(19)대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(51) 。Int. Cl.[7]
A61K 31/555

(11) 공개번호 10-2004-0004386
(43) 공개일자 2004년01월13일

(21) 출원번호 10-2003-7004595 (분할)
(22) 출원일자 2003년03월29일
(62) 원출원 특허 10-1995-0702375
원출원일자 : 1995년06월07일
심사청구일자 1998년11월09일
번역문 제출일자 2003년03월29일
(86) 국제출원번호 PCT/US1993/011857
(87) 국제공개번호 WO 1994/13300
(86) 국제출원출원일자 1993년12월06일
(87) 국제공개일자 1994년06월23일

(30) 우선권주장 07/987,474 1992년12월07일 미국(US)

(71) 출원인 유카리언, 인코포레이티드
미국 매사츄세츠주 01730 베드포드 알프레드 서클 식스쓰 플로어

(72) 발명자 말프로이-카마인,버나드
미국매사츄세츠01730베드포드알프레드서클식스쓰플로어

보드리,미쉘
미국캘리포니아90807롱비치라임애비뉴4240

(74) 대리인 안성탁
이상섭
김성기

심사청구 : 있음

(54) 질병의 예방 및 치료용 항산화제로서 유용한 합성 촉매자유 라디칼 스캐빈저

요약

본 발명은 초산화물과 같은 자유라디칼에 의하여 생성된 세포 또는 조직 손상과 관련된 자유라디칼 약학 투여에 적합한 형태의 항산화제 살렌-금속 착물을 제공한다.

대표도

도 1

명세서

도면의 간단한 설명

도면의 간단한 설명

제1도는 본 발명의 살렌 유도체의 일반 구조식을 나타낸 것이다.

제2도는 n이 0인 경우 제1도에 도시한 구조식으로 표시되는 살렌 유도체를 나타낸다.

제3도는 본 발명의 바람직한 화합물의 구조식을 나타낸 것이다.

제4도는 분리된 뇌 절편에서 허혈/재산화 에피소드가 시냅스 전이에 미치는 효과를 도식적으로 나타낸 것이다.

제5도는 살렌-Mn 착물이 허혈/재산화 에피소드 이후에 EPSP 진폭에 미치는 효과를 나타낸 것이다.

제6도는 살렌-Mn 착물이 허혈/재산화의 에피소드 이후에 EPSP 초기 경사도에 미치는 효과를 나타낸 것이다.

제7도는 살렌-Mn 착물이 허혈/재산화의 반복된 에피소드 이후에 뇌 절편 생체 생존성에 미치는 효과를 나타낸 것이다.

제8도는 의원성 파킨슨 병의 동물 모델에서 살렌-Mn 착물의 보호 효과를 나 타낸 것이다.

제9도는 C7이 락트산 유도된 지질 과산화 반응으로부터 해마 절편을 보호하는 것을 나타낸다.

제10도는 6-OHDA 유도된 변성으로부터 마우스 선조체에서 C7이 도파민성 뉴우런을 보호하는 것을 나타낸다.

제11도는 MPTP 유도된 변이로부터 마우스 선조체에서 C7이 도파민성 뉴우런을 보호하는 것을 나타낸다.

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

본 발명은 질병의 치료와 예방에 사용되는 합성 촉매 저분자량 항산화제와 자유 라디칼 스캐빈저로 이루어진 의약 조성물, 상기 저분자량 항산화제를 병리학적 증상의 예방과 치료에 사용하는 방법, 상기 저분자량 항산화제를 암 화학요법시에 조직 및/또는 세포형의 표적화된 보호에 사용하는 방법, 및 상기 저분자량 항산화제를 염증성 산화제 또는 기타 산화성 손상원, 특히 초산화물(superoxide) 라디칼과 같은 산소 유도 산화제 종에 노출된 개체에 대한 독성 손상을 예방하는 데 사용하는 방법을 제공한다. 또한 본 발명의 방법과 조성물은 인체 이식 기관의 산화성 손상을 예방하고 허혈 조직의 역류후의 재산화 손상을 억제하는 데 사용된다. 이외에도 본 발명의 방법과 조성물은 에폭사이드 또는 자유 산소 라디칼 중간체가 관여하는 약물 대사 반응의 변경과 화학적 발암현상의 화학적 예방에 유용하다.

산소 분자는 인체를 비롯한 호기성 환경에서 생활해야 하는 유기체에 대한 필수 영양소이다. 산소는 여러 가지 중요한 방식으로, 즉, 산화성 포스포릴화에서의 최종 전자 수용체로서, 많은 디옥시게나제 반응에서, 예를 들면 카로티노이드로부터 비타민 A와 프로스타글란딘을 합성하는 반응에서, 히드록실라제 반응의 숙주에서, 예를 들면 스테로이드 호르몬의 형성과 변형에서, 그리고 칼시노젠을 비롯한 생체이물의 활성화와 불활성화에서 사용된다. 광범위한 P-450 계는 중요한 세포 반응의 숙주에 산소 분자를 사용한다. 유사한 맥락에서, 천연적으로 각종의 효소 반응에서는 자유 라디칼을 사용한다. 다양한 형태의 산소와 자유 라디칼의 농도가 과다할 경우, 생체계에 심각한 역효과를 미칠 수 있는데, 그러한 영향의 예로는 막 지질의 과산화, 핵산 염기의 히드록실화 및 설프히드릴기와 기타 단백질 내의 민감성 부분의 산화를 들 수 있다. 이들이 억제되지 않을 경우, 변이와 세포 사멸을 초래할 수 있다.

생물학적 항산화제로는 잘 알려진 효소, 예컨대 초산화물 디스뮤타제, 카탈라제, 셀렌 글루타티온 퍼옥시다제 및 인지질 과산화수소 글루타티온 퍼옥시다제를 들 수 있다. 비효소계 생물학적 항산화제로는 토코페롤과 토코트리에놀, 카로티노이드, 퀴논, 빌리루빈, 아스코르브산, 요산 및 금속 결합 단백질을 들 수 있다. 지용성 및 수용성인 각종 항산화제는 모든 부분의 세포와 조직에서 발견되지만, 각각의 특이적인 항산화제가 특징적인 분포 패턴을 나타내는 경우가 많다. 소위 오보티올은 머캡토히스티딘 유도체로서, 비효소적으로 과산화물을 분해한다.

자유 라디칼, 특히 산소 분자로부터 유도된 자유 라디칼은 여러 가지 생물학적 현상에 있어서 기본적인 기능을 한다. 실제로, 중요한 질병으로서 생각되는 것들중 대부분이 산소 라디칼(옥시라디칼)병태 생리와 관련된 것으로 제안된 바 있다(짐머멘 JJ (1991) *Chest 100* : 189S). 옥시라디칼 손상은 폐렴 산소 독성, 성인 호흡기 통증 증후군(ARDS), 기관지 폐렴성 형성 장애, 패혈증 및 각종 허혈 역류 증상, 예를 들면 심근경색증, 발작, 심폐 우회, 기관 이식, 괴사성 장염, 급성 신관 괴사증 및 기타 질병의 병원론에서 사료되고 있다. 옥시라디칼은 단백질, 핵산, 지질 및 특히 중병의 환

자에서 세포 및 조직에 대한 손상을 일으키는 기타 생물학적 거대분자와 반응할 수 있다.

자유 라디칼은 쌍을 이루지 않은 전자를 함유하는 원자, 이온, 또는 분자이다(프라이어, WA (1976) *Free Radicals in Biol. 1* :1). 자유 라디칼은 통상 불안정하고 반감기가 짧다. 산소 원자는 전기 음성도가 크고 시토크롬과 기타 환원된 세포 성분으로부터 단일의 전자 전이를 쉽게 수용하며; 호기성 호흡과 관련된 세포에 의해 소모된 O_2의 일부는 1가로 환원되어 초산화물 라디칼(O_2^-)로 된다 (카데나스 E (1989) *Ann. Rev. Biochem. 58* : 79). 차후에 O_2^-는 1가로 환원되어 과산화수소(H_2O_2), 히드록시 라디칼(OH) 및 물을 생성한다.

자유 라디칼은 호기성 호흡, 약물과 생체이물의 시토크롬 P-450 촉매된 단일 산소화 반응(예를 들면 사염화탄소의 산화 반응에 의해 형성된 트리클로로메틸 라 디칼, CCl_3) 및 이온화 반응을 비롯해 많은 공급원으로부터 유래할 수 있다. 예를 들어 조직이 감마선에 노출될 경우 세포에 저장된 에너지의 대부분은 물에 의해 흡수되어 수중에서 산소-수소 공유 결합을 절단시킴으로써 수소 원자와 산소 원자상에 각각 하나씩의 전자를 남게 하여 2개의 라디칼 H 와 OH를 형성한다. 히드록시 라디칼 OH는 화학에 있어서 가장 반응성이 큰 라디칼로서 알려져 있다. 이는 생물학적 분자와 반응하고 연쇄 반응을 개시하여 핵산의 퓨린 또는 피리미딘 염기와 상호 작용할 수 있다. 실제로, 방사선 유도 발암 현상은 자유 라디칼 손상에 의해 개시될 수 있다(브라이머 LH (1988) *Brit. J. Cancer 57* :6). 또한 예를 들면, 활성화된 호중구의 '산화성 파열'은 많은 초산화 라디칼을 생성하는데, 이는 활성화된 호중구의 세포 독성 효과를 산출하는 데 필수적인 요소인 것으로 생각된다. 또한, 허혈 조직의 역류는 광범위한 농도의 옥시라디칼, 대개는 초산화물을 생성한다(구터리지 JMC 및 할리웰 B (1990) *Arch. Biochem. Biophys. 283* :223). 또한, 생리학적 조절제인 산화질소와의 반응을 위해 내피 세포에 의해서 생리학적으로 생성되어 퍼옥시나이트라이트, 즉 $ONOO^-$를 형성할 수 있으며, 이는 분해되어 히드록시 라디칼 OH를 생성시킬 수 있다(말레타 MA (1989) *Trends Biochem. Sci. 14* : 488; 몬카다 등 (1989) *Biochem. Pharmacol. 38* :1709; 사란 등 (1990) *Free Rad. Res. Commun. 10* : 221; 베크만 등 (1990) *Proc. Natl. Acad. Sci.(U.S.A.) 87* : 1620). 옥시라디칼의 또 다른 공급원은 분해된 미토콘드리아 또는 엔도플라즈마 망상 전자이동 연쇄, 프로스타글란딘 합성, 카테콜아민의 산화 및 혈소판 활성 화를 통한 전자의 '누출'이다.

많은 자유 라디칼 반응은 세포 성분에 큰 손상을 주며, 이들은 단백질을 가교시키고, DNA를 변이시키며, 지질을 과산화시킨다. 자유 라디칼이 일단 형성되면, 이들은 상호작용에 의해 다른 자유 라디칼 및 비 라디칼 산화제, 예컨대 단일선의 산소($^1O2$)와 과산화물을 생성한다. 또한, 자유 라디칼 반응의 생성물 중 일부가 손상되면 잠재적으로 손상을 일으키는 화학종을 생성할 수 있다. 예를 들면, 말론디알데히드는 실질적으로 임의의 아민 함유 분자와 반응하는 과산화된 지질의 반응 생성물이다. 산소 자유 라디칼은 또한 단백질의 산화 변성을 일으킨다(스타트맨 ER (1992) *Science 257* :1220).

호기성 세포는 일반적으로 옥시라디칼과 이의 반응 생성물의 유해한 효과에 대한 몇가지 방어 수단을 함유한다. 초산화물 디스뮤타제(SOD)는 다음과 같은 반응에서 촉매 작용을 하여 초산화물을 제거하고 과산화수소를 형성한다.

$$2\,O_2^- + 2\,H^+ \rightarrow O_2 + H_2O_2$$

H_2O_2는 라디칼이 아니지만, 세포에 대해 독성이 있다. 이는 카탈라제와 글루타티온 퍼옥시다제(GSH-Px)의 효소 작용에 의해 제거된다. 카탈라제는 하기 반응에서 촉매 작용을 한다.

$$2\,H_2O_2 \rightarrow 2\,H_2O + O_2$$

또한 GSH-Px는 과산화수소를 이용하여 환원된 글루타티온(GSH)을 산화된 글 루타티온(GSSG)로 산화시킴으로써 과산화수소를 제거하는데, 그 반응식은 다음과 같다.

$$2\,GSH + H_2O_2 \rightarrow GSSG + 2\,H_2O$$

인지질 과산화수소 글루타티온 퍼옥시다제 (PLOOH-GSH-Px)와 같은 다른 효소는 반응성 인지질 히드로퍼옥사이드, 유리된 지방산 히드로퍼옥사이드 및 콜레스테롤 히드로퍼옥사이드를 상응하는 무해한 지방산 알코올로 전환시킨다. 글루타티온 S-트랜스퍼라제도 유기 과산화물의 독성 제거에 참여한다. 이러한 효소가 존재하지 않고, 철 또는 구리와 같은 전이 금속이 존재할 때는, 초산화물과 과산화수소가 하기 반응에 참여하여 반응성이 큰 히드록실 라디칼 OH^-를 생성한다.

$$O_2^- + Fe^{3+} \rightarrow O_2 + Fe^{2+}$$

$$H_2O_2 + Fe^{2+} \rightarrow OH + OH^- + Fe^{3+}$$

자유 라디칼과 산화제 종의 효소에 의한 독성 제거외에도, 글루타티온, 아스코르베이트, 토코페롤, 우비퀴논, 빌리루빈 및 요산과 같은 각종 저분자량 항산화제는 천연의 생리학적 항산화제로서 작용한다(크린스키 NI (1992) *Proc. So*

c. Exp. Biol. Med. 200 :248-54). 카로티노이드는 또 다른 부류의 저분자량 항산화제로서 산화성 스트레스와 만성 질병에 대한 보호제로서 고찰되고 있다. 문헌 [캔필드 등, (1992) *Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 200* : 260]은 카르티노이드와 각종 만성 질병, 예를 들면 관상 심장병, 백내장 및 암과의 관계를 요약하고 있다. 카로티노이 드는 특정의 악성 전구 증상, 예컨대 일부 환자에 있어서의 백반증의 발생 빈도를 급감시킨다.

허혈 조직이 재산화하는 동안 옥시라디칼 형성으로 인한 손상을 방지하고자, 각종 항산화제를 사용한 바 있다.

옥시라디칼에 의해 유발된 손상을 예방하기 위한 한가지 방법은 초산화물과 같은 옥시라디칼의 형성을 억제하는 것이다. 데스페리옥시아민(데페록사민 또는 데스페롤이라고도 부름) 등과 같은 철 이온 킬레이터는 철 이온 의존성 OH 생성을 억제하므로, 자유 라디칼 형성의 억제제로서 작용한다(구터리지 등 (1979) *Biochem. J. 184* : 469; 할리웰 B (1989) *Free Radical Biol. Med. 7* :645; 반데르 카라이유 등 (1989) *Circulation 80* :158). 아미노스테로이드계 항산화제, 예컨대 '라자로이드'로 불리우는 21-아미노스테로이드(예: U74006F) 또한 옥시라디칼 형성에 대한 억제제로서 제안된 바 있다. 데스페리옥사민, 알로푸리놀 및 옥시푸리놀과 같은 기타 피라졸로피리미딘도 심근 기절 모델계에서 옥시라디칼 형성 억제에 관하여 시험하였으며(볼리 등 (1989) *Circ. Res. 65* :607), 이어서 출혈 및 내독성 쇼크에 대해 시험한 바 있다(드가라빌라 등 (1992) *Drug Devel. Res. 25* :139). 그러나, 이 화합물들은 각각 치료용으로서는 뚜렷한 단점을 가지고 있다. 예를 들면 데페록사민은 이상적인 철 킬레이터가 아니며, 이의 세포 침투는 극히 제한된다.

옥시라디칼에 의해 유발된 손상을 방지하기 위한 또 다른 방법은 초산화물과 같은 옥시라디칼을 그것이 형성된 후에 접촉 제거하는 것이다. 초산화물 디스뮤타제와 카탈라제는 여러 가지 형태의 실험에서 역류물에 첨가하였을때 또는 허혈전에 첨가하였을때 보호제로서 면밀하게 연구되어 일부 성공을 거둔 바 있다(상기 구터리지 JMC 및 할리웰 B의 문헌(1990)에서 검토). 재조합 초산화물 디스뮤타제의 입수 용이성으로 말미암아 각종 의학적 증상, 예컨대 뇌와 척수의 역류 손상의 치료 또는 예방에 있어서(우이야마 등 (1990) *Free Radic. Biol. Med. 8* : 265 ; 림 등(1986) *Ann. Thorac. Surg. 42* :282), 내독소혈증에 있어서(슈나이더 등 (1990) *Circ. Shock 30* : 97 ; 슈나이더 등(1989) *Prog, Clin. Biol. Res. 308* : 913) 및 심근 경색증에 있어서(파텔 등(1990) *Am. J. Physiol. 258* : H369 ; 메타 등(1989) *Am. J. Physiol. 257* : H1240 ; 네지마 등(1989) *Circulation 79* : 143 ; 핑크 등(1988) *Arzneimittelforschung 38* : 138 ; 암브로시오 등(1987) *Circulation 75* : 282), 그리고 관절염 및 장 허혈에 있어서(보라 등(1989) *J. Pediatr. Surg 24* : 893 ; 플로헤 L(1988) *Mol. Cell. Biochem. 84* :123), SOD를 투여한 효과를 더욱 면밀히 평가할 수 있게 되었다. 또한 초산화물 디스뮤타제는 전신성 낭창 홍반증, 크론병, 위궤양, 산소독성, 화상환자, 신장 이식 실패 및 헤르페스 심플렉스 감염의 치료에도 바람직한 효과를 갖는 것으로 보고되어 있다.

옥시라디칼에 의해 유발된 손상을 방지하기 위한 제3의 방법은 초산화물과 같은 옥시라디칼이 형성된 후에, 이를 대개는 촉매적인 것이 아니라 화학양론적으로 작용하는 저분자량 스캔빈저를 사용함으로써 소거하는 것이다. 글루타티온류의 물질을 옥시라디칼 손상을 경감시키기 위한 각종 동물 모델에 사용한 바 있다. 예를 들면, N-2-머캡토프로피오닐 글리신은 심근 허혈과 역류의 개 모델에서 보호 효과를 제공하는 것으로 밝혀졌으며(미트소스 등(1986) *Circulation 73* : 1077), N- 아세틸시스테인('Mucomyst')은 양 모델에서 내독소 독성 치료에 사용되었다(베르나드 등 (1984) *J. Clin. Invest. 73* : 1772). 디메틸티오우레아(DMTU) 및 부틸-α-페닐니트론(BPN)은 히드록실 라디칼 ·OH를 소거하며, 래트 심근과 토끼에서 허혈 역류 손상을 경감시키는 것으로 밝혀졌다(반데르 하이드 등 (1987) *J. Mol. Cell. Cardiol. 19* :615 ; 케네디 등(1987) *J. Appl. Physiol. 63* : 2426). 또한, 만니톨은 자유 라디칼 스캔빈저로서 사용되어 재산화 반응중에 기관 손상을 감소시킨다(폭스 RB(1984) *J. Clin. Invest. 74* : 1456 ; 우리엘 등 (1985) *Circulation 72* : 254). 한 보고에 따르면 저분자량 킬레이트는 글루타티온 퍼옥시다제 유사물과 같은 활성을 갖는다(스펙터 등(1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A) 90* : 7485).

따라서, 옥시라디칼 형성의 억제제 및/또는 초산화물과 과산화수소를 제거하는 효소 및/또는 저분자량 옥시라디칼 스캐빈저를 사용하는 방법은 모두 다양한 허혈 병상에 존재하는 재산화 손상을 억제하고 자유 라디칼과 관련된 각종 질병을 치료 또는 예방하는 데 유용하다. 그러나, 이 방법들은 몇가지 단점이 있다. 예를 들면 옥시라디칼 형성 억제제는 대개 정상적인 생리학적 양상과 호흡에 있어서 필수 효소 반응에 사용되는 킬레이트 전이 금속이며, 또한 매우 높은 용량하에서는, 이들 억제제가 옥시라디칼 형성을 완전히 방지하는 것은 아니다. 초산화물 디스뮤타제와 카탈라제는 제조 비용이 비싼 거대 폴리펩티드이고, 세포 또는 혈액-뇌 장벽을 침투하지 못하며, 대개 비경구 투여 경로를 필요로 한다. 자유 라디칼 스캔빈저는 화학 양론적으로 작용하여 쉽게 소모되므로 다량 투여해야만 유효하다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

이상을 근거로 할 때, 유해한 옥시라디칼, 특히 초산화물과 과산화수소를 효율적으로 제거할 수 있고, 제조 비용이 저렴하고 안정하며 혈액-뇌 장벽을 교차하여 조직에 침투하는 능력과 같은 유리한 약력학적 성질을 가지는 항산화제에 대한 필요성이 존재함이 분명하다. 이와 같은 다용도 항산화제는 약제, 화학적 보호제 및 경우에 따라서는 식이 보조제로서 유용하다. 본 발명의 제1 목적은 유리한 약리학적 성질을 가지며 촉매적 및/또는 화학양론적으로 초산화물 및

/또는 과산화수소를 제거하는 신규한 부류의 항산화제를 제공하는 것이다.

본 명세서에 기재된 참고 문헌은 본 출원의 출원일전에 개시된 내용이므로 본원에 제공된 것일 뿐, 본원 발명자들이 선행 발명으로 인하여 상기 개시일을 소급시킬 수 없다는 것을 인정하는 것으로 해석해서는 안된다. 기재된 모든 문헌은 본 명세서에 참고 인용하였다.

발명의 구성 및 작용

전술한 목적에 따라서, 본 발명은 강력한 항산화제 및/또는 자유 라디칼 소거 활성을 가지며 생체내 항산화제로서 작용하는 의약 조성물을 제공한다. 본 발명의 의약 조성물은 유효량의 1종 이상의 살렌(salen)-전이 금속 착물, 대개는 살렌-Mn(III) 착물과 같은 살렌-망간 착물을 포함한다. 한 구체예에서, 의약 조성물은 Mn(III)과 디아민 유도체, 예컨대 2개의 치환된 살리실알데히드에 결합된 에틸렌디아민의 킬레이트인 살렌-Mn 착물을 포함한다. 상기 의약 조성물은 초산화물을 변이시키지 않는 활성(즉, 초산화물 디스뮤타제 활성)을 가지며, 유리하게는 과산 화수소를 물로 전환시키는 활성(즉, 카탈라제 활성)도 가진다. 이러한 의약 조성물은 초산화물과 과산화물 및 기타 자유 라디칼 종과 같은 옥시라디칼의 형성과 관련된 병리학적 손상을 경감시키는 데 유효하다.

