



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년06월28일  
(11) 등록번호 10-2679975  
(24) 등록일자 2024년06월26일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
C07D 305/12 (2006.01) A61K 31/365 (2006.01)  
A61P 1/18 (2006.01) A61P 11/00 (2006.01)  
A61P 17/02 (2006.01) A61P 17/10 (2006.01)  
A61P 3/04 (2006.01) A61P 31/04 (2006.01)
- (52) CPC특허분류  
C07D 305/12 (2013.01)  
A61K 31/365 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2020-7003413
- (22) 출원일자(국제) 2018년07월12일  
심사청구일자 2021년07월05일
- (85) 번역문제출일자 2020년02월05일
- (65) 공개번호 10-2020-0027975
- (43) 공개일자 2020년03월13일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2018/041796
- (87) 국제공개번호 WO 2019/014434  
국제공개일자 2019년01월17일
- (30) 우선권주장  
62/531,454 2017년07월12일 미국(US)
- (56) 선행기술조사문헌  
JP61152663 A  
US20120289588 A1  
US20150099800 A1  
WO2016102541 A1

- (73) 특허권자  
메이오 파운데이션 포 메디칼 에듀케이션 앤드 리써치  
미국 55905 미네소타주 록체스터 퍼스트 스트리트  
에스.더블유. 200
- (72) 발명자  
성 비제이 피  
미국 85259 애리조나주 스코츠데일 이스트 포인세  
타아 드라이브 11161  
아난단 샘파스 쿠마르  
미국 95051 캘리포니아주 산타 클라라 센트럴 익  
스프레스웨이 3100  
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인  
김진희, 김태홍

전체 청구항 수 : 총 19 항

심사관 : 홍미라

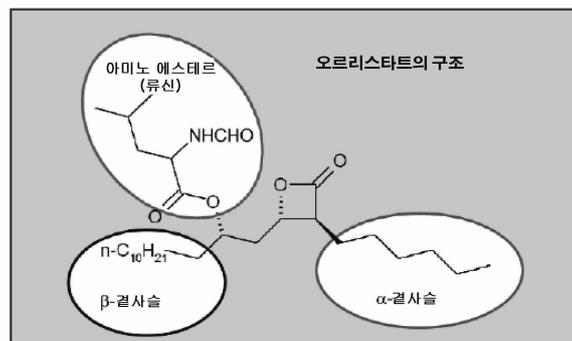
(54) 발명의 명칭 지방독성 손상을 저감하기 위한 화합물

(57) 요약

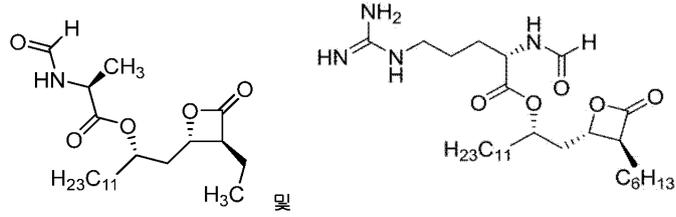
신규한 리파제 억제제 및 이를 사용하여 염증, 다발성 장기 부전, 괴사성 췌장 세엽 세포 사멸, 급성 췌장염, 패혈증(예를 들어, 배양 음성 패혈증), 화상, 및 여드름을 치료하는 방법이 본원에 제공된다. 예를 들어, 본원에 기술된 방법에서 유용한 하기 화학식의 두 신규한 리파제 억제제, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염이 본원에

(뒷면에 계속)

대표도 - 도1



제공된다.



(52) CPC특허분류

- A61P 1/18* (2018.01)
- A61P 11/00* (2018.01)
- A61P 17/02* (2018.01)
- A61P 17/10* (2018.01)
- A61P 3/04* (2018.01)
- A61P 31/04* (2018.01)

(72) 발명자

**그린맨 케빈**

미국 94086 캘리포니아주 서니베일 브라이언 애비뉴 463

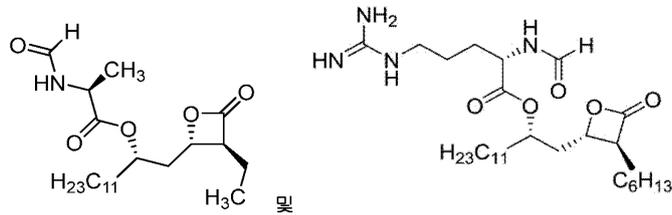
**카탈 지산**

미국 95035 캘리포니아주 밀피타스 라 팔마 플레이스 984

명세서

청구범위

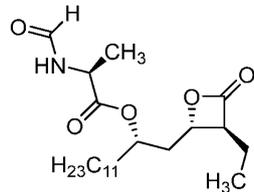
청구항 1



로 이루어진 군으로부터 선택되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

청구항 2

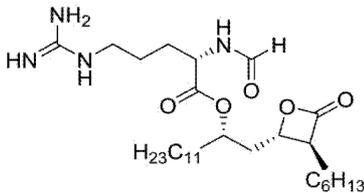
제1항에 있어서,



또는 이의 약학적으로 허용가능한 염인 화합물.

청구항 3

제1항에 있어서,

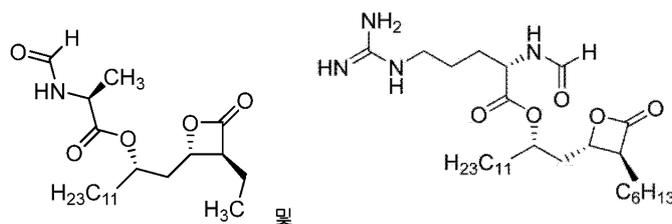


또는 이의 약학적으로 허용가능한 염인 화합물.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항의 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 및 약학적으로 허용가능한 부형제를 포함하는 장기 부전, 급성 췌장염, 여드름, 폐혈증, 화상 또는 감염을 치료하기 위한 약학적 조성물.

청구항 5



로 이루어진 군으로부터 선택된 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 치료적 유효량을 포함하는, 급성

퀘장염의 치료가 필요한 대상에서 급성 퀘장염을 치료하기 위한 약학적 조성물.

**청구항 6**

제5항에 있어서, 급성 퀘장염이 중증인 것인 약학적 조성물.

**청구항 7**

제5항에 있어서, 투여 후 급성 퀘장염이 중증에서 경증으로 격하되는 것인 약학적 조성물.

**청구항 8**

제5항에 있어서, 대상이 비만인 약학적 조성물.

**청구항 9**

제5항에 있어서, 쇼크 발생 위험을 저감하는 약학적 조성물.

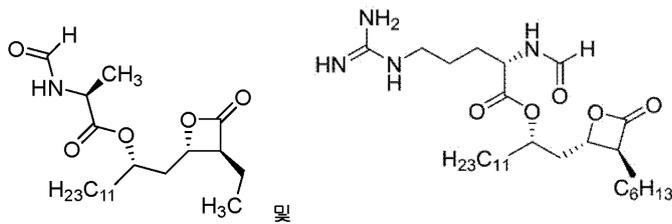
**청구항 10**

제5항에 있어서, 신부전 발생 위험을 저감하는 약학적 조성물.

**청구항 11**

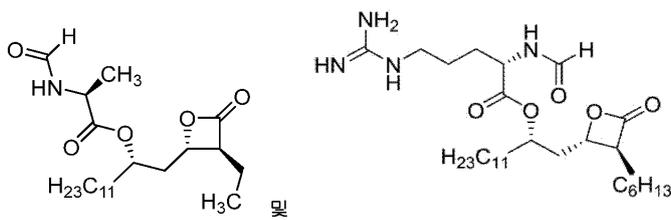
제5항에 있어서, 폐부전 발생 위험을 저감하는 약학적 조성물.

**청구항 12**



로 이루어진 군으로부터 선택된 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 치료적 유효량을 포함하는, 여드름을 치료하기 위한 약학적 조성물.

**청구항 13**

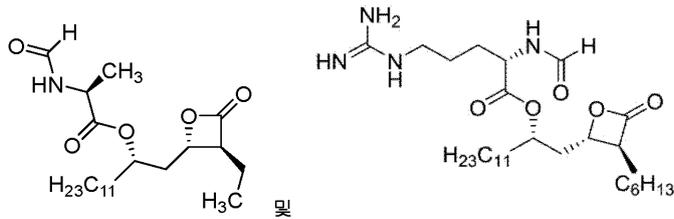


로 이루어진 군으로부터 선택된 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 치료적 유효량을 포함하는, 패혈증을 치료하기 위한 약학적 조성물.

**청구항 14**

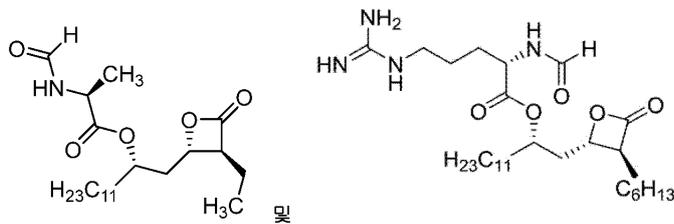
제13항에 있어서, 패혈증이 배양 음성 패혈증인 것인 약학적 조성물.

청구항 15



로 이루어진 군으로부터 선택된 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 치료적 유효량을 포함하는, 화상을 치료하기 위한 약학적 조성물.

청구항 16



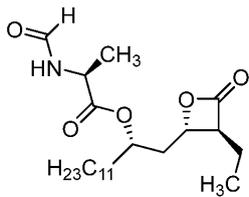
로 이루어진 군으로부터 선택된 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 치료적 유효량을 포함하는, 감염을 치료하기 위한 약학적 조성물.

청구항 17

제16항에 있어서, 감염이 *P. 아우레게노사(P. auregenosa)*, *S. 아우레우스(S. aureus)*, *B. 서브틸리스(B. subtilis)*, 및 *B. 세페시아(B. cepecia)*로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 유기체에 의해 유발되는 것인 약학적 조성물.

청구항 18

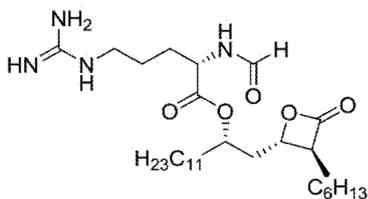
제5항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 화합물이



또는 이의 약학적으로 허용가능한 염인 약학적 조성물.

청구항 19

제5항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 화합물이



또는 이의 약학적으로 허용가능한 염인 약학적 조성물.

**발명의 설명**

**기술 분야**

- [0001] 관련 출원에 대한 상호 참조
- [0002] 본 출원은 2017년 7월 12일에 출원된 미국 가출원 제62/531,454호에 대한 우선권을 주장하며, 상기 가출원의 내용은 그 전체가 참조로 포함되어 있다.
- [0003] 기술 분야
- [0004] 본 개시는 중증 췌장염 및/또는 여드름의 치료를 위한 리파제 억제제의 용도에 관한 것이다.

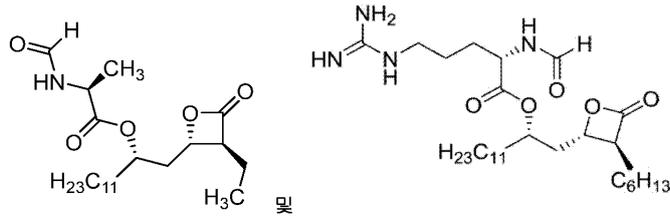
**배경 기술**

- [0005] 췌장은 음식의 소화와 흡수를 돕는 효소를 생산한다. 이러한 효소 중 하나는 지방을 소화하는 리파제이다. 특정 개인(예를 들어, 비만인 사람)은 심한 화상, 심한 외상, 치명적인 질병, 및 급성 췌장염(AP)과 같은 급성 염증 상태에서 다발성 장기 부전이 발생할 위험이 높다. 췌장염은 췌장 세엽 세포(acinar cell)에서 췌장으로 해로운 소화 효소를 방출하는 것과 관련있다. AP가 시작되면, 빠르게 중증 AP(SAP)가 될 수 있다. 이는 우려되는데, 왜냐하면 SAP는 급성 신부전, 호흡 부전, 저칼슘혈증, 및 다발성 장기 부전의 다른 징후에 의해, 또는 넓은 영역의 췌장 괴사로 인해 악화되는 경우 40 내지 50%의 사망률을 초래하기 때문이다. 효과적인 치료법이 없는 현재, 관리 표준은 지원 치료 및 합병증이 발생할 경우 이를 관리하는 것이다.

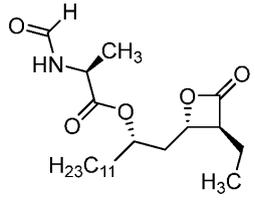
**발명의 내용**

- [0006] 신규한 리파제 억제제, 및 이를 사용하여 췌장염 및/또는 장기 부전 및/또는 여드름을 치료하는 방법으로서, 이러한 치료를 필요로 하는 대상에게 본원에 제공된 바와 같은 리파제 억제제의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에 제공된다. 본원에 제공된 방법은, 지방독성이 염증, 다발성 장기 부전, 괴사성 췌장 세엽 세포 사멸, 급성 췌장염, 패혈증(예를 들어, 배양 음성 패혈증), 화상, 여드름, 및 감염에 기여하고, 리파제 활성의 억제제가 이들 병태와 관련된 지수를 저감할 수 있다는 발견에 적어도 부분적으로 기초한다. 이에 따라, 일부 실시양태에서, 지방독성을 제한하여 급성 췌장염 및 다른 중증 전신 병태와 관련된 좋지 못한 결과의 가능성을 저감하기 위한 방법 및 조성물이 본원에 제공된다.

- [0007] 하기 화학식:

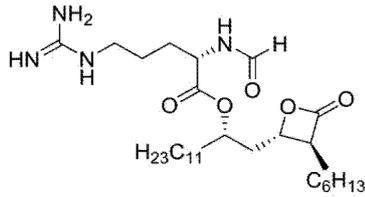


- [0008]
- [0009] 으로 이루어진 군으로부터 선택되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염이 본원에 제공된다. 일부 실시양태에서, 화합물은 하기 화학식:



- [0010]

[0011] 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염이다. 일부 실시양태에서, 화합물은 하기 화학식:



[0012]

[0013] 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염이다.

[0014] 1종 이상의 본원에 제공된 화합물 및 약학적으로 허용가능한 부형제를 포함하는 약학적 조성물이 본원에 추가로 제공된다.

[0015] 본 개시는 또한 급성 췌장염의 치료를 필요로 하는 대상에서 급성 췌장염을 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 대상에게 본원에 제공된 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 치료적 유효량을 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, 급성 췌장염은 중증이다. 일부 실시양태에서, 투여 후 급성 췌장염은 중증에서 경증으로 격하된다. 일부 실시양태에서, 대상은 비만이다. 일부 실시양태에서, 쇼크, 신부전, 및/또는 폐부전 발생의 위험을 저감한다.

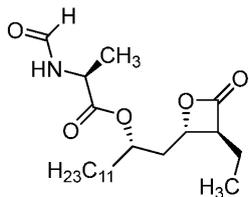
[0016] 또한 여드름의 치료를 필요로 하는 대상에서 여드름을 치료하는 방법이 본원에 제공되며, 상기 방법은 대상에게 본원에 제공된 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 치료적 유효량을 투여하는 단계를 포함한다.

[0017] 패혈증의 치료를 필요로 하는 대상에서 패혈증을 치료하는 방법이 본원에 추가로 제공되며, 상기 방법은 대상에게 본원에 제공된 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 치료적 유효량을 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, 패혈증은 배양 음성 패혈증이다.

[0018] 본 개시는 또한 화상의 치료를 필요로 하는 대상에서 화상을 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 대상에게 본원에 제공된 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 치료적 유효량을 투여하는 단계를 포함한다.

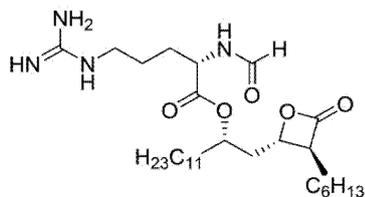
[0019] 또한 감염의 치료를 필요로 하는 대상에서 감염을 치료하는 방법이 본원에 제공되며, 상기 방법은 대상에게 본원에 제공된 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 치료적 유효량을 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, 감염은 *P. 아우레게노사*(*P. auregenosa*), *S. 아우레우스*(*S. aureus*), *B. 서브틸리스*(*B. subtilis*), 및 *B. 세페시아*(*B. cepecia*)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 유기체에 의해 유발된다.

[0020] 상기 실시양태 중 일부에서, 화합물은 하기 화학식:



[0021]

[0022] 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염이다. 상기 실시양태 중 일부에서, 화합물은 하기 화학식:



[0023]

[0024] 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염이다.

