



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2017년03월09일
(11) 등록번호 10-1714819
(24) 등록일자 2017년03월03일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 307/92 (2006.01) A61K 31/343 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
- (21) 출원번호 10-2012-7027267
(22) 출원일자(국제) 2011년03월21일
심사청구일자 2015년08월13일
- (85) 번역문제출일자 2012년10월18일
(65) 공개번호 10-2013-0056227
(43) 공개일자 2013년05월29일
(86) 국제출원번호 PCT/US2011/029281
(87) 국제공개번호 WO 2011/116398
국제공개일자 2011년09월22일
- (30) 우선권주장
61/315,886 2010년03월19일 미국(US)
(뒷면에 계속)
- (56) 선행기술조사문헌
W02009036099 A1*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌
- (73) 특허권자
보스톤 바이오메디칼, 인크.
미국 02139 매사추세츠주 캠브리지 메모리얼 드라이브 640
- (72) 발명자
리 치앙 지아
미국 02141 매사추세츠주 캠브리지 유닛 1606 뮤지엄 웨이 8
리갯트 데이비드
미국 02186 매사추세츠주 밀톤 링컨 스트리트 5
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
김진희

전체 청구항 수 : 총 34 항

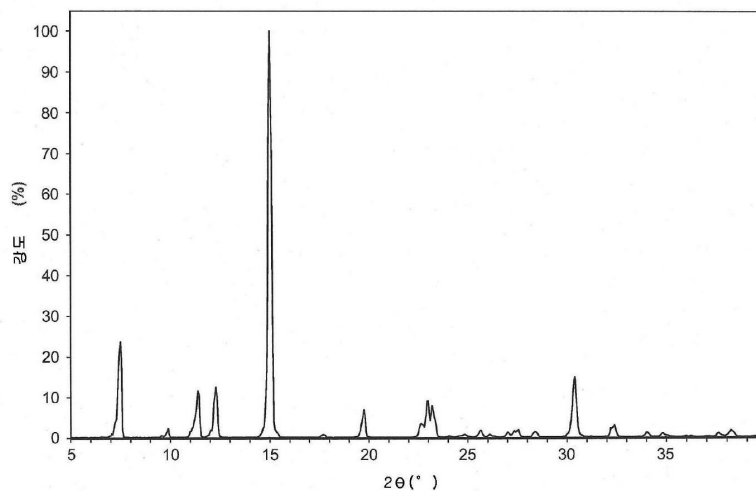
심사관 : 이민정

(54) 발명의 명칭 암 줄기 세포를 표적화하는 신규 화합물 및 조성물

(57) 요약

본 발명은 나프토푸란 화합물, 나프토푸란 화합물의 다형체, 입자 형태의 나프토푸란 화합물, 하나 이상의 나프토푸란 화합물을 함유하는 정제된 조성물, 하나 이상의 입자 형태의 나프토푸란 화합물을 함유하는 정제된 조성물, 상기 나프토푸란 화합물, 다형체, 정제된 조성물 및/또는 입자 형태를 제조하는 방법, 및 상기 나프토푸란 화합물, 다형체, 정제된 조성물 및/또는 입자 형태를 사용하여 치료가 필요한 피험체를 치료하는 방법을 제공한다.

대표도



(72) 발명자

리 유쥘이

미국 02090 매사추세츠주 웨스트우드 우드리지 로드 37

리 웨이

미국 01778 매사추세츠주 웨일랜드 블랙 오크 로드 19

(30) 우선권주장

61/315,890 2010년03월19일 미국(US)

61/325,814 2010년04월19일 미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

삭제

청구항 2

삭제

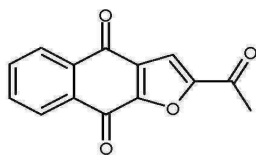
청구항 3

삭제

청구항 4

치료적 유효량의, 적어도 4개의 피크를 포함하는 X선 분말 회절 패턴을 갖는 하기 화합물(1)의 결정형 3을 포함하는, 인간 피험체에서 암을 치료하기 위한 약학 조성물로서, 상기 적어도 4개의 피크 중 3개의 피크는 24.1, 24.6 및 25.0° 2 θ 이고, 상기 적어도 4개의 피크 중 제4 피크는 7.5, 9.9, 11.4, 12.3, 15.0, 23.0, 23.3, 26.1, 27.0 및 28.4° 2 θ 로부터 선택되고,

이 조성물이 상기 결정형 3의 입자를 포함하고, 그 입자 누계(cumulative total of particles)의 적어도 20%는 20 μ m 이하의 직경을 가지는 것인, 인간 피험체에서 암을 치료하기 위한 약학 조성물:



(1)

청구항 5

제4항에 있어서, 그 입자 누계의 적어도 50%는 20 μ m 이하의 직경을 가지는 것인 약학 조성물.

청구항 6

제4항에 있어서, 그 입자 누계의 50%(D₅₀)는 20 μ m 이하의 직경을 갖는 것인 약학 조성물.

청구항 7

제4항에 있어서, 조성물은 95.0% 이상의 순도를 갖는 것인 약학 조성물.

청구항 8

제7항에 있어서, 조성물은 99% 이상의 순도를 갖는 것인 약학 조성물.

청구항 9

제7항에 있어서, 조성물은 각각의 단일 불순물 0.2% 이하를 포함하는 것인 약학 조성물.

청구항 10

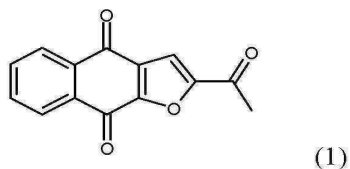
제7항에 있어서, 조성물은 에틸 아세테이트(EtOAc), 톨루엔, 에탄올, 메탄올, 클로로포름, 및 CH₂Cl₂ 또는 헥산을 포함하는 것인 약학 조성물.

청구항 11

삭제

청구항 12

치료적 유효량의, 적어도 4개의 피크를 포함하는 X선 분말 회절 패턴을 갖는 하기 화합물(1)의 결정형 3을 포함하는, 인간 피험체에서 암을 치료하기 위한 약학 조성물로서, 상기 적어도 4개의 피크 중 3개의 피크는 24.1, 24.6 및 25.0° 2 θ 이고, 상기 적어도 4개의 피크 중 제4 피크는 7.5, 9.9, 11.4, 12.3, 15.0, 23.0, 23.3, 26.1, 27.0 및 28.4° 2 θ 로부터 선택되는 것인, 인간 피험체에서 암을 치료하기 위한 약학 조성물:



청구항 13

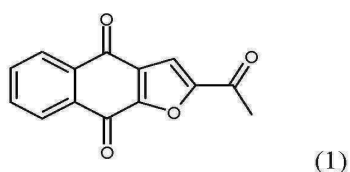
제12항에 있어서, 암은 신장암, 담관암, 자궁내막암, 방광암, 간세포 암종, 결장암, 직장암, 전립샘암, 연골육종, 결장직장 암, 유방암, 난소암, 두경부암, 흑색종, 혈관육종, 위 선암, 췌장암, 위-식도 접합부(GEJ: gastro-esophageal junction) 암, 위암, 식도암, 백혈병, 림프종, 다발성 골수종, 뇌암, 폐암, 간암, 무반응성 암(refractory cancer), 재발성 암, 전이성 암 또는 아드레노코르티코이드 암인 약학 조성물.

청구항 14

제12항에 있어서, 암은 활성화된 STAT3의 과다발현과 관련이 있는 것인 약학 조성물.

청구항 15

치료적 유효량의, 적어도 4개의 피크를 포함하는 X선 분말 회절 패턴을 갖는 하기 화합물(1)의 결정형 3을 포함하는, 암 환자에서 무진행 생존 기간(PFS: progression free survival)을 연장시키기 위한 약학 조성물로서, 상기 적어도 4개의 피크 중 3개의 피크는 24.1, 24.6 및 25.0° 2 θ 이고, 상기 적어도 4개의 피크 중 제4 피크는 7.5, 9.9, 11.4, 12.3, 15.0, 23.0, 23.3, 26.1, 27.0 및 28.4° 2 θ 로부터 선택되는 것인, 암 환자에서 무진행 생존 기간(PFS: progression free survival)을 연장시키기 위한 약학 조성물:



청구항 16

제15항에 있어서, 암은 신장암, 담관암, 자궁내막암, 방광암, 간세포 암종, 결장암, 직장암, 전립샘암, 연골육종, 결장직장 암, 유방암, 난소암, 두경부암, 흑색종, 혈관육종, 위 선암, 췌장암, 위-식도 접합부(GEJ: gastro-esophageal junction) 암, 위암, 식도암, 백혈병, 림프종, 다발성 골수종, 뇌암, 폐암, 간암, 무반응성 암(refractory cancer), 재발성 암, 전이성 암 또는 아드레노코르티코이드 암인 약학 조성물.

청구항 17

제15항에 있어서, 암은 활성화된 STAT3의 과다발현과 관련이 있는 것인 약학 조성물.

청구항 18

제15항에 있어서, XRPD는 7.5, 9.9, 11.4, 12.3, 15.0, 23.0, 23.3, 24.1, 24.6, 25.0, 26.1, 27.0 및 28.4° 2 θ 로부터 선택된 적어도 5개의 피크를 포함하고, 상기 적어도 5개의 피크 중 3개의 피크는 24.1, 24.6 및 25.0° 2 θ 인 약학 조성물.

청구항 19

제4항에 있어서, 그 입자 무게의 적어도 90%는 20 μm 이하의 직경을 가지는 것인 약학 조성물.

청구항 20

제12항에 있어서, 암은 결장직장 암인 약학 조성물.

청구항 21

제12항에 있어서, 암은 위암인 약학 조성물.

청구항 22

제12항에 있어서, 암은 췌장암인 약학 조성물.

청구항 23

제12항에 있어서, 암은 난소암인 약학 조성물.

청구항 24

제12항에 있어서, 암은 유방암인 약학 조성물.

청구항 25

제12항에 있어서, 암은 폐암인 약학 조성물.

청구항 26

제12항에 있어서, 암은 흑색종인 약학 조성물.

청구항 27

삭제

청구항 28

제15항에 있어서, 화합물(1)의 결정형 3은 밀링되거나, 분쇄되거나, 또는 이들의 조합인 약학 조성물.

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

제15항에 있어서, 암은 결장직장 암인 약학 조성물.

청구항 33

제15항에 있어서, 암은 위암인 약학 조성물.

청구항 34

제15항에 있어서, 암은 위-식도 접합부(GEJ) 암인 약학 조성물.

청구항 35

제15항에 있어서, 암은 폐암인 약학 조성물.

청구항 36

제15항에 있어서, 암은 난소암인 약학 조성물.

청구항 37

제15항에 있어서, 암은 유방암인 약학 조성물.

청구항 38

제15항에 있어서, 암은 흑색종인 약학 조성물.

청구항 39

제15항에 있어서, 암은 식도암인 약학 조성물.

청구항 40

제15항에 있어서, 암은 췌장암인 약학 조성물.

청구항 41

제15항에 있어서, 암은 간암인 약학 조성물.

청구항 42

제15항에 있어서, 암은 백혈병, 림프종 또는 다발성 골수종인 약학 조성물.

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

발명의 설명

기술분야

관련 출원

본 출원은 2010년 3월 19일에 출원된 미국 가출원 제61/315,886호, 2010년 3월 19일에 출원된 미국 가출원 제 61/315,890호, 및 2010년 4월 19일에 출원된 미국 가출원 제61/325,814호를 우선권 주장한다. 이들 가출원 각각은 그 전문이 본원에 참고로 포함된다.

발명의 분야

본 발명은 나프토푸란 화합물, 나프토푸란 화합물의 다형체, 입자 형태의 나프토푸란 화합물, 하나 이상의 나프토푸란 화합물을 함유하는 정제된 조성물, 입자 형태의 나프토푸란 화합물 하나 이상 함유하는 정제된 조성물, 상기 나프토푸란 화합물, 다형체, 정제된 조성물 및/또는 입자 형태를 제조하는 방법, 및 그를 필요로 하는 피험체를 치료하기 위해 상기 나프토푸란 화합물, 다형체, 정제된 조성물 및/또는 입자 형태를 사용하는 방법을 제공한다.

배경 기술

암 사망자 수는 미국에서만도 매년 수십만명에 달한다. 수술, 방사선요법, 및 화학요법을 통해 여러 형태의 암 치료법이 진보되었음에도 불구하고, 많은 암 유형들의 치유는 본질적으로 불가능하다. 특정 암에 대해 효과적인 치료법이 이용가능한 경우일지라도, 그러한 치료법의 부작용은 심각할 수 있고, 삶의 질을 현저히 하락시킬 수도 있다.

가장 통상적인 화학요법 제제는 특히 진행성 고형암을 앓는 환자에 대해 독성을 띠고, 제한된 효능을 발휘한다. 화학요법제는 암성 세포 뿐만 아니라, 비암성 세포도 손상시킬 수 있다. 그러한 화합물의 치료 지수(암성 세포와 정상 세포를 구별할 수 있는 요법의 능력에 관한 척도)는 매우 낮을 수 있다. 빈번하게는, 암 세포를 사멸시키는 데 효과적인 화학요법 약물의 용량은 또한 정상 세포도, 특히, 빈번하게 세포 분열하는 정상 세포(예를 들어, 상피 세포)도 사멸시킬 것이다. 정상 세포가 요법에 의해 영향을 받게 되면, 부작용, 예를 들어, 탈모, 조혈 억제, 및 오심이 발생할 수 있다. 환자의 일반적인 건강 상태에 따라, 상기와 같은 부작용으로 인해 화학요법의 실행이 불가능해질 수 있게 되거나, 또는 적어도 환자에게 극도의 불쾌감과 불편함을 줄 수 있으며, 암 환자의 남은 여생 동안의 삶의 질을 심각하게 감소시킬 수 있다. 종양 퇴행을 보이며 화학요법에 대해 반응하는 암 환자인 경우에도 상기와 같은 종양 반응은 무진행 생존 기간의 연장(PFS: progression-free survival)의 연장 또는 전체 생존 기간(OS: overall survival)의 연장을 동반하지 않는다. 사실상, 암은 대개 화학요법에 대해 최초 반응 이후 빠르게 진행될 수 있고, 더 많은 전이를 형성할 수 있다. 그러한 재발성 암은 화학요법제에 대해 고도의 내성을 가지게 되거나, 그에 대해 불응할 수 있다. 화학요법 후, 상기와 같은 빠른 재발 및 불응은 암 줄기 세포에 의해 유발되는 것으로 간주된다.

최근 연구를 통해 자가 재생능이 있고, 근본적으로 전이성 성장, 재발 및 전이의 원인이 되는 것으로 간주되는 암 줄기 세포(CSC: cancer stem cell, 이는 또한 암 개시 세포 또는 암 줄기 유사 세포로도 명명된다)의 존재가 밝혀졌다. CSC는 선천적으로 종래 요법에 대해 내성을 띠는 점이 중요하다. 그러므로, 암 줄기 세포에 대해 활성을 가진 표적화된 제제는 암 환자에 매우 좋은 전망을 보인다(문헌 [J Clin Oncol. 2008 Jun 10;26(17)]). 그러므로, 종래 화학요법은 암 세포 대부분을 사멸시킬 수는 있지만, 암 줄기 세포는 남겨 놓을 수 있다. 암 줄기 세포는 화학요법에 의한 비줄기 일반 암 세포의 감소 이후에 더 빠르게 성장할 수 있고, 이것이 화학요법 이후의 빠른 재발에 대한 기전인 것으로 간주된다.

STAT3은 사이토카인 및/또는 증식, 생존, 및 다른 생물학적 과정을 촉진시키는 성장 인자에 대한 반응으로 활성화되는 온코진이다. STAT3은 성장 인자 수용체 티로신 키나제, 야누스(Janus) 키나제, 또는 Src 패밀리 키나제에 의해 매개되는 중요한 티로신 잔기의 인산화에 의해 활성화된다. 티로신 인산화시, STAT3은 동종이량체를 형성하고, 핵으로 전위시키고, 표적 유전자 프로모터 중 특이적인 DNA 반응 요소에 결합하여 유전자 발현을 유도한다. STAT3은 Bcl-x1, Akt, c-Myc, 사이클린 D1, VEGF, 및 서바이빈을 비롯한, 종양발생, 침습, 및 전이에 관여하는 유전자를 활성화시킨다. STAT3은 모든 주요 암종 뿐만 아니라, 일부 혈액 종양을 비롯한, 각종의 매우 다양한 인간 암에서 비정상적으로 활성을 띤다. 지속적으로 활성을 띠는 STAT3은 유방암 및 폐암, 결장직장암, 난소암, 간세포 암종, 및 다발골수종 등의 과반수 이상에 존재하고; 두부/경부암의 95% 초과에 존재한다. STAT3은 암 세포의 약물 내성의 주된 기전 중 하나인 것으로 간주된다. 그러나, STAT3은 약학 억제제를 발견하는 데에는 어려움이 따르는 표적이라는 것이 입증되었다. 10여년간 산업상의 많은 노력이 있는 후에도 지금까지는

임상적으로 관련된 효능을 가진 STAT3의 직접적인 억제제에 대해서는 어느 것도 확인된 바 없다.

[0009] 따라서, 암 세포를 선택적으로 표적화하는, 암 줄기 세포를 표적화하는, 및 STAT3을 억제시키는 화합물 및 약학 조성물, 및 임상용의 상기 화합물 및 약학 조성물을 제조하는 방법이 요구되고 있다.

[0010] 본원에서 인용된 참고가, 주장하는 본 발명의 선행 기술이라고 승인하는 것은 아니다.

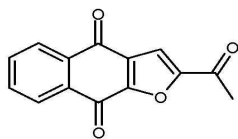
발명의 내용

[0011] 발명의 개요

[0012] 본 발명은 나프토프란 화합물, 나프토프란 화합물의 다형체, 하나 이상의 나프토프란 화합물을 함유하는 정제된 조성물, 및 입자 형태의 나프토프란 화합물을 제공한다. 이러한 나프토프란 화합물(입자 형태의 것 포함), 다형체, 및 정제된 조성물은 암 줄기 세포 및 STAT3에 대한 선택적 억제제이다. WO 2009/036099 및 WO 2009/036101에는 나프토프란 화합물이 암 줄기 세포를 표적화한다고 개시되어 있다. 이는 또한 STAT3을 억제시킴으로써 비암 줄기 암 세포도 억제시킨다. 이러한 화합물은 특정의 노출 조건하에서는 정상 세포에 어떤 손상도 유발하지 않으면서, 많은 다양한 유형의 암 세포를 사멸시킬 수 있다. 그러므로, 화합물은 암 치료에, 특히 무반응성 암, 재발성 암, 전이성 암, 또는 STAT3 발현 암 치료 및 예방에 사용될 수 있다. 상기 공개 공보에는 또한 나프토프란 화합물, 그의 유도체, 및 중간체, 및 관련 화합물의 약학 조성물을 제조하는 방법도 기술되어 있다.

[0013] 본원에 기술된 상기 나프토프란 화합물(입자 형태의 것 포함), 다형체, 및 정제된 조성물은 예를 들어, 세포 증식 장애를 치료, 그의 진행을 지연, 재발을 예방, 또는 그의 증상을 완화시키는 것을 비롯한, 각종 징후에서 유용하다. 예를 들어, 나프토프란 화합물(입자 형태의 것 포함), 다형체, 및 정제된 조성물은 암을 치료, 그의 진행을 지연, 재발을 예방, 그의 증상을 완화시키거나, 다르게는 호전시키는 데 유용하다.

[0014] 일부 실시양태에서, 나프토프란 화합물은 본원에서 "화합물 (1)"로 지칭되는 하기 제시한 화합물의 다형체이다:



(1)

[0015]

[0016] 예를 들어, 일부 실시양태에서, 다형체는 도 1에 도시되는 것과 실질적으로 유사한 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토프란-4,9-디온의 다형체이다. 간격 크기 = 0.03° 및 계수 시간 = 3시간으로 하여 5° 내지 70° 범위에 걸쳐 40 KV/30 mA하에 Cu 방사선을 이용하여 필립스(Philips) PW1800 회절분석기를 사용함으로써 도 1에 제시되는 있는 X선 분말 회절 분석을 수행하였다. 하기 조건을 사용하여 2-45° 2θ에서 분석을 수행하였다: 발산 슬릿: 0.6 mm, 산란방지 슬릿: 0.6 mm, 수광 슬릿: 0.1 mm, 검출기 슬릿: 0.6 mm, 간격 크기: 0.02°, 간격 시간: 5초. 일부 실시양태에서, 다형체는 도 2에 도시되는 것과 실질적으로 유사한 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토프란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 도 3에 도시되는 것과 실질적으로 유사한 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토프란-4,9-디온의 다형체이다. 브루커 D8 어드밴스(Bruker D8 Advance) 회절분석기를 사용함으로써 도 2 및 도 3에 제시되는 있는 X선 분말 회절 분석을 수행하였다. 하기 조건을 사용하여 2-45° 2θ에서 분석을 수행하였다: 발산 슬릿: 0.6 mm, 산란방지 슬릿: 0.6 mm, 수광 슬릿: 0.1 mm, 검출기 슬릿: 0.6 mm, 간격 크기: 0.02°, 간격 시간: 5초.

[0017] 예를 들어, 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 10.2, 11.4, 11.9, 14.1, 14.5, 17.3, 21.0, 22.2, 24.0, 26.0, 및 28.1° 2θ에서의 피크를 하나 이상 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토프란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 10.2, 11.9, 14.1, 14.5, 17.3, 22.2, 및/또는 28.1° 2θ에서의 피크를 하나 이상 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토프란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 10.2° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토프란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 11.9° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토프란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 14.1° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토프란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 14.5° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토프란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 17.3° 2θ에서의

피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 22.2° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 28.1° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 10.2° 2θ에서의 피크, 적어도 약 11.9° 2θ에서의 피크, 적어도 약 14.1° 2θ에서의 피크, 적어도 약 14.5° 2θ에서의 피크, 적어도 약 17.3° 2θ에서의 피크, 적어도 약 22.2° 2θ에서의 피크 및 적어도 약 28.1° 2θ에서의 피크, 및 이들의 임의의 조합으로부터 선택된 2 이상의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다.

[0018]

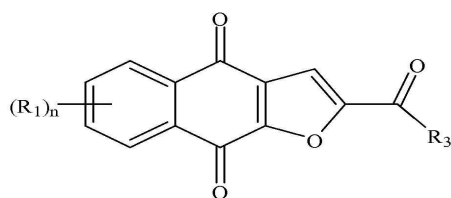
예를 들어, 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 7.5, 9.9, 11.4, 12.3, 15.0, 23.0, 23.3, 24.1, 24.6, 25.0, 26.1, 27.0, 및 28.4° 2θ에서의 피크를 하나 이상 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 7.5, 9.9, 12.3, 15, 23.0, 23.3, 24.6 및/또는 28.4° 2θ에서의 피크를 하나 이상 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 7.5° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 9.9° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 12.3° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 15° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 23° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 23.3° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 24.6° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 28.4° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 7.5° 2θ에서의 피크, 적어도 약 9.9° 2θ에서의 피크, 적어도 약 15° 2θ에서의 피크, 적어도 약 12.3° 2θ에서의 피크, 적어도 약 23.0° 2θ에서의 피크, 적어도 약 23.3° 2θ에서의 피크, 적어도 약 24.6° 2θ에서의 피크 및 적어도 약 28.4° 2θ에서의 피크, 및 이들의 임의의 조합으로부터 선택된 2 이상의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다.

[0019]

본 발명은 또한 입자 형태의 나프토푸란 화합물을 제공한다. 예를 들어, 입자 형태의 나프토푸란 화합물은, 활성을 띠며, 즉, 생체내에서 효능 및/또는 항종양 활성을 가지는, 하기에 제시된 화학식 (I)의 화합물의 입자를 제공한다. 유효 입자 또는 입자들의 입자 크기에 관해 정의된 요건, 예를 들어, 직경이 약 200 μm, 약 150 μm, 약 100 μm, 약 40 μm, 또는 약 20 μm, 약 10 μm, 약 5 μm, 약 4 μm, 약 3 μm, 약 2 μm, 약 1 μm, 약 0.5 μm, 또는 약 0.2 μm 이하여야 한다는 요건을 가진다. 정의된 입자 크기보다 큰 입자 또는 입자들은 불활성이거나, 활성 정도가 더 작다.

[0020]

일부 실시양태에서, 입자 형태의 나프토푸란 화합물은 하기 화학식 (I)에 따른 화합물의 입자, 또는 그의 염 또는 용매화물이다:



화학식 (I)

[0021]

[0022]

여기서, 입자의 직경은 200 μm 이하이고; 상기 식에서, 각각의 (R₁)은 독립적으로 수소, 할로젠, 불소, 시아노, 니트로, CF₃, OCF₃, 알킬, 메틸, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 헤테로사이클, 치환된 헤테로사이클, 아릴, 치환된 아릴, OR_a, SR_a, 및 NH₂로 이루어진 군으로부터 선택되고; 여기서, n은 4이고; 여기서, R₃은 수소, 할로젠,

불소, 시아노, CF_3 , OCF_3 , 알킬, 메틸, 치환된 알킬, 할로젠 치환된 알킬, 히드록실 치환된 알킬, 아민 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 헤테로사이클, 치환된 헤테로사이클, 아릴, 치환된 아릴, OR_a , SR_a , 및 NR_bR_c 로 이루어진 군으로부터 선택되고; 여기서, R_a (들)는 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 헤테로사이클, 치환된 헤테로사이클, 아릴, 및 치환된 아릴로 이루어진 군으로부터 선택되고; 여기서, R_b 및 R_c 는 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클, 치환된 헤테로사이클, 아릴, 및 치환된 아릴로 이루어진 군으로부터 선택되거나, 또는 R_b 및 R_c 는 그들이 결합하는 N과 함께 헤테로사이클 또는 치환된 헤테로사이클을 형성한다.

[0023] 일부 실시양태에서, 각각의 (R_1)은 독립적으로 수소, 메틸, F(불소), Cl, Br, I, OH, 및 NH_2 로 이루어진 군으로부터 선택되고; R_3 은 메틸 및 $C(R_8)_3$ 으로 이루어진 군으로부터 선택되고, 각각의 (R_8)은 독립적으로 수소, 메틸, F(불소), Cl, Br, I, OH, 및 NH_2 로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, (R_1) 및 (R_8) 중 최대 2개는 F(불소)이고, 그 나머지는 수소이다. 일부 실시양태에서, R_3 은 메틸이다. 추가의 실시양태에서, 화합물은 2-(1-히드록시에틸)-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-아세틸-7-클로로-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-아세틸-7-플루오로-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-아세틸나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-에틸-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 호변 이성질체, 및 그의 염 또는 용매화물로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0024] 일부 실시양태에서, 입자 형태의 나프토푸란 화합물은 화합물 (1)의 입자이다.

[0025] 일부 실시양태에서, 입자 형태의 나프토푸란 화합물은 화합물 (1)의 다형체의 입자이다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 다형체는 도 1에 도시되는 것과 실질적으로 유사한 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 도 2에 도시되는 것과 실질적으로 유사한 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 도 3에 도시되는 것과 실질적으로 유사한 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다.

[0026] 예를 들어, 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 10.2, 11.4, 11.9, 14.1, 14.5, 17.3, 21.0, 22.2, 24.0, 26.0, 및 28.1° 2θ 에서의 피크를 하나 이상 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 10.2, 11.9, 14.1, 14.5, 17.3, 22.2, 및/또는 28.1° 2θ 에서의 피크를 하나 이상 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 10.2° 2θ 에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 11.9° 2θ 에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 14.1° 2θ 에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 14.5° 2θ 에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 17.3° 2θ 에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 22.2° 2θ 에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 28.1° 2θ 에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 10.2° 2θ 에서의 피크, 적어도 약 11.9° 2θ 에서의 피크, 적어도 약 14.1° 2θ 에서의 피크, 적어도 약 14.5° 2θ 에서의 피크, 적어도 약 17.3° 2θ 에서의 피크, 적어도 약 22.2° 2θ 에서의 피크 및 적어도 약 28.1° 2θ 에서의 피크, 및 이들의 임의 조합으로부터 선택된 2 이상의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다.

[0027] 예를 들어, 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 7.5, 9.9, 11.4, 12.3, 15.0, 23.0, 23.3, 24.1, 24.6, 25.0, 26.1, 27.0, 및 28.4° 2θ 에서의 피크를 하나 이상 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 7.5, 9.9, 12.3,

15, 23.0, 23.3, 24.6 및/또는 28.4° 2θ에서의 피크를 하나 이상 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 7.5° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 9.9° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 12.3° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 15° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 23° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 23.3° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 24.6° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 28.4° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 7.5° 2θ에서의 피크, 적어도 약 9.9° 2θ에서의 피크, 적어도 약 15° 2θ에서의 피크, 적어도 약 12.3° 2θ에서의 피크, 적어도 약 23.0° 2θ에서의 피크, 적어도 약 23.3° 2θ에서의 피크, 적어도 약 24.6° 2θ에서의 피크 및 적어도 약 28.4° 2θ에서의 피크, 및 이들의 임의의 조합으로부터 선택된 2 이상의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다.

[0028] 일부 실시양태에서, 입자의 직경은 약 160 μm, 약 150 μm, 약 120 μm, 약 100 μm, 약 50 μm, 약 40 μm, 또는 약 20 μm 이하이다. 추가의 실시양태에서, 입자의 직경은 약 10 μm, 약 5 μm, 약 4 μm, 약 3 μm, 약 2 μm, 약 1 μm, 약 0.5 μm, 약 0.2 μm, 또는 약 0.1 μm 이하이다.

[0029] 본 발명은 활성을 띠며, 즉, 효능 및/또는 항종양 활성을 가지는, 나프토푸란 화합물, 예를 들어, 화학식 (I)의 화합물의 입자 또는 입자들을 제공한다. 활성 입자 또는 입자들은 특정 크기를 가지는데, 예를 들어, 그의 직경은 약 200 μm, 약 150 μm, 약 100 μm, 약 40 μm, 또는 약 20 μm, 약 10 μm, 약 5 μm, 약 4 μm, 약 3 μm, 약 2 μm, 약 1 μm, 약 0.5 μm, 약 0.2 μm, 또는 약 0.1 μm 이하이다. 특정 크기보다 큰 입자 또는 입자들은 불활성이거나, 본원에 기술된 입자보다 활성 정도가 더 작다.

[0030] 본 발명에 따른 일부 실시양태에서, 약학 조성물은 화학식 (I)에 따른 화합물, 예를 들어, 나프토푸란, 또는 그의 염 또는 용매화물의 입자를 포함한다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 약학 조성물은 화합물 (1)의 입자를 포함한다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 약학 조성물은 화합물 (1)의 다형체의 입자를 포함한다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 다형체는 도 1에 도시되는 것과 실질적으로 유사한 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 도 2에 도시되는 것과 실질적으로 유사한 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 도 3에 도시되는 것과 실질적으로 유사한 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다.

[0031] 예를 들어, 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 10.2, 11.4, 11.9, 14.1, 14.5, 17.3, 21.0, 22.2, 24.0, 26.0, 및 28.1° 2θ에서의 피크를 하나 이상 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 10.2, 11.9, 14.1, 14.5, 17.3, 22.2, 및/또는 28.1° 2θ에서의 피크를 하나 이상 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 10.2° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 11.9° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 14.1° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 14.5° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 17.3° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 22.2° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 28.1° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다.

일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 10.2° 2θ 에서의 피크, 적어도 약 11.9° 2θ 에서의 피크, 적어도 약 14.1° 2θ 에서의 피크, 적어도 약 14.5° 2θ 에서의 피크, 적어도 약 17.3° 2θ 에서의 피크, 적어도 약 22.2° 2θ 에서의 피크 및 적어도 약 28.1° 2θ 에서의 피크, 및 이들의 임의 조합으로부터 선택된 2 이상의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다.

[0032]

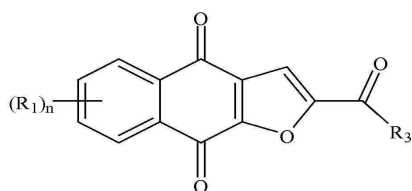
예를 들어, 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 7.5 , 9.9 , 11.4 , 12.3 , 15.0 , 23.0 , 23.3 , 24.1 , 24.6 , 25.0 , 26.1 , 27.0 , 및 28.4° 2θ 에서의 피크를 하나 이상 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 7.5 , 9.9 , 12.3 , 15 , 23.0 , 23.3 , 24.6 및/또는 28.4° 2θ 에서의 피크를 하나 이상 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 7.5° 2θ 에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 9.9° 2θ 에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 12.3° 2θ 에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 15° 2θ 에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 23° 2θ 에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 23.3° 2θ 에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 24.6° 2θ 에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 28.4° 2θ 에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 7.5° 2θ 에서의 피크, 적어도 약 9.9° 2θ 에서의 피크, 적어도 약 15° 2θ 에서의 피크, 적어도 약 12.3° 2θ 에서의 피크, 적어도 약 23.0° 2θ 에서의 피크, 적어도 약 23.3° 2θ 에서의 피크, 적어도 약 24.6° 2θ 에서의 피크 및 적어도 약 28.4° 2θ 에서의 피크, 및 이들의 임의 조합으로부터 선택된 2 이상의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다.

[0033]

입자 무게의 일부의 직경은 약 $200\ \mu\text{m}$ 이하일 수 있다. 일부 실시양태에서, 입자 세트의 일부는 세트내 입자 총 개수의 약 1% 이상, 약 5% 이상, 약 10% 이상, 약 20%, 또는 약 30% 이상일 수 있다. 일부 실시양태에서, 일부는 실질적인 일부이다. 예를 들어, 입자 세트의 "실질적인 일부"는 세트내 입자 총 개수의 약 99% 이상, 약 95% 이상, 약 90% 이상, 약 85% 이상, 약 80% 이상, 약 75% 이상, 약 70% 이상, 약 60% 이상, 또는 약 50% 이상일 수 있다. 각각의 (R_1)은 독립적으로 수소, 할로젠, 불소, 시아노, 니트로, CF_3 , OCF_3 , 알킬, 메틸, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 헤테로사이클, 치환된 헤테로사이클, 아릴, 치환된 아릴, OR_a , SR_a , 및 NH_2 로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. n 은 양의 정수일 수 있고; 예를 들어, n 은 4일 수 있다. R_3 은 수소, 할로젠, 불소, 시아노, CF_3 , OCF_3 , 알킬, 메틸, 치환된 알킬, 할로젠 치환된 알킬, 히드록실 치환된 알킬, 아민 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 헤테로사이클, 치환된 헤테로사이클, 아릴, 치환된 아릴, OR_a , SR_a , 및 R_bR_c 로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. R_a 는 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 헤테로사이클, 치환된 헤테로사이클, 아릴, 및 치환된 아릴로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. R_b 및 R_c 는 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클, 치환된 헤테로사이클, 아릴, 및 치환된 아릴로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있거나, 또는 R_b 및 R_c 는 그들이 결합하는 N과 함께 헤테로사이클 또는 치환된 헤테로사이클을 형성한다.

[0034]

본 발명에 따른 일부 실시양태에서, 각각의 (R_1)은 독립적으로 수소, 메틸, F(불소), Cl, Br, I, OH, 및 NH_2 로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. R_3 은 메틸 및 $\text{C}(\text{R}_8)_3$ 로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 각각의 (R_8)은 독립적으로 수소, 메틸, F(불소), Cl, Br, I, OH, 및 NH_2 로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 일부 실시양태에서, 대개 (R_1) 및 R_8 은 F(불소)일 수 있고, 나머지는 수소일 수 있다.



화학식 (I)

[0035]

[0036]

본 발명에 따른 일부 실시양태에서, 화학식 (I)의 화합물은 2-(1-히드록시에틸)-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-아세틸-7-클로로-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-아세틸-7-플루오로-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-아세틸나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 및 2-에틸-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 화학식 (I)에 따른 화합물은 화합물 (1)이다. 일부 실시양태에서, 화학식 (I)에 따른 화합물은 화합물 (1)의 다형체이다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 다형체는 도 1에 도시되는 것과 실질적으로 유사한 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 도 2에 도시되는 것과 실질적으로 유사한 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 도 3에 도시되는 것과 실질적으로 유사한 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다.

[0037]

예를 들어, 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 10.2, 11.4, 11.9, 14.1, 14.5, 17.3, 21.0, 22.2, 24.0, 26.0, 및 28.1° 2θ에서의 피크를 하나 이상 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 10.2, 11.9, 14.1, 14.5, 17.3, 22.2, 및/또는 28.1° 2θ에서의 피크를 하나 이상 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 10.2° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 11.9° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 14.1° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 14.5° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 17.3° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 22.2° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 28.1° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 10.2° 2θ에서의 피크, 적어도 약 11.9° 2θ에서의 피크, 적어도 약 14.1° 2θ에서의 피크, 적어도 약 14.5° 2θ에서의 피크, 적어도 약 17.3° 2θ에서의 피크, 적어도 약 22.2° 2θ에서의 피크 및 적어도 약 28.1° 2θ에서의 피크, 및 이들의 임의의 조합으로부터 선택된 2 이상의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다.

[0038]

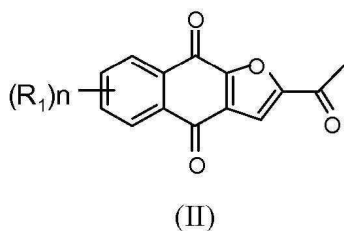
예를 들어, 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 7.5, 9.9, 11.4, 12.3, 15.0, 23.0, 23.3, 24.1, 24.6, 25.0, 26.1, 27.0, 및 28.4° 2θ에서의 피크를 하나 이상 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 7.5, 9.9, 12.3, 15, 23.0, 23.3, 24.6 및/또는 28.4° 2θ에서의 피크를 하나 이상 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 7.5° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 9.9° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 12.3° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 15° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 23° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 23.3° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 24.6° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다.

이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 28.4° 2θ 에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 7.5° 2θ 에서의 피크, 적어도 약 9.9° 2θ 에서의 피크, 적어도 약 15° 2θ 에서의 피크, 적어도 약 12.3° 2θ 에서의 피크, 적어도 약 23.0° 2θ 에서의 피크, 적어도 약 23.3° 2θ 에서의 피크, 적어도 약 24.6° 2θ 에서의 피크 및 적어도 약 28.4° 2θ 에서의 피크, 및 이들의 임의의 조합으로부터 선택된 2 이상의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다.

[0039] 예를 들어, 약학 조성물은 입자 누계의 약 90% 이상의 입자 크기가 약 $160\ \mu\text{m}$, $100\ \mu\text{m}$, $40\ \mu\text{m}$, $20\ \mu\text{m}$, $10\ \mu\text{m}$, $5\ \mu\text{m}$, $3\ \mu\text{m}$, 또는 $2\ \mu\text{m}$ 이하인 것을 가질 수 있다. 예를 들어, 약학 조성물은 입자 누계의 약 50% 이상의 입자 크기가 약 $160\ \mu\text{m}$, $100\ \mu\text{m}$, $40\ \mu\text{m}$, $20\ \mu\text{m}$, $10\ \mu\text{m}$, $5\ \mu\text{m}$, $3\ \mu\text{m}$, $2\ \mu\text{m}$, $1\ \mu\text{m}$, 또는 $0.5\ \mu\text{m}$ 이하인 것을 가질 수 있다. 예를 들어, 약학 조성물은 입자 누계의 약 10% 이상의 입자 크기가 약 $160\ \mu\text{m}$, $100\ \mu\text{m}$, $40\ \mu\text{m}$, $20\ \mu\text{m}$, $5\ \mu\text{m}$, $2\ \mu\text{m}$, $1\ \mu\text{m}$, $0.5\ \mu\text{m}$, 또는 $0.1\ \mu\text{m}$ 이하인 것을 가질 수 있다. 약학 조성물에서, 입자 직경의 중앙값은 예를 들어, 약 $160\ \mu\text{m}$, $40\ \mu\text{m}$, $20\ \mu\text{m}$, $10\ \mu\text{m}$, $5\ \mu\text{m}$, $4\ \mu\text{m}$, $3\ \mu\text{m}$, $2\ \mu\text{m}$, $1\ \mu\text{m}$, $0.5\ \mu\text{m}$, $0.3\ \mu\text{m}$, 또는 $0.2\ \mu\text{m}$ 이하일 수 있다. 예를 들어, 입자 직경의 중앙값은 약 $0.2\ \mu\text{m}$ 내지 약 $50\ \mu\text{m}$ 일 수 있거나, 또는 직경의 중앙값은 약 $0.5\ \mu\text{m}$ 내지 약 $30\ \mu\text{m}$ 일 수 있다. 예를 들어, 약학 조성물은 직경의 중앙값에 대한 평균 직경의 비가 최대 약 2 인 입자 누계를 가질 수 있다. 약학 발명은 결정질 상태, 2가지 이상의 상이한 다형체 상태의 화합물을 포함하는 입자를 가질 수 있다.

[0040] 일부 실시양태에서, 약학 조성물은 입자 또는 입자들이 20 미크론, 10 미크론, 5 미크론, 2 미크론, 1 미크론 또는 0.5 미크론 미만인, 입자 형태의 화학식(I)의 화합물 또는 그의 다형체를 포함한다.

[0041] 본 발명은 하기의 실질적으로 순수한, 화학식(II)의 화합물을 제공한다:



[0042]

[0043] 상기 식에서, 각각의 R_1 은 독립적으로 H, Cl, 또는 F이고; n은 0, 1, 2, 3, 또는 4이다. 일부 실시양태에서, 화학식(II)의 화합물은 입자 형태의 것이다.

[0044] 일부 실시양태에서, 실질적으로 순수한 화합물은 화합물 (1)이다. 일부 실시양태에서, 화합물 (1)은 입자 형태의 것이다.

