

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국



(43) 국제공개일
2017년 2월 16일 (16.02.2017)

WIPO | PCT

(10) 국제공개번호

WO 2017/026830 A1

(51) 국제특허분류:

A61K 31/17 (2006.01)

A23L 1/30 (2006.01)

03382 서울시 은평구 통일로 57길 12, 201호, Seoul (KR).

(21) 국제출원번호:

PCT/KR2016/008867

(22) 국제출원일:

2016년 8월 12일 (12.08.2016)

(74) 대리인: 이명진 (LEE, Myoung-Jin); 06180 서울시 강남구 영동대로 85길 28, 6층, Seoul (KR).

(25) 출원언어:

한국어

(26) 공개언어:

한국어

(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, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, 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, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(30) 우선권정보:

10-2015-0113739 2015년 8월 12일 (12.08.2015) KR
10-2016-0102224 2016년 8월 11일 (11.08.2016) KR

(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).

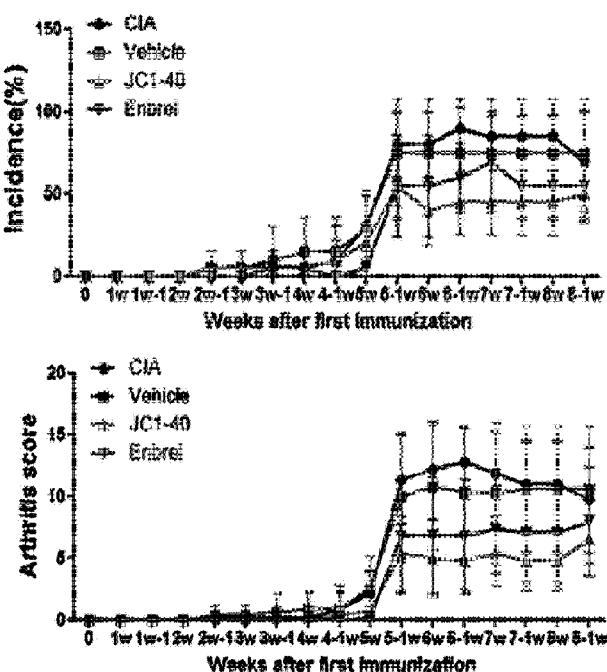
[다음 쪽 계속]

(71) 출원인: 서울대학교 산학협력단 (SEOUL NATIONAL UNIVERSITY R & DB) [KR/KR]; 08826 서울시 관악구 관악로 1, Seoul (KR).

(72) 발명자: 이미옥 (LEE, Mi Ock); 06276 서울시 강남구 선릉로 221, 303동 102호, Seoul (KR). 박형근 (PARK, Hyeung Geun); 08797 서울시 관악구 인현 12길 46-1, 208동 402호, Seoul (KR). 조미라 (CHO, Mi-La); 04427 서울시 용산구 이촌로 156, 1103호, Seoul (KR). 한용현 (HAN, Yong-Hyun); 07365 서울시 영등포구 도신로 29길 28, 204동 1803호, Seoul (KR). 김현지 (KIM, Hyeon-Ji); 08790 서울시 관악구 관악로 10길 83-2, 가동 101호, Seoul (KR). 박진실 (PARK, Jin-Sil);

(54) Title: PHARMACEUTICAL COMPOSITION FOR PREVENTING OR TREATING AUTOIMMUNE DISEASES COMPRISING THIOUREA DERIVATIVE

(54) 발명의 명칭 : 티오우레아 유도체를 포함하는 자가면역질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물



(57) Abstract: The present invention relates to a novel use of a thiourea derivative and, more specifically, to a pharmaceutical composition for preventing or treating autoimmune diseases comprising a thiourea derivative as an active ingredient. The thiourea derivative according to the present invention can inhibit the transcription of inflammatory genes such as TNF- α , IL-1 β , NOS2 and IL-6, and also can inhibit the activity or production of Th17 and increase the activity or production of a regulatory T cell (Treg). Thus, it is expected that the thiourea derivative may be usefully used in a pharmaceutical composition, a health food composition, etc. for the prevention, improvement or treatment of various autoimmune diseases including rheumatoid arthritis.

(57) 요약서: 본 발명은 티오우레아 유도체의 신규한 용도에 관한 것으로서, 보다 구체적으로는 티오우레아 유도체를 유효성분으로 포함하는 자가면역질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다. 본 발명에 따른 티오우레아 유도체는 TNF- α , IL-1 β , NOS2, IL-6 등의 염증유전자와 전사를 억제할 뿐만 아니라, Th17의 활성 또는 생성을 억제하고, 조절 T 세포(Regulatory T cell: Treg)의 활성 또는 생성을 증가시킬 수 있기 때문에, 류마티스 관절염을 비롯한 다양한 자가면역 질환의 예방, 개선 또는 치료를 위한 약학적 조성물, 건강식품 조성물 등에 유용하게 사용할 수 있을 것으로 기대된다.

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제 21 조(3))

— 청구범위 보정 기한 만료 전의 공개이며, 보정서를 접수하는 경우 그에 관하여 별도 공개함 (규칙 48.2(h))

명세서

발명의 명칭: 티오우레아 유도체를 포함하는 자가면역질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물

기술분야

[1] 본 발명은 티오우레아 유도체의 신규한 용도에 관한 것으로서, 보다 구체적으로는 티오우레아 유도체를 유효성분으로 포함하는 자가면역질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[2] 인간의 면역계는 인체에 침입한 외부 항원으로부터 신체를 보호하는 역할을 하나, 자기 관용성(self tolerance)이 있어서 자기 조직을 공격하지는 않는다. 그러나 면역계의 자기 관용성이 파괴되어 자신의 유전자에 의해 정상적으로 발현되는 단백질을 면역세포가 공격대상으로 인식하여 항체를 만들거나 T 세포 반응을 일으켜서 정상조직을 파괴하는 경우를 자가 면역이라 부르며 구체적인 증상이 나타나면 자가면역질환이라고 한다.

[3] 이러한 자가면역질환 중 하나인 류마티스 관절염은 관절을 싸고 있는 활막에 염증이 생겨 주위의 연골과 뼈에 염증이 퍼져 관절이 파괴되고 장애를 일으키는 만성적 질환으로서, 관절 내에 있는 활막에 염증이 생기고 혈액 내의 면역 세포들이 모이게 되어, 관절액이 증가하게 되어 관절이 부으면서 통증이 수반되게 된다. 류마티스 관절염은 주로 자가면역 이상반응에 의한 질환이고, 비정상적으로 작동하는 면역기능이 염증을 일으키는 것이며, 관절 내의 염증 반응은 주로 T 세포와 B 세포 및 대식세포 등이 주로 관여하며 이들에서 분비되는 TNF- α , 인터류킨 (IL)-1 β , IL-6, IL-17에 의해 염증이 유발된다. 특히, TNF- α 와 IL-1 β 를 분비하는 M1 대식세포와 IL-17을 분비하는 Th17 세포가 류마티스 관절염 질환을 더 악화시키는 것으로 알려져 있다.

[4] 현재, 류마티스 관절염을 비롯한 자가면역질환 치료는 TNF 억제제(Infliximab, Etanercept 등), IL-1 억제제 (Anakinra, Canakinumab), 스테로이드나, 비스테로이드성 염증억제제 (NSAID), 사이토카인 억제제 (Actemra), 신호전달 억제제 (JAK3 inhibitor), 혹은 TNF- α 관련 항체 치료제가 주종을 이루었다. 하지만, 이러한 치료제들은 가려움, 호흡기 감염 등의 부작용이 따르고, 염증 억제를 통한 통증감소에 초점이 맞춰있기 때문에 완치가 어려워 자가면역질환의 근본적인 치료법은 되지 못하는 실정이다.

[5] 상기에서 기재한 바와 같이, 대부분의 자가면역질환은 그 원인 및 발병 기전이 분명하지 않고 매우 다양하여 치료가 어려우며, 현재 사용하고 있는 치료제들의 경우 장기간 투약 시 내성이 생기거나 부작용이 심각하여 새로운 치료제 개발이 절실히 요구되는 실정이고, 이에 대한 연구가 이루어지고 있으나(한국 공개특허 제10-2013-0031229호 등), 아직 미미한 실정이다.

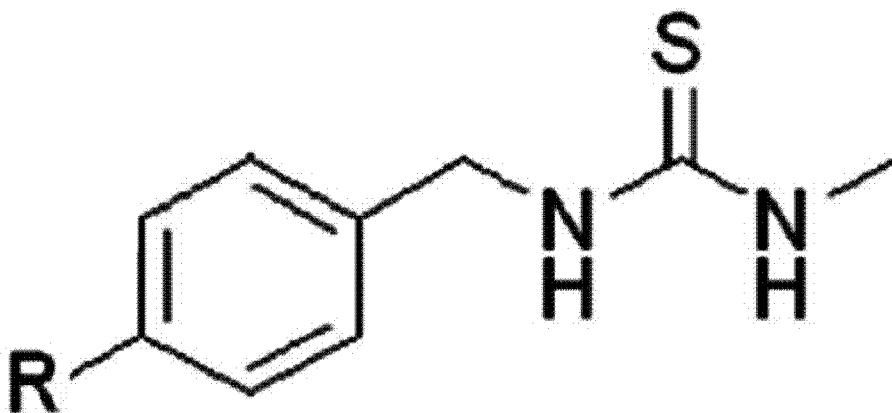
발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [6] 본 발명은 상기와 같은 종래 기술상의 문제점을 해결하기 위해 안출된 것으로서, 본 발명자들은 ROR α 의 활성자인 티오우레아 유도체가 염증 반응을 억제시키고, Th17 세포의 분화 및 활성화를 저해함과 동시에 Treg 세포의 생성을 촉진하는 것을 확인하고, 이에 기초하여 본 발명을 완성하였다.
- [7] 이에, 본 발명의 목적은 티오우레아 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 자가면역질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.
- [8] 그러나 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 당업자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제 해결 수단

- [9] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 자가면역질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [10] [화학식 1]
- [11]



- [12] 여기서, R은 폐녹시기, 벤질옥시기 또는 피리디닐기이다.
- [13] 본 발명의 일 구현예로, 상기 자가면역질환은 류마티스 관절염, 건선성 관절염, 건선, 전신성 피부 경화증(systemic sclerosis), 경화증(sclerosis), 다발성 경화증, 염증성 장질환, 전신성 홍반성 루푸스, 크론병(crohn's disease), 패혈증 및 타입 I 당뇨병으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.
- [14] 본 발명의 다른 구현예로, 상기 조성물은 Th17 세포의 생성을 억제할 수 있다.
- [15] 본 발명의 또 다른 구현예로, 상기 조성물은 조절 T 세포(Regulatory T cell: Treg)의 생성을 촉진할 수 있다.
- [16] 본 발명의 또 다른 구현예로, 상기 조성물은 TNF- α , NOS2, IL-1 β 또는 IL-6 염증 유전자의 발현을 억제하여 M1 대식세포 분화를 억제할 수 있다.
- [17] 본 발명의 또 다른 구현예로, 상기 조성물은 대식세포에서 IL-10, Arg1, Retnla

또는 CD206 등의 항염증 유전자의 발현을 촉진하여 M2 대식세포 분화를 증대시킬 수 있다.

[18] 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 개체에 투여하는 단계를 포함하는 자가면역질환 치료방법을 제공한다.

[19] 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 자가면역질환 치료 용도를 제공한다.

발명의 효과

[20] 본 발명에 따른 티오우레아 유도체는 TNF- α , IL-1 β , NOS2, IL-6 등의 염증 유전자의 전사를 억제하고 IL-10, Arg1, CD206 등의 항염증 유전자의 전사를 촉진시킬 뿐만 아니라, Th17의 활성 또는 생성을 억제하고, 조절 T 세포(Regulatory T cell: Treg)의 활성 또는 생성을 증가시킬 수 있기 때문에, 류마티스 관절염을 비롯한 다양한 자가면역 질환의 예방, 개선 또는 치료를 위한 약학적 조성물, 건강식품 조성물 등에 유용하게 사용할 수 있을 것으로 기대된다.

도면의 간단한 설명

[21] 도 1은 대식세포 세포주에서 JC1-40의 M1 염증 유전자 전사 억제 효과를 Real-time PCR을 통해 확인한 결과이다.

[22] 도 2a 및 도 2b는 1차 배양된 마우스 복강 내 대식세포에서 JC1-40의 M1 염증 유전자 전사 억제 효과를 Real-time PCR을 통해 확인한 결과이다.

[23] 도 3은 1차 배양된 마우스 복강 내 대식세포에서 JC1-40을 처리하였을 때, M1 분화 대식세포의 감소를 유세포분석법으로 확인한 결과이다.

[24] 도 4a 및 도 4b는 1차 배양된 마우스 복강 내 대식세포에서 JC1-40의 M2 항염증 유전자 전사 억제 효과를 Real-time PCR을 통해 확인한 결과이다.

[25] 도 5a는 T세포 세포주에서 JC1-40의 IL-17 유전자 전사 억제 효과를 Real-time PCR을 통해 확인한 결과이다.

[26] 도 5b는 T세포 세포주에서 JC1-40의 Treg의 발현 증가를 면역염색법으로 확인한 결과이다.

[27] 도 6a는 1차 배양된 마우스 비장 T세포에서 JC1-40을 농도별로 처리하였을 때, Th17 분화 세포의 감소를 유세포염색법으로 확인한 결과이다.

[28] 도 6b는 1차 배양된 마우스 비장 T세포에서 JC1-40을 농도별로 처리하였을 때, 상충액에서 IL-17의 양을 ELISA로 측정한 결과이다.

[29] 도 7a는 인간 말초 단핵 세포구(PBMC)에서 JC1-40을 농도별로 처리하였을 때, Th17 및 Treg 분화세포의 양적변화를 유세포염색법으로 확인한 결과이다.

