



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2010-0082358
(43) 공개일자 2010년07월16일

(51) Int. Cl.

C07D 491/22 (2006.01) A61K 31/4375 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2010-7011223

(22) 출원일자(국제출원일자) 2008년10월24일
심사청구일자 없음

(85) 번역문제출일자 2010년05월24일

(86) 국제출원번호 PCT/US2008/081047

(87) 국제공개번호 WO 2009/055633
국제공개일자 2009년04월30일

(30) 우선권주장

11/923,727 2007년10월25일 미국(US)

(71) 출원인

더 크리스터스 스텔린 파운데이션 포 캔서 리서치
미국 77002 텍사스주 휴스턴 슈트 1818 세인트 조
제프 파크웨이 1315

(72) 별명자

카오, 지송

미국 77546 텍사스주 프렌즈우드 어펌드 웨이
16123

(74) 대리인

양영준, 양영환

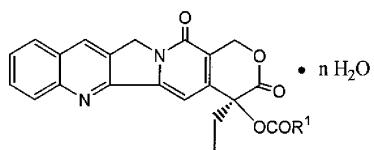
전체 청구항 수 : 총 19 항

(54) 암 치료를 위한 캄프토테신의 수화된 결정질 에스테르

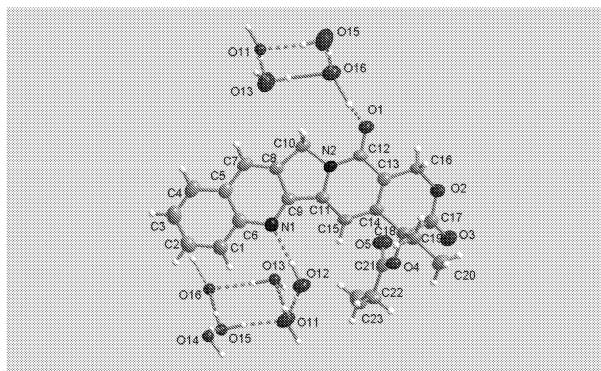
(57) 요약

수화된 결정질 캄프토테신 에스테르, 예컨대 캄프토테신의 결정질 지방족 에스테르 수화물, 캄프토테신의 결정질 지방족 에스테르 수화물을 함유하는 제약 조성물, 결정질 캄프토테신 에스테르 수화물을 사용한 암 또는 악성 종양의 치료 방법, 및 결정질 캄프토테신 에스테르 수화물의 제조 방법이 기재되어 있다.

<화학식 I>



대 표 도 - 도1

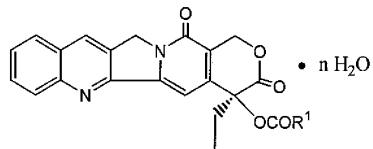
C₂₃H₂₀N₂O₅·3H₂O의 분자 구조

특허청구의 범위

청구항 1

하기 화학식 I의 결정질 캄프토테신 수화물.

<화학식 I>



상기 식에서, n은 1 내지 10 범위의 수를 포함하고, R¹은 C₂-C₆ 알킬기이다.

청구항 2

제1항에 있어서, R¹이 선형 C₂-C₄ 알킬기인 결정질 캄프토테신 수화물.

청구항 3

제1항에 있어서, R¹이 에틸인 결정질 캄프토테신 수화물.

청구항 4

제3항에 있어서, 약 240°C 내지 약 243°C의 융점을 갖는 결정질 캄프토테신 수화물.

청구항 5

제3항에 있어서, 약 242°C의 융점을 갖는 결정질 캄프토테신 수화물.

청구항 6

제1항에 있어서, 약 99% 내지 약 100%의 순도를 갖는 결정질 캄프토테신 수화물.

청구항 7

제1항에 있어서, n이 1 내지 3 범위의 수를 포함하는 것인 결정질 캄프토테신 수화물.

청구항 8

유효량의 제1항의 결정질 캄프토테신 수화물을 포함하는 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 환자에서 상기 조성물에 대해 반응성인 암 또는 악성 종양을 치료하는 방법.

청구항 9

제8항에 있어서, R¹이 에틸인 방법.

청구항 10

제8항에 있어서, 상기 암이 백혈병, 흑색종, 간암, 유방암, 난소암, 전립선암, 위암, 방광암, 결합조직형성 소원형세포 종양 (DSRCT), 췌장암, 폐암, 신장암, 결장암 또는 중추 신경계의 암인 방법.

청구항 11

제10항에 있어서, R¹이 에틸인 방법.

청구항 12

제8항에 있어서, 결정질 캄프토테신 수화물을 정맥내, 근육내 또는 경피 투여하는 방법.

청구항 13

제8항에 있어서, 결정질 캄프토테신 수화물을 경구 투여하는 방법.

청구항 14

유효량의 제1항의 결정질 캄프토테신 수화물 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 조성물.

청구항 15

제14항에 있어서, 담체가 지질 또는 지질-유사 유화제인 제약 조성물.

청구항 16

제1항에 있어서, 2,000 mg/kg을 최대 허용 용량으로 사용시 종양 이종이식편을 갖는 누드 마우스에게 결정질 캄프토테신 수화물을 투여하여 결정된 치료 지수가 2 내지 500인 결정질 캄프토테신 수화물.

청구항 17

제16항에 있어서, 상기 치료 지수가 10 내지 100인 결정질 캄프토테신 수화물.

청구항 18

제1항에 있어서, (0.10 내지 0.50) x (0.01 내지 0.10) x (0.01 내지 0.05) μm^3 의 크기 및 100 내지 5000 \AA^3 의 부피를 갖는 단사정계를 갖는 결정질 캄프토테신 수화물.

청구항 19

제18항에 있어서, 결정질 캄프토테신-20-프로페오네이트 수화물인 결정질 캄프토테신 수화물.

명세서**기술 분야**

[0001]

본원은 2007년 10월 25일에 출원된 전 미국 특허 출원 제11/923,727호의 35 U.S.C. § 120 하의 이익을 주장하며, 상기 출원은 그 전문이 본원에 참고로 도입된다.

[0002]

본 발명은 캄프토테신의 에스테르, 및 암, 악성 종양 등의 치료를 위한 캄프토테신의 에스테르의 사용에 관한 것이다.

배경 기술

[0003]

화학요법 과정 도중 섭취된 항암 약물의 결과로서 환자가 앓는 독성 (또는 부작용)은 여전히 암 치료와 관련된 가장 큰 장애이다. 항암제의 치료 지수 (TI)는 최대 허용 용량 대 유효 용량의 비율로서 정의된다. 오늘날 임상적으로 사용되는 대부분의 항암제는 매우 좁은 TI 범위 (1 내지 1.2)를 갖는 것으로 공지되어 있다. 다시 말해서, 화학요법을 받는 환자에서 대부분의 항암제의 독성 효과는 항암제와 관련된 좁은 치료 지수 때문에 유효 용량 수준에서 불가피하다. 약제 간의 독성 차이는 중증도의 등급 및 고통의 유형이다. 플루오로우라실 (5-FU)은 위장관, 유방, 두부 및 경부에서 발생한 암을 갖는 환자의 전신적이고 완화적인 치료를 위해 가장 흔히 사용되는 화학요법제 중 하나이다. 디히드로파리미딘 데히드로게나제 (DPD)는 5-FU의 이화작용에서 초기 및 속도-제한 효소이다. DPD 결핍은 점점 더 중증 5-FU 관련 독성의 병인에서 중요한 약물유전학 장애로서 인식되고 있다. DPD를 코딩하는 유전자의 돌연변이체 대립유전자에 대해 유전학적으로 이형접합성 또는 동형접합성인 암 환자는 5-FU의 투여 후 사망을 포함하는 중증 독성을 앓는 것으로 보고되었다. 문헌 [Van Kuilenburg ABP, Haasjes J, Richel DJ et al. Clinical implications of dihydropyrimidinedehydrogenase (DPD) deficiency in patients with severe 5-fluorouracil-associated toxicity: identification of new mutations in the DPD gene. Clinical Cancer Res 2000, 6: 4705-4712]. 문헌 [Van Kuilenburg ABP, Muller EW, Haasjes J et al.

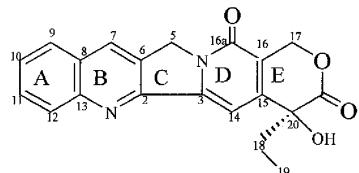
Lethal outcome of a complete dihydroprimidine dehydrogenase (DPD) deficiency after administration of 5-florouracil: frequency of the common IVS14+1G> A mutation causing DPD deficiency. Clin Cancer Res 2001, 7: 1149-1153]. 백금제가 또한 치료를 위해 일반적으로 사용된다. 상당량의 문헌에는 백금 화합물의 부작용을 기록되어 있다. 시스플라틴은 여러 독성을 갖는다: 신장독성, 신경독성, 이독성, 오심 및 구토. 문헌 [DeVita VT, Hellman S, and Rosenberg SA. Cancer, Principles and Practice of Oncology, 7th Ed, Lippincott Williams & Wilkins 2005, 335]. 시스플라틴의 신장독성은 크비트코비 및 그의 동료들이 공격적인 수분공급을 도입하기 전까지 시스플라틴을 거의 포기하게 하였으며, 공격적인 수분공급은 급성 신부전의 발병을 예방하였다. 문헌 [Cvitkovic E, Spaulding J, Bethune V, et al. Improvement of cis-dichlorodiamineplatinum (NSC 119875): therapeutic index in an animal model. Cancer 1977, 39, 1357]. 문헌 [Hayes D, Cvitkovic E, Golbey R, et al. High dose cis-platinum diamine dichloride: amelioration of renal toxicity by mannitol diuresis. Cancer 1977, 39, 1372]. 시스플라틴의 독성은 덜 독성인 유사체 및 그의 부작용에 대한 더 효과적인 치료에 대한 연구 역사에서 구동력인 것으로 일부 고려되었다. 시스플라틴에서는 통상적으로 중증이 아닌 골수억제가 카보플라틴의 용량-제한 독성이다. 문헌 [Evens B, Raju K, Calvert A, et al. Phase II study of JM8, a new platinum analogue, in advanced ovarian carcinoma. Cancer Treat. Rep., 67, 997, 1983]. 옥살리플라틴의 용량-제한 독성은 감각 신경병증 (모든 DACH-함유 백금 유도체의 특징)이다. 문헌 [DeVita VT, Hellman S, and Rosenberg SA. Cancer, Principles and Practice of Oncology, 7th Ed, Lippincott Williams & Wilkins 2005, 335]. 알킬화제가 또한 암 치료에서 중요한 역할을 한다. 각 알킬화제는 특정 독성과 관련되어 있고, 개별적으로 논의되지 않는다. 하기 독성은 부류로서 알킬화제에서 일반적이다: 조혈 독성, 위장 독성, 생식선 독성, 폐 독성, 탈모증, 최기형성, 암형성 및 면역억제. 문헌 [DeVita VT, Hellman S, and Rosenberg SA. Cancer, Principles and Practice of Oncology, 7th Ed, Lippincott Williams & Wilkins 2005, 335]. 알킬화제에 대한 통상적인 용량-제한 독성은 조혈 독성이다. 토포아이소미라제-상호작용제는 그의 독특한 작용 메카니즘으로 인해 임상 종양학자들의 관심을 점점 더 받게 되었다. 토포테칸은 천연 10-히드록시캄프토테신으로부터의 반합성 생성물이고, 진행성 난치성 난소암 및 소세포 폐암의 이차 선택 치료에 적응증이 있고, 또한 골수형성이상 증후군 및 다발성 골수종을 포함하는 혈액 악성종양의 치료에 유효하다. 문헌 [Huinink W, Gore M, Carmichael J, et al. Topotecan versus paclitaxol for the treatment of recurrent epithelial ovarian cancer. J Clin Oncol 1997, 15, 2183]; [Schiller JH, Adak S, Cella D, et al. Topotecan versus observation after cisplatin plus etoposide in extensive-stage small-cell lung cancer: E7593-a phase II trial od the Eastern Cooperative Oncology Group. J Clin Oncol 2001, 19, 2114]; [von Pawel J, Schiller JH, Shepherd FA, et al. Topotecan versus cyclophosphamide, doxorubicin, and vincristine for the treatment of recurrent small-cell lung cancer. J Clin Oncol 1999, 17, 658], [Pizzolato JF, Saltz LB. The camptothecins. Lancet 2003, 361, 2235]. 이 약제의 용량-제한 독성은 골수억제이다. 토포테칸은 임상 시험에서 방사선, 시스플라틴, 파클리탁솔 및 독소루비신을 포함하는 다양한 다른 치료제와 조합되었으나, 이를 조합 중 어떠한 것도 임상 종양학에서 상용을 달성하지 못하였다. 이는 부분적으로는 다른 골수억제제와 고용량으로 조합하는 것을 어렵게 하는 토포테칸의 빈번한 골수억제 독성으로 인한 것일 수 있다. 문헌 [Miller AA, Lilienbaum RC, Lynch TJ, et al. Treatment-related fatal sepsis from topotecan/cisplatin and topotecan/paclitaxol. J Clin Oncol 1996, 14, 1964]. 이리노테칸은 또한 캄프토데신 군으로부터의 반합성 생성물이다. 이 화합물은 결장직장암을 갖는 환자의 치료에서 단일 약제로서 또는 플루오로우라실 및 류코보린과 조합하여 지시되고, 또한 시스플라틴과 조합하여 제공시 소세포 폐암에서 유효한 것으로 밝혀졌다. 이 조합은 비소세포 폐암에서도 유효한 것으로 밝혀졌다. 문헌 [Saltz LB, Cox JV, Blanke C, et al. Irinotecan plus fluorouracil and leucovorin for metastatic colorectal cancer. Irinotecan study group. N Engl J Med 2002, 343, 905]; [Douillard JY, Cunningham D, Roth AD, et al. Irinotecan combined with fluorouracil compared with fluorouracil alone as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: a multicenter randomized trial. Lancet 2000, 355, 1041]; [Pizzolato JF, Saltz LB. The camptothecins. Lancet 2003, 361, 2235]. 이리노테칸의 용량-제한 독성은 호중구 감소증 및 지연-개시 설사이고, 그러므로 임상 종양학에서 그의 사용이 또한 제한된다. 최근 시판되는 얼비툭스 및 아바스틴을 포함하는 모든 다른 기타 항암제는 제한된 수의 특정 치료에서 사용될 수 있으나, 또한 독성과 관련되어 있다. 그러므로, 치료에 대한 더 넓은 치료 지수를 갖는 더 좋은 약제를 발견하는 것이 암 연구자 및 임상 종양학자에게 여전히 큰 과제이다.

[0004] 월(Wall) 및 그의 동료들 (문헌 [J. Am. Chem. Soc. 88, 3888, 1966])에 의해 캄프토데카 아쿠미나타

(*Camptotheca Acuminata*) (니사과(*Nyssaceae*))의 목질 및 목피로부터 최초로 단리된 세포독성 알칼로이드인 캄프토테신은 마우스 백혈병 L 1210계에 대한 항종양 활성을 갖는 것으로 나타났다. 일반적으로 발생하는 인돌 알칼로이드기를 갖는 알칼로이드인 캄프토테신의 구조 (문헌 [Heckendorf et al., J Org. Chem. 41, 2045, 1976])는 하기 화학식 X와 같이 나타난다.

[0005]

<화학식 X>



[0006]

[0007]

이 화합물 ("CPT")은 20(S)-배위를 갖는 고리 E에 오직 1개의 비대칭 중심을 갖는 펜타시클릭 고리계를 갖는다. 펜타시클릭 고리계는 피롤로[3,4-b]퀴놀린 잔기 (고리 A, B 및 C), 공액 피리돈 (고리 D) 및 α -히드록실기를 갖는 6원 락톤 (고리 E)을 포함한다. 캄프토테신은 마우스 백혈병 L 1210계에서 그의 주목할 만한 활성으로 인해 초기 단리때부터 매우 큰 관심 대상이었다. 캄프토테신의 항종양 활성에 대한 초기 데이터는 실험적으로 이식된 악성종양, 예컨대 마우스에서 백혈병 L 1210 또는 래트에서 위커(Walker) 256 종양을 사용함으로써 수득되었다 (문헌 [Chem. Rev. 23, 385, 1973, Cancer Treat. Rep. 60, 1007, 1967]). 후속적인 임상 연구는, 이 화합물이 그의 높은 독성으로 인해 생체내에서 항암제로서 사용될 수 없다는 것을 보여주었다. 캄프토테신 그 자체는 물에 불용성이다. 그러므로, 캄프토테신은 초기에 수용성 나트륨 카르복실레이트 염으로서 임상적으로 평가되었다. 이러한 형태의 캄프토테신은 심각한 독성을 생성하였으며, 항암 활성이 결여된 것으로 보였다 (문헌 [Gottlieb et al., Cancer Chemother. Rep. 54, 461, 1970, 및 동 56, 103, 1972], [Muggia et al., Cancer Chemother. Rep. 56, 515, 1972], [Moertel et al., Cancer Chemother. Rep. 56, 95, 1972] 및 [Schaeppi et al., Cancer Chemother. Rep. 5:25, 1974]). 이러한 결과는 II 상 시험의 중단을 야기시켰다. 이 약제의 계속된 평가는 나트륨 카르복실레이트 염이 폐쇄된 락톤 고리를 갖는 손상되지 않은 친연 캄프토테신의 단지 10% 만큼 효능이 있다는 것을 보여주었다 (문헌 [Wall et al., In International Symposium on Biochemistry And Physiology of The Alkaloids, Mothes et al., eds., Academie - Verlag, Berlin, 77, 1969], [Giovanella et al., Cancer res. 51, 3052, 1991]). 또한, 캄프토테신 군의 항종양 활성에 대한 중요한 파라미터가 확립되었다 (문헌 [Wall et al., Ann. Rev., Pharmacol. Toxicol. 17, 117, 1977]). 이러한 결과는 손상되지 않은 락톤 고리 E 및 α -히드록실기가 항종양 활성에 필수적이라는 것을 나타낸다.

[0008]

1980년대 중반에, 캄프토테신의 분자 표적이 신규 핵 효소 토포아이소머라제 I이었음이 밝혀졌다. 문헌 [Hsiang YH, Liu LF. Identification of mammalian DNA topoisomerase I as an intracellular target of anticancer drug camptothecin. Cancer Res 1988, 48, 1722]. 거의 동시에, 더 먼저 논의된 2종의 화합물 (토포테칸 및 이리노테칸)을 포함하는 여러 새로운 수용성 캄프토테신 유도체가 제조되었고, 생물학적으로 평가되었다. 2종의 화합물의 후속적인 임상 평가는 예측가능한 독성 및 의미있는 항암 활성을 입증하였다. 문헌 [Takimoto CH, Arbuck SG. Topoisomerase I targeting agents: the camptothecins. In: Chabner BA, Longo DL, eds., Cancer therapy & biotherapy: principles and practice, 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins 2001, 579]. 토포테칸은 1996년에 진행성 난소암에 대한 이차 선택 치료제로서 승인되었고, 이후 난치성 소세포 폐암을 갖는 환자의 치료에 대한 적응증을 얻었다. 이와 동시에, 이리노테칸은 5-플루오로우라실-난치성 진행성 결장직장암의 치료에 대해 등록되었다. 이는 실제로 최초의 새로운 약제가 미국에서 거의 40년 내에 이 질병의 치료에 대해 승인되었음을 나타내었다.

