(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2021 년 10 월 21 일 (21.10.2021)

WIPO | PCT

(10) 국제공개번호
WO 2021/210799 A1

(51) 국제특허분류:
A61K 31/4439 (2006.01) *A61P 43/00* (2006.01)
A61P 11/00 (2006.01) *A61P 31/00* (2006.01)

(21) 국제출원번호: PCT/KR2021/003537

(22) 국제출원일: 2021 년 3 월 23 일 (23.03.2021)

(25) 출원언어: 한국어

(26) 공개언어: 한국어

(30) 우선권정보:
10-2020-0044598 2020 년 4 월 13 일 (13.04.2020) KR
10-2021-0036863 2021 년 3 월 22 일 (22.03.2021) KR

(71) 출원인: 압타바이오 주식회사 (**APTABIO CO., LTD.**) [KR/KR]; 16954 경기도 용인시 기흥구 흥덕1로 13, A동 504호, Gyeonggi-do (KR).

(72) 발명자: 문성환 (**MOON, Sung Hwan**); 16222 경기도 수원시 영통구 웰빙타운로 70, 8706동 603호., Gyeonggi-do (KR). 이수진 (**LEE, Soo Jin**); 16709 경기도 수원시 영통구 청명로 100, 424동 1702호., Gyeonggi-do (KR). 유현경 (**YU, Hyunkyung**); 16374 경기도 수원시 권선구 당진로14번길 46, 206동 403호., Gyeonggi-do (KR). 고유경 (**GOH, Yoo-Kyung**); 16518 경기도 수원시 영통구 중부대로 335, 606호., Gyeonggi-do (KR).

(74) 대리인: 김성호 (**KIM, Sung Ho**); 06233 서울시 강남구 테헤란로8길 8, 5층 (역삼동, 홍은빌딩) (워너비특허법률사무소), Seoul (KR).

(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

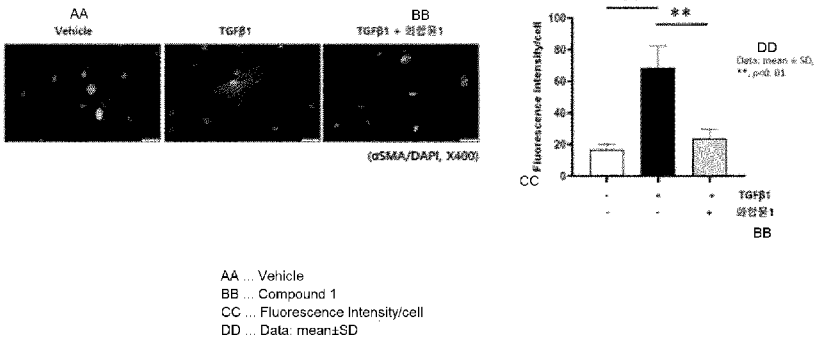
(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))

(54) **Title:** PULMONARY FIBROSIS MEDICINE CONTAINING PYRAZOLE DERIVATIVE

(54) 발명의 명칭: 피라졸 유도체의 폐섬유증 치료제



AA ... Vehicle
BB ... Compound 1
CC ... Fluorescence Intensity/cell
DD ... Data: mean±SD

(57) **Abstract:** The present invention provides a pharmaceutical composition or an anti-viral agent, for the treatment of pulmonary fibrosis, containing a compound of chemical formula 1, which is a pyrazole derivative, or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

(57) 요약서: 본 발명은 피라졸 유도체인 화학식 1 의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는, 폐섬유증 치료용 약학적 조성물 또는 항바이러스제를 제공한다.

WO 2021/210799 A1

명세서

발명의 명칭: 피라졸 유도체의 폐섬유증 치료제

기술분야

[1] 본 출원은 2020년 4월 13일자 한국 특허 출원 제10-2020-0044598호 및 2021년 3월 22일자 한국 특허 출원 제10-2021-0036863호에 기초한 우선권의 이익을 주장하며, 해당 한국 특허 출원의 문헌에 개시된 모든 내용은 본 명세서의 일부로서 포함한다.

[2] 본 발명은 폐섬유증 예방 또는 치료에 유용한 피라졸 유도체, 이의 제조방법, 및 이의 약학 조성물에 관한 것이다.

[3]

배경기술

[4] 폐섬유증(pulmonary fibrosis; PF)은 일종의 만성 간질성 폐질환으로서, 림프구, 대식세포 등 염증세포의 폐간질 침윤, 섬유아세포 증식 및 섬유성결합조직의 폐간질 침적의 특징을 나타낸다. 폐섬유증은 각종 폐 내외적 병인으로 인해 발생하며, 만성 폐 손상 또는 질환이 말기까지 진전된 결과로서 인류 건강을 심각하게 위협하고 있다.

[5] 폐섬유증의 병인에는 면역기능 이상, 바이러스 또는 세균 감염, 약물 및 화학품, 방사선, 공기 오염(스모그, 담배연기, 분진 등) 등의 요인이 포함된다.

[6] 위와 같이 폐섬유화의 명확한 이유를 진단할 수 있는 환자들도 있지만, 그 원인을 밝혀내지 못하는 경우도 있는데 이런 경우를 특발성 폐섬유증(idiopathic pulmonary fibrosis; IPF)이라고 한다. 특발성 폐섬유증은 폐실질의 섬유화가 점점 진행하는 간질성 폐렴의 일종으로 진단 후 수년 내 호흡부전으로 사망 위험이 높고 예후가 매우 불량한 것으로 알려져 있다. 5년 생존율이 약 20%로 폐암과 유사하다. 또한 폐섬유화는 고령화가 되면서 발병률과 유병률이 빠르게 증가하고 있다.

[7] 폐섬유증은 병리적, 생리적 과정이 복잡한데, 초기에 폐 염증을 중심으로 대량의 염증세포가 침윤하며 폐포벽이 만성적으로 두꺼워지고, 중기/말기에 콜라겐과 같은 세포외기질 요소의 섬유아세포(fibroblast)에 의한 과잉 침착으로 발생되는 폐조직의 과성장, 폐포 변형, 경화 및 흉터로 인해 정상 폐 조직구조가 파괴되어 기능이 상실된다.

[8] 섬유아세포는 염증과 조직 손상 부위로의 면역세포 모집(recruitment)에 역할을 한다. 게다가 섬유아세포는 많은 염증성 사이토카인을 생성하며 그에 반응한다. 따라서, 섬유아세포는 만성 염증에 기여할 수 있으며, 역으로 염증성 사이토카인은 섬유아세포의 근섬유아세포로의 전환을 촉진시켜 섬유증을 촉진한다. 따라서 폐조직의 부상이나 염증은 폐섬유증으로 이어질 수 있다.

[9] 폐섬유증으로 인해 섬유화가 진행된 폐조직을 복구할 수 있는 방법은 페이식이

유일하며, 진단 후 5년 생존율이 43%에 불과하다.

[10] 폐섬유화 치료제 개발을 위하여 많은 임상적 연구가 진행되고 있으나 여전히 폐섬유화 치료제는 없으며, 일차적으로 스테로이드나 세포독성 약물인 면역억제제가 주로 사용된다. 스테로이드와 세포독성 약물 중 스테로이드가 우선 사용되며, 현재 스테로이드와 아자티오프린(azathioprine) 또는 사이클로포스파미드(cyclophosphamide)의 병합요법을 사용하고 있다.

[11] 또한, 폐섬유증 치료제로 허가된 약물로서 피르페니돈(pirfenidone)과 닌테다닙(nintedanib)이 유일하다. 피르페니돈은 경미한 치료효과를 나타내며 약 2.4g/일(day)의 매우 고용량으로 사용되는데 생존 향상 결과는 거의 없거나 유의미하지 않다고 보고되었으며, 위장장애(오심, 설사, 소화불량), 피부장애(감광성 발진) 및 대사 및 영양장애(식용부진, 식용감퇴)등의 부작용이 심하여 환자의 삶의 질을 떨어뜨리는 경향이 있고 간기능을 약화시키므로 지속적인 투약이 어렵다. 닌테다닙은 200 내지 400 ㎎/일(day)의 용량으로 사용되고, 경증부터 중증 특발성 폐섬유증의 급성 악화 발생빈도를 줄이는 것으로 보고되었으나, 많은 부작용 및 위장 부작용으로 지속적 투약이 어렵다.

[12] 따라서 병증의 진행을 완화가 아닌 근본적인 원인 치료가 가능한 새로운 약물개발이 절실히 필요한 상황이다.

[13] 폐섬유화의 발병 원인에 대해 많은 연구가 진행되고 있으나 여전히 발병기전은 명확하지 않아 치료제의 개발을 어렵게 하고 있는 가운데, 생체 내 산화환원 항상성 변화에 따라 과량의 활성화 산소 발생에 따른 산화스트레스가 폐섬유화가 진행 및 악화에 중요한 역할을 한다는 연구결과가 보고되고 있다.

[14] 산화 스트레스(oxidative stress)는 생체 분자, 세포, 조직에 대한 활성산소종(reactive oxygen species; ROS) 생산과 항산화 방어기전의 균형이 깨짐으로서 활성산소종의 생산이 상대적으로 과다해지면서 유발되는 조직 손상을 일컫는다. 특히 폐조직에서 발생되는 산화 스트레스는 폐섬유화를 유발 및 악화시킴이 보고되고 있다. 폐섬유화가 진행되는 환자의 폐조직에서 TGF-β 자극은 활성산소종 생성 증가를 유발하고 섬유화에 중요한 콜라겐(collagen)과 α-SMA(α-smooth muscle actin)의 발현이 증가됨이 보고되고 있다. 특히 특발성 폐섬유증 환자의 폐조직에서는 활성산소종으로 인해 폐섬유증이 악화되는 것으로 보고되고 있다.

[15]

[16] RNA 바이러스 또는 DNA 바이러스 감염에 의해서도 폐렴 및 폐섬유화를 통해 치명적인 폐손상을 유발하여 사망에 이르기도 한다. 단일가닥 바이러스(corona virus, Influenza virus, Respiratory syncytial virus, Rhinovirus, Dengue virus, HIV 등), 및 DNA 바이러스(adenovirus, vaccinia virus, Herpes simplex virus 등)가 세포 내에 침입하여 엔도좀(endosome)을 형성하면 활성산소종이 발생하여 바이러스 복제를 촉진하고, 급격히 증폭된 바이러스는 폐 조직으로 침투하여 염증과 섬유화를 촉진하면서 폐손상을 유발하는 것으로 보고되었다.

[17] 현재 바이러스 감염 시, 인체 내 빠른 증폭으로 인해 급속한 폐손상을 유발하여 치료를 어렵게 하고 있는 바, 바이러스 감염 및 빠른 증폭으로 인해 유발되는 폐손상을 치료 및 완화하기 위하여 활성산소종 발생을 억제하는 치료제와 항바이러스제를 병용 사용한다면 바이러스성 폐렴 및 폐섬유증을 보다 효과적으로 치료 가능할 것이다. 이때 병용 가능한 항바이러스제로는 렘데시비르(Remdesivir), 리토나비르(Ritonavir), 로피나비르(Lopinavir), 파비라비르(Favilavir) 등이 대표적인 약물이다.

[18] 폐섬유화가 진행되는 환자의 폐조직에서 TGF-β 자극은 활성산소종 생성 증가를 유발하고 섬유화에 중요한 콜라겐(collagen)과 α-SMA(a-smooth muscle actin)의 발현이 증가됨이 보고되었으며, 특발성 폐섬유증 환자의 폐조직에서 활성산소종으로 인해 폐섬유증이 악화되는 것으로 보고되고 있다.

[19] 한편, 어떤 선행문헌에서도 본 발명의 피라졸계 화합물이 폐섬유증의 예방 및 치료 효과가 있다고 개시되어 있지 않다.

[20]

[21] [선행기술문헌]

[22] (특허문헌 1) 대한민국 등록특허 10-1280160호

[23] (특허문헌 2) 대한민국 공개특허 10-2019-0122806호

[24] (특허문헌 3) 대한민국 공개특허 10-2019-0136079호

[25] (비특허문헌 1) Gabriel Laghlali, et al. Respiratory 2019, 13629.

[26] (비특허문헌 2) Eunice E. To et al. Nature communications, 8(69), 1-17.

