



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2020년12월04일

(11) 등록번호 10-2186066

(24) 등록일자 2020년11월27일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07H 19/167 (2006.01) C07D 209/04 (2006.01)(52) CPC특허분류
C07H 19/167 (2013.01)
A61K 31/7076 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2015-7021851

(22) 출원일자(국제) 2014년01월16일

심사청구일자 2019년01월07일

(85) 번역문제출일자 2015년08월12일

(65) 공개번호 10-2015-0115804

(43) 공개일자 2015년10월14일

(86) 국제출원번호 PCT/US2014/011935

(87) 국제공개번호 WO 2014/113609

국제공개일자 2014년07월24일

(30) 우선권주장

61/753,300 2013년01월16일 미국(US)

61/792,467 2013년03월15일 미국(US)

(56) 선행기술조사문헌

Bioorganic Chemistry, 15, 71-80(1987.)

US20100004191 A1

(73) 특허권자

허버트 샘-이 엘엘씨

미국, 네바다 89702, 카슨 시티, 피.오.박스 646

(72) 발명자

허버트, 롤란드, 에프.

미국, 워싱턴 98102, 시애틀, 스위트 301, 427 벨
레부 애비뉴 이

(74) 대리인

특허법인한얼

전체 청구항 수 : 총 10 항

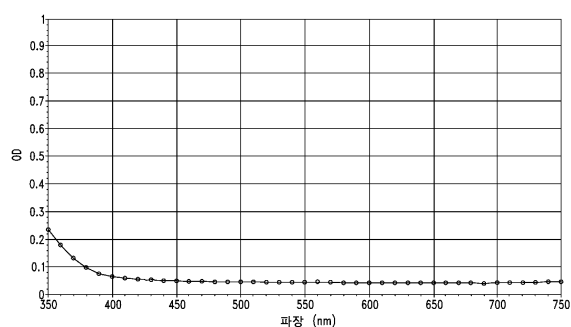
심사관 : 박수진

(54) 발명의 명칭 S-아데노실-L-메티오닌의 안정한 인돌-3-프로피오네이트염

(57) 요약

S-아데노실-L-메티오닌 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 안정한 인돌-3-프로피오네이트염, 인돌-3-프로피오네이트염을 포함하는 약제학적 조성물, 인돌-3-프로피오네이트염을 사용하는 방법 및 이를 제조하는 방법이 본 발명에 의해 개시된다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류
C07D 209/04 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

S-아데노실-L-메티오닌 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 인돌-3-프로피온산염.

청구항 2

제1항에 있어서, S-아데노실-L-메티오닌의 약제학적으로 허용되는 염이 염산, 황산, 인산, 아인산, 디설펜산 또는 1,4-부탄디설펜산으로부터 제조되는 인돌-3-프로피온산염.

청구항 3

제1항에 있어서, S-아데노실-L-메티오닌의 약제학적으로 허용되는 염이 S-아데노실-L-메티오닌 토실레이트 비설펜레이트, S-아데노실-L-메티오닌 *p*-톨루엔설펜레이트, S-아데노실-L-메티오닌 비설펜레이트, S-아데노실-L-메티오닌 트리-*p*-톨루엔설펜레이트, S-아데노실-L-메티오닌 디-*p*-톨루엔설펜레이트, S-아데노실-L-메티오닌 디설펜레이트, S-아데노실-L-메티오닌 클로라이드, S-아데노실-L-메티오닌 카보네이트, S-아데노실-L-메티오닌 비카보네이트, S-아데노실-L-메티오닌 브로마이드, S-아데노실-L-메티오닌 요오다이드 및 S-아데노실-L-메티오닌 1,4-부탄디설펜레이트 중에서 선택되는 인돌-3-프로피온산염.

청구항 4

제1항에 있어서, S-아데노실-L-메티오닌의 약제학적으로 허용되는 염이 S-아데노실-L-메티오닌 *p*-톨루엔설펜레이트 또는 S-아데노실-L-메티오닌 1,4-부탄디설펜레이트인 인돌-3-프로피온산염.

청구항 5

제1항에 있어서, S-아데노실-L-메티오닌 *p*-톨루엔설펜레이트 인돌-3-프로피오네이트염 또는 S-아데노실-L-메티오닌 1,4-부탄디설펜레이트 인돌-3-프로피오네이트염 중에서 선택되는 인돌-3-프로피온산염.

청구항 6

DNA 및 RNA의 메틸화 수준의 증가에 의해, 혈액 및 기타 조직에서 S-아데노실-L-메티오닌 수준의 증가에 의해, 또는 둘 다에 의해 완화되는 질환 또는 장애를 치료하기 위한, 약제학적으로 허용되는 담체 및 유효량의 제1항 내지 제5항 중 어느 한 항의 인돌-3-프로피온산염을 포함하는 약제학적 조성물로서, 상기 질환 또는 장애가 정신(mental) 또는 정신과(psychiatric) 장애, 신경계 또는 신경학적 질환 또는 장애, 중추신경계 부상과 연관된 병태, 간 질환 또는 장애, 암, 관절 질환 또는 장애, 염증성 질환 또는 장애, 자가면역 질환 또는 장애, 퇴행성 질환 또는 장애, 연부 조직 질환 또는 장애, 통증 질환 또는 장애, 저메틸화와 연관된 유전적 장애, 위장 질환 또는 장애, 심혈관 질환 또는 장애, 산화적 또는 자유-라디칼 손상에 의해 전체적으로 또는 부분적으로 유도된 장애, 대사 증후군, 1형 및 2형 당뇨병 및 이들의 합병증으로부터 선택되는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 7

제6항에 있어서, 하나 이상의 흡수 촉진제를 추가로 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 8

제7항에 있어서, 하나 이상의 흡수 촉진제는 키토산, 키토산 클로라이드, 트리메틸 키토산, 및 트리메틸 키토산 단일중합체로 구성된 그룹 중에서 선택되는 약제학적 조성물.

청구항 9

포유동물에서 DNA 및 RNA의 메틸화 수준의 증가에 의해, 포유동물의 혈액 및 기타 조직에서 S-아데노실-L-메티오닌 수준의 증가에 의해, 또는 둘 다에 의해 완화되는 포유동물의 질환 또는 장애를 치료하는 방법으로서, 유효량의 제1항 내지 제5항 중 어느 한 항의 인돌-3-프로피온산염을 이를 필요로 하는 포유동물에 투여하는 단계

를 포함하고, 상기 포유동물의 질환 또는 장애는 정신(mental) 또는 정신과(psychiatric) 장애, 신경계 또는 신경학적 질환 또는 장애, 중추신경계 부상과 연관된 병태, 간 질환 또는 장애, 암, 관절 질환 또는 장애, 염증성 질환 또는 장애, 자가면역 질환 또는 장애, 퇴행성 질환 또는 장애, 연부 조직 질환 또는 장애, 통증 질환 또는 장애, 저메틸화와 연관된 유전적 장애, 위장 질환 또는 장애, 심혈관 질환 또는 장애, 및 산화적 또는 자유-라디칼 손상에 의해 전체적으로 또는 부분적으로 유도된 장애, 대사 증후군, 1형 및 2형 당뇨병 및 이들의 합병증 중에서 선택되고, 포유동물이 인간이 아닌, 방법.

청구항 10

하기 단계를 포함하는, 제1항 내지 제5항 중 어느 한 항의 인돌-3-프로피온산염을 제조하는 방법:

- i) 인돌-3-프로피온산 또는 그의 염을 물에 첨가하는 단계;
- ii) S-아데노실-L-메티오닌 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 pH 1 내지 6.9에서 인돌-3-프로피온산 용액에 첨가하는 단계;
- iii) 반응 혼합물을 교반하는 단계; 및
- iv) 생성된 인돌-3-프로피온산염을 반응 혼합물로부터 분리하는 단계.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 S-아데노실-L-메티오닌 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 안정적인 인돌-3-프로피오네이트염, 인돌-3-프로피오네이트염의 제조 방법, 인돌-3-프로피오네이트염을 포함하는 약제학적 조성물, 및 그의 치료 용도에 관한 것이다. 이들 인돌-3-프로피오네이트염은 포유동물의 노화와 연관된 다양한 병태 및 기타 병태를 치료하는데 강력한 활성을 보유한다.

배경 기술

[0002] S-아데노실-L-메티오닌(SAMe)

[0003] S-아데노실-L-메티오닌(SAMe)은 모든 살아있는 유기체에 존재하며 다수의 매우 중요한 생물학적 기능을 나타내는 자연 발생 물질이다. SAMe는 (S,S) S-아데노실-L-메티오닌 및 (R,S) S-아데노실-L-메티오닌의 두 가지 중요한 디아스테레오머 형태로 존재한다. 이들의 기능은 다음과 같다: 트랜스메틸화 반응에서의 메틸기 공여자(이는 이러한 반응들, 예컨대 DNA, 단백질, 호르몬, 카테콜 및 인돌아민의 메틸화 및 포스포티딜에탄올아민으로부터 포스포티딜콜린으로의 반응에서의 유일한 메틸기 공여자이다); SAMe를 분자 메틸티오아데노신 및 호모세린으로 변환시키는 효소 리아제의 기질; tRNA로의 아미노부티르쇄 공여자; 비오틴의 생합성에서 아미노산쇄 공여자. 탈카복실화 후에 SAMe는 또한 신경조절 폴리아민 스페르미딘 및 스페르민의 생합성을 위한 아미노프로필기의 공여자이다(Zappia *et al.* (1979), "Biomedical and Pharmacological roles of Adenosylmethionine and the Central Nervous System", page 1, Pergamon Press. NY). SAMe는 간 질환의 치료에 20년 이상 임상적으로 사용되어 왔다(Friedel H, Goa, K. L., and Benfield P. (1989), "S-Adenosyl-L-methionine: a review of its pharmacological properties and therapeutic potential in liver dysfunction and affective disorders in relation to its physiological role in cell metabolism", *Drugs*, 38,389-416), arthritis (Di Padova C, (1987), "SAMe in the treatment of osteoarthritis: review of the clinical studies", *Am J. Med.* 83, (Suppl. 5), 6-65), and depression (Kagan, B, Sultz D. L., Rosenlicht N and Gerner R. (1990), "Oral S-adenosylmethionine in depression: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial", *Am. J. Psychiatry* 147, 591-595). 알츠하이머 환자에서는 SAMe의 뇌척수액 수준이 감소되었다(Bottiglieri *et al.*, (1990), "Cerebrospinal fluid SAMe in depression and dementia: effects of treatment with parenteral and oral S-adenosyl-L-methionine", *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 53, 1096-1098). 예비 연구에서, SAMe는 알츠하이머병 환자에서 인지력 향상을 나타낼 수 있었다(Bottiglieri *et al.* (1994), "The clinical potential of admetionine (S-adenosyl-L-methionine) in neurological disorders", *Drugs* 48, 137-152).

