



(19)대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(51) Int. Cl.

A61K 31/435 (2006.01)
A61P 27/12 (2006.01)

(11) 공개번호 10-2007-0040326
(43) 공개일자 2007년04월16일

(21) 출원번호 10-2006-7012250

(22) 출원일자 2006년06월20일

심사청구일자 없음

번역문 제출일자 2006년06월20일

(86) 국제출원번호 PCT/US2004/039716

(87) 국제공개번호 WO 2005/055926

국제출원일자 2004년11월22일

국제공개일자 2005년06월23일

(30) 우선권주장 60/523,803 2003년11월20일 미국(US)

(71) 출원인 오쎬라 파마슈티걸즈, 인크.
미국 펜실베이니아주 19341 엑스톤 스프링데일 드라이브 730

(72) 발명자 마티어, 윌리엄, 엘.
미국 델라웨어 19707, 호크신, 8 라크몬트 코트
파틸, 간삼
미국 펜실베이니아 19352, 링컨 유니버시티, 19 린덴 서클

(74) 대리인 김진희
김성기

전체 청구항 수 : 총 67 항

(54) 백내장, 황반 변성 및 다른 안과 질환의 개선

(57) 요약

백내장, 노안, 황반 변성 및 다른 망막병증, 녹내장, 포도막염, 및 다양한 각막 장애의 진행을 저지시키는데 사용되는 안과학적으로 허용가능한 조성물이 개시되어 있다. 또한, 상기 조성물은 백내장, 노안, 녹내장 및 황반 변성을 포함하는 나이 관련 안구 장애의 진행을 예방 또는 지연하기 위한 예방적 치료로서도 유용하다. 상기 조성물은, 식 중, R₁ 및 R₂은 독립적으로, H 또는 C₁ 내지 C₃ 알킬이고; R₃ 및 R₄는 독립적으로, C₁ 내지 C₃ 알킬이고; R₁와 R₂가 함께 또는 R₃와 R₄가 함께, 또는 둘 모두가 시클로알킬일 수 있고; R₅는 H, OH, 또는 C₁ 내지 C₆ 알킬이고; R₆는 C₁ 내지 C₆ 알킬, 알케닐, 알키닐, 또는 치환된 알킬 또는 알케닐이고; R₇은 C₁ 내지 C₆ 알킬, 알케닐, 알키닐, 또는 치환된 알킬 또는 알케닐이거나, 또는 R₆ 및 R₇, 또는 R₅, R₆ 및 R₇가 함께 고리내 원자수가 3 내지 7인 탄소환 또는 복소환을 형성하는 본원 화학식을 갖는 하나 이상의 화합물 및 안과학적으로 허용가능한 담체 또는 희석제를 함유한다.

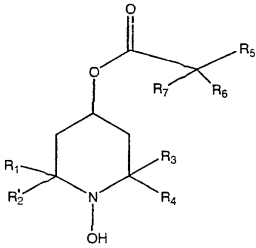
대표도

도 1

특허청구의 범위

청구항 1.

하기 화학식의 하나 이상의 화합물을 함유하고 안과학적으로 허용가능한 담체 또는 희석제를 함유하는 조성물을 환자의 눈에 투여하는 것을 포함하는, 환자의 황반 변성, 망막병증, 녹내장, 노안, 결막 질환, 눈꺼풀 장애, 각막 질환 또는 포도막염을 치료하는 방법:



[식 중, R₁ 및 R₂은 독립적으로, H 또는 C₁ 내지 C₃ 알킬이고;

R₃ 및 R₄는 독립적으로, C₁ 내지 C₃ 알킬이고;

R₁와 R₂가 함께 또는 R₃와 R₄가 함께, 또는 둘 모두가 시클로알킬일 수 있고;

R₅는 H, OH, 또는 C₁ 내지 C₆ 알킬이고;

R₆는 C₁ 내지 C₆ 알킬, 알케닐, 알키닐, 또는 치환된 알킬 또는 알케닐이고;

R₇은 C₁ 내지 C₆ 알킬, 알케닐, 알키닐, 또는 치환된 알킬 또는 알케닐이거나,

또는 R₆ 및 R₇, 또는 R₅, R₆ 및 R₇가 함께 고리내 원자수가 3 내지 7인 탄소환 또는 복소환을 형성한다].

청구항 2.

제1항에 있어서, R₁, R₂, R₃, 및 R₄이 C₁-C₃ 알킬인 방법.

청구항 3.

제2항에 있어서, R₁, R₂, R₃, 및 R₄이 에틸기인 방법.

청구항 4.

제2항에 있어서, R₁, R₂, R₃, 및 R₄이 메틸기인 방법.

청구항 5.

제4항에 있어서, 각 R₅이 H 또는 메틸이고, R₆이 벤질옥시 또는 C₁-C₆ 알콕시로 치환된 메틸이고; R₇이 메틸인 방법.

청구항 6.

제4항에 있어서, 각 R₅가 H 또는 메틸이고, R₆ 및 R₇이 시클로프로필기를 형성하는 방법.

청구항 7.

제4항에 있어서, R₅, R₆ 및 R₇이 푸라닐기를 형성하는 방법.

청구항 8.

제4항에 있어서, R₅가 H이고; R₆ 및 R₇이 테트라히드로푸라닐기를 형성하는 방법.

청구항 9.

제4항에 있어서, R₅가 H이고; R₆ 및 R₇이 시클로프로필 고리를 형성하는 방법.

청구항 10.

제1항에 있어서, 점안제, 세안제, 또는 안 연고를 통해 투여되는 것인 방법.

청구항 11.

제1항에 있어서, 환자에게 환원제를 투여하는 것을 추가로 포함하는 방법.

청구항 12.

제11항에 있어서, 환원제를 조성물과 공동 투여하는 방법.

청구항 13.

제11항에 있어서, 환원제를 조성물과는 별도로 투여하는 방법.

청구항 14.

제11항에 있어서, 환원제가 술포히드릴 화합물인 방법.

청구항 15.

제14항에 있어서, 메르캅토프로피오닐 글리신, N-아세틸 시스테인, β-메르캅토에틸아민, 또는 글루타티온을 환자에게 공동 투여하는 것을 추가로 포함하는 방법.

청구항 16.

제11항에 있어서, 환원제를 점안제, 세안제 또는 안 연고를 통해 투여하는 방법.

청구항 17.

제1항에 있어서, 상기 화합물을 조직 및 유체 중 농도가 약 0.1 μM 내지 약 10 mM이도록 투여하는 방법.

청구항 18.

제1항에 있어서, 상기 화합물을 조직 및 유체 중 농도가 약 1 μM 내지 약 5 mM이도록 투여하는 방법.

청구항 19.

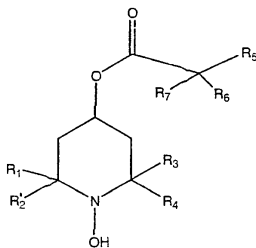
제1항에 있어서, 상기 화합물을 조직 및 유체 중 농도가 약 25 μM 내지 약 1 mM이도록 투여하는 방법.

청구항 20.

제1항에 있어서, 상기 화합물을 조직 및 유체 중 농도가 약 50 μM 내지 약 100 μM이도록 투여하는 방법.

청구항 21.

백내장, 노안, 녹내장, 나이 관련 황반부 장애 또는 눈의 다른 나이 관련 상태의 진행을 예방 또는 지연시키는 방법으로서, 하기 화학식의 하나 이상의 화합물을 함유하고 안과학적으로 허용가능한 담체 또는 희석제를 함유하는 점안제, 세안제 또는 안 연고를 눈에 투여하는 것을 포함하며, 상기 투여는 나이 관련 상태 개시 전에 또는 개시시에 실시되는 것인 방법:



[식 중, R₁ 및 R₂은 독립적으로, H 또는 C₁ 내지 C₃ 알킬이고;

R₃ 및 R₄는 독립적으로, C₁ 내지 C₃ 알킬이고;

R₁와 R₂가 함께 또는 R₃와 R₄가 함께, 또는 둘 모두가 시클로알킬일 수 있고;

R₅는 H, OH, 또는 C₁ 내지 C₆ 알킬이고;

R_6 는 C_1 내지 C_6 알킬, 알케닐, 알키닐, 또는 치환된 알킬 또는 알케닐이고;

R_7 은 C_1 내지 C_6 알킬, 알케닐, 알키닐, 또는 치환된 알킬 또는 알케닐이거나,

또는 R_6 및 R_7 , 또는 R_5 , R_6 및 R_7 가 함께 고리내 원자수가 3 내지 7인 탄소환 또는 복소환을 형성한다].

청구항 22.

제21항에 있어서, R_1 , R_2 , R_3 , 및 R_4 이 C_1 - C_3 알킬인 방법.

청구항 23.

제22항에 있어서, R_1 , R_2 , R_3 , 및 R_4 이 에틸기인 방법.

청구항 24.

제22항에 있어서, R_1 , R_2 , R_3 , 및 R_4 이 메틸기인 방법.

청구항 25.

제24항에 있어서, 각 R_5 가 H 또는 메틸이고, R_6 이 벤질옥시 또는 C_1 - C_6 알콕시로 치환된 메틸이고, R_7 이 메틸인 방법.

청구항 26.

제24항에 있어서, 각 R_5 가 H 또는 메틸이고, R_6 및 R_7 이 시클로프로필기를 형성하는 방법.

청구항 27.

제24항에 있어서, R_5 , R_6 및 R_7 이 푸라닐기를 형성하는 방법.

청구항 28.

제24항에 있어서, R_5 이 H이고; R_6 및 R_7 이 테트라히드로푸라닐기를 형성하는 방법.

청구항 29.

제24항에 있어서, R_5 가 H이고; R_6 및 R_7 가 시클로프로필 고리를 형성하는 방법.

청구항 30.

제21항에 있어서, 환원제를 환자에게 투여하는 것을 추가로 포함하는 방법.

청구항 31.

제30항에 있어서, 환원제를 조성물과 공동투여하는 방법.

청구항 32.

제30항에 있어서, 환원제를 조성물과는 별도로 투여하는 방법.

청구항 33.

제30항에 있어서, 환원제가 술프히드릴 화합물인 방법.

청구항 34.

제33항에 있어서, 메르캅토프로피오닐 글리신, N-아세틸 시스테인, β -메르캅토에틸아민, 또는 글루타티온을 환자에게 공동투여하는 것을 추가로 포함하는 방법.

청구항 35.

제21항에 있어서, 상기 화합물이 조직 및 유체 중 농도가 약 0.1 μ M 내지 약 10 mM이도록 투여되는 방법.

청구항 36.

제21항에 있어서, 상기 화합물이 조직 및 유체 중 농도가 약 1 μ M 내지 약 5 mM이도록 투여되는 방법.

청구항 37.

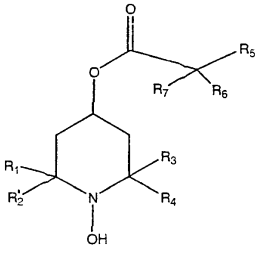
제21항에 있어서, 상기 화합물이 조직 및 유체 중 농도가 약 25 μ M 내지 약 1 mM이도록 투여되는 방법.

청구항 38.

제21항에 있어서, 상기 화합물이 조직 및 유체 중 농도가 약 50 μ M 내지 약 100 μ M이도록 투여되는 방법.

청구항 39.

광산화성 손상에 대해 망막 색소 상피를 보호하는 방법으로서, 하기 화학식의 하나 이상의 화합물을 함유하고 안과학적으로 허용가능한 담체 또는 희석제를 함유하는 점안제, 세안제 또는 안 연고를 눈에 투여하는 것을 포함하며, 상기 투여는 나이 관련 상태 개시 전에 또는 개시시에 실시되는 것인 방법:



[식 중, R₁ 및 R₂은 독립적으로, H 또는 C₁ 내지 C₃ 알킬이고;

R₃ 및 R₄는 독립적으로, C₁ 내지 C₃ 알킬이고;

R₁와 R₂가 함께 또는 R₃와 R₄가 함께, 또는 둘 모두가 시클로알킬일 수 있고;

R₅는 H, OH, 또는 C₁ 내지 C₆ 알킬이고;

R₆는 C₁ 내지 C₆ 알킬, 알케닐, 알키닐, 또는 치환된 알킬 또는 알케닐이고;

R₇은 C₁ 내지 C₆ 알킬, 알케닐, 알키닐, 또는 치환된 알킬 또는 알케닐이거나,

또는 R₆ 및 R₇, 또는 R₅, R₆ 및 R₇가 함께 고리내 원자수가 3 내지 7인 탄소환 또는 복소환을 형성한다].

청구항 40.

제39항에 있어서, R₁, R₂, R₃, 및 R₄이 C₁-C₃ 알킬인 방법.

청구항 41.

제40항에 있어서, R₁, R₂, R₃, 및 R₄이 에틸기인 방법.

청구항 42.

제40항에 있어서, R₁, R₂, R₃, 및 R₄이 메틸기인 방법.

청구항 43.

제42항에 있어서, 각 R₅가 H 또는 메틸이고, R₆가 벤질옥시 또는 C₁-C₆ 알콕시로 치환된 메틸이고; R₇이 메틸인 방법.

청구항 44.

제42항에 있어서, 각 R₅가 H 또는 메틸이고, R₆ 및 R₇가 시클로프로필기를 형성하는 방법.

청구항 45.

제42항에 있어서, R₅, R₆ 및 R₇이 푸라닐기를 형성하는 방법.

청구항 46.

제42항에 있어서, R₅이 H이고; R₆ 및 R₇이 테트라히드로푸라닐기를 형성하는 방법.

청구항 47.

제42항에 있어서, R₅가 H이고; R₆ 및 R₇가 시클로프로필 고리를 형성하는 방법.

청구항 48.

제39항에 있어서, 환원제를 환자에게 투여하는 것을 추가로 포함하는 방법.

청구항 49.

제48항에 있어서, 환원제를 조성물과 공동투여하는 방법.

청구항 50.

제48항에 있어서, 환원제를 조성물과는 별도로 투여하는 방법.

청구항 51.

제48항에 있어서, 환원제가 술포히드릴 화합물인 방법.

청구항 52.

제51항에 있어서, 메르캅토프로피오닐 글리신, N-아세틸 시스테인, β-메르캅토에틸아민, 또는 글루타티온을 환자에게 공동 투여하는 것을 추가로 포함하는 방법.

청구항 53.

제39항에 있어서, 상기 화합물이 조직 및 유체 중 농도가 약 0.1 μM 내지 약 10 mM이도록 투여되는 방법.

청구항 54.

제39항에 있어서, 상기 화합물이 조직 및 유체 중 농도가 약 1 μM 내지 약 5 mM이도록 투여되는 방법.

청구항 55.

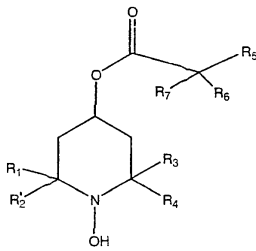
제39항에 있어서, 상기 화합물이 조직 및 유체 중 농도가 약 25 μM 내지 약 1 mM이도록 투여되는 방법.

청구항 56.

제39항에 있어서, 상기 화합물이 조직 및 유체 중 농도가 약 50 μM 내지 약 100 μM 이도록 투여되는 방법.

청구항 57.

모발 소낭을 보호하고 추가적 모발 손실을 예방하는 방법으로서, 하기 화학식의 하나 이상의 화합물 및 약학적으로 허용가능한 담체 또는 희석제를 함유하는 조성물을 상기 보호 및 예방이 필요한 환자에게 투여하는 것을 포함하며, 상기 조성물이 모발 소낭을 보호하고 추가적 모발 손실을 예방하는 것인 방법:



[식 중, R_1 및 R_2 은 독립적으로, H 또는 C_1 내지 C_3 알킬이고;

R_3 및 R_4 는 독립적으로, C_1 내지 C_3 알킬이고;

R_1 와 R_2 가 함께 또는 R_3 와 R_4 가 함께, 또는 둘 모두가 시클로알킬일 수 있고;

R_5 는 H, OH, 또는 C_1 내지 C_6 알킬이고;

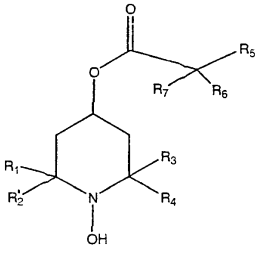
R_6 는 C_1 내지 C_6 알킬, 알케닐, 알키닐, 또는 치환된 알킬 또는 알케닐이고;

R_7 은 C_1 내지 C_6 알킬, 알케닐, 알키닐, 또는 치환된 알킬 또는 알케닐이거나,

또는 R_6 및 R_7 , 또는 R_5 , R_6 및 R_7 가 함께 고리내 원자수가 3 내지 7인 탄소환 또는 복소환을 형성한다].

청구항 58.

방사선조사 요법의 결과로서 직장 조직의 손상을 예방 또는 치료하는 방법으로서, 하기 화학식의 하나 이상의 화합물 및 약학적으로 허용가능한 담체 또는 희석제를 함유하는 조성물을 상기 예방 또는 치료가 필요한 환자에게 투여하는 것을 포함하며, 상기 조성물이 조직 손상을 개선, 지연 또는 예방하는 것인 방법:



[식 중, R₁ 및 R₂은 독립적으로, H 또는 C₁ 내지 C₃ 알킬이고;

R₃ 및 R₄는 독립적으로, C₁ 내지 C₃ 알킬이고;

R₁와 R₂가 함께 또는 R₃와 R₄가 함께, 또는 둘 모두가 시클로알킬일 수 있고;

R₅는 H, OH, 또는 C₁ 내지 C₆ 알킬이고;

R₆는 C₁ 내지 C₆ 알킬, 알케닐, 알키닐, 또는 치환된 알킬 또는 알케닐이고;

R₇은 C₁ 내지 C₆ 알킬, 알케닐, 알키닐, 또는 치환된 알킬 또는 알케닐이거나,

또는 R₆ 및 R₇, 또는 R₅, R₆ 및 R₇가 함께 고리내 원자수가 3 내지 7인 탄소환 또는 복소환을 형성한다].

청구항 59.

제1항에 있어서, 질환 또는 장애가 안검염인 방법.

청구항 60.

제1항에 있어서, 질환 또는 장애가 안구 주사(rosacea)인 방법.

청구항 61.

제1항에 있어서, 질환 또는 장애가 황반 변성인 방법.

청구항 62.

제1항에 있어서, 질환 또는 장애가 망막병증인 방법.

청구항 63.

제1항에 있어서, 질환 또는 장애가 녹내장인 방법.

청구항 64.

제1항에 있어서, 질환 또는 장애가 노안인 방법.

청구항 65.

제1항에 있어서, 조성물이 황반 변성, 망막병증, 녹내장, 노안, 결막 질환, 눈꺼풀 장애, 각막 질환 또는 포도막염을 치료하는데 사용되는 제2 화합물을 추가로 함유하는 방법.

청구항 66.

제65항에 있어서, 제2 화합물을 동시에 투여하는 방법.

청구항 67.

제65항에 있어서, 제2 화합물을 순차적으로 투여하는 방법.

명세서

기술분야

본 발명의 환자의 눈에서 백내장의 진행을 개선시키는 조성물 및 상기와 같은 개선을 달성시키는 방법에 대한 것이다. 본 발명의 바람직한 구현예에서, 백내장의 진행 또는 성장이 본질적으로 정지된다. 또한, 본 발명은 눈에서 황반 변성을 치료하는 것 및 특정의 다른 용도에 대한 것이다. 바람직한 구현예에 따르면, 본 발명의 조성물은 주사를 필요로 하지 않고 환자에게 투여될 수 있으며, 상기와 같은 투여를 위한 점안제로 제형화될 수 있다. 백내장 및 황반 변성의 치료 방법이 제공되며, 또한, 본 발명의 실시예에 유용한 신규 화합물 및 조성물의 제조 방법도 제공된다.

배경기술

다양한 특허와 다른 간행물들이 본원에 인용된다. 이러한 특허와 간행물의 각 내용은 그 전문이 본원에 참조로서 포함되어 있다. 공동계류중인 미국 출원 제 10/440,583 호 (2003. 5. 19 출원)의 전문이 본원에 참조로서 포함되어 있다.

나이 관련 백내장은 눈의 수정체가 점진적으로 불투명화됨으로 인해 발생한다. 상기 질환은 현재, 발병된 렌즈(lens)의 외과적 제거 및 교체에 의해 치료되고 있다. 백내장은 일단 시작되면, 렌즈 섬유 손상에 이르게 하는 하나 이상의 통상적 경로를 통해 진행한다고 여겨진다. 상기 상태는 천천히 진행하고 중장년층에서 두드러지게 발생한다. 달리, 백내장은 환자의 외과적 치료, 방사선 치료 또는 약물 치료로 인해, 예를 들어 망막 손상을 복구하기 위한 눈의 수술 (유리체 절제술) 또는 안내 압력 상승을 감소시키기 위한 눈의 수술; 종양의 x-조사; 또는 스테로이드 약물 치료 이후에 발생할 수 있다. 상기와 같은 환자에게서 백내장 진행 속도를 현저히 지연시키는 것은 많은 외과적 백내장 적출의 필요성을 없앨 수 있다. 상기의 감소는 개인 환자와 공중 보건 시스템 모두에게 큰 이익을 제공할 것이다.