[27] (비특허문헌 3) Alessandro G. Fois, Panagiotis Paligiannis et al., Respir Res. 2018, 19:51.

[28]

발명의 상세한 설명

기술적 과제

[29] 본 발명은 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 약학적 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[30] 본 발명은 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는, 활성산소종 생성을 효과적으로 억제하는 약학적 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[31] 본 발명은 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는, 폐섬유증 치료 또는 예방을 위한 약학적 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[32] 본 발명은 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 개체에 투여하여 폐섬유증의 예방 또는 치료하는 방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[33] 본 발명은 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 폐섬유증의 예방 또는 치료 용도를 제공하는 것을 목적으로 한다.

[34] 본 발명은 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염 및 항생제,

항진균제, 항바이러스제, 항염증제 또는 이들의 임의의 조합을 추가로 포함하는 폐섬유증 치료 및 예방을 위한 약학적 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[35] 본 발명은 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염 및 항생제, 항진균제, 항바이러스제, 항염증제 또는 이들의 임의의 조합을 추가로 개체에 투여하여 폐섬유증의 예방 또는 치료하는 방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[36] 본 발명은 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염 및 항생제, 항진균제, 항바이러스제, 항염증제 또는 이들의 조합을 추가로 포함하여 폐섬유증의 예방 또는 치료 용도를 제공하는 것을 목적으로 한다.

[37] 본 발명은 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 항바이러스제를 제공하는 것을 목적으로 한다.

[38] 본 발명은 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 개체에 투여하여 바이러스성 질환의 예방 또는 치료하는 방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[39] 본 발명은 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하여 바이러스성 질환의 예방 또는 치료 용도를 제공하는 것을 목적으로 한다.

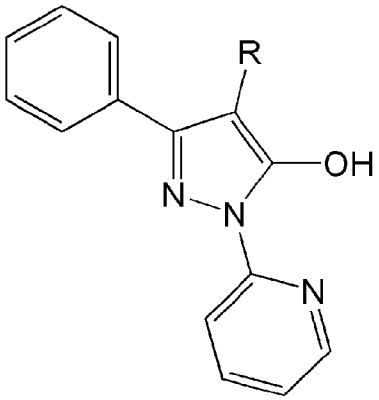
[40]

과제 해결 수단

[41] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명에서는 하기 화학식 1로 표시되는 피라졸계 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 폐섬유증 또는 항바이러스성 질환의 예방 및 개선 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[42] <화학식 1>

[43]



[44] (상기 화학식 1에서, R은 탄소수 1 내지 10의 직쇄형 또는 분쇄형 알킬기이다.)

[45]

발명의 효과

[46] 본 발명에 따른 피라졸계 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염은 폐에서 생성되는 활성산소종 생성을 효과적으로 억제할 수 있으므로 특별한 부작용 없이 산화 스트레스로 유발되는 폐섬유증의 예방 또는 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

[47] 또한, 본 발명에 따른 피라졸계 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한

염은 항바이러스능을 가지므로, 바이러스성 질환의 예방 또는 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

[48]

도면의 간단한 설명

[49] 도 1은 인간 폐 섬유아세포(NHLF)에 PMA 자극으로 유도된 활성산소종의 발현이 화합물 1을 처리했을 때 효과적으로 억제되는 결과를 보여준다.

[50] 도 2는 TGF-β1에 의한 인간 폐섬유아세포의 근섬유세포 분화시 화합물 1에 의해 αSMA의 발현이 억제되는 결과를 보여준다.

[51] 도 3은 TGF-β1에 의한 인간 폐섬유아세포의 근섬유세포 분화시 화합물 1에 의해 콜라겐 I의 발현이 억제되는 결과를 보여준다.

[52] 도 4는 인간 폐 섬유아세포에 LPS 처리로 유도된 IL-1β 발현이 화합물 1을 처리했을 때 효과적으로 억제되는 결과를 보여준다.

[53] 도 5는 블레오마이신(BLM) 투여에 의한 폐섬유증 동물모델에서 닌테다닙(Nintedanib) 또는 화합물 1을 처리했을 때의 폐포(alveolar) 및 모세기관지(bronchiole)의 H&E 염색 사진으로, 화합물 1 처리시 폐포 및 모세기관지로 침투하는 면역세포의 양이 감소하는 결과를 보여준다.

[54] 도 6은 블레오마이신(BLM) 투여에 의한 폐섬유증 동물모델에서 닌테다닙(Nintedanib) 또는 화합물 1을 처리했을 때의 모세기관지(bronchiole)의 콜라겐 침착 염색 사진으로, 화합물 1 처리시 콜라겐 침착이 감소하는 결과를 보여준다.

[55] 도 7은 블레오마이신(BLM) 투여에 의한 폐섬유증 동물모델에서 닌테다닙(Nintedanib) 또는 화합물 1을 처리했을 때의 αSMA의 염색 사진으로, 화합물 1 처리시 αSMA의 발현 감소를 보여준다.

[56] 도 8은 블레오마이신(BLM) 투여에 의한 폐섬유증 동물모델에서 닌테다닙(Nintedanib) 또는 화합물 1을 처리했을 때의 콜라겐 I 염색 사진으로, 화합물 1 처리시 콜라겐 I의 발현 감소를 보여준다.

[57] 도 9는 블레오마이신(BLM) 투여에 의한 폐섬유증 동물모델에서 닌테다닙(Nintedanib) 또는 화합물 1을 처리했을 때의 폐 섬유화 정도를 개선된 애쉬크로프트 점수로 정량화한 결과로서, 화합물 1을 처리시 닌테다닙에 비해 폐섬유증을 효과적으로 개선하는 것을 보여준다.

[58] 도 10은 인간 폐 상피세포에서 화합물 1을 처리했을 때 항바이러스 효능이 우수하고 세포독성이 낮음을 보여준다.

[59]

발명의 실시를 위한 최선의 형태

[60] 이하, 본 발명에 대하여 구현예를 들어 상세하게 설명한다.

[61] 다만, 이는 예시로서 제시하는 것으로서, 이에 의해 본 발명이 제한되지 않으며, 본 발명은 후술하는 청구항의 범주에 의해 정의될 뿐이다. 또한, 본 발명을

실시하는데 꼭 필요한 구성이라 하더라도 통상의 기술자가 공지 기술로부터 용이하게 실시할 수 있는 구성에 대해서는 구체적인 설명을 생략한다.

[62] 본 명세서 및 청구범위에 사용된 용어나 단어는 통상적이거나 사전적인 의미로 한정해서 해석되어서는 아니되며, 발명자는 그 자신의 발명을 가장 최선의 방법으로 설명하기 위해 용어의 개념을 적절하게 정의할 수 있다는 원칙에 입각하여 본 발명의 기술적 사상에 부합하는 의미와 개념으로 해석되어야만 한다.

[63] 본 발명에서 사용한 용어는 단지 특정한 실시예를 설명하기 위해 사용된 것으로, 본 발명을 한정하려는 의도가 아니다. 단수의 표현은 문맥상 명백하게 다르게 뜻하지 않는 한, 복수의 표현을 포함한다. 본 발명에서, '포함하다' 또는 '가지다'등의 용어는 명세서 상에 기재된 특징, 숫자, 단계, 동작, 구성요소, 부품 또는 이들을 조합한 것이 존재함을 지정하려는 것이지, 하나 또는 그 이상의 다른 특징들이나 숫자, 단계, 동작, 구성요소, 부품 또는 이들을 조합한 것들의 존재 또는 부가 가능성을 미리 배제하지 않는 것으로 이해되어야 한다.

[64]

[65] 폐섬유증은 폐의 염증으로 인한 염증세포의 폐간질 침윤, 섬유아세포 증식 및 섬유성결합조직의 폐간질 침착으로 폐 실질의 섬유화에 의한 것으로 정상적인 폐 조직 구조가 파괴되어 폐기능이 상실된다. 즉 폐섬유증은 각종 폐 내외적 병인으로 인해 발생하며, 만성 폐 손상 또는 질환이 말기까지 진전된 결과로서 최근 고령화 경향과 맞추어 발병률과 유병률이 빠르게 증가하고 있다. 최근에는 특히 그 발병 원인을 알 수 없는 특발성 폐섬유증이 문제가 되고 있다.

[66] 폐섬유증으로 인해 섬유화가 진행된 폐조직을 복구할 수 있는 방법은 폐이식이 유일하고, 폐섬유증에 허가된 약물로서는 피르페니돈(Pirfenidon) 및 닌테다닙(Nintedanib)이 유일하지만, 두 약물 모두 많은 부작용 및 위장장애로 지속적 투약이 어려운 문제가 있다.

[67] 따라서, 폐섬유증의 치료방법은 스테로이드 또는 면역억제제를 사용하여 증상을 완화시키는 대증요법이 일반적이지만, 근본적인 치료법이 필요하다.

[68]

[69] 본 발명자들은 폐 조직의 산화스트레스 발생을 효과적으로 억제한다면 폐섬유화 질병 치료제를 개발할 수 있다는 점에 착안하여 연구한 결과, 본 발명의 피라졸 유도체가 블레오마이신 투여로 인한 폐손상을 줄이고, αSMA 및 콜라겐 I 축적에 의한 폐섬유화를 억제하여 폐섬유증이 감소함을 발견하여 폐섬유증 치료제로 사용할 수 있음을 확인하여 본 발명을 완성하게 되었다.

[70]

[71] 이에 본 발명에서는 화학식 1로 표시되는 피라졸계 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염으로부터 선택된 1종 이상의 화합물을 포함하는 폐섬유증을 예방 또는 치료할 수 있는 약학적 조성물을 제공한다.

[72] 또한, 본 발명은 화학식 1로 표시되는 피라졸계 화합물, 또는 이의

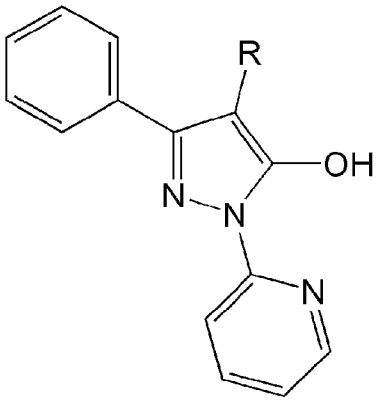
약제학적으로 허용 가능한 염으로부터 선택된 1종 이상의 화합물을 포함하는 특발성 폐섬유증을 예방 또는 치료할 수 있는 약학적 조성물을 제공한다.

[73]

[74] 본 발명에서 사용되는 피라졸계 화합물은 하기 화학식 1로 표현된다.

[75] <화학식 1>

[76]



[77] (상기 화학식 1에서, R은 탄소수 1 내지 10의 직쇄형 또는 분쇄형 알킬기이다.)

[78] 본 발명의 약학 조성물에 함유되는 피라졸계 화합물의 약제학적으로 허용 가능한 염은 모계 화합물(parent compounds)의 생물학적 유효성 및 특성을 보유하고, 1회 용량(dosage)이 투여될 때, 생물학적으로 또는 다른 방향으로 해롭지 않은 염들을 의미할 수 있다. 또한, 의약업계에서 통상적으로 사용되는 염을 의미한다.

[79] 구체적으로는, 약제학적으로 허용가능한 부가 염들은 무기 및 유기 염기들로부터 제조될 수 있다. 무기 염기들로부터 유도된 염들은, 이에 제한되는 것은 아니지만, 나트륨, 칼륨, 리튬, 암모늄, 칼슘, 및 마그네슘 염들을 포함할 수 있다. 유기 염기들로부터 유도된 염들은, 이에 제한되는 것은 아니지만, 일차, 이차 및 삼차 아민; 천연적으로 발생하는 치환된 아민들을 포함하는 치환된 아민들; 및 이소프로필아민(isopropylamine), 트리메틸아민(trimethylamine), 디에틸아민(diethylamine), 트리에틸아민(triethylamine), 트리프로필아민(tripropylamine), 에탄올아민(ethanolamine), 2-디메틸아미노에탄올(2-dimethylaminoethanol), 트로메타민(tromethamine), 라이신, 아르기닌, 히스티딘, 카페인, 프로카인(procaine), 히드라바민(hydrabamine), 콜린(choline), 베타인(betaine), 에틸렌디아민(ethylendiamine), 글루코사민(glucosamine), N-알킬글루카민(N-alkylglucamine), 테오브로민(theobromine), 퓨린, 피페라진, 피페리딘, 및/또는 N-에틸피페리딘을 포함하는 시클릭 아민들의 염들을 포함할 수 있다.

