

(19)대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(51) Int. Cl. ⁷ A61K 31/35	(45) 공고일자 (11) 등록번호 (24) 등록일자	2005년11월15일 10-0528206 2005년11월04일
--	-------------------------------------	--

(21) 출원번호	10-2000-7001723	(65) 공개번호	10-2001-0023101
(22) 출원일자	2000년02월21일	(43) 공개일자	2001년03월26일
번역문 제출일자	2000년02월21일		
(86) 국제출원번호	PCT/US1998/017332	(87) 국제공개번호	WO 1999/09976
국제출원일자	1998년08월26일	국제공개일자	1999년03월04일

(81) 지정국

국내특허 : 알바니아, 아르메니아, 오스트리아, 오스트레일리아, 아제르바이잔, 보스니아 헤르체고비나, 바르바도스, 불가리아, 브라질, 벨라루스, 캐나다, 스위스, 중국, 쿠바, 체코, 독일, 덴마크, 에스토니아, 스페인, 핀란드, 영국, 그루지야, 헝가리, 이스라엘, 아이슬란드, 일본, 케냐, 키르기스스탄, 북한, 대한민국, 카자흐스탄, 세인트루시아, 스리랑카, 리베이라, 레소토, 리투아니아, 룩셈부르크, 라트비아, 몰도바, 마다가스카르, 마케도니아공화국, 몽고, 말라위, 멕시코, 노르웨이, 뉴질랜드, 폴란드, 포르투갈, 루마니아, 러시아, 수단, 스웨덴, 싱가포르, 슬로베니아, 슬로바키아, 타지키스탄, 투르크멘, 터키, 트리니다드토바고, 우크라이나, 우간다, 미국, 우즈베키스탄, 베트남,

AP ARIPO특허 : 케냐, 레소토, 말라위, 수단, 스와질랜드, 우간다,

EA 유라시아특허 : 아르메니아, 아제르바이잔, 벨라루스, 키르기스스탄, 카자흐스탄, 몰도바, 러시아, 타지키스탄, 투르크멘,

EP 유럽특허 : 오스트리아, 벨기에, 스위스, 독일, 덴마크, 스페인, 핀란드, 프랑스, 영국, 그리스, 아일랜드, 이탈리아, 룩셈부르크, 모나코, 네덜란드, 포르투갈, 스웨덴,

OA OAPI특허 : 부르키나파소, 베닌, 중앙아프리카, 콩고, 코트디부아르, 카메룬, 가봉, 기니, 말리, 모리타니, 니제르, 세네갈, 차드, 토고,

(30) 우선권주장	60/056,382	1997년08월26일	미국(US)
	08/997,259	1997년12월23일	미국(US)
	09/001,218	1997년12월30일	미국(US)

(73) 특허권자 바이오어바일라빌리티 시스템스, 엘엘씨.
미국, 플로리다 32931, 코코아 비치, 사우스 애틀란틱 애버뉴 2210

(72) 발명자 해리스,제임스더블유.
미국,플로리다32931,코코아비치,피넬라스레인#101180

(74) 대리인 강명구
 강석용

심사관 : 최원철

(54) 항-일차-패스 효과 화합물

대표도

도 2

명세서

기술분야

본 발명은 항-일차-패스 효과 화합물, 조성물에 관계하고, 또한 이들의 이용, 제조, 합성방법 및 이들의 화학식에 관계한다. 가급적, 본 발명의 화합물 및 조성물은 음식 보충물, 약용 음식, 다른 형태의 음식물, 약물, 제약학적 또는 약물 조제품, 또는 임의 다른 물리형태로 제공된다. 본 발명의 화합물 및 조성물은 경구-투여 약물의 일차-패스 효과의 억제물질 역할을 하며, 이외에도 여러 가지 다른 기능을 한다. 본 발명은 일차-패스 효과로 인해 약물을 필요로 하는 동물, 가급적 포유동물, 특히 사람에게 유익하다.

배경기술

경구 투여 약물의 "일차-패스-효과"는 약물이 초기소화에서부터 혈관을 통해 전신으로 이동하는 동안의 약물분해 과정과 관계한다. "생체이용효율"의 측면에서 종종 논의되는 것과 같이, 일상적으로 약물은 섭취후 환자신체에서 발생하는 약물의 분해로 인해 실제로 필요한 양보다 5배 이상의 양이 환자의 경구로 투여된다. 일차-패스 효과의 영향은 항히스타민 테르페나딘을 예를 들어 설명할 수 있는데, 여기서 임의로 투여된 정제의 99.5%가 빠르게 대사물질로 전환한다; 따라서 테르페나딘의 생체이용효율은 대략 0.5%이다(D. Garteiz et al., *Arzneim-Forsch.*, 1982; 32:1185-1190). 또 다른 예로, 장기 이식 환자에게 투여된 사이클로스포린 A는 약 30%의 중간 경구 생체이용효율을 갖고 일반 환자에서는 8-92% 범위의 생체이용효율을 갖는다. 사이클로스포린 생체이용효율은 개인별 변이가 크기 때문에, 치료동안 혈액농도를 주기적으로 관찰해야 한다.

특정 화학약물로 일차-패스 효과의 억제를 비롯해, 일반적인 작용기작으로서 특정 생체이물 대사의 억제는 당분야에 잘 공지되어 있다. 에탄올로 메탄올(우드(wood)알코올)중독을 치료하고, 케토코나졸로 사이클로스포린의 일차-패스 효과를 억제하는 것을 그 예로 들 수 있다(R.M. et al., *The Lancet*, 1198, November 18, 1989).

비록 일차-패스 효과를 관장하는 약물, 효소유형, 생리과정등은 완전히 밝혀지진 않았지만, 시토크롬 P450 시스템을 억제할 수 있는 약물에 연구가 집중되고 있다. P450 시스템의 억제는 *in vivo* 생체이용효율 강화의 *in vitro* 결정을 위한 한 가지 방법이다(미국 특허. 5,478,723, 5,567,592). 심장 이식 환자에게 필요한 사이클로스포린의 약량은 케토코나졸을 동시에 투여하면 85%까지 줄일 수 있다(A. Keogh et al. (*N. Eng. J. Med.*, Vol. 333, No.10, p.628, 1995), S. Butman et al. (*J.Heart Lung Transpl.*, Vol. 10, No.3, p.351, 1991)). 두 문헌은 경제적 측면에서 비용절감을 계산했는데, 그 액수가 일년에 환자당 \$5,000나 되었다. 일차-패스 효과에 처방하고, 일상적으로 사람에게 투여되는 억제물질에 의해 생체이용효율이 증가하는 다른 약물에는 미다졸람이 있다((K. Olkkola et al. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 1993, 53:298-350), 테르페나딘(*Seldane®*)(P. Honig et al., *JAMA*, Vol. 269, No. 12, 1513, 1993), 트리azol람(Varhe, A. et al., *clin. Pharmacol. Ther.*, 1994, 56:601-7)).

케토코나졸을 비롯해, 플루코나졸, 리토나브르, 이트라코나졸, 미코나졸, 에리트로마이신, 트롤린도마이신이 일차-패스 효과의 억제물질로서 알려지고 있으며, 또한 이들은 임의의 약리학적 효과를 갖는다. 하지만, 이들 화합물은 항균, 항생, 항진균제이다. 이런 약물을 남용하면 미생물 균주에 대한 내성이 발생한다는 인식이 확산되었고, 가장 효과적인 억제물질의 일부는 항생제이며, 이식 및 HIV-감염 환자는 면역계가 약화되기 때문에, 일차-패스 효과에 이들 억제물질을 사용하는 것은 상당한 단점을 안고 있다. 가령, 케노코나졸의 경우, 일차-패스 효과에 처방한 약물과 함께 이 약물을 공동으로 투여하는 것은 별 호응을 얻지 못하고 있다. 사실, 면역이 약화된 환자에서 항진균제 저항성의 출현은 널리 알려져 있다(T.J. Walsh: "Emergence of Antifungal Drug Resistance in Immunocompromised Patients" Seminar, National Institutes of Health, February 7, 1996; Georgopapadaku, N.H. et al, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *Beb.* 1996, p. 279-291).

자연에서 분리한 물질에 기초한 음식 보충물, 약물, 화합물, 추출물등이 현재 연구중에 있으며, 또한 소비자에게 이용되고 있다. 이런 추세는 주로 이들 물질에 대한 특허보호가 일상화되고 있다는 사실에 기인한다(미국 특허. 4,708,948, 5,409,938, 5,314,899, 5,591,770, 5,654,432). 당연히, 이런 추세는 일차-패스 효과적 물질에도 확산되고 있다.

1991년에, Bailey et al은 그레이프프루트 주스가 펠로디핀의 생체이용효율을 증가시킨다고 밝히고, 바이오플라보노이드에 의한 시토크롬 P450 효소의 억제로부터 이를 확인할 수 있다고 주장하였다(Bailey, D.G., et al, The Lancet, Vol. 337, February 2, 1991, p.268. 그레이프프루트 주스에서 바이오플라보노이드가 활성성분 역할을 한다는 이런 주장에 대해 R. Chayen et al.(The Lancet, Vol. 337, April 6, 1991, p. 854)은 그레이프프루트 주스에서 일차-패스 효과를 관장하는 활성성분은 플라보노이드가 아닌 세스퀴테르페노이드 화합물이라고 즉각 반박하였다. 비록 Bailey와 Edgar는 나린진과 같은 플라보노이드를 공동투여하여 약리물질의 생체이용효율을 증가시키는 방법으로 특허(미국 특허. 5,229,116, 참고문헌)를 허여받았지만, 이들의 최근 연구는 플라보노이드가 활성성분이라는 초기주장의 정확성에 의문을 야기시켰다(Bailey et al., Clin. Pharmacokinet. 26(2):91-98, 1994, particularly pages 95 and 96 thereof. See also Edwards, D.J. et al, Life Sciences, Vol. 59, No. 13, pp. 1025-1030, 1996).

일차-패스 효과의 효과적인 억제물질로서 그레이프프루트 주스의 효과는 니페디핀, 니트렌디핀, 니솔디핀, 사이클로스포린 A, 미다졸람, 트리아졸람, 코우마린, 카페인에 대한 그레이프프루트 주스에 의한 일차-패스 효과 억제에 관한 많은 연구 자료에 기초가 되었다. 이들 결과로, "그레이프프루트 주스 효과"는 신문 사설, 회보, 공공목적의 의료집의 주제가 되고 있다("The Medical Letter", Vol. 37(issue 955) August 18, 1995, The Peoples Pharmacy, Chapter 4(St. Martin's Press)1996, p. 41, the February 19, 1991, 펠로디핀 및 그레이프프루트 주스에 관한 신문 사설(New York Times(section C, page 3, column 1), 최근 사설(Washington Post(Section A, P. 11, 8/30/96)).

그레이프프루트 주스 효과를 보여주는 공개된 연구를 검토해보면, 효과의 정도가 다양함을 알 수 있는데, 본 발명자는 이런 차이가 주스의 원료에 기인하는 것으로 추측하였다. 사실, 상업적인 감귤류주스의 생산에는 복잡한 일련의 인자가 포함되는데, 이들 인자들이 최종생산 조성물의 변이성을 증가시킨다. 이들 인자에는 짜는 기술, 농축기술, 과일의 출처, 수확시 과일의 숙성, 출처와 숙성이 상이한 과일의 혼합, 주스와 과일찌꺼기의 혼합등이 있다. 일차-패스 효과를 억제하는 그레이프프루트 주스에서 활성성분을 알지 못하고 오인한 과학자와 소비자들은 그레이프프루트 주스 조제품을 선택할 수 없었고, 일차-패스 효과의 억제에 이들을 이용할 수 없었다.

또한, 구체적으로 말하면 그레이프프루트 주스, 일반적으로 말하면 감귤류생산물은 프소랄렌, 산토독신, 베르가프텐과 같은 광독성 푸로코우마린 유도체를 포함하고 있는 것으로 알려지고 있다. 이들 화합물은 백반, 건선, 균상식육종과 같은 선별된 피부질환의 통제된 임상치료에는 유용하지만, 독성, 특히 광독성을 가진 것으로 알려지고 있다. 푸로코우마린 광독성의 구조-활성 관계는 인체연구(L. Musajo et al, Herba Hungarica, 1971, Tom. 10, No. 2-3, pp. 79-94)에서 명확히 알 수 있었는데, 이들 연구에서 광민감화 활성은 고리 히드록실화에 의해 또는 에테르 치환체의 알킬-사슬 길이를 길게 하면 제거된다는 것이 밝혀졌다.

문헌을 조심스럽게 평가하여, 많은 양으로 사람에게 투여된 프소랄렌과 특정 저탄소수 에테르-치환된 푸로코우마린은 시토크롬 P450을 억제한다는 것이 밝혀졌다(D. Bickers et al., J. Investigative Dermatology, 79:201-205, 1982, M. Tinel et al., Biochemical Pharmacology, Vol. 36, No. 6,951-955, 1987, H.Fouin-Fortunet et al., J. Pharm. Experimental Therapeutics, Vol. 236, No. 1,237-247, 1986, and D. Mays et al, Clin. Pharmacol. Ther., 42:621-626, 1987). 따라서, 일차-패스 효과를 성공적으로 억제하는 공지물질은 시토크롬 P450을 일반적으로 억제하기 때문에, 특히, Bailey등의 최근 부인발표로 미루어 볼 때 감귤류에 존재하는 저분자량의 푸로코우마린은 그레이프프루트 주스에서 일차-패스 활성억제물질이라는 결론에 이르게 된다. 사실, 본 발명에 관하여 후술하는 바와 같이, 본 발명자는 이것은 사실이 아님을 알게 되었다. 본 발명자가 일차-패스 효과를 억제하는 특정 화합물을 발견한 까닭에, 일차-패스 효과를 억제하고, 필요하다면, 감귤류-기초 또는 감귤류 원천의 안전하고 믿을만한 조성물을 생산할 수 있게 되었는데, 이 조성물은 저분자량 광독성 푸로코우마린을 소량(또는 없음) 보유한다.

도면의 간단한 설명

도 1은 다양한 억제물질의 억제결과를 나타낸다.

도 2는 다양한 억제물질의 억제결과를 나타낸다.

발명의 상세한 설명

본 발명의 목적

본 발명의 목적은 일차-패스 효과를 억제하는 화학적 화합물 및 조성물을 제공하는 것으로, 이들 화합물 및 조성물은 자연적으로 또는 상업적으로 발생하는 것을 제외한 형태, 농도, 순도를 갖는다.

본 발명의 또 다른 목적은 일차-패스 효과를 억제하는 비-자연적, 비-상업적 발생량으로 본 발명화합물을 하나 이상 포함하는 안전하고 믿을만한 감귤류-기초 또는 감귤류-원천 생산물을 제공하는 것으로, 이들 생산물은 선택적으로 광독소 및 비-일차-패스 억제 저분자량 푸로코우마린이 없거나 소량함유(자연적으로 또는 상업적으로 발생하는 양에 비해서)하고, 음식 보충물, 제약물, 약물로서 유용하다.

