



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2009-0115951  
(43) 공개일자 2009년11월10일

(51) Int. Cl.

*A61K 31/4164* (2006.01) *A61P 25/28* (2006.01)  
*A61P 29/00* (2006.01) *A61K 31/4178* (2006.01)

(21) 출원번호 10-2009-7018475

(22) 출원일자 2008년02월28일  
심사청구일자 없음

(85) 번역문제출일자 2009년09월03일

(86) 국제출원번호 PCT/EP2008/052411

(87) 국제공개번호 WO 2008/104580  
국제공개일자 2008년09월04일

(30) 우선권주장

11/685,881 2007년03월14일 미국(US)  
60/892,265 2007년03월01일 미국(US)

(71) 출원인

프로비오드록 아게

독일 데-06120 할레 바인베르그백 22

(72) 발명자

쥘링, 슈테판

독일, 06130 할레/잘레, 글로켄백 4

시니스, 훌거

독일, 06110 할레/잘레, 스타인백 39

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

손민

전체 청구항 수 : 총 32 항

(54) 글루타미닐 사이클라제 저해제의 신규 용도

### (57) 요 약

본 발명은 글루타미닐 펩티드 사이클로트란스페라제 및 하기로부터 선택된 염증성 질환으로 구성된 군으로부터 선택된 질환 또는 장애의 치료 및/또는 예방을 위한 이의 용도에 관한 것이다:

- a. 신경퇴행성 질환, 예를 들어 경도 인지장애(MCI), 알츠하이머병, 다운 증후군에서의 신경 퇴행, 가족성 영국 치매, 가족성 덴마크 치매, 다발성 경화증,
- b. 만성 및 급성 염증, 예를 들어 류마티스 관절염, 즉상동맥경화, 재협착, 췌장염,
- c. 섬유화, 예를 들어 폐섬유화, 간섬유화, 신장섬유화,
- d. 암, 예를 들어 암/혈관내피종 증식, 위암종,
- e. 대사성 질환, 예를 들어 고혈압,
- f. 및 기타 염증성 질환, 예를 들어 신경병증성 통증, 이식편 거부/이식편 실패/이식편 혈관질환, HIV 감염/AIDS, 임신중독, 결절성 경화증.

추가로, 본 발명은 각각의 진단 방법, 어세이 및 키트에 관한 것이다.

(72) 발명자  
**호프만, 토르스텐**  
독일, 06114 할레/잘레, 쾤르너슈트라쎄 8

**페루트, 한스-울리히**  
독일, 06120 할레/잘레, 암 빌트란트 13 에이

## 특허청구의 범위

### 청구항 1

경도 인지장애(MCI: mild cognitive impairment), 재협착(restenosis) 및 췌장염(pancreatitis)으로부터 선택된 염증성 질환 또는 병태의 치료 및/또는 예방을 위한 QC 저해제.

### 청구항 2

경도 인지장애(MCI), 재협착 및 췌장염으로부터 선택된 염증성 질환 또는 병태의 치료 및/또는 예방을 위한 QC 저해제의 용도.

### 청구항 3

경도 인지장애(MCI), 재협착 및 췌장염으로부터 선택된 염증성 질환 또는 병태의 치료 및/또는 예방을 위한 의약품의 제조에 있어서 QC 저해제의 용도.

### 청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 질환이 경도 인지장애(MCI)인 것인 QC 저해제 또는 이의 용도.

### 청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 QC 저해제가 뇌기능 개선 약제(nootropic agent), 신경보호제(neuroprotectant), 항파킨슨 약물(antiparkinsonian drug), 아밀로이드 단백질 침착 저해제, 베타 아밀로이드 합성 저해제, 항우울제, 항불안 약물(anxiolytic drug), 항정신병 약물(antipsychotic drug) 및 항-다발성 경화증 약물로 구성된 군으로부터 선택된 추가 약제와 배합하여 투여되는 것인 QC 저해제 또는 이의 용도.

### 청구항 6

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 질환이 재협착 및 췌장염으로부터 선택되는 것인 QC 저해제 또는 이의 용도.

### 청구항 7

제1항 내지 제3항 또는 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 질환이 재협착인 것인 QC 저해제 또는 이의 용도.

### 청구항 8

제1항 내지 제3항, 제6항 또는 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 QC 저해제가 안지오텐신 전환 효소(ACE: angiotensin converting enzyme) 저해제; 안지오텐신 II 수용체 차단제; 이뇨제; 칼슘 채널 차단제(CCB: calcium channel blocker); 베타-차단제; 혈소판 응고 저해제; 콜레스테롤 흡수 조절제; HMG-Co-A 리덕타제 저해제; 고밀도 지단백(HDL: high density lipoprotein) 증대 화합물; 레닌 저해제; IL-6 저해제; 항염증 코르티코스테로이드; 항증식 약제; 일산화 질소 공여체; 세포외기질 합성 저해제; 성장 인자 또는 사이토카인 신호 전달 저해제; MCP-1 길항제 및 티로신 키나제 저해제로 구성된 군으로부터 선택된 추가 약제와 배합하여 투여되는 것인 QC-저해제 또는 이의 용도.

### 청구항 9

유효량의 QC 저해제를 이를 필요로 하는 대상에게 투여하여, 경도 인지장애(MCI), 재협착 및 췌장염으로부터 선택된 염증성 질환 또는 병태를 치료 및/또는 예방하는 방법.

### 청구항 10

제9항에 있어서, 상기 질환이 경도 인지장애(MCI)인 것인 치료 및/또는 예방 방법.

### 청구항 11

제9항 또는 제10항에 있어서, 상기 QC 저해제가 뇌기능 개선 약제, 신경보호제, 항파킨슨 약물, 아밀로이드 단백질 침착 저해제, 베타 아밀로이드 합성 저해제, 항우울제, 항불안 약물, 항정신병 약물 및 항-다발성 경화증

약물로 구성된 군으로부터 선택된 추가 약제와 배합하여 투여되는 것인 치료 및/또는 예방 방법.

### 청구항 12

제9항에 있어서, 상기 질환이 재협착 및 췌장염으로부터 선택되는 것인 치료 및/또는 예방 방법.

### 청구항 13

제9항 또는 제12항에 있어서, 상기 질환이 재협착인 것인 치료 및/또는 예방 방법.

### 청구항 14

제9항 또는 제12항에 있어서, 상기 질환이 췌장염인 것인 치료 및/또는 예방 방법.

### 청구항 15

제9항, 또는 제12항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 QC 저해제가 안지오텐신 전환 효소(ACE) 저해제; 안지오텐신 II 수용체 차단제; 이뇨제; 칼슘 채널 차단제(CCB); 베타-차단제; 혈소판 응고 저해제; 콜레스테롤 흡수 조절제; HMG-Co-A 리덕타제 저해제; 고밀도 지단백(HDL) 증대 화합물; 레닌 저해제; IL-6 저해제; 항염증 코르티코스테로이드; 항증식 약제; 일산화 질소 공여체; 세포외기질 합성 저해제; 성장 인자 또는 사이토카인 신호 전달 저해제; MCP-1 길항제 및 티로신 키나제 저해제로 구성된 군으로부터 선택된 추가 약제와 배합하여 투여되는 것인 치료 및/또는 예방 방법.

### 청구항 16

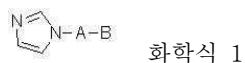
제2항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 질환 및/또는 병태를 앓는 대상이 인간인 것인 QC-저해제의 용도.

### 청구항 17

제9항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 질환 및/또는 병태를 앓는 대상이 인간인 것인 치료 및/또는 예방 방법.

### 청구항 18

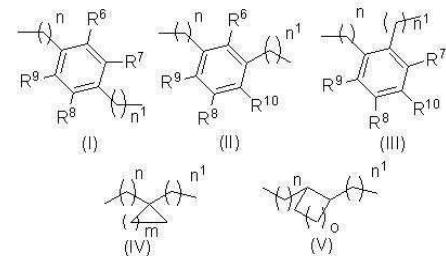
제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 QC 저해제가 이의 약제학적으로 혼용되는 염, 용매화물 및 입체이성질체를 포함하는 하기 화학식 1의 화합물인 것인 QC-저해제, 이의 용도, 또는 치료 및/또는 예방 방법:



상기 식에서,

A는 알킬쇄, 알케닐쇄 또는 알키닐쇄이거나;

A는 하기 구조로부터 선택되는 기이며:



상기 식에서,

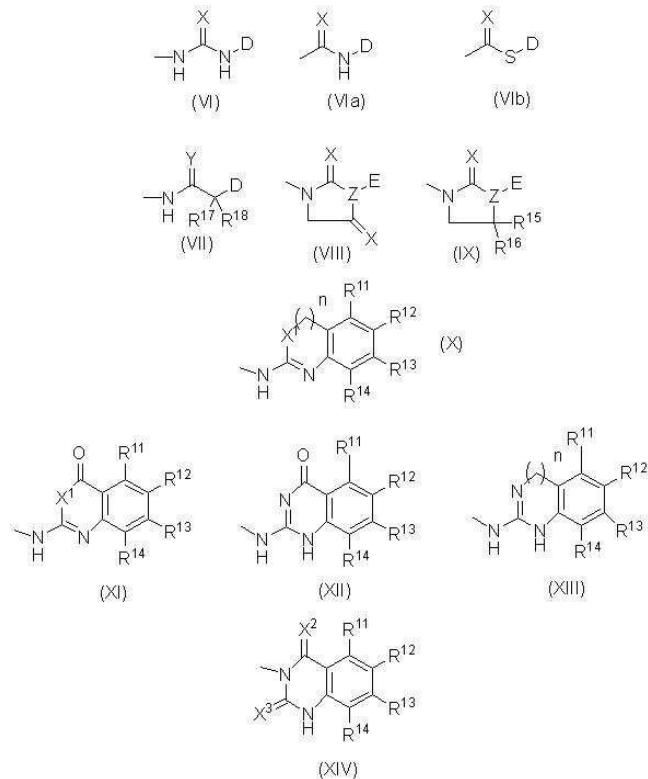
$R^6$ ,  $R^7$ ,  $R^8$ ,  $R^9$  및  $R^{10}$ 은 독립적으로 H 또는 알킬쇄, 알케닐쇄, 알키닐쇄, 사이클로알킬, 카보사이클, 아릴, 헤테로아릴 또는 헤테로사이클이고;

$n$  및  $n^1$ 은 독립적으로 1 ~ 5이며;

$m$ 은 1 ~ 5이고;

$o$ 는 0 ~ 4이며;

B는 하기 구조로부터 선택되는 기이고:



상기 식에서,

D 및 E는 독립적으로 알킬쇄, 알케닐쇄, 알키닐쇄, 사이클로알킬, 카보사이클, 아릴, -알킬아릴, 헤테로아릴, -알킬헤테로아릴, 아실 또는 헤테로사이클이며;

Z는 CH 또는 N이고;

X는  $CR^{20}R^{21}$ , O, S,  $NR^{19}$ 이고, 다만 화학식 (VIII) 및 (IX)에 있어서  $Z = CH$ 인 경우 X는 O 또는 S이며;

$R^{19}$ 는 H, 알킬, 사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, -옥시알킬, -옥시아릴, 카보닐, 아미도, 하이드록시,  $NO_2$ ,  $NH_2$ , CN으로 구성된 군으로부터 선택되고;

$R^{20}$  및  $R^{21}$ 은 H, 알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클, 아릴, 헤테로아릴, -옥시알킬, -옥시아릴, 카보닐, 아미도,  $NO_2$ ,  $NH_2$ , CN,  $CF_3$ 로부터 독립적으로 선택되며;

$X^1$ ,  $X^2$  및  $X^3$ 은 독립적으로 O 또는 S이고, 다만  $X^2$  및  $X^3$ 가 모두 0은 아니며;

Y는 O 또는 S이고, 다만  $R^{17}$  및  $R^{18}$ 에 의해 형성되는 카보사이클이 환 내에 3원(member)을 가질 경우 Y는 O가 아닐 수 있으며;

Z는 CH 또는 N이고;

$R^{11}$ ,  $R^{12}$ ,  $R^{13}$  및  $R^{14}$ 는 H, 알킬쇄, 알케닐쇄, 알키닐쇄, 사이클로알킬, 카보사이클, 아릴, 헤테로아릴, 헤테로사이클, 할로, 알콕시-, -티오알킬, 카복실, 카복실산 에스테르, 카보닐, 카바미드, 카비미드, 티오카바미드 또는 티오카보닐,  $NH_2$ ,  $NO_2$ 로부터 독립적으로 선택될 수 있으며;

$R^{15}$  및  $R^{16}$ 는 서로 독립적으로 H 또는 분지된 또는 비분지된 알킬쇄, 또는 분지된 또는 비분지된 알케닐쇄이고;

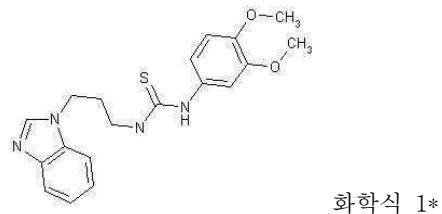
$R^{17}$  및  $R^{18}$ 는 H 또는 알킬쇄, 알케닐쇄, 알키닐쇄, 카보사이클, 아릴, 헤테로아릴, 헤테로알킬로부터 독립적으로 선택되거나, 연결되어 6개 이하의 환 원자를 가진 카보사이클을 형성할 수 있으며;

$n$ 은 0 또는 1이다.

청구항 19

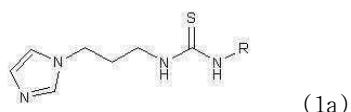
제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 QC 저해제 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 용매화물 또는 입체이성질체가,

### 화학식 1\*의 화합물:



또는

## 화학식 1a의 화합물,



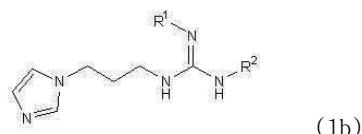
상기 R은 실시예 1 내지 53에 정의되고:

실시예	R
1	메틸
2	터트-부틸
3	벤질
4	페닐
5	4-(플루오로)-페닐
6	4-(클로로)-페닐
7	4-(에틸)-페닐
8	4-(트리플루오로메틸)-페닐
9	4-(메톡시-카보닐)-페닐
10	4-(아세틸)-페닐
11	4-(메톡시)-페닐
12	비사이클로[2.2.1]헵트-5-엔-2-일
13	3,4-(디메톡시)-페닐
14	2,4-(디메톡시)-페닐
15	3,5-(디메톡시)-페닐
16	2-(메톡시-카보닐)-페닐
17	4-(옥사졸-5-일)-페닐
18	4-(피라졸-1-일)-페닐
19	4-(이소프로필)-페닐
20	4-(페페리딘-1-설포닐)-페닐
21	4-(모폴린-4-일)-페닐
22	4-(시아노)-페닐
23	2,3-디하이드로-벤조[1,4]디옥신-6-일
24	벤조[1,3]디옥솔-5-일

25	3,4,5(트리메톡시)-페닐
26	3-(메톡시)-페닐
27	4-(에톡시)-페닐
28	4-(벤질옥시)-페닐
29	4-(메톡시)-벤질
30	3,4-(디메톡시)-벤질
31	2-(메톡시-카보닐)-티오펜-3-일
32	3-(에톡시-카보닐)-4,5,6,7-테트라하이드로벤조[b]티오펜-2-일
33	2-(메톡시-카보닐)-4-(메틸)-티오펜-3-일
34	벤조[c][1,2,5]티아졸-4-일
35	벤조[c][1,2,5]티아졸-5-일
36	5-(메틸)-3-(페닐)-아이소옥사졸-4-일
37	3,5-(디메틸)-아이소옥사졸-4-일
38	4-(아이오도)-페닐
39	4-(브로모)-페닐
40	4-(메틸)-페닐
41	나프탈렌-1-일
42	4-(니트로)-페닐
43	부틸
44	사이클로옥틸
45	퓨란-2-일메틸
46	테트라하이드로퓨란-2-일메틸
47	벤조[1,3]디옥솔-5-일메틸
48	2-(모폴린-4-일)-에틸
49	4-(메틸설파닐)-페닐
50	4-(디메틸아미노)-페닐
51	4-(트리플루오로메톡시)-페닐
52	벤조일
53	페리딘-4-일

또는

화학식 1b의 화합물,



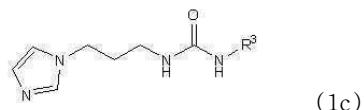
상기 R<sup>1</sup> 및 R<sup>2</sup>는 실시예 54 내지 95에 정의되며.

실시예	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>
54	시아노	메틸
55	시아노	3,4-(디메톡시)-페닐
56	시아노	2,4-(디메톡시)-페닐
57	시아노	3,5-(디메톡시)-페닐
58	시아노	2,3-디하이드로벤조[b][1,4]디옥신-7-일
59	시아노	벤조[d][1,3]디옥솔-6-일
60	시아노	3,4,5-(트리메톡시)-페닐
61	시아노	3-(메톡시)-페닐
62	시아노	4-(에톡시)-페닐
63	시아노	4-(벤질옥시)-페닐

64	시아노	페닐
65	시아노	4-(메톡시)-페닐
66	시아노	4-(아세틸)-페닐
67	시아노	4-(니트로)-페닐
68	시아노	벤질
69	시아노	나프탈렌-1-일
70	시아노	4-(플루오로)-페닐
71	시아노	4-(아이오도)-페닐
72	시아노	4-(브로모)-페닐
73	시아노	사이클로옥틸
74	시아노	터트-부틸
75	시아노	4-(메틸)-페닐
76	시아노	4-(메틸티오)-페닐
77	시아노	4-(에틸)-페닐
78	시아노	4-(디메틸아미노)-페닐
79	시아노	부틸
80	시아노	트리틸
81	시아노	(벤조[d][1,3]디옥솔-6-일)메틸
82	시아노	(테트라하이드로퓨란-2-일)메틸
83	시아노	4-(트리플루오로메틸)-페닐
84	시아노	(퓨란-2-일)메틸
85	시아노	2-(모폴린-4-일)-에틸
86	시아노	4-(옥사졸-5-일)-페닐
87	시아노	페리딘-3-일
88	시아노	4-(시아노)-페닐
89	시아노	4-(트리플루오로메톡시)-페닐
90	시아노	4-(페페리디노설포닐)-페닐
91	시아노	4-(1H-피라졸-1-일)-페닐
92	H	3,4-(디메톡시)-페닐
93	메틸	3,4-(디메톡시)-페닐
94	시아노	2,3,4-(트리메톡시)-페닐
95	시아노	사이클로헵틸

또는

화학식 1c의 화합물,

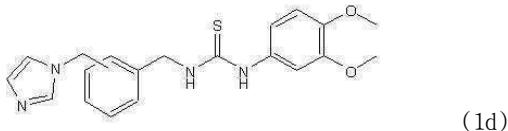


상기 R<sup>3</sup>은 실시예 96 내지 102에 정의되고.

실시예	R <sup>3</sup>
96	에틸
97	6-플루오로-4H-벤조[d][1,3]디옥신-8-일
98	3-(사이클로펜틸옥시)-4-(메톡시)-페닐
99	4-(헵틸옥시)-페닐
100	3,4-디하이드로-2H-벤조[b][1,4]디옥세핀-7-일
101	4-(뷰톡시)-페닐
102	3,4-(디메톡시)-페닐

또는

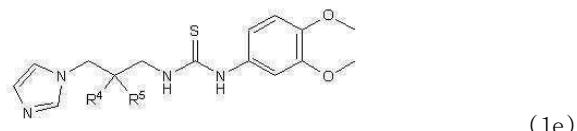
화학식 1d의 화합물,



상기 환 위에서의 위치는 실시예 103 내지 105에 정의되며,

또는

화학식 1e의 화합물,

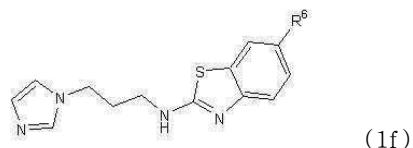


상기 R<sup>4</sup> 및 R<sup>5</sup>는 실시예 106 내지 109에 정의되고.

실시예	R <sup>4</sup>	R <sup>5</sup>
106(S)	H	메틸
107(R)	메틸	H
108	메틸	메틸
109	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -	

또는

화학식 1f의 화합물,

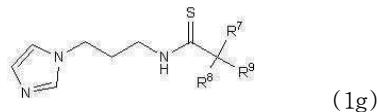


상기 R<sup>6</sup>은 실시예 110 내지 112에 정의되며.

실시예	R <sup>6</sup>
110	H
111	클로로
112	메톡시

또는

화합물 1g의 화합물,



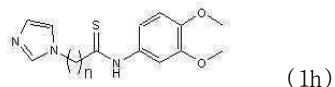
상기 R<sup>7</sup>, R<sup>8</sup> 및 R<sup>9</sup>는 실시예 113 내지 132에 정의되고.

실시예	R <sup>7</sup>	R <sup>8</sup>	R <sup>9</sup>
113	페닐	H	H

114	티오펜-2-일	H	H
115(R)	페닐	메틸	H
116(S)	페닐	H	메틸
117	페닐	H	에틸
118	페닐	H	페닐
119	3,4-(디메톡시)-페닐	H	H
120	3,4-(디메톡시)-페닐	메틸	메틸
121	4-(클로로)-페닐	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -	
122	4-(클로로)-페닐	-CH <sub>2</sub> -C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> -CH <sub>2</sub> -	
123	4-(메톡시)-페닐	-CH <sub>2</sub> -C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> -CH <sub>2</sub> -	
124	4-(메톡시)-페닐	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -	
125	3,4-(디메톡시)-페닐	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -	
126	3,4,5-(트리메톡시)-페닐	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -	
127	2,3,4-(트리메톡시)-페닐	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -	
128	2-(메톡시)-페닐	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -	
129	3-(메톡시)-페닐	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -	
130	2,3-(디메톡시)-페닐	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -	
131	3,5-(디메톡시)-페닐	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -	
132	2,5-(디메톡시)-페닐	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -	

또는

화학식 1h의 화합물,

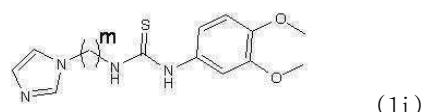


상기 n은 실시예 133 내지 135에 정의되며.

실시예	n
133	3
134	4
135	5

또는

화학식 1i의 화합물,



상기 m은 실시예 136 및 137에 정의되고.

실시예	m
136	2
137	4

또는

실시예 138 내지 141로부터 선택된 화합물로부터 선택되는 것인 QC-저해제, 이의 용도 또는 치료 및/또는 예방 방법.

실시예	구조식
138	
139	
140	
141	

## 청구항 20

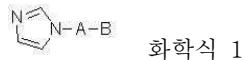
제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 QC 저해제가 1-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-3-(3,4-디메톡시-페닐)티오우레아 하이드로클로라이드인 것인 QC-저해제, 이의 용도 또는 치료 및/또는 예방 방법.

## 청구항 21

QC 저해제를 포함하는 진단 어세이(assay).

## 청구항 22

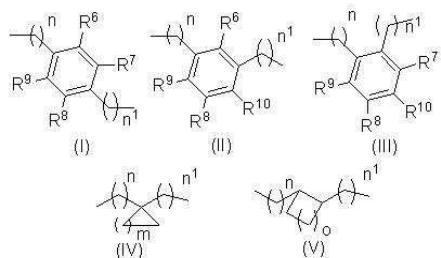
제21항에 있어서, 상기 QC 저해제가 이의 약제학적으로 허용되는 염, 용매화물 및 입체이성질체를 포함하는 하기 화학식 1의 화합물인 것인 진단 어세이:



상기 식에서,

A는 알킬쇄, 알케닐쇄 또는 알키닐쇄이거나;

A는 하기 구조로부터 선택되는 기이며:



상기 식에서,

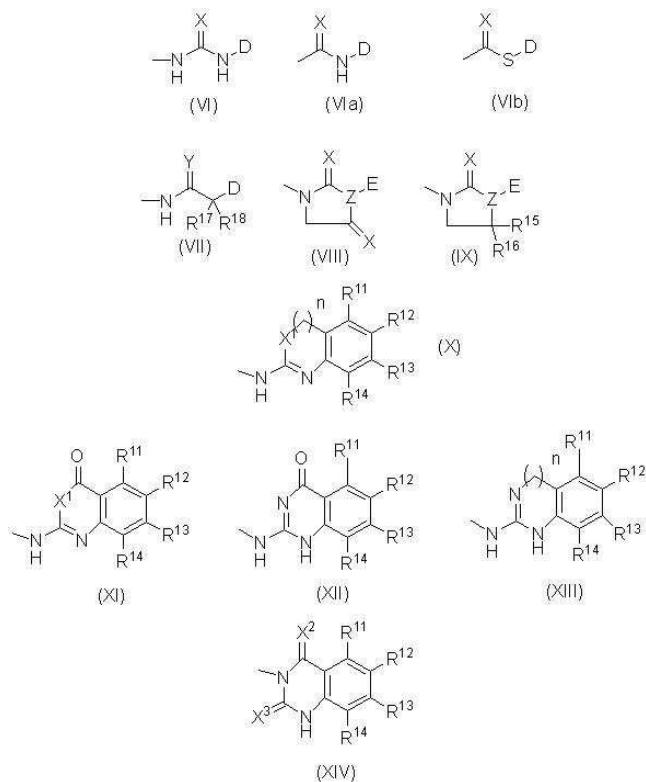
R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup>, R<sup>8</sup>, R<sup>9</sup> 및 R<sup>10</sup>은 독립적으로 H 또는 알킬쇄, 알케닐쇄, 알키닐쇄, 사이클로알킬, 카보사이클, 아릴, 헤테로아릴 또는 헤테로사이클이고;

n 및 n<sup>1</sup>은 독립적으로 1 ~ 5이며;

m은 1 ~ 5이고;

o는 0 ~ 4이며;

B는 하기 구조로부터 선택되는 기이고:



상기 식에서,

D 및 E는 독립적으로 알킬쇄, 알케닐쇄, 알키닐쇄, 사이클로알킬, 카보사이클, 아릴, -알킬아릴, 헤테로아릴, -알킬헤테로아릴, 아실 또는 헤테로사이클이며;

Z는 CH 또는 N이고;

X는 CR<sup>20</sup>R<sup>21</sup>, O, S, NR<sup>19</sup>이고, 다만 화학식 (VIII) 및 (IX)에 있어서 Z = CH인 경우 X는 O 또는 S이며;

R<sup>19</sup>는 H, 알킬, 사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, -옥시알킬, -옥시아릴, 카보닐, 아미도, 하이드록시, NO<sub>2</sub>, NH<sub>2</sub>, CN으로 구성된 군으로부터 선택되고;

R<sup>20</sup> 및 R<sup>21</sup>은 H, 알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클, 아릴, 헤테로아릴, -옥시알킬, -옥시아릴, 카보닐, 아미도, NO<sub>2</sub>, NH<sub>2</sub>, CN, CF<sub>3</sub>로부터 독립적으로 선택되며;

X<sup>1</sup>, X<sup>2</sup> 및 X<sup>3</sup>는 독립적으로 O 또는 S이고, 다만 X<sup>2</sup> 및 X<sup>3</sup>가 모두 0은 아니며;

Y는 O 또는 S이고, 다만 R<sup>17</sup> 및 R<sup>18</sup>에 의해 형성되는 카보사이클이 환 내에 3원을 가질 경우 Y는 0가 아닐 수 있으며;

Z는 CH 또는 N이고;

R<sup>11</sup>, R<sup>12</sup>, R<sup>13</sup> 및 R<sup>14</sup>는 H, 알킬쇄, 알케닐쇄, 알키닐쇄, 사이클로알킬, 카보사이클, 아릴, 헤테로아릴, 헤테로사이클, 할로, 알콕시-, -티오알킬, 카복실, 카복실산 에스테르, 카보닐, 카바미드, 카비미드, 티오카바미드 또는 티오카보닐, NH<sub>2</sub>, NO<sub>2</sub>로부터 독립적으로 선택될 수 있으며;

R<sup>15</sup> 및 R<sup>16</sup>는 서로 독립적으로 H 또는 분자된 또는 비분자된 알킬쇄, 또는 분자된 또는 비분자된 알케닐쇄이고;

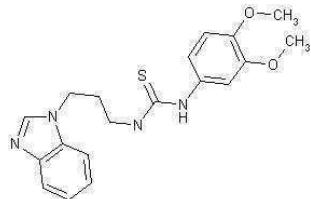
R<sup>17</sup> 및 R<sup>18</sup>는 H 또는 알킬쇄, 알케닐쇄, 알키닐쇄, 카보사이클, 아릴, 헤�테로아릴, 헤테로알킬로부터 독립적으로 선택되거나, 연결되어 6개 이하의 환 원자를 가진 카보사이클을 형성할 수 있으며;

n은 0 또는 1이다.

청구항 23

제21항 또는 22항에 있어서, 상기 QC 저해제 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 용매화물 또는 입체이성질체가,

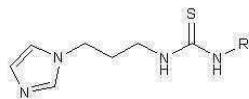
### 화학식 1\*의 화합물:



## 화학식 1\*

또는

### 화학식 1a의 화합물,



(1a)

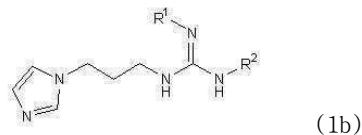
상기 R은 실시예 1 내지 53에 정의되고:

실시예	R
1	메틸
2	터트-부틸
3	벤질
4	페닐
5	4-(플루오로)-페닐
6	4-(클로로)-페닐
7	4-(에틸)-페닐
8	4-(트리플루오로메틸)-페닐
9	4-(메톡시-카보닐)-페닐
10	4-(아세틸)-페닐
11	4-(메톡시)-페닐
12	비사이클로[2.2.1]헵트-5-엔-2-일
13	3,4-(디메톡시)-페닐
14	2,4-(디메톡시)-페닐
15	3,5-(디메톡시)-페닐
16	2-(메톡시-카보닐)-페닐
17	4-(옥사졸-5-일)-페닐
18	4-(피라졸-1-일)-페닐
19	4-(이소프로필)-페닐
20	4-(피페리딘-1-설포닐)-페닐
21	4-(모폴린-4-일)-페닐
22	4-(시아노)-페닐
23	2,3-디하이드로-벤조[1,4]디옥신-6-일
24	벤조[1,3]디옥솔-5-일
25	3,4,5(트리메톡시)-페닐
26	3-(메톡시)-페닐
27	4-(에톡시)-페닐
28	4-(벤질옥시)-페닐
29	4-(메톡시)-벤질
30	3,4-(디메톡시)-벤질

31	2-(메톡시-카보닐)-티오펜-3-일
32	3-(에톡시-카보닐)-4,5,6,7-테트라하이드로벤조[b]티오펜-2-일
33	2-(메톡시-카보닐)-4-(메틸)-티오펜-3-일
34	벤조[c][1,2,5]티아졸-4-일
35	벤조[c][1,2,5]티아졸-5-일
36	5-(메틸)-3-(페닐)-아이소옥사졸-4-일
37	3,5-(디메틸)-아이소옥사졸-4-일
38	4-(아이오도)-페닐
39	4-(브로모)-페닐
40	4-(메틸)-페닐
41	나프탈렌-1-일
42	4-(니트로)-페닐
43	부틸
44	사이클로옥틸
45	퓨란-2-일메틸
46	테트라하이드로퓨란-2-일메틸
47	벤조[1,3]디옥솔-5-일메틸
48	2-(모폴린-4-일)-에틸
49	4-(메틸설파닐)-페닐
50	4-(디메틸아미노)-페닐
51	4-(트리플루오로메톡시)-페닐
52	벤조일
53	파리딘-4-일

또는

화학식 1b의 화합물,



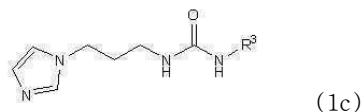
상기 R<sup>1</sup> 및 R<sup>2</sup>는 실시예 54 내지 95에 정의되며.

실시예	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>
54	시아노	메틸
55	시아노	3,4-(디메톡시)-페닐
56	시아노	2,4-(디메톡시)-페닐
57	시아노	3,5-(디메톡시)-페닐
58	시아노	2,3-디하이드로벤조[b][1,4]디옥신-7-일
59	시아노	벤조[d][1,3]디옥솔-6-일
60	시아노	3,4,5-(트리메톡시)-페닐
61	시아노	3-(메톡시)-페닐
62	시아노	4-(에톡시)-페닐
63	시아노	4-(벤질옥시)-페닐
64	시아노	페닐
65	시아노	4-(메톡시)-페닐
66	시아노	4-(아세틸)-페닐
67	시아노	4-(니트로)-페닐
68	시아노	벤질
69	시아노	나프탈렌-1-일

70	시아노	4-(플루오로)-페닐
71	시아노	4-(아이오도)-페닐
72	시아노	4-(브로모)-페닐
73	시아노	사이클로옥틸
74	시아노	터트-부틸
75	시아노	4-(메틸)-페닐
76	시아노	4-(메틸티오)-페닐
77	시아노	4-(에틸)-페닐
78	시아노	4-(디메틸아미노)-페닐
79	시아노	부틸
80	시아노	트리틸
81	시아노	(벤조[d][1,3]디옥솔-6-일)메틸
82	시아노	(테트라하이드로퓨란-2-일)메틸
83	시아노	4-(트리플루오로메틸)-페닐
84	시아노	(퓨란-2-일)메틸
85	시아노	2-(모폴린-4-일)-에틸
86	시아노	4-(옥사졸-5-일)-페닐
87	시아노	피리딘-3-일
88	시아노	4-(시아노)-페닐
89	시아노	4-(트리플루오로메톡시)-페닐
90	시아노	4-(피페리디노설포닐)-페닐
91	시아노	4-(1H-피라졸-1-일)-페닐
92	H	3,4-(디메톡시)-페닐
93	메틸	3,4-(디메톡시)-페닐
94	시아노	2,3,4-(트리메톡시)-페닐
95	시아노	사이클로헵틸

또는

화학식 1c의 화합물,

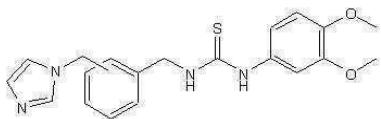


상기 R<sup>3</sup>은 실시예 96 내지 102에 정의되고.

실시예	R <sup>3</sup>
96	에틸
97	6-플루오로-4H-벤조[d][1,3]디옥신-8-일
98	3-(사이클로펜틸옥시)-4-(메톡시)-페닐
99	4-(헵틸옥시)-페닐
100	3,4-디하이드로-2H-벤조[b][1,4]디옥세핀-7-일
101	4-(뷰톡시)-페닐
102	3,4-(디메톡시)-페닐

또는

화학식 1d의 화합물,

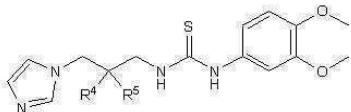


(1d)

상기 환 위에서의 위치는 실시예 103 내지 105에 정의되며,

또는

화학식 1e의 화합물,



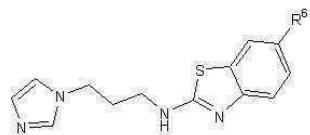
(1e)

상기 R<sup>4</sup> 및 R<sup>5</sup>는 실시예 106 내지 109에 정의되고.

실시예	R<sup>4</sup>	R<sup>5</sup>
106(S)	H	메틸
107(R)	메틸	H
108	메틸	메틸
109	-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-	

또는

화학식 1f의 화합물,



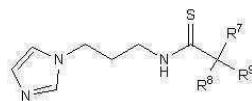
(1f)

상기 R<sup>6</sup>은 실시예 110 내지 112에 정의되며.

실시예	R<sup>6</sup>
110	H
111	클로로
112	메톡시

또는

화합물 1g의 화합물,



(1g)

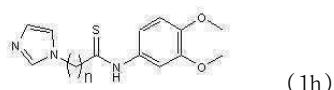
상기 R<sup>7</sup>, R<sup>8</sup> 및 R<sup>9</sup>는 실시예 113 내지 132에 정의되고.

실시예	R<sup>7</sup>	R<sup>8</sup>	R<sup>9</sup>
113	페닐	H	H
114	티오펜-2-일	H	H
115(R)	페닐	메틸	H
116(S)	페닐	H	메틸

117	페닐	H	에틸
118	페닐	H	페닐
119	3,4-(디메톡시)-페닐	H	H
120	3,4-(디메톡시)-페닐	메틸	메틸
121	4-(클로로)-페닐	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -	
122	4-(클로로)-페닐	-CH <sub>2</sub> -C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> -CH <sub>2</sub> -	
123	4-(메톡시)-페닐	-CH <sub>2</sub> -C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> -CH <sub>2</sub> -	
124	4-(메톡시)-페닐	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -	
125	3,4-(디메톡시)-페닐	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -	
126	3,4,5-(트리메톡시)-페닐	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -	
127	2,3,4-(트리메톡시)-페닐	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -	
128	2-(메톡시)-페닐	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -	
129	3-(메톡시)-페닐	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -	
130	2,3-(디메톡시)-페닐	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -	
131	3,5-(디메톡시)-페닐	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -	
132	2,5-(디메톡시)-페닐	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -	

또는

화학식 1h의 화합물,

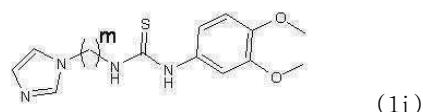


상기 n은 실시예 133 내지 135에 정의되며.

실시예	n
133	3
134	4
135	5

또는

화학식 1i의 화합물,



상기 m은 실시예 136 및 137에 정의되고.

실시예	m
136	2
137	4

또는

실시예 138 내지 141로부터 선택된 화합물로부터 선택되는 것인 진단 어세이.

실시예	구조식
138	

139	
140	
141	

## 청구항 24

제21항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 QC 저해제가 1-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-3-(3,4-디메톡시-페닐)티오우레아 하이드로클로라이드인 것인 진단 어세이.

## 청구항 25

하기 단계를 포함하여, 제1항에 정의된 질환 및/또는 병태 중 어느 하나를 진단하는 방법:

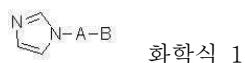
- 상기 질환 및/또는 병태를 앓고 있는 것으로 의심되는 대상으로부터 시료를 수집하는 단계,
- 시료를 QC 저해제에 접촉시키는 단계, 및
- 대상이 상기 질환 및/또는 병태를 앓고 있는지 여부를 결정하는 단계.

## 청구항 26

제26항에 있어서, 상기 대상이 인간인 것인 진단 방법.

