 중 어느 한 항에 따른 화합물과 조합하여 투여되는 것인 코르티코스테로이드.

청구항 55

바이러스 감염의 치료에 사용하기 위한 청구항 1 내지 19 중 어느 한 항에 따른 화합물 및 코르티코스테로이드로서, 상기 바이러스는 오르토믹소비리데과로부터 선택되거나, 또는 상기 바이러스는 웨스트 나일 바이러스이며; 상기 사용은 청구항 1 내지 49 중 어느 한 항에 따른 것인 화합물 및 코르티코스테로이드.

청구항 56

바이러스 감염을 치료하는 방법으로서, 상기 바이러스는 오르토믹소비리데과로부터 선택되거나, 또는 상기 바이러스는 웨스트 나일 바이러스이며, 상기 방법은 청구항 1 내지 19 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 코르티코스테로이드의 병용 요법을 치료를 필요로 하는 환자에게 투여하고, 이에 의해 감염을 치료하는 단계를 포함하고, 상기 방법은 청구항 1 내지 49 중 어느 한 항에 정의된 것인 방법.

청구항 57

바이러스 감염의 치료를 위한 의약의 제조에 있어서, 청구항 1 내지 49 중 어느 항에 정의된 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 입체이성질체의 용도로서, 상기 바이러스는 오르토믹소비리데과로부터 선택되거나, 또는 상기 바이러스는 웨스트 나일 바이러스이며; 상기 치료는 코르티코스테로이드의 투여를 포함하는 것인 용도.

청구항 58

바이러스 감염의 치료를 위한 의약의 제조에 있어서 코르티코스테로이드의 용도로서, 상기 바이러스는 오르토믹소비리데과로부터 선택되거나, 또는 상기 바이러스는 웨스트 나일 바이러스이며; 상기 치료는 청구항 1 내지 49 중 어느 항에 정의된 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 입체이성질체의 투여를 포함하는 것인 용도.

청구항 59

바이러스 감염의 치료를 위한 의약의 제조에 있어서 청구항 1 내지 49 중 어느 항에 정의된 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 입체이성질체, 및 코르티코스테로이드의 용도로서, 상기 바이러스는 오르토믹소비리데과로부터 선택되거나, 또는 상기 바이러스는 웨스트 나일 바이러스인 것인 용도.

청구항 60

청구항 1 내지 19 중 어느 항에 정의된 화합물 및 코르티코스테로이드를 포함하고, 선택적으로 청구항 1 내지 49 중 어느 한 항에 따른 설명서를 추가로 포함하는 약학적 패키지 (pharmaceutical package).

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 바이러스 감염의 치료에 관한 것으로서, 상기 바이러스는 오르토믹소비리데과 (Orthomyxoviridae family) 유래이거나 또는 상기 바이러스는 웨스트 나일 바이러스 (West Nile virus)이다.

배 경 기 술

[0002] 바이러스 감염의 치료는 질병의 중증도 감소 뿐만 아니라, 질병 예방 및 바이러스 전파의 최소화에 있어서 중요하다. 예를 들어, 많은 바이러스가 평생 감염을 유발하므로, 이는 치료에 의해 효과적으로 관리되거나 또는 치료될 수 있다. 거의 모든 바이러스는 취약한 환자에서 바이러스혈증, 폐렴 및 패혈증과 같은 합병증을 일으킬 수 있으며, 특정 바이러스는 개인에서 치료하지 않고 두면 장기 손상, 장기 부전 및 심지어 사망을 초래할 수 있는 심각한 감염을 유발할 수 있다. 이러한 증상은 바이러스 자체로 인해 발생하지만, 과도한 면역 반응으로 인해 발생할 수도 있다. 일부 바이러스는 잠복성이 있으며, 감염 직후에 유증상 질병을 유발하지 않는다. 잠복 바이러스는 다른 사람에게 바이러스를 의도하지 않게 확산시킬 수 있으며, 이들은 초기 감염 후 수 년이 지나 재활성화되어, 종종 치명적이고 조기 치료로 피할 수 있었던 심각한 증상을 유발할 수 있다.

[0003] 구체적으로, 웨스트 나일 바이러스 (West Nile Virus: WNV)는 비-풍토병 지역에서 보고되는 신규 감염의 수가 증가함에 따라 최근 상당한 주목을 받고 있다. 예를 들어, 지난 10년 동안, 미국에서 약 40,000명의 개인이 WNV에 감염되었으며, 이 중 ~20%는 신경침습성 질환 (예: 뇌염 및 수막염)으로 발전하였고, 치사율은 12%이었다.

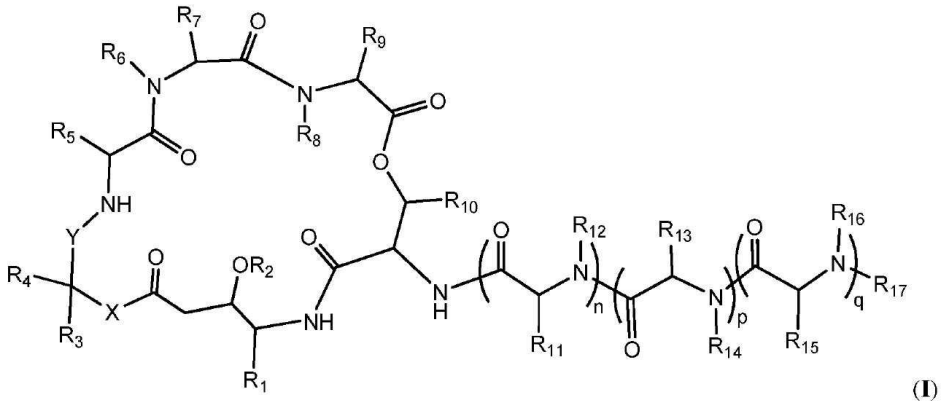
[0004] 인플루엔자 바이러스는 '독감 (flu))'으로 알려진 흔한 질병을 유발하며, 특히 겨울철에 만연하다. 인플루엔자에 감염된 대부분의 개인들은 경증의 호흡기 질환을 일으키지만, 나이가 들수록 질병 부담이 증가하고, 면역계가 약화된 개인은 더 심각한 질병으로 발전할 위험이 있다. 인플루엔자의 사망률은 미국에서 0.1 내지 0.5%로 보고되었지만, 사망률은 특정 인플루엔자 균주 및 국가에 따라 다르다. WHO (World Health Organisation)는 계절성 인플루엔자 유행으로 매년 전 세계적으로 300만-500만 건의 중증 질환이 발생하고, 291,000-646,000명이 사망하는 것으로 추정하였다. 인플루엔자 바이러스가 유전자 변화를 겪을 수 있는 능력으로 인해, 특정 인플루엔자 균주는 사망률이 훨씬 더 높을 수 있으며, 범유행을 유발할 수 있다. 특히, 1900년 이후 4번의 인플루엔자 범유행 (H1N1 스페인 독감, H2N2 아시아 독감, H3N2 홍콩 독감, H1N1 돼지 독감)이 발생하였다.

[0005] 따라서, 웨스트 나일 바이러스 및 인플루엔자와 같은 바이러스 감염에 대한 새로운 치료의 제공이 필요하다. 본 발명은 이러한 필요성을 다룬다.

발명의 내용

[0006] **발명의 요약**

[0007] 일 양상에서, 본 발명은 바이러스 감염의 치료에 사용하기 위한, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 입체이성질체에 관한 것으로서,



(I)

[0008]

[0009] 상기에서

[0010] X는 O 및 NH로부터 선택되고;

[0011] Y는 CO 및 -COCH(CH3)CO-로부터 선택되며;

[0012] 각 n 및 p는 독립적으로 0 및 1로부터 선택되고, q는 0, 1 및 2로부터 선택되며;

[0013] 각 R1, R3, R5, R9, R11 및 R15는 독립적으로 수소, 치환 또는 비치환된 C1-C6 알킬, 치환 또는 비치환된 C2-C6 알케닐, 및 치환 또는 비치환된 C2-C6 알키닐로부터 선택되고;

[0014] R2는 수소, CORa, COORa, 치환 또는 비치환된 C1-C6 알킬, 치환 또는 비치환된 C2-C6 알케닐, 및 치환 또는 비치환된 C2-C6 알키닐로부터 선택되며;

[0015] 각 R4, R8, R10, R12 및 R16은 독립적으로 수소, 및 치환 또는 비치환된 C1-C6 알킬로부터 선택되고;

[0016] 각 R7 및 R13은 독립적으로 수소, 치환 또는 비치환된 C1-C6 알킬, 치환 또는 비치환된 C2-C6 알케닐, 및 치환 또는 비치환된 C2-C6 알키닐로부터 선택되며;

[0017] 각 R6 및 R14는 독립적으로 수소 및 치환 또는 비치환된 C1-C6 알킬로부터 선택되거나; 또는 R6 및 R7 및/또는 R13 및 R14는 이들이 부착되는 해당하는 N 원자 및 C 원자와 함께 치환 또는 비치환된 헤테로사이클릭 기를 형성할 수 있고;

[0018] R17은 수소, CORa, COORa, CONHRb, COSRc, (C=NRb)ORa, (C=NRb)NHRb, (C=NRb)SRc, (C=S)ORa, (C=S)NHRb, (C=S)SRc, SO2Rc, SO3Rc, 치환 또는 비치환된 C1-C12 알킬, 치환 또는 비치환된 C2-C12 알케닐, 치환 또는 비치환된 C2-C12 알키닐, 치환 또는 비치환된 아릴, 및 치환 또는 비치환된 헤테로사이클릭 기로부터 선택되고, 단, n, p 및 q가 0인 경우, R17은 수소가 아니며;

[0019] 각 Ra, Rb 및 Rc는 독립적으로 수소, 치환 또는 비치환된 C1-C12 알킬, 치환 또는 비치환된 C2-C12 알케닐, 치환 또는 비치환된 C2-C12 알키닐, 치환 또는 비치환된 아릴, 및 치환 또는 비치환된 헤테로사이클릭 기로부터 선택되며,

[0020] 상기 바이러스는 오르토믹소비리데과로부터 선택되거나, 또는 상기 바이러스는 웨스트 나일 바이러스이다. 일 구체예에서, 상기 바이러스는 오르토믹소비리데과로부터 선택된다. 다른 구체예에서, 상기 바이러스는 웨스트 나일 바이러스이다.

[0021] 특정 일 양상에서, 화학식 I의 화합물은 PLD, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 입체이성질체이다.

[0022] 특정 일 양상에서, 화학식 I의 화합물은 디뎀닌B (DidemninB), 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 입체이성질체이다.

[0023] 다른 양상에서, 본 발명은 또한 본 발명에 따라 사용하기 위한, 본원에 정의된 화합물, 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학적 조성물에 관한 것이다.

[0024] 다른 양상에서, 본 발명은 바이러스 감염의 치료를 위한 의약의 제조에 있어서, 본원에 정의된 화합물의 용도에 관한 것으로서, 상기 바이러스는 오르토믹소비리데과로부터 선택되거나, 또는 상기 바이러스는 웨스트 나일 바이러스이다.

[0025] 다른 양상에서, 본 발명은 임의의 포유동물, 바람직하게는 인간에서 바이러스 감염을 치료하는 방법에 관한 것으로서, 상기 방법은 본원에 정의된 화합물의 치료적으로 유효한 양을 이를 필요로 하는 개체에게 투여하는 단계를 포함하며, 상기 바이러스는 오르토믹소비리데과로부터 선택되거나, 또는 상기 바이러스는 웨스트 나일 바이러스이다.

[0026] 본 발명의 추가 양상에서, 바이러스 감염의 치료에 대한 설명서와 함께, 본원에 정의된 화합물을 포함하는 키트가 제공되며, 상기 바이러스는 오르토믹소비리데과로부터 선택되거나, 또는 상기 바이러스는 웨스트 나일 바이러스이다.

[0027] 하기 구체예는 본 발명의 모든 양상에 적용된다.

[0028] 일 구체예에서, 상기 오르토믹소비리데 바이러스는 인플루엔자바이러스 A (Influenzavirus A), 인플루엔자바이러스 B (Influenzavirus B), 인플루엔자바이러스 C (Influenzavirus C), 토고토바이러스 (Thogotovirus), 콰란자바이러스 (Quaranjavirus) 및 이사바이러스 (Isavirus)로부터 선택된다. 다른 구체예에서, 상기 오르토믹소비리데 바이러스는 인플루엔자 A이고, 바람직하게는 H1N1, H1N2 및 H3N2로부터 선택된다. 다른 구체예에서, 상기 오르토믹소비리데 바이러스는 인플루엔자 B이고, 바람직하게는 야마가타 (Yamagata) 또는 빅토리아 (Victoria) 계통으로부터 선택된다.

[0029] 일 구체예에서, 상기 웨스트 나일 바이러스는 계통 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8로부터 선택된다. 바람직하게는 상기 바이러스는 계통 1 또는 2 (WNV-1 또는 WNV-2)이다. 일 구체예에서, 상기 웨스트 나일 바이러스는 웨스트 나일-NY99 (West Nile-NY99)이다.

[0030] R_3 및 R_4는 독립적으로 수소, 및 치환 또는 비치환된 C_1-C_6 알킬로부터 선택될 수 있다. R_3은 이소프로필일 수 있고, R_4는 수소일 수 있다. R_3 및 R_4는 메틸일 수 있다 (이 화합물은 또한 화학식 II의 화합물로 지정된다).

[0031] R_{11}은 수소, 및 치환 또는 비치환된 C_1-C_6 알킬로부터 선택될 수 있다. R_{11}은 메틸 또는 이소부틸일 수 있다. R_{11}은 메틸일 수 있고, n=1일 수 있다 (이 화합물은 또한 화학식 III의 화합물로 지정된다).

[0032] R_1, R_5, R_9, 및 R_{15}는 독립적으로 수소, 및 치환 또는 비치환된 C_1-C_6 알킬로부터 선택될 수 있다. R_1은 sec-부틸 및 이소프로필로부터 선택될 수 있고, R_5는 이소부틸일 수 있으며, R_9는 p-메톡시벤질일 수 있고, R_{15}는 메틸 및 벤질로부터 선택될 수 있다.

[0033] R_8, R_{10}, R_{12}, 및 R_{16}은 독립적으로 수소, 및 치환 또는 비치환된 C_1-C_6 알킬로부터 선택될 수 있다. R_8, R_{10} 및 R_{12}는 메틸일 수 있고, R_{16}은 수소일 수 있다.

[0034] R_6 및 R_{14}는 독립적으로 수소, 및 치환 또는 비치환된 C_1-C_6 알킬로부터 선택될 수 있다. R_6은 수소 및 메틸로부터 선택될 수 있고, R_{14}는 수소일 수 있다.

[0035] R_7 및 R_{13}은 독립적으로 수소, 및 치환 또는 비치환된 C_1-C_6 알킬로부터 선택될 수 있다. R_7은 메틸일 수 있고, R_{13}은 수소, 메틸, 이소프로필, 이소부틸 및 3-아미노-3-옥소프로필로부터 선택될 수 있다.

[0036] R_6 및 R_7 및/또는 R_{13} 및 R_{14}는 이들이 부착되는 해당하는 N 원자 및 C 원자와 함께 치환 또는 비치환된 피롤리딘기를 형성할 수 있다.

[0037] R_2는 수소, 치환 또는 비치환된 C_1-C_6 알킬, 및 COR_a로부터 선택될 수 있으며, 여기서 R_a는 치환 또는 비치환된 C_1-C_6 알킬일 수 있다. R_2는 수소일 수 있다.

[0038] R_{17}은 수소, COR_a, $COOR_a$, $CONHR_b$, $(C=S)NHR_b$, 및 SO_2R_c로부터 선택될 수 있고, 여기서 각 R_a, R_b, 및 R_c는 독립적

으로 치환 또는 비치환된 C_1-C_6 알킬, 치환 또는 비치환된 C_2-C_6 알케닐, 치환 또는 비치환된 C_2-C_6 알키닐, 치환 또는 비치환된 아릴, 및 치환 또는 비치환된 헤테로사이클릭 기로부터 선택될 수 있다. R_{17}은 수소, COO벤질, CO벤조[b]티오펜-2-일, SO_2(p-메틸페닐), $COCOCH_3$ 및 $COOC(CH_3)_3$으로부터 선택될 수 있다.

[0039] X는 NH일 수 있다. X는 O일 수 있다. Y는 CO일 수 있다. Y는 -COCH(CH_3)CO-일 수 있다.

[0040] 상기 화합물은 PLD, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 입체이성질체일 수 있다. 상기 화합물은 PLD일 수 있다.

[0041] 상기 화합물은 디템닌B, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 입체이성질체일 수 있다. 상기 화합물은 디템닌B일 수 있다.

[0042] 상기 바이러스 감염은 경미한 감염; 및/또는 중등도 감염; 및/또는 중증 감염일 수 있다.

[0043] 상기 사용은 최대 4주; 및/또는 4주 내지 12주; 및/또는 12주 초과 동안 바이러스 감염의 징후 및 증상이 있는 환자의 치료에서의 사용을 포함할 수 있다.

[0044] 상기 사용은 지속되는 바이러스 증상의 예방, 감소 또는 치료에서의 사용을 포함할 수 있다.

[0045] 상기 사용은 상기 환자가 무증상이거나 또는 그다지 증상이 없지만 높은 바이러스 부하를 갖는 경우를 포함하여, 감염된 환자의 감염력을 감소시킬 수 있다. 상기 사용은 슈퍼전파자 (supercontagators) (무증상이거나 또는 그다지 증상이 없지만 바이러스 부하가 높은 (예: TC <25) 환자)의 발생을 감소시킬 수 있다. 본 발명은 바이러스 부담의 신속하고 유의미한 감소를 달성한다. 바이러스 부담을 감소시키면 환자의 감염성을 줄일 수 있다. 이는 무증상이거나 또는 증상이 그다지 없지만 바이러스 부하가 높은 (예: TC <25) 환자에게 특히 유익하다. 이러한 환자는 슈퍼전파자 (supercontagators) 또는 슈퍼확산자 (superspreaders)일 수 있다. 감염의 검출 시에 본 발명에 따른 화합물의 투여는 바이러스 부담을 감소시킬 수 있으므로, 환자의 감염성을 감소시킬 수 있다.

[0046] 상기 치료는 바이러스 부하를 감소시킬 수 있다. 이는 투여 후 6일차에 복제 주기 역치 (Ct) 값이 30 초과 (Ct >30)로 표시될 수 있다. 상기 치료는 기준선으로부터 바이러스 부하를 감소시킬 수 있다. 이는 투여 후 입원이 필요한 환자의 퍼센트의 감소로 표시될 수 있다. 이는 투여 후 침습적 기계적 환기 및/또는 ICU 입원이 필요한 환자의 퍼센트의 감소로 표시될 수 있다. 이는 지속 질병 (persistent disease)과 관련된 후유증이 발생하는 환자의 감소로서 표시될 수 있다. 이는 좋지 않은 예후 기준 (예: 림프구감소증, LDH, D-이량체 또는 PCR 포함)으로 선택된 분석 파라미터가 정상화된 환자의 퍼센트의 증가로 표시될 수 있다. 이는 예를 들어 두통, 발열, 기침, 피로, 호흡곤란 (짧은 호흡), 근관절통 또는 설사를 포함하는 임상 기준이 정상화된 (증상의 소실) 환자의 퍼센트의 증가로 표시될 수 있다.

[0047] 상기 화합물은 코르티코스테로이드, 바람직하게는 덱사메타손과 조합하여 투여될 수 있다. 상기 화합물 및 코르티코스테로이드는 동시에, 개별적으로 또는 순차적으로 투여될 수 있다.

[0048] 상기 화합물은 10일, 9일, 8일, 7일, 6일, 5일, 4일, 3일, 2일 또는 1일 동안; 바람직하게는 2-5일, 3-5일, 또는 3, 4 또는 5일; 가장 바람직하게는 3일 또는 5일; 가장 바람직하게는 3일 동안 1일 1회 용량의 용법에 따라 투여될 수 있다.

[0049] 상기 화합물은 1일 5 mg 이하, 1일 4.5 mg 이하, 1일 4 mg 이하, 1일 3.5 mg 이하, 1일 3 mg 이하, 1일 2.5 mg 이하 또는 1일 2 mg 이하; 0.5 mg/day, 1 mg/day, 1.5 mg/day, 2 mg/day, 2.5 mg/day, 3 mg/day, 3.5 mg/day, 4 mg/day, 4.5 mg/day, 또는 5mg/day; 바람직하게는 1 mg/day, 1.5 mg/day, 2 mg/day 또는 2.5 mg/day; 바람직하게는 1.5-2.5 mg/day; 더 바람직하게는 1.5 mg/day, 2 mg/day 또는 2.5 mg/day의 용량으로 투여될 수 있다.

[0050] 상기 화합물은 1-50 mg, 1-40 mg, 1-30 mg, 1-20 mg, 1-15 mg, 3-15 mg, 3-12 mg, 4-12 mg, 4-10 mg, 또는 4.5-10 mg; 4 mg, 4.5 mg, 5 mg, 5.5 mg, 6 mg, 6.5 mg, 7 mg, 7.5 mg, 8 mg, 8.5 mg, 9 mg, 9.5 mg 또는 10 mg; 바람직하게는 4.5 mg, 5 mg, 6 mg, 7.5 mg, 8 mg, 9 mg 또는 10 mg; 더 바람직하게는 4.5-7.5 mg/day의 총 용량으로 투여될 수 있다. 상기 총 용량은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10일, 바람직하게는 3일 또는 5일; 가장 바람직하게는 3일에 걸쳐 분할될 수 있다.

[0051] 상기 화합물은 1.5-2.5 mg/day의 용량으로 3일 동안 1일 1회 용량으로 투여될 수 있다. 투여량은 1.5 mg/day일 수 있다. 투여량은 2.5 mg/day일 수 있다.

[0052] 상기 화합물은 연속 3일 동안 1일 1회 1.5-시간 주입으로 투여된 PLD일 수 있다. 1.5 mg의 PLD는 연속 3일 동안 1일 1회 1.5-시간 주입으로 투여될 수 있다. 2 mg의 PLD는 연속 3일 동안 1일 1회 1.5-시간 주입으로 투여될 수 있다. 2.5 mg의 PLD는 연속 3일 동안 1일 1회 1.5-시간 주입으로 투여될 수 있다. 1 mg의 PLD는 연속 5일 동안 1일 1회 1.5-시간 주입으로 투여될 수 있다. 2 mg의 PLD는 연속 5일 동안 1일 1회 1.5-시간 주입으로 투여될 수 있다.

[0053] 상기 용법은 단일 용량 (1일)일 수 있다. 상기 화합물은 1-10 mg, 4-10 mg, 4.5-10 mg; 4 mg, 4.5 mg, 5 mg, 5.5 mg, 6 mg, 6.5 mg, 7 mg, 7.5 mg, 8 mg, 8.5 mg, 9 mg, 9.5 mg 또는 10 mg; 바람직하게는 4.5 mg, 5 mg, 6 mg, 7.5 mg, 8 mg, 9 mg 또는 10 mg; 더 바람직하게는 5-9 mg, 6.5-8.5 mg, 7-8 mg 또는 7.5 mg의 단일 용량으로 투여될 수 있다. 상기 화합물은 단일 용량 1.5-시간 주입으로 투여되는 PLD일 수 있다.

[0054] 단일 용량 용법은 본 발명에 제시된 모든 요법에 이용될 수 있다. 코르티코스테로이드와의 조합 사용 (후속하는 코르티코스테로이드 투여 포함)은 구체예에서 단일 용량 용법으로 사용될 수 있다. 다중-일수 용법 (multi-day regimen)은 본 발명에 제시된 모든 요법에 이용될 수 있다.

[0055] 코르티코스테로이드는 본 발명에 따른 화합물을 투여하는 것과 동일한 일자(들)에 매일 투여될 수 있다. 코르티코스테로이드는 1일 이상의 후속 일에 투여될 수 있다. 코르티코스테로이드는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10일 또는 초과의 후속 일에 투여될 수 있다. 코르티코스테로이드는 본 발명에 따른 화합물과 동일한 일자(들)에 투여되는 경우 더 높은 용량으로 투여될 수 있고, 후속 일들에는 더 적은 용량으로 투여될 수 있다. 코르티코스테로이드는 덱사메타손일 수 있다.

[0056] 본 발명에 따른 화합물은 투여 용법의 1-3일에 본 발명에 따른 용량으로 투여될 수 있다. 코르티코스테로이드는 투여 용법의 1-3일에 정맥내로 투여될 수 있다. 그 후 코르티코스테로이드는 4일차부터 최대 10일차까지 (환자의 임상 병태 및 전개에 따른 의사의 판단에 따름) 경구 투여 또는 IV 투여될 수 있다. 코르티코스테로이드는 덱사메타손일 수 있다. 용량은 1일차 내지 3일차에 6.6 mg/day IV (예: 덱사메타손 포스페이트 8 mg), 이어서 4일차부터 최대 10일차까지 덱사메타손 6 mg/day (예: 덱사메타손 포스페이트 7.2 mg 또는 덱사메타손 염기 6 mg) 경구 투여 또는 IV 투여될 수 있다.

[0057] 구체예에서, 덱사메타손은 덱사메타손 포스페이트이고, 1일차 내지 3일차에 8 mg/day의 용량으로 IV 투여된 다음에, 4일차부터 최대 10일차까지 덱사메타손 7.2 mg/day 경구 투여 또는 IV 투여된다.

[0058] 본 발명에 따른 화합물은 주입, 바람직하게는 1시간 주입, 1.5시간 주입, 2시간 주입, 3시간 주입 또는 그 이상; 특히 바람직하게는 1.5시간 주입으로 투여될 수 있다.

[0059] 상기 용법은 연속 3일 동안 1일 1회, 1.5-시간 주입으로 투여된 1.5 mg의 플리티뎁신 (plitidepsin); 또는 연속 3일 동안 1일 1회, 1.5-시간 주입으로 투여된 2 mg의 플리티뎁신; 또는 연속 3일 동안 1일 1회, 1.5-시간 주입으로 투여된 2.5 mg의 플리티뎁신; 또는 연속 5일 동안 1일 1회, 1.5-시간 주입으로 투여된 1 mg의 플리티뎁신; 또는 연속 5일 동안 1일 1회, 1.5-시간 주입으로 투여된 2 mg의 플리티뎁신일 수 있다.

[0060] 상기 용법은 1일차에 단일 용량으로 1.5-시간 주입으로 투여된 7.5 mg의 플리티뎁신일 수 있다.

[0061] 본 발명에 따른 화합물은 로딩 용량 (loading dose) 및 유지 용량 (maintenance dose)을 사용하여 투여될 수 있다.

[0062] 본 발명에 따른 용법은 하기일 수 있다:

[0063] 로딩 용량 1일차에 2.5 mg, 그 다음에 유지 용량 후속 일수 동안 2 mg/day;

[0064] 로딩 용량 1일차에 2.5 mg, 그 다음에 유지 용량 후속 일수 동안 1.5 mg/day;

[0065] 로딩 용량 1일차에 2.5 mg, 그 다음에 유지 용량 후속 일수 동안 1 mg/day;

[0066] 로딩 용량 1일차에 2.5 mg, 그 다음에 유지 용량 후속 일수 동안 0.5 mg/day;

[0067] 로딩 용량 1일차에 2 mg, 그 다음에 유지 용량 후속 일수 동안 1.5 mg/day;

[0068] 로딩 용량 1일차에 2 mg, 그 다음에 유지 용량 후속 일수 동안 1 mg/day;

[0069] 로딩 용량 1일차에 2 mg, 그 다음에 유지 용량 후속 일수 동안 0.5 mg/day;

[0070] 로딩 용량 1일차에 1.5 mg, 그 다음에 유지 용량 후속 일수 동안 1 mg/day;

[0071] 로딩 용량 1일차에 1.5 mg, 그 다음에 유지 용량 후속 일수 동안 0.5 mg/day; 또는

[0072] 로딩 용량 1일차에 1 mg, 그 다음에 유지 용량 후속 일수 동안 0.5 mg/day.

[0073] 본 발명에 따른 화합물은 코르티코스테로이드와 조합하여 투여될 수 있다. 코르티코스테로이드는 화합물의 투여와 동일한 일자(들)에 투여될 수 있다.

[0074] 코르티코스테로이드는 또한 1일 이상의 후속 일에 투여될 수 있다. 예를 들어, 코르티코스테로이드는 1-3일차에 화합물과 투여되고, 코르티코스테로이드는 4-10일차 중 1일 이상의 일수에 추가로 투여된다.

[0075] 코르티코스테로이드는 화합물이 투여되는 일자에 정맥내로 투여될 수 있지만, 이후 일수에는 경구 투여 또는 IV 투여될 수 있다.

[0076] 코르티코스테로이드는 덱사메타손일 수 있다. 덱사메타손은 화합물이 투여되는 일자에 6.6 mg/day의 용량으로 IV 투여될 수 있다.

[0077] 덱사메타손은 후속 일수, 바람직하게는 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10일 중 1일 이상의 일수에 6 mg/day의 용량으로 경구 투여 또는 IV 투여될 수 있다.

[0078] 본원에 정의된 덱사메타손 용량은 염기 중량을 의미한다. 그러므로 염의 형태로 사용하는 경우 용량은 조정될 수 있다. 예를 들어, 덱사메타손은 덱사메타손 포스페이트일 수 있고, 이는 8 mg/day는 덱사메타손 염기 6.6 mg과 동등하고, 7.2 mg/day는 덱사메타손 염기 6 mg과 동등하다.

[0079] 본 발명에 따른 화합물, 특히 PLD는 1.5 mg/day 정맥내 (IV)로 1일차 내지 3일차에 덱사메타손 6.6 mg/day IV와 투여한 다음에, 4일차부터 최대 10일차까지 (환자의 임상 병태 및 전개에 따른 의사의 판단에 따름) 덱사메타손 6 mg/day 경구 투여 (PO)/IV 투여할 수 있다.