본 발명의 또 다른 목적은 일차-패스 효과를 효과적으로 억제하는 본 발명의 화합물을 하나 이상 포함하는 조성물을 제공하는 것이다.

본 발명의 또 다른 목적은 하나 이상의 본 발명화합물을 포함하고, 또한 광독성 저분자량 푸로코우마린의 자연적 또는 상업적 발생량에 비해 없거나 감소된 양을 보유하는 조성물을 제공하는 것이다.

본 발명의 또 다른 목적은 본 발명화합물을 적어도 하나 포함하고, 지속적이고, 믿을만한 일차-패스 억제활성을 제공하는 조성물을 제공하는 것이다.

본 발명의 또 다른 목적은 상기-전술한 화합물 및 조성물을 인체에서 일차-패스 효과에 처방하는 활성성분, 치료제, 약물, 또는 다른 물질을 제공하는 산물 및 혼합물의 한가지 성분으로 제공하는 것이다.

본 발명의 또 다른 목적은 일차-패스 효과를 억제하는 화합물을 비-자연적, 비-상업적 발생형태로 제공하는 것인데, 이들은 또한 생리강화물질로도 일컬어지고, 여기서의 억제물질이라 한다.

본 발명의 또 다른 목적은 하나이상의 본 발명 일차-패스 효과 억제 화합물 및 일차-패스 효과에 처방하는 다양한 치료물질, 활성물질, 약물 및 다른 물질(이후 "약물"로 지칭)과의 혼합물을 제공하는 것이다.

본 발명의 또 다른 목적은 일차-패스 효과를 갖는 약물을 복용하는 사람환자, 동물에서 일차-패스 효과를 억제하는 방법을 제공하는 것이다.

본 발명의 또 다른 목적은 전술한 조성물, 화합물, 혼합물등을 제조하는 방법을 제공하는 것이다.

본 발명의 또 다른 목적은 GRAS 물질을 비롯해 가급적 미국 FDA(식약청)가 음식 및 약물제조에 인정한 물질을 사용하여, 감귤류-기초 또는 감귤류-원천의 조성물을 제조하는 방법을 제공하는 것으로, 이들 조성물은 자연적으로 또는 상업적으로 발생하는 것에 비해 극히 적은 광독소 및 비-일차 패스 억제 푸로코우마린의 양을 포함한다(이번 출원에서, "비-일차-패스 억제"에는 여기서 프로토콜 C 또는 C'에 서 밝힌 2000nM 베르가모틴이나 임페라토닌등에 의해 제공되는 일차-패스 효과가 포함된다).

본 발명의 또 다른 목적은 적어도 본 발명의 일차 패스 효과량 화합물(접합체 또는 개별)을 제공하고 사용하는 것인데, 이 화합물은 분리된 형태, 피로겐-무(無) 형태, 멸균형태, 실제적으로 순수한 형태, 제약학적 형태, 화학적으로 순수한 형태, 또는 자연적, 상업적으로 발견되는 것보다 더 높은 농도와 순도로 본 발명 화합물을 포함하는 형태를 갖는다. 여기서 사용한 "상업적으로"는 지역적으로, 전국적으로, 세계적으로 생산되고 팔리는 생산물을 말하는데, 더 구체적으로는 감귤류-가공 산업에 의한 생산물을 의미한다. 이들의 이름에서 알 수 있듯이, 이들 형태는 본 발명의 화합물과 상이한데, 그 이유는 이들 형태가 주스, 냉동 압착한 기름, 주스 농축물, 기름등과 같은 상업적 감귤류 및 감귤류생산물에서 발견되기 때문이다.

본 발명의 또 다른 목적은 본 발명의 화합물, 조성물을 하나이상 사람에게 투여하여 일차-패스 효과를 억제하는 방법을 제공하는 것이다.

이들 및 다른 목적은 아래의 적절한 구체예에서 후술한 본 발명을 충분히 이해한 당업자에게 명확한 것이다.

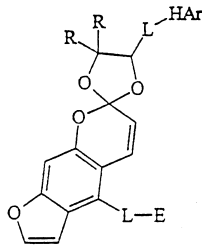
선호되는 구체예의 상세한 설명

본 발명자는 사람에게 경구로 투여되는 약물의 일차-패스 효과를 억제하는 화학적 화합물을 발견하였다. 본 발명자는 또한 감귤류 추출물, 주스, 부산물등에 자연적으로 존재하는 광독성 저분자량 푸로코우마린 및 특정 에테르-치환된 푸로코

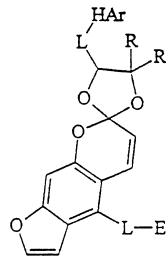
우마린을 이들 산물에서 제거하거나 또는 일차-패스 효과 억제 화합물을 파괴하지 저농도로 만들 수 있다는 것을 발견했다. 본 발명자는 또한 FDA나 USP 허용 물질만을 사용해 감귤류-기초 조성물을 제조하는 방법을 발견하였다. 본 발명은 이들 발견에 기초하여 완성하였으며 아래에서 자세히 밝힐 것이다.

동물(사람 포함)에서 일차-패스 효과를 억제하는 본 발명의 화학적 화합물은 한 구체예에서 다음의 화학식 I-IV를 갖는 화합물이다.

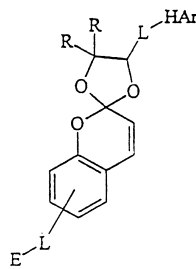
화학식 I



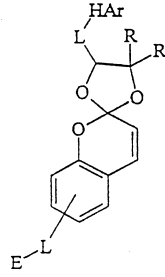
화학식 II



화학식 III



화학식 IV



상기 각 구조에서, R은 독립적으로 H 또는 선택적으로 치환된 C₁-C₁₅ 알킬기이고,

L은 선택적으로 치환된 C₁-C₁₅ 선형이나 분지형 포화된, 단일불포화된 또는 다중불포화된 알킬기이고, 상기 알킬기는 하나이상의 인접하지 않는 황 또는 산소 원자를 선택적으로 보유하고, 한쪽 또는 양쪽 단부가 산소로 선택적으로 종결되며,

HAr은 선택적으로 치환된 C₆-C₂₄ 방향족기 또는 이종방향족기이고, 이는 N, O, S, P에서 선택되는 하나이상의 고리 원자를 선택적으로 보유하고,

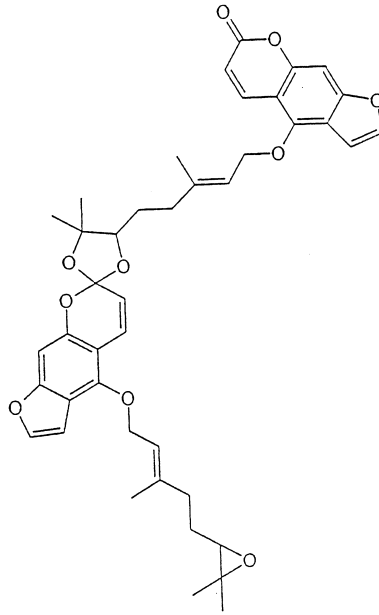
E는 -OH, -COOH, -COOR(여기서, R은 상기와 같이 정의한다) 또는 선택적으로 치환된 C₁-C₈ 선형이나 분지형 포화된, 단일불포화된 또는 다중불포화된 알킬기이고, 상기 알킬기는 하나이상의 인접하지 않는 황 또는 산소 원자를 선택적으로 보유하거나; 또는 E는 C₃-C₈ 선택적으로 치환된 고리형 포화된, 단일불포화된 또는 다중불포화된 알킬기이고, 상기 알킬기는 하나이상의 인접하지 않는 황 또는 산소 원자를 선택적으로 보유하거나; 또는 E는 선택적으로 치환된 HAr이다. 가급적, 후술한 것들을 비롯해 화학식 I-IV의 화합물은 과산화(O-O)기를 갖지 않는다. 이황화기(S-S)는 적절하지 않지만 존재할 수도 있다, 가급적, E는 에폭시드 또는 -CH(OH)₂와 같은 디히드록시 라디칼이다. E는 산성-개방된 에폭시드기일 수 있다.

전술한 바와 같이 본 발명의 화합물은 입체화학 측면에서 아무런 제약을 받지 않으며, E-Z 이성질체 및 모든 가능성이 여기에 포함된다. 모든 각각의 거울상이성질체 및 부분입체처럼 라세미 혼합물도 포함된다. 선호하는 입체화학은 뒤에 제시하였다.

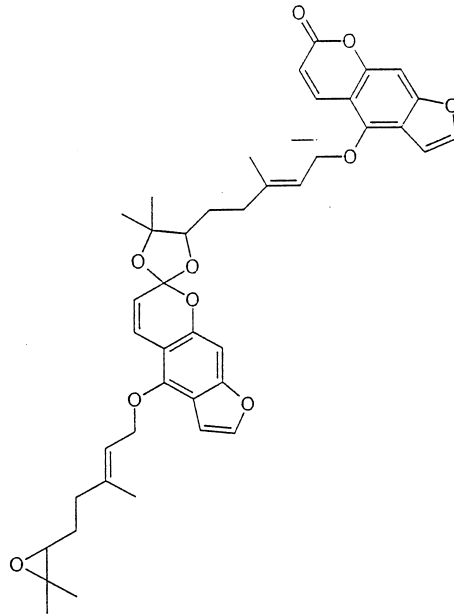
R, L, HAr, E기는 C₁-C₆ 선형, 분지쇄 또는 사이클로알킬기, -OH, 할로겐 원자, C₁-C₅ 알콕시기, C₁-C₅ 카르보닐옥시기, C₁-C₅ 알콕시카르보닐기등으로 임의 치환된다. 이런 치환체는 화학식 I-IV의 고리구조상에서 직접적으로 임의 치환되는데, 이들 치환체는 R, L, HAr, E중 어느 위치에서든 존재할 수 있다.

일차-패스 효과를 억제하는 본 발명 키메라 화합물의 제 2 선호되는 구체에는 화학식 V-X로 나타내었다:

화학식 IX



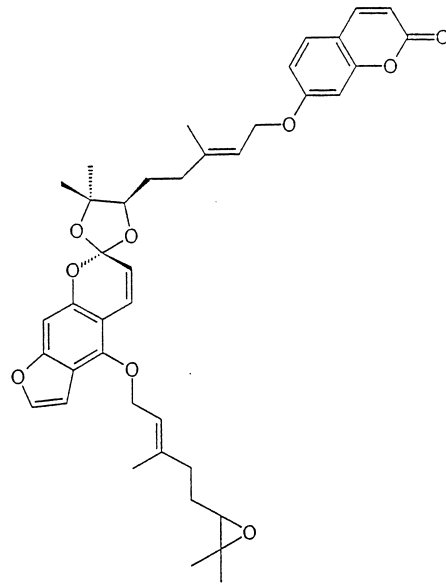
화학식 X



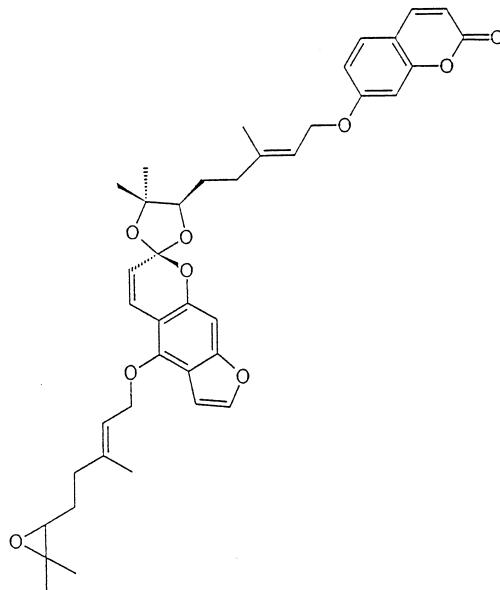
전술한 화학식 I-IV에서처럼, 화학식 V-X는 입체화학, E-Z이성질체 측면에서 아무런 제약을 받지 않는다.

일차-패스 효과를 억제하고 본 발명에 따른 가장 적절한 화합물은 상기 제 2 구체예를 따른 것으로, 다음 입체화학(화학식 XI-XVI)을 갖는다.

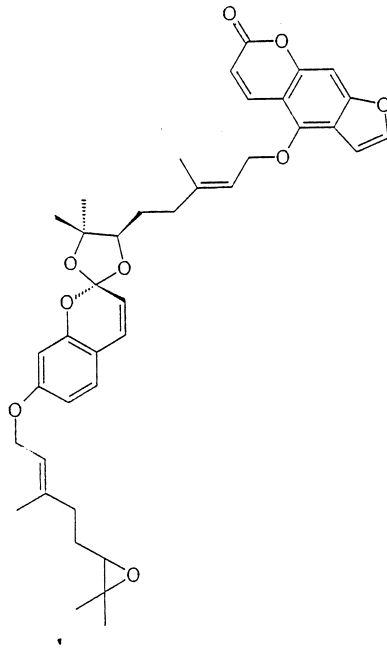
화학식 XI



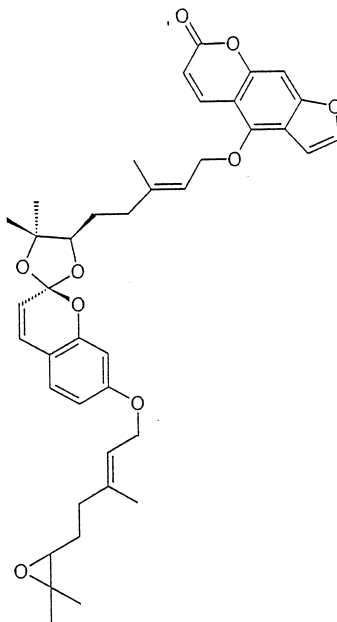
화학식 XII



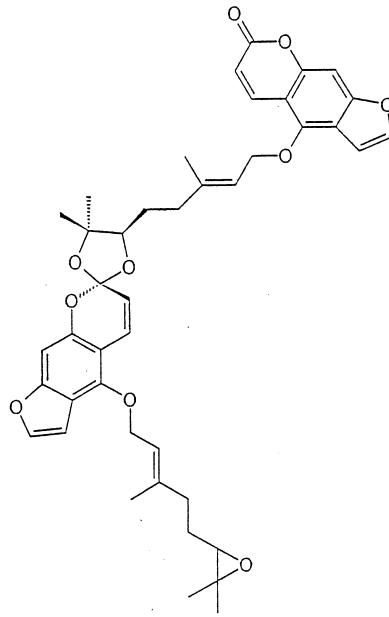
화학식 XIII



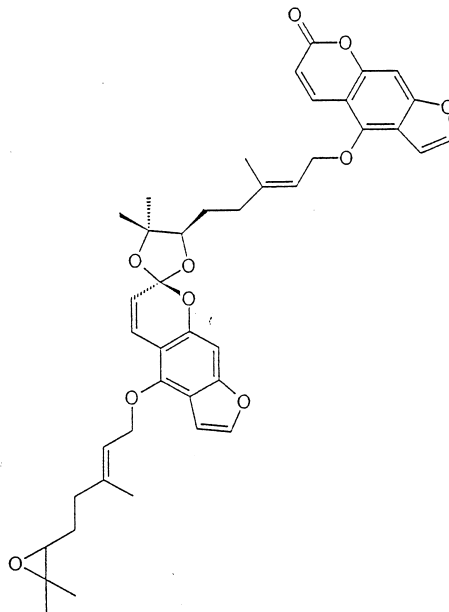
화학식 XIV



화학식 XV



화학식 XVI



본 발명의 조성물은 하나이상의 일차-페스 효과적 화학물질을 일차-페스 효과량으로 포함한다. 본 발명의 감귤류-기초 조성물은 추가로 감귤류-유도 추출물, 농축물, 껍질, 주스, 기름, 부산물들을 포함하는데, 이들 형태를 임의 혼합하여 만들 수 있고, 하나이상의 감귤류 산물에서 유도할 수 있다. 유용한 감귤류 과실에는 그레이프프루트, 레몬, 라임이 있고, 또한 이런 감귤류 산물은 가급적 본 발명의 일차-페스 효과 억제 화합물 또는 이런 화합물의 혼합물을 자연적으로 보유한다. 당 분야의 선원에서 일반유형의 오렌지(*Citrus sinensis*)는 일차-페스 효과를 억제하지 않는다는 것을 알 수 있다. 모든 교잡종을 비롯해, 일차-페스 효과를 억제하는 물질을 하나이상 보유한 감귤류 과실은 본 발명에 포함되며, 여기서는 "일차-페스 감귤류"라고 칭한다. 본 발명에서 유용하고 선호되는 감귤류 과실은 그레이프프루트이다.