[0009]

1989년에 지오바넬라(Giovanella) 등은 캄프토테신의 수불용성 유도체의 일부가 인간 종양의 이종이식편에 대해 높은 항종양 활성을 갖는다는 것을 발견하였다 (문헌 [Giovanella et al., Science, 246, 1046, 1989]). 또한, 폐쇄된 락톤 고리를 갖는 캄프토테신의 투여가 수용성 카르복실레이트 염의 주사보다 우수한 것으로 나타났다 (문헌 [Giovanella et al., Cancer Res., 51, 3052, 1991]). 이러한 발견으로 생물학적 활성에 대한 손상되지 않은 락톤 고리의 중요성이 추가로 확인되었다.

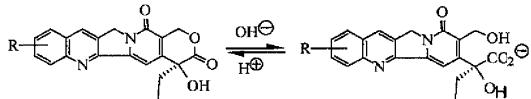
[0010]

20(S)-캄프토테신의 개환은 인간에서보다 마우스에서 훨씬 더 강력한 항암 활성을 야기시킨다. 효과에 있어서, 근육내 ("i.m."), 피하 ("s.c.") 및 위내 ("i.s.") 투여된 CPT가 마우스에서 인간 종양 (즉, 누드 마우스에서 이종이식물로서 성장할 경우)에 대해 매우 강력한 항암제인 것으로 입증되었다 (문헌 [Giovanella et al., Cancer Res. 51:3052, 1991]). 그러나, 종양이 인간에서 CPT로 처리된 경우, 마우스에서보다 인간에서 더 낮은

정도의 항암 활성이 나타났다 (문헌 [Stehlin et al., In Camptothecins: New Anticancer Agents, 1995, CRC Press, pp. 59-65]).

[0011] 동일한 현상이 다른 CPT-유도체에서 관찰되었다. 마우스에서, 9-니트로캄프토테신 ("9NC")은 인간 종양 이종이 식편에 대해 CPT보다 2 내지 3배 더 강력하기 때문에 처리된 모든 인간 악성종양을 완전히 박멸시키는 것으로 입증되었다 (문헌 [Pantazis et al., Cancer Res. 53:1577, 1993]; [Pantazis et al., Int. J. Cancer 53:863, 1995]).

[0012] 개환은, 캄프토테신이 2개의 별개의 형태로 존재한다는 점에서 특히 문제이다. 천연 캄프토테신은 S-배위를 갖고, R-이성질체보다 10 내지 100배 더 생물학적으로 활성이다. S-배위 락톤 형태는 항종양 활성에 필요한 것으로 생각되고, 카르복실레이트 형태는 통상적으로 임상 독성과 관련된다. 분자는 수용액에서 평형으로 존재한다. 이 평형은 pH-의존적이다. 생리학적 pH, 즉 7 이상에서 평형식은 다음과 같다:

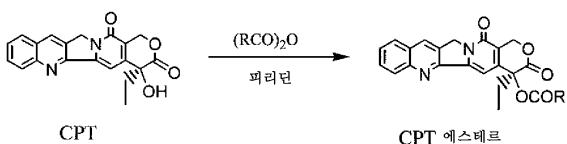


[0013]

[0014] 더 높은 pH에서 캄프토테신의 생물학적 활성인 락톤 고리와 물의 가수분해 반응은 생물학적으로 불활성인 개방 형태를 제공한다. 또한, CPT 및 그의 유사체에서 가수분해 문제는, 우세한 인간 혈청 알부민 (HSA)이 카르복실레이트 형태에 우세하게 결합하여 락톤/카르복실레이트 평형 상태를 불활성 형태로 이동시키기 때문에, 인간 혈액에서 악화된다 (문헌 [J. Biochem., 212, 285-287, 1993]; [Biochemistry, 33, 10325-10336, 1994]; [Biochemistry, 33, 12540-12545, 1994]). 따라서, 종양 세포가 S-기를 통해 순환하기에 충분한 시간 동안 분자의 락톤 고리를 보호하는 것이 중요한 과제이며, 상당량의 연구의 초점이었다.

[0015] 더 큰 생물학적 활성 및 향상된 안정성을 갖는 캄프토테신의 유도체를 제공하기 위해 많은 시도가 이루어졌다. 많은 이러한 화합물은 분자의 A, B 및 C 고리 상의 변화의 산물이지만, 이들 변화 중 소수만이 생리학적 조건하에 락톤 고리의 안정성을 향상시켰다. 다른 접근법이 보다 성공적이었다. 예를 들어, 20-OH기의 아실화는 락톤 고리 E의 보호에 유용한 도구를 제공한다. 월(Wall) 등의 미국 특허 제4,943,579호에는 수용성을 갖는 여러 아실화된 캄프토테신 화합물이 기재되어 있으나, 락تون이 생리학적 조건하에 손상되지 않은 상태로 잔류할 수 없다. 카오(Cao) 등의 미국 특허 제5,968,943호에는 효과적인 항종양제인 CPT-유도체가 개시되어 있다.

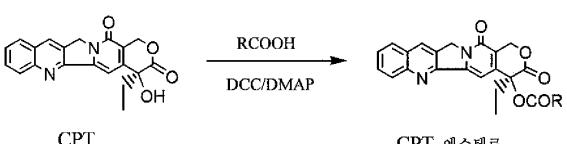
[0016] 캄프토테신 에스테르의 제조를 위한 많은 상이한 반응들이 문헌에 보고되어 있다.



[0017]

[0018] 촉매로서 피리딘을 사용하여 캄프토테신을 유기산 무수물로 직접 아실화시키는 것을 이용하여, 알킬 및 알케닐 캄프토테신 에스테르를 제조하였다 (상기 나타낸 바와 같음). 이러한 반응은 통상적으로 높은 수율을 제공하지만, 유기산 무수물의 이용가능성이 반응의 범위를 제한한다.

[0019] 그러므로, 디시클로헥실카르보디이미드 (DCC)/디메틸아미노피리딘 (DMAP) 시약계를 카르복실산과 알코올 및 티올의 아실화 반응에 사용하였다. 종래에는, 방법을 사용하여 방향족 캄프토테신 에스테르를 제조하였다 (하기 나타낸 바와 같음).

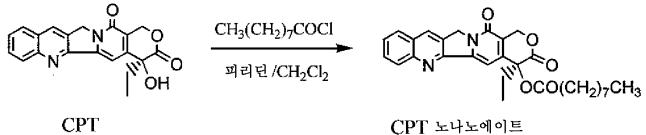


[0020]

[0021] 그러나, 이러한 방법은 카르복실산이 매우 친전자성일 경우에만 양호한 반응 수율을 제공한다. 산이 덜 친전자성일 경우, 반응은 낮은 수율을 제공하거나, 예상 생성물을 전혀 제공하지 않는다. 예를 들어, 프로피온산을 사용하여 이러한 방법으로 캄프토테신 프로페오네이트를 제조할 경우, 에스테르 생성물이 본질적으로 수득되지 않고, 출발 캄프토테신이 거의 100% 회수되었다.

[0022]

또한, 노난산 클로라이드를 아실화제로 사용하여, 메틸렌 클로라이드에서 HCl-포획제로서 피리딘을 이용하여 캄프토테신을 에스테르화시켰다. 반응 (하기 나타낸 바와 같음)은 낮은 수율 (6%)로 일어났다.



[0023]

[0024]

캄프토테신의 타고난 구조적 특징은 암 연구자가 더 좋은 항암제를 수득하기 위해 구조를 변형하는 이상적인 기본 방침을 제공하기 때문에, 많은 상이한 캄프토테신 에스테르들이 합성되고 평가되었다. 에스테르화 생성물이 체내에서 분자의 생물학적 수명을 크게 증가시켰다는 것이 밝혀졌다. 또한, 합성 캄프토테신 에스테르에 의한 누드 마우스에서 이종이식편에서 성장된 인간 종양의 처리는 효과적이고 마우스에서의 독성은 최소임이 나타났다. 문현 [Cao, Z.; Pantazis, P.; Mendoza, J.; Early, J.; Kozielski, A.; Harris, N.; Vardeman, D.; Liehr, J.; Stehlin, J.; Giovanella, B. Ann. N.Y. Acad. Sci. 2000, 922, 122; Cao, Z.; Pantazis, P.; Mendoza, J.; Early, J.; Kozielski, A.; Harris, N.; Giovanella, B. Acta Pharmacologica Sinica 2003, 24, 109].

발명의 내용

해결하려는 과제

[0025]

캄프토테신 에스테르를 제조하기 위한 많은 방법이 있지만, 각각의 방법은 상기 논의된 바와 같은 특정 제한을 갖는다. 그러므로, 모 화합물인 CPT의 항종양 활성을 보유하고, CPT보다 훨씬 더 낮은 독성을 갖고, 캄프토테신 에스테르를 제조하기 위한 별법의 방법(들)에 의해 제조될 수 있는 캄프토테신 에스테르를 개발할 필요성이 여전히 존재한다.

과제의 해결 수단

[0026]

<발명의 요약>

[0027]

따라서, 본 발명의 한 특징은 항종양 활성의 넓은 스펙트럼을 나타내고 바람직하게는 낮은 독성을 나타내거나 관찰가능한 독성을 전혀 나타내지 않는 결정질 캄프토테신 에스테르 수화물을 제공하는 것이다.

[0028]

본 발명의 다른 특징은 현재 사용되는 대부분의 항암제보다 더 넓은 치료 지수 범위를 갖는 결정질 캄프토테신 에스테르 수화물을 제공하는 것이다.

[0029]

본 발명의 다른 특징은 결정질 캄프토테신 에스테르 수화물을 제조하기 위한 안전하고 간단한 방법을 제공하는 것이다.

[0030]

본 발명의 추가 특징은 모 화합물인 CPT와 같이 상당한 항종양 활성을 보유하고 모 화합물보다 훨씬 더 낮은 독성을 갖는 결정질 캄프토테신 에스테르 수화물을 제공하는 것이다.

[0031]

본 발명의 또 다른 특징은 살아있는 체내에서 양호한 흡수성을 보유하는 결정질 캄프토테신 에스테르 수화물을 제공하는 것이다.

[0032]

본원에서 구현되고 광범위하게 기재된 본 발명의 목적에 따라 및 특징을 달성하기 위해, 본 발명은 부분적으로는 결정질 캄프토테신 에스테르 수화물, 예컨대 캄프토테신의 결정질 지방족 에스테르 수화물, 예컨대 결정질 캄프토테신-20-O-프로파이오네이트 ("CZ48") 수화물, 캄프토테신의 결정질 지방족 에스테르 수화물을 포함하는 제약 조성물, 결정질 캄프토테신 에스테르 수화물을 사용하여 암 또는 악성 종양을 치료하는 방법, 및 1종 이상의 산에 의해 양성자화된 1종 이상의 아실화제와 캄프토테신 화합물을 반응시키는 것을 포함하는 수화된 결정질 캄프토테신 에스테르를 제조하는 방법에 관한 것이다.

[0033]

본 발명의 추가 특징 및 장점은 하기 기재에서 설명될 것이며, 일부분은 기재로부터 명백하거나, 본 발명의 실시에 의해 학습될 수 있다. 본 발명의 목적 및 다른 장점은 특히 기재 및 첨부된 청구항에서 지적된 요소 및 조합에 의해 실현되고 획득될 것이다.

[0034]

본원 전반에서 언급된 모든 특허, 출원 및 공보는 전문이 본원에 참고로 도입되며, 본원의 일부분을 형성한다.

[0035]

상기 일반적인 기재 및 하기 상세한 기재 모두 단지 예시적이고 설명하는 것이며, 청구된 바와 같은 본 발명의

추가 설명을 제공하려는 것으로 이해된다.

도면의 간단한 설명

[0036] 도 1은 생성물의 단일 분자의 ORTEP 다이어그램이다.

도 2는 워터 브릿지에 의해 함께 연결된 결정질 캄프토테신-20-O-프로페오네이트 수화물 두 분자를 나타내는 ORTEP 다이어그램이다.

도 3은 결정질 캄프토테신-20-O-프로페오네이트 수화물의 삼차원 구조 (a,b 평면)를 나타내는 ORTEP 다이어그램이다.

도 4는 결정질 캄프토테신-20-O-프로페오네이트 수화물의 삼차원 구조 (a,c 평면)를 나타내는 ORTEP 다이어그램이다.

도 5는 결정질 캄프토테신-20-O-프로페오네이트 수화물의 삼차원 구조 (b,c 평면)를 나타내는 ORTEP 다이어그램이다.

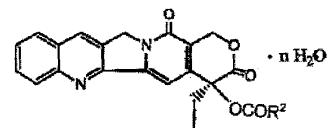
발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0037] <발명의 상세한 설명>

[0038] 캄프토테신 ("CPT")은 상당한 항종양 및 항암 활성을 갖지만, 이들 화합물은 표준 생리학적 조건하에서 분해되기 쉽고, 생성된 대사물은 종종 독성을 나타낸다. 실험실에서 수행된 인간 혈장에서의 캄프토테신의 대사 연구는 검출된 단 하나의 대사물이 독성이고 불활성인 개환 나트륨 카르복실레이트 염인 것을 나타내었다. 인간 혈장에서 CPT에 대한 약동학 측정은 손상되지 않은 락톤 고리를 갖는 약물의 반감기가 약 30분임을 나타낸다. 이들 결과는 약물이 환자가 이를 섭취 후 매우 짧은 시간 내에 그의 활성의 90%를 손실하고 많은 독성을 생성할 것이라는 것을 내포한다.

[0039] 본 발명에 따라, 더 지용성이고 수화된 결정질 에스테르 분자로 전환되는 CPT (이하 전구약물이라고 함)가 개시되어 있다. 환자에 의해 섭취되는 경우, 전구약물은 환자의 혈류에 신속하게 도입되고, 체내에서 모 화합물로 용이하게 전환된다. 전구약물 그 자체가 활성일 수 있고/거나 부분적으로 또는 완전히 전환될 수 있다는 것이 주목된다.

[0040] 다양한 실시양태에 따라, 본 발명의 화합물은 하기 화학식을 갖는 수화 형태의 CPT의 결정질 지방족 에스테르를 포함할 수 있다.

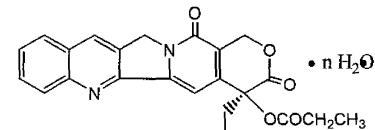


[0041]

[0042] 상기 식에서, n 은 1 내지 10 또는 그 이상의 범위의 임의의 수, 예컨대 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10을 나타낼 수 있다. R^2 는 C_2-C_6 알킬기, 예컨대 C_2-C_4 알킬기를 나타낸다. 하나 이상의 실시양태에서, R^2 는 $-\text{CH}_2\text{CH}_3$; $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$; $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ 또는 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ 이다. 하나 이상의 구체적인 실시양태로서, n 은 3을 나타내고, R^2 는 $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ 또는 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ 이다.

[0043]

하나 이상의 실시양태에 따라, 본 발명의 화합물은 하기 나타낸 화학식을 갖는 결정질 캄프토테신-20-O-프로페오네이트 수화물을 포함할 수 있다.



[0044]

[0045] 상기 화학식에서, n 은 1 내지 10의 범위의 임의의 수, 예컨대 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10을 나타낼 수 있다.

- [0046] 예로서, 결정질 캄프토테신-20-프로피오네이트 수화물의 구조는 단일 결정 X선 분석에 의해 결정되었고, 도 1 내지 5에 나타낸다. 도 1은 생성물의 단일 분자의 ORTEP 다이어그램을 나타낸다. 캄프토테신-20-0-프로피오네이트 분자 1개 및 물 분자 약 3개는 강한 수소 결합을 통해 함께 연결한다. 결정 단위 내의 캄프토테신-20-0-프로피오네이트 분자 1개 초과는 H_2O 분자로 구성된 브릿지를 통해 서로 연결될 수 있다. 도 2는 위터 브릿지에 의해 함께 연결된 캄프토테신-20-0-프로피오네이트 분자 2개를 나타낸다. 도 3 내지 5는 결정의 삼자원 구조를 나타낸다. 본 발명의 다른 CPT 에스테르는 에스테르-쇄 길이를 제외하고 동일한 구조를 가질 것이다.
- [0047] 본 발명의 전구약물은 액체 또는 고체 상태일 수 있다. 본 발명에 따라, 화합물은 결정질이다. 적어도 몇몇 실시양태에서, 본 발명의 화합물은 구성요소 원자, 분자 또는 이온이 모든 공간 세 방향으로 연장하는 규칙적으로 배열된 반복 패턴으로 패킹된 결정질 또는 고체일 수 있다. 결정은 $(0.10 \pm 0.50) \times (0.01 \pm 0.10) \times (0.01 \pm 0.05) \text{ mm}^3$ 의 크기, 및 100 내지 5000 \AA^3 의 부피, 예컨대 200 내지 4500 \AA^3 , 또는 500 내지 4000 \AA^3 , 또는 750 내지 3500 \AA^3 , 또는 1000 내지 3000 \AA^3 , 또는 1250 내지 2500 \AA^3 , 또는 1500 내지 2200 \AA^3 의 부피를 갖는 단사정계일 수 있다.
- [0048] 본원에서 사용되는 "결정질"은 수화되고/거나 용매화될 수 있는 특정 화합물을 함유하고 XRPD 또는 다른 회절 기술에 의해 인식가능한 회절 패턴을 나타내기에 충분한 결정 함량을 갖는 물질을 지칭한다. 종종, 용액에 용해된 화합물의 직접 결정화 또는 상이한 결정화 조건하에 얻은 결정의 상호전환에 의해 용매로부터 얻은 결정질 물질은 용매를 함유하는 결정(결정질 용매화물이라고 함)을 가질 것이다. 결정 특성의 예로는 결정 내의 서로에 대한 화합물의 화학적 잔기의 배향, 및 용매 조성물 중 산의 존재에 의해 바람직한 화합물의 특정 형태의 우세성이 포함된다.
- [0049] 하나 이상의 실시양태에 따라, 본 발명의 화합물은 AUC(곡선하면적)에 의한 약 90% 내지 약 100%의 순도를 가질 수 있다. 몇몇 실시양태에 따라, 본 발명의 화합물은 AUC에 의한 약 95% 내지 약 100%의 순도를 가질 수 있다. 하나 이상의 실시양태에 따라, 본 발명의 화합물은 AUC에 의한 약 99% 내지 약 100%, 예컨대 99.3% 내지 99.99%; 99.5% 내지 99.999%; 99.75% 내지 99.999%; 99.85% 내지 99.999% (모두 AUC에 의함)의 순도를 가질 수 있다. 하나 이상의 실시양태에 따라, 본 발명의 화합물은 약 240°C 내지 약 243°C, 예컨대 242°C 또는 약 242°C의 용점을 가질 수 있다. 이 용점(들)은 R^2 가 $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ 인 결정질 에스테르 수화물에서 특히 바람직하다. 본 발명의 화합물의 용점은 R^2 가 CH_3 또는 C_3H_7 또는 C_4H_9 또는 C_6H_{13} 기인 경우에 상기 범위보다 더 낮거나 또는 더 높을 수 있다.
- [0050] 다양한 실시양태에 따라, 본 발명은 S-배위, R-배위를 갖는 CPT의 결정질 지방족 에스테르 수화물, 및/또는 S- 및 R-이성질체의 라세미 혼합물을 포함할 수 있다. 몇몇 실시양태에 따라, 천연 캄프토테신으로부터 유도된 CPT의 결정질 지방족 에스테르 수화물은 S-배위만을 갖거나, 주로 (예컨대 90% 이상, 95% 이상, 98% 이상, 99% 이상, 또는 99% 내지 99.99%) S-배위를 갖는다.
- [0051] 전구약물의 모 화합물인 CPT로의 전환은 인간을 포함하는 많은 동물의 혈액에 존재하는 에스테라제라고 불리는 효소 군에 의해 매개될 수 있다. 전구약물은 전달후 단시간 내에 체내 전체에 걸쳐 신속하게 분포하기 때문에, 이를 화합물은 모 캄프토테신을 방출하는 효소 가수분해를 거치는 시간에 매우 낮은 농도로 존재하며, 이는 CPT가 혈류에서 침전하는 것을 방지한다.
- [0052] 그러므로, 본 발명은 바람직하게는 인간 또는 동물 체내에서, 특히 인간 체내에서 순상되지 않은 상태를 더 오래 유지하여, 그러므로 바람직하지 않은 부작용을 생성하지 않고 항종양 및 항암 효과를 향상시키는 수화된 결정질 CPT 유도체 또는 유사체를 제공한다.
- [0053] 본 발명은 또한 제약 유효량의 하나 이상의 본 발명의 화합물을 임의로 1종 이상의 제약상 허용되는 담체, 부형제, 희석제 또는 아쥬반트와 조합하여 함유하는 제약 조성물을 제공한다. 예를 들어, 본 발명의 화합물은 정제, 환제, 분말 혼합물, 캡슐, 주사제, 용액, 쥐약, 에멀젼, 분산액, 푸드 프리믹스의 형태 및 다른 적합한 형태로 제제화될 수 있다. 이는 또한 멸균 고체 조성물, 예를 들어 동결-건조 및 필요하다면 다른 제약상 허용되는 부형제와 조합된 형태로 제조될 수 있다. 이러한 고체 조성물은 비경구 투여 사용 직전에 멸균수, 생리식염수, 또는 물 및 유기 용매, 예컨대 프로필렌 글리콜, 에탄올 등의 혼합물, 또는 몇몇 다른 멸균 주사제 매질에 의해 재구성될 수 있다.
- [0054] 전형적인 제약상 허용되는 담체는 예를 들어, 만니톨, 우레아, 텍스트란, 락토스, 비환원성 당, 감자 및 옥수수

전분, 스테아르산마그네슘, 탈크, 식물성유, 폴리알킬렌 글리콜, 에틸 셀룰로스, 폴리(비닐-피롤리돈), 탄산칼슘, 에틸올레이트, 이소프로필 미리스테이트, 벤질 벤조에이트, 탄산나트륨, 젤라틴, 탄산칼륨, 규산이다. 제약 제제는 또한 무독성 보조 물질, 예컨대 유화제, 보존제 및/또는 습윤제 등, 예를 들어 소르비탄 모노라우레이트, 트리에탄올아민 올레이트, 폴리옥시에틸렌 모노스테아레이트, 글리세릴 트리팔미테이트, 디옥틸 나트륨 술포숙시네이트 등을 함유할 수 있다.

