



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2020년03월11일

(11) 등록번호 10-2087020

(24) 등록일자 2020년03월04일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 403/04 (2006.01) *A61K 31/4184* (2006.01)
A61K 9/06 (2006.01) *A61P 3/10* (2006.01)
- (21) 출원번호 10-2014-7013440
- (22) 출원일자(국제) 2012년10월25일
 심사청구일자 2017년10월24일
- (85) 번역문제출일자 2014년05월19일
- (65) 공개번호 10-2014-0094547
- (43) 공개일자 2014년07월30일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2012/061847
- (87) 국제공개번호 WO 2013/063221
 국제공개일자 2013년05월02일
- (30) 우선권주장
 61/551,395 2011년10월25일 미국(US)
- (56) 선행기술조사문헌
 WO2009134750 A1*
 WO2001042238 A1
 *는 심사관에 의하여 인용된 문헌
- (73) 특허권자
 얀센 파마슈티카 엔.브이.
 벨기에왕국 베-2340-비어세 투른호우트세베크 30
- (72) 발명자
 세파스키 키아
 미국 92109 캘리포니아주 샌 디에고 호른블랜드 스트리트 #308 924
 리줄리오 미켈레 체.
 미국 92129 캘리포니아주 샌 디에고 셀틱 코트 8525
- (74) 대리인
 특허법인한성

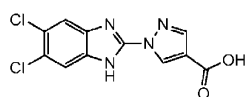
전체 청구항 수 : 총 1 항

심사관 : 곽희찬

(54) 발명의 명칭 1-(5,6-다이클로로-1H-벤조[D]이미다졸-2-일)-1H-피라졸-4-카르복실산의 메글루민 염 제형

(57) 요약

1-(5,6-다이클로로-1H-벤조[d]이미다졸-2-일)-1H-피라졸-4-카르복실산 (화합물 (1))의 메글루민 염 및 이의 약제학적으로 허용되는 제형이 기재되어 있다. 이러한 화합물은 피롤릴 하이드록실라제 활성화에 의해 매개되는 병태, 장애 및 증상의 치료를 위한 약제학적 조성물 및 방법에 사용될 수 있다.



화합물 (1)

명세서

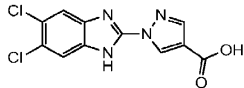
청구범위

청구항 1

삭제

청구항 2

하기 화학식의 화합물의 이수화물 형태의 메글루민 염:



청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원과의 상호 참조

[0002] 본 출원은 2011년 10월 25일자로 출원된 미국 가특허 출원 제61/551,395호의 이득을 주장한다.

[0003] 기술 분야

[0004] 본 발명은 1-(5,6-다이클로로-1H-벤조[d]이미다졸-2-일)-1H-피라졸-4-카르복실산의 메글루민 염 및 관련 제조 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0005] 고도로 보존된 산소, 철 및 2-옥소글루타레이트-의존성 피롤릴 하이드록실라제 (PHD) 효소의 부류는 저산소증 유도성 인자 (HIF)의 번역후 변형을 통해 저산소증에 대한 세포 반응을 매개한다 (문헌 [Ivan et al., 2001, *Science*, 292:464-68]; 문헌 [Jaakkola et al., 2001, *Science*, 292:468-72]). PHD는 정상산소 조건 하에서, HIF 내의 2개의 보존된 프롤린 잔기의 하이드록실화를 촉매작용시킨다. 산소에 대한 PHD의 친화성이 산소의 생리학적 범위 이내이고, 산소가 하이드록실화 HIF를 변형시키기 위한 필수적인 보조인자임에 따라, 산소 분압이 감소되는 경우 PHD가 불활성화된다. 이러한 방식으로, HIF는 정상 산소 조건 하에서 신속하게 분해되나, 저산소 조건 하에서 또는 PHD가 저해되는 경우에는 세포에 축적된다.

[0006] 4가지 아이소타입 (isotype)의 PHD가 기술되었다: PHD1, PHD2, PHD3 및 PHD4 (문헌 [Epstein et al., 2001, *Cell*, 107:43-54]; 문헌 [Kaelin, 2005, *Annu Rev Biochem.*, 74:115-28]; 문헌 [Schmid et al., 2004, *J Cell Mol Med.*, 8:423-31]). 각각 다른 아이소타입은 편재하여 발현되나, 상이하게 조절되어, 저산소증에 대한 세포 반응에서 구별되는 생리학적 역할을 갖는다. 다양한 아이소타입이 3개의 상이한 HIF- α 하위유형에 대하여 상이한 선택성을 갖는다는 증거가 있다 (상기 문헌 [Epstein et al.]). 세포 국소화에 있어서, PHD1은 주로 핵에

존재하고, PHD2는 주로 세포질에 존재하며, PHD3은 세포질 및 핵 모두에 존재하는 것으로 보인다 (문헌 [Metzen E, et al. 2003, *J Cell Sci.*, 116(7):1319-26]). PHD2는 정상산소 조건 하에서 두드러진 HIF- α 프롤릴 하이드록실라제인 것으로 보인다 (문헌 [Ivan et al., 2002, *Proc Natl Acad Sci. USA*, 99(21):13459-64]; 문헌 [Berra et al., 2003, *EMBO J.*, 22:4082-90]). 3가지 아이소타입은 고도의 아미노산 상동성을 가지며, 효소의 활성 부위는 고도로 보존된다.

[0007] 소분자에 의한 PHD 효소 활성의 표적화된 파괴는 산소 감지 및 분포의 장애의 치료에 있어서 잠재적인 유용성을 갖는다. 이의 예로는 다음의 것들이 포함되나 이들에 한정되지 않는다: 빈혈; 겸상 적혈구 빈혈; 말초 혈관 질환; 관상 동맥 질환; 심부전; 심근허혈, 심근경색 및 뇌졸중과 같은 증상에서 허혈로부터 조직의 보호; 이식용 기관의 보존; 혈류 조절 및/또는 복구, 산소 전달 및/또는 에너지 이용에 의한 조직 허혈의 치료; 특히 당뇨병 고령 환자에서의 상처 치유의 가속화; 화상의 치료; 감염의 치료; 뼈 치유 및 뼈 성장. 또한, PHD의 표적화된 파괴는 대사 장애, 예를 들어, 당뇨병, 비만, 췌양성 대장염, 염증성 장질환 및 관련 장애, 예를 들어, 크론병의 치료에 있어 유용성을 갖는 것으로 예상된다 (문헌 [*Recent Patents on Inflammation & Allergy Drug Discovery*, 2009, 3:1-16]).

[0008] HIF는 저산소증 증상 하에서 에리트로포이에틴 생성의 증가를 야기하는 주요 전사 인자인 것으로 보인다 (상기 문헌 [Wang et al., 1993]). 재조합 인간 에리트로포이에틴을 사용한 치료가 효율적인 빈혈 치료 방법임이 입증되었지만, 소분자 매개의 PHD 저해는 에리트로포이에틴을 사용한 치료를 넘어서는 이익을 제공할 것으로 예상될 수 있다. 구체적으로, 다른 HIF 유전자 산물의 기능은 조혈에 필요하며, 이들 인자의 조절에 의해 조혈 효율이 증가된다. 조혈에 중요한 HIF 표적 유전자 산물의 예에는 트랜스페린 (문헌 [Rølfes et al., 1997, *J Biol Chem.*, 272(32):20055-62]), 트랜스페린 수용체 (문헌 [Lok et al., 1999, *J Biol Chem.*, 274(34):24147-52]; 문헌 [Tacchini et al., 1999, *J Biol Chem.*, 274(34):24142-46]) 및 세룰로플라스민 (문헌 [Mukhopadhyay et al., 2000, *J Biol Chem.*, 275(28):21048-54])이 포함된다. 헵시딘 (hepcidin) 발현은 또한 HIF에 의해 억제되며 (문헌 [Peyssonnaud et al., 2007, *J Clin Invest.*, 117(7):1926-32]), PHD의 소분자 저해제는 헵시딘 생성을 감소시키는 것으로 나타났다 (문헌 [Braliou et al., 2008, *J Hepatol.*, 48:801-10]). 헵시딘은 조혈에 필요한 철의 이용가능성의 음성 조절제여서, 헵시딘 생성의 감소는 빈혈의 치료에 유리한 것으로 예상된다. PHD 저해제는 또한 철 보충 및/또는 외인성 에리트로포이에틴을 포함한 기타 빈혈 치료와 함께 사용되는 경우에 유용할 수 있다. 인간 집단에서 자연 발생하는 PHD2 유전자 내의 돌연변이의 연구는 빈혈을 치료하기 위한 PHD 저해제의 용도에 대한 추가의 증거를 제공한다. 최근의 2가지 보고에 의해, PHD2 유전자 내에 기능장애 돌연변이가 있는 환자가 증가된 적혈구 과다증과 상승된 혈중 헤모글로빈을 나타내는 것으로 드러났다 (문헌 [Percy et al., 2007, *PNAS*, 103(3):654-59]; 문헌 [Al-Sheikh et al., 2008, *Blood Cells Mol Dis.*, 40:160-65]). 또한, 소분자 PHD 저해제를 건강한 자원자와 만성 신장 질환이 있는 환자에서 평가하였다 (미국 특허 출원 제 2006/0276477호, 출원일: 2006년 12월 7일). 혈장 에리트로포이에틴은 용량 의존적 방식으로 증가하였으며, 만성 신장 질환 환자에서 혈중 헤모글로빈 농도가 증가하였다.

[0009] 저산소 조건 하에서의 HIF의 전체 축적은 해당과정의 적응식 상향 조절, 산화적 인산화의 감소로 인한 과산화수소 및 슈퍼옥사이드의 생성의 감소, 세포를 허혈성 손상으로부터 보호하는 산화적 인산화의 최적화를 좌우한다. 따라서, PHD 저해제는 기관 및 조직 이식편 보존에 유용한 것으로 예상된다 (문헌 [Bernhardt et al., 2007, *Methods Enzymol.*, 435:221-45]). 이식용 기관을 수집하기 전에 PHD 저해제를 투여함으로써 이익이 달성될 수 있지만, 수집 후에, 보관 중에 (예를 들어, 심정지액 (cardioplegia solution)) 또는 이식 후에, 기관/조직으로의 저해제의 투여도 또한 치료적으로 유리할 수 있다.

[0010] PHD 저해제는 국소 허혈 및/또는 저산소증으로부터 조직을 보존하는데 효과적인 것으로 예상된다. 이에는 특히 협심증, 심근허혈, 뇌졸중, 골격근의 허혈과 관련된 허혈/저산소증이 포함된다. 최근에, 허혈성 전처치 (ischemic pre-conditioning)는 HIF-의존적 현상인 것으로 입증되었다 (문헌 [Cai et al., 2008, *Cardiovasc Res.*, 77(3):463-70]). 전처치의 개념은 심장에서의 이의 보호 효과에 대해 가장 잘 알려져 있지만, 이는 또한 간, 골격근, 간, 폐, 신장, 장 및 뇌를 포함하나 이들에 한정되지 않는 기타 조직에 적용된다 (문헌 [Pasupathy et al., 2005, *Eur J Vasc Endovasc Surg.*, 29:106-15]; 문헌 [Mallick et al., 2004, *Dig Dis Sci.*, 49(9):1359-77]). PHD 저해 및 HIF의 상승의 조직 보호 효과에 대한 실험 증거는 허혈성 손상으로부터 골격근의 보호를 부여하는 PHD1의 생식계열 녹아웃 (knock out) (문헌 [Aragonés et al., 2008, *Nat Genet.*, 40(2):170-80]), 허혈성 손상으로부터 심장을 보호하는 siRNA의 사용을 통한 PHD2의 침묵화 (문헌 [Natarajan et al., 2006, *Circ Res.*, 98(1):133-40]), 허혈성 손상으로부터 심근을 보호하는 일산화탄소를 투여함에 의한 PHD의 저해 (문헌 [Chin et al., 2007, *Proc Natl Acad Sci. U.S.A.*, 104(12):5109-14]), 허혈에 대한 내성을

증가시키는 뇌에서의 저산소증 (문헌 [Bernaudin et al., 2002, *J Cereb Blood Flow Metab.*, 22(4):393-403])을 포함하는 다수의 동물 모델에서 획득되었다. 또한, PHD의 소분자 저해제는 실험적 뇌졸중 모델에서 뇌를 보호한다 (문헌 [Siddiq et al., 2005, *J Biol Chem.*, 280(50):41732-43]). 더욱이, HIF 상향 조절은 또한 결과가 일반적으로 더 나쁜 당뇨병 마우스의 심장을 보호하는 것으로 보인다 (문헌 [Natarajan et al., 2008, *J Cardiovasc Pharmacol.*, 51(2):178-187]). 또한, 조직 보호 효과는 버거병, 레이노병 및 말단청색증에서 관찰될 수 있다.

