



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0030085
(43) 공개일자 2016년03월16일

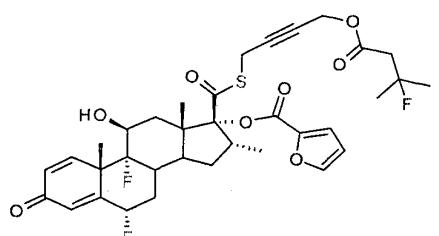
- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07J 31/00 (2006.01) *A61K 31/58* (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07J 31/006 (2013.01)
A61K 31/58 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2015-7033778
- (22) 출원일자(국제) 2014년05월28일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2015년11월26일
- (86) 국제출원번호 PCT/IN2014/000359
- (87) 국제공개번호 WO 2014/192027
국제공개일자 2014년12월04일
- (30) 우선권주장
1881/MUM/2013 2013년05월28일 인도(IN)
- (71) 출원인
썬 파마 어드밴스트 리서치 컴퍼니 리미티드
인디아 룸바이 400 093 안드헤리 (이스트) 오프
마하칼리 케이브즈 로드 마할 인더스트리얼 이스
테이트 17/비
- (72) 발명자
파텔 지텐 란치호드브하이
인디아 바로다 390020 탄달자 로드 니어 프라탐
인클레이브 니마 컴파운드 썬 파마 어드밴스트 리
서치 센터
파텔 고팔쿠마르 치만랄
인디아 바로다 390020 탄달자 로드 니어 프라탐
인클레이브 니마 컴파운드 썬 파마 어드밴스트 리
서치 센터
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
백덕열

전체 청구항 수 : 총 12 항

(54) 발명의 명칭 *S-[4-(3-플루오로-3-메틸부티릴옥시)부트-2-인일]6 α ,9 α -디플루오로-17 α -(푸란-2-일)카보닐
옥시-11 β -히드록시-16 α -메틸-3-옥소안드로스터-1,4-디엔-17 β -카보티오에이트*를 사용한 염증성 병태의 치료
방법

(57) 요 약

본 발명은 *S-[4-(3-플루오로-3-메틸부티릴옥시)-부트-2-인일]6 α ,9 α -디플루오로-17 α -(푸란-2-일)카보닐옥시-11 β -히드록시-16 α -메틸-3-옥소안드로스터-1,4-디엔-17 β -카보티오에이트(화학식(I)의 화합물)을 사용한 염증성
병태의 치료 방법, 상기 안드로스탄 계열의 신규 항-염증성 화합물 및 그의 제조방법에 관한 것이다.*



(I)

(72) 발명자

시쓰 가우라브 산지브쿠마르

인디아 바로다 390020 탄달자 로드 니어 프라탐 인
클레이브 니마 컴파운드 씬 파마 어드밴스트 리서
치 센터

만드헤인 산제이 난드랄

인디아 바로다 390020 탄달자 로드 니어 프라탐 인
클레이브 니마 컴파운드 씬 파마 어드밴스트 리서
치 센터

라오 치틀리 트리나드하

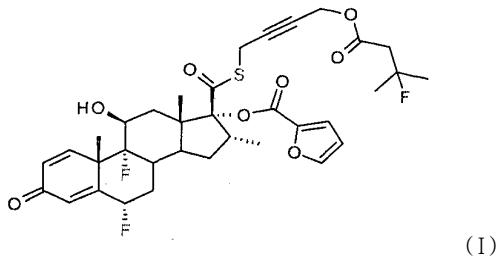
인디아 바로다 390020 탄달자 로드 니어 프라탐 인
클레이브 니마 컴파운드 씬 파마 어드밴스트 리서
치 센터

테나티 라자만나르

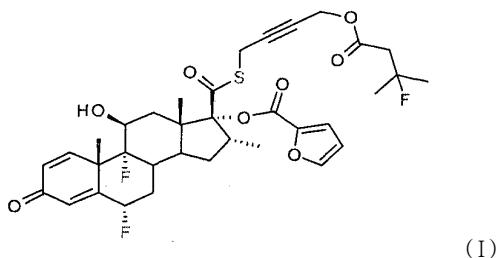
인디아 바로다 390020 탄달자 로드 니어 프라탐 인
클레이브 니마 컴파운드 씬 파마 어드밴스트 리서
치 센터

명세서**청구범위****청구항 1**

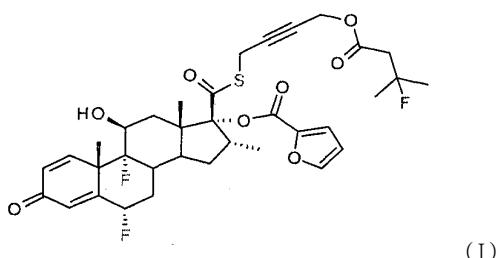
하기 화학식(I)의 화합물:

**청구항 2**

치료를 필요로 하는 인간에게 유효량의 하기 화학식(I)의 화합물을 투여하는 것을 포함하는 인간에서 염증성 병태 또는 그와 관련된 증상을 치료 또는 완화하는 방법:

**청구항 3**

치료를 필요로 하는 인간에게 유효량의 화학식(I)의 화합물을 경비 투여하는 것을 포함하는, 인간에서 계절성 알레르기성 비염, 통년성 알레르기성 비염, 통년성 비-알레르기성 비염, 만성 부비강염, 재발성 부비강염, 코용종으로 이루어진 군으로부터 선택된 질환과 관련된 염증성 병태 또는 증상을 치료 또는 완화하는 방법:

**청구항 4**

제3항에 있어서, 화학식(I)의 화합물이 0.01 내지 2.5 mg 범위의 경비 투여량으로 매일 투여되는 방법.

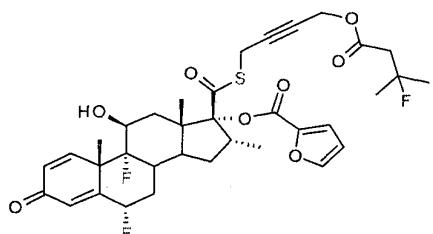
청구항 5

제3항에 있어서, 화학식(I)의 화합물이 0.05 내지 1.0 mg 범위의 경비 투여량으로 매일 투여되는 방법.

청구항 6

치료를 필요로 하는 인간에게 유효량의 화학식(I)의 화합물을 흡입 경로를 통하여 투여하는 것을 포함하는, 인간에서 상부 또는 하부 기도의 알레르기성, 비-알레르기성 및/또는 염증성 질환 또는 천식, 만성 폐쇄성 폐질환, 모세기관지염, 급성 폐쇄성 후두염, 기관지폐이형성증, 간질성 폐질환과 같은 폐의 알레르기성, 비-알

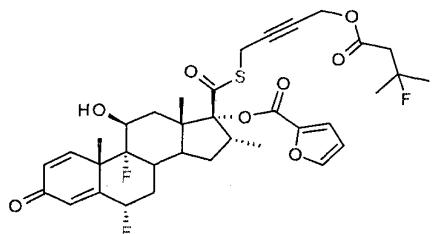
레르기성 및/또는 염증성 질환으로 이루어진 군으로부터 선택된 호흡기 질병과 관련된 염증성 병태 또는 증상을 치료 또는 와화하는 방법.



(I)

청구항 7

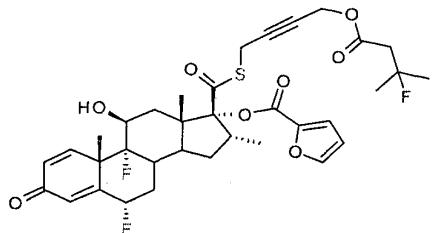
치료를 필요로 하는 인간에게 유효량의 화학식(I)의 화합물을 국소 경로를 통하여 투여하는 것을 포함하는, 인간에서 여드름, 건선, 알레르기성 피부염, 접촉 피부염, 가려움증 및 과민성 반응으로 이루어진 군으로부터 선택된 피부 질병과 관련된 염증성 병태 또는 증상을 치료 또는 완화하는 방법.



(I)

청구항 8

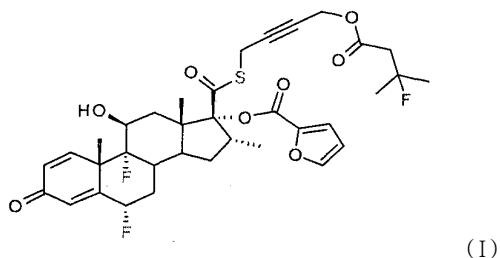
치료를 필요로 하는 인간에게 유효량의 화학식(I)의 화합물을 경구 또는 비경구 경로를 통하여 투여하는 것을 포함하는, 인간에서 과민증 대장 증후군(IBS); 케양성 대장염, 크론 대장염과 같은 염증성 장 병태; 골관절염; 또는 비제한적으로 류마티스성 관절염과 같은 자가면역 질환으로 이루어진 군으로부터 선택된 전신 염증성 질병과 관련된 염증성 병태 또는 증상을 치료 또는 완화하는 방법.



(I)

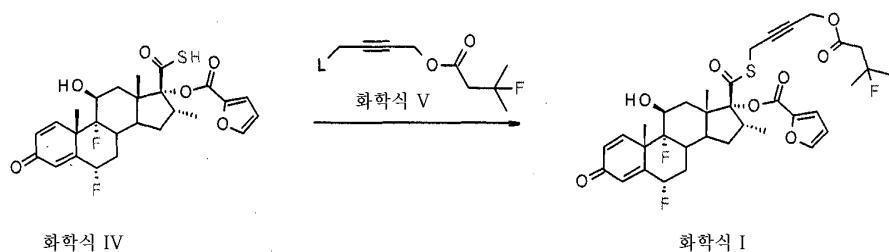
청구항 9

치료를 필요로 하는 인간에게 유효량의 화학식(I)의 화합물을 국소 경로를 통하여 투여하는 것을 포함하는, 계절성/통년성 알레르기성 결막염, 각막염, 봄의 각막결막염(annual keratoconjunctivitis), 아토피성 각막결막염, 거대유두 결막염, 피부결막염, (접촉 알레르기), 전열반염(pingueculitis), 및 상공막염(episcleritis)으로 이루어진 군으로부터 선택된 안과 또는 이비인후과 염증성 질병과 관련된 염증성 병태 또는 증상을 치료 또는 완화하는 방법.



