



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0066303
(43) 공개일자 2022년05월24일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07H 19/16 (2006.01) A61K 47/26 (2017.01)
A61K 47/38 (2006.01) A61K 9/00 (2006.01)
A61K 9/10 (2006.01) A61P 31/18 (2006.01)
A61P 31/20 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07H 19/16 (2013.01)
A61K 47/26 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2022-7011982
(22) 출원일자(국제) 2022년09월11일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2022년04월11일
(86) 국제출원번호 PCT/US2020/050511
(87) 국제공개번호 WO 2021/050956
국제공개일자 2021년03월18일
(30) 우선권주장
62/898,679 2019년09월11일 미국(US)

(71) 출원인
더 스크립스 리서치 인스티튜트
미국 캘리포니아주 92037 라 줄라 노스 토리 파
인 로드 10550
(72) 발명자
채터지 아르나브 쿠마르
미국 캘리포니아 92129 샌디에고 13268 토리 크레
스트 코트
굽타 아닐 쿠마르
미국 캘리포니아 92109 샌디에고 2038 토마스 애
비뉴 아파트 6
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
황의만, 황성필

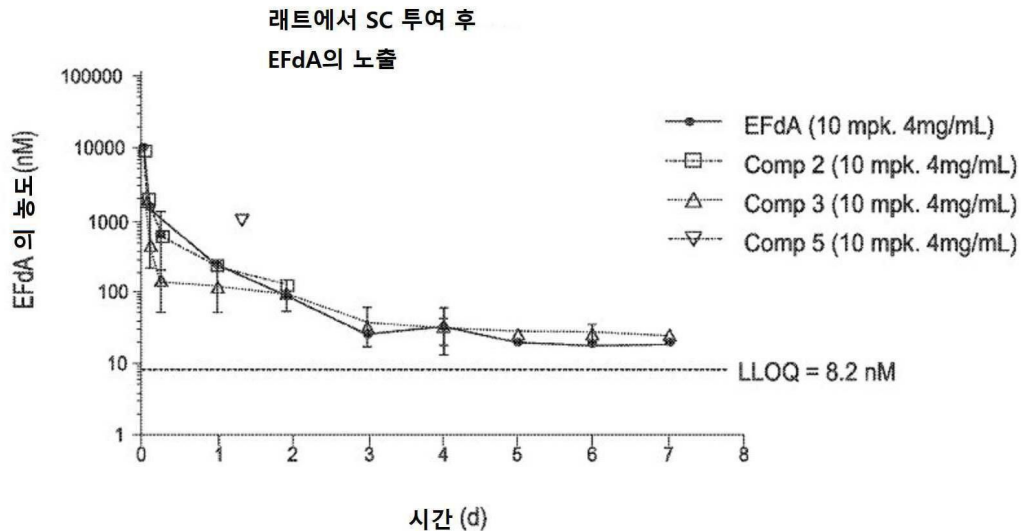
전체 청구항 수 : 총 36 항

(54) 발명의 명칭 항바이러스 전구약물 및 이의 약제학적 조성물

(57) 요약

4'-에티닐-2'-플루오로-2'-데옥시아데노신의 디에스테르 및 이의 수성 비경구 현탁액은 인간 면역결핍 바이러스(HIV)의 연장된 생체내 바이러스 억제를 제공한다.

대표도



(52) CPC특허분류

A61K 47/38 (2013.01)

A61K 9/0019 (2013.01)

A61K 9/10 (2013.01)

A61P 31/18 (2018.01)

A61P 31/20 (2018.01)

(72) 발명자

엘리아센 안데르스 미칼

미국 캘리포니아 90032 로스앤젤레스 2468 노스 디
트먼 애비뉴

조셉 손 배리

미국 캘리포니아 92106 샌디에고 1005 쿡코드 스트
리트

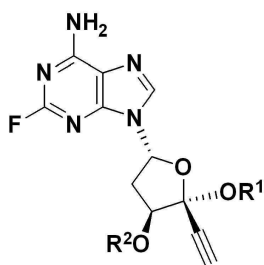
명세서

청구범위

청구항 1

화학식 II의 화합물:

화학식 II



위의 화학식 II에서,

R^1 및 R^2 는 독립적으로 $-C(=O)R^3$ 이고 R^3 은 이소프로필, 3-펜틸, 사이클로펜틸, 페닐, 및 페닐메틸로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

청구항 2

제1항에 있어서, 결정질 (2R,3S,5R)-5-(6-아미노-2-플루오로-9H-퓨린-9-일)-2-에티닐-2-(이소부티릴옥시)메틸 테트라하이드로푸란-3-일 이소부티레이트인 화합물.

청구항 3

제1항에 있어서, 결정질 (2R,3S,5R)-5-(6-아미노-2-플루오로-9H-퓨린-9-일)-2-((2-에틸부타노일)옥시)메틸-2-에티닐테트라하이드로푸란-3-일 2-에틸부타노에이트인 화합물.

청구항 4

제1항에 있어서, 결정질 (2R,3S,5R)-5-(6-아미노-2-플루오로-9H-퓨린-9-일)-2-(((사이클로펜탄카보닐)옥시)메틸)-2-에티닐-테트라하이드로푸란-3-일 사이클로펜탄카복실레이트인 화합물.

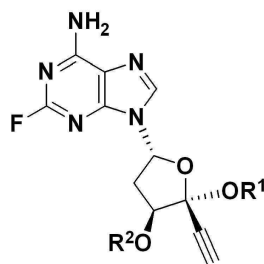
청구항 5

제1항에 있어서, 결정질 (2R,3S,5R)-5-(6-아미노-2-플루오로-9H-퓨린-9-일)-2-에티닐-2-((2-페닐아세톡시)메틸)테트라하이드로푸란-3-일 2-페닐아세테이트인 화합물.

청구항 6

화학식 II의 화합물; 비이온성 계면활성제; 현탁제; 및 물을 포함하는 수성 비경구 현탁액:

화학식 II



위의 화학식 II에서,

R^1 및 R^2 는 독립적으로 $-C(=O)R^3$ 이고 R^3 은 이소프로필, 3-펜틸 (1-에톡시프로필, 사이클로펜틸, 및 페닐메틸로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 화합물이 현탁액의 약 3 내지 4.5중량% 범위의 양으로 존재하고, 상기 비이온성 계면활성제가 현탁액의 약 0.1 내지 약 0.5중량% 범위의 양으로 존재하고, 상기 현탁제가 현탁액의 약 0.1 내지 약 0.5중량% 범위의 양으로 존재하는 수성 비경구 현탁액.

청구항 8

제6항에 있어서, 비이온성 계면활성제가 폴리옥시에틸렌 (20) 소르비탄 모노올레에이트인 수성 비경구 현탁액.

청구항 9

제6항에 있어서, 현탁제가 메틸 셀룰로스, 카복시메틸 셀룰로스, 하이드록시프로필 셀룰로스, 및 하이드록시프로필메틸 셀룰로스로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 수성 비경구 현탁액.

청구항 10

제6항에 있어서, 화합물이 결정질 (2R,3S,5R)-5-(6-아미노-2-플루오로-9H-퓨린-9-일)-2-에티닐-2-((2-페닐아세톡시)메틸)-테트라하이드로푸란-3-일 2-페닐아세테이트인 수성 비경구 현탁액.

청구항 11

제6항에 있어서, 화합물이 결정질 (2R,3S,5R)-5-(6-아미노-2-플루오로-9H-퓨린-9-일)-2-((2-에틸부타노일)옥시)메틸-2-에티닐테트라하이드로푸란-3-일 2-에틸부타노에이트인 수성 비경구 현탁액.

청구항 12

환자에게 유효량의 제1항의 화합물을 수성 현탁액으로 비경구 투여함을 포함하여, 환자에서 인간 면역결핍 바이러스를 생체내 억제하는 방법.

청구항 13

제12항에 있어서, 투여가 3개월 투여 섭생인 방법.

청구항 14

제12항에 있어서, 상기 유효량이 약 80 내지 약 800mg 범위의 용량인 방법.

청구항 15

제12항에 있어서, 상기 유효량이 약 200 내지 약 400mg 범위의 용량인 방법.

청구항 16

제12항에 있어서, 화합물이 결정질 (2R,3S,5R)-5-(6-아미노-2-플루오로-9H-퓨린-9-일)-2-에티닐-2-((2-페닐아세

특시)메틸) 테트라하이드로푸란-3-일 2-페닐아세테이트인 방법.

청구항 17

제12항에 있어서, 화합물이 결정질 (2R,3S,5R)-5-(6-아미노-2-플루오로-9H-퓨린-9-일)-2-((2-에틸부타노일)옥시)메틸-2-에티닐테트라하이드로푸란-3-일 2-에틸부타노에이트인 방법.

청구항 18

인간 대상체에게 유효량의 제1항의 화합물을 수성 현탁액으로 반년 투여 섭생(semi-annual dosing regimen)으로 비경구 투여함을 포함하여, HIV에 감염되지 않은 인간 대상체에서 HIV 감염을 예방하는 방법.

청구항 19

제18항에 있어서, 상기 화합물이 약 80 내지 약 800mg 범위의 단위 투여량으로 투여되는 방법.

청구항 20

제18항에 있어서, 상기 화합물이 용량당 약 0.5 내지 약 4mL 범위의 용량 부피로 투여되는 방법.

청구항 21

제6항 또는 제7항에 있어서, 비이온성 계면활성제가 폴리옥시에틸렌 (20) 소르비탄 모노올레에이트인 수성 비경구 현탁액.

청구항 22

제6항, 제7항 또는 제21항 중의 어느 한 항에 있어서, 현탁제가 메틸 셀룰로스, 카복시메틸 셀룰로스, 하이드록시프로필 셀룰로스, 및 하이드록시프로필메틸 셀룰로스로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 수성 비경구 현탁액.

청구항 23

제6항, 제7항, 제21항 또는 제22항 중의 어느 한 항에 있어서, 화합물이 결정질 (2R,3S,5R)-5-(6-아미노-2-플루오로-9H-퓨린-9-일)-2-에티닐-2-((2-페닐아세톡시)메틸)-테트라하이드로푸란-3-일 2-페닐아세테이트 또는 결정질 (2R,3S,5R)-5-(6-아미노-2-플루오로-9H-퓨린-9-일)-2-((2-에틸부타노일)옥시)메틸-2-에티닐테트라하이드로푸란-3-일 2-에틸부타노에이트인 수성 비경구 현탁액.

청구항 24

환자에게 유효량의 제1항 내지 제5항 중의 어느 한 항의 화합물을 수성 현탁액으로 비경구 투여함을 포함하여, 환자에서 인간 면역결핍 바이러스(HIV)를 생체내 억제하는 방법.

청구항 25

제24항에 있어서, 투여가 3개월 투여 섭생인 방법.

청구항 26

인간 대상체에게 유효량의 제1항 내지 제5항 중의 어느 한 항의 화합물을 수성 현탁액으로 반년 투여 섭생으로 비경구 투여함을 포함하여, HIV에 감염되지 않은 인간 대상체에서 HIV 감염을 예방하는 방법.

청구항 27

제24항 내지 제26항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 유효량이 약 80 내지 약 800mg 범위의 용량인 방법.

청구항 28

제24항 내지 제27항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 화합물이 용량당 약 0.5 내지 약 4mL 범위의 용량 부피로 투여되는 방법.

청구항 29

제24항 내지 제28항 중의 어느 한 항에 있어서, 화합물의 투여가 *생체내에서* 화합물로부터의 EFdA의 서방출 또는 제어 방출 또는 지속 방출을 제공하는 방법.

청구항 30

제24항 내지 제29항 중의 어느 한 항에 있어서, 화합물에 대한 투여 경로가 경구, 비경구, 피하 주사, 정맥내, 근육내, 흉골내 주사, 주입, 및 이식물로부터의 방출로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 방법.

청구항 31

제24항 내지 제30항 중의 어느 한 항에 있어서, 화합물이 수성 현탁액, 용액으로 제형화되거나 서방출을 위해 입자로 캡슐화되는 방법.

청구항 32

제24항 내지 제31항 중의 어느 한 항에 있어서, 바이러스 감염이 HIV에 의해 유발되는 방법.

청구항 33

제24항 내지 제31항 중의 어느 한 항에 있어서, 바이러스 감염이 HBV에 의해 유발되는 방법.

청구항 34

제24항 내지 제33항 중의 어느 한 항에 있어서, 추가의 항-HIV 및/또는 항-HBV 제제를 투여함을 추가로 포함하는 방법.

청구항 35

제34항에 있어서, 추가의 제제가 카보테그라비르, 돌루테그라비르, 도라비린, 엘비테그라비르, 레시베린, 테노포비르 디소프록실 푸마레이트, 테노포비르 알라페나미드 푸마레이트 및 라미부딘으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 방법.

