



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0053639
(43) 공개일자 2020년05월18일

- | | |
|---|---|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 211/88 (2006.01) A61K 31/45 (2006.01)
A61K 31/454 (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
C07D 211/88 (2013.01)
A61K 31/45 (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2020-7013125(분할)</p> <p>(22) 출원일자(국제) 2014년11월12일
심사청구일자 없음</p> <p>(62) 원출원 특허 10-2016-7013675
원출원일자(국제) 2014년11월12일
심사청구일자 2019년10월17일</p> <p>(85) 번역문제출일자 2020년05월07일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/RU2014/000855</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2015/072893
국제공개일자 2015년05월21일</p> <p>(30) 우선권주장
2013150861 2013년11월14일 러시아(RU)</p> | <p>(71) 출원인
오브세스트보 에스 오그라니첸노이 오토베트스트
벤노스티주 “파름엔터프라이즈”
러시아, 143026, 모스크바, 스콜코보 이노베이션
센터, 사무실 771, 772, 빌딩 1, 볼쇼이 블루바드
42</p> <p>(72) 발명자
네볼린, 블라디미르 에브제니에비치
러시아 페테레이션, 모스크바 113648, 세베르노
이 체르타노보 4-403-249
크로모바, 타치아나 알렉산드로브나
러시아, 248010, 칼루가, 17-60, 울. 빌리비나
(뒷면에 계속)</p> <p>(74) 대리인
이건주, 김정훈</p> |
|---|---|

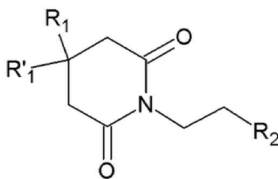
전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 발명의 명칭 글루타르이미드 유도체를 포함하는 약학적 조성물 및 호산구성 질병 치료에 있어서의 그 용도

(57) 요약

본 발명은 일반식 (I)의 글루타르이미드 유도체 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염의 신규한 생물학적 활성과, 호산구성 질병, 바람직하게는 특히 기관지 천식, 알레르기성 비염, 폴립성 부비동염증, 호산구성 대장염, 호산구성 증후군, 알레르기성 결막염, 아토피성 피부염, 처그-스트라우스 증후군, 아나필락시스 쇼크(anaphylactic shock), 퀴케 부종(Quincke's edema), 호산구성 맥관염, 호산구성 식도염, 호산구성 위장염 및 섬유증 등과 같은 알레르기성 증상의 치료를 위한 치료제로서의 용도에 관한 것이다. 본 발명은 또한 일반식 (I)의 글루타르이미드 유도체를 포함하는 약학적 조성물에 관한 것이다:

[일반식 (I)]



(52) CPC특허분류

A61K 31/454 (2013.01)

(72) 발명자

리들로프스카야, 아나스타샤 블라디미로브나

러시아, 198255, 상트 페테르부르크, 35/1-27, 올.
투르빈나야

추찰린, 알렉산드르 그리고리예비치

러시아, 119454, 모스크바, 30-90, 올. 우달리초바

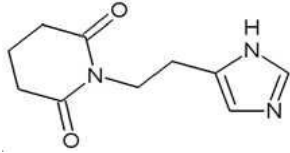
명세서

청구범위

청구항 1

호산구성 질병의 치료를 위한 치료제로서,

상기 치료제가 하기 일반식 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염인 화합물인 치료제:



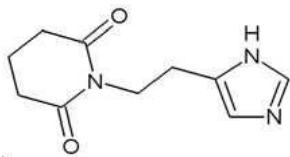
청구항 2

제 1 항에 있어서,

상기 호산구성 질병은 기관지 천식, 알레르기성 비염, 폴립성 부비동염증(polypous rhinosinusopathy), 호산구성 대장염, 호산구성 증후군, 알레르기성 결막염, 아토피성 피부염, 처그-스트라우스 증후군(Churg-Strauss syndrome), 아나필락시스 쇼크(anaphylactic shock), 퀴케 부종(Quincke's edema), 호산구성 맥관염, 호산구성 식도염, 호산구성 위장염 또는 섬유증인 치료제.

청구항 3

하기 일반식의 화합물 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염 유효량과 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는, 호산구성 질병의 치료를 위한 약학적 조성물:



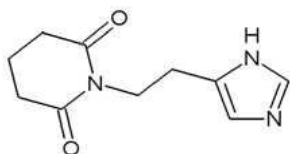
청구항 4

제 3 항에 있어서,

상기 호산구성 질병은 기관지 천식, 알레르기성 비염, 폴립성 부비동염증, 호산구성 대장염, 호산구성 증후군, 알레르기성 결막염, 아토피성 피부염, 처그-스트라우스 증후군, 아나필락시스 쇼크, 퀴케 부종, 호산구성 맥관염, 호산구성 식도염, 호산구성 위장염 또는 섬유증인 약학적 조성물.

청구항 5

하기 일반식의 화합물 또는 그의 약학적으로 허용되는 염 유효량을 투여하는 단계를 포함하는, 호산구성 질병을 치료하기 위한 방법:



청구항 6

제 5 항에 있어서,

상기 호산구성 질병은 기관지 천식, 알레르기성 비염, 폴립성 부비동염증, 호산구성 대장염, 호산구성 증후군, 알레르기성 결막염, 아토피성 피부염, 처그-스트라우스 증후군, 아나필락시스 쇼크, 퀴케 부종, 호산구성 맥관

염, 호산구성 식도염, 호산구성 위장염 또는 섬유증인 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 호산구성 질병(eosinophilic diseases)의 치료를 위한 생물학적 활성의 글루타르이미드 유도체 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염의 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 호산구는 선천적 면역 세포이다. 이들은 골수에서 생산되어 바람직하게는 혈액과 함께 순환한다. 호산구의 주요 유효 기능은 다양한 자극에 의한 활성화에 의하여 세포질 과립(cytoplasmic granules)을 즉각적으로 방출하는 것이다. 세포질 과립은 전-염증 매개체(pro-inflammatory mediators), 즉 사이토카인, 케모카인, 지질- 및 신경 매개체(neuromediator), 성장인자, 및 양이온성 단백질을 포함한다. 호산구의 양이온성 단백질은: 주요기초단백질(MBP), 호산구 과산화효소(EPO), 호산구 양이온성 단백질(ECP), 및 호산구-유래 신경독(EDN)의 4 종류를 포함한다.

[0003] 조합 하에 이러한 단백질들은 숙주의 감염된 미세기관들 및 조직들 모두에 세포독 작용을 가져, 호산구성 염증을 일으킨다[Hogan SP, Rosenberg HF, Moqbel R, et al. Eosinophils: biological properties and role in health and disease//Clin Exp Allergy. 2008; 38(5):709-50].

[0004] 혈액 내의 호산구 수는 보통 $0.02-0.3 \times 10^9/L$, 또는 전체 백혈구의 0.5 내지 5 %이다. 정상 레벨에 비해 혈액 내의 호산구 수가 증가한 것이 호산구 증가증(eosinophilia)이다. 과다 호산구 증가증 또는 대량 호산구 증가증은 혈액 내의 호산구 수가 15% 이상인 상태를 말하는데, 통상 백혈구의 수가 증가할 때이다[Hoffman R, Benz Jr. EJ, Shattil SJ, et al., eds. Hematology: Basic Principles and Practice. 4th ed. Philadelphia, Pa: Churchill Livingstone; 2005:768].

[0005] 혈액 및 조직 내의 호산구 레벨의 증가는 다양한 병인 및 발병기전의 질병을 동반한다. 여기에는 기생성 침습(parasitic invasions); 천식, 비염, 코 폴립(nasal polyps), 호산구성 대장염, 호산구성 증후군, 알레르기성 결막염 및 아토피성 피부염과 같은 넓은 범위의 알레르기성 질병; 류마티스성 질병(류마티스 관절염, 미만성 호산구성 근막염(diffuse eosinophilic fasciitis), 처그-스트라우스 증후군(Churg-Strauss syndrome), 결절성 동맥주위염(nodular periarteritis)); 및 병인이 불명확한 발병기전(호산구성 식도염(eosinophilic esophagitis), 호산구성 위장염(eosinophilic gastroenteritis)) 등이 포함된다[Blanchard C, Rothenberg ME. Biology of the eosinophil// Adv Immunol. 2009; 101:81-121].

[0006] 알레르기성 질병 가운데 기관지 천식은 만성 염증성 기도 질병으로서 간헐적 기도 폐색, 호흡기관의 염증, 및 비특이적 알레르기 항원에 대한 기관지의 과민반응이 특징이며, 의학적으로 가장 중요한 질병이다.

[0007] 호산구가 천식에서의 알레르기 반응의 중요한 성분이라는 증거는 매우 많다. 비만세포에서 분비되는 IL-3 및 IL-5에 의해 폐 내에 호산구가 축적되고, 이어서 이러한 세포들이 활성화되면서 LTC₄, 호산구 양이온성 단백질, 주요기초단백질, 신경독, 호산구 과산화효소(EPO), 전환성장인자, 및 자유 라디칼의 방출이 수반된다[Blanchard C, Rothenberg ME. Biology of the eosinophil// Adv Immunol. 2009; 101:81-121].

[0008] 천식에서의 염증성 진행의 활성화는 호산구 양이온성 단백질의 혈청 레벨과 직접적으로 관련이 있다[Bjornsson E., Janson C., Hakansson L. et al. Serum eosinophil cationic protein in relation to bronchial asthma in young Swedish population. Allergy 1994; Vol. 49: 400-407]. 기관지 천식 환자의 세척액에는 호산구 수가 증가되어 있다. 호산구 세포의 표면은 IgE에 대해 낮은 친화성의 수용체를 가지며, 따라서 호산구는 심각한 알레르기 항원에 의해 직접적으로 활성화될 수 있다. 호산구 세포의 표면은 또한 IL-2, IL-3, IL-5, GM-CSF, PAF, 및 프로스타글란딘에 대한 수용체를 갖는 것으로 알려졌다. 이러한 수용체들로서 전술한 사이토카인 및 지질 매개체들이 매개체(LTC₄, PAF) 및 사이토카인(IL-3, IL-4, IL-5, IL-8, GM-CSF, TGF β)을 방출하는 호산구의 활성을 유발시킬 수 있다. 호산구 단백질들의 작용에 따른 기도 상피의 파괴는 기관지의 과민반응을 가중시키고 기도 상피의 장벽기능을 감소시킨다.

[0009] 최근, 섬유성 질병들(과다호산구증후군을 가진 환자의 간 섬유증과 복합된 심내막심근섬유증, 결절 경화성 호지킨병, 및 기관지 천식에서의 상피하 섬유증)과 조직 내의 호산구 사이의 관계가 명확하게 밝혀짐에 따라 조직의

재생 및 제조절에서의 호산구의 역할에 많은 관심이 기울여지고 있다[Noguchi H. et al. Tissue eosinophilia and eosinophil degranulation in syndromes associated with fibrosis// Am. J. Pathol. 1992, Vol. 140. P. 521-528].