[0025] 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술적, 과학적 용어는 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 기술자에 의해 일반적으로 이해되는 바와 같은 동일한 의미를 갖는다. 본 발명에서 사용하기 위해 방법 및 물질이 본원에 기술되지만, 당업계에 공지된 다른, 적합한 방법 및 물질 또한 사용될 수 있다. 물질, 방법, 및 실시예는 단지 예시적인 것이며 제한하려는 것이 아니다. 본원에 언급된 모든 간행물, 특허 출원, 특허, 서열, 데이터

베이스 항목, 및 다른 참고문헌들은 그 전체가 참조로 포함된다. 대립이 있는 경우, 정의를 포함한 본 명세서가 우선할 것이다.

[0026] 본 발명의 다른 특징 및 이점은 다음의 상세한 설명 및 도면으로부터, 및 청구범위로부터 명백해질 것이다.

**도면의 간단한 설명**

- [0027] 도 1은 화합물을 3개의 주요 영역으로 분할하는 오르리스타트(orlistat)의 구조의 개략도이다.
- 도 2는 오르리스타트 코어에 대한 아미노-에스테르 변형을 제조하기 위한 합성 경로를 상세히 나타낸 반응식이다.
- 도 3은 제조된 다양한 비포르밀화 아미노 에스테르 변성 유사체 화합물의 구조를 도시한다.
- 도 4는 비포르밀화 아미노 에스테르 변성 유사체 화합물을 시험하는 리파제 억제 어세이의 결과를 보여주는 선 그래프이다. 도 4a는 화합물의 새로 제조된 용액의 결과를 제공하며, 도 4b는 밤새 보관된 용액의 결과를 제공한다.
- 도 5는 제제화된 아미노 에스테르 변성 유사체를 제조하기 위한 합성 경로를 상세히 나타낸 반응식이다.
- 도 6은 제조된 다양한 포르밀 아미노 에스테르 변성 유사체 화합물의 구조를 도시한다.
- 도 7은 포르밀 아미노 에스테르 변성 유사체 화합물을 시험하는 리파제 억제 어세이의 결과를 보여주는 선 그래프이다. 도 7a는 화합물의 새로 제조된 용액의 결과를 제공하며, 도 7b는 밤새 보관된 용액의 결과를 제공한다.
- 도 8은 세엽-지방세포 공동배양에서 세엽 세포에 대한 지방독성 손상을 저감하는 데 있어서 선택된 유사체 화합물의 효능을 상세히 나타내는 막대 그래프를 제공하며(도 8a), 또한 세엽 세포에 대한 화합물의 독성을 평가한다(도 8b).
- 도 9는 β-사슬 유사체를 제조하는 데 사용된 전이(metastasis) 반응을 상세히 나타내는 반응식이다.
- 도 10은 β-사슬 유사체에 대한 합성 경로를 상세히 나타내는 반응식이다.
- 도 11은 β-사슬 유사체에 대한 합성 경로를 상세히 나타내는 반응식이다.
- 도 12는 β-사슬 유사체에 대한 합성 경로를 상세히 나타내는 반응식이다.
- 도 13은 β-사슬 유사체에 대한 합성 경로를 상세히 나타내는 반응식이다.
- 도 14는 제조된 다양한 β-사슬 유사체의 구조를 도시한다.
- 도 15는 새로 제조된 용액 중 β-사슬 유사체를 시험하는 리파제 억제 어세이의 결과를 보여주는 선 그래프를 제공한다.
- 도 16은 α-사슬 유사체에 대한 합성 경로를 상세히 나타내는 반응식이다.
- 도 17은 α-사슬 유사체를 시험하는 리파제 억제 어세이의 결과를 보여주는 선 그래프이다. 도 17a는 화합물의 새로 제조된 용액의 결과를 제공하며, 도 17b는 밤새 보관된 용액의 결과를 제공한다.
- 도 18은 유리 지방산(FFA) 생성 %를 조사하는 어세이의 결과를 보여주는 선 그래프를 제공한다. 도 18a는 화합물의 새로 제조된 용액의 결과를 제공하며, 도 18b는 밤새 보관된 용액의 결과를 제공한다.
- 도 19는 마우스 췌장 세포에서의 독성 연구로부터 얻어진 값의 표를 도시한다.
- 도 20은 FFA 생성 %를 조사하는 어세이의 결과를 보여주는 선 그래프를 제공한다. 도 20a는 hPLRP2 리파제의 결과를 제공하며, 도 20b는 hCEL 리파제의 결과를 제공한다.
- 도 21은 본원에 기술된 시험관내 연구의 표 요약을 제공한다.
- 도 22는 중증 췌장염의 저감에 있어서 오르리스타트의 용도에 대한 요약을 제공한다.
- 도 23은 화합물 767의 시험관내 시험의 결과를 제공한다. 도 23a는 연구 스케줄을 제공한다. 도 23b는 혈청 리파제 농도의 막대 그래프를 제공한다. 도 23c는 다양한 시점에서의 혈청 혈액 요소 질소 수준을 보여주는 그래프를 제공한다. 도 23d는 다양한 시점에서의 혈청 칼슘 수준을 보여주는 그래프를 제공한다. 도 23e는 전신 염증 반응 증후군(SIRS)에 대한 보호를 보여주는 그래프를 제공한다. 도 23f는 쇼크에 대한 보호를 보여주는 그래프를 제공한다.

프를 제공한다. 도 23g는 개선된 생존을 보여주는 그래프를 제공한다.

도 24는 처리된 마우스의 사진을 제공한다.

도 25는 화합물 767 및 오르리스타트에 대한 생체내 연구의 표 요약을 제공한다.

도 26은 P. 아크네스(*P. acnes*)의 배지에서의 FFA 생성 %를 보여주는 선 그래프를 제공한다.

도 27은 P. 아크네스로 접종되고 오르리스타트 및 화합물 767 둘 다에 노출된 스피릿 블루(spirit blue) 한천의 사진을 제공한다.

도 28은 600 mM GTL과 함께 배양된 세엽 세포로부터의 LDH 누출을 저감하는 데 있어서의 10 mM 작용제의 효능을 도시한다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0028] 현재, 중증 철회염은 보통 FDA 승인된 리파제 억제제인 오르리스타트의 투여를 통해 치료된다. 리파제 억제제 철회염의 중증도를 저감하지만, 철회염을 앓는 동안 반복 투여(예를 들어, 2일 동안 50 mg/kg BID)가 필요하고, 이 화합물의 사용과 관련된 고중성지방혈증 때문에 오르리스타트의 사용은 복잡하다. 반복 투여가 필요하지 않거나 오르리스타트와 관련된 합병증이 없이, 철회염 치료 효과를 제공하는 화합물이 본원에 제공된다.

[0029] 본원에 제공되는 화합물은 표 1에 기술되는 것 또는 이들의 약학적으로 허용가능한 염을 포함한다.

표 1

화합물 번호	구조
728	
731	
729	
727	
725	

[0030]

<p>716</p>	
<p>718</p>	
<p>717</p>	
<p>726</p>	

[0031]

<p>724</p>	
<p>732</p>	
<p>733</p>	
<p>734</p>	
<p>738</p>	

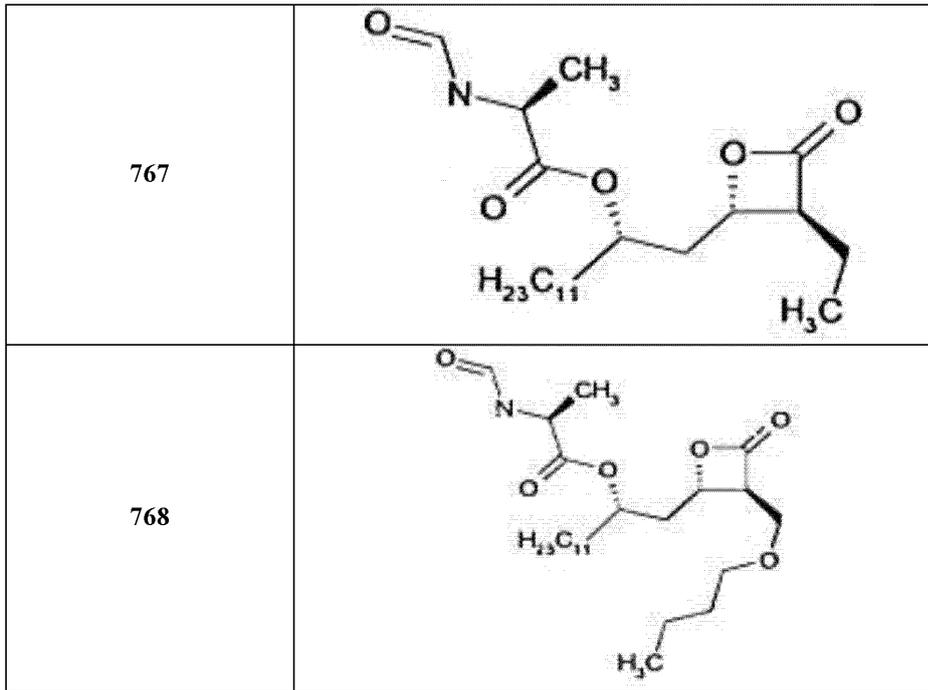
[0032]

<p>736</p>	
<p>737</p>	
<p>741</p>	
<p>739</p>	
<p>740</p>	

[0033]

<p>743</p>	
<p>742</p>	
<p>762</p>	
<p>763</p>	
<p>760</p>	

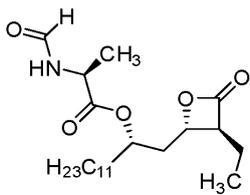
[0034]



[0035]

[0036]

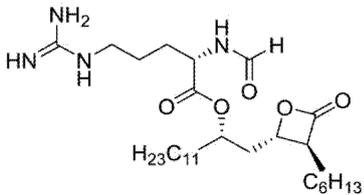
일부 실시양태에서, 화합물은 하기 화학식:



[0037]

[0038]

또는 이의 약학적으로 허용가능한 염이다. 일부 실시양태에서, 화합물은 하기 화학식:



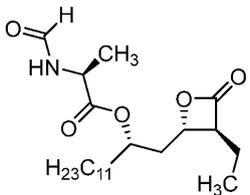
[0039]

[0040]

또는 이의 약학적으로 허용가능한 염이다.

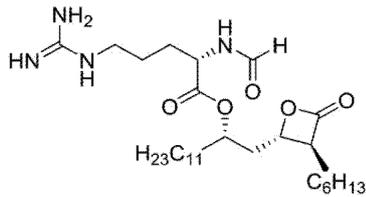
[0041]

일부 실시양태에서, 본원에 제공되는 화합물은 수용액 중에서 안정하다. 예를 들어, 본원에 제공되는 화합물은 수용액 중에서 오르리스타트보다 더 안정할 수 있다. 일부 실시양태에서, 화합물은 하기 화학식:



[0042]

[0043] 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염이다. 일부 실시양태에서, 화합물은 하기 화학식:



[0044]

[0045] 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염이다.

[0046] 합성

[0047] 예를 들어, 실시예 및 관련 도면에 기술된 절차에 따라, 본원에 기술된 화합물이 제조될 수 있다.

[0048] 기술된 방법이 본원에 제공된 화합물을 합성할 수 있는 독점적 수단이 아니고, 합성 유기 반응의 광범위한 레퍼토리가 이용가능하여 본원에 제공된 화합물을 합성하는 데 잠재적으로 이용된다는 것이 당업계의 숙련가에 의해 인식될 것이다. 당업계의 숙련가는 적절한 합성 경로를 선택하고 구현하는 방법을 알고 있다. 출발 물질, 중간체 및 생성물의 적합한 합성 방법은 문헌을 참조하여 확인할 수 있으며, 상기 문헌은 [*Advances in Heterocyclic Chemistry*, Vols. 1-107 (Elsevier, 1963-2012)], [*Journal of Heterocyclic Chemistry* Vols. 1-49 (Journal of Heterocyclic Chemistry, 1964-2012)], [Carreira, et al. (Ed.) *Science of Synthesis*, Vols. 1-48 (2001-2010) and Knowledge Updates KU2010/1-4; 2011/1-4; 2012/1-2 (Thieme, 2001-2012)], [Katritzky, et al. (Ed.) *Comprehensive Organic Functional Group Transformations*, (Pergamon Press, 1996)], [Katritzky et al. (Ed.); *Comprehensive Organic Functional Group Transformations II* (Elsevier, 2<sup>nd</sup> Edition, 2004)], [Katritzky et al. (Ed.), *Comprehensive Heterocyclic Chemistry* (Pergamon Press, 1984)], [Katritzky et al., *Comprehensive Heterocyclic Chemistry II*, (Pergamon Press, 1996)], [Smith et al., *March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure*, 6<sup>th</sup> Ed. (Wiley, 2007)], [Troost et al. (Ed.), *Comprehensive Organic Synthesis* (Pergamon Press, 1991)]와 같은 참조 자료를 포함한다.

[0049] 본원에 기술된 화합물의 제조 반응은 유기 합성 분야의 숙련가에 의해 쉽게 선택될 수 있는 적합한 용매 중에서 수행될 수 있다. 적합한 용매는 반응이 수행되는 온도(예를 들어, 용매의 어는점 내지 용매의 융점 범위일 수 있는 온도)에서 출발 물질(반응물), 중간체, 또는 생성물과 실질적으로 비반응성일 수 있다. 주어진 반응은 하나의 용매 또는 하나보다 많은 용매의 혼합물 중에서 수행될 수 있다. 특정 반응 단계에 따라, 특정 반응 단계에 적합한 용매는 숙련가에 의해 선택될 수 있다.

[0050] 본원에 기술된 화합물의 제조는 다양한 화학 기의 보호 및 탈보호를 포함할 수 있다. 보호 및 탈보호의 필요성, 및 적절한 보호기의 선택은 당업계의 숙련가에 의해 쉽게 결정될 수 있다. 보호기의 화학적 성질은 예를 들어 문헌 [T. W. Greene and P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3<sup>rd</sup> Ed., Wiley & Sons, Inc., New York (1999)]에서 찾을 수 있다.

[0051] 당업계에 공지된 임의의 적합한 방법에 따라 반응을 모니터링할 수 있다. 예를 들어, 생성물 형성은 핵 자기 공명 분광법(예를 들어, <sup>1</sup>H 또는 <sup>13</sup>C), 적외선 분광법, 분광광도법(예를 들어, UV-가시적), 질량 분석법과 같은 분광 수단으로, 또는 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC), 액체 크로마토그래피 - 질량 분석법(LCMS), 또는 박층 크로마토그래피(TLC)와 같은 크로마토그래피 방법으로 모니터링할 수 있다. 화합물은 당업계의 숙련가에 의해, 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC) 및 순상 실리카 크로마토그래피를 포함하는 다양한 방법으로 정제될 수 있다.

[0052] 본원에 사용된 바와 같이 "화합물"이라는 용어는 묘사된 구조의 모든 입체이성질체, 기하이성질체, 호변이성질체, 및 동위체를 포함하는 것을 의미한다. 하나의 특정 호변이성질체 형태로서 명칭 또는 구조에 의해 식별된 본원의 화합물은 달리 명시되지 않는 한 다른 호변이성질체 형태를 포함하도록 의도된다.

[0053] 본원에 제공되는 화합물은 또한 호변이성질체 형태를 포함한다. 호변이성질체 형태는 단일 결합과 인접한 이중 결합이 함께 교환되고 이에 수반되는 양성자의 이동으로 인해 발생한다. 호변이성질체 형태는 동일한 실험식 및 총 전하를 갖는 이성질체 양성자화 상태인 양성자성 호변이성질체를 포함한다. 예시적 양성자성 호변이성질체는

케톤-에놀 쌍, 아마이드-이미드산 쌍, 락탐-락탐 쌍, 엔아민-이민 쌍, 및 양성자가 헤테로시클릭 시스템의 둘 이상의 위치를 차지할 수 있는 환상 형태, 예를 들어, 1H- 및 3H-이미다졸, 1H-, 2H- 및 4H-1,2,4-트리아졸, 1H- 및 2H-이소인돌, 및 1H- 및 2H-피라졸을 포함한다. 호변이성질체 형태는 평형 상태이거나, 적절한 치환에 의해 하나의 형태로 입체적으로 고정될 수 있다.