[0004] 알츠하이머병 환자에서 SAMe의 뇌 수준은 또한 심하게 감소된다(Morrison *et al.*, (1996), "Brain S-adenosylmethionine levels are severely decreased in Alzheimer's disease", *Journal of Neurochemistry*, 67, 1328-1331). 파킨슨병 환자도 역시 상당히 감소된 SAMe 혈중 수준을 보였다(Cheng *et al.*, (1997), "Levels

of L-methionine S-adenosyltransferase activity in erythrocytes and concentrations of S-adenosylmethionine and S-adenosylhomocysteine in whole blood of patients with Parkinson's disease", *Experimental Neurology* 145, 580-585). 간 질환을 앓거나 앓지 않는 환자에 SAME를 경구 투여하면 간 글루타치온 수준의 증가가 유발되었다(Vendemiale G *et al.*, "Effect of oral SAME on hepatic glutathione in patients with liver disease", *Scand J Gastroenterol* 1989;24: 407-15).

[0005] 간내 담즙울체(intrahepatic cholestasis)를 앓는 환자에 SAME를 경구 투여하면 담즙울체의 생화학적 표지자 뿐만 아니라 소양증도 개선되었다(Giudici *et al.*, "The use of admetionine (SAME) in the treatment of cholestatic liver disorders", *Meta-analysis of clinical trials*, Mato *et al.* editors, Methionine Metabolism: Molecular Mechanism and Clinical Implications. Madrid: CSIC Press; 1992 pp 67-79). 원발성 섬유근통을 앓는 환자에 SAME를 경구 투여하면 단기 시험 후에 상당한 개선이 이루어졌다(Tavoni *et al.*, "Evaluation of S-adenosylmethionine in Primary Fibromyalgia", *The American Journal of Medicine*, Vol 83 (suppl 5 A), pp 107-110, 1987). 이홍규(Lee Hong Kyu)는 PCT 공개 특허 출원 WO 02/092105(Nov. 21, 2002)에서 SAME가 당뇨 및 인슐린 저항성을 치료하는데 사용될 수 있다고 개시하였다.

[0006] "우울증, 골관절염 및 간 질환의 치료를 위한 SAME"의 제목으로 최근 공개된 리포트 증거에서는 SAME에 대한 안전성 및 임상적 효능 데이터를 양자 모두 제공한다(Evidence Report number 64, US Department of Health and Human Services, Public Health Service, Agency for Healthcare Research and Quality. October 2002).

[0007] SAME는 기초 대사 과정에서의 그의 중요한 기능으로 인하여 외견상 무관한 많은 분야에서 임상적으로 유용하다. 그의 가장 두드러진 임상적 용도 중의 하나는 지금까지 의학적으로 치료할 수 없는 것으로 남아 있었던 알콜성 간경화증의 치료이다. 알콜성 간경화증에서 위약 투여군과 비교하여 전반적인 사망을 및/또는 간이식으로의 진행을 29% 대 12%로 감소시키는 경구 SAME의 능력이 입증되었다(Mato *et al.* (1999), "S-adenosylmethionine in alcohol liver cirrhosis: a randomized, placebo-controlled, double blind, multi-center clinical trial", *Journal of Hepatology*, 30, 1081-1089). SAME의 광범위한 임상적 용도는 다수의 상이한 임상적 병태에서 그의 효능 뿐 아니라 독성의 부재를 증명하였다.

[0008] SAME는 주변 온도에서 분자가 바람직하지 않은 분해 산물, 예컨대 메틸티오아데노신으로 분해되어, 안정성의 측면에서 일정한 난제를 제기한다. 또한, SAME를 안정화시키기 위해 사용되는 염의 대부분은 황을 기반으로 하며, 이들 황을 기반으로 하는 염들은 필시 치료를 중단하는 이유로서 환자들이 보고하는 위장 불편감의 원인이다.

[0009] SAME는 SAME의 안정한 염을 얻고 공업적 규모로 실행될 수 있는 제조 방법을 제공하는 것에 관한 다수의 특허 대상이었다. SAME의 염을 개시하는 수많은 특허들이 존재하지만 어느 것도 SAME의 인돌-3-프로피온산(IPA)염을 개시하지 않았다. 미국 특허 번호 제3,893,999호는 트리-*p*-톨루엔설포네이트를 사용하여 제조된 SAME의 신규한 염을 개시하였지만, SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 안정한 염을 형성하는데 인돌-3-프로피온산의 사용은 개시하지 않는다. 미국 특허 번호 제3,954,726호는 SAME의 이중염(double salt)을 개시하지만 SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 안정한 염을 형성하는데 인돌-3-프로피온산의 사용은 개시하지 않는다. 미국 특허 번호 제4,028,183호는 그중에서도 특허 SAME 분자를 안정화시키기 위한 수단으로서 *p*-톨루엔 설포네이트를 개시하지만 SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 안정한 염을 형성하는데 인돌-3-프로피온산의 사용은 개시하지 않는다. 미국 특허 번호 제4,057,686호는 SAME의 안정한 염을 개시하지만, SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 안정한 염을 형성하는데 인돌-3-프로피온산의 사용은 개시하지 않는다. 미국 특허 번호 제4,465,672호는 새로운 SAME 염을 개시하지만, SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 안정한 염을 형성하는데 인돌-3-프로피온산의 사용은 개시하지 않는다. 미국 특허 번호 제4,543,408호는 새로운 SAME 염을 개시하지만, SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 안정한 염을 형성하는데 인돌-3-프로피온산의 사용은 개시하지 않는다. 미국 특허 번호 제4,558,122호는 새로운 SAME 염을 개시하지만, SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 안정한 염을 형성하는데 인돌-3-프로피온산의 사용은 개시하지 않는다. 미국 특허 번호 제4,990,606호는 새로운 SAME 염을 개시하지만, SAME의 안정한 염을 형성하는데 인돌-3-프로피온산의 사용은 개시하지 않는다.

[0010] 또한, 미국 특허 번호 제5,102,791호는 그중에서도 특허 SAME의 1,4 부탄디설포네이트염을 개시하지만, SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 안정한 염을 형성하는데 인돌-3-프로피온산의 사용은 개시하지 않는다. 미국 특허 번호 제5,114,931호는 주사용 SAME 염을 개시하지만, SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 안정한 염을 형성하는데 인돌-3-프로피온산의 사용은 개시하지 않는다. 미국 특허 번호 제5,128,249호는 새로운 SAME 염을 개시하지만, SAME의 안정한 염을 형성하는데 인돌-3-프로피온산의 사용은 개시하지 않는다. 미국 특허

허 번호 제3,707,536호는 새로운 SAME 비설페이트염을 개시하지만, SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 안정한 염을 형성하는데 인돌-3-프로피온산의 사용은 개시하지 않는다. 미국 특허 번호 제4,109,079호는 새로운 안정한 SAME 염을 개시하지만, SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 안정한 염을 형성하는데 인돌-3-프로피온산의 사용은 개시하지 않는다. 미국 특허 번호 제4,242,505호는 SAME의 새로운 안정화염을 개시하지만, SAME의 안정한 염을 형성하는데 인돌-3-프로피온산의 사용은 개시하지 않는다. 미국 특허 번호 제4,369,177호는 2가 또는 3가 금속의 염을 사용하는 SAME 및 SAME 염의 안정한 조성물을 개시하지만, SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 안정한 염을 형성하는데 인돌-3-프로피온산의 사용은 개시하지 않는다. 미국 특허 번호 제5,166,328호는 SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 안정한 염을 형성하는데 인돌-3-프로피온산의 사용은 개시하지 않는다.

[0011] 또한, 미국 특허 번호 제2,969,353호는 SAME와 SAME의 안정한 염의 제조 방법을 개시하지만, SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 안정한 염을 형성하는데 인돌-3-프로피온산의 사용은 개시하지 않는다. 미국 특허 번호 제4,764,603호는 새로운 SAME 염의 용도를 개시하지만, SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 안정한 염을 형성하는데 인돌-3-프로피온산의 사용은 개시하지 않는다. 미국 특허 번호 제5,073,546호는 새로운 SAME 염을 개시하지만, SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 안정한 염을 형성하는데 인돌-3-프로피온산의 사용은 개시하지 않는다. 미국 특허 번호 제6,117,849호는 HIV 저해제로서 뉴클레오시드와 복합체화된 SAME의 용도를 개시하지만, SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 안정한 염을 형성하는데 인돌-3-프로피온산의 사용은 개시하지 않는다.

[0012] 인돌-3-프로피온산(IPA)

[0013] 인돌-3-프로피온산(3-(3-인돌릴)프로피온산)(IPA)은 식물 및 인간을 포함한 동물에서 발견되는 천연 화합물이다. 이는 인간 혈장 및 뇌척수액을 포함하는 포유동물의 혈장 및 뇌척수액에서 발견되었다. 인돌-3-프로피온산 및 SAME는 양자 모두 상업적으로 이용가능하다.

[0014] IPA는 인간 혈장을 포함하는 포유동물 혈장에서 내장 미소식물의 부산물로서 발견되는 자연 발생 화합물이기는 하지만, 붕괴되어 잠재적으로 독성일 수 있는 분해 부산물이 될 수 있다. 잠재적 독성 부산물은 특히 빛의 존재 하에 산화 반응을 통해 형성될 수 있다.

[0015] 이러한 독성 부산물의 존재는 IPA 수용액을 제조하고 시간 경과에 따라 용액을 관찰함으로써 확인할 수 있다. 분해는 염기성 pH 및 빛 속에서 촉진되어 용액은 노란색을 띠게되거나 420 nm에서의 UV 흡수 증가가 관찰된다. 용액의 노란색 착색은 또한 키누르산의 형성 때문일 수 있으며, 키누르산을 잠재적으로 독성인 분해 산물과 구별하기 위하여 당업자는 독성 산물의 흡수 UV 형광 피크를 측정할 수 있고, 이는 420 nm보다 약간 큰 파장에서 보고되었다.

[0016] IPA 및 SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는 조성물이 미국 공개특허 번호 제2010/0004191호 및 제2006/0127506호에 개시되었다. 그러나, 여기에 개시된 조성물들은 SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 IPA 염이 아니다. 또한, 여기에 개시된 조성물들은 IPA 분해의 문제를 해결하지 못하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0017] 따라서, SAME 분자 자체의 현저한 안정성을 제공할 뿐 아니라 기존에 공지된 SAME 염들의 위장 부작용의 실질적 부존재 및 IPA의 안정성 증가를 제공하는 SAME의 안정한 IPA 염에 대한 커다란 필요가 당업계에 존재한다. 또한, SAME의 혈액 및 기타 조직 및 유체 수준을 증가시키고 SAME의 낮은 혈액 및 조직 수준으로부터 유발되는 병태를 치료하기 위한 이러한 염의 치료 용도에 관한 방법이 필요하다. 당업계에는 또한, SAME 및 그의 염의 이와 같이 안정한 IPA 염을 제조하는 합성 경로가 필요하다. 본 발명은 이러한 필요를 충족시키고 추가의 관련 이점들을 제공한다.