[0045] 일부 실시양태에서, 실질적으로 순수한 화합물은 2-(1-히드록시에틸)-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-아세틸-7-클로로-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-아세틸-7-플루오로-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-아세틸나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-에틸-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 인산 모노-[1-(4,9-디옥소-3a,4,9,9a-테트라히드로-나프토[2,3-b]푸란-2-일)-비닐]에스테르, 인산 1-(4,9-디옥소-3a,4,9,9a-테트라히드로-나프토[2,3-b]푸란-2-일)-비닐 에스테르 디메틸 에스테르, 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 호변 이성질체, 및 그의 염 또는 용매화물로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0046] 일부 실시양태에서, 실질적으로 순수한 화합물은 화합물 (1)의 다형체이다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 다형체는 도 1에 도시되는 것과 실질적으로 유사한 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 도 2에 도시되는 것과 실질적으로 유사한 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 도 3에 도시되는 것과 실질적으로 유사한 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다.

[0047] 예를 들어, 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 10.2° , 11.4° , 11.9° , 14.1° , 14.5° , 17.3° , 21.0° , 22.2° , 24.0° , 26.0° , 및 28.1° 2θ 에서의 피크를 하나 이상 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 10.2° , 11.9° , 14.1° , 14.5° , 17.3° , 22.2° , 및/또는 28.1° 2θ 에서의 피크를 하나 이상 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 10.2° 2θ 에서의 피크를 포

합하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 11.9° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 14.1° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 14.5° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 17.3° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 22.2° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 28.1° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 10.2° 2θ에서의 피크, 적어도 약 11.9° 2θ에서의 피크, 적어도 약 14.1° 2θ에서의 피크, 적어도 약 14.5° 2θ에서의 피크, 적어도 약 17.3° 2θ에서의 피크, 적어도 약 22.2° 2θ에서의 피크 및 적어도 약 28.1° 2θ에서의 피크, 및 이들의 임의 조합으로부터 선택된 2 이상의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다.

[0048]

예를 들어, 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 7.5, 9.9, 11.4, 12.3, 15.0, 23.0, 23.3, 24.1, 24.6, 25.0, 26.1, 27.0, 및 28.4° 2θ에서의 피크를 하나 이상 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 7.5, 9.9, 12.3, 15, 23.0, 23.3, 24.6 및/또는 28.4° 2θ에서의 피크를 하나 이상 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 7.5° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 9.9° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 12.3° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 15° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 23° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 23.3° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 24.6° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 28.4° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 7.5° 2θ에서의 피크, 적어도 약 9.9° 2θ에서의 피크, 적어도 약 15° 2θ에서의 피크, 적어도 약 12.3° 2θ에서의 피크, 적어도 약 23.0° 2θ에서의 피크, 적어도 약 23.3° 2θ에서의 피크, 적어도 약 24.6° 2θ에서의 피크 및 적어도 약 28.4° 2θ에서의 피크, 및 이들의 임의 조합으로부터 선택된 2 이상의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다.

[0049]

일부 실시양태에서, 화합물 (1)의 다형체는 입자 형태의 것이다.

[0050]

일부 실시양태에서, 화합물, 생성물 및/또는 약학 조성물의 순도는 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95%, 또는 약 99% 이상이다. 일부 실시양태에서, 화합물, 생성물 및/또는 약학 조성물의 순도는 약 95.5%, 약 96%, 약 96.5%, 약 97%, 약 97.5%, 약 98%, 약 98.5%, 약 99%, 또는 약 99.5% 이상이다. 일부 실시양태에서, 화합물, 생성물 및/또는 약학 조성물의 순도는 약 99.1%, 약 99.2%, 약 99.3%, 약 99.4%, 약 99.5%, 약 99.6%, 약 99.7%, 약 99.8%, 또는 약 99.9% 이상이다.

[0051]

일부 실시양태에서, 화합물, 생성물 및/또는 약학 조성물은 약 10%, 약 5%, 약 1%, 약 0.15%, 또는 약 0.5% 이하의 불순물을 포함한다. 일부 실시양태에서, 화합물, 생성물 및/또는 약학 조성물은 각각의 단일의 불순물을 약 0.5%, 약 0.2%, 약 0.15%, 또는 약 0.1% 이하로 포함한다. 추가의 실시양태에서, 불순물은 2-아세틸-2,3-디히드로나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2,6-디아세틸-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2,7-디아세틸-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 3-아세틸-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 나프토[2,3-b]푸란-4,9-디올, 및 1-(4,9-디히드록시-나프토[2,3-b]푸란-2-일)-에타논으로 이루어진 군으로부터 하나 이상의 것이다.

[0052]

일부 실시양태에서, 불순물은 잔류 용매를 포함한다. 일부 실시양태에서, 용매는 에틸 아세테이트(EtOAc), 톨루

엔, 에탄올, 메탄올, 클로로포름, 및 CH_2Cl_2 /헥산으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0053] 일부 실시양태에서, 순도는 HPLC(고성능 액체 크로마토그래피: High Performance Liquid Chromatography)로 측정된다. 일부 실시양태에서, 순도는 NMR(핵자기 공명: Nuclear Magnetic Resonance)로 측정된다. 추가의 실시양태에서, 순도는 HPLC 및 NMR로 측정된다.

[0054] 본 발명은 또한 고도로 정제된 형태의 것인, 입자 형태의 화합물 (1)의 다형체, 생성물 및/또는 약학 조성물을 제공한다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 다형체는 도 1에 도시되는 것과 실질적으로 유사한 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 도 2에 도시되는 것과 실질적으로 유사한 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 도 3에 도시되는 것과 실질적으로 유사한 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다.

[0055] 예를 들어, 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 10.2, 11.4, 11.9, 14.1, 14.5, 17.3, 21.0, 22.2, 24.0, 26.0, 및 28.1° 2θ에서의 피크를 하나 이상 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 10.2, 11.9, 14.1, 14.5, 17.3, 22.2, 및/또는 28.1° 2θ에서의 피크를 하나 이상 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 10.2° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 11.9° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 14.1° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 14.5° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 17.3° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 22.2° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 28.1° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 10.2° 2θ에서의 피크, 적어도 약 11.9° 2θ에서의 피크, 적어도 약 14.1° 2θ에서의 피크, 적어도 약 14.5° 2θ에서의 피크, 적어도 약 17.3° 2θ에서의 피크, 적어도 약 22.2° 2θ에서의 피크 및 적어도 약 28.1° 2θ에서의 피크, 및 이들의 임의 조합으로부터 선택된 2 이상의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다.

[0056] 예를 들어, 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 7.5, 9.9, 11.4, 12.3, 15.0, 23.0, 23.3, 24.1, 24.6, 25.0, 26.1, 27.0, 및 28.4° 2θ에서의 피크를 하나 이상 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 7.5, 9.9, 12.3, 15, 23.0, 23.3, 24.6 및/또는 28.4° 2θ에서의 피크를 하나 이상 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 7.5° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 9.9° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 12.3° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 15° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 23° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 23.3° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 24.6° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 28.4° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 7.5° 2θ에서의 피크, 적어도 약 9.9° 2θ에서의 피크, 적어도 약 15° 2θ에서의 피크, 적어도 약 12.3° 2θ에서의 피크, 적어도 약 23.0° 2θ에서의 피크, 적어도 약 23.3° 2θ에서의 피크, 적어도 약 24.6° 2θ에서의 피크 및 적어도 약 28.4° 2θ에서의 피크 및 이들의 임의 조합으로부터 선택된 2 이상의 피크를 포함하는 X선 회절

패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다.

- [0057] 화합물 (1)의 다형체는 입자 형태의 것이다. 일부 실시양태에서, 화합물 (1)의 다형체는 입자의 직경이 약 160 μm , 약 150 μm , 약 120 μm , 약 100 μm , 약 50 μm , 약 40 μm , 또는 약 20 μm 이하인, 입자 형태의 것이다. 일부 실시양태에서, 입자 형태의 화합물 (1)의 다형체는 입자 집단의 D_{50} (즉, 분포를 이등분으로 나누는 입자 크기 분포의 중점)이 약 160 μm , 약 150 μm , 약 120 μm , 약 100 μm , 약 50 μm , 약 40 μm , 또는 약 20 μm 이하인, 입자 집단의 것이다. 일부 실시양태에서, 화합물 (1)의 다형체는 입자의 직경이 약 10 μm , 약 5 μm , 약 4 μm , 약 3 μm , 약 2 μm , 약 1 μm , 약 0.5 μm , 약 0.2 μm , 또는 약 0.1 μm 이하인, 입자 형태의 것이다. 일부 실시양태에서, 입자 형태의 화합물 (1)의 다형체는 입자 집단의 D_{50} 이 약 10 μm , 약 5 μm , 약 4 μm , 약 3 μm , 약 2 μm , 약 1 μm , 약 0.5 μm , 또는 약 0.2 μm 이하인, 입자 집단의 것이다.
- [0058] 본 발명은 활성인, 즉, 효능 및/또는 항종양 활성을 가진, 화합물 (1)의 다형체 입자 또는 입자 집단을 제공한다. 활성 입자 또는 입자들은 특정 크기를 가지며, 예를 들어, 직경 또는 D_{50} 은 약 200 μm , 약 150 μm , 약 100 μm , 약 40 μm , 또는 약 20 μm , 약 10 μm , 약 5 μm , 약 4 μm , 약 3 μm , 약 2 μm , 약 1 μm , 약 0.5 μm , 또는 약 0.2 μm 이하이다. 특정 크기보다 더 큰 입자 또는 입자들은 불활성이거나, 본원에 기술된 입자보다 활성이 작다.
- [0059] 화합물 (1)의 다형체의 입자 누계의 일부의 직경 또는 D_{50} 은 약 200 μm 이하일 수 있다. 일부 실시양태에서, 입자 세트의 일부는 세트내 입자 총 개수의 약 1% 이상, 약 5% 이상, 약 10% 이상, 약 20%, 또는 약 30% 이상일 수 있다. 일부 실시양태에서, 일부는 실질적인 일부이다. 예를 들어, 입자 세트의 "실질적인 일부"는 세트내 입자 총 개수의 약 99% 이상, 약 95% 이상, 약 90% 이상, 약 85% 이상, 약 80% 이상, 약 75% 이상, 약 70% 이상, 약 60% 이상, 또는 약 50% 이상일 수 있다.
- [0060] 일부 실시양태에서, 화합물 (1)의 다형체의 입자 집단은 입자 누계의 약 90% 이상의 입자 크기가 약 160 μm , 100 μm , 40 μm , 20 μm , 10 μm , 5 μm , 3 μm , 또는 2 μm , 1 μm 또는 0.5 μm 이하인 것을 가질 수 있다. 예를 들어, 화합물 (1)의 다형체의 입자 집단은 입자 누계의 약 50% 이상의 입자 크기가 약 160 μm , 100 μm , 40 μm , 20 μm , 10 μm , 5 μm , 3 μm , 2 μm , 1 μm , 또는 0.5 μm 이하인 것을 가질 수 있다. 예를 들어, 화합물 (1)의 다형체의 입자 집단은 입자 누계의 약 10% 이상의 입자 크기가 약 160 μm , 100 μm , 40 μm , 20 μm , 5 μm , 2 μm , 1 μm , 0.5 μm , 또는 0.1 μm 이하인 것을 가질 수 있다. 화합물 (1)의 다형체의 입자 집단에서, 입자 직경의 중앙값은 예를 들어, 약 160 μm , 40 μm , 20 μm , 10 μm , 5 μm , 4 μm , 3 μm , 2 μm , 1 μm , 0.5 μm 또는 0.2 μm 이하일 수 있다. 예를 들어, 입자 직경의 중앙값은 약 0.002 μm 내지 약 50 μm 일 수 있거나, 또는 직경의 중앙값은 약 0.2 μm 내지 약 30 μm 일 수 있다. 예를 들어, 화합물 (1)의 다형체의 입자 집단은 직경의 중앙값에 대한 평균 직경의 비가 최대 약 2인 입자 누계를 가질 수 있다. 화합물 (1)의 다형체의 입자 집단은 결정질 상태, 2가지 이상의 상이한 다형체 상태의 화합물을 포함하는 입자를 가질 수 있다.
- [0061] 일부 실시양태에서, 화합물 (1)의 다형체는 입자의 직경이 약 20 미크론, 10 미크론, 5 미크론, 또는 2 3 미크론, 2 미크론, 1 미크론, 0.5 미크론, 0.2 미크론, 또는 0.1 미크론 이하인 입자 형태의 것이다. 일부 실시양태에서, 입자 형태의 화합물 (1)의 다형체는 입자 집단의 D_{50} 이 약 20 미크론, 10 미크론, 5 미크론, 4 미크론, 5 미크론, 3 미크론, 2 미크론, 1 미크론, 0.5 미크론 또는 0.2 미크론 이하인 입자 집단의 것이다.
- [0062] 본 발명은 또한 치료적 유효량의 실질적으로 순수한 나프토푸란 화합물 및 약학적 허용가능한 담체, 부형제, 또는 희석제를 포함하는 약학 조성물을 제공한다. 부형제로는 예를 들어, 지방산의 글리세롤 에스테르, 포화 지방산의 글리세롤 에스테르, 탄소수 8 내지 18의 포화 지방산의 글리세롤 에스테르, 글리세릴라우레이트, 폴리에틸렌 글리콜, 셀룰로스, 미세결정질 셀룰로스, 카르복시메틸셀룰로스, 포스포티딜콜린, 지질, 스테롤, 콜레스테롤, 계면활성제, 폴리소르베이트, 및/또는 폴리옥시에틸렌 소르비탄 알킬레이트를 포함할 수 있다.
- [0063] 본 발명에 따른 일부 실시양태에서, 제조 물품은 치료적 유효량의 약학 조성물 및 약학적 허용가능한 부형제를 포함하는 용기를 포함할 수 있다.
- [0064] 본 발명의 일부 실시양태에 따른 화합물, 생성물 및/또는 약학 조성물을 제조하는 방법은 화합물을 밀링하여 입자를 형성하는 것을 포함할 수 있다. 예를 들어, 화합물은 볼 밀링, 롤 밀링, 제트 밀링, 습식 밀링, 초음파 밀링될 수 있거나, 분쇄될 수 있거나, 또는 이들 밀링 방법 및/또는 다른 밀링 방법과의 조합으로 처리될 수 있다. 화합물의 온도는 강하, 예를 들어, 극저온 온도로 강하되고, 밀링될 수 있다. 상기와 같이 온도를 강하시키면 화합물의 취성은 더 커질 수 있고, 밀링에 의해 입자의 크기는 더욱 쉽게 감소될 수 있다.

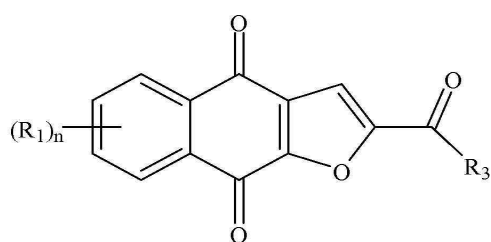
- [0065] 본 발명의 일부 실시양태에 따른 화합물, 생성물 및/또는 약학 조성물을 제조하는 방법은 결정화를 포함할 수 있다. 결정화 동안 수득된 입자 크기 분포(PSD: particle size distribution)는 결정화 동안에 발생하는 다양한 기전, 예를 들어, 핵 생성, 성장, 응집, 마모, 파손 등의 조합에 영향을 받는다. 입자 크기가 결정화 동안에 원하는 세부 사항을 충족시킬 수 있도록 일관되게 조절될 수 없다면, 추가의 공정 단계, 예를 들어, 건식 밀링을 포함할 수 있다.
- [0066] 신생물로 고통받은 인간, 포유동물, 또는 동물 피험체를 치료하거나, 그의 진행을 지연시키거나, 그의 재발을 예방하거나, 그의 증상을 완화시키거나, 또는 다르게는 그러한 피험체를 호전시키는 본 발명에 따른 방법은 치료적 유효량의 화합물, 생성물 및/또는 약학 조성물을 투여하여 항신생물 활성이 발생하도록 하는 것을 포함할 수 있다. 예를 들어, 항신생물 활성은 항암 활성일 수 있다. 예를 들어, 항신생물 활성은 신생물의 부피 성장을 저속화시키거나, 신생물의 부피 성장을 중단시키거나, 또는 신생물의 부피를 감소시키는 것을 포함할 수 있다. 신생물로는 고형암, 악성 종양, 전이성 세포, 암 줄기 세포를 포함할 수 있다. 신생물로는 암종, 육종, 선암, 림프종, 또는 혈액학적 악성 종양을 포함할 수 있다. 신생물은 화학요법, 방사선요법, 및/또는 호르몬 요법에 의한 치료에 무반응일 수 있다. 화합물, 생성물 및/또는 약학 조성물은 신생물의 재발을 예방하기 위해 투여될 수 있다. 화합물, 생성물 및/또는 약학 조성물은 외과적 절제에 대한 애주버트 요법으로서 투여될 수 있다. 화합물, 생성물 및/또는 약학 조성물은 예를 들어, 경구적으로 및/또는 정맥내로 투여될 수 있다.
- [0067] 본 발명에 따른 방법은 또한 질환 또는 장애로 고통받은 인간, 포유동물, 또는 동물 피험체에서 질환 또는 장애를 치료하거나, 그의 진행을 지연시키거나, 그의 재발을 예방하거나, 그의 증상을 완화시키거나, 또는 다르게는 질환 또는 장애를 호전시키는 것을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 질환 또는 장애는 자가면역 질환, 염증성 질환, 염증성 장 질환, 관절염, 자가면역 탈수초 장애, 알츠하이머병, 뇌졸중, 허혈 재관류 손상 및 다발경화증으로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0068] 다양한 실험실 또는 임상 결과 중 어느 것이 달성되었다면, 질환 또는 장애를 앓는 환자에게 화합물, 생성물 및/또는 약학 조성물을 투여한 것이 성공적인 것으로 간주된다. 예를 들어, 질환 또는 장애와 관련된 증상 중 하나 이상이 완화되었거나, 감소되었거나, 억제되었거나, 더 심한 상태로, 즉, 악화되는 쪽으로 진행되지 않았다면, 투여는 성공적인 것으로 간주된다. 장애, 예를 들어, 자가면역 장애가 완화 상태에 접어들었거나, 더 심한 상태로, 즉, 악화되는 쪽으로 진행되지 않았다면, 투여는 성공적인 것으로 간주된다.
- [0069] 일부 실시양태에서, 본원에 기술된 화합물, 생성물 및/또는 약학 조성물은 예를 들어, 화학요법제, 및 다른 항신생물 제제, 소염성 화합물 및/또는 면역억제성 화합물을 비롯한, 공지된 각종 치료제 중 임의의 것과 조합하여 투여된다. 일부 실시양태에서, 본원에 기술된 화합물, 생성물 및/또는 약학 조성물은 비제한적인 일례로, 외과 치료 및 방법, 방사선 요법, 화학요법 및/또는 호르몬 또는 다른 내분비 관련 치료법을 비롯한, 공지된 각종 치료법 중 임의의 것과 함께 하는 경우에 유용하다.
- [0070] 이러한 "공동 치료 요법"은 순차적으로 또는 동시에 수행될 수 있다. 본원에 기술된 화합물, 생성물 및/또는 약학 조성물 및 제2 요법은 같은 약학 조성물로 피험체에게, 바람직하게는, 인간 피험체에게 투여될 수 있다. 별법으로, 본원에 기술된 화합물, 생성물 및/또는 약학 조성물 및 제2 요법은 별도의 약학 조성물로 피험체에게 동시에, 별도로, 순차적으로 투여될 수 있다. 본원에 기술된 화합물, 생성물 및/또는 약학 조성물 및 제2 요법은 동일하거나 상이한 투여 경로에 의해 피험체에게 투여될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 공동 치료 요법은 유효량의 본원에 기술된 화합물, 생성물 및/또는 약학 조성물, 및 본원에 기술된 화합물, 생성물 및/또는 약학 조성물과는 다른 작용 기전을 가진 유효량의, 1 이상의 다른 요법 (예를 들어, 예방제 또는 치료제)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 공동 치료 요법은 함께 작용함으로써 부가 또는 시너지 효과를 발휘함으로써 본원에 기술된 화합물, 생성물 및/또는 약학 조성물의 예방학적 또는 치료학적 효과, 및 제2 요법의 예방학적 또는 치료학적 효과를 개선시킨다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 공동 치료 요법은 제2 요법(예를 들어, 예방제 또는 치료제)과 관련된 부작용을 감소시킨다.
- [0071] 일부 실시양태에서, 질환 또는 장애는 하기와 같이 화합물, 생성물 및/또는 약학 조성물을 투여함으로써 치료될 수 있다. 화합물의 혈중 물 농도는 적어도 유효 기간일 정도로 길고, 유해 기간보다 짧은 1차 연속 기간 동안에 유효 농도 이상이며, 유해 농도 미만이다. 혈중 물 농도는 1차 연속 기간 이후에는 유효 농도 미만일 수 있다. 예를 들어, 유효 농도는 약 0.1 μM , 약 0.2 μM , 약 0.5 μM , 약 1 μM , 약 2 μM , 약 3 μM , 약 4 μM , 약 5 μM , 약 6 μM , 약 10 μM , 또는 당업자에 의해 효과적인 것으로 측정된 또 다른 농도일 수 있다. 예를 들어, 유해 농도는 약 1 μM , 약 3 μM , 약 10 μM , 약 15 μM , 약 30 μM , 약 100 μM , 또는 당업자에 의해 유해한 것으로 측정된 또 다른 농도일 수 있다. 예를 들어, 유효 기간은 약 1시간, 2시간, 약 4시간, 약 6시간,

약 8시간, 약 10시간, 약 12시간, 약 24시간, 또는 당업자에 의해 효과적인 것으로 측정된 또 다른 기간일 수 있다. 예를 들어, 유효 기간은 약 12시간, 약 24시간, 약 48시간, 약 72시간, 약 144시간, 또는 당업자에 의해 유효한 것으로 측정된 또 다른 기간일 수 있다.

[0072] 일부 실시양태에서, 화합물, 생성물 및/또는 약학 조성물의 치료적 유효량은 혈중 농도가 종양 세포의 IC₅₀ 보다 는 크고, 정상 세포의 IC₅₀ 보다 는 작은 농도가 되도록 선택된다. 일부 실시양태에서, 치료적 유효량은 혈중 농도가 종양 세포를 사멸시킬 정도로 충분히 높고, 정상 세포의 IC₅₀ 보다 는 작은 농도가 되도록 선택된다.

[0073] 일부 실시양태에서, 화합물, 생성물 및/또는 약학 조성물은 예를 들어, 정제, 환제, 캡슐제(경질 또는 연질), 캐플릿, 분제, 과립제, 현탁제, 액제, 겔제, 카세제, 트로키, 로젠지, 시럽제, 엘릭시르, 에멀전, 수중유 에멀전, 유중수 에멀전 또는 물약과 같은 제형으로 경구적으로 투여된다.

[0074] 본 발명에 따른 일부 실시양태에서, 신생물 세포의 복제 또는 확산을 감소 또는 억제시키는 조성물은 하기 방법에 의해 선택된 입자 세트를 포함한다. 하기 화학식 (I)에 따른 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물을 제공할 수 있다:



화학식 (I)

[0075]

[0076] 일부 실시양태에서, 화합물 (1) 또는 그의 염 또는 용매화물이 제공될 수 있다. 일부 실시양태에서, 화합물 (1)의 다형체가 제공될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 다형체는 도 1에 도시되는 것과 실질적으로 유사한 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 도 2에 도시되는 것과 실질적으로 유사한 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 도 3에 도시되는 것과 실질적으로 유사한 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다.

[0077] 예를 들어, 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 10.2, 11.4, 11.9, 14.1, 14.5, 17.3, 21.0, 22.2, 24.0, 26.0, 및 28.1° 2θ에서의 피크를 하나 이상 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 10.2, 11.9, 14.1, 14.5, 17.3, 22.2, 및/또는 28.1° 2θ에서의 피크를 하나 이상 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 10.2° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 11.9° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 14.1° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 14.5° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 17.3° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 22.2° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 28.1° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 10.2° 2θ에서의 피크, 적어도 약 11.9° 2θ에서의 피크, 적어도 약 14.1° 2θ에서의 피크, 적어도 약 14.5° 2θ에서의 피크, 적어도 약 17.3° 2θ에서의 피크, 적어도 약 22.2° 2θ에서의 피크 및 적어도 약 28.1° 2θ에서의 피크 및 이들의 임의 조합으로부터 선택된 2 이상의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다.

[0078] 예를 들어, 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 7.5, 9.9, 11.4, 12.3, 15.0, 23.0, 23.3, 24.1, 24.6, 25.0, 26.1, 27.0, 및 28.4° 2θ에서의 피크를 하나 이상 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-

4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 7.5, 9.9, 12.3, 15, 23.0, 23.3, 24.6 및/또는 28.4° 2θ에서의 피크를 하나 이상 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 7.5° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 9.9° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 12.3° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 15° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 23° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 23.3° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 24.6° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 28.4° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 7.5° 2θ에서의 피크, 적어도 약 9.9° 2θ에서의 피크, 적어도 약 15° 2θ에서의 피크, 적어도 약 12.3° 2θ에서의 피크, 적어도 약 23.0° 2θ에서의 피크, 적어도 약 23.3° 2θ에서의 피크, 적어도 약 24.6° 2θ에서의 피크 및 적어도 약 28.4° 2θ에서의 피크 및 이들의 임의의 조합으로부터 선택된 2 이상의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다.

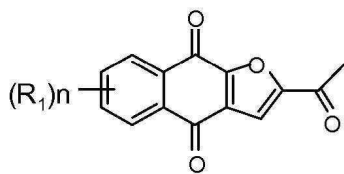
[0079] 상기 화합물을 포함하는 1 이상의 입자 세트를 제조할 수 있다. 1 이상의 입자 세트 각각의 입자 크기 분포를 측정할 수 있다. 1 이상의 입자 세트는 미리 결정된 농도로 미리 결정된 시간 동안 신생물 세포 및 정상 세포에 투여될 수 있다. 입자가 신생물 세포 및 정상 세포의 대사 및/또는 분열에 미치는 효과를 관찰할 수 있다. 입자가 신생물 세포에 미치는 효과에 기초하여 각 입자 세트에 유효성 등급을 배정할 수 있다. 입자가 정상 세포에 미치는 효과에 기초하여 각 입자 세트에 독성 등급을 배정할 수 있다. 제1 입자 크기 분포를 가지는 1 이상의 입자 세트의 유효성 등급 및/또는 독성 등급을, 제1 입자 크기 분포와는 다른 입자 크기 분포를 가지는 1 이상의 다른 입자 세트의 유효성 등급 및/또는 독성 등급과 비교할 수 있다. 1 이상의 다른 입자 세트보다 유효성 등급이 더 크고/거나, 독성 등급이 더 작고/거나, 유효성 등급과 독성 등급 가중합이 더 큰 입자 세트를 최적의 세트로서 선택할 수 있다. 예를 들어, 최적의 입자 세트의 입자 크기 분포가 최적의 입자 크기 분포인 것으로 확인될 수 있다. 예를 들어, 최적의 입자 세트가 조성물 중에 포함될 수 있다. 예를 들어, 유효성 등급은 항종양 활성에 비례할 수 있다. 예를 들어, 유효성 등급은 신생물 세포의 대사 및/또는 분열 억제에 기초할 수 있다. 예를 들어, 독성 등급은 내성에 반비례할 수 있다. 예를 들어, 독성 등급은 정상 세포의 대사 및/또는 분열 억제에 기초할 수 있다. 예를 들어, 1 이상의 입자 세트는 시험관내에서 신생물 세포에 및 정상 세포에 투여될 수 있다. 예를 들어, 유효성 등급은 신생물 세포의 IC₅₀일 수 있다. 예를 들어, 독성 등급은 정상 세포의 IC₅₀일 수 있다. 예를 들어, 1 이상의 입자 세트는 테스트 동물로 생체내에서 신생물 세포 및 정상 세포에 투여될 수 있다. 테스트 동물은 예를 들어, 포유동물, 영장류, 마우스, 래트, 기니아 피그, 래빗, 또는 개일 수 있다. 유효성 등급은 신생물 세포의 부피 감소일 수 있고, 독성 등급은 테스트 동물의 질량 감소일 수 있다.

[0080] 일부 실시양태에서, 화합물을 포함하는 한 입자 세트를 제조하는 것은 화합물을 용해시키고 분산시킴으로써, 미세유체 기법을 사용하여 화합물을 용해시키고 분산시킴으로써, 캐비테이션 또는 분무를 사용하여 화합물을 용해시키고 분산시킴으로써, 화합물을 밀링함으로써, 화합물을 볼 밀링함으로써, 화합물을 롤 밀링함으로써, 화합물을 제트 밀링함으로써, 화합물을 습식 밀링함으로써, 화합물을 초음파 밀링함으로써, 화합물을 분쇄함으로써, 및/또는 화합물을 시방함으로써 미리 결정된 입자 크기 분포의 입자를 분리시키는 것을 포함할 수 있다. 입자는 약학적 허용가능한 부형제 중에 현탁될 수 있다. 입자 크기 분포를 측정하는 것은 체 분석법, 광학 현미경 계수법, 전자 현미경 사진 계수법, 전자저항 계수법, 침강 시간, 레이저 회절법, 광음향 분광법, 및 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 기법을 사용하는 것을 포함할 수 있다.

[0081] 신생물 또는 다른 세포 증식 장애를 치료하는 방법은 신생물로 고통받은 인간, 포유동물, 또는 동물에게 최적의 입자 크기 및 분포를 가지는 최적의 입자 세트의 조성물을 비롯한 조성물을 치료적 유효량으로 투여하는 것을 포함할 수 있다.

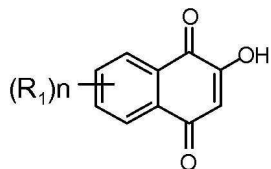
[0082] 본 발명은 또한, 염기의 존재하에 제1 용매 중에서 하기 화학식 (III)의 화합물을 케톤과 반응시키고, 숙성된 반응 혼합물로부터 조 생성물을 결정화시키고, 제2 용매 중에서 조 생성물을 산화제와 반응시키는 단계를 포함

하는, 하기 화학식 (II)의 화합물을 제조하는 방법을 제공한다:



(II)

[0083]



(III)

[0084]

상기 식에서, R₁은 H, Cl, 또는 F이다.

[0085]

일부 실시양태에서, 반응은 외기 용기 중에서 수행된다.

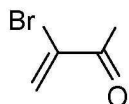
[0086]

일부 실시양태에서, 케톤은 하기 화학식 (IV)의 화합물이다:

[0087]

[화학식 (IV)]

[0088]



(4-3)

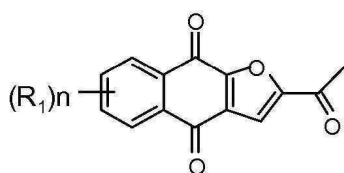
[0089]

일부 실시양태에서, 제1 용매는 테트라히드로푸란(THF), 디옥산, 및 톨루엔으로 이루어진 군으로부터 선택되고, 염기는 1, 8-디아자비사이클로[5.4.0]온텍-7-엔 (DBU), 트리에틸 아민, 및 디이소프로필에틸 아민으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 산화제는 이산화망간이다. 일부 실시양태에서, 제2 용매는 톨루엔이다. 일부 실시양태에서, 본 방법은 추가로 산화 생성물을 목탄으로 처리하는 것을 포함한다.

[0090]

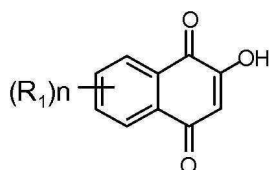
본 발명은 염기의 존재하에 제1 용매 중에서 하기 화학식 (III)의 화합물을 케톤과 반응시키고, 숙성된 반응 혼합물로부터 조 생성물을 결정화시키고, 제2 용매 중에 조 생성물을 용해시키고, 조 생성물을 목탄으로 처리하는 단계를 포함하는, 하기 화학식 (II)의 화합물을 제조하는 방법을 제공한다:

[0091]



(II)

[0092]



(III)

[0093]

상기 식에서, R₁은 H, Cl, 또는 F이다.

[0094]

- [0095] 본 발명은 나프토푸란 화합물을 제조하는 방법을 제공한다. 본 방법은 제1 용매 중에서 나프토타히드로푸란 화합물 또는 나프토타히드로푸란 화합물을 포함하는 혼합물을 산화제와 반응시키는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, 혼합물은 추가로 나프토푸란 화합물을 포함한다. 일부 실시양태에서, 나프토푸란 화합물은 2-(1-히드록시에틸)-나프토티[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-아세틸-7-클로로-나프토티[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-아세틸-7-플루오로-나프토티[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-아세틸나프토티[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-에틸-나프토티[2,3-b]푸란-4,9-디온, 인산 모노-[1-(4,9-디옥소-3a,4,9,9a-테트라히드로-나프토티[2,3-b]푸란-2-일)-비닐]에스테르, 인산 1-(4,9-디옥소-3a,4,9,9a-테트라히드로-나프토티[2,3-b]푸란-2-일)-비닐 에스테르 디메틸 에스테르, 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 호변 이성질체, 및 그의 염 또는 용매화물로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 산화제는 이산화망간이다. 일부 실시양태에서, 제1 용매는 톨루엔이다. 일부 실시양태에서, 본 방법은 추가로 활성탄 패드를 통해 산화 생성물을 여과하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 방법은 추가로 제1 용매를 증발시켜 나프토푸란 화합물을 결정화시키는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 방법은 추가로 나프토푸란 화합물을 제2 용매로 재결정화시키는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 용매는 에틸 아세테이트이다. 일부 실시양태에서, 본 방법은 추가로 나프토푸란 화합물을 제2 용매로 슬러리화시키고, 슬러리를 가열하고, 슬러리를 냉각시키는 단계를 포함한다.
- [0096] 본 발명은 실질적으로 순수한 나프토푸란 화합물을 제조하는 방법을 제공한다. 본 방법은 나프토푸란 화합물을 제1 용매로 결정화시키고, 나프토푸란 화합물을 제2 용매로 재결정화시키는 단계를 포함한다. 본 발명은 실질적으로 순수한 나프토푸란 화합물을 제조하는 또 다른 방법을 제공한다. 본 방법은 나프토푸란 화합물을 제1 용매로 결정화시키고, 결정질 나프토푸란 화합물을 제2 용매로 슬러리화시키고, 슬러리를 가열하고, 슬러리를 냉각시키는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, 나프토푸란 화합물은 2-(1-히드록시에틸)-나프토티[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-아세틸-7-클로로-나프토티[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-아세틸-7-플루오로-나프토티[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-아세틸나프토티[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-에틸-나프토티[2,3-b]푸란-4,9-디온, 인산 모노-[1-(4,9-디옥소-3a,4,9,9a-테트라히드로-나프토티[2,3-b]푸란-2-일)-비닐]에스테르, 인산 1-(4,9-디옥소-3a,4,9,9a-테트라히드로-나프토티[2,3-b]푸란-2-일)-비닐 에스테르 디메틸 에스테르, 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 호변 이성질체, 및 그의 염 또는 용매화물로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 제1 용매는 톨루엔이다. 일부 실시양태에서, 제2 용매는 에틸 아세테이트이다.
- [0097] 본 발명은 상기 방법들 중 어느 하나에 의해 제조된 나프토푸란 화합물을 제공한다. 일부 실시양태에서, 나프토푸란 화합물은 2-(1-히드록시에틸)-나프토티[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-아세틸-7-클로로-나프토티[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-아세틸-7-플루오로-나프토티[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-아세틸나프토티[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-에틸-나프토티[2,3-b]푸란-4,9-디온, 인산 모노-[1-(4,9-디옥소-3a,4,9,9a-테트라히드로-나프토티[2,3-b]푸란-2-일)-비닐]에스테르, 인산 1-(4,9-디옥소-3a,4,9,9a-테트라히드로-나프토티[2,3-b]푸란-2-일)-비닐 에스테르 디메틸 에스테르, 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 호변 이성질체, 및 그의 염 또는 용매화물로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 나프토푸란 화합물의 순도는 약 80%, 약 85%, 또는 약 90%, 약 95%, 또는 약 99% 이상이다. 일부 실시양태에서, 나프토푸란 화합물의 불순도는 약 10%, 약 5%, 약 2%, 또는 약 1%, 약 0.5%, 약 0.2%, 약 0.15%, 또는 약 0.1% 이하이다.
- [0098] 본 발명은 화합물 (1)의 다형체의 입자, 고도로 순수한 형태의 화합물 (1)의 입자 및 고도로 순수한 형태의 화합물 (1)의 다형체의 입자를 비롯한, 화합물 (1)의 입자를 제조하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 정제된 형태의 화합물 (1)의 결정, 화합물 (1)의 다형체의 결정 및/또는 정제된 형태의 화합물 (1)의 다형체의 결정을 비롯한, 화합물 (1)의 결정을 밀링하여 원하는 중앙 입자 크기, 예를 들어, 약 20 미크론을 가지는 입자를 제조한다. 예를 들어, 제트 밀링 방법(벤투리 압력 = 약 40, 밀 압력 = 약 100, 및 공급율 = 대략 1,304 g/시간)을 사용하여 결정을 밀링한다.
- [0099] **도면의 간단한 설명**
- [0100] 도 1은 결정형 1의 XRPD 데이터를 도시한 도해이다.
- [0101] 도 2는 결정형 2의 XRPD 데이터를 도시한 도해이다.
- [0102] 도 3은 결정형 3의 XRPD 데이터를 도시한 도해이다.
- [0103] 도 4는 결정형 1 및 결정형 3의 XRPD 데이터를 비교하여 나타낸 도해이다.
- [0104] 도 5a 및 5b는 결정형 2의 합성 공정을 도시한 일련의 도해이다.

- [0105] 도 6a-6d는 결정형 3의 합성 공정을 도시한 일련의 도해이다.
- [0106] 도 7a 및 7b는 결정형 1 및 결정형 3의 형태를 도시한 사진이다.
- [0107] 도 8은 결정형 1의 제한된 항종양 활성을 도시한 그래프이다.
- [0108] 도 9는 결정형 2의 항종양 활성을 도시한 그래프이다.
- [0109] 도 10은 결정형 1 및 결정형 3의 항종양 활성을 비교하여 도시한 그래프이다.
- [0110] 도 11은 암 환자에서의 결정형 2에 대한 임상 약동학적 성질(PK) 데이터를 도시한 그래프이다.
- [0111] 도 12는 암 환자에서의 결정형 3에 대한 임상 PK 데이터를 도시한 그래프이다.
- [0112] 도 13은 도 5a-5b에 도시된 합성 공정을 사용하여 제조된 순도 약 90%의 결정형 2를 사용하여 관찰된 독성을 도시한 그래프이다.
- [0113] 도 14는 도 5a-5b에 도시된 합성 공정을 사용하여 제조된 순도 약 95%의 결정형 2의 안전성을 도시한 그래프이다.
- [0114] 도 15는 상이한 입자 크기 범위를 가진 화합물 (1)의 항종양 활성을 도시한 그래프이다.
- [0115] 도 16은 상이한 입자 크기 범위를 가진 화합물 (1)의 생체내 PK 데이터를 도시한 그래프이다.
- [0116] 도 17은 용해도와 화합물 (1)의 입자 크기 간의 관계를 도시한 그래프이다.
- [0117] 도 18은 암 줄기 세포 특이 요법과 종래 암 요법 간의 차이를 도시한 도해이다.
- [0118] 도 19는 신장으로의 결장암 전이성 병변의 완전 관해를 도시한 도해이다.
- [0119] 도 20은 환자에게 500 mg을 1일 2회(1일 총 용량 1,000 mg) 투여한 경우, 환자에서 BID 투여의 약동학적 성질을 도시하는 그래프이다.
- [0120] 도 21은 환자에게 20 mg을 1일 1회 투여한 경우, 환자에서 1일 1회 투여의 약동학적 성질을 도시하는 그래프이다.
- [0121] 도 22는 화합물 (1)로 치료받은 결장직장암 환자의 무진행 생존을 비교하여 나타낸 그래프이다. 화합물 (1)로 치료받은 평가가능한 결장직장암 환자의 무진행 생존(PFS)을 결장직장암 환자에서의 최적의 지지 요법에 대한 병력 PFS 데이터와 비교하였다.
- [0122] 도 23은 무진행 생존(PFS) 대 약동학적 노출을 비교하여 나타낸 그래프이다. 화합물 (1)을 투여받은 평가가능한 환자의 PFS를 4시간 이상 동안 화합물 (1) 1.6 μ M 초과 또는 그 미만으로 노출된 것에 대해 비교하였다.
- [0123] 도 24는 개선된 안전성 및 효능에 대한 바람직한 PK 패턴을 도시하는 그래프이다.
- [0124] 도 25는 BBI608 치료 동안 장기 안정 병변(>16주)에 도달한 환자가 치료 이전에는 그의 종양 조직 내에 p-STAT3을 고수준으로 가지고 있었음을 보여주는 사진이다.
- [0125] **발명의 상세한 설명**
- [0126] 본 발명의 실시양태는 하기에서 상세하게 논의된다. 실시양태를 기술할 때, 명확하게 하기 위해 구체적인 용어가 사용된다. 그러나, 본 발명은 상기와 같이 선택된 구체적인 용어로 제한하고자 하는 것은 아니다. 본 발명의 정신 및 범주를 벗어남 없이 다른 등가의 성분이 사용될 수 있으며, 다른 방법이 개발될 수 있다는 것을 관련 업계의 당업자는 이해할 것이다. 본원에서 이용되는 모든 참조 문헌은 마치 그 문헌들이 각각 개별적으로 포함된 것처럼 본원에 참고로 포함된다.
- [0127] 본 명세서에서, 입자 세트의 "실질적인 일부"는 세트내 입자 총 개수의 약 99% 이상, 약 95% 이상, 약 90% 이상, 약 85% 이상, 약 80% 이상, 약 75% 이상, 약 70% 이상, 약 60% 이상, 또는 약 50% 이상일 수 있다.
- [0128] 조성물의 항암 줄기 세포 활성은 시험관내 또는 생체내에서 측정될 수 있다. 예를 들어, 조성물의 항종양 활성은 화합물을 투여하고, 암 줄기 세포의 자가 재생 및 생존을 측정함으로써 시험관내에서 측정될 수 있고, 예를 들어, 화합물의 항종양 활성은 화합물을 투여받은 종양 세포의 행동을, 화합물을 투여받지 않은 종양 세포의 행동(대조군)과 비교함으로써 시험관내에서 평가될 수 있다. 예를 들어, 조성물의 항종양 활성은 화합물을 투여받은 동물에서 종양의 부피 변화를 측정하고/거나, 전이성 모델을 적용시키고/거나, 동소이식 모델을 적용시킴으

로써 생체내에서 측정될 수 있다. 예를 들어, 화합물의 항종양 활성은 화합물을 투여받은 동물을 화합물을 투여받지 않은 동물(대조군)과 비교함으로써 생체내에서 평가될 수 있다.