청구항 36

HIV 또는 HBV의 바이러스 감염의 치료 및 예방을 위한 제1항 내지 제11항 중의 어느 한 항의 화합물의 용도.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원에 대한 상호참조

[0002] 본 출원은 2019년 9월 11일자로 출원된 미국 가출원 제62/898,679호의 이익을 주장하며, 이것은 전문이 본원에 참고로 포함된다.

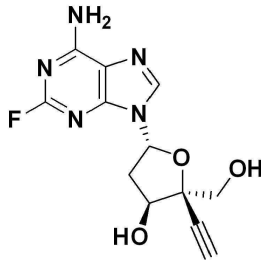
[0003] 발명의 분야

[0004] 본 발명은 후천성 면역결핍 증후군(AIDS)의 치료에 유용한 항바이러스 화합물 및 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0005] 화학식 I로 나타내어지는 4'-에티닐-2-플루오로-2'-테옥시아데노신(EFdA)(MK-8591)은 뉴클레오시드 역전사효소의 억제제로서 효과적인 뉴클레오시드 유사체이며(Current Opinion in HIV and AIDS 2018, 13, 294-299) HIV-1 감염의 치료 및 노출전 예방에 항레트로바이러스제로서 유용하다. EFdA는 세포에서 HIV 역전사효소를 억제하는 활성 삼인산 동화산물(EFdA-TP)로 대사된다:

[0006] [화학식 I]



[0007]

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 그러나, EFdA는 상대적으로 높은 수용해도와 상대적으로 짧은 시간 경로의 혈장 농도를 갖는다. 그 결과 EFdA는 인간 면역결핍 바이러스(HIV) 감염의 치료 또는 노출전 예방을 위해 환자에게 투여될 때 제한된 기간의 바이러스 억제만을 제공할 수 있다. 따라서, 투여 후 바이러스 억제 기간을 연장할 수 있는 제형에 대한 필요성이 존재한다. 본 발명의 화합물 및 약제학적 제제는 이러한 요구를 충족시킨다.

과제의 해결 수단

[0009] 본 발명의 항바이러스 화합물은 EFdA의 디에스테르이고 제한된 수중 용해도를 갖는다. EFdA는 생리학적 pH에서 0.877 mg/mL의 수용해도를 갖는 반면, 본 발명의 EFdA의 디에스테르는 생리학적 pH에서 0.03 mg/mL 미만, 바람직하게는 0.002 mg/mL 미만의 수용해도를 갖는다. 이러한 EFdA의 디에스테르는 결정질이고, HIV 억제의 연장된 기간을 제공하는데 유용하며, 약제학적으로 허용되는 담체 중의 현탁액으로서 비경구적으로 투여될 수 있다. 인간 대상체에 대한 바람직한 예방 용량은 용량당 약 0.5 내지 약 4밀리리터의 용량 부피로 약 6개월 간격으로 비경구적으로 투여되는 약 80mg 내지 약 800mg 범위의 EFdA 디에스테르이다. 인간 환자에 대한 바람직한 치료 용량은 용량당 약 0.5 내지 약 4밀리리터의 용량 부피로 약 3개월 간격으로 비경구적으로 투여되는 약 80mg 내지 약 800mg 범위의 EFdA 디에스테르이다.

[0010] 본 발명의 항바이러스 화합물을 함유하는 비경구 제형은 항바이러스 화합물을 약제학적으로 허용되는 부형제와 함께 포함하는 건조 제형 또는 수성 또는 유성 매질 중 항바이러스 화합물의 안정한 현탁액일 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0011] 도면에서,

도 1은 EFdA의 X선 분말 회절도(XPRD)를 보여준다.

도 2는 EFdA의 시차 주사 열량법(DSC) 및 열-중량 분석(TGA)에 의해 제공된 데이터를 보여준다.

도 3은 화합물 2에 대한 DSC 및 TGA 데이터를 보여준다.

도 4는 화합물 3에 대한 XPRD 데이터를 보여준다.

도 5는 화합물 3에 대한 DSC 데이터를 보여준다.

도 6은 화합물 3에 대한 TGA 데이터를 보여준다.

도 7은 화합물 5에 대한 XPRD 데이터를 보여준다.

도 8은 화합물 5에 대한 DSC 데이터를 보여준다.

도 9는 화합물 5에 대한 TGA 데이터를 보여준다.

도 10은 표 2에 제공된 데이터를 그래픽 형식으로 보여준다.

도 11은 표 3에 제공된 데이터를 그래픽 형식으로 보여준다.

도 12는 표 4의 데이터를 그래픽 형식으로 보여준다.

도 13은 실시예 10으로부터의 데이터를 그래픽 형식으로 보여준다.

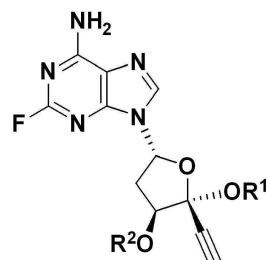
도 14는 화합물 2에 대한 XPRD 데이터를 보여준다.

도 15는 화합물 6에 대한 XPRD 데이터를 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

연장된 생체내 바이러스 억제제는 화학식 II로 표시되는 디에스테르에 의해 달성된다:

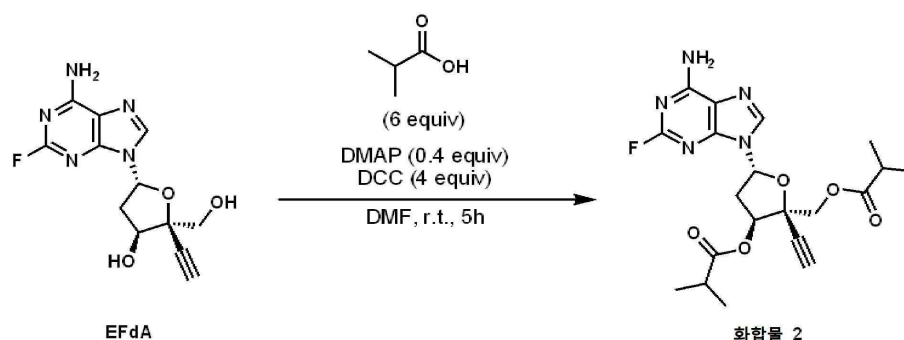
[화학식 II]



위의 화학식 II에서,

R^1 및 R^2 는 독립적으로 $-C(=O)R^3$ 이고 R^3 은 이소프로필, 3-펜틸, 사이클로펜틸 및 페닐메틸로 이루어진 그룹의 구성원이다. 전술한 디에스테르는 EFdA를 원하는 산 또는 산 무수물과 반응시키고 디에스테르를 결정질 화합물로 회수함으로써 제조된다. 하기 실시예는 바람직한 디에스테르의 제조를 예시한다.

(2R,3S,5R)-5-(6-아미노-2-플루오로-9H-퓨린-9-일)-2-에티닐-2-((이소부티릴옥시)메틸)-3-일 이소부티레이트의 제조

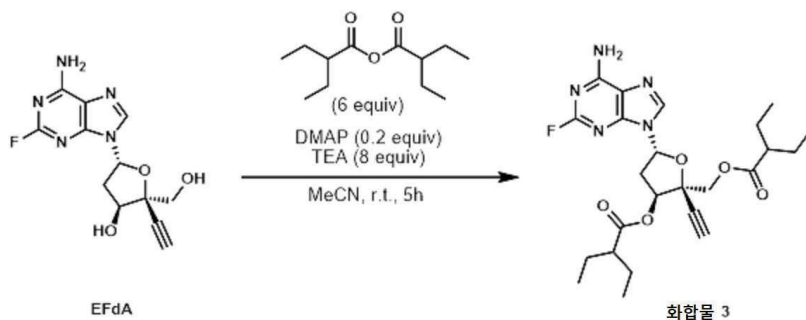


무수 디메틸 포름아미드(DMF) (100 mL) 중의 EFdA(화합물 1) (3 g, 6.8 mmol, 1 equiv.), 4-디메틸아미노피리딘(DMAP) (499 mg, 2.73 mmol, 0.4 equiv.)의 혼합물에 주위 온도에서 이소부티르산 (8.4 g, 27.3 mmol, 6 equiv.)을 적가하였다. 반응물을 실온에서 5시간 동안 교반하였다. 연장된 반응 시간 동안 관찰된 NH_2 그룹의 간헐적 알킬화로 인해 LCMS에 의해 반응을 모니터링하였다. 그후 반응 혼합물을 여과하여 부산물인 우레아를 제거하였다. 아세트니트릴을 사용하여 반응 혼합물을 세정하였다. 그후, 반응 혼합물을 물로 2회, 염수로 1회 세척한 다음 용매를 건조시키고, 여과하고, 감압하에 증발시켰다. 생성된 조 물질을 헥산 중 60-70% 에틸 아세테이트(EtOAc)를 사용한 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 화합물 2를 유리질 고체로서 수득하였다. 수득된 유리질 고체를 최소량의 이소프로판올에 분산시킨 다음 회전 증발시켜 순수한 화합물 2를 백색 고체로서 수득하였다(2.5 g, 85% 수율). LC-MS (ESI+): m/z 434.49 $[M+H]^+$.

약 250 mg/g의 화합물 2를 수성 0.25% CMC-Na/0.5% TWEEN-80 (26 게이지 주사 가능성)에 현탁시키고 40℃/75% 상대 습도에서 2주 동안 안정화를 거쳤다. 도 14는 배양 전(하단 플롯), 1주 후(중간 플롯) 및 2주 후(상단 플롯), 배양된 현탁액으로부터의 화합물 6에 대한 XPRD 데이터를 제공하며, 이것은 화합물이 현탁액에서 우수한 결정도를 유지함을 보여준다.

(2R,3S,5R)-5-(6-아미노-2-플루오로-9H-퓨린-9-일)-2-(((2-에틸부타노일)옥시)메틸)-2-에티닐테트라하이드로푸

란-3-일 2-에틸부타노에이트의 제조



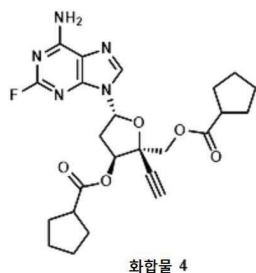
[0022]

[0023]

0℃로 냉각된 무수 아세트니트릴(MeCN) (43 mL) 중의 EFdA (1 g, 3.4 mmol, 1 equiv.), 2-에틸부탄산 무수물 (4.4 g, 20.4 mmol, 6 equiv.), 트리에탄올아민(TEA) (3.8 ml, 27.2 mmol, 8 equiv.)의 혼합물에 0℃에서 4-디메틸아미노피리딘(DMAP) (83 mg, 0.68 mmol, 0.2 equiv.)을 첨가하였다. 생성된 혼합물을 0℃에서 0.5시간 동안 교반한 다음 실온에서 5시간 동안 교반하였다. 연장된 반응 시간 동안 관찰된 NH₂ 그룹의 간헐적 알킬화로 인해 LCMS에 의해 반응을 모니터링하였다. 반응 혼합물을 메탄올로 켄칭시키고, 용매를 감압하에 증발시켰다. 생성된 조 물질을 헥산 중 60-70% 에틸 아세테이트(EtOAc)를 사용한 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 화합물 3을 유리질 고체로서 수득하였다. 수득된 유리질 고체를 최소량의 이소프로판올에 분산시킨 다음 회전 증발시켜 순수한 화합물 3을 백색 고체로서 수득하였다(1.33 g, 80% 수율). LC-MS (ESI+): m/z 490.56 [M+H]⁺.

[0024]

(2R,3S,5R)-5-(6-아미노-2-플루오로-9H-퓨린-9-일)-2-(((사이클로펜탄카보닐)옥시)메틸)-2-에틸테트라하이드로푸란-3-일 사이클로펜탄카복실레이트의 제조



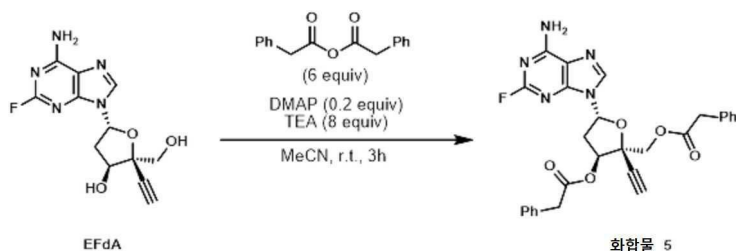
[0025]

[0026]

화합물 4는 화합물 2에 대해 뒤따르는 절차를 사용하되 이소부티르산 대신에 사이클로펜탄산을 사용하여 제조하였다. LC-MS (ESI+): m/z 486.44 [M+H]⁺.

