



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0032578
(43) 공개일자 2018년03월30일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/4184 (2006.01) A61K 31/4706 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01) A61P 29/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/4184 (2013.01)
A61K 31/4706 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2018-7002620
(22) 출원일자(국제) 2016년06월30일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2018년01월26일
(86) 국제출원번호 PCT/US2016/040566
(87) 국제공개번호 WO 2017/004454
국제공개일자 2017년01월05일
(30) 우선권주장
62/187,061 2015년06월30일 미국(US)

(71) 출원인
아이저 그룹 인터내셔널, 인코포레이티드
미국, 캘리포니아 94301, 팔로 알토, 웹스터 스트리트 2061
(72) 발명자
글렌, 제프리, 에스.
미국, 캘리포니아주 94301, 팔로 알토, 웹스터 스트리트 2061
팜, 에드워드, 에이.
미국, 캘리포니아주 94301, 팔로 알토, 웹스터 스트리트 2061
(74) 대리인
김영철, 김 순 영

전체 청구항 수 : 총 202 항

(54) 발명의 명칭 **염증 및 암 질환의 치료를 위한 클로로퀸 및 클레미졸 화합물의 용도**

(57) 요약

본원은 R-클로로퀸, 클레미졸 또는 R-클로로퀸과 클레미졸의 조합을 이를 필요로 하는 대상의 치료에 사용하는 방법을 제공한다. 이러한 사용은 대상에서 염증 질환을 치료하거나, 간암을 치료하거나, 간암 발병 위험을 감소시키는 방법을 포함한다. 또한 이러한 사용은 대상에서 비알코올성 지방간염을 치료하는 방법을 포함한다.

대표도 - 도8

화합물 D에 의한 종양 발생 억제

군	마우스 ID	가시적인 종양 결절의 수	가시적인 종양 결절의 최대 직경(mm)	가시적인 종양 결절의 평균 수	가시적인 종양 결절의 평균 최대 직경 (mm)
비히클	101	3	14.4	3.0 ± 2.0	7.3 ± 6.5
	102	5	5.4		
	111	1	2.0		
화합물 D	501	0	0.0	0.3 ± 0.6	0.7 ± 1.2
	505	1	2.0		
	510	0	0.0		



좌엽 후구역-비히클 대조군



좌엽 후구역-화합물 D로 치료

(52) CPC특허분류

A61K 45/06 (2013.01)

A61P 29/00 (2018.01)

A61P 35/00 (2018.01)

명세서

청구범위

청구항 1

치료를 필요로 하는 비알코올성 지방간염을 갖는 대상에서 간의 염증을 치료하는 방법으로서, 클레미졸의 유효량을 상기 대상에게 투여하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 2

제 1 항에 있어서, 상기 유효량이 0.5 mg/kg 내지 50 mg/kg의 투여량을 포함하는, 방법.

청구항 3

제 1 항에 있어서, 상기 유효량이 1일 1회, 1일 2회 또는 1일 3회 투여되는 0.5 mg/kg 내지 50 mg/kg의 투여량을 포함하는, 방법.

청구항 4

제 1 항에 있어서, 상기 투여가 상기 대상에서 간암 발병 확률을 유의하게 감소시키는, 방법.

청구항 5

제 1 항에 있어서, 상기 투여가 경구 투여인, 방법.

청구항 6

제 1 항에 있어서, 상기 투여가 1일 1회, 1일 2회 또는 1일 3회 투여인, 방법.

청구항 7

제 1 항에 있어서, 상기 염증이 정상인 건강한 대조군 집단의 수준과 비교하여 상기 대상의 혈장 내의 알라닌 아미노 전이 효소의 혈장 수준이 상승된 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 8

제 1 항에 있어서, 상기 대상에서의 상기 염증은 조직학적 표본에서의 상당한 수의 침윤 면역 세포의 병소를 특징으로 하는 소엽 염증인, 방법.

청구항 9

제 1 항에 있어서, 상기 대상에서의 상기 염증은 간 생검으로부터 취득된 표본의 검사로부터 진단되는, 방법.

청구항 10

제 1 항에 있어서, 상기 대상에서의 상기 염증은 초음파, 컴퓨터 단층 촬영, 자기 공명 영상, 혈액 검사 또는 과분극(hyperpolarized) ^{13}C -NMR 분광법을 포함하는 NMR 분광법으로 진단되는, 방법.

청구항 11

제 1 항에 있어서, 상기 치료는 상기 대상의 알라닌 아미노 전이 효소의 혈장 수준을 유의하게 감소시키는, 방법.

청구항 12

제 1 항에 있어서, 상기 대상은 또한 항-NASH 제제의 유효량으로 치료되는, 방법.

청구항 13

제 33 항에 있어서, 상기 항-NASH 제제는 FXR 작용제, LOXL2 억제제, 카스파제 프로테아제 억제제, 시스테인 바이타르트레이트, 갈락틴-3 억제제, CCR2 및 CCR5 경로 억제제, 시스테인 고갈성 작용제, SGLT-2 억제제, GLP-1, 담즙산, 합성 지방산 및 담즙산 복합체, 시루투인 자극제, 면역 조절제 또는 PPAR 작용제를 포함하는, 방법.

청구항 14

제 1 항에 있어서, 상기 대상에서 인슐린 감수성을 증가시키는 약제의 유효량을 상기 대상에 투여함으로써 인슐린 저항성에 대해 상기 대상을 치료하는 것을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 15

제 14 항에 있어서, 상기 약제가 메트포르민, 티아졸리딘디온, 피오글리타존 또는 로시글리타존을 포함하는, 방법.

청구항 16

제 1 항에 있어서, 상기 대상에서 콜레스테롤 및/또는 고 트리글리세라이드(high triglycerides)를 감소시키는 약제의 유효량을 상기 대상에 투여함으로써 고 콜레스테롤 및/또는 고 트리글리세라이드에 대해 상기 대상을 치료하는 것을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 17

제 16 항에 있어서, 상기 약제가 스타틴, 담즙산 격리제, 콜레스테롤 흡수 억제제, 피브린산 유도제 또는 니코틴산을 포함하는, 방법.

청구항 18

제 1 항에 있어서, CYP3A4 억제제의 유효량 이상이 대상에게 또한 투여되는, 방법.

청구항 19

제 18 항에 있어서, 상기 CYP3A4 억제제가 리토나비르 또는 코비시스타트를 포함하는, 방법.

청구항 20

제 1 항에 있어서, 상기 대상은 또한 R-클로로퀸의 유효량으로 치료되는, 방법.

청구항 21

제 1 항에 있어서, 상기 대상은 또한 R-클로로퀸의 중수소화 유사체, R-클로로퀸 대사산물, R-히드록시클로로퀸, R-히드록시클로로퀸의 중수소화 유사체 또는 R-히드록시클로로퀸 대사산물의 유효량으로 치료되는, 방법.

청구항 22

치료를 필요로 하는 비알코올성 지방간염을 갖는 대상에서 간의 염증을 치료하는 방법으로서, 클레미졸의 중수소화 유사체 또는 클레미졸 대사산물의 유효량을 상기 대상에게 투여하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 23

제 22 항에 있어서, 상기 유효량이 0.5 mg/kg 내지 50 mg/kg의 투여량을 포함하는, 방법.

청구항 24

제 22 항에 있어서, 상기 유효량이 1일 1회, 1일 2회 또는 1일 3회 투여되는 0.5 mg/kg 내지 50 mg/kg의 투여량을 포함하는, 방법.

청구항 25

제 22 항에 있어서, 상기 투여가 상기 대상에서 간암 발병 확률을 유의하게 감소시키는, 방법.

청구항 26

제 22 항에 있어서, 상기 투여가 경구 투여인, 방법.

청구항 27

제 22 항에 있어서, 상기 투여가 1일 1회, 1일 2회 또는 1일 3회 투여인, 방법.

청구항 28

제 22 항에 있어서, 상기 염증이 정상인 건강한 대조군 집단의 수준과 비교하여 상기 대상의 혈장 내의 알라닌 아미노 전이 효소의 혈장 수준이 상승된 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 29

제 22 항에 있어서, 상기 대상에서의 상기 염증은 조직학적 표본에서의 상당한 수의 침윤 면역 세포의 병소의 개수를 특징으로 하는 소염 염증인, 방법.

청구항 30

제 22 항에 있어서, 상기 대상에서의 상기 염증은 간 생검으로부터 수득된 표본의 검사로부터 진단되는, 방법.

청구항 31

제 22 항에 있어서, 상기 대상에서의 상기 염증은 초음파, 컴퓨터 단층 촬영, 자기 공명 영상, 혈액 검사 또는 과분극 ^{13}C -NMR 분광법을 포함하는 NMR 분광법으로 진단되는, 방법.

청구항 32

제 22 항에 있어서, 상기 치료는 상기 대상의 알라닌 아미노 전이 효소의 혈장 수준을 유의하게 감소시키는, 방법.

청구항 33

제 22 항에 있어서, 상기 대상은 또한 항-NASH 제제의 유효량으로 치료되는, 방법.

청구항 34

제 33 항에 있어서, 상기 항-NASH 제제는 FXR 작용제, LOXL2 억제제, 카스파제 프로테아제 억제제, 시스테아민 바이타르트레이트, 갈렉틴-3 억제제, CCR2 및 CCR5 경로 억제제, 시스테인 고갈성 작용제, SGLT-2 억제제, GLP-1, 담즙산, 합성 지방산 및 담즙산 복합체, 시루투인 자극제, 면역 조절제 또는 PPAR 작용제를 포함하는, 방법.

청구항 35

제 22 항에 있어서, 상기 대상에서 인슐린 감수성을 증가시키는 약제의 유효량을 상기 대상에 투여함으로써 인슐린 저항성에 대해 상기 대상을 치료하는 것을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 36

제 35 항에 있어서, 상기 약제가 메트포르민, 티아졸리딘디온, 피오글리타존 또는 로시글리타존을 포함하는, 방법.

청구항 37

제 22 항에 있어서, 상기 대상에서 콜레스테롤 및/또는 고 트리글리세라이드를 감소시키는 약제의 유효량을 상기 대상에 투여함으로써 고 콜레스테롤 및/또는 고 트리글리세라이드에 대해 상기 대상을 치료하는 것을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 38

제 37 항에 있어서, 상기 약제가 스타틴, 담즙산 격리제, 콜레스테롤 흡수 억제제, 피브린산 유도제 또는 니코

틴산을 포함하는, 방법.

청구항 39

제 22 항에 있어서, CYP3A4 억제제의 유효량이 상기 대상에게 또한 투여되는, 방법.

청구항 40

제 39 항에 있어서, 상기 CYP3A4 억제제가 리토나비르 또는 코비시스타트를 포함하는, 방법.

청구항 41

제 22 항에 있어서, 상기 대상은 또한 R-클로로퀸의 유효량으로 치료되는, 방법.

청구항 42

제 22 항에 있어서, 상기 대상은 또한 R-클로로퀸의 중수소화 유사체, R-클로로퀸 대사산물, R-히드록시클로로퀸, R-히드록시클로로퀸의 중수소화 유사체 또는 R-히드록시클로로퀸 대사산물의 유효량으로 치료되는, 방법.

청구항 43

치료를 필요로 하는 비알코올성 지방간염을 갖는 대상에서 간의 염증을 치료하는 방법으로서,

R-클로로퀸의 유효량을 상기 대상에게 투여하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 44

제 43 항에 있어서, 상기 유효량이 0.5 mg/kg 내지 50 mg/kg의 투여량을 포함하는, 방법.

청구항 45

제 43 항에 있어서, 상기 유효량이 1일 1회, 격일 1회 또는 1주 1회 투여되는 0.5 mg/kg 내지 50 mg/kg의 투여량을 포함하는, 방법.

청구항 46

제 43 항에 있어서, 치료 초기 이틀 동안 매일 부하용량의 2배(double loading dose)를 포함하는, 방법.

청구항 47

제 43 항에 있어서, 상기 투여가 상기 대상에서 간암 발병 확률을 유의하게 감소시키는, 방법.

청구항 48

제 43 항에 있어서, 상기 투여가 경구 투여인, 방법.

청구항 49

제 43 항에 있어서, 상기 투여가 1일 1회, 격일 1회 또는 1주 1회 투여인, 방법.

청구항 50

제 43 항에 있어서, 상기 염증이 정상인 건강한 대조군 집단의 수준과 비교하여 상기 대상의 혈장 내의 알라닌 아미노 전이 효소의 혈장 수준이 상승된 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 51

제 43 항에 있어서, 상기 대상에서의 상기 염증은 조직학적 표본에서의 상당한 수의 침윤 면역 세포의 병소의 개수를 특징으로 하는 소염 염증인, 방법.

청구항 52

제 43 항에 있어서, 상기 대상에서의 상기 염증은 간 생검으로부터 취득된 표본의 검사로부터 진단되는, 방법.

청구항 53

제 43 항에 있어서, 상기 대상에서의 상기 염증은 초음파, 컴퓨터 단층 촬영, 자기 공명 영상, 혈액 검사 또는 과분극 ^{13}C -NMR 분광법을 포함하는 NMR 분광법으로 진단되는, 방법.

청구항 54

제 43 항에 있어서, 상기 치료는 상기 대상의 알라닌 아미노 전이 효소의 혈장 수준을 유의하게 감소시키는, 방법.

청구항 55

제 43 항에 있어서, 상기 대상은 또한 항-NASH 제제의 유효량으로 치료되는, 방법.

청구항 56

제 55 항에 있어서, 상기 항-NASH 제제는 FXR 작용제, LOXL2 억제제, 카스파제 프로테아제 억제제, 시스테아민 바이타르트레이트, 갈렉틴-3 억제제, CCR2 및 CCR5 경로 억제제, 시스테인 고갈성 작용제, SGLT-2 억제제, GLP-1, 담즙산, 합성 지방산 및 담즙산 복합제, 시루투인 자극제, 면역 조절제 또는 PPAR 작용제를 포함하는, 방법.

청구항 57

제 43 항에 있어서, 상기 대상에서 인슐린 감수성을 증가시키는 약제의 유효량을 상기 대상에 투여함으로써 인슐린 저항성에 대해 상기 대상을 치료하는 것을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 58

제 57 항에 있어서, 상기 약제가 메트포르민, 티아졸리딘디온, 피오글리타존 또는 로시글리타존을 포함하는, 방법.

청구항 59

제 43 항에 있어서, 상기 대상에서 콜레스테롤 및/또는 고 트리글리세라이드를 감소시키는 약제의 유효량을 상기 대상에 투여함으로써 고 콜레스테롤 및/또는 고 트리글리세라이드에 대해 상기 대상을 치료하는 것을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 60

제 59 항에 있어서, 상기 약제가 스타틴, 담즙산 격리제, 콜레스테롤 흡수 억제제, 피브린산 유도체 또는 니코틴산을 포함하는, 방법.

청구항 61

제 43 항에 있어서, 상기 대상은 또한 클레미졸의 유효량으로 치료되는, 방법.

청구항 62

제 43 항에 있어서, 상기 대상은 또한 클레미졸의 중수소화 유사체 또는 클레미졸 대사산물의 유효량으로 치료되는, 방법.

청구항 63

치료를 필요로 하는 비알코올성 지방간염을 갖는 대상에서 간의 염증을 치료하는 방법으로서,

R-클로로퀸의 중수소화 유사체, R-클로로퀸 대사산물, R-히드록시클로로퀸, R-히드록시클로로퀸의 중수소화 유사체 또는 R-히드록시클로로퀸 대사산물의 유효량을 상기 대상에게 투여하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 64

제 63 항에 있어서, 상기 유효량이 0.5 mg/kg 내지 50 mg/kg의 투여량을 포함하는, 방법.

청구항 65

제 63 항에 있어서, 상기 유효량이 1일 1회, 격일 1회 또는 1주 1회 투여되는 0.5 mg/kg 내지 50 mg/kg의 투여량을 포함하는, 방법.

청구항 66

제 63 항에 있어서, 치료 초기 이틀 동안 매일 부하용량의 2배를 더 포함하는, 방법.

청구항 67

제 63 항에 있어서, 상기 투여가 상기 대상에서 간암 발병 확률을 유의하게 감소시키는, 방법.