[0011] 미토콘드리아에서의 크랩스 회로를 통한 유산소 대사에 대한 의존성 감소 및 PHD 저해에 의해 생성되는 무산소 해당과정에 대한 의존성 증가는 정상산소 조직에서 유리한 효과를 가질 수 있다. 또한, PHD 저해가 정상산소 조건 하에서 HIF를 상승시키는 것으로 나타난 것을 주목하는 것이 중요하다. 따라서, PHD 저해는 HIF를 통해 저산소 반응이 개시되나, 조직 산소공급 (oxygenation)은 정상으로 남아있는 것과 관련된 가성저산소증 (pseudohypoxia)을 초래한다. PHD 저해에 의해 생성되는 대사의 변경은 또한 당뇨병, 비만 및 동반 질병을 포함하는 관련 장애를 위한 치료 패러다임을 제공할 것으로 예상될 수 있다.

[0012] 전반적으로, PHD 저해에 의해 생성되는 유전자 발현 변화의 집합은 글루코스 단위당 생성되는 에너지량을 감소시키고, 신체가 에너지 균형을 유지하기 위해 더 많은 지방을 연소하도록 자극할 것이다. 해당 증가에 대한 메카니즘은 상기에 논의되어 있다. 다른 관찰은 저산소 반응을 당뇨병 및 비만의 치료에 유리할 것으로 예상되는 효과와 연관시켰다. 저산소증 및 유사 저산소증 (hypoxia mimetic), 예를 들어, 데스페리옥사민 (desferrioxamine)은 지방세포 분화를 방지하는 것으로 나타났다 (문헌 [Lin et al., 2006, *J Biol Chem.*, 281(41):30678-83]; 문헌 [Carrière et al., 2004, *J Biol Chem.*, 279(39):40462-69]). 초기 지방생성 단계 동안의 PHD 활성화의 저해에 의해, 신규한 지방세포의 형성이 저해된다 (문헌 [Floyd et al., 2007, *J Cell Biochem.*, 101:1545-57]). 저산소증, 염화코발트 및 데스페리옥사민은 HIF를 상승시키고, PPAR 감마 2 핵 호르몬 수용체 전사를 저해하였다 (문헌 [Yun et al., 2002, *Dev Cell.*, 2:331-41]). PPAR 감마 2가 지방세포 분화에 대한 중요한 신호이기 때문에, PHD 저해는 지방세포 분화를 저해하는 것으로 예상될 수 있다. 이들 효과는 HIF-조절 유전자 DEC1/Stra13에 의해 매개되는 것으로 보인다 (상기 문헌 [Yun et al.]).

[0013] PHD의 소분자 저해제가 당뇨병 및 비만 동물 모델에서, 유리한 효과를 갖는 것이 입증되었다 (국제 특허 출원 공개 W02004/052284호 (공개일: 2004년 6월 24일); W02004/052285호 (공개일: 2004년 6월 24일)). 마우스 식이-유도 비만, db/db 마우스 및 Zucker fa/fa 랫트 모델에서 PHD 저해제에 대하여 입증된 효과 중 하나는 혈당 농도, 복부 및 내장 지방체 둘 모두의 지방량, 헤모글로빈 A1c, 혈장 트라이글리세리드, 체중의 저하, 및 아드레노메둘린 및 렙틴의 수준의 증가와 같은 확립된 질환 바이오마커의 변화이다. 렙틴은 공지되어 있는 HIF 표적 유전자 산물 (문헌 [Grosfeld et al., 2002, *J Biol Chem.*, 277(45):42953-57])이다. 지방 세포에서의 대사에 수반되는 유전자 산물은 HIF-의존적 방식으로 PHD 저해에 의해 조절되는 것으로 입증되었다 (상기 국제 특허 출원 공개 W02004/052285호). 이들에는 아포리포단백질 A-IV, 아실 CoA 티오에스테라제, 카르니틴 아세틸 트랜스퍼라제, 및 인슐린-유사 성장 인자 결합 단백질 (IGFBP)-1이 포함된다.

[0014] PHD 저해제는 맥관형성 (vasculogenesis), 혈관형성 (angiogenesis) 및 동맥형성 (arteriogenesis)의 자극제로서 치료적으로 유용할 것으로 예상된다. 이들 과정은 허혈 및/또는 저산소증 증상 하에서 조직으로의 혈류 및 산소공급을 확립시키거나 복구시킨다 (문헌 [Semenza et al., 2007, *J Cell Biochem.*, 102:840-47]; 문헌 [Semenza, 2007, *Exp Physiol.*, 92(6):988-91]). 실험 동물 모델 및 인간에서 신체 운동이 HIF-1 및 혈관 내피 성장 인자를 증가시키고 (문헌 [Gustafsson et al. 2001, *Front Biosci.*, 6:D75-89]), 결과적으로, 골격근 내의 혈관의 개수를 증가시키는 것으로 나타났다. VEGF는 혈관형성의 주요 유도제인 널리 공지되어 있는 HIF 표적 유전자 산물이다 (상기 문헌 [Liu et al.]). PHD 저해는 태반 성장 인자 (PLGF), 안지오프로테틴-1 (ANGPT1), 안지오프로테틴-2 (ANGPT2), 혈소판 유래 성장 인자 베타 (PDGFB) (문헌 [Carmeliet, 2004, *J Intern Med.*, 255:538-61]; 문헌 [Kelly et al., 2003, *Circ Res.*, 93:1074-81]) 및 기질 세포 유래 인자 1 (SDF-1) (문헌 [Ceradini et al., 2004, *Nat Med.*, 10(8):858-64])을 포함하나 이들에 한정되지 않는 다수의 혈관형성 성장 인자의 발현 조절을 HIF 의존적 방식으로 자극한다는 점에서, 다른 혈관형성 요법에 대하여 잠재적인 이점을 제공한다. 혈관형성 동안 안지오프로테틴-1의 발현은 누출-저항성 (leakage-resistant) 혈관을 초래하며, 이는 단독의 VEGF의 투여에 의해 초래되는 혈관과 대조적이다 (문헌 [Thurston et al., 1999, *Science*, 286:2511-14]; 문헌 [Thurston et al., 2000, *Nat Med.*, 6(4):460-3]; 문헌 [Elson et al., 2001, *Genes Dev.*, 15(19):2520-32]). 기질 세포 유래 인자 1 (SDF-1)은 조직 손상 부위에 내피 전구 세포 (progenitor cell)를 동원하는 과정에 중요한 것으로 보인다. SDF-1 발현은 순환하는 CXCR4-양성 전구 세포의 허혈성 조직으로의 부착, 이동 및 귀소를 증가시킨다. 또한, 허혈성 조직에서의 SDF-1의 저해 또는 순환하는

세포 상의 CXCR4의 차단에 의해, 손상 부위로의 전구 세포 동원이 방지된다 (상기 문헌 [Ceradini et al., 2004]; 문헌 [Ceradini et al., 2005, *Trends Cardiovasc Med.*, 15(2):57-63]). 중요한 것은, 손상 부위로의 내피 전구 세포의 동원이 고령 마우스에서 감소되고, 이는 상처 부위에서 HIF를 증가시키는 개입에 의해 바로잡아진다는 것이다 (문헌 [Chang et al., 2007, *Circulation*, 116(24):2818-29]). PHD 저해는 다수의 혈관형성 인자의 발현의 증가뿐 아니라, 허혈성 조직으로의 내피 전구 세포의 동원 및 혈관형성 과정을 통한 이들의 발현의 조정의 이점을 제공한다.

[0015] PHD 저해제는 또한 혈관형성 유발 (pro-angiogenic) 요법에서도 유용하다. 아데노바이러스 매개의 HIF의 과발현이 성체 동물의 비허혈성 조직에서 혈관형성을 유도하는 것이 입증되었으며 (문헌 [Kelly et al., 2003, *Circ Res.*, 93(11):1074-81]), 이는 HIF를 증가시키는 요법, 예를 들어, PHD 저해가 혈관형성을 유도할 것이라는 증거를 제공한다. HIF 표적 유전자이기도 한 태반 성장 인자 (PLGF)가 허혈성 조직의 혈관형성에서 중요한 역할을 수행하는 것으로 나타났다 (문헌 [Carmeliet, 2004, *J Intern Med.*, 255(5):538-61]; 문헌 [Luttun et al., 2002, *Ann N Y Acad Sci.*, 979:80-93]). 골격근 (문헌 [Pajusola et al., 2005, *FASEB J.*, 19(10):1365-7]; 문헌 [Vincent et al., 2000, *Circulation*, 102:2255-61]) 및 심근 (문헌 [Shyu et al., 2002, *Cardiovasc Res.*, 54:576-83])에서, HIF 과발현을 통하여 HIF를 상승시키는 유력한 혈관형성 유발 효과가 입증되었다. 또한, HIF 표적 유전자 SDF-1에 의한 허혈성 심근으로의 내피 전구 세포의 동원이 입증되었다 (문헌 [Abbott et al., 2004, *Circulation*, 110(21):3300-05]). 따라서, PHD 저해제는 아마도 조직 허혈, 특히 근육 허혈 환경에서 혈관형성을 자극하는데 유효할 것이다. PHD 저해제에 의해 초래되는 치료적 혈관형성은 아마도 조직으로의 혈류의 복구를 야기하며, 이에 따라 비제한적으로 협심증, 심근허혈 및 심근경색, 말초 허혈성 질환, 파행, 위궤양 및 십이지장궤양, 궤양성 대장염 및 염증성 장질환과 같은 이러한 질환을 개선시킬 것이다.

[0016] PHD 및 HIF는 상처 및 궤양의 치유를 포함하여 조직 회복 및 재생에서 중추적인 역할을 수행한다. 최근의 연구에 의해 고령 마우스의 상처 부위에서 3가지 모두의 PHD의 발현 증가가 HIF 축적의 감소를 야기하는 것이 입증되었다 (상기 문헌 [Chang et al.]). 따라서, 테스페리옥사민을 투여함에 의한 고령 마우스에서의 HIF의 상승에 의해, 상처 치유 정도가 어린 마우스에서 관찰되는 수준으로 다시 증가되었다. 유사하게, 당뇨병 마우스 모델에서 HIF 상승은 비당뇨병 한배새끼에 비하여 억제되었다 (문헌 [Mace et al., 2007, *Wound Repair Regen.*, 15(5):636-45]). 염화코발트의 국소 투여, 유사 저산소증, 또는 산소 의존성 분해 도메인이 결합되어 구성적 활성형의 HIF를 가능하게 하는 뮤린 HIF의 과발현은 상처 부위에서의 HIF의 증가, HIF 표적 유전자, 예를 들어, VEGF, Nos2 및 Hmox1의 발현 증가 및 상처 치유의 가속화를 야기한다. PHD 저해의 유리한 효과는 피부에 제한되지 않으며, PHD의 소분자 저해제는 마우스 대장염 모델에서 이익을 제공하는 것으로 최근에 입증되었다 (문헌 [Robinson et al., 2008, *Gastroenterology*, 134(1):145-55]).

[0017] 약술하면, HIF의 축적을 야기하는 PHD 저해는 아마도 적어도 4가지 메커니즘에 의해 작용하여, 가속화되고 보다 완전한 상처 치유의 원인이 될 것 같다: 1) 저산소증 및/또는 허혈에 의해 위태로워지는 조직의 보호, 2) 소정의 부위로의 적절한 혈류를 확립하거나 복구하기 위한 혈관형성의 자극, 3) 상처 부위로의 내피 전구 세포의 동원, 4) 치유 및 재생을 특이적으로 자극하는 성장 인자의 분비 자극.

