



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2013년10월02일  
(11) 등록번호 10-1313675  
(24) 등록일자 2013년09월25일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
C07D 241/36 (2006.01) C07D 403/12 (2006.01)  
A61K 31/498 (2006.01) A61P 1/16 (2006.01)  
(21) 출원번호 10-2011-7003982  
(22) 출원일자(국제) 2009년07월17일  
심사청구일자 2011년02월21일  
(85) 번역문제출일자 2011년02월21일  
(65) 공개번호 10-2011-0036627  
(43) 공개일자 2011년04월07일  
(86) 국제출원번호 PCT/US2009/050915  
(87) 국제공개번호 WO 2010/011566  
국제공개일자 2010년01월28일  
(30) 우선권주장  
61/135,559 2008년07월22일 미국(US)  
(56) 선행기술조사문헌  
W02008057209 A1  
W02007016441 A1  
W02006119061 A2  
W02008002924 A2

(73) 특허권자  
이스티투토 디 리세르체 디 비올로지아 몰레콜라 레 피. 안젤레티 에스.알.엘.  
이탈리아 로마 (알엠) 비아 비토르치아노 151 캡 00189  
머크 샤프 앤드 돔 코포레이션  
미국 뉴저지 (우편번호 07065-0907) 라웨이 이스트 링컨 애비뉴 126  
(72) 발명자  
하퍼 스티븐  
이탈리아 아이-00040 포메치아 30.600 비아 폰티나 케이엠  
숨마 빈첸초  
이탈리아 아이-00040 포메치아 30.600 비아 폰티나 케이엠  
(뒷면에 계속)  
(74) 대리인  
장훈

전체 청구항 수 : 총 3 항

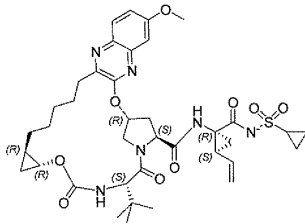
심사관 : 김은영

(54) 발명의 명칭 HCV NS3 프로테아제 억제제로서의 매크로사이클릭 퀴녹살린 화합물

(57) 요약

본 발명은 화학식 I의 매크로사이클릭(macrocyclic) 화합물, 및 C형 간염 바이러스(HCV) NS3 프로테아제의 억제제로서 및, HCV 감염의 치료 또는 예방에 있어서의 이의 용도에 관한 것이다.

화학식 I



(72) 발명자

**리버튼 나이젤 제이.**

미국 뉴저지주 07065-0907 라웨이 이스트 링컨 애  
비뉴 126

**맥컬리 존 에이.**

미국 뉴저지주 07065-0907 라웨이 이스트 링컨 애  
비뉴 126

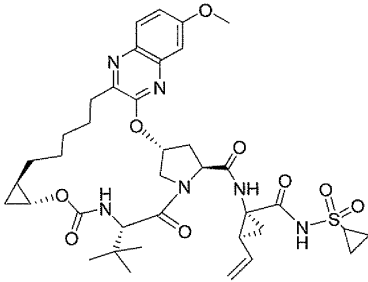
---

**특허청구의 범위**

**청구항 1**

화학식 I의 화합물 또는 약제학적으로 허용되는 이의 염.

화학식 I



**청구항 2**

제1항의 화합물의 유효량 및 약제학적으로 허용되는 담체를 포함하는, C형 간염 바이러스(hepatitis C virus; HCV) 감염을 예방 또는 치료하기 위한 약제학적 조성물.

**청구항 3**

제2항에 있어서, HCV 프로테아제 억제제 및 HCV NS5B 폴리머라제 억제제로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 제2 치료학적 제제를 추가로 포함하는, 약제학적 조성물.

**청구항 4**

삭제

**청구항 5**

삭제

**청구항 6**

삭제

**청구항 7**

삭제

**청구항 8**

삭제

**명세서**

**기술분야**

[0001] 본 발명은 C형 간염 바이러스(HCV: hepatitis C virus) NS3 프로테아제의 억제제로서 유용한 마크로사이클릭 화합물, 상기 화합물의 합성법 및, HCV 감염의 치료 및/또는 HCV 감염의 가능성 또는 중증도의 저하를 위한 상기 화합물의 용도에 관한 것이다.

**배경기술**

[0002] C형 간염 바이러스(HCV) 감염은 상당수의 감염된 개인들에 있어서, 만성 간 질환(예: 간경화 및 간세포 암종)을 유도하는 주요 건강 문제점이다. HCV 감염에 대한 현재의 치료법은 제조합 인터페론- $\alpha$  단독에 의한 또는 뉴클레오사이드 동족체 리바비린과 병용한 면역요법을 포함한다.

[0003] 몇몇 바이러스적으로-암호화된 효소는 메탈로프로테아제(NS2-3), 세린 프로테아제(NS3), 헬리카제(NS3) 및 RNA-의존성 RNA 폴리머라제(NS5B)를 포함한, 치료학적 중재를 위해 추정되는 표적들이다. NS3 프로테아제는 NS3 단백질의 N-말단 도메인에 위치한다. NS4A는 NS3 활성화에 대한 보조인자(cofactor)를 제공한다.

[0004] HCV 감염에 대한 잠재적인 치료법이 문헌(참조: Balsano, Mini Rev. Med. Chem. 8(4):307-318, 2008, Ronn et al., Current Topics in Medicinal Chemistry 8:533-562, 2008, Sheldon et al., Expert Opin. Investig. Drugs 16(8):1171-1181, 2007 및 De Francesco et al., Antiviral Research 58:1-16, 2003)을 포함한 다른 참조 문헌에 논의되어 왔다.

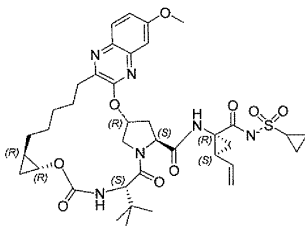
**발명의 내용**

[0005] 발명의 요약

[0006] 본 발명은 화학식 I의 마크로사이클릭 화합물 및 약제학적으로 허용되는 이의 염에 관한 것이다. 상기 화합물 및 이의 염은 HCV NS3 프로테아제 억제제이다. 상기 화합물 및 이의 염은 치료학적 및 연구 용도를 갖는다.

[0007] 따라서, 본 발명의 첫 번째 측면은 화학식 I의 화합물 및 약제학적으로 허용되는 이의 염을 기술하고 있다:

[0008] 화학식 I



[0009]

[0010] 본 발명은 또한 본 발명의 화합물을 함유하는 약제학적 조성물, 및 상기 약제학적 조성물의 제조 방법을 포함한다. 본 발명은 또한 HCV 감염의 가능성 또는 중증도의 치료 방법 또는 저하 방법을 포함한다.

[0011] 본 발명의 다른 양태, 측면 및 특징이 이어지는 상세한 설명, 실시예 및 첨부된 특허청구범위에 추가로 기술되거나 이들로부터 명확해질 것이다.

[0012] 발명의 상세한 설명

[0013] 본 발명은 화학식 I의 화합물 및 약제학적으로 허용되는 이의 염을 포함한다. 상기 화합물 및 약제학적으로 허용되는 이의 염은 HCV NS3 프로테아제의 억제, HCV 감염의 치료 및/또는 HCV 감염의 가능성 또는 중증도의 저하에 유용하다. 예방적 용도는, 예를 들면, 수혈, 체액의 교환, 물림(bites), 우발적인 주사바늘 찔림(accidental needle stick) 또는 수술 도중 환자 혈액에 노출과 같은 매체에 의한 HCV에 대한 의심되는 과거 노출후의 치료를 포함한다.

[0014] 약제학적 조성물 성분으로서, 상기 화합물 및 염은 주요 활성 치료학적 제제일 수 있다. 경우에 따라, 상기 화합물은, 이로써 제한되는 것은 아니지만 다른 HCV 항바이러스제, 항감염제, 면역조절제, 항생제 또는 백신을 포함한 다른 치료학적 제제와 병용할 수 있다.

[0015] NS3 억제제는 또한 항바이러스 화합물에 대한 스크리닝 검정의 준비 또는 실행에 유용하다. 예를 들면, 상기 화합물은 보다 강력한 항바이러스 화합물에 대한 우수한 스크리닝 기구인, 효소 돌연변이체들을 분리하는데 사용될 수 있다. 또한, 상기 화합물은, 예를 들면 경쟁적 억제에 의해, HCV 프로테아제에 대한 다른 항바이러스제의 결합 부위를 확립하거나 결정하는데 사용될 수 있다.

[0016] 실시예 2에 추가로 기술되는 바와 같이, 화학식 I의 화합물은 제WO 2008/057209호의 실시예 110 및 118의 화합물과 비교되며, 몇몇 장점을 갖는다. 제WO 2008/057209호는 청구된 본 발명에 대해 선행 기술로 인정되지 않는다.

