



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2010년12월30일
(11) 등록번호 10-1005367
(24) 등록일자 2010년12월24일

(51) Int. Cl.
A61K 31/41 (2006.01) *A61P 7/02* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2004-7018282
(22) 출원일자(국제출원일자) 2003년05월13일
심사청구일자 2008년05월13일
(85) 번역문제출일자 2004년11월12일
(65) 공개번호 10-2005-0000532
(43) 공개일자 2005년01월05일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2003/004997
(87) 국제공개번호 WO 2003/094915
국제공개일자 2003년11월20일
(30) 우선권주장
60/380,373 2002년05월14일 미국(US)
60/395,014 2002년07월11일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
Xenobiotica 1997, 27(1), pp. 59-71
Journal of cardiovascular pharmacology, 2000,
35(6), pp. 906-913
Journal of hypertension, 1999, 17(3), pp.
447-452

(73) 특허권자
노파르티스 아게
스위스 체하-4056 바젤 리히트스트라쎄 35
(72) 발명자
말리닌, 알렉스
미국 21030 메릴랜드주 록키스빌 세다베일 코트
12
서렘루안니, 빅터, 엘.
미국 21794 메릴랜드주 웨스트 프렌드십 로버 밀
로드 14110
웹, 랜디, 리.
미국 08822 뉴저지주 플레밍톤 허니만 드라이브
17
(74) 대리인
장수길, 김영

전체 청구항 수 : 총 3 항

심사관 : 성선영

(54) 발사르탄 또는 그의 대사산물의 혈소판 응집 억제 용도

(57) 요약

본 발명은 치료상 유효량의 ARB 또는 그의 대사산물 (특히, 발사르탄 및 그의 대사산물인 발레틸 4-히드록시 발사르탄)을 투여하는 것을 포함하는 혈소판 응집을 억제하는 방법에 관한 것이다. 혈소판 응집 억제에 의해 치료되는 증상으로는 급성 심근경색증, 허혈성 뇌졸중, 협심증, 급성 관상동맥 증후군, TIA (일과성 뇌허혈 발작 또는 급성 뇌혈관 증후군), 심부전증, 허혈성 병인에 의한 가슴 통증, X 증후군, 혈전색전증, 폐고혈압, 진성 당뇨병, 말초혈관 질환, 심부정맥 혈전증, 임의 혈관의 동맥 혈전증, 카테터 혈전성 폐색 또는 재폐색이 있다.

특허청구의 범위

청구항 1

치료상 유효량의 대사산물인 발레릴 4-히드록시 발사르탄 또는 그의 제약상 허용되는 염, 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는, 혈소판 응집을 억제하기 위한 제약 조성물.

청구항 2

치료상 유효량의 대사산물인 발레릴 4-히드록시 발사르탄 또는 그의 제약상 허용되는 염을 포함하는, 혈소판 응집에 의해 매개되는 증상을 예방, 진행 지연 또는 치료하기 위한 제약 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서, 혈소판 응집에 의해 매개되는 증상이 급성 심근경색증, 허혈성 뇌졸중, 협심증, 급성 관상동맥 증후군, TIA (일과성 뇌허혈 발작 또는 급성 뇌혈관 증후군), 심부전증, 허혈성 병인에 의한 가슴 통증, X 증후군, 혈전색전증, 폐고혈압, 진성 당뇨병, 말초혈관 질환, 심부정맥 혈전증, 임의 혈관의 동맥 혈전증, 카테터 혈전성 폐색 또는 재폐색인 제약 조성물.

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

명세서

배경 기술

[0001] 발사르탄은 혈관 확장을 초래하는 AT₁ 수용체에 대한 안지오텐신 II의 결합을 선택적으로 차단하고, 알도스테론 분비를 저하시킨다. 최근의 임상 연구는 급성 혈관성 질환을 경험한 환자 코호트 (cohort)에서 발사르탄의 추가 이점을 밝혀내었다. 혈소판 활성화가 관상동맥 및 뇌혈관 폐색의 발병에 중요한 역할을 하며, AT₁ 수용체가 혈소판 표면에 존재한다는 사실을 고려하여, 발사르탄 및 그의 주요 간 대사산물인 발레릴 4-히드록시 발사르탄이 혈소판에 미치는 시험관내 효과를, 혈관성 질환에 대한 다수의 위험 인자를 가진 대상체에서 평가하였다.

[0002] <도면의 간단한 설명>

[0003] 하기 도면은 본 발명의 특정 실시양태를 나타낸다. 이들은 설명을 위한 것일 뿐, 본원에 게시된 본 발명을 달리 제한하지는 않는다.

[0004] 도 1 A-C. (A) 기준값에서, (B) 100 μM 발사르탄과 함께 인큐베이션한 후에, 및 (C) 1 μM 발레릴 4-히드록시 발사르탄과 함께 인큐베이션한 후에 연구 환자로부터 실제로 스캐닝된 혈소판 응집 곡선. 고농도의 발사르탄이 에피네프린에 의해 유도된 응집성에는 영향을 미치지 않고 ADP에 의해 유도된 응집을 유의하게 억제 (B)한 반면, 대사산물은 치료 농도 범위에서 에피네프린에 의해 유도된 응집을 차단 (C)하였다.

[0005] <발명의 요약>

[0006] 본 발명의 한 측면은 치료상 유효량의 안지오텐신 II 수용체 차단제 ("ARB") (바람직하게는, 발사르탄) 또는 그의 제약상 허용되는 염을, 임의로는 제약상 허용되는 담체의 존재하에 혈소판 응집 억제가 필요한 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 혈소판 응집을 억제하는 방법에 관한 것이다.

[0007] 본 발명의 다른 실시양태는 치료상 유효량의 ARB의 대사산물 (특히, 발사르탄의 대사산물인 발레릴 4-히드록시 발사르탄)을, 임의로는 제약상 허용되는 담체의 존재하에 혈소판 응집 억제가 필요한 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 혈소판 응집을 억제하는 방법에 관한 것이다.

[0008] 본 발명의 다른 측면에서는, ARB 또는 ARB의 대사산물을 혈소판 응집 관련 증상의 치료가 필요한 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 혈소판 응집 관련 증상을 치료하는 방법이 제공된다. 혈소판 응집 관련 증상으로는 급성 심근경색증, 허혈성 뇌졸중, 협심증, 급성 관상동맥 증후군, TIA (일과성 뇌허혈 발작 또는 급성 뇌혈관 증후군), 심부전증, 허혈성 병인에 의한 가슴 통증, X 증후군, 혈전색전증, 폐고혈압, 진성 당뇨병, 말초혈관 질환, 심부정맥 혈전증, 임의의 관의 동맥 혈전증, 카테터 혈전성 폐색 또는 재폐색이 있다.

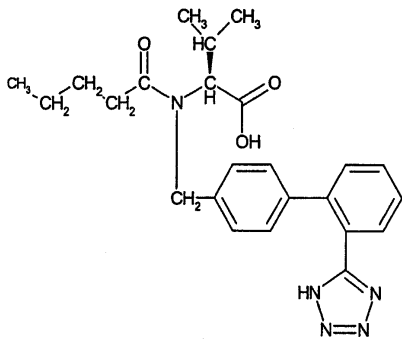
[0009] 본 발명의 다른 측면은 ARB 또는 ARB의 대사산물, 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 조성물에 관한 것이다.

발명의 상세한 설명

[0010] AT₁-수용체 길항제 (안지오텐신 II 수용체 길항제로도 불림)는 안지오텐신 II 수용체의 AT₁-수용체 서브타입에 결합하지만 수용체를 활성화시키지는 않는 활성 성분일 것으로 이해되고 있다. AT₁ 수용체를 억제하기 때문에, 이들 길항제는 예를 들어 혈소판 응집의 예방 및 혈소판 응집 관련 증상의 치료에 사용될 수 있다.

