

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국



(10) 국제공개번호

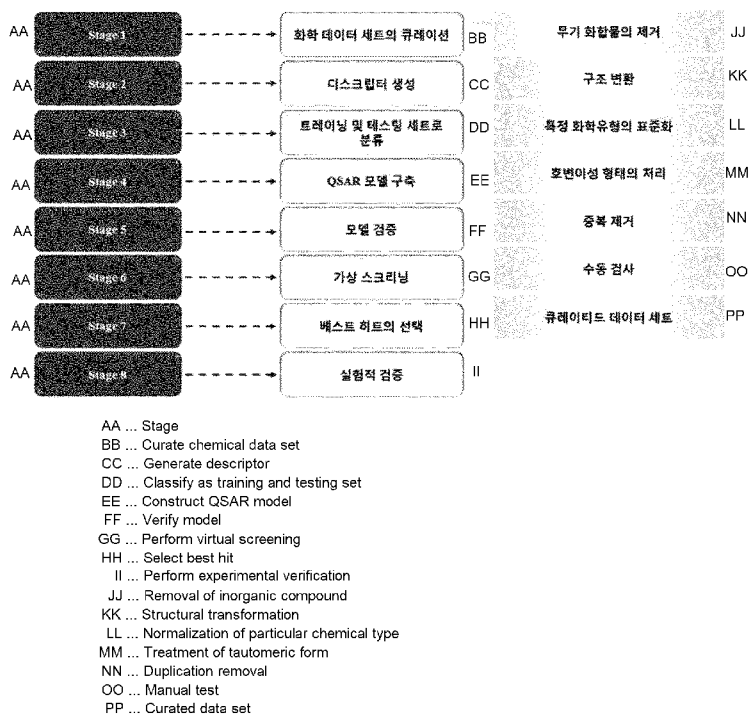
(43) 국제공개일
2019년 11월 28일 (28.11.2019) WIPO | PCT

WO 2019/225920 A1

- (51) 국제특허분류:
C07D 213/72 (2006.01) A61P 37/00 (2006.01)
A61K 31/44 (2006.01) A61P 29/00 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2019/005978
- (22) 국제출원일: 2019년 5월 20일 (20.05.2019)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2018-0058503 2018년 5월 23일 (23.05.2018) KR
10-2018-0107638 2018년 9월 10일 (10.09.2018) KR
- (71) 출원인: 아주대학교산학협력단 (AJOU UNIVERSITY INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION) [KR/KR]; 16499 경기도 수원시 영통구 월드컵로 206, Gyeonggi-do (KR).
- (72) 발명자: 최상돈 (CHOI, Sangdon); 16493 경기도 수원시 팔달구 권광로 373 103-3001, Gyeonggi-do (KR). 김은하 (KIM, Eunha); 02794 서울시 성북구 월곡로14길 24 111-803, Seoul (KR).
- (74) 대리인: 이처영 등 (LEE, Cheo Young et al.); 06133 서울시 강남구 테헤란로 123 11층, Seoul (KR).
- (81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD,

(54) Title: SMALL MOLECULE ANTAGONIST COMPOUND TAC5 SERIES HAVING TOLL-LIKE RECEPTOR 3/7/8/9 INHIBITORY FUNCTION

(54) 발명의 명칭: 톨-유사 수용체 3/7/8/9 억제 기능이 있는 길항성 소분자 화합물 TAC5 시리즈



(57) Abstract: The present invention relates to a small molecule antagonist compound having a toll-like receptor 3/7/8/9 inhibitory function and TLR7, TLR8, TLR9 and TLR3 inhibitors comprising same. A novel compound expressed by TAC5 and TAC5-a, TAC5-c, TAC5-d or TAC5-e which are derivatives thereof not only prevents TNF α secretion, NF κ B activation, I κ B degradation and MAPKs phosphorylation induced by poly(I:C) (TLR3 agonist), IMQ (TLR7 agonist), CL075 (TLR7/8 agonist), R848 (TLR7/8 agonist), TL8 (TLR8 agonist) or CpG ODN (TLR9 agonist), but also inhibits generation of inflammatory cytokine, and thus is highly advantageous for preventive or therapeutic use for TLR3/7/8/9-related autoimmune diseases and inflammatory diseases including systemic lupus erythematosus, psoriasis and the like.

[다음 쪽 계속]

SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

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

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))

(57) 요약서: 본 발명은 톨-유사 수용체 3/7/8/9 억제 기능이 있는 길항성 소분자 화합물 및 이를 포함하는 TLR7, TLR8, TLR9 및 TLR3 억제제에 관한 것으로, TAC5 및 그 유도체인 TAC5-a, TAC5-c, TAC5-d 또는 TAC5-e 로 표시되는 신규 화합물은 poly(I:C) (TLR3 작용제), IMQ (TLR7 작용제), CL075 (TLR7/8 작용제), R848 (TLR7/8 작용제), TL8 (TLR8 작용제) 또는 CpG ODN (TLR9 작용제) 에 의해 유도된 TNF α 의 분비, NF κ B 활성화, I κ B 분해, MAPKs 의 인산화를 차단할 뿐만 아니라 염증성 사이토카인의 생성을 억제함으로써 전신홍반루푸스 및 건선 등을 비롯한 TLR3/7/8/9 관련 자가면역 질환과 염증성 질환의 예방 또는 치료용도로 탁월한 효과가 있다.

명세서

발명의 명칭: 톨-유사 수용체 3/7/8/9 억제 기능이 있는 길항성 소분자 화합물 TAC5 시리즈

기술분야

- [1] 본 발명은 톨-유사 수용체(Toll-like receptor, TLR) 3/7/8/9 억제 기능이 있는 길항성 소분자 화합물에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 톨-유사 수용체 3/7/8/9 신호전달 경로를 억제하는 신규 소분자 화합물, 이의 유도체 및 이를 포함하는 자가면역 질환 또는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 조성물 및 이를 이용한 자가면역 질환 또는 염증성 질환의 예방 또는 치료방법에 관한 것이다.

[2]

배경기술

- [3] 내재(또는 선천)면역은 포유류의 면역 시스템에서 세균 감염에 대항하는 첫 번째 방어 작용으로 톨-유사 수용체와 같은 패턴 인식 수용체가 병원균-연관 분자 패턴(pathogen-associated molecular pattern; PAMP)이나 손상-연관 분자 패턴(damage-associated molecular pattern; DAMP)을 인식함으로써 활성화된다. 예를 들면, TLR1/2에 의해 인식되는 트리아실 지방단백질(e.g. Pam3CSK4)(Takeuchi, O., *et al. J Immunol* 169: 10-14 (2002)), TLR2/6에 의한 디아실 지방단백질(e.g. Pam2CSK4)(Takeuchi, O., *et al. Int Immunol* 13: 933-940 (2001)), TLR4에 의한 지질다당류(lipopolysaccharide, LPS)(Politorak, A., *et al., Science* 282: 2085-2088 (1998)), TLR5에 의한 세균성 플라겔린(flagellin)(Politorak, A., *et al. Science* 282: 2085-2088 (1998)), TLR3에 의한 바이러스 이중가닥 RNA(dsRNA)(Politorak, A., *et al., Science* 282: 2085-2088 (1998)), TLR7 및 TLR8에 의한 바이러스 단일가닥 RNA(ssRNA)(Diebold, S. S. *et al., Science* 303: 1529-1531 (2004); Heil, F., *et al., Science* 303: 1526-1529 (2004)) 및 TLR9에 의한 비메틸화 CpG-함유 올리고데옥시 뉴클레오티드(ODN)(Hemmi, H., *et al. Nature* 408: 740-745 (2000)). 등이 있다.
- [4] TLR은 내재면역 반응에서 중요한 역할을 하며(Akira, S. & Takeda, K. *Nat Rev Immunol* 4, 499-511), TLR1, TLR2, TLR4, TLR5, TLR6 및 TLR11을 포함하는 원형질막에서 작용을 하는 세포외 TLR와 TLR3, TLR7, TLR8 및 TLR9를 포함하는, 엔도솜과 같은 세포 내에서 작용을 하는 세포내 TLR로 나눌 수 있다. 구조적으로, TLR는 세포외 도메인의 N-말단에 리간드 또는 부속분자(accessory molecule)에 의해 인식되는 루신고반복(leucine-rich repeat; LRR) 부위를 가지고 있으며, 세포내 부분의 C-말단에 신호를 전달하는 톨/인터루킨 1 수용체(Toll/interleukin 1 receptor; TIR) 도메인을 가지고 있다.
- [5] 특히, TLR7, TLR8, TLR9 및 TLR3은 세포 외부의 침입자로부터 엔도솜에 노출되는 외인성 ssRNA (single stranded RNA), dsRNA (double stranded RNA),

CpG DNA 등을 알아 보거나 비정상적 반응에 의한 조직내부의 세포괴사 또는 세포자멸사에 의해 손상된 조직으로부터 노출되는 내인성 ssRNA나 DNA 조각을 리간드로 인식하여 신호전달 과정을 통해 염증성 사이토카인을 증폭시키게 된다. 일반적으로 TLR7 및 TLR8은 influenza나 손상된 세포로부터의 ssRNA를 인식하는 한편, TLR9은 박테리아와 바이러스의 제놈 또는 손상된 조직으로부터 생성되는 CpG DNA 조각을 감지하고, TLR3은 바이러스 증식의 중간산물인 dsRNA를 인식하여 내재면역 반응을 활성화시킨다. 이러한 TLR의 역할로 인해 면역 관련 질병을 치료하기 위한 타겟으로 TLR를 활용하기 위한 연구가 전 세계적으로 활발히 진행되고 있다.

- [6] TLR7/8/9의 MyD88 (myeloid differentiation primary response 88) 의존적 신호전달은 해당 리간드에 의해 이량체(dimer)를 형성하고 TLR의 TIR 도메인과 MyD88의 TIR 도메인끼리 결합하여 복합체를 형성함으로써 신호전달 경로를 활성화시킨다(Hemmi, H. *et al. Nat Immunol* 3, 196-200, (2002)) 활성화된 TLR 신호는 NF- κ B의 활성화 및 핵으로의 이동, MAPK의 활성화를 유도하고 인터페론 α (interferon α ; IFN α) 및 IFN-inducible 유전자들을 발현시킨다. 상기 NF- κ B와 MAPK의 활성화는 TNF α , IL1 β (interleukin 1 β) 및 IL-6와 같은 염증성 사이토카인을 분비시킨다. TLR3의 MyD88 비의존 신호전달 과정은 TLR3의 TIR 도메인과 TRIF (TIR domain-containing adapter-inducing interferon- β)의 TIR 도메인 간의 결합으로 개시되며, IRF (interferon-regulatory factor)의 활성화에 의해 타입 1 인터페론을 분비시킨다. 또한, TLR 활성화는 대식세포에서 NO와 ROS와 같은 산화 스트레스성 물질을 생성한다.
- [7] 엔도솜막(TLR3, 7, 8 및 9)에 있는 TLR은 다양한 바이러스 및 세균 감염으로부터 호스트를 보호하는 데 중요하다. 특히, TLRs 7, 8 및 9의 발현은 손상된 또는 스트레스가 가해진 조직/세포로부터 방출된 병원성 성분 또는 자체 항원에 대한 지속적인 방어에 필수적이다(Demaria, O., *et al., J Clin Invest* 120: 3651-3662 (2010)). 이러한 핵산 감지 TLR의 오작동은 건선 및 전신홍반루푸스 (루푸스; systemic lupus erythematosus; SLE) (Vincent, F. B. *et al., Nat Rev Rheumatol* 10: 365-373 (2014))와 같은 몇 가지 자가면역 병리학과 관련되어 있다. 그러나 이러한 질병의 병인학은 여전히 불분명하다(Krieg, A. M. & Vollmer, J., *Immunol Rev* 220: 251-269 (2007); Terhorst, D., *et al. J Immunol* 195: 4953-4961 (2015)). 그러므로, 엔도솜 TLR-매개 질병 진행을 감소시키는 신규한 길항제의 개발에 대한 필요성이 증대되고 있다.
- [8] 이와 같이 TLR는 자가면역 질환, 염증성 질환 및 암과 같은 다양한 질환을 치료하기 위한 타겟이 될 수 있으므로 TLR를 타겟으로 하는 물질과 TLR와 관련된 질병을 치료하기 위한 의학적 조성물에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다.
- [9]
- [10] 이에, 본 발명자들은 TLR를 타겟으로 하는 물질과 TLR와 관련된 질병을

치료하기 위한 의학적 조성물을 개발하고자 예의 노력한 결과, TAC5 (TLR antagonistic compound 5), 그의 유도체 TAC5-a 또는 TAC5-c를 포함하는 신규 화합물이 TLR7, TLR8, TLR9 또는 TLR3 활성화에 의해 유도된 TLR 신호전달 경로를 억제하여 사이토카인 (IL6, TNF α , IFN β), NO 및 ROS의 분비와 NF- κ B와 MAPK의 과활성화를 억제함은 물론 루푸스 마우스 모델 [MRL/Fas^{lpr/lpr}]에서 피부홍반 및 루푸스신염을 치료하고 염증성 사이토카인을 감소시켜 염증반응을 완화시키는 것을 확인하고, 본 발명을 완성하게 되었다.

[11]

[12] **발명의 요약**

[13] 본 발명의 목적은 톨-유사 수용체 3/7/8/9 억제 기능이 있는 길항성 소분자 화합물 및 이를 포함하는 TLR7, TLR8, TLR9 및 TLR3 억제제를 제공하는데 있다.

[14] 본 발명의 다른 목적은 상기 화합물을 유효성분으로 포함하는 자가면역 질환의 예방 또는 치료용 조성물을 제공하는데 있다.

[15] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 화합물을 유효성분으로 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 조성물을 제공하는데 있다.

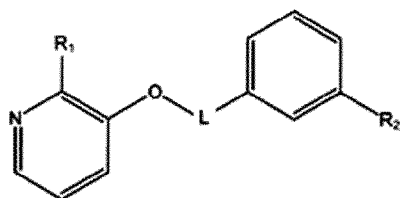
[16] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 화합물 또는 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 자가면역 질환 또는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 조성물을 예방 또는 치료를 필요로 하는 개체에게 투여하는 것을 특징으로 하는 자가면역 질환 또는 염증성 질환의 예방 또는 치료방법을 제공하는데 있다.

[17]

[18] 상기와 같은 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

[19] [화학식 1]

[20]



[21] 화학식 1에서 L은 단일결합, 치환 또는 비치환된 직쇄형 또는 분지쇄형 알킬렌, 사이클로알킬렌, 할로알킬렌, 아릴렌, 헤테로알킬렌, 헤테로아릴렌, 아릴렌알킬렌, 알킬렌아릴렌, 알킬렌헤테로아릴렌, 헤테로아릴렌알킬렌, 알킬렌 에스테르 또는 알킬렌 아마이드이고, 여기서, 알킬렌은 C₂₋₃₀, 사이클로알킬렌은 C₃₋₃₀, 아릴렌은 C₆₋₃₀이고, 헤테로알킬렌, 헤테로아릴렌 또는 헤테로아릴렌은 불소, 산소, 황 및 질소 중에서 선택된 헤테로원자를 함유하며,

[22] R₁ 및 R₂는 서로 동일하거나 상이하고 각각 독립적으로 수소원자, C1~C6의 직쇄형 또는 분지쇄형 알킬, 아미노, -NR₃R₄(여기서 R₃ 및 R₄는 서로 동일하거나 상이하고 독립적으로 수소 원자, 알킬, 사이클로알킬 또는 아릴로 치환됨),

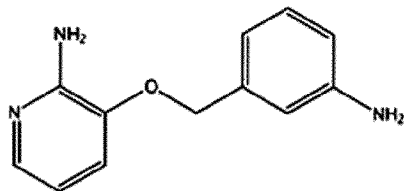
히드록시, 할로젠, 니트릴기, 니트로기, 시클로알킬, 할로알킬, 알릴, 알콕시, 알킬카보닐, 사이클로알킬카보닐, 아릴카보닐, 알킬아릴카보닐, 알콕시카보닐, 시클로알콕시, 아릴, 헤테로아릴, 헤테로사이클로알킬, 아릴옥시, 알콕시헤테로아릴, 헤테로아릴옥시알킬, 알킬헤테로아릴, 알킬아릴, 아릴알킬, 알킬헤테로아릴, 알킬에스테르, 알킬아미드 또는 아크릴이고, 여기서, 알킬 또는 알콕시는 C_{1-30} , 사이클로알킬은 C_{3-30} , 알릴은 C_{2-30} , 아릴은 C_{6-30} 이고, 헤테로아릴 및 헤테로사이클로알킬은 불소, 산소, 황 및 질소 중에서 선택된 헤테로원자를 함유한다.

[23] 본 발명은 또한, 하기 단계를 포함하는 화학식 1-1로 표시되는 화합물의 제조방법을 제공한다:

[24] (a) 2-아미노-3-하이드록시피리딘과 세슘 카보네이트가 용해된 용액을 3-니트로벤질브로마이드를 반응시켜 3-((3-니트로벤질)옥시)-피리딘-2-아민을 생성하는 단계; 및 (b) 상기 3-((3-니트로벤질)옥시)-피리딘-2-아민과 $SnCl_2$ 와 반응시켜 3-((3-아미노벤질)옥시)피리딘-2-아민을 생성하는 단계.

[25] [화학식 1-1]

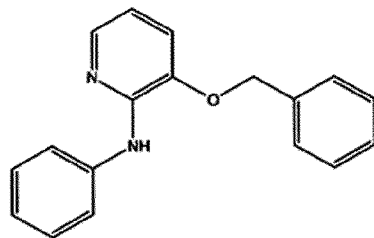
[26]



[27] 본 발명은 또한, 2-아미노-3-벤질옥시피리딘, 요오드화 구리(I), 탄산칼륨, N,N'-디메틸에틸렌디아민이 용해된 용액과 브로모벤젠을 반응시켜 3-(벤질옥시)-N-페닐피리딘-2-아민을 합성하는 단계를 포함하는 화학식 1-3으로 표시되는 화합물의 제조방법을 제공한다.

[28] [화학식 1-3]

[29]



[30] 본 발명은 또한, 상기 화합물 화합물 또는 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 자가면역 질환 또는 염증성 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[31] 본 발명은 또한, 상기 화합물 또는 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 자가면역 질환 또는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 조성물을 예방 또는 치료를 필요로 하는 개체에게 투여하는 것을 특징으로 하는 자가면역 질환 또는 염증성 질환의 예방 또는 치료방법을 제공한다.

- [32] 본 발명의 또한, 상기 화합물 또는 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 자가면역 질환 또는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 조성물을 자가면역 질환 또는 염증성 질환의 예방 또는 치료에 사용하는 용도를 제공한다.

[33]

도면의 간단한 설명

- [34] 도 1은 본 발명에 의한 QSAR 모델의 스크리닝에 관한 플로우 차트이다.

- [35] 도 2는 본 발명의 일 실시예에 의한 TAC5의 세포 생존율 측정 결과 및 종양괴사인자 α (TNF- α) 억제제 프로파일을 확인한 도면이다.

- [36] 도 3은 본 발명의 일 실시예에 의한 NF- κ B 및 MAPK 활성화에 미치는 TAC5의 영향을 확인한 도면이다.

- [37] 도 4는 본 발명의 일 실시예에 의한 TLR 신호 전달 경로에 대한 TAC5-a, TAC5-c, TAC5-d 및 TAC5-e의 억제 효과를 확인한 도면이다.

- [38] 도 5는 본 발명의 일 실시예에 의한 건선 마우스 모델에서의 TAC5-a의 보호 효과를 확인한 도면이다.

- [39] 도 6은 본 발명의 일 실시예에 의한 전신흡반루푸스 마우스 모델에서의 TAC5-a의 방어 효과를 확인한 도면이다.

- [40] 도 7은 본 발명의 일 실시예에 의한 TLR7 및 TLR8에 결합된 TAC5-a의 구조 모델을 도시한 도면이다.

[41]

- [42] 발명의 상세한 설명 및 구체적인 구현예

- [43] 다른 식으로 정의되지 않는 한, 본 명세서에서 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어들은 본 발명이 속하는 기술 분야에서 숙련된 전문가에 의해서 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 일반적으로, 본 명세서에서 사용된 명명법은 본 기술 분야에서 잘 알려져 있고 통상적으로 사용되는 것이다.

[44]

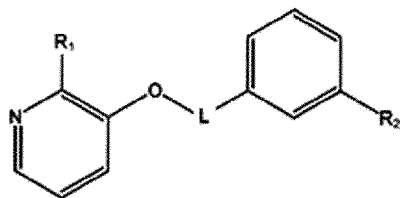
- [45] 본 발명에서는 TAC5, 그 유도체 TAC5-a 또는 TAC5-c를 포함하는 신규 화합물이 TLR7, TLR8, TLR9 또는 TLR3 활성화에 의해 유도된 TLR 신호전달 경로를 억제하여 사이토카인(IL6, TNF α , IFN β), NO 및 ROS의 분비와 NF- κ B와 MAPK의 과활성화를 억제함은 물론 루푸스 마우스 모델 [MRL/Fas^{pr/lpr}]에서 피부 홍반 및 루푸스신염을 치료하고 염증성 사이토카인 감소(염증반응 완화)에 영향을 미치는 것을 규명하였고 건선 마우스 모델에서 치료효과를 확인하였다.

[46]

- [47] 따라서, 본 발명은 일 관점에서 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 약학적으로 허용가능한 염에 관한 것이다.

- [48] [화학식 1]

[49]



[50] 화학식 1에서 L은 단일결합, 치환 또는 비치환된 직쇄형 또는 분지쇄형 알킬렌, 사이클로알킬렌, 할로알킬렌, 아릴렌, 헤테로알킬렌, 헤테로아릴렌, 아릴렌알킬렌, 알킬렌아릴렌, 알킬렌헤테로아릴렌, 헤테로아릴렌알킬렌, 알킬렌 에스테르 또는 알킬렌 아마이드이고, 여기서, 알킬렌은 C₂₋₃₀, 사이클로알킬렌은 C₃₋₃₀, 아릴렌은 C₆₋₃₀이고, 헤테로알킬렌 또는 헤테로아릴렌은 불소, 산소, 황 및 질소 중에서 선택된 헤테로원자를 함유하며,

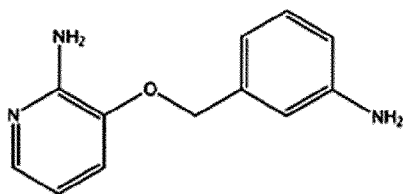
[51] 여기서, 상기 치환기는 C₁₋₃₀ 알킬, C₃₋₃₀ 사이클로알킬, C₁₋₃₀ 알킬에스테르, C₁₋₃₀ 알킬아미드, -CH₂OCH₂CH₃ 및 -CH₂OCH₂CH₂NR₅R₆(여기서 R₅ 및 R₆는 서로 동일하거나 상이하고 독립적으로 수소원자, C₁₋₃₀ 알킬, C₃₋₃₀ 사이클로알킬 또는 C₆₋₃₀ 아릴임) 중에서 선택될 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.