[0129] 조성물의 내성은 시험관내 또는 생체내에서 측정될 수 있다. 예를 들어, 조성물의 내성은 화합물을 투여하고, 정상 세포의 분열 속도를 측정함으로써, 정상 세포의 영양 흡수를 측정함으로써, 영양 흡수 이외의, 정상 세포의 대사 속도를 나타내는 지표를 측정함으로써, 정상 세포의 성장을 측정함으로써, 및/또는 정상 세포의 생명력을 나타내는 또 다른 지표를 측정함으로써 시험관내에서 측정될 수 있다. 예를 들어, 화합물의 내성은 화합물을 투여받은 정상 세포의 행동을 화합물을 투여받지 않은 정상 세포의 행동(대조군)과 비교함으로써 시험관내에서 평가될 수 있다. 예를 들어, 조성물의 내성은 투여받은 동물에서 체중 또는 음식물 섭취량을 측정함으로써, 또는 임상 관찰, 모발 유지 또는 탈모, 및/또는 자극에 대한 반응성을 통해 생체내에서 측정될 수 있다. 예를 들어, 화합물의 내성은 화합물을 투여받은 동물을 화합물을 투여받지 않은 동물(대조군)과 비교함으로써 생체내에서 평가될 수 있다.

[0130] 화합물, 생성물 및/또는 약학 조성물은 유효성 등급 및/또는 독성 등급을 배정받을 수 있다. 예를 들어, 유효성 등급은 항종양 활성에 비례할 수 있거나, 항종양 활성과 관련하여 단조 증가 함수일 수 있다. 예를 들어, 독성 등급은 내성에 반비례할 수 있거나, 내성과 관련하여 단조 감소 함수일 수 있다. 나프토푸란 화합물은 생체내에서 항종양 활성은 없는 것으로 보고되어 있다(문헌 [M.M. Rao and D.G.I. Kingston, J. Natural Products, 45(5) (1982) 600-604] 참조). 추가로, 상기 화합물은 암 세포 및 정상 세포에 동등하게 독성을 띠는 것으로 보고되어 있다. 즉, 상기 화합물은 암 세포 및 정상 세포를 동등하게 사멸시키는 것으로 보고되어 있으며, 결론적으로 상기 화합물은 암 치료에는 어떤 잠재능도 가지고 있지 않다(문헌 ([K. Hirai K. et al., Cancer Detection and Prevention, 23(6) (1999) 539-550]; [Takano A. et al., Anticancer Research 29:455-464, 2009])).

[0131] 그러나, 본 공개 문헌에 기술된 바와 같이 특정의 약동학적 노출을 달성하는 데 적절한 입자 크기 분포를 가지는 입자로서 화합물이 투여되었을 때에는 화합물이 선택적인 항종양 활성을 가진다는 것이 본원에서 보고된 실험 연구를 통해 나타났다.

[0132] 본 발명의 목적을 위해, 약물의 "생체이용률"은 투여된 제형으로부터 전신 순환으로 유입되는 약물의 상대적인 양, 및 약물이 혈류에 나타나는 속도로서 정의된다. 생체이용률은 하기 적어도 3가지 인자에 의해 지배된다: (i) 생체이용률을 제어하는 흡수, 이어서, (ii) 그의 조직 재분포 및 (iii) 제거(대사를 통한 분해 + 신장 및 다른 기전).

[0133] "절대 생체이용률"은 조직 재분포와, 결과적으로는 약물의 정맥내 투여에 의해 예측될 수 있는 생체변환(즉, 제거)을 참작함으로써 예측된다. 달리 언급되지 않는 한, "HPLC"는 고성능 액체 크로마토그래피를 지칭하고; "약학적 허용가능한"이라는 것은 물질이 포유동물에게 투여되었을 때, 전형적으로는 알레르기 반응 또는 다른 부반응, 예를 들어, 소화 불량, 현기증 등을 유발하지 않는, 생리학상 내성인 것을 의미하고; "포유동물"은 인간, 및 유선에 의해 분비되는 젖으로 그의 새끼에게 영양을 공급하며, 피부가 보통은 거의 털로 덮인 모든 다른 동물을 비롯한 고등 척추 동물 부류를 의미하고; "치료하다"라는 것은 포유동물에서 질환(들)의 1 이상의 증상을 경감, 완화, 또는 제거시키는 것을 포함하는 것으로 한다.

[0134] 본원에서 사용되는 바, "치료"라는 용어는 원치않는 병증을 예방학적으로 예방 또는 억제시키기 위해, 및 상기 병증의 정도 또는 증상을 치료학적으로 제거 또는 감소시키기 위해 본 발명에 따른 화합물을 투여하는 것을 포함하는 것으로 한다. 치료는 또한 원치않는 병증의 재발을 예방하고, 원치않는 병증의 진행을 지연시키고, 원치않는 병증의 발병을 막거나, 지연시키는 것을 포함한다. 본 발명에 따른 치료는 상기와 같은 치료가 요구되는 질환 또는 병증을 앓는 인간 또는 다른 포유동물에게 제공된다. 치료는 또한 화합물을 시험관내에서 세포 또는 기관에 적용시키는 것을 포함한다. 치료는 전신 또는 국소 투여에 의해 진행될 수 있다.

[0135] 유효량은 원하는 약리학적 효과를 달성하는 데 필요한 단일 용량 또는 다중 용량으로 투여되는 활성 성분의 양이다. 당업자는 전문 임상자에게 주지되어 있는 통상의 실험 및 적정법에 의해 개별 환자를 위한 또는 개별 병증을 치료하기 위한 유효량을 결정하고 최적화할 수 있다. 실제 용량 및 스케줄은 조성물이 다른 약물과 함께 조합되어 투여되는지 여부에 따라, 또는 약동학적 성질, 약물의 소질, 및 대사에서 개체간의 차이에 따라 달라질 수 있다. 유사하게, 시험관내 적용인 경우 그 양은 달라질 수 있다. 과도한 실험없이 특정 상황에서의 필요에 따라 용량을 조정하는 것은 당업계의 기술 범위 내에 포함된다. 본원에 개시되어 있는 것과 같이 특정 적용에서 보증될 수 있는 바, 용량 범위가 성분을 보다 고용량 또는 저용량으로 사용하는 것을 방해하지는 않는다.

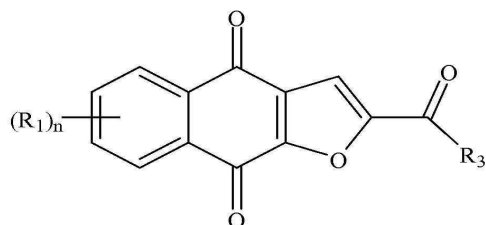
[0136] 본원에서 제공하는 약학 조성물에 관한 설명은 인간에게 투여하기에 적합한 약학 조성물을 포함한다. 이러한 개시 내용에 기초하여, 상기와 같은 조성물은 일반적으로 임의의 포유동물 또는 다른 동물에게 투여하기에 적합한 것임을 당업자는 이해할 것이다. 각종 동물에게 투여하기에 적합한 조성물의 제제에 대해 잘 이해되고 있으며, 숙련된 수의학 약리학자는 인간 투여용 조성물에 기초하여 통상의 실험을 통해 디자인하고 상기와 같이 변형시킬 수 있다.

[0137] 화합물 구조 및 특성

[0138] 화학식 (I)의 나프토푸란 화합물, 예를 들어, 2-(1-히드록시에틸)-나프토푸란[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-아세틸-7-클로로-나프토푸란[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-아세틸-7-플루오로-나프토푸란[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-아세틸나프토푸란[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-에틸-나프토푸란[2,3-b]푸란-4,9-디온은 물, 및 DMSO(디메틸 술폭시드), N-메틸피롤리딘, DMA(디메틸아세트아미드), 에탄올, PEG400(폴리에틸렌 글리콜 400), 프로필렌 글리콜, 크레모포어(Cremophor) EL(폴리에톡실화된 피마자유), 라브라솔(Labrasol)(카프릴로카프로일 마크로폴글리세리드(폴리옥실글리세리드)), 라브라필 M(Labrafil M)(식물유 PEG-6(폴리에틸렌 글리콜) 에스테르), 및 카프리오(Capryol)(프로필렌 글리콜 카프릴레이트)을 비롯한, 테스트된 광범위한 용매 패널 중에서는 실제로 불용성이었다. 나프토푸란 화합물은 다양한 극성 유기 용매, 예를 들어, 특정 할로카본, 예를 들어, 클로로카본, 예를 들어, 메틸렌 클로라이드, 에스테르, 에틸 아세테이트, 카르복실산, 예를 들어, 아세트산, 케톤, 예를 들어, 아세톤, 및 알콜, 예를 들어, 메탄올 중에서 가용성일 수 있다. 나프토푸란 화합물은 메틸렌 클로라이드 및 에틸 아세테이트 중에서 가용성인 것으로 밝혀졌다.

[0139] 선택적 항암 활성을 위해 작은 입자 형태의 약학 조성물의 활성 화합물을 투여하여 특정 약동학적 노출을 달성함으로써 선택적 항종양 활성을 달성하였다고 밝혀낸 본원에 기술된 실험 연구는 나프토푸란 화합물에 주목하였다. 상기 화합물을 사용하였을 때에 얻은, 현 논의되고 있는 관찰 결과를 고려해 볼 때, 다른 나프토푸란, 예를 들어, 나프토푸란은 유사하게 직경이 작은 입자 형태로 투여될 경우, 특정 약동학적 노출을 달성하기 위해 그들의 약동학적 성질 프로파일을 유리하게 변형시킴으로써 선택적 항암 활성을 달성할 수 있을 것이다. 하나 이상의 다른 입자 크기 분포로 투여되는 다른 나프토푸란의 약동학적 성질 프로파일은 실험적으로 측정될 수 있다.

[0140] 실시예에서 테스트된 화합물에 대해 관찰된 바와 같이, 동물, 포유동물, 또는 인간에 투여되는 형태의 입자 크기가 감소된 것으로서, 그의 약동학적 성질 프로파일 및 효능에 있어 개선된 것으로 보여질 수 있는 일부 다른 화합물로는 하기 화학식 (I)로 제시된 것, 및 그의 염 및 용매화물을 포함한다:



화학식 (I)

[0141]

[0142] 화학식 (I)에서, 기호 (R₁)_n은 (R₁) 치환기가 벤젠 환을 따라 각각의 이용가능한 위치에서 독립적으로 치환된다는 것을 나타낸다. 예를 들어, n이 4일 경우, 4개의 R₁ 치환기는 모두 동일할 수 있거나, 또는 각각 다른 어느 것과 상이할 수 있다. 예를 들어, 각각의 (R₁)은 독립적으로 수소, 할로젠, 불소, 시아노, 니트로, CF₃, OCF₃, 알킬, 메틸, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 헤테로사이클, 치환된 헤테로사이클, 아릴, 치환된 아릴, OR_a, SR_a, 및 NH₂로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 알킬은 단일 결합에 의해 연결된, 예를 들어, 탄소원자수 1 내지 8의 모이어티를 포함할 수 있고, 알케닐은 하나 이상의 이중 결합에 의해 연결된, 예를 들어, 탄소원자수 2 내지 8의 모이어티를 포함할 수 있고, 알키닐은 하나 이상의 삼중 결합에 의해 연결된, 예를 들어, 탄소원자수 2 내지 8의 모이어티를 포함할 수 있다. 치환기는 모이어티, 예를 들어, 수소, 할로젠, 시아노, 니트로, 아릴, OR_a, SR_a, 및 NH₂를 포함할 수 있다. 예를 들어, 각각의 (R₁)은 독립적으로 수소, 메틸, F(불소), Cl(염소), Br(브롬), I(요오드), OH(히드록실), 및 NH₂(아민)로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 예를 들어, R₃은 수소, 할로젠, 불소, 시아노, CF₃, OCF₃, 알킬, 메틸, 치환된 알킬, 할로젠 치환된 알킬, 히드록

실 치환된 알킬, 아민 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 헤테로사이클, 치환된 헤테로사이클, 아릴, 치환된 아릴, OR_a , SR_a , 및 NR_bR_c 로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 예를 들어, R_3 은 메틸 및 $C(R_8)_3$ 으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 각각의 (R_8)은 독립적으로 수소, 메틸, F(불소), Cl, Br, I, OH, 및 NH_2 로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 예를 들어, 독립적으로 선택된 (R_1) 치환기 및 (R_8) 치환기 중 최대 2개는 F(불소)인 것으로 선택될 수 있고, 그 나머지는 수소인 것으로 선택될 수 있다.

[0143]

일부 실시양태에서, 화학식(I)의 화합물은 2-(1-히드록시에틸)-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-아세틸-7-클로로-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-아세틸-7-플루오로-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-아세틸나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-에틸-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 호변 이성질체, 및 그의 염 또는 용매화물로 이루어진 군으로부터 선택된다. 예를 들어, 각각의 (R_1)은 수소인 것으로 선택될 수 있고, R_3 은 메틸인 것으로 선택될 수 있으며, 이로써, 화학식(I)의 화합물은 2-아세틸나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온이다. 예를 들어, 각각의 (R_1)은 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 헤테로사이클, 치환된 헤테로사이클, 아릴, 및 치환된 아릴로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 예를 들어, 각각의 R_b 및 R_c 는 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클, 치환된 헤테로사이클, 아릴, 및 치환된 아릴로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 별법으로, R_b 및 R_c 는 그들이 결합하는 N과 함께 헤테로사이클 또는 치환된 헤테로사이클을 형성할 수 있다.

[0144]

다형체

[0145]

본 발명의 나프토푸란 화합물은 다형체를 포함한다. 일부 실시양태에서, 다형체는 화학식 (I)에 따른 화합물의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 화합물 (1)의 다형체이다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 다형체는 도 1에 도시되는 것과 실질적으로 유사한 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 이러한 다형체는 본원에서 "결정형 1," "1형," 또는 "XRPD 1"로 지칭되며, 이들 용어는 상호교환적으로 사용된다. 일부 실시양태에서, 다형체는 도 2에 도시되는 것과 실질적으로 유사한 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 이러한 다형체는 "결정형 2," "2형," 또는 "XRPD2"로 지칭되며, 이들 용어는 상호교환적으로 사용된다. 일부 실시양태에서, 다형체는 도 3에 도시되는 것과 실질적으로 유사한 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 이러한 다형체는 "결정형 3," "3형," 또는 "XRPD3"으로 지칭되며, 이들 용어는 상호교환적으로 사용된다.

[0146]

예를 들어, 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 10.2, 11.4, 11.9, 14.1, 14.5, 17.3, 21.0, 22.2, 24.0, 26.0, 및 28.1° 2 θ 에서의 피크를 하나 이상 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 10.2, 11.9, 14.1, 14.5, 17.3, 22.2, 및/또는 28.1° 2 θ 에서의 피크를 하나 이상 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 10.2° 2 θ 에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 11.9° 2 θ 에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 14.1° 2 θ 에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 14.5° 2 θ 에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 17.3° 2 θ 에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 22.2° 2 θ 에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 28.1° 2 θ 에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 10.2° 2 θ 에서의 피크, 적어도 약 11.9° 2 θ 에서의 피크, 적어도 약 14.1° 2 θ 에서의 피크, 적어도 약 14.5° 2 θ 에서의 피크, 적어도 약 17.3° 2 θ 에서의 피크, 적어도 약 22.2° 2 θ 에서의 피크, 및 적어도 약 28.1° 2 θ 에서의 피크 및 이들의 임의 조합으로부터 선택된 2 이상의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다.

- [0147] 예를 들어, 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 7.5, 9.9, 11.4, 12.3, 15.0, 23.0, 23.3, 24.1, 24.6, 25.0, 26.1, 27.0, 및 28.4° 2θ에서의 피크를 하나 이상 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 7.5, 9.9, 12.3, 15, 23.0, 23.3, 24.6 및/또는 28.4° 2θ에서의 피크를 하나 이상 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 7.5° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 9.9° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 12.3° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 15° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 23° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 23.3° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 24.6° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 28.4° 2θ에서의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 다형체는 적어도 약 7.5° 2θ에서의 피크, 적어도 약 9.9° 2θ에서의 피크, 적어도 약 15° 2θ에서의 피크, 적어도 약 12.3° 2θ에서의 피크, 적어도 약 23.0° 2θ에서의 피크, 적어도 약 23.3° 2θ에서의 피크, 적어도 약 24.6° 2θ에서의 피크 및 적어도 약 28.4° 2θ에서의 피크, 및 이들의 임의의 조합으로부터 선택된 2 이상의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체이다.
- [0148] 결정형 1은 다양한 용매 및 조건하에서 검출되었는데, 이는 낮은 항종양 활성을 가지는 것으로 나타났다(도 8). 도 8에 제시된 연구에서, 확립된 피하 FaDu 인간 두부경부암을 앓는 면역억제 마우스에게 손으로 분쇄시킨, 결정형 1을 가진 화합물 (1) 또는 비히클 대조군을 명시된 양으로 경구적으로(po) 투여하였다. 화합물 (1)을 겔루시르™ 중에서 제제화하였다. 모든 요법은 매일(qd) 실시하였다. 치료하는 동안 종양 크기를 주기적으로 평가하였다.
- [0149] 놀랍게도 결정형 2는 불순물의 존재하에서 수득되었는데, 상기 다형체는 강력한 항종양 활성을 나타내었다(도 9). 도 9에 제시된 연구에서, 확립된 피하 FaDu 인간 두부경부암을 앓는 면역억제 마우스에게, 도 5a 및 5b에 기술된 합성 방법으로 제조된 미분화된 화합물 (1)(1차 수확 생성물) 또는 비히클 대조군을 100 mg/kg으로 경구적으로(po) 투여하였다. 화합물 (1)을 겔루시르™ 중에서 제제화하였다. 모든 요법은 매일(qd) 실시하였다. 치료하는 동안 종양 크기를 주기적으로 평가하였다. 현행 우수 제조 품질 관리 기준(cGMP: current good manufacturing practice) 방법에 의해 2형을 성공적으로 제조하였으며, FDA와 캐나다 보건부(Health Canada)로부터 승인을 받고 임상 시험에 사용하였다. 2형은 암 환자에서 바람직한 약동학적 성질(도 11), 안전성, 및 강력한 항종양 활성의 징후를 보였다.
- [0150] 결정형 3은 1형과 유사한 X선 분말 회절(XRPD) 패턴을 공유하지만, 상이한 X선 분말 회절(XRPD) 패턴을 가지는 것으로 나타났고, 1형과는 매우 상이한 결정질 습성을 나타내었다(도 7a 및 7b). 3형은 오직 본원에 기술된 특별히 디자인된 슬러리 방법을 사용하여 1형으로부터 생성될 수 있다. 3형은 강력한 항종양 활성을 보이는 것으로 나타났다(도 10). 도 10에 제시된 연구에서, 확립된 피하 FaDu 인간 두부경부암을 앓는 면역억제 마우스에게 손으로 분쇄시킨, 결정형 1 또는 3형을 가진 화합물 (1) 또는 비히클 대조군을 200 mg/kg으로 경구적으로(po) 투여하였다. 화합물 (1)을 겔루시르™ 중에서 제제화하였다. 모든 요법은 매일(qd) 실시하였다. 치료하는 동안 종양 크기를 주기적으로 평가하였다. cGMP 방법에 의해 상기 다형체를 성공적으로 제조하였으며, FDA와 캐나다 보건부로부터 승인을 받고 임상 시험에 사용하였다. 3형 또한 암 환자에서 바람직한 약동학적 성질(도 12), 안전성, 및 강력한 항종양 활성의 징후를 보였다.
- [0151] 결정형 2를 제조하는 합성 방법은 도 5a-5b에 제시되어 있다. 간략하면, 충전된 3-부텐-2-온(451.2 g)을 기계식 교반기, 온도계, 및 투입용 깔때기가 장착된 2 ℓ의 3목 둥근 바닥 플라스크에 첨가한다. 투입용 깔때기에 브롬(936.0 g)을 첨가한다. 플라스크 중의 내용물을 -5℃로 냉각시킨 후, 왕성하게 교반시키고, 온도는 -5℃로 유지시키면서 30분간 겔루시르를 플라스크에 적하시킨다. 혼합물을 -5℃에서 추가의 15분 동안 교반한 후, 4개의 동 분량으로 나눈다. 기계식 교반기, 온도계, 및 투입용 깔때기가 장착된 22 ℓ의 4목 둥근 바닥 플라스크에 각 분량의 혼합물을 테트라히드로푸란(2,133.6 g)과 함께 적재한다. 충전된 DBU(1,3-디아자비사이클로[5.4.0]옥텐-

7-엔, 222.9 g)를 투입용 깔때기에 첨가한다. 왕성하게 교반시키고, 온도는 0℃-5℃로 유지시키면서 30분간에 걸쳐 DBU를 플라스크에 적하시킨다. 혼합물을 0℃-5℃에서 추가의 15분 동안 교반한다. 이어서, 2-히드록시-1,4-나프토크논(231 g)을 플라스크에 첨가한다. 추가의 DBU(246.0 g)로 투입용 깔때기를 충전시킨 후, 반응 혼합물의 온도가 40℃를 초과하지 않는 속도로 플라스크에 혼합물을 적하시킨다. DBU 첨가 종결 후, 생성된 혼합물을 실온에서 밤새도록 교반하고, HPLC 분석을 위해 반응 혼합물 샘플을 수집한다. 반응 혼합물에 물(10.8 ℓ)을 충전시키고, 생성된 혼합물을 30분 이상 동안 0℃-3℃로 냉각시킨 후, 진공 필터를 통해 여과시킨다. 여과된 고체를 연속하여 5% 수성 중탄산나트륨(3 ℓ), 물(3 ℓ), 1% 수성 아세트산(3 ℓ) 및 에탄올(2회)(2 X 1 ℓ)로 세정한다. 세정된 고체를 보관하고, 다른 배취로부터 함께 풀링한다. 기계식 교반기, 온도계, 및 측정기가 장착된 500 gal 베셀에 조합된 조 생성물(28.73 kg)을 에틸 아세테이트(811.7 kg)와 함께 적재한다. 질소 대기하에 상기 혼합물을 2시간 동안 환류 가열(72℃)한 후, 활성탄 층을 함유하는 10 미크론 카트리지 필터로 여과하여 불용성 물질을 제거한다. 가열시킨 새 에틸 아세테이트(10 kg)를 사용하여 베셀을 세정하고, 라인 및 필터를 옮겨 놓는다. 조합된 여액을 0-5℃로 냉각시키고, 2시간 동안 상기 온도로 유지시킨 후, 20 인치 브흐너(Buchner) 필터를 사용하여 여과시킨다. 여과된 고체 생성물을 0-5℃의 에틸 아세테이트(5.7 kg)로 세정하고, 40℃에서 항량이 될 때까지 진공하에서 건조시킨다. 증발시켜 남은 여액의 부피를 63% 만큼 감소시키고, 결정화 과정을 다시 반복하여 2차 수확 생성물을 생성하고, 이를 1차 수확 생성물과 같은 조건하에서 건조시킨다. 수득된 두 수확 생성물 모두 결정형 2이다. 제조된 1차 수확 생성물(0.5 kg)의 HPLC에 의한 순도는 99.5%(NMR에 의해 ~95%)이다. 제조된 2차 수확 생성물(1.09 kg)의 HPLC에 의한 순도는 98.9%(NMR에 의해 ~90%)이다.

[0152] 결정형 3을 제조하는 합성 방법은 도 6a-6d에 제시되어 있다. 본원에서 단계를 간략하게 개괄한다. 1단계: 브롬을 사용하여 3-부텐-2-온(메틸 비닐 케톤, MVK)을 브롬화시킨다. 추가의 용매는 사용하지 않는다. 중간체 3,4-디브로모부탄-2-온을 테트라히드로푸란(THF)에 용해시키고, 1,8-디아자비사이클로[5.4.0]온덱-7-엔 (DBU)과 반응시켜 제2 중간체인 3-브로모-3-부텐-2-온을 수득한다. 일단 반응이 종결되고 나면, 2-히드록시-1,4-나프토크논(HNQ)을 첨가한다. DBU 중 제2부를 첨가하고, 혼합물을 대기에 노출시킨다. 반응을 물로 퀀칭시키고, 여과하여 고체를 수집한다. 상기 고체를 수성 중탄산나트륨, 수성 아세트산, 물, 및 에탄올로 세척한다. 에탄올 중에 슬러리화시키고, 고체를 수집하여 생성물을 단리시킨다. 2단계: 원하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온(화합물 (1))을 동반하는, 잔류량의 2-아세틸-2,3-디히드로나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온 잔류량을 톨루엔 중 활성화된 이산화탄소를 사용하여 화합물 (1)로 산화시킨다. 혼합물을 목탄 케이크 및 셀라이트를 통해 여과한다. 여액을 농축시켜 생성물을 침전시키고, 여과하고, 건조시킨다. 3단계: 75℃-80℃에서 약 5 hr 동안 에틸 아세테이트(25 mL/g 정제된 화합물 (1)) 중에서 고체를 슬러리화시키고, 여과하여 수집하고, 건조시킨다. 상기 방법에 의해 제조된 화합물 (1)은 결정형 3이다. 슬러리 과정이 생략된 상기 방법에 의해 제조된 화합물 (1)은 결정형 1이다.

[0153] **화합물 입자 크기 분포가 혈중 혈장 약물 농도 및 선택적 항종양 활성에 미치는 효과**

[0154] 본 발명에 앞서, 어떤 미세화합물 (1)의 입자도 생성된 바 없고/거나 평가된 바 없었다. 종래 연구를 통해 화합물 (1)은 정상 세포 및 암 세포에 동등하게 독성을 띠는 것으로 나타났으며, 동물 모델에서 어떤 항종양 활성도 관찰되지 않았다. 화합물 (1)의 입자 크기를 감소시킨 결과, 생체이용률이 개선되었을 뿐만 아니라, 어떤 독성 징후도 없이 선택적 항종양 활성은 증가하였다는 것이 본원에 제시된 연구를 통해 입증되었다. 생체이용률이 개선되면, 암세포 및 정상 세포에 동등하게 이루어지는 화합물 (1)에의 노출도 증가하기 때문에 상기와 같은 결과는 예측하지 못했다. 정상 세포에의 독성은 증가하지 않으면서, 항암 활성은 선택적으로 증가하는 기전은 공지된 바 없다. 상기 연구에서, 화합물 (1)의 생체이용률의 개선은 D_{50} (즉, 분포를 이등분으로 나누는 입자 크기 분포의 중점)이 약 20 미크론일 때, 최대화되는 것으로 나타났다. 그러나, D_{50} 값이 약 2 미크론일 경우에 대해서도 추가 연구를 수행하였다. 놀랍게도, D_{50} 이 2 미크론인 미세화합물 (1)의 입자는, 비록 D_{50} 이 20 미크론인 입자와 비교하였을 때에는 약동학적 노출이 개선되지는 않았지만 그래도 항종양 활성을 증진시키기는 하였다. 추가 연구에서, D_{50} 이 약 100 nm(D_{50} =110.4 nm)인 나노화합물 (1)의 입자가 생성되었지만, 놀랍게도, 이 입자 크기의 화합물 (1)의 경우, 항종양 활성은 감소한 것으로 관찰되었다. 따라서, 바람직한 실시양태에서, 화합물 (1)의 입자, 예를 들어, 미세입자를 함유하는 조성물은 0.2 미크론 이상이고 20 미크론 이하인 D_{50} 을 가지며, 놀랍게도 정상 세포에 대한 세포 독성의 증가없이 강력한 항종양 활성을 가진다.

[0155] 입자 크기 범위가 상이한 화합물 (1)의 입자의 항종양 활성이 도 15에 도시되어 있고, 입자 크기 범위가 상이한 화합물 (1)의 입자의 약동학적 성질 데이터는 도 16-18에 도시되어 있다. 도 15에 제시된 연구에서, 확립된 피하 FaDu 인간 두부경부암을 앓는 면역억제 마우스에게 표시된 입자 크기를 가진 화합물 (1) 또는 비히를 대조군

을 명시된 양으로 경구적으로(po) 투여하였다. 모든 요법은 매일(qd) 실시하였다. 치료하는 동안 종양 크기를 주기적으로 평가하였다.

[0156] 정의된 입자 크기, 예를 들어, 감소된 입자 크기를 가진 입자 형태의 나프토프란 화합물을 투여한 결과, 생체내 혈장 약물 농도는 증진된 것으로 밝혀졌다. 본원에서, 달리 언급하지 않는 한, "크기" 및 "직경"이라는 용어는 입자를 설명하는 것으로 상호교환적으로 사용될 것이다. "직경"이라는 용어를 사용하는 것이 반드시 입자가 완벽하게 또는 대략적으로 구형 형태를 가진다는 것을 암시하는 것은 아님을 이해하여야 한다. 예를 들어, "직경"은 입자 크기의 근사치로서 사용될 수 있으며, 예를 들어, 비구형 입자와 부피가 동가인 구형의 직경으로서 사용될 수 있다.

[0157] 놀라운 결과로서, 약학 조성물 중 정의된 입자 크기 분포, 예를 들어, 소형 입자의 나프토프란 화합물 입자를 투여하자, 선택적 항종양 활성이 일어난 것으로 밝혀졌다. 예를 들어, 중앙 입자 크기가 20 μm (즉, 마이크론, 이들 용어는 본원에서 상호교환적으로 사용된다)인 입자로서 투여된 화합물은 비록 상대적으로는 약하기는 하지만, 마우스 이종이식편 모델에서 효능(선택적 항종양 활성)을 나타내었다. 그와 비교하여, 150 μm (마이크론)는 어떤 효능도 보이지 않았다. 보다 더 작은 입자 형태의 나프토프란 화합물을 투여함으로써 선택적 항종양 활성을 얻을 수 있다는 것은 놀라운 발견이며, 이는 가용성 또는 생체이용률의 개선만을 기초로 해서는 설명이 불가능하다. 즉, 일반적으로, 가용성 증가는 약물 경구 생체이용률 증가와 관련이 있으며, 이것이 항종양 활성 뿐만 아니라, 정상 세포에의 독성도 증진시킬 수 있다. 상기 논의된 바와 같이, 나프토프란 화합물은 WO 2009/036099 및 WO 2009/036101에서 기술된 정의된 조건하에서 노출되지 않는다면, 종양 세포 및 정상 세포에게 동등하게 독성을 떨 수 있다.

[0158] 추가의 놀라운 결과로서, 약학 조성물 중 크기가 추가로 감소된 입자의 나프토프란 화합물을 투여하자, 항종양 활성은 유의적으로 개선되었지만, 약동학적 성질 프로파일에는 거의 변화가 없는 것으로, 즉, 생체이용률에는 거의 변화가 없는 것으로 밝혀졌다. 예를 들어, 중앙 입자 크기가 2 μm (마이크론)인 입자로서 투여된 화합물은 마우스 이종이식편 모델에서 현저히 증진된 효능을 보였다. 20 μm 인 입자와 비교하여, 2 μm 인 입자는 유의적으로 개선되었지만, 매우 유사한 약동학적 성질 프로파일을 보였다. 다시 말해, 그러한 효능의 개선은 약동학적 성질 프로파일, 즉, 생체이용률과는 무관하다. 이 결과는, 가용성은 불충분하고 효능은 개선된 상기와 같은 화합물이 보통은 약물 경구 생체이용률 증가와 관련이 있다.

[0159] 그러므로, 선택적 항종양 활성이 개선되었다는 관찰 결과는 놀랍고 예상밖의 결과이다. 본 발명은 활성인, 즉 효능 또는 선택적 항종양 활성을 가진, 나프토프란 화합물, 예를 들어, 화학식 (I)의 화합물의 입자 또는 입자들을 제공한다. 활성 입자 또는 입자들은 정의된 입자 크기를 가지며, 예를 들어, 직경은 약 200 μm , 약 150 μm , 약 100 μm , 약 40 μm , 또는 약 20 μm , 약 10 μm , 약 5 μm , 약 4 μm , 약 3 μm , 약 2 μm , 약 1 μm , 약 0.5 μm , 약 0.2 μm , 또는 약 0.1 μm 이하이다. 정의된 입자 크기보다 큰 입자 또는 입자들은 불활성이거나, 본원에 기술된 입자보다 활성 정도가 더 작다.

[0160] 따라서, 보다 작은 입자 형태의 나프토프란 화합물 또는 또 다른 화학식 (I)에 따른 화합물을 투여하면 그의 선택적 항종양 활성은 개선될 수 있다. 투여시 정의된 입자 크기 분포를 가진 화학식 (I)에 따른 화합물의 입자를 사용하면 원하는 선택적 항종양 활성을 확립시킬 수 있다. 예를 들어, 정의된 입자 크기 분포를 가진 나프토프란 화합물 입자, 예를 들어, 보다 더 작은 입자를 사용하면, 보다 단시간 동안에 보다 더 높은 혈중 농도를 얻을 수 있고, 비록 상대적으로는 약하기는 하지만, 선택적 항종양 활성을 얻을 수 있다. 추가로 감소된 화합물의 입자 크기는 화합물의 혈중 혈장 농도는 변경시키지 않으면서 효능을 유의적으로 개선시킬 수 있다.

[0161] 본원에서, 달리 명시되지 않는 한, "혈중 혈장 농도," "혈중 몰 농도," 및 "혈중 농도"라는 용어는 상호교환적으로 사용한다. "신생물"이라는 용어는 비정상적인 성장 패턴을 보이는 세포를 기술하는 데 사용될 수 있다. 그러한 신생물은 양성 종양 및 악성 종양, 이 둘 모두, 예를 들어, 고형 종양 뿐만 아니라, 명확한 형상을 띠지도 않고, 인체 또는 동물 신체의 특정 영역으로도 국한되어 있지 않은 다른 세포 성장 장애, 예를 들어, 백혈병을 포함할 수 있다. 따라서, "신생물"은 암성 및 비암성 신생물 세포 및 조직, 둘 모두를 포함한다. 본원에서, 달리 언급되지 않거나, 명백화되지 않거나, 또는 구체적인 연구 또는 실험을 통해 언급하지 않는 한, "종양" 및 "암"이라는 용어는 인체 또는 동물 신체의 특정 영역으로도 국한되지 않는 것을 비롯한, 보다 광범위한 부류의 모든 신생물을 언급하는 것으로 이해되어야 한다. 그러나, "고형암"이라는 보다 한정된 용어는 명확한 형상을 띠지도 않고, 인체 또는 동물 신체의 특정 영역으로도 국한되어 있지 않은 다른 세포 성장 장애, 예를 들어, 백혈병을 포함하지 않는 것으로 이해되어야 한다.

[0162] 신생물은 하기 특징들 중 어느 것도 나타내지 않거나, 하나, 또는 1 초고의 특징을 나타낼 수 있다: 고형 형태

(고형암), 약성 종양, 전이, 또는 Stat 3 경로 활성화. 신생물은 예를 들어, 암 줄기 세포를 포함할 수 있다. 신생물은 예를 들어, 암종, 육종, 선암, 림프종, 또는 혈액학적 약성 종양일 수 있다.

[0163] 흡수란 약물을 투여 부위로부터 체내의 수용 부위로 가져오는 과정으로서 정의된다(문헌 [M. Rowland, T.N. Tozer (1995) Clinical pharmacokinetics: Concepts and applications. Lippincott Williams & Wilkins] 참조). 경구 약물 흡수는 대개 약물이 장세포의 꼭지면막을 통과하여 전달되는 것으로서 정의되는데, 이는 꼭지면막이 막 투여를 위한 속도 제한 계단인 것으로 간주되기 때문이다(문헌 ([U. Fagerholm & H. Lennernas (1995) Experimental estimation of the effective unstirred water layer thickness in the human jejunum, and its importance in oral drug absorption, Eur J Pharm Sci 3: 247-253]; [M.B. Lande, J.M. Donovan & M.L. Zeidel (1995) The relationship between membrane fluidity and permeabilities to water, solutes, ammonia, and protons, J Gen Physiol 106: 67-84])). 투과도란 약물이 얼마나 쉽게 막을 통해 전달되는지를 기술하는 일반 용어이다. 약물의 투과도의 구체적인 특징은 친유성, 전하, 크기, 및 극성 표면을 비롯한, 약물의 물리화학적 특성에 따라 달라진다(문헌 [Rowland & Tozer 1995; C.A. Lipinski, F. Lombardo, B.W. Dominy & P.J. Feeney (2001) Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings, Adv Drug Deliv Rev 46: 3-26] 참조). 흡수 속도는 약물의 투과도, 막 표면적, 및 막에 대한 농도 구배에 따라 달라진다. 농도 구배는 약물 막 수송에 대해 가장 일반적인 기전인 수동 확산의 구동력이다. 경구 투여의 경우, 약물은 주로 장에 의해 흡수된다. 인간 장의 길이는 약 5-8 m 이고, 총 표면적은 거의 200 m²에 달하는 반면, 마우스 장의 길이는 단지 약 10-20 cm 밖에 되지 않는다. 그러므로, 더 큰 입자 크기를 가진 약물의 투과도가 더 작은 입자 크기를 가진 약물의 것보다는 더 낮음에도 불구하고, 더 큰 입자 크기를 가진 약물의 인간에서의 흡수율은 더 작은 입자 크기를 가진 약물의 마우스에서의 흡수율보다 더 높거나, 동일할 수 있다.

[0164] 예를 들어, 약학 제제로 투여되었을 때, 직경의 중앙값이 약 200 μm , 150 μm , 100 μm , 80 μm , 60 μm , 40 μm , 20 μm , 10 μm , 5 μm , 4 μm , 3 μm , 2 μm , 1 μm , 0.5 μm 또는 0.2 μm 이하인 화학식 (I)에 따른 화합물의 입자 크기의 분포가 예를 들어, 암 또는 종양 치료를 위한 선택적 항종양 활성을 유도하는 것으로 예측할 수 있다. 예를 들어, 입자 크기의 분포는 입자의 직경의 중앙값이 약 0.02 μm 내지 약 5 μm , 또는 약 0.2 μm 내지 약 4 μm 이 되도록 할 수 있다. 예를 들어, 입자 크기의 분포는 입자의 직경의 중앙값은 약 5 μm 이하이고, 직경의 중앙값에 대한 평균 직경의 비는 최대 약 2 이하이고, 직경의 중앙값에 대한 최빈경의 비는 약 0.25 이상이다.

[0165] "입자"라는 용어는 화학식 (I)의 화합물의 응집체로 정의될 수 있다. "평균"이라는 용어는 모든 입자의 크기의 총합을 입자 총 개수로 나눈 값으로 정의될 수 있다. "중앙값"이라는 용어는 예를 들어, 입자의 절반은 그보다 큰 직경을 가지고, 입자의 절반은 그보다 작은 직경을 가지게 되는 것인 직경으로서 정의될 수 있다. "최빈값"이라는 용어는 가장 빈번하게 발생하는 입자 크기 값을 나타낼 수 있다. "누계"라는 용어는 모든 입자를 의미할 수 있다.

[0166] 나프토푸란 화합물 입자의 투여에 의해 달성되는 선택적 항종양 활성은 입자의 크기 분포, 예를 들어, 입자의 부피, 또는 그 부피를 나타내는 직경 뿐만 아니라, 입자의 형상 및 형상의 분포에 따라 달라질 수 있다. 예를 들어, 바늘 모양의 형상을 가진 입자 세트는 구형 형상을 가진 입자 세트와 다른 약동학적 성질 프로파일을 가지게 될 수 있다. 따라서, 측정하고자 하는 입자의 형상 및 형상 분포를 측정하고/거나, 미리 결정된 형상 및 형상 분포, 예를 들어, 거의 균일한 형상을 가진 입자, 예를 들어, 구형에 가까운 입자를 제조하는 방법을 사용하는 것이 바람직할 수 있다. 예를 들어, 입자의 구형도, 또는 하기와 같이 정의될 수 있다:

$$\Psi = \frac{\pi^{1/3}(6V_p)^{2/3}}{A_p}$$

[0167] (여기서, V_p 는 입자의 부피이다. A_p 는 입자의 표면적이다). 구형의 구형도 Ψ 는 1이고, 입자의 구형도가 1에 가까울수록, 입자의 형상은 구형에 더 가까워진다. 비교로서, 사면체의 구형도는 약 0.671이고, 정육면체의 구형도는 약 0.806이며, 팔면체의 구형도는 약 0.846이고, 십이면체의 구형도는 약 0.910이고, 이십면체의 구형도는 약 0.939이다. 구형 형상이 주어진 부피에 대한 표면적을 최소화시키기 때문에, 구형에 가까운 입자가 구형에 덜 가까운, 같은 부피의 입자보다 더 느리게 용해될 것으로 예상할 수 있다. 구형 세트의 평균 구형도는 하기와 같이 정의될 수 있다:

$$\Psi_m = \frac{\pi^{1/3} (6 \sum V_p)^{2/3}}{\sum A_p}$$

[0169]

[0170]

(여기서, $\sum V_p$ 는 입자 모두의 총 부피이고, $\sum A_p$ 는 입자 모두의 총 표면적이다). 예를 들어, 투여되는 화학식 (I)에 따른 화합물의 입자의 평균 구형도는 약 0.8 이상이거나, 평균 구형도는 약 0.9 이상일 수 있다.