[0011] AT₁ 수용체 길항제 군은 구조적 특성이 다른 화합물을 포함하며, 본질적으로 바람직하게는 비-펩티드성인 화합물이다. 본 발명의 범위에 속하는 ARB로는 발사르탄이 있으며, 발사르탄은 AT₁ 수용체 길항제인 하기 화학식 (I)의 (S)-N-(1-카르복시-2-메틸-프로프-1-일)-N-펜타노일-N-[2;(1H-테트라졸-5-일)비페닐-4-일-메틸]아민으로 EP 0443983 A와 미국 특허 제5,399,578호 (이들 문헌은 본원에 일일이 나열된 바와 같이 그 전문이 본원에 포함되는 것으로 간주함)에 개시되어 있다.

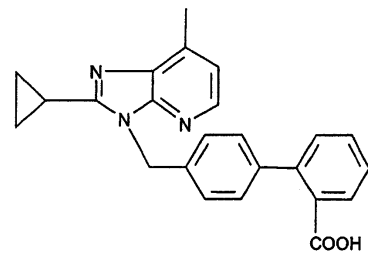
화학식 I



[0012]

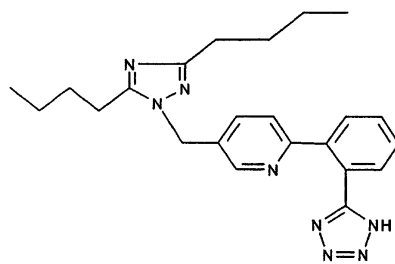
[0013]

다른 ARB 화합물로는 로사르탄, 칸데사르탄, 에프로사르탄, 이르베사르탄, 사프리사르탄, 타소사르탄, 텔미사르탄, 올메사르탄, 졸라사르탄 (1-[[3-브로모-2-[2-(1H-테트라졸-5-일)페닐]-5-벤조-푸라닐]메틸]-2-부틸-4-클로로-1H-이미다졸-5-카르복실산), 및 3-(3-브로모-2-[2-(1H-테트라졸-5-일)-페닐]-벤조푸란-5-일 메틸)-2-부틸-5-클로로-3H-이미다졸-4-카르복실산, 메틸 2-[[4-부틸-2-메틸-6-옥소-5-[[2'-(1H-테트라졸-5-일)[1,1'-비페닐]-4-일]메틸]-1(6H)피리미디닐]메틸]-3-티오펜카르복실레이트 (LR-B/081로도 공지되어 있음) 및 메틸 2-[[4-부틸-2-메틸-6-옥소-5-[[2'-(1H-테트라졸-5-일)[1,1'-비페닐]-4-일]메틸]-1(6H)-피리미디닐]메틸]-3-티오펜카르복실레이트 (3k로도 공지되어 있음), 3-위치에 (카르복시헤테로아릴)메틸 잔기가 도입된 LR-B/081 (루소파르마코; Lusofarmaco), 2,7-디에틸-5-[[2'-(1H-테트라졸-5-일)비페닐-4-일]메틸]-5H-피라졸로[1,5-b][1,2,4]-트리아졸 칼륨 염 (문헌 [Biol Pharm Bull 2000 Feb; 23(2):174-81]에 개시된 YM 358 (야마노우치; Yamanouchi), 문헌 [Thromb Res 2002 Mar 15; 105(6):531-6]에 개시된 L-158,809, 문헌 [J Cardiovasc Pharmacol 1995 Jan; 25(1):22-9]에 개시된 KT3 671, 문헌 [J Cardiovasc Pharmacol 1998 Apr; 31(4):568-75]에 개시된 TA 606, 문헌 [Fundam Clin Pharmacol 1997; 11(5):395-401]에 개시된 TH 142177, 문헌 [Br J Pharmacol 1997 Feb;



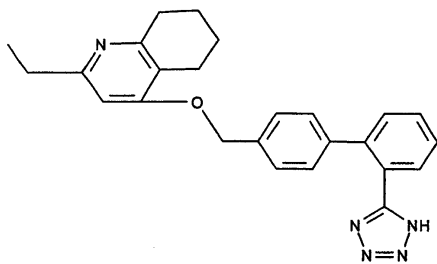
120(3):488-94]에 개시된 UP 269-6으로도 공지되어 있음), 화학식

의 E-



1477로 명명된 화합물, 화학식

의 SC-52458로 명명된 화합물, 및 화학식

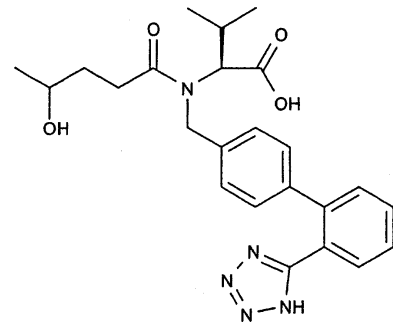


의 ZD-8731로 명명된 화합물, 또는 각각의 경우에 이들의 제약상 허용되는 염이 있으나 이에 한정되지는 않는다.

[0014]

놀랍게도, ARB의 대사산물이 또한 혈소판 응집을 유의하게 감소시킨다는 것이 밝혀졌다. ARB의 대사산물로는

- [0015] 2-n-부틸-4-클로로-1-[(2'-(1H-테트라졸-5-일)-비페닐-4-일)메틸]이미다졸-5-카르복실산 히드로클로라이드 (문헌 [J Pharmacol Exp Ther 1990 Oct; 255(1):211-7]에 개시된 EXP-3174로도 명명됨) 및 문헌 [J Chromatogr 1992 Jan 17; 573(2):295-301]에 개시된 EXP3174(II) 대사산물인 로사르탄의 대사산물;
- [0016] (1) 이르베사르탄의 테트라졸 N2-베타-글루쿠로나이드 컨주게이트, (2) 부틸 측쇄의 오메가-1 산화로부터 생성된 모노히드록실화된 대사산물, (3,4) 스피로시클로펜탄 고리의 산화로부터 생성된 두 가지 상이한 모노히드록실화된 대사산물, (5) 부틸 측쇄의 오메가-1 산화 및 스피로시클로펜탄 고리 산화로부터 생성된 디올, (6) 오메가-1 모노히드록시 대사산물의 추가 산화로부터 생성된 케토 대사산물, (7) 디올의 오메가-1 히드록실의 추가 산화로부터 생성된 케토-알코올, 및 (8) 부틸 측쇄의 말단 메틸 기의 산화로부터 생성된 카르복실산 대사산물 (문헌 [Drug Metab Dispos 1998 May; 26(5):408-17]에 개시됨)인 이르베사르탄의 대사산물;
- [0017] 칸데사르탄 (2-에톡시-1-[[2'-(1H-테트라졸-5-일)비페닐-4-일]메틸]-1H-벤즈이미다졸-7-카르복실산)인 칸데사르탄 실렉세틸의 대사산물 (문헌 [Clin Pharmacokinet 2002; 41(1):7-17], [J Chromatogr B Biomed Sci Appl 1999 Aug 20; 731(2):411-7] 및 [J Hum Hypertens 1997 Sep; 11 Suppl 2:S19-25]에 개시된 CV 11974 및 CV-15959로도 공지되어 있음);
- [0018] 문헌 [Drug Metab Dispos 1999 Oct; 27(10):1143-9]에 개시된 텔미사르탄 1-O-아실글루쿠로나이드인 텔미사르탄의 대사산물;
- [0019] 문헌 [J Hypertens Suppl 2001 Jun; 19 Suppl 1:S21-32]에 개시된 올메사르탄 또는 CS866인 올메사르탄 메독소밀의 대사산물;
- [0020] 문헌 [Pharmacotherapy 1999 Apr; 19(4 Pt 2):73S-78S]에 개시된 글루쿠로나이드인 에프로사르탄의 대사산물;
- [0021] 문헌 [J Pharmacol Exp Ther 2000 Nov; 295(2):649-54]에 개시된 에놀타소사르탄 및 문헌 [J. Med. Chem. 1998, Oct. 22, 41(22), 4251-60]에 개시된 5 가지 다른 대사산물인 타소사르탄의 대사산물;
- [0022] 문헌 [J Pharm Biomed Anal 1994 Sep; 12(9):1181-7] 및 [J Pharm Biomed Anal 1994 Sep; 12(9):1181-7]에 개시된 글루쿠론산 컨주게이트 및 생체변환 관련 산물 5 가지 (이 중 3 가지는 지방족 측쇄 상에서 히드록실화되고, 1 가지는 케톤으로 추가 산화되었으며, 나머지 1 가지는 페닐 고리 상에서 히드록실화되어 있음)인 졸라사르탄의 대사산물;
- [0023] ZD-8731의 대사산물;
- [0024] (5-[(3,5-디부틸-1H-1,2,4-트리아졸-1-일)메틸]-2-[2-(1H-테트라졸-5-일페닐)]피리딘)의 대사산물 (문헌 [J Cardiovasc Pharmacol 1993 Oct; 22(4):617-25]에 개시된 SC-52458로도 공지되어 있음); 및
- [0025] 하기 ARB, 즉 ZD-8731 (제네카; Zeneca), 메틸 2-[[4-부틸-2-메틸-6-옥소-5-[[2'-(1H-테트라졸-5-일)[1,1'-비페닐]-4-일]메틸]-1(6H)-피리미디닐]메틸]-3-티오펜카르복실레이트 (LR-B/081로도 공지되어 있음) 및 메틸 2-[[4-부틸-2-메틸-6-옥소-5-[[2'-(1H-테트라졸-5-일)[1,1'-비페닐]-4-일]메틸]-1-(6H)-피리미디닐]메틸]-3-티오펜카르복실레이트 (3k로도 공지되어 있음), 3-위치에 (카르복시테로아릴)메틸 잔기가 도입된 LR-B/081 (루소파르마코), 2,7-디에틸-5-[[2'-(1H-테트라졸-5-일)비페닐-4-일]메틸]-5H-피라졸로[1,5-b][1,2,4]-트리아졸 칼륨 염 (문헌 [Biol Pharm Bull 2000 Feb; 23(2):174-81]에 개시된 YM 358 (야마노우치), 문헌 [Thromb Res 2002 Mar 15; 105(6):531-6]에 개시된 L-158,809, 문헌 [J Cardiovasc Pharmacol 1995 Jan; 25(1):22-9]에 개시된 KT3 671, 문헌 [J Cardiovasc Pharmacol 1998 Apr; 31(4):568-75]에 개시된 TA 606, 문헌 [Fundam Clin Pharmacol 1997; 11(5):395-401]에 개시된 TH 142177 및 문헌 [Br J Pharmacol 1997 Feb; 120(3):488-94]에 개시된 UP 269-6으로도 공지되어 있음)의 대사산물이 있다.
- [0026] 문헌 [Waldmeier F., et al., Xenobiotica, 1997, Vol. 27, No. 1, 59-71] (본원에 일일이 나열한 바와 같이