[0080] 본 발명에 따른 화합물, 특히 PLD는 2.0 mg/day 정맥내 (IV)로 1일차 내지 3일차에 덱사메타손 6.6 mg/day IV와 투여한 다음에, 4일차부터 최대 10일차까지 (환자의 임상 병태 및 전개에 따른 의사의 판단에 따름) 덱사메타손 6 mg/day 경구 투여 (PO)/IV 투여할 수 있다.

[0081] 본 발명에 따른 화합물, 특히 PLD는 2.5 mg/day 정맥내 (IV)로 1일차 내지 3일차에 덱사메타손 6.6 mg/day IV와 투여한 다음에, 4일차부터 최대 10일차까지 (환자의 임상 병태 및 전개에 따른 의사의 판단에 따름) 덱사메타손 6 mg/day 경구 투여 (PO)/IV 투여할 수 있다.

[0082] 코르티코스테로이드는 본원에 정의된 화합물로 치료를 시작하기 20 내지 30분 전에 투여될 수 있다.

[0083] 본 발명에 따른 용법에서, 환자는 바람직하게는 본 발명에 따른 화합물로 치료를 시작하기 20 내지 30분 전에 하기 약물을 추가로 투여받을 수 있다:

[0084] 온단세트론 (Ondansetron) 8 mg IV (또는 등가물);

[0085] 디펜하이드라민 염산염 (Diphenhydramine hydrochloride) 25 mg IV (또는 등가물); 및

[0086] 라니티딘 (Ranitidine) 50 mg IV (또는 등가물).

[0087] 본 발명에 따른 용법에서, 4일 및 5일차에, 환자는 온단세트론 (또는 등가물) 4 mg을 1일 2회 PO로 투여받을 수 있다.

[0088] 단일 용량으로 투여되는 경우, 환자는 플리티덴신 주입 20-30분 전에 하기 예방 약물을 투여받을 수 있다:

[0089] - 디펜하이드라민 염산염 25 mg i.v.;

[0090] - 라니티딘 50 mg i.v.;

[0091] - 덱사메타손 6.6 mg 정맥내;

[0092] - 온단세트론 8 mg i.v. 15분의 저속 주입.

[0093] 온단세트론 4 mg을 플리티덴신 투여 후 3일 동안 12시간마다 경구로 제공하여 약물로 인한 오심 및 구토를 완화할 수 있다. 플리티덴신을 아침에 투여하는 경우, 환자는 오후에 온단세트론의 제1 용량을 투여받을 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0094] 본 발명은 하기의 비-제한적인 도면에서 추가로 설명된다:

도 1은 Toll-유사 수용체의 활성화에 대한 반응으로 NF-κB 전사활성화가 PLD에 의해 억제되는 것을 보여준다. 인간 단핵구 세포 (THP-1)를 NF-κB-Luc 플라스미드로 안정하게 형질감염시키고, (A) PLD의 존재 및 부재하에 NF-κB 전사활성화의 수준을 측정하였다. (B) 화합물로 인한 세포독성은 MTT 세포 증식 분석으로 테스트하였다. 배양물을 6시간 동안 100 nM의 PLD에 노출시켰다. RQ - 10 μg/mL의 레시퀴모드 (Resiquimod). LPS-B5 - 10 μg/mL의 대장균 (Escherichia coli) 055:B5 (LPS-B5) 유래의 리포폴리사카라이드. Poly-C - 500 μg/mL의 폴리이노시닉-폴리시티딜릭 (Polyinosinic-polycytidylic). TNF-α를 양성 대조군으로 사용하였다. *** p<0.001; ** p<0.01

도 2는 플리티덴신이 TLR-유발 사이토카인 분비를 부정적으로 조절하는 것을 보여준다. Toll-유사 수용체의 활성화에 반응하는 NF-κB 전사활성화는 염증유발 사이토카인인: IL-1 (a), IL-6 (b), IL-8 (c) 및 TNF-α (d)의 분비 증가를 유도한다. 배양물을 6시간 동안 100nM PLD 또는 DMSO에 노출시켰다. 처리 후 6시간째에, 분비된 사이토카인을 ELISA로 분석하였다. TNF-α를 양성 대조군으로 사용하였다. *** p<0.001; ** p<0.01

도 3은 PLD에 의한 사이토카인 IL-6, IL-10 및 TNF-α의 엑스 비보 하향 조절을 보여준다.

도 4는 LPS-챌린지된 마우스에서 고전적으로 활성화된 대식세포의 감소를 보여준다.

도 5는 LPS 처리한 마우스에서 폐포 대식세포 동원에 대한 플리티덴신의 효과를 보여준다. 1.0, 0.2 및 0.2 mg/kg의 각 단일 정맥내 투여 후에 마우스 (a), 래트 (b) 및 햄스터 (c)의 혈장 및 폐에서 플리티덴신의 농도-시간 곡선 (평균±SD).

도 6은 PLD로 처리한 (PR8) 또는 미처리한 (PC) 인플루엔자 바이러스로 감염된 마우스의 BALF에서 염증 프로파일을 보여준다.

도 7은 PLD로 처리하거나 또는 미처리한 마우스의 폐에서 인플루엔자 바이러스의 역가를 보여준다. PLD의 항바이러스 활성은 qPCR로 정량화하여 바이러스 NP (NP-PR8)의 mRNA 수준을 측정하였다.

도 8은 PLD로 처리한 (PR8) 또는 미처리한 (PC) 인플루엔자 바이러스에 감염된 마우스의 BALF에서 면역 세포 침윤, 구체적으로 AM (폐포 대식세포) 수준의 정량적 측정을 보여준다.

도 9는 VeroE6 세포에서 WNV-GFP 감염 효율을 보여준다. 감염 효율 (GFP; 녹색선) 및 세포 바이오매스 (DAPI; 청색선)에 대한 플리티덴신 용량-반응 곡선. 데이터는 4개의 생물학적 복제로 수행된 2개의 독립적인 실험의 평균 및 SEM으로 표시된다 (n=8).

도 10은 Huh-7 세포에서 WNV-GFP 감염 효율을 보여준다. 감염 효율 (GFP; 녹색선) 및 세포 바이오매스 (DAPI; 청색선)에 대한 플리티덴신 용량-반응 곡선. 데이터는 4개의 생물학적 복제로 수행된 2개의 독립적인 실험의 평균 및 SEM으로 표시된다 (n=8).

도 11은 WNV 세포외 감염 역가에 대한 플리티덴신의 영향을 보여준다. Vero-E6 (a) 또는 Huh-7 세포 (b)를 WNV/NY99로 MOI 0.01로 접종하였다. 48시간 후에, 세포 상등액을 수집하여 엔드포인트 희석 및 면역형광 현미경으로 세포외 감염 역가를 결정하였다. 데이터는 로그 스케일 (logarithmic scale)로 상등액의 부피당 감염성 단위 (FFU (focus forming units)/ml)로 표시되며, 평균 및 SEM으로 표시된다 (N=4). 통계적 유의성은 one-way ANOVA 및 Dunnet´s post hoc 테스트를 사용하여 테스트하였다 (*p<0.05).

도 12는 세포내 WNV RNA 수준에 대한 플리티덴신의 영향을 보여준다. Vero-E6 (a) 또는 Huh-7 (b) 세포를 WNV/NY99로 MOI 0.01로 접종하였다. 48시간 후에, 전체 세포 RNA를 RT-qPCR에 적용하였다. 데이터는 하우스-키핑 유전자 (house-keeping gene)로 28S RNA를 사용하여 로그 스케일로 정규화된 전체 RNA의 60 ng당 게놈의 카피 수로 표시되며, 평균 및 SEM으로 표시된다 (N=4). 통계적 유의성은 one-way ANOVA 및 Dunnet´s post hoc 테스트를 사용하여 테스트하였다 (*p<0.05). n.d., 검출되지 않음 (반응당 <1000개의 카피).

도 13은 염증유발 사이토카인 IL6 (a), IL8 (b), IL1β (c) 및 TNF-α (d)의 분비에 대한 1 nM, 10 nM 및 50 nM에서의 플리티덴신 (APL) 전처리 효과를 보여준다. (e)는 세포 생존율 (대조군의 퍼센트로)에 대한 1 nM, 10 nM 및 50 nM PLD 처리의 효과를 보여준다. 시간 0에서, THP-1 세포를 1 nM, 10 nM 또는 50 nM APL 또는 DMSO (0.2 %)로 처리한 다음에, 8시간에 레시퀴모드 2.5 또는 5 μg/mL로 자극하였다. 24시간에, 사이토카인 또는 세포 생존율을 측정하였다.

도 14는 기관지-폐포 세척액 (BALF)으로부터 단리된 $CD45^+$ 세포에서 LPS-B5에 의해 매개되는 염증유발 사이토카인, IL-6 (c), IL-10 (d) 및 TNF-α (e)의 생성에 대한 플리티뎁신 치료의 효과를 보여준다. (a)는 대조군, LPS-B5, 및 LPS-B5 및 PLD 처리한 세포에서 $CD45^+$ 살아있는 세포의 퍼센트를 보여준다. (b)는 LPS-B5, 및 LPS-B5 및 PLD 처리한 세포에서 대조군의 퍼센트로서 세포 생존율을 보여준다.

도 15는 레시퀴모드에 의해 매개되는 염증유발 사이토카인 TNF-α의 생성에 대한 플리티뎁신 처리의 효과를 보여준다.

도 16 및 17은 본 발명에 따른 투여 일정 및 투여에 대해 예측된 시간에 대한 총 혈장 농도 프로파일을 나타낸다.

도 18은 본 발명에 따른 추가 투여 일정 및 투여에 대해 예측된 시간에 대한 총 혈장 농도 프로파일을 나타낸다.

도 19는 1일 내지 3일차에 1.5시간 주입을 사용하여, 단일 용량의 플리티뎁신 7.5 mg 및 1.5, 2.0 및 2.5 mg에 대한 전체 대 혈장 농도 프로파일을 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0095] **발명의 상세한 설명**

[0096] 하기 구체예는 본 발명의 모든 양상에 적용된다.

[0097] 본 발명은 더 설명될 것이다. 다음 구절에서, 본 발명의 상이한 양상이 보다 상세하게 정의된다. 이와 같이 정의된 각 양상은 명백하게 반대로 표시되지 않는 한 임의의 다른 양상 또는 양상들 또는 구체예 또는 구체예들과 조합될 수 있다. 구체적으로, 바람직하거나 또는 유리한 것으로 표시된 임의의 특징은 바람직하거나 또는 유리한 것으로 표시된 임의의 다른 특징 또는 특징들과 조합될 수 있다.

[0098] 본 출원에서, 다수의 일반적인 용어 및 문구가 사용되며, 이는 하기와 같이 해석되어야 한다.

[0099] 본원에서 사용된, 용어 "치료하는"은 달리 지시되지 않는 한, 이러한 용어가 적용되는 질병 또는 병태, 또는 이러한 장애 또는 병태의 하나 이상의 증상의 진행을 역전, 약화, 완화 또는 억제하는 것을 의미한다. 본원에서 사용된 용어 치료하는은 또한 예방적 치료를 포함할 수 있다.

[0100] 바이러스 감염과 관련하여 "치료하다", "치료하는" 및 "치료"는 하기 중 하나 이상을 나타낼 수 있다: 1) 감염된 세포 수의 감소; 2) 바이러스 역가 (qPCR에 의해 측정될 수 있음)의 감소를 포함하여, 혈청에 존재하는 비리온 수의 감소; 3) 바이러스 복제율의 억제 (즉, 어느 정도로 감속, 바람직하게는 정지); 4) 바이러스 RNA 부하의 감소; 5) 바이러스 감염 역가 (숙주 세포를 침범할 수 있는 바이러스 입자의 수)의 감소; 및 6) 바이러스 감염과 관련된 하나 이상의 증상을 어느 정도 경감 또는 감소. 본원에는 바이러스 감염과 관련된 염증을 포함할 수 있다.

[0101] "환자"는 인간, 비-인간 포유동물 (예: 개, 고양이, 토끼, 소, 말, 양, 염소, 돼지, 사슴 등) 및 비-포유동물 (예: 조류 등)을 포함한다. 상기 환자는 감염 관리를 위해 입원이 필요할 수 있다.

[0102] 플리티뎁신 (PLD)은 원래 해양 멍게 (tunicate) *아플리디움 알비칸스* (*Aplidium albicans*)로부터 단리된 사이클릭 뎁시펩티드 (cyclic depsipeptide)이다. PLD는 또한 아플리딘 (Aplidin)으로 알려져 있다. 이러한 용어는 본원에서 혼용하여 사용된다. PLD 유사체는 화학식 I, II 또는 III의 화합물로서 본원에 정의된 유사체이다. 바람직한 일 구체예에서, 본 발명은 PLD의 용도에 관한 것이다.

[0103] 웨스트 나일 바이러스 (West Nile virus: WNV)는 전 세계적으로 인간 및 말에서 점점 더 심각한 뇌염 발병의 원인이 되는 중요한 최근 생겨난 신경성 바이러스이다. WNV는 ~11 kb 포지티브-센스 단일-가닥 RNA (ssRNA) 게놈에 의해 코딩된다. 상기 게놈은 단일 다단백질로 번역되고, 바이러스 및 숙주 프로테아제에 의한 이 다단백질의 후속 절단으로 10개의 바이러스 단백질을 생성한다. WNV 병인은 초기 감염 및 확산의 초기 단계 (초기 단계), 말초 바이러스 증폭 (내장-기관 전파 단계) 및 신경 침범 (중추 신경계 (CNS) 단계)의 세 단계를 따른다.

[0104] 피하 감염 후 초기 단계는 각질 세포 및 피부-상주 DC에서 WNV 복제에 의해 정의되며, 후속하여 배수 림프절 내에서 바이러스가 증폭되고, 이는 바이러스혈증을 유발하고, 내장 기관으로 확산된다. WNV 감염에 대한 특정 표적 세포는 잘 정의되어 있지 않지만, DC, 대식세포 및 호중구의 서브세트인 것으로 사료된다. CNS 조직 (예: 뇌

및 척수)의 WNV 침습은 제3 감염 단계를 구성한다. WNV는 BBB (blood-brain barrier)의 파괴 및/또는 말초 뉴런을 따라 수송되는 바이러스 유무와 관계없이 직접 감염과 같은 바이러스성 신경침투를 촉진하는 기전들의 조합을 통해 뇌로 유입할 수 있다.

[0105] WNV 병인의 주요 특징은 과장된 선천성 및 후천적 면역 반응에 의해 유발되는 신경염증이다. 염증성 단핵구의 뇌로의 축적, 및 대식세포 및 미세아교세포로의 분화는 또한 비치명적인 WNV 감염의 뮤린 모델에서 입증된 바와 같이 신경염증 및 CNS 손상을 악화시킬 수 있다. TLR에 의한 단핵구/미세아교세포에서 WNV 핵산의 인식은 TNF-α의 생성으로 이어질 수 있으며, 이는 긴밀한 접합의 손실을 초래하여 WNV 및 면역 세포가 마우스 뇌의 혈관주위 공간으로 유입할 수 있게 한다. 따라서, WNV에 의한 단핵구/대식세포 시스템의 세포 활성화는 중요한 신경병리학적 결과를 초래하는 것으로 보이며, 과장된 선천성 반응은 염증을 유발시켜서, 혈액 뇌 관문 투과성을 변경하고, 바이러스가 CNS로 유입하도록 할 수 있다. 실제로, TNF-α 및 다른 염증유발 매개체를 차단하는 항체로 감염된 신경 세포를 치료하면 WNV-매개 신경 세포 사멸이 유의미하게 감소하며, 이는 이러한 매개체가 CNS에서 WNV 감염의 발병기전에 중요한 역할을 하는 것을 시사한다.

[0106] 오르토믹소비리데과는 음성-센스 RNA 바이러스 과이며, 인간 및 동물 모두의 중요한 병원체를 포함한다. 상기 과에는 인플루엔자바이러스 A, 인플루엔자바이러스 B, 인플루엔자바이러스 C, 토고토바이러스, 콰란자바이러스 및 이사바이러스를 포함하는 7개의 속이 있다.

[0107] 인플루엔자 바이러스에는 A, B, C 및 D의 4가지 부류가 있으며, 특히 인플루엔자 바이러스 A 및 B는 겨울철 독감 유행을 유발하여 연간 약 300,000 내지 650,000명의 사망을 초래한다. 인플루엔자 A 바이러스는 많은 국가에서 대규모 발병의 영향을 받은 수많은 유행성 독감의 원인이었기 때문에 특히 임상적으로 중요하다. 인플루엔자 A 바이러스는 바이러스 표면에 있는 헤마글루티닌 (H) 및 뉴라미니다제 (N)의 2가지 단백질에 따라 하위타입으로 구분되는, 음성-센스, 단일-가닥, 세그먼트 RNA 바이러스이다. 18개의 상이한 헤마글루티닌 서브타입 및 11개의 상이한 뉴라미니다제 서브타입 (각각 H1 내지 H18 및 N1 내지 N11)이 있으므로, 주어진 시간에 집단에서 순환할 수 있는 인플루엔자 바이러스의 많은 서브타입이 있어서, 독감으로 알려진 질병을 일으킬 수 있다. 그러나, 일 구체예에서, 본 발명은 인간 인플루엔자 바이러스, 구체적으로 인플루엔자 A의 H1N1, H1N2 및 H3N2 서브-타입, 및 인플루엔자 B의 빅토리아 및 야마가타 계통에 관한 것이다.

[0108] 독감은 고열, 콧물, 인후통, 근육 및 관절 통증, 두통, 기침 및 피로를 포함하는 경증 내지 중증 질병을 특징으로 하며, 구토 및 설사가 또한 바이러스에 감염된 어린이에서도 발생할 수 있다. 이러한 증상은 전형적으로 노출 후 1 내지 4일 후에 나타나며, 일반적으로 자가-제한되지만, 일부 경우에, 특히 면역계가 약한 사람들의 경우, 폐렴 및 패혈증과 같은 합병증이 발생할 수 있다.

[0109] 심각한 인플루엔자 감염은 높은 수준의 염증성 사이토카인 및 케모카인과 관련된 폐 조직의 심각한 병리학적 변화와 관련이 있다. 사이토카인 폭풍으로 알려진, 과풍의 (exuberant) 면역 반응은 높은 수준의 염증유발 사이토카인 및 광범위한 조직 손상과 관련이 있다. 실제로, 용어 "사이토카인 폭풍 (cytokine storm)"은 인플루엔자-관련 뇌병증에 대한 면역 반응을 설명할 때 처음 만들어졌다. 호흡기 상피 세포의 인플루엔자 감염은 이들 세포로부터 염증성 사이토카인 생성의 물결을 일으켜서, 다양한 인터페론-조절된 유전자를 유도하여, 선천성 면역 세포 예컨대 대식세포, 호중구 및 수지상 세포의 활성화를 통해 추가 다운스트림 사이토카인 생성을 유발하며, 이는 심각한 경우에 조직 손상 및 만성 염증을 유발할 수 있는 것으로 사료된다. 인플루엔자 감염과 관련된 합병증을 유발할 수 있는 염증의 긍정적인 피드백 루프이며, 궁극적으로 가장 심각한 영향을 받은 환자의 사망을 초래할 수 있다.

[0110] 본 발명의 화합물에서, 하기 지침에 따라 기가 선택될 수 있다:

[0111] 알킬기는 분지형 또는 비분지형일 수 있고, 바람직하게는 1 내지 약 12개의 탄소 원자를 갖는다. 하나의 더 바람직한 부류의 알킬기는 1 내지 약 6개의 탄소 원자를 갖는다. 1, 2, 3 또는 4개의 탄소 원자를 갖는 알킬기가 훨씬 더 바람직하다. 메틸, 에틸, n-프로필, 이소프로필, 및 부틸 예컨대 n-부틸, tert-부틸, sec-부틸 및 이소부틸이 본 발명의 화합물에서 특히 바람직한 알킬기이다. 본원에서 사용된, 용어 알킬은 달리 명시되지 않는 한 사이클릭 및 비사이클릭 기 모두를 지칭하지만, 사이클릭 기는 적어도 3개의 탄소 고리 구성원을 포함할 것이다.

[0112] 본 발명의 화합물에서 바람직한 알케닐 및 알키닐 기는 분지형 또는 비분지형일 수 있고, 하나 이상의 불포화 결합 및 2 내지 약 12개의 탄소 원자를 갖는다. 알케닐 및 알키닐 기의 더욱 바람직한 부류는 2 내지 약 6개의 탄소 원자를 갖는다. 2, 3 또는 4개의 탄소 원자를 갖는 알케닐 및 알키닐 기가 훨씬 더 바람직하다. 본원에서

사용된 알케닐 및 알키닐이라는 용어는, 달리 언급하지 않는 한, 사이클릭 및 비사이클릭 기 모두를 지칭하지만, 사이클릭 기는 적어도 3개의 탄소 고리 구성원을 포함할 것이다.

[0113] 본 발명의 화합물에서 적합한 아릴기는 개별 및/또는 융합된 아릴기를 함유하는 다중 고리 화합물을 포함한, 단일 및 다중 고리 화합물을 포함한다. 전형적인 아릴기는 1 내지 3개의 개별 또는 융합된 고리 및 6 내지 약 18개의 탄소 고리 원자를 함유한다. 바람직하게는 아릴기는 6 내지 약 10개의 탄소 고리 원자를 함유한다. 특히 바람직한 아릴기는 치환 또는 비치환된 페닐, 치환 또는 비치환된 나프틸, 치환 또는 비치환된 바이페닐, 치환 또는 비치환된 페난트릴, 및 치환 또는 비치환된 안트릴을 포함한다.

[0114] 적합한 헤테로사이클릭 기는 1 내지 3개의 개별 또는 융합된 고리 및 5 내지 약 18개의 고리 원자를 함유하는 헤테로방향족 및 헤테로지환족 기를 포함한다. 바람직하게는 헤테로방향족 및 헤테로지환족 기는 5 내지 약 10개의 고리 원자, 가장 바람직하게는 5, 6 또는 7개의 고리 원자를 함유한다. 본 발명의 화합물에서 적합한 헤테로방향족 기는 N, O 또는 S 원자로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 헤테로원자를 함유하고, 예를 들어 8-쿠마리닐을 포함하는 쿠마리닐, 8-퀴놀릴을 포함하는 퀴놀릴, 이소퀴놀릴, 피리딜, 피라지닐, 피라졸-3-일, 피라졸-4-일 및 피라졸-5-일을 포함하는 피라졸릴, 피리미디닐, 푸란-2-일, 푸란-3-일, 푸란-4-일 및 푸란-5-일을 포함한 푸라닐, 피롤릴, 티에닐, 티아졸-2-일, 티아졸-4-일 및 티아졸-5-일을 포함하는 티아졸릴, 이소티아졸릴, 티아디아졸-4-일 및 티아디아졸-5-일을 포함하는 티아디아졸릴, 트리아졸릴, 테트라졸릴, 이속사졸-3-일, 이속사졸-4-일 및 이속사졸-5-일을 포함하는 이속사졸릴, 옥사졸릴, 이미다졸릴, 인돌릴, 이소인돌릴, 인다졸릴, 인돌리지닐, 프탈라지닐, 프테리디닐, 퓨리닐, 옥사디아졸릴, 티아디아졸릴, 푸라자닐, 피리다지닐, 트리아지닐, 신놀리닐, 벤즈이미다졸릴, 벤조푸라닐, 벤조푸라자닐, 벤조[b]티오펜-2-일 및 벤조[b]티오펜-3-일을 포함하는 벤조티오페닐, 벤조티아졸릴, 벤족사졸릴, 이미다조[1,2-a]피리딘-2-일 및 이미다조[1,2-a]피리딘-3-일을 포함하는 이미다조[1,2-a]피리디닐, 퀴나졸리닐, 퀴녹살리닐, 나프티리디닐 및 푸로피리딜을 포함한다. 본 발명의 화합물에서 적합한 헤테로지환족 기는 N, O 또는 S 원자로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 헤테로원자를 함유하고, 예를 들어 피롤리디닐, 테트라하이드로푸라닐, 디하이드로푸라닐, 테트라하이드로티에닐, 테트라하이드로티오피라닐, 피페리딘-3-일, 피페리딘-4-일 및 피페리딘-5-일을 포함하는 피페리디닐, 모르폴리닐, 티오모르폴리닐, 티옥사닐, 피페라지닐, 아제티디닐, 옥세타닐, 티에타닐, 호모피페리딜, 옥세파닐, 티에파닐, 옥사제피닐, 디아제피닐, 티아제피닐, 1,2,3,6-테트라하이드로피리딜, 2-피롤리닐, 3-피롤리닐, 디하이드로피롤릴, 인돌리닐, 2H-피라닐, 4H-피라닐, 디옥사닐, 1,3-디옥솔라닐, 피라졸리닐, 디티아닐, 디티올라닐, 디하이드로피라닐, 디하이드로티에닐, 디하이드로푸라닐, 피라졸리디닐, 이미다졸리닐, 이미다졸리디닐, 3-아자바이사이클로[3.1.0]헥실, 3-아자바이사이클로[4.1.0]헵틸, 3H-인돌릴 및 퀴놀리지닐을 포함한다.

[0115] 상기 언급된 기에서, 하나 이상의 수소 원자는 하나 이상의 적절한 기 예컨대 OR', =O, SR', SOR', SO_2R', NO_2, NHR', NR'R', =N-R', NHCOR', $N(COR')_2$, $NHSO_2R'$, NR'C(=NR')NR'R', CN, 할로겐, COR', COOR', OCOR', OCONHR', OCONR'R', CONHR', CONR'R', 치환 또는 비치환된 C_1-C_{12} 알킬, 치환 또는 비치환된 C_2-C_{12} 알케닐, 치환 또는 비치환된 C_2-C_{12} 알키닐, 치환 또는 비치환된 아릴, 및 치환 또는 비치환된 헤테로사이클릭 기로 치환될 수 있고, 여기서 각 R' 기는 독립적으로 수소, OH, NO_2, NH_2, SH, CN, 할로겐, COH, CO알킬, CO_2H, 치환 또는 비치환된 C_1-C_{12} 알킬, 치환 또는 비치환된 C_2-C_{12} 알케닐, 치환 또는 비치환된 C_2-C_{12} 알키닐, 치환 또는 비치환된 아릴, 및 치환 또는 비치환된 헤테로사이클릭 기로 구성된 그룹으로부터 선택된다. 이러한 기가 그 자체로 치환되는 경우, 치환기는 상기 목록으로부터 선택될 수 있다. 치환기가 이중 결합으로 끝나는 경우 (예: =O 및 =N-R'), 이는 동일한 탄소 원자에 있는 2개의 수소 원자를 대체한다.

[0116] 본 발명의 화합물에서 적합한 할로겐 치환기는 F, Cl, Br 및 I를 포함한다.

[0117] 용어 "약학적으로 허용 가능한 염"은 환자에게 투여 시에 본원에 기재된 바와 같은 화합물을 (직접적으로 또는 간접적으로) 제공할 수 있는 임의의 염을 지칭한다. 약학적으로 허용 가능하지 않은 염이 또한 약학적으로 허용 가능한 염의 제조에 유용할 수 있기 때문에 본 발명의 범위에 속하는 것으로 이해될 것이다. 염의 제조는 당해 기술 분야에 알려진 방법에 의해 수행될 수 있다. 예를 들어, 본원에서 제공되는 화합물의 약학적으로 허용 가능한 염은 통상적인 화학적 방법에 의해 염기성 또는 산성 모이어티를 함유하는 모체 화합물로부터 합성된다. 일반적으로, 이러한 염은 예를 들어, 물 또는 유기 용매 또는 이들의 혼합물에서 화학량론적 양의 적절한 염기 또는 산과 이들 화합물들의 유리 산 또는 염기 형태를 반응시킴으로써 제조된다. 일반적으로, 에테르, 에틸 아세테이트, 에탄올, 이소프로판올 또는 아세토니트릴과 같은 비수성 매질이 바람직하다. 산 부가 염의 예는 미네랄 산 부가 염, 가령 예를 들어 염산염, 브롬화수소산염, 요오드화수소산염, 황산염, 질산염, 인산염, 및 유기

산 부가 염, 가령 예를 들어 아세테이트, 트리플루오로아세테이트, 말레에이트, 푸마레이트, 시트레이트, 옥살레이트, 숙시네이트, 타르트레이트, 말레이트, 만델레이트, 메탄설포네이트 및 *p*-톨루엔설포네이트를 포함한다. 알칼리 부가 염의 예는 무기 염, 가령 예를 들어 나트륨, 칼륨, 칼슘 및 암모늄 염, 및 유기 알칼리 염, 가령 예를 들어 에틸렌디아민, 에탄올아민, *N,N*-디알킬렌에탄올아민, 트리에탄올아민 및 염기성 아미노산 염을 포함한다.

[0118] 본 발명의 화합물은 유리 화합물로서 또는 용매화물 (예: 수화물, 알코올레이트, 구체적으로 메탄올레이트)로서 결정형일 수 있고, 이들 형태 모두 본 발명의 범위 내에 있는 것으로 의도된다. 용매화 방법은 일반적으로 당해 기술 분야에 알려져 있다. 본 발명의 화합물은 상이한 다형체 형태를 나타낼 수 있으며, 본 발명은 이러한 모든 형태를 포함하는 것으로 의도된다.