덜 심각하지만 더욱 흔한 안구 렌즈의 상태는 노안이다. 안구 렌즈는 모양체근으로 조절되는 곡률의 변화를 통해 렌즈가 상이한 거리를 초점맞출 수 있도록 하는 탄성을 렌즈에 부여한다고 여겨지는 단단한 콜라겐 캡슐로 둘러싸여 있다. 렌즈는 노화됨에 따라서 부피가 증가하며, 이에 따라 그의 탄성을 점차로 잃는데, 이는 가까운 물체에 초점을 맞추는 개체 성능을 감소시킨다. 이러한 상태가 노안으로 알려져 있고, 노인 인구 중에서 큰 비율로 발생한다.

백내장과 노안에 부가하여, 눈은 그것이 정상적으로 기능하게 하는 능력에 영향을 미치는 수많은 질환과 다른 유해한 상태를 겪을 수 있다. 이와 같은 많은 상태는, 빛 신호를 신경 신호로 전환시키는 과정과 7층의 교대성(alternating) 세포, 망막 및 시신경이 있는 눈의 내부, 가장 특히는 후방부에서 발견될 수 있다. 시신경과 망막의 질환 및 퇴행 상태는 전세계에서 실명의 주요 원인이다.

망막의 현저한 퇴행 상태가 황반 변성이며, 이는 또한 나이 관련 황반 변성 (AMD)으로도 불리운다. AMD는 미국에서 50세 이상의 사람에게 가장 통상적인 시력 손실의 원인이며, 나이의 증가와 함께 확산된다. AMD는 습성 (혈관신생성) 또는 건성 (비(非)혈관신생성)으로 분류된다. 상기 질환은 건성형이 가장 통상적이다. 중앙 망막이 왜곡되거나 색소침착되거나, 또는 가장 통상적으로는 얇아졌을 때 발생한다. 상기 질환의 습성형은 가장 심각한 시력 손실의 원인이 된다. 습성형 황반 변성은 일반적으로 노화와 관련있으며, 습성 황반 변성을 야기할 수 있는 다른 질환으로는 고도 근시 및 히스토플라스마증과 같은 몇몇 안내 감염이 포함되며, 이는 AIDS가 있는 개체에게서 악화될 수 있다. 유전적 성질, 나이, 영양물 섭취, 흡연 및 일광 노출을 비롯한 다양한 요소가 황반 변성에 기여할 수 있다.

당뇨병과 관련된 망막병증은 제1형 당뇨병에 있어 실명의 주된 원인이며, 또한 제2형 당뇨병에 있어서 통상적이다. 망막병증의 정도는 당뇨병의 지속기간에 따라 다르며, 일반적으로 당뇨병 발병후 10년 이상에 발생하기 시작한다. 당뇨성 망막병증은, (1) 증가된 모세관 투과성, 부종, 출혈, 미세혈관류 및 삼출물로 특징되는 비증식성 또는 배경 망막병증, 또는 (2) 망막에서 유리체로 확장하는 혈관신생, 흉터, 섬유성 조직 형성 및 망막 박리의 가능성으로 특징되는 증식성 망막병증으로 분류될 수 있다. 당뇨성 망막병증은 산화성 조직 손상 및 세포 활성산소종(ROS) 스캐빈저(scavenger), 예컨대 글루타티온의 고갈을 야기시키는 자유 라디칼을 생성한다고 여겨진다.

덜 통상적이지만 쇠약화성인 몇몇 다른 망막병증은 맥락막의 혈관신생 막(CNVM), 낭포성 황반 부종(CME, 이는 또한 황반부 부종, 황반 부기(swelling)로도 불리움), 예피-레티날 막(ERM)(황반 주름) 및 황반 원공을 포함한다. CNVM에 있어서, 맥락막에서부터 올라오는 비정상 혈관은 망막층을 통해 자란다. 연약한 새로운 혈관은 쉽게 부서지고, 이는 혈액 및 유체가 망막 층 안에 고이게 한다. CME에 있어서, 이는 질환, 상처 또는 수술의 결과로 발생할 수 있는데, 유체가 황반층 내에 모이고, 이것이 흐리고 왜곡된 중심 시각을 야기한다. ERM(황반 주름)은, 흐림과 왜곡을 유발하여 중심 시각에 영향을 주는, 황반 위에 형성하는 셀로판-유사 막이다. 이것이 진행하면서, 황반 상에 있는 막이 당겨서 부기를 유발시킬 수 있다. ERM은 75세 이상의 사람들 중에서 가장 자주 발견된다. 이것의 병인은 알려지지 않았지만, 다른 상태 중에서도, 당뇨성 망막병증, 후방 유리체 박리, 망막 박리 또는 외상과 관련이 있을 수 있다.

눈 내부의 또 다른 질환은 포도막염 또는, 포도막로의 염증이다. 포도막로 (포도막)은 홍채, 모양체 및 맥락막으로 구성된다. 포도막은 이것의 후방 (맥락막) 부위 내의 공막과 망막 사이에 끼어 있는, 세계의 안구 외막의 중간체이다. 포도막염은 외상, 감염 또는 수술에 의해 야기될 수 있으며, 임의의 연령 집단에 영향을 줄 수 있다. 포도막염은 해부학상으로 전포도막염, 중간포도막염, 후포도막염 또는 확산 포도막염으로 분류된다. 전방 포도막염은 홍체를 비롯한 눈의 전방 부위에 영향을 준다. 중간포도막염, 또는 소위 주변부 포도막염은 모양체 구역 중의 홍채 및 렌즈 바로 뒤의 영역 중앙에 위치한다. 또한, 후포도막염은 망막염의 형상을 만들 수 있거나, 맥락막 또는 시신경에 영향을 줄 수 있다. 확산 포도막염은 눈의 모든 부분을 포함한다.

녹내장은 시신경을 손상시킴으로써 시력 손실을 야기시키는 눈 질환의 집합이다. 부적절한 안구 배액으로 인한 안내 압력 (IOP) 상승은 녹내장의 주요 원인이다. 녹내장은 눈 노화에 따라 발생할 수 있거나, 눈 상처, 염증, 종양의 결과로서 또는 백내장 또는 당뇨병의 진행 상태에서 일어날 수 있다. 또한, 이는 임의의 약물, 예컨대 스테로이드에 의해 야기될 수 있다. 또한, 녹내장은 상승된 IOP 없이도 발생할 수 있다. 이러한 녹내장 형상은 전신성 심장병, 예컨대 불규칙 심장박동뿐만 아니라 선천성(즉, 정상압 녹내장의 가족력) 계보와 관련이 있어 왔다.

눈은 매일 약 한 티스푼의 안방수(aqueous humor)를 생성한다. 보통, 이 유체는 섬유주(trabecular meshwork)라 불리는 연결 조직의 스폰지 메시(spongy mesh)를 통해 그가 생성되는 속도와 동일한 속도에서 눈으로부터 빠져나간다. 자유 라디칼 및 다른 반응성 산소종(ROS)은 시간에 따라 섬유주에 점차적인 손상을 야기시킨다. 결과적으로, 섬유주가 부분적으로 봉쇄되고, 배출 기능이 감소하여, 더욱 많은 안방수의 형성에 따라 IOP가 상승한다. 초기에는 IOP가 어떤 두드러진 증상을 야기시킬 만큼 충분히 높지 않더라도 압력이 상승된 채로 유지되거나 계속 상승될 경우, 시신경의 섬유가 압축되고 파괴되면서, 몇년의 시간에 걸쳐 점차적으로 시력이 손실되게 된다. Izzotti 등은 배출 시스템 중의 작지만 중요한 조직 구조에서의 산화성 DNA 손상을 녹내장과 연결시키는 설득력있는 증거를 제공한다 (Izzotti A, Sacca SC, Cartiglia C, De Flora S. Oxidative deoxyribonucleic damage in the eyes of glaucoma patients. Am J Med. 2003; 114: 638-646). 이들은 녹내장 환자의 섬유주 조직 중에서 8-옥소-데옥시구아노신(8-OH-dG)의 양이 3배를 초과하여 증가함을 발견하였다. 증가된 산화성 DNA 손상은 추가로 임상 파라미터, 예컨대 안내 압력 지표 및 시야 손실과 상호 연관 있다.

녹내장의 시신경병증의 주요한 특징은 시신경 헤드(head) 중에 독특한 변화, 신경절 세포 생존수의 감소 및 시력 손실을 포함한다. 사건의 캐스케이드(cascade)는 시신경 헤드의 변성을 이 질환에서 관찰되는 망막 신경절 세포의 느린 죽음과

함께 연관하고 이 사건의 캐스케이드는 신경보호제의 사용을 통해 감소되거나 예방될 수 있는데 (Osborne et al., 2003, Eur. J. Ophthalmol. 13 (Supp3): S19-S26), 항산화제 및 자유 라디칼 스캐빈저가 이것의 중요한 부류이다(Hartwick, 2001, Optometry and Vision Science 78: 85-94).

눈의 가장 바깥층인 각막은 눈으로 빛이 들어가는 것을 조절하고 초점을 맞춘다. 각막은 빛을 적절하게 굴절시키기 위해 투명하게 남아있어야 한다. 또한, 각막은 병원, 먼지 및 다른 유해한 물질로부터 눈의 나머지 부분을 보호하는데 도움을 주며, 중요하게는 햇빛의 일부 가장 해로운 자외선(UV) 과장을 차단하는 필터로서 역할을 한다. 이러한 보호 없이는, 렌즈 및 망막은 UV 방사선으로부터 매우 쉽게 손상받을 것이다.

또한, 각막 및 주위 결막은 시력을 손상시킬 수 있는 다양한 유해 상태에 영향을 받는다. 상기 상태로는 다른 장애(예를 들면, 건성 눈 증후군)뿐만 아니라, 몇몇을 말하자면, 염증 반응, 예컨대 알레르기 반응, 감염 또는 외상으로부터 발생하는 것들 및 다양한 이영양증(흔탁한 물질의 형성으로 인해 각막의 한 부분 이상이 이들의 정상 투명도를 잃는 상태), 예컨대 푸크스 이영양증, 원추각막, 격자 이영양증 및 무늬각막 이영양증이 포함된다.

안구 표면 및 눈물샘 염증은, 건성각결막염으로 일컬어지는 안구 표면 상피 질환의 발병에 역할을 한다는 것이 건성 안에서 확인되었다. 산화 진위를 나타내는 산화성 조직 손상 및 다형핵 백혈구가 건성 안으로부터 고통받는 환자의 눈물층에서 발생한다. 이러한 반응은 관련된 조직의 심각한 손상으로 이른다. 자유 라디칼 및 염증은 이 질환의 발병 또는 자가 전파와 관련될 수 있다(Augustin, A.J. et al., "Oxidative reactions in the tear fluid of patients suffering from dry eyes" Graefe's Arch.Clin.l Exp.l Ophthalmol.1995,11: 694-698).

안검염은 눈꺼풀의 염증이다. 눈꺼풀결막염은 눈꺼풀과 눈 결막의 염증이다. 두 상태는, 다른 원인이 존재할 수도 있지만, 안구 주사로 알려져 있는 상태와 연관되어 있다. 안검염은, 생성된 눈물이 과량의 리피드(천연 눈물 중의 유성 성분)를 함유하고 있으며, 일부 경우에는 자극성 오일도 함유하고 있는 비정상적인 상태이다. 하기에 설명되어 있는 바와 같이, 상기 오일 성분은 눈의 각막 상피를 습윤시키는 수성 층의 증발을 방지하고 눈깜박임 동안에 정상적으로는 내수성 각막을 통해 수성 층이 퍼지게 도와주는 역할을 한다. 과량의 오일이 존재할 경우, 리피드 층이 각막 자체에 부착되는 경향이 있을 것이다. 눈이 각막 표면에서 상기 오일을 제거할 수 없을 경우, 수성층이 그 영역을 수화시킬 수 없기 때문에 "건성" 영역이 각막상에 발생한다.

주사(rosacea)는 징후가 다양하고 병인이 알려지지 않은 피부 (여드름 주사) 및 안 (안구 주사)의 질환이다. 상기 안 질환의 임상적 특징 및 병리적 특징은 특이적이지 않고, 상기 질환은 안과 의사들에 의해 널리 조사분석 중에 있다.

망막 광독성은 일시 진입성 눈 수술을 위해 배치된 작동 현미경 또는 군에 의해 사용되는 레이저로부터의 망막 조명에 눈이 노출됨으로써 야기된다. 이러한 광 공급원은 와(fovea)에 광 유발성 손상이 일으킬 가능성을 갖는다(M. A. Pavilack and R. D. Brod "Site of Potential Operating Microscope Light-induced Phototoxicity on the Human Retina during Temporal Approach EyeSurgery" Ophthalmol. 2001, 108(2):381-385; H. F. McDonald and M. J. Harris "Operating microscope-induced retinal phototoxicity during pars plana vitrectomy" Arch.Ophthalmol. 1988 106:521-523; Harris M.D. et al. "Laser eye injuries in military occupations" Aviat. Space Environ. Med. 2003, 74(9):947-952). 또한, 손상은 엑시머 레이저(excimer laser) 광선요법 후에 절삭된 각막 표면의 처리시에 일어날 수 있다(Seiji Hayashi et al. "Oxygen free radical damage in the cornea after excimer laser therapy" Br. J. Ophthalmol.1997, 81: 141-144).

특정 각막 장애는 교정 불가하며 각막 이식에 의해서만 치료될 수 있는 반면에, 다른 질환은 광선요법적 레이저 각막절제술(PTK), 즉 엑시머 레이저 수술에 의해 교정될 수 있는데, 또한 이것의 과정에서 각막 헤이징(hazing) 또는 각막 불투명화 부위를 야기시키는 염증 반응이 야기되는 것으로 알려져 있다.

또한, 눈 주위의 피부는 질환 및 장애에 영향을 받는다. 특별히, 눈꺼풀의 주사 및 안검염은 심각할 수 있는 장애이다. 안구 주사는 비확실한 병인을 가진 통상적이고 잠재적으로는 불명인 안구 장애이다(Stone D.U. and J.Chodosh, 2004 Curr. Opin. Ophthalmol. 15(6):499-502). 눈의 안검염은 포도상구균성 안검염, 지루성 안검염, 이들의 혼합형 또는 가장 심각한 형태인 궤양성 안검염일 수 있다.

산화성 스트레스는 포도막염(예를 들면, Zamir et al., 1999, Free Rad. Biol. Med. 27: 7-15), 백내장(예를 들면, M. Lou, 2003, Prog. Retinal & Eye Res. 22: 657-682), 녹내장(예를 들면, Babizhayev & Bunin, 2002, Curr. Op. Ophthalmol. 13: 61-67), 각막 및 결막 염증, 다양한 각막 이영양증, 수술후 또는 UV 관련된 각막 손상(예를 들면, Cejkova et al., 2001, Histol. Histopathol. 16: 523-533; Kasetsuwan et al. 1999, Arch. Ophthalmol. 117:649-652)

및 노안(Moffat et al., 1999, Exp. Eye Res.69: 663-669)뿐만 아니라 상기 기술된 AMD 및 다양한 망막병증을 비롯한 수많은 안과 질환 또는 장애의 진행 및 가속에 관련되어 있다(참조, 예를 들면, Ambati et al., 2003, Survey of Ophthalmology 48: 257-293; Berra et al., 2002, Arch. Gerontol. Geriatrics 34: 371-377). 이러한 이유로, 항산화성을 갖는 작용제가 이러한 장애의 치료를 위한 잠재 치료제로서 연구되었다. 많은 연구들이 세포 중에서 환원력을 생성시키는 생화학적 경로, 예를 들면 클루타티온 합성 및 순환에 초점을 맞춰 왔다. 또한, 활성화된 산소종을 감소시키는 효소, 예컨대 초과산화물 불균등화 효소(superoxide dismutase)는 이들이 세포의 산화성 스트레스를 감소시키는지 결정하기 위해 연구되어왔다. 또한, 직접 라디칼 스캐빈징에 의해 세포 막에서 리피드 산화를 억제하는 화합물은 유망한 치료학적 개입으로 고려되어 왔다.

니트록시드는 이들의 상응하는 히드록실아민으로 환원할 수 있는 안정적인 자유 라디칼이다. 이러한 화합물은 다양한 산화성 손상 및 염증의 동물 모델에 있어서 초과산화물 불균등화 효소의 활성을 모방하고 항염증 효과를 발휘하는 라디칼 스캐빈징 성질 때문에 관심의 대상이다.

비교적 독성이 낮기 때문에, 히드록실아민이 치료제로서 바람직한 니트록시드이다.

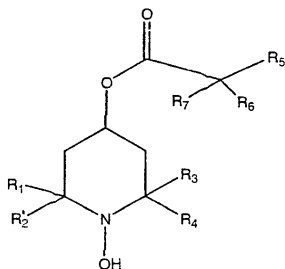
백내장 예방 또는 지연을 위한 특정 히드록실아민 조성물이 공지되어 있다. Zigler 등의 미국 특허 6,001, 853호 (그의 내용은 본원에 참조로 포함되어 있음)는 미국 국가 보건 기구에서 실시된 연구를 반영한다. Zigler 등은 시험 동물의 눈에 투여했을 때 백내장 발생 또는 진행을 개선시키는 히드록실아민 류를 확인하였다. 상기와 같은 투여는 물리화학적 이유로 인해 주사를 통한 투여가 필수적이다. Zigler 등은 액체 점안제에 의해 템폴(tempol)-H를 전달하는 것이 임상적으로 편리할 것이라고 개시하고 있지만, 어떠한 실시예도 보고하지 않았다. Zigler의 히드록실아민은 실제로는 결막하 주사에 의해 투여된다. 또한, Zigler의 물질은 주사를 통해, 전신적으로 또는 그 외에 의해 환원제를 공동 투여하는 것을 수반하였다. 국가 보건 기구에서의 후속 연구는 국소 투여할 수 있는 효과적인 히드록실아민의 확인에 대한 것이었지만 어떠한 노력도 성공적이지 못했다고 여겨진다.

이에 따라, 불쾌하고 불편하며 잠재적으로는 위험한 안내 주사를 필요로 하지 않고, 환자의 눈에서 백내장 형성 및 진행을 개선시킬 수 있는 화합물 및 이를 함유하는 조성물을 확인하기 위한 강도높은 연구 활동이 있어왔다. 특히, 국소 적용을 통해, 특히 점안제를 통해 투여될 수 있는 상기와 같은 화합물 및 조성물에 대한 오랜 필요성이 존재하였고, 어느 것도 달성되지 못하였다.

발명의 개요

본 발명은 백내장이 진행하고 있거나 또는 백내장 형성의 위험이 있다고 알려져 있거나 백내장 형성의 위험이 의심되는 환자의 눈에서 백내장을 치료하기 위한 조성물을 제공한다. 또한, 상기 조성물은 하기와 같은 질환 또는 퇴행성 상태를 나타내거나 그러한 위험이 있는 환자의 눈에서 황반 변성, 다양한 망막병증, 녹내장, 포도막염, 각막, 눈꺼풀 또는 결막의 특정 장애, 및 노안을 치료하기 위해 제공된다. 바람직한 구현예에 따르면, 상기 조성물은 국소 액체 형태, 특히 점안제로서 제형화된다. 본 발명의 조성물의 주기적 적용은 치료되는 눈에서 백내장 또는 황반 변성의 진행을 지연시키거나 중지시킨다. 본 발명은 주사 또는 다른 사용곤란하거나 불편한 경로를 통해 적용할 필요없는 조성물을 제공한다.

바람직한 구현예에 따르면, 본 발명은 하기 화학식의 화합물 및 안과학적으로 허용가능한 담체 또는 희석제를 함유하는 조성물을 제공한다:



상기 화합물에서, R₁ 및 R₂은 독립적으로 H 또는 C₁ 내지 C₃ 알킬이고, R₃ 및 R₄는 독립적으로 C₁ 내지 C₃ 알킬이다. 또한, 특정 구현예에 따르면, R₁과 R₂가 함께 또는 R₃과 R₄가 함께, 또는 둘 모두가 시클로알킬 부분을 형성하는 것도 가능하다. 본 발명의 화합물에서, R₅는 H, OH, 또는 C₁ 내지 C₆ 알킬이고 R₆은 C₁ 내지 C₆ 알킬, 알케닐, 알키닐, 또는 치환된 알

킬 또는 알케닐이다. R_7 는 C_1 내지 C_6 알킬, 알케닐, 알킬닐, 또는 치환된 알킬 또는 알케닐 또는 C_1 - C_6 시클로알킬 또는 복소환이다. 또한, R_6 및 R_7 , 또는 R_5 , R_6 및 R_7 가 함께 고리내 원자수가 3 내지 7인 탄소환 또는 복소환을 형성하는 것이 가능하다. 본원에서 사용되는 용어 "안과학적"은 눈 및 그의 질환의 치료에 유용함을 의미한다.