[80] 다른 카르복실산 유도체, 구체적으로는 카르복사미드(carboxamides), 저급 알킬 카르복사미드, 디(저급 알킬) 카르복사미드 등을 포함하는 카르복실산 아미드도 본 발명의 실시에 있어서 유용하다는 것 또한 이해되어야 할 것이다.

[81] 추가적으로, 약학적으로 허용가능한 산 부가 염들은 무기 및 유기산들로부터 제조될 수 있다. 무기산들로부터 유도된 염들은 염산, 브롬산, 황산, 질산, 인산, 과염소산, 요오드산, 주석산 등을 포함한다. 유기산들로부터 유도된 염들은 아세트산, 트리플루오로아세트산, 프로피온산, 글리콜산, 글루콘산, 갈락투론산, 글루탐산, 글루타르산, 글루쿠론산, 아스파르트산, 아스코르브산, 카본산, 바닐릭산, 하이드로아이오딕산, 피루브산, 옥살산, 말산(malic acid), 말론산, 젖산, 숙신산, 말레산(maleic acid), 푸마르산, 타르타르산, 시트르산, 벤조산, 신남산(cinnamic acid), 만델산(mandelic acid), 메탄술폰산, 에탄술폰산, 벤젠술폰산, p-톨루엔술폰산, 나프탈렌술폰산 및/또는 살리실산 등을 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.

[82] 상기 약제학적으로 허용가능한 염은 염산염일 수 있다.

[83] 본 발명의 약학적 조성물에 함유되는 상기 화학식 1로 표시되는 피라졸계 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 구체적으로 예시하면 하기와 같다.

[84] 3-페닐-4-메틸-1-(피리딘-2-일)-1*H*-피라졸-5-올 또는 이의 염산염;

[85] 3-페닐-4-에틸-1-(피리딘-2-일)-1*H*-피라졸-5-올 또는 이의 염산염;

[86] 3-페닐-4-노말프로필-1-(피리딘-2-일)-1*H*-피라졸-5-올 또는 이의 염산염;

[87] 3-페닐-4-아이소프로필-1-(피리딘-2-일)-1*H*-피라졸-5-올 또는 이의 염산염;

[88] 3-페닐-4-노말부틸-1-(피리딘-2-일)-1*H*-피라졸-5-올 또는 이의 염산염;

[89] 3-페닐-4-tert-부틸-1-(피리딘-2-일)-1*H*-피라졸-5-올 또는 이의 염산염;

[90] 3-페닐-4-노말펜틸-1-(피리딘-2-일)-1*H*-피라졸-5-올 또는 이의 염산염;

[91] 3-페닐-4-노말헥실-1-(피리딘-2-일)-1*H*-피라졸-5-올 또는 이의 염산염;

[92] 구체적으로는 본 발명의 약학 조성물에 함유되는 피라졸계 화합물은 3-페닐-4-노말프로필-1-(피리딘-2-일)-1*H*-피라졸-5-올 또는 이의 염산염일 수 있다.

[93] 본 발명의 화학식 1의 화합물은 활성산소종 생성을 억제할 수 있다.

[94] 본 발명에서 산화 스트레스(oxidative stress)는 생체 분자, 세포, 조직에 대한 활성산소종(reactive oxygen species; ROS) 생산과 항산화 방어기전의 균형이 깨짐으로서 활성산소종의 생산이 상대적으로 과다해지면서 유발되는 조직 손상을 일컫는다. 여기서 "활성산소종(reactive oxygen species)"는 활성화 산소, 활성 산소, 활성화 산소종이라고 언급될 수 있으며, 같은 물질을 의미한다.

[95] 본 발명의 피라졸계 화합물, 특히 3-페닐-4-노말프로필-1-(피리딘-2-일)-1*H*-피라졸-5-올의 염산염(화합물 1)은 인간 폐 상피세포에서 효과적으로 활성산소종을 감소시켰으며, 폐섬유아세포를 근섬유세포로 분화시키는 경우, 근섬유세포 분화마커인 αSMA 및 콜라겐 I의 발현을 효과적으로 억제하였다.

[96]

[97] 또한, 블레오마이신 투여 폐섬유증 동물모델 실험으로 확인한 바와 같이, 기존의 폐섬유증의 치료제로 허가된 닌테다닙에 비하여 본 발명의 화합물은 폐

조직 내의 염증세포 침투가 감소시키고, 폐 상피세포 비대의 감소, 폐 구조의 변형 저하 및 비정상적인 조직 침착 부위를 감소시켰다.

[98]

[99] 본 발명의 화합물은 닌테다닙에 비해 폐 조직에서 콜라겐 1 및 aSMA의 발현 및 축적을 감소시키고, 폐 조직 내의 활성산소종의 발현도 감소시켰다. 이러한 결과들을 바탕으로 개선된 애쉬크로프트 점수로 섬유증의 심각도를 정량화했을 때, 기존의 폐섬유증의 치료제로 허가된 닌테나딥에 비해 현저한 폐섬유증 개선효과를 보였다.

[100] 따라서, 본 발명의 화합물은 인간 폐 세포 및 폐섬유증 모델에서 폐 조직 내의 활성산소종을 억제하여 염증반응을 억제할 뿐 아니라, 콜라겐 I 및 αSMA의 발현 및 축적을 감소시켜, 폐섬유화를 예방하거나 완화하는 효과를 확인하였다.

[101] 폐섬유증은 폐염증성 섬유화 질환, 만성 폐쇄성 폐섬유증(chronic obstructive pulmonary disease combined pulmonary fibrosis; COPD combined pulmonary fibrosis), 특발성 폐섬유증(idiopathic pulmonary fibrosis; IPF) 또는 천식에 유발될 수 있다.

[102] 또한, 폐섬유증의 주원인이라 할 수 있는 폐렴은 바이러스성 폐렴, 박테리아성 폐렴, 진균성 폐렴, 과민성 폐렴(hypersensitivity pneumonitis), 흡입성 폐렴(aspiration pneumonia), 간질성 폐렴(interstitial pulmonary disease), 진폐증(pneumoconiosis) 등에 의해 유발될 수 있다.

[103] 상기 바이러스성 폐렴은 아데노바이러스(adenovirus), 백시니아 바이러스(vaccinia virus), 헤르페스 단순 바이러스(herpes simplex virus), 파라인플루엔자 바이러스(parainfluenza virus), 라이노 바이러스(rhinovirus), 수두 바이러스(varicella Zoster Virus) , 홍역 바이러스(measle virus), 호흡기 세포융합 바이러스(respiratory syncytial virus), 뎅기바이러스(Dengue virus), HIV(human immunodeficiency virus), 인플루엔자 바이러스, 코로나바이러스(coronavirus), 중증급성호흡기증후군 코로나 바이러스(severe acute respiratory syndrome-related coronavirus; SARS-CoV), 중증급성호흡기증후군 코로나 바이러스 2(severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2; SARS-CoV2), 중동 호흡기 증후군 코로나바이러스(middle east respiratory syndrome coronavirus; MERS-CoV), 또는 이들 바이러스의 변종 바이러스에 의해 발생될 수 있다.

[104] 본 발명의 약학적 조성물은 화학식 1의 화합물 또는 이의 염 외에 추가적으로 항생제, 항진균제, 항바이러스제, 항염제 또는 이들의 임의의 조합을 제2치료제로 추가로 포함할 수 있다.

[105] 구체적으로 제2치료제로 포함되는 항생제는 아미노글리코시드(aminoglycoside)계 항생제 중 젠타마이신(gentamycin), 카나마이신(kanamycin), 스트렙토마이신(streptomycin), 아미카신(amikacin), 네오마이신(neomycin) 등; 마크로라이드(macrolide)계 항생제 중 에리트로마이신(erythromycin), 아지트로마이신(azithromycin),

클래리트로마이신(clarithromycin) 등; 베타-락탐(beta-lactam)계 항생제 중 페니실린(penicillin), 세팔로스포린(cephalosporin), 카바페넴(carbapenem), 모노박탐(monobactam) 등; 린코마이신(lincomycin)계 항생제로서 클린다마이신(clindamycin) 등; 옥사졸리디논(oxazolidinone)계 항생제로 리네졸리드(linezolid) 등; 퀴놀론(quinolone)계 항생제로 시프로클록사신(ciproploxacin), 레보플록사신(leboploxacin), 목시플록사신(moxifloxacin), 플루오로퀴논(fluoroquinone) 등; 테트라사이클린계(tetracycline) 항생제로 테트라사이클린(tetracycline), 독시사이클린(doxycycline), 티게사이클린(tigecycline) 등; 술폰아마이드(sulfonamide)계 항생제로 트리메소프림/술파메톡사졸(trimethoprime/sulfamethoxazole; TMX/SMX) 또는 이의 조합이다.

[106]

[107] 제2치료제로 포함되는 항바이러스제는 티오세미카르바존(thiosemicarbazone), 메티사존(metisazone), 아시클로비르(acyclovir), 렘데시비르(remdecivir), 리토나비르(ritonavir), 로피나피르(lopinavir), 파비라비르, 이독수리딘(idoxuridine), 비다라빈(vidarabine), 리바비린(ribavirin), 간시클로비르(ganciclovir), 팜시클로비르(famciclovir), 발라시클로비르(valaciclovir), 시도포비르(cidofovir), 발간시클로비르(valganciclovir), 브리부딘(brivudine), 리바비린(ribavirin), 리만타딘(rimantadine), 트로만타딘(tromantadine), 포스카르네트(foscarnet), 사퀴나비르(saquinavir), 인디나비르(indinavir), 넬피나비르(nelfinavir), 암프레나비르(amprenavir), 포삼프레나비르(fosamprenavir), 아타자나비르(atazanavir), 티프라나비르(tipranavir), 지도부딘(zidovudine), 디다노신(didanosine), 잘시타빈(zalcitabine), 스타부딘(stavudine), 라미부딘(lamivudine), 아바카비르(abacavir), 테노포비르디소프록실(tenofovir disoproxil), 아데포비르디피복실(adefovir disoproxil), 엠트리시타빈(emtricitabine), 엔테카비르(entecavir), 네비라핀(nevirapine), 델라비르딘(delavirdine), 에파비렌즈(efavirenz), 자나미비르(zanamivor), 오셀타미비르(oseltamivir), 이노신 프라노벡스(inosine pranobex), 플레코나릴(preconaril), 엔푸비르티드(enfuviritide) 또는 이의 조합이다.

[108]

[109] 제2치료제로 포함되는 항진균제는 알릴아민, 테르비나핀(terbinafine), 5-플루오로시토신(5-fluoro cytosine), 플루코나졸(fluconazole), 이트라코나졸(itraconazole), 케토코나졸(ketoconazole), 라부코나졸(ravuconazole), 포사코나졸(posaconazzole); 보리코나졸(voriconazole), 카스포펀진(caspofungin), 미카펀진(micafungin), 아니둘라푼진(Anidulafungin), 암포테리신 B(*Amphotericin B)*, 암포테리신 B 지질 복합체(amphotericin B lipid complex; ABLC), 암포테리신

B 콜로이드성 분산액(amphotericin B colloidal dispersion ABCD), 리포좀 암포테리신 B(liposome-amphotericin B; L-AMB); 리포좀 니스타틴(liposome nystatin), 그리세오풀빈(griseofulvin) 또는 이의 조합이다

[110] 본 발명의 화학식 1의 화합물은 다양한 바이러스에 대한 항바이러스능을 가지므로, 본 발명의 화합물은 그 자체로 항바이러스제로 사용될 수 있다. 따라서, 본 발명의 화학식 1의 화합물은 바이러스성 질환의 예방 또는 치료에 효과적일 수 있다. 상기 바이러스성 질환은 아데노바이러스(adenovirus), 백시니아 바이러스(vaccinia virus), 헤르페스 단순 바이러스(herpes simplex virus), 파라인플루엔자 바이러스(parainfluenza virus), 라이노 바이러스(rhinovirus), 수두 바이러스(varicella Zoster Virus) , 홍역 바이러스(measle virus), 호흡기 세포융합 바이러스(respiratory syncytial virus), 뎅기바이러스(Dengue virus), HIV(human immunodeficiency virus), 인플루엔자 바이러스, 코로나바이러스(coronavirus),), 중증급성 호흡기 증후군 코로나바이러스(Severe acute respiratory syndrome coronavirus; SARS-CoV), 중증급성호흡기증후군 코로나 바이러스 2(severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2; SARS-CoV2), 중동 호흡기 증후군 코로나바이러스(middle east respiratory syndrome coronavirus; MERS-CoV) 또는 이들 바이러스의 변종 바이러스에 의해 유발될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 특히 본 발명의 화합물 1은 중증급성 호흡기 증후군 코로나바이러스 2(SARS-CoV2)의 증식을 효과적으로 억제할 수 있으므로, 이와 관련된 바이러스인 SARS-CoV, MERS-CoV 또는 이들 코로나 바이러스의 변종 바이러스의 증식 역시 억제할 수 있다.