[0119] 본원에 언급된 임의의 화합물은 이러한 특정 화합물 뿐만 아니라 특정 변형 또는 형태를 나타내는 것으로 의도된다. 구체적으로, 본원에 언급된 화합물은 비대칭 중심을 가질 수 있고, 그러므로 상이한 거울상이성질체 또는 부분입체이성질체 형태로 존재할 수 있다. 따라서, 본원에 언급된 임의의 주어진 화합물은 라세미체, 하나 이상의 거울상이성질체 형태, 하나 이상의 부분입체이성질체 형태, 및 이들의 혼합물 중 어느 하나를 나타내는 것으로 의도된다. 마찬가지로, 이중 결합에 대한 입체이성질체 또는 기하 이성질체가 또한 가능하고, 그러므로 일부 경우에 분자는 (*E*)-이성질체 또는 (*Z*)-이성질체 (*트란스* 및 *시스* 이성질체)로 존재할 수 있다. 분자가 여러 개의 이중 결합을 함유하는 경우, 각 이중 결합은 이의 고유한 입체이성질체를 가지며, 이는 분자의 다른 이중 결합의 입체 이성질체와 동일하거나 또는 상이할 수 있다. 또한, 본원에 언급된 화합물은 회전장애 이성질체 (atropisomers)로 존재할 수 있다. 본원에 언급된 화합물의 거울상 이성질체, 부분입체 이성질체, 기하 이성질체 및 회전장애 이성질체를 포함하는 모든 입체이성질체, 및 이들의 혼합물은 본 발명의 범위 내에 있는 것으로 간주된다.

[0120] 화학식 I 및 II의 화합물에서, 구체적으로 바람직한 R_1, R_5, R_9, R_{11}, 및 R_{15}는 독립적으로 수소, 및 치환 또는 비치환된 C_1-C_6 알킬로부터 선택된다. 보다 바람직한 R_1, R_5, R_9, R_{11}, 및 R_{15}는 독립적으로 수소, 치환 또는 비치환된 메틸, 치환 또는 비치환된 에틸, 치환 또는 비치환된 n-프로필, 치환 또는 비치환된 이소프로필, 및 치환 또는 비치환된 부틸 (치환 또는 비치환된 n-부틸, 치환 또는 비치환된 tert-부틸, 치환 또는 비치환된 이소부틸, 및 치환 또는 비치환된 sec-부틸 포함)로부터 선택된다. 상기 기의 바람직한 치환기는 OR', =O, SR', SOR', SO_2R', NO_2, NHR', NR'R', =N-R', NHCOR', $N(COR')_2$, $NHSO_2R'$, NR'C(=NR')NR'R', CN, 할로겐, COR', COOR', OCOR', OCONHR', OCONR'R', CONHR', CONR'R', 치환 또는 비치환된 C_1-C_{12} 알킬, 치환 또는 비치환된 C_2-C_{12} 알케닐, 치환 또는 비치환된 C_2-C_{12} 알키닐, 치환 또는 비치환된 아릴, 및 치환 또는 비치환된 헤테로사이클릭 기이고, 여기서, 각 R' 기는 독립적으로 수소, OH, NO_2, NH_2, SH, CN, 할로겐, COH, CO알킬, CO_2H, 치환 또는 비치환된 C_1-C_{12} 알킬, 치환 또는 비치환된 C_2-C_{12} 알케닐, 치환 또는 비치환된 C_2-C_{12} 알키닐, 치환 또는 비치환된 아릴, 및 치환 또는 비치환된 헤테로사이클릭 기로 구성된 그룹으로부터 선택된다. 이러한 기가 그 자체로 치환되는 경우, 치환기는 상기 목록으로부터 선택될 수 있다. 수소, 메틸, n-프로필, 이소프로필, 이소부틸, sec-부틸, 4-아미노부틸, 3-아미노-3-옥소프로필, 벤질, p-메톡시벤질, p-하이드록시벤질, 및 사이클로헥실메틸이 가장 바람직한 R_1, R_5, R_9, R_{11}, 및 R_{15} 기이다. 구체적으로, 특히 바람직한 R_1은 sec-부틸 및 이소프로필로부터 선택되고, sec-부틸이 가장 바람직하다. 특히 바람직한 R_5는 이소부틸 및 4-아미노부틸로부터 선택되고, 이소부틸이 가장 바람직하다. 특히 바람직한 R_{11}은 메틸 및 이소부틸이다. 특히 바람직한 R_9는 p-메톡시벤질, p-하이드록시벤질 및 사이클로헥실메틸로부터 선택되고, p-메톡시벤질이 가장 바람직하다. 특히 바람직한 R_{15}는 메틸, n-프로필 및 벤질로부터 선택되고, 메틸 및 벤질이 가장 바람직하다.

[0121] 화학식 III의 화합물에서, 특히 바람직한 R_1, R_5, R_9, 및 R_{15}는 독립적으로 수소, 및 치환 또는 비치환된 C_1-C_6 알킬로부터 선택된다. 보다 바람직한 R_1, R_5, R_9, 및 R_{15}는 독립적으로 수소, 치환 또는 비치환된 메틸, 치환 또는 비치환된 에틸, 치환 또는 비치환된 n-프로필, 치환 또는 비치환된 이소프로필, 및 치환 또는 비치환된 부틸 (치환 또는 비치환된 n-부틸, 치환 또는 비치환된 tert-부틸, 치환 또는 비치환된 이소부틸, 및 치환 또는 비치환된 sec-부틸 포함)로부터 선택된다. 상기 기의 바람직한 치환기는 OR', =O, SR', SOR', SO_2R', NO_2, NHR', NR'R', =N-R', NHCOR', $N(COR')_2$, $NHSO_2R'$, NR'C(=NR')NR'R', CN, 할로겐, COR', COOR', OCOR', OCONHR', OCONR'R', CONHR', CONR'R', 치환 또는 비치환된 C_1-C_{12} 알킬, 치환 또는 비치환된 C_2-C_{12} 알케닐, 치환 또는 비

치환된 C_2-C_{12} 알키닐, 치환 또는 비치환된 아릴, 및 치환 또는 비치환된 헤테로사이클릭 기이고, 여기서, 각 R' 기는 독립적으로 수소, OH, NO_2, NH_2, SH, CN, 할로겐, COH, CO알킬, CO_2H, 치환 또는 비치환된 C_1-C_{12} 알킬, 치환 또는 비치환된 C_2-C_{12} 알케닐, 치환 또는 비치환된 C_2-C_{12} 알키닐, 치환 또는 비치환된 아릴, 및 치환 또는 비치환된 헤테로사이클릭 기로 구성된 그룹으로부터 선택된다. 이러한 기가 그 자체로 치환되는 경우, 치환기는 상기 목록으로부터 선택될 수 있다. 수소, 메틸, n-프로필, 이소프로필, 이소부틸, sec-부틸, 4-아미노부틸, 3-아미노-3-옥소프로필, 벤질, p-메톡시벤질, p-하이드록시벤질 및 사이클로헥실메틸이 가장 바람직한 R_1, R_5, R_9, 및 R_{15} 기이다. 구체적으로, 특히 바람직한 R_1은 sec-부틸 및 이소프로필로부터 선택되고, sec-부틸이 가장 바람직하다. 특히 바람직한 R_5는 이소부틸 및 4-아미노부틸로부터 선택되고, 이소부틸이 가장 바람직하다. 특히 바람직한 R_9는 p-메톡시벤질, p-하이드록시벤질 및 사이클로헥실메틸로부터 선택되고, p-메톡시벤질이 가장 바람직하다. 특히 바람직한 R_{15}는 메틸, n-프로필 및 벤질로부터 선택되고, 메틸 및 벤질이 가장 바람직하다.

[0122] 화학식 I, II 및 III의 화합물에서, 특히 바람직한 R_8, R_{10}, R_{12}, 및 R_{16}은 독립적으로 수소, 및 치환 또는 비치환된 C_1-C_6 알킬로부터 선택된다. 보다 바람직한 R_8, R_{10}, R_{12}, 및 R_{16}은 독립적으로 수소, 메틸, 에틸, n-프로필, 이소프로필 및 부틸 (n-부틸, tert-부틸, 이소부틸 및 sec-부틸 포함)로부터 선택되고, 더욱 바람직하게는 이들은 독립적으로 수소 및 메틸로부터 선택된다. 구체적으로, 특히 바람직한 R_8, R_{10}, 및 R_{12}는 메틸이고, 특히 바람직한 R_{16}은 수소이다.

[0123] 화학식 I 및 III의 화합물에서, 특히 바람직한 R_3 및 R_4는 독립적으로 수소, 및 치환 또는 비치환된 C_1-C_6 알킬로부터 선택된다. 보다 바람직한 R_3 및 R_4는 독립적으로 수소, 치환 또는 비치환된 메틸, 치환 또는 비치환된 에틸, 치환 또는 비치환된 n-프로필, 치환 또는 비치환된 이소프로필, 및 치환 또는 비치환된 부틸 (치환 또는 비치환된 n-부틸, 치환 또는 비치환된 tert-부틸, 치환 또는 비치환된 이소부틸, 및 치환 또는 비치환된 sec-부틸 포함)로부터 선택된다. 상기 기의 바람직한 치환기는 OR', =O, SR', SOR', SO_2R', NO_2, NHR', NR'R', =N-R', NHCOR', $N(COR')_2$, $NHSO_2R'$, NR'C(=NR')NR'R', CN, 할로겐, COR', COOR', OCOR', OCONHR', OCONR'R', CONHR', CONR'R', 치환 또는 비치환된 C_1-C_{12} 알킬, 치환 또는 비치환된 C_2-C_{12} 알케닐, 치환 또는 비치환된 C_2-C_{12} 알키닐, 치환 또는 비치환된 아릴, 및 치환 또는 비치환된 헤테로사이클릭 기이고, 여기서, 각 R' 기는 독립적으로 수소, OH, NO_2, NH_2, SH, CN, 할로겐, COH, CO알킬, CO_2H, 치환 또는 비치환된 C_1-C_{12} 알킬, 치환 또는 비치환된 C_2-C_{12} 알케닐, 치환 또는 비치환된 C_2-C_{12} 알키닐, 치환 또는 비치환된 아릴, 및 치환 또는 비치환된 헤테로사이클릭 기로 구성된 그룹으로부터 선택된다. 이러한 기가 그 자체로 치환되는 경우, 치환기는 상기 목록으로부터 선택될 수 있다. 수소, 메틸, 이소프로필 및 sec-부틸이 가장 바람직한 R_3 및 R_4 기이다. 구체적으로, 특히 바람직한 R_3은 메틸 및 이소프로필로부터 선택되고, 특히 바람직한 R_4는 메틸 또는 수소이다.

[0124] 화학식 I, II 및 III의 화합물의 일 구체예에서, 특히 바람직한 R_6 및 R_7은 독립적으로 수소, 및 치환 또는 비치환된 C_1-C_6 알킬로부터 선택된다. 보다 바람직한 R_7은 수소, 치환 또는 비치환된 메틸, 치환 또는 비치환된 에틸, 치환 또는 비치환된 n-프로필, 치환 또는 비치환된 이소프로필, 및 치환 또는 비치환된 부틸 (치환 또는 비치환된 n-부틸, 치환 또는 비치환된 tert-부틸, 치환 또는 비치환된 이소부틸, 및 치환 또는 비치환된 sec-부틸 포함)로부터 선택된다. 상기 기의 바람직한 치환기는 OR', =O, SR', SOR', SO_2R', NO_2, NHR', NR'R', =N-R', NHCOR', $N(COR')_2$, $NHSO_2R'$, NR'C(=NR')NR'R', CN, 할로겐, COR', COOR', OCOR', OCONHR', OCONR'R', CONHR', CONR'R', 치환 또는 비치환된 C_1-C_{12} 알킬, 치환 또는 비치환된 C_2-C_{12} 알케닐, 치환 또는 비치환된 C_2-C_{12} 알키닐, 치환 또는 비치환된 아릴, 및 치환 또는 비치환된 헤테로사이클릭 기이고, 여기서 각 R' 기는 독립적으로 수소, OH, NO_2, NH_2, SH, CN, 할로겐, COH, CO알킬, CO_2H, 치환 또는 비치환된 C_1-C_{12} 알킬, 치환 또는 비치환된 C_2-C_{12} 알케닐, 치환 또는 비치환된 C_2-C_{12} 알키닐, 치환 또는 비치환된 아릴, 및 치환 또는 비치환된 헤테로사이클릭 기로 구성된 그룹으로부터 선택된다. 이러한 기가 그 자체로 치환되는 경우, 치환기는 상기 목록으로부터 선택될 수 있다. 보다 바람직한 R_6은 수소, 메틸, 에틸, n-프로필, 이소프로필 및 부틸 (n-부틸, tert-부틸, 이소부틸 및 sec-부틸 포함)로부터 선택된다. 가장 바람직한 R_6은 수소 및 메틸로부터 선택되고, 가장 바람

직한 R_7은 메틸이다.

[0125] 화학식 I, II 및 III의 화합물의 다른 구체예에서, R_6 및 R_7은 이들이 부착되는 해당하는 N 원자 및 C 원자와 함께 치환 또는 비치환된 헤테로사이클릭 기를 형성하는 것이 특히 바람직하다. 이와 관련하여, 바람직한 헤테로사이클릭 기는 N, O 또는 S 원자로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 헤테로원자, 가장 바람직하게는 1개의 N 원자를 함유하고 5 내지 약 10개의 고리 원자, 가장 바람직하게는 5, 6 또는 7개의 고리 원자를 갖는 헤테로지환족 기이다. 피롤리딘 기가 가장 바람직하다.

[0126] 화학식 I, II 및 III의 화합물의 일 구체예에서, 특히 바람직한 R_{13} 및 R_{14}는 독립적으로 수소, 및 치환 또는 비치환된 C_1-C_6 알킬로부터 선택된다. 보다 바람직한 R_{13}은 수소, 치환 또는 비치환된 메틸, 치환 또는 비치환된 에틸, 치환 또는 비치환된 n-프로필, 치환 또는 비치환된 이소프로필, 및 치환 또는 비치환된 부틸 (치환 또는 비치환된 n-부틸, 치환 또는 비치환된 tert-부틸, 치환 또는 비치환된 이소부틸, 및 치환 또는 비치환된 sec-부틸 포함)로부터 선택된다. 상기 기의 바람직한 치환기는 OR', =O, SR', SOR', SO_2R', NO_2, NHR', NR'R', =N-R', NHCOR', $N(COR')_2$, $NHSO_2R'$, NR'C(=NR')NR'R', CN, 할로겐, COR', COOR', OCOR', OCONHR', OCONR'R', CONHR', CONR'R', 치환 또는 비치환된 C_1-C_{12} 알킬, 치환 또는 비치환된 C_2-C_{12} 알케닐, 치환 또는 비치환된 C_2-C_{12} 알키닐, 치환 또는 비치환된 아릴, 및 치환 또는 비치환된 헤테로사이클릭 기이고, 여기서, 각 R' 기는 독립적으로 수소, OH, NO_2, NH_2, SH, CN, 할로겐, COH, CO알킬, CO_2H, 치환 또는 비치환된 C_1-C_{12} 알킬, 치환 또는 비치환된 C_2-C_{12} 알케닐, 치환 또는 비치환된 C_2-C_{12} 알키닐, 치환 또는 비치환된 아릴, 및 치환 또는 비치환된 헤테로사이클릭 기로 구성된 그룹으로부터 선택된다. 이러한 기가 그 자체로 치환되는 경우, 치환기는 상기 목록으로부터 선택될 수 있다. 보다 바람직한 R_{14}는 수소, 메틸, 에틸, n-프로필, 이소프로필 및 부틸 (n-부틸, tert-부틸, 이소부틸 및 sec-부틸 포함)로부터 선택된다. 가장 바람직한 R_{13}은 수소, 메틸, 이소프로필, 이소부틸 및 3-아미노-3-옥소프로필로부터 선택되고, 가장 바람직한 R_{14}는 수소이다.

[0127] 화학식 I, II 및 III의 화합물의 다른 구체예에서, R_{13} 및 R_{14}는 이들이 부착되는 해당하는 N 원자 및 C 원자와 함께 치환 또는 비치환된 헤테로사이클릭 기를 형성하는 것이 특히 바람직하다. 이와 관련하여, 바람직한 헤테로사이클릭 기는 N, O 또는 S 원자로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 헤테로원자, 가장 바람직하게는 1개의 N 원자를 함유하고 5 내지 약 10개의 고리 원자, 가장 바람직하게는 5, 6 또는 7개의 고리 원자를 갖는 헤테로지환족 기이다. 피롤리딘 기가 가장 바람직하다.

[0128] 화학식 I, II 및 III의 화합물에서, 특히 바람직한 R_2는 수소, 치환 또는 비치환된 C_1-C_6 알킬, 및 COR_a로부터 선택되고, 여기서 R_a는 치환 또는 비치환된 C_1-C_6 알킬이고, 더욱 바람직한 R_a는 메틸, 에틸, n-프로필, 이소프로필 및 부틸 (n-부틸, tert-부틸, sec-부틸 및 이소부틸 포함)이다. 보다 바람직하게는 R_2는 수소이다.

[0129] 화학식 I, II 및 III의 화합물에서, 특히 바람직한 R_{17}은 수소, COR_a, $COOR_a$, $CONHR_b$, $(C=S)NHR_b$, 및 SO_2R_c로부터 선택되고, 여기서 각 R_a, R_b, 및 R_c는 바람직하고, 독립적으로 치환 또는 비치환된 C_1-C_6 알킬, 치환 또는 비치환된 C_2-C_6 알케닐, 치환 또는 비치환된 C_2-C_6 알키닐, 치환 또는 비치환된 아릴, 및 치환 또는 비치환된 헤테로사이클릭 기로부터 선택된다. 상기 기의 바람직한 치환기는 OR', =O, SR', SOR', SO_2R', NO_2, NHR', NR'R', =N-R', NHCOR', $N(COR')_2$, $NHSO_2R'$, NR'C(=NR')NR'R', CN, 할로겐, COR', COOR', OCOR', OCONHR', OCONR'R', CONHR', CONR'R', 치환 또는 비치환된 C_1-C_{12} 알킬, 치환 또는 비치환된 C_2-C_{12} 알케닐, 치환 또는 비치환된 C_2-C_{12} 알키닐, 치환 또는 비치환된 아릴, 및 치환 또는 비치환된 헤테로사이클릭 기이고, 여기서, 각 R' 기는 독립적으로 수소, OH, NO_2, NH_2, SH, CN, 할로겐, COH, CO알킬, CO_2H, 치환 또는 비치환된 C_1-C_{12} 알킬, 치환 또는 비치환된 C_2-C_{12} 알케닐, 치환 또는 비치환된 C_2-C_{12} 알키닐, 치환 또는 비치환된 아릴, 및 치환 또는 비치환된 헤테로사이클릭 기로 구성된 그룹으로부터 선택된다. 이러한 기가 그 자체로 치환되는 경우, 치환기는 상기 목록으로부터 선택될 수 있다. 수소, COR_a, $COOR_a$, 및 SO_2R_c가 가장 바람직한 R_{17} 기이고, 수소, COO벤질, CO벤조[b]티오펜-2-일, SO_2(p-메틸페닐), $COCOCH_3$ 및 $COOC(CH_3)_3$이 가장 바람직하다.

[0130] 화학식 I, II 및 III의 화합물의 다른 구체예에서, Y가 CO인 것이 특히 바람직하다. 다른 구체예에서, Y가

-COCH(CH_3)CO-인 것이 특히 바람직하다.

[0131] 화학식 I, II 및 III의 화합물의 다른 구체예에서, X가 O인 것이 특히 바람직하다. 다른 구체예에서, X가 NH인 것이 특히 바람직하다.

[0132] 화학식 I 및 II의 화합물의 다른 구체예에서, n, p 및 q가 0인 것이 특히 바람직하다. 다른 구체예에서, n이 1이고, p 및 q가 0인 것이 특히 바람직하다. 다른 구체예에서, n 및 p가 1이고, q가 0인 것이 특히 바람직하다. 다른 구체예에서, n, p 및 q가 1인 것이 특히 바람직하다. 다른 구체예에서, n 및 p가 1이고, q가 2인 것이 특히 바람직하다.

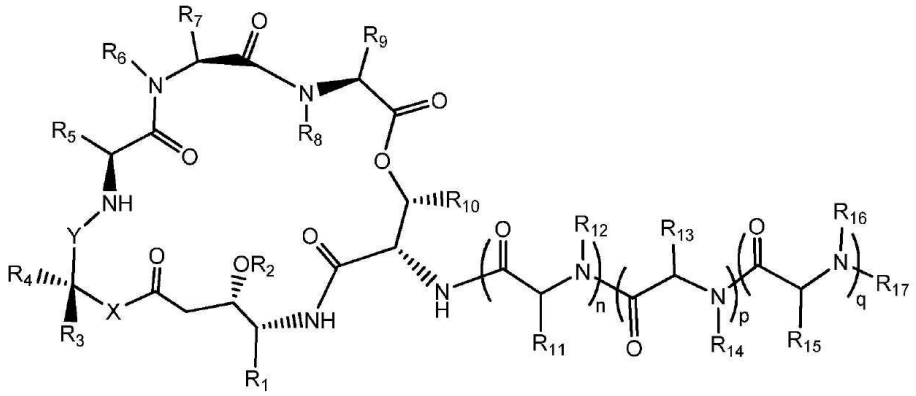
[0133] 화학식 III의 화합물의 다른 구체예에서, p 및 q가 0인 것이 특히 바람직하다. 다른 구체예에서, p가 1이고, q가 0인 것이 특히 바람직하다. 다른 구체예에서, p 및 q가 1인 것이 특히 바람직하다. 다른 구체예에서, p가 1이고, q가 2인 것이 특히 바람직하다.

[0134] 추가의 바람직한 구체예에서, 상이한 치환기에 대해 상기 기재된 선호도가 조합된다. 본 발명은 또한 상기 화학식 I, II 및 III의 바람직한 치환들의 이러한 조합에 관한 것이다.

[0135] 본 설명 및 정의에서, 본 발명의 화합물에 존재하는 여러 개의 R_a, R_b, 및 R_c 기가 존재하는 경우, 그렇게 명시적으로 언급하지 않는 한, 이들은 주어진 정의 내에서 각각 독립적으로 상이할 수 있음을 이해해야 하며, 즉, R_a는 본 발명의 주어진 화합물에서 동시에 반드시 동일한 기를 나타내는 것은 아니다.

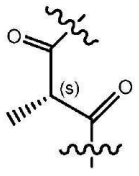
[0136] 화학식 I, II 및 III의 화합물에서, q가 2의 값을 채택하는 경우, 화합물에는 2개의 R_{15} 기 및 2개의 R_{16} 기가 존재한다. 이에 의해 주어진 화합물에서 각 R_{15} 및 각 R_{16} 기는 독립적으로 이러한 기에 대해 상기 기재된 상이한 가능성 중에서 선택될 수 있음이 명백하다.

[0137] 화학식 I의 화합물에 대한 특히 바람직한 입체화학은 하기이고:



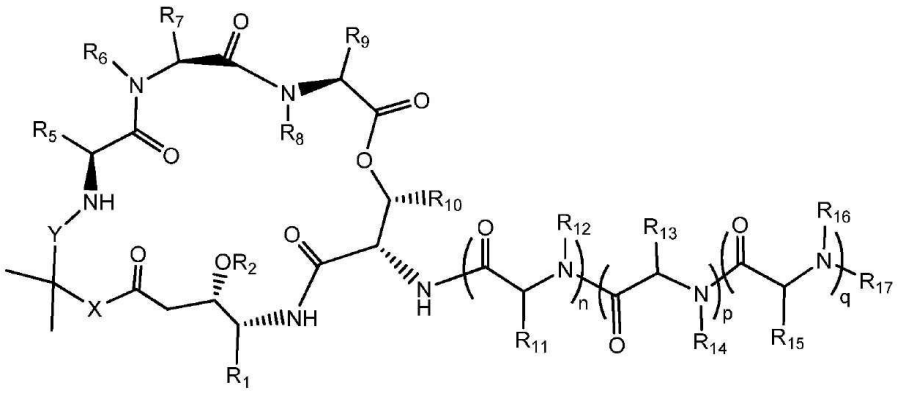
[0138]

[0139] 상기에서 X, Y, n, p, q, 및 R_1-R_{17}은 상기 정의된 바와 같고, Y가 -COCH(CH_3)CO-인 경우, 이는 하기 입체화학을 갖는다:



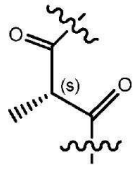
[0140] .

[0141] 화학식 II의 화합물에 대한 특히 바람직한 입체화학은 하기이며:



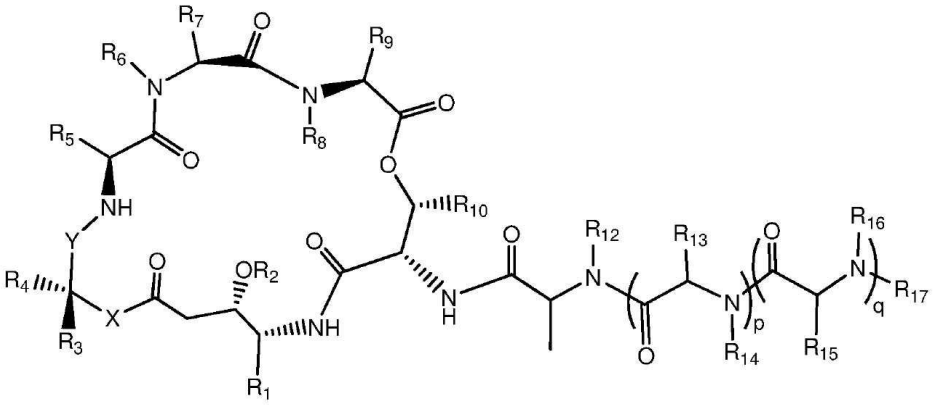
[0142]

[0143] 상기에서 X, Y, n, p, q, R_1, R_2, 및 R_5-R_{17}은 상기 정의된 바와 같고, Y가 -COCH(CH_3)CO-인 경우, 이는 하기 입체화학을 갖는다:



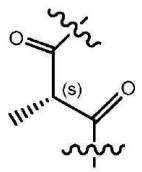
[0144] .

[0145] 화학식 III의 화합물에 대한 특히 바람직한 입체화학은 하기이며:



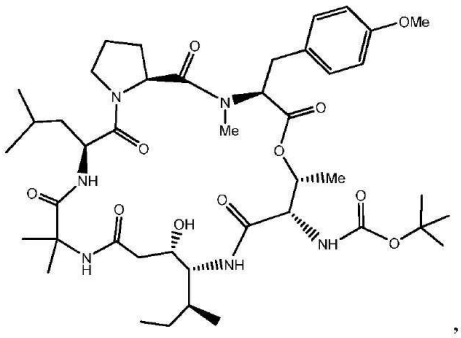
[0146]

[0147] 상기에서 X, Y, p, q, R_1-R_{10}, 및 R_{12}-R_{17}은 상기 정의된 바와 같고, Y가 -COCH(CH_3)CO-인 경우, 이는 하기 입체화학을 갖는다:

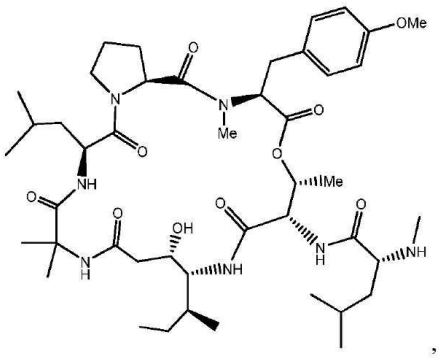


[0148] .