그 전문이 본원에 참고문헌으로 포함된 것으로 간주함)에 개시된 화학식 의
 발레릴 4-히드록시 발사르탄인 발사르탄의 대사산물이 바람직하다. ARB 및 그의 대사산물은 본원에서 "본 발명
 의 화합물"로 언급될 수 있다. 본 발명의 화합물은 치환기의 특성에 따라 하나 이상의 비대칭 중심을 포함할
 수 있다. 생성된 부분입체이성질체, 에난티오머 및 기하이성질체는 본 발명에 포함된다.

- [0027] 출발 물질 및 방법의 선택에 따라, 화합물은 가능한 이성질체 중 한 가지 또는 이들의 혼합물 (예를 들어, 실질적으로 순수한 기하 (시스 또는 트랜스) 이성질체, 광학 이성질체 (거울상체), 라세미체 또는 이들의 혼합물) 형태일 수 있다. 상기 가능한 이성질체 또는 이들의 혼합물은 본 발명의 범위에 포함된다.
- [0028] 생성된 임의의 이성질체 혼합물은 성분들의 물리-화학적 차이에 근거하여, 예를 들어 크로마토그래피 및(또는) 분별 결정화에 의해 순수한 기하 또는 광학 이성질체, 부분입체이성질체, 라세미체로 분리될 수 있다.
- [0029] 최종 산물 또는 중간체에 대해 생성된 임의의 라세미체는 공지된 방법에 의해, 예를 들어 광학적으로 활성인 산 또는 염기와 반응시켜 수득한 이들의 부분입체이성질체 염을 분리하고, 광학적으로 활성인 산성 또는 염기성 화합물을 유리시킴으로써 광학 거울상체로 분할될 수 있다. 이와 같이, 카르복실산 중간체는 예를 들어 D- 또는 L-(알파-메틸벤질아민, 신코니딘, 신코닌, 퀴닌, 퀴니딘, 에페드린, 데히드로아비에틸아민, 브루신 또는 스트리치닌)-염의 분별 결정화에 의해 이들의 광학 거울상체로 분할될 수 있다. 또한, 라세미체 산물은 키랄 크로마토그래피 (예를 들어, 키랄 흡착제를 사용하는 고압 액체 크로마토그래피)에 의해 분할될 수 있다.
- [0030] 마지막으로, 본 발명의 화합물은 유리 형태로, 또는 염 형성 기가 존재하는 경우 그의 염 형태로 수득된다.
- [0031] 본 발명의 산성 화합물은 유리하게는, 에테르성 또는 알코올성 용매 (예컨대, 저급 알칸올)의 존재하에 제약상 허용되는 염기 (예를 들어, 수성 알칼리 금속 수산화물)와의 염으로 전환될 수 있다. 알코올성 용액으로부터, 염은 에테르 (예를 들어, 디에틸 에테르)로 침전될 수 있다. 생성된 염은 산을 처리함으로써 유리 화합물로 전환될 수 있다. 상기 염 또는 다른 염은 또한 수득한 화합물의 정제를 위해 사용될 수 있다.
- [0032] 염기성 기를 갖는 본 발명의 화합물은 산 부가 염, 특히 제약상 허용되는 염으로 전환될 수 있다. 이들은, 예를 들어 미네랄 산 (예를 들어, 황산, 인산 또는 할로겐화수소산 (hydrohalic acid))과 같은 무기 산; 또는 예를 들어 할로겐에 의해 치환되거나 비치환된 (C₁-C₄)-알칸카르복실산 (예를 들어, 아세트산), 포화되거나 불포화된 디카르복실산 (예를 들어, 옥살산, 숙신산, 말레산 또는 푸마르산), 히드록시-카르복실산 (예를 들어, 글리콜산, 락트산, 말산, 타르타르산 또는 시트르산), 아미노산 (예를 들어, 아스파르트산 또는 글루탐산)과 같은 유기 카르복실산; 또는 (C₁-C₄)-알킬-술폰산 (예를 들어, 메탄술폰산) 또는 (예를 들어, 할로겐에 의해) 치환되거나 비치환된 아릴술폰산과 같은 유기 술폰산과 반응하여 형성된다. 염산, 메탄술폰산 및 말레산과 반응하여 형성된 염이 바람직하다.
- [0033] 유리 화합물과 이들의 염 형태의 화합물 사이의 밀접한 관계의 관점에서, 본원에 화합물이 언급될 때마다 상응하는 염이 또한 상황에 따라 가능하거나 적절한 것으로 고려된다.
- [0034] 또한, 화합물 (그의 염 포함)은 또한 그의 수화물 형태로 수득할 수 있거나, 또는 이들의 결정화에 사용된 다른 용매를 포함할 수 있다.
- [0035] 본 발명의 다른 측면은 치료상 유효량의 본 발명의 화합물 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 조성물을 포함한다. 본 발명에 따른 제약 조성물은 공지된 방법에 의해 제조될 수 있으며, 이들은 치료상 유효량의 약리 활성 화합물을 단독으로 포함하거나 또는 1종 이상의 제약상 허용되는 담체와 함께 포함하여 사람을 비롯한 포유동물 (온혈 동물)에게 장 투여 (예를 들어, 경구 또는 직장 투여) 및 비경구 투여하기에 적합하다 (특히, 장 또는 비경구 투여용으로 적합함). 통상적인 경구 투여용 제제로는 정제, 캡슐, 시럽, 엘릭서제 및 현탁액제가 있다. 통상적인 주사 투여용 제제로는 용액제 및 현탁액제가 있다. 제약 조성물은 혈소판 응집에 의해 매개되

는 증상, 특히 급성 심근경색증, 허혈성 뇌졸중, 협심증, 급성 관상동맥 증후군, TIA (일과성 뇌허혈 발작 또는 급성 뇌혈관 증후군), 심부전증, 허혈성 병인에 의한 가슴 통증, X 증후군, 혈전색전증, 폐고혈압, 진성 당뇨병, 말초혈관 질환, 심부정맥 혈전증, 임의 혈관의 동맥 혈전증, 카테터 혈전성 폐색 또는 재폐색의 치료에 사용될 수 있다.