## 청구항 27

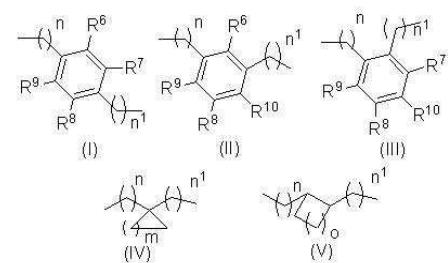
제26항 또는 제27항에 있어서, 상기 QC 저해제가 이의 약제학적으로 허용되는 염, 용매화물 및 임체이성질체를 포함하는 하기 화학식 1의 화합물인 것인 진단 방법:



상기 식에서,

A는 알킬쇄, 알케닐쇄 또는 알키닐쇄이거나;

A는 하기 구조로부터 선택되는 기이며:



상기 식에서,

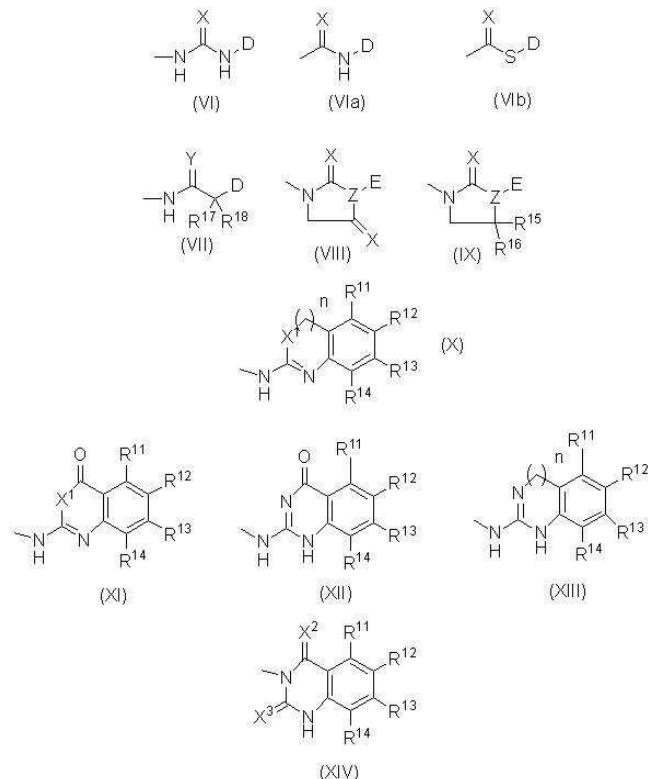
$R^6$ ,  $R^7$ ,  $R^8$ ,  $R^9$  및  $R^{10}$ 은 독립적으로 H 또는 알킬쇄, 알케닐쇄, 알키닐쇄, 사이클로알킬, 카보사이클, 아릴, 헤테로아릴 또는 헤테로사이클이고;

n 및  $n^1$ 은 독립적으로 1 ~ 5이며;

m은 1 ~ 5이고;

o는 0 ~ 4이며;

B는 하기 구조로부터 선택되는 기이고:



상기 식에서,

D 및 E는 독립적으로 알킬쇄, 알케닐쇄, 알키닐쇄, 사이클로알킬, 카보사이클, 아릴, -알킬아릴, 헤테로아릴, -알킬헤테로아릴, 아실 또는 헤테로사이클이며;

Z는 CH 또는 N이고;

X는 CR<sup>20</sup>R<sup>21</sup>, O, S, NR<sup>19</sup>이고, 다만 화학식 (VIII) 및 (IX)에 있어서 Z = CH인 경우 X는 O 또는 S이며;

R<sup>19</sup>는 H, 알킬, 사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, -옥시알킬, -옥시아릴, 카보닐, 아미도, 하이드록시, NO<sub>2</sub>, NH<sub>2</sub>, CN으로 구성된 군으로부터 선택되고;

R<sup>20</sup> 및 R<sup>21</sup>은 H, 알킬, 사이클로알킬, 헤�테로사이클, 아릴, 헤테로아릴, -옥시알킬, -옥시아릴, 카보닐, 아미도, NO<sub>2</sub>, NH<sub>2</sub>, CN, CF<sub>3</sub>로부터 독립적으로 선택되며;

X<sup>1</sup>, X<sup>2</sup> 및 X<sup>3</sup>는 독립적으로 O 또는 S이고, 다만 X<sup>2</sup> 및 X<sup>3</sup>가 모두 0은 아니며;

Y는 O 또는 S이고, 다만 R<sup>17</sup> 및 R<sup>18</sup>에 의해 형성되는 카보사이클이 환 내에 3원을 가질 경우 Y는 O가 아닐 수 있으며;

Z는 CH 또는 N이고;

R<sup>11</sup>, R<sup>12</sup>, R<sup>13</sup> 및 R<sup>14</sup>는 H, 알킬쇄, 알케닐쇄, 알키닐쇄, 사이클로알킬, 카보사이클, 아릴, 헤테로아릴, 헤테로사이클, 할로, 알콕시-, -티오알킬, 카복실, 카복실산 에스테르, 카보닐, 카바미드, 카비미드, 티오카바미드 또는 티오카보닐, NH<sub>2</sub>, NO<sub>2</sub>로부터 독립적으로 선택될 수 있으며;

R<sup>15</sup> 및 R<sup>16</sup>는 서로 독립적으로 H 또는 분지된 또는 비분지된 알킬쇄, 또는 분지된 또는 비분지된 알케닐쇄이고;

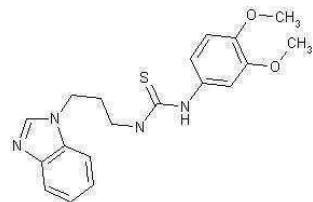
$R^{17}$  및  $R^{18}$ 는 H 또는 알킬쇄, 알케닐쇄, 알키닐쇄, 카보사이클, 아릴, 헤테로아릴, 헤테로알킬로부터 독립적으로 선택되거나, 연결되어 6개 이하의 환 원자를 가진 카보사이클을 형성할 수 있으며;

n은 0 또는 1이다.

### 청구항 28

제25항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 QC 저해제 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 용매화물 또는 입체이성질체가,

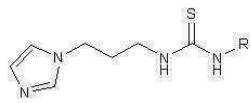
화학식 1\*의 화합물:



화학식 1\*

또는

화학식 1a의 화합물,



(1a)

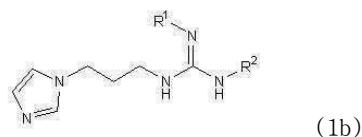
상기 R은 실시예 1 내지 53에 정의되고:

실시예	R
1	메틸
2	터트-부틸
3	벤질
4	페닐
5	4-(플루오로)-페닐
6	4-(클로로)-페닐
7	4-(에틸)-페닐
8	4-(트리플루오로메틸)-페닐
9	4-(메톡시-카보닐)-페닐
10	4-(아세틸)-페닐
11	4-(메톡시)-페닐
12	비사이클로[2.2.1]헵트-5-엔-2-일
13	3,4-(디메톡시)-페닐
14	2,4-(디메톡시)-페닐
15	3,5-(디메톡시)-페닐
16	2-(메톡시-카보닐)-페닐
17	4-(옥사졸-5-일)-페닐
18	4-(피라졸-1-일)-페닐
19	4-(이소프로필)-페닐
20	4-(피페리딘-1-설포닐)-페닐
21	4-(모폴린-4-일)-페닐
22	4-(시아노)-페닐
23	2,3-디하이드로-벤조[1,4]디옥신-6-일
24	벤조[1,3]디옥솔-5-일
25	3,4,5(트리메톡시)-페닐
26	3-(메톡시)-페닐

27	4-(에톡시)-페닐
28	4-(벤질옥시)-페닐
29	4-(메톡시)-벤질
30	3,4-(디메톡시)-벤질
31	2-(메톡시-카보닐)-티오펜-3-일
32	3-(에톡시-카보닐)-4,5,6,7-테트라하이드로벤조[b]티오펜-2-일
33	2-(메톡시-카보닐)-4-(메틸)-티오펜-3-일
34	벤조[c][1,2,5]티아졸-4-일
35	벤조[c][1,2,5]티아졸-5-일
36	5-(메틸)-3-(페닐)-아이소옥사졸-4-일
37	3,5-(디메틸)-아이소옥사졸-4-일
38	4-(아이오도)-페닐
39	4-(브로모)-페닐
40	4-(메틸)-페닐
41	나프탈렌-1-일
42	4-(니트로)-페닐
43	부틸
44	사이클로옥틸
45	퓨란-2-일메틸
46	테트라하이드로퓨란-2-일메틸
47	벤조[1,3]디옥솔-5-일메틸
48	2-(모폴린-4-일)-에틸
49	4-(메틸설파닐)-페닐
50	4-(디메틸아미노)-페닐
51	4-(트리플루오로메톡시)-페닐
52	벤조일
53	피리딘-4-일

또는

화학식 1b의 화합물,



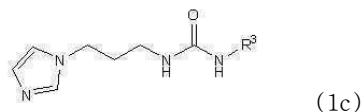
상기 R<sup>1</sup> 및 R<sup>2</sup>는 실시예 54 내지 95에 정의되며.

실시예	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>
54	시아노	메틸
55	시아노	3,4-(디메톡시)-페닐
56	시아노	2,4-(디메톡시)-페닐
57	시아노	3,5-(디메톡시)-페닐
58	시아노	2,3-디하이드로벤조[b][1,4]디옥신-7-일
59	시아노	벤조[d][1,3]디옥솔-6-일
60	시아노	3,4,5-(트리메톡시)-페닐
61	시아노	3-(메톡시)-페닐
62	시아노	4-(에톡시)-페닐
63	시아노	4-(벤질옥시)-페닐
64	시아노	페닐
65	시아노	4-(메톡시)-페닐

66	시아노	4-(아세틸)-페닐
67	시아노	4-(니트로)-페닐
68	시아노	벤질
69	시아노	나프탈렌-1-일
70	시아노	4-(플루오로)-페닐
71	시아노	4-(아이오도)-페닐
72	시아노	4-(브로모)-페닐
73	시아노	사이클로옥틸
74	시아노	터트-부틸
75	시아노	4-(메틸)-페닐
76	시아노	4-(메틸티오)-페닐
77	시아노	4-(에틸)-페닐
78	시아노	4-(디메틸아미노)-페닐
79	시아노	부틸
80	시아노	트리틸
81	시아노	(벤조[d][1,3]디옥솔-6-일)메틸
82	시아노	(테트라하이드로퓨란-2-일)메틸
83	시아노	4-(트리플루오로메틸)-페닐
84	시아노	(퓨란-2-일)메틸
85	시아노	2-(모폴린-4-일)-에틸
86	시아노	4-(옥사졸-5-일)-페닐
87	시아노	피리딘-3-일
88	시아노	4-(시아노)-페닐
89	시아노	4-(트리플루오로메톡시)-페닐
90	시아노	4-(피페리디노설포닐)-페닐
91	시아노	4-(1H-피라졸-1-일)페닐
92	H	3,4-(디메톡시)-페닐
93	메틸	3,4-(디메톡시)-페닐
94	시아노	2,3,4-(트리메톡시)-페닐
95	시아노	사이클로헵틸

또는

화학식 1c의 화합물,

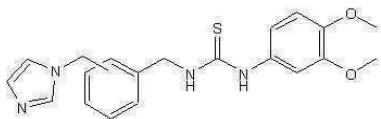


상기  $R^3$ 은 실시예 96 내지 102에 정의되고.

실시예	$R^3$
96	에틸
97	6-플루오로-4H-벤조[d][1,3]디옥신-8-일
98	3-(사이클로펜틸옥시)-4-(메톡시)-페닐
99	4-(헵틸옥시)-페닐
100	3,4-디하이드로-2H-벤조[b][1,4]디옥세핀-7-일
101	4-(뷰톡시)-페닐
102	3,4-(디메톡시)-페닐

또는

화학식 1d의 화합물,

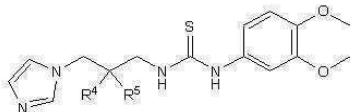


(1d)

상기 환 위에서의 위치는 실시예 103 내지 105에 정의되며,

또는

화학식 1e의 화합물,



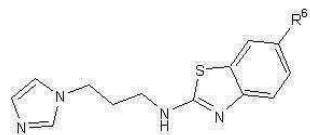
(1e)

상기 R<sup>4</sup> 및 R<sup>5</sup>는 실시예 106 내지 109에 정의되고.

실시예	R<sup>4</sup>	R<sup>5</sup>
106(S)	H	메틸
107(R)	메틸	H
108	메틸	메틸
109	-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-	

또는

화학식 1f의 화합물,



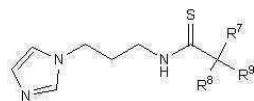
(1f)

상기 R<sup>6</sup>은 실시예 110 내지 112에 정의되며.

실시예	R<sup>6</sup>
110	H
111	클로로
112	메톡시

또는

화합물 1g의 화합물,



(1g)

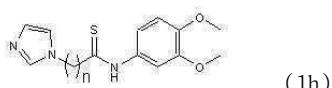
상기 R<sup>7</sup>, R<sup>8</sup> 및 R<sup>9</sup>는 실시예 113 내지 132에 정의되고.

실시예	R<sup>7</sup>	R<sup>8</sup>	R<sup>9</sup>
113	페닐	H	H
114	티오펜-2-일	H	H
115(R)	페닐	메틸	H
116(S)	페닐	H	메틸

117	페닐	H	에틸
118	페닐	H	페닐
119	3,4-(디메톡시)-페닐	H	H
120	3,4-(디메톡시)-페닐	메틸	메틸
121	4-(클로로)-페닐	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -	
122	4-(클로로)-페닐	-CH <sub>2</sub> -C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> -CH <sub>2</sub> -	
123	4-(메톡시)-페닐	-CH <sub>2</sub> -C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> -CH <sub>2</sub> -	
124	4-(메톡시)-페닐	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -	
125	3,4-(디메톡시)-페닐	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -	
126	3,4,5-(트리메톡시)-페닐	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -	
127	2,3,4-(트리메톡시)-페닐	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -	
128	2-(메톡시)-페닐	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -	
129	3-(메톡시)-페닐	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -	
130	2,3-(디메톡시)-페닐	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -	
131	3,5-(디메톡시)-페닐	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -	
132	2,5-(디메톡시)-페닐	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -	

또는

화학식 1h의 화합물,

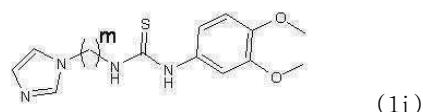


상기 n은 실시예 133 내지 135에 정의되며.

실시예	n
133	3
134	4
135	5

또는

화학식 1i의 화합물,



상기 m은 실시예 136 및 137에 정의되고.

실시예	m
136	2
137	4

또는

실시예 138 내지 141로부터 선택된 화합물로부터 선택되는 것인 진단 방법.

실시예	구조식
138	

139	
140	
141	

### 청구항 29

제25항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 QC 저해제가 1-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-3-(3,4-디메톡시-페닐)티오우레아 하이드로클로라이드인 것인 진단 방법.

### 청구항 30

제25항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 시료가 혈액 시료, 혈청 시료, 뇌척수액(cerebrospinal liquor)의 시료 또는 소변 시료인 것인 진단 방법.

### 청구항 31

검출 수단으로서 제21항 내지 제24항 중 어느 한 항에 따른 진단 어세이 및 결정 수단을 포함하여 제25항 내지 제30항의 진단 방법을 수행하기 위한 진단 키트.

### 청구항 32

제1항, 제4항 내지 제6항 또는 제18항 내지 제20항 중 어느 한 항에 따른 QC 저해제를 포함하는 약제학적 조성물.

## 명세서

### 기술 분야

&lt;1&gt;

본 발명은 일반적으로, 글루타미닐 펩티드 사이클로트란스페라제의 저해제, 및 류머티스 관절염, 죽상동맥경화(atherosclerosis), 재협착(restenosis), 폐섬유화, 간섬유화, 신장섬유화, 췌장염, 경도 인지장애(mild cognitive impairment), 알츠하이머병, 다운 증후군에서의 신경퇴행, 가족성 영국 치매(Familial British Dementia), 가족성 덴마크 치매(Familial Danish Dementia), 신경병증성 통증(neuropathic pain), 이식편 거부(rejection)/이식편 실패(failure)/이식편 혈관질환(vasculopathy), 고혈압, HIV 감염/AIDS, 임신증독(gestosis), 암/혈관내피종(hemangioendothelioma) 증식, 결절성 경화증(tuberous sclerosis) 및 위암종으로 구성된 군으로부터 선택된 질환 또는 장애의 치료 및/또는 예방을 위한 이의 용도에 관한 것이다.

&lt;2&gt;

추가로, 본 발명은 글루타미닐 사이클라제 저해제의 용도에 기초한 진단 키트 및 방법에 관한 것이다.

### 배경 기술

&lt;3&gt;

글루타미닐 사이클라제(glutaminyl cyclase)(QC, EC 2.3.2.5)는, 암모니아를 유리시키면서 N-말단 글루타미닐 잔기를 피로글루탐산(5-옥소-프롤린, pGlu\*)으로 전환하는 분자내 고리화 및 물을 유리시키면서 N-말단 글루타밀 잔기를 피로글루탐산으로 전환하는 분자내 고리화를 촉매한다.

&lt;4&gt;

QC는 1963년 메세르(Messer)에 의해 열대 식물 카리카 파파야(Carica papaya)의 유액(Latex)으로부터 최초로 분리되었다(Messer, M. 1963 Nature 4874, 1299). 24년 후에는, 상응하는 효소 활성이 동물 뇌하수체에서 발견되었다(Busby, W. H. J. et al. 1987 J Biol Chem 262, 8532-8536; Fischer, W. H. and Spiess, J. 1987 Proc Natl Acad Sci U S A 84, 3628-3632). 포유류 QC에 있어서, QC에 의한 Gln의 pGlu로의 전환은 TRH 및 GnRH의 전구체로서 입증될 수 있었다(Busby, W. H. J. et al. 1987 J Biol Chem 262, 8532-8536; Fischer, W. H. and

Spiess, J. 1987 *Proc Natl Acad Sci U S A* 84, 3628-3632). 또한, QC의 초기 위치확인 실험에 의해 소 시상하부-뇌하수체로(bovine tractus hypothalamo-hypophysalis)에서 그의 추정적 촉매 산물과 공존함이 밝혀짐으로써, 웨티드 호르몬 성숙에 있어서 제시된 기능이 추가로 보강되었다(Bockers, T. M. et al. 1995 *J Neuroendocrinol* 7, 445-453). 반면에, 식물 QC의 생리학적 기능은 비교적 명확하지 않다. 씨. 파파야의 효소의 경우, 병원성 미생물에 대항하는 식물 방어의 역할이 제시되었다(El Moussaoui, A. et al. 2001 *Cell Mol Life Sci* 58, 556-570). 최근에는 서열 비교에 의해 다른 식물로부터의 추정적 QC들이 동정되었다(Dahl, S. W. et al. 2000 *Protein Expr Purif* 20, 27-36). 그러나 이들 효소의 생리학적 기능은 아직 불분명하다.

<5> 식물 및 동물로부터 알려진 QC들은 기질의 N-말단 위치 내의 L-글루타민에 대해 염격한 특이성이며, 그들의 동역학적 행태는 미켈리스-멘텐 방정식을 따르는 것으로 밝혀졌다(Pohl, T. et al. 1991 *Proc Natl Acad Sci U S A* 88, 10059-10063; Consalvo, A. P. et al. 1988 *Anal Biochem* 175, 131-138; Gololobov, M. Y. et al. 1996 *Biol Chem Hoppe Seyler* 377, 395-398). 그러나, 씨. 파파야 QC의 1차 구조를 고도로 보존된 포유류 QC의 것과 비교한 결과, 서열 상동성이 발견되지 않았다(Dahl, S. W. et al. (2000) *Protein Expr Purif* 20, 27-36). 식물 QC는 신규의 효소 계열에 속하는 것으로 나타나는 반면에(Dahl, S. W. et al. (2000) *Protein Expr Purif* 20, 27-36) 포유류 QC는 박테리아 아미노웹티다제에 대해 뚜렷한 서열 상동성을 가졌음이 발견됨으로써 (Bateman, R. C. et al. 2001 *Biochemistry* 40, 11246-11250), 식물 및 동물의 QC는 상이한 진화론적 기원을 가진다는 결론이 도출되었다.

<6> EP 02 011 349.4는 곤충 글루타미닐 사이클라제를 암호화하는 폴리뉴클레오티드와 더불어 그에 의해 암호화된 폴리웹티드를 개시한다. 상기 출원은 발명의 폴리뉴클레오티드를 함유하는 발현 벡터를 포함하는 숙주 세포를 추가로 제공한다. 곤충 QC를 포함하는 숙주 세포 및 분리된 폴리웹티드는 글루타미닐 사이클라제 활성을 감소시키는 약제에 대한 스크리닝 방법에 있어서 유용하다. 이러한 약제는 농약으로서 유용한 것으로 기술된다.

<7> 주화성 사이토카인(chemotactic cytokine)(케모카인)은 백혈구를 유인하여 활성화시키는 단백질로서, 염증에 있어서 근본적인 역할을 수행하는 것으로 생각된다. 케모카인은 N-말단 시스테인 잔기의 출현에 따라 분류되는 4개의 기로 나누어진다("C"-; "CC"-; "CXC"- 및 "CX3C"-케모카인). "CXC"-케모카인은 호중구에 우선적으로 작용한다. 반면에, "CC"-케모카인은 우선적으로 단핵구를 염증 부위(site)로 유인한다. 단핵구의 침투는 다수의 질환 형태에 있어서 중심적 사건으로 생각된다(Gerard, C. and Rollins, B. J. (2001) *Nat. Immunol* 2, 108-115; Bhatia, M., et al., (2005) *Pancreatology*. 5, 132-144; Kitamoto, S., Egashira, K., and Takeshita, A. (2003) *J Pharmacol Sci*. 91, 192-196). MCP 계열은 케모카인의 한 계열로서 4개 구성원(MCP-1-4)으로 이루어지며, 단핵구에 대한 우선적 유인을 나타내지만 그들의 잠재력에는 차이를 보인다(Luini, W., et al., (1994) *Cytokine* 6, 28-31; Uguzzoni, M., et al., (1995) *Eur J Immunol* 25, 64-68). MCP-1-4의 cDNA와 더불어 아미노산 서열을 하기와 같이 나타낸다:

<8> 인간 MCP-1 (CCL2) (젠햄크 등록(GeneBank Accession): M24545)

<9> cDNA (300 bp) 서열번호 2

<10> 1 atgaaagtct ctgccgcctt tctgtgcctg ctgctcatag cagccacctt catccccaa

<11> 61 gggctcgctc agccagatgc aatcaatgcc ccagtccacct gctgttataa cttcaccaat

<12> 121 aggaagatct cagtgcagag gctcgcgagc tatagaagaa tcaccagcag caagtgtccc

<13> 181 aaagaagctg tcatcttcaa gaccattgtg gccaaggaga tctgtgctga ccccaaggcag

<14> 241 aagtgggttc aggattccat ggaccacctg gacaagcaaa cccaaactcc gaagacttga

<15> 단백질(굵은 체로 표시한 신호서열: 23 aa; 성숙 MCP-1: 76 aa)

서열번호 1

<17> MKVSAALLCLLLIAATFIPQGLAQPDAINAPVTCCYNFTNRKISVQRLASYRRITSSKCP

<18> KEAVIFKTIVAKEICADPKQKWVQDSMDHLDKQTQTPKT

<19> 인간 MCP-2 (CCL8) (젠햄크 등록: Y10802)

<20> cDNA (300 bp) 서열번호 12

<21> 1 atgaaggttt ctgcagcgct tctgtgcctg ctgctcatgg cagccactt cagccctcag  
 <22> 61 ggacttgctc agccagattc agtttccatt ccaatcacct gctgcttaa cgtgatcaat  
 <23> 121 agaaaaattc ctatccagag gctggagagc tacacaagaa tcaccaacat ccaatgtccc  
 <24> 181 aaggaagctg tcatcttcaa gacccaacgg ggcaaggagg tctgtgctga ccccaaggag  
 <25> 241 agatgggtca gggattccat gaagcatctg gaccaaataat ttcaaaaatct gaagccatga

단백질(굵은 체로 표시한 신호서열: 23 aa; 성숙 MCP-2: 76 aa)

서열번호 11

<28> **MKVSAALLCLLLMAATFSPQGLAQPDVSIPITCCFNVINRKIPIQRLESYTRITNIQCP**

<29> KEAVIFKTQRGKEVCADPKERWVRDSMKHLDQIFQNLKP

<30> 인간 MCP-3 (CCL7) (제빵크 등록: X71087)

<31> cDNA (300 bp) 서열번호 14

<32> 1 atgaaaggct ctgcagcact tctgtgtctg ctgctcacag cagctgcttt cagccccag  
 <33> 61 gggcttgctc agccagttgg gattaatact tcaactacct gctgctacag atttatcaat  
 <34> 121 aagaaaaatcc ctaagcagag gctggagagc tacagaagga ccaccagtag ccactgtccc  
 <35> 181 cggaaagctg taatcttcaa gaccaaactg gacaaggaga tctgtgctga ccccacacag  
 <36> 241 aagtgggtcc aggactttat gaagcacctg gacaagaaaa cccaaactcc aaagcttga

단백질(굵은 체로 표시한 신호서열: 23 aa; 성숙 MCP-3: 76 aa)

서열번호 13

<39> **MKASAALLCLLLAAAFSPQGLAQPVGINTSTTCYRFINKKIPKQRLESYRRTTSSHCP**

<40> REAVIFKTKLDEICADPTQKWWQDFMKHLDKKTQTPKL

<41> 인간 MCP-4 (CCL13) (제빵크 등록: U46767)

<42> cDNA (297 bp) 서열번호 16

<43> 1 atgaaaagtct ctgcagtgtct tctgtgcctg ctgctcatga cagcagctt caacccccag  
 <44> 61 ggacttgctc agccagatgc actcaacgct ccatctactt gctgcttcac atttagcagt  
 <45> 121 aagaagatct cttgcagag gctgaagagc tatgtatca ccaccagcag gtgtccccag  
 <46> 181 aaggctgtca tcttcagaac caaactgggc aaggagatct gtgctgaccc aaaggagaag  
 <47> 241 tgggtccaga attatatgaa acacctggc cggaaagctc acaccctgaa gacttga

단백질(굵은 체로 표시한 신호서열: 23 aa; 성숙 MCP-4: 75 aa)

서열번호 15

<50> **MKVSAVLLCLLLMTAAFNPQGLAQPDALNPSTCCFTFSSKKISLQLRLKSYVITTSRCPQ**

<51> KAVIFRTKLGKEICADPKEKWWQNYMKHLGRKAHTLKT

<52> 다수의 연구들에 의해, 죽상동맥경화의 발생(Gu, L., et al., (1998) *Mol.Cell* 2, 275-281; Gosling, J., et al., (1999) *J Clin.Invest* 103, 773-778); 류마티스 관절염(Gong, J. H., et al., (1997) *J Exp.Med* 186, 131-137; Ogata, H., et al., (1997) *J Pathol.* 182, 106-114); 췌장염(Bhatia, M., et al., (2005) *Am.J Physiol Gastrointest.Liver Physiol* 288, G1259-G1265); 알츠하이머병(Yamamoto, M., et al., (2005) *Am.J Pathol.* 166, 1475-1485); 폐섬유화(Inoshima, I., et al., (2004) *Am.J Physiol Lung Cell Mol.Physiol* 286, L1038-L1044); 신장섬유화(Wada, T., et al., (2004) *J Am.Soc.Nephrol.* 15, 940-948) 및 이식편 거부(Saiura, A., et al., (2004) *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 24, 1886-1890)에 있어서 MCP-1의 결정적 역할이 특히

강조되었다. 추가로, MCP-1은 임신중독(Katabuchi, H., et al., (2003) *Med Electron Microsc.* 36, 253-262), 종양 발생의 측분비 인자(paracrine factor)로서(Ohta, M., et al., (2003) *Int.J Oncol.* 22, 773-778; Li, S., et al., (2005) *J Exp.Med* 202, 617-624), 신경병증성 통증(White, F. A., et al., (2005) *Proc. Natl. Acad.Sci.U.S.A*) 및 AIDS(Park, I. W., Wang, J. F., and Groopman, J. E. (2001) *Blood* 97, 352-358; Coll, B., et al., (2006) *Cytokine* 34, 51-55)에 있어서도 역할을 수행할 수 있다.

<53> 인간 및 설치류의 MCP-1의 성숙 형태는 글루타미닐 사이클라제(QC)에 의해 전사후 개질되어 N-말단 피로글루타밀(pGlu) 잔기를 보유하게 된다. N-말단 pGlu 개질에 의해 단백질은 아미노펩티다제에 의한 N-말단 분해에 대한 저항성을 가지게 되는데, 이는 MCP-1의 주화성 효능이 그의 N-말단에 의해 매개된다는 점에서 중요한 사실이다 (Van Damme, J., et al., (1999) *Chem Immunol* 72, 42-56). 인위적으로 연장하거나 분해하면 MCP-1이 여전히 그의 수용체(CCR2)에 결합함에도 불구하고 기능 상실이 유발된다(Proost, P., et al., (1998), *J Immunol* 160, 4034-4041; Zhang, Y. J., et al., 1994, *J Biol.Chem* 269, 15918-15924; Masure, S., et al., 1995, *J Interferon Cytokine Res.* 15, 955-963; Hemmerich, S., et al., (1999) *Biochemistry* 38, 13013-13025).

<54> 여러 질환 형태에 있어서의 MCP-1의 주요 역할로 인하여, 항-MCP-1 전략이 필요하게 되었다. 그러므로, MCP-1의 작용을 저해하는 작은 경구용 화합물은 약물 개발을 위한 유망한 후보이다. 글루타미닐 사이클라제의 저해제는 작은 경구용 화합물로서, MCP-1의 N-말단에서 pGlu-형성의 중요한 단계를 표적화한다(Cynis, H., et al., (2006) *Biochim.Biophys.Acta* 1764, 1618-1625; Buchholz, M., et al., (2006) *J Med Chem* 49, 664-677). QC-저해에 의해 유발되는 결과로서, MCP-1의 N-말단은 pGlu-잔기에 의해 보호되지 않는다. 대신에, N-말단은 글루타민-프롤린 모티프를 보유하며, 이는 내피상 및 혈액 순환 내에 풍부한 디펩티딜펩티다제, 예를 들어 디펩티딜펩티다제 4 및 섬유아세포 활성화 단백질(fibroblast activating protein)(FAP, 세프라제)에 의한 절단에 취약하다. 이러한 절단은 N-말단이 삭제된 MCP-1의 형성을 유발한다. 이들 분자는 CCR2 수용체에 길항 작용을 나타내므로, 단핵구-관련 질환 형태가 효율적으로 저해된다.

<55> 관상동맥 혈류를 제한 또는 방해하는 죽상동맥경화 병소는 혀혈성 심장질환 관련 사망률의 주원인으로서, 연간 500,000 - 600,000 건의 사망을 야기한다. 방해된 동맥을 개방하는 경피경관 관상동맥 성형술(percuteaneous transluminal coronary angioplasty)(PTCA)이 1996년 미국에서 550,000 명 이상의 환자에게 시술되었고 세계적으로는 945,000+ 환자에게 시술되었다(Lemaitre et al., 1996). 상기 기술의 주요 한계는 PTCA-후 혈관 폐쇄의 문제로서, PTCA 직후(급성 폐색) 및 장기간 후(재협착)에 나타난다: 부분적 병소를 가진 환자의 30% 및 만성 완전 병소를 가진 환자의 50%가 혈관성형술 후에 재협착으로 진행한다. 또한, 복제정맥우회치환술(saphenous vein bypass graft)을 받는 환자들에게 재협착은 심각한 문제이다. 급성 폐색의 기전에는 몇 가지 인자들이 관여하는 것으로 나타나며, 결과적으로 동맥 폐쇄를 동반하는 혈관 위축(vascular recoil) 및/또는 새로 개방된 혈관의 손상된 구간을 따라 혈소판이 침착된 후에 이어지는 피브린/적혈구 혈전(fibrin/red blood cell thrombus)의 형성에 기인할 수 있다.

<56> 혈관성형술 후의 재협착은 좀더 점진적인 과정으로서, 점착성 혈소판으로부터의 세포 유래 성장 인자 방출을 동반하는 미임계 혈전증(subcritical thrombosis)의 초기 형성에 이어서 혈관 비대증에 기여하는 내막평활근(intimal smooth muscle) 세포의 증식 및 염증 세포의 국소적 침윤을 포함한다. 이들 혈전증에서 다중의 과정, 세포 증식, 세포 이동 및 염증이 제각기 재협착 과정에 기여하는 것으로 보인다는 점에 유의해야 한다.

<57> 미국에서, 30-50%의 재협착률은 120,000 - 200,000 명의 미국 환자들이 재협착의 위험을 안고 있음을 의미한다. 이러한 환자의 80% 만이 반복 혈관성형술을 택한다는 가정하에(나머지 20%는 관상동맥 우회로 이식술(coronary artery bypass graft)을 택함), 나머지 20%의 관상동맥 우회로 이식술 비용에 이를 가산하면, 미국에서 재협착치료를 위한 총 비용은 수십억 달러에 쉽게 달한다. 따라서 재협착의 성공적인 예방은 현저한 치료적 유익성뿐만 아니라 현저한 보건의료 비용절감도 유발할 수 있다.

<58> 단핵구 화학주성 단백질 1(monocyte chemoattractant protein 1)(MCP-1, CCL2)은 강력한 주화성 사이토카인(CC 케모카인)의 계열에 속하며, 백혈구, 특히 단핵구, 대식세포 및 T-세포의 염증 부위로의 소통을 조절한다 (Charo, I.F. and Taubman, M.B. (2004) *Circ.Res.* 95, 858-866). 예를 들어 혈관 질환에서의 역할 외에도, 알츠하이머병(AD)에서의 MCP-1의 역할을 입증하는 강력한 증거가 있다(Xia, M.Q. and Hyman, B.T. (1999) *J Neurovirol.* 5, 32-41). AD를 앓는 환자의 뇌에서 노인반(senile plaque) 및 반응성 소교세포(reactive microglia), CNS의 정주성 대식세포(residential macrophage) 내에 MCP-1이 존재함이 관찰되었다(Ishizuka, K., et al., (1997) *Psychiatry Clin.Neurosci.* 51, 135-138). 단핵구 및 소교세포를 아밀로이드- $\beta$  단백질(A $\beta$ )로 자극하면 시험관내에서 케모카인의 분비가 유도되고(Meda, L., et al., (1996) *J Immunol* 157, 1213-1218;

Szczepanik,A.M., et al., (2001) J Neuroimmunol. 113, 49-62), 쥐과의 해마상 용기(hippocampus) 내로 A $\beta$ <sub>(1-42)</sub>를 뇌실내 주입(intracerebroventricular infusion)하면 생체 내에서 MCP-1이 유의적으로 증가한다. 더욱이, A $\beta$  침착물은 소교세포를 유인하여 활성화시키고, 그들로 하여금 염증 매개자, 예를 들어 MCP-1을 생산하도록 하며, 이는 추가의 주화성, 활성화 및 조직 손상을 유도하는 피드백(feed back)으로 이어진다. A $\beta$  침착 부위에서, 활성화된 소교세포는 A $\beta$  펩티드 또한 식작용함으로써 활성화를 증폭시킨다(Rogers,J. and Lue,L.F. (2001) Neurochem. Int. 39, 333-340).

<59> AD에 관한 3xTg 마우스 모델에서 케모카인 발현을 조사한 결과, 병변 형성에 앞서 신경 염증이 생기며 MCP-1이 11배 상향조절됨이 밝혀졌다. 추가로, MCP-1의 상향조절은 최초의 세포내 A $\beta$  침착의 발생과 관련되는 것으로 보인다(Janelins,M.C., et al., (2005) J Neuroinflammation. 2, 23). AD에 관한 Tg2575 마우스 모델을 MCP-1 과발현 마우스 모델과 교배시킨 결과, A $\beta$  침착물 주위에 소교세포 축적이 증가하며, 이러한 축적은 단일-형질 전환 Tg2576 한배 새끼(littermate)에 비해 미만성 병변(diffuse plaque) 양의 증가를 수반하는 것으로 나타났다(Yamamoto,M., et al. (2005) Am.J Pathol. 166, 1475-1485).

<60> AD 환자 및 경도 인지장애(MCI)를 나타내는 환자의 CSF에서 MCP-1 수준이 증가한다(Galimberti,D., et al., (2006) Arch.Neurol. 63, 538-543). 또한, MCI 및 초기 AD를 가진 환자의 혈청에서 MCP-1 수준의 증가가 관찰된다(Clerici,F., et al., (2006) Neurobiol.Aging 27, 1763-1768).

### 발명의 상세한 설명

#### [발명의 요약]

<62> 본 발명은 글루타미닐 펩티드 사이클로트란스페라제 및 하기로부터 선택된 염증성 질환으로 구성된 군으로부터 선택된 질환 또는 장애의 치료 및/또는 예방을 위한 이의 용도에 관한 것이다:

- <63> a. 신경퇴행성 질환, 예를 들어 경도 인지장애(MCI), 알츠하이머병, 다운 증후군에서의 신경 퇴행, 가족성 영국 치매, 가족성 덴마크 치매, 다발성 경화증,
- <64> b. 만성 및 급성 염증, 예를 들어 류머티스 관절염, 죽상동맥경화, 재협착, 췌장염,
- <65> c. 섬유화, 예를 들어 폐섬유화, 간섬유화, 신장섬유화,
- <66> d. 암, 예를 들어 암/혈관내피종 증식, 위암종,
- <67> e. 대사성 질환, 예를 들어 고혈압,
- <68> f. 및 기타 염증성 질환, 예를 들어 신경병증성 통증, 이식편 거부/이식편 실패/이식편 혈관질환, HIV 감염/AIDS, 임신중독, 결절성 경화증.

#### [발명의 상세한 설명]

<70> 본 발명은 특히 하기 항목들에 관한 것이다:

- <71> 1. 하기로부터 선택된 염증성 질환 또는 병태의 치료 및/또는 예방을 위한 QC 저해제:
  - <72> a. 경도 인지장애(MCI), 알츠하이머병, 다운 증후군에서의 신경 퇴행, 가족성 영국 치매, 가족성 덴마크 치매 및 다발성 경화증을 포함하는 신경퇴행성 질환,
  - <73> b. 류머티스 관절염, 죽상동맥경화, 재협착 및 췌장염을 포함하는 만성 및 급성 염증,
  - <74> c. 폐섬유화, 간섬유화 및 신장섬유화를 포함하는 섬유화,
  - <75> d. 암/혈관내피종 증식 및 위암종을 포함하는 암,
  - <76> e. 고혈압을 포함하는 대사성 질환,
  - <77> f. 및 신경병증성 통증, 이식편 거부/이식편 실패/이식편 혈관질환, HIV 감염/AIDS, 임신중독, 결절성 경화증을 포함하는 기타 염증성 질환.
- <78> 2. 항목 1에 있어서, 신경퇴행성 질환이 경도 인지장애(MCI), 알츠하이머병, 다운 증후군에서의 신경 퇴행, 가족성 영국 치매, 가족성 덴마크 치매, 다발성 경화증으로부터 선택되는 QC 저해제.