[0017] I. 조성물 및 방법

- [0018] 다른 양태들은 다음을 포함한다:
- [0019] (a) 화학식 I의 화합물의 유효량 및 약제학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약제학적 조성물.
- [0020] (b) HCV 항바이러스제, 면역조절제 및 항감염제로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 제2 치료학적 제제를 추가로 포함하는, (a)의 약제학적 조성물.
- [0021] (c) 상기 HCV 항바이러스제가 HCV 프로테아제 억제제 및 HCV NS5B 폴리머라제 억제제로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 항바이러스제인, (b)의 약제학적 조성물.
- [0022] (d) (i) 화학식 I의 화합물 및 (ii) HCV 항바이러스제, 면역조절제 및 항감염제로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 제2 치료학적 제제(이때, 상기 화학식 I의 화합물 및 상기 제2 치료학적 제제는 HCV NS3 프로테아제를 억제하거나, HCV 감염을 치료하고/하거나, HCV 감염의 가능성 또는 중증도를 저하시키는데 효과적인 병용물을 만드는 양으로 각각 사용된다)인 약제학적 병용물.
- [0023] (e) 상기 HCV 항바이러스제가 HCV 프로테아제 억제제 및 HCV NS5B 폴리머라제 억제제로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 항바이러스제인, (d)의 병용물.
- [0024] (f) 화학식 I의 화합물의 유효량을 대상에게 투여함을 포함하는, HCV NS3 프로테아제 억제를 필요로 하는 대상에서 HCV NS3 프로테아제를 억제하는 방법.
- [0025] (g) 화학식 I의 화합물의 유효량을 대상에게 투여함을 포함하는, HCV 감염의 치료 및/또는 HCV 감염의 가능성 또는 중증도의 저하를 필요로 하는 대상에서 HCV 감염을 치료하고/하거나, HCV 감염의 가능성 또는 중증도를 저하시키는 방법.
- [0026] (h) 화학식 I의 화합물이, HCV 항바이러스제, 면역조절제 및 항감염제로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 하나 이상의 제2 치료학적 제제의 유효량과 병용하여 투여되는, (g)의 방법.
- [0027] (i) 상기 HCV 항바이러스제가 HCV 프로테아제 억제제 및 HCV NS5B 폴리머라제 억제제로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 항바이러스제인, (h)의 방법.
- [0028] (j) (a), (b) 또는 (c)의 약제학적 조성물 또는, (d) 또는 (e)의 병용물을 대상에게 투여함을 포함하는, HCV NS3 프로테아제 억제를 필요로 하는 대상에서 HCV NS3 프로테아제를 억제하는 방법.
- [0029] (k) (a), (b) 또는 (c)의 약제학적 조성물 또는, (d) 또는 (e)의 병용물을 대상에게 투여함을 포함하는, HCV 감염의 치료 및/또는 HCV 감염의 가능성 또는 중증도의 저하를 필요로 하는 대상에서 HCV 감염을 치료하고/하거나, HCV 감염의 가능성 또는 중증도를 저하시키는 방법.
- [0030] (l) 약제에 사용하기 위한, HCV 감염의 예방 또는 치료에 사용하기 위한, 또는 (i) (a) HCV NS3 프로테아제를 억제하거나, (b) HCV 감염을 치료하고/하거나, HCV 감염의 가능성 또는 중증도를 저하시키기 위해 사용하기 위한, (ii) 또는 상기 (a) 및 (b)를 위한 약물로서 사용하기 위한, 또는 (iii) 상기 (a) 및 (b)를 위한 약물의 제조에 사용하기 위한, 화학식 I의 화합물. 이들 용도에 있어서, 본 발명의 화합물은 HCV 항바이러스제, 항감염제 및 면역조절제로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 하나 이상의 제2 치료학적 제제와 임의로 병용하여 사용될 수 있다.
- [0031] 이들 양태 모두에 있어서, 상기 화합물은 임의로 약제학적으로 허용되는 염의 형태로 사용될 수 있다.
- [0032] 본 명세서에 사용된 용어 "또는"은 경우에 따라, 병용될 수 있는 대안물을 나타낸다. 따라서, 용어 "또는"은 병용물이 상호 배타적이지 않다면, 이들의 병용물 뿐만 아니라, 별도로 각각 제시된 대안물을 포함한다.
- [0033] 상기 화합물에 대한 언급은 또한 안정한 수화물과 같은 상기 화합물의 안정한 복합물을 포함한다. "안정한" 화합물은 제조되어 분리될 수 있고 이의 구조 및 특성들이 유지되거나 본 명세서에 기술된 목적(예: 대상에 대한 치료학적 또는 예방학적 투여)을 위해 상기 화합물의 사용을 허용하기에 충분한 기간 동안 본질적으로 변하지 않고 유지될 수 있는 화합물이다.
- [0034] II. 투여 및 조성물
- [0035] 용어 "투여" 및 이의 변형 표현(예: 화합물을 "투여함(administering)")은 치료를 필요로 하는 개체에게 화합물 또는 화합물의 프로드럭(prodrug)을 제공함을 의미한다. 본 발명의 화합물 또는 이의 프로드럭이 하나 이상의

다른 활성 제제(예: HCV 감염을 치료하는데 유용한 항바이러스제)와 병용하여 제공되는 경우에, "투여" 및 이의 변형 표현은 각각 본 발명의 화합물 또는 염 및 다른 제제의 동시 및 순차적 제공을 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

[0036] 본 발명의 화합물은 약제학적으로 허용되는 염의 형태로 투여될 수 있다. 용어 "약제학적으로 허용되는 염"은 활성을 가지며 생물학적으로 바람직하거나 또는 달리 바람직함(예를 들면, 이의 수용자에게 독성이 없거나 유해하지 않은) 모 화합물의 염을 의미한다. 적절한 염은, 예를 들면, 화합물의 용액과 약제학적으로 허용되는 산(예: 염산, 황산, 아세트산, 트리플루오로아세트산 또는 벤조산)의 용액을 혼합함으로써 형성할 수 있는 산 부가염을 포함한다. 산성 잔기(moiety)를 갖는 화합물은 적절한 약제학적으로 허용되는 염과 혼합하여, 예를 들면, 알칼리 금속염(예: 나트륨 또는 칼륨 염), 알칼리 토금속염(예: 칼슘 또는 마그네슘 염) 및 적절한 유기 리간드와 형성된 염(예: 4급 암모늄 염)을 제공할 수 있다. 또한, 산(-COOH) 또는 알콜 그룹이 존재하는 경우에, 화합물의 용해도 또는 가수분해 특성을 개질시키기 위하여 약제학적으로 허용되는 에스테르가 사용될 수 있다.

[0037] 본 명세서에 사용된 용어 "프로드럭(prodrug)"은 이것이 투여되는 개인의 신체에서 효소, 화학 물질 또는 대사 과정의 작용에 의해 활성 약제 형태 또는 화합물로 전환되는 비활성 약제 형태 또는 화합물을 포함하는 것으로 의도된다.

[0038] 본 명세서에 사용된 용어 "조성물(composition)"은 특정 성분들을 배합함으로써 직접 또는 간접적으로 생성되는 생성물뿐만 아니라, 특정 성분들을 포함하는 생성물을 포함하는 것으로 의도된다.

[0039] "약제학적으로 허용되는(pharmaceutically acceptable)"은 약제학적 조성물의 성분들이 서로 혼화성이며, 이의 수용자에게 유해하지 않아야 함을 의미한다.

[0040] 본 명세서에 사용된 용어 "대상(subject)"(또는 "환자"로서 본 명세서에서 언급됨)은 치료, 관찰 또는 실험의 대상인, 동물, 바람직하게는 포유동물, 가장 바람직하게는 사람을 의미한다.

[0041] 용어 "유효량(effective amount)"은 치료학적 또는 예방학적 효과를 나타내기 위해 충분한 양을 나타낸다. HCV로 감염된 환자의 경우, 유효량은 다음 효과 중 하나 이상을 성취하기에 충분하다: 복제하는 HCV의 능력을 감소시키고, 혈중 HCV 농도(load)를 감소시키고, 바이러스 제거(clearance)를 증가시킨다. HCV에 감염되지 않은 환자의 경우, 유효량은 다음 중 하나 이상을 성취하기에 충분하다: HCV 감염에 대한 감수성(susceptibility) 저하, 및 감염 바이러스의 만성 질환에 대한 지속적인 감염 확립 능력의 감소.

[0042] HCV NS3 프로테아제를 억제하고, HCV 감염을 치료하고/하거나, HCV 감염의 증상의 가능성 또는 중증도를 저하시키기 위하여, 본 발명의 화합물은, 임의로 염의 형태로, 활성 제제에 대한 접촉을 활성 제제의 작용 부위에 대해 야기하는 수단에 의해 투여될 수 있다. 이들은 개별적인 치료학적 제제로서 또는 치료학적 제제들의 병용물로서 약제와 함께 사용하기에 유용한 통상적인 수단에 의해 투여될 수 있다. 이들은 단독으로 투여될 수 있지만, 통상 선택된 투여 경로 및 표준 약제학적 관행에 근거하여 선택되는 약제학적 담체와 함께 투여된다.

[0043] 화합물은, 예를 들면, 다음의 경로들 중 하나 이상에 의해 투여될 수 있다: 유효량의 화합물 및 통상적인 비독성의 약제학적으로 허용되는 담체, 보조제 및 비히클을 함유하는 약제학적 조성물의 단위 용량 형태로서, 경구 투여, 비경구 투여(피하 주사, 정맥내, 근육내, 흉골내 주사 또는 주입 기술을 포함함), 흡입에 의한 투여(예: 분무 형태로) 또는 직장내 투여. 경구 투여에 적합한 액체 제제(예: 현탁제, 시럽제, 엘릭시르 등)는 당해 분야에 공지된 기술에 따라 제조할 수 있으며, 통상적인 매질(예: 물, 글리콜, 오일 및 알콜 등) 중의 어느 것을 사용할 수 있다. 경구 투여에 적합한 고체 제제(예: 분말, 환제, 캡슐제 및 정제)는 당해 분야에 공지된 기술에 따라 제조할 수 있으며, 고체 부형제(예: 전분, 당, 카올린, 윤활제, 결합제 및 붕해제 등)를 사용할 수 있다. 비경구용 조성물은 당해 분야에 공지된 기술에 따라 제조할 수 있으며, 통상 담체로서 멸균수 및 임의로 다른 성분(예: 용해도 보조제)을 사용할 수 있다. 주사용 액체는 당해 분야에 공지된 방법에 따라 제조할 수 있으며, 이때 담체는 생리 식염수, 글루코즈 용액 또는 생리 식염수와 글루코즈의 혼합물을 함유하는 용액을 포함한다. 본 발명의 약제학적 조성물 및 상기 조성물에 사용하기에 적합한 성분들의 제조시 사용하기에 적합한 방법에 대한 추가 지침이 문헌(참조: Remington's Pharmaceutical Science, 20<sup>th</sup> edition(ed. A.R. Gennaro, Mack Publishing Co., 2000)에 제공되어 있다.

[0044] 본 발명의 화합물은 단일 용량으로 또는 분할 용량으로 하루에 포유동물(예: 사람) 체중 1kg당 0.001 내지 1000 mg의 용량 범위로 경구 투여할 수 있다. 하나의 용량 범위는 단일 용량으로 또는 분할 용량으로 경구 투여시, 하루에 체중 1kg당 0.01 내지 500mg이다. 다른 용량 범위는 단일 또는 분할 용량으로 경구 투여시, 하루에 체중 1kg당 0.1 내지 100mg이다. 경구 투여시, 조성물은 치료할 환자에 대한 용량의 증상적 조절을 위해 활성 성

분 1.0 내지 500mg, 특히 활성 성분 1, 5, 10, 15, 20, 25, 50, 75, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500 및 750mg을 함유하는 정제 또는 캡슐제의 형태로 제공될 수 있다. 특정한 환자의 경우 특정 용량 수준 및 용량의 빈도는 변할 수 있고, 사용되는 특정 화합물의 활성, 대사적 안정성 및 화합물의 작용 기간, 연령, 체중, 일반적인 건강, 성별, 식이, 투여 형태와 시간, 배설율, 약물 병용, 특정한 상태의 중증도 및 치료를 수행하는 속도를 포함한 다양한 요인에 따라 좌우된다.

[0045] III. 병용 치료

[0046] 본 명세서에 기술된 바와 같은 퀴녹살린 마크로사이클릭 화합물은 하나 이상의 추가의 치료학적 제제를 포함하는 병용 치료에 사용될 수 있다. 추가의 치료학적 제제는 HCV를 또한 표적화하는 것, 다른 질환 유발 제제를 표적화하는 것 또는 면역 시스템을 개선하는 것을 포함한다. 면역 시스템을 개선하는 제제는 일반적으로 면역 시스템 기능을 개선하는 것 및 HCV에 대한 특정 면역 반응을 생성하는 것을 포함한다. HCV를 표적화하는 추가의 치료학적 제제는 NS3을 표적화하는 제제 및 다른 HCV 활성(예: NS5A 및 NS5B)을 표적화하는 제제와, HCV 복제에 관여되는 숙주 세포 활성을 표적화하는 제제를 포함한다.

[0047] 상이한 HCV 억제제가 다른 공보에 기술되어 있다. HCV 프로테아제 억제제로서 유용한 마크로사이클릭 화합물이 WO 06/119061, WO 7/015785, WO 7/016441, WO 07/148135, WO 08/051475, WO 08/051477, WO 08/051514, WO 08/057209에 기술되어 있다. 부가의 HCV NS3 프로테아제 억제제가 국제 특허출원 공보 WO 98/22496, WO 98/46630, WO 99/07733, WO 99/07734, WO 99/38888, WO 99/50230, WO 99/64442, WO 00/09543, WO 00/59929, WO 02/48116, WO 02/48172, 영국 특허 제GB 2 337 262호 및 미국 특허 제6,323,180호에 기술되어 있다.