[0055] "약물학적 조성물"은 본원에 기재된 하나 이상의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염과 제약상 허용되는 담체 및/또는 부형제와 같은 다른 화학 성분과의 혼합물을 지칭한다. 약물학적 조성물의 목적은 유기체로의 화합물의 투여를 용이하게 하는 것이다.

[0056] 본원에서 사용되는 어구 "제약상 허용되는 담체"는 신체의 한 기관 또는 부분으로부터 신체의 다른 기관 또는 부분으로 대상 약제를 운반하거나 운송하는데 관여하는, 제약상 허용되는 물질, 조성물 또는 비히클, 예컨대 액체 또는 고체 충전제, 희석제, 부형제, 용매 또는 캡슐화 물질을 의미한다. 각 담체는 제형의 다른 성분과 상용성이 있고 환자에게 유해하지 않다는 의미에서 "허용되어야" 한다. 제약상 허용되는 담체로서 작용할 수 있는 물질의 몇몇 예로는 (1) 당, 예컨대 락토스, 글루코스 및 수크로스; (2) 전분, 예컨대 옥수수 전분 및 감자전분; (3) 셀룰로스 및 그의 유도체, 예컨대 나트륨 카르복시메틸 셀룰로스, 에틸 셀룰로스 및 셀룰로스 아세테이트; (4) 분말 트라가칸트; (5) 말트; (6) 젤라틴; (7) 탈크; (8) 부형제, 예컨대 코코아 버터 및 좌약 왁스; (9) 오일, 예컨대 땅콩유, 면실유, 잇꽃유, 참기름, 올리브유, 옥수수유 및 대두유; (10) 글리콜, 예컨대 프로필렌 글리콜; (11) 폴리올, 예컨대 글리세린, 소르비톨, 만니톨 및 폴리에틸렌 글리콜; (12) 에스테르, 예컨대 에틸 올레이트 및 에틸 라우레이트; (13) 한천; (14) 완충제, 예컨대 수산화마그네슘 및 수산화알루미늄; (15) 알긴산; (16) 발열원-비함유 물; (17) 등장성 염수; (18) 링거 용액; (19) 에틸 알콜; (20) 포스페이트 완충액; 및 (21) 제약 제형에서 사용되는 다른 무독성 상용성 물질이 포함된다. 생리학상 허용되는 담체는 유기체에 상당한 자극을 유발해서는 안되고, 생물학적 활성 및 투여되는 화합물의 특성을 방해하지 않는다.

[0057] "부형제"는 화합물의 투여를 더 용이하게 하기 위해 약물학적 조성물에 첨가되는 불활성 물질을 지칭할 수 있다. 부형제의 예로는 탄산칼슘, 인산칼슘, 다양한 당 및 유형의 전분, 셀룰로스 유도체, 젤라틴, 지방, 지질, 식물성유 및 폴리에틸렌 글리콜이 포함되나 이에 제한되지 않는다.

[0058] "제약 유효량"은 또한 또는 별법으로 치료 및/또는 예방 효과를 제공할 수 있는 양을 의미할 수 있다. 치료 및/또는 예방 효과를 얻기 위해 본 발명에 따라 투여되는 화합물의 특정 용량은 물론 예를 들어, 투여되는 특정 화합물, 투여 경로, 치료될 상태 및 치료될 개인을 포함하는 사례 주변의 특정 환경에 의해 결정될 것이다. 전형적인 1일 용량(단일 또는 분할 용량으로 투여됨)은 본 발명의 활성 화합물 약 0.01 mg/체중 kg 내지 약 50-100 mg/체중 kg의 투여량 수준을 함유할 것이다. 1일 용량은 약 0.05 mg/kg 내지 약 20 mg/kg, 또는 약 0.1 mg/kg 내지 약 10 mg/kg일 수 있다.

[0059] 몇몇 실시양태에서, 바람직한 치료 효과는 증식성 장애, 예를 들어 유방암 또는 췌장암의 특징적인 세포 성장의 어느 정도 억제이다. 치료 효과는 또한 통상적으로 세포 성장 또는 세포 덩어리의 크기 이외의 하나 이상의 증상을 어느 정도 완화시킬 것이나 필수적인 것은 아니다. 치료 효과는 예를 들어, 1) 세포수의 감소; 2) 세포 크기의 감소; 3) 말초 기관으로의 세포 침윤의 억제 (즉, 어느 정도 늦춤, 바람직하게는 정지) (예를 들어, 암 전이의 경우); 3) 종양 전이의 억제 (즉, 어느 정도 늦춤, 바람직하게는 정지); 4) 세포 성장의 어느 정도 억제; 및/또는 5) 장애와 관련된 하나 이상의 어느 정도 완화 중 하나 이상을 포함할 수 있다.

[0060] 본 발명의 방법에서 사용되는 제약 조성물은 또한 활성 성분을 경구 사용에 적합한 형태로, 예를 들어 정제, 트로키, 로젠지, 수성 또는 유성 혼탁액, 분산성 분말 또는 과립, 애멸전, 경질 또는 연질 캡슐, 또는 시럽 또는 엘릭시르로서 함유할 수 있다. 경구 사용으로 의도된 조성물은 제약 조성물의 제조를 위한 당분야에 공지된 임의의 방법에 따라 제조될 수 있고, 이러한 조성물은 감미제, 향미제, 착색제 및/또는 보존제를 함유할 수 있다. 정제는 활성 성분을 정제의 제조에 적합한 무독성 제약상 허용되는 부형제와 부가혼합물로 함유할 수 있다. 이들 부형제는 예를 들어, 불활성 희석제, 예컨대 탄산칼슘, 탄산나트륨, 락토스, 인산칼슘 또는 인산나트륨; 과립화제 및 봉해제, 예컨대 미세결정질 셀룰로스, 나트륨 크로스카르멜로스, 옥수수 전분 또는 알긴산; 결합제, 예를 들어 전분, 젤라틴, 폴리비닐-피롤리돈 또는 아카시아 및 윤활제, 예를 들어 스테아르산마그네슘, 스테아르산 또는 탈크일 수 있다. 정제는 약물의 미각을 차폐하거나 위장관에서 봉해 및 흡수를 저연시키고, 그에 의해 더 긴 기간 동안 지속된 작용을 제공하기 위해 공지된 기술에 의해 코팅되거나 코팅되지 않을 수 있다. 예를 들어, 수용성 미각 차폐 물질, 예컨대 히드록시프로필메틸-셀룰로스 또는 히드록시프로필셀룰로스, 또는 시간 지연 물질, 예컨대 에틸 셀룰로스 또는 셀룰로스 아세테이트 부티레이트가 경우에 따라 사용될 수 있다.

- [0061] 경구 사용을 위한 제형은 또한 활성 성분이 불활성 고체 희석제, 예를 들어 탄산칼슘, 인산칼슘 또는 카올린과 혼합된 경질 젤라틴 캡슐로서, 또는 활성 성분이 수용성 담체, 예컨대 폴리에틸렌글리콜 또는 오일 매질, 예를 들어 땅콩유, 액체 파라핀 또는 올리브유와 혼합된 연질 젤라틴 캡슐로서 제공될 수 있다.
- [0062] 수성 혼탁액은 활성 물질을 수성 혼탁액의 제조에 적합한 부형제와 부가혼합물로 함유할 수 있다. 이러한 부형제는 혼탁화제, 예를 들어 나트륨 카르복시메틸셀룰로스, 메틸셀룰로스, 히드록시프로필메틸-셀룰로스, 알긴산나트륨, 폴리비닐-피롤리돈, 트라가칸트 검 및 아카시아 검일 수 있고; 분산제 또는 습윤제는 천연 포스파티드, 예를 들어 레시틴, 또는 지방산과 알킬렌 옥시드의 축합 생성물, 예를 들어 폴리옥시에틸렌 스테아레이트, 또는 장쇄 지방족 알콜과 에틸렌 옥시드의 축합 생성물, 예를 들어 헵타데카에틸렌-옥시세탄올, 또는 지방산 및 헥시톨로부터 유도된 부분 에스테르와 에틸렌 옥시드의 축합 생성물, 예컨대 폴리옥시에틸렌 소르비톨 모노올레이트, 또는 지방산 및 헥시톨 무수물로부터 유도된 부분 에스테르와 에틸렌 옥시드의 축합 생성물, 예를 들어 폴리에틸렌 소르비탄 모노올레이트일 수 있다. 수성 혼탁액은 또한 1종 이상의 보존제, 예를 들어 에틸 또는 n-프로필 p-히드록시벤조에이트, 1종 이상의 착색제, 1종 이상의 향미제 및 1종 이상의 감미제, 예컨대 수크로스, 사카린 또는 아스파르탐을 함유할 수 있다.
- [0063] 유성 혼탁액은 활성 성분을 식물성유, 예를 들어 낙화생유, 올리브유, 참기름 또는 코코넛유, 또는 광유, 예컨대 액체 파라핀에서 혼탁함으로써 제제화될 수 있다. 유성 혼탁액은 증점제, 예를 들어 밀랍, 경질 파라핀 또는 세틸 알콜을 함유할 수 있다. 맛좋은 경구 제제를 제공하기 위해 상기 나열된 것과 같은 감미제 및 향미제가 첨가될 수 있다. 이들 조성물은 항산화제, 예컨대 부틸화된 히드록시아니솔 또는 알파-토코페롤의 첨가에 의해 보존될 수 있다.
- [0064] 물의 첨가에 의한 수성 혼탁액의 제조에 적합한 분산성 분말 및 과립은 활성 성분을 분산제 또는 습윤제, 혼탁화제 및 1종 이상의 보존제와 부가혼합물로 제공한다. 적합한 분산제 또는 습윤제 및 혼탁화제로는 상기 이미 언급된 것들을 예로 들 수 있다. 추가 부형제, 예를 들어 감미제, 향미제 및 착색제가 또한 존재할 수 있다. 이들 조성물은 아스코르브산과 같은 항산화제의 첨가에 의해 보존될 수 있다.
- [0065] 본 발명의 방법에서 사용되는 화합물 및 제약 조성물은 또한 수중유 에멀젼의 형태일 수 있다. 유상은 식물성유, 예를 들어 올리브유 또는 낙화생유, 또는 광유, 예를 들어 액체 파라핀 또는 이들의 혼합물일 수 있다. 적합한 유화제는 천연 포스파티드, 예를 들어 대두 레시틴, 및 지방산 및 헥시톨 무수물로부터 유도된 에스테르 또는 부분 에스테르, 예를 들어 소르비탄 모노올레이트, 및 에틸렌 옥시드와 상기 부분 에스테르의 축합 생성물, 예를 들어 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노올레이트일 수 있다. 에멀젼은 또한 감미제, 향미제, 보존제 및 /또는 항산화제를 함유할 수 있다.
- [0066] 시럽 및 엘릭시르는 감미제, 예를 들어 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 소르비톨 또는 수크로스로 제제화될 수 있다. 이러한 제형은 또한 점활제, 보존제, 향미제 및 착색제 및 항산화제를 함유할 수 있다.
- [0067] 제약 조성물은 멸균 주사 수용액의 형태일 수 있다. 사용될 수 있는 허용되는 비히클 및 용매로는 물, 립거 용액 및 등장성 염화나트륨 용액이 포함된다.
- [0068] 멸균 주사 제제는 또한 활성 성분이 유상에 용해된 멸균 주사 수중유 마이크로에멀젼일 수 있다. 예를 들어, 활성 성분을 대두유 및 레시틴의 혼합물에 먼저 용해할 수 있다. 그 후, 유성 용액을 물 및 글리세롤 혼합물에 도입하고 가공하여 마이크로에멀젼을 형성한다.
- [0069] 제약 조성물은 근육내 및 피하 투여를 위한 멸균 주사 수성 또는 유성 혼탁액의 형태일 수 있다. 이 혼탁액은 공지된 기술에 따라 상기 언급된 적합한 분산제 또는 습윤제 및 혼탁화제를 사용하여 제제화될 수 있다. 멸균 주사 제제는 또한 무독성 비경구-허용되는 희석제 또는 용매 중 멸균 주사 용액 또는 혼탁액, 예를 들어 1,3-부탄 디올 중 용액으로서 존재할 수 있다. 또한, 멸균 고정유가 편리하게는 용매 또는 혼탁화 매질로서 사용된다. 이 목적을 위해, 합성 모노- 또는 디글리세리드를 포함하는 임의의 블랜드 고정유가 사용될 수 있다. 또한, 지방산, 예컨대 올레산이 주사제의 제조에서 사용된다.
- [0070] 본 발명의 방법에서 사용되는 본 발명의 화합물은 또한 약물의 직장 투여를 위한 좌약의 형태로 투여될 수 있다. 이들 조성물은 상온에서 고체이나 직장 온도에서 액체이므로 직장에서 용융하여 약물을 방출하는 적합한 비자극성 부형제와 억제제를 혼합함으로써 제조될 수 있다. 이러한 물질에는 코코아 버터, 글리세린화된 젤라틴, 수소화된 식물성유, 다양한 분자량의 폴리에틸렌 글리콜의 혼합물 및 폴리에틸렌 글리콜의 지방산 에스테르가 포함된다.

- [0071] 국소 사용을 위해, 본 발명의 화합물 또는 조성물을 함유하는 크림, 연고, 젤리, 용액 또는 혼탁액 등이 사용될 수 있다. 본원에서 사용되는 국소 적용은 마우스 워시 및 가글액을 포함할 수 있다.
- [0072] 본 발명의 방법에서 사용되는 화합물은 비내 형태로 적합한 비내 비히클 및 전달 장치의 국소 사용을 통해 또는 경피 경로를 통해 당업자에게 익히 공지된 경피 피부 패치의 형태를 사용하여 투여될 수 있다. 경피 전달 시스템의 형태로 투여되기 위해, 투여량 투여는 물론 투여량 요법 전반에 걸쳐 간헐적이 아닌 계속적일 것이다.
- [0073] 본 발명의 방법, 화합물 및 조성물은 또한 치료될 상태에 대한 특정 유용성을 위해 선택된 다른 익히 공지된 치료제와 함께 사용될 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 화합물은 공지된 항암제 및 세포독성제와 조합하여 유용할 수 있다. 또한, 본 발명의 방법 및 화합물은 또한 세포 증식을 개시하는 핵 신호에 세포 표면 성장 인자 수용체를 연결시키는 신호화 경로의 부분의 다른 억제제와 조합하여 유용할 수 있다.
- [0074] 본 발명의 한 측면은 본원에서 정의된 하나 이상의 본 발명의 화합물을 제약상 허용되는 부형제와 조합하여 포함하는, 온혈 동물에서 암 치료에 유용한 제약 조성물이다. 조성물은 경구, 국소, 경피, 직장, 흡입에 의해, 비경구 (정맥내, 근육내 또는 복강내) 투여 등에 적합한 조성물을 제공하기 위한 공지된 제제화 기술에 따라 제조된다. 본 발명의 조성물의 제조에 대한 상세한 가이드라인은 문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences, Published by the Mack Publishing Co., Easton, Pa. 18040]의 제18판 또는 제19판에서 발견된다. 해당 부분은 본원에 참고로 도입된다.
- [0075] 단위 용량 형태 또는 다중 용량 형태가 고려되며, 각각은 특정 임상 세팅에서 장점을 제공한다. 단위 용량은 암 치료 세팅에서 바람직한 효과(들)를 생성하도록 계산된 활성 화합물의 예정된 양을 함유한다. 다중 용량 형태는 여러 단일 용량 또는 분획 용량이 바람직한 목적을 달성하기 위해 필요한 경우에 특히 유용할 수 있다. 이를 투여 형태는 특정 화합물의 독특한 특징, 달성되는 특정 치료 효과, 및 암 치료를 위한 특정 화합물의 제조 분야에서 고유한 임의의 제한에 의해 또는 이에 직접 의존적으로 지시되는 세부사항을 가질 수 있다.
- [0076] 단위 용량은 대상체에서 암 치료에 충분한 치료 유효량을 함유할 수 있고, 화합물 약 1.0 내지 1000 mg, 예를 들어 약 50 내지 500 mg을 함유할 수 있다.
- [0077] 화합물은 섭취가능한 정제, 박칼정, 캡슐, 카플렛, 엘릭시르, 혼탁액, 시럽, 트로키, 웨이퍼, 로젠지 등으로서 적합한 제형으로 경구로 투여될 수 있다. 일반적으로, 가장 간단한 제형은 정제 또는 캡슐 (개별적으로 또는 집합적으로 "경구 투여량 단위"라고 명명됨)이다. 적합한 제형은 화합물의 특징을 적절한 조성물의 제제화에 이용가능한 부형제에 매칭하는 이용가능한 표준 제제화 기술에 따라 제조된다. 정제 또는 캡슐은 본 발명의 화합물 약 50 내지 약 500 mg을 함유할 것이다.
- [0078] 형태는 화합물을 신속하게 전달할 수 있거나 지속-방출 제제일 수 있다. 화합물은 경질 또는 연질 캡슐에 봉입될 수 있거나, 정제로 압축될 수 있거나, 음료, 식품 또는 달리 식이에 혼입될 수 있다. 최종 조성물 및 제제의 백분율은 물론 다양할 수 있고, 편리하게는 최종 형태, 예를 들어 정제의 중량의 1 내지 90%의 범위일 수 있다. 이러한 치료상 유용한 조성물의 양은 적합한 투여량이 얻어지도록 하는 양이다. 본 발명에 따른 조성물은 경구 투여량 단위 형태가 50 내지 1000 mg 중량의 투여량 단위 내에 약 5 내지 약 50 중량% (% w)를 함유하도록 제조될 수 있다.
- [0079] 경구 투여량 단위의 적합한 제형은 또한 결합제, 예컨대 트라가칸트 검, 아카시아, 옥수수 전분, 젤라틴; 감미제, 예컨대 락토스 또는 수크로스; 붕해제, 예컨대 옥수수 전분, 알긴산 등; 윤활제, 예컨대 스테아르산마그네슘; 또는 향미제, 예컨대 박하, 원터그린 오일 등을 함유할 수 있다. 다양한 다른 물질이 코팅으로서 또는 경구 투여량 단위의 물리적 형태를 달리 변형시키도록 제공될 수 있다. 경구 투여량 단위는 셀락, 당 또는 양자 모두로 코팅될 수 있다. 시럽 또는 엘릭시르는 화합물, 감미제로서 수크로스, 보존제로서 메틸 및 프로필파라벤, 염료 및 향미제를 함유할 수 있다. 사용되는 임의의 물질은 제약상 허용되고 실질적으로 무독성이어야 한다. 유용한 부형제의 유형의 세부사항은 문헌 ["Remington: The Science and Practice of Pharmacy," Mack Printing Company, Easton, Pa]의 제19판에서 찾을 수 있다. 더 자세한 논의를 위해 특히 91장 내지 93장을 참조한다.
- [0080] 화합물은 비경구로, 예를 들어 정맥내로, 근육내로, 정맥내로, 피하로 또는 복강내로 투여될 수 있다. 담체 또는 부형제 또는 부형제 혼합물은 용매, 또는 예를 들어, 다양한 극성 또는 비극성 용매, 이들의 적합한 혼합물 또는 오일을 함유하는 분산성 매질일 수 있다. 본원에서 사용되는 "담체" 또는 "부형제"는 제약상 허용되는 담체 또는 부형제를 의미하고, 임의의 및 모든 용매, 분산제 또는 매질, 코팅(들), 향미생물제, 등장화제/저장화제/고장화제, 흡수-변형제 등을 포함한다. 이러한 물질의 용도 및 제약상 활성 물질을 위한 약제는 당분야에

익히 공지되어 있다. 임의의 통상적인 매질 또는 약제가 활성 성분과 비상용성인 것을 제외하고 치료 조성물에 서의 사용이 고려된다. 또한, 다른 또는 보조 활성 성분이 또한 최종 조성물에 혼입될 수 있다.