여기서 밝힌 일차-페스 효과 화합물, 물질, 조성물은 신체에서 경구투여 약물의 분해를 예방하거나 지연시키는 물질이다. 가급적, 본 발명의 일차-페스 효과 물질에는 본 발명의 물질, 조성물, 화합물, 본 발명화합물이 포함되는데, 이 물질들

은 생체이용효율을 1%, 적절하게는 5%, 가장 적절하게는 15%(20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 100, 150, 200, 250, 300% 포함)(곡선아래 영역법(AUC)으로 측정)이상 증가시킨다.(미국 특허 No. 5,567,592, 참고 문헌). 생체이용효율(수백, 수천의 AUC 증가확률)의 증가(5, 10, 15, 20배포함)는 본 발명에서 특별한 것이 아니다. 본 발명의 화합물, 조성물, 혼합물, 물질의 일차-효과 효능은 WO 97/15269, U.S. 5,665,386, PCT/US96/09607에 따라 측정하였는데, 가급적 이들은 이들 참고문헌에서 제시한 방법, 특성의 범주를 충족시킨다.

본 발명의 적절한 감귤류-유도 물질에는 냉동-압착한 감귤류 기름, 특히, 냉동-압착한 그레이프프루트, 라임, 레몬 기름, 감귤류 포장/주스공장에서 나온 찌끼를 포함하는 감귤류 부산물이 있다. 냉동-압착한 감귤류 기름에는 냉동-압착한 오렌지(*Citrus sinensis* 제외), 그레이프프루트, 라임, 레몬 기름이 있는데, 이들은 일용품으로 사용하며, Food chemicals Codex(Fourth Edition, National Academy Press, Washington, D.C. 1996,(참고문헌)에 기술되어 있다. 여기서 유용한 다른 감귤류-유도 물질에는 다양한 다른 감귤류 기름(증류형, 필수형, 사막형등), 쓴맛 냉동-압착한 기름이 있다. 본 발명 감귤류의 지역적 원산지는 여기에서 별로 중요하지 않다. 일차-패스 감귤류의 임의 일차-패스 효과적 고형, 반-고형, 또는 액체형 부분용액을 비롯해 감귤류 주스나 껍질(외피)을 또한 사용한다. 혼합물을 사용할 수도 있다.

본 발명 조성물에 존재하는 감귤류-유도 물질은 전체 감귤류-기초 조성물을 구성하거나 또는 이들의 일부가 된다. 따라서, 감귤류-기초 물질이 화학식 I-XVI에 따른 화합물을 일차-패스 효과량만큼 보유하도록 만들어진다면, 추가적 화합물은 필요 없다. 식품 등급 또는 제약학적으로 수용가능한 희석제, 부형제, 담체는 필요하면 첨가할 수 있다.

본 발명 조성물의 감귤류-기초 물질은 가급적 광독소량을 줄일 수 있도록, 또한 이들에 자연적으로 존재하는 비-일차-패스 효과 푸로코우마린을 선택적으로 줄일 수 있도록 처리한다. 가급적 이들 푸로코우마린은 완전히 제거하는데, 이것은 이들의 존재가 액체, 특히, 가스 크로마토그래피에서 검출되지 않을 정도로 제거한다는 것을 의미한다.

본 발명 감귤류-유도 성분에서 나온 광독성 저분자량 푸로코우마린을 제거하는 본 발명의 방법은 휘발성분(12-48시간 동안 10^{-2} - 10^{-3} Torr압착후 제거되는 성분)의 선택적 제거, 하나이상의 C_1 - C_{10} 알코올(가급적 에탄올)및 물의 혼합물로 추출(염기의 임의 존재하에서)로 이루어진다. 특정상황하에서는, 자연-발생 티펜과 같은 휘발성분을 제거하지 않고 오히려 이들 활성성분을 다른 처리에서 용매로 사용하는 것이 바람직하다. 알코올 및 물의 추출혼합물은 버리고 남은 것을 여기에서 사용한다. C_2 - C_5 알코올이 적절한데, 그 예로는, C_2 , C_3 , C_4 알코올이 있다. 알코올(에탄올)은 100% 알코올이거나 또는 일상적으로 구할 수 있는 희석물(예, 95% 에탄올/5% 물등)로 사용한다. 모든 경우에, 알코올(에탄올) 시약은 가급적 U.S.P. 등급이상이어야 한다. 본 발명 감귤류-기초 물질(성분)을 추출하기 위해 여기에서 사용하는 물은 가급적 증류한 물로, U.S.P. 등급이상이어야 한다. 병용한 용매 또는 단일 용매를 추출에 사용한다. 용매는 가급적 FDA가 음식 및 약물제조목적으로 승인한 것이다.

광독성 저분자량 푸로코우마린을 제거하는 본 발명의 방법에는 알코올(에탄올)/물 혼합물로 연속추출이 포함되는데, 여기서 사용한 연속 알코올(에탄올)/물 혼합물은 동일한 부피비 또는 다른 부피비를 갖는다. 적절한 알코올(에탄올)/물 부피비는 1:10-10:1, 좀더 적절하게는 1:1($\pm 3\%$, 5%, 8% or 10%)이고, 부피/부피에 따르면 20-80 또는 45-60% 알코올(에탄올)인데, 2:1, 3:1, 1:2, 1:3 부피비도 (55/45, 60:40, 65:35, 70:30, 10:90, 15:80, 20:80, 27:75, 30:70, 35:65, 40:60, 45:55, 40:60, 35:65, 30:70 포함)이에 속한다. 추출은 당분야에 공지된 임의 방법에 의해 이루어지는데, 이런 방법의 예에는 액체-액체 추출, 액체-고체 추출, 연속추출등이 있다. 본 발명 감귤류-기초 추출물을 제조하는데 사용한 원료물질이 기름이라면, 추출에 이용하는 알코올(에탄올)/물 혼합물을 첨가하고 교반한 후, 자연적으로 또는 원심분리하여 분리한다. 역류 추출과 같은 연속추출방법에서처럼 반복추출도 사용할 만하다.

전술한 바와 같이, 염기는 광독성 푸로코우마린의 제거에 사용하는데, 물, 알코올 또는 둘 모두에 첨가한다. 적절한 염기는 알칼리 및 알칼리 토류 수산화물과 산화물이고, 좀더 적절하게는 나트륨 수산화물 및 칼륨 수산화물이다. 염기는 일반적으로 알코올/물 혼합물 리터당 0.01-80g의 양으로 존재한다.

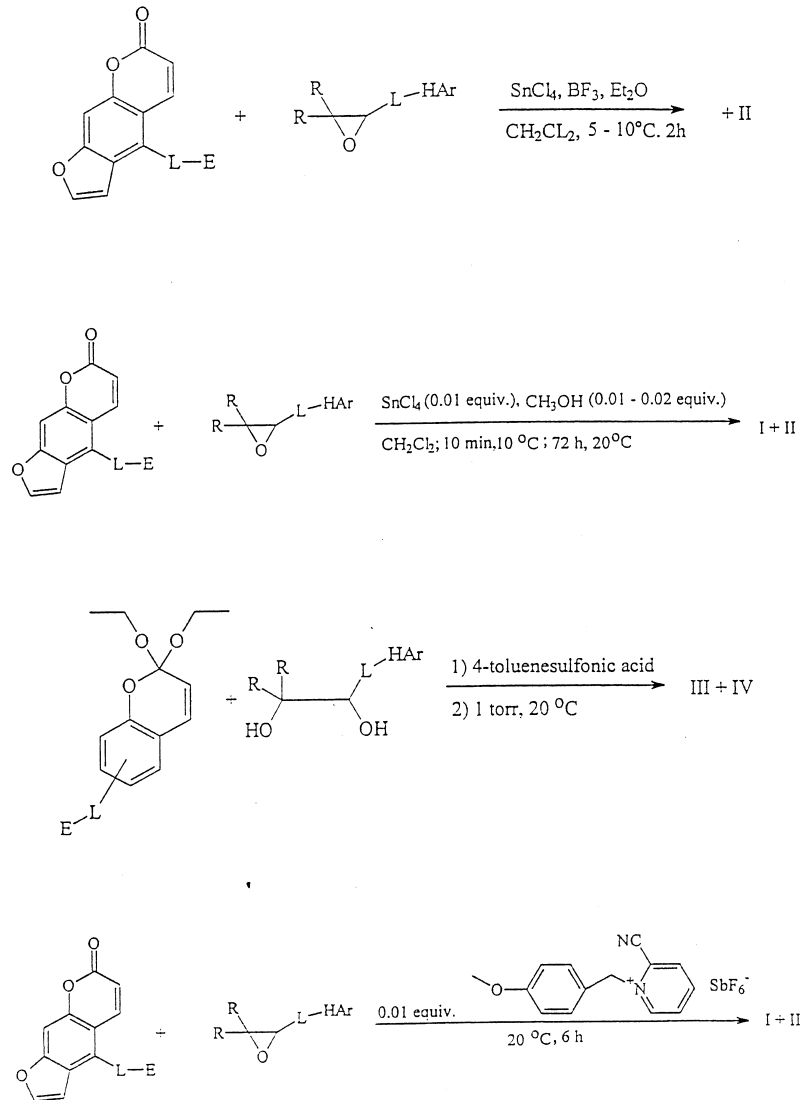
가급적, 광독성 저분자량 푸로코우마린을 제거하는 본 발명의 방법은 액체, 가급적, 가스 크로마토그래피의 검출범위 이상으로 메톡시-치환된 선형 및 각진 푸로코우마린(산토독신(8-메톡시프로탈렌), 별겍텐(5-메톡시프로탈렌), 이소별겍텐, 이소핍피넨린), 불포화된 선형 및 각진 푸로코우마린(프로탈렌, 엔젤리신등)을 감소시키고, 적절하게는 완전히 제거한다. 여기서 비효과적 일차-패스 효과 푸로코우마린으로 결정된 푸로코우마린도 원한다면 제거할 수 있다. 이들 화합물에는 별가모틴, 프로탈렌, 엔젤리신, 이소핍피넨린, 말민, 6',7'-디하이드록시별가모틴, 임페라토닌이 있다.

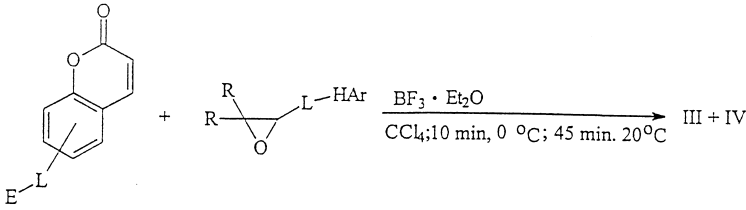
본 발명 감귤류-유도 물질, 본 발명 조성물, 본 발명 혼합물, 본 발명 제약학적 조성물등은 가급적 상기 화학식 I-XVI의 일차-패스 효과화합물 하나이상으로 이루어진 일차-패스 효과량을 보유한다. 또한, 화학식 I-XVI의 화합물 각각은 비일차-패스 효과량으로 존재하지만, 상기 화합물 농도의 합은 일차-패스 효능을 제공한다.

상기 설명과 더불어, 이들 화학식(예, 화학식 I-XVI)에서 보인 하나이상의 수소원자는 히드록시, 할로젠, 선행 또는 분지쇄 C₁-C₄₀ 탄화수소, C₁-C₄₀ 선행 또는 분지쇄 에테르(-OR, 여기서 R은 선행 또는 분지쇄 탄화수소), C₁-C₄₀ 알킬하이드록시(-ROH, 여기서 R은 선행 또는 분지쇄 탄화수소, OH는 일차, 이차, 삼차탄소에 결합한다) 하나로 또는 두 개이상 이들을 병용하여 치환한다. 여기서 사용된 "탄화수소"는 분지쇄 및 선형 알킬, 분지쇄 및 선형 알케닐을 의미한다. 알케닐은 하나이상의 이중결합을 가지는데, 이때 이중결합에는 다중의 접합 및 비접합 이중결합이 포함된다. 이의 모든 염, 특히, 제약학적으로 수용가능한 염, 입체이성질체, 물리적 형태 또한 포함된다. 화학식 I-XVI에서 밝힌 화합물은 당분야에 공지된 임의의 방법으로 합성하는데, 이들의 합성은 당업자의 통상적인 지식에 속한다. 이들을 확인하였으므로 여기에 제시한 바와 같이 이들을 감귤류-유도 물질에서 분리할 수 있다.

화학식 I-XVI의 본 발명 화합물을 만드는 적절한 방법에는 다음의 반응식이 포함된다:

반응식 1





이런 반응은 당업자의 통상적인 지식에 속한다(Chemistry Letters, 2019-2022, 1990, Can. J. Chem., 63: 2673-2678, 1985, Australian Journal of Chemistry, 42: 1235-1248, 1989, East German patent DD 27567, Soviet Union patent SU 1397449). 비록 상기에서 제시한 각각의 반응식에서 화학식 I+ II 또는 화학식 III+ IV가 만들어지지만, 적절한 반응물을 사용하면 각 방법에서 화학식 I-IV를 만들 수 있다. 본 발명 화합물, 감글류-유도 물질, 혼합물, 제약학적 조성물 등은 가급적 상기 화학식 I-XVI에 따른 화합물을 한 가지 이상 보유한다.