[0054] 일부 실시양태에서, 본원에 기술된 화합물은 하나 이상의 비대칭 중심을 포함할 수 있으며, 따라서 라세미체 및 라세미 혼합물, 거울상이성질체가 풍부한 혼합물, 단일 거울상이성질체, 개별 부분입체이성질체 및 부분입체이성질체 혼합물(예를 들어, (R)- 및 (S)- 거울상이성질체, 부분입체이성질체, (D)-이성질체, (L)-이성질체, (+) (우선성) 형태, (-) (좌선성) 형태, 이들의 라세미 혼합물, 및 이들의 다른 혼합물을 포함함)로서 존재한다. 추가 비대칭 탄소 원자가 알킬기와 같은 치환기에 존재할 수 있다. 이들 화합물의 모든 이러한 이성질체 형태 뿐만 아니라 이들의 혼합물은 본 명세서에 명확히 포함된다. 본원에 기술된 화합물은 또한 결합 회전이 특정 연결, 예를 들어 고리 또는 이중 결합(예를 들어, 탄소-탄소 결합, 탄소-질소 결합 예컨대 아마이드 결합)의 존재로 인한 제한에 대해 제한되는 연결을 추가로 포함할 수 있다. 이에 따라, 모든 시스/트랜스 및 E/Z 이성질체 및 회전 이성질체가 본 명세서에 명확히 포함된다. 달리 언급되거나 지시되지 않는 한, 화합물의 화학적 명칭은 그 화합물의 모든 가능한 입체화학적 이성질체 형태의 혼합물을 포함한다.

[0055] 광학 이성질체는 비제한적으로 부분입체이성질체 염 형성, 속도론적 분할, 및 비대칭 합성을 포함하는 당업계의 숙련자에게 공지된 표준 절차에 의해 순수한 형태로 얻어질 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Jacques, et al., Enantiomers, Racemates and Resolutions (Wiley Interscience, New York, 1981)], [Wilen, S.H., et al., Tetrahedron 33:2725 (1977)], [Eliel, E.L. Stereochemistry of Carbon Compounds (McGraw-Hill, NY, 1962)], [Wilen, S.H. Tables of Resolving Agents and Optical Resolutions p. 268 (E.L. Eliel, Ed., Univ. of Notre Dame Press, Notre Dame, IN 1972)]을 참조하며, 상기 문헌 각각은 그 전체가 본원에 참조로 포함되어 있다. 본원에 기술된 화합물은, 비제한적으로 컬럼 크로마토그래피, 박층 크로마토그래피, 및 고성능 액체 크로마토그래피를 포함하는 당업계의 숙련자에게 공지된 표준 분리 절차에 의해 순수한 형태로 얻어질 수 있는 모든 가능한 위치이성질체, 및 이의 혼합물을 포함한다는 것이 또한 이해된다.

[0056] 특별히 정의되지 않는 한, 본원에 제공되는 화합물은 또한 중간체 또는 최종 화합물에 존재하는 원자의 모든 동위원소를 포함할 수 있다. 동위원소는 원자 번호는 동일하지만 질량 수가 상이한 원자를 포함한다. 달리 명시되지 않는 한, 원자가 동위원소 또는 방사성 동위원소(예를 들어, 중수소, [<sup>11</sup>C], [<sup>18</sup>F])로 명명된 경우, 원자는 동위원소 또는 방사성 동위원소의 자연 존재비보다 적어도 더 많은 양으로 동위원소 또는 방사성 동위원소를 포함하는 것으로 이해된다. 예를 들어, 원자가 "D" 또는 "중수소"로 명명된 경우, 위치는 0.015%인 중수소의 자연 존재비보다 3,000배 이상 더 큰 존재비로 중수소를 갖는 것으로 이해된다(즉, 중수소의 45% 이상의 혼입).

[0057] 모든 화합물, 및 이의 약학적으로 허용가능한 염은 물 및 다른 용매와 같은 다른 물질과 함께 발견되거나(예를 들어 수화물 및 용매화물) 단리될 수 있다.

[0058] 일부 실시양태에서, 화합물의 제조는, 예를 들어 원하는 반응의 촉매작용 또는 산 부가 염과 같은 염 형태의 형성에 영향을 미치는, 산 또는 염기의 첨가를 포함할 수 있다.

[0059] 예시적 산은 무기 또는 유기산일 수 있으며, 강산 및 약산을 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 일부 예시적 산은 염산, 브롬화수소산, 황산, 인산, *p*-톨루엔술폰산, 4-니트로벤조산, 메탄술폰산, 벤젠술폰산, 트리플루오로아세트산, 및 질산을 포함한다. 일부 약산은 아세트산, 프로피온산, 부타노산, 벤조산, 타르타르산, 펜타노산, 헥사노산, 헵타노산, 옥타노산, 노나노산, 및 데카노산을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다.

[0060] 예시적 염기는 수산화리튬, 수산화나트륨, 수산화칼륨, 탄산리튬, 탄산나트륨, 탄산칼륨, 및 이탄산나트륨을 포함한다. 일부 예시적 강염기는 히드록시드, 알콕시드, 금속 아마이드, 금속 수소화물, 금속 디알킬아미드 및 아릴 아민을 포함하지만 이에 한정되지 않으며, 여기에서 알콕시드는 메틸, 에틸 및 *t*-부틸 산화물의 리튬, 나트륨 및 칼륨 염을 포함하고, 금속 아마이드는 나트륨 아마이드, 칼륨 아마이드 및 리튬 아마이드를 포함하고, 금속 수소화물은 나트륨 수소화물, 칼륨 수소화물 및 리튬 수소화물을 포함하고, 금속 디알킬아미드는 메틸, 에틸, *n*-프로필, *i*/소-프로필, *n*-부틸, *tert*-부틸, 트리메틸실릴 및 시클로헥실 치환된 아마이드의 리튬, 나트륨, 및 칼륨 염을 포함한다.

[0061] "약학적으로 허용가능한"이라는 어구는, 건전한 의학적 판단의 범위 내에서, 과도한 독성, 자극, 알러지 반응, 또는 다른 문제 또는 합병증 없이 인간 및 동물의 조직과 접촉하여 사용하기에 적합하고, 합리적인 이익/위험비에 상응하는 화합물, 물질, 조성물, 및/또는 제형을 지칭하기 위해 본원에 이용된다.

[0062] 본 출원은 또한 본원에 기술된 화합물의 약학적으로 허용가능한 염을 포함한다. 본원에 사용된 바와 같이, "약학적으로 허용가능한 염"은 존재하는 산 또는 염기 모이어티를 그의 염 형태로 전환시킴으로써 모 화합물 (parent compound)이 변형된, 개시된 화합물의 유도체를 지칭한다. 약학적으로 허용가능한 염의 예는 아민과 같은 염기성 잔기의 무기산염 또는 유기산염, 카르복실산과 같은 산성 잔기의 알칼리염 또는 유기염 등을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 본 출원의 약학적으로 허용가능한 염은 예를 들어 비독성 무기 또는 유기산으로 형성된 모 화합물의 통상적인 비독성 염을 포함한다. 본 출원의 약학적으로 허용가능한 염은 통상적인 화학적 방법으로, 염기성 또는 산성 모이어티를 함유하는 모 화합물로 합성될 수 있다. 일반적으로, 이러한 염은 물 중에서 또는 유기 용매 중에서, 또는 둘의 혼합물 중에서, 이들 화합물의 유리산 또는 염기 형태와 적절한 염기 또는 산의 화학양론적 양을 반응시켜 제조될 수 있으며, 일반적으로, 에테르, 에틸 아세테이트, 알코올(예를 들어, 메탄올, 에탄올, 이소-프로판올, 또는 부탄올) 또는 아세토니트릴(MeCN)과 같은 비수성 매질이 바람직하다. 적합한 염의 목록은 문헌 [*Remington's Pharmaceutical Sciences*, 17th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985, p. 1418] 및 [*Journal of Pharmaceutical Science*, 66, 2 (1977)]에서 찾을 수 있다. 염 형태의 통상적인 제조 방법은 예를 들어 문헌 [*Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use*, Wiley-VCH, 2002]에 기술되어 있다.

[0063] 약학적 조성물

[0064] 의약품으로 이용되는 경우, 본원에 제공된 화합물 및 이의 약학적으로 허용가능한 염은 약학적 조성물의 형태로 투여될 수 있다. 이들 조성물은 본원 또는 다른 곳에 기술된 바와 같이 제조될 수 있으며, 국소 치료 또는 전신 치료가 바람직할지에 따라, 및 치료될 부위에 따라 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여는 국소(경피, 표피, 안과 및 비강내, 질 및 직장 전달을 포함하는 경점막을 포함함), 폐(예를 들어, 분무기에 의한 것을 포함하는, 분말 또는 에어로졸의 흡입에 의해, 기관내 또는 비강내), 경구, 또는 비경구 투여일 수 있다. 비경구 투여는 정맥내, 동맥내, 피하, 복강내, 근육내 투여 또는 주사 또는 주입, 또는 두개내 투여(예를 들어, 척수내 또는 뇌실내 투여)를 포함한다. 비경구 투여는 단일 볼루스 투여량의 형태일 수 있거나, 예를 들어, 연속 관류 펌프에 의한 것일 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은, 비경구 투여에 적합하다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 화합물은 정맥 투여에 적합하다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 화합물은 구강 투여에 적합하다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 화합물은 국소 투여에 적합하다.

[0065] 국소 투여용 약학적 조성물 및 제제는 경피 패치, 연고, 로션, 크림, 젤, 점적약, 좌약, 스프레이, 액체 및 분말을 포함할 수 있지만, 이에 한정되지 않는다. 통상적인 약학적 담체, 수성액, 분말 또는 유성 베이스, 증점제 등이 필요하거나 바람직할 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 약학적 조성물은 비경구 투여에 적합하다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 화합물은 국소 전달용(예를 들어, 여드름 치료용)으로 제제화될 수 있다. 예시적 제제는 다음을 포함한다:

[0066] 약 10 내지 약 50 mM의 본원에 제공된 화합물(예를 들어, 화합물 767)

[0067] 약 50%(v/v) 99.5 내지 100% 에탄올 또는 이소프로판올

[0068] 약 0.25 내지 약 2%(w/v) 카보머(예를 들어 카보머 934 또는 카보머 940)

[0069] 약 0.5 내지 약 1%(w/v) 트롤아민

[0070] 물(100% 까지).

[0071] 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 약학적 조성물은 정맥 투여에 적합하다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 약학적 조성물은 경구 투여에 적합하다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 약학적 조성물은 국소 투여에 적합하다.

[0072] 1종 이상의 약학적으로 허용가능한 담체(예를 들어 부형제)와 조합하여, 활성 성분으로서 본원에 제공된 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 함유하는 약학적 조성물이 또한 제공된다. 본원에 제공된 약학적 조성물을 만드는 데 있어서, 통상적으로 활성 성분은 부형제와 혼합되거나, 부형제에 의해 희석되거나, 예를 들어 캡슐, 봉지(sachet), 종이, 또는 다른 용기의 형태로 이러한 담체 내에 봉입될 수 있다. 부형제가 희석제로서 역할하는 경우, 이는 고체, 반고체, 또는 액체 물질일 수 있으며, 활성 성분의 비이클, 담체 또는 매질로서 작용한다. 따라서, 조성물은 예를 들어 정제, 알약, 분말, 로젠지, 봉지, 카세, 엘릭서, 현탁액, 에멀션, 용액, 시럽, 에어로졸(고체 또는 액체 매질로서), 연고, 연질 및 경질 젤라틴 캡슐, 좌제, 멸균 주사용 용액, 및 멸균 포장된 분말의 형태일 수 있다.

- [0073] 적합한 부형제의 일부 예는 비제한적으로 락토스, 텍스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아라비아 고무, 칼슘 포스페이트, 알기네이트, 트래거캔스, 젤라틴, 칼슘 실리케이트, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로스, 물, 시럽, 및 메틸 셀룰로스를 포함한다. 제제는 비제한적으로 활석, 마그네슘 스테아레이트, 및 미네랄 오일과 같은 윤활제, 습윤제, 유화제 및 현탁제, 메틸- 및 프로필히드록시-벤조에이트와 같은 보존제, 감미제, 향미제, 또는 이들의 조합을 추가로 포함할 수 있다.
- [0074] 활성 화합물은 광범위한 투여량 범위에서 효과적일 수 있으며 일반적으로 유효량으로 투여된다. 그러나, 실제로 투여되는 화합물의 양은 치료될 병태, 선택된 투여 경로, 투여된 실제 화합물, 개별 대상의 연령, 체중, 및 반응, 대상의 증상의 중증도 등을 포함하는 관련 상황에 따라 일반적으로 의사에 의해 결정된다는 것이 이해될 것이다.
- [0075] 본원에 제공된 조성물은 1일 1회 내지 1회 이상, 내지 1주일에 1회 이상 투여될 수 있으며, 격일로 1회 투여되는 것을 포함한다. 비제한적으로 질환 또는 장애의 중증도, 이전 치료, 대상의 일반적인 건강 및/또는 연령, 및 다른 존재하는 질환을 포함하는 특정 요인이 대상을 효과적으로 치료하는 데 필요한 투여량 및 타이밍에 영향을 줄 수 있다는 것을 숙련가는 이해할 것이다. 또한, 본원에 기술된 화합물의 치료적 유효량으로 대상을 치료하는 것은 단일 치료 또는 일련의 치료를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 조성물은 일회량으로 투여된다.
- [0076] 본원에 제공된 화합물의 투여량, 독성 및 치료 효능은 예를 들어 LD<sub>50</sub>(집단의 50% 치사량) 및 ED<sub>50</sub>(집단의 50%에 서의 치료적 유효 용량)을 결정하기 위한 세포 배양 또는 실험 동물에서의 표준 약학적 절차에 의해 측정될 수 있다. 독성 효과와 치료 효과 사이의 용량비는 치료 지수이며, 비 LD<sub>50</sub>/ED<sub>50</sub>으로 표현될 수 있다. 높은 치료 지수를 나타내는 화합물이 바람직하다. 독성 부작용을 나타내는 화합물이 사용될 수 있지만, 감염되지 않은 세포에 대한 잠재적 손상을 최소화하여 부작용을 저감하기 위해, 이러한 화합물을 영향받는 조직의 부위로 표적화하는 전달 시스템을 디자인할 때는 주의를 기울여야 한다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 화합물은 오르리스 타트의 유사한 투여량과 비교하여 더 낮은 독성을 나타낸다. 독성의 평가는 예를 들어 본원에 기술된 것과 같은 방법을 사용하여 결정될 수 있다.
- [0077] *치료 방법*
- [0078] 본 개시는 높은 지질 농도(예를 들어, 지방독성)와 관련된 장애의 치료 방법을 추가로 제공한다. 다수의 이러한 장애는 당업계에 공지되어 있으며 당업계의 숙련가에 의해 쉽게 확인될 수 있다. 일부 실시양태에서, 방법은 혈청 리파제의 억제제를 필요로 하는 환자에서 혈청 리파제를 억제하는 방법을 포함하며, 상기 방법은 대상에게 본원에 제공된 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 치료적 유효량을 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 화합물은 혈청 리파제 농도를 저감한다. 일부 실시양태에서, 리파제는 인간 췌장 트리-아실 글리세롤 리파제(hPNLIP), 인간 췌장 리파제 관련 단백질 2(hPLRP2) 및 인간 콜리파제(hCEL)와 같은 췌장 리파제이다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 화합물은 유리 지방산의 생성을 저감하거나 억제할 수 있다. 예를 들어, 본원에 제공된 화합물은 유리 지방산의 혈청 농도를 감소시킬 수 있다.
- [0079] 본원에 사용된 바와 같이, "대상"이라는 용어는 포유류를 포함하는 임의의 동물을 의미한다. 예를 들어, "대상"이라는 용어는 마우스, 래트, 다른 설치류, 토끼, 개, 고양이, 돼지, 소, 양, 말, 영장류, 및 인간을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 일부 실시양태에서, 대상은 인간이다. 일부 실시양태에서, 대상은 비만이다. 본원에 사용된 바와 같이 "비만"이라는 용어는 체질량 지수가 23, 25 초과 및 특히 30 이상인 대상을 의미한다. 대안으로, 비만은 복부 지방 또는 허리둘레가 개인의 인종, 민족, 성별 또는 국적에 대해 정상보다 증가한 것일 수 있다.
- [0080] 일부 실시양태에서, 본원에 기술된 방법은 시험관내 방법, 예를 들어, 샘플(예를 들어, 세포 또는 조직)과 본원에 제공된 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 접촉시키는 것을 포함할 수 있다.
- [0081] 일부 실시양태에서, 장애는 급성 췌장염이다. 예를 들어, 급성 췌장염은 중증일 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 방법은 중증의 급성 췌장염을 경증의 췌장염으로 격하시키는 데 유용할 수 있다. 본 개시는 본원에 제공된 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 치료적 유효량을 투여하여, 급성 췌장염의 하나 이상의 증상을 치료함으로써 치료를 필요로 하는 대상에서 췌장염의 하나 이상의 증상을 치료하는 방법을 제공한다. 급성 췌장염의 예시적 증상은 복통, 요통, 부어오른 복부, 메스꺼움, 구토, 열, 빠른 맥박, 호흡 곤란, 저체온 등을 포함한다.

