



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2012년07월30일
 (11) 등록번호 10-1169818
 (24) 등록일자 2012년07월24일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 305/14 (2006.01) *C07D 409/12* (2006.01)
 (21) 출원번호 10-2006-7016219
 (22) 출원일자(국제) 2005년02월14일
 심사청구일자 2010년02월10일
 (85) 번역문제출일자 2006년08월11일
 (65) 공개번호 10-2006-0129018
 (43) 공개일자 2006년12월14일
 (86) 국제출원번호 PCT/US2005/004442
 (87) 국제공개번호 WO 2005/079319
 국제공개일자 2005년09월01일
 (30) 우선권주장
 60/544,755 2004년02월13일 미국(US)
 60/613,503 2004년09월27일 미국(US)
 (56) 선행기술조사문헌
 US19898814470 A1
 전체 청구항 수 : 총 26 항

(73) 특허권자
 플로리다 스테이트 유니버시티 리서치
 파운데이션, 인크
 미국 32306-2743 플로리다주 탈라하쎬 메일 코드
 2743 스위트 276-씨 레비 애브뉴 2010
 (72) 발명자
 홀튼, 로버트, 에이.
 미국 32303 플로리다주 탈라하쎬 스위트 200 세션
 스 로드 3216엠디에스 리서치 파운데이션, 인크.
 부, 풍
 미국 07004 뉴저지주 페어필드 인터스트리얼 로드
 10 탁솔로그, 인크.
 (74) 대리인
 김영, 주성민

심사관 : 최원철

(54) 발명의 명칭 **C10에서 시클로펜틸 에스테르로 치환된 탁산**

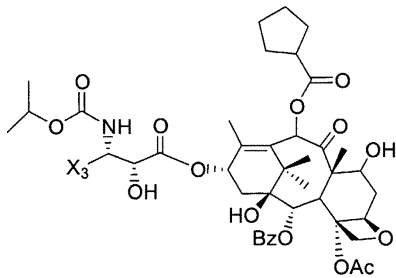
(57) 요약

본 발명은 C10에 시클로펜틸 에스테르 치환체, C9에 케토 치환체, C2에 히드록시 치환체, C3'에 2-티에닐 치환체, 및 C3'에 이소프로폭시카르바메이트 치환체를 갖는 탁산에 관한 것이다.

특허청구의 범위

청구항 1

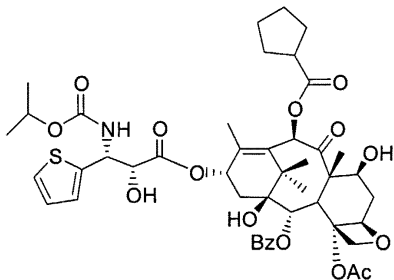
하기 구조를 갖는 탁산.



식 중, X₃은 티에닐이고, Ac는 아세틸이고, Bz는 벤조일이다.

청구항 2

제1항에 있어서, 하기 구조를 갖는 탁산.



청구항 3

제1항에 있어서, C7 히드록시 치환체 및 C10 시클로펜틸카르보닐옥시 치환체 둘 다가 베타 입체화학적 배열을 갖는 것인 탁산.

청구항 4

제1항의 탁산 및 1종 이상의 제약상 허용되는 담체를 포함하는, 포유동물에서 중앙 증식을 억제하기 위해 사용되는 제약 조성물.

청구항 5

제4항에 있어서, 탁산의 농도가 0.01 내지 10 mg/mL인 조성물.

청구항 6

제4항에 있어서, 환자의 신체 표면적 1 m² 당 20 mg 내지 600 mg의 탁산을 함유하는 경구 투여용 단일 단위 투여형인 조성물.

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

청구항 9

제4항에 있어서, 환자의 신체 표면적 1 m^2 당 20 mg 내지 500 mg의 탁산을 함유하는 비경구 투여용 단일 단위 투여형인 조성물.

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

제4항에 있어서, 에탄올을 5 내지 10%로 포함하는 조성물.

청구항 13

제12항에 있어서, 경구 투여용인 조성물.

청구항 14

제13항에 있어서, 경구용 용액의 형태인 조성물.

청구항 15

제14항에 있어서, 증류수를 80 내지 90%로 포함하는 조성물.

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

제12항에 있어서, 비경구 투여용인 조성물.

청구항 19

제18항에 있어서, 에멀션 형태인 조성물.

청구항 20

제19항에 있어서, 에탄올 용액과 지방 에멀션을 배합함으로써 제조되는 조성물.

청구항 21

제20항에 있어서, 지방 에멀션이 지방을 10 내지 20%로 함유하는 것인 조성물.

청구항 22

제18항에 있어서, 용액인 조성물.

청구항 23

제22항에 있어서, 염수를 80 내지 90%로 포함하는 조성물.

청구항 24

제15항 또는 제23항에 있어서, 계면활성제를 5 내지 10%로 포함하는 조성물.

청구항 25

제24항에 있어서, 계면활성제가 폴리소르베이트 80, 폴리에톡실화 피마자유 또는 이들의 조합인 조성물.

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

제4항에 있어서, 포유동물이 텍사메타손, 디펜히드라민, 또는 제약 조성물의 투여로 인한 역반응을 최소화시키는 여타 작용제로 사전-처리되고, 제약 조성물이 계면활성제를 포함하는 것인 조성물.

청구항 30

제29항에 있어서, 계면활성제가 폴리소르베이트 80, 폴리에톡실화 피마자유 또는 이들의 조합인 조성물.

청구항 31

제4항에 있어서, 종양이 유방 암종, 폐 암종, 췌장 암종, 대장 암종, 난소 암종 또는 전립선 암종인 조성물.

청구항 32

제31항에 있어서, 종양이 Panc-1 췌장 선암종 또는 HT-29 대장 암종인 조성물.

청구항 33

제4항에 있어서, 종양이 파클리탁셀에 대해 내성이 있는 것인 조성물.

청구항 34

제33항에 있어서, 종양이 인간 대장 암종인 조성물.

청구항 35

제34항에 있어서, 종양이 VM46 인간 대장 암종 또는 DLD-1 인간 대장 암종인 조성물.

청구항 36

삭제

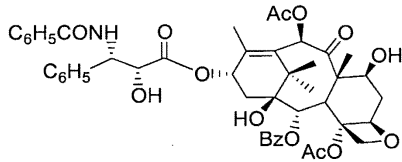
명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 항종양제로서 유용한 신규 탁산에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 박카틴 (baccatin) III 및 탁솔 (통상적으로 파클리탁셀로도 지칭됨)이 그 구성원인, 테르펜의 탁산 계열은 생물학 및 화학의 양 분야에서 상당한 관심의 대상이었다. 탁솔은 그 자체로 암 화학치료제로서 사용되며, 광범위한 종양-억제 활성을 갖는다. 탁솔은 2'R, 3'S 배열을 가지며, 하기 화학식의 구조를 갖는다.



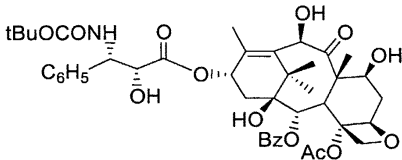
[0003]

[0004]

[0005]

식 중, Ac는 아세틸이고, Bz는 벤조일이다.

콜린 (Colin) 등은 미국 특허 제4,814,470호에서 특정 파클리탁셀 유사체가 탁솔보다 유의하게 높은 활성을 갖는다고 보고한 바 있다. 이러한 유사체들 중 하나 (통상적으로 도세탁셀 (Taxotere, 등록상표))로 지칭됨)는 하기 화학식의 구조를 갖는다.



[0006]

[0007]

탁솔과 도세탁셀은 유용한 화학치료제이긴 하지만, 특정 유형의 암에 대해서만 제한된 효능을 나타내며 다양한 용량으로 투여시 대상체에게 독성을 나타내는 것을 비롯하여, 그 효과에 있어서 한계점을 갖는다. 따라서, 효능이 개선되고 독성이 감소된 또다른 화학치료제가 여전히 요구되고 있다.

[0008]

<발명의 요약>

[0009]

따라서, 본 발명의 다양한 측면 중에서, 독성 및 항종양제로서의 효능 측면에서 탁솔 및 도세탁셀과 필적하는 탁산이 제공된다. 일반적으로, 이러한 탁산은 C10에 시클로펜틸 에스테르 치환체, C9에 케토 치환체, C7에 히드록시 치환체, C3'에 티에닐 치환체, 및 C3'에 이소프로폭시카르바메이트 치환체를 갖는다.

[0010]

따라서, 요약하면, 본 발명은 탁산 그 자체, 그의 전구약물, 탁산 또는 전구약물 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 조성물, 치료 및 투여 방법, 및 탁산 또는 전구약물을 포함하는 의약의 제조 방법에 관한 것이다.

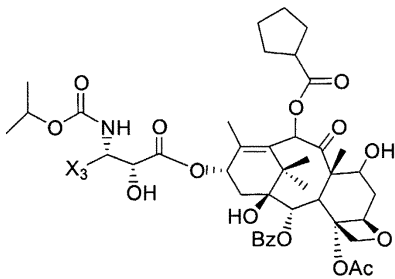
[0011]

본 발명의 다른 목적 및 특징 중, 일부는 자명하며 일부는 이하에 지적될 것이다.

발명의 상세한 설명

[0019]

본 발명의 탁산은 하기 화학 구조를 갖는다.



[0020]

[0021]

식 중, X₃은 티에닐이고, Ac는 아세틸이고, C7 히드록시 치환체 및 C10 시클로펜틸카르보닐옥시 치환체는 독립적으로 알파 또는 베타 입체화학적 배열을 갖는다. 한 실시양태에서, X₃은 2-티에닐이다. 바람직한 실시양태에서, X₃은 2-티에닐이고, C7 히드록시 치환체 및 C10 시클로펜틸카르보닐옥시 치환체는 모두 베타 입체화학적 배열을 갖는다.

[0022]

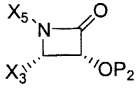
본 발명의 화합물은, 파클리탁셀 (탁솔)에 대해 민감성이면서 내성인 종양주를 비롯한 특정 유형의 종양에 대해 통상적으로 사용되는 탁산보다 우수한 방식으로 암에 대해 활성을 나타내는 화합물이다. 본 발명의 화합물은 경구 투여되든지 또는 정맥내 투여되든지에 관계 없이 용인성이 상당히 양호하며, 독성 프로파일의 개선된 단일 또는 다중 용량으로서 효과적일 수 있다. 또한, 본 발명의 화합물은 크레모포르가 아닌 비히클 중에서도 효능이 있다.

[0023]

본 발명의 탁산은 β-락탐을, 탁산 테트라시클릭 핵과 C13 금속 옥시드 치환체를 갖는 알콕시드로 처리하여,

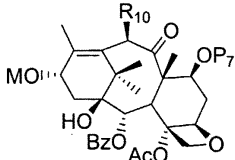
C13에 β-아미도 에스테르 치환체를 갖는 화합물 (홀튼 (Holton)의 미국 특허 제5,466,834호에 보다 완전하게 기재되어 있음)을 형성한 후, 히드록시 보호기를 제거함으로써 얻어질 수 있다. 상기 β-락탐은 하기 화학식 1의 구조를 갖고, 알콕시드는 하기 화학식 2의 구조를 갖는다.

화학식 1



[0024]

화학식 2



[0025]

식 중, P₂는 히드록시 보호기이고, X₃은 티에닐이고, X₅는 이소프로폭시카르보닐이고;

[0026]

M은 금속 또는 암모늄이고, P₇은 히드록시 보호기이고, R₁₀은 시클로펜틸카르보닐옥시이다.

[0027]

화학식 2의 알콕시드는, 10-데아세틸박카틴 III (또는 그의 유도체)에서 C7 히드록실기를 선택적으로 보호한 후에 C10 히드록실기를 에스테르화시킨 다음, 금속 아미드로 처리함으로써 제조될 수 있다. 본 발명의 한 실시양태에서, 10-데아세틸박카틴 III의 C7 히드록실기는 예를 들어, 문헌 [Denis, et al., J. Am. Chem. Soc., 1988, 110, 5917]에 기재된 바와 같이 실릴기로 선택적으로 보호한다. 일반적으로, 실릴화제는 단독으로 또는 촉매량의 염기, 예를 들어 알칼리 금속 염기와 함께 사용될 수 있다.

[0028]

별법으로, 탁산의 C10 히드록실기는 예를 들어, 홀튼 등의 PCT 특허 출원 WO 99/09021에 기재된 바와 같이 염기의 부재 하에 선택적으로 아실화시킬 수 있다. 탁산의 C10 히드록실기의 선택적 아실화에 사용될 수 있는 아실화제로는 치환 또는 비치환된 알킬 또는 아릴 무수물이 포함된다. 탁산의 C10 히드록시기의 아실화는 수많은 아실화제에 대해 적당한 속도로 진행될 것이지만, 반응 혼합물에 루이스산을 도입함으로써 반응 속도가 증가될 수 있음이 밝혀진 바 있다. 바람직한 루이스산으로는 염화아연, 염화주석, 삼염화세륨, 염화구리(I), 삼염화란타넘, 삼염화디스프로슘 및 삼염화이테르븀이 포함된다. 아실화제가 무수물인 경우에는 염화아연 또는 삼염화세륨이 특히 바람직하다.

[0029]

일반적으로, β-락탐 출발 물질의 제조 및 분리 방법은 당업계에 잘 알려져 있다. 예를 들어, 홀튼의 미국 특허 제5,430,160호 (제9 컬럼 제2행 내지 제50행) 또는 홀튼의 미국 특허 제6,649,632호 (제7 컬럼 제45행 내지 제8컬럼 제60행)에 기재된 바와 같이 β-락탐이 제조될 수 있으며, 이로써 이들 문헌은 모두 이 거명을 통해 그 전문이 본원에 포함된다. 생성된 β-락탐의 거울이성질체 혼합물은 예를 들어, 파텔 (Patel)의 미국 특허 제 5,879,929호 (제16컬럼 제1행 내지 제18컬럼 제27행) 또는 파텔의 미국 특허 제5,567,614호에 기재된 리과제 또는 효소를 이용하거나, 또는 예를 들어, 홀튼의 미국 특허 제6,548,293호 (제3컬럼 제30행 내지 제61행)에 기재된 간 균질액을 이용한 입체선택적 가수분해에 의해 분리될 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 제6,649,632호에는 C4 위치에 푸릴 치환체를 갖는 β-락탐의 제법이 개시되어 있다. 당업자에게 자명한 변형법을 이용하여, 상기 종래 특허에 예시된 바와 같이, 그리고 실시예 1에 추가로 개시된 바와 같이 C4 위치에 티에닐 치환체를 갖는 β-락탐이 제조될 수 있다.

[0030]

본 발명의 화합물은 전구약물의 형태로 제공될 수 있다. 일반적으로, 제약상 허용되는 유도체 또는 전구약물은, 수용자에게 투여시 본 발명의 화합물 또는 그의 억제 활성 대사물질 또는 잔기를 직접적으로 또는 간접적으로 제공할 수 있는 본 발명의 화합물의 제약상 허용되는 임의의 염, 에스테르, 에스테르의 염, 또는 여타 유도체이다. 특히 바람직한 유도체 또는 전구약물은, 환자에게 투여시 (예를 들어, 경구 투여된 화합물이 혈액으로 보다 용이하게 흡수되도록 함으로써) 본 발명의 화합물의 생체이용율을 증가시키는 것들, 또는 모 종 (parent species)에 비해 생물학적 구획 (예를 들어, 뇌 또는 림프계)으로의 모 (parent) 화합물 전달을 증진시키는 것들이다. 제약상 허용되는 전구약물로는 하기 기들 중 1종 이상으로 유도체화된 본 발명의 탁산이 포함되나, 이에 제한되지는 않는다: 포스페이트, 피발로일옥시메틸, 아세톡시메틸, 프탈리딜, 인다닐, 메톡시메틸, 메틸피리디늄 메실레이트, 비카르보네이트, 오늄 염, 포스포노옥시메틸 카르보네이트, 신나메이트, 아미노산,

[0031]

벤조일, 아실, 티오아릴, 폴리에틸렌 글리콜계 에스테르-결합 폴리알킬렌 옥시드, 텍스트란, 폴리비닐 알콜, 탄화수소계 중합체, 올리고펩티드, 폴리글루탐산, 폴리아미노산, 2-할로겐화 아자-아렌의 오늄 염, 고극성 아미노당 등. 본 발명의 탁산 분자에서 전구약물을 형성하기에 적합한 위치로는 C2' 및 C7 위치가 포함되나, 이에 제한되지는 않는다. 다양한 형태의 전구약물이 당업계에 잘 알려져 있다. 이러한 전구약물 유도체의 예에 관해서는 (a) 문헌 [Design of Prodrugs, edited by H. Bundgaard, (Elsevier, 1985)] 및 [Methods in Enzymology, Vol. 42, p. 309-396, edited by K. Widder, et al. (Academic Press, 1985)]; (b) 문헌 [A Textbook of Drug Design and Development, edited by Krosgaard-Larsen and H. Bundgaard, Chapter 5, "Design and Application of Prodrugs," by H. Bundgaard, p. 113-191 (1991)]; (c) 문헌 [H. Bundgaard, Advanced Drug Delivery Reviews, 8, 1-38 (1992)]; (d) 문헌 [H. Bundgaard, et al., Journal of Pharmaceutical Sciences, 77, 285 (1988)]; 및 (e) 문헌 [N. Kakeya, et al., Chem Phar Bull, 32, 692 (1984)]를 참조한다.