- [0010] 호산구는 형질전환 성장인자- β (TGF- β), 섬유아세포 성장인자(FGF)-2, 혈관내피 성장인자(VEGF), 매트릭스 메탈로프로테이나아제(metalloproteinase)(MMP)-9, IL-1 β , IL-13, 및 IL-17를 포함하는 다수의 섬유형성 및 성장 인자의 근원이다. 항-IL-5 항체를 포함하는 임상학적 시도 또한 망상 기저막(reticular basement membrane) 내의 특정 매트릭스 단백질의 축적과 관련된 호산구의 역할을 지지한다[Kay AB, Phipps S, Robinson DS. A role for eosinophils in airway remodeling in asthma//Trends Immunol. 2004, Vol. 25, P. 477-82].
- [0011] 오늘날, 천식을 치료하는 가장 보편화된 방법은 코르티코스테로이드(부데소나이드(budesonide), 베클로메타손 디프로피오네이트(beclomethasone dipropionate), 플루티카손 프로피오네이트(fluticasone propionate), 모메타손 푸로에이트(mometasone furoate))를 흡입하는 것이다. 그러나, 코르티코스테로이드의 일반적인 면역억제 작용을 유발하는 기능에 의해, 고혈압, 골다공증, 및 백내장 진행과 같은 장복에 의한 부작용이 있다[Barnes PJ. New drugs for asthma//Semin Respir Crit Care Med. 2012; 33(6):685-94]. 코르티코스테로이드는 매일 투약해야 하는바 이러한 요구를 환자가 잘 지킬 것인가가 상기 치료제의 성공적 사용 여부의 또다른 문제이다. 더욱이, 코르티코스테로이드에 감응하지 않는 환자도 있어 이들은 다른 치료법을 요한다. 호산구에 대한 선택적 표적화로서, 다면발현성 종합적 면역억제제에서 야기되는 부작용을 극복할 수 있다.
- [0012] 호산구 세포 표면에서 인터류킨-5와 수용체 IL-5R α 사이의 상호작용을 억제함으로써 호산구증가증을 감소시키는 약물이 현재 임상적으로 시험되고 있다. 이러한 약물은 인간화된 모노클로날 항 IL-5 항체(mAt) 및 상응하는 IL-5R α 억제제를 포함한다.
- [0013] IL-5 중화 모노클로날 항체들 중, SB240563(메폴리주마브, Glaxo Smith Kline)가 가장 효과적이다. 프레드니솔론 의존성 천식환자에 대한 메폴리주마브 치료법이 혈액 및 객담 내의 호산구를 감소시키고, 가장 중요하게는, 악화빈도 및 프레드니솔론 투여량을 감소시킴으로써 환자 상태를 호전시킨다는 보고가 있다[Nair P, Pizzichini MMM, Kjarsgaard M, et al. Mepolizumab for prednisone-dependent asthma with sputum eosinophilia. NEJM. 2009; 360:985-93]. 또 다른 임상학적 시도에서는 코르티코스테로이드에 무감응인 천식 환자에 대한 항-IL-5-항체(메폴리주마브) 투여가 역시 악화빈도를 감소시키고 AQLQ(Asthma Quality of Life Questionnaire: 일상 중 천식 상태 설문지)에 따른 환자의 상태를 호전시키는 것으로 알려졌다. 천식에 대한 작용에 더하여, 상기 시도에서는 폴립성 부비동염증(polypous rhinosinusopathy)에 대해서도 치료효과를 보이는 것으로 나타났다[Haldar P, Brightling CE, Hargadon B, et al. Mepolizumab and exacerbations of refractory eosinophilic asthma. NEJM. 2009; 360:973-84].
- [0014] 폴립성 부비동염증을 가진 성인에서의 독립적인 임상 시도에서 메폴리주마브는 혈중 IL-5R α 의 용해형 및 ECP의 레벨, 및 비강 내 IL-5R α 의, IL-6 및 IL-1b의 농도를 현저히 감소시켰는데, 이는 총 폴립 스코어에 의하면 질병의 완화와 관련이 있는 것이다[Gevaert P, Van Bruaene N, Cattaert T 등. Mepolizumab, a humanized anti-IL-5 mAb, as a treatment option for severe nasal polyposis. J Allergy Clin Immunol. 2011; 128(5):989-995].
- [0015] 항-IL-5 항체의 사용은 기관지 천식 및 폴립성 부비동염증에 한정되지 않는다. 이 치료법은 기타 호산구 매개(eosinophil-mediated) 질병들에도 효과적이다. 예를 들어, 과다호산구 증후군 환자에 있어서, 메폴리주마브 요법은 혈중 호산구 증가증을 감소시키고 프레드니솔론의 투여량을 감소시킬 수 있게 해준다[Rothenberg ME, Klion AD, Roufosse FE, et al. Treatment of patients with the hypereosinophilic syndrome with mepolizumab. NEJM. 2008; 358(12):1215-28]. 항-IL-5 항체로 치료받은 호산구 식도염 환자들은 감소된 연하장애(dysphagia)와 관련된 임상적 양상에서 향상을 보였고, 혈중 호산구 수가 6배 감소하였으며, 일부 환자들에서는 식도 상피증식증(esophageal epithelial hyperplasia)이 감소되었다[Stein ML, Collins MH, Villanueva JM, et al. Anti-IL-5 (mepolizumab) therapy for eosinophilic esophagitis. J Allergy Clin Immunol. 2006; 118(6):1312-9]. 소아에 대한 이 약물의 임상적 시도에서는 혈중에 현미경 1 필드 당 20 이하의 호산구를 보유한 환자에서의 발작, 취약성(fragility), 및 식도 점막의 홍과 수직선과 같은 증상이 향상되었다[Assa'ad AH, Gupta SK, Collins MH, et al. An antibody against IL-5 reduces numbers of esophageal intraepithelial eosinophils in children with eosinophilic esophagitis. Gastroenterology. 2011; 141(5):1593-604].
- [0016] 메폴리주마브는 또한 호산구성 맥관염의 치료법으로도 성공적으로 이용된다[Kahn JE, Grandpeix-Guyodo C, Marroun I, et al. Sustained response to mepolizumab in refractory Churg-Strauss syndrome. J Allergy

Clin Immunol. 2010; 125:267-70]. 28세 여성 환자에게 매달 메폴리주마브를 투여한 결과 혈중 호산구수가 정상 수치로 감소되었고 코르티코스테로이드 천식의 형성이 방지되었으며, x-레이 데이터에 의하면 허파 조직의 상태가 향상되었다[Kim S, Marigowda G, Oren E, Israel E, Wechsler M. Mepolizumab as a steroid-sparing treatment option in patients with Churg-Strauss syndrome. J Allergy Clin Immunol. 2010; 125:1336-43]. 호산구성 맥관염을 가진 환자에 대한 임상 시도에서 메폴리주마브 치료법은 코르티코스테로이드의 투여량을 감소시켰다. 호산구증가증 역시 감소하였으나, 임상이 종료된 후 다시 악화되었다[Oldhoff JM, Darsow U, Werfel T, et al. Anti-IL-5 recombinant humanized monoclonal antibody (mepolizumab) for the treatment of atopic dermatitis. Allergy. 2005; 60(5):693-6].

[0017] 메폴리주마브는 천식, 성인의 호산구성 식도염, 소아의 호산구성 식도염, 호산구성 맥관염, 및 폴립성 부비동염 증의 요법의 제2기 임상예, 과다호산구 증후군, 소아의 호산구성 식도염, 리노바이러스 유발 천식 및 만성 폐쇄성 기관지염의 치료법의 제3기 임상예 사용되어야 하는 것으로 보고되어 있다[Amini-Vaughan ZJ, Martinez-Moczygemba M, Huston DP. Therapeutic strategies for harnessing human eosinophils in allergic inflammation, hypereosinophilic disorders, and cancer //Curr Allergy Asthma Rep. 2012, Vol. 12, N.5, P. 402-412]. 다른 치료제로, 역시 인간화 모노클로날 항 IL-5 항체 SCH55700인 레슬리주마브(세팔론)는 과다호산구 증후군 및 로아증(loiasis)의 치료법의 제2기 임상예, 천식 및 소아의 호산구성 식도염의 치료법의 제3기 임상예 사용된다. 이 모든 사실로부터의 결론은 호산구증가증의 감소를 목적으로 하는 선택적 치료는 이러한 세포형에 의해 매개되는 질병들(기관지 천식, 알레르기성 비염, 알레르기성 결막염, 아토피성 피부염, 폴립성 부비동염, 호산구성 식도염, 호산구성 맥관염, 및 과다호산구 증후군)의 치료에 대한 관점 접근이라는 것이다.

[0018] 그러나 mAt 요법에는 약간의 결점이 있다. 모노클로날 항체들은 값비싼 치료제로서 매달 또는 2개월마다 투여되어야 한다. 의사의 처방을 환자가 이행하지 않는 문제도 중요한 요인인데, 약물 주입을 받기 위해 의사를 여러 번 방문해야 하기 때문이다. 추가로, 환자와 치료 항체 사이의 동종이형 격차에 의해 모노클로날 항체 계열의 치료법이 효과가 없게 될 수도 있다. mAt의 높은 투여량 및 면역 복합체 형성의 가능성 역시 수동적 면역화의 효율을 감소시킬 수 있다.

[0019] 호산구증가증에 특징이 있는 병리학적 증상에 대한 치료제를 제공하는 또다른 방법이 WO 97/45448 및 WO 03/040164에 개시되어 있다. 국제 공개공보 WO 97/45448은 기준으로부터 벗어난 효과를 감소시키고 완화 및 향상시키기 위한 "IL-5의 활성에 대한 길항작용 및 감소를 가능하게 하는 IL5 분자의 변조되고 다양한 형태"의 용법을 제공하는데, 이는 IL5의 선천형 및 변이형에 의해 야기되는 것이다. 길항작용은 IL5R의 고친화성 수용체가 아닌 저친화성 사슬에 결합한 IL5의 다양한 형태의 결과라고 알려져있다.

[0020] 국제 공개공보 WO 03/040164는 호산구의 성숙, 활성화, 국소화 및 생명력의 주요 요인인 IL-5, IL-13 및 에오톡신에 대한 항체의 내적 형성에 의한 백신 조성물을 제공한다. 이 조성물은 바이러스 유사 입자 및 여기에 결합한 IL-5, IL-13 및/또는 에오톡신의 적어도 하나의 단백질 또는 펩티드를 포함한다. 이 발명에 따르면, 상기 조성물은 호산구 성분에 의한 알레르기성 질병의 치료를 위한 백신 제조에 유용하며, 호산구 성분에 의한 알레르기성 질병의 예방 또는 치료용 파백신(pharmaccine)으로 유용하다.