[0149] 본 발명의 특히 바람직한 화합물들은 하기이다:

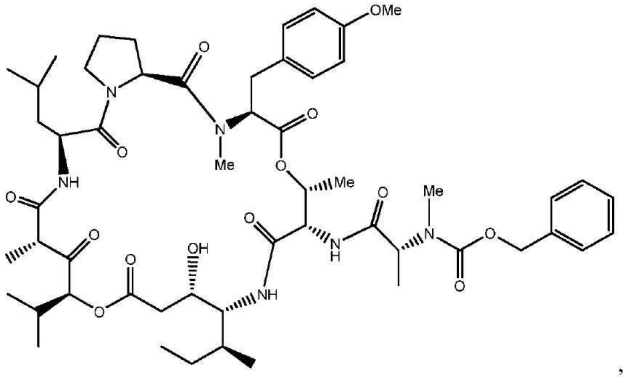


,

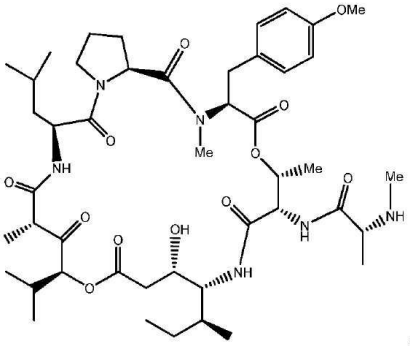


,

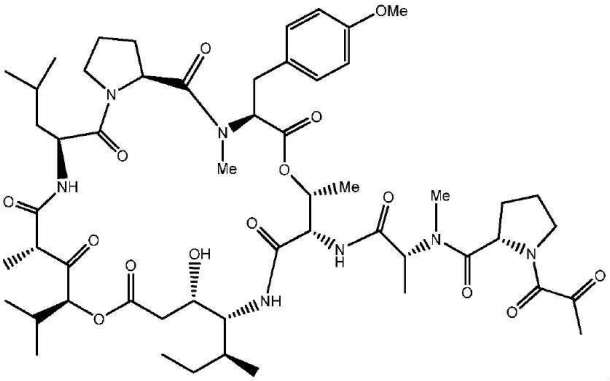
[0150]



,

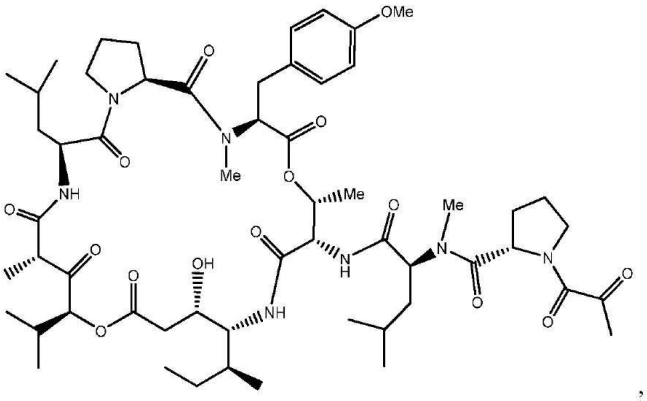


,

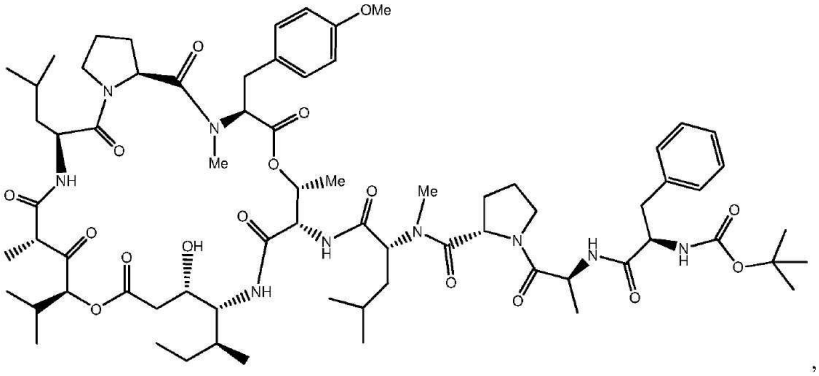


,

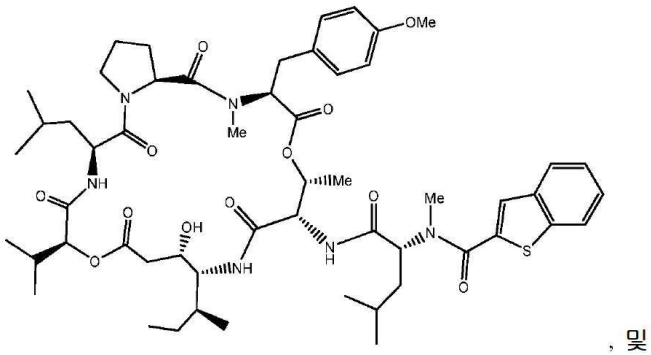
[0151]



,

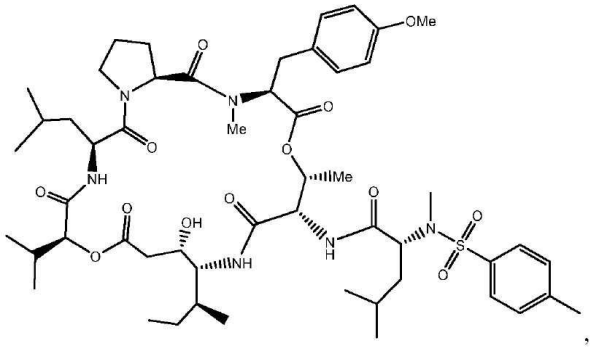


,



, 및

[0152]



,

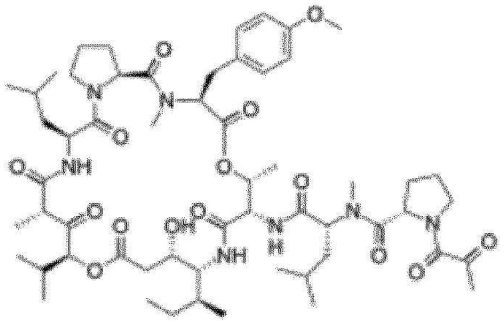
[0153]

[0154] 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 입체이성질체.

[0155] 화학식 I, II 및 III의 화합물은 Vera et al. Med. Res. Rev. 2002, 22(2), 102-145, WO 2011/020913 (구체적으로 실시예 1-5 참조), WO 02/02596, WO 01/76616, 및 WO 2004/084812에 개시된 합성 방법에 따라 제조될 수 있으며, 이들은 본원에 참조로 통합된다.

[0156] 바람직한 화합물은 PLD 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 입체이성질체이다. 가장 바람직한 것은 PLD이다.

[0157] 플리티뎁신의 화학명은 (-)-(3S,6R,7S,10R,11S,15S,17S,20S,25aS)-11-하이드록시-3-(4-메톡시벤질)-2,6,17-트리메틸-15-(1-메틸에틸)-7-[[(2R)-4-메틸-2-[메틸[[(2S)-1-(2-옥소프로파노일)피롤리딘-2-일]카보닐]아미노]펜타노일]아미노]-10-[(1S)-1-메틸프로필]-20-(2-메틸프로필)테트라데카하이드로-15H-피롤로[2,1-f]-[1,15,4,7,10,20]디옥사테트라아자사이클로트리코신-1,4,8,13,16,18,21(17H)-헵톤이고, 분자식은 $C_{57}H_{87}N_7O_{15}$에 해당한다. 이는 1110.34 g/mol의 상대 분자량을 가지며, 하기 구조를 갖는다:

[0158] 
.

[0159] 플리티뎁신은 원래 지중해 해양 멍게 (*아플리디움 알비칸스*)로부터 단리된 사이클릭 뎁시펩티드이며, 현재 전체 화학 합성에 의해 제조된다. 이는 다발성 골수종 치료를 위해 브랜드명 플리티뎁신 (plitidepsin)으로 호주에서 허가 및 판매되고 있다.

[0160] 본 발명은 바이러스 감염의 치료에 있어서 본 발명의 화합물의 용도를 제공하며, 상기 바이러스는 오르토믹소비리데과로부터 선택되거나, 또는 상기 바이러스는 웨스트 나일 바이러스이다.

[0161] 본 발명의 일 양상에서, 바이러스 감염의 치료에 사용하기 위한 본 발명의 화합물이 제공되며, 상기 바이러스는 오르토믹소비리데과로부터 선택되거나, 또는 상기 바이러스는 웨스트 나일 바이러스이다.

[0162] 본 발명의 다른 양상에서, 바이러스 감염의 치료를 위한 의약의 제조에 있어서, 본 발명의 화합물의 용도가 제공되며, 상기 바이러스는 오르토믹소비리데과로부터 선택되거나, 또는 상기 바이러스는 웨스트 나일 바이러스이다.

[0163] 본 발명의 다른 양상에서, 바이러스 감염을 치료하는 방법이 제공되며, 상기 바이러스는 오르토믹소비리데과로부터 선택되거나, 또는 상기 바이러스는 웨스트 나일 바이러스이고, 상기 방법은 치료를 필요로 하는 개체에게 치료적으로 유효한 양의 본 발명의 화합물을 투여하는 단계를 포함한다.

[0164] 상기 감염은 염증유발 사이토카인, 바람직하게는 IL-12, IL-10, IL-1, IL-6, IL-8, CCL-2 및 TNF-α 중 적어도 하나, 더 바람직하게는 IL-1, IL-6, IL-8 및 TNF-α 중 적어도 하나의 생성 또는 분비가 과도하거나 또는 증가한 것을 특징으로 한다.

[0165] 추가 일 구체예에서, 본 발명의 화합물은 (상이한) 항바이러스제와 조합하여 추가로 투여될 수 있다. 상기 항바이러스제는 본 발명의 화합물의 투여와 동시에, 순차적으로 또는 개별적으로 투여될 수 있다. 본 예에서, 본 발명의 화합물은 바이러스 감염과 관련되거나 또는 그 결과로서의 염증 또는 과잉염증을 치료하기 위한 항염증제로서 사용될 수 있다.

[0166] 본 발명의 다른 양상에서, 오르토믹소비리데과로부터 선택된 바이러스 또는 웨스트 나일 바이러스인 바이러스로 인한 장애의 치료에 사용하기 위한, 본원에 정의된 화합물이 제공되며, 상기 장애는 신경염증, 폐렴 및 면역병증, 구체적으로 고사이토카인혈증 (사이토카인 폭풍 증후군) 및 패혈증으로부터 선택된다. 본 발명의 다른 양상에서, 오르토믹소비리데과로부터 선택된 바이러스 또는 웨스트 나일 바이러스인 바이러스로 인한 장애의 치료를 위한 의약의 제조에 있어서 본원에 정의된 화합물의 용도가 제공되며, 상기 장애는 신경염증, 폐렴 및 면역병증, 구체적으로 고사이토카인혈증 (사이토카인 폭풍 증후군) 및 패혈증으로부터 선택된다. 본 발명의 다른 양상에서, 오르토믹소비리데과로부터 선택된 바이러스 또는 웨스트 나일 바이러스인 바이러스로 인한 장애를 치료하는 방법이 제공되며, 상기 장애는 신경염증, 폐렴 및 면역병증, 구체적으로 고사이토카인혈증 (사이토카인 폭풍 증후군) 및 패혈증으로부터 선택되고, 상기 방법은 치료를 필요로 하는 개체에게 치료적으로 유효한 양의 본원에 정의된 화합물을 투여하는 단계를 포함한다. 특히 바람직한 일 구체예에서, 상기 장애는 면역병증,

구체적으로 고사이토카인혈증이다.

[0167] 본 발명의 다른 양상에서, 인플루엔자로 인한 폐렴 및 면역병증, 구체적으로 고사이토카인혈증 (사이토카인 폭풍 증후군) 및 패혈증의 치료에 사용하기 위한, 본원에 정의된 화합물이 제공된다. 본 발명의 다른 양상에서, 인플루엔자로 인한 폐렴 및 면역병증, 구체적으로 고사이토카인혈증 (사이토카인 폭풍 증후군) 및 패혈증의 치료를 위한 의약의 제조에 있어서 본원에 정의된 화합물의 용도가 제공된다. 본 발명의 다른 양상에서, 인플루엔자로 인한 폐렴 및 면역병증, 구체적으로 고사이토카인혈증 (사이토카인 폭풍 증후군) 및 패혈증을 치료하는 방법이 제공되며, 상기 방법은 치료를 필요로 하는 개체에게 치료적으로 유효한 양의 본원에 정의된 화합물을 투여하는 단계를 포함한다. 특히 바람직한 일 구체예에서, 상기 장애는 면역병증, 구체적으로 고사이토카인혈증이다.

[0168] 본 발명의 다른 양상에서, 웨스트 나일 바이러스로 인한 신경염증 및 면역병증, 구체적으로 고사이토카인혈증 (사이토카인 폭풍 증후군) 및 패혈증의 치료에 사용하기 위한, 본원에 정의된 화합물이 제공된다. 본 발명의 다른 양상에서, 웨스트 나일 바이러스로 인한 신경염증 및 면역병증, 구체적으로 고사이토카인혈증 (사이토카인 폭풍 증후군) 및 패혈증의 치료를 위한 의약의 제조에 있어서 본원에 정의된 화합물의 용도가 제공된다. 본 발명의 다른 양상에서, 웨스트 나일 바이러스로 인한 신경염증 및 면역병증, 구체적으로 고사이토카인혈증 (사이토카인 폭풍 증후군) 및 패혈증을 치료하는 방법이 제공되며, 상기 방법은 치료를 필요로 하는 개체에게 치료적으로 유효한 양의 본원에 정의된 화합물을 투여하는 단계를 포함한다. 특히 바람직한 일 구체예에서, 상기 장애는 면역병증, 구체적으로 고사이토카인혈증이다.

[0169] 일 구체예에서, 상기 오르토믹소비리데 바이러스는 인플루엔자바이러스 A, 인플루엔자바이러스 B, 인플루엔자바이러스 C, 토고토바이러스, 콰란자바이러스 및 이사바이러스로부터 선택된다. 다른 구체예에서, 상기 오르토믹소비리데 바이러스는 인플루엔자 A이고, 바람직하게는 H1N1, H1N2 및 H3N2 서브타입으로부터 선택된다. 다른 구체예에서, 상기 오르토믹소비리데 바이러스는 인플루엔자 B이고, 바람직하게는 야마가타 또는 빅토리아 계통으로부터 선택된다.

[0170] 일 구체예에서, 상기 웨스트 나일 바이러스는 계통 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8로부터 선택된다. 바람직하게는 상기 바이러스는 계통 1 또는 2 (WNV-1 또는 WNV-2)이다.

[0171] 본 발명의 화합물은 상기 언급된 병태의 치료를 위한 생물학적/약리학적 활성을 갖는 약학적 조성물에 사용될 수 있다. 이들 약학적 조성물은 약학적으로 허용 가능한 담체와 함께 본 발명의 화합물을 포함한다. 용어 "담체"는 활성 성분과 함께 투여되는 희석제, 아쥬반트, 부형제 또는 비히클을 의미한다. 적합한 약학적 담체는 "Remington's Pharmaceutical Sciences" by E. W. Martin, 1995에 기재되어 있다. 약학적 조성물의 예는 경구, 국소 또는 비경구 투여를 위한 임의의 고체 (정제, 환제, 캡슐, 과립 등) 또는 액체 (용액, 현탁액, 에멀젼 등) 조성물을 포함한다. 본 발명의 화합물을 함유하는 약학적 조성물은 리포솜 또는 나노스피어 캡슐화에 의해, 지속 방출 제제로 또는 다른 표준 전달 수단에 의해 전달될 수 있다.

[0172] 예시되는 조성물은 주입을 위한 용액용 분말의 형태이다. 예를 들어, WO9942125에 기재된 바와 같은 조성물. 예를 들어, 수-용해성 물질을 포함하는 본 발명의 화합물의 동결건조된 제제 및 두 번째로 혼합 용매들의 재구성 용액. 특정 예는 PLD 및 만니톨의 동결건조 제제 및 혼합 용매들의 재구성 용액, 예를 들어 PEG-35 캐스터 오일, 에탄올 및 주사용수이다. 예를 들어 각 바이알에는 2 mg의 PLD를 함유할 수 있다. 재구성 후에, 재구성된 용액의 각 mL에는 하기를 함유할 수 있다: 0.5 mg의 PLD, 158 mg의 PEG-35 캐스터 오일, 및 에탄올 0.15 mL/mL.

[0173] 특정 환자에 대한 특정 투여량 및 치료 용법은 다양할 수 있으며, 사용된 특정 화합물의 활성, 사용되는 특정 제제, 적용 방식, 연령, 체중, 일반적인 건강, 성별, 식이, 투여 시간, 배출 속도, 약물 조합, 반응 감수성 및 치료되는 특정 질병 또는 병태의 중증도를 포함한 다양한 요인에 의존할 것이다.

[0174] 본 발명의 구체예에서, 본 발명의 화합물은 1일 용량의 투여 용법에 따라 투여될 수 있다.

[0175] 본 발명의 구체예에서, 본 발명의 화합물은 1일 1회 용량의 투여 용법에 따라 투여될 수 있다.

[0176] 추가의 구체예에서, 본 발명의 화합물은 10일, 9일, 8일, 7일, 6일, 5일, 4일, 3일, 2일 또는 1일 동안 1일 용량의 투여 용법에 따라 투여될 수 있다. 바람직한 용법은 2-5일, 또는 3-5일, 또는 3, 4 또는 5일, 가장 바람직하게는 3일 또는 5일이다.

[0177] 상기 용량은 1일 5 mg 이하, 1일 4.5 mg 이하, 1일 4 mg 이하, 1일 3.5 mg 이하, 1일 3 mg 이하, 1일 2.5 mg

이하, 또는 1일 2 mg 이하의 용량일 수 있다.

[0178] 특정 용량에는 0.5 mg/day, 1 mg/day, 1.5 mg/day, 2 mg/day, 2.5 mg/day, 3 mg/day, 3.5 mg/day, 4 mg/day, 4.5 mg/day, 또는 5mg/day를 포함한다. 바람직한 용량은 1 mg/day, 1.5 mg/day, 2 mg/day 및 2.5 mg/day이다.

[0179] 추가의 구체예에서, 본 발명의 화합물은 1-50 mg, 1-40 mg, 1-30 mg, 1-20 mg, 1-15 mg, 3-15 mg, 3-12 mg, 4-12 mg, 4-10 mg, 또는 4.5-10 mg의 총 용량에 따라 투여될 수 있다. 총 용량은 4mg, 4.5mg, 5mg, 5.5mg, 6mg, 6.5mg, 7mg, 7.5mg, 8mg, 8.5mg, 9mg, 9.5mg 또는 10mg일 수 있다. 바람직한 총 용량은 4.5mg, 5mg, 6mg, 7.5mg, 8mg, 9mg 또는 10mg이다. 상기 총 용량은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10일, 바람직하게는 3일 또는 5일에 걸쳐 분할될 수 있다.

[0180] 특정 일 구체예에서, 본 발명의 화합물은 5일 동안 1일 1회 용량의 투여 용법에 따라 1일 2.5 mg 이하의 용량으로 투여될 수 있다.

[0181] 추가의 일 구체예에서, 본 발명의 화합물은 5일 동안 1일 1회 용량의 투여 용법에 따라 1일 2 mg 이하의 용량으로 투여될 수 있다.

[0182] 추가의 일 구체예에서, 본 발명의 화합물은 3일 동안 1일 1회 용량의 투여 용법에 따라 1일 1.5 mg 이하의 용량으로 투여될 수 있다.

[0183] 추가의 일 구체예에서, 본 발명의 화합물은 3일 동안 1일 1회 용량의 투여 용법에 따라 1일 2 mg 이하의 용량으로 투여될 수 있다.

[0184] 추가의 일 구체예에서, 본 발명의 화합물은 3일 동안 1일 1회 용량의 투여 용법에 따라 1일 2.5 mg 이하의 용량으로 투여될 수 있다.

[0185] 추가의 일 구체예에서, 본 발명의 화합물은 3일 동안 1일 1회 용량의 투여 용법에 따라 1일 1.5 mg의 용량으로 투여될 수 있다.

[0186] 추가의 일 구체예에서, 본 발명의 화합물은 3일 동안 1일 1회 용량의 투여 용법에 따라 1일 2.0 mg의 용량으로 투여될 수 있다.

[0187] 추가의 일 구체예에서, 본 발명의 화합물은 3일 동안 1일 1회 용량의 투여 용법에 따라 1일 2.5 mg의 용량으로 투여될 수 있다.

[0188] 추가의 일 구체예에서, 본 발명의 화합물은 3일 동안 1일 1회 용량의 투여 용법에 따라 1일 1.5 내지 2.5 mg의 용량으로 투여될 수 있다.

[0189] 대체 용법은 1일차에 단일 투여하는 것이다. 단일 용량은 1-10 mg, 4-10 mg, 4.5-10 mg; 4mg, 4.5mg, 5mg, 5.5mg, 6mg, 6.5mg, 7mg, 7.5mg, 8mg, 8.5mg, 9mg, 9.5mg 또는 10mg; 바람직하게는 4.5mg, 5mg, 6mg, 7.5mg, 8mg, 9mg 또는 10mg; 더 바람직하게는 5-9 mg, 6.5-8.5 mg, 7-8 mg 또는 7.5 mg일 수 있다.

[0190] 추가의 일 구체예에서, 본 발명의 화합물은 본 발명에 따라 투여될 수 있으며, 여기서 본 발명의 화합물은 코르티코스테로이드와 투여된다. 바람직하게는 코르티코스테로이드는 덱사메타손이다.

[0191] 상기 코르티코스테로이드는 본 발명의 화합물과 매일 투여될 수 있다. 투여는 순차적, 동시적 또는 연속적일 수 있다. 코르티코스테로이드는 본 발명에 따른 화합물의 투여 후의 일자에 추가로 투여될 수 있다. 예를 들어, 3일 투여 용법의 경우, 코르티코스테로이드는 1-3일차에 투여될 수 있고, 그 다음에 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10일 또는 초과의 추가 일수 동안 매일 추가로 투여될 수 있다.

[0192] 특정 일 구체예에서, 코르티코스테로이드는 1-3일차에 정맥내 투여로 투여된 다음에 6-10일차에 경구 투여로 투여될 수 있다. 추가의 일 구체예에서, 코르티코스테로이드의 투여량은 본 발명의 화합물과의 공동-투여 단계 중에 더 높을 수 있고, 이후 일수 동안 적어질 수 있다.

[0193] 특정 투여 일정에는 하기를 포함한다:

[0194] • 플리티덴신은 1.5 mg/day 정맥내 (IV)로 1 내지 3일차에 덱사메타손 6.6 mg/day IV와 투여한 후에, 4일차부터 최대 10일차까지 (환자의 임상 병태 및 전개에 따른 의사의 판단에 따라) 덱사메타손 6 mg/day 경구 투여 (PO)/IV 투여.

[0195] • 플리티덴신은 2.0 mg/day 정맥내 (IV)로 1 내지 3일차에 덱사메타손 6.6 mg/day IV와 투여한 후에, 4일차부

터 최대 10일차까지 (환자의 임상 병태 및 전개에 따른 의사의 판단에 따라) 덱사메타손 6 mg/day 경구 투여 (PO)/IV 투여.

[0196] • 플리티덴신은 2.5 mg/day 정맥내 (IV)로 1 내지 3일차에 덱사메타손 6.6 mg/day IV와 투여한 후에, 4일차부터 최대 10일차까지 (환자의 임상 병태 및 전개에 따른 의사의 판단에 따라) 덱사메타손 6 mg/day 경구 투여 (PO)/IV 투여.

[0197] 일 구체예에서, 투여-관련 주입 반응을 피하기 위해, 환자는 본 발명에 따른 화합물로 주입을 시작하기 20 내지 30분 전에 하기 약물을 투여받을 수 있다:

[0198] • 온단세트론 8 mg IV (또는 등가물)

[0199] • 디펜하이드라민 염산염 25 mg IV (또는 등가물)

[0200] • 라니티딘 50 mg IV (또는 등가물)

[0201] • 덱사메타손 6.6 mg IV (상기 일정에 포함됨)

[0202] 추가로, 4일 및 5일차에 본 발명에 따른 화합물로 치료한 환자는 온단세트론 4 mg을 1일 2회 PO로 투여받을 수 있다.

[0203] 덱사메타손, 온단세트론 및 라니티딘의 용량은 염기 형태를 기준으로 본원에서 정의된다. 디펜하이드라민 염산염의 용량은 염산염을 기준으로 제공된다. 본 발명의 화합물의 용량은 염기 형태를 기준으로 제공된다.

[0204] 1일 용량은 주입으로 투여될 수 있다. 상기 주입은 1시간 주입, 1.5시간 주입, 2시간 주입, 3시간 주입 또는 그 이상일 수 있다. 바람직하게는, 상기 주입은 1.5시간이다.

[0205] 특정 구체예에서, 상기 용량은 로딩 용량 및 유지 용량을 사용하는 용법에 따라 투여될 수 있다. 본 발명에 따른 로딩/유지 용량은 하기를 포함한다:

[0206] 로딩 용량 1일차에 2.5 mg, 그 다음에 유지 용량 후속 일수 동안 2 mg/day;

[0207] 로딩 용량 1일차에 2.5 mg, 그 다음에 유지 용량 후속 일수 동안 1.5 mg/day;

[0208] 로딩 용량 1일차에 2.5 mg, 그 다음에 유지 용량 후속 일수 동안 1 mg/day;

[0209] 로딩 용량 1일차에 2.5 mg, 그 다음에 유지 용량 후속 일수 동안 0.5 mg/day;

[0210] 로딩 용량 1일차에 2 mg, 그 다음에 유지 용량 후속 일수 동안 1.5 mg/day;

[0211] 로딩 용량 1일차에 2 mg, 그 다음에 유지 용량 후속 일수 동안 1 mg/day;

[0212] 로딩 용량 1일차에 2 mg, 그 다음에 유지 용량 후속 일수 동안 0.5 mg/day;

[0213] 로딩 용량 1일차에 1.5 mg, 그 다음에 유지 용량 후속 일수 동안 1 mg/day;

[0214] 로딩 용량 1일차에 1.5 mg, 그 다음에 유지 용량 후속 일수 동안 0.5 mg/day; 및

[0215] 로딩 용량 1일차에 1 mg, 그 다음에 유지 용량 후속 일수 동안 0.5 mg/day.

[0216] 추가의 일 구체예에 따르면, 1일 용량은 용법의 마지막 날 또는 몇일 동안 감소될 수 있다.

[0217] 추가의 일 구체예에 따르면, 1일 용량이 2 mg인 경우, 용량은 4일 및 5일차에 1 mg으로 감소될 수 있다.

[0218] 특정 용법에는 하기를 포함한다:

[0219] - 연속 5일 동안 1일 1회, 1.5-시간 주입으로, 1 mg의 플리티덴신 투여 (총 용량 5 mg);

[0220] - 연속 5일 동안 1일 1회, 1.5-시간 주입으로, 2 mg의 플리티덴신 투여. 연구자의 판단에 따라, 4일 및 5일차에 용량을 1 mg/day로 감소시킬 수 있다 (총 용량 8-10 mg).

[0221] - 연속 3일 동안 1일 1회, 1.5-시간 주입으로, 1.5 mg의 플리티덴신 투여 (총 용량 4.5 mg);

[0222] - 연속 3일 동안 1일 1회, 1.5-시간 주입으로, 2 mg의 플리티덴신 투여 (총 용량 6 mg); 및

[0223] - 연속 3일 동안 1일 1회, 1.5-시간 주입으로, 2.5 mg의 플리티뎁신 투여 (총 용량 7.5 mg).

[0224] 단일 용량 용법에는 하기를 포함한다:

[0225] • 1-10 mg, 4-10 mg, 4.5-10 mg, 4mg, 4.5mg, 5mg, 5.5mg, 6mg, 6.5mg, 7mg, 7.5mg, 8mg, 8.5mg, 9mg, 9.5mg 또는 10mg, 바람직하게는 4.5mg, 5mg, 6mg, 7.5mg, 8mg, 9mg 또는 10mg, 더 바람직하게는 5-9 mg, 6.5-8.5 mg, 7-8 mg, 또는 가장 바람직하게는 7.5 mg의 용량으로 1일 1회, 1.5-시간 주입으로, 플리티뎁신 투여.

[0226] • 단일 용량 용법은 플리티뎁신 주입 20-30분 전에 하기 예방 약물을 추가로 포함할 수 있다:

[0227] - 디펜하이드라민 염산염 25 mg i.v.,

[0228] - 라니티딘 50 mg i.v.

[0229] - 덱사메타손 6.6 mg 정맥내.

[0230] - 온단세트론 8 mg i.v. 15분의 저속 주입

[0231] • 온단세트론 4 mg을 플리티뎁신 투여 후 3일 동안 12시간마다 경구로 제공하여 약물-유발 오심 및 구토를 완화시킬 수 있다. 플리티뎁신을 아침에 투여하는 경우, 환자는 오후에 온단세트론의 제1 용량을 투여받을 수 있다.

[0232] 추가의 구체예에 따르면, 임상 파라미터 및/또는 환자 특성에 기반하여 본 발명의 화합물을 사용한 치료를 위해 환자가 선택될 수 있다. 적합한 파라미터는 본 출원에 개시된 측정일 수 있다.

[0233] 상기 약술된 용법 및 용량은 본 발명에 따른 치료 방법, 용도, 및 본원에 정의된 의약의 제조에서 본원에 정의된 화합물의 용도 모두에 적용된다.

[0234] 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따라 사용하기 위한 화합물에 관한 것으로서, 상기 화합물은 하기 예방 약물들 중 하나 이상과 조합하여 투여된다: 디펜하이드라민 염산염, 라니티딘, 덱사메타손, 온단세트론. 구체적으로, 디펜하이드라민 염산염 25 mg iv 또는 등가물; 라니티딘 50 mg iv 또는 등가물; 덱사메타손 8 mg 정맥내; 온단세트론 8 mg i.v. 15분의 저속 주입 또는 등가물 중 하나 이상. 환자는 플리티뎁신 주입 20-30분 전에 상기 예방 약물들을 투여받을 수 있다. 덱사메타손 8 mg 정맥 주사는 덱사메타손 포스페이트일 수 있고, 6.6 mg의 덱사메타손 염기일 수 있다.

[0235] 보다 간결한 설명을 제공하기 위해, 본원에 제공된 일부 정량적 표현은 용어 "약"으로 한정되지 않는다. 용어 "약"은 명시적으로 사용되는지와 무관하게, 본원에 주어진 모든 양은 실제 주어진 값을 지칭하는 것을 의미하고, 또한 이러한 주어진 값에 대한 실험 및/또는 측정 조건으로 인한 등가 및 근사치를 포함하는, 당업자에 기반하여 합리적으로 추론될 수 있는 주어진 값에 대한 근사값을 지칭하는 것을 의미하는 것으로 이해된다.

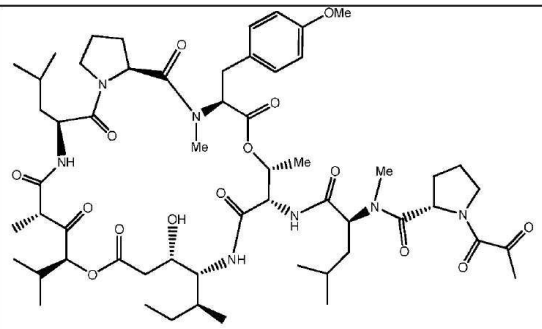
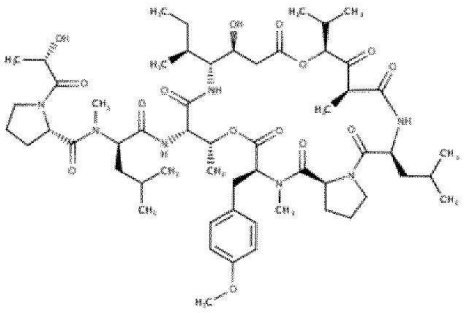
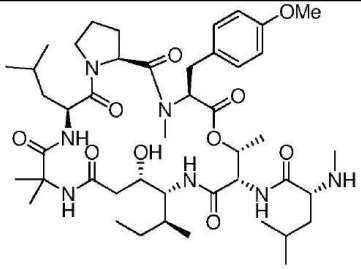
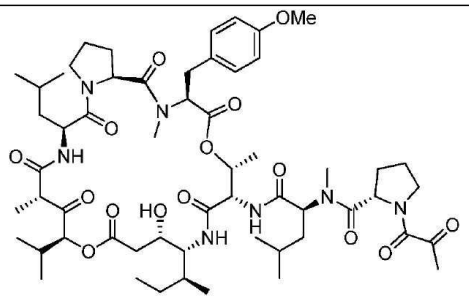
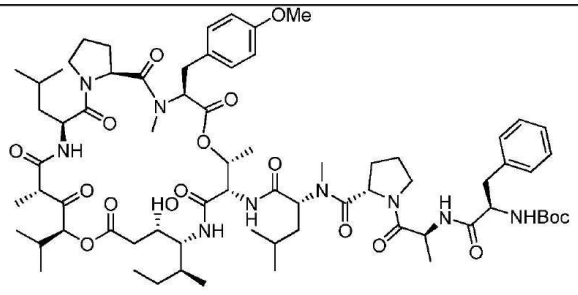
[0236] 전술한 개시내용은 본 발명을 제조하고 사용하는 방법뿐만 아니라 이의 최선의 방식을 포함하여, 본 발명의 범위내에 포함된 주제의 일반적 설명을 제공하고, 당업자가 본 발명을 실시하고 이에 대한 완전한 서면 설명을 제공하기 위해 하기 실시예가 추가로 제공된다. 그러나, 당업자는 이들 실시예의 세부사항이 본 발명을 제한하는 것으로 해석되어서는 안되며, 이의 범위는 본 개시내용에 첨부된 청구범위 및 이의 등가물로부터 해석되어야 함을 이해할 것이다. 본 발명의 다양한 추가 양상 및 구체예는 본 개시내용을 고려하여 당업자에게 명백할 것이다.

