(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0002674
(43) 공개일자 2018년01월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C08B 37/00 (2006.01) *A61K 47/61* (2017.01)
A61K 9/00 (2006.01) *C08B 37/08* (2006.01)
(52) CPC특허분류
C08B 37/0063 (2013.01)
A61K 47/61 (2017.08)
(21) 출원번호 10-2017-7032142
(22) 출원일자(국제) 2016년04월07일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2017년11월06일
(86) 국제출원번호 PCT/IB2016/051960
(87) 국제공개번호 WO 2016/162809
국제공개일자 2016년10월13일
(30) 우선권주장
FI2015A000102 2015년04월07일 이탈리아(IT)

(71) 출원인
하이알블루 에스.알.엘.
이탈리아, 26900 로디, 파르코 테크놀로지코 파다노 내, 비아 에이. 아이슈타인 에스.엔.
(72) 발명자
바리코르디, 니클라
이탈리아, 45030 오치오벨로, 3/비, 비아 에이. 볼타
메리기, 로베르토
이탈리아, 45025 프라따 폴레시네, 1101 씨, 비아 카날비안코
(74) 대리인
손민

전체 청구항 수 : 총 9 항

(54) 발명의 명칭 **글리코스아미노글리칸 에스테르, 그의 제조 방법 및 눈에 사용하기 위한 제형물에서의 그의 용도**

(57) 요 약

N-아세틸글루코스아민 잔기상에 존재하는 하이드록실기의 적어도 일부가 아포카로테노이드로 에스테르화된 글리코스아미노글리칸 에스테르, 그의 제조, 및 눈 사용을 위한 제형물에서의 그의 용도를 기재한다.

(52) CPC특허분류
A61K 9/0048 (2013.01)
C08B 37/0069 (2013.01)
C08B 37/0072 (2013.01)
C08B 37/0075 (2013.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

N-아세틸글루코스아민 잔기상에 존재하는 하이드록실기의 적어도 일부가 아포카로테노이드로 에스테르화되고, 상기 아포카로테노이드는 레티노산은 아닌, 글리코스아미노글리칸 에스테르.

청구항 2

제1항에 있어서,

글리코스아미노글리칸이 히아루론산, 콘드로이틴 설페이트, 헤파린, 헤파란 설페이트 중에서 선택되는, 글리코스아미노글리칸 에스테르.

청구항 3

제1항에 있어서,

아포카로테노이드가 크로세틴, 빅신, 아브시스산 중에서 선택되는, 글리코스아미노글리칸 에스테르.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

에스테르 중 아포카로테노이드의 치환도가 0.1 내지 5%이고 상기 에스테르의 분자량이 350,000 내지 2,000,000 달톤인, 글리코스아미노글리칸 에스테르.

청구항 5

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 따른 글리코스아미노글리칸 에스테르의 제조 방법으로서,

- 먼저 이온 교환 수지를 테트라부틸암모늄 하이드록사이드의 수용액으로 염화시킴으로써 히아루론산 테트라부틸암모늄 염을 제조하고;

- 상기 수지를 물로 세척하고, 수중에 용해된 나트륨 히아루로네이트의 용액을 통과시키며, 이로써 용출물을 수집하고 이를 동결-건조시키며;

- 상기와 같이 수득된 염을 선택된 아포카로테노이드와 가열하에서 반응시키고, 아포카로테노이드의 카복실 작용기를 실온에서 디메틸포름아미드 중의 카보닐디이미다졸과의 반응에 의해 활성화시키고;

- 상기 혼합물을 교반하에 두고, 이어서 생성물을 염화 나트륨 및 에탄올의 첨가에 의해 침전시키는,

제조 방법.

청구항 6

N-아세틸글루코스아민 잔기상에 존재하는 하이드록실기의 적어도 일부가 아포카로테노이드에 의해 에스테르화된, 청색광으로부터 눈을 보호하는데 사용하기 위한, 글리코스아미노글리칸 에스테르.

청구항 7

제6항에 있어서,

글리코스아미노글리칸이 히아루론산, 콘드로이틴 설페이트, 헤파린, 헤파란 설페이트 중에서 선택되고, 아포카로테노이드가 크로세틴, 빅신, 아브시스산 중에서 선택되는, 글리코스아미노글리칸 에스테르.