청구항 10

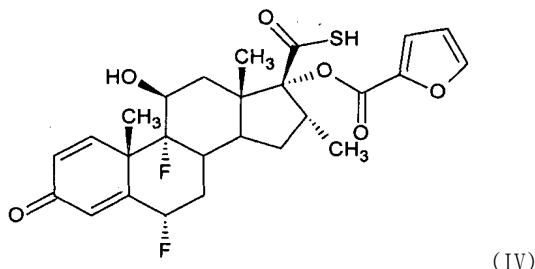
하기 화학식(IV)의 화합물을 하기 화학식(V)의 알카인 모이어티를 사용하여 알킬화하는 것을 포함하는 화학식(I)의 화합물의 제조 방법:



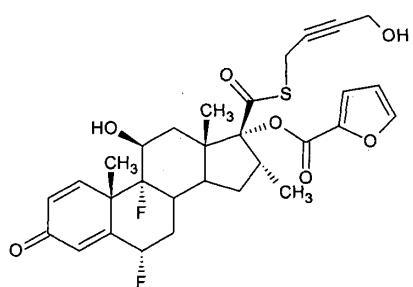
화학식(V) 중에서, L은 이탈기임.

청구항 11

a. 하기 화학식(IV)

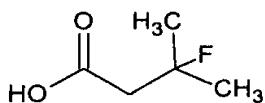


의 화합물을 하기 화학식(VI)

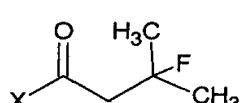


(II)의 화합물을 얻는 단계, 및

b. 상기 화학식(II)의 화합물을 하기 화학식(VII)의 화합물 또는 화학식(VIIa)의 화합물



VII



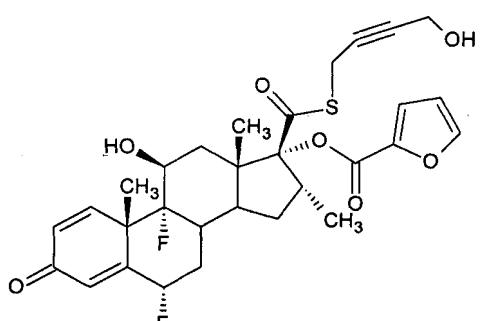
VIIa

물의 제조 방법.

과 처리하는 것을 포함하는, 화학식(I)의 화합

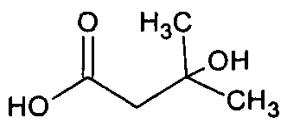
청구항 12

a. 하기 화학식(II)의 화합물



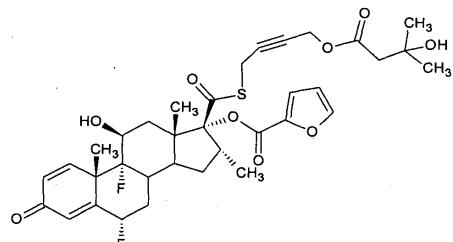
(II)을

하기 화학식(VIII)의 화합물



(VIII)을 사용하여 아실화하여

하기 화학식(IX)의 화합물



(IX)을 얻는 단계; 및

b. 상기 화학식(IX)의 화합물을 플루오르화하는 단계;를 포함하는, 화학식(I)의 화합물의 제조 방법.

발명의 설명

기술 분야

관련 출원

본 출원은 본 명세서에 참조에 의해 포함된, 2013년 5월 28일 출원된 인디아 특허출원 번호 1881/MUM/2013호를 우선권 주장한다.

발명의 분야

본 발명은 S-[4-(3-플루오로-3-메틸부티릴옥시) 부트-2-인일] 6 α ,9 α -디플루오로-17 α -(푸란-2-일)카보닐옥시-11 β -히드록시-16 α -메틸-3-옥소안드로스테-1,4-디엔-17 β -카보티오에이트, 상기 안드로스탄(androstane) 시리

즈의 신규한 항염증 화합물 및 염증성 병태의 치료 방법에 관한 것이다.

배경 기술

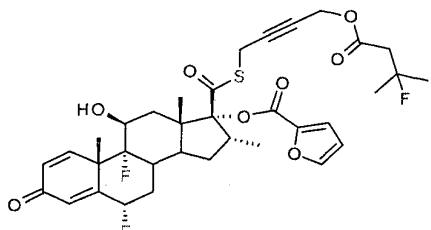
[0005] 항염증 특성을 갖는 코르티코스테로이드(또는 글루코코르티코이드)는 피부, 기도, 눈, GI 관, 관절, CNS 등의 염증성 병태 또는 질병과 몇 개의 자가면역 질병을 치료하기 위해 널리 사용되고 있다. 글루코코르티코이드는 사용한 치료가 처방되는 염증성 피부 질병의 일부는 여드름, 건선, 알레르기성 피부염, 가려움증, 과민성 반응 등이다. 글루코코르티코이드가 사용되는 기도의 염증성 또는 알레르기성 병태는 비염(고초열 포함), 코 용종, 천식(알레르겐 유도된 천식 반응 포함), 만성 폐쇄성 폐질환, 간질성 폐질환, 섬유증, 등과 같은 코, 목 또는 폐의 질병이다. 글루코코르티코이드 투여는 궤양성 대장염 및 크론병과 같은 염증성 질환; 및 자가면역 질환인 류마티스성 관절염과 같은 염증성 관절 질병에 대해서도 또한 사용된다. 그러나, 코르티코스테로이드의 투여는 일반적으로 소망하는 약리 효과 이외에, 표적 조직으로부터 떨어진 위치에서 몇개의 바람직하지 않은 또는 나쁜 부작용, 소위 전신효과를 초래할 수 있다. 이러한 코르티코스테로이드의 장기간 사용은 시상하부-뇌하수체-부신(HPA) 축 억제, 광범위한 면역억제, 지연된 상처치유, 골교체 증가, 성장 손상, 근육 약화 또는 위축증, 소화성 궤양, 피부 얇아짐, 당뇨병, 비만, 고혈압, 수분 보유, 프로게스테론 및 에스트로겐 관련 질병을 비롯한 심각한 바람직하지 않은 전신효과의 발생으로 인하여 제한된다. 만성 치료에 사용될 때 치료량에서 최소의 전신효과 또는 바람직하게는 전신효과가 없으면서 표적 조직에서는 강력한 항염증 활성을 보유하는 글루코코르티코이드를 갖는 것이 요청된다.

발명의 내용

발명의 요약

[0007] 본 발명은 하기 화학식(I)의 신규한 글루코코르티코이드 화합물 S-[4-(3-플루오로-3-메틸부티릴옥시)부트-2-인일]6 α ,9 α -디플루오로-17 α -(푸란-2-일)카보닐옥시-11 β -하이드록시-16 α -메틸-3-옥소안드로스타-1,4-디엔-17 β -카보티오에이트에 관한 것이다:

화학식 I



(I)

[0009] [0010] 화학식(I)의 화합물은 생체내 염증 모델에서 종래 기술에 개시된 화합물과 비교하여 아주 우수한 안전성 지수(safety index)를 나타낸다.

도면의 간단한 설명

[0011] 도 1은 오브알부민 감작시켜 시험된 기니아 피그에서 오브알부민-유도된 혈관 투과성에 대한 화학식(I)의 화합물의 비강 제형의 효과를 도시한다.

도 2는 기니아 피그의 비강내 압력에서 오브알부민-유도된 변화를 도시한다.

도 3은 기니아 피그에서 오브알부민-유도된 결막 혈관 투과성에 대한 효과를 도시한다.

도 4는 토끼에서 IOP에 대한 안과용 스테로이드의 효과를 도시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

정의

[0012] [0013] “안전성 지수”는 안전성에 대한 효능을 나타내는 측도를 지칭한다. 본 명세서에 지칭된 바와 같이, 이는 안전성과 관련된 효능을 나타내는 측도를 표시하는 것으로, 예컨대, 소망하는 효과를 초래하는 투여량에 대비한 바람직하지 않은 효과를 초래하는 투여량의 비로 측정될 수 있다. 이는 소망하는 효과 및 바람직하지 않은 효과에

대한 ED₅₀ 을 측정하고 또 바람직한 효과에 대한 ED₅₀에 대한 바람직하지 않은 효과에 대한 ED₅₀의 비율을 산출하는 것에 의해 일반적으로 측정된다. 예를 들어, Sephadex[®] 폐 부종 모델에서, 상기 안전성 지수는 ED₅₀ 흉선 퇴화(involution)/ED₅₀ 폐 부종 비율로 측정될 수 있다. 상기 안전성 지수는 특정 투여량에서 바람직하지 않은 효과 퍼센트에 대한 소망하는 효과 퍼센트의 비율로서도 표현될 수 있고, 예를 들어, 본 명세서에 예시된 목면 펠릿 육아종(cotton pellet granuloma) 시험에서, 특정 투여량이 사용될 때 흉선 중량의 감소 퍼센트에 대한 육아종의 억제 퍼센트의 비율로서 표현될 수 있다.