본 발명의 조성물에 사용되는 화합물에 있어서, 치환된 알킬 또는 알케닐 종은 하나 이상의 히드록시, 알콕시, 알킬티오, 알킬아미노, 디알킬아미노, 아릴옥시, 아릴아미노, 벤질옥시, 벤질아미노 또는 복소환 또는 YCO-Z (여기서, Y는 O, N, 또는 S이고 Z는 알킬, 시클로알킬 또는 복소환 또는 아릴 치환기이다)로 치환될 수 있다. 일부 구현예에 따르면, 복소환은 하나 이상의 산소, 황, 또는 질소 원자를 고리 내에 갖는 5원, 6원, 또는 7원 고리이다. 하나의 바람직한 조성물에서, R_6 및 R_7 이 함께 시클로프로필이고, 다른 것에서는, R_6 및 R_7 이 함께, 테트라히드로푸라닐이고, R_5 , R_6 및 R_7 이 함께 푸라닐이다.

특정 바람직한 화합물에 대하여, 각 R_1 내지 R_4 는 C_1 내지 C_3 알킬, 가장 특히는 에틸 또는 메틸, 가장 특히는 메틸이다. 일부 바람직한 구현예에서, 본 발명의 화합물은 R_6 이 벤질옥시기 또는 하나 이상의 C_1 내지 C_6 알콕시로 치환된 C_1 내지 C_6 알킬이다.

다른 바람직한 화합물에서, 각 R_1 내지 R_4 는 메틸이고, R_5 는 H 또는 메틸이고, R_6 는 벤질옥시 또는 C_1 내지 C_6 알콕시로 치환된 메틸이고, R_7 은 메틸이고, 또는 R_6 및 R_7 이 시클로프로필기를 형성한다. 다른 바람직한 화합물에서, 각 R_1 내지 R_4 는 메틸이고, R_5 는 메틸이고, R_6 는 에톡시메틸이고, R_7 은 메틸이다. 다른 바람직한 화합물에서, 각 R_1 내지 R_4 는 메틸이고, R_5 는 메틸이고, R_6 는 벤질옥시메틸이고, R_7 은 메틸이며, 한편, 각 R_1 내지 R_4 는 메틸이고, R_5 는 메틸이고, R_6 는 히드록시메틸이고, R_7 은 메틸인 화합물도 유용성이 있다.

일부 구현예에 있어서, 각 R_1 내지 R_4 가 메틸이고, R_5 , R_6 , 및 R_7 이 푸라닐기를 형성하거나 또는 R_5 가 H이고 R_6 및 R_7 이 테트라히드로푸라닐기를 형성하는 화합물도 바람직하다. 추가의 구현예는 R_1 내지 R_4 가 모두 메틸이고, R_5 가 H이고, R_6 및 R_7 이 시클로프로필 고리를 형성하는 화합물을 제공한다.

본 발명의 조성물은 수성 매질 중에 제형화되고, 이것이 국소 액체 형태로, 예를 들어 점안계를 통해 눈으로 전달될 수 있는 것이 바람직하다.

이에 따라, 본 발명의 조성물의 pH 및 다른 특성은 환자 눈에 국소 적용하기에 안과학적으로 허용가능한 것이다. 일부 구현예에 대해, 화합물은 염, 바람직하게는 히드로클로라이드 또는 유사 염의 형태이다.

본 발명의 조성물은 본 발명의 화합물을 하나 초과로 함유할 수 있다. 또한, 조성물은 특정 지시의 치료에 사용하기 위한 당업계에 공지된 다른 화합물을 본 발명의 화합물(들)과 조합하여 함유할 수 있다. 일부 구현예에서, 본 발명의 화합물은 동시적으로 투여된다. 다른 구현예에서, 본 발명의 화합물은 순차적으로 투여된다. 이와 유사하게, 본원에 기재된 질환 및 장애의 치료에 사용하기 위해 당업계에 공지된 다른 화합물도 본 발명의 화합물(들)과 함께 동시적으로 또는 순차적으로 투여될 수 있다. 또한, 본 발명은 상기와 같은 조합 요법을 사용하여 질환 및 장애를 치료하는 방법을 제공한다.

본 발명의 화합물은 화학적 환원 상태에 가장 효과적인 산화가능한 히드록실아민 부분을 포함하기 때문에, 특정 구현예에서, 본 조성물은 바람직하게는 항산화제, 특히 술포히드릴 화합물을 추가로 함유한다. 예시적 화합물로서, 안구 투여용으로 적합한 다른 항산화제, 예를 들어 아스코르브산 및 그의 염 또는 술피트 또는 소듐 메타비술피트도 이용될 수 있지만, 메르캅토프로피오닐 글리신, N-아세틸시스테인, 메르캅토폰에틸아민, 글루타티온 및 유사 화학종이 포함된다. 히드록실아민의 양은 약 0.1 중량/부피% 내지 약 10.0 중량/부피 %의 범위일 수 있고, 약 0.25 내지 약 10.0 중량/부피 %가 바람직하다.

또한, 본 발명은 용해성 개질 부분에 결합된 N-히드록시피페리딘 부분을 갖는 화합물과 함께 안과학적으로 허용가능한 담체 또는 희석제를 함유하는 안과학적 조성물을 제공하는 것으로도 볼 수 있다. 이런 방식으로, 활성 부분인 히드록실아민이, "스텔스(stealth)" 형태로, 즉, 나머지 분자로부터 분할되는 히드록실아민 부분을 가질 수 있는 화학적 화합물 형태로 치료가 필요한 눈의 렌즈에 전달될 수 있다. 상기 화합물은 눈에서 분해되어, 백내장, 황반 변성 또는 본원에 언급된 임의

다른 눈 장애의 효과적 치료를 위한 활성 히드록실아민 화학종을 발생시킨다. 이렇게 제공된 화합물은 25°C의 수중 용해도가 약 0.1 중량% 이상이고, 25°C에서 물-n-옥탄올 분배 계수가 약 3 이상이다. 바람직한 구현예에서, 수 용해도는 약 0.5 중량% 초과, 바람직하게는 약 2.0 중량% 초과이고, 분배 계수는 약 5 초과, 바람직하게는 약 10 초과이다.

이에 따라, 사용 화합물은 눈으로의 국소 투여시, 각막으로 침투하여 목적하는 히드록실아민, 바람직하게는 N-히드록시피페리딘으로 전환되는 것이 바람직하다. 상기 전환은 화합물의 효소적 분해를 통해 발생하는 것이 바람직하다. 하나의 바람직한 구현예에서, 히드록실아민 부분은 1,4-디히드록시-2,2,6,6-테트라메틸피페리딘을 포함한다.

본 발명은 환자 렌즈에서의 백내장 진행을 개선하는 - 늦추거나 또는 완전히 저지시킴 - 방법을 포함한다. 이와 유사하게, 본 발명은 노안, 황반 변성, 다양한 망막병증, 녹내장, 포도막염, 각막 장애 (특히 외상, 염증 (둘 모두 엑시머 레이저 수술에 의해 야기될 수 있음), 노화, UV 노출 및 다른 산화성 관련 장애와 관련된 것), 결막 장애 (결막염), 건성 눈 증후군, 안검염 및 눈 주사의 진행을 개선시키거나 또는 치료하기 위한 방법을 포함한다. 또한, 본 발명은 광산화성 손상에 대한 망막 색소 상피를 보호하는 방법을 제공한다.

한 구현예에서, 본 방법은 안과학적으로 허용가능한 담체 또는 희석제를 함유하는 안과학적 조성물을 하나 이상의 전술한 화합물을 갖는 화합물을 활성 성분으로서 그 중에 함유하는 점안제 형태로 눈에 투여하는 것을 포함한다. 상기 투여는 복수회 실시되는 것이 바람직하며, 특정 바람직한 구현예에서는, 장기간 주기적 투여가 실시된다.

본 발명의 다른 양태에서, 본 발명의 안과적 조성물은 백내장, 노안, 각막 변성 및 이영양증, 녹내장, 황반 변성 및 광산화성 망막 손상을 포함하는, 특정의 나이 관련 안구 상태의 진행을 예방 또는 지연시키기 위한 예방적 치료약으로 사용된다. 바람직한 구현예에서, 상기 조성물은 점안제 또는 세안제로서 제형화된다. 상기 조성물은 눈의 나이 관련 상태가 진행하기 이전에 또는 그의 초기 단계에 눈에 투여되거나 후기 질환의 진행을 예방하기 위해 눈에 투여된다.

또한, 본 발명은 점안제 형태로 환자의 렌즈에 전달될 수 있는 약제를 확인하기 위한 방법을 제공한다. 이들 방법은 25°C에서의 수중 용해도가 약 0.1 중량% 이상이고, 25°C에서 물/n-옥탄올 분배 계수가 약 5 이상인 화합물로서, 환자 눈에서 얻어지는 상태 하에서 효소적으로 분할되어 눈, 바람직하게는 렌즈의 상태를 치료하기 위한 근사(proximate) 약물을 발생시키는 화합물을 선택하는 것을 포함한다. 바람직하게는, 활성 약학적 화학종은 히드록실아민, 특히 N-히드록시피페리딘 핵을 갖는 것이다.

발명의 상세한 설명

본 발명은, 백내장, 노안, 포도막염, 황반 변성 또는 당뇨병성 망막병증, 맥락막 혈관신생성 막 (CNVM), 낭포성 황반부 부종 (CME), 에피-레티날 막 (ERM) (황반 주름) 및 황반 원공을 포함하나 이에 한정되지 않는 다른 망막병증, 및 염증, 외상, 광조사 손상, 각막 혈관신생 및 다양한 이영양증, 예컨대 푸크스 이영양증, 원추각막, 격자 이영양증 및 무늬각막 이영양증을 포함하나 이에 한정되지 않는 각막(및 주변 눈꺼풀 및 결막)의 장애, 및 건성 눈 증후군, 안검염 및 눈의 주사를 나타내거나 또는 진행하거나 또는 그의 위험이 있는 환자의 눈에 국소 투여될 수 있는 화합물 및 조성물을 제공한다. 백내장 진행을 지연시키기에 효과적이라고 이미 공지되어 있는 히드록실아민 화학종이 화학적 분절로서 상기 화합물에 포함되어 있는 것으로 볼 수 있지만, 국소 적용될 수 있는 화합물을 달성함은 치료 기술에서 매우 중요한 발전이다.

실제로, Zigler 특허의 양수인인 국가 보건 기구는 국소 적용을 통해 백내장 또는 황반 변성의 치료에 효능있을 수 있는 화합물을 확인하려고 노력했지만 실패했다. 그 문헌에서, Zigler 특허는 주사를 통해 템폴-H와 같은 특정 조성물을 투여하는 것을 상술하고 있고, 점안제를 통한 국소 투여의 바람직성을 인식하고 있지만, 그 제안된 투여 경로는 실제로 이용가능하지 않은 것으로 발견되었음을 주목한다. 이에 따라, 본 발명은 "개척적"인 것으로 보아야 하고, 당업계에서 오래 필요로 했지만 제공되지 않는 못했던 것을 만족시킨 것으로 보아야 한다.

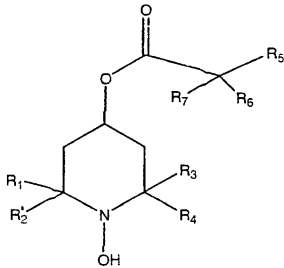
본 발명자들은 본 발명의 화합물이 각막과 공막 중을 가로질러, 포도막을 통해, 그리고 렌즈와 눈 내부 중으로 흡수된다는 것을 입증하였다. 이들 조직 내에서의 효소적 과정은 에스테르화되어 있었던 산으로부터 화합물의 N-히드록시피페리딘 부분을 분할시킨다. N-히드록시피페리딘 부분은 일단 유리화되면, Zigler에 의해 입증된 바와 동일한 효능을 갖고 동일 기능을 수행한다. 또한, 본 발명의 화합물의 추가적 이점은, 그의 에스테르화된 형태에서도 템폴-H 및 다른 비(非)에스테르화 히드록실아민 화합물에서 관찰되는 바와 같은 자유 라디칼-스캐빈징 및 항산화 활성을 가지는 것으로 발견되었다는 것이다.

본 발명의 화합물은 눈에 대한 투여용으로는 이전에 공지되지 않았었다. 이들은 백내장, 노안, 각막 장애, 황반 변성, 망막 병증, 녹내장 또는 포도막염의 치료에 대한 용도로는 확실히 공지되지 않았었다.

미국 특허 제 5,981,548 호 (Paolini 등의 명의) (그의 내용은 본원에 참조로서 포함되어 있음)는 다수의 문맥에서 특정 N-히드록실피페리딘 에스테르 및 항산화제로서의 용도를 상술하고 있다. 그러나, Paolini은 안과학적 제형물 또는 환자 눈의 국소적 치료를 개시하지 않고 있다. 그러나, Paolini은 본 형태의 특정 분자에 대한 유용한 합성도 개시하지 않고 있다.

Gupta 등의 미국 특허 제 4,404,302 호(그의 내용은 본원에 참조로서 포함되어 있음)는 플라스틱(plastics) 제형물에서 광 안정화제로서의 특정 N-히드록실아민 용도를 개시하고 있다. Mitchell 등의 미국 특허 제 5,462, 946 호 (그의 내용은 본원에 참조로서 포함되어 있음)은 산화성 스트레스로부터 유기체를 보호하기 위해 치환된 옥사졸리딘에서 유래한 특정 니트록시드를 개시하고 있다. 미국 특허 제 3,936,456 호(그의 내용은 본원에 참조로서 포함되어 있음) (Ramey 등의 명의)는 중합체의 안정화를 위한 치환 피페라진 디온 옥실 및 히드록시드를 제공한다. 미국 특허 제 4,691,015 호 (Behrens 등) (그의 내용은 본원에 참조로서 포함되어 있음)은 힌더드(hindered) 아민에서 유래한 히드록실아민 및 폴리올레핀의 안정화를 위한 이들 중 특정의 것의 용도를 기재하고 있다.

하나의 양태에서, 본 발명은 하기 화학식의 화합물 및 약학적으로 허용가능한 담체 또는 희석제를 함유하는 조성물을 제공한다:



식 중에서, R₁ 및 R₂은 독립적으로 H 또는 C₁ 내지 C₃ 알킬이고;

R₃ 및 R₄는 독립적으로 C₁ 내지 C₃ 알킬이고; R₁과 R₂가 함께 또는 R₃과 R₄가 함께, 또는 둘 모두가 시클로알킬일 수 있고;

R₅는 H, OH, 또는 C₁ 내지 C₆ 알킬이고;

R₆은 C₁ 내지 C₆ 알킬, 알케닐, 알키닐, 또는 치환된 알킬 또는 알케닐이고;

R₇는 C₁ 내지 C₆ 알킬, 알케닐, 알키닐, 치환된 알킬, 알케닐, 시클로알킬, 또는 복소환이거나, R₆ 및 R₇, 또는 R₅, R₆ 및 R₇가 함께 고리내 원자수가 3 내지 7인 탄소환 또는 복소환을 형성한다. 또한, 이들 화합물은 안과적 조성물에 사용하기 위한 안과적으로 허용가능한 담체와 함께 사용될 수 있다.

한 양태에 있어서, 본 발명은 25°C에서의 수중 용해도가 약 0.25 중량% 이상이고, 25°C에서 물-n-옥탄올 분배 계수가 약 5 이상인 화합물인, 용해도 개질 부분에 결합되어 있는 N-히드록시 피페리딘 부분을 갖는 화합물 및 안과적으로 허용가능한 담체 또는 희석제를 제공한다. 상기 조성물은 눈 내의 상태 하에서 상기 화합물로부터 분할가능한 N-히드록시 피페리딘 부분을 가질 수 있다. 상기 부분이 눈의 렌즈내 상태 하에서 분할된다는 것을 예견가능하다. N-히드록시 피페리딘 부분은 효소적으로 분할될 수 있다. 또한, N-히드록시 피페리딘 부분이 1-옥실-4-히드록시-2,2,6,6-테트라메틸피페리딘인 상기 조성물이 존재할 수도 있다.

본 발명에서 용어, C₁ 내지 C_n 알킬, 알케닐, 또는 알키닐은 그 내의 탄소 원자수가 1 내지 n개인 히드로카르빌기를 의미한다. 따라서, 상기 용어는 메틸, 에틸, n-프로필, 이소-프로필, n-부틸, sec-부틸, 이소-부틸, tert-부틸, 및 펜틸, 헥실의 다양한 이성질체 형태 등을 포함한다. 이와 마찬가지로, 상기 용어는 에테닐, 에티닐, 프로페닐, 프로피닐, 및 탄소 원자수

n개 이하인 유사한 분지형 및 비분지형 불포화 탄화수소 기를 포함한다. 문맥이 허용할 수 있다면, 상기 기는 예컨대 하나 이상의 히드록시, 알콕시, 알킬티오, 알킬아미노, 디알킬아미노, 아릴옥시, 아릴아미노, 벤질옥시, 벤질아미노, 복소환, 또는 YCO-Z (여기서, Y는 O, N, 또는 S이고, Z는 알킬, 시클로알킬, 복소환 또는 아릴 치환기임)으로 관능화될 수 있다.

용어 탄소환은 고리를 형성하는 모든 원자가 탄소인 환형 구조 또는 고리를 의미한다. 이의 예로는 시클로프로필, 시클로부틸, 시클로펜틸, 시클로헥실, 시클로헵틸 등이 있다. 시클로프로필이 하나의 바람직한 화학종이다. 복소환은 고리 중의 원자 중 하나 이상이 탄소가 아닌 환형 구조를 정의한다. 이 광범위한 부류의 예로는 푸란, 디히드로푸란, 테트라히드로푸란, 피란, 옥사졸, 옥사졸린, 옥사졸리딘, 이미다졸 및 다른 것들이 포함되며, 특히 고리 내에 산소 원자를 갖는 것이 포함된다. 고리 내에 하나 이상의 산소 또는 질소 원자를 갖는 5원, 6원 및 7원 고리가 바람직한 복소환이다. 푸라닐 및 테트라히드로푸라닐 화학종이 그 중에서도 바람직하다.

특정 구현예에서, 각 R₁ 내지 R₄이 C₁ 내지 C₃ 알킬인 저급 알킬이 바람직하다. 바람직하게는, 그 위치에 치환이 있는 부분의 공지된 효능으로 인하여, 그리고 합성의 편리함을 위하여 상기 모든 기는 메틸이다. 그러나, 다른 치환기도 또한 사용될 수 있다.

특정 구현예에 있어서, R₆이 하나 이상의 C₁ 내지 C₆ 알콕시 또는 벤질옥시기로 치환된 C₁ 내지 C₆ 알킬인 화합물이 이용된다. 그 중에서도, 에톡시 또는 벤질옥시 치환기를 갖는 화합물이 바람직하다. 바람직한 화합물 중에는 각 R₁ 내지 R₄이 메틸이고, R₅이 H 또는 메틸이고, R₆이 C₁ 내지 C₆ 알콕시 또는 벤질옥시로 치환된 메틸이고, R₇이 메틸이거나 또는 R₆ 및 R₇이 시클로프로필기를 형성하는 화합물 및 각 R₁ 내지 R₄이 메틸이고, R₅이 메틸이고, R₆이 에톡시 또는 벤질옥시 메틸이고, R₇이 메틸인 화합물이 있다. 추가의 바람직한 화합물은 각 R₁ 내지 R₄가 메틸이고, R₅가 메틸이고, R₆가 히드록시 메틸이고, R₇가 메틸인 화합물이다.

다른 유용한 화합물은 각 R₁ 내지 R₄이 메틸이고, R₅, R₆, 및 R₇이 푸라닐기를 형성하거나, R₆ 및 R₇이 테트라히드로푸라닐기를 형성하는 것이다. R₁ 내지 R₄가 메틸이고, R₅가 H이고, R₆ 및 R₇이 시클로프로필 고리를 형성하는 화합물이 하기 실시예에서 설명되는 바와 같은 추가적 바람직한 화학종이다.

본 발명의 화합물은 요법이 필요한 환자의 눈에 적용하기 위한 조성물로 제형화된다. 이에, 상기 조성물은 점안제로서 또는 콘택트렌즈, 삽입물 등에서의 약학적 용도에 채택되며, 이는 하기에 더욱 상세히 기재된다. 이에 따라, 약학 제형화업자에게 공지되어 있는, 임의 목적하는 희석제, 염, pH 개질 물질 등을 함유하는 멸균수 중에 화합물을 제형화하는 것이 눈 투여와 상용가능한 용액을 달성하기 위해 실시될 수 있다. 점안제, 삽입물, 콘택트 렌즈, 젤 및 다른 국소 액체 형태는 다소 상이한 제형화를 필요로 할 수 있다. 눈에 직접 투여한다는 점이 서로 일치하는 이와 같은 모든 제형물이 본원에 포함된다.