과제의 해결 수단

[0018] 본 발명은 S-아데노실-L-메티오닌(SAMe) 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 안정한 인돌-3-프로피온산(IPA) 염, 염을 포함하는 약제학적 조성물, 그의 용도에 대한 치료 방법 및 이들 SAMe 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 IPA 염의 제조를 위한 합성 방법에 관한 것이다. 이들 SAMe 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 IPA 염은 DNA 및 RNA 및 혈액 및 기타 조직의 메틸화 수준 또는 포유동물, 바람직하게 인간의 SAMe의 유체 수준을

증가시킬 뿐아니라 DNA 저메틸화(hypomethylation), RNA 저메틸화, 단백질 저메틸화, SAMe의 혈액 및 조직 수준 저하와 연관된 광범위한 병태를 치료하거나 예방하는데 이용성을 나타낸다.

[0019] 따라서, 일 측면에서, 본 발명은 S-아데노실-L-메티오닌 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 인돌-3-프로피온산염에 관한 것이다.

[0020] 다른 측면에서, 본 발명은 S-아데노실-L-메티오닌 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 인돌-3-프로피온산염에 관한 것이며, 여기서 S-아데노실-L-메티오닌의 약제학적으로 허용되는 염은 염산, 황산, 인산, 아인산, 디설포산 또는 1,4 부탄디설포산으로부터 제조된다.

[0021] 다른 측면에서, 본 발명은 S-아데노실-L-메티오닌 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 인돌-3-프로피온산염에 관한 것이며, 여기서 S-아데노실-L-메티오닌의 약제학적으로 허용되는 염은 S-아데노실-L-메티오닌 토실레이트 비설페이트, S-아데노실-L-메티오닌 *p*-톨루엔설포네이트, S-아데노실-L-메티오닌 비설페이트, S-아데노실-L-메티오닌 트리-*p*-톨루엔설포네이트, S-아데노실-L-메티오닌 디-*p*-톨루엔설포네이트, S-아데노실-L-메티오닌 디설페이트, S-아데노실-L-메티오닌 클로라이드, S-아데노실-L-메티오닌 카보네이트, S-아데노실-L-메티오닌 비카보네이트, S-아데노실-L-메티오닌 브로마이드, S-아데노실-L-메티오닌 요오다이드 및 S-아데노실-L-메티오닌 1,4-부탄디설포네이트 중에서 선택된다.

[0022] 다른 측면에서, 본 발명은 S-아데노실-L-메티오닌 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 인돌-3-프로피온산염에 관한 것이며, 여기서 S-아데노실-L-메티오닌의 약제학적으로 허용되는 염은 S-아데노실-L-메티오닌 *p*-톨루엔설포네이트 또는 S-아데노실-L-메티오닌 1,4-부탄디설포네이트이다.

[0023] 다른 측면에서, 본 발명은 S-아데노실-L-메티오닌 *p*-톨루엔설포네이트 인돌-3-프로피오네이트염 또는 S-아데노실-L-메티오닌 1,4-부탄디설포네이트 인돌-3-프로피오네이트염에 관한 것이다.

[0024] 다른 측면에서, 본 발명은 약제학적으로 허용되는 담체 및 유효량의 S-아데노실-L-메티오닌 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 인돌-3-프로피온산염을 포함하는 약제학적 조성물에 관한 것이다.

[0025] 다른 측면에서, 본 발명은 약제학적으로 허용되는 담체, 유효량의 S-아데노실-L-메티오닌 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 인돌-3-프로피온산염, 및 임의로 흡수 촉진제를 포함하는 약제학적 조성물에 관한 것이다.

[0026] 다른 측면에서, 본 발명은 포유동물에서 DNA 및 RNA의 메틸화 수준의 증가에 의해 및/또는 포유동물의 혈액 및 기타 조직에서 S-아데노실-L-메티오닌 수준의 증가에 의해 완화되는 포유동물의 질환 또는 장애를 치료하는 방법에 관한 것이며, 여기서 상기 방법은 유효량의 S-아데노실-L-메티오닌 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 인돌-3-프로피온산염, 또는 약제학적으로 허용되는 담체, 임의로 흡수 촉진제 및 유효량의 S-아데노실-L-메티오닌 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 인돌-3-프로피온산염을 포함하는 유효량의 약제학적 조성물을 이룰 필요로 하는 포유동물에 투여하는 단계를 포함하고, 상기 포유동물의 질환 또는 장애는 정신(mental) 또는 정신과(psychiatric) 장애, 신경계 또는 신경학적 질환 또는 장애, 중추신경계 부상과 연관된 병태, 간 질환 또는 장애, 암, 관절 질환 또는 장애, 염증성 질환 또는 장애, 자가면역 질환 또는 장애, 퇴행성 질환 또는 장애, 연부 조직 질환 또는 장애, 통증 질환 또는 장애, 저메틸화와 연관된 유전적 장애, 위장 질환 또는 장애, 심혈관 질환 또는 장애, 및 산화적 또는 자유-라디칼 손상에 의해 전체 또는 부분적으로 유도된 장애, 대사 증후군, 1형 및 2형 당뇨병 및 이들의 합병증 중에서 선택된다.

[0027] 다른 측면에서, 본 발명은 S-아데노실-L-메티오닌 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 인돌-3-프로피온산염을 제조하는 방법에 관한 것이며, 여기서 상기 방법은 표준 조건 하에 인돌-3-프로피온산 용액을 동반하여 표준 조건 하에 적절한 시약으로 S-아데노실-L-메티오닌 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염 용액을 처리하는 단계 및 표준 기술에 의해 반응 혼합물로부터 인돌-3-프로피온산염을 분리하는 단계를 포함한다.

[0028] 본 발명의 이들 측면의 구체적인 실시형태는 하기에서 더욱 자세히 기재된다.

도면의 간단한 설명

[0029] 도 1은 합성 실시예 1의 산물의 UV 흡수 스펙트럼이다.

도 2는 도 1에 나타난 산물의 초기 UV 분석 후 8개월 후에 얻어진 합성 실시예 1의 산물의 UV 흡수 스펙트럼이다.

도 3은 합성 실시예 2의 산물의 UV 흡수 스펙트럼이다.

도 4는 도 3에 나타난 산물의 초기 UV 분석 후 8개월 후에 얻어진 합성 실시예 2의 산물의 UV 흡수 스펙트럼이다.

도 5는 도 1 및 3의 UV 흡수 스펙트럼이 얻어진 것과 동일한 시간에 얻어진 바탕 샘플(blank sample)의 UV 흡수 스펙트럼이다.

도 6는 도 2 및 4의 UV 흡수 스펙트럼이 얻어진 것과 동일한 시간에 얻어진 바탕 샘플의 UV 흡수 스펙트럼이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0030] 정의

명세서에 달리 정의되지 않는 한, 하기 용어 및 구문은 하기 의미를 나타낸다:

용어 "SAME"는 디아스테레오머의 라세믹 혼합물, 디아스테레오머의 비-라세믹 혼합물 또는 실질적으로 광학적으로 순수한 디아스테레오머로서 S-아데노실-L-메티오닌을 지칭한다. 비-라세믹 혼합물은 (R,S) S-아데노실-L-메티오닌 디아스테레오머에 대한 (S,S) S-아데노실-L-메티오닌 디아스테레오머의 비율이 약 1% 내지 99%이거나 상기 비율이 약 99% 내지 1%인 혼합물을 포함한다.

SAME는 60 내지 80% 순도(즉, 최종 산물이 60-80%의 활성 디아스테레오머((S,S)-SAME) 및 20-40%의 불활성 디아스테레오머((R,S)-SAME)를 함유함)의 SAME 제형을 만들어내는 발효 기술을 이용하여 상업적으로 이용가능하다 (Gross, A., Geresh, S., and Whitesides, Gm (1983) *Appl. Biochem. Biotech.* 8, 415). 60% 이상의 농도로 불활성 이성체를 얻는 효소적 합성 방법론이 보고되어 있다(Matos, J R, Rauschel F M, Wong, C H, "S-Adenosylmethionine: Studies on Chemical and Enzymatic Synthesis", *Biotechnology and Applied Biochemistry* 9, 39-52 (1987). 미국 공개특허 번호 제2002/0188116호는 SAME를 합성하는 방법론을 개시하고 있으나 일단 합성된 후 분자를 안정화시키는 방법론은 개시하지 않는다. 미국 공개특허 번호 제2002/0173012호도 비교적 정제된 생물학적 활성 디아스테레오머 (S,S) SAME(97%>)를 제조하는 방법을 개시하고 있으나 그의 IPA염을 형성함으로써 SAME 분자를 안정화시키는 것은 개시하지 않는다.

용어 SAME의 "약제학적으로 허용되는 염"은 염산, 황산, 인산, 아인산, 설펡산 및 1,4-부탄디설펡산으로부터 제조된 약제학적으로 허용되는 염을 포함하지만 이로 제한되지는 않으며; 하기 염을 포함할 수 있다: SAME 토실레이트 비설펡레이트, SAME-1,4-부탄디설펡네이트, SAME 설펡레이트 및 SAME 토실레이트.

부가적으로, SAME의 약제학적으로 허용되는 염은 메탄설펡산, 에탄설펡산, 1-n-도데칸설펡산, 1-n-옥타데칸설펡산, 2-클로로에탄설펡산, 2-브로모에탄설펡산, 2-하이드록시에탄설펡산, 3-하이드록시프로판설펡산, d-, l-, d-, l-10-감포설펡산, d-, l-, d, l-3-브로모감포-10-설펡산, 시스테인산, 벤젠설펡산, p-클로로벤젠설펡산, 2-메틸벤젠설펡산, 4-비페닐설펡산, 1-나프탈렌설펡산, 2-나프탈렌설펡산, 5-설펡살리실산, p-아세틸벤젠설펡산, 1,2-에탄디설펡산, o-벤젠디설펡산 및 콘드로이틴황산, 및 상기 산과 황산의 이중염으로 구성된 그룹 중에서 선택되는 설펡산으로부터 제조될 수 있다.

SAME의 약제학적으로 허용되는 염은 추가로 SAME 비설펡레이트, SAME 트리-p-톨루엔설펡네이트, SAME 디-p-톨루엔설펡네이트, SAME 디설펡레이트, SAME 클로라이드, SAME 카보네이트, SAME 비카보네이트, SAME 브로마이드 및 SAME 요오다이드로 구성된 그룹 중에서 선택될 수 있다.

