



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2008-0045269
 (43) 공개일자 2008년05월22일

(51) Int. Cl.
C07D 471/04 (2006.01) *C07D 487/04* (2006.01)
 (21) 출원번호 10-2008-7008411
 (22) 출원일자 2008년04월08일
 심사청구일자 없음
 번역문제출일자 2008년04월08일
 (86) 국제출원번호 PCT/US2006/035179
 국제출원일자 2006년09월08일
 (87) 국제공개번호 WO 2007/030775
 국제공개일자 2007년03월15일
 (30) 우선권주장
 60/715,950 2005년09월09일 미국(US)

(71) 출원인
콜레이 파마시티컬 그룹, 인코포레이티드
 미합중국 매세추세츠주 02481, 웰즐리, 스위트
 101 우스터 스트리트 93
 (72) 발명자
크쉬르사가르, 투샤르 에이.
 미국 55133-3427 미네소타주 세인트 폴 포스트 오
 피스 박스 33427쓰리엠 센터
니와스, 슈리
 미국 55133-3427 미네소타주 세인트 폴 포스트 오
 피스 박스 33427쓰리엠 센터
메릴, 브리온 에이.
 미국 55133-3427 미네소타주 세인트 폴 포스트 오
 피스 박스 33427쓰리엠 센터
 (74) 대리인
김영, 양영준

전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) N- {2-[4-아미노-2-(에톡시메틸)-1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-1-일]-1,1-디메틸에틸} 메탄술폰아미드의 아미드유도체 및 카르바메이트 유도체 및 방법

(57) 요약

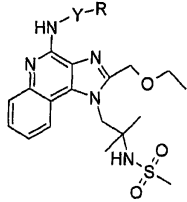
본원은 N-{2-[4-아미노-2-(에톡시메틸)-1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-1-일]-1,1-디메틸에틸}메탄술폰아미드의 아미드 유도체 및 카르바메이트 유도체, 상기 화합물을 함유하는 제약 조성물, 상기 화합물의 제조 방법, 및 동물에서 시토킨 생합성을 유도하기 위해 면역계를 조절하고, 바이러스 질환 및 종양성 질환을 비롯한 질환을 치료하는데 상기 화합물을 사용하는 방법을 개시한다.

특허청구의 범위

청구항 1

하기 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염:

<화학식 I>



상기 식에서,

Y는 -C(O)- 및 -C(O)-O-로 이루어진 군으로부터 선택되고;

R은 알킬, 아릴, 아릴알킬레닐, 헤테로아릴, 헤테로아릴알킬레닐, 헤테로시클릴 및 헤테로시클릴알킬레닐로 이루어진 군으로부터 선택되고; 여기서, 아릴 및 아릴알킬레닐은 비치환되거나, 또는 알킬, 알콕시, 아릴 및 할로겐으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 치환기로 치환되며; Y에 부착되는 헤테로시클릴의 원자는 탄소 원자이다.

청구항 2

제1항에 있어서, Y가 -C(O)-인 화합물 또는 염.

청구항 3

제1항에 있어서, Y가 -C(O)-O-인 화합물 또는 염.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, R이 알킬, 아릴 또는 아릴알킬레닐인 화합물 또는 염.

청구항 5

제4항에 있어서, R이 C₁₋₁₀ 알킬인 화합물 또는 염.

청구항 6

제5항에 있어서, R이 C₁₋₅ 알킬인 화합물 또는 염.

청구항 7

제6항에 있어서, R이 메틸, 에틸, n-프로필, 이소프로필, n-부틸, 이소부틸 및 tert-부틸로 이루어진 군으로부터 선택되는 화합물 또는 염.

청구항 8

제4항에 있어서, R이 아릴인 화합물 또는 염.

청구항 9

제8항에 있어서, R이 페닐인 화합물 또는 염.

청구항 10

제4항에 있어서, R이 아릴알킬레닐인 화합물 또는 염.

청구항 11

제10항에 있어서, R이 벤질인 화합물 또는 염.

청구항 12

치료학적 유효량의 제1항 내지 제11항 중 어느 한 항의 화합물 또는 염, 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 조성물.

청구항 13

치료학적 유효량의 제1항 내지 제11항 중 어느 한 항의 화합물 또는 염, 또는 제12항의 제약 조성물을 동물에게 투여하는 것을 포함하는, 상기 동물에서의 시토킨 생합성의 유도 방법.

청구항 14

치료학적 유효량의 제1항 내지 제11항 중 어느 한 항의 화합물 또는 염, 또는 제12항의 제약 조성물을 동물에게 투여하는 것을 포함하는, 상기 동물에서의 바이러스 질환의 치료 방법.

청구항 15

치료학적 유효량의 제1항 내지 제11항 중 어느 한 항의 화합물 또는 염, 또는 제12항의 제약 조성물을 동물에게 투여하는 것을 포함하는, 상기 동물에서의 종양성 질환의 치료 방법.

명세서

<1> **관련 출원에 대한 상호 참조**

<2> 본 발명은 본원에 참고로 도입되어 있는 2005년 9월 9일에 출원된 미국 가출원 제60/715,950호에 대한 우선권을 청구한다.

배경 기술

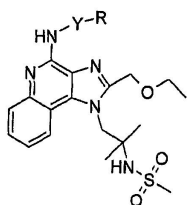
<3> 특정한 치환된 1H-이미다조[4,5-c]피리딘-4-아민, 퀴놀린-4-아민, 테트라히드로퀴놀린-4-아민, 나프티리딘-4-아민 및 테트라히드로나프티리딘-4-아민 화합물뿐만 아니라 특정한 유사 티아졸로 및 옥사졸로 화합물은 면역 반응 조절제 (IRM)로서 유용하며, 따라서 다양한 장애의 치료에 유용하다는 것이 밝혀졌다.

<4> 투여하면 시토킨 생합성의 유도 또는 다른 메커니즘을 통해 면역 반응의 조절을 일으킬 수 있는 화합물에 대한 관심 및 필요성이 여전히 존재한다.

<5> **발명의 요약**

<6> 본 발명에 이르러 N-{2-[4-아미노-2-(에톡시메틸)-1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-1-일]-1,1-디메틸에틸}메탄술폰아미드의 특정 아미드 유도체 및 카르바메이트 유도체가 시토킨 생합성을 유도한다는 것이 밝혀졌다. 본 발명은 하기 화학식 I의 화합물 및 그의 제약상 허용되는 염을 제공한다:

화학식 I



<7>

<8> (식 중, R 및 Y는 하기 정의된 바와 같음).

<9> 화학식 I의 화합물 또는 그의 염은 시토킨 생합성을 조절하고 (예를 들어, 하나 이상의 시토킨의 생합성 또는 생성을 유도함), 또한 동물에게 투여되었을 때 면역 반응을 조절하는 능력으로 인해 유용하다. 이러한 능력은 면역 반응에서의 그러한 변화에 반응하는 다양한 증상, 예컨대 바이러스 질환 및 종양성 질환의 치료시 상기 화

합물을 유용하게 한다.

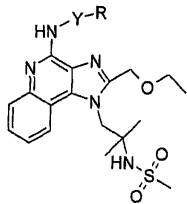
- <10> 또한, 본 발명은 화학식 I의 화합물을 함유하는 제약 조성물, 및 하나 이상의 화학식 I의 화합물 및/또는 그의 제약상 허용되는 염을 동물에게 투여하거나, 또는 하나 이상의 화학식 I의 화합물 및/또는 그의 제약상 허용되는 염을 함유하는 제약 조성물을 동물에게 투여함으로써 동물 세포에서 시토킨 생합성을 유도하고/거나, 동물에서 바이러스 질환을 치료하고/거나 동물에서 종양성 질환을 치료하는 방법을 제공한다.
- <11> 다른 국면에서, 본 발명은 화학식 I의 화합물의 합성 방법을 제공한다.
- <12> 본원에 사용되는 단수형, "적어도 하나" 및 "하나 이상"은 상호 교환하여 사용된다.
- <13> 용어 "포함하는" 및 이의 변형은 이들 용어들이 명세서 및 청구의 범위에서 사용되는 경우, 제한적인 의미를 갖지 않는다.
- <14> 상기 본 발명의 요약은 본 발명의 각각의 개시된 실시양태 또는 모든 실시를 기재한 것은 아니다. 하기의 상세한 설명은 예시적 실시양태를 보다 구체적으로 예시한다. 또한, 실시예의 목록을 통해 본원에 설명이 제공되며, 이는 다양한 조합으로 사용될 수 있다. 각각의 실례에서, 인용된 목록은 단지 대표적인 균으로서 제공되며, 유일한 목록으로 해석되어서는 안된다.

발명의 상세한 설명

<15> 본 발명의 예시적 실시양태의 상세한 설명

<16> 본 발명은 하기 화학식 I의 화합물 및 그의 제약상 허용되는 염을 제공한다:

<17> <화학식 I>

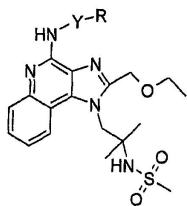


<18>

<19> (식 중, R 및 Y는 하기 정의된 바와 같음).

<20> 한 실시양태에서, 본 발명은 하기 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 제공한다:

<21> <화학식 I>



<22>

<23> 상기 식에서,

<24> Y는 -C(O)- 및 -C(O)-O-로 이루어진 군으로부터 선택되고;

<25> R은 알킬, 아릴, 아릴알킬레닐, 헤테로아릴, 헤테로아릴알킬레닐, 헤테로시클릴 및 헤테로시클릴알킬레닐로 이루어진 군으로부터 선택되고; 여기서, 아릴 및 아릴알킬레닐은 비치환되거나, 또는 알킬, 알콕시, 아릴 및 할로겐으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 치환기로 치환되며; Y에 부착되는 헤테로시클릴의 원자는 탄소 원자이다.