[0032] 본 발명의 탁산은 인간을 비롯한 포유동물에서 종양의 증식을 억제하는 데 유용하며, 항-종양 유효량의 본 발명의 화합물을 제약상 또는 약리학상 허용되는 1종 이상의 담체와 함께 포함하는 제약 조성물의 형태로 투여되는 것이 바람직하다. 당업계에 부형제, 비히클, 보조제, 아주반트 (adjuvant) 또는 희석제로도 알려져 있는 담체란 제약상 불활성이며, 적합한 경도와 형태를 조성물에게 부여하나, 항-종양 화합물의 치료적 효능은 감소시키지 않는 임의의 물질이다. 담체는, 필요에 따라 포유동물 또는 인간에게 투여시 역반응, 알레르기성 반응 또는 여타 부적절한 반응을 유발하지 않는 경우에 "제약상 또는 약리학상 허용"된다.

[0033] 본 발명의 항-종양 화합물을 함유하는 제약 조성물은 임의의 통상적인 방식으로 제형화될 수 있다. 선택된 투여 경로에 따라 그에 적합한 제형이 결정된다. 본 발명의 조성물은 임의의 투여 경로를 위해 제형화될 수 있으나, 단 그 경로를 통해 표적 조직으로의 투여가 가능해야 한다. 적합한 투여 경로로는 경구, 비경구 (예를 들어, 정맥내, 동맥내, 피하, 직장내, 근육내, 안와내, 관절낭내, 척수내, 복강내 또는 흉골내), 국소 (비내, 경피 또는 안내), 방광내, 경막내, 소화관내, 폐내, 림프관내, 강내 (intracavitary), 질내, 경요도, 피부내, 귀, 유방내, 구강내, 동소 (orthotopic), 기관내, 병변내, 경피, 내시경, 경점막, 설하 및 장내 투여가 포함되나, 이에 제한되지는 않는다.

[0034] 본 발명의 조성물에서 사용하기 위한 제약상 허용되는 담체는 당업자에게 잘 알려져 있으며, 각종 인자, 즉 사용되는 특정 항-종양 화합물, 및 그의 농도, 안정성 및 의도된 생체이용율; 조성물로 치료할 질환, 장애 또는 증상; 대상체, 그의 연령, 체중 및 전신 상태; 및 투여 경로에 따라 선택된다. 적합한 담체는 당업자에 의해 쉽게 결정된다 (예를 들어, 문헌 [J. G. Nairn, in: Remington's Pharmaceutical Science (A. Gennaro, ed.), Mack Publishing Co., Easton, Pa., (1985), pp. 1492-1517] 참조 (이 문헌의 내용은 이 거명을 통해 본원에 포함됨)).

[0035] 상기 조성물은 정제, 분산성 분말, 환약, 캡슐, 겔캡, 캐플릿, 겔, 리포솜, 과립, 용액, 현탁액, 에멀션, 시럽, 엘릭시르, 트로키, 당의정, 로젠지, 또는 경구투여될 수 있는 여타 임의의 경구 투여형으로서 제형화되는 것이 바람직하다. 본 발명에 유용한 경구 투여형을 제조하기 위한 기술 및 조성물은 문헌 [7 Modern Pharmaceutics, Chapters 9 and 10 (Banker & Rhodes, Editors, 1979)]; [Lieberman et al., Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets (1981)]; 및 [Ansel, Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms 2nd Edition (1976)]에 기재되어 있다.

[0036] 본 발명의 경구 투여용 조성물은 제약상 허용되는 담체 중에 항-종양 유효량의 본 발명의 화합물을 포함한다. 고상 투여형에 적합한 담체로는 당, 전분 및 여타 통상적인 물질 (락토스, 탈크, 수크로스, 젤라틴, 카르복시메틸셀룰로스, 한천, 만니톨, 소르비톨, 인산칼슘, 탄산칼슘, 탄산나트륨, 카올린, 알긴산, 아카시아, 옥수수 전분, 감자 전분, 나트륨 사카린, 탄산마그네슘, 트라가칸트, 미정질 셀룰로스, 콜로이드상 이산화규소, 크로스카르멜로스 나트륨, 마그네슘 스테아레이트 및 스테아르산 포함)이 포함된다. 또한, 이러한 고상 투여형은 코팅되지 않거나, 또는 예를 들어, 붕해 및 흡수를 지연시키는 공지된 기술에 의해 코팅될 수 있다.

[0037] 또한, 본 발명의 항-종양 화합물은 바람직하게는 비경구 투여용으로, 예를 들어 정맥내, 동맥내, 피하, 직장내, 근육내, 안와내, 관절낭내, 척수내, 복강내 또는 흉골내 경로를 통한 주사용으로 제형화될 수 있다. 본 발명의 비경구 투여용 조성물은 제약상 허용되는 담체 중에 항-종양 유효량의 본 발명의 화합물을 포함한다. 비경구 투여에 적합한 투여형으로는 용액, 현탁액, 분산액, 에멀션, 또는 비경구 투여될 수 있는 여타 임의의 투여형이 포함된다. 비경구 투여형을 제조하기 위한 기술 및 그 조성물은 당업계에 공지되어 있다.

[0038] 경구 또는 비경구 투여용 액상 투여형을 제형화하는 데 사용되는 적합한 담체로는 제약상 허용되는 비-수성 극

성 용매, 예를 들어 오일, 알콜, 아미드, 에스테르, 에테르, 케톤, 탄화수소 및 이들의 혼합물 뿐만 아니라, 물, 염수 용액, 텍스트로스 용액 (예를 들어, DW5), 전해질 용액, 또는 제약상 허용되는 여타 임의의 수성 액체가 포함된다.

[0039]

비-수성 극성의 제약상 허용되는 적합한 용매로는 알콜 (예를 들어, α -글리세롤 포르말, β -글리세롤 포르말, 1,3-부틸렌글리콜, 2 내지 30개의 탄소 원자를 갖는 지방족 또는 방향족 알콜 (예를 들어, 메탄올, 에탄올, 프로판올, 이소프로판올, 부탄올, t-부탄올, 헥산올, 옥탄올, 아밀렌 히드레이트, 벤질 알콜, 글리세린 (글리세롤), 글리콜, 헥실렌 글리콜, 테트라히드로푸르푸릴 알콜, 라우릴 알콜, 세틸 알콜 또는 스테아릴 알콜), 지방 알콜의 지방산 에스테르 (예를 들어, 폴리알킬렌 글리콜 (예를 들어, 폴리프로필렌 글리콜 및 폴리에틸렌 글리콜)), 소르비탄, 수크로스 및 콜레스테롤); 아미드 (예를 들어, 디메틸아세트아미드 (DMA), 벤질 벤조에이트 DMA, 디메틸포름아미드, N-(β -히드록시에틸)-락타미드, N,N-디메틸아세트아미드, 2-피롤리디논, 1-메틸-2-피롤리디논 또는 폴리비닐피롤리돈); 에스테르 (예를 들어, 1-메틸-2-피롤리디논, 2-피롤리디논, 아세트산 에스테르 (예를 들어, 모노아세틴, 디아세틴 및 트리아세틴), 지방족 또는 방향족 에스테르 (예를 들어, 에틸 카프릴레이트 또는 옥타노에이트), 알킬 올레에이트, 벤질 벤조에이트, 벤질 아세테이트, 디메틸술폰시드 (DMSO), 글리세린의 에스테르 (예를 들어, 모노-, 디- 또는 트리-글리세릴 시트레이트 또는 타르트레이트), 에틸 벤조에이트, 에틸 아세테이트, 에틸 카르보네이트, 에틸 락테이트, 에틸 올레에이트, 소르비탄의 지방산 에스테르, 지방산-유도 PEG 에스테르, 글리세릴 모노스테아레이트, 글리세리드 에스테르 (예를 들어, 모노-, 디- 또는 트리-글리세리드), 지방산 에스테르 (예를 들어, 이소프로필 미리스테이트), 지방산-유도 PEG 에스테르 (예를 들어, PEG-히드록시올레에이트 및 PEG-히드록시스테아레이트), N-메틸 피롤리디논, 플루로닉 (pluronic) 60, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 올레산 폴리에스테르 (예를 들어, 폴리(에톡실화)₃₀₋₆₀ 소르비톨 폴리(올레에이트))₂₋₄, 폴리(옥시에틸렌)₁₅₋₂₀ 모노올레에이트, 폴리(옥시에틸렌)₁₅₋₂₀ 모노 12-히드록시스테아레이트 및 폴리(옥시에틸렌)₁₅₋₂₀ 모노리시놀레에이트), 폴리옥시에틸렌-소르비탄 에스테르 (예를 들어, 폴리옥시에틸렌-소르비탄 모노올레에이트, 폴리옥시에틸렌-소르비탄 모노팔미테이트, 폴리옥시에틸렌-소르비탄 모노라우레이트, 폴리옥시에틸렌-소르비탄 모노스테아레이트 및 폴리소르베이트 (Polysorbate, 등록상표) 20, 40, 60 또는 80 (미국 델라웨어주 윌밍톤에 소재한 ICI 아메리카스 (Americas)), 폴리비닐피롤리돈, 알킬렌옥시-개질 지방산 에스테르 (예를 들어, 폴리옥실 40 수소화 피마자유 및 폴리옥시에틸화 피마자유 (예를 들어, 크레모포르 (등록상표) EL 용액 또는 크레모포르 (등록상표) RH 40 용액), 당 지방산 에스테르 [즉, 단당 (예를 들어, 5탄당 (예를 들어, 리보스, 리블로스, 아라비노스, 크실로스, 릭소스 및 크실로로스), 6탄당 (예를 들어, 글루코스, 프룩토스, 갈락토스, 만노스 및 소르보스), 3탄당, 4탄당, 7탄당 및 8탄당), 이당 (예를 들어, 수크로스, 말토스, 락토스 및 트레할로스) 또는 올리고당 또는 이들의 혼합물과 C₄-C₂₂ 지방산 (예를 들어, 포화 지방산 (예를 들어, 카프릴산, 카프르산, 라우르산, 미리스탄, 팔미트산 및 스테아르산) 및 불포화 지방산 (예를 들어, 팔미톨레산, 올레산, 엘라이드산, 에루크산 및 리놀레산))의 축합 생성물] 또는 스테로이드성 에스테르); 2 내지 30개의 탄소 원자를 갖는 알킬, 아릴 또는 시클릭 에테르 (예를 들어, 디에틸 에테르, 테트라히드로푸란, 디메틸 이소소르비드 및 디에틸렌 글리콜 모노에틸 에테르); 글리코푸롤 (테트라히드로푸르푸릴 알콜 폴리에틸렌 글리콜 에테르); 3 내지 30개의 탄소 원자를 갖는 케톤 (예를 들어, 아세톤, 메틸 에틸 케톤 및 메틸 이소부틸 케톤); 4 내지 30개의 탄소 원자를 갖는 지방족, 지환족 또는 방향족 탄화수소 (예를 들어, 벤젠, 시클로헥산, 디클로로메탄, 디옥솔란, 헥산, n-데칸, n-도데칸, n-헥산, 술폴란, 테트라메틸렌술폰, 테트라메틸렌술폰시드, 툴루엔 또는 디메틸술폰시드 (DMSO)); 미네랄 오일, 식물성 오일, 동물성 오일, 정유 (essential oil) 또는 합성 오일 [예를 들어, 미네랄 오일 (예를 들어, 지방족 또는 왁스계 탄화수소, 방향족 탄화수소, 혼성 지방족 및 방향족계 탄화수소 및 정제된 파라핀 오일), 식물성 오일 (예를 들어, 아마유, 동유 (tung oil), 홍화유, 대두유, 피마자유, 면실유, 땅콩유 (groundnut oil), 평지씨 오일 (rapeseed oil), 코코넛 오일, 팜유, 올리브 오일, 옥수수유, 옥수수눈유, 참기름, 복숭아씨유, 땅콩유 및 글리세리드 (예를 들어, 모노-, 디- 또는 트리-글리세리드)), 동물성 오일 (예를 들어, 생선유, 해산물 오일, 경유 (sperm oil), 간유, 할리버 오일 (haliver oil), 스쿠알렌 오일, 스쿠알란 오일 및 상어간 오일), 올레산 오일, 및 폴리옥시에틸화 피마자유]; 1 내지 30개의 탄소 원자 및 임의로 2개 이상의 할로젠 치환제를 갖는 알킬 또는 아릴 할라이드; 염화메틸렌; 모노에탄올아민; 석유 벤진; 트롤아민; 오메가-3 다불포화 지방산 (예를 들어, 알파-리놀렌산, 에이코사펜탄산, 도코사펜탄산 또는 도코사헥산산); 12-히드록시스테아르산과 폴리에틸렌 글리콜의 폴리글리콜 에스테르 (독일 루트빅샤켄에 소재한 바스프 (BASF)의 솔루톨 (Solutol, 등록상표) HS-15); 폴리옥시에틸렌 글리세롤; 나트륨 라우레이트; 나트륨 올레에이트; 또는 소르비탄 모노올레에이트가 포함되나, 이에 제한되지는 않는다.

[0040]

본 발명에서 사용하기 위한 제약상 허용되는 여타 용매는 당업자에게 잘 알려져 있으며, 문헌 [The

Chemotherapy Source Book (Williams & Wilkens Publishing)], [The Handbook of Pharmaceutical Excipients (American Pharmaceutical Association, Washington, D.C., and The Pharmaceutical Society of Great Britain, London, England, 1968)], [Modern Pharmaceutics (G. Banker et al., eds., 3d ed.) (Marcel Dekker, Inc., New York, New York, 1995)], [The Pharmacological Basis of Therapeutics (Goodman & Gilman, McGraw Hill Publishing)], [Pharmaceutical Dosage Forms (H. Lieberman et al., eds.,) (Marcel Dekker, Inc., New York, New York, 1980)], [Remington's Pharmaceutical Sciences (A. Gennaro, ed., 19th ed.) (Mack Publishing, Easton, PA, 1995)], [The United States Pharmacopeia 24, The National Formulary 19 (National Publishing, Philadelphia, PA, 2000)], [A.J. Spiegel et al., Use of Nonaqueous Solvents in Parenteral Products, Journal of Pharmaceutical Sciences, Vol. 52, No. 10, pp. 917-927 (1963)]에 개시되어 있다.