[0082] 본 발명의 비제한적 실시양태는 급성 췌장염을 앓는 대상에서 장기 부전의 위험을 저감하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 대상에게 췌장 리파제 억제제의 유효량을 투여하는 단계를 포함한다. 장기 부전의 위험이 저감될 수 있는 장기는 신장(여기서 부전은 신부전으로 지칭됨), 폐(여기서 부전은 폐부전으로 지칭됨), 저혈압 또는 심박수 증가로 인한 쇼크 또는 폐부종 징후(청진 상에서의 소리, 또는 CXR, 또는 CT 스캔으로 확인됨) 뿐만 아니라 다발성 장기 부전(예를 들어 적어도 이들 두 장기와 관련된 복합 장기 기능장애 증후군)을 포함한다. 이들 장기의 상태는 당업계에 잘 알려진 임상 방법을 사용하여 측정될 수 있다. 예를 들어, 비제한적으로, 신장 기능(및 신부전의 발생)은 혈액 요소 질소 수준 증가, 크레아티닌 증가, 소변 배출 감소, 및/또는 조직학적 소견을 통해 평가될 수 있고, 폐 기능 및 폐부전의 발생은 폐 기능 검사, 혈액 가스(산소 및 이산화탄소 수준), 산소 보충 요구사항(예를 들어 산소의 비율 및 유량이 상이한 비강 캐놀라 또는 안면 마스크 또는 산소호흡기) 및/또는 조직학적 소견을 사용하여 평가될 수 있다(장기 부전 지수에 대하여, 문헌 [J. Wallach, 1978, Interpretation of Diagnostic Tests, Third Edition, Little, Brown and Co., Boston], 및/또는 [J. Wallach, 2006, Interpretation of Diagnostic Tests, Eighth Edition, Lippincott Williams & Wilkins]을 참조하며, 상기 문헌들은 그 전체가 참조로 포함되어 있다). 마찬가지로, 전신 염증 지수는, CRP, 또는 전신 염증 반응 증후군(SIRS) 기준의 일부, 종양 괴사 인자 알파, 단핵구 화학주성 단백질 1 및/또는 인터류킨 6을 포함하지만 이에 한정되지 않는 하나 이상의 염증 매개체의 수준의 증가이다. 이들 실시양태는, 다발성 장기 부전의 위험을 감소시키는 데 있어 췌장 리파제 억제제의 효과를 보여주는 아래의 연구 실시예에 의해 적어도 부분적으로 지지된다.

[0083] 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 화합물은 급성 췌장염의 2차 효과의 위험을 저감하는 것을 필요로 하는 대상에서 급성 췌장염의 2차 효과의 위험을 저감하는 데 유용하다. 예를 들어, 쇼크 발생의 위험이 저감될 수 있다. 일부 실시양태에서, 신부전 발생의 위험이 저감된다. 일부 실시양태에서, 폐부전 발생의 위험이 저감된다.

[0084] 일부 실시양태에서, 장애는 여드름이다. 다른 실시양태에서, 장애는 외상, 출혈, 중대 질병, 또는 패혈증이다. 예를 들어, 패혈증은 배양 음성 패혈증이다. 일부 실시양태에서, 장애는 화상이다. 다른 실시양태에서, 장애는 감염이다. 예를 들어, 감염은 P. 아우레게노사, S. 아우레우스, B. 서브틸리스, 및 B. 세페시아로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 유기체에 의해 유발될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Ryan CM, Sheridan RL, Schoenfeld DA, Warshaw AL, Tompkins RG: Postburn pancreatitis. *Ann Surg* 1995, 222(2):163-170], [Subramanian A, Albert V, Mishra B, Sanoria S, Pandey RM: Association Between the Pancreatic Enzyme Level and Organ Failure in Trauma Patients. *Trauma Mon* 2016, 21(2):e20773], [Malinoski DJ, Hadjizacharia P, Salim A, Kim H, Dolich MO, Cinat M, Barrios C, Lekawa ME, Hoyt DB: Elevated serum pancreatic enzyme levels after hemorrhagic shock predict organ failure and death. *J Trauma* 2009, 67(3):445-449], [Lee CC, Chung WY, Shih YH: Elevated amylase and lipase levels in the neurosurgery intensive care unit. *J Chin Med Assoc* 2010, 73(1):8-14] 및 [Manjuck J, Zein J, Carpati C, Astiz M: Clinical significance of increased lipase levels on admission to the ICU. *Chest* 2005, 127(1):246-250]을 참조한다.

[0085] 실시예

[0086] 실시예 1. 비포르밀화 아미노산 유사체의 제조 및 시험

[0087] L-아미노-에스테르 류신이 대체물로 대체된 다수의 비포르밀화 아미노산 유사체를 제조하였다. 이 과정에 포함된 합성 단계를 도 2에 요약한다. 도 3에 나타난 바와 같이, 생성된 화합물은 L-류신(#723, 이는 또한 오르리스타트이다) 아미노-에스테르가 N-메틸 류신(#724), 또는 L-알라닌(#716), N-아세틸-L-시스틴(#717), L-아스파르트레이트(#718), L-히스티딘(#725), L-메티오닌 술폰(#726), L-아르기닌(#727), L-디아미노피멜산(#728), L-세린(#729), L-오르니틴(#731), 또는 N-아세틸 류신(#732)을 포함하는 더 극성이거나 더 짧은 대체물과 같은 대체물로 치환된 화합물을 포함한다. 이들 화합물의 효능을 시험하기 위해, 상기 작용제를 에탄올 중 20 mM 저장액으로 용해시키고, 600 마이크로몰 사용액(3.3% 에탄올)으로서 PBS에 추가로 희석시켰다. 즉시 사용하거나 효능을 재시험하기 전에 16 내지 20시간 동안 밤새 실온에 두었다. 작용제를 30분 동안 200 내지 0.3 마이크로몰 범위에 걸친 연속 1/3 희석으로 췌장 용해물과 함께 배양하였다. 이어서 시약 중 모노아실 글리세롤 리파제를 함유하는 상업용 리파제 어세이(포인트 사이언티픽(Pointe scientific))를 사용하여 리파제 활성을 측정하기 위해 5 마이크로리터의 이들 혼합물을 사용하였다. 권장 프로토콜에 비례하여 시약을 사용하여 리파제 어세이를 수행하였다. 값은 임의의 억제제가 없는 웰의 최대 리파제 활성 %로 표시되었다. 나타난 바와 같이, 비포르밀화 오르리스타트 유사체의 효능은 오르리스타트의 효능에 비해 증가하지 않았다(도 4).

- [0088] 실시예 2. 포르밀화 아미노산 유사체의 제조 및 시험
- [0089] L-아미노-에스티르 류신이 대체물로 대체된 다수의 포르밀화 아미노산 유사체를 제조하였다. 이 과정에 포함된 합성 단계를 도 2 및 도 5에 요약한다.
- [0090] 이들 작용제(도 6에 나타난 바와 같이 #733, 734, 738, 739, 740, 742, 743)를 실시예 1에 기술된 바와 같이 초기에 시험하였다. 화합물 741, 736, 743은 밤새 보관된 후 오르리스타트에 비해 안정성 및 효능에서 대략 10배 개선된 것으로 나타났다(도 7). 문헌 [Navina S, Acharya C, DeLany JP, Orlichenko LS, Baty CJ, Shiva SS, Durgampudi C, Karlsson JM, Lee K, Bae KT et al: Lipotoxicity causes multisystem organ failure and exacerbates acute pancreatitis in obesity. Sci Transl Med 2011, 3(107):107ra110]에 기술된 바와 같이, 세엽 지방세포 공동배양에서 세엽 세포에 대한 지방독성 손상을 저감하는 효능에 대하여 화합물을 추가로 시험하였고(도 8a), 66 마이크로몰(밤새 배양한 후 오르리스타트의 IC<sub>50</sub>에 가장 가까운 농도)에서 모든 작용제가 효과적이었지만, 화합물 743은 세엽 세포에 대해 독성이 있는 것으로 나타났으며(도 8b), 화합물 741은 이 농도에서 가장 독성이 낮지만 그 효능을 유지하였다. 화합물 736 또한 낮은 독성에서 그 효능을 유지하였다.
- [0091] 실시예 3. β-사슬 유사체의 제조 및 시험
- [0092] 유사체의 효능을 개선하기 위한 옵션을 추가로 연구하기 위해, 741의 베타 사슬을 변경하여 더 친수성이 되게 하였다. 이를 위해, 도 9 내지 14에 기술된 바와 같이 화합물 760, 762, 763을 제조하였다. 이 위치에서의 변형은 리파제 억제 효능의 개선과 관련이 없었으며, 실제로, 효능 감소가 관찰되었다. 도 15를 참조한다.
- [0093] 실시예 4. α-사슬 유사체의 제조 및 시험
- [0094] 도 16에 도시된 바와 같이 알파 사슬에 대한 변형에 기반하여 일련의 유사체를 제조하여 화합물 767 및 768을 생성하였다. 새로운 화합물일 경우 이들 작용제는 오르리스타트에 대한 리파제 활성 어세이에서 동등한 효능을 가졌지만, 밤새 둔 경우 작용제 767은 용액으로서 이의 효능을 유의하게 유지하였다. 도 17을 참조한다.
- [0095] 실시예 5. 유리 지방산(FFA) 생성, 독성의 억제, 및 제조합 인간 췌장 트리-아실 글리세롤 리파제[hPNLIP], 췌장 리파제 관련 단백질 2(hPLRP2) 및 카르복시에스테르 리파제(hCEL)를 억제하는 데 있어서의 효능
- [0096] 제조된 유사체 중 선택된 것의 효능을 연구하여, 안정성을 유지하면서 제조합 인간 리파제로부터 유리 지방산(FFA) 생성을 억제하는 능력을 측정하였다. 이들 특징을 시험하기 위해, 유사체를 에탄올 중에 용해시켰으며(200 mM 저장액) PBS 중 600 마이크로몰(0.3% 에탄올) 사용액으로 추가로 희석하였다. 30분 동안 200 내지 0.3 마이크로몰 범위에 걸친 연속 1/3 희석으로 작용제를 제조합 효소와 함께 배양하였고, 이어서 보조인자 콜리파제(CLPS; 0.5 mcg/ml)와 함께 pH 7.4의 PBS 중 기질 1 mM 글리세릴 트리리놀레에이트(GTL)에 첨가하였다. 도 18에 나타난 바와 같이, 작용제 767, 733, 734, 740 및 743은 오르리스타트 또는 741보다 50배 더 낮은 제조합 인간 췌장 트리-아실 글리세롤 리파제[PNLIP; hPTL, 콜리파제(CLPS)의 존재 하에]에 대한 IC<sub>50</sub>을 가졌으며, 밤새 보관된 경우 IC<sub>50</sub> < 2 마이크로몰을 유지하였다. 특히, 화합물 767 및 740은 가장 우수한 안정성을 나타내었다.
- [0097] 또한, 최초의 에탄올 저장액 200 mM을 PBS 중 0.3% 에탄올 중 600 마이크로몰 화합물 저장액이 되도록 세엽 세포용 배양 배지(Navina 등에 의해 기술된 바와 같은 HEPES 완충액, pH 7.4)에 희석하여 사용하여, 관련 화합물의 독성 연구를 수행하였다. 200 마이크로몰에서 시작하여 1/3 희석으로 이들을 세엽 세포에 첨가하였다. 마우스 췌장 세엽 ATP 수준 및 LDH 누출을 4시간에 걸쳐 측정하고 대조군과 비교하였다. 대조군에 대해 양수인 숫자는 대조군 세엽보다 더 큰 손상 %를 나타낸다. 그러나, 작용제 743(도 8b 참조), 및 733은 세엽 세포에 대해 독성이어서, 생체내 사용과 관련된 농도인 20 내지 200 마이크로몰 범위의 농도에서 ATP의 저하를 유발하였고 LDH 누출을 유도하였다(도 19 참조).
- [0098] 도 20에 도시된 바와 같이, 제조합 인간 췌장 리파제 관련 단백질 2(hPLRP2) 및 카르복시에스테르 리파제(hCEL)의 저감 효능에 대해 이들 화합물을 추가로 시험하였다. 이들 리파제는 15 내지 30%의 췌장 리파제를 형성하였다. 작용제 740, 734 및 767은 다시 2 마이크로몰 이하의 IC<sub>50</sub>을 나타내었다. 상대적인 효능 및 독성을 도 21의 표에 요약하였다. 767의 장점, 즉, a) 마우스 췌장 용해물에 대한 더 높은 효능(도 7 및 17), b) 가장 일반적인 리파제(hPTL)에 대한 더 높은 효능(도 18), c) 수성 배지에서의 더 우수한 안정성(도 17 및 18), 및 d) 더 낮은 독성(도 19)과 함께, 이에 주목하여, 화합물 767을 선택하여 생체내 연구를 진행하였다. 또한, 10 마이크로몰의 작용제 740 및 767은 오르리스타트보다 덜 독성이었고, GTL 유도 선행 손상을 감소시키는 데 오르리스타

트보다 더 효과적이었다(도 28).

[0099] 실시예 6. 화합물 767의 생체내 연구

[0100] 이 생체내 연구의 목적은 화합물 767이 단일 치료 용량으로 투여되는 경우 마우스에서 치명적인 췌장염의 중증도가 저감될 수 있는지, 및 상기 화합물이 오르리스타트의 한계, 예를 들어, 반복된 고투여 및 고중성지방혈증을 피할 수 있는지 확인하는 것이다. 도 22를 참조한다.

[0101] 화합물 767 또는 오르리스타트를 1 mg/10 마이크로리터 에탄올로 용해시키고, 이를 식염수로 400 마이크로리터로 희석시켰다(최종 농도 2.5% 에탄올). 유전학적으로 비만인 수컷 ob/ob 마우스(50 내지 60 gm)를 사용하였고, 혈청 리파제, 트리글리세라이드, 및 BUN(혈액 요소 질소)에 대해 기준치 꼬리 정맥 혈액 채혈을 수집하였다. 스케줄은 도 23a에 도시된 바와 같다. 50 mc/kg/hr의 용량으로 투여되는, 2.5 mg/ml 세룰레인을 함유하는 알젯 펌프를 피하 이식하여 중증 췌장염을 유도하였다. 3배 초과 베이스 증가를 확인하기 위해, 6시간 후 꼬리 정맥 샘플(50 마이크로리터)을 혈청 리파제에 대해 시험하였다. 도 23b에 도시된 바와 같이, 이것이 달성되었다(P = 0.003).

[0102] 이어서, 상기 작용제를 복강내 용량으로 투여하였다(20 mg/kg 단일 투여)[767에 대해 n=8 또는 오르리스타트에 대해 n=7]. 동물에게 식염수 IP 1 mL BID를 제공하였고, 중증도에 초점을 두고 바이탈을 매일 모니터링하였다(발열 또는 저체온증에 대한 온도 및 쇼크에 대한 맥박 증가). 이들은 각각 SIRS 및 개정된 중증도에 대한 애틀랜타 기준(문헌 [Classification of acute pancreatitis--2012: revision of the Atlanta classification and definitions by international consensus. Gut 2013, 62(1):102-111])의 일부이다. 중증도 파라미터(랜슨스 및 글래스고우(Ranson's and Glasgow) 기준의 일부인 혈청 BUN, 혈청 칼슘 및 총 백혈구 수) 및 트리글리세라이드를 위해 꼬리 정맥 샘플을 수집하였다. 동물이 빈사상태인 경우 희생시켰다.