[0171]

크기, 크기 분포, 형상, 형상 분포, 및 인자, 예를 들어, 입자의 표면 조도 또는 요철이 약학 제제로 투여되는 화합물 (1) 입자 세트의 평균 비표면적에 영향을 줄 수 있다. 평균 비표면적은 $\frac{\sum A_p}{\sum m_p}$ 로 정의될 수 있다(여기서, $\sum A_p$ 는 입자의 총 표면적이고, $\sum m_p$ 는 입자의 총 질량이다). 입자의 평균 비표면적이 클수록 입자의 용해 기대 속도는 더 빨라진다.

[0172]

약학 제제 중 화학식 (I)에 따른 화합물의 입자는 상이한 입자 간에, 또는 같은 입자 내에서 결정질 상태의 나프토푸란 화합물을 포함할 수 있다. 결정질 상태는 상이한 입자 간에, 또는 같은 입자 내에서 하나 이상의 다형체를 포함할 수 있다. 당업자가 이해하고 있는 바와 같이, 입자의 용해 속도는 화합물 입자의 물질의 상태에 의해, 예를 들어, 결정질인지, 또는 제1 다형체인지, 또는 제2 다형체인지에 의해 영향을 받을 수 있다.

[0173]

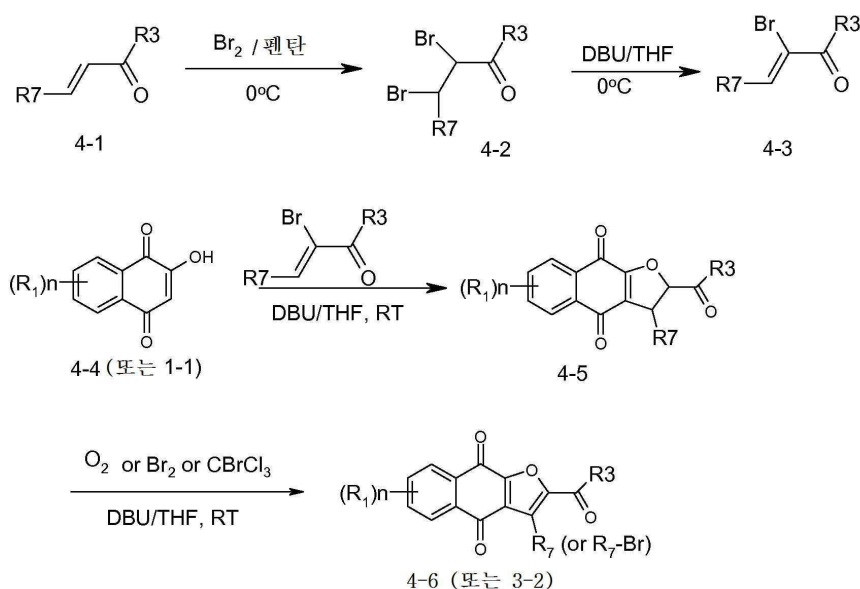
약학 제제 중 화학식 (I)에 따른 화합물의 입자의 크기 및/또는 크기 분포를 측정하는 데 하나 이상의 다양한 기법이 적용될 수 있다. 예를 들어, 체 분석법, 광학 현미경 계수법, 전자 현미경 사진 계수법, 전자저항 계수법, 침강 시간, 레이저 회절법, 및/또는 광음향 분광법이 적용될 수 있다. 이러한 기법들 중 일부 또는 그들 모두 또는 그의 변형 방법이 약학 제제 중 나프토푸란 화합물 입자의 형상, 형상 분포, 및/또는 비표면적을 측정하는 데 적용될 수 있다. BET 등은 및/또는 공기 투과 비표면적 기법이 약학 제제 중 화학식 (I)에 따른 화합물의 입자의 비표면적을 측정하는 데 적용될 수 있다.

[0174]

나프토푸란 화합물 생성 방법

[0175]

WO 2009/036099 및 WO 2009/036101에는 하기와 같이 화학식 (II)의 나프토푸란 화합물을 제조하는 제조 방법이 개시되어 있다.



DBU: 1,8-디아자비사이클로[5.4.0]온덱-7-엔;
THF: 테트라히드로푸란;
RT: 실온

[0176]

[0177]

상기 방법에서, 외기 용기 중에 3-브로모-3-부텐-2-온(4-3)을 2-히드록시-1,4-나프토푸논(4-4)과 반응시켜 2,3-디히드로나프토프[2,3-b]푸란-4,9-디온(4-5)을 수득하였다. 2,3-디히드로나프토프[2,3-b]푸란-4,9-디온(4-5)을 외기로부터 산소에 의해 산화시켜 나프토프[2,3-b]푸란-4,9-디온(4-6)을 수득하였다. 그러나, 상기 방법에 의해 생

산된 나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온을 사용하였을 때, 상기 화합물을 추가로 개발하는 동안, 상기 방법을 통해서 이들 화합물의 임상적 적용의 잠재능을 방해하는 상당량의 각종 불순물이 여전히 생성되는 것으로 확인되었다. 일부 실시양태에서, 불순물 중 하나는 2,3-디히드로나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온(4-5)이다.

[0178] 한 측면에서, 본 발명은 나프토푸란을 제조하는 개선된 방법을 제공한다. 개선된 방법을 통해 불순물은 최소화될 수 있으며, 이로써 실질적으로 순수한 나프토푸란이 제조된다. 본원에서 사용되는 바, "실질적으로 순수한"이라는 용어는 HPLC 면적%로 측정하였을 때, 제제가 본 발명의 화합물을 적어도 약 80% 이상 포함한다는 것을 의미한다. 일부 실시양태에서, 나프토푸란은 나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온 및 그와 관련된 화합물(4-6)이다.

[0179] 일부 실시양태에서, 본 발명의 방법은 제1 용매 중에서 3-브로모-3-부텐-2-온(4-3) 및 2-히드록시-1,4-나프토퀴논(4-4)을 커플링하여 얻은 조 생성물을 산화제로 산화시키는 것을 포함한다. 추가의 실시양태에서, 산화제는 이산화망간(MnO_2)이다. 추가의 실시양태에서, 산화시키기 전에 조 생성물을 단리시킨다. 일부 실시양태에서, 제1 용매는 톨루엔 또는 클로로포름이다.

[0180] 일부 실시양태에서, 본 발명의 방법은 추가로 숙성된 산화 혼합물을 목탄으로 처리하여 특정의 불순물을 제거하는 것을 포함한다. 추가의 실시양태에서, 활성탄 패드를 사용하여 숙성된 산화 혼합물을 여과한다. 추가의 실시양태에서, 혼합물을 약 100°C에서 여과한다.

[0181] 일부 실시양태에서, 본 발명의 방법은 추가로 생성물을 여액으로부터 결정화하는 것을 포함한다. 추가의 실시양태에서, 증발을 통해 여액을 농축시키고, 냉각시킴으로써 생성물을 결정화한다.

[0182] 일부 실시양태에서, 본 발명의 방법은 추가로 제2 용매를 사용하여 생성물을 재결정화하는 것을 포함한다. 추가의 실시양태에서, 제2 용매는 에틸 아세테이트이다.

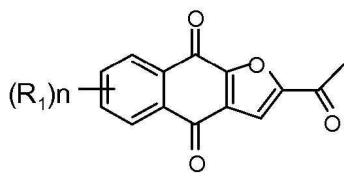
[0183] 대체 실시양태에서, 본 발명의 방법은 추가로 제1 용매로부터 결정화된 생성물을 제2 용매 중에 슬러리화하고, 상기 슬러리를 가열시키고, 슬러리를 냉각시키는 것을 포함한다. 추가의 실시양태에서, 제2 용매는 에틸 아세테이트이다. 일부 실시양태에서, 생성물을 슬러리화시키고, 단지 부분적으로만 용해될 때까지 가열한다. 추가의 실시양태에서, 생성물을 슬러리화시키는 데 사용되는 제2 용매의 부피는 가열 조건하에서 생성물을 완전하게 용해시키는 데 필요한 부피의 약 1/10, 1/5, 1/4, 1/3, 1/2, 또는 2/3이다.

[0184] 본 발명은 또한 본 발명의 방법에 의해 제조된 나프토푸란 화합물을 제공한다. 일부 실시양태에서, 나프토푸란 화합물은 2-(1-히드록시에틸)-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-아세틸-7-클로로-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-아세틸-7-플루오로-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-아세틸나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-에틸-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 인산 모노-[1-(4,9-디옥소-3a,4,9,9a-테트라히드로-나프토[2,3-b]푸란-2-일)-비닐]에스테르, 인산 1-(4,9-디옥소-3a,4,9,9a-테트라히드로-나프토[2,3-b]푸란-2-일)-비닐 에스테르 디메틸 에스테르, 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 호변 이성질체, 및 그의 염 또는 용매화물로 이루어진 군으로부터 선택된다. 추가의 실시양태에서, 나프토푸란 화합물은 톨루엔의 존재하에서 2-히드록시-1,4-나프토퀴논(4-4) 및 3-브로모-3-부텐-2-온(4-3)을 커플링하여 얻은 단리된 조 생성물을 이산화망간과 함께 반응시키는 것을 포함하는 방법에 의해 제조된다. 추가의 실시양태에서, 본 방법은 추가로 활성탄 패드를 사용하여 숙성된 반응 혼합물을 여과하는 것을 포함한다.

[0185] 또 다른 측면에서, 본 발명은 실질적으로 순수한 나프토푸란 화합물을 제공한다.

[0186] 일부 실시양태에서, 본 발명은 2-(1-히드록시에틸)-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-아세틸-7-클로로-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-아세틸-7-플루오로-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-아세틸나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-에틸-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 인산 모노-[1-(4,9-디옥소-3a,4,9,9a-테트라히드로-나프토[2,3-b]푸란-2-일)-비닐]에스테르, 인산 1-(4,9-디옥소-3a,4,9,9a-테트라히드로-나프토[2,3-b]푸란-2-일)-비닐 에스테르 디메틸 에스테르, 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 호변 이성질체, 및 그의 염 또는 용매화물로 이루어진 군으로부터 선택된 실질적으로 순수한 화합물을 제공한다.

[0187] 일부 실시양태에서, 본 발명은 실질적으로 순수한, 하기 화학식(II)의 화합물을 제공한다:



(II)

[0188]

[0189] 상기 식에서, 각각의 R₁은 독립적으로 H, Cl, 또는 F이고; n은 0, 1, 2, 3, 또는 4이다.

[0190]

본원에서 사용되는 바, "실질적으로 순수한"이라는 것은 순도가 약 80% 이상인 것을 의미한다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 화합물의 순도는 약 85%, 약 90%, 약 95%, 또는 약 99% 이상인 순도를 가진다. 추가의 실시양태에서, 본 발명의 화합물의 순도는 약 99.5%, 또는 약 99.8% 이상인 순도를 가진다. 추가의 실시양태에서, 본 발명의 화합물의 순도는 약 99.85%, 약 99.90%, 약 99.94%, 약 99.95%, 또는 약 99.99% 이상인 순도를 가진다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 화합물은 2-(1-히드록시에틸)-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-아세틸-7-클로로-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-아세틸-7-플루오로-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-아세틸나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-에틸-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 인산 모노-[1-(4,9-디옥소-3a,4,9,9a-테트라히드로-나프토[2,3-b]푸란-2-일)-비닐]에스테르, 인산 1-(4,9-디옥소-3a,4,9,9a-테트라히드로-나프토[2,3-b]푸란-2-일)-비닐 에스테르 디메틸 에스테르, 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 호변 이성질체, 및 그의 염 또는 용매화물로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 화합물은 다형체이다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 화합물은 화학식(I)에 따른 화합물의 다형체이다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 화합물은 화합물 (1)의 다형체이다.

[0191]

본 발명의 화합물에 존재할 수 있는 전형적인 불순물로는 부산물, 이성체, 중간체, 및 용매로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 화합물에 존재할 수 있는 불순물은 화학식(II)의 화합물에 대해 상대적으로 약 10%, 약 8%, 약 5%, 약 2%, 또는 약 1% 이하이다. 추가의 실시양태에서, 본 발명의 화합물에 존재할 수 있는 불순물은 화학식(II)의 화합물에 대해 상대적으로 약 0.5%, 약 0.2%, 약 0.15%, 또는 약 0.1% 이하이다. 추가의 실시양태에서, 본 발명의 화합물에 존재할 수 있는 불순물은 화학식(II)의 화합물에 대해 상대적으로 약 0.05%, 약 0.02%, 또는 약 0.01% 이하이다. 일부 실시양태에서, 실질적으로 순수한, 화학식(II)의 화합물은 화학식(II)의 화합물에 대해 상대적으로 약 500, 200, 100, 50, 20, 10, 5, 2, 1, 0.5, 0.2, 0.15, 0.1, 또는 0 백만분율(p.p.m.: parts per million) 이하의 잔류 부산물 또는 부산물들을 포함한다.

[0192]

일부 실시양태에서, 불순물은 2-아세틸-2,3-디히드로나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2,6-디아세틸-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2,7-디아세틸-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 3-아세틸-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 나프토[2,3-b]푸란-4,9-디올, 및 1-(4,9-디히드록시-나프토[2,3-b]푸란-2-일)-에탄올로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 부산물들을 포함한다.

[0193]

일부 실시양태에서, 불순물은 망간(Mn)을 포함한다.

[0194]

본 발명의 화합물의 순도는 각종 장치를 사용하여 측정될 수 있다. 일부 실시양태에서, 순도는 HPLC(고성능 액체 크로마토그래피)로 측정된다. 일부 실시양태에서, 순도는 NMR(핵자기 공명)로 측정된다. 추가의 실시양태에서, 순도는 HPLC 및 NMR로 측정된다.

[0195]

화합물 (1)을 함유하는 상기의 고도로 순수한 조성물은 화합물 (1)을 함유하되, 덜 순수한 조성물과 비교하였을 때, 동물 실험에서 유의적으로 개선된 안전성 프로파일을 보인다. 고도로 순수한 화합물 (1)의 어떤 부작용의 징후도 마우스에서 관찰되지 않았다. 추가로, 화합물 (1)을 함유하는 상기의 고도로 순수한 조성물은 환자에서 테스트되었으며, 특출한 안전성이 입증되었다. 예를 들어, 도 13에는 화합물 (1)에 대한 순도가 약 90%인 조성물을 사용하였을 때 관찰된 독성이 도시되어 있는 반면, 도 14에는 화합물 (1)에 대한 순도가 약 95% 이상인 고도로 순수한 조성물이 안전하고 효과적이라는 것이 도시되어 있다. 도 13에 제시된 연구에서는, 확립된 피하 FaDu 인간 두부경부암(상단 패널) 또는 MDA-231 인간 유방암(하단 패널)을 앓는 면역억제 마우스에 화합물 (1), 또는 비히클 대조군을 명시된 용량으로 경구(po) 투여하였다. 화합물 (1)을 겔루시르™ 중에서 제제화하였다. 모든 요법은 매일(qd) 실시하였다. 처리기간 동안 주기적으로 체중을 평가하였다. 각 시점은 8개의 종양에 대한

평균 $\pm$ SEM을 나타낸다. 약 90% 순도의 화합물 (1)을 사용한 경우에는 유의적인 독성이 관찰되었다. 제1 실험(상단 패널)에서는 처리기간 동안 총 4마리의 마우스가 사망하였으며(16일째 1마리, 19일째 2마리, 및 23일째 1마리), 따라서, 사망한 후에는 상기 마우스들의 체중을 플롯에 포함시키지 않았다. 제2 실험(하단 패널)에서는 처리기간 동안 총 3마리의 마우스가 사망하였으며(14일째 1마리, 및 21일째 2마리), 따라서, 사망한 후에는 상기 마우스들의 체중을 플롯에 포함시키지 않았다. 도 14에 제시된 연구에서는, 피하 FaDu 인간 두부경부암(상단 패널) 또는 MDA-231 인간 유방암(하단 패널)을 앓는 면역억제 마우스에 화합물 (1), 또는 비히클 대조군을 명시된 용량으로 경구(po) 투여하였다. 화합물 (1)을 겔루시르™ 중에서 제제화하였다. 모든 요법은 매일(qd) 실시하였다. 처리기간 동안 주기적으로 체중을 평가하였다. 각 시점은 8개의 종양에 대한 평균 $\pm$ SEM을 나타낸다. 보다 고순도의 화합물 (1)의 내성은 우수하였고, 어떤 독성 징후도 보이지 않았다. 두 실험 모두에서 처리기간 동안 내내 모든 마우스는 건강한 상태로 유지되었다. I상 연구에서는 화합물 (1)의 용량을 20 mg/일에서 2,000 mg/일로 단계적으로 확대시켰으며, 최대 내성 용량(MTD: maximum tolerated dose)에 도달하지는 않았다. 어떤 용량 제한 독성도 관찰되지 않았다. 약물로부터 유도된 부작용없이 환자는 화합물 (1)에 대해 우수한 내성을 띠었는데, 이는 암 화학요법제와는 확연한 대조를 이룬다. 실질적으로 순수한 화합물 (1)의 조성물의 임상 안전성 프로파일은 역사상 종양학 약물 중에서 최고에 속한다.

[0196] 약학 제제

[0197] 특정의 부형제 또는 증진제가 약학 제제 중 주어진 입자 크기 분포를 가진 화학식 (I)에 따른 화합물 입자의 경구적 생체이용률을 증진시키는 것으로 밝혀졌다. 예를 들어, 약학적 화합성인 부형제 겔루시르™ 44/14(Gattefosse에 의해 제조된 폴리에틸렌 글리콜 글리세릴 라우레이트)를 첨가하면, 중앙 입자 크기가 약 20 미크론 이하인 화합물 (1)의 생체이용률을 증가시킬 수 있다. 경구적 생체이용률을 증진시키거나 제어하는 데 사용될 수 있는 다른 부형제의 예로는 계면활성제, 예를 들어, 트윈(TWEEN) 80™ 또는 트윈 20™(폴리소르베이트, 즉, 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노라우레이트) 또는 특정 지질, 예를 들어, 포스파티딜콜린, 예를 들어, 디미리스토일포스파티딜콜린(DMPC)을 포함한다. 계면활성제로는 양쪽성이고, 소수성 및 친수성 기, 둘 모두를 포함하는 화합물을 포함한다. 다른 부형제로는 예를 들어, 지방산의 글리세롤 에스테르, 포화 지방산의 글리세롤 에스테르, 탄수소 8 내지 18인 포화 지방산의 글리세롤 에스테르, 글리세릴 라우레이트, 폴리에틸렌 글리콜, 폴리옥시에틸렌 소르비탄 알킬레이트, 셀룰로스 또는 셀룰로스 유도체, 예를 들어, 미세결정성 셀룰로스 및 카르복시메틸 셀룰로스(CMC) 뿐만 아니라, 지질, 예를 들어, 스테롤, 예를 들어, 콜레스테롤을 포함할 수 있다. 다른 부형제로는 항산화제, 예를 들어, 비타민 E를 포함할 수 있다. 당업자가 이해하는 바와 같이, 본 발명에 따른 약학 제제에 다른 부형제 및 추가 성분이 포함될 수 있다. 예를 들어, 다른 활성 제제, 표준 비히클, 담체, 액체 담체, 염수, 수용액, 희석제, 계면활성제, 분산제, 불활성 희석제, 과립제 및 봉해제, 결합제, 윤활제, 활택제, 발염제, 감미제, 향미제, 착색제, 방부제, 생리학적으로 분해가능한 조성물, 예를 들어, 젤라틴, 수성 비히클 및 용매, 오일성 비히클 및 용매, 현탁제, 분산제 또는 습윤제, 현탁제, 유화제, 보호제, 완충제, 염, 증점제, 젤라틴, 충전제, 유화제, 항산화제, 항생제, 항진균제, 안정화제, 물, 글리콜, 오일, 알콜, 결정화 지연제(예를 들어, 당의 결정화 지연), 전분, 당, 수크로스, 계면 활성제, 임의의 다른 성분들의 용해도를 증가시키는 제제, 예를 들어, 폴리히드록시 알콜, 예를 들어, 글리세롤 또는 소르비톨, 약학적 허용가능한 중합체 또는 소수성 물질 및 다른 성분들도 포함될 수 있다. 첨가되는 적절한 첨가제 또는 제제는 당업자가 이해하는 바와 같이, 제형(예를 들어, 주사액, 캡슐제, 또는 환제)에 따라 달라질 것이다.

[0198] 본 발명의 화학식(I)에 따른 화합물은 "약학 조성물"로 제제화될 수 있다. 본 발명에 따른 실시양태는 예를 들어, 환자를 치료하는 데 유용할 수 있는, 화합물을 포함하는 각종 제형을 포함한다. 예를 들어, 경구용 제형으로는 정제, 환제, 캡슐제(경질 또는 연질), 캐플릿, 분제, 과립제, 현탁제(예를 들어, 수성 또는 오일성 비히클 중의 것), 액제(예를 들어, 수성 또는 오일성 비히클 중의 것), 겔제, 카세제, 트로키, 로젠지, 시럽제, 엘릭시르, 에멀전, 물약, 수중유 에멀전, 또는 유중수 에멀전을 포함할 수 있다. 그의 투여가 용이하기 때문에, 정제 및 캡슐제가 바람직한 경구용 제형을 나타낼 수 있다. 경구용 고체 제형은 표준 기법에 의해 당 코팅될 수 있거나, 장용 코팅될 수 있다. 예를 들어, 비강 및 다른 점막 분무용 제제(예를 들어, 흡입용 제형)은 보존제 및 등장제와 함께 활성 화합물의 정제된 수용액을 포함할 수 있다. 이러한 제형은 비강 또는 다른 점막과 화합성인 pH 및 등장 상태로 조정되는 것이 바람직하다. 별법으로, 기체 캐리어 중에 현탁된 미세 분할된 고체 분제 형태, 흡입제 형태, 또는 에어로졸 형태일 수 있다. 그러한 제제는 임의의 적합한 수단 또는 방법에 의해, 예를 들어, 네블라이저, 분무기, 계량식 흡입기 등에 의해 전달될 수 있다. 예를 들어, 본 발명에 따른 약학 조성물은 예를 들어, 연고제, 크림제, 또는 좌제 형태로 국소적으로 투여될 수 있다. 예를 들어, 본 발명에 따른 약학 조성물은 주사 항원을 주사함으로써 투여될 수 있다. 따라서, 본 발명에 따른 제형은 예를 들어, 고체, 반-고체, 액체, 또는 기체 형태를 가질 수 있다. 적합한 제형은 경구, 직장, 설하, 점막, 비강, 안내, 피하, 근

육내, 정맥내, 비경구, 경피, 척수, 경막내, 관절내, 동맥내, 지주막하, 기관지, 림프관, 및 자궁내 투여, 및 활성 성분의 전신 전달을 위한 다른 제형을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 활성 성분, 예를 들어, 화학식 (I)에 따른 화합물은 피험체(환자)에게 투여된 이후, 속방성, 서방성, 지연 방출성, 또는 당업자에게 공지된 임의의 다른 방출 프로파일을 제공하는 제제 중에 포함되어 있을 수 있다. 주어진 치료를 위해 선택된 투여 모드 및 제형은 주어진 치료 적용에 바람직하고 효과적인 화합물 또는 조성물의 치료학적 양 뿐만 아니라, 인자, 예를 들어, 피험체(환자)의 정신 상태 및 건강 상태와 밀접한 관계가 있다.

[0199] 본 발명의 약학 조성물은 대량으로, 단일 단위 용량으로, 여러 개의 단일 단위 용량으로, 또는 다중 용량 제형으로 제조, 패키징, 또는 판매될 수 있다. 본원에서 사용되는 바, "단위 용량"이란 미리 결정된 양의 활성 성분을 포함하는 약학 조성물의 개별량이다. 각 단위 용량 중 활성 성분의 양은 일반적으로 투여되는 활성 성분의 총량과, 또는 총 투여량의 편리한 부분량, 예를 들어, 상기 투여량의 $\frac{1}{2}$ 또는 $\frac{1}{3}$ 과 같다. 경구 투여용으로 적합한 본 발명의 약학 조성물의 제제는 개별 고체 제형 단위 형태일 수 있다. 각각의 고체 제형 단위는 미리 결정된 양의 활성 성분, 예를 들어, 단위 용량 또는 그의 부분량을 함유한다. 본원에서 사용되는 바, "오일성" 액체는 물보다 극성이 덜한, 탄소 또는 실리콘계 액체를 포함하는 것이다. 그러므로, 그러한 약학 제형에서, 활성 제제는 바람직하게는 하나 이상의 약학적 허용가능한 담체(들)와 함께, 및 임의로는 다른 치료학적 성분과 함께 사용된다. 담체(들)는 제제의 다른 성분들과 화합성이고, 그를 받는 수혜자에게 과도하게 유해하지 않아야 한다는 측면에서 약학적으로 허용되어야 한다. 본 발명의 조성물은 각 제형 단위, 예를 들어, 티스푼, 정제, 캡슐제, 액제, 또는 좌제가 단독으로, 또는 다른 약학적 활성 제제와 함께 적절히 조합되어 미리 결정된 양의 활성 약물 또는 프로드럭을 함유하는 것인 단위 제형으로 제공될 수 있다. "단위 제형"이라는 용어는 각 단위가 단독으로, 또는 다른 활성 제제와 함께 조합되어, 원하는 효과를 가져오는 데 충분한 양으로 미리 결정된 양의 본 발명의 조성물을 함유하는 것인, 인간 및 동물 피험체를 위해 단위 투여하기에 적합한 물리적으로 분리된 단위를 의미한다.

[0200] 본 발명의 약학 조성물의 제형은 당업계에 공지된 기법에 의해 제조될 수 있으며, 치료적 유효량의 활성 화합물 또는 성분을 함유한다. 공지된 또는 이후 개발되는 임의의 기법은 본 발명에 따른 약학 조성물 또는 제제의 제조를 위해 사용될 수 있다. 일반적으로, 제조 방법은 활성 성분을 담체 또는 하나 이상의 다른 추가 성분과 혼합한 후, 필요하거나 원하는 경우, 생성물을 원하는 단일 또는 다중 투여 단위로 성형하거나 패키징하는 것을 포함한다. 본 발명에 따른 분말형 및 과립형 제제는 공지된 방법 또는 이후 개발되는 방법을 사용하여 제조될 수 있다. 그러한 제제는 피험체에게 직접 투여될 수 있거나, 또는 예를 들어, 정제를 제조하는 데, 캡슐제를 충전시키는 데, 또는 수성 또는 오일성 비히클을 그에 첨가함으로써 수성 또는 오일성 현탁제 또는 액제를 제조하는 데 사용될 수 있다. 정제는 임의로 하나 이상의 보조 성분과 함께 압착 또는 몰딩에 의해, 또는 습식 과립화에 의해 제조될 수 있다. 압착 정제는 자유 유동성 형태의 활성 성분, 예를 들어, 분말형 또는 과립형 제제를 적합한 장치 중에서 압착시킴으로써 제조될 수 있다. 몰딩된 정제는 활성 성분, 약학적 허용가능한 담체, 및 적어도 혼합물을 습윤화시키는 데 충분한 액체로 구성된 혼합물을 적합한 장치 중에서 몰딩함으로써 제조될 수 있다. 정제는 비코팅형일 수 있거나, 당업계에 공지된 방법 또는 개발되는 방법을 사용하여 코팅될 수 있다. 코팅된 정제는 예를 들어, 장용 코팅을 사용함으로써 활성 성분이 서방성으로 방출되고 흡수될 수 있도록 하여 피험체의 위장관에서 지연 분해되도록 제제화될 수 있다. 정제는 추가로 약학적으로 우수하고, 맛이 좋은 제제를 제공하기 위한 성분을 포함할 수 있다. 활성 성분을 포함하는 경질 캡슐제는 생리학상 분해가능한 조성물, 예를 들어, 젤라틴을 사용하여 제조될 수 있다. 그러한 경질 캡슐제는 활성 성분을 포함한다. 활성 성분을 포함하는 연질 젤라틴 캡슐제는 생리학상 분해가능한 조성물, 예를 들어, 젤라틴을 사용하여 제조될 수 있다. 그러한 연질 캡슐제는 활성 성분을 포함하며, 이는 물 또는 오일 매질과 함께 혼합될 수 있다. 투여하기 적합한 본 발명의 약학 조성물의 액체 제제는 액체 형태로, 또는 사용 전 물 또는 또 다른 적합한 비히클로 재구성시키고자 하는 건식 제품 형태로 제조, 패키징, 및 판매될 수 있다. 활성 성분이 수성 또는 오일성 비히클 중에 분산되어 있는 액체 현탁제, 및 활성 성분이 수성 또는 오일성 비히클 중에 용해되어 있는 액체 액제는 종래 방법 또는 개발되는 방법을 사용하여 제조될 수 있다. 활성 성분의 액체 현탁제는 수성 또는 오일성 비히클 중에 존재할 수 있다. 활성 성분의 액체 액제는 수성 또는 오일성 비히클 중에 존재할 수 있다. 그러한 약학 제형을 제조하기 위해, 활성 성분, 예를 들어, 나프토평산을 종래의 약학 배합 기법에 따라 약학 담체와 함께 친밀하게 혼합할 수 있다. 담체는 투여에 바람직한 제제의 형태에 따라 매우 다양한 형태를 취할 수 있다. 경구용 제형의 조성물을 제조할 때, 일반 약학 매질 중 임의의 것을 사용할 수 있다.

[0201] 본 발명에 따른 일부 실시양태에서, 제조 물품은 화학식 (I)에 따른 화합물을 포함하는 약학 조성물을 치료적 유효량으로 포함하는 용기를 포함한다. 용기는 약학적 허용가능한 부형제를 포함할 수 있다. 용기는 인쇄된 라벨링 사용 설명서를 포함할 수 있다. 예를 들어, 인쇄된 라벨링에는 약학 조성물이 투여되어야 하는 투여량, 및

빈도, 및 음식물과 함께, 또는 음식물 섭취 이전 또는 이후 정의된 기간 이내에 조성물을 투여해야 하는지 여부가 명시되어 있을 수 있다. 조성물은 제형을 수용하고 분배할 수 있으며, 조성물과는 유의적으로 상호작용 하지 않는 임의의 적합한 용기 중에 포함되어 있을 수 있다. 라벨링 사용 설명서는 본원에 기술된 치료 방법과 일치할 수 있다. 라벨링은 라벨링과 용기, 이 둘의 물리적인 근접 상태가 유지될 수 있도록 하는 수단에 의해 용기와 결합되어 있을 수 있다. 비제한적인 일례로, 용기 및 라벨링, 이 둘은 포장재, 예를 들어, 상자 또는 플라스틱 수축 포장재에 포함되어 있을 수 있거나, 예를 들어, 사용 설명서를 보기 어렵게 만드는 것은 아닌 접착제, 또는 다른 부착 또는 고정 수단으로 용기에 부착된 사용 설명서와 결합되어 있을 수 있다.

[0202] **선택된 입자 크기 분포를 가진 약학 제제를 제조하고, 최적의 입자 크기 분포를 확인하는 방법**

[0203] **밀링 공정**

[0204] 본 발명에 따른 방법에서, 밀링 또는 분쇄 공정을 사용하여 활성 성분 또는 화학식 (I)에 따른 화합물의 입자 크기를 감소시킬 수 있다. 예를 들어, 밀링 또는 분쇄 공정은 입자의 중앙 크기가 200 μm , 150 μm , 100 μm , 40 μm , 20 μm , 5 μm , 2 μm 이상이거나, 또는 이하의 크기인 입자를 제조하는 데 적합할 수 있다. 그러한 밀링 또는 분쇄 공정은 예를 들어, 볼 밀링, 롤 밀링, 제트 밀링, 습식 밀링, 초음파 밀링, 분쇄, 및 조합을 포함할 수 있다. 예를 들어, 본 공정은 경질 표면으로 입자에 충격을 가하여, 또는 입자에 고압을 가하여, 예를 들어, 두 표면 사이에서 입자를 스퀴징하여 입자 크기를 감소시킬 수 있다. 예를 들어, 제트 밀링에서는 기체 스트림이 입자를 연행하여 이를 고속으로 가속화시킨다. 이어서, 입자는 다른 입자 및 벽에 충격을 가하게 되고, 이는 보다 작은 입자로 파열된다. 예를 들어, 습식 밀링에서는, 입자를 액체와 조합하고, 생성된 슬러리를 고전단 혼합기에 통과시켜 입자를 파열시킨다. 예를 들어, 초음파 밀링에서는, 입자, 예를 들어, 슬러리 중의 입자를 초음파 방사에 노출시킨다. 초음파에 의해 유도된 캐비테이션이 입자를 크기가 보다 더 작은 입자로 파열시킬 수 있다.

[0205] 밀링 또는 분쇄 작업에 입자를 사용하기 전에 입자의 온도를 강하시키는 것이 이로울 수 있다. 예를 들어, 입자를 극저온 유체, 예를 들어, 액체 질소에 노출시키거나, 그에 침지시켜 극저온 온도로 온도를 강하시킬 수 있다. 상기와 같이 온도를 강하시키면 입자의 취성은 더 커질 수 있고, 밀링 또는 분쇄 작업에서 그의 크기는 더욱 쉽게 감소될 수 있다. 밀링 또는 분쇄 공정에 이어서, 선별 공정, 예를 들어, 시빙을 사용함으로써 입자 크기의 범위를 좁힐 수 있다.

[0206] **결정화 공정**

[0207] 결정화는 약물 물질 제조를 위해 중요한 분리 및 정제 단계이다. 결정화는 또한 입자 크기를 조절하는 데 사용될 수 있다. 결정화 동안 수득된 입자 크기 분포(PSD)는 결정화 동안에 발생하는 다양한 기전, 예를 들어, 핵 생성, 성장, 응집, 마모, 파손 등의 조합에 영향을 받을 수 있다. 결정화 동안 PSD를 조절하는 것이 생성물의 원하는 특성을 달성하는 데 중요하다. 입자 크기가 결정화 동안에 원하는 세부 사항을 충족시킬 수 있도록 일관되게 조절될 수 없다면, 추가의 공정 단계, 예를 들어, 건식 밀링을 포함할 수 있다(문헌 [Braat, et al, Crystallization: Particle Size Control, Encyclopedia of Pharmaceutical Technology: Third Edition, Published on 02 October 2006]).

[0208] **암 치료 방법**

[0209] 신생물로 고통받은 인간, 포유동물, 또는 동물 피험체를 치료하거나, 그의 진행을 지연시키거나, 그의 재발을 예방하거나, 그의 증상을 완화시키거나, 또는 다르게는 그러한 피험체를 호전시키는 본 발명에 따른 방법은 미리 결정된 크기 분포의 입자를 포함하는 약학 조성물, 예를 들어, 화학식 (I)의 화합물, 예를 들어, 화합물 (1), 순수한 화합물, 순수한 생성물 및/또는 순수한 약학 조성물을 치료적 유효량으로 투여하여 신생물의 부피 성장이 저속화되고/거나, 신생물의 부피 성장이 중단되고/거나, 신생물 부피가 감소하고/거나, 양성 신생물이 사멸하도록 하는 것을 포함한다. 본 방법에 의한 치료법으로 치료할 수 있는 신생물 유형의 몇몇 일례로는 고형 종양, 악성 종양, 암, 전이성 종양, 암 줄기 세포를 포함하는 신생물, STAT3 경로가 연루되어 있는 신생물, 암 종, 및 육종을 포함한다. 화학식 (I)에 따른 화합물의 입자 투여에 의한 치료법으로 치료할 수 있는 암에 대한 불완전한 목록에는 하기의 것이 포함된다: 유방암, 두부경부암, 폐암, 난소암, 췌장암, 결장직장암종, 전립샘암, 흑색종, 육종, 간암, 뇌종양, 백혈병, 다발골수종, 위암, 및 림프종. STAT3 경로가 이러한 암에 연루되어 있을 수 있다. 예를 들어, 화학식 (I)에 따른 화합물의 입자 투여에 의한 치료법으로 치료할 수 있는 암에 대한 불완전한 목록에는 하기의 것이 포함된다: 결장직장암, 유방암, 난소암, 폐암, 흑색종 및 수모세포종. CSC 경로가 이러한 암에 연루되어 있을 수 있다. 예를 들어, 화학식 (I)에 따른 화합물의 입자 투여에 의한 치료법으로 치료할 수 있는 다른 암에 대한 불완전한 목록에는 하기의 것이 포함된다: 폐암, 자궁경부암, 신장세포 암

중, 간세포 암종, 식도암, 신경아교종, 방광암, 결장직장암, 유방암, 전립샘암, 췌장암, 자궁내막암, 갑상샘암, 담관암, 골암, 안암(망막모세포종), 담낭암, 뇌하수체암, 직장암, 침샘암, 및 비강 인두암.

[0210] **암 줄기 세포**

[0211] 최근, 종양 종괴 중 단지 작은 부분만이 종양 내에서의 발암성 활성을 담당한다는 가설인 새로운 종양발생 모델이 폭넓게 용인된 반면, 오랜 또는 클로날 유전자 모델은 모든 돌연변이화된 종양 세포가 상기와 같은 발암성 활성에 동일하게 기여한다는 것을 상정한다. 새로운 모델에 따라, 이같은 작은 부분이 줄기 세포 유사 특징을 가진 세포로 형질전환되며, 이는 "암 줄기 세포"(CSC)로 명명된다. 생체내에서 급성 골수성 백혈병(AML: acute myeloid leukemia)에 CSC가 존재한다는 것이 1990년대 동안에 (Bonnet) 및 (Dick)에 의해 최초로 입증되었다. 면역결핍 마우스로 이식될 때, 인간 AML 세포 중 극히 적은 서브집단만이 AML을 전달할 수 있는 능력을 가지는 반면, 나머지 AML 세포는 백혈병을 유도할 수 없다는 것이 그들의 데이터를 통해 밝혀졌다. 이후, 상기와 같은 CSC는 원시 조혈 줄기 세포로서 같은 세포 마커, $CD34^{+}/CD38^{-}$ 을 가지는 것으로 밝혀졌다(문헌 [Bonnet, D., *Normal and leukaemia stem cells*. Br J Haematol, 2005. **130**(4): p. 469-79]). 이후, 연구자들은 결과적으로 뇌암, 유방암, 피부암, 전립샘암, 결장직장암 등의 것을 비롯한 각종 유형의 종양에서 CSC를 발견하게 되었다.

[0212] 종양 이식물을 확립하기 위해 수만 또는 수십 만개의 종양 세포가 실험 동물에 주사되어야 하는 이유가 종양발생의 CSC 모델을 통해 설명될 수 있을 것이다. 인간 AML에서, 이들 세포의 빈도는 10,000개 중 1개 미만이다(문헌 [Bonnet, D. and J.E. Dick, *Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell*. Nat Med, 1997. **3**(7): p. 730-7]). 비록 주어진 종양 세포 집단 내에서는 희귀하지만, 상기 세포가 거의 모든 종양 유형에 존재한다는 증거는 증가하고 있다. 그러나, 조직 배양물 중에서 성장할 수 있도록 특별히 적합화된 암 세포의 서브집단으로부터 암 세포주가 선택되기 때문에, 암 세포주의 생물학적 및 기능적 특성은 크게 변할 수 있다. 그러므로, 모든 암 세포주가 CSC를 포함하는 것은 아니다.

[0213] 암 줄기 세포는 정상 줄기 세포와 다수의 유사한 소질들을 공유한다. 예를 들어, CSC는 분열수가 제한된 것과는 대조적으로, 전형적으로는 다른 분열 종양 세포보다 더 느린 속도로 진행되는 자가 재생능, 즉, 추가의 발암성 암 줄기 세포를 생성할 수 있는 능력을 가진다. CSC는 또한 다중 세포 유형으로 분화할 수 있는 능력을 가지며, 이를 통해 다수의 종양이 숙주 기관에 고유한 다중 세포 유형을 함유한다는 것 뿐만 아니라, 이종성은 종양 전이에서 일반적으로 보유되는 것이라는 역사상의 증거가 설명될 수 있을 것이다. CSC가 종양발생, 암 전이, 및 암 재발에 대한 근본적인 원인이 되는 것으로 입증되었다. CSC는 또한 종양 개시 세포, 암 줄기 유사 세포, 줄기 유사 암 세포, 고도의 발암성 세포, 종양 줄기 세포, 고형암 줄기 세포, 또는 초악성 세포라고 명명된다.

[0214] 암 줄기 세포의 존재가 추후 암 치료법 및 요법에 대해 근본적인 영향을 미친다. 이러한 영향력은 질환 확인, 선택적 약물 표적화, 암 전이 및 재발 예방, 및 암 퇴치를 위한 새로운 전략법 개발에서 분명하게 나타난다.