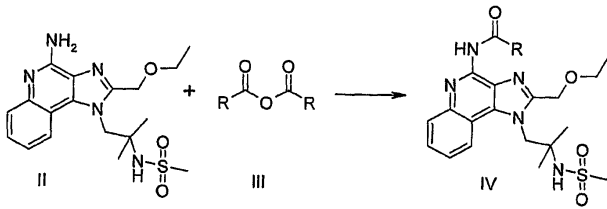
<26> 본원에 제시된 임의의 화합물들에 대해, 임의의 이의 실시양태에서의 하기 변수들 (예를 들어, R 및 Y) 각각은 당업자에 의해 이해되는 바와 같이, 임의의 실시양태에서 다른 변수들 중 어느 하나 이상과 조합될 수 있고, 화학식 I과 연관될 수 있다. 얻어지는 변수들의 조합 각각은 본 발명의 하나의 실시양태이다.

<27> 예를 들어, 화학식 I의 특정 실시양태에 대해, Y는 -C(O)- 및 -C(O)-O-로 이루어진 군으로부터 선택된다.

- <28> 예를 들어, 화학식 I의 특정 실시양태에 대해, Y는 -C(O)-이다.
- <29> 예를 들어, 화학식 I의 특정 실시양태에 대해, Y는 -C(O)-O-이다.
- <30> 화학식 I의 상기 실시양태 중 어느 하나를 포함하는 특정 실시양태에 대해, R은 알킬, 아릴, 아릴알킬레닐, 헤테로아릴, 헤테로아릴알킬레닐, 헤테로시클릴 및 헤테로시클릴알킬레닐로 이루어진 군으로부터 선택되고; 여기서, 아릴 및 아릴알킬레닐은 비치환되거나, 또는 알킬, 알콕시, 아릴 및 할로젠으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 치환기로 치환되며; Y에 부착되는 헤테로시클릴의 원자는 탄소 원자이다.
- <31> 화학식 I의 상기 실시양태 중 어느 하나를 포함하는 특정 실시양태에 대해, R은 알킬, 아릴 또는 아릴알킬레닐이다. 이들 실시양태 중 특정한 경우, R은 C₁₋₁₀ 알킬이다. 이들 실시양태 중 특정한 경우, R은 C₁₋₅ 알킬이다. 이들 실시양태 중 특정한 경우, R은 메틸, 에틸, n-프로필, 이소프로필, n-부틸, 이소부틸 및 tert-부틸로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- <32> 화학식 I의 상기 실시양태 중 어느 하나를 포함하는 특정 실시양태에 대해, 허용된다면, R은 아릴이다. 이들 실시양태 중 특정한 경우, R은 페닐이다.
- <33> 화학식 I의 상기 실시양태 중 어느 하나를 포함하는 특정 실시양태에 대해, 허용된다면, R은 아릴알킬레닐이다. 이들 실시양태 중 특정한 경우, R은 벤질이다.
- <34> 특정 실시양태에 대해, 본 발명은 치료학적 유효량의 화학식 I의 상기 실시양태 중 어느 하나의 화합물 또는 그의 염, 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 조성물을 제공한다.
- <35> 특정 실시양태에 대해, 본 발명은 치료학적 유효량의 화학식 I의 상기 실시양태 중 어느 하나의 화합물 또는 그의 염, 또는 치료학적 유효량의 화학식 I의 상기 실시양태 중 어느 하나의 화합물 또는 그의 염을 포함하는 제약 조성물을 동물에게 투여하는 것을 포함하는, 동물에서의 시토킨 생합성의 유도 방법을 제공한다.
- <36> 특정 실시양태에 대해, 본 발명은 치료학적 유효량의 화학식 I의 상기 실시양태 중 어느 하나의 화합물 또는 그의 염, 또는 치료학적 유효량의 화학식 I의 상기 실시양태 중 어느 하나의 화합물 또는 그의 염을 포함하는 제약 조성물을 동물에게 투여하는 것을 포함하는, 동물에서의 바이러스 질환의 치료 방법을 제공한다.
- <37> 특정 실시양태에 대해, 본 발명은 치료학적 유효량의 화학식 I의 상기 실시양태 중 어느 하나의 화합물 또는 그의 염, 또는 치료학적 유효량의 화학식 I의 상기 실시양태 중 어느 하나의 화합물 또는 그의 염을 포함하는 제약 조성물을 동물에게 투여하는 것을 포함하는, 동물에서의 종양성 질환의 치료 방법을 제공한다.
- <38> 본원에 사용되는 용어 "알킬" 및 접두어 "알크-"는 직쇄 및 분지쇄 기, 및 시클릭기, 예를 들어 시클로알킬 및 시클로알케닐 모두를 포함한다. 달리 명시되지 않는다면, 이러한 기는 1 내지 20개의 탄소 원자를 함유한다. 일부 실시양태에서, 이러한 기는 총 10개 이하의 탄소 원자, 8개 이하의 탄소 원자, 6개 이하의 탄소 원자 또는 4개 이하의 탄소 원자를 갖는다. 시클릭기는 모노시클릭 또는 폴리시클릭일 수 있으며, 바람직하게는 3 내지 10개의 고리 탄소 원자를 갖는다. 예시적인 시클릭기로는 시클로프로필, 시클로프로필메틸, 시클로부틸, 시클로부틸메틸, 시클로펜틸, 시클로펜틸메틸, 시클로헥실, 시클로헥실메틸, 아다만틸, 치환 및 비치환된 보르닐, 노르보르닐, 및 노르보르네닐이 있다.
- <39> 달리 명시되지 않는다면, "알킬렌"은 상기 정의된 "알킬" 기의 2가 형태이다. 용어 "알킬레닐"은 "알킬렌"이 치환되는 경우에 사용된다. 예를 들어, 아릴알킬레닐기는 아릴기가 부착된 "알킬렌" 잔기를 포함한다.
- <40> 본원에 사용되는 용어 "아릴"은 카르보시클릭 방향족 고리 또는 고리계를 포함한다. 아릴기의 예로는 페닐, 나프틸, 비페닐, 플루오레닐 및 인데닐이 있다.
- <41> 달리 제시되지 않는다면, 용어 "헤테로원자"는 원자 O, S 또는 N을 지칭한다.
- <42> 용어 "헤테로아릴"은 하나 이상의 고리 헤테로원자 (예를 들어, O, S, N)를 함유하는 방향족 고리 또는 고리계를 포함한다. 일부 실시양태에서, 용어 "헤테로아릴"은 2 내지 12개의 탄소 원자, 1 내지 3개의 고리, 1 내지 4개의 헤테로원자 (O, S 및/또는 N)를 함유하는 고리 또는 고리계를 포함한다. 적합한 헤테로아릴기로는 푸릴, 티에닐, 피리딜, 퀴놀리닐, 이소퀴놀리닐, 인돌릴, 이소인돌릴, 트리아졸릴, 피롤릴, 테트라졸릴, 이미다졸릴, 피라졸릴, 옥사졸릴, 티아졸릴, 벤조푸라닐, 벤조티오페닐, 카르바졸릴, 벤족사졸릴, 피리미디닐, 벤즈이미다졸릴, 퀴놀살리닐, 벤조티아졸릴, 나프티리디닐, 이속사졸릴, 이소티아졸릴, 퓨리닐, 퀴나졸리닐, 피라지닐, 1-옥시도피리딜, 피리다지닐, 트리아지닐, 테트라지닐, 옥사디아졸릴, 티아디아졸릴 등이 있다.