[0103] 도 23에서 확인할 수 있는 바와 같이, 생체내에서 모든 미처리된 마우스는 신부전(BUN 85±18 mg/dl)(도 23c), 저칼슘혈증(혈청 칼슘 4.9±0.2 mg/dl)(도 23d), SIRS(도 23e), 쇼크(도 23f) 및 100% 사망률(도 23g)을 나타내었다. 767은 오르리스타트보다, BUN(피크 18.5±0.9 대 오르리스타트 50±4.4 mg/dl p<0.05)(도 23c), 혈청 칼슘(8.8±1.0 mg/dl 대 4.2±0.3 mg/dl, p<0.05)(도 23d), UFA(2.4±0.4 mM 대 5.4±0.9 mM)를 정상화하고, 쇼크(PD: 290±20 μm 대 171±21 μm, p<0.05)(도 23f), 백혈구감소증(0/8 마우스 대 4/7 마우스, p<0.03, 도 25 참조), 저체온증(94.1±0.8 대 86±0.9°F, p<0.01, 도 23e)을 예방하고, 5일 생존(8/8 대 2/7, p<0.01)(도 23g)을 개선하는 데 더 효과적이었다. 비이클 군에서 사망률은 8/8(중간 시간 44시간)이었고 오르리스타트 군에서 사망률은 5/7이었다. 두 작용제의 총 외관을 도 24에서 비교하였다. 확인할 수 있는 바와 같이, 오르리스타트 처리된 동물에서 훨씬 더 광범위한 지방 괴사가 있었다. 오르리스타트가 보호성을 갖기 위해 필요한 투여량과 관련된 고중성지방혈증 없이, 작용제 767로부터의 이러한 보호가 달성되었다(도 25). 결과를 도 25의 표에 요약하였다.

[0104] 실시예 7. P. 아크네스의 배지에서의 FFA 생성

[0105] P. 아크네스에 의한 지방분해가 767에 의해 억제되었다(도 26 및 도 27).

[0106] P. 아크네스 브로스 배양:

[0107] 배지에 대해, 2.0 g의 카제인 가수분해물 소화 효소(Cat#12855, 미국 오하이오 아피메트릭스 주식회사(Affymetrix Inc)), 1.0 g의 효모 추출물(Cat#61180-5000, 미국 뉴저지 아크로스 오가닉스(Acros organics)), 및 0.03 g의 빅토리아 블루 B(Cat#sc-216055, 미국 캘리포니아 산타 크루츠 바이오테크놀로지 주식회사(Santa Cruz Biotechnology Inc))를 약하게 가열하면서 200 ml의 이중 증류수에 완전히 용해시켰다. 15분 동안 15 lbs 압력(121°C)에서 오토클레이빙하여 혼합된 용액을 살균하였다. 오토클레이빙한 용액을 50°C로 냉각시키고, 연속 교반하면서 6 ml의 유화 리파제 기질을 천천히 첨가하여 균일한 분포를 얻었고 P. 아크네스 배양을 위해 4°C에서 보관하였다.

[0108] 리파제 기질 제조: 100 ml의 따뜻한 이중 증류수 및 25 ml의 면실유(Cat#C0145, 미국 캘리포니아 스펙트럼 케미칼(Spectrum chemical))에 200 μl의 Tween 80(Cat#P4780, 미국 세인트루이스 시그마(Sigma))를 혼합하여 리파제 기질을 제조하였다. 혼합물을 강하게 교반한 후 초음파처리(10초 펄스×5회)하여 에멀션을 얻었다.

[0109] P. 아크네스 배양-확장 배지, 보관 조건, 배지에 사용된 접종원의 크기.

[0110] 동결건조된 프로피오니박테리움 아크네스(*Propionibacterium acnes*)(균주 VPI0389, ATCC)의 작은 부분을 배지에 첨가하고, 용기 내 혐기성 상태를 유지하는 2개의 혐기균 봉지(Cat#260683, 미국 메릴랜드 벡튼 디킨슨

(Beckton Dickinson))를 갖춘 BD GasPak EZ 표준 배양 용기(Cat#260671, 미국 메릴랜드 벡튼 딕킨슨)에서 48시간 동안 37°C에서 성장시켰다. 배양한지 48시간 후, 탁도(OD 600 nm) 방법으로 박테리아 수를 측정하였다. 배양 상청액에서 분비된 리파제 및 생성된 FFA의 양을 측정하였다.

[0111] P. 아크네스 보관을 위해, 1.5 ml의 오토클레이빙된 에펜도르프(Eppendorf) 미세원심분리기(1 ml/미세원심분리기)의 배양된 박테리아를 5분 동안 5,000 rpm으로 회전시키고, 사용한 배지를 제거하고, 펠릿화된 박테리아를 기질이 없는 15% 글리세롤 함유 P. 아크네스 배양 배지(1 ml/미세원심분리기)에 재현탁시키고, 추후 사용을 위해 -80°C에 보관하였다.

[0112] 추가 P. 아크네스 배양을 위해, 하나의 분취된 P. 아크네스 저장액을 -80°C에서 꺼내어 얼음에서 해동시켰다. 각각의 2 ml 에펜도르프 미세원심분리기에 리파제 기질을 포함하는 1 ml의 배양 배지에 약 30  $\mu$ l의 P. 아크네스 저장액( $1 \times 10^6 / 30 \mu$ l)을 첨가하고 혐기 조건에서 48시간 동안 37°C에서 배양하였다.

[0113] P. 아크네스에 대한 리파제 억제제의 효능 시험:

[0114] 배양 초기에, 지시된 농도로 오르리스타트 또는 작용제 767(에탄올 중 200 mM 저장액)을 첨가하였다. 배양 기간 끝에, 잘 혼합된 배지의 일부를 분리하여, 와코 다이애그노스틱스(Wako Diagnostics)(미국 버지니아 리치몬드)의 HR 시리즈 NEFA-HR(2) 키트를 사용하여 유리 지방산 생성을 확인하였다.

[0115] P. 아크네스 한천 배양

[0116] 스피릿 블루 한천: 공급업체, 카탈로그 번호, 제조, 보관. 배양 접종원 크기, 배양 조건.

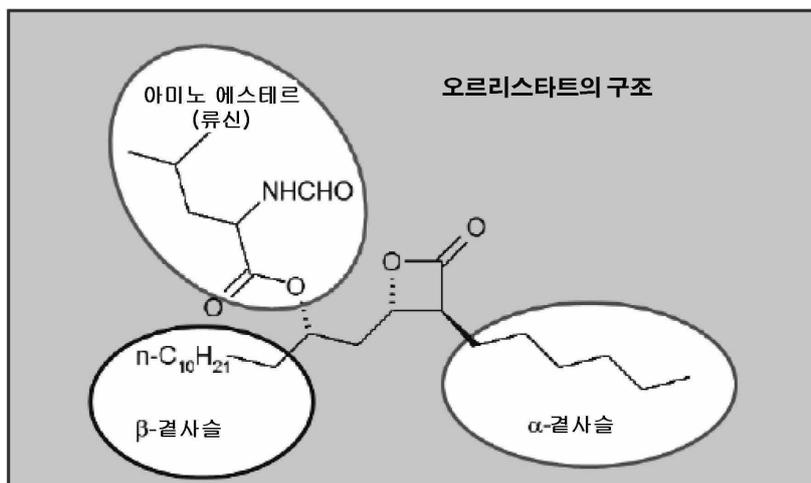
[0117] 플레이트 제조를 위해, 100 ml의 이중 증류수에 3.215 g의 스피릿 블루 한천(Cat#M445, 인도 뭄바이 하이미디어 래보라토리스 개인 유한책임회사(HiMedia Laboratories Pvt Ltd))을 용해시키고, 오토클레이빙하고, 55°C로 냉각시키고, 3 ml의 따뜻한 리파제 기질을 첨가하고 잘 혼합하였다. 따뜻한 조건에서, 혼합물을 무균상태로 조직 배양 플레이트(6웰, 12웰 플레이트)에 부었다. 굳어진 한천 플레이트를 파라필름으로 포장하고 37°C에서 밤새 유지하여 오염이 없음을 확인하였다. 추후 사용을 위해 여분의 플레이트를 4°C 냉동고에 보관하였다. 해동된 P. 아크네스 -80°C 저장액을 6웰/12웰 플레이트에 펼치거나(30  $\mu$ l/웰), 접종 루프로 웰 전체에 접종하였다. 이어서 플레이트를 하나의 혐기균 봉지를 갖춘 BD GasPak EZ 챔버에서 37°C에서 유지하고 5 내지 7일 동안 기다려 박테리아 콜로니를 확인하였다. 그 후 이들을 트랜스 일루미네이터에서 시각화하고 촬영하였다.

[0118] 다른 실시양태

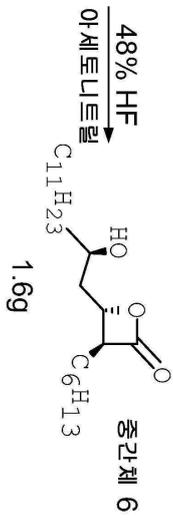
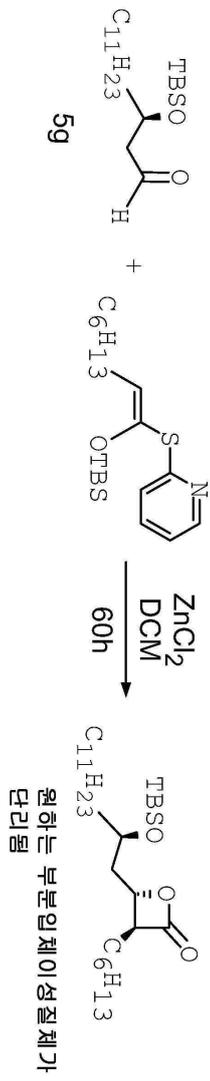
[0119] 본 발명은 이의 상세한 설명과 함께 기술되었지만, 전술한 설명은 예시하기 위한 것이고, 첨부된 청구범위에 의해 정의되는 본 발명의 범위를 제한하려는 것이 아님을 이해해야 한다. 다른 측면, 이점, 및 변형은 다음의 청구범위의 범위 내에 있다.

**도면**

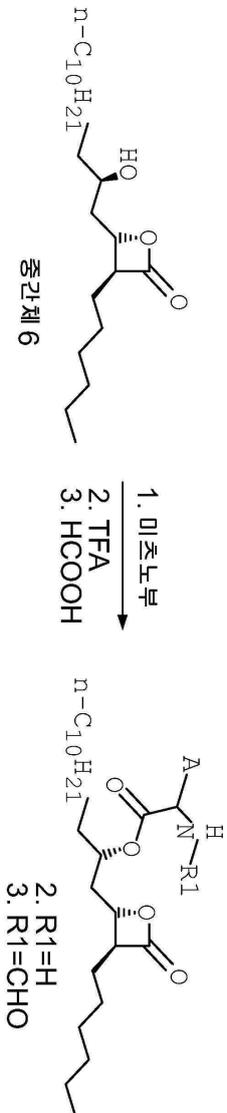
**도면1**



아미노-에스테르 변형을 위한 중간체 6의 합성:

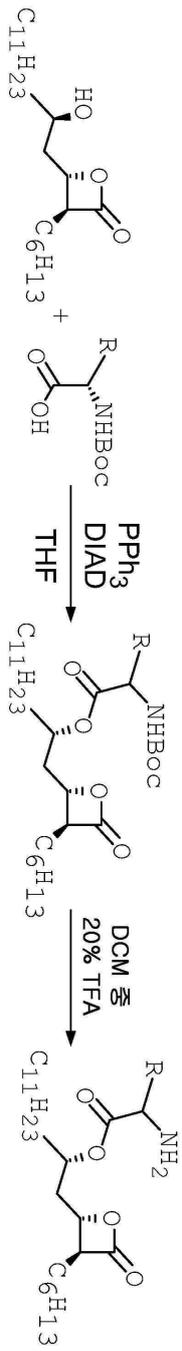


이어서 중간체 6은 일반적으로 다음과 같이 변형된다:

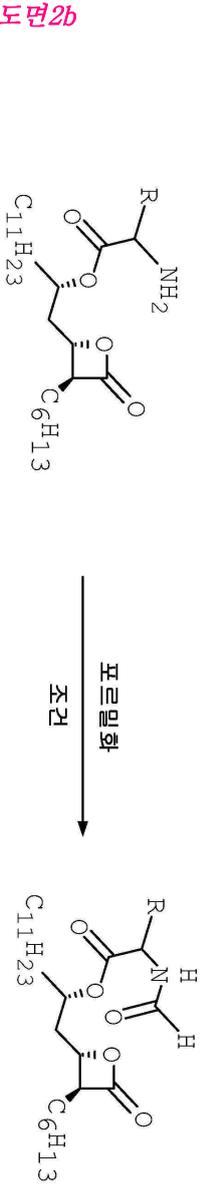


도면2a

비포르밀기는 다음과 같이 치환된다:

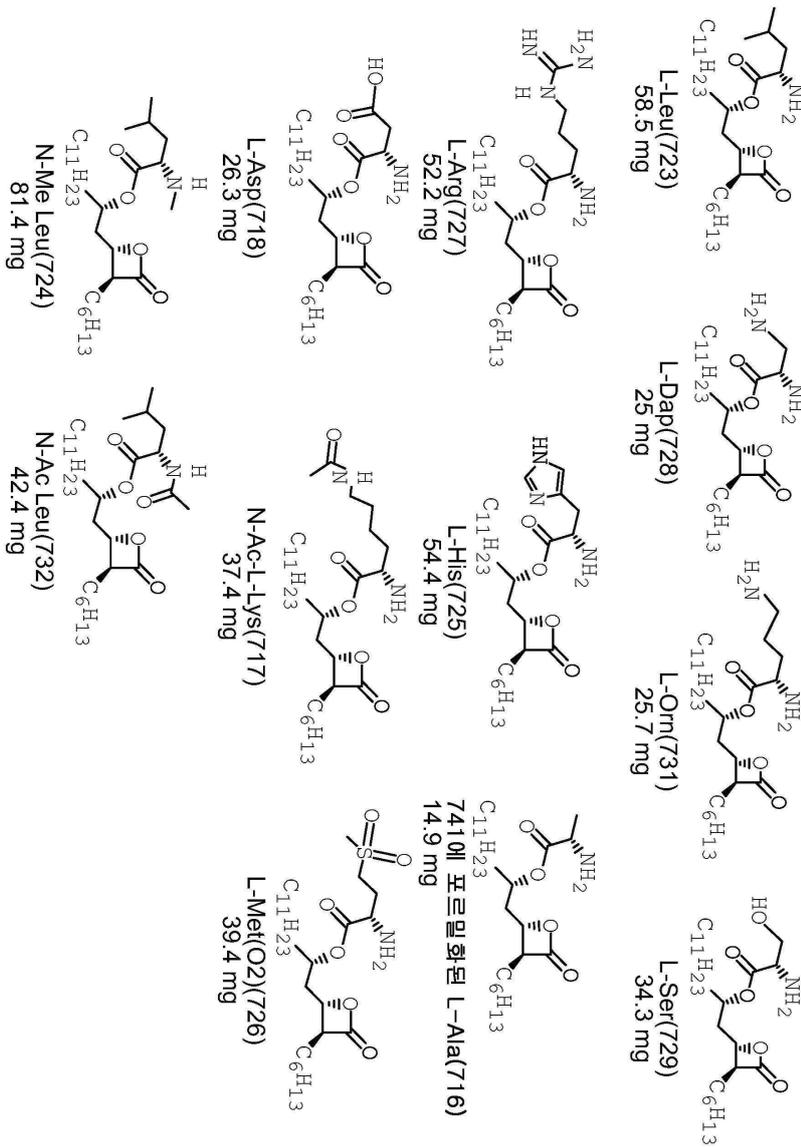


포르밀기는 다음과 같이 치환된다(세부사항은 다음 페이지 참조)