본 발명의 SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 IPA염은 1 몰의 SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염에 대해 적어도 0.01 내지 1.0 몰의 IPA를 포함한다. 일 실시형태에서, 본 발명의 SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 IPA염은 1 몰의 SAME 1,4-부탄디설펡네이트염에 대해 적어도 0.01 내지 1.0 몰의 IPA를 포함한다. 다른 실시형태에서, 본 발명의 SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 IPA염은 1 몰의 SAME p-톨루엔설펡네이트염에 대해 적어도 0.01 내지 1.0 몰의 IPA를 포함한다. 다른 실시형태에서, 본 발명의 SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 IPA 염은 1 몰의 SAME(유리 염기)에 대해 적어도 0.01 내지 2.0 몰의 IPA를 포함한다.

용어 "IPA"는 인돌-3-프로피온산을 지칭한다.

용어 "치료하다" 또는 "치료"는 DNA 저메틸화, RNA 저메틸화 및 단백질 저메틸화와 연관된 하나 이상의 병태와 연관된 증상의 심각도 또는 빈도가 완화되거나 감소하는 것을 의미하며, 용어 "예방하다"는 이러한 증상의 후속 발생이 없거나 이러한 발생 사이의 빈도가 연장되는 것을 의미한다.

- [0040] 용어 "병태"는 DNA 저메틸화, RNA 저메틸화 및 단백질 저메틸화와 연관된 질환, 부상, 장애, 적응증 및/또는 고통(affliction)을 포함한다.
- [0041] 앞에서 명기한 바와 같이, IPA 불안정성과 관련하여 잠재적인 문제가 존재하며, IPA의 순도가 항상 보장되는 것은 아니고 일부 불순물을 함유할 수 있다. 또한, IPA 자체는 물에 난용성이다. 대조적으로, SAME 또는 그의 염의 IPA 염은 매우 수용성이다. 따라서 SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 IPA 염을 제조함으로써 본 명세서에 개시된 본 발명에 의해 IPA의 분해가 방지된다.
- [0042] 본 발명의 SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 IPA 염은 이전에 공지된 SAME의 염에 비해 더 오랜 기간 동안 실온에서 더욱 안정하다. 또한, 본 발명의 SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 IPA 염은 이전에 공지된 SAME 염과 종종 연관되는 위장장애를 유발하지 않는다. 이와 관련하여, 그리고 실온에서 SAME의 주지된 경시 분자 불안정성에 비추어, 본 발명의 SAME 또는 그의 염의 IPA 염은 장기간에 걸쳐 실온 상태를 견딜 수 있다. 이러한 특성은 본 발명의 SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 IPA 염이 보관될 수 있는 유통기한 조건을 배가시킨다.
- [0043] 또한, 본 발명의 SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 IPA 염은 이전에 공지된 SAME 염과 비교하여 부가적인 이점, 예컨대 제조 용이성 및 투여 편의성을 나타낸다.
- [0044] 따라서, 본 발명의 SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 IPA 염은 SAME 및 IPA 양자 모두에 대해 더욱 안정한 입체배좌(configuration)를 제공함으로써 단번에 이들 생물학적으로 중요한 활성 분자 각각의 주된 안정성 문제를 본질적으로 해결한다. 특히, 본 발명의 SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 IPA 염은 불안정한 SAME 분자에 입체장애(steric hindrance)를 제공하여 경시적으로 훨씬 더 안정한 분자를 얻게 한다. 또한, 본 발명의 SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 IPA 염은 그 안에 혼입된 IPA 분자를 매우 경제적인 비용으로 수용성으로 만든다.
- [0045] 이용성, 투여 및 약제학적 조성물
- [0046] 본 발명의 SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 IPA 염은 DNA 저메틸화, RNA 저메틸화, SAME의 혈액 및 조직 수준 저하와 연관된 광범위한 장애 또는 병태에 대해 상당한 이용성을 나타낸다.
- [0047] 따라서, 일 실시형태에서, 본 발명의 SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 IPA 염은 SAME 수준을 증가시킬 필요가 있는 포유동물, 바람직하게 인간에게 투여된다. 다른 실시형태에서, 본 발명의 SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 IPA 염은 DNA 저메틸화, RNA 저메틸화, SAME의 혈액 및 조직 수준 저하 또는, 그의 발현을 제어하거나 변조하고자 하는 유전자의 특정 프로모터 영역의 저메틸화와 연관되거나 이에 의해 유발된 병태 또는 장애를 예방하거나 치료할 필요가 있는 포유동물, 바람직하게 인간에게 투여된다. 예를 들면, 노화 질환, 예컨대 암, 골관절염, 경도 인지 장애, 알츠하이머병 및 기타에서 발생하는 전반적인 DNA 저메틸화와 연관된 질환을 치료하거나 예방하기 위해 게놈의 LINE-1 또는 ALU 요소의 저메틸화를 제어하는데 본 발명의 SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 IPA 염이 사용된다.
- [0048] 추가 실시형태는 본 발명의 SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 IPA 염을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 노화, 골관절염, 류마티스성 관절염, 섬유근통, 일과성 열감과 같은 폐경증상, 정신과 장애, 염증성 병태, 중추신경계(CNS) 장애, 통증 장애, 간 장애, 신경 장애, 위장 장애, 심혈관 장애, 산화적 또는 자유-라디칼 손상에 의해 전체 또는 부분적으로 유도된 장애, 및 암으로 구성된 그룹 중에서 선택된 장애를 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 상기 장애는 알콜성 간 질환, 지방간 질환 및 간염으로 구성된 그룹 중에서 선택되는 간 장애이다. 일부 실시형태에서, 상기 장애는 염증성 장 질환(IBD), 크론병 또는 궤양성 대장염(UC)과 같은 위장 장애이다.
- [0049] 일부 실시형태에서, 본 발명의 SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 IPA 염으로 치료하고자 하는 장애는 우울 장애, 식이 장애, 조울증, 남용 장애, 의존 장애, Axis II 장애, 정신이상 및 불안 장애로 구성된 그룹 중에서 선택되는 정신과 장애이다. 일부 실시형태에서, 정신과 장애는 범불안 장애, 외상후 스트레스 장애, 공황 장애 및 강박 장애로 구성된 그룹 중에서 선택된 불안 장애이다. 일부 실시형태에서, 정신과 장애는 우울 장애이다. 일부 실시형태에서, 우울 장애는 주요 우울 장애, 경증 우울, 짧은 재발성 우울, 기분저하증 또는 우울증 NOS이다.
- [0050] 일부 실시형태에서, 본 발명의 SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 IPA 염으로 치료하고자 하는 정신과 장애는 신경성 식욕 항진증, 신경성 무식욕증, 폭식증, 비만 또는 식이 장애 NOS로 구성된 그룹 중에서 선택되

는 식이 장애이다. 일부 실시형태에서, 정신과 장애는 조울증, 남용 장애 또는 의존성 장애이다. 일부 실시형태에서, 정신과 장애는 알콜, 코카인, 코데인, 옥시코돈, 하이드로코돈 또는 기타 아편제의 남용 또는 이에 대한 의존성을 포함한다.

[0051] 일부 실시형태에서, 본 발명의 SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 IPA 염으로 치료하고자 하는 정신과 장애는 경계성 인격 장애로부터 선택되는 Axis II 장애이다. 일부 실시형태에서, 상기 장애는 파킨슨 증후군 또는 알츠하이머병과 같은 CNS 장애이다. 일부 실시형태에서, 상기 장애는 전신성 홍반성 낭창, 라이 증후군, 류마티스열, 알레르기성 비염, 중증근무력증, 측두동맥염, 맥관염, 건선, 아토피성 피부염, 주사비, 습진, 전신 탈모증, 피부 경화증, 수포창, 접촉성 피부염, 강직성 척추염, 피부근염, 다발성근염, 복강 스프루, 길랭-바레 증후군, 다발경색치매, 뇌혈관 발작후 재관류 손상, 애디슨병, 하시모토 갑상선염, 천식, 상기도염 증상, 만성 기관지염, 죽상 동맥경화증, 악성 빈혈, 자가면역 간염, 전립선염, 골반내 염증성 질환, 구드패스츄어 증후군, 베게너 육아종증, 만성 신장염, 쇼그렌 증후군 또는 알러지성 결막염을 포함하는 그룹 중에서 선택되는 염증성 장애이다.

[0052] 일부 실시형태에서, 본 발명의 SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 IPA 염으로 치료하고자 하는 장애의 원인으로는 산화적 또는 자유-라디칼 손상을 들 수 있으며, 만성 피로 증후군, 측두 동맥염, 맥관염, 다발경색 치매, 만성 폐기종 또는 만성 신장염을 포함하는 그룹 중에서 선택된다. 일부 실시형태에서, 상기 장애는 간, 결장, 직장, 난소, 요도, 고환, 방광, 유방, 위, 식도, 췌장, 머리 및 목의 하나 이상에서 발생하는 암, 및 신 암종, 혈액암, 피부암 및 임의의 전이성 암으로 구성된 그룹 중에서 선택되는 암이다. 또한, 본 발명의 SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 IPA 염은 화학요법 및 방사선 요법 저항성 암세포를 예방하거나 치료하는데 유용하다.

[0053] 본 발명은 추가로 본 발명의 SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 IPA 염의 유효량을 투여함으로써 세포, 예컨대 형질전환세포의 비정상적 성장을 저해하는 방법을 제공한다. 세포의 비정상적 성장은 정상적인 조절 메커니즘에 무관한 세포 성장을 지칭한다(예: 접촉 방해의 상실). 이는 직접적으로 성장 중지, 말기 분화 및 /또는 암세포의 아포토시스를 유발하고 간접적으로는 종양의 신혈관 형성을 저해하는 양자 모두의 종양 성장 저해를 포함한다.

[0054] 본 발명은 또한 이러한 치료를 필요로 하는 대상, 예를 들어, 포유동물(바람직하게 인간)에 본 발명의 SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 IPA 염의 유효량을 투여함에 의해 종양 성장을 저해하는 방법을 제공한다. 특히, 본 발명은 본 발명의 SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 IPA 염의 유효량을 투여함에 의해 종양 성장을 저해하는 방법을 제공한다.

[0055] 저해될 수 있는 종양의 예로는 폐암(예: 선암 및 비-소세포폐암 포함), 췌장암(예: 췌장암종, 예를 들어, 외분비 췌장암종), 결장암(예: 결직장암종, 예를 들어, 결장선암 및 결장선종), 전립선암, 예를 들어, 진행성 질환, 림프계통의 조혈 종양(예: 급성 림프성 백혈병, B-세포 림프종, 버킷 림프종), 골수성 백혈병(예를 들어, 급성 골수성 백혈병(AML)), 소낭 갑상선암, 골수형성이상 증후군(MDS), 간엽성 종양(예: 섬유육종 및 횡문근육종), 흑색종, 기형암종, 신경아세포종, 신경교종, 피부 양성 종양(예: 각화극 세포종), 유방암종(예: 진행성 유방암), 신장암종, 난소암종, 방광암종 및 표피암종을 들 수 있지만, 이로 제한되는 것은 아니다.