- [0014] 병태를 "치료하는" 것은 임상 결과를 비롯하여 유익한 또는 바람직한 결과를 얻기 위한 실시 단계를 지칭한다. 본 발명을 위하여, 유익한 또는 바람직한 임상 결과는, 비제한적으로, 하나 이상의 증상의 완화 또는 경감, 질환 진행의 지연 또는 지체, 질환 상태의 안정화, 및 이하에 기재된 다른 유익한 결과를 포함한다.
- [0015] 용어 "투여"는 전신 투여 및/또는 국소 투여를 지칭한다.
- [0016] 용어 "전신 투여"는 비-국소화 투여를 지칭하는 것으로, 투여된 물질은 몸을 통하여 몇 개의 기관 또는 조직에 영향을 줄 수 있거나 또는 투여된 물질은 표적 부위에 도달시 몸을 통하여 몇 개의 기관 또는 조직을 획단할 수 있다.
- [0017] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "경구 투여"는 입을 거쳐 소화를 통하여, 또는 식도를 비롯한 위장관계의 일부 다른 부분을 거쳐 화합물을 투여하는 것을 지칭한다. 경구 투여를 위한 적합한 약학적 조성물은 예를 들어 정제(압축된, 코팅된 또는 비코팅된 것 포함), 펠릿, 알약, 로젠지(lozenges), 경질 또는 연질 캡슐, 수성 또는 유성 혼탁제, 유제, 분산성 분말 또는 과립, 시럽 또는 엘리서(elixirs) 등을 포함할 수 있다.
- [0018] 용어 "비경구 투여"는 소화관을 통하여 않고 화합물이 포유동물에 투여되는 임의 경로를 지칭하고 포함하는 것으로, 이러한 경로의 비제한적인 예는 경맥 주사, 동맥내 주사, 근육내 주사, 및 정맥 라인(intravenous line), 캐뉼라, 카테터, 등을 통하여 주사를 포함한다. 비경구 투여용의 적합한 약학적 조성물은, 예를 들어, 정맥, 피하, 근육내, 동맥내, 혈관내 또는 주입 투여를 위한 멸균 용액, 혼탁제 또는 유제 등을 포함할 수 있다.
- [0019] 용어 "국소 적용" 및 "국소적으로 적용된"은 본 명세서에서 상호교환적으로 사용되는 것으로 포유동물 피부의 외층에 적용하는 것을 지칭하며, 피부 위로 문지르기, 솔질, 페인팅, 닦아내기 및 스트로킹(stroking)하는 것에 의한 적용을 포함한다. 국소 투여를 위해 적합한 약학적 조성물은, 예를 들어, 연고, 크림, 수성 또는 유성 용액 또는 혼탁제, 경피 폐치, 필름, 젤, 로션 등을 포함할 수 있다.
- [0020] 본 명세서에 사용된 용어 "부분(local) 투여"는 특정 부위에 또는 특정 부위 근처에 투여하는 것을 지칭한다. 부분 투여를 위해 적합한 약학적 조성물은, 예를 들어, 눈/귀/코 접적제, 피부/안과 적용을 위한 크림/연고, 스프레이, 에어로졸, 통기/흡입용 분말, 분무용 용액/혼탁제 등을 포함할 수 있다.
- [0021] 가장 적합한 투여 방식은 각 개별 경우에서 치료될 병태의 성질 및 심각성 및 각 경우에서 사용된 본 발명의 화합물의 성질에 따라서 다를 것이다.
- [0022] **발명의 상세한 설명**
- [0023] 본 발명은 화학식(I)의 화합물을 제공한다. 본 발명은 또한 유효량의 본 발명의 화합물을 환자에게 투여하는 것을 포함하는 항염증제를 사용한 치료에 감음성인 환자에서 염증성 병태(inflammatory conditions)를 치료 또는 완화시키기는 방법을 제공한다. 화학식(I)의 화합물은 0.01 mg 내지 10 mg의 투여량 범위로 투여될 수 있다. 용어 "투여량"은 소정량 또는 단일 투여로 투여된 활성성분의 양을 함유하는 물리적으로 별개의 단위를 지칭한다.
- [0024] 소망하는 생물학적 효과를 얻기 위하여 사용된 본 발명의 화합물의 투여량은 다수의 인자, 예를 들어, 목적하는 용도, 소망하는 치료 기간, 투여 형태 또는 투여 경로, 투여 빈도 및 환자의 임상 상태에 따라 달라진다. 화합물의 투여량의 투여 빈도 또는 투여 빈도는 일반적으로 하루에 1회 내지 3회이다.
- [0025] 본 발명의 일 실시양태에서, 상기 방법은 치료를 필요로 하는 인간에게 유효량의 화학식(I)의 화합물을 투여하는 것을 포함하는, 인간에서 염증성 병태 또는 그와 관련된 증상을 치료하거나 또는 완화하는 것을 포함한다.
- [0026] 본 발명의 다른 실시양태에서, 상기 방법은 치료를 필요로 하는 인간에게 유효량의 화학식(I)의 화합물을 경비(intra-nasally) 투여하는 것을 포함하는, 인간에서 계절성 알레르기성 비염, 통년성 알레르기성 비염, 통년성 비-알레르기성 비염, 만성 부비강염, 재발성 부비강염, 코 용종으로 이루어진 군으로부터 선택된 질환과 관련된

염증성 병태 또는 증상을 치료 또는 완화하는 것을 포함한다. 상기 방법은 0.01 내지 2.5 mg 범위의 매일의 경비 투여량의 화학식(I)의 화합물을 투여하는 것에 관한 것이다. 더욱 바람직하게는, 상기 방법은 0.05 mg 내지 1.0 mg 범위의 매일의 경비 투여량의 화학식(I)의 화합물을 투여하는 것에 관한 것이다. 계절성 알레르기성 비염 환자를 치료하기 위한 바람직한 실시양태에서, 0.1 내지 0.4 mg의 투여량이 하루(BID) 처방에서 2회 경비 투여될 수 있고, 이는 0.2 내지 0.8 mg의 매일의 경비 투여량에 달한다.

[0027] 다른 실시양태에서, 상기 방법은 치료를 필요로 하는 인간에게 유효량의 화학식(I)의 화합물을 흡입 경로를 통하여 투여하는 것을 포함하는, 인간에서 상부 또는 하부 기도의 알레르기성, 비-알레르기성 및/또는 염증성 질환 또는 천식, 만성 폐쇄성 폐질환, 모세기관지염, 급성 폐쇄성 후두염, 기관지폐이형성증, 간질성 폐질환과 같은 폐의 알레르기성, 비-알레르기성 및/또는 염증성 질환으로 이루어진 군으로부터 선택된 호흡기 질병과 관련된 염증성 병태 또는 증상을 치료 또는 완화시키는 것을 포함한다. 흡입 경로를 통한 본 발명의 화합물의 투여량은 0.05 mg 내지 10 mg 범위이다.

[0028] 다른 실시양태에서, 상기 방법은 치료를 필요로 하는 인간에게 유효량의 화학식(I)의 화합물을 국소 경로를 통하여 투여하는 것을 포함하는, 인간에서 여드름, 건선, 알레르기성 피부염, 접촉 피부염, 가려움증 및 과민성 반응으로 이루어진 군으로부터 선택된 피부 질병과 관련된 염증성 병태 또는 증상을 치료 또는 완화하는 것을 포함한다.

[0029] 다른 실시양태에서, 상기 방법은 치료를 필요로 하는 인간에게 유효량의 화학식(I)의 화합물을 경구 또는 비경구 경로를 통하여 투여하는 것을 포함하는, 인간에서 과민증 대장 증후군; 궤양성 대장염, 크론 대장염과 같은 염증성 장 병태; 골관절염 또는 비제한적으로 류마티스 관절염과 같은 자가면역 질환으로 이루어진 군으로부터 선택되는 전신 염증성 질병과 관련된 염증성 병태 또는 증상을 치료 또는 완화하는 것을 포함한다.

[0030] 더욱 다른 실시양태에서, 상기 방법은 치료를 필요로 하는 인간에게 유효량의 화학식(I)의 화합물을 국소 경로를 통하여 투여하는 것을 포함하는, 인간에서 알레르기로 인한 눈의 염증(비제한적으로 계절성/통년성 알레르기성 결막염), 만성 병태 예컨대 각막염, 봄의 각막결막염(vernal keratokeratitis), 아토피성 각막결막염, 거대 유두 결막염(giant papillary conjunctivitis), 피부결막염, (접촉 알레르기), 건열반염(pingueculitis), 및 상공막염(episcleritis)으로 이루어진 군으로부터 선택된 안과 또는 이비인후과 염증성 질병과 관련된 염증성 병태 또는 증상을 치료 또는 완화하는 것을 포함한다.

[0031] 인간 용도 이외에, 본 발명의 화합물은 수의과 분야에서 항염증제 및 항알레르기제로서 사용될 수 있다. 본 발명의 화합물은 또한 임상 평가 중이다.

[0032] 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명의 화합물과 함께 하나 이상의 약학적으로 허용되는 부형제 또는 담체를 포함하는 염증성 병태의 치료에 사용하기 위한 약학적 조성물이 제공된다.

[0033] 일 실시양태에서, 본 발명의 화합물은 글루코코르티코이드 수용체에 결합된 다음 상기 수용체를 통한 반응에 의해 특히 국소 투여시 강력한 항염증 또는 항알레르기 효과를 유발한다.

[0034] 시험관내 수용체 결합 연구에서 본 발명의 화합물은 인간 글루코코르티코이드 수용체에 대하여 양호한 효능과 선택성을 나타내었다.

[0035] 염증 및 알레르기의 동물 모델에서, 본 발명의 화합물은 매우 양호한 효능, 효과 지속시간 및 놀랄만큼 낮은 전신 부작용을 일반적으로 나타내었다. 본 발명의 화합물은 낮은 경구 생체이용능 및 짧은 전신 혈장 반감기와 같은 국소용 스테로이드에 대한 소망하는 속성을 보유하므로, 다른 글루코코르티코이드에서 보여지는 것과 달리 전신 부작용에 대한 책임이 적다.

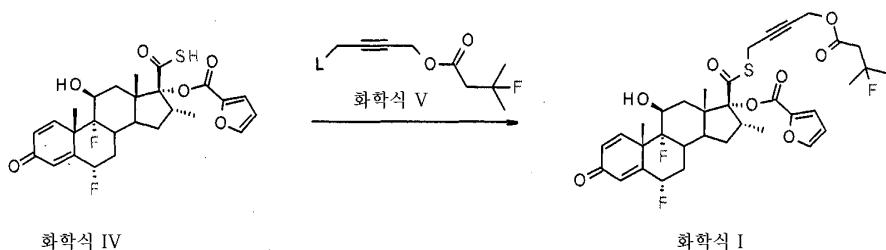
[0036] 본 발명의 화합물은, 본 명세서에 예시적 실시예로서 더욱 자세하게 기재되고 설명된 바와 같이 염증에 대한 생체내 모델에서 시험될 때, 최소의 부작용과 함께 현저한 항염증 활성을 나타내었다. 본 발명의 화합물은 매우 높은 안전성 한계(안전성 지수)를 나타내며, 이는 종래 기술에 기재된 화합물에 비하여 몇 배 개선된 것이다.

제조 공정:

[0038] 본 발명의 다른 요지는 본 발명의 화학식(I)의 화합물의 제조 방법에 관한 것이다.

[0039] 일 실시양태에서, 본 발명의 화합물은 하기 도식 I에 나타낸 바와 같이 화학식(V)의 알카인 모이어티(moiety)를 사용하여 알킬화하는 것에 의해 화학식(IV)의 티오산으로부터 단일 단계로 제조된다.

[0040] 도식 I



[0041] 화학식 IV

[0042] 화학식(V)의 화합물에서, L은 이탈기(예를 들어, 할로겐 원자, 메실 또는 토실기, 등)를 나타내고, 바람직하게는 L은 클로로이다.