[0081] 화합물의 용액은 적합한 희석제, 예컨대 물, 에탄올, 글리세롤, 액체 폴리에틸렌 글리콜(들), 다양한 오일 및/ 또는 이들의 혼합물 및 당업자에게 공지된 기타 물질에서 제조될 수 있다.

[0082] 주사제 사용에 적합한 제약 형태에는 멸균 용액, 분산액, 액체 및 멸균 분말이 포함된다. 최종 형태는 제조 및 저장 조건 하에 안정해야 한다. 또한, 최종 제약 형태는 오염으로부터 보호되어야 하고, 그러므로 미생물, 예컨대 박테리아 또는 진균의 성장을 억제할 수 있어야 한다. 단일 정맥내 또는 복강내 용량이 투여될 수 있다. 별법으로, 저속 장기간 주입 또는 다중 단기간 일일 주입이 사용될 수 있으며, 전형적으로 1 내지 8일 지속된다. 격일 또는 수일마다 1회 투여가 또한 사용될 수 있다.

[0083] 멸균 주사 용액은 필요량의 화합물을 하나 이상의 적절한 용매에 혼입함으로써 제조되며, 상기 나열되거나 당업자에게 공지된 다른 성분이 필요에 따라 여기에 첨가될 수 있다. 멸균 주사 용액은 필요량의 화합물을 적절한 용매에 필요에 따라 다양한 다른 성분과 함께 혼입함으로써 제조된다. 이어서 여과와 같은 멸균 절차가 온다. 전형적으로, 분산액은 분산액 매질 및 상기 지시된 바와 같은 필수 다른 성분을 또한 함유하는 멸균 비히클에 화합물을 혼입함으로써 제조된다. 멸균 분말의 경우, 바람직한 방법은 진공 건조 또는 동결 건조를 포함하며, 여기에 임의의 필수 성분이 첨가된다.

[0084] 모든 경우에, 최종 형태는 지시된 바와 같이 멸균되어야 하고, 또한 중공 바늘과 같은 주사 장치를 통해 용이하게 통과할 수 있어야 한다. 용매 또는 부형제의 적절한 선택에 의해 적절한 점도가 달성되고 유지될 수 있다. 또한, 분자 또는 미립자 코팅, 예컨대 레시틴의 사용, 분산액 중 입자 크기의 적절한 선택, 또는 계면활성제 특성을 갖는 물질의 사용이 이용될 수 있다.

[0085] 미생물 성장의 예방 또는 억제는 1종 이상의 항미생물제, 예컨대 클로로부탄올, 아스코르브산, 파라벤, 티메로살 등의 첨가를 통해 달성될 수 있다. 또한, 삼투성을 변화시키는 약제, 예컨대 당 또는 염을 포함하는 것이 바람직할 수 있다.

[0086] 몇몇 경우에, 예를 들어 본 발명의 화합물이 매우 수불용성인 경우, 리포좀 전달을 제공하는 것이 유용할 수 있다. 시스템은 본 발명의 화합물을 지질 소포 또는 리포좀 내에, 상에 또는 이에 의해, 또는 미셀에 의해 혼입, 캡슐화, 포위 또는 포획함으로써 본 발명의 화합물을 구속한다.

[0087] 본 발명의 하나 이상의 실시양태에서, 본 발명은 다양한 형태의 암, 악성 종양, 및/또는 암의 전구체 또는 악성 종양의 전구체의 치료 방법에 관한 것이다. 방법은 화합물 또는 본 발명의 화합물을 함유하는 조성물을 투여함으로써 환자에서 암 또는 악성 종양을 치료하는 것을 포함할 수 있다. 방법은 화합물 또는 본 발명의 화합물을 함유하는 조성물을 사용하여, 치료에 반응성인 암 또는 악성 종양의 치료를 위해 유효량의 화합물 또는 본 발명의 화합물을 함유하는 조성물을 투여하는 것을 포함할 수 있다. 하기 추가로 기재된 바와 같이, 다양한 암 및 악성 종양이 본 발명에 의해 치료될 수 있다. 본 발명의 화합물은 암, 악성 종양, 신생물 또는 암 전구체에 대해 인간 또는 동물 환자를 치료하는데 효과적이다. 특정 예로는 백혈병, 흑색종, 간, 유방, 결장직장, 직장, 난소, 전립선, 위, 방광, 결합조직형성 소원형세포 종양 (DSRCT), 퀘장, 폐, 신장, 결장, 중추 신경계 종양, 또는 이들의 임의의 조합이 포함되나 이에 제한되지 않는다. 본원에서 사용되는 용어 "악성 종양"은 불량하게 분화된 형태, 중간으로 분화된 형태 및 잘 분화된 형태로 발생하는 모든 형태의 인간 또는 동물 암종, 육종 및 흑색종을 포함하는 것으로 의도된다.

[0088] 본 발명의 화합물의 다른 중요한 특징은 본원의 교시내용에 따라 투여되는 전구약물의 상대적으로 낮은 독성 또는 겉보기 전체 무독성에 관한 것이다. 전체 독성은 다양한 기준을 사용하여 판단될 수 있다. 예를 들어, 초기 기록된 체중 (즉, 치료전)의 10% 초과의 대상체의 체중 손실은 독성의 한 징후로서 고려될 수 있다. 또한, 대상체에서 전체 운동성 및 활동의 손실 및 설사 또는 방광염의 징후가 또한 독성의 증거로서 해석될 수 있다.

[0089] CPT의 결정질 지방족 에스테르 수화물은 다양한 용량 범위에서 마우스에서 관찰가능한 독성 없이 광범위 활성 스펙트럼을 나타낸다. 치료 지수, 예컨대, 방광, 유방, 결장, 신장, 폐, 흑색종, 퀘장, 전립선, 난소의 암 종양 및/또는 본원에 언급된 임의의 암인 종양 이종이식편을 갖는 시험 마우스로부터 평균 치료 지수는 누드 마우스에서 시험함으로써 결정될 수 있다. 또한, 이 약제의 치료 지수는 현재 종양학자에 의해 임상적으로 사용되는 대부분의 항암제와 비교하여 크게 개선되었다. CPT의 결정질 지방족 에스테르 수화물의 치료 지수는 2000 mg/kg이 최대 허용 용량으로 고려되는 경우에 2 내지 500 (예를 들어, 3 내지 500, 4 내지 50, 3 내지 10, 4 내지 15, 5 내지 20, 8 내지 20, 10 내지 20, 25 내지 500, 50 내지 500, 75 내지 500, 100 내지 500, 150 내

지 500, 200 내지 500, 250 내지 500, 300 내지 500, 350 내지 500, 400 내지 500, 450 내지 500)의 범위일 수 있다. 그러나, 임상 종양학에서 현재 사용되는 대부분의 항암제에 대한 치료 지수는 대략 1이고, 이는 매우 좁다. 또한, 현재 사용되는 항암제 중 어느 것도 긴 지속시간 동안 유효 용량으로 계속적으로 사용될 수 없다. 본 발명의 화합물은 2개월, 3개월 내지 12개월, 4개월 내지 15개월, 5개월 내지 15개월, 6개월 내지 24개월 또는 그 이상 동안 1일마다 또는 1주마다 또는 1개월마다 계속적으로 사용될 수 있다.

[0090] 다양한 실시양태에 따라, CPT의 결정질 지방족 에스테르 수화물은 제약상 허용되는 담체 또는 희석제와 조합하여 투여될 수 있다. 예를 들어, 이러한 제약 조성물은 통상적으로 예를 들어, 제약상 허용되는 염, 완충제, 보존제 및/또는 상용성 담체를 함유할 수 있다. 본원에서 사용되는 "제약상 허용되는 담체"는 인간을 포함하는 포유동물에게 투여하기에 적합한 1종 이상의 상용성 고체 또는 액체 충전제, 희석제 또는 캡슐화 물질을 지칭한다. 제약상 허용되는 담체는 예를 들어, 1종 이상의 젤라틴 캡슐, 콜레스테롤 펠렛, 지질 및 지질-유사 에멀젼 (인트라리피드(Intralipid) 10, 인트라리피드 20 또는 천연 오일) 중 마이크로현탁액, 또는 친유성 화합물을 위한 다른 적합한 유화제일 수 있다. 본 발명에 따른 제약 조성물에 함유된 활성 성분 (CPT의 결정질 지방족 에스테르 수화물)의 양은 화합물이 사용되는 투여 경로 및 표적의 유형 (예를 들어, 암의 유형)과 같은 많은 인자에 의존하여 다양할 수 있다.

[0091] 본 발명에 따라 포유동물에서 악성 종양을 치료하거나 치료하거나 지연하는 경우, 본 발명의 화합물 또는 그의 제약 조성물은 당업자에게 공지된 수단에 의해, 예컨대 근육내로, 정맥내로, 경피로 또는 경구로 투여된다. 일반적으로 공지된 방법, 예를 들어 경구 투여를 위한 젤라틴 캡슐 뿐만 아니라 근육내 투여를 위한 지질 및 지질-유사 에멀젼 (예를 들어, 인트라리피드 20, 면실유 및 땅콩유) 중 마이크로현탁액 및 피하 장기간 투여를 위한 콜레스테롤 펠렛으로의 포함과 같은 제제가 사용될 수 있다. 본 발명의 화합물을 투여하는 다른 방법은 경피 또는 경피 하 경로에 의한 것이다. 이러한 실시양태의 한 예는 패치의 사용이다. 구체적으로, 패치는 예를 들어, 디메틸 솔록시드 (DMSO), 또는 DMSO와 면실유의 혼합물 중 본원에 개시된 화합물의 미세 현탁액으로 제조되고, 피부 파우치 내의 종양 위치 부위로부터 종양 담지 포유동물의 피부와 접촉하게 될 수 있다. 다른 매질 또는 다른 용매 및 고체 지지체와의 그의 혼합물이 동등하게 작동할 것이다. 패치는 본 발명의 CPT 수화물을 용액 또는 혼탁액의 형태로 함유할 수 있다. 그 후, 패치는 예를 들어, 스티치, 클립 또는 다른 유지 장치에 의해 피부를 함께 접고 유지함으로써 형성된 환자의 피부 파우치에 이를 삽입함으로써 환자의 피부에 적용될 수 있다. 이 파우치는 포유동물의 방해 없이 피부와 연속적인 접촉이 보장되도록 하는 방식으로 사용되어야 한다. 피부 파우치를 사용하는 것 이외에, 피부와 접촉되는 패치의 확고한 위치를 보장하는 임의의 장치가 사용될 수 있다. 예를 들어, 패치를 피부 상에 적소에 유지하기 위해 접착 붕대가 사용될 수 있다.

[0092] 본원에서 사용되는 본 발명의 화합물의 "유효량"은 암의 성장을 억제하거나 암을 치료시키거나 악성 세포를 사멸시키고 악성 종양의 퇴행 및 경감을 유발하는, 즉 이러한 종양의 부피 또는 크기를 감소시키거나 종양을 전체적으로 제거하는 화합물의 양을 의미하는 것으로 의도된다.

[0093] 인간을 포함하는 포유동물의 경우, 유효량은 체표면적을 기준으로 투여될 수 있다. 다양한 크기 및 종의 동물 및 인간에 대한 투여량 다양성의 연관성 ($\text{mg}/\text{체표면 m}^2$ 를 기준으로 함)은 문헌 [E.J. Freireich et al., Cancer Chemother. Rep., 50(4) :219 (1966)]에 기재되어 있다. 체표면적은 개인의 신장 및 체중으로부터 대략적으로 결정될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Scientific Tables, Geigy Pharmaceuticals, Ardsley, N.Y. pp. 537-538 (1970)] 참조). 본 발명에서 캄프토테신 화합물의 유효량은 1일당 약 10 내지 약 1000 $\text{mg}/\text{체표면 m}^2$ 의 범위일 수 있다.

[0094] 본 발명의 화합물 또는 전구약물의 바람직한 유효량 또는 투여량은 근육내 경로의 경우 약 1 내지 약 100 mg 전구약물/체중 kg 1주마다 2회 및 경구 경로의 경우 약 1 내지 약 500 mg 전구약물/ kg /일이다. 본 발명의 CPT 유도체 또는 전구약물의 유효량 또는 투여량은 예를 들어 경피 경로의 경우 전구약물 약 1 $\text{mg}/\text{kg}/\text{주}$ 내지 약 100 $\text{mg}/\text{kg}/\text{주}$ 이다. 모든 투여 경로의 경우, 투여량의 정확한 투여 시간은 최적의 결과를 달성하기 위해 다양할 수 있다. 일반적으로, 전구약물을 위한 담체로서 인트라리피드 20을 사용하는 경우, 환자에 도달하는 전구약물의 실제 투여량은 더 적을 것이다. 이는 주사기, 바늘 및 제제 용기의 벽 상의 전구약물의 일부 손실로 인한 것이며, 이는 인트라리피드 20 혼탁액에서 일반적이다. 면실유와 같은 담체가 사용되는 경우, 이러한 상기 기재된 손실은 전구약물이 주사기, 바늘, 제제 용기 등의 표면에 많이 접착하지 않기 때문에 그렇게 일반적이진 않다. 예를 들어 및 바람직하게는, 일반적으로 근육내 경로에 의해 투여시 면실유를 사용하여 1주마다 2회 약 2.5 mg 전구약물/체중 kg 은 담체로서 인트라리피드 20을 사용하여 1주마다 2회 4.0 mg 전구약물/체중 kg 과 동일한 양을 환자에게 전달하는 것으로 밝혀졌다. 일반적으로, 전구약물 약 1 mg 내지 약 4 mg 이 담체 약 0.1 ml 내지 약 1

m1에 첨가된다.

[0095] 본 발명의 하나 이상의 실시양태에서, 하나 이상의 본 발명의 화합물 (또는 본 발명의 화합물(들)을 함유하는 조성물)은 리포좀에서 가용화될 수 있다. 리포좀은 예를 들어, 지질, 예컨대 콜레스테롤, 인지질 또는 예를 들어, 나트륨 도데실슬레이트, 옥틸페놀폴리옥시에틸렌 글리콜 또는 소르비탄 모노-올레이트와 같은 계면활성제를 포함하는 미셀을 포함할 수 있다. 전형적으로, 전구약물은 높은 친화도로 리포좀의 지질 이중층 막에 결합한다. 리포좀 결합 전구약물은 바람직하게는 지질의 아실쇄 사이에 삽입할 수 있다. 캄프토테신-유도체, 막-결합 전구약물의 락톤 고리는 이에 의해 리포좀의 내부 및 외부 수성 환경으로부터 제거되고, 그러므로 가수분해로부터 보호된다. 리포좀-결합 약물이 가수분해로부터 보호되기 때문에, 약물의 항종양 활성이 보존된다. 리포좀 막에 대해 더 낮은 친화도를 갖고 그려므로 리포좀 막으로부터 해리되어 리포좀의 내부에 존재하는 캄프토테신 전구약물의 경우, 리포좀의 내부 pH를 감소시켜, 이에 의해 캄프토테신 전구약물의 가수분해를 방지할 수 있다.

[0096] 본 발명에 따라 사용될 수 있는 리포좀 전달 시스템의 군은 미국 특허 제5,552,156호 및 제5,736,156호에 기재된 바와 같은 것을 포함하며, 상기 특허들은 그 전문이 본원에 참고로 도입된다. 본 발명에 따라 사용될 수 있는 다른 리포좀 전달 시스템은 미국 특허 제5,827,533호 및 제5,882,679호에 기재된 바와 같은 지질 또는 계면활성제와 응집된 활성제를 함유하는 리포좀; 미국 특허 제5,874,105호에 기재된 바와 같은 알킬 암모늄 지방산염으로 형성된 지질 소포; 미국 특허 제5,783,211호에 기재된 바와 같은 활성제 건조 분말 조성물의 캡슐화를 위한 리포좀; 미국 특허 제5,718,914호에 기재된 바와 같은 국소 폐치를 위한 리포좀 약물 전달 시스템; 미국 특허 제5,631,237호에 기재된 리포좀; 미국 특허 제5,549,910호 및 제5,077,057호에 기재된 리포좀 및 지질 복합체 조성물; 미국 특허 제5,043,165호에 기재된 바와 같은 스테로이드성 약물의 지속 방출을 위해 사용되는 리포좀; 미국 특허 제5,013,556호에 기재된 리포좀; 및 미국 특허 제4,663,161호에 기재된 리포좀을 포함하며, 상기 특허들은 모두 그 전문이 본원에 참고로 도입된다.

[0097] 단일층상 리포좀 (단일 층상 소포라고도 함)은 폐쇄된 구획을 한정하는 하나의 지질 이중층 막을 포함하는 구형 소포이다. 이중층 막은 지질의 두 층 (내부 층 및 외부 층)을 포함한다. 지질 분자의 외부 층은 친수성 헤드 부분이 외부 수성 환경을 향하고, 소수성 꼬리가 리포좀의 내부를 향해 아래를 향하도록 배향된다. 지질의 내부 층은 외부 층 바로 아래에 있고; 지질은 헤드가 리포좀의 수성 내부를 대향하고 꼬리가 지질의 외부 층의 꼬리를 향하도록 배향된다.