[30] 도 7b는 인간 말초 단핵 세포구(PBMC)에서 JC1-40을 농도별로 처리하였을 때, 상충액에서 IL-17의 양을 ELISA로 측정한 결과이다.

[31] 도 8a 및 도 8b는 인간 말초 단핵 세포구(PBMC)에서 분화시킨 파골세포 전구체에 JC1-40을 농도별로 처리하였을 때, 파골세포 분화 관련 인자의 발현

의제 효과를 Real-time PCR을 통해 확인한 결과이다.

- [32] 도 9는 관절염 동물모델 (type II collagen-induced arthritis-CIA)에서 JC1-40의 투여에 따른 관절염 incidence와 score를 산출한 결과이다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [33] 본 발명자들은 류마티스 관절염을 포함한 자가면역질환을 치료하는데 효과적인 물질에 대하여 연구 노력한 결과, ROR α 의 활성자인 티오우레아 유도체가 TNF- α , IL-1 β , IL-6 등의 염증 싸이토카인 발현을 억제시킬 뿐만 아니라 IL-10, Arg1, CD206 등의 항염증 인자 발현을 촉진시키고, Th17 세포의 분화 및 활성화를 저해 또는 억제함과 동시에 Treg 세포의 생성을 촉진하는 것을 확인하고, 이에 기초하여 본 발명을 완성하였다.

[34]

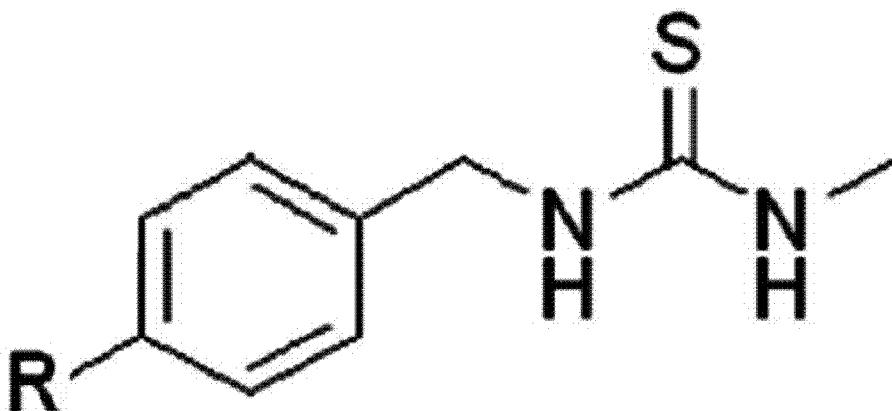
- [35] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

[36]

- [37] 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 자가면역질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[38] [화학식 1]

[39]



- [40] 여기서, R은 폐녹시기, 벤질옥시기 또는 피리디닐기이다.

- [41] 본 발명에서 사용되는 용어, "예방"이란 본 발명에 따른 약학적 조성물의 투여에 의해 자가면역질환을 억제시키거나 발병을 지연시키는 모든 행위를 의미한다.

- [42] 본 발명에서 사용되는 용어, "치료"란 본 발명에 따른 약학적 조성물의 투여에 의해 자가면역질환에 의한 증세가 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미한다.

- [43] 본 발명의 조성물에 의한 개선, 예방 또는 치료 대상 질병인 "자가면역질환"은 자기관용을 유도하거나 계속 유지하는데 있어서 문제가 생기게 되면 자기 항원에 대하여 면역반응이 일어나게 되고, 이로 인하여 자신의 조직을 공격하는 현상이 발생하는데 이러한 과정에 의해 발생되는 질환을 의미한다. 또한, 본

발명에서 상기 자가면역질환의 종류로는 이에 제한되지는 않으나, 류마티스 관절염, 건선성 관절염, 건선, 전신성 피부 경화증(systemic scleroderma), 경화증(sclerosis), 다발성 경화증, 염증성 장질환, 전신성 홍반성 루푸스, 크론병(crohn's disease), 패혈증 및 타입 I 당뇨병으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있고, 바람직하게는 류마티스 관절염일 수 있다.

[44] 본 발명에 따른 조성물에 유효성분으로 포함되는 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 기존의 thiazolidinedione계 화합물 CGP52608을 선도 물질로 하는 thiourea 유도체로써(JC1 화합물 이라 함), 바람직하게는

1-메틸-3-(4-(피리딘-2-일)벤질)-thiourea(JC1-38),

1-(4-벤질옥시-벤질)-3-메틸-thiourea(JC1-40) 또는

1-(4-페녹시-벤질)-3-메틸-thiourea(JC1-42)일 수 있다.

[45] 본 발명에 따른 조성물은 염증 유전자의 발현을 억제하여 M1 대식세포 분화를 억제함으로써 자가면역 질환의 치료효과를 나타낼 수 있다.

[46] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 대식세포 세포주 및 1차 배양된 마우스 복강 내 대식세포에서 JC1-40의 염증 조절 효과를 확인한 결과, JC1-40을 처리하였을 때 염증 유발에 관여하는 TNF- α , NOS2, IL-1 β 및 IL-6 등 염증 싸이토카인의 전사량이 현저히 감소되었고 M1 대식세포의 분화가 억제됨을 확인하였다(실시예 2 및 3 참조).

[47] 또한, 본 발명에 따른 조성물은 IL-10, Arg1, Retnla 또는 CD206 항염증 유전자의 발현을 촉진하여 M2 대식세포 분화를 증대시킴으로써 자가면역 질환의 치료효과를 나타낼 수 있다.

[48] 본 발명의 다른 실시예에 따르면, 1차 배양된 마우스 복강 내 대식세포에서 JC1-40의 M1 염증 유전자 전사 억제 효과를 확인한 결과, JC1-40을 처리하였을 때 복강 내 대식세포 주에서 항염증 조절에 관여하는 IL-10, Arg1, Retnla 및 CD206의 전사량이 촉진됨을 확인하였다(실시예 4 참조).

[49] 더욱이, 본 발명에 따른 조성물은 Th17의 활성 또는 생성을 억제하고, 조절 T 세포(Regulatory T cell: Treg)의 활성 또는 생성을 증가시킴으로써 자가면역 질환의 치료효과를 나타낼 수 있다.

[50] 본 발명의 또 다른 실시예에 따르면, 1차 배양된 마우스 비장 T 세포 및 인간 말초 단핵 세포구(PBMC)에서 JC1-40의 Th17 분화 및 IL-17 분비 억제 효과를 확인한 결과, JC1-40으로 처리하였을 때, Th17으로 분화한 (IL-17 양성) T 세포는 감소한 반면, Treg으로 분화한 세포 (FOXP3 양성)의 양은 증가함을 확인하였다(실시예 5, 6 및 7 참조).

[51] 또한, 본 발명에 따른 조성물을 인간 말초 단핵 세포구(PBMC)에서 분화시킨 파골세포 전구체에 처리하였을 때, 파골세포 분화 관련 인자의 발현이 유의적으로 억제됨을 확인하였다(실시예 8 참조). 뿐만 아니라, 본 발명에 따른 조성물을 *in vivo* 관절염 동물모델에 처리하여 관절염 질환의 진행과정을 관찰한 결과, 기존 임상에서 사용되고 있는 Enbrel 치료제보다 더 우수한 관절염 완화

효과를 보였다(실시예 9 참조).

- [52] 본 발명의 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 약학적으로 허용되는 염뿐만 아니라, 통상의 방법에 의해 제조될 수 있는 모든 염, 수화물 및 용매화물을 모두 포함할 수 있다. 약학적으로 허용 가능한 염의 형태로 사용하는 경우, 염으로는 약학적으로 허용 가능한 유리산(free acid)에 의해 형성된 산부가염이 유용하다. 산부가염은 염산, 질산, 인산, 황산, 브롬화수소산, 요드화수소산, 아질산 또는 아인산과 같은 무기산류와 지방족 모노 및 디카르복실레이트, 페닐-치환된 알카노에이트, 하이드록시 알카노에이트 및 알칸디오에이트, 방향족 산류, 지방족 및 방향족 셀론산류와 같은 무독성 유기산으로부터 얻는다. 이러한 약학적으로 무독한 염류로는 설페이트, 피로설페이트, 바이설페이트, 설파이트, 바이설파이트, 니트레이트, 포스페이트, 모노하이드로겐 포스페이트, 디하이드로겐 포스페이트, 메타포스페이트, 피로포스페이트 클로라이드, 브로마이드, 아이오다이드, 플루오라이드, 아세테이트, 프로피오네이트, 데카노에이트, 카프릴레이트, 아크릴레이트, 포메이트, 이소부티레이트, 카프레이트, 헵타노에이트, 프로피올레이트, 옥살레이트, 말로네이트, 석시네이트, 수베레이트, 세바케이트, 푸마레이트, 말리에이트, 부틴-1,4-디오에이트, 헥산-1,6-디오에이트, 벤조에이트, 클로로벤조에이트, 메틸벤조에이트, 디니트로 벤조에이트, 하이드록시벤조에이트, 메톡시벤조에이트, 프탈레이트, 테레프탈레이트, 벤젠설포네이트, 톨루엔설포네이트, 클로로벤젠설포네이트, 크실렌설포네이트, 페닐아세테이트, 페닐프로피오네이트, 페닐부티레이트, 시트레이트, 락테이트, β -하이드록시부티레이트, 글리콜레이트, 말레이트, 타트레이트, 메탄설포네이트, 프로판설포네이트, 나프탈렌-1-설포네이트, 나프탈렌-2-설포네이트 또는 만델레이트를 포함한다.
- [53] 본 발명에 따른 산부가염은 통상의 방법, 예를 들면, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물을 과량의 산 수용액 중에 용해시키고, 이 염을 수온화성 유기 용매, 예를 들면 메탄올, 에탄올, 아세톤 또는 아세토니트릴을 사용하여 침전시켜서 제조할 수 있다. 동량의 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 및 물 중의 산 또는 알코올을 가열하고, 이어서 이 혼합물을 증발시켜서 건조시키거나 또는 석출된 염을 흡입여과시켜 제조할 수도 있다.
- [54] 또한, 염기를 사용하여 약학적으로 허용 가능한 금속염을 만들 수 있다. 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염은 예를 들면 화합물을 과량의 알칼리 금속 수산화물 또는 알칼리 토금속 수산화물 용액 중에 용해하고, 비용해 화합물 염을 여과하고, 여액을 증발, 건조시켜 얻는다. 이 때, 금속염으로는 나트륨, 칼륨 또는 칼슘염을 제조하는 것이 제약상 적합하다. 또한, 이에 대응하는 은 염은 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염을 적당한 은염(예, 질산은)과 반응시켜 얻는다.
- [55] 한편, 본 발명의 약학적 조성물은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염과 함께 자가면역질환 치료 효과를 갖는 공지의

유효성분을 1종 이상 더 함유할 수 있다.

- [56] 본 발명의 조성물은 약학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다. 상기 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토오스, 덱스트로오스, 수크로오스, 소르비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로오스, 메틸 셀룰로오스, 미정질 셀룰로오스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시 벤조에이트, 프로필히드록시 벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유 등이 있다. 상기 조성물을 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 중량제, 결합제, 습윤제, 봉해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다.
- [57] 본 발명의 약학적 조성물은 임상투여 시에 다양한 하기의 경구 또는 비경구 투여 형태로 제제화되어 투여될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [58] 경구 투여용 제형으로는 예를 들면 정제, 환제, 경/연질 캡슐제, 액제, 혼탁제, 유화제, 시럽제, 과립제, 엘리시르제 등이 있는데, 이들 제형은 유효성분 이외에 희석제(예: 락토즈, 덱스트로즈, 수크로즈, 만니톨, 솔비톨, 셀룰로즈 및/또는 글리신), 활택제(예: 실리카, 탈크, 스테아르산 및 그의 마그네슘 또는 칼슘염 및/또는 폴리에틸렌 글리콜)를 함유할 수 있다. 정제는 또한 마그네슘 알루미늄 실리케이트, 전분 페이스트, 젤라틴, 메틸셀룰로즈, 나트륨 카복시메틸셀룰로즈 및/또는 폴리비닐파롤리딘과 같은 결합제를 함유할 수 있으며, 경우에 따라 전분, 한천, 알긴산 또는 그의 나트륨 염과 같은 봉해제 또는 비등 혼합물 및/또는 흡수제, 착색제, 향미제, 및 감미제를 함유할 수 있다.
- [59] 또한, 비경구 투여는 피하주사, 정맥주사, 근육 내 주사, 흉부 내 주사 또는 경피투여 방법에 의할 수 있다. 국소 적용을 위해서 연고나 크림으로 제형화 할 수 있고, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 안정제 또는 완충제와 함께 물에 혼합하여 용액 또는 혼탁액으로 제조하고, 이를 앰플 또는 바이알 단위 투여형으로 제조할 수 있다. 상기 조성물은 멸균되거나 방부제, 안정화제, 수화제 또는 유화 촉진제, 삼투압 조절을 위한 염 및/또는 완충제 등의 보조제, 및 기타 치료적으로 유용한 물질을 함유할 수 있으며, 통상적인 방법인 혼합, 과립화 또는 코팅 방법에 따라 제제화할 수 있다.
- [60] 본 발명에 따른 약학적 조성물은 약제학적으로 유효한 양으로 투여한다. 본 발명에 있어서, "약제학적으로 유효한 양"은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효용량 수준은 환자의 질환의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다. 본 발명에 따른 약제학적 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고 종래의 치료제와는 순차적 또는 동시에 투여될 수 있으며, 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기한 요소들을 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의

양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 이는 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

- [61] 구체적으로, 본 발명에 따른 약학적 조성물의 유효량은 환자의 연령, 성별, 상태, 체중, 체내에서 활성 성분의 흡수도, 불활성을 및 배설속도, 질병종류, 병용되는 약물에 따라 달라질 수 있으며, 일반적으로는 체중 1kg 당 0.001 내지 150 mg, 바람직하게는 0.01 내지 100 mg을 매일 또는 격일 투여하거나 1일 1 내지 3회로 나누어 투여할 수 있다. 그러나 투여 경로, 비만의 중증도, 성별, 체중, 연령 등에 따라서 증감될 수 있으므로 상기 투여량이 어떠한 방법으로도 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.
- [62] 본 발명의 다른 양태로서, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 개체에 투여하는 단계를 포함하는 자가면역질환의 예방 또는 치료방법을 제공한다.
- [63] 본 발명에서 "개체"란 질병의 치료를 필요로 하는 대상을 의미하고, 보다 구체적으로는 인간 또는 비-인간인 영장류, 생쥐 (mouse), 쥐 (rat), 개, 고양이, 말 및 소 등의 포유류를 의미한다.
- [64] 본 발명의 또 다른 양태로서, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 자가면역질환 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다. 본 발명에서, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 자가면역질환 예방 또는 개선 효과가 있는 건강기능식품, 예컨대, 식품의 주원료, 부원료, 식품 첨가제, 기능성 식품 또는 음료의 제조에 용이하게 활용할 수 있다.
- [65] 본 발명에서 상기 "건강기능식품"이란 식품에 물리적, 생화학적, 생물공학적 수법 등을 이용하여 해당 식품의 기능을 특정 목적에 작용, 발현하도록 부가가치를 부여한 식품군이나 식품 조성이 갖는 생체방어리듬조절, 질병방지와 회복 등에 관한 체내조절기능을 생체에 대하여 충분히 발현하도록 설계하여 가공한 식품을 의미하며, 이는 식품학적으로 허용 가능한 식품 보조 첨가제를 더 포함할 수 있으며, 통상적으로 사용되는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다.
- [66] 또한, 본 발명의 건강기능식품 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 충진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있으며, 상기 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다.
- [67]
- [68] 이하, 본 발명의 이해를 돋기 위하여 바람직한 실시예를 제시한다. 그러나 하기의 실시예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 하기 실시예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.