[0021] 출원번호 No. 8501176는 IL-5R에 결합된 항체의 용도를 제공한다. 이 항체들은 IL-5 수용체(IL-5R) 및 Fc-분절을 인식하는 결합부위를 포함한다. 청구항의 방법은 혈액, 골수 함유 뼈, 위장관(예를 들어, 식도, 위, 소장 및 대장), 또는 폐 중의 호산구 수를 감소시키고, 그 결과 인간 폐의 천식 및 만성 폐쇄성 기관지염의 임상학적 증상을 감소시킨다(<http://www.patentgenius.com/patent/8501176.html>).

[0022] 이용섭 등의 [부위-선택적 N-아실이미늄 이온의 고리화반응에 대한 연구: (±)-글로시딘(glochidine) 및 (±)-글로시딘(glochidine), 헤테로고리, Vol 37, No 1. 1994]에서는 초기 시약인 히스타민 디하이드로클로라이드 및 석신산 무수물을 200-230℃로 40분간 가열하며 혼합하여 히스타민 석신이미드를 제조하는 것을 개시하고 있다.

[0023] 국제 공개공보 WO 2007/007054는 일반식(I)의 석신이미드 및 글루타르이미드 유도체를 개시하고 있는데, 이는 세포, 특히 종양 세포 내의 DNA 메틸화 억제 작용을 가진다. 상기 국제 공개공보에 개시된 화합물은, 필요하다면 염기 존재 하에, 탄화수소 사슬을 포함하는 아미노 유도체와, 상응하는 무수물 또는 산, 또는 에스테르의 첨가반응 및 이후의 선택적 고리화반응에 의해 제조된다.

[0024] 디카르복실산 또는 그것의 유도체(예를 들면 무수물, 디에스테르 등)를 일차 아민 또는 그것의 아마이드와 함께 가열(열적 고리화반응), 카르복실기 활성화제로서 탈수제(예를 들면 아세트산 무수물[Shimotori et al,

Asymmetric synthesis of γ -lactones with lipase catalyst. *Flavour and Fragrance Journal*, 2007, V. 22, No. 6, P. 531-539], 아세틸 클로라이드[Ito et al., Chemoselective Hydrogenation of Imides Catalyzed by CpRu(PN) Complexes and Its Application to the Asymmetric Synthesis of Paroxetine.//*Journal of the American Chemical Society*, 2007, V. 129, No. 2, P. 290-291], 카르보닐다이미다졸[Polniaszek, et al., Stereoselective nucleophilic additions to the carbon-nitrogen double bond. 3. Chiral acyliminium ions.//*Journal of Organic Chemistry*, 1990, V. 55, No. 1, P. 215-223], 글루타르산 또는 석신산 무수물 [Ainhua Ardeo et al, A practical approach to the fused β -carboline system. Asymmetric synthesis of indolo[2,3- α]indolizidinones via a diastereoselective intramolecular α -amidoalkylation reaction. /*Tetrahedron Letters*, 2003, 44, 8445-8448])를 사용하여 모노아미드와 그에 상응하는 디카르복실산의 고리화 반응을 포함하는, 글루타르산의 이미드 합성법을 개시하고 있다.

[0025] 국제 공개공보 W02007/000246는 피페리딘-2,6-디온과 피롤리딘-2,5-디온을 그에 상응하는 유도체와 함께 DMF 중에서 알킬화 반응시키고, 이어서 조제용 크로마토그래피를 이용하여 목적하는 치환된 이미드 유도체를 분리하여 글루타르이미드를 합성하는 방법을 제공하고 있는데, 이는 대량 합성에는 적합하지 않다.

발명의 내용

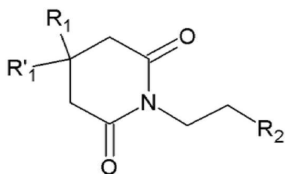
해결하려는 과제

[0026] 따라서, 본 발명의 목적은 호산구성 질병, 바람직하게는 기관지 천식, 알레르기성 비염, 폴립성 부비동염증, 호산구성 대장염, 호산구성 증후군, 알레르기성 결막염, 아토피성 피부염, 처그-스트라우스 증후군, 아나필락시스 쇼크(anaphylactic shock), 퀴нке 부종(Quincke's edema), 호산구성 맥관염, 호산구성 식도염, 호산구성 위장염 및 섬유증 등과 같은 알레르기성 증상에 대해 효과적인 비독성 글루타르이미드 유도체의 용도이다.

과제의 해결 수단

[0027] 본 발명은 2013.04.12.자로 출원된 RU 2013116826에 기재된 바와 같이, 호산구성 질병, 바람직하게는 기관지 천식, 알레르기성 비염, 폴립성 부비동염증, 호산구성 대장염, 호산구성 증후군, 알레르기성 결막염, 아토피성 피부염, 처그-스트라우스 증후군, 아나필락시스 쇼크(anaphylactic shock), 퀴нке 부종(Quincke's edema), 호산구성 맥관염, 호산구성 식도염, 호산구성 위장염 및 섬유증 등과 같은 알레르기성 증상 치료를 위한, 일반식 (I)의 글루타르이미드 유도체의 용도에 관한 것이다:

[0028] [일반식 (I)]



[0029]

[0030] 상기 식에서 R₁ 및 R'₁은 독립적으로 수소 또는 C₁-C₆ 알킬, 예를 들면 메틸이고;

[0031]

R₂는 C₁-C₆ 알킬로 선택적으로 치환된

또는

이다.

[0032]

본 발명자 등은 글루타르이미드 유도체가 모든 실험된 매체(혈액, 기관지세포 세척액(bronchoalveolar lavage(BAL)) 및 조직) 중의 다양한 염증 모델에 있어서 호산구증가증을 억제한다는 것을 발견하였다. 특히, 생쥐의 세파텍스 유발 폐 염증 모델에 있어서 글루타르이미드 유도체가 BAL 중의 호산구 수를 감소시키고, 기니피그의 오발부민(ovalbumin) 유발 천식 모델에 있어서 글루타르이미드 유도체가 BAL 및 혈액 중의 호산구증가증을 감소시킨다.

[0033] 따라서, 본 발명은 호산구성 질병, 바람직하게는 기관지 천식, 알레르기성 비염, 폴립성 부비동염증, 호산구성 대장염, 호산구성 증후군, 알레르기성 결막염, 아토피성 피부염, 처그-스트라우스 증후군, 아나필락시스 쇼크(anaphylactic shock), 퀴нке 부종(Quincke's edema), 호산구성 맥관염, 호산구성 식도염, 호산구성 위장염 및 심유증 등과 같은 알레르기성 증상의 치료방법에 관한 것으로서, 상기 방법은 일반식 (I)의 글루타르이미드 유도체 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염의 유효량을 환자에게 투여하는 것을 포함한다.

[0034] 본 발명은 또한 호산구성 질병, 바람직하게는 기관지 천식, 알레르기성 비염, 폴립성 부비동염증, 호산구성 대장염, 호산구성 증후군, 알레르기성 결막염, 아토피성 피부염, 처그-스트라우스 증후군, 아나필락시스 쇼크(anaphylactic shock), 퀴нке 부종(Quincke's edema), 호산구성 맥관염, 호산구성 식도염, 호산구성 위장염 및 심유증 등과 같은 알레르기성 증상에 대한 치료제에 관한 것으로서, 상기 치료제는 일반식 (I)의 글루타르이미드 유도체 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염이다.

[0035] 본 발명의 또 다른 주요 목적물은 호산구성 질병, 바람직하게는 기관지 천식, 알레르기성 비염, 폴립성 부비동염증, 호산구성 대장염, 호산구성 증후군, 알레르기성 결막염, 아토피성 피부염, 처그-스트라우스 증후군, 아나필락시스 쇼크(anaphylactic shock), 퀴нке 부종(Quincke's edema), 호산구성 맥관염, 호산구성 식도염, 호산구성 위장염 및 심유증 등과 같은 알레르기성 증상의 치료를 위한 약학적 조성물로서, 상기 조성물은 일반식 (I)의 글루타르이미드 유도체 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염과 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 것이다.

[0036] 상술한 일반식 (I)의 글루타르이미드 유도체의 합성은 2013.04.12.자로 출원된 RU 2013116826에 개시되어 있다.

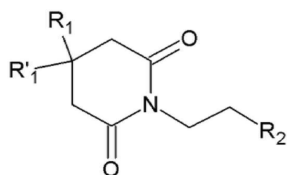
[0037] 본 발명에 사용되는 조성물은 초기에 유기 용매 또는 탈수제 중에서 카르복실산 모노아마이드를 탈수제와 함께 가열하는 공정 및 선택적으로는 아세트산 나트륨을 첨가하는 공정을 포함하는 방법에 의해 제조될 수 있다. 본 방법에서 사용되는 탈수제는 디카르복실산 무수물, 유기 염소산 무수물(organic acid chloroanhydride) 및 카르보닐디이미다졸을 포함할 수 있다.

[0038] 초기 디카르복실산 모노아마이드 및 그 제법은 국제 공개공보 WO 1999/001103에 개시되어 있다.

[0039] 발명의 상세한 설명

[0040] 본 발명에 사용되는 바람직한 화합물은 일반식 (I)의 화합물이다:

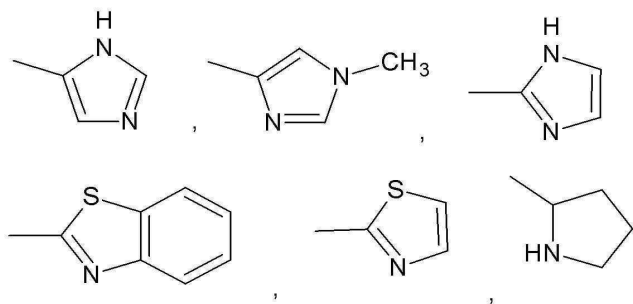
[0041] [일반식 (I)]



[0042] 상기 식에서, R₁ 및 R'₁ 는 독립적으로 수소 또는 메틸이고;

[0043]

[0044] R₂는

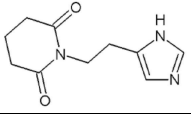
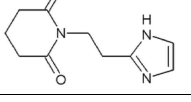
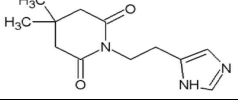
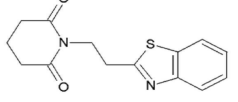
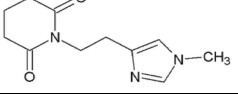
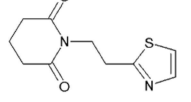
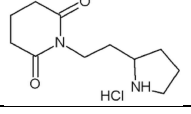
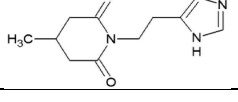


[0045] 이다.

[0046] 본 발명의 가장 바람직한 화합물은 표 1에 나타난 화합물들이다:

표 1

[0047]

화합물 번호	구 조
1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	

[0048]

본 발명에 따른 화합물의 약학적으로 허용 가능한 염은 유기산 첨가염(예를 들면, 포름산염, 아세트산염, 말레산염, 타르트산염, 메탄설폰산염, 벤젠설폰산염, 톨루엔설폰산염 등), 무기산 첨가염(예를 들면, 염산염, 브롬산염, 황산염, 인산염 등), 및 아미노산염(예를 들면, 아스파라긴산염, 글루탐산염 등)을 포함할 수 있으며, 바람직하게는 염화수소염(chlorohydrate) 및 아세트산염이다. 일반식 (I)의 글루타리이미드 유도체는 호산구성 질병들에 대해 약학적으로 활성이다.

