(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2013-0100574
(43) 공개일자 2013년09월11일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/16 (2006.01) *A61K 31/435* (2006.01)
A61K 31/055 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2012-0021907
(22) 출원일자 2012년03월02일
심사청구일자 2013년05월02일

(71) 출원인
이화여자대학교 산학협력단
서울특별시 서대문구 이화여대길 52 (대현동, 이화여자대학교)
(72) 발명자
이화정
서울특별시 마포구 신공덕동 삼성래미안아파트 206동 702호
박혜영
서울특별시 강남구 압구정동 현대아파트 86-603
채송화
서울특별시 강동구 암사동 433-118
(74) 대리인
이원희

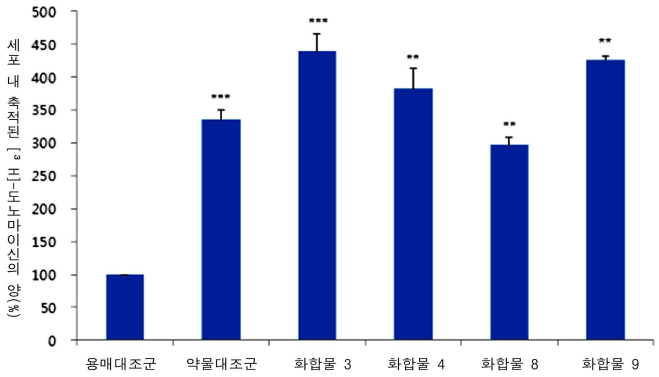
전체 청구항 수 : 총 9 항

(54) 발명의 명칭 **알콕시페닐프로펜온 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염 및 이를 유효성분으로 함유하는 다약제 내성 억제용 약학적 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 P-당단백질 활성 저해작용을 나타내는 알콕시페닐프로펜온 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염 및 이를 유효성분으로 함유하는 다약제 내성 억제용 약학적 조성물에 관한 것이다. 본 발명에 의한 화합물은 경구투여용 약물(항암제)의 흡수를 증가시켜 항암 효능을 증가시킴으로써 저용량으로도 우수한 효과를 나타낼 수 있게 도와주며, P-당단백질(P-gp)활성을 저해하여 세포 밖으로의 항암제의 배출을 억제함으로써 암세포 내로의 항암제의 축적을 증가시키는 효과가 우수할 뿐만 아니라, 세포 외로 배출되는 약물을 최소화함으로써 다약제 내성 억제용 약학적 조성물로 유용하게 사용될 수 있을 뿐만 아니라, 항암제와 병용 투여 시 약물의 흡수를 용량-의존적으로 증가시킴으로써 약물의 절대생체이용률을 우수하게 증가시켜 암세포 내로의 약물 축적을 증진함으로써 항암효능을 증가시켜 항암제 보조용 약학적 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.

대 표 도 - 도1



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

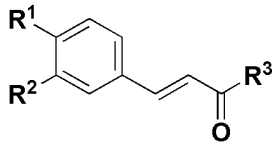
과제고유번호	1345147694
부처명	교육과학기술부
연구사업명	여성과학자지원사업(일반연구자지원)
연구과제명	다약제 내성 극복을 통한 항암제의 경구흡수율 및 항암효능 증진 전략
주관기관	이화여자대학교 산학협력단
연구기간	2011.05.01 ~ 2012.04.30

특허청구의 범위

청구항 1

하기 화학식 1로 표시되는 알콕시페닐프로펜온 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 다약제 내성 억제용 약학적 조성물:

[화학식 1]



(상기 화학식 1에서,

R^1은 수소 또는 O-R^4이고;

R^2는 수소 또는 O-R^5이고;

R^3는 -NR^6R^7이고;

R^4 및 R^5는 각각 독립적으로 C_1-C_4 직쇄 또는 측쇄 알킬, C_5-C_6 아릴 또는 C_5-C_6 아릴 C_1-C_4 알킬이고;

R^6은 수소 또는 C_1-C_4 직쇄 또는 측쇄 알킬이고;

R^7은 수소, C_1-C_4 직쇄 또는 측쇄 알킬, 비치환 또는 하이드록시로 치환된 C_5-C_6 아릴 또는 C_5-C_6 아릴 C_1-C_4 알킬이고;

이때, R^6와 R^7은 이들이 결합되어 있는 질소원자와 함께 비치환되거나, 하이드록시 또는 페닐로 치환된 5-6원자 헤테로사이클로알킬을 형성할 수 있다).

청구항 2

제1항에 있어서,

R^1은 수소 또는 O-R^4이고;

R^2는 수소 또는 O-R^5이고;

R^3는 -NR^6R^7이고;

R^4 및 R^5는 각각 독립적으로 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 부틸, 이소부틸, 또는 벤질이고;

R^6는 수소, 메틸, 에틸, 프로필 또는 부틸이고;

R^7은 수소, 메틸, 에틸, 프로필, 부틸, 페닐, 하이드록시페닐 또는 벤질이고;

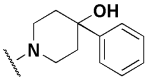
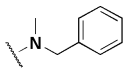
이때, R^6와 R^7은 이들이 결합되어 있는 질소원자와 함께 비치환되거나, 하이드록시 또는 페닐로 치환된 피페리딘을 형성하는 것을 특징으로 하는 다약제 내성 억제용 약학적 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

R^1은 수소 또는 O-R^4이고;

R^2는 수소 또는 O-R^5이고;

R^3는 , ,  또는  이고;

R^4는 프로필, 이소부틸 또는 벤질이고; 및

R^5는 메틸인 것을 특징으로 하는 다약제 내성 억제용 약학적 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 화학식 1의 화합물은

(1) (E)-3-(3-메톡시-4-프로폭시페닐)-N,N-디메틸아크릴아미드;

(2) (E)-3-(3-메톡시-4-프로폭시페닐)-1-(피페리딘-1-일)프로-2-펜-1-온;

(3) (E)-1-(4-하이드록시-4-페닐피페리딘-1-일)-3-(3-메톡시-4-프로폭시페닐)프로-2-펜-1-온;

(4) (E)-N-벤질-3-(3-메톡시-4-프로폭시페닐)-N-메틸아크릴아미드;

(5) (E)-3-(4-이소부톡시-3-메톡시페닐)-N,N-디메틸아크릴아미드;

(6) (E)-3-(4-이소부톡시-3-메톡시페닐)-1-(피페리딘-1-일)프로-2-펜-1-온;

(7) (E)-N-벤질-3-(4-이소부톡시-3-메톡시페닐)-N-메틸아크릴아미드;

(8) (E)-3-(4-(벤질옥시)-3-메톡시페닐)-N,N디메틸아크릴아미드; 및

(9) (E)-3-(4-(벤질옥시)-3-메톡시페닐)-1-(피페리딘-1-일)프로-2-펜-1-온으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 다약제 내성 억제용 약학적 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 약학적 조성물은 다약제내성을 유발하는 P-당단백질의 활성을 억제하는 것을 특징으로 하는 다약제내성 억제용 약학적 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 다약제 내성은 항암제에 대한 다약제 내성인 것을 특징으로 하는 다약제 내성 억제용 약학적 조성물.

청구항 7

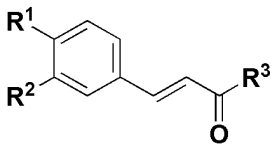
제6항에 있어서, 상기 항암제는 사이클로포스파마이드(cyclophosphamide), 5-FU, 암사크린(amsacrine), 도노마이신(daunomycin), 빈블라스틴(vinblastine), 빈크리스틴(vincristine), 나벨빈(navelbine), 파클리탁셀(paclitaxel), 탁소테르(taxotere), 독소루비신(doxorubicin), 다우노루비신(daunorubicin), 에피루비신(epirubicin), 이다루비신(idarubicin), 에토포시드(etoposide), 테니포시드(teniposide), 콜히친

(colchicine), 미톡산트론(mitoxantrone), 닥티노마이신(dactinomycin), 토포테칸(topotecan), 트리메트렉스산(trimetrexate), 미트라마이신(mithramycin) 및 미토마이신 C(mitomycin C)로 이루어지는 군에서 선택되는 약물인 것을 특징으로 하는 다약제 내성 억제용 약학적 조성물.

청구항 8

항암제와 병용투여 하는 것을 특징으로 하는 하기 화학식 1로 표시되는 알콕시페닐프로펜온 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 항암제 보조용 약학적 조성물:

[화학식 1]



(상기 화학식 1에서 R^1 내지 R^3은 제1항에 정의한 바와 같다).

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 항암제는 사이클로포스파마이드(cyclophosphamide), 5-FU, 암사크린(amsacrine), 도노마이신(daunomycin), 빈블라스틴(vinblastine), 빈크리스틴(vincristine), 나벨빈(navelbine), 파클리탁셀(paclitaxel), 탁소테르(taxotere), 독소루비신(doxorubicin), 다우노루비신(daunorubicin), 에피루비신(epirubicin), 이다루비신(idarubicin), 에토포시드(etoposide), 테니포시드(teniposide), 콜히친(colchicine), 미톡산트론(mitoxantrone), 닥티노마이신(dactinomycin), 토포테칸(topotecan), 트리메트렉스산(trimetrexate), 미트라마이신(mithramycin) 및 미토마이신 C(mitomycin C)로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상인 것을 특징으로 하는 항암제 보조용 약학적 조성물.

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 당단백질 활성 저해작용을 나타내는 알콕시페닐프로펜온 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염 및 이를 유효성분으로 함유하는 다약제 내성 억제용 약학적 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 국내 사망원인을 살펴보면, 심혈관질환, 악성종양, 뇌졸중, 그리고 알츠하이머병 순으로 암으로 인한 사망률이 2위를 차지하고 있어 그 심각성을 짐작할 수 있다. 이와 같이 최근 암 발생률은 산업의 급격한 발달, 지구 생태계 및 식생활의 변화 등으로 과거에 비해서 급격히 증가하고 있으나, 아직도 암에 대한 발생기전이 불명확하여 난치성 질병으로 알려져 있다(한국기술은행, 국내기술동향, 2005).

[0003] 암을 치료하는 방법은 크게 수술, 방사선 치료, 항암화학요법, 그리고 생물학적 치료법 등으로 나눌 수 있다. 이 중 수술이나 방사선 치료가 용이하지 않은 환자(전체 암 사례의 약 50%)와 이미 암이 전이된 환자들은 주로 화학요법으로 치료한다(생명공학연구원, 기술동향. 2005). 현재 사용되고 있는 의약품들은 효소제제나 백신 등의 생물학적 제제, 순수합성 의약품 및 천연물 유래의 의약품으로 구분할 수 있는데, 이 중에서 유전자, 효소, 백신 등을 이용한 항암제는 실용 단계에는 아직 미흡한 상태이며, 화학요법에 의해 개발된 많은 항암제는 암의 종류에 따라 약리 작용이 다양하고 독성에 의한 부작용이 다양하게 나타나기 때문에 암의 치료의 문제점으로 지적되고 있다(한국기술은행, 국내기술동향, 2005).