[69]

[70] [실시 예]

[71] 실시 예 1. 화합물 제조[72] 1-1. 1-메틸-3-(4-(피리딘-2-일)벤질)-thiourea(JC1-38) 제조

[73] 두 가지 둥근 바닥 플라스크에 4-(2-피리딜)벤잘데하이드(97%, 1000mg,

5.46mmol)와 N-methylthiourea(4921mg, 54.6mmol)을 넣은 후, 감압하여 아르고 기체를 치환시켰다. 그 후 무수 THF(Tetrahydrofuran, 20ml)을 용매로 넣고, 냉동 보관되어 있던 Ti(OiPr)₄(2.72ml, 9.28mmol)을 넣어서 환류시켰다. TLC 상에서 기질이 다 없어지면 반응 용기를 천천히 식힌 후, 소디움보로하이드라이드(103mg, 2.73mmol)를 넣어주었다. 그리하여 노란색의 원하는 프로덕트(512.9mg, 2mmol)를 얻었다. (수율: 37%)

[74] ¹H-NMR (300MHZ, CDCl₃) δ8.67-8.65(d, J = 5.0 Hz, 1H), 7.95-7.92(d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.78-7.68(m, 2H), 7.42-7.39(d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.21(s, 1H), 4.71(s, 2H), 2.99(s, 3H)

[75]

[76] 1-2. 1-(4-벤질옥시-벤질)-3-메틸-thiourea(JC1-40) 제조

[77] 메틸아민염화수소 염(1eq)에 DMF 용매 하에 TEA(TriEthylAmine, 1.2eq) 4-벤질옥시벤잘데하이드를 넣은 후, 교반하였다. TLC 상에 기질이 없어짐을 확인 후, DMF를 날렸다. 그 후 에틸아세테이트로 희석한 후 브라인을 사용하여 찢어낸 후 감압증발하여 얻은 잔사로 컬럼 크로마토그래피(헥산:에틸 아세테이트 = 3:1)를 실시하여 노란색의 고체(202.7mg, 0.71mmol)를 얻었다. (수율: 30%)

[78] ¹H-NMR (300MHZ, CD3OD) δ7.44-7.28 (m, 5H), 7.23-7.20(d, J = 8.4 Hz, 2H), 6.98-6.94(m, 2H), 5.07(s, 2H), 4.55(s, 2H), 2.82(s, 3H)

[79]

[80] 1-3. 1-(4-페녹시-벤질)-3-메틸-thiourea(JC1-42) 제조

[81] 메틸아민염화수소 염(1eq)에 DMF 용매 하에 TEA(TriEthylAmine, 1.2eq) 4-페녹시벤잘데하이드를 넣은 후, 교반하였다. TLC 상에 기질이 없어짐을 확인 후, DMF를 날렸다. 그 후 에틸아세테이트로 희석한 후 브라인을 사용하여 찢어낸 후 감압증발하여 얻은 잔사로 컬럼 크로마토그래피(헥산:에틸 아세테이트 = 3:1)를 실시하여 노란색의 고체(178.9mg, 0.66mmol)를 얻었다.(수율: 65%)

[82] ¹H-NMR (300MHZ, CDCl₃) δ7.33-7.23 (m, 4H), 7.11-7.06(m, 1H), 6.98-6.92(m, 4H), 4.62(s, 2H), 2.96-2.94(d, J= 4.6 Hz, 3H)

[83]

[84] 실시 예 2. 대식 세포 세포주에서 티오우레아 유도체의 염증 유전자 전사 억제 효과 확인

[85] 쥐 대식 세포주 Raw 264.7 (ATCC TIB-71)는 ATCC (American Type Culture

Collection)로부터 구입하였다. Raw264.7 세포 (2×10^5 세포/웰)를 6-웰 배양 디쉬에 접종하고, 10% FBS (fetal bovine serum)를 함유하는 DMEM (Dulbecco's modified Eagle's medium) 배지에서 하루 동안 배양하였다. Raw 264.7 세포는 5% CO₂ 및 95% 공기를 유지하는 함습 항온기에서 37°C로 유지하였다. 배양 후, 세포를 50 ng/ml의 LPS (Lipopolysaccharide)와 20 μM의 JC1-40을 24 시간 처리하였다. Real-time PCR (real-time reverse transcriptase-polymerase chain reaction; 정량 중합효소 연쇄반응) 분석법으로 류마티스 관절염을 유발시키는 염증 마커들인 TNF-α, NOS2, IL-1β, IL-6의 mRNA의 발현 정도를 측정하였다.

[86] 그 결과, 도 1에 나타낸 바와 같이, JC1-40을 처리하였을 때 Raw 264.7 대식세포주에서 염증 유발에 관여하는 TNF-α, NOS2, IL-1β 및 IL-6의 전사량이 감소되는 것을 확인할 수 있었다.

[87]

[88] 실시 예 3. 1차 배양된 마우스 복강 내 대식세포에서 티오우레아 유도체의 염증 유전자 전사 억제 효과 확인

[89] 생후 7~8 주령 된 C57BL/6 수컷 마우스의 peritoneal 대식세포를 분리하여 24-웰 디쉬에 1×10^6 세포/웰로 접종하고, 10% FBS (fetal bovine serum)를 함유하는 RPMI1640 배지에서 4시간 배양하였다. Peritoneal 대식세포 배양액에 10 ng/ml LPS와 20 μM JC1-40 또는 JC1-42를 각각 표시된 바대로 24시간 처리하였다. 이 때, peritoneal 대식세포는 5% CO₂ 및 95% 공기를 유지하는 함습 항온기에서 37°C로 유지하였다.

[90] 먼저, Real-time PCR (real-time reverse transcriptase-polymerase chain reaction; 정량 중합효소 연쇄반응) 분석법으로 류마티스 관절염을 유발시키는 염증 마커들인 TNF-α, NOS2, IL-1β, IL-6의 mRNA의 발현 정도를 측정하였다. 그 결과, 도 2에 나타낸 바와 같이, JC1-40 또는 JC1-42를 처리하였을 때 복강 내 대식세포에서 염증 유발에 관여하는 TNF-α, NOS2, IL-1β 및 IL-6의 mRNA 양이 감소됨을 확인할 수 있었다.

[91] 추가적으로, 이들 세포에서 M1 세포의 변화를 M1 표지 마커인 PE-CD80 antibody (ebioscience)를 30분간 incubation시킨 후 유세포분석법을 시행하였다. 그 결과, 도 3에 나타낸 바와 같이, 대식세포를 JC1-40으로 처리하였을 때, M1 분화가 억제됨을 확인하였다.

[92]

[93] 실시 예 4. 1차 배양된 마우스 복강 내 대식세포에서 티오우레아 유도체의 M2 항염증 유전자 전사 촉진 효과 확인

[94] 생후 7~8 주령 된 C57BL/6 수컷 마우스의 peritoneal 대식세포를 분리하여 24-웰 디쉬에 1×10^6 세포/웰로 접종하고, 10% FBS (fetal bovine serum)를 함유하는 RPMI1640 배지에서 4시간 배양하였다. Peritoneal 대식세포 배양액에 20 ng/ml IL-4와 20 μM JC1-40 또는 JC1-42를 각각 표시된 바대로 24시간 처리하였다. Real-time PCR (real-time reverse transcriptase-polymerase chain reaction; 정량

중합효소 연쇄반응) 분석법으로 류마티스 관절염을 유발시키는 M2 항염증 마커들인 IL-10, Arg1, Retnla 및 CD206의 mRNA의 발현 정도를 측정하였다. 이 때, peritoneal 대식세포는 5% CO₂ 및 95% 공기를 유지하는 함습 항온기에서 37°C로 유지하였다.

[95] 그 결과, 도 4a 및 도 4b에 나타낸 바와 같이, JC1-40 또는 JC1-42를 처리하였을 때 복강 내 대식세포주에서 항염증에 관여하는 IL-10, Arg1, Retnla 및 CD206의 전사량이 증가됨을 확인할 수 있었다.

[96]

[97] 실시예 5. T 세포 세포주에서 티오우레아 유도체의 Th17 분화 및 IL-17 분비 억제 효과 확인

[98] 쥐 T 세포 EL4 세포주 (5×10^5 세포/웰)를 24-웰 배양 디쉬에 접종하고, 20 μM의 JC1-40을 24시간 전처리하여 10% FBS를 함유하는 RPMI1640 배지에서 하루 동안 배양하였다. EL4 세포주는 5% CO₂ 및 95% 공기를 유지하는 함습 항온기에서 37°C로 유지하였다. 배양 후, 세포를 Th17 분화 조건(anti-CD3 항체 0.5μg/mL, anti-CD28 항체 1μg/mL, TGF-β 2ng/ml, IL-6 20ng/ml, anti-IL-4 10μg/ml, anti-IFN-γ 10μg/ml) 하에 48시간 배양하였다. Real-time PCR (real-time reverse transcriptase-polymerase chain reaction; 정량 중합효소 연쇄반응) 분석법으로 JC1-40 활성 핵수용체인 RORα와 류마티스 관절염을 유발시키는 염증 마커인 IL-17의 mRNA의 발현 정도를 측정하였다.

[99] 그 결과, 도 5a에 나타낸 바와 같이, JC1-40을 처리하였을 때 핵수용체 RORα 전사 발현 증가와 IL-17 전사 발현 감소를 확인할 수 있었다. 또한, JC1-40 처리에 의해 Th17 활성을 억제시키는 Treg의 대표 인자 Foxp3의 발현양이 증가하는 것을 위의 조건에서 배양한 세포에 형광이 표지된 항체 (anti-CD4-FITC, anti-CD25-APC, anti-Foxp3-PE) 염색 후 공초점 현미경 관찰을 통해 확인하였다 (도 5b 참조).

[100]

[101] 실시예 6. 1차 배양된 마우스 비장 T세포에서 티오우레아 유도체의 Th17 분화 및 IL-17 분비 억제 효과 확인

[102] 생후 7~8 주령 된 C57BL/6 수컷 마우스의 비장 내 CD4+ T 세포를 분리하여 48-웰 디쉬에 5×10^5 세포/웰로 접종하고, 농도별 JC1-40 (0.1, 0.5, 10 및 50 μM)을 24시간 전처리하여 10% FBS (fetal bovine serum)를 함유하는 RPMI1640 배지에서 하루 동안 배양하였다. 배양 후, 세포를 Th17 분화 조건 (anti-CD3 항체 0.5μg/mL, anti-CD28 항체 1μg/mL, TGF-β 2ng/ml, IL-6 20ng/ml, anti-IL-4 10μg/ml, anti-IFN-γ 10μg/ml) 하에 3일간 배양하였다. 이후, 세포를 모으고 유세포 분석을 위해 FACS buffer로 세척한 후, 비특이성 결합을 억제하기 위해 4°C에서 15분간 blocking하고, 세포 표면 마커인 CD4에 대한 항체 (anti-CD4-PerCP)를 넣고 4°C에서 30분간 반응한 뒤 perm wash buffer로 세척하였다. Cytofix/cytoperm 과정을 4°C에서 20분간 진행한 후 perm wash buffer로 세척하였다. Anti-IL-17

PE를 넣고 4°C에서 30분간 반응한 뒤 perm wash buffer로 세척하였다. 염색이 끝난 세포의 변화를 유세포 분석법으로 분석하였다.

[103] 그 결과, 도 6a에 나타낸 바와 같이, JC1-40으로 처리하였을 때, Th17로 분화된 IL-17 양성 세포의 양이 감소됨을 확인할 수 있다.