[0049]

본 발명의 화합물은 특히 기관지 천식, 알레르기성 비염, 폴립성 부비동염증, 호산구성 대장염, 호산구성 증후군, 알레르기성 결막염, 아토피성 피부염, 처그-스트라우스 증후군, 아나필락시스 쇼크, 쾨케 부종, 호산구성 맥관염, 호산구성 식도염, 호산구성 위장염 및 섬유증의 치료에 사용될 수 있다. .

[0050]

본 발명에 따른 화합물은 소정의 치료 효과를 제공할 수 있는 유효량이 부여된다.

[0051]

일반식 (I)의 화합물은 비독성의 약학적 허용가능한 담체를 포함하는 복용 단위로, 경구적, 국소적, 비경구적, 흡입, 및 직장 투여될 수 있다.

[0052]

본 명세서에 사용된 "비경구적 투여"란 피하, 정맥, 근육 주사, 또는 주입(infusion)을 의미한다.

[0053]

본 발명에 따른 화합물은 매일 체중 당 0.1 내지 30 mg/kg의 용량, 바람직하게는 하루에 0.25 내지 10 mg/kg의 용량으로 한번 또는 그 이상 횟수로 환자에게 투여될 수 있다.

[0054]

또한, 특정 환자에 대한 특정 용량은 많은 요인에 의존한다는 것을 주의할 필요가 있는바, 사용된 화합물의 활성, 환자 나이, 체중, 성별, 일반적 건강 상태, 식단, 및 치료제의 복용 시간 및 경로, 신체로부터의 배출율, 치료제의 특정 조합, 및 치료 대상 개인의 질병의 중증도 등이 포함된다.

- [0055] 본 발명에 따른 약학적 조성물은 소정의 기술적 결과를 달성하기 위한 유효량의 일반식 (I)의 화합물을 포함하며, 유효 성분으로서의 본 발명에 따른 화합물을 근육내, 정맥내, 경구, 설하, 흡입, 비강내, 및 직장내 투여에 적합한 담체 또는 부형제와 혼합한 혼합물을 포함하는 복용 단위(예를 들면, 고체, 반고체, 또는 액상)로 투여될 수 있다. 조성물에 있어서, 유효 성분은 용액, 정(tablets), 알약(pills), 캡슐, 당의정, 좌약, 에멀전, 서스펜션, 연고, 젤, 및 기타 복용 형태의 제조에 적합한 종래의 비독성 약학적 허용 가능한 담체와 조합될 수 있다.
- [0056] 부형제로 사용될 수 있는 화합물은 매우 다양한데, 예를 들면 글루코오스, 락토오스 또는 수크로오스와 같은 당류, 만니톨, 소르비톨, 셀룰로오스 유도체, 및/또는 트리칼슘 인산염 또는 산성 칼슘 인산염과 같은 인산칼슘 등이다. 결합제로 사용될 수 있는 화합물은 옥수수, 밀, 쌀 및 감자 전분 등의 전분 페이스트, 젤라틴, 트라가캔스, 메틸셀룰로오스, 하이드록시프로필 메틸셀룰로오스, 카르복시메틸셀룰로오스, 및/또는 폴리비닐피롤리돈과 같은 화합물들이다. 필요하다면 전술한 전분들 및 카르복시메틸 전분, 교차결합된 폴리비닐피롤리돈, 아가, 또는 알긴산 또는 그의 염(예를 들면 알긴산나트륨)과 같은 붕해제도 사용될 수 있다.
- [0057] 선택적으로 사용될 수 있는 첨가제에는 유동성 조절제 및 윤활제, 예를 들면 이산화 규소, 탈크, 스테아르산 및 그의 염(예를 들면 스테아르산 마그네슘 또는 스테아르산 칼슘) 및/또는 프로필렌 글리콜 등이 포함된다.
- [0058] 코팅정은 통상 코어를 위산에 내성이 있는 층으로 코팅한다. 이를 위해 아라비아 검, 탈크, 폴리비닐피롤리돈, 폴리에틸렌 글리콜 및/또는 티타늄 디옥사이드를 선택적으로 포함하는 당류의 농축액과 적절한 유기 용매 또는 그 염이 사용될 수 있다.
- [0059] 첨가제에는 또한 안정화제, 비후제, 착색제 및 향미제가 포함될 수 있다.
- [0060] 연고 베이스로서, 백색 바셀린 및 황색 바셀린(Vaselineum album 및 Vaselineum flavum), 바셀린 오일(Oleum Vaselinei), 및 백색 연고 및 액상 연고(Unguentum album) 및 Unguentum flavum) 등과 같은 탄화수소 연고 베이스(건고한 조직을 제공하는 고체 파라핀 또는 왁스와 같은 물질이 첨가제로 사용될 수 있음); 친수성 바셀린(Vaselineum hydrophylicum), 라놀린(Lanolinum), 및 콜드크림(Unguentum leniens) 등과 같은 흡수성 연고 베이스; 친수성 연고와 같은 수세성 연고(Unguentum hydrophylum) 베이스; 폴리에틸렌 글리콜 연고와 같은 수용성 연고(Unguentum Glycolis Polyethyleni) 베이스; 벤토나이트 베이스; 및 기타 베이스들이 사용될 수 있다.
- [0061] 메틸셀룰로오스, 카르복시메틸셀룰로오스 나트륨염, 옥시프로필셀룰로오스, 폴리에틸렌 글리콜, 폴리에틸렌 옥사이드 또는 카르보폴(carbopol)이 겔의 베이스로 사용될 수 있다.
- [0062] 좌약용 베이스로는 코코아버터와 같은 수용성 베이스; 젤라틴-글리세롤 또는 폴리에틸렌 옥사이드 베이스와 같은 수용성 또는 혼화성 베이스; 또는 비누-글리세롤 베이스와 같은 조합 베이스 등이 사용될 수 있다.
- [0063] 복용 단위 형태의 제조에 있어서, 담체와 조합하여 사용되는 유효 성분의 양은 치료 대상, 및 치료제 투여의 특정 방법에 의존하여 다양할 수 있다.
- [0064] 예를 들어, 본 발명에 따른 화합물을 주사용 용액 형태로 사용할 경우, 상기 용액 내의 유효 성분의 양은 5 중량% 이하이다. 희석액은 0.9%의 염화나트륨 용액, 증류수, 주사용 노보카인(Novocain) 용액, 링거 용액, 글루코오스 용액 또는 특정의 용해용 보강제가 될 수 있다. 본 발명에 따른 화합물을 정제나 좌약 형태로 투여하는 경우, 그 양은 복용 단위 형태 당 200 mg 이하이다.
- [0065] 본 발명에 따른 복용 형태는 블렌딩, 과립화, 코팅정 형성, 용해, 및 동결건조와 같은 종래 공정에 의해 제조될 수 있다.
- [0066] 본 발명에 따른 화합물은 부작용이 없으며 투약 금기가 없다는 것을 주목할 필요가 있다. 또한, 본 발명에 따른 화합물의 동물 실험의 독성 시험에 있어서, 1500 mg/kg의 복용량을 경구투여한 경우에 치명적 증례가 없었다.
- [0067] 본 발명의 따른 화합물의 구체적인 설명과 약리작용 활성은 이하의 실시예를 통해 기재되고 있으며, 이는 단지 예시의 목적으로서 본 발명의 범위를 제한하지는 않는다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0068] [실시예]
- [0069] 전술한 바 일반식 (I)의 글루타르이미드 유도체의 합성은 2013.04.12.자로 출원된 RU 2013116826에 개시되어 있다.

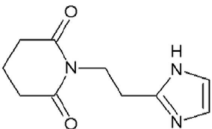
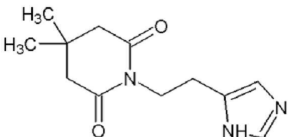
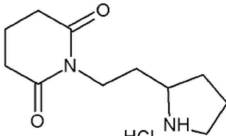
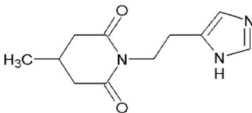
[0070] 일반식 (I)의 글루타르이미드 유도체의 합성에**[0071]** 재료 및 방법**[0072]** 얻어진 화합물의 정체성은 "Kieselgel 60 F254" ("Merck", German) 판 상에서 클로로포름-메탄올(9:1)(1), 클로로포름-메탄올(1:1)(2)의 용매 시스템의 박막 크로마토그래피(TLC)법에 의해 분석되었다.**[0073]** 크로마토그램 및 전기영동도는 클로로테트라메틸벤젠 시약 및 파울리 시약으로 염색되었다.**[0074]** 다성분 혼합물 분석을 위한 LC/MS 시스템 Shimadzu Analytical HPLC SCL10Avp; 질량 분광계 PE SCIEX API 165 (150) (Canada).**[0075]** 조건: 컬럼: 물 ACQUITY UPLC BEH C18 2.1×50 mm 1.7 μ m, 용리구배 시스템: 0.1 %의 HCOOH를 포함한 물 - 0.1 %의 HCOOH를 포함한 아세트니트릴.**[0076]** 역상 HPLC의 분석 스케일은 이하의 조건 하의 시마즈 HPLC 크로마토그래프 상에서 수행되었다:**[0077]** 컬럼: 루나 C18(2) 100A, 250×4.6 mm (시리얼 넘버 599779-23), 용리 구배 시스템: 인산염 버퍼 용액(pH 3.0):메탄올(조건 A);**[0078]** 컬럼: Merk.LiChroCART 250×4 mm 5 μ m LiChrospher 100RP-8E 5 μ mC8 (시리얼 넘버 1.50837.0001), 용리 구배 시스템: 암모늄 아세테이트 버퍼 용액(pH 7.5):아세트니트릴(조건 B); 용리 구배 시스템: 0.0025M의 나트륨 1-헥실설포네이트를 함유하는 버퍼 용액(pH 3):아세트니트릴(조건 C); 및**[0079]** 컬럼: Symmetry C18 150×4.6 mm, 용리 구배 시스템: 0.0025M의 나트륨 1-헥실설포네이트를 함유하는 버퍼 용액(pH 3):아세트니트릴(조건 D).**[0080]** 분광계(Bruker DPX-400, German)를 통해 ^1H NMR 스펙트럼을 분석하였다.**[0081]** 질량 스펙트럼의 높은 분해능은 비행시간형 질량분석계(time-of-flight mass spectrometer) 상에서 얻어졌는데, 매트릭스로서 2,5-디하이드록시 벤조산을 사용한 매트릭스 보조 레이저 탈착 이온화법에 의해 울트라플렉스(Ultraflex) 질량분석기("Bruker", German) 상에서 얻어졌다.**[0082]** **실시예 1****[0083]** 1-(2-(1H-이미다졸-4-일)에틸)피페리딘-2,6-디온 (화합물 1)**[0084]** N,N'-디메틸포름아마이드(60 mL), 및 펜탄디옥-1,5 산(20 g)의 2-(이미다졸-4-일)-에탄아마이드를 250 mL 평바닥 플라스크에 채웠다. 카르보닐다이이미다졸(17.3 g; 1.2 당량)을 활발한 교반 하에 가하였다. 반응 혼합물을 교반 하에 90°C에서 2시간 동안 가열하였다. 반응은 ^1H -NMR 분광법으로 조절하였다(샘플(0.5 mL)을 황산에테르로 희석하고 침전물을 DMSO- d_6 에 용해시켰다). 초기의 펜탄디옥-1,5 산의 2-(이미다졸-4-일)-에탄아마이드는 반응물에 존재하지 않았다. 반응물을 냉각시키고 세배 부피의 메틸 tert-부틸 에테르(180 mL)에 넣었다. 반응 혼합물을 1시간 동안 방치한 후, 침전물을 여과하고 60 mL의 메틸 tert-부틸 에테르로 세척한다음 건조시켰다. 1-(2-(1H-이미다졸-4-일)에틸)피페리딘-2,6-디온의 조생성물이 12.4 g(67%) 수득되었다.**[0085]** 1-(2-(1H-이미다졸-4-일)에틸)피페리딘-2,6-디온의 조생성물(12 g) 및 이소프로판올(36 mg)을 100 mL 평바닥 플라스크에 채웠다. 혼합물은 잔여물이 완전히 혼합되도록 가열되었고, 이어서 1.2 g의 활성탄을 첨가한 후, 혼합물을 끓는점 온도에서 1시간 동안 숙성(age)시켰다. 뜨거운 용액을 사전 가열된 세라믹 필터를 통해 여과하였다. 필터 상의 잔여물을 6 mL의 뜨거운 이소프로판올로 세척하였다. 뜨거운 모액을 실온으로 냉각시킨 후 결정화시키기 위해 밤새 교반 하에 방치하였다. 침전된 결정을 여과 및 6 mL의 차가운 이소프로판올로 세척한 후 건조시켰다. 재결정 후 얻어진 1-(2-(1H-이미다졸-4-일)에틸)피페리딘-2,6-의 양은 10.1 g(84%)이었다. Rf 0.43(1). 결과물을 LC/MS법으로 분석하였다: 정체시간 1.57분에서의 개별 피크; $[\text{M}+\text{H}]^+=208$. 조건 A 하에서의 HPLC: 정체시간 15.5분에서의 개별 피크. ^1H NMR (400.13 MHz, DMSO- d_6 , δ , m.d., J/Hz): 1.81(quint, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$, J=6.5 Hz), 2.58(m, 6H, CH_2C , $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$); 3.82(t, 2H, CH_2N , J=7.8 Hz), 6.77(br.s, 2H, CCH), 7.49(s, 1H, NCHN), 11.81(br.s, 1H, NH).**[0086]** 필요한 경우, 본 발명에 따른 화합물의 합성에서 헤테로고리의 질소 원자는 예를 들면 tert-부톡시 카르보닐기