[0004] 암의 화학요법에서 항암제에 대한 내성의 발현은 암 치료의 중대한 장애요소로 남아있으며, 한가지 약제에 대해

내성이 생긴 세포는 작용부위나 작용기작이 상이한 다른 종류의 약제에 대해서도 교차내성이 발생하는 경우가 많아 항암치료 실패의 주요한 원인이 되고 있다. 이러한 항암제에 대한 내성의 발현은 치료의 중대한 장애요소로 남아있으며, 암세포에 대한 내성 기작의 연구는 전 세계적으로 그 중요성이 점차로 증가하는 추세에 있으며, 암세포에 대한 다양한 분자생물학적, 생화학적 정보들이 밝혀지고 있으나, 아직까지 암세포의 약제내성 기작에 대한 이해는 초기단계를 벗어나지 못하고 있는 실정이다.

[0005] 항암화학요법을 이용한 암치료에 있어서 장애가 되는 요소 중의 하나는 항암제내성이다. 항암제에 대한 약제내성은 암세포를 죽일 수 있는 혈중농도에 도달할 수 있는 양의 항암제를 투여했음에도 불구하고 암세포가 죽지 않는 경우를 말하는 것으로 다양한 생물학적 기전들이 밝혀져 있으나, 최근, 이러한 다약제 내성(multidrug resistance, MDR) 현상에 대하여 P-당단백질(P-glycoprotein, P-gp)이라 불리는 수송 단백질의 과다발현과 밀접한 관계가 있으며, P-gp는 항암제를 포함한 다양한 종류의 지용성 물질들을 세포 밖으로 배출시키는 ATP-의존성 수송단백질로서 암세포 내에서 치료 약물의 농도를 감소시켜 내성을 증가시키는 것으로 알려진 바 있다(Juranka et al., *FASEB J.*, 3, pp2583-2592, 1989; Fuqua et al., *Cancer Res.*, 47, pp2103-2106, 1987; Endicott et al., *Ann. Rev. Biochem.*, 58, pp137-171, 1989; Gottesman et al., *Ann. Rev. Biochem*, 62, pp385-427, 1993).

[0006] 다약제내성 억제제의 개발은 1980년대 초에 츠루오(Tsuruo) 등에 의해 베라파밀의 다약제내성 억제효과가 처음으로 발표된 이후, 베라파밀을 비롯하여, 세팔란틴(cephalanthine), 페노티아진(phenothiazine), 시클로스포린(cyclosporine A), 디피리다몰(dipyridamol), 퀴니딘(quinidine), 프로게스테론(progesterone), 세포페라존(cefoperazone) 등 다수의 약물이 지금까지 보고되고 있으며, 이들 중 덱스베라파밀(dexverapamil)(Knoll Pharm), 덱스니굴디핀(dexniguldipine)(Byk Gulden Lomberg Chem), Ro11-2933(Roche), PSC-833(Sandoz), S9788(Sevier Res.), LY335979(Eli Lilly) 등의 화합물들은 현재 임상실험 단계에 있다. 그러나, 지금까지 알려진 약물의 대부분이 생체 외(in vitro) 또는 생체 내(in vivo)에서의 강력한 P-당단백질 억제효과에도 불구하고, 임상실험에서 심장독성이나 면역독성 등의 문제로 인해 개발이 극히 제한되고 있는 실정이다.

[0007] 국내에서 지금까지 개발된 다약제 내성 억제제로는 위장관에도 존재하는 P-gp를 저해함으로써 항암제의 흡수를 촉진하는 약물로써, 한미약품에서 개발한 HM30181A를 파클리탁셀과 함께 포장하여 약물(Co-Package Drug)으로 개발하여 유방·위·폐암을 타겟으로 '오락솔' 이라는 이름으로 현재 국내 임상 2상이 진행되고 있으며, 폐·대장암을 타겟으로 하여 이리노테칸과 HM30181A를 함께 포장한 약물로 개발한 '오라테칸'의 경우, 임상 1상이 진행중에 있으나, 아직까지 미미하여 다약제 내성 억제제의 지속적인 개발이 요구되고 있다.

[0008] 이에, 본 발명자들은 상기 문제점을 해결하고, 종래 항암제에 내성을 갖는 암세포에 특이적으로 작용하는 다약제 내성 억제제를 개발하기 위해 연구하던 중, 본 발명의 화합물들이 P-gp 활성 저해작용을 함으로써, 다약제 내성 억제용 약학적 조성물로 유용하게 사용될 수 있음을 확인하고 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

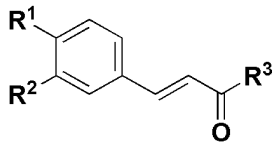
[0009] 본 발명의 목적은 P-당단백질의 활성을 저해하는 다약제 내성 억제용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[0010] 본 발명의 다른 목적은 항암제 보조용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0011] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 다약제 내성 억제용 약학적 조성물을 제공한다:

[0012] [화학식 1]

[0013] 

[0014] (상기 화학식 1에서 R^1 내지 R^3는 본 명세서에서 정의한 바와 같다).

[0015] 또한, 본 발명은 상기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 항암제 보조용 약학적 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0016] 본 발명에 의한 화합물은 암세포에 과다발현하여 다약제 내성 유발의 원인이 되는 P-당단백질(P-gp)활성을 저해하여 세포 밖으로의 항암제의 배출을 억제함으로써 암세포 내로의 항암제의 축적을 증가시키는 효과가 우수할 뿐만 아니라, 세포 외로 배출되는 약물을 최소화 하고, 또한, 위장관에도 존재하는 P-gp의 활성을 저해하여 약물의 흡수를 증가시킴으로써 약물의 절대생체이용률을 우수하게 증가시키므로 본 화합물은 다약제 내성 억제용 약학적 조성물로 유용하게 사용될 수 있을 뿐만 아니라, 항암제와 경구로 병용 투여 시 항암제의 흡수를 증가시키고 암세포 내로의 축적을 증가시켜 항암효능을 증진시키므로 경구투여 흡수 증진제로써, 항암제 보조용 약학적 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0017] **도 1은** 본 발명에 따른 화합물의 MCF-7/ADR 암세포에서의 DNM(도노마이신) 축적에 대한 효과를 나타내는 도면이다(*p 값<0.05, **p 값<0.01, ***p 값<0.001).

도 2는 본 발명에 따른 화합물의 MCF-7/ADR 암세포로부터의 DNM 배출에 대한 효과를 나타내는 도면이다(*p 값<0.05, **p 값<0.01, ***p 값<0.001).

도 3은 본 발명에서 사용된 파클리탁셀을 단독으로 정맥 투여한 경우의 혈장 중 농도-시간 프로파일을 나타내는 도면이다.

도 4는 본 발명에 따른 화합물을 파클리탁셀과 경구투여한 경우이 혈장 중 농도-시간 프로파일을 나타내는 도면이다.

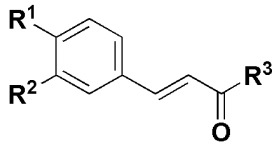
도 5는 본 발명에서 약물 대조군으로 사용된 베라파밀을 파클리탁셀과 경구투여한 경우의 혈장 중 농도-시간 프로파일을 나타내는 도면이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0018] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

[0019] 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 다약제 내성 억제용 약학적 조성물을 제공한다:

화학식 1

[0020] 

[0021] 상기 화학식 1에서,

[0022] R^1은 수소 또는 O-R^4이고;

[0023] R^2는 수소 또는 O-R^5이고;

[0024] R^3는 -NR^6R^7이고;

[0025] R^4 및 R^5는 각각 독립적으로 C_1-C_4 직쇄 또는 측쇄 알킬, C_5-C_6 아릴 또는 C_5-C_6 아릴 C_1-C_4 알킬이고;

[0026] R^6은 수소 또는 C_1-C_4 직쇄 또는 측쇄 알킬이고;

[0027] R^7은 수소, C_1-C_4 직쇄 또는 측쇄 알킬, 비치환 또는 하이드록시로 치환된 C_5-C_6 아릴 또는 C_5-C_6 아릴 C_1-C_4 알킬이고;

[0028] 이때, R^6와 R^7은 이들이 결합되어 있는 질소원자와 함께 비치환되거나, 하이드록시 또는 페닐로 치환된 5-6원자 헤테로사이클로알킬을 형성할 수 있다.

[0029] 바람직하게는,

[0030] R^1은 수소 또는 O-R^4이고;

[0031] R^2는 수소 또는 O-R^5이고;

[0032] R^3는 -NR^6R^7이고;

[0033] R^4 및 R^5는 각각 독립적으로 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 부틸, 이소부틸, 또는 벤질이고;

[0034] R^6는 수소, 메틸, 에틸, 프로필 또는 부틸이고;

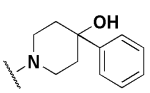
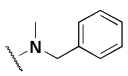
[0035] R^7은 수소, 메틸, 에틸, 프로필, 부틸, 페닐, 하이드록시페닐 또는 벤질이고;

[0036] 이때, R^6와 R^7은 이들이 결합되어 있는 질소원자와 함께 비치환되거나, 하이드록시 또는 페닐로 치환된 피페리딘을 형성한다.

[0037] 더욱 바람직하게,

[0038] R^1은 수소 또는 O-R^4이고;

[0039] R^2는 수소 또는 O-R^5이고;

[0040] R^3는 , ,  또는 이고;

[0041] R^4는 프로필, 이소부틸 또는 벤질이고; 및

[0042] R^5는 메틸이다.

[0043] 가장 바람직하게, 본 발명에 따른 화학식 1의 유도체를 보다 구체적으로 예시하면 다음과 같다:

[0044] (1) (E)-3-(3-메톡시-4-프로폭시페닐)-N,N-디메틸아크릴아미드;

[0045] (2) (E)-3-(3-메톡시-4-프로폭시페닐)-1-(피페리딘-1-일)프로-2-펜-1-온;

[0046] (3) (E)-1-(4-하이드록시-4-페닐피페리딘-1-일)-3-(3-메톡시-4-프로폭시페닐)프로-2-펜-1-온;

[0047] (4) (E)-N-벤질-3-(3-메톡시-4-프로폭시페닐)-N-메틸아크릴아미드;

[0048] (5) (E)-3-(4-이소부톡시-3-메톡시페닐)-N,N-디메틸아크릴아미드;

[0049] (6) (E)-3-(4-이소부톡시-3-메톡시페닐)-1-(피페리딘-1-일)프로-2-펜-1-온;

[0050] (7) (E)-N-벤질-3-(4-이소부톡시-3-메톡시페닐)-N-메틸아크릴아미드;

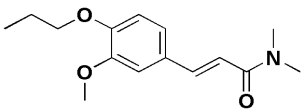
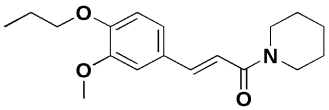
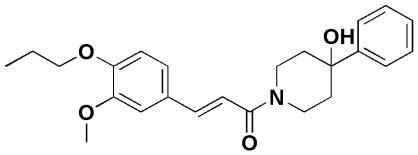
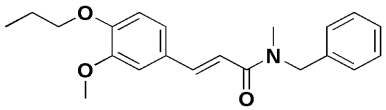
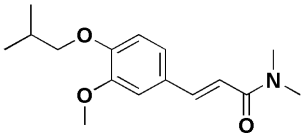
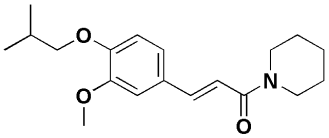
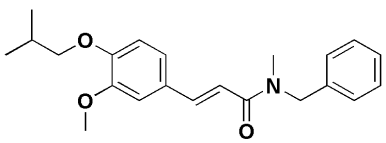
[0051] (8) (E)-3-(4-(벤질옥시)-3-메톡시페닐)-N,N디메틸아크릴아미드; 및

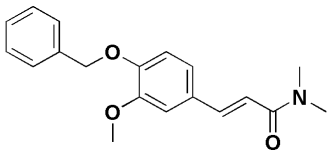
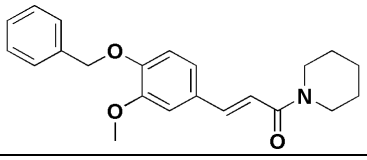
[0052] (9) (E)-3-(4-(벤질옥시)-3-메톡시페닐)-1-(피페리딘-1-일)프로-2-펜-1-온.