또한, 본 발명은 치료 또는 예방학적 유효 용량의 살렌-전이 금속 착물을 포함하는 조성물을 투여함으로써 병리학적 증상을 치료 및 예방하는 방법을 제공한다. 본 발명의 방법에 사용된 살렌-전이 금속 착물은 대개 Mn(III)-살렌 착물과 같은 살렌-망간 착물이다. 본 발명은 심근 및 중추신경계와 같은 중요한 조직에 대한 허혈/역류 손상을 방지 또는 경감하는 방법을 제공한다. 또한, 본 발명은 유해한 자유 라디칼 종을 생성하는 각종 화합물에 대한 노출에 기인한 세포 손상을 방지 또는 경감하는 방법을 제공하며, 이와 같은 본 발명의 방법은 치료학적 또는 예방학적으로 유효한 용량의 1종 이상의 살렌-전이 금속 착물, 바람직하게는 검출가능한 SOD 활성과 카탈라제 활성을 가지는 살렌-망간 착물을 투여하는 것을 포함한다. 본 발명에 의한 항산화제인 살렌-전이 금속 착물은 비경구 투여, 국소 투여 및 경구 투여를 비롯한 다양한 경로로 투여된다.

본 발명에 의하면, 치료 또는 예방학적 유효 용량의 본 발명의 살렌-전이 금속 착물은 단독으로, 또는 (1) 1종 이상의 항산화제 효소, 예컨대 Mn-SOD, Cu, Zn-SOD, 또는 카탈라제 및/또는 (2) 1종 이상의 자유 라디칼 스캔빈저, 예컨대 토코페롤, 아스코르베이트, 글루타티온, DMTU, N-아세틸시스테인 또는 N-2-머캡토프로피오닐글리신 및/또는 (3) 1종 이상의 옥시라디칼 억제제, 예컨대 데스페리옥사민 또는 알로푸리놀 및/또는 1종 이상의 생물학적 개질제, 예컨대 칼파인 억제제와 함께 투여된다. 이러한 조성물의 배합은 치료 또는 예방하고자 하는 특이적인 병리학적 증상, 투여 경로와 제형 및 환자의 연령, 성별 및 상태에 좌우된다. 다양한 목적, 예컨대 (1) 환자의 허혈/재산화 손상을 방지하기 위해, (2) 이식에 앞서 무산소, 저산소 또는 과산소 상태에서의 이식에 대해 기관을 보존하기 위해, (3) 정상 조직을 이온화 방사선 및/또는 블레오마이신을 사용할 때와 같은 화학 요법에 대한 노출 결과로 인한 자유 라디칼 유발 손상으로부터 방지하기 위해, (4) 세포와 조직을 자유 라디칼을 형성하는 생체이물 화합물에 직접, 또는 시토크롬 P-450 계를 통한 단일 산화 반응의 결과로서 노출됨에 따라 일어나는 자유 라디칼 유발 손상으로부터 보호하기 위해, (5) 회수된 표본의 생존율을 증가시킴으로써 세포, 조직, 기관 및 유기체의 저온 보존을 향상시키기 위해, 그리고 (6) 발암 현상, 세포노쇠, 백내장 형성, 말론디알데히드 부가 생성물 형성, HIV 병원체 및 콜라겐 가교와 같은 거대분자 가교 반응을 방지하기 위한 예방학적 투여 목적으로 상기 조성물을 투여한다.

본 발명에 의하면, 살렌-전이 금속 착물은 부형제와 1종 이상의 살렌-전이 금속 착물 항산화제 1 μg 내지 약 10 g을 포함하는 의약 투여 제형을 제조함으로써 경구 투여용으로 처방된다. 식이 제제는 자유 라디칼 유발 질병의 치료 및/또는 종양 및/또는 정상적인 호기성 신진 대사와 관련된 산화성 손상의 화학적 예방용으로 투여된다.

또한, 본 발명의 구체예에 있어서, 본 발명의 1종 이상의 살렌-전이 금속 착물 항산화제를 1 nM 내지 100 mM의 농도로 포함하는 완충 수용액이 투여용으로 처 방되는데, 상기 농도는 통상 약 0.1 mM 내지 10 mM이고, 투여 경로는 정맥 내이며, 상기 수용액은 다음과 같은 질병에 걸려 있거나 걸릴 것으로 예상되는 환자에게 투여된다. (1) 허혈 증상, 예를 들면 심근경색, 뇌 허혈 증상, 이식 수술, 개심 수술, 혈관형성술, 관상 동맥 우회 수술, 뇌 수술, 신장 경색증, 창상 홍반증, 지혈 기구 사용, (2) 자유 라디칼을 발생하는 화학 치료제를 사용하는 항종양 또는 항기생충병 화학 요법, (3) 내독소 쇼크 또는 기절, (4) 이온화 방사선에 대한 노출 (5) 자유 라디칼이거나 자유 라디칼을 생성하는 외인성 화합물에 대한 노출, (6) 열 또는 화학적 화상 또는 궤양, (7) 고압 산소 요법, 또는 (8) 소정의 세포수의 소멸(예 : 임파 세포 소멸). 또한, 본 발명의 완충 수용액은 대개 다른 기존의 방법, 즉 기관 배양, 세포 배양, 이식 기관 유지 및 심근 관주 방법과 함께 사용될 수 있다. 비수성 제제, 예컨대 안정된 에멀젼을 비롯한 지질계 제제도 제공된다. 항산화제 살렌-전이금속 조성물은 특정의 의학적 또는 수의학적 용도에 따라 정맥내 주사, 근육내 주사, 피하 주사, 심막내 주사, 외과적 관주, 국소 도포, 안내 투여, 세척, 가바즈, 관장, 복강내 침출, 분말 흡입, 구강 세정 및 기타 경로로 투여된다.

또한, 본 발명의 다른 구체예에 있어서, 본 발명의 살렌-전이 금속 착물은, 산화성 스트레스 반응 요소(예 : 항산화제

반응성 요소, ARE), 예컨대 글루타티온 S-트랜스퍼라제 유전자 또는 NAD(P)H :퀴논 리덕타제 유전자의 항산화제 반응 요소의 전사 제어 하에서 천연의 유전자 또는 기타 폴리누클레오티드 서열의 형질발현을 조절하는 데 사용된다. 살렌-전이금속 착물 항산화제는 세포 배양물(예 : ES 세포) 및 미처치된 동물, 특히 유전자 전환 동물(여기서, 전환 유전자는 전사 조절 서열로서 1종 이상의 ARE를 포함함)에서 ARE 조절된 폴리누클레오티드 서열의 전사를 조절하는 데 사용될 수 있다.

또한 본 발명은 항산화제 살렌-망간 착물의 의약 조성물, 상기 항산화제 살렌-망간 착물의 치료학적 사용 방법, 항산화제 살렌-망간 착물을 인체와 수의학적 의약으로 진단, 치료 및 연구하는 데 사용하기 위한 방법 및 조성물에 관한 것이다.

이외에도, 본 발명은 식료품에 1종 이상의 살렌-전이금속 착물을 유효량으로 첨가함으로써 식품 부패와 산화를 방지하는 방법을 제공한다. 또한, 본 발명은 유효량의 1종 이상의 살렌-전이금속 착물 항산화제와, 임의로 1종 이상의 추가적인 식품 방부제(예 : 부틸화 히드록시톨루엔, 부틸화 히드록시아니솔, 황산염, 질산나트륨, 아질산나트륨)를 배합하는 것을 포함하는 식품 부패 방지용 조성물을 제공한다. 예들 들면, 살렌-전이금속 착물 항산화제를 부패(예 : 산화)하기 쉬운 식료품 검체내로 혼입시켜서, 산소 분자에 노출시켰을 때 식료품의 산화에 의한 분해 속도를 감소시킨다.

본 명세서에 참고로 인용된 특허 공보와 문헌은 각각의 문헌 또는 특허 출원을 특별히 개별적으로 참고 인용한 것과 같은 정도로 본 명세서에 참고 인용하였다.

정의

별도로 지적하지 않는 한, 본 명세서에 사용된 모든 기술 및 과학 용어는 본 발명이 속하는 당해 기술 분야의 업자가 통상적으로 이해하고 있는 것과 동일한 의미를 갖는다. 본 명세서에 기재된 것과 유사하거나 동일한 임의의 방법과 물질을 본 발명의 실시 또는 시험에 사용할 수 있지만, 바람직한 방법과 물질을 기재하였다. 본 발명에 대해서 하기 용어들은 다음과 같이 정의된다.

본 명세서에 사용된 용어 '항산화제'는 생물학적 산화성 기질 분자를 함유하는 혼합물 또는 구조 내에 존재할 경우, 생물학적 기질 분자의 산화 반응을 현저하게 지연시키거나 방지하는 물질을 의미한다. 항산화제는 생물학적으로 중요한 반응성 자유 라디칼 또는 기타 반응성 산소종($\cdot O_2^-$, H_2O_2, $\cdot OH$, HOCl, 페릴, 퍼옥실, 퍼옥시나이트라이트 및 알콕실)을 소거시키거나, 또는 이들의 형성을 방지하거나, 또는 자유 라디칼 또는 기타 반응성 산소종을 이보다 반응성이 작은 종으로 촉매 전환시킴으로써 작용할 수 있다. 일반적으로, 본 발명의 살렌-전이 금속 착물 항산화제는 검출 가능한 SOD 활성을 갖는다. 본 발명의 살렌-전이 금속 착물은, 세포 배양 또는 분석 반응에 첨가하였을 때, 그 착물이 착물로 처리되지 않은 대조용 세포 배양 또는 분석 반응과 비교하여 자유 라디칼, 예컨대, 초산화물, 또는 비라디칼 반응성 산소종, 예컨대, 과산화수소의 양을 검출 가능한 정도로 감소시킬 경우, 항산화제 활성을 갖는다. 여러 가지 방법, 예컨대, 실험적인 투여-반응 곡선을 작성하는 방법, QSAR 방법 또는 분자 모델링을 사용하여 동족체의 능력과 효능을 예측하는 방법 및 약학 분야에서 사용되는 기타 방법에 의해서 적당한 농도(즉, 효율적인 용량)를 결정할 수 있다. 산화성 손상은 대개 누적되기 때문에, 특정 질 병 상태에 대한 검출 가능한 치료학적 효과 또는 예방학적 효과를 생성하기 위한 최소 용량이 설정될지라도, 효능에 대한 최소 한계치 농도(또는 투여량)는 존재하지 않는다. 본 발명의 살렌 금속 착물 항산화제는 글루타티온 퍼옥시다제 활성을 가질 수 있다.

본 명세서에서 사용된 용어 '살렌-전이 금속 착물'은 화학식 1, 화학식 2, 화학식 3, 화학식 4, 화학식 5, 화학식 6, 화학식 7, 화학식 8, 화학식 9(하기 화학식 참조) 또는 제3도에 나타낸 바와 같은 구조식 C1, C4, C6, C7, C9, C10, C11, C12, C15, C17, C20, C22, C23, C25, C27, C28, C29 및 C30으로 표시되는 것, 바람직하게는 C6, C7 및 C12로 구성된 군에서 선택된 제3도에 나타낸 구조중 하나에 해당하는 구조식으로 표시되는 것, 더욱 바람직하게는 초산화물을 촉매 제거함에 있어서 C7 또는 C12 구조에 해당하는 구조식으로 표시되는 화합물을 의미한다. 대개 전이 금속은 Mn, Mg, Co, Fe, V, Cr 및 Ni로 구성된 군에서 선택되고, Mn 또는 Mg인 것이 가장 편리하다.

본 명세서에 사용된 용어 '자유 라디칼 관련 질병'은 *생체내* 에서 자유 라디칼, 특히 옥시라디칼 및 기타 반응성 산소종의 생성 또는 이에 대한 노출에 의해 적어도 부분적으로 발생하는 개개인의 병리학적 상태를 의미한다. 대부분의 병리학적 상태는 질병 상태의 원인이 되는 다수의 인자가 존재하고, 개개인의 병리학적 상태에 대한 주요 원인 인자(들)을 지정하거나 또는 확인하는 것이 매우 곤란하다는 점에서 다인자성(multifactorial)이라는 것은 당업자에게는 명백한 사실이다. 이와 같은 이유 때문에, 용어 '자유 라디칼 관련 질병'은 자유 라디칼 또는 반응성 산소종에 의한 손상이 질병 상태의 병원론의 원인이 되는 것으로 생각되거나, 또는 자유 라디칼 억제제(예, 데스페리옥사민), 스캐빈저(예, 토코페롤, 글루타티온) 또는 촉매(예, SOD, 카탈라제)의 투여가 증상을 경감시키고, 생존 가능성을 증가시키거나, 또는 치료시에 기타 유리한 검출 가능한 임상학적 효과를 제공하거나, 또는 병리학적 상태를 예방함으로써 검출가능한 효과를 나타내는 것으로 보이는 상태로서 당해 기술 분야에 인지되어 있는 병리학적 상태를 포함하는 의미이다. 본 명세서에서 논의된 질병 상태의 예로는 자유 라디칼 관련 질병(예, 허혈성 재관류 손상, 염증성 질환, 전신 낭창 홍반, 심근 경색증, 발작, 외상성 출혈, 척수 종양, 크론 병, 자가 면역 질병(예, 류마티스성 관절염, 당뇨병), 백내장 형성, 포

도막염, 기종, 위궤양, 산소 독성, 종양 형성, 바람직하지 못한 세포 소멸, 방사선 숙취 및 기타 상기 발명의 배경 부분에서 논의된 병리학적 상태)을 들 수 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다.

본 명세서에 사용된 용어 'SOD 유사성', 'SOD 유사', '초산화물 디스뮤타제 유사성' 및 '초산화물 촉매'는 분석에 의해 측정했을 때 초산화물의 비변이 반응에 대해 검출가능한 촉매 활성을 갖는 화합물을 의미한다. 대개, SOD 유사성은 몰 기준으로 하여 표준 분석 방법에 의해 측정했을 때 사람의 Mn-SOD 또는 Zn,Cu-SOD의 SOD 활성의 약 0.001% 이상을 가지며 및/또는 하기에 설명된 SOD 분석에 따라서 1 mM 당 0.01 단위 이상의 SOD 활성, 바람직하게는 1 mM 당 1 단위 이상의 SOD 활성을 갖는다.

용어 '알킬'은 별도로 지적하지 않는 한, 탄소와 수소만을 함유하는 환형, 분지쇄형 또는 직쇄형 C_{1} 내지 C_{12} 알킬기를 의미한다. 알킬의 예로는 메틸, 에틸, n-프로필, 이소부틸, t-부틸, 펜틸, 피발릴, 헵틸, 아다만틸 및 시클로펜틸을 들 수 있다. 알킬기는 1종 이상의 치환체, 예를 들면, 할로겐, 알킬, 알콕시, 알킬티오, 트리플루오로메틸, 아실옥시, 히드록시, 머캡토, 카르복시, 아릴옥시, 아릴, 아릴알킬, 헤테로아릴, 아미노, 알킬아미노, 디알킬아미노, 모르폴리노, 피페리디노, 피롤리딘-1-일, 피페라진-1-일 또는 기타 작용기로 치환되거나 또는 치환되지 않을 수 있다.

용어 '저급 알킬'은 환형, 분지쇄형 또는 직쇄형 1가 C_{1} 내지 C_{6} 알킬 라디칼을 의미한다. 저급 알킬의 예로는 메틸, 에틸, n-프로필, i-프로필, n-부틸, t-부틸, i-부틸(또는 2-메틸프로필), 시클로프로필메틸, i-아밀, n-아밀 및 헥실을 들 수 있다.

용어 '아릴' 또는 'Ar'은 단일의 고리(예, 페닐) 또는 다수의 축합 고리(예, 나프틸 또는 안트릴)을 갖는 1가 불포화 방향족 카르보시클릭기를 의미하며, 이는 예를 들어, 할로겐, 알킬, 알콕시, 알킬티오, 트리플루오로메틸, 아실옥시, 히드록시, 머캡토, 카르복시, 아릴옥시, 아릴, 아릴알킬, 헤테로아릴, 아미노, 알킬아미노, 디알킬아미노, 모르폴리노, 피페리디노, 피롤리딘-1-일, 피페라진-1-일 또는 기타 작용기로 선택적으로 치환되거나 또는 치환되지 않을 수 있다.

용어 '치환된 알콕시'는 -O-R 구조(여기서, R은 비간섭 치환체로 치환된 알킬임)를 갖는 기를 의미한다. 용어 '아릴알콕시'는 -O-R-Ar 구조(여기서, R은 알 킬이고, Ar은 방향족 치환체임)를 갖는 기를 의미한다. 아릴알콕시는 치환된 알콕시의 정의에 포함된다. 치환된 알콕시기의 바람직한 예로는 벤질옥시, 나프틸옥시 및 클로로벤질옥시를 들 수 있다.

용어 '아릴옥시'는 -O-Ar 구조(여기서, Ar은 방향족 기임)를 갖는 기를 의미한다. 바람직한 아릴옥시기는 펜옥시이다.

용어 '헤테로고리'는 단일 고리(예, 모르폴리노, 피리딜 또는 푸릴) 또는 다수의 축합된 고리(예, 인돌리지닐 또는 벤조[b]티에닐)를 갖고, 고리 내에 N, O, P 또는 S로 정의된 하나 이상의 헤테로 원자를 갖는 1가 포화, 불포화 또는 방향족 카르보시클릭 기를 의미하며, 이는 예를 들면, 할로겐, 알킬, 알콕시, 알킬티오, 트리플루오로메틸, 아실옥시, 히드록시, 머캡토, 카르복시, 아릴옥시, 아릴, 아릴알킬, 헤테로아릴, 아미노, 알킬아미노, 디알킬아미노, 모르폴리노, 피페리디노, 피롤리딘-1-일, 피페라진-1-일 또는 기타 작용기로 선택적으로 치환되거나 또는 치환되지 않을 수 있다. 용어 '헤테로아릴' 또는 'HetAr'은 방향족 헤테로고리를 나타낸다.

'아릴알킬'은 -R-Ar 및 -R-HetAr 기(여기서, Ar은 아릴기이고, HetAr은 헤테로아릴기이며, R은 직쇄 또는 분지쇄 지방족기임)를 의미한다. 아릴알킬기의 예로는 벤질과 푸르푸릴을 들 수 있다. 아릴알킬기는 예를 들면, 할로겐, 알킬, 알콕시, 알킬티오, 트리플루오로메틸, 아실옥시, 히드록시, 머캡토, 카르복시, 아릴옥시, 아릴, 아릴알킬, 헤테로아릴, 아미노, 알킬아미노, 디알킬아미노, 모르폴리노, 피페리디노, 피롤리딘-1-일, 피페라진-1-일 또는 기타 작용기로 선택적으로 치환되 거나 또는 치환되지 않을 수 있다.

본 명세서에서 사용된 용어 '할로' 또는 '할로겐화물'은 플루오로, 브로모, 클로로 및 요오도 치환체를 의미한다.

하기 구조식에서 사용된 용어 'OBn'은 벤질옥시를 나타낸다.

본 명세서에서 사용된 용어 '아미노'는 화학적 작용기 -NR'R'(여기서, R'와 R'는 독립적으로 수소, 알킬 또는 아릴임)를 의미한다. 용어 '4차 아민'은 양으로 하전된 기 $-N^{+}R'R'R''$(여기서, R', R' 및 R''는 독립적으로 선택되고, 각각 알킬 또는 아릴임)를 의미한다. 바람직한 아미노 기는 $-NH_{2}$ 이다.

용어 '실릴'은 하나 이상의 규소 원자가 하나 이상의 탄소 원자에 결합된 유기 금속 치환체를 의미하며, 실릴 치환체의 예로는 트리메틸실릴 치환체 $(CH_{3})_{3}Si$-를 들 수 있다.

본 명세서에 사용된 용어 '약학적 제제 또는 약물'은 환자에게 적절하게 투여하였을 경우, 소정의 치료 효과를 유발할 수 있는 화학적 화합물 또는 조성물을 의미한다.

본 명세서에 사용된 기타 화학 용어는 본 명세서에 참고 인용한 참고 문헌[*The McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms* , 파커, 에스. 편집, 1985년, 맥그로-힐, 미국, 샌프란시스코]에 예시된 바와 같이 당분야에서 통상적으로 사용되는 의미에 따라 사용한 것이다.

상세한 설명

전반적으로, 이하에서 설명된 명명법과 세포 배양에서의 실험 절차, 분석 화학, 유기 합성 화학 및 하기에 기재된 약학적 제제는 당분야에 알려진 것이며, 통상적으로 사용되는 것이다. 화학 합성, 화학 분석, 약제 조제 및 환자의 투여와 치료에는 표준 기술을 사용한다.

본 발명은 에폭시드화 촉매, 이른바 살렌-전이 금속 착물로 명명된 부류에 속하는 화합물이 강력한 초산화물 디스뮤타제 활성 및/또는 카탈라제 활성을 나타내며, *생체외* 및 *생체내* 에서 자유 라디칼 제거에 대해 촉매로서 작용한다는 의외의 발견에 기초한 것이다. 살렌-전이 금속 착물은 다양한 합성 화학 용도에 있어서 키랄 에폭시드화 촉매로서 기재되어 있다[참고 문헌 : 푸 등(1991) *J. Org. Chem. 56.* : 6497; 짱 더블유 및 야곱슨 EN (1991) *J. Org. Chem. 56.* : 2296; 야곱슨 등 (1991) *J. Am. Chem. Soc. 113.* :6703; 짱 등 (1990) *J. Am. Chem. Soc. 112* : 2801; 리 NH 및 야곱슨 EN (1991) *Tetrahedron Lett. 32* : 6533; 야곱슨 등 (1991) *J. Am. Chem. Soc. 113* : 7063; 리 등 (1991) *Tetrahedron Lett. 32* : 5055]. 그러나, 살렌-전이 금속 착물은 자유 라디칼 관련 질병의 예방 또는 치료에 대한 약제로서의 용도를 비롯하여 다양한 생물학적 용도에 대해서 강력한 항산화제로서 유용하다. 약학적 제제, 식이 보조제, 개선된 세포와 기관 배지, 개선된 저온 방부 매질, 국부 연고 및 화학 보호 및 방사선 보호 조성물은 1종 이상의 살렌-전이 금속 착물을 유효량 또는 유효 농도로 사용해서 제조할 수 있다.