[104]

[105] 추가적으로, JC1-40이 처리된 Th17 세포의 배양 상층액을 모아 sandwich ELISA 방법을 이용하여 IL-17의 양을 조사하였다. 이를 위해 먼저 96웰 플레이트에 단클론성 anti-IL-17을 2 μ g/mL 으로 처리하여 4°C에서 밤새 반응시켰으며, 반응 후 차단용액(1% BSA/PBST)으로 비특이적 결합을 차단시켰다. 이후 IL-17을 1/2씩 연속 희석하여 standard로 사용하였으며, 세포배양 상층액을 넣고 실온에서 2시간 동안 반응시켰다. 이후, biotinylated anti-IL-17을 2시간 동안 실온에서 반응시킨 후 4회 세척한 다음, ExtraAvidin-Alkaline Phosphatase conjugate를 희석하여 첨가하고 실온에서 2시간 동안 반응시켰다. 이후, PNPP/DEA 용액을 넣고 발색한 후 405 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다.

[106] 그 결과, 도 6b에 나타낸 바와 같이, JC1-40으로 처리하였을 때, 배양액으로 분비된 IL-17 단백질의 양이 감소됨을 확인할 수 있었다.

[107]

[108] 실시예 7. 인간 말초 단핵 세포구(PBMC)에서 티오우레아 유도체의 Th17 분화 및 IL-17 분비 억제 효과 확인

[109] 건강인 PBMC(peripheral blood mononuclear cell)에서 CD4+ cells을 분리하여 JC1-40을 농도별(10, 20 및 40 μ M)로 전처리한 뒤, Th17 분화 조건하 (anti-CD3 0.5 μ g/ml, anti-CD28 0.5 μ g/ml, anti-IFN- γ 10 μ g/ml, anti-IL-4 10 μ g/ml, IL-6 20ng/ml, IL-1 β 20 ng/ml)에 3일간 배양하였다. 이들 세포에서 Th17 (anti IL-17 PE) 및 Treg (Anti Foxp3-FITC)의 발현을 유세포분석법으로 확인하였다. 또한, 이들 상층액에서 IL-17의 양을 ELISA 측정하였다.

[110] 그 결과, 도 7a 및 7b에 나타낸 바와 같이, 인간 말초 단핵 세포구를 JC1-40으로 처리하였을 때, Th17으로 분화한 (IL-17 양성) T 세포는 감소한 반면, Treg으로 분화한 세포 (FOXP3 양성)의 양은 증가함을 확인할 수 있었다.

[111]

[112] 실시예 8. 티오우레아 유도체의 파골세포 분화 조절 효과 확인

[113] 건강인 PBMC를 분리하여 M-CSF (25 ng/ml)를 3일간 자극하여 파골세포 전구체로 분화시켰다. 3일 뒤 배지 교환 후, M-CSF (25 ng/ml), RANKL (30 ng/ml) 및 JC1-40 (10, 20, 40 iM)을 농도 별로 자극하여 3일간 배양하였고, 세포의 분화 상태를 관찰하며 3일 마다 배지 교환 후 동일한 자극을 진행하였다.

[114] 분화된 세포로부터 RNA를 분리하여 cDNA 합성 후 파골세포 분화 관련 인자인 Cathepsin K와 TRAP mRNA 발현 변화를 real-time PCR로 분석하였다.

[115] 그 결과, 도 8a 및 도 8b에 나타낸 바와 같이, JC1-40을 처리하였을 때, 파골세포 분화 관련 인자의 발현이 유의적으로 감소됨을 확인할 수 있었다.

[116]

[117] 실시예 9. 관절염 동물모델 (type II collagen-induced arthritis-CIA)에서 티오우레아 유도체의 관절염 억제 효과 확인

[118] 생후 6 주령 된 DBA 수컷 마우스에 CFA (chondrex)에 emulsified된 bovine CII (chondrex)를 접종하고, 15일 뒤에 다시 재접종하여 류마티스 관절염을 유발하였다. 첫 투여 후 주 3회 지속으로 0.5% CMC (carboxymethyl cellulose)에 녹아있는 JC1-40을 10 mg/kg으로 경구 투여하였다. 나머지 그룹은 0.5% CMC vehicle과 양성 대조군으로 5 mg/kg Enbrel을 같은 방식으로 투여하였다. 관절염 질환이 나타난 개체 수 비율을 incidence로 환산하였고, 관절염의 조직을 병태생리학적으로 검사하여 질환의 진행 정도를 score로 환산하여 각 그룹간의 류마티스 관절염 질환 상태를 비교하였다. 임상수치는 관절염증 질환의 진행 정도를 매일 마우스의 관절염 병변을 육안으로 관찰하여, 발이나 꼬리 부위의 종창 및 발적 여부 대한 각각의 점수를 매기는 임상점수체계를 사용하여 평가하였다.

[119] 그 결과, 도 9에 나타낸 바와 같이, CIA 동물 모델에서 JC1-40 투여는 관절염의 incidence와 score를 모두 억제하였으며 이는 임상에서 실제로 사용되는 류마티스 관절염 치료제인 Enbrel보다 우수한 효과를 나타내었다.

[120]

[121] 전술한 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다.

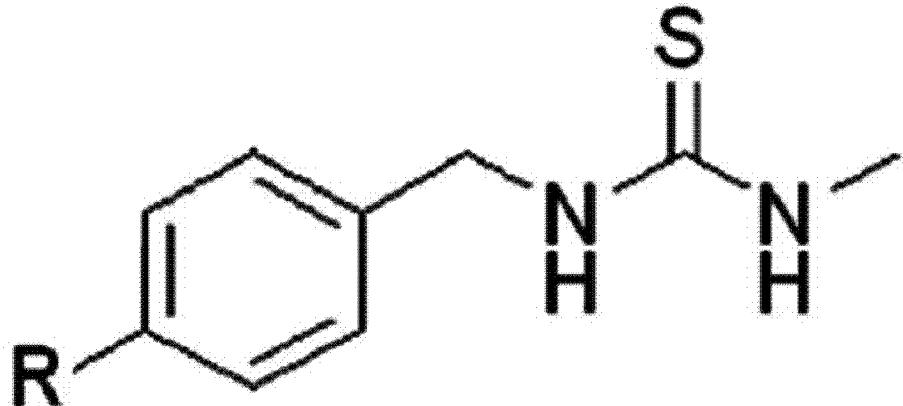
산업상 이용가능성

[122] 본 발명에 따른 티오우레아 유도체는 염증 유전자의 전사를 억제하고 항염증 유전자의 전사를 촉진시킬 뿐만 아니라, Th17의 활성 또는 생성을 억제하고, 조절 T 세포(Regulatory T cell: Treg)의 활성 또는 생성을 증가시킬 수 있기 때문에, 류마티스 관절염을 비롯한 다양한 자가면역 질환의 예방, 개선 또는 치료를 위한 약학적 조성물, 건강식품 조성물 등에 유용하게 사용될 수 있다.

청구범위

[청구항 1] 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 자가면역질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

[화학식 1]



여기서, R은 폐녹시기, 벤질옥시기 또는 피리디닐기이다.

[청구항 2] 제1항에 있어서,
상기 자가면역질환은 류마티스 관절염, 건선성 관절염, 건선, 전신성 피부 경화증(systemic scleroderma), 경화증(sclerosis), 다발성 경화증, 염증성 장질환, 크론병(crohn's disease), 폐혈증 및 타입 I 당뇨병으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는, 조성물.

[청구항 3] 제1항에 있어서,
상기 조성물은 Th17 세포의 생성을 억제하는 것을 특징으로 하는, 조성물.

[청구항 4] 제1항에 있어서,
상기 조성물은 조절 T 세포(Regulatory T cell: Treg)의 생성을 촉진하는 것을 특징으로 하는, 조성물.

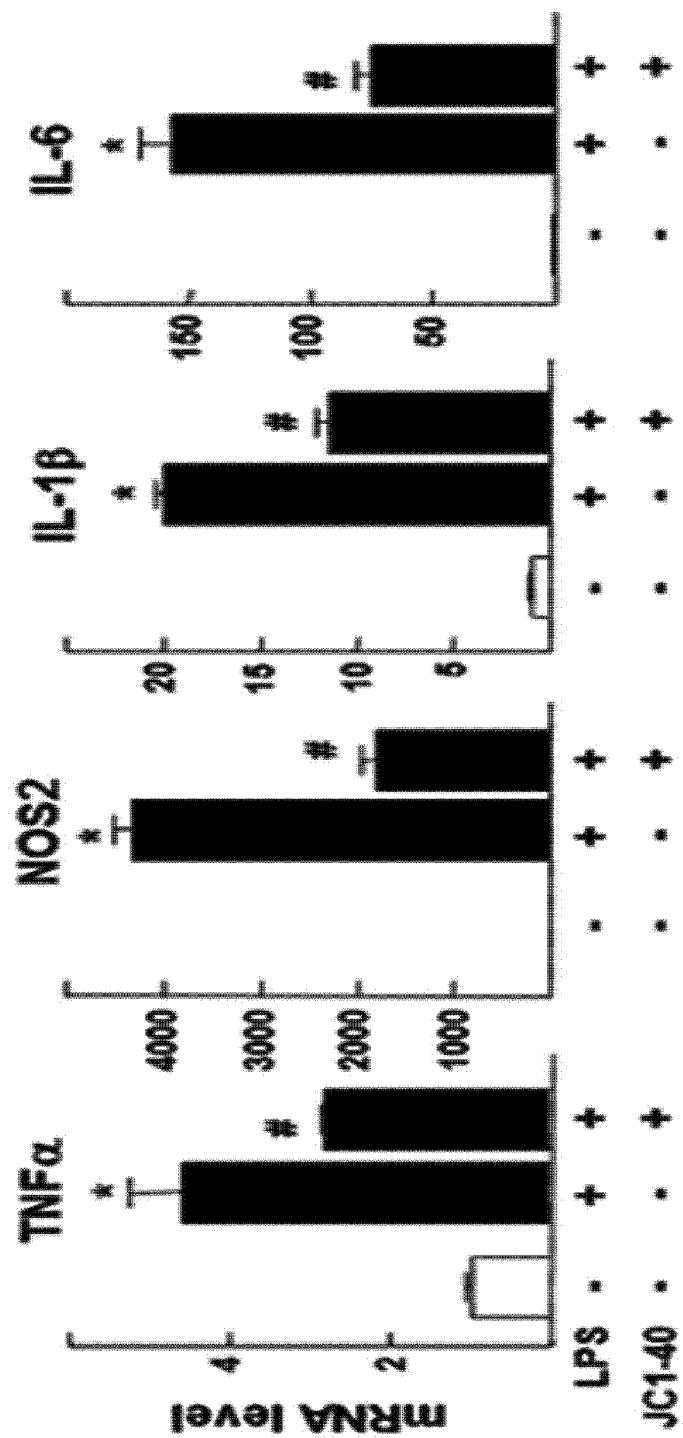
[청구항 5] 제1항에 있어서,
상기 조성물은 TNF- α , NOS2, IL-1 β 또는 IL-6 유전자의 발현을 억제하는 것을 특징으로 하는, 조성물.

[청구항 6] 제1항에 있어서,
상기 조성물은 IL-10, Arg1, Retnla 또는 CD206 유전자의 발현을 촉진시키는 것을 특징으로 하는, 조성물.

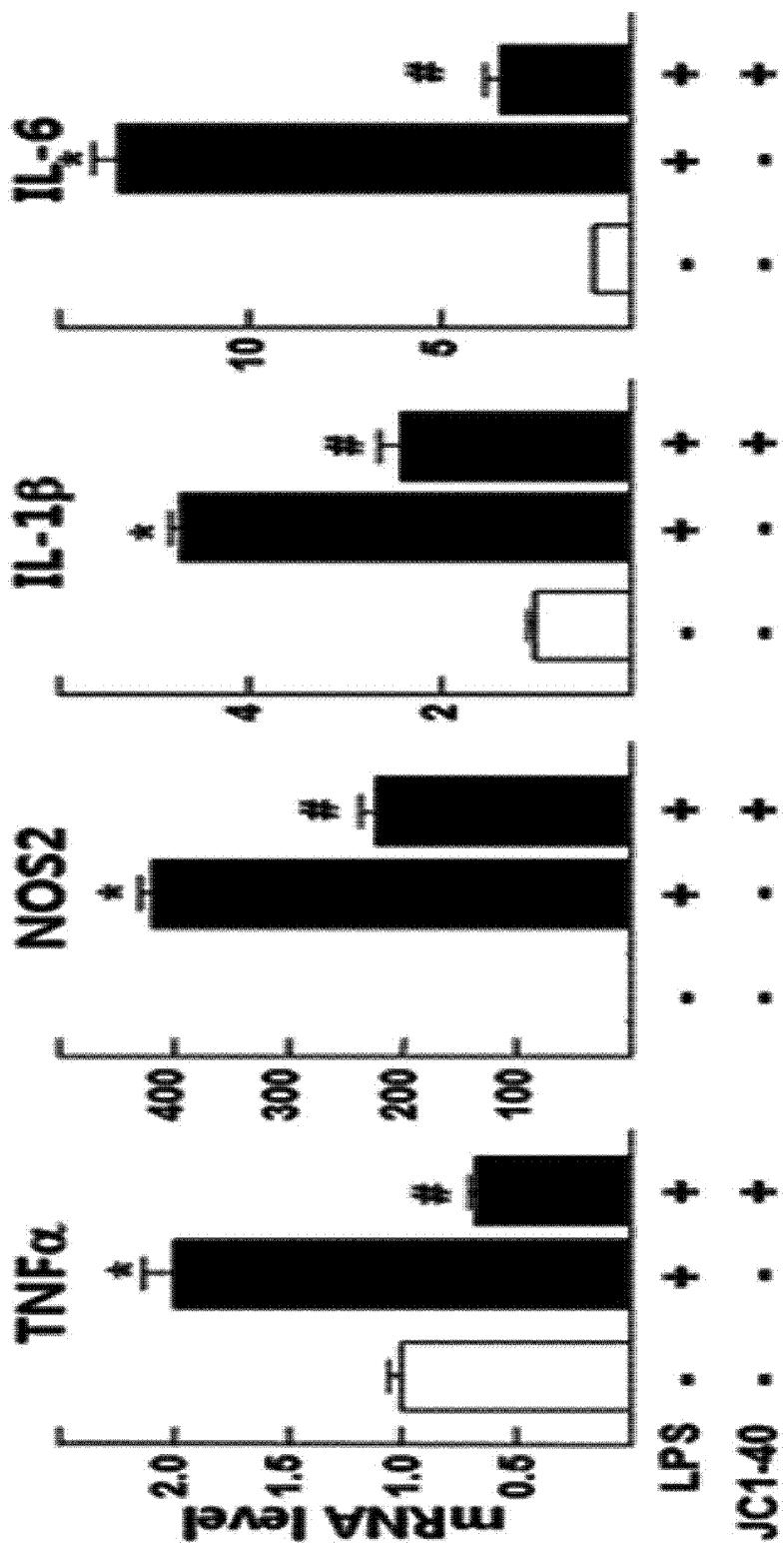
[청구항 7] 제1항의 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 자가면역 질환의 치료방법.