[0048] 병용물에 존재할 수 있는 치료학적 제제의 추가의 예는 리바비린, 레보비린, 비라미딘, 티모신 알파-1, 인터페론-β, 인터페론-α, 폐길화 인터페론-α(페그인터페론-α), 인터페론-α와 리바비린의 병용물, 페그인터페론-α와 리바비린의 병용물, 인터페론-α와 레보비린의 병용물 및 페그인터페론-α와 레보비린의 병용물을 포함한다. 인터페론-α는 재조합 인터페론-α2a(예: ROFERON 인터페론; Hoffmann-LaRoche에서 입수가능, Nutley, NJ 소재), 폐길화 인터페론-α2a(PEGASYS), 인터페론-α2b(예: INTRON-A 인터페론; Schering Corp.에서 입수가능, Kenilworth, NJ 소재), 폐길화 인터페론-α2b(PEGINTRON), 재조합 컨센서스 인터페론(recombinant consensus interferon)(예: 인터페론 알파콘-1) 및 정제 인터페론-α 제품을 포함한다. Amgen의 재조합 컨센서스 인터페론은 상표명 INFERGEN을 갖는다. 레보비린은 리바비린과 유사한 면역조절 활성을 나타내는 리바비린의 L-에난티오머이다. 비라미딘은 WO 01/60379에 기술된 리바비린의 동족체를 나타낸다. 병용물의 개개 성분들은 치료과정 동안 상이한 시간에 별도로 투여하거나, 분할 병용물 형태 또는 단독 병용물 형태로 동시에 투여할 수 있다.

[0049] 리바비린, 레보비린 및 비라미딘은 세포내 효소 이노신 모노포스페이트 데하이드로게나제(IMPDH)의 억제를 통해 구아닌 뉴클레오티드의 세포내 풀(pool)을 조절함으로써 이들의 항-HCV 효과를 발휘할 수 있다. IMPDH는 드노보(de novo) 구아닌 뉴클레오티드 생합성에서 생합성 경로에 대한 속도-제한 효소이다. 리바비린은 세포내에서 용이하게 포스포릴화되며, 모노포스페이트 유도체는 IMPDH의 억제제이다. 따라서, IMPDH의 억제는 HCV 복제의 억제제의 발견에 대한 다른 유용한 표적을 나타낸다. 따라서, 본 발명의 화합물은 또한 IMPDH의 억제제(예: 국제특허출원 공보 WO 97/41211 및 WO 01/00622에 기술된, VX-497); 다른 IMPDH 억제제(예: WO 00/25780에 기술된 것); 또는 미코페놀레이트 모페틸과 병용하여 투여할 수 있다(참조: A.C. Allison and E.M. Eugui, 33(Suppl.) Agents Action 165 (1993)).

[0050] HCV 감염의 치료를 위해, 본 발명의 화합물은 또한 항바이러스제 아만타딘(1-아미노아다만탄)과 병용하여 투여할 수 있다. 이 제제에 대한 포괄적인 설명을 위해 문헌(참조: J. Kirschbaum, 12. Annual. Profiles Drug Subs. 1-36 (1983))을 참조한다.

[0051] HCV 감염의 치료를 위해, 본 발명의 화합물은 또한 항바이러스제 폴리머라제 억제제 R7128(Roche)과 병용하여 투여할 수 있다.

[0052] 본 발명의 화합물은 또한 문헌(참조: R.E. Harry-O'Kuru et al., 62 J. Org. Chem. 1754-59 (1997); M.S. Wolfe et al., 36 Tet. Lett. 7611-14 (1995); 미국 특허 제3,480,613호; 및 국제특허출원 공보 WO 01/90121, WO 01/92282, WO 02/32920, WO 04/002999, WO 04/003000 및 WO 04/002422; 이들 각각의 내용은 이의 전문이 본 명세서에 참조로 인용된다)에 기술된 항바이러스성 2'-C-분지형 리보뉴클레오시드를 사용한 HCV 감염의 치료를 위해 병용될 수 있다. 상기 2'-C-분지형 리보뉴클레오시드는, 이로써 제한되는 것은 아니지만, 2'-C-메틸-시

티딘, 2'-C-메틸-우리딘, 2'-C-메틸-아데노신, 2'-C-메틸-구아노신 및 9-(2-C-메틸-β-D-리보푸라노실)-2,6-디아미노푸린 및, 리보즈 C-2', C-3' 및 C-5' 하이드록실의 상응하는 아미노산 에스테르 및, 5'-포스페이트 유도체의 상응하는 임의로 치환된 사이클릭 1,3-프로판디올 에스테르를 포함한다.

[0053] 본 발명의 화합물은 항-HCV 특성을 갖는 다른 뉴클레오시드, 예를 들면, 국제특허출원 공보 WO 02/51425, WO 01/79246, WO 02/32920, WO 02/48165 및 WO 2005/003147(77면 화합물 3-6으로서 제시된, R1656, (2'R)-2'-데옥시-2'-플루오로-2'-C-메틸시티딘을 포함함); WO 01/68663; WO 99/43691; WO 02/18404 및 WO 2006/021341 및, 4'-아지도 뉴클레오시드(예: R1626, 4'-아지도시티딘)를 포함하는 미국 특허출원 공보 US 2005/0038240; 미국 특허출원 공보 US 2002/001963, US 2003/0236216, US 2004/0006007 및 US 2004/0063658; 및 국제특허출원 공보 WO 02/100415, WO 03/026589, WO 03/026675, WO 03/093290, WO 04/011478, WO 04/013300 및 WO 04/028481(이들 각각의 내용은 이의 전문이 본 명세서에 참조로 인용된다)에 기술된 것에 의한 HCV 감염의 치료를 위해 병용될 수 있다.

[0054] HCV 감염의 치료를 위해, 본 발명의 화합물은 또한 HCV NS5B 폴리머라제의 억제제인 제제와 병용하여 투여할 수 있다. 병용 요법으로서 사용될 수 있는 상기 HCV NS5B 폴리머라제 억제제는 이로써 제한되는 것은 아니지만, 국제특허출원 공보 WO 02/057287, WO 02/057425, WO 03/068244, WO 2004/000858, WO 04/003138 및 WO 2004/007512; 미국 특허 제6,777,392호 및 미국 특허출원 공보 US 2004/0067901(이들 각각의 내용은 이의 전문이 본 명세서에 참조로 인용된다)에 기술된 것을 포함한다. 다른 HCV 폴리머라제 억제제는 이로써 제한되는 것은 아니지만, 발로피시타빈(NM-283; Idenix) 및 2'-F-2'-베타-메틸시티딘을 포함한다(또한 참조: WO 2005/003147).

[0055] 한 양태에 있어서, 당해 HCV NS3 프로테아제 억제제와 함께 사용되는 뉴클레오시드 HCV NS5B 폴리머라제 억제제는 하기의 화합물로부터 선택된다: 4-아미노-7-(2-C-메틸-β-D-아라비노푸라노실)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘; 4-아미노-7-(2-C-메틸-β-D-리보푸라노실)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘; 4-메틸아미노-7-(2-C-메틸-β-D-리보푸라노실)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘; 4-디메틸아미노-7-(2-C-메틸-β-D-리보푸라노실)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘; 4-사이클로프로필아미노-7-(2-C-메틸-β-D-리보푸라노실)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘; 4-아미노-7-(2-C-비닐-β-D-리보푸라노실)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘; 4-아미노-7-(2-C-하이드록시메틸-β-D-리보푸라노실)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘; 4-아미노-7-(2-C-플루오로메틸-β-D-리보푸라노실)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘; 4-아미노-5-메틸-7-(2-C-메틸-β-D-리보푸라노실)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘; 4-아미노-7-(2-C-메틸-β-D-리보푸라노실)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-5-카복실산; 4-아미노-5-브로모-7-(2-C-메틸-β-D-리보푸라노실)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘; 4-아미노-5-클로로-7-(2-C-메틸-β-D-리보푸라노실)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘; 4-아미노-5-플루오로-7-(2-C-메틸-β-D-리보푸라노실)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘; 2,4-디아미노-7-(2-C-메틸-β-D-리보푸라노실)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘; 2-아미노-7-(2-C-메틸-β-D-리보푸라노실)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘; 2-아미노-4-사이클로프로필아미노-7-(2-C-메틸-β-D-리보푸라노실)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘; 2-아미노-7-(2-C-메틸-β-D-리보푸라노실)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4(3H)-온; 4-아미노-7-(2-C-메틸-β-D-리보푸라노실)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘; 4-아미노-7-(2-C,2-O-디메틸-β-D-리보푸라노실)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘; 7-(2-C-메틸-β-D-리보푸라노실)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4(3H)-온; 2-아미노-5-메틸-7-(2-C,2-O-디메틸-β-D-리보푸라노실)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4(3H)온; 4-아미노-7-(3-데옥시-2-C-메틸-β-D-리보푸라노실)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘; 4-아미노-7-(3-데옥시-2-C-메틸-β-D-아라비노푸라노실)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘; 4-아미노-2-플루오로-7-(2-C-메틸-β-D-리보푸라노실)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘; 4-아미노-7-(3-C-메틸-β-D-리보푸라노실)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘; 4-아미노-7-(3-C-메틸-β-D-크실로푸라노실)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘; 4-아미노-7-(2,4-디-C-메틸-β-D-리보푸라노실)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘; 4-아미노-7-(3-데옥시-3-플루오로-2-C-메틸-β-D-리보푸라노실)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘 및 상응하는 5'-트리포스페이트; 또는 약제학적으로 허용되는 이들의 염.

[0056] 본 발명의 화합물은 또한 HCV 폴리머라제의 비-뉴클레오시드 억제제, 예를 들면, 국제특허출원 공보 WO 01/77091, WO 01/47883, WO 02/04425, WO 02/06246, WO 02/20497, WO 2005/016927(특히 JTK003)(이들 각각의 내용은 이의 전문이 본 명세서에 참조로 인용된다)에 기술된 것 및 HCV-796(Viropharma Inc.)을 사용한 HCV 감염의 치료를 위해 병용될 수 있다.

