



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2012년10월10일
 (11) 등록번호 10-1189189
 (24) 등록일자 2012년10월02일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 207/24 (2006.01) *A61K 31/40* (2006.01)
A61P 3/06 (2006.01)
 (21) 출원번호 10-2010-7001820
 (22) 출원일자(국제) 2008년07월28일
 심사청구일자 2010년01월26일
 (85) 번역문제출일자 2010년01월26일
 (65) 공개번호 10-2010-0040878
 (43) 공개일자 2010년04월21일
 (86) 국제출원번호 PCT/IB2008/002028
 (87) 국제공개번호 WO 2009/019566
 국제공개일자 2009년02월12일
 (30) 우선권주장
 60/954,593 2007년08월08일 미국(US)

(73) 특허권자
그레이크웨이 파머수티컬스, 엘엘씨
 미국, 테네시 37620, 브리스톨, 스위트 500, 마틴
 루터 킹 주니어 블러바드 340

(72) 발명자
리, 진
 미국, 코네티컷 06379, 포카터, 켄터베리 레인 13
콜로스코, 니콜, 리
 미국, 코네티컷 06345, 그로튼, 이스턴 포인트 로
 드, 화이자 글로벌 연구 개발

(74) 대리인
특허법인씨엔에스

(56) 선행기술조사문헌
 WO2007009236 A1

전체 청구항 수 : 총 16 항

심사관 : 임혜준

(54) 발명의 명칭 **폐녹시-피롤리딘 유도체 및 이의 용도 및 조성물**

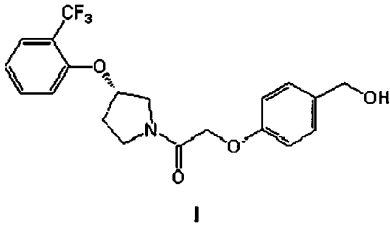
(57) 요약

본 발명은 화합물 2-(4-(히드록시메틸)페녹시)-1-(3-(2-(트리플루오로메틸)페녹시)피롤리딘-1-일)에탄논), 이의 스테아로일 CoA 디설투라아제의 억제제로서의 용도 및 이 화합물을 함유하는 약학 조성물에 관한 것이다.

특허청구의 범위

청구항 1

화학식 I



의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 화합물은 여드름, 지성 피부, 지성 헤어, 번들거리는 피부, 기름져 보이는 피부, 기름져 보이는 헤어 또는 지루성 피부염으로부터 선택된 컨디션을 치료, 완화 또는 예방하는데 사용되는 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 3

제 1항에 있어서, 상기 화합물은 스테아로일 CoA 디선투라아제의 활성을 억제하는데 사용되는 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 4

제 1항에 있어서, 상기 화합물은 피지의 생성을 억제하는데 사용되는 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 5

제 1항에 있어서, 상기 화합물은 포유류의 피지선에서 콜레스테롤 에스테르 및 왁스 에스테르의 합성을 억제하는데 사용되는 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 6

제 1항에 있어서, 상기 화합물은 과도한 피지 생성과 관련된 컨디션을 치료 또는 완화하는 약제의 제조에 사용되는 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 7

제 1항에 있어서, 상기 화합물은 피지의 생성을 억제하는 약제의 제조에 사용되는 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 8

제 1항에 있어서, 상기 화합물은 여드름의 치료 또는 예방에 사용되는 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 9

화합물 (R)-2-(4-(히드록시메틸)페녹시)-1-(3-(2-(트리플루오로메틸)페녹시)피롤리딘-1-일)에타논).

청구항 10

화합물 2-(4-(히드록시메틸)페녹시)-1-(3-(2-(트리플루오로메틸)페녹시)피롤리딘-1-일)에타논).

청구항 11

화합물 (S)-2-(4-(히드록시메틸)페녹시)-1-(3-(2-(트리플루오로메틸)페녹시)피롤리딘-1-일)에타논) 또는 상기 화합물의 약학적으로 허용되는 염; 및 약학적으로 허용되는 캐리어, 비이클, 희석제 또는 부형제를 포함하며, 여드름, 지성 피부, 지성 헤어, 번들거리는 피부, 기름져 보이는 피부, 기름져 보이는 헤어, 지루성 피부염 또는 과도한 피지 생성이나 분비로부터 선택된 조건을 치료, 완화 또는 예방하는 약학 조성물.

청구항 12

화합물 (S)-2-(4-(히드록시메틸)페녹시)-1-(3-(2-(트리플루오로메틸)페녹시)피롤리딘-1-일)에타논) 또는 상기 화합물의 약학적으로 허용되는 염; 제 2의 치료제; 및 약학적으로 허용되는 캐리어, 비이클, 희석제 또는 부형제를 포함하며, 여드름, 지성 피부, 지성 헤어, 번들거리는 피부, 기름져 보이는 피부, 기름져 보이는 헤어, 지루성 피부염 또는 과도한 피지 생성이나 분비로부터 선택된 조건을 치료, 완화 또는 예방하는 약학 조성물.

청구항 13

제 11항 또는 제 12항에 있어서, 상기 조성물은 피부 또는 헤어에 적용하기에 적합한 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 14

제 11항 또는 제 12항에 있어서, 상기 조성물은 섭취용으로 적합한 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

제 1항에 따른 화합물을 포함하며, 과도한 피지 생성과 관련된 조건을 완화시키기위한 상기 화합물의 사용법을 소비자에게 알려주는 소매 분배용으로 포장된 키트.

청구항 19

제 1항에 따른 화합물을 포함하며, 여드름, 지성 피부, 지성 헤어, 번들거리는 피부, 기름져 보이는 피부, 기름져 보이는 헤어 또는 지루성 피부염으로부터 선택된 컨디션을 완화시키기위한 상기 화합물의 사용법을 소비자에게 알려주는 소매 분배용으로 포장된 키트.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 페녹시-피롤리딘 유도체 및 조성물 및 이의 용도에 관한 것으로, 보다 상세하게는 스테아로일-CoA 디새투라아제(SCD1) 인히비터로서 사용되는 페녹시-피롤리딘 유도체에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 스테아릴-CoA 디새투라아제(SCD1)는 포유류에서 포화 지방 아실-CoA 기질로부터 단일불포화지방산의 신생적 합성을 촉매작용하는 마이크로솜 효소이다. 특히, SCD1은 팔미토일-CoA(16:0) 및 스테아로일-CoA(18:0)과 같은 포화 지방산의 C9-C10 포지션에 시스-이중 결합을 도입한다. 그 결과 생성되는 단일불포화 지방산, 팔미토올레오일-CoA(16:1) 및 올레오일-CoA(18:1)은 결과적으로 인지질, 콜레스테롤 에스테르 및 트리글리세라이드와 같은 다양한 지질내로의 편입을 위한 기질이다. 단일불포화 지방산은 또한 신호전달 및 세포 분화와 같은 여러 다른 공정의 매개체이다. 지질 조성물은 상당히 생리학적으로 중요하다. 세포막의 중요한 성분으로서 인지질 조성은 궁극적으로 막 유동성을 결정하며, 한편 콜레스테롤 에스테르와 트리글리세라이드의 조성은 지질단백질 대사 및 지방축적을 영향을 줄 수 있다. 또한, 마우스에서의 연구 결과, SCD1 활성이 피지선 및 마이봄선내의 지질 합성에서 이의 주요 역할의 결과로서 피부 및 눈꺼풀의 정상적인 기능을 유지하는데 중요하다는 것이 제시되었다 (Miyazaki, J. Nutr., 131:2260-2268(2001)). SCD1 발현은 면역조직화학에 의한 사람 두피의 피지선 및 RT-PCR에 의한 고정화 피지선 세포주 SZ95에서 확인되었다.

[0003] 피부는 3가지 주요 층, 각질층, 상피 및 외피로 구성된 지질 풍부 기관이다. 각질층은 외부층이며, 이의 주요 기능은 외부 환경에 대한 장벽으로 제공되는 것이다. 각질층의 수 투과성을 감소시키고, 피부가 갈라지는 것을 방지하기위해, 피지선은 피지라고 불리는 지방성 물질을 분비하며, 이는 피부 표면에 분포된다. 피지는 또한 눈물막의 증발을 방지하기위해 눈꺼풀의 가장자리를 따라 위치하는 특별한 종류의 피지선인, 마이봄선(또는 검관선(tarsal gland))에 의해 분비된다. 피지는 일반적으로 유리 지방산, 트리글리세라이드, 스테롤 에스테르, 왁스 에스테르 및 스쿠알렌을 포함하는 복합 지질 혼합물이지만, 이의 정확한 조성은 종에 따라 다르다. 피지는 피지선의 포상 세포(acinar cell)에서 생성되며, 이들 세포가 노화됨에 따라 축적된다. 상기 포상 세포가 성숙에 이르면 세포내강관내로 방출되는 피지를 분해하여, 피부의 표면에 놓여질 수 있도록 한다.

[0004] 사람에서, 피지선은 손바닥 및 발바닥을 제외한 피부의 모든 영역에 존재한다. 이러한 피지선의 최고 농도는 두피 및 얼굴상에서 발생한다. 피지가 작용하는 중요한 기능에도 불구하고, 다수의 개체들은 여드름 또는 지루성 피부염과 같은 피부 컨디션의 발생 증가와 관련된 과도한 피지 생성을 경험한다. 여드름이 없는 개체에서도, 과도한 피지 생성은 피부가 번들거리거나, 기름기 투성이거나 기름진 것으로 보이거나, 헤어가 기운이 없어보이고 지저분해 보이게 할 수 있어 피부 및 헤어의 미용적 외관을 손상시킨다. 피지의 생성을 감소시키는 것은 이러한 컨디션을 경험하는 개체에서 기름진 피부 및 헤어를 완화시킬 것이다.

발명의 내용

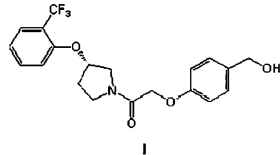
해결하려는 과제

[0005] 과도한 피지의 생성을 해결하는 현재의 치료는 최적에 못미친다. 비방향족 레티노이드인 이소트레티노인은 피지 생성을 최대 90%까지 억제하는 것으로 나타났으나, 또한 심한 선천적 결함 및 다수의 다른 잠재적으로 심각한 부작용과 연관된 것으로 나타났다. 따라서, 이소트레티노인은 단지 심한 여드름의 치료를 위해서만 사용되며, 단순히 미용 목적으로 피지 분지의 감소를 위해서는 사용되지 않는다. 에트레티네이트와 같은 다른 방향족 레티노이드는 여드름의 치료에 사용되나, 피지 합성을 감소시키지는 못한다(Christos C. Zouboulis, J. Clin. Derm., 22: 360-366(2004)).