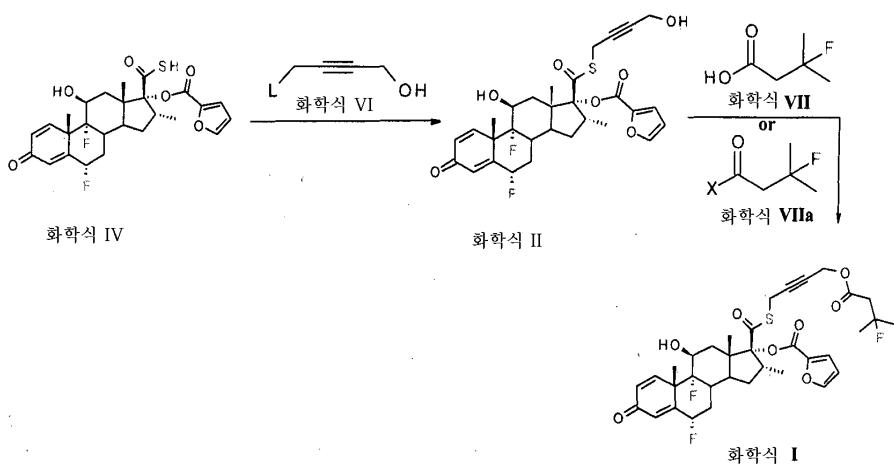
[0043] 상기 알킬화 반응은 적합한 염기 존재하의 불활성 유기 용매, 예를 들어, 아세톤, 아세토니트릴, N,N-디메틸포름아미드, N,N-디메틸아세트아미드, 디메틸 셀록사이드, 등, 또는 그의 혼합물 중에서, 바람직하게는 아세톤에서 유리하게 실시될 수 있다. 적합한 염기의 예는 칼륨 카보네이트, 나트륨 카보네이트, 나트륨 비카보네이트 등과 같은 알칼리 또는 알칼리토 금속 카보네이트이고, 바람직하게는 칼륨 카보네이트이다.

[0044] 화학식(IV)의 화합물은 다음의 공지 방법, 예를 들어, Gordon J. Phillips et al., J. Med. Chem., 37, 3717-3729(1994); US4335121호; PCT 공개번호 WO 04/001369호 또는 WO 04/039827호에 의해 제조될 수 있다.

[0045] 화학식(V)의 화합물은 당업자에게 공지된 방법에 의해 제조될 수 있다.

[0046] 다른 실시양태에서, 본 발명의 화합물은 다음 도식 II에 나타낸 2단계 공정으로 제조된다:

[0047] 도식 II



[0048]

[0049] 화학식(I)의 화합물의 제조는 당업자에게 공지된 방법에 의해 화학식(II)의 화합물을 불활성 용매 중 축합제 존재하에서 화학식(VII)의 화합물과 축합시키는 것을 포함한다. 다른게는, 화학식(VIIa)의 화합물(식중, X는 할라이드, 바람직하게는 클로로임)을 사용하여 적합한 염기 존재하에서 화학식(II)를 아실화하여 화학식(I)의 화합물을 얻을 수 있다.

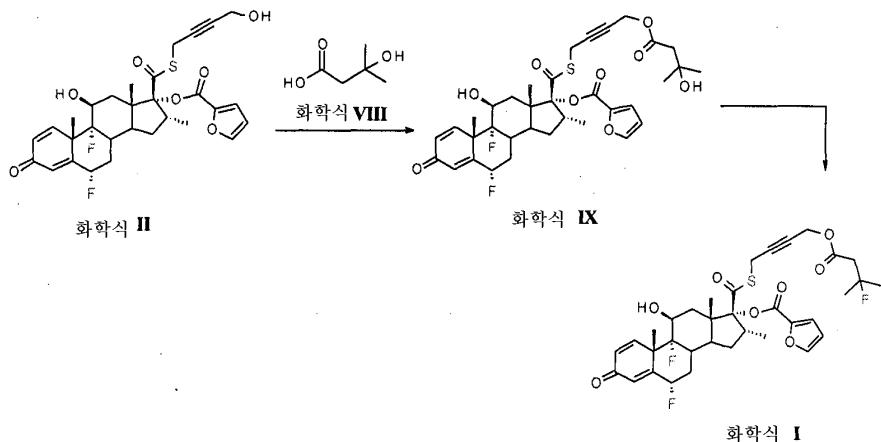
[0050] 화학식(II)의 화합물은 화학식(IV)의 화합물을 화학식(VI)의 화합물과 알킬화하는 것에 의해 제조할 수 있으며, 식 중에서 L은 이탈기(예를 들어, 할로겐 원자, 메실 또는 토실기, 등)이고, 바람직하게는 L은 토실이다.

[0051] 상기 알킬화 반응은 적합한 염기 존재하의 불활성 유기 용매, 예를 들어, 아세톤, 아세토니트릴, N,N-디메틸포름아미드, N,N-디메틸아세트아미드, 디메틸 셀록사이드, 등에서, 바람직하게는 아세톤에서 유리하게 실시될 수 있다. 적합한 염기의 예는 칼륨 카보네이트, 나트륨 카보네이트, 나트륨 비카보네이트 등과 같은 알칼리 또는 알칼리토 금속 카보네이트, 바람직하게는 칼륨 카보네이트이다.

[0052] 더욱 다른 실시양태에서, 본 발명의 화합물은 하기 도식 III에 나타낸 화학식(II)의 화합물로부터 2단계로 제조

된다:

[0053] 도식 III



[0054]

[0055]

화학식(I)의 화합물의 제조 공정은 화학식(IX)의 화합물을 적합한 용매 중의 플루오르화제와 반응시키는 것을 포함한다.

[0056]

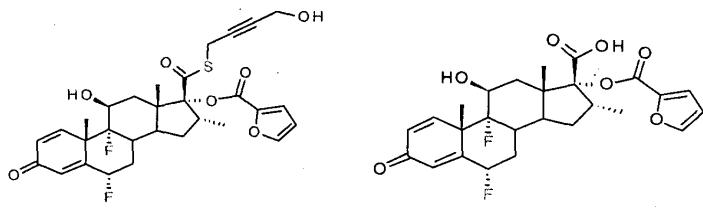
플루오르화제의 예는 플루오르화수소산(예를 들어, 수성 HF, HF-피리딘), 사플루오르화황(SF4), 디메틸아미노노슬푸르 트리플루오라이드, 디에틸아미노슬푸르 트리플루오라이드(DAST), 모르폴리노슬푸르 트리플루오라이드, Selectfluor® 등을 포함한다. 바람직하게는 상기 플루오르화는 디클로로메탄 용매 중의 DAST를 사용하여 실시된다.

[0057]

화학식(IX)의 화합물은 화학식(II)의 화합물을 불활용 용매 중의 불활성 염기 및/또는 적합한 촉매 존재하에서 당업자에게 공지된 방법에 의해 화학식(VIII)의 화합물과 축합시키는 것에 의해 편리하게 제조될 수 있다.

[0058]

본 발명의 화합물은 고도로 효과적인 가수분해를 거쳐서 화학식(II)의 대사물로 되며, 이는 시험관내 글루코코르티코이드 수용체 결합 에세이에서 유사한 효능을 갖는다. 그러나, 놀랍게도, 화학식(II)의 화합물은 크로톤오일(croton oil) 귀 부종과 같은 항염증성 효능에 대한 생체내 모델에서 국소적으로 본 발명의 화합물보다 효능이 현저하게 떨어졌다. 본 발명의 화합물 및 화학식(II)의 화합물은 모두 간성 대사를 거쳐 불활성 대사물질, 화학식(III)의 화합물을 생성한다. 이 화학식(III)의 대사물질은 본 발명의 화합물과 화학식(II)의 화합물과 비교하여 시험관내 글루코코르티코이드 수용체 결합 에세이에서 몇 배나 낮은 효능을 갖는다(화학식(I)에 대한 IC₅₀ 2.3nM 대 화학식(III)에 대한 0.1 μM에서 2% 억제).

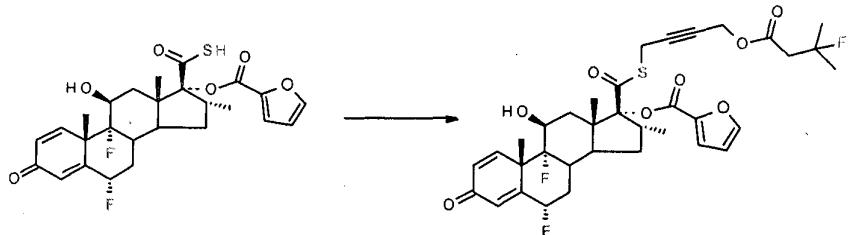


[0059]

하기 비제한적 실시예는 본 발명을 설명한다.

[0060] 실시예

실시예-1: S-[4-(3-플루오로-3-메틸부티릴옥시)부트-2-인일]6α,9α-디플루오로-17α-(푸란-2-일)카보닐옥시-11β-히드록시-16α-메틸-3-옥소안드로스타-1,4-디엔-17β-카보티오에이트



[0063]

6 α , 9 α -디플루오로-17 α -(푸란-2-일)카보닐옥시-11 β -히드록시-16 α -메틸-3-옥소안드로스타-1,4-디엔-17 β -카보티오산(5.0g, 9.87mmol), 4-클로로-1-(3-플루오로-3-메틸부티릴옥시)-부트-2-인(2.24g, 10.85mmol) 및 무수칼륨 카보네이트(1.5g, 10.85mmol)가 아세톤(25ml)에서 혼합된 혼합물을 질소 블랭킷 하 25 내지 30°C에서 3시간 동안 교반하였다. DM 수(100ml)를 부가하고 또 25-30°C에서 1시간 동안 교반하였다. 얻어진 고체를 여과하고, 물로 세척한 다음 60-65°C에서 건조시켰다. 얻어진 건조 생성물을 실리카겔 상에서 컬럼 크로마토그래피(디클로로메탄 중의 1% 메탄올)에 의해 정제하여 표제 화합물을 백색 고체로 수득하였다.

^1H NMR (400 MHz in CDCl_3), δ : 1.05(d, $J=6.99\text{Hz}$, 3H), 1.20(s, 3H), 1.36-1.40(m, 1H), 1.46(s, 3H), 1.51(s, 3H), 1.55(s, 3H), 1.74-1.98(m, 3H), 2.28-2.53(m, 4H), 2.68(d, $J=17.80\text{Hz}$, 2H), 2.74(s, 1H), 3.45(m, 1H), 3.66(d, $J=16.71\text{Hz}$, 1H), 3.76(d, $J=16.61\text{Hz}$, 1H), 4.43(d, $J=7.16\text{Hz}$, 1H), 4.54(d, $J=15.35\text{Hz}$, 1H), 4.79(d, $J=15.32\text{Hz}$, 1H), 5.33-5.49(m, 1H), 6.40(d, $J=10.16\text{Hz}$, 1H), 6.45(s, 1H), 6.50(br-s, 1H), 7.12(d, $J=3.11\text{Hz}$, 1H), 7.17(d, $J=10.09\text{Hz}$, 1H), 7.59(s, 1H).