(Boc)와 같은 카바메이트 보호기를 이용하여 보호될 수 있다.

[0087] 표 2에 기재된 화합물들이 상기 방법에 따라 얻어졌다:

표 2

[0088]

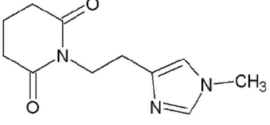
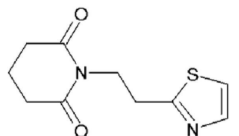
화합물 번호	구 조	물리적 및 화학적 데이터
2		LC/MS: 정체시간 0.41 min에서 개별 피크, $[M+H]^+=208$. HPLC 조건 B: 정체시간 16.72 min에서 개별 피크. 1H -NMR(400.13 MHz, DMSO- d_6 , d, m.d., J/Hz): 1.82(quint, 2H, $CH_2CH_2CH_2$, J=6.5 Hz); 2.57(t, 4H, $CH_2CH_2CH_2$, J=6.5 Hz); 2.72(t, 2H, CH_2C , J=7.5 Hz); 3.90(t, 2H, CH_2N , J=7.5 Hz); 6.86(s, 2H, CH_2N , J=7.5 Hz); 11.72(br.s, 1H, NH)
3		LC/MS: 정체시간 0.41 min에서 개별 피크, $[M+H]^+=236$. HPLC 조건 A: 정체시간 22.16 min에서 개별 피크. 1H -NMR(400.13 MHz, DMSO- d_6 , d, m.d., J/Hz): 0.91(s, 6H, CH_3); 2.58(m, 6H, CH_2C , CH_2CCH_2); 3.86(t, 2H, CH_2N , J=7.3 Hz); 6.60, 6.85(br.s, 1H, CCH); 7.50(br.s, 1H, NCHN); 11.8(br.s, 1H, NH)
7		LC/MS: 정체시간 0.74 min에서 개별 피크, $[M+H]^+=211$. HPLC 조건 C, 정체시간 10.8 min에서 개별 피크. 1H -NMR(400.13 MHz, DMSO- d_6 , d, m.d., J/Hz): 1.52(m, 1H, 피롤리딘), 1.72(m, 1H, 피롤리딘), 1.86 (m, 5H, 피롤리딘 + $C\overline{H}CH$ + $COCH_2C\overline{H}CH_2CO$), 2.10(m, 1H, 피롤리딘), 2.61(t, 4H, $COCH_2C\overline{H}CH_2CO$, J=6.4 Hz), 3.10(m, 2H, 피롤리딘), 3.30(m, 1H, 피롤리딘), 3.68(m, 2H, $C\overline{H}2N$), 8.93(s, 1H, NH)
8		LC/MS: 정체시간 1.9 min에서 개별 피크, $[M+H]^+=222$. HPLC 조건 C, 정체시간 13.8 min에서 개별 피크. 1H -NMR(400.13 MHz, DMSO- d_6 , d, m.d., J/Hz): 0.95(d, 3H, CH_3 , J=6.5 Hz), 2.15(m, 1H, $COCH_2C\overline{H}CH_2CO$); 2.35 (m, 2H, $C\overline{H}C$); 2.62(m, 4H, $COCH_2C\overline{H}CH_2CO$), 3.82 (t, 2H, $C\overline{H}2N$, J=7.8 Hz), 6.80(s, 1H, $CC\overline{H}$), 7.56(s, 1H, $NCHN$)

[0089] 실시예 21-(2-(1,3-벤조티아졸-2-일)에틸)피페리딘-2,6-디온 (화합물 4)

[0090] 펜탄디옥익 1,5-산의 2-(1,3-벤조티아졸-2-일)에탄아마이드(22 g; 0.075 mol)와 아세트산 무수물(23 g; 0.225 mol)의 혼합물을 150 mL의 디옥산 내에서 3시간 끓였다. 디옥산을 진공 하에 제거하고 200 mL의 물을 가한 후 혼합물을 30% 수산화나트륨으로 중성 pH까지 중화시켰다. 침전된 오일을 결정이 형성될 때까지 저장(咀嚼)하였다. 침전물을 크로마토그래피로 정제하였다($SiCO_2$ 60-100 μm , 용리액: 에틸 아세테이트-헥산 (1:1)). LC/MS, 정체시간 2.26 min에서 개별 피크 $[M+H]^+=275$. 조건 A 하의 HPLC, 정체시간 9.3 min에서 개별 피크. 1H -NMR(400.13 MHz, DMSO- d_6 , δ , m.d., J/Hz): 1.85(quint, 2H, $CH_2C\overline{H}CH_2$, J= 6.8 Hz); 2.59(t, 4H, $C\overline{H}2CH_2C\overline{H}2$, J=6.8 Hz); 3.24(t, 2H, $C\overline{H}C$, J= 7.3 Hz); 4.08(t, 2H, $C\overline{H}2N$, J=7.3 Hz); 7.43, 7.49(t, 1H, Ar, J= 7,6 Hz); 7.96, 8.04(d, 1H, Ar, J= 7,6 Hz).

[0091] 표 3에 기재된 화합물들이 상기 방법에 따라 얻어졌다:

표 3

화합물 번호	구 조	물리적 및 화학적 데이터
5		LC/MS: 정체시간 0.21 min에서 개별 피크, $[M+H]^+=222$. HPLC 조건 B, 정체시간 20.7 min에서 개별 피크. $^1\text{H-NMR}$ (400.13 MHz, DMSO- d_6 , d, m.d., J/Hz): 1.82(quint, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$, J=6,4 Hz), 2.53(m, 2H, CH_2C), 2.58(t, 4H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$, J=6,4 Hz), 3.57(s, 3H, NMe), 3.80(t, 2H, CH_2N , J=7.8 Hz), 6.85(s, 1H, CCH), 7.42(s, 1H, NCHN)
6		LC/MS: 정체시간 1.43 min에서 개별 피크, $[M+H]^+=225$. HPLC 조건 A, 정체시간 31.28 min에서 개별 피크. $^1\text{H-NMR}$ (400.13 MHz, DMSO- d_6 , d, m.d., J/Hz): 1.82(quint, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$, J=6.5 Hz), 2.58(t, 4H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$, J=6.5 Hz), 3.12(t, 2H, CH_2C , J=7.4 Hz), 3.97(t, 2H, CH_2N , J=7.4 Hz), 7.58(d, 1H, SCH, J=3.2 Hz), 7.70(d, 1H, NCH, J=3.2 Hz)

실시예 3코팅정, 2 mg, 10 mg, 및 100 mg

*코팅정의 조성

성분	2 mg	10 mg	100 mg
활성 제제:			
일반식 (I)의 화합물	2.00 mg	10 mg	100 mg
첨가제:			
미세결정 셀룰로오스	47.70 mg	70.55 mg	95.90 mg
락토오스 1수화물	49.00 mg	67.50 mg	99.00 mg
글리콜산 나트륨 전분	0.50 mg	0.75 mg	1.50 mg
탈크	0.40 mg	0.60 mg	1.20 mg
스테아르산 마그네슘	0.40 mg	0.60 mg	2.40 mg
정제 코어 중량	100.00 mg	150.00 mg	300.00 mg
코팅 막	3.00 mg	4.50 mg	9.00 mg
정제 중량	103.00 mg	154.50 mg	309.00 mg

생물학적 활성 시험

재료 및 방법

조직학적 침전물의 형태학적 조사가 광학 현미경(Leica DM LS, Leica Microsystems, German)으로 수행되었다. 미세형태계측 분석이 현미경(Leica DM LS)에 탑재된 집안 마이크로미터 자로 행해졌다. 현미경 사진은 디지털카메라(Leica DC 320)로 제작되었다.