[0237] **실시예**

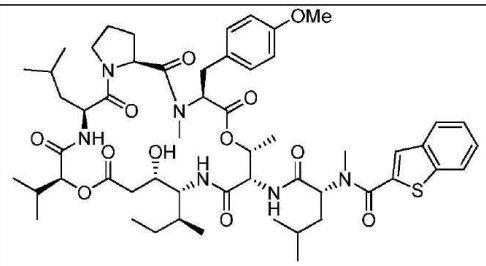
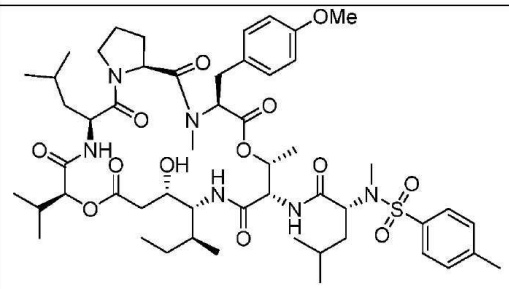
[0238] 본 발명의 화합물은 문헌, 예를 들어 Vera et al. Med. Res. Rev. 2002, 22(2), 102-145, WO 2011/020913 (구체적으로 실시예 1-5 참조), WO 02/02596, WO 01/76616, 및 WO 2004/084812에 제시된 방법에 따라 수득될 수 있으며, 이들의 내용은 본원에 참조로 통합된다.

[0239] 본 발명의 실험에 사용된 특정 화합물은 하기와 같다:

[0240]

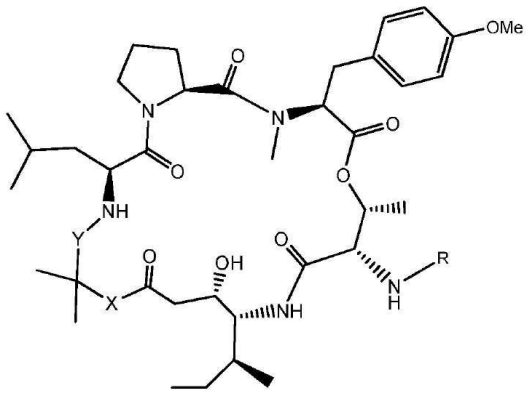
화합물	구조
PLD	
디뎀닌 B (화합물 240)	
화합물 3	
화합물 8	
화합물 9	

[0241]

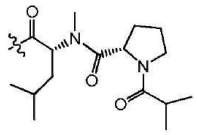
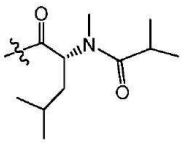
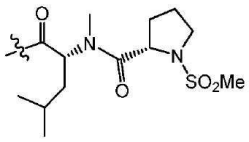
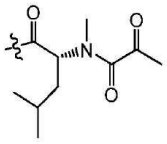
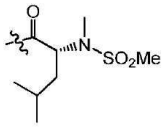
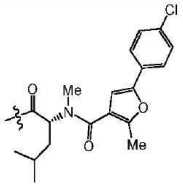
화합물 10	
화합물 11	

[0242]

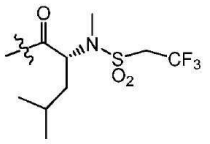
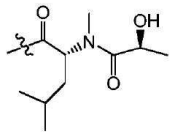
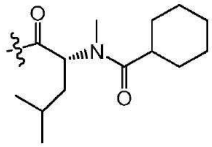
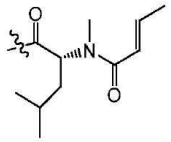
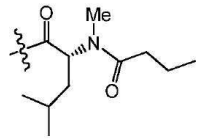
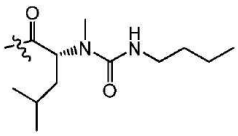
[0243] WO 02/02596 및 명세서에 기재되고, 이전 실시예에 추가로 개시된 절차에 따라, 하기 화합물을 수득할 수 있다:



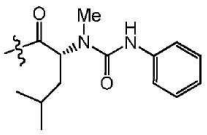
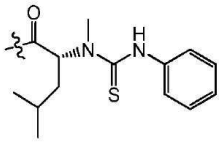
[0244]

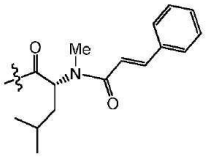
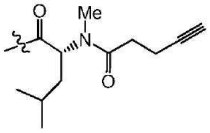
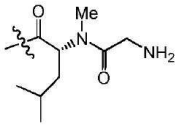
화합물	X	Y	R
12	O	CO	
13	NH	CO	
14	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
15	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
16	O	CO	
17	NH	CO	
18	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
19	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
20	O	CO	
21	NH	CO	
22	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
23	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
24	O	CO	
25	NH	CO	
26	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
27	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
28	O	CO	
29	NH	CO	
30	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
31	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
32	O	CO	
33	NH	CO	
34	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
35	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	

[0245]

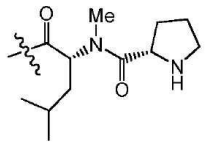
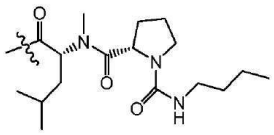
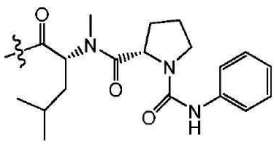
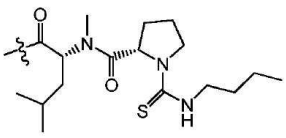
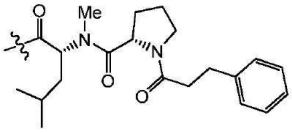
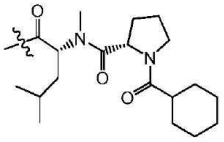
화합물	X	Y	R
36	O	CO	
37	NH	CO	
38	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
39	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
40	O	CO	
41	NH	CO	
42	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
43	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
44	O	CO	
45	NH	CO	
46	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
47	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
48	O	CO	
49	NH	CO	
50	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
51	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
52	O	CO	
53	NH	CO	
54	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
55	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
56	O	CO	
57	NH	CO	
58	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
59	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	

[0246]

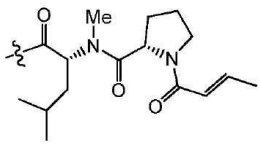
화합물	X	Y	R
60	O	CO	
61	NH	CO	
62	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
63	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
64	O	CO	
65	NH	CO	
66	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
67	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	

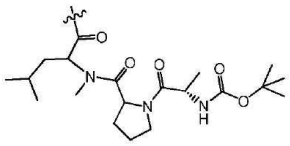
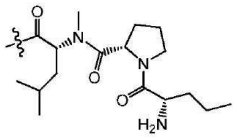
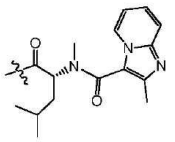
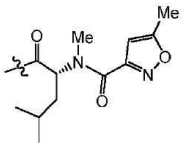
화합물	X	Y	R
68	O	CO	
69	NH	CO	
70	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
71	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
72	O	CO	
73	NH	CO	
74	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
75	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
76	O	CO	
77	NH	CO	
78	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
79	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	

[0247]

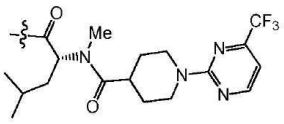
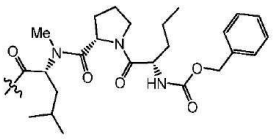
80	O	CO	
81	NH	CO	
82	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
83	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
84	O	CO	
85	NH	CO	
86	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
87	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
88	O	CO	
89	NH	CO	
90	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
91	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
92	O	CO	
93	NH	CO	
94	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
95	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
96	O	CO	
97	NH	CO	
98	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
99	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
100	O	CO	
101	NH	CO	
102	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
103	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	

[0248]

104	O	CO	
105	NH	CO	
106	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
107	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	

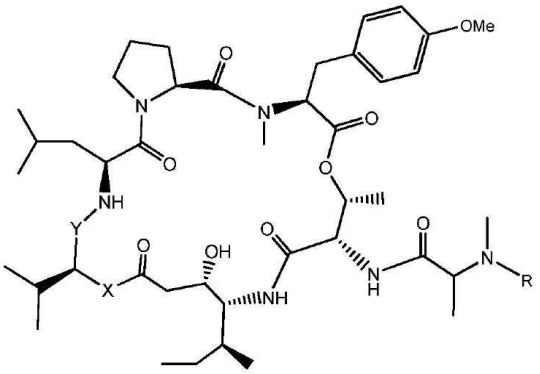
화합물	X	Y	R
108	O	CO	
109	NH	CO	
110	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
111	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
112	O	CO	
113	NH	CO	
114	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
115	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
116	O	CO	
117	NH	CO	
118	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
119	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
120	O	CO	
121	NH	CO	
122	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
123	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	

[0249]

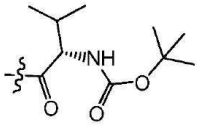
124	O	CO	
125	NH	CO	
126	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
127	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
128	O	CO	
129	NH	CO	
130	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
131	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	

[0250]

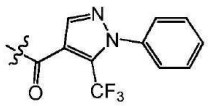
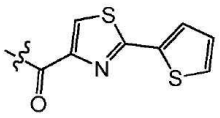
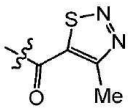
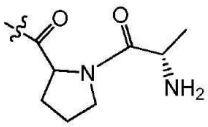
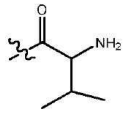
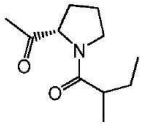
[0251] WO 02/02596 및 명세서에 기재되고, 이전 실시예에 추가로 개시된 절차에 따라, 하기 화합물을 수득할 수 있다:

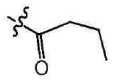
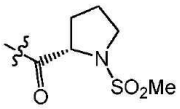
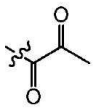
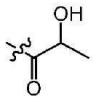


[0252]

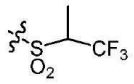
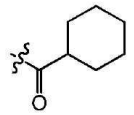
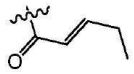
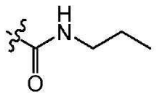
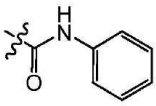
화합물	X	Y	R
132	O	CO	
133	NH	CO	
134	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
135	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	

[0253]

화합물	X	Y	R
136	O	CO	
137	NH	CO	
138	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
139	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
140	O	CO	
141	NH	CO	
142	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
143	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
144	O	CO	
145	NH	CO	
146	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
147	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
148	O	CO	
149	NH	CO	
150	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
151	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
152	O	CO	
153	NH	CO	
154	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
155	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
156	O	CO	
157	NH	CO	
158	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
159	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	

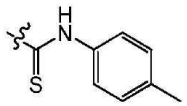
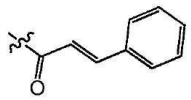
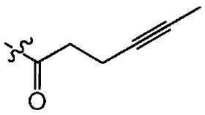
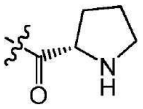
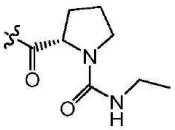
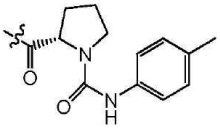
화합물	X	Y	R
160	O	CO	
161	NH	CO	
162	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
163	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
164	O	CO	
165	NH	CO	
166	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
167	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
168	O	CO	
169	NH	CO	
170	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
171	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
화합물	X	Y	R
172	O	CO	
173	NH	CO	
174	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
175	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
176	O	CO	-SO$_2$Me
177	NH	CO	
178	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
179	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	

[0254]

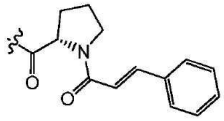
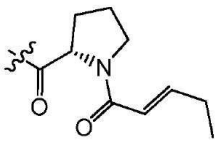
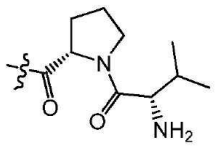
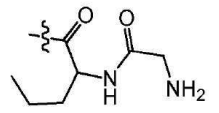
180	O	CO	
181	NH	CO	
182	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
183	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
184	O	CO	
185	NH	CO	
186	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
187	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
188	O	CO	
189	NH	CO	
190	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
191	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
192	O	CO	
193	NH	CO	
194	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
195	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
196	O	CO	
197	NH	CO	
198	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
199	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	

[0255]

화합물	X	Y	R

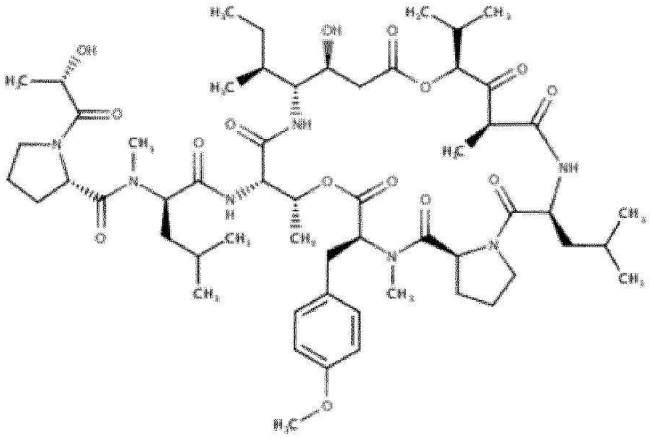
200	O	CO	
201	NH	CO	
202	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
203	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
204	O	CO	
205	NH	CO	
206	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
207	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
208	O	CO	
209	NH	CO	
210	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
211	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
화합물	**X**	**Y**	**R**
212	O	CO	
213	NH	CO	
214	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
215	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
216	O	CO	
217	NH	CO	
218	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
219	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
220	O	CO	
221	NH	CO	
222	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
223	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	

[0256]

224	O	CO	
225	NH	CO	
226	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
227	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
228	O	CO	
229	NH	CO	
230	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
231	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
232	O	CO	
233	NH	CO	
234	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
235	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
236	O	CO	
237	NH	CO	
238	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
239	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	

[0257]

[0258] 추가 화합물은 디템닌B로 알려져 있고, 하기 구조로 표시되는 화합물 240이다:



[0259] .

[0260] 실시예 1

[0261] 도 1에 도시된 바와 같이, PLD는 NF-κB의 전사활성화를 인 비트로 억제한다.

[0262] 본 발명자들은 NFκB의 전사 활성이 플리티뎁신에 의해 조절되는지 여부를 확인하였다. 이를 위해, 본 발명자들은 NFκB 루시퍼라제 리포터 플라스미드로 안정적으로 형질감염된 THP-1 세포를 이용하였다. 본 발명자들은 세포를 100 ng/mL TNFα (NF-κB의 활성인자), 500 μg/mL 폴리 I:C (TLR3 리간드), 10 μg/mL LPS-B5 (TLR4 리간드) 또는 10 μg/mL 레시퀴모드 (TLR-7/8 리간드)로 처리하였다. 상기 화합물을 단독으로 사용하거나 (도 1a 회색 막대) 또는 100 nM의 플리티뎁신과 조합하여 (도 1a 검정색 막대) 6시간 동안 사용하였고, 각 조건에서 루시퍼라제 활성을 정량화하였다. TLR 리간드들 중 각 하나의 존재하에, 플리티뎁신은 루시퍼라제의 생성을 명확하게 억제하여, NF-κB로부터의 전사활성화가 약물의 존재하에 억제되었음을 나타내었다. 생존율은 MTT 분석으로 분석하였다 (도 1b 회색 막대 (활성인자) 및 적색 막대 (100 nM의 플리티뎁신과 조합된 활성인자)). 세포독

성 효과는 검출되지 않았다.

[0263] 도 2에 도시된 바와 같이, PLD는 또한 인간 단핵구에서 염증유발 사이토카인 IL-1, IL-6, IL-8 및 TNF-알파의 인 비트로 분비를 억제한다.

[0264] 플리티뎁신이 TLR-유발 사이토카인 분비를 억제하는지 여부를 조사하기 위해, 본 발명자들은 THP-1 세포를 100 ng/mL TNFα (NF-κB의 활성인자), 500 μg/mL 폴리 I:C (TLR3 리간드), 10 μg/mL LPS-B5 (TLR4 리간드) 또는 10 μg/mL 레시퀴모드 (TLR-7/8 리간드)로 처리하였다. 상기 화합물을 단독으로 (회색 막대) 사용하거나, 또는 100 nM의 플리티뎁신과 조합하여 (적색 막대) 6시간 동안 사용하였다. 본 발명자들은 ELISA 분석에 의해 서로 다른 처리들 간의 세포 배양물 상등액에서 사이토카인 분비의 변화를 비교하였다. 도 2에서 볼 수 있는 바와 같이, 폴리 I:C, LPS, 레시퀴모드는 IL-1, IL-6, IL-8 및 TNFα의 분비를 유도한다. 또한, 플리티뎁신은 IL-1, IL-6, IL-8 및 TNFα의 생성을 명확하게 억제하였다. TNFα는 IL-1 및 IL-6의 분비를 증가시키지 못하였다. THP-1 세포는 이들 사이토카인을 분비하기 위해 다른 TNFα 노출 시간이 필요할 수 있다.

[0265] TLR 리간드들 중 각 하나의 존재하에, 플리티뎁신은 염증유발 사이토카인 IL-1, IL-6, IL-8의 분비를 명확하게 억제하였다.

[0266] 추가 인 비트로 실험에서, 플리티뎁신 (APL) 전처리가 THP-1 세포에 미치는 영향을 연구하였다. THP-1 NFκB luc 라인을 사용하여, 1, 10 또는 50 nM의 APL 또는 DMSO (0.2%)를 2.5 또는 5 μg/mL의 레시퀴모드 (RQ)로 자극하기 8시간 전에 부가하였다. RQ는 TLR7/8 효능제이며, ssRNA를 모방한다. 24시간에, 사이토카인의 수준 또는 세포 생존율을 측정하였다. 도 13에 도시된 바와 같이, PLD 전처리는 RQ에 의해 유도된 염증유발 사이토카인: IL6, IL8, IL1β 및 TNF-α의 분비를 억제하였다. 참고로, PLD의 부가는 분석된 2개의 RQ 농도에서 미처리한 대조군에 비해 생존율이 감소되지 않았다 (도 13e). RQ 자체가 어느 정도의 용량-관련 독성을 나타내는 것은 사실이지만, 이러한 효과는 배양물에서 PLD의 존재에 의해 증가되지 않았고, 그러므로 사이토카인 생성의 변화는 이러한 RQ 유도된 약간의 세포독성과 관련이 없다.

[0267] 실시예 2

[0268] 도 3에 도시된 바와 같이, PLD는 BAL (기관지폐포 세척액)로부터 단리된 뮤린에서 염증유발 사이토카인, IL-6, IL-8 및 TNF-알파의 엑스 비보 분비를 억제한다.

[0269] 본 발명자들은 플리티뎁신이 폐포 대식세포에서 LPS-유발 사이토카인 분비를 억제하는지 여부를 확인하였다. 이를 위해, 마우스에게 플리티뎁신 (1 mg/kg) 또는 비히클을 i.v. 주사하고, 투여 12시간 후에 기관지폐포 세척액 (BAL)을 수집하였다. 세포를 플레이팅하고, 3시간 또는 6시간 동안 LPS-B5 15 μg/mL로 엑스 비보 처리하거나 또는 처리하지 않았고, 분비된 사이토카인을 측정하였다. 알 수 있는 바와 같이, LPS는 IL-6, IL-10 및 TNFα (회색 막대)의 분비를 유도한다. 더욱이, 플리티뎁신으로 처리한 동물에서, 상기 약물은 LPS에 의해 유도된 염증유발 사이토카인 IL-6 및 TNF-α의 생성을 명확하게 억제하였고 (적색 막대), 전반적인 항-염증 효과를 유도하였다.

[0270] 이는 다시 도 14에 추가로 도시된다. 플리티뎁신으로 처리한 동물에서, 플리티뎁신은 기관지-폐포 세척액으로부터 단리된 $CD45^+$ 세포에서 3시간 및 6시간에 LPS-B5에 의해 유도된 IL-6, IL-10 및 TNFα의 분비를 유의미하게 감소시킬 수 있었다. 이러한 효과는 도 14 (a, b)에 도시된 바와 같이 세포 생존율과 관련이 없었다.

[0271] 본 발명자들은 플리티뎁신이 BALF에서 레시퀴모드 (RQ)-유발 사이토카인 분비를 억제하는지 여부를 추가로 확인하였다. 마우스에게 플리티뎁신 (1 mg/kg) 또는 비히클을 i.v. 주사하고 1시간 후에, 레시퀴모드 50 μg/마우스 비강내 접종하였다. RQ의 비강 투여 후 1시간 또는 3시간에, 기관지폐포 세척액 (BALF)을 수집하였다. 세포를 플레이팅하고, 분비된 사이토카인을 측정하였다. 볼 수 있는 바와 같이, RQ는 투여 후 1시간 및 3시간 모두에서 TNFα의 분비를 유도한다. PLD의 인 비보 투여는 TNFα 생성의 증가를 방지하였다. 도 15에서 볼 수 있는 바와 같이, RQ는 투여 후 1시간 및 3시간 모두에서 TNFα의 분비를 유도한다. PLD의 인 비보 투여는 TNFα 생성의 증가를 방지하였다.

[0272] 또한, 본 발명자들은 폐포 대식세포 동원에 대한 플리티뎁신의 효과를 확인하였다. 바이러스 감염은 또한 대식세포의 활성화로 이어진다. 활성화된 대식세포는 휴지 중인 대식세포 크기의 2배이며, 더 "공격적"이므로, 리소솜 단백질의 수준이 증가하고 포식작용의 능력이 더 크다. 고전적으로 활성화된 대식세포는 또한 프로테아제, 호중구 화학주성 인자, 반응성 산소종 및 염증유발 사이토카인 (예: IL-1 베타/IL-1F2, IL-6 및 TNF-알파/TNFSF1A)을 방출하여, 염증 및 조직 파괴를 유발한다. 기관지폐포 세척액 세포를 염색하고, 유세포 분석으로

분석하였다. 플리티뎁신은 세포독성 효과 없이 기관지폐포 세척액에 존재하는 대식세포의 퍼센트를 감소시켰다.

[0273] 실시예 3

[0274] 도 4에 도시된 바와 같이, 마우스에서 단일 iv 투여 후에, PLD는 BAL에서 대식세포의 수를 감소시킨다.

[0275] 플리티뎁신이 급성 염증이 있는 동물에서 폐포 대식세포의 퍼센트를 감소시키는지 여부를 조사하기 위해, 본 발명자들은 마우스를 플리티뎁신 (1 mg/kg) i.v., 멸균 식염수 중 LPS (20 μg/kg) i.p., 또는 LPS (20 μg/kg, i.p.)와 조합된 플리티뎁신 (1 mg/kg; i.v.)으로 처리하였다. 3시간 후에, 기관지폐포 세척액을 수집하였다. 기관지폐포 세척액 세포는 원심분리로 수득하고, 유세포 분석으로 분석하였다 (도 4b). 상단 패널은 샘플에 존재하는 대식세포 집단의 분석 전략을 보여준다. 우측 하단 패널은 세포의 퍼센트로 표시한 동일한 결과를 보여준다. 좌측 하단 패널은 CD45+ (백혈구 마커) 살아있는 세포의 퍼센트를 보여준다. 볼 수 있는 바와 같이, LPS는 폐포 대식세포의 동원을 유도한다. 플리티뎁신으로 처리하면 세포독성 효과 없이 기관지폐포 세척액에 존재하는 대식세포의 퍼센트가 감소하였다.

[0276] 실시예 4

[0277] 도 5에 도시된 바와 같이, PLD는 비임상 종 (non-clinical species)의 폐에 분포된다. 또한, 비임상 마우스 (약리학적 모델에서 사용되는 비임상 종임) 및 환자에서 유사한 혈장 노출이 달성된다.

[0278] 폐에서 플리티뎁신의 농도는 임의의 샘플링 시간에서 혈장 농도보다 일관되게 높았으며, 마우스, 래트 및 햄스터에서 폐 대 혈장 비율 ($^{폐}AUC_{0-\infty}/^{혈장}AUC_{0-\infty}$로 산출됨)은 각각 133, 460 및 909이었고, 따라서 플리티뎁신의 폐로의 분포를 확인하였다.

표 1

[0279]

종 (성별)	균주	용량† (mg/kg)	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{0-\infty}$ (ng·h/mL)	$t_{1/2}$ (h)	Cl (L/h/kg)	Vd_{ss} (L7kg)
마우스 (F)	C57BL6/J	1.0[a]	50.7	225.3	18.2	4.4	101.8
인간 (M/F)	-	0.135[b]	29.1	256.0	20-80	0.7-0.9	29-33
	-	0.02[c]	8.5[d]	174.0[d]	-	-	-

[0280] F, 여성; M, 남성.

[0281] †일정:

[0282] - 비임상 종: 단일 정맥내 볼루스.

[0283] - 환자: 3-h 정맥내 주입.

[0284] [a] 최대 허용 용량.

[0285] [b] 5 mg/m2, 3-h 주입 또는 9.5 mg/환자의 권장 용량으로부터 산출됨.

[0286] [c] 1.5 mg/환자에 해당하며, 이는 APLICOV에서 사용되는 용량임 (1, 2 및 3일차에 1-h 주입).

[0287] [d] 환자당 1.5 mg을 1일 용량으로 3회 투여한 후에, 플리티뎁신의 집단 PK 모델 (CPR/2016/01)로부터 추정됨.

[0288] 인간 체표면적, 1.9.

[0289] 인간의 체중, 60 kg

[0290] 물질 및 방법

[0291] **전사활성화 루시퍼라제 분석.**

[0292] 제조자의 지침에 따라 Bright-Glo™ 루시퍼라제 분석 시스템을 사용하여 NF-κB 전사활성화를 분석하였다. NF-κB-Luc 플라스미드 (4개의 NF-κB 결합 부위, 최소 프로모터 및 루시퍼라제 유전자 포함)로 안정적으로 형질감염된 세포인 NF-κB 리포터 (Luc)-THP-1 인간 단핵구를 100 ng/mL TNFα (양성 대조군), 500 μg/mL 폴리(I:C) (폴리이노신-폴리시티딜), 10 μg/mL LPS-B5 (대장균 (Escherichia coli) 055:B5의 리포폴리사카라이드) 또는 10 μg/mL 레시퀴모드에 노출시켰다. 상기 화합물들을 단독으로 사용하거나, 또는 100 nM 플리티덴신과 조합하여 6시간 동안 사용하였다. Perkin-Elmer EnVision 판독기에서 발광을 측정하였다. MTT (3-(4,5-디메틸티아졸-2-일)-2,5-디페닐테트라졸륨 브로마이드) 세포 증식 분석을 동시에 수행하여, 화합물의 세포독성을 대조하였다. 세포 생존율은 대조군 세포 성장의 퍼센트로 표시하였다. 제시된 데이터는 3회 수행된 3회의 독립적인 실험의 평균이다.

[0293] **분비된 사이토카인에 대한 ELISA 분석**

[0294] THP1-NFκB-LUC 세포 배양물을 상기 기재된 바와 같이 처리하였고, 배양 배지를 처리 후 6시간에 샘플링하여, ELISA로 분비된 사이토카인을 분석하였다. 배지 샘플은 4℃에서 저장되었다. 배양 배지로 IL-8, IL-1β, IL-6 및 TNF□ 단백질의 분비는 고도로 특이적이고 감수성인 ELISA 키트를 사용하여 정량화하였다. 인간 IL-1b, 인간 IL-6, 인간 IL-8 및 인간 TNF OptEIA™ ELISA 키트는 BD Biosciences로부터 입수하였고, 제조자가 설명한 대로 수행하였다. 제시된 데이터는 3회 수행된 3회의 독립적인 실험의 평균이다.

[0295] **MTT 분석**

[0296] 세포를 96웰 마이크로타이터 플레이트에 시딩하고, 상기 기재한 처리 전에 37℃ 및 5% CO2에서 24시간 동안 정치하였다. 연속 처리 6시간 후에, MTT를 이의 착색된 반응 생성물인 MTT 포르마잔으로 전환시키고, 이를 용해시켜서 540 nm에서 이의 흡광도를 측정하여 세포 생존율을 추정하였다. 본원에 제시된 데이터는 3회 수행된 3회의 독립적인 실험 시리즈로부터 나타낸다.