본 발명 감글류-유도 물질, 조성물, 혼합물, 억제물질, 화합물의 사용에는 아무런 제약이 없는데, 가급적 환자의 경구로 섭취되는 약물의 생체이용효율을 증가시키기 위해 매일 환자당 2ng-2g 이상의 양으로 투여한다. 본 발명의 조성물은 가급적 감글류 생산물에서 자연적으로 존재하는 것보다 훨씬 많은 본 발명 화합물을 보유한다. 약량은 일차-패스 효과에 처방하는 활성 물질(약물)에 따라, 당업자가 결정한다. 약량 형태에는 경구투여형태, 국소투여형태, 주사형태가 있다. 본 발명의 화합물, 감글류-유도 물질, 조성물, 혼합물등은 임의로 감글류-기초 조성물 및 다른 식용 물질(조미료, 주스)의 일부가 되거나 첨가된다.

감글류-유도 물질, 혼합물, 조성물, 본 발명의 화합물은 사람 및 다른 동물에 의해 경구로 흡수된 약물의 일차-패스 효과를 억제한다. 본 발명 물질의 "일차-패스 효과량"은 본 발명 물질을 투여되지 않은 경우와 비교했을 때, 임의의 양(예, 1%, 5%, 10%등; AUC 방법을 설명한 상기 내용 참조(모든 수치와 이들 수치사이의 범위포함))으로 임의 물질의 경구투여 생체이용효율을 증가시키는 양이다. 본 발명의 "일차-패스 효과적" 감글류-유도 물질, 혼합물, 조성물, 화합물은 동물, 가급적 사람에서 하나이상의 약물에 의해 야기된 일차-패스 효과, 가급적 시토크롬 P450 시스템에 의해 야기된 일차-패스 효과를 억제하는 물질이다. 이것은 여기서 항-일차-패스 활성이라 부른다. 투여는 가급적 공동으로 이루어지는데, 이것은 일차-패스 효과에 처방하는 약물, 활성 물질, 치료물질, 약용식품이 직전, 직후로 투여되는 것을 의미한다. "직전" 및 "직후"에는 본 발명물질이 일차-패스 효과를 억제하여 이로운 제공하는 모든 시간대가 포함된다. 본 발명 화합물, 감글류-유도 물질, 혼합물, 조성물등의 적절한 형태는 겔 캡슐안에 들어있거나, 또는 식용등급이나 제약학적으로-수용가능한 교결제, 희석제등과 함께 제조하는 것이다. 유용한 교결제, 염 형태, 부형제를 비롯해, 약량형태(염이나 염기, 정제 또는 껌)는 미국 특허. 5,576,448, 5,576,446, 5,576,437, 5,576,439, 5,576,438, 5,576,337, 5,576,339, 5,576,336에 제시되어 있는데, 이들은 여기에 참고문헌으로 한다. 본 발명 감글류-유도 물질, 혼합물, 조성물, 화합물은 가급적 제공되는 형태와 상관없이 매 1회분마다 지속적이고 안정적인 효능을 제공하는 양으로 제공한다.

여기서 사용한 "약물"은 미생물에 투여되어 미생물의 생리기능을 변형시키거나 변화시키는 화학물질로 정의한다. 여기서 사용한 "약물"은 좀더 적절하게는 질병, 특히 사람의 질병을 치료 또는 예방에 사용되는 물질로서 정의한다. 약물에는 합성 또는 자연발생 독성 그리고 생물영향 물질이 포함되며, 또한 다른 인지된 제약물질(Merck Inc's. Twelfth Ed., Merck Research Laboratories, Whitehouse Station, NJ, 1996, "The Physicians De나 Reference," 47th edition, 1993, pages 101-321; "Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics" 8th Edition(1990), pages 84-1614 and 1655-1715; and "The United States Pharmacopeia, The National formulary", USP XXII NF XVII (1990))도 포함된다. 약물에는 또한 미국에서는 아직 발견되지 않았거나 또는 구할 수 없지만, 인지된 성질을 지닌 화합물이 포함된다. 약물에는 약물의 친-활성형, 활성형, 대사변환형이 포함된다. 본 발명에서는 극성, 비극성, 친수성, 양성쌍극자 이온성, 또는 소수성 종류의 약물을 사용하고, 또한 이들의 물리적 특성을 임의로 병합한 약물을 사용한다. 소수성 약물은 비-이온화된 형태로, 물에서보다 지질이나 지방에 더욱 잘 녹는 약물로 정의한다. 가급적, 소수성 약물은 물에서보다 옥탄올에 더욱 잘 녹는 약물로 정의한다(미국 특허. 5,567,592). 본 발명은 사람이나 포유동물에서 실시할 수 있다.

본 발명 화합물 및 감글류-유도 물질은 약물, 가급적 일차-패스 효과에 처방하는 약물과 함께 제조한다. 약물은 적절하게는 92%이하의 경구투여 생체이용효율을 갖고, 좀더 적절하게는 50%이하의 생체이용효율을 갖는다. 예에는 상기 참고문헌에서 밝힌 것과 더불어, 사퀴나비르, 인디나브르, L-디프레닐, 타크로리머스, 사이클로스포린 A(Sandimmune®), 사이클로스포린 A(Neoral®), 넬피나비르, VX-478/141W94, 펠로디핀, 니페디핀, 수마트립탄이 있다. 이런 공동-조성물에는 일차-패스 효과에 처방하는 약물 활성성분의 현재 필요량보다 훨씬 적은 양을 가진 본 발명의 감글류-유도 물질 및 하나

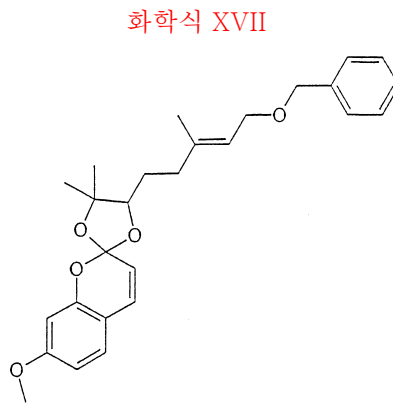
이상의 화합물이 포함된다. 제약학적으로 사용가능한 교결제, 희석제를 또한 첨가할 수 있다. 당업자는 당분야에 공지된 간단한 실험을 통하여 본 발명 화합물의 약량을 결정할 수 있고, 또한 약리학적 실험을 통하여, 투여후 주어진 시간동안 혈액에 존재하는 약물의 양을 결정할 수 있다.

여기서 공동-조성물에 유용한 다른 산물은 일차-패스 효과에 처방하는 임의의 모든 약물, 약용음식, 또는 다른 산물이다. 약물의 예는 Merck Index, Twelfth Ed(Merck Research Laboratories, Whitehouse Station, NJ, 1996)에 제시되어 있는데, 이것은 여기에 참고문헌으로 한다. 임의 물질을 일차-패스 효과에 처방할 수 있는가의 여부는 당업자의 통상적 지식에 속한다.

본 발명 물질을 코팅하여 위산으로부터 보호하는 것이 바람직하다. 이런 코팅은 당분야에 공지되어있는데, 그 예로는 장(enteric)코팅이 있다(Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology, 3rd Ed. Vol. 17, p. 281). 다른 유용한 약리학적 형태를 사용할 수 있는데, 그 예로는 시간-방출형태(코팅), 경-, 연-외형 젤라틴 캡슐등이 있다.

실시에

스피로 오르토 에스테르(화학식 XVII)의 합성:



벤질 6,7-에폭시게라닐 에테르는 샘플로부터 외인성 수분을 제거하기 위하여 하룻밤동안 소개시킨 방(0.1 torr)에서 놓아두었다; 무게는 190mg(730 μ mol)이었다. 3당량의 7-메톡시쿠마르틴(0.386g)은 3mL CH₂Cl₂ 용매에 녹이고, 이 액체를 밀폐된 유리 용기에 옮겼다. 헬륨을 사용하여 반응기간동안 이 시스템을 깨끗이 하였고, 용기는 5-6 $^{\circ}$ C에 유지시키고, 반응용액은 자석으로 교반하였다. CH₂Cl₂, 16 μ mol BF₃ · Et₂O 용매에 녹인 43 μ l의 1M SnCl₄ 용액을 첨가하였다; 5분 경과후, 4mL CH₂Cl₂ 용매에 녹인 에폭시드를 4 등분량(equal portion)으로 첨가하였다; 각 분량에 4 μ mol BF₃ · Et₂O를 첨가하였다. 반응은 5-6 $^{\circ}$ C에서 유지시키고, 3.5시간 교반하고, 이후 반응 장치는 분해하였다. 반응혼합물은 곧바로 다음과 같이 즉시 처리하였다; 전체 75 μ mol의 BF₃, SnCl₄를 가진 혼합물에 피리딘(225 μ mol) 3당량 정도를 첨가하여(반응혼합물은 교반하면서 5-6 $^{\circ}$ C로 유지) 루이스산 촉매를 파괴시켰다. 30 분 교반한 후, 용매는 제거하고 잔기는 3.16mL의 95% 에탄올 용매에 녹였다; 물(w/v)에 녹인 0.6mL의 50% KOH를 첨가하고, 용액은 활발하게 교반하였다. 물(2.24mL)을 첨가하고, 이후 이 용액은 하룻밤동안 Speed Vac apparatus에 놓아두고 에탄올을 제거하였다. 원 부피의 대략 50%가 남아있었다. 수용액은 3mL CH₂Cl₂로 두 번 추출하고, 합쳐진 CH₂Cl₂는 물(w/v)에 녹인 10mL 5% KOH로 두 번 추출하고, 또한 물(w/v)에 녹인 10mL 5% NaCl로 두 번 추출하였다. The CH₂Cl₂는 제거하고 잔기는 아세토니트릴에서 분해시켰다.

아세토니트릴 용액은 아래의 적절한 조건을 통하여 스피로 오르토 에스테르 산물의 HPLC 정제에 직접 사용한다. 선형 기울기를 용리에 이용하는데, 이는 아세토니트릴로 구성된 이동상 B와 물로 구성된 혼성 이동상 A를 혼합하여 이루어진다(기구: Hewlett Packard). 혼성 이동상에 존재하는 아세토니트릴의 퍼센트 및 분단위 추출시간은 다음과 같다: 0, 55; 5, 55; 10, 90; 11, 98; 17, 98; 18, 55; 22, 55. 크로마토그래피 칼럼은 250mm 길이x4.6mm 내부직경 치수를 갖는데, 4 마이크론 실리카 입자에 결합한 C18로 채우고(9% 탄소 하중; YMC, Inc), 동일물질을 갖는 23mm 길이 x4mm 내부직경 칼럼 및 0.5 마이크론 필터로 이를 감싸고, 40 \pm 0.2 $^{\circ}$ C에서 유지시켰다. 유속은 22분 작동주기동안 1.0mL/분으로 유지시켰다. 각 10 μ l 주사액에서 얻은 칼럼 용출물은 259 \pm 2에서 관찰하고 자동 수집기(Gilson)를 이용해 분류하였다. 이 시스템

에서 화학식 XVII의 유지시간은 13.4 분이였다. ¹H N.M.R. δ(400MHZ, CD₃OD) 1.15, s, 1.26, s, 1.39, s, 4'-Me(부분입체); 1.64, s, 8'-Me; 1.6-1.9, m, H6',6'; 2.0-2.3, m, H7'; 3.70, s, 7-OMe; 3.83, m, 4.20, t, H5'(부분입체); 4.01, d H10'; 4.45, s, H12'; 5.39, t, H9'; 5.45, d, H3; 6.40, s, H8; 6.49, d, H6; 6.71, d, H4; 7.06, d, H5; 7.20-7.35, m, 페닐. 중량 스펙트럼 m/z(electrospray):MS, 437(MH₊); MS/MS, 261, 177, 153(MH⁺의 단편).

역상 HPLC에 의한 연속분류를 위한 냉동-압착한 그레이프프루트 기름의 부피확장 선처리

1. 변성된 시약 알코올을 이용해 12.5g KOH/L을 보유한 1:1 에탄올:물(v/v)을 제조한다.
2. 1.0L 냉동-압착한 그레이프프루트 기름과 330mL 염기성 에탄올용액을 2L 분리 깔대기에서 2.0분동안 혼합한다.
3. 5.0분을 기다린 후, 깔대기에서 하층 에탄올상을 제거한다.
4. 염기성 에탄올 용액의 새로운 330mL 분량을 이용해 네 번 2 & 3 단계를 반복한다.
5. KOH 없이 만들어진 1:1 에탄올:물의 330-mL 분량을 이용해 다시 한번 2 & 3 단계를 반복한다. KOH가 없는 경우, 상들을 완전히 분리하기 위해서는 여러 시간(가급적 하룻밤동안)동안 기다려야 한다. pH 종이로 실시한 하층 에탄올상의 평가에서, 용액 pH는 거의 중성에 가까움을 알 수 있다(약 6, 대개의 경우).
6. 기름상(산출율이 0.9L 이상이어야 한다)을 진공실에 넣고 시스템을 진공(0.5 torr 이상)하에 3-4일 동안 놓아둔다. 이 과정은 진공상태에서 교반한 점성 액체가 더 이상 끊지 않게 되는 때에 완성된다.
7. 비휘발성 물질을 아세토니트릴 분량(최대 200mL까지)으로 세척하고, 아세토니트릴-용해성 및 -불용성 물질을 원심 분리하여 분리한다(속도 50에서 5분동안, IEC model K2).
8. 아세토니트릴-용해상(단계 7)에서 Speed Vac Apparatus를 이용해 아세토니트릴을 제거하고, 잔기의 무게를 잰다(22-25g 예상)
9. 아세토니트릴을 잔기에 첨가하여 각 5-mL 분량이 1.5g의 잔기를 보유하도록 하고, 용액을 5-mL 분량으로 나눈다.
10. 15mL 이소-옥탄을 각 5-mL 분량에 첨가하고, 캡을 부가하고, 교반혼합하고, 혼합물을 원심분리한다(속도 35에서 2분동안). 상층 이소-옥탄상은 제거한다.
11. 9번 10단계를 반복한다; 아세토니트릴을 주기적으로 첨가하여 하층상이 5mL를 유지하도록 한다.
12. Speed Vac apparatus를 이용해 하층상(단계 11)에서 아세토니트릴을 제거하고, 잔기의 무게를 잰다(원 중량{단계 8}의 약 20% 예상)
13. 아세토니트릴 용매에 잔기(단계 12)를 분해하여 0.25-0.30g/mL 용액을 만들고, 0.2μm Teflon 카트리지를 통하여 용액을 여과하고 -20℃에서 용액을 보관한다.

