



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2016년09월27일

(11) 등록번호 10-1660266

(24) 등록일자 2016년09월21일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 401/12 (2006.01) *A61K 31/4439* (2006.01)
A61P 11/00 (2006.01) *C07D 401/10* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2011-7009956
(22) 출원일자(국제) 2009년10월02일
심사청구일자 2014년09월18일
(85) 번역문제출일자 2011년04월29일
(65) 공개번호 10-2011-0065544
(43) 공개일자 2011년06월15일
(86) 국제출원번호 PCT/GB2009/051303
(87) 국제공개번호 WO 2010/038085
국제공개일자 2010년04월08일
(30) 우선권주장
0818033.3 2008년10월02일 영국(GB)
(56) 선행기술조사문헌
WO2003072569 A1
US6525046 B1

(73) 특허권자
레스피버트 리미티드
영국 에이치피12 4이지 버킹엄셔 하이 와이컴 호
머스 팜 웨이 50-100
(72) 발명자
이토 가즈히로
영국 런던 에스터블유7 2에이지 베세머 빌딩 임페
리얼 컬리지 바이오인큐베이터 레벨 1 레스피버트
리미티드 임페리얼 컬리지
스트롱 페터
영국 런던 에스터블유7 2에이지 베세머 빌딩 임페
리얼 컬리지 바이오인큐베이터 레벨 1 레스피버트
리미티드 임페리얼 컬리지
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
최규팔, 이운선

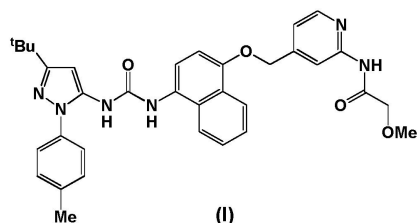
전체 청구항 수 : 총 7 항

심사관 : 윤소라

(54) 발명의 명칭 **P38 엠에이피 키나제 억제제**

(57) 요약

본 발명에 따라, 다음 화학식 (I)의 화합물, 약학적으로 허용가능한 그의 염 또는 용매화물, 또는 이들의 모든 토토머, 이들을 포함하는 조성물, 상기 화합물의 용도 및, 특히 천식과 COPD의 치료를 위한 치료용 조성물 및 상기 화합물의 제조방법을 제공한다.



(72) 발명자

레이프포트 윌리엄 가스

영국 런던 에스더블유7 2에이지 베세머 빌딩 임페리얼 칼리지 바이오인큐베이터 레벨 1 레스퍼버트 리미티드 임페리얼 칼리지

킹-언더우드 존

영국 위체스터셔어 지엘19 3퍼더블유 웬덕 스쿨 레인 무어랜드 커티지

윌리엄스 조나단 가레스

영국 노팅엄 엔지1 1지에프 페니콧 스트리트 바이오 시티 노팅엄 시그네처 케미컬 서비스 엘티디

어니온스 스튜어트 토마스

영국 노팅엄 엔지1 1지에프 페니콧 스트리트 바이오 시티 노팅엄 시그네처 케미컬 서비스 엘티디

머레이 피터 존

영국 런던 에스더블유7 2에이지 베세머 빌딩 임페리얼 칼리지 바이오인큐베이터 레벨 1 레스퍼버트 리미티드 임페리얼 칼리지 씨/오

샤론 캐서린 엘리자베스

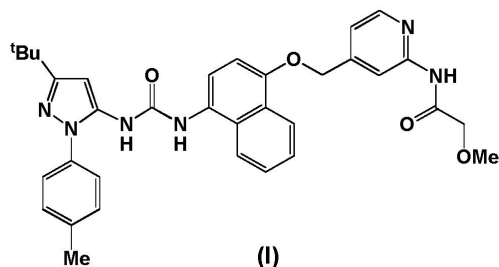
영국 런던 에스더블유7 2에이지 베세머 빌딩 임페리얼 칼리지 바이오인큐베이터 레벨 1 레스퍼버트 리미티드 임페리얼 칼리지 씨/오

명세서

청구범위

청구항 1

다음 화학식 (I)의 화합물, 약학적으로 허용가능한 그의 염 또는 용매화물, 또는 이들의 모든 토포머:



청구항 2

제1항에 따른 화합물을 하나 이상의 약학적으로 허용가능한 희석제 또는 담체와 함께 포함하는, COPD, 만성 기관지염, 폐기종, 천식, 소아 천식, 낭포성 섬유증, 유육종증, 특발성 폐섬유화증, 알러지성 비염, 비염, 부비강염, 알러지성 결막염, 결막염, 알러지성 피부염, 접촉성 피부염, 건선, 궤양성 대장염, 류마티스성 관절염 또는 골관절염에 수반되는 염증성 관절, 류마티스성 관절염, 궤장염 및 악액질에서 선택되는 질환 치료 또는 예방, 또는 종양의 성장 및 전이 억제용 약학 조성물.

청구항 3

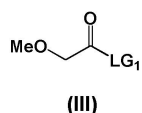
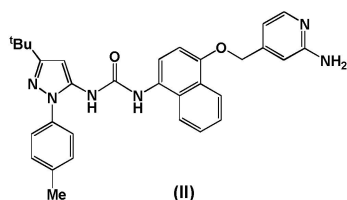
약제로서 사용하기 위한 제1항에 따른 화학식 (I)의 화합물.

청구항 4

제1항에 있어서, COPD, 만성 기관지염, 폐기종, 천식, 소아 천식, 낭포성 섬유증, 유육종증, 특발성 폐섬유화증, 알러지성 비염, 비염, 부비강염, 알러지성 결막염, 결막염, 알러지성 피부염, 접촉성 피부염, 건선, 궤양성 대장염, 류마티스성 관절염 또는 골관절염에 수반되는 염증성 관절, 류마티스성 관절염, 궤장염 및 악액질에서 선택되는 질환 치료 또는 예방, 또는 종양의 성장 및 전이 억제용 화학식 (I)의 화합물.

청구항 5

화학식 (II)의 화합물과 화학식 (III)의 화합물을 반응시키는 것을 포함하는, 제1항에 따른 화학식 (I)의 화합물, 약학적으로 허용가능한 그의 염 또는 용매화물, 또는 이들의 모든 토포머의 제조방법:

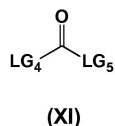
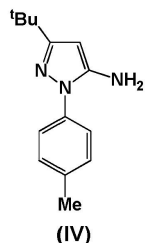
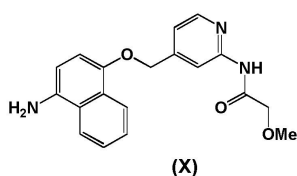


상기 식에서, LG₁은 이탈기를 나타낸다.

청구항 6

화학식 (X)의 화합물을 화학식 (IV)의 화합물 및 화학식 (XI)의 화합물과 반응시키는 것을 포함하는, 제1항에

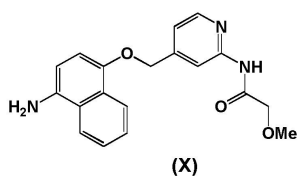
다른 화학식 (I)의 화합물, 약학적으로 허용가능한 그의 염 또는 용매화물, 또는 이들의 모든 토포머의 제조방법::



상기 식에서, LG₄와 LG₅ 각각은 독립적으로 이탈기를 나타낸다.