[0215] 현행 암 치료법의 효능은 시험 초기 단계에서는 대개 종양 크기 위축에 의해, 즉, 종양 종괴의 사멸량에 의해 측정된다. CSC가 종양의 아주 적은 부분을 형성하고, 그의 보다 분화된 자손과는 현저하게 상이한 생물학적 특징을 가지는 바, 종양 종괴를 측정하는 것이 줄기 세포에 대해 특이적으로 작용하는 약물을 반드시 선택할 필요가 없을 수도 있다. 사실상, 암 줄기 세포는 방사선요법(XRT)에 대해 내성을 보이며, 또한 화학요법 약물 및 표적화된 약물에 대해서는 무반응성이다(문헌 ([Hambardzumyan, D., M. Squatrito, and E.C. Holland, *Radiation resistance and stem-like cells in brain tumors*. Cancer Cell, 2006. **10**(6): p. 454-6]; [Baumann, M., M. Krause, and R. Hill, *Exploring the role of cancer stem cells in radioresistance*. Nat Rev Cancer, 2008. **8**(7): p. 545-54]; [Ailles, L.E. and I.L. Weissman, *Cancer stem cells in solid tumors*. Curr Opin Biotechnol, 2007. **18**(5): p. 460-6])). 정상적인 체성 줄기 세포는 천연적으로 화학요법제에 대해 내성을 띠며-약물을 밖으로 펌핑하는 다양한 펌프(예를 들어, MDR), 및 DNA 수복 단백질을 포함한다. 추가로, 세포 교체를 또한 느린 반면, 화학요법제는 복제 세포를 빠르게 표적화한다. 정상 줄기 세포의 돌연변이화된 대응물인 암 줄기 세포 또한 상기 세포가 약물 요법 및 방사선 치료로부터 생존할 수 있게 하는 유사한 기전을 가질 수 있다. 다시 말해, 종래 화학요법 및 방사선요법은 고도의 발암성을 띠는 새로운 암 줄기 세포를 생성할 수 없는 큰 종양 덩어리를 형성하는 분화된 세포, 또는 분화 중인 세포를 사멸시킨다. 한편, 분화된 세포, 및 분화 중인 세포를 생성하는 암 줄기 세포 집단은 어떤 영향도 받지 않은 상태 그대로 남아있을 수 있으며, 이는 질환의 재발을 유발한다. 종래 항암 요법이 가진 추가의 위험은 화학요법을 이용한 치료법은 단지 화학요법에 대해서 내성을 띠는 암 줄기 세포를 남기며, 추후 재발 종양 또한 화학요법에 대해 내성을 띠는 가능성이 있다는 점이다.

[0216] 암 줄기 세포를 생존시키면 종양은 재증식할 수 있고, 재발될 수 있는 바, 항암 요법은 CSC에 대한 전략법을 반드시 포함하여야 한다(도 18 참조). 이는 비록 지반면의 잡초 무리를 잘라냈음에도 불구하고, 민들레가 재성장

하지 못하도록 뿌리를 제거하는 것과 유사하다(문헌 [Jones, R.J., W.H. Matsui, and B.D. Smith, *Cancer stem cells: are we missing the target?* J Natl Cancer Inst, 2004. **96**(8): p. 583-5]). 암 줄기 세포를 선택적으로 표적화함으로써, 침습성, 전이 불가능 종양 및 무반응성 또는 재발성 암을 앓는 환자를 치료할 수 있을 뿐만 아니라, 종양 전이 및 재발을 예방할 수 있게 된다. 암 줄기 세포를 표적화하는 특이적인 요법의 개발을 통해 암 환자, 특히 전이성 암을 앓는 암 환자의 생존율 및 삶의 질은 개선될 수 있다. 아직 개발되지 않은 이러한 잠재적 가능성에 대한 핵심은 암 줄기 세포 자가 재생 및 생존에 대해 선택적으로 중요한 경로를 확인하고 입증하는 데 있다. 불행하게도, 비록 과거에는 암에서의 종양발생 또는 배아 및 성인 줄기 세포에서의 자가 재생의 기반이 되는 다중 경로에 대해 명백하게 밝혀지지는 않았지만, 암 줄기 세포 자가 재생 및 생존에 대해 극소수의 경로가 확인되고 입증된 바 있다.

[0217] 또한, 암 줄기 세포를 확인하고 단리시키는 것에 관한 많은 연구가 이루어지고 있다. 주로 사용되는 방법은 CSC가 약물을 유출시킬 수 있는 능력을 이용하거나, 암 줄기 세포와 관련된 표면 마커의 발현에 기초한다.

[0218] 예를 들어, CSC는 많은 화학요법제에 대해 내성을 띠는 바, CSC는 거의 도처에 어디에나 약물 유출 펌프, 예를 들어, ABCG2(BCRP-1)[Ho, M.M., et al., Side population in human lung cancer cell lines and tumors is enriched with stem-like cancer cells. *Cancer Res*, 2007. **67**(10): p. 4827-33]; [Wang, J., et al., Identification of cancer stem cell-like side population cells in human nasopharyngeal carcinoma cell line. *Cancer Res*, 2007. **67**(8): p. 3716-24]; [Haraguchi, N., et al., Characterization of a side population of cancer cells from human gastrointestinal system. *Stem Cells*, 2006. **24**(3): p. 506-13]; [Doyle, L.A. and D.D. Ross, Multidrug resistance mediated by the breast cancer resistance protein BCRP (ABCG2). *Oncogene*, 2003. **22**(47): p. 7340-58]; [Alvi, A.J., et al., Functional and molecular characterisation of mammary side population cells. *Breast Cancer Res*, 2003. **5**(1): p. R1-8]]), 및 다른 ATP 결합 카세트(ABC: ATP binding cassette) 슈퍼패밀리 멤버(문헌 ([Frank, N.Y., et al., ABCB5-mediated doxorubicin transport and chemoresistance in human malignant melanoma. *Cancer Res*, 2005. **65**(10): p. 4320-33]; [Schatton, T., et al., Identification of cells initiating human melanomas. *Nature*, 2008. **451**(7176): p. 345-9]))를 과다발현한다는 것은 놀라운 사실이 아니다. 따라서, 본래는 조혈 세포 및 백혈병 줄기 세포를 강화시키는 데 사용되는 종속 개체군(SP: side population) 기법은 또한 CSC를 확인하고 단리시키는 데 사용되었다(문헌 [Kondo, T., T. Setoguchi, and T. Taga, *Persistence of a small subpopulation of cancer stem-like cells in the C6 glioma cell line*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004. **101**(3): p. 781-6])). (Goodell) 등에 의해 최초로 기술된 상기 기법은 CSC에서 강화된 세포 집단을 정의하고 단리시키기 위해 형광성 염료, 예를 들어, 핵색소(Hoechst) 33342의 차별적인 ABC 수송체 의존 유출을 이용한다(문헌 ([Doyle, L.A. and D.D. Ross, *Multidrug resistance mediated by the breast cancer resistance protein BCRP (ABCG2)*. *Oncogene*, 2003. **22**(47): p. 7340-58]; [Goodell, M.A., et al., Isolation and functional properties of murine hematopoietic stem cells that are replicating in vivo. *J Exp Med*, 1996. **183**(4): p. 1797-806])). 구체적으로, 베라파밀을 사용하여 약물 유출을 차단시키면, 이 시점에서 염료는 더 이상 SP 밖으로 펌핑될 수 있는 바, 이로써, SP가 밝혀진다.

[0219] 연구자들은 또한 큰 종양 덩어리로부터 암 줄기 세포를 구별 짓는 특이적인 마커를 발견하는 데 주목하였다. 암 줄기 세포에 의해 가장 보편적으로 발현된 표면 마커로는 CD44, CD133, 및 CD166을 포함한다(문헌 ([Collins, A.T., et al., Prospective identification of tumorigenic prostate cancer stem cells. *Cancer Res*, 2005. **65**(23): p. 10946-51]; [Li, C, et al., Identification of pancreatic cancer stem cells. *Cancer Res*, 2007. **67**(3): p. 1030-7]; [Ma, S., et al., Identification and characterization of tumorigenic liver cancer stem/progenitor cells. *Gastroenterology*, 2007. **132**(7): p. 2542-56]; [Prince, M.E., et al., Identification of a subpopulation of cells with cancer stem cell properties in head and neck squamous cell carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007. **104**(3): p. 973-8]; [Ricci-Vitiani, L., et al., Identification and expansion of human colon-cancer-initiating cells. *Nature*, 2007. **445**(7123): p. 111-5]; [Singh, S.K., et al., Identification of a cancer stem cell in human brain tumors. *Cancer Res*, 2003. **63**(18): p. 5821-8]; [Dalerba, P., et al., Phenotypic characterization of human colorectal cancer stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007. **104**(24): p. 10158-63])). 주로 이러한 표면 마커(들)의 차별적인 발현에 기초하여 종양 세포를 선별하는 것이 현재까지 기술된 고도로 발암성인 CSC의 대다수를 차지하였다. 그러므로, 이러한 표면 마커는 암 세포주로부터, 및 큰 종양 덩어리 조직으로부터 암 줄기 세포를 확인하고 단리시키기 위한 것으로 잘 입증되어 있다.

- [0220] 종양을 재생시킬 수 있는 특별한(exclusive) 능력을 가진 암 줄기 세포(CSC)가 존재한다는 것이 최근 연구를 통해 밝혀졌다. 이러한 CSC는 거의 모든 종양 유형에 존재하며, 이는 연속성 악성 성장, 암 전이, 재발, 및 암 약물에 대한 내성과 연관이 있다. CSC 및 더 분화된 그의 자손은 뚜렷이 다른 생물학적 특징을 보인다. 종래의 암 약물 스크리닝은 종양 종괴의 양을 측정하는 것에 의존하는 바, 따라서, CSC에 대해 특이적으로 작용하는 약물을 선택할 필요가 없을 수도 있다. 사실상, CSC는 표준 화학요법 및 방사선요법에 대해서 내성을 띠며, 표준 항암 치료법 이후에 강화되어 암을 무반응성이 되게 하고 암을 재발시킨다고 입증되었다. 이러한 세포를 단리시키는 방법은 핵스트 33342를 유출시킬 수 있는 상기 세포의 능력 확인, 상기 세포가 발현하는 표면 마커, 예를 들어, CD133, CD44, CD166, 및 다른 것에 의한 확인, 및 상기 세포의 발암성 특성에 의한 강화를 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 암 줄기 세포를 종양발생과 연관시키는 증거들이 증가함에 따라 암 줄기 세포를 표적화하는 방대한 치료학상의 기회가 해결되었다.
- [0221] 최근의 CSC 연구에서의 획기적인 발전과 함께 조합하여, 본원에서 제공하는 데이터를 통해 본 발명은 CSC를 억제시키는 것에 관한 다수의 방법, CSC 및 이종성 암 세포, 둘 모두를 억제시키는 것에 관한 방법, 및 구체적으로 CSC를 가진 암 또는 일반적으로 암을 치료하는 방법을 제공할 수 있다. 본 발명은 또한 관련 방법(예를 들어, 제조 및 약물 후보물질 스크리닝), 물질, 조성물 및 키트를 제공한다. 본 방법은 CSC가 자가 재생하지 못하도록 막음으로써 발암성 CSC 세포로의 분열에 의해 그의 개수를 다시 채우지 못하도록 할 수 있다. 또는, 본 방법은 CSC에서, 또는 CSC 및 이종성 암 세포, 둘 모두에서 세포 사멸을 유도할 수 있다.
- [0222] 본 방법은 피험체의 암을 치료하는 데 사용될 수 있다. 상기와 같은 치료에 우수한 후보가 되는 암으로는 유방암, 두부경부암, 폐암, 난소암, 췌장암, 결장직장암증, 전립샘암, 신장세포 암종, 흑색종, 간세포 암종, 자궁경부암, 육종, 뇌종양, 위암, 다발골수종, 백혈병, 및 림프종을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 일부 실시양태에서, 본 방법은 간암, 두부경부암, 췌장암, 및/또는 위암을 치료하는 데 사용된다. 일부 실시양태에서, 본 방법은 다발골수종, 뇌종양, 및 육종을 치료하는 데 사용된다.
- [0223] 추가로, CSC가 종양발생, 암 전이, 및 암 재발에 대한 근본적인 원인이 되는 것으로 입증된 바, CSC를 억제시키는 것에 관한 본 발명의 임의의 방법은 전이성 암, 화학요법 또는 방사선요법에 대해 무반응성인 암, 또는 초기 치료 후 피험체에서 재발한 암을 치료하는 데 실시될 수 있다.
- [0224] 일부 실시양태에서, 본 발명에 따른 암 줄기 세포 억제제는 화학식 (1)의 화합물, 화합물 (1), 화합물 (1)의 다형체, 도 1에 도시되는 것과 실질적으로 유사한 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체, 도 2에 도시되는 것과 실질적으로 유사한 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체, 적어도 약 10.2° 2θ에서의 피크, 적어도 약 11.9° 2θ에서의 피크, 적어도 약 14.1° 2θ에서의 피크, 적어도 약 14.5° 2θ에서의 피크, 적어도 약 17.3° 2θ에서의 피크, 적어도 약 22.2° 2θ에서의 피크 및 적어도 약 28.1° 2θ에서의 피크, 및 이들의 임의의 조합으로부터 선택된 2 이상의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체, 도 3에 도시되는 것과 실질적으로 유사한 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체, 적어도 약 7.5° 2θ에서의 피크, 적어도 약 9.9° 2θ에서의 피크, 적어도 약 12.3° 2θ에서의 피크, 적어도 약 15° 2θ에서의 피크, 적어도 약 23.0° 2θ에서의 피크, 적어도 약 23.3° 2θ에서의 피크, 적어도 약 24.6° 2θ에서의 피크 및 적어도 약 28.4° 2θ에서의 피크, 및 이들의 임의의 조합으로부터 선택된 2 이상의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체, 2-(1-히드록시에틸)-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-아세틸-7-클로로-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-아세틸-7-플루오로-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-아세틸나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-에틸-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 인산 모노-[1-(4,9-디옥소-3a,4,9,9a-테트라히드로-나프토[2,3-b]푸란-2-일)-비닐]에스테르, 인산 1-(4,9-디옥소-3a,4,9,9a-테트라히드로-나프토[2,3-b]푸란-2-일)-비닐 에스테르 디메틸 에스테르, 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 호변 이성질체, 및 그의 염 또는 용매화물; 화학식 (1)의 화합물, 화합물 (1), 화합물 (1)의 다형체, 도 1에 도시되는 것과 실질적으로 유사한 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체, 도 2에 도시되는 것과 실질적으로 유사한 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체, 적어도 약 10.2° 2θ에서의 피크, 적어도 약 11.9° 2θ에서의 피크, 적어도 약 14.1° 2θ에서의 피크, 적어도 약 14.5° 2θ에서의 피크, 적어도 약 17.3° 2θ에서의 피크, 적어도 약 22.2° 2θ에서의 피크, 및 적어도 약 28.1° 2θ에서의 피크, 및 이들의 임의의 조합으로부터 선택된 2 이상의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체, 도 3에 도시되는 것과 실질적으로 유사한 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체, 적어도 약 7.5° 2θ에서의 피크, 적어도 약 9.9° 2θ에서의 피크, 적어도 약

12.3° 2θ에서의 피크, 적어도 약 15° 2θ에서의 피크, 적어도 약 23.0° 2θ에서의 피크, 적어도 약 23.3° 2θ에서의 피크, 적어도 약 24.6° 2θ에서의 피크 및 적어도 약 28.4° 2θ에서의 피크, 및 이들의 임의 조합으로부터 선택된 2 이상의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체, 2-(1-히드록시에틸)-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-아세틸-7-클로로-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-아세틸-7-플루오로-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-아세틸나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-에틸-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 인산 모노-[1-(4,9-디옥소-3a,4,9,9a-테트라히드로-나프토[2,3-b]푸란-2-일)-비닐]에스테르, 인산 1-(4,9-디옥소-3a,4,9,9a-테트라히드로-나프토[2,3-b]푸란-2-일)-비닐 에스테르 디메틸 에스테르, 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 호변 이성질체, 및 그의 염 또는 용매화물의 다형체; 또는 실질적으로 순수한 형태의, 화학식 (1)의 화합물, 화합물 (1), 화합물 (1)의 다형체, 도 1에 도시되는 것과 실질적으로 유사한 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체, 도 2에 도시되는 것과 실질적으로 유사한 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체, 적어도 약 10.2° 2θ에서의 피크, 적어도 약 11.9° 2θ에서의 피크, 적어도 약 14.1° 2θ에서의 피크, 적어도 약 14.5° 2θ에서의 피크, 적어도 약 17.3° 2θ에서의 피크, 적어도 약 22.2° 2θ에서의 피크 및 적어도 약 28.1° 2θ에서의 피크, 및 이들의 임의 조합으로부터 선택된 2 이상의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체, 도 3에 도시되는 것과 실질적으로 유사한 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체, 적어도 약 7.5° 2θ에서의 피크, 적어도 약 9.9° 2θ에서의 피크, 적어도 약 12.3° 2θ에서의 피크, 적어도 약 15° 2θ에서의 피크, 적어도 약 23.0° 2θ에서의 피크, 적어도 약 23.3° 2θ에서의 피크, 적어도 약 24.6° 2θ에서의 피크 및 적어도 약 28.4° 2θ에서의 피크, 및 이들 조합으로부터 선택된 2 이상의 피크를 포함하는 X선 회절 패턴을 특징으로 하는 2-아세틸-4H,9H-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온의 다형체, 2-(1-히드록시에틸)-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-아세틸-7-클로로-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-아세틸-7-플루오로-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-아세틸나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-에틸-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 인산 모노-[1-(4,9-디옥소-3a,4,9,9a-테트라히드로-나프토[2,3-b]푸란-2-일)-비닐]에스테르, 인산 1-(4,9-디옥소-3a,4,9,9a-테트라히드로-나프토[2,3-b]푸란-2-일)-비닐 에스테르 디메틸 에스테르, 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 호변 이성질체, 및 그의 염 또는 용매화물; 입자 형태의 2-(1-히드록시에틸)-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-아세틸-7-클로로-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-아세틸-7-플루오로-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-아세틸나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 2-에틸-나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온, 인산 모노-[1-(4,9-디옥소-3a,4,9,9a-테트라히드로-나프토[2,3-b]푸란-2-일)-비닐]에스테르, 인산 1-(4,9-디옥소-3a,4,9,9a-테트라히드로-나프토[2,3-b]푸란-2-일)-비닐 에스테르 디메틸 에스테르, 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 호변 이성질체, 및 그의 염 또는 용매화물(본원에서 "본 발명의 화합물"로서 지칭된다)이다.

[0225] 본 발명은 암 줄기 세포를 억제시킬 수 있는 약물 후보물질을 확인하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 약물 후보물질은 CSC에서 세포 사멸을 유도할 수 있거나, 적어도 그의 자가 재생을 억제시킬 수 있다. 추가의 실시양태에서, 약물 후보물질은 CSC에서 세포 사멸을 유도할 수 있거나, 적어도 그의 자가 재생을 억제시킬 수 있고, 이종성 암 세포에서 세포 사멸할 수 있다. 약물 후보물질을 스크리닝하는 데 경로 중의 다양한 단계가 표적화될 수 있다.

[0226] 따라서, 또 다른 측면에서, 본 발명의 화합물은 장애 또는 병증을 치료 또는 예방하기 위한 약학 조성물을 제제화하는 데 사용될 수 있다. 장애의 일부로서 자가면역 질환, 염증성 질환, 염증성 장 질환, 관절염, 자가면역 탈수초 장애, 알츠하이머병, 뇌졸중, 허혈 재관류 손상 및 다발경화증을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 장애의 일부는 암이며, 이는 각종 유형의 유방암, 두부경부암, 폐암, 난소암, 췌장암, 결장직장암종, 전립샘암, 신장세포 암종, 흑색종, 간세포 암종, 자궁경부암, 육종, 뇌종양, 위암, 다발골수종, 백혈병, 및 림프종을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0227] 따라서, 한 측면에서, 본 발명은 유효량의, 본 발명의 화합물을 세포에 투여하여 암 줄기 세포를 억제시키는 방법을 제공한다. CSC를 가진 것으로 알려져 있는 암이 그러한 치료에 우수한 후보가 되며, 이는 각종 유형의 유방암, 두부경부암, 폐암, 난소암, 췌장암, 결장직장 선암, 전립샘암, 간암, 흑색종, 다발골수종, 뇌종양, 육종, 수모세포종, 및 백혈병을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0228] 추가로, CSC가 종양발생, 암 전이, 및 암 재발에 대한 근본적인 원인이 되는 것으로 입증된 바, CSC를 억제시키는 것에 관한 본 발명의 임의의 방법은 전이성 암, 화학요법 또는 방사선요법에 대해 무반응성인 암, 또는 초기 치료 후 피험체에서 재발한 암을 치료하는 데 실시될 수 있다.

[0229] 본 방법의 일부 실시양태에서, 치료되는 암은 하기 군으로부터 선택된다: 간암, 결장암, 두부경부암, 췌장암,

위암, 신장암, 육종, 다발골수종, 전이성 유방암, 전이성 전립샘암, 백혈병, 림프종, 췌장암, 식도암, 뇌종양, 신경아교종, 방광암, 자궁내막암, 갑상샘암, 담관암, 골암, 안암(망막모세포종), 담낭암, 뇌하수체암, 직장암, 침샘암, 및 비강 인두암.

- [0230] 한 측면에서, 본 발명은 치료적 유효량의, 본 발명의 화합물을 포함하는 약학 조성물을 피험체에게 투여하는 것인, 피험체에서 암을 치료하는 방법을 제공한다. 암은 전이성 암일 수 있다. 피험체는 포유동물, 예를 들어, 인간일 수 있다.
- [0231] 신생물을 앓는 피험체(환자)에게 예를 들어, 화학식 (I)에 따른 화합물의 입자를 투여함으로써 진행되는 치료는 하기 상태에 대해 지시될 수 있다. 신생물이 화학요법, 방사선요법, 또는 호르몬 요법에 의한 치료에 무반응일 수 있는 경우. 신생물을 쉽게 외과적 절제할 수 없는 경우. 신생물이 피험체(환자)에서 재발할 수 있는 경우. 암 줄기 세포는 신생물의 재발에 연루되어 있으며; 본 발명에 따른 방법에 의해 암 줄기 세포를 사멸시키거나, 그의 자가 재생을 억제시킴으로써 신생물 그 스스로의 재생을 막을 수 있다. 나프토푸란 입자 투여에 의한 치료는 예를 들어, 신생물 세포의 사멸을 유도하고/거나, 그의 성장 및/또는 분열을 억제시키고/거나, 그를 선택적으로 사멸시킴으로써 신생물의 부피 성장을 저속화 또는 중단시키거나, 신생물의 부피를 감소시킬 수 있다. 예를 들어, 본 발명에 따른 치료는 신생물 세포의 세포 사멸을 유도할 수 있다. 예를 들어, 치료는 신생물 세포의 STAT3 경로를 억제시키는 작용을 할 수 있다.
- [0232] 신생물로 고생하는 피험체(환자)에게 예를 들어, 본 발명의 화합물의 입자를 투여하는 것에 의해 치료법을 사용하여 신생물의 재발을 예방할 수 있고/거나, 그러한 치료법을 외과적 절제에 대한 애주번트 요법으로서 사용할 수 있다.
- [0233] 경구 투여가 편리한 치료법 형태이기 때문에, 예를 들어, 본 발명의 화합물의 입자를 포함하는 약학 조성물은 경구적으로 투여될 수 있다. 예를 들어, 약학 조성물은 1일당 4회 이하로 경구적으로 투여될 수 있다. 별법으로, 약학 조성물은 정맥내 또는 복강내로 투여될 수 있다.
- [0234] 본 발명에 따른 방법에서, 본 발명의 화합물의 입자, 다형체 및/또는 정제된 형태를 포함하는 약학 조성물의 치료적 유효량은 약 20 mg 내지 약 2,000 mg, 약 100 mg 내지 약 1,500 mg, 약 160 mg 내지 약 1,400 mg, 또는 약 180 mg 내지 1,200 mg 범위의 1일 총 용량일 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 화합물의 입자, 다형체 및/또는 정제된 형태를 포함하는 약학 조성물의 치료적 유효량은 약 200 mg 내지 약 1,500 mg, 또는 약 360 mg 내지 1,200 mg 범위의 1일 총 용량이다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 화합물의 입자, 다형체 및/또는 정제된 형태를 포함하는 약학 조성물의 치료적 유효량은 약 400 mg 내지 약 1,000 mg 범위의 1일 총 용량이다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 화합물의 입자, 다형체 및/또는 정제된 형태를 포함하는 약학 조성물의 치료적 유효량은 약 1,000 mg의 1일 총 용량이다.
- [0235] 일부 실시양태에서, 본 발명의 화합물의 입자, 다형체 및/또는 정제된 형태를 포함하는 약학 조성물의 치료적 유효량은 1일 단일 용량으로 투여된다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 본 발명의 화합물의 입자, 다형체 및/또는 정제된 형태를 포함하는 약학 조성물의 치료적 유효량은 약 20 mg QD 내지 약 2,000 mg QD 범위의 1일 단일 용량으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 화합물의 입자, 다형체 및/또는 정제된 형태를 포함하는 약학 조성물의 치료적 유효량은 약 20 mg QD 내지 약 1,000 mg QD 범위의 1일 단일 용량으로 투여된다.
- [0236] 일부 실시양태에서, 본 발명의 화합물의 입자, 다형체 및/또는 정제된 형태를 포함하는 약학 조성물의 치료적 유효량은 1일 1회 초과 용량으로 투여된다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 본 발명의 화합물의 입자, 다형체 및/또는 정제된 형태를 포함하는 약학 조성물의 치료적 유효량은 1일 2회 용량으로, 여기서, 1일 총 용량은 약 160 mg 내지 1,400 mg 범위로 투여된다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 화합물의 입자, 다형체 및/또는 정제된 형태를 포함하는 약학 조성물의 치료적 유효량은 1일 2회 용량으로, 여기서, 1일 총 용량은 약 320 mg 내지 1,200 mg 범위로 투여된다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 화합물의 입자, 다형체 및/또는 정제된 형태를 포함하는 약학 조성물의 치료적 유효량은 1일 2회 용량으로, 여기서, 1일 총 용량은 약 400 mg 내지 1,000 mg 범위로 투여된다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 화합물의 입자, 다형체 및/또는 정제된 형태를 포함하는 약학 조성물의 치료적 유효량은 1일 2회 용량으로, 여기서, 1일 총 용량은 약 1,000 mg으로 투여된다.
- [0237] 일부 실시양태에서, 본 발명의 화합물의 입자, 다형체 및/또는 정제된 형태를 포함하는 약학 조성물의 치료적 유효량은 1일 2회 용량으로, 여기서, 각 용량은 약 80 mg 내지 1,000 mg 범위로 투여된다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 화합물의 입자, 다형체 및/또는 정제된 형태를 포함하는 약학 조성물의 치료적 유효량은 1일 2회 용량으로, 여기서, 각 용량은 약 160 mg 내지 600 mg 범위로 투여된다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 화합물의

입자, 다형체 및/또는 정제된 형태를 포함하는 약학 조성물의 치료적 유효량은 1일 2회 용량으로, 여기서, 각 용량은 약 200 mg 내지 약 500 mg 범위로 투여된다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 화합물의 입자, 다형체 및/또는 정제된 형태를 포함하는 약학 조성물의 치료적 유효량은 1일 2회 용량으로, 여기서, 각 용량은 약 500 mg으로 투여된다.

[0238] 일부 실시양태에서, 본 발명의 화합물의 입자, 다형체 및/또는 정제된 형태를 포함하는 약학 조성물의 치료적 유효량은 1일 3회 용량으로, 여기서, 1일 총 용량은 약 240 mg 내지 약 1,500 mg 범위로 된다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 화합물의 입자, 다형체 및/또는 정제된 형태를 포함하는 약학 조성물의 치료적 유효량은 1일 3회 용량으로, 여기서, 1일 총 용량은 약 480 mg 내지 약 1,500 mg 범위로 된다.

[0239] 일부 실시양태에서, 본 발명의 화합물의 입자, 다형체 및/또는 정제된 형태를 포함하는 약학 조성물의 치료적 유효량은 1일 3회 용량으로, 여기서, 각 용량은 약 80 mg 내지 500 mg 범위로 투여된다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 화합물의 입자, 다형체 및/또는 정제된 형태를 포함하는 약학 조성물의 치료적 유효량은 1일 3회 용량으로, 여기서, 각 용량은 160 mg 내지 500 mg 범위로 투여된다.

[0240] 본 발명의 화합물 또는 그의 약학 조성물은 경구, 예를 들어, 경구적으로, 정맥내, 또는 복강내 중 어느 한 경로를 통해, 또는 그의 조합을 통해 투여될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 본 발명의 화합물은 경구적으로 투여될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 화합물은 겔루시르 및 트윈 80을 포함하는 제제로 경구적으로 투여될 수 있다.

[0241] 본 발명의 화합물은 2시간 이상 24시간 이하인 기간 동안 피험체, 예를 들어, 환자에서 적어도 약 0.02 μM 내지 약 30 μM 의 범위의 화합물의 혈중 농도에 도달하기 위한 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 화합물은 2시간 이상 24시간 이하인 기간 동안 피험체에서 적어도 약 0.2 μM 내지 약 1 μM 의 범위의 화합물의 혈중 농도에 도달하기 위한 용량, 2시간 이상 24시간 미만인 기간 동안 약 0.2 μM , 0.5 μM , 1.0 μM , 1.5 μM , 2.0 μM , 2.5 μM , 3.0 μM , 4.0 μM , 5.0 μM , 6.0 μM , 7.0 μM , 8.0 μM , 9.0 μM , 10.0 μM , 15.0 μM 과 동일하거나, 그보다 큰 화합물의 혈중 농도에 도달하기 위한 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 화합물은 2시간 이상 24시간 미만인 기간 동안 피험체에서 약 1.0 μM , 1.5 μM , 2.0 μM , 3.0 μM , 5.0 μM , 10.0 μM , 15.0 μM 과 동일하거나, 그보다 큰 화합물의 혈중 농도에 도달하기 위한 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 화합물은 2시간 이상 24시간 미만인 기간 동안 피험체에서 약 2.0 μM , 3.0 μM , 5.0 μM , 10.0 μM 과 동일하거나, 그보다 큰 화합물의 혈중 농도에 도달하기 위한 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 화합물은 2시간 이상 24시간 미만인 기간 동안 피험체에서 약 3.0 μM , 또는 5.0 μM 과 동일하거나, 그보다 큰 화합물의 혈중 농도에 도달하기 위한 용량으로 투여될 수 있다.

[0242] 본 발명의 화합물은 24시간 경과시 피험체, 예를 들어, 환자에서 적어도 약 0.002 $\mu\text{M}\cdot\text{h}$ 내지 약 300 $\mu\text{M}\cdot\text{h}$ 의 범위의 화합물의 혈중 농도에 도달하기 위한 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 화합물은 2시간 이상 24시간 미만인 기간 동안 피험체에서 약 0.2 μM , 0.5 μM , 1.0 μM , 1.5 μM , 2.0 μM , 2.5 μM , 3.0 μM , 4.0 μM , 5.0 μM , 6.0 μM , 7.0 μM , 8.0 μM , 9.0 μM , 10.0 μM , 15.0 μM 과 동일하거나, 그보다 큰 24시간 경과시의 곡선하 면적(AUC₂₄: area under the curve in 24 hours)에 도달하기 위한 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 화합물은 2시간 이상 24시간 미만인 기간 동안 피험체에서 약 1.0 μM , 1.5 μM , 2.0 μM , 3.0 μM , 5.0 μM , 10.0 μM , 15.0 μM 과 동일하거나, 그보다 큰 화합물의 혈중 농도에 도달하기 위한 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 화합물은 2시간 이상 24시간 미만인 기간 동안 피험체에서 약 2.0 μM , 3.0 μM , 5.0 μM , 10.0 μM 과 동일하거나, 그보다 큰 화합물의 혈중 농도에 도달하기 위한 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 화합물은 2시간 이상 24시간 미만인 기간 동안 피험체에서 약 3.0 μM , 또는 5.0 μM 과 동일하거나, 그보다 큰 화합물의 혈중 농도에 도달하기 위한 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 화합물은 피험체에서 약 2 $\mu\text{M}\cdot\text{hr}$, 10 $\mu\text{M}\cdot\text{hr}$, 20 $\mu\text{M}\cdot\text{hr}$, 30 $\mu\text{M}\cdot\text{hr}$, 40 $\mu\text{M}\cdot\text{hr}$, 50 $\mu\text{M}\cdot\text{hr}$, 60 $\mu\text{M}\cdot\text{hr}$, 70 $\mu\text{M}\cdot\text{hr}$, 80 $\mu\text{M}\cdot\text{hr}$, 90 $\mu\text{M}\cdot\text{hr}$, 100 $\mu\text{M}\cdot\text{hr}$, 125 $\mu\text{M}\cdot\text{hr}$, 150 $\mu\text{M}\cdot\text{hr}$, 200 $\mu\text{M}\cdot\text{hr}$, 250 $\mu\text{M}\cdot\text{hr}$, 300 $\mu\text{M}\cdot\text{hr}$, 400 $\mu\text{M}\cdot\text{hr}$, 및 500 $\mu\text{M}\cdot\text{hr}$ 과 동일하거나, 그보다 큰 24시간 경과시의 곡선하 면적(AUC_{0-24hr})에 도달하기 위한 용량으로 투여될 수 있다.

[0243] 피험체(환자)의 상태가 원한다면, 용량의 약학 조성물은 연속 주입으로서 또는 박동형 주입으로서 투여될 수 있다. 치료 기간은 유익성이 지속되는 한, 수십 년, 수년, 수개월, 수주 또는 수일일 수 있다. 상기 범위는 단지가이드라인으로서만 제공되는 것이 최적화될 수 있다.

[0244] 본 발명에 따른 방법에서, 신생물 세포는 약학 조성물의 투여에 의해 선택적으로 사멸될 수 있는데, 이에 화합

물의 혈중 물 농도는 적어도 유효 기간일 정도로 길고, 유해 기간보다 짧은 1차 연속 기간 동안에 유효 농도 이상이며, 유해 농도 미만이다. 혈중 물 농도는 1차 연속 기간 이후에는 유효 농도 미만일 수 있다. 유효 농도는 신생물 세포, 예를 들어, 암 세포가 사멸될 수 있을 정도로 충분히 높은 농도일 수 있다. 유효 기간은 신생물 세포, 예를 들어, 암 세포가 사멸될 수 있을 정도로 충분히 긴 시간일 수 있다. 유해 농도는 그 농도에서 정상 세포를 손상시키거나, 사멸시키는 농도일 수 있다. 유해 기간은 정상 세포를 손상시키거나, 사멸시키는 데 충분히 긴 시간일 수 있다. 예를 들어, 유효 농도는 약 0.02 μM , 약 0.05 μM , 약 0.1 μM , 약 0.2 μM , 약 0.5 μM , 약 1 μM , 약 3 μM , 약 10 μM 또는 약 20 μM 과 동일하거나, 그보다 큰 값일 수 있다. 예를 들어, 비유해 농도는 약 3 μM , 약 10 μM , 약 14 μM , 약 30 μM , 또는 약 100 μM 과 동일하거나, 그보다 작은 값일 수 있다. 예를 들어, 유효 기간은 약 2시간, 약 4시간, 약 6시간, 약 12시간, 약 24시간, 또는 약 48시간과 동일하거나, 그보다 긴 시간일 수 있다. 예를 들어, 정상 세포에 대해 비유해 노출을 달성하기 위해서는 화합물 (1)의 약물 농도를 약 12시간, 약 24시간 이내에 혈액으로부터 실질적으로 제거하여야 한다. "혈액으로부터 실질적으로 제거"라는 것은 약 50% 이상, 약 60% 이상, 약 80% 이상, 약 90% 이상 만큼 혈중 약물 농도를 감소시킨다는 것을 의미한다. 예를 들어, 유효 농도는 화합물을 일정 기간 동안 투여하였을 때, 암 세포의 IC_{50} 을 초과하는 농도일 수 있다. 예를 들어, 유효 기간은 화합물을 유효 농도 이상으로 투여하였을 때, 암 세포가 선택적으로 억제되거나, 사멸하게 되는 기간일 수 있다. 예를 들어, 유해 농도는 화합물을 임의 기간 동안 투여하였을 때, 정상 세포의 IC_{50} 을 초과하는 농도일 수 있다. 예를 들어, 유해 기간은 화합물을 유효 농도로 투여하였을 때, 암 세포 뿐만 아니라, 정상 세포도 선택적으로 억제되거나, 사멸하게 되는 기간일 수 있다.

[0245] 당업자는 신생물 세포, 예를 들어, 암 세포는 선택적으로 사멸시키고, 정상 세포는 보존하는 데 필요한 것으로 간주되는, 본원에서 기술되는 바, "선택적 약동학적 성질 프로파일"(SPP: selective pharmacokinetic profile)을 달성하기 위해 투여량 및 투여 빈도를 선택함으로써 약학 조성물을 투여할 수 있다. 그와 같은 SPP 고려 사항이 약학 조성물 디자인, 예를 들어, 입자 크기 분포 및 입자 형상의 분포에 가이드가 될 수 있다.

[0246] 본 발명에 따른 방법에서, 약학 조성물은 예를 들어, 정제, 환제, 캡슐제(경질 또는 연질), 캐플릿, 분제, 과립제, 현탁제, 액제, 겔제, 카세제, 트로키, 로젠지, 시럽제, 엘릭시르, 에멀전, 수중유 에멀전, 유중수 에멀전 또는 물약과 같은 제형으로 경구적으로 투여된다.

[0247] 최적의 입자 크기 분포 확인

[0248] 본 발명에 따른 방법에서, 신생물로 고통받은 인간, 포유동물, 또는 동물을 치료하기 위한 화학식 (I)에 따른 화합물, 화합물 (1), 화합물 (1)의 다형체, 및/또는 화합물 (1)의 실질적으로 순수한 형태의 최적의 입자 크기 분포는 하기와 같이 측정될 수 있다. 화합물을 포함하는 1 이상의 입자 세트를 제조할 수 있다. 입자 세트를 제조할 때, 예를 들어, 고체 화합물 샘플의 입자 크기는 예를 들어, 화합물을 용해시키고, 그 용액을 분무시키고/거나, 화합물을 용해시키고, 그 용액에 초음파처리하고/거나, 고체 화합물을 볼 밀링하고/거나, 고체 화합물을 롤 밀링하고/거나, 고체 화합물을 분쇄시키고/거나, 고체 화합물을 시빙함으로써 감소시킬 수 있다. 1 이상의 입자 세트의 입자 크기 분포는 당업자에게 공지된 방법 또는 방법들의 조합에 의해 측정될 수 있다. 예를 들어, 입자 크기 분포는 한 기법, 예를 들어, 체 분석법, 광학 현미경 계수법, 전자 현미경 사진 계수법, 전자저항 계수법, 침강시간, 레이저 회절법, 광음향 분광법, 또 다른 기법, 또는 기법들의 조합을 사용하여 측정될 수 있다. 1 이상의 입자 세트는 미리 결정된 농도로 미리 결정된 기간 동안에 신생물 세포 및 정상 세포에 투여될 수 있다. 입자가 대사, 분열, 및/또는 신생물 세포 및 정상 세포의 생명력을 나타내는 다른 지표에 미치는 효과를 관찰할 수 있다. 입자가 신생물 세포에 미치는 효과에 관한 관찰 결과를 사용하여 각 입자 세트에 유효성 등급을 배정할 수 있다. 예를 들어, 신생물 세포의 대사 및/또는 분열을 억제시키거나, 신생물 세포를 손상 또는 사멸시키거나, 다르게는 높은 항종양 활성을 보이는 입자 세트는 높은 유효성 등급을 배정받을 수 있다. 입자가 정상 세포에 미치는 효과에 관한 관찰 결과를 사용하여 각 입자 세트에 독성 등급을 배정할 수 있다. 예를 들어, 정상 세포의 대사 및/또는 분열을 억제시키거나, 정상 세포를 손상 또는 사멸시키거나, 다르게는 정상 세포가 입자 세트에 대한 낮은 내성을 보이는 경우의 입자 세트는 높은 독성 등급을 배정받을 수 있다.

[0249] 예를 들어, 입자 세트는 시험관내에서 신생물 세포 및 정상 세포에 투여될 수 있다. 예를 들어, 유효성 등급은 신생물 세포의 IC_{50} 와 동일하거나, 그에 비례하거나, 또는 그의 단조 증가 함수일 수 있다. 예를 들어, 독성 등급은 정상 세포의 IC_{50} 와 동일하거나, 그에 비례하거나, 또는 그의 단조 증가 함수일 수 있다.

[0250] 예를 들어, 입자 세트는 테스트 동물로 생체내에서 신생물 세포 및 정상 세포에 투여될 수 있다. 예를 들어, 테스트 동물은 포유동물, 영장류, 마우스, 래트, 기니아 피그, 래빗, 또는 개일 수 있다. 예를 들어, 유효성 등급

은 입자 세트 투여 후, 신생물 세포 부피 감소량과 동일하거나, 그에 비례하거나, 또는 그의 단조 증가 함수일 수 있다. 예를 들어, 독성 등급은 입자 세트 투여 후, 테스트 동물의 질량 감소량과 동일하거나, 그에 비례하거나, 또는 그의 단조 증가 함수일 수 있다. 예를 들어, 입자 세트는 임상 연구에서 인간에게 투여될 수 있다. 신생물을 치료하는 방법은 신생물로 고통받은 인간, 포유동물, 또는 동물에게 화학식 (I)에 따른 화합물, 화합물 (1), 화합물 (1)의 다형체, 및/또는 화합물 (1)의 실질적으로 순수한 형태로 된 입자 세트를 치료적 유효량으로 투여하는 것을 포함할 수 있다. 화학식 (I)에 따른 화합물, 화합물 (1), 화합물 (1)의 다형체, 및/또는 화합물 (1)의 실질적으로 순수한 형태로 된 입자를 동물 또는 인간에게, 또는 시험관내에서 세포에 투여하기 전에, 입자를 약학적 허용가능한 부형제 중에 현탁시킬 수 있다.