[0053] 상기 구체적으로 예시한 본 발명에 따른 상기 화학식 1의 화합물을 하기 표 1에 나타내었다.

표 1

[0054]

구분	구조
화학식 1	
화학식 2	
화학식 3	
화학식 4	
화학식 5	
화학식 6	
화학식 7	

화학식 8	
화학식 9	

[0055] 본 발명의 화학식 1의 유도체는 약학적으로 허용 가능한 염의 형태로 사용할 수 있으며, 염으로는 약학적으로 허용 가능한 유리산(free acid)에 의해 형성된 산 부가염이 유용하다. 산 부가염은 염산, 질산, 인산, 황산, 브롬화수소산, 요드화수소산, 아질산 또는 아인산과 같은 무기산류와 지방족 모노 및 디카르복실레이트, 페닐-치환된 알카노에이트, 하이드록시 알카노에이트 및 알칸디오에이트, 방향족 산류, 지방족 및 방향족 설폰산류와 같은 무독성 유기산, 아세트산, 안식향산, 구연산, 젖산, 말레인산, 글루콘산, 메탄설폰산, 4-톨루엔설폰산, 주석산, 푸마르산과 같은 유기산으로부터 얻는다. 이러한 약학적으로 무독한 염류로는 설페이트, 피로설페이트, 바이설페이트, 설파이트, 바이설파이트, 니트레이트, 포스페이트, 모노하이드로겐 포스페이트, 디하이드로겐 포스페이트, 메타포스페이트, 피로포스페이트 클로라이드, 브로마이드, 아이오다이드, 플루오라이드, 아세테이트, 프로피오네이트, 데카노에이트, 카프릴레이트, 아크릴레이트, 포메이트, 이소부티레이트, 카프레이트, 헵타노에이트, 프로피올레이트, 옥살레이트, 말로네이트, 석시네이트, 수베레이트, 세바케이트, 푸마레이트, 말리에이트, 부틴-1,4-디오에이트, 헥산-1,6-디오에이트, 벤조에이트, 클로로벤조에이트, 메틸벤조에이트, 디니트로 벤조에이트, 하이드록시벤조에이트, 메톡시벤조에이트, 프탈레이트, 테레프탈레이트, 벤젠설포네이트, 톨루엔설포네이트, 클로로벤젠설포네이트, 크실렌설포네이트, 페닐아세테이트, 페닐프로피오네이트, 페닐부티레이트, 시트레이트, 락테이트, β-하이드록시부티레이트, 글리콜레이트, 말레이트, 타트레이트, 메탄설포네이트, 프로판설포네이트, 나프탈렌-1-설포네이트, 나프탈렌-2-설포네이트 또는 만델레이트를 포함한다.

[0056] 본 발명에 따른 산 부가염은 통상의 방법, 예를 들면, 화학식 1의 유도체를 유기용매, 예를 들면 메탄올, 에탄올, 아세톤, 메틸렌클로라이드, 아세토니트릴 등에 녹이고 유기산 또는 무기산을 가하여 생성된 침전물을 여과, 건조하여 제조되거나, 용매와 과량의 산을 감압 증류한 후 건조하거나 유기용매 하에서 결정화시켜서 제조할 수 있다.

[0057] 또한, 염기를 사용하여 약학적으로 허용 가능한 금속염을 만들 수 있다. 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염은 예를 들면 화합물을 과량의 알칼리 금속 수산화물 또는 알칼리 토금속 수산화물 용액 중에 용해하고, 비용해 화합물 염을 여과하고, 여액을 증발, 건조시켜 얻는다. 이때, 금속염으로는 나트륨, 칼륨 또는 칼슘염을 제조하는 것이 제약상 적합하다. 또한, 이에 대응하는 은 염은 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염을 적당한 음염(예, 질산은)과 반응시켜 얻는다.

[0058] 또한, 본 발명은 상기 화학식 1의 유도체 및 이의 약학적으로 허용되는 염뿐만 아니라, 이로부터 제조될 수 있는 가능한 용매화물, 수화물, 이성질체 등을 모두 포함한다.

[0059] 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물은 하기의 방법으로 제조될 수 있으나, 이에 한정하지 않는다.

[0060] **제법 1**

[0061] 하기 반응식 1에 나타낸 바와 같이,

[0062] 화학식 2의 화합물과 $HCl \cdot NR^7R^8$ 화합물을 커플링 반응시켜 화학식 1A의 화합물을 얻는 단계를 포함한다:

[0063] [반응식 1]



2 1A

[0064]

[0065] (상기 반응식 1에서 R^1 및 R^3는 상기 화학식 1에서 정의한 바와 같고, X는 할로겐이고, 상기 1A는 상기 화학식 1에 포함된다).

[0066] 본 발명에 따른 상기 제법 1에 있어서, 상기 단계는 화학식 2의 화합물과 HCl·NR^7R^8 화합물을 커플링시약(coupling reagent) 존재 하에, 커플링 반응을 수행하여 화학식 1A의 화합물을 얻는 단계이다.

[0067] 이때, 사용가능한 용매로는 반응에 악영향을 미치지 않는 디메틸포름아미드(DMF), 디클로로메탄, 클로로포름, 테트라히드로퓨란, 디에틸에테르 또는 톨루엔 등을 사용할 수 있고, 바람직하게는 디메틸포름아미드를 사용할 수 있다.

[0068] 또한, 커플링 시약으로는 벤조트리아졸-1-일-옥시트리피롤리디노포스포늄 헥사플루오로포스페이트(PyBOP), 1-(3-디메틸아미노프로필)-3-에틸카보디이미드(EDC), 1-하이드록시벤조트리아졸 하이드레이트(HOBt) 또는 1,3-디사이클로헥실 카보디이미드(DCC) 등을 사용할 수 있고, 바람직하게는 벤조트리아졸-1-일-옥시트리피롤리디노포스포늄 헥사플루오로포스페이트(PyBOP)를 사용할 수 있다.

[0069] 상기 커플링 반응은 염기를 사용하지 않고 반응을 수행할 수 있으나, 아미드화반응에 사용될 수 있는 일반적인 염기인 디에틸이소프로필아민, 4-디메틸아미노피리딘, 피리딘, 트리에틸아민, N-메틸모폴린 또는 디메틸페닐아민 등을 사용할 수 있고, 바람직하게는 디에틸이소프로필아민을 사용할 수 있다.

[0070] 이때, 반응 온도는 특별히 제한되지는 않으나, 상온 내지 용매의 비등점 범위 내에서 수행될 수 있다.

[0071] 구체적으로, 화학식 2의 화합물을 용매에 녹인 후, 커플링 시약과 HCl·NR^7R^8 화합물을 첨가하여 반응시킨 후, 염기를 첨가하고, 상온에서 반응시킨 후, 반응을 종결하고, 컬럼 크로마토그래피를 수행하여 화학식 1A의 화합물을 얻을 수 있다.

[0072] 본 발명에 따른 상기 약학적 조성물은 P-당단백질(P-gp)활성을 저해함으로써 세포 밖으로의 항암제의 배출을 억제하여 암세포 내로의 항암제의 축적을 증가시켜 항암 효능을 증진시키는 다약제 내성 억제용 약학적 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.

[0073] 본 발명에 따른 상기 화학식 1의 화합물의 P-gp 활성에 미치는 영향을 검토하기 위하여 P-gp가 과다 발현되어 여러 약물(항암제)에 대한 내성을 가진 인체 유방암 세포(MCF-7/ADR)에서 수행한 세포독성, 항암제 축적 및 배출 실험 결과에 의하면, 종래 약물 흡수 증진제인 베라파밀보다 약물이 세포 내로 축적되는 효과가 우수하고, 세포 외로 배출되는 약물의 양이 적을 뿐만 아니라, 약물의 세포독성을 억제하는 효과가 우수함을 확인하였다(실시예 1 참조).

[0074] 또한, 본 발명에 따른 상기 화학식 1의 화합물의 생체 내(in vivo)에 미치는 영향을 알아보기 위하여 약물동태학적 파라미터를 측정한 결과, 약물과 본 발명의 화합물을 경구 투여한 경우, 약물을 단독으로 투여한 경우보다 투여용량에 따른 최대 혈중 약물농도 도달시간이 빨라지고, 최대 혈중 약물농도가 높아졌으며, 혈중 약물 체류시간이 증가하고, 약물의 흡수율 및 흡수속도를 현저하게 증가시키는 효과를 나타냄을 확인하였다(실시예 2 참조).

[0075] 이로부터 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물은 체내에서 파클리탁셀의 흡수를 증진시킨 후, 체내에서 완전히 배출됨으로써, 체내에서 다른 불필요한 약효 및 독성 등의 영향을 미치지 않으므로 약물의 경구 투여 흡수증진제

로 유용하게 사용될 수 있다.

[0076] 따라서, 본 발명에 의한 화합물은 경구투여용 약물의 세포독성을 감소시키는 효과가 우수하고, P-당단백질(P-gp)활성을 세포 밖으로의 항암제의 배출을 억제함으로써 암세포 내로의 항암제의 축적을 증가시키는 효과가 우수할 뿐만 아니라, 세포 외로 배출되는 약물을 최소화하고, 약물의 흡수를 용량-의존적으로 증가시킴으로써 약물의 절대생체이용률을 우수하게 증가시고, 본 발명의 화합물은 체내에서 약물의 흡수를 증진시킨 후, 체내에서 완전히 배출됨으로서 체내에서 다른 불필요한 약효 및 독성 등의 영향을 미치지 않을 뿐만 아니라, 또한, 본 발명에 따른 화합물은 체내에서 완전히 배출됨으로써 체내에서 다른 불필요한 약효 및 독성 등의 영향을 미치지 않으므로 다약제 내성 억제제로 유용하게 사용될 수 있다.