청구항 7

화학식 (X)의 화합물 또는 그의 염:



청구항 8

삭제

청구항 9

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 발명의 분야

[0002] 본 발명은 p38 미토젠 활성화 단백질 키나제 효소의 억제제(여기에서는 p38 MAP 키나제 억제제라 칭함.), 특히 그의 알파와 감마 키나제 서브타입의 억제제인 화합물 및, 특히 염증 질환, 예를 들어 폐의 염증 질환의 치료에서 그의 치료 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 발명의 배경

[0004] 4개의 p38 MAPK 이소폼(알파, 베타, 감마 및 델타 각각)은 각각 조직 특이적 발현 패턴을 나타내는 것으로 확인되었다. p38 MAPK 알파와 베타 이소폼은 몸 전체 어디서나 발현되며 수많은 상이한 세포 종류에서 발견된다. p38 MAPK 알파와 베타 이소폼은 공지된 소분자 p38 MAPK 억제제에 의해 억제된다. 초기 세대의 화합물은 이러한 이소폼들의 아주 혼한 발현 패턴과 화합물들의 표적 이탈(off-target) 효과로 인하여 매우 유독하였다. 최근의 억제제는 개선되어 p38 MAPK 알파와 베타 이소폼에 대해 선택성이 높아졌고 안정성을 보다 더 확보하였다.

- [0005] p38 MAPK 감마와 델타 이소폼에 대하여는 거의 알려져 있지 않다. 이러한 이소폼들은 (p38 알파 및 p38 베타 이소폼과는 달리) 특이적 조직/세포에서 발현된다. p38 MAPK 델타 이소폼은 췌장, 고환, 폐, 소장 및 신장에서 더 많이 발현된다. 또한 대식세포에 풍부하고(Smith, S.J. (2006) *Br. J. Pharmacol.* 149:393-404), 호중구, CD4+ T 세포 및 내피세포(www.genecard.org, Karin, K. (1999) *J. Immunol.*)에서 검출할 수 있다. p38 MAPK 감마의 발현에 대하여는 거의 알려져 있지 않지만, 림프구와 대식세포뿐만 아니라 뇌, 근육 및 심장에서도 많이 발현된다(www.genecard.org).
- [0006] p38 MAPK 감마와 델타의 선택적 소분자 억제제는 현재 입수할 수 없지만, 현존하는 억제제는 범(pan)-이소폼 억제활성을 가진다. BIRB 796은 모든 이소폼을 억제하지만, p38 감마와 p38 델타는 p38 알파와 p38 베타를 억제하는데 필요한 것보다 더 높은 농도에서 억제한다(Kuma, Y. (2005) *J. Biol. Chem.* 280:19472-19479). BIRB 796은 또한 상위 키나제 MKK6 또는 MKK4에 의한 p38 MAPK 또는 JNK의 포스포릴레이션(phosphorylation)을 손상시켰다. Kuma는 이 억제제와 MAPK의 결합으로 야기되는 입체구조 변화가 상위 활성체의 포스포릴레이션 부위와 도킹 부위 모두의 구조에 영향을 미쳐서 p38 MAPK 또는 JNK의 포스포릴레이션을 손상한다는 가능성을 언급하였다.
- [0007] p38 MAP 키나제는 심각한 천식과 COPD 등의 인간의 질병에서 만성적 지속성 염증을 개시하고 유지하는 것과 연관된 수많은 시그널링 경로에서 중심적 역할을 하는 것으로 생각된다. p38 MAP 키나제가 일정 범위의 선(pro)-염증성 사이토키네에 의해 활성화되고 그의 활성화로 인하여 추가의 선-염증성 사이토키네가 점증 및 유리되는 것을 입증하는 많은 문헌들이 있다. 실제로, 일부 임상연구의 데이터는 p38 MAP 키나제 억제제로 치료하는 동안 환자의 질병 활성에서 유의한 변화를 입증하고 있다. 예를 들어, Smith, S. J. (2006) *Br. J. Pharmacol.* 149:393-404는 사람 대식세포에서의 사이토키네 방출에 대한 p38 MAP 키나제 억제제의 억제 효과를 기술하고 있다. 만성 폐쇄성 폐질환(COPD)의 치료에 p38 MAP 키나제 억제제의 사용이 제안되었다. p38 MAPK α/β 를 표적으로 하는 소분자 억제제는 일반적으로 코르티코스테로이드에 민감하지 않은 COPD 환자(Smith, S. J. (2006) *Br. J. Pharmacol.* 149:393-404)와 생체 내 동물 모델(Underwood, D. C. et al. (2000) 279:895-902; Nath, P. et al. (2006) *Eur. J. Pharmacol.* 544:160-167)에서 얻어진 세포와 조직에서 염증의 다양한 매개변수를 감소시키는데 유효한 것으로 입증되었다. Irusen과 그의 동료들은 또한 핵에서 글루코코르티코이드 리셉터(GR)의 결합 친화성 감소에 의해 코르티코스테로이드 불감성에 대한 p38 MAPK α/β 의 연관 가능성을 제안하였다(Irusen, E. et al., (2002) *J. Allergy Clin. Immunol.*, 109:649-657). 일정 범위의 p38 MAP 키나제 억제제, 예를 들어 AMG548, BIRB 796, VX702, SCIO469 및 SCIO323에 대한 임상 시험이 Lee 등 (2005) *Current Med. Chem.* 12,:2979-2994에 기술되어 있다.
- [0008] COPD는 기저 염증이 흡입용 코르티코스테로이드의 항염증 효과에 실질적으로 내성이 있는 것으로 보고된 증상이다. 따라서, COPD를 치료하기 위한 효과적인 전략은 고유의 항염증 효과를 가지며 흡입용 코르티코스테로이드에 대한 COPD 환자의 폐 조직의 민감성을 증가시킬 수 있는 중재안을 개발하는 것이다. Mercado 등 (2007; *American Thoracic Society Abstract A56*)의 최근 간행물에서는 p38 감마의 침묵(silencing)이 코르티코스테로이드에 대한 민감성을 회복하는 가능성이 있음을 입증하였다.
- [0009] 그러나, 사람의 만성 염증 질환의 치료에서 p38 MAP 키나제 억제제의 사용 가능성에 대한 의미와 탐구를 방해하는 주요 장애는 환자에서 관찰된 독성이었다. 이것은 매우 심각하여 진행된 수많은 화합물의 임상 개발이 중단되었다.
- [0010] 이제까지 개발된 화합물은 전형적으로 경구 투여를 위한 것이었다. 이 방법은 적절한 약동학적 프로파일로 인해 그의 활성 지속성이 얻어진 최적화 화합물을 포함하고 있다. 이는 임상적 이점을 제공하기 위해 투약 후와 사이에 구축되고 유지되는 충분한 약물 농도를 확보한다. 모든 신체 조직, 특히 간과 소화관이 치료하고 있는 질환에 의해 부정적으로 영향을 받는 지와 상관 없이 치료학적으로 활성인 농도의 약물에 노출될 수 있다는 것이 이러한 접근방식의 필연적인 결과이다.
- [0011] 대안적 방법은 약물을 염증이 있는 기관에 직접 투여(국소 요법)하는 치료 방법을 설계하는 것이다. 이러한 접근방식이 모든 만성적 염증 질환을 치료하는데 적합한 것은 아니지만, 폐 질환(천식, COPD), 피부 질환(아토피 피부염, 건선), 코질환(알러지성 비염) 및 위장관 질환(궤양성 대장염)에서 상당히 활용되고 있다.
- [0012] 국소 요법에서, 효능은 다음과 같은 방법 얻어질 수 있는데, 즉 (i) 약물이 지속적인 활성을 가지고 있어서 관련 기관에서 유지되어 전신 독성의 위험을 최소화하거나 또는 (ii) 약물의 바람직한 효과를 지속할 수 있는 활성 약물의 "저장고"를 생성하는 제형을 제조하는 방법이다. 접근방법 (i)은 항콜린성 약물인 티오토로피움(tiotropium) (Spiriva)을 예로 들 수 있는데, 이 약물은 COPD 치료제로서 폐에 국소 투여되며, 그의 표적 리셉

터에 특별히 높은 친화성을 가져서 활성을 매우 저속화하여 결과적으로 지효성을 나타낸다.