[0057] 한 양태로, 당해 HCV NS3 프로테아제 억제제와 병용하여 사용되는 비-뉴클레오시드 HCV NS5B 폴리머라제 억제제는 하기의 화합물로부터 선택된다: 14-사이클로헥실-6-[2-(디메틸아미노)에틸]-7-옥소-5,6,7,8-테트라하이드로인돌로[2,1-a][2,5]벤조디아조신-11-카복실산; 14-사이클로헥실-6-(2-모르폴린-4-일)에틸]-5,6,7,8-테트라하이드로인돌로[2,1-a][2,5]벤조디아조신-11-카복실산; 14-사이클로헥실-6-[2-(디메틸아미노)에틸]-3-메톡시-5,6,7,8-테트라하이드로인돌로[2,1-a][2,5]벤조디아조신-11-카복실산; 14-사이클로헥실-3-메톡시-6-메틸-5,6,7,8-테트라



하이드로인돌로[2,1-a][2,5]벤조디아조신-11-카복실산; 메틸-({[(14-사이클로헥실-3-메톡시-6-메틸-5,6,7,8-테트라하이드로인돌로[2,1-a][2,5]벤조디아조신-11-일)카보닐]아미노}설폰일)아세트이트; ({[(14-사이클로헥실-3-메톡시-6-메틸-5,6,7,8-테트라하이드로인돌로[2,1-a][2,5]벤조디아조신-11-일)카보닐]아미노}설폰일)아세트산; 14-사이클로헥실-N-[(디메틸아미노)설폰일]-3-메톡시-6-메틸-5,6,7,8-테트라하이드로인돌로[2,1-a][2,5]벤조디아조신-11-카복시아미드; 3-클로로-14-사이클로헥실-6-[2-(디메틸아미노)에틸]-7-옥소-5,6,7,8-테트라하이드로인돌로[2,1-a][2,5]벤조디아조신-11-카복실산; N'-(11-카복시-14-사이클로헥실-7,8-디하이드로-6H-인돌로[1,2-e][1,5]벤조사족신-7-일)-N,N-디메틸에탄-1,2-디아미늄 비스(트리플루오로아세트이트); 14-사이클로헥실-7,8-디하이드로-6H-인돌로[1,2-e][1,5]벤조사족신-11-카복실산; 14-사이클로헥실-6-메틸-7-옥소-5,6,7,8-테트라하이드로인돌로[2,1-a][2,5]벤조디아조신-11-카복실산; 14-사이클로헥실-3-메톡시-6-메틸-7-옥소-5,6,7,8-테트라하이드로인돌로[2,1-a][2,5]벤조디아조신-11-카복실산; 14-사이클로헥실-6-[2-(디메틸아미노)에틸]-3-메톡시-7-옥소-5,6,7,8-테트라하이드로인돌로[2,1-a][2,5]벤조디아조신-11-카복실산; 14-사이클로헥실-6-[3-(디메틸아미노)프로필]-7-옥소-5,6,7,8-테트라하이드로인돌로[2,1-a][2,5]벤조디아조신-11-카복실산; 14-사이클로헥실-7-옥소-6-(2-피페리딘-1-일에틸)-5,6,7,8-테트라하이드로인돌로[2,1-a][2,5]벤조디아조신-11-카복실산; 14-사이클로헥실-6-(2-모르폴린-4-일에틸)-7-옥소-5,6,7,8-테트라하이드로인돌로[2,1-a][2,5]벤조디아조신-11-카복실산; 14-사이클로헥실-6-[2-(디메틸아미노)에틸]-7-옥소-5,6,7,8-테트라하이드로인돌로[2,1-a][2,5]벤조디아조신-11-카복실산; 14-사이클로헥실-6-(1-메틸피페리딘-4-일)-7-옥소-5,6,7,8-테트라하이드로인돌로[2,1-a][2,5]벤조디아조신-11-카복실산; 14-사이클로헥실-N-[(디메틸아미노)설폰일]-7-옥소-6-(2-피페리딘-1-일에틸)-5,6,7,8-테트라하이드로인돌로[2,1-a][2,5]벤조디아조신-11-카복시아미드; 14-사이클로헥실-6-[2-(디메틸아미노)에틸]-N-[(디메틸아미노)설폰일]-7-옥소-5,6,7,8-테트라하이드로인돌로[2,1-a][2,5]벤조디아조신-11-카복시아미드; 14-사이클로헥실-6-[2-(디메틸아미노)에틸]-7-옥소-5,6,7,8-테트라하이드로인돌로[2,1-a][2,5]벤조디아조신-11-카복실산; 14-사이클로헥실-5,6,7,8-테트라하이드로인돌로[2,1-a][2,5]벤조디아조신-11-카복실산; 6-알틸-14-사이클로헥실-3-메톡시-5,6,7,8-테트라하이드로인돌로[2,1-a][2,5]벤조디아조신-11-카복실산; 14-사이클로헥실-6-[2-(디메틸아미노)에틸]-5,6,7,8-테트라하이드로인돌로[2,1-a][2,5]벤조디아조신-11-카복실산; 14-사이클로헥실-6-[2-(디메틸아미노)에틸]-5,6,7,8-테트라하이드로인돌로[2,1-a][2,5]벤조디아조신-11-카복실산; 13-사이클로헥실-5-메틸-4,5,6,7-테트라하이드로푸로[3',2':6,7][1,4]디아조시노[1.8-a]인돌-10-카복실산; 15-사이클로헥실-6-[2-(디메틸아미노)에틸]-7-옥소-6,7,8,9-테트라하이드로-5H-인돌로[2,1-a][2,6]벤조디아조신-12-카복실산; 15-사이클로헥실-8-옥소-6,7,8,9-테트라하이드로-5H-인돌로[2,1-a][2,5]벤조디아조신-12-카복실산; 13-사이클로헥실-6-옥소-6,7-디하이드로-5H-인돌로[1,2-d][1,4]벤조디아제핀-10-카복실산; 및 약제학적으로 허용되는 이들의 염.

[0058] IV. 화합물 평가

[0059] 본 명세서에 기술된 화합물은 당해 분야에 익히 공지되어 있는 기술을 사용하여 HCV NS3 활성, HCV 복제단위 (replicon) 활성 및 HCV 복제 활성을 억제하는 능력과 같은 상이한 활성에 대해 평가할 수 있다(참조: Carroll et al., J. Biol. Chem. 278:11979-11984, 2003).

[0060] 상기의 한 검정법은 하기 및 문헌(참조: Mao et al., Anal. Biochem. 373:1-8, 2008)과 국제특허출원 공보 WO 2006/102087에 기술된 바와 같은 HCV NS3 프로테아제 시간 분해 형광(TRF: Time-resolved fluorescence) 검정법이다. NS3 프로테아제 검정법은, 예를 들면, 50mM HEPES, pH 7.5, 150mM NaCl, 15% 글리세롤, 0.15% TRITON X-100, 10mM DTT 및 0.1% PEG 8000을 함유하는 검정용 완충액 100 $\mu$ l의 최종 용적으로 수행할 수 있다. NS3 및 NS4A 프로테아제는 DMSO 중 다양한 농도의 억제제와 함께 30분 동안 예비-배양한다. 반응은 TRF 펩티드 기질(최종 농도 100nM)을 가함으로써 개시한다. 상기 기질의 NS3 매개된 가수분해는 실온에서 1시간 후 500mM MES, pH 5.5 100 $\mu$ l에 의해 급냉시킨다. 생성물 형광은 400 $\mu$ s 지연하에 340nm에서 여기 및 615nm에서 방출로, VICTOR V2 또는 FUSION 형광 광도계(Perkin Elmer Life and Analytical Science)를 사용하여 검출한다. 상이한 효소 형태들에 대한 시험 농도들은 10-30의 신호 대 바탕 비(S/B)를 생성하도록 선택된다. IC<sub>50</sub> 값들은 데이터에 대한 표준 4개의 파라미터 피트(standard four-parameter fit)를 사용하여 유도된다. K<sub>i</sub> 값은 하기 식을 사용하여 IC<sub>50</sub> 값으로부터 유도한다:

[0061] 수학적 식 1

[0062]  $IC_{50} = K_i (1 + [S] / K_M)$

- [0063] 상기 수학적식에서, [S]는 상기 반응에서의 기질 펩티드의 농도이고,  $K_M$ 은 미카엘리스 상수(Michaelis constant)이다(참조: P. Gallinari et al., 38 BIOCHEM, 5620-32(1999); P. Gallinari et al., 72 J. VIROL, 6758-69 (1998); M. Taliani et al., 240 ANAL. BIOCHEM. 60-67 (1996); Mao et al., Analytical Biochemistry 373:1-8, 2008).
- [0064] V. 일반적인 화합물 제조
- [0065] 본 발명은 또한 화학식 I의 화합물의 제조 방법을 포함한다. 본 발명의 화합물은 용이하게 입수할 수 있는 출발 물질, 시약 및 통상적인 합성법을 사용하여 하기 반응식들 및 실시예들 또는, 이의 변형법들에 따라 용이하게 제조할 수 있다. 이들 반응에서, 자체가 당해 분야의 통상의 숙련가에게 공지된 변형법들을 또한 사용하여 제조할 수 있다. 본 발명의 화합물을 제조하는 다른 방법은 하기의 반응식 및 실시예의 측면에서 당해 분야의 통상의 숙련가가 용이하게 알 수 있을 것이다. 달리 제시되지 않는 한, 모든 변수는 상기 정의한 바와 같다. 하기의 반응식 및 실시예는 단지 본 발명 및 이의 실시를 설명하기 위한 것이다.
- [0066] 올레핀 복분해(metathesis) 촉매는 하기의 루테늄계 중을 포함한다[참조: F. Miller et al., 118 J. AM. CHEM. SOC. 9606 (1996); G. Kingsbury et al., 121 J. Am Chem. Soc. 791 (1999); H. Scholl et al., 1 ORG. LETT. 953 (1999); 미국 특허출원 공보 US2002/0107138; K. Furstner et al., 64 J. ORG. CHEM. 8275 (1999)]. 폐환 복분해(ring closing metathesis)시 이들 촉매의 이용은 문헌에 잘 공지되어 있다(참조: Trnka and Grubbs, 34 ACC. CHEM. RES. 18 (2001)).
- [0067] 하기의 실시예는 단지 본 발명 및 이의 실행을 설명하기 위한 것이다. 실시예는 본 발명의 범위 또는 취지에 대한 제한으로 간주되어서는 안된다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

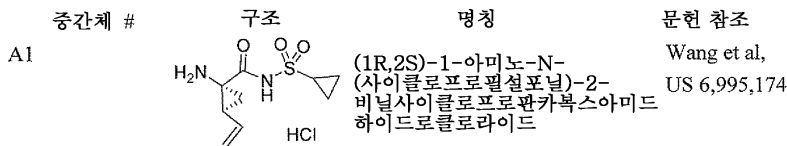
[0068] 약어 리스트

[0069]	DCM/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	디클로로메탄
[0070]	DCE	1,2-디클로로에탄
[0071]	DIEA	디이소프로필에틸아민
[0072]	DMF	디메틸포름아미드
[0073]	DMSO	디메틸 설펍사이드
[0074]	Dppf	디페닐포스피노페로센
[0075]	Et <sub>2</sub> O	디에틸 에테르
[0076]	EtOAc	에틸 아세테이트
[0077]	HATU	O-(7-아자벤조트리아졸-1-일)-N,N,N'-테트라메틸우
[0078]		로늄 헥사플루오로포스페이트
[0079]	HCl	염산
[0080]	TMSCl	클로로트리메틸실란
[0081]	TBAF	테트라-부틸 암모늄 플루오라이드
[0082]	DMAP	디메틸아미노 피리딘
[0083]	MeCN	아세토니트릴
[0084]	MeOH	메탄올
[0085]	Pd/C	탄소상 팔라듐