[0077] 본 발명에 있어서, 상기 다약제 내성은 바람직하게는 항암제에 대한 다약제 내성이다.

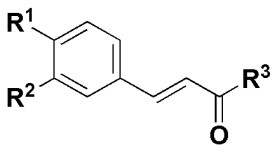
[0078] 본 발명에 있어서, 상기 항암제는 사이클로포스파마이드(cyclophosphamide), 5-FU, 암사크린(amsacrine), 도노마이신(daunomycin), 빈블라스틴(vinblastine), 빈크리스틴(vincristine), 나벨빈(navelbine), 파클리탁셀(paclitaxel), 탁소테르(taxotere), 독소루비신(doxorubicin), 다우노루비신(daunorubicin), 에피루비신(epirubicin), 이다루비신(idarubicin), 에토포시드(etoposide), 테니포시드(teniposide), 콜히친(colchicine), 미톡산트론(mitoxantrone), 닥티노마이신(dactinomycin), 토포테칸(topotecan), 트리메트렉스산(trimetrexate), 미트라마이신(mithramycin), 미토마이신 C(mitomycin C) 등 이다.

[0079] 바람직하게는 상기 항암제는 파클리텍셀 또는 도노마이신이다.

[0080] 상기 항암제는 구강암, 위암, 폐암, 유방암, 난소암, 간암, 기관지암, 비인두암, 후두암, 췌장암, 방광암, 대장암, 자궁경부암, 뇌암, 전립선암, 골암, 피부암, 갑상선암, 부갑상선암, 신장암, 요관암 등에 사용될 수 있다.

[0081] 또한, 본 발명은 항암제와 병용투여 하는 것을 특징으로 하는 하기 화학식 1로 표시되는 피페라진 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효 성분으로 함유하는 항암제 보조용 약학적 조성물을 제공한다:

[0082] [화학식 1]

[0083] 

[0084] (상기 화학식 1의 R^1 내지 R^3은 본 명세서에서 정의한 바와 같다).

[0085] 종래 P-당단백질 저해제인 베라파밀보다 약물이 세포 내로 축적되는 효과가 우수할 뿐만 아니라, P-당단백질(P-gp)활성을 저해하여 세포 밖으로의 항암제의 배출을 억제함으로써 암세포 내로의 항암제의 축적을 증가시키는 효과가 있고(실시예 1 참조), 항암제와 병용 투여 시 항암제의 흡수를 증가시키고 암세포 내로의 축적을 증가시켜 항암 효능을 증진시키므로 항암제 보조용 약학적 조성물로 유용하게 사용될 수 있다(실시예 2 참조).

[0086] 본 발명에 따른 항암제 보조용 약학적 조성물에 있어서, 상기 항암제는 사이클로포스파마이드(cyclophosphamide), 5-FU, 암사크린(amsacrine), 도노마이신(daunomycin), 빈크리스틴(vincristine), 나벨빈(navelbine), 파클리탁셀(paclitaxel), 탁소테르(taxotere), 독소루비신(doxorubicin), 다우노루비신(daunorubicin), 에피루비신(epirubicin), 이다루비신(idarubicin), 에토포시드(etoposide), 테니포시드(teniposide), 콜히친(colchicine), 미톡산트론(mitoxantrone), 닥티노마이신(dactinomycin), 토포테칸(topotecan), 트리메트렉스산(trimetrexate), 미트라마이신(mithramycin), 미토마이신 C(mitomycin C) 등이다.

[0087] 바람직하게는 상기 항암제는 파클리탁셀 또는 도노마이신이다.

[0088] 상기 항암제는 구강암, 위암, 폐암, 유방암, 난소암, 간암, 기관지암, 비인두암, 후두암, 췌장암, 방광암, 대장암, 자궁경부암, 뇌암, 전립선암, 골암, 피부암, 갑상선암, 부갑상선암, 신장암, 요관암 등에 사용될 수 있다.

[0089] 본 발명의 화합물은 약제의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다.

[0090] 본 발명에 따른 화합물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀젼, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화 하여 사용될 수 있다. 본 발명의 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 덱스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다.

[0091] 제제 화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 본 발명의 조성물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 탄산칼슘(calcium carbonate), 슈크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텝솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세롤젤라틴 등이 사용될 수 있다.

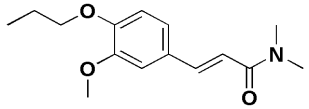
[0092] 본 발명의 화합물은 경구 또는 비경구로 투여될 수 있으며, 비경구 투여법이라면 어느 것이나 사용 가능하고, 전신 투여 또는 국소 투여가 가능하나, 전신 투여가 더 바람직하며, 정맥 내 투여가 가장 바람직하다.

[0093] 본 발명의 화합물의 바람직한 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 그러나 바람직한 효과를 위해서, 본 발명의 조성물은 1일 0.0001 내지 0.03 g/kg으로, 바람직하게는 0.001 내지 8 mg/kg으로 투여하는 것이 좋다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

[0094] 이하, 본 발명을 제조예 및 실시예에 의해 상세히 설명한다.

[0095] 하기 제조예 및 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명이 제조예 및 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

[0096] **<제조예 1> (E)-3-(3-메톡시-4-프로폭시페닐)-N,N-디메틸아크릴아미드의 제조(화합물 1)**

[0097] 

[0098] **단계 1: 메틸 페룰레이트의 제조**

[0099] 페룰산 2 g(10.3 mmol)을 40 ㎖의 메탄올에 녹인 후 진한 H_2SO_4 1.2 ㎖를 가해 주었다. 이 혼합물을 밤새 환류교반하에 가열 교반 하였다. 그 후 5 % $NaHCO_3$수용액을 넣어 염기성화 시키고 디에틸 에테르로 추출하였다. 추출

후 $MgSO_4$로 건조 시킨 후 용매를 감압 농축시켜 메틸 페룰레이트를 얻었다.

[0100]

[0101] **단계 2: (E)-메틸 3-(3-메톡시-4-프로폭시페닐)아크릴레이트의 제조**

[0102] 상기 단계 1에서 제조된 메틸 페룰레이트 0.5 g(2.4 mmol)을 건조 아세톤 6 ㎖에 녹인 후, 무수 K_2CO_3 0.4g(2.9mmol)을 가했다. 1-요오드프로판 0.26 ㎖(2.6 mmol)를 가한 후, 이 혼합물을 60 ℃에서 3시간 동안 가열 교반 하였다. 혼합물을 냉각한 후, 디에틸 에테르로 추출한 후 $MgSO_4$로 건조 시키고 감압 농축하였다. 관크로마토그래피(헥산 : 에틸 아세테이트 = 1 : 1) 로 정제하여(E)-메틸3-(3-메톡시-4-프로폭시페닐)아크릴레이트를 얻었다.

[0103] 연한 노랑색 고체(30%);

[0104] mp 113-114℃;

[0105] ^{1}H-NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 7.634(1H, d, *J*=15.6Hz), 7.083(1H, d, *J*=6Hz), 7.050(1H, s), 6.860(1H, d, *J*=8Hz), 6.305(1H, d, *J*=16Hz), 4.013(2H, t, *J*=6.8Hz), 3.897(3H, s), 3.799(s, 3H), 1.909-1.856(2H, m), 1.046(3H, t, *J*=7.6Hz)

[0106] **단계 3: (E)-3-(3-메톡시-4-프로폭시페닐)아크릴산의 제조**

[0107] 상기 단계 2에서 얻은 (E)-메틸 3-(3-메톡시-4-프로폭시페닐)아크릴레이트를 건조 아세톤 6 ㎖에 녹인 후, 2N NaOH 6 ㎖를 가하고 90 ℃에서 2시간 동안 가열 교반 하였다. 냉각한 혼합물을 디에틸 에테르로 추출한 후, 수층을 10 % 염산을 이용하여 pH 2로 맞추고 다시 디에틸 에테르로 추출 하였다. 유기층을 $MgSO_4$로 건조시킨 후 감압 농축하여(E)-3-(3-메톡시-4-프로폭시페닐)아크릴산을 얻었다.

[0108] 흰색 고체(40%);

[0109] mp 180-182℃;

[0110] ^{1}H-NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 7.717(1H, d, *J*=16Hz), 7.113(1H, d, *J*=6Hz), 7.704(1H, s), 6.875(1H, d, *J*=8.4Hz), 6.313(1H, d, *J*=16Hz), 4.024(2H, t, *J*=6.8Hz), 3.909(3H, s), 1.916-1.863(2H, m), 1.052(3H, t, *J*=7.6Hz)

[0111] **단계 4: (E)-3-(3-메톡시-4-프로폭시페닐)-N,N-디메틸아크릴아미드의 제조(F4)**

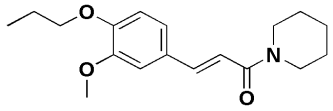
[0112] 상기 실시예 3에서 얻은 (E)-3-(3-메톡시-4-프로폭시페닐)아크릴산 0.05 g(0.21 mmol)을 DMF 5 ㎖에 녹인 후 다양한 디메틸아민·HCl 0.02 g(0.23 mmol) 및 PyBOP(벤조트리아졸-1-일-옥시트리피롤리디노포스포늄 헥사플루오로포스페이트) 0.12 g(0.23 mmol)을 첨가하였다. 상기 반응 혼합물을 교반한 후, i-Pr_2NEt 0.007 ㎖(0.46 mmol)를 가한 후, 실온에서 16시간 교반하였다. 교반 후, 에틸 아세테이트로 추출하고 $MgSO_4$로 건조한 후 감압 농축하여 (E)-3-(3-메톡시-4-프로폭시페닐)-N,N-디메틸아크릴아미드를 얻었다.

[0113] 노랑색 고체(23%);

[0114] mp 108-109 ℃;

[0115] ^{1}H-NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 7.611(1H, d, *J*=15.2Hz), 7.098(1H, d, *J*=6.4Hz), 7.043(1H, s), 6.858(1H, d, *J*=8.4Hz), 6.743(1H, d, *J*=15.6Hz), 4.007(2H, t, *J*=6.8Hz), 3.905(3H, s), 3.180(3H, s), 3.069(3H, s), 1.905-1.852(2H, m), 1.046(3H, t, *J*=7.9Hz)

[0116] **<제조예 2> (E)-3-(3-메톡시-4-프로폭시페닐)-1-(피페리딘-1-일)프로-2-펜-1-온의 제조(화합물 2)**

[0117] 

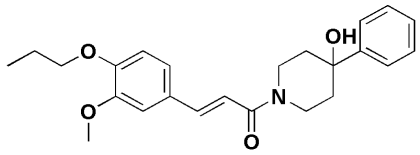
[0118] 상기 제조예 1에서 디메틸아민·HCl을 사용하는 대신 피페리딘 0.023 ml(0.23 mmol)을 사용하는 것을 제외하고는 동일한 방법으로 수행하여 목적 화합물을 얻었다.