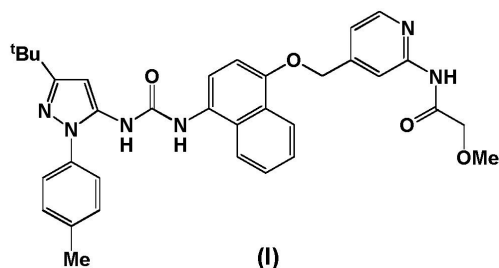
[0013] 개선된 치료능 가지며, 특히 보다 효과적이고, 장시간 작용하고 및/또는 관련된 치료적 투약에서 독성이 거의 없는 치료학적으로 p38 MAP 키나제 억제제로서 유용한 새로운 화합물을 규명하여 개발하는 것이 필요하다. 본 발명의 목적은 임의의 서브타입 특이성을 가지는 p38 MAP 키나제를 억제하여 양호한 항염증 효과를 나타내는 화합물을 제공하는 것이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0014] 발명의 요약

[0015] 본 발명에 따라 다음 화학식 (I)의 화합물, 약학적으로 허용가능한 그의 염 또는 용매화물, 또는 이들의 모든 토포머를 제공한다:



[0016]

과제의 해결 수단

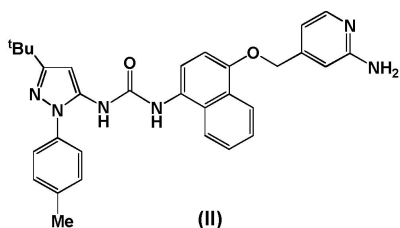
[0017] 발명의 상세한 설명

[0018] 화합물 (I)의 염의 예로는, HCl과 HBr 염과 같은 무기 강산의 산부가염과, 메탄술폰산염 등의 유기 강산의 산부가염이 있다.

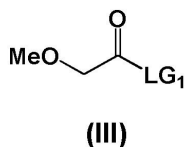
[0019] 본 발명에서는 화학식 (I)의 화합물의 용매화물을 포함한다. 용매화물의 예로는 수화물이 있다.

[0020] 본 발명은 또한 상기 화학식에서 특정된 원자가 자연적으로 발생하는 또는 비자연적으로 발생하는 동위원소인 화학식 (I)의 화합물을 포함한다. 일 구현예에서, 상기 동위원소는 안정한 동위원소이다. 따라서, 본 발명의 화합물은, 예를 들어 중수소를 포함하는 화합물 등이다.

[0021] 화학식 (I)의 화합물을 제조하는 방법은 화학식 (II)의 화합물과 화학식 (III)의 화합물의 반응을 포함한다:



[0022]

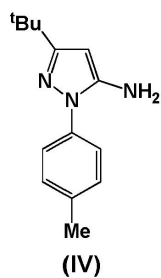


[0023]

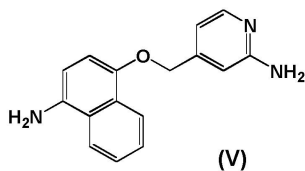
[0024] 상기 식에서, LG₁은 이탈기(예를 들어, 클로로)를 나타낸다.

[0025] 반응은 적합하게 염기(예를 들어, 디이소프로필에틸아민) 존재 하에서 수행한다. 반응은 적합하게 비양성자성 용매 또는 용매 혼합물, 예를 들어 DCM 및 DMF 중에서 수행한다.

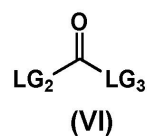
[0026] 화학식 (II)의 화합물은 화학식 (IV)의 화합물을 화학식 (V)의 화합물 및 화학식 (VI)의 화합물과 반응시켜 제조할 수 있다:



[0027]



[0028]

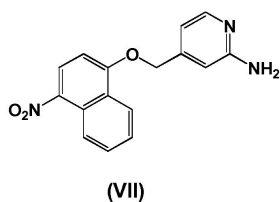


[0029]

[0030] 상기 식에서, LG₂와 LG₃ 각각은 독립적으로 이탈기를 나타낸다(예를 들어, LG₂와 LG₃는 모두 이미다졸릴을 나타낸다).

[0031] 반응은 적합하게 비양성자성 용매(예를 들어, 디클로로메탄) 중에서 수행할 수 있다.

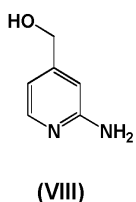
[0032] 화학식 (V)의 화합물은 화학식 (VII)의 화합물을 환원시켜 제조할 수 있으며, 예를 들어 탄소 상에 지지된 백금 등의 촉매 존재 하에서 수소첨가반응시켜서 제조할 수 있다:



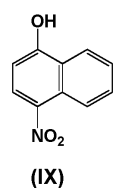
[0033]

[0034] 반응은 적합하게 극성 양성자성 용매(예를 들어, 메탄올과 아세트산, 1:1) 중에서 수행할 수 있다.

[0035] 화학식 (VII)의 화합물은 화학식 (VIII)의 화합물을 화학식 (IX)의 화합물과 미츠노부(Mitsunobu) 조건 하에서, 예를 들어 트리페닐포스핀과 디이소프로필아조디카복실레이트의 존재 하에 반응시켜서 제조할 수 있다:



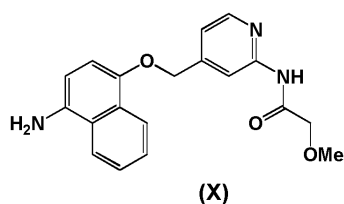
[0036]



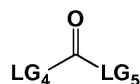
[0037]

[0038] 반응은 적합하게 극성 양성자성 용매(예를 들어, 테트라하이드로퓨란) 중에서 수행할 수 있다.

[0039] 선택적으로, 화학식 (I)의 화합물은 화학식 (X)의 화합물을 위에서 정의된 화학식 (IV)의 화합물 및 화학식 (XI)의 화합물과 반응시켜 제조할 수 있다:



[0040]

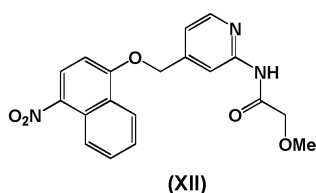


[0041]

[0042] 상기 식에서, LG₄와 LG₅ 각각은 독립적으로 이탈기를 나타낸다(예를 들어, LG₄와 LG₅는 모두 이미다졸릴을 나타낸다).

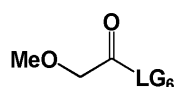
[0043] 반응은 적합하게 극성 비양성자성 용매 중에서 수행할 수 있다.

[0044] 화학식 (X)의 화합물은 화학식 (XII)의 화합물을 환원시켜 제조할 수 있으며, 예를 들어 탄소 상에 지지된 백금 등의 촉매 존재 하에서 수소첨가반응시켜서 제조할 수 있다:



[0045]

[0046] 화학식 (XII)의 화합물은 화학식 (XIII)의 화합물을 위에서 정의된 화학식 (VII)의 화합물과 반응시켜 제조할 수 있다:



[0047]

[0048] 상기 식에서 LG₆는 이탈기(예를 들어, 클로로)이다.

[0049] 반응은 적합하게 염기(예를 들어, 디이소프로필에틸아민) 존재 하에서 수행한다. 반응은 적합하게 극성 용매, 예를 들어 DCM 및 DMF의 혼합물 중에서 수행한다.

[0050] 화학식 (III), (IV), (VI), (VIII), (IX), (XI) 및 (XIII)의 화합물들은 시중에서 구입하거나 또는 알려져 있거나 또는 종래 방법에 의해 제조할 수 있다. 예를 들어, Regan, J. et al.; *J. Med. Chem.*, 2003, 46, 4676-4686, W000/043384, W02007/087448 및 W02007/089512 등을 참고할 수 있다.

