

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2007-536240

(P2007-536240A)

(43) 公表日 平成19年12月13日(2007.12.13)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C07C 271/22 (2006.01)	C07C 271/22 C S P	4C037
C07C 237/22 (2006.01)	C07C 237/22	4C055
A61K 31/27 (2006.01)	A61K 31/27	4C062
A61K 38/00 (2006.01)	A61K 37/02	4C084
A61P 31/12 (2006.01)	A61P 31/12	4C086

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 28 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2007-511484 (P2007-511484)
 (86) (22) 出願日 平成17年5月3日(2005.5.3)
 (85) 翻訳文提出日 平成18年12月22日(2006.12.22)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2005/015227
 (87) 国際公開番号 W02006/073456
 (87) 国際公開日 平成18年7月13日(2006.7.13)
 (31) 優先権主張番号 60/568,080
 (32) 優先日 平成16年5月4日(2004.5.4)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 596118493
 アカデミア シニカ
 ACADEMIA SINICA
 台湾, タイペイ, ナンーカン, アカデミア
 シニカ ロード, セクション 2, 12
 8
 (74) 代理人 100072349
 弁理士 八田 幹雄
 (74) 代理人 100110995
 弁理士 奈良 泰男
 (74) 代理人 100114649
 弁理士 宇谷 勝幸
 (74) 代理人 100129126
 弁理士 藤田 健

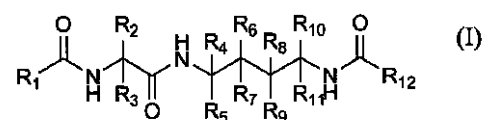
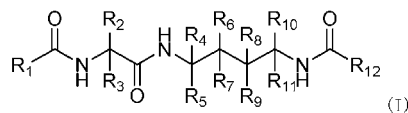
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗コロナウイルス化合物

(57) 【要約】

コロナウイルス感染の治療方法。該方法は、式(I)

:



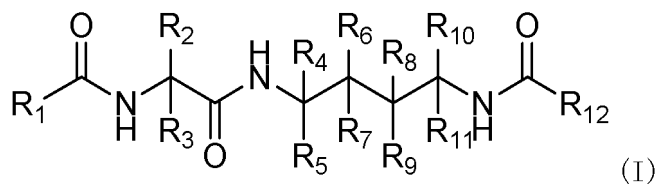
の化合物の有効量をコロナウイルスに感染した、または感染するリスクのある対象に対して投与することを含む。この式の各変数(置換基)は、明細書中で規定されている。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 (I) :

【化 1】



10

式 (I) 中、 R_1 は H、 $C_1 - C_{10}$ アルキル、 $C_3 - C_{20}$ シクロアルキル、 $C_3 - C_{20}$ ヘテロシクロアルキル、ヘテロアリール、アリール、または OR_a であり；

R_2 、 R_3 、 R_4 および R_{10} の各々は、独立して、H、 $C_1 - C_{10}$ アルキル、 $C_3 - C_{20}$ シクロアルキル、 $C_3 - C_{20}$ ヘテロシクロアルキル、ヘテロアリール、またはアリールであり；

R_5 および R_{11} の各々は、独立して、アリールで置換されたアルキルであり；

R_6 、 R_7 、 R_8 、および R_9 の各々は、独立して、H、 $C_1 - C_{10}$ アルキル、 $C_3 - C_{20}$ シクロアルキル、 $C_3 - C_{20}$ ヘテロシクロアルキル、ヘテロアリール、アリール、または OR_b であり；ならびに

R_{12} は OR_c 、 $NHC(O)R_c$ 、または $NHC(O)OR_c$ で置換された $C_1 - C_{10}$ アルキルであり；

ここで、 R_a 、 R_b 、および R_c の各々は、独立して、H、 $C_1 - C_{10}$ アルキル、 $C_3 - C_{20}$ シクロアルキル、 $C_3 - C_{20}$ ヘテロシクロアルキル、ヘテロアリール、またはアリールである；

の化合物またはそれらの塩の有効量をコロナウイルスに感染している、または感染するリスクのある対象に対して投与することを含む、ウイルス感染の治療方法。

【請求項 2】

R_1 が $C_1 - C_{10}$ アルキル、 $C_3 - C_{20}$ ヘテロシクロアルキル、ヘテロアリール、アリール、または OR_a であり； R_2 、 R_3 、 R_4 および R_{10} の各々が、独立して、H または $C_1 - C_{10}$ アルキルであり；ならびに R_6 、 R_7 、 R_8 、および R_9 の各々が、

30

【請求項 3】

R_5 および R_{11} の各々がフェニルで置換されたアルキルである、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

R_2 がイソプロピルである、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】

R_6 、 R_7 、 R_8 、および R_9 の各々は、独立して、H または OH である、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 6】

R_1 が $C_3 - C_{20}$ シクロアルキル、 $C_3 - C_{20}$ ヘテロシクロアルキル、ヘテロアリール、アリール、 OR 、 SR 、または $NHC(O)OR$ で置換された $C_1 - C_{10}$ アルキルであり； R は H、 $C_1 - C_{10}$ アルキル、 $C_3 - C_{20}$ シクロアルキル、 $C_3 - C_{20}$ ヘテロシクロアルキル、ヘテロアリール、またはアリールである、請求項 5 に記載の方法。

40

【請求項 7】

前記化合物が化合物 1、2、および 25 - 35 のうちの 1 つである、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】

前記化合物が化合物 2 である、請求項 7 に記載の方法。

50

【請求項 9】

前記コロナウイルスが重症急性呼吸器症候群ウイルスである、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 10】

R_1 が $C_1 - C_{10}$ アルキル、 $C_3 - C_{20}$ ヘテロシクロアルキル、ヘテロアリール、アリール、または OR_a であり； R_2 、 R_3 、 R_4 および R_{10} の各々は、独立して、H または $C_1 - C_{10}$ アルキルであり；ならびに R_6 、 R_7 、 R_8 、および R_9 の各々は、独立して、H または OR_b である、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

R_5 および R_{11} の各々がフェニルで置換されたアルキルである、請求項 10 に記載の方法。

10

【請求項 12】

R_2 がイソプロピルである、請求項 11 に記載の方法。

【請求項 13】

R_6 、 R_7 、 R_8 、および R_9 の各々が、独立して、H または OH である、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 14】

R_1 が $C_3 - C_{20}$ シクロアルキル、 $C_3 - C_{20}$ ヘテロシクロアルキル、ヘテロアリール、アリール、 OR 、 SR 、または $NHC(O)OR$ で置換された $C_1 - C_{10}$ アルキルであり； R は H、 $C_1 - C_{10}$ アルキル、 $C_3 - C_{20}$ シクロアルキル、 $C_3 - C_{20}$ ヘテロシクロアルキル、ヘテロアリール、またはアリールである、請求項 13 に記載の方法。

20

【請求項 15】

前記化合物が化合物 1、2、および 25 - 35 のうちの 1 つである、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 16】

前記化合物が化合物 2 である、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 17】

前記対象がさらにヒト免疫不全ウイルスに感染している、または感染するリスクのある、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 18】

前記化合物が化合物 2 である、請求項 17 に記載の方法。

30

【請求項 19】

前記対象がさらにヒト免疫不全ウイルスに感染している、または感染するリスクのある、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 20】

前記化合物が化合物 2 である、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 21】

前記対象がさらにネコ免疫不全ウイルスに感染している、または感染するリスクのある、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 22】

前記化合物が化合物 2 である、請求項 21 に記載の方法。

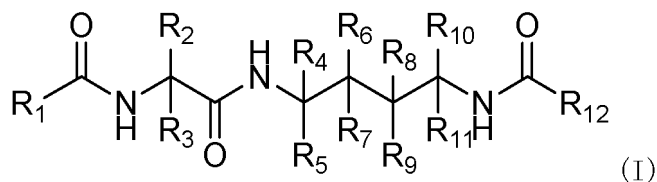
40

【請求項 23】

容器；

式 (I)：

【化 2】



式 (I) 中、 R_1 は H、 $C_1 - C_{10}$ アルキル、 $C_3 - C_{20}$ シクロアルキル、 $C_3 - C_{20}$ ヘテロシクロアルキル、ヘテロアリール、アリール、または OR_a であり；

R_2 、 R_3 、 R_4 および R_{10} の各々は、独立して、H、 $C_1 - C_{10}$ アルキル、 $C_3 - C_{20}$ シクロアルキル、 $C_3 - C_{20}$ ヘテロシクロアルキル、ヘテロアリール、またはアリールであり；

R_5 および R_{11} の各々は、独立して、アリールで置換されたアルキルであり；

R_6 、 R_7 、 R_8 、および R_9 の各々は、独立して、H、 $C_1 - C_{10}$ アルキル、 $C_3 - C_{20}$ シクロアルキル、 $C_3 - C_{20}$ ヘテロシクロアルキル、ヘテロアリール、アリール、または OR_b であり；ならびに

R_{12} は OR_c 、 $NHC(O)R_c$ 、または $NHC(O)OR_c$ で置換された $C_1 - C_{10}$ アルキルであり；

ここで、 R_a 、 R_b 、および R_c の各々は、独立して、H、 $C_1 - C_{10}$ アルキル、 $C_3 - C_{20}$ シクロアルキル、 $C_3 - C_{20}$ ヘテロシクロアルキル、ヘテロアリール、またはアリールである；の化合物またはそれらの塩；および

容器およびコロナウイルスの感染治療を目的とした化合物投与の表示に関連する説明文を含むパッケージ製品。

【請求項 2 4】

前記コロナウイルスが重症急性呼吸器症候群ウイルスである、請求項 2 3 に記載のパッケージ製品。

【請求項 2 5】

前記説明文がさらにヒト免疫不全ウイルスの感染治療用の化合物の投与を指示する、請求項 2 3 に記載のパッケージ製品。

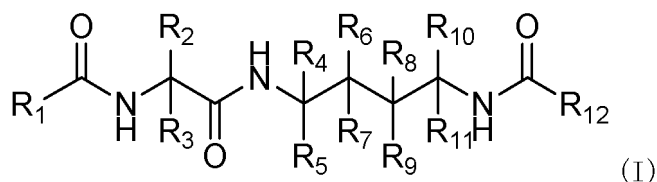
【請求項 2 6】

前記説明文がさらにネコ免疫不全ウイルスの感染治療用の化合物の投与を指示する、請求項 2 3 に記載のパッケージ製品。

【請求項 2 7】

式 (I) ；

【化 3】



式 (I) 中、 R_1 は H、 $C_1 - C_{10}$ アルキル、 $C_3 - C_{20}$ シクロアルキル、 $C_3 - C_{20}$ ヘテロシクロアルキル、ヘテロアリール、アリール、または OR_a であり；