청구항 68

제 63 항에 있어서, 상기 투여가 경구 투여인, 방법.

청구항 69

제 63 항에 있어서, 상기 투여가 1일 1회, 격일 1회 또는 1주 1회 투여인, 방법.

청구항 70

제 63 항에 있어서, 상기 염증이 정상인 건강한 대조군 집단의 수준과 비교하여 상기 대상의 혈장 내의 알라닌 아미노 전이 효소의 혈장 수준이 상승된 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 71

제 63 항에 있어서, 상기 대상에서의 상기 염증은 조직학적 표본에서의 상당한 수의 침윤 면역 세포의 병소의 개수가 많은 것을 특징으로 하는 소염 염증인, 방법.

청구항 72

제 63 항에 있어서, 상기 대상에서의 상기 염증은 간 생검으로부터 취득된 표본의 검사로부터 진단되는, 방법.

청구항 73

제 63 항에 있어서, 상기 대상에서의 상기 염증은 초음파, 컴퓨터 단층 촬영, 자기 공명 영상, 혈액 검사 또는 과분극 ^{13}C -NMR 분광법을 포함하는 NMR 분광법으로 진단되는, 방법.

청구항 74

제 63 항에 있어서, 상기 치료는 상기 대상의 알라닌 아미노 전이 효소의 혈장 수준을 유의하게 감소시키는, 방법.

청구항 75

제 63 항에 있어서, 상기 대상은 또한 항-NASH 제제의 유효량으로 치료되는, 방법.

청구항 76

제 75 항에 있어서, 상기 항-NASH 제제는 FXR 작용제, LOXL2 억제제, 카스파제 프로테아제 억제제, 시스테인 바이타르트레이트, 갈렉틴-3 억제제, CCR2 및 CCR5 경로 억제제, 시스테인 고갈성 작용제, SGLT-2 억제제, GLP-1, 담즙산, 합성 지방산 및 담즙산 복합제, 시루투인 자극제, 면역 조절제 또는 PPAR 작용제를 포함하는, 방법.

청구항 77

제 63 항에 있어서, 상기 대상에서 인슐린 감수성을 증가시키는 약제의 유효량을 상기 대상에 투여함으로써 인슐린 저항성에 대해 상기 대상을 치료하는 것을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 78

제 77 항에 있어서, 상기 약제가 메트포르민, 티아졸리딘디온, 피오글리타존 또는 로시글리타존을 포함하는, 방법.

청구항 79

제 63 항에 있어서, 상기 대상에서 콜레스테롤 및/또는 고 트리글리세라이드를 감소시키는 약제의 유효량을 상기 대상에 투여함으로써 고 콜레스테롤 및/또는 고 트리글리세라이드에 대해 상기 대상을 치료하는 것을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 80

제 79 항에 있어서, 상기 약제가 스타틴, 담즙산 격리제, 콜레스테롤 흡수 억제제, 피브린산 유도제 또는 니코틴산을 포함하는, 방법.

청구항 81

제 63 항에 있어서, 상기 대상은 또한 클레미졸의 유효량으로 치료되는, 방법.

청구항 82

제 63 항에 있어서, 상기 대상은 또한 클레미졸의 중수소화 유사체 또는 클레미졸 대사산물의 유효량으로 치료되는, 방법.

청구항 83

클레미졸의 유효량을 간암을 앓고 있는 대상에게 투여함으로써 상기 대상을 치료하는, 방법.

청구항 84

제 83 항에 있어서, 상기 간암이 간세포암인, 방법.

청구항 85

제 83 항에 있어서, 상기 대상이 비알코올성 지방간염으로 진단된 대상인, 방법.

청구항 86

제 83 항에 있어서, 상기 유효량이 0.5 mg/kg 내지 50 mg/kg의 투여량을 포함하는, 방법.

청구항 87

제 83 항에 있어서, 상기 유효량이 1일 1회, 1일 2회 또는 1일 3회 투여되는 0.5 mg/kg 내지 50 mg/kg의 투여량을 포함하는, 방법.

청구항 88

제 83 항에 있어서, 상기 투여가 1일 1회, 1일 2회 또는 1일 3회 투여인, 방법.

청구항 89

제 83 항에 있어서, 상기 투여가 경구 투여인, 방법.

청구항 90

제 83 항에 있어서, 상기 치료의 결과가 종양 수축, 종양 성장 억제, 종양의 진행까지의 시간 증가, 상기 대상의 무병 생존 연장, 전이 감소, 상기 대상의 무진행(progression-free) 생존 증가 또는 상기 대상의 전반적 생존 증가인, 방법.

청구항 91

제 83 항에 있어서, 상기 대상에게 화학 치료제를 도입하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 92

제 83 항에 있어서, 상기 대상이 인간인, 방법.

청구항 93

클레미졸의 중수소화 유사체 또는 클레미졸 대사산물의 유효량을 간암을 앓고 있는 대상에게 투여함으로써 상기 대상을 치료하는, 방법.

청구항 94

제 93 항에 있어서, 상기 간암이 간세포암인, 방법.

청구항 95

제 93 항에 있어서, 상기 대상이 비알코올성 지방간염으로 진단된 대상인, 방법.

청구항 96

제 93 항에 있어서, 상기 유효량이 0.5 mg/kg 내지 50 mg/kg의 투여량을 포함하는, 방법.

청구항 97

제 93 항에 있어서, 상기 유효량이 1일 1회, 1일 2회 또는 1일 3회 투여되는 0.5 mg/kg 내지 50 mg/kg의 투여량을 포함하는, 방법.

청구항 98

제 93 항에 있어서, 상기 투여가 1일 1회, 1일 2회 또는 1일 3회 투여인, 방법.

청구항 99

제 93 항에 있어서, 상기 투여가 경구 투여인, 방법.

청구항 100

제 93 항에 있어서, 상기 치료의 결과가 종양 수축, 종양 성장 억제, 종양의 진행까지의 시간 증가, 상기 대상의 무병 생존 연장, 전이 감소, 상기 대상의 무진행 생존 증가 또는 상기 대상의 전반적 생존 증가인, 방법.

청구항 101

제 93 항에 있어서, 상기 대상에게 화학 치료제를 도입하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 102

제 93 항에 있어서, 상기 대상이 인간인, 방법.

청구항 103

간암을 갖는 대상에서 종양 세포의 수를 감소시키는 방법으로서,

클레미졸을 함유하는 약학 조성물의 유효량을 상기 대상에게 투여하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 104

제 103 항에 있어서, 상기 투여가 상기 종양을 수축시키거나, 상기 종양의 성장을 억제하거나, 상기 종양의 진행까지의 시간을 증가시키거나, 상기 대상의 무병 생존을 연장시키거나, 전이를 감소시키거나, 상기 대상의 무진행 생존을 증가시키거나 상기 대상의 전반적인 생존을 증가시키는, 방법.

청구항 105

제 103 항에 있어서, 상기 대상에게 화학 치료제를 도입하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 106

제 103 항에 있어서, 상기 대상이 인간인, 방법.

청구항 107

제 103 항에 있어서, 상기 클레미줄은 상기 대상에게 투여된 후에 활성화되도록 변형된, 방법.

청구항 108

간암을 갖는 대상에서 종양 세포의 수를 감소시키는 방법으로서,

클레미줄의 중수소화 유사체 또는 클레미줄 대사산물을 함유하는 약학 조성물의 유효량을 상기 대상에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 109

제 108 항에 있어서, 상기 투여가 상기 종양을 수축시키거나, 상기 종양의 성장을 억제하거나, 상기 종양의 진행까지의 시간을 증가시키거나, 상기 대상의 무병 생존을 연장시키거나, 전이를 감소시키거나, 상기 대상의 무진행 생존을 증가시키거나, 상기 대상의 전반적인 생존을 증가키는, 방법.

청구항 110

제 108 항에 있어서, 상기 대상에게 화학 치료제를 도입하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 111

제 108 항에 있어서, 상기 대상이 인간인, 방법.

청구항 112

제 108 항에 있어서, 상기 클레미줄은 상기 대상에게 투여된 후에 활성화되도록 변형된, 방법.

청구항 113

간암 발병 위험이 있는 대상에서 간암 발병 가능성을 유의하게 감소시키는 방법으로서,

클레미줄의 유효량을 추가로 포함하는 약학 조성물을 상기 대상에게 투여하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 114

제 113 항에 있어서, 상기 대상이 비알코올성 지방간염으로 진단된 대상인, 방법.

청구항 115

제 113 항에 있어서, 상기 대상이 C형 간염으로 진단된 대상인, 방법.

청구항 116

제 113 항에 있어서, 상기 대상이 B형 간염으로 진단된 대상인, 방법.

청구항 117

제 113 항에 있어서, 상기 대상이 간경변을 갖는 대상인, 방법.

청구항 118

제 113 항에 있어서, 상기 유효량이 0.5 mg/kg 내지 50 mg/kg의 투여량을 포함하는, 방법.

청구항 119

제 113 항에 있어서, 상기 유효량이 1일 1회, 1일 2회 또는 1일 3회 투여되는 0.5 mg/kg 내지 50 mg/kg의 투여량을 포함하는, 방법.

청구항 120

제 113 항에 있어서, 상기 투여가 경구 투여인, 방법.

청구항 121

제 113 항에 있어서, 상기 투여가 1일 1회, 1일 2회 또는 1일 3회 투여인, 방법.

청구항 122

제 113 항에 있어서, 상기 치료가 상기 대상의 알라닌 아미노 전이 효소의 혈장 수준을 유의하게 감소시키는, 방법.

청구항 123

제 113 항에 있어서, 상기 대상은 또한 항-NASH 제제의 유효량으로 치료되는, 방법.

청구항 124

제 123 항에 있어서, 상기 항-NASH 제제는 FXR 작용제, LOXL2 억제제, 카스파제 프로테아제 억제제, 시스테인 바이타르트레이트, 갈렉틴-3 억제제, CCR2 및 CCR5 경로 억제제, 시스테인 고갈성 작용제, SGLT-2 억제제, GLP-1, 담즙산, 합성 지방산 및 담즙산 복합제, 시루투인 자극제, 면역 조절제 또는 PPAR 작용제를 포함하는, 방법.

청구항 125

제 113 항에 있어서, 상기 대상에서 인슐린 감수성을 증가시키는 약제의 유효량을 상기 대상에 투여함으로써 인슐린 저항성에 대해 상기 대상을 치료하는 것을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 126

제 125 항에 있어서, 상기 약제가 메트포르민, 티아졸리딘디온, 피오글리타존 또는 로시글리타존을 포함하는, 방법.

청구항 127

제 113 항에 있어서, 상기 대상에서 콜레스테롤 및/또는 고 트리글리세라이드를 감소시키는 약제의 유효량을 상기 대상에 투여함으로써 고 콜레스테롤 및/또는 고 트리글리세라이드에 대해 상기 대상을 치료하는 것을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 128

제 127 항에 있어서, 상기 약제가 스타틴, 담즙산 격리제, 콜레스테롤 흡수 억제제, 피브린산 유도제 또는 니코틴산을 포함하는, 방법.

청구항 129

제 113 항에 있어서, 항바이러스 약물의 유효량을 상기 대상에게 투여함으로써 바이러스 감염에 대해 상기 대상을 치료하는 것을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 130

제 129 항에 있어서, 상기 항바이러스 약물이 인터페론, 뉴클레오사이드 유사체, 직접 작용 항바이러스 또는 기타 항바이러스 약물, 예를 들어 인터페론 알파-2b, 페그인터페론 알파-2a, 엔테카비르, 라미부딘, 아테포비르, 텔비부딘, 테노포비르, 소포스부비르, 레디파스비르, 옴비타스비르, 파리타프레비르, 리토나비르, 다사부비르, 그라조프레비르, 엘바스비르, 아수나프레비르, 다클라타스비르 또는 베클라부비르를 포함하는, 방법.

청구항 131

제 113 항에 있어서, 항섬유증 약물의 유효량을 상기 대상에게 투여함으로써 섬유증에 대해 상기 대상을 치료하는 것을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 132

제 131 항에 있어서, 상기 항섬유증 약물이 염증을 감소시키거나, 콜라겐 1 합성을 감소시키거나, 콜라겐의 분해를 증가시키거나, 세포외 기질의 분해를 증가시키거나, 안지오텐신 전환 효소를 억제하거나, AT1 수용체를 억제하거나, ET-1 유형 A 수용체를 억제하거나, PPAR 감마를 억제하거나, TGF-베타를 억제하는, 방법.

청구항 133

제 131 항에 있어서, 상기 항섬유증 약물이 코르티코스테로이드, 쿨히친, 피르페니돈, 울티프라즈 및 실리마린을 포함하는, 방법.

청구항 134

제 113 항에 있어서, 상기 대상은 또한 R-클로로퀸의 유효량으로 치료되는, 방법.

청구항 135

제 113 항에 있어서, 상기 대상은 또한 R-클로로퀸의 중수소화 유사체, R-클로로퀸 대사산물, R-히드록시클로로퀸, R-히드록시클로로퀸의 중수소화 유사체 또는 R-히드록시클로로퀸 대사산물의 유효량으로 치료되는, 방법.

청구항 136

간암 발병 위험이 있는 대상에서 간암 발병 가능성을 유의하게 감소시키는 방법으로서,

클레미줄의 중수소화 유사체 또는 클레미줄 대사산물의 유효량을 추가로 포함하는 약학 조성물을 상기 대상에게 투여하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 137

제 136 항에 있어서, 상기 대상이 비알코올성 지방간염으로 진단된 대상인, 방법.

청구항 138

제 136 항에 있어서, 상기 대상이 C형 간염으로 진단된 대상인, 방법.

청구항 139

제 136 항에 있어서, 상기 대상이 B형 간염으로 진단된 대상인, 방법.

청구항 140

제 136 항에 있어서, 상기 대상이 간경변을 갖는, 방법.

청구항 141

제 136 항에 있어서, 상기 유효량이 0.5 mg/kg 내지 50 mg/kg의 투여량을 포함하는, 방법.

청구항 142

제 136 항에 있어서, 상기 유효량이 1일 1회, 1일 2회 또는 1일 3회 투여되는 0.5 mg/kg 내지 50 mg/kg의 투여량을 포함하는, 방법.

청구항 143

제 136 항에 있어서, 상기 투여가 경구 투여인, 방법.

청구항 144

제 136 항에 있어서, 상기 투여가 1일 1회, 1일 2회 또는 1일 3회 투여인, 방법.

청구항 145

제 136 항에 있어서, 상기 치료가 상기 대상의 알라닌 아미노 전이 효소의 혈장 수준을 유의하게 감소시키는,

방법.

청구항 146

제 136 항에 있어서, 상기 대상은 또한 항-NASH 제제의 유효량으로 치료되는, 방법.

청구항 147

제 146 항에 있어서, 상기 항-NASH 제제는 FXR 작용제, LOXL2 억제제, 카스파제 프로테아제 억제제, 시스테아민 바이타르트레이트, 갈렉틴-3 억제제, CCR2 및 CCR5 경로 억제제, 시스테인 고갈성 작용제, SGLT-2 억제제, GLP-1, 담즙산, 합성 지방산 및 담즙산 복합제, 시루투인 자극제, 면역 조절제 또는 PPAR 작용제를 포함하는, 방법.

청구항 148

제 136 항에 있어서, 상기 대상에서 인슐린 감수성을 증가시키는 약제의 유효량을 상기 대상에 투여함으로써 인슐린 저항성에 대해 상기 대상을 치료하는 것을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 149

제 148 항에 있어서, 상기 약제가 메트포르민, 티아졸리딘디온, 피오글리타존 또는 로시글리타존을 포함하는, 방법.

청구항 150

제 136 항에 있어서, 상기 대상에서 콜레스테롤 및/또는 고 트리글리세라이드를 감소시키는 약제의 유효량을 상기 대상에 투여함으로써 고 콜레스테롤 및/또는 고 트리글리세라이드에 대해 상기 대상을 치료하는 것을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 151

제 150 항에 있어서, 상기 약제가 스타틴, 담즙산 격리제, 콜레스테롤 흡수 억제제, 피브린산 유도제 또는 니코틴산을 포함하는, 방법.