[0098] 다중층상 리포좀 (다중층상 소포라고도 함)은 하나 초과의 지질 이중층 막을 포함하며, 상기 막은 하나 초과의 폐쇄된 구획을 한정한다. 막은 상이한 막이 양파 피부를 많이 닮은 구획에 의해 구분되도록 동심원으로 배열된다.

[0099] 본원에서 사용되는 어구 "리포좀 전구약물"은 캄프토테신 전구약물 중 일부 또는 모두가 리포좀 또는 미셀의 하나 이상의 구획에 위치되거나 캄프토테신 전구약물이 리포좀의 막에 결합된 것을 의미한다. 전달 시스템은 캄프토테신 전구약물을 포획하는 지질 이중층 막을 포함하는 리포좀일 수 있다. 본원에서 사용되는 어구 "지질 막에 결합된"은 적어도 캄프토테신 전구약물의 일부 또는 모두의 락톤 고리가 리포좀의 지질 막에 결합한 것을 의미하고, 여기서 리포좀은 하나 초과의 이중층 막을 함유하며, 캄프토테신 전구약물이 하나 이상의 막에 결합된다. 이러한 막에 대해 높은 친화도를 갖는 캄프토테신 전구약물은 막에 결합된 상태로 유지하는 경향이 있다. 리포좀 막에 대해 낮은 친화도를 갖는 캄프토테신 전구약물은 적어도 부분적으로 리포좀 막으로부터 해리되고, 리포좀 구획에 존재할 것이다.

[0100] 본원에서 정의된 바와 같은 미셀은 폐쇄된 구획을 한정하는 단일 모노층 막을 포함하는 구형 리셉터클이며, 막은 탄화수소 꼬리가 구획을 향해 배향하고 극성 헤드 부분이 외부 수성 환경을 향해 배향되도록 배향된 계면활성제 분자를 포함한다. 캄프토테신 전구약물은 미셀과 회합되는 경우 미셀 막에 결합하거나 미셀의 외부 표면에 결합된 구획에 존재한다.

[0101] 리포좀은 암 환자에게 약제를 투여하는데 성공적으로 사용되었고, 독소루비신, 다우노루비신 및 시스플라틴 카물과 같은 항암 약물의 전달에서 임상적으로 유용한 것으로 나타났다. 문헌 [Forssen, et al., Cancer Res. 1992, 52: 3255-3261]; [Perez-Soler, et al. Cancer Res. 1990, 50: 4260-4266] 및 [Khokhar, et al. J. Med. Chem. 1991, 34: 325-329], 상기 문헌 모두는 그 전문이 본원에 참고로 도입된다.

[0102] 유사하게, 미셀은 또한 환자에게 약제를 전달하는데 사용되었고 (문헌 [Brodin et al., Acta Pharm. Suec. 19 267-284 (1982)]), 미셀은 약물 담체로서 및 표적화된 약물 전달을 위해 사용되었으며 (문헌 [D. D. Lasic,

Nature 335: 279-280 (1992)] 및 [Supersaxo et al., Pharm. Res. 8: 1286-1291 (1991)]) (암 약제 포함 (문헌 [Fung et al., Biomater. Artif. Cells. Artif. Organs 16: 439 et. seq. (1988)] 및 [Yokoyama et al., Cancer Res. 51: 3229-3236 (1991)])), 상기 문헌 모두는 그 전문이 본원에 참고로 도입된다.

[0103] 캄프토테신 전구약물을 함유하는 본 발명의 리포좀 및/또는 미셀은 암 환자에게 전형적으로 정맥내로 투여될 수 있다. 리포좀 및/또는 미셀이 순환계에 의해 암 세포로 운반되며, 여기서 소포의 막이 암 세포의 막으로 융합하여 이에 의해 캄프토테신 전구약물을 암 세포에 방출하거나, 리포좀 및/또는 미셀이 암 세포에 인접하여 유지되고, 캄프토테신 전구약물이 리포좀 및/또는 미셀로부터 확산하여 암 세포에 의해 흡수된다.

[0104] 리포좀 및/또는 미셀을 형성하는 임의의 지질 또는 지질의 혼합물이 본 발명에서 사용하기에 적합하다. 예를 들어, L- α -디미리스토일포스파티딜콜린 (DMPC), L- α -디팔미토일포스파티딜콜린 (DPPC) 및 L- α -디스테아로일포스파티딜콜린 (DSPC)을 포함하는 포스파티딜콜린이 적합하다. 또한, 예를 들어 L- α -디미리스토일포스파티딜글리세롤 (DMPG)을 포함하는 포스파티딜글리세롤이 적합하다. DMPC 및 DMPG는 모두 37°C에서 유체상이나, DSPC는 37°C에서 고체상이다. 리포좀 막 중 음으로 하전된 지질의 존재는 리포좀을 서로 밀어내게 하기 때문에, 소량, 예를 들어 약 10%의 음으로 하전된 지질, 예컨대 디스테아로일포스파티딜글리세롤 (DSPG)이 DSPC 리포좀으로 혼입될 수 있다. 다른 적합한 인지질에는 포스파티딜-에탄올아민, 포스파티딜이노시톨 및 포스파티드산 (라우르산, 미리스트산, 팔미트산, 팔미톨레산, 스테아르산, 올레산, 리놀레산, 아라키돈산, 베렌산 및 리그노세르산 함유)이 포함된다. 다른 적합한 지질에는 콜레스테롤이 포함된다.

[0105] 리포좀 및/또는 미셀은 입자가 세망내피계를 회피하는 것을 보조하는 폴리에틸렌글리콜 또는 GM₁ 단백질로 코팅될 수 있다.

[0106] DSPC는 37°C (인간의 평균 체온)에서 고체상이기 때문에 리포좀으로부터 캄프토테신 약물의 확산을 제한하며, 그러므로 캄프토테신 전구약물을 시간 방출하는데 사용될 수 있다.

[0107] DMPG, DPPC 및 DSPC는 미국 앤라배마주 앤라배스터 소재의 아밴티 폴라 리피즈(Avanti Polar Lipids)로부터 얻고 추가 정제 없이 사용할 수 있다. 모든 다른 화학물질은 시약 등급이고, 추가 정제 없이 사용할 수 있다.

[0108] 미셀을 형성하는 임의의 계면활성제 또는 이들의 혼합물이 본 발명에서 사용하기에 적합하다. 적합한 계면활성제에는 코닥(Kodak) (미국 뉴욕주 로체스터 소재)으로부터 이용가능한 나트륨 도데실술레이트 (SDS), 알드리히 케미칼 캄파니(Aldrich Chemical Co.) (미국 위스콘신주 밀워키 소재)로부터 상표명 "트리톤 X-100"하에 이용가능한 옥틸페놀폴리옥시에틸렌 글리콜, 및 시그마 케미칼 캄파니(Sigma Chemical Co.)로부터 상표명 "폴리소르베이트 80" 및 "트윈 80"하에 이용가능한 소르비탄 모노-올레아이트가 포함된다. 다른 적합한 계면활성제에는 예를 들어, 데옥시콜산 나트륨 염, 콜산 나트륨 염 및 폴리옥시에틸렌-10-세틸에테르 (상표명 "BRIJ-56"하에 이용가능함)가 포함되어; 이들 계면활성제는 시그마 케미칼 캄파니로부터 이용가능하다.

[0109] 또한, 미셀은 인지질과 같은 지질 및 지질들의 혼합물을 포함할 수 있다. 또한, 미셀은 지질 및 계면활성제 양자 모두를 포함할 수 있다.

[0110] 리포좀 혼탁액은 문헌 [Burke and Tritton Biochemistry 24: 1768-1776 (1985)]의 방법에 의해 제조될 수 있으며, 상기 문헌은 그 전문이 본원에 참고로 도입된다. 리포좀은 바람직하게는 다중층상 소포 (MLV)가 아니라 작은 단일층상 소포 (SUV)이다. 그러나, SUV 및 MLV는 양자 모두 본 발명의 범위 내에 포함된다. MLV는 관련 캄프토테신 전구약물의 확산 속도를 제한하는 장점을 갖지만, SUV보다 대식세포에 의해 더 쉽게 제거되는 단점을 갖는다. pH 7.4를 갖는, 8 mM Na₂HPO₄, 1 mM KH₂PO₄, 137 mM NaCl 및 3 mM KCl을 함유하는 포스페이트-완충 염수 (PBS) 중 200 mg/mL 지질을 함유하는 스톡 지질 혼탁액이 사용될 수 있으며, 지질의 겔-액체-결정상 전이 온도 T_m 초과에서 5 내지 10분 동안 볼텍스 혼합함으로써 제조된다. 그 후, 래보러토리 서플리즈 캄파니 (Laboratory Supplies Co.) (미국 뉴욕주 힙스빌 소재)로부터의 육조형 초음파처리기를 사용하여 광학적으로 투명하게 될 때까지 3 내지 4시간 동안 지질 혼탁액을 초음파처리한다. DMPG의 SUV 제제의 경우에 7.4로부터 6.8으로의 pH 감소가 관찰될 수 있으므로; 이들 SUV 혼탁액의 pH를 바람직하게는 PBS 중 2.5M NaOH 소량을 사용하여 7.4로 조절하고 다시 초음파처리한다. 각 유형의 리포좀 혼탁액을 바람직하게는 37°C에서 30분 동안 어닐링 한다.

[0111] 많은 리포좀 및 미셀의 제조는 미국 특허 제5,552,156호, 제7,244,449호 및 제5,736,156호에 기재되어 있으며, 상기 특허들은 그 전문이 본원에 참고로 도입된다.

[0112] "전구약물"은 전달되는 것이 바람직한 화합물에 더 큰 용해도를 부여하는 기의 첨가에 의해 유도된 유도체 화합

물일 수 있다. 체내에 들어가면, 전구약물은 전형적으로 효소, 예를 들어 에스테라제, 아미다제 또는 포스파타제에 의해 영향을 받아서, 활성 화합물을 생성한다.

[0113] 용어 "알킬" (단독으로 또는 조합으로)은 1 내지 약 6개의 탄소, 보다 바람직하게는 2 내지 4개의 탄소를 갖는, 임의로 치환된 직쇄, 임의로 치환된 분지쇄 또는 임의로 치환된 시클릭 알킬 라디칼을 지칭한다. 알킬 라디칼의 예로는 메틸, 에틸, n-프로필, 이소프로필, n-부틸, 이소부틸, sec-부틸, tert-부틸, tert-아밀, 펜틸, 헥실 등을 들 수 있다. 용어 "시클로알킬"은 시클릭 배위를 포함하고, 알킬의 정의 내에 포함되고, 구체적으로 각 시클릭 잔기가 3 내지 약 6개의 탄소 원자를 갖는 모노시클릭, 바이시클릭, 트리시클릭 및 고차 멀티시클릭 알킬 라디칼을 지칭한다. 시클로알킬 라디칼의 예로는 시클로프로필, 시클로부틸, 시클로펜틸, 시클로헥실 등을 들 수 있다.

[0114] "유효량" 또는 "유효 용량"은 바람직하지 않은 세포 성장을 억제하며, 예를 들어 바람직하지 않은 세포 성장을 방지하거나 또는 존재하는 세포 성장, 예컨대 종양 세포 성장을 감소시키기에 필수적이거나 충분한 양을 지칭할 수 있다. 유효량은 당업자에게 공지된 인자, 예컨대 세포 성장의 유형, 투여 방식 및 요법, 대상체의 크기, 세포 성장의 중증도 등에 의존하여 다양할 수 있다. 당업자는 이러한 인자를 고려하여 유효량에 관한 결정을 내릴 수 있다. 이는 본 발명으로 달성될 수 있다.

[0115] "치료학상 효과적인 항종양 치료요법"은 원발성 종양 또는 전이성 종양의 크기, 예를 들어 부피를 유지하거나 감소시키는데 효과적인 치료요법을 지칭할 수 있다. 이는 본 발명으로 달성될 수 있다.

[0116] 본 발명의 하나 이상의 실시양태에 따라, 하나 이상의 산, 예컨대 황산에 의해 양성자화된 하나 이상의 아실화제와 출발 캄프토테신 화합물을 반응시키는 단계를 포함하는, 캄프토테신의 결정질 지방족 에스테르 수화물의 제조 방법이 제공된다. 아실화제는 출발 캄프토테신 상에 형성되는 에스테르기를 함유할 수 있다. 생성된 캄프토테신 에스테르는 CPT의 결정질 지방족 에스테르 수화물이다. 하나 이상의 실시양태에서, 생성된 캄프토테신 에스테르는 결정질 캄프토테신-20-O-프로페오네이트 수화물 (CZ48 수화물)이다. 하나 이상의 실시양태에 따라, 출발 캄프토테신 화합물은 CPT이다.

[0117] 출발 캄프토테신 화합물의 양은 본원에 기재된 바와 같이 출발 캄프토테신의 적어도 일부를 캄프토테신의 에스테르로 전환시키기에 충분한 아실화제가 존재하는 한 임의의 바람직한 양일 수 있다. 예를 들어, 출발 캄프토테신 화합물의 양은 약 1 g 내지 약 100 g 또는 그 이상일 수 있다.

[0118] 아실화제에 관하여, 아실화제는 일반적으로 하나 이상의 실시양태에서 출발 캄프토테신 상에 형성되는 에스테르기를 함유한다. 아실화제는 유기산 유도체, 예컨대 산 무수물일 수 있다. 예를 들어, 아실화제는 화학식 $(R^1CO)_2O$ (여기서, R^1 은 유기기를 나타내고, 일반적으로 R^1 기는 출발 캄프토테신 화합물 상에 에스테르 부착물의 유기 부분을 형성하는 기임)를 가질 수 있다. 보다 구체적으로, 및 예시 목적만을 위해, R^1 기는 알킬기, 예컨대 C_1-C_6 알킬기일 수 있다. R^1 기의 특정 예로는 $-CH_2CH_3$; $-CH_2CH_2CH_3$; $-CH_2CH_2CH_2CH_3$ 또는 $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$ 을 들 수 있으나 이에 제한되지 않는다.

[0119] 본 발명의 반응에서 사용되는 아실화제의 양은 에스테르기가 출발 캄프토테신 화합물 상에 형성되기에 충분한 양일 수 있다. 아실화제의 적합한 양은 출발 캄프토테신 20 g 내지 30 g을 아실화하는 것을 기준으로 약 10 mL 내지 약 1 L를 포함하나 이에 제한되지 않는다. 하기 나열된 예는 반응에서 사용될 수 있는 아실화제의 예시적인 양을 제공한다.

[0120] 본 발명의 반응에서 사용되는 산에 관하여, 산은 출발 캄프토테신의 아실화가 유기산 유도체, 예컨대 산 무수물에 의해 일어날 수 있게 하는 촉매량으로 사용될 수 있다. 산은 황산 또는 다른 산, 예컨대 HCl, HNO_3 또는 $HCIO_4$ 일 수 있다. 산은 진한 산, 예컨대 진한 황산일 수 있다. 산은 임의의 몰 세기, 예컨대 약 0.0001 내지 약 0.02 M 또는 그 이상을 가질 수 있다. 반응에서 사용되는 산의 양은 촉매량, 예컨대 출발 캄프토테신 20 g 내지 30 g과의 반응 당 약 0.1 mL 내지 약 1.0 mL, 및 보다 바람직하게는 약 0.20 mL 내지 약 0.75 mL 또는 약 0.5 mL일 수 있다. 에스테르화 반응을 촉매하는데 사용되는 산의 양은 관여 반응의 규모에 의존하여 다양할 수 있다.

[0121] 본 발명에서, 하나 이상의 실시양태에 따라, 다양한 반응물은 임의의 순서로, 순차적으로, 동시에 또는 임의의 조합으로 함께 합해질 수 있다. 임의의 반응 용기가 사용될 수 있다. 반응은 반응물의 어는점 초과의 임의의 온도, 예컨대 약 20°C 이상에서 일어날 수 있다. 반응은 주변 온도 또는 승온, 예컨대 약 20°C 내지 약 110°C

또는 그 이상에서 일어날 수 있다. 반응은 짧은 시간 내에, 예컨대 1분 내지 1시간 또는 그 이상 내에 일어날 수 있다. 반응 시간은 사용되는 반응물의 양 및 출발 CPT의 캄프토데신 에스테르로의 전환의 바람직한 양에 의존한다. 반응은 불활성 대기 또는 공기 중에서 일어날 수 있다. 불활성 대기의 예는 질소 대기 또는 아르곤 대기일 수 있다.

[0122] 다양한 실시양태에 따라, 반응 수율은 캄프토데신의 에스테르로 전환되는 출발 캄프토데신 생성물의 적어도 95 중량% 내지 100 중량%일 수 있다. 하나 이상의 실시양태에서, 반응 수율은 캄프토데신의 에스테르에 대해 캄프토데신 생성물의 약 97% 내지 100%이다.

[0123] 출발 CPT 또는 반응물의 순도 및/또는 농도는 중요하지 않다. 상이한 순도 및 상이한 농도는 반응으로부터 형성되는 CPT의 에스테르의 수율%에 영향을 미칠 수 있다. 바람직하게는, 출발 CPT 반응물의 순도는 약 30% 내지 약 100%이다. 보다 바람직하게는, 순도는 약 80 내지 약 100%, 또는 90% 내지 99.9%, 또는 그 이상이다. 바람직하게는, CPT 또는 CPT 유도체 반응물의 양은 반응물의 총 부피의 약 0.1 내지 약 50%이다. 보다 바람직하게는, 양은 반응물의 총 부피의 약 0.5 내지 약 5.0%이다.

[0124] 산에 있는 불순물이 CPT 또는 아실화제와 반응하지 않는 한, 산의 pH, 농도 및 순도는 중요하지 않다. 산의 산도는 반응을 위해 사용되는 아실화제를 양성자화할 수 있을 만큼 충분히 강해야 한다. 강한 무기산, 예컨대 H_2SO_4 , HC_1 , HNO_3 또는 $HCIO_4$ 는 이러한 능력을 갖는다. 다른 산, 예컨대 $AlCl_3$ 및 BF_3 이 이 유형의 촉매 에스테르화 반응을 위해 사용될 수 있다. 산의 pH는 약 0.5 내지 약 5일 수 있다. 바람직하게는, 산은 농축되고, 순도가 높다. 예를 들어, 농도는 약 60% 내지 약 100%일 수 있다. 바람직하게는, 농도는 약 95% 내지 약 98%이다. 산의 순도는 약 30% 내지 약 100%일 수 있다. 바람직하게는, 순도는 약 90 내지 약 100%이다. 바람직하게는, 진한 황산과 같은 산의 양은 반응물의 총 부피의 약 0.1 내지 약 10%이다. 보다 바람직하게는, 양은 반응물의 총 부피의 약 0.5 내지 약 8.5%이다.

[0125] 바람직하게는, 혼합물을 교반하면서 산을 CPT 및 산 무수물을 혼합물에 첨가한다. 바람직하게는, 혼합물에 첨가될 수 있는 산의 양은 산이 촉매로서 작용하기에 충분한 양이다. 바람직하게는, 약 4 내지 약 8 적의 유리피펫 적하의 산을 아실 할라이드 약 70 내지 100 ml에 첨가할 수 있다 (아실화제가 아실 할라이드가 아닌 경우에 유사한 양의 산을 사용할 수 있음). 그러나, 필요하다면, 더 많거나 더 적은 양의 산을 CPT 및 산 무수물의 혼합물에, 바람직하게는 혼합물을 교반하면서 첨가할 수 있다.