[52] R₁ 및 R₂는 서로 동일하거나 상이하고 각각 독립적으로 수소원자, 직쇄형 또는 분지쇄형 알킬, 아미노, -NR₃R₄(여기서 R₃ 및 R₄는 서로 동일하거나 상이하고 독립적으로 수소 원자, 알킬, 사이클로알킬 또는 아릴로 치환됨), 히드록시, 할로젠, 니트릴기, 니트로기, 시클로알킬, 할로알킬, 알릴, 알콕시, 알킬카보닐, 사이클로알킬카보닐, 아릴카보닐, 알킬아릴카보닐, 알콕시카보닐, 시클로알콕시, 아릴, 헤테로아릴, 헤테로사이클로알킬, 아릴옥시, 알콕시헤테로아릴, 헤테로아릴옥시알킬, 알킬헤테로아릴, 알킬아릴, 아릴알킬, 알킬헤테로아릴, 알킬에스테르, 알킬아미드 또는 아크릴이고, 여기서, 알킬 또는 알콕시는 C₁₋₃₀, 사이클로알킬은 C₃₋₃₀, 알릴은 C₂₋₃₀, 아릴은 C₆₋₃₀이고, 헤테로아릴 및 헤테로사이클로알킬은 불소, 산소, 황 및 질소 중에서 선택된 헤테로원자를 함유한다.

[53] 본 발명은 다른 관점에서 (a) 2-아미노-3-하이드록시피리딘과 세슘 카보네이트가 용해된 용액을 3-니트로벤질브로마이드를 반응시켜 3-((3-니트로벤질)옥시)-피리딘-2-아민을 생성하는 단계; 및 (b) 상기 3-((3-니트로벤질)옥시)-피리딘-2-아민과 SnCl₂와 반응시켜 3-((3-아미노벤질)옥시)피리딘-2-아민을 생성하는 단계를 포함하는 화학식 1-1로 표시되는 화합물의 제조방법에 관한 것이다.

[54] [화학식 1-1]

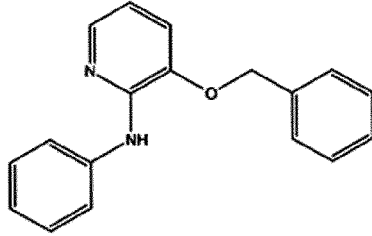
[55]



[56] 본 발명은 또 다른 관점에서 2-아미노-3-벤질옥시피리딘, 요오드화 구리(I), 탄산칼륨, N,N'-디메틸에틸렌디아민이 용해된 용액과 브로모벤젠을 반응시켜 3-(벤질옥시)-N-페닐피리딘-2-아민을 합성하는 단계를 포함하는 화학식 1-3으로 표시되는 화합물의 제조방법에 관한 것이다.

[57] [화학식 1-3]

[58]



[59] 본 발명은 또 다른 관점에서 상기 화합물 화합물 또는 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 자가면역 질환 또는 염증성 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것이다.

[60]

[61] 이하, 본 발명에 대해 상세히 설명한다.

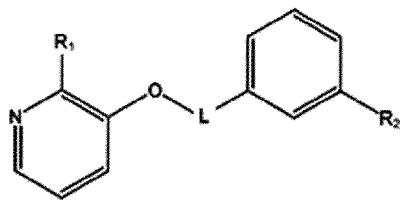
[62] 본 발명은 TLR7, TLR8, TLR9 및 TLR3 신호전달 경로를 억제하는 소분자 화합물 TAC5 (TLR antagonistic compound 5) 및 이의 신규 유도체인 TAC5-a와 TAC5-c, 및 상기 화합물의 제조방법 그리고 상기 화합물을 포함하는 전신홍반루푸스, 건선, 피부발진, 광과민성, 관절염, 구강궤양, 신장염, 혈구감소증, 혈관염, 장막염을 비롯한 자가면역 질환 또는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 조성물을 제공한다. 즉, IMQ (TLR7 작용제), CL075 (TLR7/8 작용제), R848 (TLR7/8 작용제), TL8 (TLR8 작용제), CpG ODN (TLR9 작용제), 또는 poly(I:C) (TLR3 작용제)에 의해 유도된 TNF α (tumor necrosis factor α)의 분비, NF- κ B (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cell) 활성화, MAPKs (mitogen-activated protein kinases: p38, c-Jun N-terminal kinase 및 extracellular signal-regulated kinase)의 인산화를 차단할 뿐만 아니라 IL-6 (interleukin 6)를 비롯한 염증성 사이토카인의 생성을 억제하는 소분자 화합물, 상기 화합물을 포함하는 전신홍반루푸스, 건선, 피부발진, 광과민성, 관절염, 구강궤양, 신장염, 혈구감소증, 혈관염, 장막염 등을 포함하는 자가면역 질환 또는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

[63]

[64] 본 발명은 화학식 1로 표시되는 화합물(TAC5) 또는 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

[65] [화학식 1]

[66]



[67] 화학식 1에서 L 은 단일결합, 치환 또는 비치환된 직쇄형 또는 분지쇄형 알킬렌, 사이클로알킬렌, 할로알킬렌, 아릴렌, 헤테로알킬렌, 헤테로아릴렌, 아릴렌알킬렌, 알킬렌아릴렌, 알킬렌헤테로아릴렌, 헤테로아릴렌알킬렌, 알킬렌 에스테르 또는 알킬렌 아마이드이고, 여기서, 알킬렌은 C_{2-30} ,

사이클로알킬렌은 C_{3-30} , 아릴렌은 C_{6-30} 이고, 헤테로알킬렌 또는 헤테로아릴렌은 불소, 산소, 황 및 질소 중에서 선택된 헤테로원자를 함유하는 2가 라디칼이며,

[68] R_1 및 R_2 는 서로 동일하거나 상이하고 각각 독립적으로 수소원자, 직쇄형 또는 분지쇄형 알킬, 아미노, $-NR_3R_4$ (여기서 R_3 및 R_4 는 서로 동일하거나 상이하고 독립적으로 수소 원자, 알킬, 사이클로알킬 또는 아릴로 치환됨), 히드록시, 할로젠, 니트릴기, 니트로기, 시클로알킬, 할로알킬, 알릴, 알콕시, 알킬카보닐, 사이클로알킬카보닐, 아릴카보닐, 알킬아릴카보닐, 알콕시카보닐, 시클로알콕시, 아릴, 헤테로아릴, 헤테로사이클로알킬, 아릴옥시, 알콕시헤테로아릴, 헤테로아릴옥시알킬, 알킬헤테로아릴, 알킬아릴, 아릴알킬, 알킬헤테로아릴, 알킬에스테르, 알킬아미드 또는 아크릴이고, 여기서, 알킬 또는 알콕시는 C_{1-30} , 사이클로알킬은 C_{3-30} , 알릴은 C_{2-30} , 아릴은 C_{6-30} 이고, 헤테로아릴 및 헤테로사이클로알킬은 불소, 산소, 황 및 질소 중에서 선택된 헤테로원자를 함유한다.

[69] 본 발명은 상기 L , R_1 및 R_2 이 하기 표 1과 같은 치환기의 조합인 것이 바람직하다.

[70]

[71] [표1]

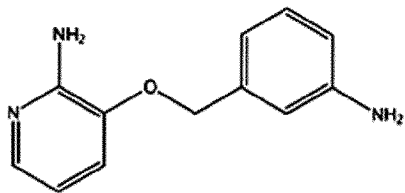
L	R ₁	R ₂
알킬렌	$-NR_3R_4$ (여기서 R ₃ 및 R ₄ 는 서로 동일 하거나 상이하며 독립적으로 수소 원자, 알킬, 사이클로알킬 또는 아릴임)	$-NR_3R_4$ (여기서 R ₃ 및 R ₄ 는 서로 동일 하거나 상이하며 독립적으로 수소 원자, 알킬, 사이클로알킬 또는 아릴임)
		알킬아릴
	수소	수소
	헤테로아릴렌	수소
알킬렌아마이드	$-NR_3R_4$ (여기서 R ₃ 및 R ₄ 는 서로 동일 하거나 상이하며 독립적으로 수소 원자, 알킬, 사이클로알킬 또는 아릴임)	수소

[72]

[73] 또한, 본 발명은 화학식 1-1(TAC5-a), 화학식 1-2(TAC5-b), 화학식 1-3(TAC5-c), 화학식 1-4(TAC5-d), 화학식 1-5(TAC5-e), 화학식 1-6(TAC5-f), 화학식 1-7(TAC5-g), 화학식 1-8(TAC5-h) 및 화학식 1-9(TAC5-e-1) 중에서 선택된 하나인 것이 바람직하며, 화학식 1-1(TAC5-a) 및 화학식 1-3(TAC5-c)이 특히 바람직하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

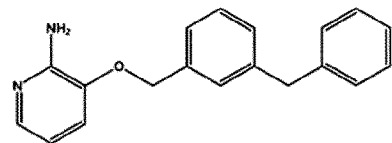
[74] [화학식 1-1]

[75]



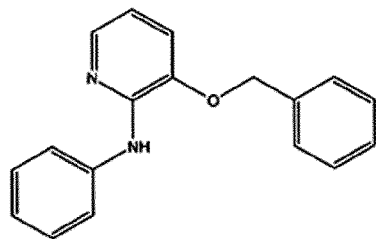
[76] [화학식 1-2]

[77]



[78] [화학식 1-3]

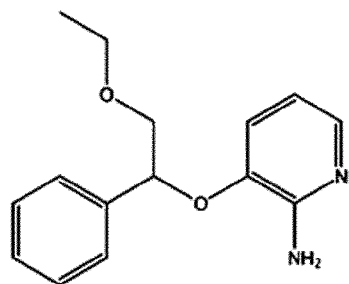
[79]



[80]

[화학식 1-4]

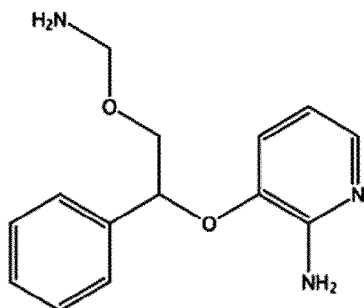
[81]



[82]

[화학식 1-5]

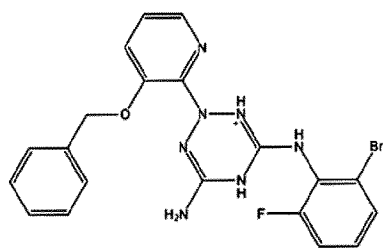
[83]



[84]

[화학식 1-6]

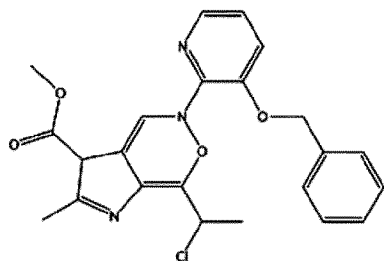
[85]



[86]

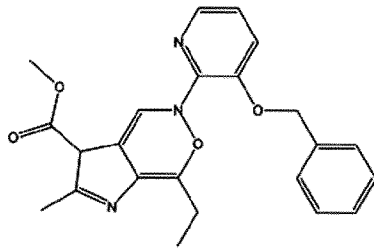
[화학식 1-7]

[87]



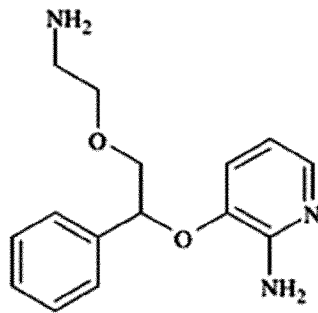
[88] [화학식 1-8]

[89]



[90] [화학식 1-9]

[91]

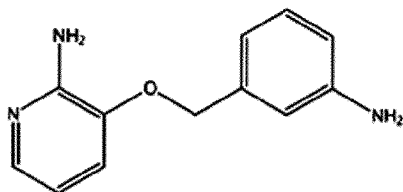


[92] 본 발명에서 TAC5, 그 유도체 TAC5-a, TAC5-c, TAC5-d 또는 TAC5-e는 당업계에 공지된 화학적 합성 방법에 따라 제조될 수 있으며 상세하게는 상기와 같이 합성될 수 있다.

[93] 본 발명의 일 실시예에 따라 (a) 2-아미노-3-하이드록시피리딘과 세슘 카보네이트가 용해된 용액을 3-니트로벤질브로마이드를 반응시켜 3-((3-니트로벤질)옥시)-피리딘-2-아민을 생성하는 단계; 및 (b) 상기 3-((3-니트로벤질)옥시)-피리딘-2-아민과 SnCl_2 와 반응시켜 3-((3-아미노벤질)옥시)피리딘-2-아민을 생성하는 단계를 포함하는 화학식 1-1로 표시되는 화합물의 제조방법을 제공한다.

[94] [화학식 1-1]

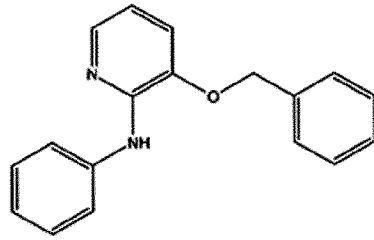
[95]



[96] 본 발명의 다른 실시예에 따라 2-아미노-3-벤질옥시피리딘, 요오드화 구리(I), 탄산칼륨, N,N'-디메틸에틸렌디아민이 용해된 용액과 브로모벤젠을 반응시켜 3-(벤질옥시)-N-페닐피리딘-2-아민을 합성하는 단계를 포함하는 화학식 1-3으로 표시되는 화합물의 제조방법을 제공한다.

[97] [화학식 1-3]

[98]



[99] 본 발명은 상기 화합물 화합물 또는 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 자가면역질환 또는 염증성 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[100] 본 발명에 있어서, 상기 자가면역질환 또는 염증성 질환은 건선, 전신홍반루푸스(SLE), 건선, 피부발진, 광과민성, 관절염, 구강궤양, 신장염, 혈구감소증, 혈관염, 장막염, 염증성 장질환(IBD), 당뇨, 다발성 경화증, 피부 경화증 및 천포창(pemphigus), 아토피피부염, 관절염, 요도염, 방광염, 동맥경화증, 알러지 질환, 비염, 천식, 급성통증, 만성통증, 치주염, 치은염, 통풍, 심근경색, 울혈성 심부전, 고혈압, 협심증, 위궤양, 뇌경색, 다운증후군, 다발성 경화증, 비만, 당뇨, 치매, 우울증, 정신분열증, 결핵, 수면장애, 패혈증, 화상, 췌장염, 파킨슨병 및 뇌졸중으로 구성된 군에서 선택된 질환일 수 있다.

[101] 또한, 본 발명에 의한 자가면역질환 또는 염증성 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물에서 약학적으로 허용되는 담체, 부형제 또는 희석제를 추가로 포함할 수 있다.

[102]

[103] 본 발명에 따른 화합물을 정의하는데 사용된 용어들은 하기와 같은 의미를 갖는다.

[104] 용어 " C_{1-30} 알킬"은 1 내지 30개의 탄소 원자를 갖는, 오직 탄소와 수소 원자로만 이루어진 1가 선형 또는 분지형 포화된 탄화수소 잔기를 의미한다. 이러한 알킬 기의 예로는 메틸, 에틸, 프로필, 아이소프로필, 부틸, 아이소부틸, 2급-부틸, 3급-부틸 등을 포함하나 이들로 한정되지 않는다. "분지형 알킬"의 예는 아이소프로필, 아이소부틸, 3급-부틸 등이 있다.

[105] 용어 " C_{1-30} 알콕시"는 화학식 $-O-C_{1-30}$ 알킬을 의미하며, 예를 들어 메톡시, 에톡시, 아이소프로톡시, 3급-부톡시 등을 포함하나 이들로 한정되지 않는다.

[106] 용어 "할로(halo)"의 구체적인 예로는 플루오르(F), 클로린(Cl), 브롬(Br) 및 요오드(I)를 들 수 있다.

[107] 용어 " C_{6-30} 아릴(aryl)"은 공유 파이 전자계를 가지는 적어도 하나의 환을 포함하며, 예를 들어 모노사이클릭 또는 융합환 폴리사이클릭(즉, 탄소 원자들의 인접한 쌍들을 나뉘어가는 링들)그룹을 포함한다. 즉, 본 명세서에서 아릴은 달리 정의하지 않는 한 페닐, 나프틸 등과 바이아릴을 포함할 수 있다. 본 발명의 일 실시예에서 아릴은 탄소수 6 내지 30의 방향족 고리를 지칭한다.

[108] 용어 " C_{3-30} 사이클릭알킬(Cyclic alkyl)"은 5 내지 6개의 탄소 원자를 갖는, 오직

탄소와 수소 원자로만 이루어진 고리형의 포화된 탄화수소 잔기를 의미한다. 이러한 사이클릭 알킬 기의 예로는 사이클로펜틸, 사이클로헥실 등을 포함하나 이들로 한정되지 않는다.

[109] 용어 “�테로아릴”은 달리 정의하지 않는 한 N, O 및 S로 이루어진 그룹에서 선택된 1 내지 4개의 헤테로 원자를 포함하는 고리원자수 5 또는 6의 방향족 고리이거나, 또는 상기 헤테로아릴 고리가 벤젠 고리 또는 다른 헤테로아릴 고리에 융합된 2환식 고리를 지칭한다. 모노사이클릭 헤테로아릴의 예로는 티아졸릴, 옥사졸릴, 티오펜릴, 퓨라닐, 피롤릴, 이미다졸릴, 이소옥사졸릴, 이소티아졸릴, 피라졸릴, 트리아졸릴, 트리아지닐, 티아디아졸릴, 테트라졸릴, 옥사디아졸릴, 피리디닐, 피리다지닐, 피리미디닐, 피라지닐 및 이와 유사한 그룹을 들 수 있으나, 이들로 제한되는 것은 아니다. 비사이클릭 헤테로아릴의 예로는 인돌릴, 아자인돌릴, 인돌리닐, 벤조티오펜릴, 벤조퓨라닐, 벤즈이미다졸릴, 벤조옥사졸릴, 벤즈이속사졸릴, 벤즈티아졸릴, 벤즈티아디아졸릴, 벤즈트리아졸릴, 퀴놀리닐, 이소퀴놀리닐, 퓨리닐, 퓨로피리디닐 및 이와 유사한 그룹을 들 수 있으나 이들로 제한되는 것은 아니다.

[110] 용어 “헤테로사이클로알킬”은 탄소 원자 이외에 N, O 및 S로부터 선택된 1 내지 3개의 헤테로원자를 포함하는 고리원자수 5 내지 9의 포화되거나 부분적으로 불포화된 카보사이클릭 고리를 나타낸다. 예를 들어, 헤테로사이클릭은 아제티디닐, 피롤리디닐, 테트라하이드로푸라닐, 테트라하이드로-티에닐, 피라졸리디닐, 이미다졸리디닐, 옥사졸리디닐, 아이소옥사졸리디닐, 티아졸리디닐, 피페리디닐, 테트라하이드로피라닐, 테트라하이드로티오피라닐, 피페라지닐, 모르폴리닐, 티오모르폴리닐, 1,1-다이옥소-티오모르폴린-4-일, 아제파닐, 다이아제파닐, 호모피페라지닐, 옥사제파닐, 디하이드로인돌릴, 디하이드로푸릴, 디하이드로이미다졸리닐, 디하이드로옥사졸릴, 테트라하이드로피리디닐, 디하이드로피라닐, 디하이드로벤조퓨라닐, 벤조디옥솔릴, 또는 벤조디옥사닐이다.

[111]

[112] 본 발명에서 용어, “TLR7”은 병원체 감염에 대한 감시자로서 기능하는 막관통(tranmembrane) 단백질 패밀리에 Toll-like receptors (TLRs; 톨-유사 수용체)에 속하는 단백질로서, TLR7 유전자에 의해 코딩되는 단백질을 말하며, UNQ248/PRO285로 명명되기도 한다. 상기 TLR7은 RNA 바이러스의 ssRNA (단일가닥 RNA), 또는 합성 소분자인 imidazoquinoline, loxoribine, broprimine을 인지하여 내재면역 시스템을 활성화시킨다.

[113] 본 발명에서 용어, “TLR8”은 병원체 감염에 대한 감시자로서 기능하는 막관통(tranmembrane) 단백질 패밀리에 TLR에 속하는 단백질로서, TLR8 유전자에 의해 코딩되는 단백질을 말하며, CD288 (cluster of differentiation 288) 또는 UNQ249/PRO286로 명명되기도 한다. 상기 TLR8은 단일가닥 바이러스

RNA, 식균작용에 의해 세포내부로 들어온 세균 RNA(phagocytized bacterial RNA), 또는 합성 소분자인 TLR8에 의해 활성화된다.

- [114] 본 발명에서 용어, “TLR9”는 병원체 감염에 대한 감시자로서 기능하는 막관통(transmembrane) 단백질 패밀리에 속하는 단백질로서, TLR9 유전자에 의해 코딩되는 단백질을 말하며, CD289 또는 UNQ5798/PRO19605로 명명되기도 한다. 상기 TLR9는 세균이나 DNA 바이러스의 메틸화되지 않은 CpG DNA 조각(unmethylated CpG oligodeoxynucleotide DNA)을 인지하여 내재면역 시스템을 활성화시킨다.
- [115] 본 발명에서 용어, “TLR3”은 병원체 감염에 대한 감시자로서 기능하는 막관통(transmembrane) 단백질 패밀리에 속하는 단백질로서, TLR3 유전자에 의해 코딩되는 단백질을 말하며, CD283 또는 IIAE2로 명명되기도 한다. 상기 TLR3은 바이러스의 이중가닥 RNA(dsRNA) 및 poly I:C를 인지하기 때문에 내재면역 시스템의 활성화에 매우 중요하다.
- [116] 본 발명에서 용어, “TLR 신호전달 경로”는 TLR를 통한 신호전달 경로를 말하며, TLR 및 어댑터 단백질 MyD88 (TLR7/8/9의 경우) 또는 TLR 및 어댑터 단백질 TRIF (TLR3의 경우)에 의해 형성된 복합체에 의존하는 반응일 수 있으며, 이를 통해 신호가 전달된다. 활성화된 TLR7/8/9는 Myd88-의존 신호전달 과정을 통해 NF- κ B를 활성화시켜 핵으로 이동시키며, MAPK의 활성화를 유도한다. 상기 NF- κ B와 MAPK의 활성화로 인해 TNF α , IL1 β 및 IL6와 같은 염증성 사이토카인이 분비되고, 대식세포에서 일산화질소(이하, NO라 한다)와 활성산소(이하, ROS라 한다)와 같은 산화 스트레스성 물질을 생성한다. 또한, TLR3은 TRIF, 인터페론-조절자(IRF) 및 NF- κ B의 활성화에 의해 MyD88-비의존 신호전달 과정이 유도되어 타입 1 인터페론이 분비된다.
- [117] 본 발명에서 용어, “TIR 도메인”은 세포내 신호전달을 위한 도메인으로, 3개의 고도로 보존된 영역(highly conserved region)을 가지고 있으며 TLR과 다른 신호전달 분자 사이의 상호작용을 매개한다. 활성화된 반응에서 TIR 도메인은 MyD88 또는 TRIF와의 결합을 유도하고 TLR 신호전달 경로를 활성화 시킨다.
- [118] 본 발명에서 용어, “억제”는 결핍, 부조화, 그 밖의 많은 원인에 의하여 생물 활동이나 신호활성이 저하되는 현상을 말하며, TLR의 활성을 부분적으로 또는 완전히 블로킹하거나, 감소시키거나, 방지하거나, 활성화를 지연시키거나, 불활성화 시키거나 또는 하향 조절하는 것일 수 있다.
- [119]
- [120] 따라서, 본 발명은 TAC5, TAC5-a 또는 TAC5-c로 표시되는 소분자 화합물의 TLR7, TLR8, TLR9 또는 TLR3 신호전달 경로와 그 하위 신호분자, 예를 들면 BAFF (B cell-activating factor of the TNF family; B-lymphocyte stimulator; BLyS) 억제용도를 제공한다.
- [121] 본 발명의 일 실시예에 따르면, TAC5, 그의 유도체 TAC5-a 또는 TAC5-c로 표시되는 화합물은 TLR7, TLR8, TLR9 또는 TLR3 활성화에 의해 유도된 TLR

신호전달 경로를 억제하여 사이토카인 (IL6, TNF α , IFN β), NO 및 ROS의 분비와 NF- κ B와 MAPK의 과활성화를 억제함은 물론 루푸스 마우스 모델

[MRL/Fas lpr/lpr]에서 피부 홍반 및 루푸스신염을 치료하고 염증성 사이토카인 감소(염증반응 완화)에 미치는 효과가 우수한바, TLR7, TLR8, TLR9 또는 TLR3 활성화에 의해 발생하는 자가면역 질환 및 염증성 질환의 예방 또는 치료용 조성물로 유용하게 활용할 수 있다.