[0041] 바람직한 용매로는 트리글리세리드가 풍부한 오일 (예를 들어, 홍화유, 대두유 또는 이들의 혼합물) 및 알킬렌 옥시-개질 지방산 에스테르 [예를 들어, 폴리옥실 40 수소화 피마자유 및 폴리옥시에틸화 피마자유 (예를 들어, 크레모포르 (등록상표) EL 용액 또는 크레모포르 (등록상표) RH 40 용액)]와 같은 항-중양 화합물을 안정화시키는 것으로 알려져 있는 용매들이 포함된다. 시판 트리글리세리드-풍부 오일로는 인트라리피드 (등록상표) 유화 대두유 (스웨덴 스톡홀름에 소재한 카비-파마시아 인크레이티드 (Kabi-Pharmacia Inc.)), 뉴트라리피드 (Nutralipid, 등록상표) 에멀션 (미국 캘리포니아주 어바인에 소재한 맥고우 (McGaw)), 리포신 (Liposyn, 등록상표) II 20% 에멀션 (용액 1 mL 당 홍화유 100 mg, 대두유 100 mg, 계란 인지질 12 mg 및 글리세린 25 mg을 함유하는 20% 지방 에멀션 용액; 미국 일리노이주 시카고에 소재한 애보트 래보라토리즈 (Abbott Laboratories)), 리포신 (등록상표) III 20% 에멀션 (용액 1 mL 당 홍화유 100 mg, 대두유 100mg, 계란 인지질 12 mg 및 글리세린 25 mg을 함유하는 20% 지방 에멀션 용액; 미국 일리노이주 시카고에 소재한 애보트 래보라토리즈), 총 지방산 함량을 기준으로 도코사헥사노일기를 25 내지 100 중량%의 양으로 함유하는 천연 또는 합성 글리세롤 유도체 [미국 메릴랜드주 콜럼비아에 소재하는 마텍 바이오사이언시스 코포레이션 (Martek Biosciences Corp.)의 다스코 (Dhasco, 등록상표)], 미국 캘리포니아주 로스 엔젤레스에 소재한 다이토 엔터프라이즈 (Daito Enterprises)의 DHA 마구로 (DHA Maguro, 등록상표), 소이아칼 (Soyacal, 등록상표) 및 트라베멀션 (Travemulsion, 등록상표)]가 포함된다. 에탄올은 항-중양 화합물을 용해시켜 용액, 에멀션 등을 형성하기에 바람직한 용매이다.

[0042] 본 발명의 조성물은 제약 산업에서 잘 알려져 있는 다양한 목적을 위해 추가적인 부성분을 포함할 수 있다. 대개, 이러한 성분은 투여 부위에서의 항-중양 화합물의 보유성을 증진시키고, 조성물의 안정성을 보호하고, pH를 제어하고, 항-중양 화합물로부터 제약 제제로의 가공을 용이하는 등의 특성을 부여할 것이다. 이러한 성분은 각각 독립적으로, 바람직하게는 총 조성물의 약 15 중량% 미만, 보다 바람직하게는 약 5 중량% 미만, 가장 바람직하게는 약 0.5 중량% 미만으로 존재한다. 충전제 또는 희석제와 같은 일부 성분은, 제형화 분야에 잘 알려져 있는 바와 같이 총 조성물의 90 중량%까지 포함될 수 있다. 이러한 첨가제로는 탁산의 재침전을 방지하기 위한 동결보존제 (cryoprotective agent), 표면활성제, 습윤제 또는 유화제 (예를 들어, 레시틴, 폴리소르베이트-80, 플루로닉 60, 폴리옥시에틸렌 스테아레이트 및 폴리에톡실화 피마자유), 보존제 (예를 들어, 에틸-p-히드록시벤조에이트), 미생물 보존제 (예를 들어, 벤질 알콜, 페놀, m-크레졸, 클로로부탄올, 소르브산, 티메로살 (thimerosal) 및 파라벤), pH 조정제 또는 완충제 (예를 들어, 산, 염기, 나트륨 아세테이트, 소르비탄 모노라우레이트), 삼투압 조정제 (예를 들어, 글리세린), 증점제 (예를 들어, 알루미늄 모노스테아레이트, 스테아르산, 세틸 알콜, 스테아릴 알콜, 구아 검, 메틸 셀룰로스, 히드록시프로필셀룰로스, 트리스테아린, 세틸 왁스 에스테르, 폴리에틸렌 글리콜), 착색제, 염료, 유동 보조제, 비-휘발성 실리콘 (예를 들어, 시클로메티콘), 점토 (예를 들어, 벤토나이트), 접착제, 벌크화제, 착향제, 감미제, 흡수제, 충전제 (예를 들어, 당 (예를 들어, 락토스, 수크로스, 만니톨 또는 소르비톨), 셀룰로스 또는 인산칼슘), 희석제 (예를 들어, 물, 염수 및 전해질 용액), 결합제 (예를 들어, 전분 (예를 들어, 옥수수 전분, 밀 전분, 쌀 전분 또는 감자 전분), 젤라틴, 트라가칸트 검, 메틸 셀룰로스, 히드록시프로필 메틸셀룰로스, 나트륨 카르복시메틸 셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈, 당, 중합체 및 아카시아), 봉해제 (예를 들어, 전분 (예를 들어, 옥수수 전분, 밀 전분, 쌀 전분, 감자 전분 또는 카르복시메틸 전분), 가교된 폴리비닐 피롤리돈, 한천, 알긴산 또는 그의 염 (예를 들어, 나트륨 알기네이트), 크로스카르멜로스 나트륨 또는 크로스포비돈), 윤활제 (예를 들어, 실리카, 탈크, 스테아르산 또는 그의 염 (예를 들어, 마그네슘 스테아레이트), 또는 폴리에틸렌 글리콜), 코팅제 (예를 들어, 아라비아 고무를 포함하는 당 농축액, 탈크, 폴리비닐 피롤리돈, 카르보폴 겔, 폴리에틸렌 글리콜 또는 이산화티타늄) 및 산화방지제 (예를 들어, 메타-중아황산나트륨, 중아황산나트륨, 아황산나트륨, 텍스트로스, 페놀 및 티오펜)가 포함된다.

[0043] 상기 경로에 의한 투여형은 예를 들어, 환자의 생리적 조건, 투여 목적 (치료 또는 예방), 및 당업자에게 알려

져 있으며 이들에 의해 평가될 수 있는 여타 인자에 따라, 연속적이거나 단속적으로 투여될 수 있다.

[0044] 본 발명의 제약 조성물의 투여를 위한 투여량 및 요법은 암 치료와 관련한 통상의 기술을 가진 자에 의해 쉽게 결정될 수 있다. 항-중양 화합물의 투여량은 수용자의 연령, 성별, 건강 및 체중, 수반되는 치료 유형 (존재하는 경우), 치료 빈도 및 원하는 효과의 성질에 따라 결정될 것으로 이해된다. 또한, 모든 투여 방식에 있어서, 항-중양 화합물의 실제 전달량, 및 본원에 기재된 바와 같은 유리한 효과를 달성하는 데 필요한 투여 일정은 부분적으로는 항-중양 화합물의 생체이용률, 치료할 장애, 바람직한 치료제 용량, 및 당업자에게 명백할 여타 인자에 따라 결정될 것이다. 본 발명에서, 동물, 특히 인간에게 투여되는 용량은 적당한 기간에 걸쳐 동물에서 원하는 치료적 반응이 나타나기에 충분해야 한다. 항-중양 화합물의 유효량은 경구 투여되든지 또는 다른 경로로 투여되든지 무관하게, 그 경로로 투여되었을 때 원하는 치료적 반응을 초래할 수 있는 임의의 양인 것이 바람직하다. 바람직하게는, 경구 투여용 조성물은, 1종 이상의 경구용 제제의 단일 용량이 환자의 신체 표면적 1 m^2 당 20 mg 이상, 또는 50, 100, 150, 200, 300, 400 또는 500 mg 이상의 항-중양 화합물을 함유하도록 제조되며, 이때 인간의 평균 신체 표면적은 1.8 m^2 이다. 경구 투여용 조성물의 단일 용량은 환자의 신체 표면적 1 m^2 당 바람직하게는 약 20 내지 약 600 mg, 보다 바람직하게는 약 25 내지 약 400 mg, 보다 더 바람직하게는 약 40 내지 약 300 mg, 보다 더 바람직하게는 약 50 내지 약 200 mg의 항-중양 화합물을 함유한다. 바람직하게는, 비경구 투여용 조성물은 단일 용량이 환자의 신체 표면적 1 m^2 당 20 mg 이상, 또는 40, 50, 100, 150, 200, 300, 400 또는 500 mg 이상의 항-중양 화합물을 함유하도록 제조된다. 1종 이상의 비경구용 제제의 단일 용량은 환자의 신체 표면적 1 m^2 당 바람직하게는 약 20 내지 약 500 mg, 보다 바람직하게는 약 40 내지 약 400 mg, 보다 더 바람직하게는 약 60 내지 약 350 mg의 항-중양 화합물을 함유한다. 그러나, 원하는 치료 효과를 얻기 위해 필요에 따라 조정될 수 있는 투여 일정에 따라 투여량이 달라질 수 있다. 본원에 제공된 효과적인 용량의 범위는 본 발명을 제한하려는 것은 아니고, 바람직한 용량 범위를 나타내기 위한 것임을 주목해야 한다. 가장 바람직한 투여량은 당업자가 과도한 실험 없이 이해하여 결정할 수 있듯이, 개별 대상체에 맞게 결정될 것이다.

[0045] 액상 제약 조성물 중 항-중양 화합물의 농도는 조성물 1 ml 당 바람직하게는 약 0.01 내지 약 10 mg, 보다 바람직하게는 약 0.1 내지 약 7 mg, 보다 더 바람직하게는 약 0.5 내지 약 5 mg, 가장 바람직하게는 약 1.5 내지 약 4 mg이다. 한 실시양태에서, 상기 제형 중 9091의 농도는 2 내지 4 mg/mL이다. 일반적으로, 항-중양 화합물은 저농도에서 용액에 대한 용해도가 가장 크기 때문에, 비교적 낮은 농도가 바람직하다. 경구 투여용 고상 제약 조성물 중 항-중양 화합물의 농도는 조성물의 총 중량을 기준으로 바람직하게는 약 5 내지 약 50 중량%, 보다 바람직하게는 약 8 내지 약 40 중량%, 가장 바람직하게는 약 10 내지 약 30 중량%이다.

[0046] 한 실시양태에서, 경구 투여용 용액은 항-중양 화합물을 용해시킬 수 있는 제약상 허용되는 임의의 용매 (예를 들어, 에탄올 또는 폴리에틸렌 글리콜)에 상기 화합물을 용해시켜 용액을 형성함으로써 제조된다. 이 용액에 계면활성제인 적절한 부피의 담체, 예를 들어 크레모포르 (등록상표) EL 용액, 폴리소르베이트 80, 솔루톨 HS15 또는 비타민 E TPGS를 첨가하면서 교반하여, 환자에게 경구 투여하기 위한 제약상 허용되는 용액을 형성한다. 예를 들어, 생성된 조성물은 에탄올을 약 10%까지 함유하고(하거나) 계면활성제를 약 10%까지 함유할 수 있고, 보다 통상적으로, 상기 농도 구성은 약 5 내지 10 부피%의 에탄올, 에탄올과 동일한 부피의 계면활성제 및 80 내지 90 부피% 범위의 증류수일 것이다. 풍미 목적으로, 희석된 체리 또는 라즈베리 시럽, 바람직하게는 약 10 내지 30% 시럽으로 소정 분율의 증류수가 대체 (나머지는 물임)될 수 있다. 한 실시양태에서, 상기 제형 중 9091의 농도는 2 내지 4 mg/mL이다. 원하는 경우, 이러한 용액은, 경구용 제형 중의 특정 농도로 투여시 생리학적 역효과를 유발하는 것으로 당업계에 공지된 에탄올을 최소량으로 함유하거나 전혀 함유하지 않도록 제형화할 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 상기 용액은 에탄올을 약 5%로, 계면활성제 (폴리소르베이트 80 (예를 들어, 트윈 80 (등록상표)), 폴리옥실화 피마자유 (예를 들어, 크레모포르 (등록상표)) 및 이들의 혼합물로부터 선택됨)를 약 5%로 및 증류수를 약 90%로 포함한다.

[0047] 또다른 실시양태에서, 경구 투여용 분말 또는 정제는 항-중양 화합물을 용해시킬 수 있는 제약상 허용되는 임의의 용매 (예를 들어, 에탄올 또는 폴리에틸렌 글리콜)에 상기 화합물을 용해시켜 용액을 형성함으로써 제조된다. 용액이 진공 하에 건조되는 경우에 용매를 임의로 증발시킬 수 있다. 크레모포르 (등록상표) EL 용액과 같은 추가의 담체가 건조 전에 첨가될 수 있다. 생성된 용액을 진공 하에 건조시켜 유리질 물질을 형성한다. 이후, 유리질 물질을 결합제와 혼합하여 분말을 형성한다. 이 분말을 충전제 또는 여타 통상적인 정제화와 혼합하고 가공하여, 환자에게 경구 투여하기 위한 정제를 형성할 수 있다. 또한, 분말을 상기 기재된 바와 같은 임의의 액상 담체에 첨가하여 경구 투여용의 용액, 에멀션 또는 현탁액 등을 형성할 수 있다.