- <79> 3. 항목 1 또는 2에 있어서, 질환이 경도 인지장애인 QC 저해제.
- <80> 4. 항목 1 내지 3 중 어느 한 항목에 있어서, 뇌기능 개선 약제(nootropic agent), 신경보호제(neuroprotectant), 항파킨슨 약물(antiparkinsonian drug), 아밀로이드 단백질 침착 저해제, 베타 아밀로이드 합성 저해제, 항우울제, 항불안 약물(anxiolytic drug), 항정신병 약물(antipsychotic drug) 및 항-다발성 경화증 약물로 구성된 군으로부터 선택된 추가 약제와 배합하여 투여되는 QC 저해제.
- <81> 5. 항목 1에 있어서, 질환이 류머티스 관절염, 죽상동맥경화, 재협착 및 췌장염으로부터 선택된 만성 또는 급성 염증인 QC 저해제.
- <82> 6. 항목 1 또는 5에 있어서, 질환이 재협착 및 췌장염으로부터 선택되는 QC 저해제.
- <83> 7. 항목 1, 5 또는 6에 있어서, 안지오텐신 전환 효소(ACE: angiotensin converting enzyme) 저해제; 안지오텐신 II 수용체 차단제; 이뇨제; 칼슘 채널 차단제(CCB: calcium channel blockers); 베타-차단제; 혈소판 응고 저해제; 콜레스테롤 흡수 조절제(cholesterol absorption modulator); HMG-Co-A 리덕타제 저해제; 고밀도 지단백(HDL) 증대 화합물; 레닌 저해제; IL-6 저해제; 항염증 코르티코스테로이드; 항증식 약제; 일산화 질소 공여체; 세포외기질 합성 저해제; 성장 인자 또는 사이토카인 신호 전달 저해제; MCP-1 길항제 및 티로신 키나제 저해제로 구성된 군으로부터 선택된 추가 약제와 배합하여 투여되는 QC 저해제.
- <84> 8. 하기로부터 선택된 염증성 질환 또는 병태의 치료 및/또는 예방을 위한 QC 저해제의 용도:
- <85> a. 경도 인지장애(MCI), 알츠하이머병, 다운 증후군에서의 신경 퇴행, 가족성 영국 치매, 가족성 덴마크 치매 및 다발성 경화증을 포함하는 신경퇴행성 질환,
- <86> b. 류머티스 관절염, 죽상동맥경화, 재협착 및 췌장염을 포함하는 만성 및 급성 염증,
- <87> c. 폐섬유화, 간섬유화 및 신장섬유화를 포함하는 섬유화,
- <88> d. 암/혈관내피종 증식 및 위암종을 포함하는 암,
- <89> e. 고혈압을 포함하는 대사성 질환,
- <90> f. 및 신경병증성 통증, 이식편 거부/이식편 실패/이식편 혈관질환, HIV 감염/AIDS, 임신중독, 결절성 경화증을 포함하는 기타 염증성 질환.
- <91> 9. 항목 8에 있어서, 질환이 경도 인지장애(MCI), 알츠하이머병, 다운 증후군에서의 신경 퇴행, 가족성 영국 치매, 가족성 덴마크 치매, 다발성 경화증으로부터 선택된 신경퇴행성 질환인 용도.
- <92> 10. 항목 8 또는 9에 있어서, 질환이 경도 인지장애(MCI)인 용도.
- <93> 11. 항목 8 내지 10 중 어느 한 항목에 있어서, QC 저해제가 뇌기능 개선 약제, 신경보호제, 항파킨슨 약물, 아밀로이드 단백질 침착 저해제, 베타 아밀로이드 합성 저해제, 항우울제, 항불안 약물, 항정신병 약물 및 항-다발성 경화증 약물로 구성된 군으로부터 선택된 추가 약제와 배합하여 투여되는 용도.
- <94> 12. 항목 8에 있어서, 질환이 류머티스 관절염, 죽상동맥경화, 재협착 및 췌장염으로부터 선택된 만성 또는 급성 염증인 용도.
- <95> 13. 항목 8 또는 12에 있어서, 질환이 재협착 및 췌장염으로부터 선택되는 용도.
- <96> 14. 항목 8, 12 또는 13에 있어서, QC 저해제가 안지오텐신 전환 효소(ACE) 저해제; 안지오텐신 II 수용체 차단제; 이뇨제; 칼슘 채널 차단제(CCB); 베타-차단제; 혈소판 응고 저해제; 콜레스테롤 흡수 조절제; HMG-Co-A 리덕타제 저해제; 고밀도 지단백(HDL) 증대 화합물; 레닌 저해제; IL-6 저해제; 항염증 코르티코스테로이드; 항증식 약제; 일산화 질소 공여체; 세포외기질 합성 저해제; 성장 인자 또는 사이토카인 신호 전달 저해제; MCP-1 길항제 및 티로신 키나제 저해제로 구성된 군으로부터 선택된 추가 약제와 배합하여 투여되는 용도.
- <97> 15. 하기로부터 선택된 염증성 질환 또는 병태의 치료 및/또는 예방을 위한 의약품의 제조에 있어서 QC 저해제의 용도:
- <98> a. 경도 인지장애(MCI), 알츠하이머병, 다운 증후군에서의 신경 퇴행, 가족성 영국 치매, 가족성 덴마크 치매, 다발성 경화증을 포함하는 신경퇴행성 질환,
- <99> b. 류머티스 관절염, 죽상동맥경화, 재협착, 췌장염을 포함하는 만성 및 급성 염증,

- <100> c. 폐섬유화, 간섬유화, 신장섬유화를 포함하는 섬유화,
- <101> d. 암/혈관내피종 증식, 위암종을 포함하는 암,
- <102> e. 고혈압을 포함하는 대사성 질환,
- <103> f. 및 신경병증성 통증, 이식편 거부/이식편 실패/이식편 혈관질환, HIV 감염/AIDS, 임신중독, 결절성 경화증을 포함하는 기타 염증성 질환.
- <104> 16. 항목 15에 있어서, 질환이 경도 인지장애(MCI), 알츠하이머병, 다운 증후군에서의 신경 퇴행, 가족성 영국 치매, 가족성 덴마크 치매, 다발성 경화증으로부터 선택된 신경퇴행성 질환인 용도.
- <105> 17. 항목 15 또는 16에 있어서, 질환이 경도 인지장애(MCI)인 용도.
- <106> 18. 항목 15 내지 17 중 어느 한 항목에 있어서, QC 저해제가 뇌기능 개선 약제, 신경보호제, 항파킨슨 약물, 아밀로이드 단백질 침착 저해제, 베타 아밀로이드 합성 저해제, 항우울제, 항불안 약물, 항정신병 약물 및 항-다발성 경화증 약물로 구성된 군으로부터 선택된 추가 약제와 배합하여 투여되는 용도.
- <107> 19. 항목 15에 있어서, 질환이 류머티스 관절염, 죽상동맥경화, 재협착 및 췌장염으로부터 선택된 만성 또는 급성 염증인 용도.
- <108> 20. 항목 15 또는 19에 있어서, 질환이 재협착 및 췌장염으로부터 선택되는 용도.
- <109> 21. 항목 15, 19 또는 20 중 어느 한 항목에 있어서, QC 저해제가 안지오텐신 전환 효소(ACE) 저해제; 안지오텐신 II 수용체 차단제; 이뇨제; 칼슘 채널 차단제(CCB); 베타-차단제; 혈소판 응고 저해제; 콜레스테롤 흡수 조절제; HMG-Co-A 리덕타제 저해제; 고밀도 지단백(HDL) 증대 화합물; 레닌 저해제; IL-6 저해제; 항염증 코르티코스테로이드; 항증식 약제; 일산화 질소 공여체; 세포외기질 합성 저해제; 성장 인자 또는 사이토카인 신호 전달 저해제; MCP-1 길항제 및 티로신 키나제 저해제로 구성된 군으로부터 선택된 추가 약제와 배합하여 투여되는 용도.
- <110> 22. 유효량의 QC 저해제를 이를 필요로 하는 대상에게 투여하여, 하기로부터 선택된 염증성 질환 또는 병태를 치료 및/또는 예방하는 방법:
- <111> a. 경도 인지장애(MCI), 알츠하이머병, 다운 증후군에서의 신경 퇴행, 가족성 영국 치매, 가족성 덴마크 치매, 다발성 경화증을 포함하는 신경퇴행성 질환,
- <112> b. 류머티스 관절염, 죽상동맥경화, 재협착, 췌장염을 포함하는 만성 및 급성 염증,
- <113> c. 폐섬유화, 간섬유화, 신장섬유화를 포함하는 섬유화,
- <114> d. 암/혈관내피종 증식, 위암종을 포함하는 암,
- <115> e. 고혈압을 포함하는 대사성 질환,
- <116> f. 및 신경병증성 통증, 이식편 거부/이식편 실패/이식편 혈관질환, HIV 감염/AIDS, 임신중독, 결절성 경화증을 포함하는 기타 염증성 질환.
- <117> 23. 항목 22에 있어서, 질환이 경도 인지장애(MCI), 알츠하이머병, 다운 증후군에서의 신경 퇴행, 가족성 영국 치매, 가족성 덴마크 치매, 다발성 경화증으로부터 선택된 신경퇴행성 질환인 치료 및/또는 예방 방법.
- <118> 24. 항목 23 또는 24에 있어서, 질환이 경도 인지장애(MCI)인 치료 및/또는 예방 방법.
- <119> 25. 항목 23 내지 25 중 어느 한 항목에 있어서, QC 저해제가 뇌기능 개선 약제, 신경보호제, 항파킨슨 약물, 아밀로이드 단백질 침착 저해제, 베타 아밀로이드 합성 저해제, 항우울제, 항불안 약물, 항정신병 약물 및 항-다발성 경화증 약물로 구성된 군으로부터 선택된 추가 약제와 배합하여 투여되는 치료 및/또는 예방 방법.
- <120> 26. 항목 23에 있어서, 질환이 류머티스 관절염, 죽상동맥경화, 재협착 및 췌장염으로부터 선택된 만성 또는 급성 염증인 치료 및/또는 예방 방법.
- <121> 27. 항목 23 또는 26에 있어서, 질환이 재협착 및 췌장염으로부터 선택되는 치료 및/또는 예방 방법.
- <122> 28. 항목 23, 26 또는 27에 있어서, QC 저해제가 안지오텐신 전환 효소(ACE) 저해제; 안지오텐신 II 수용체 차단제; 이뇨제; 칼슘 채널 차단제(CCB); 베타-차단제; 혈소판 응고 저해제; 콜레스테롤 흡수 조절제; HMG-Co-A

리덕타제 저해제; 고밀도 지단백(HDL) 증대 화합물; 레닌 저해제; IL-6 저해제; 항염증 코르티코스테로이드; 항증식 약제; 일산화 질소 공여체; 세포외기질 합성 저해제; 성장 인자 또는 사이토카인 신호 전달 저해제; MCP-1 길항제 및 티로신 키나제 저해제로 구성된 군으로부터 선택된 추가 약제와 배합하여 투여되는 치료 및/또는 예방 방법.

<123> 29. 항목 7 내지 21 중 어느 한 항목에 있어서, 질환 및/또는 병태를 앓는 대상이 인간인 용도.

<124> 30. 항목 22 내지 28 중 어느 한 항목에 있어서, 질환 및/또는 병태를 앓는 대상이 인간인 방법.

<125> 31. 전기 항목 중 어느 한 항목에 있어서, QC 저해제가 화학식 1, 1\*, 1a, 1b, 1c, 1d, 1e, 1f, 1g, 1h 및 1i로부터 선택된 저해제인 용도 또는 방법.

<126> 32. 항목 1 내지 31 중 어느 한 항목에 있어서, QC 저해제가 실시예 1 내지 141로부터 선택된 저해제인 용도 또는 방법.

<127> 33. 항목 1 내지 32 중 어느 한 항목에 있어서, QC 저해제가 1-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-3-(3,4-디메톡시-페닐) 티오우레아 하이드로클로라이드인 용도 또는 방법.

<128> 34. QC 저해제를 포함하는 진단 어세이.

<129> 35. 항목 34에 있어서, QC 저해제가 화학식 1, 1\*, 1a, 1b, 1c, 1d, 1e, 1f, 1g, 1h 및 1i로부터 선택된 저해제인 진단 어세이.

<130> 36. 항목 34 또는 35에 있어서, QC 저해제가 실시예 1 내지 141로부터 선택된 저해제인 진단 어세이.

<131> 37. 항목 34 내지 36 중 어느 한 항목에 있어서, QC 저해제가 1-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-3-(3,4-디메톡시-페닐) 티오우레아 하이드로클로라이드인 진단 어세이.

<132> 38. 하기 단계를 특징으로 하여, 항목 1에 정의된 질환 및/또는 병태 중 임의의 하나를 진단하는 방법:

<133> - 상기 질환 및/또는 병태를 앓고 있는 것으로 의심되는 대상으로부터 시료를 수집하는 단계,

<134> - 시료를 QC 저해제에 접촉시키는 단계, 및

<135> - 대상이 상기 질환 및/또는 병태를 앓고 있는지 여부를 결정하는 단계.

<136> 39. 항목 38에 있어서, 대상이 인간인 방법.

<137> 40. 항목 38 또는 39에 있어서, QC 저해제가 화학식 1, 1\*, 1a, 1b, 1c, 1d, 1e, 1f, 1g, 1h 및 1i로부터 선택된 저해제인 방법.

<138> 41. 항목 38 내지 40 중 어느 한 항목에 있어서, QC 저해제가 실시예 1 내지 141로부터 선택된 저해제인 방법.

<139> 42. 항목 38 내지 41 중 어느 한 항목에 있어서, QC 저해제가 1-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-3-(3,4-디메톡시-페닐) 티오우레아 하이드로클로라이드인 방법.

<140> 43. 항목 38 내지 42 중 어느 한 항목에 있어서, 시료가 혈액 시료, 혈청 시료, 뇌척수액(cerebrospinal liquor)의 시료 또는 소변 시료인 방법.

<141> 44. 검출 수단으로서 항목 34 또는 37 중 어느 하나의 진단 어세이 및 결정 수단을 포함하여 항목 38 내지 42의 방법을 실시하기 위한 진단 키트.

<142> 45. 항목 1 내지 7 또는 31 내지 33 중 어느 한 항목에 따른 QC 저해제를 포함하는 약제학적 조성물.

<143> 특히 바람직한 구현예에서 본 발명은, 류머티스 관절염, 죽상동맥경화, 재협착 및 혀장염, 특히 재협착 및 혀장염, 가장 바람직하게는 재협착으로부터 선택된 만성 또는 급성 염증의 치료 방법에 있어서 QC 저해제의 용도에 관한 것이다.

<144> 류머티스 관절염, 죽상동맥경화, 재협착 및 혀장염으로부터 선택된 만성 또는 급성 염증을 치료하기 위한 QC 저해제의 효과는 본 발명의 실시예 3, 7 및 8에 기술된 생체 내 어세이를 사용하여 시험할 수 있다.

<145> 본 발명에 따라 더욱 바람직한 것은 경도 인지장애(MCI)의 치료 방법에 있어서 QC 저해제의 용도이다.

<146> 따라서, 더욱 바람직하게 본 발명은 하기 항목들에 관한 것이다:

- <147> 1. 경도 인지장애(MCI), 재협착 및 췌장염으로부터 선택된 염증성 질환 또는 병태의 치료 및/또는 예방을 위한 QC 저해제.
- <148> 2. 경도 인지장애(MCI), 재협착 및 췌장염으로부터 선택된 염증성 질환 또는 병태의 치료 및/또는 예방을 위한 QC 저해제의 용도.
- <149> 3. 경도 인지장애(MCI), 재협착 및 췌장염으로부터 선택된 염증성 질환 또는 병태의 치료 및/또는 예방을 위한 의약품의 제조에 있어서 QC 저해제의 용도.
- <150> 4. 항목 1 내지 3 중 어느 한 항목에 있어서, 질환이 경도 인지장애(MCI)인 QC 저해제 또는 이의 용도.
- <151> 5. 항목 1 내지 4 중 어느 한 항목에 있어서, QC 저해제가 뇌기능 개선 약제, 신경보호제, 항파킨슨 약물, 아밀로이드 단백질 침착 저해제, 베타 아밀로이드 합성 저해제, 항우울제, 항불안 약물, 항정신병 약물 및 항-다발성 경화증 약물로 구성된 군으로부터 선택된 추가 약제와 배합하여 투여되는 QC 저해제 또는 이의 용도.
- <152> 6. 항목 1 내지 3 중 어느 한 항목에 있어서, 질환이 재협착 및 췌장염으로부터 선택되는 QC 저해제 또는 이의 용도.
- <153> 7. 항목 1 내지 3 또는 6 중 어느 한 항목에 있어서, 질환이 재협착인 QC 저해제 또는 이의 용도.
- <154> 8. 항목 1 내지 3, 6 또는 7 중 어느 한 항목에 있어서, QC 저해제가 안지오텐신 전환 효소(ACE) 저해제; 안지오텐신 II 수용체 차단제; 이뇨제; 칼슘 채널 차단제(CCB); 베타-차단제; 혈소판 응고 저해제; 콜레스테롤 흡수 조절제; HMG-Co-A 리덕타제 저해제; 고밀도 지단백(HDL) 증대 화합물; 레닌 저해제; IL-6 저해제; 항염증 코르티코스테로이드; 항증식 약제; 일산화 질소 공여체; 세포외기질 합성 저해제; 성장 인자 또는 사이토카인 신호 전달 저해제; MCP-1 길항제 및 티로신 키나제 저해제로 구성된 군으로부터 선택된 추가 약제와 배합하여 투여되는 QC-저해제 또는 이의 용도.
- <155> 9. 유효량의 QC 저해제를 이를 필요로 하는 대상에게 투여하여, 경도 인지장애(MCI), 재협착 및 췌장염으로부터 선택된 염증성 질환 또는 병태를 치료 및/또는 예방하는 방법.
- <156> 10. 항목 9에 있어서, 질환이 경도 인지장애(MCI)인 치료 및/또는 예방 방법.
- <157> 11. 항목 9 또는 10에 있어서, QC 저해제가 뇌기능 개선 약제, 신경보호제, 항파킨슨 약물, 아밀로이드 단백질 침착 저해제, 베타 아밀로이드 합성 저해제, 항우울제, 항불안 약물, 항정신병 약물 및 항-다발성 경화증 약물로 구성된 군으로부터 선택된 추가 약제와 배합하여 투여되는 치료 및/또는 예방 방법.
- <158> 12. 항목 9에 있어서, 질환이 류머티스 관절염, 죽상동맥경화, 재협착 및 췌장염으로부터 선택된 만성 또는 급성 염증인 치료 및/또는 예방 방법.
- <159> 13. 항목 9 또는 12에 있어서, 질환이 재협착 및 췌장염으로부터 선택되는 치료 및/또는 예방 방법.
- <160> 14. 항목 9, 12 또는 13 중 어느 한 항목에 있어서, 질환이 재협착인 치료 및/또는 예방 방법.
- <161> 15. 항목 9, 또는 12 내지 14 중 어느 한 항목에 있어서, QC 저해제가 안지오텐신 전환 효소(ACE) 저해제; 안지오텐신 II 수용체 차단제; 이뇨제; 칼슘 채널 차단제(CCB); 베타-차단제; 혈소판 응고 저해제; 콜레스테롤 흡수 조절제; HMG-Co-A 리덕타제 저해제; 고밀도 지단백(HDL) 증대 화합물; 레닌 저해제; IL-6 저해제; 항염증 코르티코스테로이드; 항증식 약제; 일산화 질소 공여체; 세포외기질 합성 저해제; 성장 인자 또는 사이토카인 신호 전달 저해제; MCP-1 길항제 및 티로신 키나제 저해제로 구성된 군으로부터 선택된 추가 약제와 배합하여 투여되는 치료 및/또는 예방 방법.
- <162> 16. 항목 2 내지 8 중 어느 한 항목에 있어서, 질환 및/또는 병태를 앓는 대상이 인간인 용도.
- <163> 17. 항목 9 내지 15 중 어느 한 항목에 있어서, 질환 및/또는 병태를 앓는 대상이 인간인 방법.
- <164> 18. 항목 1 내지 17 중 어느 한 항목에 있어서, QC 저해제가 화학식 1, 1\*, 1a, 1b, 1c, 1d, 1e, 1f, 1g, 1h 및 1i로부터 선택된 저해제인 QC-저해제, 용도 또는 방법.
- <165> 19. 항목 1 내지 18 중 어느 한 항목에 있어서, QC 저해제가 실시예 1 내지 141로부터 선택된 저해제인 QC-저해제, 용도 또는 방법.
- <166> 20. 항목 1 내지 19 중 어느 한 항목에 있어서, QC 저해제가 1-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-3-(3,4-디메톡시-

페닐) 티오우레아 하이드로클로라이드인 QC-저해제, 용도 또는 방법.

<167> 21. QC 저해제를 포함하는 진단 어세이.

<168> 22. 항목 21에 있어서, QC 저해제가 화학식 1, 1\*, 1a, 1b, 1c, 1d, 1e, 1f, 1g, 1h 및 1i로부터 선택된 저해제인 진단 어세이.

<169> 23. 항목 21 또는 22에 있어서, QC 저해제가 실시예 1 내지 141로부터 선택된 저해제인 진단 어세이.

<170> 24. 항목 21 내지 23 중 어느 한 항목에 있어서, QC 저해제가 1-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-3-(3,4-디메톡시-페닐) 티오우레아 하이드로클로라이드인 진단 어세이.

<171> 25. 하기 단계를 특징으로 하여, 항목 1에 정의된 질환 및/또는 병태 중 임의의 하나를 진단하는 방법:

<172> - 상기 질환 및/또는 병태를 앓고 있는 것으로 의심되는 대상으로부터 시료를 수집하는 단계,

<173> - 시료를 글루타미닐 펩티드 사이클로트란스페라제의 저해제에 접촉시키는 단계, 및

<174> - 대상이 상기 질환 및/또는 병태를 앓고 있는지 여부를 결정하는 단계.

<175> 26. 항목 26에 있어서, 대상이 인간인 방법.

<176> 27. 항목 26 또는 27에 있어서, QC 저해제가 화학식 1, 1\*, 1a, 1b, 1c, 1d, 1e, 1f, 1g, 1h 및 1i로부터 선택된 저해제인 방법.

<177> 28. 항목 25 내지 27 중 어느 한 항목에 있어서, QC 저해제가 실시예 1 내지 141로부터 선택된 저해제인 방법.

<178> 29. 항목 25 내지 28 중 어느 한 항목에 있어서, QC 저해제가 1-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-3-(3,4-디메톡시-페닐) 티오우레아 하이드로클로라이드인 방법.

<179> 30. 항목 25 내지 29 중 어느 한 항목에 있어서, 시료가 혈액 시료, 혈청 시료, 뇌척수액의 시료 또는 소변 시료인 방법.

<180> 31. 검출 수단으로서 항목 21 내지 24 중 어느 하나의 진단 어세이 및 결정 수단을 포함하여 항목 25 내지 30의 방법을 실시하기 위한 진단 키트.

<181> 32. 항목 1, 4 내지 6 또는 18 내지 20 중 어느 한 항목에 따른 QC 저해제를 포함하는 약제학적 조성물.

<182> 정의

<183> **효소 저해제, 특히 QC의 저해제**

<184> **가역적 효소 저해제:** 경쟁적(competitive) 저해제, 비-경쟁적(non-competitive) 가역적 저해제, 저속-결합(slow-binding) 또는 강력-결합(tight-binding) 저해제, 전이상태 유사체 및 다중기질(multisubstrate) 유사체를 포함한다.

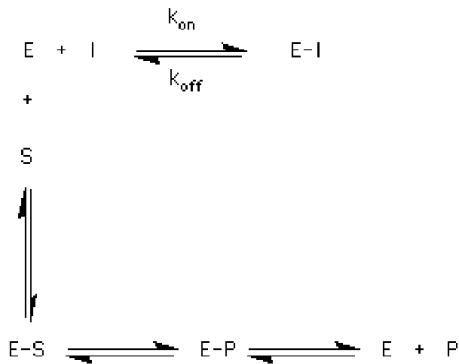
<185> 경쟁적 저해제

<186> i) 효소와 비-공유적 상호작용이며,

<187> ii) 효소 활성부위에 대해 기질과 경쟁한다.

&lt;188&gt;

가역적 효소 저해제의 주요 작용 기전 및 해리상수의 정의는 하기와 같이 나타낼 수 있다:



&lt;189&gt;

효소-저해제 [E-I] 복합체의 형성이 기질의 결합을 방지하므로, 반응이 정상적 생리학적 산물, P로 진행하지 못 한다. 저해제 농도 [I]가 높으면 [E-I]가 높아지고, 기질이 결합할 수 있는 유리 효소가 적게 남는다.

&lt;190&gt;

#### 비-경쟁적 저해제

i) 활성부위가 아닌 다른 부위(allosteric) 결합 부위)에 결합하며,

ii) 촉매 활성을 감소시키거나 중지시키는 입체구조 변화를 효소에 일으킨다.

#### 저속-결합 또는 강력-결합 저해제

i) 저해제 및 효소 사이의 평형에 저속으로 도달하는 경쟁적 저해제로서,

ii) ( $k_{on}$ 이 느리고), 아마도 효소 또는 저해제에 입체구조 변화가 일어나야 하기 때문에,

a) 종종 전이상태 유사체이며

b) 효소 농도와 유사한 농도에서 효과적이고(나노몰 이하의 KD 수치)

c)  $k_{off}$  수치가 너무 낮기 때문에 이러한 유형의 저해제는 "거의" 비가역적이다.

#### 전이상태 유사체

효소 촉매반응의 전이상태를 모방하는 경쟁적 저해제이다. 효소 촉매하는 전이상태의 에너지를 낮춤으로써 일어나므로, 전이상태 결합이 기질 결합보다 선호된다.

#### 다중기질 유사체

2개 이상의 기질이 관여하는 반응에 있어서, 2개 이상의 기질을 닮은 구조적 특징을 가진 경쟁적 저해제 또는 전이상태 유사체를 설계할 수 있다.

**비가역적 효소 저해제:** 결합되지 않은 효소 및 저해제 및 효소 저해제 복합체 사이의 평형( $E + I \rightleftharpoons E-I$ )을 공유결합(~100 kcal/mole)을 가진 E-I-쪽으로 강력하게 이동시켜, 저해를 비가역적으로 만든다.

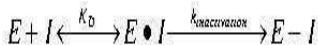
#### 친화성 표지화 약제

· 활성-부위 유도된 비가역적 저해제(경쟁적 비가역적 저해제)는 효소에 의해 인지된 후(가역적, 특이적 결합) 공유결합을 형성하며,

i) 기질, 전이상태 또는 산물과 구조적으로 유사하여, 약물 및 표적 효소 사이의 특이적 상호작용을 가능하게 하고,

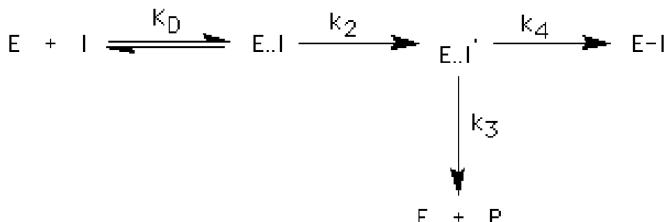
ii) 반응성 기능기(예를 들어 친핵체,  $-COCH_2Br$ )를 보유하여 공유결합 형성을 가능하게 한다.

<209> 하기 반응식은 활성-부위 유도된 시약을 그의 표적 효소와 함께 기술하며, 여기에서  $K_D$ 는 해리상수이고  $k_{inactivation}$ 은 공유결합 형성의 속도이다.



<211> · 기전-기초 효소 불활성화제(자살 저해제라고도 지칭함)은 활성-부위 유도된 시약(비반응성)으로서, 효소 활성부위에 결합하여 효소의 촉매화 능력에 의해 반응성 형태로 전환(활성화)된다. 일단 활성화되면, 저해제 및 효소 사이에 공유결합이 형성된다.

<212> 하기 반응식은 기전 기초 효소 불활성화제의 작용 기전이며, 여기에서  $K_D$ 는 해리 복합체이고,  $k_2$ 는 효소에 일단 결합한 저해제의 활성화 속도이며,  $k_3$ 는 활성화된 저해제,  $P$ 가 효소로부터 해리되는 속도이고(산물은 여전히 반응성일 수 있음),  $k_4$ 는 활성화된 저해제 및 효소 사이의 공유결합 형성 속도이다.

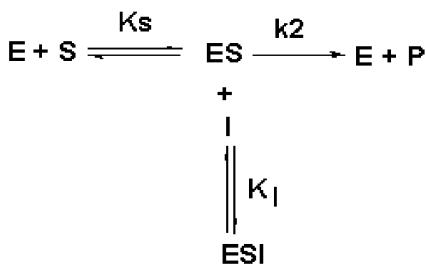


<213>

불활성화(공유결합 형성,  $k_4$ )는 해리( $k_3$ )에 앞서 일어나야 하며, 그렇지 않으면 아직 반응성인 저해제가 환경에 방출된다. 시스템의 효율적인 불활성화 및 바람직하지 않은 부반응의 최소화를 위해서는, 분배비(partition ratio),  $k_3/k_4$ (불활성화에 대한 방출 산물의 비율)를 최소화해야 한다.

<215> 분배비가 크면(해리가 선호됨) 비특이적 반응이 유발된다.

<216> 불경쟁적(uncompetitive) 효소 저해제: 불경쟁적 저해제(ES 복합체에만 결합하는 저해제)의 정의로서 하기 평형식을 가정할 수 있다.



<217>

<218> ES 복합체는  $K_s$ 와 동일한 해리상수로 기질을 해리시키는 반면에, ESI 복합체는 이를 해리시키지 않는다(즉,  $K_s$  수치가 0과 같음). 미켈리스-멘텐 유형 효소들의  $K_m$ 은 감소할 것으로 예상된다. 기질 농도가 증가하면 ESI 농도(반응 산물로 진행할 수 없는 복합체)가 증가하므로 저해를 제거할 수 없다.

<219> 본 발명에 따라 경쟁적 효소 저해제가 바람직하다.

<220> 경쟁적 가역적 효소 저해제가 가장 바람직하다.

<221> 용어 "K<sub>i</sub>" 또는 "K<sub>D</sub>" 및 "K<sub>m</sub>"은 결합상수로서, 저해제가 효소에 결합하고 이어서 효소로부터 방출됨을 기술한다. 또 다른 측정은 "IC<sub>50</sub>" 수치로서, 주어진 기질 농도에서 50% 효소 활성이 나타나는 저해제 농도를 의미한다.

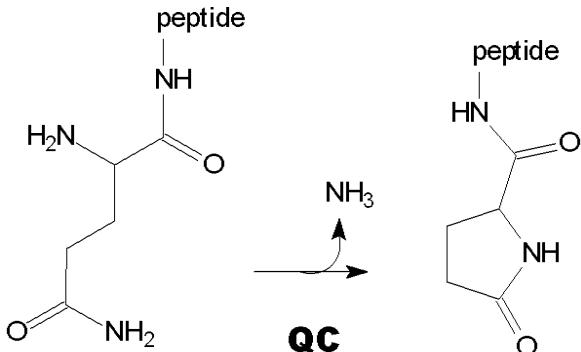
<222> QC

<223> 본 명세서에서 용어 "QC"는 글루타미닐 사이클라제(QC) 및 QC-유사 효소들을 포함한다. QC 및 QC-유사 효소들은 동일 또는 유사한 효소 활성을 가지며, QC 활성으로서 추가로 정의된다. 이러한 관점에서, QC-유사 효소들은 그의 분자 구조에 있어서 QC와는 근본적으로 상이할 수 있다.

<224> 본 명세서에서 용어 "QC 활성"은 N-말단 글루타미닐 잔기를 피로글루탐산(pGlu\*)으로 전환하는 분자내 고리화,

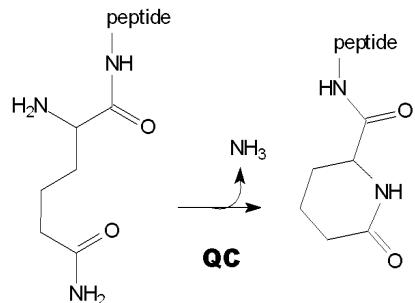
또는 암모니아를 유리시키면서 N-말단 L-호모글루타미닐 또는 L-베타-호모글루타미닐을 사이클릭 피로-호모글루타민 유도체로 전환하는 분자내 고리화로 정의된다. 이와 관련하여 반응식 1 및 2를 참조한다.

<225> 반응식 1: QC에 의한 글루타민의 고리화



<226>

<227> 반응식 2: QC에 의한 L-호모글루타민의 고리화



<228>

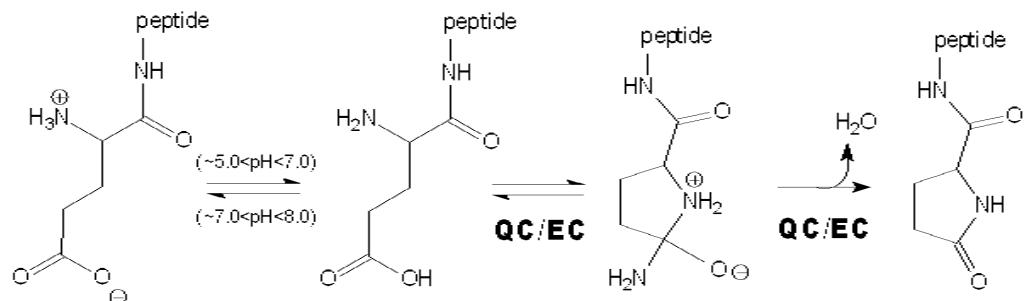
<229> 본 명세서에서 용어 "EC"는 QC 및 QC-유사 효소의 글루타메이트 사이클라제(EC)로서의 부활성(side activity)를 포함하며, EC 활성으로서 추가로 정의된다.

<230>

본 명세서에서 용어 "EC 활성"은 QC에 의해 N-말단 글루타밀 잔기가 피로글루탐산(pGlu\*)으로 전환되는 분자내 고리화로서 정의된다. 이와 관련하여 반응식 3을 참조한다.

<231>

반응식 3: 전하를 띠지 않은 글루타밀 펩티드의 QC에 의한 N-말단 고리화(EC)



<232>

<233> 용어 "QC-저해제" "글루타미닐 사이클라제 저해제"는 당업자에게 일반적으로 공지되어 있고, 상기와 같이 일반적으로 정의된 효소 저해제를 의미하며, 이들은 글루타미닐 사이클라제(QC)의 촉매 활성 또는 그의 글루타밀 사이클라제(EC) 활성을 저해한다.

<234>

QC 저해의 효능

<235>

QC 저해와의 상관관계에 비추어, 바람직한 구현예에서, 본원 방법 및 의학적 용도는 QC 저해에 대한  $K_i$ 가  $10 \mu M$  이하, 더욱 바람직하게는  $1 \mu M$  이하, 더욱더 바람직하게는  $0.1 \mu M$  이하 또는  $0.01 \mu M$  이하, 또는 가장 바람직하게는  $0.001 \mu M$  이하인 약제를 이용한다. 실제로, 낮은 마이크로몰, 바람직하게는 나노몰, 더욱 바람직하게는 피코몰 범위의  $K_i$  수치를 가진 저해제가 고려된다. 따라서, 본 명세서에는 활성 약제들이 편의상 "QC 저해제"로서 기술되어 있지만, 이러한 명명법이 어떤 방법으로든 본 발명의 대상을 한정하지 않음이 이해되어야 한다.

다.

**<236> QC 저해제의 분자량**

일반적으로 본원 방법 또는 의학적 용도의 QC 저해제들은, 예를 들어 1000 g/mole 이하, 500 g/mole 이하, 바람직하게는 400 g/mole 이하, 더욱 바람직하게는 350 g/mole 이하 및 300 g/mole 이하의 분자량을 가진 작은 분자이다.

**<238>** 본 명세서에서 용어 "대상"은, 동물, 바람직하게는 포유류, 가장 바람직하게는 인간을 지칭하며, 이들은 치료, 관찰 또는 실험의 대상이고/하거나 항목들에서 정의된 질환 및/또는 병태를 앓는 것으로 의심된다.

**<239>** 본 명세서에서 용어 "치료적 유효량"은, 치료하고자 하는 질환 또는 장애의 증상의 완화를 포함하여 조직 시스템, 동물 또는 인간에서 연구자, 수의사, 의사 또는 기타 의료인이 추구하는 생물학적 또는 의학적 반응을 도출하는, 활성 화합물 또는 약제학적 약제의 양을 의미한다.

**<240>** 본 명세서에서 용어 "약제학적으로 허용되는"은 인간 및 수의학적 용도를 모두 포함하며, 예를 들어 용어 "약제학적으로 허용되는"은 수의학적으로 허용되는 화합물 또는 인간 의학 및 보건의료에서 허용되는 화합물을 포함한다.

**약제학적으로 허용되는 염:**

**<242>** 유리 화합물 및 그의 염 또는 용매화물 형태의 화합물 사이의 밀접한 관계를 고려하여, 화합물 또는 저해제를 이와 관련하여 각각 지칭할 경우에는, 상응하는 염 또는 용매화물도, 그러한 것이 가능하거나 상황에 적절하다면, 함께 의미한다.

**<243>** 본 발명의 저해제의 염 및 용매화물 및 생리학적으로 기능성인 그의 유도체로서 의학적 용도에 적합한 것들은 반대-이온 또는 결합된 용매가 약제학적으로 허용되는 것들이다. 그러나, 약제학적으로 허용되지 않는 반대-이온 또는 결합된 용매를 가진 염 및 용매화물은, 예를 들어 다른 화합물 및 약제학적으로 허용되는 그의 염 및 용매화물의 제조에 있어서 중간체로서의 사용을 위해, 본 발명의 범위 내에 포함된다.