[0018] PDGF가 HIF 유전자 표적임에 따라 (문헌 [Schultz et al., 2006, *Am J Physiol Heart Circ Physiol.*, 290(6):H2528-34]; 문헌 [Yoshida et al., 2006, *J Neurooncol.*, 76(1):13-21]), PHD 저해는 아마도 내인성 PDGF의 발현을 증가시키고, 단독의 PDGF에 의해 생성되는 효과와 유사하거나 보다 유리한 효과를 초래할 것 같다. 동물에서의 연구에 의해, PDGF의 국소 도포가 상처 DNA, 단백질 및 하이드록시프롤린 양의 증가; 보다 두꺼운 육아조직 및 표피조직의 형성; 및 상처 부위의 세포 재증식 증가를 야기하는 것으로 나타났다. PDGF는 신규한 결합 조직의 형성의 증가에 대하여 국소적인 효과를 발휘한다. PHD 저해의 효과는 아마도 PDGF에 의해 생성되는 효과보다 더 클 것 같은데, 이는 HIF에 의해 매개되는 추가의 조직 보호 및 혈관형성 유발 효과 때문이다.

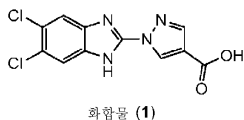
[0019] PHD의 저해의 유리한 효과는 피부 및 결합에서의 가속화된 상처 치유뿐 아니라 위장궤양, 피부 이식편 대치, 화상, 만성 상처 및 동상을 포함하나 이들에 한정되지 않는 다른 조직 손상의 치유까지 확대된다.

[0020] 줄기 세포 및 전구 세포는 체 내의 저산소 함요에서 관찰되며, 저산소증은 이들의 분화 및 세포 운명을 조절한다 (문헌 [Simon et al., 2008, *Nat Rev Mol Cell Biol.*, 9:285-96]). 따라서, PHD 저해제는 줄기 세포 및 전구 세포를 만능 (pluripotent) 상태로 유지시키고, 원하는 세포 유형으로의 분화를 유도하는데 유용할 수 있다. 줄기 세포는 줄기 세포 집단을 배양하고 증량 (expanding)시키는데 유용할 수 있으며, 세포를 만능 상태로 유지하면서, 호르몬 및 다른 인자를 세포에 투여하여 분화 및 세포 운명에 영향을 줄 수 있다.

- [0021] 줄기 세포 및 전구 세포 치료제의 분야에서의 PHD 저해제의 추가의 용도는 이들 세포가 신체로의 이식 과정을 견디도록 조정하고, 신체에 대한 적절한 반응을 생성하여 줄기 세포 및 전구 세포 이식물을 생존가능하게 하는 PHD 저해제의 용도에 관한 것이다 (문헌 [Hu et al., 2008, *J Thorac Cardiovasc Surg.*, 135(4):799-808]). 더욱 구체적으로, PHD 저해제는 줄기 세포의 통합을 용이하게 하며, 일단 이들이 통합되면, 적절한 혈액 공급을 끌어들이며, 줄기 세포를 유지시킬 수 있다. 이러한 혈관 형성은 또한 이들 세포로부터 나머지 신체로 분비되는 호르몬 및 기타 인자를 운반하는 작용을 할 것이다.
- [0022] PHD 저해제는 또한 감염의 치료에 유용할 수 있다 (문헌 [Peyssonnaud et al., 2005, *J Invest Dermatol.*, 115(7):1806-15]; 문헌 [Peyssonnaud et al., 2008 *J Invest Dermatol.*, 2008 Aug;128(8):1964-8]). HIF 상승은 포식세포에서, 그리고 각질형성세포에서, 감염에 대한 선천성 면역 반응을 증가시키는 것으로 입증되었다. HIF가 상승된 포식세포는 살균 활성 증가, 산화질소 생성 증가 및 항균 펩티드 카텔리시딘 (cathelicidin) 발현 증가를 보인다. 이들 효과는 또한 화상으로 인한 감염의 치료에 유용할 수 있다.
- [0023] HIF는 또한 뼈 성장 및 치유에 수반되는 것으로 나타났으며 (문헌 [Pfander D et al., 2003 *J Cell Sci.*, 116(Pt 9):1819-26], 문헌 [Wang et al., 2007 *J Clin Invest.*, 117(6):1616-26]), 이에 따라 이를 사용하여 골절을 치유하거나 예방할 수 있다. HIF는 해당을 자극하여, 에너지를 제공하고, 저산소 환경 하에서 골단 연골 세포 (epiphyseal chondrocyte)의 세포외 기질의 합성을 가능하게 한다. HIF는 또한 뼈 치유 과정에서 VEGF의 분비 및 혈관형성을 유도하는 데에서 역할을 수행한다. 성장 중인 또는 치유 중인 뼈의 혈관의 성장은 상기 과정의 율속 단계일 수 있다.
- [0024] PHD의 소분자 저해제는 문헌에 기술되어 있으며, 이에 는 이미다조[1,2-*a*]피리딘 유도체 (문헌 [Warshakoon et al., 2006, *Bioorg Med Chem Lett.*, 16(21):5598-601]), 치환된 피리딘 유도체 (문헌 [Warshakoon et al., 2006, *Bioorg Med Chem Lett.*, 16(21):5616-20]), 피라졸로피리딘 (문헌 [Warshakoon et al., 2006, *Bioorg Med Chem Lett.*, 16(21):5687-90]), 바이사이클릭 헤테로방향족 N-치환 글리신 유도체 (국제 특허 출원 공개 WO2007/103905호 (공개일: 2007년 9월 13일)), 퀴놀린계 화합물 (국제 특허 출원 공개 WO2007/070359호 (공개일: 2007년 6월 21일)), 피리미딘트라이온 N-치환 글리신 유도체 (국제 특허 출원 공개 WO2007/150011호 (공개일: 2007년 12월 27일)), 치환된 아릴 또는 헤테로아릴 아미드 화합물 (미국 특허 출원 공개 2007/0299086호 (공개일: 2007년 12월 27일)) 및 치환된 4-하이드록시피리미딘-5-카르복사미드 (국제 특허 출원 공개 WO2009/117269호 (공개일: 2009년 9월 24일))가 포함되나 이들에 한정되지 않는다.

발명의 내용

- [0025] 발명의 요약
- [0026] 본 발명은 본 명세서에 기재된 바와 같은 정의된 일반적이고 바람직한 실시형태에 관한 것이다. 본 발명의 바람직하고 예시적인 특징은 도면을 참고로 하여 하기 발명의 내용으로부터 명백해질 것이다.
- [0027] 본 발명은 이의 많은 실시형태에서, 피롤릴 하이드록실라제 (PHD) 효소의 저해제의 신규한 염에 관한 것이며, PHD 효소와 관련된 하나 이상의 질환, 장애의 치료, 예방, 저해 또는 개선 방법이 제공된다.
- [0028] 더욱 구체적으로, 본 발명은 하기 화학식의 화합물의 메글루민 염, 및 관련된 화합물의 제조 또는 제작 방법에 관한 것이다:



- [0029]
- [0030] 다른 실시형태에서, 본 발명은 화합물 (1)의 메글루민 염의 수화형에 관한 것이다.
- [0031] 본 발명의 추가의 실시형태 및 이점은 하기의 상세한 논의, 방법, 실시예 및 특허청구범위로부터 명백해질 것이다.

도면의 간단한 설명

- [0032] <도 1>

도 1은 용액 중 화합물 (1)의 포화의 pH-의존성을 보여준다.

<도 2>

도 2는 화합물 (1)의 메글루민 염의 PXRD 데이터를 보여준다.

<도 3>

도 3은 화합물 (1)의 메글루민 염의 DSC, TGA 및 x-선 데이터를 보여준다.

<도 4>

도 4는 (a) 화합물 (1)의 메글루민 염의 단일 결정 구조; 및 (b) 화합물 (1)의 메글루민 염에 대한 단일 결정의 실험 및 모의 분말 패턴을 보여준다.

<도 5>

도 5는 화합물 (1)의 메글루민 염의 제형의 노출 시의 HIF1- α 의 자극 백분율을 보여준다.

<도 6>

도 6은 화합물 (1)의 메글루민 염의 제형의 국소 도포 후의 상처가 있는 마우스에서의 혈장 수준 (전신 존재량 (systemic burden))을 보여준다.

<도 7>

도 7은 화합물 (1)의 메글루민 염의 제형의 도포시에 피부 (인간 진피), 및 프란츠 확산 셀 (Franz diffusion cell)을 사용하여 인공 막을 가로지르는 화합물 (1)의 유통의 상관관계를 보여준다.

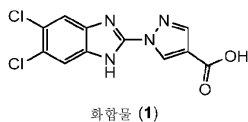
<도 8>

도 8은 HET-CAM 검정에서 시험되는 바와 같은 화합물 (1)의 메글루민 염의 제형의 도포에 의해 야기되는 자극이 없거나 매우 낮은 것을 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0033]

본 발명은 피롤릴 하이드록실라제 (PHD) 효소의 저해제인 하기 화학식의 화합물의 신규한 염 및 피롤릴 하이드록실라제 효소의 조절과 관련된 장애 및 질환의 치료, 개선 또는 저해를 위한 이의 조성물에 관한 것이다:



[0034]

[0035]

또한, 본 발명은 이러한 화합물, 이의 약제학적 조성물, 약제학적으로 허용되는 염, 약제학적으로 허용되는 프로드럭 (prodrug) 및 약제학적 활성 대사산물의 제조 방법에 관한 것이다.

[0036]

A) 용어

[0037]

본 발명은 본 명세서에 제공된 하기의 정의, 도면 및 예시적 개시내용을 참고로 하면 가장 잘 이해된다.

[0038]

용어 "포함하는", "함유하는", 및 "포함하고 있는"은 이들의 개방된 비제한적인 의미로 본 명세서에서 사용된다.

[0039]

"투여하는" 또는 "투여"는 약리학적으로 유용한 방식으로 환자에게 약물을 제공함을 의미한다.

[0040]

"조성물"은 본 발명의 화합물을 함유한 생성물을 의미한다 (예를 들어, 특정 양의 특정 성분을 포함하는 생성물, 및 특정 양의 특정 성분의 그러한 조합으로부터 직접 또는 간접적으로 생기는 임의의 생성물).

[0041]

"화합물" 또는 "약물"은 화학식 (1)의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 형태를 의미한다.

[0042]

"형태"는 하나 이상의 화학식 (1)의 화합물 및 이의 염 또는 수화물의 다양한 이성질체 및 혼합물을 의미한다. 용어 "이성질체"는 동일한 조성과 분자량을 갖지만 물리 및/또는 화학적 특성이 상이한 화합물을 말한다. 그러한 물질은 동일한 개수와 종류의 원자를 갖지만 구조가 상이하다. 구조적 차이는 구성에 있을 수 있거나 (기하

이성질체) 또는 편광면을 회전시키는 능력에 있을 수 있다 (입체 이성질체). 용어 "**입체 이성질체**"는 공간에서의 원자 배열이 상이한 동일한 구성의 이성질체들을 말한다. 거울상 이성질체 및 부분입체 이성질체는 비대칭적으로 치환된 탄소 원자가 키랄 중심으로서 작용하는 입체 이성질체이다. 용어 "**키랄**"은 거울상에 포개놓을 수 없는 분자를 말하며, 이는 대칭축 및 대칭면 또는 대칭 중심의 부재를 의미한다.

[0043] 용어 "**저산소증**" 또는 "**저산소 장애**"는 혈액 내에 또는 조직 및 기관에 불충분한 수준의 산소가 제공되는 증상을 말한다. 저산소 장애는 혈액의 산소 운반 능력이 불충분한 메카니즘 (즉, 빈혈), 조직 및/또는 기관으로의 부적당한 혈류가 심부전 또는 혈관 및/또는 동맥의 차폐 중 어느 하나에 의해 야기되는 메카니즘 (즉, 허혈), 감소된 대기압이 존재하는 메카니즘 (즉, 높은 고도에서의 고산병) 또는 기능장애 세포가 산소를 적절하게 이용할 수 없는 메카니즘 (즉, 조직독성 증상)을 포함하여 다양한 메카니즘을 통해 발생할 수 있다. 따라서, 당업자는 본 발명이 빈혈, 심부전, 심장동맥 질환, 혈전색전증, 뇌졸중, 협심증 등을 비롯한 다양한 저산소 증상의 치료에 유용한 것을 용이하게 인식할 것이다.

[0044] "**환자**" 또는 "**대상**"은 치료적 개입을 필요로 하는, 동물, 바람직하게는 포유류, 더욱 바람직하게는 인간을 의미한다.

[0045] "**약제학적으로 허용되는**"은 본 발명의 조성물 또는 의약의 조제에서 사용하기에 충분한 순도와 품질의 분자 실체 및 조성을 의미한다. 인간용 (임상 및 처방전 없이 살 수 있는 용도) 및 동물용 둘 모두가 본 발명의 범주 내에 동등하게 포함되므로, 제형은 인간용 또는 동물용을 위한 조성물 또는 의약을 포함할 것이다.