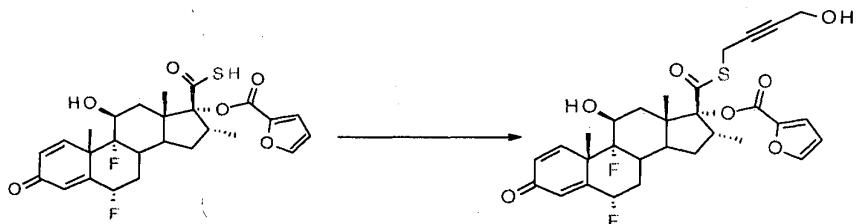
^{13}C NMR (50.33MHz in CDCl_3), δ : 16.94(q), 17.76(q), 18.45(t), 23.63(q,d, $J=5.36$), 27.32(q,d, $J=24.02$), 27.53(q,d, $J=23.93$), 33.27 (d,dd, $J_1=19.35$, $J_2=11.08$), 34.34(t,d, $J=21.56$), 34.56(t), 36.33(t), 37.18(d), 43.47(d), 46.26(t,d, $J=25.29$), 48.77(s,dd, $J_1=22.37$, $J_2=3.62$), 49.98(s), 53.05(t), 72.09(d,d, $J=37.06$), 76.95(s), 82.57(s), 87.11(d,d, $J=183.92$), 93.79(s,d, $J=170.16$), 97.49(s), 99.79(s,d, $J=177.49$), 112.66(d), 119.46(d), 147.77(d), 121.45(d,d, $J=12.80$), 130.50(d), 144.19(s), 152.00(d), 157.55(s), 162.67(s, d, $J=13.59$), 170.06(s,d, $J=8.15$), 195.00(s), 186.38(s).

IR (KBr), ν cm^{-1} : 3357(br, m), 2980(m), 2945(m), 1727(s), 1707(s), 1667(s), 1622(m), 1606(m), 1301(m), 1176(m), 992(m), 771(m).

Mass: 677.47m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[0065]

실시예-2: S-(4-히드록시-부트-2-인일)6 α , 9 α -디플루오로-17 α -(푸란-2-일)카보닐옥시-11 β -히드록시-16 α -메틸-3-옥소안드로스타-1,4-디엔-17 β -카보티오에이트



[0067]

6 α , 9 α -디플루오로-17 α -(푸란-2-일)카보닐옥시-11 β -히드록시-16 α -메틸-3-옥소안드로스타-1,4-디엔-17 β -카보티오산(34.0g, 67mmol), 4-히드록시-1-토실옥시-부트-2-인(17.8g, 74mmol) 및 무수칼륨 카보네이트(11.11g, 80mmol)가 아세톤(170ml)에 혼합된 혼합물을 질소 블랭킷 하 25-30°C에서 1시간 동안 교반하였다. 이 반응 혼합물을 DM 수(500ml)에 의해 급랭시키고 또 25-30°C에서 1시간 동안 교반하였다. 얻어진 고체를 여과하

고, 물에 의해 세정하며 또 70-75°C에서 건조시켜 표제 화합물을 백색을 띠는 고체로 수득하였다.

¹H NMR (400 MHz in CDCl₃+DMSO-D₆) δ: 1.02(d, *J*=7.08Hz, 3H), 1.13(s,3H), 1.32-1.37(m, 1H), 1.55(s, 3H), 1.66-2.02(m, 4H), 2.07-2.32(m,4H), 3.38-3.41(m, 1H), 3.70(d, *J*=16.32,1H), 3.78(d, *J*=16.35Hz, 1H), 4.12-4.15(m, 2H), 4.33(d, *J*=6.37,1H), 4.88(t, *J*=5.92,1H), 5.14(m,1H), 5.36-5.53(m,1H), 6.29-6.32(m, 2H), 6.54(dd, *J*₁=3.47Hz, *J*₂=1.72Hz 1H), 7.11(d, *J*=3.46,1H), 7.25(d, *J*=10.45Hz, 1H), 7.66(m, 1H).

¹³C NMR (50.33MHz in CDCl₃), δ: 15.79(q), 16.70(q), 17.70(t), 22.66(q,d, *J*=5.34Hz), 32.10(d,dd *J*₁=18.93Hz, *J*₂=11.02Hz), 33.36(t,d, *J*=19.73Hz), 33.36(t), 34.98(t), 36.02(d), 42.77(d), 47.69(s, dd *J*₁=21.39Hz, *J*₂=2.66Hz), 48.85(s), 49.18(t), 70.31(d,d, *J*=36.22Hz), 78.09(s), 82.39(s), 86.15(d,d, *J*=182.76Hz), 96.64(s), 99.12(s,d, *J*=177.5Hz), 111.78(d), 118.39(d), 120.01(d,d, *J*=12.79Hz), 129.14(d), 143.15(s), 146.94(d), 151.07(d), 156.31(s), 161.73(s,d *J*=12.73Hz), 184.70(s), 194.35(s).

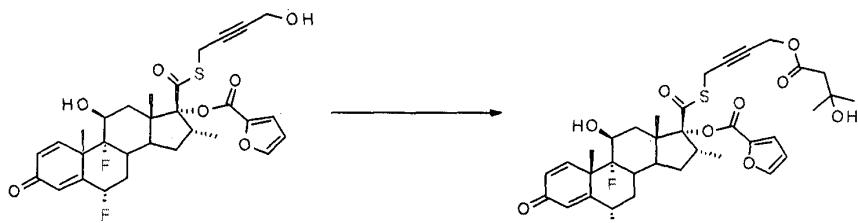
IR (KBr), ν, cm⁻¹: 3546(m), 3341(m), 2982(m), 2959(m), 2936(m), 2878(m), 1701(s), 1682(s), 1657(s), 1614(s), 1577(m), 1471(s), 1393(m), 1171(s), 1119(s), 1073(s), 1019(m), 991(m), 891(s).

Mass: 575.5m/z [M+H]⁺.

[0069]

[0070]

실시예-3: S-[4-(3-히드록시-3-메틸부티릴옥시)-부트-2-인일] 6 α ,9 α -디플루오로-17 α -(푸란-2-일)카보닐-옥시-11 β -히드록시-16 α -메틸-3-옥소안드로스터-1,4-디엔-17 β -카보티오에이트



[0071]

[0072]

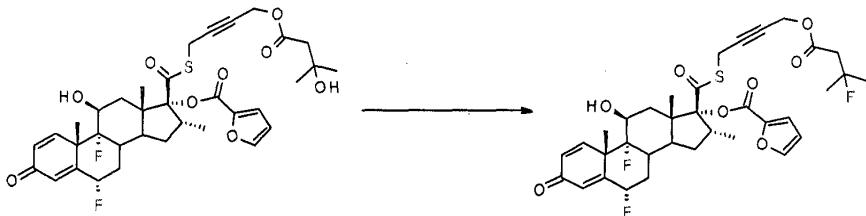
S-(4-히드록시-부트-2-인일) 6 α ,9 α -디플루오로-17 α -(푸란-2-일)카보닐옥시-11 β -히드록시-16 α -메틸-3-옥소안드로스터-1,4-디엔-17 β -카보티오에이트(4.0g, 6.96 mmol), 3-히드록시-3-메틸부티르산(1.23g, 10.4mmol) 및 트리에틸아민(2.9ml, 20.8mmol)이 무수 디클로로메탄(50ml)에서 혼합된 교반 혼합물에 (벤즈트리아졸-1-일옥시)-트리스-(디메틸아미노)포스포늄 헥사플루오로포스페이트(BOP) (4.6g, 10.4mmol)를 부가하고 또 그 용액을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 이 반응 혼합물을 DM 수(100ml)에 끊고, 유기 층을 분리하여 DM 수 및 포화 염화나트륨 용액으로 연속해서 세정한 다음 감압하에서 농축시켰다. 그 잔류물을 실리카겔 상에서 컬럼 크로마토그래피에 의해 정제하여 표제 화합물을 백색을 띠는 고체로 수득하였다.

¹H NMR (400 MHz in CDCl₃) δ: 1.05(d, *J*=7.09Hz, 3H), 1.17(s, 3H), 1.30(s, 3H), 1.32(s, 3H), 1.35-1.40(m, 1H), 1.55(s, 3H), 1.65-1.95(m, 3H), 2.28-2.51(m, 4H), 2.53(s, 2H), 3.32(s, 1H), 3.38(s, 1H), 3.41-3.45(m, 1H), 3.68(d, *J*=16.75Hz, 1H), 3.76(d, *J*=16.75Hz, 1H), 4.43(d, *J*=8.18Hz, 1H), 4.69(s, 1H), 5.32-5.49(m, 1H), 6.39(dd, *J₁*=10.79Hz, *J₂*=1.23Hz, 1H), 6.45(s, 1H), 6.50(dd, *J₁*=3.15Hz, *J₂*=1.40Hz, 1H), 7.12(d, *J*=3.36Hz, 1H), 7.16(d, *J*=10.12Hz, 1H), 7.59(s, 1H).
Mass: 674.93m/z [M+H]⁺.

[0073]

[0074]

실시 예-4: S-[4-(3-플루오로-3-메틸부티릴옥시)-부트-2-인일] 6 α , 9 α -디플루오로-17 α -(푸란-2-일)-카보닐-옥시-11 β -히드록시-16 α -메틸-3-옥소안드로스터-1,4-디엔-17 β -카보티오에이트



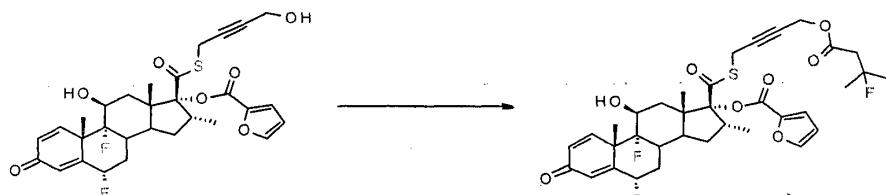
[0075]

[0076]

S-[4-(3-히드록시-3-메틸부티릴옥시)-부트-2-인일] 6 α , 9 α -디플루오로-17 α -(푸란-2-일)-카보닐옥시-11 β -히드록시-16 α -메틸-3-옥소안드로스터-1,4-디엔-17 β -카보티오에이트(3.2g, 4.74mmol)가 무수 디클로로메탄(25ml)에 용해된 교반되는 용액에 N,N-디에틸아미노슬루프트 트리플루오라라이드(DAST)(0.992g, 6.15mmol)를 부가하고 또 그 혼합물을 25 내지 30°C에서 1.5 시간 동안 교반하였다. DM 수(100ml)를 사용하여 급랭시킨 다음 분리된 유기 층을 DM 수 및 포화 염화나트륨을 사용하여 연속적으로 세정하였다. 진공하에서 농축 및 실리카겔 상에서 컬럼 크로마토그래피(디클로로메탄 중의 1% 메탄올)에 의한 정제로 표제 화합물을 백색 고체로 수득하였다.