청구항 8

제6항 또는 제7항에 따른 적어도 하나의 에스테르를 포함하는, 눈 사용을 위한 제형물.

청구항 9

제8항에 있어서,

가능하게는 폴리에틸렌 글리콜, 벤즈알코늄 클로라이드, 또는 클로르헥시딘의 존재하에서, 정제수 중의 0.1 내지 1% 화합물 용액의 형태인, 제형물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 눈 사용을 위한 생성물, 특히 청색광으로부터 눈을 보호하는데 유용한 에스테르화된 글리코스아미노글리칸에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 공지된 바와 같이, 전등빛은 일일주기 생체리듬에 강한 영향을 미치며; 특히 해가 진 후부터 새벽까지 망막을 때리는 인공빛은, 수면을 촉진하고 시상하부에서 오렉신의 생산을 활성화하며 멜라토닌의 야간 방출을 억제하는 뉴런의 작용을 억제하며, 상기 현상은 졸음을 감소시키고, 각성을 증가시키며 수면을 방해한다.

[0003] 차이슬러(Czeisler)에 의해 수행된 연구("Casting light on sleep deficiency" Nature, 497, S13, 2013)는, 미국 사무직 근로자의 30% 및 야간 근로자의 44%가 평균적으로 하룻밤에 6시간 미만의 수면에 관하여 불평하는 반면, 1960년에는 미국 성인 집단의 단지 3%만이 그렇게 적게 수면하였음을 보인다. 더욱이, 상기 논문은 발광다이오드(LED)와 같은 광전자기기, 예를 들어 텔레비젼, 컴퓨터 스크린, 노트북, 태블릿 및 휴대전화가 청색광이 풍부한 백색광의 한 유형을 사용함에 주목한다. ipRGC(감광성 신경절 세포)(눈에서 발견된다)는 낮은 파장(청색 및 녹색)에서 보이는 빛에 보다 민감하며, 따라서 차이슬러는 밤시간에 LED에의 노출은 일반적으로 백열전구로부터의 빛에 대한 밤 노출에 비해 일일주기 생체리듬, 멜라토닌 분비 및 수면의 보다 큰 방해를 야기한다고 말한다.

[0004] 마쓰다와 와타나베(Masuda and Watanabe)에 의해 수행된 추가의 연구들(Short Wavelength Light-Induced Retinal Damage in Rats. Jpn J. Ophthalmol., 44:615-61 9, 2000)은 350 ㎚ 파장의 빛이 광수용체 세포에 손상을 일으키는 반면, 441 ㎚ 파장의 빛은 망막 색소 상피를 손상시킴을 보였다. "다양한 광원으로부터의 청색광 위험성의 평가"란 표제하의 논문("Evaluation of Blue-Light Hazards from Various Light Sources", 2002, Progress in lens and Cataract Research)에서, 츠토무 오쿠노(Tsutomu Okuno)는 하루에 평균 270초의 LED 청색광에의 노출은 광화학적 망막 손상에 이르게 할 수 있음을 강조한다.

[0005] 망막에 대한 상기 유형의 손상은 엘라와디 에이 이브라힘(Elawady A. Ibrahim)에 의해 연구되었다(Neuroprotective Effects of Grape Seeds against Photo-Chemical Damage-Induced Retinal Cell Death. Nature and Science 9(11):83-89, 2011): 그는 청색광에의 연장된 노출이 망막 뉴런을 영구적으로 손상시킴을 주장한다.

[0006] 로엘렉케(Roehlecke) 등(Influence of blue light on photoreceptors in a live retinal explants system. Molecular Vision 17: 876-884, 2011)은 또한 망막 이식물에 대한 청색광의 조사가 광수용체 세포의 괴사를 수반하는 초미세구조 손상을 생성시킨다는 시험관내 연구를 보고하였다.

[0007] 최근에, 470 ㎚ 청색광의 조사가 중추 신경계에 영향을 미치고 일일주기 생체리듬의 완전한 초기화를 유발할 수 있다는 시험관내 및 생체내 연구들이 입증되었다(Jones - Manipulating circadian clock neuron firing rate resets molecular circadian rhythms and behavior - Nature Neuroscience, Advance Online Publication).

[0008] 청색광에 대한 물리적인 보호(예를 들어 모니터용 안경 및 스크린)를 시중에서 입수할 수 있지만, 상기 해법은 대개 부피가 크거나 비용이 많이 든다.