청구항 152

제 136 항에 있어서, 항바이러스 약물의 유효량을 상기 대상에게 투여함으로써 바이러스 감염에 대해 상기 대상을 치료하는 것을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 153

제 152 항에 있어서, 상기 항바이러스 약물이 인터페론, 뉴클레오사이드 유사체, 직접 작용 항바이러스 또는 기타 항바이러스약물, 예를 들어 인터페론 알파-2b, 페그인터페론 알파-2a, 엔테카비르, 라미부딘, 아데포비어, 텔비부딘, 테노포비르, 소포스부비르, 레디파스비르, 옴비타스비르, 파리타프레비르, 리토나비르, 다사부비르, 그라조프레비르, 엘바스비르, 아수나프레비르, 다클라타스비르 또는 베클라부비르를 포함하는, 방법.

청구항 154

제 136 항에 있어서, 항섬유증 약물의 유효량을 상기 대상에게 투여함으로써 섬유증에 대해 상기 대상을 치료하는 것을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 155

제 154 항에 있어서, 상기 항섬유증 약물이 염증을 감소시키거나, 콜라겐 1 합성을 감소시키거나, 콜라겐의 분해를 증가시키거나, 세포외 기질의 분해를 증가시키거나, 안지오텐신 전환 효소를 억제하거나, AT1 수용체를 억제하거나, ET-1 유형 A 수용체를 억제하거나, PPAR 감마를 억제하거나, TGF-베타를 억제하는, 방법.

청구항 156

제 154 항에 있어서, 상기 항섬유증 약물이 코르티코스테로이드, 콜히친, 피르페니돈, 올티프라즈 및 실리마린을 포함하는, 방법.

청구항 157

제 136 항에 있어서, 상기 대상은 또한 R-클로로퀸의 유효량으로 치료되는, 방법.

청구항 158

제 136 항에 있어서, 상기 대상은 또한 R-클로로퀸의 중수소화 유사체, R-클로로퀸 대사산물, R-히드록시클로로퀸, R-히드록시클로로퀸의 중수소화 유사체 또는 R-히드록시클로로퀸 대사산물의 유효량으로 치료되는, 방법.

청구항 159

치료를 필요로 하는 대상에서 염증 질환을 치료하는 방법으로서,
클레미졸의 유효량을 상기 대상에게 투여하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 160

제 159 항에 있어서, 상기 염증 질환이 췌장염, 염증성 장 질환, 원발 경화 쓸개관염, 원발 쓸개관 간경화, 관절염, 루푸스, 천식, 건선, 알레르기, 빈혈 및 섬유 근육통을 포함하는, 방법.

청구항 161

제 159 항에 있어서, 상기 유효량이 0.5 mg/kg 내지 50 mg/kg의 투여량을 포함하는, 방법.

청구항 162

제 159 항에 있어서, 상기 유효량이 1일 1회, 1일 2회 또는 1일 3회 투여되는 0.5 mg/kg 내지 50 mg/kg의 투여량을 포함하는, 방법.

청구항 163

제 159 항에 있어서, 상기 투여가 상기 대상에서 간암 발병 가능성을 유의하게 감소시키는, 방법.

청구항 164

제 159 항에 있어서, 상기 투여가 경구 투여인, 방법.

청구항 165

제 159 항에 있어서, 상기 투여가 1일 1회, 1일 2회 또는 1일 3회 투여인, 방법.

청구항 166

제 159 항에 있어서, CYP3A4 억제제의 유효량이 상기 대상에게 또한 투여되는, 방법.

청구항 167

제 166 항에 있어서, 상기 CYP3A4 억제제가 리토나비르 또는 코비시스타트를 포함하는, 방법.

청구항 168

제 159 항에 있어서, 상기 대상은 또한 R-클로로퀸의 유효량으로 치료되는, 방법.

청구항 169

제 159 항에 있어서, 상기 대상은 또한 R-클로로퀸의 중수소화 유사체, R-클로로퀸 대사산물, R-히드록시클로로퀸, R-히드록시클로로퀸의 중수소화 유사체 또는 R-히드록시클로로퀸 대사산물의 유효량으로 치료되는, 방법.

청구항 170

제 159 항에 있어서, 상기 대상이 인간인, 방법.

청구항 171

치료를 필요로 하는 대상에서 염증 질환을 치료하는 방법으로서,

클레미졸의 중수소화 유사체 또는 클레미졸 대사산물의 유효량을 상기 대상에게 투여하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 172

제 171 항에 있어서, 상기 염증 질환이 췌장염, 염증성 장 질환, 원발 경화 쓸개관염, 원발 쓸개관 간경화, 관절염, 루푸스, 천식, 건선, 알레르기, 빈혈 및 섬유 근육통을 포함하는, 방법.

청구항 173

제 171 항에 있어서, 상기 유효량이 0.5 mg/kg 내지 50 mg/kg의 투여량을 포함하는, 방법.

청구항 174

제 171 항에 있어서, 상기 유효량이 1일 1회, 1일 2회 또는 1일 3회 투여되는 0.5 mg/kg 내지 50 mg/kg의 투여량을 포함하는, 방법.

청구항 175

제 171 항에 있어서, 상기 투여가 상기 대상에서 간암 발병 가능성을 유의하게 감소시키는, 방법.

청구항 176

제 171 항에 있어서, 상기 투여가 경구 투여인, 방법.

청구항 177

제 171 항에 있어서, 상기 투여가 1일 1회, 1일 2회 또는 1일 3회 투여인, 방법.

청구항 178

제 171 항에 있어서, CYP3A4 억제제의 유효량이 상기 대상에게 또한 투여되는, 방법.

청구항 179

제 178 항에 있어서, 상기 CYP3A4 억제제가 리토나비르 또는 코비시스타트를 포함하는, 방법.

청구항 180

제 171 항에 있어서, 상기 대상은 또한 R-클로로퀸의 유효량으로 치료되는, 방법.

청구항 181

제 171 항에 있어서, 상기 대상은 또한 R-클로로퀸의 중수소화 유사체, R-클로로퀸 대사산물, R-히드록시클로로퀸, R-히드록시클로로퀸의 중수소화 유사체 또는 R-히드록시클로로퀸 대사산물의 유효량으로 치료되는, 방법.

청구항 182

제 171 항에 있어서, 상기 대상이 인간인, 방법.

청구항 183

치료를 필요로 하는 대상에서 염증 질환을 치료하는 방법으로서,

R-클로로퀸의 유효량을 상기 대상에게 투여하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 184

제 183 항에 있어서, 상기 염증 질환이 췌장염, 염증성 장 질환, 원발 경화 쓸개관염, 원발 쓸개관 간경화, 관절염, 루푸스, 천식, 건선, 알레르기, 빈혈 및 섬유 근육통을 포함하는, 방법.

청구항 185

제 183 항에 있어서, 상기 유효량이 0.5 mg/kg 내지 50 mg/kg의 투여량을 포함하는, 방법.

청구항 186

제 183 항에 있어서, 상기 유효량이 1일 1회, 격일 1회 또는 1주 1회 투여되는 0.5 mg/kg 내지 50 mg/kg의 투여량을 포함하는, 방법.

청구항 187

제 183 항에 있어서, 상기 투여가 상기 대상에서 간암 발병 가능성을 유의하게 감소시키는, 방법.

청구항 188

제 183 항에 있어서, 상기 투여가 경구 투여인, 방법.

청구항 189

제 183 항에 있어서, 상기 투여가 1일 1회, 격일 1회 또는 1주 1회 투여인, 방법.

청구항 190

제 183 항에 있어서, 상기 대상이 인간인, 방법.

청구항 191

치료를 필요로 하는 대상에서 염증 질환을 치료하는 방법으로서,

R-클로로퀸의 중수소화 유사체, R-클로로퀸 대사산물, R-히드록시클로로퀸, R-히드록시클로로퀸의 중수소화 유사체 또는 R-히드록시클로로퀸 대사산물의 유효량을 상기 대상에게 투여하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 192

제 191 항에 있어서, 상기 염증 질환이 췌장염, 염증성 장 질환, 원발 경화 췌관염, 원발 췌관 간경화, 관절염, 루푸스, 천식, 건선, 알레르기, 빈혈 및 섬유 근육통을 포함하는, 방법.

청구항 193

제 191 항에 있어서, 상기 유효량이 0.5 mg/kg 내지 50 mg/kg의 투여량을 포함하는, 방법.

청구항 194

제 191 항에 있어서, 상기 유효량이 1일 1회, 격일 1회 또는 1주 1회 투여되는 0.5 mg/kg 내지 50 mg/kg의 투여량을 포함하는, 방법.

청구항 195

제 191 항에 있어서, 상기 투여가 상기 대상에서 간암 발병 가능성을 유의하게 감소시키는, 방법.

청구항 196

제 191 항에 있어서, 상기 투여가 경구 투여인, 방법.

청구항 197

제 191 항에 있어서, 상기 투여가 1일 1회, 격일 1회 또는 1주 1회 투여인, 방법.

청구항 198

제 191 항에 있어서, 상기 대상이 인간인, 방법.

청구항 199

제 83 항에 있어서, 상기 유효량은 1일 3회 경구 투여되는 200 mg의 투여량을 포함하는, 방법.

청구항 200

제 83 항에 있어서, 상기 유효량은 1일 3회 경구 투여되는 300 mg의 투여량을 포함하는, 방법.

청구항 201

제 83 항에 있어서, 상기 유효량은 1일 3회 경구 투여되는 400 mg의 투여량을 포함하는, 방법.

청구항 202

제 83 항에 있어서, 상기 유효량은 1일 3회 경구 투여되는 500 mg의 투여량을 포함하는, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원에 대한 상호 참조

[0002] 본원은 2015년 6월 30일자로 출원된 미국 가출원 제 62/187,061호에 대한 우선권을 주장하며, 이 출원의 전체 내용은 원용에 의해 본 명세서에 포함된다.

[0003] 연방 후원 연구 또는 개발에 관한 선언

[0004] 본 발명은 미국 국립 보건원(National Institutes of Health) 및 미국 국립 알레르기 및 전염병 연구소(National Institute of Allergy and Infectious Disease)에 의해 수여된 R42 AI088793/NIAID NIH HHS/United States 하에서의 정부 지원을 받아 이루어졌다. 정부는 본 발명에 대해 소정의 권리를 갖는다.

[0005] 본 발명은 의학 분야에 관한 것이며, 특히 간에서의 염증 및 암 질환의 치료 및 예방을 위한 특정 화합물의 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0006] 염증 및 암 질환의 치료 및 예방에는 충족되지 않은 많은 의료적 요구가 존재한다. 특히 비알코올성 지방간염(NASH)과 같은 간의 염증 질환에는 개선된 치료법이 요구된다. NASH 및 바이러스 감염으로 인해 발생하는 간 장애와 같은 기타 염증성 간 장애는 치료하지 않고 방치하면 간세포암을 유발할 수 있다. 본 발명은 하기 기술된 바와 같은 염증 및/또는 암 질환의 치료 및/또는 예방을 위한 방법을 제공함으로써 이러한 요구를 해결한다.

발명의 내용

해결하려는 과제

과제의 해결 수단

[0007] 본원은 클레미줄 및/또는 클로로퀸 또는 이의 유사체의 유효량을 이를 필요로 하는 대상에게 투여하는 것을 포함하는 방법을 개시한다. 본 발명의 일부 측면에서, R-클로로퀸, 클레미줄 또는 클레미줄과 조합된 R-클로로퀸이 대상에게 투여된다.

[0008] 본 발명의 일부 측면에서, 상기 대상은 염증 질환을 갖는다.

[0009] 본 발명의 다른 측면에서, 상기 대상은 염증성 간 질환을 갖는다. 본 발명의 일부 측면에서, 상기 대상은 비알코올성 지방간염을 갖고, 상기 방법은 비알코올성 지방간염을 치료하는 것을 추가로 포함한다. 일부 측면에서, 상기 방법은 간의 소염 염증을 감소시킨다. 다른 측면에서, 상기 방법은 간암의 위험을 감소시킨다. 본 발명의 또 다른 측면에서, 상기 대상은 간암을 가지며, 상기 방법은 간암을 치료하는 것을 추가로 포함한다.

[0010] 본 발명의 일부 측면에서, 클레미줄 및/또는 R-클로로퀸은 비알코올성 지방간염을 갖는 대상에게 투여된다. 다른 측면에서, 상기 대상에서의 클레미줄 또는 R-클로로퀸의 투여는 비히클(vehicle) 대조군에 비해 혈장 알라닌 아미노 전이 효소(alanine aminotransferase) 수준을 감소시킨다. 다른 측면에서, 대상에서의 클레미줄 및/또는

R-클로로퀸의 투여는 간 조직의 조직학적 분석에 의해 측정시 비알코올성 지방간 질환 활성 점수(activity score)를 감소시킨다. 일부 측면에서, 클레미줄 및/또는 R-클로로퀸의 투여는 지방증(steatosis)을 감소시킨다. 다른 측면에서, 클레미줄 및/또는 R-클로로퀸의 투여는 간세포 팽창(hepatocyte ballooning)을 감소시킨다. 또 다른 측면에서, 클레미줄 및/또는 R-클로로퀸의 투여는 소염 염증을 감소시킨다.

[0011] 본 발명의 일부 측면에서, 간암 발병 위험을 감소시키기 위해 클레미줄 및/또는 R-클로로퀸이 대상에게 투여된다. 본 발명의 다른 측면에서, 상기 대상은 비알코올성 지방간염으로 진단된 대상이다. 본 발명의 다른 측면에서, 클레미줄 및/또는 R-클로로퀸이 간암을 앓고 있는 대상에게 투여된다. 또 다른 측면에서, 클레미줄 및/또는 R-클로로퀸의 투여는 상기 대상의 종양 부담(tumor burden)을 감소시키거나 상기 대상의 생존을 증가시킨다.

[0012] 본 발명의 일부 측면에서, 0.5 내지 50 mg/kg의 클레미줄이 대상에게 투여된다. 일부 측면에서, 클레미줄은 1일 1회, 1일 2회 또는 1일 3회 투여된다. 다른 측면에서, 클레미줄은 1주, 2주, 3주, 4주, 5주, 6주 또는 그 이상 동안 매일 투여된다.

[0013] 본 발명의 일부 측면에서, 0.5 내지 50 mg/kg의 R-클로로퀸이 대상에게 투여된다. 다른 측면에서, R-클로로퀸은 1일 1회, 격일 1회 또는 1주 1회 투여된다. 일부 측면에서, R-클로로퀸은 1주, 2주, 3주, 4주, 5주, 6주 또는 그 이상 동안 투여된다. 또 다른 측면에서, R-클로로퀸은 치료 초기 이틀 동안 매일 부하용량의 2배(double loading dose)로 투여되고, 이후 나머지 치료 기간 동안 상기 부하용량의 2배의 절반인 단일 투여량으로 투여된다.

도면의 간단한 설명

[0014] 본 발명의 상기 특징들 및 다른 특징들, 측면들 그리고 이점들은 하기의 설명 및 첨부 도면을 참조하면 더 잘 이해될 것이다.

도 1: R-클로로퀸의 합성 방법에 대한 반응식을 도시한다.

도 2: 클레미줄 및 클레미줄 대사산물의 화학 구조를 나타낸다.

도 3: 도 3은 클레미줄의 우수 의약품 제조관리 기준(good manufacturing practice)(GMP) 합성을 위한 합성 반응식을 도시한다.

도 4: 클로로퀸 대사산물의 화학 구조를 나타낸다.

도 5: 히드록시클로로퀸(rac-1) 및 R-히드록시클로로퀸((R)-1)의 화학 구조를 나타낸다.

도 6: 히드록시클로로퀸의 거울상 이성질체의 합성 공정의 반응식을 도시한다.

도 7: 히드록시클로로퀸 대사산물의 화학 구조를 나타낸다.