[0077]

실시 예-5: S-[4-(3-플루오로-3-메틸부티릴옥시) 부트-2-인일] 6 α , 9 α -디플루오로-17 α -(푸란-2-일)카보닐옥시-11 β -히드록시-16 α -메틸-3-옥소안드로스터-1,4-디엔-17 β -카보티오에이트



[0078]

[0079]

S-(4-히드록시-부트-2-인일) 6 α , 9 α -디플루오로-17 α -(푸란-2-일)카보닐옥시-11 β -히드록시-16 α -메틸-3-옥소안드로스터-1,4-디엔-17 β -카보티오에이트(0.59g, 1mmol), 3-플루오로-3-메틸부티르산(0.25g, 2mmol) 및 4-(디메틸아미노)파리딘(0.025g, 0.2mmol)이 건조 아세토니트릴(20ml)에서 혼합된 교반되는 혼합물에 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카보디이미드 히드로클로라이드(EDC HC1)(0.79g, 4.1mmol)를 부가하고 또 그 혼합물을 실온에서 4시간 동안 교반하였다. 그 반응 혼합물을 DM 수(100ml)에 의해 급랭시키고, 생성물을 에틸 아세테이트(100ml)에 추출시키고, DM 수 및 포화 염화나트륨 용액을 사용하여 연속적으로 세정하였다. 감압하의 농축 및 실리카겔 상에서 컬럼 크로마토그래피(디클로로메탄 중의 1% 메탄올)에 의한 정제로 표제 화합물을 백색을 띠는 고체로 수득하였다.

[0080]

약리학적 데이터

실시 예-6: 스테로이드 수용체 결합 에세이

글루코코르티코이드 수용체에 대한 시험 화합물의 활성은 방사능리간드 결합 에세이를 이용하여 평가하였다. 글루코코르티코이드 수용체에 의해 형질감염(transfected)된 인간 HeLa 세포를 3nM 및/또는 10nM 농도의 시험 화합물 부재하 또는 존재하의 RPMI-1640, 10nM HEPES, pH 7.2 배양 배지 중에서 [³H]텍사메타손과 함께 25°C에서

2시간 동안 배양하였다. 자유 [³H]텍사메타손은 원심분리에 의해 배지로부터 제거하였고 또 수용체 결합된 리간드의 농도는 액체 섬광 계수(liquid scintillation counting)에 의해 상청액에서 결정하였다.

[0083] 기준 화합물인 텍사메타손은 얻어진 결과의 타당성을 보증하기 위하여 각 에세이의 통합 부분으로서 동시에 시험하였다. % 억제는 시험 화합물 및 상응하는 방사능표지된 리간드의 단일 농도를 이용하여 평가하였다. 결과는 특정 결합의 억제 퍼센트로서 제공된다. 그 값들은 각 농도에 대해 중복 측정한 것의 평균이다.

[0084] 본 발명의 화합물에 의해 다른 관련 스테로이드 수용체에 대한 결합을 측정하기 위하여, 팔호로 표시된 세포로부터 클로닝된 수용체가 사용되었다: 에스트로겐 Er α /Er β 및 프로게스테론(인간 재조합 곤충 Sf9), 테스토스테론(인간 LnCAP) 및 알도스테론(Wistar 래트(rat) 신장).

표 1: 인간 글루코코르티코이드 수용체 결합(시험관내) 스크린

| 화합물 | IC_{50} | K_i |
|--------|-----------|---------|
| 화학식(I) | 2.3nM | 1.24 nM |
| 텍사메타손 | 4.71nM | 2.54nM |

표 2: 스테로이드 수용체 결합(시험관내) 스크린

| 화합물 | 수용체 클래스/유형 | 종 | IC_{50} | K_i |
|--------|----------------------|----|-----------------------|---------|
| 화학식(I) | 알도스테론 | 래트 | 328 nM | 256 nM |
| | 프로게스테론 | 인간 | 8.52 nM | 3.29 nM |
| | 프로게스테론 | 소 | 39.4 nM | 5.14 nM |
| | 에스트로겐 Er α | 인간 | 100 nM에서 유의한 결합 없음 | -- |
| | 에스트로겐 Er β | 인간 | 100 nM에서 유의한 결합 없음 | -- |
| | 테스토스테론 | 래트 | 100 nM에서 유의한 결합 없음 | -- |

표 1: 인간 글루코코르티코이드 수용체 결합(시험관내) 스크린

상기 나타낸 시험관내 수용체 결합 연구에서, 본 발명의 화합물은 알도스테론, 에스트로겐, 프로게스테론 및 테스토스테론 수용체와 같은 다른 스테로이드 수용체와 비교할 때, 인간 글루코코르티코이드 수용체에 대하여 양호한 효능과 선택성을 나타내었다(표 1 및 2 참조).

실시예-7: 크로톤 오일(croton oil) 귀 부종

마우스(웅성, CD-1)를 상이한 그룹으로 만들었다. 문헌에 보고된 것과 유사한 방법을 이용하였다. 시험 화합물을 피리딘-물-아세톤(4:2:14) 용액에 용해시켰다. 화합물 용액 또는 부형제 용액의 10 μ l를 마우스의 좌측 귀에 적용하였다. 동시에 각 마우스의 우측 귀에는 10 μ l의 피리딘: 물: 아세톤(4:2:14) 용액을 적용하였다. 화합물 또는 부형제 적용한지 2시간 후, 10 μ l의 크로톤 오일 용액을 모든 동물의 좌측 귀에 적용하였다. 크로톤 오일 처리한지 6시간 후, 동물들을 죽였다. 귀를 절제해서 개별적으로 중량을 측정하였다.

[0092] 표 3: 크로톤 오일 귀 부종 스크린

| 화합물 | 귀 부종의 억제(%) |
|---------|---------------------|
| 화학식(I) | 75.5 (1 μ g) |
| 플루티카손 | 81.09 (1.6 μ g) |
| 프로피오네이트 | |
| 덱사메타손 | 50.05 (1.6 μ g) |

[0093] [0094] 본 발명의 화합물은 낮은 투여량에서 유의한 귀 부종 억제를 나타내었다.

[0095] 실시예-8: 목면 펠릿 육아종

[0096] 목면 펠릿 육아종 방법을 이용하여 시험 화합물의 항염증 활성을 평가하기 위하여 SD 래트를 이용하였다. 20mg 중량의 멸균된 목면 펠릿을 준비하였다. 각 목면 펠릿에 대하여 요구되는 양, 500 μ l을 얻기 위하여 시험 화합물을 아세톤에 용해시켰다. 상이한 펠릿은 요구되는 양의 시험 화합물을 함유하는 500 μ l 아세톤으로 함침시키고 건조시켰다. 부형제 대조 펠릿은 500 μ l 아세톤으로 함침시켰다. 래트를 상이한 그룹으로 만들었다. 2개의 목면 펠릿을 각 래트의 어깨 부분에 외과적으로 이식하였다. 이러한 이식의 6일째 날에, 육아종을 갖는 펠릿을 취하였다. 각 동물로부터 흉선을 분리하고 중량을 재었다. 육아종을 갖는 펠릿은 60°C에서 20시간 동안 건조시키고 중량을 재었다. 건조 육아종 및 흉선의 평균 중량, 체중 증가/100g 체중을 산출하였다.

[0097] 표 4: 목면 펠릿 육아종 시험

| 화합물 | 투여량 (mcg/펠 릿) | 육아종의 평균 % 억제 A | 흉선 중량 (% 감소) B | 비 A/B* |
|---------|---------------------|----------------------|----------------------|-----------|
| 화학식(I) | 100 | 58.13 | 4.67 | 12.44 |
| 시클레소니드 | 100 | 63.38 | 15.16 | 4.18 |
| 플루티카손 | 100 | 66.04 | 73.56 | 0.89 |
| 프로피오네이트 | | | | |

[0098] * μ J A/B 는 안전성 지수의 측도를 표시한다

[0099] 상기 나타낸 목면 펠릿 육아종 모델에서, 흉선 퇴화 및 체중 증가와 같은 전신적 부작용 마커는 100 mcg/펠릿의 투여량 수준에서도 미미하였다. 육아종 억제 비율을 흉선 퇴화의 정도로 측정한 본 발명의 화합물에 대한 안전성 지수는 시클레소니드 및 플루티카손 프로피오네이트와 같은 시판되는 국소적 코르티코스테로이드와 비교할 때 훨씬 더 우수하였다.

[0100] 실시예-9: 래트에서 국소 적용시 피부 위축증 및 전신 부작용

[0101] 용성 SD 래트는 이소플루란을 사용하여 마취시켰다. 양측으로 쌍을 이룬 부위를 등 위의 옆구리 각각에 하나씩 표시하였다. 상기 부위 중의 하나에는 적절한 투여량의 본 발명의 화합물 및 아세톤에 용해된 플루티카손 프로피오네이트를 하루에 14일 기간 동안 매일 투여하였다. 대측성 부위(contralateral site)를 용매 처리된 대조군으로 적용하였고 아세톤을 수용하였다. 0 내지 14일간 체중을 모니터링하였다. 15일째에, 마지막 적용한지 24시간 후, 꼬리 정맥으로부터 혈액을 수집하여 전체 및 차등 혈액 세포수를 결정하였다. 상기 동물들을 안락사시키고 또 면도한 영역으로부터 전체 두께 피부에 구멍을 내어 15 mm 직경의 플러그(plug)를 얻었다. 피하 지방 및 근육을 제거하여 편평된 플러그 중량을 재었다. 각 동물의 흉선 중량은 또한 전신 코르티코스테로이드 활성의 마커로서 결정되었다.

[0102] 표 5:

래트에서 피부 두께, 흥선 중량, 체중 증가 및 백혈구 카운트에 대한 화학식(I)의
화합물 및 플루티카손 프로피오네이트의 2주 피부 적용의 효과

| 치료 | 투여량 ($\mu\text{g}/\text{부위}$) | % 억제 | | | | | % 체중 증가 |
|------------------|------------------------------------|----------|------|-----------|------|------|------------|
| | | 피부 중량 | 흥선 | 전체 백혈구 | 림프구 | 호중구 | |
| 부형제 | - | - | - | | | | 72.4 |
| 화학식(I) | 6 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 82.4 |
| | 18 | 0.0 | 0.0 | 0.6 | 0.0 | 0.0 | 80.8 |
| | 60 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 75.6 |
| | 180 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.6 | 80.4 |
| 플루티카손 프로피오네이트 | 6 | 25.3 | 2.0 | 31.4 | 31.7 | 25.8 | 68.1 |
| | 18 | 20.8 | 5.4 | 17.5 | 15.9 | 24.5 | 67.4 |
| | 60 | 27.9 | 23.0 | 15.2 | 15.6 | 14.5 | 61.9 |
| | 180 | 30.0 | 55.0 | 32.7 | 34.1 | 24.6 | 42.5 |

부형제 치료군에서 기관 중량 또는 세포 카운트와 비교한 억제의 값
화학식(I) 화합물 치료군에서 모든 값은 부형제 대조군과 비교하여
통계적으로 유의하지 않았다.