[0046] "**약제학적으로 허용되는 부형제**"는 약리학적 조성물에 첨가되거나, 그렇지 않으면 비히클, 담체 또는 희석제로서 사용되어 약제의 투여를 용이하게 하고, 그 약제와 상용성인 불활성 물질과 같이, 대상으로 투여하기 위하여 비독성이고, 생물학적으로 용인가능하며, 다르게는 생물학적으로 적합한 물질을 말한다. 부형제의 예는 탄산칼슘, 인산칼슘, 다양한 당 및 전분 유형, 셀룰로스 유도체, 젤라틴, 식물유 및 폴리에틸렌 글리콜을 포함한다.

[0047] "**약제학적으로 허용되는 염**"은 본 발명의 조성물 또는 의약의 조제에 사용하기에 충분한 순도와 품질의 것이며 약제학적 제제에 사용되기에 충분히 비독성이고 용인되는 본 발명의 화합물의 산 또는 염기 염을 의미한다. 적합한 약제학적으로 허용되는 염에는 예를 들어, 약물 화합물을 염산, 황산, 푸마르산, 말레산, 석신산, 아세트산, 벤조산, 시트르산, 타르타르산, 탄산 또는 인산과 같은 적합한 약제학적으로 허용되는 산과 반응시킴으로써 형성될 수 있는 산 부가 염이 포함된다.

[0048] 용어 "**용매화물**"은 용액 중의 또는 고체 또는 결정형의 하나 이상의 용매 분자와 이러한 화합물의 상호작용 또는 착화로부터 형성되는 화합물을 의미한다. 용어 "**수화물**"은 용매가 물인 용매화물을 의미한다.

[0049] "**치료적 유효량**"은 치료 중인 질환 또는 장애의 징후의 치료적 완화를 포함하는, 연구자, 의사, 또는 기타 임상가에 의해 추구되는 조직계, 동물 또는 인간에서의 생물학적 또는 의학적 반응을 야기하는 화합물의 양을 의미한다.

[0050] 본 명세서에 사용되는 바와 같이 용어 "**치료하는**"은 달리 나타내지 않으면, 그러한 용어가 적용되는 장애 또는 증상, 또는 그러한 장애 또는 증상의 하나 이상의 징후의 진행을 역전시키거나, 완화시키거나, 저해하거나, 이의 중증도를 경감시키거나, 또는 이를 예방하는 것을 의미한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "**치료**"는 달리 나타내지 않으면, 치료 행위를 말한다.

[0051] B) 화합물

[0052] 본 발명은 화학식 (1)의 화합물의 신규한 염에 관한 것이다. 특히, 본 발명은 화학식 (1)의 화합물의 메글루민 염에 관한 것이다. 일반적으로, 본 발명은 피롤릴 하이드록실라제 효소의 조절과 관련된 장애 및 질환의 치료를 필요로 하는 환자에게 투여되는 모든 화합물에 관한 것이다.

[0053] 본 발명의 일부 실시형태는 이러한 화합물의 수화물, 용매화물 또는 다형체 및 이들의 혼합물을 포함하며, 이러한 형태가 본 명세서에 명시적으로 언급되지 않더라도 그러하다. 바람직하게는, 화학식 (1)의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염의 일부 실시형태는 용매화물을 포함한다. 더욱 바람직하게, 화학식 (1)의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염의 일부 실시형태는 수화물을 포함한다.

[0054] 본 발명의 또 다른 실시형태는 공결정으로 수득될 수 있는 화학식 (1)의 화합물 또는 화학식 (1)의 화합물의 약제학적으로 허용되는 염의 결정형을 포함한다.

[0055] 본 발명의 특정 실시형태에서, 화학식 (1)의 화합물을 결정형으로 수득되었다. 다른 실시형태에서, 화학식

(1)의 화합물의 결정형은 자연에서 정육면체였다. 다른 실시형태에서, 화학식 (1)의 화합물의 약제학적으로 허용되는 염은 결정형으로 수득되었다. 또 다른 실시형태에서, 화학식 (1)의 화합물은 결정형의 혼합물로서, 다형체 형태로, 또는 무정형으로서 몇몇 다형체 형태 중 하나로 수득되었다. 다른 실시형태에서, 화학식 (1)의 화합물은 용액 중에서, 하나 이상의 결정형 및/또는 다형체 형태 간에 전환된다.

[0056] 본 발명의 약물 화합물은 또한 입체이성질체의 혼합물, 또는 각각의 순수하거나 실질적으로 순수한 이성질체를 포함한다. 예를 들어, 본 발명의 화합물은 임의로 어느 하나의 치환기를 함유한 탄소 원자에서 하나 이상의 비대칭 중심을 가질 수 있다. 따라서, 화합물은 거울상 이성질체 또는 부분입체 이성질체, 또는 그 혼합물 형태로 존재할 수 있다. 본 발명의 화합물이 이중 결합을 함유하는 경우, 본 발명의 화합물은 기하 이성질체 (시스-화합물, 트랜스-화합물) 형태로 존재할 수 있으며, 본 발명의 화합물이 카르보닐과 같은 불포화 결합을 함유한다면, 본 발명의 화합물은 상호변이성질체 형태로 존재할 수 있으며 본 발명의 화합물은 또한 이들 이성질체 또는 그 혼합물을 포함한다. 라세미 혼합물, 거울상 이성질체 또는 부분입체 이성질체 형태의 출발 화합물이 본 발명의 화합물의 제조 방법에 이용될 수 있다. 본 발명의 화합물이 부분입체 이성질체 또는 거울상 이성질체 형태로 얻어질 경우, 그들은 크로마토그래피 또는 분별 결정화와 같은 통상적 방법에 의해 분리될 수 있다. 또한, 본 발명의 화합물은 이의 분자내 염, 수화물, 용매화물 또는 다형체를 포함한다. 적합한 약물 화합물은 점막, 진피 침투 후 또는 - 경구 투여의 경우에는 - 타액을 이용하여 위장관으로 수송 후, 국소적 생리학적 효과 또는 전신 효과를 발휘하는 것들이다.

[0057] 본 발명은 추가로 화학식 (1)의 화합물의 약제학적으로 허용되는 염 및 이러한 염의 사용 방법에 관한 것이다. 약제학적으로 허용되는 염은 대상에 투여하기 위한, 비-독성의, 생물학적으로 용인가능한, 또는 그렇지 않다면 생물학적으로 적합한 화합물의 유리 산 또는 염기의 염을 말한다. 일반적으로, 문헌 [S.M. Berge, et al., "Pharmaceutical Salts", J. Pharm. Sci., 1977, 66:1-19] 및 문헌 [Handbook of Pharmaceutical Salts, Properties, Selection, and Use, 2002, Stahl and Wermuth, Eds., Wiley-VCH and VHCA, **Zürich**]을 참조한다. 바람직한 약제학적으로 허용되는 염은 약리학적으로 효과적이며 과도한 독성, 자극, 또는 알러지 반응 없이 환자의 조직과 접촉하기에 적합한 것들이다. 화합물은 충분히 산성인 기, 충분히 염기성인 기, 또는 두 가지 유형 모두의 작용기를 보유할 수 있으며, 따라서 많은 무기 또는 유기 염기, 및 무기 및 유기 산과 반응하여, 약제학적으로 허용되는 염을 형성할 수 있다. 약제학적으로 허용되는 염의 예는, 설페이트, 피로설페이트, 바이설페이트, 설파이트, 바이설파이트, 포스페이트, 모노하이드로젠-포스페이트, 다이하이드로젠포스페이트, 메타포스페이트, 피로포스페이트, 클로라이드, 브로마이드, 요오다이드, 아세테이트, 프로피오네이트, 데카노에이트, 카프릴레이트, 아크릴레이트, 포르메이트, 아이소부티레이트, 카프로에이트, 헵타노에이트, 프로피올레이트, 옥살레이트, 말로네이트, 석시네이트, 수베레이트, 세바케이트, 푸마레이트, 말레에이트, 부타인-1,4-다이오에이트, 헥사인-1,6-다이오에이트, 벤조에이트, 클로로벤조에이트, 메틸벤조에이트, 다이니트로벤조에이트, 하이드록시벤조에이트, 메톡시벤조에이트, 프탈레이트, 설포네이트, 자일렌설포네이트, 페닐아세테이트, 페닐프로피오네이트, 페닐부티레이트, 시트레이트, 락테이트, γ -하이드록시부티레이트, 글리콜레이트, 타르트레이트, 메탄-설포네이트, 프로판설포네이트, 나프탈렌-1-설포네이트, 나프탈렌-2-설포네이트 및 만델레이트를 포함한다.

[0058] 요망되는 약제학적으로 허용되는 염은 염기성 질소의 존재 하에, 당업계에서 이용가능한 임의의 적합한 방법에 의해, 예를 들어 유리 염기를 무기 산, 예컨대 염산, 브롬화수소산, 요오드화수소산, 과염소산, 황산, 설파산, 질산, 붕산, 인산 등이나; 유기 산, 예컨대 아세트산, 트라이플루오로아세트산, 페닐아세트산, 프로피온산, 스테아르산, 락트산, 아스코르브산, 말레산, 하이드록시말레산, 말산, 파모익산, 이세티온산, 석신산, 발레르산, 푸마르산, 사카린산, 말론산, 피루브산, 옥살산, 글리콜산, 살리실산, 올레산, 팔미트산, 라우르산, 피라노시딜산, 예컨대, 글루쿠론산 또는 갈락투론산, 알파-하이드록시산, 예컨대, 만델산, 시트르산 또는 타르타르산, 아미노산, 예컨대, 아스파르트산 또는 글루탐산, 방향족 산, 예컨대, 벤조산, 2-아세톡시벤조산, 나프토산, 또는 신남산, 설포산, 예컨대, 라우릴설포산, 벤젠설포산, 2-나프탈렌설포산, p-톨루엔설포산, 메탄설포산, 에탄설포산, 하이드록시에탄설포산, 사이클로헥산설포산, 본 명세서에서 예로서 주어진 것들과 같은 산들의 임의의 상용성 혼합물, 및 당해 기술분야의 통상적인 기술 수준을 고려하여 등가물 또는 허용가능한 대체물로서 간주되는 임의의 다른 산 및 이들의 혼합물로 처리함으로써 제조될 수 있다.

[0059] 요망되는 약제학적으로 허용되는 염은 산기, 예컨대 카르복실산 또는 설포산의 존재 하에, 임의의 적합한 방법, 예를 들어, 유리 산을 무기 또는 유기 염기, 예컨대 아민 (일차, 이차 또는 삼차), 알칼리 금속 수산화물, 알칼리 토금속 수산화물, 본 명세서에서 예로서 주어진 것들과 같은 염기들의 임의의 상용성 혼합물, 및 당해 기술분야의 통상적인 기술 수준을 고려하여 등가물 또는 허용가능한 대체물로서 간주되는 임의의 다른 염기 및 이들

의 혼합물로 처리함으로써 제조될 수 있다. 적합한 염의 예시적인 예에는 아미노산, 예를 들어 글리신 및 아르기닌, 암모니아, 탄산염, 중탄산염, 1차, 2차, 및 3차 아민과 환형 아민, 예를 들어 벤질아민, 피롤리딘, 피페리딘, 모르폴린, 및 피페라진으로부터 유도된 유기 염 및 나트륨, 칼슘, 칼륨, 마그네슘, 망간, 철, 구리, 아연, 알루미늄, 및 리튬으로부터 유도된 무기 염이 포함된다. 대표적인 유기 또는 무기 염기는 추가로 벤자틴, 클로로프로카인, 콜린, 다이에탄올아민, 에틸렌다이아민, 메글루민, 및 프로카인을 포함한다.

[0060] 본 발명은 또한 화합물의 약제학적으로 허용되는 프로드럭, 및 이러한 약제학적으로 허용되는 프로드럭을 사용하는 치료 방법에 관한 것이다. 용어 "프로드럭"은 표기된 화합물의 전구체를 의미하며 이는 대상에게 투여된 후에 가용매분해 또는 효소적 절단과 같은 화학적 또는 생리적 과정을 통해, 또는 생리적 조건하에, 생체내에서 그 화합물을 생성한다. "약제학적으로 허용되는 프로드럭"은 비독성이며, 생물학적으로 용인되며, 다르게는 대상에게 투여하기에 생물학적으로 적합한 프로드럭이다. 적합한 프로드럭 유도체의 선택과 제조를 위한 예시적인 절차는 예를 들어, 문헌 ["Design of Prodrugs", ed. H. Bundgaard, 1985, Elsevier]에 기재되어 있다.