도 8: 클레미줄(화합물 D)로 치료된 마우스에서의 종양 형성 억제를 보여주는, 마우스 간의 대표적인 이미지를 도시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0015] **이점과 유용성**

[0016] 간략하게 설명하면, 하기에 보다 상세히 기술되는 바와 같이, 본원은 클레미줄 및/또는 R-클로로퀸을 사용하여 비알코올성 지방간염을 치료하거나 간암의 위험 또는 중증도를 감소시키는 조성물 및 방법을 개시한다. 이러한 접근법의 이점에는 염증 질환을 앓고 있는 대상에서의 염증 감소, 간의 소염 염증 감소, 간 기능 개선 및 클레미줄 및/또는 R-클로로퀸으로 치료받지 않은 환자보다 클레미줄 및/또는 R-클로로퀸으로 치료받은 환자에서 간암 발병 또는 진행 위험이 감소되는 점이 포함되지만, 이에 제한되지는 않는다.

[0017] **정의**

[0018] 청구범위 및 명세서에 사용된 용어는 달리 명시하지 않는 한 하기와 같이 정의된다.

[0019] 용어 "치료"는 질병 상태, 예를 들어, 염증성 간 질환에 의해 유발되는 질병 상태의 치료에 있어서의 치료학적으로 유의한 임의의 결과, 예를 들어 이의, 상기 질병 상태의 예방, 중증도 또는 진행의 감소, 개선 또는 치유를 의미한다.

[0020] 용어 "계내(in situ)"는 생체와 분리되어 성장하는, 예를 들어 조직 배양물에서 성장하는 생세포(living cell)

에서 발생하는 과정을 의미한다.

- [0021] 용어 "생체내(in vivo)"는 생체 내에서 발생하는 과정을 의미한다.
- [0022] 본원에서 사용된 용어 "포유류"는 인간과 비-인간(non-humans) 모두를 포함하며, 인간, 비-인간 영장류, 개과 동물, 고양이과 동물, 쥐과 동물, 소과 동물, 말과 동물 및 돼지과 동물을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.
- [0023] 용어 "유효량"은 원하는 효과를 달성하기에 충분한 양, 예를 들어, 대상에서 간암을 예방하거나 간암의 양을 감소시키기에 충분한 양을 의미한다.
- [0024] 용어 "대상(subject)"은 세포, 인간 및 비-인간 동물을 의미한다.
- [0025] 용어 "치료 유효량(therapeutically effective amount)"은 질병의 증상을 완화시키는데 효과적인 양이다. 예방을 치료로 간주할 수 있기 때문에, 치료 유효량은 "예방 유효량(prophylactically effective amount)"일 수 있다.
- [0026] 용어 "투여"는 본원의 제제를 숙주 내로 도입시키는 것을 의미한다. 상기 제제의 바람직한 투여 경로는 경구 투여이다. 또 다른 바람직한 경로는 정맥내 투여이다. 그러나, 국소, 피하, 복막, 동맥내, 흡입, 질, 직장, 비강, 뇌척수액으로의 도입 또는 신체 구획으로의 점적주입(instillation into body compartments)과 같은 임의의 투여 경로가 이용될 수 있다.
- [0027] 용어 "비히클 대조군"은 활성 성분이 함유되어 투여되는 임의의 불활성 매체를 광범위하게 지칭하며, 상기 활성 성분에 대한 용매, 담체 또는 결합제를 포함하지만 이에 제한되지는 않는다.
- [0028] 용어 "중수소화 유사체(deuterated analog)"는 본 발명의 화합물의 변형된 형태 또는 유사체로서, 하나 이상의 중수소 동위원소를 함유하는 것을 의미한다.
- [0029] 용어 "클레미줄 대사산물"은 본원의 도 1에 기재된 바와 같은 클레미줄 대사산물 화합물 M1, M12 및 M14를 의미한다.
- [0030] 용어 "R-클로로퀸 대사산물"은 본원의 도 6에 기재된 바와 같은 클로로퀸의 대사산물 화합물을 의미한다.
- [0031] 용어 "R-히드록시클로로퀸 대사산물"은 본원의 도 7에 기재된 바와 같은 히드록시클로로퀸의 대사산물 화합물을 의미한다.
- [0032] 용어 "항-NASH 제제(anti-NASH agent)"는 비알코올성 지방간염 또는 비알코올성 지방간염과 관련된 질환을 치료하는데 사용되는 약물 또는 화합물을 의미하며, FXR 작용제(agonists)(예를 들어, 오베티콜산 및 PX-104), LOXL2 억제제(예를 들어, 심투주맙(simtuzumab)), 카스파제 프로테아제 억제제(예를 들어, 엠리카산(Emricasan) 및 이코사펜트 에틸 에스테르), 시스테인 비타르트레이트(cysteamine bitartrate)(예를 들어, 프로시스비(Proscysbi) 또는 RP103), 갈렉틴-3 억제제(예를 들어, GR-MD-02 및 LJPC-1010), CCR2 및 CCR5 경로 억제제(예를 들어, 세니크리비록(Cenicriviroc)), PPAR 작용제(예를 들어, GFT505, DUR-928, 사로글리타자르(Sarglitazar) 및 피오글리타존(Pioglitazone)), 시스테인 고갈성 작용제(cysteine depleting agent)(예를 들어, RP103), SGLT-2 억제제(예를 들어, 레모글리플로진 에타보네이트(remogliflozin etabonate)), GLP-1(예를 들어, 리라글루티드), 담즙산(우루소데옥시콜산), 합성 지방산 및 담즙산 복합체(예를 들어, 아람콜(Aramchol)), 시루투인 자극제(예를 들어, MB 12066), 세포사멸 신호 조절 키나아제 1(ASK1) 억제제(예를 들어, GS-4997) 및 면역 조절제(예를 들어, IMM124E)를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.
- [0033] 본원에 사용된 용어 "염증 질환"은 염증성 사이토카인 또는 염증과 관련된 세포에 의해 직접 야기되는 의학적 문제를 의미한다. 염증 질환에는 비알코올성 지방간염, 염증성 사이토카인이 활막을 파괴하여 병변을 일으키고 관절 연골 및 뼈를 파괴하는 관절염; 염증성 사이토카인이 순환을 제한하고 네프론을 손상시키는 신부전; 염증성 사이토카인이 자가면역 공격을 유도하는 루푸스; 염증성 사이토카인이 기도를 폐쇄하는 천식; 염증성 사이토카인이 폐동맥 압력의 상승을 유도하는 폐동맥 고혈압; 염증성 사이토카인이 피부염을 유발하는 건선; 염증성 사이토카인이 췌장 세포 손상을 유발하는 췌장염; 염증성 사이토카인이 자가면역 반응을 유도하는 알레르기; 염증성 사이토카인이 손상된 조직을 유도하는 섬유증; 염증성 사이토카인이 치유를 방해하는 수술 합병증; 염증성 사이토카인이 에리트로포이에틴 생산을 방해하는 빈혈; 및 섬유근통 환자에서 염증성 사이토카인이 상승하는 섬유근통이 포함되나, 이에 제한되는 것은 아니다. 만성 염증과 관련된 다른 질병에는 만성 염증으로 인한 암; 만성 염증이 관상동맥 죽상경화증에 기여하는 심장 마비; 만성 염증이 뇌 세포를 파괴하는 알츠하이머병; 만성 염증이 심장 근육 낭비를 유발하는 울혈성 심부전; 만성 염증이 혈전색전 사건(thrombo-embolic events)을 촉진하

는 뇌졸중; 및 만성 염증이 심장 판막을 손상시키는 대동맥 판막 협착증이 포함된다. 동맥 경화증, 골다공증, 파킨슨병, 감염, 염증성 장 질환, 예를 들어, 다발성 경화증(전형적인 자가면역 염증-관련 질병)을 비롯하여 크론병, 췌양성 대장염 또한 염증과 관련이 있다. 일부 질병의 후기 단계(advanced stages)는 생명을 위협할 수 있다. 이러한 염증 질환의 치료를 위한 몇 가지 방법론이 사용 가능하다. 그러나 일반적으로, 이들의 효능 부족 및 약물 관련 부작용에서 입증되는 바와 같이, 그 결과는 만족스럽지 못하다.

[0034] 본원에 사용된 용어 "비알코올성 지방간 질병 활성 점수(non-alcoholic fatty liver disease activity score)"는 지방증, 간세포 팽창 및/또는 소엽 염증에 대해 간 조직을 검사하는, 간 조직의 조직학적 검사 결과를 나타낸다.

[0035] 본원에 사용된 용어 "간암"은 간의 과증식성 질환을 의미하며, 간세포암, 섬유종판 간세포암, 담관암, 혈관 육종, 이차성 또는 전이성 간암 및 간모세포종을 포함하지만 이에 제한되지는 않는다.

[0036] 본원에 사용된 용어 "화학 치료제(chemotherapeutic agents)"는 질병(예를 들어, 암)의 치료에 유용한 화합물을 의미한다. 본 발명의 화학 치료제는 임의의 적합한 화학요법 약물 또는 화학요법 약물의 조합(예를 들어, 콕테일(cocktail))을 포함할 수 있다. 예시적인 화학 치료제는 알킬화제, 백금, 대사 길항 물질(anti-metabolites), 안트라사이클린, 타산, 캄프토테신, 니트로소우레아, EGFR 억제제, 항생제, HER2/neu 억제제, 혈관 신생 억제제, 키나아제 억제제(예를 들어, 소라페닙), 프로테아솜 억제제, 면역 요법제, 호르몬 요법, 광역학 요법(photodynamic therapies), 암 백신, 히스톤 데아세틸라아제 억제제, 스펅고지질 조절제, 올리고머, 기타 미분류(unclassified) 화학요법 약물 및 이들의 조합을 포함하지만 이에 제한되는 것은 아니다. 암에 대해 효과적인 화학 치료제의 예에는 또한 다우노루비신, 닥티노마이신, 독소루비신, 블레오마이신, 미토마이신, 질소 머스터드, 클로람부실, 펠팔란, 시클로포스파미드, 6-메르캅토피린, 6-티오구아닌, 시타라빈(CA), 5-플루오로우라실(5-FU), 플록수리딘(5-FUdR), 메토평렉세이트(MTX), 콜히친, 탁소텔, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 에토포시드, 테니포시드, 시스플라틴 및 디에틸stil베스트롤(DES)이 포함되지만 이에 제한되는 것은 아니다.

[0037] 용어 "약학적으로 허용가능한 부형제", "약학적으로 허용가능한 희석제", "약학적으로 허용가능한 담체" 또는 "약학적으로 허용가능한 보조제"는 약학 조성물을 제조하는데 유용하고, 일반적으로 안전하고 무독성이며 생물학적으로 또는 다르게 바람직한 부형제, 희석제, 담체 및/또는 보조제를 의미하며, 수의학적 용도 및/또는 인간 약학적 용도에 적합한 부형제, 희석제, 담체 및 보조제를 포함한다. 본 명세서 및 청구범위에서 사용된 "약학적으로 허용가능한 부형제, 희석제, 담체 및/또는 보조제"는 이러한 부형제, 희석제, 담체 및 보조제 중의 하나 이상을 포함한다.

[0038] "약학적으로 허용가능한 염"은 유리 염기(free bases)의 생물학적 유효성 및 임의로(optionally) 다른 성질을 유지하며, 염산, 브롬화수소산, 황산, 질산, 인산, 메탄설폰산, 에탄설폰산, p-톨루엔설폰산, 살리실산, 말산, 말레산, 숙신산, 타르타르산, 시트르산 등과 같은 무기산 또는 유기산과의 반응에 의해 수득되는 염을 의미한다. 용어 "약학적으로 허용가능한 염"은 또한 클로로퀸 유리 염기와 결합될 수 있는 화합물(예를 들어, 인산염 및 이인산염)을 의미한다.

[0039] 본원에 개시된 제제의 구현예가 염을 형성하는 경우, 이들 염은 본원의 범위 내에 속한다. 본원 내의 임의의 화학식의 제제에 대한 언급은 달리 지시하지 않는 한 이의 염에 대한 언급을 포함하는 것으로 이해된다. 본원에 사용된 용어 "염(들)"은 무기 및/또는 유기 산 및 염기로 형성된 산성염 및/또는 염기성염을 의미한다. 또한, 제제가 염기성 모이어티(moiety) 및 산성 모이어티 모두를 함유하는 경우, 양극성 이온("내부 염")(zwitterion("inner salts"))이 형성될 수 있으며, 이는 본원에 사용된 용어 "염(들)"에 포함된다. 약학적으로 허용가능한(예를 들어, 비독성, 생리학적으로 허용가능한) 염이 바람직하지만, 다른 염 또한, 예를 들어 제조시 사용될 수 있는 분리 또는 정제 단계에서 유용하다.

[0040] 본원에 사용된 용어 "약학 조성물"은 포유류, 특히 인간과 같은 대상에 투여하기에 적합한 조성물을 포함한다. 일반적으로, "약학 조성물"은 멸균되며, 바람직하게는, 대상 내에서 바람직하지 않은 반응을 유도할 수 있는 오염물을 포함하지 않는다.

[0041] 용어 "전구약물(prodrug)"은 생체 내에서 생물학적 활성 형태로 전환되는, 제제의 불활성 전구체를 의미한다. 본 발명의 화합물은 전구약물로서 작용하는 R-클로로퀸 및 클레미줄의 변형된 형태, 중수소화 클레미줄 또는 클레미줄 대사산물을 포함한다. 전구약물을 제조하는데 사용될 수 있는 본 발명의 화합물의 변형의 예에는 에스테르, 글리코사이드(당 유도체)의 첨가, 또는 생체내 대사 중에 효소적으로 변형되는 다른 비독성 화학기의 첨가 또는 제거(예를 들어, 인산화, 탈인산화, 탈알킬화, 탈하이드록실화 또는 당 유도체의 변형)가 포함되나 이에

제한되는 것은 아니다. 일부 상황에서는 전구약물이 모화합물보다 투여가 더 쉬울 수 있기 때문에 유용한 경우가 많다. 예를 들어, 전구약물은 경구 투여로 생체 이용이 가능한 반면 모화합물은 그렇지 않을 수 있다. 전구약물은 또한 모약물(parent drug)보다 약학 조성물 내의 용해도가 더 높을 수 있다. 전구약물은 효소적 공정 및 대사성 가수분해를 비롯한 다양한 기전에 의해 모약물로 전환될 수 있다.

[0042] 약어

[0043] 본원에 사용된 약어는 다음을 포함한다:

[0044] 본 명세서 및 첨부된 청구범위에서 사용된 단수 형태("a", "an" 및 "the")는 문맥상 달리 지시하지 않는 한 복수의 지시 대상을 포함한다는 점이 주지되어야 한다.

[0045] 화합물 A = R-클로로퀸 및 S-클로로퀸의 라세미 혼합물

[0046] 화합물 B = R-클로로퀸

[0047] 화합물 C = S-클로로퀸

[0048] 화합물 D = 클레미줄

[0049] ALT = 알라닌 아미노 전이 효소(Alanine aminotransferase)

[0050] HE = 헤마톡실린 및 에오신(Hematoxylin and eosin)

[0051] HFD = 고지방 식단(High fat diet)

[0052] NAFLD = 비알코올성 지방간 질병(Nonalcoholic fatty liver disease)

[0053] NASH = 비알코올성 지방간염(Non-alcoholic steatohepatitis)

[0054] SD = 표준 편차(Standard deviation)

[0055] SPF = 특정 병원균이 존재하지 않는(Specific pathogen-free)

[0056] STZ = 스트렙토조토신

[0057] 본 발명의 화합물

[0058] R-클로로퀸의 화학식 및 R-클로로퀸의 합성 공정을 도 1에 기재하였다. 대안적으로, R-클로로퀸은 상업적으로 입수할 수 있으며, Chemical Entities of Biological Interest(ChEBI™)로부터 구입할 수 있다(카탈로그 번호, CHEBI: 48811).

[0059] 클레미줄 및 인간(M1, M6) 및 설치류(M12, M14)의 주요 클레미줄 대사산물의 구조를 도 2에 나타내었다. 클레미줄 하이드로클로라이드는 APEXBIOTM(카탈로그 번호 A3316)로부터 상업적으로 입수할 수 있다.