[0036] 상기 기재된 제제에 사용하기 위한 통상적인 제약상 허용되는 담체의 예로는 당 (예를 들어, 락토스, 수크로스, 만니톨 및 소르비톨); 전분 (옥수수 전분, 타피오카 전분 및 감자 전분); 셀룰로스 및 유도체 (예를 들어, 나트륨 카르복시메틸 셀룰로스, 에틸 셀룰로스 및 메틸 셀룰로스); 칼슘 포스페이트 (예를 들어, 디칼슘 포스페이트 및 트리칼슘 포스페이트); 나트륨 술페이트; 칼슘 술페이트; 폴리비닐리롤리돈; 폴리비닐 알코올; 스테아르산; 알칼리 토금속 스테아레이트 (예를 들어, 마그네슘 스테아레이트 및 칼슘 스테아레이트); 스테아르산; 식물성 오일 (예를 들어, 땅콩 기름, 면실유, 참기름, 올리브유 및 옥수수유); 비-이온성, 양이온성 및 음이온성 계면활성제; 에틸렌 글리콜 중합체; 베타시클로덱스트린; 지방 알코올; 및 가수분해된 시리얼 고체 뿐만 아니라 다른 비-독성인 상용가능한 충전제, 결합제, 붕해제, 완충제, 보존제, 향산화제, 윤활제, 향료제, 및 제약 제제에 통상적으로 사용되는 담체들이 있다.

[0037] 이들 제약 제제는 약리 활성 화합물을 단독으로 또는 통상적인 제약 보조 물질과 함께 포함하는 제제로 항온동물에게 장 투여 (예를 들어, 경구 투여) 및 직장 또는 비경구 투여하기 위한 것이다. 예를 들어, 제약 제제는 약 0.1% 내지 90%, 바람직하게는 약 1% 내지 약 80%의 활성 화합물로 구성되어 있다. 장 또는 비경구 투여용 제약 제제는, 예를 들어 코팅된 정제, 정제, 캡슐 또는 좌약 및 앰플과 같은 단위 투여 형태이다. 이들은 당업계에 공지된 방법으로, 예를 들어 통상적인 혼합, 과립화, 코팅, 가용화 또는 동결건조 방법을 이용하여 제조된다. 이와 같이, 경구 투여용 제약 제제는 활성 화합물을 고형 부형제와 함께 혼합하고, 바람직하다면 수득한 혼합물을 과립화하고, 필요하거나 필수적이라면 이 혼합물 또는 과립에 적합한 보조 물질을 첨가한 후에 정제 또는 코팅된 정제 코어로 가공함으로써 수득할 수 있다.

[0038] ARB (특히, 발사르탄) 및 ARB의 대사산물 (특히, 발레릴 4-히드록시 발사르탄)은 다른 치료제와 함께, 예를 들어 각각 당업계에 보고된 유효 치료 투여량으로 조합할 수 있다. 이러한 치료제로는 헤파린, 와파린, t-PA, 유로키나제, 스트렙토키나제, 아스피린, 티클로피딘 (ticlopidine), 클로피도그렐 (clopidogrel), 아브식시맵 (abciximab), 에프티피바티드 (eptifibatid) 및 티로피반 (tirofiban), 항-고혈압제 및 항-진성 당뇨병제가 있다.

[0039] 활성 화합물의 투여량은 투여 방법, 항온동물의 종, 연령 및(또는) 개체의 상태와 같은 다양한 인자들에 따라 달라질 수 있다.

[0040] 본 발명에 따른 활성 성분의 바람직한 투여량은 치료상 유효 투여량 (특히, 발사르탄에 대하여 상업적으로 이용 가능한 투여량)이다.

[0041] 통상적으로, 본 발명의 화합물은 경구 투여하는 경우, 예를 들어 대략 75 kg 체중의 환자에게 대략 약 0.1 mg 내지 약 360 mg의 일일 투여량이 예상될 것이다.

[0042] 발사르탄은 적합한 단위 투여 형태 (예를 들어, 캡슐 또는 정제)로 공급되며, 이는 환자에게 투여할 수 있는 치료상 유효량 (약 20 내지 약 320 mg)의 발사르탄을 포함한다. 활성 성분은, 예를 들어 발사르탄의 일일 투여량을 20 mg 또는 40 mg에서 출발하여, 이를 일일 80 mg 및 추가로는 일일 160 mg 내지 일일 320 mg까지 증가시켜 하루에 3회 투여할 수 있다. 바람직하게는, 발사르탄을 각각 80 mg 또는 160 mg씩 환자에게 하루에 1 또는 2회 투여한다. 상응하는 투여량을 예를 들어 오전, 오후 또는 저녁에 투여할 수 있다.

[0043] 발레릴 4-히드록시 발사르탄의 경우, 바람직한 투여 단위 형태는 예를 들어 약 50 내지 70 kg의 포유동물에 대하여 발레릴 4-히드록시 발사르탄을 약 1 mg 내지 약 1000 mg, 유리하게는 약 5 mg 내지 약 500 mg, 보다 더 유리하게는 약 20 mg 내지 약 320 mg 포함하는, 예를 들어 정제 또는 캡슐이다 (1일 1회 투여).

[0044] 상기 투여량은 치료상 유효량의 본 발명의 활성 성분을 포함한다.

[0045] 놀랍게도, ARB (특히, 발사르탄) 및 ARB의 대사산물 (특히, 발레릴 4-히드록시 발사르탄) 둘 모두가 시험관내에서 인간 혈소판을 유의하게 억제한다는 것이 밝혀졌다.

[0046] 본 발명의 화합물은 혈소판 응집을 억제하며, 따라서 혈소판 응집에 의해 매개되는 증상, 특히 급성 심근경색증, 허혈성 뇌졸중, 협심증, 급성 관상동맥 증후군, TIA (일과성 뇌허혈 발작 또는 급성 뇌혈관 증후군), 심부전증, 허혈성 병인에 의한 가슴 통증, X 증후군, 혈전색전증, 폐고혈압, 진성 당뇨병, 말초혈관

질환, 심부정맥 혈전증, 임의 혈관의 동맥 혈전증, 카테터 혈전성 폐색 또는 재폐색의 치료에 사용될 수 있다.

[0047] 또한, 본 발명은 혈소판 응집에 의해 매개되는 질환 및 증상, 특히 급성 심근경색증, 허혈성 뇌졸중, 협심증, 급성 관상동맥 증후군, TIA (일과성 뇌허혈 발작 또는 급성 뇌혈관 증후군), 심부전증, 허혈성 병인에 의한 가슴 통증, X 증후군, 혈전색전증, 폐고혈압, 진성 당뇨병, 말초혈관 질환, 심부정맥 혈전증, 임의 혈관의 동맥 혈전증, 카테터 혈전성 폐색 또는 재폐색의 예방, 진행 지연 또는 치료에 사용되는 본 발명에 따른 화합물에 관한 것이다.