[0061] 추가의 프로드럭 유형은 예를 들어, 아마이드 또는 알킬 에스테르로서 화합물의 구조의 유리 카르복실기를 유도체 화합물으로써 제조될 수 있다. 아마이드의 예에는 암모니아, 1차 알킬 아민 및 2차 다이-알킬 아민으로부터 유도된 것들이 포함된다. 2차 아민에는 5- 또는 6-원 헤테로사이클로알킬 또는 헤테로아릴 고리 부분이 포함된다. 아마이드의 예에는 암모니아, 알킬 1차 아민 및 다이-알킬 아민으로부터 유도된 것들이 포함된다. 본 발명의 에스테르의 예에는 알킬, 사이클로알킬, 페닐 및 페닐-알킬 에스테르가 포함된다. 바람직한 에스테르는 메틸 에스테르를 포함한다. 프로드럭은 또한 헤미석시네이트, 포스페이트 에스테르, 다이메틸아미노아세테이트, 및 포스포릴옥시메틸옥시카르보닐을 포함하는 기를 사용하여, 문헌[Fleisher et al., *Adv. Drug Delivery Rev.*, 1996, 19:115-130]에 약술된 것들과 같은 절차에 따라, 유리 하이드록시기를 유도체화함으로써 제조될 수 있다. 하이드록시기 및 아미노기의 카르바메이트 유도체가 또한 프로드럭을 제공할 수 있다. 하이드록시기의 카르보네이트 유도체, 설포네이트 에스테르 및 설페이트 에스테르는 또한 프로드럭을 제공할 수 있다. 아실기가 하나 이상의 에테르, 아민, 또는 카르복실산 작용기로 선택적으로 치환된 알킬 에스테르일 수 있거나, 아실기가 상술한 아미노산 에스테르인 경우에는, 아실옥시-메틸 및 아실옥시-에틸 에테르로서의 하이드록시기의 유도체화도 프로드럭을 생성하기에 유용하다. 이러한 유형의 프로드럭은 문헌 [Greenwald, et al., *J. Med. Chem.*, 1996, 39 (10):1938-40]에 기재된 바와 같이 제조될 수 있다. 유리 아민은 또한 아마이드, 설포아미드 또는 포스포아미드로서 유도체화될 수 있다. 이들 프로드럭 부분은 모두, 에테르, 아민 및 카르복실산 작용기를 포함하는 기를 포함할 수 있다.

[0062] 또한, 본 발명은 화학식 (1)의 화합물의 약제학적으로 활성인 대사산물에 관한 것이며, 이는 또한 본 발명의 방법에 사용될 수 있다. "약제학적으로 활성인 대사산물"은 화합물 또는 이의 염의 약리학적으로 활성인 체내 대사 산물을 의미한다. 화합물의 프로드럭 및 활성 대사산물은 본 기술 분야에서 이용가능하거나 공지된 일상적 기술을 사용하여 결정할 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Bertolini, et al., *J. Med. Chem.*, 1997, 40:2011-2016]; 문헌 [Shan, et al., *J. Pharm. Sci.*, 1997, 86 (7):765-767]; 문헌 [Bagshawe, *Drug Dev. Res.*, 1995, 34:220-230]; 문헌 [Bodor, *Adv. Drug Res.*, 1984, 13:224-331]; 문헌 [Bundgaard, *Design of Prodrugs*, 1985, Elsevier Press]; 및 문헌 [Larsen, *Design and Application of Prodrugs*, Drug Design and Development, 1991, Krogsgaard-Larsen, et al., eds., Harwood Academic Publishers]을 참조한다.

[0063] C) 약제학적 조성물

[0064] 본 발명의 특정 실시형태에서, 화학식 (1)의 화합물의 염, 더욱 특별히 메글루민 염을 단독으로 사용하거나, 또는 하나 이상의 추가의 성분과 병용하여, 약제학적 조성물을 조제한다. 약제학적 조성물은 유효량의, 본 발명에 따른 적어도 하나의 화합물을 포함한다.

[0065] 본 발명은 또한 본 명세서에서 개시된 화합물 또는 유도체와, 약제학적으로 허용되는 담체, 부형제 및 희석제 중 하나 이상을 포함하는 조성물 (약제학적 조성물 포함)을 제공한다. 본 발명의 특정 실시형태에서, 조성물은 또한 소량의 습윤화제 또는 유화제, 또는 pH 완충화제를 함유할 수 있다. 구체적 실시형태에서, 약제학적 조성물은 인간에의 투여용으로 약제학적으로 허용가능하다. 특정 실시형태에서, 약제학적 조성물은 치료적 또는 예방적 유효량의 본 발명에서 개시된 화합물 또는 유도체를 포함한다. 치료적 또는 예방적으로 유효할 본 발명의 화합물 또는 유도체의 양은 표준 임상 기법에 의해 결정될 수 있다. 예시적인 유효량은 하기 섹션에서 보다 상세히 개시된다. 본 발명의 특정 실시형태에서, 조성물은 또한 안정화제를 함유할 수 있다. 안정화제는 화합물 (1)의 조성물의 화학적 분해 속도를 감소시키는 화합물이다. 적합한 안정화제는 산화방지제, 예를 들어, 아스코르브산, pH 완충제, 또는 염 완충제를 포함하지만 이에 한정되지 않는다.

- [0066] 약제학적 조성물은 대상, 바람직하게는 인간 대상에게 투여하기에 적합한 임의의 형태일 수 있다. 특정 실시형태에서, 조성물은 용액, 현탁액, 에멀전, 정제, 알약, 캡슐, 분말, 및 서방성 제형 형태이다. 조성물은 또한 특히 단위 투여형일 수 있다. 단위 투여형의 예에는 정제; 당의정; 캡슐제, 예를 들어, 연질 엘라스틱 젤라틴 캡슐제; 카세 (cachet); 트로키 (troch); 로젠지 (lozenge); 분산액; 좌제; 연고; 습포제 (찜질제); 페이스트 (paste); 분제; 드레싱; 크림; 고제 (plaster); 액제; 패치; 에어로졸 (예를 들어, 비강 분무 또는 흡입제); 겔; 현탁액 (예를 들어, 수성 또는 비수성 액체 현탁액, 수중유 에멀전 또는 유중수 액체 에멀전), 용액 및 엘릭시르 (elixir)를 포함하는, 환자로의 경구 또는 점막 투여에 적합한 액체 투여형; 대상으로의 비경구 투여에 적합한 액체 투여형; 및 대상으로의 비경구 투여에 적합한 액체 투여형을 제공하도록 재구성될 수 있는 무균 고체 (예를 들어, 결정질 또는 무정형 고체)가 포함되나 이들에 한정되지 않는다.
- [0067] 구체적 실시형태에서, 대상은 소, 말, 양, 돼지, 가금류, 고양이, 개, 마우스, 랫트, 토끼, 또는 기니피그와 같은 포유류이다. 바람직한 실시형태에서, 대상은 인간이다. 바람직하게는, 약제학적 조성물은 수의학적 투여 및/또는 인간 투여에 적합하다. 이러한 실시형태에 따르면, 용어 "약제학적으로 허용되는"은 미국 연방 또는 주정부의 규제 기관에 의해 승인되거나 동물에서의 사용 더욱 특별히는 인간에서의 사용에 대해 미국 약전 또는 일반적으로 인정되는 기타 약전에 열거됨을 의미한다.
- [0068] 본 조성물에 사용하기 적합한 약제학적 담체는 석유, 동물, 식물 또는 합성 기원의 것들을 포함하여 물 및 오일과 같은 무균 액체이다. 구체적 실시형태에서, 오일은 땅콩유, 대두유, 광유, 또는 참깨유이다. 물은 약제학적 조성물이 정맥내로 투여될 때 바람직한 담체이다. 식염수 및 수성 텍스트로스 및 글리세롤 용액은 또한 특히 주사가능 용액을 위한, 액체 담체로서 사용될 수 있다. 적합한 약제학적 담체의 추가의 예는 예를 들어, 문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences (1990) 18th ed. (Mack Publishing, Easton Pa.)]에 기재된 바와 같이, 해당 분야에 알려져 있다.
- [0069] 조성물에 사용하기 적합한 부형제에는 전분, 글루코스, 락토스, 수크로스, 젤라틴, 맥아, 쌀, 밀가루, 백악, 실리카 겔, 스테아르산 나트륨, 글리세롤 모노스테아레이트, 활석, 염화나트륨, 건조 탈지유, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 물, 및 에탄올이 포함된다. 특정 부형제가 약제학적 조성물내에 포함시키기에 적합한지는 투여 경로 및 조성물 내의 특정 활성 성분을 포함하지만 이에 한정되지 않는 당업계에 널리 공지되어 있는 다양한 요인에 좌우된다.
- [0070] 본 발명에서 개시된 화합물 또는 유도체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 및 용매화물을 포함하는 약제학적 조성물은 의도된 투여 경로와 양립가능하도록 제형화된다. 제형은 바람직하게는 국소 투여를 위한 것이지만, 흡입 또는 통기 (입 또는 코를 통한), 피내, 구강, 피하, 협측, 비경구, 질내 또는 직장에 의해서와 같은 기타 수단에 의한 투여를 위한 것일 수 있다. 바람직하게는, 조성물은 또한 보관 및 수송 동안 화합물의 화학적 안정성 증가를 제공하도록 제형화된다. 제형은 동결건조되거나 액체 제형일 수 있다.
- [0071] **D) 투여**
- [0072] 본 명세서에 개시된 화합물 또는 유도체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염은 바람직하게는 임의로 약제학적으로 허용되는 비히클을 포함하는 조성물의 성분으로서 투여된다. 화합물 또는 유도체는 바람직하게는 경구 투여된다. 바람직한 다른 투여 방법은 화합물 또는 유도체의 국소 도포를 통한 것이다.
- [0073] 특정 실시형태에서, 화합물 또는 유도체는 임의의 다른 편리한 경로에 의해, 예를 들어, 피부, 상피 또는 점막 피부 라이닝 (lining) (예를 들어, (상)피, 구강 점막, 직장 및 장 점막)을 통한 흡수에 의해 투여된다. 투여 방법은 비경구, 피내, 근육내, 복강내, 정맥내, 피하, 비강내, 경막외, 경구, 설하, 비강내, 뇌내, 질내, 경피, 직장 투여, 흡입에 의한 것, 또는 특히 귀, 코, 눈, 또는 피부에 국소적으로 투여하는 것을 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 대부분의 경우에, 투여는 화합물 또는 유도체가 혈류 내로 방출되도록 할 것이다. 바람직한 실시형태에서, 화합물 또는 유도체는 경구 전달된다.
- [0074] 또한, 본 발명은 본 명세서에 기재된 화합물을 사용하여, 피롤릴 하이드록실라제에 의해 매개되는 질환, 장애 또는 증상, 예를 들어, 빈혈, 혈관 장애, 대사 장애 및 상처 치유를 갖는 것으로 진단받거나 이를 앓고 있는 대상을 치료하는 방법에 관한 것이다.
- [0075] 바람직한 실시형태에서, 본 발명의 화합물은 만성 신장 질환, 다낭포성 신장 질환, 재생 불량성 빈혈, 자가면역 용혈성 빈혈, 골수 이식 빈혈, 척-스트라우스 증후군, 선천성 순적혈구 빈혈, 판코니 빈혈, 펠티 증후군, 이식편대 숙주병, 조혈모 세포 이식, 용혈성 요독 증후군, 골수이형성 증후군, 발작성 야간 혈색뇨증, 뼈골수 섬유증, 범혈구 감소증, 순수 적혈구 무형성증, 헤노흐-셴라인 자반증, 골수아구가 증가한 불응성 빈혈, 류마티스

관절염, 스와치맨 증후군, 겸상적혈구 질환, 중증성 지중해빈혈, 경증성 지중해빈혈, 혈소판 감소성 자반증, 수술을 겪는 빈혈 또는 비-빈혈 환자, 외상과 관련되거나 외상의 부차적인 빈혈, 철적모구성 빈혈, HIV를 치료하기 위한 역전사효소 저해제, 코르티코스테로이드 호르몬, 사이클릭 시스플라틴 또는 비-시스플라틴-함유 화학치료제, 빈카 알칼로이드, 유사분열 저해제, 토포아이스머라제 II 저해제, 안트라사이클린, 알킬화제를 포함하는 기타 치료에 부차적인 빈혈, 특히 염증, 노화 및/또는 만성 질환에 부차적인 빈혈과 관련된 빈혈 증상의 치료를 포함하는 빈혈의 치료 또는 예방에 유용하다. 또한, PHD 저해를 사용하여, 만성 피로, 창백 및 현기증을 비롯한 빈혈의 징후를 치료할 수 있다.