[0009] 또한, 콘택트 렌즈를 상기 목적에 이용할 수 있으나, 이는 통상적인 렌즈와 동일한 부작용(예를 들어 충혈, 안구감염, 각막 궤양)을 수반한다.

[0010] 또한, 카로티노이드는 식물 및 다른 광합성 유기체 중에 존재하는 유기 화합물의 부류임이 공지되어 있다. 상기는 대개 상기 분자내 산소의 존재 또는 부재에 따라 2가지 부류로 나뉜다: 첫 번째는 잔토필의 부류인 반면, 나중의 것은 카로틴을 포함한다. 이들 분자의 색상은 흡수 및 반사되는 파장의 유형에 따라 밝은 황색에서부터

밝은 적색의 범위이다.

[0011] 카로티노이드를 기본으로 하는 식이요법이, 이중 파이 결합이 풍부한 상기 화합물이 신체로부터 유해한 종들을 산화시키고 제거할 수 있기 때문에, 유리 라디칼에 의해 야기된 손상으로부터 보호함이 광범위하게 증명되었다.

[0012] 아포카로테노이드(apocarotenoid)라 칭하는 산화성 분해산물은 비타민 A(레티놀, 레티노산, 레티날), 빅신 및 크로세틴의 경우에서와 같이, 많은 경우에 추가적인 이로운 효과를 갖는 분자이다.

[0013] 아포카로테노이드는 빅신(Food Chemistry 141; 4: 3906-3912, 2013) 및 크로신, 크로세틴의 에스테르(Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 47: 3156 - 3163, 2006)의 경우에서와 같이, 청색광을 흡수할 수 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0014] 지금까지, 시중에는 청색광으로부터 눈을 유효하게 확실히 보호할 수 있는 화학적 화합물들이 존재하지 않으며; WO 2004/063363은 분화전능 줄기세포의 분화에 유용한 생성물로서 히아루론산 레티노익 에스테르를 기재한다. 다른 한편으로, 점안제는 주로 눈 중의 배수조직의 존재로 인해 생체이용효율이 낮고 따라서 낮은 치료 반응의 경향이 있기 때문에, 활성성분의 투여에 최적의 방법은 아님이 또한 공지되어 있다: 상기 이유로 인해, 상기 유형의 제품은 목적하는 치료 효과를 성취하기 위해서 다수의 응용을 필요로 한다.

[0015] 청색선에 의해 야기되는 손상으로부터 눈을 보호할 수 있는 화합물의 개발에 대한 관심은 상기로부터 자명하다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0016] 본 발명은, N-아세틸글루코스아민 잔기상에 존재하는 하이드록실기의 적어도 일부가 아포카로테노이드로 에스테르화된 신규의 글리코스아미노글리칸 에스테르에 의해 상기 단점들을 극복할 수 있게 한다.

[0017] 본 발명에 따른 글리코스아미노글리칸은 예를 들어 히아루론산, 콘드로이틴 설페이트, 헤파린, 헤파란 설페이트를 지칭하며; 히아루론산이 바람직하다.

[0018] 본 발명에 따라 사용 가능한 아포카로테노이드 중에서, 우리는 레티노산, 크로세틴, 빅신, 아브시스산을 언급할 수 있다.

[0019] 히아루론산(본 명세서에서 이후부터, HA)은 D-글루쿠론산 및 N-아세틸-D-글루코스아민의 반복 단위로의 교번 잔기로 이루어지는 천연 선형 폴리사카라이드이다.

[0020] HA는 델루이스(DeLuise)(Annals of Ophthalmology 16: 823-824, 1984), 라플레임(Laflamme)(Canadian Journal of Ophthalmology 23: 174-176, 1988) 및 샌드(Sand)(Acta Ophthalmologica 67: 181-183, 1989)에 의해 기재된 바와 같이, 안구건조증, 예를 들어 건성각결막염으로부터 발생하는 질환에 대한 약물로서 순수한 형태로 사용될 수 있다.

[0021] 본 발명에 따라, 히아루론산은 다른 점안제에서의 존재와 대조적으로, 부형제로서 사용되지 않고 아포카로테노이드와 반응함으로써 신규의 화학적 생성물을 형성함에 주목한다.