[청구항 8] 제1항의 조성물의 자가면역 질환 치료 용도.

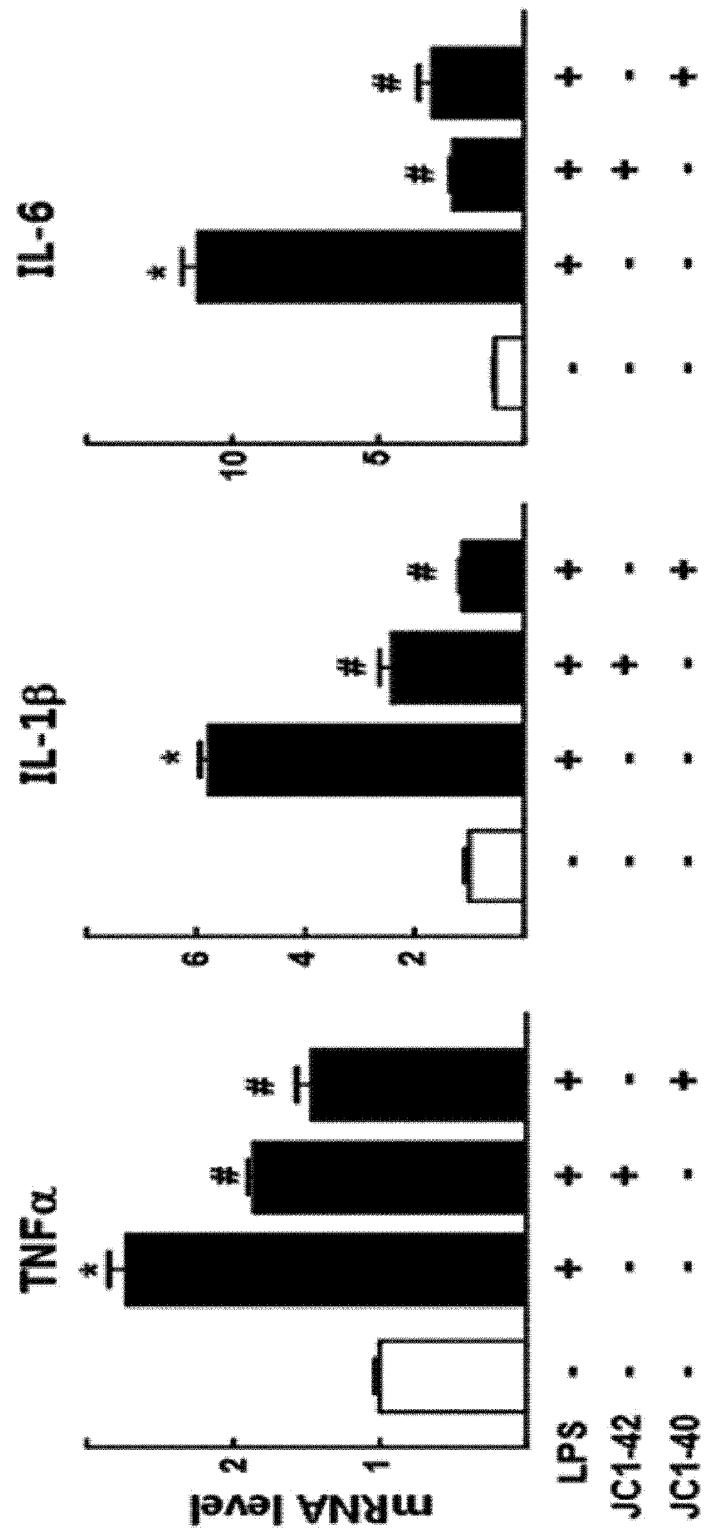
[도1]



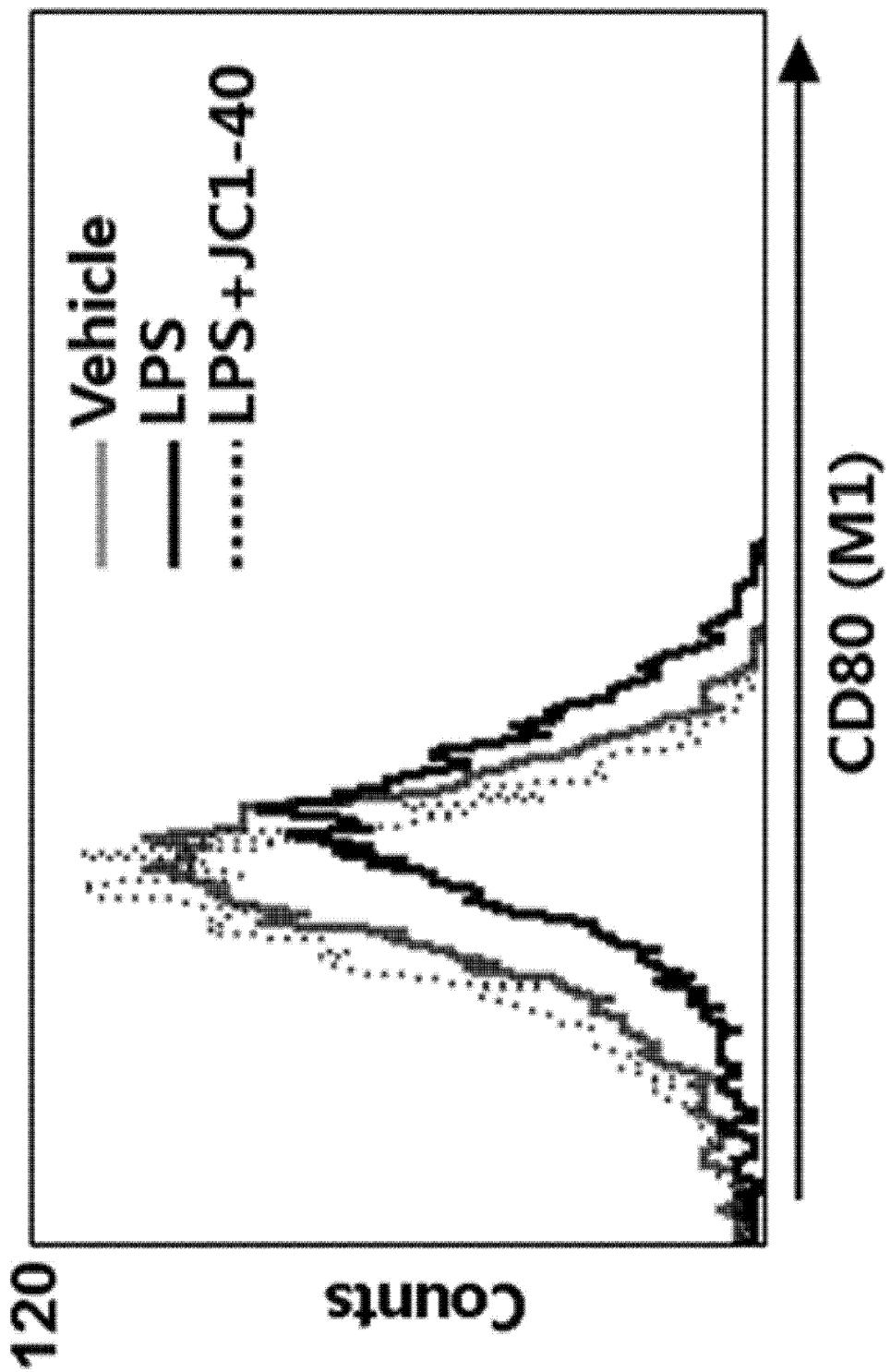
[도2a]



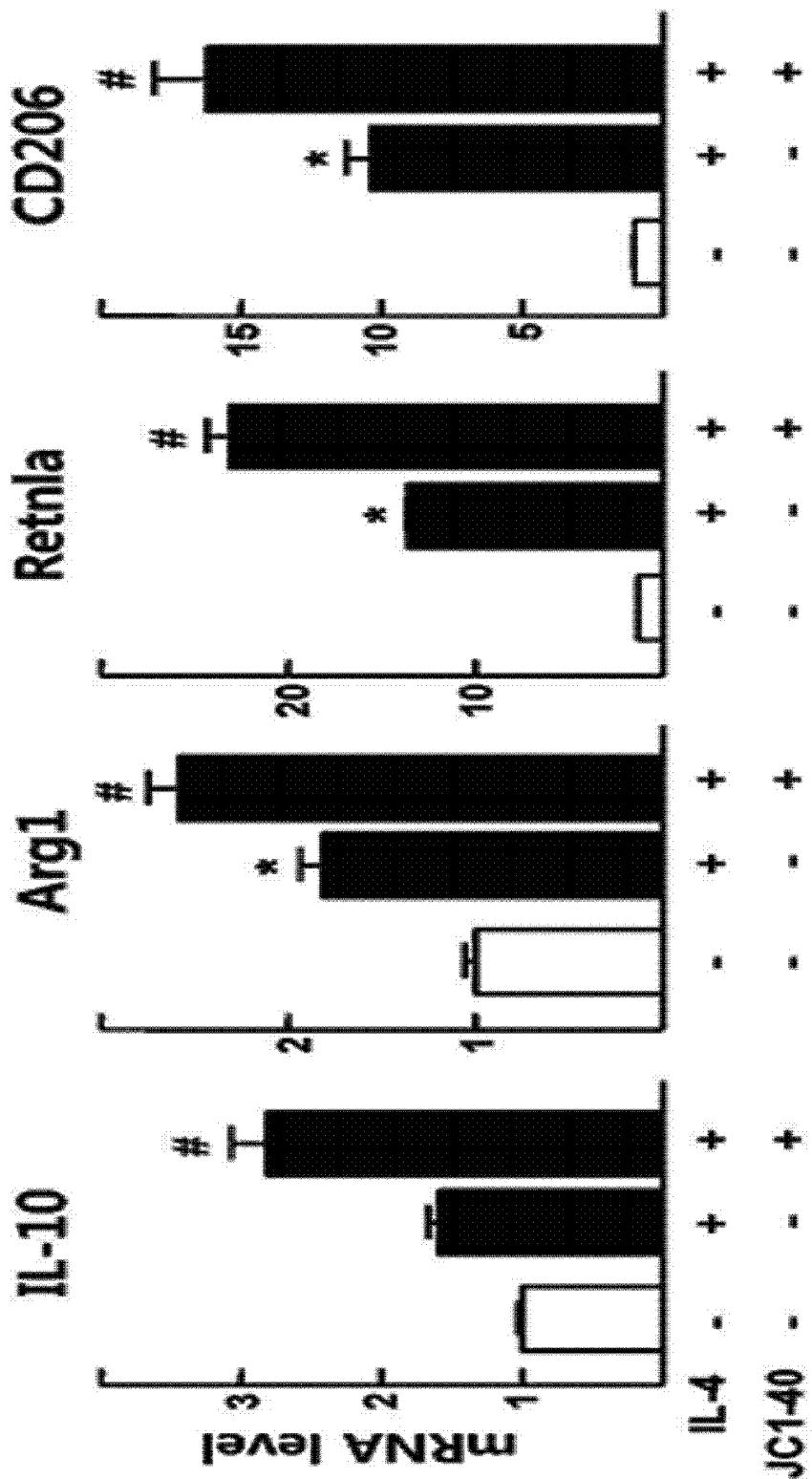
[도2b]