[0027]

(2R,3S,5R)-5-(6-아미노-2-플루오로-9H-퓨린-9-일)-2-에틸-2-((2-페닐아세톡시)메틸) 테트라하이드로푸란-3-일 2-페닐아세테이트의 제조



[0028]

[0029]

0℃로 냉각된 무수 아세트니트릴(MeCN) (22 mL) 중의 EFdA(499 mg, 1.7 mmol, 1 equiv.), 2-페닐아세트산 무수물 (2.6 g, 10.2 mmol, 6 equiv.), 트리에탄올아민(TEA) (1.9 ml, 13.6 mmol, 8 equiv.)의 혼합물에 0℃에서 4-디메틸아미노피리딘(DMAP) (42 mg, 0.34 mmol, 0.2 equiv.)를 첨가하였다. 반응물을 0℃에서 0.5시간 동안 교반한 다음 실온에서 3시간 동안 교반하였다. 연장된 반응 시간 동안 관찰된 NH₂ 그룹의 간헐적 알킬화로 인해 LCMS에 의해 반응을 모니터링하였다. 반응 혼합물을 메탄올로 켄칭시키고 용매를 감압하에 증발시켰다. 생성된 조 물질을 헥산 중 60-70% 에틸 아세테이트(EtOAc)를 사용한 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 화합물 5를 유리질 고체로서 수득하였다. 수득된 유리질 고체를 최소량의 이소프로판올에 분산시킨 다음 회전 증발

시켜 순수한 화합물 5를 백색 고체로서 수득하였다(694 mg, 77% 수율). LC-MS (ESI⁺): m/z 530.52 [M+H]⁺.

[0030] 표 1은 핵 자기 공명(NMR) 및 액체 크로마토그래피-질량 분석(LC-MS)에 의해 수득된 화합물 특성화 데이터를 제시한다.

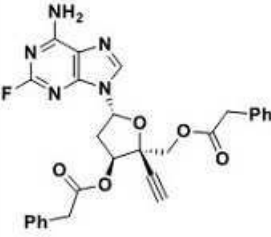
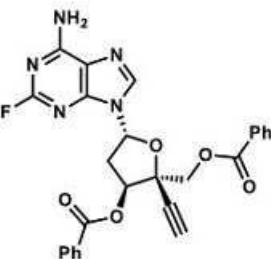
[0031] (2R,3S,5R)-5-(6-아미노-2-플루오로-9H-퓨린-9-일)-2-((벤조일옥시)메틸)-2-에티닐 테트라하이드로푸란-3-일 벤조에이트, 화합물 6

[0032] 화합물 6은 4.5 equiv의 상응하는 산을 사용하여 화합물 2에 대해 사용된 바와 유사한 절차를 사용하여 제조하였다. LC-MS (ESI⁺): m/z 502.41 [M+H]⁺. 약 275 mg/g의 화합물 6을 수성 0.25% CMC-Na/0.5% TWEEN-80 (26 게이지 주사 가능성)에 현탁시키고 40°C/75% 상대 습도에서 2주 동안 안정화를 거쳤다. 도 15는 배양 전(하단 플롯), 1주 후(중간 플롯) 및 2주 후(상단 플롯), 배양된 현탁액으로부터의 화합물 6에 대한 XPRD 데이터를 제공하며, 이것은 화합물이 현탁액에서 우수한 결정도를 유지함을 보여준다.

[0033] 표 1: 바람직한 화합물

Cpd #	구조	특성화 데이터 (NMR 및 LC-MS)
2		¹ H NMR (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 8.34 (s, 1H), 7.96 (s, 1H), 7.87 (s, 1H), 6.35 (t, <i>J</i> = 6.6 Hz, 1H), 5.68 (t, <i>J</i> = 5.6 Hz, 1H), 4.40 (dd, <i>J</i> = 11.9, 1.5 Hz, 1H), 4.21 (d, <i>J</i> = 10.4 Hz, 1H), 3.81 (s, 1H), 3.18 (dt, <i>J</i> = 13.6, 6.8 Hz, 1H), 2.69 – 2.57 (m, 2H), 1.2 – 1.1 (m, 6H), 1.08 – 0.98 (m, 6H). MS-ESI: m/z 434.49 관찰치 (M+H) ⁺ C ₂₀ H ₂₄ FN ₅ O ₅ 에 대한 분석 계산치: C, 55.42; H, 5.58; N, 16.16. 실측치: C, 55.48; H, 5.73; N, 15.94 수용해도 (pH 7.4): 0.028 mg/mL
3		¹ H NMR (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 8.35 (s, 1H), 7.91 (d, <i>J</i> = 39.8 Hz, 2H), 6.35 (t, <i>J</i> = 6.8 Hz, 1H), 5.73 (t, <i>J</i> = 6.5 Hz, 1H), 4.38 (dd, <i>J</i> = 11.8, 2.5 Hz, 1H), 4.24 (dd, <i>J</i> = 11.7, 2.5 Hz, 1H), 3.81 (s, 1H), 3.20 (dt, <i>J</i> = 13.5, 6.8 Hz, 1H), 2.61 (dt, <i>J</i> = 13.2, 6.6 Hz, 1H), 2.29 (ddd, <i>J</i> = 8.3, 5.6, 2.6 Hz, 1H), 2.13 (tt, <i>J</i> = 8.9, 5.9 Hz, 1H), 1.72 – 1.31 (m, 8H), 0.88 (td, <i>J</i> = 7.5, 2.3 Hz, 6H), 0.80 – 0.66 (m, 6H). MS-ESI: m/z 490.56 관찰치 (M+H) ⁺ 수용해도 (pH 7.4): <0.002 mg/mL
4		¹ H NMR (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 8.34 (s, 1H), 7.92 (d, <i>J</i> = 36.1 Hz, 2H), 6.34 (t, <i>J</i> = 6.8 Hz, 1H), 5.68 (t, <i>J</i> = 6.2 Hz, 1H), 4.39 (dt, <i>J</i> = 11.6, 1.8 Hz, 1H), 4.21 (dd, <i>J</i> = 11.6, 2.4 Hz, 1H), 3.81 (s, 1H), 3.18 (dt, <i>J</i> = 13.9, 6.9 Hz, 1H), 2.90 – 2.78 (m, 1H), 2.74 – 2.57 (m, 2H), 1.93 – 1.44 (m, 16H). MS-ESI: m/z 486.44 관찰치 (M+H) ⁺ 수용해도 (pH 7.4): <0.001 mg/mL

[0034]

Cpd #	구조	특성화 데이터 (NMR 및 LC-MS)
5		^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.31 (s, 1H), 7.93 (d, J = 37.3 Hz, 2H), 7.39 – 7.12 (m, 10H), 6.35 (t, J = 6.7 Hz, 1H), 5.71 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 4.41 (d, J = 11.7 Hz, 1H), 4.25 (d, J = 11.3 Hz, 1H), 3.88 – 3.71 (m, 3H), 3.63 (q, J = 15.8 Hz, 2H), 3.11 (dt, J = 14.0, 7.0 Hz, 1H), 2.63 (dt, J = 12.5, 6.4 Hz, 1H). MS-ESI: m/z 530.52 관찰치 ($M+H$) ⁺ 수용해도 (pH 7.4): <0.002 mg/mL
6		^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.38 (s, 1H), 8.09 (dt, J = 8.6, 1.4 Hz, 2H), 8.02 – 7.83 (m, 4H), 7.76 – 7.68 (m, 1H), 7.66 (td, J = 7.4, 1.5 Hz, 1H), 7.59 (td, J = 7.6, 7.1, 1.7 Hz, 2H), 7.53 – 7.44 (m, 2H), 6.54 (t, J = 6.8 Hz, 1H), 6.16 – 6.08 (m, 1H), 4.72 (d, J = 11.6 Hz, 1H), 4.59 (d, J = 11.5 Hz, 1H), 3.84 (s, 1H), 3.41 – 3.32 (m, 1H), 2.85 (dt, J = 13.4, 6.3 Hz, 1H). MS-ESI: m/z 502.41 관찰치 ($M+H$) ⁺ 수용해도 (pH 7.4): <0.002 mg/mL

[0035]

[0036]

전술한 논의 및 실시예는 예시적이며, 제한하는 것으로 간주되어서는 안된다. 본 발명의 정신 범위 내에서 또 다른 변형이 여전히 가능하고 당업계의 숙련가들에게 용이하게 제시될 것이다.

[0037]

안정한 결정 형태의 합성

[0038]

실시예 1

[0039]

화합물 2 (~200 mg)를 교반하면서 최소량의 아세톤에 완전히 용해시켰다. 그후 주위 온도에서 용매를 서서히 증발시켰다. 이것은 재결정화된 샘플을 백색 분말로서 생성하였다. 에틸 아세테이트, 메탄올 및 테트라하이드로푸란을 포함한 다른 용매가 또한 사용될 수 있다.

[0040]

본 발명의 화합물의 제형화를 위한 일반적인 실시예

[0041]

모든 제형화 프로토콜은 26-게이지 주사 가능성(syringeability)을 가진 안정한 수성 현탁액을 생성하였다.

[0042]

EFdA 제형.

[0043]

EFdA를 분쇄하여 #80 체를 통해 체질하였다. 예비형성된 0.25% 나트륨 카복시메틸 셀룰로스(나트륨 CMC) & 0.1% 폴리옥시에틸렌 (20) 소르비탄 모노올레에이트 (TWEEN-80)의 용액을 약 300 mg의 EFdA (화합물 1)에 첨가하여 약 1그램(300 mg의 1 + ~700 mg의 중합체 용액)의 최종 제형 (약 300 mg/g)의 현탁액을 제공하였다. 그후 현탁액을 병육에서 10분 동안 욱 초음파 처리하였다. 제형의 밀도는 1.064 g/mL이고 319.2 mg/mL 농도의 EFdA를 제공하였다.

[0044]

실시예 2

[0045]

재결정화된 화합물 2를 분쇄하여 초지망 스크린(Wire Cloth Screen)을 위한 No. 80 미국 표준 체 시리즈(U.S. Standard Sieve Series)(공칭 체 구멍 0.180 mm)를 통해 체질하였다. 250 mg의 화합물 2를 적절한 용기에 취하고 예비형성된 0.25% 나트륨 카복시메틸셀룰로스(CMC) 및 0.1% TWEEN-80의 용액을 첨가하여 1그램(250 mg의 화합물 2 + ~750 mg의 중합체 용액)의 최종 제형 (~250 mg/g)을 수득하였다. 그후 현탁액을 병육에서 5분 동안 프로브 초음파 처리하였다(초음파 처리 시간: 5분; 펄스 진폭: 20; 펄스 온 시간: 30초; 펄스 오프 시간: 20초).