[0060] 인간의 간에서 클레미줄은 주로 중간체 A로 전환되고, 이는 몇몇 CYP450 효소(CCYP3A4, CYP2C19 또는 CYP2D6)에 의해 M1으로 산화될 수 있다. CYP2C9 또는 CYP1A2 존재시 M2가 생성되지만 M1을 생성할 수는 없다. Cyp2C9는 인간의 소수 대사산물인 M4의 유일한 공급원인 것으로 여겨진다. 인간의 간에서 가장 많이 발견되는 CYP450 효소인 CYP3A4는 이러한 약물 생체내 변화 반응(drug biotransformation reaction)의 대부분을 매개한다. CYP3A4 활성 억제제인 리토나비르(ritonavir)가 시험관 내에서 클레미줄 대사를 억제하는 능력은 CYP3A4가 인간의 클레미줄 대사에 중요한 역할을 한다는 것을 시사하였다. 대조적으로, 방향족 산화 반응의 다른 유형(CYP2C 유사)은 설치류 간에서의 클레미줄 대사에 대한 지배적인 경로를 통해 설치류에서의 지배적인 대사산물(M12, M14 및 M15)을 생성한다.

[0061] 클레미줄 하이드로클로라이드의 합성

[0062] 클레미줄 하이드로클로라이드는 APEXBIOTM(카탈로그 번호 A3316)로부터 상업적으로 입수할 수 있다. 도 3은 클레미줄의 우수 의약품 제조관리 기준(GMP) 생산을 위한 합성 반응식을 도시한다. 특정 구현예에서, 클레미줄의 중수소화 유사체는 피롤리딘 시작 물질을 중수소화 피롤리딘으로 치환함으로써 생성할 수 있다. 피롤리딘-2,2,5,5-d₄는 ©CDN Isotopes, Inc.(제품 번호 D-5946)로부터 구입할 수 있다.

[0063] 완전히 치환된 피롤리딘인 피롤리딘-2,2,3,3,4,4,5,5-d₈은 ©CDN Isotopes, Inc.(제품 번호 D-3532)로부터 구입할 수 있다.

[0064] **R-클로로퀸의 합성**

[0065] 도 1에 기재된 바와 같이, (R)-(-)-4-아미노-1-(디에틸아미노)펜탄을 공지된 4,7-디클로로퀴놀린과 축합하여 (R)-(-)-클로로퀸을 제조하였다. 공지된 라세미 (4-아미노-1-(디에틸아미노)펜탄을 공지된 (D)-(-)-만델산과 염을 형성하여 분리하고, 결정화에 의해 2개의 거울상 이성질체의가 2개인 (D)-(-)-만델산염을 분리함으로써 상기 (R)-(-)-4-아미노-1-(디에틸아미노)펜탄을 제조하였다.

[0066] **(R)-(-)-4-아미노-1-(디에틸아미노)펜탄의 제조**

[0067] 350 ml의 에틸 알코올 내의 (D)-(-)-만델산(100 g, 658 mmol)의 용액에 라세미 4-아미노-1-(디에틸아미노)펜탄 (98 g, 658 mmol)을 천천히 첨가하였다. 상기 혼합물을 상기 표제 화합물의 (D)-(-)-만델산염의 결정으로 시딩(seeding)하고 하룻밤 동안 방치한 후, 생성된 고체를 여과에 의해 수집하고 얼음 냉각된 에탄올로 2회 신속하게 세척하여 상기 표제 화합물의 (D)-(-)-만델산염을 백색 결정으로 수득 하였다(수확물 1(Crop 1)). 백탁(cloudiness)이 관찰될 때까지 모액을 농축한 다음 균질한 용액이 될 때까지 재가열하였다. 시딩하고 하룻밤 동안 방치한 후, 생성된 고체를 여과에 의해 수집하고 얼음 냉각된 에탄올로 2회 신속하게 세척하여 목적하는 염의 제 2 수확물을 백색 결정으로 수득하였다(수확물 2). 상기 2개의 염 수확물(수확물 1 및 수확물 2)을 합하여 상기 표제 화합물의 (D)-(-)-만델산염 총 44 g을 수득하였다. 상기 공정을 4회 반복하였다. 상기 표제 화합물의 (D)-(-)-만델산염의 복수의 배치(batches)(총 150g)를 합한 다음, 가열 및 초음파 처리로 에틸 알코올에 용해시켰다. 상기 용액을 시딩하고 하룻밤 동안 방치한 후, 생성된 고체를 여과에 의해 수집하고 얼음으로 냉각된 에탄올로 2회 신속하게 세척하여 상기 표제 화합물의 (D)-(-)-만델산염(재결정된 수확물 1)을 수득하였다. 모액을 농축시키고, 잔류물을 가열 및 초음파 처리로 에틸 알코올에 용해시켰다. 이어서, 상기 용액을 시딩하고 하룻밤 동안 방치한 후, 생성된 고체를 여과에 의해 수집하여 상기 표제 화합물의 (D)-(-)-만델산염의 제 2 수확물(재결정된 수확물 2)을 수득하였다. 모액을 농축시키고, 잔류물을 가열 및 초음파 처리로 에틸 알코올에 용해시켰다. 이어서, 상기 용액을 시딩하고 하룻밤 동안 방치한 후, 생성된 고체를 여과에 의해 수집하여 상기 표제 화합물의 (D)-(-)-만델산염의 제 3 수확물(재결정된 수확물 3)을 수득하였다. 상기 3개의 재결정된 수확물(재결정된 수확물 1, 재결정된 수확물 2 및 재결정된 수확물 3)을 합하고 진공 하에 건조시켜 상기 표제 화합물의 (D)-(-)-만델산염 총 100 g을 수득하였으며, $[\alpha]_D = -56.2$ (H₂O 중 1%)이었다. 이 염을 디클로로메탄에 현탁시키고 1M 수산화나트륨 용액으로 3회 세척하였다. 유기층을 건조시키고(Na₂SO₄) 진공 하에 농축시켜 상기 표제 화합물을 수득하고, 이를 다음 단계에서 직접 사용하였다.

[0068] **(R)-(-)-클로로퀸의 제조**

[0069] 상기 미가공 (R)-(-)-4-아미노-1-(디에틸아미노)펜탄(약 45 g, 285 mmol, 1.00 당량), 4,7-디클로로퀴놀린(56 g, 285 mmol, 1.00 당량) 및 페놀(53.6 g, 570 mmol, 2.0 당량)의 혼합물을 120℃에서 18시간 동안 가열한 후, 실온으로 냉각시키고, 디클로로메탄으로 희석시켰다. 생성된 혼합물을 1.5M 수산화나트륨 용액으로 세척하고, 세척물을 디클로로메탄으로 역추출하였다. 합쳐진 유기층을 1M 염산으로 추출하였다. 수성 추출물을 포화 탄산나트륨 용액으로 pH 12로 염기성화시키고, 디클로로메탄으로 추출하였다. 유기 추출물을 건조시키고(Na₂SO₄) 진공에서 농축시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(2.5% 7N NH₃/MeOH로 용출하는 실리카겔)로 정제하여 상기 표제 화합물 42.8 g을 수득하였으며, $[\alpha]_D = -101.3$ (EtOH 중 1%)이었다.

[0070] 에틸 알코올 내의 상기 표제 화합물의 용액 42.8 g(133 mmol)을 90℃로 15분간 가열하고 85% 인산 2 당량(314 g, 267 mmol)을 적하하여, 상기 물질을 그의 이인산염으로 전환시켰다. 생성된 현탁액을 환류(90℃)시키면서 1 시간 동안 가열한 후 실온으로 냉각시키고, 고체를 여과에 의해 수집하고 에탄올 및 디에틸 에테르로 세척하고 진공 건조하여 68 g의 (R)-(-)-클로로퀸 이인산염을 수득하였으며, $[\alpha]_D = -82.96$ (H₂O 중 2.1%)이었다.

[0071] ¹H NMR (메탄올-d₄): δ 8.59(d, J = 9.2 Hz, 1H), 8.36(d, J = 6.8 Hz, 1H), 7.92(s, 1H), 7.61(d, J = 9.2 Hz, 1H), 6.89(d, J = 7.2 Hz, 1H), 4.05-4.14(m, 1H), 3.07-3.17(m, 6H), 1.73-1.96(m, 4H), 1.39-1.41(m, 3H) and 1.27-1.31(m, 6H).

[0072] **R-히드록시클로로퀸의 합성 및 정제**

[0073] 거울상 이성질체인 (R) 및 (S) 히드록시클로로퀸의 합성 및 정제 공정은 Blaney, P. et al., "A Practical Synthesis of the Enantiomers of Hydroxychloroquine," Tetrahedron: Asymmetry, 1994, pp. 1815-1822, Vol. 5.에 기재되어 있다. 이 공정의 요약을 아래에 기재한다.

[0074] 도 6에 나타난 바와 같이, 라세미 디아민 *rac*-2는 이의 염과 S(+) 만델산과의 결정화에 의해 분리된다. 4,7 디클로로퀴놀린과의 후속 결합으로 인해 S(+)-히드록시클로로퀸((S)-1a)이 수득된다. 유사하게, 만델산의 반대 거울상 이성질체를 사용하여 (R)-2 및 R(-)-히드록시클로로퀸((R)-1a)을 수득한다. (R)-2 및 (S)-2의 분리는 이소프로판올로부터 이의 부분입체 이성질체 만델산염의 결정화를 포함한다. 0.5 몰 당량의 S(+)-만델산을 사용하고 상기 혼합물을 45℃에서 순수한 부분입체 이성질체로 시딩하면, 단일 결정화 후 92%의 부분입체 이성질체 과량(d.e.)을 갖는 (S)-3이 67% 회수된다. 이후, (S)-3 또는 (R)-3은 상응하는 디아민 (S)-2 또는 디아민 (R)-2로 가수분해된다. 비율과 수율은 (S)-2 또는 (R)-2 내의 가변적인 양(최대 10%)의 물의 존재 여부를 고려하지 않고 계산된다.

[0075] S(+)-5-[N-에틸-N-(2-히드록시에틸)아미노]-2-펜탄아민((S)-2)의 제조

[0076] 2-프로판올(500 ml) 내의 (+)-만델산(87.4 g, 0.575 mol)의 용액에 2-프로판올(350 ml) 내의 *rac*-2(200 g, 1.15 mol)의 용액을 가하였다. 추가 2-프로판올을 첨가하여 총 부피를 900 ml로 만들고 용액을 실온에서 하룻밤 동안 교반하였다. 여과하여 백색 결정(235 g)을 얻었으며, 이를 2-프로판올(각각 1800 ml 및 1600 ml)에서 2회 재결정하여 (S)-3(145.4 g)을 백색 결정으로 수득하였다. 상기 고체를 35% 수성 수산화나트륨(350 ml)에 현탁시키고 *tert*-부틸 메틸 에테르(5 x 600 ml)로 추출하였다. 상기 추출물을 합하여 건조시키고(MgSO₄) 농축시켜 (S)-2(55.5 g, 55%)를 무색 오일로 수득하였다. ¹H NMR(CDC13) δ 0.98(3H, t, J = 7.1 Hz), 1.025(3H, d, J = 6.3 Hz), 1.25-1.35(2H, m), 1.35-1.55(2H, m), ca. 1.9(3H, brs), 2.42(2H, t, J=7.3Hz), 2.51(2H, q, J=7.1Hz), 2.54(2H, t, J=5.5Hz), 2.85(1H, tq, J = 6.3 및 5.2 Hz), 3.50(2H, t, J = 5.5 Hz); MS(CI, 암모니아) 175([MH]⁺). C₉H₂₂N₂O에 대한 HRMS 계산치: 175.181039; 실측치: 175.180493.

[0077] R(-)-5-[N-에틸-N-(2-히드록시에틸)아미노]-2-펜탄아민((R)-2)의 제조

[0078] 상기 제 1 결정화로부터의 모액을 농축시켰다. 잔류물을 35% 수성 수산화나트륨(250 ml)에 현탁시키고, *tert*-부틸 메틸 에테르(5 x 550 ml)로 추출하였다. 합한 추출물을 건조시키고(MgSO₄) 농축시켜 황색 오일(70.6 g)을 수득 하였다. 이를 2-프로판올(200 ml)에 재용해시키고 2-프로판올(300 ml) 내의 (-)-만델산(64.00 g, 0.421 mol) 용액에 첨가하였다. 추가 2-프로판올을 첨가하여 총 부피를 600 ml로 만든 후 용액을 실온에서 하룻밤 동안 교반하였다. 여과하여 백색 결정(111 g)을 얻었으며, 이를 2-프로판올(각각 1100ml 및 800ml)로 2회 재결정하여 (R)-3(77.2 g)을 백색 결정으로 수득하였다. ¹H NMR DMSO-d₆) δ 0.92(3H, t), 1.09(3H, d), 1.35-1.55(4H, m), 2.3-2.55(6H, m), 3.03(1H, tq), 3.43(2H, t), 4.48(1H, s), 7.1-7.25(3H, m), 7.39(2H, dd). (R)-3을 35% 수성 수산화나트륨(200 ml)에 현탁시키고 *tert*-부틸 메틸 에테르(5 x 400 ml)로 추출하였다. 추출물을 합하여 건조시키고(MgSO₄), 농축시켜 (R)-2(29.3 g, 29%)를 무색 오일로 수득하였다. ¹NMR(CDC13) δ 0.97(3H, t, J = 7.1 Hz), 1.025(3H, d, J = 6.3 Hz), 1.25-1.35(2H, m), 1.35-1.5(2H, m), ca. 2.1(3H, br s), 2.41(2H, t, J=7.3Hz), 2.51(2H, q, J=7.1Hz), 2.53(2H, t, J = 5.5Hz), 2.85(1H, tq, J = 6.3 and 5.2 Hz), 3.49(2H, t, J = 5.5 Hz); C₉H₂₂N₂O에 대한 HRMS(CLAmonia) 계산치 : 175.181039; 실측치: 175.180390.

[0079] S(+)-히드록시클로로퀸((S)-1a)의 제조

[0080] (S)-2(55.47 g, 0.32 mol), 4,7-디클로로퀴놀린(63.03 g, 0.32 mol) 및 디이소프로필에틸아민(63.9 ml, 0.37 mol)의 혼합물을 질소 분위기에서 환류시키면서 125℃에서 4일 동안 가열하였다. 냉각 후, 상기 혼합물을 1M 수성 수산화나트륨(500 ml) 및 디클로로메탄(500 ml)을 사용하여 분별 깔대기로 옮겼다. 유기상을 분리시키고, 수성상을 디클로로메탄(2 x 500 ml)으로 재추출하였다. 유기상을 합하여 건조시키고(MgSO₄) 농축시켜 황색 오일(116g)을 수득하였으며, 이를 95:3:2 디클로로메탄:트리에틸아민:메탄올로 실리카겔 상에서 크로마토그래피하여 (S)-1a(73 g, 78%)를 담황색 오일로 수득하였다. 대안적으로, 상기 조생성물(crude product)을 2:2:1 아세트론:헥산:메탄올로 알루미나 상에서 크로마토그래피하여 (S)-1a를 무색 오일로 수득하였다. ¹H NMR(CDC1₃) δ 0.99(3H, t, J = 7 Hz, CH₂CH₃), 1.285(3H, d, J = 6 Hz, CHCH₃), 1.45-1.85(4H, m), 2.35-2.75(6H, m), 3.4-3.95(3H, m), 5.18(1H, brd, J=8Hz, NH), 6.37(1H, d, J=6Hz, 3-H), 7.28(1H, dd, J_o = 9Hz, J_m = 2Hz, 6-H), 7.74(1H, d, J = 9 Hz, 5-H), 7.91(1H, d, J = 2 Hz, 8-H), 8.465(1H, d, J = 6 Hz, 2-H); ¹³CNMR(CDC1₃) 11.5(CH₂CH₃), 20.2(CH-CH₃), 23.9(CH₂CH₂CH₂N), 34.2(CH₂CH₂CH₂N), 47.5(CH₂CH₃), 48.3(CH),

53.1(CH₂H₂CH₂N), 54.9(CH₂CH₂OH), 58.5(CH₂CH₂OH), 99.0(C3), 117.2(C4a), 121.3(C6), 125.0(C8), 128.4(C5), 134.7(C7), 149.1(C4), 151.65(C2); MS(EI, 70EV) 337, 335(15, 44%, M⁺), 306, 304(20, 62%, [M-CH₂OH]⁺), 247(81%), 102(100%); C₁₈H₂₆ClN₃O에 대한 HRMS 계산치: 335.176440; 실측치: 335.175518.