얻어진 결과물의 수학적 분석이 소프트웨어 Statistica 6.0를 이용한 편차 통계분석법(variation statistics methods)을 이용하여 구해졌다. 데이터는 기술 통계학(descriptive statistics)으로 분석되었다: 데이터의 정규 분포는 Shapiro-Wilk test에 따라 검증되었다. 모든 데이터가 정규분포에 들어맞았기에, 집단간 변량(between-group variance)의 분석이 Student's t-test와 같은 매개변수 법에 의해 행해졌다. $p<0.05$ 인 경우에 차이를 현저한 것으로 인식하였다.

이하에 제시된 매우 많은 수의 실시예들은 본 발명의 일반식 (I)의 화합물의 생물학적 활성을 나타낸다.

실시예 4

기니피그 천식 모델에 있어서 일반식 (I)의 화합물의 효과 평가

- [0104] 표준 방법을 이용해서 기니피그에게 기관지 천식을 유발하였다[Ricciardolo FL, Nijkamp F, De Rose V, Folkerts G. The guinea pig as an animal model for asthma// Current Drug Targets. 2008 Jun; 9(6):452-65]. 100 $\mu\text{g/mL}$ 의 오발부민(시그마) 및 100 mg/mL의 수산화 알루미늄을 포함하는 용액 0.5 mL를 비경구적으로 1회 투여하여 이들을 면역화시켰다. 무손상(intact) 동물에게는 0.5 mL의 생리 식염수 용액을 투여하였다.
- [0105] 29, 30 및 31일째, 오발부민 흡입 투여로 기도 호흡기의 과다활동을 유발시켰다. 유발 시도일 제1일, 제2일 및 제3일 각각 오발부민의 농도를 0.1, 0.3 및 0.5 mg/mL로 상승시켰다. 흡입은 5분간 또는 질식 증세가 명백해질 때(쓰러질 때)까지 지속되었다. 32일째, 시험량의 오발부민(1 mg/mL)을 5분간 주입하면서 기관지 경련 반응(bronchospastic reaction)을 분석하였다.
- [0106] 상기 시험된 화합물들은 동물들에게 하루 한번씩 6 또는 10일 동안 매일 투여되었다; 이 투여는 항원의 시험량 투여 이틀 전에 멈추었다.
- [0107] 기관지 경련 반응은 호흡기 움직임의 비율 및 깊이 변화를 통해, 그리고 한쪽으로 쓰러지는 등의 질식 증세를 통해 측정되었다. 호흡곡선(Spirogram)은 베이스 기록 스테이션(PowerLab 8sp.) 및 소프트웨어(LabCart)를 이용하여 실험실 실험 장비(ADInstruments, Australia)로써 기록하였다. 실험실 동물용 공기량 센서, 및 증폭기가 통합된 호흡운동 기록기(ADInstruments)로 기록하였다.
- [0108] 시험량의 투여로부터 24시간 후 기관지 폐포 세척액(BAL) 및 심장 공동 혈액(cardiac cavity blood)을 동물들로부터 추출하였다. BAL은 마취 하에 주입용 주사기를 사용하여 기관을 통해 37°C로 가온한 5 mL의 생리 식염수 용액으로 폐를 세척함으로써 수집하였다.
- [0109] 기관지 폐포 세척액 중 1 μL 의 세척액(사이토시스) 내의 세포수를 Goryaev 카메라를 이용하여 측정하였다. 이후, BAL을 10분간 200 g로 원심분리하였다. 잔여물은 면봉을 이용해 매탄올 중에 고정되었고, 상해된 내부폐 세포(endopulmonary cytogram) 수를 세기 위해 로마노프스키-김사(Romanovsky-Giemsa)법에 따라 염색되었다.
- [0110] 혈액은 백혈구형(leykoformula)을 결정하기 위해 혈구계로 분석되었다.
- [0111] 본 조사에는 3개의 실험들이 포함되어 있는데, 첫번째 것은 BAL 세포 조성에 대한 본 발명의 화합물 1-6의 효과 평가에 관한 것이고, 두번째 및 세번째 실험들은 BAL 세포 조성, 혈액 세포 조성, 및 기관지경련 중증도에 대한 화합물 1 및 2의 효과를 평가하기 위한 것이다.
- [0112] 기니피그에게 14 mg/kg의 복용량으로 화합물 1-6을 10회 주입했을 때 BAL 내의 세포 성분이 17.3×10^9 세포/L에서 $2.5\text{--}6.3 \times 10^9$ 세포/L로 감소하였다(표 4 참조). 조사된 화합물들은 바람직하게는 호산구수를 감소시켰다: 대조군에서는 BAL 중의 호산구 수가 7.05×10^9 세포/L였고, 치료를 받은 군에서는 $0.60\text{--}1.61 \times 10^9$ 세포/L였으나, 이는 91-77% 적은 것이다.
- [0113] 기니피그의 기관지 천식 모델에 있어서 BAL 중의 세포 성분 함유량 ($M \pm m$, n=9)

표 4

군	화합물 투여량 mg/kg	투여 횟수	사이토시스 $10^9/\text{L}$	호산구 $10^9/\text{L}$	호중구 $10^9/\text{L}$	단핵구 $10^9/\text{L}$	림프구 $10^9/\text{L}$
비손상	-		1.0 ± 0.1	0.07 ± 0.01	0.16 ± 0.03	0.30 ± 0.05	0.38 ± 0.04
대조	-		$17.3 \pm 1.9^*$	$7.05 \pm 0.68^*$	1.78 ± 0.46	$2.70 \pm 0.59^*$	$4.92 \pm 1.02^*$
화합물 1	14	10	$2.5 \pm 0.5^*$	$0.89 \pm 0.23^*$	0.36 ± 0.09	$0.35 \pm 0.09^*$	$0.70 \pm 0.13^*$
화합물 2			$6.3 \pm 1.1^*$	$1.30 \pm 0.29^*$	$1.05 \pm 0.16^*$	$0.60 \pm 0.14^*$	$1.53 \pm 0.50^*$
화합물 3			$2.9 \pm 0.4^*$	$0.93 \pm 0.31^*$	0.36 ± 0.08	$0.71 \pm 0.18^*$	$0.72 \pm 0.08^*$
화합물 4			$3.5 \pm 1.1^*$	$1.25 \pm 0.34^*$	0.43 ± 0.12	$0.85 \pm 0.19^*$	$0.81 \pm 0.11^*$
화합물 5			$5.9 \pm 1.5^*$	$1.61 \pm 0.86^*$	1.05 ± 0.33	$0.84 \pm 0.23^*$	$1.35 \pm 0.34^*$
화합물 6			$4.9 \pm 1.2^*$	$0.60 \pm 0.21^*$	$0.97 \pm 0.28^*$	$0.83 \pm 0.18^*$	$1.03 \pm 0.24^*$

[0114]

[0115] 비고:

[0116] * - 비손상 그룹과의 차이, Student's t-test에 의거, $p < 0.05$

& - 대조군과의 차이, Student's t-test에 의거, $p < 0.05$

낮은 용량(0.045, 0.14, 및 1.4 mg/kg)으로 두가지 용법(10 및 6 회)으로 본 실험 화합물을 투여한 경우 넓은 범위(0.045 내지 14 mg/kg)의 용량 및 다양한 치료 계획 내에서 BAL 중의 호산구 증가증이 감소했다(표 5 참조). 또한, 본 화합물은 모든 시험 용량에서 림프구 수가 감소되었고, 일부 용량에서는 BAL 중의 단핵구 수도 감소했는데, 이는 폐 내의 국소 염증 반응의 억제를 가리키는 지표이다.

기니피그 기관지 천식 모델에 있어서 BAL 중 세포 성분의 함량 ($M \pm m$, $n=8$)

표 5

군	화합물 투여량 mg/kg	투여 횟수	사이토시스 10 ³ /L	호산구 10 ³ /L	호중구 10 ³ /L	단핵구 10 ³ /L	림프구 10 ³ /L
실 험 No.1							
비손상	-		0.22±0.01	0.02±0.002	0.06±0.003	0.06±0.006	0.075±0.008
대조	-		19.3±0.2*	0.96±0.17*	0.18±0.047*	0.54±0.06*	0.24±0.03*
화합물	0.045	10	12.8±0.2*	0.45±0.07* $\&$	0.19±0.08	0.52±0.092*	0.10±0.04 $\&$
	0.14		10.5±0.2* $\&$	0.41±0.10* $\&$	0.07±0.01	0.43±0.076*	0.13±0.04 $\&$
	14		14.6±0.3*	0.45±0.12* $\&$	0.15±0.03*	0.7±0.16*	0.15±0.026* $\&$
실 험 No.2							
비손상	-		0.02±0.003	0.02±0.003	0.05±0.007	0.05±0.001	0.07±0.01
대조	-		0.14±0.02*	0.67±0.07*	0.11±0.003	0.49±0.09*	0.16±0.02*
화합물	0.14	6	0.55±0.09* $\&$	0.20±0.03* $\&$	0.03±0.008* $\&$	0.24±0.06* $\&$	0.07±0.02 $\&$
	1.4		0.63±0.09* $\&$	0.18±0.02* $\&$	0.09±0.002	0.29±0.07*	0.06±0.01 $\&$
	14		0.56±0.008* $\&$	0.21±0.06* $\&$	0.07±0.002	0.22±0.05* $\&$	0.07±0.009* $\&$

비교:

* - 비손상 그룹과의 차이, Student's t-test에 의거, $p < 0.05$

& - 대조군과의 차이, Student's t-test에 의거, $p < 0.05$

본 실험의 화합물들은 혈액 중 호산구증가증을 감소시켰다. 대조군에서, 혈액 중 호산구 수는 비손상 동물들에 비해 6 내지 8배 많았다. 본 실험의 화합물들을 투여한 결과 비손상 동물들의 호산구 수를 낮은 수준으로 유지시킬 수 있었다(표 6 참조).