[0048] 또한, 본 발명은 본 발명에 따른 화합물의 혈소판 응집에 의해 매개되는 질환 및 장애, 특히 급성 심근경색증, 허혈성 뇌졸중, 협심증, 급성 관상동맥 증후군, TIA (일과성 뇌허혈 발작 또는 급성 뇌혈관 증후군), 심부전증, 허혈성 병인에 의한 가슴 통증, X 증후군, 혈전색전증, 폐고혈압, 진성 당뇨병, 말초혈관 질환, 심부정맥 혈전증, 임의 혈관의 동맥 혈전증, 카테터 혈전성 폐색 또는 재폐색의 예방, 진행 지연 또는 치료용 의약 제조에 있어서의 용도에 관한 것이다.

[0049] 상기-언급된 특성은 하기 방법에 의해 입증되었다: 혈소판 응집, 유세포검사 연구 및 카트리지 기재의 혈소판 분석용 분석기를 위한 혈액 샘플을, 공지된 혈관 위험 인자를 가진 20명의 지원자로부터 획득하였다. 지난 6개월 내에 출혈성 소인의 병력, 뇌졸중 병력, 대수술 또는 심각한 외상을 경험한 적이 있으며, 혈압이 200/110 mm를 초과하는 고혈압 참여자는 연구에서 제외시켰다. 연구 참여자 중 누구에게도 아스피린 또는 다른 항-혈소판제를 투여하지 않았다. 30분 이상 휴식을 취하게 하고, 2시간 이상 금식시킨 후에 모든 대상체로부터의 혈액을 샘플링하였다. 임의의 일조 영향을 배제시키기 위해 오전 8시와 10시 사이에 혈액을 채취하였다. 3.8% 시트르산 나트륨 (1:9 부피)을 함유하는 21-게이지 버터플라이 바늘을 사용하여 전주 (antecubital) 정맥으로부터 방출되는 혈액의 처음 1.5 ml를 폐기한 후에 샘플링하였다. 11개의 베큐테이너 (Vacutainer) 튜브 (4.5 ml)에 총 49 ml의 전혈-시트레이트 혼합물을 각각의 연구 참여자로부터 수집하였다. 한 튜브는 내부 대조군으로 남겨 완충 용액과 함께 인큐베이션하였다. 10 nM, 100 nM, 1 μM, 10 μM 및 100 μM의 화합물 최종 농도를 달성하도록 5개의 튜브를 발사르탄과 함께 37 °C에서 60분 동안 인큐베이션하였다. 남은 5개의 튜브를 10 nM, 100 nM, 1 μM, 10 μM 및 100 μM의 농도를 달성하도록 발레틸 4-히드록시 발사르탄의 양을 증가시키면서 위와 유사하게 인큐베이션하였다. 치료 혈장 수준보다 낮은 수준에서부터 현저하게 높은 수준의 범위에 해당하는 발사르탄과 발레틸 4-히드록시 발사르탄의 농도가 발사르탄 치료를 받는 환자에서 관찰되었다. 160 mg을 섭취한 후에 발사르탄의 혈장 피크 농도는 7.5 μM만큼 높이 도달할 수 있지만, 발레틸 4-히드록시 발사르탄의 경우 혈장에서 발사르탄 수준의 10% 수준으로만 나타난다. 발사르탄과 발레틸 4-히드록시 발사르탄의 신선한 용액을 같은 날 오전에 임시 제조하여 혈소판 연구를 수행하였다. 관찰자의 가능한 선입견을 피하기 위해, 혈액 샘플을 코드로만 식별할 수 있게 하였다. 샘플링 과정 및 혈소판 연구는 이들 프로토콜을 인지하지 못하고 있는 개인에서 수행하였다.

[0050] 혈소판 응집

[0051] A. 혈소판-풍부 혈장

[0052] 1시간 이내에 사용하기 위해 실온에서 유지될 혈소판-풍부 혈장 (PRP)을 획득하기 위해 시트르산과 전혈 혼합물을 1200 g에서 5분 동안 원심분리하였다. 콜터 카운터 (Coulter Counter) ZM (플로리다주 하이얼리어 소재의 콜터 사 (Coulter Co.))을 사용하여 각각의 PRP 샘플에 대한 혈소판 수치를 측정하였다. 혈소판 수를 동종 혈소판-결핍 혈장을 사용하여 3.50×10^8 개/ml로 조정하였다. 혈소판 응집 (PA)을 5 μM ADP 및 5 μM 에피네프린으로 유도하였다. 모든 효능제는 크로놀로그 코포레이션 (Chronolog Corporation) (펜실베이니아주 하버타운 소재)로부터 입수하였다. 응집 연구를 4 채널 크로놀로그 루미-응집기 (Chronolog Lumi-Aggregometer) (모델명 560-Ca)를 이용하여 수행하였다. 대조군으로 혈소판-결핍 혈장을 사용하여, 기록 종결 시점에서의 기준값에 대한 최대 광 투과 변화율 (최대%)로 응집을 나타내었다. 응집 곡선을 6분 동안 기록하고, 국제적으로 확립된 표준에 따라 분석하였다 (문헌 [Ruggeri ZM, Semin Hemat 1994; 31:229-239]).

[0053] B. 전혈

[0054] 이 방법은 문헌 [Abbate R, et al., Amer J Clin Pathol 1986; 86:91-96]에 상세하게 기재되어 있다. 요컨대, 전혈 시트레이트 혼합물을 TBS 0.5 ml로 1:1로 희석한 후, 부드럽게 회전시켰다. 교반 막대가 들어있는 큐벳을 인큐베이션 웰에 놓고, 37 °C로 5분 동안 가온하였다. 이어서, 샘플을 분석 웰로 옮겼다. 전극을 샘플 큐벳에 설치하였다. 혈소판 응집을 1 μg/ml 콜라겐으로 자극하였다. 혈소판 응집 연구를 아그로링크 (Aggrolink) 소프트웨어를 사용하는 크로놀로그 전혈 응집기 (Chrono-Log Whole Blood Aggregometer)를 이용하여 수행하였다.

혈소판 응집도를 전기 임피던스의 변화로 나타내었으며, 그 단위는 옴 (ohm)이다.