[0081] R-히드록시클로로퀸((R)-1a)의 제조

[0082] (R)-2(29.34 g, 0.168 mol), 4,7-디클로로퀴놀린(33.34 g, 0.168 mol) 및 디이소프로필에틸아민(33.8 ml, 0.194 mol)의 혼합물을 질소 분위기에서 환류시키면서 3일간 135℃로 가열하였다. (S)-1a에 대해 전술한 바와 같이 후처리 및 정제하여 (R)-1a(39.8 g, 84%)를 담황색 오일로 수득하였다. 대안적인 정제: 미가공 (R)-1a(18.7 g)를 염산(1M, 50 ml)에 용해시키고 에틸 아세테이트(2 x 50ml)로 세척하여 2,7 디클로로퀴놀린을 제거하였다. 1M 수성 수산화나트륨으로 pH 7.5로 중화시킨 후, 수성상을 에틸 아세테이트(2 x 50 ml)로 다시 세척하고, 활성탄과 함께 하룻밤 동안 교반하였다. 셀라이트(celite)를 통해 여과한 후, 혼합물을 pH 12로 염기성화시키고 에틸 아세테이트(4 x 50 ml)로 추출하였다. 추출물을 합하여 건조시키고(MgSO₄) 농축시켜 (R)-1a를 담황색 오일(17.2 g)로서 수득하였다. ¹H NMR(CDCl₃) δ 0.99(3H, t), 1.285(3H, d), 1.45-1.85(4H, m), 2.35-2.75(6H, m), 3.4-3.95(3H, m), 5.18(1H, brd), 6.37(1H, d), 7.28(1H, dd), 7.74(1H, d), 7.91(1H, d), 8.465(1H, d); ¹³CNMR(CDCl₃) δ 11.5, 20.2, 23.9, 34.2, 47.5, 48.3, 53.1, 54.9, 58.5, 99.0, 117.2, 121.3, 125.0, 128.4, 134.7, 149.1, 151.65; MS(열분산) 338, 336([MH]⁺); 247의 주요 단편 이온(100%, [M-EtNHCH₂CH₂OH]⁺), 158.

[0083] (R)-2 및 (S)-2 거울상 이성질체의 순도 분석 절차

[0084] 완전히 분리된 (R)-2 또는 (S)-2는 약 6의 [α]_D를 갖는다. 거울상 이성질체의 순도를 측정하기 위한 신뢰할 수 있는 방법에는 (R)-2 및 (S)-2 부분입체 이성질체 유도체의 ¹H-NMR이 포함된다. (R)-2 및 (S)-2의 클로로포름 용액에 1 몰 당량의 (R)-α-메톡시-α-트리플루오로메틸페닐아세트산(MTPA)을 첨가한 결과, 상기 2개의 부분입체 이성질체의 H^a로 인해 공명이 넓어지고 고주파수로 이동하는 반면, 과량의 MTPA는 부분입체 이성질체염을 형성하여, H^a 및 H^b로 인한 공명 위치가 변화한다. 후자의 경우, 상기 2개의 부분입체 이성질체의 H^b로 인한 공명 간에 큰 간격이 존재한다. 이 기술은 소수 거울상 이성질체의 1% 정도만 검출할 수 있다. 단일 양자 부가(monoprotonation)는 위(偽)고리(pseudocyclic) 형태로 존재하는 종을 제공하는 반면, 이중양성자화된(diprotonated) 종은 비고리(acyclic) 형태로 존재한다고 여겨지고 있다. 유사하게, 부분입체 이성질체 캄포설폰아미드(camphorsulfonamides)의 ¹H NMR 스펙트럼에서, 디아민 모이어티의 말단 메틸기로 인한 공명은 낮은 전계 강도에서도 완전히 분리된다. 분리된 디아민 (R)-2 및 (S)-2를 히드록시클로로퀸의 거울상 이성질체인 (R)-1a 및 (S)-1a로 전환하는 데는 (R)-2 및 (S)-2와 4,7-디클로로퀴놀린을 디이소프로필에틸아민의 존재 하에 가열하는 과정이 포함된다. 상기 2개의 거울상 이성질체에 대한 최적 조건은 상이하다. 135℃에서 (S)-2는 (R)-2에 비해 지속적으로 분해되는 경향이 있고, 이에 따라 전환도 덜 완전하다. 산-염기 추출을 사용하여 (R)-1a 및 (S)-1a의 대규모 정제를 수행한다. pH 5 미만에서, 과량의 디클로로퀴놀린을 수성상으로부터 제거하고, pH 7 내지 pH 8에서 추가 추출에 의해 잔류 불순물을 제거한 후, 수성상을 솟으로 처리하여 고도로 착색된 미량의 물질을 제거한다. pH 8 초과에서(가장 편리한 pH는 약 12임), 순수 히드록시클로로퀸이 추출된다. (R)-1a 및 (S)-1a는 모두 오일이며, 보관시에는 빛으로부터 보호되어야 하며 그렇지 않으면 황색을 띄게 된다. 정제 후, 거울상 이성질체 (R)-1a 및 (S)-1a를 인산(2 몰 당량)으로 처리하여 비스(이수소 인산염)((R)-b 및 (S)-1b)으로 전환시킨다. 선행 크로마토그래피 단계에서의 트리에틸아민이 잔류하는 경우, 이를 아세톤으로 배산(trituration)하여 제거하여 용해성(deliquescent) 수화물을 생성한다. 반응을 완만하게 진행하기 위해 (S)-1a(43.4 g, 0.144 mol)에 인산(19.7 ml, 0.29 mol)을 얼음 냉각 하에 첨가하였다. 생성된 검(gum)을 아세톤 하에서 분쇄하고 생성된 용해성 고체를 신속하게 여과하고 신선한 아세톤(200 ml)에 즉시 현탁시킨 다음 하룻밤 동안 교반 하였다. 에탄올 현탁액에서 가열하여 탈수시켜 부서지기 쉬운(friable) 백색 고체를 수득하였다. 즉시 여과하여 백색 분말을 얻었으며, 이를 즉시 에탄올(200 ml)을 함유한 플라스크에 옮겼다. 생성된 현탁액을 4일 동안 환류시킨 후 여과하고, 고체를 에탄올로 세척하였다. 일정 중량으로 진공 건조한 후의 (S)-1b 수율은 52.6 g(69%)이었다. 유사한 방식으로 (R)-1a를 비스(이수소 인산염)으로 전환한다. 무수 표본과 일수화물 모두 192℃에서 용융하며, 이는 라세미체에 대해 보고된 168-170℃의 융점보다 상당히 높다. 상기 거울상 이성질체는 크고 재현성있는 회

전을 제공하며, 소수 거울상 이성질체의 0.5%만이 AGP 키랄 고정상을 사용하는 HPLC로 검출될 수 있다. 따라서, 편광 측정법과 HPLC 모두가 상기 거울상 이성질체의 광학 순도 측정에 적합하다. 히드록시클로로퀸 황산염은 산업적으로 이용 가능하며 3B Scientific Corporation™(카탈로그 번호, DR001622)으로부터 구입할 수 있다.

[0085] 사용 방법

[0086] 본 발명은 또한 염증 질환, 지방간염 및 염증과 관련된 간염의 치료 방법을 포함한다. 본 발명의 상기 방법은 클레미줄 및/또는 R-클로로퀸의 치료 유효량을 이를 필요로 하는 대상에게 투여하는 것을 포함한다.

[0087] 본 발명은 또한 본 발명의 하나 이상의 화합물 또는 본 발명의 하나 이상의 화합물 및 약학적으로 허용가능한 비히클을 포함하는 조성물을 대상에게 투여하는 것을 포함하는 염증 질환의 치료 방법을 제공한다. 본 발명은 또한 병원에서 현재 이용되는 항염증 치료제와 병용하여 염증 질환을 치료 또는 예방하는 방법을 제공한다. 항염증 치료제의 예에는 아스피린, 이부프로펜 및 나프록센과 같은 비스테로이드계 항염증제, 코르티코스테로이드, 플럼바긴(plumbagin) 또는 면역 선택적 항염증 유도체(immune selective anti-inflammatory derivatives)와 같은 항염증성 생리활성 화합물(anti-inflammatory bioactive compounds)이 포함되나, 이에 제한되지는 않는다.

[0088] 본 발명은 본 발명의 하나 이상의 화합물 또는 본 발명의 하나 이상의 화합물 및 약학적으로 허용가능한 비히클을 포함하는 조성물을 대상에게 투여하는 것을 포함하는 비알코올성 지방간염의 치료 방법을 제공한다. 본원에 사용된 용어 "비알코올성 지방간염"은 간에서의 지방 축적과 동시에 간 염증을 특징으로 하는 간 질환을 의미한다. 본 발명은 또한 대사 증후군 및/또는 진성 당뇨병과 같은 비알코올성 지방간염과 일반적으로 관련된 질환의 치료를 위해 병원에서 현재 이용되는 치료제와 병용하여 비알코올성 지방간염을 치료하는 방법을 제공한다. 대사 증후군 및/또는 진성 당뇨병에 대한 치료제의 비제한적 예에는 인슐린 저항성, 콜레스테롤 및 트리글리세라이드를 감소시키는 치료제가 포함된다. 인슐린 저항성을 감소시키는 치료제의 예에는 메트포르민, 티아졸리딘디온, 피오글리타존 및 로시글리타존이 포함되나, 이에 제한되지는 않는다. 고콜레스테롤혈증 치료제의 예에는 스타틴, 담즙산 격리제(sequestrants), 콜레스테롤 흡수 억제제, 피브린산 유도체 또는 니코틴산이 포함되나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0089] 본 발명은 본 발명의 하나 이상의 화합물 또는 본 발명의 하나 이상의 화합물 및 약학적으로 허용가능한 비히클을 포함하는 조성물을 대상에게 투여하는 것을 포함하는 간암을 치료 또는 예방하는 방법을 제공한다. 본원에 사용된 용어 "간암"은 간의 과증식성 질환을 의미하며, 간세포암, 섬유종간 간세포암, 담관암, 혈관 육종, 이차성 또는 전이성 간암 및 간모세포종을 포함하지만 이에 제한되지는 않는다. 본 발명은 또한 간암의 치료 또는 예방을 위해 병원에서 현재 이용되는 치료, 예를 들어 이에 한정되는 것은 아니지만 화학 치료제와 병용하여 간암을 치료 또는 예방하는 방법을 제공한다.

[0090] 본 발명의 약학 조성물

[0091] 본 발명의 클레미줄 및 R-클로로퀸은 약학 조성물로 제형화될 수 있다. 이러한 조성물은 클레미줄 및/또는 R-클로로퀸 이외에 약학적으로 허용가능한 부형제, 담체, 완충액, 안정화제 또는 당업자에게 공지된 기타 물질을 추가로 포함할 수 있다. 이러한 물질은 무독성이어야 하며 활성 성분의 효능을 저해해서는 안된다. 담체 또는 기타 물질의 정확한 특성은 투여 경로, 예를 들어 경구, 정맥내, 피부 또는 피하, 비강, 근육내, 복강내 경로에 따라 결정될 수 있다.

[0092] 경구 투여용 약학 조성물은 정제, 캡슐, 분말 또는 액체 형태일 수 있다. 정제는 젤라틴 또는 보조제와 같은 고체 담체를 포함할 수 있다. 액체 약학 조성물은 일반적으로 물, 석유, 동물성 또는 식물성 오일, 광유 또는 합성 오일과 같은 액체 담체를 포함한다. 생리 식염수, 텍스트로소 또는 기타 당류 용액 또는 글리콜, 예를 들어 에틸렌 글리콜, 프로필렌 글리콜 또는 폴리에틸렌 글리콜이 포함될 수도 있다.

[0093] 정맥내, 피부 또는 피하 주사, 또는 통증이 있는 장소로의 주사의 경우, 활성 성분은 발열원이 없고 적절한 pH, 등장성 및 안정성을 갖는 비경구적으로 허용가능한 수용액의 형태이다. 당업자는 예를 들어 염화나트륨 주사, 링거 주사, 락테이트 링거 주사(Lactated Ringer's Injection)와 같은 등장성 비히클을 사용하여 적합한 용액을 제조할 수 있다. 방부제, 안정화제, 완충액, 항산화제 및/또는 기타 첨가제가 필요에 따라 포함될 수 있다.

[0094] 개체에 투여될 본 발명에 따른 유용한 소분자 화합물은 바람직하게는 "치료 유효량" 또는 "예방 유효량(prophylactically effective amount)"(경우에 따라 예방이 치료로 간주될 수 있음)으로 투여되며, 이는 해당 개체에서 이익을 나타내기엔 충분한 양이다. 실제 투여량, 투여 속도 및 투여 시간-코스(time-course)는 치료할 질환의 성질 및 중증도에 따라 결정된다. 예를 들어, 투여량에 대한 결정 등과 같은 치료 처방은 일반 진료의

및 기타 의사들의 책임 하에 있으며, 일반적으로, 치료할 장애, 개별 환자의 상태, 전달 장소, 투여 방법 및 진료의에게 알려진 기타 요인을 고려한다. 전술한 기술 및 프로토콜의 예는 Remington's Pharmaceutical Sciences, 16th edition, Osol, A.(ed), 1980에 수록되어 있다.

[0095] 조성물은 치료할 질환에 따라 단독으로 또는 다른 치료제와 함께, 동시에 또는 순차적으로 투여될 수 있다.

[0096] 실시예

[0097] 이하, 본 발명을 수행하기 위한 특정 구현예의 예를 기재한다. 이들 실시예는 단지 예시적인 목적으로 제공되며, 본 발명의 범위를 어떤 식으로든 제한하기 위한 것은 아니다. 사용된 숫자들(예를 들어, 양, 온도 등)에 대해 정확도를 보장하기 위해 노력하였으나, 약간의 실험 오차 및 편차(deviation)는 물론 허용되어야 한다.

[0098] 달리 지시되지 않는 한, 본 발명의 실시예는 당해 기술 분야의 지식 내에 있는 단백질 화학, 생화학, 재조합 DNA 기술 및 약리학의 통상적인 방법이 사용된다. 이러한 기술은 문헌에 충분히 설명되어있다. 예를 들어, T.E. Creighton, Proteins: Structures and Molecular Properties(W.H. Freeman and Company, 1993); A.L. Lehninger, Biochemistry(Worth Publishers, Inc., current addition); Sambrook, et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual(2nd Edition, 1989); Methods In Enzymology(S. Colowick and N. Kaplan eds., Academic Press, Inc.); Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Edition(Easton, Pennsylvania: Mack Publishing Company, 1990); Carey and Sundberg Advanced Organic Chemistry 3rd Ed.(Plenum Press) Vols A and B(1992)를 참조할 수 있다.

[0099] 본원에 직접 정의되지 않은 임의의 용어는 본 발명의 기술 내에서 이해되는 바와 같은 일반적으로 관련된 의미를 갖는 것으로 이해되어야 한다. 본원에 논의된 특정 용어는 본 발명의 측면의 조성물, 장치, 방법 등 및 이를 제조 및 사용하는 방법의 기재시, 실시자에게 추가적인 지침을 제공하기 위해 사용된다. 동일한 사항이 둘 이상의 방식으로 기재될 수 있다는 점이 이해될 것이다. 결과적으로 본원에 논의된 용어 중 하나 이상에 대해 대안적인 표현 및 동의어가 사용될 수 있다. 용어가 본원에서 상술되거나 논의되는지 여부는 중요하지 않다. 일부 동의어 또는 대체 가능한 방법, 물질 등이 제공된다. 명시적으로 언급되지 않는 한, 하나 또는 소수의 동의어 또는 상당어구의 언급은 다른 동의어 또는 상당어구의 이용을 배제하지 않는다. 예시의 사용, 예를 들어 용어의 예시는 단지 예시적인 목적을 위한 것이며, 본 발명의 측면의 범위 및 의미를 제한하지 않는다.

[0100] 방법

[0101] 비알코올성 지방간염의 유도

[0102] 55마리의 수컷 마우스에서 생후 2일에 200 µg 스트렙토조토신(STZ, Sigma-Aldrich, USA) 용액을 1회 피하 주사하고, 4주령 후에 고지방 식단(HFD, 57 kcal% 지방, cat#: HFD32, CLEA Japan, Inc., 일본 소재)를 공급하여 NASH를 유도하였다. 이하, 이러한 방법으로 NASH가 유도된 마우스를 NASH 마우스라고 칭한다.