- [0048] 비경구 투여용 에멀션은 항-중양 화합물을 용해시킬 수 있는 제약상 허용되는 임의의 용매 (예를 들어, 에탄올 또는 폴리에틸렌 글리콜)에 상기 화합물을 용해시켜 용액을 형성함으로써 제조될 수 있다. 이 용액에 지방 에멀션인 적절한 부피의 담체, 예를 들어, 리포신 (등록상표) II 또는 리포신 (등록상표) III 또는 인트라리피드 (등록상표) 에멀션을 첨가하면서 교반하여, 환자에게 비경구 투여하기 위한 제약상 허용되는 에멀션을 형성한다. 예를 들어, 생성된 조성물은 에탄올을 약 10%까지 함유하고(하거나) 담체 (지방 에멀션)를 약 90% 초과로 함유할 수 있고, 보다 통상적으로, 상기 농도 구성은 약 5 내지 10 부피%의 에탄올 및 약 90 내지 95 부피%의 담체 (지방 에멀션)일 것이다. 한 실시양태에서, 상기 투여 용액 중 9091의 농도는 약 1 내지 2 mg/mL이다. 통상적으로, 지방 에멀션은 지방을 약 10 내지 약 20%, 바람직하게는 약 20%로 함유한다. 원하는 경우, 이러한 에멀션은, 비경구용 제형 중의 특정 농도로 투여시 생리학적 역효과를 유발하는 것으로 당업계에 공지된 에탄올 또는 크레모포르 (등록상표) 용액을 최소량으로 함유하거나 전혀 함유하지 않도록 제형화할 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 상기 에멀션은 에탄올을 약 5%로 및 지방 에멀션 (예를 들어, 인트라리피드 20%, 리포신 II 20% 또는 이들의 혼합물)을 약 95%로 포함한다. 상기 바람직한 실시양태에서, 생성된 조성물에는, 생리학적 역효과를 유발하는 것으로 당업계에 공지된 작용제 [예를 들어, 폴리에톡실화 피마자유 (예를 들어, 크레모포르 (등록상표)) 및 폴리소르베이트 80 (예를 들어, 트윈 80 (등록상표))]가 없다.
- [0049] 비경구 투여용 용액은 항-중양 화합물을 용해시킬 수 있는 제약상 허용되는 임의의 용매 (예를 들어, 에탄올 또는 폴리에틸렌 글리콜)에 상기 화합물을 용해시켜 용액을 형성함으로써 제조될 수 있다. 이 용액에 계면활성제인 적절한 부피의 담체, 예를 들어 크레모포르 (등록상표) 용액, 폴리소르베이트 80 또는 솔루톨 HS15를 첨가하면서 교반하여, 환자에게 비경구 투여하기 위한 제약상 허용되는 용액을 형성한다. 예를 들어, 생성된 조성물은 에탄올을 약 10%까지 함유하고(하거나) 계면활성제를 약 10%까지 함유할 수 있고, 보다 통상적으로, 상기 농도 구성은 약 5 내지 10 부피%의 에탄올, 이와 동일한 부피를 갖는 계면 활성제 및 80 내지 90 부피% 범위의 염수일 것이다. 원하는 경우, 이러한 용액은, 비경구용 제형 중의 특정 농도로 투여시 생리학적 역효과를 유발하는 것으로 당업계에 공지된 에탄올 또는 크레모포르 (등록상표) 용액을 최소량으로 함유하거나 전혀 함유하지 않도록 제형화할 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 상기 용액은 에탄올을 약 5%로, 폴리소르베이트 80 (예를 들어, 트윈 80 (등록상표)) 또는 폴리에톡실화 피마자유 (예를 들어, 크레모포르 (등록상표))를 약 5%로 및 염수 (0.9% 염화나트륨)를 약 90%로 포함한다. 잠재적인 역효과 (예를 들어, 과민성 반응)을 최소화 또는 제거하기 위해서는, 상기 실시양태가 투여되는 환자를 텍사메타손, 디펜히드라민, 또는 이러한 역반응을 최소화 또는 제거하는 것으로 공지된 여타 임의의 작용제로 사전-처치하는 것이 바람직하다.
- [0050] 여타 적합한 비경구용 제형으로는 리포솜이 포함된다. 리포솜은 일반적으로 구형 또는 회전타원체형의 클러스터이거나, 지질 화합물을 비롯한 양친매성 (amphiphatic) 화합물의 응집물이며, 통상적으로 1개 이상의 동심층, 예를 들어 단층 또는 2중층의 형태이다. 리포솜은 이온성 또는 비-이온성 지질로부터 제형화할 수 있다. 비-이온성 지질로부터의 리포솜은 니오솜 (niosome)으로도 지칭된다. 리포솜에 관한 문헌으로는 (a) 문헌 [Liposomes Second Edition: A Practical Approach, edited by V. Torchillin and V. Weissig, Oxford University Press, 2003]; (b) 문헌 [M. Malmstein, Surfactants and Polymers in Drug Delivery, Marcel Dekker Inc., 2002]; 및 (c) 문헌 [Muller et al., Emulsions and Nanosuspensions for the Formulation of Poorly Soluble Drugs, Medpharm Scientific Publishers, 1998]이 포함된다.
- [0051] 원하는 경우, 상기 기재된 경구 또는 비경구 투여용의 에멀션 또는 용액은 농축된 형태로 IV 백, 바이알 또는 여타 통상적인 용기로 패키징하여, 당업계에 알려져 있는 바와 같이 사용하기 전에 제약상 허용되는 액체, 예를 들어 염수로 희석시켜 허용되는 탁산 농축물을 형성할 수 있다.
- [0052] 본원에서 사용된 "히드록실 보호기" 및 "히드록시 보호기"란 용어는 보호가 적용되는 반응 이후에 분자의 나머지 부분의 방해 없이 제거될 수 있으며 유리 히드록실기를 보호할 수 있는 기를 의미한다 ("보호된 히드록실"). 히드록실기를 위한 다양한 보호기 및 이들의 합성법은 문헌 [Protective Groups in Organic Synthesis, T.W. Greene, John Wiley and Sons, 1981, or Fieser & Fieser]에서 찾아볼 수 있다. 히드록실 보호기의 예로는 메톡시메틸, 1-에톡시메틸, 벤질옥시메틸, (β -트리메틸실릴에톡시)메틸, 테트라히드로피라닐, 2,2,2-트리클로로에톡시카르보닐, t-부틸(디페닐)실릴, 트리알킬실릴, 트리클로로메톡시카르보닐 및 2,2,2-트리클로로에톡시메틸이 포함된다.
- [0053] 본원에서 사용된 "Ac"는 아세틸을 나타내고; "Bz"는 벤조일을 나타내고; "TES"는 트리에틸실릴을 나타내고; "TMS"는 트리메틸실릴을 나타내고; "LAH"는 리튬 알루미늄 하이드라이드를 나타내고; "10-DAB"는 10-데스아세틸 박카틴 III을 나타내고; "THF"는 테트라히드로푸란을 나타내고; "DMAP"는 4-디메틸아미노 피리딘을 나타내고; "LHMDS"는 리튬 헥사메틸디실라자니드를 나타내고; "TESCI"는 트리에틸실릴 클로라이드를 나타내고; "cPtc-

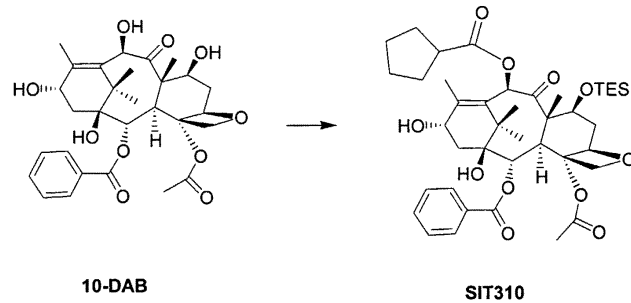
Cl"은 시클로펜탄카르보닐 클로라이드를 나타내고; "DMF"는 N,N-디메틸포름아미드를 나타내고; "MOP"는 2-메톡시프로펜을 나타내고; "iProc"는 N-이소프로폭시카르보닐을 나타내고; "iProc-Cl"은 이소프로필 클로로포르메이트를 나타내고; "LDA"는 리튬 디이소프로필아미드를 나타낸다.

실시예

[0054] 하기 실시예는 본 발명을 예시한다.

[0055] 실시예 1

[0056] 화합물 9091의 제조



[0057]

[0058] 10-DAB에서 SIT310으로의 보호 및 아실화

[0059] 하기 절차를 이용하여, 10-DAB의 C7-히드록실을 트리에틸실릴클로라이드 (TESCI)로 탠덤 (tandem) 보호하고, 10-DAB의 C10-히드록실을 시클로펜탄카르보닐 클로라이드(cPtc-Cl)로 아실화시켜 SIT310을 제조하였다.

[0060] 투명한 용액으로서 10-DAB 1 g 당 DMF 6 mL로 반응을 수행하는 것이 바람직하다 (10-DAB는 22 ℃에서 약 5 mL/g으로 DMF 중에 용해될 수 있으나, 0 내지 5 ℃로 냉각되는 경우에는 침전될 것임). DMF 중 10-DAB의 용액에 DMAP를 실온에서 첨가하는 경우, 상기 용액의 용해도가 증가될 것이다. 무수 용매 및 반응기는 불활성 질소 분위기 하에 있는 것이 바람직하다. 물은 트리에틸실릴 클로라이드를 1:2의 몰비로 소모할 것이다.

[0061] 자석 교반기, 내부 온도 프로브 및 적하 깔때기가 장착된 오븐-건조 1 L 재킷 3구 둥근 바닥 플라스크 (RBF)에 10-DAB (54.46 g, 0.100 mol), DMAP (36.60 g, 0.300 mol) 및 무수 DMF (330 mL)를 불활성 질소 분위기 하에 도입하였다. 혼합물 (0.3 M)을 교반하여 투명한 연황색 용액 (22 ℃)을 얻었다. 반응 혼합물을 순환식 칠러 (chiller)에 의해 0 내지 5 ℃의 내부 반응기 온도로 냉각시켰다.

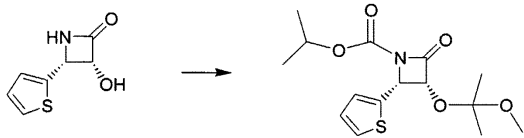
[0062] 7-TES 보호: 적하 깔때기에 TESCO (17.6 mL, 0.105 mol, 1.05 당량)를 도입하였다. 내부 반응기 온도가 5 ℃ 미만일 때, TESCO의 적하를 개시함으로써 발열을 제어하여 내부 반응기 온도를 5 ℃ 미만으로 유지시켰다 (20 내지 30 분의 적하 시간). TESCO 15 mL를 첨가한 후, DMAP-HCl 염이 침전되기 시작하였다. 첨가가 완료된 후, 반응물을 2.5 시간 동안 0 내지 5 ℃에서 교반하였다. TLC 모니터링 (3:1, EtOAc:헵탄) 결과, 출발 물질 (Rf=0.20)이 7-TES-10-DAB 생성물 (Rf=0.65)에 비해 소량으로 나타났다. 반응 혼합물을 HNMR 샘플링한 결과, 출발 물질의 양은 C10 카르비놀 양성자 공명의 적분에 따른 생성물의 양의 2.5%였다. 추가량의 TESCO (0.45 mL, 0.0027 mol)를 첨가하고, 혼합물을 0 내지 5 ℃에서 교반하였다. 2 시간 후, HNMR 샘플링 결과, 출발 10-DAB이 1% 미만이고, 7,13-비실릴화 부산물이 약 1.2%인 것으로 나타났다 (반응물을 그대로 밤새 교반하였음).

[0063] 10-cPtc 형성: 적하 깔때기에 시클로펜탄카르보닐 클로라이드 (12.76 mL, 0.105 mol)를 도입하고, 반응 플라스크에 30 분에 걸쳐 적하함으로써 발열을 제어하여 내부 반응기 온도를 10 ℃ 미만으로 유지시켰다. 첨가가 완료된 후, 혼합물을 12 시간에 걸쳐 15 내지 22 ℃에서 교반하였다. 반응 혼합물을 TLC 모니터링한 결과, 보다 낮은 극성의 생성물로의 전환율이 약 95%로 나타났다. 반응 혼합물의 HNMR 샘플링 결과, C10 카르비놀 양성자 공명의 적분에 따른 생성물의 양을 기준으로 잔류 중간체 7-TES-10-DAB가 4.5%인 것으로 나타났다. 추가량의 cPtc-Cl (0.55 mL, 0.0045 mol)을 첨가하고, 혼합물을 4.5 시간 동안 교반하였다. TLC 모니터링 (1:1, EtOAc:헵탄) 결과, 완전히 생성물로 전환된 것으로 나타났고, 후처리를 개시하였다.

[0064] 후처리: 급속 교반 중인 빙냉수 (1.5 L)-함유 3 L 플라스크에 반응 혼합물을 5 분에 걸쳐 점차적으로 부어 진한 백색의 침전물을 형성하였다. 15 분간 교반한 후, 중간 크기의 프릿 부호너 (Buchner) 깔때기를 통한 진공 여과에 의해 침전물을 수집하였다. 여과된 케이크를 순수한 물로 완전히 세척하였다. TLC 결과, 여액에는 생성물이 없는 것으로 나타났고, 이를 폐기하였다. 여과된 케이크를 에틸 아세테이트 (300 mL)에 용해시키고, 진

공 여과 플라스크로 수집하였다. 깔때기를 에틸 아세테이트 (100 mL)로 세척하여 에틸 아세테이트 여액을 얻었다. 이 여액을 2 L 분리 깔때기로 옮기고, 물 (1 × 100 mL), 중탄산나트륨 포화 용액 (1 × 100 mL) 및 염수 (1 × 50 mL)로 세척하였다. 유기층을 1 시간 동안 MgSO₄ (30 g) 상에서 건조시켰다. MgSO₄를 여과 제거하고, 에틸 아세테이트로 세척하여 여액을 얻었다. 이 여액을 40 °C에서 회전 증발 하에 약 100 mL로 농축하였다. 잔류 에틸 아세테이트를 아세토니트릴 (500 mL)과 교환하였다. 결정 형성이 관찰될 때까지 혼합물을 추가로 농축하였고, 증발 플라스크에는 약 375 mL의 아세토니트릴이 남았다. 농축을 중지하고, 아세토니트릴 50 mL를 첨가하여 결정의 진탕을 도왔다. 이후, 용액을 1 시간 동안 -20 °C로 냉각시키면서 회전식 증발기로 회전시켰다. 진공 여과에 의해 결정을 수집하였다. 여과된 케이크를 -20 °C의 차가운 아세토니트릴 (150 mL) 및 상온의 헵탄 (200 mL)으로 세척하였다. 중량이 일정해질 때까지 결정을 22 °C에서 고진공 (0.1 mmHg 미만) 하에 밤새 건조시켰다 (59.90 g, 79.3%). Mp: 241 내지 243 °C, 97.5% HPLC 순도. KF: 0.96% w/w 물. 결정의 HNMR 스펙트럼은 SIT310의 구조와 부합하였다. $[\alpha]_D^{20} = -43.5$ (MeOH, 2.07).

[0065] 아세토니트릴 여액을 회전 증발 하에 약 100 mL로 농축함으로써 결정의 2차 수확을 유도하였다.



SIT302

SIT304

[0066]

[0067] SIT302에서 SIT304로의 탠덤 보호 및 N-아실화-전환

[0068]

하기 절차를 이용하여, SIT302의 히드록실을 2-메톡시프로펜 (MOP)으로 탠덤 보호하고, 이소프로필 클로로포르메이트 (iProc-Cl)를 사용하여 N-이소프로폭시카르보닐 (iProc)기를 도입하여 SIT304를 생성하였다.

[0069]

하기 반응은 질소 불활성 분위기 하에 무수 조건 및 용매 중에서 수행하는 것이 바람직하다. 유리제품 및 장치는 트리에틸아민 염기로 세척하여 완전히 건조시켜야 한다. MOP는 0 °C를 넘는 온도에서 미량의 산의 존재 하에 용이하게 중합된다. SIT302는 -25 °C에서 15 mL THF/g 미만의 농도로 침전될 것이다.

[0070]

MOP 보호: 자석 교반기, 0.5 L 적하 깔때기 및 저온 프로브가 장착된 건조된 2 L RBF에 SIT302 (36.0 g, 0.213 mol) 및 THF (540 mL)를 질소 하에 도입하여 투명한 연황색 용액을 얻었다. 이 용액을 -25 °C로 냉각시킨 후, pTsOH 모노히드레이트 (1.8 g, 9.4 mmol)를 도입하였다. 적하 깔때기에 MOP (23.5 mL, 0.245 mol)를 도입하였다. 반응기 온도가 -25°C에 도달한 후, 발열을 제어하여 반응기 온도를 -20 °C 미만으로 유지시키기 위한 속도로 MOP를 적가하였다 (15 분). 첨가가 완료된 후, TLC 모니터링 (2:1 에틸 아세테이트:헵산으로 용리시킴) 결과, 잔류 SIT302 (Rf=0.2)가 약 15%인 것으로 나타났다. 추가량의 MOP (5 mL, 0.052 mol)를 5 분에 걸쳐 적가하여, 보다 낮은 극성의 MOP-보호 SIT302 (Rf=0.5)로 완전히 전환시켰다. 케달 형성 반응을 -25 °C에서 트리에틸아민 (108 mL, 0.775 mol)으로 켄칭하였다.

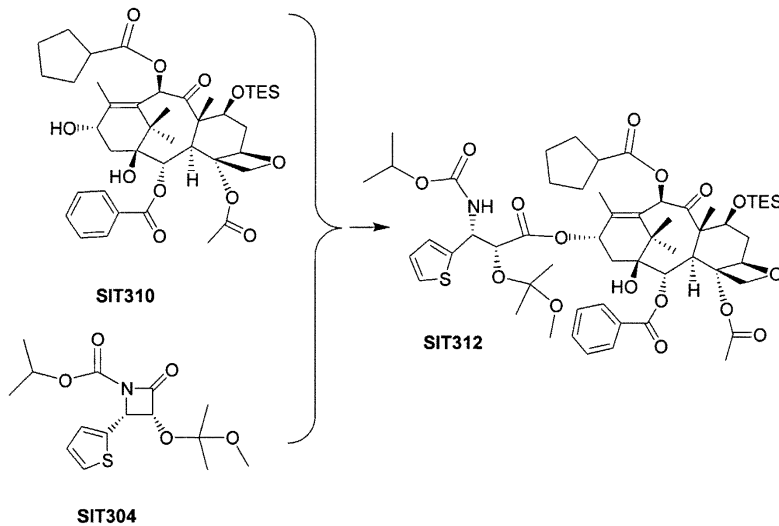
[0071]

N-아실화: MOP-보호 반응을 켄칭한 후, DMAP (3.24 g, 0.0265 mol)를 반응 플라스크에 첨가하고, 상온으로 가온하였다. 적하 깔때기를 질소 스트림 하에 건조시키고, iProc-Cl (245 mL, 톨루엔 중 1.0 M, 0.245 mol)을 도입하였다. 반응기 온도가 22 °C에 도달한 후, 클로로포르메이트의 적가를 개시함으로써 발열을 제어하여 반응기 온도를 28 °C 미만으로 유지시켰다. 30 분에 걸쳐 첨가가 완료되어 백색의 트리에틸암모늄 클로라이드 침전물이 생성되었다. 1 시간 동안 상온에서 교반한 후, TLC 모니터링 (1:1 에틸 아세테이트:헵탄으로 용리시킴) 결과, 약 90%가 전환되고, 잔류 MOP-SIT302가 10%인 것으로 나타났다. 추가량의 iProc-Cl (40 mL, 0.04 mol)을 반응물에 첨가하였다. 2.5 시간 동안 22 °C에서 교반한 후, TLC 모니터링한 결과, 보다 낮은 극성의 생성물로 완전히 전환된 것으로 나타났고, 후처리를 개시하였다.