[111]

[112] 본 발명의 약학적 조성물은 본 발명의 효과를 해치지 않는 범위 안에서 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함할 수 있다.

[113] 상기 "약학적으로 허용되는 담체"는 당업자에 공지된 바와 같이, 임의의 및 모든 종류의 용매, 분산매질, 코팅제, 계면활성제, 항산화제, 보존제(항박테리아제 또는 항진균제), 등장화제, 희석제, 흡수 지연제, 염, 보존제, 안정화제, 결합제, 부형제, 붕해제, 윤활제, 감미제, 감미제, 향미제, 염료 등, 및 그의 조합을 포함한다. 임의의 통상의 담체가 활성 성분과 상용적이지 않은 경우를 제외하고는, 치료 또는 제약 조성물에서의 그의 사용이 고려된다.

[114] 희석제는 상기 희석제는 미결정셀룰로오스, 락토오스 모노하이드레이트, 락토오스 무수물, 유당, 전분, 만니톨, 카르복시메칠셀룰로오스, 솔비톨, 및 이들의 조합으로 이루어지는 군으로부터 선택될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[115] 붕해제는 저치환도히드록시프로필셀룰로오스, 크로스포비돈, 크로스카멜로오스나트륨, 전분글리콜산나트륨, F-melt, 및 이들의 조합으로 이루어지는 군으로부터 선택될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[116] 결합제는 히드록시프로필셀룰로오스, 히드록시프로필 메틸셀룰로오스,

히프로멜로오스, 폴리비닐아세트산, 포비돈, 폴리비닐피롤리돈, 코포비돈, 마크로골, 라우릴황산나트륨, 경질 무수 규산, 합성 규산 알루미늄, 규산 칼슘 또는 마그네슘 메타실리케이트 알루미네이트와 같은 규산염 유도체, 인산수소칼슘과 같은 인산염, 탄산칼슘과 같은 탄산염, 전호화전분, 아카시아검과 같은 검류, 젤라틴, 에틸셀룰로오스와 같은 셀룰로오스 유도체, 및 이들의 혼합물로 이루어지는 군으로부터 선택될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[117] 윤활제는 스테아린산마그네슘, 이산화규소, 탈크, 경질무수규산, 스테아릴푸마르산나트륨, 및 이들의 조합으로 이루어지는 군으로부터 선택될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[118] pH 조절제는 초산, 아디프산, 아스코르빈산, 아스코르빈산 나트륨, 에테르산 나트륨, 사과산, 숙신산, 주석산, 푸마르산, 구연산(시트르산)과 같은 산성화제와 암모니아수, 탄산 나트륨, 산화 마그네슘, 탄산 마그네슘, 구연산 나트륨, 삼염기칼슘인산염과 같은 염기성화제 등을 사용할 수 있다.

[119] 산화방지제는 디부틸 히드록시 톨루엔, 부틸레이티드 히드록시아니솔, 초산 토코페롤, 토코페롤, 프로필갈레이트, 아황산수소나트륨, 피로아황산나트륨 등을 사용할 수 있다.

[120] 이외에도 착색제, 향료 중에서 선택된 다양한 첨가제로서 약학적으로 허용 가능한 첨가제를 선택 사용하여 본발명의 제제를 제제화할 수 있다.

[121] 본 발명에서 첨가제의 범위가 상기 첨가제를 사용하는 것으로 한정되는 것은 아니며, 상기한 첨가제를 선택에 의하여 통상 범위의 용량을 함유하여 제제화할 수 있다.

[122] 본 발명에 따른 약제학적 조성물은 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀젼, 시럽 및 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 또는 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다.

[123] 본 발명의 일 측면에 있어서, 상기 유효성분은 약학 조성물 총 중량을 기준으로 0.00001 내지 100 중량%, 0.0001 내지 95 중량%, 또는 0.001 내지 90 중량% 범위로 함유된 폐섬유증의 예방, 개선 또는 치료용 약학 조성물일 수 있다.

[124] 본 발명에 따른 폐섬유증의 예방 또는 치료제에 있어서 상기 화학식 1로 표시되는 피라졸계 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염의 투여량은 환자의 연령이나, 체중, 증상, 투여경로 등에 따라 적절히 변경하는 것이 가능하다.

[125] 본 발명의 화학식 1로 표시되는 피라졸계 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염의 투여량은 0.00001㎎/㎏/일 ~ 2000㎎/㎏/일, 0.0001mg/kg/일 내지 1000mg/kg/일, 0.001mg/kg/일 내지 800mg/kg/일, 0.001mg/kg/일 내지 500mg/kg/일, 0.001mg/kg/일 내지 100mg/kg/일, 또는 0.001mg/kg/일 내지 80mg/kg/일 또는 0.01mg/kg/일 내지 70mg/kg/일 일 수 있다.

[126] 본 발명의 화학식 1로 표시되는 피라졸계 화합물 또는 이의 약제학적으로

허용되는 염의 함량은 단위 제형당 0.00001 내지 100 중량 %, 0.0001 내지 95 중량 %, 0.0001 내지 90 중량 %, 0.001 내지 70중량 또는 0.001 내지 50중량 %일 수 있다.

[127] 본 발명의 화학식 1 로 표시되는 피라졸계 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염의 투여농도는 0.0001 내지 500 μM, 0.001 내지 300 μM, 0.001 내지 150 μM, 0.001 내지 130 μM, 0.001 내지 100 μM, 0.001 내지 80 μM 또는 0.01 내지 70 μM 일수 있다.

[128] 본 발명의 약학적 조성물은 일반적인 경로를 통하여 투여될 수 있는데 구체적으로는 근육내, 수막강내, 소화기내, 심혈관내, 신장내, 또는 정맥내 투여용으로 제제화될 수 있다. 제제화 방법은 당업자에게 공지된 통상적인 방법을 이용한다.

[129] 통상적인 근육 내 또는 수막강 내 투여용 조성물은 예를 들면 활성 성분과 덱스트로스 또는 염화나트륨, 또는 덱스트로스 및 염화 나트륨을 함유하는 멸균된 등장 수용액으로 이루어질 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 다른 예들은 젖산 링거 주사액(lactated Ringer's injection), 젖산 링거 + 덱스트로스 주사액, 노르모졸(Normosol-M) 및 덱스트로스, 이소라이트 E(Isolyte E), 아실화된 링거 주사액 등이 있으나, 이에 제한되지 않는다. 선택적으로, 폴리에틸렌 글리콜 같은 공용매; 에틸렌디아민 테트라아세트산 같은 킬레이트화제; 소듐 메타비설파이트(sodium metabisulphite) 같은 산화방지제를 본 제제에 포함시킬 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 선택적으로, 용액은 냉동건조될 수 있고, 그 후 투여 직전에 적당한 용매로 재구성될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[130]

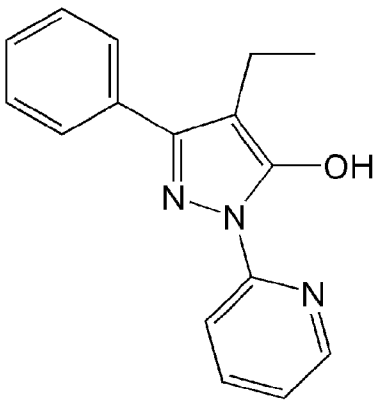
[131] 본 발명의 이해를 돕기 위해 바람직한 실시예를 제시한다. 그러나, 하기의 실시예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위해 제공되는 것일 뿐, 이들 실시예에 의해 본 발명의 범위가 한정되는 것은 아니다.

[132]

발명의 실시를 위한 형태

[133] **<합성예 1> 3-페닐-4-에틸-1-(피리딘-2-일)-1*H*-피라졸-5-올의 합성**

[134]



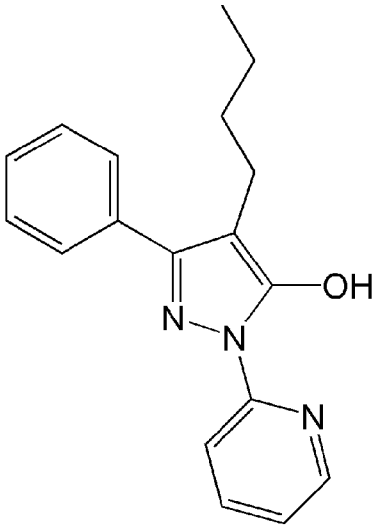
[135] 둥근 바닥 플라스크에 2-에틸-3-옥소-3-페닐프로피온산 에틸에스터(10.7 g, 49 mmol)와 2-히드라지노피리딘(5.6 g, 51.4 mmol)을 용매 없이 1일 동안 질소 조건 하에서 가열 환류시켰다. 생성된 고체를 헥산과 에틸아세테이트로 정제한 후 진공 건조시켜 표제화합물을 70%의 수율로 수득하였다

[136] 1H NMR(300 MHz, DMSO-d6) δ 8.25-8.24(1H, d), 8.00-7.97(1H, d), 7.84-7.82(1H, t), 7.73-7.71(2H, m), 7.46-7.37(3H, m) 7.12-7.11(1H, t), 2.62-2.57(2H, m), 1.23-1.17(3H, m); ESI(m/z) 266.1$[M+H]^+$

[137]

[138] **<합성예 2> 3-페닐-4-부틸-1-(피리딘-2-일)-1*H*-피라졸-5-올의 합성**

[139]

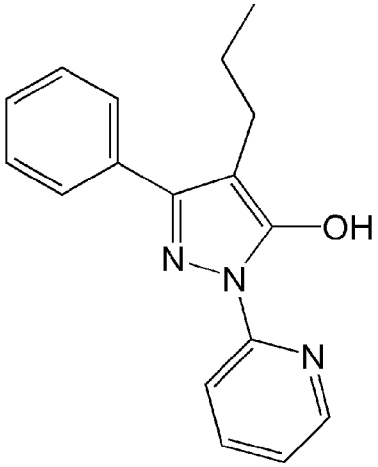


[140] 둥근 바닥 플라스크에 2-부틸-3-옥소-3-페닐프로피온산 에틸에스터(12.1 g, 49 mmol)와 2-히드라지노피리딘(5.6 g, 51.4 mmol)을 용매없이 1일 동안 질소조건 하에서 가열 환류시켰다. 생성된 고체를 헥산과 에틸아세테이트로 정제한 후 진공 건조시켜 표제화합물을 75%의 수율로 수득하였다.

[141] 1H NMR(300 MHz, DMSO-d6) δ 8.25-8.24(1H, d), 8.03-8.02(1H, d), 7.85-7.83(1H, t), 7.70-7.69(2H, m), 7.44-7.35(3H, m) 7.12-7.11(1H, t), 2.56-2.53(2H, t), 1.58-1.52(2H, m), 1.38-1.24(2H, m), 0.89-0.86(3H, t); ESI(m/z) 294.0$[M+H]^+$

[142]

[143] **<합성예 3> 3-페닐-4-프로필-1-(피리딘-2-일)-1*H*-피라졸-5-올의 합성**

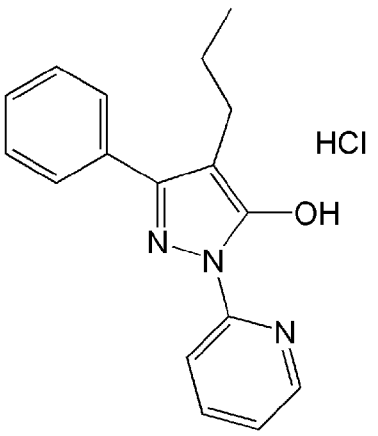
[144] 

[145] 둥근 바닥 플라스크에 2-프로필-3-옥소-3-페닐프로피온산 에틸에스터(2.52 g, 10.7 mmol)와 에탄올 10 ㎖을 넣은 다음, 2-히드라지노피리딘(1.29 g, 1.18 mmol)을 에탄올 3 ㎖에 희석시킨 용액을 0℃에서 천천히 적가하였다. 일 동안 100℃에서 가열 환류시켰다. 감압 증류하여 용매를 제거한 다음, 생성된 고체를 헥산과 에틸아세테이트로 세척한 후 진공 건조시켜 표제화합물을 82%의 수율로 수득하였다.