[122] 또한, 본 발명은 상기 화합물을 포함하는 TLR7, TLR8, TLR9 및/또는 TLR3 억제제를 제공한다.

[123] 본 발명에서 용어, “억제제”는 임의의 메커니즘에 의하여, 수용체 또는 세포 내 매개체와 같은 다른 분자의 영향을 부분적으로 또는 완전히 저해하는 분자를 의미한다.

[124] 본 발명에서 용어, “TLR7, TLR8, TLR9 및/또는 TLR3 억제제”는 TLR7, TLR8, TLR9 및/또는 TLR3의 생물학적 활성을 직간접적으로, 또는 실질적으로 방해, 감소 또는 저해할 수 있는 물질을 말하며, 바람직하게는 TLR7, TLR8, TLR9 및/또는 TLR3 수용체에 결합하고, 이들의 활성을 중화시킴으로써 TLR7, TLR8, TLR9 및/또는 TLR3 신호전달 경로를 차단하여, NF- κ B 및 MAPK 그리고 염증성 사이토카인, NO 및 ROS의 분비를 감소시킬 수 있는 물질을 말한다.

[125] 이에, 본 발명은 상기 화합물을 유효성분으로 포함하는 자가면역 질환의 예방 또는 치료용 조성물을 제공한다.

[126] 본 발명에서 용어, “자가면역 질환”은 자기관용을 유도하거나 계속 유지하는데 있어서 문제가 발생하여 자기항원에 대한 면역반응이 일어나, 이로 인해 자신의 조직을 공격하는 현상이 발생하는 과정에 의해 발병되는 질환을 의미한다. 상기 자기관용이란 자기(self)를 구성하고 있는 항원물질에 대해서는 해롭게 반응하지 않는 면역학적 무반응성(immunologic unresponsiveness)을 말한다. 자가면역 질환은 획득(adaptive) 면역계가 자기 항원에 대해 반응하고 세포 및 조직 손상을 매개하도록 하는 자체 내성의 고장(breakdown)에서 기인된 질환을 포함한다. 특정 구체예에서, 자가면역 질환은 적어도 부분적으로는 체액성 면역 반응의 결과로서 특징지어진다.

[127] 본 발명의 자가면역 질환은 전신홍반루푸스, 인슐린-의존성 당뇨병, 다발성 경화증, 자가면역 뇌척수염, 류마티스 관절염, 자가면역 관절염, 중증 근무력증, 갑상선염, 실험적 형태의 포도막염, 하시모토 갑상선염, 원발성 점액수종, 갑상샘 중독증, 악성 빈혈, 자가면역 위축 위염, 애디슨 질환, 조기 폐경, 남성 불임증, 소아 당뇨병, 굿파스처 증후군, 보통천포창, 유천포창, 교감성 안염, 수정체성 포도막염, 자가면역 용혈성 빈혈, 특발성 백혈구 감소, 원발성 담관 경화증, 만성 활동성 간염 Hbs-ve, 잠재성 간경변증, 궤양성 대장염, 쇼그렌 증후군, 경피증, 베게너 육아종증, 다발근육염/피부근육염 및 원판상 LE를 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[128] 또한, 자가면역 질환의 예는, 비제한적 예로서, 급성 파종성 뇌척수염(ADEM),

급성 괴사성 출혈성 백질뇌염, 애디슨병, 무감마글로불린혈증, 알레르기 천식, 알레르기 비염, 원형 탈모증, 아밀로이드증, 강직성 척추염, 항체 매개 이식 거부반응, 항-GBM/항-TBM 신염, 항인지질항체 증후군(APS), 자가면역 혈관부종, 자가면역 재생불량성 빈혈, 자가면역 자율신경이상증, 자가면역 간염, 자가면역 고지혈증, 자가면역 면역결핍증, 자가면역 내이질환(AIED), 자가면역 심근염, 자가면역 췌장염, 자가면역 당뇨병망막병증, 자가면역 혈소판감소성자반병(ATP), 자가면역 갑상선 질환, 자가면역 두드러기, 액손 및 뉴런 신경장애, 발로병(Balo disease), 베체트병, 유천포창, 심근증, 캐슬맨병, 소아 지방변증, 샤가스병, 만성 피로 증후군, 만성 염증성 탈수초성 다발성 신경병증(CIDP), 만성 재발성 다초점 골수염(CRMO), 처그-스트라우스 증후군, 반흔성 유천포창/양성 점막 유천포창, 크론병, 코간 증후군, 한랭응집소병, 선천성 심장 차단, 콕사키(coxsackie) 심근염, 크레스트(CREST) 질환, 본태성 혼합 한냉글로불린혈증(essential mixed cryoglobulinemia), 탈수초성 신경장애(demyelinating neuropathies), 포진성 피부염, 피부근염, 데빅병(시속신경수염), 원판상 루프스, 드레슬러 증후군(Dressler's syndrome), 자궁내막증, 호산성 근막염, 결절성 홍반, 실험적 알레르기성 뇌척수염, 에반스 증후군, 섬유근육통, 섬유성 폐포염, 거대 세포 동맥염(측두동맥염), 사구체신염, 굿패스처 증후군, 다발성맥관염 육아종증(GPA: granulomatosis with polyangiitis), 그레이브스병, 켈랑-바레 증후군, 하시모토 뇌염, 하시모노 갑상선염, 용혈성 빈혈, 헤노흐-쉴라인 자반병, 임신포진, 저감마글로부민혈증, 고감마글로불린혈증, 특발성 혈소판감소성자반병(ITP), IgA 신장병, IgG4 관련 경화성 질환, 면역조절 지질단백질, 포함체 근육염, 염증성 장 질환, 인슐린 의존형 당뇨병(제1형), 간질성 방광염, 소아 관절염, 소아 당뇨병, 가와사키 증후군, 이튼 램베르트 증후군, 백혈구파괴성맥관염, 편평태선, 경화성태선, 목질결막염, 선상 IgA 질환(LAD), 루프스(SLE), 라임병, 메니에르병, 현미경 다발성맥관염, 혼합 결합 조직병(MCTD), 의미불명 단클론성 감마병증(MGUS), 잠식성각막레이양, 뮌샤 하버만 병, 다발성 경화증, 중증 근무력증, 근염, 기면증, 시속신경수염(데빅병), 호중구감소증, 안구반흔성 유천포창, 시신경염, 재발성 류마티즘, PANDAS(연쇄구균 감염 관련 소아기 자가면역성 신경정신과적 질환), 방충양성 소뇌 변성, 발작성 야간혈색소 요증(PNH), 안면편측 위축증, 파소네지(Parsonnage)-터너 증후군, 중간부 포도막염(pars planitis)(주변부 포도막염), 천포창, 말초신경병증, 정맥주위 뇌척수염(perivenous encephalomyelitis), 악성 빈혈, POEMS 증후군, 결절성다발성동맥염, 제I형, 제II형, 및 제III형 자가면역 다산성(polyglandular) 증후군, 다발성근육통 류마티즘, 다발성근염, 심근경색후증후군, 심막절개술후증후군, 프로게스테론 피부염, 원발담즙성간경변, 일차성 경화성 담관염, 건선, 건선성 관절염, 특발성 폐섬유증, 괴저성 농피증, 순수적혈구 무형성증, 레이노 현상, 반사성교감신경성이영양증, 라이터 증후군, 재발성 다발 연골염,

하지불안증후군, 후복막섬유증, 류마티스성 열, 류마티스 관절염, 유육종증, 시미트 증후군, 공막염, 강피증, 쇼그렌 증후군, 정자 및 고환 자가면역, 전신근강직 증후군(stiff person syndrome), 아급성세균성심내막염(SBE), 수작 증후군(Susac's syndrome), 교감성 안염, 타카야수동맥염, 측두동맥염/거대 세포 동맥염, 혈소판감소성자반병(TTP), 톨로사-헌트 증후군(Tolosa-Hunt syndrome), 횡단척수염, 궤양성 대장염, 미분화 결합 조직질환(UCTD), 포도막염, 맥관염, 수포성 피부염(vesiculobullous dermatosis), 백반, 발덴슈트롬 마크로글로불린혈증(WM), 및 베게너 육아종증(다발성맥관염 육아종증(GPA))을 포함한다.

[129]

[130] 본 발명의 자가면역 질환의 예방 또는 치료용 조성물은 약학적으로 유효한 양의 상기 화합물을 단독으로 포함하거나 하나 이상의 약학적으로 허용되는 담체, 부형제 또는 희석제를 포함할 수 있다. 상기에서 약학적으로 유효한 양이란 자가면역 질환의 증상을 예방, 개선 및 치료하기에 충분한 양을 말한다.

[131] 상기 “약학적으로 허용되는”이란 생리학적으로 허용되고 인간에게 투여될 때, 통상적으로 위장 장애, 현기증과 같은 알레르기 반응 또는 이와 유사한 반응을 일으키지 않는 조성물을 말한다. 상기 담체, 부형제 및 희석제의 예로는, 락토즈, 텍스트로즈, 수크로즈, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 폴리비닐피롤리돈, 물, 메틸하이드록시벤조에이트, 프로필하이드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다. 또한, 충전제, 항응집제, 윤활제, 습윤제, 향료, 유화제 및 방부제 등을 추가로 포함할 수 있다.

[132] 또한, 본 발명의 조성물은 상기 화합물과 함께 자가면역 질환 치료 효과를 갖는 공지의 유효성분을 1종 이상 포함할 수 있다.

[133] 본 발명의 조성물은 인간을 제외한 포유동물에 투여된 후 활성 성분의 신속, 지속 또는 지연된 방출을 제공할 수 있도록 당업계에 공지된 방법을 사용하여 제형화될 수 있다. 제형은 분말, 과립, 정제, 에멀전, 시럽, 에어로졸, 연질 또는 경질 젤라틴 캡셀, 멸균 주사용액, 멸균 분말의 형태일 수 있다.

[134] 본 발명의 조성물은 경구, 경피, 피하, 정맥 또는 근육을 포함한 여러 경로를 통해 투여될 수 있으며, 활성 성분의 투여량은 투여 경로, 환자의 연령, 성별, 체중 및 환자의 중증도 등의 여러 인자에 따라 적절히 선택될 수 있고, 본 발명에 따른 자가면역 질환의 예방 또는 치료용 조성물은 자가면역 질환의 증상을 예방, 개선 또는 치료하는 효과를 가지는 공지의 화합물과 병행하여 투여할 수 있다.

[135] 또한, 본 발명은 상기 화합물을 유효성분으로 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 조성물을 제공한다.

[136] 본 발명에서 용어, “염증성 질환”은 염증유발인자 또는 방사선조사 등 유해한 자극으로 인해 면역체계를 과도하게 항진시켜 대식세포와 같은 면역세포에서

분비되는 $TNF\alpha$, IL1, IL6, 프로스타글란딘(prostaglandin), 루코트리엔(leukotriene) 또는 NO와 같은 염증 유발물질(염증성 사이토카인)에 의해 유발되는 질환을 의미한다. "염증성 질환"은 급성 또는 만성 염증성 병태일 수 있고 감염 또는 비감염성 원인에서 발생할 수 있다.

[137] 본 발명의 염증성 질환은 건선, 천식, 습진, 알러지, 류마티스 관절염, 건선 관절염(psoriatic arthritis), 접촉성 피부염(contact dermatitis), 아토피성 피부염, 여드름, 아토피성 비염, 알레르기성 피부염, 만성 부비동염, 지루성 피부염(seborrheic dermatitis), 위염, 통풍, 통풍 관절염, 궤양, 만성 기관지염, 폐염증, 크론병, 궤양성 대장염, 강직성 척추염(ankylosing spondylitis), 패혈증, 맥관염, 활액낭염, 루프스, 류마티스 다발성 근육통, 측두 동맥염, 다발성 경화증, 고형암, 알츠하이머병, 동맥경화증, 비만 및 바이러스 감염을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[138] 또한, 염증성 질환의 예는, 비제한적 예로서, 죽상동맥경화증, 동맥경화증, 자가면역 장애, 다발성 경화증, 전신홍반루프스, 다발성근육통 류마티즘(PMR), 통풍 관절염, 퇴행성 관절염, 건염, 활액낭염, 건선, 낭포성 섬유증, 관절골염, 류마티스 관절염, 염증성 관절염, 쇼그렌 증후군, 거대 세포 동맥염, 진행성전신성경화증(강피증), 강직성 척추염, 다발성근염, 피부근염, 천포창, 유천포창, 당뇨병(예, 제I형), 중증 근무력증, 하시모토 갑상선염, 그레이브스병, 굿패스처 질환, 혼합 결합 조직병, 경화성담관염, 염증성 장 질환, 크론병, 궤양성 대장염, 악성 빈혈, 염증성 피부병, 통상성 간질성 폐렴(UIP), 석면병, 규폐증, 기관지 확장증, 베릴륨중독, 활석증, 진폐증, 유육종증, 박리성간질성폐렴, 임파구성 간질성 폐렴, 거대 세포 간질성 폐렴, 세포 간질성 폐렴, 외인성 알레르기성 폐포염, 베게너 육아종증 및 맥관염 관련 형태(측두동맥염 및 결절성다발성동맥염), 염증성 피부병, 간염, 지연형 과민 반응(예, 옷중독), 폐렴, 기도염증, 성인 호흡 장애 증후군(ARDS), 뇌염, 즉시성 과민 반응, 천식, 건초열, 알레르기, 급성 아나필락시스, 류마티스성 열, 사구체신염, 신우신염, 봉와직염, 방광염, 만성 담낭염, 국소 빈혈(허혈성 손상), 동종이식 거부반응, 숙주대이식편 거부반응, 맹장염, 동맥염, 안검염, 세기관지염, 기관지염, 자궁경관염, 담관염, 용모양막염, 결막염, 누선염, 피부근염, 심장내막염, 자궁내막염, 장염, 전장염, 상과염, 부고환염, 근막염, 결합조직염, 위염, 위장염, 치은염, 회창염, 홍채염, 후두염, 척수염, 심근염, 신염, 제염, 난소염, 고환염, 골염, 이염, 췌장염, 이하선염, 심낭염, 인두염, 능막염, 정맥염, 간질성폐렴, 직장항문염, 전립선염, 비염, 난관염, 부비강염, 구내염, 활액막염, 고환염, 편도염, 요도염, 방광 감염(urocystitis), 포도막염, 질염, 맥관염, 음문염, 및 외음질염, 혈관염, 만성 기관지염, 골수염, 시신경염, 측두동맥염, 횡단척수염, 뇌사성 근막염, 및 뇌사성 전장염을 포함한다. 특정 구체예에서, 염증성 질환은 죽상동맥경화증, 동맥경화증, 자가면역 장애, 다발성 경화증, 전신홍반루프스, 류마티스 관절염, 염증성 관절염, 및 심근염으로 이루어진 군에서 선택된다.

[139]

[140] 용어 “치료”라 함은 발병 증상을 보이는 객체에 사용될 때 질병의 진행을 중단 또는 지연시키는 것을 의미한다.

[141] 용어 “약학적 조성물”은 본 발명의 화합물과 함께 필요에 따라 약학적으로 허용 가능한 담체, 희석제, 부형제, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다.

[142] 용어 “약학적으로 허용 가능한”이라 함은 화합물의 생물학적 활성과 물성을 손상시키지 않는 성질을 의미한다.

[143] 용어 “담체(carrier)”라 함은 세포 또는 조직 내로 화합물의 부가를 용이하게 하는 물질을 의미한다.

[144] 용어 “희석제(diluent)”라 함은 대상 화합물의 생물학적 활성 형태를 안정화시킬 뿐만 아니라, 화합물을 용해시키는 물에서 희석되는 물질로 정의된다.

[145] 기타 본 명세서에서 사용된 용어와 약어들은 달리 정의되지 않는 한 본 발명이 속하는 기술 분야의 통상의 기술자에게 통상적으로 이해되는 의미로서 해석될 수 있다.

[146] 상기 염증성 질환의 예방 또는 치료용 조성물은 상술한 상기 화합물을 유효성분으로 포함하는 약학적 제제를 포함하기 때문에, 상술한 본 발명의 조성물과 중복된 내용은 중복된 내용의 기재에 의한 본 명세서의 과도한 복잡성을 피하기 위하여 그 기재를 생략한다.

[147] 또한, 본 발명은 TAC5, TAC5-a 또는 TAC5-c로 표시되는 화합물을 개체에 투여하는 단계;를 포함하는 자가면역 질환의 예방 또는 치료 방법을 제공한다.

[148] 또한, 본 발명은 TAC5, TAC5-a 또는 TAC5-c로 표시되는 화합물을 개체에 투여하는 단계;를 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 치료 방법을 제공한다.

[149]

[150] 본 발명에 있어서, TAC5, TAC5-a 또는 TAC5-c로 표시되는 화합물을 함유하는 조성물은 통상의 방법에 따른 적절한 담체, 부형제 또는 희석제를 추가적으로 포함할 수 있다. 화합물을 포함하는 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 텍스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다.

[151] 본 발명의 TAC5, TAC5-a 또는 TAC5-c로 표시되는 화합물을 함유하는 조성물은 통상의 방법에 따라 산제, 환제, 과립제, 캡슐제, 현탁액, 내용액제, 유제, 시럽제, 멸균된 수용액, 비수용액제, 현탁액, 동결 건조제 및 좌제로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나의 제형을 가질 수 있다.

[152] 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한

고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성 용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텟솔(witepsol), 마크로콜, 트윈(tween) 60, 카카오지, 라우린지, 글리세로 젤라틴 등이 사용될 수 있다.

[153] 본 발명의 약학 조성물은 목적하는 방법에 따라 경구 투여하거나 비경구 투여(예를 들어 정맥 내, 피하, 복강 내 또는 국소 적용)할 수 있으며, 투여량은 환자의 건강상태, 체중, 연령, 성별, 식이, 배설율, 질병의 정도, 약물형태, 투여시간, 투여경로 및 투여기간에 따라 그 범위가 다양하지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 그러나, 바람직한 효과를 위해서, 본 발명의 화합물은 1일 0.001~1000mg/kg으로, 바람직하게는 0.01~100mg/kg으로 투여하는 것이 좋다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

[154]

[155] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 예시하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

[156]

[157] [실시예]

[158] ^1H 및 ^{13}C NMR 스펙트럼은 JNM-ECZ400S (JEOL, Japan) 을 사용하여 기록되었으며, 화학적 이동(chemical shift)은 내부 테트라메틸실란 표준의 ppm의 낮은 장(downfield) 범위를 측정하였다.

[159] 다중도(multiplicity)는 다음과 같이 표시하였다: s(singlet); d(doublet); t(triplet); q(quartet); m(multiplet); dd(doublet of doublet); ddd(doublet of doublet of doublet); dt(doublet of triplet); td(triplet of doublet); brs(broad singlet).

[160] 커플링 상수는 H로 기록하였다. 질량 분석(routine mass analyses)은 역상컬럼(C-18, 50×2.1mm, 5 μm)이 구비된 LC/MS 시스템과 전자 분무 이온화(ESI)를 이용하여 수행되었다.

[161] 2-아미노-3-하이드록시 피리딘, 세슘 카보네이트, 3-니트로벤질 브로마이드,

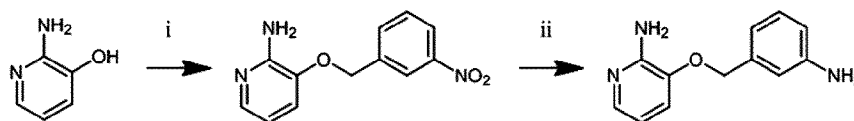
2-아미노-3-벤질옥시피리딘, 브로모벤젠, 2-아미노-3-벤질옥시피리딘 는 TCI (Japan)에서 구매하였으며, 무수 틴(II) 클로라이드 (Tin (II) chloride anhydride)은 alfa aesar (US)에서 구매하였다. 요오드화 구리(I), N,N'-디메틸렌디아민은 sigma Aldrich (US)에서 구매하였다.

[162] 반응의 진행은 TLC(실리카 겔 60 F254 0.25mm)를 이용하여 모니터하였으며, 구성성분은 UV 광(254nm, 365nm) 하에서 관찰함으로써 또는 TLC 플레이트를 아니스알데히드(anisaldehyde), KMNO₄, 및 포스포몰리브딘산으로 처리한 후 가열함으로써 시각화하였다. 특별한 언급이 없으면, 모든 반응은 건조한 아르곤 대기 하 오븐-건조한 글래스웨어(glassware)에서 수행하였다.

[163]

[164] 제조에 1: 3-((3-아미노벤질)옥시)피리딘-2-아민(3-((4-aminobenzyl)oxy)pyridin-2-amine, TAC5-a)의 제조

[165]

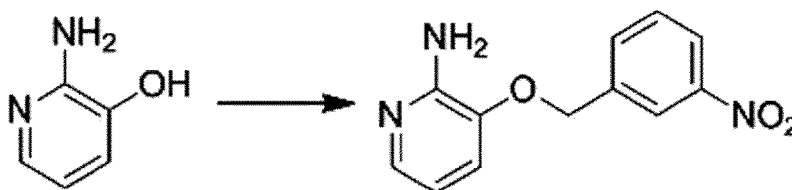


[166] 시약 및 조건: (i) 3-Nitrobenzylbromide, Cs₂CO₃, DMF, RT; (ii) SnCl₂, EtOH, reflux.

[167]

[168] 단계 1: 3-((3-니트로벤질)옥시)-피리딘-2-아민(TAC5-a 중간체)의 제조

[169]



[170] 2.04 g의 2-아미노-3-하이드록시피리딘과 6.03 g의 세슘 카보네이트를 80 ml의 디메틸포름알데하이드(DMF)에 용해시켰다. 그 후 용해된 액체에 4.0 g의 3-니트로 벤질 브로마이드가 용해되어있는 20 ml의 디메틸포름알데하이드를 첨가한 후 반응 혼합물을 상온에서 3시간 동안 교반시켰다. TLC에 의해 반응 완료를 확인한 후, 포화된 탄산수소나트륨을 상기 용액에 첨가한 후 디클로로메탄을 넣어 유기물질을 3회 추출하였다. 얻어진 유기층을 무수 황산 나트륨으로 건조한 후 여과하여 용액을 얻었다. 얻어진 용액을 진공상에서 농축한 뒤 잔류물을 실리카 겔 플래쉬 컬럼 프로마토그래피로 정제하여 2.20 g의 3-((3-니트로벤질)옥시)-피리딘-2-아민을 수득하였다(48.4 %).

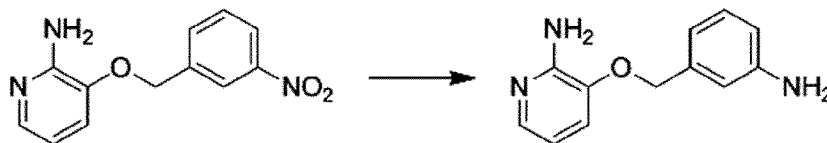
[171] ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 8.29 (s, 1H), 8.21 (dd, J = 8.1 Hz, 1H), 7.76 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 7.70 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 7.59 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 6.95 (dd, J = 7.8 Hz, 1H), 6.60 (dd, J = 7.8 Hz, 1H), 5.12 (s, 2H), 4.75 (bs, 2H); ¹³C NMR (600 MHz, CDCl₃)

) δ 150.2, 148.5, 141.0, 139.9, 138.5, 133.4, 129.9, 123.4, 122.4, 117.0, 113.7, 69.0.