[0022] 본 발명에 따른 생성물을 당해 분야에 공지된 방법에 따라; 특히 US 20090239822에 기재된 방법에 따라 제조할 수 있다.

[0023] 예를 들어, 히아루론산 테트라부틸암모늄(HA-TBA) 염을 먼저, 이온 교환 수지(예를 들어 앰버라이트(Amberlite)(등록상표))를 크로마토그래피 컬럼 중에 배열된 수지상에 침출되는 테트라부틸암모늄 하이드록사이드(TBAI)의 수용액으로 염화시킴으로써 제조한다.

[0024] 일단 상기 용액이 모두 통과되었으면, 상기 수지를 물로 세척하고 이어서 수중에 용해된 나트륨 히아루로네이트의 용액을 상기 염화된 수지상에 통과시키고 최종적으로 용출물을 수집하고 동결-건조시킨다.

[0025] 통상적으로, 상기 수성 테트라부틸암모늄 하이드록사이드 용액은 15 내지 45%, 바람직하게는 30 내지 40%, 보다 바람직하게는 40%의 농도를 갖는 반면; 상기 수중 나트륨 히아루로네이트 용액은 통상적으로 1.5 내지 4.5 g/L, 바람직하게는 3 g/L의 농도를 갖는다.

[0026] 이어서 상술한 바와 같이 수득된 염(HA-TBA)을 가열하에서 상기 선택된 아포카로테노이드와 반응시킨다. 상기 아포카로테노이드의 카복실기는 실온에서 카보닐디이미다졸과의 반응에 의해 활성화되며; 상기 생성되는 화합물

을 디메틸포름아미드 중의 HA-TBA 젤에 서서히 가한다.

[0027] 상기 혼합물을 25 내지 35 ℃에서 12 내지 20시간 동안 교반하에 두고, 이어서 생성물을 염화 나트륨 및 에탄올의 첨가에 의해 침전시킨다.

[0028] 본 발명에 따른 에스테르 중 아포카로테노이드의 치환도는 0.1 내지 5%이며, 이때 "치환도"란 용어는 글리코스아미노글리칸의 몰당 아포카로테노이드의 몰수를 가리킨다.

[0029] 본 발명에 따른 에스테르는 통상적으로 350.000 내지 2.000.000 달톤의 분자량을 가지며, 따라서 이는 상기 아포카로테노이드의 기여를 고려하지 않은 상기 글리코스아미노글리칸의 평균 분자량을 가리킨다.

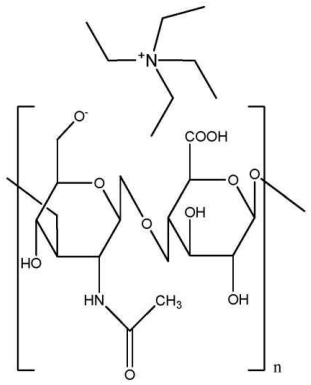
[0030] 본 발명의 따른 화합물을, 눈투여에 적합한 것으로서 약전에 공지된 형태로 제형화할 수 있다.

[0031] 예를 들어, 상기를 정제수 중의 화합물 0.1 내지 1% 용액으로서 제형화할 수 있으며, 이때 점도를 증가시키기 위한 폴리에틸렌 글리콜 및 보존제로서 벤즈알코늄 클로라이드 또는 클로르헥시딘을 첨가할 수 있다(한편으로, 단일-용량 패키징을 고려할 수 있다).

[0032] 하기의 실시예들은 특허청구된 것을 보다 상세히 예시한다.

[0033] 실시예 1

[0034] 히아루론산 테트라부틸암모늄(HA-TBA) 염의 제조

[0035] 

[0036] 상기에서 n은 250 내지 5000이다.

[0037] 1.9 eq/L의 용량을 갖는 이온-교환 수지(산 형태의 앰버라이트(등록상표))를 사용한다.

[0038] 1 L의 에스테르를 크로마토그래피 컬럼에 로딩하고 이어서 탈염수로 세척하고 이어서 40% 테트라부틸암모늄 하이드록사이드(TBAI)의 수용액을 연동식 펌프에 의해 상기로부터 상기 수지상에 침출시킨다.