[146] 1H NMR(300 MHz, $CDCl_3$) δ 12.50(1H, s), 8.27-8.25(1H, m), 8.01(1H, d, *J* = 8.5 Hz), 7.81(1H, m), 7.69(2H, m), 7.48-7.34(3H, m), 7.12-7.10(1H, m), 2.54(2H, d, *J* = 7.5 Hz), 1.64(2H, m), 0.93(3H, t, *J* = 7.3 Hz); EIMS(70 eV) m/z(rel intensity) 279(M+, 37), 250(100)

[147]

[148] **<합성예 4> 3-페닐-4-프로필-1-(피리딘-2-일)-1*H*-피라졸-5-올 염산염(화합물 1)의 합성**

[149] 

[150] 둥근 바닥 플라스크에 상기 합성예 1에서 제조한 3-페닐-4-프로필-1-(피리딘-2-일)-1*H*-피라졸-5-올(280 ㎎,1.0 mmol)을 에틸에테르 4 ㎖에 용해시킨 다음, 여기에 2 M의 HCl이 용해된 에틸에테르 0.55 ㎖를 0 ℃에서 천천히 적가하였다. 상기 반응 용액으로부터 생성된 고체를 감압 여과하고 용매를 제거한 다음, 헥산과 에틸아세테이트로 세척한 후 진공

건조하여 상기 표제화합물(270 ㎎, 0.85 mmol)을 수득하였다.

[151] 1H NMR(300 MHz, $CDCl_3$) δ 8.44(1H, d, *J* = 4.2 Hz), 8.0-8.03(2H, m), 7.66-7.64(2H, m), 7.48-7.42(3H, m), 7.34-7.30(1H, m), 2.49(2H, brs), 2.43(2H, t, *J* = 7.5 Hz), 1.48(2H, m), 0.48(3H, t, *J* = 7.3 Hz)

[152]

[153] **<실시예 1> 인간 폐섬유아세포에서 활성산소종 생성 변화 분석**

[154] 합성예 화합물이 폐섬유아세포로부터의 활성산소종 생성에 미치는 영향을 확인하기 위하여, 인간 폐섬유아세포(normal human lung fibroblast; NHLF, Lonza) 세포를 대상으로 PMA 자극을 통해 활성산소종 생성을 유도하고, 이 조건 하에서 화합물 1의 활성산소종 생성 억제 효능을 관찰하고자 하였다.

[155] 각 세포는 10% FBS가 포함된 배양 배지에 현탁하여 96 well plate에 분주한 후 5% CO_2, 37℃조건에서 24시간 동안 배양하였다. 화합물 1을 30 분에서 1시간 동안 선처리한 후, TGF-β1 또는 PMA(Phorbol 12-myristate 13-acette) 자극을 세포와 약물을 포함한 각 well에 처리하였다. 30분 또는 48 시간 추가 배양 후, 활성산소종 생성 정도를 L-012(8-Amino-5-chloro-7-phenyl-2,3-dihydro-pyrido[3,4-d]pyridazine-1,4-dione) 또는 DCF-DA(2',7'-dichlorodihydrofluoresencein diacetate)를 사용하여 확인하였다.

[156] PMA 자극에 의해 유도된 활성산소종 생성은 화합물 1 처리에 의해 농도 의존적으로 억제되는 것을 확인하였다(도 1).

[157]

[158] **<실시예 2> 인간 폐섬유아세포에서 TGF-β1에 의해 유도된 aSMA 및 type I collagen의 발현 양상**

[159] 폐섬유아세포(lung fibroblast)의 근섬유세포(myofibroblast)로의 분화에 있어서, 화합물 1의 영향을 분석하기 위하여, 인간 폐섬유아세포(normal human lung fibroblast; NHLF, Lonza)를 대상으로 TGF-β1로 유도된 aSMA(α-smooth muscle actin) 및 콜라겐 I(collagen type I)의 발현 증가에 대한 화합물 1의 억제 효능을 관찰하였다. NHLF 세포는 배양배지(FGM-2 Bulletkit media, Lonza)에 현탁하여 4-well chamber slide(Nunc)에 $1x10^4$ 세포/well의 농도로 접종하였다.

[160] CO_2 배양기에서 24시간 배양한 후, 배지를 무혈청 배지로 교체하여 12시간 동안 추가 배양하였다. 이후, vehicle 및 2 mM의 화합물 1을 해당 well에 1시간 동안 선처리한 후 negative control(vehicle 그룹)을 제외한 각 well에 10 ng/㎖의 TGF-β1을 72시간 동안 처리하였다.

[161] 준비된 세포에서의 aSMA 및 콜라겐 I의 발현 확인은 다음과 같이 면역세포염색(immunocytochemistry)을 통해 수행하였다. 세포를 4% 파라포름알데하이드(paraformaldehyde)로 10분 동안 고정(fixation), 0.1% Triton X-100을 이용하여 투과(permeabilization)한 후, 1차 항체(anti-aSMA Ab, 1:200; anti-collagen I Ab, 1:500, 상온에서 3시간 반응) 및 2차 항체(Alexa-594 conjugated Ab, 1:1000, 상온에서 1시간 반응) 처리 과정을 순차적으로 진행한 후, aSMA와

콜라겐 I의 발현은 형광현미경을 사용하여 관찰하였다.

[162] 이때, aSMA 및 콜라겐 I의 발현 정도를 정량적으로 확인하기 위해, 각 필드 당 DAPI(세포 핵 염색 마커) 양성 세포와 aSMA 및 콜라겐 I 양성 세포수를 각각 계수한 후, 아래의 수식을 사용하여 aSMA 및 콜라겐 I 양성 세포수의 퍼센트를 산출함으로써 비교하였다.

[163] % aSMA(또는 콜라겐 I) positive cells/field

[164] = aSMA(또는 콜라겐 I) positive cells/DAPI positive cells x 100/field

[165]

[166] 도 2 및 도 3에 나타난 바와 같이, NHLF를 대상으로 10 ng/㎖ TGF-β1 처리 시 aSMA와 콜라겐 I의 발현이 대조군에 비해 유의하게 증가하였으며, 두 마커의 발현 증가는 화합물 1의 처리에 의해 현저히 억제됨이 관찰되었다.

[167] 이 결과를 통해, 화합물 1이 TGF-β1 처리로 유도된 폐섬유아세포의 근섬유세포로의 분화를 효과적으로 억제할 수 있음을 확인하였다(도 2 및 3 참조).

[168]

[169] **<실시예 3>LPS에 의해 유도된 IL-1β의 발현 변화 분석**

[170] 인간 폐섬유아세포(normal human lung fibroblast; NHLF, Lonza)에서 본 발명의 합성에 화합물의 염증반응에 대한 영향을 확인하기 위해 LPS 처리로 발현이 증가된 IL-1β가 화합물 1에 의해 발현이 억제되는지 관찰하였다.

[171] 6 well plate에 $2x10^5$ 수의 세포를 접종 후 24시간 배양한 뒤 serum이 없는 배양액에서 16시간 동안 추가 배양한 후에 각 조건에 맞게 화합물 1을 30분간 전처리하고 LPS로 6시간동안 염증반응을 유도시켰다. IL-1β의 발현은 RT-PCR를 이용하여 확인하였다. 세포로부터 RNeasy mini kit(Qiagen)을 이용하여 total RNA를 분리하고, 분리한 RNA 2ug을 PrimeScript™ II 1st strand cDNA synthesis kit(TaKaRa)를 이용하여 cDNA를 합성한 뒤 AccuPower® PCR PreMix (Bioneer)로 PCR을 수행하여 유전자를 증폭시켰다. Target primer에 대한 염기서열은 아래와 같다. IL-1β(forward: 5′-CCACAGACCTTCCAGGAGAATG-3′, reverse: 5′-GTGCAGTTCAGTGATCGTACAGG-3′); GAPDH(forward: 5′-GTGGCTGGCTCAGAAAAAGG-3′, reverse: 5′-GGTGGTCCAGGGGTCTTACT-3′); β-actin(forward: 5′-CACCATTGGCAATGAGCGGTTC-3', reverse: 5′-AGGTCTTTGCGGATGTCCACGT-3'. PCR 산물은 1.5% agarose gel에서 전기영동하여 확인하였다.

[172] 실험 결과, 도 4에서 확인할 수 있듯, LPS로 유도된 IL-1β는 화합물 1 처리에 의해 농도 의존적으로 효과적으로 억제됨이 관찰되었다(도 4 참조).

[173]

[174] **<실시예 4> 블레오마이신 유도 폐섬유증 마우스 모델에서 폐섬유증 치료 효과 확인**

[175] 블레오마이신 유도 폐섬유증 마우스 모델은 5주령, 체중 20 g 전 후의 C57BL/6J계 수컷 마우스를 사용하였다. C57BL/6J 마우스에 펜토바르비탈(pentobarbital, 40 ㎎/㎏)을 복강 내 주사하여 마취시킨 상태에서 전경부의 피부를 절개하고 개창기로 기관을 노출시킨 다음 후두부측에서 폐의 방향으로 micro syringe를 삽입하여 호흡의 상태를 확인하면서 블레오마이신(bleomycin; 2 ㎎/㎏)을 천천히 투여하였다. 주입 직후 절개한 전경부의 피부를 봉합 후 항온(22~26℃) 항습(55~60%)의 무균 동물실에서 사육하였다. 이 방법에 의해, 통상 3주 처리 후 폐에 현저한 섬유화가 발생하였다.

[176] 실험동물은 각 군당 7마리씩으로 증류수를 경구 투여한 대조군(Control), 블레오마이신으로 폐섬유화를 유발시킨 군(BLM), 블레오마이신을 투여하고 3주 후 양성대조군으로서 100 ㎎/㎏의 닌테다닙(nintedanib)을 매일 경구투여 한 실험군(BLM + Nintedanib), 및 블레오마이신을 투여하고 3주 후 60 ㎎/㎏의 화합물 1을 매일 경구투여 한 실험군(BLM + 화합물 1)으로 나누어 실험을 진행하였다.

[177] 닌테다닙과 화합물 1은 28일간 1일 1회 경구투여 하였다. 닌테다닙 혹은 화합물 1의 마지막 투여 다음날 각각의 동물을 마취한 후 심장천자법으로 채혈 후 희생하였다.

[178] 조직병리학적 검사를 위하여 모든 동물에 대하여 폐 조직을 적출하였다. 적출한 폐 조직은 10% 중성 포르말린(neutral buffered formalin, NBF)에 고정하였다. 고정된 폐 조직은 파라핀으로 포매하고, 4 ㎛ 두께로 박절하여 조직 슬라이드를 제작하였다.

[179] 상기 조직 슬라이드는 세포 염색인 Hematoxylin & Eosin(H&E) 염색과 섬유화 확인을 위한 Masson's trichrome(MT) 염색을 실시하였다. 제작된 조직 슬라이드에 대한 조직병리학적 검사는 광학현미경(Carl Zeiss, Oberkochen, Germany)을 이용하여 확인하였다. 섬유증의 심각도는 반정량적 조직병리학적 스코어링인 개선된 애쉬크로프트 점수(modified Ashcroft scale)로 평가하였다.

[180] 면역 조직화학적 염색은, 앞에서 제작한 조직 슬라이드를 탈-파라핀(Paraffin)화 한 후 토끼 항 α-SMA(smooth muscle actin) 항체, 또는 토끼 항 콜라겐 타입 1(collagen type I) 항체를 1차 항체로 사용하였으며, Vectastatin ABC kit(Vector Laboratories, Inc, Burlingame, CA)을 사용하여 각 항체와 반응한 항원에 대한 발현을 확인하였다.