[0103] 약학 조성물 및 약물 투여 경로

[0104] 화합물 A, 화합물 B, 화합물 C, 화합물 D 및 비히클을 5 mL/kg의 부피로 경구 투여하였다. 화합물 A는 R-클로로퀸 및 S-클로로퀸의 라세미 혼합물을 포함하였다.

[0105] 화합물 B는 R-클로로퀸을 포함하였다. 화합물 C는 S-클로로퀸을 포함하였다.

[0106] 화합물 D는 클레미졸을 포함 하였다. 모든 시험 화합물을 계량하고 비히클(5% DMSO/물)에 용해시켰다.

[0107] 약물의 치료 용량

[0108] 화합물 A, 화합물 B 및 화합물 C를 초기 2일에는 258 mg/kg, 이후에는 129 mg/kg의 용량으로 1일 1회 경구 투여하였다. 화합물 D는 89 mg/kg의 용량으로 1일 2회 경구 투여하였다. 하기 표 1에 치료 일정을 요약하였다.

표 1

[0109] 연구군의 치료 일정

군	마우스 마리수	마우스	시험 물질	투여량 (mg/kg)	부피 (mL/kg)	요법	희생 (9주)	희생 (18주)
1	11	STAM	비히클	-	5	경구, 1일 1회, 6주 - 18주	6	4

2	11	STAM	화합물 A(R-클로로퀸 및 S-클로로퀸)	258* 129	5	경구, 1일 1회, 6주 - 18주	6	4
3	11	STAM	화합물 B(R-클로로퀸)	258* 129	5	경구, 1일 1회, 6주 - 18주	6	4
4	11	STAM	화합물 C(S-클로로퀸)	258* 129	5	경구, 1일 1회, 6주 - 18주	6	4
5	11	STAM	화합물 D(클레미졸)	89	5	경구, 1일 2회, 6주 - 18주	6	4

[0110] *258 mg/kg: 초기 이틀만.

[0111] 동물

[0112] C57BL/6 마우스(임신 14일 암컷)를 Japan SLC, Inc.(일본 시즈오카 소재)로부터 구입하였다. 연구에 사용된 모든 동물은 Japanese Pharmacological Society Guidelines for Animal Use에 따라 보관 및 관리하였다.

[0113] 혈장 샘플링 및 전혈 및 혈장 생화학 측정

[0114] 6주령(투여 이전), 7주령 및 8주령(weeks of age)의 턱밑 출혈로부터 항응고제(Novo-heparin, Mochida Pharmaceutical, 일본 소재)를 함유하는 폴리프로필렌 튜브에 비금식 혈액(non-fasting blood)을 수집하였다. 수집된 혈액 표본을 원심 분리하고, 헤파린화 혈장(heparinized plasma)인 상청액을 수집하였다.

[0115] LIFE CHECK(EIDIA Co., Ltd., 일본 소재)를 사용하여 전혈 내의 비금식 혈당(non-fasting blood glucose)을 측정하였다. 혈장 ALT는 FUJI DRI-CHEM 7000(Fujifilm Corporation, 일본 소재)를 사용하여 측정하였다.

[0116] 병리조직학적 분석

[0117] HE 염색을 위해, 부양 용액(Bouin's solution) 중에 예비고정된 간 조직의 파라핀 블록으로부터 절편을 절단하고, 릴리-마이어 헤마톡실린(Lillie-Mayer's Hematoxylin)(Muto Pure Chemicals Co., Ltd., 일본 소재)과 에오신 용액(Wako Pure Chemical Industries)으로 염색하였다. NAFLD 활성 점수(NAFLD Activity score)(NAS)를 Kleiner의 기준에 따라 계산하였다(Kleiner DE. et al., Hepatology, 2005;41:1313). 콜라겐 증착을 시각화하기 위해, 부양의 고정된 간 절편(Bouin's fixed liver sections)을 피크로-시리우스 레드 용액(picro-Sirius red solution)(Waldeck, 독일 소재)을 사용하여 염색하였다.

[0118] 섬유증 영역의 정량 분석을 위해, 시리우스 레드-염색된 절편의 명시야 영상(bright field images)을 디지털 카메라(DFC280; Leica, 독일 소재)를 사용하여 200배 배율로 중심 정맥(central vein) 주위에서 포착하였으며, 5 필드/절편에서의 양성 영역을 ImageJ 소프트웨어(미국 국립보건원, 미국 소재)를 사용하여 측정하였다.

[0119] 간의 육안 분석

[0120] 간 표면 상에 형성된 육안으로 보이는 종양 결절의 수를 측정하였다. 간 표면 상에 형성된 육안으로 보이는 종양 결절의 최대 직경을 측정하였다.

[0121] 통계 검정

[0122] GraphPad Prism 4(GraphPad Software Inc., 미국 소재)를 사용하는 본페로니 다중 비교 검정(Bonferroni Multiple Comparison Test)에 의해 통계 분석을 수행하였다. < 0.05의 P 값을 통계적으로 유의한 것으로 간주하였다.

[0123] 실시예 1: S-클로로퀸의 투여는 NASH를 갖는 마우스에서 간 중량 및 체중을 감소시킨다.

[0124] 모든 군에서 체중은 치료 기간 동안 명백하게 변화하지 않았다(표 2). 평균 체중은 비히클군과 모든 화합물군 간에 유의한 차이가 없었다. 치료 기간 동안, 9주가 되기 전에 마우스가 다음과 같이 사망하였다. 모든 군에서 11마리 중 1마리가 사망하였다.

[0125] 화합물 C군은 희생 당일 평균 체중을 유의하게 감소시켰다(표 2). 비히클 군과 화합물 A, 화합물 B 및 화합물 D 군 간에는 희생 당일 평균 체중에 유의한 차이가 없었다.

[0126] 화합물 C군은 평균 간 중량을 유의하게 감소시켰다(표 2). 비히클군과 화합물 A, 화합물 B 및 화합물 D군 간에는 희생 당일 평균 간 중량에 유의한 차이가 없었다. 희생 당일 평균 간 중량 대 체중 비는 비히클군과 화합물

A, 화합물 B, 화합물 C 및 화합물 D군 간에 유의한 차이가 없었다.

표 2

[0127]

NASH 마우스의 체중 및 간 중량

파라미터 (평균±SD)	비히클 (n=6)	화합물 A (n=6)	화합물 B (n=6)	화합물 C (n=6)	화합물 D (n=6)
체중(g)	16.9±2.1	15.0±1.9	14.5±2.4	13.7±1.3	15.5±1.5
간 중량(mg)	1082±130	1045±243	934±135	810±77	1047±76
간 중량 대 체중 비(%)	6.5±0.9	7.0±1.4	6.5±0.4	5.9±0.4	6.8±0.4

[0128]

실시예 2: 클로로퀸 또는 클레미졸을 투여한 NASH 마우스에서의 전혈 생화학.

[0129]

연구 기간 동안 전체 혈당 수치에는 비히클군과 화합물 A, 화합물 B, 화합물 C 및 화합물 D군 간에 유의한 차이가 없었다. 비히클군과 화합물 A, 화합물 B, 화합물 C 및 화합물 D군의 혈장 ALT 수준을 희생시 측정하였다(표 3).

표 3

[0130]

시험 화합물로 치료된 NASH 마우스의 ALT 수준.

파라미터 (평균±SD)	비히클 (n=6)	화합물 A (n=6)	화합물 B (n=6)	화합물 C (n=6)	화합물 D (n=6)
혈장 ALT(U/L)	22±11	21±13	14±6	9±3	18±10

[0131]

실시예 3: R-클로로퀸 또는 클레미졸로 치료된 NASH 마우스에서 NAFLD 활성 점수 감소가 관찰되었다.

[0132]

시험 화합물로 치료된 마우스로부터의 간 조직 절편에 대해 헤마톡실린 및 에오신 염색을 수행하고 NAFLD 활성 점수를 계산하였다(표 4). 화합물 B군과 화합물 D군은 비히클군에 비해 NAS에 있어 유의한 감소를 보였다.

표 4

[0133]

시험 화합물로 치료된 NASH 마우스의 NAFLD 활성 점수

군	n	점수												NAS (평균±SD)
		지방증				소염 염증				간세포 병창				
		0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2		
비허용	6	-	4	2	-	-	-	4	2	-	-	6	5.7 ± 0.8	
화합물 A	6	1	5	-	-	-	-	1	5	-	3	3	5.2 ± 0.8	
화합물 B	6	1	5	-	-	-	2	4	-	-	1	5	4.3 ± 0.5	
화합물 C	6	-	6	-	-	-	-	4	2	-	-	6	5.3 ± 0.5	
화합물 D	6	1	5	-	-	-	4	1	1	-	-	6	4.3 ± 1.0	

NAS 구성요소의 정의		
항목	점수	범위
지방증	0	<5%
	1	5-33%
	2	>33-66%
	3	>66%
간세포 병창	0	없음
	1	소수의 병창 세포
	2	다수의 세포/현저한 병창
소염 염증	0	병소 없음
	1	< 2 병소/200x
	2	2-4 병소/200x
	3	> 4 병소/200x

[0134]

실시예 4: NASH 마우스에 시험 화합물의 투여시 간 섬유증 영역은 영향을 받지 않는다.

[0135]

시험 화합물로 치료된 NASH 마우스의 간 절편에 간 시리우스 레드 염색을 수행하였다(표 5). 희생시 섬유증 영역에는 비히클군과 화합물 A군, 화합물 B군, 화합물 C군 및 화합물 D군 간에 유의한 차이가 없었다.

표 5

시험 화합물을 투여한 NASH 마우스 간의 섬유증 영역.

파라미터 (평균±SD)	비히클 (n=6)	화합물 A (n=6)	화합물 B (n=6)	화합물 C (n=6)	화합물 D (n=6)
시리우스 레드 양성 영역(%)	1.13±0.17	0.87±0.23	0.78±0.35	0.90±0.44	0.95±0.39

실시예 5: 시험 화합물을 투여한 NASH-유도된 간세포암을 갖는 마우스의 체중 및 간 중량.

모든 연구군에서 체중은 치료 기간 동안 뚜렷하게 변화하지 않았다(표 6). 평균 체중에는 비히클군과 모든 화합물군 간에 유의한 차이가 없었다(표 6). 치료 기간 동안, 18주가 되기 전에 마우스가 다음과 같이 사망하였다. 비히클군 및 화합물 D군에서는 4마리 중 1마리가 사망하였다. 화합물 B군 및 화합물 C군에서는 4마리 중 2마리가 사망하였다. 화합물 A군에서는 4마리 중 3마리가 사망하였다. 평균±SD를 표 6에 기재하였다.

표 6

시험 화합물로 치료된 NASH 유도된 HCC 마우스의 장기(organ) 및 간 중량 대 체중 비

파라미터 (평균±SD)	비히클 (n=3)	화합물 A (n=1)	화합물 B (n=2)	화합물 C (n=2)	화합물 D (n=3)
체중(g)	24.6±2.1	17.5±0.0	20.4±0.3	17.9±2.8	18.8±3.8
간 중량(mg)	2059±667	1443±0	1616±635	1353±178	1710±113
간 중량 대 체중 비(%)	8.3±2.5	8.2±0.0	7.9±3.0	7.6±0.1	6.3±0.8

실시예 6: 간세포암을 갖는 마우스에서 클레미줄의 투여는 간 종양 직경 및 종양 결절의 수를 감소시킨다.

간 표면 상에 형성된 육안으로 보이는 종양 결절의 수를 측정하였다. 간 표면 상에 형성된 육안으로 보이는 종양 결절의 최대 직경을 측정하였다(표 7). 비히클군에서 생존한 마우스(n=3)는 모두 간 표면에 가시적인 종양 결절을 나타내었다. 화합물 D(클레미줄)군에서 생존한 마우스 3마리 중 2마리에서 간 표면에 가시적인 종양 결절이 존재하지 않는 것이 관찰되었다(도 8). 표 7에 평균±SD를 기재하였다.

표 7

시험 화합물로 치료된 HCC 마우스에서의 가시적인 종양 결절의 최대 직경.

파라미터 (평균±SD)	비히클 (n=3)	화합물 A (n=1)	화합물 B (n=2)	화합물 C (n=2)	화합물 D (n=3)
결절의 수	3.0±2.0	2.0±0.0	2.0±1.4	1.5±2.1	0.3±0.6
결절의 최대 직 경(mm)	7.3±6.5	6.1±0.0	11.1±7.0	3.5±5.0	0.7±1.2

실시예 7: 클레미줄로 치료된 간세포암(HCC) 환자.

매일 3회 경구 투여된 클레미줄 하이드로클로라이드 200 mg 대(vs.) 400 mg 대 500 mg의 안전성, 내약성, 약동학 및 약력학 활성을 시험하기 위해, 간 이식을 기다리는 중이거나 절제 불가능한 병변이 있는 간세포암(HCC)을 갖는 대상에 대해 제 IIa상 라벨공개 예비 연구(phase IIa, open label pilot study)를 실시하였다. 완료된 연구는 최대 40명의 환자를 치료한다. 3개월 또는 5개월 동안 클레미줄 200 mg을 투여받은 간세포암 환자 2명에서의 초기 임상 결과는 다음과 같다.

환자 #1 요약:

환자 #1은 만성 B형 간염-유도된 간경변 환경에서 HCC로 진단된 70세의 남성이다. 동적 간 CT를 사용하여 진단을 수행하였다. 환자 #1은 2011년 HCC에 대한 고주파 절제 치료를 받았지만 치료 후 질병의 진행을 겪었다. 또한, 환자 #1은 2015년 4월과 5월 및 2015년 6월에 3회의 간암 화학색전술(TACE)을 받았다. 환자 #1은 HCC 진행 이전 약 5개월 동안 안정된 질병을 나타냈다. 그런 다음, 환자는 1일 3회 클레미줄 200 mg을 경구 투여하는 클

레미졸 치료를 시작하였다. 3개월간의 클레미졸 치료 후, 환자는 후속적으로 동적 간 CT 조영술을 받았고, 어떠한 치료도 하지 않으면 종양의 크기가 크게 증가할 것으로 예상되었음에도 불구하고, HCC는 안정을 유지하였다. 이때 환자는 통증이나 부작용이 없었다.

[0147] 환자 #2 요약:

환자 #2는 만성 B형 간염-유도된 간경변 환경에서 다발성 HCC로 진단된 77세의 남성이다. 동적 간 자기 공명 영상(dynamic liver magnetic resonance imaging)으로 진단을 수행하였다. 환자 #2는 소라페닙 치료를 견디지 못하고 실패하였으며 치료 후 질병 진행을 나타내었다. 이후, 환자 #2는 1일 3회 클레미졸 200 mg을 경구 투여하는 클레미졸 치료를 시작하였다. 5개월간의 클레미졸 치료 후, 환자는 후속적으로 동적 간 자기 공명 영상 검사를 받았고, 어떠한 치료도 하지 않으면 종양의 크기가 크게 증가할 것으로 예상되었음에도 불구하고, HCC는 안정을 유지하였다. 이때 환자는 통증이나 부작용이 없었다.

현재까지 소수의 환자를 치료하였지만, 사용된 저용량의 클레미졸(즉, 200 mg 대(vs.) 후속 환자들에서의 500 mg까지)에서 관찰된 효능 및 내약성, 특히 HCC에 대해 승인된 유일한 치료제인인 소라페닙에 비한 효능 및 내약성은 그 자체로 매우 흥미롭다. 소라페닙 제 2상 연구(Abou-Alpha et al. Journal Clinical Oncology 2006, 24(26): 4293-4300)에서 진행까지의 시간의 중간값(median time to progression)(TTP)은 4.2개월이었다. 독성에는 피로감(9.5%), 설사(8.0%), 수족 피부반응(hand-foot skin reaction)(5.1%) 등의 3/4 등급 약물관련 독성을 포함하여, 설사 40% 이상, 수족 피부반응 30% 이상, 피로감 30%가 포함된다. 소라페닙 제 3상 연구(Llovet et al. NEJM 2008;359:378-90)에서 방사선학적(radiologic) 진행까지의 시간의 중간값은 소라페닙군에서 5.5개월, 위약군에서 2.8개월이었다. 소라페닙군에서 치료 관련 부작용 발생률은 80%였다. 부작용은 주로 저인산혈증(11% 3등급) 및 혈소판 감소증(4% 3등급 또는 4등급)을 비롯하여, 위장, 체질 또는 피부과적 특성(중증도 1등급 또는 2등급)이었다.