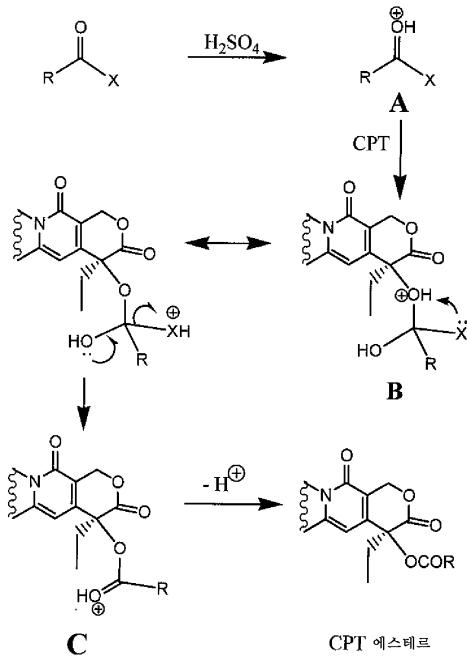
[0126] CPT, 산 무수물 및 산의 혼합물을 반응기 (바람직하게는 불활성 대기, 예컨대 N_2 를 포함함)에 위치시킬 수 있고, 약 80°C 내지 약 120°C로 가열할 수 있다. 바람직하게는, 혼합물을 약 90°C 내지 약 110°C로 가열하고, 보다 바람직하게는 반응기를 약 100°C로 가열한다.

[0127] 바람직하게는, 바람직한 생성물이 형성될 때까지 반응을 실행할 것이다. 반응 시간은 수시간만큼 짧거나 수일 만큼 길 수 있다. 바람직하게는, 반응 시간은 불활성 대기, 예컨대 N_2 하에 약 15시간일 수 있다.

[0128] 반응의 예는 하기 반응식 1에 표시된다.

[0129]

<반응식 1>



[0130]

[0131]

임의의 이론에 얹매이는 것을 원하지 않지만, 황산과 같은 산에 의한 아실화제 (RCOX)의 양성자화가 반응성 중간체 A를 형성하는 것으로 여겨진다. 중간체 A의 양이온 카르보닐 탄소를 캄프토테신과 부착하여, 중간체 B를 형성한다. B로부터 XH 의 분자를 후속적으로 제거하여, 최종 에스테르 생성물을 얻는다.

[0132]

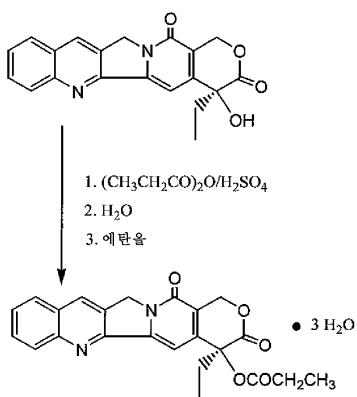
반응 완료 후 (용액의 색상 변화에 의해 결정될 수 있음), 용액을 실온으로 냉각할 수 있다. 임의의 일반적으로 공지된 분리 방법, 예컨대 증발 방법 또는 여과 방법에 의해 용매를 제거할 수 있다. 반응 용매를 제거한 후 얻은 조 생성물을 알콜성 용매, 예컨대 에탄올에서 환류함으로써 정제할 수 있다. 알콜로부터 재결정화 및/또는 재침전시 최종 생성물을 결정질 형태로 얻는다.

[0133]

극히 감소된 독성을 가지나 항종양 활성을 유지하는 새로운 캄프토테신 에스테르, 예컨대 결정질 캄프토테신-20-O-프로피오네이트 수화물과 같은 CPT의 결정질 지방족 에스테르 수화물을 제조하였다. 하나 이상의 실시양태에 따라, CPT의 지방족 에스테르는 하기 나타낸 바와 같은 반응에 표시된 H_2SO_4 -촉매 아실화 반응에 의해 제조 할 수 있다.

[0134]

<반응식 2>



[0135]

[0136]

나타낸 바와 같이, 출발 캄프토테신을 진한 황산의 촉매화 하에 프로피온산 무수물과 반응시킬 수 있다. 그 후, 반응 혼합물을 과량의 물로 켄칭하여, 반응물로부터 미반응 프로피온산 무수물 및 형성된 프로피온산을 제거할 수 있다. 순수 에탄올 (또는 다른 용매, 예컨대 다른 알콜)로부터 조 생성물을 결정화하여, 최종 결정질 캄프토테신-20-O-프로피오네이트 수화물을 거의 정량적인 수율로 얻는다. 이는 본 발명의 다른 CPT 에스테르에서도 적용될 것이다. 본원에서 사용되는 어구 "정량적인 수율"은 97 중량% 내지 100 중량%의 수율을 포함할

수 있는 것으로 이해되어야 한다. 반응으로부터 얻은 생성물의 순도는 약 99% 내지 100%이다. 생성물의 융점은 약 240°C 내지 243°C이다.

[0137] 본 발명은 하기 실시예에 의해 더욱 명확하게 될 것이며, 하기 실시예는 순수하게 본 발명을 예시하기 위한 것이다.

[0138] 실시예

[0139] 실시예 1

[0140] 결정질 캄프토테신-20-프로피오네이트 (CZ48) 수화물을 다음과 같이 제조하였다. 캄프토테신 약 20 g (0.05747g 물) 및 프로피온산 무수물 약 100 ml (97%, 알드리히 케미칼 캠파니, 미국 위스콘신주 밀워키 소재)를 자성 교반기 및 샌드 배스가 장착된 200 ml 둥근 바닥 플라스크에 첨가하였다. 혼합물을 교반하면서 샌드 배스에 의해 가열하였다. 샌드 배스 온도가 80°C에 도달했을 때 진한 황산 (95-98%, A.C.S. 시약, 알드리히 케미칼 캠파니) 수 방울 (8 내지 10)을 적가하였다. 그 후, 혼합물을 110±10°C에서 밤새 (약 14시간) 교반하였다. 실온으로 냉각한 후, 반응 혼합물을 빙수 1000 ml에 조금씩 교반하면서 부었다. 대략 45분 동안 교반한 후, 혼합물을 여과하였다. 여과로부터 얻은 잔류물을 24시간 동안 공기-건조시켰다. 건조된 조 생성물을 가열 맨틀이 장착된 500 ml 둥근 바닥 플라스크로 이동시켰다.

[0141] 이 조 생성물에 순수 에탄올 200 ml (99.5%, 200 프루프, 알드리히 케미칼 캠파니)를 첨가하였다. 혼합물을 2시간 동안 환류한 후, 실온으로 냉각하였다. 에탄올로부터 결정화한 후 순수한 생성물을 결정으로서 얻었다. 순도는 고성능 액체 크로마토그래피 (HPLC)를 사용하여 99.8%인 것으로 나타났고, 융점 (mp)은 242°C인 것으로 결정되었다. 건조 질소를 일반적으로 제조를 위한 모든 반응에서 반응 대기로서 사용하였다. 모든 유리 제품은 사용하기 전 최소 2시간 동안 70 +/- 10°C에서 구었다. 융점을 MEL - TEMP® 융점 기구에 의해 얻었고, 수정하지 않았다. 캄프토테신을 중국으로부터 구입하고, 구입한 대로 사용하였다.

[0142] 생체내 항종양 활성 결정. 본원에서 논의된 실험에서 사용된 인간 종양은 1개 방광 라인, 3개 유방 라인, 4개 결장 라인, 1개 DSRCT 라인, 1개 신장 라인, 2개 흑색종 라인, 2개 폐 라인, 7개 췌장 라인 및 1개 전립선 라인을 포함하였다. 수화된 결정질 CZ48 약물을 면실유에서 미세하게 혼탁하고, 사용을 위해 냉장고에 저장하였다. 혼탁액을 인간 종양을 보유한 마우스에게 경구로 전체 처리 기간 동안 연속적으로 5일 동안 1일 1회 투여하고 2일 동안 투여하지 않거나, 7일 동안 1일 1회 투여하였다. 다양한 종양 라인에 대한 처리 기간은 2주 내지 1년의 범위로 다양하였다. 시험된 이들 종양 라인 중에서, 18개 라인은 양성 반응을 달성하였다, 다시 말해서 5일-온 및 2일-오프 스케줄의 경우 종양-성장 억제에서 50% 초과의 억제를 달성하였고, 2개 췌장 종양 라인은 양성 반응을 얻지 못하였다. 연속적인 스케줄 (1일마다 처리)의 경우, 2개 음성 반응 췌장 종양 라인 중 1개는 5/2 스케줄 하에 양성 반응을 달성하였다. 표 1에 결과를 요약하였다.

표 1

누드 마우스에서 인간 이종이식편에 대한
수화된 결정질 CZ48의 항종양 활성

| 종양 | 결장 | 유방 | 폐 | 흑색종 | 췌장 | 방광 | DSRCT |
|----|-----------------|-----|-----|-----|-----|-----|-------|
| 반응 | 양성 ^a | 4/4 | 3/3 | 2/2 | 2/2 | 6/7 | 1/1 |
| | 음성 ^b | | | | | 1/7 | |

[0143]

[0144] a. 양성 반응은 50%보다 큰 성장 억제를 의미한다.

[0145] b. 음성 반응은 50%보다 작은 성장 억제를 의미한다.

[0146] 양성 반응이 실제로는 50% 이상의 성장 억제로서 정의되나, 많은 종양 라인에서 완전한 성장 억제가 달성되었다. 양성 반응을 달성하는데 필요한 유효 용량은 종양의 유형에 의존하여 다양하였다. 시험된 종양 뱅크로부터 가장 민감한 종양 라인인 CL0-유방 암종의 경우, 4 mg/kg과 같은 저용량의 수화된 결정질 CZ48에 의해 완전

한 억제가 달성된 반면, 덜 민감한 라인 3개, CAK-신장, PANC1-췌장 및 SU86.86-췌장은 양성 반응을 달성하기 위해 1000 mg/kg만큼 높은 용량을 필요로 하였다.

[0147] 실시예 2

[0148] 생체내 항종양 활성 결정. 모든 동물 실험을 번식력이 높은 계통인 NIH의 누드 스위스 마우스에서 수행하였다. 이들 마우스를 실험실에서 엄격한 병원체-비함유 조건 하에 사육하고 길렀다. 항종양 활성 결정을 위해, 누드 마우스에서 성장한 종양 이종이식편 (대략 1 cm³ 크기)을 멸균 조건 하에 수술적으로 제거하고, 홍채절제술 가위에 의해 미세하게 저미고, 세포 배양 배지에서 비율 1:10 (v/v)로 혼탁하였다. 습윤-중량 종양 저민 것 약 50 mg을 함유하는 이 혼탁액 1 mL의 절반을 마우스의 등쪽 가슴의 상부 절반에 피하로 접종하였다. 4마리 또는 5 마리 동물의 군을 사용하였다. 수화된 결정질 CZ48을 면실유에서 미세하게 혼탁한 후, 26 게이지 바늘을 사용하여 전복벽을 통해 마우스의 위내강에 주사하였다. 수화된 결정질 CZ48의 경구 투여를 위해 사용된 매주 스케줄은 7일 동안 1일 1회, 또는 5일 온 및 2일 오프였다. 모든 동물 실험 전반에 걸쳐 이 스케줄을 사용하였다. 종양이 약 200 mm³의 부피에 도달하였을 때 (즉, 혈관이 잘 형성되고 측정가능하고 기하급수적으로 성장함) 처리를 개시하였다. 동물에서 성장하는 종양을 체크하고, 1주마다 1회 캘리퍼로 측정하였다. 마우스에서 양성 반응이 도달되었을 때 유효 용량을 확립하였다. 결과는 표 2에 나타낸다.

표 2

종양 라인에서 수화된 결정질 CZ48의 유효 용량

| 종양 라인 | | 유효 용량 (mg/kg) | TI ^a |
|-------|-----------|---------------|-----------------|
| 방광 | -BOL | 200 | 10 |
| 유방 | -CLO | 4 | 500 |
| | -MUR | 300 | 7 |
| | -WAR | 200 | 10 |
| 결장 | -HT29 | 50 | 40 |
| | -McC | 300 | 7 |
| | -SQU | 30 | 67 |
| | -SW48 | 100 | 20 |
| DSRCT | -MYE | 100 | 20 |
| 신장 | -CAK | 1000 | 2 |
| 폐 | -DOY | 15 | 133 |
| | -SPA | 100 | 20 |
| 흑색종 | -BRO | 100 | 20 |
| | -FOSS | 300 | 7 |
| 췌장 | -ASPC1 | 300 | 7 |
| | -HS76T | 100 | 20 |
| | -LIE | 100 | 20 |
| | -MiaPaCa2 | 100 | 20 |
| | -PANC1 | 1000 | 2 |
| | -SU86.86 | 1000 | 2 |
| 전립선 | -PC3P62 | 300 | 7 |

[0149]

[0150] a. TI는 최대 허용 용량을 2000 mg/kg으로 가정하고 계산하였다.

[0151] 표 2에 나타낸 바와 같이, 결정질 캄프토테신-20-0-프로페오네이트 수화물은 2000 mg/kg을 최대 허용 용량으로 가정한 경우 2 (3개 둔한 라인의 경우) 내지 500 (가장 민감한 라인 (CLO-유방)의 경우) 범위의 넓은 치료 지수를 갖는다.

[0152] 실시예 3

[0153] 생체내 독성 결정. 대략 동일한 연령이고 유사한 체중을 갖는 4마리 또는 5마리 동물의 군을 선택하고, 결정질 CZ48 수화물에 의해 경구로 1500 mg/kg 및 2000 mg/kg의 용량으로 각각 60일 동안 연속적으로 처리하였다. 독성 연구를 위해 선택된 3개의 군의 마우스들은 건강하고, 유사한 연령 및 체중이고, 종양을 보유하지 않았다. 한 군은 대조군으로서 사용하고, 나머지 두 군은 약물에 의해 2개의 고용량 수준, 1500 mg/kg 및 2000 mg/kg으로 각각 약 2개월 동안 처리하였다. 처리 도중 동물의 체중 변화를 처리군 대 비처리군에 대해 0째일에 시작하여 60째일까지 기록하였다. 결과는 표 3에 나타낸다.

표 3

누드 마우스에서 결정질 CZ48 수화물의 독성^a

| 일자 | 체중 (그램) | | |
|---------|------------------|------------------------------|------------------------------|
| | 대조군 ^b | 용량 1 (1.5 g/Kg) ^b | 용량 2 (2.0 g/Kg) ^b |
| 0 (시작일) | 32.0 (1.4) | 31.9 (2.0) | 32.3 (3.1) |
| 10 | 31.9 (1.5) | 30.4 (3.1) | 30.7 (4.3) |
| 21 | 32.2 (1.7) | 31.2 (1.9) | 31.2 (3.9) |
| 35 | 32.3 (2.1) | 32.3 (0.8) | 30.8 (3.2) |
| 45 | 32.1 (3.7) | 32.8 (1.7) | 31.7 (2.9) |
| 60 | 32.9 (1.7) | 33.0 (1.4) | 30.9 (3.3) |

[0154]

a. 체중 결정에서 사용된 스케일은 매년 보정하고 공인받았다.

[0156]

b. 괄호 안의 수는 SD이다.

[0157]

가장 두드러지게는, 처리된 마우스에서 현저한 독성이 어떠한 시험 용량 수준에서도 관찰되지 않았다. 체중 손실을 약제의 독성을 측정하는 파라미터로서 사용하였다. 통상적으로, 처리 도중 마우스에서 10% 이상의 체중 손실을 독성의 징후로서 고려하였다. 체중 손실이 클수록 독성이 더 크다는 것을 나타낸다. 처리는 상당한 체중 손실을 야기하지 않았으며, 이는 사용된 용량 수준이 마우스에게 무독성이고 또한 마우스가 2000 mg/kg보다 훨씬 더 높은 용량을 관용할 수 있다는 것을 의미한다. 마우스에서 결정질 캄프토테신-20-0-프로피오네이트 수화물에 의한 연속적인 처리는 더 넓은 치료 지수 범위를 생성하였고, 어떠한 현저한 독성도 야기하지 않았다.

[0158]

실시예 4

[0159]

결정질 CZ48 수화물의 PK 파라미터의 결정. 2000 mg/kg의 단일 용량에 의한 결정질 캄프토테신-20-0-프로피오네이트 수화물의 약동학 프로파일을 누드 마우스에게 경구 투여 후 기록하였다. 상응하는 C_{max} 및 T_{max} 는 각각 284.86 ± 85.55 ng/mL 및 2.0 ± 0.0 h이었다. 결정질 수화물이 아닌 CZ48의 유사체인 캄프토테신-20-0-아세테이트를, CZ48 수화물의 모든 PK 파라미터를 결정하기 위한 내부 표준으로서 사용하였다. 2000 mg/kg의 용량으로 결정질 CZ48 수화물에 의해 처리된 마우스로부터의 혈장 100 μ L를 2-mL 시험-튜브에 옮긴 후, 내부-표준 작업 용액 (400 ng/mL) 100 μ L를 또한 튜브에 첨가하였다. 혼합물에 또한 1% 아세트산 용액 200 μ L 및 에틸 에테르 1 mL를 첨가하였다. 10초 동안 볼텍스 혼합한 후, 혼합물을 실온에서 진탕기에서 10분 동안 인큐베이션한 후, 10,000xg에서 15분 동안 원심분리하였다. 원심분리로부터 얻은 상부 층을 깨끗한 튜브에 옮기고, 40°C에서 질소 증기 하에 증발기를 사용하여 증발시켜 건조시켰다. 잔류물을 물/아세토니트릴 (50/50, v/v) 용매계 200 μ L에서 재구성하고, 분취액 20- μ L 부분을 분석을 위해 HPLC 시스템에 주사하였다. 연구를 위해, 처리되지 않은 마우스로부터의 블랭크 혈장 100 μ L를 또한 처리된 마우스와 동일한 방식으로 처리하였다. 마우스 48마리에서 CZ48 수화물 및 CPT의 중요한 PK 파라미터를 HPLC 분석으로부터 얻었으며, 이는 표 4에 나타낸다.

표 4

2000 mg/kg의 용량으로 경구 투여 후 마우스에서 수화된 결정질 CZ48 및 그의 주요 대사물
CPT의 약동학 파라미터

| 파라미터 | 수화된 결정질 | |
|--|----------------|--------------|
| | CZ48 | CPT |
| AUC ₀₋₈ (ng·h·ml ⁻¹) | --- | 136.43±26.94 |
| AUC ₀₋₂₄ (ng·h·ml ⁻¹) | 1927.66±113.92 | --- |
| AUC _{0-∞} (ng·h·ml ⁻¹) | 2233.44±396.05 | 146.70±34.77 |
| C _{max} (ng/mL) | 284.86±85.55 | 42.28±6.72 |
| T _{max} (h) | 2.0±0.0 | 1.0±0.0 |
| T _{1/2} (h) | 8.70±4.18 | 1.87±0.63 |
| K _e (1/h) | 0.09±0.03 | 0.40±0.13 |
| MRT (h) | 11.62±4.34 | 3.36±0.87 |

[0160]

[0161] 실시예 5

[0162] 마우스에서 결정질 CZ48 수화물의 흡수율의 결정. 흡수 연구를 또한 누드 마우스 4마리에서 마우스 관류 절차를 사용함으로써 결정질 캄프토테신-20-O-프로페오네이트 수화물에 의해 수행하였다. 계내 단일-패스 관류 절차 전, 9.801 g/L HBSS 분말, 0.372 g/L NaHCO₃, 3.502 g/L 글루코스, 5.963 g/L HEPES 및 1.164 g/L NaCl로 구성된 HBSS 완충액 (pH 7.4)을 제조하고, 냉장고에 저장하였다. 일정량의 약물, 결정질 CZ48 수화물을 다량의 HBSS 완충액과 혼합함으로써 절차를 위한 관류액을 제조하였다. 혼합물을 사용 직전에 37°C (체온)까지 가열하였다. 25 내지 30 그램 범위의 체중 및 9 내지 11개월 범위의 연령을 갖는 4마리 마우스의 군을 마취하고, 가열 플레이트 위에 놓았다. 플레이트를 37°C의 일정한 온도에서 유지하였다. 관류 시스템을 마우스에 맞게 설정 준비한 후, 창자 (소장, IS 및 결장)의 두 세그먼트를 신선하게 제조된 관류액으로 동시에 관류하였다. 펌프를 전체 관류 동안 0.191 mL/분의 일정한 유속으로 유지하였다. 30분마다 각 배출구 (SI 관 또는 결장)로부터 두 관류액 샘플을 수집하였다. 배출구로부터 관류액 중 약물의 농도를 HPLC 분석에 의해 결정하고, 상응하는 흡수율을 약물의 출발 양에 대해 계산하였으며, 이는 표 5에 나타낸다.