R_2 、 R_3 、 R_4 および R_{10} の各々は、独立して、H、 $C_1 - C_{10}$ アルキル、 $C_3 - C_{20}$ シクロアルキル、 $C_3 - C_{20}$ ヘテロシクロアルキル、ヘテロアリール、またはアリールであり；

R_5 および R_{11} の各々は、独立して、アリールで置換されたアルキルであり；

R_6 、 R_7 、 R_8 、および R_9 の各々は、独立して、H、 $C_1 - C_{10}$ アルキル、 $C_3 - C_{20}$ シクロアルキル、 $C_3 - C_{20}$ ヘテロシクロアルキル、ヘテロアリール、アリール、または OR_b であり；

10

20

30

40

50

ならびに R_{12} は OR_c 、 $NHC(O)R_c$ 、または $NHC(O)OR_c$ で置換された $C_1 - C_{10}$ アルキルであり；

ここで、 R_a 、 R_b 、および R_c の各々は、独立して、 H 、 $C_1 - C_{10}$ アルキル、 $C_3 - C_{20}$ シクロアルキル、 $C_3 - C_{20}$ ヘテロシクロアルキル、ヘテロアリール、またはアリールである；

の化合物またはそれらの塩の有効量をコロナウイルスプロテアーゼに接触させることを含む、ウイルスプロテアーゼの阻害方法。

【請求項 28】

前記コロナウイルスプロテアーゼが重症急性呼吸器症候群ウイルスプロテアーゼである、請求項 27 に記載の方法。

10

【請求項 29】

ヒト免疫不全ウイルスプロテアーゼを前記化合物に接触させることをさらに含む、請求項 28 に記載の方法。

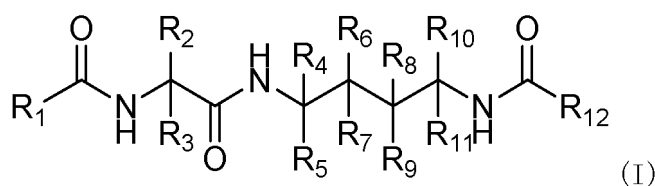
【請求項 30】

ネコ免疫不全ウイルスプロテアーゼを前記化合物に接触させることをさらに含む、請求項 29 に記載の方法。

【請求項 31】

式 (I)：

【化 4】



20

式 (I) 中、 R_1 は H 、 $C_3 - C_{20}$ シクロアルキル、 $C_3 - C_{20}$ ヘテロシクロアルキル、ヘテロアリール、アリール、 OR_a 、または $C_3 - C_{20}$ シクロアルキル、 $C_3 - C_{20}$ ヘテロシクロアルキル、ヘテロアリール、アリール、 OR_a 、もしくは SR_a で置換された $C_1 - C_{10}$ アルキルであり；

R_2 、 R_3 、 R_4 および R_{10} の各々は、独立して、 H 、 $C_1 - C_{10}$ アルキル、 $C_3 - C_{20}$ シクロアルキル、 $C_3 - C_{20}$ ヘテロシクロアルキル、ヘテロアリール、またはアリールであり；

30

R_5 および R_{11} の各々は、アリールで置換されたアルキルであり；

R_6 、 R_7 、 R_8 、および R_9 の各々は、独立して、 H 、 $C_1 - C_{10}$ アルキル、 $C_3 - C_{20}$ シクロアルキル、 $C_3 - C_{20}$ ヘテロシクロアルキル、ヘテロアリール、アリール、または OR_b であり；ならびに

R_{12} は OR_c 、 $NHC(O)R_c$ 、または $NHC(O)OR_c$ で置換された $C_1 - C_{10}$ アルキルであり；

ここで、 R_a 、 R_b 、および R_c の各々は、独立して、 H 、 $C_1 - C_{10}$ アルキル、 $C_3 - C_{20}$ シクロアルキル、 $C_3 - C_{20}$ ヘテロシクロアルキル、ヘテロアリール、またはアリールである；

40

の化合物またはそれらの塩。

【請求項 32】

R_1 が $C_3 - C_{20}$ ヘテロシクロアルキル、ヘテロアリール、アリール、 OR_a 、または $C_3 - C_{20}$ ヘテロシクロアルキル、アリール、 OR_a 、もしくは SR_a で置換された $C_1 - C_{10}$ アルキルであり； R_2 、 R_3 、 R_4 および R_{10} の各々が、独立して、 H または $C_1 - C_{10}$ アルキルであり；ならびに R_6 、 R_7 、 R_8 、および R_9 の各々が、独立して、 H または OR_b である、請求項 31 に記載の化合物。

【請求項 33】

R_5 および R_{11} の各々がフェニルで置換されたアルキルである、請求項 32 に記載の

50

化合物。

【請求項 34】

R_2 がイソプロピルである、請求項 33 に記載の化合物。

【請求項 35】

R_6 、 R_7 、 R_8 、および R_9 の各々は、独立して、H または OH である、請求項 34 に記載の化合物。

【請求項 36】

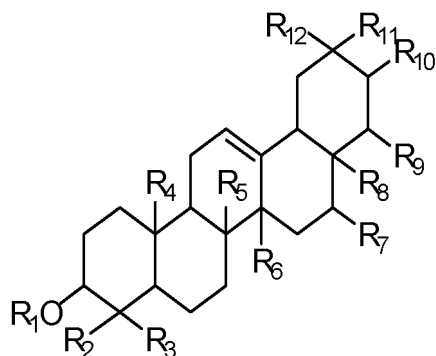
前記化合物が化合物 1 および 25 - 35 のうちの 1 つである、請求項 35 に記載の化合物。

【請求項 37】

式 (II) :

10

【化 5】



(II).

20

式 (II) 中、 R_1 は $C_3 - C_{20}$ シクロアルキルまたは $C_3 - C_{20}$ ヘテロシクロアルキルであり；

R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_{11} 、および R_{12} の各々は、独立して、H、 $C_1 - C_{10}$ アルキルまたは OR_a であり；

R_7 および R_{10} の各々は、H であり；または R_7 および R_{10} は結合して、 $-O-$ であり；

R_8 は $C_1 - C_{10}$ アルキルまたは $COOR_b$ であり；ならびに

30

R_9 は H、 OR_c 、または $OC(O)R_c$ であり；

ここで R_a 、 R_b 、および R_c の各々は、独立して、H、 $C_1 - C_{10}$ アルキル、 $C_3 - C_{20}$ シクロアルキル、 $C_3 - C_{20}$ ヘテロシクロアルキル、ヘテロアリール、またはアリールである；

の化合物またはそれらの塩の有効量を、コロナウイルス感染の治療を必要とする対象に対して、投与することを含む、コロナウイルス感染の治療方法。

【請求項 38】

R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_{11} 、および R_{12} の各々は、独立して、H、OH、または必要であれば OH で置換される CH_3 である、請求項 37 に記載の方法。

【請求項 39】

R_8 が CH_3 または $COOH$ である、請求項 38 に記載の方法。

40

【請求項 40】

R_1 が $C_1 - C_{10}$ アルキル、 $C_3 - C_{20}$ ヘテロシクロアルキル、OR、または COOR で置換されたテトラヒドロピラニルであり；R は H、 $C_1 - C_{10}$ アルキル、 $C_3 - C_{20}$ シクロアルキル、 $C_3 - C_{20}$ ヘテロシクロアルキル、ヘテロアリール、またはアリールである、請求項 39 に記載の方法。

【請求項 41】

前記化合物が化合物 5、16 および 18 のうちの 1 つである、請求項 40 に記載の方法。

【請求項 42】

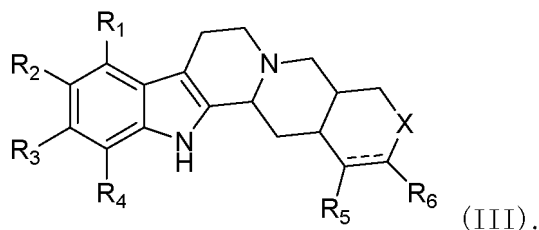
50

前記コロナウイルスが重症急性呼吸器症候群ウイルスである、請求項 37 に記載の方法

【請求項 43】

式 (III) :

【化 6】



10

式 (III) 中、

【化 7】

は、単一結合または二重結合であり；

X は、-O- または -C(R_aR_b)- であり；ならびに

R₁、R₂、R₃、R₄、R₅、および R₆ の各々は、独立して、H、C₁-C₁₀ アルキル、C₃-C₂₀ シクロアルキル、C₃-C₂₀ ヘテロシクロアルキル、ヘテロアリー

20

ール、アリール、OR_c、または COOR_c であり；
ここで R_a、R_b、および R_c の各々は、独立して、H、C₁-C₁₀ アルキル、C₃-C₂₀ シクロアルキル、C₃-C₂₀ ヘテロシクロアルキル、ヘテロアリール、アリール、または OC(O)R であり；R は H、C₁-C₁₀ アルキル、C₃-C₂₀ シクロアルキル、C₃-C₂₀ ヘテロシクロアルキル、ヘテロアリール、またはアリールである

の化合物またはそれらの塩の有効量を、コロナウイルス感染の治療を必要とする対象に対して、投与することを含む、コロナウイルス感染の治療方法。

【請求項 44】

【化 8】

が、単一結合である、請求項 43 に記載の方法。

【請求項 45】

X は、-C(R_aR_b)- である、請求項 44 に記載の方法。

【請求項 46】

R_a および R_b の各々は、独立して、H または OC(O)R である、請求項 45 に記載の方法。

【請求項 47】

R₁、R₂、R₃、R₄、R₅、および R₆ の各々は、独立して、H、OH、OCH₃、または COOCH₃ である、請求項 46 に記載の方法。

40

【請求項 48】

前記化合物が化合物 13、19 および 21 - 24 のうちの 1 つである、請求項 47 に記載の方法。

【請求項 49】

【化 9】

50

が二重結合である、請求項 43 に記載の方法。

【請求項 50】

X が - O - である、請求項 49 に記載の方法。

【請求項 51】

R₁、R₂、R₃、R₄、R₅、および R₆ の各々が、独立して、H または C O O C H₃ である、請求項 50 に記載の方法。

【請求項 52】

前記化合物が化合物 20 である、請求項 51 に記載の方法。

【請求項 53】

前記コロナウイルスが重症急性呼吸器症候群ウイルスである、請求項 43 に記載の方法 10

【請求項 54】

化合物 3、4、6 ~ 12、14、15 および 17 からなる群から選ばれる化合物またはそれらの塩の有効量を、コロナウイルス感染の治療を必要とする対象に対して、投与することを含む、コロナウイルスの感染の治療方法。

【請求項 55】

前記コロナウイルスが重症急性呼吸器症候群ウイルスである、請求項 54 に記載の方法

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

20

【0001】

関連出願の参照

この出願は、米国特許法第 119 条の下、2004 年 5 月 4 日に提出された米国仮出願第 60/568,080 号に対して優先権を主張するものであり、該出願の内容は、本明細書に参照として引用される。