**<244>** 본 발명에 따라 적합한 염은 유기 및 무기 산 또는 염기와 함께 형성되는 것들을 포함한다. 약제학적으로 허용되는 산 부가염은 염산, 브롬산, 황산, 질산, 시트르산, 타르타르산, 인산, 락트산, 피루브산, 아세트산, 트리플루오로아세트산, 트리페닐아세트산, 설판산, 설판산, 숙신산, 옥살산, 푸마르산, 말레산, 말산, 만델산, 글루탐산, 아스파트산, 옥살로아세트산, 메탄설퐻산, 에탄설퐻산, 아릴설퐻산(예를 들어 p-톨루엔설퐻산, 벤젠설퐻산, 나프탈렌설퐻산 또는 나프탈렌-디설퐻산), 살리실산, 글루타르산, 글루콘산, 트리카발릴산, 신남산, 치환된 신남산(예를 들어 폐닐, 메틸, 메톡시 또는 할로 치환된 신남산, 예를 들어 4-메틸 및 4-메톡시신남산), 아스코르브산, 올레산, 나프토산, 하이드록시나프토산(예를 들어 1- 또는 3-하이드록시-2-나프토산), 나프탈렌아크릴산(예를 들어 나프탈렌-2-아크릴산), 벤조산, 4-메톡시벤조산, 2- 또는 4-하이드록시벤조산, 4-클로로벤조산, 4-페닐벤조산, 벤젠아크릴산(예를 들어 1,4-벤젠디아크릴산), 이세티온산, 퍼클로로산, 프로피온산, 글리콜산, 하이드록시에탄설퐻산, 파모산, 사이클로헥산설퐻산, 살리실산, 사카린산 및 트리플루오로아세트산으로부터 형성된 것들을 포함한다. 약제학적으로 허용되는 염기 염은 암모늄염, 소듐 및 포타슘의 염과 같은 알칼리 금속염, 칼슘 및 마그네슘의 염과 같은 알칼린 토금속염, 및 디사이클로헥실아민 및 N-메틸-D-글루타민과 같은 유기 염기의 염을 포함한다.

**<245>** 본 발명의 저해제의 약제학적으로 허용되는 모든 산 부가염 형태는 본 발명의 범위 내에 포함된다.

**<246>** 용매화물의 예는 수화물을 포함한다.

**다형체 결정 형태(polymorph crystal form):**

**<248>** 추가로, 저해제의 일부 결정 형태는 다형체로서 존재할 수 있으며, 그 상태로 본 발명에 포함된다. 또한, 일부 화합물은 물(즉, 수화물) 또는 통상의 유기 용매와 용매화물을 형성할 수 있으며, 이러한 용매화물도 본 발명의 범위 내에 포함된다. 저해제는, 그의 염을 포함하여, 그의 수화물 형태로 수득되거나 그의 결정화에 사용된 다른 용매를 포함할 수도 있다.

**전구약물:**

**<250>** 본 발명의 범위 내에는 본 발명의 저해제의 전구약물이 추가로 포함된다. 일반적으로 이러한 전구약물은 저해제의 기능성 유도체로서, 생체내에서 목적하는 치료적 활성 저해제로 용이하게 전환된다. 따라서, 이러한 경우에

본 발명의 치료 방법, 용어 "투여"는, 항목화된 하나 이상의 저해제의 전구약물 형태로서 대상에게 투여된 후에 생체내에서 상기 특정된 저해제로 전환되는 것들을 사용하여, 기술된 다양한 장애를 치료함을 포함한다. 적합한 전구약물 유도체의 선택 및 제조를 위한 전통적인 절차는, 예를 들어 문헌("Design of Prodrugs", ed. H. Bundgaard, Elsevier, 1985) 및 특히 출원 DE 198 28 113, DE 198 28 114, WO 99/67228 및 WO 99/67279에 기술되어 있으며, 이들은 참조로 본 명세서에 전체로서 포함된다.

**<251> 보호기:**

본 발명의 저해제를 제조하는 모든 과정 중에, 관련된 임의의 문자 상의 민감하거나 반응성인 그룹을 보호하는 것이 필요하고/하거나 바람직할 수 있다. 이는 원용에 의해 본 명세서에 전체로서 포함된 문헌(Protective Groups in Organic Chemistry, ed. J.F.W. McOmie, Plenum Press, 1973; 및 T.W. Greene & P.G.M. Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley & Sons, 1991)에 기술된 것과 같은 전통적인 보호기를 이용하여 달성할 수 있다. 보호기는 당업계에 공지된 방법을 사용하여 편리한 후속 단계에서 제거될 수 있다.

**<253> 본 명세서에서 용어 "조성물"은, 항목화된 화합물을 치료적 유효량으로 포함하는 산물과 더불어, 항목화된 화합물의 배합으로부터 직접 또는 간접적으로 얻어지는 임의의 산물을 포괄하는 의미이다.**

**<254> 갈레노스 제형(galenic formulation)을 위한 담체 및 첨가제:**

예를 들어 혼탁액, 엘리시르(elixir) 및 용액과 같은 경구용 액체 제제에 있어서 적합한 담체 및 첨가제는 물, 글리콜, 오일, 알콜, 착향료, 방부제, 착색제 등을 유리하게 포함할 수 있고; 예를 들어 산제, 캡슐, 젤캡(gelcap) 및 정제와 같은 경구용 고체 제제에 있어서 적합한 담체 및 첨가제는 전분, 당, 희석제, 과립화제, 윤활제, 결합제, 봉해제 등을 포함한다.

**<256> 혼합물에 첨가될 수 있는 담체는 필요하고 불활성인 약제학적 부형제를 포함하며, 적합한 결합제, 혼탁화제, 윤활제, 가향료(flavorant), 감미료, 방부제, 코팅, 봉해제, 염료 및 착색제를 포함하나 이에 한정되지 않는다.**

**<257> 표적화할 수 있는 약물 담체로서의 가용성 중합체는 폴리비닐파리돈, 피란 공중합체, 폴리하이드록시프로필메타크릴아미드페놀, 폴리하이드록시에틸아스파트아미드페놀 또는 팔미토일 잔기(들)로 치환된 폴리에틸렌옥사이드폴리라이신을 포함할 수 있다. 추가로, 본 발명의 저해제는 약물의 조절형/서방형 방출을 달성하기에 유용한 일군의 생분해성 중합체, 예를 들어, 폴리액트산, 폴리-엡실론 카프로락톤, 폴리하이드록시 부티르산, 폴리오르토에스테르, 폴리아세탈, 폴리디하이드로피란, 폴리시아노아크릴레이트 및 가교화되거나 양친매성인 하이드로겔의 블록 공중합체에 결합될 수 있다.**

**<258> 적합한 결합제는 전분, 젤라틴, 천연 당, 예를 들어 글루코즈 또는 베타-락토즈, 옥수수 감미료(corn sweetener), 천연 및 합성 검, 예를 들어 아카시아, 트래거캔스 또는 소듐 올리에이트, 소듐 스테아레이트, 마그네슘 스테아레이트, 소듐 벤조에이트, 소듐 아세테이트, 소듐 클로라이드 등을 포함하나 이에 한정되지 않는다.**

**<259> 봉해제는 전분, 메틸 셀룰로즈, 아가, 벤토나이트, 잔탄 검 등을 포함하나 이에 한정되지 않는다.**

**<260> QC-저해제의 예**

본 발명에 따른 용도 및 방법에 있어서 적합한 QC-저해제들은, QC-저해제의 구조, 합성 및 사용 방법에 관한 그 전체 내용이 원용에 의해 본 명세서에 포함된 WO 2005/075436에 개시되어 있다.

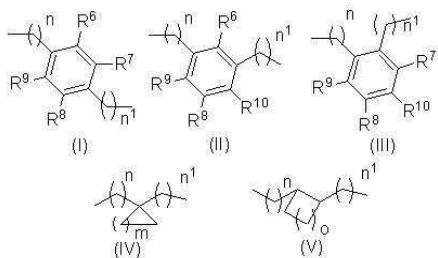
**<262> 본 발명은 하기 화학식 1의 구조로 나타내는 QC(EC)의 신규 저해제를 제공한다:**



**<264> 상기 식에서,**

**<265> A는 알킬쇄, 알케닐쇄 또는 알키닐쇄이거나;**

<266> A는 하기 구조로부터 선택되는 기이며:



<267>

<268> 상기 식에서,

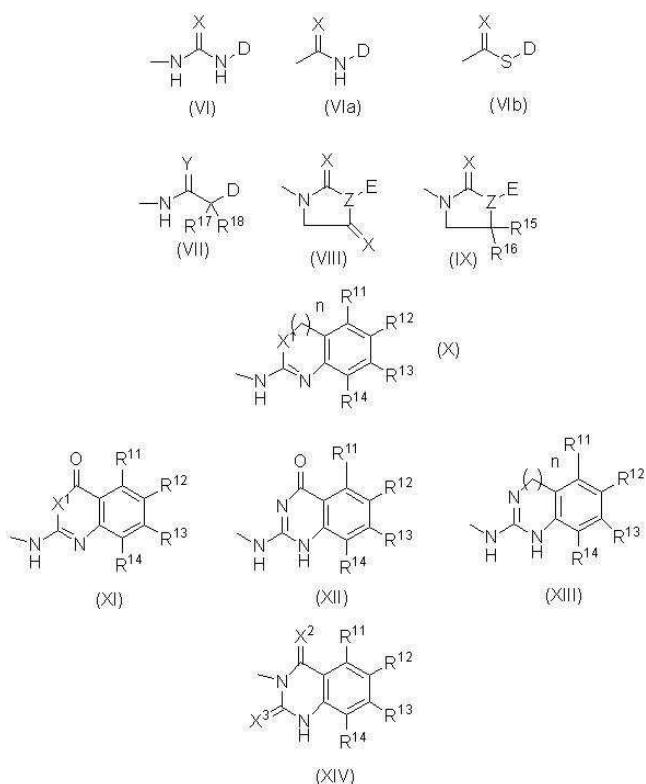
<269>  $R^6$ ,  $R^7$ ,  $R^8$ ,  $R^9$  및  $R^{10}$ 은 독립적으로 H 또는 알킬쇄, 알케닐쇄, 알키닐쇄, 사이클로알킬, 카보사이클, 아릴, 해테로아릴 또는 해테로사이클이고;

<270> n 및  $n^1$ 은 독립적으로 1 ~ 5이며;

<271> m은 1 ~ 5이고;

<272> o는 0 ~ 4이며;

<273> B는 하기 구조 (VI) ~ (XIV)로부터 선택되는 기이고:



<274>

<275> 상기 식에서,

<276> D 및 E는 독립적으로 알킬쇄, 알케닐쇄, 알키닐쇄, 사이클로알킬, 카보사이클, 아릴, -알킬아릴, 해테로아릴, -알킬해테로아릴, 아실 또는 해테로사이클이며;

<277> X는  $CR^{20}R^{21}$ , O, S,  $NR^{19}$ 이고, 다만 화학식 (VIII) 및 (IX)에 있어서  $Z = CH$ 인 경우 X는 O 또는 S이며;

<278>  $R^{19}$ 는 H, 알킬, 사이클로알킬, 아릴, 해테로아릴, -옥시알킬, -옥시아릴, 카보닐, 아미도, 하이드록시,  $NO_2$ ,  $NH_2$ ,  $CN$ 으로 구성되는 기로부터 선택되고;

<279>  $R^{20}$  및  $R^{21}$ 은 H, 알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클, 아릴, 헤테로아릴, -옥시알킬, -옥시아릴, 카보닐, 아미도,  $NO_2$ ,  $NH_2$ , CN,  $CF_3$ 로부터 독립적으로 선택되어며;

<280>  $X^1$ ,  $X^2$  및  $X^3$ 는 독립적으로 0 또는 S이고, 다만  $X^2$  및  $X^3$ 가 모두 0은 아니며;

<281>  $Y$ 는 0 또는 S이고, 다만  $R^{17}$  및  $R^{18}$ 에 의해 형성되는 카보사이클이 환 내에 3원을 가질 경우  $Y$ 는 0가 아닐 수 있으며;

<282> Z는 CH 또는 N이고;

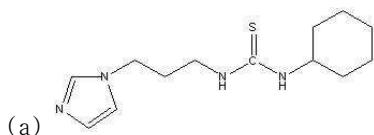
<283>  $R^{11}$ ,  $R^{12}$ ,  $R^{13}$  및  $R^{14}$ 는 H, 알킬쇄, 알케닐쇄, 알키닐쇄, 사이클로알킬, 카보사이클, 아릴, 헤테로아릴, 헤테로사이클, 할로겐, 알콕시-, -티오알킬, 카복실, 카복실산 에스테르, 카보닐, 카바미드, 카비미드, 티오카바미드 또는 티오카보닐,  $NH_2$ ,  $NO_2$ 로부터 독립적으로 선택될 수 있으며;

**<284>**  $R^{15}$  및  $R^{16}$ 는 서로 독립적으로 H 또는 분지된 또는 비분지된 알킬쇄, 또는 분지된 또는 비분지된 알케닐쇄이고;

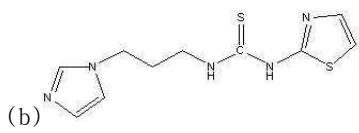
<285>  $R^{17}$  및  $R^{18}$ 는 H 또는 알킬쇄, 알케닐쇄, 알키닐쇄, 카보사이클, 아릴, 헤테로아릴, 헤테로알킬로부터 독립적으로 선택되거나, 연결되어 6개 이하의 환 원자를 가진 카보사이클을 형성할 수 있으며;

<286>  $n$ 은 0 또는 1이다.

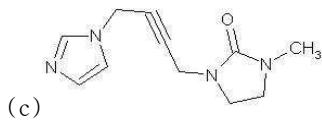
<287> 한 가지 조건으로, 하기 화합물들은 화학식 1에서 제외된다:



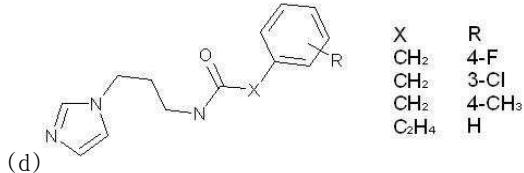
<288>



<289>



<290>



<291>

<292> A가 알킬쇄, 알케닐쇄 또는 알키닐쇄로부터 선택되는 경우, 바람직하게는 A는  $C_1-C_7$  알킬쇄,  $C_1-C_7$  알케닐쇄 또는  $C_1-C_7$  알키닐쇄이다. 본 발명의 한 구현예에서, A는 비측쇄  $C_{2-5}$  알킬쇄, 특히 비측쇄  $C_{3-4}$  알킬쇄, 더욱 특히 비측쇄  $C_3$  알킬쇄이다. 본 발명의 두 번째 구현예에서, A는 2 위치에 1개(즉, S 또는 R 배열(configuration)) 또는 2개 메틸기로 치환된  $C_3$  알킬쇄를 나타낸다.

<293> A가 화학식 (I) 내지 (V)로부터 선택되는 경우, 바람직하게는 A는 (I) 내지 (IV)의 기로부터 선택된다. 본 발명의 하나의 구현예에서, A는 화학식 (IV)의 기이며, 여기에서  $n^1$ 은 각각 1이고  $m = 1-4$ 이며, 특히  $m = 1$ 이다. 본 발명의 두 번째 구현예에서, A는 화학식 (I), (II) 또는 (III)의 기이며, 여기에서  $n$  및  $n^1$ 은 각각 1이고  $R^6$ ,  $R^7$ ,  $R^8$ ,  $R^9$  및  $R^{10}$ 은 H를 나타낸다.

<294> 바람직하게는  $R^6$ ,  $R^7$ ,  $R^8$ ,  $R^9$  및  $R^{10}$ 이 H 또는 메틸을 나타낸다.

<295> 본 발명의 한 구현예에서, 그룹 B는 (VI), (VIIa), (VIIb), (VIII), (IX), (XI), (XII), (XIII) 및 (XIV)로부터 선택된다. 본 발명의 두 번째 구현예에서, B기는 화학식 (VI)를 나타낸다. 본 발명의 세 번째 구현예에서, B기는 화학식 (VIIa)를 나타낸다. 본 발명의 네 번째 구현예에서, B기는 화학식 (VIIb)를 나타낸다. 본 발명의 다섯 번째 구현예에서, B기는 화학식 (VIII)을 나타낸다. 본 발명의 여섯 번째 구현예에서, B기는 화학식 (IX)을 나타낸다. 본 발명의 일곱 번째 구현예에서, B기는 화학식 (XI)을 나타낸다. 본 발명의 여덟 번째 구현예에서, B기는 화학식 (XII)을 나타낸다. 본 발명의 다른 구현예에서 B기는 화학식 (XIII)을 나타낸다. 본 발명의 추가의 구현예에서, B기는 화학식 (XIV)을 나타낸다. 본 발명의 바람직한 구현예에서, B는 화학식 (VI) 또는 (VII)의 기를 나타낸다.

<296> B가 화학식 (IX) 기를 나타내는 경우, 적합하게는 A가 알키닐을 나타내지 않는다.

<297> 바람직하게는 D 및 E가 독립적으로 벤질, 아릴, 헤테로아릴 또는 헤테로사이클을 나타낸다.

<298> 본 발명의 한 구현예에서 D 및 E는 아릴, 특히 폐닐 또는 나프틸, 특히 치환된 폐닐을 나타낸다. D가 폐닐을 나타내는 경우에 바람직한 치환기는 알콕시-, -티오알킬, 할로겐, 또는 카복실산 알킬 또는 아릴 에스테르를 포함한다. 플루오로, 클로로, 브로모, 요오도, 트리플루오로메틸, 트리플루오로메톡시, 메톡시, 에톡시, 벤질옥시, 시아노, 아세틸, 디메틸 아미노, 메틸설파닐, 니트로, 옥사졸릴, 피라졸릴, 이소프로필, 에틸 및 메톡시카보닐 또한 바람직하다. 폐닐기가 단일-치환된 경우에, 4-위치에 치환됨이 바람직하다. D 및 E가 나타낼 수 있는 기타 적합한 아릴 그룹은 디하이드로벤조디옥신, 벤조디옥솔, 벤조디티올 디하이드로벤조디티인, 벤조옥사티올 및 디하이드로벤조옥사티인을 포함한다. D 또는 E가 나타낼 수 있는 특히 바람직한 기는 3,4-(디메톡시)-폐닐이다.

<299> 바람직하게는  $R^{20}$  및  $R^{21}$ 이  $NO_2$ , CN,  $CF_3$ 이거나,  $R^{20}$ 가 H인 경우에  $R^{21}$ 은  $NO_2$ , CN,  $CF_3$ 이거나,  $R^{21}$ 이 H인 경우에  $R^{20}$ 은  $NO_2$ , CN,  $CF_3$ 이다.

<300> 한 구현예에서, X 또는 Y는 S, O 또는  $NR^1$ 이다. 바람직하게는 X 또는 Y는 S이다.

<301> 바람직하게는 Z는 N을 나타낸다.

<302> 바람직한 구현예에서,  $R^{11}$  및  $R^{14}$ 는 H이다.

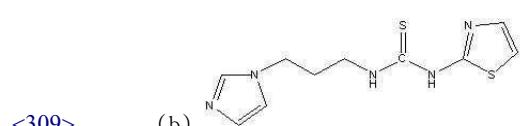
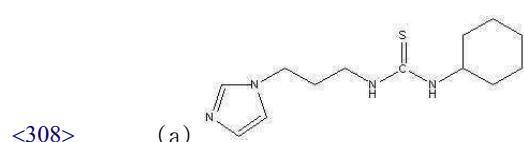
<303> 추가의 바람직한 구현예에서,  $R^{12}$  및  $R^{13}$ 는 독립적으로 옥시알킬 또는 티오알킬, 할로겐, 또는 카복실산 알킬 에스테르 또는 폐닐로부터 선택된다.

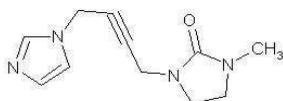
<304> 바람직한 구현예에서,  $R^{15}$  및  $R^{16}$  중 적어도 하나는 H이고, 더욱 바람직하게는  $R^{15}$  및  $R^{16}$ 이 모두 H이다.

<305> 바람직한 구현예에서,  $R^{17}$  및  $R^{18}$  중 하나는 H이고 다른 하나는 Me이다.  $R^{17}$  및  $R^{18}$  중 하나가 H이고 다른 하나가 폐닐인 화합물도 바람직하다. 부가적으로 바람직한 것은  $R^{17}$  및  $R^{18}$ 이 6원 이하의 카보사이클을 형성하는 화합물이다.

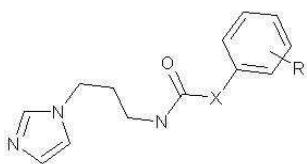
<306> 바람직한 화합물들은 하기 실시예 13, 119 및 125에 의해 정의된 것들을 포함한다.

<307> 본 발명은 의약으로서 사용하는 화학식 1의 화합물을 제공한다. 화학식 1의 화합물의 의약으로서의 용도에 관한 하나의 구현예에서, 하기 구조의 화합물들은 화학식 1로부터 제외된다:





&lt;310&gt; (c)



X	R
CH <sub>2</sub>	4-F
CH <sub>2</sub>	3-Cl
CH <sub>2</sub>	4-CH <sub>3</sub>
C <sub>2</sub> H <sub>4</sub>	H

&lt;311&gt; (d)

<312> 상기 단서의 화합물 (a)는 문헌(Ganellin et al (1995) J Med Chem 38(17) 3342-3350)에 화합물 7로서 개시된다. 이 논문에서는 상기 화합물을 히스타민 H3 수용체의 약한 저해제로서 개시한다.

<313> 단서 화합물 (b)는 문헌(Venkatachalam et al (2001) Bioorganic Med Chem Lett 11, 523-528)에 화합물 7로서 개시된다. 이는 상기 화합물을 HIV1 역전사효소 저해제로서 개시한다.

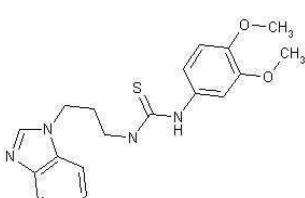
<314> 단서 화합물 (c)는 문헌(Moon et al (1991) J Med Chem 34, 2314-2327)에 화합물 19b로서 개시된다. 이 논문은 상기 화합물을 알츠하이머병의 치료에 있어서 잠재적 용도를 지닌 콜린성 작용제로서 개시한다.

<315> 단서 화합물 (d)는 문헌(Wright et al (1986) J Med Chem 29, 523-530)에 화합물 99, 100 및 102-103으로서 개시된다. 이 논문은 상기 화합물을 트롬복산 신시타제 저해제로서 개시한다.

<316> 단서 "다만 X<sup>2</sup> 및 X<sup>3</sup>가 모두 0은 아니며"가 없었다면 화학식 1에 포함되었을 어떤 화합물들은 문헌(Wright et al (1987) J Med Chem 30, 2277-2283)에 트롬복산 신시타제 저해제로서 개시된다.

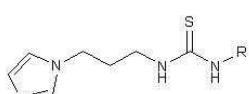
<317> 단서 "다만 R<sup>17</sup> 및 R<sup>18</sup>에 의해 형성되는 카보사이클이 환 내에 3원을 가질 경우 Y는 0가 아닐 수 있으며"가 없었다면 화학식 1에 포함되었을 어떤 화합물들은 EP 0 117 462 A2에 트롬복산 신시타제 저해제로서 개시된다.

<318> 특히, 하기 화학식 1\*의 적합한 화합물은 QC의 저해제이다:



화학식 1\*

<320> 추가의 구현예에서, QC(EC)의 저해제는 화학식 1a로 나타내는 것들이다:



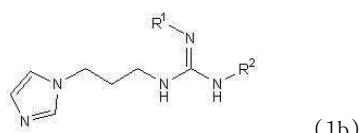
(1a)

<322> 상기 식에서, R은 실시예 1 내지 53에 정의된다.

실시예	R	ESI-MS (M+H)	Res. Act. (%)	IC <sub>50</sub> (μM)	K <sub>i</sub> (μM)
1	메틸	199.3	4.3		13
2	터트-부틸	241.4	60.7		14.7
3	벤질	275.4	60.9		5.67
4	페닐	261.4	42.3		4.4
5	4-(플루오로)-페닐	279.35	42.0		4.73
6	4-(클로로)-페닐	295.80			1.2
7	4-(에틸)-페닐	289.41	28.7		2.78
8	4-(트리플루오로메틸)-페닐	329.4	38.5		3.93
9	4-(메톡시-카보닐)-페닐	319.4			1.19

10	4-(아세틸)-페닐	303.4	17.0		1.70
11	4-(메톡시)-페닐	291.4	9.7		0.70
12	비사이클로[2.2.1]헵트-5-엔-2-일	277.5	16.0		
13	3,4-(디메톡시)-페닐	321.5	0.7	0.22	0.06
14	2,4-(디메톡시)-페닐	321.5	2.2		0.57
15	3,5-(디메톡시)-페닐	321.5	2.86		0.75
16	2-(메톡시-카보닐)-페닐	319.4			
17	4-(옥사졸-5-일)-페닐	328.5	3.64		0.86
18	4-(피라졸-1-일)-페닐	327.4			
19	4-(이소프로필)-페닐	303.5	8.7		
20	4-(피페리딘-1-설포닐)-페닐	408.6	8.5		2.27
21	4-(모폴린-4-일)-페닐	346.5	9.0		
22	4-(시아노)-페닐	286.4	9.0		2.89
23	2,3-디하이드로-벤조[1,4]디옥신-6-일	319.4	4.17		1.12
24	벤조[1,3]디옥솔-5-일	305.4	16.7		5.66
25	3,4,5(트리메톡시)-페닐	351.5	1.7		0.34
26	3-(메톡시)-페닐	291.4	6.8		1.86
27	4-(에톡시)-페닐	305.5	7.2		0.89
28	4-(벤질옥시)-페닐	367.5			0.98
29	4-(메톡시)-벤질	305.5			3.93
30	3,4-(디메톡시)-벤질	335.5			1.55
31	2-(메톡시-카보닐)-티오펜-3-일	325.5			
32	3-(에톡시-카보닐)-4,5,6,7-테트라하이드로 벤조[b]티오펜-2-일	392.6			
33	2-(메톡시-카보닐)-4-(메틸)-티오펜-3-일	339.5			
34	벤조[c][1,2,5]티아졸-4-일	319.5			
35	벤조[c][1,2,5]티아졸-5-일	319.5	4.4		1.37
36	5-(메틸)-3-(페닐)-이소옥사졸-4-일	342.5			
37	3,5-(디메틸)-이소옥사졸-4-일	280.4			
38	4-(이오도)-페닐	387.3	23.5		2.12
39	4-(브로모)-페닐	340.3			2.52
40	4-(메틸)-페닐	275.4	31.3		2.14
41	나프탈렌-1-일	311.5	26.7		2.79
42	4-(니트로)-페닐	306.4	31.1		2.68
43	부틸	241.4	53.8	14.0	
44	사이클로옥틸	295.5	33.1	9.1	
45	퓨란-2-일메틸	265.4	61.4	10.0	
46	테트라하이드로퓨란-2-일메틸	269.4	46.0	12.8	
47	벤조[1,3]디옥솔-5-일메틸	319.4	42.7		6.1
48	2-(모폴린-4-일)-에틸	298.5	55.0	13.3	
49	4-(메틸설파닐)-페닐	307.5	19.1		1.66
50	4-(디메틸아미노)-페닐	304.5			2.03
51	4-(트리플루오로메톡시)-페닐	345.4	14.2		
52	벤조일	288.3			
53	피리딘-4-일	261.1			

<324> 추가의 적합한 QC(EC) 저해제는 화학식 1b로 나타내는 것들이다:



<325>

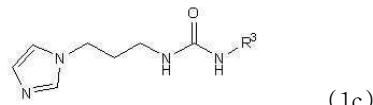
<326> 상기 식에서,  $R^1$  및  $R^2$ 는 실시예 54 내지 95에 정의된다.

&lt;327&gt;

실시예	$R^1$	$R^2$	ESI-MS (M+H)	Res. Act. (%)	$K_i$ ( $\mu M$ )
54	시아노	메틸	207.3		1.5
55	시아노	3,4-(디메톡시)-페닐	329.4		1.36
56	시아노	2,4-(디메톡시)-페닐	329.4		
57	시아노	3,5-(디메톡시)-페닐	329.4		0.91
58	시아노	2,3-디하이드로벤조[b][1,4]디옥신-7-일	327.4		0.64
59	시아노	벤조[d][1,3]디옥솔-6-일	313.4		0.73
60	시아노	3,4,5-(트리메톡시)-페닐	359.4		0.88
61	시아노	3-(메톡시)-페닐	299.4		
62	시아노	4-(에톡시)-페닐	313.4		
63	시아노	4-(벤질옥시)-페닐	375.5		
64	시아노	페닐	269.4		1.02
65	시아노	4-(메톡시)-페닐	299.4		0.70
66	시아노	4-(아세틸)-페닐	311.4		
67	시아노	4-(니트로)-페닐	314.4		
68	시아노	벤질	283.4	22.5	8.17
69	시아노	나프탈렌-1-일	319.4		
70	시아노	4-(플루오로)-페닐	387.3		
71	시아노	4-(이오도)-페닐	395.3		
72	시아노	4-(프로모)-페닐	348.3		
73	시아노	사이클로옥틸	289.4		
74	시아노	터트-부틸	249.3		
75	시아노	4-(메틸)-페닐	283.3		1.34
76	시아노	4-(메틸티오)-페닐	315.5		
77	시아노	4-(에틸)-페닐	297.4		
78	시아노	4-(디메틸아미노)-페닐	312.4		
79	시아노	부틸	249.4		
80	시아노	트리틸	435.6		
81	시아노	(벤조[d][1,3]디옥솔-6-일)메틸	327.4		1.53
82	시아노	(테트라하이드로퓨란-2-일)메틸	277.4		
83	시아노	4-(트리플루오로메틸)-페닐	334.4		
84	시아노	(퓨란-2-일)메틸	273.4		
85	시아노	2-(모폴린-4-일)-에틸	306.4		
86	시아노	4-(옥사졸-5-일)-페닐	336.4		
87	시아노	피리딘-3-일	270.4		
88	시아노	4-(시아노)-페닐	294.4		
89	시아노	4-(트리플루오로메톡시)-페닐	353.4		
90	시아노	4-(파페리디노설포닐)-페닐	416.6		
91	시아노	4-(1H-파라졸-1-일)페닐	335.4		
92	H	3,4-(디메톡시)-페닐	304.4		204.5
93	메틸	3,4-(디메톡시)-페닐	318.4		3.62
94	시아노	2,3,4-(트리메톡시)-페닐	358.1		
95	시아노	사이클로헵틸	288.2		

&lt;328&gt;

추가의 적합한 QC(EC) 저해제는 화학식 1c로 나타내는 것들이다:

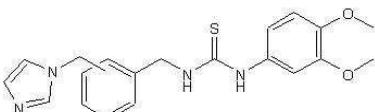


&lt;329&gt;

<330> 상기 식에서,  $R^3$ 은 실시예 96 내지 102에 정의된다.

실시예	$R^3$	ESI-MS (M+H)	Res. Act. (%)	$IC_{50}$ ( $\mu M$ )	$K_i$ ( $\mu M$ )
96	에틸	197.3			19.2
97	6-플루오로-4H-벤조[d][1,3]디옥신-8-일	321.4	19.0	12.0	
98	3-(사이클로펜틸옥시)-4-(메톡시)-페닐	359.4	2.87		0.62
99	4-(헵틸옥시)-페닐	359.5	5.6	9.9	
100	3,4-디하이드로-2H-벤조[b][1,4]디옥세핀-7-일	317.4			
101	4-(부톡시)-페닐	317.4			
102	3,4-(디메톡시)-페닐	305.4			0.46

<332> 추가의 적합한 QC(EC) 저해제는 화학식 1d로 나타내는 것들이다:

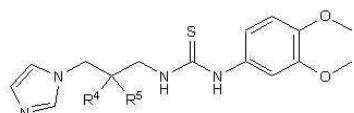


(1d)

<333> 상기 식에서, 환 위에서의 위치는 실시예 103 내지 105에 정의된다.

실시예	벤질-치환 위치	ESI-MS (M+H)	Res. Act. (%)	$K_i$ ( $\mu M$ )
103	2	383.5	16.27	4.84
104	3	383.5		3.52
105	4	383.5		1.86

<334> 추가의 적합한 QC(EC) 저해제는 화학식 1e로 나타내는 것들이다:

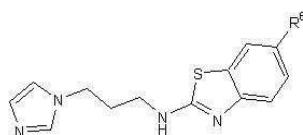


(1e)

<335> 상기 식에서,  $R^4$  및  $R^5$ 는 실시예 106 내지 109에 정의된다.

실시예	$R^4$	$R^5$	ESI-MS (M+H)	Res. Act. (%)	$IC_{50}$ ( $\mu M$ )	$K_i$ ( $\mu M$ )
106(S)	H	메틸	335.5			0.76
107(R)	메틸	H	335.5			0.35
108	메틸	메틸	349.5			
109	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -		347.5			7.85

<340> 추가의 적합한 QC(EC) 저해제는 화학식 1f로 나타내는 것들이다:



(1f)

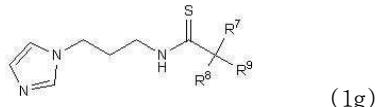
<342> 상기 식에서,  $R^6$ 은 실시예 110 내지 112에 정의된다.

<343>

실시예	R <sup>6</sup>	ESI-MS (M+H)	Res. Act. (%)	I <sub>C</sub> 50 ( $\mu$ M)	K <sub>i</sub> ( $\mu$ M)
110	H	259.4			3.00
111	클로로	293.8			3.35
112	메톡시	289.4			1.57

<344>

추가의 적합한 QC(EC) 저해제는 화학식 1g로 나타내는 것들이다:



<345>

346

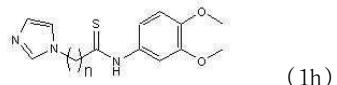
상기 식에서,  $R^7$ ,  $R^8$  및  $R^9$ 는 실시예 113 내지 132에 정의된다.

347

실시예	R <sup>7</sup>	R <sup>8</sup>	R <sup>9</sup>	ESI-MS (M+H)	Res. Act. (%)	K <sub>i</sub> (μM)
113	페닐	H	H	260.4		4.62
114	티오펜-2-일	H	H	266.5		3.29
115(R)	페닐	메틸	H	274.5	21.2	7.34
116(S)	페닐	H	메틸	274.5	8.1	3.51
117	페닐	H	에틸	288.5		3.57
118	페닐	H	페닐	336.5	13.5	4.48
119	3,4-(디메톡시)-페닐	H	H	320.5		0.39
120	3,4-(디메톡시)-페닐	메틸	메틸	347.2		
121	4-(클로로)-페닐	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -		334.9		4.88
122	4-(클로로)-페닐	-CH <sub>2</sub> -C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> -	-CH <sub>2</sub> -	349.0		7.3
123	4-(메톡시)-페닐	-CH <sub>2</sub> -C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> -	-CH <sub>2</sub> -	358.6		2.78
124	4-(메톡시)-페닐	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -		316.5		0.39
125	3,4-(디메톡시)-페닐	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -		346.5		0.09
126	3,4,5-(트리메톡시)-페닐	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -		376.6		
127	2,3,4-(트리메톡시)-페닐	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -		376.6		
128	2-(메톡시)-페닐	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -		316.5		
129	3-(메톡시)-페닐	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -		316.5		
130	2,3-(디메톡시)-페닐	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -		346.5		
131	3,5-(디메톡시)-페닐	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -		346.5		
132	2,5-(디메톡시)-페닐	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -		346.5		

<348>

추가의 적합한 QC(EC) 저해제는 화학식 1h로 나타내는 것들이다:



349

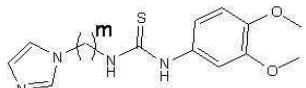
상기 식에서  $n$ 은 실시예 133 내지 135에 정의된다.

351

실시 예	N	ESI-MS (M+H) <sup>+</sup>	K <sub>i</sub> ( $\mu$ M)
133	3	306.4	
134	4	320.5	0.99

135	5	334.5	
-----	---	-------	--

<352> 추가의 적합한 QC(EC) 저해제는 화학식 1i로 나타내는 것들이다:



(1i)

&lt;353&gt;

상기 식에서,  $m$ 은 실시예 136 내지 137에 정의된다.

&lt;354&gt;

실시예	$m$	ESI-MS (M+H)	Res. Act. (%)	$K_i$ ( $\mu$ M)
136	2	307.4		17.6
137	4	335.5	2.19	0.55

&lt;355&gt;

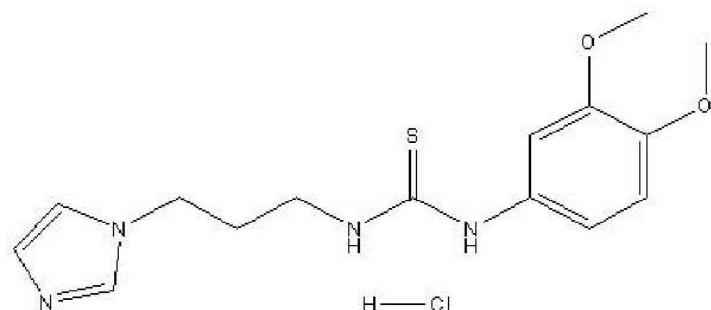
추가의 적합한 QC(EC) 저해제는 화학식 138 내지 141로 나타내는 것들이다.

&lt;356&gt;

실시예	구조식
138	
139	
140	
141	

&lt;357&gt;

글루타미닐 펩티드 사이클로트란스페라제의 바람직한 저해제는 1-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-3-(3,4-디메톡시페닐) 티오우레아 하이드로클로라이드(또한 QCI라고도 칭함).



&lt;358&gt;

바람직한 구현예에서 본 발명은, 뇌기능 개선 약제, 신경보호제, 항파킨슨 약물, 아밀로이드 단백질 침착 저해제, 베타 아밀로이드 합성 저해제, 항우울제, 항불안 약물, 항정신병 약물 및 항-다발성 경화증 약물로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 하나의 다른 약제와 임의로 배합된 적어도 하나의 QC 저해제를 포함하는 조성물, 바람직하게는 약제학적 조성물을 제공한다.