또한, 본 발명의 조성물은 사용되는 항산화제의 종류에 따라 변화할 수 있는 범위에서 항산화제를 가질 수 있다. 또한, 이의 사용법은 약학 조성물이 2년 이상의 보관 기간을 가질 수 있도록 하는데 필요한, 항산화제의 양에 의존한다. 하나 이상의 항산화제가 제형물에 포함될 수 있다. 특정의 통상 사용되는 항산화제는 규제 당국에 의해 허용되는 최대 수준을 가진다. 따라서, 항산화제(들)의 투여량은 임의의 부적당한 효과를 야기하지 않으면서도 효과적이기에 충분해야 한다. 이와 같은 투여량은, 규제 당국에서 설정한 최대 수준 내에서 필요에 따라 의사에 의해 조절될 수 있고, 숙련된 기술자들의 권한 내에서 적절하고 효과적인 투여량이 잘 결정된다. 합리적 범위는 약 0.01 내지 약 0.15 중량/부피 %의 EDTA, 약 0.01 내지 약 2.0 중량/부피 %의 소듐 술포이트, 및 약 0.01 내지 약 2.0 중량/부피 %의 소듐 메타비술포이트이다. 당업자는 상기 각각을 약 0.1 중량/부피 %의 농도로 사용할 수 있다. N-아세틸시스테인은 약 0.1 내지 약 5.0 중량/부피 %의 범위로 존재할 수 있고, 약 0.1 내지 약 10%의 히드록실아민 농도가 바람직하다. 아스코르브산 또는 염도 약 0.1 내지 약 5.0 중량/부피 %의 범위로 존재할 수 있고, 약 0.1 내지 약 10 중량/부피 %의 히드록실아민 농도가 바람직하다. 포함될 경우, 다른 술포하이드릴은 N-아세틸시스테인과 동일 범위로 존재할 수 있다. 다른 예시적 화합물로는 메르캅토프로피오닐 글리신, N-아세틸시스테인, β-메르캅토폰에틸아민, 글루타티온 및 유사한 화학종이 포함되며, 안구 투여에 적합한 다른 항산화제, 예를 들어 아스코르브산 및 이의 염 또는 술포이트 또는 소듐 메타비술포이트도 또한 이용될 수 있다.

완충화제가 점안제 제형물의 pH를 약 4.0 내지 약 8.0의 범위로 유지하기 위해 사용될 수 있고; 이는 각막 자극을 방지하는데 필수적이다. 본 발명의 화합물은 에스테르이기 때문에, 에스테르 결합의 가수분해를 방지하고 2년 이상의 제품 보관 기간을 보장하기 위해, pH는 바람직하게는 약 3.5 내지 약 6.0, 바람직하게는 약 4.0 내지 약 5.5로 유지된다. 또한, 상기 pH는 대부분의 히드록실아민이 가장 높은 수성 용해도를 위한 프로톤화된 형태로 있는 것을 보장한다. 완충제는 임의

약산 및 짝 염기 (pKa = 약 4.0 내지 약 5.5); 예를 들어, 아세트산/소듐 아세테이트; 시트르산/소듐 시트레이트일 수 있다. 히드록실아민의 pKa는 약 6.0이다. 직접 초차체강내(intravitreal) 또는 안내 주사를 위해, 제형물은 pH가 7.2 내지 7.5, 바람직하게는 7.3-7.4 이어야 한다.

또한, 본 발명의 화합물은 눈 투여에 적합한 등장제(tonicity agent)를 포함할 수 있다. 그 중에서도, 염화나트륨이, 본 발명의 제형물을 0.9% 염수 용액과 대략 등장으로 만들기 위해 적합하다.

특정 구현예에서, 본 발명의 화합물은 점도 증강제와 함께 제형화된다. 그의 예로는 히드록시에틸셀룰로스, 히드록시프로필셀룰로스, 메틸셀룰로스, 및 폴리비닐피롤리돈이 있다. 점도제는 약 2.0 중량/부피 % 이하의 화합물로 존재할 수 있다. 상기 점도 증강제는 약 0.2 내지 약 0.5 중량/부피 % 범위로 존재하는 것이 바람직할 수 있다. 폴리비닐피롤리돈에 대한 바람직한 범위는 약 0.1 내지 약 2.0 중량/부피 %일 수 있다. 당업자는 [Food and Drug Administration]에 의해 허용가능하다고 확립된 임의 범위를 선호할 수 있다.

본 발명의 화합물은 필요한 경우, 보조용매가 첨가될 수 있다. 적합한 보조용매로는 글리세린, 폴리에틸렌 글리콜 (PEG), 폴리소르베이트, 프로필렌 글리콜, 만니톨 및 폴리비닐 알콜이 포함될 수 있다. 공동용매는 약 0.2 내지 약 4.0 중량/부피 % 범위로 존재할 수 있다. 만니톨이 약 0.5 내지 약 4.0 중량/부피 %의 범위로 본 발명의 화합물에 제형화될 수 있는 것이 바람직할 수 있다. 또한, 폴리비닐 알콜이 약 0.1 내지 약 4.0 중량/부피 %의 범위로 본 발명의 화합물에 제형화될 수 있는 것이 바람직할 수 있다. 당업자는 [Food and Drug Administration]에 의해 허용가능한 범위를 선호할 수 있다.

보존제도 특정 범위 내에서 본 발명에 사용될 수 있다. 그 중에서도 0.013 중량/부피 % 이하의 벤잘코늄 클로라이드, 0.013 중량/부피 % 이하의 벤제토늄 클로라이드, 0.5 중량/부피 % 이하의 클로로부탄올, 0.004 중량/부피 % 이하의 페닐 제2수은 아세테이트 또는 니트레이트, 0.01 중량/부피 % 이하의 티메로살, 및 약 0.01 내지 약 0.2 중량/부피 %의 메틸 또는 프로필파라벤이 바람직하다.

주사용 제형물은 바람직하게는 단일 사용 투여를 위해 고안되며 보존제를 함유하지 않는다. 주사 용액은 0.9% 염화나트륨 용액과 등가인 등장성을 가져야 한다 (290-300 mOsmole의 삼투질농도(osmolality)). 이는, 염화나트륨 또는 상기 열거한 바와 같은 다른 보조용매, 또는 부형제, 예컨대 상기 열거한 바와 같은 완충화제 및 항산화제의 첨가에 의해 달성될 수 있다. 주사용 제형물은 멸균되고, 한 구현예에서, 단일 사용 바이알 또는 앰플로 제공된다. 다른 구현예에서, 주사용 생성물은 차후에 재구성하여 주사하기 위한 멸균 동결건조 고체로서 제공될 수 있다.

본 발명의 조성물은 하나 초과인 본 발명의 화합물을 함유할 수 있다. 이에, 본 발명의 조성물은 하나 이상의 본 발명의 화합물을 함유한다. 일부 구현예에서, 본 발명의 화합물은 동시에 투여된다. 다른 구현예에서, 본 발명의 화합물은 순차적으로 투여된다. 본 발명의 방법은 조합 요법을 포함한다.

본 발명의 일부 구현예에서, 본 발명의 화합물(들)은 본 발명의 화합물의 표적이 되는 질환 또는 장애의 치료용으로 유용한 당업계에 공지된 다른 화합물과 함께 투여된다. 이에, 본 발명의 조성물은 치료될 질환 또는 장애의 치료용으로 당업계에 공지된 하나 이상의 다른 화합물을 추가로 함유할 수 있다. 당업계에 공지된 다른 화합물(들)은 본 발명의 화합물(들)과 동시에 투여될 수 있거나, 또는 순차 투여될 수 있다. 이와 유사하게, 본 발명의 방법은 이와 같은 조합 요법을 사용하는 것을 포함한다.

눈 전방의 조직 (렌즈 포함)은 안방수로 차있다. 상기 유체는 항산화성 화합물 및 효소를 포함하고 있기 때문에, 고도로 환원성인 산화환원 상태에 있다. 또한, 렌즈는 고도로 환원성인 환경이고, 이는 히드록실아민 화합물이 바람직한 환원 형태로 유지하게 하여 준다. 따라서, 점안제 제형물 중에 환원제를 포함시키거나, 또는 환원제를 별도로 투여하여 히드록실아민을 환원 형태로 유지하는 것이 유리할 수 있다.

바람직한 환원제는 N-아세틸시스테인, 아스코르브산 또는 그의 염 형태, 및 소듐 술피트 또는 메타비술피트일 수 있고, 아스코르브산 및/또는 N-아세틸시스테인 또는 글루타티온이 주사용 용액에 특히 적합하다. N-아세틸시스테인 및 소듐 아스코르베이트의 조합물이 다양한 제형물 중에 사용될 수 있다. 금속 킬레이터 항산화제, 예컨대 EDTA (에틸렌디아민테트라아세트산) 또는 가능하게는 DTPA (디에틸렌트리아민펜타아세트산)도 점안제 제형물 중에서 히드록실아민을 환원 형태로 유지시키기 위해 첨가될 수 있다.

본 발명의 화합물이 항-백내장유발성(caractogenic) 및 다른 치료적 효과를 두가지 방식으로 나타낸다는 것이 두드러진다. 첫째로, 에스테르 화합물이 그 자리에서 가수분해되어 치료 활성을 나타내는 히드록실아민 성분을 형성한다. 두번째로, 에스테르화된 화합물 자체가 항-백내장유발성 활성 및 항산화 활성을 가짐으로써, 화합물을 함유한 약학 제제의 치료적 효능을 지지한다.

본 발명의 화합물의 활성에 대한 첫번째 기초, 즉, 히드록실아민 성분을 유리시키기 위한 분할과 관련하여, 수많은 에스테라아제가 안구 조직, 특히 각막에 존재하는 것으로 공지되어 있다. 본 계열의 에스테르를 분할하는 구체적인 에스테라아제(들)을 본 발명의 실시를 위해 동정할 필요는 없다. 에스테르의 분할은 토끼 눈에 화합물을 투여했을 때 신속하고 본질적으로는 완전하게 발생한다. 국소 투여 이후의 모든 시간 (30, 60, 90 및 120 분)에서 템폴-H가 안방수 내에 존재하는 것으로 나타난다. 이와 대조적으로, 에스테르는 수용액 중에서 안정하고, 예를 들어 40°C, pH 4.6에서 아세테이트 완충제 중 에스테르 4의 용액은 3개월간 안정하다.

본 발명은 환자 눈에서 백내장이 진행되는 것을 개선시키는 데에 최적적으로 사용된다. 다른 최적 사용으로는 환자 망막에서의 황반 변성 치료가 포함된다. 다른 최적 사용으로는 포도막염 및 녹내장 치료 뿐만 아니라 본원에 기재된 바와 같은 당뇨병 망막병증 및 다양한 다른 망막병증의 진행을 치료, 감소 또는 예방하는 것이 포함된다. 또다른 최적 용도는 각막 장애, 특히 산화성 스트레스, 예컨대 염증 또는 외상과 연관된 것 (이는 수술일 수도 있지만 반드시 수술과 관련된 것은 아님), 및 다양한 이영양증의 치료이다. 본 발명의 화합물 및 조성물은 또한 망막 색소 상피에 대한 광산화성 손상을 감소, 예방 또는 개선시키기 위해, 및 녹내장에 대한 섬유유절제술 치료 및 각막 재형성화를 위한 각막절제술을 포함하는 눈의 레이저 수술 동안의 자극 및 염증 개선을 위해 사용될 수 있다. 또한, 본 화합물 및 조성물은 결막 및 눈꺼풀의 질환 및 장애를 치료하는데 사용될 수 있다. 또한, 본 발명의 화합물 및 조성물은 방사선 요법 이후의 탈모증 및 직장 조직 손상을 치료하는데 사용될 수 있다.

본원에 기재된 많은 장애 및 상태, 특히 백내장, 노안 및 황반 변성은 노화 과정에서 진행되는 상태이다. 이에 따라, 본 발명의 조성물은 나이 관련 안구 상태의 진행을 예방 또는 지연시키기 위한 예방적 치료로서 이익이 되도록 사용될 수 있다. 바람직한 구현예에서, 조성물은 점안제 또는 세안제로서 제형화된다. 이는, 눈의 나이 관련 상태 진행 이전에 또는 그의 후기에 눈에 투여된다.

본 발명의 화합물을 함유하는 조성물은 당업계에 공지된 수가지 전달 양상 중의 하나 이상의 양상으로 환자의 눈에 전달될 수 있다. 바람직한 구현예에서, 조성물은 점안제 또는 세안제로 눈에 국소 전달된다. 다른 구현예에서, 조성물은 국소 안연고로 전달되며, 이것은 각막, 결막 또는 주변 피부의 상태, 예컨대 건성 눈 및 안검염을 치료하는데에 특히 유용하다. 다른 구현예에서, 조성물은 주기적인 결막하 또는 안내 주사를 통하여 또는 BSS(등록상표) 또는 BSS PLUS(등록상표) (Alcon USA, Port Worth, TX)와 같은 관주(irrigating) 용액 중에서 주입에 의해 또는 BSS(등록상표) 또는 BSS PLUS(등록상표)와 같이 조성물 중 히드록실아민의 예비제형화된 용액을 사용함으로써 눈 내의 다양한 위치에 전달될 수 있다. 하나의 구현예에서, 유리체절제술에서 본 발명의 화합물을 사용하는 것이 유리체절제술 관련 백내장의 진행을 감소 또는 예방하는데에 효과적일 수 있다.

대안적으로는, 조성물은, 예를 들어 미국 특허 제 5,718, 922 호 (Herrero-Vanrell)에 개시되어 있는 바와 같이, 당업자에게 공지된 다른 안과학적 투약 형태, 예컨대 예비 형성된 또는 제자리 형성된(insitu-formed) 겔 또는 리포솜으로 적용될 수 있다. 질환의 치료를 위해 유리체 본체 내로 사용 약물을 직접 주사하는 것이 사용되었으며, 여기에서 약물을 느리게 방출시키기 위해 미세구 또는 리포솜이 사용되었다 (Moritera, T. 등, "Microspheres of biodegradable polymers as a drug-delivery system in the vitreous" Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1991 32 (6): 1785-90).

다른 구현예에서, 조성물은 콘택트 렌즈 (예를 들어, Lidofilcon B, Bausch & Lomb CW79 또는 DELTACON (Deltafilcon A)) 또는 눈 표면에 일시적으로 체류하는 다른 물체를 통해 치료가 필요한 눈의 렌즈에 또는 렌즈를 통해 전달될 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 제 6,410,045 호는 안구 유체로 전달될 수 있는 콘택트 렌즈에 흡수된 약물 물질을 0.05 내지 0.25 중량%의 농도로 함유하는 중합체성 하이드로겔 콘택트렌즈를 포함하는 콘택트 렌즈형 약물 전달 장치를 기재한다.

다른 구현예에서, 지지물, 예컨대 콜라겐 각막 보호구 (예를 들어, BIO-COR 용해성 각막 보호구, Summit Technology, Watertown, Mass.)가 이용될 수 있다. 또한, 상기 조성물은 삼투 펌프로부터 캐놀라(cannula)를 통해 (ALZET(등록상표), Alza Corp., PaloAlto, Calif.) 또는 조성물을 포함하는 지효성 캡슐 (OCCUSENTO) 또는 생분해성 디스크 (OCULEXO, OCUSERTO)의 이식에 의해 안구내로 주입됨으로써 투여될 수 있다. 상기 투여 경로는 눈에 조성물을 연속적으로 공급하는 이점이 있다.

많은 유형의 약물 전달 시스템이 당업계에 공지되어 있으며, 본 발명의 조성물 전달에 사용될 수 있다. 비제한적인 예가 상기에 설명되었으며, 하기에서 더욱 많이 열거된다.

건성 눈 증후군을 치료하는 바람직한 방법은 본 발명의 화합물을 하나 이상 함유하도록 제형화될 수 있는 수성계 용액 또는 겔을 이용한다. 인공 눈물 제형물에서 "활성" 성분은 통상적인 수 용해성 또는 분산성 중합체, 예컨대 히드록시에틸셀룰로스, 히드록시프로필메틸셀룰로스, 메틸셀룰로스, 카르복시메틸셀룰로스, 폴리비닐 알콜, 폴리비닐 피롤리돈, 폴리에틸렌 글리콜, 카보머(carbomer) 및 폴록사머(poloxamer)이다.

미국 특허 제 6,429,194 호는 눈 내에 점적하기 위한 또는 눈 내로 삽입될 물체, 예컨대 콘택트렌즈, 연고 또는 결막 낭으로 삽입될 고형 장치를 미리 담귀두거나 보관하기 위한 수성 안과적 제제를 기재한다. 상기 안과적 제제는 정상적인 인간 안구 표면에서 발견되는 것과 유사한 뮤신 성분을 포함한다. 또한, 미국 특허 제 6,281,192 호는 뮤신의 안과적 적용을 기재한다.

안과적 용액은 건성 눈 증후군의 효과적이고 오래 지속되는 치료를 제공해야 한다. 이러한 목적을 달성하기 위한 한가지 접근법은 맞춤형(tailored) 유동학적 성질을 갖는 용액, 즉 응력 하에 유동하거나 산출되는 고점도 용액을 제공하는 것이다. 상기 접근법의 예는 미국 특허 제 5,075,104 호 및 제 5,209,927 호에 개시되어 있으며, 여기서, 안과 용액의 유동학적 성질은 카보머 중합체의 사용을 통해 달성된다. 상기 카보머 중합체는 미국 특허 제 5,225,196 호; 제 5,188,828 호; 제 4,983,392 호 및 제 4,615,697 호에 기재된 바와 같이 생체 접착체라고 밝혀졌다. 카보머의 생체 접착성은 눈에서의 체류 시간이 더욱 길어지는데 기여한다고 생각된다. 사실상, 미국 특허 제 5,075,104 호 및 제 5,209,927 호는 카보머 중합체가 상피 세포의 정상적인 수화 평형을 유지 또는 회복시켜, 정상적인 눈물 중의 뮤신 성분에 의해 제공된다고 생각되는 바와 유사한 방식으로 각막을 보호함으로써 기능을 드러낸다고 교시한다.

미국 특허 제 4,883,658 호는 부분 가수분해된 폴리(비닐 아세테이트)와 완전 가수분해된 폴리(비닐 아세테이트), 즉, 폴리(비닐 알콜)의 수용액의 공동상승적 조합을 기재하며, 이는 물-공기 계면에서 낮은 표면 장력을 나타내는 한편, 완전히 습윤성인 흡수층을 소수성 고체 위에 형성한다. 상기 조합은 국소적으로 사용되는 안과적 약물 또는 영양물을 위한 수성 비히클(vehicle)로서 사용하기에 적합하다.

건성 눈 증후군의 치료를 위한 에멀션계 제형물이 최근 알려지고 있다. 미국 특허 제 5,578,586 호; 제 5,371,108 호; 제 5,294,607 호; 제 5,278,151 호; 제 4,914,088 호에 개시된 바와 같은 하나의 접근법은 눈 표면에서 수성 층의 증발을 감소시키기 위한 방법 및 조성물을 이용한다. 상기 방법은 하전된 인지질과 비극성 오일의 부가혼합물을, 바람직하게는 미세 분할된 수중유 에멀션의 형태로, 눈에 적용하는 것을 포함한다. 다른 접근법은 미국 특허 제 4,818,537 호 및 제 4,804,539 호에 기재되어 있고, 여기서, 에멀션 형태인 리포솜 조성물이 안구 표면에서의 체류를 증강시킴으로써 건성 눈 증후군을 경감시키는 것으로 보고되어 있다.

눈의 내부 또는 후방부에 약학 조성물을 전달하기에 특히 적합한 몇몇 다른 유형의 전달 시스템이 이용가능하다. 예를 들어, 미국 특허 제 6,154,671 호(Parel 등)는 이온영동에 의해 안구내에 약제를 이송하기 위한 장치를 개시한다. 상기 장치는 각막 주변부에 있는 눈 조직을 향하는 하나 이상의 활성 표면 전극을 포함하는, 활성제를 보유하기 위한 저장소(reservoir)를 이용한다. 또한, 상기 저장소는 환자의 일부 단혀진 눈꺼풀과 접촉하는 귀로 전극(return electrode)을 갖는다. 미국 특허 제 5,869,079 호(Wong 등)는 생분해성 서방성 안구 임플란트 중의 친수성 및 소수성 부분의 조합물을 개시한다. 또한, 미국 특허 제 6,375,972 호(Guo 등), 미국 특허 제 5,902,598 호(Chen 등), 미국 특허 제 6,331,313 호(ZWong 등), 미국 특허 제 5,707,643 호(Ogura 등), 미국 특허 제 5,466,233 호(Weiner 등) 및 미국 특허 제 6,251,090 호(Avery 등). 상기 각각은, 본 발명의 화합물을 함유하는 약학 조성물을 전달하는데 사용될 수 있는, 안내 임플란트 장치 및 시스템을 기재한다.

미국 특허 제 4,014,335 호는 약물을 투여하고 저장소로서 작용하기 위한, 공막과 하부 눈꺼풀 사이의 막힌 관(cul-de-sac)에 위치하는 안구 약물 전달 장치를 기재한다. 상기 장치는 적층체의 중심 저장소 구역에 약물을 보유하는 중합체성 물질의 3층 적층체를 포함한다. 상기 약물은 적층체의 중합체성 층 중 하나 이상을 통해 저장소로부터 확산한다.

안구 삽입물 형태의 고체 장치는 건성 눈의 장기적 증상 경감을 위해 이용되었다. 이들 장치는 눈에 위치하여 천천히 용해 또는 침식되어 두꺼운 눈물 필름을 제공한다. 상기 기술의 예는 미국 특허 제 5,518,732 호; 제 4,343,787 호, 및 제 4,287,175 호에 주어졌다.

본 발명의 화합물은 안과학 이외의 더욱 넓은 분야에서의 용도를 가질 수 있다. 이러한 영역으로는, 예를 들어 암의 방사선 요법 동안에 방사선 손상으로부터 모발 소낭 및 직장을 보호하는 것이 포함될 수 있다. 눈으로의 전달이 요청되지 않는 본 발명의 조성물의 다른 투여 형태로는 경구용 정제, 액제 및 스프레이; 정맥내, 피하 및 복강내 주사; 패치 또는 연고로서의 피부에 대한 적용; 관장제, 좌제, 또는 에어로졸이 포함될 수 있다.