- <43> 용어 "헤테로시클릴"은 하나 이상의 고리 헤테로원자 (예를 들어, O, S, N)를 함유하는 비-방향족 고리 또는 고리계를 포함하며, 상기 언급된 헤테로아릴기의 완전히 포화된 유도체 및 부분적으로 불포화된 유도체 전부를 포함한다. 일부 실시양태에서, 용어 "헤테로시클릴"은 2 내지 12개의 탄소 원자, 1 내지 3개의 고리, 1 내지 4개의 헤테로원자 (O, S 및 N)를 함유하는 고리 또는 고리계를 포함한다. 예시적인 헤테로시클릴기로는 피롤리디닐, 테트라히드로푸라닐, 모르폴리닐, 티오모르폴리닐, 1,1-디옥소티오모르폴리닐, 피페리디닐, 피페라지닐, 티아졸리디닐, 이미다졸리디닐, 이소티아졸리디닐, 테트라히드로피라닐, 퀴놀리디닐, 호모피페리디닐 (아제파닐), 1,4-옥사제파닐, 호모피페라지닐 (디아제파닐), 1,3-디옥솔라닐, 아지리디닐, 아제티디닐, 디히드로이소퀴놀린-(1H)-일, 옥타히드로이소퀴놀린-(1H)-일, 디히드로퀴놀린-(2H)-일, 옥타히드로퀴놀린-(2H)-일, 디히드로-1H-이미다졸릴, 3-아자비시클로[3.2.2]논-3-일 등이 있다.
- <44> 용어 "헤테로시클릴"은 비시클릭 및 트리시클릭 헤테로시클릭 고리계를 포함한다. 이러한 고리계는 융합되고/거나 가교된 고리 및 스피로 고리를 포함한다. 융합된 고리는 포화 고리 또는 부분적으로 불포화된 고리 이외에, 방향족 고리, 예를 들어 벤젠 고리를 포함할 수 있다. 스피로 고리는 1개의 스피로 원자에 의해 결합된 2개의 고리, 및 2개의 스피로 원자에 의해 결합된 3개의 고리를 포함한다.
- <45> "헤테로시클릴"이 질소 원자를 함유하는 경우, 달리 명시되지 않는다면, 헤테로시클릴기의 부착 지점은 질소 원자일 수 있다.
- <46> 본 발명은 이성질체 (예를 들어, 부분입체이성질체 및 거울상이성질체), 염, 용매화물, 다형체 등을 비롯한 임의의 제약상 허용되는 형태의 본원에 기재된 화합물 (중간체 포함)을 포함한다. 특히, 화합물이 광학적으로 활성인 경우, 본 발명은 구체적으로 화합물의 거울상이성질체 각각, 및 거울상이성질체의 라세미 혼합물 및 한쪽이 우세한(scalemic) 혼합물을 포함한다. 명확하게 제시되든지 아니든지 (가끔 "염"은 명확하게 제시되지만), 용어 "화합물"은 상기 형태 중 어느 하나 또는 전부를 포함하는 것으로 이해되어야 한다.
- <47> 화합물의 제조
- <48> 본 발명의 화합물은 화학업계에 익히 공지된 것과 유사한 공정을 포함하는 합성 경로에 의해, 구체적으로는 본원에 도입된 설명에 비추어 합성될 수 있다. 시약은 알드리치 케미칼스(Aldrich Chemicals) (미국 위스콘신주 밀워키에 소재함)와 같은 상업적 출처로부터 통상적으로 입수가 가능하거나, 또는 당업자에게 익히 공지된 방법을 사용하여 손쉽게 제조된다 (예를 들어, 문헌 [Louis F. Fieser and Mary Fieser, Reagents for Organic Synthesis, v. 1-19, Wiley, New York, (1967-1999 ed.); [Alan R. Katritzky, Otto Meth-Cohn, Charles W. Rees, Comprehensive Organic Functional Group Transformations, v 1-6, Pergamon Press, Oxford, England, (1995)]; [Barry M. Trost and Ian Fleming, Comprehensive Organic Synthesis, v. 1-8, Pergamon Press, Oxford, England, (1991)]; 또는 [Beilsteins Handbuch der organischen Chemie, 4, Aufl. Ed. Springer-Verlag, Berlin, Germany] (부록 포함; 바일슈타인 온라인 데이터베이스를 통해서도 입수가 가능함)에 일반적으로 기재된 방법에 의해 제조됨).
- <49> 예시적 목적상 하기에 도시한 반응식은 본 발명의 화합물의 가능한 합성 경로를 제공한다. 각 반응 단계의 보다 상세한 설명에 대해서는 하기 실시예 부분을 참조한다. 당업자는 다른 합성 경로가 본 발명의 화합물을 합성하는데 사용될 수 있음을 인지할 것이다.
- <50> 분리 및 정제의 통상적인 방법 및 기술을 사용하여 본 발명의 화합물, 및 그의 다양한 제약상 허용되는 염을 단리할 수 있다. 그러한 기술로는 예를 들어, 모든 유형의 크로마토그래피 (고성능 액체 크로마토그래피 (HPLC), 실리카 겔과 같은 통상의 흡수제를 사용한 컬럼 크로마토그래피, 및 박층 크로마토그래피), 재결정화 및 분별 (즉, 액체-액체) 추출 기술일 수 있다.
- <51> 본 발명의 화합물은 반응식 I (여기서, R은 상기 정의된 바와 같음)에 따라 제조할 수 있다. 반응식 I에서는, 화학식 II의 1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-4-아민을 화학식 III의 산 무수물과 반응시켜 화학식 I의 하위군인 화학식 IV의 N-(1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-4-일)아미드를 제공한다. 반응은 임의로 트리에틸아민과 같은 염기의 존재 하에, N,N-디메틸포름아미드와 같은 적합한 용매 중에서 화학식 II의 1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-4-아민과 화학식 III의 산 무수물을 배합하여 수행한다. 반응은 주변 온도에서 수행할 수 있고, 생성물 또는 그의 제약상 허용되는 염은 통상적인 방법을 사용하여 단리할 수 있다. 화학식 II의 1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-4-아민은 공지되어 있으며, 공지된 합성 방법 (미국 특허 제6,677,349호 및 그에 인용된 문헌 참조)을 사용하여 제조할 수 있다.

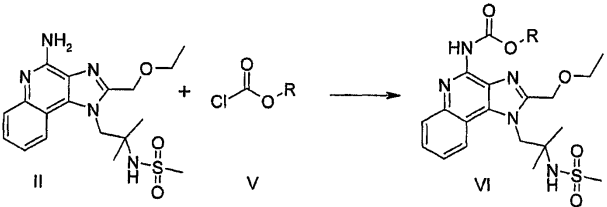
반응식 I



<52>

<53> 본 발명의 화합물은 반응식 II (여기서, R은 상기 정의된 바와 같음)에 따라 제조할 수 있다. 반응식 II에서는, 화학식 II의 1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-4-아민을 화학식 V의 클로로포르메이트와 반응시켜 화학식 I의 하위군인 화학식 VI의 1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-4-일카르바메이트를 제공한다. 반응은 트리에틸아민과 같은 염기의 존재 하에, 디클로로메탄과 같은 적합한 용매 중 화학식 II의 1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-4-아민의 현탁액 또는 용액에 제어된 방식으로 화학식 V의 클로로포르메이트를 첨가하여 수행한다. 첨가는 예를 들어, 0°C와 같은 주변 온도 미만에서 수행할 수 있다. 생성물 또는 그의 제약상 허용되는 염은 통상적인 방법을 사용하여 분리할 수 있다.

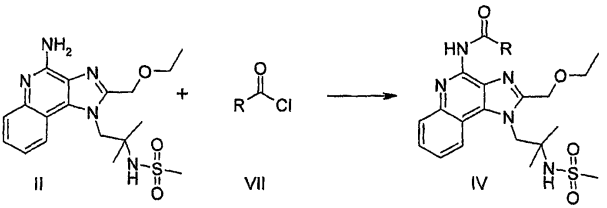
반응식 II



<54>

<55> 본 발명의 화합물은 반응식 III (여기서, R은 상기 정의된 바와 같음)에 따라 제조할 수 있다. 반응식 III에서는, 화학식 II의 1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-4-아민을 화학식 VII의 산 클로라이드와 반응시켜 화학식 I의 하위군인 화학식 IV의 N-(1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-4-일)아미드를 제공한다. 반응은 트리에틸아민과 같은 염기의 존재 하에, 디클로로메탄 또는 N,N-디메틸포름아미드와 같은 적합한 용매 중에서 화학식 II의 1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-4-아민과 화학식 VII의 산 클로라이드를 배합하여 수행한다. 반응은 주변 온도에서 수행할 수 있고, 생성물 또는 그의 제약상 허용되는 염은 통상적인 방법을 사용하여 분리할 수 있다.

반응식 III



<56>

제약 조성물 및 생물학적 활성

<58> 본 발명의 제약 조성물은 치료학적 유효량의 상기 기재된 화합물 또는 그의 염을 제약상 허용되는 담체와 조합하여 함유한다.

<59> 용어 "치료학적 유효량" 및 "유효량"은 치료학적 또는 예방학적 효과, 예컨대 시토킨 유도, 면역조절, 항종양 활성 및/또는 항바이러스 활성을 유도하는데 충분한 화합물 또는 염의 양을 의미한다. 본 발명의 제약 조성물 중에 사용된 화합물 또는 염의 정확한 양은 당업자에게 공지된 요인, 예컨대 화합물 또는 염의 물리적 및 화학적 특성, 담체의 특성 및 의도되는 투여 요법에 따라 달라질 것이다.

<60> 일부 실시양태에서, 본 발명의 조성물은 대상체에게 화합물 또는 염을 약 100 ng/kg 내지 약 50 mg/kg, 바람직하게는 약 10 μg/kg 내지 약 5 mg/kg의 투여량으로 제공하도록 충분한 활성 성분 또는 전구약물을 함유할 것이다.