[0251] 제1 입자 크기 분포를 가지는 각 입자 세트의 유효성 등급 및/또는 독성 등급을, 제1 입자 크기 분포와는 다른 입자 크기 분포를 가지는 또 다른 입자 세트 또는 입자 세트들의 유효성 등급 및/또는 독성 등급과 비교할 수 있다. 유효성 등급이 높고, 독성 등급이 낮은 화합물의 입자 세트는 신생물, 예를 들어, 암, 세포를 억제 또는 사멸시키지만, 정상 세포는 보존하는 데 효과적일 수 있다. 당업자는 1 이상의 다른 입자 세트보다 유효성 등급이 더 크고/거나, 독성 등급이 더 작고/거나, 유효성 등급과 독성 등급 가중합(예를 들어, 유효성 등급의 경우, 양 계수를 사용하여 가중치를 줄 수 있고, 독성 등급의 경우, 음 계수를 사용하여 가중치를 줄 수 있다)이 더 큰 입자 세트를 최적의 세트로서 선택할 수 있다. 당업자는 또한 최적의 입자 세트를 선택하는 데 예를 들어, 독성 등급에 대한 유효성 등급의 가중비 및 유효성 등급 가중합을 가진 입자와 같은 또 다른 기준을 사용할 수 있다. 최적의 입자 세트의 입자 크기 분포는 테스트되는 화합물에 대한 최적의 입자 크기 분포로 간주될 수 있다. 최적의 입자 크기 분포는 한 화합물, 예를 들어, 화합물 (1)에 대한 것과, 또 다른 화합물, 예를 들어, 화합물 (1)이 아닌 화학식 (I)에 따른 화합물에 대한 것이 상이할 수 있다. 주어진 화합물에 대한 최적의 입자 크기 분포는 시험관내에서 세포에 투여, 작은 테스트 동물에게 투여, 및 큰 테스트 동물에게 투여한 후 측정하였을 때에 각각 차이를 보일 수 있다. 그러나, 시험관내에서 또는 생체내에서 유기체에게 주어진 화합물을 투여한 후 측정된 최적의 입자 크기 분포가 또 다른 화합물에 대해 입자 크기 분포를 최적화시키는 데, 또는 또 다른 유기체에게 투여하는 데 있어서 합리적인 출발점을 나타낼 수 있다.

[0252] 화학식 (I)에 따른 화합물, 화합물 (1), 화합물 (1)의 다형체, 및/또는 화합물 (1)의 실질적으로 순수한 형태로 된 최적의 입자 세트는 신생물 세포의 복제 또는 확산을 감소 또는 억제시키는 조성물에 포함될 수 있다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0253] 실시예

[0254] 하기 실시예는 본 발명의 다양한 특징들을 추가로 설명하기 위해 제공된다. 본 실시예는 또한 본 발명을 수행하는 유용한 방법을 설명한다. 주장하는 본 발명을 이러한 실시예가 제한하는 것은 아니다.

[0255] 실시예 1 : 나프토프란 화합물의 제조

[0256] 나프토프란 화합물 (2-아세틸나프토프란[2,3-b]푸란-4,9-디온)의 제조 방법은 하기에 요약되어 있다:

[0257] 1단계: 브롬화

[0258] 기계식 교반기, 온도계, 및 투입용 깔때기가 장착된 2 ℓ의 3목 둥근 바닥 플라스크를 3-부텐-2-온(451.2 g)으로 충전시켰다. 브롬(936.0 g)을 투입용 깔때기에 첨가하였다. 플라스크 중의 내용물을 -5℃로 냉각시킨 후, 왕성하게 교반시키고, 온도는 -5℃로 유지시키면서 30분간에 걸쳐 브롬을 플라스크에 적하시켰다. 혼합물을 -5℃에서 추가의 15분 동안 교반한 후, 4개의 등 분량으로 나누었다.

[0259] 2단계: 탈브롬화

[0260] 기계식 교반기, 온도계, 및 투입용 깔때기가 장착된 22 ℓ의 4목 둥근 바닥 플라스크에 각 분량의 혼합물을 테트라히드로푸란(2,133.6 g)과 함께 적재하였다. DBU(1,3-디아자비스아일로[5.4.0]헵텐-7-엔, 222.9 g)를 투입용 깔때기에 충전시켰다. 왕성하게 교반시키고, 온도는 0℃-5℃로 유지시키면서 30분간에 걸쳐 DBU를 플라스크에 적하시켰다. 혼합물을 0℃-5℃에서 추가의 15분 동안 교반하였다.

[0261] 3단계: 커플링 반응

[0262] 이어서, 2-히드록시-1,4-나프토프란(231 g)을 플라스크에 첨가하였다. 추가의 DBU(246.0 g)로 투입용 깔때기를 충전시킨 후, 반응 혼합물의 온도가 40℃를 초과하지 않는 속도로 플라스크에 혼합물을 적하시켰다. DBU 첨가 종결 후, 생성된 혼합물을 실온에서 밤새도록 교반하고, HPLC 분석을 위해 반응 혼합물 샘플을 수집하였다.

- [0263] 4단계: 결정화
- [0264] 반응 혼합물에 물(10.8 ℓ)을 충전시키고, 생성된 혼합물을 30분 이상 동안 0℃-3℃로 냉각시킨 후, 진공 필터를 통해 여과시켰다. 여과된 고체를 연속하여 5% 수성 중탄산나트륨(3 ℓ), 물(3 ℓ), 1% 수성 아세트산(3 ℓ) 및 에탄올(2회)(2 X 1 ℓ)로 세정하였다.
- [0265] 세정된 고체를 보관하고, 다른 배취로부터 함께 폴링하였다. 기계식 교반기, 온도계, 및 축합기가 장착된 500 gal 베셀에 조합된 조 생성물(28.73 kg)을 에틸 아세테이트(811.7 kg)와 함께 적재하였다. 질소 대기하에 상기 혼합물을 2시간 동안 환류 가열(72℃)한 후, 활성탄 층을 함유하는 10 마이크론 카트리지 필터로 여과하여 불용성 물질을 제거하였다.
- [0266] 가열시킨 새 에틸 아세테이트(10 kg)를 사용하여 베셀을 세정하고, 라인 및 필터를 옮겨 놓았다. 조합된 여액을 0-5℃로 냉각시키고, 2시간 동안 상기 온도로 유지시킨 후, 20 인치 브호너 필터를 사용하여 여과시켰다. 여과된 고체 생성물을 0-5℃의 에틸 아세테이트(5.7 kg)로 세정하고, 40℃에서 향량이 될 때까지 진공하에서 건조시켰다. 증발시켜 남은 여액의 부피를 63% 만큼 감소시키고, 결정화 과정을 다시 반복하여 2차 수확 생성물을 생성하고, 이를 1차 수확 생성물과 같은 조건하에서 건조시켰다.
- [0267] 하기 방법에 따라 다량의 나프토프란 화합물을 수득하였다. 다량의 화합물에 대한 순도는 95.44 면적%(HPLC)였다.
- [0268] 실시예 2: 나프토프란 화합물 제조
- [0269] 나프토프란 화합물(2-아세틸나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온)을 제조하는 또 다른 방법은 하기와 같이 요약된다:
- [0270] 1단계 : 브롬화
- [0271] (UV 필터로 차단된) 12 ℓ 의 RBF(둥근 바닥 플라스크: Round Bottom Flask)를 MVK(2,160 ml, 26.4 mol)로 충전시키고, 드라이아이스/아세톤 배쓰 중에서 -9.6℃로 냉각시켰다. $T \leq -2.6^{\circ}\text{C}$ ($T_{\text{최대}}$)로 유지시키면서 2 hr 20 min 동안 천천히 브롬(1,300 ml, 25.3 mol)을 첨가하였다. 생성된 황색 혼합물을 추가의 28 min 동안 교반하였다.
- [0272] 2단계: 브롬화수소 이탈
- [0273] 미리 냉각시킨 THF(테트라히드로푸란)(20 ℓ, 5 ml/g HNQ (2-히드록시-1,4-나프토크논))가 들어 있는 72 ℓ RBF를 상기로부터 얻은 브롬화된 생성물로 충전시키고, 생성된 용액을 -4.8℃로 냉각시켰다. $T < 0.3^{\circ}\text{C}$ ($T_{\text{최대}}$)로 유지시키면서 2 hr 20 min 동안 천천히 THF(4,200 ml) 중에 용해된 DBU(4,200 ml, 28.1 mol)를 첨가하였다. 생성된 현탁액을 42 min 동안 교반하였다.
- [0274] 3단계: 커플링
- [0275] -1.8℃에서 2-히드록시-1,4-나프토프란(4,003 g, 23.0 mol) 1분량을 상기로부터 얻은 반응 혼합물에 충전시켰다. 제2 분량의 DBU(3,780 ml, 25.3 mol)를 48분 동안에 걸쳐 첨가하는 동안에 냉각 배쓰를 첨가하며 반응 혼합물이 40℃가 되도록 만들었다. 냉각 배쓰를 제거하고, 반응 혼합물을 대기에 개봉한 상태로 주말 동안에 교반하였다.
- [0276] 4단계: 조 물질 분리
- [0277] 미리 냉각시킨 물(100 ℓ, 25 ml/g HNQ)이 들어 있는 200 ℓ 반응기를 상기로부터 얻은 반응 혼합물로 충전시켰다. 생성된 현탁액을 6.0℃로 냉각시킨 후, $T = 3 \pm 3^{\circ}\text{C}$ 에서 ~1시간 동안 교반하였다. 이어서, 생성된 현탁액을 여과하고, 수집된 고체를 다시 200 ℓ 반응기로 옮겨 놓았다.
- [0278] 1시간 동안 5% 수성 NaHCO_3 (26 ℓ, 6.5 ml/g HNQ) 중에서 교반한 후, 현탁액을 여과하였다. 수집된 고체를 다시 200 ℓ 반응기로 옮겨 놓고, 1시간 동안 물(26 ℓ) 중에서 교반한 후, 여과하였다.
- [0279] 습윤 고체를 다시 200 ℓ 반응기로 옮겨 놓고, ~1시간 동안 1% 수성 아세트산(26 ℓ) 중에서 교반하고, 여과한 후, 필터 깔때기 상에서 물(10 ℓ)을 사용하여 세척하였다. 수집된 고체를 다시 200 ℓ 반응기로 옮겨 놓고, 에탄올(17.5 L; 4.3 ml/g HNQ) 중에서 완만하게 환류 가열시켰다(77.4℃). 생성된 현탁액을 4.2℃로 냉각시키고, 여과하였다.
- [0280] 습윤 고체를 100 ℓ 반응기로 옮기고, 에탄올(17.5 L; 4.3 ml/g HNQ) 중에서 환류 가열시켰다(77.6℃). 생성된

현탁액을 4.5℃로 냉각시키고, 여과하였다. 습윤 케이크를 밤새도록 탈액시켰다. ^1H NMR 및 HPLC 샘플을 얻었다. ^1H NMR: 화합물 (1)/NDHF (2-아세틸-2,3-디히드로나프토티[2,3-b]푸란-4,9-디온) 42:58%; HPLC: 화합물 (1)/NDHF 74:11 면적%.

[0281] 고체를 50℃에서 4일 동안에 걸쳐 진공 오븐에서 건조시켜 2,268 g의 조 화합물 (1)을 수득하였다. ^1H NMR: 화합물 (1)/NDHF 41:59%; HPLC: 화합물 (1)/NDHF 67:11 면적%.

[0282] 5단계: 나프토티히드로푸란의 산화

[0283] 조 화합물 (1)(2.268 kg)을 톨루엔(77 L) 중에서 슬러리화시켰다. MnO_2 (9,536 g)를 첨가하고, 혼합물을 완만하게 환류 가열시켰다. 1시간 후 TLC(1:1 EA:헥산)를 통해 반응이 종결된 것으로 나타났다.

[0284] 이어서, 미리 가열시킨, 셀라이트(1,530 g, 바닥층), 활성 목탄(2,230 g, 중간층), 및 셀라이트(932 g, 상위층)로 구성된 패드를 통해 반응 혼합물을 고온 여과시켰다. 오렌지황색 여액을 수집하였다.

[0285] 여액을 회전식 증발기 상에서 대략 1/10 부피로 농축시켰다. 슬러리를 여과시키고, 톨루엔으로 세척하였다. 이어서, 결정을 50℃에서 건조시켜 952 g(42%)의 진황색 고체를 수득하였다. HPLC: 99.94%. ^1H NMR을 통해 나프토티히드로푸란이 없는 것으로 나타났다.

[0286] 50℃에서 추가의 46-65시간 동안 진공하에 결정을 건조시켜 물질 중 잔류 톨루엔의 양을 감소시켰다.

[0287] 6단계: 에틸 아세테이트 처리

[0288] 화합물 (1)(5,816 g)을 200 ℓ 반응 베셀에 충전시켰다. 에틸 아세테이트(145 L, 25 mL/g)를 첨가하고, 용액을 2시간 26분 동안에 걸쳐 환류 가열시켰다. 5시간 30분 동안 환류를 유지시킨 후, 혼합물을 냉각시키고, 밤새도록 17℃로 유지시켰다.

[0289] 슬러리를 폴리에틸렌 프릿 상에서 여과하였다. 황색 결정을 대기 건조시킨 후, 진공 오븐 트레이에 놓고 75시간 후에 5,532 g(수율 95.1%)의 황색 고체를 수득하였다. HPLC: 99.86%. ^1H NMR은 화합물 (1)의 구조와 매치되었다.

[0290] 7단계: 에틸 아세테이트 재결정화

[0291] 2 ℓ RBF를 조 물질(10 g) 및 에틸 아세테이트(900 ml)로 충전시켰다. 혼합물을 ~77℃에서 환류시킨 후, 추가의 에틸 아세테이트(100 ml)를 첨가하여 완벽하게 용해시켰다. 생성된 선명한 노랑빛을 띤 용액을 ~30분 동안 환류하에 교반한 후, 가열 장치를 제거하였다. 혼합물을 실온에서 밤새도록 교반하였다.

[0292] 생성된 현탁액을 여과하고, 수집된 황색 고체를 깔때기 상에서 에틸 아세테이트(30 ml)로 세정하였다. 습윤 고체를 4시간 동안에 걸쳐 40-50℃ 진공 오븐에서 건조시켜 8.53 g의 황색 결정질 생성물(총 수율 ~17%)을 수득하였다.

[0293] ^1H NMR: 구조와 일치; HPLC: 99.94 면적%; DSC: 228.68℃, 151 J/g.

[0294] 달리 구체적으로 언급되지 않는 한, 하기 실시예에서 사용되는 화합물 (1)은 실시예 1에서와 같이 제조하였다.

[0295] 실시예 3 : 나프토티푸란 화합물 미분화

[0296] 예를 들어, 화합물 (1) 결정을 밀링하고, 160 미크론(μm) 체 (시브 # 100, 150 μm 개구부)를 통과시켜 대략 160 미크론 이하의 결정을 수득하였다.

[0297] 예를 들어, 입자의 중앙 크기가 약 20 미크론이 되도록 화합물 (1) 결정을 밀링하였다(The Retsch Ultra centrifugal Mill ZM 200; 1회 통과, 18,000 rpm, 0.25 mm 스크린 사용). 하기 표 3은 입자 크기 분포 결과를 제시한 것이다(Hydro 2,000S 습식 부속 장치가 장착된 Malvern 2,000). 열은 열의 표제부에서 첨자로 표시된 누계%의 입자 중에서의 최대 크기를 나타낸다. 예를 들어, D_{90} 열은 입자의 90%가 그러한 크기와 같거나, 그보다 작은 크기인 것인 크기를 나타낸다. D_{50} 열은 중앙 크기를 나타내는데-입자의 절반은 그보다 큰 크기를 가지며, 입자의 절반은 그와 같거나, 그보다 작은 크기를 가진다.

표 3

밀링된 화합물 (1)의 입자 크기 분포			
	입자 크기(미크론)		
	D ₉₀	D ₅₀	D ₁₀
샘플 B	48.9	20.2	2.3

[0298]

[0299]

예를 들어, 제트 밀링 방법(4" 제트 밀(Jet Mill), 벤투리(Venturi) 압력 = 40, 밀(Mill) 압력 = 100, 공급율 = 1,304 g/시간)을 사용하여 하기 표 4에 제시되어 있는 바와 같이, 중앙 입자 크기가 약 2 미크론이 되도록 화합물 (1) 결정을 미분화시켰다. 건식 입자 방법(Sympatec Helos/KF Particle Size Analyzer)을 사용하여 입자 크기에 관한 분석을 수행하였다.

표 4

미분화된 화합물 (1)의 입자 크기 분포			
	입자 크기(미크론)		
	D ₉₀	D ₅₀	D ₁₀
샘플 A	4.63	2.07	0.53

[0300]

[0301]

입자 크기 분포의 로그 정규 모델로부터 도출된 누적 분포 함수는 표 4에 제시된 데이터에 대해 우수한 적합도를 나타내었다. 누적 분포 함수는 하기와 같이 제시될 수 있다:

$$CDF(d) = \frac{1}{2} \left(1 + \operatorname{erf} \left(\frac{\ln(d) - \ln(d_{\text{중앙값}})}{\delta \sqrt{2}} \right) \right)$$

[0302]

[0303]

여기서, erf는 오차 함수이고, d는 입자 직경 변수이며, d_{중앙값}은 중앙 입자 크기이고, δ는 누적 분포 함수의 너비와 관련된 파라미터이다. CDF(d)는 크기가 d 이하인 입자의 분수값을 나타낸다. d_{중앙값}을 관찰된 중앙값 2.07 미크론으로 설정하고, 모델을 피팅하였을 때, δ 값은 1.06이었다. 모델을 통해 평균 직경은 3.6 미크론이고, 최빈경은 0.67 미크론인 것으로 나타났다. 모델을 통해서도 또한, 비록 표면 조도와 같은 인자에 대해서는 설명을 할 수 없지만, 입자의 비표면적은 2,200 m²/kg인 것으로 제안되었다.

[0304]

실시예 4: 입자 크기 중앙값이 2 미크론, 20 미크론, 150 미크론인 제제의 마우스에서의 약동학적 성질

[0305]

본 실험에서는 실시예 2의 6단계에서 제조된, 평균 입자 크기가 2 미크론, 20 미크론, 150 미크론인 미분화된 화합물 (1)을 20% 겔루시르(Gelucire) 44/14 및 1% 트윈 80 중의 현탁액으로서 제제화하고, 100 mg/kg으로 마우스에 경구 투여하였다. 각 시점은 마우스 3마리의 평균값을 나타낸다 (도 16).

[0306]

도 16에 나타난 바와 같이, 하기 화합물들 모두를 100 mg/kg으로 투여하였을 때, 입자 크기가 125-150 미크론 사이인 화합물 (1)은 2 미크론 및 20 미크론 입자와 비교하여 그 노출 수준이 더 낮은 것으로 나타났으며, 그 패턴은 동일하였다. 입자 크기가 20 미크론(d₅₀)인 화합물 (1)은 마우스에서 입자 크기가 2 미크론(d₅₀)인 화합물 (1)과 유사한 혈장 노출을 나타내었다. 추가로, 125-150 미크론 화합물 (1)을 2배로 노출시킨다면, 2 미크론 및 20 미크론 PK 그래프와 매우 유사할 것으로 보인다.

[0307]

실시예 5: 입자 크기가 감소된 제제가 중앙 성장 억제에 있어 더 큰 효과를 나타낸다

[0308]

본 연구에서 화합물 (1)은 입자 크기가 20 미크론 초과인 조성물로 마우스에 투여된 경우에는 어떤 효능도 나타내지 않거나, 약한 효능을 나타내었다. 그러나, 화합물 (1)이 입자 크기가 5 미크론 미만인 조성물로 마우스에 투여된 경우에는 어떤 독성도 없이 강력한 항종양 활성을 가지는 것으로 밝혀졌다.

[0309]

본 실험에서는 피하 이종이식편 FaDu 인간 두부경부암이 확립된 면역억제 마우스 모델에서 입자가 160 미크론으로 시빙된 화합물 (1)의 제제를 테스트하였다. 9% 겔루시르, 20% 비타민 E TPGS 중 80 mg/ml로 약학 조성물을 제제화하였다(표 3). 도 15에 나타난 바와 같이, 400 mg/kg의 1일 용량으로 경구 투여(비히를 대조군 또한 투여하였다)하였을 때에는 어떤 효능도 관찰되지 않았다. 이러한 용량 수준은 도 16에 제시된 PK 실험에서 사용된

것보다 4배 더 높았다. 그러므로, 이러한 마우스에는 우수한 효능을 보이는 2 미크론의 화합물 (1)을 100 mg/kg 을 투여하였을 때 관찰되는 것보다 4x 더 높은 노출량을 받은 것이었다. 모든 요법은 매일(qd) 실시하였다.

[0310] 본 실험에서, 중앙 입자 크기가 약 20 미크론이 되도록 화합물 (1) 결정을 밀링하였다. 본 실험에서는 FaDu 인간 두부경부암을 이중이식 받은 마우스 모델에서 중앙 입자 크기가 약 20 미크론이 되도록 밀링된 화합물 (1)을 200 mg/kg으로 매일 경구 투여하였을 때에는(비히클 대조군 또한 투여하였다) 단지 약하거나 중간 정도의 효능이 관찰되었다(도 15). 모든 요법은 매일(qd) 실시하였다.

[0311] 실시예 1에서 제조된 화합물 (1) 결정 또한 테스트하였다. 제트 밀링 방법(4" 제트 밀, 벤투리 압력 = 40, 밀 압력 = 100, 공급율 = 1,304 g/시간)을 사용하여 표 4에 제시되어 있는 바와 같이, 중앙 입자 크기가 약 2 미크론이 되도록 화합물 (1) 결정을 미분화시켰다.

[0312] FaDu 인간 두부경부암 세포를 암컷 무흉선 누드 마우스에 피하 접종하고(6×10^6 개의 세포/마우스), 손으로 만져지는 종양이 형성될 수 있도록 하였다. 종양이 대략 100 mm³에 도달하였을 때, 동물을 매일 100 mg/kg의 화합물 (1), 또는 비히클 대조군으로 경구적으로(po) 처리하였다. 화합물 (1)을 20% 젤루시르 중에서 10 mg/ml로 제제화하였다. 처리기간 동안 내내 종양 및 체중을 측정하였다(도 15).

[0313] 제트 밀링 방법(8" 팬케이크 밀(Pancake Mill), 벤투리 압력 = 40, 밀 압력 = 40, 공급율 = 1,920 g/시간)을 사용하여 하기 표 5에 제시되어 있는 바와 같이, 중앙 입자 크기가 약 2 미크론이 되도록 화합물 (1) 결정을 미분화시켰다. 건식 입자 방법(Sympatec Helos/KF Particle Size Analyzer)을 사용하여 입자 크기에 관한 분석을 수행하였다. 표 4의 2 미크론 물질에 대해 관찰된 것과 유사한 항종양 활성이 관찰되었다.

표 5

[0314]

미분화된 화합물 (1)의 입자 크기 분포			
	입자 크기(미크론)		
	D ₉₀	D ₅₀	D ₁₀
샘플 A	5.5	2.21	0.51

[0315] 그러므로, 150 미크론 또는 20 미크론의 화합물 (1)은 2 미크론의 화합물 (1)과 유사한 혈장 노출 패턴을 나타내었지만, 그들은 다른 효능을 보였다: 150 미크론의 화합물 (1) 어떤 효능도 보이지 않았고(도 15); 20 미크론의 화합물 (1)은 약하거나 중간 정도의 효능을 보였고; 2 미크론의 화합물 (1)은 강한 효능을 보였다.

[0316] 도 16에 나타난 바와 같이, 입자 크기가 20 미크론(d₅₀)인 화합물 (1)은 마우스에서 입자 크기가 2 미크론(d₅₀)인 화합물 (1)과 유사한 혈장 노출을 나타내었다. 그러나, 놀랍게도, 입자 크기가 20 미크론인 화합물 (1)은 마우스 이중이식 모델에서 단지 약하거나 중간 정도의 효능을 보인 반면, 입자 크기가 2 미크론인 화합물 (1)은 강력한 효능을 보였다. 이는 약물의 효능은 그의 약동학적 성질을 기초로 한다는 일반적 이해로서 예상 밖의 결과였다. 그러므로, 2가지 입자 크기는 모두 동일한 약동학적 성질을 보였는 바, 2가지 모두 동일한 효능을 가져야 한다.

[0317] 추가로, 125-150 미크론 화합물 (1)을 2배로 노출시킨다면, 2 및 20 미크론 PK 그래프와 매우 유사할 것으로 보인다. 흥미롭게도, 150 미크론 화합물 (1)을 400 mg/kg 정도로 높은 수준으로 마우스에 투여하였을 때에도 역시 이중이식 모델에서는 어떤 효능도 보이지 않았다(도 15).

[0318] 이러한 결과는 입자 크기를 감소시키면 혈장 노출이 증가하게 되고, 이로써 보다 우수한 효능을 얻게 된다는 종래 견해와 반대되는 것이다.

[0319] 실시예 6: HPLC 결정

[0320] 본 HPLC 방법은 HPLC에 의해 나프토프란, 예를 들어, 2-아세틸나프토토[2,3-b]푸란-4,9-디온(화합물 (1))의 순도, 및 그의 반응 종결을 평가하고자 하는 것이다. 모든 성분들은 크로마토그램내에서의 총 피크 면적%으로 표시되었다.

표 6

1. 장치 및 물질(표 6A)

장치	UV 검출기 및 통합 시스템이 장착된 HPLC 시스템
칼럼	페노메넥스 루나(Phenomenex Luna) 18(2) 5 μ m, 4.6 mm x 250 mm (P/N 00G-4252-E0) 또는 등가물
pH계	사용 당일 보정
아세트오니트릴	HPLC 등급
디메틸설폭사이드(DMSO)	ACS 등급 이상
인산	ACS 시약
인산칼륨(이염기성)	ACS 시약
화합물 (1)	참조 물질

[0321]

[0322]

2. 용액 제조

[0323]

10 mM 포스페이트 완충액

[0324]

인산칼륨(이염기성)을 1.74 g되게 측정하고, 1 l의 정제수(필요량에 따라 중량 및 부피 조정)로 희석하였다. 인산을 사용하여 pH 6.8로 pH를 조정하였다.

[0325]

이동상 A

[0326]

10 mM 포스페이트 완충액 및 아세트오니트릴을 완충액:아세트오니트릴=80:20의 비로 혼합하여 이동상 A를 제조하였다. 가스를 제거하였다.

[0327]

이동상 B

[0328]

10 mM 포스페이트 완충액 및 아세트오니트릴을 완충액:아세트오니트릴=20:80의 비로 혼합하여 이동상 B를 제조하였다. 가스를 제거하였다.

[0329]

희석제

[0330]

이동상 A를 모든 샘플 및 표준 제제를 위한 희석제로서 사용하는 것으로 하였다.

[0331]

3. 표준 제제

[0332]

화합물 (1) 스톡 표준 (농도 약 1.0 mg/mL)

[0333]

화합물 (1) 스톡 표준은 화합물 (1) 참조 물질을 10 mg이 되게 측정하여 이를 20 mL 설파이드 바이알에 넣고(중량 $\pm$ 0.01 mg 기록) 제조하는 것으로 하였다. 10 mL의 DMSO를 첨가하고, 고체가 용해될 때까지 초음파처리하였다.

[0334]

$$\text{농도} = \frac{(\text{참조표준중량}(mg)) \times \text{표준십진식농도}}{(\text{스톡액부피}(mL))}$$

[0335]

스톡 테스트 샘플 (농도 약 1.0 mg/mL)

[0336]

테스트액은 샘플을 10 mg이 되게 측정하여 이를 20 mL 설파이드 바이알에 넣고, 10 mL의 DMSO로 희석하여 제조하는 것으로 하였다.

[0337]

$$\text{농도} = \frac{(\text{샘플중량}(mg))}{(\text{스톡액부피}(mL))}$$

[0338]

실험 테스트 샘플 (농도 약 0.01 mg/mL)

[0339]

1 mL를 100 mL 부피 플라스크에 옮겨 놓고 희석제 용액으로 희석함으로써 상기 용액을 제조하였다.

[0340]

$$\text{농도} = \frac{\text{스톡테스트샘플농도} \times \text{옮겨놓은부피}(mL)}{(\text{실험용액부피}(mL))}$$

[0341] [표 6B]

4. 기기 작동 조건(표 6B)

유속	0.8 mL/min
칼럼 온도	30°C
검출기 파장	270 nm
주입량	40 μ l
구배 프로파일	0-5 min - 0% B $\rightarrow$ 0% B 5-19 min - 0% B $\rightarrow$ 90% B 19-24 min - 90% B $\rightarrow$ 90% B 24-29 min - 90% B $\rightarrow$ 0% B 주요: 100% A에서의 주입시 다음 주입시까지에는 5 min 간의 평형 시간이 있다
전개 시간	29 min

[0342]

[0343] 5. 작동 방법

[0344] 하기 순서에 따라 용액을 주입하였다:

[0345] 1. 희석제 블랭크(1X)

[0346] 2. 화합물 (1) 실험 표준(5X)

[0347] 3. 테스트액(각각 2X)

[0348] 4. 실험 표준(각각 1X)

[0349] 6. 시스템 적합성

[0350] 시스템이 하기의 기준을 충족시키는 경우라면, 이는 사용하기 적합한 것으로 하였다.

[0351] 1. 순서상 맨 처음에 있는 희석제 블랭크는 어떤 확인된 불순물도 포함하지 않으며, 어떤 간섭 피크도 포함하지 않는다.

[0352] 2. 화합물 (1) 실험 표준의 초기의 5개의 복제 주입량은 (1)RSD%피크 면적 < 3.0%; (2)RSD%체류 시간 < 3.0%; 및 (3) 평균 테일링 인자 < 2.0을 가진다.

[0353] 3. 괄호 표시된 표준에 대한 크로마토그램에서, (1) 체류 시간은 초기의 적합 주입량으로부터의 평균 체류 시간의 97.0 - 103.0%이고, (2) 그의 면적%는 초기값의 97.0 - 103.0%이다.

[0354] 7. 계산

[0355] 모든 피크는 크로마토그램에서 총 피크의 면적%로 기록하는 것으로 하였고, 이는 하기 식에 따라 적분 소프트웨어에 의해 계산하는 것으로 하였다:

[0356]
$$\text{면적}\% = \frac{\text{피크의면적계수}}{\text{피크모두의총면적}} \times 100$$

[0357] [표 6C]

NMR(표 6C)

장치	베리안 이노바(Varian Inova) 500 NMR 분광계
펄스 시퀀스	S2pul
용매	CDC13
온도	25.0℃/298.1K
이완 지연	1.000 sec
펄스	45.0°
획득 시간	2.732 sec
폭	11992.2 Hz
	32회 반복
옵저브 H1(OBSERVE H1)	499.7029706 MHz
FT 크기	65536
총 시간	1 min. 50 sec

[0358]

[0359] [표 6D]

실리카 겔상에서의 TLC(표 6D)

용리제	에틸 아세테이트:헥산, 1:1
시각화	UV
Rf ₄₀₁	~0.7
Rf _{NDF}	~0.6

[0360]

[0361] **실시예 7: 2-아세틸나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온 제조**

[0362] 화합물 (1)의 제조 방법을 하기에 제시한다.

[0363] 1단계: 브롬화

[0364] 기계식 교반기, 온도계, 및 투입용 깔때기가 장착된 2 ℓ의 3목 둥근 바닥 플라스크에 3-부텐-2-온(451.2 g)을 충전시켰다. 브롬(936.0 g)을 투입용 깔때기에 첨가하였다. 플라스크 중의 내용물을 -5℃로 냉각시킨 후, 왕성하게 교반시키고, 온도는 -5℃로 유지시키면서 30분간에 걸쳐 브롬을 플라스크에 적하시켰다. 혼합물을 -5℃에서 추가의 15분 동안 교반한 후, 4개의 동 분량으로 나누었다.

[0365] 2단계: 탈브롬화

[0366] 기계식 교반기, 온도계, 및 투입용 깔때기가 장착된 22 ℓ의 4목 둥근 바닥 플라스크에 각 분량의 혼합물을 테트라히드로푸란(2,133.6 g)과 함께 적재하였다. DBU(1,3-디아자비스사이클로[5.4.0]헵트-7-엔, 222.9 g)를 투입용 깔때기에 충전시켰다. 왕성하게 교반시키고, 온도는 0℃-5℃로 유지시키면서 30분간에 걸쳐 DBU를 플라스크에 적하시켰다. 혼합물을 0℃-5℃에서 추가의 15분 동안 교반하였다.

[0367] 3단계: 커플링 반응

[0368] 이어서, 2-히드록시-1,4-나프토평(231 g)을 플라스크에 첨가하였다. 추가의 DBU(246.0 g)로 투입용 깔때기를 충전시킨 후, 반응 혼합물의 온도가 40℃를 초과하지 않는 속도로 플라스크에 혼합물을 적하시켰다. DBU 첨가 종결 후, 생성된 혼합물을 실온에서 밤새도록 교반하고, HPLC 분석을 위해 반응 혼합물 샘플을 수집하였다.

[0369] 반응 혼합물에 물(10.8 ℓ)을 충전시키고, 생성된 혼합물을 30분 이상 동안 0℃-3℃로 냉각시킨 후, 진공 필터를 통해 여과시켰다. 여과된 고체를 연속하여 5% 수성 중탄산나트륨(3 ℓ), 물(3 ℓ), 1% 수성 아세트산(3 ℓ) 및 에탄올(2회)(2 X 1 ℓ)로 세정하였다.

[0370] 4단계: 결정화

[0371] 세정된 고체를 보관하고, 다른 배취로부터 함께 풀링하였다. 기계식 교반기, 온도계, 및 축합기가 장착된 500 gal 베슬에 조합된 조 생성물(28.73 kg)을 에틸 아세테이트(811.7 kg)와 함께 적재하였다. 질소 대기하에 상기

혼합물을 2시간 동안 환류 가열(72℃)한 후, 활성탄 층을 함유하는 10 마이크론 카트리지 필터로 여과하여 불용성 물질을 제거하였다.

[0372] 가열시킨 새 에틸 아세테이트(10 kg)를 사용하여 베슬을 세정하고, 라인 및 필터를 옮겨 놓았다. 조합된 여액을 0-5℃로 냉각시키고, 2시간 동안 상기 온도로 유지시킨 후, 20 인치 브호너 필터를 사용하여 여과시켰다. 여과된 고체 생성물을 0-5℃의 에틸 아세테이트(5.7 kg)로 세정하고, 40℃에서 향량이 될 때까지 진공하에서 건조시켰다.

[0373] 증발시켜 남은 여액의 부피를 63% 만큼 감소시키고, 결정화 과정을 다시 반복하여 2차 수확 생성물을 생성하고, 이를 1차 수확 생성물과 같은 조건하에서 건조시켰다.

[0374] 본 방법에 따라 2가지 로트의 화합물 (1)을 수득하였다. HPLC에 의해 측정된 바, 한 로트의 순도는 91.64 면적% 이고, 다른 한 로트의 순도는 95.44 면적%였다.

[0375] **실시예 8: 조 2-아세틸나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온 제조**

[0376] 화합물 (1)을 제조하는 또 다른 방법은 하기와 같이 요약된다:

[0377] 1단계 : 브롬화

[0378] (UV 필터로 차단된) 12 ℓ의 RBF(둥근 바닥 플라스크)를 MVK(2,160 ml, 26.4 mol)로 충전시키고, 드라이아이스/아세톤 배스 중에서 -9.6℃로 냉각시켰다. T ≤ -2.6℃(T_{최대})로 유지시키면서 2 hr 20 min 동안 천천히 브롬(1,300 ml, 25.3 mol)을 첨가하였다. 생성된 황색 혼합물을 추가의 28 min 동안 교반하였다.

[0379] 2단계: 브롬화수소 이탈

[0380] 미리 냉각시킨 THF(테트라히드로푸란)(20 ℓ, 5 ml/g HNQ (2-히드록시-1,4-나프토크논))가 들어 있는 72 ℓ RBF를 상기로부터 얻은 브롬화된 생성물로 충전시키고, 생성된 용액을 -4.8℃로 냉각시켰다. T < 0.3℃(T_{최대})로 유지시키면서 2 hr 20 min 동안 천천히 THF(4,200 ml) 중에 용해된 DBU(4,200 ml, 28.1 mol)를 첨가하였다. 생성된 현탁액을 42 min 동안 교반하였다.

[0381] 3단계: 커플링

[0382] -1.8℃에서 2-히드록시-1,4-나프토포란(4,003 g, 23.0 mol) 1분량을 상기로부터 얻은 반응 혼합물에 충전시켰다. 제2 분량의 DBU(3,780 ml, 25.3 mol)를 48분 동안에 걸쳐 첨가하는 동안에 냉각 배스를 첨가하며 반응 혼합물이 40℃가 되도록 만들었다. 냉각 배스를 제거하고, 반응 혼합물을 대기에 개봉한 상태로 주말 동안에 교반하였다.

[0383] 4단계: 조 물질 분리

[0384] 미리 냉각시킨 물(100 ℓ, 25 ml/g HNQ)이 들어 있는 200 ℓ 반응기를 상기로부터 얻은 반응 혼합물로 충전시켰다. 생성된 현탁액을 6.0℃로 냉각시킨 후, T = 3±3℃에서 ~1시간 동안 교반하였다. 이어서, 생성된 현탁액을 여과하고, 수집된 고체를 다시 200 ℓ 반응기로 옮겨 놓았다.

[0385] 1시간 동안 5% 수성 NaHCO₃(26 ℓ, 6.5 ml/g HNQ) 중에서 교반한 후, 현탁액을 여과하였다. 수집된 고체를 다시 200 ℓ 반응기로 옮겨 놓고, 1시간 동안 물(26 ℓ) 중에서 교반한 후, 여과하였다.

[0386] 습윤 고체를 다시 200 ℓ 반응기로 옮겨 놓고, ~1시간 동안 1% 수성 아세트산(26 L) 중에서 교반하고, 여과한 후, 필터 깔때기 상에서 물(10 ℓ)을 사용하여 세척하였다. 수집된 고체를 다시 200 ℓ 반응기로 옮겨 놓고, 에탄올(17.5 L; 4.3 ml/g HNQ) 중에서 완만하게 환류 가열시켰다(77.4℃). 생성된 현탁액을 4.2℃로 냉각시키고, 여과하였다.

[0387] 습윤 고체를 100 ℓ 반응기로 옮기고, 에탄올(17.5 L; 4.3 ml/g HNQ) 중에서 환류 가열시켰다(77.6℃). 생성된 현탁액을 4.5℃로 냉각시키고, 여과하였다. 습윤 케이크를 밤새도록 탈액시켰다. ¹H NMR 및 HPLC 샘플을 얻었다. ¹H NMR: 화합물 (1)/NDHF (2-아세틸-2,3-디히드로나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온) 42:58%; HPLC: 화합물 (1)/NDHF 74:11 면적%.

[0388] 고체를 50℃에서 4일 동안에 걸쳐 진공 오븐에서 건조시켜 2,268 g의 조 화합물 (1)을 수득하였다. ¹H NMR: 화

합물 (1)/NDHF 41:59%; HPLC: 화합물 (1)/NDHF 67:11 면적%.

[0389] **실시예 9: 나프토디히드로푸란의 산화**

[0390] 조 화합물 (1)(2.268 kg)을 톨루엔(77 L) 중에서 슬러리화시켰다. MnO_2 (9,536 g)를 첨가하고, 혼합물을 완만하게 환류 가열시켰다. 1시간 후 TLC(1:1 EA:헥산)를 통해 반응이 종결된 것으로 나타났다.

[0391] 이어서, 미리 가열시킨, 셀라이트(1,530 g, 바닥층), 활성 목탄(2,230 g, 중간층), 및 셀라이트(932 g, 상위층)로 구성된 패드를 통해 반응 혼합물을 고온 여과시켰다. 오렌지황색 여액을 수집하였다.

[0392] 여액을 회전식 증발기 상에서 대략 1/10 부피로 농축시켰다. 슬러리를 여과시키고, 톨루엔으로 세척하였다. 이어서, 결정을 50℃에서 건조시켜 952 g(42%)의 진황색 고체를 수득하였다. HPLC: 99.94%. 1H NMR을 통해 나프토디히드로푸란이 없는 것으로 나타났다.

[0393] 50℃에서 추가의 46-65시간 동안 진공하에 결정을 건조시켜 물질 중 잔류 톨루엔의 양을 감소시켰다.

[0394] **실시예 10: 에틸 아세테이트 처리**

[0395] 화합물 (1)(5,816 g)을 200 ℓ 반응 베셀에 충전시켰다. 에틸 아세테이트(145 L, 25 mL/g)를 첨가하고, 용액을 2시간 26분 동안에 걸쳐 환류 가열시켰다. 5시간 30분 동안 환류를 유지시킨 후, 혼합물을 냉각시키고, 밤새도록 17℃로 유지시켰다.

[0396] 슬러리를 폴리에틸렌 프릿 상에서 여과하였다. 황색 결정을 대기 건조시킨 후, 진공 오븐 트레이에 놓고 75시간 후에 5,532 g(수율 95.1%)의 황색 고체를 수득하였다. HPLC: 99.86%. 1H NMR은 화합물 (1)의 구조와 매치되었다.

[0397] **실시예 11: 에틸아세테이트 재결정화**

[0398] 2 ℓ RBF를 조 물질(10 g) 및 에틸 아세테이트(900 ml)로 충전시켰다. 혼합물을 ~77℃에서 환류시킨 후, 추가의 에틸 아세테이트(100 ml)를 첨가하여 완벽하게 용해시켰다. 생성된 선명한 노랑빛을 띤 용액을 ~30분 동안 환류하에 교반한 후, 가열 장치를 제거하였다. 혼합물을 실온에서 밤새도록 교반하였다.

[0399] 생성된 현탁액을 여과하고, 수집된 황색 고체를 깔때기 상에서 에틸 아세테이트(30 ml)로 세정하였다. 습윤 고체를 4시간 동안에 걸쳐 40-50℃ 진공 오븐에서 건조시켜 8.53 g의 황색 결정질 생성물(총 수율 ~17%)을 수득하였다.