[0006] 결국, 과도한 피지 생성을 완화하는 가장 실질적인 수단은 피부의 표면을 자주 세척하는 것이다. 빈번한 세척은 피부로부터 과도한 피지를 제거하나, 이러한 효과는 일시적이며 피지 생성을 감소시키지 못한다. 실제로, 가혹한 제품을 이용한 과세척 또는 세척은 피부를 탈수시킬 수 있으며, 실제로 피지 생성이 감소되지 않고 피지 생성이 증가되도록 피지선을 자극한다.

과제의 해결 수단

[0007] 본 발명은 화학식 I로 표현되는 스테아로일 CoA 디선투라아제 억제제, 및 이의 염, 용매 화합물, 및 수화물을 제공한다. 상기 화합물은 (S)-2-(4-(히드록시메틸)페녹시)-1-(3-(2-(트리플루오로메틸)페녹시)피롤리딘-1-일)에탄올로 칭하여질 수 있다.



[0008]

[0009] 다른 견지로, 본 발명은 치료학적으로 유효한 양의 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 또는 상기 화합물 또는 염의 용매 화합물 또는 수화물 및 약학적으로 허용되는 담체, 비히클, 희석제 또는 부형제를 포함하는 약학 조성물을 제공한다.

[0010] 다른 견지로, 본 발명은 스테아로일 CoA 디선투라아제에 의해 매개되는 피부학적 또는 미용학적 컨디션을 치료하는 것이 요구되는 포유류에 치료학적으로 유효한 양의 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 또는 상기 화합물 또는 염의 수화물 또는 용매 화합물을 투여하는 것을 포함하는, 포유류에서 스테아로일 CoA 디선투라아제에 의해 매개되는 피부학적 또는 미용학적 컨디션을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 구현에 따르면, 과도한 피지 생성, 지성 피부, 지성 헤어 및 여드름의 치료, 완화 또는 예방시 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 또는 상기 화합물 또는 염의 수화물 또는 용매 화합물이 국소 투여된다. 다른 구현으로, 상기 화합물은 경구 투여된다.

[0011] 본 발명의 다른 견지로, 치료학적으로 유효한 양의 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 또는 상기 화합물 또는 염의 용매 화합물 또는 수화물을 함유하며, 과도한 피지 생성 및/또는 분비와 관련된 컨디션을 완화시키기위한 상기 화합물의 사용법에 대해 소비자에게 알려주는 설명서가 함께 소매 분배용으로 포장된 제조 물품 또는 키트가 제공된다.

발명의 효과

[0012] 화학식 I의 화합물은 스테아로일 CoA 디선투라아제의 억제제이며, 과도한 피지 생성 및 분비와 관련된 피부학적 및 미용학적 컨디션의 치료 및 완화에 유용할 수 있는 것으로 발견되었다. 보다 상세하게, 화학식 I의 화합물은 여드름, 지성 피부, 지성 헤어, 윤이 나거나 기름져 보이는 피부, 및 지루성 피부염과 같은 피부학적 및 미용학적 컨디션을 치료, 완화, 및 예방하는데 사용될 수 있다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0013] 화학식 I의 화합물 및 이의 약학적 조성물은 스테아로일 CoA 디선투라아제에 의해 매개되는 피부학적 또는 미용학적 컨디션의 치료에 유용하다. 이러한 피부학적 또는 미용학적 컨디션은 이에 한정하는 것은 아니나 과도한 피지 생성, 여드름, 지성 피부, 지성 헤어, 윤이 나거나 기름져 보이는 피부, 및 지루성 피부염을 포함한다.

[0014] 화학식 I의 화합물 및 이의 약학 조성물은 또한 사람의 피지선에 의해 생성되는 그리고/또는 분비되는 피지의 양을 감소시키는데 유용하다.

[0015] 이하 화학식 I의 화합물의 부가적인 비제한적 설명 및 본 발명의 다른 견지가 제공된다. 본 문헌에서 앞머리는 단지 독자에 의한 신속한 리뷰를 위해 활용되는 것이며, 본 발명 또는 청구범위를 어느 방식으로 제한하려는 것

으로 해석되어서는 안된다.

- [0016] **정의**
- [0017] 청구범위를 포함하는 본 출원서에 걸쳐 사용된 하기 용어들은 달리 표기하지 않는 한 다음과 같이 정의된 의미를 갖는다.
- [0018] 구 "화학식 I의 화합물", "본 발명의 화합물" 및 "화합물"은 본 출원서에 걸쳐 교체 사용가능하며, 동의어로 취급되어야 한다.
- [0019] 달리 표기하지 않는 한, 구 "화학식 I의 화합물", "본 발명의 화합물" 및 "화합물"은 (S)-2-(4-히드록시메틸)페녹시)-1-(3-(2-(트리플루오로메틸)페녹시)피롤리딘-1-일)에타논 뿐만 아니라 이의 모든 약학적으로 허용되는 염, 용매 화합물, 수화물 및 프로드럭을 칭한다.
- [0020] 구 "약학적으로 허용되는"은 지정된 캐리어, 비히클, 희석제, 부형제, 용매 화합물, 염 또는 프로드럭이 일반적으로 화학적으로 그리고/또는 물리적으로 제형을 포함하는 다른 성분들과 혼화가능하며, 이의 수용체와 생리학적으로 혼화가능함을 나타낸다.
- [0021] 본 명세서에 사용된 용어 "치료하다", "치료하는", "치료된" 및 "치료"는 예방적(예, 예방약), 개선적, 일시적 및 치유적 사용 및/또는 결과를 포함한다. 상기 용어 예방적 또는 예방을 위한은 교체 사용가능하며, 특정 컨디션 또는 질병 상태의 하나 이상의 증상의 시작 전 치료를 칭한다. 보다 상세하게, 이러한 용어들은 증상이 없는, 즉, 특정 컨디션 또는 질병 상태의 증상이 쉽게 나타나지 않거나 검출가능하지않고, 특정 컨디션 또는 질병 상태의 하나 이상의 증상의 시작시 실질적인 예방, 억제 또는 지연을 이끄는 경우의 환자의 치료를 칭한다. 개선적 치료는 특정 컨디션 또는 질병 상태의 하나 이상의 증상의 강도를 개선 및/또는 줄여주는 것이다. 테트라사이클린과 같은 항생제는 여드름에 대한 예방적 치료의 일 예이다. 테트라사이클린은 여드름 발생의 원인이 되는 박테리아를 사멸시킴으로써 장래의 발생을 예방한다.
- [0022] 본 명세서에 사용된 구 "치료학적" 및 "치료학적으로 유효한 양"은 각각 (a) 특정 질병, 컨디션 또는 질환을 치료하며; (b) 특정 질병, 컨디션 또는 질환으로부터 유발되는 하나 이상의 증상 또는 합병증을 약화, 개선 또는 제거하며; (c) 특정 질병, 컨디션 또는 질환과 관련된 하나 이상의 증상 또는 합병증의 시작을 예방 또는 지연하는 화합물, 조성물 또는 약품의 효과 및 양을 나타낸다. 상기 용어 "치료학적" 및 "치료학적으로 유효한 양"은 상기 언급된 효과 (a)-(c)중 어느 하나, 단독 또는 어느 나머지 (a)-(c)와의 조합을 포함하는 것으로 이해되어야 한다.
- [0023] 상기 용어 "포유류", "환자" 및 "대상"은 예를 들어, 기니 피그, 마우스, 랫트, 게르빌루스쥐, 고양이, 토끼, 개, 원숭이, 침팬지, 및 사람과 같은 온혈동물을 칭한다.
- [0024] 화학식 I의 화합물은 비대칭 센터를 가지며, 이에 따라 다른 입체 이성질체 형상으로 존재할 수 있다. 결과적으로, 화학식 I의 화합물은 개별적인 (순수) 광학 이성질체 뿐만 아니라 광학 이성질체의 혼합물로서 존재할 수 있다. 본 발명의 견지는 모든 비율로 단일 광학 이성질체 및 이의 혼합물 모두를 포함한다. 본 발명의 견지는 또한 어느 비율로 화학식 I의 화합물의 모든 호변이성(tautomeric) 형태("토토머"), 및 이의 모든 혼합물을 포함한다. 단일 화합물이 일 이상 타입의 이성질체 현상을 나타낼 수 있음은 당 기술분야의 숙련자에게 인식될 것이다.
- [0025] 화학식 I의 화합물은 예를 들어, 결정화에 의한 것과 같이 예를 들어, 분리될 수 있는 디아스테레오이소머릭 염의 형성; 예를 들어, 결정화, 가스-액체 크로마토그래피에 의한 것과 같이 분리될 수 있는 디아스테레오이소머릭 유도체 또는 복합체의 형성; 예를 들어, 효소적 에스테르화와 같은 일 광학이성질체와 광학이성질체-특이적 제제의 선택적 반응; 또는 예를 들어, 결합된 키랄 리간드를 갖는 키랄 지지체상에서 또는 키랄 용매의 존재하에서와 같은 키랄 환경에서 가스-액체 또는 액체 크로마토그래피에 의한 것과 같이 당 기술분야의 숙련자에게 알려진 방법에 의해 순수 광학이성질체로 분해될 수 있다. 원하는 입체이성질체가 상술한 분리 방법중 일 방법에 의해 다른 화학적 엔티티로 전환되는 경우에, 추가 단계는 원하는 광학이성질체 형태를 자유롭게 하는 것이 필요로 한다. 택일적으로, 특정 입체이성질체는 광학 활성적인 출발 물질을 이용하거나, 광학 활성 제제, 기질, 촉매 또는 용매를 이용한 비대칭적 합성에 의해 또는 비대칭 변형 또는 전도에 의한 일 입체이성질체의 다른 입체이성질체로의 전환에 의해 합성될 수 있다.
- [0026] 본 발명의 화합물은 용매화합물화되지 않은 형태로 존재할 수 있을 뿐만 아니라 물, 에탄올 등과 같이 약학적으로

로 허용되는 용매와 함께 다양한 용매화합물 형태로 존재할 수 있다. 일반적으로, 용매화합물 형태는 본 발명의 목적상 용매화합물화되지 않은 형태와 동등한 것으로 간주된다. 약학적으로 허용되는 용매는 또한 D₂O, d₆-DMSO 등과 같은 동위원소 치환 용매를 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 용어 '용매화합물'은 본 명세서에서 본 발명의 화합물 및 하나 이상의 약학적으로 허용되는 용매 분자를 포함하는 복합체를 나타낸다. 이와 같이, 상기 화합물의 모든 방식의 수화물은 용어 '용매화합물'에 의해 포함된다. 본 발명은 용매화합물화되지 않은 형태, 용매화합물 형태 및 어느 비율로 용매화합물 형태의 혼합물을 포함하는 것으로 의도된다.