&lt;359&gt;

더욱 바람직하게는, 상기의 다른 약제가 베타-아밀로이드 항체, 시스테인 프로테아제 저해제, PEP-저해제, LiCl, 아세틸콜린에스테라제(AChE) 저해제, PIMT 증진제, 베타 세크레타제의 저해제, 감마 세크레타제의 저해제, 중성 엔도펩티다제의 저해제, 포스포디에스테라제-4(PDE-4)의 저해제, TNF알파 저해제, 무스카린 M1 수용체 길항제, NMDA 수용체 길항제, 시그마-1 수용체 저해제, 히스타민 H3 길항제, 면역조절제, 면역억제제, MCP-1 길항제로 구성된 군으로부터 선택되거나, 안테그렌(나탈리주마브), 뉴렐란(팜프리딘-SR), 캄파스(알렘투

주마브), IR 208, NBI 5788/MSP 771(티플리모티드), 파클리탁셀, 아네르긱스.MS(AG 284), SH636, 디페린(CD 271, 아다팔렌), BAY 361677(인터류킨-4), 매트릭스-메탈로프로테이나제-저해제(예를 들어 BB 76163), 인터페론-타우(트로포블라스틴) 및 SAIK-MS로 구성된 군으로부터 선택된 약제이다.

<362> 또한, 다른 약제는, 예를 들어 하기의 것들로 구성된 군으로부터 선택된 항-불안 약물 또는 항우울제일 수 있다:

<363> (a) 벤조디아제핀, 예를 들어 알프라졸람, 클로르디아제폭사이드, 클로바잠, 클로나제팜, 클로라제페이트, 디아제팜, 플루디아제팜, 로플라제페이트, 로라제팜, 메타쿠알론, 옥사제팜, 프라제팜, 트란젠,

<364> (b) 선택적 세포토닌 재흡수 저해제(SSRI), 예를 들어 시탈로프람, 플루옥세틴, 플루복사민, 에스시탈로프람, 세르트랄린, 파록세틴,

<365> (c) 삼환계 항우울제, 예를 들어 아미트립틸린, 클로미프라민, 테시프라민, 독세핀, 이미프라민,

<366> (d) 모노아민 옥시다제(MAO) 저해제,

<367> (e) 아자피론, 예를 들어 부스피론, 탄돕시론,

<368> (f) 세로토닌-노르에피네프린 재흡수 저해제(SNRI), 예를 들어 벤라팍신, 둘록세틴,

<369> (g) 미르타자핀,

<370> (h) 노르에피네프린 재흡수 저해제(NRI), 예를 들어 레복세틴,

<371> (i) 부프로피온,

<372> (j) 네파조돈,

<373> (k) 베타-차단제,

<374> (l) NPY-수용체 리간드: NPY 작용제 또는 길항제.

<375> 추가의 구현예에서, 다른 약제는, 예를 들어 하기의 것들로 구성된 군으로부터 선택된 항-다발성 경화증 약물일 수 있다.

<376> a) 디하이드로오로테이트 데하이드로게나제 저해제, 예를 들어 SC-12267, 테리플루노미드, MNA-715, HMR-1279 (HMR-1715, MNA-279의 별칭),

<377> b) 자가면역억제제, 예를 들어 라퀴니모드,

<378> c) 파클리탁셀,

<379> d) 항체, 예를 들어 AGT-1, 항-파립구-대식세포 콜로니-자극 인자(GM-CSF) 단클론성 항체, 노고 수용체 조절제, ABT-874, 알렘투주마브(캄파스), 항-OX40 항체, CNTO-1275, DN-1921, 나탈리주마브(AN-100226, 안테그렌, VLA-4 마브의 별칭), 다클리주마브(제네팍스, Ro-34-7375, SMART 항-Tac의 별칭), J-695, 프렐릭시마브(센타라, CEN-000029, cM-T412의 별칭), MRA, 단테스, 항-IL-12-항체,

<380> e) 웨პ티드 핵산(PNA) 제제, 예를 들어 레티콜로즈,

<381> f) 인터페론 알파, 예를 들어 알파페론, 인간 알파 인터페론(옴니페론, 알파 류코페론의 별칭),

<382> g) 인터페론 베타, 예를 들어 프론, 인터페론 베타-1a, 예를 들어 아보넥스, 베트론(레비프), 인터페론 베타 유사체, 인터페론 베타-트란스페린 융합 단백질, 베타세론과 같은 재조합 인터페론 베타-1b,

<383> h) 인터페론 타우,

<384> i) 웨პ티드, 예를 들어 AT-008, 아네르긱스.MS, 이뮤노카인(알파-이뮤노카인-NNS03), ZD-7349와 같은 사이클릭 웨პ티드,

<385> j) 치료 효소, 예를 들어 가용성 CD8(sCD8),

<386> k) 다발성 경화증-특이적 자가항원-암호화 플라스미드 및 사이토카인-암호화 플라스미드, 예를 들어 BHT-3009;

<387> l) TNF-알파의 저해제, 예를 들어 BLX-1002, 탈리도마이드, SH-636,

- <388> m) TNF 길항제, 예를 들어 솔리마스타트, 레네르셉트(R0-45-2081, 테네피즈의 별칭), 오네르셉트(sTNFR1), CC-1069,
- <389> n) TNF 알파, 예를 들어 에타네르셉트(엔브렐, TNF-001의 별칭),
- <390> o) CD28 길항제, 예를 들어 아바타셉트,
- <391> p) Lck 티로신 키나제 저해제,
- <392> q) 카텝신 K 저해제,
- <393> r) 뉴런-표적화 막 수송 단백질(neuron-targeting membrane transporter protein) 타우린의 유사체 및 식물-유래 칼파인 저해제 류펩틴, 예를 들어 뉴로두르,
- <394> s) 케모카인 수용체-1(CCR1) 길항제, 예를 들어 BX-471,
- <395> t) CCR2 길항제,
- <396> u) AMPA 수용체 길항제, 예를 들어 ER-167288-01 및 ER-099487, E-2007, 탈람파넬,
- <397> v) 포타슘 채널 차단제, 예를 들어 팜프리딘,
- <398> w) VLA-4/VCAM 상호작용의 토실-프롤린-페닐알라닌 소분자 길항제, 예를 들어 TBC-3342,
- <399> x) 세포 점착 분자 저해제, 예를 들어 TBC-772,
- <400> y) 안티센스 올리고뉴클레오티드, 예를 들어 EN-101,
- <401> z) 비만세포 수용체에 결합하는 유리 면역글로불린 경쇄(IgLC)의 길항제, 예를 들어 F-991,
- <402> aa) 세포사멸(apoptosis) 유도성 항원, 예를 들어 아포젠 MS,
- <403> bb) 알파-2 아드레날린 수용체 작용제, 예를 들어 티자니딘(자나플렉스, 테르넬린, 시르달보, 시르달루드, 미오니딘의 별칭),
- <404> cc) L-티로신, L-라이신, L-글루탐산 및 L-알라닌의 공중합체, 예를 들어 글라티라며 아세테이트(코팍손, COP-1, 공중합체-1의 별칭),
- <405> dd) 토포이소미라제 II 조절제, 예를 들어 미톡산트론 하이드로클로라이드,
- <406> ee) 아데노신 테아미나제 저해제, 예를 들어 클라드리빈(류스타틴, 밀리낙스, RWJ-26251의 별칭),
- <407> ff) 인터류킨-10, 예를 들어 일로데카킨(테노빌, Sch-52000, CSIF의 별칭),
- <408> gg) 인터류킨-12 길항제, 예를 들어 리소필린(CT-1501R, LSF, 리소필린의 별칭),
- <409> hh) 에탄아미늄, 예를 들어 SRI-62-834(CRC-8605, NSC-614383의 별칭),
- <410> ii) 면역조절제, 예를 들어 SAIK-MS, PNU-156804, 알파-페토프로테인 웨티드(AFP), IPDS,
- <411> jj) 레티토이드 수용체 작용제, 예를 들어 아다팔렌(디페린, CD-271의 별칭),
- <412> kk) TGF-베타, 예를 들어 GDF-1 (성장 및 분화 인자 1),
- <413> ll) TGF-베타-2, 예를 들어 베타킨,
- <414> mm) MMP 저해제, 예를 들어 글리코메드,
- <415> nn) 포스포디에스테라제 4(PDE4) 저해제, 예를 들어 RPR-122818,
- <416> oo) 퓨린 뉴클레오시드 포스포릴라제 저해제, 예를 들어 9-(3-파리딜메틸)-9-데아자구아닌, 펠데신(BCX-34, TO-200의 별칭),
- <417> pp) 알파-4/베타-1 인테그린 길항제, 예를 들어 ISIS-104278,
- <418> qq) 안티센스 알파4 인테그린(CD49d), 예를 들어 ISIS-17044, ISIS-27104,
- <419> rr) 사이토카인-유도성 약제, 예를 들어 뉴클레오시드, ICN-17261,

- <420> ss) 사이토카인 저해제,
- <421> tt) 열 충격 단백질 백신, 예를 들어 HSPPC-96,
- <422> uu) 뉴레굴린 성장 인자, 예를 들어 GGF-2(뉴레굴린, 신경교세포 성장 인자 2의 별칭),
- <423> vv) 카텝신 S - 저해제,
- <424> ww) 브로피리민 유사체, 예를 들어 PNU-56169, PNU-63693,
- <425> xx) 단핵구 화학주성 단백질-1 저해제, 예를 들어 벤지미다졸, 예를 들어 MCP-1 저해제, LKS-1456, PD-064036, PD-064126, PD-084486, PD-172084, PD-172386.
- <426> 추가로 본 발명은, 적어도 하나의 상기 다른 약제와 임의로 배합된 적어도 하나의 QC 저해제를 포함하는, 예를 들어 장관외, 장관내 또는 경구 투여를 위한 약제학적 조성물을 제공한다.
- <427> 이들 배합물은 특히 이로운 효과를 제공한다. 따라서 이러한 배합물은 상기 질환의 치료에 있어서 효과적이며 유용한 것으로 입증된다. 그러므로 본 발명은 이들 병태의 치료를 위한 방법을 제공한다.
- <428> 본 방법은 적어도 하나의 QC 저해제 및 적어도 하나의 다른 약제의 병용 투여, 또는 그의 순차적 투여를 포함한다.
- <429> 병용 투여는, 적어도 하나의 QC 저해제 및 적어도 하나의 다른 약제를 포함하는 제형의 투여, 또는 각 약제의 독립적 제형의 본질적인 동시 투여를 포함한다.
- <430> 베타-아밀로이드 항체 및 이를 함유하는 조성물은, 예를 들어 WO 2006/137354, WO 2006/118959, WO 2006/103116, WO 2006/095041, WO 2006/081171, WO 2006/066233, WO 2006/066171, WO 2006/066089, WO 2006/066049, WO 2006/055178, WO 2006/046644, WO 2006/039470, WO 2006/036291, WO 2006/026408, WO 2006/016644, WO 2006/014638, WO 2006/014478, WO 2006/008661, WO 2005/123775, WO 2005/120571, WO 2005/105998, WO 2005/081872, WO 2005/080435, WO 2005/028511, WO 2005/025616, WO 2005/025516, WO 2005/023858, WO 2005/018424, WO 2005/011599, WO 2005/000193, WO 2004/108895, WO 2004/098631, WO 2004/080419, WO 2004/071408, WO 2004/069182, WO 2004/067561, WO 2004/044204, WO 2004/032868, WO 2004/031400, WO 2004/029630, WO 2004/029629, WO 2004/024770, WO 2004/024090, WO 2003/104437, WO 2003/089460, WO 2003/086310, WO 2003/077858, WO 2003/074081, WO 2003/070760, WO 2003/063760, WO 2003/055514, WO 2003/051374, WO 2003/048204, WO 2003/045128, WO 2003/040183, WO 2003/039467, WO 2003/016466, WO 2003/015691, WO 2003/014162, WO 2003/012141, WO 2002/088307, WO 2002/088306, WO 2002/074240, WO 2002/046237, WO 2002/046222, WO 2002/041842, WO 2001/062801, WO 2001/012598, WO 2000/077178, WO 2000/072880, WO 2000/063250, WO 1999/060024, WO 1999/027944, WO 1998/044955, WO 1996/025435, WO 1994/017197, WO 1990/014840, WO 1990/012871, WO 1990/012870, WO 1989/006242에 기술되어 있다.
- <431> 베타-아밀로이드 항체는, 예를 들어 다클론성, 단클론성, 키메릭 또는 인간화 항체로부터 선택될 수 있다. 또한, 상기 항체는 능동적 및 수동적 면역 요법, 즉, 백신 및 단클론성 항체의 개발에 유용할 수 있다.
- <432> 베타-아밀로이드 항체의 적합한 예는 ACU-5A5, huC091(Acumen/Merck); PF-4360365, RI-1014, RI-1219, RI-409, RN-1219(Rinat Neuroscience Corp(Pfizer Inc)); 애블링스/베링거 인겔하임(Ablynx/Boehringer Ingelheim)의 나노바디 치료제(nanobody therapeutics); 인텔렉트 뉴로사이언스(Intellect Neurosciences)/IBL의 베타-아밀로이드-특이적 인간화 단클론성 항체; m266, m266.2(Eli Lilly & Co.); AAB-02(Elan); 바피뉴주마브(Elan); BAN-2401(Bioarctic Neuroscience AB); ABP-102(Abiogen Pharma SpA); BA-27, BC-05(Takeda); R-1450(Roche); ESBA-212(ESBATech AG); AZD-3102(AstraZeneca) 및 마인드셋 바이오파마슈티컬즈(Mindset BioPharmaceuticals Inc.)의 베타-아밀로이드 항체이다.
- <433> 특히 바람직한 것은 A $\beta$  웨პ티드의 N-말단을 인식하는 항체이다. A $\beta$ -N-말단을 인식하는 적합한 항체는, 예를 들어 Acl-24(AC immune CA)이다.
- <434> 베타-아밀로이드 웨პ티드에 대한 단클론성 항체는 WO 2007/068412에 개시된다. 각각의 키메릭 및 인간화 항체는 WO 2008/011348에 개시된다. 아밀로이드-연계 질환을 치료하는 백신 조성물의 제조 방법은 WO 2007/068411에 개시된다.

- <435> 적합한 시스테인 프로테아제 저해제는, 예를 들어 카텝신 B의 저해제이다. 카텝신 B의 저해제 및 이러한 저해제를 함유하는 조성물은, 예를 들어 WO 2006/060473, WO 2006/042103, WO 2006/039807, WO 2006/021413, WO 2006/021409, WO 2005/097103, WO 2005/007199, WO 2004/084830, WO 2004/078908, WO 2004/026851, WO 2002/094881, WO 2002/027418, WO 2002/021509, WO 1998/046559, WO 1996/021655에 기술된다.
- <436> 적합한 PIMT 증진제의 예는 WO 98/15647 및 WO 03/05720410에 각각 기술된 10-아미노알리파틸-디벤즈[b, f] 옥세핀이다. 본 발명에 따라 더욱 유용한 것은 WO 2004/039773에 기술된 PIMT 활성의 조절제이다.
- <437> 베타 세크레타제의 저해제 및 이러한 저해제를 함유하는 조성물은, 예를 들어 WO 03/059346, WO 2006/099352, WO 2006/078576, WO 2006/060109, WO 2006/057983, WO 2006/057945, WO 2006/055434, WO 2006/044497, WO 2006/034296, WO 2006/034277, WO 2006/029850, WO 2006/026204, WO 2006/014944, WO 2006/014762, WO 2006/002004, US 7,109,217, WO 2005/113484, WO 2005/103043, WO 2005/103020, WO 2005/065195, WO 2005/051914, WO 2005/044830, WO 2005/032471, WO 2005/018545, WO 2005/004803, WO 2005/004802, WO 2004/062625, WO 2004/043916, WO 2004/013098, WO 03/099202, WO 03/043987, WO 03/039454, US 6,562,783, WO 02/098849 및 WO 02/096897에 기술된다.
- <438> 본 발명의 목적을 위한 베타 세크레타제 저해제의 적합한 예는 WY-25105(Wyeth); 포시펜, (+)-펜세린(TorreyPines / NIH); LSN-2434074, LY-2070275, LY-2070273, LY-2070102(Eli Lilly & Co.); PNU-159775A, PNU-178025A, PNU-17820A, PNU-33312, PNU-38773, PNU-90530(Elan / Pfizer); KMI-370, KMI-358, kmi-008(Kyoto University); OM-99-2, OM-003(Athenagen Inc.); AZ-12304146(AstraZeneca / Astex); GW-840736X(GlaxoSmithKline plc.) 및 DNP-004089(De Novo Pharmaceuticals Ltd.)이다.
- <439> 감마 세크레타제의 저해제 및 이러한 저해제를 함유하는 조성물은, 예를 들어 WO 2005/008250, WO 2006/004880, US 7,122,675, US 7,030,239, US 6,992,081, US 6,982,264, WO 2005/097768, WO 2005/028440, WO 2004/101562, US 6,756,511, US 6,683,091, WO 03/066592, WO 03/014075, WO 03/013527, WO 02/36555, WO 01/53255, US 7,109,217, US 7,101,895, US 7,049,296, US 7,034,182, US 6,984,626, WO 2005/040126, WO 2005/030731, WO 2005/014553, US 6,890,956, EP 1334085, EP 1263774, WO 2004/101538, WO 2004/00958, WO 2004/089911, WO 2004/073630, WO 2004/069826, WO 2004/039370, WO 2004/031139, WO 2004/031137, US 6,713,276, US 6,686,449, WO 03/091278, US 6,649,196, US 6,448,229, WO 01/77144 및 WO 01/66564에 기술된다.
- <440> 본 발명의 목적을 위해 적합한 감마 세크레타제 저해제는 GSI-953, WAY-GSI-A, WAY-GSI-B(Wyeth); MK-0752, MRK-560, L-852505, L-685-458, L-852631, L-852646 (Merck & Co. Inc.); LY-450139, LY-411575, AN-37124(Eli Lilly & Co.); BMS-299897, BMS-433796(Bristol-Myers Squibb Co.); E-2012(Eisai Co. Ltd.); EHT-0206, EHT-206(ExonHit Therapeutics SA); 및 NGX-555(TorreyPines Therapeutics Inc.)이다.
- <441> 본 발명의 목적을 위해 적합한 베타 아밀로이드 합성 저해제는, 예를 들어 비스노르캄세린(Axonix Inc.); (R)-플루르비프로펜(MCP-7869; Flurizan)(Myriad Genetics); 니트로플루르비프로펜(NicOx); BGC-20-0406(Sankyo Co. Ltd.) 및 BGC-20-0466(BTG plc.)이다.
- <442> 본 발명의 목적을 위해 적합한 아밀로이드 단백질 침착 저해제는, 예를 들어 SP-233(Samaritan Pharmaceuticals); AZD-103(Ellipsis Neurotherapeutics Inc.); AAB-001(Bapineuzumab), AAB-002, ACC-001(Elan Corp plc.); 콜로스트리닌(ReGen Therapeutics plc.); 트라미프로세이트(Neurochem); AdPEDI-(아밀로이드-베타1-6)11)(Vaxin Inc.); MPI-127585, MPI-423948(Mayo Foundation); SP-08(Georgetown University); ACU-5A5(Acumen / Merck); 트란스티레틴(State University of New York); PTI-777, DP-74, DP 68, 엑세브릴(ProteoTech Inc.); m266(Eli Lilly & Co.); EGB-761(Dr. Willmar Schwabe GmbH); SPI-014(Satori Pharmaceuticals Inc.); ALS-633, ALS-499(Advanced Life Sciences Inc.); AGT-160(ArmaGen Technologies Inc.); TAK-070(Takeda Pharmaceutical Co. Ltd.); CHF-5022, CHF-5074, CHF-5096 및 CHF-5105(Chiesi Farmaceutici SpA.)이다.
- <443> 본 발명의 목적을 위해 적합한 PDE-4 저해제는, 예를 들어 독소필린(Instituto Biologico Chemioterapica ABC SpA.); 이두딜라스트 점안액, 티펠루카스트, 이부딜라스트(Kyorin Pharmaceutical Co. Ltd.); 테오필린(Elan Corp.); 실로밀라스트(GlaxoSmithKline plc.); 아토핀(Barrier Therapeutics Inc.); 토피밀라스트, CI-1044, PD-189659, CP-220629, PDE 4d 저해제 BHN(Pfizer Inc.); 아로필린, LAS-37779(Almirall Prodesfarma SA.); 로플루밀라스트, 하이드록시푸마펜트린(Altana AG), 테토밀라스트(Otsuka Pharmaceutical Co. Ltd.); 티펠루카스트, 이부딜라스트(Kyorin Pharmaceutical), CC-10004(Celgene Corp.); HT-0712, IPL-4088(Infrazyme

Pharmaceuticals Ltd.); MEM-1414, MEM-1917(Memory Pharmaceuticals Corp.); 오글레밀라스트, GRC-4039(Glenmark Pharmaceuticals Ltd.); AWD-12-281, ELB-353, ELB-526(Elbion AG); EHT-0202(ExonHit Therapeutics SA.); ND-1251(Neuro3d SA.); 4AZA-PDE4(4 AZA Bioscience NV.); AVE-8112(Sanofi-Aventis); CR-3465(Rottapharm SpA.); GP-0203, NCS-613(Centre National de la Recherche Scientifique); KF-19514(Kyowa Hakko Kogyo Co. Ltd.); ONO-6126(Ono Pharmaceutical Co. Ltd.); OS-0217(Dainippon Pharmaceutical Co. Ltd.); IBFB-130011, IBFB-150007, IBFB-130020, IBFB-140301(IBFB Pharma GmbH); IC-485(ICOS Corp.); RBx-14016 및 RBx-11082(Ranbaxy Laboratories Ltd.)이다. 바람직한 PDE-4-저해제는 롤리프 람이다.

<444> MAO 저해제 및 이러한 저해제를 함유하는 조성물은, 예를 들어 WO 2006/091988, WO 2005/007614, WO 2004/089351, WO 01/26656, WO 01/12176, WO 99/57120, WO 99/57119, WO 99/13878, WO 98/40102, WO 98/01157, WO 96/20946, WO 94/07890 및 WO 92/21333에 기술된다.

<445> 본 발명의 목적을 위해 적합한 MAO-저해제는, 예를 들어 리네졸리드(Pharmacia Corp.); RWJ-416457(RW Johnson Pharmaceutical Research Institute); 부디핀(Altana AG); GPX-325(BioResearch Ireland); 이소카복사지드; 폐넬진; 트라닐사이프로민; 인단타돌(Chiesi Farmaceutici SpA.); 모클로베미드(Roche Holding AG); SL-25.1131(Sanofi-Synthelabo); CX-1370(Burroughs Wellcome Co.); CX-157(Krenitsky Pharmaceuticals Inc.); 데스옥시페가닌(HF Arzneimittelforschung GmbH & Co. KG); 비페멜란(Mitsubishi-Tokyo Pharmaceuticals Inc.); RS-1636(Sankyo Co. Ltd.); 에수프론(BASF AG); 라사길린(Teva Pharmaceutical Industries Ltd.); 라도스티길(Hebrew University of Jerusalem); 사핀아미드(Pfizer) 및 NW-1048(Newron Pharmaceuticals SpA.)이다.

<446> 본 발명의 목적을 위해 적합한 히스타민 H3 길항제는, 예를 들어 ABT-239, ABT-834(Abbott Laboratories); 3874-H1(Aventis Pharma); UCL-2173(Berlin Free University), UCL-1470(BioProjet, Societe Civile de Recherche); DWP-302(Daewoong Pharmaceutical Co Ltd); GSK-189254A, GSK-207040A(GlaxoSmithKline Inc.); 시프랄리산트, GT-2203(GIatech Inc.); 시프록시판(INSERM), 1S,2S)-2-(2-아미노에틸)-1-(1H-이미다졸-4-일)사이클로프로판(Hokkaido University); JNJ-17216498, JNJ-5207852(Johnson & Johnson); NNC-0038-0000-1049(Novo Nordisk A/S); 및 Sch-79687(Schering-Plough)이다.

<447> PEP 저해제 및 이러한 저해제를 함유하는 조성물은, 예를 들어 JP 01042465, JP 03031298, JP 04208299, WO 00/71144, US 5,847,155; JP 09040693, JP 10077300, JP 05331072, JP 05015314, WO 95/15310, WO 93/00361, EP 0556482, JP 06234693, JP 01068396, EP 0709373, US 5,965,556, US 5,756,763, US 6,121,311, JP 63264454, JP 64000069, JP 63162672, EP 0268190, EP 0277588, EP 0275482, US 4,977,180, US 5,091,406, US 4,983,624, US 5,112,847, US 5,100,904, US 5,254,550, US 5,262,431, US 5,340,832, US 4,956,380, EP 0303434, JP 03056486, JP 01143897, JP 1226880, EP 0280956, US 4,857,537, EP 0461677, EP 0345428, JP 02275858, US 5,506,256, JP 06192298, EP 0618193, JP 03255080, EP 0468469, US 5,118,811, JP 05025125, WO 9313065, JP 05201970, WO 9412474, EP 0670309, EP 0451547, JP 06339390, US 5,073,549, US 4,999,349, EP 0268281, US 4,743,616, EP 0232849, EP 0224272, JP 62114978, JP 62114957, US 4,757,083, US 4,810,721, US 5,198,458, US 4,826,870, EP 0201742, EP 0201741, US 4,873,342, EP 0172458, JP 61037764, EP 0201743, US 4,772,587, EP 0372484, US 5,028,604, WO 91/18877, JP 04009367, JP 04235162, US 5,407,950, WO 95/01352, JP 01250370, JP 02207070, US 5,221,752, EP 0468339, JP 04211648, WO 99/46272, WO 2006/058720 및 WO 2006/120104에 기술된다.

<448> 본 발명의 목적을 위해 적합한 프롤릴 엔도펩티다제 저해제는, 예를 들어 Fmoc-Ala-Pyrr-CN, Z-Phe-Pro-벤조티아졸(Probiodrug), Z-321(Zeria Pharmaceutical Co Ltd.); ONO-1603(Ono Pharmaceutical Co Ltd); JTP-4819(Japan Tobacco Inc.) 및 S-17092(Servier)이다.

<449> QC-저해제와 배합하여 본 발명에 따라 사용할 수 있는 다른 적합한 화합물은 NPY, NPY 모방체 또는 NPY 작용제 또는 길항제 또는 NPY 수용체의 리간드이다.

<450> 본 발명에 따라 바람직한 것은 NPY 수용체의 길항제이다.

<451> NPY 수용체의 적합한 리간드 또는 길항제는, WO 00/68197에 개시된 3a, 4,5,9b-테트라하이드로-1h-벤즈[e]인돌-2-일 아민-유래 화합물이다.

<452> 거론할 수 있는 NPY 수용체 길항제는 유럽 특허출원 EP 0 614 911, EP 0 747 357, EP 0 747 356 및 EP 0 747

378; 국제 특허출원 WO 94/17035, WO 97/19911, WO 97/19913, WO 96/12489, WO 97/19914, WO 96/22305, WO 96/40660, WO 96/12490, WO 97/09308, WO 97/20820, WO 97/20821, WO 97/20822, WO 97/20823, WO 97/19682, WO 97/25041, WO 97/34843, WO 97/46250, WO 98/03492, WO 98/03493, WO 98/03494 및 WO 98/07420; WO 00/30674, 미국 특허 제5,552,411호, 제5,663,192호 및 제5,567,714호; 제6,114,336호, 일본 특허출원 JP 09157253; 국제 특허출원 WO 94/00486, WO 93/12139, WO 95/00161 및 WO 99/15498; 미국 특허 제5,328,899호; 독일 특허출원 DE 393 97 97; 유럽 특허출원 EP 355 794 및 EP 355 793; 및 일본 특허출원 JP 06116284 및 JP 07267988에 개시된 것들을 포함한다. 바람직한 NPY 길항제는 이들 특허 문건에 구체적으로 개시된 화합물들을 포함한다. 더욱 바람직한 화합물은 아미노산 및 비-펩티드-기체의 NPY 길항제를 포함한다. 거론할 수 있는 아미노산 및 비-펩티드-기체의 NPY 길항제는 유럽 특허출원 EP 0 614 911, EP 0 747 357, EP 0 747 356 및 EP 0 747 378; 국제 특허출원 WO 94/17035, WO 97/19911, WO 97/19913, WO 96/12489, WO 97/19914, WO 96/22305, WO 96/40660, WO 96/12490, WO 97/09308, WO 97/20820, WO 97/20821, WO 97/20822, WO 97/20823, WO 97/19682, WO 97/25041, WO 97/34843, WO 97/46250, WO 98/03492, WO 98/03493, WO 98/03494, WO 98/07420 및 WO 99/15498; 미국 특허 제5,552,411호, 제5,663,192호 및 제5,567,714호; 및 일본 특허출원 JP 09157253에 개시된 것들을 포함한다. 바람직한 아미노산 및 비-펩티드-기체의 NPY 길항제는 이들 특허 문건에 구체적으로 개시된 화합물들을 포함한다.

<453> 특히 바람직한 화합물은 아미노산-기체의 NPY 길항제를 포함한다. 거론할 수 있는 아미노산-기체의 화합물은 국제 특허출원 WO 94/17035, WO 97/19911, WO 97/19913, WO 97/19914 또는, 바람직하게는, WO 99/15498에 개시된 것들을 포함한다. 바람직한 아미노산-기체의 NPY 길항제는 이들 특허문건에 구체적으로 개시된 것들, 예를 들어 BIBP3226 및, 특히, (R)-N2-(디페닐아세틸)-(R)-N-[1-(4-하이드록시-페닐) 에틸] 알기닌 아미드(국제 특허출원 WO 99/15498의 실시예 4)를 포함한다.

<454> M1 수용체 작용제 및 이러한 저해제를 함유하는 조성물은, 예를 들어 WO 2004/087158, WO 91/10664에 기술된다.

<455> 본 발명의 목적을 위해 적합한 M1 수용체 길항제는, 예를 들어 CDD-0102(Cognitive Pharmaceuticals); 세비멜린(Evoxac)(Snow Brand Milk Products Co. Ltd.); NGX-267(TorreyPines Therapeutics); 사브코멜린(GlaxoSmithKline); 알바멜린(H Lundbeck A/S); LY-593093(Eli Lilly & Co.); VRTX-3(Vertex Pharmaceuticals Inc.); WAY-132983(Wyeth) 및 CI-101 7/(PD-151832)(Pfizer Inc.)이다.

<456> 아세틸콜린에스테라제 저해제 및 이러한 저해제를 함유하는 조성물은, 예를 들어 WO 2006/071274, WO 2006/070394, WO 2006/040688, WO 2005/092009, WO 2005/079789, WO 2005/039580, WO 2005/027975, WO 2004/084884, WO 2004/037234, WO 2004/032929, WO 03/101458, WO 03/091220, WO 03/082820, WO 03/020289, WO 02/32412, WO 01/85145, WO 01/78728, WO 01/66096, WO 00/02549, WO 01/00215, WO 00/15205, WO 00/23057, WO 00/33840, WO 00/30446, WO 00/23057, WO 00/15205, WO 00/09483, WO 00/07600, WO 00/02549, WO 99/47131, WO 99/07359, WO 98/30243, WO 97/38993, WO 97/13754, WO 94/29255, WO 94/20476, WO 94/19356, WO 93/03034 및 WO 92/19238에 기술된다.

<457> 본 발명의 목적을 위해 적합한 아세틸콜린에스테라제 저해제는, 예를 들어 도네페질(Eisai Co. Ltd.); 리바스티그민(Novartis AG); (-)-펜세린(TorreyPines Therapeutics); 라도스티길(Hebrew University of Jerusalem); 후페르진 A(Mayo Foundation); 갈란타민(Johnson & Johnson); 메모쿠인(Universita di Bologna); SP-004(Samaritan Pharmaceuticals Inc.); BGC-20-1259(Sankyo Co. Ltd.); 파이소스티그민(Forest Laboratories Inc.); NP-0361(Neuropharma SA); ZT-1(Debiopharm); 타크린(Warner-Lambert Co.); 메트리포네이트(Bayer Corp.) 및 INM-176(WhanIn)이다.

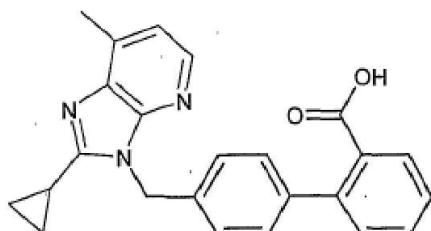
<458> NMDA 수용체 길항제 및 이러한 저해제를 함유하는 조성물은, 예를 들어 WO 2006/094674, WO 2006/058236, WO 2006/058059, WO 2006/010965, WO 2005/000216, WO 2005/102390, WO 2005/079779, WO 2005/079756, WO 2005/072705, WO 2005/070429, WO 2005/055996, WO 2005/035522, WO 2005/009421, WO 2005/000216, WO 2004/092189, WO 2004/039371, WO 2004/028522, WO 2004/009062, WO 03/010159, WO 02/072542, WO 02/34718, WO 01/98262, WO 01/94321, WO 01/92204, WO 01/81295, WO 01/32640, WO 01/10833, WO 01/10831, WO 00/56711, WO 00/29023, WO 00/00197, WO 99/53922, WO 99/48891, WO 99/45963, WO 99/01416, WO 99/07413, WO 99/01416, WO 98/50075, WO 98/50044, WO 98/10757, WO 98/05337, WO 97/32873, WO 97/23216, WO 97/23215, WO 97/23214, WO 96/14318, WO 96/08485, WO 95/31986, WO 95/26352, WO 95/26350, WO 95/26349, WO 95/26342, WO 95/12594, WO 95/02602, WO 95/02601, WO 94/20109, WO 94/13641, WO 94/09016 및 WO 93/25534에 기술된다.

<459> 본 발명의 목적을 위해 적합한 NMDA 수용체 길항제는, 예를 들어 메만틴(Merz & Co. GmbH); 토피라메이트(Johnson & Johnson); AVP-923(Neurodex)(Center for Neurologic Study); EN-3231(Endo Pharmaceuticals Holdings Inc.); 네라멕산(MRZ-2/579)(Merz and Forest); CNS-5161(CeNeS Pharmaceuticals Inc.); 덱사나비놀(HU-211; 신나비돌; PA-50211)(Pharmos); 에피셉트 NP-1(Dalhousie University); 인단타돌(V-3381; CNP-3381)(Vernalis); 페르진포텔(EAA-090, WAY-126090, EAA-129)(Wyeth); RGH-896(Gedeon Richter Ltd.); 트락소프로딜(CP-101606), 베손프로딜(PD-196860, CI-1041)(Pfizer Inc.); CGX-1007(Cognetix Inc.); 텔루세민(NPS-1506)(NPS Pharmaceuticals Inc.); EVT-101(Roche Holding AG); 아캄프로세이트(Synchroneuron LLC.); CR-3991, CR-2249, CR-3394(Rottapharm SpA.); AV-101(4-C1-키누레닌(4-C1-KYN)), 7-클로로-키누렌산(7-C1-KYNA)(VistaGen); NPS-1407(NPS Pharmaceuticals Inc.); YT-1006(Yaupon Therapeutics Inc.); ED-1812(Sosei R&D Ltd.); 히만탄(하이드로클로라이드 N-2-(아다만틸)-헥사메틸렌-이민)(RAMS); 란시세민(AR-R-15896)(AstraZeneca); EVT-102, Ro-25-6981 및 Ro-63-1908(Hoffmann-La Roche AG / Evotec)이다.

<460> 추가로 본 발명은, 안지오텐신 전환 효소(ACE)의 저해제; 안지오텐신 II 수용체 차단제; 이뇨제; 칼슘 채널 차단제(CCB); 베타-차단제; 혈소판 응고 저해제; 콜레스테롤 흡수 조절제; HMG-Co-A 리덕타제 저해제; 고밀도 지단백(HDL) 증대 화합물; 레닌 저해제; IL-6 저해제; 항염증 코르티코스테로이드; 항증식 약제; 일산화 질소 공여체; 세포증식 저해제; 성장 인자 또는 사이토카인 신호 전달 저해제; MCP-1 길항제 및 티로신 키나제 저해제로 구성된 군으로부터 선택된 다른 치료 약제와 배합한 QC 저해제를 투여하여 각각의 단일요법 구성요소 단독에 비해 유익하거나 상승적인 치료 효과를 제공하는, 죽상동맥경화, 재협착, 혀장염 또는 관절염의 치료에 유용한 배합 요법에 관한 것이다.

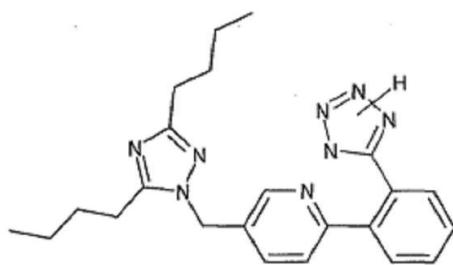
<461> 안지오텐신 II 수용체 차단제는, 안지오텐신 II 수용체의 AT1 -수용체 아형(subtype)에 결합하지만 수용체를 활성화시키지 않는 활성 약제를 의미한다. AT1 수용체 차단의 결과로, 이들 길항제는 예를 들어 항고혈압제로 사용될 수 있다.

<462> 본 발명의 배합물에 사용할 수 있는 적합한 안지오텐신 II 수용체 차단제는 상이한 구조적 특징을 가진 AT<sub>1</sub> 수용체 길항제를 포함하며, 비-펩티드성 구조를 가진 것들이 바람직하다. 예를 들어 발사르탄(EP 443983), 로사르탄(EP 253310), 칸데사르탄(EP 459136), 에프로사르탄(EP 403159), 이르베사르탄(EP 454511), 올메사르탄(EP 503785), 타소사르탄(EP 539086), 텔미사르탄(EP 522314), E-4177의 호칭을 가진 하기 화학식의 화합물,



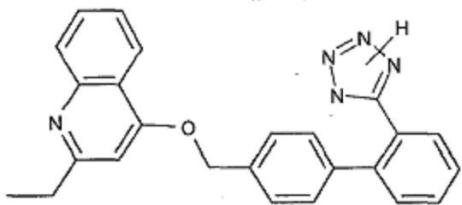
<463>

<464> SC-52458의 호칭을 가진 하기 화학식의 화합물,



<465>

<466> ZD-8731의 호칭을 가진 하기 화학식의 화합물,



<467>

<468> 또는 각각의 경우에 있어서 약제학적으로 허용되는 그의 염으로 구성된 군으로부터 선택된 화합물들을 거론할 수 있다.

<469> 바람직한 AT1-수용체 길항제는 승인받고 출시된 약제들이며, 발사르탄 또는 약제학적으로 허용되는 그의 염이 가장 바람직하다.

<470> 안지오텐신으로부터 안지오텐신 II로의 효소적 분해를 ACE 저해제로 방해하는 것은 혈압 조절에 있어서 성공적인 변형이며, 따라서 고혈압 치료를 위한 치료 방법 또한 가능하게 한다.