[0046]

실시예 3

- [0047] 화합물 3을 분쇄하여 초지망 스크린을 위한 No. 80 미국 표준 체 시리즈(공칭 체 구멍 0.180 mm)를 통해 체질하였다. 250 mg의 화합물 3을 적절한 용기에 취하고 예비형성된 0.25% 나트륨 CMC 및 0.5% TWEEN-80의 용액을 첨가하여 1그램(250 mg의 화합물 3 + ~750 mg의 중합체 용액)의 최종 현탁액 (~250 mg/g)을 수득하였다. 그후 현탁액을 병육에서 5분 동안 프로브 초음파 처리하였다(초음파 처리 시간: 5분; 펄스 진폭: 20; 펄스 온 시간: 30 초; 펄스 오프 시간: 20초). 현탁액의 밀도는 1.004 g/mL였다. 상기 현탁액은 250.88 mg/mL의 화합물 3(~150 mg/mL의 EFdA)을 함유하였다.
- [0048] **실시예 4**
- [0049] 화합물 5를 분쇄하여 초지망 스크린을 위한 No. 80 미국 표준 체 시리즈(공칭 체 구멍 0.180 mm)를 통해 체질하였다. 200 mg의 화합물 5를 적절한 용기에 취하고 예비형성된 0.25% 나트륨 CMC 및 0.5% TWEEN-80의 용액을 첨가하여 1그램(200 mg의 화합물 5 + ~800 mg의 중합체 용액)의 최종 현탁액 (~200 mg/g)을 수득하였다. 그후 현탁액을 병육에서 5분 동안 프로브 초음파 처리하였다(초음파 처리 시간: 5분; 펄스 진폭: 20; 펄스 온 시간: 30 초; 펄스 오프 시간: 20초). 현탁액의 밀도는 1.047 g/mL였다. 상기 현탁액은 209.4 mg/mL의 화합물 5(~115.97 mg/mL의 EFdA)를 함유하였다.
- [0050] **약동학(PK) 연구**
- [0051] **동물:** 동물(수컷 SD 래트 ~ 200-250g 및 수컷 붉은털 원숭이 ~ 2-3kg)은 승인된 공급업체(SLAC Laboratory Animal Co. Ltd., Shanghai, China 및/또는 Topgene Biotechnology, Wuhan city, Hubei Province, China)로부터 입수하였다.
- [0052] **순응/격리:** 도착 후, 수의사 또는 기타 승인된 직원이 동물을 전반적인 건강에 대해 평가하였다. 동물을 연구에 배치하기 전에 적어도 3일 동안 순응시켰다.
- [0053] **축산:** 동물을 순응 동안은 그룹별로 수용하고 연구 동안은 개별적으로 수용하였다. 동물실 환경을 제어할 것이다(목표 조건: 온도 18 내지 26°C, 상대 습도 30 내지 70%, 12시간 인공 조명 및 12시간 암흑). 온도 및 상대 습도를 매일 모니터링하였다.
- [0054] **동물 케어/리 삽입:** 없음
- [0055] 동물을 투여하기 적어도 12시간 전에 금식시켰다. 모든 동물은 투여 4시간 후에 인증된 설치류 및 비-설치류 식이(카탈로그 # M01-F, SLAC Laboratory Animal Co. Ltd., Shanghai, China)에 임의로 자유롭게 접근할 수 있었다.
- [0056] 물은 동물에게 임의로 자유롭게 제공하기 전에 오토클레이빙하였다. 물의 주기적 분석을 수행하고 결과를 보관하였다. 검출 수준에서 연구의 목적, 수행 또는 결과를 방해할 것으로 예상되는 알려진 오염물질이 식이 또는 물에 없었다.
- [0057] **1. 용량 제형**
- [0058] **SC 제형:** 현탁액은 상기 실시예 2-5 및 표 2-4에 기술된 절차에 따라 투여 당일에 제조하였다. 현탁액을 제조한지 4시간 이내에 동물에게 투여하였다. 2개의 20 µL 분취량의 각각의 제조된 현탁액을 1.5 mL의 폴리프로필렌 미세원심분리 튜브로 옮기고 LC/UV 또는 LC-MS/MS에 의해 용량 검증을 실행하였다.
- [0059] **2. 용량 투여**
- [0060] 현탁액은 시설 표준 작업 절차(SOP)에 따라 피하 주사(SC)를 통해 투여하였다.
- [0061] **3. 샘플 수집**
- [0062] 래트의 경우 각 시점에서 복재 정맥에서 대략 200 µL의 혈액을, 붉은털 원숭이의 경우 0.5mL를 채혈하였다. 모든 혈액 샘플을 항응고제로 4 µL의 K₂EDTA (0.5M)를 함유하는 미세원심분리 튜브로 옮기고 혈장을 위해 처리될 때까지 젖은 얼음 위에 두었다.
- [0063] **4. 혈액/혈장 처리**
- [0064] 혈액: 혈액 샘플을 수집 30분 이내에 대략 4°C, 3000g에서 15분간 원심분리에 의해 혈장을 위해 처리하였다. 혈장 샘플을 폴리프로필렌 튜브에 저장하고, 드라이 아이스로 급속 동결시키고 LC/MS/MS 분석시까지 -70±10°C에서 유지하였다.

- [0065] **5. 샘플 분석**
- [0066] **용량 농도 검증**
- [0067] · 제조된 현탁액의 분취량을 각 현탁액의 중간 위치에 이중으로 수집하였다.
- [0068] · 각 분취량에서 활성 성분의 농도는 LC/UV 또는 LC/MS/MS 방법에 의해 결정하였다.
- [0069] **생물분석법 및 샘플 분석**
- [0070] · 상응하는 생물학적 매트릭스에서 활성 성분(시험 화합물)의 정량적 측정을 위한 LC-MS/MS 방법은 비-GLP 준수 하에 개발되었다.
- [0071] · 정량 하한(LLOQ)을 포함한 방법에는 8개의 0이 아닌 검량 표준이 있는 검량 곡선이 적용되었다.
- [0072] · 저, 중, 고농도로 구성된 일련의 품질 관리(QC) 샘플이 이 방법에 적용되었다.
- [0073] · 연구 샘플 분석은 LC-MS/MS 방법을 사용하여 검량 표준 세트 및 QC 샘플 2세트와 동시에 수행될 것이다(샘플 수가 48개 이상인 경우, QC 샘플 2세트가 있는 2개의 검량 곡선이 적용되었다).
- [0074] · 허용 기준:
- [0075] 선형성: 최소 6개의 검량 표준이 혈장에서 이들의 공칭 값의 $\pm 20\%$ 이내로 역 계산되었다.
- [0076] 정확도: QC 샘플 6개 중 최소 4개가 혈장에서 이들의 공칭 값의 $\pm 20\%$ 이내로 역 계산되었다.
- [0077] 특이성: 단일 블랭크 매트릭스에서 계산된 평균 농도는 LLOQ의 0.5배여야 한다.
- [0078] 감도: LLOQ는 1~3ng/mL를 목표로 할 것이다.
- [0079] 캐리오버(carryover): 최고 표준 주사 직후 단일 블랭크 매트릭스에서 계산된 평균 캐리오버 농도는 LLOQ여야 한다. 캐리오버가 기준을 충족할 수 없는 경우, 사내 생물분석 SOP에 따라 캐리오버 퍼센트를 추정해야 한다.
- [0080] **6. 데이터 분석**
- [0081] 혈장 농도 대 시간 데이터는 Phoenix WINNONLIN 6.3 소프트웨어 프로그램을 사용하여 비구획 접근법으로 분석하였다. C_{max} , T_{max} , $T_{1/2}$, $AUC_{(0-t)}$, $AUC_{(0-inf)}$, $MRT_{(0-t)}$, $MRT_{(0-inf)}$, %F 및 혈장 농도 대 시간 프로파일의 그래프가 생성되었다.
- [0082] **실시예 5:**
- [0083] 대조군으로서 EFdA(1)를 포함한 여러 전구약물을 피하 투여 경로를 통해 단일 용량 래트 PK 연구에 적용하였다. 모든 동물은 0.5% CMC-Na 및 0.5% TWEEN-80 중의 수성 현탁액으로서 EFdA의 4 mg/mL 농도 및 10 mg/kg의 등가 용량을 주사받았다. 유사한 노출이 관찰되었지만, 모든 화합물 **2**, **3** 및 **5**는 1주일 이상 동안 정량 하한(LLOQ)보다 높은 EFdA의 혈장 수준을 나타내었고 C_{max} 는 EFdA보다 훨씬 낮았다.
- [0084] 표 2는 10 mg/kg 등가 용량의 EFdA의 피하(SC) 투여 후 화합물 **1**, **2**, **3** 및 **5**에 대한 래트 PK 데이터를 보여준다. 그래픽 형식이 데이터가 도 10에 나타내어져 있다.

[0085] 표 2: SC 래트 PK: EFdA, 화합물 1, 2, 3 및 5에 대한 EFdA 수준

	SC Comp 1 (EFdA)	SC Comp 2	SC Comp 3	SC Comp 5
EFdA의 용량 (mg/kg)	10	10	10	10
EFdA의 농도 (mg/kg)	4	4	4	4
부형제	0.5% CMC-Na / 0.5% TWEEN-80			
T _{1/2} (h)	1.3 ± 0.2	17 ± 4	NA	12 ± 4
MRT _{0-last} (h)	1.6 ± 0.1	12 ± 1.2	20 ± 4	13 ± 3
T _{max} (h)	0.5	2 ± 1.1	4 ± 2.3	7 ± 0
C _{max} (nM)	11,548 ± 3,173	1,795 ± 337	287 ± 177	968 ± 374
AUC _{0-last} (nM*h)	22,528 ± 1,680	19,771 ± 1,219	6,475 ± 2,909	18,516 ± 4,409
AUC _{0-inf} (nM*h)	23,235 ± 2,000	22,745 ± 748	NA	19,993 ± 3,525

[0086]

[0087] 실시예 6:

[0088] 최적화 후, SC 래트 PK 연구를 화합물 3에 대해 120 mg/mL, 화합물 5에 대해 116 mg/mL 및 EFdA에 대해 319mg/mL의 등가 농도에서 100mg/kg의 높은 등가 용량으로 다시 수행하였다. 화합물 3은 EFdA보다 지연되고 100배 더 낮은 C_{max}를 제공하였다. 향상된 반감기 및 평균 체류 수명이 또한 관찰되었으며, 이것은 화합물 3 및 화합물 5를 예방에 적합하도록 만든다.

[0089] 표 3A 및 표 3B는 SC 투여 후 화합물 1, 3 및 5에 대한 래트 PK 데이터를 보여준다. 화합물 3에 대한 데이터는 도 11에 그래픽 형식으로 표시된다.

[0090] 표 3A: SC 래트 PK: EFdA 및 화합물 3에 대한 EFdA 수준

	SC Comp 3	SC Comp 3	SC Comp 1 (EFdA)	SC Comp 1 (EFdA)
EFdA의 용량 (mg/kg)	10	100	100	10
부형제	0.5% CMC-Na / 0.5% TWEEN-80	0.25% CMC-Na / 0.1% TWEEN-80	0.25% CMC-Na / 0.1% TWEEN-80	0.5% CMC-Na / 0.5% TWEEN-80
EFdA의 농도 (mg/mL)	4	120	319	4
T _{1/2} (h)	NA	474 ± 168	99 ± 13	1.3 ± 0.2
MRT _{0-last} (h)	20 ± 4	456 ± 17	67 ± 24	1.6 ± 0.1
T _{max} (h)	4 ± 2.3	312 ± 0	1 ± 0	0.5
C _{max} (nM)	287 ± 177	66 ± 21	7,429 ± 1,584	11,548 ± 3,173
AUC _{0-last} (nM*h)	6,475 ± 2909	38,306 ± 101	158,500 ± 17	22,528 ± 1,680
AUC _{0-inf} (nM*h)	NA	52,531 ± 39	159,373 ± 16	23,235 ± 2,000

[0091]

[0092] 표 3B: SC 래트 PK: EFdA 및 화합물 5에 대한 EFdA 수준

	SC Comp 5	SC Comp 1 (EFdA)
EFdA의 용량 (mg/kg)	100	100
부형제	0.25% CMC-Na / 0.1% TWEEN-80	
EFdA의 농도 (mg/mL)	116	319
T _{1/2} (h)	363 ± 411	99 ± 13
MRT _{0-last} (h)	225 ± 64	67 ± 24
C _{max} (nM)	244 ± 54	7,429 ± 1,584
AUC _{0-last} (nM*h)	68,848 ± 16,728	158,500 ± 17
AUC _{0-inf} (nM*h)	129,209 ± 117,423	159,373 ± 16

[0093]

[0094] 실시예 7:

[0095]

래트 PK 분석 후, 초점을 비설치류, 즉 붉은털 원숭이로 옮겼다. 화합물 5 및 EFdA를 50 mg/kg의 EFdA의 등가 용량으로 피하 투여 경로를 통해 단일 용량 붉은털 원숭이 PK 연구에 적용하였다. 수성 현탁액은 화합물 5 및 EFdA 각각에 대해 116 mg/mL 및 319 mg/mL의 등가 농도의 EFdA와 0.25% CMC-Na 및 0.1%/0.5% TWEEN-80을 함유하였다. 화합물 5에서는 EFdA 자체보다 24배 더 낮은 C_{max}와 한 달 이상 동안 LLOQ보다 높은 EFdA의 혈장 수준이 관찰되었다.

[0096]

표 4는 50 mg/kg 등가 용량의 EFdA에서 SC 투여 후 화합물 1 및 5에 대한 붉은털 원숭이 PK 데이터를 보여준다. 데이터는 도 12에 그래픽 형식으로 표시된다.