백내장, 노안, 황반 변성, 녹내장 또는 본원에 기재된 임의의 다른 망막병증, 각막 장애 또는 눈 상태의 효과적인 치료를 위해, 당업자는 치료되는 대상체에게 적절한 투약 일정 및 투약량을 권장할 수 있다. 조성물을 지속성 전달 비히클 중에서 제형화하거나 임플란트를 통해 전달할 경우, 보다 덜 빈번하게 투여할 수 있다. 국소 전달을 위해서는, 필요한 만큼 오랫동안 1일 1 내지 4회 투여하는 것이 바람직할 수 있다. 또한, 투약 일정은 사용되는 히드록실아민에 의존할 수 있는 활성 약물 농도 및 환자의 필요성에 따라 변화할 수 있다. 활성 양은 제형물 중에 약 0.1 내지 약 10.0 중량/부피 %인 것이 바람직할 수 있다. 일부 구현예에서, 활성 약물 농도는 0.25 내지 약 10.0 중량/부피 %인 것이 바람직할 수 있다. 히드록실아민 성분의 농도는 바람직하게는 조직 및 유체 중에 약 0.1 μM 내지 약 10 mM 범위일 것이다. 일부 구현예에서, 상기 범위는 1 μM 내지 5 mM이고, 다른 구현예에서, 상기 범위는 약 10 μM 내지 2.5 mM이다. 다른 구현예에서, 상기 범위는 약 50 μM 내지 1 mM 이다. 가장 바람직하게는 히드록실아민 농도의 범위는 1 내지 100 μM 일 것이다. 환원제의 농도는 조직 또는 유체 중에서 1 μM 내지 5 mM 일 것이며, 바람직하게는 10 μM 내지 2 mM의 범위일 것이다. 조성물 중의 성분 농도는, 상기와 같은 국부 농도를 달성하기 위해, 전형적 약동학 및 희석 계산치에 의해 투여 경로에 적당하게 조절된다. 대안적으로는, 각막 침투 및 눈 내부의 다른 조직으로의 흡수는 방사선 표지된 히드록실아민을 사용하여 입증된다.

안과학자 또는 다른 유사 당업자는 투약 일정의 효능을 모니터링하여 이에 따라 투약을 조정하기 위한 다양한 수단을 가질 것이다. 예를 들어, 백내장 치료에서의 효능은 슬릿-램프 검사 또는 당업계에 공지된 다른 수단에 의해 간격을 두고 렌즈 불투명화도를 관찰함으로써 안과학자에 의해 결정될 수 있다. 황반 변성 또는 다른 망막병증의 치료에 대한 효능은 시력의 향상 및 입체적 원색안저촬영(color fundus photograph)의 등급 및 이상성에 대한 평가에 의해 결정될 수 있다(Age-Related Eye Disease Study Research Group, NEI, NIH, AREDS Report No.8,2001, Arch. Ophthalmol. 119: 1417-1436). 포도막염의 치료의 효능은 시력 및 유리체 헤이즈의 향상 및 염증의 제어에 의해 결정될 수 있다(Foster et al., 2003, Arch.Ophthalmol.121: 437-40). 이러한 평가에 따라서, 안과학자는 필요한 경우, 투약의 빈도 및/또는 농도를 조정할 수 있다.

본 발명의 다른 양태는 점안제 형태로 환자 눈에 전달하기 위한 제약을 확인하는 방법으로서, 25°C에서의 수 용해도가 약 0.25 중량% 이상이고, 25°C에서 물-n-옥탄올 분배 계수가 약 5 이상인 화합물로서, 환자 눈의 렌즈에서 얻어지는 상태 하에서 효소적으로 분할되어 히드록실아민, 바람직하게는 N-히드록시 피페리딘을 발생시키는 화합물을 선택하는 것을 포함하는 방법을 특징으로 한다. 바람직하게는, 선택된 화합물은 히드록실아민의 에스테르이다.

0.1% 이상의 용해도가 점안제, 심지어는 현탁액 제형물용으로 바람직할 수 있다. 완전히 수-불용성인 화합물은 효과적이지 않을 수 있다. 물 중에 가용성인 에스테르 (> 0.1 중량/부피 %)가 바람직하다. 용해도가 0.1% 미만인 에스테르는 현탁액 또는 연고 또는 다른 제형물의 형태로 사용될 수 있다. 용해도는 실온에서 100 mg의 시험 화합물을 1 ml의 물과 혼합하고, 추가의 1 ml 물을 첨가하고, 에스테르가 완전히 용해될 때까지 혼합함으로써 결정된다.

각막 침투는 토끼 눈에 화합물 용액을 생체내 투여한 후, 안방수 중 실질적 농도 (예를 들어, > 5 μM)의 유효 히드록실아민 및/또는 에스테르를 측정함으로써 나타난다. 이는 토끼 안방수의 전자 스핀 공명 (ESR), 고성능 액체 크로마토그래피 (HPLC) 또는 가스 크로마토그래피 (GC) 분석에 의해 결정된다. 시험관내 각막 침투 방법이 또한, 특히 스크리닝 화합물에 대한 생체내 시험 방법에 앞서 사용될 수 있다. 눈의 내부 또는 후방부에 대한 화합물의 침투는, 토끼 눈에 화합물 용액을 투여한 후, 유리체 액, 포도막 또는 망막 중 화합물의 농도를 측정함으로써 나타난다.

에스테르가 옥탄올/물 분배 계수 (P)의 계산치 또는 측정치에 기초하는 이들 시험에 대해 선택된다. 친수성 화합물, 예컨대 템폴-H는 각막의 친유성 상피층을 침투할 수 없다. 침투하는 템폴-H 및 에스테르의 분배 계수는 다음과 같다:

P (계산치)*

템폴-H 0.8 (측정치, 0.5)

에스테르 4 16.4

에스테르 8 8.2

에스테르 14 6.3

* Clog P version 4.0, Biobyte Corporation

효소적 전환은 본질적으로는, 토끼 눈에 화합물을 투여한 후, 생체 내에서 알콜 및 산으로의 에스테르 가수분해도를 90% 초과로 완결시킨다.

상기 전환은 선택한 눈 조직 (예를 들어, 안방수)의 HPLC 또는 GC 분석에 의해 결정될 수 있다. 대안적으로, 효소적 전환은 혈장 또는 눈 조직에서 화합물을 항온배양하고 HPLC 또는 GC에 의해 주기적으로 시료를 분석하여 분해율을 모니터링함으로써 결정될 수 있다. 반감기가 약 1 또는 2 시간 미만인 에스테르가 바람직한 후보물질이다. 상기 방법은 생체내 시험 이전의 바람직한 스크리닝 절차일 수 있다.

에스테르는 3개월 후, pH 4.0 - 5.0의 수용액 중 40°C에서 약 10% 미만의 가수분해도를 가져야 한다. 이는 실온에서 18개월 이상의 용액 중 에스테르 반감기에 외삽하며, 이것이 점안제 생성물용으로 바람직할 수 있다.

실시에

하기의 실시예를 참조하여 본 발명을 특정 구현예에 대해 설명한다. 하기의 실시예는 단지 설명을 위한 것이며, 어떠한 식으로든 한정하고자 하는 것은 아니다.

실시에 1: 수용액 중 에스테르 화합물 안정성의 결정

방법: 에스테르 화합물의 0.1-0.5% 용액을 DTPA 또는 EDTA를 함유한 완충제 (pH 4.5 - 5.0) 중에서 제조하였다. 상기 용액을 앰버(amber) 글래스 바이알 내에 충전하고, 이를 밀봉하고 40°C로 유지되는 온도 제어 용기에 두었다. 시료 바이알을 주기적으로 꺼내어서 HPLC, GC, 또는 GC/MS 분석법에 의해 분석할 때까지 0 - 5°C 에서 보관하고, 상기 상태에서 하에서 3 개월 후에도 안정하다는 것을 발견하였다.

항-백내장 약물로서 유용하기 위해서는, 상기 작용제는 렌즈 내에 침투하여야 한다. 이는 항-백내장 화합물을 선택하기 위한 방법에 포함될 수 있다. 템폴-H에 대한 방법의 자세한 설명은 다음과 같다:

실시에 2: 기관 배양된 래트 렌즈 중 약물의 침투

항-백내장제로서 이미 시험된 약물에 비하여, 템폴-H 및 템폴은 주변 유체로부터 렌즈 조직을 침투하는 능력이 현저하다. 본 부분에서 기재한 실험은 기관 배양 조건 하에 래트 렌즈와 함께 항온배양한 후, 시간 경과, 활성 화합물 농도 및 렌즈 내의 화합물 분포를 결정하였다.

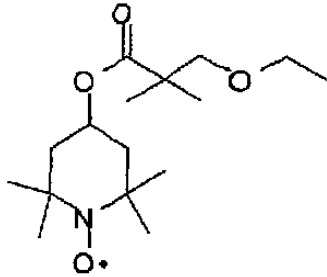
방법: 래트 렌즈를 다음과 같이 배양하였다: 래트 렌즈는 스프라그돌리(SpragueDawley) 래트로부터 얻었다. 상기 렌즈를 개질 TC-199 배지 중 24 웰 클러스터(cluster) 디쉬에서 항온배양하고 95% 공기/5% CO₂ 대기가 있는 37°C 항온배양기에 두었다. 상기 렌즈를 2 ml의 배양 배지 중에서 항온배양하고, 이를 300 밀리오스몰 (mOsm)로 조정하였다. 렌즈를 4.0 mM 템폴-H 또는 4.0 mM의 산화형 템폴이 있는 배양 배지 중에서 1 내지 24 시간 동안 항온배양하였다. 적절한 시간에, 상기 렌즈를 배지에서 제거하고, 건조하고(blotted dry), 균질화하고, 전자 스핀 공명법 (ESR)으로 활성 화합물에 대해 분석하였다. 하나의 실험에 있어서, 렌즈를 4 시간 동안 항온배양하고, 상피, 피질 및 핵 부분으로 절개하여 분석하였다.

결과: 템폴-H의 농도 (mM, 렌즈 수 중에서는)는 활성 성분의 1, 2, 및 4 시간 항온배양 후, 각각 0.4 mM, 0.8 mM 및 1.0 mM에 도달하였다. 산화형 템폴로 렌즈를 항온배양한 후, 템폴-H의 수준은 각각 0.6 mM, 1.5 mM 및 2.8 mM이었다. 후자의 경우, 산화형 템폴은 단지 미량 (5% 이하)만이 렌즈 중에 발견되었고; 환원형 템폴-H로 거의 완전히 전환되었다.

템폴-H를 사용한 4 시간 항온배양 후, 렌즈 상피, 피질 및 핵 간에 템폴-H의 분포는 상당히 균등하였다. 템폴-H의 수준은 상피, 피질 및 핵에서 각각 1.5 mM, 0.8 mM 및 1.0 mM에 달하였다. 산화형 템폴과 함께 항온배양된 렌즈 중 템폴-H/템폴의 수준은 각각 1.2 mM, 2.9 mM 및 2.0 mM 이었다. 후자의 경우, 핵 내의 모든 화합물이 환원형이었고, 단지 상피 내의 약 5% 만이 산화형이었다.

결론 : 활성제의 환원형과 산화형 모두가 베스 배지로부터 배양 래트 렌즈 증으로 손쉽게 침투하고 상피, 피질 및 핵에 분포하였다. 산화형 템폴을 사용한 렌즈의 항온배양이 렌즈 전역에 걸쳐 높은 농도의 환원 화합물 템폴-H를 발생시킨다.

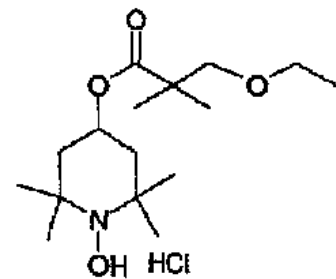
실시에 3: 1-옥실-4-(3'-에톡시-2',2'-디메틸)프로판카르보닐옥시-2,2,6,6-테트라메틸피페리딘



1,1'-카르보닐디이미다졸을 건조 DMF (10 mL) 중 3-에톡시-2,2-디메틸프로피온산 (750 mg, 7.13 mmol; [J. Org. Chem., 38, 2349, 1975]에 기재된 절차에 따라 제조됨, 상기의 내용은 본원에 참조로서 포함되어 있음)의 교반 용액에 소량(1.27 g, 7.84 mmol) 첨가하였다. 격렬한 가스 발생이 관찰되었다. 상기 용액을 1 시간 동안 100°C에서 가열하였다. 그 후, 상기 혼합물에 템폴 (900 mg, 5.23 mmol) 및 1,8-디아자비시클로[5,4,0]운데크-7-엔 (DBU) (800 mg, 5.26 mmol)을 첨가하고, 12 시간 동안 가열을 지속하였다. 반응 혼합물을 감압 농축하였다. 잔류물을 에틸 아세테이트 (100 mL)에 용해시키고, 1N HCl, 포화 NaHCO₃ 및 염수로 연속 세척하고, 무수 황산나트륨으로 건조하고, 진공 농축하여, 적색 고체를 얻었다 (1.48 g). 시클로헥산: 에틸 아세테이트 (8:1)을 용리액으로 사용하여 실리카겔 상에서의 칼럼 크로마토그래피에 의해 정제하여, 적색 결정질 고체를 얻었다 (1.22 g, 70.0 %).

IR (KBr, cm⁻¹) : 1360(N-O ·), 1725 (에스테르)

실시에 4 : 1-히드록시-4-(3'-에톡시-2',2'-디메틸)프로판카르보닐옥시-2,2,6,6-테트라메틸피페리딘 히드로클로라이드



실시에 2의 니트록시드 (1.02 mg, 3.34 mmol)를 에탄올 중 포화 염화수소 용액 (20 mL)에 첨가하였다. 적색이 신속히 사라졌고, 생성된 황색 용액을 끓여서 맑은 무색 용액을 얻었다. 상기 용액을 진공 농축하고, 100 mL 에틸 아세테이트에 용해시키고, 포화 NaHCO₃로 세척하여 히드록실아민 유리 염기를 얻었다. 에틸 아세테이트층을 분리하고 농축하여 적색 오일을 얻었고, 이것은 TLC에 의했을 때 대부분 니트록시드였다.

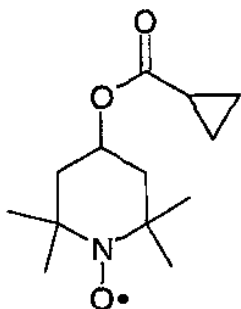
상기 오일을 시클로헥산: 에틸 아세테이트 (4: 1)을 용리액으로 사용하여 실리카겔 상에서 칼럼 크로마토그래피에 의해 정제하여, 적색 결정질 고체를 얻었다 (700 mg). 상기 고체를 에탄올 중 포화 염화수소 용액 (20 mL)에 용해시키고, 진공 농축하고, 에틸 아세테이트: 디이소프로필에테르 (2: 1.50 mL)으로부터 재결정화하여, 백색 결정질 고체를 얻었다 (320 mg). m. p.140-142°C (dec.).

¹H-NMR (270 MHz, D₂O) ppm : 1.48 (6H, s); 1.57 (3H, t); 1.63 (12H, s); 1.82(2H, s);2.02 (2H, t); 2.40 (2H, d), 3.88 (2H, q); 5.44(1H, m)

IR(KBr, cm⁻¹) : 3487(OH), 1726 (에스테르)

질량 스펙트럼(EI, m/z) 301 (M⁺)

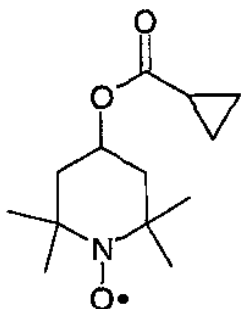
실시에 5a : 1-옥실-4-시클로프로판카르보닐옥시-2,2,6,6-테트라메틸피페리딘



건조 THF (50 mL) 중 수소화나트륨 (오일 중 60%, 1.0 g, 25 mmol)의 현탁액을 실온에서 5 분 동안 교반하고, 상기 혼합물에 템폴 (4.0 g, 23 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 1 시간 동안 교반하고, 시클로프로판카르보닐 클로라이드 (2.4 g, 23 mmol)를 5 분에 걸쳐 적가한 후, 1 시간 동안 환류하였다. 반응 혼합물을 감압 농축하였다. 잔류물을 헵탄 (100 mL)에서 취하고, 상층액을 분리하고 감압 농축하여 적색 고체를 얻었다. 상기 고체를 시클로헥산: 에틸 아세테이트 (3: 1)를 용리액으로 사용하여 실리카겔 상에서 칼럼 크로마토그래피에 의해 정제하여, 적색 결정질 고체를 얻었다 (1.4 g, 5.8 mmol, 25.3 %).

IR (KBr, cm⁻¹): 1361(N-O ·), 1720 (에스테르)

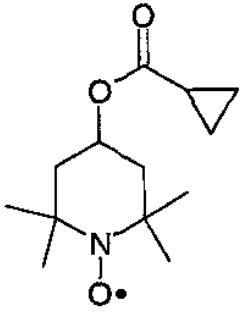
실시에 5b: 대안적 방법 - 1-옥실-4-시클로프로판카르보닐옥시-2,2,6,6-테트라메틸피페리딘



1,1'-카르보닐디이미다졸 (1.78 g, 11 mmol)을 건조 DMF (10 mL) 중 시클로프로판카르복실산 (860 mg, 10 mmol)의 교반 용액에 소량 첨가하였다. 격렬한 가스 발생이 관찰되었다. 상기 용액을 1 시간 동안 40°C에서 가열하였다. 상기 혼합물에 템폴 (1.72 g, 10 mmol) 및 1,8-디아자비시클로[5,4,0]운데크-7-엔(DBU) (1.52 g, 10 mmol)을 첨가하고, 다시 12 시간 동안 40°C에서 가열하였다. 반응 혼합물을 감압 농축하였다. 잔류물을 에틸 아세테이트 (100 mL)에 용해시키고, 1N HCl, 포화 NaHCO₃ 및 염수로 연속 세척하였다. 에틸 아세테이트 층을 분리하고, 무수 황산나트륨으로 건조하고, 진공 농축하여, 적색 고체를 얻었다. 상기 고체는, 시클로헥산: 에틸 아세테이트 (8: 1)를 용리액으로 사용하여 실리카겔 상에서 칼럼 크로마토그래피에 의해 정제하여, 적색 결정질 고체를 얻었다 (720 mg, 30.0%).

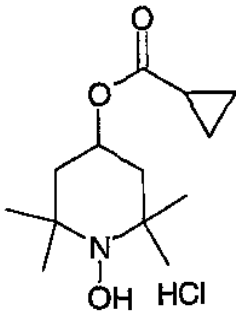
IR (KBr, cm⁻¹ : 1360(N-O ·), 1720 (에스테르)

실시에 5c: 대안적 방법 - 1-옥실-4-시클로프로판카르보닐옥시-2,2,6,6-테트라메틸피페리딘 [DCC/DMAP 에스테르화 방법]



디클로로메탄 (25 ml) 중 템폴 (1.72 g, 0.01 mmole), 시클로프로판카르복실산 (0.946g, .011 mmole), 및 DMAP (0.12, .001 mmole)의 교반 용액에 DCC (2.27 g, 0.11 mmole)을 첨가하고, 혼합물을 실온에서 하룻밤동안 교반하였다. 혼합물을 셀라이트로 여과하고, 용액을 감압 증발시켰다. 생성물을 먼저 헥산을 사용하고 다음으로 헥산 중 10% 에틸 아세테이트를 사용하여 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피에 의해 분리하였다. 수율: 2.26 g (94.1). IR 및 NMR은 선정한 구조와 일치하였다.

실시에 6: 1-히드록시-4-시클로프로판카르보닐옥시-2,2,6,6-테트라메틸피페리딘 히드로클로라이드 (화합물 1)



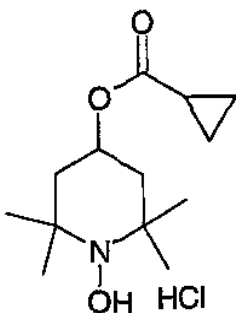
실시에 5a의 니트록사이드 (2.2 g, 9.15 mmol)를 에탄올 중 포화 염화수소 용액 (20 mL)에 첨가하였다. 적색이 신속히 사라졌고, 생성된 황색 용액을 끓여서 맑은 무색 용액을 얻었다. 상기 용액을 진공 농축하고, 100 mL 에틸 아세테이트에 용해하고, 포화 NaHCO₃로 세척하여 히드록실아민 유리 염기를 얻었다. 에틸 아세테이트 층을 분리하고, 에테르성 HCl로 산성화하고, 농축하여, 백색 고체를 얻었고, 이를 백색 결정질 고체로서 에탄올 (10 mL)로부터 재결정화하였다 (1.15 g, 4.13 mmol, 45.1 %, m.p.224-228°C (dec.)).