[0027] 본 발명의 화합물 및/또는 이의 염 및/또는 이의 용매화합물은 비결정 고체로서 존재할 수 있으며, 또는 하나 이상의 결정 상태, 즉, 폴리모프(polymorphs)로 존재할 수 있다. 화학식 I의 화합물의 폴리모프가 본 발명에 포함되며, 예를 들어, 다른 용매 또는 다른 용매 혼합물을 이용하여 다른 온도에서 결정화; 및 결정화도중 매우 빠른 것에서 부터 매우 느린 다양한 냉각 범위 모드를 이용하는 것과 같은 다수의 다른 조건하에서 결정화에 의해 제조될 수 있다. 폴리모프는 또한 화학식 I의 화합물을 가열 또는 용융시킨 다음 점진적 냉각 또는 신속 냉각에 의해 얻어질 수 있다. 폴리모프의 존재는 고체 NMR 분광학, IR 분광학, 차등 주사 열량계, 분말 x-선 회절 또는 다른 기술에 의해 검출될 수 있다. 이러한 결정성 및 비결정성 형태의 화학식 I의 화합물, 및 이의 염, 이의 용매화합물 및 프로드럭이 본 발명 및 청구범위에 포함되는 것으로 이해되어야 한다.

[0028] 본 발명은 또한 화학식 I의 화합물의 모든 약학적으로 허용되는 동위원소-표지 변형을 포함한다. 이러한 동위원소-표지 변형은 화학식 I의 화합물과 동일한 구조 및 분자식을 갖지만, 하나 이상의 원자가 일반적으로 자연에서 발견되는 원자량 또는 질량과 다른 원자량 또는 질량수를 갖는 원자로 치환된 화합물이다. 본 발명의 화합물 내로 편입될 수 있는 동위원소의 예는 각각 ²H, ³H, ¹¹C, ¹³C, ¹⁴C, ¹⁸F, ¹³N, ¹⁵O, ¹⁷O 및 ¹⁸O와 같이 수소, 탄소, 불소, 질소 및 산소의 동위원소를 포함한다.

[0029] 예를 들어, ³H 및 ¹⁴C와 같이 방사성 동위원소를 편입시킨 것들과 같이 본 발명의 화합물의 특정 동위원소 표지 변형이 약물 및/또는 기질 조직 분포 연구에 유용하다. 삼중 수소, 즉, ³H 및 탄소-14, 즉, ¹⁴C가 제조 및 검출의 용이성으로 특히 바람직하다. 또한, 중수소, 즉, ²H와 같이 보다 무거운 동위원소와의 치환은 예를 들어, 증가된 생체내 반감기 또는 감소된 투여량 요구와 같이 보다 우수한 대사 안정성을 주는 특정 치료학적 잇점을 제공할 수 있으며, 이에 따라 일부 환경에서 바람직할 수 있다. 본 발명의 화학식 I의 동위원소 표지 화합물 및 이의 프로드럭은 일반적으로 동위원소 표지되지 않은 제제를 쉽게 이용가능한 동위원소 표지 제제로 대체함으로써 스킴 및/또는 실시예에 개시된 방법을 수행하여 제조될 수 있다.

[0030] 화학식 I의 화합물은 분리될 수 있으며, 그 자체로 사용되거나 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화합물의 형태로 사용될 수 있다. 구 "약학적으로 허용되는 염"은 상기 화합물의 약학적으로 허용되는 무기 및 유기 염을 포함한다. 이러한 염은 화합물(또는 프로드럭)의 최종 분리 및/또는 정제도중 원 위치에서(in situ) 제조되거나, 상기 화합물(또는 프로드럭)을 적절한 유기 또는 무기 산과 별도로 반응시키고 이에 따라 형성된 염을 분리함으로써 제조될 수 있다. 화학식 I의 화합물의 약학적으로 허용되는 염은 화학식 I의 화합물과 원하는 산 또는 염기를 수성, 비수성 또는 부분적으로 수성인 매체에서 적절히 혼합하는 것과 같은 통상적인 방법에 의해 쉽게 제조될 수 있다. 그 결과 형성되는 염은 여과에 의해, 용액으로부터 침전후 여과에 의해, 용매의 증발에 의해, 또는 수성 용액인 경우 친액성화에 의한 것과 같이 다수의 표준 방법에 의해 회수될 수 있다. 염내 이온화도는 완전히 이온화된 것에서 부터 거의 비이온화된 것까지 다양할 수 있다.

[0031] 용어 "염"은 약학적으로 허용되는 염 및 상기 화합물 또는 이에 상응하는 중간물의 제조와 같이 산업적 공정에 사용되기에 적절한 염을 칭하는 것으로 의도된다. 이러한 염은 실질적으로 용매화합물 형태 또는 실질적으로 비용매화합물 형태 또는 이의 혼합물로 존재할 수 있다. 이러한 모든 형태가 본 발명의 범위내에 포함되는 것으로 이해되어야 한다.

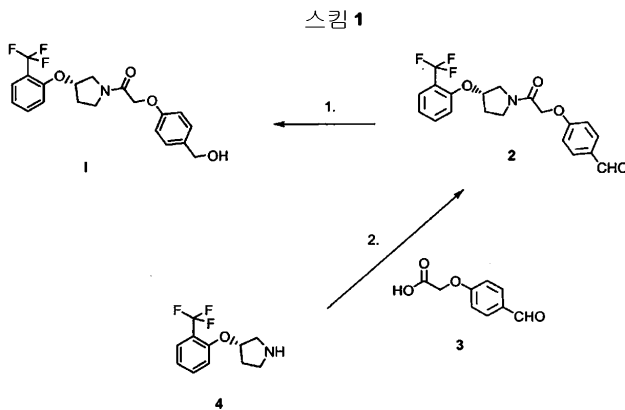
[0032] 대표적인 염은 이에 한정하는 것은 아니나, 아세테이트, 아스파테이트, 벤조에이트, 베실레이트, 비카보네이트/카보네이트, 비설레이트/설레이트, 보레이트, 캄실레이트, 시트레이트, 에디실레이트, 에실레이트, 포르메이트, 푸마레이트, 글루세이트, 글루코네이트, 글루쿠로네이트, 핵사플루오로포스페이트, 히벤제이트, 하이드로클로라이드/클로라이드, 하이드로브로마이드/브로마이드, 하이드로요오다이드/요오다이드, 이세티오네이트, 락테이트, 말레이트, 말리에이트, 말로네이트, 메실레이트, 메틸설페이트, 나프틸레이트, 2-나프실레이트, 니코티네이트, 오로테이트, 옥살레이트, 팔미테이트, 파모에이트, 포스페이트/하이드로젠 포스페이트/디하이드로젠 포스페이트, 사카레이트, 스테아레이트, 숙시네이트, 타르트레이트, 토실레이트, 트리플루오로아세테이트 등을 포함한다. 대표적인 염의 다른 예는 소듐, 리튬, 포타슘, 칼슘, 마그네슘 등과 같은 알칼리 또는 알칼리토 금속 양

이온 뿐만 아니라 이에 한정하는 것은 아니나 암모늄, 테트라메틸암모늄, 테트라에틸암모늄을 포함하는 무독성 암모늄, 4차 암모늄 및 아민 양이온, 리신, 아르기닌, 벤자틴, 콜린, 트로메타민, 디올라민, 글리신, 메글루민, 올라민 등을 포함한다. 본 발명은 또한 다른 염의 혼합물을 포함한다.

[0033] 화학식 I의 화합물은 프로드럭으로서 투여될 수 있다. 용어 "프로드럭"은 생체내에서 화학식 I의 화합물 또는 상기 화합물의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화합물을 생성하도록 변형되는 화합물을 칭한다. 변형은 혈내에서 가수분해에 의한 것과 같은 다양한 메카니즘에 의해 일어날 수 있다. 화학식 I의 화합물의 프로드럭은 당 기술분야에 알려진 방법에 따른 통상적인 방법으로 형성될 수 있다. 프로드럭의 전반적인 설명은 본 명세서에 참고문헌으로 편입된 하기 문헌을 참조바람: T. Higuchi and V. Stella, Pro-drugs as Novel Delivery Systems, Vol. 14 of the A.C.S. Symposium Series, and in Bioreversible Carriers in Drug Design, ed. Edward B. Roche, American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987.

[0034] 일반적으로, 화학식 I의 화합물은 숙련자의 지식과 함께 화학 분야, 특히 본 명세서에 기재된 설명을 고려하여 다수의 공지 방법을 이용하여 제조될 수 있다. 다양한 출발물질, 중간물 및 시약들이 상업적 공급처로부터 구입되거나 문헌 방법 또는 이의 적용에 따라 제조될 수 있다. 다른 시약, 화합물 또는 방법이 실행 또는 시험에 사용될 수 있으나, 화학식 I의 화합물 제조에 대한 일반화된 방법은 하기 설명 및 반응 스킴에 의해 설명된다. 화학식 I의 화합물의 제조에 대한 다른 방법은 실험 부문에서 설명된다. 스킴, 상세한 설명 및 실시예에 개요적으로 나타낸 것들을 포함하는 본 명세서에 기술된 방법들은 예시적인 목적이며 어느 방식으로 이로 한정하려는 것은 아니다. 다양한 변화 및 변형은 본 발명의 잇점을 고려하여 당 기술분야의 숙련자에게 자명할 것이며, 첨부된 청구범위에 또한 정의된 바와 같은 본 발명의 정신 및 범위내에 포함되는 것으로 간주된다.