【背景技術】

【0002】

背景

コロナウイルスは、ヒトにおける種々の風邪の原因である。最近、新たなコロナウイルスのヒトへの感染が、急性呼吸器疾患、すなわち、重症急性呼吸器症候群の世界的発生を招いた。例えば、Ksiazek et al., N. Engl. J. Med., 2004, 348:1953-1966 を参照のこと。最初の重症急性呼吸器症候群の症例は、2002 年 11 月に中国広東で確認された。疾患は、その後 25 カ国以上に広がった。2003 年 1 月 31 日までに、世界中で重症急性呼吸器症候群は約 8,100 症例、重症急性呼吸器症候群に関連した死亡数は約 800 であることが報告された。 30

【0003】

重症急性呼吸器症候群の治療用に、種々の薬物が研究されてきた。かような薬物としては、リバビリン、コルチコステロイド、カレトラ (Kaletra)、グリシルリジン、およびある種のヒトインターフェロンが挙げられる。例えば、Peris et al., Lancet, 2003, 361:1319; Cinatl et al., Lancet, 2003, 361:2045; および Cinatl et al., Lancet, 2003, 362:293 を参照のこと。しかしながら、これらの薬物は、効果が発揮されるためには高投与量必要となる。したがって、重症急性呼吸器症候群をより効果的に治療し得る化合物を同定する必要性がある。 40

【発明の開示】

【0004】

要約

本発明は、コロナウイルス (例えば、重症急性呼吸器症候群ウイルス) 感染の治療に特定の化合物が効果的であるという予期せぬ発見に基づくものである。

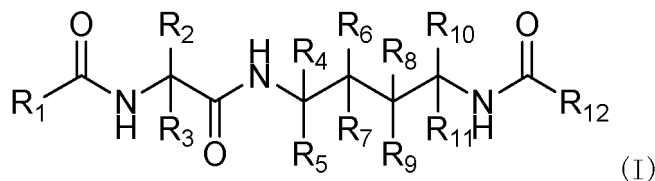
【0005】

50

一実施態様では、本発明は、ウイルス感染を治療するための方法の特徴付ける。該方法は、コロナウイルス（例えば、重症急性呼吸器症候群ウイルス）に感染している、または感染するリスクのある対象（例えば、哺乳類）に対して、式（I）の化合物またはそれらの塩の有効量を投与することを含む：

【0006】

【化1】



10

【0007】

式（I）中、 R_1 はH、 $C_1 - C_{10}$ アルキル、 $C_3 - C_{20}$ シクロアルキル、 $C_3 - C_{20}$ ヘテロシクロアルキル、ヘテロアリール、アリール、または OR_a であり； R_2 、 R_3 、 R_4 および R_{10} の各々は、独立して、H、 $C_1 - C_{10}$ アルキル、 $C_3 - C_{20}$ シクロアルキル、 $C_3 - C_{20}$ ヘテロシクロアルキル、ヘテロアリール、またはアリールであり； R_5 および R_{11} の各々は、独立して、アリールで置換されたアルキルであり； R_6 、 R_7 、 R_8 、および R_9 の各々は、独立して、H、 $C_1 - C_{10}$ アルキル、 $C_3 - C_{20}$ シクロアルキル、 $C_3 - C_{20}$ ヘテロシクロアルキル、ヘテロアリール、アリール、または OR_b であり；ならびに R_{12} は OR_c 、 $NHC(O)R_c$ 、または $NHC(O)OR_c$ で置換された $C_1 - C_{10}$ アルキルであり；ここで、 R_a 、 R_b 、および R_c の各々は、独立して、H、 $C_1 - C_{10}$ アルキル、 $C_3 - C_{20}$ シクロアルキル、 $C_3 - C_{20}$ ヘテロシクロアルキル、ヘテロアリール、またはアリールである。

20

【0008】

ここで留意すべきは、コロナウイルス（例えば、重症急性呼吸器症候群ウイルス）またはヒトもしくはネコ免疫不全ウイルスの双方に感染している、あるいは感染するリスクのある対象に対して、式（I）の化合物を投与することができる点である。例えば、米国特許第6,803,466号、およびLee et al., J. Am. Chem. Soc., 1999, 121: 1145-1155を参照のこと。

30

【0009】

式（I）に関して、上述した化合物のサブセットは、式（I）中、 R_1 が $C_1 - C_{10}$ アルキル、 $C_3 - C_{20}$ ヘテロシクロアルキル、ヘテロアリール、アリール、または OR_a であり； R_2 、 R_3 、 R_4 および R_{10} の各々が、独立して、Hまたは $C_1 - C_{10}$ アルキルであり； R_6 、 R_7 、 R_8 、および R_9 の各々が、独立して、Hまたは OR_b である化合物である。これらの化合物において、 R_1 は $C_3 - C_{20}$ シクロアルキル、 $C_3 - C_{20}$ ヘテロシクロアルキル、ヘテロアリール、アリール、 OR 、 SR 、または $NHC(O)OR$ で置換された $C_1 - C_{10}$ アルキルであってもよく； R はH、 $C_1 - C_{10}$ アルキル、 $C_3 - C_{20}$ シクロアルキル、 $C_3 - C_{20}$ ヘテロシクロアルキル、ヘテロアリール、またはアリールであり； R_2 はイソプロピルであってもよく； R_5 および R_{11} はフェニルで置換されたアルキルであってもよく；ならびに R_6 、 R_7 、 R_8 、および R_9 の各々は、独立して、HまたはOHであってもよい。

40

【0010】

「アルキル」という用語は、 $-CH_3$ 、 $-CH_2-CH=CH_2$ 、または分岐の $-C_3H_7$ などの、飽和または不飽和、直鎖または分岐の炭化水素部分を指す。「シクロアルキル」という用語は、シクロヘキシルまたはシクロヘキセン-3-イルなどの、飽和または不飽和、非芳香族環式炭化水素部分を指す。「ヘテロシクロアルキル」という用語は、4-テトラヒドロピラニルまたは4-ピラニルなどの、飽和または不飽和、少なくとも1つの環式ヘテロ原子（例えば、N、O、またはS）を有する非芳香族環式炭化水素部分を指す。「アリール」という用語は、1または2以上の芳香族環を有する炭化水素部分を指す

50

。アリール部分の例としては、フェニル (Ph)、フェニレン、ナフチル、ナフチレン、ピレニル、アントリル、およびフェナントリルが挙げられる。「ヘテロアリール」という用語は、少なくとも1のヘテロ原子 (例えば、N、O、またはS) を含む1または2以上の芳香族環を有する部分を指す。ヘテロアリール部分の例としては、フリル、フリレン (furylene)、フルオレニル、ピロリル、チエニル、オキサゾリル、イミダゾリル、チアゾリル、ピリジル、ピリミジニル、キナゾリニル、キノリル、イソキノリル、およびインドリルが挙げられる。

【0011】

ここで述べたアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリール、およびヘテロアリールは、特に規定しない限り、飽和および不飽和部分の双方を含む。シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリール、およびヘテロアリール上の可能な置換基としては、限定されるものではないが、 $C_1 - C_{10}$ アルキル、 $C_2 - C_{10}$ アルケニル、 $C_2 - C_{10}$ アルキニル、 $C_3 - C_8$ シクロアルキル、 $C_5 - C_8$ シクロアルケニル、 $C_1 - C_{10}$ アルコキシ、アリール、アリールオキシ、ヘテロアリール、ヘテロアリールオキシ、アミノ、 $C_1 - C_{10}$ アルキルアミノ、 $C_1 - C_{20}$ ジアルキルアミノ、アリールアミノジアルキルアミノ、ヒドロキシル、ハロゲン、チオ、 $C_1 - C_{10}$ アルキルチオ、アリールチオ、 $C_1 - C_{10}$ アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アシルアミノ、アミノアシル、アミノチオアシル、アミジノ、グアニジン、ウレイド、シアノ、ニトロ、アシル、チオアシル、アシルオキシ、カルボキシル、およびカルボン酸エステルが挙げられる。アルキル上の可能な置換基としては、 $C_1 - C_{10}$ アルキル、 $C_2 - C_{10}$ アルケニル、および $C_2 - C_{10}$ アルキニルを除く上記列挙した置換基の全てが挙げられる。シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリール、およびヘテロアリールは、互いに連結していてもよい。

【0012】

本明細書で述べられている「治療する」または「治療」という用語は、コロナウイルス、および場合によっては、ヒトもしくはネコ免疫不全ウイルスにも感染している、そのような感染の症状がある、またはそのような感染の兆候がある対象に対して、例えば、ウイルス感染、感染の症状、または感染の兆候を治療し、これらを緩和し、これらを除去し、これらに働きかけ、これらを改善させ、またはこれらを予防するといった、治療的効果を与えることを目的として、本明細書に記載されている薬物化合物の1または2以上を対象に投与することを指す。かような対象は、適切な診断方法による結果に基づいて、健康管理の専門家によって診断されうる。「有効量」とは、治療される対象に対して治療的効果を与えるのに必要な、またはウイルスプロテアーゼに対して阻害効果を与えるのに必要な化合物 (群) の量を指す。

【0013】

別の実施態様としては、本発明は、容器、式 (I) の化合物、ならびに容器および重症急性呼吸器症候群のようなコロナウイルスの感染治療を目的とした化合物投与の表示に関連する説明文を含むパッケージ製品を特徴とする。該説明文は、ヒトまたはネコ免疫不全ウイルスの感染を治療する化合物の投与を指示していてもよい。

【0014】

さらに別の実施態様としては、本発明は、ウイルスプロテアーゼ阻害を目的とした方法の特徴とする。該方法には、式 (I) の化合物の有効量を、(重症急性呼吸器症候群プロテアーゼのような) コロナウイルスプロテアーゼと接触させることを含む。該方法は、さらにヒトまたはネコ免疫不全ウイルスプロテアーゼを化合物と接触させることを含む。例えば、米国第6,803,466号および Lee et al., J. Am. Chem. Soc., 1999, 121: 1145-1155を参照のこと。

【0015】

さらに別の実施態様としては、本発明は式 (I) の化合物またはそれらの塩を特徴とする。式 (I) に関して、 R_1 が H、 $C_3 - C_{20}$ シクロアルキル、 $C_3 - C_{20}$ ヘテロシクロアルキル、ヘテロアリール、アリール、 OR_a または $C_3 - C_{20}$ シクロアルキル、

10

20

30

40

50

$C_3 - C_{20}$ ヘテロシクロアルキル、ヘテロアリール、アリール、 OR_a もしくは SR_a で置換された $C_1 - C_{10}$ アルキルであることを除いて、上述したものと同一群が、各々の変数（置換基）に割り当てられる。既述の化合物のサブセットは、化合物中 R_1 が $C_3 - C_{20}$ ヘテロシクロアルキル、ヘテロアリール、アリール、 OR_a 、または $C_3 - C_{20}$ ヘテロシクロアルキル、アリール、 OR_a 、もしくは SR_a で置換された $C_1 - C_{10}$ アルキルであり； R_2 、 R_3 、 R_4 および R_{10} の各々は、独立して、H または $C_1 - C_{10}$ アルキルであり；ならびに R_6 、 R_7 、 R_8 、および R_9 の各々は、独立して、H または OR_b である。

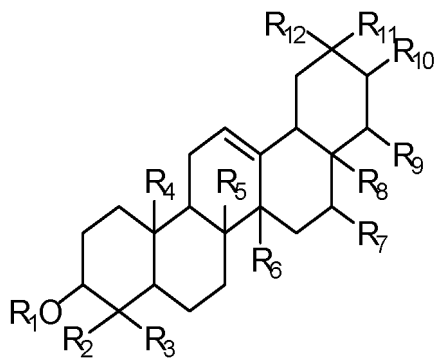
【0016】

さらに別の実施態様としては、本発明は、式 (II) の化合物またはそれらの塩の有効量を、コロナウイルス感染の治療を必要とする対象に対して、投与することによって、コロナウイルス感染を治療する方法を特徴とする：

10

【0017】

【化2】



(II).