¹H-NMR (270 MHz, D₂O) ppm : 0.97(4H, d); 1.43(1H, m); 1.44 (6H, s), 1.46 (6H, s); 1.90 (2H, t); 2.28 (2H, t); 5.2 (1H, m)

IR (KBr,cm⁻¹) : 3478 (OH), 1720 (에스테르)

질량 스펙트럼(EI, m/z) 240 (M⁺)

실시에 7 : 1-히드록시-4-시클로프로판카르보닐옥시-2,2,6,6-테트라메틸피페리딘 히드로클로라이드 (대안적 방법)

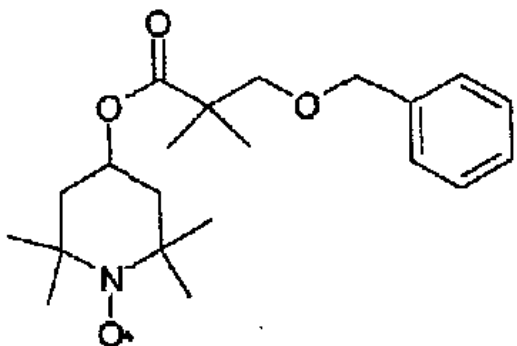


실시예 5a의 니트록시드 (700 mg, 2.91 mmol)를 에탄올 중 포화 염화수소 용액 (20 mL)에 첨가하였다. 적색이 신속히 사라졌고, 생성된 황색 용액을 끓여서 맑은 무색 용액을 얻었다. 상기 용액을 진공 농축하고, 100 mL 에틸 아세테이트에 용해하고, 절반 부피로 농축하여 백색 결정질 고체를 얻었다 (627 mg, 2.25 mmol, 77.5 %). m.p. 224-227°C (dec.). ¹H-NMR (270 MHz, D₂O) ppm: 0.97 (4H, d); 1.43 (1H, m); 1.44 (6H,s), 1.46 (6H, s); 1.90 (2H, t); 2.28 (2H, t); 5.2 (1H,m)

IR (KBr, cm⁻¹) : 3476 (OH), 1720 (에스테르)

질량 스펙트럼(EI, m/z) 240 (M⁺)

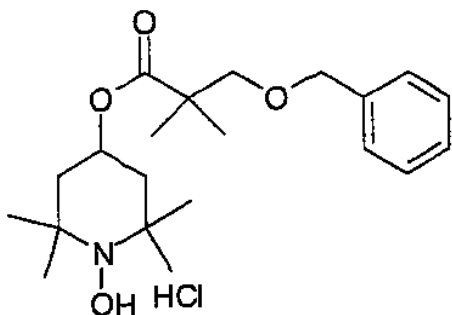
실시예 8 : 1-옥실-4-(3'-벤질옥시-2',2'-디메틸)프로판카르보닐옥시-2,2, 6,6-테트라메틸피페리딘



건조 DMF (5 mL) 중 3-벤질옥시-2,2-디메틸프로피온산 (1.04 g, 5 mmol), ([J. Org. Chem., 38, 2349, 1975]에 기재된 바와 유사한 방법으로 제조함)의 교반 용액에 1,1'-카르보닐디이미다졸을 소량 첨가하였다. 격렬한 가스 발생이 관찰되었다. 상기 용액을 30 분 동안 50°C에서 가열하였다. 상기 혼합물에 텀폴 (900 mg, 5.23 mmol) 및 1,8-디아자비스클로[5,4,0]운데크-7-엔 (DBU) (800 mg, 5.26 mmol)을 첨가하였다. 상기 혼합물을 3 일 동안 50°C에서 가열하고 (TLC로 모니터링함), 그 후 감압 농축하였다. 잔류물을 에틸 아세테이트 (100 mL)에 용해시키고, 1N HCl, 포화 NaHCO₃ 및 염수로 연속 세척하고, 무수 황산나트륨으로 건조하였다. 건조한 용액을 진공 농축하여 적색 고체를 얻었다 (1.48 g). 상기 고체는, 시클로헥산:에틸 아세테이트 (3:1)을 용리액으로 사용하여 실리카겔 상에서 칼럼 크로마토그래피에 의해 정제하여, 적색 결정질 고체를 얻었다 (1.02 g, 2.8 mmol, 56.2%).

IR(KBr, cm⁻¹) : 1359(N-O ·), 1732 (에스테르)

실시예 9 : 1-히드록시-4-(3'-벤질옥시-2',2'-디메틸)프로판카르보닐옥시-2,2,6,6-테트라메틸피페리딘 히드로클로라이드



실시예 8의 니트록시드 (1.02 mg, 3.34 mmol)를 에탄올 중 포화 염화수소 용액 (20 mL)에 첨가하였다. 적색이 신속히 사라졌고, 생성된 황색 용액을 끓여서 맑은 무색 용액을 얻었다. 상기 용액을 진공 농축하고, 이를 여과하고, 에틸 아세테이트로 세척하고, 진공 건조하였다(0.700 mg, 2.4 mmol, 82.7%) m. p. 215-220°C (dec.). 잔류물을 에틸 아세테이트 (20 mL)에 용해시켰다. 헥산 (20 mL)을 첨가하고 생성물이 녹아나오기(oil out) 시작하였고; 그 후, 상기 혼합물을 12 시간 동

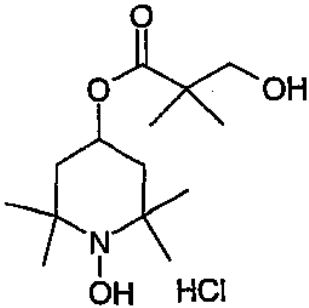
안 방치시켰다. 용매를 기울여 따름으로써 유성 잔류물을 얻었고, 이를 이소프로필 에테르로 처리하고 가온하였다. 혼합물을 냉각하면, 왁스질 고체가 수득되었고, 이를 에틸 아세테이트로부터 재결정화하여 백색 결정질 고체를 얻었다 (0.6 g, 1.5 mmol, 45%).

¹H-NMR(270 MHz, D₂O) ppm: 1.26 (6H, s), 1.51 (6H, s); 1.65 (6H, s); 2.01 (2H, t); 2.44 (2H, d), 5.40 (1H, m); 3.46 (2H, s), 4.55 (2H, S), 7.31 (5H, s)

IR (KBr, cm⁻¹) : 3480(OH), 1712 (에스테르), 710 (방향족)

질량 스펙트럼(EI, m/z) 262 (M⁺)

실시예 10: 1-히드록시-4-(3'-히드록시-2',2'-디메틸)프로판카르보닐옥시-2,2,6,6-테트라메틸피페리딘 히드로클로라이드



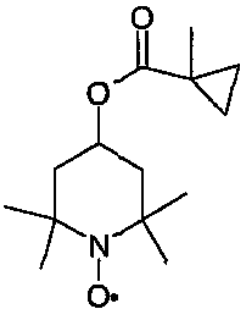
Pd/C (5 %, 100 mg)를 에탄올 중 1-옥실-4-(3'-벤질옥시-2',2'-디메틸)프로판카르보닐옥시-2,2,6,6-테트라메틸피페리딘(1.0 g, 3.83 mmol)의 용액에 첨가하고, 혼합물을 Paar 수소화 장치에서 12 시간 동안 45 psi에서 수소화하였다. 반응 혼합물을 셀라이트를 통해 여과하고 진공 농축하여 맑은 무색 오일을 얻었고, 이를 시클로헥산: 에틸 아세테이트 (3: 1) 을 용리액으로 사용하여 실리카 겔상에서 칼럼 크로마토그래피에 의해 정제하여 무색 오일을 얻었다. 상기 오일을 에탄올 중 포화 염화수소 용액 (20 mL)에 용해시키고 진공 농축하였다. 방치시, 생성물이 결정화되었고 이를 에탄올로부터 재결정화하였다 (123 mg, 0.4 mmol, 10.4 %). m. p. 210-215°C(dec.).

유리 염기의 ¹H-NMR (270 MHz, CDCl₃) ppm : 1.14 (6H, s), 1.44 (6H, s); 1.57 (6H, s); 1.70(2H, m); 2.8(1H, s, br), 3.65 (2H, s), 5.16(1H, m)

IR (KBr,cm⁻¹) : 3480 (OH), 1712 (에스테르), 710 (방향족)

질량 스펙트럼(EI, m/z) 262 (M⁺)

실시예 11 : 1-옥실-4-(1-메틸-시클로프로판)카르보닐옥시-2,2,6,6-테트라메틸피페리딘

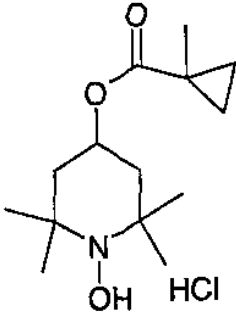


건조 THF (80mL) 중 수소화 소듐 (오일 중 60%, 2.2 g)의 현탁액을 실온에서 5 분 동안 교반한 후, 템플 (3.0 g, 17.44 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 30 분 동안 교반하고, 1-메틸-시클로프로판카르보닐 클로라이드 (2.2 g, 18.71 mmol)를

5 분 동안 적가한 후, 12 시간 동안 환류하였다. 반응 혼합물을 감압 농축하고, 잔류물을 즉시 결정화하였다. 생성물은, 시클로헥산 : 에틸 아세테이트 (3: 1)를 용리액으로 사용하여 실리카겔 상에서 칼럼 크로마토그래피에 의해 정제하여 적색 결정질 고체를 얻었다 (2.0 g, 7.86 mmol, 45.1%).

IR (KBr,cm-1) : 1314(N-O ·), 1722 (에스테르)

실시에 12: 1-히드록시-4-(1-메틸-시클로프로판)카르보닐옥시-2,2,6,6-테트라메틸피페리딘 히드로클로라이드

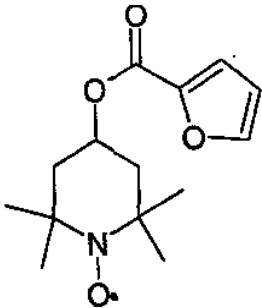


실시에 11의 니트록시드 (700 mg, 2.91 mmol)를 에탄올 중 포화 염화수소 용액 (10 mL)에 첨가하였다. 적색이 신속히 사라졌고, 생성된 황색 용액을 끓여서 맑은 무색 용액을 얻었다. 상기 용액을 진공 농축하여, 백색 결정질 고체를 얻었고, 이를 여과하고, 에틸 아세테이트로 세척하고, 진공 건조하였다(0.700 mg, 2.4 mmol, 82.7%) m. p. 215-220°C (dec.).

¹H-NMR (270 MHz, D2O) ppm : 0.80 (2H, d); 1.19 (2H, m); 1.21 (2H, s); 1.44 (15H, s); 2.03 (4H, m); 5.10(1H, m)

질량 스펙트럼(EI, m/z) 254 (M⁺)

실시에 13: 1-옥실-4-(2-푸란)카르보닐옥시-2,2,6,6-테트라메틸피페리딘

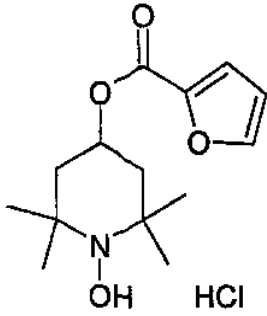


벤젠 (100 mL) 중 소듐 메톡시드(메탄올 중 25% 소듐 메톡시드, 200 mg)의 교반 혼합물을 가열 환류하고 벤젠을 점진적으로 증류 제거하여 부피를 절반으로 함으로써 고체 소듐 메톡시드의 미세 현탁액을 얻었다. 상기 혼합물에 템폴 (1.76 g, 10 mmol), 메틸 2-푸로에이트 (1.26 g, 10 mmole) 및 벤젠 (50 mL)을 첨가하였다.

벤젠의 증류를 8 시간 동안 지속하여, 형성된 메탄올을 제거하였다. 더욱 많은 벤젠을 첨가함으로써 플라스크 중 벤젠의 부피를 유지시켰다. 벤젠층을 1H HCl로 세척한 후, 물로 세척하고, 무수 황산나트륨으로 건조하고, 증발 건조시켜, 적색 고체를 얻었고 (1.72 g), 이를 헥산으로부터 재결정화하여 1.45 g의 생성물을 얻었다. 시클로헥산: 에틸 아세테이트 (3: 1)를 용리액으로 사용하여 실리카겔 상에서 칼럼 크로마토그래피에 의해 추가로 정제하여 적색 결정질 고체를 얻었다 (1.02 g, 3.82 mmol, 32.8 %).

IR (KBr, cm-1) : 1364 (N-O ·), 1716 (에스테르), 706 (방향족)

실시에 14: 1-히드록시-4-(2'-푸란)카르보닐옥시-2,2,6,6-테트라메틸피페리딘 히드로클로라이드

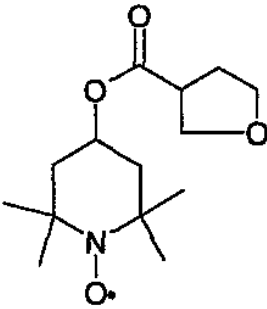


실시에 13의 니트록시드 (300 mg, 1.13 mmol)를 에탄올 중 포화 염화수소 용액 (10 mL)에 첨가하였다. 적색이 신속히 사라졌고, 생성된 황색 용액을 끓여서 맑은 무색 용액을 얻었다. 상기 용액을 실온에서 1 시간 동안 방치하자, 백색 결정질 고체가 분리되었다. 이를 여과하고, 에틸 아세테이트로 세척하고, 진공 건조하여, 히드록실아민 (220 mg, 0.72 mmol, 64.5%, m.p. 209.4-210.4℃)을 얻었다.

¹H-NMR (270 MHz, D₂O)ppm : 1.49 (6H, s); 1.62 (6H, s); 2.03 (2H, t); 2.42 (2H, d), 5.49(1H, m); 6. 63(1H, q); 6.64(1H, d), 7.34(1H, d), 7.74(1H, s)

질량 스펙트럼 (EI, m/z) 266 (M⁺)

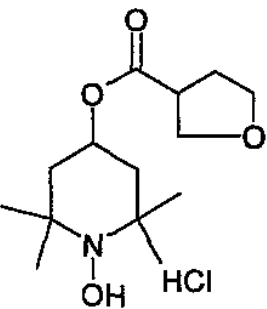
실시에 15 : 1-옥실-4-(3'-테트라히드로푸란)카르보닐옥시-2,2,6,6-테트라메틸피페리딘



건조 DMF (20 mL) 중 3-테트라히드로푸란카르복실산 (1.5 g, 13 mmol)의 교반 용액에 1,1'-카르보닐디이마다졸 (2.3 g, 14.18 mmol)을 소량씩 첨가하였다. 격렬한 가스 발생이 관찰되었다. 상기 용액을 1 시간 동안 70℃로 가열하였다. 그 후, 상기 혼합물에 템플 (2.23 g, 12.97 mmol) 및 1,8-디아자비시클로[5,4,0]운데크-7-엔 (DBU) (2.0 g, 13.14 mmol)을 첨가하고, 12 시간 동안 가열을 지속하였다. 반응 혼합물을 250 mL 물에 붓고, 에테르 (2 x 100 mL)로 추출하였다. 에테르층 층을 조합하고, 1N HCl, 포화 NaHCO₃ 및 염수로 연속 세척하고, 무수 황산나트륨으로 건조하고, 진공 농축하여, 적색 고체 (2.05 g)을 얻었고, 이를 에틸 아세테이트:헥산 (1:2)으로부터 재결정화하여 순수한 적색 결정질 고체 니트록시드를 얻었다 (1.45 g, 5.36 mmol, 37.8%).

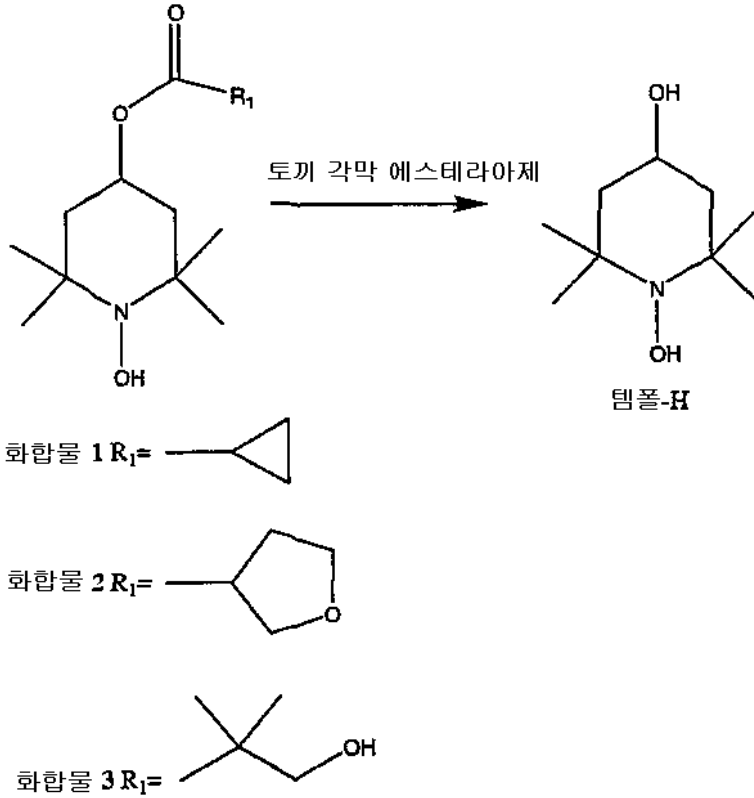
IR (KBr,cm⁻¹) : 1360(N-O ·), 1725 (에스테르)

실시에 16 : 1-히드록시-4-(3'-테트라히드로푸란)카르보닐옥시-2,2,6,6-테트라메틸피페리딘 히드로클로라이드



실시에 15의 니트록시드 (300 mg, 1.11 mmol)를 was added to 에탄올 중 포화 염화수소 용액 (10 mL)에 첨가하였다. 적색이 신속히 사라졌고, 생성된 황색 용액을 끓여서 맑은 무색 용액을 얻었다. 상기 용액을 실온에서 1 시간 동안 방치하자, 백색 결정질 고체가 분리되었다. 이를 여과하고, 에탄올로 세척하고, 진공 건조하여, 생성물 (146 mg, 0.48 mmol, 42.86%, m.p. 221.0-223.2°C)을 얻었다. 1H-NMR (270 MHz, DMSO-d6) ppm: 0.84 (2H, m); 0.90 (2H, m); 1.35 (6H, s); 1.46 (6H, s); 1.65(1H, m); 2.13 (2H, t); 2.44 (2H, d), 5.14(1H, m)

실시에 17: 동물 각막에 걸친 대표적 화합물의 흡수



6마리 뉴질랜드산 백토끼의 균을 템플-H와 화합물 1의 흡수를 평가하기 위한 연구에서 사용하였다. 시험 화합물을 3.5 중량/부피 %의 농도로 멸균 염수 용액으로 제조하였다. 동물을 마이크로피펫을 사용하여 각 눈에 50 µL의 점안제의 점적 동안에 감금 상자 안에 두었다. 투여 후에, 눈을 60 초 동안 온화하게 감고있도록 하였다. 토끼에게 연속 4일 동안 1일 2회 투여하였다. 5일째에, 토끼에게 1회 투여한후, 투여후 30분 (2마리), 투여후 60분 (2마리), 및 투여후 120분 (2마리)에 안락 사시켰다. 안락사시킨 직후, 각 토끼로부터 안방수를 수집하였다. 각 시료 중 템플-H의 방수 농도는 전자 스핀 공명법 (ESR)을 사용하여 측정하였다.

템플-H의 투여후 템플-H의 안방수 수준은 모든 시점에서 검출가능한 분석 한계 미만이었다 (도 1을 참조). 화합물 1을 투여한 후, 템플-H의 안방수 수준은 투여후 30분에 최대였고, 투여후 2 시간에도 여전히 존재하였다 (도 1 및 표 I 참조).

표 I: 안방수 농도 : 토끼에서의 흡수 연구

투여량:50 µL의 3.5% 용액, 단일 투여 (N=4 눈/시점)

	템플-H의 농도 µM		
	30 분	60 분	120 분
화합물 1	51.0	20.0	1.5
	30.0	30.0	1.2
	18.0	6.0	7.0
	30.0	3.0	8.0
평균	32.3	14.8	4.4

μg/ml	(5.5)	(2.5)	(0.75)
-------	-------	-------	--------

실시에 18: 토끼 눈에서 화합물 1의 대사 확인

실시에 16에 기재한 생체내 토끼 연구로부터, 안방수 시료를 화합물 1 및 그의 대사산물, 템폴-H 및 카르복실산 (R₁COOH) (안구 에스테라아제에 의해 화합물 1의 가수분해에 의해 형성됨)의 존재에 대해 GC/MS에 의해 확인하였다. 두 대사물질 모두가 관찰되었고 화합물 1은 없었다. 화합물 1이 대사산물로 완전히 전환된다는 것이 확인되었다.

안방수 시료를 작은 마그네틱 막대가 들어있는 10 mL 앰버 착색 글래스 바이알에서 동결 건조하였다. 여기에, 1 mL의 메틸렌 클로라이드를 첨가하고, 용액을 2 분 동안 교반한 후, 5 분 동안 방치하였다. 3 μL 분취량의 메틸렌 클로라이드 층을 GC 칼럼에 주사하였다. 시클로프로판카르복실산이 13.02 (체류 시간)에서 m/z=85로 질량 분광계 검출기에서 검출되었다 (GC 모델 5989B 및 MS 및 5890 계열 II (둘 모두 HP에서 제조함)). 길이가 25 m이고 직경이 0.2 mm인 Agilent DB-5 칼럼이 사용되었다. 담체 가스는 He 이고 22 cm/초였다. 주입구 온도는 250°C였고, 검출기는 280°C였다. 매회 주사마다, 온도를 5 분 동안 35°C로 유지시킨 후, 10°C/분으로 240°C까지 증가시키고, 3 분 동안 240°C에서 유지시켰다. 미분할 (Splitless) 주사가 사용되었다.