- <61> 다른 실시양태에서, 본 발명의 조성물은 예를 들어, 약 0.01 mg/m² 내지 약 5.0 mg/m² [드보이스법(Dubois method)에 따라 계산됨; 대상체의 체표면적 (m²)은 대상체의 체중을 이용하여 계산됨: m² = (체중 kg^{0.425} x 신장 cm^{0.725}) x 0.007184]의 투여량을 제공하도록 충분한 활성 성분 또는 전구약물을 함유할 것이나, 일부 실시양태에서, 방법은 화합물 또는 염 또는 조성물을 상기 범위를 벗어난 투여량으로 투여함으로써 수행될 수 있다. 몇몇 이러한 실시양태에서, 방법은 약 0.1 mg/m² 내지 약 2.0 mg/m², 예를 들어 약 0.4 mg/m² 내지 약 1.2 mg/m²의 투여량을 제공하도록 충분한 화합물을 대상체에게 투여하는 것을 포함한다.
- <62> 다양한 투여 형태, 예컨대 정제, 로젠지제, 캡슐제, 비경구 제제, 시럽제, 크림, 연고, 에어로졸 제제, 경피용 패치, 점막투과용 패치 등이 사용될 수 있다. 이러한 투여 형태는 활성 성분을 담체와 결합시키는 단계를 일반적으로 포함하는 통상적인 방법을 사용하여, 통상의 제약상 허용되는 담체 및 첨가제와 함께 제조될 수 있다.
- <63> 본 발명의 화합물 또는 염은 치료 요법에서 단일 치료제로서 투여될 수 있거나, 또는 본원에 기재된 화합물 또는 염은 서로 조합하거나 또는 추가의 면역 반응 조절제, 항바이러스제, 항생제, 항체, 단백질, 펩티드, 올리고뉴클레오티드 등을 비롯한 다른 활성제와 조합하여 투여될 수 있다.
- <64> 본 발명의 화합물 또는 염은 하기 기술되는 시험에 따라 수행된 실험에서 특정 시토킨의 생성을 유도하는 것으로 입증되었다. 이러한 결과는 화합물 또는 그의 염이 다수의 상이한 방식으로 면역 반응을 조절하는데 유용하며, 따라서 다양한 장애의 치료에 있어 유용하다는 것을 나타낸다.
- <65> 본 발명의 화합물 또는 염의 투여에 의해 생성이 유도될 수 있는 시토킨으로는 일반적으로 인터페론-α (IFN-α) 및 종양 괴사 인자-α (TNF-α) 뿐만 아니라 특정 인터류킨 (IL)이 있다. 본 발명의 화합물 또는 염에 의해 생합성이 유도될 수 있는 시토킨으로는 IFN-α, TNF-α, IL-1, IL-6, IL-10 및 IL-12, 및 기타 다양한 시토킨이 있다. 다른 효과 중에서도, 상기 및 이외의 시토킨은 바이러스 생성 및 종양 세포 성장을 억제시킬 수 있고, 따라서 본 발명의 화합물 또는 염은 바이러스 질환 및 종양성 질환의 치료에 유용하다. 따라서, 본 발명은 유효량의 본 발명의 화합물 또는 염을 동물에게 투여하는 것을 포함하는, 상기 동물에서의 시토킨 생합성의 유도 방법을 제공한다. 시토킨 생합성의 유도를 위해 화합물 또는 염이 투여되는 동물은 상기 기재된 질환, 예를 들어 바이러스 질환 또는 종양성 질환을 가질 수 있으며, 화합물 또는 염의 투여는 치료학적 치료를 제공할 수 있다. 별법으로, 화합물 또는 염은 동물이 질환에 걸리기 전에 동물에게 투여될 수 있으므로 화합물 또는 염의 투여가 예방학적 치료를 제공할 수 있다.
- <66> 시토킨의 생성을 유도하는 능력 이외에, 본원에 기재된 화합물 또는 염은 선천성 면역 반응의 다른 측면에 영향을 미칠 수 있다. 예를 들어, 자연살해세포 활성이 자극될 수 있고, 이러한 효과는 시토킨 유도로 인한 것일 수 있다. 화합물 또는 염은 또한 대식세포를 활성화시켜, 산화질소의 분비 및 추가의 시토킨의 생성을 자극할 수 있다. 추가로, 화합물 또는 염은 B-림프구의 증식 및 분화를 일으킬 수 있다.
- <67> 본원에 기재된 화합물 또는 염은 또한 후천성 면역 반응에 영향을 미칠 수 있다. 예를 들어, 화합물 또는 염의 투여시, 제1형 T 헬퍼 (T_H1) 시토킨 IFN-γ의 생성이 간접적으로 유도될 수 있으며, 제2형 T 헬퍼 (T_H2) 시토킨 IL-4, IL-5 및 IL-13의 생성이 억제될 수 있다.
- <68> 질환의 예방학적 치료를 위해서든지 또는 치료학적 치료를 위해서든지, 선천성 면역에 영향을 미치는지 또는 후천성 면역에 영향을 미치는지에 관계없이, 본 발명의 화합물 또는 염 또는 조성물은 단독으로 또는 하나 이상의 활성 성분, 예를 들어 백신 보조제(adjuvant)와 조합하여 투여될 수 있다. 다른 성분과 함께 투여되는 경우, 화합물 또는 염 또는 조성물과 다른 성분(들)은 개별적으로; 함께 투여되지만 독립적으로, 예컨대 용액제로; 또는 함께 서로 조합하여, 예컨대 (a) 공유 결합되거나 (b) 비-공유 결합된 콜로이드성 현탁액제로 투여될 수 있다.
- <69> 본원에서 확인된 화합물 또는 염 또는 조성물이 치료로서 사용될 수 있는 증상으로는 하기와 같은 증상이 있거나 이에 제한되지 않는다:
- <70> (a) 바이러스 질환, 예를 들어, 아데노바이러스, 헤르페스바이러스 (예를 들어, HSV-I, HSV-II, CMV 또는 VZV), 폭스바이러스 (예를 들어, 마마 또는 우두와 같은 오르토폭스바이러스, 또는 전염성 연속종), 피코르나바이러스 (예를 들어, 리노바이러스 또는 엔테로바이러스), 오르토크스바이러스 (예를 들어, 인플루엔자바이러스), 파라믹소바이러스 (예를 들어, 파라인플루엔자바이러스, 볼거리 바이러스, 홍역 바이러스 및 호흡기 세포융합 바이러스(RSV)), 코로나바이러스 (예를 들어, SARS), 파포바이러스 (예를 들어, 생식기 사마귀, 심상성 사마귀 또

는 발바닥 사마귀를 유발하는 것과 같은 유두종바이러스), 헤파드나바이러스 (예를 들어, B형 간염 바이러스), 플라비바이러스 (예를 들어, C형 간염 바이러스 또는 뎅기(Dengue) 바이러스) 또는 레트로바이러스 (예를 들어, HIV와 같은 렌티바이러스)에 의한 감염으로부터 초래되는 질환;

<71> (b) 세균성 질환, 예를 들어, 에스케리키아(Escherichia) 속, 엔테로박터(Enterobacter) 속, 살모넬라 (Salmonella) 속, 스타필로코커스(Staphylococcus) 속, 시겔라(Shigella) 속, 리스테리아(Listeria) 속, 아에로박터(Aerobacter) 속, 헬리코박터(Helicobacter) 속, 클레브시엘라(Klebsiella) 속, 프로테우스(Proteus) 속, 슈도모나스(Pseudomonas) 속, 스트렙토코커스(Streptococcus) 속, 클라미디아(Chlamydia) 속, 미코플라스마(Mycoplasma) 속, 뉴모코커스(Pneumococcus) 속, 네이세리아(Neisseria) 속, 클로스트리듐(Clostridium) 속, 바실루스(Bacillus) 속, 코리네박테리움(Corynebacterium) 속, 미코박테리움(Mycobacterium) 속, 캄필로박터 (Campylobacter) 속, 비브리오(Vibrio) 속, 세라티아(Serratia) 속, 프로비덴시아(Providencia) 속, 크로모박테리움(Chromobacterium) 속, 브루셀라(Brucella) 속, 예르시니아(Yersinia) 속, 헤모필루스(Haemophilus) 속 또는 보르데텔라(Bordetella) 속의 세균에 의한 감염으로부터 초래되는 질환;

<72> (c) 다른 감염성 질환, 예를 들어, 칸디다증, 아스페르길루스증, 히스토플라스마증, 크립토코커스 수막염을 포함하나 이에 제한되지 않는 클라미디아 진균성 질환, 또는 말라리아, 페포자충 폐렴, 리슈만편모충증, 크립토스 포리듬증, 톡소플라스마증 및 파동편모충 감염을 포함하나 이에 제한되지 않는 기생충 질환;

<73> (d) 종양성 질환, 예컨대 상피내종양, 자궁목형성이상, 광선과화증, 기저세포 암종, 편평세포 암종, 신세포 암종, 카포시 육종, 흑색종, 백혈병 (급성 골수성 백혈병, 급성 림프구성 백혈병, 만성 골수성 백혈병, 만성 림프구성 백혈병, 다발골수종, 호지킨 림프종, 비-호지킨 림프종, 피부 T-세포 림프종, B-세포 림프종 및 모발상 세포 백혈병을 포함하나 이에 제한되지 않음) 및 기타 암;

<74> (e) T_H2-매개된 아토피성 질환, 예컨대 아토피 피부염 또는 습진, 호산구증가증, 천식, 알레르기, 알레르기성 비염 및 오멘 증후군;

<75> (f) 특정 자가면역질환, 예컨대 전신성 홍반성 루푸스, 본태성 혈소판증가증, 다발경화증, 원판상 루푸스 및 원형탈모증; 및

<76> (g) 상처 회복과 연관된 질환, 예를 들어, 켈로이드 형성 및 다른 유형의 흉터형성의 억제 (예를 들어, 만성 상처를 비롯한 상처 치유의 증진).

<77> 또한, 본원에서 확인된 화합물 또는 염은 예를 들어, 살아있는 바이러스, 세균 또는 기생충 면역원; 불활성화 바이러스, 종양-유도체, 원충, 미생물-유도체, 진균 또는 세균 면역원; 변성독소; 독소; 자기항원; 다당류; 단백질; 당단백질; 펩티드; 세포 백신; DNA 백신; 자가 백신; 재조합 단백질 등과 같은 체액 및/또는 세포 매개 면역 반응을 일으키는 임의의 물질과 함께 사용하거나, 예를 들어, BCG, 콜레라, 흑사병, 장티푸스, A형 간염, B형 간염, C형 간염, A형 인플루엔자, B형 인플루엔자, 파라인플루엔자, 회색질척수염, 광견병, 홍역, 볼거리, 풍진, 황열, 과상풍, 디프테리아, 헤모필루스 인플루엔자 b, 결핵, 수막구균성 및 폐렴구균성 백신, 아데노바이러스, HIV, 수두, 거대세포바이러스, 뎅기, 고양이 백혈병, 조류 흑사병, HSV-1 및 HSV-2, 돼지 콜레라, 일본 뇌염, 호흡기 세포융합 바이러스, 로타바이러스, 유두종 바이러스, 황열 및 알츠하이머병과 함께 사용하기 위한 백신 보조제로서 유용할 수 있다.

<78> 본원에서 확인된 화합물 또는 염은 면역 기능이 약화된 개체에 특히 도움이 될 수 있다. 예를 들어, 화합물 또는 염은 예를 들어 이식 환자, 암 환자 및 HIV 환자에서 세포-매개된 면역의 억제 후 발생하는 기회 감염 및 종양을 치료하는데 사용될 수 있다.