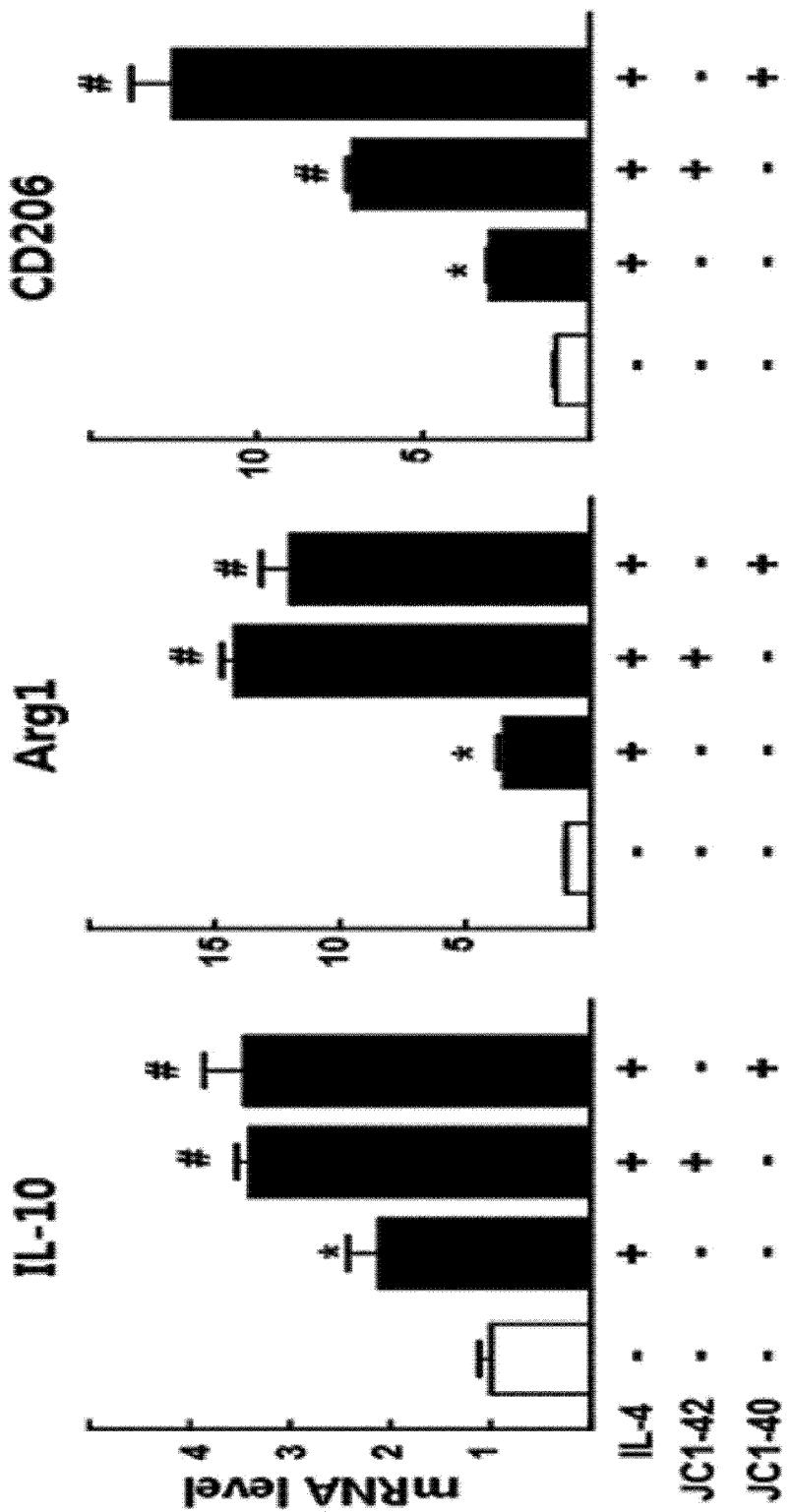
[도3]



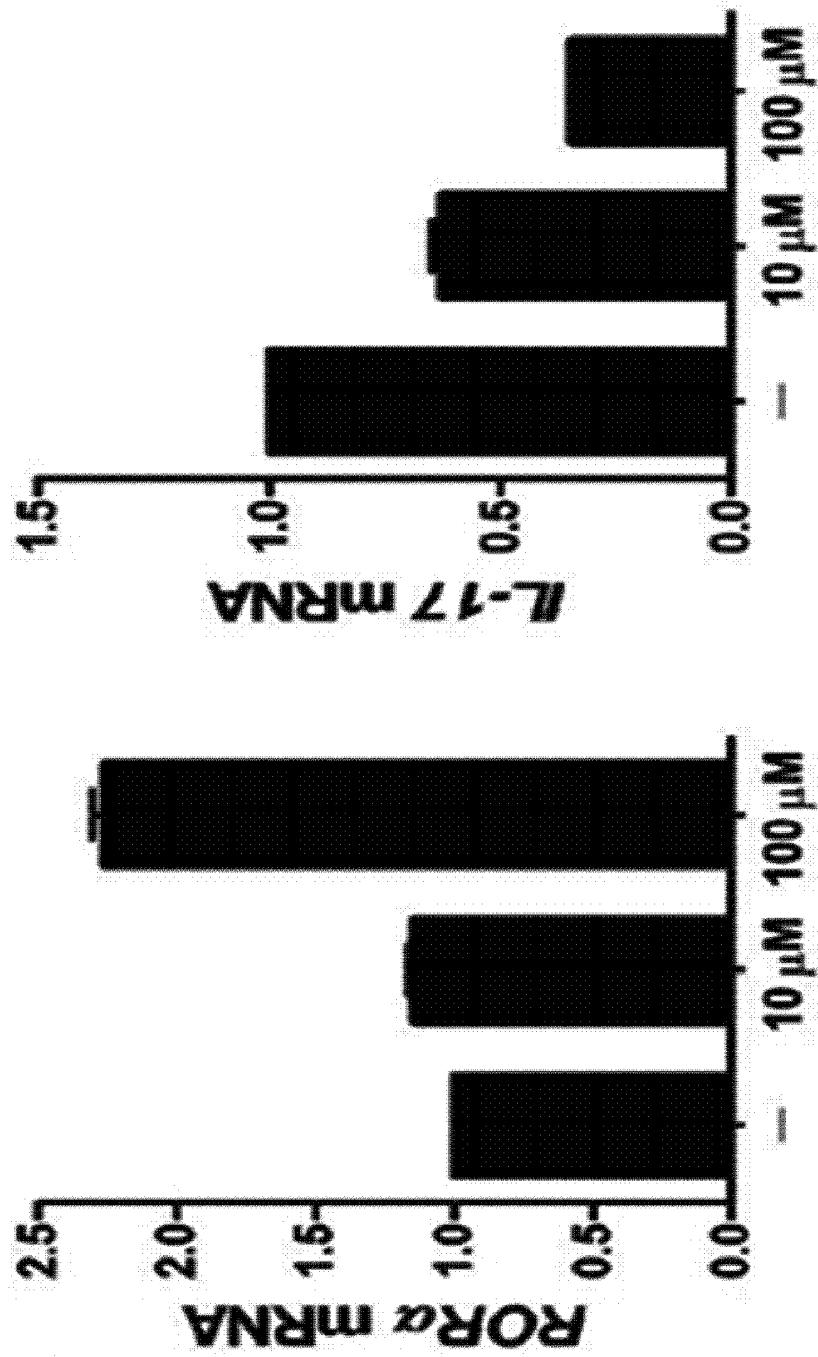
[도4a]



[도4b]



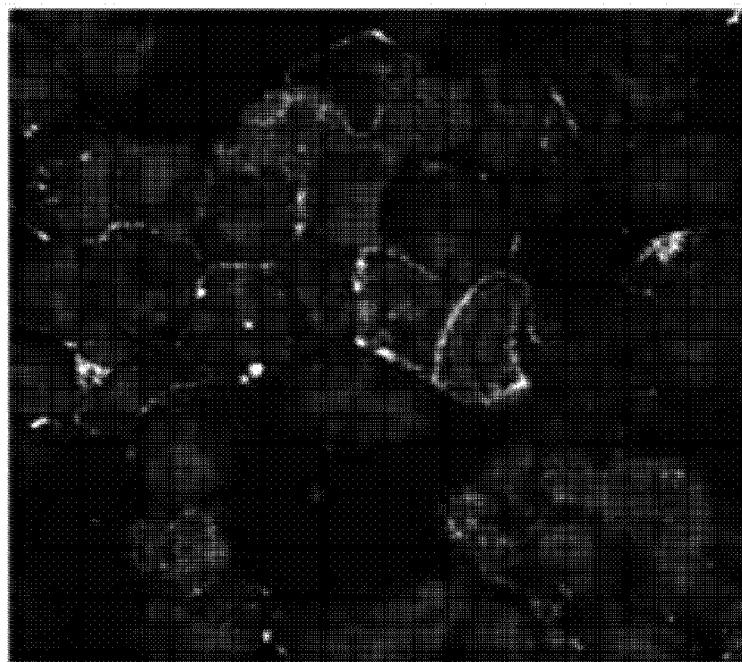
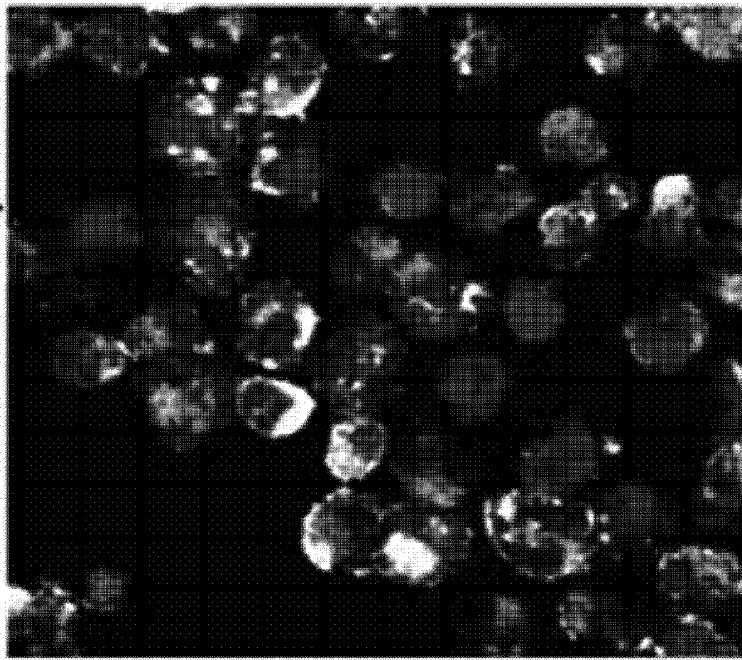
[도5a]



[도5b]