식용 음식보충물, 약물, 공동조성물로 사용하기 위한 냉동-압착한 그레이프프루트의 부피확장 선처리

1. USP-등급 에탄올, NF/FCC-등급 KOH, 정제된 물을 이용해 5% 칼륨 수산화물(w/v)을 보유한 70:30 물:에탄올 용액(V/V)을 제조한다.
2. 전체 일당량 부피의 무처리 냉동-압착한 그레이프프루트(Food Chemicals Codex grade)와 단계1에서 준비한 에탄올성 용액을 혼합하고, 이 혼합물을 열- 및 압력-저항성 식용용기에 옮긴다.
3. 밀봉한 용기는 1시간 동안 95-100℃로 유지한다. 용기는 냉각시키고, 에탄올상(이중-상(two-phase)시스템의 아래쪽 상)은 제거하고, 에탄올성 용액의 새로운 분량(단계 2에서 사용한 부피와 대등)을 첨가한다.

4. 원하는 순도가 획득될 때까지 끓임 주기(단계 3)를 반복한다. 10번 끓이면, 극성 코우마린 및 푸로코우마린은 99% 이상 제거되고, 주요 비극성 코우마린 및 푸로코우마린(예, 에폭시아우렛텐, 에폭시벌가모틴)은 90% 이상이 제거되지만, 역제성 스피로 오르토 에스테르의 양은 거의 줄어들지 않는다.

5. 버려지는 세척수 pH가 중성이 될 때까지 기름을 정제한 물로 세척한다.

6. 휘발성 물질이 샘플에서 더 이상 없어지지 않을 때까지, 기름상을 진공(0.1-0.3torr)하에 놓아둔다(-60내지 -90℃에서 유지시킨 빈 직렬 트랩을 검사하여 평가). 일반적으로 샘플 부피의 95%가 이 단계에서 제거된다.

7. 단계 6의 산물을 동등부피의 USP 에탄올과 혼합하고, 이 혼합물을 원심분리한다. 하층상에서 실질적으로 스피로 오르토 에스테르 역제물질이 없어질 때까지 반복한다. 이 방법으로 기름 비휘발성 조제품에서 에탄올-불용성 물질을 제거한다.

8. 선택적이지만, 가급적 단계 7에서 얻은 에탄올 추출물은 에탄올이 실제로 제거(예, 99%)되거나 감소(예, 10%)할 때까지 진공하에 놓아둔다.

원료 물질의 불순물은 음식, 맛, 향료산업분야에 공지되어 있기 때문에, 냉동-압착된 감귤류-기름을 비롯한 본 발명의 감귤류-유도 성분을 화학식 I-XVI 화합물중 하나 또는 이들 화합물의 혼합물의 일차-패스 효과량을 보유한 음식 보충물의 생산에 사용하기 전에 먼저 이들을 평가하여야 한다. 한 가지 방법은 간단한 제조(프로토콜A; 프로토콜A'), 이후 크로마토그래피(프로토콜B; 프로토콜B'; 프로토콜B''), 마지막으로 조직학 방법에 따라 비교하는 것이다. 이런 평가에서 효과 지속적 일회분량을 알 수 있다.

다음의 프로토콜은 본 발명의 다양한 구체예를 만드는데 유용하다.

프로토콜A: 추가적 크로마토그래피 처리와 독성 저분자량 푸로코우마린을 제거하여 사람에게 투여하기 위한 감귤류 기름의 제조.

냉동-압착한 감귤류 기름(Food Chemicals Codex grade)의 일정 부피를 용기에 옮기고, 모든 휘발성 물질은 제거하였다. 비록 휘발성을 제거하는 방법(증류, 감압하에서 증류, 대기환경하에서 증발)이 몇 가지 있지만, Speed Vac Concentrator(Savant 기구: 처리에 12-24 시간과 10^{-2} - 10^{-3} torr 압력이 필요하며, 이 시스템은 열을 가하지 않고 작동한다)를 이용하는 방법이 선호되는데, 그 이유는 이 방법은 부드럽고 편리하기 때문이다. 비휘발성산물 산출율은 초기 부피의 0.04 내지 0.1배이고, 이들 산물은 점성용액이다.

저분자량, 광독성 푸로코우마린은 액체-액체 추출로 비휘발성 조제품에서 제거하였다: 1:1 에탄올:물(v/v, 각각 U.S.P. 등급)점성용액 부피의 16배를 비휘발성 조제품에 첨가하고, 용기에 캡을 가하고, 용액은 활발하게 교반하고, 용기는 원심분리(International Equipment Company, Model K-2, 실험장치 35에서 5분)하고, 상층 에탄올상은 제거하였다. 추출은 두 번 반복하였다. 원한다면 외인성 수분과 에탄올은 Speed Vac apparatus를 이용하여 제거할 수 있다. 이런 처리의 산물은 충전된 캡슐의 형태로 사람에게 투여한다.

프로토콜A': 크로마토그래피에 앞서 감귤류 기름의 선처리.

대부분의 감귤류는 장기간 준비하는 고압력 액체 크로마토그래피에는 적당하지 않은데, 그 이유는 적당한 이동상 시스템에서도 거의 용해되지 않는 물질이 존재하기 때문이다. 따라서 다음의 샘플 제조 프로토콜은 크로마토그래피에 앞서 실시한다.

냉동-압착한 감귤류-기름(Food Chemicals Codex grade)은 적당한 용기에 옮기고, 모든 휘발성 물질은 감압(10^{-2} - 10^{-3} torr, 3-4일)하에서 제거한다. 비휘발성 산물 산출율은 원 부피의 5-10%밖에 되지 않는다. 감귤류-비휘발성 물질은 아세토니트릴과 2:1(w/w)비율로 혼합하고, 혼합물은 원심분리(International Equipment Company, Model K-2, 실험장치 35에서 5분)하고, 상층 아세토니트릴-보유상은 제거한다. 아세토니트릴로 다시 한번 추출하고, 하층상은 버리고, 제 1 및 제 2 아세토니트릴상은 합치고, Speed Vac concentrator(Savant 기구s: 10^{-2} - 10^{-3} torr에서 12시간, 열은 가하지 않음)를 이용해 아세토니트릴을 제거한다. 비휘발성 물질은 에탄올성 염기(12.5g 칼륨 수산화물/L을 보유한 1:1 에탄올:물{v/

v; 각각 U.S.P. 등급))와 1:4(w/v)비율로 혼합하고, 혼합물은 실험장치 35에서 5분동안 원심분리하고, 상층 에탄올상은 제거하여 버린다. 비휘발성 물질은 추가로 9번 에탄올성 염기로 세척하고, 이후 다시 한번, 1:1 에탄올:물(v/v)로 세척한다. 남아있는 잔기는 충분한 부피의 아세트니트릴로 두 번 추출하여 모든 유색 물질을 제거한다. 아세트니트릴 용액은 헥산이나 이소-옥탄의 두배 부피로 여섯 번 세척한 후, 각 헥산 추출물(상층)은 제거하여 버리고, 생성된 아세트니트릴 용액은 0.2 마이크론 Teflon[®]막으로 여과하고 Speed Vac Concentrator를 이용해 마를 때까지 증발시킨다.

상기 처리의 최종 산물은 점성의 짙은 빨간색 기름으로 보이는데, 시작물질(감귤류 기름)을 달리하면, 상기 처리 산물의 성질과 외형을 바꿀 수 있다. 따라서, 짙은 빨간색 기름이 많은 양의 오렌지 결정성 물질로 오염되면, 추가 에탄올성 염기 세척은 9번에서 19번으로 증가한다.

프로토콜B: 가공한 감귤류 기름의 크로마토그래피 방법

상기 프로토콜A의 산물은 임의 고압 액체 크로마토그래피에는 부적당한데, 그 이유는 적절한 이동상 시스템에서도 녹지 않는 물질이 실질적으로 존재하기 때문이다. 따라서, 다음의 샘플 제조 프로토콜은 크로마토그래피에 앞서 실시한다. 1부피의 프로토콜A 산물을 다른 4부피의 아세트니트릴과 혼합하고, 용기는 캡을 가하고, 용액은 활발하게 혼합하고, 용기는 원심분리하고(실험장치 35에서 5분), 상부 아세트니트릴층은 0.22 마이크론 Teflon[®]막을 통과시켜 여과한다. 여과된 용액은 밀폐된 용기에 2일 이상 -20°C에서 보관하고, 이후 여과종이에 통과시키고 냉각하여, 다량의 침전물을 제거한다. 침전과 여과단계는 한번 반복한다. 아세트니트릴 용액의 부피는 기록하고, 아세트니트릴은 Speed Vac apparatus를 이용해 제거한다. 잔기는 아세트니트릴 원래부피의 반에 녹이고, 임의 결정성 침전물을 휘젓지는 않도록 조심한다. 그리고 용액은 HPLC 평가에 사용한다.

세척한 비휘발성 감귤류 기름의 분량을 분류하고 싶다면, 아래에 제시된 HPLC 조건이 적절하다. 선형 기울기를 용리에 이용하는데, 이는 아세트니트릴로 구성된 이동상 B와 물로 구성된 이동상 A를 혼합하여 이루어진다(기구: Hewlett Packard). 혼성 이동상에서 존재하는 아세트니트릴의 퍼센트를 비롯해 분단위의 추출시간은 아래와 같다: 0, 75; 5, 75; 10, 90; 11, 98; 17, 98; 18, 75; 22, 75. 크로마토그래피 칼럼은 250mm 길이 x 4.6mm 내부직경 치수를 갖는데, 4 마이크론 실리카 입자에 결합한 C18로 채우고(9% 탄소 하중; ODS-L80, YMC, Inc), 동일물질을 보유한 23mm 길이 x 4mm 내부 직경 칼럼과 0.5마이크론 필터로 감싸고, 40+/-0.2°C에서 유지시킨다. 유속은 22분 작동주기동안 1.0mL/분으로 유지시킨다. 각 25uL 주사액에서 얻은 칼럼 용출물은 400+/-200nm 및 310+/-2nm에서 관찰하고, 자동 수집기(Gilson)를 이용해 분류한다.

감귤류 기름, 이의 분취물, 또는 인용 표준을 질적 또는 양적으로 평가하기 원한다면, 아래에 제시한 HPLC 조건이 적절하다. 선형 기울기를 용리에 이용하는데, 이는 아세트니트릴로 구성된 이동상 B와 물로 구성된 이동상 A를 혼합하여 이루어진다(기구: Hewlett Packard). 혼성 이동상에서 존재하는 아세트니트릴의 퍼센트를 비롯해 분단위의 추출시간은 아래와 같다: 0, 10; 5, 10; 30, 80; 40, 80; 41, 95; 50, 95; 53, 10; 60, 10. 크로마토그래피 칼럼은 150mm 길이 x 2.0mm 내부 직경 치수를 갖는데, 4 마이크론 실리카 입자에 결합한 C18로 채우고(14% 탄소 하중; ODS-M80, YMC, Inc), 독점물질(Prism, Keystone Scientific, Inc.)로 채운 2mm 내부 직경 칼럼과 PTFE 필터로 감싸고, 35+/-0.2°C에서 유지시킨다. 유속은 60분 작동주기동안 0.20mL/분으로 유지시킨다. 각 10uL 주사액에서 얻은 칼럼 용출물은 400+/-200nm 및 310+/-2nm에서 흡수도를, 229nm에서 들뜬 상태의 형광도를, 450nm에서 방출도를, 370nm에서 밴드패스 여과를 측정한다.

프로토콜B': 가공한 감귤류 기름의 크로마토그래피 방법

세척한 비휘발성 감귤류 기름(프로토콜A'의 산물)의 분량을 분류하고 싶다면, 아래에 제시된 HPLC 조건이 적절하다. 선형 기울기를 용리에 이용하는데, 이는 아세트니트릴로 구성된 이동상 B와 물로 구성된 이동상 A를 혼합하여 이루어진다(기구: Hewlett Packard). 혼성 이동상에서 존재하는 아세트니트릴의 퍼센트를 비롯해 분단위의 추출시간은 아래와 같다: 0, 75; 5, 75; 10, 90; 11, 98; 17, 98; 18, 75; 22, 75. 크로마토그래피 칼럼은 250mm 길이 x 4.6mm 내부직경 치수를 갖는데, 4 마이크론 실리카 입자에 결합한 C18로 채우고(9% 탄소 하중; ODS-L80, YMC, Inc), 동일물질을 보유한 23mm 길이 x 4mm 내부 직경 칼럼과 0.5마이크론 필터로 감싸고, 40+/-0.2°C에서 유지시킨다. 유속은 22분 작동주기동안 1.0mL/분으로 유지시킨다. 프로토콜 A'에서 수득한 아세트니트릴 용액의 각 25uL 주사액에서 얻은 칼럼 용출물은 400+/-200nm 및 310+/-2nm에서 관찰하고, 자동 수집기(Gilson)를 이용해 분류한다.

감귤류 기름, 이의 분취물, 또는 인용 표준을 질적 또는 양적으로 평가하기 원한다면, 아래에 제시한 HPLC 조건이 적절하다. 선형 기울기를 용리에 이용하는데, 이는 아세트니트릴로 구성된 이동상 B와 물로 구성된 이동상 A를 혼합하여 이루

어진다(기구: Hewlett Packard). 혼성 이동상에서 존재하는 아세토니트릴의 퍼센트를 비롯해 분단위의 추출시간은 아래와 같다: 0, 10; 5, 10; 30, 80; 40, 80; 41, 95; 50, 95; 53, 10; 60, 10. 크로마토그래피 칼럼은 150mm 길이 x 2.0mm 내부 직경 치수를 갖는데, 4 마이크론 실리카 입자에 결합한 C18로 채우고(14% 탄소 하중; ODS-M80, YMC, Inc), 독점물질(Prism, Keystone Scientific, Inc.)로 채운 2mm 내부 직경 칼럼과 PTFE 필터로 감싸고, 35+/-0.2°C에서 유지시킨다. 유속은 60분 작동주기동안 0.20mL/분으로 유지시킨다. 각 10uL 주사액에서 얻은 칼럼 용출물은 400+/-200nm 및 310+/-2nm에서 흡수도를, 229nm에서 들뜬 상태의 형광도를, 450nm에서 방출도를, 370nm에서 밴드패스 여과를 측정한다.

프로토콜B': 편광 HPLC 칼럼을 이용한 본 발명 화합물의 정제

11-12.5분 영역(프로토콜B 또는 B')을 분류하고 용매를 제거하여(Speed Vac, 열 가하지 않음) 얻은 공동 잔기를 편광 액체 크로마토그래피로 처리하였다. 동등용리(이동상은 3.4L 이소-옥탄, 0.6L 95% 에탄올{나머지는 물}, 0.2L 이소프로판올)를 이용하여, 34분(기구: Hewlett Packard)미만으로 칼럼(250 x 4.6mm, Keystone Scientific, Inc., Chiral DNB(S))으로부터 억제물질 XI-XVI를 추출한다. 유속은 1.0mL/분으로 유지시키고, 칼럼은 40+/-0.2°C로 유지시킨다. 각 25uL 주사액(잔기는 이동상에 분해된다)에서 얻은 칼럼 용출물은 400+/-200nm 및 310+/-2nm에서 관찰하고, 자동 수집기(Gilson)를 이용해 분류한다.