[0035] 본 발명의 다양한 견지의 특정 구현은 스킴, 제조 및/또는 실시예를 참고로 설명되나, 이러한 구현은 단지 예시적인 것이며, 본 발명의 원리의 적용을 대표할 수 있는 소수의 많은 가능한 특정 구현을 예시하는 것으로 이해되어야 한다.



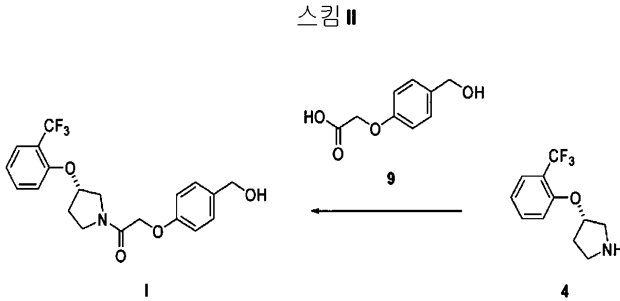
[0036]

[0037] 반응 1에서, 화학식 I의 화합물은 대응하는 알데히드 2의 환원에 의해 제조될 수 있다. 상기 반응은 당 기술분야에 알려진 방법에 따라 수행된다. 전형적으로, 알데히드 2는 메탄올과 같은 극성 용매에서 소듐 보로하이드라이드와 같은 환원제로 처리된다. 그 혼합물은 약 주위 온도에서와 같은 적절한 온도에서 약 1-4시간과 같은 적절한 시간동안 교반된다. 택일적으로, 알데히드 2는 수소 가스 및 니켈과 같은 적절한 금속 촉매를 이용하여 대응하는 알코올로 환원될 수 있다. 수소화 반응은 전형적으로 주위 온도에서 테트라하이드로퓨란(THF)과 같은 극성 용매에서 수행된다.

[0038] 반응 2에서, 알데히드 2는 페녹시-피롤리딘 4를 포밀-페녹시-아세트산 3으로 응축시킴으로써 제조될 수 있다. 커플링 반응은 예를 들어, 디클로로메탄과 같은 비양성자성 용매에서 예를 들어, 트리에틸 아민(TEA)과 같은 유기 염기의 존재하에 디에틸시아노포스페이트(DECP)를 이용하여 이루어질 수 있다. 전형적으로, 4 및 3은 주위 온도에서와 같은 적절한 온도에서 상기 염기와 함께 결합된다. 그 다음 DEPC가 반응 혼합물에 첨가된다. 반응은

약 12-24시간과 같은 적절한 시간의 기간동안 교반된다. 택일적으로, 결합 반응은 에틸 아세테이트와 물과 같은 극성 용매 또는 극성 용매의 혼합물에서 약 4시간과 같은 적절한 기간동안 1-히드록시벤조트리아졸(HOBT), 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카보다이미드(EDAC) 및 트리에틸 아민(TEA)의 존재하에 4와 3을 결합시킴으로써 완수될 수 있다.

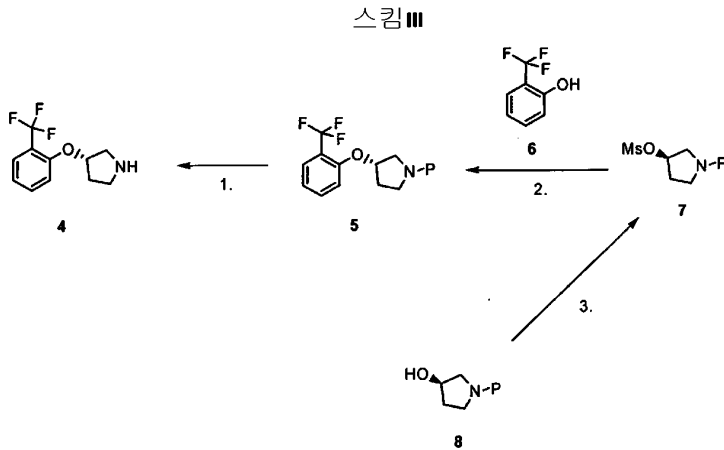
[0039] 화학식 I의 화합물의 택일적인 제조를 하기 스킴 II에 나타내었다.



[0040]

[0041] 스킴 II에 나타낸 바와 같이, 화학식 I의 화합물은 당 기술분야에 알려진 표준 산 활성화 커플링 공정을 이용하여 벤질릭 알코올 9로 페녹시-피롤리딘 4를 직접 응축시킴으로써 제조될 수 있다. 포밀-페녹시-아세트산 3(스킴 I) 및 벤질릭 알코올 9(스킴 II)는 알려진 상업적 공급처로부터 구입하거나 당 기술분야에 알려진 방법을 이용하여 제조될 수 있다.

[0042] 페녹시-피롤리딘 4의 제조는 스킴 III에 설명된다.



[0043]

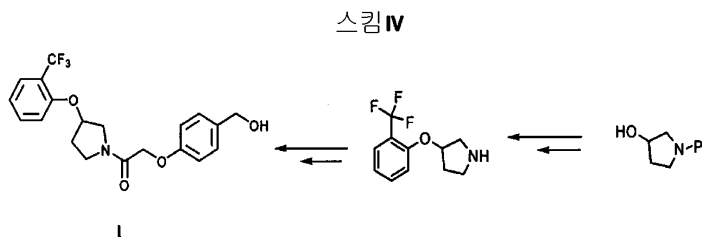
[0044] 반응 1에서, 페녹시-피롤리딘 4는 표준 탈보호 방법에 따라 대응하는 N-보호 페녹시-피롤리딘 5로부터 질소 보호기 "P"의 제거에 의해 제조될 수 있다. 예를 들어, P가 테르트-부톡시카보닐을 나타내는 경우, 탈보호 반응은 p-톨루엔설포닉산(TsOH) 또는 트리플루오로아세트 아세트산(TFA) 또는 디옥산에 용해된 HCl과 같은 산 용액과 같은 산을 이용하여 이루어질 수 있다. 상기 반응은 전형적으로 예를 들어, 디에틸 에테르와 같은 극성 용매 또는 용매 혼합물에서 수행되며, 예를 들어, 주위 온도에서와 같은 적절한 온도에서 약 4-24시간과 같은 적절한 기간동안 교반된다. 일부 경우에, TFA를 이용한 탈보호 5는 P가 트리플루오로메틸카보닐을 나타내는 부산물의 형성(약 15%로 존재함)을 일으킬 수 있다. 젖은 에틸 아세테이트에서 리튬 카보네이트를 이용한 불순물의 처리

는 페녹시-피롤리딘 4를 생성한다.

[0045] 반응 2에서, N-보호 페녹시-피롤리딘 5는 당 기술분야에 알려진 방법에 따른 친핵성 치환을 통해 제조될 수 있다. 전형적으로, 치환 반응은 약 65°C와 같은 적절한 온도에서 비활성 분위기(전형적으로 질소)하에 테트라하이드로퓨란, N,N-디메틸포름아마이드 등과 같은 비양성자성 용매에서 메실레이트 7과 트리플루오로메틸 페놀 6을 소듐 하이드라이드, 포타슘 t-부톡사이드, 포타슘 카보네이트, 세슘 카보네이트 등과 같은 과잉 염기와 함께 결합시킴으로써 이루어진다. 상기 반응은 약 4-24시간과 같은 적절한 기간동안 교반된다. 트리플루오로메틸 페놀 6은 당 기술분야에 알려져 있으며, 알려진 상업적 공급처로부터 구입할 수 있다.

[0046] 반응 3에서, 메실레이트 7은 트리에틸 아민과 같은 염기의 존재하에서 메실 클로라이드(메탄 설폰일 클로라이드)를 이용하는 것과 같은 표준 방법에 따라 대응하는 N-보호 히드록시-피롤리딘 8로부터 제조될 수 있다. P가 질소 보호기 테르트-부톡시카보닐(BOC)를 나타내는 N-보호 피롤리딘 8은 당 기술분야에 알려져 있으며, 알려진 상업적 공급처로부터 구입할 수 있다. 택일적으로, 상기 N-보호 피롤리딘 8은 당 기술분야에 알려진 표준 방법을 이용하여 3-히드록시 피롤리딘으로부터 제조될 수 있다.

[0047] 상술한 반응 시퀀스는 또한 스킴 IV에 나타난 바와 같은 출발물질로서 라세믹 N-보호 피롤리딘을 이용하여 수행될 수 있다.



[0048] P가 BOC와 같은 질소 보호기를 나타내는 N-보호 피롤리딘 8에 대응하는 상기 라세믹 출발물질은 또한 알려진 상업적 공급처로부터 구입할 수 있다.

[0050] 상술한 중간 생성물은 추출, 증발 또는 당 기술분야에 알려진 다른 기술에 의해 회수될 수 있다. 그 다음 원료는 임의로 크로마토그래피, HPLC, 재결정화, 분쇄, 증류 또는 당 기술분야에 알려진 다른 기술에 의해 정제될 수 있다.

[0051] 당 기술분야의 숙련자에 의해 인식될 수 있는 바와 같이, 상술한 바와 같은 이러한 화합물의 제조에 유용한 방법의 일부는 특정 기능의 보호를 필요로 할 수 있다. 예를 들어, 분자내 다른 사이트에서의 반응시 이러한 기능에 의한 간섭을 억제하기위해 또는 이러한 기능의 보전성을 지키기위해 그러할 수 있다. 이러한 보호의 필요성 및 타입은 당 기술분야의 숙련자에 의해 쉽게 결정되며, 예를 들어, 기능의 특성 및 선택된 제조 방법의 조건에 따라 달라질 것이다. 보호기를 도입하고 제거하는 방법은 당 기술분야의 통상적인 기술을 가진 자에게 잘 알려져 있으며, Greene and Wutz, Protective Groups in Organic Synthesis(3rd Ed, John Wiley & Sons, 1999)에 기재되어 있다.

[0052] 마찬가지로, 상기 스킴 I 내지 IV에서 언급된 표준 방법은 예를 들어, Compendium of Organic Synthetic Methods(Wiley-Interscience) 및 Comprehensive Organic Transformations(Richard Larock)의 제목을 가진 시리즈와 같은 표준 참고서적에서 찾아볼 수 있다. 다른 택일적인 시약, 출발물질 뿐만 아니라 본 명세서에 기술된 방법을 최적화하거나 적응하기위한 방법들은 또한 당 기술분야의 숙련자에 의해 쉽게 결정될 수 있을 것이다.