- [0055] 전혈 유세포검사
- [0056] 하기 모노클로날 항체를 사용하여 혈소판 수용체의 발현을 측정하였다: CD31 (혈소판 내피 세포 유착 분자 (PECAM-1), CD41 (당단백질 [GP]IIb/IIIa, (I Ib (3), CD42b (GP Ib), CD51/CD61 ((v(3, 또는 비트로넥틴 수용체), CD62p (P-셀렉틴), CD107a (리소좀 관련 막 단백질-1; LAMP-1), CD107b (LAMP-2), CD151 (혈소판/내피 테트라스판 항원-3; PETA-3), 및 피브리노겐-혈소판에 대한 PAC-1 (캘리포니아주 샌 디에고 소재의 파르밍겐사 (PharMingen)). 단핵구/대식세포 마커인 CD14와 함께 판(pan)-혈소판 마커 (CD151)에 대한 이중 항체를 사용하여 혈소판-백혈구 상호작용을 평가하였다. 혈액-시트레이트 혼합물 (50 μ l)을 Tris 완충 염수 (TBS) (10 mmol/L Tris, 0.15 mol/L 염화나트륨) 450 μ l로 희석하고, 에펜도르프 튜브를 2회 부드럽게 전도시켜 혼합하였다. 이어서, 상응하는 항체 5 μ l를 각각의 용액에 첨가하고, 샘플을 30분 동안 인큐베이션하였다. 인큐베이션 후에, 2% 완충 파라포름알데히드 400 μ l를 첨가하여 고정시켰다. 형광 광산란을 측정하도록 설정된 벡톤 디킨슨 (Becton Dickinson) FACScan 유세포시험기로, 문헌 [Gurbel PA, et al., J Am Coll Cardio. 1998;31:1466-1473]에 기재된 바와 같이 샘플을 분석하였다. 데이터를 목록 형식의 파일로 수집한 후, 이를 분석하였다. 문헌 [Gurbel PA, et al, Am Heart J 2000; 139: 320-328]에 기재된 바와 같이, P 셀렉틴은 양성 세포의 비율로 나타내었다. 다른 항원은 평균 형광 강도의 로그값으로 나타내었다.
- [0057] 카트리지 기재의 혈소판 분석기
- [0058] 혈소판 기능 분석기 (PA-100', 일리노이주 디어필드 소재의 데이드 베어링사 (Dade Behring))는 혈액이 흐르는 조건하에서 작은 혈관에 대한 손상 후 일차적인 지혈의 변화를 자극하는 장치이다 (문헌 [Kundu SK, et al., Semin Thromb Hemost 1995; 21(Suppl 2):106-112]). 혈관 천공의 폐색에 필요한 시간은 전단에 의해 유도된 혈소판 응집 측정치로서 디지털 방식으로 기록하였다. 혈관 폐쇄 시간 측정은 2회 수행하였다.
- [0059] 동결건조된 인간 피브리노겐-코팅된 미세입자로 코팅된 폴리스티렌 비드 카트리지를 사용하고, 효능제로서 프로 필 갤러트 (gallat)를 사용하는 고속 혈소판-기능 분석 카트리지 시험 (RPFA-ASA, 미국 캘리포니아주 샌 디에고 소재 아큐메트릭스사 (Accumetrics, Inc.)의 울테그라 (등록상표, Ultegra)을 수행하였다. 전혈 시트레이트 혼합물을 카트리지에 첨가하고, 혈소판과 코팅된 비드 사이의 응집을 기록하였다. 이 데이터는 혼탁도에 기초한 혈소판 응집을 반영하고, 혈소판 프로스타글란딘 차단 정도를 반영하였다 (문헌 [Smith JW, et al., Circulation 1999; 99:620-625]). 울테그라 (등록상표) 분석을 2회 수행하였다. 전자 품질 제어 실험은 임의의 대상 샘플 상에서 수행하기 전에, 사용하는 날마다 각각의 기기 상에서 수행하였다.
- [0060] 통계 분석
- [0061] 모든 비교값을 스튜던트 (Student) t-시험에 의해 계산하여, 혈소판 응집에 대한 차이 비율, 울테그라 (등록상표)와 Dade-PFA 100 (상표명)의 결과에 대한 차이 비율, 및 기준 시점/발사르탄과 발레릴 4-히드록시 발사르탄 인큐베이션 후 사이의 수용체 발현에 대한 차이 비율을 확인하였다. 만-위트니 (Mann-Whitney) U 시험을 이용하여 비-파라메트릭 데이터를 분석하였다. 정규 분포된 데이터는 평균 \pm SE로 나타내고, 비정규 (skewed) 데이터는 중간값 (범위)으로 나타내었다. 0.05 미만의 확률값은 통계학상 유의한 것으로 간주하였다. 선형 회귀 분석은 통계학적 분석시 SPSS v9.0 프로그램 (일리노이주 시카고 소재의 SPSS 인크 (SPSS Inc.))을 이용함으로써 모든 연구 참가자들에 대해 정규 분포된 데이터를 적용하였다.
- [0062] 혈소판-풍부 혈장에서의 혈소판 응집
- [0063] 발사르탄의 투여량을 단계적으로 증가시키면서 미리 인큐베이션하면, 치료 수준을 초과하는 100 μ M의 농도에서 만 ADP에 의해 유도된 혈소판 응집이 억제되며, 에피네프린에 의해 유도된 혈소판 응집에는 영향을 미치지 않았다. 반면, 발레릴 4-히드록시 발사르탄과 함께 인큐베이션하면, 1 μ M 및 10 μ M의 농도에서 에피네프린에 의해 유도된 응집이 억제되며, ADP에 의해 유도된 응집에는 어떠한 영향도 미치지 않았다. 5 μ M ADP 및 5 μ M 에피네프린에 의해 자극시킨 응집에 대한 대표적인 데이터를 표 1에 나타내었다.

표 1

PRP 혈소판 응집

가변값	발사르탄 (V)	발레릴 4-히드록시 발사르탄 (발레릴 4-히드록시 발사르탄)	
약물 농도	p-값 대 기준값	p-값 대 기준값	p-값 V 대 발레릴 4- 히드록시 발사르탄

5μM ADP에 의해 유도된 혈소판 풍부 혈장 응집(%)

기준값	75±8		75±8		
10 nM	74±6	NS	75±6	NS	NS
100 nM	75±8	NS	76±8	NS	NS
1 μM	76±7	NS	77±9	NS	NS
10 μM	75±8	NS	76±8	NS	NS
100 μM	55±12	0.0002	77±9	NS	0.001

5μM 에피네프린에 의해 유도된 혈소판 풍부 혈장 혈소판 응집(%)

기준값	78±10		78±10		
10 nM	77±11	NS	77±10	NS	NS
100 nM	76±10	NS	76±9	NS	NS
1 μM	78±6	NS	54±11	0.0001	0.0001
10 μM	75±9	NS	56±13	0.001	0.003
100 μM	76±7	NS	52±9	0.0001	0.0001

[0064]

[0065]

[0066]

전혈에서의 혈소판 응집

발사르탄과 발레릴 4-히드록시 발사르탄은 전혈에서 1 M 콜라겐에 의해 유도된 인간 혈소판 응집을 치료 활성의 범위내로 억제하였다. 투여량에 의존하는 효과가 두 화합물 모두에서 관찰되었지만, 발레릴 4-히드록시발사르탄과 미리 인큐베이션하면 혈소판 응집도가 유의하게 감소하였다. 콜라겐에 의해 유도된 혈소판 응집의 결과를 표 2에 나타내었다.

표 2

전혈 혈소판 응집

가변값	발사르탄 (V)	발레릴 4-히드록시 발사르탄 (발레릴 4-히드록시 발사르탄)	
약물 농도	p-값 대 기준값	p-값 대 기준값	p-값 V 대 발레릴 4- 히드록시 발사르탄

콜라겐 1 mg/ml에 의해 유도된 전혈 임피던스 혈소판 응집(ohm)

기준값	29±7		29±7		
10 nM	30±8	NS	32±8	NS	NS
100 nM	30±7	NS	31±9	NS	NS
1 μM	27±7	NS	14±6	0.0001	0.0001
10 μM	29±6	NS	16±8	0.004	0.001
100 μM	20±8	0.02	17±8	0.01	NS

[0067]

[0068]

[0069]

카트리지 기재의 혈소판 기능 분석기 (PFA-100 (상표명) 및 울테그라(등록상표))

혈소판 응집 단위 (울테그라) 감소에 따른 혈관 폐쇄 시간 (PFA)의 일관된 투여량-의존성 지연이 관찰되었으며, 이는 고전단 조건하에서 혈소판이 억제된다는 것을 나타낸다. 전혈 응집 및 에피네프린에 의해 유도된 응집과 유사하게, 발레릴 4-히드록시 발사르탄은 발사르탄보다 강한 항혈소판 특성을 나타내었다. 표 3은 카트리지 기재의 분석기를 사용한 대표적인 실험을 나타내고 있다.

표 3

카트리지-기재 분석기

가변값	발사르탄 (V)	발레릴 4-히드록시 발사르탄 (발레릴 4-히드록시 발사르탄)	
약물 농도	p-값 대 기준값	p-값 대 기준값	p-값 V 대 발레릴 4- 히드록시 발사르탄

에피네프린/콜라겐 카트리지를 사용한 PFA-100 (상표명) 혈관폐쇄 시간(초)*

기준값	201±22		201±22		
10 nM	187±30	NS	179±28	NS	NS
100 nM	209±21	NS	190±24	NS	NS
1 μM	268±19	0.02	259±20	0.03	NS
10 μM	278±20	0.02	257±25	0.04	NS
100 μM	200±27	NS	232±31	NS	NS

울테그라(등록상표)(혈소판 활성화 단위) 분석기

기준값	159±27		159±27		
10 nM	164±16	NS	177±23	NS	NS
100 nM	160±29	NS	181±31	NS	NS
1 μM	129±26	NS	134±29	NS	NS
10 μM	130±31	NS	119±38	NS	NS
100 μM	152±19	NS	168±35	NS	NS

[0070]

[0071] 전혈 유세포검사

[0072] 발사르탄 및 발레틸 4-히드록시 발사르탄과 함께 인큐베이션하면 GP IIb/IIIa (CD41)의 발현 및 피브리노겐 결합 (PAC-1)이 약간 감소하고, 발레틸 4-히드록시 발사르탄은 치료 농도에서 이러한 효과를 달성하지만, 발사르탄은 고농도에서만 CD41의 발현을 감소시켰다. 두 가지 물질 모두가 혈소판 표면 상의 P-셀렉틴의 농도를 유의하게 저하시키고, 비트로넥틴 수용체의 발현을 다소 감소시키지만, 이러한 효과가 발사르탄과 발레틸 4-히드록시 발사르탄 사이의 차이를 보여주는 통계학적 근거를 제시하지는 못한다. 발사르탄 및 발레틸 4-히드록시 발사르탄과 함께 인큐베이션하더라도, PECAM-1 (CD31); GP Ib (CD42) 및 LAMP-2 (CD107b), PETA-3 (CD151), 및 혈소판-백혈구 미세입자 (CD151+14) 상에 어떠한 효과도 미치지 않았다. 유세포검사 결과를 표 4A 내지 4D에 나타내었다.