[0072]

후처리: 반응 혼합물에 포화 중탄산나트륨:염수의 1:1 혼합물 (300 mL)을 첨가하고, 10 분간 강력 교반하였다. 이후, 혼합물을 2 L 분리 깔때기로 옮기고, 층을 분리하였다. 아래의 수성층을 배출시켜 폐기하였다. 유기층을 염수 (2 × 100 mL)로 2회 세척하고, 1 시간에 걸쳐 MgSO₄ (15 g) 상에서 건조시키면서 진탕시켰다. MgSO₄를 여과 제거하고, 여과된 케이크를 에틸 아세테이트로 세척함으로써 생성물의 완전한 회수를 보장하였다 (TLC). 여액을 3 L 증발 플라스크로 옮기고, 40 °C에서 진공 회전 증발 하에 오일로 농축함으로써 톨루엔 및 THF 용매를 제거하였다. 점성 오일을 회전식 증발기의 증발 플라스크 중의 에틸 아세테이트 (500 mL)에 용해시

키고, 증발 플라스크에 헵탄 (1500 mL)을 10 분에 걸쳐 첨가하면서 잘 진탕시켰다. 투명한 용액을 진공 하에 추가로 농축하였다. 약 350 mL의 용매 혼합물이 제거된 후, 결정이 형성되기 시작하였고, 진공 농축을 중지하였다. 혼합물을 1 시간 동안 22 °C에서 냉각시키면서 계속 회전시킨 후, 1 시간 동안 0 °C에서 냉각시키면서 계속 회전시켰다. 진공 여과에 의해 결정을 수집하고, 여과된 케이크를 차가운 헵탄 (150 mL)으로 세척하였다. 중량이 일정해질 때까지 생성물을 상온에서 고진공 (0.1 mmHg) 하에 건조시켰다 (51.52 g, 0.157 mol, 73.7 %). 여액을 약 200 mL의 부피로 농축함으로써 2차 수확물의 결정화를 유도하였다. 1 시간 동안 0 °C로 냉각시킨 후, 진공 여과에 의해 2차 수확물을 수집하고, 헵탄 (약 50 mL)으로 세척하고, 중량이 일정해질 때까지 건조시켰다 (10.25 g, 0.031 mol, 14.7%). 두 수확물의 TLC 모니터링에 의해 순도가 유사한 것으로 나타난 후, 이들을 합하였다 (61.52 g, 88.4%). Mp: 74 내지 75 °C, 99.4% HPLC 순도. KF: 1.48% w/w 물. 결정의 HNMR 스펙트럼은 SIT304의 구조와 부합하였다. $[\alpha]_D^{20} = +3.6$ (MeOH, 0.93). 이를, 트리에틸아민 염기로 세척한 플라스크 중에 -20 °C 미만에서 질소 하에 저장하였다.



[0073]

[0074]

SIT310에서 SIT312로의 리튬 알콕사이드 커플링-전환

[0075]

하기 절차를 이용하여, SIT310 및 SIT304를 커플링하여 SIT312를 제조하였다.

[0076]

하기 반응들은 수분-민감성 반응이다. 불활성 질소 분위기 하에 무수 반응기 및 용매 중에서 반응을 수행하는 것이 바람직하다. 리튬 디소프로필아미드 (LDA) 염기는 사용 전에 새롭게 제조되어야 한다.

[0077]

LDA 제조: 자석 교반기 및 내부 온도 프로브가 장착된 오븐-건조 250 mL RBF에 디소프로필아민 (13.1 mL, 92.98 mmol) 및 THF (26 mL)를 질소 하에 도입하였다. 혼합물을 -45 °C로 냉각시키고, 새롭게 분쇄된 n-BuLi의 용액 (54 mL, 1.62 M, 85.83 mmol)을 적가함으로써 발열을 제어하여 반응기 온도를 -40 °C 미만으로 유지시켰다. 30 분에 걸쳐 첨가가 완료된 후, 냉각 배스 (bath)의 온도를 사용 전에 0 내지 5 °C로 높였다.

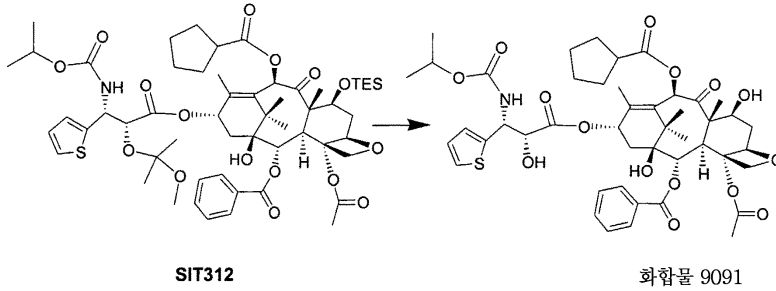
[0078]

커플링 반응: 자석 교반기 및 내부 온도 프로브가 장착된 오븐-건조 1 L RBF에 SIT310 (54.0 g, 71.525 mmol), SIT304 (28.1 g, 85.83 mmol) 및 THF (325 mL, 0.22 M)를 질소 하에 도입하였다. 혼합물을 -45 °C로 냉각시켰다. 적하 깔때기에 새롭게 제조된 LDA를 도입하고, 이를 반응 플라스크에 30 분에 걸쳐 적가함으로써 발열을 제어하여 반응기 온도를 -40 °C 미만으로 유지시켰다. 첨가가 완료된 후, 반응기의 온도를 -20 °C로 높이고, 이를 유지시키면서 1.5 시간 동안 교반하였다. 반응물을 TLC 모니터링 (1:3 / EtOAc:헵탄)한 결과, 약 10%는 SIT31 (Rf=0.25)이고, 약 90%는 생성물 SIT312이며, 출발 SIT304는 남아있지 않은 것으로 나타났다. 추가량의 SIT304 (2.8 g, 8.56 mmol)를 반응 혼합물에 교체로서 첨가하였다. 1.5 시간 동안 -20 °C에서 교반한 후에 TLC 분석한 결과, 반응은 완료되었고, 후처리를 개시하였다.

[0079]

후처리: 반응 플라스크 (-20 °C)에 포화 중탄산나트륨과 염수의 1:1 혼합물 (100 mL)을 첨가하여 반응을 케칭하였다. 반응 플라스크를 상온으로 가온하고, 분리 깔때기로 옮겼다. 에틸 아세테이트 (200 mL)를 첨가하여 층 분리를 도왔다. 수성상을 배출시켜 폐기하였다. 유기층을 염수 (50 mL)로 1회 더 세척하고, MgSO₄ (30 g) 상에서 건조시켰다. MgSO₄를 여과 제거하고, 여과된 케이크를 에틸 아세테이트 (100 mL)로 세척하여 여액을 얻었다. 이 여액을 진공 회전 증발 하에 약 150 mL의 부피로 농축하였다. 잔류 용매를 이소프로판올 (500 mL)과

교환하였다. 약 350 내지 400 mL의 부피로 더 농축한 후, 결정 형성이 시작되었고, 농축을 중지하였다. 혼합물을 1 시간 동안 0 °C로 냉각시키면서 진탕시켰다. 진공 여과에 의해 결정을 수집하고, 사전-냉각된 0 °C의 이소프로판올 (200 mL)로 세척하고, 중량이 일정해질 때까지 고진공 (0.1 mmHg) 하에 건조시켰다 (73.58 g, 68.0 mmol, 95.0%). 결정의 ¹H NMR 스펙트럼은 SIT312의 구조와 부합하였다. MP: 137 내지 140 °C, HPLC 순도 95.4%. 상기 물질은 HPLC 정제 조건 하에서 불안정하였고, 분석 동안 2'-MOP 보호기가 손실되었다 (0.83%).



SIT312

화합물 9091

[0080]

[0081]

SIT312에서 9091로의 탠덤 탈보호-전환

[0082]

하기 절차를 이용하여, 산성 조건 하에 SIT312의 MOP 및 TES 보호기를 제거하여 9091을 생성하였다.

[0083]

자석 교반기, 내부 온도 프로브 및 적하 깔때기가 장착된 1 L 재킷 RBF에 SIT312 (70.0 g, 64.67 mmol) 및 THF (350 mL, 0.185 M)를 도입하였다. 혼합물을 순환식 배스에서 0 °C로 냉각시켰다. 적하 깔때기에 포름산 (96%, 175 mL, 4.45 mol)을 도입하였다. 포름산을 30 분에 걸쳐 적가함으로써 발열을 제어하여 반응기 온도를 10 °C 미만으로 유지시켰다. 포름산의 첨가가 완료된 후, 적하 깔때기에 1.0 M HCl (87.5 mL, 87.5 mmol)을 도입하였다. HCl의 적가를 15 분에 걸쳐 수행함으로써 발열을 제어하여 반응기 온도를 10 °C 미만으로 유지시켰다. 첨가 후, 반응 혼합물 (1:1 EtOAc:헵탄)을 TLC로 처리한 결과, MOP 보호기가 손실되어 SIT312 (Rf=0.7)에 비해 보다 높은 극성의 생성물 (Rf=0.65)이 바로 생성된 것으로 나타났다. 혼합물을 8 내지 10 °C에서 교반하였다. 9 시간 후, TLC 결과, 보다 높은 극성의 생성물로의 전환율은 95%를 넘고, 약 2 내지 3%는 부산물 (Rf=0.55)이고, 약 1%는 중간체 (Rf=0.65)인 것으로 나타났고, 후처리를 개시하였다.

[0084]

후처리: 반응물을 에틸 아세테이트 (1 L)로 희석시키고, 3 L 분리 깔때기로 옮기고, 물 (2 × 500 mL)로 2회 세척하고, 포화 중탄산나트륨 (2 × 100 mL)으로 2회 세척하였다. 유기층의 pH는 8로 확인되었고, 이를 염수 (2 × 100 mL)로 2회 세척하였다. 수성상을 TLC 분석에 의해 모니터링한 결과, 생성물이 없는 것으로 나타났다. 유기층을 1 시간 동안 Na₂SO₄ (100 g) 상에서 건조시켰다. Na₂SO₄를 왓트맨 (Whatman) No. 1 여과지에 의해 중력 여과하고, 여과된 케이크를 에틸 아세테이트로 세척함으로써 생성물의 완전한 회수를 보장하였다. 여액을 진공 회전 증발 하에 농축하여 포말 (65.59 g)을 얻었다. 포말의 ¹H NMR 스펙트럼은 트리에틸실릴화 부산물과 함께 9091의 구조와 부합하였다.

[0085]

재결정화: 상기 포말을 에틸 아세테이트 (280 mL)에 용해시키고, 50 °C로 가운하면서 진탕시켰다. 헵탄 (455 mL)을 15 분에 걸쳐 점차적으로 첨가함으로써 용액을 투명하게 유지시켰다. 혼합물을 상온으로 점차적으로 냉각시켰다. 22 °C에서 1 시간 후, 시드 (seed) 결정을 도입하였고, 5 분 이내에 결정이 형성되었다. 혼합물을 0 °C의 수조에서 1 시간 동안 냉각시킨 후, 진공 여과에 의해 결정을 수집하고, 여과된 케이크를 1:4 EtOAc:헵탄의 차가운 혼합물 (0 °C, 200 mL)로 세척하였다. 3 시간 동안 상온에서 고진공 (0.1 mmHg 미만) 하에 건조시킨 후, 백색 분말 57.23 g (예상량 57.23 g)을 얻었다. HPLC 분석 결과, 면적/면적 적분시 96.8%의 순도 및 1.2%의 불순물이 나타났다. 백색 분말을 50 °C에서 에틸 아세테이트 (225 mL)에 재용해시켰다. 서서히 진탕시키면서 헵탄 (320 mL)을 점차적으로 첨가함으로써 용액을 투명하게 유지시켰다. 첨가가 완료된 후, 혼합물을 22 °C로 냉각시켰고, 5 분 이내에 결정이 자발적으로 형성되었다. 22 °C에서 10 시간 후, 혼합물을 0 °C로 냉각시켰다. 0 °C에서 1 시간 후, 진공 여과에 의해 결정을 수집하고, 여과된 케이크를 1:4 EtOAc:헵탄의 차가운 혼합물 (0 °C, 200 mL)로 세척하였다. 상기 결정의 HPLC 분석 결과, 순도는 98.5%로 나타났다. 중량이 일정해질 때까지 백색 분말을 2 일간 50 °C에서 고진공 (0.1 mmHg) 하에 건조시켰다 (40.58 g, 45.3 mmol, 70.0%). MP: 159 내지 161 °C, 98.5% HPLC 순도. ¹H NMR 및 ¹³C NMR 스펙트럼이 9091의 구조와 부합하였다. $[\alpha]_D^{20} = -43.1$ (MeOH, 0.91).

[0086]

1차 재결정화로부터의 모액을 농축하여 왁스상 물질 15.0 g을 생성하였다. 이를 헵탄 (200 mL)으로 분쇄하여

약 7 g의 자유 유동 분말을 생성하였다. 이 분말을 실리카 겔 플래시 컬럼 크로마토그래피 (1:1 에틸 아세테이트:헥산으로 용리시킴)에 의해 정제하였다. 9091을 함유하는 분획물을 모으고, 진공 회전 증발 하에 농축하여 5.84 g의 9091을 생성하였다. 불순물을 함유하는 분획을 모아서 0.55 g의 백색 고체 (HNMR 스펙트럼은 7-포르메이트-9091과 부합함)를 얻었다.

[0087] 2차 재결정화로부터의 모액을 농축하여 4.50 g의 물질을 얻었다. 이 물질을, 크로마토그래피에 의해 제1 모액으로부터 정제된 9091 5.84 g과 합하여 10.34 g (17.8%)을 수득하였다.