[0051] 바람직하게 또는 필요하다면, 중간체 화합물을 종래의 보호 그룹을 사용하여 보호할 수 있다. 보호 그룹과 그의 제거를 위한 방법은 "유기 합성에서의 보호 그룹(Protective Groups in Organic Synthesis)" (Theodora W. Greene and Peter G. M. Wuts, John Wiley & Sons Inc 발행; 4th Rev Ed., 2006, ISBN-10: 0471697540)에 기술되어 있다.

[0052] 신규한 중간체는 본 발명의 양태에 포함된다.

[0053] 또한, 본 발명은 화학식 (I)의 화합물을, 임의로 하나 이상의 약학적으로 허용가능한 희석제 또는 담체와 함께 포함하는 약학 조성물을 제공한다.

[0054] 희석제와 담체는 비경구, 경구, 국소, 점막 및 직장 투여에 적합한 것들을 포함할 수 있다.

- [0055] 위에서 언급한 바와 같이, 상기한 조성물은, 예를 들어 비경구, 피하, 근육내, 정맥내, 관절내 또는 관절 주위 투여용으로, 특히 액체 용액 또는 현탁액의 형태로 제조할 수 있으며; 경구 투여용으로, 특히 정제 또는 캡슐제 형태; 국소용, 예를 들어 폐 또는 비강내 투여용으로, 특히 산제, 비점액제 또는 에어로졸 및 경피 투여 형태로; 점막 투여용으로, 예를 들어 구강, 혀 밑 또는 질 점막에 대해, 그리고 직장 투여용으로, 예를 들어 좌약제 형태로 제조할 수 있다.
- [0056] 조성물은 단위 투약량 형태로 편리하게 투여할 수 있으며, 약학 분야에서 공지된 방법, 예를 들어 Remington's Pharmaceutical Sciences(17th ed., Mack Publishing Company, Easton, PA., (1985))에 기술된 방법에 의해 제조할 수 있다. 비경구 투여용 제형은 첨가제로서 멸균수 또는 식염수, 알킬렌 글리콜, 예를 들어 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 예를 들어 폴리에틸렌 글리콜, 식물성 유래의 오일, 하이드로지네이티드 나프탈렌 등을 포함할 수 있다. 비강 투여용 제형은 고체일 수 있으며, 예를 들어 락토스 또는 덱스트란 등의 첨가제를 포함하거나 또는 비점액 또는 계량 스프레이 형태로 사용하기 위한 수성 또는 유성 용액일 수 있다. 구강 투여를 위한 전형적인 첨가제로는 당, 칼슘 스테아레이트, 마그네슘 스테아레이트, 전산화 전분 등이 있다.
- [0057] 경구 투여에 적합한 조성물은 하나 이상의 생리적으로 적합한 담체 및/또는 첨가제를 포함할 수 있으며, 고체 또는 액체 형태일 수 있다. 정제와 캡슐제는 결합제, 예를 들어 시럽, 아카시아, 젤라틴, 소르비톨, 트라가칸트 또는 폴리비닐피롤리돈; 충전제, 예를 들어 락토스, 슈크로스, 옥수수 전분, 칼슘 포스페이트, 소르비톨 또는 글리신; 윤활제, 예를 들어 마그네슘 스테아레이트, 탈크, 폴리에틸렌 글리콜 또는 실리카; 및 계면활성제, 예를 들어 소듐 라우릴 설페이트로 제조할 수 있다. 액체 조성물은 통상의 첨가제, 예를 들어 현탁화제, 예를 들어 소르비톨 시럽, 메틸 셀룰로스, 슈가 시럽, 젤라틴, 카복시메틸-셀룰로스, 또는 식용성 지방; 에멀전화제, 예를 들어 레시틴 또는 아카시아; 식물성 오일, 예를 들어 아몬드 오일, 코코넛 오일, 대두 간유 또는 땅콩유; 보존제, 예를 들어 부틸레이티드 히드록시아니솔(BHA) 및 부틸레이티드 히드록시톨루엔(BHT)을 포함할 수 있다. 액체 조성물은, 예를 들어 젤라틴으로 캡슐화되어 단위 투약 형태를 제공할 수 있다.
- [0058] 고체 경구 투약 형태로는 정제, 투피스 경질 캡슐 및 연질 젤라틴 캡슐(SEG) 등이 있다.
- [0059] 건조 펠 제형은 전형적으로 약 40% 내지 60% 농도의 젤라틴, 약 20% 내지 30% 농도의 가소제(예를 들어, 글리세린, 소르비톨 또는 프로필렌 글리콜) 및 약 30% 내지 40% 농도의 물을 포함한다. 보존제, 염료, 유백제 및 풍미제 등의 기타 물질도 포함할 수 있다. 액체 충전 물질은 분해되거나, 용해되거나 또는 분산(밀납, 하이드로지네이티드 캐스터 오일 또는 폴리에틸렌 글리콜 4000 등의 현탁화제를 포함)되는 고체 약물 또는, 예를 들어 미네랄 오일, 식물성 오일, 트리글리세라이드, 글리콜, 폴리올 등의 비히클 또는 이러한 비히클과 계면활성제의 배합물 중의 액체 약물을 포함한다.
- [0060] 적합하게, 화학식 (I)의 화합물은 폐에 국소적으로 투여된다. 따라서, 본 발명에 따라 임의로 하나 이상의 국소적으로 허용가능한 희석제 또는 담체와 함께 본 발명의 화합물을 포함하는 약학 조성물을 제공한다. 폐로의 국소 투여는 에어로졸 제형을 사용하여 가능할 수 있다. 에어로졸 제형은 전형적으로 적합한 에어로졸 분사제, 예를 들어 클로로플루오로카본(CFC) 또는 하이드로플루오로카본(HFC) 등에 현탁되거나 또는 분해된 활성 성분을 포함한다. 적합한 CFC 분사제로는 트리클로로모노플루오로메탄(프로펠란트 11), 디클로로테트라플루오로메탄(프로펠란트 114), 및 디클로로디플루오로메탄(프로펠란트 12) 등이 있다. 적합한 HFC 분사제로는 테트라플루오로에탄(HFC-134a)과 헵타플루오로프로판(HFC-227) 등이 있다. 분사제는 전형적으로 전체 흡입 조성물의 40중량% 내지 99.5중량%, 예를 들어 40중량% 내지 90중량%를 구성한다. 이 제형은 공용매(예를 들어, 에탄올)와 계면활성제(예를 들어, 레시틴, 소르비탄 트리올리에이트 등)와 같은 첨가제를 포함할 수 있다. 에어로졸 제형은 캔ISTER에 포장되며 적합한 용량을 계량 밸브(예를 들어, Bepak, Valois 또는 3M사 제품)에 의해 전달한다.
- [0061] 또한 수용액 또는 현탁액 등의 비가압성 제형을 사용하여 폐에 국소 투여할 수 있다. 이것은 네블라이저(nebuliser)에 의해 투여할 수 있다.
- [0062] 또한 건조분말 제형을 사용하여 폐에 국소 투여할 수 있다. 건조분말 제형은 본 발명에 따른 화합물을 전형적으로 1 내지 10 마이크론의 중량평균입경(MMAD)을 가지는 미세하게 분쇄된 형태로 포함하게 된다. 이 제형은 전형적으로 락토스와 같은 국소적으로 허용가능한 희석제를, 일반적으로 거대입자크기, 예를 들어 100 μm 이상의 중량평균입경(MMAD)으로 포함한다. 건조분말 전달 시스템의 예로는 SPINHALER, DISKHALER, TURBOHALER, DISKUS 및 CLICKHALER 등이 있다.
- [0063] 본 발명에 따른 화합물은 치료 활성을 가진다. 다른 양태에서, 본 발명은 약제로서 사용하기 위한 본 발명의 화합물을 제공한다.