<79> 따라서, 치료학적 유효량의 본 발명의 화합물 또는 염을 하나 이상의 상기 질환 또는 질환의 유형, 예를 들어 바이러스 질환 또는 종양성 질환의 치료가 필요한 (질환을 앓는) 동물에게 투여함으로써 상기 동물을 치료할 수 있다.

<80> 유효량의 본원에 기재된 화합물 또는 염을 백신 보조제로서 투여함으로써 동물은 또한 예방 접종될 수 있다. 한 실시양태에서, 유효량의 본원에 기재된 화합물 또는 염을 백신 보조제로서 동물에게 투여하는 것을 포함하는, 동물을 예방 접종시키는 방법이 제공된다.

<81> 시토킨 생합성을 유도하는데 효과적인 화합물 또는 염의 양은 하나 이상의 세포 유형 (예컨대, 단핵세포, 대식세포, 가지세포 및 B-세포)이 하나 이상의 시토킨 (예컨대, IFN- α , TNF- α , IL-1, IL-6, IL-10 및 IL-12)의 양을 상기 시토킨의 배경 수준 초과로 증가되도록 (유도되도록) 생성시키는데 충분한 양이다. 정확한 양은 당

업계에 공지된 요인에 따라 달라질 것이나, 약 100 ng/kg 내지 약 50 mg/kg, 바람직하게는 약 10 µg/kg 내지 약 5 mg/kg의 투여량으로 예상된다. 다른 실시양태에서, 양은 예를 들어, 약 0.01 mg/m² 내지 약 5.0 mg/m² (상기 기재된 드보이스법에 따라 계산됨)의 투여량으로 예상되나, 일부 실시양태에서, 시토킨 생합성의 유도 또는 억제제 화합물 또는 염을 상기 범위를 벗어난 투여량으로 투여함으로써 수행될 수 있다. 몇몇 이러한 실시양태에서, 방법은 약 0.1 mg/m² 내지 약 2.0 mg/m², 예를 들어 약 0.4 mg/m² 내지 약 1.2 mg/m²의 투여량을 제공하도록 충분한 화합물 또는 염 또는 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함한다.

<82> 본 발명은 또한, 유효량의 본 발명의 화합물 또는 염을 동물에게 투여하는 것을 포함하는, 상기 동물에서의 바이러스 감염 및 종양성 질환의 치료 방법을 제공한다. 바이러스 감염을 치료 또는 억제하는데 효과적인 양은 비-처치된 대조군 동물에 비해 바이러스 감염의 징후, 예컨대 바이러스 병변, 바이러스 부하, 바이러스 생성 속도 및 사망률 중 하나 이상에서 감소를 일으킬 양이다. 그러한 치료에 효과적인 정확한 양은 당업계에 공지된 요인에 따라 달라질 것이나, 약 100 ng/kg 내지 약 50 mg/kg, 바람직하게는 약 10 µg/kg 내지 약 5 mg/kg의 투여량으로 예상된다. 종양성 증상을 치료하는데 효과적인 화합물 또는 염의 양은 종양 크기 또는 종양 부위의 수의 감소를 일으킬 양이다. 또한, 정확한 양은 당업계에 공지된 요인에 따라 달라질 것이나, 약 100 ng/kg 내지 약 50 mg/kg, 바람직하게는 약 10 µg/kg 내지 약 5 mg/kg의 투여량으로 예상된다. 다른 실시양태에서, 양은 예를 들어, 약 0.01 mg/m² 내지 약 5.0 mg/m² (상기 기재된 드보이스법에 따라 계산됨)의 투여량으로 예상되나, 일부 실시양태에서, 그러한 방법은 화합물 또는 염을 상기 범위를 벗어난 투여량으로 투여함으로써 수행될 수 있다. 몇몇 이러한 실시양태에서, 방법은 약 0.1 mg/m² 내지 약 2.0 mg/m², 예를 들어 약 0.4 mg/m² 내지 약 1.2 mg/m²의 투여량을 제공하도록 충분한 화합물 또는 염을 대상체에게 투여하는 것을 포함한다.

<83> 따라서, 치료학적 유효량의 본원에 기재된 실시양태 중 어느 하나, 또는 이들의 조합의 화학식 I의 화합물 또는 그의 염을 하나 이상의 상기 질환 또는 질환의 유형, 예를 들어 바이러스 질환 또는 종양성 질환의 치료가 필요한 (질환을 앓는) 동물에게 투여함으로써 동물을 치료할 수 있다. 유효량의 본원에 기재된 실시양태 중 어느 하나, 또는 이들의 조합의 화학식 I의 화합물 또는 그의 염을 백신 보조제로서 동물에게 투여함으로써 동물은 또한 예방 접종될 수 있다. 한 실시양태에서, 유효량의 본원에 기재된 화합물 또는 염을 백신 보조제로서 동물에게 투여하는 것을 포함하는, 동물을 예방 접종시키는 방법이 제공된다.

<84> 본 발명의 방법은 임의의 적합한 대상체에서 수행될 수 있다. 적합한 대상체로는 인간, 비-인간 영장류, 설치류, 개, 고양이, 말, 돼지, 양, 염소 또는 암소와 같은 동물이 있으나 이에 제한되지 않는다.

<85> 본원에 구체적으로 기재된 제제 및 용도 이외에, 본 발명의 화합물에 대해 적합한 다른 제제, 용도 및 투여 장치는 예를 들어, 국제 출원 제WO 03/077944호 및 동 제WO 02/036592호, 미국 특허 제6,245,776호, 및 미국 출원 제2003/0139364호, 동 제2003/185835호, 동 제2004/0258698호, 동 제2004/0265351호, 동 제2004/076633호 및 동 제2005/0009858호에 기재되어 있다.

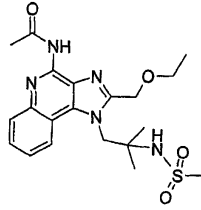
<86> 본 발명의 목적 및 이점은 하기 실시예에 의해 추가로 예시되지만, 이들 실시예에 언급된 특정한 물질 및 이의 양뿐만 아니라 기타 조건 및 세목은 본 발명을 부당하게 제한하는 것으로 해석되어서는 안된다.

실시예

<87> 하기 실시예에서, 콤비플래쉬(COMBIFLASH) 시스템 (미국 네브라스카주 링컨에 소재하는 텔레다인 이스코, 인코포레이티드(Teledyne Isco, Inc.)로부터 입수가 가능한 자동화 고성능 플래쉬 정제 제품) 또는 호라이즌(HORIZON) HPFC 시스템 (미국 버지니아주 샬로츠빌에 소재하는 바이오태그, 인코포레이티드(Biotage, Inc.)로부터 입수가 가능한 자동화 고성능 플래쉬 정제 제품)을 사용하여 자동화 플래쉬 크로마토그래피를 수행하였다. 각각의 정제에 사용되는 용리액은 실시예에 제시하였다. 몇몇 크로마토그래피 분리의 경우, 80/18/2 v/v/v의 클로로포름/메탄올/농축된 수산화암모늄(CMA) 용매 혼합물을 용리액의 극성 성분으로 사용하였다. 이러한 분리에서, CMA는 제시된 비로 클로로포름과 혼합하였다.

<88> 실시예 1

<89> N-(2-에톡시메틸-1-(2-메틸-2-[(메틸술폰닐)아미노]프로필)-1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-4-일)아세트아미드



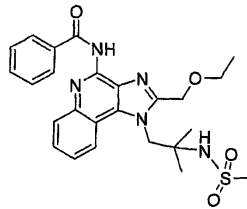
<90>

<91> 트리에틸아민 (401 μL, 1.5 당량)과 N,N-디메틸포름아미드 (DMF) (5 mL)의 혼합물 중 N-{2-[4-아미노-2-에톡시메틸-1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-1-일]-1,1-디메틸에틸}메탄술폰아미드 (750 mg, 1 당량)에 아세트산 무수물 (150 μL, 1.1 당량)를 첨가하고, 생성된 용액을 주변 온도에서 교반하였다. 2시간 후, 아세트산 무수물 (1 mL)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 1시간 동안 주변 온도에서 교반한 다음 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 자동화 플래쉬 크로마토그래피 (1% 수산화암모늄을 함유하는 디클로로메탄 중 0 내지 10% 메탄올의 구배로 용리하는 실리카 겔)로 정제하여 N-(2-에톡시메틸-1-(2-메틸-2-[(메틸술폰닐)아미노]프로필)-1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-4-일)아세트아미드 278 mg을 백색 분말로서 제공하였다. 용점: 75-76°C. C₂₀H₂₇N₅O₄S · 0.40H₂O에 대한 분석: 계산치: C, 54.50; H, 6.36; N, 15.89. 실측치: C, 54.70; H, 6.10; N, 15.58.

<92>

실시예 2

<93> N-(2-에톡시메틸-1-(2-메틸-2-[(메틸술폰닐)아미노]프로필)-1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-4-일)벤즈아미드



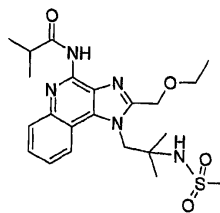
<94>

<95> 트리에틸아민 (533 μL, 1.5 당량)과 DMF (5 mL)의 혼합물 중 N-{2-[4-아미노-2-에톡시메틸-1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-1-일]-1,1-디메틸에틸}메탄술폰아미드 (1 g, 1 당량)에 벤조산 무수물 (636 mg, 1.1 당량)을 첨가하고, 생성된 용액을 주변 온도에서 교반하였다. 4시간 후, 추가의 벤조산 무수물 (약 0.1 당량)을 첨가하고, 반응 혼합물을 밤새 교반하였다. 반응 혼합물을 물 (약 40 mL)로 희석하였다. 생성된 현탁액을 수성 포화 중탄산나트륨으로 pH 7로 조정된 다음 에틸 아세테이트 및 디클로로메탄으로 추출하였다. 합한 유기물을 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 자동화 플래쉬 크로마토그래피 (1% 수산화암모늄을 함유하는 디클로로메탄 중 0 내지 10% 메탄올의 구배로 용리하는 실리카 겔)로 정제하여 N-(2-에톡시메틸-1-(2-메틸-2-[(메틸술폰닐)아미노]프로필)-1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-4-일)벤즈아미드 894 mg을 백색 분말로서 제공하였다. 용점: 80-83°C. C₂₅H₂₉N₅O₄S · 0.60CH₄O에 대한 분석: 계산치: C, 59.73; H, 6.15; N, 13.06. 실측치: C, 59.44; H, 5.75; N, 13.69.