[181] Peroxidase의 기질로 3,3'-diaminobenzidine(DAB)을 사용하여 5분간 반응시킨 후 광학현미경으로 400배율 시야에서 관찰하였다. 염색 결과 판독은 세포질에 전체적으로 또는 부분적으로 붉은 갈색으로 착색이 되면 면역반응이 있는 것으로 보고 양성으로 판독하였다.

[182] 실험결과는 SPSS ver. 22.0 통계 프로그램(SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 평균과 표준 편차를 구하였으며, 실험군간의 차이의 유의성은 student

t-test에 의하여 $p<0.05$ 수준에서 검증하였다.

[183] H&E 염색법을 통한 조직학적 분석결과, 블레오마이신으로 폐섬유화를 유발시킨 실험군(BLM), 닌테다닙(Nintedanib)을 투여한 양성대조군(BLM + Nintedanib), 화합물 1 투여군(BLM + 화합물1) 중 화합물 1 투여군(BLM + 화합물1)에서 폐포(alveolar) 및 세기관지(bronchiole)에 염증세포의 침투 정도가 실험군 및 양성대조군에 비해서 현저하게 낮은 것을 확인하였다. 또한 비대화된 상피세포 감소, 폐 구조 변형의 저하 및 비정상적인 조직 침착 부위가 감소되었음을 확인하였다(도 5 참조).

[184] 도 6에서는 폐 섬유화에 특이적인 Masson's trichrome(MT) 염색법을 통해 블레오마이신으로 폐섬유화를 유발시킨 실험군(BLM)과 닌테다닙을 투여한 양성대조군(BLM + Nintedanib) 대비 화합물 1 투여군(BLM + 화합물1)에서의 폐섬유화 정도를 분석하였다. 그 결과 화합물 1 투여군(BLM + 화합물1)에서 실험군 및 양성대조군 대비, 섬유화 영역의 크기 및 섬유화에 의한 콜라겐 침착이 현저하게 감소된 것을 확인되었다.

[185] 도 7 및 8에서는 블레오마이신으로 폐섬유화를 유발시킨 실험군(BLM) 과 닌테다닙을 투여한 양성대조군(BLM + Nintedanib) 대비 화합물 1 투여군(BLM + 화합물1)에서 α-SMA 발현이 감소한 것을 확인할 수 있고(도 7), 콜라겐 I(Collagen Type I) 발현 역시 실험군(BLM) 및 양성대조군(BLM + Nintedanib) 대비 화합물 1 투여군(BLM + 화합물1)에서 현저하게 감소된 것을 확인하였다(도 8).

[186] 종합적으로 위 조직학적, 면역학적 결과들을 바탕으로, 폐 섬유화 조직분석 분야에서 널리 사용되는 개선된 애쉬크로프트 점수(modified Ashcroft scale)로 정량화하여 음성대조군(control), 실험군(BLM), 양성대조군(BLM + Nintedanib) 대비 화합물 1 투여군(BLM + 화합물1) 각각의 폐섬유증의 심각도를 평가하였다.

[187] 도 9에 나타난 바와 같이 정상소견을 보이는 음성대조군(PBS)에서는 점수가 0이었으며, 블레오마이신에 의하여 폐섬유화를 유발시킨 실험군(BLM)은 5.5±0.8이었다. 닌테다닙을 투여한 양성대조군(BLM + Nintedanib)의 개선된 애쉬크로프트 점수는 5.2±0.45로 감소하였고, 화합물 1이 투여된 실험군(BLM + 화합물1)에서의 개선된 애쉬크로프트 점수는 4.0±1.1으로서 본 발명의 화합물이 기존의 특발성 폐섬유증의 치료제로 사용되던 닌테다닙에 비하여 효과적으로 폐섬유증을 개선하는 것으로 확인되었다.

[188]

[189] **<실시예 5> 인간폐 상피세포에서 바이러스 억제 효과 확인**

[190] 합성예 화합물의 항바이러스능을 분석하기 위해 중증급성 호흡기 증후군 코로나바이러스 2(Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2; SARS-CoV-2)와 인간 폐 상피세포인 Calu-3 세포를 사용하여 real time qRT-PCR(quantitative RT-PCR)로 분석하였다. 인간 폐 상피세포(Calu-3)를 DMEM(dulbecco modified eagle medium) 배지하에 37℃, 5% CO_2에서 배양하였다.

화합물 1의 농도는 15, 12.5, 6.25, 3.125, 1.563, 0.781, 0.391, 0.195, 0.098, 0.049, 0.024, 0.012 μM의 농도로 하였다. 농도별로 세포에 처리 후 24시간, 48시간째 약물 농도에 따른 항바이러스 효능(IC_{50}; 50% inhibition concentration)과 세포에 미치는 독성(CC_{50}; 50% cytotoxic concentration)을 측정하여 표 1 및 도 10에 나타내었다.

[191] [표1]

시간(H)	CC_{50}	IC_{50}	SI
24	435	31.53	13.80
48	164.5	1.67	98.50

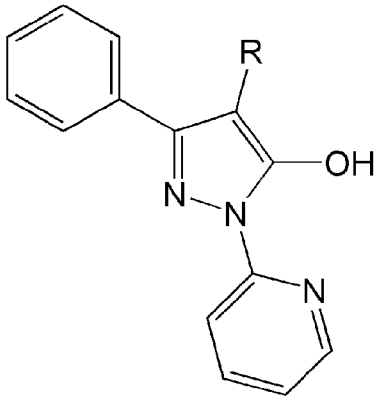
[192] 표 1 및 도 10에서 알 수 있듯이, 항바이러스 효능은 48시간에 IC_{50} 1.67 μM을 나타내었고, 세포독성은 48시간에 CC_{50} 164.5 μM로서 매우 낮은 세포독성을 나타내었다. 따라서 화합물 1이 SARS-CoV-2의 복제를 저해할 수 있음을 확인하였고, 세포독성은 매우 낮은 약물임을 확인하였다.

[193]

청구범위

[청구항 1] 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는, 폐섬유증 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

<화학식 1>



(상기 화학식 1에서, R은 탄소수 1 내지 10의 직쇄형 또는 분쇄형 알킬기이다)

[청구항 2] 제1항에 있어서,
상기 화학식 1은 R이 탄소수 1 내지 6의 직쇄형 또는 분쇄형 알킬기인, 약학적 조성물.

[청구항 3] 제2항에 있어서,
상기 화학식 1은
3-페닐-4-메틸-1-(피리딘-2-일)-1*H*-피라졸-5-올 또는 이의 염산염;
3-페닐-4-에틸-1-(피리딘-2-일)-1*H*-피라졸-5-올 또는 이의 염산염;
3-페닐-4-노말프로필-1-(피리딘-2-일)-1*H*-피라졸-5-올 또는 이의 염산염;
3-페닐-4-아이소프로필-1-(피리딘-2-일)-1*H*-피라졸-5-올 또는 이의 염산염;
3-페닐-4-노말부틸-1-(피리딘-2-일)-1*H*-피라졸-5-올 또는 이의 염산염;
3-페닐-4-*tert*-부틸-1-(피리딘-2-일)-1*H*-피라졸-5-올 또는 이의 염산염;
3-페닐-4-노말펜틸-1-(피리딘-2-일)-1*H*-피라졸-5-올 또는 이의 염산염;
또는,
3-페닐-4-노말헥실-1-(피리딘-2-일)-1*H*-피라졸-5-올 또는 이의 염산염인, 약학적 조성물.

[청구항 4] 제3항에 있어서,
상기 화학식 1은 3-페닐-4-노말프로필-1-(피리딘-2-일)-1*H*-피라졸-5-올 또는 이의 염산염인, 약학적 조성물.

[청구항 5] 제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 폐섬유증은 폐염증성 섬유화 질환, 만성 폐쇄성 폐섬유증(chronic obstructive pulmonary disease combined pulmonary fibrosis; COPD combined

pulmonary fibrosis), 특발성 폐섬유증(idiopathic pulmonary fibrosis; IPF) 또는 천식에 의해 유발되는 것인, 약학적 조성물.

[청구항 6] 제5항에 있어서,
상기 폐염증성 섬유화 질환은 바이러스성 폐렴(viral pneumonia), 박테리아성 폐렴(bacterial pneumonia), 진균성 폐렴, 마이코플라즘성 폐렴(mycoplasmal pneumonia), 과민성 폐렴(hypersensitivity pneumonitis), 흡입성 폐렴(aspiration pneumonia), 간질성 폐렴(interstitial pulmonary disease), 진폐증(pneumoconiosis)중에서 어느 한 종 또는 이의 조합에 의해 유발되는 것인, 약학적 조성물.

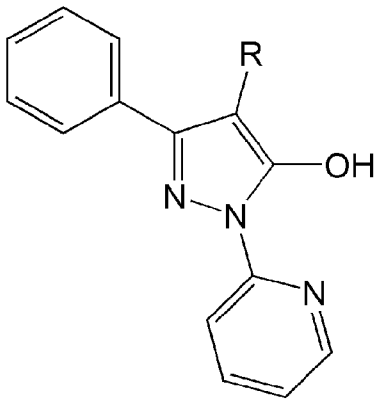
[청구항 7] 제5항에 있어서,
상기 바이러스성 폐렴은 아데노바이러스(adenovirus), 백시니아 바이러스(vaccinia virus), 헤르페스 단순 바이러스(herpes simplex virus), 파라인플루엔자 바이러스(parainfluenza virus), 라이노 바이러스(rhinovirus), 수두 바이러스(varicella Zoster Virus) , 홍역 바이러스(measle virus), 호흡기 세포융합 바이러스(respiratory syncytial virus), 뎅기바이러스(Dengue virus), HIV(human immunodeficiency virus), 인플루엔자 바이러스, 코로나바이러스(coronavirus), 중증급성 호흡기 증후군 코로나 바이러스 2(severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2; SARS-CoV2), 중동 호흡기 증후군 코로나바이러스(middle east respiratory syndrome coronavirus; MERS-CoV) 또는 이들 바이러스의 변종 바이러스에서 선택되는 바이러스에 의한 것인, 약학적 조성물.

[청구항 8] 제5항에 있어서,
상기 폐섬유증은 특발성 폐섬유증에 의한 것인, 약학적 조성물.

[청구항 9] 제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 약학적 조성물은 약학적으로 허용가능한 담체 또는 부형제를 추가적으로 포함하는 것인, 약학적 조성물.

[청구항 10] 제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 화학식 1의 화합물은 제2치료제와 함께 사용되고, 상기 제2치료제는 항생제, 항진균제, 항바이러스제, 항염증제, 또는 이들의 임의의 조합인, 약학적 조성물.

[청구항 11] 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는, 항바이러스제.
<화학식 1>



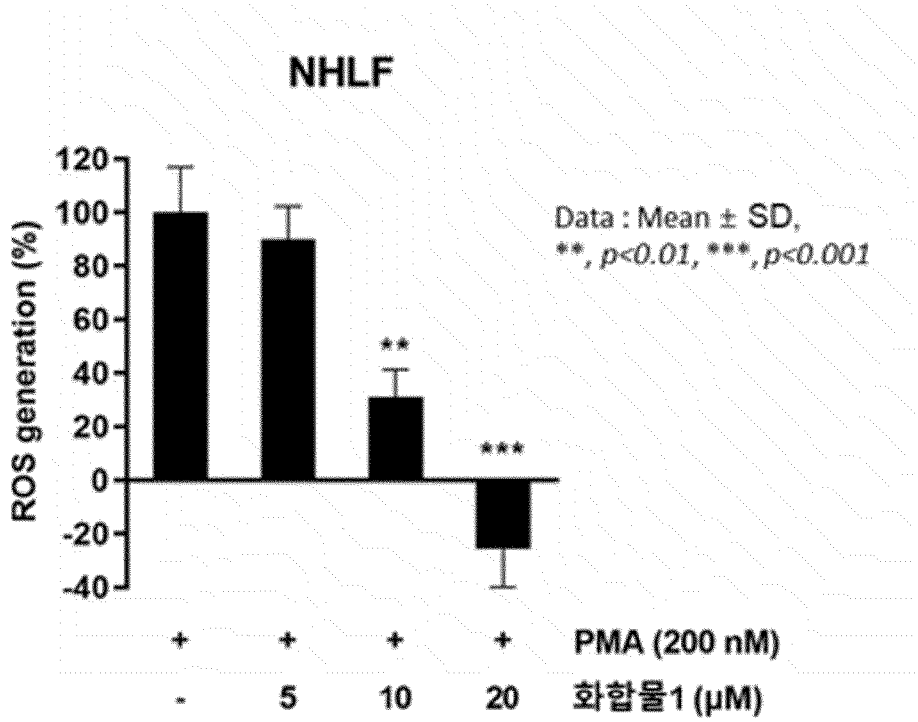
(상기 화학식 1에서, R은 탄소수 1 내지 10의 직쇄형 또는 분쇄형 알킬기이다)

[청구항 12] 제11항에 있어서,
상기 화학식 1은 R이 탄소수 1 내지 6의 직쇄형 또는 분쇄형 알킬기인, 항바이러스제.