20

【0018】

式 (II) 中、 R_1 は $C_3 - C_{20}$ シクロアルキルまたは $C_3 - C_{20}$ ヘテロシクロアルキルであり； R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_{11} 、および R_{12} の各々は、独立して、H、 $C_1 - C_{10}$ アルキルまたは OR_a であり； R_7 および R_{10} の各々は、H であり；または R_7 および R_{10} 、結合して、 $-O-$ であり； R_8 は $C_1 - C_{10}$ アルキルまたは $COOR_b$ であり；ならびに R_9 は H、 OR_c 、または $OC(O)R_c$ であり；前記 R_a 、 R_b 、および R_c の各々は、独立して、H、 $C_1 - C_{10}$ アルキル、 $C_3 - C_{20}$ シクロアルキル、 $C_3 - C_{20}$ ヘテロシクロアルキル、ヘテロアリール、またはアリールである。

30

【0019】

式 (II) に関して、上述の化合物のサブセットは、化合物中、 R_1 が $C_1 - C_{10}$ アルキル、 $C_3 - C_{20}$ ヘテロシクロアルキル、 OR 、または $COOR$ で置換されたテトラヒドロピラニルであり； R は H、 $C_1 - C_{10}$ アルキル、 $C_3 - C_{20}$ シクロアルキル、 $C_3 - C_{20}$ ヘテロシクロアルキル、ヘテロアリール、またはアリールであり； R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_{11} 、および R_{12} の各々が、独立して、H、OH、または必要であれば OH で置換される CH_3 であり；あるいは R_8 が CH_3 または $COOH$ である化合物である。

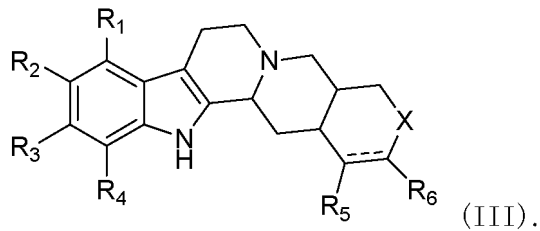
40

【0020】

さらに別の実施態様としては、本発明は、式 (III) の化合物またはそれらの塩の有効量を、コロナウイルス感染の治療を必要とする対象に対して、投与することによって、コロナウイルス感染を治療する方法を特徴とする：

【0021】

【化3】



【0022】

式(III)中、

【0023】

【化4】

【0024】

は、単一結合または二重結合であり；Xは、 $-O-$ または $-C(R_a R_b)-$ であり；
 ならびに R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、および R_6 の各々は、独立して、 H 、 $C_1 - C_{10}$ アルキル、 $C_3 - C_{20}$ シクロアルキル、 $C_3 - C_{20}$ ヘテロシクロアルキル、ヘテロアリール、アリール、 OR_c 、または $COOR_c$ であり；前記 R_a 、 R_b 、および R_c の各々は、独立して、 H 、 $C_1 - C_{10}$ アルキル、 $C_3 - C_{20}$ シクロアルキル、 $C_3 - C_{20}$ ヘテロシクロアルキル、ヘテロアリール、アリール、または $OC(O)R$ であり； R は H 、 $C_1 - C_{10}$ アルキル、 $C_3 - C_{20}$ シクロアルキル、 $C_3 - C_{20}$ ヘテロシクロアルキル、ヘテロアリール、またはアリールである。

【0025】

式(III)に関して、上述の化合物のサブセットは、化合物中、

【0026】

【化5】

【0027】

が、単一結合である化合物である。これらの化合物中、Xは、 $-C(R_a R_b)-$ であり； R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、および R_6 の各々は、独立して、 H 、 OH 、 OCH_3 、または $COOCH_3$ であってもよく；ならびに R_a および R_b の各々は、独立して、 H または $OC(O)R$ であってもよい。上述した化合物の他のサブセットは、化合物中、

【0028】

【化6】

【0029】

が二重結合である化合物である。これらの化合物中、Xは $-O-$ であってもよく、および R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、および R_6 の各々は、独立して、 H または $COOCH_3$ であってもよい。

【0030】

さらに別の実施態様において、本発明は、化合物3、4、6-12、14、15、または17（構造は下記に示す）またはそれらの塩の有効量を、コロナウイルス感染の治療を必要とする対象に対して、投与することによって、コロナウイルス（例えば、重症急性呼吸器症候群ウイルス）の感染を治療する方法を特徴とする。

【0031】

また、本発明は、上述の化合物の少なくとも1つの有効量と薬学的に許容されるキャリ

10

20

30

40

50

アーとを含む薬剤組成物を包含する。

【0032】

本発明を実施するために用いられうる化合物には、妥当な場合、化合物の塩、プロドラッグ、および溶媒和物と同様に、化合物自身も含まれる。例えば、塩は、上述した化合物上に、アニオンと正に帯電した置換基（例えば、アミノ）との間に形成されうる。適切なアニオンとしては、塩化物、臭化物、ヨウ化物、硫酸塩、硝酸塩、リン酸塩、クエン酸塩、メタンスルホン酸塩、トリフルオロ酢酸塩、酢酸塩、リンゴ酸塩、トシル酸塩、酒石酸塩、フマル酸塩（*fumarate*）、グルタミン酸塩、グルクロン酸塩、乳酸塩、グルタン酸塩（*glutarate*）、およびマレイン酸塩が挙げられる。同様に、塩は、上述した化合物上で、カチオンと負に帯電した置換基（例えば、カルボキシ基）との間に形成されうる。適切なカチオンとしては、ナトリウムイオン、カリウムイオン、マグネシウムイオン、カルシウムイオン、およびテトラメチルアンモニウムイオンのようなアンモニウムカチオンが挙げられる。上述した化合物には、4級窒素原子を含むこれらの塩も含まれる。プロドラッグの例としては、エステルおよび他の薬学的に許容される誘導体が挙げられ、かようなプロドラッグは、対象への投与に際して上述した活性化合物を提供しうる。溶媒和物は、上述した活性化合物と薬学的に許容される溶媒との間に形成される複合体を指す。薬学的に許容される溶媒の例としては、水、エタノール、イソプロパノール、酢酸エチル、酢酸およびエタノールアミンが挙げられる。

10

【0033】

コロナウイルス感染治療の際に用いるための1または2以上の上述した化合物を含む組成物、および、既述した治療用の薬剤の製造のためのかような組成物の使用もまた、本発明の範囲内である。

20

【0034】

本発明の1または2以上の実施形態の詳細は、下の説明中において説明する。本発明の他の特徴、目的、および利点は、本明細書および請求項から、理解されるであろう。

【0035】

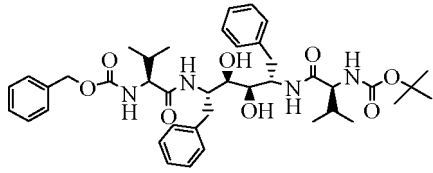
詳細な説明

本発明は、重症急性呼吸器症候群ウイルスのようなコロナウイルスの感染治療に関する。下に示すのは、本発明を実施するために用いられうる35の好適な化合物（すなわち、化合物1~35）である：