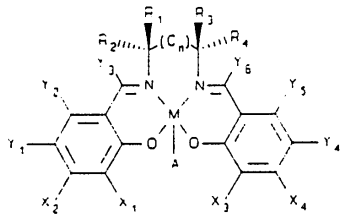
또한, 에폭시드를 전환시키는 살렌-전이금속 착물의 촉매 활성을 이용하여, 세포 독성 및/또는 발암성 에폭시드 종, 예컨대, 시토크롬 P-450 단일 산화계에 의 해 형성될 수 있는 것(예, 벤조-[a]-피렌 디올 에폭시드)의 생체내 형성을 소거하거나 방지할 수 있다. 촉매 살렌-전이금속 착물은 예컨대, 석유 화학 산업 및 염료 제조업에 종사하는 작업자와 같이 폴리시클릭 탄화수소 화학 물질 발암 인자에 노출될 위험이 있는 개개인에게 공급되는 식료품 또는 식이 보조제(또는 다른 형태로 투여됨)에 포함되는 것이 유리하다. 또한, 촉매 활성 살렌-전이금속 착물은 흡연자(간접 흡연자 포함)에게 투여하여 담배 연기로부터 형성된 반응성 에폭시드의 탈독성화를 향상시키도록 제제화할 수 있다.

본 발명의 살렌-전이금속 착물 항산화제는 신경 변성 질환의 진행을 부분적으로 또는 전적으로 중지시키는 데 유용하다. 예를 들면, Cu/Zn 초산화물 디스뮤타제에서의 변성은 근위축성 측색 경화증(ALS)과 상당한 관련이 있는 것으로 보고된 바 있다[참고 문헌 :로젠 등 (1993) *Nature 362* : 59; 뎅 등 (1993) *Science 261* : 1047). 내인성 항산화제 보호에 있어서 유사한 결손은 다발성 경화증, 말단 신경증 등의 원인이 될 수 있다. 본 발명의 살렌 금속 착물 항산화제는 신경 변성 질환(예, ALS, MS)의 치료 및 예방에 사용할 수 있다.

살렌-전이 금속 착물

본 발명의 제1 특징에 의하면, 살렌-전이 금속 착물은 하기 화학식 1로 표시된다.

화학식 1



상기 식 중, M은 전이 금속 이온, 바람직하게는 Mn이고, A는 음이온, 전형적으로 Cl이며, n은 0, 1 또는 2이다. X_1, X_2, X_3 및 X_4 는 독립적으로 수소, 실릴, 아릴, 아릴알킬, 1차 알킬, 2차 알킬, 3차 알킬, 알콕시, 아릴옥시, 아미노. 4차 아민, 헤테로 원자 및 수소로 구성된 군에서 선택되고, 전형적으로 X_1 과 X_3 는 동일한 작용기, 대개 수소, 4차 아민 또는 t-부틸로부터 선택되며, X_2 와 X_4 는 대개 수소이다. Y_1, Y_2, Y_3, Y_4, Y_5 및 Y_6 는 독립적으로 수소, 할로겐화물, 알킬, 아릴, 아릴알킬, 실릴기, 아미노, 헤테로 원자를 갖는 알킬 또는 아릴, 아릴옥시, 알콕시 및 할라이드로 구성된 군에서 선택되고, Y_1 과 Y_4 는 알콕시, 할로겐화물, 또는 아미노기인 것이 바람직하다. 대개, Y_1 과 Y_4 는 동일하다. R_1, R_2, R_3 및 R_4 는 H, CH_3, C_2H_5, C_6H_5, O-벤질, 1차 알킬, 지방산 에스테르, 치환된 알콕시아릴, 헤테로 원자 함유 방향족 기, 아릴알킬, 2차 알킬 및 3차 알킬로 구성된 군에서 독립적으로 선

택된다.

본 발명의 제 1 특징의 구체예의 한 유형에 의하면, X_1 과 X_3 중 하나 이상의 부위, 바람직하게 X_1 과 X_3 는 둘다 2차 알킬기 또는 3차 알킬기, 아릴기, 실릴기, 헤테로고리 및 알콕시 또는 할로겐화물과 같은 헤테로 원자 치환체를 갖는 알킬기로 구성된 보호 치환체의 군에서 선택된 치환체를 포함한다. 바람직하게, X_1 과 X_3 부위는 동일한 치환체를 가지며, 그 치환체는 3차 알킬기, 예컨대, t-부틸인 것이 가장 바람직하다. 바람직하게, X_1 과 X_3 가 보호 치환체를 가질 경우, X_2 와 X_4 는 H, CH_3, C_2H_5 및 1차 알킬과 같은 비보호 치환체의 군에서 선택되며, H가 가장 바람직하다. 또한, X_1, X_2, X_3 및 X_4 의 3개 또는 4개가 보호 치환체의 군에서 선택될 수 있다.

본 발명의 제 1 특징에 의하면, R_1, R_2, R_3 및 R_4 중 하나 이상, 통상 2개이하는 H, CH_3, C_2H_5 및 1차 알킬로 구성된 군에서 선택된다. 편의상, 이와 같은 기는 비보호 기로 언급한다. R_1 이 비보호기로부터 선택될 경우, R_2 와 R_3 는 보호기로부터 선택되는 것이 바람직하고, 통상 R_2 와 R_3 는 서로 동일하며, 페닐 또는 벤질옥시이다. R_2 가 비보호기로 부터 선택될 경우, R_1 과 R_4 는 보호기로부터 선택되는 것이 바람직하다. 마찬가지로, R_3 가 비보호기로부터 선택될 경우, R_1 과 R_4 는 보호기로부터 선택되는 것이 바람직하다. 마지막으로, R_4 가 비보호기로부터 선택될 경우, R_2 와 R_3 는 보호기로부터 선택되는 것이 바람직하다. R_1, R_2, R_3 및 R_4 중 어느 하나에서 치환되는 보호기로서는 페닐과 벤질옥시가 특히 바람직하다. 통상적으로, 선택된 보호기들은 동일하다. 이러한 구체예의 바람직한 부류에 있어서는 R_1 과 R_4 가 벤질옥시 또는 페닐이며, R_2 와 R_3 가 수소이다.

다시 말해서, 본 발명의 제 1 특징의 구체예의 한 부류는 질소에 인접한 2개의 탄소 원자 상의 치환에 사용할 수 있는 4개의 부위가 필요하며, 하나 또는 2개 이상의 부위가 비보호기에 의한 치환을 포함하는 것이 바람직하다.

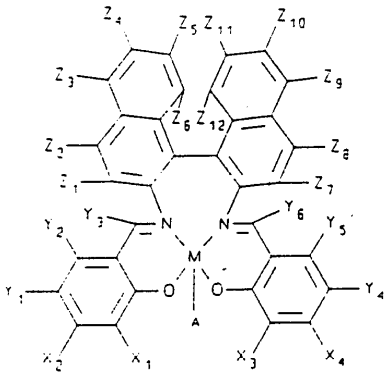
비보호 치환체는 수소 또는 메틸인 것이 바람직하고, 수소인 것이 가장 바람직하다. 보호 치환체는 페닐기, 벤질옥시 또는 t-부틸기인 것이 바람직하고, 페닐기 또는 벤질옥시기가 더욱 바람직하며, 페닐기인 경우가 가장 많다.

Y_3 와 Y_6 는 수소, 메틸, 알킬 또는 아릴인 것이 바람직하다. 이들은 수소 또는 메틸인 것이 더욱 바람직하다. 이들은 수소인 것이 가장 바람직하다.

Y_1, Y_2, Y_4 및 Y_5 부위는 독립적으로 선택되며, 또한, 상기 부위가 수소, 할로겐화물, 알킬, 아릴, 알콕시기, 치환된 알콕시기, 니트로 기 및 아미노 기로 구성된 군에서 독립적으로 선택된 치환체에 의해 점유된다 할지라도, 상기 부위는 수소에 의해 점유되는 것이 바람직하다. Y_1 과 Y_4 는 메톡시, 에톡시, 클로로, 브로모, 요오도, 1차 알킬, t-부틸, 1차 아민, 2차 아민 또는 3차 아민 치환체에 의해 점유되는 것이 바람직하며, 메톡시, 클로로, t-부틸 또는 메틸에 의해 점유되는 것이 가장 바람직하다.

본 발명의 제 2 특징에 의하면, 살렌-전이 금속 착물은 하기 화학식 2로 표시된다.

화학식 2

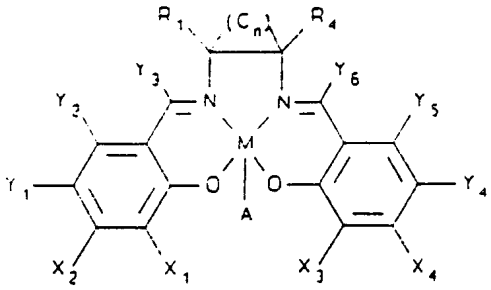


상기 식 중, M은 전이 금속이온, 바람직하게는 Mn이고, A는 음이온, 전형적으로 Cl이며, X_1 또는 X_2 중 하나 이상은 아릴, 1차 알킬, 2차 알킬, 3차 알킬 및 헤테로 원자로 구성된 군에서 선택되고, X_1 또는 X_3 중 하나 이상은 아릴, 1차 알킬, 2차 알킬, 3차 알킬, 아릴알킬, 헤테로 원자 및 수소로 구성된 군에서 선택되며, 바람직하게는 t-부틸 또는 수소이고, Y_1, Y_2, Y_3, Y_4, Y_5, Y_6, Z_1, Z_2, Z_3, Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8, Z_9, Z_{10}, Z_{11} 및 Z_{12} 는 독립적으로 수소, 할로겐화물, 알킬, 아릴, 아민, 알콕시, 치환된 알콕시, 아릴알킬, 아릴옥시 및 헤테로 원자를 갖는 알킬기로 구성된 군에서 선택된다. Y_1 과 Y_4 는 저급 알킬, 알콕시, 할라이드 및 아미노기로 구성된 군에서 선택되는 것이 바람직하고, 메톡시, 클로로 및 1차 아민으로 구성된 군에서 선택되는 것이 더욱 바람직하다. 본 발명의

제 2 특징에 의한 바람직한 구체 예에서 Y_1 과 Y_4 는 메톡시이고, X_1 과 X_3 는 독립적으로 선택되며, 수소 또는 t-부틸이고, 나머지 치환체는 수소이다.

본 발명의 제3 특징에 의하면, 살렌-전이 금속은 하기 화학식 3으로 표시된다.

화학식 3

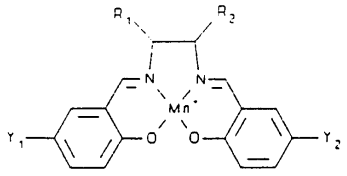


상기 식 중, M은 전이 금속이온, 전형적으로 Mn이고, A는 음이온, 전형적으로 Cl이며, n은 4, 5 또는 6이고, X_1, X_2, X_3 및 X_4 는 아릴, 아릴알킬, 아릴옥시, 1차 알킬, 2차 알킬, 3차 알킬, 알콕시, 치환된 알콕시, 헤테로 원자, 아미노, 4차 아민 및 수소로 구성된 군에서 독립적으로 선택되며, X_1 또는 X_3 중 하나 이상은 아릴, 1차 알킬, 2차 알킬, 3차 알킬, 4차 아민, 아릴알킬, 헤테로 원자 및 수소로 구성된 군에서 선택되는 것이 바람직하고, X_1 과 X_3 는 동일한 것으로서, 수소 또는 t-부틸인 것이 바람직하며, Y_1, Y_2, Y_3, Y_4, Y_5 및 Y_6 는 아릴, 아릴알킬, 1차 알킬, 2차 알킬, 3차 알킬, 알콕시, 치환된 알콕시, 아릴옥시, 할라이드, 헤테로 원자, 아미노, 4차 아민 및 수소로 구성된 군에서 선택되고, Y_1 또는 Y_4 중 하나 이상은 아 릴, 1차 알킬, 2차 알킬, 3차 알킬, 치환된 알콕시, 헤테로 원자, 아민 및 할라이드로 구성된 군에서 선택되는 것이 바람직하며, Y_1 과 Y_4 는 동일한 것으로서, 메톡시, 클로로, 브로모, 요오도, t-부틸 또는 아민인 것이 더욱 바람직하다. R_1 과 R_4 는 수소, 할라이드, 1차 알킬, 2차 알킬, 3차 알킬, 지방산 에스테르, 알콕시 또는 아릴로 구성된 군에서 독립적으로 선택된다. R_1 과 R_4 는 동일한 것이 바람직하며, R_1 과 R_4 는 수소인 것이 더욱 바람직하다.

바람직한 살렌-전이금속 종 항산화제

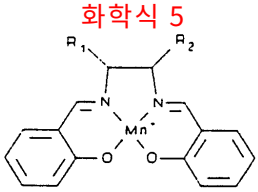
하기 식으로 표시되는 항산화성 살렌-전이금속 착물이 본 발명의 조성물과 방법에 사용하는 데 바람직하며, 치환체를 표시하지 않은 경우 이들은 수소를 나타낸다.

화학식 4



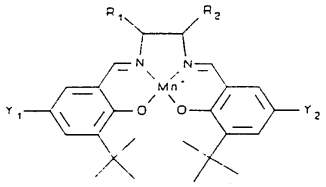
상기 식 중, Y_1 과 Y_2 는 각각 메톡시, 에톡시, 메틸, 에틸, t-부틸, 클로로, 브로모, 요오도, 아미노, 4차 아민, 알킬아미노, 디알킬아미노 및 수소로 이루어진 군에서 선택되고, R_1 과 R_2 는 각각 페닐, 벤질옥시, 클로로벤질옥시, 수소, 아미노, 4차 아민, 또는 지방산 에스테르로 이루어진 군에서 선택된다. Y_1 과 Y_2 는 동일한 것이 바람직하다.

화학식 5



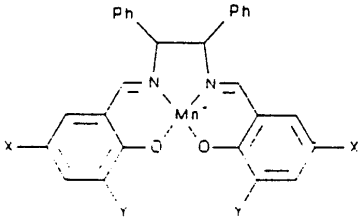
상기 식 중, R_1 과 R_2 는 각각 페닐, 벤질옥시, 클로로벤질옥시, 수소, 아미노, 4차 아민 또는 지방산 에스테르로 이루어진 군에서 선택된다. R_1 과 R_2 는 동일한 것이 바람직하다.

화학식 6



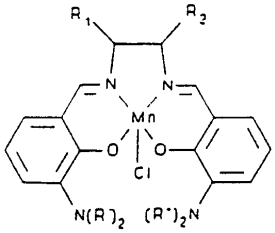
상기 식 중, Y_1 과 Y_2 는 각각 메톡시, 에톡시, 메틸, 에틸, t-부틸, 클로로, 브로모, 요오도, 아미노, 4차 아민, 알킬아미노, 디알킬아미노 및 수소로 이루어진 군에서 선택되고, R_1 과 R_2 는 각각 페닐, 벤질옥시, 클로로벤질옥시, 수소, 아미노, 4차 아민 또는 지방산 에스테르로 이루어진 군에서 선택된다. Y_1 과 Y_2 가 동일하며, R_1 과 R_2 가 동일한 것이 바람직하다.

화학식 7



상기 식 중, X는 메톡시, 에톡시, 메틸, 에틸, t-부틸, 클로로, 브로모, 요오도, 아미노, 4차 아민, 알킬아미노, 디알킬아미노 및 수소로 이루어진 군에서 선택되고, Y는 t-부틸, 4차 아민, 아미노 및 수소로 이루어진 군에서 선택된다.

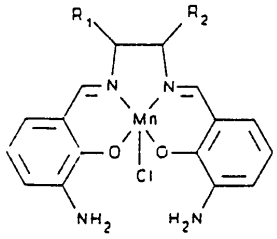
화학식 8



상기 식 중, R_1 과 R_2 는 각각 아릴옥시, 알콕시, 아릴 및 수소로 이루어진 군에서 선택되고, R'와 R'는 각각 알킬, 아릴 및 수소로 이루어진 군에서 선택된다. 아미노기 중 하나 이상은 생리학적 pH(즉, pH 7.3~7.8)에서 양성자화되는 것이 바람직하다. R' 또는 R'의 알킬기로는 메틸, 에틸 및 프로필이 바람직하나, 이들에 국한되는 것은 아니다. R_1 과 R_2 의 아릴옥시기로는 벤질옥시 및 클로로벤질옥시가 바람직하나, 이들에 국한되는 것은 아니다. R_1 과 R_2 의 알콕시로는 에톡시 및 메톡시가 바람직하나, 이들에 국한되는 것은 아니다.

화학식 8의 바람직한 부 분류로는 하기 화학식 9를 들 수 있지만, 이것에 국한되는 것은 아니다.

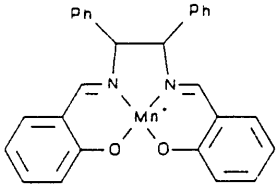
화학식 9



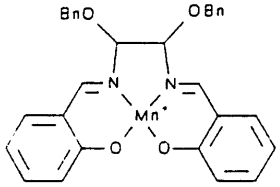
상기 식 중, R은 알킬 및 수소로 이루어진 군에서 선택된다. 아미노기 중 하나 이상은 생리학적 pH(즉, pH 7.3~7.8)에서 양성자화되는 것이 바람직하다.

하기의 화학종들은 약학 조성물, 식이 보조제, 식품 방부제, 화장품, 일광 화상 보호제 및 기타 본 발명의 조성물을 제제화하는 데 바람직한 살렌-전이 금속 착물 항산화제이며, 간명한 표시를 위해 구조식 번호(예를 들면, C1 내지 C30)를 인용한다.

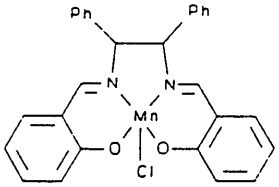
C1:



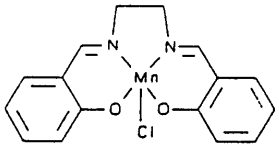
C4:



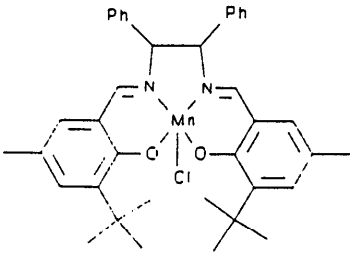
C6:



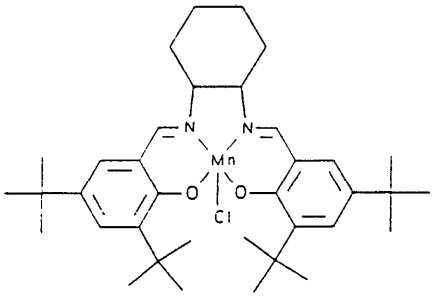
C7:



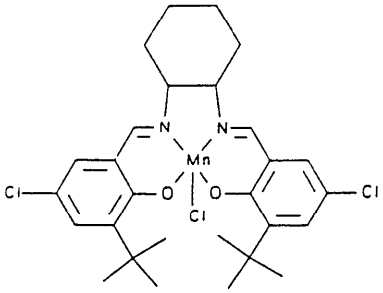
C9:



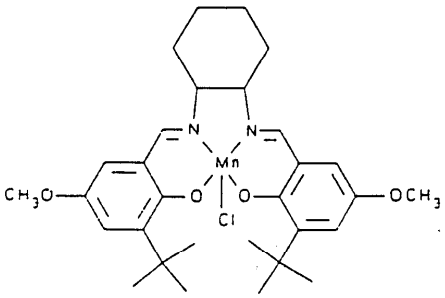
C10:



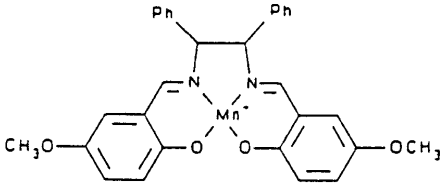
C11:



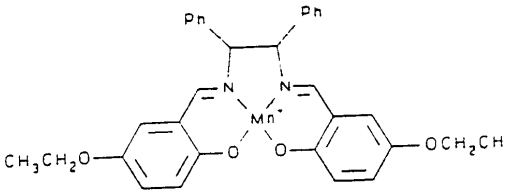
C12:



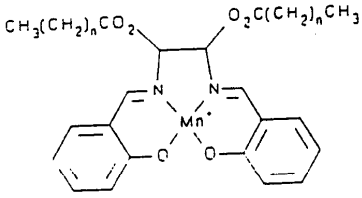
C15:



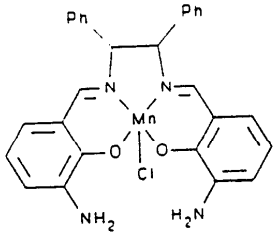
C17:



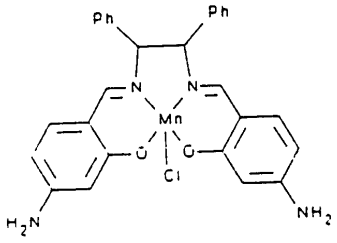
C20:



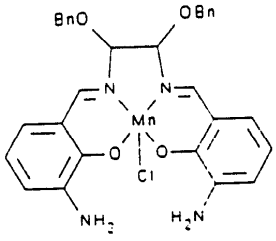
C22:



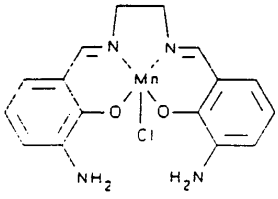
C23:



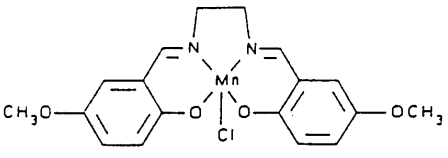
C25:



C27:



C28:



약학 조성물

본 발명의 바람직한 약학 조성물은 치료학적 또는 예방학적 유효량의 전이 금속 이온의 살렌 유도체계 착물 1종 이상을 포함한다. 본 명세서에 사용된 '살렌(salen)'이란 용어는 살리실알데히드 유도체 2 분자와 디아민 유도체 1 분자와

의 축합 반응을 통해 전형적으로 형성되는 리간드를 의미한다. 살렌 리간드는 에틸렌디아민 유도체로부터 형성되지만, 프로필 디아민과 부틸 디아민을 사용하여 동족체 관계에 있는 살렌 및 살렌 유도체를 형성시킬 수도 있다. 살렌 유도체가 바람직하며, 이들의 일반 구조식은 제1도에 도시되어 있다. n이 0인 살렌 유도체는 제2도에 도시되어 있다.

제1도에 도시된 바와 같이, 2개의 질소와 2개의 산소는 살렌 리간드의 중심을 향하도록 배향됨으로써 전이 금속 이온 M의 착물 형성 부위를 제공한다. 이 금속이온은 Mn, Cr, Fe, Ni, Co, Ti, V, Ru 및 Os로이루어지는 군에서 선택되는 것이 바람직하다. 전이 금속 이온은 Mn, Mg, Cr, Fe, Ni 및 Co로 이루어지는 군에서 선택되는 것이 더욱 바람직하다. 금속 이온은 Mn인 것이 가장 바람직하다.