[0119] 연한 노랑색 고체(47%);

[0120] mp 91-92℃;

[0121] ^{1}H-NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 7.589(1H, d, *J*=15.2Hz), 7.082(1H, d, *J*=6.4Hz), 7.033(1H, s), 6.851(1H, d, *J*=8.4Hz), 6.751(1H, d, *J*=15.2Hz), 4.004(2H, t, *J*=6.8Hz), 3.905(3H, s), 3.653-3.599(4H, m), 1.904-1.851(2H, m), 1.687-1.542(6H, m), 1.044(3H, t, *J*=7.6Hz)

[0122] **<제조예 3> (E)-1-(4-하이드록시-4-페닐피페리딘-1-일)-3-(3-메톡시-4-프로폭시페닐)프로-2-펜-1-온의 제조(화합물 3)**

[0123] 

[0124] 상기 제조예 1에서 디메틸아민·HCl을 사용하는 대신 4-페닐피페리딘-4-올 0.041 g(0.23 mmol)을 사용하는 것을 제외하고는 동일한 방법으로 수행하여 목적 화합물을 얻었다.

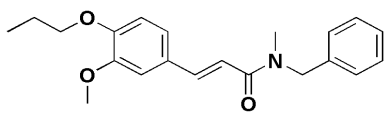
[0125] 연한 노랑색 고체(52%);

[0126] mp 163-164℃;

[0127] ^{1}H-NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 7.646(1H, d, *J*=15.6Hz), 7.4815(2H, d, *J*=8.8Hz), 7.381(2H, t, *J*=11.6Hz), 7.305(1H, d, *J*=5.6Hz), 7.104(1H, d, *J*=8.8Hz), 7.050(1H, s), 6.860(1H, d, *J*=8.4Hz), 6.805(1H, d, *J*=15.2Hz), 4.697(1H, s), 4.131-4.008(3H, m), 3.911(3H, s), 3.668(1H, s), 3.241(1H, s), 2.100-2.045(2H, m), 2.045-1.798(4H, m), 1.046(3H, t, *J*=7.6Hz)

[0128]

[0129] **<제조예 4> (E)-N-벤질-3-(3-메톡시-4-프로폭시페닐)-N-메틸아크릴아미드의 제조(화합물 4)**

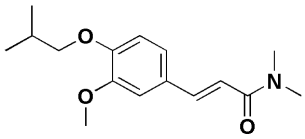
[0130] 

[0131] 상기 제조예 1에서 디메틸아민·HCl을 사용하는 대신 N-벤질메틸아민 0.028 ml(0.23 mmol)을 사용하는 것을 제외하고는 동일한 방법으로 수행하여 목적 화합물을 얻었다.

[0132] 노랑색 오일(56 %);

[0133] ^{1}H-NMR(400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.705(1H, d, *J*=15.2Hz), 7.377-7.237(5H, m), 7.124-7.032(1H, m), 6.951(1H, s), 6.872-6.705(2H, m), 4.709(1H, s), 3.999(2H, d, *J*=8.4Hz), 3.878(3H, s), 3.078(3H, s), 1.889-1.854(2H, m), 1.045(3H, t, *J*=7.6Hz)

[0134] **<제조예 5> (E)-3-(4-이소부톡시-3-메톡시페닐)-N,N-디메틸아크릴아미드의 제조(화합물 5)**

[0135] 

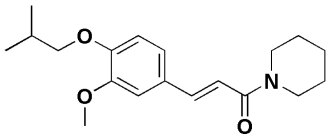
[0136] 상기 제조예 1에서 (E)-3-(4-이소부톡시-3-메톡시페닐)아크릴산 0.05 g(0.2 mmol)과 디메틸아민 HCl 0.018 g(0.22 mmol)을 사용하는 것을 제외하고는 동일한 방법을 수행하여 목적화합물을 얻었다.

[0137] 흰색 고체(46%);

[0138] mp 109-111℃;

[0139] ^{1}H-NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 7.611(1H, d, *J*=15.6Hz), 7.092(1H, d, *J*=6.0Hz), 7.043(1H, s), 6.847(1H, d, *J*=8.4Hz), 6.737(1H, d, *J*=15.6Hz), 3.898(3H, s), 3.795(2H, d, *J*=6.8Hz), 3.176(3H, s), 3.069(3H, s), 2.189-2.156(1H, m), 1.046(3H, s), 1.030(3H, s)

[0140] **<제조예 6> (E)-3-(4-이소부톡시-3-메톡시페닐)-1-(피페리딘-1-일)프로-2-펜-1-온의 제조(화합물 6)**

[0141] 

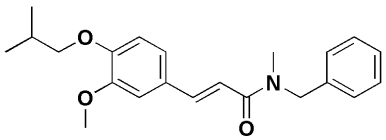
[0142] 상기 제조예 1에서 (E)-3-(4-이소부톡시-3-메톡시페닐)아크릴산 0.05 g(0.2 mmol)과 피페리딘 0.022 ㎖(0.22 mmol)을 사용하는 것을 제외하고는 동일한 방법을 수행하여 목적화합물을 얻었다.

[0143] 노랑색 고체(83%);

[0144] mp 96-97℃;

[0145] ^{1}H-NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 7.586(1H, d, *J*=15.2Hz), 7.078(1H, d, *J*=6.8Hz), 7.036(1H, s), 6.842(1H, d, *J*=8.4Hz), 6.749(1H, d, *J*=15.2Hz), 3.899(3H, s), 3.793(2H, d, *J*=6.8Hz), 3.652-3.603(4H, m), 2.204-2.137(1H, m), 1.686-1.535(6H, m), 1.046(3H, s)

[0146] **<제조예 7> (E)-N-벤질-3-(4-이소부톡시-3-메톡시페닐)-N-메틸아크릴아미드의 제조(화합물 7)**

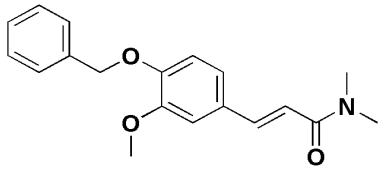
[0147] 

[0148] 상기 제조예 1에서 (E)-3-(4-이소부톡시-3-메톡시페닐)아크릴산 0.05 g(0.2 mmol)과 N-벤질메틸아민 0.028 ㎖(0.22 mmol)을 사용하는 것을 제외하고는 동일한 방법을 수행하여 목적화합물을 얻었다.

[0149] 노랑색 오일(57%);

[0150] ^{1}H-NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 7.701(1H, d, J=15.2Hz), 7.375-7.234(5H, m), 7.118-7.026(1H, m), 6.955(1H, s), 6.861-6.702(2H, m), 4.707(2H, s), 3.871(3H, s), 3.785(2H, t, J=7.2Hz), 3.076(3H, s), 2.170-2.156(1H, m), 1.031(6H, s)

[0151] **<제조예 8> (E)-3-(4-(벤질옥시)-3-메톡시페닐)-N,N디메틸아크릴아미드의 제조(화합물 8)**



[0152]

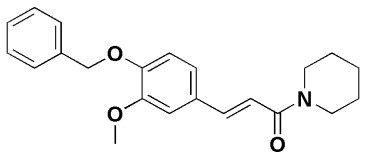
[0153] 상기 제조예 1에서 (E)-3-(4-(벤질옥시)-3-메톡시페닐)아크릴산 0.05 g(0.176 mmol)과 디메틸아민·HCl 0.015 g(0.19 mmol)을 사용하는 것을 제외하고는 동일한 방법을 수행하여 목적화합물을 얻었다.

[0154] 연한 노랑색 고체(67%);

[0155] mp 135-136 ℃;

[0156] ^{1}H-NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 7.597(1H, d, J=15.2Hz), 7.445-7.306(5H, m), 7.058-7.042(2H, m), 6.864(1H, d, J=8.8Hz), 6.737(1H, d, J=15.6Hz), 5.860(2H, s), 3.928(3H, s), 3.172(3H, s), 3.067(3H, s).

[0157] **<제조예 9> (E)-3-(4-(벤질옥시)-3-메톡시페닐)-1-(피페리딘-1-일)프로-2-펜-1-온의 제조(화합물 9)**



[0158]

[0159] 상기 제조예 1에서 (E)-3-(4-(벤질옥시)-3-메톡시페닐)아크릴산 0.05 g(0.176 mmol)과 피페리딘 0.015 ㎖(0.19 mmol)을 사용하는 것을 제외하고는 동일한 방법을 수행하여 목적화합물을 얻었다.

[0160] 연한 갈색 고체(30%);

[0161] mp 127-128 ℃;

[0162] ^{1}H-NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 7.574(1H, d, *J*=15.2Hz), 7.445-7.304(5H, m), 7.047-7.023(2H, m), 6.860(1H, d, *J*=8.8Hz), 6.748(1H, d, *J*=15.6Hz), 5.183(2H, s), 3.928(3H, s), 3.648-3.585(4H, m), 1.683-1.608(6H, m)

[0163] 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물의 P-당단백질 저해 효과 및 약물 흡수 증진효과를 확인하기 위해 하기의 실험들을 실시예 1-2에서 수행하였다.

[0164] **시약 및 기기**

[0165] 세포 배양 배지인 RPMI 1640, 트립신-EDTA(0.25% 트립신-1mM EDTA) 및 항생제(Antibiotic-antimycotic) 시약은 인비트로겐(Invitrogen)(Calsbad, USA)사로부터 구입하여 사용하였고, 소태아혈청(fetal bovine serum, FBS)은 히클론(Hyclone)(South Logan, USA)사로부터 구입하였다. 도노마이신(daunomycin; DNM), 베라파밀(verapamil), DMSO, 설포로다민(sulforhodamine B; SRB), 탄산수소나트륨, L-글루타민, 트리클로로아세트 산(trichloroacetic acid; TCA), Cremophor® EL, 무수에탄올, NaCl, KCl, $MgCl_2$는 시그마(Sigma-Aldrich, St. Louis, USA)사에서 구입하여 사용하였다. $CaCl_2$과 인산은 쇼와화학(Showa chemical, Tokyo, Japan)사, 아세트산(Acetic acid)는 대정(Daejung, Siheung, Korea)사에서 구입하였다. HEPES(N-(2-하이드록시에틸)피페라진-N'-2-에탄설폰산), 트리톤(Triton) X-100 및 트리스 염기(Tris base)는 USB(Cleveland, USA)사에서 구입하였고, 마이크로신트(Microscint TM40, scintillation cocktail)는 패커드(Packard Instrument Co. Inc., Meriden, USA)사에서 구입하였으며, [^{3}H]-DNM(1-5 Ci/mmol)은 퍼킨-엘머(Perkin-Elmer Inc., Wellesley, USA)사로부터 구입하였고, 4-하이드록시벤조산 n-헥실 에스테르는 도쿄 카제이 코교(Tokyo Kassei Kogyo Co, Ltd., Tokyo,

Japan)로부터 구입하였고, 파클리탁셀은 삼양제넥스사(Daejeon, Korea)에서 구입하였다. HPLC 구배(grade)용 아세토니트릴은 머크사(Darmstadt, Germany)로부터 구입하였고, 디에틸 에테르는 덕산(Ansan, Korea)에서, 그리고 헤파린 나트륨염은 신풍제약(Seoul, Korea)에서 구입하였다.