[0097]

표 4: SC 붉은털 원숭이 PK: 혈장에서 EFdA 또는 화합물 5 투여 후 EFdA 혈장 수준

	SC EFdA EFdA (혈장)	SC 화합물 5 EFdA (혈장)
EFdA의 용량 (mg/kg)	50	50
부형제	0.25% CMC-Na 0.1%TWEEN-80	0.25% CMC-Na 0.5%TWEEN-80
EFdA의 농도 (mg/mL)	319	116
T _{1/2} (h)	165 ± 56	1,063 ± 608
MRT _{0-last} (h)	79 ± 37	1,449 ± 517
T _{max} (h)	4 ± 3.6	264 ± 125
C _{max} (nM)	3,060 ± 1,058	128 ± 52
C _{42days} (nM)	0.6 ± 0.3	60 ± 16
AUC _{0-last} (nM*h)	135,691 ± 22,574	143,330 ± 33,727
AUC _{0-inf} (nM*h)	135,748 ± 22,594	145,643 ± 32,180

[0098]

- [0099] 본 발명의 화합물을 위한 현탁 매질은 주사용수(WFI)와 같은 수성 비히클 또는 호마유, 올리브유 등과 같은 식물유 비히클일 수 있다. 현탁 매질은 또한 비이온성 계면활성제, 현탁제 또는 응집제, 보존제, 완충제, 독성 조절제, 킬레이트화제, 항산화제 등과 같은 약제학적으로 허용되는 부형제를 함유할 수 있다.
- [0100] 예방을 위해, 인간 대상체에 대한 바람직한 예방 용량은 용량당 약 0.5 내지 약 4 밀리리터의 용량 부피로 약 6 개월(반년) 간격으로 비경구적으로 투여되는 약 80mg 내지 약 800mg 범위의 항바이러스 화합물이다.
- [0101] 인간 환자의 치료를 위해, 본 발명의 항바이러스 화합물의 유효량은 바람직하게는 용량당 약 0.5 내지 약 4mL의 용량 부피로 약 80mg 내지 약 800mg, 보다 바람직하게는 3개월 투여 섭생의 경우 약 200 내지 약 400mg 범위의 유효량에 이른다. 그러나, 투여 섭생은 특정 투여 섭생에서 투여된 용량 사이의 시간 간격에 따라 달라질 수 있다.
- [0102] 본원에서 및 청구범위에서 사용된 용어 "유효량"은 투여 후 HIV 역전사효소를 억제하고, HIV 복제를 억제하고, 예방 효과를 발휘하고/하거나 치료 효과를 발휘하기에 충분한 항바이러스 화합물의 양을 의미한다.
- [0103] 청구된 치료 방법과 관련하여 용어 "투여" 및 이의 변형, 예를 들면 "화합물을 투여하는"은 항바이러스 화합물을 환자에게 제공하는 것을 의미하며 자가 투여 뿐만 아니라 다른 사람에 의한 환자에 대한 투여를 포함한다.
- [0104] 바람직하게는, 주사에 적합한 비경구 현탁액은 현탁액의 중량을 기준으로 하여 약 3 내지 45중량% 범위의 양으로 본 발명의 항바이러스 화합물을 함유한다. 바람직한 입자 크기는 약 50 마이크로미터(μm) 이하, 보다 바람직하게는 약 $6\mu\text{m}$ 내지 약 $15\mu\text{m}$ 범위의 평균 입자 크기이다.
- [0105] 바람직한 응집제 또는 현탁제는 선형 중합체, 특히 치환된 셀룰로스, 예를 들면, 메틸 셀룰로스, 카복시메틸 셀룰로스(CMC), 하이드록시프로필 셀룰로스, 하이드록시프로필메틸 셀룰로스 등이다.
- [0106] 바람직한 계면활성제는 비이온성 계면활성제이다. 특히 바람직한 계면활성제는 폴리옥시에틸렌 (20) 소르비탄 모노올레이트(TWEEN-80)이다.
- [0107] 비경구 투여 형태에 더하여, 본 발명의 화합물은 또한 경구 투여 형태로 및 이식물로서 투여될 수 있다.
- [0108] 본 발명의 화합물을 함유하는 투여 형태는 또한 카보테그라비르, 돌루테그라비르, 도라비린, 엘비테그라비르, 레시베린, 테노포비르 디소프록실 푸마레이트, 테노포비르 알라페나미드 푸마레이트, 라미부딘 등과 같은 추가의 항-HIV 및/또는 항-HBV 제제를 포함할 수 있다.
- [0109] 본 발명은, 다양한 실시양태에서, 환자에게 유효량 또는 유효 농도의 화학식 II의 화합물을 투여함을 포함하는, 역전사효소의 억제가 의학적으로 지시된 환자에서 바이러스혈증(viremia)의 예방 또는 바이러스 감염의 치료 방법을 추가로 제공한다. 보다 구체적으로, 화학식 II의 화합물은 이들 전구약물로부터의 EFdA의 서방출 또는 제어 방출 또는 지속 방출을 제공하는 제형으로 투여될 수 있다. 보다 구체적으로, 화학식 II의 화합물은 수성 현탁액, 용액으로 제형화될 수 있고, PLGA 및 당업계에 공지된 이러한 기타 물질을 포함하는 서방출을 위한 입자로 캡슐화될 수 있다. 보다 구체적으로, 바이러스 감염은 HIV 또는 HBV에 의해 유발될 수 있다. 이들 전구약물에 대한 투여 경로는 경구, 비경구 및 이식물로부터의 방출(약물 전달 조성물 및 장치)을 포함할 수 있지만, 이에 제한되지 않는다. 바이러스 감염의 치료 또는 예방을 위한 방법에서, 상기 방법은 카보테그라비르, 돌루테그라비르, 도라비린, 엘비테그라비르, 레시베린, 테노포비르 디소프록실 푸마레이트, 테노포비르 알라페나미드 푸마레이트, 라미부딘 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는 추가의 항-HIV 및/또는 항-HBV 제제를 추가로 포함할 수 있다.
- [0110] **실시예 8**
- [0111] 400mg/gm의 미분된 화합물 5를 함유하는 제형에서 0.3% 및 0.5%의 메틸 셀룰로스로 계면활성제의 농도를 최적화하였다. 제형은 상이한 농도의 TWEEN-80(0.1, 0.2 및 0.3%)으로 제조하였다. 10일 저장 후 제형에서 점도, 유동 및 재분산 시간에서 계면활성제 농도의 유의한 영향은 관찰되지 않았다. 관찰 결과는 표 5에 보고되어 있다.

표 5: 400mg/g의 화합물 5로 계면활성화 농도의 최적화

조성	계면활성제 농도 TWEEN-80	주사 가능성 (26G)	점도	유동	재현탁시키는데 소요된 시간
0.3 % 메틸 셀룰로스	0.1 %	✓	++++	++++	2.2 Min.
	0.2 %	✓	++++	++++	2.5 Min.
	0.3 %	✓	++++	++++	2.3 Min.
0.5 % 메틸 셀룰로스	0.1 %	✓	++++	++++	2.5 Min.
	0.2 %	✓	++++	++++	2.5 Min.
	0.3 %	✓	++++	++++	3.0 Min.

점도 : ++++ 약간 점성, +++ 점성, ++ 매우 점성, + 반고체

유동: + 유동하지 않음, ++ 덜 유동, +++ 양호한 유동, ++++ 매우 양호한 유동 ✓: 주사 가능함

실시예 9

화합물 5 현탁액의 벌크 배치(40gm)를 0.3% 메틸 셀룰로스 및 0.2% TWEEN-80 농도로 제조하였다. 중합체 및 계면활성제 농도가 40중량%의 약물 농도로 최적화되었지만, 가속 및 장기 안정성 연구 동안 35중량%의 약물 농도로 벌크 배치를 또한 제조하였다. 안정 챔버에 부하된 제형의 조성이 표 6에 제공되어 있다. 제형 제조의 상세한 제조 절차 및 조성은 아래에 제공되어 있다.

표 6: 제형 조성

성분	양 (mg/g)	양, g /40 g
화합물 5	350	14
메틸 셀룰로스	3	0.120
TWEEN-80	2	0.08
주사용수 (WFI)	645	25.8

연속 교반하면서 유리병에 메틸 셀룰로스를 필요한 양의 주사용수(WFI)에 천천히 첨가하였다. 생성된 혼합물을 용액이 깨끗하고 자기 교반기를 사용하여 덩어리가 없을 때까지 교반하였다. 수득된 용액에 TWEEN-80 (0.08 g)을 첨가하고 잘 교반하였다.

미분된 화합물 5(14g; 평균 입자 크기 11 μ m)를 자기 교반기를 사용하여 1400rpm으로 격렬하게 교반하면서 제조된 중합체, 계면활성제 용액에 서서히 첨가하였다. 화합물 5를 완전히 첨가한 후, 수득된 현탁액을 20분 동안 교반(600rpm)하여 입자를 균일하게 분산시켰다.

제조된 제형을 분석, pH, % 순도, 재분산성, 주사성, 다형태 및 입자 크기와 같은 다양한 물리화학적 특성에 대해 특성화하였다. 결과는 표 7에 제시되어 있다.

[0121] 표 7: 제조시 제형의 물리화학적 특성화

시험 매개변수	
외관	백색 분산액
pH	5.78
HPLC 에 의한 분석 (표지 클레임 상의 %)	108.8 %
% 순도	99.34 %
재분산성	있음
주사 가능성	있음
다형태	API와 동일함
평균 입자 크기	14 μm

[0122]

[0123] 표 6에 나타난 제형은 표 7에 나타난 특성에 기초하여 허용가능한 것으로 간주되었다.

[0124] 실시예 10

[0125] EFdA 및 화합물 3 및 5의 수성 현탁액을 붉은털 원숭이에게 피하 투여하고, 말초 혈액 단핵구(PBMC)를 주기적으로 회수하고, 약동학적 데이터를 평가하였다. 관찰된 결과는 화합물 둘 다에 대해 표 8, 9 및 10에, 화합물 5에 대해 도 13에 제시되어 있다.

[0126] 표 8: SC 붉은털 원숭이 PK: 화합물 5 또는 EFdA 투여 후 EFdA-TP PBMC 수준

	SC 화합물 5: EFdA-TP (PBMC)	SC EFdA: EFdA-TP (PBMC)
EFdA 공칭 용량 (mg/kg)	50	50
제형	0.25% CMC-Na / 0.5% TWEEN-80	0.25% CMC-Na / 0.1% TWEEN-80
EFdA 의 농도 (mg/mL)	116	319
용량 부피 (mL/kg)	0.43 (tot. vol. 1.39 mL)	0.16 (tot. vol. 0.47 mL)
$T_{1/2}$ (d)	31 ± 17	12 ± 5
MRT_{0-last} (d)	72 ± 19	6 ± 1
MRT_{0-inf} (d)	73 ± 21	6 ± 1
T_{max} (d)	21 ± 13	2 ± 0
C_{max} (μM)	192 ± 96	789 ± 154
C_{last} (μM)	0.71	0.03
AUC_{0-last} ($\mu\text{M}\cdot\text{h}$)	$233,2743 \pm 37,553$	$127,176 \pm 29, 205$
AUC_{0-inf} ($\mu\text{M}\cdot\text{h}$)	$234,062 \pm 37,077$	$127,201 \pm 29, 225$

[0127]

[0128] 표 9: SC 붉은털 원숭이 PK: 화합물 3 투여 후 EFdA 혈장 및 EFdA-TP PBMC 수준

	SC 화합물 3: EFdA (혈장)	SC 화합물 3: EFdA-TP (PBMC)
EFdA 공칭 용량 (mg/kg)	50	
제형	0.25% CMC-Na / 0.5%TWEEN80	
EFdA 의 농도 (mg/mL)	150	
용량 부피 (mL/kg)	0.335 (tot. vol. 1.57 mL)	
$T_{1/2}$ (h)	566 ± 344	1,022 ± 463
MRT_{0-last} (h)	1,071 ± 488	394 ± 36
T_{max} (h)	440 ± 270	784 ± 485
C_{max} (nM)	40 ± 28	627 ± 60
AUC_{0-last} (nM*h)	35,385 ± 18,522	807,473 ± 519,381
AUC_{0-inf} (nM*h)	45,293 ± 14,840	1,447,998 ± 576,163