[0297] **"인 비보" 및 "엑스 비보" 치료.**

[0298] 마우스를 5마리 동물의 그룹으로 무작위 배정하여 치료를 받았다. 마우스에게 플리티덴신 (1 mg/kg)을 정맥(i.v.) 주사하고, 투여 12시간 후에 안락사시켰다. 대조 그룹에게는 식염수로 희석된 플리티덴신 비히클(Cremophor/에탄올/물)을 주입하였다. 각 그룹의 기관지폐포 세척액 (BAL)을 수집하고, 원심분리하여 기관지폐포 세척액 세포를 수득하였다. 세포는 적혈구 용해 (Roche)를 거쳤고, 플레이팅하고, 3시간 또는 6시간 동안 LPS-B5 15 μg/mL으로 엑스 비보 처리하거나 또는 처리하지 않았다. 분비된 사이토카인은 고도로 특이적이고 감수성인 ELISA 키트를 사용하여 측정하였다. 마우스 IL-6, 마우스 IL-10 및 마우스 TNF DuoSet ELISA 키트는 R&D Systems으로부터 입수하였고, 제조자가 설명한 바와 같이 수행하였다. 본원에 제시된 데이터는 일련의 3회 독립적인 실험으로부터 나타낸다.

[0299] **동물 염증 모델.**

[0300] 마우스를 2마리의 동물의 그룹으로 무작위로 배정하여 치료를 받았다. 마우스를 플리티덴신 (1 mg/kg)을 정맥(i.v.), 멸균 식염수 중 LPS (20 μg/kg) 복막내 (i.p.), 또는 LPS (20 μg/kg, i.p.)와 조합된 플리티덴신 (1 mg/kg; i.v.)으로 챌린지하였다. 대조 그룹에는 식염수로 희석한 플리티덴신 비히클 (Cremophor/에탄올/물)을 주입하였다. 3시간 후에, 동물들을 안락사시키고, 기관지폐포 세척액을 수집하였다 (총 1.2 ml, PBS). 기관지폐포 세척액 세포를 원심분리로 수득하고, 유세포 분석으로 분석하였다. 본원에 제시된 데이터는 일련의 3회 독립적인 실험으로부터 나타낸다.

[0301] 다른 염증 모델에서, 마우스를 2마리의 동물의 그룹으로 무작위 배정하여 치료를 받았다. 마우스를 플리티덴신 (1 mg/kg)으로 정맥내 (i.v.) 챌린지한 다음에, 1시간 후에 레시퀴모드 (50μg/마우스, 비강내)를 투여하였다. 대조 그룹에는 식염수로 희석한 플리티덴신 비히클 (Cremophor/에탄올/물)을 투여하였다. 1시간 및 3시간 후에, 동물을 안락사시키고, 기관지폐포 세척액을 수집하였고 (총 1.2 ml, PBS), 그 다음에 ELISA 키트로 TNFα를 정량분석하였다. 본원에 제시된 데이터는 일련의 3회 독립적인 실험으로부터 나타낸다.

[0302] **유세포 분석에 의한 대식세포 분석.**

[0303] 기관지폐포 세척액 세포를 항-F4/80-BV510, CD45-APC700, CD11b-BV650, CD11c-APC-Fire, CD24-PC7 및 Ly6C-BV605 모노클로날 항체 (Biolegend) 및 LIVE/DEAD™ Fixable Green Dead Cell Stain 키트로 염색하고, 488 nm

여기 (Thermofisher)하였다. 대식세포 (F4/80+)는 살아있는 면역 세포 (CD45+ LIVE/DEAD 염료-)에 게이트한 반면에, 폐포 대식세포 (F4/80+ CD24-)는 살아있는 면역 세포의 CD11c+ CD11b- 집단에 대해 특이적으로 게이트하였다. 보상 (compensations) 및 게이팅 전략 (gating strategies)을 설정하기 위해, 이소타입 대조군 (Isotype controls) 및 보상 비드 (compensation beads)를 사용하였다.

[0304] 실시예 5

[0305] 본 목적은 마우스-적응된 A/H1N1 인플루엔자 바이러스 감염 (A/Puerto Rico/8/34)으로 인한 중증 폐렴 치료, 및 바이러스 역가 수준에서 플리티뎁신의 인 비보 효과를 평가하는 것이었다.

[0306] 실험 설정: 상기 목적을 달성하기 위해, 본 발명자들은 폐에 심각한 감염을 유발하는, 고용량의 PR8 인플루엔자 바이러스 (2x105pfu) 투여를 기반으로 하는 바이러스 병인의 인 비보 모델을 사용하였다. 그 다음에 본 발명자들은 마우스의 심각한 인플루엔자 바이러스 감염에 대한 플리티뎁신의 치료 효과를 평가하였다. 9주령의 암컷 마우스에게 케타민-자일라진 용액을 복강내 주사하여 마취시키고, 바이러스 용액 PBS를 콧구멍 (nares)당 20 ul 비강내 투여하여 감염시켰다.

[0307] 상기 처리한 마우스에게 플리티뎁신을 0.3 mg/kg 또는 0.15 mg/kg 피하로 주사하였다. 후속하여, 생존율 및 체중 감소를 p.i. 3일째까지 모니터링하였다. 치료 기간 중에 사망한 마우스 또는 시작 체중의 30% 초과의 체중 감소가 있는 마우스는 기록되지 않았다.

[0308] 기도에서 인플루엔자 감염의 제어는 기관지폐포 세척액 (BALF) 중 염증 증가에 의해 매개된다. 도 6은 플리티뎁신으로 처리하거나 또는 미처리한 감염된 마우스의 BALF에서 염증 프로파일을 보여준다. 주요 염증유발 사이토카인 중에, IL-6, CCL2, IL-1α, IFN-γ 및 TNF-α의 수준을 플리티뎁신이 강력하게 감소시켰다. 상기 약물의 절반만 투여받은 마우스는 덜 보호되었고, 중간 표현형을 보였다.

[0309] 폐에서 바이러스 역가를 또한 평가하였다. 도 7에 도시된 바와 같이, 플리티뎁신은 0.3 mg/kg 및 0.15 mg/kg 모두에서 폐의 바이러스 역가를 감소시켰다.

[0310] BALF 세포 조성은 폐 면역 반응 바이러스 감염의 마커로 정의된다. 염증성 사이토카인 수준과 관련된 침윤 세포의 정량적 측정을 인플루엔자 감염된 마우스에서 평가하였다. 플리티뎁신 처리는 BALF ($CD45^{+}$ x 10^{6})의 총 세포 조성을 감소시키지 않았다. 도 8에 도시된 바와 같이, 본 발명자들은 또한 폐포 대식세포 (AM) 침윤의 증가를 발견하였고, 이는 AM이 바이러스 청소에 기여함을 시사한다.

[0311] 종합하면, 이러한 결과는 인플루엔자에 감염된 마우스에서 플리티뎁신의 3회 후속 투여 (총 용량 0.9 mg/kg)가 염증을 긍정적으로 감소시킬 수 있음을 확인하였고, 이는 치료에 의한 초기 염증유발 사이토카인의 감소로 나타낸 바와 같다. 또한, 본 발명자들은 폐포 대식세포 절대 수의 증가를 검출하였으며, 이는 AM이 바이러스 확산 및 보호에 중요한 역할을 한다는 것을 시사할 수 있다. 본 발명자들은 또한 플리티뎁신 고용량 처리한 마우스의 폐에서 바이러스 역가의 감소를 관찰하였다.

[0312] 실시예 6

[0313] 본 실시예에서, 세포 배양물에서 웨스트 나일 바이러스의 확산에 대한 플리티뎁신의 항바이러스 활성을 연구하였다.

[0314] (a) 인간 간암 세포 (Huh7) 및 아프리카 녹색 원숭이 신장 세포 (Vero-E6)에서 재조합 바이러스 WNV-GFP (계통 2; 분자 클론 WN956).

[0315] WNV-GFP에 대한 플리티뎁신의 항바이러스 가능성을 결정하기 위해, 2.3 pM 또는 2.5 pg/ml에서 시작하여 최고 농도로 4.5 μM 또는 5 μg/ml을 사용하는 증가하는 농도의 플리티뎁신의 존재하에 감염성 바이러스 스톡 희석액으로 표적 세포주 Vero-E6 및 Huh7에 접종하였다. 바이러스가 비히클-처리한 배양물에서 표적 세포의 상당 부분으로 확산된 후 48시간에 감염 효율을 평가하였다.

[0316] 상대 감염 효율은 녹색 채널에서 자동화된 형광 현미경으로 평가하였고, 전체 세포 바이오매스/웰은 화합물 유효 용량 및 전체 화합물 세포독성에 대한 예비 평가로서 청색 채널에서 DAPI를 사용한 핵 염색에 의해 추정하였다.

[0317] 도 9에 도시된 바와 같이, WNV-GFP 감염 효율은 VeroE6 세포에서 약 5 nM의 용량에서 급격히 감소하여, 36 nM 이상에서 배경 형광 수준에 도달하였다. 세포 수는 최대 36 nM까지 변경되지 않았지만, 더 높은 농도 (180 nM; $p<0.05$)에서 유의미하게 감소하였고, 이는 플리티뎁신이 36 nM 이상의 농도에서 세포 복제 능력을 방해하는 것

을 시사한다. VeroE6 세포에서 플리티뎁신에 대한 추정 EC50 값은 4.9 nM이고, EC90은 9.5 nM이다. 세포 바이오매스에 기반하여, CC50 값은 2330 nM이다. 따라서, VeroE6 세포에서 CC50/EC50 비율로 표시되는 치료 지수는 475이다.

[0318] Huh7 세포에서, 도 10에 도시된 바와 같이, EC50 및 EC90 값이 각각 0.665 및 3.86 nM인 감염 효율의 용량-의존적 감소가 존재한다. 이러한 감소는 웰에서 세포 바이오매스의 병렬 손실과 관련이 있으며, 이는 7.2 nM ($p<0.05$)에서 통계적으로 유의미하고, 여기서 CC50 값은 14.7이고, 치료 지수는 22이다.

[0319] 상기 데이터는 플리티뎁신이 Vero-E6 및 Huh-7 세포 모두에서 세포 배양물 감염 모델에서 WNV-GFP 전파를 방해하는 것을 보여준다. 일례에서, 세포 생존율에 대한 측정 가능한 간섭이 없는 상태에서 항바이러스 활성은 Huh-7 세포에서 1.5 nM ($p<0.05$) 및 Vero-E6 세포에서 7.2 nM ($p<0.05$)에서 관찰할 수 있다.

[0320] (b) Huh7 인간 간암 세포 및 아프리카 녹색 원숭이 신장 세포 (Vero-E6)에서 야생형 WNV-NY99 게놈 (계통 1; 분자 클론 NY99)을 갖는 재조합 바이러스.

[0321] 본 실시예에서, 감염 효율의 판독값으로서 바이러스 RNA 부하를 사용한 WNV-NY99 전파에 대한 플리티뎁신의 영향을 평가하였다. Vero-E6 또는 Huh-7 세포에 NY99 WNV 균주를 기반으로 하는 재조합 바이러스를 접종하였다 (MOI 0.01). 감염은 WNV-GFP 모델에서 생체활성을 나타내는 플리티뎁신의 용량 범위 (45, 15, 5, 1.5 nM; 상기 참조) 또는 비히클의 존재하에 수행하였다. 세포외 감염 적정에 의한 감염 효율을 결정하기 위해 상등액의 샘플을 처리하는 시간인 48시간 동안 접종된 세포를 인큐베이션하였다. 또한, 바이러스 RNA 부하를 결정하고 전체 바이러스 감염 효율을 독립적으로 평가하기 위해, 대조군 및 플리티뎁신-처리한 세포로부터 전체 RNA를 추출하였다.

[0322] 세포외 감염 역가는 플리티뎁신의 존재가 도 11에 도시된 바와 같이 WNV 전파를 강력하게 방해하는 것을 보여주었고, 여기서 VeroE6 및 Huh-7 세포에서 45 nM에서 >3 차수 감소하였다. 이러한 현상은 세포주 모두에서 용량-의존적이다.

[0323] 세포내 WNV RNA 부하는 대조군 및 플리티뎁신-처리한 세포에서 RT-qPCR로 결정하였다. 놀랍게도, 도 12에 도시된 바와 같이, 45 nM 플리티뎁신으로 처리한 Huh-7 세포로부터는 RNA를 회수할 수 없었다. 그럼에도 불구하고, 바이러스 RNA 부하는 세포주들 모두의 나머지 샘플 그룹에서 결정하였다. 세포외 감염 역가로 나타낸 경향과 일치하는, 바이러스 RNA 부하는 Vero-E6 세포에서 15 및 45 nM에서 용량-의존적 방식으로 유의미하게 감소한 반면에, 5 및 1.5 nM에서의 바이러스 부하는 대조군에서의 바이러스 부하와 구별되지 않았다 (도 12). 유사하게, Huh-7은 15 nM에서 바이러스 부하의 현저한 감소를 보였으며, 그 크기는 용량-의존적 방식으로 감소하였다.

[0324] WNV 감염 전파 효율 데이터는 플리티뎁신이 Vero-E6 및 Huh-7 세포 모두에서 5 nM 이상의 용량에서 바이러스 복제를 방해하지만, Huh-7 세포에서는 더 낮은 농도에서 어느 정도의 방해가 관찰될 수 있음을 시사한다. 기능적 (감염력) 및 분자적 (RT-qPCR) 접근법을 사용하여 전체 전파 효율을 측정한 결과는 플리티뎁신이 WNV-GFP로 수득된 데이터를 기반으로 예상되는 농도 범위에서 바이러스 전파 효율을 감소시키는 것을 확인하였다.

[0325] 요약하면, 증가하는 용량의 플리티뎁신으로 세포 배양 배지를 보충하면 Vero-E6 및 Huh-7 세포 모두에서 및 2가지 감염 (WNV-GFP 및 WNV/NY99) 모델에서 WNV 전파 효율이 크게 감소하였다.

[0326] (c) 방법

[0327] **화합물 제조:** 사전-칭량된 고체를 디메틸설폭시드 (DMSO) 중에 최종 1 mg/ml 용액으로 희석하고, 추가로 사용할 때까지 -20℃에서 분취하였다. 세포 배양: 하위 융합성 (Subconfluent) Vero-E6 세포 및 Huh-7 세포 배양물을 완전 배지 [10 mM HEPES, 1x 비-필수 아미노산 (Gibco), 100 U/mL 페니실린-스트렙토마이신 (Gibco) 및 10% 우태아 혈청 (30분 동안 56℃에서 열-불활성화)이 보충된 DMEM]에서 유지하였다.

[0328] **바이러스:** WNV (NY99) 및 WNV-GFP 재조합 바이러스를 이전에 설명한 바와 같이 복제된 cDNA로부터 구출하였다. 스톡 감염 역가는 이전에 설명한 바와 같이 Vero-E6 세포에 대한 플라크 분석 (plaque assay)으로 결정하였다.

[0329] **파트 1:** WNV-GFP 모델

[0330] 감염 실험: 세포를 96-웰 플레이트 (2X104 세포/웰) 상에 시딩하였다. 다음 날, 표시된 최종 농도를 달성하기 위해 2% FCS-함유 완전 배지에서 플리티뎁신의 계열 5배 희석물을 제조하였다. WNV-GFP 스톡은 필요한 감염 다중도 (MOI 0.01)를 달성하기 위해 2% FCS를 함유하는 완전 배지에서 희석하였다. 화합물 및 바이러스 희석물을 1:1로 혼합하고, 표적 세포에 부가하였다. 세포를 37℃; 5% CO2 및 95% 습도에서 48시간 동안

인큐베이션하였다.

[0331] 실온에서 30분 동안 4% 최종 농도를 달성하기 위해 5X 포름알데히드 용액을 부가하여 세포를 고정시켰다. 세포를 PBS로 세척하고, 제조자의 권장 사항에 따라 DAPI (4',6-디아미디노-2-페닐인돌)로 염색하였다. 상대 감염 효율은 자동화된 현미경 장치 (Tecan Spark Cyto)에서 이미지 분석에 의해 추정하였다. 비-감염된 세포 및 비히클-처리한 대조군을 각 플레이트에 포함시켰다.

[0332] **파트 2: WNV (NY99) 모델**

[0333] $1.2X10^5$ 세포/웰을 사용하여 세포를 24-웰 플레이트에 시딩하였다. 다음 날, 세포에 WNV/NY99 스톡을 접종하여 감염 다중도 0.01 (MOI 0.01) 및 최종 부피 1 ml로 플리티뎁신의 표시된 농도를 달성하였다. 배양물을 37℃에서 48시간 동안 유지하였고, 이때 상등액을 수집하고, -80℃에서 보존하였다. TrizolTM 시약을 세포에 직접 부가하고 제조자의 지침에 따라 세포로부터 전체 RNA를 수집하였다.

[0334] 감염력 적정: 감염 역가는 플라비바이러스 E 단백질 (4G2; ATCC® HB-112™)에 대한 모노클로날 항체를 사용하여 엔드포인트 희석 및 면역형광 현미경을 사용하여 결정하였다. 간단히 말해서, Huh-7 세포에 96-웰 형식으로 상등액 희석물을 접종하였다. 감염 48시간 후에, 세포를 PBS 중 4% 포름알데히드 용액으로 실온에서 30분 동안 고정시키고, PBS로 2회 세척하고, 결합 버퍼 (0.3% Triton X100, PBS 중 3% BSA)과 1시간 동안 인큐베이션하였다. 1차 항체를 결합 버퍼에 희석하고, 1시간 동안 세포와 인큐베이션한 후에, 세포를 PBS로 세척하고, 후속하여 Alexa 488 (ThermoFisher)에 접합된 염소 항-마우스의 1:500 희석물과 인큐베이션하였다. DAPI (4',6-디아미디노-2-페닐인돌; ThermoFisher)는 세포 수를 평가하기 위한 핵 염색 시약으로 사용하였다. 세포를 PBS로 세척하고, 형광 현미경으로 감염 병소 수를 결정하였다.

[0335] 역전사 및 qPCR: 제조자의 권장 사항 및 프라이머를 사용하여, NZYSpeedy One-Step qPCR 프로브 마스터 믹스 (probe master mix)를 사용하는 RT-qPCR에 60 ng의 전체 세포 RNA를 적용하였다.

[0336] 통계 분석: Excel을 사용하여 평균 및 SEM을 산출하였다. 평균들은 one-way ANOVA 및 IBM- SPSS를 사용한 Dunnet´s post-hoc 분석 (2-tails; alpha=0.05)을 사용하여 비교하였다.

[0337] 실시예 7

[0338] 도 16은 1.0 mg 및 2.0 mg의 1일 용량 (D1-D5) 후 시간에 대한 총 혈장 플리티뎁신 농도 프로파일의 시뮬레이션을 도시한다. 검은색 수평선은 예시되는 인 비트로 IC50, IC90 및 3xIC90 값에 해당하는 폐 농도와 관련된 총 혈장 농도를 나타낸다. 추가 투여 용법은 5일 동안 1일 1.5 mg이다. 추가 용법이 1-h i.v. 주입으로 제공된 1 mg (1일째)의 초기 고정 용량 이후에, 0.5 mg의 1일 용량 (D2-D5)과 관련된 플리티뎁신 총 혈장 농도를 시뮬레이션하는 것을 도 17에 도시하였다.

[0339] 도 18은 1.5 mg, 2.0 mg 및 2.5 mg의 1일 용량 (D1-D3) 후 시간에 대한 총 혈장 플리티뎁신 농도 프로파일의 시뮬레이션을 도시한다. 검은색 수평선은 예시되는 인 비트로 IC50, IC90 및 3xIC90 값에 해당하는 폐 농도와 관련된 총 혈장 농도를 나타낸다.

[0340] 도 19는 단일 용량으로 총 혈장 농도를 확인하기 위해 검증된 플리티뎁신 집단 약동학적 모델을 보여준다 (Nalda-Molina R, et al. Population pharmacokinetics meta-analysis of plitidepsin (Aplidin) in cancer subjects. Cancer Chemother Pharmacol. 2009 Jun;64(1):97-108. doi: 10.1007/s00280-008-0841-4).

참고문헌

- Losada A, Berlanga JJ, Molina-Guijarro JM, Jiménez-Ruiz A, Gaggo F, Avilés P, de Haro C, Martínez-Leal JF., Generation of endoplasmic reticulum stress and inhibition of autophagy by plitidepsin induces proteotoxic apoptosis in cancer cells. Biochem Pharmacol. **2020** Feb; 172:113744
- Losada A, Muñoz-Alonso MJ, García C, Sánchez-Murcia PA, Martínez-Leal JF, Domínguez JM, Lillo MP, Gago F, Galmarini CM., Translation Elongation Factor eEF1A2 is a Novel Anticancer Target for the Marine Natural Product Plitidepsin. Sci Rep. **2016** 7;6:35100
- Losada A, Muñoz-Alonso MJ, Martínez-Díez M, Gago F, Domínguez JM, Martínez-Leal JF, Galmarini CM., Binding of eEF1A2 to the RNA-dependent protein kinase PKR modulates its activity and promotes tumour cell survival. Br J Cancer. **2018**;119(11):1410-1420
- M. D. Vera and M. M. Joullié, Natural products as probes of cell biology: 20 years of didemnin research Med. Res. Rev., **2002**, 22, 102
- Remington s Pharmaceutical Sciences, 17th Ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., **1995**
- Stark G.R., Kerr, I.M., Williams, B.R., Silverman, R.H., and Schreiber, R.D., How cells respond to interferons. Annu. Rev. Biochem. **1998**, 67**:** 227–264.
- Ranieri VM, Rubenfeld GD, Thompson BT, et al. Acute respiratory distress syndrome: the Berlin Definition. JAMA 2012; 307: 2526-2533.
- Losada, A., et al., Translation Elongation Factor eEF1A2 is a Novel Anticancer Target for the Marine Natural Product Plitidepsin. Sci Rep, 2016. 6: p. 35100.
- Mateyak, M.K. and T.G. Kinzy, eEF1A: thinking outside the ribosome. J Biol Chem, 2010. 285 (28): p. 21209-13.
- PharmaMar, data on file; VPT1992 / 2014.
- PharmaMar, data on file; VPT2678 / 2014.
- Maroun, J.A., et al., Phase I study of Aplidine in a dailyx5 one-hour infusion every 3 weeks in patients with solid tumors refractory to standard therapy. A National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group study: NCIC CTG IND 115. Ann Oncol, 2006. 17 (9): p. 1371-8.
- Nalda-Molina R, et al. Population pharmacokinetics meta-analysis of plitidepsin (Aplidin) in cancer subjects. Cancer Chemother Pharmacol. 2009 Jun; 64 (1): 97-108. doi: 10.1007 / s00280-008-0841-4.
- Kawai T & Akira S (2007); Signaling to NF-κB by Toll-like receptors; Trends in Molecular Medicine; Volume 13, Issue 11, p.460-469.
- Davis WG, Blackwell JL, Shi PY, Brinton MA. Interaction between the cellular protein eEF1A and the 3'-terminal stem-loop of West Nile virus genomic RNA facilitates viral minus-strand RNA synthesis. J Virol. 2007;81(18):10172-87.
- Suthar MS, Diamond MS, Gale M, Jr. West Nile virus infection and immunity. Nat Rev Microbiol. 2013;11(2):115-28.
- Rossi SL, Ross TM, Evans JD. West Nile virus. Clin Lab Med. 2010;30(1):47-65.
- Rossini G, Landini MP, Gelsomino F, Sambri V, Varani S. Innate host responses to West Nile virus: Implications for central nervous system immunopathology. World J Virol. 2013;2(2):49-56.
- Getts DR, Terry RL, Getts MT, Muller M, Rana S, Shrestha B, et al. Ly6c+ "inflammatory monocytes" are microglial precursors recruited in a pathogenic manner in West Nile virus encephalitis. J Exp Med. 2008;205(10):2319-37.

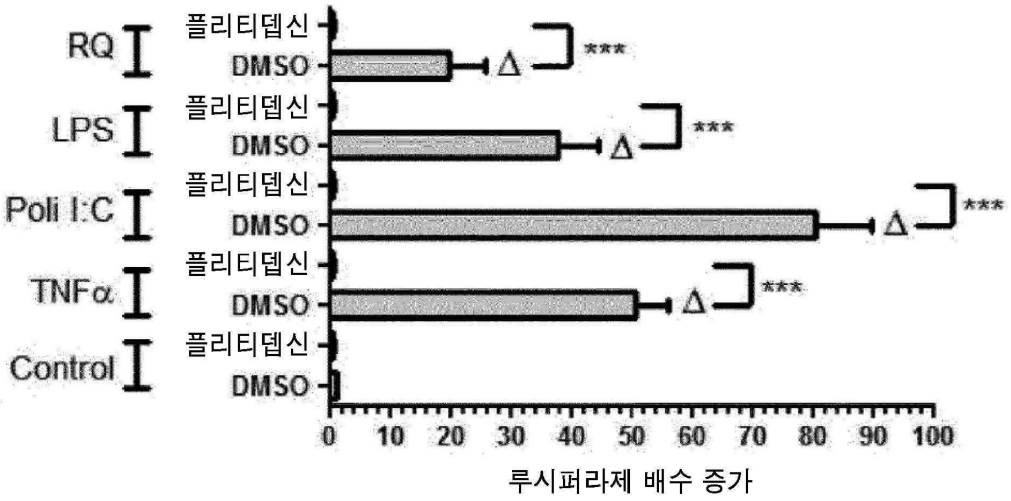
[0341]

- Wang T, Town T, Alexopoulou L, Anderson JF, Fikrig E, Flavell RA. Toll-like receptor 3 mediates West Nile virus entry into the brain causing lethal encephalitis. Nat Med. 2004;10(12):1366-73.
- Kumar M, Verma S, Nerurkar VR. Pro-inflammatory cytokines derived from West Nile virus (WNV)-infected SK-N-SH cells mediate neuroinflammatory markers and neuronal death. J Neuroinflammation. 2010;7:73.