[0400] 1H NMR: 구조와 일치; HPLC: 99.94 면적%; DSC: 228.68℃, 151 J/g.

[0401] **실시예 12: 암 및 암 줄기 세포를 표적화하는 나프토푸란 화합물 확인 방법**

[0402] **살아 있는 동물의 평가:** 또한 각 동물의 건강 상태를 매일 검사하였다. 매 3일마다 체중을 체크하였다. 시설의 축산 방법에 따라 매일 먹이와 음용수를 공급하였다. 치사율이 >20%이고/거나, 순 체중 감량이 >20%가 되도록 하는 처리는 독성인 것으로 간주하였다. 결과는 평균 중앙 부피 (mm) $\pm$ SE로 표시하였다. P 값 < 0.05인 것은 통계학상 관련이 있는 것으로 간주하였다.

[0403] **축산:** 4-5주령된 수컷 또는 암컷 무흉선 누드 마우스(Charles River Laboratories: 미국 매사추세츠주 윌밍턴 소재)를 적어도 연구 개시 1주 전에 동물 하우징 시설에 순응시켰다. 사용된 실험 방법은 모두 미국 생리 학회(American Physiology Society)가 개요를 서술한 가이드라인, 및 실험 동물 사용 관리 가이드(Guide for the Care and Use of Laboratory Animals)와 일치하였고, 이는 또한 보스턴 바이오메디컬 인크.(Boston Biomedical Inc.)의 동물 실험 윤리 위원회(Institutional 동물 Care and Use Committee)로부터 승인을 받은 것이었다. 온도(68° F-72° F), 채광(12 h씩의 명기 암기 주기), 및 습도(45-55%)가 조절되는 방 안의 목편으로 침상이 준비된 케이지 중에서 동물을 4개의 군으로 나누어 하우징시켰다. 실험하는 동안 동물은 음용수와 먹이에 자유롭게 접근할 수 있게 하였다.

[0404] **실시예 13: 임상 시험: 안전성 및 효능**

[0405] US FDA와 캐나다 보건부로부터 IND 승인을 받은 후, 표준 요법으로는 실패한 성인 진행성 암 환자에서의 용량 단계적 확대 연구인 I상 임상 시험 진입을 위해 2-아세틸나프토[2,3-b]푸란-4,9-디온을 선택하였다. 한 주기는 4주간 상기 화합물을 1일 2회에 걸쳐 경구 투여하는 것으로 구성되었다. 질환 진행, 비허용 독성, 또는 또 다른

중단 기준을 충족할 때까지 매 4주(28일)마다 주기를 반복하였다. 용량 단계적 확대 시험은 개방 표지 다중 센터 시험으로서 수행하였다. 용량 단계적 확대를 위해 변형된 시몬(Simon) 가속형 적정 계획안을 사용하였다.

[0406] 본 시험의 1차 목표는 안전성, 내성, 및 II상 권고 용량(RP2D: recommended phase II dose)을 측정하는 것이었다. 본 시험의 2차 목표는 화합물의 약동학적 프로파일, 화합물의 약력학적 성질, 및 화합물의 예비 항종양 활성을 측정하는 것이었다.

[0407] 포함 기준으로는 전이성이거나, 절제가 불가능한 것이거나, 또는 재발성인 조직학적으로 또는 세포학적으로 확인된 것인 고형암; 연령 18세 이상; RECIST에 의한 측정가능 질환; 및 카노후스키(Karnofsky) 70% 이상인 것을 포함하였다. 배제 기준은 1차 투여 후 4주 이내의 화학요법, 방사선요법, 면역요법, 또는 치료시험약; 1차 투여 후 4주 이내의 수술; 및 공지된 뇌 전이를 포함한다.

[0408] 화학요법으로는 실패한 각종의 진행성 고형 종양을 앓는 암 환자 42명이 2011년 2월 7일자로 본 연구에 등록하였다. 하기 기준하에 선택된 환자의 인구통계학적 특징 및 기준 질환의 특징을 하기 표 7에 요약하였다.

표 7

[0409]

인구통계학적 특징 및 기준 질환의 특징		
	환자 (N=42)	
연령(세)	평균	59.6 (12.7)
	최소, 최대	28, 91
성별[N(%)]	남성	29 (70.7%)
	여성	12 (29.3%)
인종[N(%)]	백인	33 (80.5%)
	아시아계	3 (7.3%)
	흑인	1 (2.4%)
	기타	2 (4.9%)
	히스패닉계	0 (0%)
사전 요법 ¹	> 3	20
	2	2
	1	4

[0410] 42명의 환자 중 10명의 코호트를 20 mg 내지 2,000 mg/일 범위의 용량에 대해 평가하였다. 용량 단계적 확대의 내성은 우수하였고, 어떤 용량 제한 독성도 관찰되지 않았다. 유해 사례도 일반적으로는 경미한 정도였고, 가장 일반적인 것은 설사, 오심, 및 피로감이었다. 3등급 이상의 사례는 피로감 및 설사를 포함하였다. 이러한 유해 사례는 말기 암 환자가 경험하는 것에 대한 기록 결과이며, 임상 시험에서 이는 화합물 (1)과는 관련이 있을 수도 있거나, 또는 없을 수도 있다. 유해 사례는 하기 표 8에 요약되어 있다.

표 8

유해 사례 요약

사례명	임의 등급		1등급		2등급		3등급	
	사례수	관제에 대한 상대적인 비율(%)	사례수	관제에 대한 상대적인 비율(%)	사례수	관제에 대한 상대적인 비율(%)	사례수	관제에 대한 상대적인 비율(%)
설사	23	28.4%	20	24.7%	2	2.5%	2	2.5%
구토	14	17.3%	13	16.0%	1	1.2%	0	0.0%
오심	10	12.3%	8	9.9%	2	2.5%	0	0.0%
복통	6	7.4%	5	6.2%	1	1.2%	0	0.0%
허약	5	6.2%	2	2.5%	3	3.7%	0	0.0%
피로감	4	4.9%	1	1.2%	2	2.5%	1	1.2%
식욕부진	4	4.9%	3	3.7%	1	1.2%	0	0.0%
미각이상	3	3.7%	3	3.7%	0	0.0%	0	0.0%
식욕감퇴	2	2.5%	1	1.2%	1	1.2%	0	0.0%
열	2	2.5%	1	1.2%	1	1.2%	0	0.0%
피부 발진	2	2.5%	2	2.5%	0	0.0%	0	0.0%
현기증	2	2.5%	2	2.5%	0	0.0%	0	0.0%
땀은 변	2	2.5%	2	2.5%	0	0.0%	0	0.0%
소변 색상 변화	2	2.5%	2	2.5%	0	0.0%	0	0.0%

[0411]

[0412] 현재까지는 MTD에도 RP2D에도 도달하지 않았다. 화합물을 약 1,000 mg/일로 투여하였을 때에는 뚜렷한 선형 약동학적 성질을 통해 바람직한 약동학적 성질을 보였으며, 매 28일 동안 매일 반복 투여하였을 때에도 약물 축적에 관한 증거는 없었다. 320 mg/일 용량 수준에서, 화합물의 혈장 농도는 1.5 μ M 이상의 농도로 8시간 동안에 걸쳐 지속되었다(화합물의 시험관내 IC₅₀: 30-500 nM). 다른 투여군들의 평균 혈장 농도는 도 12에 제시되어 있다.

[0413] 2011년 2월 7일자로 투여받은 42명의 환자 중 24명을 종양 반응에 대해 평가하였는데; 16명(24명의 평가가능한 환자 중 16명)이 안정 병변에 도달하였다(8 내지 75+주제). 현재까지 등록된 환자는 하기 표 9에 요약되어 있다.

표 9

현재까지 등록된 환자

환자	1일 총 용량 (mg)	스케줄	진단	최상 관해 (RECIST 1.1)	신생 병변
0001	20	qd	결장 샘암종	MR (퇴행률 27.6%)	1
0002	40	qd	위 샘암종	PD	3
0003	80	qd	두부경부암종	SD	0
0004	80	bid	결장 샘암종	PD	0
0005	160	bid	흑색종	n.e	n.e.
0006	160	bid	폐 샘암종	SD	0
0007	320	bid	폐 샘암종	n.e	n.e.
0008	320	bid	결장 샘암종	SD	2
0009	320	bid	두부경부암종	n.e	n.e.
0010	320	bid	결장 샘암종	SD	0
0011	320	bid	혈관육종	SD	0
0012	320	bid	전립샘암	PD	0
0013	400	bid	위 샘암종	SD (퇴행 경우)	0
0014	400	bid	난소암	SD (CA125 정규화)	0
0015	400	bid	결장 샘암종	SD (CEA ? >30-50%)	0
0016	600	bid	췌장 샘암종	PD	0
0017	600	bid	직장암	n.e	n.e.
0018	600	bid	전립샘암	n.e	n.e.
0019	600	bid	NSC 폐암	n.e	n.e.
0020	600	bid	유방암	SD (공동성 종양)	0
0021	800	bid	연골육종	SD	0
0022	800	bid	전립샘암	PD	0
0023	800	bid	아드레노코르티코이드	SD	0
0024	1000	bid	직장암	SD	0
0025	1000	bid	육종	PD	-
0026	1000	bid	췌장 샘암종	n.e.	n.e.
0027	1400	bid	결장 샘암종	PD	2
0028	1400	bid	결장 샘암종	PD	-
0029	1400	bid	흑색종	SD	-

[0414]

환자	1일 총 용량 (mg)	스케줄	진단	최상 관해 (RECIST 1.1)	신생 병변
0030	1000	bid	결장 샘암종	n.e	n.e.
0031	1000	bid	결장 샘암종	n.e	n.e.
0032	200	tid	결장 샘암종	SD	0
0033	500	tid	결장 샘암종	n.e	n.e.
0034	500	tid	방광 샘암종	n.e	n.e.
0035	500	tid	결장직장암	n.e	n.e.
0036	500	tid	직장암	n.e	n.e.
0037	500	tid	결장 샘암종	SD	0
0038	500	tid	췌장암	n.e	n.e.
0039	200	tid	GEJ 암	-	-
0040	500	bid	결장직장암	-	-
0041	500	bid	결장직장암	-	-
0042	500	bid	결장 샘암종	-	-

[0415]

[0416] 24명의 평가가능한 환자 중 16명이 SD/MR을 보였으며, 12명은 RECIST 1.1에 따라 장기 SD(>12주)를 보였으며; 투여받은 환자 중 83%에서 신생 전이성 병변은 예방된 것으로 나타났다.

[0417] 환자 0001에서의 신장으로의 결장암 전이성 병변의 완전 관해가 도 19에 제시되어 있다. 20 mg을 매일 투여하였을 때, 환자의 뇨에서 고농도의 화합물이 관찰되었다. 뇨 중 화합물이 풍부하다는 것(표 10)은 상대적으로 저투여량에서도 완전 관해가 관찰된다는 것을 설명한다.

[0418] 환자 0001에서의 신장으로의 결장암 전이성 병변의 완전 관해가 도 19에 제시되어 있다. 20 mg을 매일 투여하였을 때, 환자의 뇨에서 고농도의 화합물이 관찰되었다. 뇨 중 화합물이 풍부하다는 것은 상대적으로 저투여량에서도 완전 관해가 관찰된다는 것을 설명하는 데 도움을 줄 수 있다.

표 10

화합물 (1)은 환자의 뇨 중에 고농도로 존재한다

환자	1일 총 용량 (mg)	투여 후 경과 시간(min)	BBI608 (μ M)
7	320	120-240	4.3
		360-480	23.1
8	320	120-240	7.9
		360-480	1.8
9	320	120-240	8.9
		360-480	23.6
10	320	120-240	22.7
		360-480	26.2
11	320	120-240	1.8
		360-480	4.5
12	400	120-240	4.11
		360-480	3.86
14	400	120-240	1.42
		360-480	5
15	600	120-240	3.1
		360-480	10.65
17	600	120-240	1.66
		360-480	45.35
18	600	120-240	2.41
		360-480	6.3
20	800	120-240	6.17
		360-480	118.25
21	800	120-240	0.42
		360-480	7.42
23	800	120-240	2.51
		360-480	11.97

[0419]

[0420] 따라서, 본 화합물은 탁월한 안전성 프로파일을 나타내었다. 현재까지는 어떤 용량 제한 독성도 관찰되지 않았다.

[0421] 경구적으로 bid 투여하였을 때, 바람직한 PK 프로파일 또한 관찰되었다. 혈장 농도는 유효 농도(시험관내 IC_{50})보다 몇배 더 큰 값에 도달하였다. AUC 데이터가 표 11에 제시되어 있다.

표 11

상이한 용량 수준에 대한
AUC 요약

1일 총 용량 (mg) (BID 투여)	AUC ₀₋₂₄ (uM*hr)	SD
80	7.95	
160	9.52	0.91
320	29.79	14.95
400	53.61	19.55
600	27.27	5.97
800	26.43	5.27
1000	42.61	8.94
1400	28.38	3.95
2000	39.09	18.66

[0422]

[0423]

또한, 항종양 활성의 징후가 관찰되었다. 결장직장 선암, 두부경부암, 폐암, 유방암, 위암, 및 난소암, 흑색종을 비롯한, 화학요법에 대해 무반응성인 다양한 종양에서 24명의 환자 중 16명이 RECIST에 의해 SD/MR을 보였다. 신장암으로의 결장암 전이성 병변의 완전 관해가 있었다(도 19). 화합물 (1)로 치료받은 환자에서는 극적으로 신생 전이성 종양 병변이 없는 것으로 나타났다. 진행성 무반응성 암을 앓는, 평가가능한 24명의 환자 중 80% 초과환자에서 어떤 전이성 종양도 나타나지 않았다.

[0424]

BB1608 치료 동안 장기 안정 병변(>16주)에 도달한 환자는 항p-STAT3 항체를 사용하는 면역조작화학법에 의한 치료 이전에는 그의 종양 조직 내에 p-STAT3을 고수준으로 가지는 것으로 밝혀졌다(도 25).

[0425]

실시예 14: 투여 요법

[0426]

본 발명의 화합물의 입자, 다형체 및/또는 정제된 형태를 포함하는 약학 조성물의 치료적 유효량은 약 20 mg 내지 약 2,000 mg, 약 240 mg 내지 약 1,500 mg, 또는 약 400 mg 내지 약 1,000 mg 범위의 1일 총 용량일 수 있다.

[0427]

적합한 투여 요법은 본 발명의 화합물의 입자, 다형체 및/또는 정제된 형태를 1일 단일 용량으로 투여하는 것을 포함한다. 예를 들어, 본 발명의 화합물의 입자, 다형체 및/또는 정제된 형태는 약 20 mg QD 내지 약 1,000 mg QD 범위의 1일 단일 용량으로 투여된다.

[0428]

적합한 투여 요법은 본 발명의 화합물의 입자, 다형체 및/또는 정제된 형태를 1일 1회 초과 용량으로 투여하는 것을 포함한다. 예를 들어, 본 발명의 화합물의 입자, 다형체 및/또는 정제된 형태는 1일 2회 용량으로, 여기서, 1일 총 용량은 약 40 mg 내지 약 2,000 mg 범위로 투여된다. 예를 들어, 본 발명의 화합물의 입자, 다형체 및/또는 정제된 형태는 1일 2회 용량으로, 여기서, 각 용량은 약 20 mg 내지 1,000 mg 범위로 투여된다. 예를 들어, 본 발명의 화합물의 입자, 다형체 및/또는 정제된 형태는 1일 2회 용량으로, 여기서, 각 용량은 약 160 mg 내지 600 mg 범위로 투여된다. 예를 들어, 본 발명의 화합물의 입자, 다형체 및/또는 정제된 형태는 1일 2회 용량으로, 여기서, 각 용량은 약 200 mg 내지 500 mg 범위로 투여된다. 예를 들어, 본 발명의 화합물의 입자, 다형체 및/또는 정제된 형태는 1일 2회 용량으로, 여기서, 각 용량은 약 500 mg으로 투여된다.

[0429]

적합한 투여 요법은 본 발명의 화합물의 입자, 다형체 및/또는 정제된 형태를 1일 3회 용량으로, 여기서, 1일 총 용량은 약 60 mg 내지 약 1,500 mg 범위로 투여하는 것을 포함한다. 예를 들어, 본 발명의 화합물의 입자, 다형체 및/또는 정제된 형태는 1일 3회 용량으로, 여기서, 각 용량은 약 20 mg 내지 500 mg 범위로 투여된다. 예를 들어, 본 발명의 화합물의 입자, 다형체 및/또는 정제된 형태는 1일 3회 용량으로, 여기서, 각 용량은 160 mg 내지 500 mg 범위로 투여된다.

[0430]

인간 피험체가 약 500 mg의 화합물 (1)을 1일 2회(즉, 1일 총 용량 1,000 mg) 투여받은 투여 요법을 통해 치료를 받은 거의 대부분의 환자에서 최상의 선택적인 약동학적 성질이 달성되는 것으로 나타났다. 본원에서 500 mg BID로 언급되는 이와 같은 투여 요법이 인간에서 화합물 (1)의 원하는 약동학적 특성을 입증하였다(도 20).

[0431] 또 다른 적합한 투여 요법으로, 500 mg의 화합물 (1)을 인간 피험체에게 1일 3회(TID)에 걸쳐 투여하였다. 1일 2회에 걸쳐 투여한 것과 비교하여 1일 3회에 걸쳐 투여하였을 때 화합물 (1)의 노출 수준에 있어서는 유의적으로 개선되지는 않았지만, 용량을 TID로 투여하였을 때에는 인간에서 약물의 노출 시간이 증가하게 된다. 본원에서 500 mg TID로 언급되는 이와 같은 투여 요법은 약물과 관련되는 유의적인 유해 사례는 관찰되지 않으면서, 우수한 내성을 보였다.

[0432] 추가의 또 다른 적합한 투여 요법으로 약 20 mg의, 또는 그보다 많은 양의 화합물 (1)을 1일 1회에 걸쳐 인간 피험체에게 투여하였다. 본원에서 20 mg QD로 언급되는 이와 같은 투여 요법은 환자에서 치료학상 활성 수준을 보였지만, 인간 혈액으로부터 빠르게 제거되었다(도 21). 이와 같은 투여 요법은 인간에서 우수한 내성을 보였으며, 뇨 중 초고농도의 약물에 기인한 신장에서의 결장암 병변의 강력한 항종양 활성에 관한 징후를 보였다.

[0433] 추가의 또 다른 적합한 투여 요법으로, 화합물 (1)을 공복에 우유와 함께 투여하였는데, 이를 통해 바람직한 약동학적 성질을 얻었다(표 12).

표 12

우유가 화합물 (1)의 약동학적 성질에 미치는 효과

PK 파라미터	공복	우유와 함께 복용	변화배수
C _{최대} (uM)	2.01	3.05	1.52
AUC _{0-24hrs}	20.12	31.40	1.56
C _{최대} (uM)	2.55	2.89	1.13
AUC _{0-24hrs}	20.72	32.16	1.55

[0434]

[0435] 추가의 또 다른 적합한 투여 요법으로, 화합물 (1)을 T_{최대}를 지연시키는 음식물과 함께 투여하였다(표 13).

표 13

T_{최대}를 지연시키는 음식물과 함께 화합물 (1) 복용

환자	T _{최대} (hr)		
	공복	우유와 함께 복용	음식물과 함께 복용
20	2	2	8
21	6	6	6
22	8	8	10
24	-	6.3	10
27	-	0.5	6
28	-	6	10

[0436]

[0437] **실시예 15: 나프토푸란 화합물은 무진행 생존 기간을 연장시킨다.**

[0438] 화학요법에 대해 무반응성인 진행성 결장직장암 환자에서 무진행 생존 기간(PFS)이 연장된 것으로 나타났다(도 22). 무진행 생존 기간 연장은 또한 두부경부암, 위암, 난소암, 3중 음성 유방암, 흑색종, 아드레노코르티코이드 암, 및 폐암 환자에서도 역시 관찰되었다.

[0439] 1 uM 초과인 화합물 (1)의 혈중 약물 농도는 결장직장암, 위암, 두부경부암, 흑색종, 연골육종, 폐암, 전립샘암, 난소암, 아드레노코르티코이드 및 혈관육종을 비롯한 각종의 암 환자에서의 무진행 생존 기간(도 23) 연장과 상관 관계가 있었다.

[0440] **실시예 16: 화합물 (1)의 약동학적 성질 프로파일**

[0441] 화합물 (1)은 암 세포 및 정상 세포에 동등하게 독성을 띠는 것으로 밝혀졌으며, 이는 암을 치료하는 데 있어 어떤 잠재능도 없는 것으로 귀결되었다(문헌 ([K. Hirai K. et al., Cancer Detection and Prevention, 23(6) (1999) 539-550]; Takano A. et al., Anticancer Research 29:455-464, 2009])). 본원에 기술된 연구를 통해서

는 직관에 반대되게, 화합물 (1)이 사멸시키는 데 있어 소요되는 시간은 암 세포 및 암 줄기 세포가 정상 세포보다 훨씬 더 짧다는 것이 밝혀졌다. 정상 세포는 화합물 (1)에 대한 노출에 최대 24시간까지 내성을 떨 수 있었다. 추가로, 본원에서의 연구를 통해, 정상 세포는 약물 노출이 없는 단기간 후에는 회복될 수 있는 반면, 암 세포는 일단 특정 농도의 화합물 (1)에 대해 2시간 이상 노출되고 나면 회복이 불가능하다는 것이 밝혀졌다. 이러한 연구에 기초하여, 환자에서의 선택적 항종양 활성에 도달하기 위해 하기 표 14에 제시되어 있는 데이터를 사용하여 화합물 (1)에 대한 특별한 약동학적 노출량[선택적 약동학적 성질 프로파일(SPP), 또는 바람직한 약동학적 성질 프로파일(PPP: preferred pharmacokinetic profile), 이는 본 공개 문헌에서 상호교환적으로 사용된다]을 디자인하였다(도 24).

표 14

[0442]

혈장 약물 농도 증가 및 정상 세포에 대한 독성 감소를 위한, 바람직한 약동학적(PK) 노출량에 도달하기 위한 입자 크기의 사용					
치료 시간	화합물 608 IC50 (μM)				
	정상 세포			암 세포	
	CD34 ⁺ BM 적혈구계	CD34 ⁺ BM 골수성	PMBC	DU145	HT29
4-12 h				<0.2	<0.5
12-24 h	>30	>30	14	<0.2	<0.5
72 h			3		

[0443]

본 발명의 화합물, 예를 들어, 화합물 (1), 그의 입자, 다형체 및/또는 정제된 형태에의 적합한 SPP 또는 PPP 노출량은 2시간 이상 동안 1.0 μM 이상 또는 초과이며, 혈중 약물 농도는 실질적으로 24시간 이내에 제거되어야 한다.

[0444]

예를 들어, 환자는 일정 농도의 본 발명의 화합물, 예를 들어, 화합물 (1), 그의 입자, 다형체 및/또는 정제된 형태에의 노출량을 정의된 기간 동안, 바람직하게는 2시간 이상 동안 1.5 μM 이상으로 유지시키고, 약물은 실질적으로 24시간 이내에 제거되어야 한다. 보다 장기간 동안 화합물에 노출되면 독성을 떨 수 있고/거나 선택성은 손실될 수 있다.

[0445]

이러한 원하는 SPP 또는 PPP를 달성하기 위해, 피험체, 예를 들어, 환자에서 적어도 약 0.02 μM 내지 약 30 μM의 범위의 화합물의 혈중 농도에 도달하기 위한 용량으로 본 발명의 화합물을 투여할 수 있다. 예를 들어, 2시간 이상 24시간 미만인 기간 동안 피험체에서 적어도 약 0.5 μM 초과의 화합물의 혈중 농도에 도달하기 위한 용량으로 본 발명의 화합물을 투여할 수 있다. 예를 들어, 2시간 이상 24시간 미만인 기간 동안 피험체에서 적어도 약 2 μM인 화합물의 혈중 농도에 도달하기 위한 용량으로 본 발명의 화합물을 투여할 수 있다.

[0446]

바람직하게, 암 세포 사멸을 유도하기 위해 암 세포를 0.2 μM 초과 농도의 본 발명의 화합물, 예를 들어, 화합물 (1), 그의 입자, 다형체 및/또는 정제된 형태에 4시간 동안 노출시켜야 한다. 그러나, 장기간 노출시켜도 암 세포를 사멸시키는 본 발명의 화합물, 예를 들어, 화합물 (1), 그의 입자, 다형체 및/또는 정제된 형태의 효능에는 유의적으로 기여하지 못하였다. 24시간 미만인 기간 동안 화합물 (1)의 농도가 약 0.5 내지 약 3 μM보다 더 큰 농도로 유지될 때, 화합물 (1)은 암 세포는 사멸시키고, 정상 세포는 보존하는 선택적인 활성을 보였다. 화합물 (1)의 입자 크기를 감소시킨 결과, 바람직한 약동학적 패턴 및 선택적 활성에 도달하였다.

[0447]

암 세포는 사멸시키고, 정상 세포는 보존하는 화합물 (1)의 선택적인 활성이 표 14에 데이터로 제시되어 있으며, 도 24에 도시되어 있다. 약 4시간, 최대 약 24시간 동안 약 0.2 내지 30 μM의 농도, 또는 그 초과의 농도로 암 세포를 화합물 (1)에 노출시킨 결과, 선택적으로 암 세포는 사멸시키고, 정상 세포는 보존시키는 것으로 나타났다. 24시간 초과이 기간 동안 상기 농도에서 연속하여 노출시킨 결과, 선택성은 손실되었고, 그로 인해 정상 세포 또한 손상되었다. 0.5 μM 미만인 혈중 농도로 화합물 (1)에 노출시킨 결과, 노출 시간량과는 상관없이 암 세포를 사멸시키지 못했다.

[0448]

본원에 기술된 투여 요법은 바람직한 PK 패턴을 보인다. 예를 들어, 환자에서, 500 mg을 BID로 투여받은 환자에서 보여지는 PK는, 화합물 (1)이 치료학적 수준 초과의 수준으로 지속적으로 노출되고, 24시간째까지 약물이 상당량 제거되는 것으로 보이는, 이러한 바람직한 PK 노출 패턴(도 20)이다. 80 mg BID 내지 200 mg BID의 경우, SPP 또는 PPP가 환자에서 달성되었으며, 혈장 약물 농도는 용량에 의존하는 방식으로 증가하였다. 300 mg BID

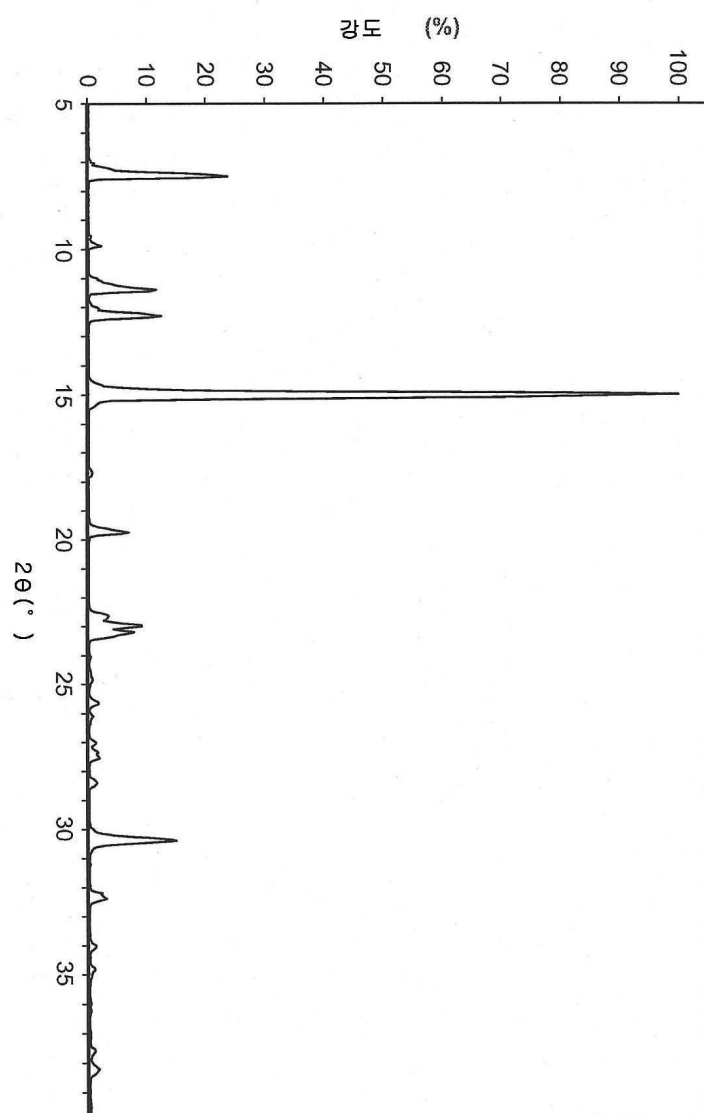
및 400 mg BID에서, 혈장 약물 농도는 200 mg BID에 비하여 추가의 증가를 제한하는 것으로 나타났다. 그러나, 놀랍게도 500 mg BID가 환자 간의 차이를 감소시키는 데 도움을 줄 수 있는 것으로, 즉, 치료받은 환자들 모두 SPP를 달성할 수 있고, 충분히 높은 혈장 약물 농도를 가질 수 있는 것으로 밝혀졌다(도 12). 마지막으로, 4시간 이상 동은 1.6 μM 초과로 화합물 (1)에 노출된 환자는 무진행 생존이 개선된 것으로 나타났고, 이는 이러한 노출 패턴이 인간에서의 효능을 개선시킨다는 것을 제시한다. 1 μM 초과 화합물 (1)의 PK 노출은 결장직장암, 위암, 두부경부암, 흑색종, 연골육종, 폐암, 전립샘암, 난소암, 아드레노코르티코이드 및 혈관육종을 비롯한, 다양한 암을 앓는 환자에서 무진행 생존을 연장시키는 것과 상관관계에 있다(도 23). 이러한 데이터는 임상전 실험으로부터 예측할 수 있는 것과 상당한 차이를 보인다. 임산전 연구에서, 화합물은 약 100 내지 200 nM에서의 IC₅₀으로 암 세포 또는 암 줄기 세포를 사멸시키는 것으로 나타났다. 그러나, 상기 농도는 임상 활성과는 관련이 없다고 환자에서 임상적으로 관찰되었다. 대조적으로, 활성 징후를 얻기 위해서는 혈장 농도가 1 μM 을 초과하는 수준에 도달하였다. 혈장 약물 농도가 약 2 μM 또는 3 μM , 또는 그를 초과하는 수준으로의 추가 증가가 개선된 항종양 활성 징후와 관련이 있다.

[0449]

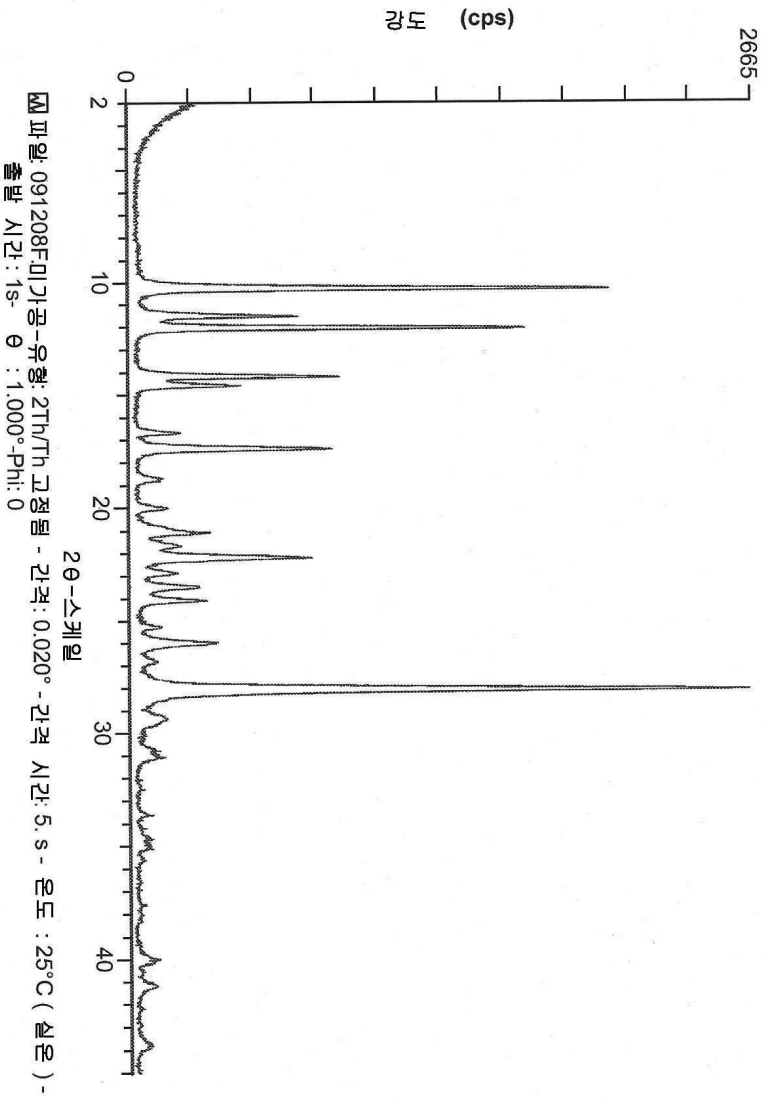
본 명세서에서 예시되고 논의된 실시양태는 단지 본 발명자에게 공지된, 본 발명의 최적의 제조 및 사용 방법을 당업자에게 교시하고자 하는 것이다. 본 명세서 중 어느 것도 본 발명의 범주를 제한하는 것으로 해석되서는 안 된다. 제시된 모든 일례들은 대표적인 예시이며, 비제한적인 것이다. 당업자가 이해하는 바와 같이, 상기 기술된 본 발명의 실시양태는 본 발명으로부터 벗어남 없이, 상기 교시에 비추어 수정 또는 변형될 수 있다. 그러므로, 본 특허청구범위 및 그의 등가물의 범주 내에서, 본 발명은 구체적으로 기술된 것과 다른 수행될 수 있다는 것을 이해하여야 한다.

도면

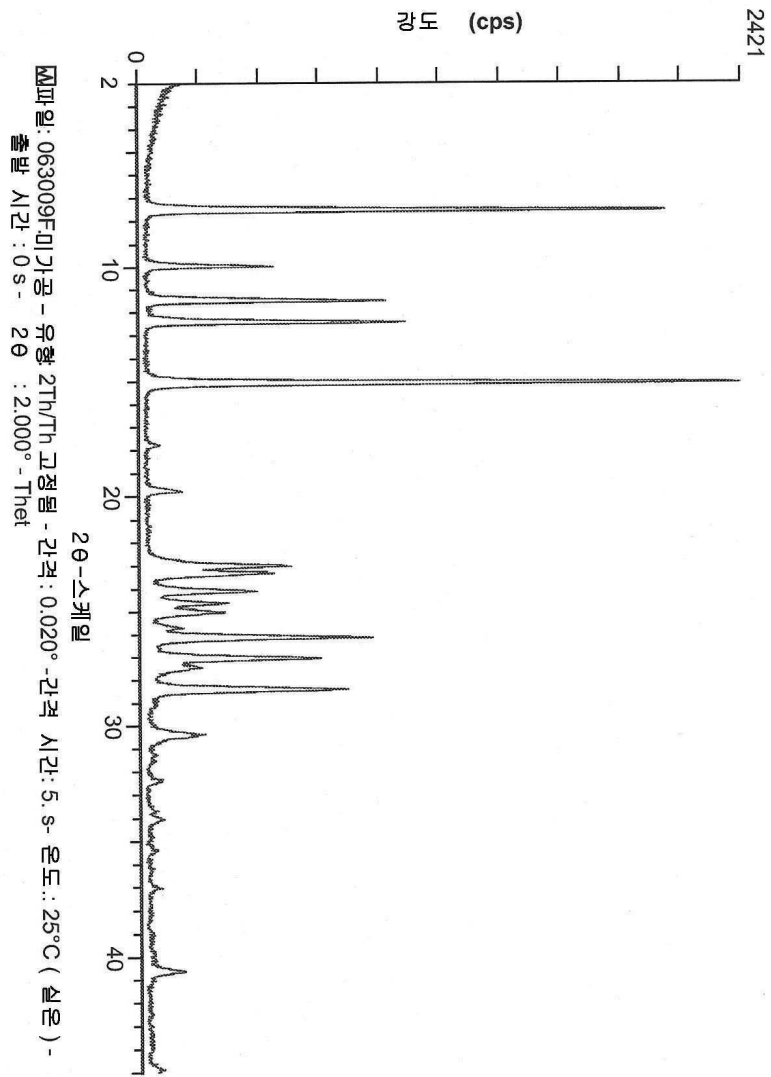
도면1



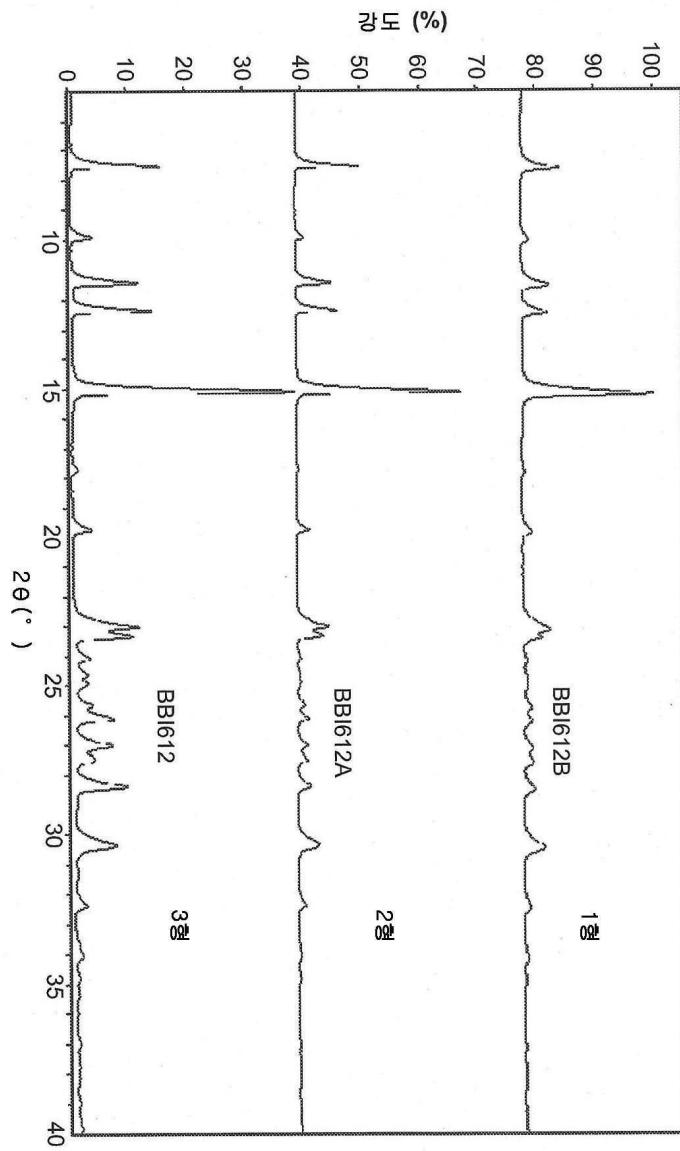
도면2



도면3



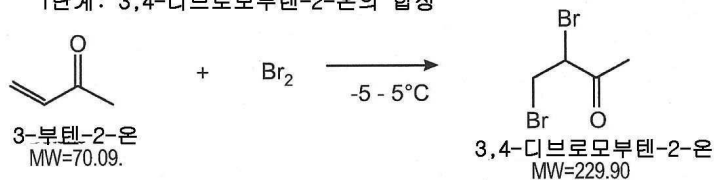
도면4



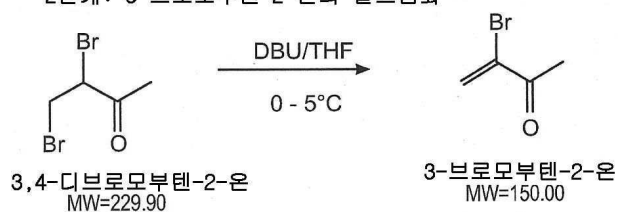
도면5a

공정 흐름도

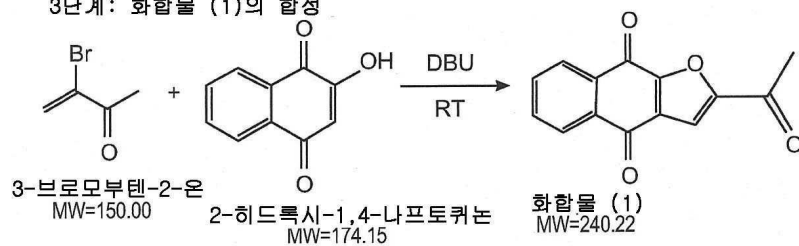
1단계: 3,4-디브로모부텐-2-온의 합성



2단계: 3-브로모부텐-2-온의 탈브롬화

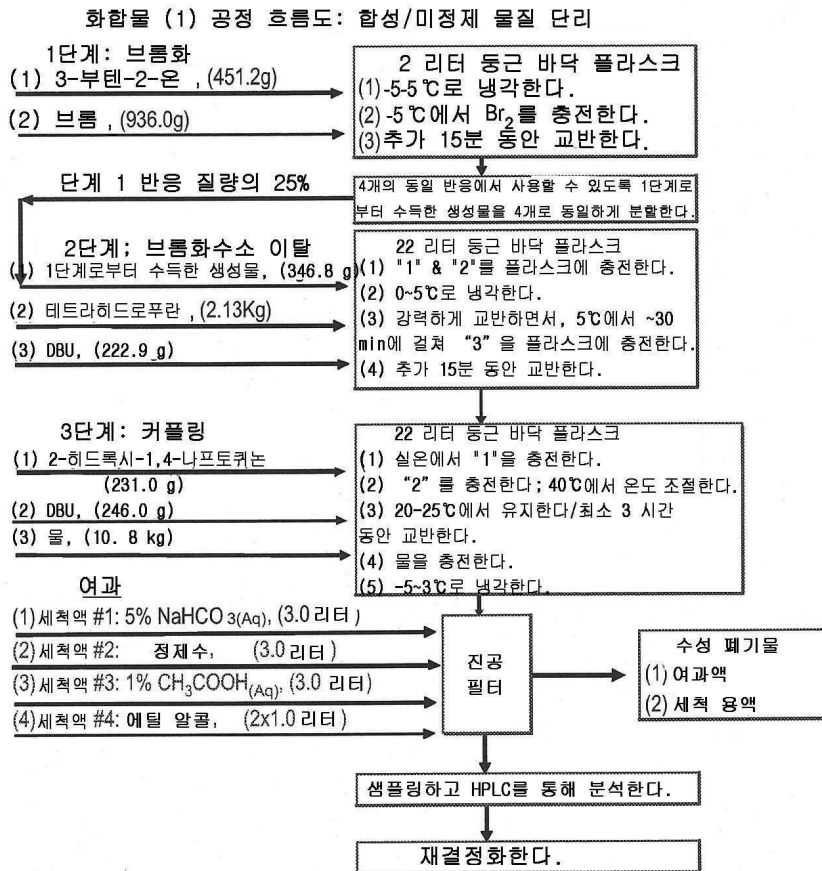


3단계: 화합물 (1)의 합성

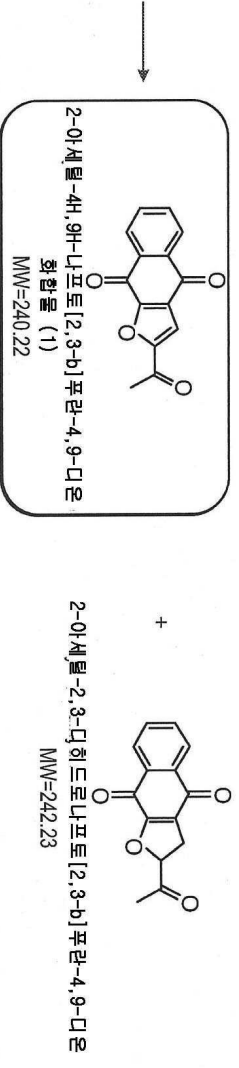
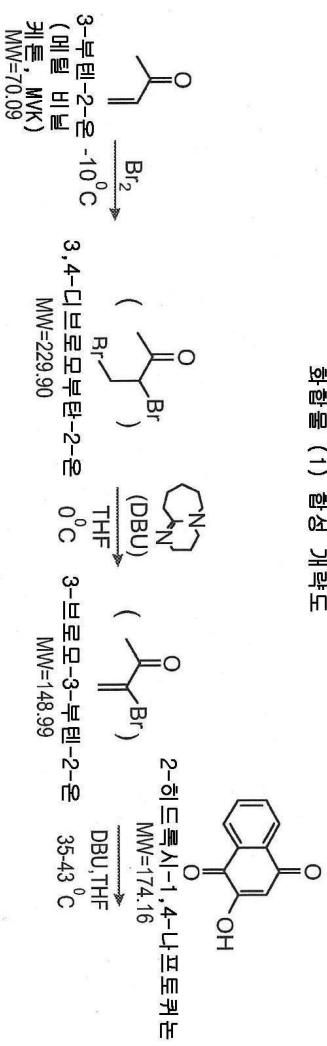