실시에 19: 토끼 눈에서 생체내 화합물 1의 내약성

3.5% 화합물 1을 함유하는 점안제를 2마리의 의식있는 토끼의 각 눈에 1시간 간격으로 6회 투여하였다. 상기 약물은 내약성이었으며(well tolerated), 본 예비 연구에서 부정적인 발견은 전혀 없었다.

실시에 20: 토끼에서 안구 생체이용률

화합물 2와 3의 안구 생체이용률을 뉴질랜드산 백토끼에서 평가하였다. 각 화합물을 pH 7.0인 10 mM 포스페이트 완충제에 125 mM 농도로 용해하였다. 상기 농도는 화합물 2 및 3에 대해 3.5%와 동일하다. 50 μL를 1 시간 간격으로 6회, 각 토끼의 양 눈의 각막에 점적하였다. 두마리 토끼를 각 화합물에 대해 사용하였다. 각 화합물로 처리된 한마리의 토끼를 마지막 투여후 30분에 안락사시키고, 두번째 토끼는 최종 투여후 90 분에 안락사시켰다.

죽은후, 각 토끼의 눈을 즉시 적출하고, 혈액 시료를 안와로부터 수집하였다. 시린지를 사용하여 각 눈에서 안방수를 수집한 후, 렌즈를 눈에서 분할하였다. 캡슐/상피를 섬유 물질로부터 조심스럽게 분리하고, 두 부분을 드라이 아이스에서 동결시켰다 (100 μL의 5 mM DTPA (디에틸렌트리아민펜타아세트산) 용액 중 캡슐/상피 및 액체의 첨가 없이 밀봉 바이알 내의 섬유 물질). 마찬가지로, 방수 및 혈액 시료를 재빨리 동결시켰다. 각막, 망막, 공막 및 유리체를 포함하는 각 눈의 나머지 부분을 장래의 해부 및 분석을 위해 동결시켰다. 모든 시료를 드라이 아이스에서 실험실로 운송하였고, 처리될 때까지 -75°C에서 보관하였다.

각 시료 중 템폴-H의 방수 농도를 전자 스핀 공명법 (ESR)을 사용하여 측정하였다. 안방수의 분석으로 두 화합물 모두가 각막을 침투하고 방수 챔버로 들어간다는 것이 판명되었다. 두 화합물 모두의 최고 농도는 30분의 시료에 존재하였고, 90분의 시료는 농도가 현저히 감소하였다. 소량 (각 화합물 2 -3 μM)이 또한 혈액 중에서 검출되었다.

실시에 21: 토끼에서 화합물 2와 3의 안방수 농도

표 H : 화합물 2와 3의 투여량: 50 μL의 125 mM 용액, 시간 간격 x 6 (N=2 눈/시점)

템폴-H의 농도, μM			
	30 분	90 분	혈액
화합물 3	31.4	11.6	2.3
	22.2	9.0	2.5
평균	26.8	10.8	2.4
μg/ml	(4.6)	(1.9)	(0.4)
화합물 2	52.4	6.0	3.6
	35.2	5.7	0.6
평균	43.8	5.9	2.1
μg/ml	(7.5)	(1.0)	(0.4)

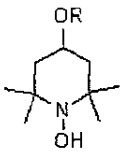
실시에 22: 수용해도 데이터

표 III: 실시예 6의 화합물의 용해도를 다양한 계 중에서 실온에서 측정하였다.

조건	용해도 (mg/ml)	용해도 (% w/v)
물	74.9	7.5
0.9% 염화나트륨	40.5	4.1
0.01M 아세테이트 완충제 (pH 4.8)	68.6	6.9
0.01M 시트레이트 완충제 (pH 4.8)	71.1	7.1
물 + 1% w/v 글리세린	62.2	6.2
물 + 1% w/v 프로필렌 글리콜	63.8	6.4

유사하게도, 실시예 10과 16의 화합물의 수중 용해도는 수 중에서 > 3.5% w/v (> 35 mg/ml)인 것으로 측정되었고, 한편, 실시예 12의 화합물은 수중 대략 0.1% w/v에서 가용적이다.

표 IV: 에스테르 화합물의 분배 계수



실시예	R	계산한 PC
23	H	0.8
24		7.2
25		16.2
26		50.1
27		53.7
28		125.9
29		91.2
30		6.3
31		114.8
32		34.7

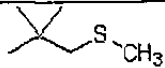
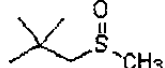

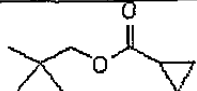

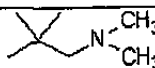

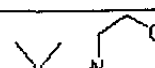
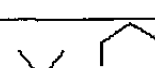
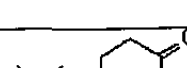

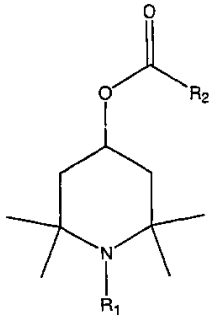
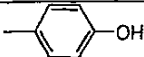
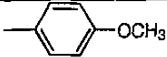
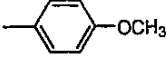
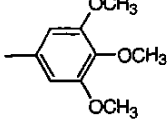
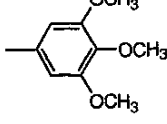
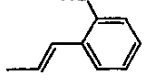
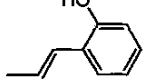
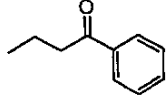
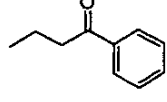


실시예	R	계산한 PC
33		199.5
34		4.3
35		8.1
36		144.5
37		10
38		51.3
39		575.4
40		34.7
41		69.4
42		67.6
43		39.8

표 V: 에스테르 화합물의 용점



실시예	R1	R2	M.P. (°C)
44	O		97.2-98.2
44	OH(HCl 염)		224-228°C (dec.)
45	OH(HCl 염)		224-227°C (dec.)
46	O		103.9-105.2
47	OH(HCl 염)		209.4-210.1
48	O		150-152.3
49	OH(HCl 염)		250.6-253.2
50	O		64.8-66.1
51	OH(HCl 염)		229.0-230.9
52	O		107-109.3

실시예	R1	R2	M.P. (°C)
53	OH (HCl 염)		220.0-223.0
54	O		111.1-112.3
55	OH (HCl 염)		228.0-231.2
56	O		121.2-122.9
57	OH (HCl 염)		241.8-244.6
58	O		145.2-146.4
59	OH (HCl 염)		237.8-269.1
60	O		132-133.0
61	OH (HCl 염)		267.9-270
62	O		68.3-69.9
63	OH (HCl 염)		264.8-266.3

에스테르 화합물의 스펙트럼 데이터 ¹H-NMR (270 MHz, DMSO-d₆) ppm : 모든 4-치환된-1-히드록시-2,2,6,6-테트라메틸피페리딘 히드록로라이드 부분에 공통적인 스펙트럼 데이터 1.35 (6H, s); 1.46 (6H, s); 2.13 (2H, t); 2.44 (2H, d), 5.14 (1H, m)

실시예	IR CKBr) cm-1 카르보닐	¹ H-NMR (270 MHz, DMSO-d ₆) ppm: 에스테르 부분에 대해
57	1716	3.75 (s, 9H); 6.95 (s, 2H)
61	1738 1687	2.79 (t, 2H); 3.31 (t, 2H); 7.45 (m, 2H); 7.55 (m, 1H); 7.93 (d, 2H)
53	1682	6.87 (d, 2H); 7.83 (d, 2H), 10.3 (br, s, 1H)
51	1718 1755	3.9 (s, 3H), 7.18 (d, 2H), 8.07 (d, 2H)
59	1723	6.54, 7.85 (dd, J=16.0 Hz); 6.84 (m, 1H); 7.24 (m, 1H); 7.54 (d, 1H); 7.86 (d, 1H); 10/2 (br, s, 1H)
61	1718	1.96 (m, 2H); 2.30 (m, 4H); 2.78 (m, 2H)
49	1688	2.88 (s, 6H); 6.65 (d, 2H); 7.73 (d, 2H)
53	1682	3.70 (s, 3H); 7.20 (d, 2H); 7.72 (d, 2H)

하기의 표 VI 내지 XII는 본 발명의 에스테르 화합물의 추가 실시예의 합성에 사용되는 방법을 기재한다. 표에 열거된 적당한 카르복실산은 실시예 5c의 DCC/DMAP 에스테르화 방법에 의해 에스테르 니트록시드로 전환된다. 에스테르 니트록시드는 실시예 6 및 7에 기재된 방법에 의해 대응하는 1-히드록시피페리딘으로 전환된다.

3-아실옥시-2,2-디메틸프로피온산을 3-아세톡시-2,2-디메틸프로피온산의 합성에 대해 미국 특허 제 4,851,436 호 (그의 내용이 본원에 참조로서 포함되어 있음)에 기재된 방법에 의해 제조하였다.

표 VI: DCC/DMAP 에스테르화 방법에서 시클로프로판카르복실산을 하기의 화합물로 대체함

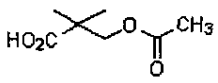
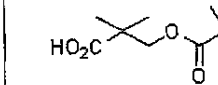
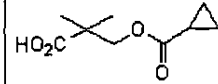
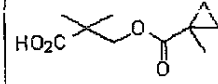
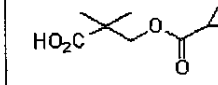
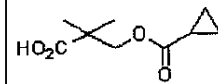
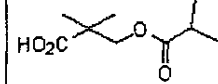
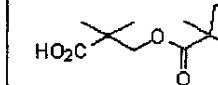
실시예	출발 물질 (구조)	화학명
		3-아세톡시-2,2-디메틸프로피온산
		3-피발로옥시-2,2-디메틸프로피온산
		3-시클로프로판카르보닐옥시-2,2-디메틸프로피온산
		3-(1-메틸-시클로프로판카르보닐옥시)-2,2-디메틸프로피온산
		3-(2-메틸-시클로프로판카르보닐옥시)-2,2-디메틸프로피온산
		3-(2,2-디메틸-시클로프로판카르보닐옥시)-2,2-디메틸프로피온산
		3-(3-테트라히드로푸란카르보닐옥시)-2,2-디메틸프로피온산
64		3-(1-메틸-3-테트라히드로푸란카르보닐옥시)-2,2-디메틸프로피온산

표 VII

3-알콕시-2,2-디메틸프로피온산 및 3-알콕시알킬-2,2-디메틸프로피온산을 [J. Org. Chem. 38, 2349 (1975)]에 기재된 방법에 의해 제조하였다.

DCC/DMAP 에스테르화 방법 (실시예 5c)에서 시클로프로판카르복실산을 하기의 화합물로 대체함:

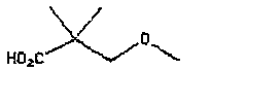
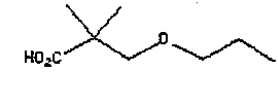
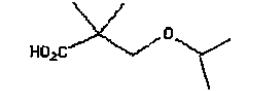
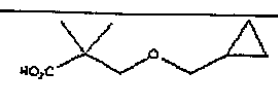
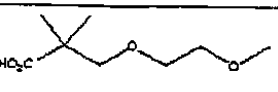
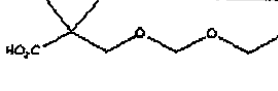
출발 물질 (구조)	화학명
	3-메톡시-2,2-디메틸프로피온산
	3-프로폭시-2,2-디메틸프로피온산
	3-이소프로폭시-2,2-디메틸프로피온산
	3-시클로프로필메톡시- 2,2-디메틸프로피온산
	3-(2-메톡시-에톡시)- 2,2-디메틸프로피온산
	3-에톡시메톡시-2,2-디메틸프로피온 산

표 VIII

3-N-치환된-2,2-디메틸프로피온산을 미국 특허 제 5,475,013 호(Talley 등) (그의 내용이 본원에 참조로서 포함되어 있음)에 기재된 방법에 의해 제조하였다. DCC/DMAP 에스테르화 방법 (실시예 5c)에서 시클로프로판카르복실산을 하기의 화합물로 대체함 :

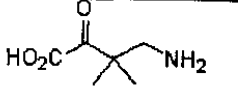
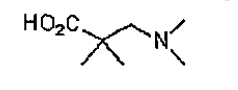
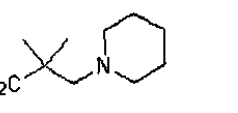
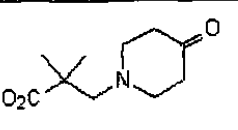
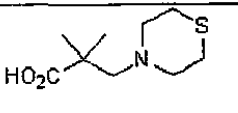
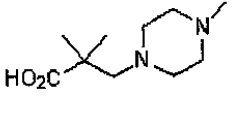
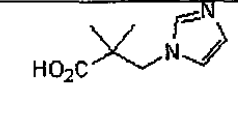
출발 물질 (구조)	화학명
	3-아미노-2,2-디메틸프로피온산
	3-디메틸아미노-2,2-디메틸프로피온산
	2,2-디메틸-3-피페리딘-1-일-프로피온산
	2,2-디메틸-3-(4-옥소-피페리딘-1-일)-프로피온산
	2,2-디메틸-3-티오모르폴린-4-일-프로피온산
	2,2-디메틸-3-(4-메틸-1-피페라진-1-일)-프로피온산
	3-이미다졸-1-일-2,2-디메틸-프로피온산

표 IX

3-S-치환된-2,2-디메틸프로피온산을 미국 특허 제 5,475,013 호에 기재된 방법에 의해 제조하였다. DCC/DMAP 에스테르화 방법 (실시예 5c)에서 시클로프로판카르복실산을 하기의 화합물로 대체함 :

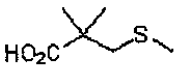
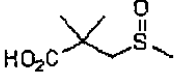
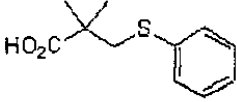
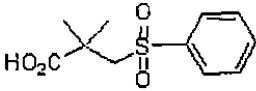
출발 물질 (구조)	화학명
	2,2-디메틸-3-메틸술폰프로피온산
	3-메틸술폰피닐-2,2-디메틸프로피온산
	2,2-디메틸-3-페닐술폰프로피온산
	3-벤젠술폰닐-2,2-디메틸프로피온산

표 X

3-치환된-2,2-디메틸프로피온산을 미국 특허 제 5,475,013 호에 기재된 방법에 의해 제조하였다. DCC/DMAP 에스테르화 방법 (실시예 5c)에서 시클로프로판카르복실산을 하기의 화합물로 대체함 :


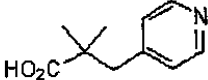
출발 물질 (구조)	화학명
	2,2-디메틸-3-페닐프로피온산
	2,2-디메틸-3-피리딘-4-일-프로피온산

표 XI

다양한 NSAID (카르복실산기를 포함하는 비스테로이드성 항염증 약물)은 시판되고 있다. DCC/DMAP 에스테르화 방법에서 시클로프로판카르복실산을 하기의 화합물로 대체함:

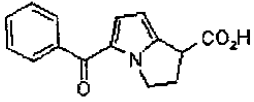
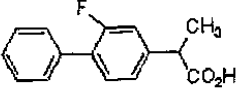
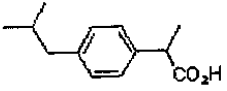
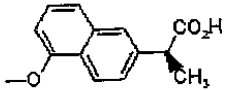
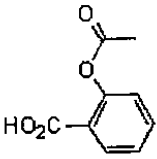
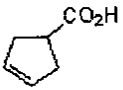
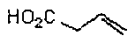
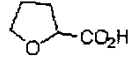
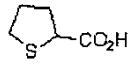
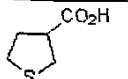
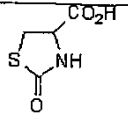
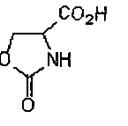
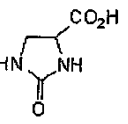
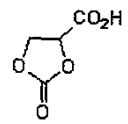
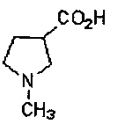
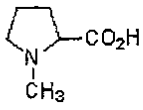
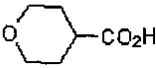
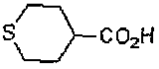
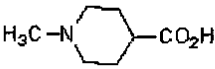
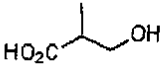
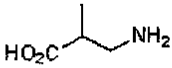
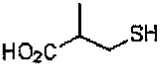
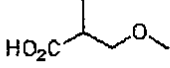
출발 물질 (구조)	화학명
	케토롤락(Ketorolac) 또는 5-벤조일-2,3-디히드로-1H-피롤리진-1-카르복실산
	플루르비프로펜(Flurbiprofen) 또는 2-(2-플루오로-비페닐-4-일)프로피온산
	이부프로펜(Ibuprofen) 또는 2-(4-이소부틸-페닐)프로피온산
	나프록센(Naproxen) 또는 2-(5-메톡시-나프탈렌-2-일)프로피온산
	아스피린

표 XII

다양한 카르복실산이 시판되고 있다. DCC/DMAP 에스테르화 방법에서 시클로프로판카르복실산을 하기의 화합물로 대체함:

출발 물질 (구조)	화학명
	시클로펜트-3-엔카르복실산

출발 물질 (구조)	화학명
	부트-3-에노산
	테트라히드로-푸란-2-카르복실산
	테트라히드로-티오펜-2-카르복실산
	테트라히드로-티오펜-3-카르복실산
	2-옥소-티아졸리딘-4-카르복실산
	2-옥소-옥사졸리딘-4-카르복실산
	2-옥소-이미다졸리딘-4-카르복실산
	2-옥소-[1,3]디옥솔란-4-카르복실산
	1-메틸-피롤리딘-3-카르복실산

출발 물질 (구조)	화학명
	1-메틸-피롤리딘-1-카르복실산
	테트라히드로-피란-4-카르복실산
	테트라히드로-티오피란-4-카르복실산
	1-메틸-피페리딘-4-카르복실산
	3-히드록시-2-메틸프로피온산
	3-아미노-2-메틸프로피온산
	3-메르캅토-2-메틸프로피온산
	3-메톡시-2-메틸프로피오네이트(합성: U.S. 특허 제 4,617,154 호, 그의 내용은 본원에 참조하여 포함되어 있음)

실시에 65: 토끼에게 화합물 1 을 단일 국소 투여한 후, 약동학, 안구 조직 분포, 및 전체 방사능의 소변 분비

토끼에게 화합물 1의 삼중수소 히드록로라이드를 단일 국소 투여한 후, 약동학, 안구 조직 분포, 및 전체 방사능의 소변 분비를 평가하였다. 3-6월령이고, 체중이 2.1 내지 30 kg인 18마리의 수컷 뉴질랜드산 백 토끼 (Harlan)를 사용하였다.

실험 설계: [³H] 화합물 1- HCl을 양쪽 눈에 단일 국소 적용하여 투여한 1군의 토끼에서의 무작위적 단일 처리 연구가 본 실험 설계였다. 상기 군은 3마리 동물의 6개 하위군으로 이루어져있다. 투여후 6번의 특정 시간 (0.5, 1, 2, 4, 8 및 24 시간)후, 하위군 당 3마리 동물을 안락사시키고, 최종 시료를 수집하였다. 24 시간의 투여후 하위군에 대한 동물을 대사 우리에 넣고, 투여후 0 - 12 및 12- 24 시간에 소변을 수집하였다. 심장 천공 기법에 의해 최종 혈액을 수집하였다. 각 눈으로부터 다음의 안구 조직을 수취하였다: 안방수; 유리체 액; 렌즈; 및 각막. 전체 방사능을 모든 시료에서 측정하였다.

상기 설계 및 투약량을 하기 표에 나타낸다.

군	수/성별	눈당 투여 부피 (ml)	투여 수준		투여 농도	
			(mg/kg)	(μ Ci/kg)	(mg/ml)	(mCi/ml)
1	18/M	0.04	~0.8 내지 1.2	~34 내지 49	30	1.275

동물의 각 눈에 단일 국소 안구 투여를 하였다 (오른쪽 (OD) 먼저, 다음으로 왼쪽 (OS)). 아래 눈꺼풀을 눈으로부터 약간 떼어놓으면서, 투여물을 각막에 정확히 피펫팅하여, 아래 결막낭에 모아지도록 하였다. 약물 점적 후에 1 분 동안 눈꺼풀이 온화하게 닫혀있도록 한 후, 조심스럽게 열었다.

데이터 분석 및 통계적 평가 : Beckman LS6000 계수기를 사용하여 모든 분석 시료에 대한 분당 계수를 분당 붕괴수(DPM)로 전환시켰다.

