

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(51) Int. Cl. ⁷ A61K 38/12 C07K 7/06		(45) 공고일자 (11) 등록번호 (24) 등록일자	2000년07월 15일 10-0261898 2000년04월24일
(21) 출원번호	10-1993-0012550	(65) 공개번호	특 1994-0001900
(22) 출원일자	1993년07월05일	(43) 공개일자	1994년02월 16일
(30) 우선권주장	909,367 1992년07월06일 미국(US) 022,024 1993년02월24일 미국(US)		
(73) 특허권자	메르크 파텐트 게엠베하 플레믹 크리스티안 독일 64293 다름스타트 프랑크푸르터 스트라세 250		
(72) 발명자	알프레트존치크 독일연방공화국 데-6100 다름스타트프랑크푸르터 스트라세 250 귄터힐젠펜만 독일연방공화국 데-6100 다름스타트프랑크푸르터 스트라세 250 브룬힐데펠딩-하베르만 독일연방공화국 데-6100 다름스타트프랑크푸르터 스트라세 250 귀도멜저 독일연방공화국 데-6100 다름스타트프랑크푸르터 스트라세 250 베아테디펜바흐 독일연방공화국 데-6100 다름스타트프랑크푸르터 스트라세 250 데이비드에이. 체리쉬 독일연방공화국 데-6100 다름스타트프랑크푸르터 스트라세 250 호르스트케슬러 독일연방공화국 데-6100 다름스타트프랑크푸르터 스트라세 250 마리온구르라트 독일연방공화국 데-6100 다름스타트프랑크푸르터 스트라세 250 게르하르트뮐러 독일연방공화국 데-6100 다름스타트프랑크푸르터 스트라세 250		
(74) 대리인	김창세, 장성구		

심사관 : 조명선

(54) 환상유착 억제제

요약

적어도 하나의 하기 식(1a) 내지 (1r)의 사이클로펜타이드 또는 그의 염을 포함하는 약학 조성물은 세포 유착 억제제로서 유용하다;

- I (a) 사이클로(-Arg-Gly-Asp-D-Phe-Val-Ala);
 (b) 사이클로(-Arg-Gly-Asp-D-Phe-Leu-Ala);
 (c) 사이클로(-Arg-Gly-Asp-Phe-Val-D-Ala);
 (d) 사이클로(-Arg-Gly-Asp-Phe-Leu-D-Ala);
 (e) 사이클로(-Arg-Gly-Asp-D-Phe-Val-Gly);
 (f) 사이클로(-Arg-Gly-Asp-D-Phe-Leu-Gly);
 (g) 사이클로(-D-Arg-Gly-Asp-Phe-Val-Ala);
 (h) 사이클로(-D-Arg-Gly-Asp-Phe-Val-Gly);
 (i) 사이클로(-Arg-Gly-Asp-Phe-Pro-Gly);
 (j) 사이클로(-Arg-Gly-Asp-Phe-D-Pro-Gly);
 (k) 사이클로(-Arg-Gly-Asp-Phe-Pro-Ala);
 (l) 사이클로(-Arg-Gly-Asp-Phe-D-Pro-Ala);
 (m) 사이클로(-Arg-Gly-Asp-Phe-Val);
 (n) 사이클로(-Arg-D-Ala-Asp-Phe-Val);
 (o) 사이클로(-Arg-Gly-Asp-D-Phe-Val);
 (p) 사이클로(-Arg-Ala-Asp-D-Phe-Val);
 (q) 사이클로(-Arg-Gly-Asp-Phe-D-Val);
 (r) 사이클로(-Arg-Gly-D-Asp-Phe-Val).