음이온은 PF_6, (아릴)$_4$, BF_4, B(아릴)$_4$, 할라이드, 아세테이트, 트리플레이트, 토실레이트로이루어지는 군에서 선택되는 것이 바람직하고, 할라이드 또는 PF_6인 것이 더욱 바람직하며, 클로라이드인 것이 가장 바람직하다.

제1도는 또한 살렌 리간드 상에서 치환에 이용할 수 있는 다수의 부위를 나타내고 있다. 이들 부위중, R_1, R_2, R_3, R_4와 X_1, X_2, X_3, X_4, Y_3 및 Y_6가 도시된 살렌-전이 금속 착물에서 가장 중요한 부위로 생각된다.

화학식 1, 3, 4, 6, 7 및 8은 각각 R_1, R_2, R_3 및 R_4 위치에 독립적으로 선택된 지방산 에스테르 치환체를 가질 수 있다. 지방산 에스테르가 존재하는 경우, 이것은 일반적으로 2개 이하의 치환체 위치만을 차지하며, 이들은 동일한 것이 일반적이다.

본 발명의 화합물을 제조하는 데 적합한 지방산의 예를 표1, 2 및 3에 요약하였다.

[표 1]

$CH_3-(CH_2)_f-(CH=CH)_g-(CH_2)_{h-}CO_2H$				
탄소수	f	g	h	산 이름
16	5	1	7	팔미톨레산
18	7	1	7	올레산
18	10	1	4	페트로셀렌산
18	5	1	9	박센산
18	3	3	7	푸닉산
18	1	4	7	파리나르산
20	9	1	7	가돌레산
22	9	1	9	세톨레산

[표 2]

$CH_3-(CH_2)_n-(CH=CH-CH_2)_m-(CH_2)_p-CO_2H$				
탄소수	n	m	p	산 이름
18	4	2	6	리놀레산
18	1	3	6	리놀렌산
20	4	4	2	아라키돈산

[표 3]

$CH_3-(CH_2)_w-CO_2H$		
탄소수	w	산 이름
12	10	라우르산
14	12	미리스트산
16	14	팔미트산
18	16	스테아르산
20	18	에이코사노산
22	20	도코사노산

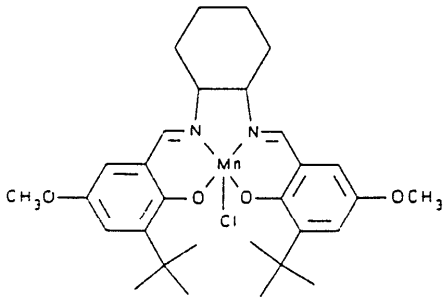
불포화 산류는 하나 이상의 불포화 위치가 존재하기 때문에 이성체 형태로 존재한다. 본 발명의 화합물에는 개개의 이중결합 이성체는 물론, 이들의 혼합물도 포함시키려 한다. 본 발명의 지방산 에스테르는 공지의 아실화 기법에 의해 얻을 수 있다. 예를 들면, 본 명세서에 참고 인용한 문헌[마치, *Advanced 0rganic Chemistry* , 제3판., John Wiley amp; Sons, New York(1985), 299면, 348면~351면 및 353면 354면]를 참조할 수 있다.

바람직한 살렌-전이 금속 착물 항산화제

제3도는 본 발명에 의한 바람직한 살렌-전이 금속 착물 항산화제의 구조를 도시한 것이다. 제3도에는 살렌-전이 금속 착물 항산화제의 예가 도시되어 있다. 화합물 C1, C4, C6, C7, C9, C10, C11 및 C12는 본 발명의 약학 조성물 및 기타 항산화제 조성물을 제조하는 데 특히 바람직하다. 화합물 C7은 제조가 용이하고 비교적 친수성이어서 약학적 용도에 적합하기 때문에 더욱 바람직하다.

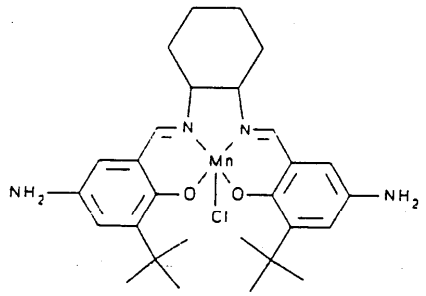
초산화물 디스뮤타제 활성이 높은, 바람직한 살렌-전이 금속 착물은 하기 구조식으로 표시되는 C12 화합물이다.

C12:

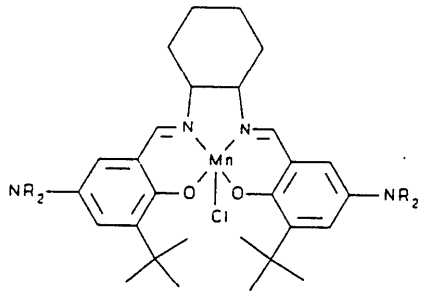


화합물 C12의 바람직한 동족체는 하기 구조식으로 표시되는 C29 및 C30 화합 물이다.

C29:

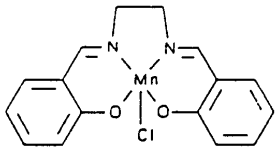


C30:



특히 바람직한 본 발명의 살렌-전이금속 착물 항산화제는 하기 구조식으로 표시되는 C7 화합물이다.

C7:



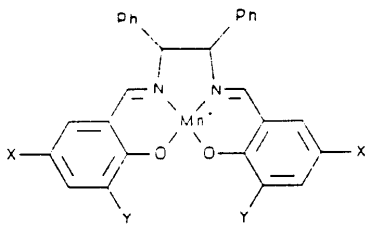
살렌-전이 금속 착물 항산화제는 일반적으로 검출 가능한 초산화물 디스뮤타제 활성을 가지며 카탈라제 활성도 갖는 것이 바람직하다. C7은 제조가 간단하고, 비교적 친수성이며, 이는 약학적 용도 및 수용액으로의 제제화에 특히 적합한 특성이기 때문에 유리하다. C7 화합물은 비교적 친수성이므로, 인체 내로의 흡수 및 전달이 용이한 살렌-전이금속 착물 황산화제를 제공하는 데 유리하게 이용할 수 있 다. C7 화합물의 유리한 약력학적 특성 중 하나는 혈액-뇌 장벽을 효율적으로 횡단하는 능력이다.

살렌-전이 금속 착물 항산화제의 제조

살렌-전이 금속 착물의 제조는 국제 특허 출원 PCT/US91/01915호(1991. 3. 21), [Fu 등, *J. Org. Chem* . 56 : 6497], [Zhang W 및 Jacobsen En(1991) *J. Org. Chem. 56* : 2296], [Jacobsen 등(1991) *J. Am. Chem. Soc.* 113 : 6703], [Zhang 등(1990) *J. Am. Chem. Soc.* 112 : 2801], [Lee NH 및 Jacobsen En(1991) *Tetrahedron Lett. 32* : 6533], [Jacobsen 등(1991) J. Am. Chem. Soc. 113 : 7063], [Lee 등(1991) *Tetrahedron Lett. 32* : 5055]에 기술된 바와 같이 수행하며, 상기 문헌들의 내용은 각각 본 명세서에 참고 인용하였다.

일반적으로, 본 발명의 살렌-전이 금속 착물 황산화제를 제조하는 데 바람직한 경로는 치환된 살리실알데히드와 치환된 디아민과의 축합 반응이다. 이러한 화합물들은 일반적으로 무수 에탄올 중에서 2:1 몰비의 양으로 반응시킨다. 용액을 대개 1 시간 동안 환류시킨 후, 물을 첨가하여 분석적으로 순수한 형태의 살렌 리간드를 침전시키거나, 아세테이트, 할라이드 또는 트리플레이트염 형태의 금속을 첨가하여 금속 착물을 직접 형성시킨다.

후술하는 절차는 하기 구조식으로 표시되는 살렌-Mn 착물 항산화제를 제조하 기 위한 일반적인 절차이다.



살렌 리간드를 고온의 무수 에탄올에 재용해시켜서 0.1M 용액을 얻는다. 고체 $Mn(OAC)_2 4H_2O$(2.0 당량)를 한꺼

번에 첨가하고 그 용액을 1 시간 동안 환류시킨다. 이어서, 약 3당량의 고체 LiCl을 첨가한 후 혼합물을 0.5 시간 동안 더 가열 환류시킨다. 혼합물을 0℃로 냉각시켜 암갈색 결정상의 Mn(III) 착물을 얻고, 이것을 물로 충분히 세척하고 여과 분리시켜 약 75%의 수율로 착물을 얻는다. 모액에 H_2O를 적가함으로써 생성물을 더 얻을 수 있다. 촉매를 포함하는 결정의 총 수율은, 이 단계에서는 일반적으로 약 80~95% 이며 광학적으로 순수한 1,2-디페닐에틸렌 디아민을 기준으로 하면 전체적인 수율은 약 80~90% 이상이다.

살렌-Mn 착물 항산화제를 제조하기 위한 다른 방법은 다음과 같다. 출발 디아민은 R,R-1,2-디아미노-1,2-디페닐에탄 또는 S,S-1,2-디아미노-1,2-디페닐에탄이 가장 바람직하고 출발 살리실알데히드는 3-t-부틸 살리실알데히드가 가장 바람직하다. 무수 에탄올 3 ml에 용해된 3-t-부틸 살리실알데히드 2.0 mmol 용액을 에탄올 5 ml에 용해된 (R,R)-1,2-디아미노-1,2-디페닐에탄 1.0 mmol 용액에 적가한다. 반응 혼합물을 1 시간 동안 가열 환류한후 이 고온(60℃) 용액에 $Mn(Oac)_2 4H_2O$ 1.0 mmol을 한꺼번에 첨가한다. 즉시 용액의 색깔은 황색에서 갈색으로 변한다. 30분 동안 더 환류시킨 후 실온으로 냉각시킨다. 10% NaCl 용액(5 ml)을 적가한 후 그 혼합물을 0.5 시간 동안 교반한다. 이어서 용매를 진공 중에서 제거하고 잔류물을 CH_2Cl_2 50 ml와 H_2O 50 ml로 분쇄시킨다. 유기 층을 분리시킨 후 갈색 용액을 포화 NaCl로 세척한다. 유기 상을 분리시키고 용매를 제거하여 미정제 물질을 얻고, 이것을 C_6H_6/C_6H_{14}로 재결정화시켜서 (R,R)-살렌-Mn 착물을 얻는다.

본 발명에 의한 살렌-전이 금속 착물의 항산화제 합성은 참고 인용된 공보들의 기술 내용에 따라 당업자가 통상적인 방법으로 수행할 수 있다.

제조된 살렌-Mn 착물의 SOD 활성은 당분야에 알려져 있고 이하에 예시하는 SOD 활성 표준 분석법에 따라 측정한다. 수용액 상태로 1 mmol/ℓ 당 0.01 단위 이상의 SOD 활성을 갖는 살렌-전이금속 착물이 살렌-전이금속 착물 항산화제이고; 살렌-전이금속 착물 항산화제는 1 mmol/ℓ당 약 1 단위 이상의 SOD 활성을 갖는 것이 바람직하며, 1 mmol/ℓ당 약 100 단위 이상의 SOD 활성을 갖는 것이 더욱 바람직하고, 보통 1 mM당 500 내지 1000 단위 이상의 SOD 활성을 갖는다. 카탈라제 활성을 보충하는 것이 바람직한 의학적 용도의 경우, SOD 유사체 살렌-전이금속 착물도 검출 가능한 카탈라제 활성을 갖는 것이 바람직하며(예를 들면, C4, C7, C9, C10, C11, C12), 1 mM당 10 단위 이상의 카탈라제 활성을 갖는 것이 일반적이고, 보통 1 mM당 100 단위 이상의 카탈라제 활성을 갖는다.

약학 제제

본 발명의 살렌-전이 금속 착물 항산화제를 포함하는 약학 조성물은 국소 및 비경구 투여용, 즉 피하, 근육내 또는 정맥내 투여에 유용하다. 살렌-전이금속 착물은 생체내 작용성 뿐만 아니라 시험관내 SOD 활성을 갖는다고 하는 사실은, 살렌-전이금속 착물 항산화제가 약학적 용도로 적합한 SOD 유사체라는 것을 시사한다. 살렌-전이금속 착물 항산화제는 인간과 동물을 비롯한 포유류에게 투여하기에 적합하다.

비경구 투여용 조성물은 통상적으로 허용되는 담체, 바람직하게는 수성 담체중에 용해된 살렌-전이 금속 착물 또는 그것의 혼합물의 용액을 포함한다. 본 발명의 살렌-Mn 착물은 대부분 친유성이므로 그것은 상기 담체 중에 소수성 기제(예: 폴리에틸렌 글리콜, Tween 20)를 포함하는 것이 바람직하다. 다양한 수성 담체, 예를 들면, 물, 완충수, 0.4% 염수, 0.3% 글리신 등을 사용할 수 있다. 이 용액은 멸균된 것이며 일반적으로 미립자 물질이 없다. 이 조성물은 통상적으로 알려진 멸균 방법에 의해 멸균할 수 있다. 조성물은 pH 조절제 및 완충제, 독성 조절제 등과 같은 생리학적 조건에 접근하기 위해 요구되는 약학적 허용 가능한 보조 물질, 예를 들면 아세트산나트륨, 염화나트륨, 염화칼륨, 염화칼슘, 락트산나트륨 등을 함유할 수 있다. 이러한 제제 내의 살렌-전이 금속 착물(들) 항산화제의 농도는 광범위하게, 즉 약 1 nM이하, 대개는 적어도 약 0.1 mM 내지 100 mM 까지 변화시킬 수 있으며, 그 농도는 선택된 특정의 투여 방식에 따라 주로 유체 부피, 점도 등을 기준으로 하여 선택된다. 대개, 살렌-전이금속 착물 항산화제는 0.1 mM 내지 10 mM의 농도로 존재한다. 예를 들면, 정맥내 주사에 사용되는 전형적인 제제는 링거 용액중 5 mM 농도의 살렌 금속 착물 항산화제(예: C7) 멸균 용액을 포함한다. 바람직한 살렌-전이금속 착물 항산화제 중 일부가 대체로 소수성이라는 것은 소수성 부형제가 사용될 수 있으며 수성 담체가 세제 또는 기타 친유성 약제(예: Tween, NP-40, PEG)를 포함하고; 선택적으로는 살렌 착물 항산화제를 수성 담체 중의 현탁액 또는 에멀션으로서 투여할 수 있다는 것을 시사한다.

그러므로, 근육내 주사에 사용되는 대표적인 약학 조성물은 멸균 완충수 최대 1 ml, 그리고 살렌-전이 금속 착물 항산화제(들) 약 1~100 mg을 함유하도록 제조할 수 있다. 정맥내 주사용으로 전형적인 조성물은 멸균 링거 용액 최대 250 ml, 그리고 살렌-전이 금속 착물 항산화제(들) 약 100~1000 mg을 함유하도록 제조할 수 있다. 친유성 약제를 친유성 살렌-전이금속 착물의 제제 내에 포함시킬 수 있다. 비경구 투여 가능한 조성물을 제조하는 실질적 방법은 당업자에게 알려져 있거나 당업자가 명확히 알것이며, 예를 들면 본원에 참고 인용된 문헌[*Remington's Pharmaceutical Science* , 15판, 펜실베니아주 이스톤 소재의 Mack 출판사, (1980)]에 상세히 기술되어 있다. 국소 투여용으로 전형적인 약학 조성물은 적당한 피부 연고, 크리임, 로션, 안 연고 및 용액, 호흡기 에어로졸 및 기타 부형제로 이루어질 수 있다. 부형제는 제제의 활성 성분(들)인 살렌-전이 금속 착물 항산화제(들)와 화학적으로 상용성이 있어야 하며 일반적으로 활성 성분(들)의 분해, 변성 또는 응집을 증가시키지 않아야 한다. 부형제는 오일 및 지질 에멀션과 같은 친유성 성분을 가질 때도 있다.

본 발명의 살렌-전이 금속 착물 항산화제(들)는 저장을 위해 동결 건조시켜 서 사용전 적당한 담체 중에서 재조합할 수 있다. 당업자라면 동결과 재조합이 다양한 정도로 항산화제 활성의 손실을 유발할 수 있으며, 그러한 손실을 보충하기 위해 사용 농도를 조절할 수 있음을 알 것이다.

본 발명의 살렌-전이 금속 착물(들) 또는 그것의 혼합물을 함유하는 조성물은 예방 및/또는 치료용으로 투여될 수 있다. 치료학적 용도에서는 특정한 자유 라디칼 관련 질병에 이미 걸린 환자에게, 그 증상과 합병증을 치유하거나 적어도 부분적으로 억제하는 데 충분한 양의 조성물을 투여한다. 이를 달성하기 위한 적정량은 '치료적 유효 투여량' 또는 '유효 투여량'으로 정의한다. 이러한 용도에 있어서 유효한 양은 증상의 정도, 환자의 전신 상태 및 투여 경로에 따라 좌우되나, 일반적으로 1회 투여시 살렌-전이 금속 착물 항산화제(들) 약 1 mg 내지 약 10 g의 범위 이며, 통상적으로 환자당 10 mg 내지 2000 mg 투여량이 사용된다. 예를 들면, 급성 심근 허혈/재산화 에피소드의 치료를 위해서는 살렌 금속 착물 항산화제(예: C7) 약 100 mg 내지 1000 mg을 정맥내 주사에 의해 전신적으로 투여할 수 있으며, 살렌-전이금속 착물 항산화제(들) 약 10 mg 내지 500 mg 이상을 심막내 주사에 의해 투여하여 심근에서 SOD 활성의 증가된 국소 농도를 제공할 수 있다.

예방학적 용도에서는 살렌-전이 금속 착물 항산화제(들) 또는 그 혼합물을 함유하는 조성물을 아직 질병에 걸린 상태가 아닌 환자에게 투여하여 환자의 저항성을 증가시키거나 질병의 진전을 지연시킨다. 이와 같은 양을 '예방적 유효 투여량'으로 정의한다. 이러한 용도에서, 정확한 양은 환자의 건강 상태 및 일반적인 면역 정도에 따라 좌우되나, 일반적으로 1회 투여시 환자당 1 mg 내지 10 g 범위, 특히 10 mg 내지 1000 mg 범위 이다. C7과 같은 살렌-전이금속 착물 항산화제 전형적인 제제는 단위 투여 제형 중에 살렌-전이금속 착물 약 25 mg 내지 250 mg을 함유할 것이다.

조성물을 1회 또는 수회 투여할 수도 있으며, 투여 용량과 투여 패턴은 전문 의사에 의해 선택된다. 어떠한 경우에도 상기 약학 제제는 환자를 효과으로 치료하기에 충분한 양의 본 발명의 살렌-전이 금속 착물 항산화제(들)를 제공해야 한다.

또한 자유 라디칼 관련 질병에 대한 보호 또는 치료에 사용하기 위해 본 발명의 살렌-전이 금속 착물 항산화제(들)와 함께 사용되는 키트(kit)가 제공될 수 있다. 그러므로, 본 발명의 조성물은 대개 동결된 형태로, 또는 용기내의 수용액으로서, 단독으로 또는 바람직한 유형의 기타 살렌-전이 금속 착물 항산화제(들)와 함께 제공될 수 있다. 살렌-전이 금속 착물 항산화제(들)는 Tris, 인산염, 탄산염 등과 같은 완충제, 안정화제, 살생물제, 불활성 단백질, 예를 들면, 혈청 알부민 등 및 사용 지침 세트와 함께 키트내에 포함된다. 일반적으로 상기 물질들은 살렌-전이 금속 착물 항산화제(들)의 양을 기준으로 약 5 중량% 이하로 존재하며, 대개 상기 농도를 기준으로 약 0.001% 이상의 총량으로 존재한다. 활성 성분을 희석시키기 위해 불활성 증량제 또는 부형제를 포함하는 것이 바람직할 때도 있으며, 여기서 부형제는 총 조성물의 약 1 중량% 내지 99.999 중량%로 존재할 수 있다.

살렌-Mn 착물, 바람직하게는 화합물 C12 또는 C7을 본원에 참고 인용된 문헌[Amano 등(1982) *Jpn. J. Surg. 12* : 87]에 기재된 바에 따라서 용액 제제내에 약 1 mM 이상의 농도로 저체온성 심장마비 용액 내로 혼입시킬 수 있다. C7을 심장마비 용액내에 포함시키는 것이 가장 바람직하다.

SOD 유사체 살렌-전이금속 착물(들)의 투여량은 각각의 구체적인 용도에 따라 달라질 것이다. 전형적으로 그 조성물은 전신적 또는 국소적으로 투여한다. 전신 투여는 경구적 및 비경구적 경로를 포함하고; 국소 투여는 동일 위치에서 적용하는 것을 포함한다. '동일 위치에서'라는 용어는 예컨대 SOD 유사체 살렌-전이금속 착물을 내시경 환괴 세척 및/또는 정맥방 주입에 의해, 또는 하부 GI 치료의 경우 관장제에 의해 투여하는 것을 의미한다. 비경구적 경로는 예컨대 피하, 피내, 근육내 및 정맥내 경로를 포함한다. SOD 유사체 살렌-전이금속 착물(들)의 양은 약 2 mg 내지 5000 mg 또는 그 이상이며, 전형적으로는 10 mg 내지 1000 mg이고, 이는 투여 간격 및 경로에 좌우되고, 예를 들면 1회 경구 투여량, 비경구 투여량 및/또는 국소 투여량에서부터 수일 또는 5주 이상에 걸쳐 수회의 경구 투여량, 비경구 투여량 및/또는 국소 경구 투여량의 범위에이른다. 또한, 그 투여량은 증상의 정도에 따라 달라질 수 있다.