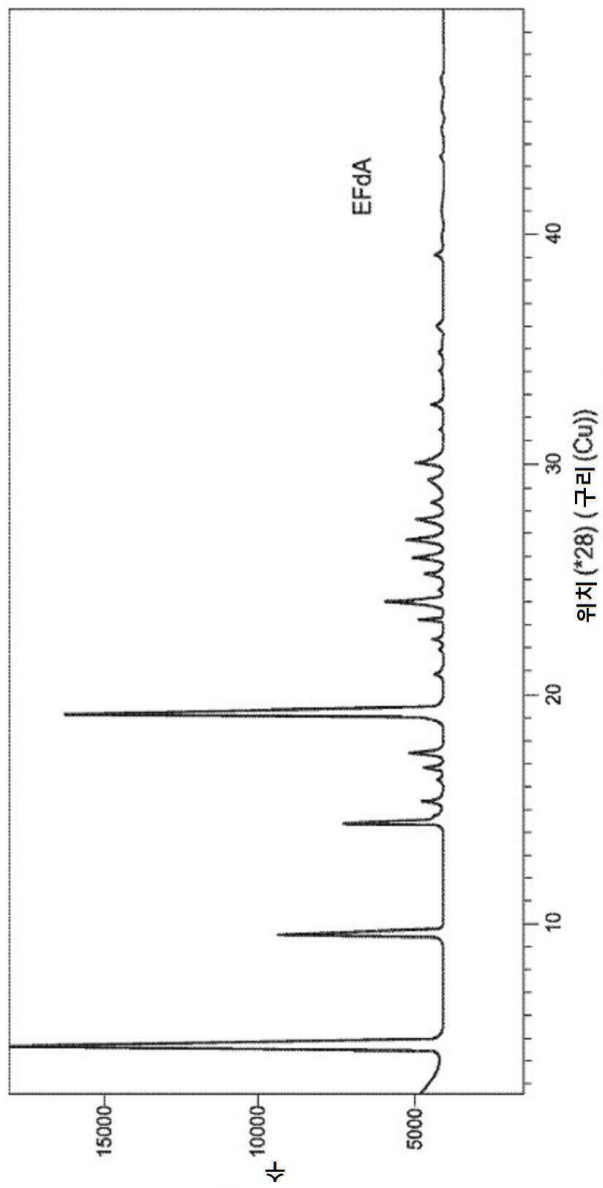
[0129]
[0130] 표 10: SC 붉은털 원숭이 PK: 혈장에서 화합물 3 및 5에 대한 EFdA 수준

	SC EFdA EFdA (혈장)	SC 화합물 5: EFdA (혈장)	SC 화합물 3: EFdA (혈장)
EFdA 공칭 용량 (mg/kg)	50	50	50
제형	0.25% CMC-Na / 0.1%Tween 80	0.25% CMC-Na / 0.5%Tween 80	0.25% CMC-Na / 0.5%Tween 80
EFdA 의 농도 (mg/mL)	319	116	150
$T_{1/2}$ (h)	165 ± 56	1,063 ± 608	566 ± 344
MRT_{0-last} (h)	79 ± 37	1,449 ± 517	1,071 ± 488
T_{max} (h)	4 ± 3.6	264 ± 125	440 ± 270
C_{max} (nM)	3060 ± 1058	128 ± 52	40 ± 28
AUC_{0-last} (nM*h)	135,691 ± 22,574	143,330 ± 33,727	35,385 ± 18,522
AUC_{0-inf} (nM*h)	135,748 ± 22,594	145,643 ± 32,180	45,293 ± 14,840

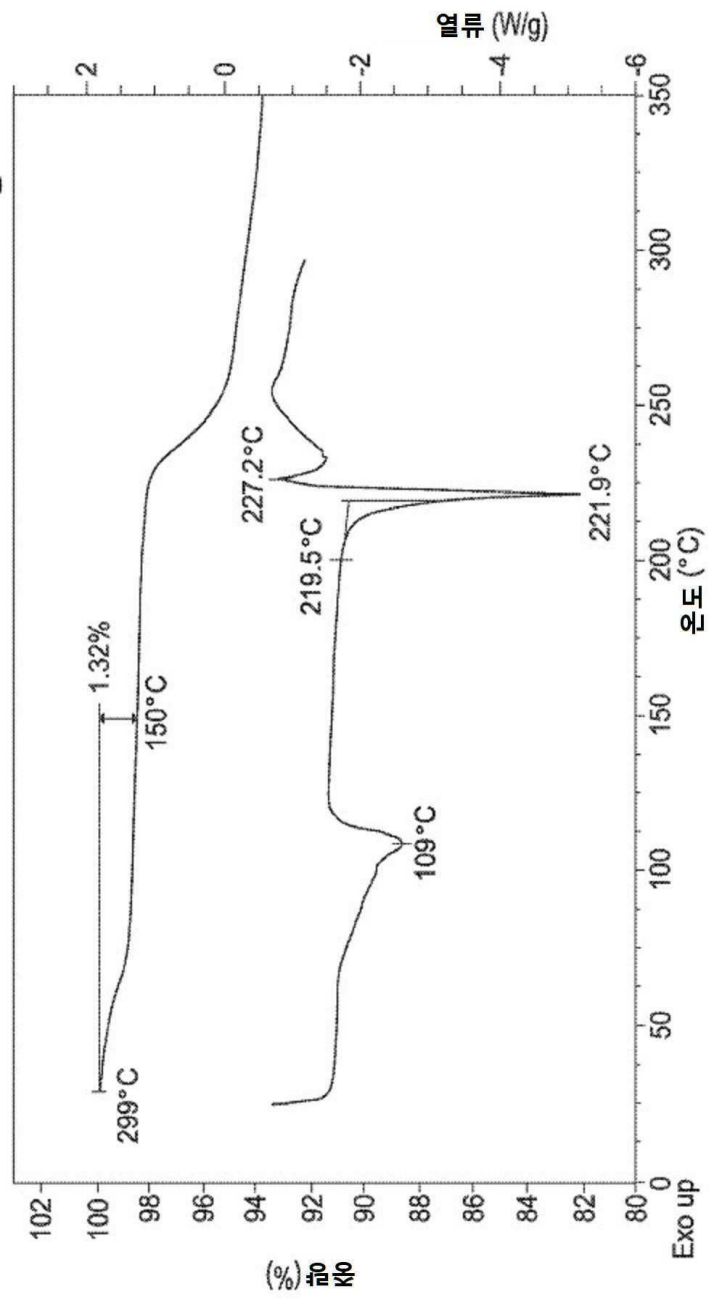
[0131]