화합물 9091 ¹H NMR 데이터 (CDCl₃)
 화합물 9091의 ¹H 및 ¹³C 화학적 이동

No	양성자	ppm	패턴 (J,Hz)	탄소	ppm
1	H-10'	1.10	d(6.19)	C19	9.541
2	CH ₃ -16	1.15	s	C18	14.829
3	H-11'	1.16	d(6.19)	C10'	21.833
4	CH ₃ -17	1.26	s	C16'	21.955
5	2H-24', 25'	1.63	m	C20'	22.581
6	CH ₃ -19	1.68	s	C22'	25.816
7	OH-1	1.74	s	C11'	25.877
8	2H-24', 25'	1.76	m	C17	26.831
9	CH ₃ -18	1.86	d(0.94)	C24', 25'	29.593
10	H-6β	1.89	m	C23', 26'	30.356
11	2H-23', 26'	1.93	m	C6	35.545
12	2H-23', 26'	2.02	m(6.64)	C15	43.206
13	H-14α	2.30	ddd(15.30,9.12)	C14	43.732
14	CH ₃ -20'	2.39	s	C3	45.685
15	H-6α	2.54	ddd(14.04,9.57,6.57)	C3'	53.026
16	H-14β	2.56	dd(15.30,4.11)	C8	58.626
17	H-22'	2.92	m(7.36,6.85)	C9'	69.057
18	OH-2'	3.44	d(5.47)	C7	72.216
19	H-3	3.83	d(6.98)	C13	72.429
20	H-20β	4.18	d(8.48)	C2'	73.421
21	H-20α	4.31	d(8.48)	C2	75.001
22	H-7α	4.42	M(10.52,4.29)	C10	75.176
23	H-2'	4.66	dd(5.47,2.24)	C20	76.481
24	H-9'	4.78	bm(6.19)	C1	79.129
25	H-5	4.95	bd(9.57,1.88)	C4	81.181
26	H-N	5.39	d(9.47)	C5	84.462
27	H-3'	5.55	dd(9.47,2.24)	C7'	125.460
28	H-2	5.67	d(6.98)	C5'	125.544
29	H-13β	6.27	ddd(9.12,4.11,0.94)	C6'	127.039
30	H-10α	6.28	s	C15', 17'	128.664
31	H-6'	7.01	dd(4.03,5.13)	C13'	129.115
32	H-5'	7.10	dd(4.03,1.15)	C14', 18'	130.213
33	H-7'	7.29	dd(5.13,J:1.15)	C16'	133.342
34	2H-15', 17'	7.50	dd(7.44, 7.12)	C11	133.655
35	H-16'	7.61	dd,(7.44,5.62)	C4'	141.277
36	2H-18', 14'	8.12	d(8.59)	C12	141.804
37				C8'	155.469
38				C12'	167.067
39				C20'	170.264
40				C1'	172.187
41				C21'	176.865
42				C9	203.746

[0088]

[0089] 실시예 2

[0090] 세포 콜로니 형성 분석에 의한 시험관내 세포독성 측정

[0091] 4백개의 세포 (미국 버지니아주 매나사스에 소재한 아메리칸 타입 컬처 콜렉션 (American Type Culture Collection)으로부터 입수한 HCT 116 인간 대장 암종)를 2.7 mL의 배지 (10% 소 태아 혈청, 페니실린 100 단 위/mL 및 스트렙토마이신 100 g/mL를 함유하는 개질 맥코이 (McCoy) 5a 배지)를 함유하는 60 mm 페트리 접시에 평판 배양하였다. 세포가 페트리 접시 바닥에 부착되도록 CO₂ 인큐베이터에서 5 시간 동안 37 °C에서 인큐베이션하였다. 배지 중에 본 발명의 화합물을 최종 농도의 10배로 새롭게 제조한 후, 이 원액 중 0.3 mL를 상기 접시의 배지 (2.7 mL)에 첨가하였다. 이후, 세포를 약물과 함께 72 시간 동안 37 °C에서 인큐베이션하였다. 인큐베이션 완료시, 약물-함유 배지를 경사 분리하고, 접시를 4 mL의 Hank's Balance Salt Solution, HBSS)으로 세정하고, 새로운 배지 5 mL를 첨가하고, 콜로니 형성을 위해 접시를 인큐베이터로 복귀시

켰다. 7 일간 인큐베이션한 후에 콜로니 계수기를 이용하여 세포 콜로니를 계수하였다. 세포 생존률을 계산하고, 각 시험 화합물에 대해 ID₅₀값 (콜로니 형성을 50% 억제하는 약물 농도)을 결정하였다.

[0092] 미국 캘리포니아주 캘리포니아 퍼시픽 메디컬 센터 (California Pacific Medical Center)의 리-시 (Li-Xi) 박사로부터 입수한 VM46 (인간 대장 암종 HCT 116의 내성 변이체)을 사용하여 동일한 평가를 수행하였다. 이와 유사하게, MTT (3-(4,5-디메틸티아졸-2-일)-2,5-디페닐테라졸륨 브로마이드) 분석법을 이용하여 DLD-1 (미국 버지니아주 매나사스에 소재한 아메리칸 타입 킬처 콜렉션으로부터 입수한 내성 인간 대장 암종) 평가를 수행하였다.

화합물	시험관내 IC ₅₀ (nM) HCT116	시험관내 IC ₅₀ (nM) VM46	시험관내 IC ₅₀ (nM) MTT:DLD-1
파클리탁셀	2.1	20.0	10.1
도세탁셀	0.6	6.7	9.1
9091	0.6	1.9	1.5

[0093]
[0094] 실시예 3

[0095] 9091의 경구 효능 평가

[0096] 미국 버지니아주 매나사스에 소재한 아메리칸 타입 킬처 콜렉션으로부터 입수한 인간 췌장 종양 이종이식편 Panc-1에서 9091의 효능을 평가하였다. 이 연구에 사용된 종양은 무흉선 누드 마우스에서 유지시켰다. 종양편 (1 mm³)을 각 시험마우스의 우측 옆구리에 피하 이식하였다. 종양을 1주에 2회 모니터링하였고, 이후 종양 부피가 200 내지 400 mm³ (평균 250 내지 300 mm³)에 도달시 매일 모니터링하였다. 연구 1일차에, 동물들을 종양 크기가 171.5 내지 320.0 mm³인 처리군 (군 평균 종양 크기 212.6 내지 216.0 mm³)으로 분류하였다. 종양 크기 (mm³)는 하기 수학적식으로부터 계산하였다.

$$\text{종양 부피} = \frac{w^2 \times l}{2}$$

[0097] 식 중, w는 종양의 폭 (mm)이고, l은 종양의 길이 (mm)이다. 종양 중량은 1 mg이 1 mm³의 종양 부피와 동일하다는 가정 하에 추정하였다. 마우스들을 군 당 6마리씩의 군으로 분류하고, 하기 표 1A 및 1B의 프로토콜에 따라 처리하였다. 모든 처리 물질은 1일차에 1회 (qd × 1) 경구 투여하였다. 군 2 및 군 3에게는 화합물 9091을 120 및 60 mg/kg으로 각각 투여하였다. 모든 군에서, 투여 부피는 각 동물의 체중에 비례시켰다 (마우스 20 g 당 0.6 mL). 신생물 (neoplasm)이 예정 종점 크기 (1200 mm³)에 도달했을 때 각 동물을 안락사시켰다. 하기 수학적식에 의해 각 마우스의 종점까지의 시간 (TTE)을 계산하였다.

$$\text{TTE} = \frac{\log_{10}(\text{종점 부피}) - b}{m}$$

[0098] 식 중, TTE는 일수로 표시되고, 종점 부피는 mm³ 단위이고, b는 절편 (截片)이고, m은 log-변환된 종양 증식 데이터 집합의 선형 회귀에 의해 얻어진 직선의 기울기이다. 상기 데이터 집합은 연구 종점 부피를 초과하는 최초 관측값, 및 종점 부피에 도달하기 직전의 3회 연속 관측값으로 구성된다. 종점에 도달하지 않은 동물에게는 연구 최종일 (59일차)과 동일한 TTE값을 할당하였다. TR (처리-관련) 사망 동물 또는 NTRM (비-처리-관련 전이) 사망 동물로 분류된 동물에게는 사망일과 동일한 TTE값을 할당하였다. NTR (비-처리-관련) 사망 동물로 분류된 동물은 TTE 계산에서 제외하였다. 치료 효능은 종양 증식 지연 시간 (TGD)으로부터 측정하였고, TGD는 대조군의 종양값 TTE와 비교한 처리군의 종양값 TTE의 증가값 (TGD = T - C)으로 정의 (일수로 표시)되거나, 또는 하기 식과 같이 대조군의 종양값 TTE의 비율로서 정의된다.

$$\% \text{TGD} = \frac{T - C}{C} \times 100$$

[0101] 식 중, T는 처리군의 종양값 TTE이고, C는 대조군 1의 종양값 TTE이다.

[0102] 식 중, T는 처리군의 종양값 TTE이고, C는 대조군 1의 종양값 TTE이다.

[0103] 약물 처리는 동물의 종양의 부분 회귀 (PR) 또는 완전 회귀 (CR)를 초래할 수 있다. PR 반응에서는 연구 과정 동안 종양 부피 (3회 연속 측정값)가 1일차 부피의 50% 이하이고, 이들 3회 측정값 중 하나 이상은 13.5 mm³과 같거나 그보다 크다. CR 반응에서는 연구 과정 동안 종양 부피 (3회 연속 측정값)가 13.5 mm³ 미만이다. 연구 종결시 CR 반응을 보이는 동물은 장기 무종양 생존 동물 (LTFS)로 추가적으로 분류된다.

[0104] 독성과 관련하여, 동물의 체중을 1 내지 5일차에 매일 측정하고, 이후 연구가 완료될 때까지 1주에 2회 측정하였다. 임의의 약물-관련 역부작용의 명백한 징후에 대해 마우스를 수시로 조사하였다. 마우스에서 항암 약물의 최대 내약 용량 (MTD)으로 허용되는 독성은, 시험 동안 군 평균 체중 (BW) 손실율이 20% 미만이고, 중독 사망 동물이 10마리의 처리 동물 중 1마리 이하인 것으로서 NCI에 의해 정의된다. log 순위 검정은 약물-처리군과 비히클-처리 대조군 간 TTE값의 차이의 유의도를 분석하는 데 이용된다. log 순위 검정에 의해, NTR 사망 동물을 제외한 모든 동물의 데이터를 분석하였다. P = 0.05에서 양측 (two-tailed) 통계 분석을 수행하였다. 군 종양값 종양 증식 곡선은 종양값 종양 부피 (MTV)를 시간 함수로 나타낸다. 종양 크기 또는 TR 사망으로 인해 동물이 연구로부터 배제되는 경우, 이 동물에 대해 기록된 최종 종양 부피를 데이터에 포함시켜 후속 시간대에서 종양값 부피를 계산하는 데 이용하였다. 처리군에서 2마리 이상이 사망하는 경우, 이 군의 종양 증식 곡선은 2번째 동물의 사망 시간에서 끝난다.

[0105] 군 2 및 군 3에게는 화합물 9091을 120 및 60 mg/kg으로 각각 투여하였다. 군 2 및 군 3은 모두 212% TGD 및 매우 유의한 항-종양 활성 (P < 0.001)을 나타냈다. 각 군의 6마리의 마우스에 대한 MTV는 각각 56 및 148 mm³이었다. 군 2에서, 9091은 3마리의 PR 반응 동물 및 3마리의 LTFS를 제공하였다. 군 3에서, 9091은 5마리의 PR 반응 동물 및 1마리의 LTFS를 제공하였다. 화합물 9091은 120 및 60 mg/kg의 용량 둘 다에서 100%의 생존율 및 6마리의 회귀 반응 동물을 제공하였다: 이들 처리는 각각 3마리의 LTFS 및 1마리의 LTFS를 제공하였고, 10.7% 및 5.5%의 군 평균 BW 손실율을 제공하였다.

[0106] 데이터는 하기 표 1A 및 1B에 포함되어 있다.

[0107] <Panc-1 연구에서의 처리 반응 요약>

표 1A

군	n	치료 요법 1				종양값 TTE	T-C	%TGD
		작용제	mg/kg	경로	일정			
1	6	5% EC (염수 중)		po	qd x 1	18.9	—	---
2	6	9091	120	po	qd x 1	59.0	40.1	212%
3	6	9091	60	po	qd x 1	59.0	40.1	212%

TTE - 종점까지의 시간 (일), 1200 mg
 T-C - 처리군과 대조군 간 TTE의 차이 (일), %TGD=[(T-C)/C]
 n - 마우스의 수
 5% EC - 5% 에탄올 + 5% 크레보포르

[0108]

표 1B

군	종양의 양의 중양값 (n), 59일차	PR 수	CR 수	LTTES 수	최대 %BW손실율 일차	TR 수	NTR 수
1	---(0)	0	0	0	—	0	0
2	56(6)	3	3	3	-10.7%; 10일차	0	0
3	148(6)	5	1	1	-5.5%; 10일차	0	0

CR - 연구 동안 3회 연속 측정값이 감지할 수 없는 정도인 종양
 PR - 연구 동안 3회 연속 측정값이 출발 크기의 50% 이하로 회귀한 종양
 LTTES - 장기 무종양 생존 동물, 연구 종료시 CR로 분류된 동물
 Log 순위 검정은 만텔-헨켈 (Mantel-Haenszel) 검정과 동일함; ns = 유의하지 않음, * - p<0.05, ** - p<0.01, *** - p<0.001 (군 1과 비교)
 TR - 처리-관련 사망동물
 NTR - 비-처리-관련 사망동물

[0109]

[0110]

[0111]

[0112]

실시예 4

9091의 IV 효능 평가

인간 췌장 종양 이종이식편 Panc-1에 대한 9091의 항-종양 활성을 평가하였다. 인간 Panc-1 췌장 암종은 무흉선 누드 마우스에서 유지시켰다. 종양편 (1 mm³)을 각 시험마우스의 우측 옆구리에 피하 이식하였다. 종양을 1주에 2회 모니터링하였고, 이후 종양 크기가 200 내지 400 mm³ (평균 250 내지 300 mm³)에 도달시 매일 모니터링하였다. 연구 1일차에, 동물들을 종양 크기가 171.5 내지 486.0 mm³인 군 (군 당 6마리, 군 평균 종양 크기 269.7 내지 275.0 mm³)으로 분류하였다. 마우스들을 군 당 6마리씩 각각 분류하고, 하기 표 2A 및 2B의 프로토콜에 따라 처리하였다. 모든 치료 물질은 정맥내 투여하였다. 대조군 1의 마우스에게는 에탄올 (5%) 및 리포신 II (95%) 비히클을 1일차에 1회 (qd × 1) 투여하였다. 군 2에게는 9091을 20 mg/kg으로 격일 (× 5) 투여하였다. 군 3에게는 9091을 30 mg/kg (q4d × 4)으로 투여하였다. 군 4 및 군 5에게는 9091을 120 및 60 mg/kg (qd × 1)으로 각각 투여하였다. 투여 부피는 qd × 1 투여 요법의 경우 체중 20 g 당 0.5 mL이고, qd × 5 또는 q4d × 4 투여 일정의 경우 체중 20 g 당 0.3 mL였다. 투여 부피는 각 동물의 체중에 비례시켰다. 1일차에, 군 1의 마우스에게 비히클을 단일 용량 (qd × 1)으로 투여하였다. 6마리의 비히클-처리 마우스 중 5마리의 종양이 1200 mm³의 종점 부피 (15.8 일의 중양값 TTE)로 증식되었다. 회귀 반응은 기록되지 않았다. 56일차 생존 동물이 1마리만 존재한다는 사실은, 다소 만족스럽지 못한 종양 이식물이 군 당 하나꼴이라는 잠재적인 배경 수준을 나타낸다.

[0113]

군 2에게는 9091을 20 mg/kg (qod × 5)으로 투여하였다. 군 3에게는 9091을 30 mg/kg (q4d × 4)으로 투여하였다. 군 4 및 군 5에게는 9091을 120 및 60 mg/kg (qd × 1)으로 각각 투여하였다. 군 2에서는 5마리의 TR 사망 동물이 기록되었고, 이들에 대해서는 치료 효능을 평가할 수 없었다. 군 4의 마우스 2마리가 NTR로 인해 사망하였다. 군 3 내지 5는 각각 254% TGD를 나타냈다. 이 결과는 군 3 및 군 5에서는 매우 유의하고 (P < 0.01), 군 4에서는 유의하다 (P < 0.05). 군 3 내지 5에서는 종점 부피에 도달한 종양이 없었는데, 6마리의 마우스에 대한 MTV는 각각 40, 58 및 126 mm³이었다. 군 3에서, 5마리의 PR 반응 동물 및 1마리의 LTTFS가 기록되었다. 군 4 및 군 5에서, 6마리의 PR 반응 동물이 각각 기록되었다. 9091은 30 mg/kg (q4d × 4) 요법에서 가장 효과적이었다. 상기 처리 결과, 5마리의 PR 반응 동물 및 1마리의 LTTFS가 제공되었다 (최대 군 평균 BW 손실율: 약 13%). 120 및 60 mg/kg의 단일 용량은 각각 6마리의 PR 반응 동물을 제공하였다 (군 평균 BW 손실율: 각각 약 8% 및 약 5%). 상기 3개의 9091 처리군은 연구 종료시 각각 6마리의 생존 동물 (MTV: 각각 40, 58 및 126 mm³)을 제공하였다.