표 5

마우스에서 창 관류의 결과

| 마우스 | 결정질 CZ48 수화물 흡수율 % | |
|-------|--------------------|--------|
| | SI | 결장 |
| No. 1 | 16.51 | -35.17 |
| 2 | 9.34 | -73.24 |
| 3 | 45.85 | 6.82 |
| 4 | 11.49 | 8.04 |
| Ave | 22.23 | -19.46 |
| SD | 16.96 | 38.83 |

[0163]

[0164] 표 5에 나타낸 바와 같이, 상당한 흡수가 소장관에서 일어났다. 결장관에서 기록된 음성 흡수율은 결장관 밖으로 나온 약물의 양이 마우스의 십이지장의 입구 관에 처음 위치된 양보다 더 많았다는 것을 나타낸다. 이는 다중 흡수/유출 순환으로 인한 결장 관에서 약물의 축적으로 인한 것일 수 있었다.

[0165]

결정질 CZ48 수화물의 결정 구조 결정. CCD 영역 검출기가 장착된 지멘스(Siemens) SMART 회절분석기를 사용함으로써 단일 결정 X선 분석을 수행하였다. 0.4 x 0.08 x 0.02 mm의 치수를 갖는 결정을 -60°C의 냉각 질소 기체의 증기 하에 유리 섬유에 탑재하였다. 단색광 Mo K_{a1} 방사선 ($\lambda=0.71073 \text{ \AA}$)을 사용하여, 좁은-프레임 방법으로 데이터의 전체 반구를 수집하였다. 지멘스 SAINT 프로그램을 사용하여 데이터를 통합하고, 로렌츠

인자, 극성화, 공기 흡수 및 경로 길이의 변동으로 인한 흡수에 대해 세기를 수정하였다. 경험적 흡수 수정을 적용하고, 불필요한 반사를 평균내었다. $I > 10 \sigma(I)$ 를 갖는 1971개 반사를 사용하여 최종 세포 파라미터를 정령하였다. 정방정계 셀 파라미터는 $a = 15.008(2) \text{ \AA}$, $b = 6.977(1) \text{ \AA}$, $c = 21.810(3) \text{ \AA}$, $\beta = 99.959^\circ$, $V = 2249.2(5) \text{ \AA}^3$, $Z = 4$, $\rho = 1.354 \text{ g/cm}^3$, $2\Theta_{\max} = 56.66^\circ$ 였다. 구조를 직접적인 방법에 의해 공간군 $P2_1$ (No.4) 으로 풀고, F^2 에 대한 완전 행렬 최소-제곱 계산법에 의해 정령하고, 모든 C, N, O 원자의 열 운동을 이방성으로 처리하였다. 최종 R 지수 [$I > 2\sigma(I)$], $R1 = 0.0454$, $wR2 = 0.0763$, R 지수 [모든 데이터], $R1 = 0.1105$, $wR2 = 0.0933$. 모든 계산은 지멘스 SHELXTL 프로그램 패키지를 사용하여 수행하였다. $[\text{C}_{23}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_5] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 에 대한 결정 데이터 및 구조 정령은 표 7에 나타낸다. $[\text{C}_{23}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_5] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 에 대한 원자 좌표 ($x 10^4$) 및 등가 등방 변위 파라미터 ($\text{\AA}^2 \times 10^3$)는 표 8에 나타낸다. $[\text{C}_{23}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_5] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 에 대한 결합 길이 [\AA] 및 각 [$^\circ$]은 표 9에 나타낸다. $[\text{C}_{23}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_5] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 에 대한 이방 변위 파라미터 ($\text{\AA}^2 \times 10^3$)는 표 10에 나타낸다.

표 7

| $[\text{C}_{23}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_5] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 에 대한 결정 데이터 및 구조 정령 | | |
|--|--|---|
| 확인 코드 | T94 | |
| 실험식 | C23 H26 N2 O8 | |
| 화학식량 | 458.46 | |
| 온도 | 213(2) K | |
| 파장 | 0.71073 \AA | |
| 결정계 | 단사정계 | |
| 공간군 | $P2_1$ | |
| 단위 셀 치수 | $a = 15.008(2) \text{ \AA}$ $b = 6.9769(10) \text{ \AA}$ $c = 21.810(3) \text{ \AA}$ | $\alpha = 90^\circ$. $\beta = 99.959(2)^\circ$. $\gamma = 90^\circ$. |
| 부피 | 2249.2(5) \AA^3 | |
| Z | 4 | |
| 밀도 (계산) | 1.354 g/cm^3 | |
| 흡수 계수 | 0.103 mm^{-1} | |
| F(000) | 968 | |
| 결정 크기 | 0.40 \times 0.08 \times 0.02 mm^3 | |
| 데이터 수집을 위한 세타 범위 | 1.53 내지 28.33° | |
| 지수 범위 | -20 $\leq h \leq 15$, -8 $\leq k \leq 9$, -28 $\leq l \leq 21$ | |
| 수집된 반사 | 14162 | |
| 독립 반사 | 14162 [$R(\text{int}) = 0.0496$] | |
| 세타에 대한 완비성 = 28.33° | 95.6 % | |
| 흡수 수정 | 경험적 | |
| 최대 및 최소 투과 | 0.8092 및 0.7004 | |
| 정령 방법 | F^2 에 대한 완전 행렬 최소-제곱 | |
| 데이터/구속/파라미터 | 14162 / 1 / 633 | |
| F^2 에 대한 적합도 | 0.780 | |
| 최종 R 지수 [$I > 2\sigma(I)$] | $R1 = 0.0454$, $wR2 = 0.0763$ | |
| R 지수 (모든 데이터) | $R1 = 0.1105$, $wR2 = 0.0933$ | |
| 질량 계수 | 0.00000(11) | |
| 최대 미분 피크 및 홀 | 0.168 및 -0.172 $e.\text{\AA}^{-3}$ | |

표 8[C₂₃H₂₀N₂O₅]•3H₂O에 대한 원자 좌표 (x 10⁴) 및 등가 등방 변위 파라미터 (Å²×10³)

| | x | y | z | U(eq) |
|-------|----------|----------|---------|-------|
| C(1) | -1249(2) | 734(5) | 1218(2) | 45(1) |
| C(2) | -2180(2) | 697(5) | 1137(2) | 51(1) |
| C(3) | -2705(2) | 747(5) | 543(2) | 54(1) |
| C(4) | -2300(2) | 845(5) | 31(2) | 47(1) |
| C(5) | -1338(2) | 864(5) | 89(2) | 37(1) |
| C(6) | -816(2) | 826(4) | 697(2) | 38(1) |
| C(7) | -894(2) | 886(4) | -432(2) | 39(1) |
| C(8) | 27(2) | 877(4) | -327(2) | 33(1) |
| C(9) | 491(2) | 903(4) | 291(1) | 30(1) |
| C(10) | 695(2) | 831(5) | -764(1) | 36(1) |
| C(11) | 1471(2) | 938(4) | 284(2) | 33(1) |
| C(12) | 2388(2) | 759(5) | -528(2) | 35(1) |
| C(13) | 3157(2) | 772(4) | -34(2) | 34(1) |
| C(14) | 3067(2) | 920(4) | 572(1) | 32(1) |
| C(15) | 2199(2) | 993(4) | 744(1) | 35(1) |
| C(16) | 4063(2) | 652(5) | -223(1) | 39(1) |
| C(17) | 4698(2) | -38(5) | 863(2) | 43(1) |
| C(18) | 3920(2) | 1101(5) | 1050(1) | 36(1) |
| C(19) | 4191(2) | 3246(4) | 1112(1) | 39(1) |
| C(20) | 5039(2) | 3639(5) | 1599(2) | 53(1) |
| C(21) | 3547(2) | -1319(5) | 1731(2) | 42(1) |
| C(22) | 3391(2) | -1700(5) | 2375(2) | 55(1) |
| C(23) | 3057(2) | -3713(5) | 2462(2) | 69(1) |
| C(24) | -1296(2) | 7496(5) | 6345(2) | 43(1) |
| C(25) | -2208(2) | 7380(5) | 6318(2) | 50(1) |
| C(26) | -2779(2) | 7338(5) | 5734(2) | 52(1) |
| C(27) | -2434(2) | 7452(5) | 5201(2) | 46(1) |
| C(28) | -1494(2) | 7557(4) | 5214(2) | 33(1) |
| C(29) | -919(2) | 7572(4) | 5799(2) | 34(1) |
| C(30) | -1101(2) | 7601(4) | 4672(2) | 37(1) |
| C(31) | -179(2) | 7612(5) | 4735(2) | 31(1) |
| C(32) | 338(2) | 7628(5) | 5341(2) | 30(1) |
| C(33) | 448(2) | 7597(5) | 4262(1) | 36(1) |

[0167]

| | | | | |
|-------|----------|----------|----------|-------|
| C(34) | 1296(2) | 7576(5) | 5291(2) | 32(1) |
| C(35) | 2136(2) | 7419(4) | 4429(2) | 35(1) |
| C(36) | 2932(2) | 7290(4) | 4903(2) | 33(1) |
| C(37) | 2901(2) | 7376(4) | 5517(2) | 31(1) |
| C(38) | 2060(2) | 7521(4) | 5730(1) | 33(1) |
| C(39) | 3818(2) | 7072(5) | 4672(2) | 45(1) |
| C(40) | 4509(2) | 6193(5) | 5742(2) | 42(1) |
| C(41) | 3786(2) | 7434(5) | 5964(1) | 32(1) |
| C(42) | 4111(2) | 9549(4) | 6027(2) | 42(1) |
| C(43) | 4985(2) | 9880(5) | 6493(2) | 52(1) |
| C(44) | 3461(2) | 4998(5) | 6663(2) | 37(1) |
| C(45) | 3447(2) | 4602(5) | 7329(2) | 51(1) |
| C(46) | 3242(2) | 2520(5) | 7463(2) | 63(1) |
| N(1) | 120(2) | 881(4) | 797(1) | 38(1) |
| N(2) | 1565(2) | 841(4) | -331(1) | 33(1) |
| N(3) | 17(2) | 7618(4) | 5863(1) | 34(1) |
| N(4) | 1344(2) | 7534(4) | 4668(1) | 31(1) |
| O(1) | 2435(1) | 639(3) | -1088(1) | 44(1) |
| O(2) | 4756(1) | -117(3) | 255(1) | 49(1) |
| O(3) | 5289(2) | -760(3) | 1231(1) | 57(1) |
| O(4) | 3788(1) | 526(3) | 1658(1) | 39(1) |
| O(5) | 3469(1) | -2474(3) | 1308(1) | 54(1) |
| O(6) | 2142(1) | 7384(3) | 3869(1) | 45(1) |
| O(7) | 4502(1) | 6092(3) | 5127(1) | 48(1) |
| O(8) | 5108(1) | 5412(3) | 6091(1) | 55(1) |
| O(9) | 3704(1) | 6866(3) | 6584(1) | 35(1) |
| O(10) | 3291(1) | 3905(3) | 6238(1) | 47(1) |
| O(11) | 998(2) | 8164(4) | 2777(1) | 59(1) |
| O(12) | 1226(2) | 1248(4) | 2025(1) | 56(1) |
| O(13) | 602(2) | 4974(4) | 2037(1) | 68(1) |
| O(14) | 1264(2) | 7001(4) | 7044(2) | 63(1) |
| O(15) | 802(2) | 3200(5) | 7072(2) | 83(1) |
| O(16) | -1229(3) | 5058(4) | 2183(2) | 59(1) |

[0168]

[0169] U_{eq} 는 직교화 U^{ij} 텐서의 대각합의 1/3로서 정의된다.

표 9[C₂₃H₂₀N₂O₅]•3H₂O에 대한 결합 길이 [Å] 및 각 [°]

| | |
|-------------|----------|
| C(1)-C(2) | 1.378(4) |
| C(1)-C(6) | 1.404(4) |
| C(2)-C(3) | 1.393(5) |
| C(3)-C(4) | 1.362(4) |
| C(4)-C(5) | 1.428(4) |
| C(5)-C(7) | 1.413(4) |
| C(5)-C(6) | 1.418(4) |
| C(6)-N(1) | 1.385(3) |
| C(7)-C(8) | 1.362(4) |
| C(8)-C(9) | 1.407(4) |
| C(8)-C(10) | 1.498(4) |
| C(9)-N(1) | 1.317(4) |
| C(9)-C(11) | 1.473(4) |
| C(10)-N(2) | 1.473(3) |
| C(11)-C(15) | 1.351(4) |
| C(11)-N(2) | 1.375(4) |
| C(12)-O(1) | 1.238(3) |
| C(12)-N(2) | 1.377(3) |
| C(12)-C(13) | 1.437(4) |
| C(13)-C(14) | 1.355(4) |
| C(13)-C(16) | 1.490(4) |
| C(14)-C(15) | 1.418(4) |
| C(14)-C(18) | 1.510(4) |
| C(16)-O(2) | 1.443(3) |
| C(17)-O(3) | 1.199(3) |
| C(17)-O(2) | 1.345(4) |
| C(17)-C(18) | 1.526(4) |
| C(18)-O(4) | 1.433(3) |
| C(18)-C(19) | 1.551(4) |
| C(19)-C(20) | 1.536(4) |
| C(21)-O(5) | 1.215(4) |
| C(21)-O(4) | 1.354(4) |
| C(21)-C(22) | 1.487(4) |
| C(22)-C(23) | 1.515(5) |
| C(24)-C(25) | 1.361(4) |
| C(24)-C(29) | 1.405(4) |

[0170]

| | |
|----------------|----------|
| C(25)-C(26) | 1.409(5) |
| C(26)-C(27) | 1.354(4) |
| C(27)-C(28) | 1.409(4) |
| C(28)-C(30) | 1.408(4) |
| C(28)-C(29) | 1.413(4) |
| C(29)-N(3) | 1.388(3) |
| C(30)-C(31) | 1.368(4) |
| C(31)-C(32) | 1.411(4) |
| C(31)-C(33) | 1.512(4) |
| C(32)-N(3) | 1.311(4) |
| C(32)-C(34) | 1.460(4) |
| C(33)-N(4) | 1.477(3) |
| C(34)-C(38) | 1.362(4) |
| C(34)-N(4) | 1.373(4) |
| C(35)-O(6) | 1.223(3) |
| C(35)-N(4) | 1.380(3) |
| C(35)-C(36) | 1.440(4) |
| C(36)-C(37) | 1.348(4) |
| C(36)-C(39) | 1.508(4) |
| C(37)-C(38) | 1.423(4) |
| C(37)-C(41) | 1.507(4) |
| C(39)-O(7) | 1.468(3) |
| C(40)-O(8) | 1.204(3) |
| C(40)-O(7) | 1.340(4) |
| C(40)-C(41) | 1.531(4) |
| C(41)-O(9) | 1.434(3) |
| C(41)-C(42) | 1.553(4) |
| C(42)-C(43) | 1.532(4) |
| C(44)-O(10) | 1.192(4) |
| C(44)-O(9) | 1.372(4) |
| C(44)-C(45) | 1.483(4) |
| C(45)-C(46) | 1.524(4) |
| | |
| C(2)-C(1)-C(6) | 119.8(3) |
| C(1)-C(2)-C(3) | 121.1(3) |
| C(4)-C(3)-C(2) | 120.1(3) |
| C(3)-C(4)-C(5) | 121.0(3) |
| C(7)-C(5)-C(6) | 119.5(3) |

[0171]

| | |
|-------------------|----------|
| C(7)-C(5)-C(4) | 122.6(3) |
| C(6)-C(5)-C(4) | 117.9(3) |
| N(1)-C(6)-C(1) | 118.3(3) |
| N(1)-C(6)-C(5) | 121.8(3) |
| C(1)-C(6)-C(5) | 119.9(3) |
| C(8)-C(7)-C(5) | 118.1(3) |
| C(7)-C(8)-C(9) | 118.7(3) |
| C(7)-C(8)-C(10) | 131.8(3) |
| C(9)-C(8)-C(10) | 109.6(3) |
| N(1)-C(9)-C(8) | 126.2(3) |
| N(1)-C(9)-C(11) | 125.2(3) |
| C(8)-C(9)-C(11) | 108.6(3) |
| N(2)-C(10)-C(8) | 102.1(2) |
| C(15)-C(11)-N(2) | 121.3(3) |
| C(15)-C(11)-C(9) | 132.3(3) |
| N(2)-C(11)-C(9) | 106.4(3) |
| O(1)-C(12)-N(2) | 121.2(3) |
| O(1)-C(12)-C(13) | 124.4(3) |
| N(2)-C(12)-C(13) | 114.3(3) |
| C(14)-C(13)-C(12) | 122.0(3) |
| C(14)-C(13)-C(16) | 121.6(3) |
| C(12)-C(13)-C(16) | 116.4(3) |
| C(13)-C(14)-C(15) | 120.8(3) |
| C(13)-C(14)-C(18) | 117.7(3) |
| C(15)-C(14)-C(18) | 121.5(3) |
| C(11)-C(15)-C(14) | 117.7(3) |
| O(2)-C(16)-C(13) | 113.5(3) |
| O(3)-C(17)-O(2) | 118.5(3) |
| O(3)-C(17)-C(18) | 123.5(3) |
| O(2)-C(17)-C(18) | 117.9(3) |
| O(4)-C(18)-C(14) | 112.3(2) |
| O(4)-C(18)-C(17) | 109.7(3) |
| C(14)-C(18)-C(17) | 111.6(3) |
| O(4)-C(18)-C(19) | 105.4(3) |
| C(14)-C(18)-C(19) | 108.6(3) |
| C(17)-C(18)-C(19) | 108.9(3) |
| C(20)-C(19)-C(18) | 114.0(3) |
| O(5)-C(21)-O(4) | 122.3(3) |