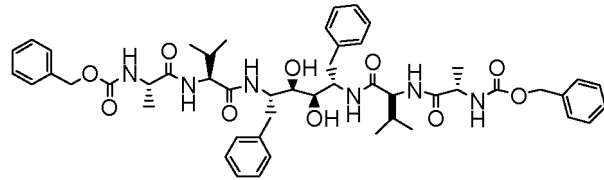
30

【0036】

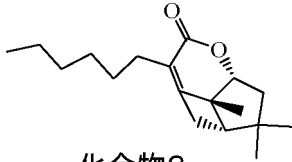
【化 7】



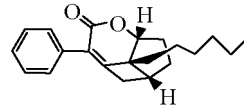
化合物1



化合物2

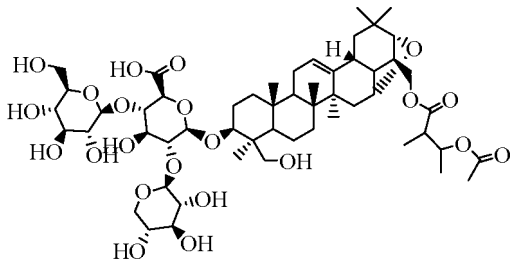


化合物3

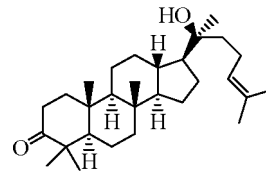


化合物4

10

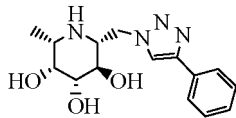


化合物5

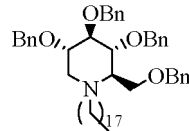


化合物6

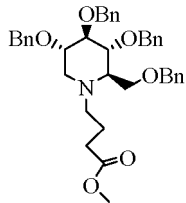
20



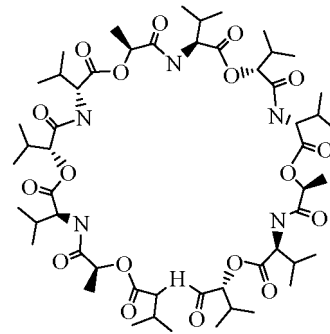
化合物7



化合物8

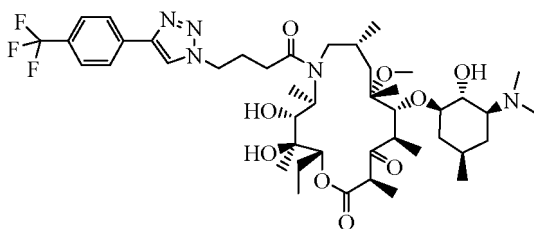


化合物9

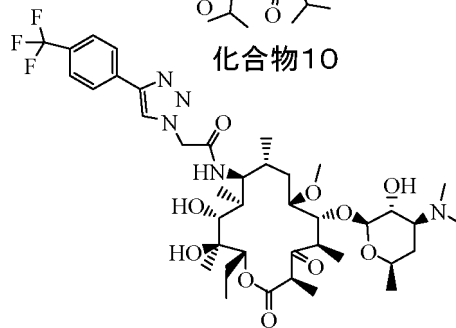


化合物10

30



化合物11

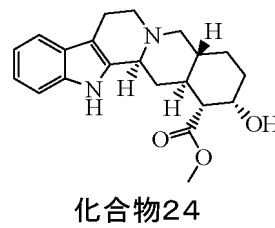
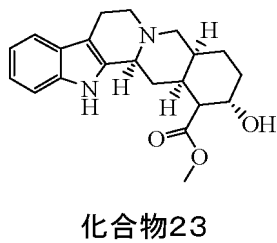
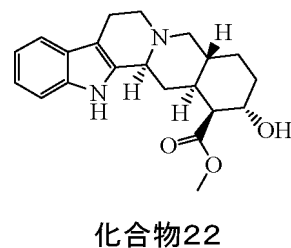
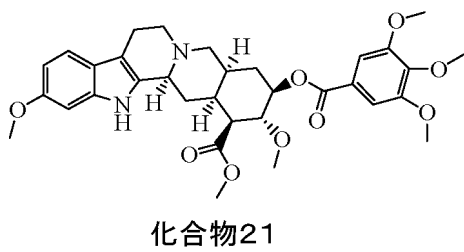
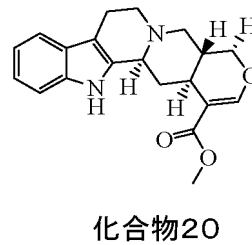
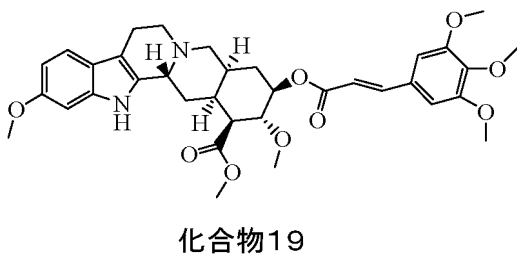
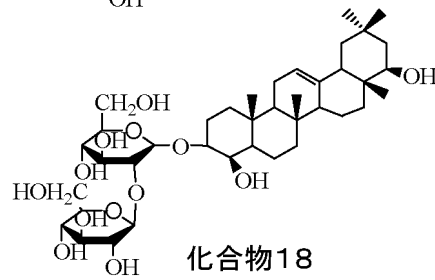
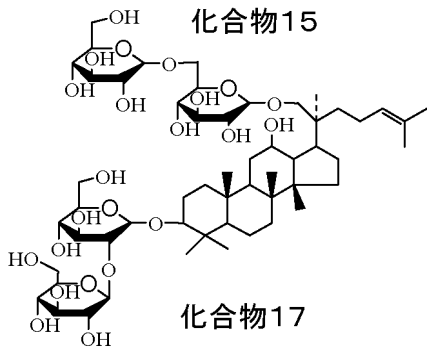
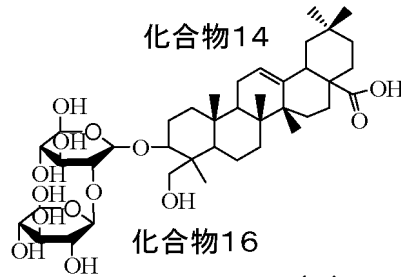
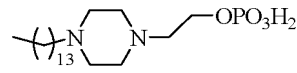
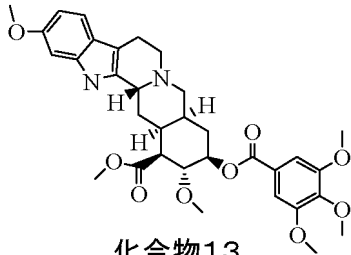


化合物12

40

【 0 0 3 7 】

【化 8】



10

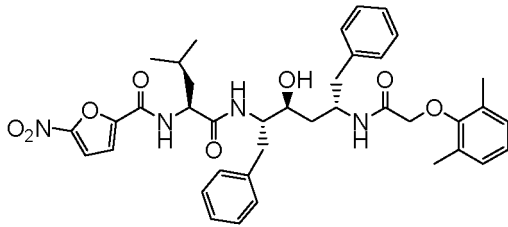
20

30

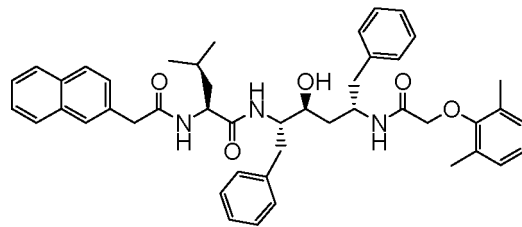
40

【 0 0 3 8 】

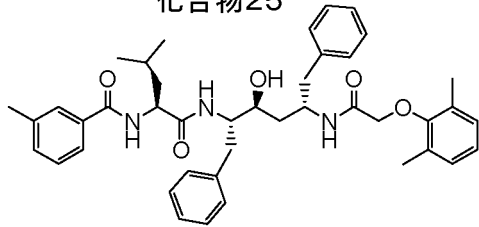
【化 9】



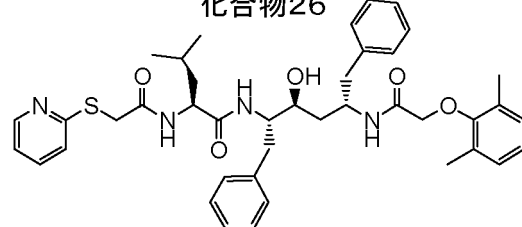
化合物25



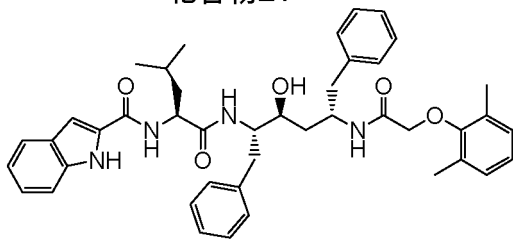
化合物26



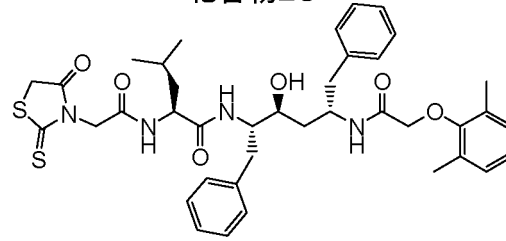
化合物27



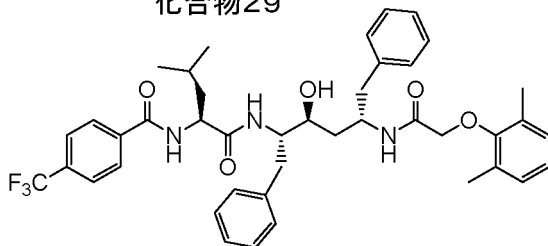
化合物28



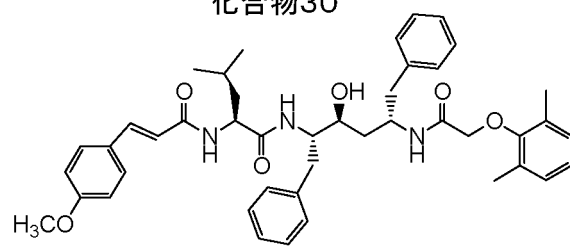
化合物29



化合物30



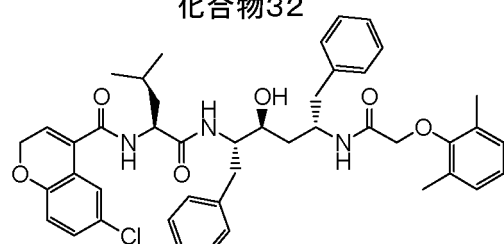
化合物31



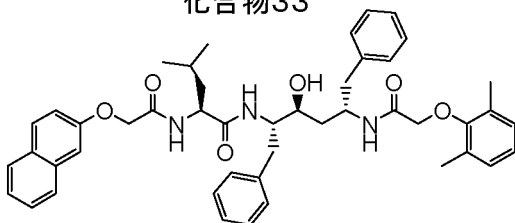
化合物32



化合物33



化合物34



化合物35

【0039】

上述した化合物のうち、ミズーリ州セントルイスのシグマアルドリッチ社のような商業的供給源から入手可能のものもある。かような化合物の全ては、公知の方法で調整される。例えば、Lee et al., J. Am. Chem. Soc., 1999, 121: 1145 - 1155 およびその中で引用される参考文献を参照のこと。例えば、上で示した化合物 25 は、ペプチドカップリング反応系を経て調整することができ、この反応系

10

20

30

40

50

は本分野で公知である。かような反応のうちの1つを下記例3に記載する。化合物1、2、および26～35の調整の詳細は、下記例1、2および4～13中に記載する。化合物3～24は、市販品である。かようにして合成された化合物は、カラムクロマトグラフ、高圧液体クロマトグラフ、または再結晶のような方法で精製されうる。本発明を実施するために用いられる他の類似の化合物は、上の合成ルートを通じて他の適切な出発原料および本分野で公知の他の物質を使って調整されうる。上述の方法は、ここで特別に述べた工程の前または後のいずれであっても、最終的に上記の化合物の合成がされるように適切な保護基を付加する、または除去するための追加の工程を含んでもよい。また、所望の化合物を得るために、種々の合成工程の順序を入れ替えて行ってもよい。適切な化合物を合成するのに有用な、合成化学の変形や保護基の手順（保護および脱保護）が本分野で公知であり、例えば、以下で述べられている；R. Larock, *Comprehensive Organic Transformations*, VCH Publishers (1989)；T. W. Greene and P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 2nd Ed., John Wiley and Sons (1991)；L. Fieser and M. Fieser, *Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis*, John Wiley and Sons (1994)；and L. Paquette, ed., *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis*, John Wiley and Sons (1995) およびこれらの以降の版。

10

20

【0040】

ここで述べた化合物は、非芳香族二重結合および1または2以上の不斉中心を含んでもよい。したがって、化合物は、ラセミ酸塩およびラセミ混合物、単一のエナンチオマー、各ジアステレオマー、ジアステレオマー混合物、ならびにシス-またはトランス-異性体として存在しうる。かような全ての異性体が考慮される。