명세서

[발명의 명칭]

환상 유착 억제제

[발명의 상세한 설명]

본 발명은 하기 식(Ia) 내지 (Ir)의 사이클로펩타이드 및 그의 생리학적으로 상용가능한 산 부가염을 기본으로 하는 신규한 약학 조성물에 관한 것이다:

- I (a) 사이클로(-Arg-Gly-Asp-D-Phe-Val-Ala);
 (b) 사이클로(-Arg-Gly-Asp-D-Phe-Leu-Ala);
 (c) 사이클로(-Arg-Gly-Asp-Phe-Val-D-Ala);
 (d) 사이클로(-Arg-Gly-Asp-Phe-Leu-D-Ala);
 (e) 사이클로(-Arg-Gly-Asp-D-Phe-Val-Gly);
 (f) 사이클로(-Arg-Gly-Asp-D-Phe-Leu-Gly);
 (g) 사이클로(-D-Arg-Gly-Asp-Phe-Val-Ala);
 (h) 사이클로(-D-Arg-Gly-Asp-Phe-Val-Gly);
 (i) 사이클로(-Arg-Gly-Asp-Phe-Pro-Gly);
 (j) 사이클로(-Arg-Gly-Asp-Phe-D-Pro-Gly);
 (k) 사이클로(-Arg-Gly-Asp-Phe-Pro-Ala);
 (l) 사이클로(-Arg-Gly-Asp-Phe-D-Pro-Ala);
 (m) 사이클로(-D-Arg-Gly-Asp-Phe-Val);
 (n) 사이클로(-Arg-D-Ala-Asp-Phe-Val);
 (o) 사이클로(-Arg-Gly-Asp-D-Phe-Val);
 (p) 사이클로(-Arg-Ala-Asp-D-Phe-Val);
 (q) 사이클로(-Arg-Gly-Asp-Phe-D-Val);
 (r) 사이클로(-Arg-Gly-D-Asp-Phe-Val).

상기 및 하기에 나타난 아미노산 라디칼의 약자들은 하기 아미노산 라디칼을 의미한다:

Ala 알라닌
 Arg 아르기닌
 Asp 아스파르트산
 Gly 글리신
 His 히스티딘
 Leu 류신
 Phe 페닐알라닌
 Pro 프롤린
 Val 발린.

또한, 다음 약자들은 하기 의미를 갖는다:

BOC 3급-부톡시카보닐
 CBZ 벤질옥시카보닐
 DCCI 디사이클로헥실카보디이미드
 DMF 디메틸포름아미드
 FAB 고속 원자 충격
 HOBt 1-하이드록시벤조트리아졸
 M⁺ 물이온 피이크
 OMe 메톡시

식(1a) 내지 (1r)의 화합물 및 그의 생리학적으로 상용가능한 산 부가염은 공지되어 있다. 이들은 문헌 [FEBS Lett. 291, 50-54(1991)]에 기술되어 있으며, 상기 문헌의 전체 개시 내용을 본원에 참고로 인용한다. 상기 문헌에는, 그의 제조방법 뿐 아니라 그의 배위 분석이 기술되어 있다.

β_3 인테그린(integrin) 수용체 리간드 상호작용을 특이적으로 억제하는 화합물("유착 수용체 길항물질", "ARA")은 골다공증, 혈전증, 심근경색, 동맥경화, 염증, 종중, 협심증 및 종양의 치료에 치료제로 사용할 수 있다. 또한, 상기 화합물은 파골세포를 형성하는 경우에 세포 유착을 억제하며, 혈관형성 및 상처의 치료를 촉진하는 약제로서 적합하다.

본 발명의 목적은 전술한 목적으로 보다 우수한 약제를 제공하기 위해 β_3 인테그린 피브리노겐 결합을 차단할 수 있는 상기 ARA를 찾는 것이었다.

따라서, 본 발명의 한 태양의 목적은 약제로 사용할 수 있는 신규한 약학 조성물을 제공하는 것이다. 또 다른 목적에는 약학 활성을 수행하는 방법이 포함된다.

명세서 및 첨부한 청구범위를 더욱 연구하면, 본 발명의 또다른 목적 및 잇점이 당해분야에 숙련된 자에게 명백해질 것이다.