기니피그 기관지 천식 모델에 있어서 혈액 중 세포 성분의 함량 ($M \pm m$, $n=8$)

표 6

군	mg/kg	투여 횟수	사이토시스 10 ³ /L	미형 호중구 10 ³ /L	분절형 호중구 10 ³ /L	호산구 10 ³ /L	호염기구 10 ³ /L	단핵구 10 ³ /L	림프구 10 ³ /L
실 험 No.1									
비손상	-		6.09±0.68	0.08±0.02	2.29±0.35	0.08±0.04	0±0	0.10± 0.04	2.66±0.49
대조	-		12.51±0.68*	0.37±0.11	3.92±0.43	0.46±0.06*	0±0	0.58±0.16*	7.45±0.62*
화합물 1	0.045	10	9.03±1.40&	0.31±0.10	2.92±0.65	0.19±0.04&	0±0	0.29±0.08	4.80±0.84*
	0.14		9.11±1.07*&	0.19±0.05&	2.23±0.58&	0.09±0.03&	0±0	0.33±0.06*	5.25±0.89*
	14		8.90±0.25*&	0.27±0.06*	3.66±0.22*	0.13±0.04&	0±0	0.33±0.06*	4.45±0.25*
실 험 No.2									
비손상	-		5.89±0.31	0.14±0.04	2.15±0.26	0.05±0.03	0±0	0.15±0.05	3.41±0.32
대조	-		13.26±0.55*	0.33±0.11	5.34±0.71*	0.39±0.07*	0±0	0.38±0.09*	6.81±0.49*
화합물 2	0.14	6	7.80±0.77*&	0.18±0.04	3.41±0.41*&	0.09±0.03 &	0±0	0.18±0.06	3.95±0.54&
	1.4		7.70±0.40*&	0.21±0.03	3.53±0.37*&	0.1±0.03 &	0±0	0.18±0.06	3.68±0.25&
	14		6.93±0.77 &	0.17±0.04	2.9±0.38&	0.1±0.04 &	0±0	0.24±0.08	3.51±0.41&

비교:

[0128] * - 비손상 그룹과의 차이, Student's t-test에 의거, $p < 0.05$

[0129] & - 대조군과의 차이, Student's t-test에 의거, $p < 0.05$

[0130] 오발부민의 시험 복용량을 흡입하고 반응을 보이는 기니 피기의 기관지 경련의 중증도 평가에서는 기관지 천식 모델에 있어서 본 실험의 화합물들이 호산구증가증 뿐만 아니라 질병의 임상적 징후도 감소시켰다. 특히, 속임약을 투여받은 대조군에서는 8마리 중 5마리가 급성기 및 아급성기의 중증 기관지경련을 보였다; 본 실험의 화합물들을 투여받은 그룹의 동물들에서는 이러한 동물이 없거나 2마리를 넘지 않았다. 그리고, 정상 및 호흡 깊이가 증가(기관지경련 없이)한 동물은 대조군에서는 0-1이고 치료를 받은 군에서는 4-7마리였다(표 7 참조).

[0131] 기니피그의 기관지 천식 모델에 있어서 기관지경련의 중증도

표 7

군	화합물 투여량 mg/kg	투여 횟수	개체 수 (n=8)			
			기관지 경련 없음	경미한 기관지 경련 (급성기 없음 아급성기 있음 호흡 조절)	경미한 기관지 경련 (급성기 없음 아급성기 있음 호흡 조절 없음)	심한 기관지 경련 (급성 및 아급성기)
실 험 No.1						
비손상	-		8	0	0	0
대조	-		0	0	3	5
화합물 1	0.045	10	5	1	2	0
	0.14		7	1	0	0
	14		5	0	2	1
실 험 No.2						
비손상	-		8	0	0	0
대조	-		1	1	1	5
화합물 2	0.14	6	4	1	1	2
	1.4		4	0	3	1
	14		5	1	0	2

[0132]

[0133] 상기 얻어진 결과들은, 호산구증가증, 특히 기관지 천식 및 이와 유사한 모델의 실험에서 본 발명의 화합물들이 호산구증가증을 억제하고 질병의 임상적 증상을 감소시킨다는 사실의 신뢰할 만한 증거이다.

[0134] **실시예 5**

[0135] 생쥐의 세파텍스-유발 호산구성 폐 염증 모델에 있어서 일반식 (I)의 화합물의 효과 평가

[0136] 생쥐의 세파텍스-유발 호산구성 폐 염증 모델은 표준 방법에 의해 실행되었다[Evaldsson C, Ryden I, Uppugunduri S. Isomaltitol exacerbates neutrophilia but reduces eosinophilia: new insights into the sephadex model of lung inflammation//Int Arch Allergy Immunol. 2011; 154(4):286-94]. 세파텍스 G-200(Pharmacia, Sweden)를 수컷 위스타 생쥐(Wistar rat)에게 흡입을 통해 5 mg/kg의 용량으로 1회 투여하였다. 본 실험의 화합물들을 생쥐들에게 위내 경로를 통해 4회(세파텍스 투여의 24시간 전, 1시간 전, 24시간 후 및 45시간 후) 투여하였다. 비교제제로서 부테노사이드를 동일한 용법에 따라 0.5 mg/kg의 용량을 흡입 투여하였다. 세파텍스 흡입 48시간 후 기관지 폐포(Bronchoalveolar) 세척액을 취하여 세척액 중 총 림프구 수와 백혈구 형성을 계수하였다. 군 당 생쥐 수는 7 내지 10마리이다.

[0137] BAL의 분석에서는 흡입에 의한 세파텍스 G-200의 1회 투여시 백혈구의 폐를 향한 흐름이 야기된다는 것이 명확하게 보여졌다. 대조군에서는 모든 세포 형의 함량이 비손상 동물들에 비해 증가하였다: 그러나, 최대로 증가한 것은 호산구였다(표 8 - 9 참조).

[0138] 생쥐에 대한 일반식 (I)의 화합물의 위 내 투여시 몇차례 BAL 내의 호산구 수가 감소되었다. 본 발명의 화합물들은 실시된 넓은 범위의 복용량 이내에서 활성을 나타내었다.

[0139] 생쥐의 세파텍스 유발 호산구성 폐 염증 모델에 있어서 BAL 중 세포 성분의 함량($M \pm m$, n=10)

표 8

군	BAL 1 μ L 중 세포 성분의 함량				
	백혈구	호중구	호산구	마크로파지	림프구
비손상	865 $\pm$ 78	35 $\pm$ 9	13 $\pm$ 4	770 $\pm$ 66	46 $\pm$ 12
대조	2785 $\pm$ 152*	711 $\pm$ 158*	444 $\pm$ 45*	1469 $\pm$ 197*	161 $\pm$ 44*
화합물 1 (0.06 mg/kg)	2500 $\pm$ 307*	837 $\pm$ 231*	118 $\pm$ 27* $\&$	1417 $\pm$ 131*	128 $\pm$ 48
화합물 1 (0.18 mg/kg)	2665 $\pm$ 455*	597 $\pm$ 168*	174 $\pm$ 64* $\&$	1661 $\pm$ 260*	143 $\pm$ 54
화합물 1 (0.54 mg/kg)	2120 $\pm$ 218* $\&$	352 $\pm$ 135*	126 $\pm$ 43* $\&$	1446 $\pm$ 113*	196 $\pm$ 63*
화합물 1 (1.8 mg/kg)	1915 $\pm$ 250* $\&$	451 $\pm$ 149*	129 $\pm$ 44* $\&$	1214 $\pm$ 130*	122 $\pm$ 49
화합물 1 (5.4 mg/kg)	2340 $\pm$ 322*	492 $\pm$ 129*	152 $\pm$ 56* $\&$	1525 $\pm$ 199*	170 $\pm$ 45*
화합물 1 (18 mg/kg)	2135 $\pm$ 205* $\&$	297 $\pm$ 89* $\&$	69 $\pm$ 22* $\&$	1601 $\pm$ 134*	168 $\pm$ 44*
부데노사이드 (0.5 mg/kg)	1805 $\pm$ 318* $\&$	334 $\pm$ 119*	204 $\pm$ 84* $\&$	1230 $\pm$ 205	37 $\pm$ 10 $\&$

[0140]

[0141] 비교:

[0142] * - 비손상 그룹과의 차이, Student's t-test에 의거, $p < 0.05$

[0143] & - 대조군과의 차이, Student's t-test에 의거, $p < 0.05$

[0144] 생쥐의 세파텍스 유발 호산구성 폐 염증 모델에 있어서 BAL 중 세포 성분의 함량

[0145] ($M \pm m$, $n=7$)

표 9

군	BAL 1 μ L 중 세포 성분의 함량				
	백혈구	호중구	호산구	마크로파지	림프구
비손상	2471 $\pm$ 611	150 $\pm$ 63	39 $\pm$ 31	1532 $\pm$ 225	31 $\pm$ 26
대조	5207 $\pm$ 814*	785 $\pm$ 163*	630 $\pm$ 104*	3471 $\pm$ 412*	275 $\pm$ 103
화합물 5 (1.8 mg/kg)	2064 $\pm$ 257 $\&$	385 $\pm$ 57*	147 $\pm$ 44 $\&$	1576 $\pm$ 93 $\&$	66 $\pm$ 26
화합물 5 (18 mg/kg)	2189 $\pm$ 222 $\&$	605 $\pm$ 124	34 $\pm$ 15 $\&$	1331 $\pm$ 66 $\&$	121 $\pm$ 48
화합물 7 (1.8 mg/kg)	2242 $\pm$ 289 $\&$	389 $\pm$ 188	28 $\pm$ 16 $\&$	913 $\pm$ 235 $\&$	16 $\pm$ 10
화합물 7 (18 mg/kg)	1725 $\pm$ 345 $\&$	136 $\pm$ 50 $\&$	164 $\pm$ 62 $\&$	909 $\pm$ 299 $\&$	29 $\pm$ 17
화합물 8 (1.8 mg/kg)	2796 $\pm$ 333 $\&$	303 $\pm$ 104 $\&$	202 $\pm$ 53* $\&$	1860 $\pm$ 204 $\&$	82 $\pm$ 44
화합물 8 (18 mg/kg)	4250 $\pm$ 576	583 $\pm$ 180	318 $\pm$ 65* $\&$	2050 $\pm$ 462 $\&$	64 $\pm$ 45

[0146]

[0147] 비교:

[0148] * - 비손상 그룹과의 차이, Student's t-test에 의거, $p < 0.05$

[0149] & - 대조군과의 차이, Student's t-test에 의거, $p < 0.05$

[0150] 실시예 6

[0151] 기니 피그의 류코트리엔-유발 호산구성 폐 염증 모델에 있어서 일반식 (I)의 화합물의 효과 평가

[0152] 기니피그의 류코트리엔 유발 호산구성 폐 염증 모델은 표준 방법에 의해 실행되었다[Underwood DC1, Osborn RR, Newsholme SJ, Torphy TJ, Hay DW. Persistent airway eosinophilia after leukotriene (LT) D4 administration in the guinea pig: modulation by the LTD4 receptor antagonist, pranlukast, or an interleukin-5 monoclonal antibody// Am J Respir Crit Care Med. 1996 Oct; 154(4 Pt 1):850-7]. 10 mg/kg의 농도(유속 250 mL/hr)의 류코트리엔 D4 용액(LTD4, Cayman Chemical, USA)을 이중 챔버 체적변동 기록계(double-chamber plethysmograph) (Emka Technologies, France) 조건 하에 수컷 기니피그(250-300 g)에게 1분 동안 흡입시켰다. 본 실험의 화합물은 위내 경로를 통해 4회(LTD4 흡입의 24시간 전, 1시간 전, 24시간 후 및 45시간 후) 투여하였다. 비교제제로서 몬테루카스트(0.8 mg/kg)를 LTD4 흡입 1시간 전에 위 내 경로를 통해 1회

투여하였다. LTD4 흡입 48시간 후 기관지 폐포 세척액을 취하였고, 세척액 중 총 림프구 수와 백혈구 형성을 계수하였다. 군 당 기니피그 수는 8마리이다.

[0153] BAL의 분석에서는 흡입에 의한 류코트리엔 D4의 1회 투여시 폐를 향한 호중구, 호산구 및 단핵구/마크로파지의 흐름이 야기된다는 것이 명확하게 보여졌다. 가장 현저한 세포수 증가(25배)는 호산구에서 관찰되었다(표 10 참조).