<u>시험관내 연구에서의 투여</u>

본 발명의 또 다른 면에서는, 본 발명의 살렌-전이 금속 착물 항산화제를 사용하여 천연 유전자 또는 기타 폴리누클레오티드 서열의 발현을, 글루타티온 S-트랜스퍼라제 유전자 또는 NAD(P)H : 퀴논 리덕타제 유전자와 같은 산화성 스트레스 응답 요소(예: 항산화제 응답 요소, ARE)의 전사적 조절하에 조정한다(참고 문헌 : Rozen 등(1992) Arch. Biochem. Biophys. 292 : 589; Favreau 및 Pickett(1991) *J. Biol. Chem. 266* : 4556; Rushmore 및 Pickett(1991) *Methods Enzymol. 206* : 409; Rushmore 및 Pickett(1990) J *. Biol. Chem. 265* : 14648; Keyse 등 (1992) *Nature 359* : 644). 촉진제에 연결된 1개이상의 ARE의 전사적 조절하에 폴리누클레오티드 서열을 포함하는 돌연변이 유전자, 상동성 재조합 작제물 및 에피좀 발현 시스템(예: 비루스-계 발현 벡터)이 당해 기술 분야에 알려진 방법 및 지침에 따라 당업자에 의해 제조될 것이며, 상기 폴리누클레오티드 작제물이 잠복된 형질 전환된 세포 및 인간 이외의 돌연변이 동물도 제조될 것이다. 살렌-전이금속 착물 항산화제는 ARE 조절된 폴리누클레오티드 서열을 세포 배지(예: ES 세포) 및 원상태의 동물, 특히 돌연변이 동물에서 전사시키는 것을 조정하는 데 사용될 수 있으며, 여기서 돌

연변이 유전자는 전사적 조절 서열로서 1개 이상의 ARE를 포함한다. 형질전환 세포 또는 돌연변이 세포 배지에 대해서, 살렌-전이금속 착물 항산화제(들)의 농도를 증가시키는 것에 대응하여 ARE 조절된 폴리누클레오티드 서열의 전사 속도를 적정함으로써 투여-응답 곡선을 작성한다. 이것은 산화제(예: 벤조일 퍼옥사이드, 글루타티온이 없는 약제) 또는 산화성 스트레스에 의해 유발된 전사 속도를 감소시킬 것이다. 역으로, SOD 유사체 살렌-전이금속 착물의 고농도는 산화성 스트레스와 자유 라디칼 발생을 일으킬 수 있다. 유사한 투여-응답 적정을 돌연변이 쥐와 같은 ARE 조절된 돌연변이 서열이 잠복된 돌연변이 동물 내에서 수행할 수 있다.

생체내 투여

본 발명에 의하면, 살렌-전이 금속 착물 항산화제의 치료학적 또는 약학적 유효량을 환자에게 투여하여 자유 라디칼 관련 질병을 치료 또는 예방한다. 요구되는 투여량은 자유 라디칼 관련 질병의 성질, 질병의 정도와 경과, 이전 치료, 환자의 건강 상태 및 살렌-전이 금속 착물 항산화제에 대한 반응 및 의사의 판단에 좌우될 것이다. 전형적으로, 1종 이상의 살렌-Mn 착물 항산화제를 단독의 활성 성분으로서, 또는 N-2-메르캅토프로피오닐글리신, N-아세틸시스테인, 글루타티온, 디메틸 티오우레아, 데스페리옥스아민, 만니톨, α-토코페롤, 아스코르베이트, 알로푸리놀, 21-아미노스테로이드, 칼페인 억제제, 글루타메이트 수용체 길항 물질, 조직 플라스미노겐 활성화제, 스트렙토키나아제, 유로키나아제, 비스테로이드성 항염증제, 코르티손 및 카로테노이드로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 기타 활성 성분과 함께 투여한다. 또한 살렌-Mn 착물 항산화제는, SOD 폴리펩티드와 달리 특히 살렌-Mn 착물의 용량에 있어서 SOD 및/또는 카탈라제 활성을 갖는 폴리펩티드와 합께 투여하여 혈액-뇌 장벽을 횡단함으로써 전신 SOD 투여를 보완한다.

본 발명은 예방학적 유효량 또는 치료학적 유효량의 살렌-전이 금속 착물 항산화제, 전형적으로 살렌-Mn 착물, 바람직하게는 C7을 사용하여 자유 라디칼 관련 질병에 걸린 인간과 같은 환자를 치료하는 방법에 관한 것이다. 이 방법을 사용하여 다양한 질병 단계에서 환자를 치료하거나 환자에 있어서 자유 라디칼 관련 질병의 진전을 억제시킬 수 있다. 또한 상기 치료제는 예방약으로서 연령에 따른 종양 진행 가능성 및/또는 연령에 따른 사망률 및 또는 노쇠 속도를 억제 또는 감소시키기 위해 투여할 수 있다.

또한, 본 발명의 살렌-전이금속 착물 항산화제는 인체 면역 결핍 비루스(예, HIV-1)에 의해 감염되거나 또는 인체 면역 결핍 비루스에 의해 감염될 위험성이 있는 환자에게 투여할 수 있다. 살렌-전이금속 착물 항산화제, 전형적으로 C7은 종양 사멸 인자(TNF)에 의한 $CD4^+$ 임파 세포 내의 HIV-1 복제의 유발을 억제 또는 방해하거나 HIV-1 감염의 결과로서 $CD4^+$ 세포가 손상 또는 사멸되는 것을 막을 수 있다. HIV-1 복제 또는 HIV-1 발병에 관하여 특정한 이론을 고수하려는 의도는 아니지만, C7과 같은 살렌-전이금속 착물 항산화제의 투여는 HIV-1 관련 병상의 진전을 억제 및/또는 완화시키고 및/또는 HIV 감염 개체 내에서 $CD4^+$ 림프구 세포 집단의 감소 속도를 저하시킬 수 있다. 또한 C7과 같은 살렌-전이금속 착물 항산화제는 AIDS 및 기타 증상(예: 패혈증 쇼크)에 있어서 과도하거나 부적합한 TNF의 수준으로 인해 유발되는 병상을 억제할 수 있다. 약 50 mg 내지 5000 mg의 투여량을 HIV 및/또는 과도하거나 부적합한 TNF 농도를 갖는 환자에게 1회 또는 수회 투여하여 병상 및 임상학적 증상의 진전을 감소 또는 지연시킨다. HIV이외의 비루스성 질병 치료를 위해 살렌-전이금속 착물 항산화제를 치료적으로 투여할 수 있다.

자유 라디칼 및 반응성 산소 종의 농도에 비례하여 산화성 손상이 일어나기 때문에, 매우 낮은 농도만의 살렌-전이금속 착물 항산화제를 투여함으로써 산화성 손상에 대해 보호 효과를 부여할 것으로 예상할 수 있으며, 따라서 그 이하에서는 살렌-Mn 착물 항산화제가 유효하지 않은 역치는 존재하지 않는 것으로 생각된다.

일반적으로 자유 라디칼 관련 질병의 치료에 있어서 적합한 살렌-Mn 착물 항산화제의 유효 투여량은 1일 수용체 체중(kg)당 0.01 mg 내지 1000 mg의 범위이며, 바람직하게는 1 mg 내지 100 mg 범위 이다. 이 바람직한 투여량은 1일 동안 적당한 간격으로 1회, 2회, 3회, 4회 또는 그 이상의 분할 투여 용량으로 제공하는 것이 바람직하다. 이러한 분할된 용량은 단위 투여 제형으로 제공할 수 있으며, 예컨대 단위 투여 제형 당 활성 성분 5 mg 내지 10,000 mg, 바람직하게는 10 mg 내지 1000 mg을 함유한다.

이러한 요법에 사용되는 조성물은 다양한 제형으로 존재할 수 있다. 그 예로는 고체, 반고체 및 액체 투여 제형(예: 정제, 환약, 분말, 액상 용액 또는 현탁액, 리포좀 제제, 주사 가능하고 주입 가능한 용액)을 들 수 있다. 바람직한 제형은 의도하는 투여 방식과 치료 용도에 좌우된다. 전형적으로 수성 용매(예: 염수) 중의 살렌-전이금속 착물의 멸균 용액은 정맥내 투여될 것이다. 또한, 그 조성물은 당업자에게 알려진 통상의 약학적 허용 담체와 보조제를 포함하는 것이 바람직하다. 이에 관해서는, 예컨대 문헌 [Remington's Pharmaceutical Science, 17판, 펜실베니아주 이스턴 소재의 Mack 출판사 (1985)]를 참조할 수 있다. 일반적으로 경구 또는 비경구(피하, 근육내, 정맥내 및 피내 경로 포함) 경로에 의해, 또는 국소 투여 또는 체강 내로의 주입에 의해, 또는 외과 수술하는 동안 조직에 대한 세척 용액의 형태로 투여될 것이다.

물론 본 발명의 방법은 SOD 활성, 카탈라제 활성, GSH-Px 활성을 갖거나 또는 자유 라디칼 스캐빈저 또는 자유 라디칼 형성 억제제인 기타 항산화제와 함께 사용될 수 있는 것이다. 본 발명의 활성 성분을 단독으로 투여할 수도 있으

나, 이것을 약학 제제의 일부로서 제공하는 것이 바람직하다고 여겨진다. 본 발명의 제 제는 1종 이상의 약학적 또는 치료학적 허용 담체 및 임의로 기타 치료 성분과 함께 본 발명의 화합물 1종 이상을 치료 또는 약학적 유효 투여량으로 포함한다. 이에 관해서는 본원에 참고 인용된 문헌[Gilman 등(편집)(1990) Goodman 및 Gilman's : *The Pharmacological Bases of Therapeutics* , 8판, Pergamon Press] 및 [*Remington's Pharmaceutical Sciences* (상동)]을 참조할 수 있다. 투여 방법은 상기 참고 문헌에 기재되어 있으며, 예컨대 경구, 정맥내, 복강내, 근육내 투여등이 있다. 약학적 허용 담체로는, 물, 염수, 완충액 및 문헌[*Merck Index* (Merk amp; Co., Rahway, NJ)]에 기재된 기타 화합물을 들 수 있다.

약학 조성물은 예방 및/또는 치료용으로 비경구 또는 경구 투여될 것이다. 그 약학 조성물은 투여 방법에 따라 다양한 단위 투여 제형으로 투여될 수 있다. 예를 들면 경구 투여에 적합한 단위 투여 제형으로는 분말, 정제, 환약, 캡슐 및 당의정을 들 수 있다.

약학 조성물을 정맥내 투여할 때도 있다. 그러므로 본 발명은 허용되는 담체, 바람직하게는 수성 담체 중에 용해 또는 현탁된 화합물의 용액을 포함한 정맥내 투여용 조성물을 제공한다. 물, 완충수, 0.4% 염수 등과 같은 다양한 수성 담체를 사용할 수 있다. C7 또는 C12와 같은 살렌-전이금속 착물 항산화제(들)를 유기 용매(예, 디메틸설폭시드)중에 용해시켜서 직접 사용하거나 수성 용매 내에 희석시킬 수 있다. 전형적으로 비교적 친유성인 살렌-전이금속 착물 항산화제(예: C9, C12)는 DMSO와 같은 유기 용매중에 용해시키고, 그 후에 필요에 따라 극성이 더 큰 용매(예: 물)중에 희석시킨다. 이 조성물은 통상의 공지된 멸균 기법에 의 해 멸균시키거나, 바람직하게는 멸균 여과시킬 수도 있다. 얻어진 수용액은 그 상태 그대로 사용하기 위해 포장하거나 동결시킬 수 있으며, 동결된 제제는 투여하기 전에 멸균 수용액과 합친다. 조성물은 pH 조정제와 완충제, 장도 조정제, 습윤제 등(예: 아세트산나트륨, 락트산나트륨, 염화나트륨, 염화칼륨, 염화칼슘, 소르비탄 모노라우레이트, 트리에탄올아민 올레이트 등)과 같은 생리학적 조건에 접근하기 위해 요구되는 약학적 허용 보조 물질을 함유할 수 있다.

고체 조성물에 대해서, 통상적으로 사용될 수 있는 비독성 고형 담체의 예로는 제약 등급의 만니톨, 락토오즈, 전분, 스테아르산마그네슘, 나트륨 사카린, 탈크, 셀룰로오즈, 글루코오즈, 수크로오즈, 탄산마그네슘 등을 들 수 있다. 경구 투여에 대해서, 약학적으로 허용 가능한 비독성 조성물은 통상적으로 사용되는 임의의 부형제, 예를 들면 상기 열거한 담체와, 통상적으로 0.001% 내지 95%, 바람직하게는 약 20%의 활성 성분을 혼입시킴으로써 형성시킬 수 있다.

상기 화합물을 함유하는 조성물은 예방 및/또는 치료를 위해 투여될 수 있다. 치료 용도에 있어서, 조성물은 전술한 바와 같이 이미 질병에 걸린 환자에게, 상기 질병 및 이것의 합병증의 증상을 적어도 부분적으로 억제하거나 치료하는데 충분한 양으로 투여된다. 이와 같은 효과를 달성하기에 적합한 양은 '치료학적 유효량 또는 유효 투여량'으로서 정의된다. 이러한 용도에 유효한 양은 질병의 정도 및 환자의 체중과 전신 상태에 따라 달라질 것이다.

예방 용도에 있어서, 본 발명의 화합물을 함유하는 조성물은 특정 질병에 민감하거나 특정 질병에 걸릴 위험이 있는 환자에게 투여된다. 상기 양은 '예방학적 유효량 또는 유효 투여량'으로서 정의된다. 상기 용도에 있어서도, 정확한 양은 환자의 건강 상태와 체중에 따라 달라진다.

고체 조성물에 대해서, 사용될 수 있는 통상적인 비독성 고형 부형제의 예로는 제약 등급의 만니톨, 락토오즈, 전분, 스테아르산 마그네슘, 탈크, 셀룰로오즈, 글루코오즈, 수크로오즈, 탄산 마그네슘 등을 들 수 있다. 상기 정의한 바와 같은 활성 화합물은, 예를 들어 담체로서 트리글리세라이드(예: 위텝졸(Witepsol)를 사용하여 좌약으로 제제할 수 있다. 약학적으로 투여 가능한 액상의 조성물은, 예를 들어 전술한 바와 같은 활성 화합물 및 임의로 약학적 보조제를 물, 염수, 수성 덱스트로오즈, 글리세롤, 에탄올 등과 같은 부형제에 용해 또는 분산시켜 용액 또는 현탁액을 형성시킴으로써 제조할 수 있다. 필요하다면, 투여하고자 하는 약학적 조성물은 습윤제, 유화제, pH 완충제 등(예: 아세트산 나트륨, 소르비탄 모노라우레이트, 트리에탄올아민 나트륨 아세테이트, 트리에탄올아민 올레이트 등)과 같은 소량의 비독성 보조제 물질을 더 함유할 수도 있다. 이와 같은 투여 제형을 실제 제조하는 방법은 당업자들에게 알려져 있거나 자명한 것이다. 이에 관해서는 문헌[*Remington's Pharmaceutical Sciences*](Mack Publishing Company, Easton, PA, 17판, 1985)를 참조할 수 있다. 투여하고자 하는 조성물 또는 제제는, 어떠한 경우에도 유효량의 활성 화합물(들)을 함유할 것이다.

경구 투여에 대해서, 약학적으로 허용 가능한 비 독성 조성물은, 예를 들어 제약 등급의 만니톨, 락토오즈, 전분, 스테아르산 마그네슘, 탈크, 셀룰로오즈, 글루코오즈, 수크로오즈, 탄산마그네슘 등과 같은, 통상적으로 사용되는 임의의 부형 제를 혼입시킴으로써 제조할 수 있다. 상기 조성물은 용액, 현탁액, 정제, 캡슐, 분말, 서방형 제제 등의 제형을 취할 수 있다. 상기 조성물은 활성 성분 0.01% 내지 95%, 바람직하게는 1% 내지 70%를 함유할 수 있다.

통상적으로, 비경구 투여는 피하, 근육내 또는 정맥내 투여를 특징으로 한다. 주사제는 액체 용액 또는 현탁액, 주사하기 전에 액체중에 용해 또는 현탁시키는 데 적합한 고체 형태 또는 에멀젼과 같은 통상적인 형태로 제조할 수 있다. 적합한 부형제의 예로는 물, 염수, 덱스트로오즈, 글리세롤, 에탄올 등을 들 수 있다. 또한, 필요에 따라서, 투여하고자 하는 약학적 조성물은 습윤제, 유화제, pH 완충제 등(예: 아세트산 나트륨, 소르비탄 모노라우레이트, 트리에탄올아민

올레이트 등)과 같은 소량의 비독성 보조제 물질을 더 함유할 수 있다.

더욱 최근에 고안된 비경구 투여 방법은 서방형 또는 지속 방출형 시스템을 주입시킴으로써 투여량을 일정한 수준으로 유지시키는 것이다(예: 본원에 참고 인용된 미국 특허 제3,710,795호 참조). 살렌-전이금속 착물 항산화제는 국소 또는 전신 용도에 대해 경피 패취(예를 들면, 이온 삼투 전이)에 의해 투여할 수 있다.

일단, 환자의 상태가 감지할 수 있을 정도로 호전되면, 필요에 따라서, 일정량의 투여를 지속시킨다. 차후에, 투여량 또는 투여 빈도, 또는 양자를 증상에 따라서, 호전된 상태를 유지시킬 수 있는 양으로 감소시킬 수 있다. 증상이 목적하는 정도까지 완화되면, 치료를 중단할 수 있다. 그러나, 환자는 질병 증상의 재발 여부에 따라, 또는 질병 증상이 재발하는 것을 방지하기 위한 예방 수단으로서, 장기간 동안 간헐적인 치료를 필요로 할 수 있다.

또한, 살렌-전이금속 착물 항산화제(들)는 혈관 주사용 혈액에 첨가함으로써 저장하는 동안 혈액 세포 및 성분에 대한 산소 함유 라디칼 손상을 억제할 수 있다. 유사하게, 살렌-전이금속 착물 항산화제는 생체 내에서 혈액 세포에 대한 산소 함유 라디칼 손상을 감소시킬 수도 있다.

또한, 살렌-전이금속 착물 항산화제(들)는 기관 이식 또는 외과용 세정액과 같은 기관 및 조직에 대한 세정 용액 또는 저장 용액에 첨가할 수 있다. 예를 들면, 절개된 기관은 종종 수용자에게 이식되기 전에 보존 용액 중에 보존된다. 1종 이상의 살렌-전이금속 착물 항산화제를 통상적으로 약 0.01 mM 내지 10 mM 농도로 보존 용액 중에 포함시키는 것이 수용자에 재주입한 후 저장하는 동안의 허혈에 기인하는 손상과 재관류 손상을 감소시키는데 바람직하다. 당분야에 개시된 다양한 용액에 살렌-전이금속 착물을 포함시키는 것이 바람직하며, 그러한 용액의 예로는 미국 특허 제5,145,771호, 문헌 [*Chem Abst.113*](Beyersdorf, 1990), 84849w, 미국 특허 제4,879,283호, 미국 특허 제4,873,230호 및 미국 특허 제4,798,824호(이들은 본원에 참고 인용됨)에 개시된 것들을 들 수 있으나, 이들에 국한되는 것은 아니다.

통상적으로, 살렌-전이금속 착물 항산화제는 세정 용액 또는 저장 용액중에 약 10 μM 내지 약 10 mM의 농도로, 가장 통상적으로는 1 mM로 존재한다. 예를 들어, 본 발명에 적합한 세정 용액은 링거(Ringer) 용액(NaCl 102 mM, KCl 4 mM, $CaCl_2$ 3mM, 락트산 나트륨 28 mM, pH 7.0) 또는 아데노신 0.1 mM을 함유하는 링거 용액 및 최종 농도가 1 mM 인 살렌-Mn 착물 C7 항산화제를 포함하지만, 이에 국한되는 것은 아니다. 상기 세정 용액은 또 다른 항산화제(예: 글루타티온, 알로푸리놀)를 더 함유할 수 있다. 살렌-전이금속 착물 항산화제를 함유하는 보존 용액 또는 세정 용액은 조직의 생존력을 향상시키며, 산화성 손상(허혈/재관류의 결과임)에 대한 내성을 증가시키는 것으로 생각되는 기관(예: 신장, 간, 췌장, 폐, 태아 신경 조직, 심장, 혈관 이식 조직, 골, 인대, 힘줄, 피부)의 저장 또는 세정을 향상시킬 수 있다.

항산화제 또는 촉매로서의 산소 함유 라디칼 스캔빈저 작용에 대한 특정한 이론을 고수하려는 의도는 아니지만, 본 발명의 살렌-전이금속 착물 촉매(들)의 과다한 투여량 또는 농도는, 경우에 따라 다량의 순환하는 유리 철의 존재와 유사한 방식으로 초산화물과 같은 자유 라디칼을 산출할 수 있는 것으로 생각된다. 이것을 기초로 하면, 항산화제 치료에 있어서 과량의 살렌-전이금속 착물을 장기간 투여하는 것은 피하는 것이 바람직한 것으로 생각된다. 그러나, 촉매 활성인 살렌-전이금속 착물의 과량 투여는 국소 부위(예컨대, 좌창 치료, 피부암 치료, 유두종 치료시), 또는 ARE의 전사 조절 하에서 돌연변이를 잠복시키는 돌연변이 동물 또는 세포주에서 초산화물과 같은 자유 라디칼을 형성시키는데 유리하게 사용될 수 있다. 자유 라디칼(예: 초산화물)의 생성을 향상시키기 위해서는, 국소 부위, 세포 배양액, 또는 돌연변이 동물을 고압 산소 환경 및/또는 산소가 농후한 대기(예: 산소 분자 약 21% 이상)에 노출시키는 것이 바람직할 수 있다.

대안으로는, 반응성 산소 종의 분해를 촉진시키는 살렌-전이금속 착물 항산 화제의 능력을 사용하여 생물학적 조직과 세포에 대한 손상을 억제하거나 또는 완화시킬 수 있다. 예를 들어, 벤조일 퍼옥사이드는 좌창 병소를 치료하는데 널리 사용된다. 벤조일 퍼옥이드를 과량으로 또는 부적절하게 투여(예컨대, 눈에의 우발적 투여)한 경우에, 살렌-전이금속 착물 항산화제(예: C7)를 국소 투여(또는 필요한 경우 전신 투여)함으로써 이를 치료할 수 있다. 유사하게, 자외선에의 노출, 담배 연기 및 노화에 수반되는 연결 조직(예: 콜라겐)에 대한 산소 함유 라디칼에 의해 유도된 손상은, 자외선에의 노출, 담배 연기 또는 기타 산소 함유 라디칼 생성 과정(예: 세포 노화)과 거의 동시에 살렌-전이금속 착물 항산화제를 투여함으로써 경감시킬 수 있다.

화학적 보호 및 방사선 보호

살렌-전이 금속 착물 항산화제, 통상적으로 C7 화합물과 같은 살렌-Mn 착물 항산화제는 이온화 방사선 및 화학적 치료제(예: 블레오마이신)와 같은 자유 라디칼 생성제로부터 세포와 조직을 보호하는 데 사용된다. 체중 1 kg당 약 1 μg이상의 살렌-Mn 복합체를 함유하는 보호성 투여량을, 하나 이상의 다양한 경로(예컨대, 경구, 정맥내, 복막내, 위세척, 관장, 혈관 입구 주입, 국소 또는 연무 흡입)로, 살렌-Mn 착물 항산화제의 표적화된 운반을 위해 리포솜 또는 면역 리포솜을 주입함으로써 투여하여, 종양의 화학적 치료 또는 방사선 치료와 관련된 자유 라디칼 독성에 대해 정상

세포를 보호하는 것이 바람직하다. 살렌-전이 금속 착물 항산화제는 화학적 치료 및/또는 방사선 치료를 개시하기에 앞서, 통상적으로는 상기 치료의 개시점에 앞서 약 24시간 내에 바람직하게는 약 3 시간 내지 6 시간 내에 환자 에게 미리 투여하는 것이 바람직하다. 살렌-Mn 항산화제는 치료 과정 동안에 연속적으로 투여할 수도 있다.