도면

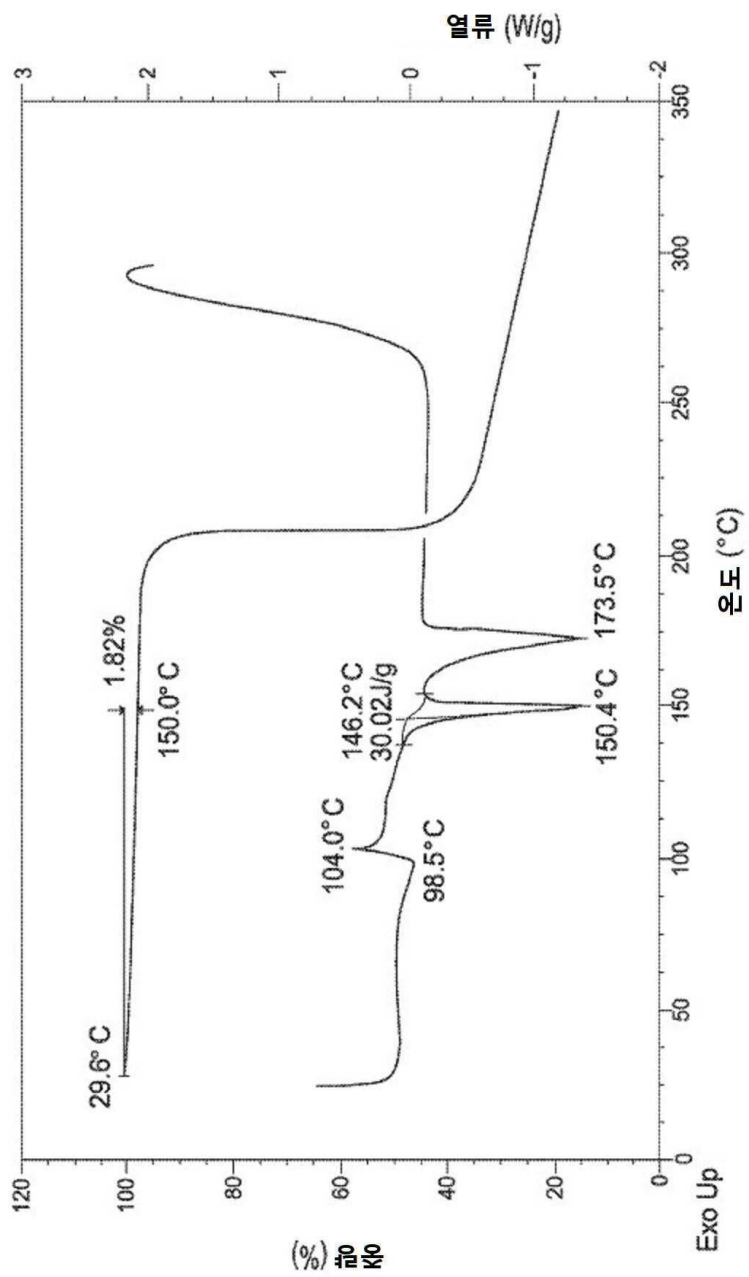
도면1



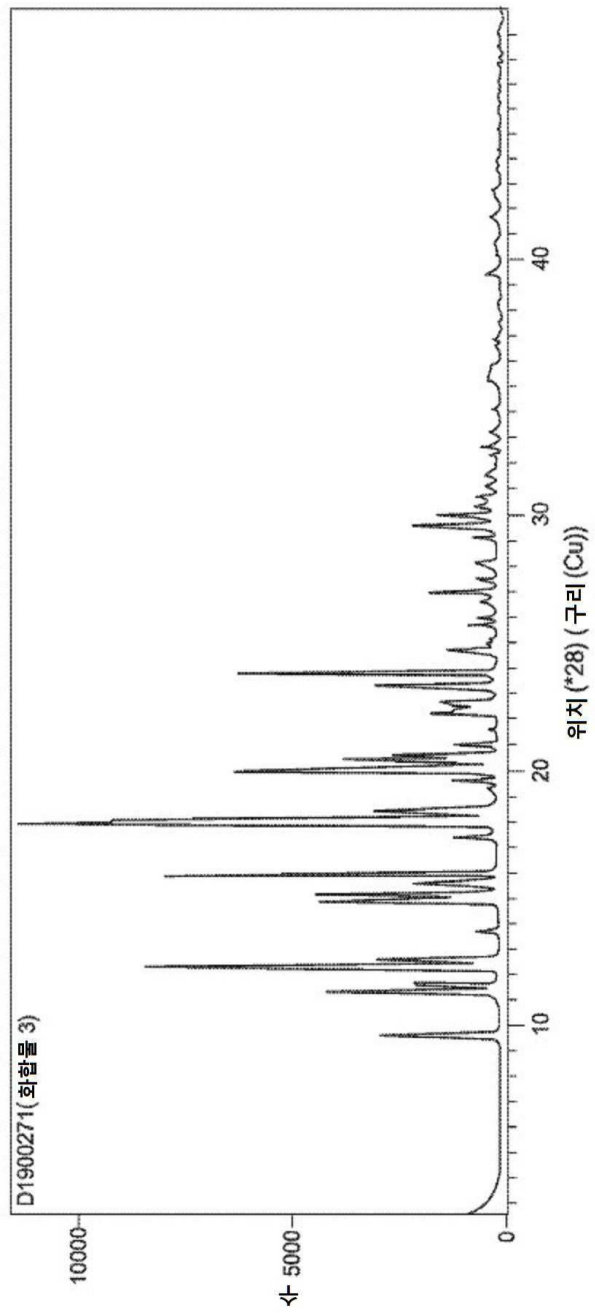
도면2



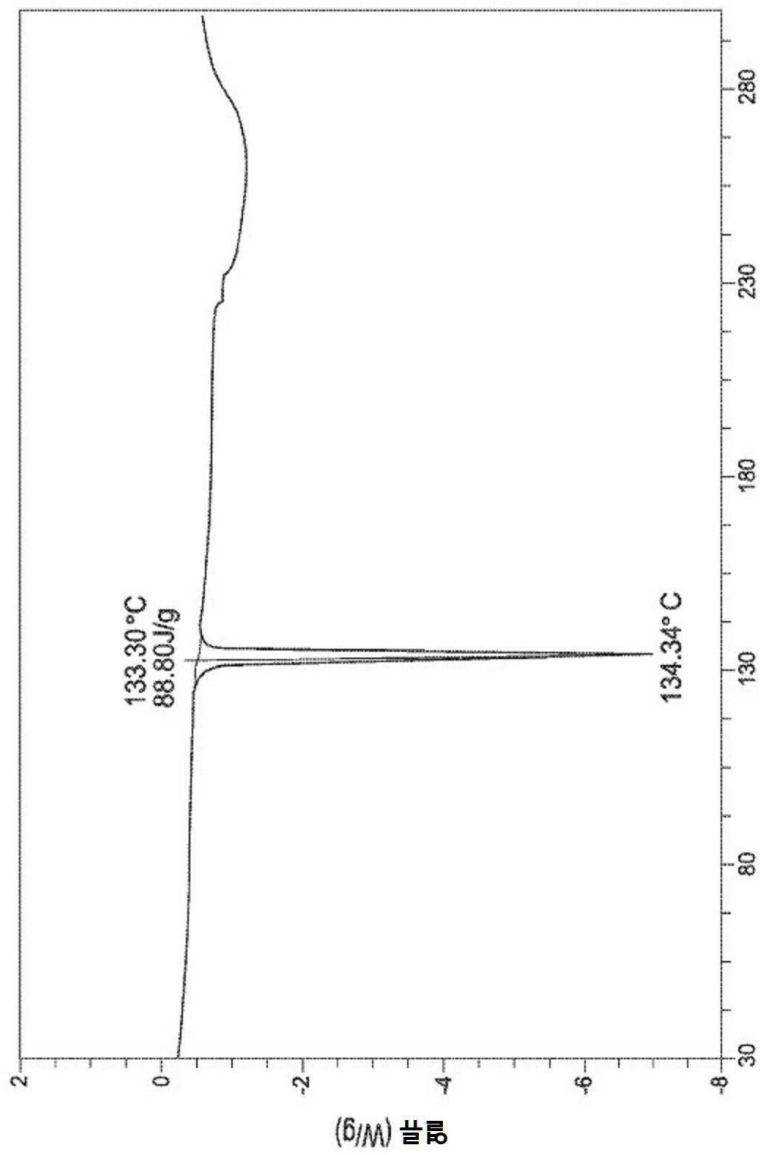
도면3



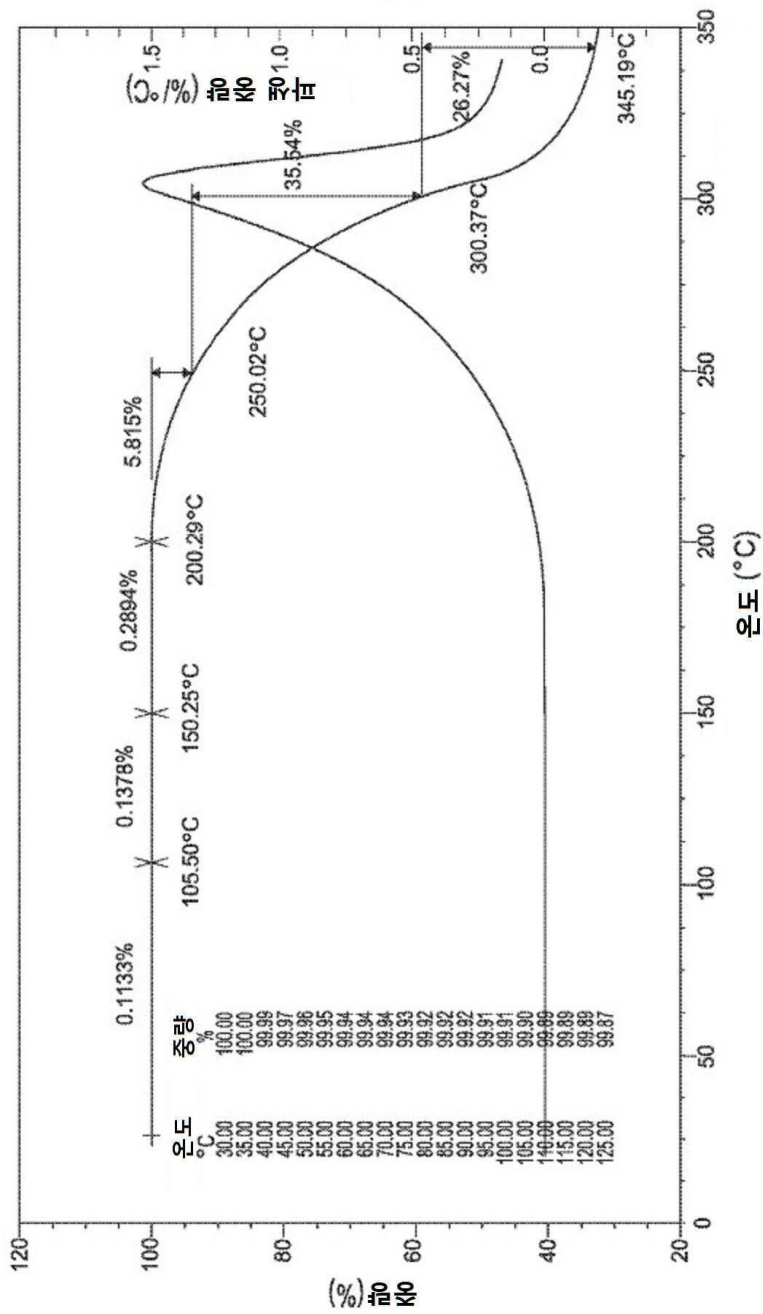
도면4



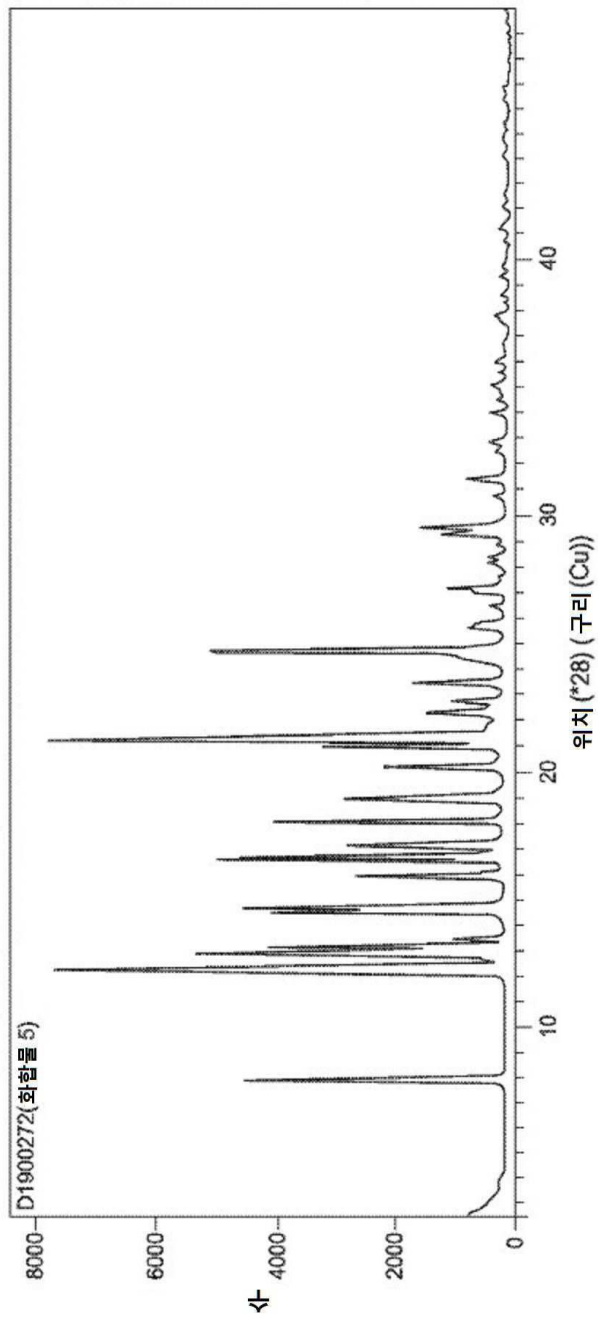
도면5



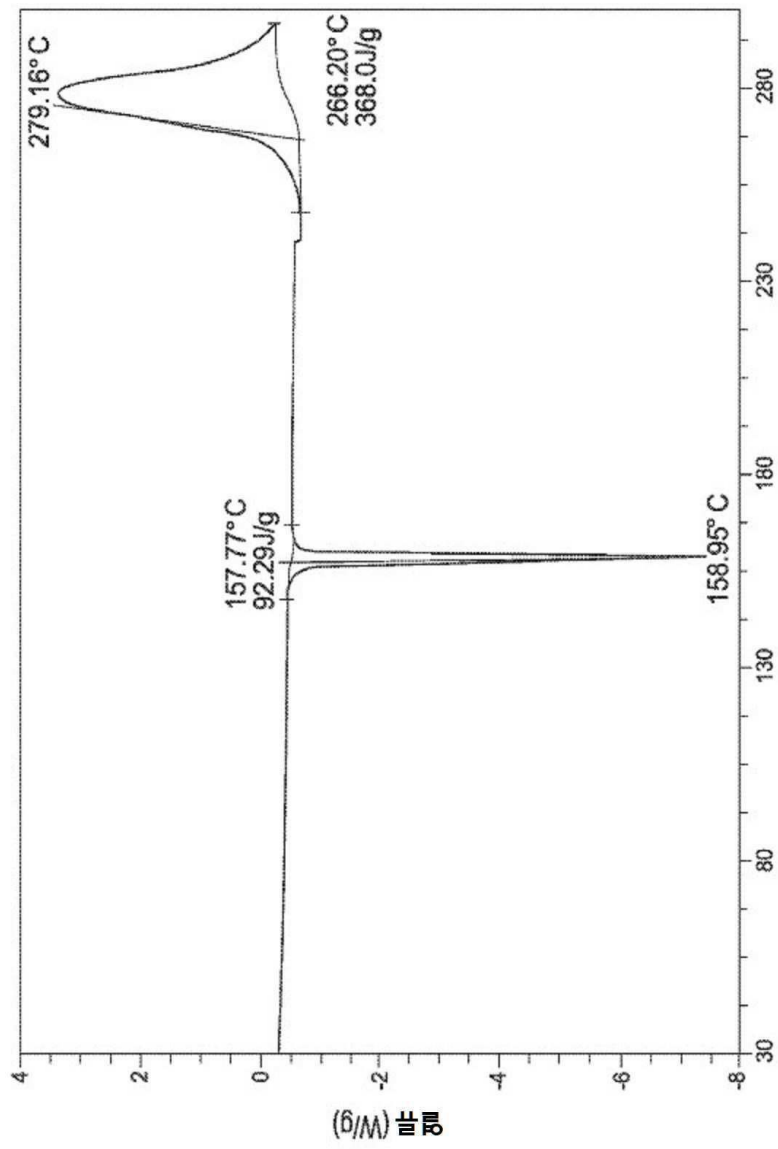
도면6



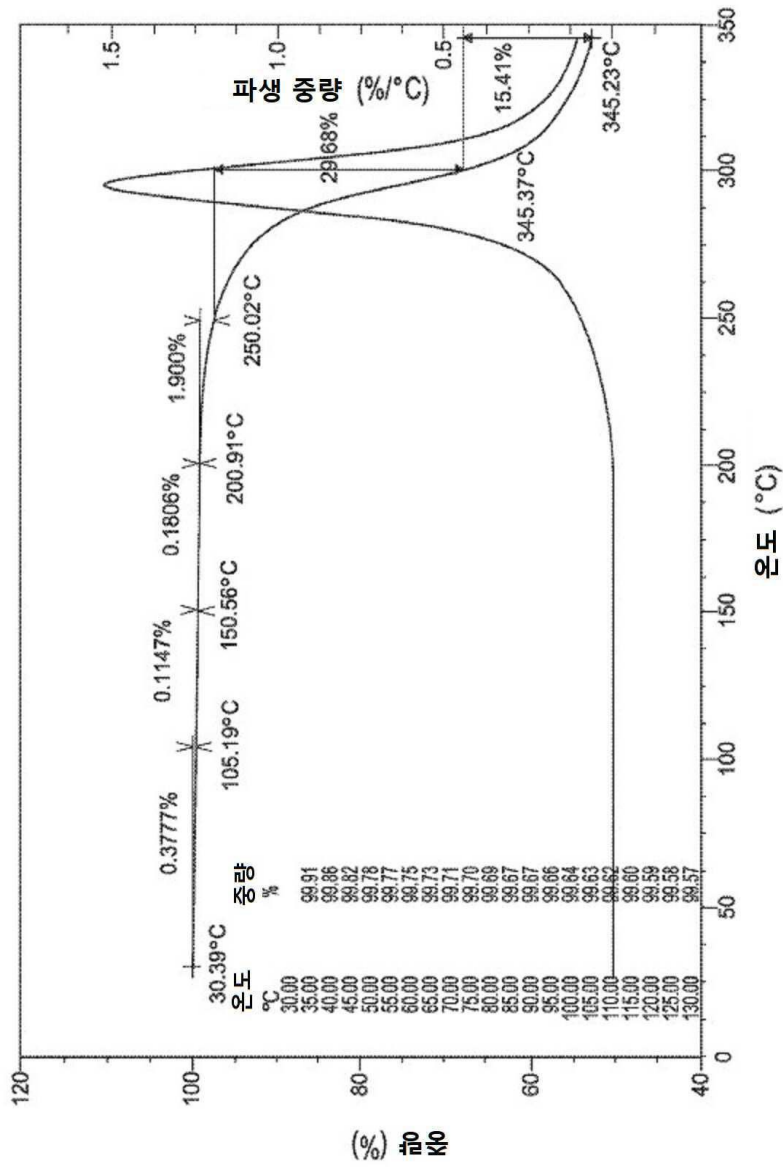