【0041】

本発明はまた、コロナウイルスに感染した、あるいは場合によっては、ヒトまたはネコ免疫不全ウイルスにも感染した対象に対して、上述した薬物化合物の1または2以上の有効量を投与する方法も包含する。薬物化合物は、下記の方法によって、または米国特許第6,803,466号およびLee et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 1999, 121:1145-1155で記載されているような本分野で公知の方法によって、これらの感染に対する阻害活性に対して選別されうる。

30

【0042】

さらに、本発明は、上述した薬物化合物の1または2以上の有効量をコロナウイルスプロテアーゼおよび場合によっては、ヒトまたはネコ免疫不全ウイルスプロテアーゼあるいはヒトおよびネコ免疫不全ウイルスプロテアーゼに接触させる方法を包含する。化合物は、下記の方法によって、または米国特許第6,803,466号およびLee et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 1999, 121:1145-1155で記載されているような本分野で公知の方法によって、1または2以上のこれらのプロテアーゼに対する阻害活性に対して選別されうる。

40

【0043】

上述の少なくとも1の化合物の有効量および薬学的に許容されるキャリアーを含む薬物組成物もまた、本発明の範囲内である。かような薬物組成物の投与レジメンは周知であり、必要であれば容易に設定し直すことが可能である。有効1回投与量は、当業者によって理解されているように、コロナウイルスの感染のタイプや程度；対象のサイズ、重量、年齢、および性別；投与経路；賦形剤の使用；ならびに他の治療での可能な併用によって変更されうる。

【0044】

本発明の方法を実施するために、1または2以上の上述した化合物を含む組成物を、非経口、経口、経鼻、直腸、局所、または口腔投与することができる。本明細書で用いられ

50

る「非経口」という用語は、適切な注入技術と同様に、皮下、皮内、静脈、筋肉内、関節内、動脈内、滑液嚢内、胸骨内、髄腔内、病巣内、または頭蓋内注射を指す。

【0045】

無菌注射剤組成物は、1, 3-ブタンジオール中の溶液のような、毒性のない非経口的に許容される希釈剤または溶媒中の溶液あるいは懸濁液であってもよい。使用可能な許容される賦形剤および溶媒は、マンニトール、水、リンガー溶液、および等張の塩化物溶液である。また、不揮発性油は、溶媒または懸濁媒質として従来から用いられている（例えば、合成モノまたはジグリセリド）。オリーブ油またはヒマシ油のような、天然の薬学的に許容される油であるので、オレイン酸のような脂肪酸およびそのグリセリド誘導体、特にそれらのポリオキシエチレン型は、注射剤の調整において有用である。これらのオイル溶液または懸濁液はまた、長鎖アルコール希釈剤または分散剤、あるいはカルボキシメチルセルロースまたは類似の分散剤をふくんでいてもよい。TweenもしくはSpanのような一般的に用いられる他の界面活性剤または他の類似の乳化剤あるいは薬学的に許容される固形剤、液剤もしくは他の剤形の製造に一般的に用いられる生物学的利用能を増強するものもまた、製剤の目的で用いられうる。

10

【0046】

経口投与の組成物は、カプセル、タブレット、エマルジョン、ならびに水性懸濁液、分散液、および溶液を含む、経口的に許容されるいかなる剤形であってもよい。タブレットの場合、一般的に用いられるキャリアーとしては、乳糖およびコーンスターチが挙げられる。ステアリン酸マグネシウムのような、平滑剤もまた、典型的に添加される。カプセル剤中に経口投与される場合には、有用な希釈剤としては、乳糖および乾燥コーンスターチが挙げられる。水性懸濁液またはエマルジョンが経口的に投与されるとき、活性成分は、乳化剤または懸濁剤を含有した油相中に懸濁または溶解されうる。所望の場合、甘味料、香味料、または着色剤を添加することもできる。

20

【0047】

経鼻エアゾルまたは吸入組成物は、製剤処方分野で公知の技術に従って調整されうる。例えば、かような組成物は、本分野で公知の、ベンジルアルコールもしくは他の適切な保存剤、生物学的利用能を高める吸収促進剤、フルオロカーボン類、および/または他の可溶化剤もしくは分散剤とともに、生理食塩水中の溶液として調整されうる。1または2以上の上述の活性化化合物を含む組成物を、直腸投与用の坐薬剤で投与してもよい。

30

【0048】

薬学的に許容されるキャリアーは、通常、1または2以上の上述の活性化化合物とともに用いられる。薬剤組成物におけるキャリアーは、組成物の活性成分と相性がよく（そして好ましくは、活性成分を安定化することができ）、治療される対象に対して有害ではないという意味で、「許容」されなければならない。1または2以上の可溶化剤を、上述した化合物の運搬用の薬物賦形剤として利用することができる。他のキャリアーの例としては、コロイド状酸化ケイ素、ステアリン酸マグネシウム、セルロース、ラウリル硫酸ナトリウム、およびD & C Yellow # 10が挙げられる。

【0049】

上述した化合物は、重症急性呼吸器症候群ウイルスの複製に対する有効性のためのin vitroアッセイによって、あらかじめ選択されうる（下記例14および15参照）。他の方法もまた、当業者に明白である。例えば、米国特許第6, 803, 466号およびLee et al., J. Am. Chem. Soc., 1999, 121: 1145-1155を参照のこと。これらの化合物は、in vivoアッセイによってもまた選択されうる。

40

【実施例】

【0050】

下記の特定の例は、単に説明のためのものとして解釈されるべきであり、いかなる場合であれ、開示の残余を制限すべきものではない。さらに労することなく、本明細書の記載に基づいて、当業者が本発明を最大限利用することができるものと確信する。本明細書で

50

, 4.10 (1H, qu, J = 7.0), 4.27 (1H, s), 4.0 - 4.20 (1H, m), 4.23 - 4.32 (1H, m), 6.92 - 6.96 (1H, br), 7.05 - 7.34 (12H, m)。

【0057】

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d₆, 80 °C): 17.7, 19.6, 19.7, 28.7, 30.4, 30.5, 30.7, 38.3, 45.4, 47.8, 53.0, 60.9, 65.9, 67.1, 72.8, 126.9, 127.6, 128.0, 128.8, 128.9, 129.0, 129.7, 138.3, 172.0, 172.5。

【0058】

MS (ESI) (M + H⁺): 733。

10

【0059】

例 2: 化合物 2 の調整

化合物 2 は、Lee et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 1998, 95, 939 - 944 に記載の方法に従って、調整した。

【0060】

^1H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, 80 °C): 0.70 (3H, d, J = 2.4), 0.72 (3H, d, J = 2.4), 1.21 (3H, d, J = 7.0), 1.87 (1H, se, J = 6.7), 2.69 - 2.79 (2H, m), 3.32 (1H, s), 4.03 (1H, dd, J = 8.8, 6.4), 4.10 (1H, qu, J = 7.0), 4.27 (1H, s), 4.34 - 4.40 (1H, m), 5.04 (2H, s), 6.92 - 6.96 (1H, br), 7.05 - 7.34 (12H, m)。

20

【0061】

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d₆, 80 °C): 17.3, 17.6, 18.7, 29.7, 38.0, 49.9, 50.4, 57.8, 65.1, 72.5, 125.1, 127.0, 127.2, 127.3, 127.8, 128.6, 136.6, 138.4, 155.1, 169.8, 171.6。

【0062】

HRMS (FAB+) (M + Cs⁺): 1041.3780。

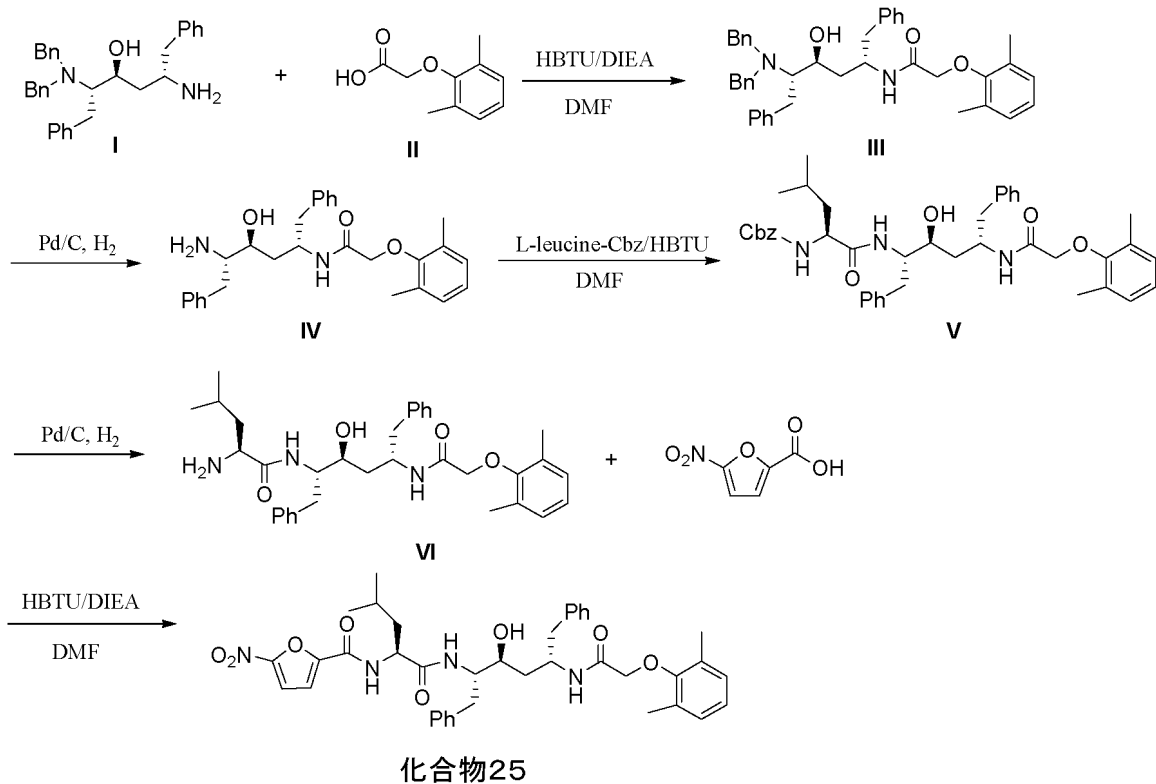
【0063】

実施例 3: 化合物 25 の調製

30

【0064】

【化 1 1】



10

20

【0065】

化合物 I および II を、それぞれ Stuk et al., J. Org. Chem. 1994, 59: 4040 および Sham et al., Bioorg. Med. Chem. Lett. 2002, 12: 1185 - 1187 に記載の方法に従って調整した。20 ml 乾燥 DMF 中の化合物 I (0.93 g, 2.0 mmol) および化合物 II (0.38 g, 2.1 mmol) の溶液に、20 °C、Ar 雰囲気下、HBTU (ペプチドカップリング剤, 0.80 g, 2.1 mmol) を、次いで DIEA (0.5 mL, 4.2 mmol) を添加した。30 分間攪拌後、反応混合物をブラインの添加によって急冷し、そして EtOAc で抽出した。有機層を 1 M HCl、飽和 NaHCO₃ 水溶液、およびブラインで洗った後、無水 MgSO₄ で乾燥させ、濾過し、そして真空下で濃縮した。かようにして得られた粗生成物をフラッシュクロマトグラフによって精製し、90% の収率で化合物 III を得た。