도면5b

공정 흐름도

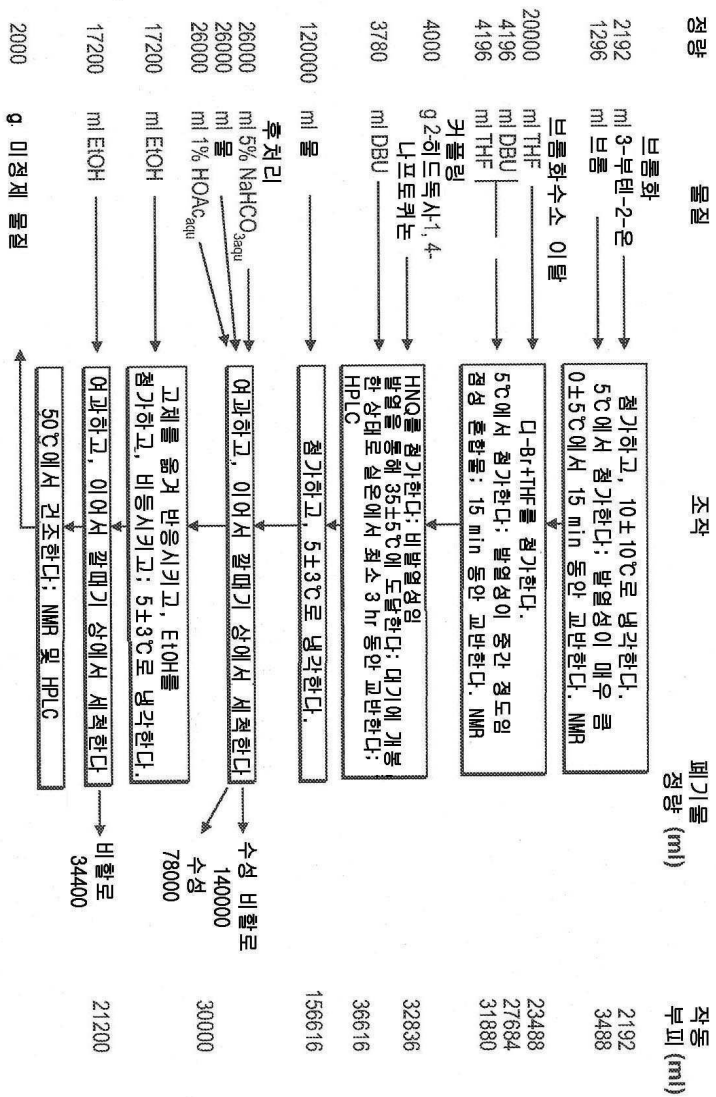


화합물 (1) 합성 개략도



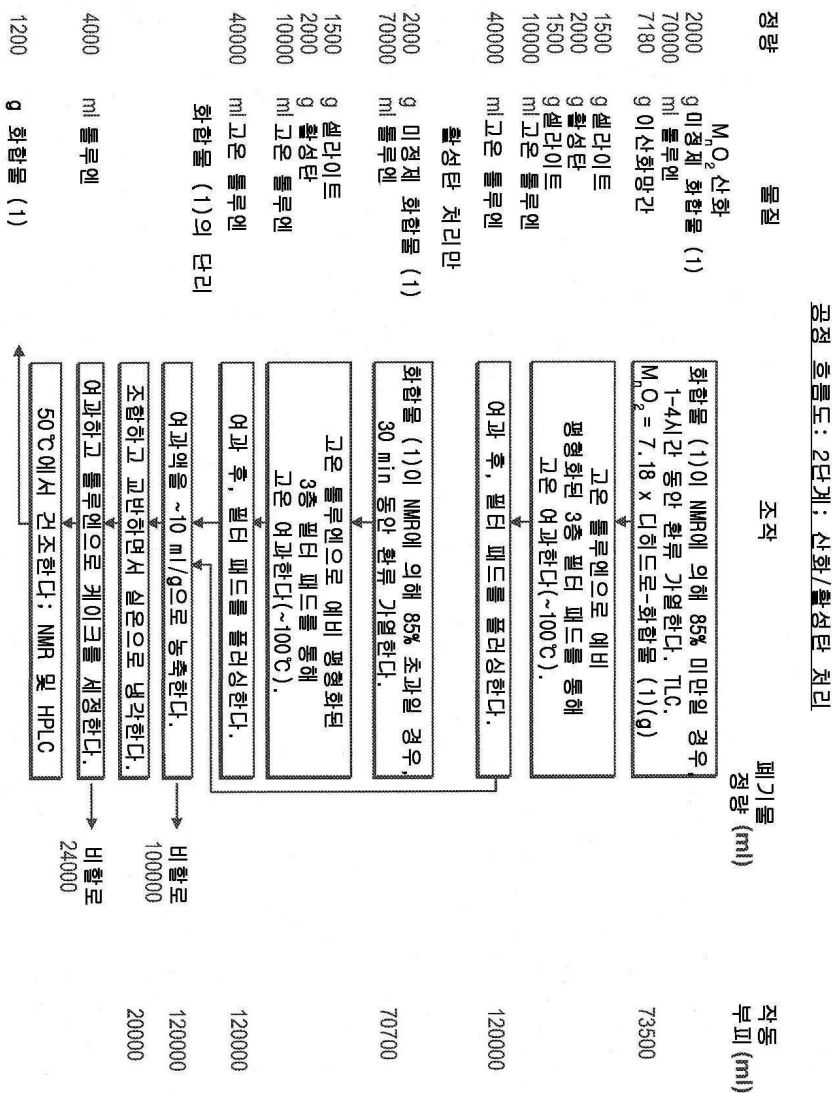
도면6a

공정 흐름도: 1단계: 미정제 화합물 (1)의 합성

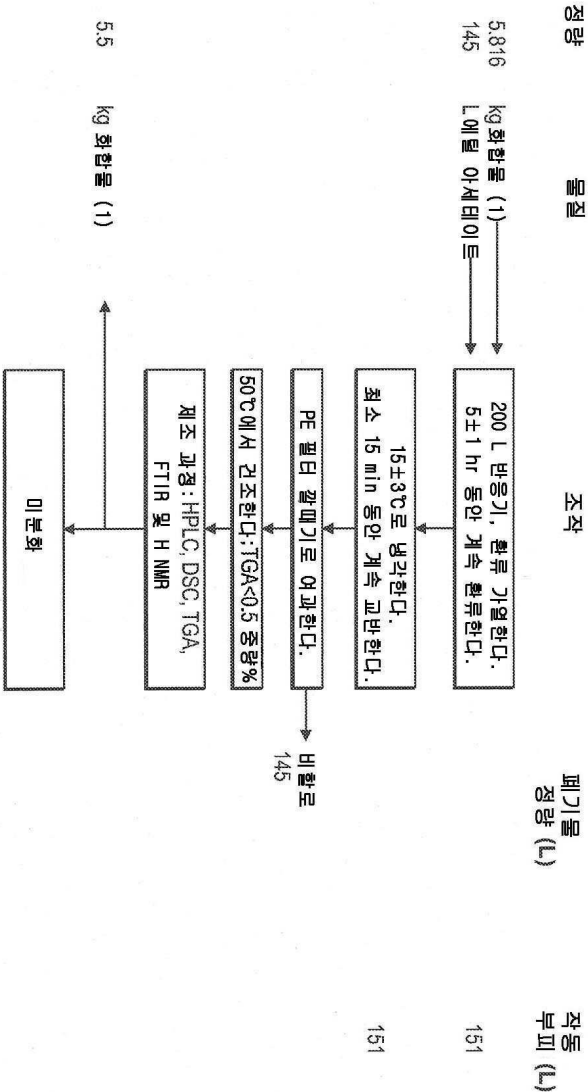


도면6b

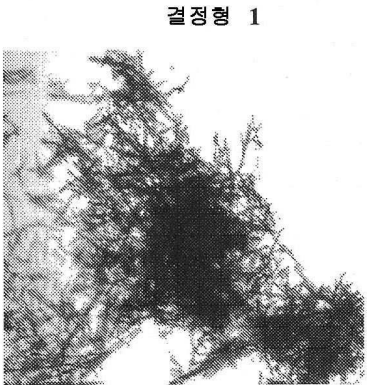
도면6c



공정 흐름도: 3단계: 화합물 (1)의 에틸 아세테이트 처리.



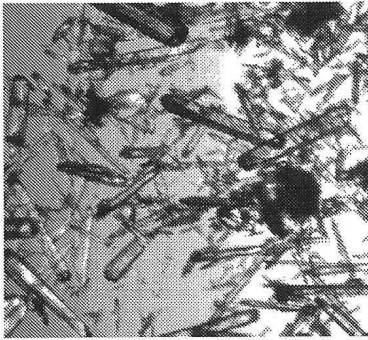
도면6d



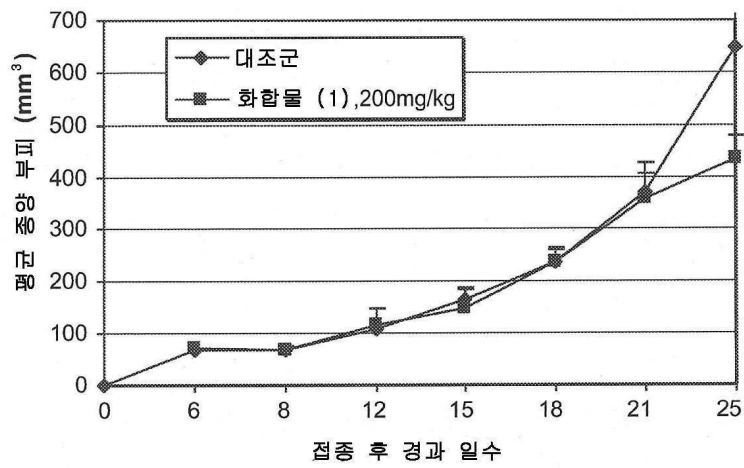
도면7a

도면7b

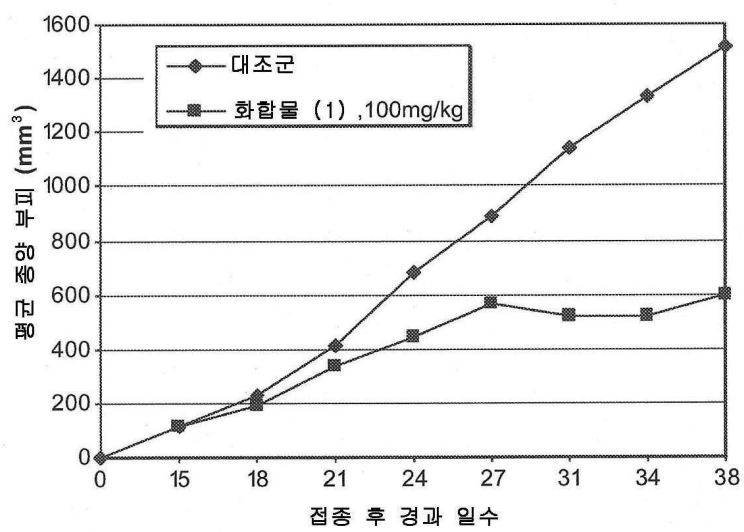
검정형 3



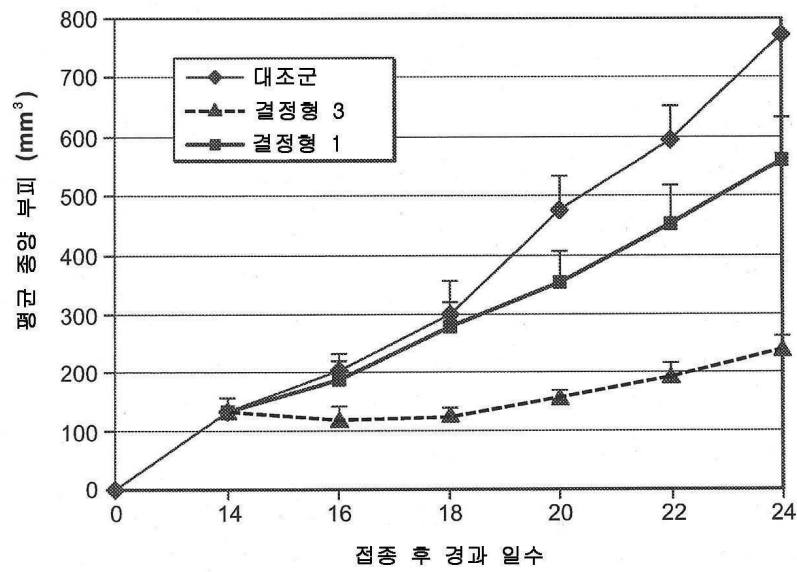
도면8



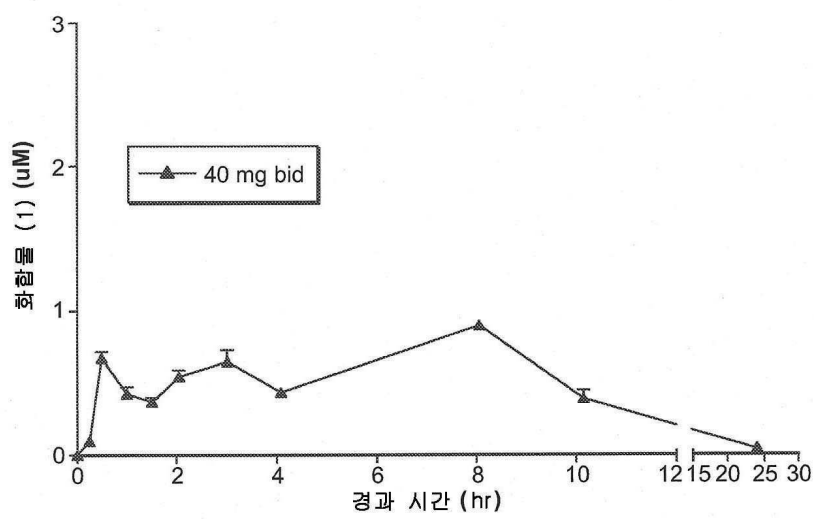
도면9



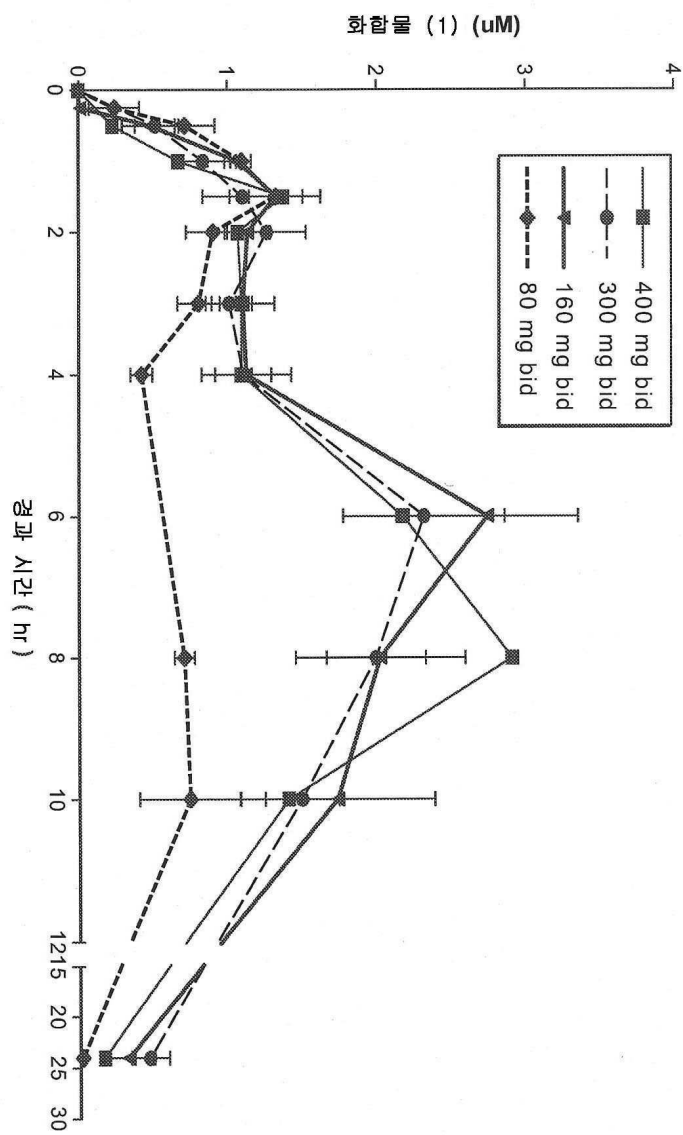
도면10



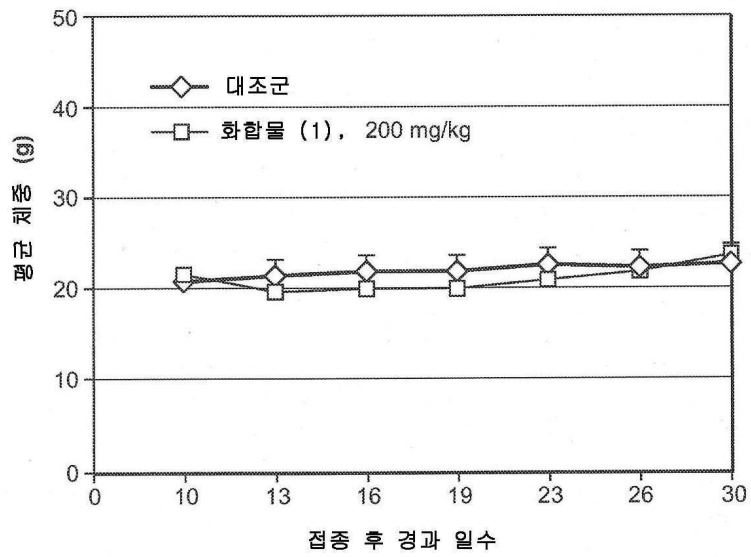
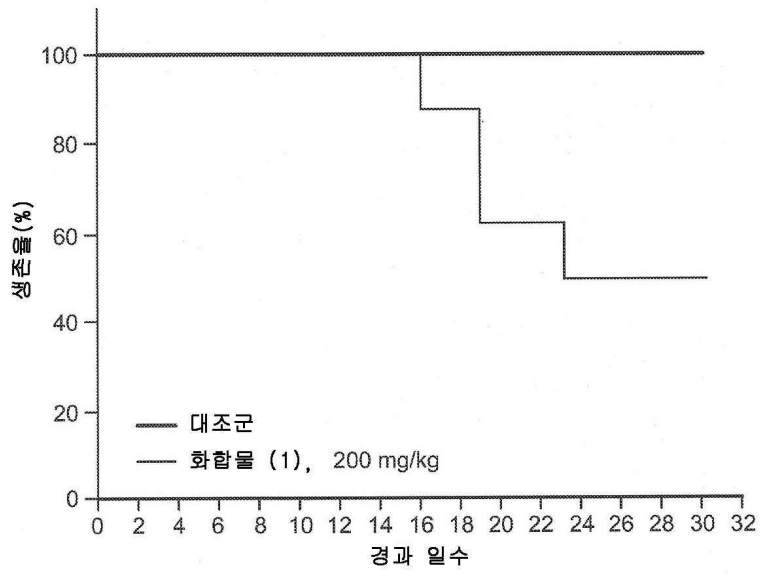
도면11



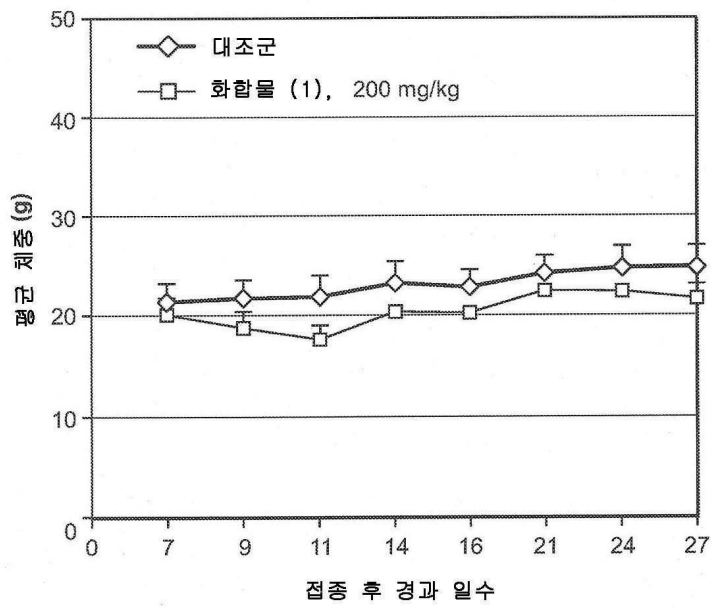
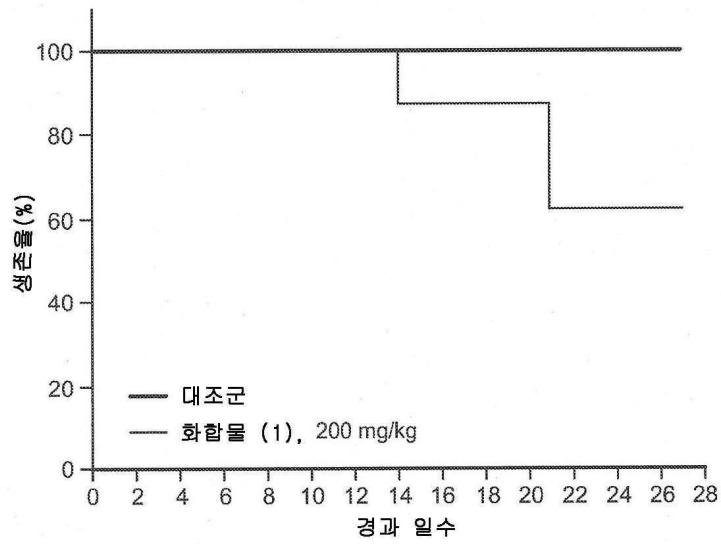
도면12



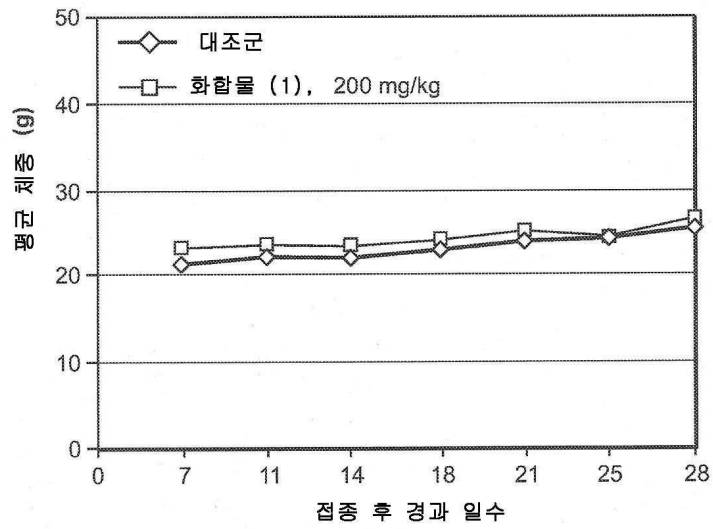
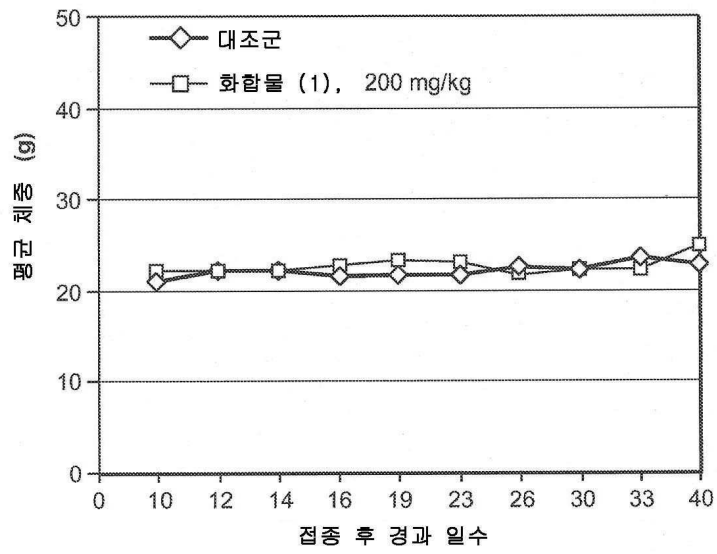
도면13a



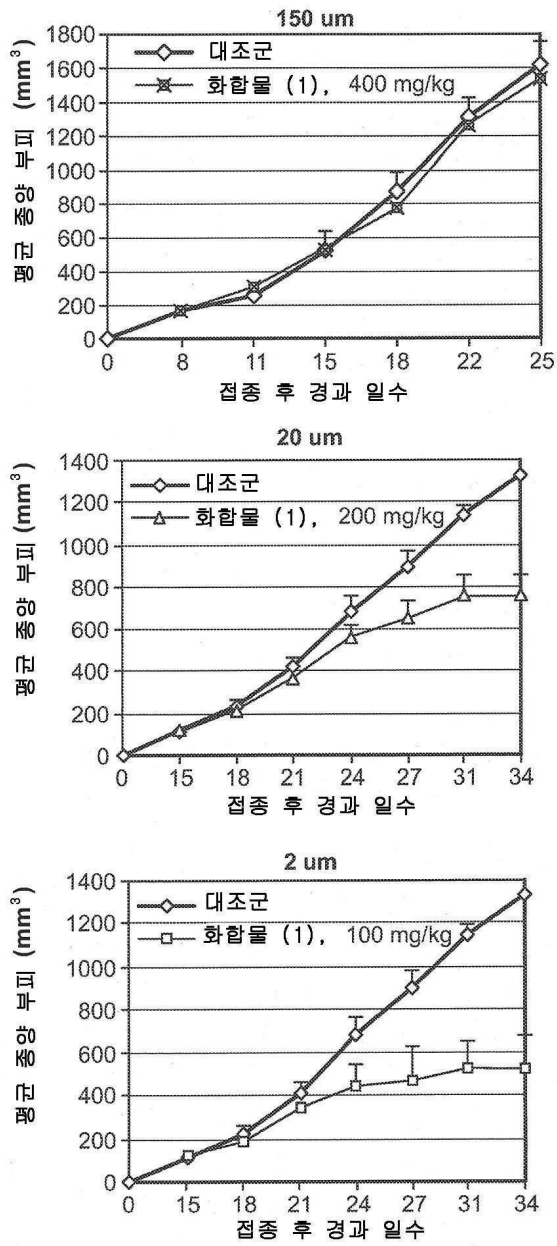
도면13b



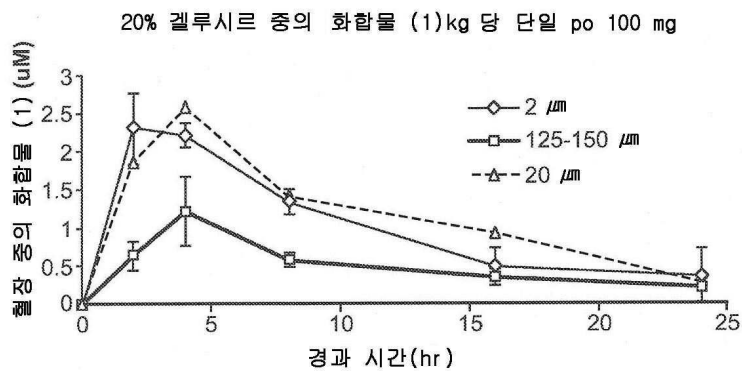
도면14



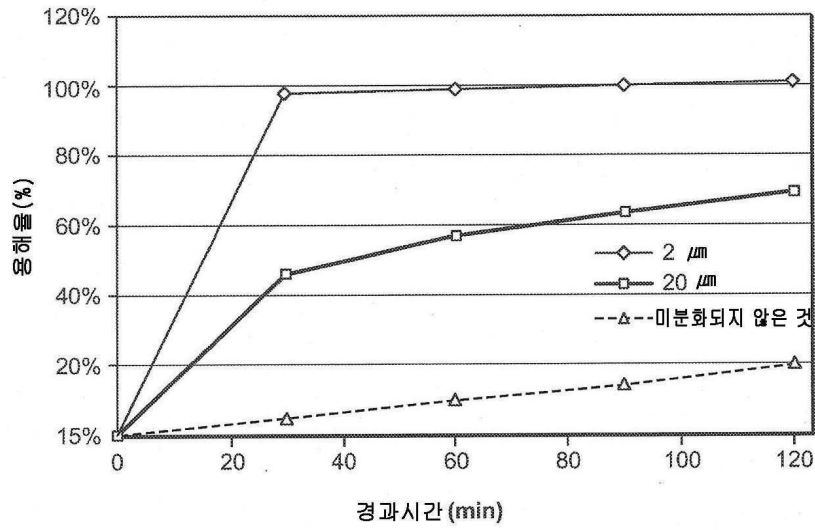
도면15



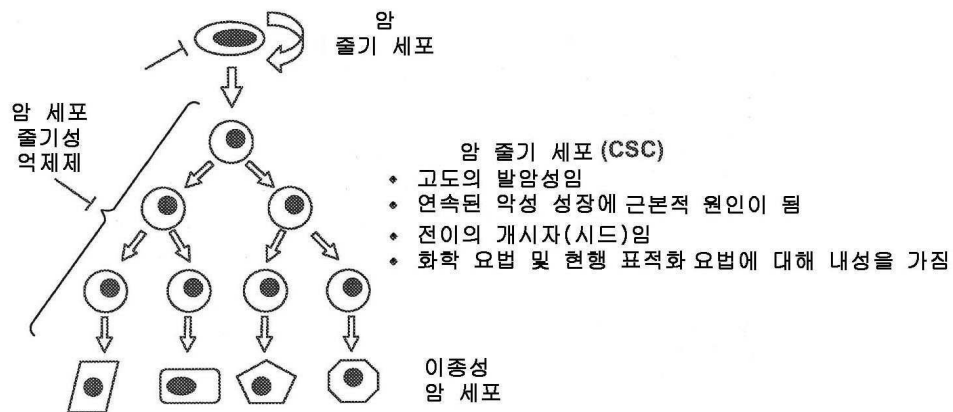
도면16



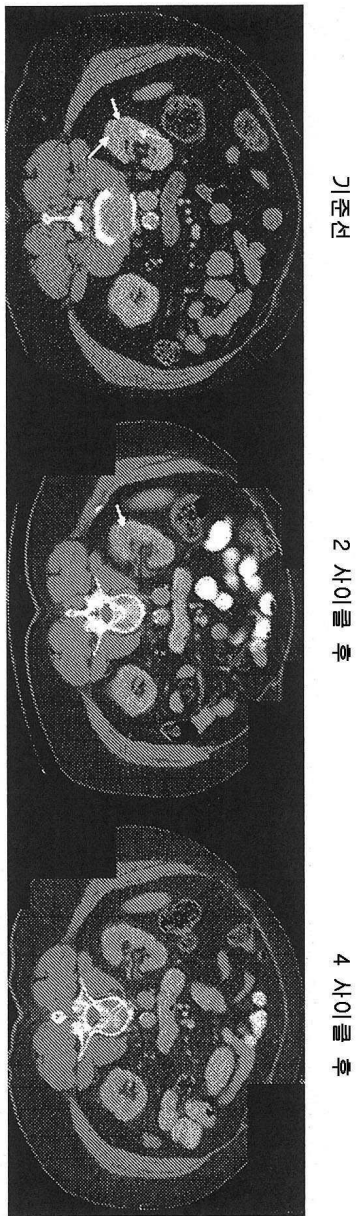
도면17



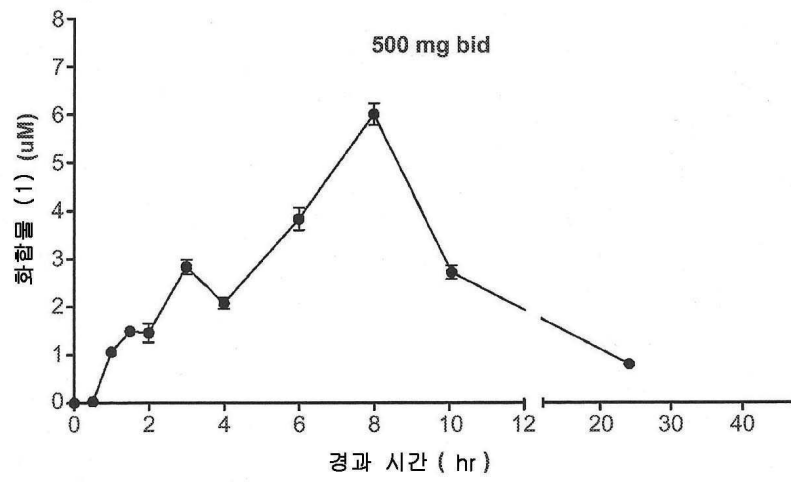
도면18



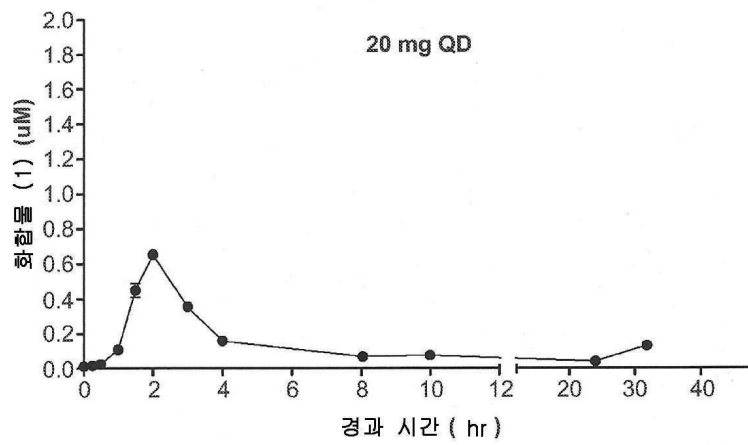
도면19



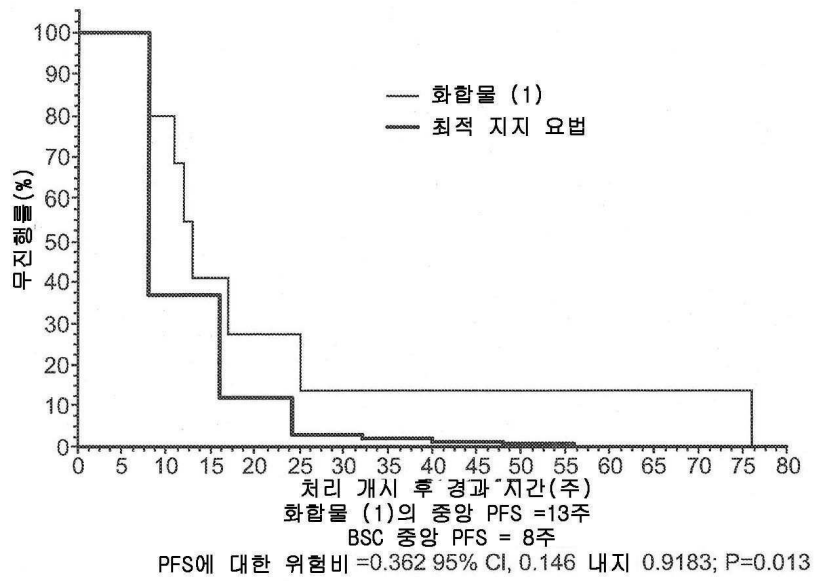
도면20



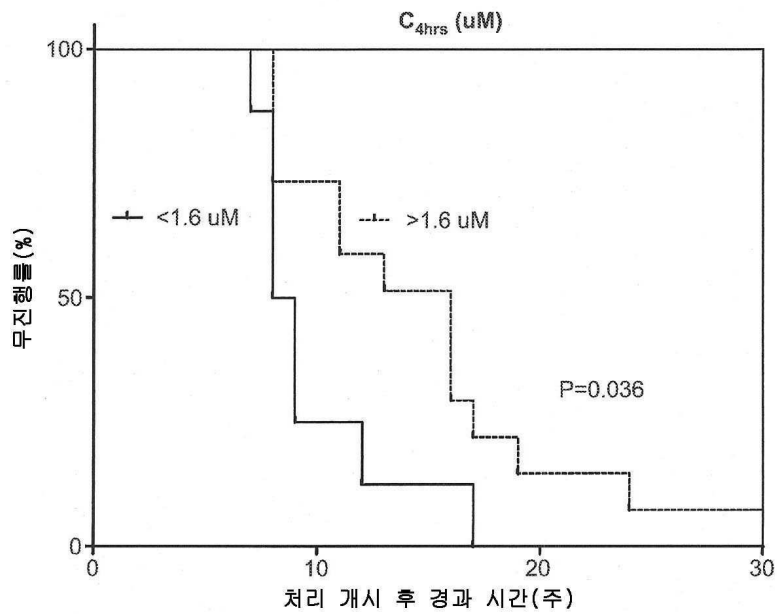
도면21



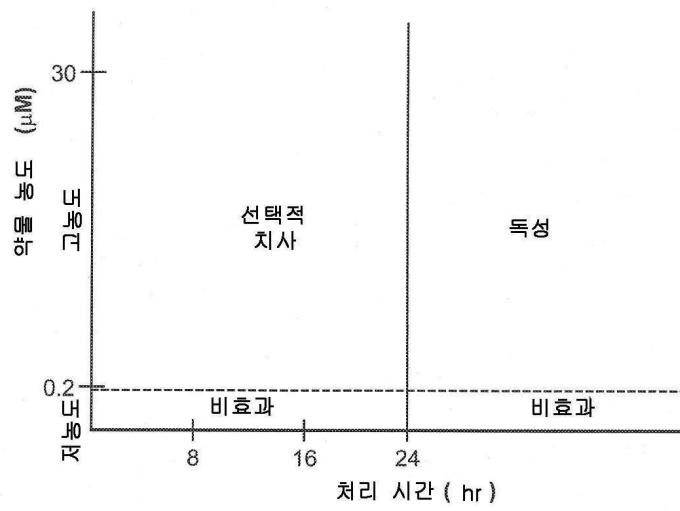
도면22



도면23



도면24



도면25