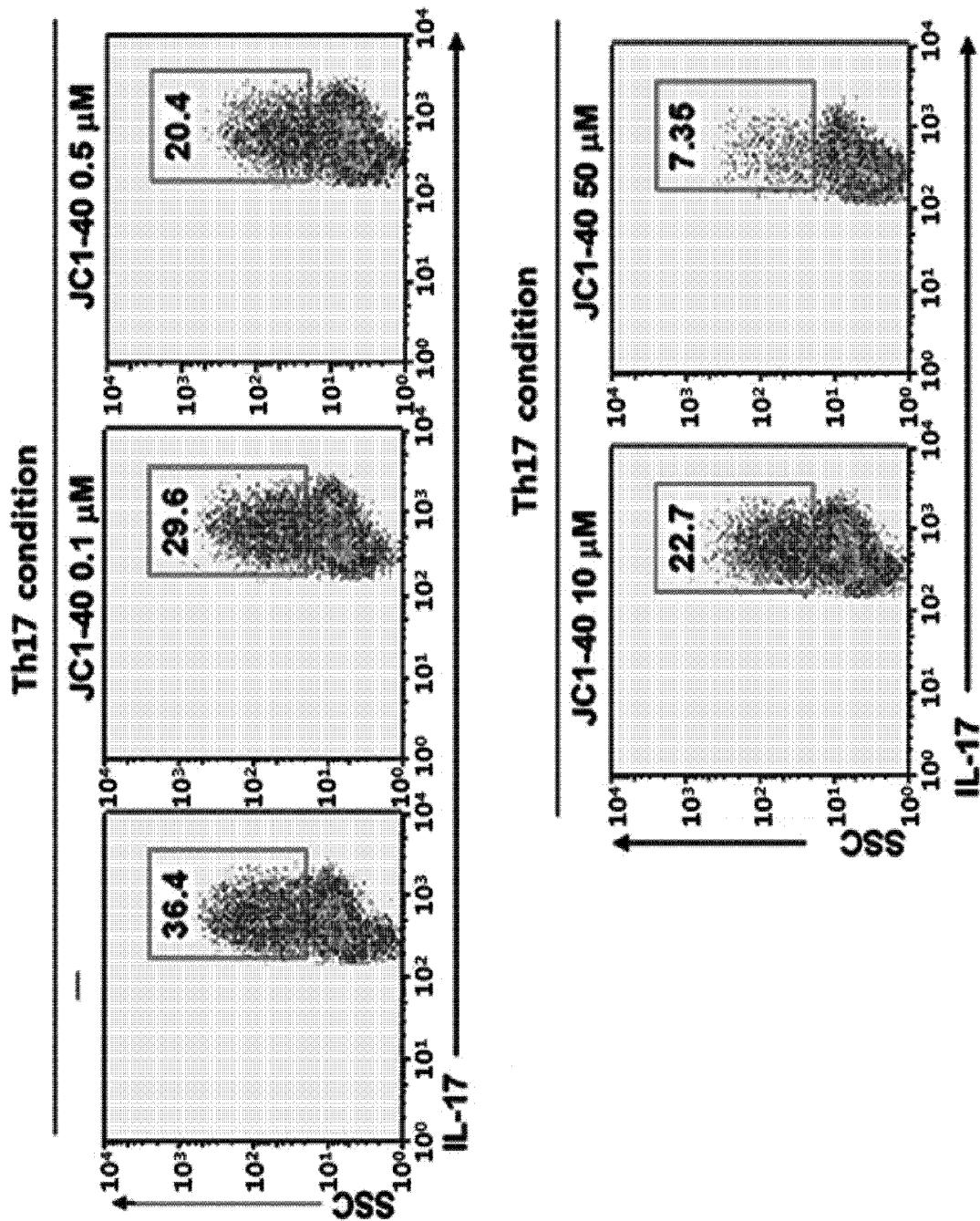
Th17 condition

JC1-40 20 μM

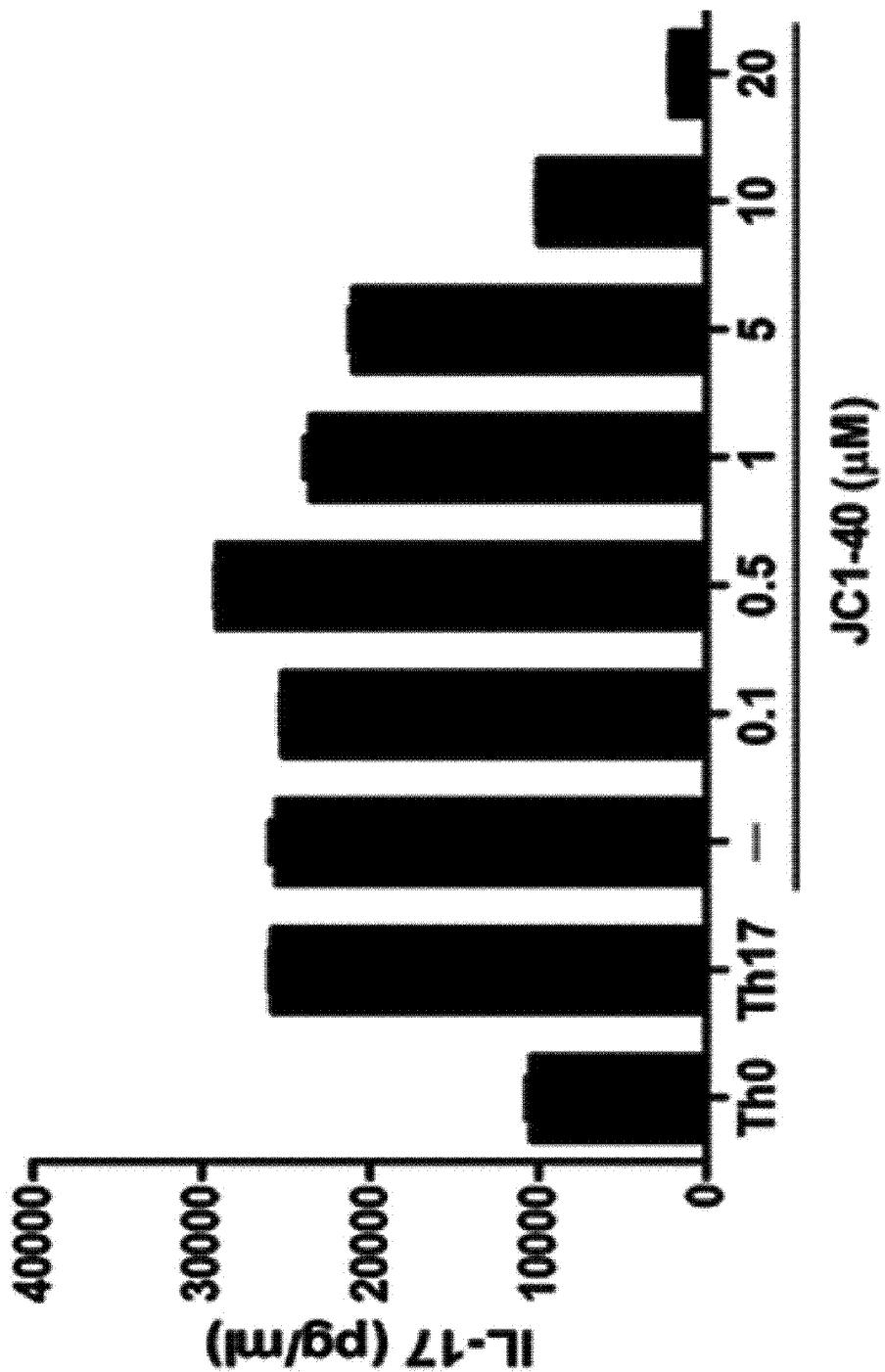


CD4F-ox3CD25 DAPI

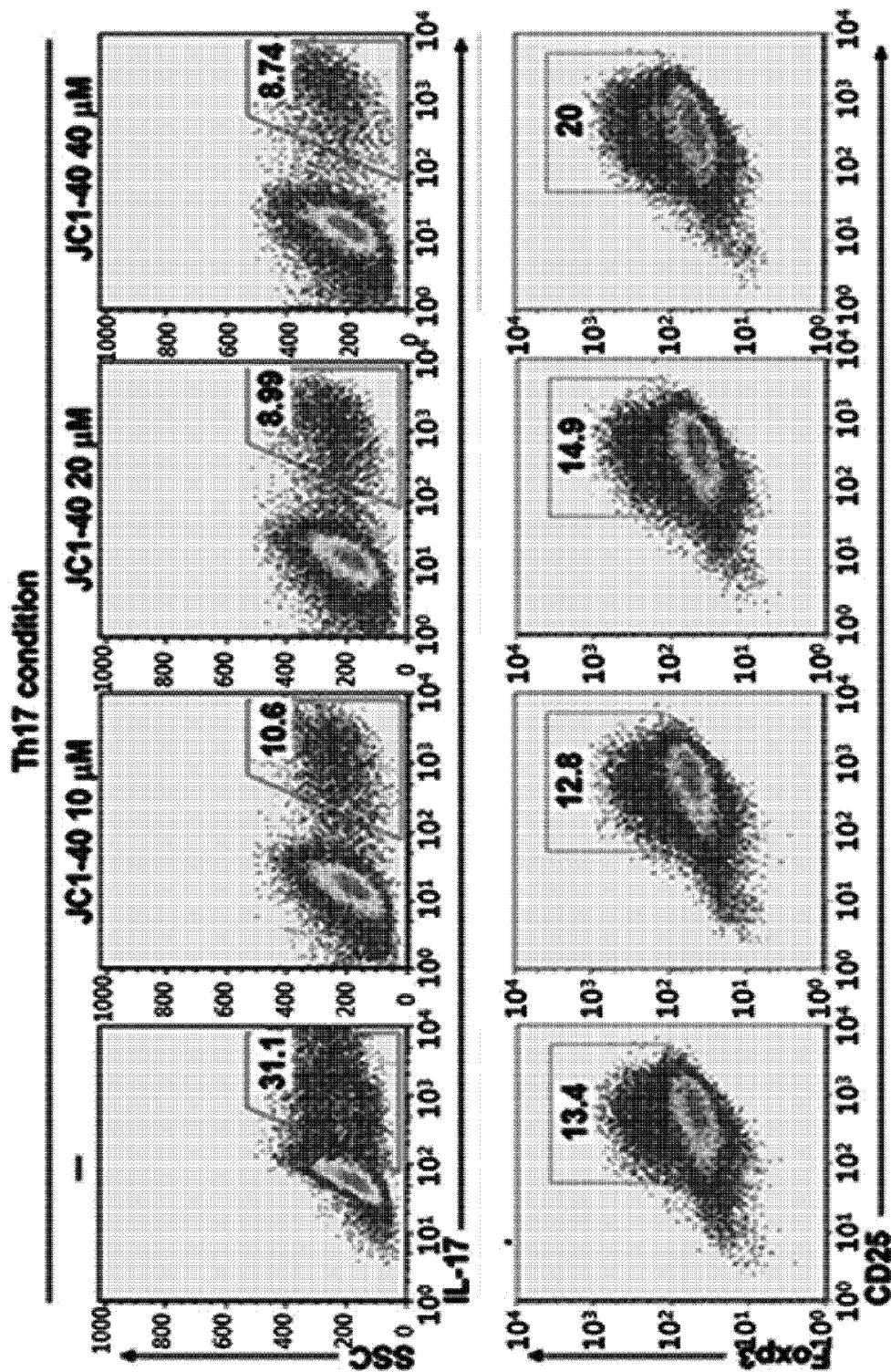
[도6a]



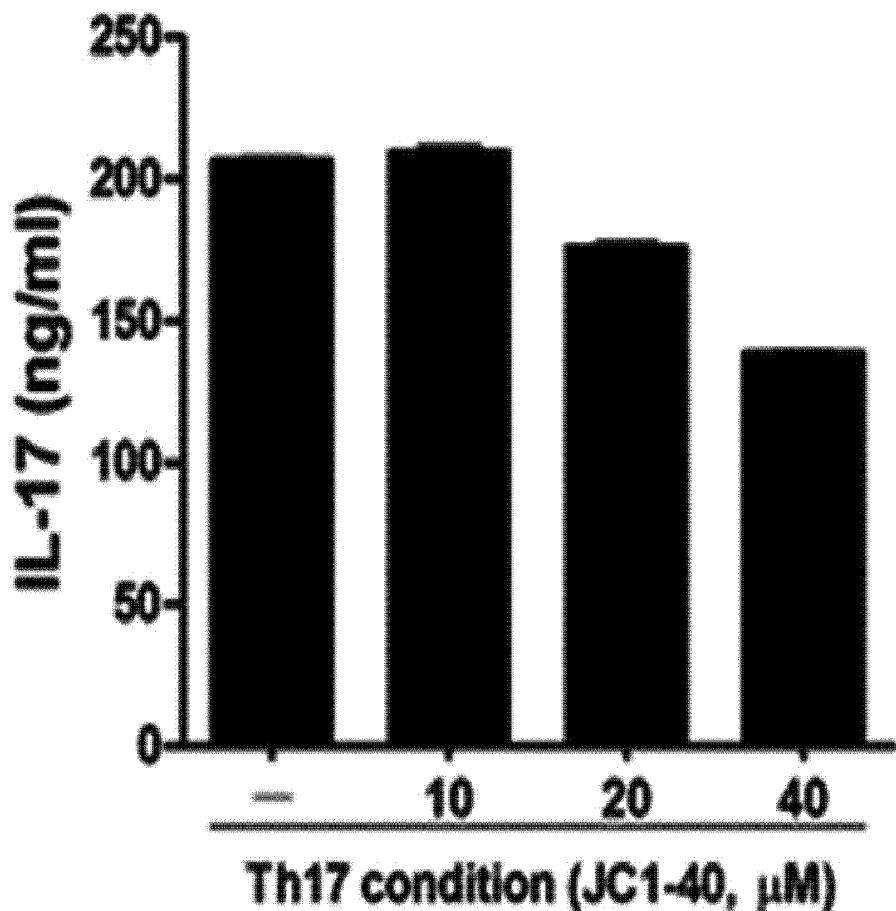
[도6b]



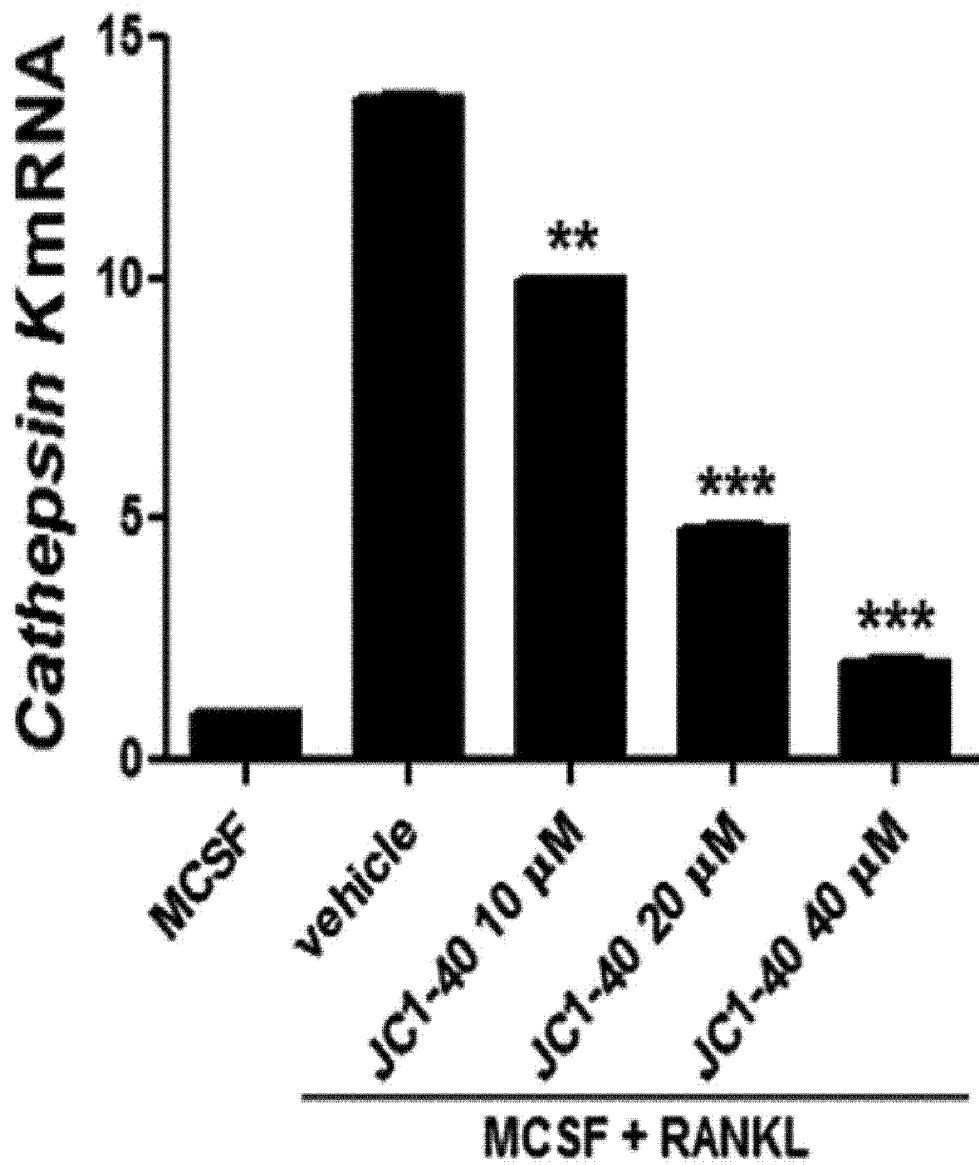
[도7a]