예를 들어, 살렌-전이금속 착물 항산화제의 용액을 미셀 내에 봉입시킴으로써 면역 리포솜을 형성시킬 수 있다(미국 특허 제5,043,164호, 제4,957,735호 및 제4,925,661호; 문헌[*J.Cell Biol* . 101, 582](Connor 및 Huang)(1985), 문헌[*Nature 355* , 279](Lasic DD) (1992); 문헌 [*Novel Drug Delivery*](Prescott LF 및 Nimmo WS 편집: Wiley, New York, 1989), 문헌[*J. Immunol. 148* , 1585](Reddy 등)(1992)(이들은 본원에 참고 인용됨). 살렌-전이금속 종 항산화제를 함유하는 면역 리포좀은 방사선 치료 또는 화학적 치료에 민감한 비 종양 세포에 면역 리포좀을 표적화시키는 표적 부분(예: 단일클론 항체)을 포함할 것이다. 예를 들어, 개개의 암 세포상에 존재하지 않는 조혈 간세포 항원에 특이적으로 결합하는 단일클론 항체를 갖는 면역 리포좀을 사용하여 살렌-전이금속 착물 항산화제를 조혈 간세포에 표적화시킴으로써, 암을 치료하는데 사용되는 방사선 치료 또는 화학적 치료에 대해 상기 간세포를 보호할 수 있다. 이러한 방법은 화학적 치료제가 생체 내에서 자유 라디칼을 형성하는 경우(예: 블레오마이신)에 사용하는 것이 바람직하다.

또한 살렌-Mn 착물 항산화제는 자유 라디칼 발생제에 의한 방사선 손상 또는 화학적 손상을 예방하기 위해 개개인에게 투여된다. 살렌-Mn 착물은 군인 및 핵, 핵 의학 및/또는 화학 산업에 종사하는 사람들에게 예방용으로 투여될 수 있다. 또한, 살렌-전이금속 착물 항산화제는 특히 반응성 에폭시드 중간체(즉, 벤조-[a]- 피렌, 벤즈안트라센)를 형성하는 발암 물질에 의해, 그리고 직접 또는 간접적으로 자유 라디칼을 형성하는 발암 물질 또는 촉진제(예: 페노바르비탈, TPA, 벤조일 퍼옥사이드, 퍼옥시좀 증식제, 시프로피브레이트, 클로피브레이트)에 의해 유발되는 화학적 발암 현상을 방지하기 위한 화학적 보호제로서 사용될 수도 있다. 이와 같은 화학적 발암 물질에 노출된 사람을 살렌-전이금속 착물 항산화제로 예비 치료함으로써 종양 전개의 위험 또는 발병율을 감소시킬 수 있다.

살렌-전이금속 착물 항산화제는 또한 화장품 또는 일광 화상 방지 크리임 및 로우션 형태로 국소 투여를 위해 친지성 염기(또는, 필요에 따라 수성 담체) 내로 제제화시킬 수 있다. 통상적인 화장품 또는 일광 화상 방지 크리임 또는 로우션은 상기 화장품, 일과 화상 방지 크리임 또는 로우션 1 g 당 약 1 mg 내지 50 mg의 살렌-전이금속 착물 항산화제를 함유할 것이다.

또한, 살렌-전이금속 착물 항산화제는 산소 독성이 건강을 해치는 고압 산소 환경에 노출된 개개인 또는 다이빙 선수에게 투여될 수 있다. 개개인에게 유효 용량의 살렌-전이금속 착물 항산화제를 투여하면, 산소 독성의 위험을 감소시킴은 물론, 고압 산소 및/또는 산소가 농후한 기체의 호흡을 가능하게 한다. 또한, 유효 용량의 살렌-전이금속 착물 항산화제를 투여하면 오존에의 노출과 관련된 독성과 생물학적 손상을 감소시킬 수 있다. 오존에 노출되는 사람에게 살렌-전이금속 착물 항산화제를 예방 투여하는 경우에는, 오존 농도가 높은 지역(예:로스엔젤레스)에서 발견되는 오존에 의해 유도된 폐 손상과 같은, 오존 독성에 대한 내성을 향상시킬 수 있을 것으로 기대된다.

용도, 시험 및 투여

본 발명의 화합물, 즉, 살렌-전이 금속 착물 항산화제, 바람직하게는 살렌 Mn-복합체는 심근 경색, 출혈성 심장 기능 부전, 협심증, 부정맥, 순환기 질환 및 발작을 비롯한 비 심장 및 심장 상태의 허혈성 손상에 대한 보호용 치료제로서 유용하다. 본 발명의 화합물은 심근 수축에 직접적인 억제 효과를 제공하는 일 없이, 허혈(심장의 관상 동맥 경색 및 재관류, 수술 동안의 일시적 심근 경색 또는 CNS 허혈)의 유해한 효과를 억제한다. 따라서, 상기 화합물은 심장 혈관 및 CNS 질병에 대한 동물 모델에서 효과를 발휘하며, 포유류, 특히 인간의 심근 경색, 발작, 뇌 손상 및 이식 수술, 구체적으로 경색 부위의 재관류, 부정맥, 변종 협심증과 운동에 의해 유발된 협심증, 출혈성 심장 기능 부전, 발작 및 기타 순환기 질환의 치료에 유용하다. 상기 살렌-Mn 착물은 피부 이식 및 각막 이식을 비롯한 이식 수술전에 절개한 기관을 운송 및 저장하는 동안에, 그 절개된 기관(예: 심장, 신장, 췌장, 간, 폐)을 세정하는데 사용되는 보존 용액중에도 함유된다. 상기 보존 용액은 통상적으로 살렌-전이금속 착물 항산화제를 약 1 μM 이상, 바람직하게는 약 1 mM 이상 함유할 것이다.

본원에 개시된 활성 화합물과 염의 투여는 치료제에 대해 허용된 임의의 투여 방식으로 수행될 수 있다. 이러한 방법으로는 경구, 비경구, 경피, 피하 및 기타 전신 투여 방식이 있다. 바람직한 투여 방법은 환자가 임의의 약물을 스스로 섭취할 수 없는 경우를 제외하고는, 구강 투여이다. 상기 경우에 있어서는, 상기 조성물을 비경구 투여할 필요가 있다. 상기 조성물이 생리학적 pH에서 양성자화될 수 있는 아미노 치환체를 갖는 살렌-전이금속 종 항산화제를 포함하는 경우에는, 상기 아미노 치환체가 양성자화되는 pH를 갖는 용액에 상기 살렌-전이금속 착물 항산화제를 용해 또는 현탁시키는 것이 바람직하다.

물론, 투여되는 활성 화합물의 양은 치료하고자 하는 환자, 환자의 체중, 질병의 심각성, 투여 방식 및 처방 의사의 판단에 따라 달라질 것이다. 그러나, 유효 투여량은 0.01 mg/kg/일 내지 50 mg/kg/일, 바람직하게는 0.5 mg/kg/일 내지 25 mg/kg/일이다. 평균 체중이 70 kg인 사람에 대해서는, 유효 투여량이 0.7 mg/일 내지 3500 mg/일, 또는 바람

직하게는 약 35 mg/일 내지 1750 mg/일이 될 것이다.

본 발명의 살렌-Mn 화합물의 모든 효과는 유사한 메카니즘을 통해 달성되기 때문에, 투여량(및 투여 형태)은 모든 용도에 대해 전술한 바와 같은 통상적인 바람직한 범위 내에서 존재한다.

이하, 실시예에 따라 본 발명을 설명하고자 하나, 후술하는 실시예는 예시적인 것에 불과할 뿐, 본 발명의 보호 범위를 한정하는 것은 아니다.

실험예

시험관내 촉매 활성

C1, C4, C6, C7, C9, C10, C11 및 C12 살렌-Mn 착물의 항산화성 촉매 활성을 측정하였으며(제3도 참조) ; 하기의 방법에 따라 초산화물 디스뮤타제 및 카탈라제 활성을 측정하였다.

분석

산소 자유 라디칼 발생 시스템, 즉 크산틴 + 크산틴 옥시다아제로 제조한 시 토크롬 C의 감소 억제를 평가하여 상기 화합물의 SOD 활성을 측정하였다. 본원에 참고로 인용된 문헌 [*Arch. Biochem. Biophys. 258* : 351](Darr 등) (1987)에 개시된 방법에 따라서 550 nm 에서 시토크롬 C의 감소를 분광학적으로 모니터하였다. 크산틴 옥시다아제의 농도를 조정하여, 550 nm 에서 시토크롬 C의 감소율이 분당 0.025 흡수 단위가 되도록 하였다. 상기 조건하에서, 시토크롬 C 감소율을 50% 억제하는 데(즉, 분당 0.0125 흡수 단위의 비율로 하는 데) 요구되는 SOD 활성량을 활성의 1 단위로서 정의하였다. 살렌-전이금속 착물이 상기 표준 분석 조건하에 1 mM의 농도에서 0.1 단위 이상의 활성을 갖는 경우, 그 착물은 항산화제로서 인정하였다.

본원에 참고로 인용된 문헌 [*Methods Enzymol. 105* : 121(Aebi 등) (1984)]에 개시된 방법에 따라 240 nm 에서 과산화수소의 분해를 모니터하는 분광 분석 방법을 사용하여 카탈라제 활성을 측정하였다. 1 단위의 촉매 활성은, 1 분내에 1 μmole의 과산화수소를 분해시키는 데 필요한 효소(또는 살렌-전이금속 착물)의 양으로서 정의하였다.

각각의 화합물을 염수 중에 제제화시켰으며, 실온에서 여러 주 동안 저장한 후 관찰하였을 때 활성이 전혀 손실됨이 없이 안정하였다. 경우에 따라서는, 상기 살렌-전이금속 착물을 유기 용매(예: DMSO)에 먼저 용해시킨후, 상기 용액을 물과 같은 보다 극성인 용매로 희석시키는 것이 바람직하다. 이것은 비교적 소수성인 살렌-전이금속 화학종(예: C12)에 대해 특히 바람직하다.

표4는 시험한 다수의 살렌-Mn 착물의 시험관내 SOD 및 카탈라제 활성을 요약 한 것이다. SOD 및 카탈라제 활성은 단위/mM로서 표시하였다.

[표 4]

살렌-Mn 착물	SOD 활성	카탈라제 활성
C1	308	262
C4	312	200
C6	812	0
C7	575	200
C9	111	20
C10	69	179
C11	101	46
C12	4397	144

생체내 생물학적 활성

뇌 허혈(발작)의 경우에 분자의 치료학적 포텐셜을 측정하기 위해 널리 사용된 분석은 생리학적 조건하에 유지된 뇌 절편에서 무산소증 에피소드에 의해 유도된 비가역적인 손상을 방지하는 능력을 평가하는 것으로 구성된다. 래트의 뇌 절편을 하기 약품을 함유하는 35℃하에 접촉 영역 챔버 내에서 인공 뇌척수 유액 중에 유지시켰다 : NaCl 124 mM, KCl 3 mM, KH_2PO_4 1.25mM, CaCl 3 mM, $MgCl_2$ 1 mM, $NaHCO_3$ 26 mM, D-글루코오스 10 mM 및 L-아스코르베이트 2 mM. 계속해서 O_2:CO_2 (95:5)의 혼합물로 가스 처리하였다. 챔버의 대기를, 무산소 에피소드 도중에 N_2로 대체하는 것을 제외하고는 O_2:CO_2 (95:5)의 혼합물로 가스 처리하였다. 축색돌기를 전기적으로 자극시켜서 유발된 흥분성 시냅스후 전위(EPSPs)를 미세전극을 이용하여 기록하였다.

제4도는 보통의 조건(A), 5 분후 O_2를 N_2로 대체한 후(허혈 에피소드, B), 30분 내지 40분후 다시 산소 조건(C) 하에서 기록된 EPSP의 개략도를 나타낸 것이다. 영구적 손상의 정도는 EPSP의 범위(mV) 및 초기 기울기(mV/msec) 둘다를 측정하여 정량할 수 있다.

제5도 및 제6도는 래트의 뇌 절편 무산소증 EPSP 시스템에서 살렌-Mn 착물 항산화제 C7의 보호 효과를 도시한 것이다. 뇌 절편을 50 μM C7의 부재 또는 존재하에서 배양하고 허혈/재산소화의 에피소드로 처리하였다. 기준선이 기록된지 5 분후, 평균 5 분간 O_2를 N_2로 대체하였다. O_2를 다시 재주입하고 다시 50 분간 기록을 지속하였다. 50 μM C7를 사용한 시료는 EPSP의 범위 및 초기 기울기가 허혈전 수준으로 회복되었음을 나타내었다. 반대로, 미처리된 뇌 절편에서는 허혈전 수준의 단지 약 40%만이 회복되었다.

또 다른 효능 평가로서, 반복된 허혈 에피소드 이후 생존 가능한 절편의 백분율을 평가하였다. 제7도는 치료를 전혀 하지 않은 경우 상기 백분율이 매우 낮은 (6%) 반면, 50 μ처리된 절편에서는 80%로 높다는 것을 입증한다. 자극 강도의 증가에 의해 EPSP의 범위 3 mV가 유도될 수 있을 경우 절편은 생존 가능한 것으로 간주된다.

동물 모델 시험

MPTP (Chiueh 외 다수, (1992) *Synapse 11* : 346, 본원에서 참고 인용함)에 의해 발생된 의인성 히드록시 라디칼과 과련된 파킨슨 병의 동물 모델을 사용하여 자유 라디칼에 의해 유도된 손상에 대한 C7의 보호 효과를 평가하였다. 신경 독소 인 MPTP는 뇌에서 도파민 작용성 뉴런을 변질시키고, 따라서 실험적으로 유도된 파킨슨 병(예: 의인성 독성)의 우수한 모델을 제공하는 것으로 밝혀졌다. 상기 모델은 현재 당분야에서 널리 관용되고 상기 질병에 대한 잠재적인 치료학적 제제를 평가하는 데 사용된다.

(1) MPTP 단독, (2) 살렌-전이금속 착물 항산화제 C7 단독, (3) C7로 전처리한 후 MPTP로 처리, 또는 (4) 미처리된 대조군 중 하나로 처리된 마우스의 뇌에서 도파민 작용성 뉴런의 수는 도파민 재흡수 리간드인 마진돌의 결합을 측정함으로써 평가하였다. 삼중 수소화 마진돌을 사용하여 종래 방법에 따라 마우스의 뇌의 담창구, 미상핵 및 선조체의 샘플에 있어서 결합에 대해 시험하였다. 삼중 수소화 마진돌의 특이성 결합은 자동 방사능 기록법에 의해 또는 막 결합(막 분획에 대한 특이성 결합)에 의해 측정하였다. 실험은 7 일간 수행하였다. MPTP 군에서 마우스를 MPTP 단독(1일 및 2일에 40 mg/kg)으로 복강내 처리하였다. MPTP + C7 군에서는, 1일 및 2일에 마우스를 C7 (33 mg/kg, 복강내)로 전처리한 직후 MPTP로 처리하고, 3 일째에 C7 단독(33 mg/kg)으로 처리하였다. 동물은 7 일후 희생되었다. 제8도에 도시된 결과는 살렌-Mn 착물, C7에 의해 생체내에서 제공된 중대한 보호 효과를 나타낸다. 제8도는 마우스 뇌의 여러 영역에서 도파민 작용성 뉴런의 수가 살렌-전이금속 착물 항산화제 C7에 의해 악영향을 나타내지 않지만, 도파민 작용성 뉴런은 MPTP 단독으로 처리된 마우스에서는 대조값의 약 15%로 감소함을 보여준다. 그러나, C7로 전처리된 후에 MPTP로 처리된 마우스에 존재하는 생존 가능한 도파민 작용성 뉴런의 수는 거의 2배였다. C7은 시험 기간 7 일에 걸쳐 C7로 처리된 동 물에서 건강에 나쁜 효과가 없었으므로, 독성이 없음을 나타낸다.

이러한 데이타는 살렌-Mn 착물이 인체 질병의 침식성 모델에서 생체내 치료 효능을 나타냄을 입증한다. 또한 이는 살렌-Mn 착물이 혈액-뇌 방벽을 효과적으로 교차함을 시사한다. 중합하여 볼 때, 상기 데이타는 자유 라디칼에 의해 유도된 손상 및 뇌에서의 허혈/재산소화 손상을 방지하는 살렌-Mn 착물의 극적인 효능을 시사한다.

허혈 및 재관류에 걸리고, 유리된 철을 과량 함유한 래트 심장에서 C7의 효과

래트의 심장 조직에 유효량의 철을 과량 하중하기 위해 5주 기간 동안 3일 마다 철-덱스트란 용액(100 g 수산화철, 99 g 덱스트란, 나머지 물로 채워서 1 ℓ) 0.25 ml를 근육내 주사하였다. 상기 처리의 말기에, 래트를 나트륨 펜토바르비탈(40 mg/kg)으로 마취하고 헤파린(1,000 IU/kg)을 대퇴골 정맥을 통해 투여하였다. 이어서 심장을 적출하고 Langendorff의 문헌에 기술된 기법 [Langendorff, O., *Pflugers Arch. 61* : 291, 1985]에 따라 대동맥을 통해 일정한 유속 11 ml/분으로 급속 관류하였다. 관류 유체는 하기 성분을 함유하는(mmol/ℓ 단위) 변형된 크렙스-헨셀레이트 완충액이다 : NaCl 118, KCl 5.9, $NaHCO_3$ 25, $MgCl_2$ 1.2, NaH_2PO_4 0.6, $CaCl_2$ 2.4, 글루코오스 1 ℓ. 관류 매질이 37℃ 에서 O_2-CO_2 (95%-5%)로 포화되었을때 pH를 7.4 ± 0.05로 유지시켰다. 관류 기기를 관류 매질이 대동맥에 도달했을때 37.0 ± 0.5℃의 온도가 되도록 완전히 항온 처리하였다. 초박형 기구(balloon)를 대동맥 관류의 개시후 즉시 좌심실에 삽입하고, 최종 심장 이완 압력 5 mm Hg를 얻을 때까지 팽창시켰다. 기구 배치후 즉시 15

분의 안정화 기간을 개시하였다. 이 기간 말기에, 심장 수축 및 심장 이완 심실 압력 및 심장 박동수(HR)를 심실 기구에 연결된 압력 변환기를 통해 기록하였다. 좌심실 발생 압력(LVDP)은 심장 수축 및 심장 이완 압력 사이의 차이로 계산하고 HR × LVDP의 값을 산소 소비 지수로 하였다. 이어서 심장을 총 15 분간 전역 정온 허혈에 걸리게 한 다음 초기에 사용된 관류 매질로 15 분간 재관류시켰다. 15 분의 재관류 기간동안 심장 속도 및 심장 수축 압력과 심장 이완 압력을 모니터하였다. 초기 심실 세동을 재관류의 개시후 1 분간 분석하였다. 3개의 실험군을 연구하였다. 군 1(n=7)은 심장을 표준 관류 유체로 관류시키고(대조군); 군 2(n=8)은 디메틸티오우레아(DMTU, 10 mM)의 존재하에서 관류시키고; 군 3(n=8)은 C7(50 μM)의 존재하에서 관류시켰다.

15 분 재관류후, 전자 현미경 검사용으로 각 군에서 3개의 심장을 2.5% 글루타르알데히드로 관류시켜 준비했다. 초박형 절편(500~600Å 두께)를 조사하였다.

결과

하기 표 5에는 3 개의 실험 군에서 관류 15 분후, 허혈 전(전), 재관류 1 분 후(1분 후) 및 재관류 15 분 후(15분 후)의 심장 박동수(HR), 심장 수축 압력(SP), 심장 이완 압력(DP) 및 HR × LVDP 값을 제시하였다. 또한, 표 5에는 재관류(VF) 1 분후 심실 세동성 에피소드를 나타내는 심장의 수를 제시하였다.

[표 5]

	HR (박동/분)	SP (mm Hg)	DP (mm Hg)	HR × LVDP (×10.3)	VF
대조군:					
전	276 ± 11	78 ± 7	6.3 ± 0.3	19.6 ± 1.6	-
1분 후	96 ± 0	40 ± 6	23.3 ± 6.0	4.2 ± 1.7	5/7
15분 후	232 ± 15	62 ± 10	13.6 ± 4.2	12.6 ± 2.3	-
+ DMTU					
전	280 ± 10	97 ± 4	4.7 ± 0.3	24.1 ± 0.6	-
1분 후	91 ± 10	62 ± 9*	37.2 ± 10.0	3.5 ± 1.2	3/8
15분 후	226 ± 18	58 ± 6	27.8 ± 9.4	9.4 ± 2.0	-
+ C7					
전	278 ± 7	90 ± 2	5.4 ± 0.3	23.5 ± 0.9	-
1분 후	130 ± 13#	72 ± 8#	5.8 ± 0.5#±	9.9 ± 0.8#±	2/8
15분 후	241 ± 15	92 ± 15	8.3 ± 0.6	21.7 ± 3.40 ● ±	-

* : $p < 0.01$, 같은 시간에서 DMTU : 대조군.

: $p < 0.01$, 같은 시간에서 C7 : 대조군.

● : $p < 0.05$, 같은 시간에서 C7 : 대조군.

±: $p < 0.01$, 같은 시간에서 DMTU : C7.

표 6는 심장의 전자 현미경 평가 결과를 요약한 것이다. 미토콘트리아를 타입 A(정상), 타입 B(팽윤, 비파괴) 및 타입 C(막 파열)로 분류하였다. 육종은 타입 A(정상) 및 타입 B(접촉 및/또는 괴사)로 분류하였다. 그 결과를 %로 나타내었다. 분석된 미토콘트리아의 수는 대조군, DMTU 및 C7 군 각각에서 1293, 1632 및 1595이었다. 분석된 육종의 수는 대조군, DMTU 및 C7 군에서 각각 1046, 1173 및 1143이었다.

[표 6]

	미토콘트리아			육종	
	타입 A	타입 B	타입 C	타입 A	타입 B
대조군	10.4	21.0	68.5	21.3	78.7
+ DMTU	14.3*	19.5	66.2	13.7+	86.3+
+ C7	31.0#±	15.2#●	53.8#±	60.6#±	39.4#±

* : $p < 0.05$, DMTU:대조군.