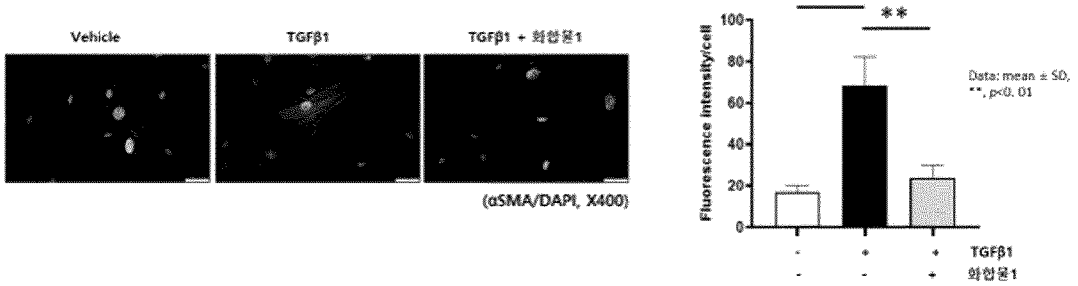
[청구항 13] 제12항에 있어서,
상기 화학식 1은
3-페닐-4-메틸-1-(피리딘-2-일)-1*H*-피라졸-5-올 또는 이의 염산염;
3-페닐-4-에틸-1-(피리딘-2-일)-1*H*-피라졸-5-올 또는 이의 염산염;
3-페닐-4-노말프로필-1-(피리딘-2-일)-1*H*-피라졸-5-올 또는 이의 염산염;
3-페닐-4-아이소프로필-1-(피리딘-2-일)-1*H*-피라졸-5-올 또는 이의 염산염;
3-페닐-4-노말부틸-1-(피리딘-2-일)-1*H*-피라졸-5-올 또는 이의 염산염;
3-페닐-4-*tert*-부틸-1-(피리딘-2-일)-1*H*-피라졸-5-올 또는 이의 염산염;
3-페닐-4-노말펜틸-1-(피리딘-2-일)-1*H*-피라졸-5-올 또는 이의 염산염;
또는,
3-페닐-4-노말헥실-1-(피리딘-2-일)-1*H*-피라졸-5-올 또는 이의 염산염인, 항바이러스제.

[청구항 14] 제13항에 있어서,
상기 화학식 1은 3-페닐-4-노말프로필-1-(피리딘-2-일)-1*H*-피라졸-5-올 또는 이의 염산염인, 항바이러스제.

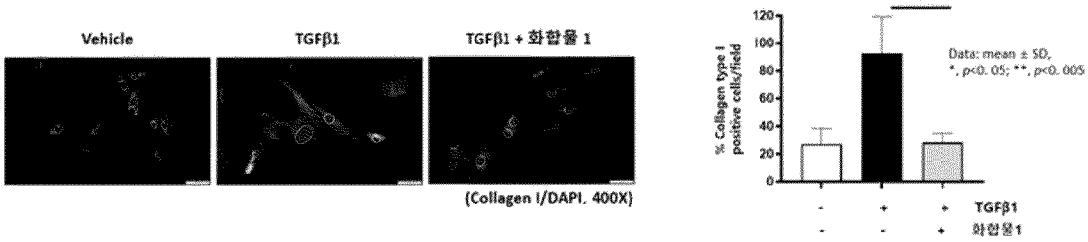
[도1]


NHLF
ROS generation (%)
120
100
80
60
40
20
0
-20
-40
**
***
Data : Mean ± SD,
**, p<0.01, ***, p<0.001
+ + + + PMA (200 nM)
- 5 10 20 화합물1 (μM)

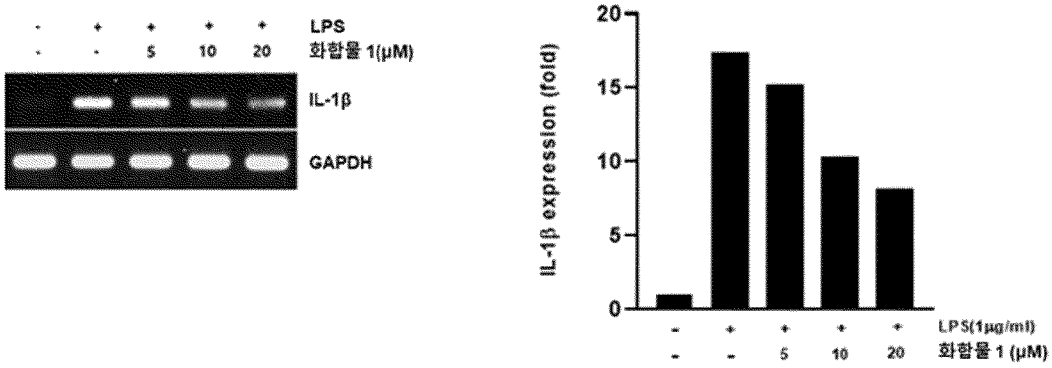
[도2]


Vehicle
TGFβ1
TGFβ1 + 화합물1
(αSMA/DAPI, X400)
**
**
Fluorescence intensity/cell
Data: mean ± SD,
**, p<0. 01
TGFβ1
화합물1

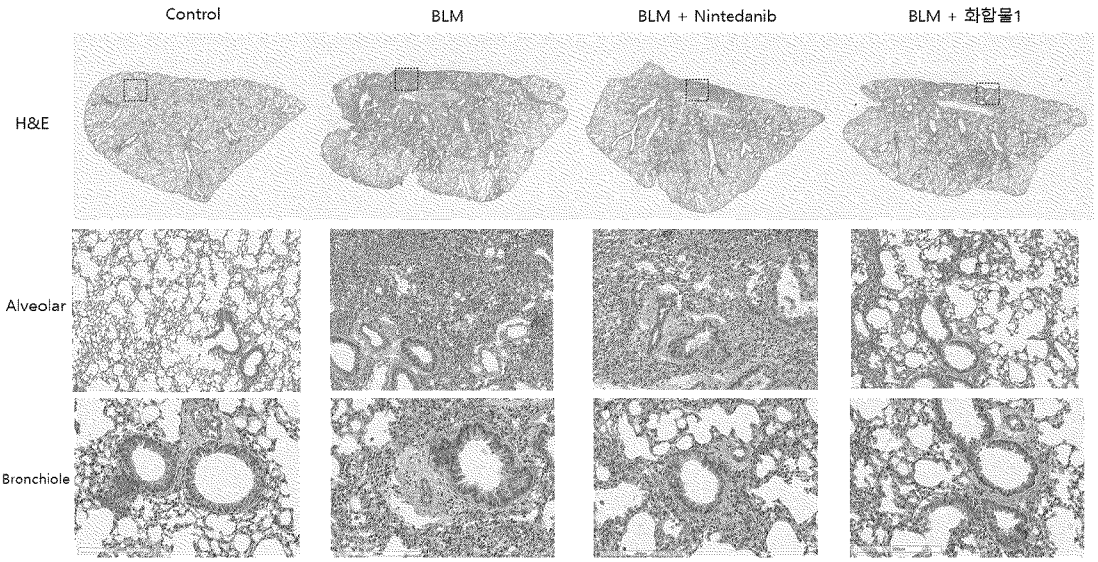
[도3]


Vehicle
TGFβ1
TGFβ1 + 화합물 1
(Collagen I/DAPI. 400X)
**
*
% Collagen type I positive cells/field
Data: mean ± SD,
*, p<0. 05; **, p<0. 005
TGFβ1
화합물1

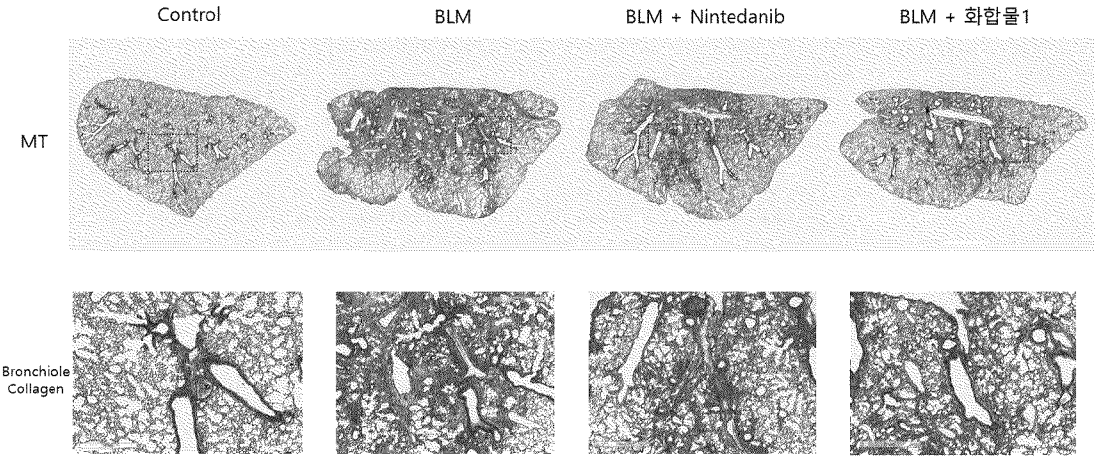
[도4]


- + + + + LPS
- - 5 10 20 화합물 1(μM)
IL-1β
GAPDH
IL-1β expression (fold)
20
15
10
5
0
LPS(1μg/ml)
화합물 1 (μM)

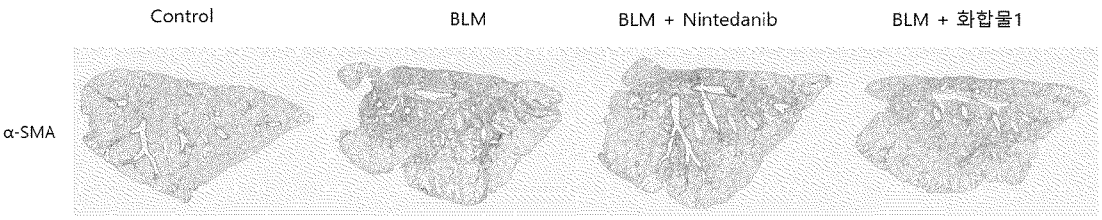
[도5]


Control
BLM
BLM + Nintedanib
BLM + 화합물1
H&E
Alveolar
Bronchiole

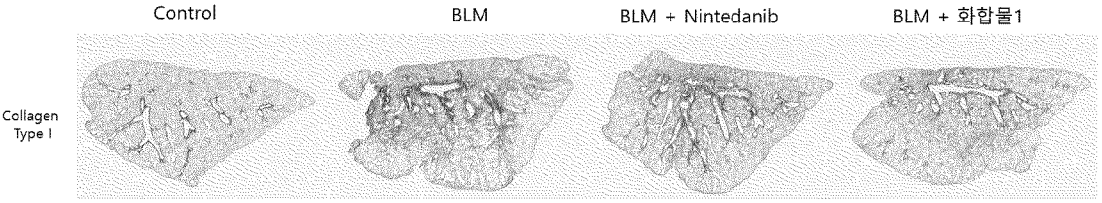
[도6]