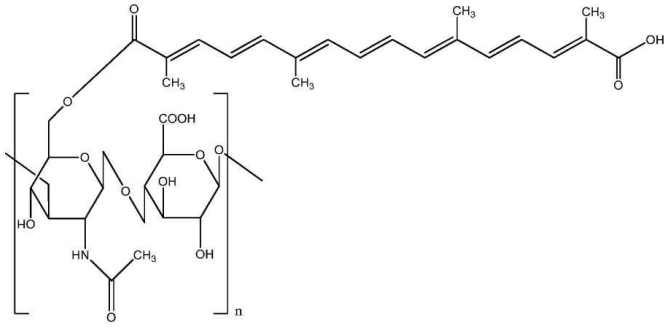
[0039] 일단 상기 용액이 모두 통과되었으면, 상기 수지를, 용출물이 9.5 내지 10의 일정한 pH를 가질 때까지 탈염수로 세척한다.

[0040] 상기와 같이 염화된 수지 1 리터는 약 75 내지 80 g의 나트륨 히아루로네이트를 염화되게 한다.

[0041] 상기 나트륨 히아루로네이트를 물에 용해시키고(약 3 g/L의 농도) 생성되는 젤을 앞서 제조된 수지를 함유하는 컬럼에 통과시킨다. 용출물을 수집하고 동결-건조시킨다.

[0042] 실시예 2

[0043] 크로세틴을 갖는 히아루론산 에스테르의 제조

[0044] 

[0045] 상기에서 n은 250 내지 5000이다.

[0046] 1.5 g HA-TBA를 온도조절장치가 있는 반응기에서 500 ㎖의 DMF에 용해시키고 30 ℃에서 교반하에 둔다.

[0047] 0.8 g 크로세틴을 수분에 대해 보호된 반응기에서 400 ㎖의 DMF에 용해시키고 1 eq의 N,N-카보닐디이미다졸을 상기 혼합물에 가한다.

[0048] 1시간 후에, 상기 용액을 상기 HA-TBA 젤에 서서히 가하고 상기와 같이 수득된 혼합물을 30 ℃에서 16시간 동안 교반시킨다.

[0049] 90 ㎖의 염화 나트륨 포화 용액을 첨가하여 상기 반응을 중지시킨다. 생성물을 96% 부피의 에탄올의 첨가에 의해 침전시키고; 상등액은 버리고 여과된 잔사를 상이한 농도의 에탄올로 수회 세척하고 이어서 진공하에서 건조시킨다.

[0050] 상기 생성되는 생성물은 0.5%의 치환도를 갖는다.

[0051] 실시예 3

[0052] 크로세틴을 갖는 히아루론산 에스테르의 제조

[0053] 1.5 g HA-TBA를 온도조절장치가 있는 반응기에서 500 ㎖의 DMF에 용해시키고 30 ℃에서 교반하에 둔다.

[0054] 0.4 g 크로세틴을 수분에 대해 보호된 반응기에서 200 ㎖의 DMF에 용해시키고 1 eq의 N,N-카보닐디이미다졸을 상기 혼합물에 가한다.

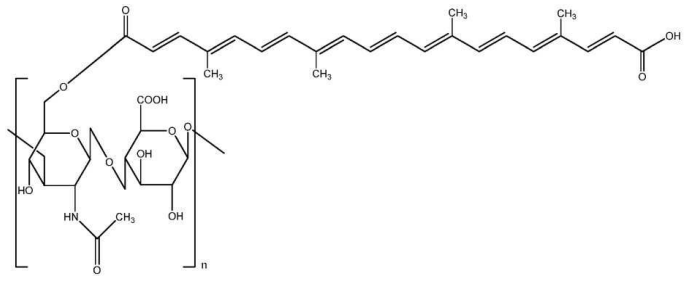
[0055] 1시간 후에, 상기 용액을 상기 HA-TBA 젤에 서서히 가하고 상기와 같이 수득된 혼합물을 30 ℃에서 16시간 동안 교반시킨다.

[0056] 70 ㎖의 염화 나트륨 포화 용액을 첨가하여 상기 반응을 중지시킨다. 생성물을 96% 부피의 에탄올의 첨가에 의해 침전시키고; 상등액은 버리고 여과된 잔사를 상이한 농도의 에탄올로 수회 세척하고 이어서 진공하에서 건조시킨다.

[0057] 상기 생성되는 생성물은 0.25%의 치환도를 갖는다.

[0058] 실시예 4

[0059] 빅신을 갖는 히아루론산 에스테르의 제조

[0060] 

[0061] 상기에서 n은 250 내지 5000이다.