[0103]

[0104]

경피 적용시 국소적 및 전신 부작용에 대한 상기 나타낸 동물 모델에서 평가할 때, 본 발명의 화합물은 참조 코르티코스테로이드로서 사용된 플루티카손 프로피오네이트와 달리, 180 mcg 까지의 투여량에서도 피부 위축증 또는 전신 면역억제 효과를 유발하지 않았다. 흥선의 중량 변화는 전신 활성의 측도이므로 독성의 측도이다. 흥선의 중량이 낮을 수록, 전신 독성이 더 크다. 표 5에 제공된 데이터로부터, 본 발명의 화합물을 2주 경피 적용하는 것이 높은 투여량에서도 흥선 중량의 억제를 유발하지 않았으므로, 본 발명의 화합물은 훨씬 낮은 전신 활성을 갖는 것을 나타낸다.

[0105]

실시예-10: SD 래트에서 Sephadex[®]-유도된 폐 부종

[0106]

Sephadex[®] G-200은 멸균 염수 내에 제조(10mg/ml)하여 실온에서 적어도 3일간 팽윤시켰다. 열은 에테르 마취하에 Sephadex[®] (5 mg/kg)를 기도(intratracheal) 투여하기 24시간 전에 시험 화합물을 기도 투여하였다. 부형제 대조군 동물에는 Sephadex[®] 대신 부형제를 투여하였다. Sephadex[®] 적하한지 24시간 후에, 폐 및 흥선을 개별 동물로부터 절제해내고 중량을 재었다. 폐 및 흥선의 습윤 중량은 100 g의 초기 체중에 대해 보정하였다. Sephadex[®]에 의해 유발된 폐 중량 증가 퍼센트 및 상기 화합물에 의한 폐 중량 억제를 산출하였다. 부형제 대조군과 비교한 흥선 억제 퍼센트도 또한 산출하였다.

표 6: SD 래트의 Sephadex[®] 폐 부종 모델에서 화합물에 대한 안정성 지수

| 화합물 | ED_{50} 폐 부종 억제 (mg/kg, i.t.) | ED_{50} 흥선 퇴화 (mg/kg, i.t.) | 안전성 지수 ED_{50} 흥선 퇴화 / ED_{50} 폐 부종 |
|---------|---------------------------------------|-------------------------------------|---|
| | | | |
| 화학식(I) | 0.094 | 8.70 | 92.55 |
| 시클레소니드 | 0.388 | 3.13 | 8.07 |
| 부데소니드 | 0.101 | 0.68 | 6.73 |
| 플루티카손 | | | 4.19 |
| 프로피오네이트 | 0.086 | 0.36 | |

[0108]

폐 염증에 대한 상기 나타낸 동물 모델 즉 Sephadex[®] 유도된 폐 염증 모델에서, 본 발명의 화합물은 부데소니드, 시클레소니드 및 플루티카손 프로피오네이트와 같은 참조 코르티코스테로이드와 비교할 때 효능면에서 훨씬 더 우수하거나 또는 필적하는 것으로 밝혀졌다. 또한, 전신 안정성 프로파일(마커로서 사용된 흥선 퇴화)의 측면에서, 본 발명의 화합물은 이를 참조 약물에 비하여 놀랄만큼 현저히 우수하므로, 비교적 높은 안전성 지수(부작용에 대한 효능의 비율, 즉 전신 활성으로부터 국소적 항염증 활성의 분리)를 나타낸다. 본 발명의 화합물의 안전성 지수는 플루티카손 프로피오네이트의 안정성 지수에 비하여 몇 배 더 높은 것으로 밝혀졌다.

0110] 실시예-11: 래트에서 간 글리코겐 퇴적

190-220g 중량의 웅성 스프레이그 다우리(Sprague Dawley) 래트에 양측으로 부신적출하고 실험하는 동안 0.9% 염수 용액에서 유지시켰다. 부신적출의 5일째 및 6일째되는 날에, 동물들을 상이한 그룹으로 나누었다. 냉 염수(30분간 초음파처리)에서 제조한 시험 화합물을 2회 투여량 @ 3mg/kg으로 24시간 간격으로 기도내에 적하하였다. 마지막 처리한 지 15시간 후, 동물을 죽이고 간을 절제하여 중량을 재었다. 간의 글리코겐 함량은 안트론(ANTHRONE)법으로 결정하였다. 간단히 말해, 간 조직의 중량 측정한 부분을 5% 트리클로로아세트산을 사용하여 균질화시키고 상청액을 에탄올과 혼합한 다음 석출을 위해 철야로 유지시켰다. 이렇게 추출된 글리코겐은 620 nm에서 안트론 시약을 부가하는 것에 의해 산 가수분해한 후 생성된 글루코오스로서 추정되었다. 글리코겐 함량은 mg/100g 간으로 표시되었다.

0111] 표 7: 래트에서 간 글리코겐 퇴적

| 화합물 | 투여량 (mg/kg) | 글리코겐 함량(mg/100g 간) | 흥선의 억제 % |
|------------|----------------|-----------------------|-------------|
| 화학식(I) | 3 | 10.68 | 26.15 |
| 플루티카손 | | | |
| 프로피오네이트 | 3 | 1514.65 | 70.17 |
| 모메타손 푸로에이트 | 3 | 1117.32 | 43.51 |
| 부데소니드 | 3 | 552.77 | 65.02 |
| 시클레소니드 | 3 | 263.96 | 61.34 |

[0113]

상기 나타낸 연구에서, 본 발명의 화합물에 대한 바람직하지 않은 전신 부작용의 결여는 기관내 투여 이후 래트에서 간성 글리코겐 퇴적을 측정하는 것에 의해서도 또한 나타났다. 글루코코르티코이드의 대사성 전신 부작용의 측도인 간성 글리코겐 퇴적은, 부데소니드, 시클레소니드 및 플루티카손 프로피오네이트와 같은 참조 코르티코스테로이드의 간성 글리코겐 퇴적과 비교할 때 본 발명의 화합물의 경우 극히 미미하였다. 이는 본 발명의 화

합물의 최소의 전신 독성 및 강력한 항염증 활성을 분명히 나타낸다.

[0115] 실시예-12: 기니아 피그에서 오브알부민-유도된 경비 혈관 투과성의 억제

알레르기성 비염은 수산화알루미늄 젤에 혼탁된 오브알부민(100 $\mu\text{g}/0.5 \text{ ml}$ /동물)을 4주 동안 매주 복강내 주사한 다음, 60 mg/ml , 20 μl /콧구멍 오브알부민 용액을 국소 적하하는 것에 의해 감작시켜 유도하였다. 성공적으로 감작된 동물에서, 40 μl 의 화학식(I)의 화합물(0.0714%), 시클레소니드(0.0714%), 및 위약을 각 그룹의 양쪽 콧구멍에 적하하고 8시간 후 동물을 펜토바르비탈 나트륨(50 mg/kg , 복강내)에 의해 마취시켰다. 식도를 묶고 (ligated) 또 구강을 생체접착제를 사용하여 밀봉시켰다. 자연적 호흡을 위해 기관절개술을 실시하고 또 비인두는 카테터에 의해 0.25 $\text{ml}/\text{분}$ 의 속도로 절달하는 관류 펌프 세트에 연결되었다. 에반스 블루 염료(Evans blue dye)(3% w/v, 1 ml/kg)를 정맥 투여하였다. 비강에 오브알부민(1%)을 10분간 관류시키고, 50분간 염수를 관류시켰다. 관류액(perfusate)을 60분간 수집하였다. 관류액의 상청액은 620 nm에서 분광광도계로 염료 함량을 측정하였다. 정맥 투여된 에반스 블루 염료(Evans blue dye)의 혈관밖 유출(Extravasation)은 혈관 투과성의 마커로서 모니터링하였다. 60분 지속되는 동안 비강으로의 염료 누출의 전체량은 산출하였다. 오브알부민-시험(challenge)하기 8시간 전에, 화학식(I)의 화합물 경비 제형을 28.56 $\mu\text{g}/\text{콧구멍}$ 투여량으로 경비 투여하는 것은 오브알부민-유도된 염료 누출을 감소시켰다. 참조 제형 시클레소니드도 또한 화학식(I)의 화합물 경비 제형과 유사한 염료 누출 억제를 유발하였다. 이들 결과는 도 1에 제시한다.

[0117] 실시예-13: 기니아 피그 경비압력에서 오브알부민-유도 증가의 억제

상기 기재한 바와 같이 오브알부민으로 감작화된 동물을 경비 압력을 측정하는 실험에 사용하였다. 화학식(I)의 화합물, 플루티카손 프로피오네이트 또는 위약의 경비 적하는 오브알부민을 사용한 시험하기 24시간 및 2 시간 전에 실시하였다. PE 캐뉼라를 이용하여 비인두를 카테터처리시켜, 그의 일 단부는 압력 트랜스듀서(transducer)에 부착시키고 또 다른 단부는 분무기(nebulizer)에 부착시켰다. 오브알부민(5%)을 10분간 비강에 분무하였다. 경비 압력의 변화는 이후 45분간 기록하였고 또 차등 압력(dP)은 산출하였다. 화학식(I)의 화합물 및 플루티카손 프로피오네이트는 도 2에 도시된 바와 같이 경비 압력의 증가와 같은 경비 압력의 등가 억제를 유발하였다.

[0119] 따라서, 감작된 기니아 피그에서 오브알부민-유도된 혈관 투과성 및 오브알부민-유도된 경비 압력 증가와 같은 상부 호흡기관의 알레르기성 염증에 대한 상기 나타낸 생체내 모델에서, 본 발명의 화합물은 시클레소니드 및 플루티카손 프로피오네이트와 같은 시판되는 국소적 코르티코스테로이드의 효능에 필적하는 효능을 갖는 것으로 밝혀졌다.