[0056] 본 발명의 SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 IPA 염은 기타 치료 목적, 예를 들어, a) 암의 치료를 위한 종양의 조사 전, 중 또는 후에 본 발명에 따른 새로운 염을 투여함으로써 방사선 요법에 대해 종양을 민감하게 함; b) 관절병증 및 골병리학적 병태, 예컨대 류마티스성 관절염, 골관절염, 소아 관절염, 통풍, 다발성 관절염, 건선성 관절염, 강직성 척추염 및 전신성 홍반성 낭창의 치료; c) 평활근 세포 증식, 예컨대 혈관 증식성 장애, 죽상 동맥경화증 및 재발 협착증의 저해; d) 염증성 병태 및 피부 병태, 예컨대 궤양성 대장염, 크론병, 알러지성 비염, 이식편대숙주 질환, 결막염, 천식, ARDS, 베체트병, 이식거부, 두드러기, 알러지성 피부염, 알로페시아 그레아타(alopecia greata), 피부 경화증, 발진, 습진, 피부근염, 여드름, 당뇨병, 대사증후군, 전신성 홍반성 낭창, 카와사키병, 다발성 경화증, 기종, 낭포성 섬유증 및 만성 기관지염의 치료; e) 자궁내막증, 자궁근종, 기능성 자궁 출혈 및 자궁내막 증식증의 치료; f) 눈의 혈관신생, 예컨대 망막 및 맥락막에 영향을 주는 맥관병의 치료; g) 심장 기능장애의 치료; h) 면역억제 병태의 저해, 예컨대 HIV 감염의 치료; i) 신장 기능장애의 치료; j) 내분비 장애의 억제; k) 글루코스 신합성 기능장애의 저해; l) 신경병리, 예를 들어, 파킨슨병 또는, 인지장애를 유발하는 신경병리, 예를 들어, 알츠하이머병 또는 폴리글루타민 관련 신경질환의 치료; m) 신경근병리, 예를 들어, 근위축성 측삭 경화증의 저해; n) 척수성 근위축의 치료; o) 유전자의 강력한 발현에 의해 치료할 수 있는 기타 병리학적 병태의 치료; p) 유전자 요법의 증진에 사용될 수 있다.

- [0057] 이를 필요로 하는 포유동물, 바람직하게 인간에 대한 본 발명의 SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 IPA 염의 투여는 국소(예컨대 안과용 및 점막, 예컨대 질 및 직장 전달), 폐, 예를 들어, 분말 또는 에어로졸의 흡입(inhalation) 또는 통기(insufflation), 예컨대 분무기 사용; 기관내, 비강내, 상피 및 경피), 경구 또는 비경구를 통해 이루어질 수 있다. 비경구 투여는 정맥내, 동맥내, 피하, 복강내 또는 근육내 주사 또는 주입; 또는 두개내, 예를 들어, 척추강내 또는 심실내 투여를 포함한다.
- [0058] 바람직한 실시형태에서, 본 발명의 SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 IPA 염은 본 발명의 SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 IPA 염의 적어도 하나의 실질적으로 광학적으로 순수한 디아스테레오머 형태 또는 (S,S)-S-아데노실-L-메티오닌 및 (R,S)-S-아데노실-L-메티오닌, 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 IPA 염의 비-라세믹 혼합물을 함유하는 약제학적, 예방적 또는 화장용 조성물로서 적어도 하나의 약제학적, 예방적 또는 화장용으로 허용되는 담체 또는 희석제 및 하나의 흡수 촉진제와 조합하여 포유동물, 바람직하게 인간에게 투여된다.
- [0059] 투여는, 치료하고자 하는 병태의 유형 및 위치에 따라 바람직한 방식으로 전신 또는 국소 적용으로 이루어질 수 있다. 투여 빈도는 조정될 수 있으며, 전형적으로는 매일 투여에 의해 이루어진다. 앞에서 열거된 병태를 치료하기 위한 본 발명의 SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 IPA 염의 전형적인 경구 투여량은 개별 용량으로 제공되는 경우 환자당 일일 100 mg 내지 1600 mg 또는 그 이상의 범위이다. SAME 또는 그의 약제학적 염의 정맥내 투여량은 이미 정립되어 있으며, 경구 투여량은 현재 인돌-3-프로피온산에 대해 정립되어 있는 상태이다.
- [0060] 예방적 또는 치료적 적용의 경우, 본 발명의 맥락에서 포유동물, 바람직하게 인간에게 투여되는 용량은 포유동물에서 시간경과에 따라 유익한 반응을 달성하기에 충분하여야 한다(즉, 유효량). 당업자에게는 명백할 이 양은 개체의 종류, 연령 및 체중; 치료하고자 하는 질환의 유형; 일부 경우에 개체의 성별; 및 질환에 걸릴 위험이 있거나 걸려있는 개체를 치료하는 경우 일상적으로 고려하는 기타 요인들에 따라 좌우된다.
- [0061] 본 발명의 SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 IPA 염의 국소 투여는 경피 패치, 연고, 로션, 크림, 젤, 드롭제, 좌제, 스프레이, 액제 및 분말의 이용을 포함할 수 있다.
- [0062] 일부 실시형태에서, 본 발명의 SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 IPA 염의 투여에 부가하여, 비타민 B12(B12), 폴레이트(엽산 또는 그의 생물학적으로 허용되는 염) 또는 양자 모두 중에서 선택되는 하나 이상의 부가적인 약제학적 제제를 이를 필요로 하는 포유동물, 바람직하게 인간에게 동시에 투여할 수 있다.
- [0063] 본 발명의 SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 IPA 염 및 약제학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약제학적 조성물을 당업자에게 공지된 방법에 의해 제조하여 본 발명의 SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 IPA 염의 투여에 사용할 수 있다. 약제학적으로 허용되는 관용적인 담체가 당업계에 주지되어 있다.
- [0064] 예를 들어, 본 발명의 SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 IPA 염을 약제학적으로 허용되는 담체와 긴밀한 혼합물로 조합하여 본 발명의 약제학적 조성물을 제조할 수 있으며, 담체는 투여에 바람직한 제조 형태에 따라 다양한 형태를 취할 수 있다. 이들 약제학적 조성물은 바람직하게 경구, 직장, 경피 또는 비경구 주사로 투여하기에 적합한 단위 투여량 형태를 취한다. 예를 들어, 본 발명의 SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 IPA 염을 경구 투여량 형태로 제조함에 있어서, 보통의 약제학적 매질, 예를 들어, 경구 액제, 예컨대 현탁액, 시럽, 엘릭시르 및 용액의 경우 물, 글리콜, 오일, 알콜 등; 또는 산제, 환제, 캡슐제 및 정제의 경우 고체 담체, 예컨대 전분, 당, 고령토, 윤활제, 결합제, 붕해제 등의 임의의 것이 채용될 수 있다.
- [0065] 투여의 용이성으로 인하여, 정제 및 캡슐제가 가장 유리한 경구 투여량 단위 형태이며, 이 경우에 약제학적 고체 담체가 자명하게 채용된다. 비경구 조성물의 경우, 담체는 보통 최소 상당 부분 멸균수를 포함하지만, 예를 들어 용해도 보조를 위해, 기타 성분들이 포함될 수 있다. 예를 들어, 담체에 식염수, 글루코스 용액 또는 식염수와 글루코스 용액의 혼합물이 포함되는 주사용 용액을 제조할 수 있다. 적절한 액체 담체, 현탁제 등이 이용될 수 있는 주사용 현탁액을 또한 제조할 수 있다.
- [0066] 경피 투여에 적합한 본 발명의 약제학적 조성물에서, 담체는 임의로 침투 촉진제 및/또는 적합한 습윤제를 포함하며, 이는 적은 비율로 임의의 성질을 나타내는 적합한 첨가제와 임의로 조합되고, 여기서 첨가제는 피부에 유의한 유해 효과를 유발하지 않는다. 상기 첨가제는 피부에 대한 투여를 촉진할 수 있고/있거나 목적하는 조성물을 제조하는데 도움이 될 수 있다. 이들 조성물은 다양한 방식으로, 예를 들어, 경피 패치, 점적제(spot-on) 또는 연고로서 투여될 수 있다.