놀랍게도, 일반식(1a) 내지 (1r)의 화합물 및 그의 생리학적으로 상용가능한 산 부가염은 앞에서 상기 화합물들에 대해 언급하지 않은 상기 유착 수용체 길항물질 성질을 갖는 것으로 밝혀졌다.

상기 효과는 제이.더블유.스미스(J.W. Smith), 지.엠. 루거리(Z.M. Ruggeri), 티.제이. 쿠닉키(T.J. Kunicki) 및 디.에이. 체리쉬(D.A. Cheresch)의 문헌[J.Biol. Chem. 265, 12 267-12 271(1990)]에 기술된 방법을 사용하여 밝혀내었다.

상기 방법의 상세한 내용은 다음과 같다:

96 웰의 미처리한 편평한 바닥의 플레이트에 도포 완충액중의 $1\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 수용체 ($\alpha_{\text{IIb}\beta_3}$; $\alpha_{\text{v}\beta_3}$) $4100\mu\text{l}/\text{well}$ 을 도포하고 4°C , 진탕기에서 밤새 항온처리하였다. 플레이트를 결합 완충액으로 1회 세척한 후 30°C 에서 차단 완충액($100\mu\text{l}/\text{well}$)으로 2시간동안 차단시켰다. 결합 완충액으로 더 세척한 후, 비오틴화 리간드 및 경쟁자를 가하였다.

리간드 피브리노겐은 $1\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 최종 농도로 사용하였다. 경쟁자는 농도를 증가시키면서 가하였다. 리간드 및 경쟁자는 둘다 결합 완충액으로 희석시킨 최종 농도의 2배 농도에서 $50\mu\text{l}/\text{well}$ 의 부피로 가하였다.

플레이트를 덮고 30°C 에서 3시간동안 항온처리하였다. 미결합 물질을 제거하기 위해 플레이트를 결합 완충액($100\mu\text{l}/\text{well}$)으로 3회 세척하였다.

결합 완충액중의 양 항 비오틴 항체 알칼리 포스파타제 결합체(1:2000 희석율)를 가하고($100\mu\text{l}/\text{well}$) 플레

이트를 30℃에서 1시간동안 배양하였다.

플레이트를 결합 완충액으로 3회 세척하고, 기질 용액을 가한 후 실온에서 암실에서 1 내지 5 분간 전개시켰다.

100 μ l/웰의 0.4 M NaOH를 가하여 반응을 중단시키고 405 nm에서 ELISA 판독기로 판독하였다.

모든 판독점은 3조로 실행하였다. 하기의 IC50 값을 획득하였다:

화합물	IC50(μ M)	
	α m β 3	α v β 3
사이클로(-Arg-Gly-Asp-D-Phe-Val-Ala)	0.32	0.90
사이클로(-Arg-Gly-Asp-D-Phe-Leu-Ala)	0.76	1.10
사이클로(-Arg-Gly-Asp-Phe-Val-D-Ala)	1.50	0.25
사이클로(-Arg-Gly-Asp-Phe-Leu-D-Ala)	0.76	0.31
사이클로(-Arg-Gly-Asp-D-Phe-Val-Gly)	0.13	0.62
사이클로(-Arg-Gly-Asp-D-Phe-Leu-Gly)	0.06	0.54
사이클로(-D-Arg-Gly-Asp-Phe-Val-Ala)	22.00	4.50
사이클로(-D-Arg-Gly-Asp-Phe-Val-Gly)	20.50	1.52
사이클로(-Arg-Gly-Asp-Phe-Pro-Gly)	1.53	0.16
사이클로(-Arg-Gly-Asp-Phe-D-Pro-Gly)	1.50	1.06
사이클로(-Arg-Gly-Asp-Phe-Pro-Ala)	0.62	0.48
사이클로(-Arg-Gly-Asp-Phe-D-Pro-Ala)	0.74	0.37
사이클로(-D-Arg-Gly-Asp-Phe-Val)		
사이클로(-Arg-D-Ala-Asp-Phe-Val)	>100	52.00
사이클로(-Arg-Gly-D-Asp-Phe-Val)		
사이클로(-Arg-Gly-Asp-D-Phe-Val)	0.60	<0.05
사이클로(-Arg-Ala-Asp-D-Phe-Val)	>100	0.77
사이클로(-Arg-Gly-Asp-Phe-D-Val)	0.30	0.05