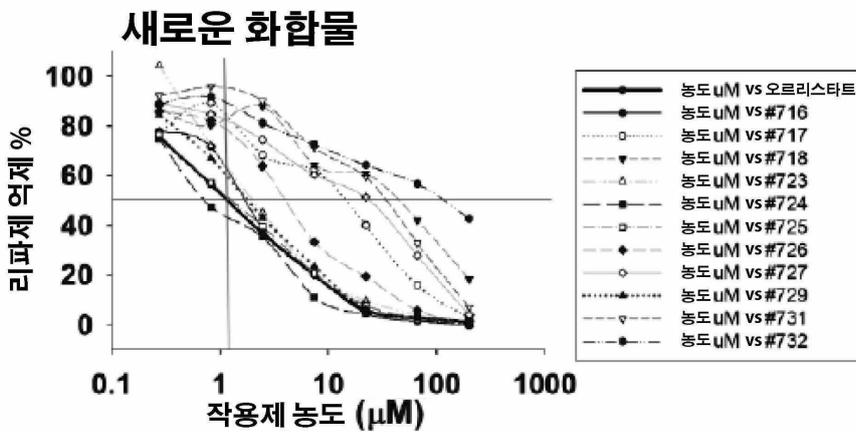


도면 2b

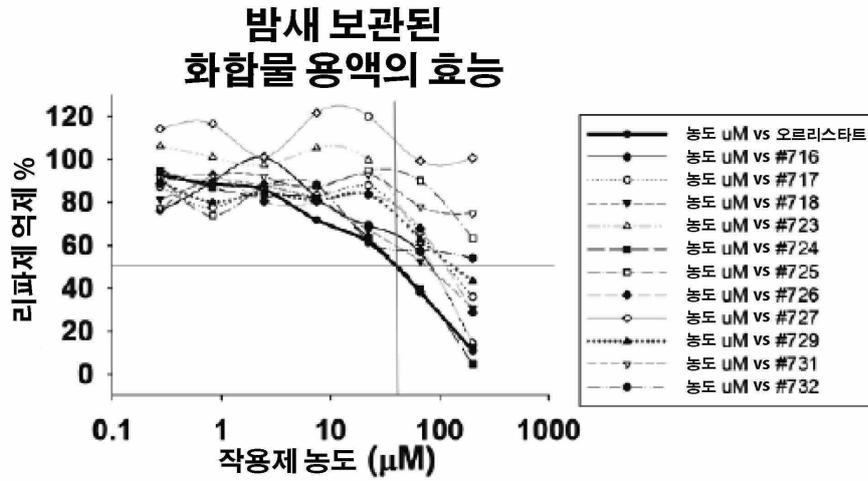
도면3



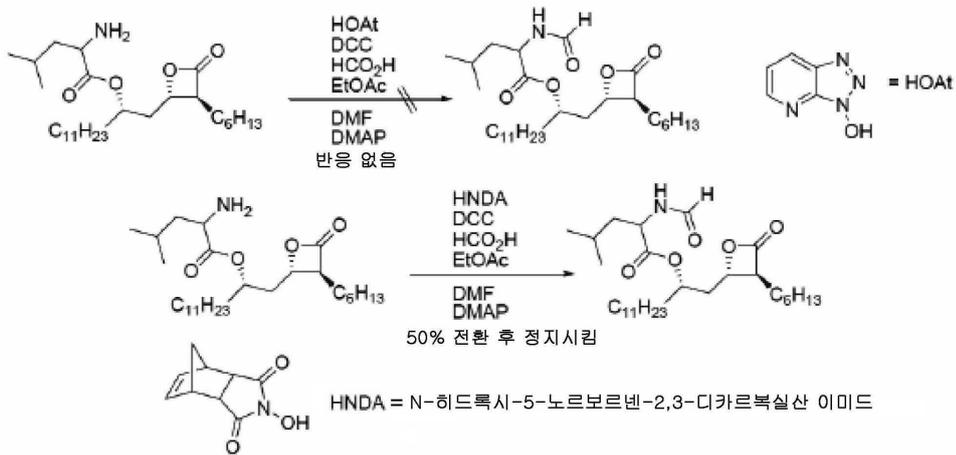
도면4a



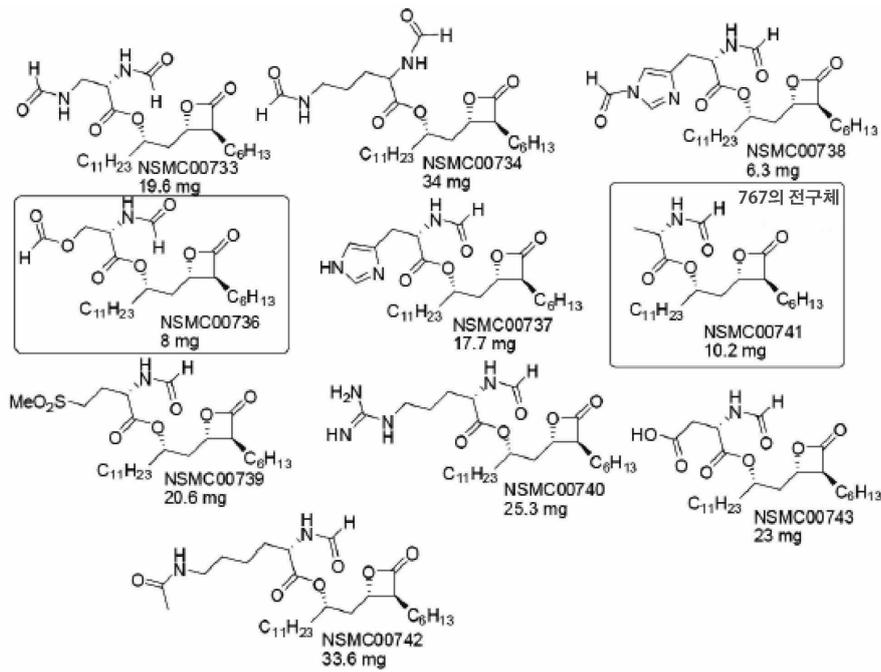
도면4b



도면5

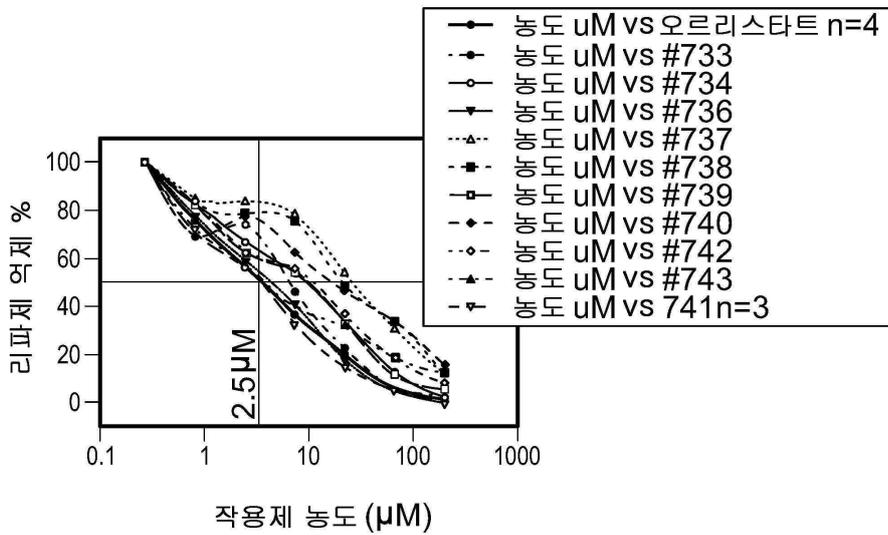


도면6



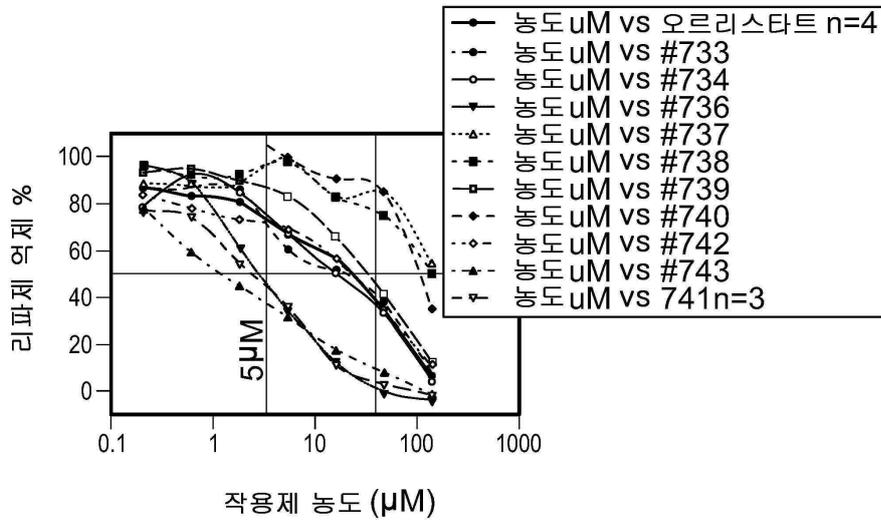
도면7a

새로운 화합물의 효능



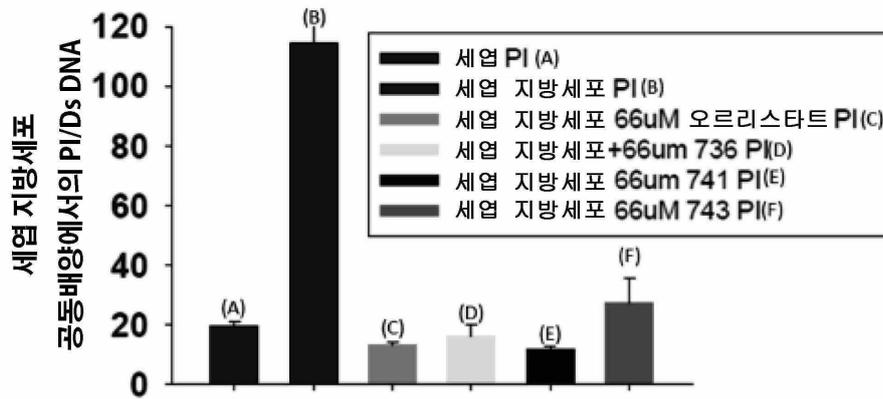
도면7b

암세포 보관된 화합물 용액의 효능



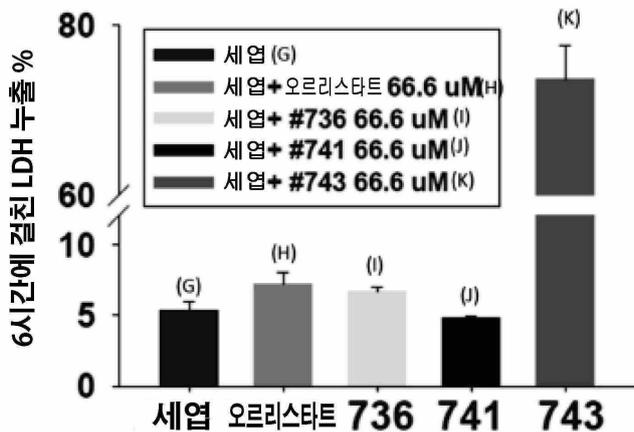
도면8a

공동배양에서의 화합물의 효능



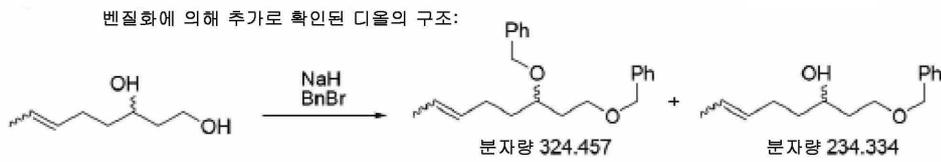
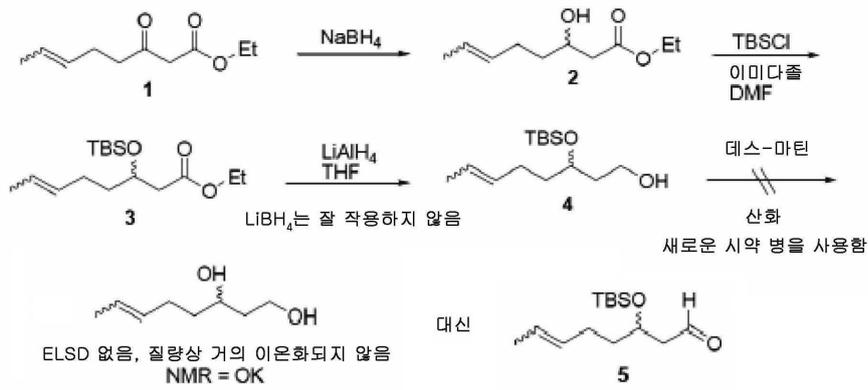
도면8b