[0120] 실시예-14: 기니아 피그의 알레르겐 유도된 결막염에서 효능

[0121] 오브알부민(100 μg /동물, 보조제로서 수산화알루미늄)을 복강내 투여하는 것으로 감작된 기니아 피그를 이 실험에 사용하였다. 2개 투여량의 화학식(I)의 화합물, 로테프레드놀 에타보네이트, 프레드니솔론 아세테이트 또는 위약을 상이한 기니아 피그의 우측 눈에 3시간 간격으로 적하하였다. 스테로이드 제형을 두번 째 적하한지 2시간 후, 에반스 블루 염료(Evans blue dye)(0.5%, 4 ml/kg , 정맥내)를 목정맥을 통하여 투여하고 또 그 직후 눈에 오브알부민을 부가하고 눈꺼풀을 제거하고, 아세톤 및 나트륨 설피아이트의 5 ml 용액을 사용하여 염료를 추출하고 또 분광광도계적으로 620 nm에서 정량하였다(결과는 도 3-기니아 피그에서 오브알부민-유도된 결막 혈관 투과성에 대한 효과에 도시되어 있다).

[0122] 눈 알레르기성 염증 즉, 기니아 피그에서 알레르겐 유도된 결막염에 대한 상기 나타낸 동물 모델에서, 본 발명의 화합물은 참조 눈 코르티코스테로이드 즉, 로테프레드놀 에타보네이트 및 프레드니솔론에 필적하는 효능을 나타내었다.

[0123] 실시예-15: 토끼에서 안구내 압력(IOP)에 대한 효과

[0124] 40 μl 의 화학식(I)의 화합물, 로테프레드놀 에타보네이트, 텍사메타손 나트륨 포스페이트, 및 위약의 눈 적하를 상이한 그룹의 동물에서 실시하였다. 10일 동안 1시간 간격으로 매일 10회 적하하였다. IOP 측정은 마지막 투여량을 적하한지 1시간 후에 실시하였다(결과는 도 4- 토끼에서 IOP에 대한 눈 스테로이드의 효과에 도시되어 있다).

[0125] 상기 연구에 대한 본 발명의 화합물의 경우에서, 강력한 눈 코르티코스테로이드에 대한 부작용인 안구내 압력(IOP)은 참조 코르티코스테로이드 텍사메타손 및 프레드니솔론과 비교할 때 미미하였다(위약에 필적함). 또한, 알레르겐 감작화된 동물에서 경비 경로에 의해 투여될 때, 경비 압력에서 알레르겐 유도 증가는 코내 저항성의 지표이며, 본 발명의 화합물에 의해 억제된다.

[0126] 실시예- 16: 경비 투여에 의한 효능 및 안전성

[0127] 이 연구는 계절성 알레르기성 비염 모델에서 경비 경로를 통한 본 발명의 화합물의 효능 및 안정성을 결정하기 위하여 실시하였다. 이것은 단일-중심의, 임의적, 이중-블라인드(double-blinded), 위약 제어된 평행 그룹 연구였다.

[0128] 목적: 본 연구의 목적은 2주간의 치료 후 환경 노출 챔버 모델(Environmental Exposure Chamber Model: EEC)에서 계절성 알레르기성 비염의 증후 및 증상을 완화하는데 있어 위약과 비교한 경비 경로를 통한 본 발명의 화합물의 효능 및 안정성을 평가하기 위한 것이었다.

[0129] 방법: 이 연구에서, 스크리닝 하기 12개월 전 계절성 알레르기성 비염 및 닥틸리스 글로마레이트(Dactylis glomerata)에 대한 양성 피부 반점(prick) 시험의 이력이 있고 2시간-스크리닝 EEC 동안 적어도 ≥ 6 의 TNSS 점수를 갖는 18세 내지 65세의 웅성 및 자성 환자를 포함시켰다. 전체 159명 환자를 연구에 포함시켰고 또 전체 154명 환자를 효능 분석에 고려하였다. 39명 환자는 200 μg (100 μg BID), 37명 환자는 400 μg (200 μg BID), 39명 환자는 800 μg (400 μg BID)의 본 발명의 화합물을 경비 경로로 투여받았고 또 39명의 환자는 위약으로 부형제를 투여받았다.

[0130] 일차 효능 종점은 기저선(baseline)으로부터 15/16일까지의 EEC에서 닥틸리스 글로마레이트 화분을 사용한 4시간 환경적 시험에 있어서 TNSS(Total Nasal Symptom Score: 전체 코 증상 점수)의 변화였다. TNSS는 각 증상(코 막힘, 비루, 코 소양증 및 재채기)에 대한 4점 심각성 기준(0=없음, 1= 경미, 2= 약함 및 3= 심각함)의 요약으로 산출하였다.

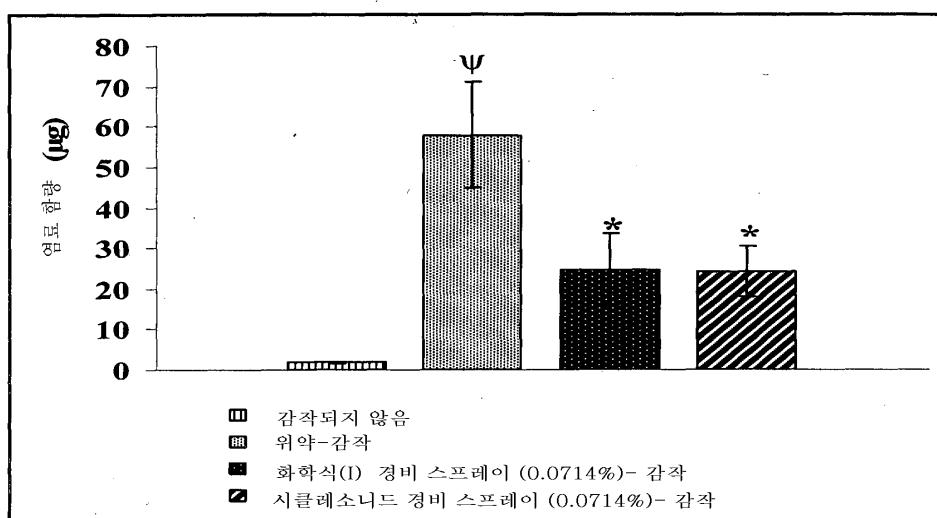
[0131] 이차 효능 종점은 TNSS 서브스케일(subscales)에서의 변화 및 기저선으로부터 15/16일까지의 EEC에서 4시간 환경 시험에서 경비 분비량의 변화이었다. 안전성 종점은 치료-의도되지 않은 정후(adverse event)의 출현이었다.

[0132] 결과는, 본 발명의 화합물 및 위약의 안전성 프로파일에서 현저한 차이가 없음을 나타내었다. 본 발명의 화합물의 모든 투여량은 모든 일차 및 이차 효능 종점에 대해 위약보다 통계적으로 우수하였고 또 본 발명의 화합물은 안전하고 계절성 알레르기성 비염의 치료에 효과적이었다.

도면

도면1

오브알부민 감작시켜 유발된 기니아 피그에서 오브알부민-유도된
혈관 통과성에 대한 화학식(I)의 화합물의 비강 체형의 효과

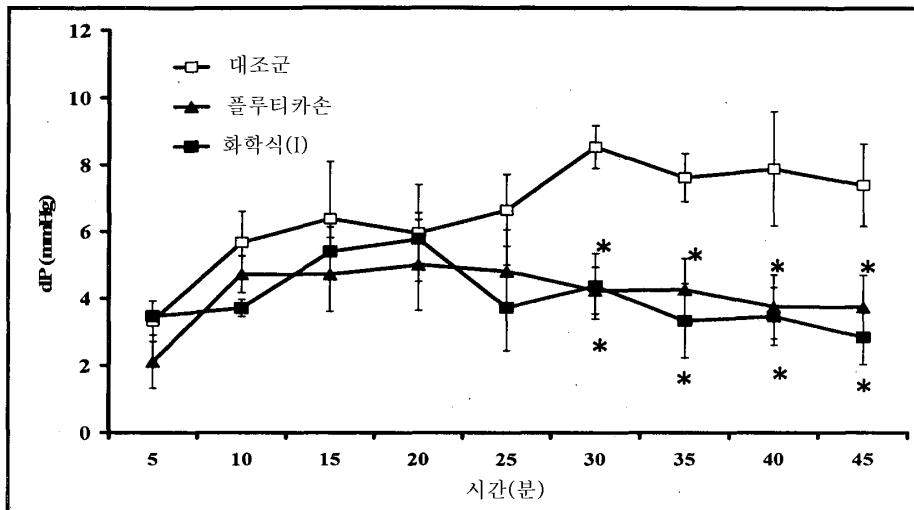


각 막대는 6마리 동물의 평균 \pm S.D를 의미한다. *비-감작 대조군과 비교하여 유의함.

*감작 대조군과 비교하여 유의함, 둔넷(Dunnett) 시험 이후 $p<0.05$, ANOVA

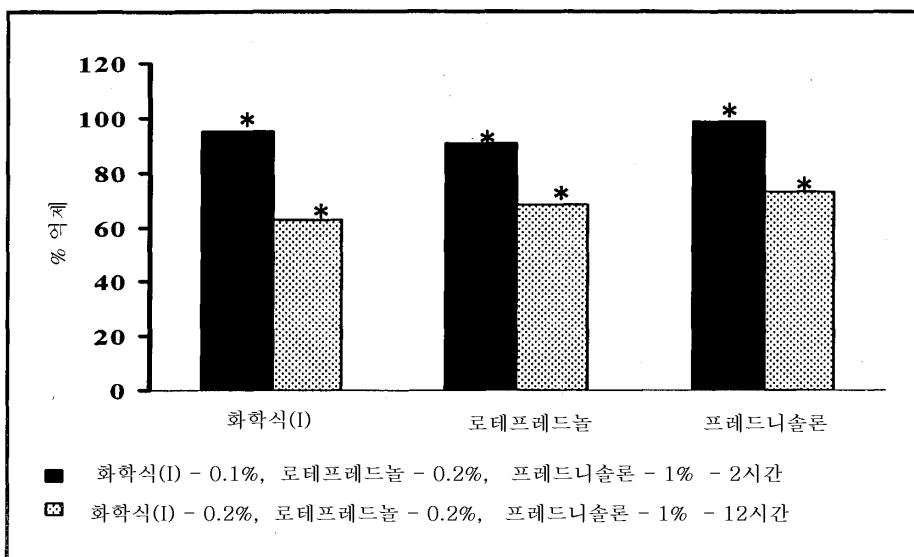
도면2

기니아 피그의 비강내 압력에서 오브알부민-유도된 변화



도면3

기니아 피그에서 오브알부민-유도된 결막 혈관 투과성에 대한 효과



도면4

토끼에서 IOP에 대한 안과용 스테로이드의 효과