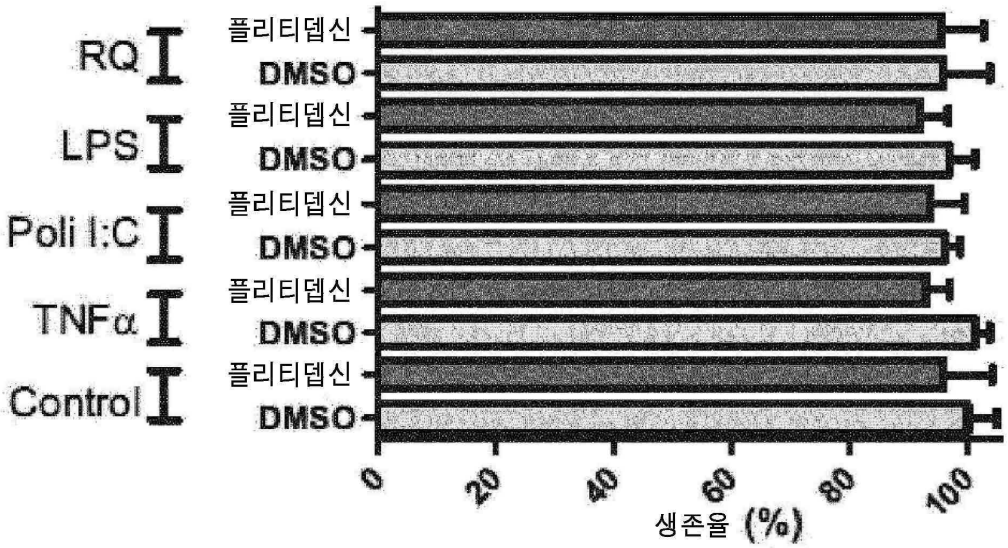
[0342]

도면

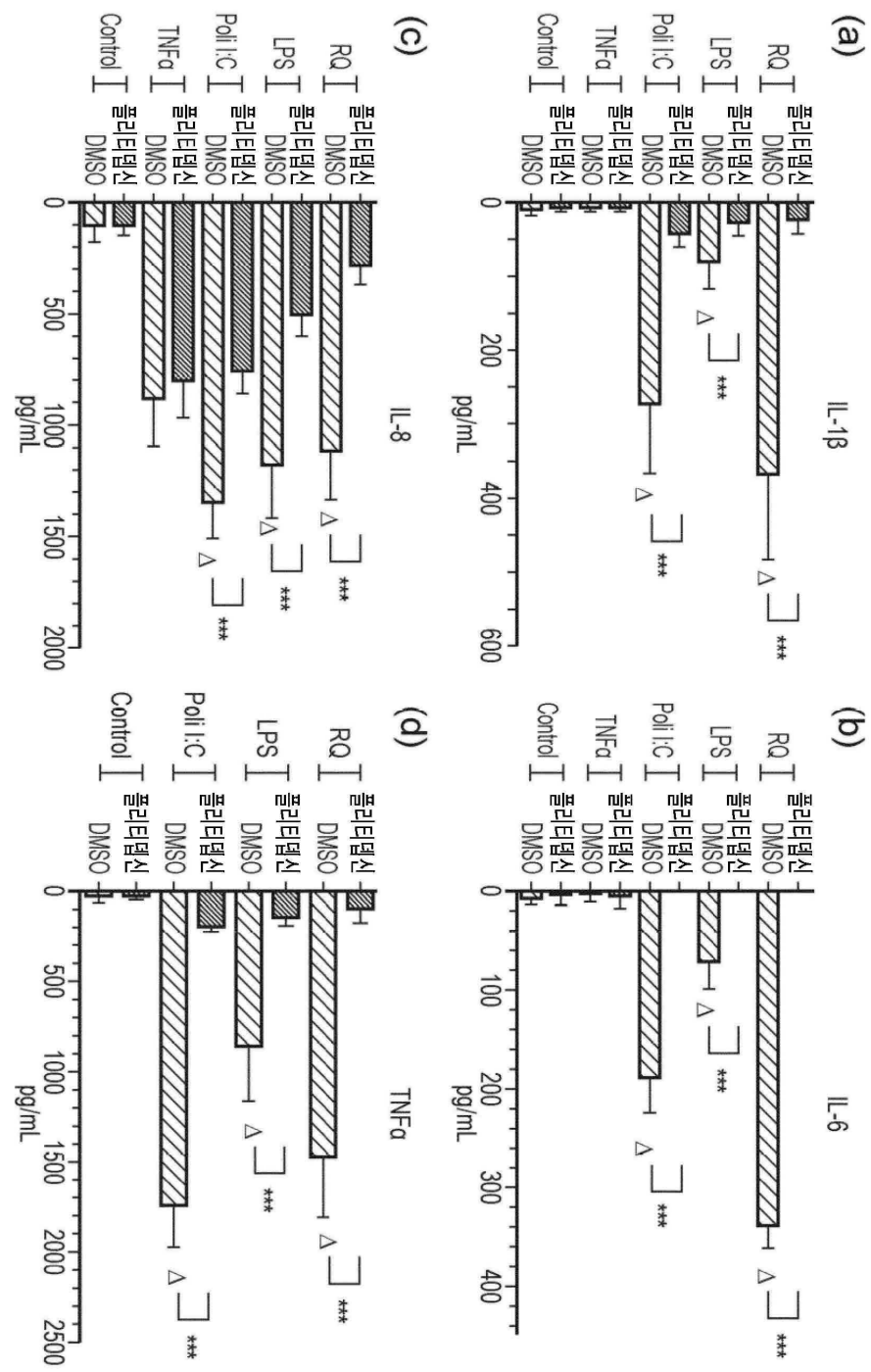
도면1a


RQ
LPS
Poli I:C
TNFα
Control
플리티뎁신
DMSO
***
Δ
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
루시퍼라제 배수 증가

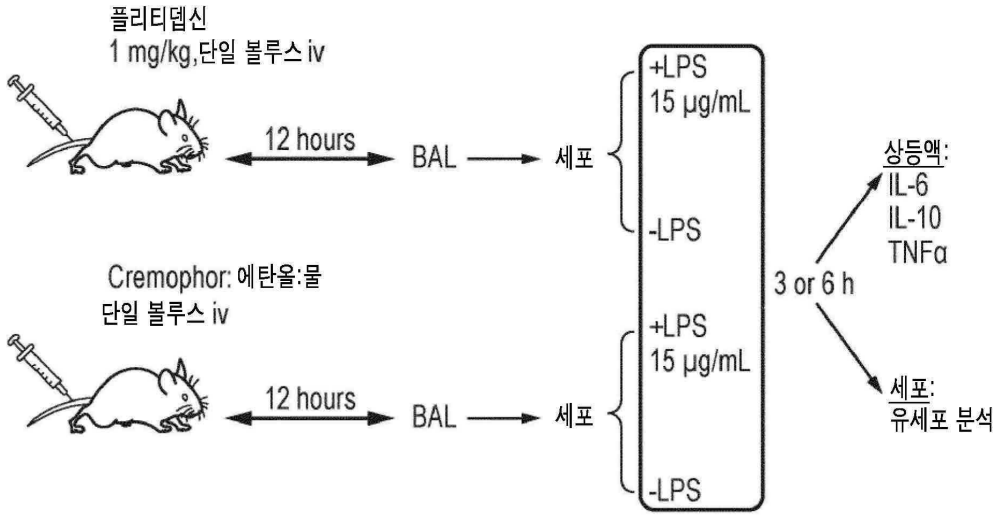
도면1b


RQ
LPS
Poli I:C
TNFα
Control
플리티뎁신
DMSO
0
20
40
60
80
100
생존율 (%)

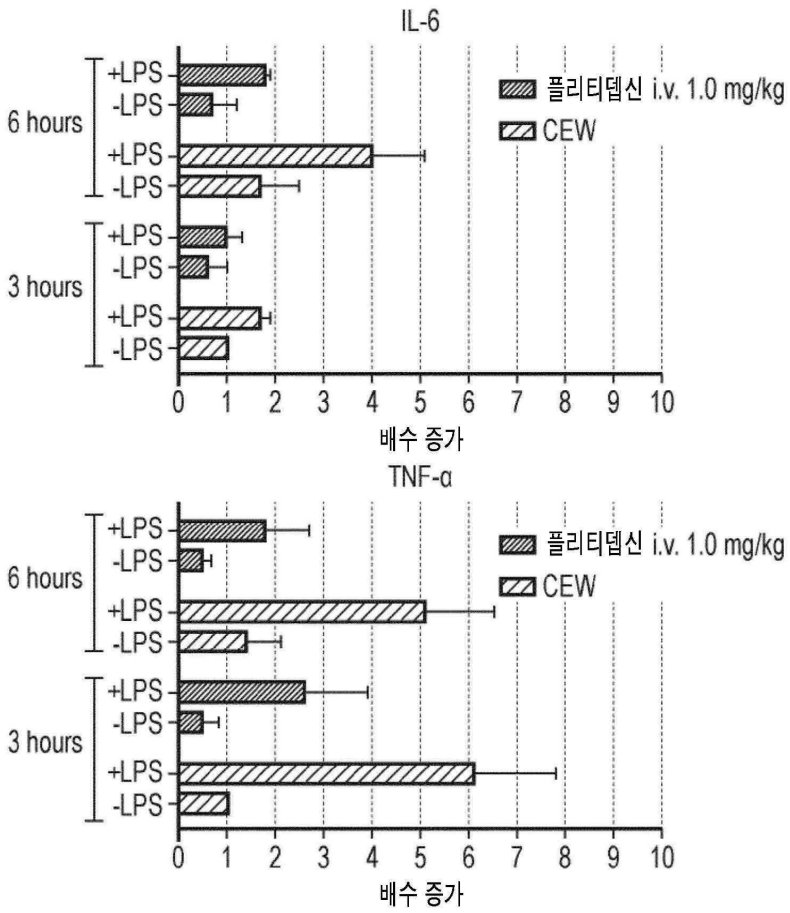
도면2


(a)
IL-1β
pg/mL
0
200
400
600
RQ
LPS
Poli I:C
TNFα
Control
플리터댑신
DMSO
***
(b)
IL-6
pg/mL
0
100
200
300
400
(c)
IL-8
pg/mL
0
500
1000
1500
2000
(d)
TNFα
pg/mL
0
500
1000
1500
2000
2500

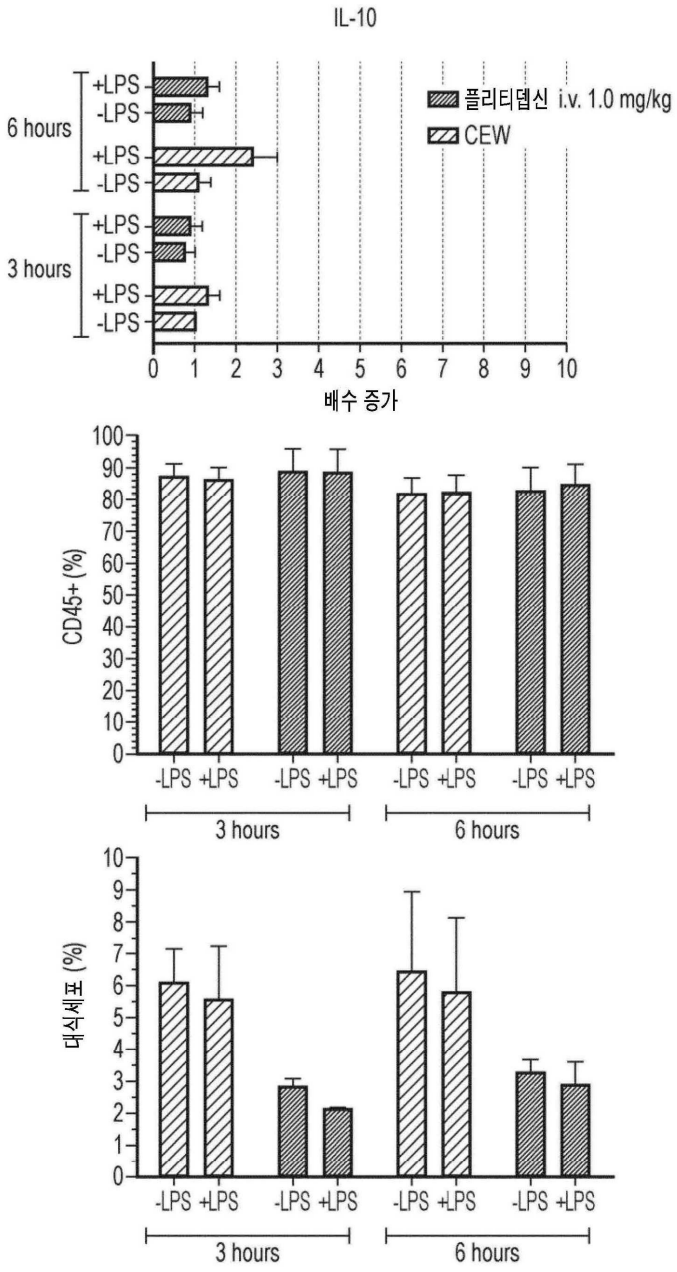
도면3a


플리티뎁신
1 mg/kg,단일 볼루스 iv
12 hours
BAL
세포
+LPS
15 μg/mL
-LPS
Cremophor: 에탄올:물
단일 볼루스 iv
12 hours
BAL
세포
+LPS
15 μg/mL
-LPS
3 or 6 h
상등액:
IL-6
IL-10
TNFα
세포:
유세포 분석

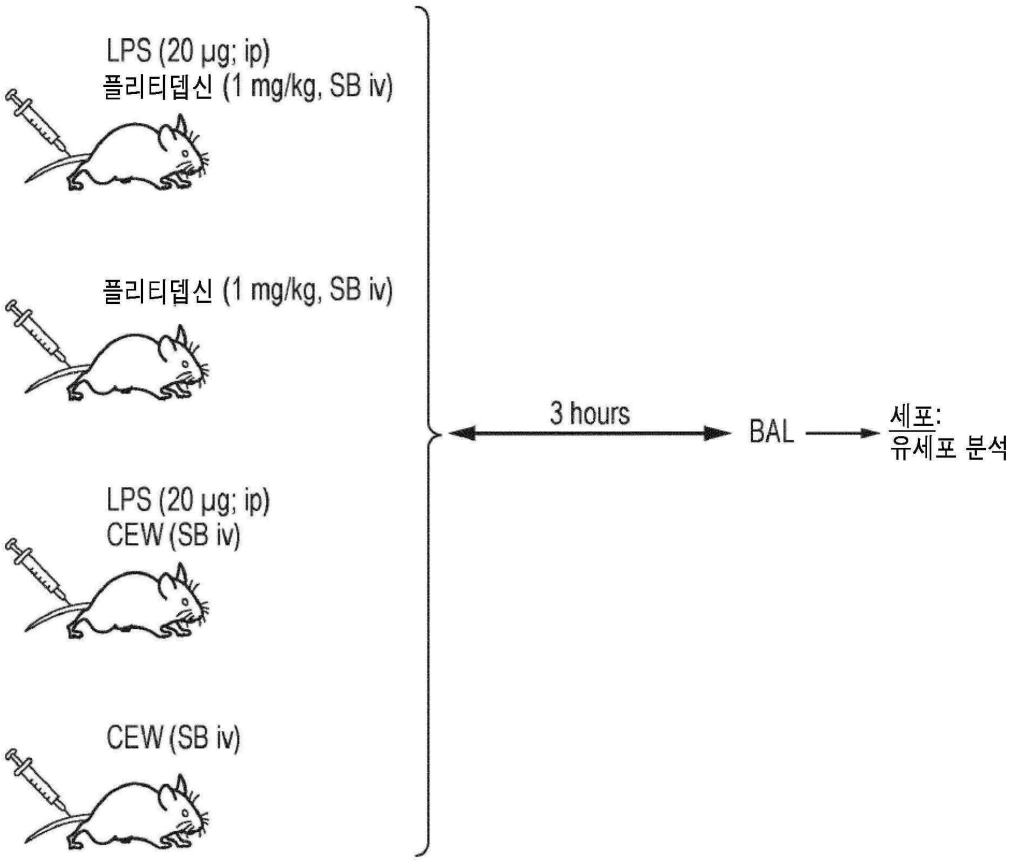
도면3b


IL-6
6 hours
3 hours
+LPS
-LPS
플리티뎁신 i.v. 1.0 mg/kg
CEW
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
배수 증가
TNF-α
6 hours
3 hours
+LPS
-LPS
플리티뎁신 i.v. 1.0 mg/kg
CEW
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
배수 증가

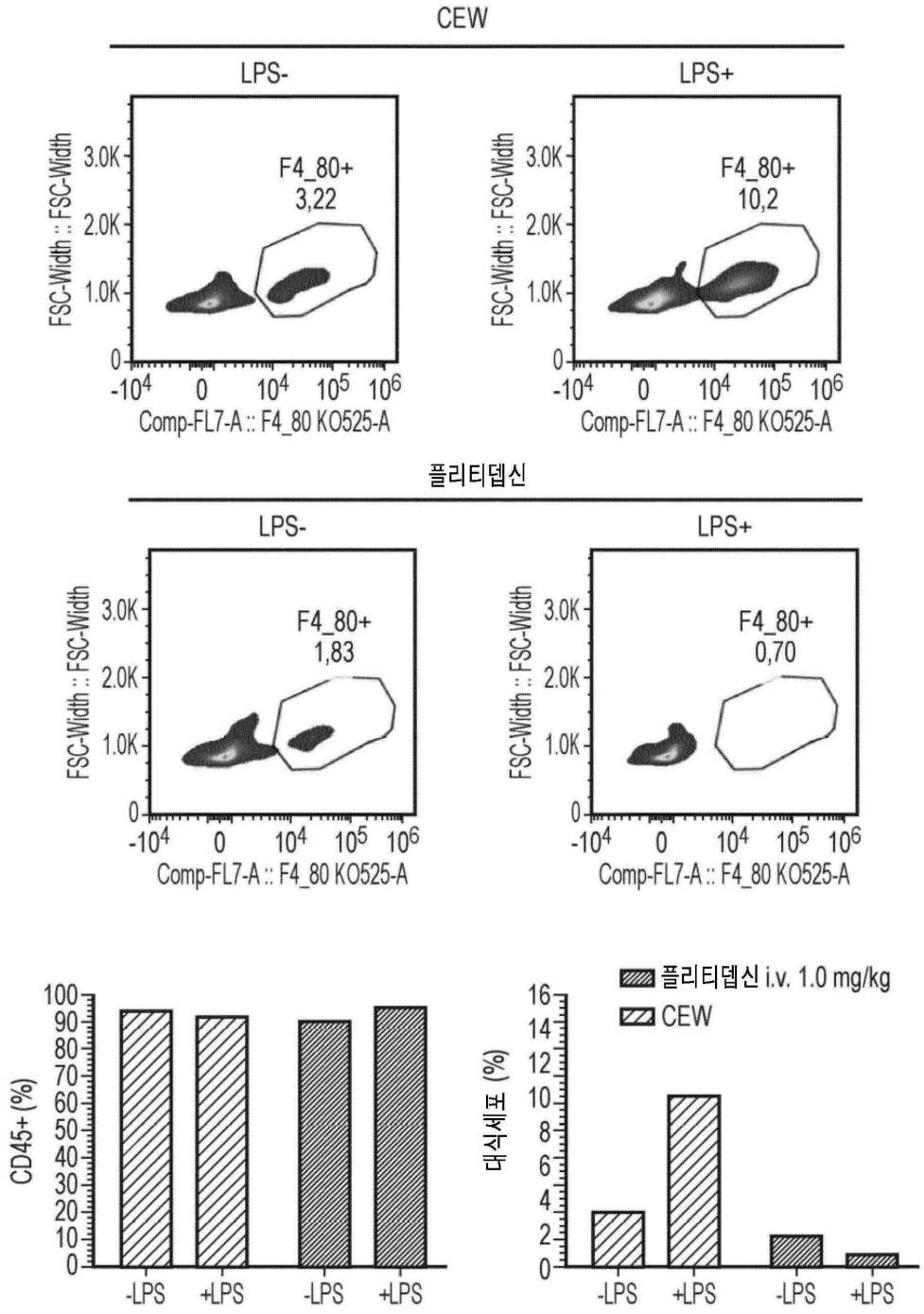
도면3bb


IL-10
6 hours
3 hours
+LPS
-LPS
플리티뎁신 i.v. 1.0 mg/kg
CEW
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
배수 증가
CD45+ (%)
-LPS +LPS -LPS +LPS -LPS +LPS -LPS +LPS
3 hours
6 hours
대식세포 (%)
-LPS +LPS -LPS +LPS -LPS +LPS -LPS +LPS
3 hours
6 hours

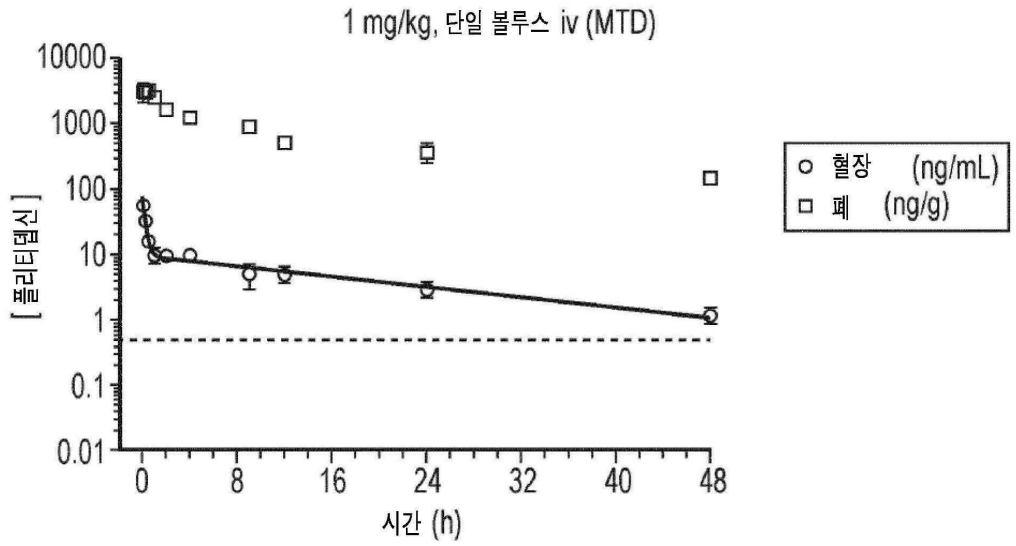
도면4a


LPS (20 μg; ip)
플리티뎁신 (1 mg/kg, SB iv)
플리티뎁신 (1 mg/kg, SB iv)
LPS (20 μg; ip)
CEW (SB iv)
CEW (SB iv)
3 hours
BAL
세포:
유세포 분석

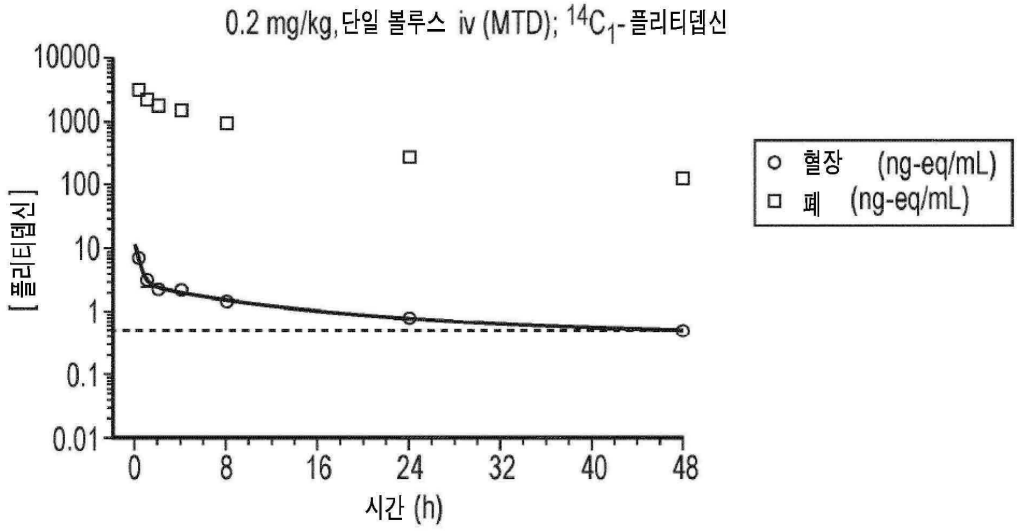
도면4b


CEW
LPS-
LPS+
F4_80+
3,22
F4_80+
10,2
FSC-Width :: FSC-Width
Comp-FL7-A :: F4_80 KO525-A
플리티뎁신
F4_80+
1,83
F4_80+
0,70
CD45+ (%)
-LPS
+LPS
대식세포 (%)
플리티뎁신 i.v. 1.0 mg/kg
CEW

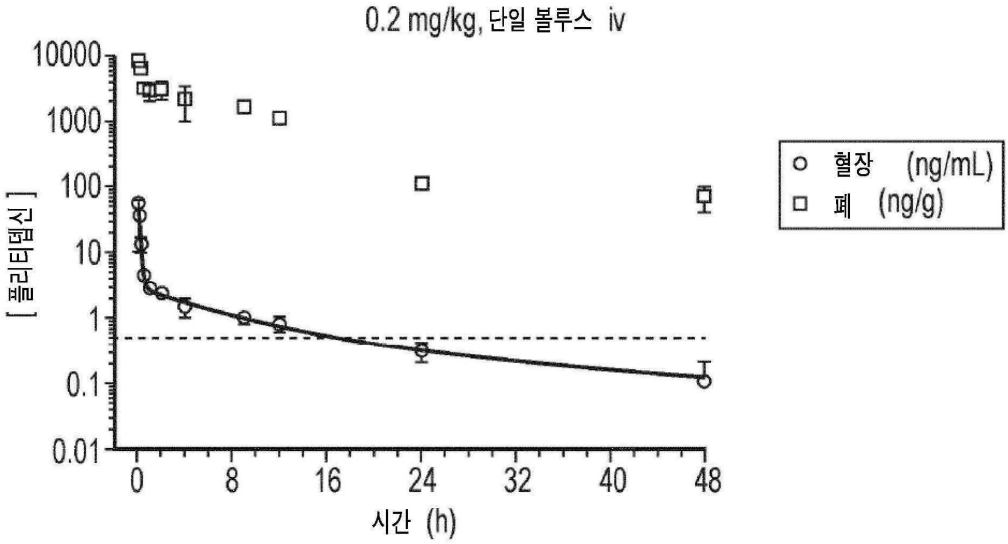
도면5a


1 mg/kg, 단일 볼루스 iv (MTD)
[플리티뎁신]
10000
1000
100
10
1
0.1
0.01
0
8
16
24
32
40
48
시간 (h)
혈장 (ng/mL)
폐 (ng/g)

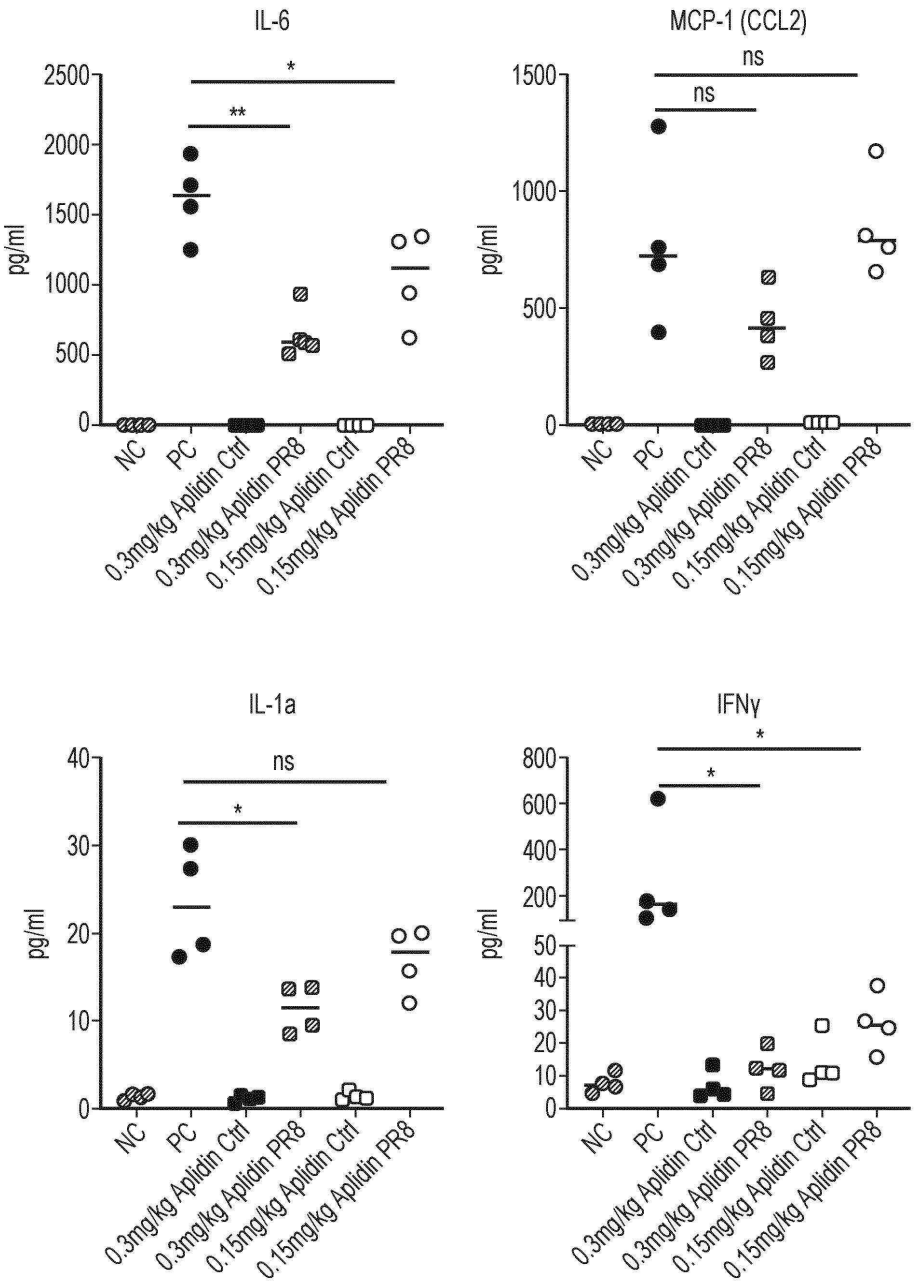
도면5b


0.2 mg/kg, 단일 볼루스 iv (MTD); $^{14}C_1$-플리티뎁신
[플리티뎁신]
10000
1000
100
10
1
0.1
0.01
0
8
16
24
32
40
48
시간 (h)
혈장 (ng-eq/mL)
폐 (ng-eq/mL)

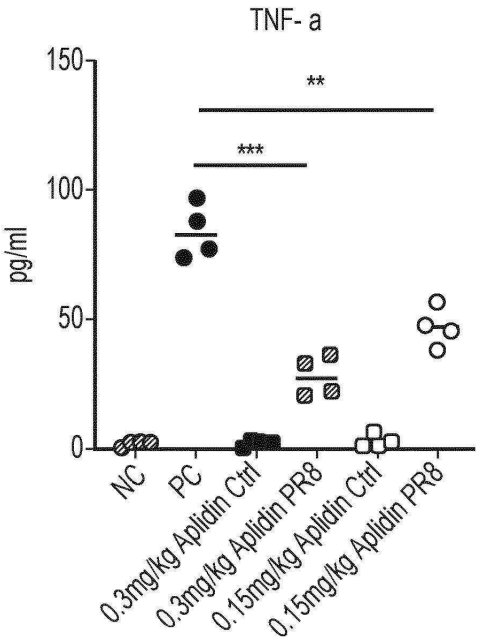
도면5c


0.2 mg/kg, 단일 볼루스 iv
10000
1000
100
10
1
0.1
0.01
[플리티덴신]
0
8
16
24
32
40
48
시간 (h)
혈장 (ng/mL)
폐 (ng/g)

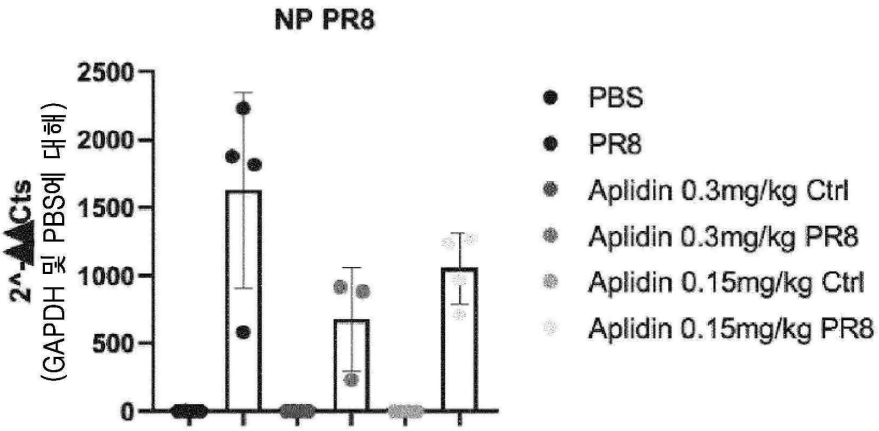
도면6a


IL-6
pg/ml
2500
2000
1500
1000
500
0
*
**
NC
PC
0.3mg/kg Aplidin Ctrl
0.3mg/kg Aplidin PR8
0.15mg/kg Aplidin Ctrl
0.15mg/kg Aplidin PR8
MCP-1 (CCL2)
pg/ml
1500
1000
500
0
ns
ns
IL-1a
pg/ml
40
30
20
10
0
ns
*
IFNγ
pg/ml
800
600
400
200
50
40
30
20
10
0
*
*