프로토콜C: 사람 시토크롬 P450-매개 생체형질변환의 평가

배양 혼합물의 제조과정은 억제물질을 보유한 10uL의 에탄올 또는 에탄올성 용액을 실온에서 반응버퍼에 녹인 100uL의 100mg/mL 태아 소 혈청(Sigma)과 혼합하는 것으로 시작한다. 반응버퍼는 0.10 M 나트륨 인산염, 1.0mM 에틸렌디아민 테트라아세트산, 5.0mM 마그네슘 염화물, pH 7.4(모든 시약: Fisher Scientific)로 이루어진다. 케토코나졸(Research Diagnostics, Inc.), 미코나졸, 별겍텐, 산토독신(sigma로부터 3개), 별가모틴, 임페라토닌, 이소핍피넨린, 프소랄렌, 앤젤리신(Indofine Chemical Company, Inc.로부터 5개), 상기 프로토콜A, A', B, B', 또는 B"에서 만들어진 분취물이나 침전물을 억제화학물질로 사용하였다. 가능하면, 최종 억제물질 농도는 중량측정 물질에서 계산하거나 또는 인용 물질로 준비한 HPLC 눈금 곡선에서 내삽하여 몰농도로 표시하였다; 아니면, 체중/부피로 농도를 표시하였다. 반응튜브는 얼음위에 놓고 다음과 같은 처리에 대비하였다. 충분한 반응 버퍼를 첨가하여 각 튜브의 최종 부피가 500uL가 되도록 하고, 환원된 니코틴아미드 아데닌 디뉴클레오티드 인산염을 만들기 위해 5uL의 100-배 농축액을 첨가하고(완성된 반응혼합물이 1.0mM 니코틴아미드 아데닌 디뉴클레오티드 인산염, 1U/mL 글루코스-6-인산염 탈수소효소, 10mM 글루코스-6-인산염(Sigma)을 보유하도록 하기 위해), 이후 사람 간S9(Anatomic Gift Foundation)를 해동시키고 충분한 양을 첨가하여 조절반응에서 쉽게 감지될 수 있는 양의 대사물질이 형성되도록 한다(필요한 양은 개체별로 상이하지만, 10uL가 전형적인 양이다). 반응물은 3분동안 Dubnoff-형태 수조에서 37°C로 선배양하고, 반응혼합물은 1:1 아세토니트릴:물 용매에 녹인 10uL의 100uM 텔페나딘(Sigma)을 첨가하고 부드럽게 교반하여 완성시키고, 샘플은 37°C에서 15분동안 배양하고, 튜브를 얼음위에 놓고 아세토니트릴 용매에 녹인 2.5mL의 300mM 텔페나딘-관련 화합물 A(내부 표준; U.S. Pharmacopeia)를 첨가하여 반응을 중지시킨다.

상기와 같이 준비한 샘플은 다음과 같은 프로토콜을 이용해 HPLC 평가하였다. 각 튜브는 교반혼합하여 실험장치 35에서 10분동안 원심분리하고, 생성된 상층액은 깨끗한 튜브에 옮기고, 이 액체는 Speed Vac apparatus를 이용해 증발시킨다. 각 튜브내 잔기는 먼저 40uL 1:1 아세토니트릴:물 용매에 녹이고, 2.5mL의 아세토니트릴을 첨가하고, 앞서 말한 원심분리-이동-증발단계를 반복한다.

상기 전술한 실험 및 샘플 제조프로토콜에서 생성된 건조 잔기는 후술한 HPLC 방법을 이용해 텔페나딘 대사물질의 분석에 사용하고, 또한 반응(프로토콜B, B')에 첨가된 억제화학물질을 정량하는데에도 사용한다. 선형 기울기를 용리에 이용하는데, 이는 아세토니트릴 용매에 녹인 0.025%(v/v)포름산으로 구성된 이동상 B와 물로 구성된 이동상 A를 혼합하여 이루어진다(기구: Hewlett Packard). 분단위의 추출시간, 혼성 이동상에서 존재하는 이동상 B의 퍼센트, 유속(mL/분)은 다음과 같다: 0, 10, 0.10; 2, 10, 0.10; 3.5, 10, 0.20; 4, 10, 0.25; 30, 55, 0.25; 32, 98, 0.25; 33, 98, 0.40; 39.8, 98, 0.40; 40, 98, 0.25; 45, 10, 0.25; 45.25, 10, 0.20; 50, 10, 0.20; 50.25, 10, 0.10. 크로마토그래피 칼럼은 150mm 길이 x 2.1mm 내부직경 치수를 갖는데, 독점물질(Prism, Keystone Scientific, Inc.)로 채우고, 동일물질을 보유한 2mm 내부 직경 칼럼과 PTFE 필터로 감싸고, 35+/-0.2°C에서 유지시킨다. 건조샘플 잔기는 60uL의 1:1 아세토니트릴:물과 혼합하고, 이후 각 50.25분 작동주기 직전에 40uL 물과 혼합한다. 각 10uL 주사액에서 얻은 칼럼 용출물은 228nm에서 들뜬 상태의 형광도를, 291nm에서 방출도를, 280nm에서 밴드패스 여과를 측정한다. 이런 조건하에서, 텔페나딘 알코올 대사물질, 텔페나딘 카르복실산 대사물질, 내부 표준의 유지시간은 각각 16.2분, 17.4 분, 22.2분이다.

프로토콜C': 사람 시토크롬 P450-매개 생체형질변환의 평가

배양 혼합물의 제조과정은 억제물질을 보유한 10uL의 에탄올(조절반응) 또는 에탄올성 용액을 실온에서 반응버퍼에 녹인 100uL의 100mg/mL 태아 소 혈청(Sigma)과 혼합하는 것으로 시작한다. 반응버퍼는 0.10 M 나트륨 인산염, 1.0mM 에틸렌디아민테트라아세트산, 5.0mM 마그네슘 염화물, pH 7.4(모든 시약: Fisher Scientific)로 이루어진다. 케토코나졸 (Research Diagnostics, Inc.), 리토나브르(NorvirTM, Abbott Laboratories), 프로토콜C에서 밝힌 억제화학물질, 상기 프로토콜B"에서 생성된 분취물을 억제화학물질로 사용한다. 최종 억제물질 농도는 중량측정 물질에서 계산하거나 또는 비얼(Beer) 법칙을 사용해 몰농도로 표시하였다. 반응튜브는 얼음위에 놓고 다음과 같은 처리에 대비하였다. 충분한 반응 버퍼를 첨가하여 각 튜브의 최종 부피가 500uL가 되도록 하고, 환원된 니코틴아미드 아데닌 디뉴클레오티드 인산염을 만들기 위해 5uL의 100-배 농축액을 첨가하고(완성된 반응혼합물이 1.0mM 니코틴아미드 아데닌 디뉴클레오티드 인산염, 1U/mL 글루코스-6-인산염 탈수소효소, 10mM 글루코스-6-인산염(Sigma)을 보유하도록 하기 위해), 이후 사람 간 S9(Anatomic Gift Foundation)를 해동시키고 충분한 양을 첨가하여 조절반응에서 쉽게 감지될 수 있는 양의 대사물질이 형성되도록 한다(필요한 양은 개체별로 상이하지만, 10uL가 전형적인 양이다). 반응물은 3분동안 Dubnoff-형 수조에서 37°C로 선배양하고, 반응혼합물은 1:1 에탄올:물 용매에 녹인 10uL의 500uM 사퀴나브르(InviraseTM, Roche Laboratories)를 첨가하고 부드럽게 교반하여 완성시키고, 샘플은 37°C에서 15분동안 배양하고, 튜브를 얼음위에 놓고 2.5mL의 아세트니트릴을 첨가하여 반응을 중지시킨다.

상기와 같이 준비한 샘플은 다음과 같은 프로토콜을 이용해 HPLC 평가하였다. 각 튜브는 교반혼합하여 실험장치 35에서 10분동안 원심분리하고, 생성된 상층액은 깨끗한 튜브에 옮기고, 이 액체는 Speed Vac apparatus를 이용해 증발시킨다. 각 튜브내 잔기는 먼저 40uL 1:1 아세트니트릴:물 용매에 녹이고, 2.5mL의 아세트니트릴을 첨가하고, 앞서 말한 원심분리-이동-증발단계를 반복한다. 상기 기술한 실험 및 샘플 제조프로토콜에서 생성된 건조 잔기는 후술한 HPLC 방법을 이용해 사퀴나비르 및 사퀴나비르 대사물질의 분석에 사용하고, 또한 반응(프로토콜B, B')에 첨가된 억제화학물질을 정량하는데에도 사용한다. 선형 기울기를 용리에 이용하는데, 이는 아세트니트릴로 구성된 이동상 B와 물로 구성된 이동상 A를 혼합하여 이루어진다(기구: Hewlett Packard). 분단위의 추출시간 및 혼성 이동상에서 존재하는 이동상 B의 퍼센트는 다음과 같다: 0, 10; 5, 10; 30, 80; 31, 95; 40, 95; 43, 10; 48, 10. 유속은 0.2mL/분이다(전체 작동시간동안). 크로마토그래피 칼럼은 150mm 길이 x 2.1mm 내부직경 치수를 갖는데, 독점물질(Prism, Keystone Scientific, Inc.)로 채우고, 동일물질을 보유한 2mm 내부 직경 칼럼과 PTFE 필터로 감싸고, 35+/-0.2°C에서 유지시킨다. 분석물질의 분해를 최소화하기 위하여, 건조샘플 잔기는 각 48분 작동주기 직전에 50uL의 1:1 아세트니트릴:물과 혼합한다. 각 10uL 주사액에서 얻은 칼럼 용출물은 239+/-2nm에서 흡수도를 측정한다. 이런 조건하에서, 사퀴나비르 중심의 대사물질 A, 사퀴나비르 중심의 대사물질 B, 사퀴나비르의 유지시간은 각각 24.2분, 26.0분, 30.0분이다.

효능의 실증

본 발명의 일차-패스 효능을 실증하기 위하여, 상기 프로토콜C"에 따라 본 발명의 화합물과 감글류-유도 물질을 실험하였는데, 사퀴나비르 대사물질의 발생을 다양한 억제물질농도하에서 측정하였다. 본 발명에 따른 감글류-유도 물질을 상기 프로토콜 A', B', B"를 따라 만들고 이를 공지된 억제물질인 케토코나졸과 비교하였다. 도1은 화학식 XI, XIII의 본 발명 화합물의 결과를 보여주고, 또한 벨가모틴과 임페라토닌이 비효율적 일차-패스 효과 억제물질인 것을 분명하게 보여주고 있다. 도 2는 본 발명의 화합물을 공지된 억제물질인 리토나비르 및 케노코나졸과 비교하여 보여준다.

본 발명의 화합물에서, 푸로코우마린 고리의 푸란 고리자리는 치환되지 않아야 한다.

정제 및 가공방법에 있어, 다음의 구체예가 적절하다.

A. 감글류를 가공하고, 일차-패스 효과적 감글류-유도 물질로부터 광독성 푸로코우마린을 선별적으로 제거하는 방법, 이때 이 방법은 상기 감글류-유도 물질을 하나이상의 C₂-C₄ 알코올, 물, 선택적인 염기의 혼합물로 추출하는 단계를 포함하고, 상기 일차-패스 효과적 감글류-유도 물질은 추출후에도 항-일차-패스 활성을 유지한다,

B. 구체예 A에서, 감글류-유도 물질이 냉동-압착한 감글류 기름인 방법.

C. 구체예 A에서, 에탄올 및 물의 혼합물은 30/70(V/V)에탄올 및 물의 혼합물이고, 이 혼합물은 1-10% 칼륨 수산화물(W/V)을 임의로 보유하는 방법.

다른 적절한 구체예는 다음과 같다:

D. 광독성 푸로코우마린의 양을 줄이기 위하여 하나이상의 C₂-C₄ 알코올, 물의 혼합물로 추출하는 일차-패스 효과적 감귤류-유도 물질.

E. 구체예 D에서, 상기 물질은 냉동-압착한 감귤류 기름인 일차-패스 효과적 감귤류-유도 물질.

F. 구체예 D에서, 1-10% 칼륨 수산화물(W/V)을 보유한 에탄올 및 물의 30/70(V/V)혼합물로 추출되는 일차-패스 효과적 감귤류-유도 물질.

G. 일차-패스 효과에 걸린 환자의 경구로 섭취되는 물질의 일차-패스 효과를 억제하는 방법, 이때 이 방법은 상기환자에게 구체예 A, D의 일차-패스 효과적 감귤류-유도 물질을 공동-투여하는 단계를 포함한다.

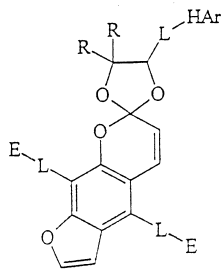
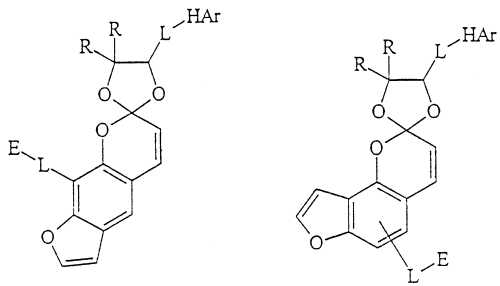
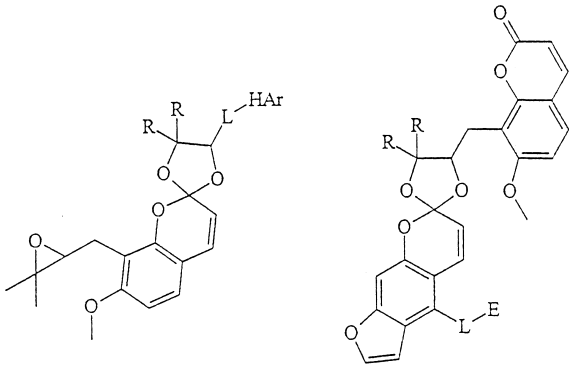
본 발명의 조성물은 가급적 본 발명의 억제물질(화합물등)을 포함하는데(단독, 약물, 희석제, 또는 담체와 함께), 이것은 이들 조성물이 동물량(선호) 또는 중량농도에 기초해 케토코나졸보다 상기 프로토콜 C'에 따른 사쿠나비르 생체형질변환을 더 잘 억제하도록 하기 위한 것이다. 대안으로, 본 발명 물질의 0.01-0.25mg(0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.1, 0.12, 0.14, 0.16, 0.18, 0.2, 0.22, 0.24, 이 수치사이의 모든 범위 포함)이 1ℓ에 희석되거나 용해될 때, 본 발명 화합물, 조성물, 혼합물, 조성물, 물질의 프로토콜 C'(도1)상의 Y-축 수치는 0.5미만, 적절하게는 0.45, 0.4, 0.35, 0.3, 0.25, 0.22, 0.2, 0.18, 0.15, 0.12, 0.1, 0.08, 0.05, 또는 0.03미만이 된다.