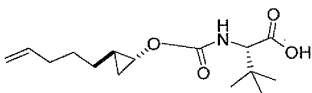
- [0086] TBTU 0-벤조트리아졸-1-일-N,N,N',N'-테트라메틸우로늄 테
- [0087] 트라플루오로보레이트
- [0088] TFA 트리플루오로아세트산
- [0089] THF 테트라하이드로푸란
- [0090] 섬광 크로마토그래피 실리카 겔 카트리지 및 특정 이동상 구배를 사용하는
- [0091] Biotage Horizon을 사용하는 정제
- [0092] HPLC 이동상으로서 산성화된 MeCN 및 H<sub>2</sub>O를 사용하는 자동
- [0093] 화 질량 또는 UV 유도(triggered) 고성능 액체 크로마
- [0094] 토그래피
- [0095] MHz 메가헤르츠

[0096] **중간체의 합성**

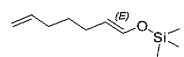
[0097] 중간체 A



- [0098]
- [0099] 중간체 B1: 3-메틸-N-({[(1R,2R)-2-펜트-4-엔-1-일사이클로프로필]옥시}카보닐)-L-발린



- [0100]
- [0101] 단계 1: [(1E)-헵타-1,6-디엔-1-일옥시](트리메틸)실란



- [0102]
- [0103] THF(1.4eq) 중 부테닐 마그네슘 브로마이드의 용액(0.5M)을 -78℃에서 Cu(I)Br·SMe<sub>2</sub>(0.05eq) 및 HMPA(2.4eq)로 처리한다. 혼합물을 10분 동안 교반한 다음에, THF 중 아크롤레인(1eq) 및 TMSCl(2eq)의 용액(1M)을 1시간에 걸쳐 첨가하고, 내부 온도를 -68℃ 미만으로 유지한다. 생성된 혼합물을 2시간 동안 -78℃에서 교반한 다음, 과량의 Et<sub>3</sub>N으로 처리하고, 헥산으로 희석시킨다. 실온에 이른 후, 혼합물을 소분획의 H<sub>2</sub>O로 처리하고, 셀라이트(CELITE)를 통해 여과한다. 여액을 H<sub>2</sub>O에 이어서, 염수로 10회 세척한다. 유기층을 건조시키고, 휘발성 물질을 제거하여 감압(20mbar)하에 증류되는 잔사를 수득한다. 80 내지 86℃에서 수집된 분획은 무색 액체로서 표제 화합물(58%)을 함유한다. <sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 6.19(d, J=11.6Hz, 1H), 5.85-5.75(m, 1H), 5.02-4.92(m, 3H), 2.08-2.02(m, 2H), 1.94-1.88(m, 2H), 1.46-1.38(m, 2H), 0.18(s, 9H).

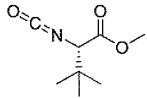
- [0104] 단계 2: 트랜스-2-펜트-4-엔-1-일사이클로프로판을



- [0105]
- [0106] 헥산 중 전술한 화합물의 용액(0.45M)을 톨루엔 중 Et<sub>2</sub>Zn(1.2eq)의 용액(15%)으로 처리하고, 생성된 용액을 빙욕에서 냉각시킨다. 디요오도메탄(1.2eq)을 적가한 다음, 용액을 20℃로 가온하기 전에 1시간 동안 교반한다. 피리딘(6eq)을 첨가하고, 슬러리를 15분 동안 교반한 다음, 석유 에테르 위로 붓는다. 혼합물은 투명한 용액이 수득될 때 까지 셀라이트를 통해 반복해서 여과한다. 이 혼합물을 100mbar에서 농축시키고, 잔류하는 용액(트

리메틸-1-((트랜스)-2-펜트-4-엔-1-일사이클로프로필)옥시}실란, 톨루엔 및 피리딘을 함유함)은 THF로 다시 희석시킨다. 혼합물을 0℃로 냉각시킨 다음, THF 중 TBAF(1.2eq)의 용액(1M)으로 적가하면서 처리한다. 10분 후, 혼합물을 20℃로 가온하고, 다시 1시간 후, H<sub>2</sub>O로 붓는다. 수성상을 EtOAc로 추출하고, 합한 유기 추출물을 염수로 세척한 다음 건조시킨다. 휘발성 물질의 제거로 잔사를 수득하며, 이를 섬광 크로마토그래피(용출제 0-66% Et<sub>2</sub>O/석유 에테르)로 정제하여, 표제 화합물(71%)을 무색 액체로서 제공한다. <sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 5.85-5.75(m, 1H), 5.00(dd, J=17.1, 1.6Hz, 1H), 4.94(br d, J=10.4Hz, 1H), 3.20(분명한 dt, J=6.4, 2.5Hz, 1H), 2.10-2.04(m, 2H), 1.52-1.44(m, 2H), 1.29-1.19(m, 1H), 1.15-1.07(m, 1H), 0.95-0.87(m, 1H), 0.71-0.66(m, 1H), 0.31(분명한 q, J=6.0Hz, 1H).

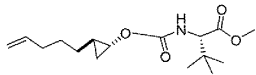
[0107] 단계 3: 메틸 3-메틸-N-(옥소메틸렌)-L-발리네이트



[0108]

[0109] 포화 수성 NaHCO<sub>3</sub> 및 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>의 2:1 혼합물 중 메틸 3-메틸-L-발리네이트의 용액(0.39M)을 병육에서 냉각시키고, 신속히 교반한다. 혼합물을 트리포스겐(0.45eq) 일분획으로 처리하고, 생성된 혼합물을 0.5시간 동안 교반한다. 반응물을 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>로 희석하고, 층들을 분리한다. 수성상을 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>로 추출한 다음, 합한 유기물을 염수로 세척하여 건조시킨다. 용매의 제거로 표제 화합물을 맑은 오일로서 수득하며, 이는 진공(0.1mbar)하에 12시간 동안 유지한 다음, 후속 단계에 직접 사용한다. <sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 3.79(s, 3H), 3.75(s, 1H), 1.00(s, 9H).

[0110] 단계 4: 메틸 3-메틸-N-({[(1R,2R)-2-펜트-4-엔-1-일사이클로프로필]옥시}카보닐)-L-발리네이트 및 메틸 3-메틸-N-({[(1S,2S)-2-펜트-4-엔-1-일사이클로프로필]옥시}카보닐)-L-발리네이트

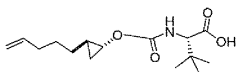


[0111]

[0112] 톨루엔 중 트랜스-2-펜트-4-엔-1-일사이클로프로판올의 용액(0.45M)을, 메틸 3-메틸-N-(옥소메틸렌)-L-발리네이트(1.1eq)로, 그리고 이어서, DMAP(1eq)로 처리한다. 생성된 혼합물을 환류하에 12시간 동안 가열한 다음, 20℃로 냉각시킨다. H<sub>2</sub>O 및 EtOAc를 가하고, 유기층을 분리하여, 1N HCl, 염수로 세척하고, 건조시킨다. 휘발성 물질의 제거로 잔사가 수득되며, 이를 섬광 크로마토그래피(용출제 0-30% Et<sub>2</sub>O/석유 에테르)로 2회 정제한다. 제1 분획은 메틸 3-메틸-N-({[(1R,2R)-2-펜트-4-엔-1-일사이클로프로필]옥시}카보닐)-L-발리네이트(38%)를 오일로서 함유한다. MS(ES<sup>+</sup>) m/z 298(M+H)<sup>+</sup>

[0113] 이후의 분획은 메틸 3-메틸-N-({[(1S,2S)-2-펜트-4-엔-1-일사이클로프로필]옥시}카보닐)-L-발리네이트(28%)를 오일로서 함유한다. MS(ES<sup>+</sup>) m/z 298(M+H)<sup>+</sup>

[0114] 단계 5: 3-메틸-N-({[(1R,2R)-2-펜트-4-엔-1-일사이클로프로필]옥시}카보닐)-L-발린

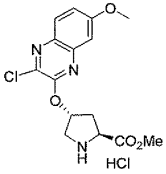


[0115]

[0116] MeOH/H<sub>2</sub>O의 2:1 혼합물 중 메틸 3-메틸-N-({[(1R,2R)-2-펜트-4-엔-1-일사이클로프로필]옥시}카보닐)-L-발리네이트의 용액(0.1M)을 LiOH·H<sub>2</sub>O(4eq)로 처리한 다음, 60℃에서 4시간 동안 가열한다. 생성된 혼합물을 냉각시키고, 1/2 용적으로 농축시킨 다음, EtOAc로 희석하고, 수성 HCl(1N)로 산성화한다. 유기층을 분리하고, 염수로 세척한 다음 건조시킨다. 휘발성 물질의 제거로 표제 화합물(98%)이 오일로서 수득된다. MS(ES<sup>+</sup>) m/z 284(M+H)<sup>+</sup>

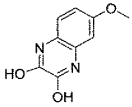
[0117] **중간체 C**

[0118] 중간체 C1: 메틸 (4R)-4-[(3-클로로-7-메톡시퀴놀살린-2-일)옥시]-L-프롤리네이트 하이드로클로라이드



[0119]

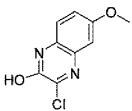
[0120] 단계 1: 6-메톡시퀴놀살린-2,3-디올



[0121]

[0122] 디에틸 옥살레이트(8eq) 중 4-메톡시벤젠-1,2-디아민 디하이드로클로라이드의 현탁액을 Et<sub>3</sub>N(2eq)으로 처리한 다음, 150°C에서 2시간 동안 가열한다. 생성된 혼합물을 냉각시키고 여과한 다음, 수집한 고체는 H<sub>2</sub>O 및 EtOH로 세척한다. 잔사를 건조시켜 표제 화합물(69%)을 수득한다. MS(ES<sup>+</sup>) m/z 193(M+H)<sup>+</sup>

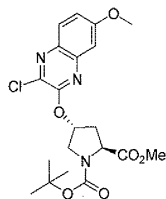
[0123] 단계 2: 3-클로로-6-메톡시퀴놀살린-2-올



[0124]

[0125] DMF 중 6-메톡시퀴놀살린-2,3-디올의 용액(1.53M)을 SOCl<sub>2</sub>(1eq)로 처리하고, 110°C에서 가열한다. 1.5시간 후, 반응 혼합물을 냉각시키고, 수성 HCl(1N)에 붓는다. 생성된 침전물을 여과하고, H<sub>2</sub>O 및 Et<sub>2</sub>O로 세척한다. 건조된 고체는 주로 6-메톡시퀴놀살린-2,3-디올 및 2,3-디클로로-6-메톡시퀴놀살린과의 혼합물로서 표제 화합물을 함유한다. 이 물질은 후속 단계에 직접 사용한다. MS(ES<sup>+</sup>) m/z 211(M+H)<sup>+</sup>

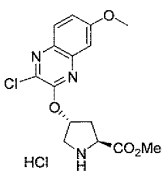
[0126] 단계 3: 1-3급-부틸-2-메틸 (2S,4R)-4-[(3-클로로-7-메톡시퀴놀살린-2-일)옥시]피롤리딘-1,2-디카복실레이트



[0127]