<471> 본 발명의 배합물에 사용할 적합한 ACE 저해제는, 예를 들어 알라세프릴, 베나제프릴, 베나제프릴라트; 카프토프릴, 세로나프릴, 실라자프릴, 멜라프릴, 에날라프릴, 에나프릴라트, 포시노프릴, 이미다프릴, 리시노프릴, 모넬토프릴, 페린도프릴, 퀴나프릴, 라미프릴, 스피라프릴, 테모카프릴 및 트란돌라프릴, 또는 각각의 경우에 약제학적으로 허용되는 그의 염으로 구성된 군으로부터 선택된 화합물이다.

<472> 바람직한 ACE 저해제는 시판되는 약제들로서, 베나제프릴 및 에날라프릴이 가장 바람직하다.

<473> 이뇨제는, 예를 들어 클로로로티아지드, 하이드로클로로로티아지드, 메틸클로로로티아지드 및 클로로탈리돈으로 구성된 군으로부터 선택된 티아지드 유도체이다. 가장 바람직한 이뇨제는 하이드로클로로로티아지드이다. 이뇨제는 아밀로리드 또는 트리아메테린과 같은 포타슘 보존성 이뇨제(potassium sparing diuretic), 또는 약제학적으로 허용되는 그의 염을 추가로 포함한다.

<474> CCB 부류는 디하이드로페리딘(DHP) 및 비- DHP, 예를 들어 딜티아제-유형 및 베라파밀-유형 CCB를 필수적으로 포함한다.

<475> 상기 배합물에 유용한 CCB는, 바람직하게는, 암로디핀, 펠로디핀, 리오시딘, 이스라디핀, 라시디핀, 니카르디핀, 니페디핀, 니콜디핀, 닐루디핀, 니모디핀, 니솔디핀, 니트렌디핀 및 니발디핀으로 구성된 군으로부터 선택된 DHP 대표물(DHP representative)이며, 바람직하게는, 플루나리진, 프레닐아민, 딜티아제, 펜딜린, 갈로파밀, 미베프라딜, 아나파밀, 티아파밀 및 베라파밀로 구성된 군으로부터 선택된 비-DHP 대표물, 및 각각의 경우에 약제학적으로 허용되는 그의 염이다. 이들 모든 CCB는 예를 들어 항-고혈압, 항-협심증 또는 항-부정맥 약물로서 치료용으로 사용된다.

<476> 바람직한 CCB는 암로디핀, 딜티아제, 이스라디핀, 니카르디핀, 니페디핀, 니모디핀, 니솔디핀, 니트렌디핀 및 베라파밀 또는, 예를 들어 특이적 CCB에 따라, 약제학적으로 허용되는 그의 염을 포함한다. DHP로서 특히 바람직한 것은 암로디핀 또는 약제학적으로 허용되는 그의 염, 특히 베실레이트이다. 비-DHP의 특히 바람직한 대표물은 베라파밀 또는 약제학적으로 허용되는 그의 염, 특히 하이드로클로라이드이다.

<477> 본 발명에 사용하기에 적합한 베타-차단제는 베타-아드레날린성 차단 약제(베타-차단제)를 포함하며, 이는 베타-아드레날린 수용체에 대해 에피네프린과 경쟁하여 에피네프린의 작용을 방해한다. 바람직하게는, 베타-차단제는 알파-아드레날린 수용체에 비해 베타-아드레날린 수용체에 대해 선택적이므로, 현저한 알파-차단 효과를 갖지 않는다. 적합한 베타-차단제는 아세부톨롤, 아테놀롤, 베타솔롤, 비소프롤롤, 카르테올롤, 카르베딜롤, 에스몰롤, 라베탈롤, 메토프롤롤, 나돌롤, 옥스프레놀롤, 펜부톨롤, 편돌롤, 프로프라놀롤, 소탈롤 및 티몰롤로부터 선택된 화합물을 포함한다. 베타-차단제가 산 또는 염기이거나 약제학적으로 허용되는 염 또는 전구약물을 다른 방법으로 형성할 수 있는 경우, 이러한 형태들은 본 명세서에 포함되는 것으로 간주되며, 화합물들이 유리 형태 또는 약제학적으로 허용되는 염 또는 전구약물, 예를 들어 생리학적으로 가수분해될 수 있고 허용되는 에스테르의 형태로 투여될 수 있는 것으로 해석된다. 예를 들어, 메토프롤롤은 그의 타르트레이트 염으로서 적합하게 투여되고, 프로프라놀롤은 하이드로클로라이드 염으로서 적합하게 투여되는 등이다.

<478> 혈소판 응고 저해제는 PLAVIX®(클로피도그렐 비설페이트), PLETAL®(실로스타졸) 및 아스피린을 포함한다.

- <479> 콜레스테롤 흡수 조절제는 ZETIA®(에제티미브) 및 KT6-971(Kotobuki Pharmaceutical Co. Japan)을 포함한다.
- <480> HMG-Co-A 리덕타제 저해제(베타-하이드록시-베타-메틸글루타릴-조효소-A 리덕타제 저해제 또는 스타틴으로도 지칭됨)는, 혈중 콜레스테롤을 포함하는 지질 수준을 낮추기 위해 사용될 수 있는 활성 약제들인 것으로 해석된다.
- <481> HMG-Co-A 리덕타제 저해제 부류는 상이한 구조적 특징을 가진 화합물들을 포함한다. 예를 들어, 아토르바스타틴, 세리바스타틴, 플루바스타틴, 로바스타틴, 피타바스타틴, 프라바스타틴, 로수바스타틴 및 심바스타틴으로 구성된 군으로부터 선택된 화합물, 또는 각각의 경우에 약제학적으로 허용되는 그의 염을 거론할 수 있다.
- <482> 바람직한 HMG-Co-A 리덕타제 저해제는 시판되는 약제들로서, 가장 바람직한 것은 아토르바스타틴, 피타바스타틴 또는 심바스타틴, 또는 약제학적으로 허용되는 그의 염이다.
- <483> HDL-증대 화합물은 콜레스테롤 에스테르 운반 단백질(CETP) 저해제를 포함하나 이에 한정되지 않는다. CETP 저해제의 예는 2002년 7월 30일자로 등록된 미국 특허 제6,426,365호의 실시예 26에 개시된 JTT705, 및 약제학적으로 허용되는 그의 염을 포함한다.
- <484> 인터류킨 6 매개성 염증의 저해는, 이소프레노이드 소진 및 내인성 콜레스테롤 합성의 조절을 통해 간접적으로 달성되거나, 인터류킨-6 저해제/항체, 인터류킨-6 수용체 저해제/항체, 인터류킨-6 안티센스 올리고뉴클레오티드(ASON), gp130 단백질 저해제/항체, 티로신 키나제 저해제/항체, 세린/트레오닌 키나제 저해제/항체, 마이토젠-활성화 단백질(MAP) 키나제 저해제/항체, 포스파티딜이노시톨 3-키나제(PI3K) 저해제/항체, 핵인자 카파B(NF-κB) 저해제/항체, IκB 키나제(IKK) 저해제/항체, 활성화제 단백질-1(AP-1) 저해제/항체, STAT 전사인자 저해제/항체, 변형된 IL-6, IL-6의 부분 웨티드 또는 IL-6 수용체, 또는 SOCS(사이토카인 신호 전달의 억제제) 단백질, PPAR 감마 및/또는 PPAR 베타/엘타 활성화제/리간드 또는 그의 기능성 단편을 이용하여 신호 전달 경로를 직접 저해함으로써 달성될 수 있다.
- <485> 적합한 항염증 코르티코스테로이드는 엑사메타손이다.
- <486> 적합한 항증식 약제는 클라드리빈, 라파마이신, 빙크리스틴 및 탁솔이다.
- <487> 세포외 기질 합성의 적합한 저해제는 할로푸기논이다.
- <488> 적합한 성장 인자 또는 사이토카인 신호 전달 저해제는, 예를 들어 ras 저해제 R115777이다.
- <489> 적합한 티로신 키나제 저해제는 티르포스틴이다.
- <490> 적합한 레닌 저해제는, 예를 들어 WO 2006/116435에 기술된다. 바람직한 레닌 저해제는 알리스키렌, 바람직하게는 그의 헤미-푸마레이트 염 형태이다.
- <491> MCP-1 길항제는, 예를 들어 항-MCP-1 항체, 바람직하게는 단클론성 또는 인간화 단클론성 항체, MCP-1 발현 저해제, CCR2-길항제, TNF-알파 저해제, VCAM-1 유전자 발현 저해제 및 항-C5a 단클론성 항체로부터 선택될 수 있다.
- <492> MCP-1 길항제 및 이러한 저해제를 함유하는 조성물은, 예를 들어 WO 02/070509, WO 02/081463, WO 02/060900, US 2006/670364, US 2006/677365, WO 2006/097624, US 2006/316449, WO 2004/056727, WO 03/053368, WO 00/198289, WO 00/157226, WO 00/046195, WO 00/046196, WO 00/046199, WO 00/046198, WO 00/046197, WO 99/046991, WO 99/007351, WO 98/006703, WO 97/012615, WO 2005/105133, WO 03/037376, WO 2006/125202, WO 2006/085961, WO 2004/024921, WO 2006/074265에 기술된다.
- <493> 적합한 MCP-1 길항제는, 예를 들어 C-243(Telik Inc.); NOX-E36(Noxxon Pharma AG); AP-761(Actimis Pharmaceuticals Inc.); ABN-912, NIBR-177(Novartis AG); CC-11006(Celgene Corp.); SSR-150106(Sanofi-Aventis); MLN-1202(Millenium Pharmaceuticals Inc.); AGI-1067, AGIX-4207, AGI-1096(AtherioGenics Inc.); PRS-211095, PRS-211092(Pharmos Corp.); 항-C5a 단클론성 항체, 예를 들어 뉴트라주마브(G2 Therapies Ltd.); AZD-6942(AstraZeneca plc.); 2-머캅토이미다졸(Johnson & Johnson); TEI-E00526, TEI-6122(Deltagen); RS-504393(Roche Holding AG); SB-282241, SB-380732, ADR-7(GlaxoSmithKline); 항-MCP-1 단클론성 항체(Johnson & Johnson)이다.
- <494> MCP-1 길항제와 배합된 QC-저해제는, 신경퇴행성 질환을 포함하여 일반적으로 염증성 질환의 치료에 있어서 유

용할 수 있다.

<495> MCP-1 길항제와 배합된 QC-저해제는, 알츠하이머병의 치료에 있어서 바람직하다.

<496> 가장 바람직하게는 QC 저해제가 하기 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 화합물과 배합된다:

<497> PF-4360365, m266, 바파뉴주마브, R-1450, 포시펜, (+)-펜세린, MK-0752, LY-450139, E-2012, (R)-플루르비프로펜, AZD-103, AAB-001(바파뉴주마브), 트라미프로세이트, EGb-761, TAK-070, 독소필린, 테오필린, 실로밀라스트, 토피밀라스트, 로플루밀라스트, 테토밀라스트, 티펠루카스트, 이부딜라스트, HT-0712, MEM-1414, 오글레밀라스트, 리네졸리드, 부디핀, 이소카르복사지드, 페넬진, 트라닐사이프로민, 인단타돌, 모클로베미드, 라사길린, 라도스티길, 사핀아미드, ABT-239, ABT-834, GSK-189254A, 시프록시판, JNJ-17216498, Fmoc-Ala-Pyrr-CN, Z-Phe-Pro-벤조티아졸, Z-321, ONO-1603, JTP-4819, S-17092, BIBP3226; (R)-N2-(디페닐아세틸)-(R)-N-[1-(4-하이드록시페닐) 에틸] 알기닌 아미드, 세비멜린, 사브코멜린, (PD-151832), 도네페질, 리바스티그민, (-)-펜세린, 라도스티길, 갈란타민, 타크린, 메트리포네이트, 메만틴, 토피라메이트, AVP-923, EN-3231, 네라멕산, 발사르탄, 베나제프릴, 에날라프릴, 하이드로클로로티아지드, 암로디핀, 딜티아제, 이스라디핀, 니카르디핀, 니페디핀, 니모디핀, 니솔디핀, 니트렌디핀, 베라파밀, 암로디핀, 아세부톨, 아테놀, 베타솔, 비소프롤, 카르테올, 카르베딜, 에스몰, 라베탈, 메토프롤, 나돌, 옥스프레놀, 펜부톨, 편돌, 프로프라놀, 소탈, 티몰, PLAVIX®(클로피도그렐 비설레이트), PLETAL®(실로스타졸), 아스피린, ZETIA®(에제티미브) 및 KT6-971, 스타틴, 아토르바스타틴, 피타바스타틴 또는 심바스타틴; 텍사메타손, 클라드리빈, 라파마이신, 빙크리스틴, 탁솔, 알리스키렌, C-243, ABN-912, SSR-150106, MLN-1202 및 베타페론.

<498> 특히, 하기 배합물들이 고려된다:

<499> - 죽상동맥경화의 치료 및/또는 예방을 위하여 아토르바스타틴과 배합된 QC 저해제, 특히 QCI

<500> - 재협착의 예방 및/또는 치료를 위하여 면역억제제, 바람직하게는 라파마이신과 배합된 QC 저해제, 특히 QCI

<501> - 재협착의 예방 및/또는 치료를 위하여 면역억제제, 바람직하게는 파클리탁셀과 배합된 QC 저해제, 특히 QCI

<502> - 알츠하이머병의 예방 및/또는 치료를 위하여 AChE 저해제, 바람직하게는 도네페질과 배합된 QC 저해제, 특히 QCI

<503> - 다발성 경화증의 예방 및/또는 치료를 위하여 인터페론, 바람직하게는 아로넥스와 배합된 QC 저해제, 특히 QCI

<504> - 다발성 경화증의 예방 및/또는 치료를 위하여 인터페론, 바람직하게는 베타페론과 배합된 QC 저해제, 특히 QCI

<505> - 다발성 경화증의 예방 및/또는 치료를 위하여 인터페론, 바람직하게는 레비프와 배합된 QC 저해제, 특히 QCI

<506> - 다발성 경화증의 예방 및/또는 치료를 위하여 코팍손과 배합된 QC 저해제, 특히 QCI

<507> - 재협착의 예방 및/또는 치료를 위하여 텍사메타손과 배합된 QC 저해제, 특히 QCI

<508> - 죽상동맥경화의 예방 및/또는 치료를 위하여 텍사메타손과 배합된 QC 저해제, 특히 QCI

<509> - 류머티스 관절염의 예방 및/또는 치료를 위하여 텍사메타손과 배합된 QC 저해제, 특히 QCI

<510> - 재협착의 예방 및/또는 치료를 위하여 HMG-Co-A-리덕타제 저해제와 배합되고, 여기에서 HMG-Co-A-리덕타제 저해제는 아토르바스타틴, 세리바스타틴, 플루바스타틴, 로바스타틴, 피타바스타틴, 프라바스타틴, 로수바스타틴 및 심바스타틴으로부터 선택되는 QC 저해제, 특히 QCI

<511> - 죽상동맥경화의 예방 및/또는 치료를 위하여 HMG-Co-A 리덕타제 저해제와 배합되고, 여기에서 HMG-Co-A-리덕타제 저해제는 아토르바스타틴, 세리바스타틴, 플루바스타틴, 로바스타틴, 피타바스타틴, 프라바스타틴, 로수바스타틴 및 심바스타틴으로부터 선택되는 QC 저해제, 특히 QCI

<512> - 류머티스 관절염의 예방 및/또는 치료를 위하여 HMG-Co-A 리덕타제 저해제와 배합되고, 여기에서 HMG-Co-A-리덕타제 저해제는 아토르바스타틴, 세리바스타틴, 플루바스타틴, 로바스타틴, 피타바스타틴, 프라바스타틴, 로수바스타틴 및 심바스타틴으로부터 선택되는 QC 저해제, 특히 QCI

<513> 이러한 배합 요법은, AD, FAD, FDD 및 다운 증후군에서의 신경퇴행과 더불어 죽상동맥경화, 류머티스 관절염, 재협착 및 췌장염에 있어서 특히 유용하다.

- <514> 이러한 배합 요법은 각각의 약제를 단독으로 사용하는 경우에 비하여 더 좋은 치료 효과(적은 증식과 더불어 적은 염증, 증식 자극)를 유발할 수 있다.
- <515> QC 저해제 및 추가 화합물의 특이적 배합에 대해서는 특히 이에 관련된 WO 2004/098625를 참조할 수 있으며, 이는 원용에 의해 본 명세서에 포함된다.
- <516> 추가의 구현예에서 본 발명은 하기의 것들로부터 선택된 염증성 질환으로 구성된 군으로부터 선택된 질환 또는 병태의 예방 또는 치료를 위한 방법을 제공한다:
- <517> a. 신경퇴행성 질환, 예를 들어 경도 인지장애(MCI), 알츠하이머병, 다운 증후군에서의 신경 퇴행, 가족성 영국 치매, 가족성 덴마크 치매, 다발성 경화증,
  - <518> b. 만성 및 급성 염증, 예를 들어 류머티스 관절염, 죽상동맥경화, 재협착, 췌장염,
  - <519> c. 섬유화, 예를 들어 폐섬유화, 간섬유화, 신장섬유화,
  - <520> d. 암, 예를 들어 암/혈관내피종 증식, 위암종,
  - <521> e. 대사성 질환, 예를 들어 고혈압, 및
  - <522> f. 기타 염증성 질환, 예를 들어 신경병증성 통증, 이식편 거부/이식편 실패/이식편 혈관질환, HIV 감염/AIDS, 임신중독, 결절성 경화증.
- <523> 본 발명은 또한, 상기와 같은 것 중 임의의 질환 또는 병태의 예방 또는 치료를 위한 의약품의 제조를 위한, 본 발명의 화합물 및 그의 상응하는 약제학적으로 허용되는 산 염 형태의 용도를 포함한다.
- <524> 가장 바람직하게는, 본 QC 저해제들은 상기 신경퇴행성 질환의 치료를 위해 사용된다. 더욱 바람직한 것은, 재협착, 췌장염, 류머티스 관절염 및 죽상동맥경화, 가장 바람직하게는 재협착 또는 췌장염으로부터 선택된 질환의 치료를 위한 본 발명의 QC 저해제의 용도이다.
- <525> 정맥내, 경구, 피하, 근육내, 피내, 장관외 및 이들의 조합을 포함하나 이에 한정되지 않는 임의의 전통적 투여 경로에 의해 본 화합물을 환자에게 투여할 수 있다.
- <526> 더욱 바람직한 실시 형태에서, 본 발명은 적어도 하나의 본 발명의 화합물 또는 그의 염을 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 담체 및/또는 용매와 임의로 배합하여 함유하는 약제학적 조성물, 즉, 의약품에 관한 것이다.
- <527> 약제학적 조성물은, 예를 들어 장관외 또는 장관내 제형의 형태로서 적절한 담체를 포함할 수 있거나, 경구 투여에 적합한 적절한 담체를 포함할 수 있는 경구 제형의 형태일 수 있다. 바람직하게는, 이들은 경구 제형의 형태이다.
- <528> 본 발명에 따라 투여되는 QC 활성의 저해제는, 저해제로서, 또는 저해제, 기질, 가성 기질(pseudosubstrate), QC 발현의 저해제, 포유류에서 QC 단백질 농도를 감소시키는 효소 단백질의 결합 단백질 또는 항체와 배합하여, 약제학적으로 투여 가능한 제형 또는 제형 복합물에 사용될 수 있다. 본 발명의 화합물은 환자 및 질환에 개별적으로 치료를 조정할 수 있게 하며, 특히 개별적 불내성(individual intolerance), 알러지 및 부작용을 피할 수 있게 한다.
- <529> 본 화합물은 또한, 시간의 함수로서 달라지는 활성 정도를 나타낸다. 따라서 치료를 제공하는 의사에게는, 개별적인 환자의 상황에 상이하게 대응할 수 있는 기회가 제공된다: 한편으로는 작용의 개시 속도를, 다른 한편으로는 작용의 지속 및 특히 작용의 강도를, 정밀하게 조정할 수 있다.
- <530> 본 화합물은 예를 들어 선행기술에 공지된 희석제, 부형제 및/또는 담체와 같은 통상적 첨가제와 배합된 활성 성분을 포함하는 약제학적 제제의 형태로 유리하게 투여될 수 있다. 예를 들어 이들은 장관외(예를 들어 생리식염수 용액으로 정맥내) 또는 장관내(예를 들어 통상적 담체로 제형화하여 경구적으로) 투여될 수 있다.
- <531> MCP 활성의 목적하는 감소를 달성하기 위하여, 본 화합물들의 내인성 안정성(endogenous stability) 및 생체이용률에 따라, 본 화합물의 하나 이상의 용량을 일당 제공할 수 있다. 예를 들어, 인간에서의 이러한 용량 범위는 일당 약 0.01 mg 내지 250.0 mg의 범위, 바람직하게는 일당 체중 킬로그램당 약 0.01 내지 100 mg 화합물의 범위일 수 있다.
- <532> 본 발명에 따라 사용되는 화합물은, 불활성이고 무독성이며 약제학적으로 적합한 담체 및 첨가제 또는 용매를 사용하여, 원래 공지된 방법에 의해 전통적인 제형, 예를 들어 정제, (비테이블(bitable)) 캡슐, 당의정, 환제,

좌제, 과립제, 에어로졸, 시럽, 점액제, 액제, 고체 및 크림-유사 유탁액 및 혼탁액으로 및/또는 좌제로서 또는 비강 스프레이 용액으로서 적절하게 전환될 수 있다. 이들 제형 각각에서 치료적 유효 화합물은, 전체 혼합물의 약 0.1 내지 80 중량%, 더욱 바람직하게는 1 내지 50 중량%의 농도로, 즉, 언급된 용량 범위(dosage latitude)를 달성하기에 충분한 양으로 바람직하게 존재한다.

<533> 예를 들어, 유화제(emulsifier) 및/또는 분산제를 임의로 사용하여 활성 성분을 용매 및/또는 담체로 희석함으로써 제형을 유리하게 제조할 수 있으며, 예를 들어 희석제로서 물을 사용하는 경우에 유기용매를 보조 용매로서 임의로 사용할 수 있다.

<534> 본 발명과 관련하여 유용한 부형제의 예는, 물, 무독성 유기용매, 예를 들어 파라핀(예를 들어 천연 오일 분획), 식물성 오일(예를 들어 유채유, 낙화생유, 참기름), 알콜(예를 들어 에틸 알콜, 글리세롤), 글리콜(예를 들어 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜); 고체 담체, 예를 들어 천연 분말 광물(natural powdered mineral) (예를 들어 고분산 실리카(hightly dispersed silica), 실리케이트), 당(예를 들어 원당(raw sugar), 락토즈 및 텍스트로즈); 유화제, 예를 들어 비-이온성 및 음이온성 유화제(예를 들어 폴리옥시에틸렌 지방산 에스테르, 폴리옥시에틸렌 지방알콜 에테르, 알킬설포네이트 및 아릴설포네이트), 분산제(예를 들어 리그닌, 설파이트 액(sulphite liquor), 메틸셀룰로즈, 전분 및 폴리비닐파롤리돈) 및 윤활제(예를 들어 마그네슘 스테아레이트, 활석, 스테아르산 및 소듐 라우릴 설페이트) 및 임의로 향료를 포함한다.

<535> 투여는 통상의 방법, 바람직하게는 장관내 또는 장관외, 특히 경구적으로 실행될 수 있다. 장관내 투여의 경우에, 정제는 언급된 담체에 부가하여 추가의 첨가제, 예를 들어 소듐 시트레이트, 칼슘 카보네이트 및 칼슘 포스페이트를 다양한 첨가제, 예를 들어 전분, 바람직하게는 감자 전분, 젤라틴 등과 함께 포함할 수 있다. 추가로, 타정을 위해 윤활제, 예를 들어 마그네슘 스테아레이트, 소듐 라우릴 설페이트 및 활석을 동시에 사용할 수 있다. 경구 투여를 목적으로 하는 수성 혼탁액 및/또는 엘릭시르의 경우, 상기 부형제에 부가하여 다양한 풍미 보정제(taste corrective) 또는 착색제를 활성 성분에 첨가할 수 있다.

<536> 장관외 투여의 경우, 적합한 액체 담체를 사용하는 활성 성분의 용액을 채용할 수 있다. 일반적으로, 정맥내 투여의 경우에는 효과적 결과를 얻기 위하여 일당 약 0.01 내지 2.0 mg/kg 체중, 바람직하게는 약 0.01 to 1.0 mg/kg 체중의 양을 투여함이 유리한 것으로 밝혀졌고, 장관내 투여의 경우에는 용량이 일당 약 0.01 내지 2 mg/kg 체중, 바람직하게는 약 0.01 내지 1 mg/kg 체중이다.

<537> 그렇지만 일부 경우에는, 실험 동물 또는 환자의 체중 또는 투여 경로의 유형에 따라, 아울러 동물의 종 및 의약품에 대한 그의 개별적 반응 또는 투여가 실행되는 간격에 기초하여, 언급된 양으로부터의 이탈이 필요할 수도 있다. 따라서, 일부 경우에는 상기 최소량 보다 적은 사용이 충분할 수 있는 반면에, 다른 경우에는 상기 상한을 초과해야 할 것이다. 상대적으로 다량이 투여되는 경우에는, 그 양을 하루에 걸쳐 수회의 단일 용량으로 나눌 것을 권장할 수 있다. 인간 의학에서의 투여에 대해서도 동일한 용량 범위가 제공된다. 상기 언급이 이 경우에 유사하게 적용된다.

<538> 상기 개시는 본 발명을 일반적으로 기술한다. 하기 도면 및 실시예를 참조함으로써 더욱 완전한 이해를 도모할 수 있다. 이들 실시예는 단지 설명을 위한 목적으로 기술되며, 본 발명의 범위를 한정하고자 함이 아니다. 본 명세서에는 특이적 용어들이 사용되었으나, 이러한 용어들은 기술적인 의미일 뿐 한정을 목적으로 하지 않는다.

## 실시예

<567> 참조 실시예 1: 인간 QC의 제조

<568> 숙주 균주 및 배지

<569> 인간 QC의 발현을 위해 사용한 피키아 파스토리스 균주 X33(*Pichia pastoris* strain X33; AOX1, AOX2)를 제조자(Invitrogen)의 지시에 따라 성장시키고, 형질전환시키고, 분석하였다. 피. 파스토리스가 요구하는 배지, 즉, 완충된 글리세롤(BMGY) 복합물 또는 메탄올(BMMY) 복합물 배지, 및 발효 기본염(basal salt) 배지를 제조자의 추천에 따라 제조하였다.

<570> 인간 QC를 암호화하는 플라스미드 벡터의 분자 클로닝

<571> 모든 클로닝 절차는 표준 분자생물학 기술을 적용하여 수행하였다. 효모의 발현을 위해 벡터 pPICZ a B(Invitrogen)를 사용하였다. pQE-31 벡터(Qiagen)를 사용하여 대장균에서 인간 QC를 발현시켰다. 코돈 38에서 시작하는 성숙 QC의 cDNA를 6x히스티딘 태그(tag)를 암호화하는 플라스미드와 프레임 내에서 융합시켰다. 프라

이어 pQCyc-1 및 pQCyc-2(WO 2004/098625)를 사용하여 증폭 및 서브클로닝시킨 후, 제한효소 부위 SphI 및 HindIII를 사용하여 단편을 발현 벡터 내로 삽입하였다.

<572> 피. 파스토리스의 형질전환 및 소규모 발현

<573> 제조자(Qiagen)의 추천에 따라 플라스미드 DNA를 대장균 JM109에서 증폭시키고 정제하였다. 사용된 발현 플라스미드 pPICZ αB에는 선형화(linearization)를 위한 3개의 제한효소 부위가 제공된다. SacI 및 BstXI은 QC cDNA 내부를 분해하기 때문에 선형화를 위해 PmeI을 선택하였다. 20-30 μg의 플라스미드 DNA를 PmeI으로 선형화하고, 에탄올 침전시키고, 멸균 탈이온수에 용해시켰다. 그 후, 제조자(BioRad)의 지시에 따라 전기 천공법(electroporation)에 의해 10 μg의 DNA를 적용하여 적격 피. 파스토리스 세포를 형질전환시켰다. 150 μg/ml 제오신을 포함하는 플레이트를 사용하여 선별하였다. 선형화된 플라스미드를 사용하여 한번 형질전환시켜 수백 개의 형질전환체를 얻었다.

<574> QC 발현용 재조합 효모 클론을 시험하기 위해 2 ml BMGY를 포함하는 10 ml 삼각 튜브에서 24 시간 동안 재조합체를 성장시켰다. 그 후, 효모를 원심분리하고 0.5% 메탄올을 포함하는 2 ml BMMY에 재현탁시켰다. 72시간까지 매 24시간마다 메탄올을 첨가하여 이 농도를 유지하였다. 이어서, 상등액 중의 QC 활성을 결정하였다. 6x히스티딘 태그(Qiagen)에 대해 유도된 항체를 사용한 웨스턴 블로트 분석에 의해 융합 단백질의 존재를 확인하였다. 가장 높은 QC 활성을 나타낸 클론을 선택하여 후속 실험 및 발효에 사용하였다.

<575> 발효기에서의 대규모 발현

<576> 본질적으로 "피키아 발효 공정 지침"(Invitrogen)에 기술된 바에 따라 5 l 반응기(Biostat B, B. Braun biotech)에서 QC 발현을 수행하였다. 간략히 기술하면, 미량의 염과 유일한 탄소원으로서 글리세롤이 보충된 발효 기본염 배지(pH 5.5)에서 세포를 성장시켰다. 약 24 시간의 초기 배치(batch phase) 및 약 5 시간의 후속 유가식 배치 중에 세포 매스가 축적되었다. 일단 세포 습윤 무게 200 g/l가 달성되면, 대략 60 시간의 전체 발효 기간 동안 3 단계의 영양 프로파일을 적용하고 메탄올을 사용하여 QC 발현을 유도하였다. 그 후, 6000xg, 4°C의 조건에서 15분간 원심분리하여 QC-포함 상등액으로부터 세포를 제거하였다. NaOH를 첨가하여 pH를 6.8로 조정하여 얻어진 혼탁한 용액을 다시 37000xg, 4°C의 조건에서 40분간 원심분리하였다. 계속 혼탁할 경우, 셀룰로즈 막(기공 폭 0.45 μm)을 사용하여 추가의 여과 단계를 적용하였다.

<577> 피. 파스토리스에서 발현된 6 x 히스티딘 태그가 부착된 QC의 정제

<578> His-태그 부착 QC를 먼저 고정 금속 친화성 크로마토그래피(IMAC)로 정제하였다. 통상의 정제에서, 750 mM NaCl 을 포함하는 50 mM 인산 완충액(pH 6.8)으로 평형화시킨 Ni<sup>2+</sup>-로딩된 키레이팅 세파로즈 FF 칼럼(1.6 x 20 cm, Pharmacia)에 배양 상등액 1000 ml를 5 ml/분의 유속으로 적용하였다. 10 칼럼 부피의 평형 완충액 및 5 칼럼 부피의 5 mM 히스티딘 함유 평형 완충액으로 세척한 다음 150 mM NaCl 및 100 mM 히스티딘을 포함하는 50 mM 인산 완충액(pH 6.8)으로 이행하여 결합된 단백질을 용출시켰다. 얻어진 용출액을 20 mM Bis-Tris/HCl(pH 6.8)에 대해 4°C에서 밤새 투석하였다. 그 후, Mono Q6 칼럼(BioRad)의 음이온 교환 크로마토그래피로 QC를 추가 정제하고, 투석 완충액으로 평형화하였다. QC-포함 분획을 4 ml/분의 유속으로 칼럼에 로딩하였다. 100 mM NaCl을 포함하는 평형 완충액으로 칼럼을 세척하였다. 각각 30 또는 5 칼럼 부피 내에 240 mM 및 360 mM NaCl을 포함하는 평형 완충액을 사용하는 두 가지 구배를 사용하여 용출시켰다. 6 ml 분획을 수집하여 SDS-PAGE로 순도를 분석하였다. 균질 QC 포함 분획을 모아서 한외여과로 농축하였다. 장기 저장(-20°C)을 위해 글리세롤을 50%의 최종 농도가 되게 첨가하였다. 브래드포드 또는 길 및 폰 히펠의 방법(Bradford, M. M. 1976 Anal Biochem 72, 248-254; Gill, S.C. 및 von Hippel, P.H. 1989 Anal Biochem 182, 319-326.)에 따라 단백질을 정량하였다.

<579> 대장균에서 QC의 발현 및 정제

<580> QC를 암호화하는 작제물을 M15 세포(Qiagen) 내로 전환시키고 37°C의 선택적 LB 아가 플레이트에서 성장시켰다. 실온에서 1% 글루코즈 및 1% 에탄올을 포함하는 LB 배지에서 단백질을 발현시켰다. 배양액이 약 0.8의 OD<sub>600</sub>에 도달하였을 때 0.1 mM IPTG를 사용하여 밤새 발현을 유도하였다. 한 차례 냉동과 해동을 거친 후 300 mM NaCl 및 2 mM 히스티딘을 포함하는 50 mM 인산 완충액(pH 8.0) 중의 2.5 mg/ml 라이소자임을 첨가하여 4°C에서 약 30 분간 세포를 용해하였다. 37000xg, 4°C의 조건에서 30분간 원심분리하여 용액을 맑게 한 다음 유리 프릿(frit)으로 여과하고(DNA 분리), 거친(crude) 침전물 및 고운(fine) 침전물에 대해 셀룰로즈 필터를 사용하여 2회 추가 여과 단계를 수행하였다. 상등액(약 500 ml)을 1 ml/분의 유속으로 Ni<sup>2+</sup>-친화성 칼럼(1.6 x 20 cm)에 적용하였다. 150 mM NaCl 및 100 mM 히스티딘을 포함하는 50 mM 인산 완충액으로 QC를 용출시켰다. QC 포함 분획을 한

외여과(ultrafiltration)로 농축하였다.

**참조 실시예 2: MALDI-TOF 질량 분석법**

선형 TOF 분석기가 달린 Voyager De-Pro(Applied Biosystems, Darmstadt)를 사용하여 매트릭스-보조 레이저 탈착/이온화 질량 분석법을 수행하였다. 기기에는 337 nm 질소 레이저, 전압 가속원(potential acceleration source) 및 1.4 m 플라이트 투브가 장착되어 있었다. 검출기 조작은 양이온 방식으로 수행하였다. 샘플(5  $\mu$ l)을 동부피의 매트릭스 용액과 혼합하였다. 매트릭스 용액으로는 20 mg 시나핀산(Sigma-Aldrich)을 1 ml 아세토니트릴/0.1% TFA 수용액(1/1, v/v)에 용해시킨 것을 사용하였다. 소량의(~ 1  $\mu$ l) 매트릭스-분석물-혼합물을 탐침 팀(tip)으로 옮겼다.

Glu<sup>1</sup>-고리화의 장기 시험을 위해 A $\beta$ -유래 펩티드를 30°C의 100  $\mu$ l 0.1 M 소듐 아세테이트 완충액(pH 5.2) 또는 0.1 M 비스-트리스 완충액(pH 6.5)에서 배양하였다. 펩티드를 0.5 mM [A $\beta$ 3-11 a] 또는 0.15 mM [A $\beta$ 3-21a] 농도로 적용하고, 24 시간 내내 0.2 U QC를 첨가하였다. A $\beta$ 3-21a의 경우에는 1 % DMSO를 포함시켜 어세이하였다. 상이한 시간에 어세이 투브로부터 샘플을 채취하여 제조자의 추천에 따라 ZipTips(Millipore)를 사용하여 펩티드를 추출하고, 매트릭스 용액(1:1 v/v)과 혼합한 다음 질량 스펙트럼을 기록하였다. 음성 대조군은 QC를 포함하지 않거나 가열 불활성화된 효소를 포함하였다. 저해제 연구를 위한 샘플 조성물은 저해제 화합물(5 mM 벤즈 이미다졸 또는 2 mM 1,10-페난트롤린)이 첨가된다는 점을 제외하고는 상기한 바와 동일하였다.

**실시예 1: 포유류 세포 배양에서 인간 MCP-1의 제조 및 발현**

세포주 및 배지

인간 신경모세포종 세포주 SH-SY5Y, 인간 배아 신장 세포주 HEK293 및 인간 단핵구 세포주 THP-1을 5% CO<sub>2</sub>(HEK293, THP-1) 또는 10% CO<sub>2</sub>(SH-SY5Y)의 습한 대기하에 37°C에서 적당한 세포 배양 배지(SH-SY5Y 및 HEK293에는 DMEM, 10% FBS), (THP-1에는 RPMI1640, 10 % FBS)를 사용하여 배양하였다.

인간 MCP-1의 분리

RT-PCR을 사용하여 인간 MCP-1의 전체-길이 cDNA를 SH-SY5Y 세포로부터 분리하였다. SH-SY5Y 세포의 총 RNA를 수퍼스크립트 II(Invitrogen)에 의해 역전사한 다음, Pfu-DNA-폴리미라제(Promega), 프라이머 hMCP-1-1(센스) 및 hMCP-1-2(안티센스)(표 1)를 포함하는 25  $\mu$ l 반응액 중에 생성된 cDNA 산물의 1:12,5 희석액 상에서 인간 MCP-1을 증폭시켰다. HindIII 및 NotI 제한효소 부위를 사용하여 생성된 PCR-산물을 벡터 pcDNA 3.1 내로 클로닝하고 DNA-서열분석에 의해 서열을 확인하였다.

인간 MCP-1의 부위-특이적 돌연변이

성숙 인간 MCP-1의 첫 번째 아미노산 결실( $\Delta$ Q1) 및 첫 번째와 두 번째 아미노산 결실( $\Delta$ Q1P2)을 발생시키기 위해  $\Delta$ Q1에 대해서는 프라이머  $\Delta$ Q1-1 및  $\Delta$ Q1-2(표 1)을 사용하고  $\Delta$ Q1P2에 대해서는 프라이머  $\Delta$ Q1P2-1 및  $\Delta$ Q1P2-2(표 1)을 사용하여 부위-특이적 돌연변이를 수행하였다. 부모 DNA는 Dpn I으로 분해하였다. 성숙 인간 MCP-1의  $\Delta$ Q1 및  $\Delta$ Q1P2의 결실을 지닌 pcDNA 3.1 플라스미드를 대장균 JM109로 형질전환시켰다. 서열분석에 의해 암피실린-내성 클론을 확인한 다음 엔도프리 멕시 키트(Qiagen)를 사용하여 세포 배양을 목적으로 분리하였다.