[0166] 옴니오레(Omnioire) 0.45㎛ 멤브레인 필터는 밀리포어사(Bedford, MA, USA), 인트라메딕 폴리에틸렌 튜빙(Intramedic polyethylene tubing(PE60))은 크래이 아담사(Parsippamy, NJ, USA), 블랙 실크 봉합사는 앨리사(Pusan, Korea), 1 ㎖ 실린지는 성심매디컬사(Seoul, Korea), 2 ㎖, 5 ㎖ 및 10 ㎖ 실린지는 한국백신사(Ansam, Korea), 실험용 동물인 스프래그-다우리종 수컷 래트는 오리엔트 바이오사(Seongnam, Korea)에서 구매하였다.

[0167] 세포실험을 위해 사용한 6 웰 플레이트(well plate) 및 96 웰 플레이트는 BD 바이오사이언스(Biosciences, Bedford, USA)사로부터 구입하여 사용하였다. 기기로는 세포배양기(3158, Forma Scientific Inc., Marietta, USA), 방사성 측정기(Topcount NXT, Packard Instrument Co. Inc., Meriden USA), 오비탈 진탕기(orbital shake, SLOS-20, SLB, Seoul, Korea), 역상 현미경(Inverted Microscope, Axiovert 200, Carl Zeiss, Oberkochen, Germany) 및 ELISA 리더(Reader)(3550, Bio-Rad, Hercules, USA)를 사용하였다. 분석용 기기로는 어글리언트 HP1100 시리즈 시스템(Hewlett-Packrad L.P., Palo Alto, CA, USA), 마이크로-12 센트리퓨즈와 유니온 32R 센트리퓨즈(Hanmil Science Industrial Co. Ltd., Anyang, Korea), 볼텍스-제니 2(Scientific industries Inc., Bohemia, NY, USA), 울트라소닉 클리너 3210-DTH(Branson ㎕trasonic Co., Danbury, CT, USA), 웰치 압력/진공펌프 2522C(Thomas Industries, Inc., Skokie, IL, USA)를 사용하였다.

[0168] **<실시예 1> 생체 외(in vitro) 약물의 축적 및 배출 실험**

[0169] 본 발명에 따른 화합물들이 P-gp 활성에 미치는 영향을 검토하기 위하여 P-gp가 과다 발현되어 여러 항암제에 대한 내성을 가진 인체 유방암 세포(MCF-7/ADR)에서 세포독성, 항암제 축적 및 배출 실험을 수행하였다(Skehan et al., *J.Nat 'l.. Cancer. Inst.*, 82, 1107-1112, 1990; Critch field et al., *Biochem. Pharmacol.*, 48, 1437-1445, 1994; Harker et al., *Cancer Res.*, 45, 4091-4096, 1985; Yeh et al., *Cancer Res.*, 52, 6692-6695, 1992; Zhang et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 304, 1258-1267, 2004; Chung *et al., Phytother Res,* 21, 565-569, 2007; Chung *et al., Phytother Res,* 23, 472-476, 2009).

[0170] **(1) 세포 독성 측정**

[0171] 본 발명에 따른 제조예 화합물의 항암제에 대한 내성을 가진 인체 유방암 세포(MCF-7/ADR)에서 세포독성을 알아보기 위해 하기 실험을 수행하였다.

[0172] **세포 배양**

[0173] 다약제 내성을 가지는 인체 유방암 세포(P-gp 과다발현 세포)인 MCF-7/ADR 세포는 CO_2 5% 및 공기 95%가 공급되는 37 ℃의 세포 배양기 안에서 FBS 10%, 10 mM HEPES, 24 mM 탄산수소나트륨, 2 mM L-글루타민 및 항생제를 함유하는 RPMI 1640 배지에서 배양하였다.

[0174] **실험**

[0175] MCF-7/ADR 세포를 각 웰 당 5,000 개정도 들어가도록 96 웰 플레이트에 넣은 후, 세포들이 플레이트에 부착할 수 있도록 37 ℃에서 24 시간 동안 배양하였다. 1.0×10^{-7}M-1.0×10^{-4}M농도 범위의 도노마이신(daunomycin; DNM)과 100 μM 농도의 대표적인 P-gp 저해제인 베라파밀(verapamil; 양성대조군) 및 본 발명에 따른 유도체 화합물 시료들을 각 웰에 넣어주었다. 이때, 본 발명에 따른 화합물들 대신에 DMSO 용매만을 넣은 그룹을 대조군으로 사용하였다. 2시간이 지난 후, 배양액(DNM±본 발명에 따른 화합물 또는 베라파밀)을 제거하고 세포들을 RPMI 1640으로 2회 세척한 후 새 배지를 첨가하였다. 3일 후, SRB 염색법 통해 세포 독성을 검토하였다. 그 방법을 간단히 서술하면 하기와 같다.

[0176] 세포들을 10% TCA로 1 시간 동안 고정시킨 후, 물로 4회 세척하고, 건조시켰다. SRB 시약(0.4% w/v in 1% 아세

트산)을 각 웰에 넣고 1시간 후에 1% 초산으로 4회 세척하였다. 플레이트를 건조시킨 후, 단백질에 결합된 색소를 10 mM 트리스 염기(Tris base)로 90분 동안 용해시켜 530 nm에서의 흡광도를 측정한 후 IC_{50}값을 구하였다. 그 결과를 하기 표 2에 나타내었다.

[0177] 이때, IC_{50}값은 어떠한 반응 A의 크기를 100%로 가정하였을 때, B라는 약물을 이용하여 반응 A의 크기를 50%로 감소시킬 수 있는 B의 농도를 의미한다.

표 2

[0178]

구분(100 uM)	도노마이신 IC_{50}(μM)
DNM+화합물 1	35.8
DNM+화합물 2	33.4
DNM+화합물 3	2.6
DNM+화합물 4	6.5
DNM+화합물 5	19.1
DNM+화합물 6	12.1
DNM+화합물 7	2.7
DNM+화합물 8	7.2
DNM+화합물 9	2.2
용매대조군(DNM)	31.7
약물대조군 (DNM+베라파밀)	3.1

[0179] 표 2에 나타낸 바와 같이, 본 발명에 따른 화합물들은 도노마이신의 IC_{50}값을 2.2 μM까지 감소시키고, 특히, 화합물 3, 7 및 9의 경우, 용매 대조군(P-gp 저해제 없이 DNM으로만 처리)보다 세포독성 증가 효과가 약 12-14배 우수한 것으로 확인되었고, 대표적인 P-gp 저해제로 알려진 베라파밀(3.1 μM)보다 항암제의 세포 독성을 감소시키는 효과가 우수한 것으로 확인되었다.

[0180] **(2) 세포 내 [^{3}H]-도노마이신 축적에 미치는 영향**

[0181] 상기 세포독성을 측정한 화합물 중, 100 μM 농도로 사용했을 때 MCF-7/ADR 세포 생존율에 전혀 영향을 미치지 않으면서도 P-gp 저해제로서 가능성이 있다고 판단되는 화합물의 P-gp 활성에 미치는 영향에 관하여 연구하고자 하기 실험을 수행하였다.

[0182] MCF-7/ADR 세포를 6 웰 플레이트에 150,000개/웰이 되도록 넣어준 후 72 시간 동안 배양하였다. 그 후, 각 웰에 100 μM 농도의 베라파밀, 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물을 0.05 μM 농도의 [^{3}H]-DNM을 함유하는 흡수 완충액(uptake buffer)(137 mM NaCl, 5.4 mM KCl, 2.8 mM $CaCl_2$,1.2mM $MgCl_2$,10mM HEPS, pH7.4) 1 ㎖ 넣어 2시간 동안 배양하였다. 다음으로, 각 웰의 흡수 완충액을 제거하고 빙냉 반응중지액(ice-cold stop solution)(137 mM NaCl, 14 mM Tris, pH 7.4)을 넣어 [^{3}H]-DNM축적을 종결시킨 뒤, 용해 완충액(lysis buffer)(1 % 트리톤 X-100) 1 ㎖을 각 웰에 넣고 150 rpm에서 1시간 동안 진탕한 후 100 ㎕를 취하여 방사성 측정기(LSC)로 방사능을 측정하였다. 대조군의 세포 내 축적 결과와 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물로 세포를 처리한 후, 얻어진 세포 내 축적 결과를 스튜던트 시험법(student's t-test)로 통계 처리하여 p값이 0.05 이하이면($p<0.05$) 통계적으로 유의성이 있다고 판정하였다. 그 결과를 하기 표 3 및 도 1에 나타내었다.

표 3

[0183]

	세포 내 축적된 도노마이신의 양(%)
화합물 3	438 %

화합물 4	382 %
화합물 8	297 %
화합물 9	426 %
약물 대조군 (베라파밀)	335 %
용매 대조군	100 %

[0184] 상기 표 3 및 도 1에 나타낸 바와 같이, 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물을 첨가한 경우, 세포 내 축적된 도노마이신의 양이 297-438%로 용매 대조군(100%)에 비해 약 3-4.4배 정도 우수한 것으로 확인되었고, 특히, 화합물 3, 4 및 9의 경우, 약물 대조군으로 사용된 베라파밀(335%)보다 우수한 효과가 있는 것으로 확인되었다.

[0185] **(3) 세포로부터의 [^{3}H]-도노마이신 배출에 미치는 영향**

[0186] 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물이 인체 유방암 세포 내 도노마이신(DNM)의 축적을 증가시킨 것이 세포 내로 유입된 DNM의 배출을 억제했기 때문인지를 재확인하기 위하여 하기 실험을 수행하였다.

[0187] MCF-7/ADR 세포를 6 웰 플레이트에 150,000개/웰이 되도록 넣어준 후 72 시간 동안 배양한 다음 0.05 μM 농도의 [^{3}H]ㄴ-DNM을 함유하는 흡수 완충액 1 ㎖을 각 웰에 넣어 37 ℃에서 1 시간 동안 배양하여 세포 내로 DNM을 축적시켰다. 그 다음, [^{3}H]-DNM을 함유하는 흡수 완충액을 제거하고 세포들을 씻은 후 각 웰에 100 μM 농도의 베라파밀, 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물을 함유하는 흡수 완충액을 넣어 1시간 동안 배양하였다. 반면, 대조군에는 이들 물질을 함유하지 않는 약물 비함유(drug-free) 흡수 완충액을 넣어주었다. 1시간 후에 빙냉 반응 정지액(ice-cold stop solution)으로 세포들을 두 번 씻어준 다음 용해 완충액(lysis buffer) 1 ㎖을 각 웰에 넣고 150 rpm에서 1시간 동안 진탕한 후, 100 ㎕를 취하여 200 ㎕의 신틸레이션 혼합액(scintillation cocktail)에 넣고 80 rpm으로 overnight동안 섞어준 다음 방사성 측정기(LSC)로 방사능(radioactivity)을 측정하였다.