Control
BLM
BLM + Nintedanib
BLM + 화합물1
MT
Bronchiole Collagen

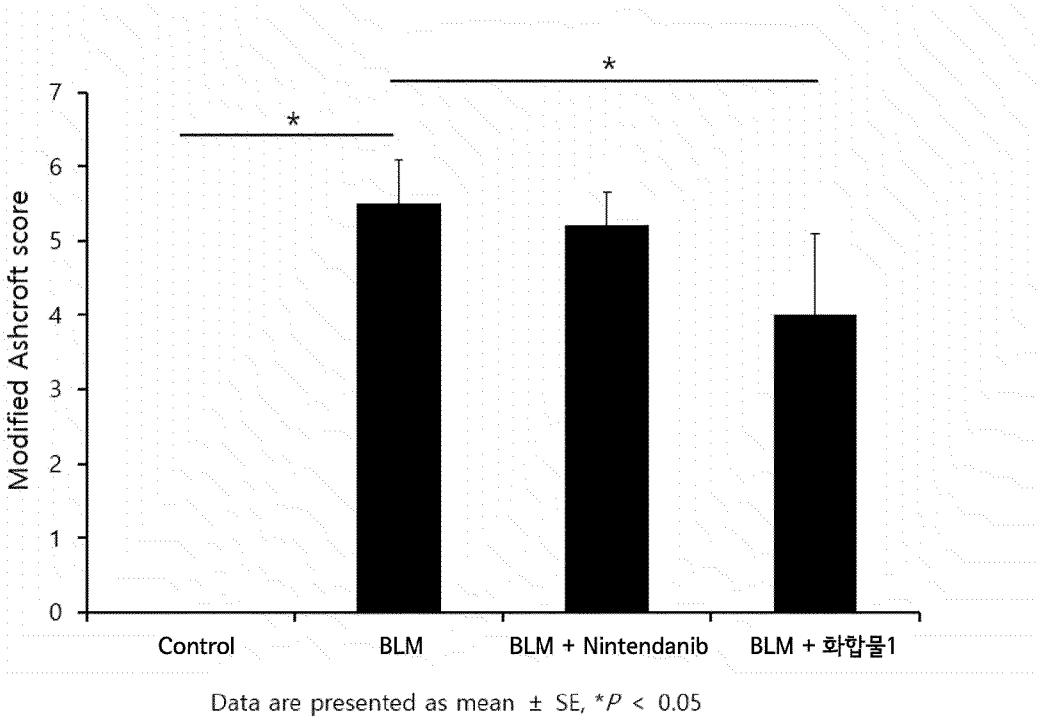
[도7]


Control
BLM
BLM + Nintedanib
BLM + 화합물1
α-SMA

[도8]

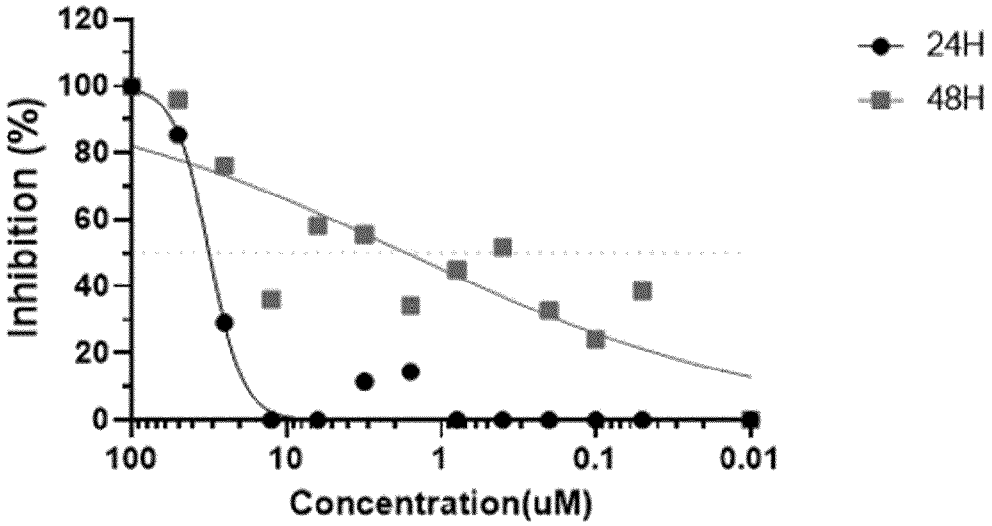

Control
BLM
BLM + Nintedanib
BLM + 화합물1
Collagen Type I

[도9]



Data are presented as mean ± SE, *P < 0.05

[도10]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/KR2021/003537

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 31/4439(2006.01)i; **A61P 11/00**(2006.01)i; **A61P 43/00**(2006.01)i; **A61P 31/00**(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K 31/4439(2006.01); A61K 31/41(2006.01); A61K 31/415(2006.01); A61K 31/4155(2006.01); A61K 9/00(2006.01); C07D 405/14(2006.01)

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Korean utility models and applications for utility models: IPC as above
Japanese utility models and applications for utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal) & keywords: 3-phenyl-4-propyl-1-(pyridin-2-yl)-1H-pyrazol-5-ol hydrochloride, 폐섬유증 (pulmonary fibrosis), 항바이러스(antiviral)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	HONG, Seung-Woo et al. APX-115A, a pan-NADPH Oxidase Inhibitor, Induces Caspase-dependent Cell Death by Suppressing NOX4-ROS Signaling in EBV-infected Retinal Epithelial Cells. Current Eye Research. 2020, vol. 45, no. 9, pp. 1136-1143(published online: 04 February 2020). See abstract, page 1142 and Figures 3-5.	11-14
A		1-10
A	KR 10-2004-0094464 A (EWHA HAKDANG INCOPORATED EDUCATIONAL INSTITUTION et al.) 10 November 2004 (2004-11-10) See paragraphs [0010] and [0047] and claims 1 and 6.	1-14
A	KR 10-2013-0010708 A (INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION, YONSEI UNIVERSITY et al.) 29 January 2013 (2013-01-29) See paragraphs [0024]-[0027] and claims 1-4.	1-14
A	KR 10-1840702 B1 (APTABIO THERAPEUTICS INC.) 22 March 2018 (2018-03-22) See paragraph [0021] and claims 1-10.	1-14

☑ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☑ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"D" document cited by the applicant in the international application
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
19 July 2021	**19 July 2021**
Name and mailing address of the ISA/KR **Korean Intellectual Property Office** **Government Complex-Daejeon Building 4, 189 Cheongsa-ro, Seo-gu, Daejeon 35208** Facsimile No. **+82-42-481-8578**	Authorized officer Telephone No.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	KR 10-2014-0027833 A (EWHA UNIVERSITY - INDUSTRY COLLABORATION FOUNDATION) 07 March 2014 (2014-03-07) See claims 1-4.	1-14

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/KR2021/003537

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
KR 10-2004-0094464 A	10 November 2004	None	
KR 10-2013-0010708 A	29 January 2013	KR 10-1302315 B1	30 August 2013
KR 10-1840702 B1	22 March 2018	AU 2018-358496 A1	08 August 2019
		AU 2018-358496 A1	09 May 2019
		AU 2018-358496 B2	10 December 2020
		BR 112019015715 A2	24 March 2020
		CA 3050865 A1	09 May 2019
		CL 2019002172 A1	25 October 2019
		CN 110248659 A	17 September 2019
		CO 2019008053 A2	21 October 2019
		EP 3573617 A1	04 December 2019
		JP 2020-506917 A	05 March 2020
		JP 6812564 B2	13 January 2021
		MX 2019008870 A	20 January 2020
		RU 2723686 C1	17 June 2020
		US 10966969 B2	06 April 2021
		US 2020-0390752 A1	17 December 2020
		WO 2019-088444 A1	09 May 2019
KR 10-2014-0027833 A	07 March 2014	CN 104755077 A	01 July 2015
		CN 104755077 B	15 May 2018
		EP 2889032 A1	01 July 2015
		EP 2889032 B1	08 May 2019
		ES 2734264 T3	05 December 2019
		JP 2015-531774 A	05 November 2015
		JP 5974180 B2	23 August 2016
		KR 10-1633957 B1	27 June 2016
		PL 2889032 T3	30 September 2019
		TR 201909923 T4	22 July 2019
		US 10047067 B2	14 August 2018
		US 2015-0218125 A1	06 August 2015
		WO 2014-035070 A1	06 March 2014

국 제 조 사 보 고 서

국제출원번호
PCT/KR2021/003537

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

A61K 31/4439(2006.01)i; **A61P 11/00**(2006.01)i; **A61P 43/00**(2006.01)i; **A61P 31/00**(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

A61K 31/4439(2006.01); A61K 31/41(2006.01); A61K 31/415(2006.01); A61K 31/4155(2006.01); A61K 9/00(2006.01); C07D 405/14(2006.01)

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌

한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC
일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))

eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 3-phenyl-4-propyl-1-(pyridin-2-yl)-1H-pyrazol-5-ol hydrochloride, 폐섬유증(pulmonary fibrosis), 항바이러스(antiviral)

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X	HONG, SEUNG-WOO 등, APX-115A, a pan-NADPH Oxidase Inhibitor, Induces Caspase-dependent Cell Death by Suppressing NOX4-ROS Signaling in EBV-infected Retinal Epithelial Cells, Current Eye Research, 2020년, 45권, 9호, 페이지 1136-1143(온라인 공개: 2020.02.04) 요약, 페이지 1142 및 Fig. 3-5	11-14
A		1-10
A	KR 10-2004-0094464 A (학교법인 이화학당 등) 2004.11.10 단락 [0010], [0047] 및 청구항 1, 6	1-14
A	KR 10-2013-0010708 A (연세대학교 산학협력단 등) 2013.01.29 단락 [0024]-[0027] 및 청구항 1-4	1-14
A	KR 10-1840702 B1 (압타바이오 주식회사) 2018.03.22 단락 [0021] 및 청구항 1-10	1-14
A	KR 10-2014-0027833 A (이화여자대학교 산학협력단) 2014.03.07 청구항 1-4	1-14

☐ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다.

☑ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:

"A" 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌
"D" 본 국제출원에서 출원인이 인용한 문헌
"E" 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌
"L" 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌
"O" 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌
"P" 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌
"T" 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌
"X" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.
"Y" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.
"&" 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

국제조사의 실제 완료일	국제조사보고서 발송일
2021년07월19일(19.07.2021)	**2021년07월19일(19.07.2021)**

ISA/KR의 명칭 및 우편주소	심사관
대한민국 특허청 **(35208) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사)**	정다원
팩스 번호 **+82-42-481-8578**	전화번호 **+82-42-481-5373**

서식 PCT/ISA/210 (두 번째 용지) (2019년 7월)

국 제 조 사 보 고 서
대응특허에 관한 정보

국제출원번호
PCT/KR2021/003537

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2004-0094464 A	2004/11/10	없음	
KR 10-2013-0010708 A	2013/01/29	KR 10-1302315 B1	2013/08/30
KR 10-1840702 B1	2018/03/22	AU 2018-358496 A1	2019/08/08
		AU 2018-358496 A1	2019/05/09
		AU 2018-358496 B2	2020/12/10
		BR 112019015715 A2	2020/03/24
		CA 3050865 A1	2019/05/09
		CL 2019002172 A1	2019/10/25
		CN 110248659 A	2019/09/17
		CO 2019008053 A2	2019/10/21
		EP 3573617 A1	2019/12/04
		JP 2020-506917 A	2020/03/05
		JP 6812564 B2	2021/01/13
		MX 2019008870 A	2020/01/20
		RU 2723686 C1	2020/06/17
		US 10966969 B2	2021/04/06
		US 2020-0390752 A1	2020/12/17
		WO 2019-088444 A1	2019/05/09
KR 10-2014-0027833 A	2014/03/07	CN 104755077 A	2015/07/01
		CN 104755077 B	2018/05/15
		EP 2889032 A1	2015/07/01
		EP 2889032 B1	2019/05/08
		ES 2734264 T3	2019/12/05
		JP 2015-531774 A	2015/11/05
		JP 5974180 B2	2016/08/23
		KR 10-1633957 B1	2016/06/27
		PL 2889032 T3	2019/09/30
		TR 201909923 T4	2019/07/22
		US 10047067 B2	2018/08/14
		US 2015-0218125 A1	2015/08/06
		WO 2014-035070 A1	2014/03/06