+ : $p < 0.01$, DMTU:대조군.

: $p < 0.01$, C7:대조군.

● : $p < 0.05$, C7:DMTU.

±: $p < 0.01$, C7:DMTU.

상기 데이타는 C7이 허혈/재산소화 손상으로부터 심장을 기능적 및 구조적으로 유효하게 보호함을 나타낸다. 또한, C7은 200배 이하의 낮은 농도로 사용한 경우까지도 항산화제 DMTU 보다 효능이 현저하게 더 크다.

실험적 자가 면역 뇌염(EAE)

EAE는 다발성 경화증의 동물 모델이다. 10 주령의 30 SJL 암컷 마우스를 20 마리(대조군) 및 10 마리(C7 처리)의 2 군으로 나누었다.

2개의 군의 마우스를 완전 프로인트 보조제 중의 뇌염발생 PLP 펩티드로 피하 면역시킨 다음 페트루시스 독소(IV)로 면역시켰다. 페트루시스 독소를 면역시킨지 3 일 후에 반복 면역시켰다.

C7 군의 마우스를 감염전 2 일부터 시작하여 감염후 14 일 동안 복강내 주사로 매일 처리하였다(1 mg/마우스, 약 40 mg/kg).

동물을 하기 등급으로 나타내었다 :

단계 I : 림프 미상(Limp tail) 증후군

단계 II : 뒷다리 마비

단계 III : 뒷다리 마비-발을 끄는 움직임

단계 IV : 마비로 움직임 없음, 체중 감소

결과

감염후 셋째 주 동안, 대조군의 마우스 20 마리 중에서 8 마리의 마우스가 EAE 증후를 발현하였다 : 단계 I 2 마리, 단계 II/III 4 마리, 단계 IV 2 마리.

같은 기간 동안, C7로 처리된 10 마리 마우스 중에서 단지 1 마리만이 EAE 증후를 나타내었다(단계 II).

다섯번째 주 동안, 즉, C7 처리를 중지한지 3 주 후에 C7 군 중에서 6 마리 마우스가 EAE 증후를 나타내었다(단계 II 4 마리, 단계 IV 2 마리).

이러한 결과는 C7 처리가 EAE 증후의 발현을 방지하고, 치료의 중단후에는 상기 질병이 진전될 수 있음을 나타낸다.

지질 초산화 반응

해마 절편(400 μm 두께)을 스프래그-도우리(Sprague-Dawley) 래트(150~200g)로부터 취하여 NaCl 120 mM, KCl 5 mM, $CaCl_2$ 1.3 mM, $MgCl_2$ 1.2 mM, Na 포스페이트 16 mM (pH 7.4) 및 글루코오스 10 mM을 함유한 예비 산소화된(95% O_2/5% CO_2) 크렙스-링거 포스페이트 매질(pH7.4) 중에 수집하였다. 교반하에서 35℃ 물 중탕에서 15 분간 예비 항온 처리한 후, 완충액을 동일한 완충액(대조군) 또는 NaCl 90 mM, KCl 5 mM, $CaCl_2$ 1.3 mM, $MgCl_2$ 1.2 mM, Na 포스페이트 16 mM 및 락트산 30 mM (pH5.0)을 함유한 개질 완충액(락테이트 완충액)으로 대체하였다. C7이 존재하는 경우에, 50 μm을 예비 항온 처리 및 항온 처리 기간중에 첨가했다. 100 분후, 절편을 수집하고, TCA 5% 0.9 ml로 균질화하고, 배양 매질 0.5 ml에 TCA 5% 0.35 ml를 첨가했다. 티오바르비투르산 시약(TBAR) 0.25 ml를 TCA 추출물 0.85 ml에 첨가하고, 혼합물을 85~93℃ 에서 60 분간 배양시켜 지질 초산화 반응을 측정하였다. 이어서, 지질을 2 × 0.5 ml 1-부탄올로 10 초간 이동시켜 추출한 후, 2,000 rpm 에서 10 분간 원심 분리하였다. 분광 광도계 532 nm에서 알콜 상에 초산화된 지질의 흡광도가 측정되었다. 데이타를 표준 곡선을 얻기 위해 정품 말론디알데히드(MDA)를 이용하여 MDA의 nmole로 나타내었다. 브래드포드 방법을 이용하여 TCA 추출물의 분취량으로부터 단백질을 측정하고, 최종 결과를 형성된 MDA(nmole)/단백질(mg)로 계산하였다.

결과

제9도는 지질 초산화를 50 μM C7의 존재(LA+C7) 또는 부재(LA)로 pH 7.4 (대조군), pH 5.0 (락테이트)으로 하여, 시간이 0분(분할 후 즉시) 및 100 분간 항온 처리한 후 절편 균질액(선을 그은 막대) 및 항온 처리 배지(점을 찍은 막대)에서 나타내었다. 데이타는 평균 ± S.D.를 나타내고, C-7 실험군은 대조군($p < 0.01$)에 비해 통계적으로는 매우 유효하지만 LA와 LA+C7 사이의 작은 차이도 없었다. 최종 pH 5.0 에서 30 mM 락테이트로 해마 절편을 항온 처리한 결과 티오바르비투르산 시험으로 측정된 바와 같이 지질 초산화가 크게 증가하였다. C7(50 μM)로 항온 처리한 절편에서는 지질 초산화의 증가가 완전히 없어졌다. 항온 처리 배지(점을 찍은 막대) 및 절편 균질액(선을 그은 막대) 둘 다에서 락테이트에 의해 말론디알데히드 농도가 증가하는 현상은 C7에 의해 차단되었다. C7이 존재하거나 부재하는 경우에 락테이트 없이 100 분간 항온 처리한 경우에는 검출 가능한 지질 초산 화의 증가를 유발하지 못하였다.

상기 데이타는 C7이 산과다증에 의해 유도된 지질 초산화를 방지함을 나타낸다. 산과다증은 과도한 산화성 손상을 유발하는 것으로 알려져 있다. 지질 초산화는 그러한 산화성 손상의 결과이고 여러가지 인체 병리학과 관계가 있는 것으로 밝혀졌다.

손상의 시험관 내 모델

해마 절편에서 무산소증 . 35℃에서 50 mM C7이 존재하거나 부재하는 2 개의 계면 챔버에 유지된 성숙한 스프래그-도우리 래트로부터 취한 해마 절편(400 μm)에 대해 전기 생리학적 실험을 수행하였다. 기록용 유리 마이크로 피펫을 CAI 층 래디에텀(radiatum)에 배치하여 0.033 Hz의 진동수에서 양극의 자극 전극에 의한 스캐퍼-교련 통로의 전기적 자극에 의해서 발생한 흥분성 시냅스후의 전위(EPSP)를 기록하였다. 무산소 에피소드 도중, 산소 공급을 100% N_2 가스로 대체하였다. 전기적 휴지후 N_2 를 90 초간 공급하고, 이어서 O_2 를 재주입하였다. EPSP의 회복(기울기 및 범위)은 절편의 최종 생존성이 측정되는 시간인 50 분 동안 기록하였고, 생존성은 절편이 3 mV EPSP를 발생시키는 능력으로 정의된다.

해마 절편에서 산과다증. 해마 절편을 35℃에서 교반하에 물 중탕에서 50 μM C7이 존재하거나 부재하는 예비 산소처리된 크렙스-링거 포스페이트 완충액에 수집하였다. 15 분간 예비 항온 처리한 후, 절편을 동일한 완충액 또는 30 mM 락테이트를 함유한 pH 5.0 (C7 존재 또는 부재) 완충액으로 옮겼다. 모든 군에서 절 편을 항온 처리한지 100 분 후에 수집하고 티오바르비투르산과 말론디알데히드 반응에서 나타낸 바와 같이 지질 초산화에 대하여 테스트하였다.

뉴런 손상의 생체내 모델

마우스의 MPTP . 성숙한 수컷 CFW 마우스(25~33 g)에 표준 염수에 용해시킨 MPTP를 2회 24시간 간격으로 주사하였다(40 mg/kg, 피하). 또한 동물군에 MPTP 처리의 개시 전 1일부터 시작해서 24시간 간격으로 C7을 3회 주사(33 mg/kg, 피하)하였다. 동물들은 최초의 MPTP 주입후 7 일에 희생되었으며, 뉴런 병리학은 도파민 수송체에 대한 리간드인 ^{3}H-마진돌의 10 mm 동결 뇌 영역 또는 선조체 균질액에 대한 결합에 의해 평가하였다.

마우스의 6-OHDA. 성숙한 수컷 CFW 마우스를 케타민과 럼펀으로 마취시키고, 입체 공간적 장치에 고정시켰다. 브롬화수산물 염 형태의 6-OHDA를 1% 아스코르베이트를 함유한 표준 염수에 용해시키고, 50 ug을 10 μl 해밀턴 주사기를이용하여 측심실에 투여하였다. C7(66 mg/kg, 복강내 투여)을 매일 4 일간 투여하였다. 동물들은 7 일후에 희생되었고, 뉴런 병리학은 선조체 균질액에서 ^{3}H-마진돌 결합을 측정함으로써 평가하였다.

결과

무산소증에 의해 유발된 손상으로부터 C7의 해마 절편 보호

해마 절편을 C7(50 μM)의 존재 또는 부재하에 무산소 조건으로 처리하였다. C7은 무산소증에 의해 유발된 CA1에서의 시냅스 반응 감소에 대한 보호 효과가 현 저하였다. EPSP 기울기(A) 및 범위(B)의 감소는 C7에 의해 방지되었다. 동일한 분석에서 정제된 소의 SOD는 보호 효과가 없었다.

제10도는 6-OHDA (50 μg)의 I.C.V. 주사 결과 주사 부위로부터 선조체 동측의 균질액에서 마진돌 결합이 60~70% 감소하고 대측성 선조체로부터 30% 감소함을 나타낸다(제10도). C7로 처리(4×66 mg/kg)한 결과 동측면에서의 현저한 감소와 대측면에서 완전한 보호가 나타났다.

MPTP 투여(2×40 mg/kg, 피하)결과 마진돌 결합이 75~80% 감소하였다. C7 처리(3×33 mg/kg, 복강내)는 담창구 및 미상핵(패널 A)에서 ^{3}H-마진돌 결합의 감소에 대한 현저한 보호 효과를 유발하였다. 현저한($p < 0.05$) C7만으로 처리하면 ^{3}H-마진돌 결합에 큰 영향을 미치지 않는다. 또한, C7만으로 처리한 결과 선조체 균질액(패널 B)에서 측정된 ^{3}H-마진돌 결합의 감소에 대한 현저한 보호 효과를 제공하였다.

발명의 효과

결론

상기 결과는 각종 모델의 뉴런 손상에서 합성 촉매 스캐빈저(SCS)인 C7의 보호 효과를 예시한다. C7은 지질 초산화 및 시냅스 생존성의 손실과 같은 뉴런 손상의 급성 초기 현상 및 독소를 주입한지 7 일후 뉴런 손실과 같은 뉴런 손상의 장기적 현상으로부터 뉴런을 보호할 수 있다.

뉴런 손상의 생체내 모델에서 C7의 말초 주입으로 얻어진 양성 효과의 견지 에서, 상기 착물이 생체내에서 안정하고 뉴런 막 뿐만 아니라 혈액 뇌 장벽을 교차한다고 결론지을 수 있다.

뉴런 손상의 각종 모델에서 C7의 양성 효과는 반응성 산소 화학종, 특히 초산화물 라디칼이 허혈 및 산소 과다증에 의해 유도된 병리학 및 흑질 선조체 도파민 작용성 뉴런의 MPTP 유도 손실과 6-OHDA 유도 손실에서 중요한 역할을 한다는 것을 나타낸다.

최종적으로, 산소 라디칼의 과다 생산과 관련된 광범위한 병리학적 상태의 견지에서, 상기 결과는 C7과 같은 살렌-전이금속 착물 항산화제가 광범위한 치료학적 용도를 갖는다는 사상을 뒷받침한다.

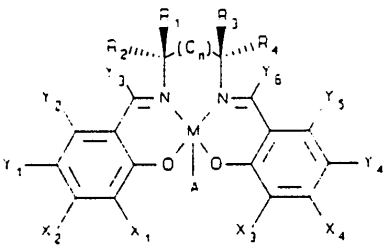
전술한 본 발명의 바람직한 구체예는 예시 및 설명의 목적으로 제시된 것이다. 이들은 본 발명을 제한하거나 본 발명 전부를 뜻하는 것이 아니며, 다수의 개조예와 변경예를 실시할 수 있다.

당업자에게는 자명한 상기 개조예와 변경예는 본 발명의 범위내에 속한다.

(57) 청구의 범위

청구항 1.

치료학적으로 유효한 용량의 약학적으로 허용되는 형태의 살렌(salen)-전이금속 착물 항산화제를 포함하며, 상기 살렌-전이금속 착물 항산화제가 하기 구조식으로 표시되는, 자유 라디칼 관련 질병을 예방 또는 치료하기 위한 의약 조성물 :



상기 식에서, M은 Mn, Co, Fe, V, Cr 및 Ni로 이루어진 군 중에서 선택되고;

A는 음이온이며;

n은 0, 1 또는 2이고;

X_1, X_2, X_3 및 X_4 는 각각 수소 원자, 실릴, 아릴, 아릴알킬, 1차 알킬, 2차 알킬, 3차 알킬, 알콕시, 아릴옥시, 아미노, 4차 아민, 헤테로 원자 및 수소 원자로 이루어진 군 중에서 선택되며;

Y_1, Y_2, Y_3, Y_4, Y_5 및 Y_6 는 각각 수소 원자, 할라이드, 알킬, 아릴, 아릴알킬, 실릴기, 아미노, 헤테로 원자를 가진 알킬 또는 아릴, 및 할라이드로 이루어진 군 중에서 선택되고;

R_1, R_2, R_3 및 R_4 는 각각 수소 원자, 아릴, 지방산 에스테르, 치환된 알콕시 아릴, 헤테로 원자 함유 방향족 기, 아릴알킬, 1차 알킬, 2차 알킬 및 3차 알킬로 이루어진 군 중에서 선택된다.

청구항 2.
제1항에 있어서,

상기 자유 라디칼 관련 질병이 허혈/재산화 에피소드 및 의인성 자유 라디칼 독성으로 이루어진 군 중에서 선택되는 의약 조성물.

청구항 3.
제1항에 있어서,

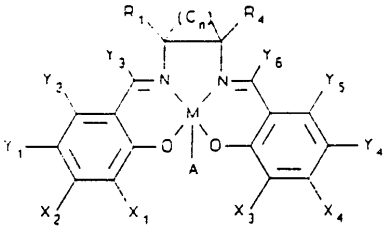
상기 살렌-전이금속 착물 항산화제가 화학식 4, 화학식 5, 화학식 6, 화학식 7, 화학식 8 및 화학식 9로 이루어진 군 중에서 선택되는 의약 조성물.

청구항 4.
제3항에 있어서,

상기 살렌-전이금속 착물 항산화제가 화합물(C1), (C4), (C6), (C7), (C9), (C15), (C17), (C20), (C22), (C23), (C25), (C27) 및 (C28)로 이루어진 군 중에서 선택되는 의약 조성물.

청구항 5.
제1항에 있어서,

상기 살렌-전이금속 착물 항산화제가 하기 구조식으로 표시되는 것인 의약 조성물:



상기 식에서, M은 Mn, Co, Fe, V, Cr 및 Ni로 이루어진 군 중에서 선택된 전이 금속 이온이고;

A는 음이온이며;

n은 4, 5 또는 6이고;

X_1, X_2, X_3 및 X_4 는 각각 아릴, 아릴알킬, 아릴옥시, 1차 알킬, 2차 알킬, 3차 알킬, 알콕시, 치환된 알콕시, 헤테로원자, 아미노, 4차 아민 및 수소 원자로 이루어진 군 중에서 선택되며;

Y_1, Y_2, Y_3, Y_4, Y_5 및 Y_6 는 아릴, 아릴알킬, 1차 알킬, 2차 알킬, 3차 알킬, 알콕시, 치환된 알콕시, 아릴옥시, 할라이드, 헤테로 원자, 아미노, 4차 아민 및 수소 원자로 이루어진 군 중에서 선택되고;

R_1 과 R_4 는 각각 수소 원자, 할라이드, 1차 알킬, 2차 알킬, 3차 알킬, 지방산 에스테르, 알콕시 또는 아릴로 이루어진 군 중에서 선택된다.

청구항 6.
제3항에 있어서,

상기 살렌-전이금속 착물 항산화제가 화합물 (C10), (C11), (C12), (C29) 및 (C30)으로 이루어진 군 중에서 선택되는 의약 조성물.

청구항 7.
제2항에 있어서,

상기 살렌-전이금속 착물 항산화제가 초산화물 디스뮤타제(SOD) 유사성 화합물(C7)인 의약 조성물.

청구항 8.
제7항에 있어서,

비경구 투여에 적합한 제형으로 되고, 화합물(C7) 약 10 mg 이상을 포함하는 의약 조성물.

청구항 9.
제1항에 기재된 살렌-전이금속 착물 항산화제 의약 조성물을 치료학적으로 유효한 용량으로 인간을 제외한 동물 환자에게 투여함으로써 자유 라디칼 관련 질병 상태를 예방, 억제 또는 치료하는 방법.

청구항 10.
제9항에 있어서,

상기 자유 라디칼 관련 질병이 허혈/재산화 에피소드 및 의인성 자유 라디칼 독성으로 이루어진 군 중에서 선택되는 방법.

청구항 11.
제9항에 있어서,

상기 살렌-전이금속 착물 항산화제 의약 조성물이 화학식 1, 화학식 3, 화학식 4, 화학식 5, 화학식 6, 화학식 7, 화학식 8 및 화학식 9로 이루어진 군 중에서 선택된 살렌-전이금속 착물 항산화제를 포함하는 것인 방법.

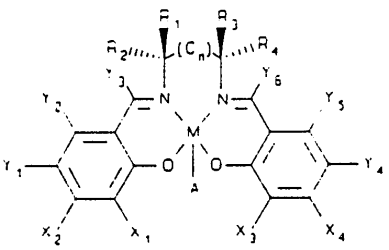
청구항 12.
제11항에 있어서,

상기 살렌-전이금속 착물 항산화제가 화합물(C1), (C4), (C6), (C7), (C9), (C10), (C11), (C12), (C15), (C17), (C20), (C22), (C23), (C25), (C27), (C28), (C29) 및 (C30)으로 이루어진 군 중에서 선택되는 것인 방법.

청구항 13.
제10항에 있어서,

상기 살렌-전이금속 착물이 화합물(C7)인 방법.

청구항 14.
예방학적으로 유효한 용량의 약학적으로 허용되는 형태로 된 1종 이상의 살렌-전이금속 착물 항산화제를 포함하며, 상기 살렌-전이금속 착물 항산화제가 하기 구조식으로 표시되는, 환자에 대한 자유 라디칼 관련 방사선 손상 및 화학적 손상을 예방하기 위한 조성물 :



상기 식에서, M은 Mn, Co, Fe, V, Cr 및 Ni로 이루어진 군 중에서 선택되고;

A는 음이온이며;

n은 0, 1 또는 2이고;

X_1, X_2, X_3 및 X_4는 각각 수소 원자, 실릴, 아릴, 아릴알킬, 1차 알킬, 2차 알킬, 3차 알킬, 알콕시, 아릴옥시, 아미노, 4차 아민, 헤테로 원자 및 수소 원자로 이루어진 군 중에서 선택되며;

Y_1, Y_2, Y_3, Y_4, Y_5 및 Y_6는 각각 수소 원자, 할라이드, 알킬, 아릴, 아릴알킬, 실릴기, 아미노, 헤테로 원자를 가진 알킬 또는 아릴, 및 할라이드로 이루어진 군 중에서 선택되고;

R_1, R_2, R_3 및 R_4는 각각 수소 원자, 아릴, 지방산 에스테르, 치환된 알콕시아릴, 헤테로 원자 함유 방향족 기, 아릴알킬, 1차 알킬, 2차 알킬 및 3차 알킬로 이루어진 군 중에서 선택된다.

청구항 15.
제14항에 있어서,

상기 살렌-전이금속 착물 항산화제가 SOD 유사성 화합물(C7)을 포함하는 조성물.

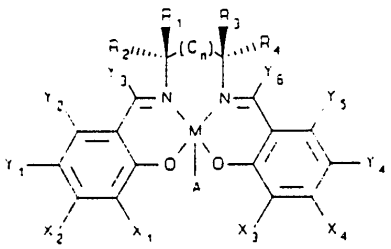
청구항 16.
제14항에 있어서,

상기 살렌-전이금속 착물 항산화제가 환자 피부에의 국소 도포용으로 제제화 되는 조성물.

청구항 17.
제16항에 있어서,

상기 살렌-전이금속 착물 항산화제가 태양광 보호용 크림, 태양광 보호용 로우션, 또는 화장품으로 제제화되는 조성물.

청구항 18.
예방학적으로 유효한 용량의 살렌-전이금속 착물 항산화제를 인간을 제외한 동물 환자에게 투여하는 것을 포함하는 방법으로서, 상기 살렌-전이금속 착물 항산화제가 하기 구조식으로 표시되며, 이온화 방사선으로의 치료 또는 자유 라디칼 발생 화학 치료제의 투여에 기인하는 인간을 제외한 동물 환자에 대한 심각한 정도의 자유 라디칼 손상을 예방하거나 경감시키는 방법 :



상기 식에서, M은 Mn, Co, Fe, V, Cr 및 Ni로 이루어진 군 중에서 선택되고;

A는 음이온이며;

n은 0, 1 또는 2이고;

X_1, X_2, X_3 및 X_4는 각각 수소 원자, 실릴, 아릴, 아릴알킬, 1차 알킬, 2차 알킬, 3차 알킬, 알콕시, 아릴옥시, 아미노, 4차 아민, 헤테로 원자 및 수소 원자 로 이루어진 군 중에서 선택되며;

Y_1, Y_2, Y_3, Y_4, Y_5 및 Y_6는 각각 수소 원자, 할라이드, 알킬, 아릴, 아릴알킬, 실릴기, 아미노, 헤테로 원자를 가진 알킬 또는 아릴, 및 할라이드로 이루어진 군 중에서 선택되고;

R_1, R_2, R_3 및 R_4는 각각 수소 원자, 아릴, 지방산 에스테르, 치환된 알콕시아릴, 헤테로 원자 함유 방향족 기, 아릴알킬, 1차 알킬, 2차 알킬 및 3차 알킬로 이루어진 군 중에서 선택된다.

청구항 19.
제18항에 있어서,

상기 살렌-전이금속 착물 항산화제가 SOD 유사성 화합물(C7)인 방법.