[172]

[173] 단계 2: 3-((3-아미노벤질)옥시)피리딘-2-아민(TAC5-a)의 제조.

[174]



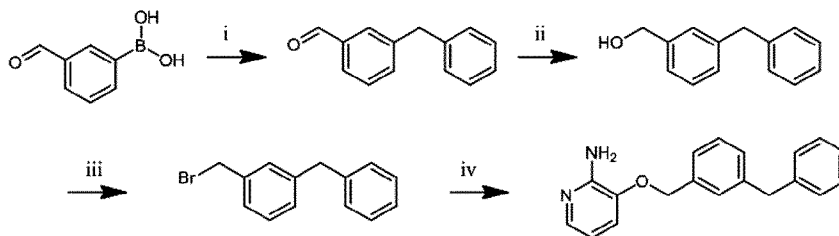
[175] 7.73 g의 무수 티(II) 클로라이드를 1노르말 농도의 염산 0.2 ml과 40 ml의 에탄올의 용액에 첨가한 후 상온에서 용해하였다. 용해된 액체에 2.0 g의 3-((3-니트로벤질)옥시)-피리딘-2-아민을 첨가한 후 3시간동안 환류하였다. TLC를 통해 반응의 완결을 확인한 후, 반응 혼합물을 거름종이를 이용하여 여과 후 고체 혼합물을 얻었다. 얻어진 고체 혼합물을 포화된 탄산수소나트륨과 디클로로메탄에 넣어 유기층을 3회 추출하였다. 얻어진 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조한 후 여과하여 용액을 얻는다. 얻어진 용액을 진공상에서 농축하여 945 mg의 3-((3-아미노벤질)옥시)피리딘-2-아민 (TAC5_a)을 수득하였다(53.9 %).

[176] ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 7.86 (dd, $J = 4.8$ Hz, 1H), 7.70 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H), 7.46-7.39 (m, 5H), 7.23 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 7.07 (bs, 1H), 7.04 (dd, $J = 7.8$ Hz, 1H), 6.69 (dd, $J = 7.4$ Hz, 1H), 5.14 (s, 2H); ^{13}C NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 150.3, 146.9, 141.6, 139.1, 137.7, 129.7, 117.6, 116.9, 115.0, 113.9, 113.7, 70.3. LRMS (ESI) m/z calcd. For $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 277.13; found 277.15

[177]

[178] 제조예 2: 3-(3-벤질벤질)옥시)피리딘-2-아민(3-((3-benzylbenzyl)oxy)pyridin-2-amine, TAC5-b)의 제조

[179]

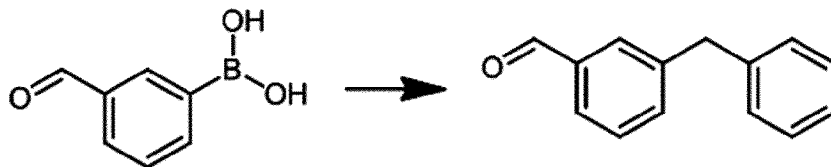


[180] 시약 및 조건: (i) Benzylbromide, $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, Na_2CO_3 , toluene, 80°C ; (ii) NaBH_4 , MeOH, 0°C ; (iii) HBr, Water: CH_2Cl_2 (v:v = 1:1), RT; (iv) 2-amino-3-hydroxypyridine, Cs_2CO_3 , DMF, RT.

[181]

[182] 단계 1: 3-벤질 벤즈알데히드(TAC5-b 중간체 1)의 제조

[183]



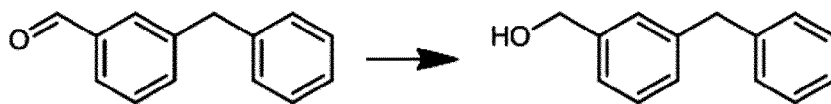
[184] 3- 포르밀페닐 보론산(450 mg, 3.0 mmol) 및 테트라키스(트리 페닐 포스 핀) 팔라듐(0) (139 mg, 0.12 mmol)을 첨가하고 아르곤으로 퍼징하였다. 톨루엔(15 ml), 벤질 브로마이드 및 2N Na₂CO₃(3 ml)를 첨가하고 생성된 반응 혼합물을 80 °C에서 4 시간 동안 교반하였다. 반응 완료 후, 반응 혼합물을 NaHCO₃로 희석하고, CH₂Cl₂로 3 회 추출하였다. 합한 유기층을 진공에서 농축시켰다. 조 생성물을 실리카겔 칼럼 크로마토그래피(EA : Hex = Hex 100 % - EA 15 %)로 정제하여 생성물 (503 mg, 수율=85.3 %)을 맑은 오일로서 수득하였다.

[185] ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 9.86 (s, 1H), 7.63 (m, 2H), 7.23 (m, 7H), 3.95 (s, 2H); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 191.9, 141.9, 139.8, 136.4, 134.7, 129.5, 128.8, 128.6, 128.4, 127.4, 126.1, 41.2.

[186]

[187] 단계 2: (3-벤질페닐)메탄올 (TAC5-b 중간체 2)의 제조

[188]



[189] 0 °C에서 교반된 3- 벤질 벤즈알데히드(196 mg, 1.0 mmol)의 메탄올(10 ml) 용액에 NaBH₄(75 mg, 2 mmol)를 적가한 후, 생성 된 반응 혼합물을 0 °C에서 1 시간 동안 교반하였다 h. 반응 완료 후, 반응 혼합물을 증류수로 세척하고 CH₂Cl₂로 3회 추출하였다. 합한 유기층을 진공에서 농축시켰다. 조 생성물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(EA:Hex = 100 % -EA 50 %)로 정제하여 생성물 (203 mg, 정량적 수율)을 맑은 오일로서 수득하였다.

[190] ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 7.13 (m, 9H), 4.41 (s, 2H), 3.89 (s, 2H), 2.89 (s, 1H); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 141.2, 140.9, 140.9, 128.7, 128.4, 128.3, 127.9, 127.3, 125.9, 124.6, 64.7, 41.7.

[191]

[192] 단계 3: 1- 벤질-3-(브로모메틸)벤젠(TAC5-b 중간체)의 제조

[193]



[194] (3-벤질페닐)메탄올 (198 mg, 1.0 mmol)을 DCM 및 HBr 혼합물 (5 ml, v:v = 1:1)로 희석하고, 생성된 반응 혼합물을 실온에서 36 시간 동안 교반하였다. 반응

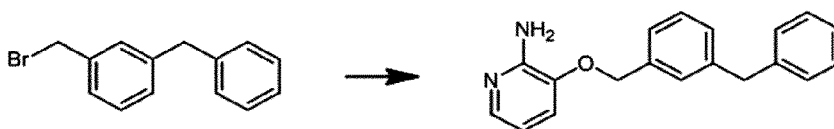
완료 후, 반응 혼합물을 NaHCO_3 로 희석하고, CH_2Cl_2 로 3 회 추출하였다. 합한 유기층을 진공에서 농축시켰다. 조 생성물을 실리카겔 칼럼 크로마토그래피 (EA : Hex = Hex 100 % - EA 10 %)로 정제하여 생성물(185 mg, 수율 = 70.8 %)을 맑은 오일로서 수득하였다.

[195] ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 7.17 (m, 9H), 4.36 (s, 2H), 3.92 (s, 2H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 141.6, 140.5, 137.8, 129.4, 129.0, 128.9, 128.8, 128.5, 126.8, 126.1, 41.6, 33.5.

[196]

[197] 단계 4: 3-(3-벤질벤질)옥시)피리딘-2-아민(TAC5-b)의 제조

[198]



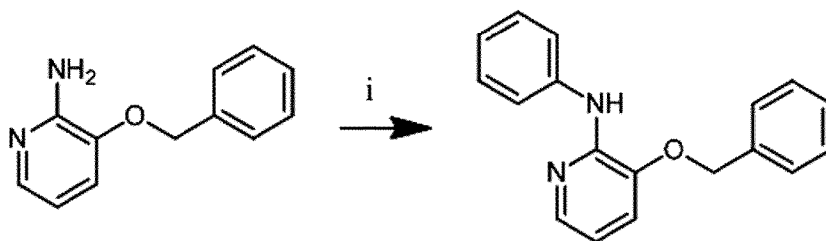
[199] DMF(3 ml) 중의 2-아미노-3-하이드록시피리딘(75 mg, 0.68 mmol) 및 Cs_2CO_3 (222 mg, 0.68 mmol)의 용액에 1-벤질-3-(브로모메틸)벤젠 178 mg, 0.68 mmol)의 DMF(3.8 ml) 용액에 첨가하였다. 생성된 반응 혼합물을 실온에서 2 시간 동안 교반하였다. 반응 완료 후, 반응 혼합물을 NaHCO_3 로 희석하고, CH_2Cl_2 로 3 회 추출하였다. 합한 유기층을 진공에서 농축시켰다. 조 생성물을 실리카겔 칼럼 크로마토그래피(EA : Hex = Hex 100 % - EA 100 %)로 정제하여 생성물(110 mg, 수율=55.9 %)을 황색 고체로서 수득하였다.

[200] ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 7.65 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 7.21 (s, 9H), 6.88 (d, J = 6.6 Hz, 1H), 6.53 (dd, J = 7.8 Hz, 1H), 4.94 (s, 2H), 4.79 (bs, 2H), 3.96 (s, 2H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 150.3, 141.5, 141.3, 140.6, 138.9, 136.5, 128.8, 128.7, 128.6, 128.4, 128.0, 126.1, 125.2, 116.7, 113.3, 70.0, 41.6; LRMS (ESI) m/z calcd. for $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}$ [M+H] $^+$ 291.14; found : 291.20.

[201]

[202] 제조예 3: 3-(벤질옥시)-N-페닐피리딘-2-아민(TAC5-c)의 제조

[203]



[204] 시약 및 조건: (i) Bromobenzene, CuI, DMEDA, K_2CO_3 , 1,4-dioxane, 90°C.

[205]

[206] 1.0 g의 2-아미노-3-벤질옥시피리딘, 0.48 g 요오드화 구리(I), 1.38 g의 탄산 칼륨, 270 μl 의 N,N'-디메틸에틸렌디아민을 25ml의 1,4-디옥산에 용해시켰다. 용해된 액체에 786 μl 의 브로모벤젠을 천천히 첨가한 후 90 °C에서 17시간동안 교반하였다. 17시간뒤, 포화된 탄산수소나트륨과 디클로로메탄을 넣어

유기층을 3회 추출하였다. 추출한 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조한 후 여과하여 용액을 얻는다. 얻어진 용액을 진공상에서 농축시킨 후 실리카 겔 플래쉬 컬럼 크로마토그래피로 잔류물을 정제하여 0.11 g의 3-(벤질옥시)-N-페닐피리딘-2-아민(TAC5_c)을 수득하였다.

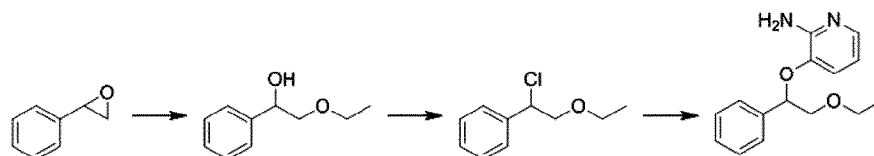
- [207] ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 7.86 (dd, $J = 4.8$ Hz, 1H), 7.70 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H), 7.46-7.39 (m, 5H), 7.23 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 7.07 (bs, 1H), 7.04 (dd, $J = 7.8$ Hz, 1H), 6.69 (dd, $J = 7.4$ Hz, 1H), 5.14 (s, 2H); ^{13}C NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 147.0, 141.7, 141.0, 138.9, 136.4, 129.2, 129.1, 128.7, 128.0, 121.9, 119.2, 116.6, 114.4, 70.7. LRMS (ESI) m/z calcd. For $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 277.13; found 277.15

[208]

[209] 제조예 4:

3-(2-에톡시-1-페닐에톡시)피리딘-2-아민(3-(2-ethoxy-1-phenylethoxy)pyridine-2-amine, TAC5-d)의 제조

[210]



- [211] 시약 및 조건: (i) EtOH, NaOH, reflux; (ii) Thionyl chloride, DCM, 0°C to RT; (iii) Cs_2CO_3 , 2-amino-3-hydroxyl pyridine, DMF, RT.

[212]

[213] 단계 1: 2-에톡시-1-페닐에탄올(2-ethoxy-1-phenylethanol, TAC5-d intermediate 1)의 합성

- [214] Ar 분위기 하에 교반된 NaOH(440 mg, 11 mmol)의 EtOH(50 ml) 용액에 스티렌 옥사이드(1.13 ml, 10 mmol)를 첨가하고 생성된 반응 혼합물을 3시간 동안 환류시켰다. 반응 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 포화 NaHCO_3 (aq.)으로 희석시키고 DCM으로 3회 추출하였다. 합한 DCM 층을 Na_2SO_4 (s)에서 건조시키고 진공에서 농축시켰다. 플래쉬 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 목적 생성물(800mg, 48.1 %)을 투명한 오일로 수득하였다.

- [215] ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 7.36 (m, 5H), 4.88 (dd, $J = 9.6$ Hz, 1H), 3.57 (m, 3H), 3.43 (t, $J = 9.0$ Hz, 1H), 3.14 (s, 1H), 1.23 (t, $J = 6.6$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 140.3, 128.2, 127.7, 126.1, 76.1, 72.7, 66.6, 15.0

[216]

[217] 단계 2: (1-클로로-2-에톡시에틸)벤젠((1-chloro-2-ethoxyethyl)benzene, TAC5-d intermediate 2)의 합성

- [218] 0°C 에서 교반된 화합물 4-a (1.0 g, 6.02 mmol)의 DCM(15 ml) 용액에 티오닐 클로라이드(thionyl chloride, 524 μl , 7.22 mmol)의 DCM(10 ml) 용액을 첨가하고, 결과 혼합물을 0°C 에서 교반하였다. 0°C 에서 1시간 더 교반한 후, 반응 혼합물을 서서히 실온으로 가온시켰다. 반응 완료 후, 반응 혼합물을 NaHCO_3 (aq.)로

회석하고, DCM으로 3회 추출하였다. 합한 DCM층을 $\text{Na}_2\text{SO}_4(\text{s})$ 상에서 건조시키고 진공에서 농축시켰다. 플래쉬 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 목적 생성물(452 mg, 40.7 %)을 맑은 오일로 수득하였다.

[219] ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 7.36 (m, 5H), 4.99 (dd, $J = 7.2$ Hz, 1H), 3.81 (m, 2H), 3.55 (m, 2H), 1.97 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 138.7 128.4 128.3 127.2 75.1 66.5 61.0 14.8.

[220]

[221] 단계 3:

3-(2-에톡시-1-페닐에톡시)피리딘-2-아민(3-(2-ethoxy-1-phenylethoxy)pyridine-2-amine, TAC5-d)의 합성

[222] 2-아미노-3-히드록시피리딘(120 mg, 1.08 mmol) 및 KOH(68 mg, 1.08 mmol)의 DMF (5 ml) 용액에 화합물 4-b (200 mg, 1.08 mmol) 및 생성된 반응 혼합물을 60°C 에서 4시간 동안 교반하였다. 반응 완료 후, 반응 혼합물을 $\text{NaHCO}_3(\text{aq.})$ 로 회석하고, DCM으로 3회 추출하였다. 합한 DCM층을 $\text{Na}_2\text{SO}_4(\text{s})$ 상에서 건조시키고 진공에서 농축시켰다. 플래쉬 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 목적 생성물(137 mg, 49.1 %)을 백색 고체로 수득하였다.

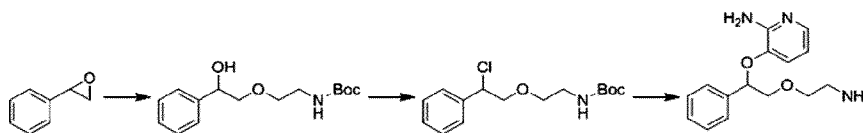
[223] ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 7.65 (dd, $J = 6.0$ Hz, 1H), 7.36 (m, 5H), 6.71 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 6.39 (dd, $J = 7.8$ Hz, 1H), 5.12 (dd, $J = 9.0$ Hz, 1H), 5.02 (bs, 2H), 3.84 (m, 1H), 3.61 (m, 3H), 1.24 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 151.7, 140.4, 140.3, 137.9, 128.5, 128.1, 126.3, 121.7, 112.9, 81.5, 74.7, 66.7, 14.9; LRMS (ESI) m/z calcd. for $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 258.14; found : 259.05.

[224]

[225] 제조예 5:

3-(2-(2-아미노에톡시)-1-페닐에톡시)피리딘-2-아민(3-(2-(2-aminoethoxy)-1-phenylethoxy)pyridin-2-amine, TAC5-e)의 제조

[226]



[227] 시약 및 조건: (i) N-Boc-ethanolamine, NaH, THF, 60°C ; (ii) Thionyl chloride, DCM, 0°C ; (iii) 1. Cs_2CO_3 , 3-hydroxyl-2-aminopyridine, DMF, RT; 2. TFA, DCM (v:v = 1:2), RT, 4 h.

[228]

[229] 단계 1: tert-부틸(2-(2-하이드록시-2-페닐에톡시)에틸)카바메이트(tert-butyl (2-(2-hydroxy-2-phenylethoxy)ethyl)carbamate, TAC5-e intermediate 1)의 합성

[230] NaH (광유 중 60% 분산액, 40 mg, 1.0 mmol)의 N-Boc-에탄올 아민:THF (1.0 ml, v:v = 1:1) 용액을 60°C 에서 교반하고, 스티렌 옥사이드(114 μl , 1.0 mmol)를 첨가하고, 생성된 반응 혼합물을 60°C 에서 밤새 교반하였다. 반응 완료 후, 반응

혼합물을 NaHCO_3 (aq.)로 희석하고, DCM으로 3회 추출하였다. 합한 DCM 층을 Na_2SO_4 (s)상에서 건조시키고 진공에서 농축시켰다. 플래쉬 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 목적하는 생성물 (70mg, 24.9 %)을 투명한 오일로 수득하였다.

[231] ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 7.36 (m, 5H), 5.04 (bs, 1H), 4.87 (dd, $J = 8.4$ Hz, 1H), 3.58 (m, 4H), 3.32 (bs, 2H), 3.22 (s, 1H), 1.43 (s, 10H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 140.3, 128.3, 127.8, 126.1, 76.5, 72.7, 70.4, 40.3, 28.4.

[232]

[233] 단계 2: tert-부틸(2-(2-클로로-2-페닐에톡시)에틸)카바네이트(tert-butyl (2-(2-chloro-2-phenylethoxy)ethyl)carbamate, TAC5-e intermediate 2)의 합성

[234] 0°C 에서 교반된 화합물 5-a (128 mg, 0.46 mmol)의 DCM (4.5 ml) 용액에 티오닐클로라이드(40 μl , 0.55 mmol)를 첨가하고, 생성된 반응 혼합물을 0°C 에서 1.5시간 동안 교반하였다. 반응 완료 후, 반응 혼합물을 NaHCO_3 (aq.)로 희석하고, DCM으로 3회 추출하였다. 합한 DCM층을 Na_2SO_4 (s)상에서 건조시키고 진공에서 농축시켰다. 플래쉬 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 목적하는 생성물(69mg, 50.6 %)을 투명한 오일로 수득하였다.

[235] ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 7.36 (m, 5H), 4.97 (t, $J = 6.0$ Hz, 1H), 4.79 (s, 1H), 3.86 (m, 2H), 3.55 (m, 2H), 3.27 (s, 2H), 1.44 (s, 10H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 138.5, 128.7, 128.6, 127.4, 75.5, 70.3, 60.8, 40.2, 28.4.

[236]

[237] 단계 3:

3-(2-(2-아미노에톡시)-1-페닐에폭시)피리딘-2-아민(3-(2-(2-aminoethoxy)-1-phenylethoxy)pyridin-2-amine, TAC5-e)의 합성

[238] 화합물 5-b(69 mg, 0.24 mmol), Cs_2CO_3 (79 mg, 0.24 mmol) 및 2-아미노-3-하이드록실피리딘(27 mg, 0.24 mmol)의 DMF(3 ml) 용액을 실온 내지 40°C 에서 밤새도록 교반하였다. 반응 완료 후, 반응 혼합물을 NaHCO_3 (aq.)로 희석하고, DCM으로 3회 추출하였다. 합한 DCM층을 Na_2SO_4 (s)상에서 건조시키고 진공에서 농축시켰다. 플래쉬 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 목적 생성물을 수득하였다. 정제된 생성물을 추가의 확인 없이 다음 반응에 사용하였다. 정제된 화합물을 DCM:TFA (v:v=2:1) 중에서 4시간 동안 실온에서 교반하였다. 반응 완료 후, 반응 혼합물을 NaHCO_3 (aq.)로 희석하고, DCM으로 3회 추출하였다. 합한 DCM층을 Na_2SO_4 (s)상에서 건조시켰다. 생성된 여액을 농축시켜 목적 생성물(10mg, 15.2 %)을 황색 고체로 수득하였다.

[239] ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ 7.43 (m, 6H), 8.86 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 6.42 (dd, $J = 7.8$ Hz, 1H), 5.39 (dd, $J = 7.2$ Hz, 1H), 3.93 (dd, $J = 10.8$ Hz, 1H), 3.75 (dd, $J = 6.6$ Hz, 1H), 3.61 (t, $J = 5.4$ Hz, 2H), 3.35 (s, 1H), 2.81 (bs, 2H); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ 152.9, 142.1, 139.4, 139.2, 129.7, 129.4, 127.7, 121.3, 113.9, 81.5, 76.2, 73.4, 41.9.; LRMS (ESI) m/z calcd. for $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{N}_3\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 274.15; found : 274.10.

[240]

[241] 실시예 1: QSAR (Quantitative Structure Activity Relationship) 모델 확인

[242] 본 발명에서 구현된 QSAR 모델개발 및 스크리닝(screening)의 전반적인 워크플로우(workflow)는 도 1에 나타내었다.