[0114]

<표 2: Panc-1 연구에서의 처리 반응 요약>

표 2A

군	n	치료 요법 1				증양값 TTE	T-C	%TGD
		작용제	mg/kg	경로	일정			
1	6	비히클		IV	qd x 1	15.8	—	---
2	6	9091	20	IV	qod x 5	10.0	—	—
3	6	9091	30	IV	q4d x 4	56.0	40.2	254%
4	6	9091	120	IV	qd x 1	56.0	40.2	254%
5	6	9091	60	IV	qd x 5	56.0	40.2	254%

TTE - 종점까지의 시간 (일), 1200 mg
 T-C - 처리군과 대조군 간 TTE의 차이 (일), %TGD=[(T-C)/C]
 n - 마우스의 수

[0115]

표 2B

군	증양의 양의 증양값 (n), 56일차	PR 수	CR 수	LTTEs 수	Log 순위 유의도	최대 %BW 손실율; 일차	TR 수	NTR 수
1	320 (1)	0	0	0	—	—	0	0
2	108(1)	1	0	0	—	-15.7%; 10일차	5	0
3	40.25(6)	5	1	1	p < 0.01	-13.2%; 17일차	0	0
4	57.5(6)	6	0	0	p < 0.05	-7.8%; 7일차	0	2
5	126(6)	6	0	0	p < 0.01	-4.9%; 7일차	0	0

CR - 연구 동안 3회 연속 측정값이 감지할 수 없는 정도인 증양
 PR - 연구 동안 3회 연속 측정값이 출발 크기의 50% 이하로 회귀한 증양
 LTTEs - 장기 무증양 생존 동물, 연구 종료시 CR로 분류된 동물
 Log 순위 검정은 만텔-헨켈 검정과 동일함; ns = 유의하지 않음, * - p<0.05, ** - p<0.01, *** - p<0.001 (군 1과 비교)
 TR - 처리-관련 사망동물
 NTR - 비-처리-관련 사망동물

[0116]

[0117] 실시예 5

[0118] HT29 이종이식편에서 9091의 효능 연구

[0119] 실시예 3 및 4에 기재된 Panc-1 이종이식편에서와 유사한 하기 경구 및 정맥내 투여 요법을 이용하여, 화합물 9091을 HT29 (미국 버지니아주 매나사스에 소재한 아메리칸 타입 컬처 콜렉션으로부터 입수한 인간 대장 암종) 이종이식편에서 추가로 평가하였다. 결과는 하기 표 3 및 4에 요약되어 있다.

표 3A

화합물 9091을 이용한 HT29 연구에서의 프로토콜 설계

군	n	치료 요법 1			
		작용제	mg/kg	경로	일정
1	6	5%EC (염수 중)		po	qd x 1
18	6	9091	15	po	q4d x 4
19	6	9091	30	po	q4d x 4
20	6	9091	45	po	q4d x 4
21	6	9091	60	po	q4d x 4

[0120]

표 3B

화합물 9091을 이용한 HT29 연구에서의 처리 반응 요약

군	n	요법 1			MDS → 1.0 g	최대 %BW	사망 동물 수 ^a		
		작용제	mg/kg	경로	일정	±SEM (n)	손실율;일차	TR	NTR
1	6	5%EC (염수 중)		po	qd x 1	16.5 ± 1.5 (6)	-	0	0
18	6	9091	15	po	q4d x 4	24.4 ± 1.4 (6)	-	0	0
19	6	9091	30	po	q4d x 4	25.6 ± (1)	-11.3%; 21일차	0	0
20	6	9091	45	po	q4d x 4	± (0)	-22.6%; 17일차	0	0
21	6	9091	60	po	q4d x 4	± (0)	-28.1%; 17일차	4	0

n - 마우스 수

5%EC - 5% 에탄올 및 5% 크레모포르

[0121]

표 4A

화합물 9091을 이용한 HT29 연구 (IV)에서의 프로토콜 설계

군	n	처리 요법 1			
		작용제	mg/kg	경로	일정
1	6	미처리			
2	6	비히클		IV	Q4d x 4
3	6	비히클		IV	Q4d x 4
4	6	비히클		IV	Q4d x 4
5	6	9091	120	IV	QD x 1
6	6	9091	60	IV	QD x 1
7	6	9091	120	IV	QD x 1
8	6	9091	60	IV	QD x 1
9	6	9091	120	IV	QD x 1
10	6	9091	60	IV	QD x 1
14	6	9091	30	IV	Q4d x 4
15	6	9091	20	IV	Q4d x 4
16	6	9091	30	IV	Q4d x 4
17	6	9091	20	IV	Q4d x 4
18	6	9091	30	IV	Q4d x 4
19	6	9091	20	IV	Q4D x 4

[0122]

표 4B

화합물 9091을 이용한 HT29 연구에서의 처리 반응 요약

군	n	요법 1		요법 2		MDS → 1.0 g			최대 %BW	사망 동물 수*		
		작용제	mg/kg	작용제	mg/kg	± SEM(n)			손실율; 일차	TR	NTR	
1	6	미처리				16.1	±	3.0	(10)	—	0	1
2	6	비히클		5%E96%±20	0.3	21.9	±	4.0		—	0	0
3	6	비히클		5%ET (염수 중)	0.3	18.4	±	3.6		—	0	0
4	6	비히클		5%EC (염수 중)	0.3	20.4	±	2.9		—	0	0
5	6	9091	120	5%E96%±20	0.5 × 2		±			-11.8%; 10일차	0	0
6	6	9091	60	5%E96%±20	0.5	51.9	±	0.0		-8.9%; 7일차	0	0
7	6	9091	120	5%ET (염수 중)	0.5 × 2		±			-23.7%; 10일차	5	0
8	6	9091	60	5%ET (염수 중)	0.5	51.8	±			-4.9%; 7일차	0	0
9	6	9091	120	5%EC (염수 중)	0.5 × 2		±			-16.6%; 14일차	0	0
10	6	9091	60	5%EC (염수 중)	0.5	46.0	±			-8.2%; 10일차	0	0
14	6	9091	30	5%E96%±20	0.3		±			-15.6%; 17일차	0	0
15	6	9091	20	5%E96%±20	0.3		±			-17.8%; 17일차	0	0
16	6	9091	30	5%ET (염수 중)	0.3		±			-18.3%; 17일차	0	0
17	6	9091	20	5%ET (염수 중)	0.3		±			-14.4%; 14일차	0	0
18	6	9091	30	5%EC (염수 중)	0.3		±			-22.7%; 21일차	0	0
19	6	9091	20	5%EC (염수 중)	0.3		±			-9.9%; 14일차	0	0

*사망 동물 수: TR (처리-관련); NTR (비-처리-관련)

[0123]

[0124]

마우스 이종이식편에서 화합물 9091의 평가 결과가 도 1 내지 7에 도식적으로 제공되어 있다.

[0125]

실시예 6

[0126]

래트에서의 생체내 독성 평가

[0127]

250 내지 300 g의 스프라그-돌리 (Sprague-Dawley) 래트에서 독성을 평가하였는데, 각 용량군 당 3마리의 래트를 사용하였다. 이 연구는 3개의 시험 화합물 용량군 (즉, 3 mg/kg, 9 mg/kg 및 12 mg/kg (정맥내 투여시); 15 mg/kg, 30 mg/kg 및 40 mg/kg) 및 1개의 대조군으로 구성된다. 동물들을 관찰하여 4일차 및 10일차에 임상적 화학 데이터를 수집하였다. 11일차에는 래트들을 안락사시키고, 추가적인 조사를 위해 안락사 시점에서 신경을 절개하여 고정시켰다.

[0128]

각 래트는 하기 기재된 바와 같이 스코어링하였고, 모든 파라미터를 포함하는 최종 독성 스코어를 할당하였다. 사망한 래트는 스코어 0으로 할당하였다. 하기 표 5는 각 독성 파라미터가 스코어에 얼마나 기여하는지에 대한 기준을 제공한다. 파라미터의 대부분은 가능한 총 스코어인 130을 향한 양수값에 기여한다. 체중, 백혈구 및 혈소판이 감소한 경우에는 회복을 고려한다. 파라미터가 회복을 나타내지 않는 경우, 총 스코어로부터 -5 차감하였다. 총 스코어를 13으로 나누어 0 내지 10의 스케일로 산정하였다. 신경독성 스코어의 경우, -10은 축삭 퇴행성 병변이 나타났음을 의미하며, 0은 병변이 없음을 나타낸다.

표 5

라트 독성 스코어링을 위한 기준

관측 항목	스코어				2 주 후 회복 여부	
	N (0)	Y (1-4)			N	Y
신경독성	0	-10				
체중 손실율	≥20%	≥15%	≥10%	<10%		
	0	5	10	20	-5	0
WBC 감소율	≥50%	≥25%	≥10%	<10%		
	0	5	10	20	-5	0
혈소판 감소율	≥75%	≥50%	≥25%	<25%		
	0	5	10	20	-5	0
AST 상승율	≥2Xcont.	≥1.5Xcont	≥1.25Xcont	<1.25Xcont		
	0	5	10	20		
ALT 상승율	≥2Xcont	≥1.5Xcont	≥1.25Xcont	<1.25Xcont		
	0	5	10	20		
BUN 상승율	≥2Xcont	≥1.5Xcont	≥1.25Xcont	<1.25Xcont		
	0	5	10	20		
수양성/이원성 설사	N	Y				
	5	0				
혈성/점액성 설사	N	Y				
	5	0				

최대 스코어 (각 라트) = 130

Avg = 3개 군의 평균값

cont - 대조군

AST - 아스파르테이트 아미노트랜스퍼라제 (AST)

PTL - 혈소판

WBC - 백혈구

군 스코어 = 라트 3 마리의 평균값/13

Wt Avg = (Σ(용량 × 군 스코어))/24

ALT - 알라닌 아미노트랜스퍼라제

BUN - 혈중 요소 질소

[0129]

[0130]

화합물 9091의 경구 투여 라트 독성 연구에 대한 데이터의 샘플이 하기 표 6에 제공되어 있다.

표 6

랫트 독성 스코어로 산정된 샘플 (경구 투여 연구)

		R = 회복					화합물 9091									
용량/ 랫트	Neu Tox	BW	R	WBC	R	AST	ALT	BUN	PT	R	L/W Dia	B/M Dia	총 스코어			
대용량 40 mg/kg																
랫트 1		0	-5	0	0	20	20	20	5	0	0	0	60	60		
랫트 2	-10	0	0	0	0	20	20	10	20	-5	0	0	55	55		
랫트 3	-10	0	-5	0	0	20	20	20	20	0	0	0	65	65		
													AVE	60	180	4.62
중용량 30 mg/kg																
																0
																0
랫트 1		5	0	0	0	20	20	20	20	0	0	0	85	85		
랫트 2		10	0	5	0	20	20	20	20	0	0	0	95	95		
랫트 3	-10	10	0	0	0	20	20	20	20	0	0	0	80	80		
													AVE	86.7	260	6.67
소용량 15 mg/kg																
																0
																0
랫트 1		20	0	5	0	20	20	20	20	0	0	5	110	110		
랫트 2	-10	10	0	0	0	20	20	20	20	0	0	5	85	85		
랫트 3		20	0	0	0	20	20	20	10	0	0	5	95	95		
													AVE	96.7	290	7.44

[0131]

[0132]

랫트에서 경구 및 2가지의 IV 투여 요법에 대한 완전한 연구로부터 얻어진 스코어가 하기 표 7에 요약되어 있으며, 종래 개시된 유사체인 화합물 3071과 비교되어 있다. 화합물 3071의 구조는 실시예 9에서 찾아볼 수 있다.

표 7

화합물 9091의 랫트 연구로부터의 독성 스코어 (3071과 비교함)

화합물/용량 →	독성 스코어				
	3mg	9 mg	12 mg	평균값	평균 칭량값
IV 3071	7.7	6	3.2	5.6	4.8
IV 9091	9	7.1	7.8	7.9	7.7
IV 9091	9.5	8.1	6.8	8.1	7.6
화합물	15 mg	30 mg	40 mg	평균값	평균 칭량값
경구 3071	6.2	5.1	1.5	4.3	3.6
경구 9091	7.4	6.7	4.6	6.2	5.8

[0133]

[0134]

실시예 7

[0135]

마우스 이중이식편 연구에서의 생체내 효능 평가

[0136]

마우스 이중이식편 연구의 해석을 간략화하기 위해, 상기 실시예 4 및 5에 기재된 마우스 이중이식편 연구로부터 효능 스코어를 유도하였다.

[0137]

$$\text{스코어} = 10 * (\text{TWd1} - \text{TWdn}) / \text{TWd1}$$

[0138]

식 중, TWd1은 1일차 종양 중량이고, TWdn은 10일차 또는 그 이후의 최저 종양 중량이다.

[0139]

따라서, 완전 회귀의 경우에 최고 스코어는 10일 것이다. 화합물 9091에 대한 결과는 하기 표 8A 및 8B에 요약되어 있으며, 동류물인 3071 및 3102에 대한 값들과 비교되어 있다.

화학식 8A

마우스 이종이식편 연구 (60 및 120 mg/kg의 단일 용량으로 경구 투여)에서 9091과 3071의 효능 비교

화합물	종양	용량	스코어
3071	Panc-1	60	5.8
3071	Panc-1	120	7.3
3071	HT29	60	6.3
3071	HT29	120	7.5
9091	Panc-1	60	8.3
9091	Panc-1	120	9.1
9091	HT29	60	4.3
9091	HT29	120	8.7

[0140]

화학식 8B

마우스 이종이식편 연구 (단일 용량으로 IV 투여)에서 9091과 3102의 효능 비교

화합물	종양	용량	스코어
3102	Panc-1	60	2.6
3102	Panc-1	120	5.3
3102	HT29	60	1.3
3102	HT29	120	5.3
9091	Panc-1	60	7.7
9091	Panc-1	120	8.6
9091	HT29	60	8
9091	HT29	120	8.7

[0141]

[0142]

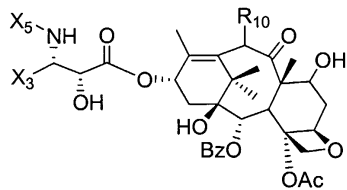
실시예 9

[0143]

효능 및 독성 데이터의 비교

[0144]

하기 화학식을 갖는 유사 화합물들에 대한, 래트 독성 연구로부터의 스코어 및 세포 증식 연구로부터의 추가의 효능 데이터가 하기 표 9에 제공되어 있다.



[0145]

[0146]

화합물 9091을 제외한, 표 9에 수록된 모든 화합물은 PCT 공보 WO 01/57032에 개시되어 있다.

표 9

독성 데이터의 비교 요약

화합물	X ₅	X ₃	R ₁₀	HCT116 IC ₅₀ , nM	VM46 IC ₅₀ , nM	랫 독성 스코어 (IV)	랫 독성 스코어 (PO)
파클리탁셀	PhCO	Ph	AcO	2.1	20.0		
도세탁셀	tBuOCO	Ph	OH	0.6	6.7		
0843	tBuOCO	2fu	cproCOO	0.24	0.86	0	0
0854	tBuOCO	2th	cproCOO	0.05	0.09	1	0
2781	tBuOCO	3fu	cproCOO	0.18	1.91	1	0
2794	tBuOCO	3th	cproCOO	0.28	2.03		
2802	tBuOCO	2py	cproCOO	0.30	3.32		
2813	tBuOCO	4py	cproCOO	0.05	8.22		
3071	iPrOCO	2th	cproCOO	0.17	1.51	5	4
3102	iBuOCO	2fu	cproCOO	0.33	1.49	6	6
3129	iBuOCO	2th	cproCOO	1.53	2.88		
3132	nPrCO	2th	cproCOO	0.37	5.33		
3677	EtOCO	2fu	cproCOO	0.30	18.56		
3853	iPrOCO	2fu	cproCOO	0.08	0.99	1	1
4051	EtOCO	2th	cproCOO	0.30	1.62		5
4062	nPrCO	2fu	cproCOO	0.59	7.64		
4665	iBuOCO	3fu	cproCOO	2.13	28.45		
5011	iBuOCO	3th	cproCOO	2.99	8.47		
9091	iPrOCO	2th	cpentCOO	0.63	1.87	8, 8	6

[0147]

[0148]

상기 기재된 연구 결과는 화합물 9091이 여러 종양주에 대해 효과적인 작용제 부류에 속한다는 것을 나타낸다. 동류물과 비교시, 화합물 9091은 정맥내 투여시 랫 독성 프로파일이 가장 우수함을 입증하였다. 화합물 9091은 경구 랫 연구에서 독성 프로파일이 가장 우수하였을 뿐 아니라, 단일 용량의 경구 이중이식편 연구에서도 화합물 3071보다 효능이 우수하였고, 단일 용량의 IV 이중이식편 연구 (60 mg/kg 및 120 mg/kg의 용량)에서도 화합물 3102 (또다른 동류물)보다 효능이 훨씬 우수하였다.

[0149]

따라서, 화합물 9091은 경구 및 IV 투여를 위한 안전하고 효과적인 항-종양제로서의 가능성을 갖는다.