- [0067] 상기 언급된 약제학적 조성물을 투여 용이성 및 투여량의 균일성을 위해 단위 투여량 형태로 제형화하는 것이 특히 유리하다. 본 명세서 및 특허청구범위에서 사용되는 단위 투여량 형태는 단일(unitary) 투여량으로 적합한 물리적으로 분리된 단위를 지칭하며, 각 단위는 필요한 약제학적 담체와 함께 목적하는 치료 효과를 나타내기 위해 계산된 활성 성분의 소정량(predetermined quantity)을 함유한다. 이러한 단위 투여량 형태의 예로는 정제((눈금이 있거나 코팅된 정제 포함), 캡슐제, 환제, 분말 팩킷, 웨이퍼, 주사용 용액 또는 현탁액, 찻숟가락 하나의 분량, 큰 숟가락 하나의 분량 등, 및 그의 분리된 다회분을 들 수 있다.
- [0068] 당업자는 본 발명의 SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 IPA 염의 유효량을 쉽게 결정할 수 있다. 일반적으로, 본 발명의 SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 IPA 염의 치료 유효량은 0.005 mg/kg 내지 100 mg/kg 체중, 및 특히 0.5 mg/kg 내지 10 mg/kg 체중일 것으로 고려된다. 필요한 용량을 하루 중에 적절한 간격으로 2회, 3회, 4회 또는 그 이상의 하위 용량(sub-dose)으로 투여하는 것이 적절할 수 있다. 상기 하위-용량은, 예를 들어, 단위 투여량 형태 당 0.5 내지 500 mg, 및 특히 10 mg 내지 500 mg의 활성 성분을 함유하는 단위 투여량 형태로 제형화될 수 있다.
- [0069] 본 발명의 SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 IPA 염의 경우 투여용 약제학적 조성물은 또한 증점제, 향미제, 희석제, 유화제, 분산 보조제, 결합제 또는 흡수 촉진제를 포함할 수 있다.
- [0070] 본 발명의 약제학적 조성물에서 흡수 촉진제는 활성 성분 중량의 약 0.0025% 내지 약 100%일 수 있다. 그러나, 본 발명의 SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 IPA 염의 중량에 대한 흡수 촉진제의 최적의 농도는 본 발명의 SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 IPA 염의 흡수에 있어서 최대 증가를 유발하는 흡수 촉진제의 농도 또는 양이다. 이 양 또는 농도는 공지의 약제학적 분야에 기재된 약동력학 분석에 의해 쉽게 확인된다.
- [0071] 전형적인 흡수 촉진제는 키토산, 키토산 유도체(키토산 클로라이드, 트리메틸 키토산, 트리메틸 키토산 단일중합체를 포함하지만 이로 제한되지는 않음), 폴리(아크릴산), 사이토칼라신 D; 카프레이트, 스페르민, 타우로콜레이트(나트륨 및 기타 염 형태 포함) 및 기타 담즙산 및/또는 이들의 염(예컨대 콜산, 소듐 콜레이트 또는 포타슘 콜레이트), 및 폐쇄 소대 독소(zonula occludens toxin) 또는 클로스트리듐 페르프린젠 엔테로톡신에서 유래된 펩티드, 포화 및/또는 불포화 지방산 또는 이들의 상응하는 카복실레이트염(예: C6-C24 지방산 또는 그의 카복실레이트염, 특히 C8-C22 지방산 또는 그의 카복실레이트염, C10-C20 지방산 또는 그의 카복실레이트염, C6-, C7-, C8-, C9-, C10-, C11-, C12-, C13-, C14-, C15-, C16-, C17-, C18-, C19-, C20-, C21-, C22-지방산 또는 그의 카복실레이트염), 포화 및 불포화 설폰산 및 그의 설포네이트염(예: C6-C24 설폰산 또는 설포네이트염, 특히 C8-C22 설폰산 또는 설포네이트염, C10-C20 설폰산 또는 설포네이트염, C8-, C9-, C10-, C11-, C12-, C13-, C14-, C15-, C16-, C17-, C18-, C19-, C20-, C21-, C22-설폰산 또는 설포네이트염); 양쪽성 계면활성제(예: 3-(N,N-디메틸팔미틸암모니오)프로판설포네이트, 데실디메틸 암모니오 프로판 설포네이트, 미리스틸디메틸 암모니오 프로판 설포네이트, 코카미도프로필 하이드록시설포타인(ChemBetaine.RTM.CAS), 올레일 베타인(ChemBetaine.RTM. Oleyl), 또는 팔미토일 카르니틴 클로라이드); 지방 아민(예: C6-C24 지방 아민, 특히 C8-C22 지방 아민, C10-C20 지방 아민, C6-, C7-, C8-, C9-, C10-, C11-, C12-, C13-, C14-, C15-, C16-, C17-, C18-, C19-, C20-, C21-, C22-지방 아민), 및 기타 유기산(예: 타르타르산) 및 사이클로텍스트린(예: 알파-사이클로텍스트린, 베타-사이클로텍스트린 또는 감마-사이클로텍스트린) 및 라브라솔을 포함하는 더욱 최근에 동정된 제제로 구성된 그룹 중에서 선택된다.
- [0072] 흡수 촉진제로 사용될 수 있는 예시적인 지방산으로는 헥사노산, 헵타노산, 카프르산, 라우르산, 미리스탄산, 팔미트산, 스테아르산, 아라키드산, 미리스톨레산, 팔미톨레산, 사피엔산, 올레산, 리놀레산, α-리놀렌산, 아라키돈산, 에이코사헵타에노산, 에루크산, 도코사헥사에노산을 들 수 있다.
- [0073] 흡수 촉진제로 사용될 수 있는 예시적인 카복실레이트염으로는 소듐 또는 포타슘 카프레이트, 카프릴레이트, 라우레이트, 미리스테이트, 팔미테이트, 스테아레이트, 아라키테이트, 미리스톨리에이트, 팔미톨리에이트, 사피에네이트, 올리에이트, 리놀리에이트, α-리놀레네이트, 아라키도네이트, 에이코사헵타에노에이트, 에루케이트, 도코사헥사에노에이트를 들 수 있다. 구체적인 카복실레이트염으로는 소듐 카프레이트, 소듐 카프릴레이트 및 소듐 라우레이트를 들 수 있다. 사용될 수 있는 구체적인 지방 아민으로는 라우릴 아민(N-도데실아민), 데실아민, 노닐아민, 옥틸아민, 헵틸아민 또는 헥실아민을 들 수 있다.
- [0074] 흡수 촉진제로 사용될 수 있는 예시적인 설폰산으로는 옥탄 설폰산, 데칸 설폰산(예: 소듐 1-데칸설포네이트), 도데칸 설폰산, 테트라데칸 설폰산, 헥사데칸 설폰산, 옥타데칸 설폰산, 에이코산 설폰산, 도코산 설폰산 또는 테트라코산 설폰산을 들 수 있다. 언급될 수 있는 구체적인 설폰산으로는 디옥틸 소듐 설포숙시네이트를 들 수

있다.

- [0075] 일부 실시형태에서, 본 발명의 약제학적 조성물에 사용되는 흡수 촉진제는 아실 카르니틴과 같은 양쪽성 계면활성제일 수 있다. 일부 실시형태에서, 상기 아실 카르니틴은 팔미토일 카르니틴, 라우로일 카르니틴, 스테아로일 카르니틴, 미리스토일 카르니틴, 데카노일 카르니틴 또는 그의 염이다. 일부 실시형태에서, 상기 양쪽성 계면활성제는 설포베타인이다. 일부 실시형태에서, 상기 설포베타인은 설포베타인-10, 설포베타인-12, 설포베타인-14, 설포베타인-16 또는 설포베타인-18이다.
- [0076] 본 발명은 또한 부가적으로, 생리학적으로 허용되는 투여량의 본 발명의 SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 IPA 염과 적어도 하나의 흡수 촉진제를 포함하는 약제학적 조성물에 관한 것이다. 바람직한 실시형태에서, 상기 흡수 촉진제는 생리학적으로 허용되는 투여량의 본 발명의 SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 IPA 염과 공동-제형화된다.
- [0077] SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 IPA 염의 제조
- [0078] 일반적으로 본 발명의 SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 IPA 염은 1) 인돌-3-프로피온산(또는 그의 염)을 물에 첨가하는 단계; 2) S-아데노실-L-메티오닌 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 1.0 내지 6.9의 pH에서 인돌-3-프로피온산 용액에 첨가하는 단계; 3) 반응 혼합물을 교반하는 단계; 4) 반응 혼합물로부터 산물을 분리하는 단계; 및 임의로 5) 상기 산물을 동결건조하여 안정한 분말을 제조하는 단계에 의해 제조된다.
- [0079] 최종 동결건조를 통상의 방법으로 수행하여 100% 순도의 IPA 염을 얻는다. 임의의 건조 방법, 예를 들어, 스프레이 건조를 사용하여 분말을 얻을 수 있지만, 바람직한 방법은 동결건조이다.
- [0080] IPA 염의 안정성을 문헌(Bottiglieri, T. (1990), *Biomed Chromatogr*, 4(6):239-41)에 개시된 방법으로 평가할 수 있다.
- [0081] 하기 실시예는 본 발명의 SAME 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 IPA 염을 제조할 수 있는 합성 방법을 설명한다. IPA 자체는 물에 난용성이므로 인돌-3-프로피온산의 공지된 염을 하기 합성에서 사용할 수 있다. 이들 실시예는 본 발명을 설명하기 위해 제공되는 것이지 제한하고자 하는 것은 아니다. 따라서, 본 발명의 범위는 설명된 실시형태에 의해 결정되는 것이 아니라 첨부된 특허청구범위 및 이들의 법적 균등물에 의해 결정되어야 한다.
- [0082] 합성 실시예 1
- [0083] S-아데노실-L-메티오닌 *p*-톨루엔설포네이트 인돌-3-프로피오네이트
- [0084] A. HPLC 등급 물(2.5 mL) 중의 S-아데노실-L-메티오닌 *p*-톨루엔설포네이트염(100 mg, 0.128 mmol, Sigma Aldrich lot#021M5158V)의 교반된 용액에 탄산바륨(125 mg, 0.63 mmol)을 가하고 5분간 교반하고 다시 5분간 방치하였다. 생성된 S-아데노실-L-메티오닌 유리 염기를 침전된 *p*-톨루엔설포네이트염으로부터 여과하여 바로 인돌-3-프로피온산(IPA)(67 mg, 0.354 mmol, Sigma Aldrich lot # 1431484V)을 함유하는 바이알에 넣고 1시간 동안 격렬하게 교반하였다. 생성된 현탁액을 동결건조하여 백색 고체를 얻었다. 생성된 고체를 에틸 아세테이트(3x3 mL)로 세척하고 여과하였다. 여과된 고체를 건조시켜 109 mg의 S-아데노실-L-메티오닌 *p*-톨루엔설포네이트 인돌-3-프로피오네이트 염을 얻었다; ¹H NMR(300 MHz, D₂O) δ 8.14 (s), 7.6 (d), 7.34 (d), 7.2 (d), 6.98-7.09 (m), 5.97 (s), 4.80-4.83 (s), 4.2-4.6 (m), 3.2-3.91 (m), 2.7- 3.0 (m), 2.45 (t), 2.1-2.3 (s).
- [0085] B. 상기 에틸 아세테이트 세척액을 조합(combining)하고, 감압하에 농축시켜 55 mg의 인돌-3-프로피온산을 백색 고체로 얻었다; ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 7.6 (d, 1H), 7.34 (d, 1H), 6.98-7.09 (m, 3H), 2.9-3.0 (m, 2H), 2.65-2.35 (m, 3H).
- [0086] 합성 실시예 2
- [0087] S-아데노실-L-메티오닌 1,4-부탄디설포네이트 인돌-3-프로피오네이트