[0128] NMP 중 3-클로로-6-메톡시퀴놀살린-2-올의 용액(0.35M)을 Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(1.5eq) 및 1-3급-부틸 2-메틸 (2S,4S)-4-[(4-브로모페닐)설포닐]옥시}피롤리딘-1,2-디카복실레이트(1.1eq)로 처리한다. 생성된 혼합물을 50°C에서 18시간 동안 교반한 다음, 1-3급-부틸 2-메틸 (2S,4S)-4-[(4-브로모페닐)설포닐]옥시}피롤리딘-1,2-디카복실레이트의 추가 분획을 첨가한다. 2시간 동안 교반한 후, 혼합물을 냉각시키고, H<sub>2</sub>O 및 EtOAc로 희석시킨다. 유기상을 수성 HCl(1N), 포화 수성 NaHCO<sub>3</sub> 및 염수로 세척한다. 건조된 유기상을 농축시켜 잔사를 형성시키고, 이를 섬광 크로마토그래피(0-60% EtOAc/석유 에테르)로 정제하여, 표제 화합물(두 단계 동안 35%)을 고체로서 수득한다. MS(ES<sup>+</sup>) m/z 438(M+H)<sup>+</sup>

[0129] 단계 4: 메틸 (4R)-4-[(3-클로로-7-메톡시퀴놀살린-2-일)옥시]-L-프롤리네이트 하이드로클로라이드

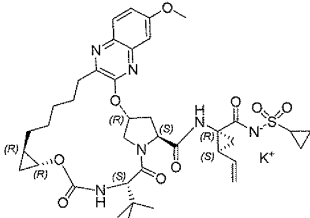


[0130]

[0131] CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 중 1-3급-부틸 2-메틸 (2S,4R)-4-[(3-클로로-7-메톡시퀴놀살린-2-일)옥시]피롤리딘-1,2-디카복실레이트

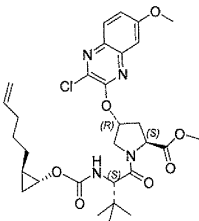
의 용액(0.62M)을 디옥산(5eq) 중 HCl의 용액(4M)으로 처리한다. 혼합물을 20℃에서 2시간 동안 교반한 다음, 디옥산(2eq) 중 HCl의 용액(4M)으로 처리한다. 5시간 후, 반응은 완결된 것으로 판단되며, 혼합물은 감압하에 농축시킨다. 잔사를 Et<sub>2</sub>O로 연마하여 표제 화합물(95%)을 고체로서 수득한다. MS(ES<sup>+</sup>) m/z 338(M+H)<sup>+</sup>

[0132] 실시예 1: 칼륨 [[{(1R,2S)-1-({[1aR,5S,8S,10R,22aR]-5-3급-부틸-14-메톡시-3,6-디옥소-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-테트라데카하이드로-8H-7,10-메타노사이클로프로파[18,19][1,10,3,6]디옥사디아자사이클로노나데시노[11,12-b]퀴놀살린-8-일}카보닐)아미노)-2-비닐사이클로프로필}카보닐}(사이클로프로필설폰닐)아자나이드



[0133]

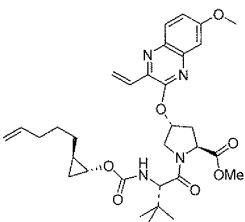
[0134] 단계 1: 메틸 3-메틸-N-({[(1R,2R)-2-펜트-4-엔-1-일사이클로프로필]옥시}카보닐)-L-발릴-(4R)-4-[3-클로로-7-메톡시퀴놀살린-2-일]옥시]-L-프롤리네이트



[0135]

[0136] DMF 중 메틸 (4R)-4-[3-클로로-7-메톡시퀴놀살린-2-일]옥시]-L-프롤리네이트 하이드로클로라이드의 용액(0.2 M)을 3-메틸-N-({[(1R,2R)-2-펜트-4-엔-1-일사이클로프로필]옥시}카보닐)-L-발린(1.1eq), DIEA(5eq) 및 HATU(1.2eq)로 처리한다. 생성된 혼합물을 20℃에서 5시간 동안 교반한 다음, EtOAc로 희석시킨다. 유기상을 분리하고, 수성 HCl(1N), 포화 수성 NaHCO<sub>3</sub> 및 염수로 세척한다. 건조된 유기상을 감압하에 농축시켜 잔사를 수득하고, 이를 심광 크로마토그래피(용출제 10-30% EtOAc/석유 에테르)로 정제하여, 표제 화합물(96%)을 오일로서 수득한다. MS(ES<sup>+</sup>) m/z 604(M+H)<sup>+</sup>

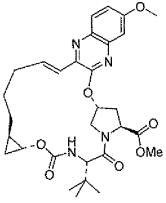
[0137] 단계 2: 메틸 3-메틸-N-({[(1R,2R)-2-펜트-4-엔-1-일사이클로프로필]옥시}카보닐)-L-발릴-(4R)-4-[7-메톡시-3-비닐퀴놀살린-2-일]옥시]-L-프롤리네이트



[0138]

[0139] EtOH 중 메틸 3-메틸-N-({[(1R,2R)-2-펜트-4-엔-1-일사이클로프로필]옥시}카보닐)-L-발릴-(4R)-4-[3-클로로-7-메톡시퀴놀살린-2-일]옥시]-L-프롤리네이트의 용액(0.1M)을 칼륨 트리플루오로(비닐)보레이트(1.5eq) 및 트리 에틸아민(1.5eq)으로 처리한다. 생성된 혼합물을 탈기시킨 다음, PdCl<sub>2</sub>(dppf)-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 부가물(0.1eq)을 첨가한다. 혼합물을 환류하에 1시간 동안 가열한 다음, 실온으로 냉각시키고, H<sub>2</sub>O 및 EtOAc로 희석시킨다. 유기상을 분리하고, H<sub>2</sub>O 및 염수로 세척한 다음, 건조시킨다. 휘발성 물질의 제거로 잔사를 수득하며, 이를 심광 크로마토그래피(20-30% EtOAc/석유 에테르)로 정제하여, 표제 화합물을 황색 포움(foam)으로서 수득하고, 이를 직접 후속 단계에 사용한다. MS(ES<sup>+</sup>) m/z 595(M+H)<sup>+</sup>

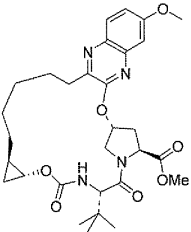
[0140] 단계 3: 메틸 (1aR,5S,8S,10R,18E,22aR)-5-3급-부틸-14-메톡시-3,6-디옥소-1,1a,3,4,5,6,9,10,20,21,22,22a-도데카하이드로-8H-7,10-메타노사이클로프로파[18,19][1,10,3,6]디옥사디아자사이클로노나데시노[11,12-b]퀴녹살린-8-카복실레이트



[0141]

[0142] DCE 중 메틸 3-메틸-N-({[(1R,2R)-2-펜트-4-엔-1-일사이클로프로필]옥시}카보닐)-L-발릴-(4R)-4-[(7-메톡시-3-비닐퀴녹살린-2-일)옥시]-L-프롤리네이트의 용액(0.02M)을 80℃로 가열한 다음, Zhan 1 촉매(0.15eq)로 처리한다. 생성된 혼합물을 80℃에서 1시간 동안 교반한 다음, 실온으로 냉각시키고, 감압하에 농축시킨다. 잔사를 섬광 크로마토그래피(20-50% EtOAc/석유 에테르)로 정제하여, 표제 화합물(두 단계 동안 25%)을 포음으로서 수득한다. MS(ES<sup>+</sup>) m/z 567(M+H)<sup>+</sup>

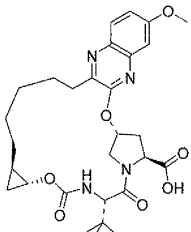
[0143] 단계 4: 메틸 (1aR,5S,8S,10R,22aR)-5-3급-부틸-14-메톡시-3,6-디옥소-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-테트라데카하이드로-8H-7,10-메타노사이클로프로파[18,19][1,10,3,6]디옥사디아자사이클로노나데시노[11,12-b]퀴녹살린-8-카복실레이트



[0144]

[0145] MeOH/디옥산(1:1 비) 중 메틸 (1aR,5S,8S,10R,18E,22aR)-5-3급-부틸-14-메톡시-3,6-디옥소-1,1a,3,4,5,6,9,10,20,21,22,22a-도데카하이드로-8H-7,10-메타노사이클로프로파[18,19][1,10,3,6]디옥사디아자사이클로노나데시노[11,12-b]퀴녹살린-8-카복실레이트의 용액(0.05M)을 Pd/C(중량으로 8%)로 처리한다. 생성된 혼합물을 수소 대기하에 4시간 동안 교반한다. 촉매를 여과하고, 여액을 감압하에 농축시켜, 표제 화합물(98%)을 고체로서 수득한다. MS(ES<sup>+</sup>) m/z 569(M+H)<sup>+</sup>

[0146] 단계 5: (1aR,5S,8S,10R,22aR)-5-3급-부틸-14-메톡시-3,6-디옥소-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-테트라데카하이드로-8H-7,10-메타노사이클로프로파[18,19][1,10,3,6]디옥사디아자사이클로노나데시노[11,12-b]퀴녹살린-8-카복실산

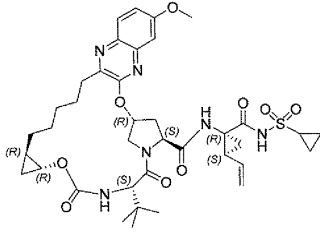


[0147]

[0148] H<sub>2</sub>O/THF의 1:1 혼합물 중 메틸 (1aR,5S,8S,10R,22aR)-5-3급-부틸-14-메톡시-3,6-디옥소-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-테트라데카하이드로-8H-7,10-메타노사이클로프로파[18,19][1,10,3,6]디옥사디아자사이클로노나데시노[11,12-b]퀴녹살린-8-카복실레이트의 용액(0.1M)을 LiOH·H<sub>2</sub>O(3eq)로 처리한다. 생성된 혼합물을 20℃에서 18시간 동안 교반하고, 수성 HCl(0.2M)로 산성화시킨 다음, EtOAc로 희석시킨다. 유기상을 분리하고, 수성 HCl(0.2M) 및 염수로 세척한 다음, 건조시킨다. 휘발성 물질의 제거로 표제 화합물(98%)을 고체로서 수득한다. MS(ES<sup>+</sup>) m/z 555(M+H)<sup>+</sup>

[0149] 단계 6: (1aR,5S,8S,10R,22aR)-5-3급-부틸-((1R,2S)-1-[(사이클로프로필설폰)아미노]카보닐)-2-비닐사이클

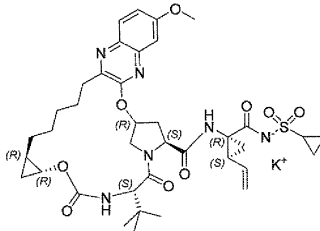
로프로필)-14-메톡시-3,6-디옥소-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-테트라테카하이드로-8H-7,10-메타노 사이클로프로파[18,19][1,10,3,6]디옥사디아자사이클로노나테시노[11,12-b]퀴녹살린-8-카복스아미드



[0150]