[243]

[244] 이 발명의 초기 주요 화합물은 Tropsha(Tropsha, Mol Inform 29: 476-488 (2010))에 기술된 것처럼 QSAR 모델링 접근법을 사용하여 확인되었다. 초기 목표는 TLR8의 길항성 화합물을 찾는 것이므로, 공지된 몇몇의 TLR8 길항성 화합물을 사용하여 리간드 데이터 세트를 준비하였다. 리간드 데이터 세트는 문헌에 보고된 화합물의 활성 데이터에 기초하여 128개의 활성 및 106개의 비활성 분자로 분류하였다. 필요한 경우 화학 구조를 스케치하고 Molecular Operating Environment (MOE 2016)(Molecular Operating Environment (MOE), 2013.08; Chemical Computing Group ULC, 1010 Sherbooke St. West, Suite #910, Montreal, QC, Canada, H3A 2R7, 2017)를 사용하여 최적화하였다. QSAR 모델은 k-Nearest Neighbor (k-NN), Random Forest (RF) 및 Support Vector Machine (SVM)의 세 가지 알고리즘을 사용하여 구축하였다. 각 분자의 화학적 특성은 DragonX-H 또는 MOE 기술자로 나타냈다. 세 가지 QSAR 방법 (k-NN, RF 및 SVM)은 통계적 임계값 Q^2 또는 올바른 분류기준 0.7(correct classification rate, CCR)을 충족시키는 예측모델을 확인하였는데(표 2), 이는 합리적인 예측을 위한 적합한 기준이다. 가상 스크리닝(virtual screening)은 ~8,000,000 분자의 다변수 라이브러리에서 지문 기반 방법(fingerprint-based method)을 사용하여 필터링된 2,000 분자의 화학 화합물 라이브러리에 대해 수행되었다. 활성의 실험적 검증을 위해 상위 13개 화합물을 선택하였으며, 이 중에서 가장 효능 있는 후보를 확인하기 위해 RAW 264.7 세포를 1, 10, 50 또는 100 μ M의 화합물과 함께 배양하였다. 24시간 후, MTT(3-(4,5-디메틸티아졸-2-일)-2,5-디페닐테트라졸륨 브로마이드(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) 에세이를 수행하였으며(도 2a), TAC1, TAC3, TAC4, TAC6, TAC7, TAC12 및 TAC13이 세포 독성을 나타내었다. 따라서 TAC2, TAC5 및 TAC10은 추가의 MTT 에세이 및 효소결합면역흡착분석(ELISA)을 수행하였다. 3개의 화합물은 1, 10 및 50 μ M 농도에서 비세포독성이었고 TAC2 및 TAC5는 CL075 (TLR7/8 길항제)-유도 된 TNF- α 분비를 억제하였다(도 2c 및 도 2d). 또한, TAC5는 용량 의존적으로 TAC2의 억제 효과에 비해 증가된 억제 효과를 나타내었다.

[245]

[246] [표2]

Machine learning methods	Descriptors	Prediction CCR	Accuracy	Sensitivity	Specificity
k-Nearest Neighbor	MOE 2D	0.711 ± 0.031	0.748	0.875	0.547
k-Nearest Neighbor	DragonX-H	0.733 ± 0.083	0.766	0.881	0.585
Random Forest	MOE 2D	0.737 ± 0.057	0.777	0.632	0.869
Random Forest	DragonX-H	0.717 ± 0.029	0.732	0.635	0.809
Support Vector Machine	MOE 2D	0.773 ± 0.031	0.762	0.721	0.794
Support Vector Machine	DragonX-H	0.705 ± 0.043	0.745	0.594	0.839

[247]

[248] 실시예 2: TAC5, TAC5-a 또는 TAC5-c가 NF- κ B 및 MAPK의 활성화에 미치는 영향(CL075-유도된 TLR7 및 TLR8 신호전달에 대한 TAC5의 효과)

[249] 세포 배양 및 준비

[250] 쥐 대식세포인 RAW264.7 세포(ATCC, Manassas, VA, USA)는 10%의 FBS, 100 IU/ml의 페니실린 및 100 μ g/ml의 스트렙토마이신이 첨가된 저장 DMEM(Low-Glucose DMEM)(Thermo Fisher Scientific Inc.)에 넣고, 배양 시스템에서 배양하였다. 인간 단핵구 세포인 THP1 세포는 10%의 FBS, 100 IU/ml의 페니실린 및 100 μ g/ml의 스트렙토마이신이 첨가된 RPMI 1640(Thermo Fisher Scientific Inc.)에서 배양 후, 10 nM의 phorbol 12-myristate 13-acetate(PMA)(Sigma-Aldrich Co. LLC.)를 이용하여 24시간 동안 대식세포로 분화 유도하였다. CL075, R848, CpG-ODN 및 Poly(I:C)는 InvivoGen (San Diego, CA, USA)에서 구입하였고, LPS는 Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다.

[251]

[252] TAC5가 NF- κ B 및 MAPK의 활성화에 미치는 영향을 확인하기 위해 하기의 실험을 수행하였다.

[253]

[254] NF- κ B 및 MAPK의 웨스턴 블롯팅

[255] TAC5가 NF- κ B 및 MAPK의 활성화에 미치는 영향을 확인하기 위해 전-단백질 추출 용액(M-PER, Thermo Fisher Scientific Inc.)을 프로테아제 및 포스파타아제 억제 혼합물과 섞어 RAW 264.7 세포 펠릿(pellet)에 첨가하였다. 상기 펠릿을 10분간 냉각시킨 후 10분 동안 16000 X g에서 상기 용해물을 원심 분리하였다. 그런 다음, NE-PER 핵 및 세포질 추출 시약(Thermo Fisher Scientific Inc.)을 사용하여 세포질과 핵의 단백질을 각각 추출하고, BCA 키트(Sigma-Aldrich Co. LLC)를 사용하여 상기 단백질의 농도를 측정하였다. 이 후, 동일한 양의 단백질을 SDS-폴리아크릴아마이드 겔에 전개하고, Hybond-ECL 니트로셀룰로스 막(Amersham Pharmacia Biotech, Inc., Piscataway, NJ, USA)으로 옮겼다. 상기 막을 1시간 동안 탈이온수에서 0.05% 탈지 분유로 블로킹한 후, 1차

항체로 4°C의 온도에서 하룻밤 동안 가볍게 웨이킹하여 면역블롯팅하였다(상기 1차 항체는 iNOS(BD Biosciences, San Jose, CA, USA) 및 β -액틴(Santa Cruz Biotechnology, Inc., Dallas, TX, USA)에 대한 항체이다). 그런 다음, PBST로 철저히 웨이킹한 후 상기 막을 항-쥐/-토끼 HRP-컨쥬게이트된 2차 항체(Thermo Fisher Scientific Inc.)와 함께 2시간 동안 배양하고, SuperSignal West Pico ECL 용액(Thermo Fisher Scientific Inc.)으로 단백질을 검출하고 Fuji LAS-3000 시스템(Fujifilm, Tokyo, Japan)으로 HDAC1(Merck Millipore, Billerica, MA, USA), p-NF- κ B (p-p65), I κ B α , p-ERK, ERK, p-JNK, JNK, p-p38, p38 및 β -액틴(Santa Cruz Biotechnology, Inc., Dallas, TX, USA) 단백질을 시각화하였으며, 그 결과를 도 3에 나타내었다.

- [256] 도 3에 나타낸 바와 같이, 대조군인 쥐 대식세포인 RAW 264.7 세포에 오직 CL075만을 처리한 경우, NF- κ B의 활성이 증가하여 I κ B α 가 분해된 반면, TAC5를 함께 처리한 경우, NF- κ B의 활성이 억제되어 I κ B α 가 분해되는 정도 및 핵으로 이동하는 NF- κ B의 양이 감소하였다. 또한, 오직 CL075만을 처리한 경우, MAPK의 활성이 증가하여 ERK, JNK, p38이 인산화되지만, TAC5를 함께 처리한 경우, MAPK의 활성이 억제되어 상기 효소들의 인산화된 정도가 감소하였다.
- [257] 이를 통해 본 발명에 따른 TAC5는 TLR7/8에 결합한 CL075에 의해 유도된 MyD88-의존적 신호전달 경로를 억제한다는 것을 알 수 있다.

[258]

- [259] 표준 시험 관내 분석에서 TAC5는 다른 TAC들 중에서도 마우스 대 식세포 (RAW264.7 세포)에서 TLR7 및 TLR8의 CL075-유도된 활성화에 대해 탁월한 길항 효과를 나타냈다. 웨스턴 블롯 분석은 TAC5가 RAW264.7 세포에서 CL075-유도된 NF- κ B 활성화 및 I κ B α 분해를 억제함을 보여주었다(도 3a). TLRs는 미토젠-활성 단백질 키나제(mitogen-activated protein kinases, MAPK)인 c-Jun N-말단 키나제(c-Jun N-terminal kinase, JNK), 세포외 신호조절 키나제(ERK), p38 미토젠-활성 단백질 키나제(p38)의 활성화를 유도하는 것으로 알려져 있으며, 이는 증식과 세포사멸을 포함한 다양한 세포 기능을 조절한다. 본 발명은 TAC5가 MAPKs의 CL075-유도된 활성화, 즉 JNK, ERK 및 p38의 인산화를 억제함을 확인하였다(도 3b). 다음으로, RAW264.7 세포를 CL075 또는 CL075와 poly(dT)의 조합물에서 배양하였으며, TLR8 매개 신호를 상승시켰다(Gorden, K. K., *et al. J Immunol* 177: 8164-8170 (2006); Jurk, M., *et al. Eur J Immunol* 36: 1815-1826 (2006)). TNF- α 분비 수준의 측정은 TAC5가 CL075로만 처리된 세포와 비교하여 poly(dT)처리된 세포에 비하여 약간 향상된 저해 효과를 나타냈다(도 3c). CL075로 유도된 NF- κ B 활성화는 RAW264.7 세포에서 공초점 현미경에 의한 면역형광염색법을 사용하여 확인하였다. TAC5는 인산화된 p65(p-p65)의 발현 수준을 유의하게 감소시켜 NF- κ B의 불활성화를 나타냈다(도 3d). TAC5 및 다른 TLR 길항제와 함께 처리된 세포는 poly(I:C)-유도된 TLR3 매개 TNF- α 분비에 대해 TAC5가 중간 정도의 저해

효과를 나타내는 반면에 TLR7/8-매개 TNF- α 분비는 용량 의존적으로 감소되었다(도 3e). 한편, TNF- α 생산은 Pam3CSK4 (TLR1/2 길항제) 또는 LPS (TLR4 길항제)로 처리된 세포에는 영향을 미치지 않았다.

[260]

[261] 실시예 3: TAC5의 3-아미노 유도체(TAC5-a)의 TNF- α 저해 프로파일

[262] TAC5는 벤질 고리에 메톡시기로 연결된 2-아미노피리딘 작용기를 가진 간단한 구조를 가지고 있다(도 2b). TAC5의 활성을 향상시키고자 그 구조에 3개의 변형을 수행하여 TAC5-a (3-((4-아미노벤질)옥시)피리딘-2-아민), TAC5-b (3-(3-벤질옥시)옥시)피리딘-2-아민), TAC5-c (3-(벤질옥시)-N-페닐 피리딘-2-아민), TAC5-d (3-(2-에톡시-1-페닐에톡시)피리딘-2-아민) 및 TAC5-e (3-(2-(2-아미노에톡시)-1-페닐에톡시)피리딘-2-아민)유도체를 생성하였다(도 4a). 이들 화합물은 12.5 내지 50 μ M의 농도로 처리함으로써 RAW 264.7 세포에서의 세포독성을 시험하였다. 이 예비조사에 따르면 TAC5-b는 세포 생존력을 현저히 감소시키는 반면 TAC5-c는 50 μ M에서 약간의 세포 독성을 보였다(도 4b). 한편, TAC5-a, TAC5-d 및 TAC5-e는 세포에 세포독성 효과를 나타내지 않았다. TAC5-a, TAC5-c, TAC5-d 및 TAC5-e는 모두 THP-1 세포(사람 단구 세포주)에서 TLR7/8이 매개하는 IL-6 발현을 의존적으로 저해하였다(도 4c); 화합물 중 하나인 TAC5-a를 1 내지 50 μ M 농도로 사용하여 추가 실험을 수행하였다. TLR- 매개 시그널링에 대한 TAC5-a의 억제효과는 THP1-유래 대식세포에서의 ELISA를 통한 TNF- α 분비를 측정함으로써 확인되었다. 예상대로, TAC5-a는 TLR4 (LPS)-, TLR1/2 (Pam3CSK4) 및 TLR2/6 (FSL-1) 매개 TNF- α 분비를 차단하지 않았다(도 4d). 또한 엔도솜(endosomal) TLR 활성화에 대한 TAC5-a의 길항효과를 평가하기 위해, 세포를 R848 (TLR7/8) 또는 CL075 (TLR7/8), 이미퀴모드(imiquimod, IMQ; TLR7), TL8 (TLR8), poly(I:C) (TLR3) 또는 CpG ODN (TLR9)의 존재하에 이 화합물과 함께 배양하였다(도 4e, f, g). 결과는 TAC5-a가 용량 의존적으로 TLR3-, TLR7-, TLR8- 및 TLR9-매개 TNF- α 또는 IL-6 분비를 유의하게 억제함을 나타내었다. 이것은 TAC5-a가 엔도솜 TLR 활성화의 잠재적 차단제임을 시사한다.

[263]

[264] 실시예 4: 건선 및 SLE 유사 질병 모델에 대한 TAC5-a의 효과

[265] 건선 마우스모델 및 SLE 마우스모델에서 TAC5-a의 치료효능을 평가하였다. 건선은 6-7주된 C57BL/6 마우스에서 6일 연속 면도된 등 피부에 42 mg IMQ 크림 (5%)을 국소 도포하여 유도하였다(도 5a). TAC5-a를 50, 100 및 200 nmol/g의 용량으로 매일 주사하였고 중증도에 대한 영향을 분석하였다. TAC5-a-처리 마우스의 등 피부에서 염증 정도의 역전이 분명하게 나타났으나(도 5b), 화학 요법 약물인 메토틱렉세이트(MTX)의 영향보다 상대적으로 약했다. PASI(Psoriasis Area and Severity Index, 건선 영역 및 중증도 지수)를 사용한 점수는 PASI 점수가 치료 4일째에 8.0 이상에서 치료 5일째에 4.0 미만으로 크게

감소함을 나타낸다(도 5c). 따라서, TAC5-a 처리는 비장 비대를 적당히 예방하였으며(도 5d), 이는 치료군의 체중 동역학과 직접 상관 관계가 있다(도 5e).

- [266] 마우스 등쪽 병변의 피부 샘플에 대하여 조직학적 분석 및 면역화학 염색을 수행하였다. 샘플을 4% 파라 포름알데히드 용액으로 고정시킨 후에 파라핀에서 포매시키고 유리 슬라이드 상에서 7 μ m로 절단하였다. 절편을 헤마톡실린과 에오신(H & E)으로 염색하여 진피와 표피의 두께를 측정하였다. Leica LAS X Hardware Configurator (Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Germany)를 사용하여 Leica DMI8 형광 현미경으로 피부의 두께를 측정하였다. IMQ 매개 피부 염증은 CD68 (ab31630, 1:200 희석)을 인식하는 1차 항체를 대 식세포 마커로 사용하여 면역조직화학법(IHC)에 의해 평가하였다. TAC5-a와 MTX (양성 대조군) 그룹의 표피와 진피의 두께를 확인한 결과 치료군에서 유사한 정도의 치료효과를 관찰하였다(도 5f). 각 그룹의 피부 병변의 조직 병리학적 변화를 관찰하기 위해 IMQ로 유도된 건선 마우스에서 표피(노란색 화살표)와 진피(녹색 화살표)의 두께를 평가하기 위해 스킨을 헤마톡실린과 에오신(H & E)으로 염색하였다(도 5g). 각 군의 피부 병변의 면역 조직 화학적 분석은 CD68을 인식하는 1차 항체를 사용하여 수행되었다. TAC5-a는 CD68 (갈색)의 발현을 효과적으로 감소시켰다(도 5h). SLE 질병 모델에 대한 TAC5-a의 치료 효과도 외관상 또는 림프절의 부풀었던 크기가 감소함으로 명확하게 관찰할 수 있었다(도 6a).

[267]

[268] 정량 실시간 PCR (qRT-PCR)

- [269] 림프절, 비장 및 신장에서 특정 유전자의 발현 수준을 확인하기 위해 qRT-PCR 분석하였다. TRI 시약(Sigma-Aldrich, Co.)를 사용하여 16주령 생쥐의 림프절, 비장 및 신장에서 총 RNA를 분리하였다. RNA는 SYBR green 기반(Enzo Life Sciences, Inc., Farmingdale, NY, USA)을 사용하여 qRT-PCR에 적용하였다. 마커 유전자에 대한 하기 프라이머를 사용하였다: mTLR7, 5'-ATG TGG ACA CGG AAG AGA CAA-3' 및 5'-GGT AAG GGT AAG ATT GGT G-3'; mTLR9, 5'- ATG GTT CTC CGT CGA AGG ACT-3' 및 5'-GAG GCT TCA GCT CAC AGG G-3'; mIL-6, 5'-GAG GAT ACC ACT CCC AAC AGA CC-3' 및 5'-AAG TGC ATC ATC GTT GTT CAT ACA-3'; mMyd88, 5'-CAC CTG TGT CTG GTC CAT TG-3' 및 5'-CTG TTG GAC ACC TGG AGA CA-3'; mIL-17, 5'-GCT CCA GAA GGC CCT CAG A-3' 및 5'-AGC TTT CCC TCC GCA TTG A-3'; mGAPDH, 5'-CTC AAC ACG GGA AAC CTC AC-3' 및 5'-CGC TCC ACC AAC TAA GAA CG-3'(Bioneer, Daejeon, Korea). 정량된 개별 RNA 발현 수준을 GAPDH에 대해 표준화하고 상응하는 야생형 마우스에 상대적인 RNA 발현 수준으로 나타내었다.

- [270] 전신 자가면역에 대한 TAC5-a의 치료 잠재력은 MARC/lpr 마우스를 사용하여 10 nmol/g의 TAC5-a(1% 디메틸설폭사이드[DMSO]에 용해)의 일일 투여량을 11일 동안 복강내 주사하여 추가로 확인하였다. 이 억제제는 명확하게 마우스

림프 증식에 영향을 주었다. TAC5-a-처리 마우스에서 림프구 팽창이 비히클-처리 마우스에서 유의하게 예방되었다(도 6a). 항-dsDNA 자가 항체의 생산은 낮게 유지되었고(도 6b), 혈청 항핵 항체(ANAs)는 억제제로 처리하여 감소하였다(도 6c). 소변에서 알부민(albumin)과 같은 특정 단백질의 검출은 사구체의 염증에 의해 유발되는 사구체 신염(glomerulonephritis, GN)이라 불리는 신장 병리의 표지자 역할을 한다. 도 6d에 나타낸 바와 같이, 소변 알부민의 함량은 TAC5-a 처리에 의해 유의적으로 감소되어 GN 발현에 대한 치료효능을 나타내었다. 다음으로 TAC5-a가 전사 수준에서 림프절, 비장 및 신장에서 특정 유전자의 상대적인 발현 양상에 미치는 영향을 확인하였다. TAC5-a는 림프절에서 TLR7, IL-17 및 IL-6 mRNA 수준이 현저히 감소하였다(도 6e-g). 비장에서의 TLR7, TLR9 및 MyD88 mRNA 발현(도 6h-j); 신장에서는 TLR7과 IL-17의 발현이 관찰되었다(도 6k-l). 이는 도 6a에 나타낸 바와 같이 림프절의 확대방지가 전염증성 사이토카인(proinflammatory cytokines)의 하향 조절에 기인할 수 있음을 의미한다.

[271]

[272] 실시예 5: TLR7/8에서의 TAC5-a 결합 모드의 예측

[273] TAC5-a의 시험관내(*in vitro*) 및 생체내(*in vivo*) 효능을 확인한 후, TLR7 및 TLR8과의 결합방식 및 상호작용 패턴을 예측하였다. 이들 수용체상의 작용제/길항제 결합 위치는 X선 결정학 연구에 의해 잘 정의되어 있다. TAC5-a의 화학 구조는 TLR7 및 TLR8의 대표적인 저에너지 형태로 도킹되었다. 최상위 도킹된 포즈의 분석은 억제제가 두 개의 서브 유닛(도 7a-d) 사이의 측 방향 접합부에 존재하는 공동을 안정적으로 차지하고, 주로 인접한 아미노산과의 소수성 접촉을 형성한다는 것을 확인하였다. 2-아미노 피리딘 고리는 π -상호 작용을 통해 F408과 상호 작용하고, 페닐아민기는 TLR7의 F466, F351 및 F449에 의해 정의된 소수성 영역에 적층된다(도 7e). 유사하게, 2-아미노피리딘 고리는 Y348과 π -스태킹 상호작용 하고 그 아미노기는 TLR8의 N262와 2-A의 수소 결합을 형성한다. 소수성 상호 작용은 또한 TAC5-a의 페닐아민기와 TLR8 잔기, F320 및 F346 사이에서도 관찰되었다(도 7f). 이것은 TAC5-a의 길항 활성이 주로 TLR7/8의 극성-방향족 소분자 결합 공동 내부의 전체 구조를 안정화시키는 소수성 고리에 기인할 수 있음을 나타낸다.

[274]

산업상 이용가능성

[275] 본 발명에 따른 TAC5 및 그 유도체인 TAC5-a 또는 TAC5-c로 표시되는 신규 화합물은 poly(I:C) (TLR3 작용제), IMQ (TLR7 작용제), CL075 (TLR7/8 작용제), R848 (TLR7/8 작용제), TL8 (TLR8 작용제) 또는 CpG ODN (TLR9 작용제)에 의해 유도된 TNF α 의 분비, NF κ B 활성화, I κ B (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cell) 분해, MAPKs (p38, c-Jun N-terminal kinase 및 extracellular

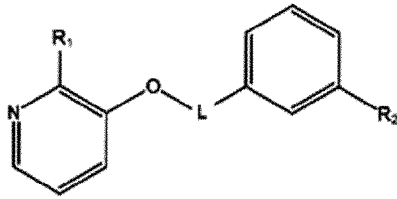
signal-regulated kinase)의 인산화를 차단할 뿐만 아니라 염증성 사이토카인의 생성을 억제함으로써 특히, 전신홍반루푸스 및 건선을 비롯한 TLR3/7/8/9 관련 자가면역 질환과 염증성질환의 예방 또는 치료용 조성물로 탁월한 효과가 있다.

[276]

[277] 이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시 양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

청구범위

- [청구항 1] 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 약학적으로 허용가능한 염.
[화학식 1]



화학식 1에서 L은 단일결합, 치환 또는 비치환된 직쇄형 또는 분지쇄형 알킬렌, 사이클로알킬렌, 할로알킬렌, 아릴렌, 헤테로알킬렌, 헤테로아릴렌, 아릴렌알킬렌, 알킬렌아릴렌, 알킬렌헤테로아릴렌, 헤테로아릴렌알킬렌, 알킬렌 에스테르 또는 알킬렌 아마이드이고, 여기서, 알킬렌은 C_{2-30} , 사이클로알킬렌은 C_{3-30} , 아릴렌은 C_{6-30} 이고, 헤테로알킬렌 또는 헤테로아릴렌은 불소, 산소, 황 및 질소 중에서 선택된 헤테로원자를 함유하며,

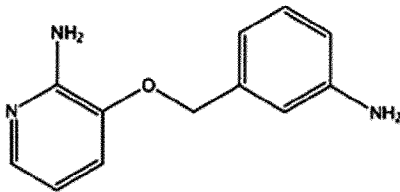
R_1 및 R_2 는 서로 동일하거나 상이하고 각각 독립적으로 수소원자, 직쇄형 또는 분지쇄형 알킬, 아미노, $-NR_3R_4$ (여기서 R_3 및 R_4 는 독립적으로 수소원자, 알킬, 사이클로알킬 또는 아릴로 치환됨), 히드록시, 할로젠, 니트릴기, 니트로기, 시클로알킬, 할로알킬, 알릴, 알콕시, 알킬카보닐, 사이클로알킬카보닐, 아릴카보닐, 알킬아릴카보닐, 알콕시카보닐, 시클로알콕시, 아릴, 헤테로아릴, 헤테로사이클로알킬, 아릴옥시, 알콕시헤테로아릴, 헤테로아릴옥시알킬, 알킬헤테로아릴, 알킬아릴, 아릴알킬, 알킬헤테로아릴, 알킬에스테르, 알킬아미드 또는 아크릴이고, 여기서, 알킬 또는 알콕시는 C_{1-30} , 사이클로알킬은 C_{3-30} , 알릴은 C_{2-30} , 아릴은 C_{6-30} 이고, 헤테로아릴 및 헤테로사이클로알킬은 불소, 산소, 황 및 질소 중에서 선택된 헤테로원자를 함유한다.