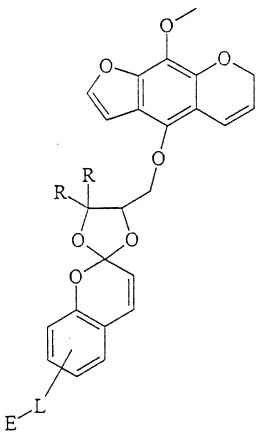
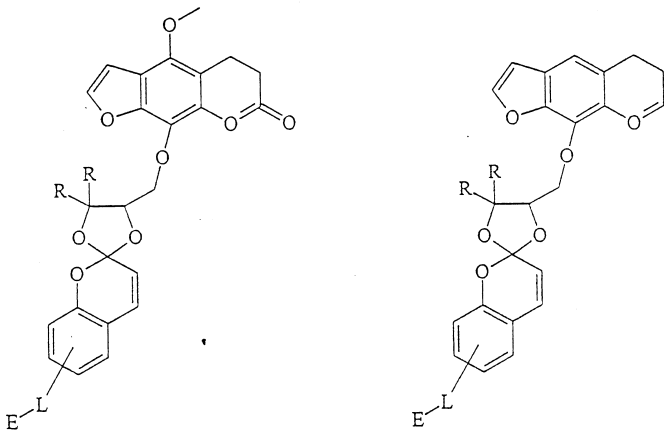
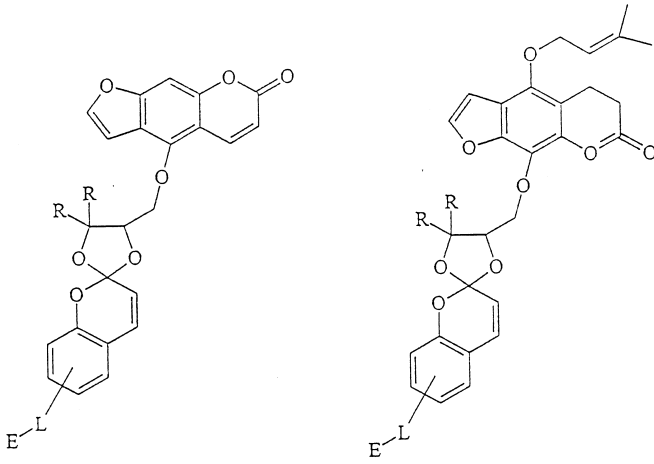
본 발명의 화합물을 보유한 감귤류의 상업적 형태는 냉각-압착한 그레이프프루트 기름인데, 이것의 화학식 XI-XVI 화합물의 전체농도는 대략 0.15-0.25 mg/ml 범위이다. 6개 화합물의 분포에서 XI + XII + XIII + XIV가 대략 50%를, XV, XVI가 나머지를 차지한다. XI-XIV의 분포는 각각 3:2:2:1이고, XV:XVI의 경우 2:1이다. 한 구체예에서 본 발명에 따른 조성물은 따라서 감귤류의 자연적, 상업적 형태에서 발생하는 것보다 훨씬 높은 농도(즉, 본 발명 화합물의 전체농도)로 본 발명 화합물을 보유한다. 이들 농도는 "농축량"이라 한다. 선호되는 농도의 예에는 0.25mg/ml이상, 0.3, 0.8, 1, 2, 5, 8, 32, 128, 200 mg/ml이 포함된다. 본 발명 화합물에 관해서, 본 발명의 한 구체예에서 화합물은 순도로 인해, 자연적으로 또는 상업적으로 발견되는 것과 분명히 다른 형태를 갖는다. "실질적으로 순수한", "실질적으로 순수한 형태"는 본 발명 화합물의 경우 자연적으로, 상업적으로 발견되는 것보다 훨씬 높은 순도를 의미한다. 본 발명자가 "그레이프프루트 효과"를 주관하는 활성성분을 밝혔기 때문에, 당업자는 이들 농도와 형태를 쉽게 결정할 수 있을 것이다. 본 발명의 구체예를 설명하고 이들을 자연적으로, 상업적으로 발생하는 형태와 구별하는데 유용한 다른 언어, 어휘는 미국 정부 및 다른 곳에 양도된 다음의 특허: 미국 특허. 4,708,948, 5,409,938, 5,455,251, 4,977,244, 5,462,956, 5,314,899, 5,104,977, 5,484,889, 5,591,770, 5,599,839, 5,672,607, 5,674,900, 5,648,354, 5,691,386, 5,681,829, 5,654,432에서 찾을 수 있는데, 이들 모두를 여기에 참고문헌으로 한다. 본 발명이 어떻게, 어느 정도의 양으로, 어떻게 투여되는 가에 대한 자세한 설명은 U.S. 5,554,386, WO 97/15269, WO 96/40192에서 제시되어 있는데, 이들은 여기에 참고문헌으로 한다.

잠정적이던 아니던 상관없이 다음의 특허출원을 여기에 참고문헌으로 한다: 60/056,382, 60/048,183, 60/043,878, 08/764,081, 08/673,800(Attorney Docker Numbers 7552-001-99, 7552-004-99, 7552-005-99, 7552-006-99, 7552-007-99) Attorney Docker Number 7552-008-99, 출원번호 08/997,259(1997. 12. 23)

여기에 사용된 다른 화합물은 다음의 화학식으로 제시하는데, 여기서 R, L, E, HAr은 상기 전술한 바와 같다. 상기 화합물에서와 같이, 이들 화합물에는 모든 입체이성질체, E-Z 이성질체가 포함된다. 이들 화합물은 자연적으로 또는 상업적으로 생성되지만, 순도와 농도의 측면에서 상기 전술한 형태가 바람직하다. 이들 화합물은 화학식 I-XVI의 화합물처럼 임의로 치환된다.

화학식





본 발명의 화합물에서, 선택적이던 아니던 상관없이 선호되는 치환기는 다음과 같다: 수소, C₁-C₄ 알킬, -S(C₁-C₄ 알킬), -O(C₁-C₄ 알킬), -NH₂, -NH(C₁-C₄ 알킬)-N(C₁-C₄ 알킬)(C₁-C₄ 알킬), 하이드록시, -O(C₁-C₂ 알킬), 플루오르, C₁-C₆ 알킬, 클로로, 브로모, 요도, C₁-C₄ 알콕시, -CF₃, -C(=O)O-(C₁-C₄ 알킬), -OC(=O)(C₁-C₄ 알킬), -OC(=O)N(C₁-C₄ 알킬)(C₁-C₂ 알킬), -NHCO(C₁-C₄ 알킬), -COOH, -COO(C₁-C₄ 알킬), -CONH(C₁-C₄ 알킬), -CON(C₁-C₄ 알킬)(C₁-C₂ 알킬), -S(C₁-C₄ 알킬), -CN, -NO₂, -SO(C₁-C₄ 알킬), -SO₂(C₁-C₄ 알킬), -SO₂NH(C₁-C₄ 알킬), -SO₂N(C₁-C₄ 알킬)(C₁-C₂ 알킬).

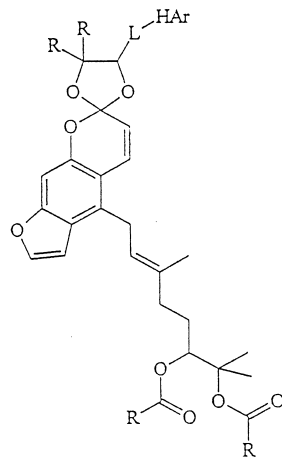
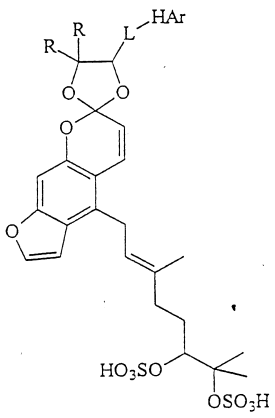
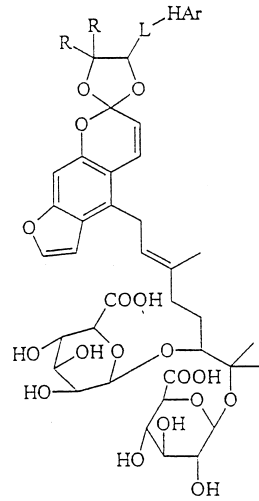
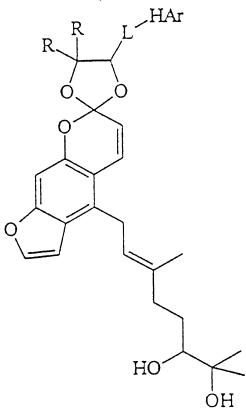
선택적이던 아니던 상관없이 또 다른 선호되는 치환기는 다음과 같다: C₁-C₁₂ 알킬, 아릴, (C₁-C₄ 알킬렌)아릴, 페닐, 나프틸, 티에닐, 벤조티에닐, 피리딜, 퀴놀일, 피라지닐, 피리미디닐, 이미다졸일, 퓨라닐, 벤조퓨라닐, 벤조티아졸일, 이소티아졸일, 피라졸일, 필롤일, 인돌일, 필롤로피리딜, 옥사졸일, 벤즈옥사졸일, C₃-C₈ 사이클로알킬 또는 (C₁-C₆ 알킬렌)(C₃-C₈ 사이클로알킬), C₁-C₄ 알킬, 벤질, C₁-C₄ 알카노일, C₁-C₆ 알콕시, -OC(=O)(C₁-C₆ 알킬), -OC(=O)N(C₁-C₄ 알킬)(C₁-C₂ 알킬), -S(C₁-C₆ 알킬), 아미노, -NH(C₁-C₂ 알킬), -N(C₁-C₂ 알킬)(C₁-C₄ 알킬), -N(C₁-C₄ 알킬)-CO-(C₁-C₄ 알킬), -NHCO(C₁-C₄ 알킬), -COOH, -COO(C₁-C₄ 알킬), -CONH(C₁-C₄ 알킬), -CON(C₁-C₄ 알킬)(C₁-C₂ 알킬), -SH, -SO(C₁-C₄ 알킬), -SO₂(C₁-C₄ 알킬), -SO₂NH(C₁-C₄ 알킬), -SO₂N(C₁-C₄ 알킬)(C₁-C₂ 알킬).

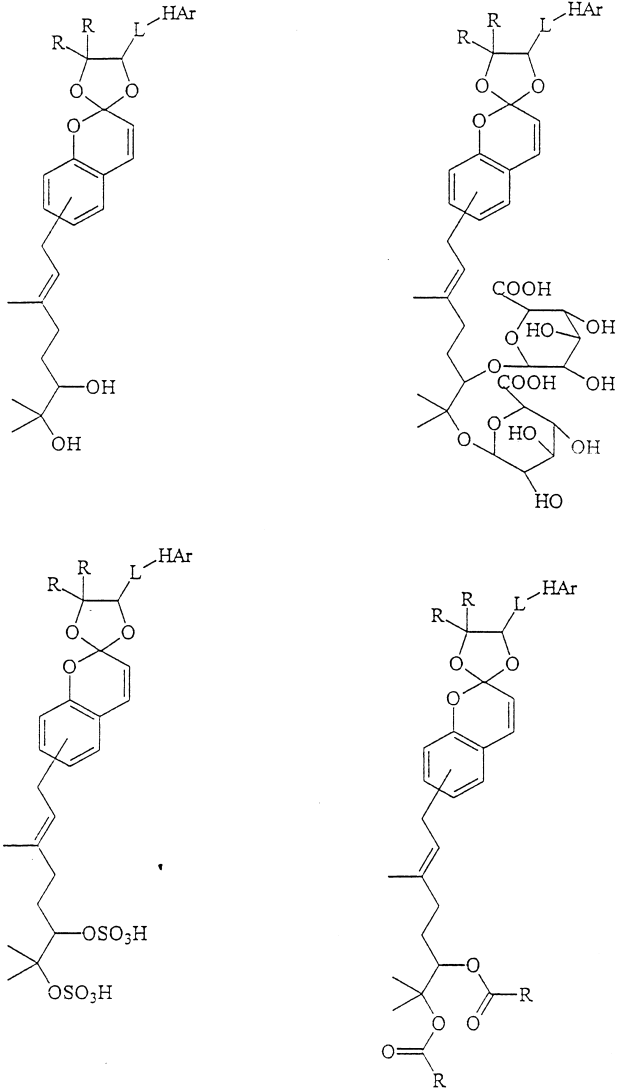
선택적이던 아니던 상관없이 선호되는 제 3 치환기는 다음과 같다: -S(C₁-C₄ 알킬) 또는 -SO₂(C₁-C₄ 알킬)(C₁-C₆ 알킬), -N(C₁-C₄ 알킬)(C₁-C₂ 알킬), -S(C₁-C₄ 알킬), -SO(C₁-C₄ 알킬), -CO(C₁-C₄ 알킬), -C(=O)H, -C(=O)(C₁-C₄ 알킬), C₁-C₃ 알콕시, 디메틸아미노, 메틸아미노, 에틸아미노, -NHC(=O)CH₃, C₁-C₃ 티오알킬, -COOH, -C(=O)(C₁-C₄ 알킬), -C(=O)O(C₁-C₄ 알킬), -NO₂, 페닐, 나프틸, 티에닐, 벤조티에닐, 피리딜, 퀴놀일, 피라지닐, 퓨라닐, 벤조퓨라닐, 벤조티아졸일, 벤즈이소티아졸일, 벤즈이소옥사졸일, 벤즈이미다졸일, 인돌일, 벤즈옥사졸일, 또는 C₃-C₈ 사이클로알킬, 클로로, C₁-C₆ 알킬, -O(C₁-C₆ 알킬), 브로모, 요도, 포름일, -CN, -CF₃, -NO₂, -NH₂, -NH(C₁-C₄ 알킬), -N(C₁-C₂ 알킬)(C₁-C₆ 알킬), -C(=O)O(C₁-C₄ 알킬), -C(=O)(C₁-C₄ 알킬), -COOH, -SO₂NH(C₁-C₄ 알킬), -SO₂N(C₁-C₂ 알킬)(C₁-C₄ 알킬), -SO₂NH₂, -NHSO₂(C₁-C₄ 알킬), -S(C₁-C₆ 알킬), 그리고 -SO₂(C₁-C₆ 알킬), 플루오르, 하이드록시, 아미노, 메틸아미노, 디메틸아미노, 아세틸, 수소, C₁-C₄ 알킬, 할로(예, 클로로, 플루오르, 요도 또는 브로모), 하이드록시, -O(C₁-C₄ 알킬), C(=O)(C₁-C₄ 알킬), -C(=O)O(C₁-C₄ 알킬), -OCF₃, -CF₃, -CH₂OH 또는 -CH₂O(C₁-C₂ 알킬) 하이드록시, 메톡시, 플루오르.