- [0064] 본 발명에 따른 화합물은 또한 COPD(만성 기관지염과 폐기종 포함), 천식, 소아 천식, 낭포성 섬유증, 유육종증, 특발성 폐섬유화증, 알러지성 비염, 비염, 부비강염, 특히 천식, 만성 기관지염 및 COPD 등의 호흡기 질환의 치료에 유용하다.
- [0065] 본 발명의 화합물은, 환자의 증상이 코르티코스테로이드에 대해 불응하게 되었을 때, 환자의 증상을 코르티코스테로이드로의 치료에 대해 재민감화(re-sensitise)할 수 있다.
- [0066] 본 발명에 따른 화합물은 또한 국소 또는 부위 요법으로 치료될 수 있는, 알러지성 결막염, 결막염, 알러지성 피부염, 접촉성 피부염, 건선, 궤양성 대장염, 류마티스성 관절염 또는 골관절염에 수반되는 염증성 관절 등의 증상을 치료하는데 유용할 것으로 기대된다.
- [0067] 본 발명의 화합물은 또한 류마티스성 관절염, 궤장염, 악액질, 성장 억제 및, 비소세포 폐 암종, 유방 암종, 위 암종, 결장 암종 및 악성 흑색종 등의 종양의 전이 등의 증상을 치료하는데 유용할 것으로 기대된다.
- [0068] 다른 양태에서 본 발명은 여기에 기술된 화합물을 상기한 증상을 치료하기 위한 약제의 제조를 위해 제공한다.
- [0069] 또다른 양태에서 본 발명은 상기한 화합물 또는 그의 약학 조성물의 유효량을 대상에게 투여하는 것을 포함하는 상기한 증상들의 치료 방법을 제공한다.
- [0070] 또한 본 발명은 하나 이상의 상기한 증상의 치료에서 약학 조성물/제제의 용도에 관한 것이다.
- [0071] "치료"란 용어는 치료학적 처치뿐만 아니라 예방도 포함한다.
- [0072] 본 발명의 화합물은 또한 하나 이상의 다른 활성 성분, 예를 들어 상기한 증상을 치료하는데 적합한 활성 성분과 배합하여 투여할 수 있다. 예를 들어 호흡 장애의 치료를 위한 가능한 배합물은 스테로이드(예를 들어, 부테소나이드, 베클로메타손 디프로피오네이트, 플루티카손 프로피오네이트, 모메타손 푸로에이트, 플루티카손 푸로에이트), 베타 아고니스트(예를 들어, 테르부탈린, 살부타몰, 살메테롤, 포모테롤) 및/또는 잔틴(예를 들어, 테오필린)과의 배합물을 포함한다.

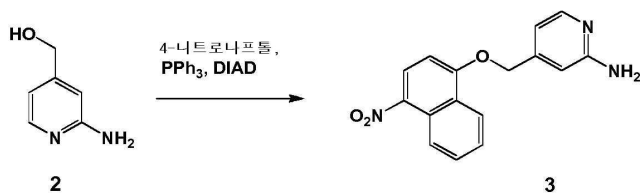
도면의 간단한 설명

- [0073] 도 1은 LPS로 유도된 호중구 축적 시험에서 화학식 (I)의 화합물에 대한 BALF의 호중구 수에 대한 전투여량(pre-dose) 시간을 나타낸 것이다.
- 도 2는 LPS로 유도된 호중구 축적 시험에서 화학식 (I)의 화합물에 대한 호중구 증가증의 억제율(%)에 대한 전투여량(pre-dose) 시간을 나타낸 것이다.
- 도 3은 담배 연기에 노출된 마우스의 BAL에서 활성화된 대식세포 수에 대한 화학식 (I)의 화합물 투여의 효과를 나타낸 것이다.
- 도 4는 담배 연기에 노출된 마우스의 BAL에서 호중구 수에 대한 화학식 (I)의 화합물 투여의 효과를 나타낸 것이다.
- 도 5는 오브알부민으로 민감화되고, 파라인플루엔자를 접종시킨 오브알부민 챌린지되는 기니피그의 폐 기능에 대한 화학식 (I)의 화합물의 효과를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0074] 실시예
- [0075] 실시예 1 : N-[4-({4-[3-(3-tert-부틸-1-p-톨릴-1H-피라졸-5-일)우레이도]나프탈렌-1일옥시}메틸)피리딘-2-일-2-메톡시아세트아미드 (1)

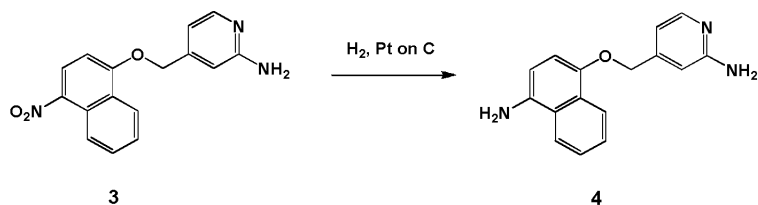
[0076] 2-아미노-4-[(4-니트로나프탈렌-1-일옥시)메틸]피리딘 (3)



[0077]

[0078] 4-니트로나프톨 (5.17 g, 27.3 mmol), 트리페닐포스핀 (10.75 g, 41.0 mmol) 및 2-아미노피리딘-4-메탄올 (2) (5.09 g, 41.0 mmol)의 THF (50 mL) 용액에 -15 °C에서 디이소프로필 아조디카복실레이트(DIAD) (8.07 mL, 41.0 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 밤새 실온에서 교반하고 휘발물질을 진공에서 제거하였다. 조생성물을 EtOAc (150 mL)에 용해하고, 여과하여 EtOAc (100 mL)로 세척하였다. MeOH (100 mL)에서 2차 분해하여 노란색 고체의 2-아미노-4-[(4-니트로나프탈렌-1-일옥시)메틸]피리딘 (3) (4.54 g, 56%)을 얻었다: m/z 296 ($M+H$)⁺ (ES⁺).

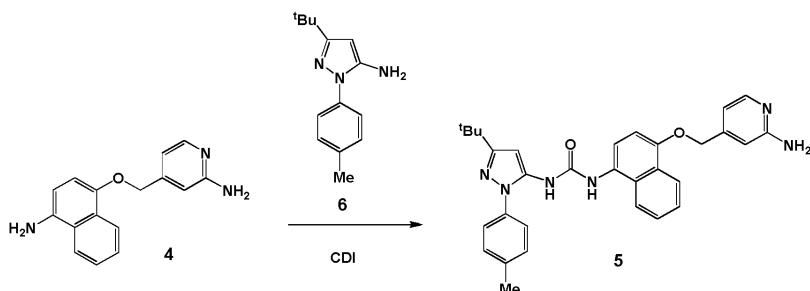
[0079] 2-아미노-4-[(4-아미노나프탈렌-1-일옥시)메틸]피리딘 (4)



[0080]

[0081] 2-아미노-4-[(4-니트로나프탈렌-1-일옥시)메틸]피리딘 (3) (4.50 g, 15.24 mmol)의 메탄올 (200 mL)과 빙초산 (200 mL) 용액을 Thales 'H-큐브' 유체 반응기 (2 mL min⁻¹, 40 °C, 55 mm 10% Pt/C Cat-Cart®, full H₂)를 통과시키고, 휘발물질을 진공에서 제거하였다. 조생성물을 SCX 캡처하고 유리하여 1% 암모니아의 MeOH 용액으로 용출하고 용매를 진공에서 제거하여 담자색 고체의 2-아미노-4-[(4-아미노나프탈렌-1-일옥시)메틸]피리딘(4) (3.82g, 94%)을 얻었다: m/z 266 ($M+H$)⁺ (ES⁺).