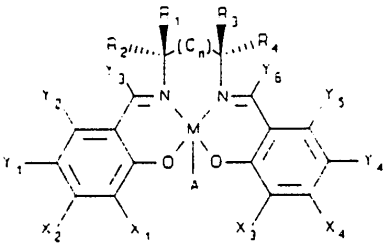
청구항 20.
제18항에 있어서,

상기 자유 라디칼 발생 화학 치료제가 항종양제 블레오마이신인 방법.

청구항 21.
제18항에 있어서,

이온화 방사선 또는 자유 라디칼 발생 화학 치료제를 투여하기에 앞서 살렌-전이금속 착물 항산화제를 상기 인간을 제외한 동물 환자에게 투여하는 방법.

청구항 22.
인체 또는 수의학 상의 환자에게 전달하기 위해 제제화된 살렌-전이금속 착 물을 포함하며, 상기 살렌-전이금속 착물이 하기 구조식으로 표시되는, 자유 라디칼 관련 질병을 예방, 억제 또는 치료하기 위한 조성물 :



상기 식에서, M은 Mn, Co, Fe, V, Cr 및 Ni로 이루어진 군 중에서 선택되고;

A는 음이온이며;

n은 0, 1 또는 2이고;

X_1, X_2, X_3 및 X_4 는 각각 수소 원자, 실릴, 아릴, 아릴알킬, 1차 알킬, 2차 알킬, 3차 알킬, 알콕시, 아릴옥시, 아미노, 4차 아민, 헤테로 원자 및 수소 원자로 이루어진 군 중에서 선택되며;

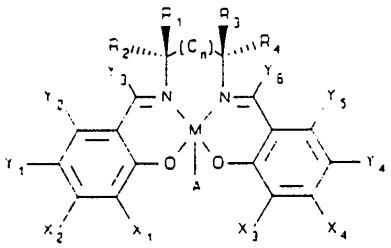
Y_1, Y_2, Y_3, Y_4, Y_5 및 Y_6 는 각각 수소 원자, 할라이드, 알킬, 아릴, 아릴알킬, 실릴기, 아미노, 헤테로 원자를 가진 알킬 또는 아릴, 및 할라이드로 이루어진 군 중에서 선택되고;

R_1, R_2, R_3 및 R_4 는 각각 수소 원자, 아릴, 지방산 에스테르, 치환된 알콕시아릴, 헤테로 원자 함유 방향족 기, 아릴알킬, 1차 알킬, 2차 알킬 및 3차 알킬로 이루어진 군 중에서 선택된다.

청구항 23.
제22 에 있어서,

상기 살렌-전이금속 착물이 면역 리포좀으로 제제화되는 조성물.

청구항 24.
살렌-전이금속 착물과 포유류의 혈액을 포함하며, 상기 살렌-전이금속 착물 이 하기 구조식으로 표시되는, 자유 라디칼 관련 질병을 예방, 억제 또는 치료하기 위한 조성물 :



상기 식에서, M은 Mn, Co, Fe, V, Cr 및 Ni로 이루어진 군 중에서 선택되고;

A는 음이온이며;

n은 0, 1 또는 2이고;

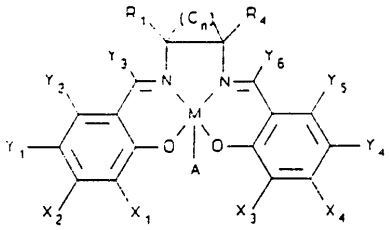
X_1, X_2, X_3 및 X_4 는 각각 수소 원자, 실릴, 아릴, 아릴알킬, 1차 알킬, 2차 알킬, 3차 알킬, 알콕시, 아릴옥시, 아미노, 4차 아민, 헤테로 원자 및 수소 원자로 이루어진 군 중에서 선택되며;

Y_1, Y_2, Y_3, Y_4, Y_5 및 Y_6 는 각각 수소 원자, 할라이드, 알킬, 아릴, 아릴알킬, 실릴기, 아미노, 헤테로 원자를 가진 알킬 또는 아릴, 및 할라이드로 이루어진 군 중에서 선택되고;

R_1, R_2, R_3 및 R_4 는 각각 수소 원자, 아릴, 지방산 에스테르, 치환된 알콕시아릴, 헤테로 원자 함유 방향족 기, 아릴알킬, 1차 알킬, 2차 알킬 및 3차 알킬로 이루어진 군 중에서 선택된다.

청구항 25.

치료학적으로 유효한 용량의 약학적으로 허용되는 형태의 살렌-전이금속 착물 항산화제를 포함하며, 상기 살렌-전이금속 착물 항산화제는 하기 구조식으로 표시되는, 자유 라디칼 관련 질병을 예방, 억제 또는 치료하기 위한 의약 조성물:



상기 식에서,

M은 망간이고;

A는 H 또는 할로겐이고;

n은 0,4,5 또는 6인데, n=0 인 경우 Cn은 존재하지 않고 n=4,5 또는 6 인 경우 Cn은 포화 탄화수소 쇄이며;

R_1 과 R_4 는 각각 H, 페닐, 저급 알콕시 및 저급 지방산 에스테르로 이루어진 군 중에서 선택되고;

X_1 과 X_3 는 각각 H, 저급 알킬, 아민, 저급 알킬아미노 및 할로겐으로 이루어 진 군 중에서 선택되며;

X_2 와 X_4 는 H이고;

Y_1 과 Y_4 는 각각 H, 저급 알킬, 할로겐 및 저급 알콕시로 이루어진 군 중에서 선택되며;

Y_2, Y_3, Y_5 및 Y_6 는 H이고;

남아 있는 모든 치환기 위치는 H이다.

청구항 26.

제25항에 있어서,

상기 살렌-전이금속 착물 항산화제가 화합물(C1), (C4), (C6), (C7) 및 (C9)로 이루어진 군 중에서 선택되는 의약 조성물.

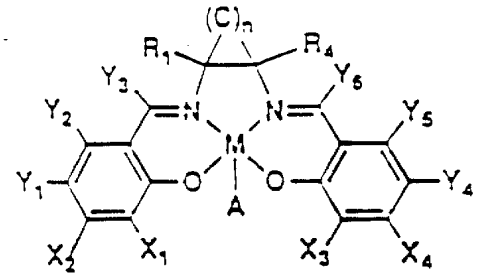
청구항 27.
제25항에 기재된 치료학적 유효량의 살렌-전이금속 착물 항산화제 의약 조성물을 인간을 제외한 동물 환자에게 투여하는 단계를 포함하여, MPTP 또는 무산소증 손상에 의해 유발된 신경학적 손상을 예방, 억제 또는 치료하는 방법.

청구항 28.
제27항에 있어서,

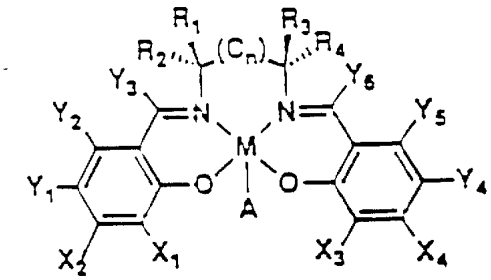
상기 살렌-전이금속 착물 항산화제 의약 조성물이 화합물(C7)을 포함하는 것인 방법.

도면

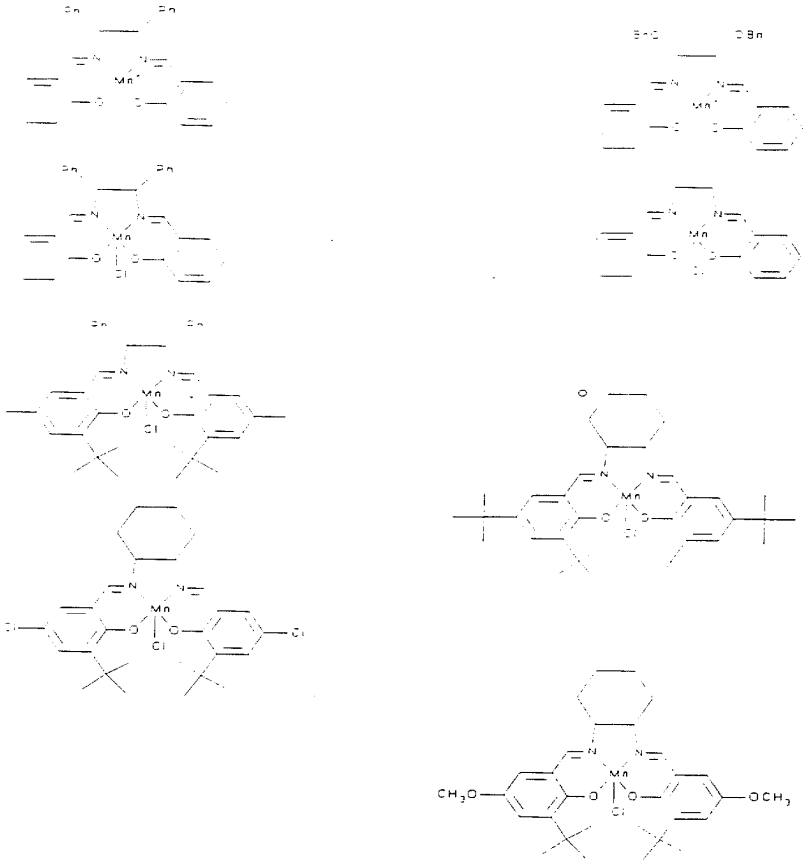
도면1



도면2



도면3



도면4

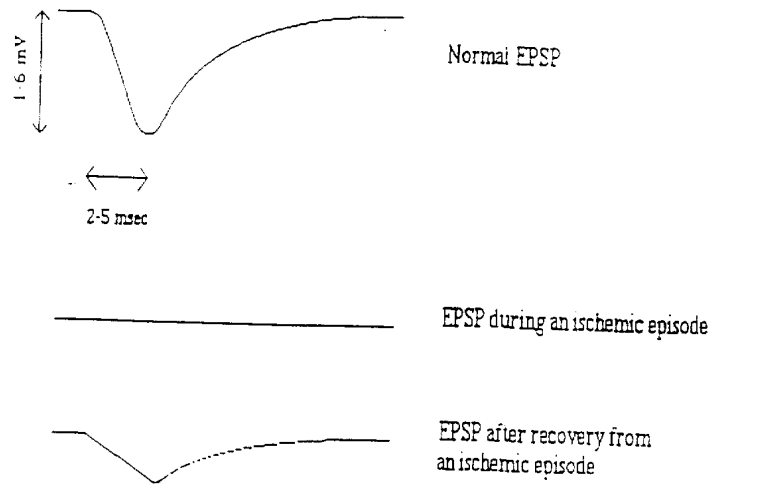
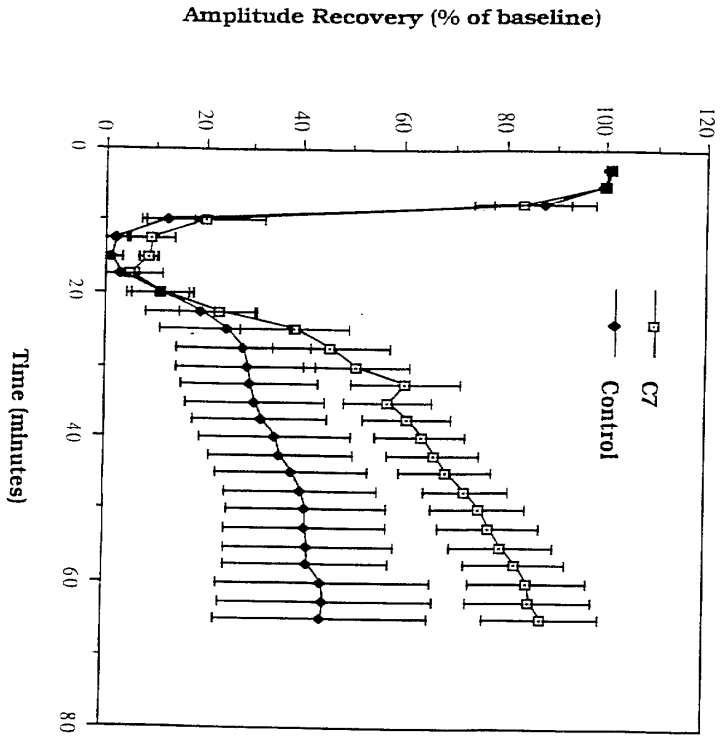
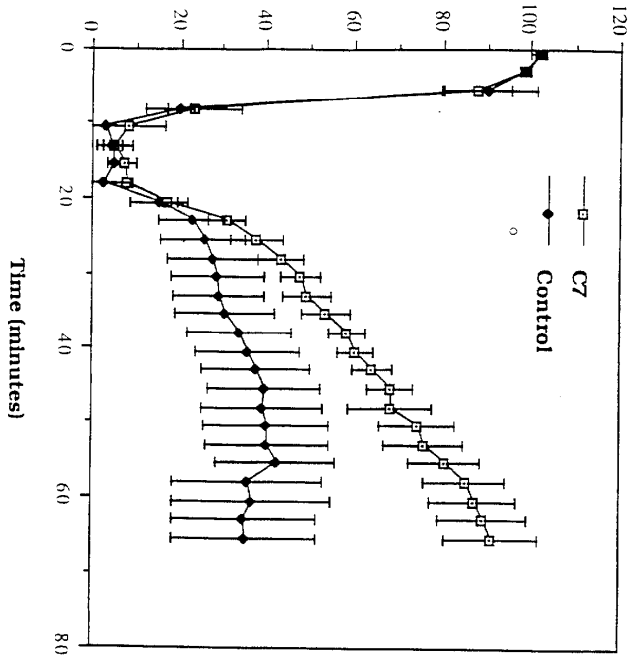


FIGURE 4

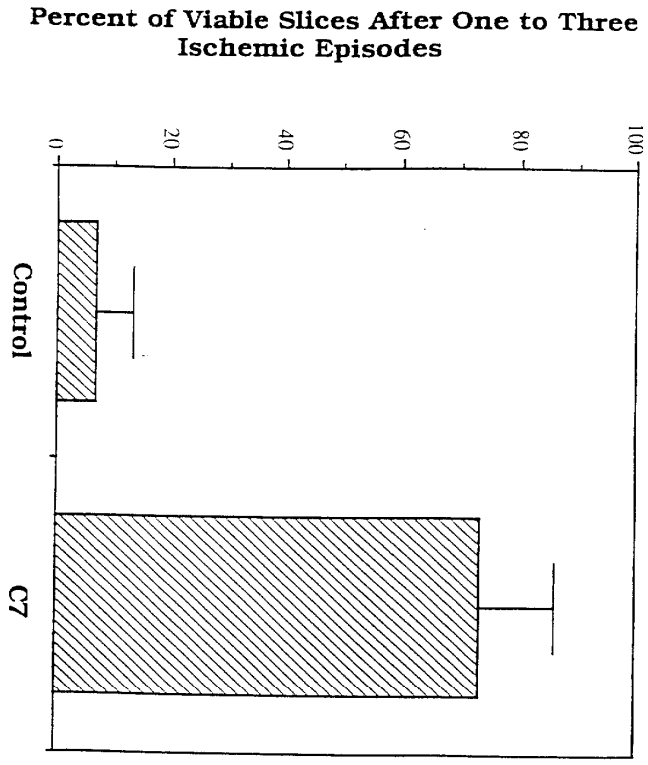
도면5


Amplitude Recovery (% of baseline)
Time (minutes)
0
20
40
60
80
100
120
Control
C7

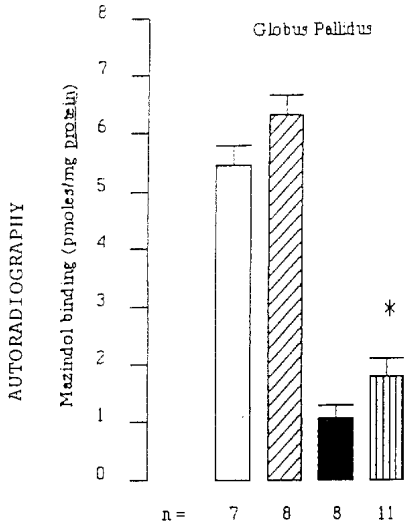
도면6


Slope Recovery (% baseline)
Time (minutes)
0
20
40
60
80
100
120
Control
C7

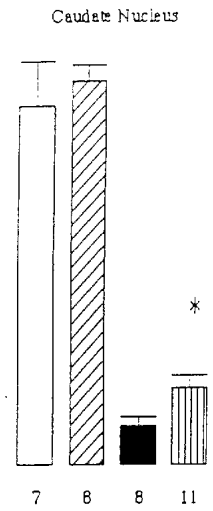
도면7


Percent of Viable Slices After One to Three Ischemic Episodes
0
20
40
60
80
100
Control
C7

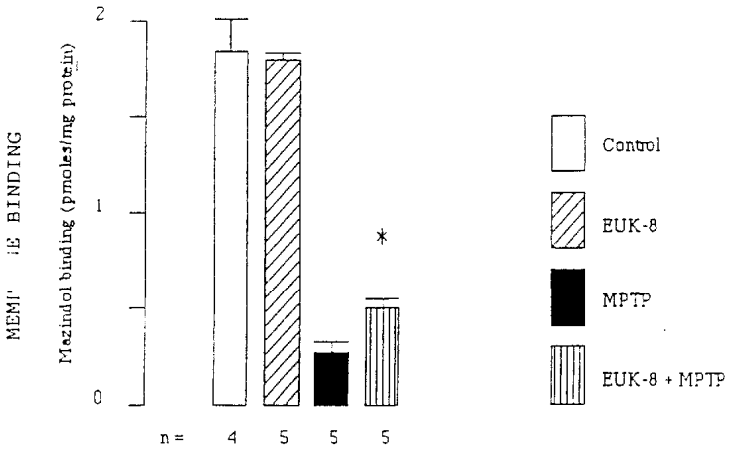
도면8a


Globus Pallidus
AUTORADIOGRAPHY
Mazindol binding (pmoles/mg protein)
0
1
2
3
4
5
6
7
8
*
n = 7 8 8 11

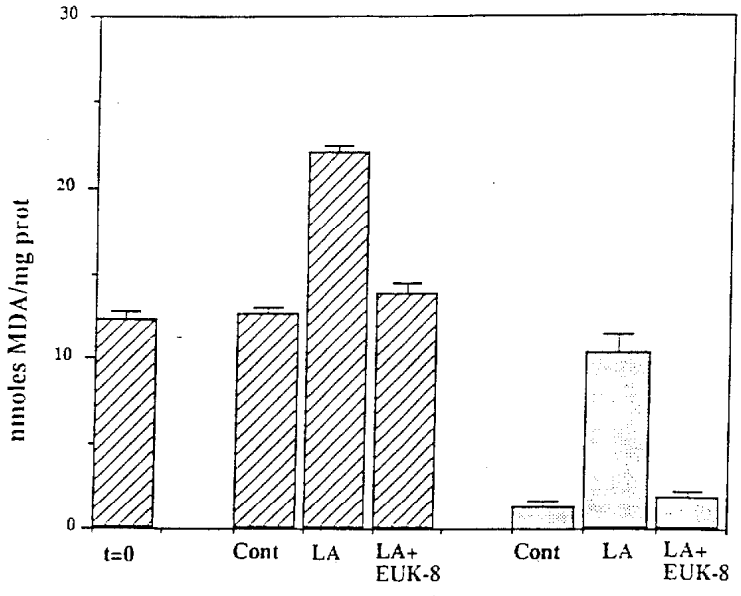
도면8b



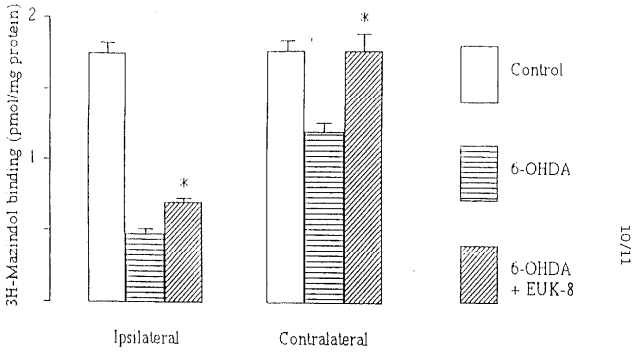
도면8c



도면9



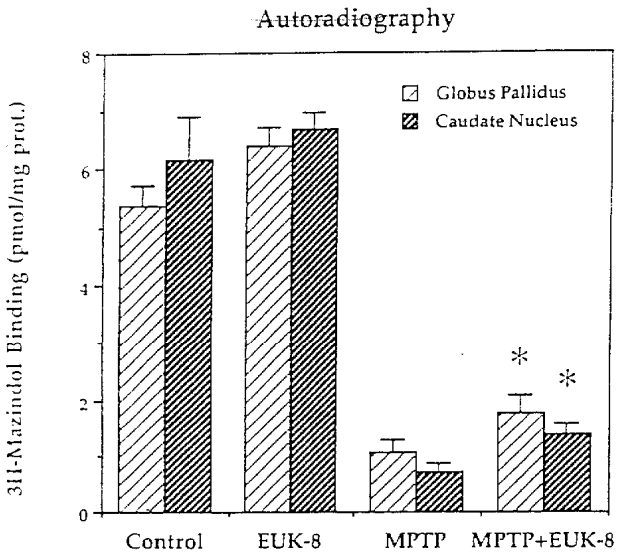
도면10



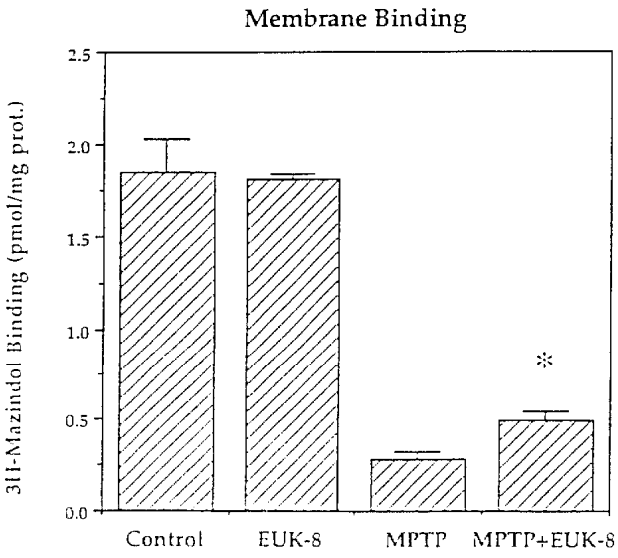
10/11

FIG. 10

도면11a



도면11b


Membrane Binding
3H-Mazindol Binding (pmol/mg prot.)
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
※
Control
EUK-8
MPTP
MPTP+EUK-8