[0151]  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  중 (1aR,5S,8S,10R,22aR)-5-3급-부틸-14-메톡시-3,6-디옥소-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-테트라테카하이드로-8H-7,10-메타노사이클로프로파[18,19][1,10,3,6]디옥사디아자사이클로노나테시노[11,12-b]퀴녹살린-8-카복실산의 용액(0.1M)을 (1R,2S)-1-((사이클로프로필설폰닐)아미노)카보닐}-2-비닐사이클로프로판아미늄 클로라이드(1.3eq), DIEA(3eq), DMAP(1.5eq) 및 TBTU(1.45eq)로 처리한다. 생성된 혼합물을 20°C에서 18시간 동안 교반한 다음, EtOAc로 희석시킨다. 용액을 수성 HCl(0.2M), 포화 수성  $\text{NaHCO}_3$  및 염수로 세척한다. 유기상을 건조시키고 농축시켜 잔사를 수득하며, 이를 섬광 크로마토그래피(용출제 2.5% MeOH/ $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )로 정제하여, 표제 화합물(89%)을 고체로서 수득한다.  $^{13}\text{C}$  NMR(100MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  172.32, 170.63, 169.04, 159.86, 156.95, 154.74, 148.10, 140.41, 133.55(2개 시그널), 128.94, 118.21, 117.58, 105.89, 74.88, 59.75, 58.71, 55.68, 54.13, 54.01, 40.13, 34.49, 34.04, 33.76, 32.68, 30.71, 30.43, 28.55, 27.69, 27.28, 26.38, 21.98, 18.49, 10.67, 5.69, 5.46; MS( $\text{ES}^+$ ) m/z 767(M+H) $^+$

[0152] 단계 7: 칼륨 {[ (1R,2S)-1-((1aR,5S,8S,10R,22aR)-5-3급-부틸-14-메톡시-3,6-디옥소-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-테트라테카하이드로-8H-7,10-메타노사이클로프로파[18,19][1,10,3,6]디옥사디아자사이클로노나테시노[11,12-b]퀴녹살린-8-일)카보닐}아미노}-2-비닐사이클로프로필}카보닐} (사이클로프로필설폰닐)아자나이드



[0153]

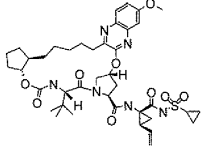
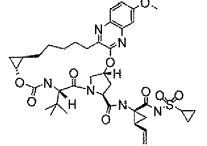
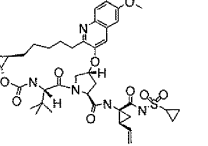
[0154] 전술한 물질을 EtOH에 용해시키고, 생성된 용액(0.025M)을 0°C로 냉각시킨다. EtOH 중 3급-BuOK(1.5eq)의 용액(0.02M)을 첨가하여 침전물의 형성을 유도한다. 혼합물을 20°C에서 18시간 동안 교반한 다음, 고체를 여과하여 수집한다. 이 물질을 EtOH로 세척하고 건조시켜, 표제 화합물(93%)을 백색 결정성 고체로서 수득한다. MS( $\text{ES}^+$ ) m/z 767(M+H) $^+$

[0155] **실시예 2: 상이한 화합물들의 비교**

[0156] 실시예 1의 화합물을 WO 2008/057209의 실시예 110 및 118의 화합물과 비교한다. 결과는 하기 표 1 및 2에 제시되어 있다. 표 및 결과에 대한 논의에서 설명한 바와 같이, 화학식 I의 화합물은 WO 2008/057209의 실시예 118의 화합물 및 WO 2008/057209의 실시예 110의 화합물에 비하여, 몇몇 유리한 특성을 갖는 것으로 나타났다.



표 1

	WO 2008/057209 실시예 118	실시예 1	WO 2008/057209 실시예 110
구조			
NS 3/4A 억제 활성 <sup>1</sup> (Ki) 1b	< 0.016 nM	< 0.016 nM	< 0.016 nM
복제단위 활성 <sup>2</sup> EC <sub>50</sub> gt1b	3 nM	2 nM	5 nM
래트 혈장 AUC @ 25mpk / os <sup>3</sup>	38.5 μM.h	20.6 μM.h	5.8 μM.h
래트 간 농도 @ 24h (25 mpk / os) <sup>3</sup>	18.4 μM	27.9 μM	8.5 μM
개 혈장 AUC @ 5mpk / os <sup>3</sup>	10.9 μM.h	48.6 μM.h	1.0 μM.h
개 간 농도 @ 24h (5mpk / os) <sup>3</sup>	가용하지 않음	120 μM	3.3 μM
생체내 공유 단백질 결합 <sup>4</sup>	래트 @ 6h 혈장 = BLQ, 간 = 30±3pmol/mg 단백질	래트 @ 6h 혈장 = LOQ, 간 = LOQ	래트 @ 6h 혈장 = BLQ, 간 = BLQ
물리적 성질 <sup>5</sup>	칼륨 염은 용액에서 불균등화 반응을 하지 않는다.	칼륨 염은 용액에서 불균등화 반응을 하지 않는다.	칼륨 염은 용액에서 결정성 증성 형태로 불균등화 반응한다.

[0157]

[0158] Ki: 억제 상수, < 0.016nM의 언급은 관찰된 활성이 0.016nM 미만임을 나타내며, 0.016nM 미만의 정확한 양은 검정에 의해 측정되지 않았다; EC<sub>50</sub>: 50% 바이러스 복제 억제를 성취하는 유효 농도; gt: 유전자형; AUC: 혈장 농도/시간 곡선 아래 면적; LOQ: 정량 한계(3pmol/mg); BLQ: 정량 한계 미만

[0159] WO 2008/057209 실시예 110의 화합물과 비교되는 화학식 I의 화합물

[0160] WO 2008/057209 실시예 110의 화합물과 대비되는 화학식 I의 화합물의 유용한 특성들은 다음과 같다:

[0161] 1) 물리적 특성(화학식 I의 화합물에 대한 염 불균등화 반응이 없음)

[0162] 2) 칼륨 염의 투여 후의 래트의 약동학적 프로파일 및

[0163] 3) 간(표적 기관) 노출.

[0164] 특성들에서의 차이는, WO 2008/057209 실시예 110의 화합물에 비하여, 화학식 I의 화합물의 제형 및 투여에서 특히 유용하다. 화학식 I의 화합물에 대한 염 불균등화 반응의 결여로 물에 실시예 1의 화합물의 K<sup>+</sup> 염 형태 1.8mg/ml를 용해시킬 수 있다. WO 2008/057209 실시예 110의 화합물의 K<sup>+</sup> 염 형태가 개선된 수용해도(9.7mg/ml)를 가짐에도 불구하고, 이렇게 용해된 화합물은 불균등화 반응을 일으켜 수용해도가 낮은 (<0.009mg/ml) 결정성 썩비터 이온성 형태를 생성한다. 실시예 1의 화합물에서의 이러한 거동의 결여는 억제학적 투여를 위한 이의 제형화에 있어서 예상밖의 이점을 제공하며, 표 1에 보고된 바와 같이 개선된 약동학적 특성을 나타낸다(래트 및 개에서의 혈장 AUC 및 간 노출). 전임상 중에서 높은 혈장 및 간 노출은 환자의 치료에 사용하기 위한 안전하고 효능있는 용량을 선택하는데 유용하다.

[0165] WO 2008/057209 실시예 118의 화합물과 비교되는 화학식 I의 화합물

[0166] WO 2008/057209 실시예 118의 화합물과 비교되는 화학식 I의 화합물에 대한 관찰된 이점은 상이한 돌연변이 효소들에 대한 이의 내성 프로필이다. 관련 그룹으로부터의 항바이러스제(예: HIV 프로테아제 억제제)에 대한 임상적 연구 및 또한, HCV NS3 프로테아제 억제제(예: VX-950, 텔라프레비르)에 대한 연구로부터의 데이터와 일맥상통하듯이, 현재의 화합물들에 의한 치료에 반응하여 바이러스 내성이 발현될 수 있음이 예상된다. 실시예 1의 화합물은 HCV NS3 프로테아제 억제제에 대한 내성을 부여하는 것으로 공지된 상이한 돌연변이 효소들에 대해 개선된 효소 친화성(Ki)을 나타낸다. 표 2는 상이한 돌연변이 효소들에 대한 활성을 요약한 것이다. 따라서, 화합물 1의 이점은 환자에게 투여되는 경우 내성 바이러스의 발생에 대한 증강된 장벽일 수 있는 것이다. 화합물 1이 이러한 내성 바이러스를 억제할 수 있으므로, 내성의 발생으로 인하여 다른 요법이 실패한 환자를 치료하는 잠재적 이점을 또한 제공한다.

**표 2**

Ki 값<sup>1</sup> 대 1b 돌연변이 효소(nM)

1b SHIFT	D168T	D168A	D168E	D168G	D168V	D168Y	D168Q
실시예 1	0.18	0.43	0.04	0.08	0.14	0.22	0.12
화합물 118	0.78	0.86	0.12	0.45	0.65	1.5	0.42
1b SHIFT	A156S	A156T	A156V	R155K	R155Q	R155G	R155N
실시예 1	0.05	5.2	11	0.07	0.43	0.63	0.13
화합물 118	0.10	3.4	15	0.08	1.9	2.3	0.56

[0167]

[0168] <sup>1</sup>효소 검정법의 동일한 수행시 수집된 비교 데이터

[0169] WO 2008/057209 실시예 110의 화합물과 대비되는 화학식 I의 화합물의 추가로 예상되는 유용한 특성은 다음을 포함한다:

[0170] 1) 낮은 생체내 공유결합 및

[0171] 2) 높은 혈장 및 간 노출

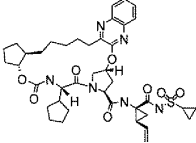
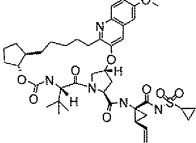
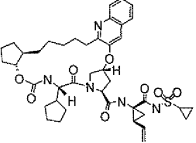
[0172] 화학식 I의 화합물은 매우 양호한 생체내 공유결합 특성 및 약동학적 특성을 갖는 것으로 밝혀졌다. 실시예 1의 화합물 및 WO 2008/057209 실시예 118의 화합물에 대해 관찰된 생체내 공유결합 및 약동학적 특성에 근거할 때, 화학식 I의 화합물은 상당히 보다 양호한 생체내 공유결합 특성 및 약동학적 특성을 갖는다.

[0173] 단백질에 공유결합되는 화합물들, 또는 후속적으로 단백질에 공유결합되는 대사물질을 형성하는 화합물은 잠재적으로 환자에서 역효과, 예를 들면, 약물-단백질 콘주게이트에 대한 항체 반응에 의해 매개되는 면역학적 독성 및 다른 특이체질(idiosyncratic) 독성을 야기한다(참조: Chem. Res. Toxicol. 2004, 17, 3-16).

[0174] 실시예 1의 화합물은 래트에 20mg/kg 단일 용량으로 경구 투여 후 혈장 단백질에 대한 결합을 검출할 수 없음을 나타낸다(참조: 표 1). 유사한 조건하에, WO 2008/057209 실시예 118의 화합물은 래트 간 단백질에 대한 결합이 검출 가능함을 나타내므로(참조 표 1), 화학식 I의 화합물보다 사람 대상에 대한 투여시 덜 유용한 화합물로 고려될 수 있다.

[0175] 표 3은 실시예 118에 포함된 (R,R)-트랜스-2-알킬사이클로펜탄올 잔기를 함유하는 WO 2008/057209로부터의 관련 화합물에 대해 관찰된 추가의 생체내 공유 결합 데이터를 제공한다.