<96>

실시예 3

<97> N-(2-에톡시메틸-1-(2-메틸-2-[(메틸술폰닐)아미노]프로필)-1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-4-일)-2-메틸프로판아미드



<98>

<99> DMF (3 mL) 중 N-{2-[4-아미노-2-에톡시메틸-1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-1-일]-1,1-디메틸에틸}메탄술폰아미드 (1.08 g, 1 당량)에 이소부티르산 무수물 (459 μL, 1 당량)을 첨가하고, 생성된 용액을 주변 온도에서 교반하였다. 4시간 후, 추가의 이소부티르산 무수물 (약 0.5 당량)을 첨가하고, 반응 혼합물을 밤새 교반하였다. 반응 혼합물을 디에틸 에테르 (약 25 mL)로 희석하고, 15분 동안 교반한 다음, 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을

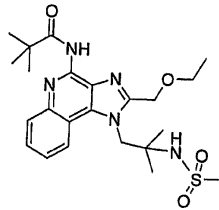
물 (약 30 mL)로 희석한 다음 에틸 아세테이트로 추출하였다. 유기 층을 물로 세척하고, 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 여과한 다음 감압 하에 농축시켜 오일을 제공하였다. 상기 오일을 자동화 플래쉬 크로마토그래피 (1% 수산화암모늄을 함유하는 디클로로메탄 중 0 내지 10% 메탄올의 구배로 용리하는 실리카 겔)로 정제하여 황색 분말 0.77 g을 제공하였다. 상기 물질을 밤새 60°C에서 진공 하에 건조시켜 N-(2-에톡시메틸-1-(2-메틸-2-[(메틸술포닐)아미노]프로필)-1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-4-일)-2,2-디메틸프로판아미드를 황색 분말로서 제공하였다. 융점: 67-70°C. C₂₂H₃₁N₅O₄S · 0.60H₂O에 대한 분석: 계산치: C, 55.94; H, 6.87; N, 14.83. 실측치: C, 55.70; H, 6.57; N, 14.49.

<100>

실시예 4

<101>

N-(2-(에톡시메틸)-1-(2-메틸-2-[(메틸술포닐)아미노]프로필)-1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-4-일)-2,2-디메틸프로판아미드



<102>

<103>

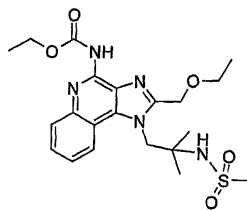
DMF (3 mL) 중 N-{2-[4-아미노-2-에톡시메틸-1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-1-일]-1,1-디메틸에틸}메탄술포나미드 (1.08 g, 1 당량)에 트리메틸아세트산 무수물 (564 μL, 1 당량)을 첨가하고, 생성된 용액을 주변 온도에서 교반하였다. 4시간 후, 추가의 트리메틸아세트산 무수물 (약 0.5 당량)을 첨가하고, 반응 혼합물을 밤새 교반하였다. 반응 혼합물을 디에틸 에테르 (약 25 mL)로 희석하고, 15분 동안 교반한 다음, 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 물 (약 30 mL)로 희석한 다음 에틸 아세테이트로 추출하였다. 유기 층을 물로 세척하고, 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 여과한 다음 감압 하에 농축시켜 황색 고체를 제공하였다. 상기 고체를 자동화 플래쉬 크로마토그래피 (1% 수산화암모늄을 함유하는 디클로로메탄 중 0 내지 10% 메탄올의 구배로 용리하는 실리카 겔)로 정제하여 황색 분말 0.89 g을 제공하였다. 상기 물질을 밤새 60°C에서 진공 하에 건조시켜 N-(2-에톡시메틸-1-(2-메틸-2-[(메틸술포닐)아미노]프로필)-1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-4-일)-2,2-디메틸프로판아미드를 황색 분말로서 제공하였다. 융점: 85-89°C. C₂₃H₃₃N₅O₄S · 0.50H₂O에 대한 분석: 계산치: C, 57.00; H, 7.07; N, 14.45. 실측치: C, 57.34; H, 6.89; N, 14.24.

<104>

실시예 5

<105>

에틸 2-에톡시메틸-1-(2-메틸-2-[(메틸술포닐)아미노]프로필)-1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-4-일카르바메이트



<106>

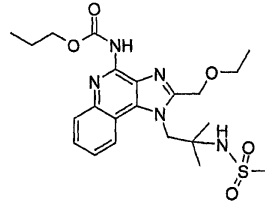
<107>

디클로로메탄 (150 mL) 중 N-{2-[4-아미노-2-에톡시메틸-1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-1-일]-1,1-디메틸에틸}메탄술포나미드 (1.5 g, 1 당량)의 냉각된 (아이스/수조) 현탁액에 트리에틸아민 (2.67 mL, 5 당량)을 첨가하였다. 디클로로메탄 (5 mL) 중 에틸 클로로포르메이트 (1.37 g, 3.3 당량)의 용액을 적가하여 맑은 용액을 얻었다. 반응 혼합물을 주변 온도로 가온하고, 24시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 물 (150 mL), 4% 탄산나트륨 (150 mL), 물 (150 mL) 및 염수 (150 mL)로 순차적으로 세척하였다. 유기 층을 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 자동화 플래쉬 크로마토그래피 (클로로포름 중 0 내지 20% CMA의 선형 구배로 용리되는 실리카 겔, 1500 mL)로 정제한 다음, 디에틸 에테르로부터 재결정화시켜 에틸 2-에톡시메틸-1-(2-메틸-2-[(메틸술포닐)아미노]프로필)-1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-4-일카르바메이트 1.25 g을 백색 분말로서 제공하였다. 융점: 163-165°C. C₂₁H₂₉N₅O₅S에 대한 분석: 계산치: C, 54.41; H, 6.31; N, 15.11. 실측치: C, 54.52; H, 6.43; N, 14.91.

<108>

실시예 6

<109> 프로필 2-에톡시메틸-1-(2-메틸-2-[(메틸술폰닐)아미노]프로필)-1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-4-일카르바메이트



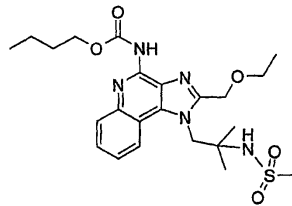
<110>

<111> 디클로로메탄 (150 mL) 중 N-{2-[4-아미노-2-에톡시메틸-1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-1-일]-1,1-디메틸에틸}메탄술폰아미드 (1.5 g, 1 당량)의 냉각된 (아이스/수조) 현탁액에 트리에틸아민 (2.67 mL, 5 당량)을 첨가하였다. 디클로로메탄 (5 mL) 중 프로필 클로로포르메이트 (1.55 g, 3.3 당량)의 용액을 적가하여 맑은 용액을 얻었다. 반응 혼합물을 주변 온도로 가온하고, 24시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 물 (150 mL), 4% 탄산나트륨 (150 mL), 물 (150 mL) 및 염수 (150 mL)로 순차적으로 세척하였다. 유기 층을 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 자동화 플래쉬 크로마토그래피 (클로로포름 중 0 내지 20% CMA의 선형 구배로 용리되는 실리카 겔, 1500 mL)로 정제한 다음, 디에틸 에테르로부터 재결정화시켜 프로필 2-에톡시메틸-1-(2-메틸-2-[(메틸술폰닐)아미노]프로필)-1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-4-일카르바메이트 1.23 g을 백색 분말로서 제공하였다. 융점: 177-179°C. C₂₂H₃₁N₅O₅S에 대한 분석: 계산치: C, 55.33; H, 6.54; N, 14.66. 실측치: C, 55.41; H, 6.47; N, 14.45.

<112>

실시예 7

<113> 부틸 2-에톡시메틸-1-(2-메틸-2-[(메틸술폰닐)아미노]프로필)-1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-4-일카르바메이트

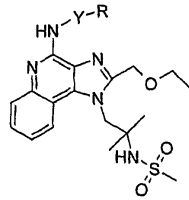


<114>

<115> 디클로로메탄 (150 mL) 중 N-{2-[4-아미노-2-에톡시메틸-1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-1-일]-1,1-디메틸에틸}메탄술폰아미드 (1.5 g, 1 당량)의 냉각된 (아이스/수조) 현탁액에 트리에틸아민 (2.67 mL, 5 당량)을 첨가하였다. 디클로로메탄 (5 mL) 중 부틸 클로로포르메이트 (1.73 g, 3.3 당량)의 용액을 적가하여 맑은 용액을 얻었다. 반응 혼합물을 주변 온도로 가온하고, 24시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 물 (150 mL), 4% 탄산나트륨 (150 mL), 물 (150 mL) 및 염수 (150 mL)로 순차적으로 세척하였다. 유기 층을 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 자동화 플래쉬 크로마토그래피 (클로로포름 중 0 내지 20% CMA의 선형 구배로 용리되는 실리카 겔, 1500 mL)로 정제한 다음, 디에틸 에테르로부터 재결정화시켜 부틸 2-에톡시메틸-1-(2-메틸-2-[(메틸술폰닐)아미노]프로필)-1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-4-일카르바메이트 1.23 g을 백색 분말로서 제공하였다. 융점: 125-127°C. C₂₃H₃₃N₅O₅S에 대한 분석: 계산치: C, 56.19; H, 6.77; N, 14.25. 실측치: C, 56.35; H, 6.65; N, 14.24.