[0076] 다른 바람직한 실시형태에서, 본 발명의 분자는 당뇨병 및 비만을 포함하나 이들에 한정되지 않는 대사 장애의 질환의 치료 또는 예방에 유용하다. 다른 바람직한 실시형태에서, 본 발명의 분자는 혈관 장애의 치료 또는 예방에 유용하다. 이들에는 혈관형성, 혈관형성 및 동맥신생을 위한 혈관형성 유발 매개체를 필요로 하는 저산소 또는 상처 치유 관련 질환이 포함되나 이들에 한정되지 않는다.

[0077] 본 발명에 따른 치료 방법에서는, 유효량의, 본 발명에 따른 약제가 상기의 질환, 장애 또는 증상을 앓고 있거나 이를 갖는 것으로 진단받은 대상에 투여된다. "유효량"은 지정된 질환, 장애 또는 증상에 대한 상기 치료를 필요로 하는 환자에게 목적하는 치료적 또는 예방적 이익을 일반적으로 초래하기에 충분한 양 또는 용량을 의미한다. 본 발명의 화합물의 유효량 또는 유효 용량은 모델링, 용량 점증 연구 또는 임상 시험과 같은 일상적 방법에 의해, 그리고 일상적 인자들, 예를 들어 투여 또는 약물 전달의 방식 또는 경로, 화합물의 약동학적 특성, 질환, 장애, 또는 증상의 중증도 및 경과, 대상의 이전의 치료 또는 진행 중인 치료, 대상의 건강 상태 및 약물에 대한 반응, 및 치료 의사의 판단을 고려함으로써 확인될 수 있다. 예시적인 용량은 단일 또는 분할 투여 단위 (예를 들어, BID, TID, QID)로 약 0.001 내지 약 200 mg의 화합물/kg (대상 체중)/일, 바람직하게는 약 0.05 내지 100 mg/kg/일, 또는 약 1 내지 35 mg/kg/일의 범위이다. 70 kg 인간인 경우, 적합한 투여량에 대한 예시적인 범위는 약 0.05 내지 약 7 g/일 또는 약 0.2 내지 약 2.5 g/일이다.

[0078] 경구 정제는 약제학적으로 허용되는 부형제, 예를 들어 불활성 희석제, 붕해제, 결합제, 윤활제, 감미제, 착색제, 착색제 및 방부제와 혼합된 본 발명에 따른 화합물을 포함할 수 있다. 적합한 불활성 충전제는 나트륨 및 칼슘 카르보네이트, 나트륨 및 칼슘 포스페이트, 락토스, 전분, 당, 글루코스, 메틸 셀룰로스, 마그네슘 스테아레이트, 만니톨, 소르비톨 등을 포함한다. 예시적인 액체 경구 부형제에는 에탄올, 글리세롤, 물 등이 포함된다. 전분, 폴리비닐-피롤리돈 (PVP), 나트륨 전분 글리콜레이트, 미정질 셀룰로스, 및 알긴산은 적합한 붕해제이다. 결합제는 전분 및 젤라틴을 포함할 수 있다. 윤활제는, 존재할 경우, 마그네슘 스테아레이트, 스테아르산 또는 활석일 수 있다. 목적하는 경우에는, 위장관에서의 흡수를 지연시키기 위하여 정제를 글리세릴 모노스테아레이트 또는 글리세릴 다이스테아레이트와 같은 재료로 코팅하거나, 장용 코팅으로 코팅할 수 있다.

[0079] 경구 투여용 캡슐은 경질 및 연질 젤라틴 캡슐을 포함한다. 경질 젤라틴 캡슐을 제조하기 위하여, 본 발명의 화합물은 고형, 반고형, 또는 액상 희석제와 혼합될 수 있다. 연질 젤라틴 캡슐은 본 발명의 화합물을 물, 오일, 예를 들어 땅콩유 또는 올리브유, 액체 파라핀, 단쇄 지방산의 모노 및 다이-글리세라이드의 혼합물, 폴리에틸렌 글리콜 400, 또는 프로필렌 글리콜과 혼합함으로써 제조될 수 있다.

[0080] 경구 투여용 액체는 현탁액, 용액, 에멀전 또는 시럽의 형태일 수 있거나, 사용 전에 물이나 다른 적합한 비히클과의 재구성을 위한 건조 제품으로서 제공될 수 있다. 그러한 액체 조성물은 임의로 하기를 함유할 수 있다: 약제학적으로 허용되는 부형제 예컨대 현탁화제 (예를 들어, 소르비톨, 메틸 셀룰로스, 나트륨 알기네이트, 젤라틴, 하이드록시에틸셀룰로스, 카르복시메틸셀룰로스, 알루미늄 스테아레이트 겔 등); 비-수성 비히클, 예를 들어, 오일 (예를 들어, 아몬드 오일 또는 분별된 코코넛 오일), 프로필렌 글리콜, 에틸 알코올, 또는 물; 방부제 (예를 들어, 메틸 또는 프로필 p-하이드록시벤조에이트 또는 소르브산); 습윤화제, 예컨대 레시틴; 및, 필요하다면, 풍미제 또는 착색제.

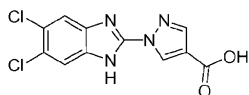
[0081] 본 발명의 활성 약제는 비경구 경로에 의해 투여될 수도 있다. 예를 들어, 직장 투여를 위해 조성물을 좌제로서 제형화할 수 있다. 정맥내, 근육내, 복강내, 또는 피하 경로를 비롯한 비경구적 사용의 경우, 본 발명의 화합물은 적절한 pH 및 등장성이 되도록 완충된, 무균 수용액 또는 현탁액, 또는 비경구용으로 허용되는 오일로 제공될 수 있다. 적합한 수성 비히클은 링거액 및 등장성 염화나트륨을 포함한다. 그러한 형태는 앰플 또는 일회용 주사 기구와 같은 단위-용량 형태, 적절한 용량을 꺼낼 수 있는 바이알과 같은 다회-용량 형태, 또는 주사가 가능한 제형을 제조하는 데 사용될 수 있는 고체 형태나 예비-농축물 (pre-concentrate)로 제공될 것이다. 수분 내지 수일 범위의 기간에 걸친 예시적인 주입 용량은 약제학적 담체와 배합되어, 약 1 내지 1000 $\mu\text{g/kg}$ /분의 화합물 범위일 수 있다.

- [0082] 국소 투여의 경우, 화합물은 비히클에 대하여 약 0.1% 내지 약 10%의 약물의 농도로 약제학적 담체와 혼합될 수 있다. 예에는 로션, 크림, 연고 등이 포함되며, 공지된 방법에 의해 조제될 수 있다. 본 발명의 화합물을 투여하는 다른 방식은 경피 전달에 영향을 주기 위해 패치 제형을 이용할 수 있다.
- [0083] 염 선택 평가를 수행하여, 개발에 가장 적합한 특성을 갖는 화합물 (1)의 염을 확인하였다. 선택 과정에 필수적인 것으로 고려되는 기준은 결정화도, 재결정 과정으로부터의 형태 재현성, 가속화된 조건 하에서의 화학적 및 물리적 안정성, 및 약물 물질 및 약물 제품 개발 둘 모두를 지원하기 위한 적당한 용해도였다.
- [0084] 실시형태들에서, 화합물은 이를 필요로 하는 환자에게 투여하기에 적합한 투여형으로 제형화된다. 약물 및 담체 입자의 제조 방법 및 장비는 문헌 [Pharmaceutical Sciences, Remington, 1985, 17th Ed., 1585-1594]; 문헌 [Chemical Engineers Handbook, Perry, 1984, 6th Ed., pp. 21-13 to 21-19 (1984)]; 문헌 [Parrot et al., 1974, *J. Pharm.Sci.*, 61(6): 813-829]; 및 문헌 [Hixon et al., 1990, *Chem. Engineering*, pp. 94-103]에 개시되어 있다.
- [0085] 본 발명의 투여형에 혼입되는 화합물의 양은 일반적으로 치료 적응 및 원하는 투여 기간, 예를 들어, 12시간마다, 24시간마다 등에 따라 조성물의 중량 기준으로 약 10% 내지 약 90%로 변할 수 있다. 투여하기를 원하는 화합물의 용량에 따라, 한 가지 이상의 투여형이 투여될 수 있다. 화합물은 제형에 따라, 아세테이트 염의 형태로 존재하거나 유리 염기 형태일 것이다.
- [0086] 추가로, 본 발명은 또한 인간 또는 비인간 동물 신체의 치료 또는 진단 방법에 사용하기 위한 앞서 개시된 약제학적 조성물 또는 약제학적 투여형에 관한 것이다.
- [0087] 본 발명은 또한 약제학적 투여형이 포유류에 의해 섭취되는 음식과 무관하게 하루 중 어느 때에도 투여될 수 있는 것을 특징으로 하는, 치료를 필요로 하는 포유류에 경구 투여하기 위한 약제학적 투여형의 제조에 사용하기 위한 약제학적 조성물에 관한 것이다.
- [0088] 본 발명은 또한 본 명세서에 개시된 약제학적 조성물의 치료적 또는 진단적 유효량을 인간 또는 비인간 동물 신체에 투여하는 단계를 포함하는 인간 또는 비인간 동물 신체의 치료 또는 진단 방법에 관한 것이다.
- [0089] 본 발명은 또한 시판용으로 적합한 약제학적 패키지에 관한 것이며, 이는 용기, 본 명세서에 개시된 투여형, 및 투여형이 음식과 함께 또는 음식 없이 투여될 수 있는지에 관한 상기 패키지와 결부된 비제한적인 설명서를 포함한다.
- [0090] 하기 조제 실시예는 단지 예시적이며 어떤 방식으로든 본 발명의 범주를 한정하고자 의도되지 않는다.
- [0091] 실시예
- [0092] 5가지 버전의 화합물 (1), 즉, 유리산, 나트륨, 칼륨, 트로메타민 및 메글루민 염을 생성하고, 이들의 물리적 특성 및 제조 가능성에 의해 바람직한 화합물의 형태의 선택을 설명하였다.
- [0093] **E) 합성예**
- [0094] 하기의 실시예에 기재된 화합물 및 이들의 상응하는 분석 데이터를 획득하기 위하여, 달리 언급되지 않는다면, 하기의 실험 및 분석 프로토콜을 따랐다. 반응 혼합물은 달리 언급되지 않는다면, 실온 (rt)에서 자기적으로 교반하고, 용액을 일반적으로, 건조제, 예를 들어, Na₂SO₄ 또는 MgSO₄로 "건조"시키고, 혼합물, 용액 및 추출물을 전형적으로 감압 하에 회전식 증발기 상에서 "농축"시켰다.
- [0095] 데이터 분석 셋업
- [0096] 박막 크로마토그래피 (TLC)를 머크 (Merck) 실리카 겔 60 F₂₅₄ 2.5 cm × 7.5 cm 250 μm 또는 5.0 cm × 10.0 cm 250 μm 사전 코팅 실리카 겔 플레이트를 사용하여 수행하였다. 분취용 박막 크로마토그래피를 20 cm × 4 cm 집중 구역 (concentrating zone)이 있는 이엠 사이언스 (EM Science) 실리카 겔 60 F₂₅₄ 20 cm × 20 cm 0.5 mm 사전 코팅 플레이트를 사용하여 수행하였다.
- [0097] 달리 언급되지 않는다면, 순상 플래시 컬럼 크로마토그래피 (FCC)를 실리카 겔 (SiO₂) 상에서 수행하여, 헥산/에틸 아세테이트로 용출시키는 한편, 역상 HPLC를 페노메닉스 (Phenomenex) 루나 (Luna) C₁₈ (5 μm, 4.6×150 mm) 컬럼이 있는 휴렛 팩커드 (Hewlett Packard) HPLC 시리즈 1100에서 수행하고, 검출은, 1 mL/분의 유속과 함께, 5.0분에 걸쳐, 10 내지 99% 아세토니트릴/물 (0.05% 트라이플루오로아세트산)의 구배를 사용하여, λ =

230, 254 및 280 nm에서 행하였다. 대안적으로, 분취용 HPLC 정제는, 길슨 유니포인트 (Gilson Unipoint) LC 소프트웨어를 구동시키는 길슨 자동화 HPLC 시스템에서 수행하였으며, UV 피크 검출은 $\lambda = 220$ nm에서 행하고, 역상 YMC-Pack ODS-A (5 μ m, 30 \times 250 mm) 컬럼을 장착하고; 15 내지 20분에 걸친 10 내지 99%의 아세토니트릴/물 (0.05% 트라이플루오로아세트산)의 이동상 구배와 10 내지 20 mL/분의 유속을 사용하였다.