[0053] **의학 및 미용학적 용도**

[0054] 화학식 I의 화합물은 스테아로일 CoA 디선투라아제의 억제제이며, 과도한 피지 생성 및 분비와 관련된 피부학적 및 미용학적 컨디션의 치료 및 완화에 유용할 수 있는 것으로 발견되었다. 보다 상세하게, 화학식 I의 화합물은 여드름, 지성 피부, 지성 헤어, 윤이 나거나 기름져 보이는 피부, 및 지루성 피부염과 같은 피부학적 및 미용학

적 컨디션을 치료, 완화, 및 예방하는데 사용될 수 있다. 리피드생성의 중요한 효소적 조절제로서, SCD1 활성의 동요는 비만, 암 및 당뇨병과 같은 광범위한 질병에서 역할을 하는 것으로 여겨진다. 예를 들어, 마우스에서 SCD1 유전자의 표적 제거는 지질 항상성 및 체중 조절에 대한 SCD1의 중요성을 입증한바 있다. Ntambi, J.M. and Miyazaki, M., Curr. Opin. Lipidol. 14, 255-261(2003) and Dobryzn A., Ntambi, J.M., Obes. Rev., 6, 156-174(2005). SCD1 녹아웃 마우스의 다른 연구는 SCD1 결핍은 증가된 에너지 비용, 감소된 체지방 축적, 증가된 인슐린 민감도 및 다이어트-유도 비만에 대한 내성과 연관된 것으로 나타났다(Dobryzn, A., Ntambi, J.M., Trends Cardiovasc. Med., 14, 77-81(2004)). 다른 연구는 고중성지방혈증이 있는 사람에서 SCD1 활성과 혈장 트리글리세라이드간에 양성 상관성을 나타내었으며(Attie, A.D. et al. J. Lipid Res., 43), 중증 비만인의 골격근에서 비정상적인 지방산 분할에 기여하는 것으로 나타났다(Hulver, M.W. et al., Cell Metab., 2, 251-261(2005)).

[0055] SCD1의 억제와 감소된 피지 생성간의 관련성은 또한 SCD1-녹아웃 마우스 및 자발적 돌연변이의 결과로 형성된 기능적 SCD1이 결핍된 마우스(아세비아 마우스)와 관련된 연구에서 입증된 바 있다. 상기 아세비아 마우스는 미발달 피지선, 표피의 스케일링 및 얇은 헤어를 갖는 것으로 특징된다(Zheng, Y. et al, Nature Genetics, 23:268-270(1999)). 아세비아 마우스의 특성에 부가적으로, SCD1-녹아웃 마우스는 또한 피지선세포 위축, 피지 생성의 손실 또는 감소 및 건성 안을 나타내었다(Miyazaki, M. et al, Journal of Nutrition, 131(9):2260-2268(2001)). 보다 중요하게, 상기 녹아웃 마우스는 피지의 두 중요 성분들인 트리글리세라이드 및 콜레스테롤 에스테르가 결핍되었으며, 이러한 결핍은 마우스에게 고 올레이트 및/또는 팔미톨레이트 다이어트 공급을 준 것과는 관련이 없었다. 사람에서, 증가된 수준의 피지 생성 및 분비는 프로피오니박테리움 아크네스 (*Propionibacterium acnes*)의 성장을 촉진하며, 이는 차례로 여드름으로 특징되는 염증, 케라티노사이트 증식 및 병반 형성에 기여한다(Sidiropoulos M., University of Toronto Medical Journal, 83(2), 93-95(2006)). 따라서, 피지선에서 피지 합성을 감소 또는 억제하도록 하는 SCD1 활성 억제는 여드름, 지성 피부, 지성 헤어, 윤이 나거나 기름져 보이는 피부, 및 지루성 피부염과 같은 과도한 피지 생성과 연관된 컨디션으로 고통받는 대상에서 바람직한 치료 효과를 갖는다.

[0056] **배합물**

[0057] 본 발명의 화합물은 약학적, 피부학적 및 미용학적 용도로 의도되며, 약학 조성물로 배합될 수 있으며, 그리고 선택된 투여 경로에 적응된 다양한 형태로 사람 환자와 같은 포유류에 투여될 수 있다. 본 발명은 선택된 투여 경로에 의해 제한되지 않는 것으로 이해되어야 한다. 상기 화합물은 단독으로 투여되거나 하나 이상의 다른 치료제와 함께 투여될 수 있다.

[0058] 필요에 따라, 상기 화합물은 어느 부형제없이 직접 투여될 수 있다. 그러나, 전형적인 구현으로, 본 발명의 화합물은 하나 이상의 약학적으로 허용되는 부형제와 결합하여 배합물로 투여될 것이다. 본 명세서에 사용된 용어 "부형제"는 비이클, 캐리어, 희석제, 보존제 등과 같이 본 발명의 화합물과 다른 배합물내 어느 성분을 칭한다. 본 명세서에 사용된 용어 부형제는 "비이클" 및 "캐리어"와 교체사용가능하다. 부형제(들)의 선택은 특정 투여 방식, 용해도 및 안정성에 미치는 부형제(들)의 영향 및 투여 형태의 특성과 같은 인자에 따라 크게 달라질 것이다. 본 명세서에 사용된 용어 "배합물" 및 "조성물"은 교체 사용가능하다. 일부 구현에 따르면, 상기 화합물은 피부학적 또는 미용학적 부형제와 배합될 것이다. 본 출원서에서 용어 "피부학적 부형제" 및 "미용학적 부형제"는 교체 사용가능하며, 일반적으로 피부나 헤어에 직접 투여하기에 적절한 성분 또는 배합물을 칭한다.

[0059] 전형적인 구현으로, 상기 화합물은 국소 투여된다. 국소 투여는 특히 여드름, 과도한 피지, 지성 피부나 헤어, 및 윤이 나거나 기름져 보이는 피부의 치료에 적합하다. 본 명세서에 사용된 국소는 피부 및/또는 헤어에 직접적으로 상기 화합물(및 임의의 캐리어)을 적용하는 것을 칭한다. 본 발명에 따른 국소 조성물은 용액, 로션, 연고, 크림, 오인트먼트, 리포솜, 스프레이, 젤, 포움, 롤러 스틱 또는 피부학적으로 통상적으로 사용되는 어느 다른 배합 형태일 수 있다.

[0060] 다른 국소 구현으로, 상기 화합물은 경구 투여된다. 경구 투여를 위해, 상기 화합물은 캡슐, 알약(pills), 정제(tablets), 로젠지, 용융물, 분말, 서스펜션, 또는 에멀전과 같은 고체 또는 액체 제조물로 배합될 수 있다. 고형 유닛 투여형은 예를 들어, 계면활성제, 유효제 및 락토즈, 수크로즈 및 옥수수녹말과 같은 비활성 필러를 함유하는 통상적인 젤라틴 타입의 캡슐이거나, 이들은 지연 방출 제조물일 수 있다.

[0061] 일부 구현으로, 화학식 I의 화합물은 락토즈, 수크로즈 및 옥수수녹말과 같은 통상적인 정제 베이스를

아카시아, 옥수수녹말 또는 젤라틴과 같은 바인더, 감자 전분 또는 알긴산과 같은 붕해제, 및 스테아르산 또는 마그네슘 스테아레이트와 같은 윤활제와 함께 정제화된다. 액체 제조물은 수성 또는 비수성의 약학적으로 허용되는 용매에 활성 성분을 용해함으로써 제조되며, 이는 또한 당 기술분야에 알려져 있는 침강방지제, 감미제, 향료 및 보존제를 함유할 수 있다.

[0062] 다른 구현으로, 상기 화합물은 비경구 투여된다. 비경구 투여를 위해, 상기 화합물은 용액 또는 서스펜션으로 투여될 수 있다. 적절한 약학적 캐리어의 예는 물, 염수, 텍스트로즈 용액, 프록토즈 용액, 에탄올, 또는 동물, 식물이나 합성 기원의 오일이다. 상기 약학적 캐리어는 또한 당 기술분야에 알려져 있는 바와 같은 보존제, 비퍼 등을 함유할 수 있다. 상기 화합물이 수막내(intrathecaly) 투여되는 경우, 당 기술분야에 알려져 있는 바와 같이 이는 또한 뇌척수액에 용해될 수 있다.

[0063] 다른 구현으로, 본 발명의 조성물은 또한 세척 비누, 젤 또는 바(bars)로 사용되기에 적절한 고체 또는 반고체 배합물을 포함할 수 있다. 이러한 조성물은 일반적인 방법에 따라 제조되며, 임의로 보습제, 착색제, 향 등과 같은 부가적인 부형제를 함유할 수 있다.

[0064] 상기 화합물은 또한 수성, 알코올성 또는 수성-알코올성 용액의 형태로, 또는 크림, 젤, 에멀전 또는 무스의 형태로, 또는 텍일적으로 압력하의 추진체를 또한 포함하는 에어로졸 조성물의 형태로 헤어에 적용되도록 배합될 수 있다. 본 발명에 따른 조성물은 헤어 케어 조성물, 특히 샴푸, 헤어-셋팅 로션, 트리팅 로션, 스타일링 크림 또는 젤, 염색 조성물, 헤어 손실 방지용 로션 또는 젤 등일 수 있다. 본 발명에 따른 다양한 조성물에서 부형제의 양은 해당 분야에 통상적으로 사용되는 양이다.

[0065] 본 발명의 화합물의 운반에 적절한 약학 조성물 및 이의 제조방법은 당 기술분야의 숙련자에게 쉽게 인지될 것이다. 이러한 조성물 및 이의 제조방법은 예를 들어, Reminton's Pharmaceutical Sciences, 19th Edition(Mack Publishing Company, 1995)에서 찾아볼 수 있다.