[0172]

| | |
|-------------------|----------|
| O(5)-C(21)-C(22) | 126.1(3) |
| O(4)-C(21)-C(22) | 111.6(3) |
| C(21)-C(22)-C(23) | 113.2(3) |
| C(25)-C(24)-C(29) | 121.0(3) |
| C(24)-C(25)-C(26) | 119.4(4) |
| C(27)-C(26)-C(25) | 120.9(3) |
| C(26)-C(27)-C(28) | 121.1(3) |
| C(30)-C(28)-C(27) | 123.2(3) |
| C(30)-C(28)-C(29) | 118.6(3) |
| C(27)-C(28)-C(29) | 118.1(3) |
| N(3)-C(29)-C(24) | 117.8(3) |
| N(3)-C(29)-C(28) | 122.6(3) |
| C(24)-C(29)-C(28) | 119.5(3) |
| C(31)-C(30)-C(28) | 118.6(3) |
| C(30)-C(31)-C(32) | 118.5(3) |
| C(30)-C(31)-C(33) | 132.1(3) |
| C(32)-C(31)-C(33) | 109.4(3) |
| N(3)-C(32)-C(31) | 126.0(3) |
| N(3)-C(32)-C(34) | 125.3(3) |
| C(31)-C(32)-C(34) | 108.6(3) |
| N(4)-C(33)-C(31) | 101.6(2) |
| C(38)-C(34)-N(4) | 120.8(3) |
| C(38)-C(34)-C(32) | 132.0(3) |
| N(4)-C(34)-C(32) | 107.1(3) |
| O(6)-C(35)-N(4) | 122.2(3) |
| O(6)-C(35)-C(36) | 124.5(3) |
| N(4)-C(35)-C(36) | 113.2(3) |
| C(37)-C(36)-C(35) | 122.9(3) |
| C(37)-C(36)-C(39) | 121.3(3) |
| C(35)-C(36)-C(39) | 115.8(3) |
| C(36)-C(37)-C(38) | 120.9(3) |
| C(36)-C(37)-C(41) | 117.8(3) |
| C(38)-C(37)-C(41) | 121.2(3) |
| C(34)-C(38)-C(37) | 117.3(3) |
| O(7)-C(39)-C(36) | 112.1(3) |
| O(8)-C(40)-O(7) | 119.0(3) |
| O(8)-C(40)-C(41) | 123.2(3) |
| O(7)-C(40)-C(41) | 117.6(3) |

[0173]

| | |
|-------------------|----------|
| O(9)-C(41)-C(37) | 113.2(2) |
| O(9)-C(41)-C(40) | 108.9(3) |
| C(37)-C(41)-C(40) | 111.9(3) |
| O(9)-C(41)-C(42) | 104.9(2) |
| C(37)-C(41)-C(42) | 108.1(3) |
| C(40)-C(41)-C(42) | 109.7(2) |
| C(43)-C(42)-C(41) | 114.9(3) |
| O(10)-C(44)-O(9) | 122.5(3) |
| O(10)-C(44)-C(45) | 127.1(3) |
| O(9)-C(44)-C(45) | 110.4(3) |
| C(44)-C(45)-C(46) | 113.8(3) |
| C(9)-N(1)-C(6) | 115.7(3) |
| C(11)-N(2)-C(12) | 123.8(3) |
| C(11)-N(2)-C(10) | 113.3(2) |
| C(12)-N(2)-C(10) | 122.9(3) |
| C(32)-N(3)-C(29) | 115.6(3) |
| C(34)-N(4)-C(35) | 124.8(3) |
| C(34)-N(4)-C(33) | 113.2(2) |
| C(35)-N(4)-C(33) | 122.0(3) |
| C(17)-O(2)-C(16) | 122.4(2) |
| C(21)-O(4)-C(18) | 117.1(3) |
| C(40)-O(7)-C(39) | 122.4(2) |
| C(44)-O(9)-C(41) | 116.6(2) |

[0174]

등가 원자를 생성하기 위해 대칭 변환을 사용함

표 10[C₂₃H₂₀N₂O₅]•3H₂O에 대한 이방 변위 파라미터 (Å²×10³)

| | U ¹¹ | U ²² | U ³³ | U ²³ | U ¹³ | U ¹² |
|-------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| C(1) | 45(2) | 43(2) | 48(2) | -1(2) | 9(2) | 1(2) |
| C(2) | 51(2) | 51(3) | 55(3) | -2(2) | 18(2) | -4(2) |
| C(3) | 44(2) | 45(2) | 73(3) | -7(2) | 12(2) | -4(2) |
| C(4) | 41(2) | 38(2) | 59(3) | -3(2) | -4(2) | -1(2) |
| C(5) | 38(2) | 24(2) | 46(2) | -4(2) | 2(2) | -7(2) |
| C(6) | 40(2) | 25(2) | 48(2) | 2(2) | 9(2) | 2(2) |
| C(7) | 45(2) | 28(2) | 40(2) | 0(2) | -7(2) | -6(2) |
| C(8) | 39(2) | 24(2) | 34(2) | -2(2) | 2(2) | -5(2) |
| C(9) | 39(2) | 19(2) | 31(2) | 1(2) | 6(2) | 1(2) |
| C(10) | 44(2) | 28(2) | 32(2) | 1(2) | -3(2) | -5(2) |
| C(11) | 39(2) | 29(2) | 31(2) | 3(2) | 4(2) | 1(2) |
| C(12) | 43(2) | 35(2) | 27(2) | 1(2) | 7(2) | -7(2) |
| C(13) | 37(2) | 28(2) | 36(2) | 2(2) | 5(2) | 2(2) |
| C(14) | 38(2) | 27(2) | 28(2) | -4(2) | 2(2) | 1(2) |
| C(15) | 44(2) | 34(2) | 24(2) | 3(2) | 2(2) | 6(2) |
| C(16) | 42(2) | 45(2) | 28(2) | -1(2) | 4(2) | -3(2) |
| C(17) | 40(2) | 41(2) | 44(2) | -6(2) | -1(2) | 2(2) |
| C(18) | 35(2) | 43(2) | 28(2) | 2(2) | 1(2) | 4(2) |
| C(19) | 40(2) | 38(2) | 35(2) | -4(2) | -1(2) | 0(2) |
| C(20) | 54(2) | 53(3) | 47(2) | -4(2) | -6(2) | -6(2) |
| C(21) | 39(2) | 44(3) | 40(2) | 4(2) | -1(2) | 4(2) |
| C(22) | 64(3) | 60(3) | 40(2) | 14(2) | 11(2) | 9(2) |
| C(23) | 63(3) | 72(3) | 75(3) | 19(3) | 20(2) | 2(2) |
| C(24) | 47(2) | 38(2) | 45(2) | 1(2) | 10(2) | 3(2) |
| C(25) | 43(2) | 50(2) | 61(3) | 1(2) | 18(2) | 0(2) |
| C(26) | 39(2) | 43(2) | 73(3) | 0(2) | 5(2) | 1(2) |
| C(27) | 41(2) | 34(2) | 58(3) | 0(2) | -2(2) | 1(2) |
| C(28) | 35(2) | 21(2) | 42(2) | -2(2) | -1(2) | 1(2) |
| C(29) | 36(2) | 24(2) | 42(2) | 3(2) | 4(2) | 1(2) |
| C(30) | 48(2) | 22(2) | 33(2) | 2(2) | -11(2) | 2(2) |
| C(31) | 34(2) | 23(2) | 34(2) | -1(2) | -2(2) | 1(2) |
| C(32) | 32(2) | 24(2) | 33(2) | 3(2) | 1(2) | 0(2) |
| C(33) | 46(2) | 28(2) | 33(2) | 2(2) | 0(2) | -3(2) |
| C(34) | 42(2) | 23(2) | 30(2) | -2(2) | 2(2) | 1(2) |

[0176]

| | | | | | | |
|-------|-------|-------|-------|-------|--------|-------|
| C(35) | 50(2) | 22(2) | 32(2) | 0(2) | 7(2) | 1(2) |
| C(36) | 41(2) | 27(2) | 31(2) | 2(2) | 8(2) | 1(2) |
| C(37) | 33(2) | 23(2) | 35(2) | 0(2) | 2(2) | 0(2) |
| C(38) | 39(2) | 30(2) | 28(2) | -2(2) | 4(2) | 1(2) |
| C(39) | 46(2) | 48(2) | 41(2) | 6(2) | 6(2) | 0(2) |
| C(40) | 43(2) | 42(2) | 43(2) | 2(2) | 12(2) | 2(2) |
| C(41) | 35(2) | 36(2) | 26(2) | 3(2) | 7(2) | 5(2) |
| C(42) | 42(2) | 37(2) | 44(2) | 0(2) | 1(2) | -5(2) |
| C(43) | 51(2) | 54(3) | 49(2) | -6(2) | 4(2) | -9(2) |
| C(44) | 37(2) | 41(2) | 31(2) | 4(2) | 3(2) | 10(2) |
| C(45) | 61(2) | 50(2) | 44(2) | 8(2) | 13(2) | 2(2) |
| C(46) | 70(3) | 64(3) | 55(3) | 17(2) | 9(2) | -7(2) |
| N(1) | 39(2) | 31(2) | 43(2) | 1(2) | 6(1) | -4(1) |
| N(2) | 35(2) | 32(2) | 30(2) | -1(1) | 1(1) | -4(1) |
| N(3) | 38(2) | 26(2) | 36(2) | 0(1) | 4(1) | 2(1) |
| N(4) | 36(2) | 28(2) | 28(2) | 2(1) | 1(1) | 0(1) |
| O(1) | 47(1) | 52(2) | 33(1) | 1(1) | 2(1) | -4(1) |
| O(2) | 43(2) | 67(2) | 37(2) | 0(1) | 5(1) | 15(1) |
| O(3) | 49(2) | 68(2) | 50(2) | 0(1) | -3(1) | 23(1) |
| O(4) | 44(1) | 41(2) | 32(1) | 1(1) | 4(1) | 2(1) |
| O(5) | 78(2) | 40(2) | 40(2) | 0(1) | 3(1) | 2(1) |
| O(6) | 57(2) | 52(2) | 26(1) | -1(1) | 8(1) | 3(1) |
| O(7) | 45(1) | 63(2) | 38(2) | 3(1) | 14(1) | 13(1) |
| O(8) | 47(2) | 68(2) | 49(2) | 5(1) | 7(1) | 22(1) |
| O(9) | 39(1) | 33(1) | 32(1) | -2(1) | 4(1) | 1(1) |
| O(10) | 62(2) | 43(2) | 34(2) | -5(1) | 2(1) | 3(1) |
| O(11) | 63(2) | 58(2) | 48(2) | -2(2) | -10(2) | -1(2) |
| O(12) | 62(2) | 64(2) | 38(2) | 2(1) | 1(1) | -1(1) |
| O(13) | 58(2) | 69(2) | 73(2) | -6(2) | 1(2) | 9(2) |
| O(14) | 63(2) | 70(3) | 52(2) | 12(2) | 0(1) | 2(2) |
| O(15) | 59(2) | 89(3) | 94(3) | 24(2) | -5(2) | 1(2) |
| O(16) | 67(2) | 59(3) | 46(2) | -2(2) | 0(1) | 2(2) |

[0177]

[0178] a) 방변위 인자 지수는 식 $-2\pi^2 [h^2 a^{*2} U^{11} + \dots + 2hka b^* U^{12}]$ 을 취함

[0179]

a)들 연구로부터 본 발명의 화합물이 놀라운 수준의 항암 활성을 나타낸다는 것이 명확하다. 이는 회복된 종양의 스펙트럼 및 반응의 질 모두에 적용된다. 본 발명의 방법은 암종 (예를 들어, 폐, 유방, 결장, 위, 췌장, 방광, 전립선, 골육종 및 난소) 및 악성 흑색종의 인간 이종이식편의 성장을 완전히 차단하고 완전히 퇴행시킬 수 있었다. 이는 어떠한 관찰가능한 독성도 없이 달성되었다. 6개월 동안 연속적으로 처리된 많은 포유동물은 나쁜 효과도 나타내지 않았고, 보유한 종양의 재성장도 나타내지 않았다. 본 발명의 수화된 결정질 지방족 에스테르 수화물은 모두 대략 동일한 정도의 효능 및 치료 지수 값을 가져야 한다.

[0180]

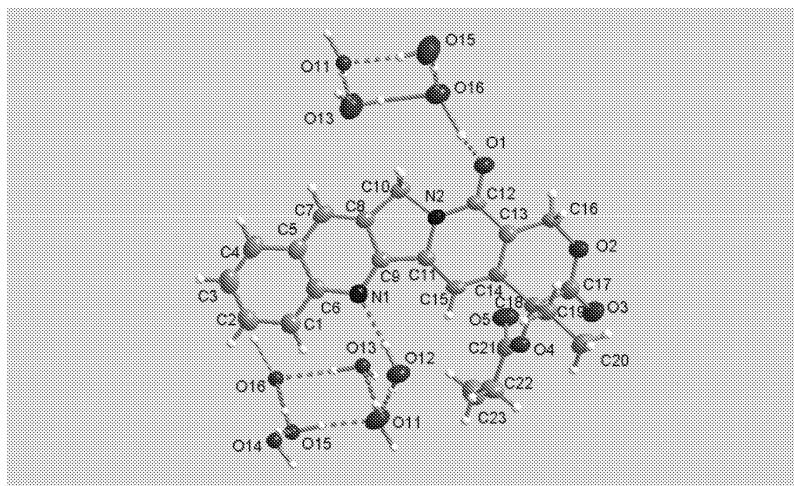
본 출원인은 특히 본 개시물에 모든 인용된 참고문헌의 전문을 도입하였다. 또한, 양, 농도 또는 다른 값 또는 파라미터가 범위, 바람직한 범위 또는 바람직한 상한치와 바람직한 하한치의 목록으로 제공될 경우, 범위가 별도로 개시되어 있는지와 상관 없이, 임의의 쌍의 임의의 범위의 상한 또는 바람직한 값 및 임의의 범위의 하한 또는 바람직한 값으로부터 형성된 모든 범위를 구체적으로 개시한 것으로 이해되어야 한다. 수치 범위가 본원에 기재될 경우, 달리 언급되지 않는 한, 범위는 그의 종점 및 범위 내의 모든 정수 및 분수를 포함하는 것으로 의도된다. 본 발명의 범위가 범위를 정의할 때 언급된 특정 값으로 제한되는 것으로 의도되지 않는다.

[0181]

본 발명의 다른 실시양태가 본 명세서의 고려 및 본원에 개시된 본 발명의 실시로부터 당업자에게 명백할 것이다. 본 명세서 및 실시예는 단지 예로서 고려되어야 하며, 본 발명의 진정한 범위 및 취지는 하기 청구의 범위 및 그의 등가물에 의해 지정되도록 의도된다.

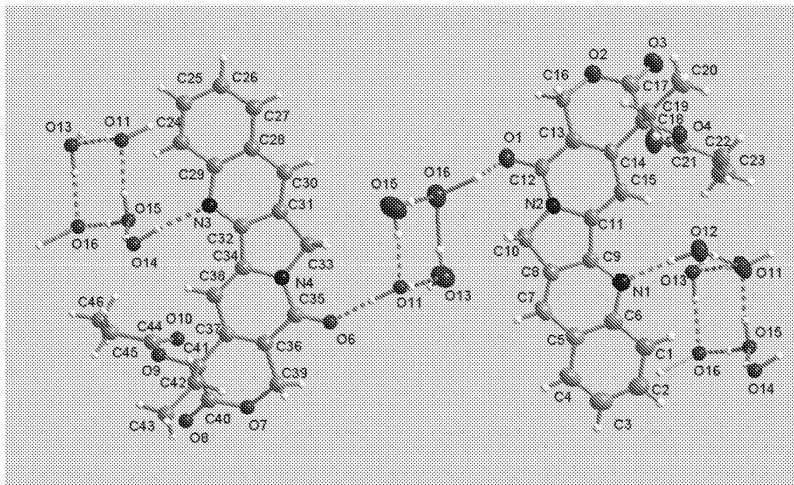
도면

도면1



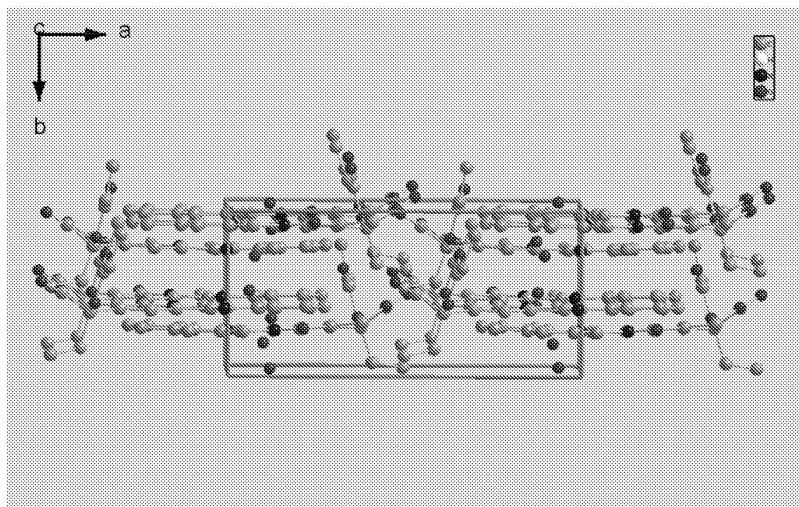
$C_{23} H_{20} N_2 O_5 \cdot 3H_2O$ 의 분자 구조

도면2



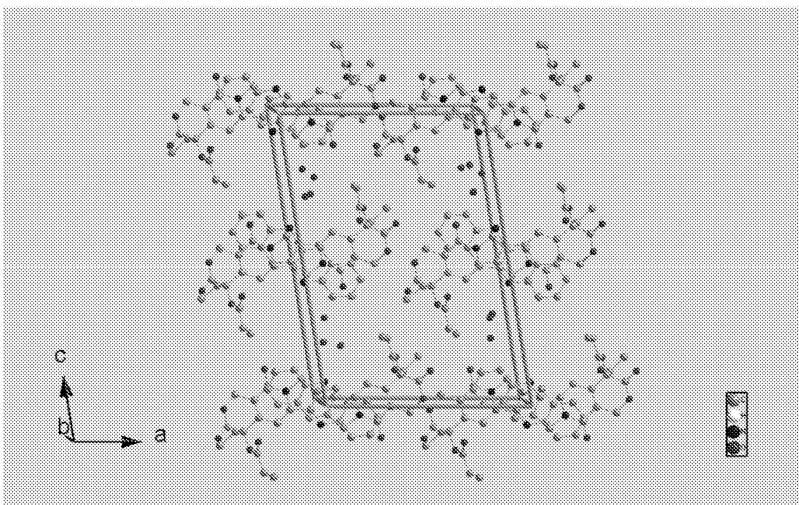
$2 \times C_{23} H_{20} N_2 O_5 \cdot 3H_2O$ 의 H_2O 브릿지 분자 구조

도면3



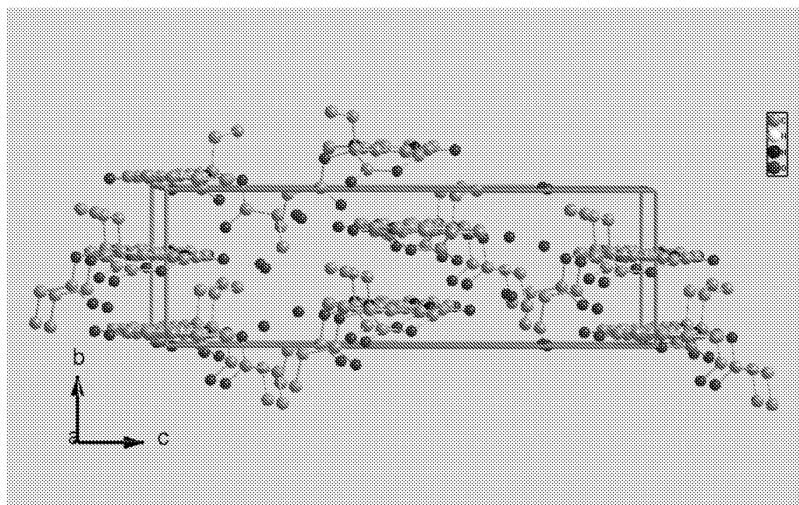
$C_{23} H_{20} N_2 O_5 \cdot 3H_2O$ 의 삼차원 결정 구조 (a,b-평면)

도면4



$C_{23} H_{20} N_2 O_5 \cdot 3H_2O$ 의 삼차원 결정 구조 (a,c-평면)

도면5



$C_{23} H_{20} N_2 O_5 \cdot 3H_2O$ 의 삼차원 결정 구조 (b,c-평면)