- [청구항 2] 제1항에 있어서, 상기 L, R_1 및 R_2 이 하기와 같은 치환기인 것을 특징으로 하는 화합물 또는 약학적으로 허용가능한 염.

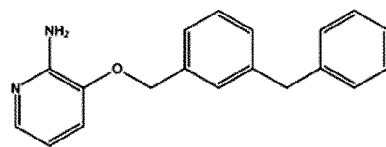
L	R ₁	R ₂
알킬렌	$-NR_3R_4$ (여기서 R ₃ 및 R ₄ 는 서로 동일하거나 상이하며 독립적으로 수소 원자, 알킬, 사이클로알킬 또는 아릴임)	$-NR_3R_4$ (여기서 R ₃ 및 R ₄ 는 서로 동일하거나 상이하며 독립적으로 수소 원자, 알킬, 사이클로알킬 또는 아릴임)
		알킬아릴
		수소
	헤테로아릴렌	수소
알킬렌아마이드	$-NR_3R_4$ (여기서 R ₃ 및 R ₄ 는 서로 동일하거나 상이하며 독립적으로 수소 원자, 알킬, 사이클로알킬 또는 아릴임)	수소

[청구항 3] 제1항에 있어서, 화학식 1-1 내지 1-9 중에서 선택된 하나인 것을 특징으로 하는 화합물 또는 약학적으로 허용가능한 염.

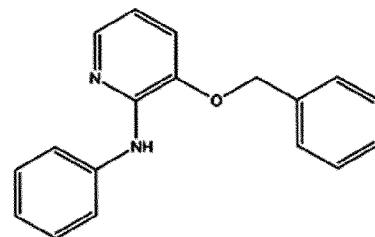
[화학식 1-1]



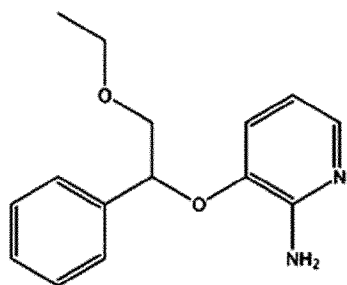
[화학식 1-2]



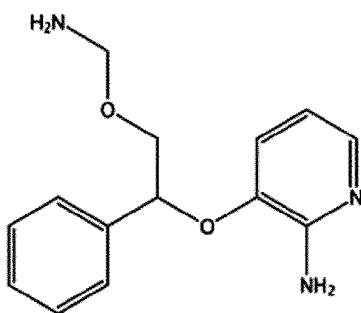
[화학식 1-3]



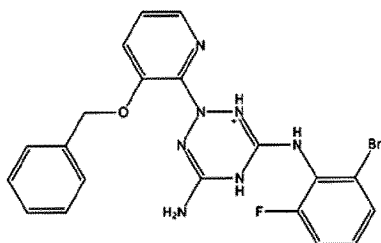
[화학식 1-4]



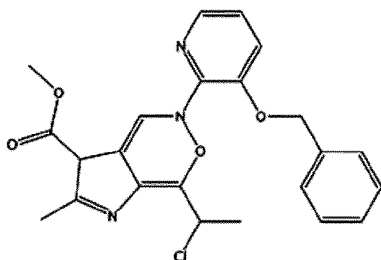
[화학식 1-5]



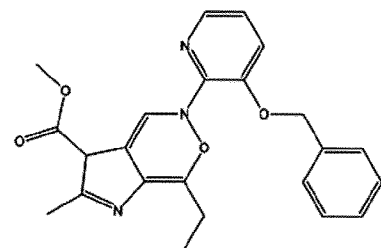
[화학식 1-6]



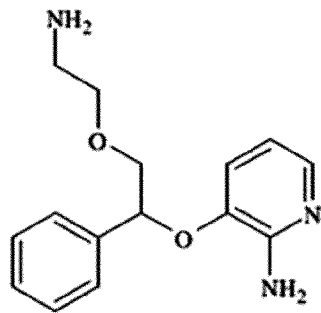
[화학식 1-7]



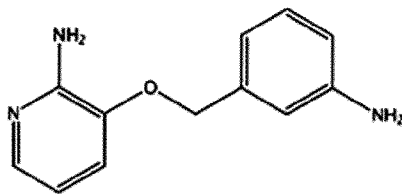
[화학식 1-8]



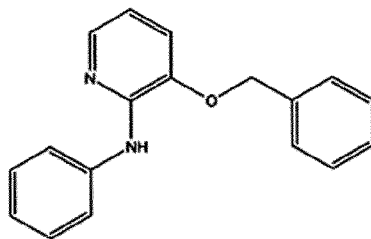
[화학식 1-9]



- [청구항 4] 하기 단계를 포함하는 화학식 1-1로 표시되는 화합물의 제조방법:
 (a) 2-아미노-3-하이드록시피리딘과 세슘 카보네이트가 용해된 용액을 3-니트로벤질브로마이드를 반응시켜 3-((3-니트로벤질)옥시)-피리딘-2-아민을 생성하는 단계; 및
 (b) 상기 3-((3-니트로벤질)옥시)-피리딘-2-아민과 SnCl_2 와 반응시켜 3-((3-아미노벤질)옥시)피리딘-2-아민을 생성하는 단계.
 [화학식 1-1]



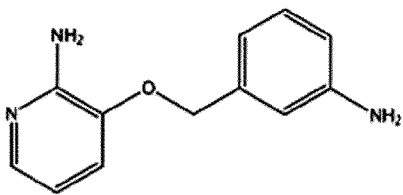
- [청구항 5] 2-아미노-3-벤질옥시피리딘, 요오드화 구리(I), 탄산칼륨, $\text{N,N}'$ -디메틸에틸렌디아민이 용해된 용액과 브로모벤젠을 반응시켜 3-(벤질옥시)-N-페닐피리딘-2-아민을 합성하는 단계를 포함하는 화학식 1-3으로 표시되는 화합물의 제조방법.
 [화학식 1-3]



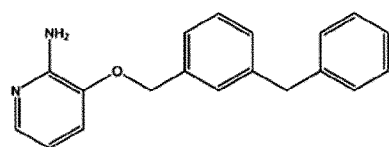
- [청구항 6] 제1항 내지 제5항 중 어느 한 항의 화합물 또는 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 자가면역 질환 또는 염증성 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물.
 [청구항 7] 제6항에 있어서, 화학식 1-1 내지 1-9 중에서 선택된 하나인 것을 특징으로 하는 자가면역 질환 또는 염증성 질환 예방 또는 치료용 약학

조성물:

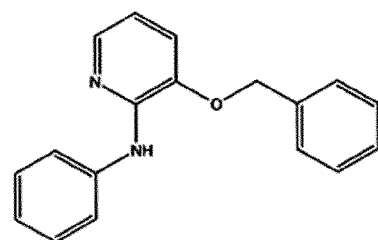
[화학식 1-1]



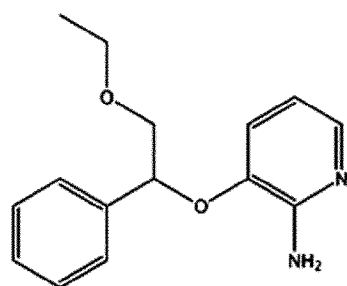
[화학식 1-2]



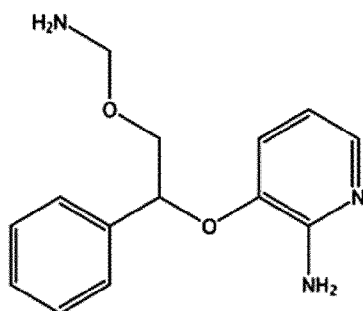
[화학식 1-3]



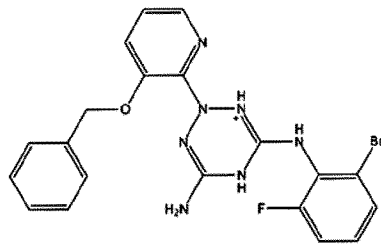
[화학식 1-4]



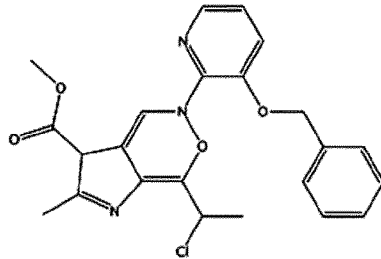
[화학식 1-5]



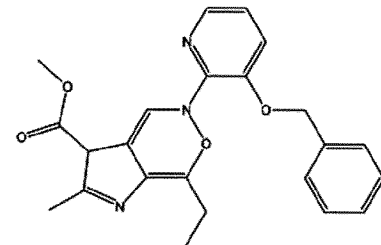
[화학식 1-6]



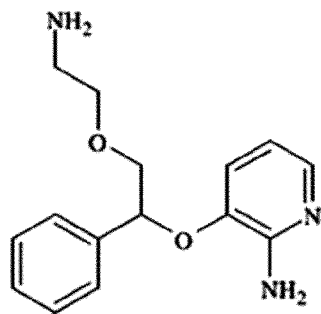
[화학식 1-7]



[화학식 1-8]



[화학식 1-9]

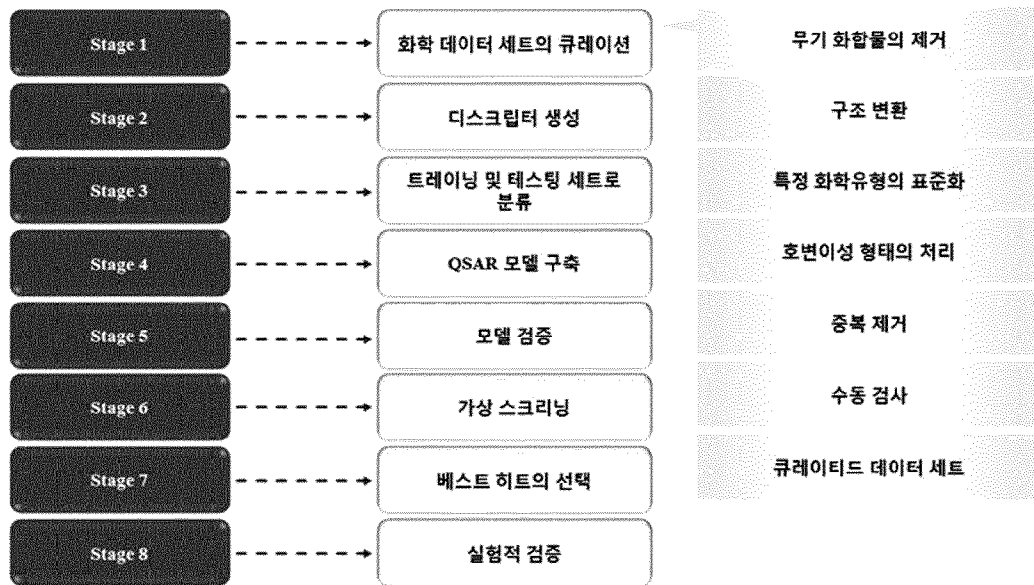


- [청구항 8] 제6항에 있어서, 상기 자가면역 질환 또는 염증성 질환은 건선, 전신홍반 루푸스(SLE), 건선, 피부발진, 광과민성, 관절염, 구강궤양, 신장염, 혈구감소증, 혈관염, 장막염, 염증성 장질환(IBD), 당뇨, 다발성 경화증, 피부 경화증 및 천포창(pemphigus), 아토피피부염, 관절염, 요도염, 방광염, 동맥경화증, 알러지 질환, 비염, 천식, 급성통증, 만성통증, 치주염, 치은염, 통풍, 심근경색, 울혈성 심부전, 고혈압, 협심증, 위궤양, 뇌경색, 다운증후군, 다발성 경화증, 비만, 당뇨, 치매, 우울증,

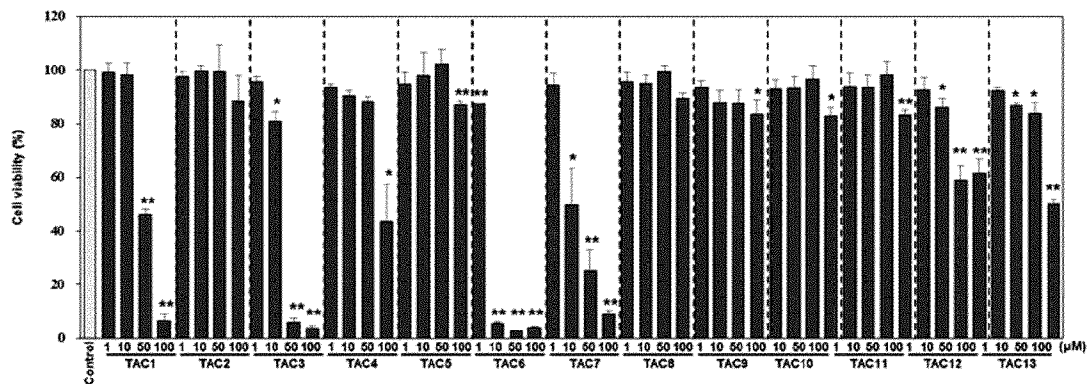
정신분열증, 결핵, 수면장애, 패혈증, 화상, 췌장염, 파킨슨병 및
뇌졸중으로 구성된 군에서 선택된 질환인 것을 특징으로 하는 자가면역
질환 또는 염증성 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물:

[청구항 9] 제6항에 있어서, 약학적으로 허용되는 담체, 부형제 또는 희석제를
추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 자가면역 질환 또는 염증성 질환
예방 또는 치료용 약학 조성물.

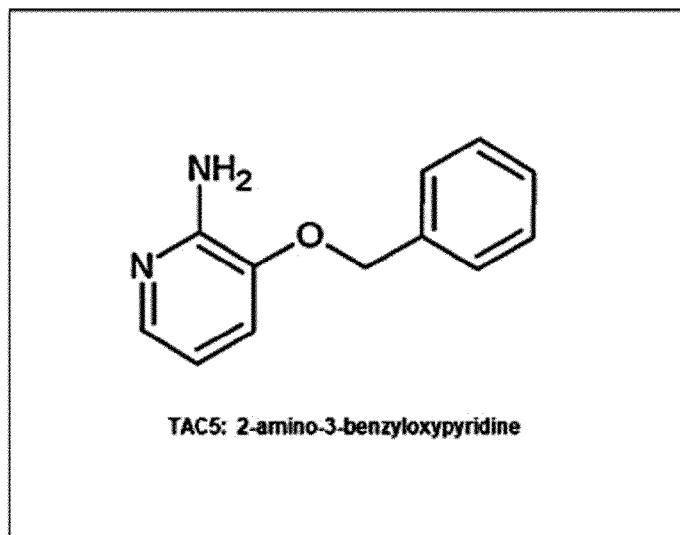
[도1]



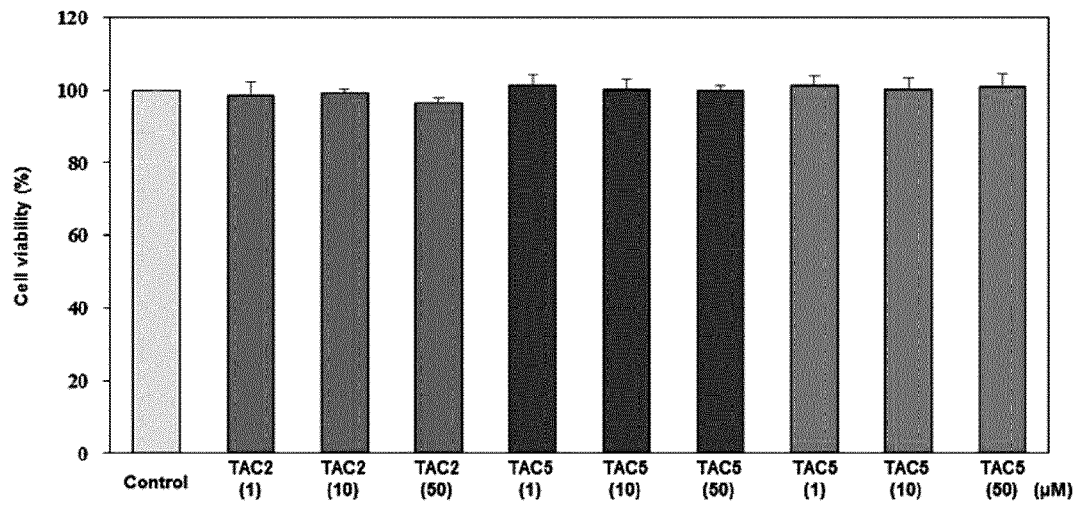
[도2a]



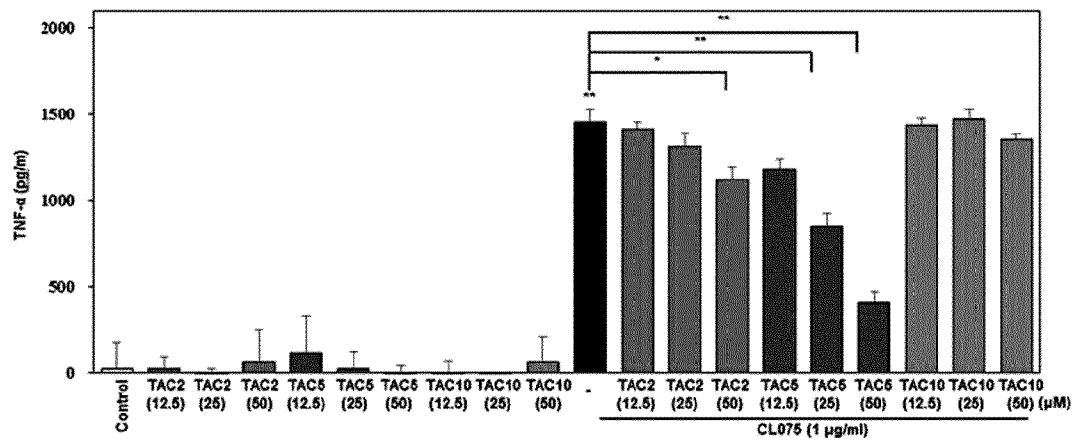
[도2b]



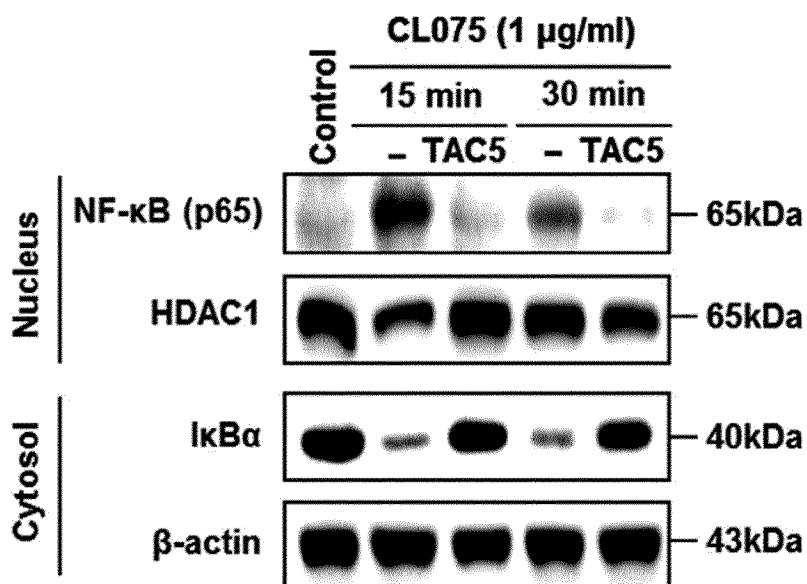
[도2c]



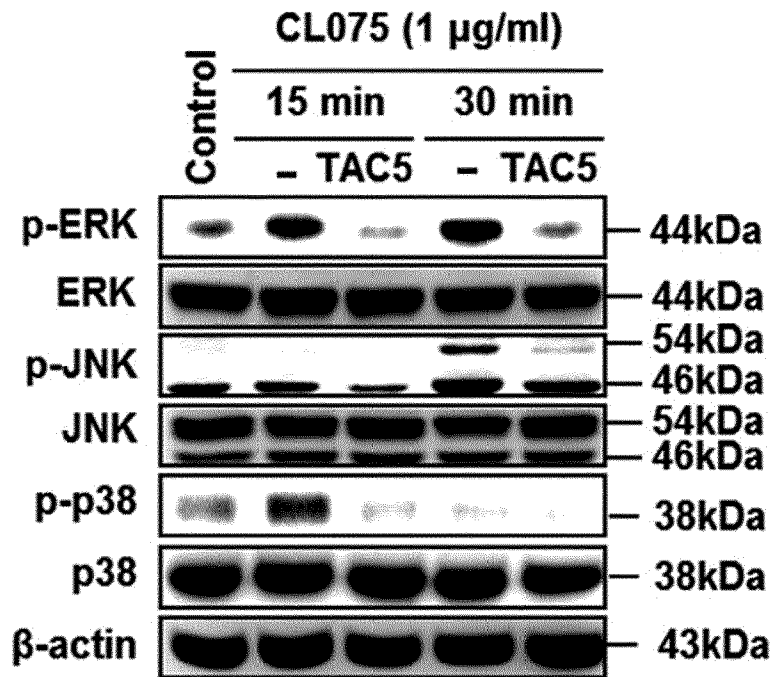
[도2d]



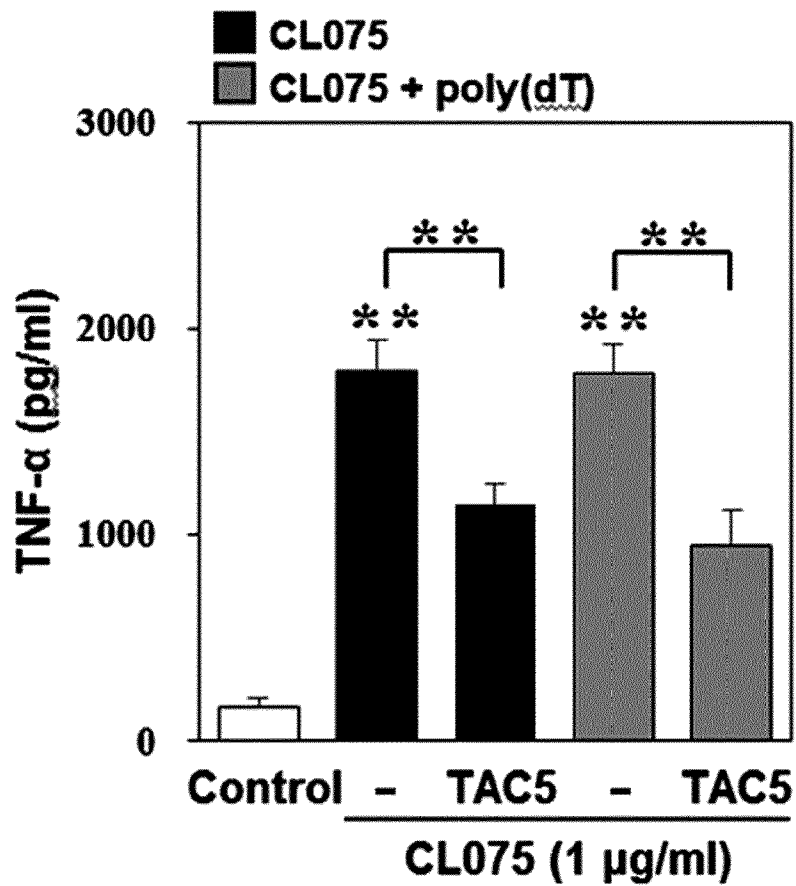
[도3a]