[0062] 1.5 g HA-TBA를 온도조절장치가 있는 반응기에서 500 ㎖의 DMF에 용해시키고 30 ℃에서 교반하에 둔다.

[0063] 0.95 g 크로세틴을 수분에 대해 보호된 반응기에서 450 ㎖의 DMF에 용해시키고 1 eq의 N,N-카보닐디이미다졸을 상기 혼합물에 가한다.

[0064] 1시간 후에, 상기 용액을 상기 HA-TBA 젤에 서서히 가하고 상기와 같이 수득된 혼합물을 30 ℃에서 16시간 동안 교반시킨다.

[0065] 90 ㎖의 염화 나트륨 포화 용액을 첨가하여 상기 반응을 중지시킨다. 생성물을 96% 부피의 에탄올의 첨가에 의해 침전시키고; 상등액은 버리고 여과된 잔사를 상이한 농도의 에탄올로 수회 세척하고 이어서 진공하에서 건조시킨다.

[0066] 상기 생성되는 생성물은 0.4%의 치환도를 갖는다.

[0067] 실시예 5

[0068] 빅신을 갖는 히아루론산 에스테르의 제조

[0069] 1.5 g HA-TBA를 온도조절장치가 있는 반응기에서 500 ㎖의 DMF에 용해시키고 30 ℃에서 교반하에 둔다.

[0070] 0.5 g 크로세틴을 수분에 대해 보호된 반응기에서 250 ㎖의 DMF에 용해시키고 1 eq의 N,N-카보닐디이미다졸을 상기 혼합물에 가한다.

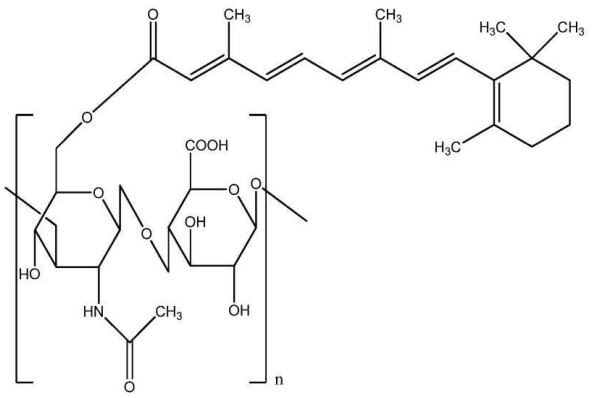
[0071] 1시간 후에, 상기 용액을 상기 HA-TBA 젤에 서서히 가하고 상기와 같이 수득된 혼합물을 30 ℃에서 16시간 동안 교반시킨다.

[0072] 80 ㎖의 염화 나트륨 포화 용액을 첨가하여 상기 반응을 중지시킨다. 생성물을 96% 부피의 에탄올의 첨가에 의해 침전시키고; 상등액은 버리고 여과된 잔사를 상이한 농도의 에탄올로 수회 세척하고 이어서 진공하에서 건조시킨다.

[0073] 상기 생성되는 생성물은 0.15%의 치환도를 갖는다.

[0074] 실시예 6

[0075] 레티노산을 갖는 히아루론산 에스테르의 제조

[0076] 

[0077] 상기에서 n은 250 내지 5000이다.

[0078] 1.5 g HA-TBA를 온도조절장치가 있는 반응기에서 500 ㎖의 DMF에 용해시키고 30 ℃에서 교반하에 둔다.

[0079] 0.7 g 레티노산을 수분에 대해 보호된 반응기에서 350 ㎖의 DMF에 용해시키고 1 eq의 N,N-카보닐디이미다졸을 상기 혼합물에 가한다.

[0080] 1시간 후에, 상기 용액을 상기 HA-TBA 젤에 서서히 가하고 상기와 같이 수득된 혼합물을 30 ℃에서 16시간 동안 교반시킨다.

[0081] 90 ㎖의 염화 나트륨 포화 용액을 첨가하여 상기 반응을 중지시킨다. 생성물을 96% 부피의 에탄올의 첨가에 의해 침전시키고; 상등액은 버리고 여과된 잔사를 상이한 농도의 에탄올로 수회 세척하고 이어서 진공하에서 건조시킨다.

[0082] 상기 생성되는 생성물은 0.2%의 치환도를 갖는다.