세엽 세포에 대한 화합물의 독성

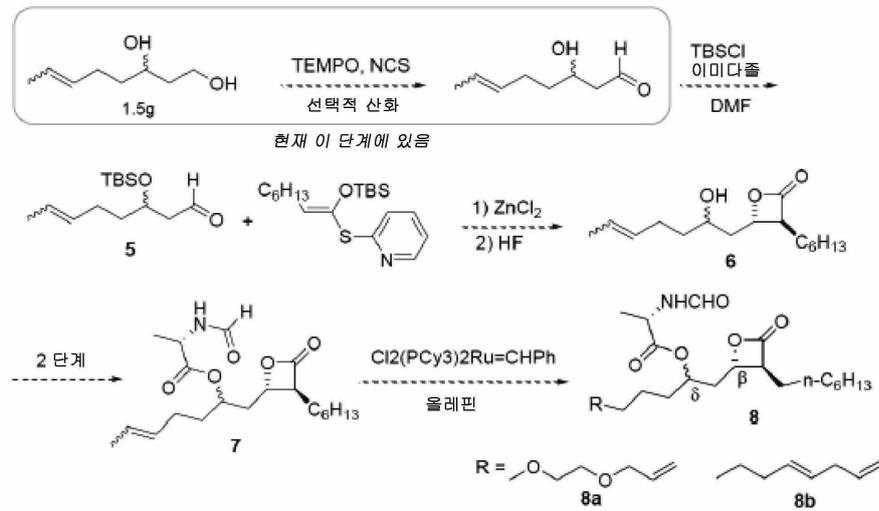




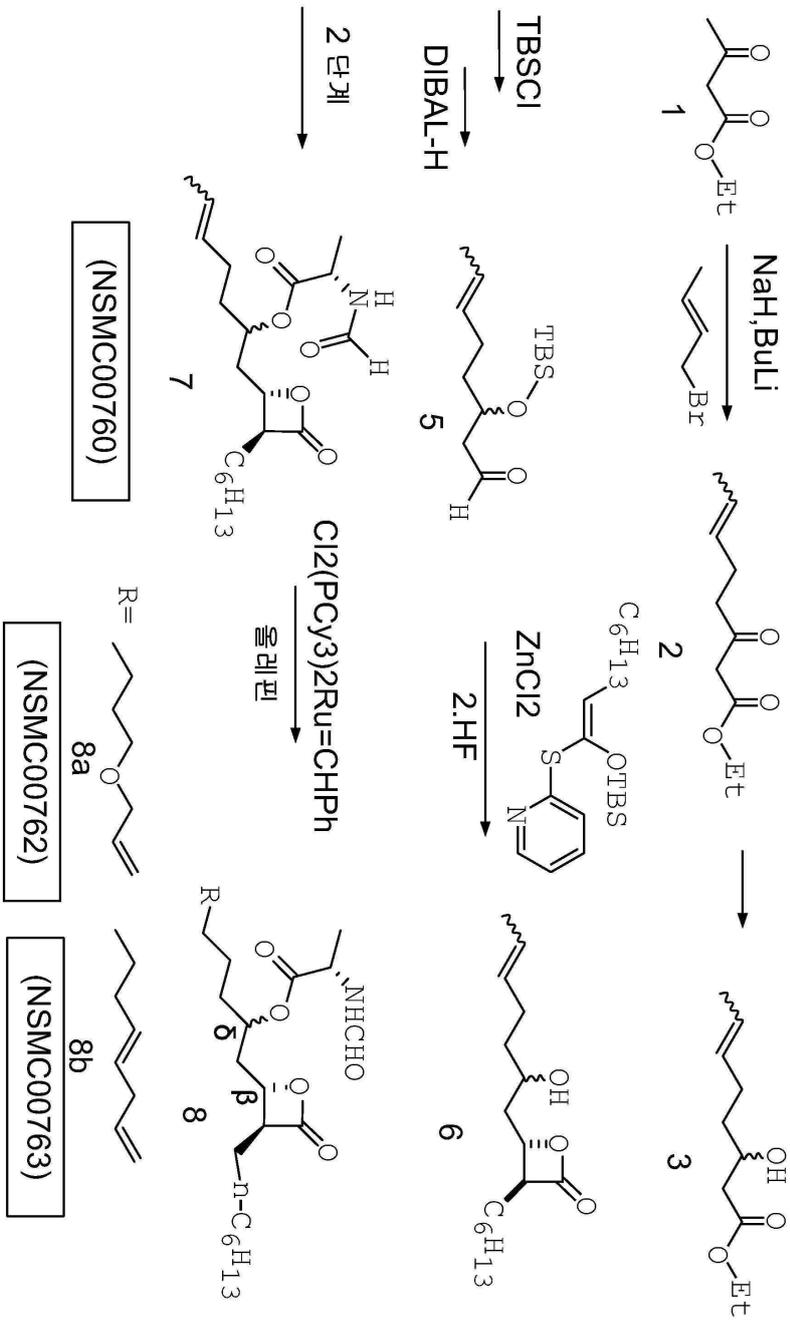
도면11



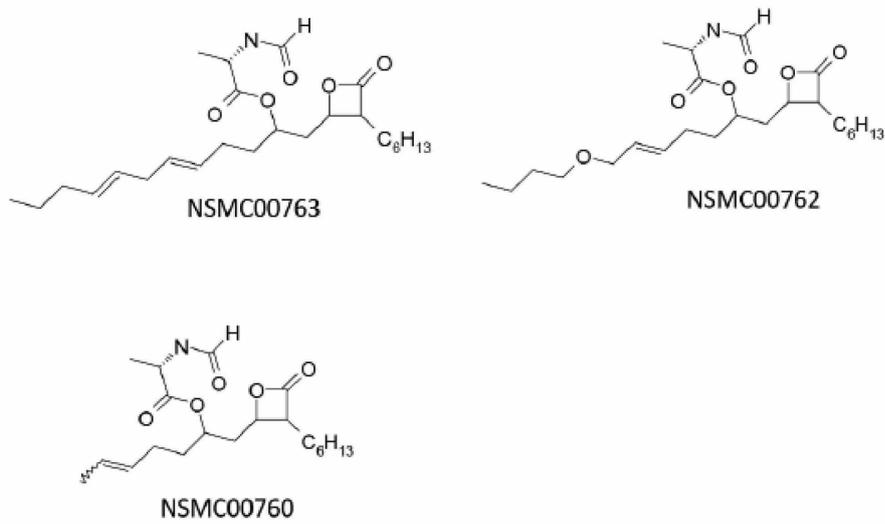
도면12



도면13

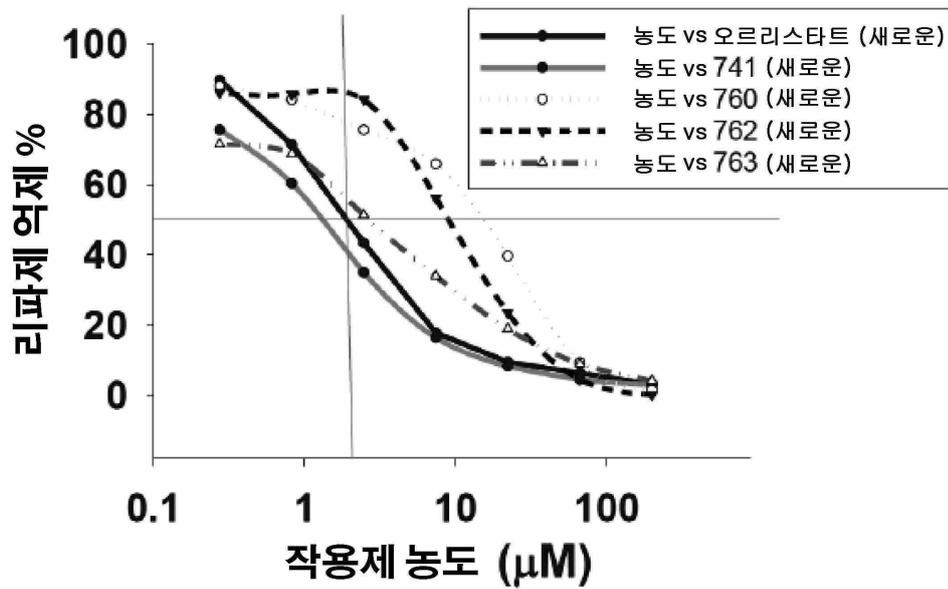


도면14

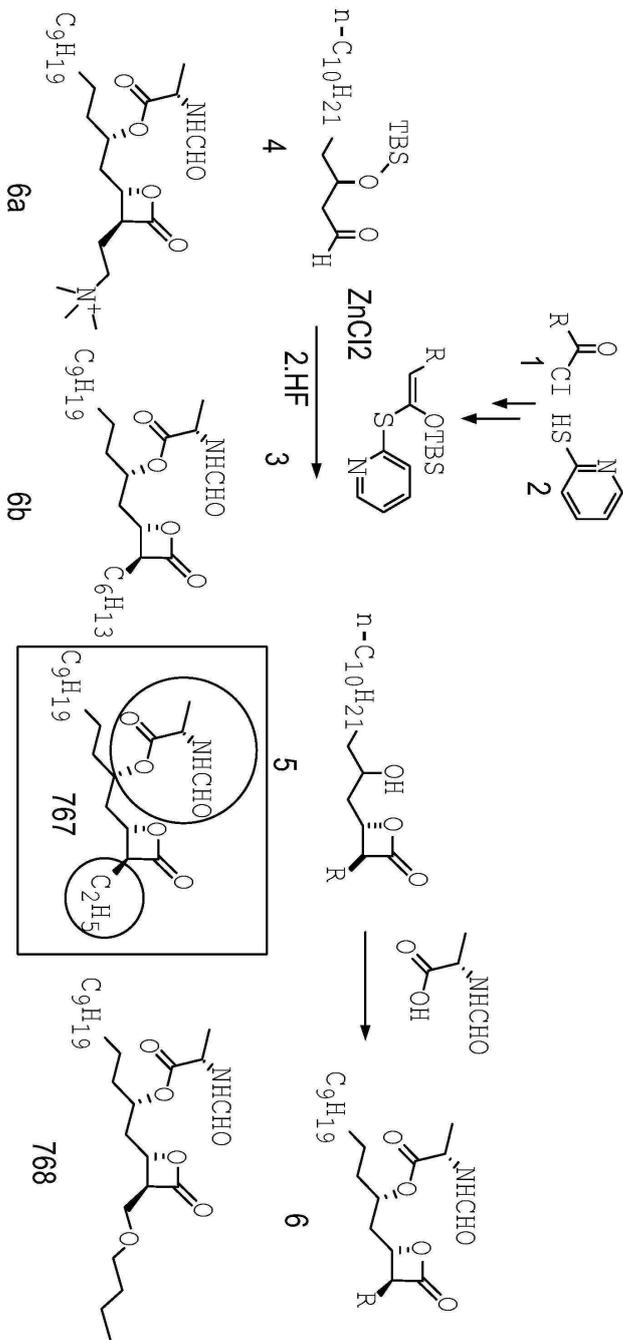


도면15

### 741의 $\beta$ -사슬 변형에 의한 리파제 억제



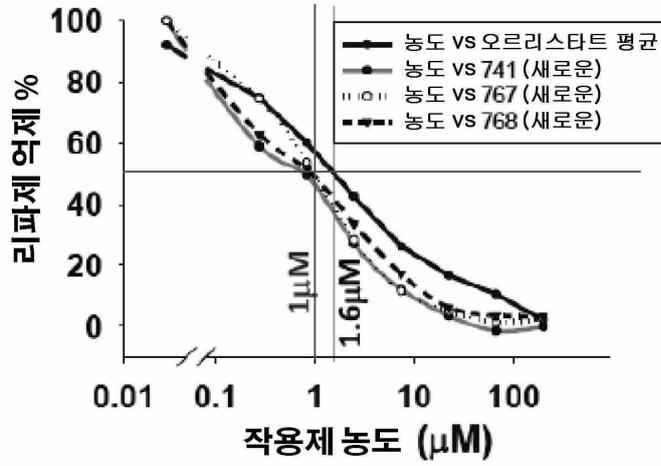
도면16



NSMCO0741

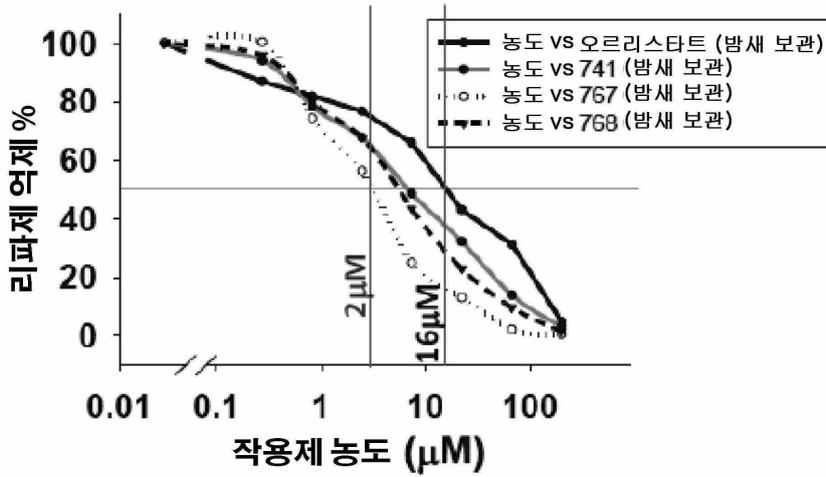
도면17a

741(새로운)의  $\alpha$ -사슬 변형에 의한  
리파제 억제

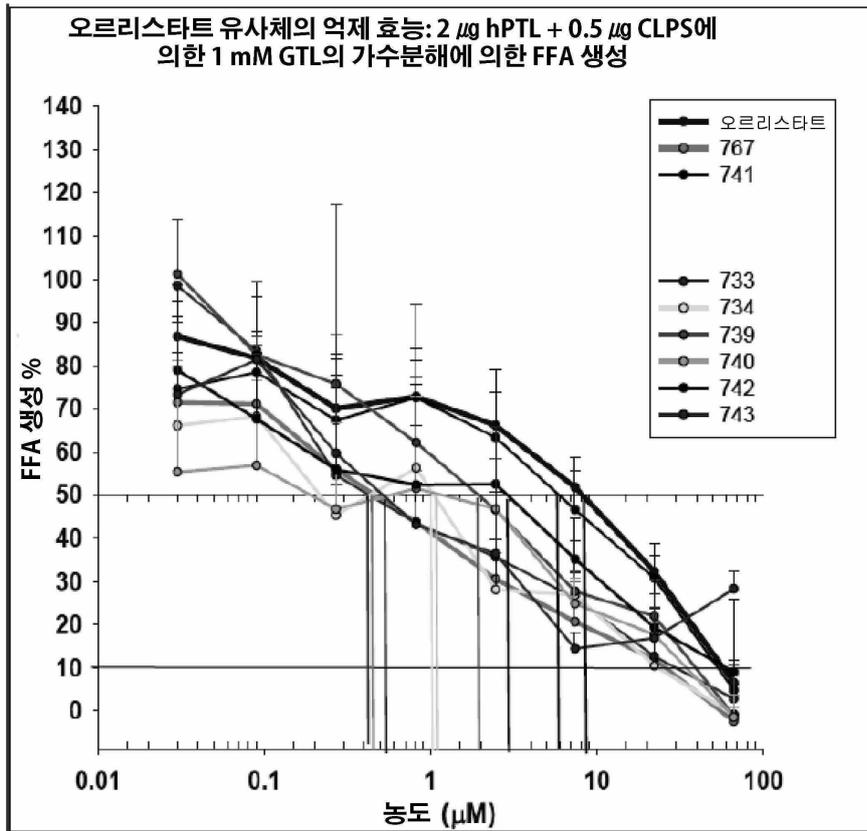


도면17b

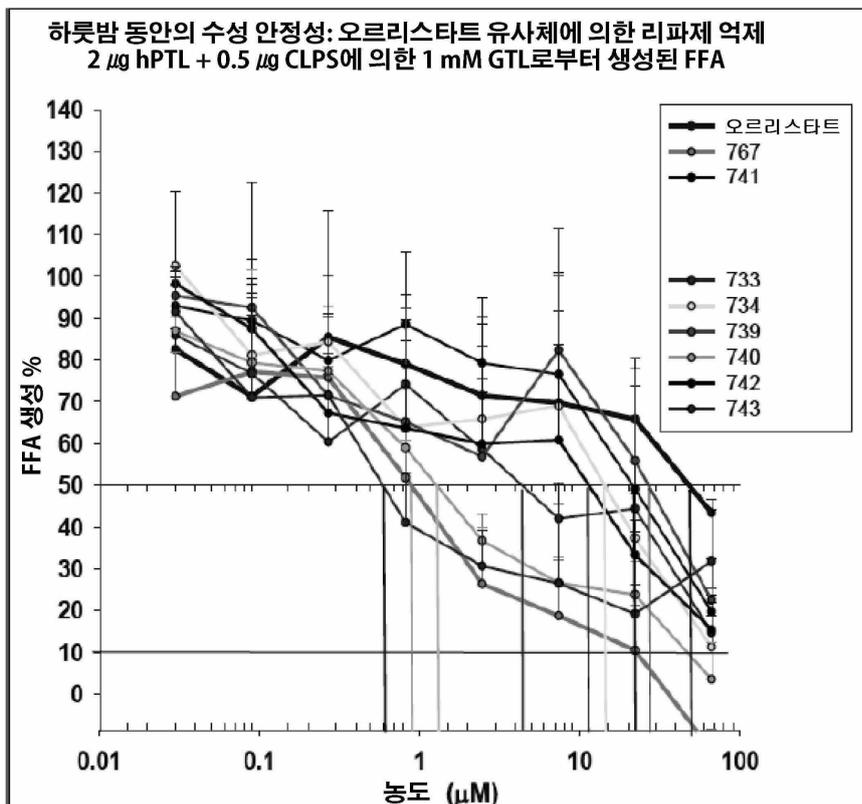
741(밤새 보관)의  $\alpha$ -사슬 변형에 의한  
리파제 억제



도면18a



도면18b

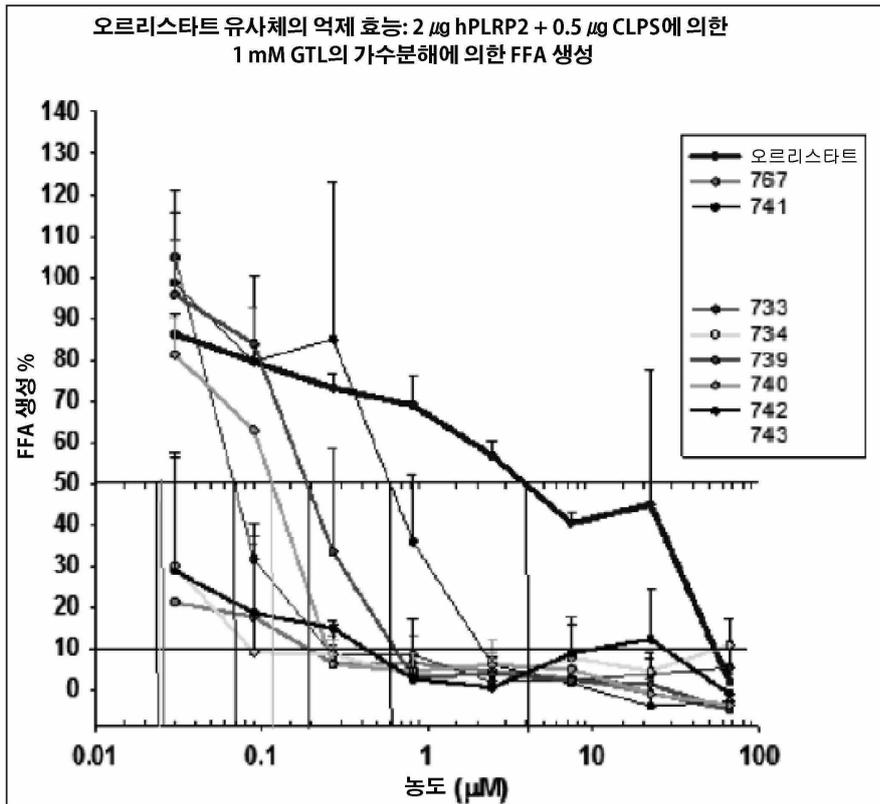


도면19

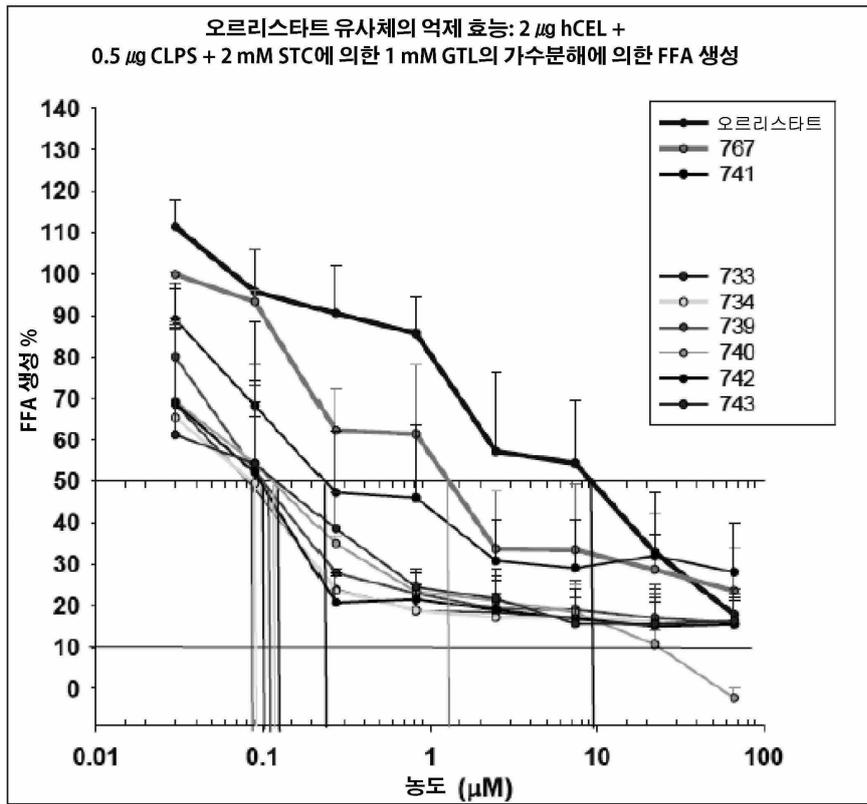
대조군 세엽에 대한 ATP의 감소 %										
용량 (uM)	오르리스타트	767	743	742	741	740	739	734	733	762
200	9.14	4.24	57.37	38.66	3.04	9.30	10.87	23.43	17.48	10.11
66.6	3.02	-9.59	51.86	0.10	4.60	-9.08	-0.24	5.45	10.80	6.92
22.2	1.66	-13.61	30.21	5.33	1.03	-6.36	0.11	4.56	8.31	6.54
7.4	3.48	-6.32	4.72	9.30	-2.40	-0.40	2.39	8.15	6.50	4.13