본 발명은 또한 특히 비-화학적 수단에 의한 약학 제형의 제조에 있어 일반식(1) 화합물 및 그의 생리학적 용도로 허용되는 염의 용도에 관한 것이다. 상기 목적으로, 이들 화합물 및 염은 적어도 하나의 고체, 액체 및/또는 반-액체 비히클 또는 보조제와 함께 및 경우에 따라, 하나이상의 기타 활성 화합물과 함께 적합한 투여형으로 전환시킬 수 있다.

본 발명은 또한 적어도 하나의 일반식(1)의 화합물 및/또는 그의 생리학적으로 허용되는 염중 하나를 함유하는 약제, 특히 약학 제형에 관한 것이다.

이들 제형은 인간 또는 척추동물 의료분야에 약제로 사용할 수 있다. 적합한 비히클은 장내(예를 들면, 경구), 비경구 또는 국소 투여에 적합하고 신규한 화합물과 반응하지 않는 유기 또는 무기 물질, 예를 들면, 물, 식물성 오일, 벤질 알콜, 알킬렌 글리콜, 폴리에틸렌글리콜, 글리세롤 트리아세테이트, 젤라틴, 탄수화물(예: 락토즈 또는 전분), 마그네슘 스테아레이트, 활석 및 바셀린이다. 정제, 환제, 피복정, 캡슐, 분말, 과립, 시럽, 주스 또는 적제를 특히 경구 투여에 사용하여, 좌약을 특히 직장내 투여에 사용하고, 용액, 바람직하게는 유성 용액 또는 수용액, 또한 현탁액, 유화액 또는 삼입물을 특히 비경구 투여에 사용하고, 연고, 크림 또는 분말을 특히 국소 투여에 사용한다. 상기 신규한 화합물을 또한 동결-건조하여 생성된 동결 건조물을 예를 들면 주사용 제품의 제조에 사용할 수 있다. 언급한 제형은 멸균되고/되거나 보조제, 예를 들면 윤활제, 방부제, 안정화제 및/또는 습윤제, 유화제, 삼투압을 변화시키기 위한 염, 완충 물질, 색소, 향료 및/또는 방향족 물질을 함유할 수 있다. 경우에 따라, 이들은 또한 하나이상의 기타 활성 화합물, 예를 들면 하나 이상의 비타민을 함유할 수 있다.

상기 화합물은 인간 및 척추동물 의료분야에서, 특히 혈전증, 심근 경색, 협심증, 졸중 및 중양, 즉 암질환의 치료에 약학적 활성 화합물로서 사용할 수 있다.

본 발명은 또한 질환을 극복하기 위한 일반식(1) 화합물의 용도, 및 특히 인간 또는 동물 신체의 치료에 있어서의 그의 용도에 관한 것이다. 특히, 이들은 예를 들면 혈-세포 및 종양-세포의 응집을 억제하기에 유용한 세포 유착 억제제이다. 따라서, 상기 화합물들을 동물 세포, 예를 들면 포유동물의 체세포 또는 암세포에서의 유착을 억제하는데 사용할 수 있다.