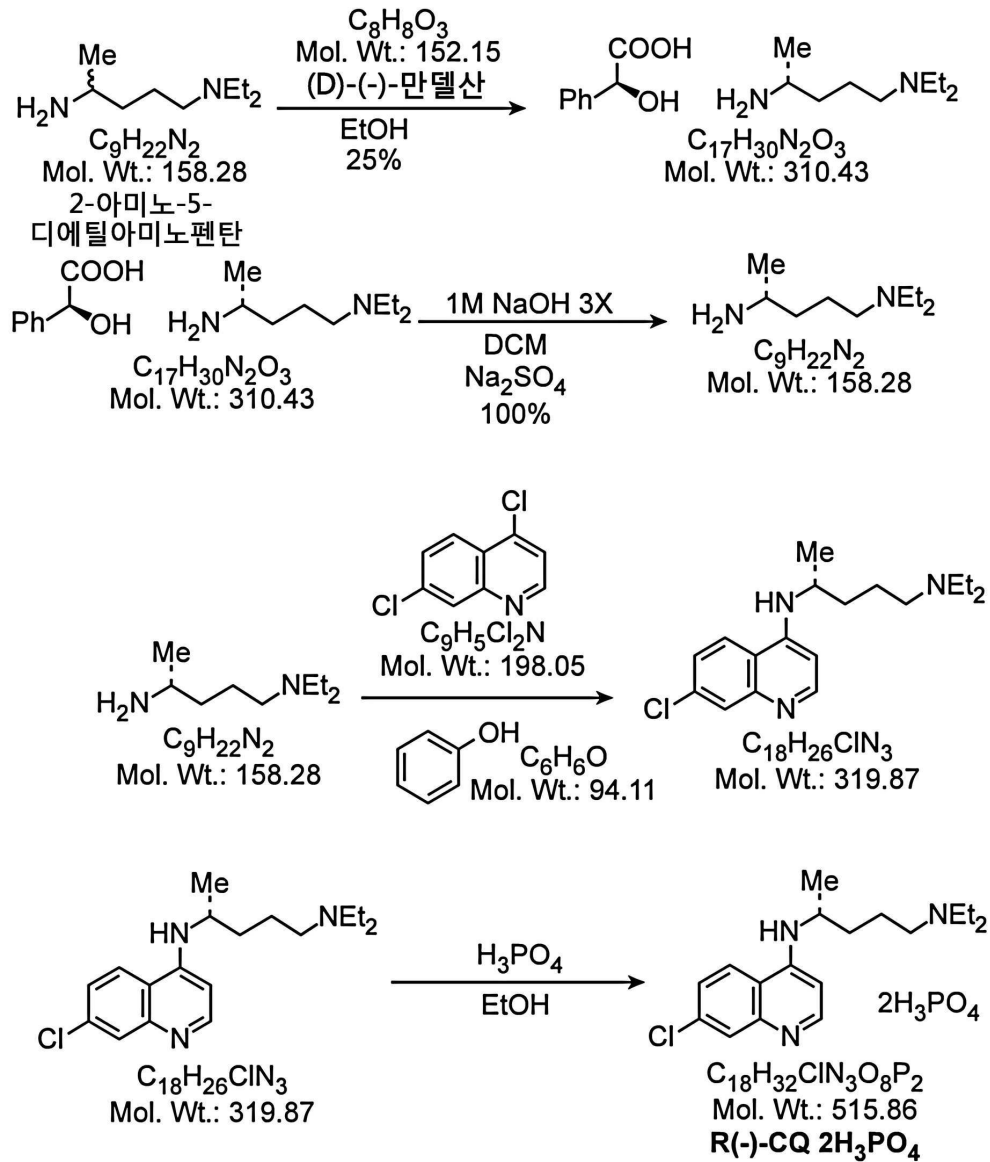
바람직한 구현예 및 다양한 대안적인 구현예를 참조하여 본 발명을 구체적으로 나타내고 기재하였지만, 본 발명의 사상 및 범주를 벗어나지 않으면서 형태 및 세부사항에서 다양한 변화가 이뤄질 수 있음이 당업자에 의해 이해될 것이다.

본 명세서의 본문 내에 인용된 모든 참고 문헌, 등록 특허 및 특허 출원은 그 전체 내용이 모든 목적을 위해 원용에 의해 본 명세서에 포함된다.

도면

도면1

R-클로로퀸의 합성 공정



도면2

클레미졸 및 클레미졸 대사산물의 구조

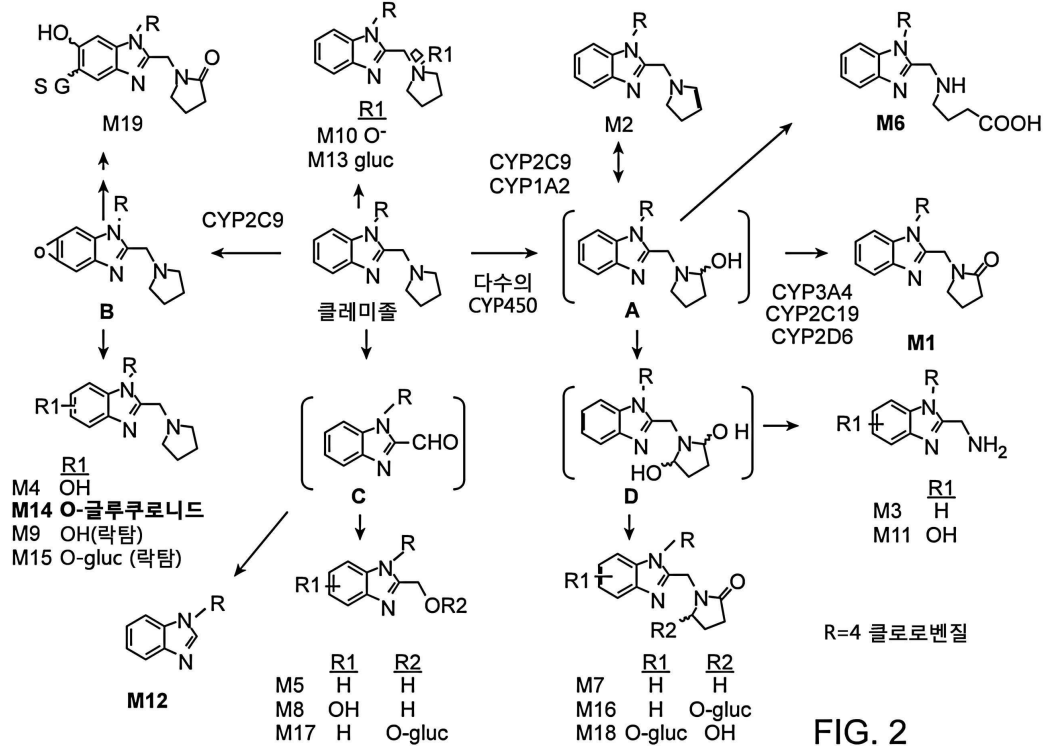
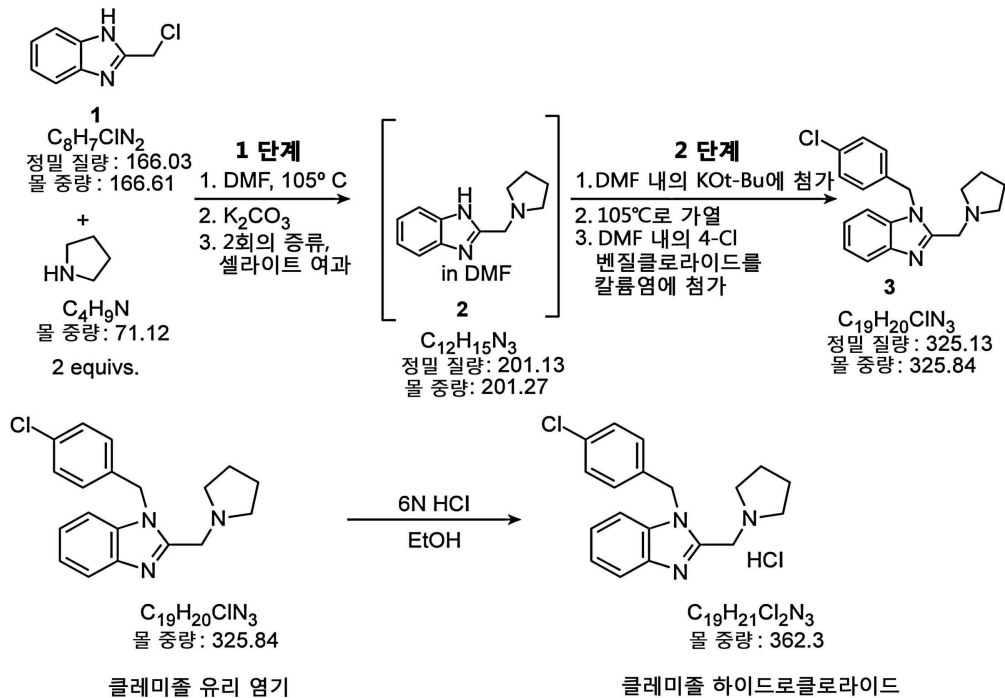


FIG. 2

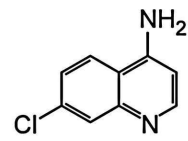
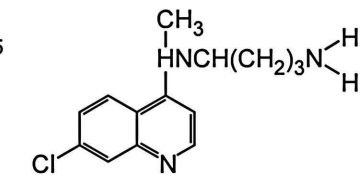
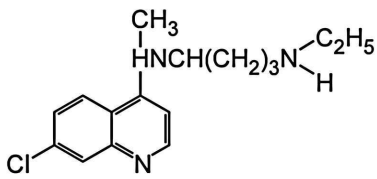
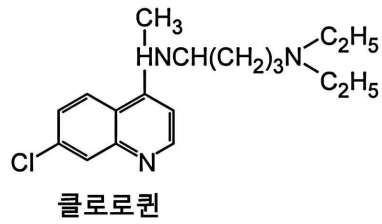
도면3

클레미졸 하이드로클로라이드의 GMP 합성을 위한 합성 반응식



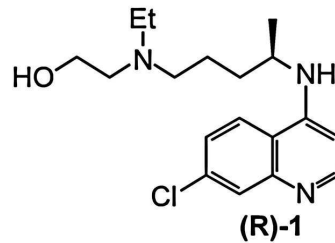
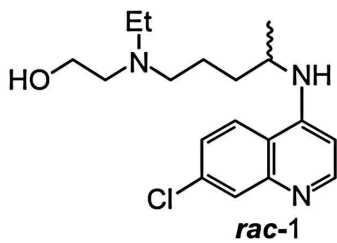
도면4

클로로퀸 대사산물의 구조



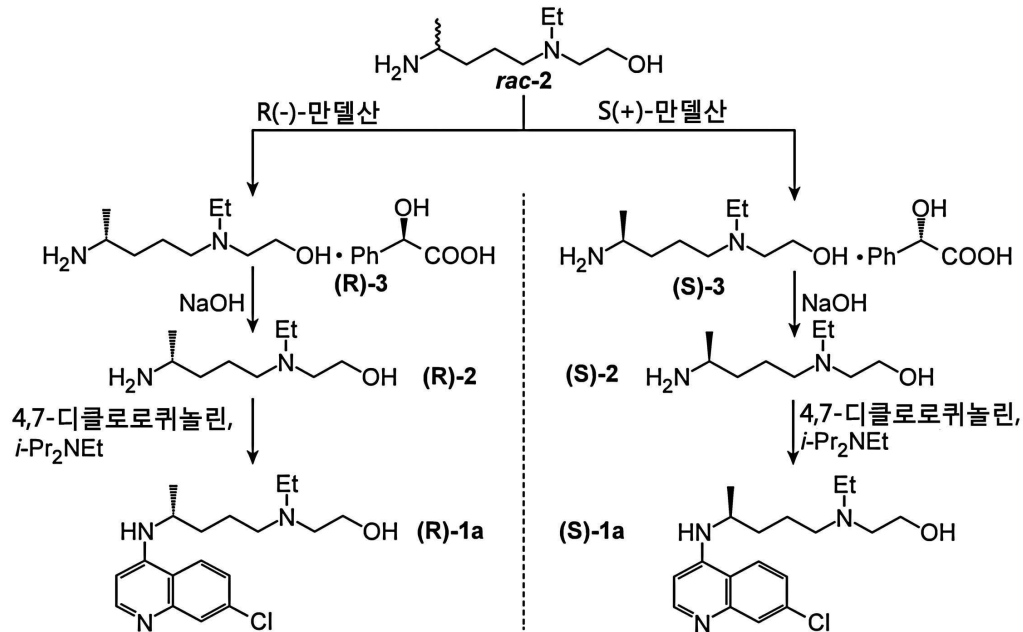
도면5

히드록시클로로퀸(rac-1)과 R-히드록시클로로퀸의 구조



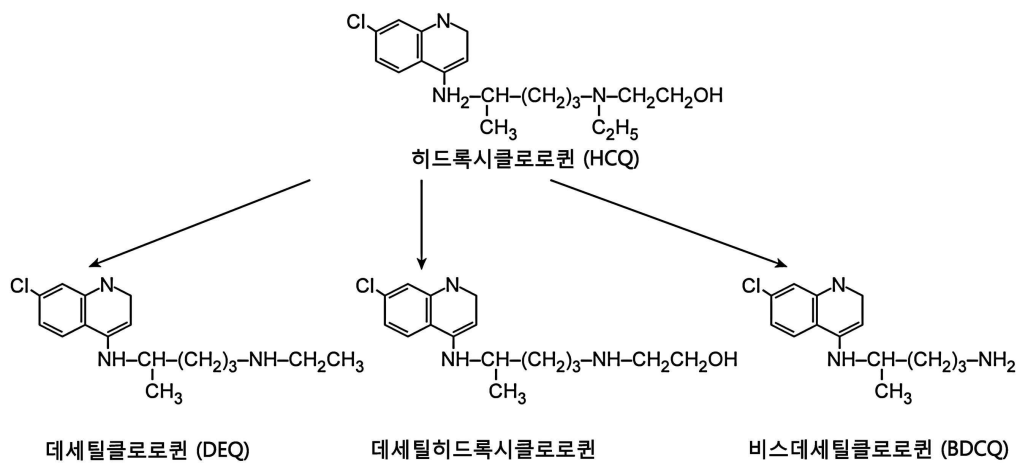
도면6

히드록시클로로퀸의 거울상 이성질체의 합성 공정



도면7

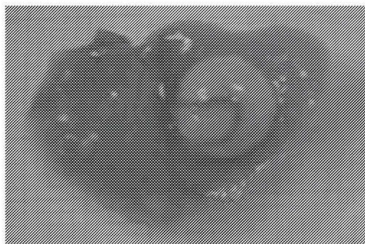
히드록시클로로퀸 대사산물의 구조



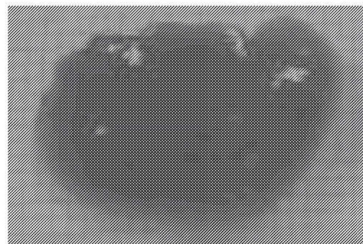
도면8

화합물 D에 의한 종양 발생 억제

군	마우스 ID	가시적인 종양 결절의 수	가시적인 종양 결절의 최대 직경(mm)	가시적인 종양 결절의 평균 수	가시적인 종양 결절의 평균 최대 직경 (mm)
비히클	101	3	14.4	3.0 ± 2.0	7.3 ± 6.5
	102	5	5.4		
	111	1	2.0		
화합물 D	501	0	0.0	0.3 ± 0.6	0.7 ± 1.2
	505	1	2.0		
	510	0	0.0		



좌엽 후구역-비히클 대조군



좌엽 후구역-화합물 D로 치료