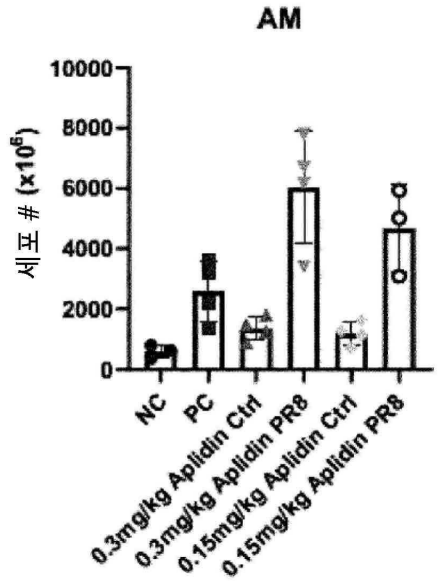
도면6b


TNF- a
150
100
50
0
pg/ml
**
***
NC
PC
0.3mg/kg Aplidin Ctrl
0.3mg/kg Aplidin PR8
0.15mg/kg Aplidin Ctrl
0.15mg/kg Aplidin PR8

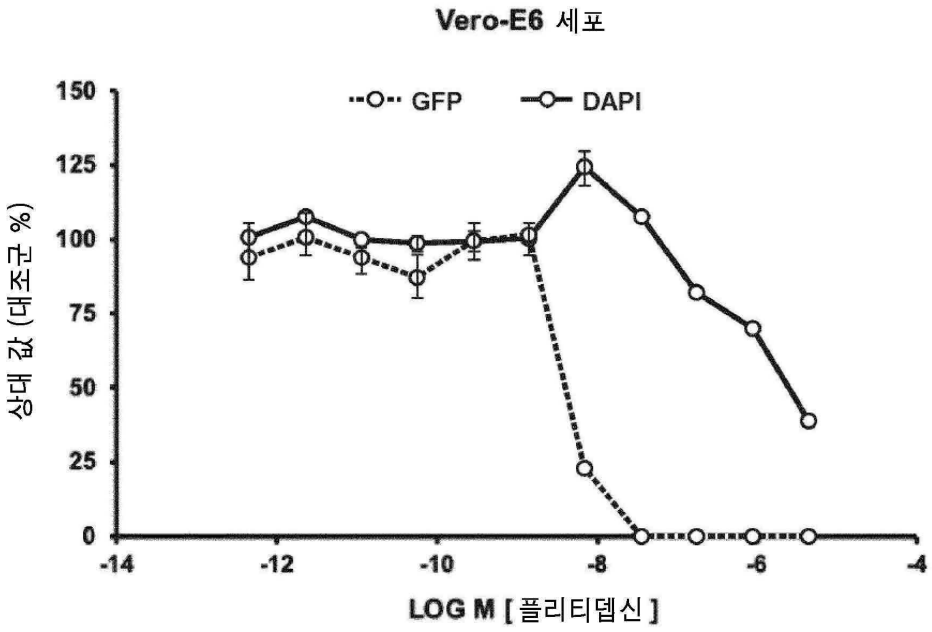
도면7


NP PR8
2500
2000
1500
1000
500
0
2^-ΔΔCts
(GAPDH 및 PBS에 대해)
PBS
PR8
Aplidin 0.3mg/kg Ctrl
Aplidin 0.3mg/kg PR8
Aplidin 0.15mg/kg Ctrl
Aplidin 0.15mg/kg PR8

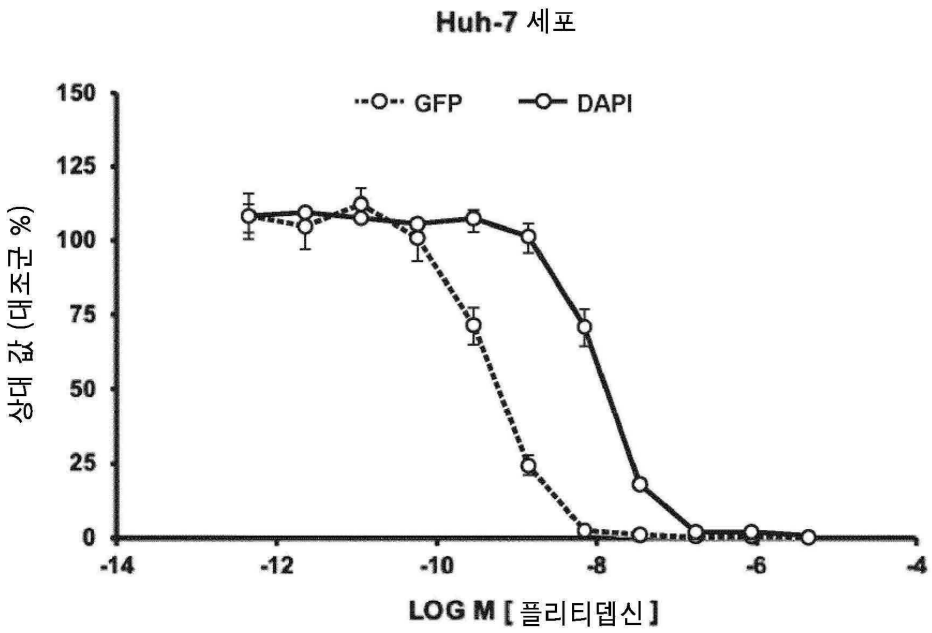
도면8


AM
세포 # (x10^6)
10000
8000
6000
4000
2000
0
NC
PC
0.3mg/kg Aplidin Ctrl
0.3mg/kg Aplidin PR8
0.15mg/kg Aplidin Ctrl
0.15mg/kg Aplidin PR8

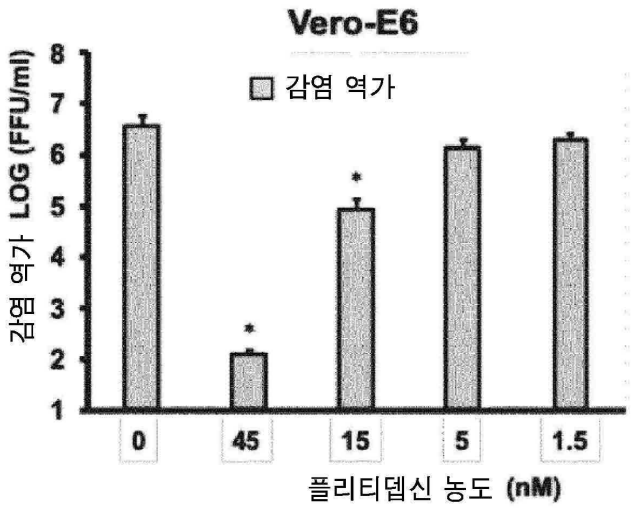
도면9


Vero-E6 세포
GFP
DAPI
상대 값 (대조군 %)
150
125
100
75
50
25
0
-14
-12
-10
-8
-6
-4
LOG M [플리티뎁신]

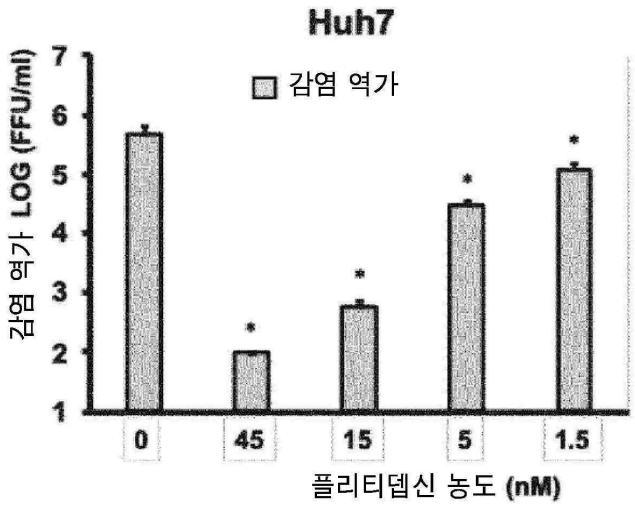
도면10


Huh-7 세포
GFP
DAPI
150
125
100
75
50
25
0
상대 값 (대조군 %)
-14
-12
-10
-8
-6
-4
LOG M [플리티뎁신]

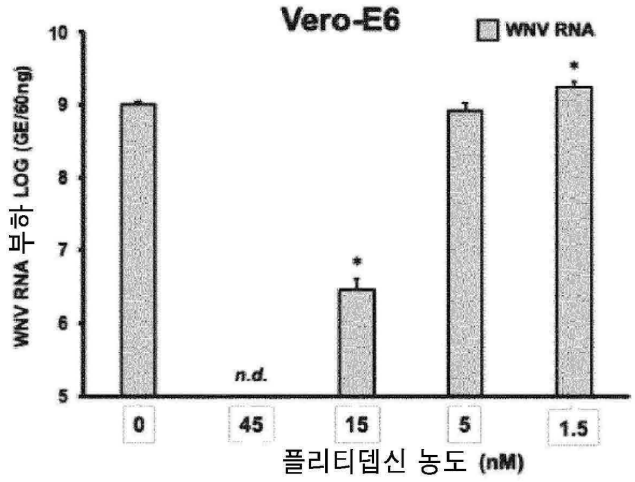
도면11a


Vero-E6
감염 역가
감염 역가 LOG (FFU/ml)
8
7
6
5
4
3
2
1
0
45
15
5
1.5
플리티뎁신 농도 (nM)

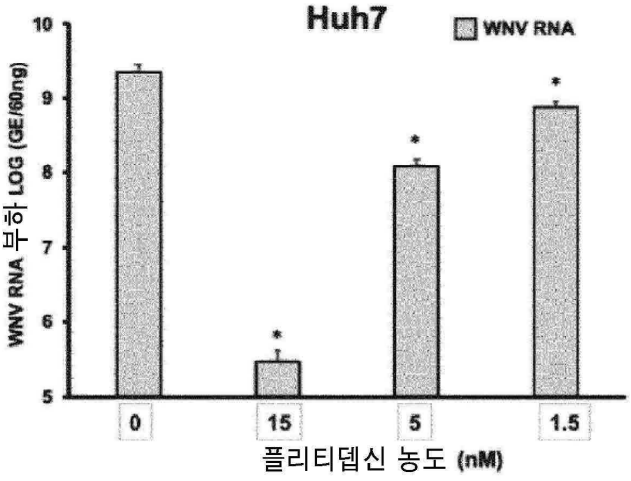
도면11b



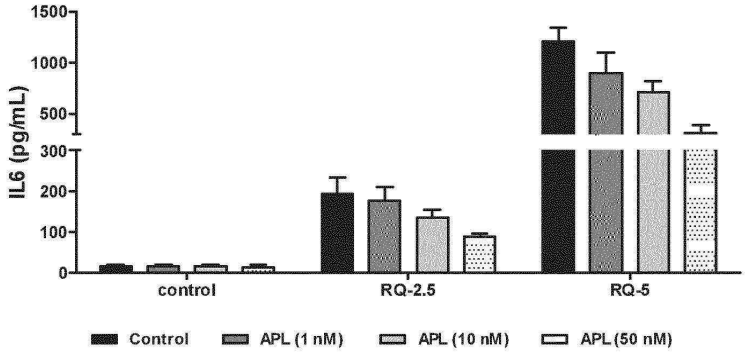
도면12a



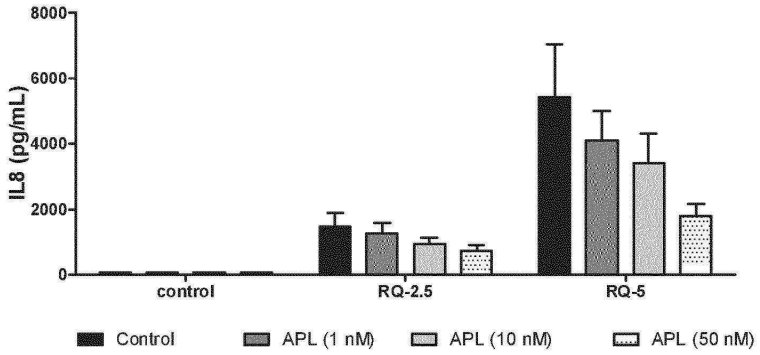
도면12b



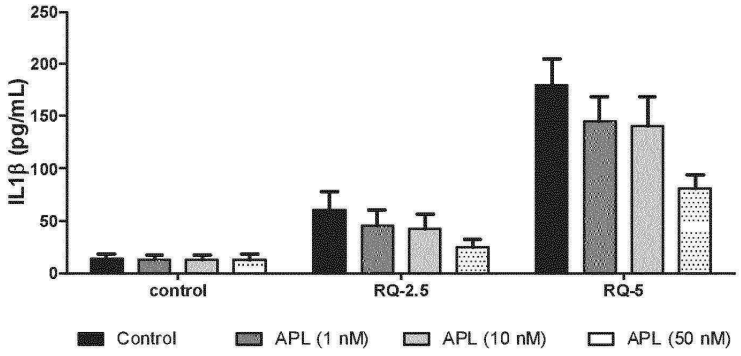
도면13a



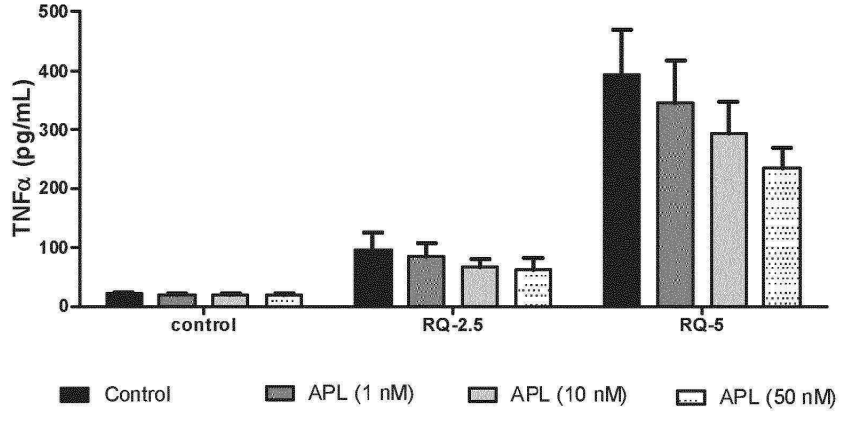
도면13b



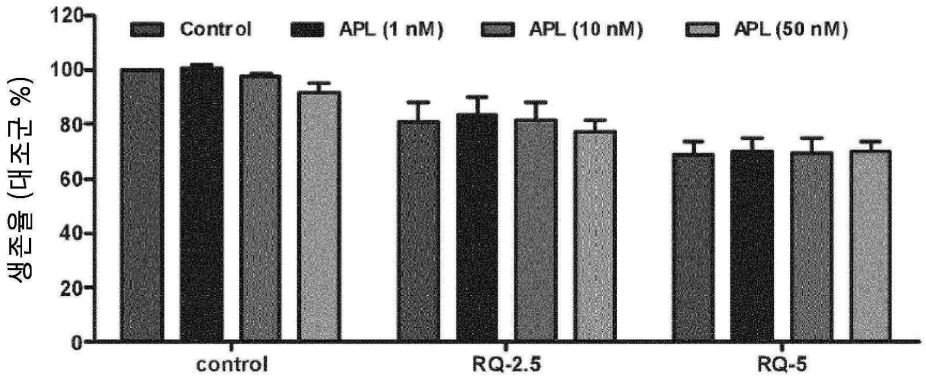
도면13c



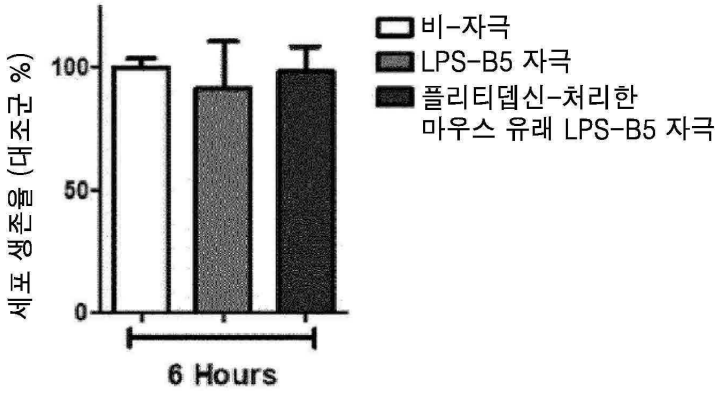
도면13d



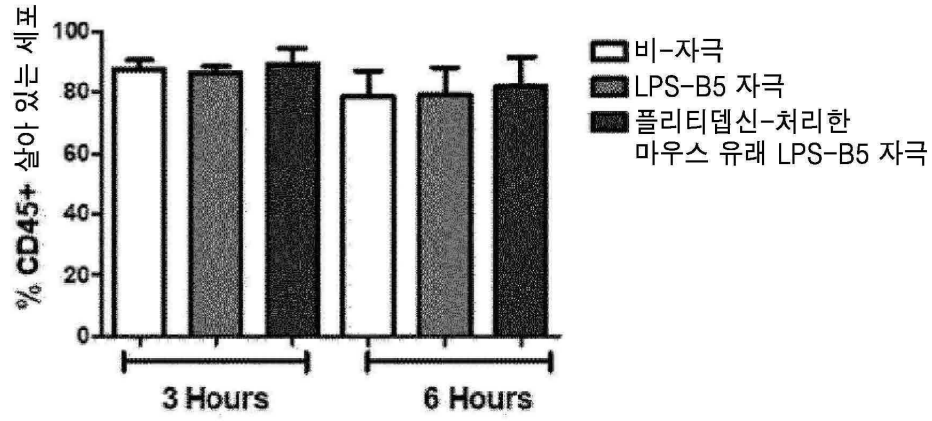
도면13e



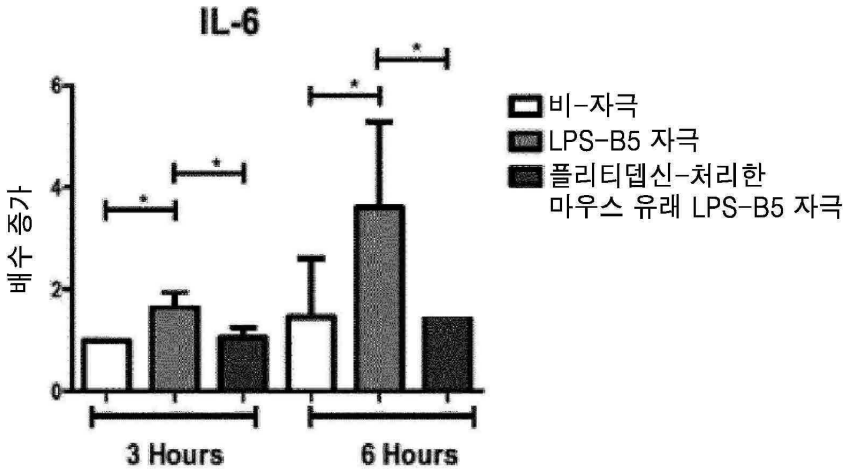
도면14a



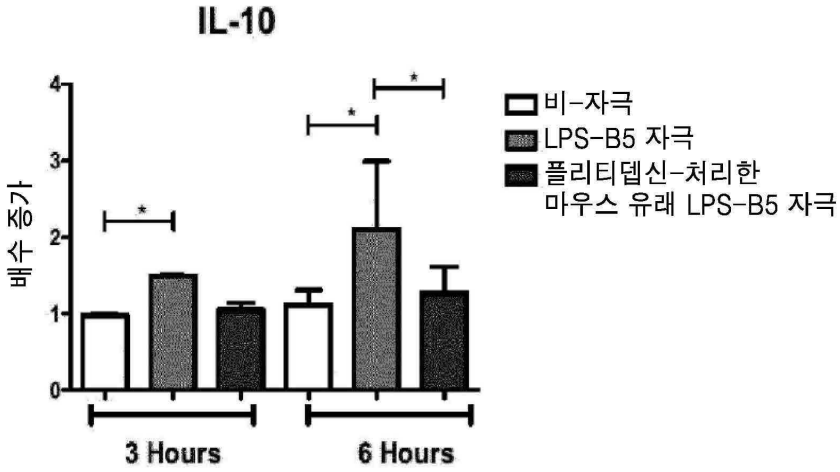
도면14b



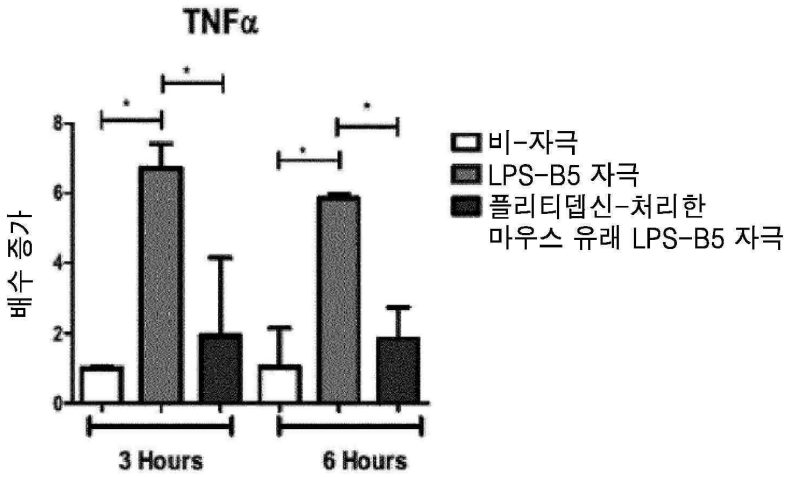
도면14c



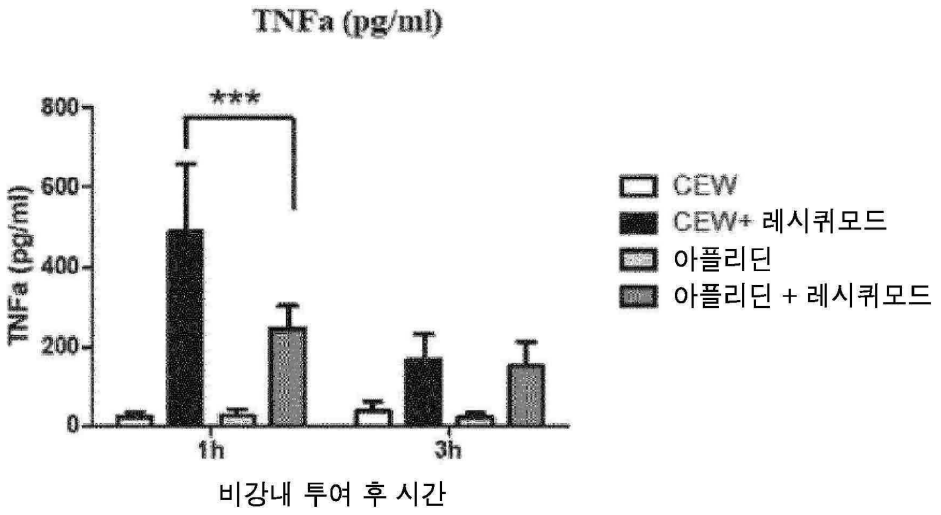
도면14d



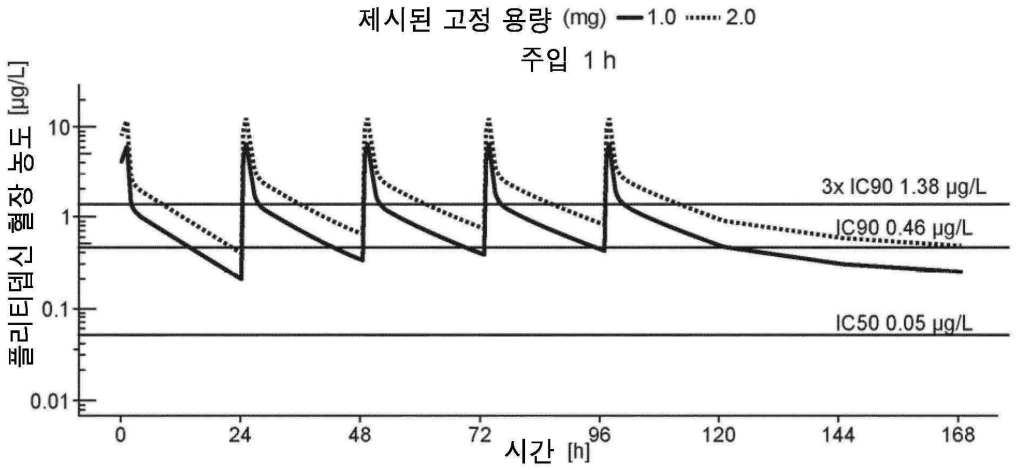
도면14e



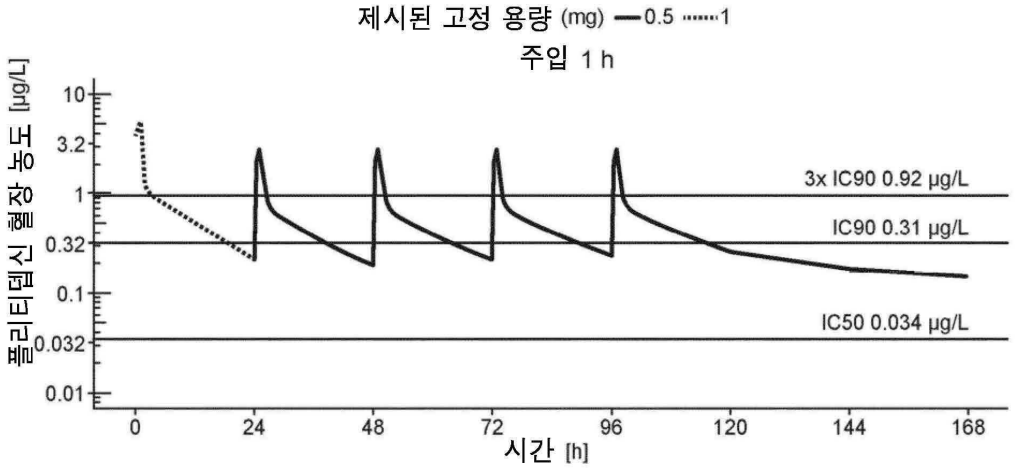
도면15



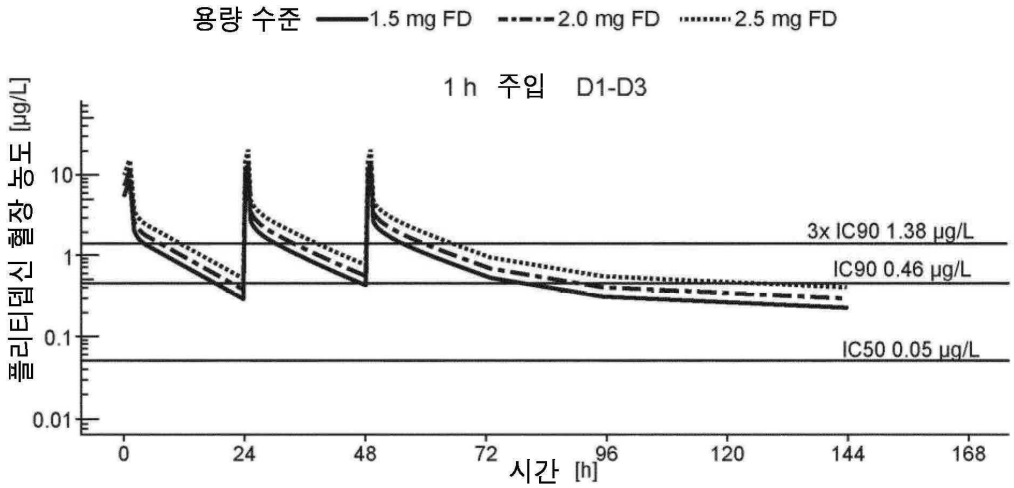
도면16



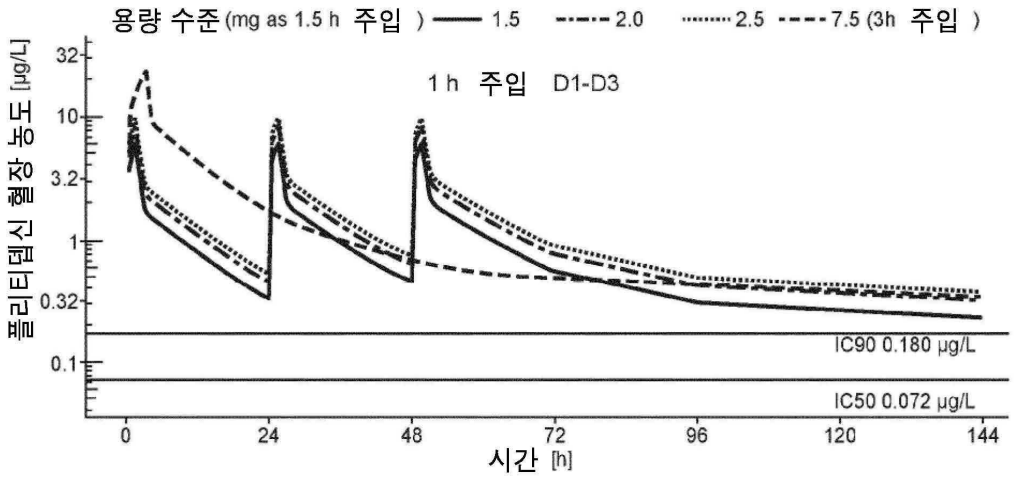
도면17



도면18


용량 수준
1.5 mg FD
2.0 mg FD
2.5 mg FD
1 h 주입 D1-D3
플리티덴신 혈장 농도 [μg/L]
10
1
0.1
0.01
3x IC90 1.38 μg/L
IC90 0.46 μg/L
IC50 0.05 μg/L
0
24
48
72
96
120
144
168
시간 [h]

도면19


용량 수준 (mg as 1.5 h 주입)
1.5
2.0
2.5
7.5 (3h 주입)
1 h 주입 D1-D3
플리티덴신 혈장 농도 [μg/L]
32
10
3.2
1
0.32
0.1
IC90 0.180 μg/L
IC50 0.072 μg/L
0
24
48
72
96
120
144
시간 [h]