30

【0066】

EtOAc (40 mL) 中の化合物 III (0.6 g, 0.98 mmol) を 10% Pd/C (200 mg) 存在下、H₂ (1 atm) の下で 20 ~ 20 時間攪拌した。混合物をセライトで濾過し、次いで真空下で濃縮し、精製することなくカップリング反応に用いられる、無色粘性の化合物 IV (0.39 g) を得た。

40

【0067】

HBTU (0.36 g, 0.96 mmol) および DIEA (0.23 mL, 1.91 mmol) を DMF (15 mL) 中の化合物 IV (0.39 g, 0.87 mmol) および N-Cbz-L-leucine (0.25 g, 0.96 mmol) の溶液に添加した。反応混合物を 30 分間 20 °C で Ar 下、攪拌した。ブリン (45 mL) の添加によって反応を終了させた後、混合物を EtOAc で抽出した (4 × 30 mL)。有機層を合わせ、1 M HCl (10 mL)、飽和 NaHCO₃ 水溶液 (10 mL)、および飽和 NaCl 水溶液 (10 mL) で連続的に洗った。次いで、有機層を無水 MgSO₄ で乾燥させ、濾過し、そして真空下で濃縮した。かようにして得られた粗生成物をフラッシュクロマトグラフによって精製し、白色固形状化合物 V (0.53 g, 78% . 2 段階) を得た。

50

【0068】

EtOAc (40 mL) 中、化合物 V (0.5 g, 0.728 mmol) を 10% Pd/C (200 mg) 存在下、 H_2 (1 atm) の下で 20°C 20 時間攪拌した。混合物をセライトで濾過し、次いで真空下で濃縮した。かようにして得られた粗生成物をフラッシュクロマトグラフによって精製し、白色固形状の化合物 VI (0.37 g, 92%) を得た。

【0069】

HBTU (0.15 g, 0.40 mmol) および DIEA (0.1 mL, 0.80 mmol) を DMF (15 mL) 中の化合物 VI (0.2 g, 0.36 mmol) および 5-ニトロフラン-2-カルボン酸 (62.8 mg, 0.40 mmol) 溶液に添加した。30 分間、20°C、Ar 下で攪拌後、ブライン (45 mL) の添加によって反応を終了させた後、混合物を EtOAc で抽出した (4 × 30 mL)。有機層を合わせ、1 M HCl (10 mL)、飽和 NaHCO₃ 水溶液 (10 mL)、および飽和 NaCl 水溶液 (10 mL) で連続的に洗った。次いで、有機層を無水 MgSO₄ で乾燥させ、濾過し、そして真空下で濃縮した。かようにして得られた粗生成物をフラッシュクロマトグラフによって精製し、白色固形状の化合物 25 (0.23 g, 90%) を得た。

10

【0070】

LC-MS (M + H⁺) : 699。

【0071】

例 4 : 化合物 26 の調整

化合物 26 は、例 3 で述べたのと同様の方法で調整した。

20

【0072】

LC-MS (M + H⁺) : 747。

【0073】

例 5 : 化合物 27 の調整

化合物 27 は、例 3 で述べたのと同様の方法で調整した。

【0074】

LC-MS (M + H⁺) : 678。

【0075】

例 6 : 化合物 28 の調整

化合物 28 は、例 3 で述べたのと同様の方法で調整した。

30

【0076】

LC-MS (M + H⁺) : 711。

【0077】

例 7 : 化合物 29 の調整

化合物 29 は、例 3 で述べたのと同様の方法で調整した。

【0078】

LC-MS (M + H⁺) : 703。

【0079】

例 8 : 化合物 30 の調整

化合物 30 は、例 3 で述べたのと同様の方法で調整した。

40

【0080】

LC-MS (M + H⁺) : 733。

【0081】

例 9 : 化合物 31 の調整

化合物 31 は、例 3 で述べたのと同様の方法で調整した。

【0082】

LC-MS (M + H⁺) : 732。

【0083】

例 10 : 化合物 32 の調整

50

化合物 3 2 は、例 3 で述べたのと同様の方法で調整した。

【0084】

LC - MS (M + H⁺) : 720。

【0085】

例 1 1 : 化合物 3 3 の調整

化合物 3 3 は、例 3 で述べたのと同様の方法で調整した。

【0086】

LC - MS (M + H⁺) : 731。

【0087】

例 1 2 : 化合物 3 4 の調整

化合物 3 4 は、例 3 で述べたのと同様の方法で調整した。

【0088】

LC - MS (M + H⁺) : 752。

【0089】

例 1 3 : 化合物 3 5 の調整

化合物 3 5 は、例 3 で述べたのと同様の方法で調整した。

【0090】

LC - MS (M + H⁺) : 744。

【0091】

例 1 4 : スクリーニングアッセイ

化合物 1 ~ 3 5 は、細胞変性効果 (C P E) を観察することによって、重症急性呼吸器症候群ウイルスの阻害活性に対して一次スクリーニングを行った。アッセイは以下のように行った：10%ウシ胎仔血清 (F B S) を加えたダルベッコ変法イーグル培地 (D u l b e c c o ' s M o d i f i e d E a g l e ' s M e d i u m (D M E M)) 中、ベロ (V e r o) E 6 細胞 (2 × 1 0 4 / ウェル) を 9 6 ウェルプレートで培養した。1日培養後、細胞が 8 0 ~ 9 0 % コンフルエンスになったときに、培養培地を除去した。試験化合物を 1 0 μ L 含む、2 % F B S 入り D M E M 1 0 0 μ L をウェル中に (トリプリーケートで) 添加した。2 % F B S 入り D M E M 中の細胞を C P E - ポジティブコントロールとして用いた (この場合もトリプリーケート) 。次いで、C O₂ インキュベーター中で、全ての細胞を 3 7 ° C 2 時間インキュベートし、次に重症急性呼吸器症候群ウイルス (H . K .) を投与量 1 0 0 T C I D₅₀ / ウェルで接種した。倒立顕微鏡を用いて、感染 7 2 時間後に細胞変性の形態変化を観察した。

【0092】

酵素免疫蛍光測定法 (E L I S A) 、免疫蛍光法 (I F A) 、ウエスタンブロッティングアッセイ (W B A) 、フローサイトメトリー分析 (F C A) 、および 3 C L - プロテアーゼ阻害アッセイを用いて、試験化合物の阻害活性を確認した。これらのアッセイを以下に詳細に述べる。

【0093】

酵素免疫蛍光測定法

重症急性呼吸器症候群ウイルスおよび試験化合物とともにベロ E 6 細胞をインキュベートした後、リン酸緩衝生理食塩水 (P B S) で細胞をリンスし、メタノール : アセトン = 1 : 1 を含む溶液中に室温で 3 分間固定し、そして P B S で 3 回リンスした。次いで、P B S 中、3 % スキムミルクで細胞を室温で 3 0 分間ブロックし、重症急性呼吸器症候群ウイルスのスパイクタンパク質に対する、1 : 2 , 0 0 0 に希釈されたモノクローナル抗体 (腹水) とともに 3 7 ° C 、1 時間インキュベートした。全てのサンプルを室温で P B S - T バッファーで 3 回、P B S バッファーで 2 回洗い、次いで、室温で 3 0 分間、H R P 標識ヤギ抗マウス I g G とともに 3 0 分インキュベートした。インキュベーションの間に 0 . 0 5 % T w e e n 2 0 を含む P B S でプレートをリンスした。O - フェニレンジアミン二塩酸塩、クエン酸塩バッファー (p H 5 . 0) 、および過酸化水素を含む基質溶液を各々のウェルに添加した。次いで、プレートに蓋をし、室温で 1 0 分間、プレートを静かに

10

20

30

40

50

振とうした。3 N 硫酸を添加することによって反応を終了させた後、すぐに各々のプレートの蛍光強度を 492 nm で測定した。各々の薬剤の EC₅₀ 値を OD₄₉₂ に対する薬剤濃度の直線回帰プロットから算出した。

【0094】

免疫蛍光法

感染細胞またはコントロール細胞を PBS でリンスし、最終濃度 1×10^6 cells / mL となるように細胞を再懸濁した。各試験化合物濃度または各コントロールに対して、 2×10^4 細胞をウェルにスポットすることによって、IFA 用のスライドを調整した。次いでスライドを乾燥させ、冷メタノール：アセトン = 1：1 溶液中で 3 分間固定し、リンスし、そして IFA 用に染色する前に -20 で貯蔵した。Daudi 細胞を元に戻し、次いで PBS 中、3% スキムミルクで細胞を室温で 30 分間ブロックした。ペロ E 6 細胞を元に戻し、ブロックし、0.1% サポニンおよび 1% FBS を含む PBS 中で細胞を膜透過させた。全ての他の細胞を元に戻し、ブロックし、5% FBS、4% 正常ヤギ血清および 0.5% DMSO を含む PBS 中で 30 分間細胞を膜透過させた。次いで、ブロッキング溶液で希釈された一次抗体で、細胞を 37 1 時間、水チャンバー内でインキュベートした。PBS でリンスした後、3 g / mL FITC 標識ヤギ - 抗マウス IgG + IgM 二次抗体 (Jackson ImmunoResearch, West Grove, PA) で細胞を 37 1 時間インキュベートした。PBS で再度リンスした後、5 分間 PBS 中 0.1% エバンスブルー染色 (Fisher, Fair Lawn, NJ) で細胞を染色した。過剰な造影剤を除去するためにスライドをリンスし、PBS 中 50% グリセロール溶液を用いて、カバースライドをつけた。細胞を Nikon (Nikon, Melville, NY) 蛍光顕微鏡で倍率 400x で観察した。各々の試験化合物に対して、500 細胞をカウントし、抗原 - 陽性細胞のパーセンテージを算出した。ウイルス複製を 50% 阻害するのに必要な濃度 (EC₅₀) を決定した。