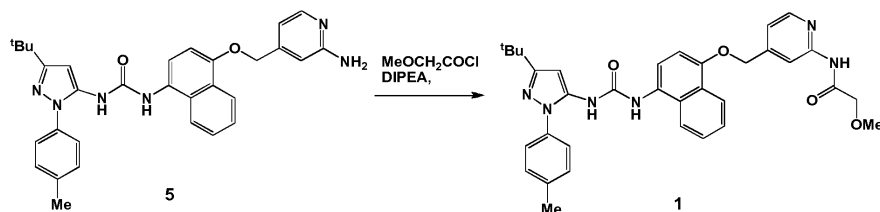
[0082] 1-{4-[(2-아미노피리딘-4-일)메톡시]나프탈렌-1-일}-3-(3-*tert*-부틸-1-*p*-톨릴-1*H*-피라졸-5-일)우레아 (5)



[0083]

[0084] 1,1'-카보닐디이미다졸 (CDI) (4.18 g, 25.80 mmol)의 DCM (15 mL) 용액에 질소 하에서 3-*tert*-부틸-1-*p*-톨릴-1*H*-피라졸-5-아민 (6) (5.91 g, 25.80 mmol)의 DCM (15 mL) 용액을 40 분 동안 적가하였다. 얻어진 용액을 실온에서 1시간 동안 교반한 다음, 질소 하에서 2-아미노-4-[(4-아미노나프탈렌-1-일옥시)메틸]피리딘 (4) (3.80 g, 12.89 mmol)의 용액에 적가하였다. 혼합물을 밤새 교반하고 휘발물질을 진공에서 제거하였다. 조생성물을 플래쉬 크로마토그래피(Biotage 120 g)로 정제하고; 0 내지 6% MeOH의 DCM 용액으로 용출하여 1-{4-[(2-아미노피리딘-4-일)메톡시]나프탈렌-1-일}-3-(3-*tert*-부틸-1-*p*-톨릴-1*H*-피라졸-5-일)우레아 (5) (4.27 g, 63%)를 얻었다: m/z 521 ($M+H$)⁺ (ES⁺).

[0085] *N*-[4-({4-[3-(3-*tert*-부틸-1-*p*-톨릴-1*H*-피라졸-5-일)우레이도]나프탈렌-1-일옥시}메틸)피리딘-2-일1-2-메톡시아세트아미드 (1)



[0086]

[0087] DCM 및 DMF (10:1, 11 mL) 혼합물 중의 1-{4-[(2-아미노피리딘-4-일)메톡시]나프탈렌-1-일)-3-(3-*tert*-부틸-1-*p*-톨릴-1*H*-피라졸-5-일)우레아 (5) (526 mg, 0.96 mmol)와 DIPEA (184 μ L, 1.06 mmol)의 용액에 메톡시아세틸 클로라이드 (92 μ L, 1.01 mmol)를 첨가하였다. 실온에서 1시간 후에, DIPEA (184 μ L, 1.06 mmol) 및 메톡시아세틸 클로라이드 (92 μ L, 1.01 mmol)의 추가 분액을 차례로 첨가하고 1시간 동안 교반을 계속하였다. 1% 암모니아의 MeOH (40 mL) 용액을 첨가하고, 혼합물을 15분 동안 교반한 다음, 진공에서 농축하였다. 조생성물을 플래쉬 컬럼 크로마토그래피(Biotage 40 g)로 정제하고; 0 내지 6% MeOH의 DCM 용액으로 용출하여 *N*-[4-({4-[3-(3-*tert*-부틸-1-*p*-톨릴-1*H*-피라졸-5-일)우레이도]나프탈렌-1-일옥시}메틸)피리딘-2-일1-2-메톡시아세트아미드 (1) (286 mg, 49%)를 얻었다: m/z 593 (M+H)⁺ (ES⁺). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 1.27 (9 H, s), 2.39 (3 H, s), 3.32 (3 H, s), 4.08 (2H, s), 5.39 (2H, s), 6.36 (1 H, s), 7.03 (1 H, d), 7.28 (1 H, dd), 7.36 (2H, m), 7.44 (2H, m), 7.56-7.64 (3H, m), 7.93 (1 H, m), 8.30-8.35 (3H, m), 8.58 (1 H, s), 8.79 (1 H, s), 10.02 (1 H, s).

[0088] 생물학적 시험

[0089] 시험관 내 시험

효소		분화된 U937 세포 LPS로 유도된 TNF α 방출		THP1 세포 LPS로 유도된 TNF α 방출
IC ₅₀ (nM)		EC ₅₀ (nM) ¹	MTT	IC ₅₀ (nM)
알파 서브타입	감마 서브타입		4.24h(10ug/ml)	
5.3	402	0.88	음성 ²	2.3

[0090]

[0091] *1: MAPKAP-K2의 포스포릴레이션 검출에 의한 p38 MAPK 알파 세포 기초 에세이

[0092] *2: MTT 에세이에서 의미있는 독성 효과는 관찰되지 않음.

[0093] 이하에서는 상기한 에세이를 설명하였다:

[0094] 효소 억제 에세이

[0095] 화합물의 효소 억제 활성을 형광 공명 에너지 전이(FRET)에 의해 공여체와 수용체 형광단(fluorophore)(Z-LYTE, Invitrogen)으로 표지된 합성 펩티드를 사용하여 측정하였다. 요약하면, 재조합, 포스포릴레이트 p38 MAPK 감마(MAPK12: Millipore)를 HEPES 완충액으로 희석하고, 목적하는 최종 농도의 화합물과 혼합하여 2시간 동안 실온에서 항온처리하였다. 다음으로, FRET 펩티드 (2 μ M)와 ATP (100 μ M)를 효소/화합물 혼합물에 첨가하고 1시간 동안 항온처리하였다. 형광 마이크로플레이트 판독기에서 검출하기 전에 전개 시약(protease)을 1시간 동안 첨가하였다. 부위 특이적 프로테아제만이 포스포릴레이트되지 않은 펩티드를 분해하여 FRET 시그널을 제거하였다. 각 반응의 포스포릴레이션 수준을 높은 포스포릴레이션 수준을 나타내는 고 비율과 낮은 포스포릴레이션 수준을 나타내는 저 비율을 가지는 플루오레신 방출(수용체)에 대한 쿠마린 방출(공여체)의 비율을 사용하여 계산하였다. 각 반응의 억제 백분율은 억제되지 않은 대조군에 대해 계산되었으며, 50% 억제 농도(IC₅₀ 값)는 농도-반응 곡선으로부터 계산하였다.