본 발명에 따른 물질은 대체적으로 다른 공지된 상업적으로 시판하는 펩타이드와 유사하게, 특히는 미합중국 특허 제 4,472,305 호에 기술된 화합물과 유사하게, 바람직하게는 투여 단위당 약 0.05 내지 500, 특히 0.5 내지 100mg의 투여량으로 투여한다. 일일 투여량은 약 0.01 내지 2mg/체중kg이 바람직하다. 그러나, 각각의 의도한 환자에 대한 특정 용량은 많은 상이한 요인, 예를 들면 사용된 특정 화합물의 활성도, 연령, 체중, 일반 건강 상태, 성별, 규정식, 투여 시간 및 경로, 및 분비율, 약학적 조합 및 치료법이 적용될 특정 질환의 중증도에 따라 달라진다. 비경구 투여가 바람직하다.

더 고찰할 필요없이, 당해분야에 숙련된 자라면 전술한 설명을 이용하여 본 발명을 최대한 응용할 수 있을 것으로 생각된다. 그러므로, 하기의 바람직한 특정 태양은 단지 예시하는 것이며 어떤 식으로도 나머지 개시내용을 제한하지 않는 것으로 이해해야 한다.

상기 및 하기 실시예에서, 모든 온도는 보정하지 않고 섭씨로 나타낸 것이며, 달리 언급하지 않는 한 모든 부와 %는 중량 기준이다.

상기 및 하기에 인용한 모든 출원, 특허 및 공보의 전체 개시내용은 본원에 참고로 인용된다.

[제조예]

2.0g의 BOC-Arg-Gly-Asp-D-Phe-Val-Ala-OMe를 60ml의 메탄올에 용해시키고, 1.5ml의 2N 수산화 나트륨 용액을 가한 후, 혼합물을 20°에서 3시간 동안 교반시킨다. 증발시킨 후에 잔사를 물에 용해시키고, 묽은 HCl을 사용해 pH3으로 산성화시키고, 에틸아세테이트로 추출한다. 추출물을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 다시 증발시킨 후, 수득된 BOC-Arg-Gly-Asp-D-Phe-Val-Ala-OH를 디옥산중의 2N HCl 20ml와 함께 20°에서 2시간 동안 교반시킨다. 혼합물을 증발시키고, 수득된 H-Arg-Gly-Asp-D-Phe-Val-Ala-OH를 디클로로메탄 1800ml와 DMF 200ml의 혼합물에 용해시킨 후, 0℃로 냉각시키고, 0.5g의 DCCl, 0.3g의 HOBt 및 0.23ml의 N-메틸모르폴린을 교반하에 연속적으로 가하고, 혼합물을 0°에서 24시간 및 20°에서 48시간 동안 더 교반시킨다. 용액을 농축시키고 혼합층이온 교환기로 처리하여 염을 제거한다. 이어서, 상기 생성물을 여과시키고, 용액을 증발시킨 후, 잔사를 크로마토그래피로 정제한다. 사이클로(-Arg-Gly-Asp-D-Phe-Val-Ala) M + :646(FAB)이 수득된다.

다음을 유사하게 수득한다:

사이클로(-Arg-Gly-Asp-D-Phe-Leu-Ala); M⁺: 660;

사이클로(-Arg-Gly-Asp-Phe-Val-D-Ala); M⁺: 646;

사이클로(-Arg-Gly-Asp-Phe-Leu-D-Ala); M⁺: 660;

사이클로(-Arg-Gly-Asp-D-Phe-Val-Gly); M⁺: 632;

사이클로(-Arg-Gly-Asp-D-Phe-Leu-Gly); M⁺: 645;

사이클로(-D-Arg-Gly-Asp-Phe-Val-Ala); M⁺: 646;

사이클로(-D-Arg-Gly-Asp-Phe-Val-Gly); M⁺: 632

사이클로(-Arg-Gly-Asp-Phe-Pro-Gly); M⁺: 630;

사이클로(-Arg-Gly-Asp-Phe-D-Pro-Gly); M⁺: 630;

사이클로(-Arg-Gly-Asp-Phe-Pro-Ala); M⁺: 644;

사이클로(-Arg-Gly-Asp-Phe-D-Pro-Ala); M⁺: 644;

사이클로(-D-Arg-Gly-Asp-Phe-Val); M⁺: 575;

사이클로(-Arg-D-Ala-Asp-Phe-Val); M⁺: 589;

사이클로(-Arg-Gly-Asp-D-Phe-Val); M⁺: 575;

사이클로(-Arg-Ala-Asp-D-Phe-Val); M⁺: 589;

사이클로(-Arg-Gly-Asp-Phe-D-Val); M⁺: 575;

사이클로(-Arg-Gly-D-Asp-Phe-Val); M⁺: 575.