[0188] 이때 측정된 값은 세포 내 남아있는 DNM양이므로 1시간 동안 0.05 μM 농도의 [^{3}H]-DNM으로 세포들을 배양한 직후 세포 내 유입된 DNM양(total amount)에서 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물로 1시간 동안 세포들을 배양한 후 세포 내에 남아있는 양(remaining amount)의 차이로부터 1시간 동안 세포로부터 배출된 [^{3}H]-DNM양을 계산하였다. 그 결과를 하기 표 4 및 도 2에 나타내었다.

표 4

[0189]

	세포 외 배출된 도노마이신의 양(%)
화합물 3	40.5 %
화합물 4	38.0 %
화합물 8	48.2 %
화합물 9	43.6 %
약물 대조군 (베라파밀)	48.6 %
용매 대조군	64.8 %

[0190] 상기 표 4 및 도 2에 나타낸 바와 같이, 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물을 첨가한 경우, 세포 외로 배출된 도노마이신의 양이 38-48.2%로 용매 대조군(64.8%)에 비해 약 25-41% 정도 적은 양을 배출하는 것으로 나타나 우수한 효과가 있는 것으로 확인되었고, 특히, 화합물 3, 4 및 9의 경우, 약물대조군으로 사용된 베라파밀(48.6%)보다 우수한 것으로 확인되었다.

[0191] 따라서, 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물은 약물인 도노마이신의 세포독성을 증가시키는 효과가 우수하고, 종래 P-gp 저해제인 베라파밀보다 약물이 세포 내로 축적되는 효과가 우수할 뿐만 아니라, 세포 외로 배출되는 약

물의 양을 감소시킴을 알 수 있다.

[0192] **<실시예 2> 생체 내(in vivo) 약물의 경구흡수율 증진 효과측정**

[0193] 본 발명에 따른 화합물의 항암제의 경구 흡수에 미치는 영향을 검토하기 위하여, 종래 항암제인 파클리탁셀과 본 발명에 따른 화합물을 병용 투여하여 파클리탁셀의 경구 흡수율에서의 변화를 관찰하였다(Malingre et al., Invest. New. Drugs., 19, pp155-162, 2001). 이때, 약물대조군으로는 베라파밀을 사용하여 결과를 비교하였다(Perez-Tomas R., Curr. Med. Chem., 13, pp1859-1876, 2006).

[0194] **(1) 동물 실험**

[0195] 온도, 습도 및 빛이 일정하게 조절되는 환경에서(23±2 ℃, 50±5%, 12시간-명/12시간-암) 일반적인 사료와 물을 공급하면서 건강한 스프래그-다우리종 수컷 래트(6-7주령, 260-280 g)를 사용하여 동물실험을 진행하였다. 동물 실험을 위해 최소 1주일간 위의 환경에서 동물을 안정화시킨 후 약물을 처리하기 하루 전에 경동맥을 PE-60 튜브로 삽관술을 수행하였다. 이때 디에틸에테르를 사용하여 가볍게 흡입 마취한 후 수술을 진행하였으며 수술에서 회복되도록 각각의 케이지에 쥐들을 한 마리씩 넣어 자유롭게 움직일 수 있도록 하였고, 사료와 물 또한 자유롭게 섭취할 수 있도록 하였다. 약물 투여는 수술한 다음날 오전부터 진행되었다.

[0196] **(2) 약물 투여**

[0197] 파클리탁셀은 현재 시판되고 있는 Taxol® 제형(무수에탄올:크레모포 EL:살린=1:1:4)으로 제조하였고, 시험 물질인 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물과 약물대조군으로 베라파밀 또한 동일한 제형으로 제조하였다.

[0198] 파클리탁셀은 정맥으로 2 mg/kg, 경구로 25 mg/kg씩 단독으로 투여하였으며, 베라파밀과 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물은 각각 경구로 0.5, 2 및 5 mg/kg씩 파클리탁셀 25 mg/kg과 병용 투여하였다. 약물 투여 시, 파클리탁셀의 최종 농도는 2 mg/㎖이었으며, 베라파밀과 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물 또한 동일한 농도로 제조하여 사용하였다. 단, 베라파밀과 시험 물질의 투여 용량이 0.5 mg/kg인 경우, 소량 투여 시 발생할 수 있는 오차를 고려하여 최종 농도를 1 mg/㎖로 하였다. 이때, 각각의 용제의 비율은 위와 동일하였다.

[0199] 혈액 샘플은 0.9% 생리식염수로 희석된 헤파린(100 IU/㎖)으로 코팅된 1 ㎖ 주사기를 사용하여 정해진 채혈 시점별로 200 ㎕씩 채취하였으며, 혈액 채취 후 동량의 헤파린 함유 생리식염수로 대체하였다. 혈액 샘플은 11,000 rpm에서 15분 동안 원심 분리함으로써 혈장을 얻었고, 이를 분석 전까지 -70 ℃에서 보관하였다. 정맥 투여 시 채혈 시점은 0, 0.033, 0.083, 0.25, 0.5, 1, 2, 3, 4, 6, 10, 24시간이었고, 경구 투여 시 채혈 시점은 0, 0.25, 0.5, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 24시간이었다.

[0200] **(3) HPLC 분석을 위한 혈장 샘플 준비**

[0201] 50 ㎕의 혈장 샘플에 5 ㎕의 n-헥실 p-하이드록시 벤조산(3 ug/㎖)을 내부표준물질로 첨가하고 추출액인 아세토니트릴 45 ㎕를 넣어 2분간 볼텍싱한 후, 13,000 rpm에서 15분간 원심 분리하였다. 그리고 나서 상층액을 취한 뒤 HPLC에 40 ㎕를 주입하였다.

[0202] **(4) HPLC 분석**

[0203] 혈장 샘플을 분석하기 위한 기기로 HPLC를 사용하였으며, 분석 조건은 다음과 같았다. 이동상의 조성은 0.1% 인산:아세토니트릴 = 50:50(v/v)이었으며 유속은 0.5 ㎖/min, 지속시간(running time)은 30분으로 설정하였다. 컬럼은 Capcell Pak C18 MG120 컬럼(3 mm×250 mm, 5 μM, Shiseido, Tokyo, Japan)을 사용하였고, UV 검출기의 파장은 227 nm로 설정하였다.

[0204] **(5) 화학식 1의 화합물이 파클리탁셀의 위장관 흡수에 미치는 영향**

[0205] 본 발명에 따른 화합물이 항암제인 파클리탁셀의 위장관 흡수에 미치는 영향을 조사하기 위하여, 파클리탁셀(25 mg/kg)과 베라파밀(0.5, 2, 5 mg/kg) 또는 본 발명의 화학식 1의 화합물(0.5, 2, 5 mg/kg)를 실험동물에 경구로 동시 투여하였다. 이때 얻은 혈장 샘플을 HPLC를 이용하여 분석하였으며, 윈논린(WinNonlin) 프로그램을 사용하여 PK 파라미터들을 도출하였다.

[0206] 이때, 정맥 투여 후의 초기 농도(C_0), 최고 혈장 농도(C_{max}), 최고 혈장 농도에 도달하는 시간(T_{max}), 생체 내 소실반감기($t_{1/2}$), 소실속도 정수(ke), 마지막 채혈시점까지의 혈장 농도-시간 곡선하 면적(AUC_{last}), 무한대까지의 혈장 약물 농도-시간 곡선하 면적(AUC_{inf}), 전신 클리어런스(Cl 또는 Cl/F)와 겉보기 분포용적(Vd 또는 Vd/F)의 파라미터를 도출하였다.

[0207] 파클리탁셀만을 정맥 투여한 경우(표 5 및 도 3 참조), 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물을 파클리탁셀과 경구로 투여한 경우(표 6 및 도 4 참조) 및 파클리탁셀과 베라파밀을 경구투여한 경우(표 7 및 도 5 참조)의 파클리탁셀의 혈장 농도-시간 프로파일을 나타내었다.

표 5

[0208] **파클리탁셀 단독 정맥 투여한 경우의 약물동태학적 파라미터**

PK 파라미터	PTX 2 mg/kg(IV)
C_0(㎍/㎖)	3.89±0.25
AUC_{last}(㎍·h/㎖)	1.53±0.18
AUC_{INF}(㎍·h/㎖)	1.83±0.20
$t_{1/2}$(h)	11.9±1.48
ke(1/h)	0.059±0.007
Vz(㎖)	5166±842
Cl(㎖/h)	301±32.2

표 6

[0209] **파클리탁셀 단독; 및 파클리탁셀과 화학식 1의 화합물을 동시에 경구투여한 경우의 약물동태학적 파라미터**

PK 파라미터	PTX (25 mg/kg) (n=5)	PTX (25 mg/kg)와 병용 투여된 화합물 9의 용량		
		0.5 mg/kg (n=5)	2 mg/kg (n=4)	5 mg/kg (n=5)
C_{max} (㎍/mL)	0.19±0.04	0.19±0.10	0.25±0.05	0.20±0.03
T_{max} (h)	2.0±0.0	2.0±0.0	3.5±1.0	2.2±0.45
AUC_{last} (㎍·h/mL)	0.70±0.18	0.83±0.54	1.69±0.65	1.31±0.37
AUC_{INF} (㎍·h/mL)	0.77±0.16	0.91±0.54	1.88±0.75	1.46±0.37
$t_{1/2}$ (h)	2.85±0.86	2.30±0.51	6.53±0.15	6.82±1.32
ke (1/h)	0.26±0.07	0.31±0.06	0.16±0.15	0.11±0.02
Vz/F (mL)	35142±16840	32302±19104	34798±17725	44607±12272
Cl/F (mL/h)	8224±1835	9384±4815	4105±1528	4528±1039
Absolute BA (%)	3.68	4.35	8.8	6.9
Relative BA (%)		118.4	239.5	186.6

표 7

[0210] **파클리탁셀 단독; 및 파클리탁셀과 베라파밀을 동시에 경구투여한 경우의 약물동태학적 파라미터**

PK 파라미터	PTX(25 mg/kg) (n=5)	PTX(25 mg/kg)와 병용 투여된 베라파밀의 용량		
		0.5 mg/kg(n=5)	2 mg/kg(n=4)	5 mg/kg(n=4)
C_{max}(㎍/mL)	0.19±0.04	0.23±0.05	0.16±0.06	0.21±0.05

T_{max}(h)	2.0±0.0	2.2±0.45	2.4±0.55	2.6±0.9
AUC_{last}(μg·h/mL)	0.70±0.17	1.50±0.38	1.18±0.35	2.04±0.75
AUC_{INF}(μg·h/mL)	0.77±0.16	1.82±0.36	1.36±0.31	2.28±0.84
$t_{1/2}$(h)	2.85±0.86	10.3±5.30	8.77±3.00	7.13±0.50
ke(1/h)	0.26±0.07	0.09±0.05	0.09±0.03	0.10±0.01
Vz/F(mL)	35142±16840	56313±29339	70085±31691	36674±15241
Cl/F(mL/h)	8224±1835	3803±988.5	5375±1279	3584±1588
Absolute BA(%)	3.68	7.84	6.14	10.6
Relative BA(%)		213.1	167.1	289.1

[0211] 표 6 또는 도 4를 참조하면, 파클리탁셀과 본 발명의 화합물을 경구 투여한 경우, 파클리탁셀을 단독으로 투여한 경우보다 투여용량에 따른 최대 혈장 중 약물농도가 높아졌으며, 약물의 소실반감기가 증가하였고, 약물의 흡수율이 현저하게 증가하는 것을 확인하였다.