[0154] 본 실험의 화합물을 기니 피그에게 위 내 투여한 경우 BAL 중 호산구 수가 2.1-3.4배 감소되었다. 화합물들은 넓은 범위의 복용량(0.14-14 mg/kg) 내에서 효과를 나타냈다. 본 발명의 화합물과 몬테루카스트의 효과의 비교 분석으로부터, 본 발명의 화합물의 효과는 류코트리엔 수용체 작용제와 효력 면에서 비교할 만하다는 것을 알 수 있었다.

[0155] 기니 피그의 류코트리엔 유발 호산구성 폐 염증 모델에 있어서 BAL 중 세포 성분의 함량 ($M \pm m$, $n=8$)

표 10

군	BAL 1 μ L 중 세포 성분의 함량				
	백혈구	호중구	호산구	마크로파지	림프구
비손상	556 $\pm$ 83	21 $\pm$ 4	79 $\pm$ 26	357 $\pm$ 55	100 $\pm$ 32
대조	5788 $\pm$ 1269*	303 $\pm$ 66*	1966 $\pm$ 391*	3392 $\pm$ 895*	126 $\pm$ 35
화합물 1 (0.14 mg/kg)	2638 $\pm$ 463* $\&$	249 $\pm$ 50	916 $\pm$ 144* $\&$	1360 $\pm$ 323*	112 $\pm$ 27
화합물 1 (1.4 mg/kg)	3413 $\pm$ 1022*	279 $\pm$ 97*	856 $\pm$ 288* $\&$	2134 $\pm$ 705*	144 $\pm$ 89
화합물 1 (14 mg/kg)	2250 $\pm$ 373* $\&$	155 $\pm$ 36*	580 $\pm$ 124* $\&$	1444 $\pm$ 258*	71 $\pm$ 28
몬테루카스트 (0.8 mg/kg)	24065 $\pm$ 415* $\&$	173 $\pm$ 41*	618 $\pm$ 116* $\&$	1519 $\pm$ 263*	96 $\pm$ 39

[0156]

비교:

[0157]

* - 비손상 그룹과의 차이, Student's t-test에 의거, $p<0,05$

[0158]

& - 대조군과의 차이, Student's t-test에 의거, $p<0,05$

[0159]

실시예 7

[0160]

기니 피그의 알레르기성 비염 모델에 있어서 일반식 (I)의 화합물의 효과 평가

[0161]

기니 피그의 알레르기성 비염 모델은 표준 방법에 따라 실행되었다[Vishnu N. Thakare, M.M. Osama, Suresh R. Naik. Therapeutic potential of curcumin in experimentally induced allergic rhinitis in guinea pigs // Int Immunopharmacol. 2013 Sep; 17(1):18-25].

[0162]

기니 피그(250-300 g)는 생리식염수에 희석 및 현탁된 오발부민(100 μ g/pig) 및 수산화 알루미늄(5 mg/pig)의 위 내 투여로 4회(0, 7, 4 및 21일째) 면역화시켰다. 실험 28일째 오발부민 용액(60 mg/mL)을 동물의 각 콧구멍을 통해 20 μ L의 용량으로 비강 내 투여하였다. 35일째, 오발부민 용액(200 μ g/mL, 25 μ L)을 피하 주입을 통해 투여하였다; 실험 동물의 등에 투여 부위의 털을 미리 깎아두었다. 주사 부위의 붓기 및 발적은 민감도의 지표로 제공되었다. 42일째, 오발부민 용액(60 mg/mL, 20 μ L/콧구멍)을 비강 내 투여하였다. 가-면역화(pseudoimmunized)된 동물들은 정확한 알레르기성 염증의 형성 대조군을 형성하였다: 기니 피그에게 0, 7, 4 및 21일째 수산화 알루미늄 용액(5 mg/pig)을, 28 및 35일째 생리식염수를, 및 42일째 오발부민 용액(60 mg/mL, 20 μ L/콧구멍)을 투여하였다.

[0163]

본 실험의 화합물(14 mg/kg)을 3회(오발부민의 최종 투여 전 48, 24 및 1시간 전) 위 내 투여하였다. 비교제제로서 텍사메타손을 오발부민의 최종 비강내 투여 3시간 전에 위 내 경로로 1회 투여하였다.

[0164]

재채기 및 코 굽기와 같은 임상 징후를 오발부민의 최종 투여 이후 2시간 동안 기록하였다. 오발부민의 최종 투여 24시간 후 비강 세척액을 취하였고, 그 중 총 림프구 수 및 백혈구 형성을 측정하였다. 그룹 당 기니 피그 수는 8마리였다.

[0165]

비강 세척액의 분석을 통해 알레르기성 비염은 백혈구의 비강 내로의 명백한 흐름을 동반한다는 것을 알 수 있었다. 증가 최고치는 호산구에서 기록되었다(표 11).

[0166]

[0167] 기니 피그에 대한 일반식 (I)의 화합물의 3회 투여는 비강 세척액 중 호산구 수를 가-면역화된 동물들에서 관찰되는 수준으로 감소시켰다. 본 발명의 화합물의 효과는 텍사메타손과 효력 면에서 비교할만 했다.

[0168] 기니 피그의 알레르기성 비염 모델에 있어서 비강 세척액 중 세포 성분의 함량 ($M \pm m$, $n=8$)

표 11

군	비강 세척액 1 μ L 중 세포 성분의 함량				
	백혈구	호중구	호산구	마크로파지	림프구
가 면역화	1371 $\pm$ 181	424 $\pm$ 30	267 $\pm$ 38	712 $\pm$ 125	8 $\pm$ 6
대조	3029 $\pm$ 286*	753 $\pm$ 121*	1265 $\pm$ 226*	439 $\pm$ 132	8 $\pm$ 8
화합물 1 (14 mg/kg)	1300 $\pm$ 254&	243 $\pm$ 58*&	521 $\pm$ 129&	405 $\pm$ 130	6 $\pm$ 6
화합물 5 (14 mg/kg)	1071 $\pm$ 233&	344 $\pm$ 50&	575 $\pm$ 143&	198 $\pm$ 54*	9 $\pm$ 7
텍사메타손 (5 mg/kg)	1186 $\pm$ 142&	328 $\pm$ 47&	365 $\pm$ 90&	296 $\pm$ 71*	5 $\pm$ 3

[0169]

[0170] 비교:

[0171] * - 비손상 그룹과의 차이, Student's t-test에 의거, $p<0,05$

[0172] & - 대조군과의 차이, Student's t-test에 의거, $p<0,05$

[0173] 오발부민의 최종 비강내 투여 후 2시간 동안 알레르기성 비염의 임상적 징후에서는 동물들의 재채기 및 코 굽기 횟수가 명백히 증가한 것을 알 수 있었다. 이는 알레르기성 비염이 실행된 모델에서의 정확성의 지표이다. 일반식 (I)의 화합물의 치료법은 비염 징후를 가-면역화된 동물들에게서 관찰되는 수준으로 감소시켰다. 비교제제가 유사한 효과를 보였다(표 12 참조).

[0174] 기니 피그의 실험 모델에 있어서 알레르기성 비염의 임상적 징후 ($M \pm m$, $n=8$)

표 12

군	재채기 횟수 / 2 시간	코를 굽은 횟수 / 2 시간
가 면역화	5.3 $\pm$ 1.2	9.7 $\pm$ 1.3
대조	16.3 $\pm$ 2.6*	45.3 $\pm$ 5.2*
화합물 1 (14 mg/kg)	5.9 $\pm$ 1.1 &	13.9 $\pm$ 2.6 &
화합물 5 (14 mg/kg)	7.1 $\pm$ 1.3 &	19.1 $\pm$ 4.9 &
텍사메타손 (5 mg/kg)	7.9 $\pm$ 0.8 &	16.7 $\pm$ 1.8*&

[0175]

[0176] 비교:

[0177] * - 비손상 그룹과의 차이, Student's t-test에 의거, $p<0,05$

[0178] & - 대조군과의 차이, Student's t-test에 의거, $p<0,05$

[0179] 실시예 8

[0180] 생쥐의 대증적 피부염(allopathic dermatitis) 모델에 있어서 일반식 (I)의 화합물의 효과 평가

[0181] 대증적 피부염 모델은 표준 방법에 따라 실행되었다[Mechanism of dinitrochlorobenzene-induced dermatitis in mice: role of specific antibodies in pathogenesis//PLoS One. 2009; 4(11)].

[0182] 실험 0 및 12일째, 95% 에탄올 중의 1-클로로-2,4-디니트로벤젠(DNCB, Sigma-Aldrich, US) 2% 용액 100 μ L를 수컷 밸브/생쥐(Balb/c mice)의 털 깎은 등에 주사하였다. 실험 17일째, "실험체" 생쥐의 오른쪽 귀에 2% DNCB 알코올 용액 20 μ L를 1시간 간격으로 2회 주사하였다. 본 실험의 화합물 및 비교제제인 텍사메타손을 실험 8일

째-17일째 동안 매일 1회 위 내 경로로 투여하였다.

[0183] 실험 18일째, 동물들을 CO₂ 카메라 내에서 안락사시켰다. "실험체" 및 "대조군" 생쥐들의 귀의 무게를 측정하였다. "실험체" 및 "대조군" 생쥐들의 귀의 무게 차이의 퍼센트 비율을 계산하여 대응지수(RI)로 나타내었다.

[0184] 본 실험에서 일반식 (I)의 화합물들이 아토피성 피부염 실험 모델에 있어서 대응지수를 감소시킨다는 것이 보여졌다. 본 발명의 화합물의 효과는 스테로이드 제제인 덱사메타손과 효력 면에서 비교할만했다(표 13 참조).

[0185] 생쥐의 아토피성 피부염에 있어서 대응지수 ($M \pm m$, n=12)

표 13

군	응답 지수 (%)
비손상	-0.49 ± 0.68
대조	$93.8 \pm 5.4^*$
화합물 1 (0.3 mg/kg)	$74.4 \pm 7.3^* \&$
화합물 1 (3 mg/kg)	$69.5 \pm 8.2^* \&$
화합물 1 (30 mg/kg)	$69.1 \pm 8^* \&$
덱사메타손 (10 mg/kg)	$65.6 \pm 8^* \&$

[0186]

[0187] 비교:

[0188] * - 비손상 그룹과의 차이, Student's t-test에 의거, $p < 0.05$

[0189] & - 대조군과의 차이, Student's t-test에 의거, $p < 0.05$

[0190] 상기 얻어진 결과들은 호산구 증가증, 특히 생쥐의 세파텍스 유발 호산구성 폐 염증, 기니 피그의 류코트리엔 유발 호산구성 폐 염증, 기니 피그의 알레르기성 비염 및 천식, 생쥐의 아토피성 피부염, 및 이와 유사한 실험 모델에 있어서 일반식 (I)의 화합물이 호산구증가증을 현저히 감소시킨다라는 결론의 근거가 된다.