도면의 간단한 설명

[0012]

도 1은 Panc-1 연구 (경구 q4d × 4 용량)에서 화합물 9091로 처리된 마우스에 대한 중앙값 (median) 종양 증식 곡선 (화합물 3071로 처리된 마우스와 비교함)을 도시한다.

[0013]

도 2는 HT29 연구 (경구 q4d × 4 용량)에서 화합물 9091로 처리된 마우스에 대한 중앙값 종양 증식 곡선 (화합물 3071로 처리된 마우스와 비교함)을 도시한다.

[0014]

도 3은 HT29 연구 (60 mg/kg의 경구 단일 용량)에서 화합물 9091로 처리된 마우스에 대한 중앙값 종양 증식 곡선을 도시한다.

[0015]

도 4는 Panc-1 연구 (60 mg/kg 및 120 mg/kg의 경구 단일 용량)에서 화합물 9091로 처리된 마우스에 대한 중앙값 종양 증식 곡선을 도시한다.

[0016]

도 5는 HT29 연구에서 IV 용량의 화합물 9091로 처리된 마우스에 대한 중앙값 종양 증식 곡선 플롯을 도시한다.

[0017]

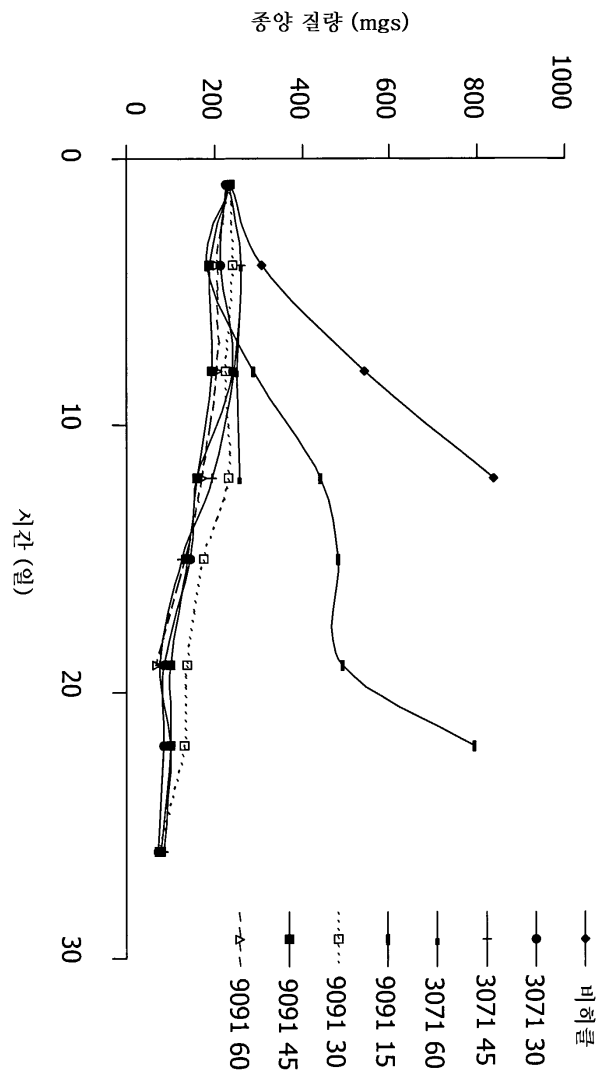
도 6은 HT29 연구에서, 5%E-95%I-20, 5%ET (염수 중) 및 5%EC (염수 중) 중의 비히클 또는 IV 용량 (q4d × 4)의 화합물 9091로 처리된 마우스에 대한 중앙값 종양 증식 곡선을 도시한다 [E - 에탄올 ; I - 인트라 리피드 (intralipid); T - 트윈 (tween); C - 크레모포르 (cremophor); 예를 들어, 5%EC (염수 중)는 염수 중의 에탄올 (5%) 및 크레모포르 (5%)임].

[0018]

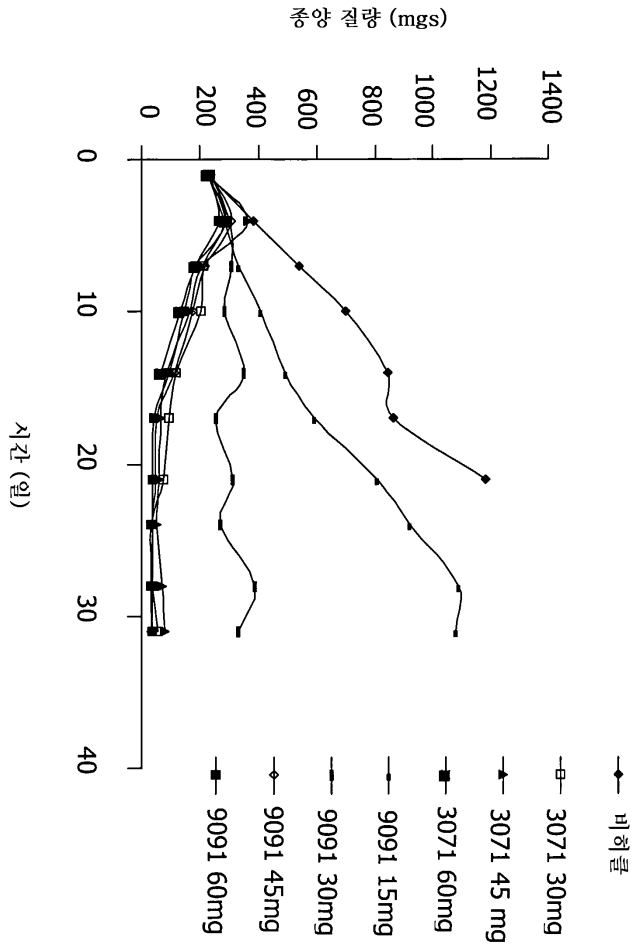
도 7은 Panc-1 연구에서 IV 용량의 화합물 9091로 처리된 마우스에 대한 중앙값 종양 증식 곡선을 도시한다.

도면

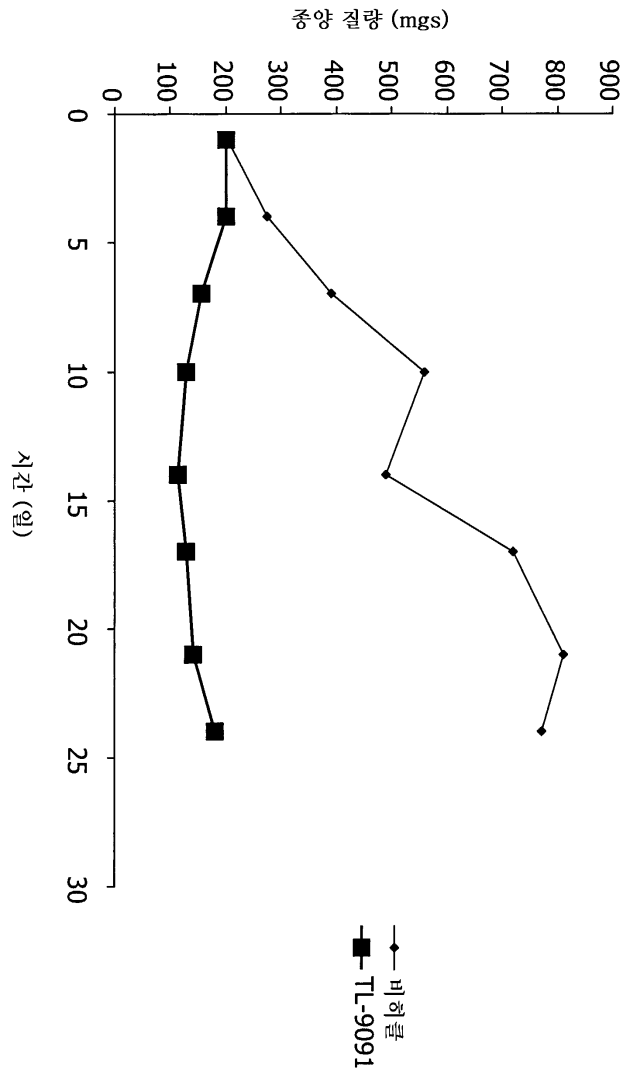
도면1



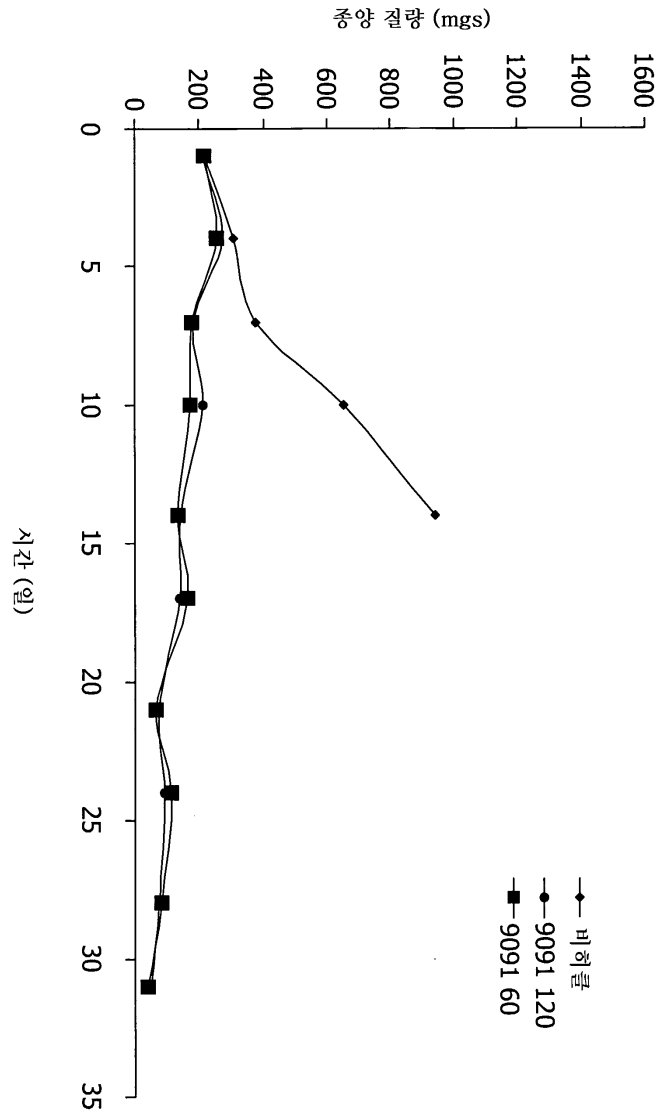
도면2



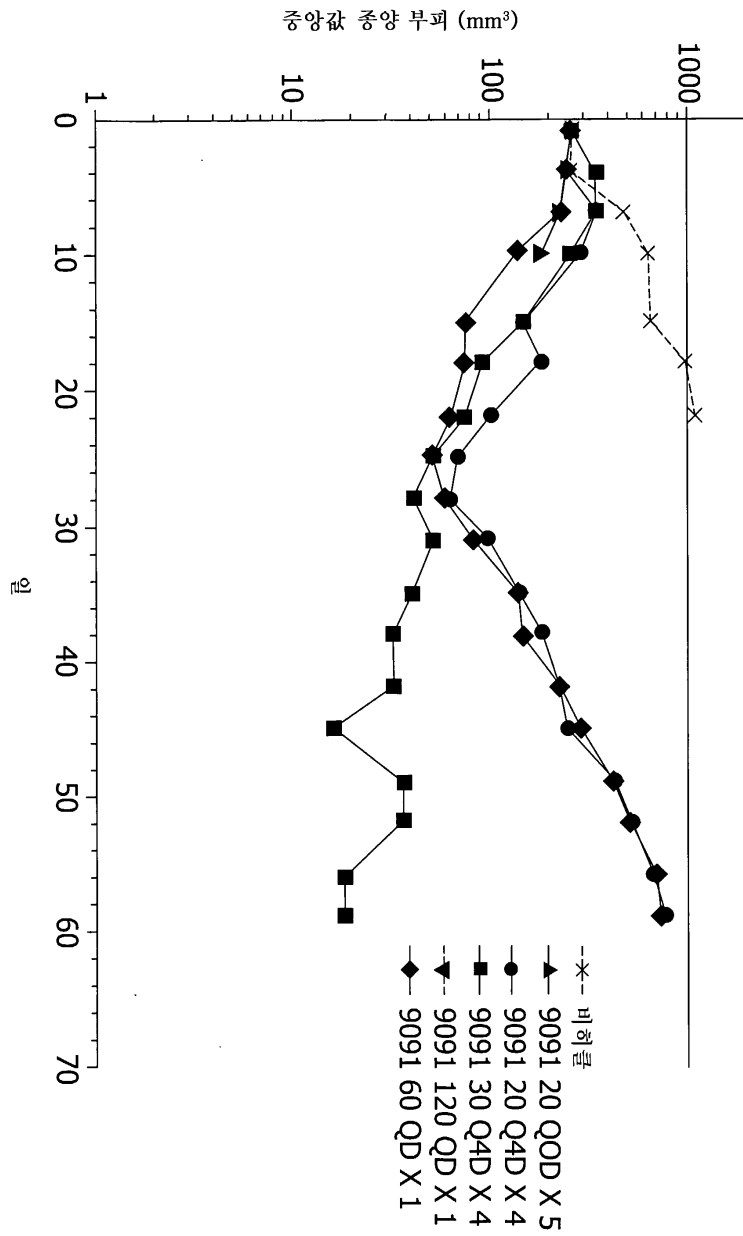
도면3



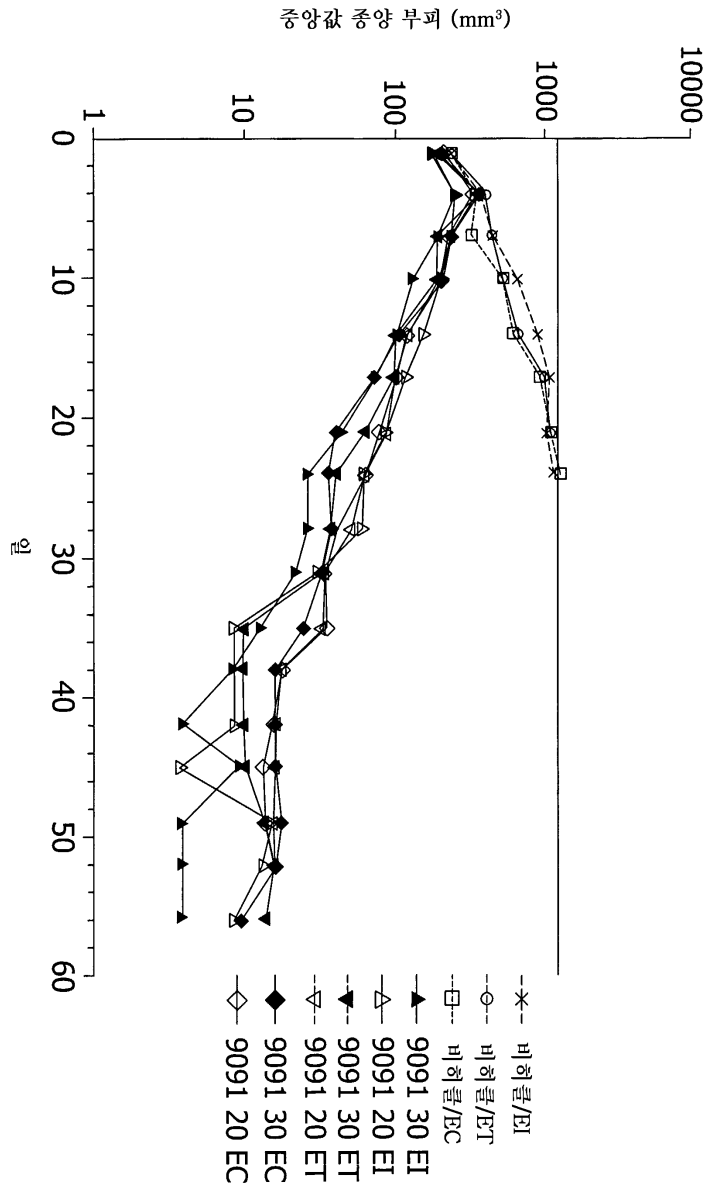
도면4



도면5



도면6



도면7