[0098] 달리 언급되지 않는다면, 질량 스펙트럼 (MS)은 ESI/APCI 양성 및 음성 멀티모드 소스 (multimode source)가 장착된 아질런트 시리즈 1100 MSD 상에서 취득하고, 핵자기공명 (NMR) 스펙트럼은, 브루커 (Bruker) 모델 DRX 분광광도계 상에서 수행하였으며, ^1H NMR 데이터는 테트라메틸실란 참조물질의 다운필드 화학적 이동 (ppm)을 보여준다 (겉보기 다중도, 커플링 상수 J (Hz), 적분).

[0099] 실시예 1: 1-(5,6-다이클로로-1H-벤조이미다졸-2-일)-1H-피라졸-4-카르복실산 (화합물 (1))의 유리산



[0100]

[0101] 방법 A:

[0102] 화합물 (1)의 유리산은, 2,5,6-트라이클로로-1H-벤조이미다졸 및 1H-피라졸-4-카르복실산을 사용함으로써 제조하였다. MS (ESI/CI): $\text{C}_{11}\text{H}_6\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_2$ 에 대한 질량 계산치, 297.1; m/z 실험치, 296.0 $[\text{M}-\text{H}]^-$. ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): 14.18-12.52 (br s, 2H), 8.89 (d, $J = 0.5$ Hz, 1H), 8.31 (d, $J = 0.5$ Hz, 1H), 7.80 (s, 2H).

[0103] 방법 B:

[0104] 단계 A: 5,6-다이클로로-1,3-다이하이드로-벤조이미다졸-2-온: 무수 DMF (200 mL) 중 4,5-다이클로로-벤젠-1,2-다이아민 (25 g, 0.14 mol)의 용액에 CDI (23 g, 0.14 mol)를 고체로서 첨가하였다. 반응 용액을 실온에서 1 시간 동안 교반한 다음, 물 (500 mL)을 첨가하였다. 침전된 고체를 여과에 의해 수집하고, 물로 세척하고, 완전히 건조시켜, 표제 화합물을 제공하였다 (26.0 g, 90%). 미정제 생성물을 추가의 정제 없이, 하기의 반응에서 사용하였다.

[0105] 단계 B: 2,5,6-트라이클로로-1H-벤조이미다졸: 완전히 건조된 5,6-다이클로로-1,3-다이하이드로-벤조이미다졸-2-온 (28.4 g, 0.14 mol)을 POCl_3 (75 mL) 중에 현탁화시켰다. 반응 용액을 3시간 동안 환류 온도로 가열하고, 실온으로 냉각시켰다. 용액을 충분히 교반하면서, 설펑/물 (1.5 L)에 천천히 부었다. 용액을 NaOH를 사용하여 pH = 7.0으로 중화시켰다. 침전된 고체를 여과에 의해 수집하고, 물로 세척하고, 건조시켜 표제 화합물을 제공하였다 (27.9 g, 90%). 미정제 생성물을 추가의 정제 없이, 하기의 반응에서 사용하였다.

[0106] 단계 C: 1-(5,6-다이클로로-1-다이메틸설파모일-1H-벤조이미다졸-2-일)-1H-피라졸-4-카르복실산 에틸 에스테르 2,5,6-트라이클로로-1H-벤조이미다졸 2 (27.6 g, 0.125 mol)를 무수 DMF (200 mL) 중에 용해시킨 다음, K_2CO_3 (20.7 g, 0.15 mol) 및 다이메틸설파모일 클로라이드 (17.9 g, 0.125 mol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 16시간 동안 교반하였다. HPLC 분석에 의해, 2,5,6-트라이클로로-벤조이미다졸-1-설펑산 다이메틸아미드의 완전한 형성이 나타났다. 2,5,6-트라이클로로-벤조이미다졸-1-설펑산 다이메틸아미드의 단리 없이, 동일한 용기에 1H-피라졸-4-카르복실산 에틸 에스테르 (17.5 g, 0.125 mol) 및 K_2CO_3 (20.7 g, 0.15 mol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 70°C에서 4시간 동안 교반하고, 반응 용액이 여전히 뜨거운 동안 물 (500 mL)을 첨가하였다. 반응 용액을 실온으로 냉각시켰다. 침전된 고체를 여과를 통해 수집하고, 물로 세척하고, 건조시켰다. 미정제 생성물을 추가의 정제 없이, 하기의 반응에서 사용하였다.

[0107] 단계 D: 1-(5,6-다이클로로-1H-벤조이미다졸-2-일)-1H-피라졸-4-카르복실산. 미정제 1-(5,6-다이클로로-1-다이메틸설파모일-1H-벤조이미다졸-2-일)-1H-피라졸-4-카르복실산 에틸 에스테르를 THF (125 mL) 중에 용해시키고, 수 (250 mL) 중 $\text{LiOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (21 g, 0.5 mol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 환류 온도에서 2시간 동안 교반하고, 실온으로 냉각시켰다. 진한 HCl을 첨가하여 pH를 2.0으로 조정하였다. 침전된 고체를 여과에 의해 수집하고, 물로 세척하고, 건조시켰다. 고체를 고온 EtOAc (1L) 중에서 분쇄하였다. 실온으로의 냉각 및 여과 후에 화학식 (I)의 화합물을 황갈색 고체 (18.5 g, 50%)로 수득하였다. MS $[\text{M}+\text{H}]^+$ 실험치: 297.0. ^1H NMR (500 MHz,

DMSO- d_6): 13.71 (s, 1H), 12.99 (s, 1H), 8.90 (s, 1H), 8.32 (s, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.67 (s, 1H).

[0108] 화합물 (1)의 유리산의 6.0 g 배치 (batch)의 열적 특성, 결정성, 겉보기 순도 및 수분 흡수성은 표 1에 요약되어 있다. 화합물 (1)에 대한 포화 데이터는 도 1에 나타나 있다.

표 1

겉보기 순도 (HPLC)	결정성 (PXRD)	융점 (DSC)	흡착 (40-90% RH)	탈착 (90-0% RH)
99.8%	약한 결정질	343 °C ^a	+0.59 %	-0.96%

^a 분해

[0110] 실시예 2: 화합물 (1)의 칼륨 염

[0111] 1-(5,6-다이클로로-1H-벤조이미다졸-2-일)-1H-피라졸-4-카르복실산의 칼륨 염은, 환류 온도에서 유리산 (55 g, 1.7 mol)을 EtOH (1.5 L) 중에 현탁화시키고, 20 mL 수 중 K₂CO₃ (12.79 g, 0.85 mol)를 5분에 걸쳐 적가함으로 써, 제조하였다. 적절한 교반을 보장하기 위하여 강력한 기계식 교반이 필요하였다. 현탁액을 8시간 동안 환류 온도에서 교반한 다음, 5시간에 걸쳐 실온으로 냉각시켰다. 침전된 고체를 여과에 의해 수집하고, 100 mL의 물에 이어서 EtOH로 신속하게 세척하였다. 칼륨 염을 백색 고체로서 수득하였다 (38 g, 65%). 이후에, 모액을 농축시키고, 상기 과정을 1회 반복하여 두번째 칼륨 염 생성물을 제공하였다 (13 g, 22%). MS [M+H]⁺ = 297.0. ¹H NMR (500 MHz, DMSO- d_6): 8.65 (s, 1H), 7.96 (s, 1H), 7.57 (s, 2H).

[0112] 상기 제슬러리화 방법에 의해 제조된 바와 같은 칼륨 염은 비흡습성이며, PXRD 및 열적 분석에 의해 관찰시, 불량한 결정질 수화물과 일치한다. 화합물 (1)의 칼륨 염의 2개의 넓은 흡열 피크가 DSC에 의해 관찰되었으며, 이는 각각 탈수 사건 및 용융/분해와 관련이 있을 수 있다 (표 2).

표 2

겉보기 순도 (HPLC)	결정성 (PXRD)	융점 (DSC)	흡착 (40-90% RH)	탈착 (90-0% RH)
100.0 %	결정질 일수화물	277 °C ^d	+0.53%	-0.89%

^d 분해

[0114] 실시예 3: 화합물 (1)의 나트륨 염

[0115] 화합물 (1)의 나트륨 염은 PXRD 및 열적 분석에 의해 관찰시 불량하게 결정질인 수화된 고체이다. DSC에 의해, 2개의 넓은 흡열 피크가 나타났으며; 제1 사건은 물의 소실 (TGA 기준으로 약 9%)과 관련이 있으며, 제2 흡열은 염의 용융/분해에 의해 야기된다. 나트륨 염은, 칼륨 염을 제조하기 위해 사용한 방법 (슬러리 방법)과 유사한 방법으로 제조하였다.

[0116] 실시예 4: 화합물 (1)의 트로메타민 염의 결정화 절차

[0117] 지금까지 2가지 형태의 트로메타민 염이 생성되었다. 제1 형태는 에탄올 수용액 (14% 물) 중의 화합물 (1) 및 트로메타민의 슬러리로부터 수득하였다. 이러한 물리적 혼합물은 염이 아니지만 추적하지 않았다. 제2 형태는 과량의 상대이온을 함유하는 후처리 수용액으로부터 생성하였다. 이러한 형태는 칼륨 염보다 더 낮은 겉보기 수용성을 갖는 것으로 관찰된 수화 염이었다. 또한, 이러한 화합물은 불량한 벌크성 (bulk property)을 나타내었다.

[0118] 실시예 5: 화합물 (1)의 메글루민 염의 결정화 절차

[0119] 화합물 (1)의 유리산 및 1.2 몰 당량의 메글루민의 투명 용액 (30 mg/mL)을 약간의 가열 후에 메탄올 수용액 (12% 물) 중에 생성하였다. 씨딩과 함께 실온 교반, 또는 씨딩과 함께 또는 씨딩 없이 냉장에 의해, 지속적으로 메글루민 염의 결정화가 야기되었으며, 이를 여과를 통해 수집하였다. 이러한 방법을 사용하여, 2 g 배치의

염을 생성하였다. 상기 절차에서 용매 조성을 에탄올 수용액으로 바꾸고, FIH-인에이블링 (enabling) 및 FIH 연구를 지원하기 위해 8.7-kg의 GMP-급 물질을 생성하기 위하여 PDMS API SM 개발팀이 사용하였다.

[0120] 화합물 (1)의 메글루민 염의 열적 특성, 결정성 및 겉보기 순도는 표 3에 요약되어 있다. 도 2 및 3은 각각 PXRD 데이터 및 DSC, TGA 및 x-선 데이터를 포함하는 화합물 (1)의 메글루민 염의 염 벌크성을 보여준다. 단일의 결정 데이터에 의해, 화합물 (1)의 메글루민 염이 이수화물인 것을 확인하였으며, 모의 분말 패턴은 도 4a 및 도 4b에 나타난 바와 같은 실험 분말 패턴과 매우 일치하였다. 화합물 (1)의 메글루민 염은 화합물 (1)의 유리산 또는 칼륨 염에 비하여 개선된 벌크성, 용해도 및 향상된 가공성을 갖는 것으로 관찰되었다.

표 3

시료 식별번호	겉보기 순도 (HPLC)	결정성 (PXRD)	용점 (DSC)
화합물 (1)의 메글루민 염	≥ 99.9 %	결정질 이수화물	80 °C

[0121]

[0122] 실시예 6: 화합물 (1)의 메글루민 염의 국소 제형

[0123] 화합물 (1)의 메글루민 염의 국소 제형의 개발에 사용된 재료 및 부형제는 표 4에 열거되어 있다.

표 4

재료
화합물 (1)의 메글루민 염
하이드록시프로필 메틸셀룰로스 (HPMC K15M)
폴록사머 407*
메틸셀룰로스 (MC)
PEG4000
메글루민 (NMDG)
비타민 E-TPGS
카보머 (Carbomer) 941
카보머 934P
카르복시메틸셀룰로스 (Na-CMC)
HP-β-CD
세정용 멸균수

*부형제의 열-가역성으로 인해 5°C에서 가용화.