[0066] **투여량**

[0067] 본 발명의 화합물의 투여 및 투여 요법은 치료학 분야에 잘 알려진 방법 및 수행에 따라 최적의 바람직한 반응을 제공하도록 조절될 수 있다. 예를 들어, 단일 회분 투여량이 투여되거나, 수회 나누어진 투여량이 시간에 걸쳐 투여될 수 있다. 투여량은 또한 치료적 상황에 따라 점진적으로 감소 혹은 증가할 수 있다. 적절한 투여 요법, 투여되는 각 투여량 및/또는 투여 간격은 상기 화합물, 약학 조성물의 타입, 치료를 필요로 하는 대상의 특성 및 치료하고자 하는 컨디션의 중증도를 포함하는 다수의 인자에 따라 달라질 것이다.

[0068] 상기 화합물의 투여량은 달라질 것이지만, 피부학적 투여를 위한 일반적 가이드라인으로서 상기 화합물은 약 0.01-50w/w%의 양으로, 보다 전형적으로 약 0.1-10w/w%의 양으로 피부학적을 허용되는 배합물에 존재할 것이다. 일부 구현으로, 상기 배합물은 매일 1-4회 환부에 적용될 수 있다. "피부학적으로 허용되는 배합물"은 피부나 헤어에 적용될 수 있으며 작용부에 약물이 확산되도록 하는 배합물이다.

[0069] 상기 화합물의 투여량은 달라질 것이지만, 경구 투여를 위한 일반적 가이드라인으로서, 상기 화합물은 약 0.1mg 내지 1.0g의 양으로 경구 투여용에 적절한 배합물에 존재할 것이다. 일부 구현으로, 상기 화합물은 1일 1회 경구 투여될 것이다. 다른 구현으로, 상기 화합물은 1일 1회이상 경구 투여될 것이다. 본 명세서에 사용된 구 "경구 투여"는 입을 통해 취해지는 것을 의미한다.

[0070] 숙련자는 또한 견딜 수 있는 최대 투여량, 환자에게 검출가능한 치료학적 이득을 제공하는 치료학적으로 유효한 양, 및 환자에게 검출가능한 치료학적 이득을 제공하기위한 각 제제 투여의 시간적 요건을 쉽게 결정할 수 있을 것으로 예측된다. 따라서, 특정 투여량 및 투여 요법은 본 명세서에 예시되지만, 이러한 예는 본 발명을 수행하는데 있어 환자에게 제공될 수 있는 투여량 및 투여 요법을 어느 방식으로 제한하는 것은 아니다. 특정 환자에 대한 최적 투여량의 결정은 당 기술분야의 숙련자에게 잘 알려져 있다.

[0071] 국소 투여에 적절한 약학적으로 허용되는 비이클의 특정 비제한적인 예는 프로필렌 글리콜:트랜스큐틀:에탄올(20:20:60, v/v/v) 및 프로필렌 글리콜:에탄올(30:70, v/v)을 포함한다. 일부 구현으로, 화학식 I의 화합물은 약 1.5-2.0%(w/v)의 농도로 존재할 수 있다.

[0072] **동시투여**

- [0073] 본 발명의 다른 구현으로, 상기 화합물은 원하는 치료 효과를 증진 또는 보완하기위해 또는 잠재적인 부작용을 최소화하기위해 다른 제제와 함께 동시투여된다. 이러한 구현의 비제한적 예가 이하 기술된다.
- [0074] 증강된 혈청 콜레스테롤의 치료를 위해 아실 CoA 콜레스테롤 아실 트랜스퍼라아제(ACAT) 인히비터가 초기에 평가되었다. 후속적으로 이러한 화합물은 피지 생성을 감소시키는 것으로 발견되었다(미국 특허 제 6,133,326호). 어느 이러한 ACAT 인히비터가 피지 생성을 감소시키기위해, 지성 피부의 완화 등을 위해서 화학식 I의 화합물과 동시투여될 수 있다.
- [0075] 테트라시클린 및 클린다마이신과 같은 항생제가 여드름 완화를 위해 사용되었다. 상기 항생제는 미생물, 프로피온박테리움 아크네스(*Propionbacterium acnes*)를 근절시켜 환자의 여드름 감소를 이끈다. 화학식 I의 화합물은 여드름 치료에 적절한 어느 항생제와 함께 동시투여될 수 있다.
- [0076] 특정 레티노이드가 여드름 치료에 사용되지만, 피지 생성을 효과적으로 감소시키지 못한다. 본 발명의 구현으로, 화학식 I의 화합물은 피지 생성을 감소시키기위해 그리고 여드름이나 지루를 치료하기위해 레티노이드와 함께 동시투여된다. 동시투여하기에 적절한 예시적인 레티노이드는 이에 한정하는 것은 아니나 에트레티네이트, 트레티노인 및 알리레티노인을 포함한다.
- [0077] 에스트로겐 및 프로게스테론은 피지 생성을 감소시키는 것으로 나타났다. 이러한 화합물 또는 이러한 화합물에 대한 어느 합성 아고니스트가 피지 생성 감소를 위해 화학식 I의 화합물과 함께 동시투여될 수 있다.
- [0078] 본 출원서에 사용된 용어 "동시투여되는" 또는 "동시투여"는 화학식 I의 화합물이 전형적으로 원하는 결과를 촉진하기위해 다른 활성 메카니즘을 갖는 제 2의 치료제와 함께 투여되는 투여 요법을 칭한다. "동시투여"는 투여 경로가 제한되지 않으며, 동시 투여, 하루동안에 다른 시간에서의 투여 또는 심지어 다른 날에서의 투여를 칭할 수 있다. 상기 화합물은 개별적으로 투여되거나 단일 배합물로 배합될 수 있다(즉, 고정된 배합물).
- [0079] 다른 구현으로, 상기 화합물 및 어느 부가적인 치료제를 함유하는 의학적 및 미용학적 배합물은 전형적으로 소매 배급용(즉, 제조 물품 또는 키트)으로 포장될 것이다. 이러한 물품은 제품 사용법을 환자에게 안내하는 방식으로 표지 및 포장될 것이다. 이러한 안내는 치료하고자 하는 컨디션, 치료기간, 투여 스케줄 등을 포함할 것이다.
- [0080] 화학식 I의 화합물은 또한 어느 비활성 캐리어와 함께 혼합될 수 있으며, 환자의 혈청, 소변 등에서 상기 화합물의 농도를 검출하기위해 당 기술분야에 알려진 바와 같이 실험 분석에 사용될 수 있다. 상기 화합물은 또한 조사 도구로 사용될 수 있다.
- [0081] 본 발명은 이의 특정 구현과 관련되어 기술되었으나, 추가적인 변형이 가능하며 본 출원서는 일반적으로 본 발명의 원리내에 있으며, 본 발명의 기술분야에서 공지되거나 관례적인 실행내에 포함된다면 본 발명의 어느 변화, 사용 또는 적용을 포함하는 것으로 이해될 것이다. 하기 실시예 및 생물학적 데이터는 본 발명을 보다 예시하기위해 제시된다. 이러한 기재는 본 발명을 어떠한 방식으로 한정하려는 것으로 해석되지 않아야 한다.
- [0082] 하기 디스커션에서 다음과 같은 약어가 사용되었다: THF(테트라하이드로퓨란), DMF(N,N-디메틸포름아마이드), BOC(테르트-부톡시카보닐), DEPC(디에틸시아노포스페이트), TEA(트리에틸 아민), HOBT(1-히드록시벤조트리아졸), EDAC(1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카보디이미드), 및 EtOH(에탄올).

[0083] **실시예**

[0084] **실시예 1A**

[0085] (S)-2-(4-(히드록시메틸)페녹시)-1-(3-(2-(트리플루오로메틸)페녹시)피롤리딘-1-일)에타논

[0086] 단계 1: THF(20ml)내에 용해된 R-1-BOC-3-히드록시-피롤리딘(1.0g, 5.34mmol)과 트리에틸아민(0.89ml, 6.41mmol)의 혼합물을 얼음조에서 냉각하였다. 여기에 메탄 설폰일 클로라이드(0.46ml, 5.87mmol)를 첨가하였다. 그 다음, 그 반응물을 주위 온도로 데우고 4시간동안 교반하였다. 반응은 물 첨가로 정지되고, 에틸 아세테이트(2x)로 추출되었다. 유기 추출물은 포화 NaCl 용액과 혼합 및 세정되고, 무수 MgSO₂로 건조되고, 여과 및 농축되어 1.42g의 투명한 오일을 얻었으며, 이는 추가 정제없이 사용되었다.

[0087] ¹H NMR δ (ppm)(CDCl₃) 1.48(9 H, s), 2.05-2.30(2 H, m), 3.05(3 H, s), 3.40-3.75(4 H, m), 5.27(1 H, br).