- [0088] HPLC 등급 물(20 mL) 중의 S-아데노실-L-메티오닌 1,4-부탄디설포네이트(4.10 g, 6.67 mmol, Sigma Aldrich lot#021 M5158 V) 용액을 0 °C로 냉각시키고, 용액의 pH를 측정하고(pH 1.6), 0-5 °C에서 10% 수산화나트륨을 서서히 첨가하여 pH 7로 조정하였다. 메탄올 중의 인돌-3-프로피온산(5.50 g, 26.7 mmol, Sigma Aldrich lot # 1431484V) 용액을 가하고 반응 혼합물을 메탄올로 희석하여 약 5.3의 pH를 나타내는 균일한 용액으로 만들었다. 30분간 용액을 교반하고 감압하에 농축시켜 메탄올을 제거하였다. 잔류 수용액을 동결건조하여 물을 제거하였다. 이렇게 얻어진 건조 분말을 메탄올에 현탁시키고 10분간 교반하여 과량의 인돌-3-프로피온산을 제거하였다. 여과하여 염을 제거하고 메탄올로 세척하여 4.0 그램의 S-아데노실-L-메티오닌 1,4-부탄디설포네이트 인돌-3-프로피오네이트염을 얻었다; ¹H NMR (300 MHz, D₂O) δ 8.14 (d), 7.54 (d), 7.34 (d), 6.98-7.09 (m), 5.97 (d), 4.80-4.83 (t), 4.42-4.48 (m), 3.2-3.91 (m), 2.80-2.89 (m), 2.20-2.23 (m), 1.70-1.75 (m). 박막 크로마토그래피로 산물을 분석한 결과 유리 인돌-3-프로피온산이 존재하지 않은 것으로 나타났으며; NMR 분석 결과 19.4%의 인돌-3-프로피온산이 포함된 것으로 나타났다.
- [0089] 합성 실시예 1 및 합성 실시예 2의 산물의 UV 분석
- [0090] 합성 실시예 1의 산물과 합성 실시예 2의 산물에 대해 자외선-가시광선 흡수 스펙트럼을 얻었다(각각 도 1 및 도 2 참조). 동시에, 대조군의 목적으로 바탕 샘플(blank sample)에 대해서도 자외선-가시광선 흡수 스펙트럼을 얻었다(도 5 참조).
- [0091] 그 후, 합성 실시예 1의 산물과 합성 실시예 2의 산물을 실온에서 8개월간 보관한 다음 보관된 산물에 대해 자외선-가시광선 흡수 스펙트럼을 얻었다(도 2 및 도 4 참조). 동시에, 대조군의 목적으로 바탕 샘플에 대해서도 자외선-가시광선 흡수 스펙트럼을 얻었다(도 6 참조).
- [0092] SAmE 분해 산물d1 HPLC에 의해서도, UV 흡수 스펙트럼에 의해서도 검출되지 않았으므로, 이로부터 SAmE 분자가 실온에서 8개월간 안정하게 유지됨을 알 수 있었다. 이는, 예를 들어, 그의 안정성이 본 명세서에 기재된 것과 동일한 방식으로 결정될 수 있는 기존에 공지된 SAmE의 염, 예컨대 토실레이트 또는 1,4-부탄디설포네이트염의 불안정한 성질과는 아주 대조적이었다. 또한, 얻어진 UV 흡수 스펙트럼의 어느 것에서도 420 nm에서 최대 흡수 피크가 나타나지 않았으며, 이는 혼합된 IPA의 경우 독성 분해 산물의 부재를 시사한다.
- [0093] 생물학적 실시예 1
- [0094] 시험관내 투과성 어세이
- [0095] 본 발명의 SAmE 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 IPA 염의 투과성을 증가시킴에 있어서 특정 흡수 촉진제의 효능을 측정하기 위하여 하기 시험관내 투과성 어세이를 실행하였다(참조: Stewart, BH, *et al.* (1995) "Comparison of intestinal permeabilities determined in multiple *in vitro* and *in situ* models: Relationship to absorption in humans," *Pharm. Res.* 12:693).
- [0096] 시험 화합물
- [0097] 시험 화합물은 SAmE 1,4-부탄디설포네이트의 IPA 염(합성 실시예 2의 산물)(SAmEIPA)이었다. 어세이에 사용된 시험 화합물의 농도는 2 mM이었다.
- [0098] 흡수 촉진제
- [0099] 본 어세이에서 시험 화합물과 함께 시험된 흡수 촉진제는 트리메틸 키토산 단일중합체(HPTMC), 트리메틸 키토산(TMC) 및 키토산 HCl(키토산)이었다.
- [0100] 시험 제형
- [0101] 하기 제형을 시험하였다:
- [0102] 1. SAmEIPA(흡수 촉진제 무첨가)
- [0103] 2. SAmEIPA 및 0.025% 키토산
- [0104] 3. SAmEIPA 및 0.25% 키토산
- [0105] 4. SAmEIPA 및 2.5% TMC

- [0106] 5. SAmEIPA 및 2.5% HPTMC
- [0107] 대조군
- [0108] 라니티딘(ranitidine)을 저 투과성 대조군으로 사용하고 와파린(warfarin)을 고 투과성 대조군으로 사용하였다.
- [0109] 분석법
- [0110] ESI 양성 또는 음성 이온화 모드에 의해 각각의 시험 제형에 대한 신호를 최적화하였다. 단편화 전압(fragmenter voltage)을 최적화하기 위하여 MS2 스캔 또는 SIM 스캔을 사용하였고, 분석에 대한 최상의 단편을 동정하기 위해 산물 이온 분석을 이용하였으며, 산물 이온 또는 MRM 스캔을 사용하여 충돌 에너지를 최적화하였다. 제형의 이온화 용이성을 표시하는 이온화 순위를 정하였다.
- [0111] Agilent 1200 HPLC 및 CTC PAL 냉각 자동샘플러와 커플링된 Agilent 6410 질량분석기(모두 MassHunter 소프트웨어(Agilent)에 의해 제어됨)를 사용하여 샘플을 LC/MS/MS로 분석하였다. 아세토니트릴-물 구배 시스템을 사용하여 C18 역상 HPLC 칼럼(Agilent, Waters, 또는 등가물)에서 분리한 후, 피크를 MRM 모드의 ESI 이온화를 사용하여 질량 분석기(MS)로 분석하였다.
- [0112] SAmE 및 IPA의 투과성을 독립적으로 측정하였다.
- [0113] 실험 조건
- [0114] 조직 배양 플라스크에서 성장한 Caco-2 세포를 트립신처리하고, 배지에 현탁시키고, 현탁액을 96-웰 포맷의 콜라겐-코팅된 BioCoat 세포 환경의 웰에 적용하였다. 3주간 2-일 간격으로 먹이를 주면서 세포를 성장시키고 분화시켰다.
- [0115] 정점(Apical)에서 기저(Basolateral)로의(A→B) 투과성의 경우, 시험 제형을 정점(A) 쪽에 첨가하고 투과량을 기저(B) 쪽에서 측정하며; 기저에서 정점으로의(B→A) 투과성의 경우, 시험 제형을 B 쪽에 첨가하고 투과량을 A 쪽에서 측정하였다. A-쪽 완충액은 수송 완충액(10 mM HEPES 중의 1.98 g/L 글루코스, 1x 헥스의 평형 염 용액) pH 6.5 중의 100 μ M 루시퍼 옐로우 염료(Lucifer yellow dye)를 함유하였으며, B-쪽 완충액은 pH 7.4의 수송 완충액이었다. 이들 완충액과 함께 CaCo-2 세포를 2 시간 동안 인큐베이션하고, 수용기(receiver) 쪽 완충액은 LC/MS/MS에 의한 분석을 위해 제거하였다.
- [0116] Caco-2 세포 단일층이 적당하게 형성되었는지 확인하기 위해, 세포 완충액의 분취량을 형광으로 분석하여 불투과성 염료 루시퍼 옐로우의 수송을 측정하였다.
- [0117] 겉보기 투과성(P_{app})으로 데이터를 표시하였다.
- [0118] 결과
- [0119] 어세이 결과를 하기 표 1에 나타내었다:

표 1

시험 제형	분석물	평균 A→B P_{app}	비고
라니티딘	라니티딘	0.3	저 투과성 대조군
와파린	와파린	40.1	고 투과성 대조군
SAmEIPA	SAmE	0.20	
SAmEIPA 및 0.025% 키토산	SAmE	0.98	4.9배 증가
SAmEIPA 및 0.25% 키토산	SAmE	1.9	9.5배 증가
SAmEIPA 및 2.5% TMC	SAmE	0.93	4.7배 증가
SAmEIPA 및 2.5% HPTMC	SAmE	7.5	37.5배 증가
SAmEIPA	IPA	0.20	
SAmEIPA 및 0.025% 키토산	IPA	0.98	4.9배 증가
SAmEIPA 및 0.25% 키토산	IPA	1.9	9.5배 증가
SAmEIPA 및 2.5% TMC	IPA	0.93	4.7배 증가
SAmEIPA 및 2.5% HPTMC	IPA	7.5	37.5배 증가

[0121]

논의

[0122]

Caco-2 세포주는 인간 결장(colorectal) 암종으로부터 유래된 것으로서 위장 약물 흡수 연구의 경우 시험관내 세포 배양 모델로 광범위하게 사용된다. 이들 모델에서는, 순수한 세포주가 반-투과성 막에서 성장한다. 약물 제형을 세포 단일층의 정점 또는 기저 쪽에 위치시키고 막의 다른 쪽 약물 농도를 측정하여 수송을 결정한다.

[0123]

예를 들어, S-아데노실-L-메티오닌 1,4-부탄디설포네이트 인돌-3-프로피오네이트염의 Caco-2 투과성에 대한 흡수 촉진제(및 구체적으로 융합막 개방제(tight junction opening agent), 예컨대키토산, 키토산 클로라이드, 트리메틸 키토산 및 트리메틸 키토산 단일중합체)의 효과를 흡수 촉진제를 첨가하지 않은 S-아데노실-L-메티오닌 1,4-부탄디설포네이트 인돌-3-프로피오네이트염의 흡수와 비교하였다. 와파린은 고 투과성 표지자이며, 쉽게 흡수되는 분자의 양성 대조군으로 사용되었다.

[0124]

상기 표 1의 결과는, 낮은 겔보기 투과 계수에 의해 증명되는 바와 같이, 어떤 흡수 촉진제도 첨가되지 않은 S-아데노실-L-메티오닌 1,4-부탄디설포네이트 인돌-3-프로피오네이트염의 경우 S-아데노실-L-메티오닌의 흡수가 낮음을 보여준다.

[0125]

S-아데노실-L-메티오닌 1,4-부탄디설포네이트 인돌-3-프로피오네이트염의 측정된 투과성 수치는 고 투과성 표지자 와파린에서 측정된 것보다 훨씬 낮았다. S-아데노실-L-메티오닌 투과성의 상이한 증가 배수에 의해 나타낸 바와 같이 상이한 흡수 촉진제는 상이한 투과성 촉진 프로파일을 보여주었고, 투과성의 가장 큰 증가는 흡수 촉진제로 트리메틸 키토산 단일중합체를 사용하는 경우 일어났다(37.5 배 증가).

[0126]

인돌-3-프로피온산 역시 잘 흡수되지 않으므로 상이한 흡수 촉진제의 효과가 본 어세이에서도 연구되었다. 그러나, S-아데노실-L-메티오닌의 현저한 투과성 증가와 대조적으로, 인돌-3-프로피온산은 다양한 흡수 촉진제를 사용하여 약간의 투과성 증가를 보였다.