[0124]

[0125] 표 5는 4주의 저장 후에 화합물 (1)의 메글루민 염의 선택된 제형에서 수행된 물리적 및 화학적 안정성 결과를 열거한 것이다.

표 5

실험	제형 조성	남아있는 화합물 (1)의 메글루민 염 (%)		
		2°C	20°C	40°C
1	0.5% HPMC K15M (pH 8.33)	99.89	101.14	101.44
2	1.0% HPMC K15M (pH 8.33)	99.59	99.21	99.08
3	2.0% 메틸셀룰로오스 (pH 8.32)	98.49	99.71	97.20
4	15% 폴록사머 407 (pH 8.10)	99.19	100.03	87.29*
5	20% 폴록사머 407 (pH 8.03)	97.60	99.57	96.43*
6	VitE-TPGS/PEG400 0/물 (20:20:60; pH 8.06)	100.27	100.32	98.87

* 바이알 (vial)에서 침전 관찰

[0126]

[0127]

HPLC 분석에 의해, 6가지 제형 조성물이 연구된 저장 조건 하에서 4주 동안 화학적으로 안정하였던 것으로 나타났다. 폴록사머계 제형 (실험 4)에 대한 물질 균형의 겉보기 소실은 분해 때문이 아니라, 40°C에서 화합물 (1)의 유리산의 침전 때문이었다. 40°C에서, 폴리머는 분해되어, 아세트산, 알데히드의 형성과 동시에 발생하는 점성의 소실 및 pH의 하락이 야기된다. 생성된 산성 환경은 화합물 (1)의 불용성 유리산의 침전 및 제형의 변색을 야기하였다. 폴록사머 (또는 루트롤 (lutrol))의 불안정성은 알려져 있으며, 문헌 [Erlandsson, B., 2002, *Polym. Degrad. and Stab.*, 78:571-575]에 개시되어 있다. 이러한 분해는 실온에서 보관되거나 냉장보관된 샘플에서는 관찰되지 않았다.

[0128]

화합물 (1)의 메글루민 염의 제형의 용해도 선별의 결과는 표 6에 나타나 있다. 조사한 10가지 비히클 중 4개, 즉, 1% Na-CMC (실험 1), 1% 카보머 941 (실험 2), 1% 카보머 934P (실험 3) 및 20% HP-β-CD (실험 4)는 10 mg/mL (유리산 당량)의 표적 용해도 기준을 만족시키지 않거나, 헬라 (HeLa) 세포에 대해 독성이었다. 1% MC 비히클은 2% MC를 함유하는 생성물에 비하여 현저한 이점을 갖지 않았다. 화합물 (1)의 메글루민 염은 실험 5 및 7 내지 11에서 허용되는 pH 범위 (6 내지 8.5) 내에서 충분히 가용성이었다.

표 6

실험	제형 조성	화합물 (1) 용해도
1	1% Na-CMC	< 10 mg/mL
2	1% 카보머 941	< 10 mg/mL
3	1% 카보머 934P	< 10 mg/mL
4	0.5% HPMC K15M	≥ 10 mg/mL
5	1.0% HPMC K15M	≥ 10 mg/mL
6	1% 메틸셀룰로스	≥ 10 mg/mL
7	2% 메틸셀룰로스	≥ 10 mg/mL
8	15% 폴록사머 407	≥ 10 mg/mL
9	20% 폴록사머 407	≥ 10 mg/mL
10	VitE-TPGS/PEG4000/물 (20:20:60)	≥ 10 mg/mL
11	20% HP-β-CD*	≥ 10 mg/mL

*제형은 헬라 세포에 대해 독성이었다.

[0129]

[0130]

F) 생물학적 실시예

[0131]

HIF1-α에 대한 세포 검정

[0132]

헬라 세포 (미국 버지니아주 머내서스 소재의 ATCC)를 10% 우태아혈청, 1% 비필수 아미노산, 50 IU/mL의 페니실린 및 50 µg/mL의 스트렙토마이신을 함유하는 100 µL의 DMEM 중에, 웰당 20,000개 세포로 96-웰 플레이트에 플레이트하였다 (모든 세포 배양 시약은 미국 캘리포니아주 칼스배드 소재의 인비트로젠 (Invitrogen)사로부터 수득). 플레이트하고 24시간 후에, 배지를 10% 우태아혈청이 없는 100 µL의 DMEM으로 바꾸고, 각 화합물에 대한 1.1 µL의 스톱 용액을 첨가하고, 6시간 동안 인큐베이션시켰다. 모든 화합물을 100 µM의 최종 화합물 농도에서 시험하였다. 상청액을 제거하고, 세포는, 프로테아제 저해제를 함유하는 55µL의 MSD 용해 완충제 중에서 용해시켰다. 이어서, 50 µL의 세포 용해물을 블로킹된 MSD 인간 HIF-1α 검출 플레이트 (미국 메릴랜드주 게더스버그 소재의 메소-스케일 디스커버리 (Meso-Scale Discovery), 제조사의 프로토콜에 따름)로 옮기고, 오비탈 셰이커 (orbital shaker) 상에서 2시간 동안 실온에서 인큐베이션시켰다. PBS에서의 3회의 세척 후에, 25 µL의 20nM 항-HIF1α 검출 항체를 첨가하고, 오비탈 셰이커 상에서 실온에서 1시간 동안 인큐베이션시켰다. PBS에서의 3회의 세척 후에, 150 µL의 1X 판독 완충제를 첨가한 다음, 플레이트를 MSD SECTOR 기기 상에서 판독하였다. 데이터는, 100 µM 화합물의 존재 하에서, 검정 대조군 화합물, 7-[(4-클로로-페닐)-(5-메틸-아이속사졸-3-일아미노)-메틸]-퀴놀린-8-올에 비한 HIF 자극 백분율을 결정함으로써 분석하였다. 이러한 화합물 (1)의 메글루민염에 대한 생물학적 데이터는 도 5에 제시되어 있다.

[0133]

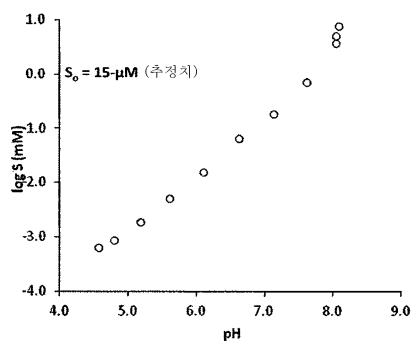
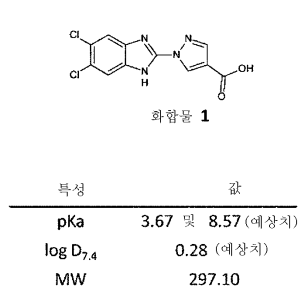
화합물 (1)의 메글루민 염의 제형에 대한 추가의 생물학적 데이터는 도 6 내지 8에 제시되어 있다.

[0134]

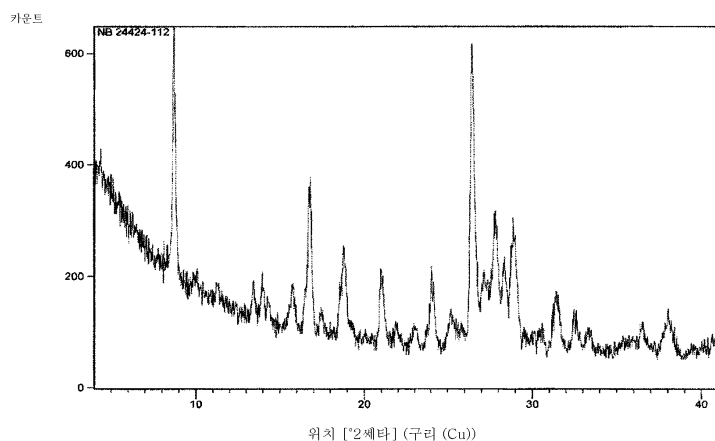
전술한 명세서가 설명을 목적으로 제공된 실시예와 함께, 본 발명의 원리를 교시한다고 하더라도, 발명의 실행이 하기 특허청구범위 및 그들의 등가물의 범주 내에 속하는 모든 통상적인 변형, 개조 및/또는 변경을 포함하는 것으로 이해될 것이다.

도면

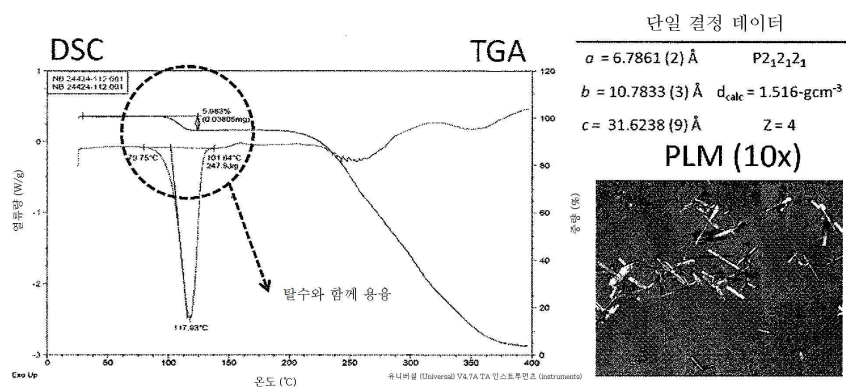
도면1



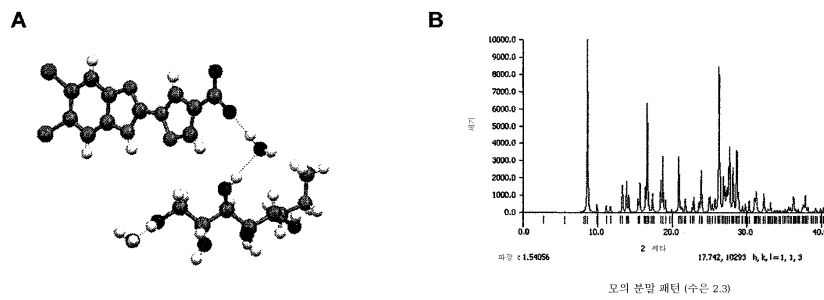
도면2



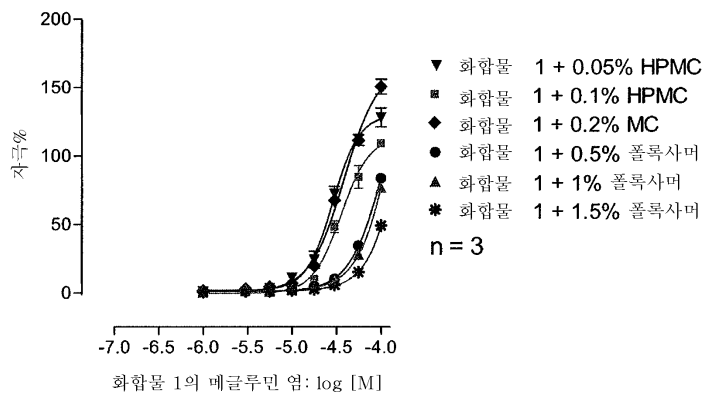
도면3



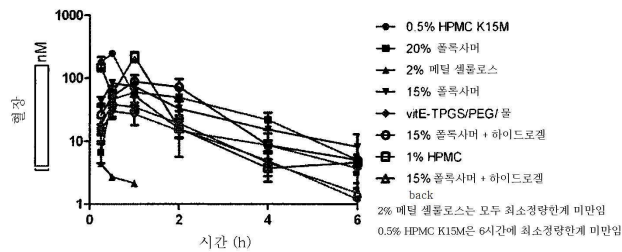
도면4



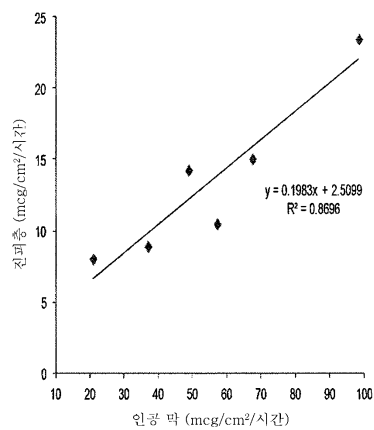
도면5



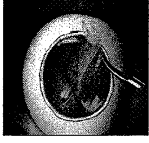
도면6



도면7



도면8



난막 제거



처리