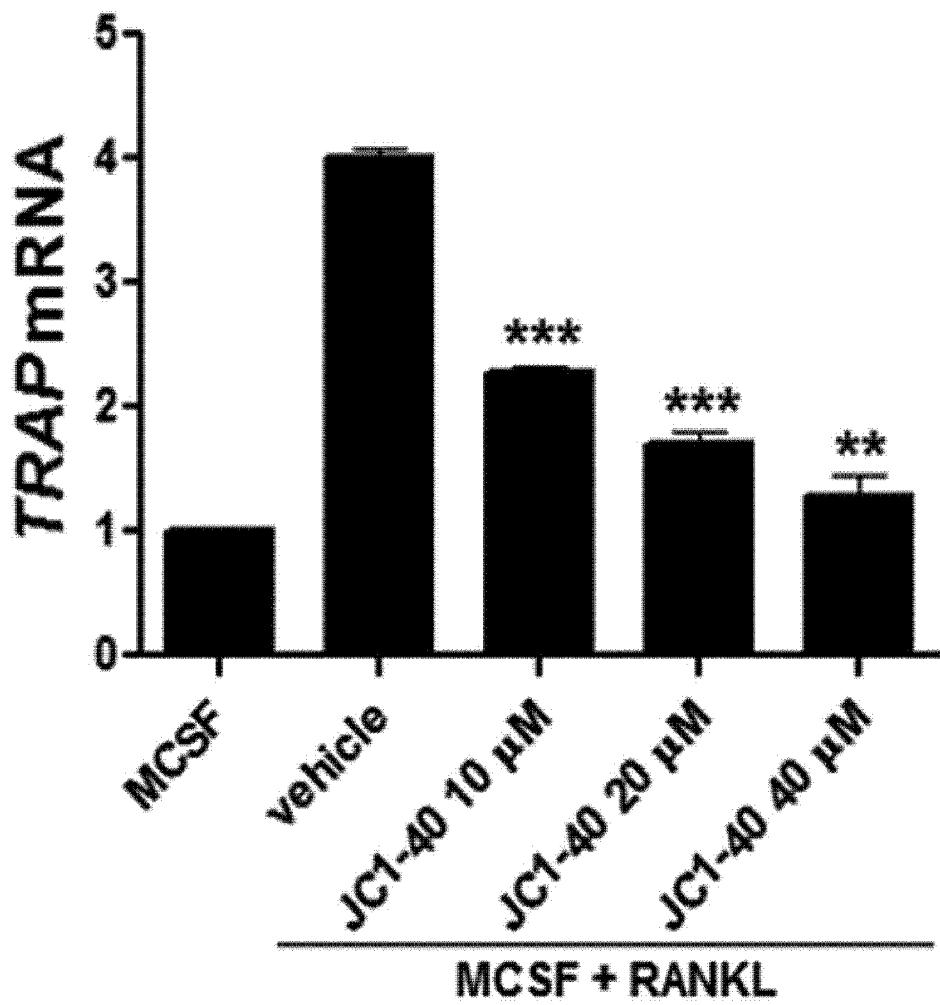
[도7b]



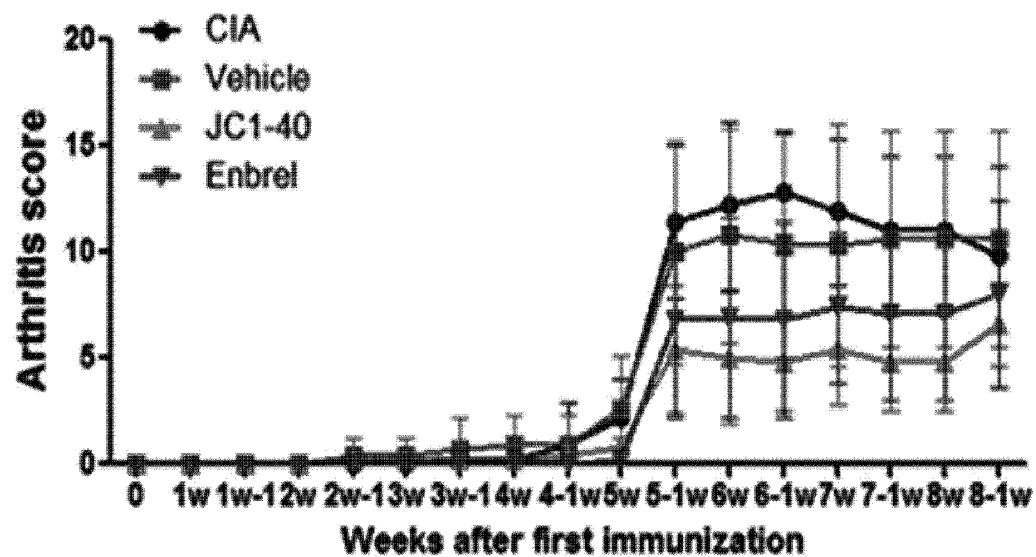
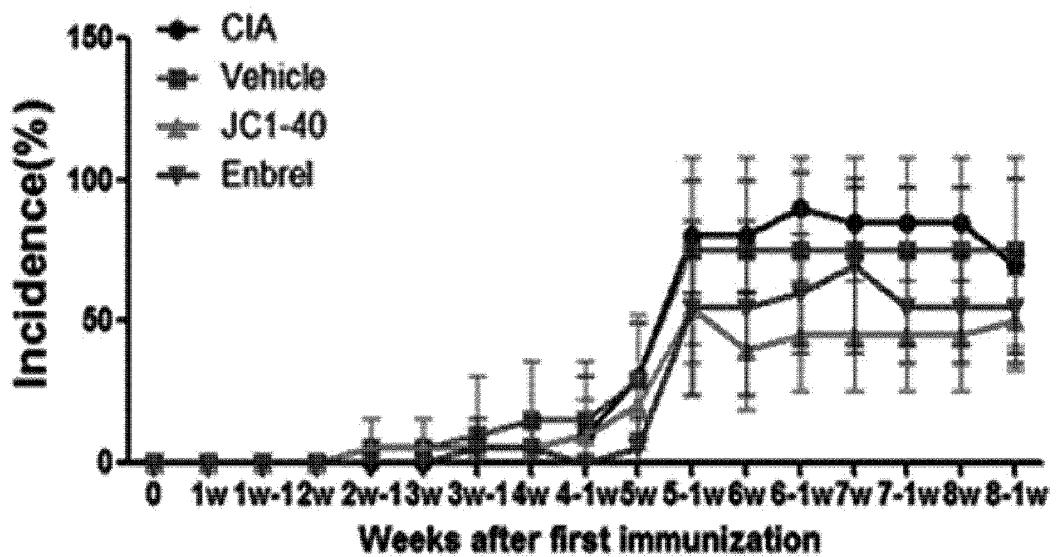
[도8a]



[도8b]



[도9]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2016/008867

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 31/17(2006.01)i, A23L 1/30(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 31/17; C07C 335/14; A61K 8/44; C07C 275/30; C07D 209/82; A61K 8/40; C07C 335/12; A61K 31/145; A23L 1/30

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: thiourea derivative, autoimmune disease, inflammatory response inhibition, Th17 cell, Treg cell

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	KR 10-2012-0130733 A (SEOUL NATIONAL UNIVERSITY R&DB FOUNDATION) 03 December 2012 See claims 1-11; examples 38, 40, 42; experiment examples 1-14; and figure 2.	1-6,8
A	GREENSTEIN, R. J. et al., The Thioamides Methimazole and Thiourea Inhibit Growth of M. avium Subspecies Paratuberculosis in Culture. PLoS One, 2010, vol. 5, no. 6, paper no. e11099 See the entire document.	1-6,8
A	KR 10-2007-0007759 A (ACHILLION PHARMACEUTICALS, INC.) 16 January 2007 See the entire document.	1-6,8
A	KR 10-2011-0097700 A (THE INDUSTRY & ACADEMIC COOPERATION IN CHUNGNAM NATIONAL UNIVERSITY (IAC) et al.) 31 August 2011 See the entire document.	1-6,8
A	KR 10-2008-0093270 A (SOOKMYUNG WOMENS UNIVERSITY INDUSTRY ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION) 21 October 2008 See the entire document.	1-6,8



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

"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

08 DECEMBER 2016 (08.12.2016)

Date of mailing of the international search report

08 DECEMBER 2016 (08.12.2016)

Name and mailing address of the ISA/KR


 Korean Intellectual Property Office
 Government Complex-Daejeon, 189 Seonsa-ro, Daejeon 302-701,
 Republic of Korea

Facsimile No. 82-42-472-7140

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2016/008867**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.: 7
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claim 7 pertains to a method for treatment of the human body by therapy, and thus pertains to subject matter on which the International Searching Authority is not required to carry out an international search under the provisions of PCT Article 17(2)(a)(i) and PCT Rule 39.1(iv).
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2016/008867

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
KR 10-2012-0130733 A	03/12/2012	KR 10-1450960 B1 KR 10-2012-0130678 A WO 2012-161518 A2 WO 2012-161518 A3	22/10/2014 03/12/2012 29/11/2012 17/01/2013
KR 10-2007-0007759 A	16/01/2007	AU 2004-257277 A1 AU 2004-257277 B2 CA 2531068 A1 CN 1849301 A EP 1648862 A2 JP 2007-523868 A US 2005-0032849 A1 US 7718671 B2 WO 2005-007601 A2 WO 2005-007601 A3	27/01/2005 31/03/2011 27/01/2005 18/10/2006 26/04/2006 23/08/2007 10/02/2005 18/05/2010 27/01/2005 23/06/2005
KR 10-2011-0097700 A	31/08/2011	KR 10-1246682 B1	01/04/2013
KR 10-2008-0093270 A	21/10/2008	KR 10-0887308 B1	06/03/2009

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

A61K 31/17(2006.01)i, A23L 1/30(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

A61K 31/17; C07C 335/14; A61K 8/44; C07C 275/30; C07D 209/82; A61K 8/40; C07C 335/12; A61K 31/145; A23L 1/30

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: 티오우레아 유도체, 자가면역질환, 염증반응 억제, Th17 세포, Treg 세포

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	KR 10-2012-0130733 A (서울대학교산학협력단) 2012.12.03 청구항 1-11; 실시예 38, 40, 42; 실험예 1-14; 및 도면 2 참조.	1-6, 8
A	GREENSTEIN, R. J. 등, The thioamides methimazole and thiourea inhibit growth of M. avium subspecies paratuberculosis in culture. PLoS One, 2010년, 5권, 6호, 논문번호 e11099 문헌 전체 참조.	1-6, 8
A	KR 10-2007-0007759 A (아칠리온 파르마세우티칼스 인코포레이티드) 2007.01.16 문헌 전체 참조.	1-6, 8
A	KR 10-2011-0097700 A (충남대학교산학협력단 등) 2011.08.31 문헌 전체 참조.	1-6, 8
A	KR 10-2008-0093270 A (숙명여자대학교산학협력단) 2008.10.21 문헌 전체 참조.	1-6, 8

 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

“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 2016년 12월 08일 (08.12.2016)	국제조사보고서 발송일 2016년 12월 08일 (08.12.2016)
--	---

ISA/KR의 명칭 및 우편주소 대한민국 특허청 (35208) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사) 팩스 번호 +82-42-481-8578	심사관 조기윤 전화번호 +82-42-481-5655
---	------------------------------------

제2기재란 일부 청구항을 조사할 수 없는 경우의 의견(첫 번째 용지의 2의 계속)

PCT 제17조(2)(a)의 규정에 따라 다음과 같은 이유로 일부 청구항에 대하여 본 국제조사보고서가 작성되지 아니하였습니다.

1. 청구항: 7
이 청구항은 본 기관이 조사할 필요가 없는 대상에 관련됩니다. 즉,
청구항 제7항은 치료에 의한 인체의 처치방법에 관한 것이므로 PCT 제17조(2)(a)(i) 및 PCT 규칙 39.1(iv)의 규정에 의하여 국제조사기관이 국제 조사할 의무가 없는 대상에 해당됩니다.
2. 청구항:
이 청구항은 유효한 국제조사를 수행할 수 없을 정도로 소정의 요건을 충족하지 아니하는 국제출원의 부분과 관련됩니다. 구체적으로는,
3. 청구항:
이 청구항은 종속청구항이나 PCT규칙 6.4(a)의 두 번째 및 세 번째 문장의 규정에 따라 작성되어 있지 않습니다.

제3기재란 발명의 단일성이 결여된 경우의 의견(첫 번째 용지의 3의 계속)

본 국제조사기관은 본 국제출원에 다음과 같이 다수의 발명이 있다고 봅니다.

1. 출원인이 모든 추가수수료를 기간 내에 납부하였으므로, 본 국제조사보고서는 모든 조사 가능한 청구항을 대상으로 합니다.
2. 추가수수료 납부를 요구하지 않고도 모든 조사 가능한 청구항을 조사할 수 있었으므로, 본 기관은 추가수수료 납부를 요구하지 아니하였습니다.
3. 출원인이 추가수수료의 일부만을 기간 내에 납부하였으므로, 본 국제조사보고서는 수수료가 납부된 청구항만을 대상으로 합니다. 구체적인 청구항은 아래와 같습니다.
4. 출원인이 기간 내에 추가수수료를 납부하지 아니하였습니다. 따라서 본 국제조사보고서는 청구범위에 처음 기재된 발명에 한정되어 있으며, 해당 청구항은 아래와 같습니다.

이의신청에
관한 기재

- 출원인의 이의신청 및 이의신청료 납부(해당하는 경우)와 함께 추가수수료가 납부되었습니다.
- 출원인의 이의신청과 함께 추가수수료가 납부되었으나 이의신청료가 보정요구서에 명시된 기간 내에 납부되지 아니하였습니다.
- 이의신청 없이 추가수수료가 납부되었습니다.

국제조사보고서에서
인용된 특허문헌

공개일

대응특허문헌

공개일

KR 10-2012-0130733 A	2012/12/03	KR 10-1450960 B1 KR 10-2012-0130678 A WO 2012-161518 A2 WO 2012-161518 A3	2014/10/22 2012/12/03 2012/11/29 2013/01/17
KR 10-2007-0007759 A	2007/01/16	AU 2004-257277 A1 AU 2004-257277 B2 CA 2531068 A1 CN 1849301 A EP 1648862 A2 JP 2007-523868 A US 2005-0032849 A1 US 7718671 B2 WO 2005-007601 A2 WO 2005-007601 A3	2005/01/27 2011/03/31 2005/01/27 2006/10/18 2006/04/26 2007/08/23 2005/02/10 2010/05/18 2005/01/27 2005/06/23
KR 10-2011-0097700 A	2011/08/31	KR 10-1246682 B1	2013/04/01
KR 10-2008-0093270 A	2008/10/21	KR 10-0887308 B1	2009/03/06