HEK293 세포에서 인간 MCP-1의 N-말단 변이체의 발현

인간 MCP-1의 N-말단 변이체를 발현시키기 위하여 HEK293 세포를 콜라겐 I 코팅된 6-웰 디쉬에서 배양하고, 80% 포화상태가 될 때까지 성장시키고, 제조자의 매뉴얼에 따라 Lipofectamin2000(Invitrogen)을 사용하여 형질감염시키고, 5시간 동안 형질감염 용액에서 배양하였다. 그 후, 세포를 정상적인 성장 배지에서 밤새 회복되도록 하였다. 다음날, 세포를 성장 배지에서 24 시간 더 배양하였다. QC-저해 효율을 분석하기 위해 세포를 특이적 저해제의 부재 또는 존재하여 24 시간동안 배양하였다. 24시간 후, 인간 MCP-1 변이체를 포함하는 배지를 회수하여 주화성 효능을 이동 어세이로 조사하였다. 또한, 세포 배양 상등액의 분취액을 -80°C에 저장하고 인간 MCP-1-ELISA(Pierce)를 사용하여 인간 MCP-1 농도를 정량하였다.

트랜스웰 주화성 어세이

5  $\mu$ m의 기공 크기를 갖는 24 웰 트랜스웰(TransWell) 플레이트(Corning)를 사용하여 주화성 어세이를 수행하였다. HEK293에서 발현된 인간 MCP-1 변이체를 포함하는 배지를 화학유인물질로 사용하였다. 추가로, 600  $\mu$ l의 N-

말단 인간 MCP-1 변이체의 배양 배지를 희석되지 않거나 RPMI1640에 1:3, 1:10 및 1:30으로 희석된 상태로 트랜스웰 플레이트의 하위 챔버에 적용하였다. 또한, 벡터 대조군에 의해 형질감염된 HEK293 세포의 희석되지 않은 배지를 음성 대조군으로서 하위 챔버에 적용하였다. THP-1 세포를 수화하여  $1*10^6$  세포/100  $\mu\text{l}$ 의 농도로 RPMI1640에 재현탁시키고 상위 챔버에 100  $\mu\text{l}$  분취액으로 적용하였다. 37°C에서 2 시간 동안 세포가 화학유인물질을 향하여 이동하도록 하였다. 그 후, 상위 챔버로부터의 세포를 버리고 하위 챔버를 50  $\mu\text{l}$ 의 70 mM EDTA PBS 용액과 혼합하고 37°C에서 15분간 배양하여 막에 부착된 세포를 방출시켰다. 그 다음, 하위 챔버로 이동한 세포를 세포 계수 시스템(Schaerfe System)으로 계수하였다. 음성 대조군으로 이동한 세포로부터 자극으로 이동한 세포를 나누어 주화성 지수를 계산하였다.

**<595> 실시예 2: 인간 MCP-1<sub>(1-76)</sub>의 단백질 분해에 대한 연구**

**<596> 방법**

**<597> 재조합 인간 DP4에 의한 N-말단 분해**

상기 실시예 1에서 얻어진 서열번호 2의 핵산 서열에 의해 암호화되며 N-말단 글루타민으로 시작하는 전체 길이 재조합 인간 MCP-1<sub>(1-76)</sub>(서열번호 1)(Peprotech)을 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 25 mM Tris/HCl(pH 7.6)에 용해시켰다. MCP-1 용액은 30°C에서 3시간 동안 재조합 인간 QC(0.0006 mg/ml)(참조 실시예 1에 따라 얻어지며, 핵산 서열은 서열번호 3에 나타내고 아미노산 서열은 서열번호 4에 나타냄)와 함께 예비 배양한 다음 30°C에서 재조합 인간 DP4(0.0012 mg/ml)와 배양하거나(도 1 참조) 사전의 QC 적용 없이 DP4와 배양하였다. Maldi-TOF 질량 분석법을 사용하여 0분, 15분, 30분, 1시간, 4시간 및 24시간 후에 생성된 DP4 분해 산물을 분석하였다.

**<599> 인간 류머티스 유후 써유아세포 MMP-1에 의한 N-말단 분해**

피로글루타밀 잔기 대신에 N-말단 글루타미닐을 포함하는 인간 재조합 MCP-1(Peprotech)을 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 25 mM Tris/HCl(pH 7.6)에 용해시켰다. 인간 류머티스 유후 써유아세포로부터의 MMP-1 효소전구체(Calbiochem)를 0.1 N NaOH에 용해된 25 mM p-아미노페닐머큐리 아세테이트(APMA)를 사용하여 APMA:효소-혼합물을 10:1의 비율로 37°C에서 3시간 동안 활성화하였다. MCP-1은 30°C에서 3시간 동안 재조합 인간 QC(0.0006 mg/ml)와 함께 예비 배양한 다음 30°C에서 MMP-1과 배양하거나 사전의 QC 적용 없이 MMP-1과 배양하였다. Maldi-TOF 질량 분석법을 사용하여 0분, 15분, 30분, 1시간, 2시간, 4시간 및 24시간 후에 생성된 MMP-1 분해 산물을 분석하였다.

**<601> 인간 류머티스 유후 써유아세포 MMP-1 및 재조합 인간 DP4에 의한 N-말단 분해**

N-말단 글루타민으로 시작되는 인간 재조합 MCP-1(Peprotech)을 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 25 mM Tris/HCl(pH 7.6)에 용해시켰다. 인간 류머티스 유후 써유아세포로부터의 MMP-1 효소전구체(Calbiochem)를 0.1 N NaOH에 용해된 25 mM p-아미노페닐머큐리 아세테이트(APMA)를 사용하여 활성화하였다. 10:1의 APMA:효소-혼합물을 37°C에서 3시간 동안 배양하였다. MCP-1 용액은 30°C에서 3시간 동안 재조합 인간 QC(0.0006 mg/ml)와 함께 예비 배양한 다음 30°C에서 MMP-1 및 DP4와 배양하거나 QC 적용 없이 MMP-1 및 DP4와 배양하였다. Maldi-TOF 질량 분석법을 사용하여 0분, 15분, 30분, 1시간, 2시간, 4시간 및 24시간 후에 생성된 MMP-1 분해 산물을 분석하였다.

**<603> 실시예 3: ApoE3\*Leiden 마우스의 커프-유도된 가속화 죽상동맥경화증에 대한 QC 특이적 저해제 1-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-3-(3,4-디메톡시페닐)티오우레아 하이드로클로라이드(이하 QCI로 나타냄)의 효과**

**<604> 일정(Timeline)**

수술적 커프 배치(surgical cuff placement) 전 3주 동안 30 마리의 수컷 ApoE3\*Leiden 마우스(12 주령)를 가볍게 고콜레스테롤성 식이로 양육하였다.

<606> 3주 후에, 마우스에 수술적 비수축성 커프 배치(0일)를 수행하고 플라스마 콜레스테롤 수준에 따라 2개 그룹으로 나누었다. 마우스에 대조군(산성화된) 음용수를 제공하거나 QC 특이적 저해제 1-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-3-(3,4-디메톡시페닐)티오우레아 하이드로클로라이드를 2.4 mg/ml의 농도로 포함하는 음용수를 제공하였다. 처리 개시 7일 후에 저해제 농도를 1.2 mg/ml로 낮추었다. 2일 후, 각 그룹에서 5마리 마우스를 희생시켜 단핵구 점착 및 침윤을 분석하고, 2주 후 10마리 마우스를 희생시키고 조직형태계측학적 분석(histomorphometric analysis)을 수행하여 가속 죽상동맥경화 병소의 저해 및 신생혈관내막의 형성을 정량하였다.

**<607> 커프 배치의 수술 절차**

<608> 수술 시, 5 mg/kg 도르미콤, 0.5 mg/kg 도미토르 및 0.05 mg/kg 웨타닐을 복막내 주사하여 마우스를

마취시켰다. 이 칵테일은 적어도 1시간 동안 완전한 마취를 제공하며 안티세단 2.5 mg/kg 및 아넥세이트 0.5 mg/kg로 신속하게 중화될 수 있다.

<609> 다리의 안쪽에 길이 방향으로 1cm 절개하고 대퇴 동맥을 대퇴 신경 및 대퇴 정맥으로부터 3 mm 길이로 박리하였다. 결찰 및 비수축성 미세공(fine bore) 폴리에틸렌 브러시(0.4 mm 내경, 0.8 mm 외경, 길이 2 mm)를 사용하여 고리화된 대퇴 동맥을 길이 방향으로 개방시키고 대퇴 동맥 주위로 느슨하게 슬리브로 연결하였다. 두 개의 결찰 매듭으로 커프를 폐쇄하였다. 피부는 연속 봉합으로 폐쇄하였다.

<610> 수술 후, 동물을 중화시키고 청결한 케이지 안에서 몇 시간 동안 가열 패드위에 두었다.

#### 동물의 희생

<612> 조직학적 분석을 위하여 커프 배치 후 2일 또는 14일에 동물을 희생시켰다. 마취 후, 흉곽을 개방하여 심장 천자에 의해 3분간 4% 포름알데하이드로 저압-관류(100 mmHg)를 수행하였다. 관류 후, 다리의 안쪽에 길이 방향으로 2 cm 절개하고 커프된 대퇴 동맥 전체를 4% 포름알데하이드에서 밤새 고정시켜 파라핀으로 가공하였다.

#### 단핵구 점착 및 MCP-1 발현의 분석

<614> 커프된 관 벽(vessel wall)의 활성화된 내피에 대한 일반 백혈구의 점착 및 특정 단핵구/대식세포의 점착을 분석하기 위해 커프 배치 후 2일 후에 수화된 절편을 현미경으로 분석하였다. 관 세그먼트의 내강측 점착 세포로 확인된 일반적인 점착 및/또는 침윤 백혈구의 수와 특정 단핵구/대식세포의 수를 계수하고 단면당 세포 또는 단면당 정의된 면적으로 설명하였다. 단핵구 및 대식세포를 인식하는 다클론성 토끼 AIA31240 항체를 사용하여 특이적 면역조직화학적 염색을 수행하여 단핵구를 확인하였다. 또한 이들 절편에 대해 MCP-1에 특이적인 면역조직화학적 염색을 수행하였다.

#### 혈관 리모델링 및 가속 죽상동맥경화증 분석

<616> 14일 후 희생된 모든 마우스에서 관 벽 리모델링, 가속 죽상동맥경화 및 신생혈관내막 형성을 형태계측학적으로 분석하였다. 상응하는 모든 관 벽 변수(신생혈관내막 형성, 혈관 둘레(즉, 외향 리모델링), 중막 두께, 내강 협착)에 대하여 2개 그룹 사이의 총체적 비교를 수행하였다. 가속 죽상동맥경화는 병소 면적의 대식세포 및 포말세포에 대해 AIA31240 항체에 의한 면역조직화학적 염색으로 분석하였다. 추가로, 이들 절편을 MCP-1에 대해서도 염색하였다.

<617> 실시예 4: 인간 혈청에 존재하는 프로테아제, 아미노펩티다제 P, 및 디펩티딜-펩티다제 4(DP4)에 의한 인간 MCP-1<sub>(1-76)</sub>의 단백질 분해

#### 재조합 인간 아미노펩티다제 P에 의한 N-말단 분해

<619> 피로글루타밀 잔기 대신에 N-말단 글루타미닐을 보유하는 인간 재조합 MCP-1(Peprotech)을 25 mM Tris/HCl(pH 7.6)에 10 µg/ml의 농도로 용해시켰다. MCP-1은 30 µg/ml 아미노펩티다제 P(R&D Systems)와 함께 30°C에서 배양하였다. Gln<sup>1</sup>-MCP-1은 pGlu-개질없이 사용하거나 pGlu를 생성하기 위해 재조합 인간 QC(6 µg/ml)와 함께 30°C에서 3시간 동안 예비-배양하였다. 생성된 아미노펩티다제 P 분해 산물을 0분, 15분, 30분, 1시간, 2시간, 4시간 및 24시간 후에 Maldi-TOF 질량 분석법으로 분석하였다.

#### QC-특이적 저해제의 부재 및 존재하에 재조합 인간 DP4에 의한 MCP-1의 N-말단 분해

<621> 상기 실시예 1에서 얻어진 서열번호 2의 핵산 서열에 의해 암호화되며 N-말단 글루타민으로 시작하는 재조합 인간 MCP-1<sub>(1-76)</sub>(서열번호 1)(Peprotech)을 10 µg/ml의 농도로 25 mM Tris/HCl(pH 7.6)에 용해시켰다. MCP-1 용액은 30°C에서 3시간 동안 재조합 인간 QC(0.0006 mg/ml)(참조 실시예 1에 따라 얻어짐)와 함께 예비 배양한 다음 30°C에서 재조합 인간 DP4(0.0012 mg/ml)와 배양하거나(도 1 참조) 사전의 QC 적용없이 DP4와 배양하였다. 추가로 Gln<sup>1</sup>-MCP-1과 재조합 인간 QC의 배양은 10 µM의 1-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-3-(3,4-디메톡시페닐)티오우레이아 하이드로클로라이드의 존재하에 수행되었다. Maldi-TOF 질량 분석법을 사용하여 0분, 15분, 30분, 1시간, 2시간 및 4시간 후에 생성된 DP4 분해 산물을 분석하였다.

#### 인간 혈청에서 인간 MCP-1의 N-말단 분해

<623> 피로글루타밀 잔기 대신에 N-말단 글루타미닐을 보유하는 인간 재조합 MCP-1(Peprotech)을 25 mM Tris/HCl(pH 7.6)에 100 µg/ml의 농도로 용해시켰다. MCP-1은 30°C에서 3시간 동안 재조합 인간 QC(0.006 mg/ml)와 함께 예

비배양한 다음 30°C에서 인간 혈청과 배양하거나 QC의 첨가없이 인간 혈청과 함께 배양하였다. 분해 산물을 Gln<sup>1</sup>-MCP-1에 대해서는 0분, 10분, 30분, 1시간, 2시간, 3시간, 5시간 및 7시간 후에, pGlu<sup>1</sup>-MCP-1에 대해서는 0분, 30분, 1시간, 2시간, 3시간, 5시간, 7시간 및 24시간 후에 Mass-TOF 질량 분석법으로 분석하였다.

<624> **실시예 5: 인간 MCP-2, MCP-3 및 MCP-4의 분해**

<625> DP4에 의한 인간 MCP-2의 N-말단 분해

피로글루타밀 잔기 대신에 N-말단 글루타미닐을 보유하는 인간 재조합 MCP-2(Peprotech)를 25 mM Tris/HCl(pH 7.6)에 10  $\mu$ g/ml의 농도로 용해시켰다. MCP-2는 30°C에서 3시간 동안 재조합 인간 QC(0.0006 mg/ml)와 함께 예비배양한 다음 30°C에서 재조합 인간 DP4(0.0012 mg/ml)와 배양하거나 QC와의 예비배양없이 재조합 인간 DP4(0.0012 mg/ml)와 함께 배양하였다. 생성된 DP4 분해 산물을 0분, 15분, 30분, 1시간, 2시간, 4시간 및 24시간 후에 Mass-TOF 질량 분석법으로 분석하였다.

<627> DP4에 의한 인간 MCP-3의 N-말단 분해

피로글루타밀 잔기 대신에 N-말단 글루타미닐을 보유하는 인간 재조합 MCP-3(Peprotech)를 25 mM Tris/HCl(pH 7.6)에 10  $\mu$ g/ml의 농도로 용해시켰다. MCP-3는 30°C에서 3시간 동안 재조합 인간 QC(0.0006 mg/ml)와 함께 예비배양한 다음 30°C에서 재조합 인간 DP4(0.00012 mg/ml)과 배양하거나 사전 QC 적용없이 재조합 인간 DP4(0.00012 mg/ml)와 함께 배양하였다. 생성된 DP4 분해 산물을 0분, 15분, 30분, 1시간, 2시간, 4시간 및 24시간 후에 Mass-TOF 질량 분석법으로 분석하였다.

<629> DP4에 의한 인간 MCP-4의 N-말단 분해

피로글루타밀 잔기 대신에 N-말단 글루타미닐을 보유하는 인간 재조합 MCP-4(Peprotech)를 25 mM Tris/HCl(pH 7.6)에 10  $\mu$ g/ml의 농도로 용해시켰다. MCP-4는 30°C에서 3시간 동안 재조합 인간 QC(0.0006 mg/ml)와 함께 예비배양한 다음 30°C에서 재조합 인간 DP4(0.00006 mg/ml)와 배양하거나 사전 QC 적용없이 재조합 인간 DP4(0.00006 mg/ml)와 함께 배양하였다. 생성된 DP4 분해 산물을 0분, 15분, 30분, 1시간, 2시간, 4시간 및 24시간 후에 Mass-TOF 질량 분석법으로 분석하였다.

<631> **실시예 6: 인간 MCP-1, MCP-2, MCP-3, MCP-4의 상이한 N-말단 변이체의 주화성 효능**

<632> 인간 MCP-1의 N-말단 변이체의 주화성 효능

<633> 글루타민 1으로 시작하는 MCP-1(Gln<sup>1</sup>-MCP-1)(Peprotech)을 (i) 재조합 인간 QC와 배양하여 pGlu<sup>1</sup>-MCP-1을 생성하고, (ii) 인간 재조합 DP4와 배양하여 Asp<sup>3</sup>-MCP-1을 생성하며, (iii) 인간 윤활 섬유아세포 MMP-1과 배양하여 Ile<sup>5</sup>-MCP-1을 생성하고 인간 재조합 아미노펩티다제 P와 배양하여 Pro<sup>2</sup>-MCP-1을 생성하였다. 생성된 MCP-1 변이체들의 농도 1, 5, 10, 50, 100, 500 및 1000 ng/ml에 대해 THP-1 주화성 어세이(n=3)을 수행하였다.

<634> QC 저해제의 부재 또는 존재하에 인간 MCP-1의 주화성 효능

<635> N-말단 글루타민을 보유하는 MCP-1(Gln<sup>1</sup>-MCP-1)(Peprotech)을 재조합 인간 QC 및 DP4 (Gln<sup>1</sup>-MCP-1 +QC +DP4)와 함께, 인간 재조합 DP4 단독(Gln<sup>1</sup>-MCP +DP4)과 함께, 재조합 인간 QC, 10  $\mu$ M의 QC-저해제 1-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-3-(3,4-디메톡시페닐)티오우레이 하이드로클로라이드 및 DP4(Gln<sup>1</sup>-MCP-1 +QC +QCI +DP4)와 함께 배양하였다. 생성된 MCP-1 변이체들의 농도 1, 5, 10, 50, 100, 500 및 1000 ng/ml에 대해 주화성 어세이(n=3)을 수행하였다.

<636> N-말단 글루타미닐 또는 피로글루타밀 잔기를 보유하는 인간 MCP-1, MCP-2, MCP-3 및 MCP-4 변이체들의 주화성 효능 비교

<637> N-말단 글루타민(Peprotech) 또는 피로글루타밀-잔기를 가지는 인간 MCP-1, MCP-2, MCP-3 및 MCP-4(30°C에서 2시간 동안 1:100의 희석비로 Gln<sup>1</sup>-MCP들을 인간 재조합 QC와 배양)의 주화성 효능을 시험하였다. 특정 MCP의 농도 1, 5, 10, 50, 100, 500 및 1000 ng/ml에 대해 주화성 어세이(n=3)를 수행하였다.

<638> N-말단 글루타미닐 잔기를 보유하는 인간 MCP-1, MCP-2, MCP-3 및 MCP-4의 변이체들과 각각의 DP4 분해 산물의 주화성 효능 비교

<639> N-말단 글루타민으로 시작하는 인간 MCP-1, MCP-2, MCP-3 및 MCP-4 (Peprotech)에 대해 직접 주화성 어세이를 수행하고 MCP-1, MCP-2, MCP-3 및 MCP-4의 DP4 분해 산물의 주화성 효능과 비교하였다. DP4 분해 산물의 생성을 위해 각각의 MCP를 인간 재조합 DP4와 1:100의 희석비로 30°C에서 2시간 동안 어세이 전에 배양하였다. 특정 MCP의 농도 1, 5, 10, 50, 100, 500 및 1000 ng/ml에 대해 주화성 어세이(n=3)를 수행하였다.

**실시예 7: 랫트에서 LPS-유도 폐혈증 모델에 대한 QC-저해제의 적용**

**준비**

<642> QC-저해제 1-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-3-(3,4-디메톡시페닐)티오우레아 하이드로클로라이드를 요구되는 최고 농도에서 0.9%(w/v) 식염수를 사용하여 제형화하였다. 0.9%(w/v) 식염수로 연속적으로 희석시켜 더 낮은 용량의 제형을 얻었다. 또한, 0.9%(w/v) 식염수를 사용하여 LPS의 저장 용액(1mg/mL)을 제조하고 0.9%(w/v) 식염수로 희석하여 투여에 요구되는 농도를 제공하였다.

**농도**

<644> 순도 또는 활성 함량에 대한 고려 없이, 투여된 저해제의 양에 의해 용량 수준을 표시하였다.

**종**

<646> 수컷 한(Han) 위스타 랫트를 Charles River (UK) Ltd., Margate, Kent로부터 입수하였다.

**고소적응 및 건강 절차**

<648> 도착한 모든 동물들의 건강상태를 조사하였다. 투여 전 적어도 5 일간 동물들을 고소적응시켰다. 이 기간 중에 동물들은 그들의 케이지 표지로 구분하였다. 연구의 적합성을 보증하기 위하여 모든 실험 절차를 시작하기 전에 수의학적 검사를 수행하였다.

**실험 디자인**

<650> 연구는 2일에 걸쳐 수행하였다(매일 각 처리군으로부터의 5마리 동물).

<651> 동물이 연구 절차를 위해 자신의 우리로부터 옮겨지는 경우를 제외하고는 음식과 물이 자유급식 되었다. 각 동물에는 LPS 투여 3.5시간 및 0.5시간 전에 서방(slow) 볼루스로서 2 mL/kg의 일정한 용량 부피를 사용하여 비히클 또는 QC-저해제 1-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-3-(3,4-디메톡시페닐)티오우레아를 저, 중 및 고용량으로 (표 2) 2회 단일(single) 정맥내 투여하였다.

<652> 비히클 또는 시험 품목을 마지막으로 투여하고 30분 후에 각 동물에는 5 mL/kg의 일정한 용량 부피를 사용하여 LPS 또는 식염수를 복강내 주사하였다.

<653> 개별적인 용량 부피는 투여일에 얻어진 개별적인 체중에 기초하였다. 연구에 사용된 처리군은 표 2에 나타내었다.

**시료채취 및 TNF  $\alpha$  결정**

<655> LPS 후 2시간째에 말단 혈액 시료를 수집하였다.

<656> 혈액 시료를 4°C에서 10분간 2300 x g로 원심분리한 다음 TNF  $\alpha$ 를 분석하였다. 정량적 샌드위치 효소 면역어세이를 사용하여 시료를 분석하였다.

**실시예 8: 티오글리콜레이트-유도된 복막염의 마우스 모델에서 QC-저해제의 평가**

**동물**

<659> 각 실험을 위해 C57/B16J 야생형 마우스를 Charles River Laboratories Inc. 로 부터 구입하였다. 각 실험에서 마우스의 연령 및 성별을 일치시켰다.

**티오글리콜레이트-유도된 복막염의 유도**

<661> 복막염을 유도하기 위하여 마우스에 25 mL/kg 체중의 멸균된 8% (w/v) 티오글리콜레이트(Sigma-Aldrich; 시간: t=0)를 복강내(i.p.) 주사하였다. 티오글리콜레이트 적용 전 후의 상이한 시점에, 마우스에 다양한 농도의 QC-저해제를 복강내 주사하였다. 복막 세척을 위해 동물을 2% 이소플루란으로 마취시켰다. 복막을 8 mL 의 멸균 인산-완충 식염수(PBS)로 세척하여 티오글리콜레이트 주사 후 일정 시점(4, 24 시간)에 복막 삼출물을

수집하였다. 그 후, 세척액을 원심분리하여 세포 펠렛을 얻고 FACS 분석을 위해 염색하였다.

FACS-분석을 이용한, 수집된 삼출물의 세포 조성 분석

제조자의 지시에 따라 BD 트루카운트 투브(BD Trucount tubes; catalog no. 340334; BD Biosciences)를 위해 시료를 염색하였다. 세포를 CD16/32(Caltag)로 차단하고 하기 항체로 15분간 염색하였다: CD3-FITC(Caltag)/CD13-PE(BD)/F4/80-APC(Caltag); 아형(isotype) 대조군으로서 Moma2-FITC(Acris) 및 IgG1-PE(BD)/IgG2a-APC(Caltag). 염색 후, 실온의 암실에서 15 분간 BD FACSlyse(BD)로 처리하여 세포를 용해시켰다. 참조 표준으로서 시료당 5000 비드의 유세포분석(flow cytometric analysis)을 BD FACSCalibur(BD Biosciences) 상에서 수행하였다.

결과

포유류 세포 배양에서 인간 MCP-1의 제조 및 발현

인간 신경모세포종 세포주 SH-SY5Y RNA로부터 인간 MCP-1을 증폭시켜 300 bp의 PCR-산물을 얻었다. 분리된 cDNA의 서열분석 결과 시스테인 35를 암호화하는 코돈 105의 사일런트(silent) 단일 뉴클레오티드 다형성이 발견되었다.

HEK293에서 인간 MCP-1 변이체를 발현시켜 인간 MCP-1 ELISA에 의해 관찰되는 바와 같이 세포 배양 상등액 내의 수준을 상승시켰다. 이에 따라, MCP-1(WT) 및 MCP-1(ΔQ1)(도 5c), 및 10  $\mu$ M 1-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-3-(3,4-디메톡시페닐)티오우레아 하이드로클로라이드의 부재 또는 존재하의 MCP-1(WT)(도 7a)의 발현 사이의 수준은 유의적으로 변하지 않았다. 그러나, MCP-1(ΔQ1P2)의 발현은 MCP-1(WT)와 비교하여 28% 감소하였다. 상등액을 수집하여 트랜스웰 이동 어세이에 적용하였다(이와 관련하여 도 4 및 5c 및 d 참조).

트랜스웰 주화성 어세이

정제된 인간 MCP-1은 예를 들어 단핵구를 유인하는 경우 벨 모양의 주화성 용량 반응 곡선이며, 약 1-50 ng/ml에서 최적점을 보여주었다. 따라서 MCP-1 변이체를 포함하는, 생성된 세포 배양 상등액을 연속적으로 희석하여 THP-1 단핵구를 유인하는 주화성 어세이에 대한 MCP-1의 최적 작업 농도를 얻었다.

MCP-1(WT) 및 MCP-1(ΔQ1)의 발현 후, MCP-1 변이체의 농도는 유의적으로 상이하지 않았다(도 5c). MCP-1(WT)을 주화성 어세이에 적용하면 THP-1 세포의 주화 반응성이 유도되었으며(도 5d), 이는 상승된 주화성 지수로 알 수 있다. 그러나, 약 1의 주화성 지수가 시사하는 바와 같이 MCP-1(ΔQ1)은 THP-1의 주화성을 유도하는데 실패하였다(도 5d). 이러한 결과는 N-삭제된(truncated) MCP-1이 불활성이라는 기존의 결과를 뒷받침한다. 이 발견은 또한 MCP-1(ΔQ1P2)이 THP-1 세포의 주화성을 유도할 능력이 없다는 사실에 의해 구체화된다(도 6b). HEK293 세포에서 MCP-1(WT)의 발현은 주화성 사이토카인(케모카인)의 부재 또는 존재하에 MCP-1 농도에 영향을 미치지 못한다. 그러나, 케모카인을 적용하면 1:3 및 1:10 희석비에서 THP-1 세포의 유의적으로 더 낮은 주화성을 유발시킨다(도 7b). 이는 QC-특이적 저해제 1-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-3-(3,4-디메톡시페닐)티오우레아 하이드로클로라이드에 의하여 MCP-1(WT)의 N-말단 pGlu-형성이 방해되며, 따라서 MCP-1(WT)이 N-말단의 단백질 분해 또는 pGlu 형성의 단일 방해로 인하여 불활성화됨을 시사한다.

인간 MCP-1(1-76)의 단백질 분해에 대한 조사

순환 내에서 MCP-1은 N-말단 pGlu-잔기에 의해 보호되며, 이는 예를 들어 DP4와 같은 아미노펩티다제에 의한 N-말단 분해에 대한 저항성을 부여한다. QC 저해제 투여의 결과, 보호되지 않은 N-말단은 DP4에 의해 쉽게 분해된다. N-말단의 삭제는 또한 인간 MCP-1의 불활성화를 야기시킨다(도 5 및 6). MMP-1은 4개의 N-말단 아미노산(pE/Q-P-D-A)의 분해에 의해 성숙 MCP-1을 불활성화시킨다. 이 반응은 N-말단 pGlu 잔기의 존재에 대해 독립적이다. 이 과정은 순환 내에서의 MCP-1 불활성화 상황을 반영하고 있다. 생성된 분해 산물 MCP 1<sub>(5-76)</sub>은 혈장 내에 존재하는 것으로 나타났으며, 천연으로 발생하는 CCR2 수용체의 길항제를 닮아있다. 본 실험은 N-말단 글루타민 잔기의 경우 MMP-1 분해가 약간 더 빠르게 진행한다는 점을 입증하고 있다(도 2a: 2h, 4h vs. 2b: 2h, 4h). 또한, N-말단 Gln 잔기를 보유하는 인간 MCP-1(도 3a)를 인간 DP4 및 인간 MMP-1과 함께 배양하면 pGlu-MCP-1(도 3b)와 비교하여 가속화된 분해가 나타난다.

종합하면, 상기 결과는 N-말단 pGlu의 형성이 보호 기전으로 작용하여 포스트-프롤린 분해 효소, 예를 들어, DP4, 아미노펩티다제에 의한 N-말단 분해에 대해 저항성을 부여하며, MMP-1의 결과가 의미하는 바와 같이, 어느 정도는 엔도프로테아제에 대해서도 저항성을 부여함을 시사하고 있다. QC 저해제의 적용으로 인한 N-말단 pGlu

형성의 방해는 인간 MCP-1의 더 신속한 불활성화를 유발한다.

<674> ApoE3\*Leiden 마우스에서의 혈관 리모델링 및 가속 죽상동맥경화의 분석

ApoE3\*Leiden 마우스에서의 커프-유도된 가속 죽상동맥경화의 치료는 관 세그먼트의 외부 직경 내 전체 면적에 아무런 효과를 나타내지 못하였으며(도 8a) 비록 나머지 내강에 약간의 증가가 관찰되기는 했지만 나머지 내강에 통계적으로 유의한 효과를 나타내지 못하였다(도 8b). 그러나, 1-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-3-(3,4-디메톡시페닐)티오우레아 하이드로클로라이드는 내강 협착의 백분율에 대해 40%의 근본적인 감소를 나타내었고(도 9a) 신생혈관내막 형성 면적에 대해 45% 감소를 나타내었다(도 9b). 두 개의 수치는 통계적으로 유의하다. 또한, 저해제는 중막(media) 면적(도 10a) 및 내막/중막 비율(도 10b)을 감소시켰으나, 내막/중막 비율의 감소는 통계적 유의성( $P<0.102$ )을 결여하고 있다.

<676> 특이적 관 벽 층에서의 세포 조성을 분석한 결과 2 일 및 14 일 후에 중막 및 외막 양쪽의 조성에 대한 평활근 세포 및 대식세포/포말세포의 상대적 분포에 차이가 없었다(도 15). 1-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-3-(3,4-디메톡시페닐)티오우레아 하이드로클로라이드의 MCP-1에 대한 효과, 및 이에 따른 단핵구 유인에 대한 효과로 인하여 관 벽에서 단핵구/대식세포 함량에 대한 좀더 특이적인 효과를 기대할 수도 있지만, 최근 발견되어 간행된 바와 같이(Schepers, A. 2006 *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 26, 2063-2069) MCP-1이 또한 평활근 세포 증식에 직접적인 효과를 가지고 있다는 사실에 유의해야 한다.

<677>

<678> 단핵구 점착 및 MCP-1 발현의 분석

<679> 약하게 고콜레스테롤성인 ApoE3\*Leiden 마우스(혈장 콜레스테롤 수준 12-15 mM)를 1-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-3-(3,4-디메톡시페닐)티오우레아 하이드로클로라이드로 처리한 결과 2일 후 총 점착성 세포가 45%( $p < 0.05$ )만큼 크게 감소하였다. 점착성 단핵구의 특이적 분석을 통해 커프된 관 세그먼트의 경우에는 67%( $p < 0.05$ )만큼 더욱 강하게 감소되었음을 알 수 있었다(도 11).

<680> 사용된 모델에서 MCP-1 발현이 가장 높게 상승되었던 순간인 수술 후 2일에, 1-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-3-(3,4-디메톡시페닐)티오우레아 하이드로클로라이드로 처리된 마우스의 관 세그먼트에서는 MCP-1 발현이 감소하였다(도 12, 13a, 14a). 이 결과는 1-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-3-(3,4-디메톡시페닐)티오우레아 하이드로클로라이드가 투여된 경우 병소 내의 혈관 손상 후 초기에 관 벽 세그먼트의 중막 및 내막(즉, *Lamina elastica interna*의 안쪽) 양쪽에서 MCP-1 발현의 감소가 검출되었음을 나타낸다. MCP-1에 대해 양성인 단면의 상대 면적을 분석한 결과 중막 내의 MCP-1 발현이 52%( $P=0.01$ ) 감소하고 내막에서는 36%( $P=0.001$ ) 감소한 것으로 밝혀졌다(도 14a). MCP-1에 대해 양성인 절대 면적을 분석한 결과(단면 당  $\mu\text{m}^2$  양성으로 나타냄) 중막(41% 감소,  $p=0.09$ ) 및 혈관 내막(40% 감소,  $p=0.05$ )에서 MCP-1 발현이 유사하게 감소한 것으로 나타났지만, 중막 내의 감소는 통계적 유의성(Student's T-test)을 갖지 않는다(도 13a).

<681> 후기 시점인 14일에 신생혈관내막 형성/가속 죽상동맥경화가 진행되었을 때, 총 MCP-1 발현은 초기 시점에 관찰된 것보다 낮았던 반면, 중막 또는 신생혈관내막에서는 MCP-1 발현의 감소가 관찰되지 않았는데(도 13b, 14b), 이는 1-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-3-(3,4-디메톡시페닐)티오우레아 하이드로클로라이드가 MCP-1의 강한 유도시에만 효과가 있음을 시사한다.

<682> 종합하면, 이들 데이터는 ApoE3\*Leiden 커프 모델에서 1-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-3-(3,4-디메톡시페닐)티오우레아 하이드로클로라이드의 경구 투여는 포스트 중재적 혈관 리모델링 및 가속 죽상동맥경화에 대해 유리한 효과를 가짐이고 있다.

<683> QC-특이적 저해제와 배합된 인간 아미노펩티다제 및 인간 혈청에 의한 인간 MCP-1<sub>(1-76)</sub>의 단백질 분해

<684> N-말단 pGlu-잔기의 생성 및 이에 따른 단백질 분해 안정성의 충격에 대한 QC-저해제 1-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-3-(3,4-디메톡시페닐)티오우레아 하이드로클로라이드의 효과를 추가로 설명하기 위하여 N-말단 글루타민(도 17a) 또는 피로글루탐산(도 17b)을 보유하는 인간 MCP-1을 DP4와 배양하였다. 전구체를 인간 QC와 예비 배양하여 N-말단 pGlu를 형성하였는데, 이는 생리학적 성숙 과정을 반영한 것이다. 예측된 바와 같이, 인간 QC와 함께 예비 배양하지 않았을 때 MCP-1은 DP4에 의해 쉽게 분해되었다(도 17a). 반대로, 인간 QC와의 예비 배양은 N-말단 pGlu-잔기를 형성시켰으며, 따라서 DP4 분해에 대한 보호를 제공하였다(도 17b). 또한, QC-저해제 1-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-3-(3,4-디메톡시페닐)티오우레아 하이드로클로라이드의 존재하에 인간 MCP-1을 인간 QC와 예비 배양하면 QC가 저해되므로 pGlu-MCP-1이 형성되지 못했다. 1-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-3-

(3,4-디메톡시페닐)티오우레아 하이드로클로라이드에 의한 pGlu-MCP-1의 형성 방해는 다시금 MCP-1 펩티드를 DP4에 대해 취약하게 만들었다(도 17c). 따라서, QC의 저해는 시험관내 및 생체내에서 MCP-1의 N-말단을 불안정화시켰다.

**<685>** 인간 MCP-1의 N-말단이 DP4에 의해 삭제되는 것과 유사하게, Gln<sup>1</sup>-MCP-1을 재조합 인간 아미노펩티다제 P와 배양하면 보호되지 않은 N-말단의 분해를 초래한다. 이에 의해 아미노펩티다제 P는 N-말단 아미노산 Gln<sup>1</sup> 및 Pro<sup>2</sup> 사이를 분해하여 N-말단 글루타미닐 잔기를 유리시킨다(도 16a). 그러나, 인간 QC와 Gln<sup>1</sup>-MCP-1의 예비 배양은 N-말단 pGlu-잔기의 형성을 유발시키며, 따라서 아미노펩티다제 P 분해에 대한 보호를 제공한다(도 16b). 따라서 N-말단 pGlu-잔기의 형성은 아미노펩티다제 P 분해 및 아마도 다른 모든 프롤린-특이적 아미노펩티다제들의 분해에 대한 보호 기전으로도 작용한다.

**<686>** 인간 MCP-1의 단백질 분해 안정성에 대한 추가 연구를 위하여, MCP-1을 정제 프로테아제와 배양하여 얻어진 테이터를 인간 MCP-1과 인간 혈청을 배양한 것에 의해 구체화하였다. 인간 Gln<sup>1</sup>-MCP-1을 인간 혈청과 배양하면 기질의 N-말단이 삭제되고 최초 2개의 아미노산(Gln<sup>1</sup>Pro<sup>2</sup>)이 유리된다. 또한, 혈장 내의 QC 활성은 N-말단 단백질 분해와 경쟁하고 MCP-1을 안정화시켜, 결국 약 60%의 삭제된 Asp<sup>3</sup>-MCP-1 및 40%의 전체-길이 pGlu<sup>1</sup>-MCP-1(도 18a)의 최종 비율을 나타낸다. 또한, 인간 MCP-1과 인간 QC의 예비 배양은 N-말단 pGlu-잔기를 형성시키며, 이에 따라 인간 MCP-1을 안정화시킨다. 적어도 선택된 시간-프레임 및 혈청의 희석에서는 pGlu<sup>1</sup>-MCP-1의 분해가 관찰되지 않았다(도 18b). 추가로, 9.6 μM의 DP4-저해제 이소류실-티졸리다이드의 존재하에 혈청에서 MCP-1을 배양하면 N-말단의 분해를 방지하며, 이는 MCP-1이 인간 혈청에서 DP4 또는 DP4-유사 활성에 의해 분해됨을 입증한다(도 18c).