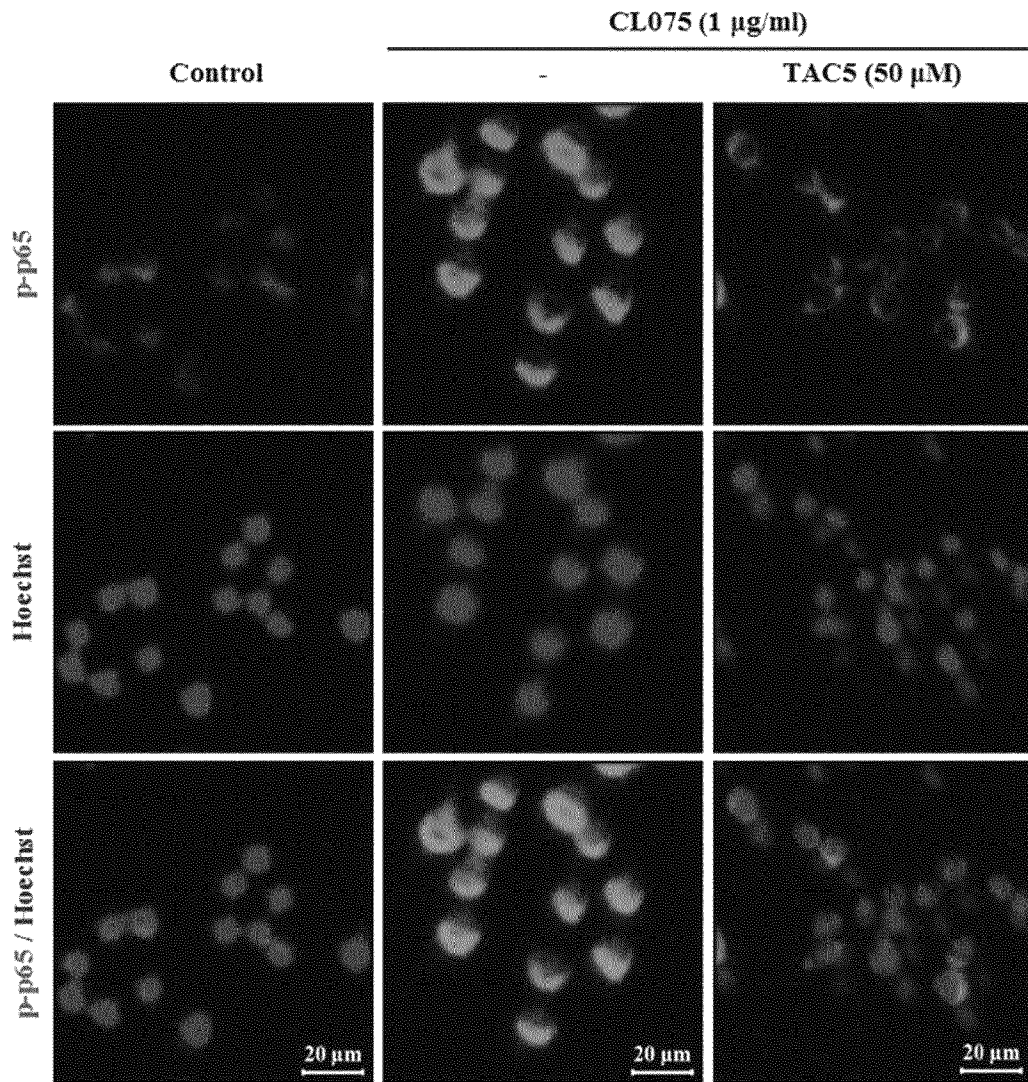
[도3b]



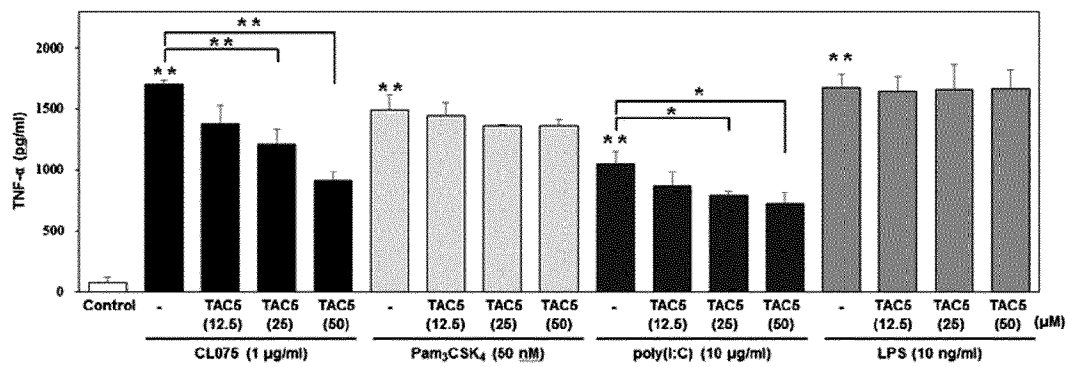
[도3c]



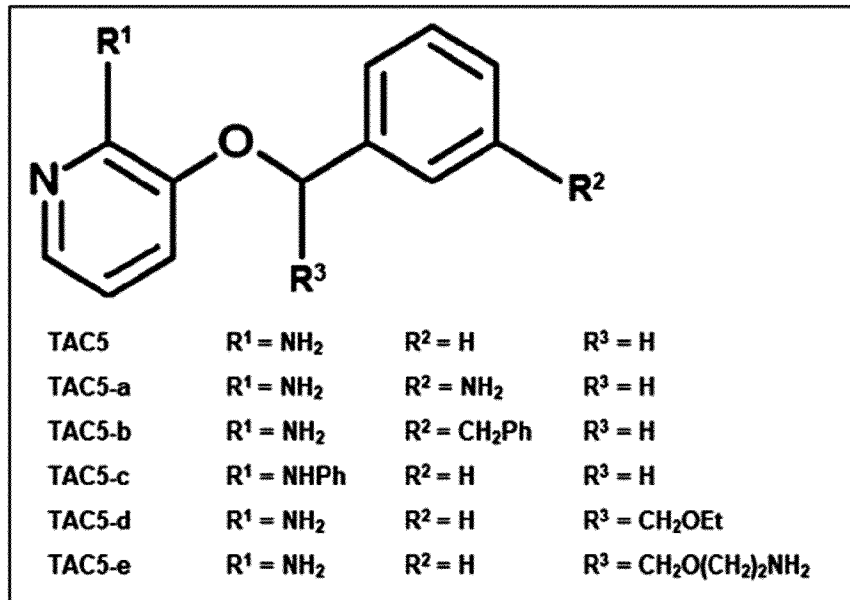
[도3d]



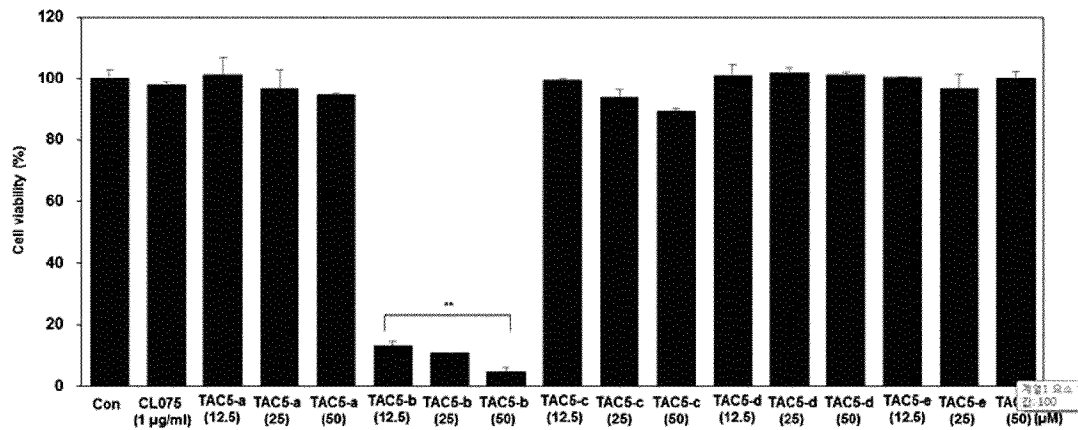
[도3e]



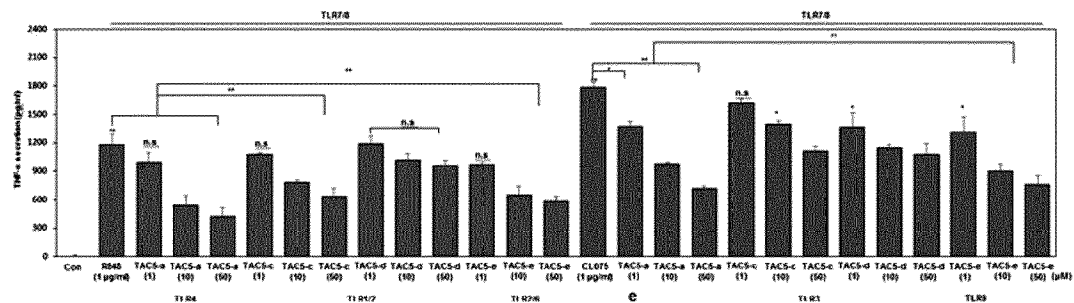
[도4a]



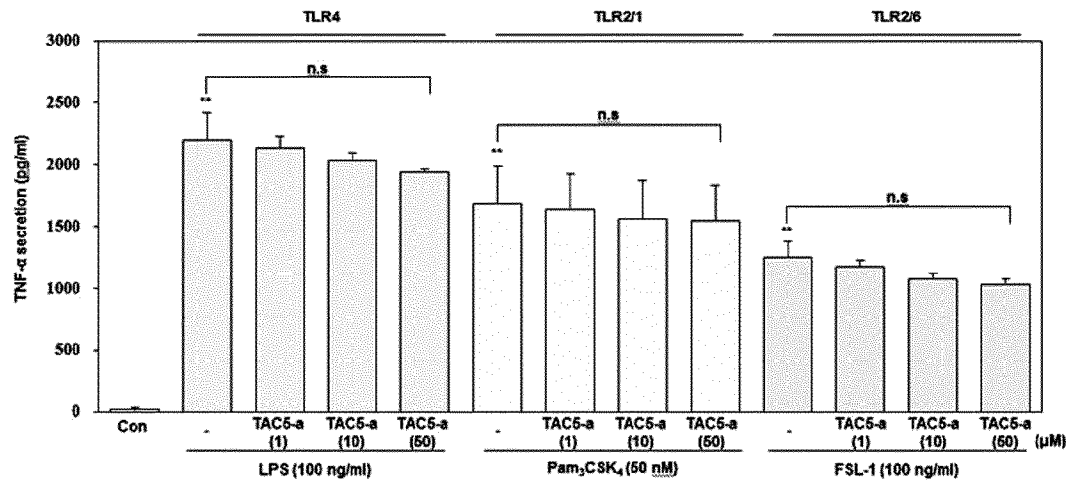
[도4b]



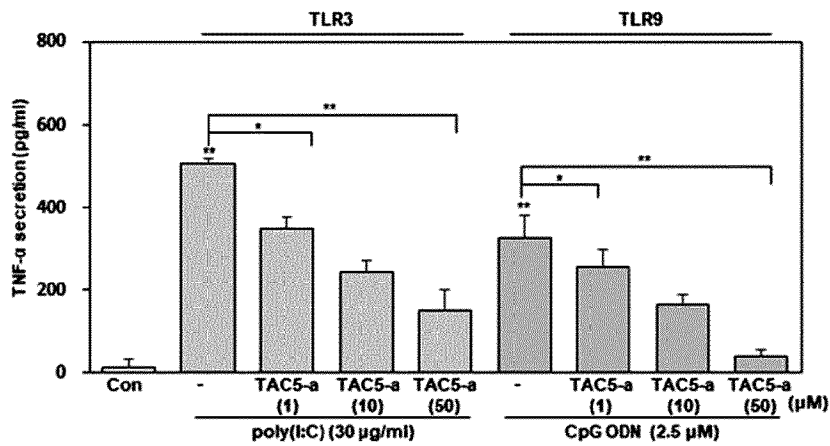
[도4c]



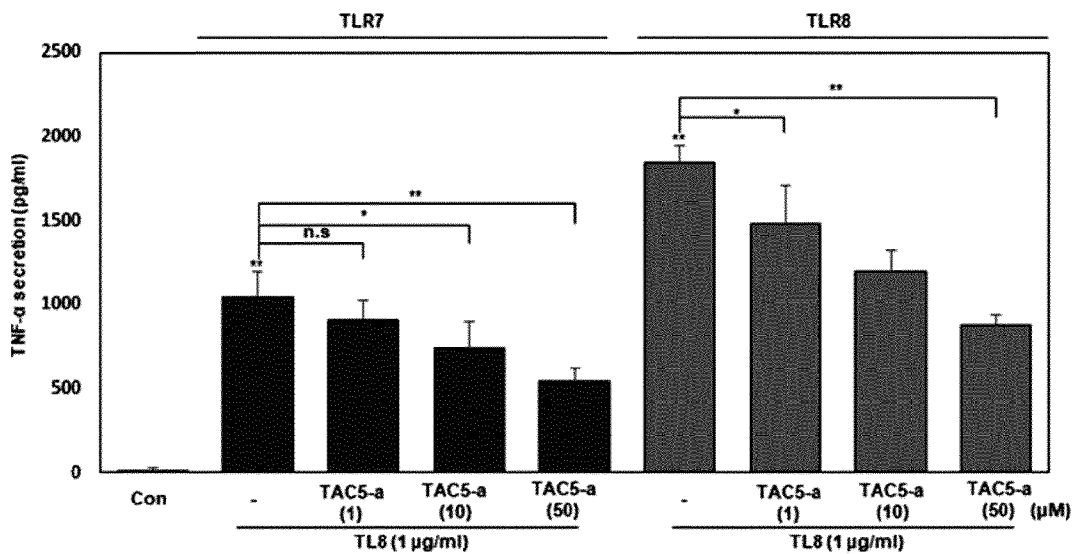
[도4d]



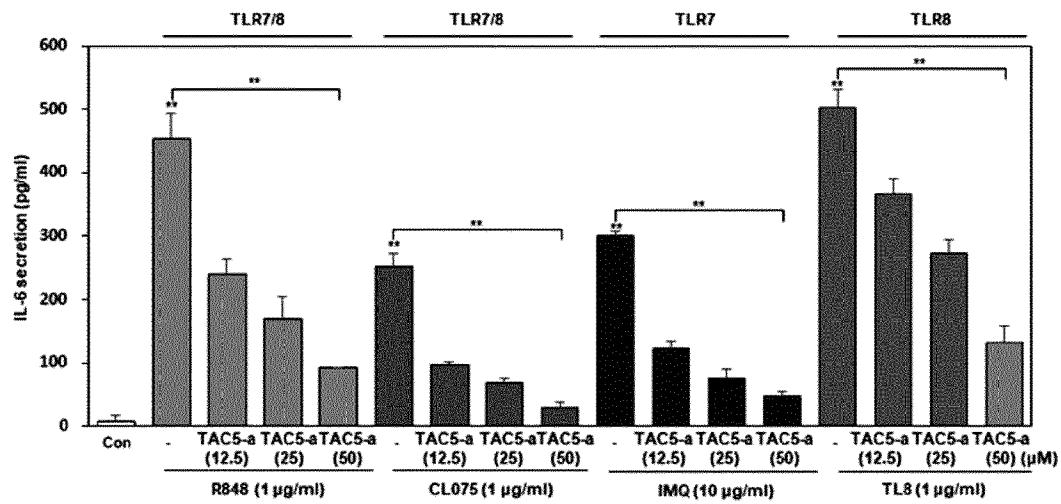
[도4e]



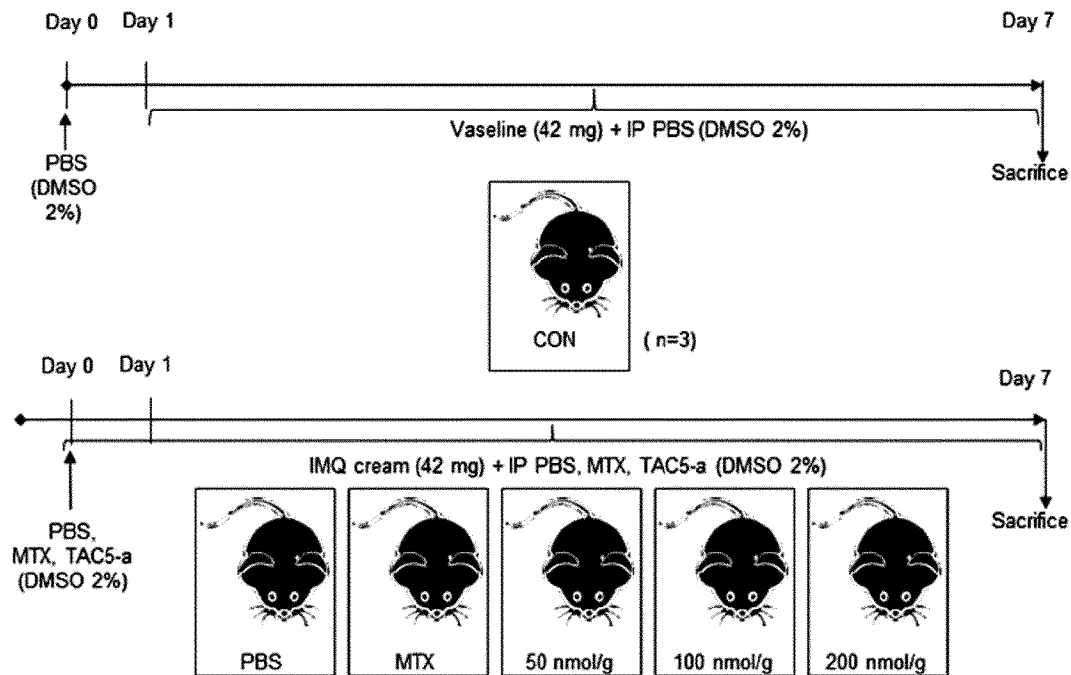
[도4f]



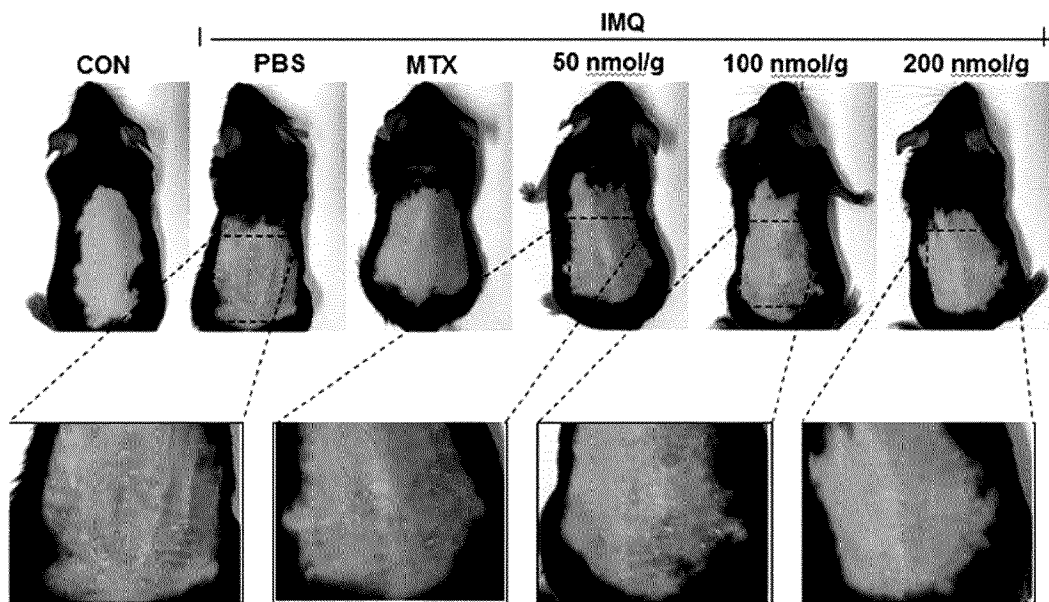
[도4g]



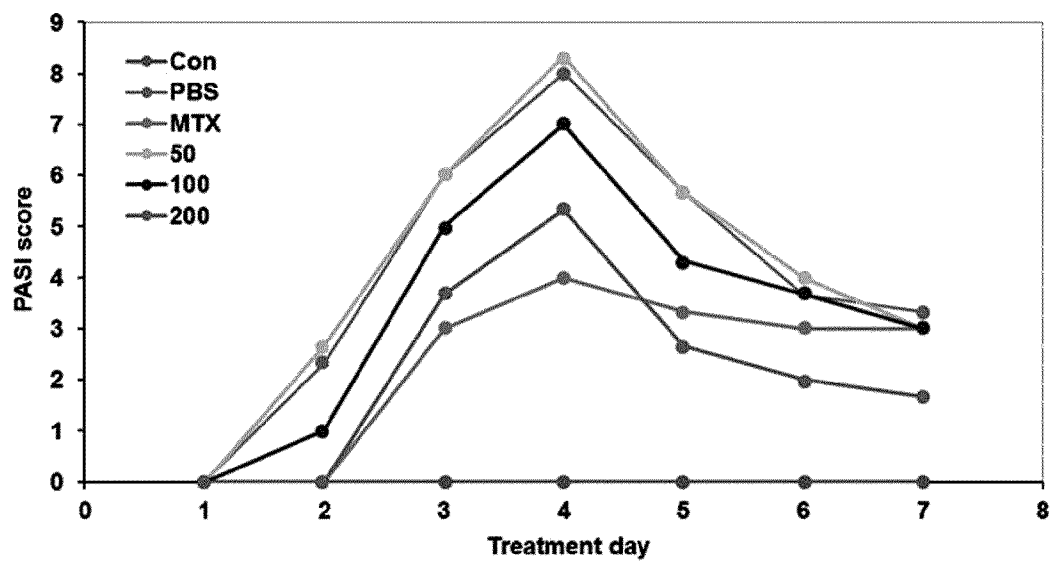
[도5a]



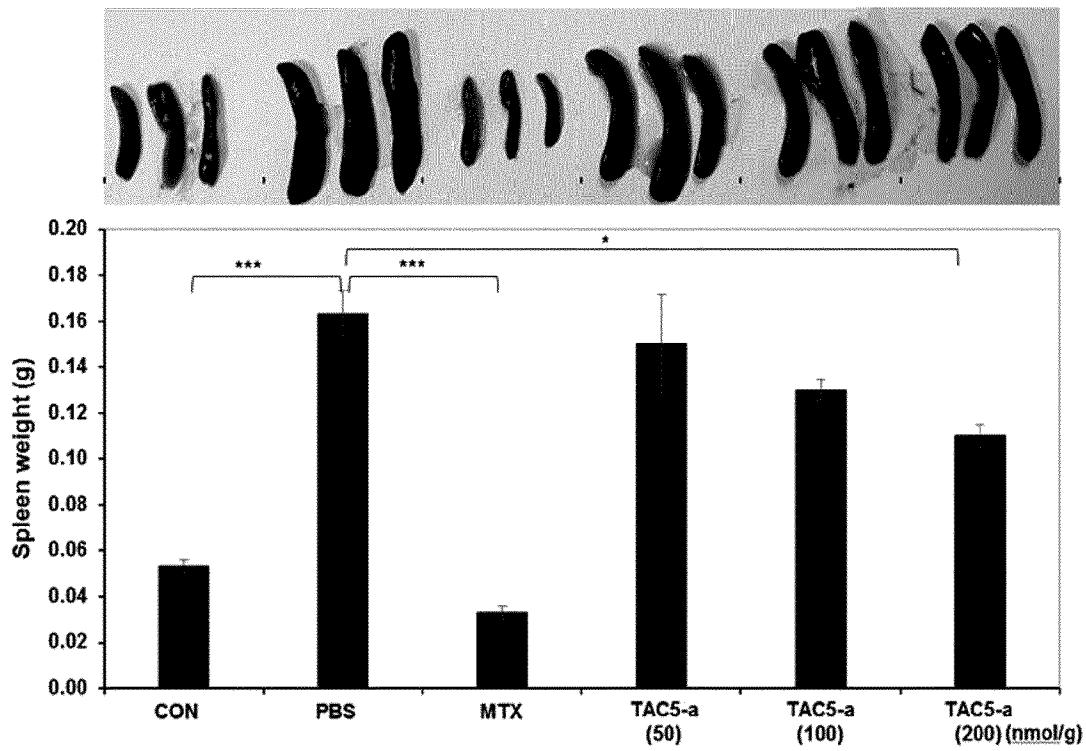
[도5b]