- [0088] 단계 2: 단계 1의 산물을 DMF(15ml)에서 2-(트리플루오로메틸)페놀(868mg, 5.35mmol) 및 세슘 카보네이트(2.620g, 8.03mmol)와 혼합하였다. 그 결과 형성된 혼합물을 65℃로 데우고 밤새 교반하였다. 물을 첨가하고, 반응물은 에틸 아세테이트(2X)로 추출되었다. 유기 추출물은 MsSO_4 와 혼합, 건조되고, 여과 및 농축되어 1.77g의 노란색 오일을 얻었으며, 이는 추가 정제없이 사용되었다.
- [0089] $^1\text{H NMR } \delta$ (ppm)(CDCl_3) 1.50(9 H, s), 2.02-2.30(2 H, m), 3.40-3.70(4 H, m), 5.01(1 H, br.), 6.90-7.10(2 H, m), 7.40-7.70(2 H, m).
- [0090] MS(M+1)=232
- [0091] 단계 3: 단계 2의 산물(1.77g, 5.15mmol)을 디에틸 에테르(20ml)에 용해하였다. 이에 디옥산(5.0ml)에 용해된 4M HCl을 첨가하고, 그 반응 혼합물을 밤새 교반하였다. 그 결과 형성된 침전물을 여과에 의해 수집하고, 디에틸 에테르로 세정하여 0.86g의 백색 고체를 얻었으며, 이는 추가 정제없이 사용하였다.
- [0092] $^1\text{H NMR } \delta$ (ppm)(CDCl_3) 2.30-2.42(2 H, br.), 3.40-4.20(4 H, m), 5.18(1H, br.), 6.90-7.10(2 H, m), 7.40-7.60(2 H, m).
- [0093] MS(M+1)=232
- [0094] 단계 4: 단계 3의 산물(2.00g, 8.65mmol)을 디클로로메탄(40ml)에서 2-(4-포밀페녹시)아세트산(1.42g, 7.86mmol) 및 트리에틸 아민(2.85ml, 20.4mmol)과 혼합하였다. 이에 DEPC(1.55ml, 10.2mmol)를 5분에 걸쳐 적가하였다. 그 다음, 그 반응 혼합물을 주위 온도에서 18시간동안 교반하였다. 그 반응물을 5-100% 에틸 아세테이트/헥산 용출 구배를 이용한 매체 압력 액체 크로마토그래피를 통해 50% 체적으로 농축 및 정제하여 1.83g의 투명한 무색 오일을 얻었다.
- [0095] $^1\text{H NMR } \delta$ (ppm)(CDCl_3) 2.41-2.08(2 H, m), 3.69-3.94(4 H, m), 4.61-4.66(2 H, m), 5.06(1 H, m), 6.89-7.58(m, 7H), 9.90(1 H, s).
- [0096] MS(M+1)=394
- [0097] 단계 5: 단계 4의 산물(1.83g, 4.65mmol)을 메탄올(25ml)에 용해하였다. 이에 소듐 보로하이드라이드(968mg, 2.56mmol)를 첨가하였다. 그 결과 형성된 혼합물을 주위온도에서 2시간동안 교반하였으며, 2N NaOH 5.0ml를 첨가하고, 그 반응물을 추가 1시간동안 교반하였다. 그 다음 그 반응물을 에틸 아세테이트 100ml 및 포화 NaCl 용액 20ml로 희석하고, 5분간 교반하였다. 유기층을 분리하고, 수성층은 에틸 아세테이트(2X, 30ml)로 세척하였다. 유기층을 무수 소듐 설페이트와 혼합하고, 건조한 다음, 여과 및 농축하였다. 이에 따라 얻어진 원료를 매체 압력 액체 크로마토그래피(MPCL)를 통해 정제하여 엷은 노란색의 검을 얻었으며, 이는 디클로로메탄 10ml에 용해하고 헵탄으로 분쇄하여 백색 고체로서 상기 명칭의 화합물을 얻었다. 이 고체는 여과를 통해 수집되고, 50℃에서 18시간동안 건조되었다.
- [0098] $^1\text{H NMR } \delta$ (ppm)(CDCl_3) 1.64(1 H, s), 2.41-2.08(2 H, m), 3.69-3.94(4 H, m), 4.61-4.66(4H, m), 5.06(1 H, m), 6.89-7.58(m, 7H).
- [0099] MS(M+1)=396
- [0100] $[\alpha]^{20}_{\text{D}} = 122.3$ (c 5.3, MeOH)
- [0101] 키랄 HPLC: 체류 시간: 12.62분(컨디션: 컬럼-키랄셀 OJ, #0500CE-KJ010, 4.6x250mm, 용매: 에탄올/헵탄 25/75, 흐름 속도: 0.9ml/분).
- [0102] **실시예 1B**
- [0103] 본 실시예는 본 발명 화합물의 다른 대체가능한 제조를 실증한다.
- [0104] 단계 1: (S)-2,2,2-트리플루오로-1-(3-(2-(트리플루오로메틸)페녹시)피롤리딘-1-일)에탄은 ca. 15%를 함유하는 (S)-3-(2-(트리플루오로메틸)페녹시)피롤리딘(200g, .579mol)를 에틸 아세테이트(500ml) 및 물(100ml)에서

Li₂CO₃(85.61g, 1.16mol)과 혼합하였다. 그 결과 형성된 반응 혼합물을 2시간동안 교반한 다음, 물과 에틸 아세테이트간에 분할되었다. 유기층은 분리되고 물(2X)로 세척되고, 다음 단계에서 산물의 농축이나 분리없이 사용되었다.

[0105] 단계 2: 단계 1에서 얻어진 유기 산물을 HOBt(71.17g, 0.527mol) 및 EDAC(131.24g, 0.685mol)의 존재하에 (4-포틸페녹시)아세트산(95.0g, 0.527mol)로 처리하였다. 그 결과 형성된 슬러리에 TEA(100ml, 0.717mol) 및 물(50ml)을 첨가하고, 이에 따라 반응은 37°C로 발열되었다. 그 다음 그 혼합물을 주위 온도에서 3시간동안 교반한 다음, 이후 그 반응물은 물로 분할되었다. 유기층은 그 다음 다음과 같이 세척되었다: 물(1X), 수성 1.0M HCl(1X), 포화 수성 NaHCO₃(1X) 및 포화 수성 NaHCO₃(1X). 그 다음 실리카겔(150g)을 상기 유기물에 첨가하고 그 혼합물을 5-10분간 교반한 다음에 여과하였다. 그 다음 상기 유기물은 다음 단계에서 산물의 농축이나 분리없이 사용되었다.

[0106] 단계 3: 단계 2에서 얻어진 산물의 에틸 아세테이트 용액을 1600ml의 유효범위를 갖는 SS Parr 셰이커에 첨가하였다. 이에 니켈(100g)을 첨가하였으며, 이는 메탄올 및 THF로 세척하여 첨가된 물이 제거되었다. 그 결과 형성된 반응 혼합물을 질소(3X)로 퍼지한 다음, 수소(5X)로 퍼지하고, 그 다음 수소 가스로 50psi로 가압하였다. 그 혼합물을 반응 온도가 45°C가 넘지 않도록 조심히 하면서 50psi하에 주위온도에서 셰이킹하였다. 반응을 수소 흡수에 대해 모니터링하고, 필요에 따라 반응 용기를 재가압하였다. H₂ 흡수가 정지되면, 반응물을 여과하여 니켈을 제거하였다. 그 다음 니켈을 THF로 세척하여 침전된 어느 산물을 용해하였다. 유기물들을 혼합하고, 셀라이트 패드를 통해 여과한 다음, 약 400ml로 농축하였다. 이에 헵탄(약 650ml)을 첨가하고, 그 혼합물을 산물이 침전할 때까지 교반하였다. 그 다음 여과를 통해 고체를 수집하고, 에틸 아세테이트로 세척하여 원료 산물(171g)을 얻었다. 이에 따라 얻어진 물질을 그 다음 에틸 아세테이트 800ml과 혼합하고, 모든 고체가 용해될 때까지 80°C로 가열하였다. 그 다음 이 용액을 산물이 결정화될 때까지 주위 온도에서 교반하였다. 상기 용액이 약 30°C에 이르렀을 때, 고체를 여과하고 에틸 아세테이트로 세척하고, 진공하에 50°C에서 16시간동안 건조하여 (S)-2-(4-(히드록시메틸)페녹시)-1-(3-(2-트리플루오로메틸)페녹시)피롤리딘-1-일)에탄올을 얻었다.

[0107] **실시예 1C**

[0108] 본 실시예는 본 발명의 화합물의 반대 광학이성질체, (R)-2-(4-(히드록시메틸)페녹시)-1-(3-(2-(트리플루오로메틸)페녹시)피롤리딘-1-일)에탄올의 제조를 실증한다.

[0109] 메틸렌 클로라이드(20ml)내에 담긴 실시예 1A에서 단계 3의 산물(700mg, 2.62mmol), 2-(4-히드록시메틸)페녹시)아세트산(855mg, 4.7mmol), HOBt(376mg, 2.78mmol), EDAC.HCl(621mg, 3.24mmol), 및 4-메틸모폴린(3g, 30mmol)의 혼합물을 23°C에서 18시간동안 교반하였다. 그 반응 혼합물을 메틸렌(20ml)으로 희석하고 물 및 5% 시트르산 용액(30ml)로 세척하였다. 유기층은 MgSO₄로 건조되고, 여과 및 농축되었다. 에틸 아세테이트/헵탄으로부터 추가적인 재결정화로 원하는 산물을 얻었다(실시예 1C, 645mg, 수율 76.1%).

[0110] ¹H NMR δ (ppm)(CDCl₃) 1.58(1 H, s) 2.43-2.08(2 H, m), 3.6-3.94(4 H, m), 4.61-4.66(4H, m), 5.06(1 H, m), 6.89-7.58(m, 7H).

[0111] MS(M+1)=396

[0112] 키랄 HPLC: 체류시간: 15.17분(조건: 컬럼-키랄셀 OJ, #0500CE-KJ010, 4.6x250mm, 용매: 에탄올/헵탄 25/75, 흐름속도: 0.9ml/분).

[0113] **약학적 시험**

[0114] **랫트 마이크로솜 어세이**

[0115] 하기 랫트 마이크로솜 어세이가 스테아로일 CoA 디세투라아제(SCD1)에 대한 화학식 I의 화합물의 저해 활성을 입증하는데 사용되었다. 하기 30에 나타낸 바와 같이, 어세이는 LC/MS/MS를 이용하여 표지된 스테아로일 CoA의 올레오일 CoA로의 전환율을 측정한다.

[0116] 랫트 간 마이크로솜에서 SCD1 활성을 증가시키기위해, Sprague Dawley 랫트는 40시간 금식된다. 금식 다이어트

후, 지방산이 결핍된 음식물을 48시간동안 자유롭게 섭취하도록 대체한다. 그 다음 랫트는 CO₂ 질식으로 안락사 되고, 이들의 간을 제거한다. 간의 무게를 재고, 잘고, 얼음상에 호모게나이제이션 버퍼(0.15mM KCl, 0.25mM 수크로즈, 50mM Tris-HCl, pH 7.5, 5mM EDTA, 1.5mM GSH)에 넣는다. 마이크로솜은 폴리트론 및 여러 원심분리 단계에 의한 호모게나이제이션에 의해 분리된다. 최종 원심분리후, 그 결과 형성되는 펠렛을 호모게나이제이션 버퍼에 재부유시키고, 단백질 농도를 검출한다. 분액을 사용시까지 -80℃에 보관한다.

[0117] 랫트 간 마이크로솜은 화학식 I의 화합물의 존재하에 D3로 표지된 스테아로일-조효소 A와 반응하도록 하여 스테아로일-조효소 A의 올레오일 조효소 A로의 전환율을 억제하는 상기 화합물의 능력을 시험한다. 반응은 아세트니트릴을 이용하여 종료된다. 자유 지방산은 70℃에서 2M KOH를 이용한 시료의 비누화에 의해 추출된다. 그 다음 시료를 포름산으로 산성화하고, 최종적으로 클로로포름으로 추출한다. 유기층을 옅기고, 질소가스하에 증발시킨다. 시료를 9:1 메탄올:물로 재구성하고, 내부 스탠다드로서 헵타데카노익산을 첨가하고, LC/MS/MS로 분석한다. 스테아로일 CoA의 CoA로의 전환을 억제하는 능력은 IC₅₀으로 표현된다.