- [0096] p38 MAPK 알파 (MAPK14: Invitrogen)에 대하여, 효소 활성을 하부 분자 MAPKAP-K2의 활성화/포스포릴레이션을 측정하여 간접적으로 평가하였다. p38 MAPK α 단백질을 그의 불활성 표적 MAPKAP-K2 (Invitrogen) 및 화합물과 2시간 동안 실온에서 혼합하였다. MAPKAP-K2의 포스포릴레이션 표적인 FRET 펩티드 (2 μ M)와 ATP (10 μ M)를 효소/화합물 혼합물에 첨가하고 1시간 동안 항온처리하였다. 이 후, 전개 시약을 첨가하고 형광 검출이 에세이 프로토콜을 완료하기 전에 1시간 동안 혼합물을 항온처리하였다.
- [0097] LPS로 유도된 TNF 알파 방출: 포텐시
- [0098] 사람의 단핵구성 세포주인 U937 세포를 포볼 미리스테이트 아세테이트(PMA; 100 ng/ml)와 48 내지 72시간 동안 항온처리하여 대식세포 타입 세포로 분화하였다. 적절하게, 세포를 최종 농도의 화합물과 2시간 동안 미리 항온처리하였다. 이 후, 세포를 0.1 μ g/ml의 LPS(*E. Coli* 유래: 0111:B4, Sigma)로 4시간 동안 자극하고 상정액을 TNF α 농도 측정을 위해 샌드위치 ELISA (Duo-set, R&D systems)에 의해 수집하였다. 또한 사람의 단핵구성 세포주인 THP-1을 이 에세이에 사용하였다. THP-1 세포를 1 μ g/ml 의 LPS (*E. Coli* 유래: 0111:B4, Sigma)로 4 시간 동안 자극하고, 상정액을 TNF α 농도 측정을 위해 수집하였다. TNF α 생산의 억제율을 비히클 대조군과 비교하여 시험 화합물의 각각의 농도에서 계산하였고, 50% 억제농도 (IC_{50})를 얻어진 농도-반응 곡선으로부터 결정하였다.
- [0099] MTT 에세이
- [0100] 분화된 U937 세포를 화합물과 4시간 동안 5% FCS 중에서 미리 항온처리하거나, 또는 10% FCS 중에서 24 시간 및 72 시간 동안 미리 항온처리하였다. 상정액을 200 μ l의 새로운 배지로 대체하고 10 μ l의 MTT 스톡 솔루션 (5 mg/ml)을 각 웰에 첨가하였다. 1시간 동안 항온처리한 후, 배지를 제거하고, 200 μ l의 DMSO를 각 웰에 첨가하여 550nm에서 흡광도를 판독하기 전에 플레이트를 가볍게 진탕하였다.
- [0101] 세포 생존능력의 손실율을 비히클(0.5% DMSO)-처리에 관하여 각 웰에 대해 측정하였다. 그 결과, 비히클과 관련한 한 약물 처리의 세포 생존능력에서의 명백한 증가를 네가티브 백분율로 표로 작성하였다.
- [0102] 생체내 시험
- [0103] 마우스에서 LPS로 유도된 호중구증가
- [0104] 절식하지 않은 마우스를 비히클 또는 시험 물질을 LPS 처리 개시와 관련하여 표시된 시점("pre-dose")에 기관 내 경로로 투여하였다. T = 0일 때, 마우스를 노출 챔버로 옮기고 LPS에 노출하였다. LPS 켈린지 8시간 후에, 동물을 마취 하에서 기관에 캐뉼러를 삽입하고 기관 카테테르에 의해 폐에 1 ml의 PBS를 투입하고 인출하여 BALF를 추출하였다. BALF 샘플 중의 전체 및 분화된 백혈구 수를 Neubaur 헤모사이토미터를 사용하여 측정하였다. BALF 샘플의 사이토스핀 도말은 200 rpm에서 5분 동안 실온에서 원심분리하여 준비하고 DiffQuik stain system (Dade Behring)을 사용하여 스테인하였다. 세포를 침지오일 현미경을 사용하여 계수하였다.
- [0105] 그 결과를 도 1과 2에 나타내었다. 호중구 수에 대한 데이터를 BALF의 mL 당 세포의 전체 및 분화 수(비히클에 대한 시험 물질), 평균 \pm S.E.M. (n=8)으로 나타내었다.
- [0106] 흡연 모델
- [0107] A/J 마우스(수컷, 5주령)를 담배 연기(4% 담배 연기, 압축 공기로 희석)에 1일 30분씩 11일 동안 작은 동물용의 Tobacco Smoke Inhalation Experiment System (Model SIS-CS; Sibata Scientific Technology, Tokyo, Japan)을 사용하여 노출시켰다. 담배 연기에 대한 최종 노출 후에 시험 물질을 비강내로 투여하고(35 μ l의 50% DMSO/PBS 용액), 치료학적으로 3일 동안 2회 투여하였다. 최종 투여하고 12시간 후에 동물을 마취하여 기관 캐뉼러 삽입을 실시하여 기관지폐포세척액 (BALF)을 수집하였다. 폐포 대식세포와 호중구의 수를 FACS 분석 (EPICS® ALTRA II, Beckman Coulter, Inc., Fullerton, CA, USA)에 의해 안티마우스 MOMA2 항체(대식세포) 또는 안티마우스 7/4 항체(호중구)를 사용하여 측정하였다.
- [0108] 활성화된 폐포 대식세포에 대한 결과는 도 3에, 호중구에 대한 결과는 도 4에 나타내었다. 세포수의 데이터는

mean \pm SEM으로 기재하였다. 이 시험에서 사용된 흡연 모델은 코르티코스테로이드 내성 시스템인 것으로 보고 (Medicherla S. et al., (2008); J. Pharmacol. Exp. Ther. 324(3):921-9)되었으며, 이것은 플루티카손 프로피오네이트(fluticasone propionate)가 50 μ g/ml (35 μ l, bid, in)에서 기도에 호중구 또는 대식세포를 억제하지 않는 것으로 확인되며, 상기 농도는 LPS로 유도된 호중구 축적의 >80% 억제를 나타내는 것과 동일한 양이다.

[0109] 도 3에서

[0110] ^{###} 공기 노출과 담배 연기 노출 간의 유의차

[0111] ^{***} $P < 0.001$ vs. 담배 연기 (CS) 대조군 (ANNOVA, Dunnett, s 다중 비교), n=6-11

[0112] 도 4에서

[0113] ^{###} 공기 노출과 담배 연기 노출 간의 유의차

[0114] ^{*} $P < 0.05$ 또는 ^{***} $P < 0.001$ vs. 담배 연기 (CS) 대조군 (ANNOVA, Dunnett, s 다중 비교), n=6-11

[0115] 오브알부민 켈린지/파라인플루엔자 감염 모델

[0116] (스테로이드 내성에 대한 생체내 모델)

[0117] 수컷 Dunkin-Hartley 기니아피그 (300-350 g, n=6 /그룹)를 1 ml 식염수 (i.p.) 중의 100 μ g 오브알부민 (OVA) + 100 mg $Al_2(OH)_3$ 로 2일과 6일에 민감화하였다. 파라인플루엔자 바이러스 (PIV-3; 10^6 감염 단위) 또는 바이러스가 없는 배지를 11일과 12일에 비강 내로 서서히 주입하였다. 시험 동물들을 1일 1.5 mg 투여량의 미분된 플루티카손 프로피오네이트로 처리하였다. 초기 시험에서 플루티카손 프로피오네이트의 이 투여량은 PIV3 배지로 처리된 민감화된 동물에서 오브알부민과 매개된 폐 기능 변화를 억제하는 것으로 나타났다. 10 내지 15일 까지 실시예 1(1일 4.5 mg) 또는 비히클(DMSO:에탄올:식염수, 30:30:40%). 모든 시험 동물들을 15일 째에 미분된 OVA (10 μ g/ml)로 1시간 동안 켈린지하고 특이적 기도 컨덕턴스(sGaw)의 반복 측정을 24시간 동안 전신 혈량측정법을 사용하여 수행하였다. OVA 켈린지 후의 sGaw 측정값을 기준선에서 변화율(%)로 플롯하였다. 도 5 참조.

[0118] **도 5** 데이터를 6회 관찰의 평균값으로 표시하였다; (●) PIV3 + 비히클 처리; (■) PIV3 + 플루티카손 프로피오네이트 처리; (A) PIV3 + 실시예 1 처리

[0119] 요약

[0120] 시험관 내에서의 생물학적 시험에서 화학식 (I)의 화합물은 항염증 활성(분화된 U937 세포와 THP-1 세포로부터 LPS로 유도된 TNF α 방출)의 시험관 내 모델에서 우수한 효능을 가지는 p38 MAP 키나제 서브타입 알파와 감마의 잠재적 억제제인 것으로 나타났다. MTT 결과로부터 이 화합물은 사용된 농도에서 뚜렷한 세포 독성을 나타내지 않는 것으로 결론지을 수 있다.