대조군(19.6%)에 대한 4시간에 걸친 LDH 누출 증가										
용량 (uM)	오르리스타트	767	743	742	741	740	739	734	733	762
200	13.35	10.97	70.92	34.52	-7.81	-12.02	7.81	8.39	-6.35	-5.94
66.6	10.81	-2.72	60.33	-8.76	-7.54	-14.47	-4.38	-14.16	-13.99	-9.33
22.2	11.02	0.48	26.74	9.28	-4.66	-15.61	7.50	-9.15	-6.38	-3.73
7.4	1.88	2.57	-2.46	19.06	-1.88	-5.78	30.60	1.25	1.88	0.88

도면20a



도면20b



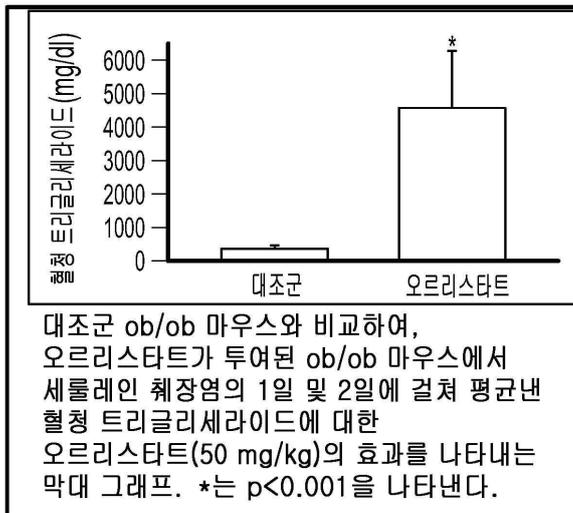
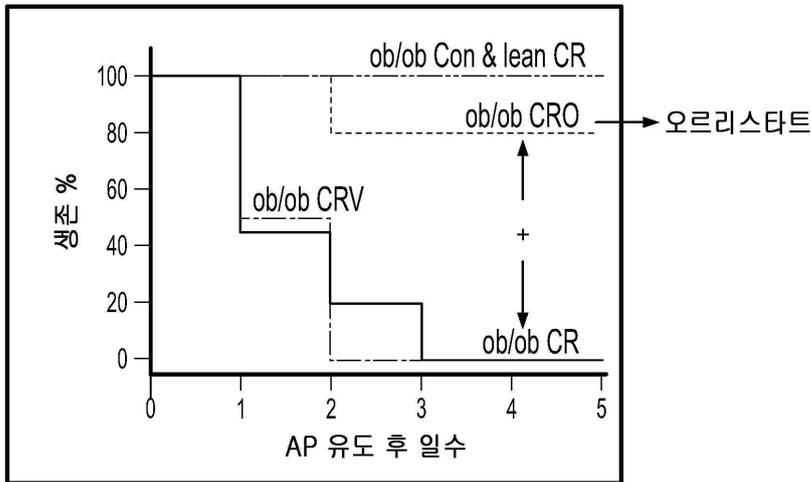
도면21

작용제	hPTLIC50 μM (새로운)	hPTLIC50 μM (밤새 보관)	hPLRP2 IC50 μM	hCEL IC50 μM	20x IC50에서의 LDH 누출	20x IC50에서의 ATP 감소
733	0.5	5.5(11x)	0.07	0.1	1.9%	8.3%
*767*	0.55	1.1(2x)	<0.03	1.5	0.5%	0%
740	0.7	1.05(2x)	0.15	0.1	0% ??	0%
734	1	11(11x)	<0.03	0.1	0% ??	4.5%
739	2	38(19x)	0.3	0.1	8%	0%
741	7	35(5x)	0.7	0.35	0% (??)	3%
오르리스타트	9	60(7x)	5	10	13.3%	9%

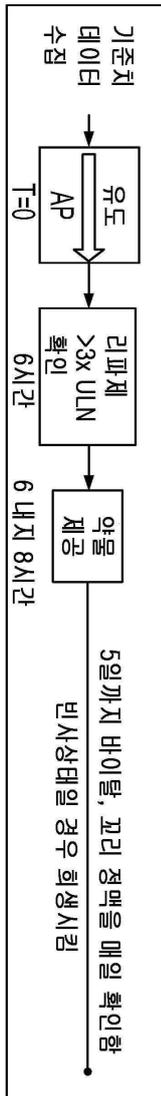
도면22

50 mg/kg/용량, BID, 및 2일에 걸쳐 투여되는 경우, 오르리스타트는 중증  
 췌장염에서 사망률을 저감하는 데 80%의 효능을 갖는다.  
 췌장염이 시작된 지 2시간 후 제1 용량이 제공되었다.

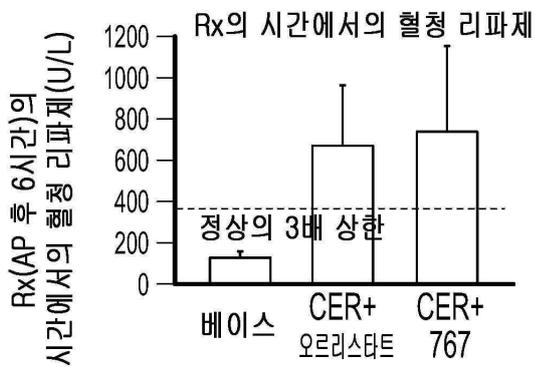
이 스케줄에서 오르리스타트의 사용은 고중성지방혈증에 의해 복잡해진다.



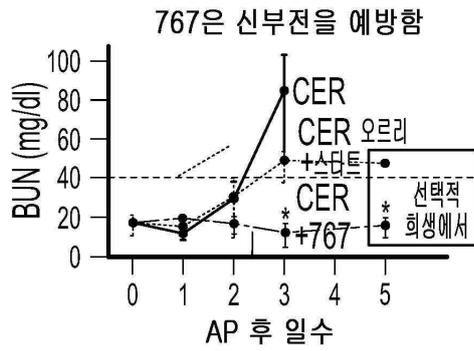
도면23a



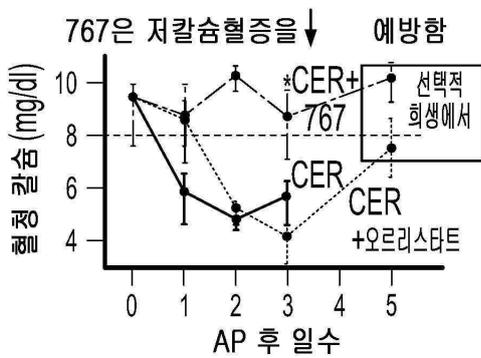
도면23b



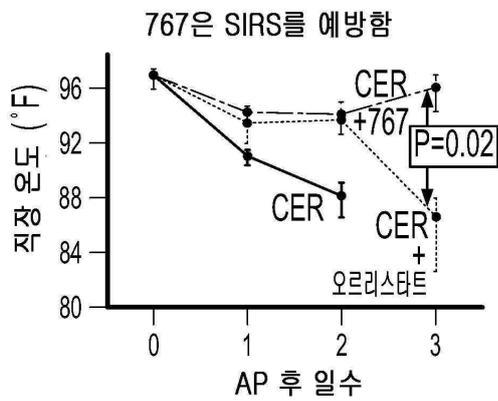
도면23c



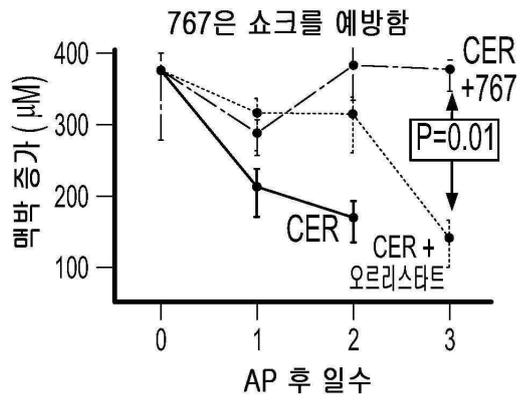
도면23d



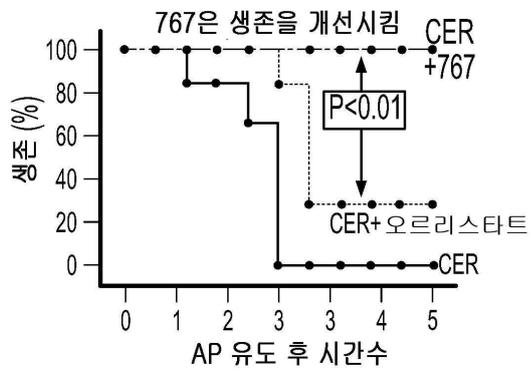
도면23e



도면23f



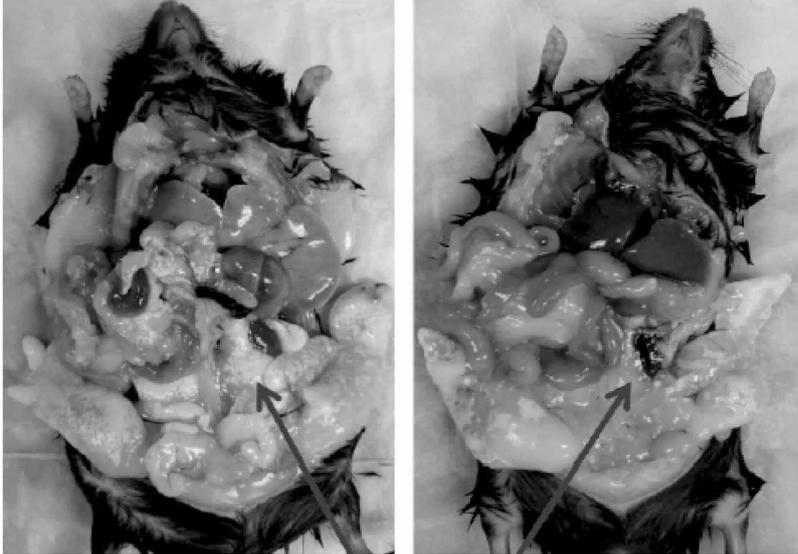
도면23g



도면24

오르리스타트 20 mg/kg IP X 10이  
제공된 마우스(54시간 후 사망)

작용제 767 20 mg/kg IP X 10이  
제공된 마우스(120시간 후 희생됨)



오르리스타트 처리된 마우스에서의 훨씬 더  
광범위한 지방 괴사를 표시함

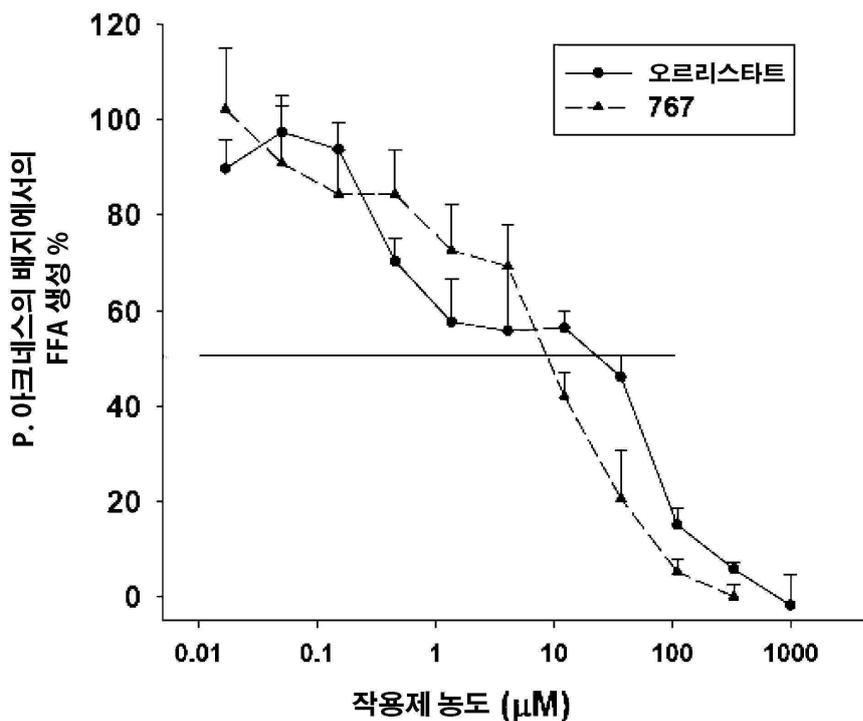
도면25

파라미터	오르리스타트	767	
효과적인 투여 스케줄	2/일 x 3일 - 반복 투여	단일 투여	
투여량	50mg/kg/투여량	20 mg/kg	
24시간 동안 수성 환경에서의 안정성	불안정함 - 새로운 제제가 필요함	안정함	
비이클	<ul style="list-style-type: none"> <li>리포솜 - 해로운가?</li> <li>포스포리파제는 인지질을 절단함 → 지방독성 지방산</li> <li>TG 에멀션</li> <li>사이클로덱스트린은 효과적이지 않음</li> </ul>	0.3% 에탄올. 767은 자체 미셀을 만듦	
합병증	고중성지방혈증 > 5000	트리글리세라이드 <500.	
사망률	고반복 투여에서 20%, 20 mg/kg 에서 71%(5/7)	5일에서 0%(0/8)	
S I R S  M S O F	WBC 수 < 4000/mm <sup>3</sup>	4/7	0/8
	저체온증(온도 < 93°F)	7/7	0/8
	쇼크 (맥박 증가 <50%)	7/7	0/8
	신부전 (BUN > 40 mg/dl)	7/7	0/8

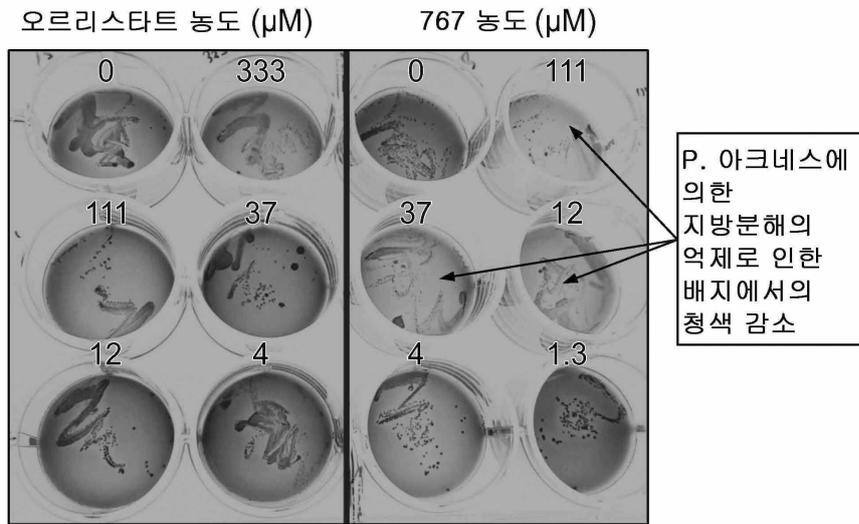
SIRS: 전신 염증 반응 증후군

MSOF: 다발성 장기 부전

도면26



도면27



혐기 조건 하에서 6일 동안 성장한 P. 아크네스를 포함하는 스피릿 블루 한천의 색상

도면28

600  $\mu\text{M}$  GTL과 함께 배양된 세엽 세포로부터의 LDH 누출을 저감하는 데 있어서의 10  $\mu\text{M}$  작용제의 효능