<116> 예시적 화합물

<117> 상기 실시예에 기재된 화합물 일부를 비롯한 특정한 예시적 화합물은 하기 화학식 Ia 및 하기 표에 나타낸 1개의 Y 및 R 치환기를 가지며, 여기서, 표의 각각의 행은 본 발명의 특정 실시양태를 나타내는 화학식 Ia에 상응한다.



Ia

Y	R
-C(O)-	메틸
-C(O)-	에틸
-C(O)-	n-프로필
-C(O)-	이소프로필
-C(O)-	n-부틸
-C(O)-	이소부틸
-C(O)-	tert-부틸
-C(O)-	페닐
-C(O)-	벤질
-C(O)-O-	메틸
-C(O)-O-	에틸
-C(O)-O-	n-프로필
-C(O)-O-	이소프로필
-C(O)-O-	n-부틸
-C(O)-O-	이소부틸
-C(O)-O-	tert-부틸
-C(O)-O-	페닐
-C(O)-O-	벤질

<118>

<119>

하기 기재된 방법을 사용하여 시험한 경우, 인간 세포에서 인터페론 α 및/또는 종양 괴사 인자 α 수준의 증가로 입증된 바와 같이, 본 발명의 화합물은 시토킨 생합성을 조절하는 것으로 밝혀졌다.

<120>

인간 세포에서의 시토킨 유도

<121>

시험관 내 인간 혈액 세포 시스템을 사용하여 시토킨의 유도를 평가하였다. 활성은 테스터만(Testerman) 등의 문헌 ["Cytokine Induction by the Immunomodulators Imiquimod and S-27609", Journal of Leukocyte Biology, 58, 365-372 (September, 1995)]에 기재된 바와 같이, 배양 배지 중에 분비된 인터페론 (α) 및 종양 괴사 인자 (α) (각각 IFN-α 및 TNF-α)의 측정을 기초로 하였다.

<122>

배양을 위한 혈액 세포 제조

<123>

건강한 인간 공여자로부터의 전혈을 정맥천자에 의해 EDTA를 함유하는 진공채혈관 또는 시린지 안에 수집하였다. 히스토파큐(HISTOPAQUE)-1077 (미주리주 세인트 루이스에 소재하는 시그마(Sigma)) 또는 피콜-파큐 플러스(Ficoll-Paque Plus) (뉴저지주 피스카타웨이에 소재하는 아머삼 바이오사이언시즈(Amersham Biosciences))를 사용한 밀도 구배 원심분리에 의해 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC)를 전혈로부터 분리하였다. 둘째로 인산염 완충 염수 (DPBS) 또는 헝크 평형 염 용액 (HBSS)으로 혈액을 1:1로 희석하였다. 별법으로, 밀도 구배 배지를 함유하는 아쿠스핀(Accuspin) (시그마) 또는 류코셉(LeucoSep) (플로리다주 롱우드에 소재하는 그라이너 바이오-원, 인코포레이티드(Greiner Bio-One, Inc.)) 원심분리 프리트(frit) 튜브에 전혈을 넣었다. PBMC 층을 수집하고, DPBS 또는 HBSS로 2회 세척하고, RPMI 완전 배지 중에 4 x 10⁶ 개 세포/mL로 재현탁시켰다. 시험 화합물을 함유하는 동일한 부피의 RPMI 완전 배지를 함유하는 96-웰 평평한 바닥 멸균 조직 배양 플레이트에 PBMC 현탁액을 첨가하였다.

<124>

화합물 제조

<125>

화합물을 디메틸 술폭시드 (DMSO) 중에 가용화시켰다. DMSO 농도는 배양 웰에의 첨가를 위해 최종 농도가 1%를 초과하지 않아야 한다. 화합물은 일반적으로 30 내지 0.014 μM의 농도로 시험되었다. 대조군은 배지만 갖는 세포 샘플, DMSO만 갖는 세포 샘플 (화합물 없음) 및 기준용 화합물을 갖는 세포 샘플을 포함한다.

- <126> 인큐베이션
- <127> RPMI 완전 배지를 함유하는 첫번째 웰에 시험 화합물의 용액을 60 μM의 농도로 첨가하고, 웰에서 3배 계열 희석액으로 제조하였다. 이어서, PBMC 현탁액을 동일한 부피로 웰에 첨가하여 시험 화합물 농도를 목적하는 범위 (통상적으로, 30 내지 0.014 μM)로 만들었다. PBMC 현탁액의 최종 농도는 2×10^6 개 세포/mL였다. 플레이트를 멸균 플라스틱 뚜껑으로 덮고, 온화하게 혼합한 다음, 5% 이산화탄소 분위기에서 18 내지 24시간 동안 37°C에서 인큐베이션시켰다.
- <128> 분리
- <129> 인큐베이션시킨 후, 플레이트를 4°C에서 1000 rpm (대략 200 x g)으로 10분 동안 원심분리하였다. 세포가 없는 배양 상등액을 제거하고, 멸균된 폴리프로필렌 튜브로 이동시켰다. 분석할 때까지 샘플을 -30 내지 -70°C로 유지하였다. 샘플은 IFN-α에 대해서는 ELISA로 분석하였고, TNF-α에 대해서는 IGEN/BioVeris 분석법으로 분석하였다.
- <130> 인터페론 (α) 및 종양 괴사 인자 (α) 분석
- <131> 뉴저지주 피스카타웨이에 소재하는 PBL 바이오메디칼 라보라토리즈(PBL Biomedical Laboratories)로부터 입수한 인간 다중-아형 측색 샌드위치 ELISA (카탈로그 번호 41105)를 사용하여 IFN-α 농도를 측정하였다. 결과는 pg/mL로 나타났다.
- <132> TNF-α 농도는 오리젠(ORIGEN) M-시리즈 면역분석법으로 측정하였고, 메릴랜드주 게이더스버그에 소재하는 바이오베리스 코퍼레이션(BioVeris Corporation) (전에는 아이젠 인터내셔널(IGEN International)로 알려짐)로부터 입수한 IGEN M-8 분석기 상에서 판독하였다. 면역분석은 캘리포니아주 카마틸로에 소재하는 바이오소스 인터내셔널(Biosource International)로부터 입수한 인간 TNF-α 포획 및 탐지 항체 쌍 (카탈로그 번호 AHC3419 및 AHC3712)을 사용하였다. 결과는 pg/mL로 나타났다.
- <133> 분석 데이터 및 분석
- <134> 전체적으로, 분석 데이터 출력은 화합물 농도의 함수 (x-축)로서 TNF-α 및 IFN-α의 농도 값 (y-축)으로 이루어져 있다.
- <135> 데이터의 분석은 2 단계로 수행하였다. 먼저, 각 판독값에서 평균 DMSO 값 (DMSO 대조군 웰) 또는 실험적 배경 값 (통상적으로, IFN-α의 경우에는 20 pg/mL이고 TNF-α의 경우에는 40 pg/mL임) 중 더 큰 값을 뺄셈하였다. 배경 뺄셈으로부터 임의의 음의 값이 산출되는 경우, 판독은 "*"로서 보고되고, 신뢰할 만하게 검출가능한 것이 아닌 것으로 기록되었다. 후속적 계산 및 통계치에서, "*"는 0으로 처리되었다. 다음으로, 배경 뺄셈한 모든 값에 단일 조정비를 곱하여 실험 대 실험 가변성을 줄였다. 조정비는 새로운 실험에서의 기준용 화합물의 면적을 지난 61개의 실험 (조정되지 않은 판독)을 기준으로 기준용 화합물의 예측 면적으로 나눈 값이다. 그 결과, 용량-반응 곡선의 모양을 변화시키지 않으면서 새로운 데이터에 대한 판독 스케일링(scaling) (y-축)이 얻어진다. 사용되는 기준용 화합물은 2-[4-아미노-2-에톡시메틸-6,7,8,9-테트라히드로-α, α-디메틸-1H-이미다조 [4,5-c]퀴놀린-1-일]에탄올 히드레이트 (미국 특허 제5,352,784호; 실시예 91)이고, 예측 면적은 지난 61개의 실험으로부터의 중앙 투여 값의 총합이다.
- <136> 최소 유효 농도는 제시된 실험 및 화합물에 대해 배경 뺄셈하고 기준-조정된 결과를 기준으로 계산된다. 최소 유효 농도 (μmolar)는 시험된 시토킨에 대해 고정된 시토킨 농도 (통상적으로, IFN-α의 경우에는 20 pg/mL이고 TNF-α의 경우에는 40 pg/mL임) 초과로 반응을 유도하는 시험된 화합물의 최저 농도이다. 최대 반응은 용량-반응 곡선에서 산출되는 시토킨의 최대 양 (pg/ml)이다.
- <137> **인간 세포에서의 시토킨 유도**
- <138> (고속 처리 스크린(High Throughput Screen))
- <139> 상기 기재된 인간 세포에서의 시토킨 유도 시험 방법을 고속 처리 스크리닝을 위해 하기와 같이 변형하였다.
- <140> 배양을 위한 혈액 세포 제조
- <141> 건강한 인간 공여자로부터의 전혈을 정맥천자에 의해 EDTA를 함유하는 진공채혈관 또는 시린지 안에 수집하였다. 히스토파큐-1077 (미주리주 세인트 루이스에 소재하는 시그마) 또는 피콜-파큐 플러스 (뉴저지주 피스카타웨이에 소재하는 아머샴 바이오사이언시즈)를 사용한 밀도 구배 원심분리에 의해 말초 혈액 단핵 세포

(PBMC)를 전혈로부터 분리하였다. 밀도 구배 배지를 함유하는 아쿠스핀 (시그마) 또는 류코셉 (플로리다주 롱 우드에 소재하는 그라이너 바이오-원, 인코포레이티드) 원심분리 프리트 튜브에 전혈을 넣었다. PBMC 층을 수집하고, DPBS 또는 HBSS로 2회 세척하고, RPMI 완전 배지 중에 4×10^6 개 세포/mL로 재현탁시켰다 (2배의 최종 세포 농도). PBMC 현탁액을 96-웰 평평한 바닥 멸균 조직 배양 플레이트에 첨가하였다.