하기 실시예는 일반식(I)의 화합물 또는 그의 산 부가염을 함유하는 약학 제형에 관한 것이다.

[실시예 A: 정제]

사이클로(-Arg-Gly-Asp-D-Phe-Val-Ala) 1kg, 락토즈 10kg, 미정질 셀룰로즈 6kg, 감자 전분 6kg, 폴리비닐피롤리돈 1kg, 활석 0.8kg 및 마그네슘 스테아레이트 0.1kg의 혼합물을 각 정제가 10mg의 활성 화합물을 함유하도록 하는 통상적인 방법으로 타정한다.

[실시예 B: 피복정]

실시예 A와 유사하게 타정하고, 슈크로즈, 감자 전분, 활석, 트라가칸트 및 착색 물질을 피복시키는 통상적인 방법으로 연속하여 피복한다.

[실시예 C: 캡슐]

각 캡슐이 5mg의 활성 화합물을 함유하도록 통상적인 방식으로 경질 젤라틴 캡슐에 사이클로(-Arg-Gly-Asp-D-Phe-Val-Ala)을 충전시킨다.

[실시예 D: 앰플]

1,2-프로판디올 30ℓ 중의 사이클로(-Arg-Gly-Asp-D-Phe-Val-Gly) 1kg의 용액을 멸균 여과시키고, 앰플에 용액을 충전시킨 후 멸균 밀봉한다. 각 앰플은 2mg의 활성 화합물을 함유한다.

[실시예 E: 연고]

500mg의 사이클로(-Arg-Gly-Asp-D-Phe-Leu-Gly)을 무균 조건하에서 99.5g의 바셀린과 혼합한다.

[실시예 F: 주사용 바이알]

2차 증류수 3ℓ 중의 사이클로(-Arg-Gly-Asp-D-Phe-Leu-Gly) 100g 및 인산수소 이나트륨 5g의 용액을 2N 염산을 사용하여 pH 6.5로 조종하고, 멸균 여과시키고, 주사용 바이알에 충전시킨 후 멸균 조건하에 동결 건조시키고, 바이알을 멸균방식으로 밀폐시킨다. 각 주사용 바이알은 5mg의 활성 화합물을 함유한다.

일반식(Ia) 내지 (Iq)의 기타 활성 화합물중 하나 및/또는 그의 생리학적으로 허용되는 산 부가염을 함유하는 약학 제형을 유사하게 수득할 수 있다.

일반적으로 또는 구체적으로 기술한 반응물을 치환시키고/시키거나 본 발명의 조건을 전술한 실시예에서 사용된 조건에 대해 작동시킴으로써 전술한 실시예를 유사하고 성공적으로 반복할 수 있다.

전술한 설명으로부터, 당해분야에 숙련된 자라면 본 발명의 본질적인 특징을 쉽게 확인할 수 있으며, 본 발명의 진의 및 범주를 벗어나지 않고 본 발명을 다양하게 변형 및 수정하여 다양한 용도 및 조건에 응용할 수 있을 것이다.

(57) 청구의 범위

청구항 1

사이클로(-Arg-Gly-Asp-D-Phe-Val)의 사이클로펩타이드 또는 그의 생리학적으로 허용되는 염, 및 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 β_3 인테그린 수용체를 억제하기 위한 약학 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 0.05 내지 500mg의 상기 사이클로펩타이드를 함유하는 약학 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 0.5 내지 100mg의 상기 사이클로펩타이드를 함유하는 약학 조성물.