표 3

	WO 2008/057209 실시예 108	WO 2008/057209 실시예 103	WO 2008/057209 실시예 96
구조			
생체내 공유 단백질 결합 <sup>4</sup>	랫트 @ 6h 혈장 = 15 pmol eq./mg 간 = 38 pmol eq./mg	랫트 @ 6h 혈장 = 6 pmol eq./mg 간 = 24 pmol eq./mg	랫트 @ 6h 혈장 = 6 pmol eq./mg 간 = 63 pmol eq./mg

[0176]

[0177]

잠재성 약물 후보가 바람직하지 못한 독성을 나타내지 않음을 효과적으로 나타내기 위하여 전임상 그룹에서 높은 혈장 및 간 노출을 갖는 것이 유용하다. 또한, 동물에서 높은 간 및 혈장 노출을 갖는 화합물이 그렇지 않은 화합물보다 사람에서 동일한 거동을 나타내는 경향이 있다. 이러한 화합물에 있어서, 사람에서 필요한 효능 있는 노출에 보다 더 저용량으로 도달할 수 있고, 이는 약물을 제조하는 경비 및 용이성 면에서 모두 유용할 뿐만 아니라, 역효과의 가능성을 잠재적으로 저하시킨다. 다중 전임상 중에서 표적 기관 노출은, 환자에서 상기 화합물에 대해 높은 표적 기관 노출이 성취될 수 있는 근거를 제공하고, 랫트와 개 둘 다에서의 높은 간 노출은 전임상적 독성의 신뢰있는 평가를 허용한다. 높은 간 노출은 이것이 약물에 대한 표적 기관이므로, HCV에 대해 특히 유용하다.

[0178]

실시예 1의 화합물은 매우 양호한 랫트 혈장 및 간 노출을 갖는다. 관찰된 랫트 간 노출은 WO 2008/057209 화합물 118 및 화합물 110의 경우보다 더 큰 수준에서 존재한다(참조, 표 1). 이들 결과 및 랫트(25mpk) 및 개(5mpk) 둘 다에 대한 경구 투여에 의한 WO 2008/057209로부터의 몇몇 상이한 화합물에 대한 시험을 근거로 하여, 화학식 I의 화합물은 또한 WO 2008/057209 화합물 118 및 화합물 110보다 더 큰 개의 간 노출을 갖는 것으로 예상된다.

[0179]

방법

[0180]

NS 3/4A 억제 활성<sup>1</sup>(K<sub>i</sub>): NS 3/4A 억제 활성은 문헌(참조: Section IV. Compound Evaluation supra., and Mao et al., Anal Biochem 373:1-8, 2008)에 기술된 바와 같이 측정한다.

[0181]

복제단위(Replicon) 활성<sup>2</sup> EC<sub>50</sub>: 복제단위 활성은 문헌(참조: Carroll et al., J. Biol. Chem. 278:11979-11984, 2003 및 Olsen et al., Anti Microb. Agents 48:3944-3953, 2004)에 기술된 방법을 사용하여 측정한다.

[0182]

랫트 혈장 AUC @ 25mpk/os<sup>3</sup>: 시험 화합물을 iv 투여(예: 20%:60%:20% DMSO:PEG400:물)를 위해 또는 os 투여(예: 10% POLYSORBATE80:90% 물 또는 100% PEG400)마다 적합한 용량 비히클에 용해시킨다. 동물은 비-설치류용 크로스오버 연구 디자인을 사용하여 투여한다(n=3). 혈장 샘플을 2분 내지 24시간 시점에서 수집하고, 화합물 수준을 RP-HPLC로 측정한다. 간 샘플은 랫트에서 사후 및 개에서 마취(생검 0.5시간 전) 후 수집한다. 간 샘플의 중량을 재고, 균질화시키고, 당해 분야의 숙련자에게 공지된 기술을 사용하여 희석하고, 화합물 수준은 RP-HPLC로 측정한다.

[0183]

약동학적 파라미터는 비-구획적 분석법(non-compartmental analysis)(예: WATSON®, WINNOLIN®을 사용함)을 근거로 하여 계산한다. 정량 한계 미만(BLQ)인 약물 투여전 농도(predose concentration)는 0의 값을 부여한다. 경구 AUC 측정의 경우, 먼저 말기 단계에서 BLQ 값이 정량 최저 한계의 1/2과 동일한 값으로 주어지는 반면에, 말기 단계에서 후속 값은 0의 값으로 부여된다. 표준 약동학적 파라미터 CL<sub>p</sub>, V<sub>dss</sub>, 반감기(IV의 경우만), %F, C<sub>max</sub>, T<sub>max</sub>, AUC<sub>0-마지막</sub>, AUC<sub>0-무한</sub>을 계산한다. AUC 값은 상승하는 농도에 대해 선형 사다리꼴 방법(linear trapezoidal method) 및 감소하는 농도에 대해서는 로그 사다리꼴 방법(log trapezoidal method)을 사용하여 계산한다.

- [0184] 생체내 공유 결합<sup>4</sup>: 시험 화합물은 적절히 방사능표지(3H)되고, 25 내지 75mCi/랫트(순도 > 98.5%) 방사능을 함유하는 20mg/kg 용량은 찬 화합물의 혼합에 의해 제조하고 방사성 트레이서(radiotracer) 스톱 용액을 증발시킨다. 이 혼합물을 os 투여(상기 참조)마다 적합한 용량 비히클에 용해시킨 다음, 랫트에 경구 투여한다(n=3/시점, 2h, 6h, 24h). 혈장 및 간을 수집하고, 분석 전에 -80에서 순간 동결/저장한다.
- [0185] 혈장 샘플의 카운팅: 20ml 신틸레이션 바이알에 모액 200 $\mu$ l를 넣는다. SOLVABLE<sup>TM</sup> 500 $\mu$ l를 가하고, 55 $^{\circ}$ C에서 진탕하면서 1시간 동안 배양한다. 제거하고, 신틸레이션 각테일 15ml의 부가 전에 냉각시키고, 카운팅한다. 그 다음에, 혈장 샘플(200 $\mu$ l 모액)을 간 단백질에 대해 하기 기술되는 바와 같이 처리한다.
- [0186] 조직 균질화: 중량을 쟀 간 샘플을 2vol 100mM 포스페이트 완충액(pH 7.4)으로 희석하고, 얼음 위에서 균질화시킨다.
- [0187] 간 균질물의 카운팅: 분취액을 20ml 신틸레이션 바이알에 넣고, SOLVABLE<sup>TM</sup> 1ml로 희석한 다음, 55 $^{\circ}$ C에서 진탕하면서 1시간 동안 배양한다. 인큐베이터로부터 제거하고, 신틸레이션 각테일 15ml를 냉각한 후, 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 첨가하여, 방사능을 카운팅한다.
- [0188] 단백질 침전: 분취액 500 $\mu$ l를 취하고, 1:8 균질물:아세트니트릴(화합물이 아세트니트릴에서 낮은 용해도를 갖는다고 의심된다면, 다른 용매를 선택할 수 있음)을 가한 다음, 와동시켜, 원심분리(20분 동안 3500rcf)한다. 상등액을 폐기한다.
- [0189] 단백질 침전물 재현탁: 초음파 처리(최소 세기, < 5sec)하고, 펠릿이 80% MeOH:20% 물에서 분쇄될 때 까지 소용돌이시킨다.
- [0190] 단백질 펠릿의 세척: 80:20 MeOH:물 2 내지 5ml. 경우에 따라, 상등액 1.0ml를 제거하고, 신틸레이션 각테일 15ml를 가한 다음, 카운팅한다. 상등액의 방사능이 <200 DPM이 되거나, DPM이 연속 세척에서 200 이상 만큼 감소되는 것을 멈출 때 까지 단백질 펠릿을 계속해서 세척한다.
- [0191] 최종 펠릿의 용해: 1N NaOH 또는 SOLVABLE<sup>TM</sup> 1ml, 50 $^{\circ}$ C에서 밤새 또는 완전히 용해될 때 까지 배양.
- [0192] 최종 펠릿의 카운팅: 용해된 펠릿 1ml, 신틸레이션 각테일 15ml(ULTIMA GOLD<sup>TM</sup>이 아닌 다른 신틸레이션 각테일이 사용된다면, 펠릿은 1N HCl을 사용하는 중화가 필요할 수 있다), 및 카운팅.
- [0193] 최종 펠릿의 단백질 농도: 표준으로서 BSA를 사용하는 BCA 또는 BIO-RAD 키트.
- [0194] 블랭크 샘플의 카운팅: 신틸레이션 각테일 15ml, 2회.
- [0195] 용량 용액의 카운팅: 기지의 용적의 용량 용액을 3회 카운팅한다.
- [0196] 데이터 분석: 용량 용액의 방사능 카운트(DPM)를 평균하고, 용량 용액의 비활성( $\mu$ Ci/mol)을 계산한다. 블랭크 샘플의 방사능 카운트를 평균한다. 각각의 간 및 혈장 펠릿으로부터 수득된 카운트로부터 평균 블랭크 샘플의 카운트를 뺀다. 간 및 혈장 펠릿 각각에 대해 단위 용적(L) 당 방사능의 양( $\mu$ Ci)을 계산한다. 각각의 혈장 및 간 펠릿에서 방사능의 농도를 비활성( $\mu$ Ci/mol)에 의해 상기 수득한 값( $\mu$ Ci/L)으로 나누어 계산한다. 단백질에 대해 공유결합된 방사능의 양을 계산한다(pmol/단백질 mg).
- [0197] 블랭크 샘플의 카운팅: 신틸레이션 각테일 15ml, 2회.
- [0198] 용량 용액의 카운팅: 기지의 용적의 용량 용액을 3회 카운팅한다.
- [0199] 물리적 특성<sup>5</sup>: 결정성 시험 화합물(칼륨 염 약 5mg)의 중량을 유리 바이알에서 채고, 물 또는 수성 완충액을 첨가한다(100 $\mu$ l). 수득된 슬러리를 실온에서 24시간 동안 교반한다. 원심분리 후, 상등액을 역상 HPLC로 분석하고, 보정 곡선과 비교함으로써 평형 용해도를 측정한다. 고체 물질을 XRPD 플레이트 위로 일부 옮기고, 건조시킨 다음, X-선 분말 회절에 의해 분석한다. XRPD 패턴을, 시험 화합물의 결정성 K<sup>+</sup> 염, 결정성 쓰비터 이온성(또는 산성) 및 무정형 형태에 대한 포지티브 대조군과 비교한다. 고체 물질의 제2 부분으로부터 염 형태에 대한 추가 측정을 수득하며, 이는 DMSO-d<sub>6</sub> 중 용해에 후속하여 400MHz NMR(Bruker)에 의해 분석한다. <sup>1</sup>H-NMR 스펙트럼은 상기 기술한 포지티브 대조군과 비교한다.
- [0200] 본 출원에 기술한 참조문헌들 중 어떠한 것도 청구된 본 발명에 대한 선행 기술로 인정하지 않는다.

[0201] 다른 양태들이 하기의 특허청구범위 내에 속한다. 몇몇 양태가 제시되고 기술되었지만, 본 발명의 취지 및 범위를 벗어나지 않고 다양한 변형을 수행할 수 있다.