10

20

【0095】

ウエスタンブロッティングアッセイ

重症急性呼吸器症候群ウイルス感染ペロ E 6 細胞を種々の濃度で 24 または 48 時間試験化合物で処理し、次いでライシスバッファー (lysis buffer) で細胞を 3 分間溶解させた。細胞片を遠心し、全ての細胞溶解物を、SDS - PAGE および Hybond - C Extra 膜 (Amersham Biosciences, Piscataway, NJ) を用いる電気泳動およびウエスタンブロッティング用に回収した。得られた膜を PBS 中 3% スキムミルクで室温 30 分間ブロックし、次いで、1：5,000 で希釈された抗 - スパイクタンパク質モノクローナル腹水または 1：2,000 で希釈されたマウス抗 - アクチン Ab (Chemicon MAb 1501) のいずれかで膜を室温 1 時間処理した。PBS - T バッファー 2 回分で膜をリンスし、次いで室温で、15 分間 1 回、5 分間 2 回 PBS で洗った。次いで、膜を 1：2,000 で希釈された HRP 標識ヤギ抗 - マウス IgG で 30 分間および 1 時間処理した。膜を上記のように洗い、混合 ECL 検出試薬を膜のタンパク質側に添加した。タンパク質発現レベルがわかるように、プロットをタンパク質側が上になるようにフィルムカセット中に置いた。

30

【0096】

フローサイトメトリー分析

ペロ E 6 細胞をリンスし、PBS 中 5% FBS および 4% ヤギ血清でブロックした。重症急性呼吸器症候群ウイルス感染細胞を 0.05% トリプシン - EDTA 培地でトリプシン処理した。細胞培養培地を含む丸底 ELISA プレートの各ウェルまたは各 1.5 mL マイクロチューブに対して、約 $1 \sim 5 \times 10^5$ 細胞を分注した。懸濁液を遠心し、細胞を PBS でリンスし、再懸濁した。各ウェルまたはマイクロチューブに CYTOFIX / CYTOPEM 溶液 100 μ l を添加した。細胞を固定化し、4 20 分間、2 mL メタノール中で膜透過させた。次いで、細胞を 5% FBS、4% 血清、および 0.5% DMSO を含む PBS で 30 分間 37 でブロックした。ブロッキング溶液で希釈した一次抗体の 20 mL とともに細胞を 1 時間 37 インキュベートし、次いでブロッキング溶液 4 m

40

50

Lで2回リンスし、5分間1000×gの遠心によってペレットを得た。2回リンスした後、FITC標識ヤギ抗-マウスIgG+IgM(Jackson ImmunoResearch, West Grove, PA)0.5mLを添加し、37で1時間細胞をインキュベートした。次いで細胞をPBSで2回リンスし、再懸濁する前に遠心によって、ペレット化した。

【0097】

ベクトンディッキンソンファックスキャリバー(Becton-Dickenson FacsCalibur)装置を使用してフローサイトメリーのデータを得、そしてWin-MDI 2.7データ分析プログラム(Scripps Research Institute, La Jolla, CA)により該データを分析した。非特異的およびバックグラウンド染色を排除するために得られた点プロットをゲートさせ、陽性細胞のパーセンテージを決定する際にネガティブコントロール中に細胞が1%未満含まれるように、M1バー(bar)を設定した。各テスト化合物に対するEC₅₀値は、抗原陽性細胞のパーセンテージに対する化合物濃度に基づいて描かれたプロットを用いて算出した。

10

3CL-プロテアーゼ阻害アッセイ

重症急性呼吸器症候群ウイルスのメインプロテアーゼをコードする遺伝子は、フォワードプライマー5'-GGTATTGAGGGTTCGCA-GTGGTTTTAGG-3'およびリバースプライマー5'-AGAGGAGAGTTAGAGCCCTTATTGG-AAGGTAAACACC-3'を使ったポリメラーゼ連鎖反応を用いることによってウイルス全体のゲノムからクローン化した。2つのプライマーによって flank (flank) されたPCR生成物をpET32Xa/Licベクター中にサブクローン化した。これらのプライマー中には、FXa切断部位(IEGR)および直線状ベクターpET-32Xa/LICの付着末端に対する相補配列が含まれる。次いで、100μg/mLアンピシリンを含むLB(Luria-Bertani)寒天プレート上に筋状に生育したE.coli JM109コンピテントセルを形質転換させるためにリコンビナントプロテアーゼプラスミドを用いた。続いて、正しい構成物を、Hisタグタンパク質の発現用E.coli BL21に形質転換し、次いでタグを除去するためのFXaプロテアーゼとともにダイジェスションを行った。精製されたタンパク質の構造は、N-末端シーケンズおよび質量分析によって確認した。全ての実験に用いられた酵素濃度は、280nmの吸収から決定した。

20

30

【0098】

全ての反応速度測定は、25、20mM Bis-Tris(pH7.0)中で行った。蛍光性基質ペプチド(Dabcyl-KTSAVLQ-SGFRKME-Edans)の切断によって増強した蛍光を蛍光プレートリーダー(Fluoroskan Ascent, ThermoLabsystems, スウェーデン)を使って355nmの励起で538nmで測定した。

【0099】

上述のアッセイを使って、化合物1~35の試験を行った。予期せぬことに、化合物の全てが、低いEC₅₀値、すなわち0.85~100mMの間を示した。

【0100】

40

実施例 15: 細胞毒性試験

ベロE6細胞を加湿下5%CO₂インキュベーター中、37、L-グルタミン、非必須アミノ酸、および10%FBSを添加したDMEM中、75cm³フラスコで生育させた。次いで細胞を96ウェルプレート上に7×10⁴cells ml⁻¹植え、オーバーナイト置いた。

【0101】

Cell Titer 96 non-Radioactive Cell Proliferation Assayキット(Promega, Madison, WI)を使って、生存細胞数を決定した。該キットは、代謝的に活動している細胞のミトコンドリア中に存在するデヒドロゲナーゼによる、Owen's reagent、3-(4,5

50

- ジメチルチアゾル - 2 - イル) - 5 - (3 - カルボキシメトキシフェニル) - 2 - (4 - スルホ - フェニル) - 2 H - テトラゾリウム、inner salt (M T S) の代謝転化によって生産されるホルマザン (F o r m a z a n) の量を測定し、直接的に生存細胞数に比例する。簡潔に述べると、2日間種々の濃度で試験化合物とともにインキュベーションした後、培養培地を D M E M 中の M T S / フェナジンメトサルフェートで置換した。37 で2時間インキュベーションした後、吸収を 490 nm でプレートリーダーを使って測定した。いかなる試験化合物も存在しない中で培養したコントロール細胞のパーセンテージを 100 % としてデータを示した。

【 0 1 0 2 】

化合物 1 ~ 15 の細胞毒性の試験を行った。予期せぬことに、いずれの化合物も重症急性呼吸器症候群ウイルスに対する E C ₅₀ 濃度に等しい濃度では細胞成長に阻害効果を示さなかった。さらに、試験化合物の 10 は、重症急性呼吸器症候群ウイルスに対する E C ₅₀ 濃度の 4 倍量の濃度でも細胞成長に阻害効果を示さなかった。

10

【 0 1 0 3 】

他の実施形態

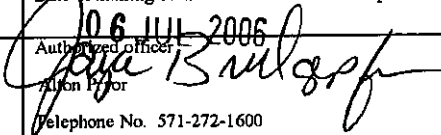
本明細書に記載された全ての特徴は、どのような組み合わせであっても組み合わせてもよい。本明細書に記載された各特徴は、同じ、等しい、または類似の目的を果たす代替的特徴によって置換されてもよい。したがって、表現として別の方法で述べられていない限り、開示された各特徴は、等しい、または類似の特徴の包括的なシリーズの例に過ぎない。

20

【 0 1 0 4 】

上記から、当業者であれば本発明の本質的特徴を容易に確認でき、該特徴の精神および範囲を離れることなく、種々の使用や状況に合わせて、本発明の多様な変化、変形をなすことができる。したがって、他の実施形態も、次の請求項の範囲内である。

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US05/15227
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC: A01N 47/10(2006.01);A61K 31/27(2006.01);C07C 261/00(2006.01),269/00(2006.01),271/00(2006.01) USPC: 514/483;560/25 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) U.S. : 514/483; 560/25 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) stn		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 5,019,495 A (SHANBROM) 28 May 1991 (28.05.1991), column 1 lines 15-25, column 5 lines 55-65.	37-42
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		<input type="checkbox"/> See patent family annex.
* Special categories of cited documents:		
"A"	document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"E"	earlier application or patent published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"L"	document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"O"	document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"Z" document member of the same patent family
"P"	document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	
Date of the actual completion of the international search 20 June 2006 (20.06.2006)		Date of mailing of the international search report 06 JUL 2006
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US Commissioner for Patents P.O. Box 1450 Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. (571) 273-3201		Authorized officer  Telephone No. 571-272-1600

フロントページの続き

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P 31/18 (2006.01)	A 6 1 P 31/18	4 C 2 0 6
A 6 1 P 11/00 (2006.01)	A 6 1 P 11/00	4 H 0 0 6
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 1 1	
A 6 1 K 31/341 (2006.01)	A 6 1 K 31/341	
C 0 7 D 307/71 (2006.01)	C 0 7 D 307/71	
A 6 1 K 31/165 (2006.01)	A 6 1 K 31/165	
A 6 1 K 31/4402 (2006.01)	A 6 1 K 31/4402	
C 0 7 D 213/70 (2006.01)	C 0 7 D 213/70	
A 6 1 K 31/353 (2006.01)	A 6 1 K 31/353	
C 0 7 D 311/58 (2006.01)	C 0 7 D 311/58	
C 1 2 N 9/99 (2006.01)	C 1 2 N 9/99	

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(74) 代理人 100130971

弁理士 都祭 正則

(74) 代理人 100134348

弁理士 長谷川 俊弘

(72) 発明者 ウォン, チ - フェイ

アメリカ合衆国, カリフォルニア州 9 2 0 6 7, ランチョ スタンタ フェ, ピー . オー . ボックス 8 1 5 4

(72) 発明者 ウ, チュン - イ

台湾, シンチュ カウンティ 3 0 7, ヨンリン タウンシップ, サンミン ロード, ナンバー . 1 1 1, 4 エフ, ルーム 3

(72) 発明者 ジャン, ジャ - ツロン

台湾, タイペイ 1 0 0, セク . 3, ディン ジョウ ロード, レーン 2 4, アレイ 2, ナンバー . 7, 5 エフ

F ターム(参考) 4C037 NA04

4C055 AA01 BA02 BA47 CA01 DA01

4C062 FF05

4C084 AA02 AA07 BA01 BA14 BA23 CA59 NA14 ZA59 ZB33 ZC20

ZC55

4C086 BA03 BA08 BC17 MA01 MA04 NA14 ZA59 ZB33 ZC20 ZC55

4C206 AA01 AA03 GA19 GA28 HA21 MA01 MA04 NA14 ZA59 ZB33

ZC20 ZC55

4H006 AA01 AA03 AB20 BJ50 BM10 BM71 BN10 BP30 BV22 BV72

RA06