[0118] 상기 어세이를 이용하면, 화학식 I의 화합물은 40 μM 기질(2x K_m)의 존재하에서 SCD1 활성을 5.8nM의 IC₅₀으로 억제하였다. 이값은 다중 시험(N=3)의 평균이다.

[0119] **사람 지방세포 어세이**

[0120] SCD1의 역할은 지방세포 및 피지세포에서와 유사한 것으로 여겨진다. 본래의 사람 세포에서 SCD1 효소를 억제하는 상기 화합물의 능력은 하기한 바와 같은 휴먼 아디포레스(Human AdipoRed) 어세이를 이용하여 검출되었다. 상기 세포들은 전-지방세포로서 주어졌으며, 384 웰 포맷으로 5일간 분화되었다. 상기 화합물은 6일간 다양한 농도로 첨가되었다. 그 다음, 트리글리세라이드의 생성은 분비된 트리글리세라이드에 대해 특이적으로 결합하는 독특한 염료로 평가되었다. 트리글리세라이드의 생성을 억제하는 능력은 IC₅₀으로 표현된다.

[0121] **사람 지방세포 어세이에 대한 실험방법**

[0122] 동결된 피하 전지방세포(Cat #: PT-5001 공급자: Cambrex Bio Science)를 37℃에서 간략히 해동하고, 1000rpm에서 5분간 스핀-다운하였다. 전지방세포를 성장 배지(GM, Cat #: PT-8202 Cambrex Bio Science) 30ml에 재부유하고, 75,000cells/ml의 최종 농도로 희석한다. 그 다음, 40 μl의 세포를 웰당 3,000cells(40 μl)의 밀도로 384-Well BD Falcon 폴리스티렌 어세이 플레이트의 웰에 플레이트팅한다.

[0123] 3일후, 각 웰에 40 μl의 2X 분화 배지(DM, Cat #: PT-9502 Cambrex Bio Science)를 첨가하여 세포를 분화 유도한다.

[0124] 5일 분화후, 세포를 Biomek FX에 의해 2회 96-웰 컴파운드 플레이트로부터 상기 화합물 2 μl로 처리하였다. 6일간의 상기 화합물 처리후, 분화된 지방세포를 함유하는 384-웰 플레이트를 DPBS로 2회 세척하고 AdipoRed(Cat #: PT-7009 Cambrex Bio Science) 1.5 μl로 염색하였다. 그 다음, 세포내 트리글리세라이드의 축적은 SpectraMax M5 마이크로플레이트 리더상에서 형광을 측정함으로써 정량된다.

[0125] 상술한 어세이를 이용하여 본 발명 화합물은 6.8nM의 IC₅₀을 갖는 것으로 검출되었다. 이값은 다중 시험의 평균이다(N=6).

[0126] **햄스터 귀 모델**

[0127] 햄스터 귀 모델은 화합물이 피지선 기능 및 피지 분비를 조절할 수 있는지 여부를 시험하기위한 인증된 동물 모델이다(Luderschmidt et al, Arch. Derm. Res. 258, 185-191(1977)). 이 모델은 귀에 피지선을 갖고 있는 수컷 시리안(Syrian) 햄스터를 사용한다. 본 발명의 화합물은 하기 개략적으로 나타낸 공정에 따라 이 모델에서 스크리닝되었다. 이러한 시험에서, 햄스터는 매일 2회(BID), 2주간, 1주일에 5일(월~금) 국소투여된다. 각 투여량은 비이클 컨트롤 또는 배합 시험물 25 μl로 구성되었으며, 이는 양 우측 및 좌측 귀의 복면의 ~3cm²에 고르게 적용되었다. 희생시, 지질 분석, 조직학 및 시험 화합물의 피부 농도 분석을 위해 피부 편치를 취하였다.

[0128] **피지 생성 억제를 위한 동물 모델**

[0129] 9-10주령된 수컷 시리안 햄스터를 실험실 환경에 도입하고, 시험에 사용하기전에 2주간 적응시켰다. 각 그룹은 5마리로 구성되었으며, 비이클 및 양성 컨트롤과 유사하게 진행되었다. 투여전, 충분한 양의 각 화합물을 에탄올, 트랜스큐톨 및 프로필렌 글리콜(60/20/20 v/v/v)로 구성된 용매 1mL에 용해하여 3.0w/v%의 최종 농도를 형성하였다.

[0130] 동물들은 매일 2회, 1주일에 5일, 2주간 국소투여되었다. 각 투여량은 비이클 컨트롤 또는 약물 25 µl로 구성되었으며, 이는 양 우측 및 좌측 귀의 복면에 적용되었다. 모든 동물들은 최종 투여후 약 18-24시간에 희생되었다. 각 동물에서 우측 귀를 수집하고 피지 분석을 위해 사용하였다.

[0131] 귀들은 하기 방식으로 HPLC 분석을 위해 준비되었다. 시료 면적을 노말라이징하기위해 귀에서 해부학적 "V" 마크의 바로 위에서 8mm 말단 생체검사 펀치를 취하였다. 펀치를 잡아당겼다. 시험동안 말단 생체검사 표면(국소투여가 피하선에 직접 적용된 영역)은 유지되고, 생체검사 펀치의 말단 표면은 폐기하였다.

[0132] 조직 시료는 N₂ 가스로 팽창되고, HPLC 분석때 까지 질소하에 -80℃에 보관되었다. 귀 시료에 부가적으로, 각 귀 및 비이클의 분액(적어도 250 µl)을 HPLC 분석에 포함시키기위해 -80℃에 또한 보관하였다.

[0133] HPLC 분석은 조직 시료의 추출물에 대해 수행되었다. 조직 시료는 용매(2,2,4-트리메틸펜탄 및 이소프로필 알코올의 4:1 혼합물) 3ml로 농축되었다. 그 혼합물을 15분간 셰이킹하고, 빛이 차단된 실온에서 밤새 보관하였다. 다음날 아침 1ml의 물을 상기 시료에 첨가하고, 15분간 셰이킹하였다. 그 다음 상기 시료를 약 1500rpm에서 15분간 원심분리하였다. 2ml의 유기상(상층부)을 유리 바이얼에 옮기고, 질소하에 37℃에서 약 1시간동안 건조시킨 다음, 약 48시간동안 동결 건조하였다. 그 다음 시료를 냉동실에서 꺼내고, 각 바이얼은 600 µl의 용매 A(트리메틸펜탄/테트라하이드로퓨란(99:1))로 재구성되었다. 그 다음 상기 시료를 다시 뚜껑을 씌우고 5분간 보텍싱하였다.

[0134] 그 다음 200 µl의 각 시료를 200 µl 유리 인서트를 갖는 미리 표지된 200 µl HPLC 바이얼에 옮겼다. 상기 HPLC 바이얼을 Agilent 1100 시리즈 HPLC 유닛용 오토샘플러 트레이에 넣었다. 상기 Agilent 1100 HPLC 시스템은 온도조절 오토샘플러, 쿼터너리 펌프, 컬럼 히터 및 A/D 인터페이스 모듈로 구성되었다. 모든 구성분들은 Agilent ChemStation 소프트웨어에 의해 조절되었다. Waters Spherisorb S3W 4.6x100mm 분석 컬럼은 Agilent 컬럼 히터 유닛에 의해 30℃로 유지되었다. HPLC 오토샘플러는 시료 온도가 운행에 걸쳐 20℃로 유지되도록 프로그래밍되었다.

[0135] 10 µl의 각 시료를 상기 컬럼내로 3회 주입하였다. 용매 구배를 위해 2가지 용매가 사용되었다. 용매 A는 트리메틸펜탄과 테트라하이드로퓨란(99:1)의 혼합물이었다. 용매 B는 에틸 아세테이트이었다. 사용된 구배를 하기 표에 나타내었다:

표 1

[0136]

시간(분)	용매 A(%)	용매 B(%)	흐름(mL/분)
0	99	1	2
2	96	4	2
6	60	40	2
7	5	95	2
10	5	95	2
10.1	99	1	2

[0137] Sedex 75 Evaporative Light Scattering Detector(ELSD)는 5℃씩 증가하는 45℃에서 그리고 3.1bar로 유지되는 N₂ 압력하에서 수행되었다. 상기 기구에 의해 얻어진 아날로그 신호는 Agilent A/D 인터페이스 모듈로 보내져 이는 디지털 산출로 전환되었다. 전환은 10000 mAU/볼트 셋트 포인트에 기초하였으며, 데이터는 10Hz(0.03분)으로 설정되었다. 그 다음 그 결과 형성된 디지털 산출물은 피크 영역의 통합을 위해 Agilent ChemStation내로 공급되었다. 그 결과는 비이클 컨트롤과 비교하여 콜레스테롤 에스테르(CE) 및 왁스 에스테르(WE) 생성에 있어 감소로서 기록된다. 음값은 피지의 증가를 반영하며, 양값은 감소를 반영한다.

[0138] 이 시험을 이용하여 시험 화합물 처리(프로필렌 글리콜/트랜스큐톨/에탄올 (20/20/60, w/v)의 비이클내에 1.5%로 투여됨)는 햄스터 모델에서 피지 생성에 대한 메카니즘 바이오마커인 CE가 62% 감소되고, WE가 82% 감소되었

으며, 피지선 크기의 감소를 나타내었다. 그 다음 투여 반응 실험을 수행하여 상기 화합물의 ED50을 측정하였다. 이 시험을 위해, 상기 시험 화합물은 프로필렌 글리콜:에탄올(30:70, (w/v))에 배합되었으며, CE 및 WE 생성 모두의 투여량 의존적 감소를 나타내었다. 투여량과 관련된 피지선 크기 및 수의 변화는 또한 조직학적으로 관찰되었다. 화학식 I의 화합물에 대한 WE 감소에 기초한 ED50은 2주 국소 BID 적용동안 0.3%(0.025mg/cm²)인 것으로 측정되었다.