[0121] 생체 내에서의 생물학적 시험에서 화학식 (I)의 화합물은 동물 모델에서 LPS로 유도된 호중구 축적을 억제하는데 유효하고, 12시간 이상의 사전 투약에서도 상당한 억제를 나타내는 효과의 장시간 지속성을 가지는 것으로 나타났다. 또한, 화학식 (I)의 화합물은 스테로이드 내성 염증의 2종 생체 내 모델에서도 효과적인 것으로 나타났다.

[0122] 명세서와 청구항에 있어서, 다른 언급이 없는 한, '포함한다'라는 용어와, '포함하는' 등의 활용형은 어떤 정수, 단계, 정수의 그룹 또는 단계의 그룹을 제외하지 않고 언급된 정수, 단계, 정수의 그룹 또는 단계의 그룹을 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

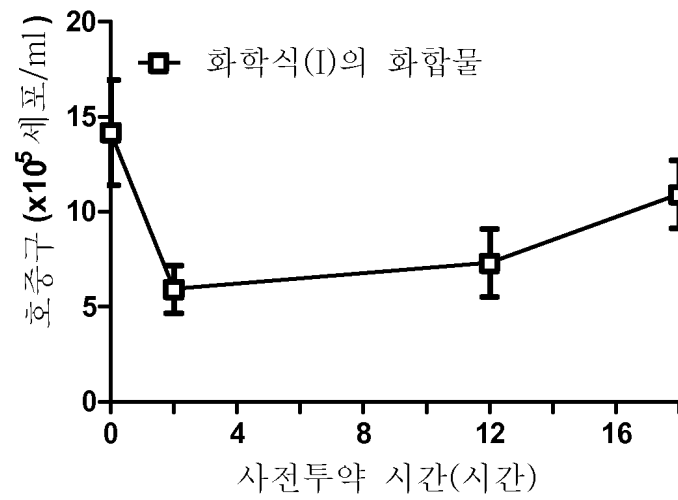
[0123] 여기에서 언급된 모든 특허와 특허 출원은 참조를 위해 전부 포함되었다.

[0124] 상세한 설명과 청구항이 일부를 형성하는 출원은 후속 출원에 대한 우선권의 근거로서 사용될 수 있다. 이러한 후속 출원의 청구항은 여기에 기술된 특징이거나 또는 특징의 조합일 수 있다. 청구항은 물품, 조성물, 방법 또는 용도항의 형태를 취할 수 있고 실시예와, 비제한적인 청구항을 포함할 수 있다.

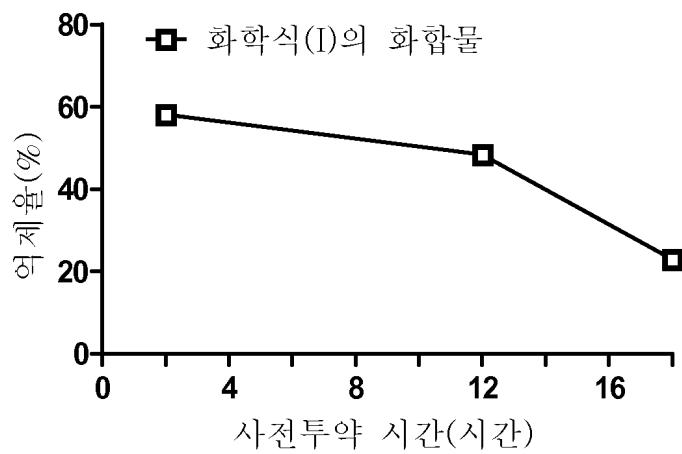
[0125]	<u>약어</u>	
[0126]	Ac	아실
[0127]	ATP	아데노신-5'-트리포스페이트
[0128]	BALF	기관지폐포세척액
[0129]	BSA	소 혈청 알부민
[0130]	CatCart [®]	촉매 카트리지(상품명)
[0131]	CDI	카보닐디이미다졸
[0132]	DCM	디클로로메탄
[0133]	DIAD	디이소프로필 아조디카복실레이트
[0134]	DMF	디메틸포름아미드
[0135]	DMSO	디메틸 설펍시드
[0136]	COPD	만성 폐쇄성 폐 질환
[0137]	DIBAL-H	디이소부틸알루미늄 하이드라이드
[0138]	DIPEA	<i>N</i> -에틸- <i>N</i> -이소프로필프로판-2-아민
[0139]	Et	에틸
[0140]	FCS	소 태아 혈청
[0141]	h	시간 (시)
[0142]	HRP	호오스래디쉬 퍼옥시다제
[0143]	JNK	c-Jun N-터미널 키나제
[0144]	MAPK	미토젠 단백질 활성화 단백질 키나제
[0145]	Me	메틸
[0146]	PBS	인산염 완충 식염수
[0147]	PPh ₃	트리페닐포스핀
[0148]	RT	실온
[0149]	SCX	고체 지지 양이온 교환
[0150]	SDS	소듐 도데실 설페이트
[0151]	TFA	트리플루오로아세트산
[0152]	THF	테트라하이드로퓨란
[0153]	TNF α	종양괴사인자 알파
[0154]	TMB	3,3', 5,5'-테트라메틸벤지딘
[0155]	MTT	3-(4,5-디메틸티아졸-2-일)-2,5-디페닐테트라졸리움 브로마이드

도면

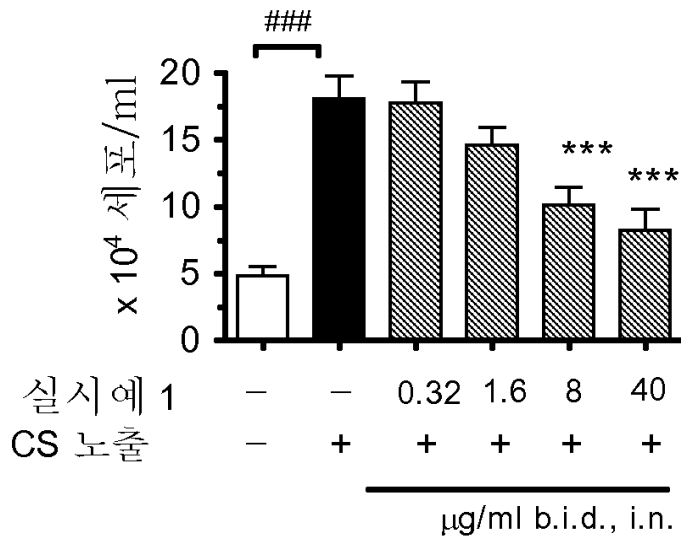
도면1



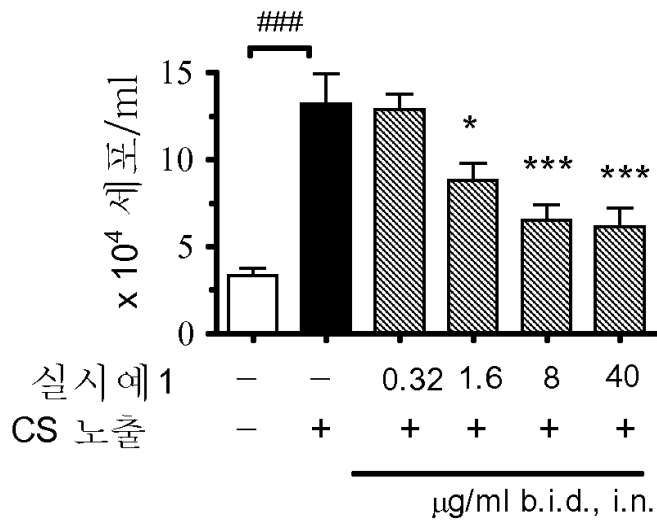
도면2



도면3



도면4



도면5