적당히 배경을 뺀 후, DPM 값을 농도로 전환하였다 (ml 또는 g 당 DPM). ml 또는 g 당 평균 DPM을 계산하였다. ³H 방사능의 평균 농도 값을 계산하고, 산화에 의해 결정되는 바로서, 투여 시험품 제형물의 명목상(nominal) 농도 및 측정된 비활성(specific activity)에 기초하여 ml 또는 g 당 등가량으로 전환하였다. 혈액 및 혈장 중 전체 방사능 농도, 안구 조직 및 소변 시료 중 양 (투여량의 %) 및 농도를 측정하였다. 혈액, 혈장 및 조직 반감기를 포함하는 제거 속도(Elimination kinetic)를 계산하였다. 소변 분비 데이터도 표로 만들었다. 통계적 평가는 설명적 통계적 분석으로 이루어진다. 방사능의 약동학은 시료 분석 결과의 적합성이 있는 모델 독립적 분석에 의해 평가되었다. 끝수를 버리지 않은(non-truncated) 수치를 계산에서 사용하였다.

대표적 결과 : 화합물 1의 3% 용액 한방울 (40 µL)는 각막, 방수, 렌즈, 유리체, 혈액 및 혈장 각각에서, 투여후 30 분에 하기의 피이크 조직 농도를 나타냈다 (나노그램 등가물/g):

각막	방수	렌즈	유리체	혈액	혈장
13090	5930	310	150	240	360

표 2에서 알 수 있는 바와 같이, 방사능은 투여후 24시간에 모든 조직에서 여전히 측정가능하였다. 화합물 1의 3% 용액을 1주 동안 1일 4회 토끼에게 투여하면 독성을 야기하지 않는다는 것이 이미 성립되었다.

실시에 66: 토끼 모델에서 광화학적 망막 상해에 대한 화합물 1 또는 템폴-H 처리의 효과

열적 손상이 발생할 수 있는 수준보다 충분히 낮은 수준으로 망막 상해를 발생시키는 빛의 능력을 광화학적 망막 상해로 칭한다. 광화학적 망막 상해의 작용 메커니즘은 빛에서 유래한 자유 라디칼 생성으로 여겨진다. 광화학적 망막 상해를 발생시키는 임상 안과학에서의 일반적으로 사용되는 광원의 성능은 잘 인지되어 있다. 안과 수술에 사용되는 수술 현미경은 망막의 광화학적 상해를 생성하는 성능을 갖고 있는 것으로 보여진다. 이러한 관찰은 광화학적 망막 상해를 차단하는 다양한 작용제의 성능을 시험하기 위한 토끼 눈에서의 모델을 생성하는데 이용된다. 안과범주상으로 가시적 망막 병변은 수술 현미경에 2.5 분 만큼 작은 정도의 노출 후에 검출가능한 것으로 결정되었다. 하기에 진술된 프로토콜은 초자체강내 주사를 통한 화합물 1 또는 템폴-H가 수술 현미경에 의해 생성된 안과범주상으로 가시적인 망막 병변의 진행을 차단하는 성능을 가지고 있는지 여부를 결정하는데 이용되었다.

물질 및 방법: 치료 1주 전에, 기준 안저 촬영 및 FA가 각각의 동물에서 수행된다. 수술 현미경의 빛으로 노출되기에 하루 전에, 각 동물의 한쪽 눈은 대조군으로서 BBS(등록상표) 0.1 cc의 초자체강내 주사를 받고 다른 쪽 눈은 BBS(등록상표) 비히를 중에 화합물 1 또는 템폴-H 0.1 cc를 받는다. 동물은 케타민 히드로클로라이드 100 mg/ml 및 실라진(Xylazine) 20 mg/ml의 혼합물 60%-40%의 IM 주사로 마취된다. 검경(speculum)이 주사를 받는 눈으로 삽입되며, 주사는 중앙 유리체 강의 끝에 위치하면서, 가장자리 바로 아래의 공막을 거쳐 통과하여 렌즈를 제거하도록 기울여진 30 g 바늘을 사용하여 수행된다. 주사 후에, 안내 압력은 핸드-헬드(hand-held) 압평안압계를 사용하여 모니터링된다. 필요한 경우, 동물들을 우리에게 다시 넣기에 앞서, 안내 압력을 정상 수준으로 되돌리기 위해 천자가 수행된다. 대안적으로는, 화합물 1 또는 템폴-H를 국소 점안제를 복수회 점적함으로써 토끼 눈에 투여한 후, 상기 절차를 수행할 수 있다.

20 마리의 착색된 토끼의 40 개의 눈을 한시간 이하의 다양한 시간동안 제이스(Zeiss) 모델 OpMi 1 수술 현미경의 빛에 노출시킨다. 케타민 히드로클로라이드 100 mg/ml 및 실라진 20 mg/ml의 혼합물 60%-40%의 IM 주사에 의해 토끼를 마취시킨다. 이어서 토끼를 테이블 위에 놓고; 개검기(lid speculum)을 눈에 삽입하여 노출시킨다. 동공은 트로픽아미드 HCL 1 %를 사용하여 팽창시키고, 각막은 BSS(등록상표)를 사용하여 자극한다. 현미경의 빛은, 빛이 눈의 중심에 위치하고 평행하도록 하는 방식으로, 동물로부터 20 cm 거리에 위치시킨다. 빛 필라멘트는 첨예한 초점으로 각막에 중심 위치한다. 노출 48 시간 후에, 동물을 검사하고 반복 안저 촬영 및 FA를 수행한다. 동물은 규정 기법을 사용하여 죽이고 선택된 눈은 수취되고 추가 분석을 위해 냉각된 글루타알데히드 용액에 보관한다.

실시에 67 : 유리체내 주사후, 토끼 망막 조직 중으로 템폴-H 혼입의 평가

AMD 및 다른 망막 장애를 예방함에 있어서, 화합물 1 또는 템폴-H의 효능을 평가하기 위하여, 약물이 망막 조직 중으로 혼입된다는 것을 결정해야 한다. 본 실시예에서 설명하는 프로토콜은 토끼에게 유리체내 주사 이후에 화합물 1 또는 템폴

-H 혼입의 양 및 지속기간을 확립하는 신틸레이션(scintillation) 기술을 이용한다. 뉴질랜드산 백토끼는 토끼의 큰 눈이 치료 투여에 대한 적합한 주형(template)를 제공하기 때문에 유리체내 주사를 수반하는 실험에서 잘 특징지어진다 (Hosseini et al., 2003, Lasers Surg. Med. 32 : 265-270). 또한, 상기 뉴질랜드산 백토끼는 신틸레이션 기법을 사용하여 망막 조직 중으로의 약물 흡수를 분석하는 실험에서 광범위하게 사용되어 왔다 (Ahmed et al., 1987, J. Pharm. Sci. 76: 583-586).

물질 및 방법: 2.5 내지 3 킬로그램 체중, 모두 수컷인 24 마리의 뉴질랜드산 백토끼가 이 프로토콜에서 사용된다. 상기 토끼는 2 개의 치료 수단(arm)중 하나에 무작위로 선택된다. 먼저, 모든 눈에 자극 및 감염이 없다는 것을 확인하기 위해서 토끼를 기준 안구 검사한다. 무작위 선택 및 기준 검사 후에, 케타민 100 mg/ml / 실라진 20 mg/ml의 피하 주사에 의해 토끼를 마취한다. 시판되는 0.5% 프로파라카인 히드로클로라이드의 한 방울을 양쪽 눈에 적용한다. 이어서, 래빗은 하기에 보여지는 불명의 무작위 선택된 계획에 따라서 유리체내 주사에 의해 양방향으로 치료된다.

불명의 치료 수단:

1. 표지화된 화합물 1 또는 템플-H로 양방향 유리체내 주사. (N=12)
2. 위약으로 양방향 유리체내 주입. (N=12)

각각 1, 7, 14 및 28일에, 각각의 치료 수단으로부터 3 마리씩 6 마리의 토끼를 치사량의 펜토바르비탈 나트륨을 사용하여 희생시킨다. 희생 직후에, 양쪽의 적출이 수행되고 망막 조직은 신틸레이션 분석을 위해 제거된다(망막 조직은 유체 손실을 예방하기 위해서 적출 후에 냉동될 수 있다). 망막 조직을 분쇄하여 슬러리로 만들고, 알칼리 또는 4급암모늄 화합물에 용해시킨다. 신틸레이션 판독은 망막 조직에 존재하는 화합물 1 또는 템플-H의 양을 정량하기 위해 행해진다.

통계적 분석을 위해서, 시험품이 투약된 모든 토끼로부터의 데이터가 평가가능한 것으로 고려된다. 제1 및 제2 효능 변수는 통계적 유의성에 대한 것이다. 양측 비모수 통계 테스트(Two-sided nonparametric statistical test)가 사용되고, $p < 0.05$ 는 통계적으로 유의한 것으로 사료된다.

실시에 68: 망막 색소 상피 (RPE)에서 광산화성 과정에 대한 보호에 있어서, 템플-H의 효능

배경 : 위축성 노인 황반 변성(AMD)의 원인이 충분히 이해되지 않고 있지만, 망막 색소 상피 세포의 죽음, 광수용체 세포의 변성 및 그 후에 일어나는 시력의 결과적인 상실과 함께 AMD가 시작한다고 통상 받아들여진다. RPE에서 축적되는 리포푸신을 이러한 세포의 죽음과 연관시키는 증거가 있다. 예를 들면, 황반의 기초가 되는 RPE 세포에서 리포푸신이 최고 수준인 것뿐만이 아니라, 안저 자가형광의 검출에 의해 모니터링되는 RPE 리포푸신도 또한 RPE 위축 영역이 이미 증가한 형광 부위에서 진행한다는 것을 보여주고 있다.

RPE 리포푸신 및 RPE 세포 죽음 사이의 연관성을 검사하는 것과 관련된 연구는 RPE 리포푸신의 주된 구성물인 비스레티노이드 형광물질 A2E가 세포막을 교란시킬 수 있고 블루 라이트 손상을 RPE에 매개할 수 있다는 것을 보인다. A2E의 광여기(photoexcitation)는 단일 산소의 발생, 및 A2E의 레티노이드 유도된 측면부를 따라 카본-카본 이중 결합에 단일 산소의 첨가를 야기하여 에폭시드가 형성되게 한다. 이러한 방식으로, A2E는 그 수가 변하는 에폭시드를 갖는 화합물(A2E-에폭시드)의 혼합물로 전환된다. 이 고도 반응성 에폭시드가 세포를 손상시키는 것으로 보인다. 궁극적으로, RPE 세포 중에 있는 A2E를 광조사함에 의해 유발된 광화학적 사건은, 세포 기질을 분할하는 시스테인 의존성 프로테아제(카스파제)의 관여를 포함하며 미토콘드리아 단백질 bcl-2에 의해 조절되는 경로에 의해 세포의 죽음을 일으킨다.

A2E 매개된 블루 라이트 손상으로부터 보호하는 템플-H의 능력을 검사하였다.

물질 및 방법: 배양 중에 A2E를 축적하는 ARPE-19 세포를 할로겐 광원으로 부터 전달된 빛 430 +/-20 nm에 노출시켰다. 이 빛의 파장은 (i) A2E의 최대 여기가 대략 430 nm이며, (ii) 이 파장의 빛은 400 nm 보다 긴 파장의 빛이 각막 및 렌즈에 의해 흡수되지 않으면서 생체 내에서 RPE에 도달하기 때문에 상대적이다. 블루 라이트 조사된 A2E-적재 RPE에서의 세포 죽음은 템플-H로 예비 처리(24 시간)한 것과 예비 처리하지 않은 것으로 비교한다. 세포 생존 능력 손실은 다음에 의해 정량화된다:

1. 황색 테트라졸늄 염 MTT를 퍼플 포르마잔(purple formazan) 결정으로 분할하는 대사적으로 건강한 활성 세포의 능력에 기준한 열량분석 마이크로티터(microtiter) 분석. 세포 생존 능력은 블루 라이트 광조사 24 시간 후에 분석하였다. 3 개의 웰이 2 개 실험 각각에서 분석된다.

2. 모든 세포의 핵이 DAPI를 사용하여 청색 염색된 한편, 모든 사(dead) 세포의 핵은 막-불투과성 염료(데드 레드(Dead Red) 핵산 염색, Molecular Probes)에 의한 염색으로 인해 적색으로 나타나는, 2색 형광 분석. 세포 생존 능력은 블루 라이트 광조사 8시간 후에 분석되었다. 복제본은 각각의 웰 중에서 광조사된 영역 내의 5 개의 현미경 영역 내의 세포를 계수함으로써 분석되고 실험당 3 개의 웰이 분석된다. 데이터는 3 개 실험의 데이터를 기초로 한다.

결과 : 도 3 및 도 4에 나타나 있는 바와 같이, 템폴-H는 이 황반 변성 모델 중에서 A2E-적재 RPE의 죽음으로부터 투약 의존성 보호를 가능하게 한다. 이는 템폴-H 뿐만 아니라 화합물 1로부터 예상되는 것이 화합물 I의 활성 대사산물이라는 것을 나타낸다.

본 발명은 현 바람직한 구현예를 참조하여 특별히 보여지고 기재되어 있지만, 본 발명은 명세서에 특정하게 개시되고 예시된 구현예에 국한되지 않는다 점을 이해해야 할 것이다. 수많은 변화 및 수정이 본 발명의 바람직한 구현예에 대해 만들어질 수 있으며, 이러한 변화 및 수정은 첨부된 청구항에 진술된 바와 같은 본 발명의 범주와 사상으로부터 벗어남없이 만들어질 수 있다.

도면의 간단한 설명

도 1은 본 발명의 화합물 1로 또는 템폴-H로 국소 치료되는 토끼 눈에서 템폴-H (1,4-디히드록시-2,2,6,6-테트라메틸 피페리딘)의 안방수 수준을 묘사한다.

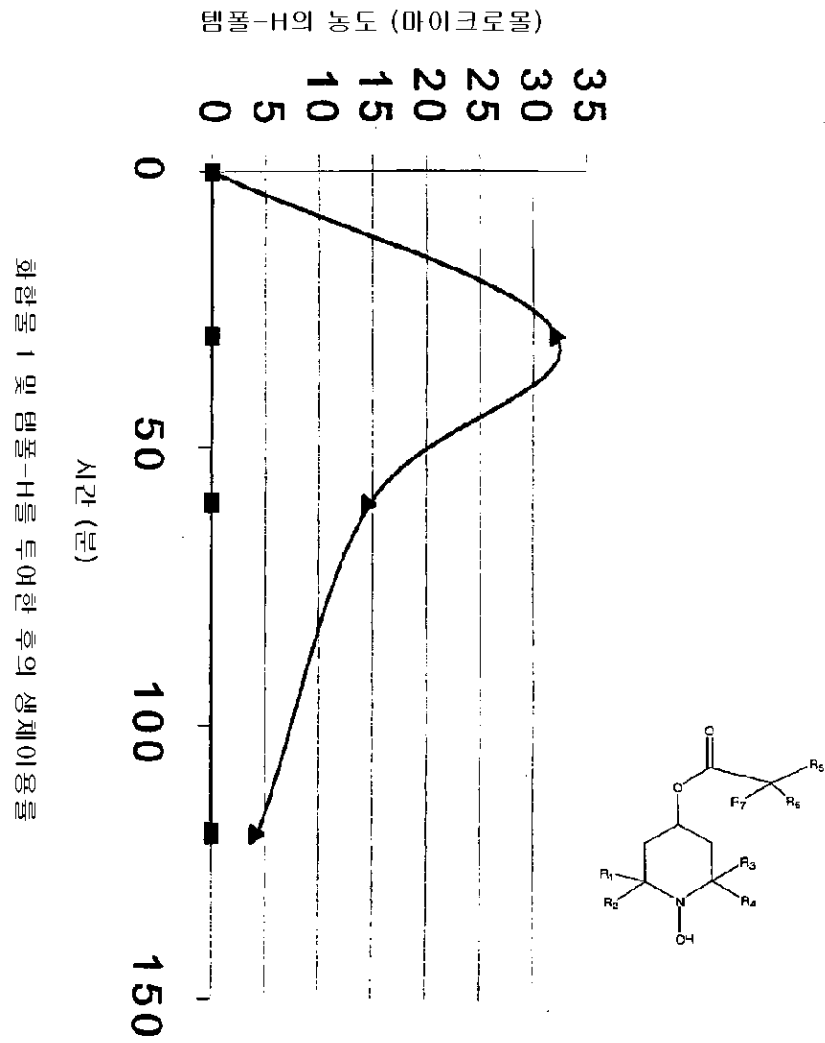
도 2는 선택된 후처리 시점에서, 화합물 1의 국소 투여후, 다양한 토끼 눈 조직에서의 템폴-H 수준을 묘사한다.

도 3은 다양한 농도의 템폴-H가 블루 라이트(blue light) 조명된 A2E-적재(laden) RPE 세포를 보호한다는 것을 보여준다.

도 4는 블루 라이트 조명된 A2E-적재 RPE 세포의 보호에 있어서, 1 mM 템폴-H의 영향을 보여준다.

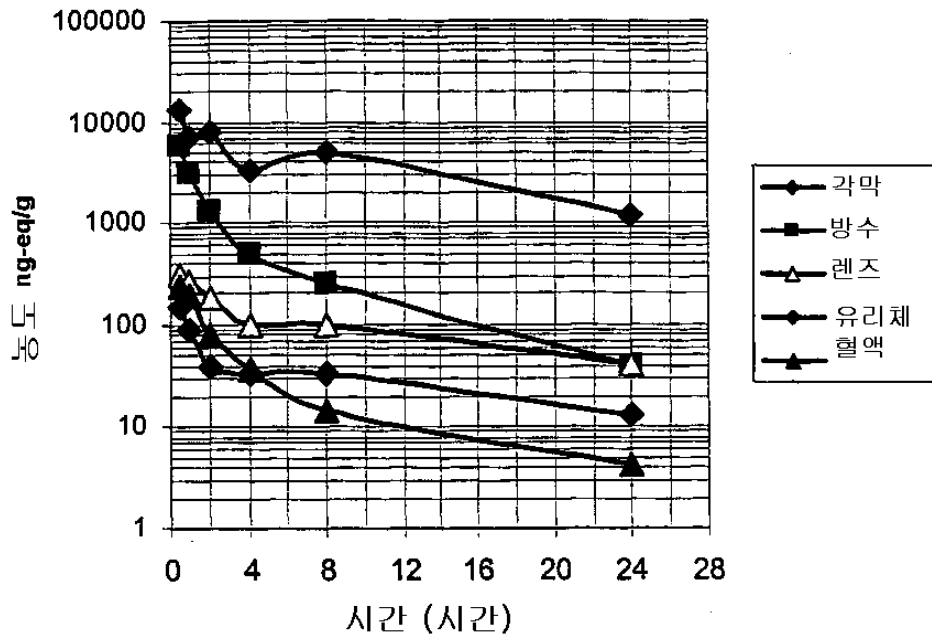
도면

도면1

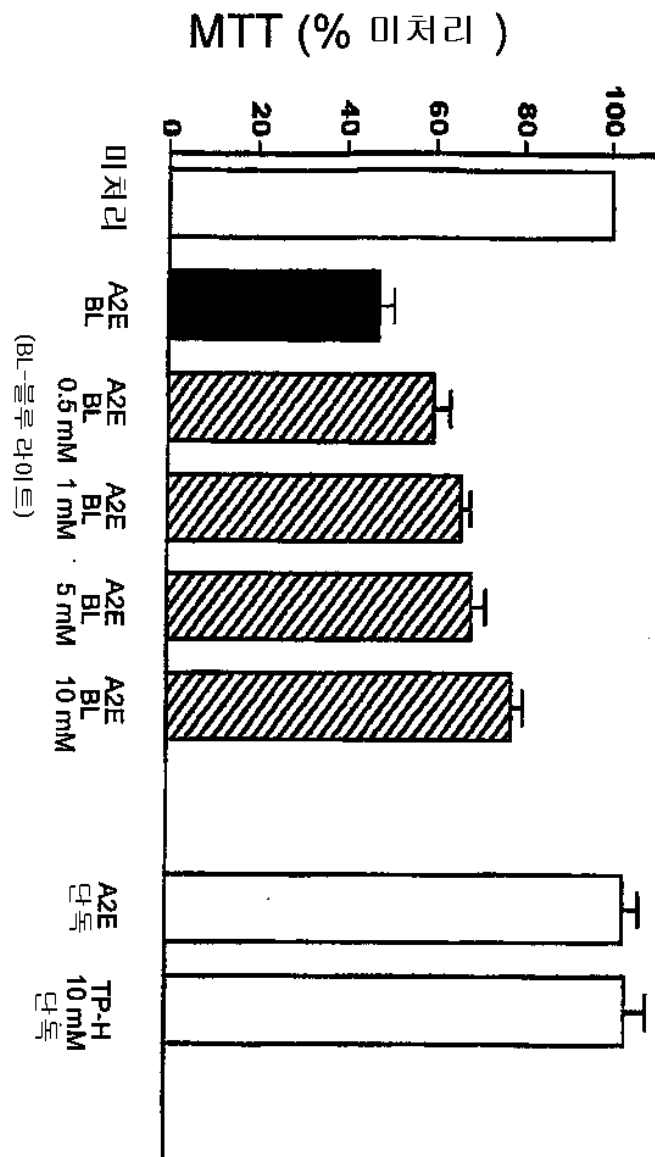


도면2

OT-551 후, 안구 조직에서 TP-H



도면3



도면4