표 4A

주요 혈소판 수용체의 발현에 대한 발사르탄과 발레틸-4-히드록시 발사르탄의 효과

가변값	발사르탄 (V)	발레틸 4-히드록시 발사르탄 (발레틸 4-히드록시 발사르탄)	
약물 농도	p-값 대 기준값	p-값 대 기준값	p-값 V 대 발레틸 4- 히드록시 발사르탄

혈소판/내피 세포 유착 분자-1 발현 (PECAM-1, CD31, log MFI)

기준값	69.2±10.3		69.2±10.3		
10 nM	71.8±11.9	NS	74.2±13.4	NS	NS
100 nM	70.6±12.6	NS	69.7±15.1	NS	NS
1 µM	74.5±16.2	NS	70.3±16.4	NS	NS
10 µM	68.2±16.2	NS	73.1±9.3	NS	NS
100 µM	70.6±15.8	NS	71.2±15.5	NS	NS

[0073]

표 4B

혈소판 당단백질 IIb/IIIa 항원 발현 (GPIIb, CD41, log MFI)

기준값	521.8±98.2		521.8±98.2		
10 nM	531.2±102.5	NS	505.6±77.8	NS	NS
100 nM	502.9±112.7	NS	432.7±116.8	0.03	0.04
1 μM	498.2±94.5	NS	427.2±114.1	0.02	NS
10 μM	506.7±100.1	NS	515.9±156.2	NS	NS
100 μM	455.2±99.6	0.03	529.3±121.8	NS	0.04

당단백질 Ib 발현 (GPIb, CD42b, log MFI)

기준값	246.4±26.7		246.4±26.7		
10 nM	256.4±31.4	NS	236.4±18.7	NS	NS
100 nM	248.7±20.9	NS	267.9±39.4	NS	NS
1 μM	264.8±18.2	NS	255.5±24.8	NS	NS
10 μM	244.3±46.9	NS	249.7±41.8	NS	NS
100 μM	255.9±19.7	NS	248.1±19.5	NS	NS

혈소판 비트로넥틴 수용체 발현 (CD51/CD61, log MFI)

기준값	11.2±4.6		11.2±4.6		
10 nM	11.9±6.0	NS	12.1±4.2	NS	NS
100 nM	12.1±5.1	NS	8.5±3.1	0.02	0.01
1 μM	7.8±3.6	0.01	8.1±3.8	0.02	NS
10 μM	7.6±2.3	0.01	7.2±5.6	0.01	NS
100 μM	7.3±4.8	0.006	7.6±3.3	0.01	NS

P-셀렉틴 발현 (CD 62p, 세포 양성도 %)

기준값	9.1±3.8		9.1±3.8		
10 nM	9.8±2.7	NS	9.3±4.3	NS	NS
100 nM	10.3±4.1	NS	10.2±5.4	NS	NS
1 μM	7.2±3.2	0.03	7.3±3.7	0.03	NS
10 μM	7.2±3.6	0.03	6.9±4.2	0.03	NS
100 μM	7.8±4.2	NS	8.9±3.8	NS	NS

[0074]

표 4C

리소좀 관련 막 단백질-1 발현 (LAMP-1, CD107a, log MFI)

기준값	8.7±3.2		8.7±3.2		
10 nM	9.1±3.8	NS	10.2±3.6	NS	NS
100 nM	8.9±2.7	NS	9.0±4.0	NS	NS
1 μM	9.4±3.9	NS	6.6±2.9	0.04	0.02
10 μM	6.5±3.2	0.04	5.8±3.2	0.03	NS
100 μM	10.1±4.5	NS	8.0±3.4	NS	NS

리소좀 관련 막 단백질-2 발현 (LAMP-2, CD107b, log MFI)

기준값	6.6±2.1		6.6±2.1		
10 nM	7.6±3.2	NS	7.7±3.8	NS	NS
100 nM	7.0±2.7	NS	7.0±3.0	NS	NS
1 μM	6.8±3.5	NS	6.6±3.4	NS	NS
10 μM	7.1±3.3	NS	7.2±3.9	NS	NS
100 μM	7.2±3.8	NS	7.1±2.9	NS	NS

혈소판/내피 테트라스판 항원-3 발현 (PETA-3, CD151, log MFI)

기준값	88.7±24.2		88.7±24.2		
10 nM	84.1±19.7	NS	89.4±18.2	NS	NS
100 nM	91.5±23.4	NS	92.7±22.2	NS	NS
1 μM	81.6±20.1	NS	90.5±15.7	NS	NS
10 μM	87.9±18.3	NS	84.2±31.1	NS	NS
100 μM	91.7±22.1	NS	93.4±27.4	NS	NS

[0075]

표 4D

혈소판-백혈구 미세입자 형성 (CD151 + CD14, log MFI)

기준값	92.2±19.3		92.2±19.3		
10 nM	91.2±20.5	NS	99.4±29.7	NS	NS
100 nM	88.4±21.9	NS	94.3±18.7	NS	NS
1 μM	93.5±23.8	NS	90.7±20.5	NS	NS
10 μM	96.5±18.7	NS	89.2±18.7	NS	NS
100 μM	90.5±19.2	NS	95.6±19.9	NS	NS

당단백질 IIb/IIIa 활성 (피브리노겐 결합, PAC-1, log MFI)

기준값	10.3±2.8		10.3±2.8		
10 nM	9.3±2.87	NS	11.0±4.5	NS	NS
100 nM	11.2±3.4	NS	9.0±3.3	NS	NS
1 μM	7.0±2.9	0.03	6.7±2.7	0.02	NS
10 μM	6.9±2.7	0.02	7.5±3.1	0.04	NS
100 μM	9.9±3.1	NS	9.9±3.0	NS	NS

[0076]

[0077]

하기 실시예는 상기-기재된 본 발명을 설명하고 있으나, 어떠한 방식으로든 본 발명의 범위를 제한하려는 것은 아니다.