도면7



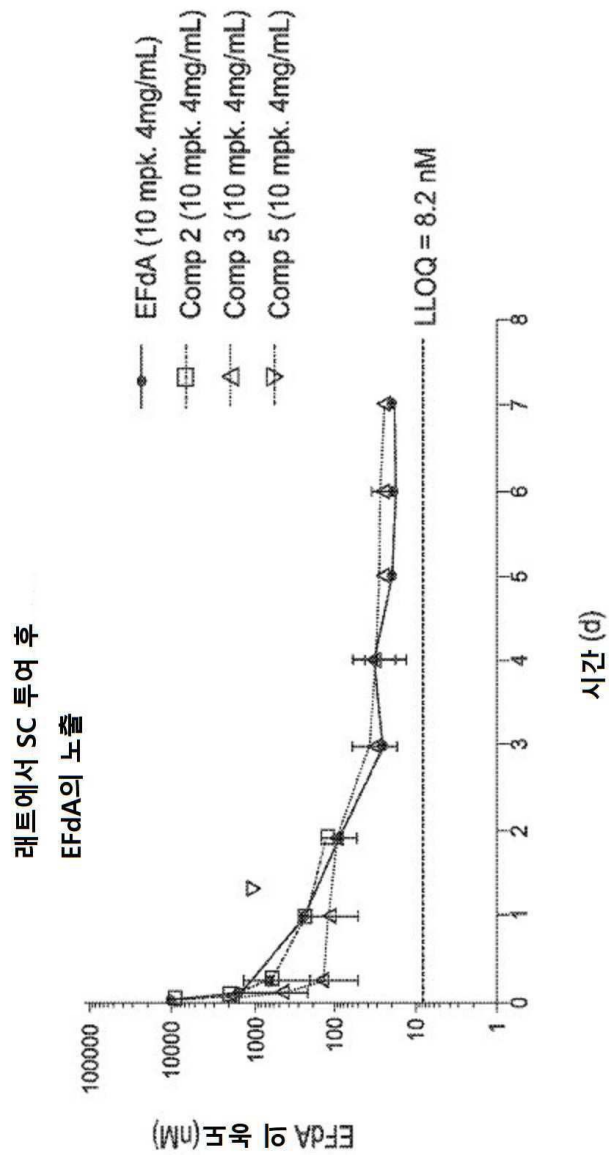
도면8



도면9

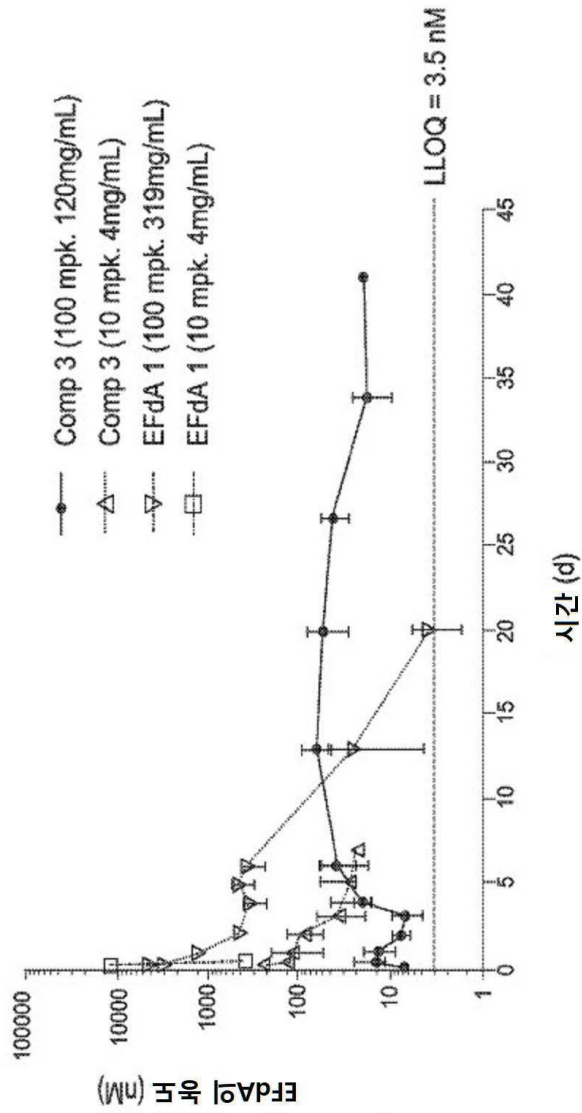


도면10

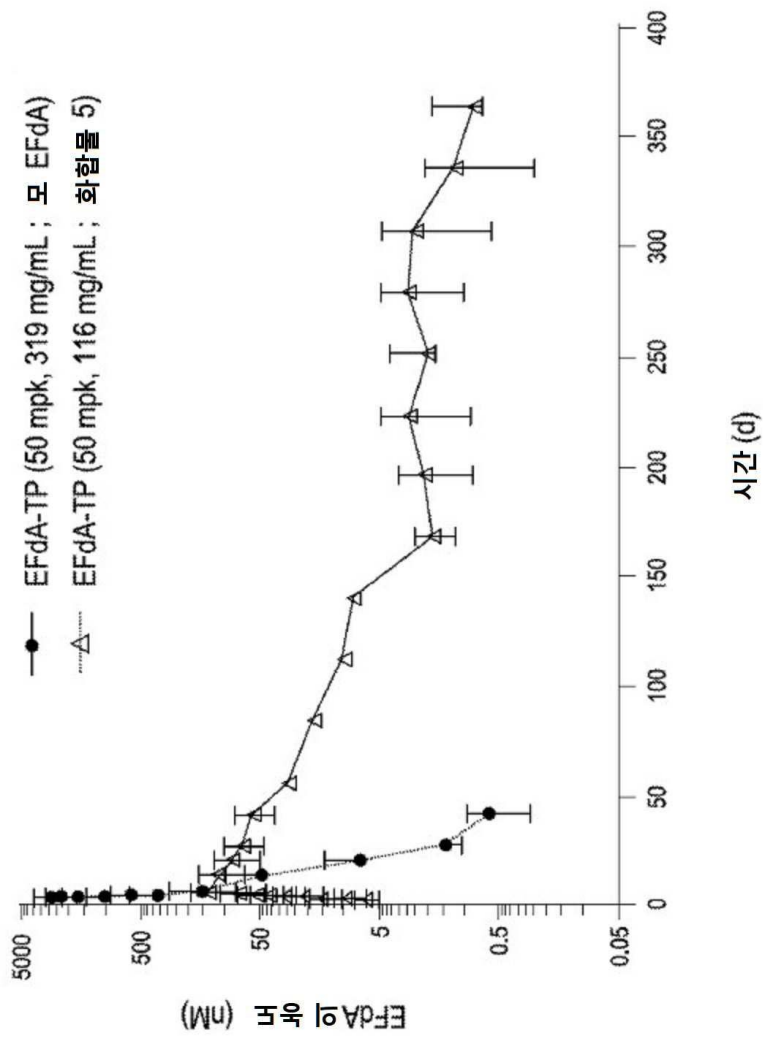


도면11

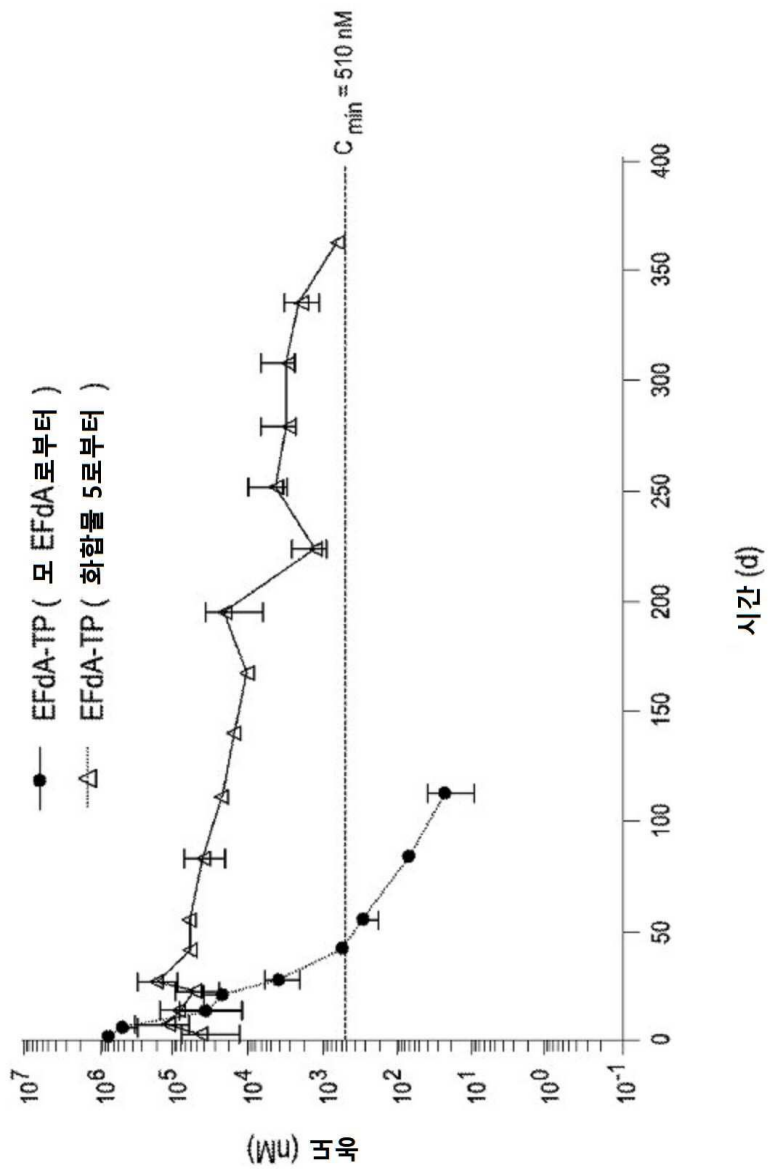
래트에서 SC 투여 후
EFdA의 노출



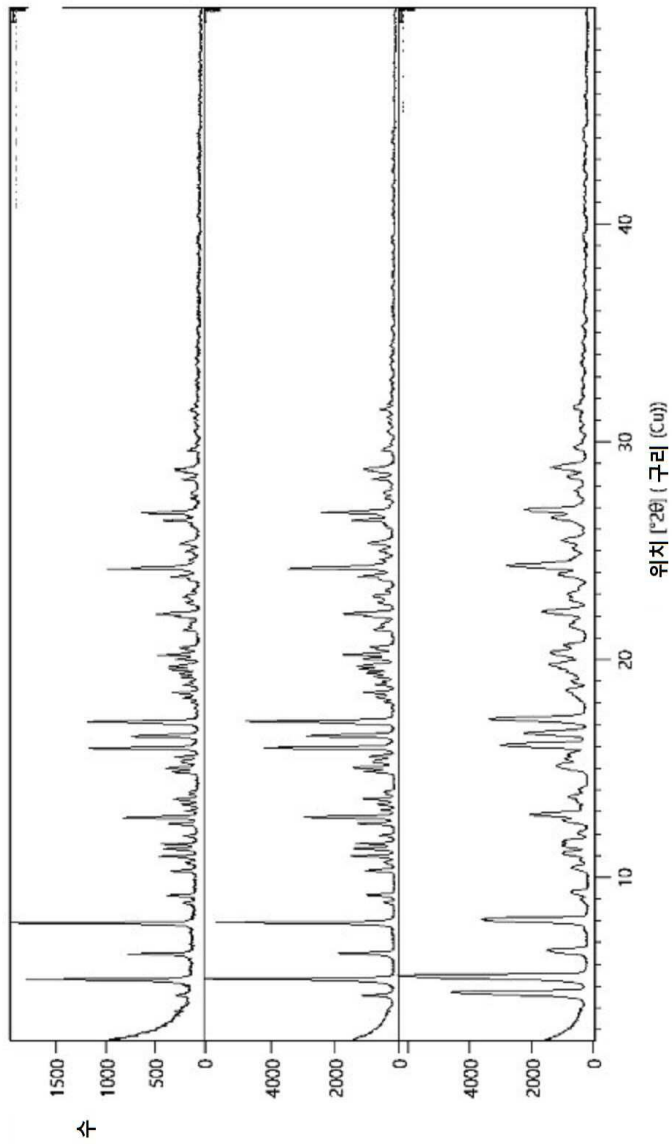
도면12



도면13



도면14



도면15