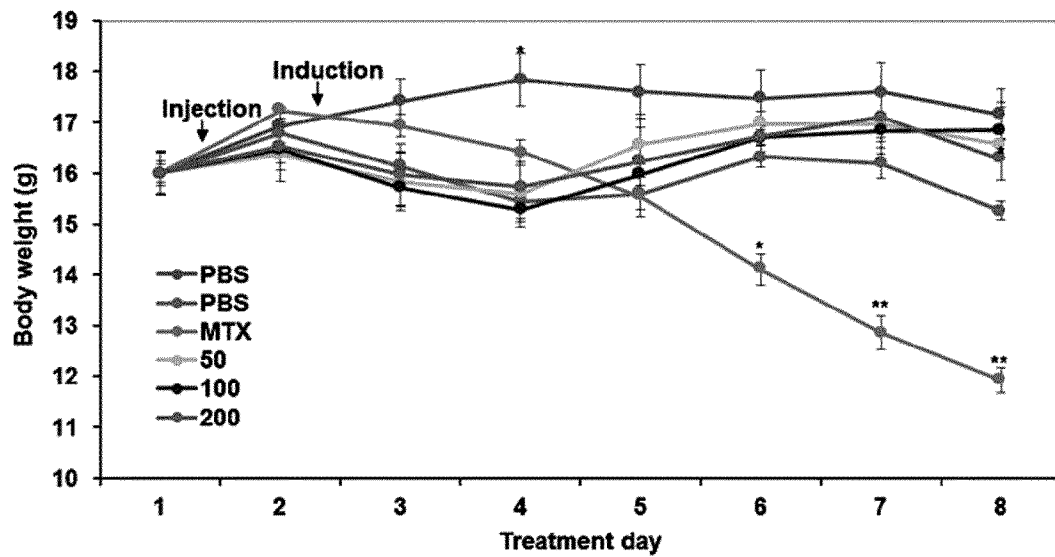
[도5c]



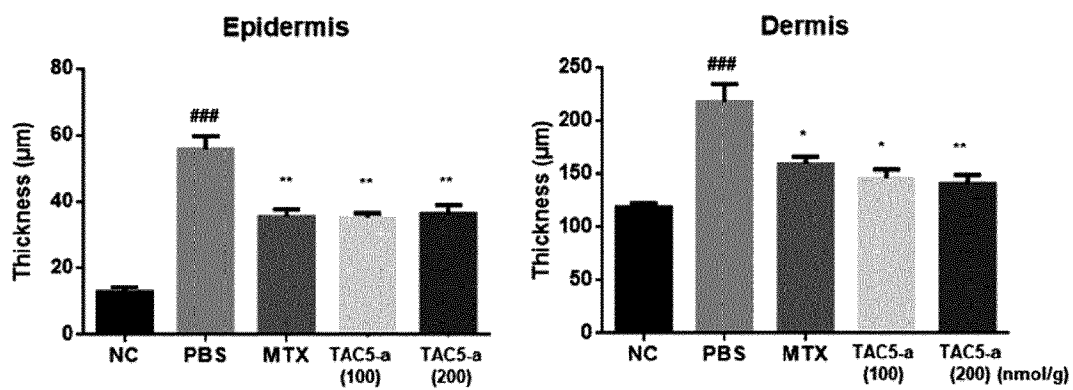
[도5d]



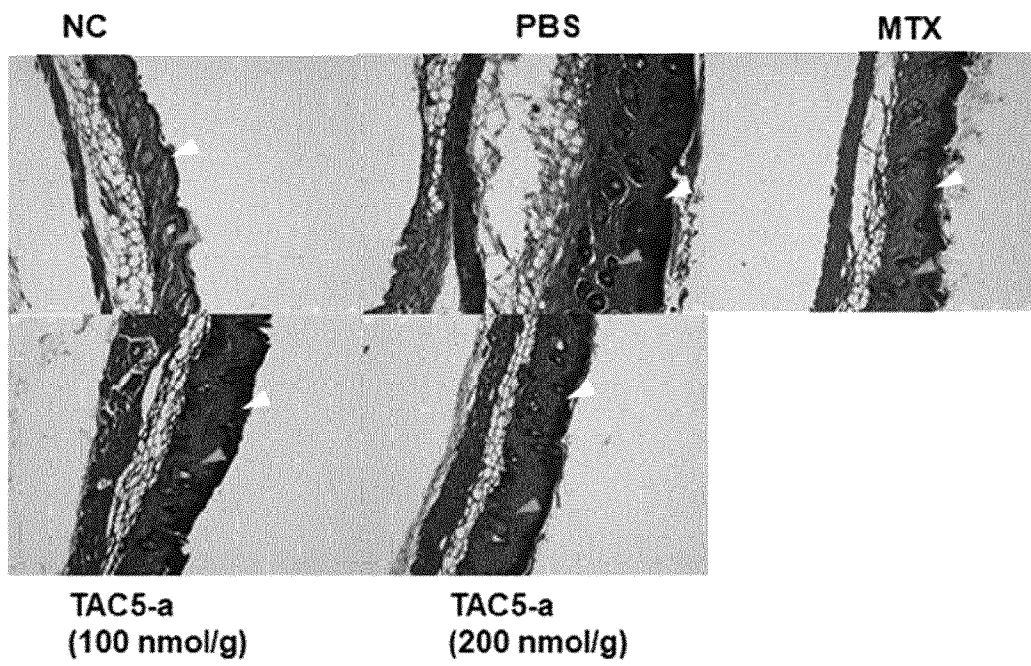
[도5e]



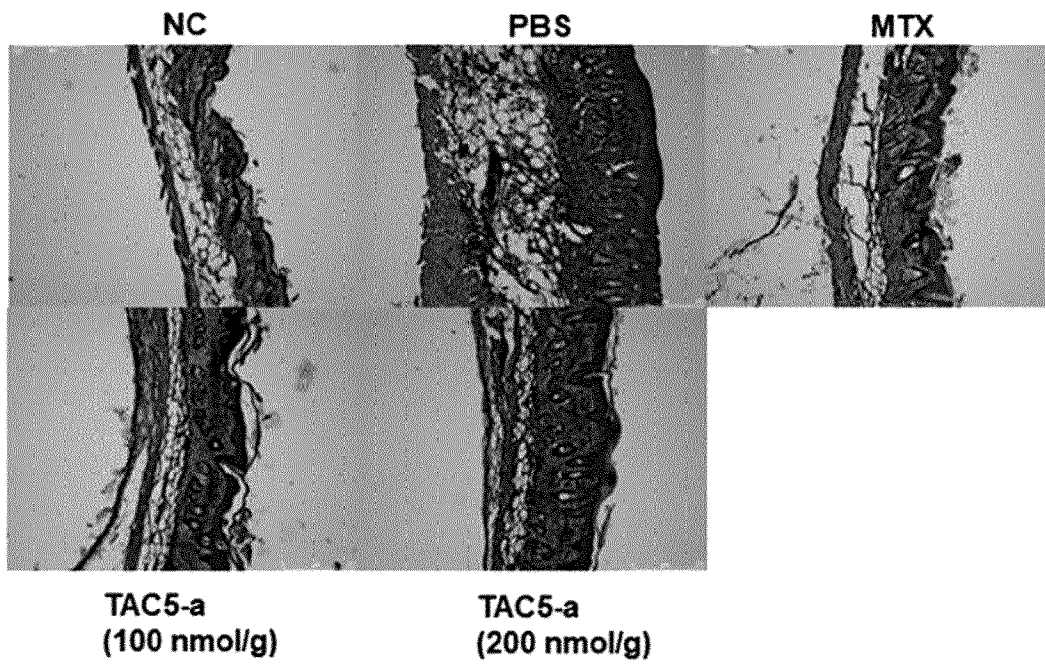
[도5f]



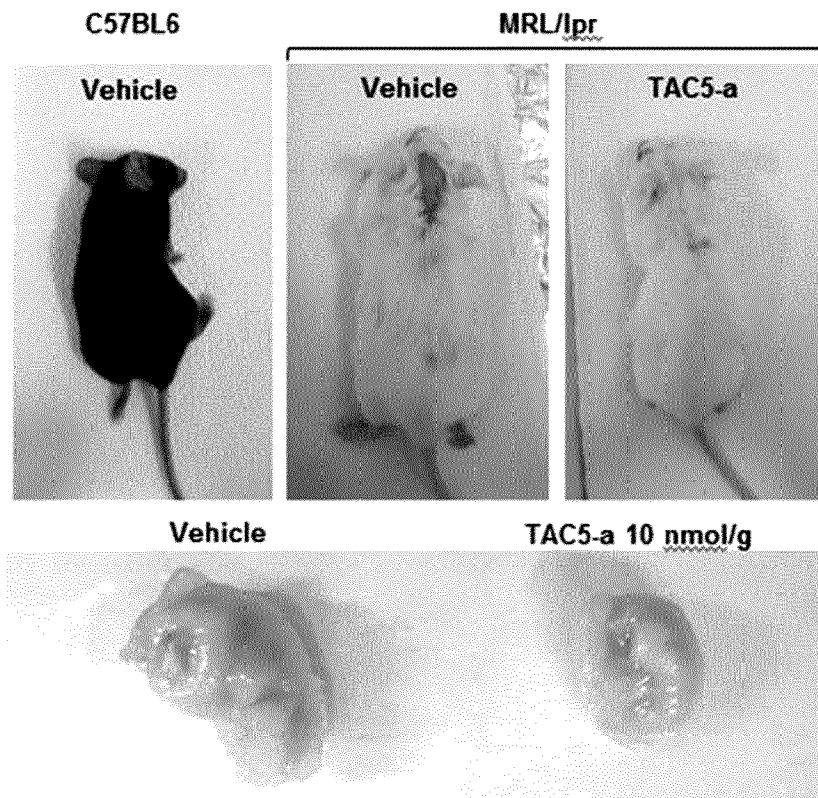
[도5g]



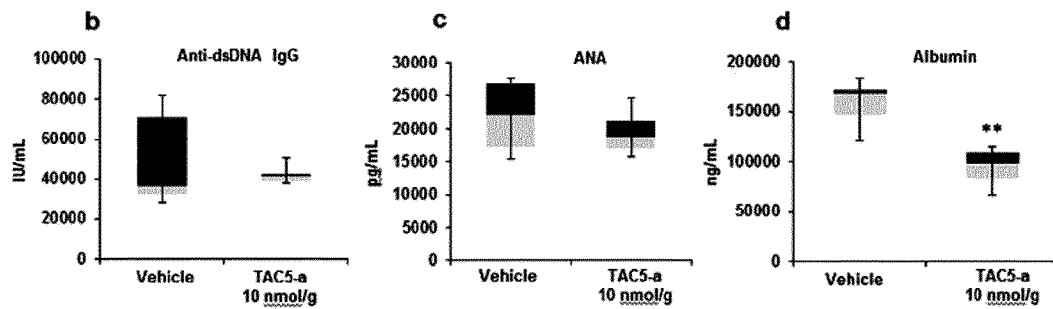
[도5h]



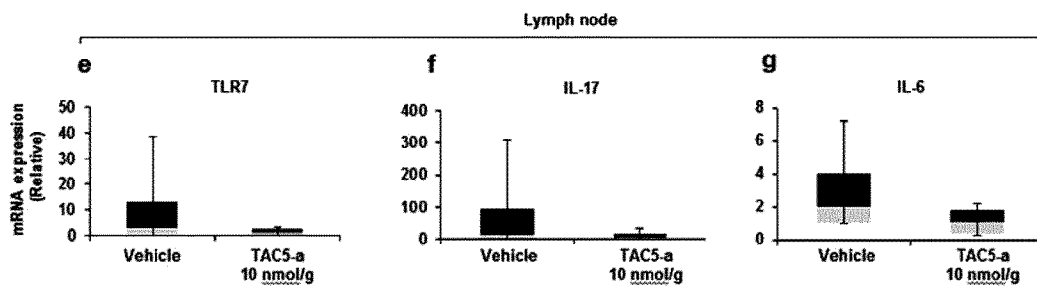
[도6a]



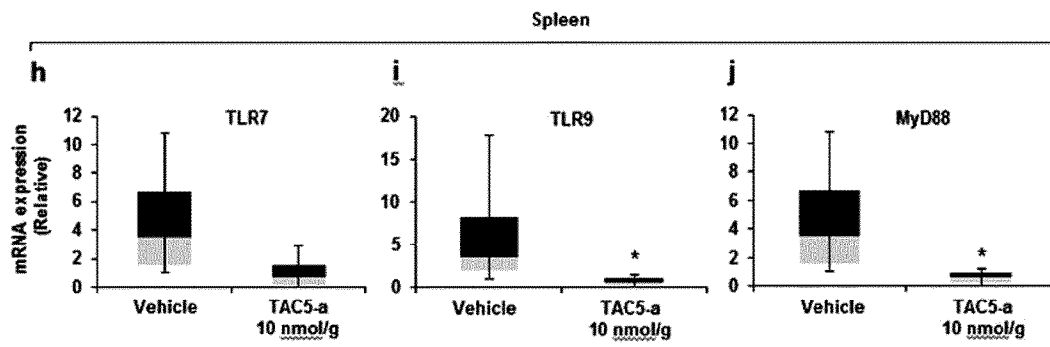
[도6bcd]



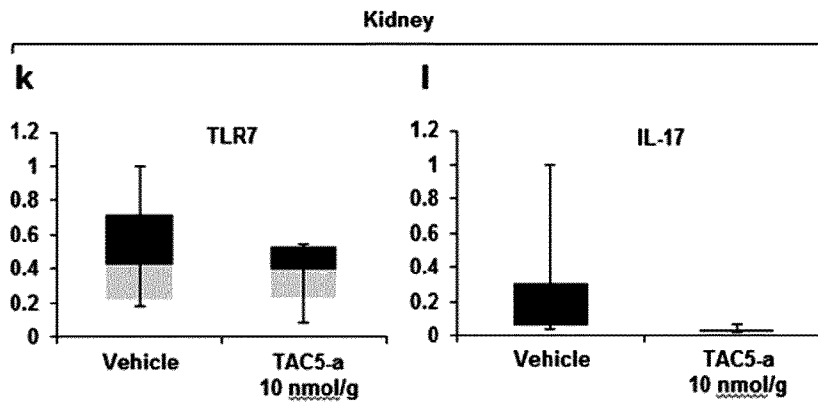
[도6efg]



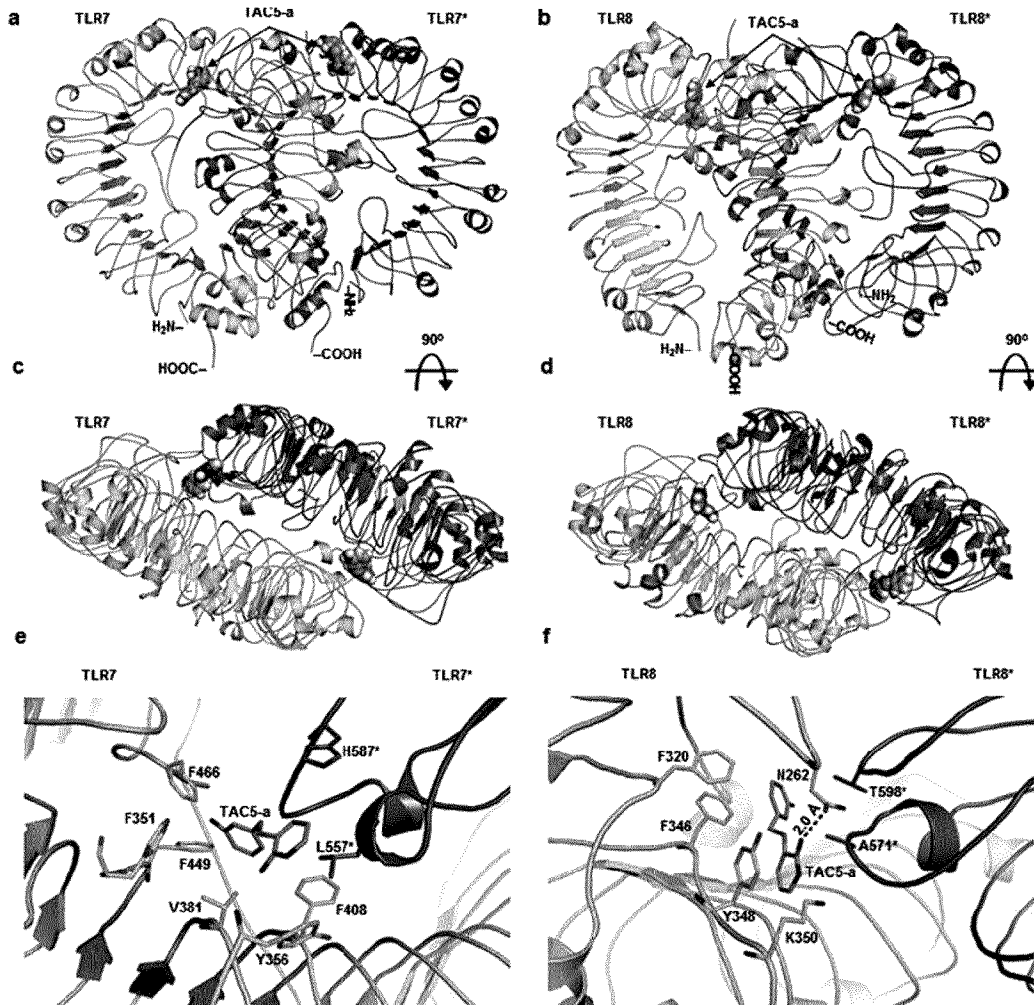
[도6hij]



[도6kl]



[도7]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2019/005978

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07D 213/72(2006.01)i, A61K 31/44(2006.01)i, A61P 37/00(2006.01)i, A61P 29/00(2006.01)i

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07D 213/72; A61K 31/4412; A61K 31/4439; A61K 31/444; A61P 25/16; A61P 25/28; A61P 35/00; C07D 213/73; C07D 401/04; A61P 37/00; A61P 29/00

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), STN (Registry, Caplus, Casreact, Marpat) & Key words: toll-like receptor, autoimmune disease, inflammatory disease

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2004-004720 A1 (ASTEX TECHNOLOGY LIMITED) 15 January 2004 See abstract; pages 67, 68; claims 1, 28-30; and table 1.	1-4,6-9
Y		5
Y	RAO, H. et al. Copper-Catalyzed Arylation of Amines Using Diphenyl Pyrrolidine-2-phosphonate as the New Ligand. The Journal of Organic Chemistry. 2005, vol. 70, pages 8107-8109 See page 8107, right column; and tables 1-3.	5
X	WO 2005-002673 A1 (ASTEX TECHNOLOGY LIMITED) 13 January 2005 See abstract; compound 1; pages 8, 77-78; the claims; and table 1.	1-4,6-9
X	WO 2009-044160 A1 (SENEXIS LIMITED) 09 April 2009 See abstract; and claims 1-10.	1-3,6-9
A	WO 2017-141927 A1 (TAISHO PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 24 August 2017 See the entire document.	1-9



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

16 AUGUST 2019 (16.08.2019)

Date of mailing of the international search report

16 AUGUST 2019 (16.08.2019)

Name and mailing address of the ISA/KR

Korean Intellectual Property Office
Government Complex Daejeon Building 4, 189, Cheongsu-ro, Seo-gu,
Daejeon, 35208, Republic of Korea

Facsimile No. +82-42-481-8578

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2019/005978

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
WO 2004-004720 A1	15/01/2004	EP 1545523 A1 JP 2005-538975 A US 2006-0063782 A1	29/06/2005 22/12/2005 23/03/2006
WO 2005-002673 A1	13/01/2005	None	
WO 2009-044160 A1	09/04/2009	CN 101888877 A EP 2205317 A1 JP 2010-540609 A US 2010-0298325 A1	17/11/2010 14/07/2010 24/12/2010 25/11/2010
WO 2017-141927 A1	24/08/2017	CN 108602796 A EP 3418276 A1 JP 6311845 B2 KR 10-2018-0109871 A	28/09/2018 26/12/2018 18/04/2018 08/10/2018

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

C07D 213/72(2006.01)i, A61K 31/44(2006.01)i, A61P 37/00(2006.01)i, A61P 29/00(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

C07D 213/72; A61K 31/4412; A61K 31/4439; A61K 31/444; A61P 25/16; A61P 25/28; A61P 35/00; C07D 213/73; C07D 401/04; A61P 37/00; A61P 29/00

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 내부검색 시스템), STN (Registry, Caplus, Casreact, Marpat) & 키워드: 톨-유사수용체 (toll-like receptor), 자가면역 질환 (autoimmune disease), 염증성질환 (inflammatory disease)

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X	WO 2004-004720 A1 (ASTEX TECHNOLOGY LIMITED) 2004.01.15 요약; 페이지 67, 68; 청구항 1, 28-30; 및 표 1 참조.	1-4, 6-9
Y		5
Y	RAO, H. 등, "Copper-catalyzed arylation of amines using diphenyl pyrrolidine-2-phosphonate as the new ligand", The Journal of Organic Chemistry, 2005, 70권, 페이지 8107-8109 페이지 8107, 우컬럼; 및 표 1-3 참조.	5
X	WO 2005-002673 A1 (ASTEX TECHNOLOGY LIMITED) 2005.01.13 요약; 화합물 1; 페이지 8, 77-78; 청구항; 및 표 1 참조.	1-4, 6-9
X	WO 2009-044160 A1 (SENEXIS LIMITED) 2009.04.09 요약; 및 청구항 1-10 참조.	1-3, 6-9
A	WO 2017-141927 A1 (TAISHO PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 2017.08.24 전체 문헌 참조.	1-9

☐ 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

"T" 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌

"E" 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌

"X" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.

"L" 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌

"Y" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.

"O" 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌

"&" 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

"P" 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

국제조사의 실제 완료일

2019년 08월 16일 (16.08.2019)

국제조사보고서 발송일

2019년 08월 16일 (16.08.2019)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소

대한민국 특허청
(35208) 대전광역시 서구 청사로 189,
4동 (둔산동, 정부대전청사)

팩스 번호 +82-42-481-8578

심사관

이기철

전화번호 +82-42-481-3353



국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
WO 2004-004720 A1	2004/01/15	EP 1545523 A1 JP 2005-538975 A US 2006-0063782 A1	2005/06/29 2005/12/22 2006/03/23
WO 2005-002673 A1	2005/01/13	없음	
WO 2009-044160 A1	2009/04/09	CN 101888877 A EP 2205317 A1 JP 2010-540609 A US 2010-0298325 A1	2010/11/17 2010/07/14 2010/12/24 2010/11/25
WO 2017-141927 A1	2017/08/24	CN 108602796 A EP 3418276 A1 JP 6311845 B2 KR 10-2018-0109871 A	2018/09/28 2018/12/26 2018/04/18 2018/10/08