[0127]

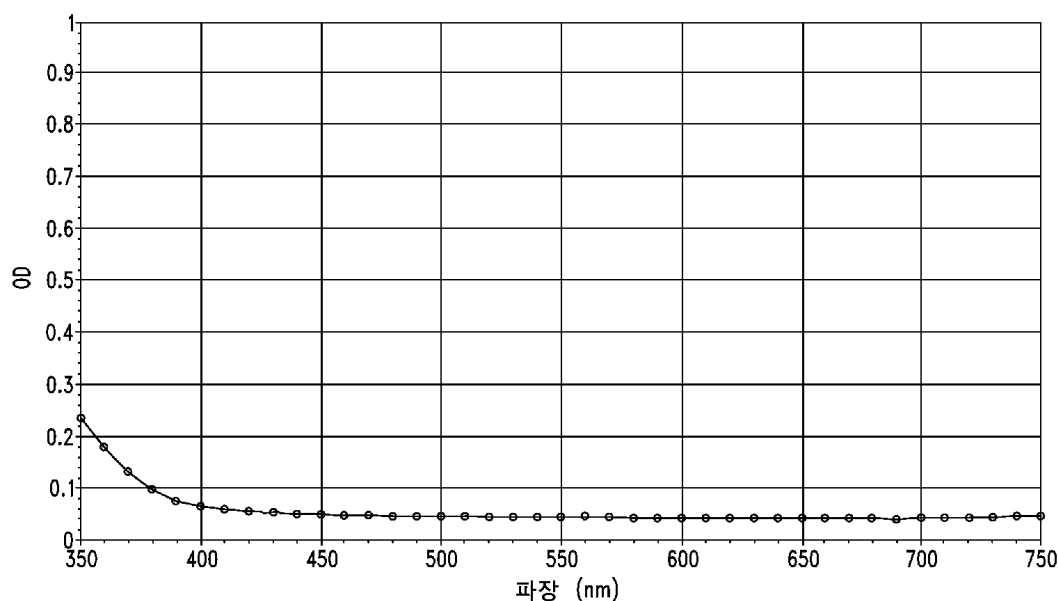
본 명세서에서 인용된 모든 미국 특허, 미국 특허 출원 공개, 미국 특허 출원, 외국 특허, 외국 특허 출원 및 비-특허 공보는 그 전체 내용이 원용에 의해 본 명세서에 포함된다.

[0128]

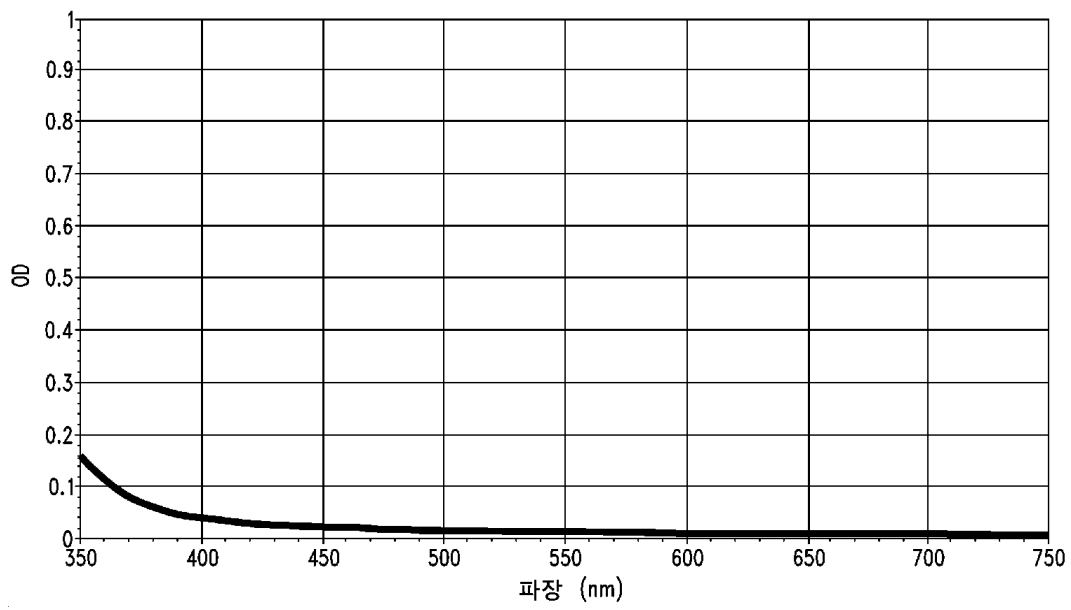
상기 본 발명은 이해를 돕기 위하여 구체적으로 기재되기는 했지만, 첨부된 특허청구범위 내에서 특정 변화 및 변형이 실시될 수 있음은 명백하다. 따라서, 기재된 실시형태는 설명을 위한 것이지 한정을 위한 것이 아니며, 본 발명은 명세서에 주어진 상세설명으로 한정되지 않으며, 첨부된 특허청구범위 및 그의 균등물 범위 내에서 변형될 수 있다.

도면

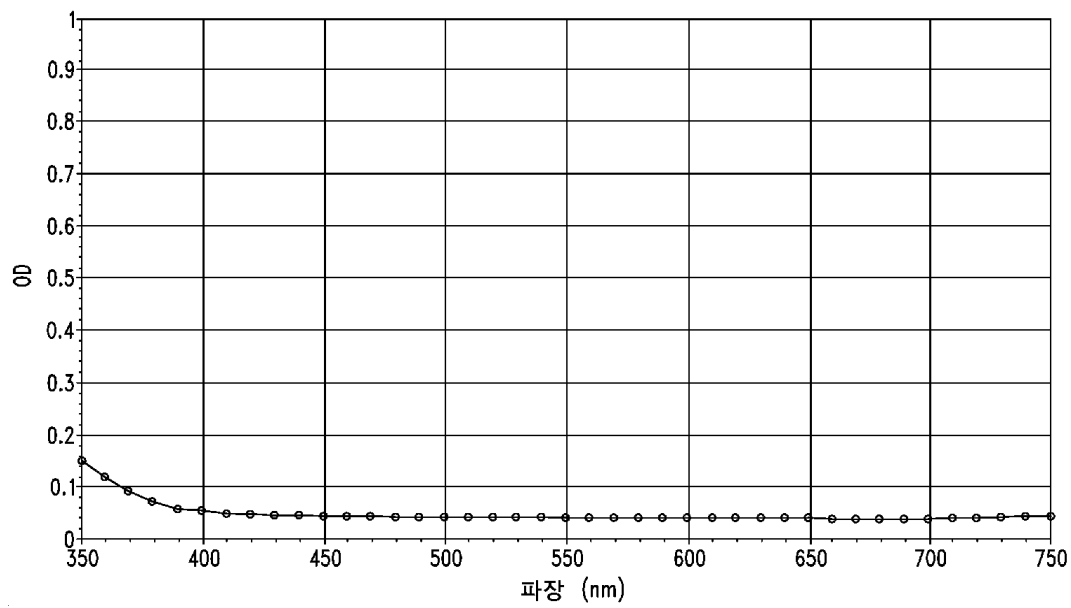
도면1



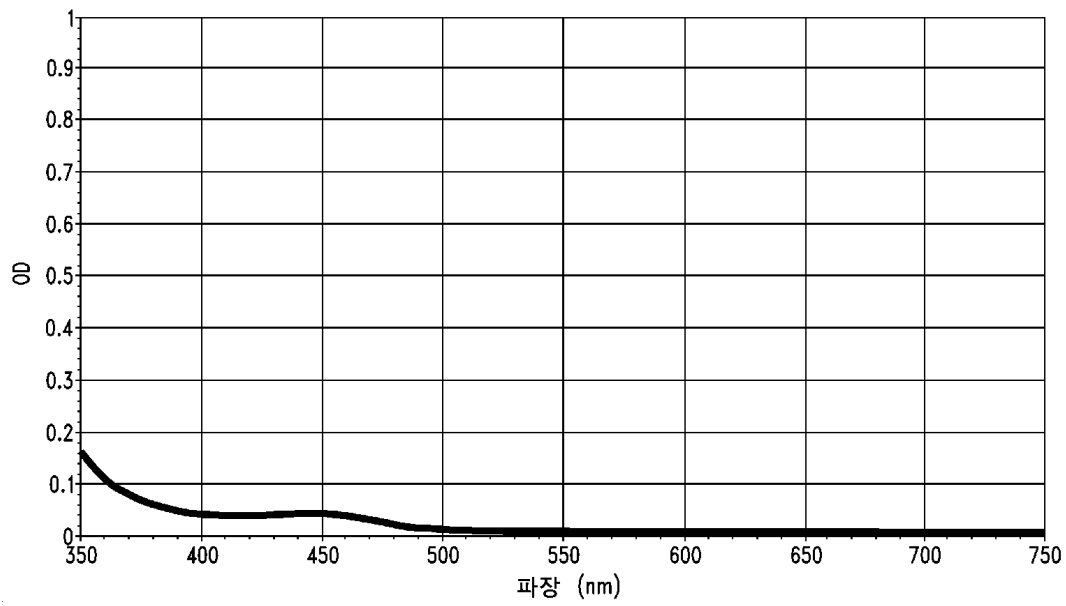
도면2



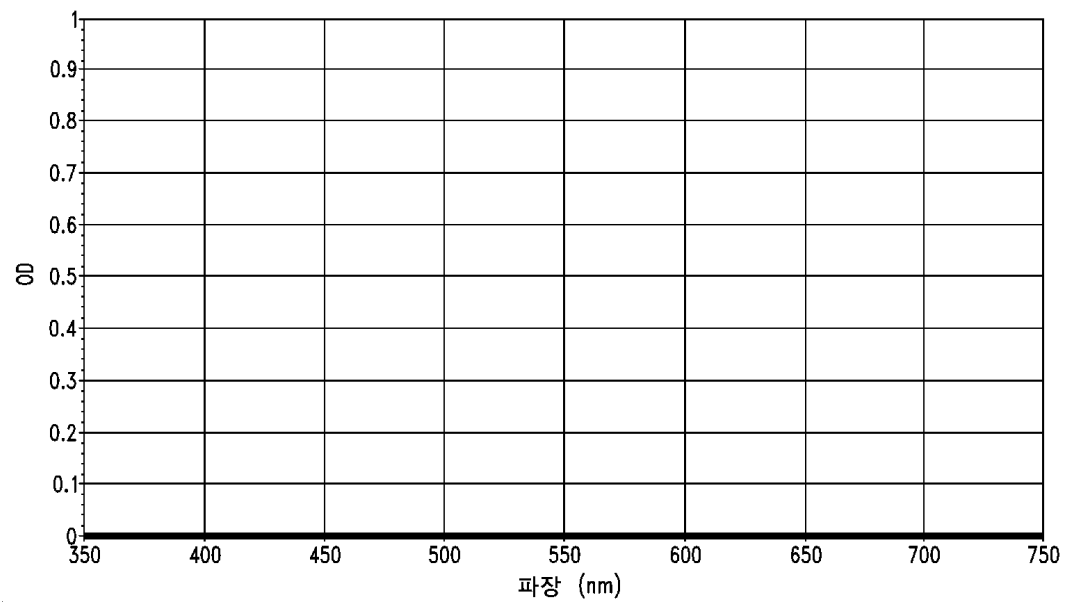
도면3



도면4



도면5



도면6