HAr의 특정 예(C₆-C₂₄ 방향족기 또는 이중방향족기)도 이들 3개의 선호되는 치환기에 포함된다.

본 발명에는 본 발명 화합물, 조성물의 프로드럭(PRODRUG) 및 활성대사물질도 또한 포함된다. 이런 프로드럭은 사람과 같은 포유동물에 투여한 직후, 본 발명의 화합물을 발생시키는 화합물이다. 활성대사물질은 본 발명의 화합물, 조성물을 포유동물, 가급적 사람에게 투여한 직후, 형성되는 화합물로, 일차-패스에 효과적이다. 본 발명 프로드럭 및 대사물질의 몇 가지 예는 다음과 같다.

화학식





본 발명 화합물, 대사물질, 프로드럭등은 가급적 테우테리움 또는 플로린으로 치환시켜 환자/동물에서 체류시간을 증가시킨다.

제약학적 담체, 희석제, 부형제는 당업자에게 공지된 것이다. 전술한 몇몇 특허와 공개문에서 이의 예를 제시하였다.

추출의 선호되는 방법은 상기 실시예 부분에서 예시하였는데, 여기서 추가적으로 식용 음식보충제, 약물로서 사용하기 위한 냉동-압착한 그레이프프루트 기름의 부피증가 선처리를 기술하였다. 이런 상황에서, 극성 코우마린 및 푸로코우마린(앞에 참조)은 열과 염기로 제거하는 것이 바람직하지만, 이들 둘(열과 염기) 모두 선택적이다. C₂-C₄ 알코올보다는 물을 사용하는 것이 낫고, 70:30(V/V)물: 에탄올을 사용하는 것이 더욱 바람직하다. 또한, 초기추출동안에는 일차-팩스 효과적 감귤류-유도 물질(본 발명의 화합물, 대사물질, 프로드럭중 적어도 한 가지를 보유한 감귤류-유도 물질)에 존재하는 휘발물질을 제거하지 않는 것이 좋다. 선호되는 감귤류-유도 물질은 냉동-압착한 그레이프프루트 기름이다.

사용하는 열은 40-120°C가 적절하고, 좀더 적절하게는 60-110°C, 가장 적절하게는 80-105°C(80, 85, 90, 100, 105°C 포함)이다. 추출물에서, 알코올/물 혼합물은 당분야에 공지된 임의의 방법으로 한번이상 일차-팩스 효과적 감귤류-유도 물질과 접촉시키는데, 선택적으로 열을 가할 수도 있다(즉, 상승온도). 알코올/물 혼합물에 녹는 NaOH, KOH, 또는 임의 다른 염기는 물과 알코올의 전체부피에 기초하여 1-15%, 적절하게는 3-10%, 좀더 적절하게는 4,5,6,7,8 또는 9%(W/V)의 양으로 사용할 수 있다.

추출된 산물이 사용될 수 있는가를 결정하는 한가지 방법은 가급적 물만을 사용해, 세척수의 pH를 관찰하는 것이다. 중성에 가까운 수치(6-7.5)가 바람직하다. 제약학적으로, 식용으로 사용가능한 산과 같은 pH 조정물질을 사용할 수도 있다. 푸로코우마린, 코우마린의 제거정도는 상기와 같이 HPLC, GC로 관찰할 수 있다.

알코올-불용성 물질을 본 발명에 따른 정제추출물에서 확실히 제거하는 방법은 추출물을 알코올과 혼합한 후 원심분리하여 불용성 물질을 제거하는 것이다.

(57) 청구의 범위

청구항 1.

삭제

청구항 2.

삭제

청구항 3.

삭제

청구항 4.

삭제

청구항 5.

삭제

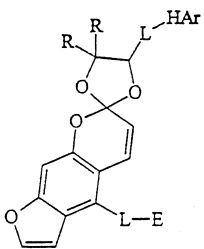
청구항 6.

삭제

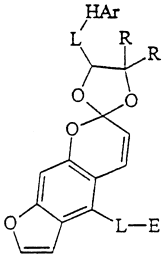
청구항 7.

화학식 I-IV 화합물에서 선택되는 화합물:

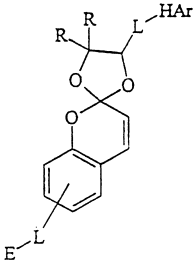
화학식 I



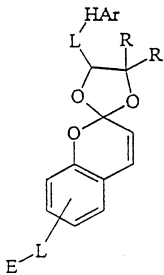
화학식 II



화학식 III



화학식 IV



상기 각 구조에서, R은 독립적으로 H 또는 선택적으로 치환된 C₁-C₁₅ 알킬기이고,

L은 선택적으로 치환된 C₁-C₁₅ 선형이나 분지형 포화된, 단일불포화된 또는 다중불포화된 알킬기이고, 상기 알킬기는 하나이상의 인접하지 않는 황 또는 산소 원자를 선택적으로 보유하고, 한쪽 또는 양쪽 단부가 산소로 선택적으로 종결되며,

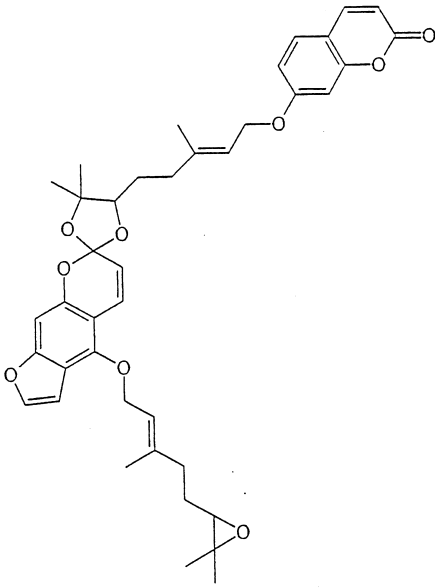
HAr은 선택적으로 치환된 C₆-C₂₄ 방향족기 또는 이종방향족기이고, 이는 N, O, S, P에서 선택되는 하나이상의 고리 원자를 선택적으로 보유하고,

E는 -OH, -COOH, -COOR(여기서, R은 상기와 같이 정의한다) 또는 선택적으로 치환된 C₁-C₈ 선형이나 분지형 포화된, 단일불포화된 또는 다중불포화된 알킬기이고, 상기 알킬기는 하나이상의 인접하지 않는 황 또는 산소 원자를 선택적으로 보유하거나; 또는 E는 C₃-C₈ 선택적으로 치환된 고리형 포화된, 단일불포화된 또는 다중불포화된 알킬기이고, 상기 알킬기는 하나이상의 인접하지 않는 황 또는 산소 원자를 선택적으로 보유하거나; 또는 E는 선택적으로 치환된 HAr이다.

청구항 8.

제 7항에 있어서, 아래의 화학식을 보유하는 것을 특징으로 하는 화합물.

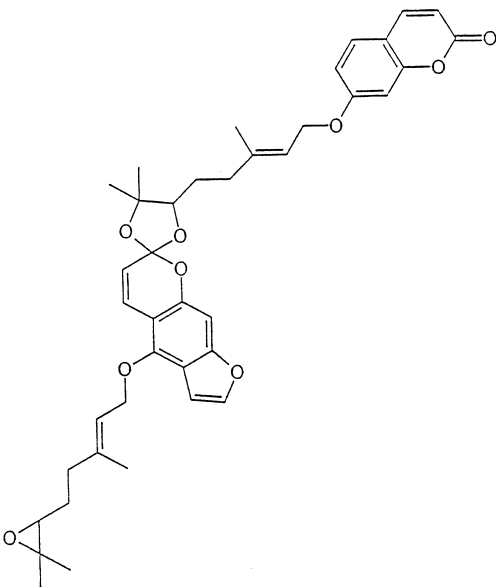
화학식 V



청구항 9.

제 7항에 있어서, 아래의 화학식을 보유하는 것을 특징으로 하는 화합물.

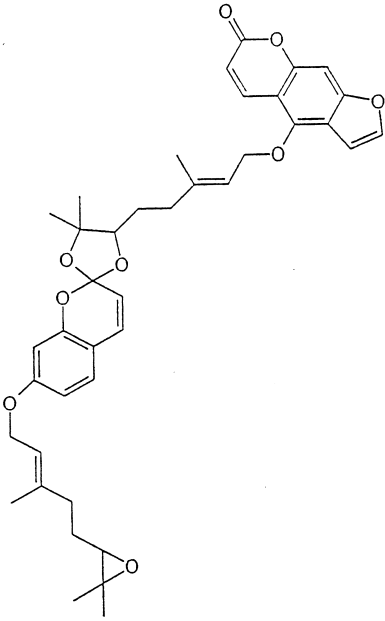
화학식 VI



청구항 10.

제 7항에 있어서, 아래의 화학식을 보유하는 것을 특징으로 하는 화합물.

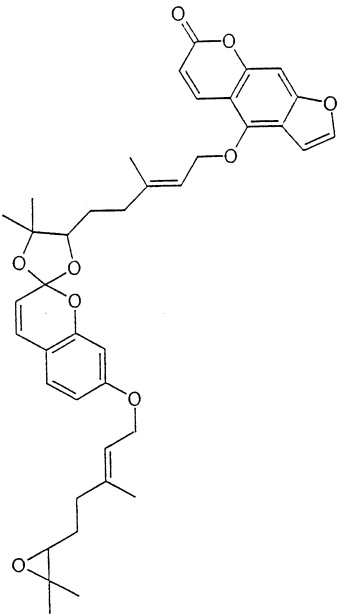
화학식 VII



청구항 11.

제 7항에 있어서, 다음의 화학식을 보유하는 것을 특징으로 하는 화합물.

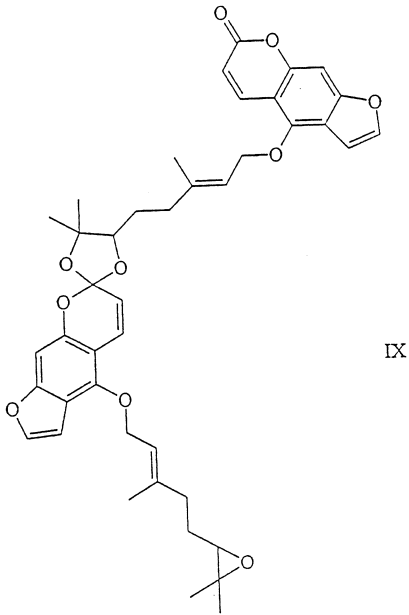
화학식 VIII



청구항 12.

제 7항에 있어서, 아래의 화학식을 보유하는 것을 특징으로 하는 화합물.

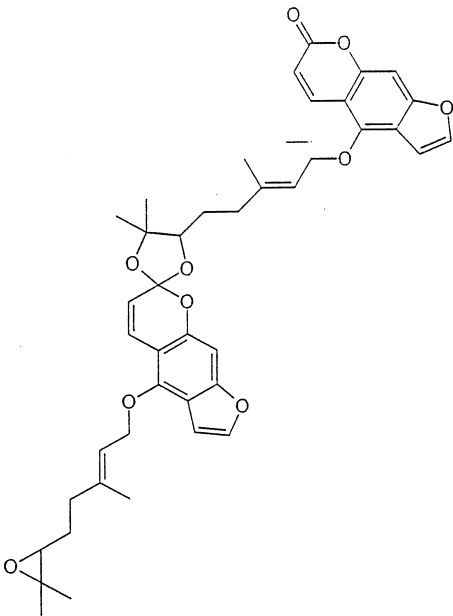
화학식 IX



청구항 13.

제 7항에 있어서, 아래의 화학식을 보유하는 것을 특징으로 하는 화합물.

화학식X

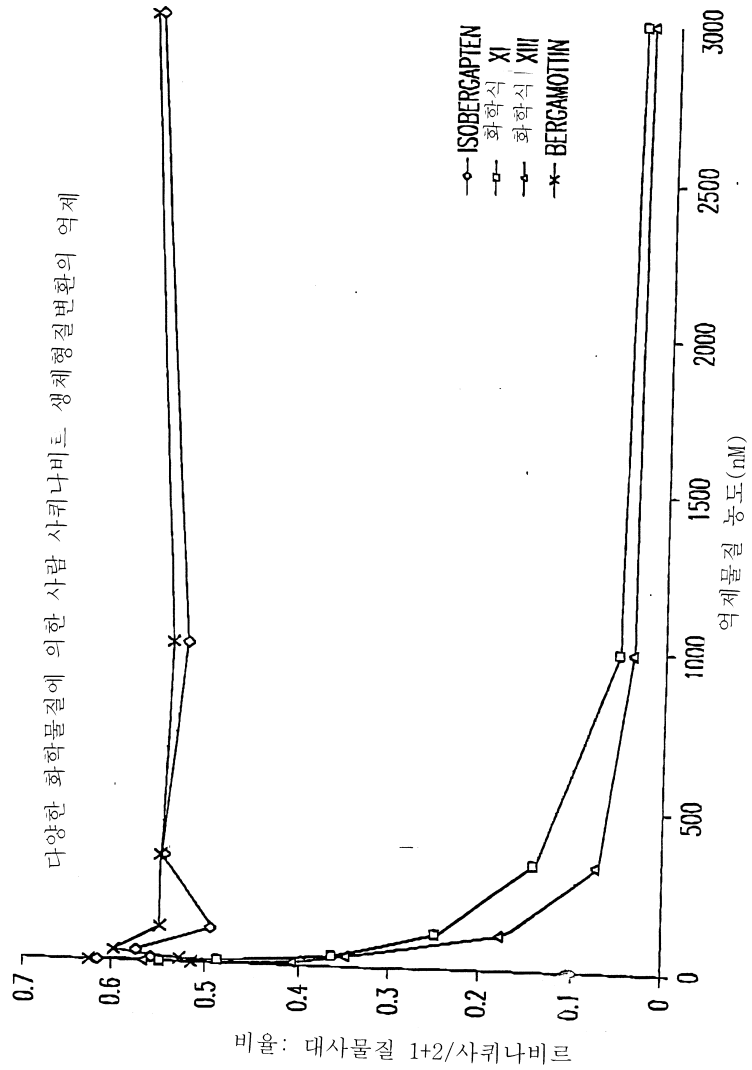


청구항 14.

최초 섭취에서부터 혈류에서 순환까지 약물의 변화동안 약물 분해 과정의 일차-패스 효과를 억제하는데 유효하고 제 7항 내지 13항중 어느 한 항에 따른 화합물을 함유하는 조성물.

도면

도면1



도면2