실시예

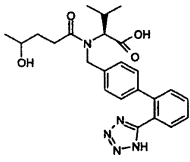
[0078]

실시예 1

[0079]

발사르탄 대사산물의 합성 방법

[0080] (S)-2-((4-히드록시-펜타노일)-[2'-(1H-테트라졸-5-일)-비페닐-4-일메틸]아미노)-3-메틸부티르산

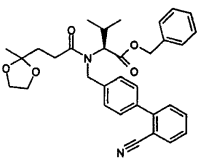


[0081]

[0082] (S)-3-메틸-2-((4-옥소-펜타노일)-[2'-(1H-테트라졸-5-일)-비페닐-4-일메틸]-아미노)-부티르산 6.7g을 메탄올 60 ml에 용해시키고, 0 °C로 냉각시켰다. 교반된 반응 혼합물 (강한 발포성)을 27 °C 미만으로 유지시키기 위하여 수소화붕소산 나트륨 2.25 g을 소량씩 나누어 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하고, 진공에서 농축하고, 메틸렌클로라이드에 용해시키고, 2N 수성 염산으로 2회 추출하였다. 유기 상을 건조시키고, 진공에서 농축하고, 크로마토그래피 (플래쉬 컬럼, 실리카 겔 60 240 g, KG40-62 μm; 메틸렌클로라이드, 메탄올, 농축 수성 암모니아의 용매 혼합물 (30:10:1 (부피/부피)) 사용)에 의해 생성물을 수득하였다. 생성물을 함유하는 분획을 농축하고, 메틸렌클로라이드에 용해시키고, 2N 수성 염산으로 추출하고, 황산나트륨 상에서 건조시켰다. 농축시킨 후에, 잔류물을 3일 동안 진공 (60 °C)에서 건조시켜 (S)-2-((4-히드록시-펜타노일)-[2'-(1H-테트라졸-5-일)-비페닐-4-일메틸]아미노)-3-메틸-부티르산을 백색 발포체로서 수득하였다 ($[\alpha]_D^{20} = -58^\circ$ (c = 1, 메탄올)). TLC-Rf: 0.18 (톨루엔/에틸아세테이트/메틸렌클로라이드/포름산 16:40:40:4).

[0083] 출발 물질인 (S)-3-메틸-2-((4-옥소-펜타노일)-[2'-(1H-테트라졸-5-일)-비페닐-4-일메틸]-아미노)-부티르산은 하기와 같이 제조될 수 있다:

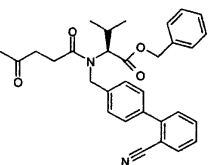
[0084] (S)-2-((2'-시아노-비페닐-4-일메틸)-[3-(2-메틸-[1,3]디옥솔란-2-일)-프로피오닐]-아미노)-3-메틸-부티르산 벤질 에스테르



[0085]

[0086] (S)-2-((2'-시아노-비페닐-4-일메틸)-아미노)-3-메틸-부티르산 벤질 에스테르 히드로클로라이드 (EP 443983에 기재되어 있음) 13.8 g을 메틸렌클로라이드 50 ml에 용해시키고, 0 °C로 냉각시키고, 에틸렌다이소프로필아민 (휘니히 염기; Huenig base) 23.8 ml로 처리하였다. 이 혼합물에, 메틸렌클로라이드 40 ml 중 (3-(2-메틸-[1,3]디옥솔란-2-일)-프로피오산 (Tetrahedron 37, 307, 1981) 8.9 g 및 (1-클로로-2-메틸-프로페닐)-디메틸아민 (Tetrahedron 54, 9207, 1998) 10.31 ml로부터 제조된 3-(2-메틸-[1,3]디옥솔란-2-일)-프로피오닐 클로라이드의 용액을 0 °C에서 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 3 내지 4일 동안 (변환 진행 상황에 따라 달라짐) 교반하였다. 바람직하게는, 3-(2-메틸-[1,3]디옥솔란-2-일)-프로피오닐 클로라이드를 2일에 걸쳐 3 내지 4회로 나누어 첨가하였다. 반응 혼합물을 진공에서 농축하고, 에틸아세테이트에 용해시키고, 물, 1N 수성 염산, 물로 세척하고, 황산나트륨 상에서 건조시키고, 진공에서 농축하였다. 생성물을 50 °C에서 진공 건조시킨 후에 플래쉬 컬럼 크로마토그래피 (실리카 겔 60 240 g, 40-63 μm, 석유 에테르/에틸아세테이트 2:1 내지 1:1)하여 순수한 (S)-2-((2'-시아노-비페닐-4-일메틸)-[3-(2-메틸-[1,3]디옥솔란-2-일)-프로피오닐]-아미노)-3-메틸-부티르산 벤질 에스테르를 금색 점성 잔류물로서 수득하였다. TLC-Rf: 0.23 (석유 에테르/에틸아세테이트 2:1).

[0087] (S)-2-((2'-시아노-비페닐-4-일메틸)-(4-옥소-펜타노일)-아미노)-3-메틸-부티르산 벤질 에스테르

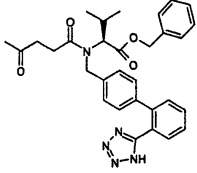


[0088]

[0089] (S)-2-((2'-시아노-비페닐-4-일메틸)-[3-(2-메틸-[1,3]디옥솔란-2-일)-프로피오닐]-아미노)-3-메틸-부티르산 벤질 에스테르 9.8 g을 테트라히드로푸란 100 ml에 용해시키고, 1N 수성 염산 50 ml로 처리하였다. 혼합물을 실

온에서 6.5시간 동안 교반하고, 진공에서 농축하고, 메틸렌클로라이드로 추출하였다. 유기 상을 물로 세척하고, 황산나트륨 상에서 건조시키고, 진공에서 농축하고, 증발시키고, 500 °C에서 1시간 동안 진공 건조시켰다. (S)-2-[(2'-시아노-비페닐-4-일메틸)-(4-옥소-펜타노일)-아미노]-3-메틸-부티르산 벤질 에스테르를 옐로우 지색 점성 오일로서 수득하였다. TLC-RF: 0.18 (석유 에테르/에틸아세테이트 2:1).

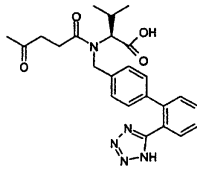
[0090] (S)-3-메틸-2-[(4-옥소-펜타노일)-[2'-(1H-테트라졸-5-일)-비페닐-4-일메틸]-아미노]-부티르산 벤질 에스테르



[0091]

[0092] 크실렌 20 ml 중 (S)-2-[(2'-시아노-비페닐-4-일메틸)-(4-옥소-펜타노일)-아미노]-3-메틸-부티르산 벤질 에스테르 8.64 g 및 트리부틸티나지드 (알드리치; Aldrich) 12.71 g을 28시간 동안 환류시켰다. 혼합물을 0.5N 수산화나트륨 수용액으로 처리하고, 수상을 에테르로 세척하고, 에테르 상을 물로 1회 추출하였다. 합한 수상을 농축된 수성 염산을 사용하여 산성화시키고, 메틸렌클로라이드로 추출하고, 물로 세척하고, 활성탄으로 현탁하고, 여과하고, 황산나트륨 상에서 건조시키고, 농축하고, 진공에서 건조시켰다. 생성물인 (S)-3-메틸-2-[(4-옥소-펜타노일)-[2'-(1H-테트라졸-5-일)-비페닐-4-일메틸]-아미노]-부티르산 벤질 에스테르를 갈색 발포체로 수득하였다. TLC-Rf: 0.36 (톨루엔/메틸렌클로라이드/메탄올/포름산 40:40:40:4).

[0093] (S)-3-메틸-2-[(4-옥소-펜타노일)-[2'-(1H-테트라졸-5-일)-비페닐-4-일메틸]-아미노]-부티르산



[0094]

[0095] 테트라히드로푸란 160 ml 중 (S)-3-메틸-2-[(4-옥소-펜타노일)-[2'-(1H-테트라졸-5-일)-비페닐-4-일메틸]-아미노]-부티르산 벤질 에스테르 7.9 g을, 포화될 때까지 탄소상 팔라듐 (10%) 1.5 g의 존재하에 실온 및 정상 압력에서 수소화시켰다. 혼합물을 여과하고, 진공에서 농축하여 (S)-3-메틸-2-[(4-옥소-펜타노일)-[2'-(1H-테트라졸-5-일)-비페닐-4-일메틸]-아미노]-부티르산을 거의 백색의 발포체로서 수득하였다. TLC-Rf: 0.1 (톨루엔/메틸렌클로라이드/메탄올/포름산 40:40:40:4).

[0096] 본 발명을 그의 특정 바람직한 형태를 참조하여 매우 상세하게 기재하고 있지만, 다른 형태 또한 본원에 함유된 바람직한 형태의 취지 및 범위를 벗어나지 않고 가능하다.

[0097] 본원에 언급된 모든 문헌 및 특허는 본원에 일일이 나열된 바와 같이 그 전문이 본원에 참고문헌으로 포함된 것으로 간주한다.