[0212] 한편, 표 7 및 도 5를 참조하면, 베라파밀과 함께 파클리탁셀을 경구 투여한 경우, 베라파밀 2.0 mg/kg을 투여했을 때, 최대 혈장 중 농도(C_{max})는 0.16±0.06 μg/mL로서 동일 용량의 화합물 9를 투여한 경우(0.25±0.05 μg/mL)에 비해 약 36% 정도 낮았고 체내 노출 정도 (AUC)의 경우도 약 30% 정도 더 낮았다 .

[0213] 이러한 결과로부터, 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물은 2 mg/kg 용량에서 베라파밀보다 더 효과적으로 파클리탁셀의 흡수를 증가시킴으로써 파클리탁셀의 절대생체이용률 및 상대생체이용률이 화학식 1의 화합물에 의해 현저히 증가함을 알 수 있다.

[0214] 이로부터 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물은 다약제 내성 억제제 또는 항암제 보조용 약학적 조성물로 유용하게 사용될 수 있음을 알 수 있다.

[0215] 한편, 본 발명에 따른 화합물은 목적에 따라 여러 형태로 제제화가 가능하다. 하기는 본 발명에 따른 화합물을 활성성분으로 함유시킨 몇몇 제제화 방법을 예시한 것으로 본 발명이 이에 한정되는 것은 아니다.

[0216] **<제제예 1> 약제의 제조**

[0217] **1. 산제의 제조**

[0218] 피페라진 화합물 500 ng

[0219] 유당 1 g

[0220] 상기의 성분을 혼합하고 기밀포에 충진하여 산제를 제조하였다.

[0221] **2. 정제의 제조**

[0222] 피페라진 화합물 500 ng

[0223] 옥수수전분 100 mg

[0224] 유당 100 mg

[0225] 스테아린산 마그네슘 2 mg

[0226] 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조하였다.

[0227] **3. 캡슐제의 제조**

[0228] 피페라진 화합물 500 ng

[0229] 옥수수전분 100 mg

[0230] 유당 100 ㎎

[0231] 스테아린산 마그네슘 2 ㎎

[0232] 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 캡슐제의 제조방법에 따라서 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조하였다.

[0233] **4. 주사제의 제조**

[0234] 피페라진 화합물 500 ng

[0235] 만니톨 180 ㎎

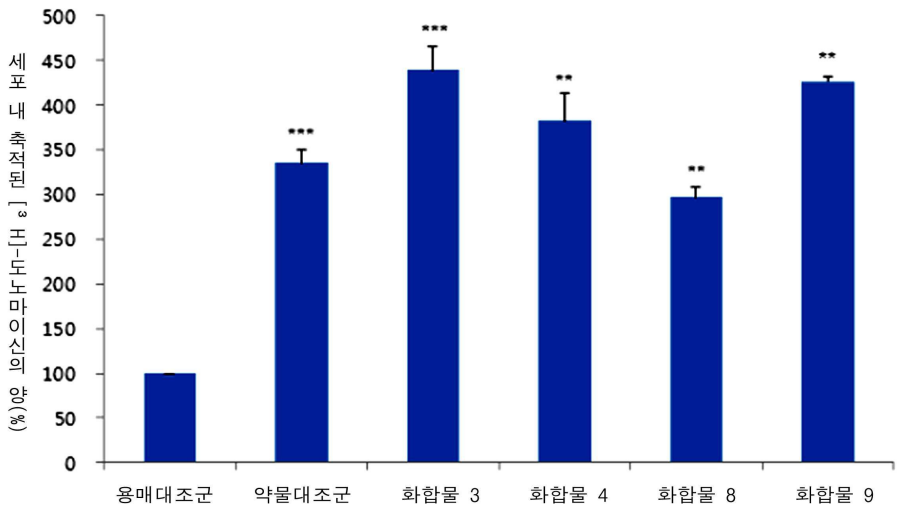
[0236] $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ 26 ㎎

[0237] 증류수 2974 ㎎

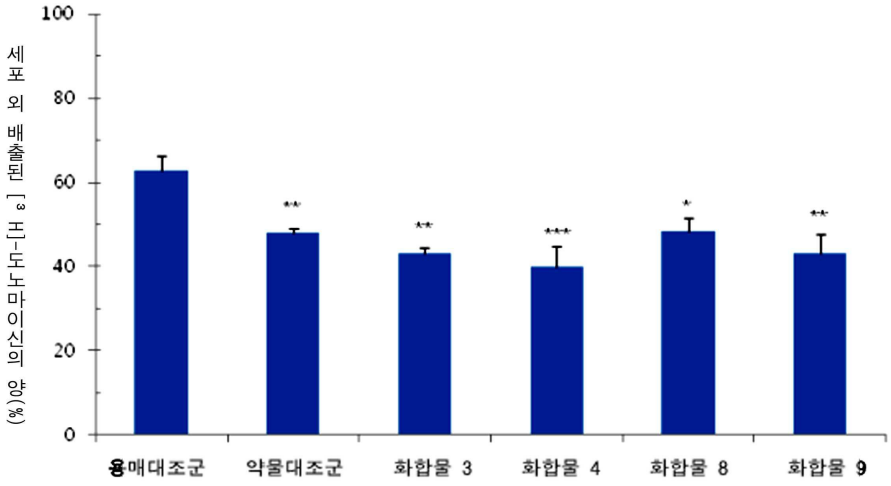
[0238] 통상적인 주사제의 제조방법에 따라, 상기 성분들을 제시된 함량으로 함유시켜 주사제를 제조하였다.

도면

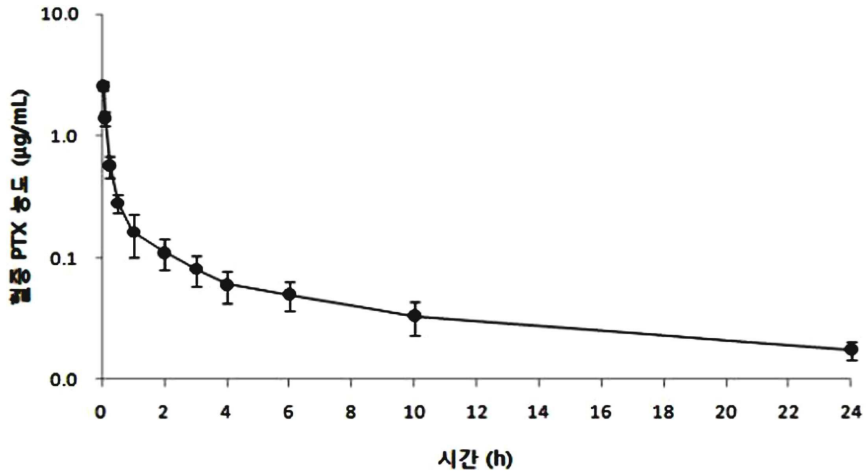
도면1



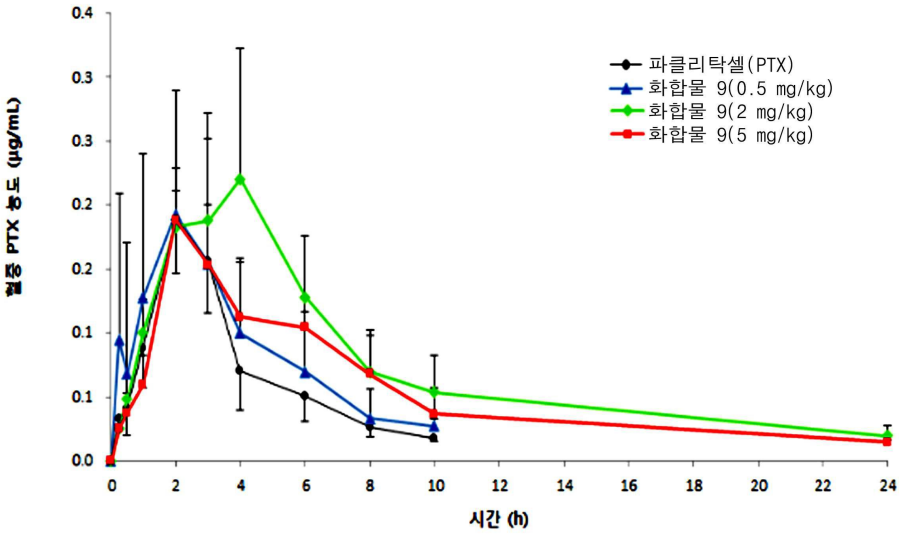
도면2


세포 외 배출된 [3H]-도노마이신의 양(%)
100
80
60
40
20
0
**
**
***
*
**
용매대조군
악물대조군
화합물 3
화합물 4
화합물 8
화합물 9

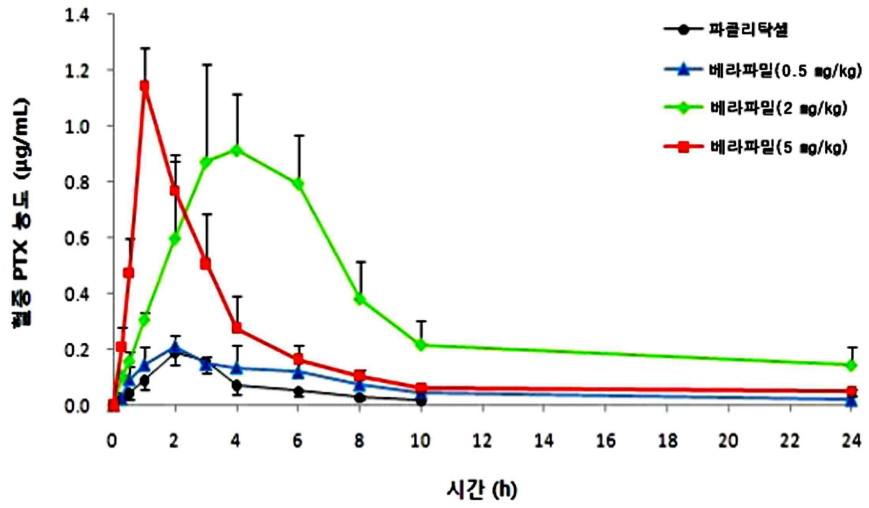
도면3


혈중 PTX 농도 (μg/mL)
10.0
1.0
0.1
0.0
0
2
4
6
8
10
12
14
16
18
20
22
24
시간 (h)

도면4


혈중 PTX 농도 (μg/mL)
시간 (h)
파클리탁셀(PTX)
화합물 9(0.5 mg/kg)
화합물 9(2 mg/kg)
화합물 9(5 mg/kg)

도면5


혈중 PTX 농도 (μg/mL)
시간 (h)
파클리탁셀
베라파밀(0.5 mg/kg)
베라파밀(2 mg/kg)
베라파밀(5 mg/kg)