<142> 화합물 제조

<143> 화합물을 디메틸 술폭사이드 (DMSO) 중에 가용화시켰다. 화합물은 일반적으로 30 내지 0.014 μM 의 농도로 시험되었다. 대조군은 각 플레이트 상에 배지만 갖는 세포 샘플, DMSO만 갖는 세포 샘플 (화합물 없음) 및 기준용 화합물인 2-[4-아미노-2-에톡시메틸-6,7,8,9-테트라히드로- α , α -디메틸-1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-1-일]에탄올 히드레이트 (미국 특허 제5,352,784호; 실시예 91)를 갖는 세포 샘플을 포함한다. 투여 플레이트의 첫번째 웰에 시험 화합물의 용액을 7.5 mM의 농도로 첨가하고, 3배 계열 희석하여 DMSO 중 이후 7개의 농도 희석액을 제조하였다. 이어서, 최종 화합물 농도가 최종 시험 농도 범위보다 2배 증가되도록 (60 내지 0.028 μM), RPMI 완전 배지를 시험 화합물 희석액에 첨가하였다.

<144> 인큐베이션

<145> 이어서, PBMC 현탁액을 함유하는 웰에 화합물 용액을 첨가하여 시험 화합물 농도를 목적하는 범위 (통상적으로, 30 내지 0.014 μM)로 만들고 DMSO 농도를 0.4%로 만들었다. PBMC 현탁액의 최종 농도는 2×10^6 개 세포/mL였다. 플레이트를 멸균 플라스틱 뚜껑으로 덮고, 온화하게 혼합한 다음, 5% 이산화탄소 분위기에서 18 내지 24시간 동안 37°C에서 인큐베이션시켰다.

<146> 분리

<147> 인큐베이션시킨 후, 플레이트를 4°C에서 1000 rpm (대략 200 g)으로 10분 동안 원심분리하였다. 4-플렉스 휴먼 판넬 MSD 멀티-스팟(4-plex Human Panel MSD MULTI-SPOT) 96-웰 플레이트를 메소스케일 디스커버리, 인코포레이티드(MesoScale Discovery, Inc.) (MSD, 메릴랜드주 게이터스버그에 소재함)로부터의 적절한 포획 항체로 예비-코팅하였다. 세포가 없는 배양 상등액을 제거하고, MSD 플레이트로 이동시켰다. 신선한 샘플이 통상적으로 시험되지만, 이들은 분석할 때까지 -30 내지 -70°C로 보관될 수도 있었다.

<148> 인터페론- α 및 중양 피사 인자- α 분석

<149> MSD 멀티-스팟 플레이트는 특정 스팟 상에 예비-코팅된 인간 TNF- α 및 인간 IFN- α 용 포획 항체를 각 웰 내에 함유한다. 각 웰은 4개의 스팟을 함유한다: 1개의 인간 TNF- α 포획 항체 (MSD) 스팟, 1개의 인간 IFN- α 포획 항체 (뉴저지주 피스카타웨이에 소재하는 PBL 바이오메디칼 라보라토리즈) 스팟, 및 2개의 불활성 소태아 혈청 알부민 스팟. 인간 TNF- α 포획 및 탐지 항체 쌍은 메소스케일 디스커버리로부터 입수하였다. 인간 IFN- α 다중-아형 항체 (PBL 바이오메디칼 라보라토리즈)는 IFN- α F (IFNA21)를 제외한 모든 IFN- α 아형을 포획한다. 표준물질은 제조함 인간 TNF- α (미네소타주 미네아폴리스에 소재하는 알앤디 시스템스(R&D Systems)) 및 IFN- α (PBL 바이오메디칼 라보라토리즈)로 구성된다. 샘플 및 각각의 표준물질을 분석 시에 각 MSD 플레이트에 첨가하였다. 2개의 인간 IFN- α 탐지 항체 (카탈로그 번호 21112 & 21100, PBL)를 2:1 (중량:중량)의 비로 사용하여 IFN- α 농도를 측정하였다. 시토킨-특이적 탐지 항체를 술포-태그(SULFO-TAG) 시약 (MSD)으로 표지화하였다. 술포-태그 표지화된 탐지 항체를 웰에 첨가한 후, MSD의 섹터 HTS(SECTOR HTS) 판독기를 사용하여 각 웰의 전기화학적발광 수준을 판독하였다. 결과는 공지된 시토킨 표준물질을 이용해 계산하여 pg/mL로 나타났다.

<150> 분석 데이터 및 분석

<151> 전체적으로, 분석 데이터 출력은 화합물 농도의 함수 (x-축)로서 TNF- α 또는 IFN- α 의 농도 값 (y-축)으로 이루어져 있다.

<152> 동일 실험 내에서 연관된 플레이트-대-플레이트 가변성을 감소시키려는 목적으로 상기 실험의 범위 내에서 플레이트-방식 스케일링을 수행하였다. 먼저, 평균 DMSO 값 (DMSO 대조군 웰) 또는 실험적 배경값 (통상적으로, IFN- α 의 경우에는 20 pg/mL이고 TNF- α 의 경우에는 40 pg/mL임) 중 더 큰 값을 각 판독값에서 뺄셈하였다. 배경 뺄셈으로부터 산출될 수 있는 음의 값은 0으로 설정하였다. 주어진 실험 내 각 플레이트는 대조군으로서 작용하는 기준용 화합물을 갖는다. 이러한 대조군을 사용하여 분석에서 모든 플레이트에 대한 곡선 아래의 중앙 예측 면적을 계산한다. 플레이트-방식 스케일링 계수는 전체 실험에서 중앙 예측 면적에 대한 특정 플레이트 상의 기준용 화합물의 면적의 비로 각 플레이트에 대해 계산된다. 이어서, 각 플레이트로부터의 데이터에 모든

플레이트에 대한 플레이트-방식 스케일링 계수를 곱하였다. 0.5 내지 2.0 (시토킨 IFN- α 및 TNF- α 둘 다에 대해)의 스케일링 계수를 갖는 플레이트로부터의 데이터만을 보고하였다. 스케일링 계수가 상기 언급된 간격을 벗어난 플레이트로부터의 데이터는 상기 언급된 간격 이내의 스케일링 계수를 가질 때까지 재시험하였다. 상기 방법으로 곡선의 모양을 변경시키지 않으면서 y-축의 스케일링이 얻어진다. 사용되는 기준용 화합물은 2-[4-아미노-2-에톡시메틸-6,7,8,9-테트라히드로- α , α -디메틸-1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-1-일]에탄올 히드레이트 (미국 특허 제5,352,784호; 실시예 91)였다. 중앙 예측 면적은 제시된 실험의 부분인 모든 플레이트에 대한 중앙 면적이다.

<153> 제2 스케일링을 (다중 실험에 걸친) 중간-실험 가변성을 감소시키기 위해 또한 수행할 수 있다. 배경 뺀 모든 값에 단일 조정비를 곱하여 실험 대 실험 가변성을 줄였다. 조정비는 새로운 실험에서의 기준용 화합물의 면적을 이전 실험들의 평균 (조정되지 않은 판독)을 기준으로 기준용 화합물의 예측 면적으로 나눈 값이다. 그 결과, 용량-반응 곡선의 모양을 변화시키지 않으면서 새로운 데이터에 대한 판독 스케일링 (y-축)이 얻어진다. 사용되는 기준용 화합물은 2-[4-아미노-2-에톡시메틸-6,7,8,9-테트라히드로- α , α -디메틸-1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-1-일]에탄올 히드레이트 (미국 특허 제5,352,784호; 실시예 91)이고, 예측 면적은 이전 실험들의 평균으로부터의 중앙 투여 값의 총합이다.

<154> 최소 유효 농도는 제시된 실험 및 화합물에 대해 배경 뺀하고 기준-조정된 결과를 기준으로 계산된다. 최소 유효 농도 (μmolar)는 시험된 시토킨에 대해 고정된 시토킨 농도 (통상적으로, IFN- α 의 경우에는 20 pg/mL이고 TNF- α 의 경우에는 40 pg/mL임) 초과로 반응을 유도하는 시험된 화합물의 최저 농도이다. 최대 반응은 용량-반응 곡선에서 산출되는 시토킨의 최대 양 (pg/ml)이다.

<155> 본원에 인용된 특허, 특허 문헌 및 공개문헌의 완전한 개시물은 각각이 개별적으로 도입되어 있는 것처럼 전체가 참고로 도입되어 있다. 본 발명의 다양한 변형 및 변경은 본 발명의 범위 및 취지에서 벗어나지 않으면서 당업자에게 분명할 것이다. 본 발명은 본원에 기술된 예시적 실시양태 및 실시예에 의해 부당하게 제한되는 것은 아니며, 이러한 실시예 및 실시양태는 단지 하기 본원에 기술되는 청구범위에 의해서만 제한되는 것으로 의도된 본 발명의 범위를 가지면서 단지 예로써 나타내는 것으로 이해되어야 한다.