#### 인간 MCP-2, MCP-3 및 MCP-4의 단백질 분해

**<688>** 인간 MCP-1의 N-말단 분해와 유사하게, DP4에 의한 N-말단 삭제에 대한 다른 인간 MCP들, 즉 MCP-2, MCP-3 및 MCP-4의 감수성을 조사하였다. 앞에서 MCP-1에 대해 관찰된 바와 같이, N-말단 pGlu-잔기는 DP4에 의한 단백질 분해에 대해 MCP-2 (도 19b), MCP-3(도 20b) 및 MCP-4(도 21b)를 보호한다. 그러나, 고리화되지 않은 변이체로서 N-말단 글루타민으로 시작하는 것은 Gln<sup>1</sup>-MCP-2(도 19a), Gln<sup>1</sup>-MCP-3(도 20a) 및 Gln<sup>1</sup>-MCP-4(도 21a)에 대해 나타낸 바와 같이 DP4에 의해 쉽게 삭제된다. 따라서 N-말단 pGlu-잔기는 DP4와 같은 아미노펩티다제에 의한 삭제에 대하여 모든 MCP들을 안정화시킨다. 따라서, 가속 전환(turnover) 및 감소된 주화성 및 수용체 활성화를 유발하기 위해 생체내 QC 활성을 감소시킨다는 본 발명의 사상은 MCP-계열의 모든 구성원에게 적용된다.

#### 인간 MCP-1, MCP-2, MCP-3, MCP-4의 상이한 N-말단 변이체의 주화성 효능

**<689>** 인간 THP-1 단핵구를 유인하는 능력에 있어서 MCP-1의 상이한 N-말단 변이체들의 영향을 조사하기 위하여 Gln<sup>1</sup>-MCP-1, pGlu<sup>1</sup>-MCP-1, 아미노펩티다제 P 분해 산물 Pro<sup>2</sup>-MCP-1, DP4 분해 산물 Asp<sup>3</sup>-MCP-1 및 MMP-1 분해 산물 Ile<sup>5</sup>-MCP-1를 시험관내 주화성 어세이로 시험하였다. N-말단 글루타미닐 또는 피로글루타밀-잔기를 보유하는 전체-길이 MCP-1은 50 ng/ml 및 100 ng/ml 사이의 최대 반응성으로 THP-1 단핵구를 유인함에 있어 동일하게 강력한 것으로 밝혀졌다. 반대로, 아미노펩티다제 P(Pro<sup>2</sup>-MCP-1) 및 DP4(Asp<sup>3</sup>-MCP-1)에 의한 MCP-1의 삭제는 각 변이체의 효능 손실을 유발하였다. 용량-반응-곡선은 최대 반응을 이끌어내기에 필요한 더 높은 농도로 이동하며, 이는 N-말단 삭제에 의한 MCP-1의 불활성화에 상응한다. MMP-1 분해 산물(Ile<sup>5</sup>-MCP-1)은 50 ng/ml 및 100 ng/ml 사이의 Gln<sup>1</sup>-MCP-1 및 pGlu<sup>1</sup>-MCP-1과 동일한 최대치를 가지나, 이 변이체로 이동하는 세포의 양, 즉, 주화성 효능은 전체-길이 MCP-1에 비해 훨씬 낮았다(도 22).

**<691>** MCP-1을 안정화시키는 QC의 역할 및 THP-1 단핵구의 이동에 대한 그의 영향력을 추가로 조사하기 위하여 Gln<sup>1</sup>-MCP-1을 인간 DP4와 배양하였다. 병해실험한 시료에서, DP4 적용에 앞서 MCP-1을 인간 QC와 함께 예비-배양하였다. 예측된 바와 같이, 얻어진 용량-반응-곡선은 50-100 ng/ml에서의 최대 반응에 의해 반영된 pGlu<sup>1</sup>-MCP-1의 단백질 분해 안정성을 의미한다. 반대로, QC의 부재하에서 DP4에 의해 Gln<sup>1</sup>-MCP-1이 삭제되며, 이는 최대 반응을 이끌어내기 위해 더 높은 MCP-1 농도(500-1000 ng/ml)가 요구되도록 용량-반응 곡선을 이동시킨다. 추가로,

Gln<sup>1</sup>-MCP-1을 QC 및 QC-저해제 1-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-3-(3,4-디메톡시페닐)티오우레아 하이드로클로라이드와 함께 예비-배양하면 pGlu-형성이 방해되며, 따라서 pGlu<sup>1</sup>-MCP-1과 비교하여 용량-반응 곡선이 더 높은 MCP-1 농도로 이동하는 것에 의해 관찰되는 바와 같이 DP4 분해에 취약한 웨티드가 된다(도 23). 따라서, QC의 저해는 MCP-1이 DP4에 의한 분해를 통해 N-말단 불안정화되게 하며, 이에 따라 단핵구 주화성 활성과 관련하여 불활성화된다.

<692> 추가로, N-말단 글루타민 또는 피로글루타메이트를 보유하는 MCP-2, MCP-3 및 MCP-4가 인간 THP-1 단핵구를 유인하는 능력을 조사하였다. MCP-1과 유사하게, MCP-2 및 MCP-3의 N-말단에서의 pGlu-형성은 각 글루타민-전구체와 비교하여 효능에 아무런 영향을 미치지 못하였다. 그러나, MCP-4의 경우 pGlu-형성은 웨티드의 효능을 약간 증가시켰다(도 24). 그러나, 글루타미닐-전구체들이 DP4에 의해 분해되므로(도 19, 20 21), MCP-2, MCP-3 및 MCP-4의 N-삭제된 DP4 분해 산물의 효능도 주화성 어세이를 사용하여 조사하였다. 3개 변이체 모두의 경우에, 2개 아미노산의 삭제는 케모카인의 부분적인 불활성화를 유발하였다(도 25). 따라서, 모든 공지된 MCP들의 N-말단 pGlu-형성은 N-말단 삭제에 대한 보호를 제공할 뿐 아니라 주화성 효능의 손실에 대한 보호도 제공한다. 따라서 N-말단 성숙을 억제하여 MCP-1 활성을 경감시키고자 하는 본 발명의 접근방법은 인간의 모든 MCP 계열 구성원에 적용된다.

#### LPS-유도된 랫트 패혈증 모델에 대한 QC-저해제의 적용

<694> 1-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-3-(3,4-디메톡시페닐)티오우레아 하이드로클로라이드의 일반적인 항염증 특성을 조사하기 위하여 LPS-유도된 랫트 패혈증 모델에 저해제를 적용하였다. 개시된 염증 반응에 대한 표지자로서 QC-저해제 처리에 따른 사이토카인 TNF  $\alpha$ 의 수준을 결정하였다. 도 26에 도시된 바와 같이, 1-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-3-(3,4-디메톡시페닐)티오우레아 하이드로클로라이드를 적용한 결과 저용량(5 mg/kg) 내지 중간 용량(20 mg/kg) 범위에서 TNF  $\alpha$  수준이 용량-의존적으로 감소하였다. 추가로, 최고 용량(80 mg/kg)은 혈장내 TNF  $\alpha$ -수준을 감소시켰으나, 중간 용량과 비교하여 약간의 증가가 관찰되었다. 따라서, QC-저해제를 적용하면 본 실시예에서 예시적으로 TNF  $\alpha$ 에 대해 나타낸 염증 반응을 유의적으로 감소시킬 수 있다. 본 실험은 비록 QC-저해제의 효과가 MCP들의 N-말단 불안정화에 매우 특이적이기는 하지만 이 케모카인의 불활성화가 TNF  $\alpha$ 와 같은 다른 염증요인에도 영향을 나타냄을 보여준다. 따라서, 다른 염증 유발성 사이토카인의 억제는 MCP들을 불안정화시키는 본 발명에 따른 사상의 추가적인 결과이다. 따라서 MCP 활동 정도를 변화시켜 상이한 염증성 장애에 대한 의약품을 개발하는데 본 발명에 따른 접근법이 유용하다.

#### 티오글리콜레이트-유도된 마우스 복막염 모델에 대한 QC-저해제의 적용

<696> 생체내 면역 세포의 이동에 대한 QC-저해제 투여의 효과를 추가로 조사하기 위하여, 1-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-3-(3,4-디메톡시페닐)티오우레아 하이드로클로라이드를 티오글리콜레이트-유도된 마우스 복막염 모델에 적용하였다. 복막 세척액의 세포 조성은 티오글리콜레이트-접종 후 4시간 및 24시간에 침윤하는 단핵구에 특별히 주의하여 결정되었다. 도 27에 나타낸 바와 같이, QC-저해제 1-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-3-(3,4-디메톡시페닐)티오우레아 하이드로클로라이드는 4시간 후 용량-의존적으로 복막에 침윤하는 단핵구의 수를 감소시켰다. 추가로, 티오글리콜레이트 적용 후 24시간에 Moma2-양성 단핵구/대식세포의 존재를 평가하였다. 도 28에 나타낸 바와 같이, QC-저해제 1-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-3-(3,4-디메톡시페닐)티오우레아 하이드로클로라이드는 Moma2-양성 세포의 수도 유의적으로 감소시켰다. 따라서 QC의 저해는 생체 내에서 MCP들의 N-말단을 불안정화시킨다.

<697> 본 실험은 치료 효과를 나타내기 위해 QC 저해에 의한 MCP 불안정화를 적용할 수 있음을 입증하고 있다. 죽상동 맥경화 및 재협착을 예로 들 수 있지만 이들로 제한되지는 않는 몇 가지 염증성 장애의 일반적 특징인 단핵구의 동원이 억제된다. 따라서 본 실험은 상이한 염증성 장애에 적용함에 있어서 QC 저해제들을 특성조사하는 방법을 제공한다.

#### 표 1

&lt;698&gt;

사용된 프라이머

프라이머	서열 (5' → 3')	적용	서열 번호
hMCP-1-1	ATAT AAGCTT ATGAAAGTCTCTGCCGCCCTTC	인간 MCP-1의 분리	5
hMCP-1-2	ATAT GCGGCCGC TCAAGTCTCGGAGTTGGG	인간 MCP-1의 분리	6
DQ1-1	CATTCCCCAAGGGCTCGCTCCAGATGCAATCAATGCC	부위-특이적 돌연변이 DQ1	7
DQ1-2	GGCATTGATTGCATCTGGAGCGAGCCCTGGGGATG	부위-특이적 돌연변이 ΔQ1	8
DQ1P2-1	CATTCCCCAAGGGCTCGCTGATGCAATCAATGCCAG	부위-특이적 돌연변이 ΔQ1P2	9
DQ1P2-2	CTGGGGCATTGATTGCATCAGCGAGCCCTGGGGATG	부위-특이적 돌연변이 ΔQ1P2	10

**표 2**

&lt;699&gt;

LPS-유도된 랫트 패혈증에서 QC-저해제의 용량

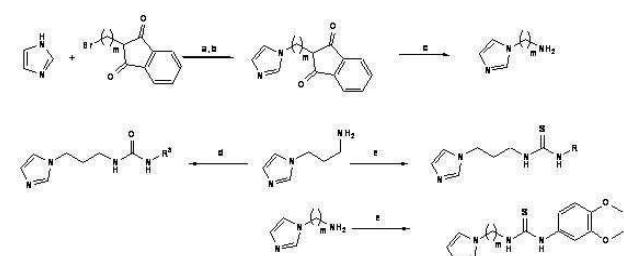
군 (group)	정맥내 처리 1	용량 등급 (mg/kg)	제형 농도 (mg/mL)	복막내 처리 2	용량 등급 (μM/kg)	제형 농도 (μM/mL)	동물의 수
1	비히클	-	-	Saline	-	-	10
2	비히클	-	-	LPS	100	20	10
3	QCI	5	2.5	LPS	100	20	10
4	QCI	20	10	LPS	100	20	10
5	QCI	80	40	LPS	100	20	10

&lt;700&gt;

QC 저해제의 합성

&lt;701&gt;

합성 반응식 1: 실시예 1-53, 96-102, 136-137의 합성

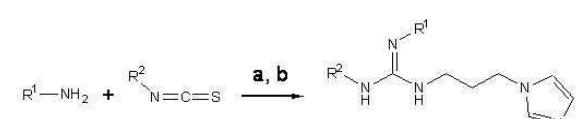


&lt;702&gt;

시약 및 조건: (a) NaH, DMF, 4h, 실온; (b) , 8h, 100°C; (c) H<sub>2</sub>N-NH<sub>2</sub>, EtOH, 8h, 환류에 이어서 4N HCl, 6h, 환류, (d) R<sup>3</sup>-NCO, EtOH, 6h, 환류, (e) 3,4-디메톡시-페닐-이소티오시아네이트

&lt;704&gt;

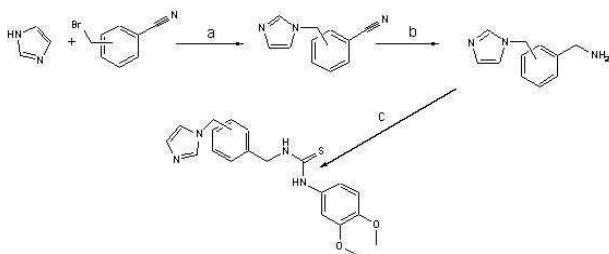
합성 반응식 2: 실시예 54-95의 합성



&lt;705&gt;

시약 및 조건: (a) R-NCS, EtOH, 6h, 환류; (b) WSCD, 1H-이미다졸-1-프로판아민, DMF, 2h, 실온

&lt;707&gt; 합성 반응식 3: 실시예 103-105의 합성

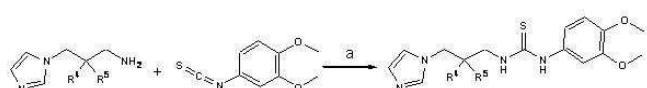


&lt;708&gt;

&lt;709&gt; 시약 및 조건: (a) NaH, DMF, 실온, 3h; (b) LiAlH4, 디옥산, 환류, 1h; (c) R-NCS, EtOH, 환류, 6h

&lt;710&gt;

합성 반응식 4: 실시예 106-109의 합성

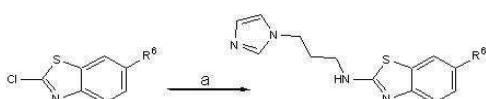


&lt;711&gt;

&lt;712&gt; 시약 및 조건: (a) EtOH, 2 h, 환류

&lt;713&gt;

합성 반응식 5: 실시예 110-112의 합성



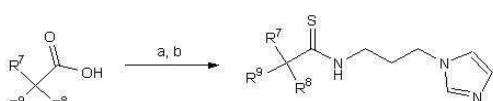
&lt;714&gt;

&lt;715&gt;

&lt;716&gt; 시약 및 조건: (a) 1H-이미다졸-1-프로판아민, 트리에틸아민, 톨루엔, 12 h, 환류

&lt;717&gt;

합성 반응식 6: 실시예 113-132의 합성

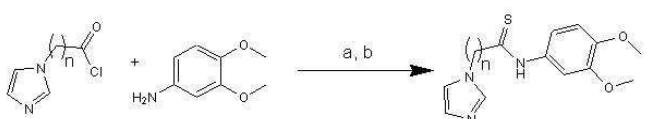


&lt;718&gt;

&lt;719&gt; 시약 및 조건: (a) CAIBE, 1H-이미다졸-1-프로판아민, 디옥산, 0°C, 12h; (b) Laweson 시약, EtOH, 환류, 8h

&lt;720&gt;

합성 반응식 7: 실시예 133-135의 합성

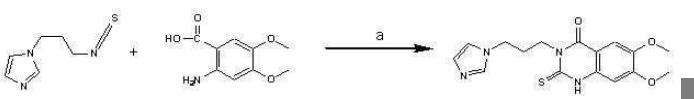


&lt;721&gt;

&lt;722&gt; 시약 및 조건: (a) 1H-이미다졸-1-프로판 산클로라이드, CH2Cl2, -10°C, 1 h; (b) Lawesson 시약, 디옥산, 환류, 8 h

&lt;723&gt;

합성 반응식 8: 실시예 138의 합성

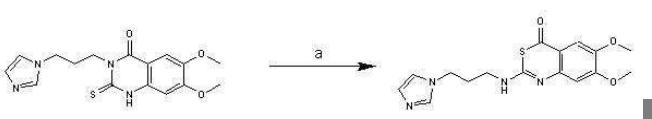


&lt;724&gt;

&lt;725&gt; 시약 및 조건: (a) EtOH, 환류, 8 h

&lt;726&gt;

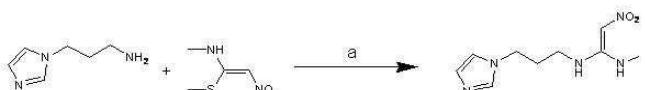
합성 반응식 9: 실시예 139의 합성



&lt;727&gt;

<728> 시약 및 조건: (a) 75% 진한  $H_2SO_4$ , 4h

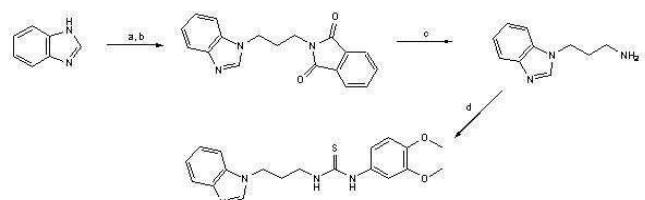
<729> 합성 반응식 10: 실시예 140의 합성



<730>

<731> 시약 및 조건: (a) 아세토니트릴, 환류 2h

<732> 합성 반응식 11: 실시예 141의 합성



<733>

<734> 시약 및 조건: (a)  $NaH$ ,  $DMF$ , 4h, 실온; (b) , 8h,  $100^\circ C$ ; (c)  $H_2N-NH_2$ ,  $EtOH$ , 8h, 환류에 이어서 4N  $HCl$ , 6h, 환류, (d) 3,4-디메톡시-페닐-이소티오시아네이트,  $EtOH$ , 6h, 환류

<735>

### 분석 조건

<736> SCIEX API 365 분광계(Perkin Elmer)로 ESI-Mass 스펙트럼을 얻었다.  $DMSO-D_6$ 를 용매로 사용하여 BRUKER AC 500 상에  $^1H$ -NMR(500 MHz) 데이터를 기록하였다. 화학적 이동(chemical shift)은 테트라메틸실란의 다운필드 (downfield) ppm(part per million)으로 나타낸다. 분할 패턴은 다음과 같이 표시한다: s (singlet), d (doublet), dd (doublet of doublet), t (triplet), m (multiplet), 및 br (broad signal).

<737> 구체적인 합성의 설명

<738> 실시예 1-12 및 14-53

<739>  $1H$ -이미다졸-1-프로판아민을 8 시간 동안 환류시키면서 에탄올 중의 상응하는 이소티오시아네이트와 반응시켰다. 그 후, 용매를 제거하고 잔류 오일을 메틸렌 클로라이드에 용해시켰다. 유기층을  $NaHCO_3$  포화 용액으로 2회 세척한 다음  $NaHSO_4$  및 염수로 세척하고, 건조시킨 후 증발시켰다. 잔류 고체를 에틸 아세테이트에서 재결정하여 80-98%의 수율로 실시예의 티오우레아를 얻었다.

<740> 실시예 13

<741> 1-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-3-(3,4-디메톡시페닐)티오우레아

<742> 4.0 mmol의 3,4-디메톡시페닐 이소티오시아네이트 및 4.0 mmol의 3-(1H-이미다졸-1-일)알킬-1-아민을 10 mL의 무수 에탄올에 용해시켰다. 환류하여 2 시간 교반한 후, 용매를 증발시키고 생성된 고체를 에탄올에서 재결정하였다

<743> 수율: 0.66 g (51.3 %); mp: 160.0 - 161.0°C

<744>  $^1H$  NMR  $\delta$  1.8 - 2.0 (m, 2H), 3.4 - 3.5 (m, 2H), 3.75 (s, 6H), 3.9 - 4.0 (m, 2H), 6.7 - 6.8 (m, 1H), 6.9 (br m, 2H), 6.95 (s, 1H), 7.15 (s, 1H), 7.55 (br s, 1H), 7.6 (s, 1H), 9.3 (s, 1H); MS m/z 321.2 ( $M+H$ ), 253.3 ( $M-C_3H_3N_2^+$ )

<745> 실시예 96-102

<746>  $1H$ -이미다졸-1-프로판아민을 8 시간 동안 환류시키면서 에탄올 중의 상응하는 이소시아네이트와 반응시켰다. 그 후, 용매를 제거하고 잔류 오일을 메틸렌 클로라이드에 용해시켰다. 유기층을  $NaHCO_3$  포화 용액으로 2회 세척한 다음  $NaHSO_4$  및 염수로 세척하고, 건조시킨 후 증발시켰다. 잔류 고체를 에틸 아세테이트에서 재결정하여 85-

90%의 수율로 실시예의 우레아를 얻었다.

**실시예 136, 137**

-브롬-알킬-프탈이미드 및 이미다졸륨염으로부터 문헌에 따라  $1H$ -이미다졸-1-알킬아민을 제조한 다음 히드라진 분해(hydrayzinolysis)하였다. 생성물을 실시예 1-53에 따라 88%(실시예 136) 및 95%(실시예 137)의 수율로 티오우레아로 변환시켰다.

**실시예 54-95**

<750> 수용성 카보디이미드(WSCD)와  $1H$ -이미다졸-1-프로판아민을 실온에서 2시간 동안 무수 디메틸포름아미드에서 반응시켜 상응하는 티오우레아로부터 모든 실시예 화합물을 제조하였으며, 이에 따라 삼치환된 구아니딘을 40-87% 수율로 얻었다.

**실시예 103-105**

<752> 1당량의 NaH를 사용하여 실온에서 3시간 동안 이미다졸을 DMF 중에서 상응하는 브로모메틸페닐시아나이드와 반응시켜  $1H$ -이미다졸-1-메틸페닐시아나이드를 제조하였다. 용매를 제거하고 생성된 오일을 디옥산에 재용해시켰다. 1당량의 LiAlH<sub>4</sub>를 사용하여 시아나이드를 상응하는 아민으로 전환시켰다. KHSO<sub>4</sub>의 포화 용액을 첨가한 후, 디옥산을 증발시키고 수층을 CHCl<sub>3</sub>로 추출하였다. 유기층을 진공하에 농축시키고 아민을 실시예 1-53에 따라 상응하는 티오우레아로 전환시켜 78%(실시예 103) 및 65%(실시예 104) 및 81%(실시예 105)의 수율로 얻었다.

**실시예 106-109**

<754> 상응하는 메탄설포네이트-2-메틸프로필-프탈이미드로부터 시작하여 실시예 136-137에서 아민에 대해 기술한 바와 같이 아민을 합성하였다. 생성물을 실시예 1-53에 따라 티오우레아로 변환시켜 25-30%의 총 수율로 실시예 106-109 화합물을 얻었다.

**실시예 110-112**

<756> 130°C의 온도에서 24시간 동안  $1H$ -이미다졸-1-프로판아민을 상응하는 2-클로로벤조[d]티아졸과 톨루올 중에서 반응시켰다. 용매를 제거한 후 메탄올에서 재결정하여 실시예 110-112의 화합물을 55-65%의 수율로 얻었다.

**실시예 113-118, 120-124 및 126-132**

<758> 0°C의 온도에서 1당량의 CAIBE 및 N-메틸모폴린을 첨가하여  $1H$ -이미다졸-1-프로판아민을 상응하는 2-페닐아세트산과 무수 디옥산 중에서 반응시켰다. 2시간 후, 혼합물을 실온으로 승온시키고 12시간 동안 교반하였다. 용매를 제거한 후 생성된 오일을 메틸렌 클로라이드에 재용해시키고 유기층을 NaHCO<sub>3</sub> 수용액 및 물을 사용하여 세척하고, 건조시켜 용매를 증발시켰다. 로웨슨 시약을 첨가하여 잔류 오일을 디옥산에 용해시켰다. 12시간 교반 후 NaHCO<sub>3</sub> 포화 용액을 첨가하였다. 디옥산을 증발시키고 수층을 에틸 아세테이트로 추출하였다. 유기층을 분리하여, 건조시키고, 용매를 증발시켰다. 잔류 고체를 에틸 아세테이트/에테르에서 결정화하여 62-85%의 총 수율로 실시예 113-118, 120-124 및 126-132의 화합물을 얻었다.

**실시예 119**

<760> *1N-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-2-(3,4-디메톡시페닐)에탄티오아미드*

<761> 20mL 디옥산 중의 4.0 mmol 트리에틸아민과 4.0 mmol 3-(1H-이미다졸-1-일)알킬-1-아민의 혼합물을 30mL 디옥산 중의 4.0 mmol 2-(3,4-디메톡시페닐)아세틸 클로라이드의 빙냉각하에 교반하면서 용액에 적가하였다. 혼합물을 실온으로 승온시킨 다음 1시간 교반하였다. 감압하에 용매를 제거한 다음 잔류물을 50mL 디클로로메탄에 재용해시켰다. 유기층을 NaHCO<sub>3</sub> 포화 수용액 30mL 및 물로 세척하였다. 유기 용액을 건조시키고, 여과하고, 용매를 감압하에 제거하였다. 50mL의 무수 디옥산에 재용해시킨 후 2.2 mmol의 로웨슨 시약을 첨가하고, 혼합물을 90°C로 가열하고, 8시간 동안 교반하였다. 용매를 감압하에 제거하고, 잔류물을 50mL 디클로로메탄에 재용해시켰다. 유기층을 NaHCO<sub>3</sub> 포화 수용액을 사용하여 3회 세척한 다음 물로 3회 세척하고, 건조시키고, 여과한 다음 유기 용매를 제거하였다. 2mm 층두께의 실리카 플레이트를 사용하고 용출 시스템으로서 CHCl<sub>3</sub>/MeOH 구배를 사용하는 원심력 크로마토그래피 장치(centrifugal-force-chromatography device; Harrison Research Ltd.)를 이용한 크로마토그래피로 화합물을 정제하였다.

<762> 수율: 0.14 g (10.6 %); 용점: 148.0 - 150.0°C

<763>  $^1\text{H}$  NMR  $\delta$  2.0 - 2.15 (br m, 2H), 3.4 - 3.5 (m, 2H), 3.7 (s, 6H), 6.75 - 6.8 (m, 2H), 4.1 - 4.2 (m, 2H), 6.8 - 6.9 (m, 2H), 6.95 - 7.0 (m, 1H), 7.4 (s, 1H), 7.75 - 7.85 (br m, 1H), 8.6 (s, 1H), 10.2 (s, 1H); MS m/z 320.2 (M+H), 252.2 (M- $\text{C}_3\text{H}_3\text{N}_2$  · )

<764> 실시예 125

<765> N-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-1-(3,4-디메톡시페닐)사이클로프로판카보티오아미드

<766> 11.06 mmol의 3,4-디메톡시페닐 아세토니트릴, 34.8 mmol의 2-브로모-1-클로로에탄을 및 1.16 mmol의 트리에틸 벤질암모늄 하이드로클로라이드를 10 mL의 KOH 수용액(60%)에 용해시켰다. 혼합물을 초음파 배쓰로 옮기고 실온에서 3 시간 동안 격렬하게 교반하였다. 생성된 혼탁액을 40 mL의 물로 희석하고 20 mL의 디클로로메탄을 사용하여 3회 추출하였다. 유기층을 합하여 염산 수용액(1N)으로 세척하고,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 로 건조시키고 감압하에 용매를 제거하였다. 실리카겔 및 용출 시스템으로서 에틸 아세테이트/헵탄을 사용하는 플래쉬-크로마토그래피로 잔류 오일을 정제하여 0.81 g(34.4%)의 1-(3,4-디메톡시페닐)사이클로프로판카보니트릴을 얻었다.

<767> 3.9 mmol의 1-(3,4-디메톡시페닐)사이클로프로판카보니트릴 및 11.2 mmol의 KOH를 80 mL 에틸렌 글리콜에 혼탁시켰다. 혼합물을 12 시간 동안 환류시키면서 교반하였다. 그 후, 80 mL의 물을 첨가하고 수층을 에테르로 2회 추출하였다. HCl(1N)을 사용하여 pH = 4 - 5의 수치로 조정하고 수층을 에테르로 3회 추출한 다음, 유기층을 합하여  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 로 건조시키고 용매를 제거하여 0.81 g(93.5%)의 1-(3,4-디메톡시페닐)사이클로프로판카복실산을 생성하였다.

<768> 3.44 mmol의 1-(3,4-디메톡시페닐)사이클로프로판카복실산, 3.5 mmol의 N-메틸 모폴린 및 3.5 mmol의 이소부틸 클로로포르메이트를 무수 테트라하이드로푸란에 용해시키고 -15°C에서 15 분간 교반하였다. 그 후, 3.5 mmol의 3-(1H-이미다졸-1-일)알킬-1-아민을 첨가하고, 혼합물을 0°C로 승온시키고 12 시간 동안 교반하였다. 용매를 감압하에 제거하고 잔류 오일을 클로로포름에 재용해시켰다. 그 후, 유기층을  $\text{NaHCO}_3$ 의 포화 수용액을 사용하여 2회 세척한 다음,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 로 건조시키고 용매를 제거하였다. 2 mm 층두께의 실리카 플레이트, 및 용출 시스템으로서  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  구배를 사용하는 크로마토트론<sup>®</sup> 장치(Harrison Research Ltd.)를 이용하여 원심력 크로마토그래피로 정제하여 0.671 g(59.3%)의 N-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-1-(3,4-디메톡시페닐)사이클로프로판-카복스 아미드를 얻었다.

<769> 30 mL의 무수 디옥산에 재용해시킨 후에 1.43 mmol의 로웨슨 시약을 첨가하고, 혼합물을 90°C로 가열하여 8 시간 동안 교반하였다. 용매를 감압하에 제거하고 잔류물을 50 mL의 디클로로메탄에 용해시켰다. 유기층을  $\text{NaHCO}_3$ 의 포화 수용액을 사용하여 3회 세척한 다음 물로 3회 세척하고, 건조시키고, 여과한 다음 유기 용매를 제거하였다. 2 mm 층두께의 실리카 플레이트를 사용하고 용출 시스템으로서  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  구배를 사용하는 원심력 크로마토그래피 장치(Harrison Research Ltd.)를 이용한 크로마토그래피로 화합물을 정제하였다.

<770> 수율: 0.33 g (46.2 %); 용점: 127.0 - 127.5°C

<771>  $^1\text{H}$  NMR  $\delta$  1.1 - 1.2 (t, 2H), 1.55 - 1.6 (t, 2H), 2.0 - 2.1 (m, 2H), 3.5 - 3.6 (m, 2H), 3.7 - 3.8 (s, 6H), 4.1 - 4.2 (t, 2H), 6.8 - 6.9 (m, 3H), 7.65 (s, 1H), 7.75 (s, 1H), 8.8 (m, 1H), 9.05 (s, 1H); MS m/z 346.0 (M+H), 278.2 (M- $\text{C}_3\text{H}_3\text{N}_2$  · ), 177.1 (M- $\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_3\text{S}$  · )

<772> 실시예 133-135

<773> 디옥산 중의 1 당량 트리에틸아민과 3,4-디메톡시아닐린 혼합물을 0°C의 온도에서 상응하는  $\omega$ -브로모알킬 산을 로라이드의 교반된 용액에 첨가하였다. 용액을 실온으로 승온시키고 2 시간 교반하였다. 용매를 증발시키고 잔류 오일을 디클로로메탄에 재용해시켰다. 유기층을 물로 세척하고, 건조시키고, 여과하고, 용매를 감압하에 제거하였다.

<774> 이미다졸 및 수소화나트륨을 혼탁시키고 혼합물을 실온에서 3 시간 동안 불활성 조건하에 교반하였다.  $\omega$ -브로모-N-(3,4-디메톡시-페닐)알킬아미드를 첨가하고 혼합물을 100°C로 가열하고 8 시간 동안 교반하였다. 그 후, 용매를 증발시키고 뜨거운 톨루엔을 첨가하고 용액을 여과하였다. 용매를 감압하에 제거하였다. 로웨슨 시약을

사용하여 실시예 113-132에 기재된 바에 따라 티오아미드로 변환시켜 총 수율 13 - 20%의 실시예 133-135 화합물을 제조하였다.

<775> 상기 기술된 일반적 합성 반응식에 따라 합성된 추가 실시예 화합물의 분석 데이터를 하기에 나타내었다.

<776> 실시예 1: 1-(3-(1H-օ)미다졸-1-일)프로필)-3-메틸티오우레아

<777> 용점: 122 - 122.5°C

<778>  $^1\text{H}$  NMR  $\delta$  1.85 - 1.95 (m, 2H), 2.8 (s, 3H), 3.2 - 3.5 (br d, 2H), 3.8 - 3.9 (m, 2H), 6.85 (d, 1H), 7.15 (d, 1H), 7.3 - 7.5 (br d, 2H), 7.65 (s, 1H); MS m/z 199.1 (M+H), 221.3 (M+Na), 131.0 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub> · )

<779> 실시예 2: 1-(3-(1H-օ)미다졸-1-일)프로필)-3-터트-부틸티오우레아

<780> 용점: 147.0 - 147.5°C

<781>  $^1\text{H}$  NMR  $\delta$  1.3 - 1.4 (s, 9H), 1.85 - 1.95 (m, 2H), 3.5 (t, 2H), 3.8 (t, 2H), 6.85 (d, 1H), 7.15 (d, 1H), 7.3 - 7.5 (br d, 2H), 7.65 (s, 1H); MS m/z 241.1 (M+H), 173.1 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub> · )

<782> 실시예 3: 1-(3-(1H-օ)미다졸-1-일)프로필)-3-벤질티오우레아

<783> 용점: 127.0 - 128.0°C

<784>  $^1\text{H}$  NMR  $\delta$  1.85 - 1.95 (m, 2H), 3.2 - 3.5 (br d, 2H), 3.8 - 3.9 (m, 2H), 4.6 (s, 2H), 6.8 (d, 1H), 7.15 (d, 1H), 7.19 - 7.35 (m, 5H), 7.5 - 7.6 (br d, 2H), 7.85 (s, 1H); MS m/z 275.3 (M+H), 207.1 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub> · )

<785> 실시예 5: 1-(3-(1H-օ)미다졸-1-일)프로필)-3-페닐티오우레아

<786> 용점: 166.5 - 167.0°C

<787>  $^1\text{H}$  NMR  $\delta$  1.95 - 2.05 (m, 2H), 3.3 - 3.5 (br d, 2H), 3.9 - 4.0 (m, 2H), 6.85 (d, 1H), 7.05 (m, 1H) 7.15 (d, 1H), 7.25 (m, 2H), 7.35 (m, 2H), 7.6 (s, 1H), 7.8 (br s, 1H), 9.5 (br s, 1H); MS m/z 261.1 (M+H), 193.2 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub> · )

<788> 실시예 6: 1-(3-(1H-օ)미다졸-1-일)프로필)-3-(4-플루오로페닐)티오우레아

<789> 용점: 147.0 - 148.0°C

<790>  $^1\text{H}$  NMR  $\delta$  1.95 - 2.05 (m, 2H), 3.3 - 3.5 (br d, 2H), 3.9 - 4.05 (m, 2H), 6.85 (d, 1H), 7.05 - 7.15 (m, 3H), 7.3 - 7.4 (m, 2H), 7.6 (s, 1H), 7.7 - 7.8 (br s, 1H), 9.4 (br s, 1H); MS m/z 279.3 (M+H), 211.2 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub> · )

<791> 실시예 7: 1-(3-(1H-օ)미다졸-1-일)프로필)-3-(4-օ)틸페닐)티오우레아

<792> 용점: 100.0 - 100.5°C

<793>  $^1\text{H}$  NMR  $\delta$  1.15 - 1.2 (t, 3H), 1.9 - 2.0 (m, 2H), 2.5 - 2.6 (m, 2H), 3.3 - 3.5 (br d, 2H), 3.9 - 4.05 (m, 2H), 6.85 (d, 1H), 7.1 - 7.2 (m, 3H), 7.25 - 7.3 (m, 2H), 7.6 (s, 1H), 7.7 - 7.8 (br s, 1H), 9.4 (br s, 1H); MS m/z 289.3 (M+H), 221.1 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub> · )

<794> 실시예 8: 1-(3-(1H-օ)미다졸-1-일)프로필)-3-(4-(트리플루오로메틸)페닐)티오우레아

<795> 용점: 154.5 - 155.0°C

<796>  $^1\text{H}$  NMR  $\delta$  1.9 - 2.1 (br m, 2H), 3.4 - 3.6 (br d, 2H), 3.95 - 4.1 (br m, 2H), 6.85 (d, 1H), 7.2 (d, 1H), 7.6 - 7.8 (m, 5H), 8.2 (br s, 1H), 9.9 (br s, 1H); MS m/z 329.3 (M+H), 261.2 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub> · )

<797> 실시예 10: 1-(3-(1H-օ)미다졸-1-일)프로필)-3-(4-օ)세틸페닐)티오우레아

<798> 용점: 170.0 - 171.0°C

<799>  $^1\text{H}$  NMR δ 1.9 - 2.1 (br m, 2H), 2.4 - 2.5 (s, 3H), 3.2 - 3.5 (br m, 2H), 3.9 - 4.1 (m, 2H), 6.85 (d, 1H), 7.15 (d, 1H), 7.5 - 7.65 (br m, 3H), 7.8 - 7.9 (m, 2H), 8.1 (m, 2H), 9.8 (br s, 1H); MS m/z 303.2 (M+H), 235.1 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub> · )

<800> 실시예 11: 1-(3-(1H-օ]미다졸-1-일)프로필)-3-(4-메톡시페닐)티오우레아

<801> 용점: 125.0 - 125.5°C

<802>  $^1\text{H}$  NMR δ 1.8 - 2.0 (br m, 2H), 3.2 - 3.5 (br m, 2H), 3.7 (s, 3H), 3.9 - 4.0 (m, 2H), 6.7 - 6.9 (m, 3H), 7.1 - 7.2 (m, 3H), 7.5 (s, 1H), 7.6 (s, 1H), 9.2 (s, 1H); MS m/z 291.1 (M+H), 223.2 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub> · )

<803> 실시예 14: 1-(3-(1H-օ]미다졸-1-일)프로필)-3-(2,4-디메톡시페닐)티오우레아

<804> 용점: 120.0 - 120.5°C

<805>  $^1\text{H}$  NMR δ 1.8 - 2.0 (br m, 2H), 3.4 - 3.5 (br m, 2H), 3.75 (s, 6H), 3.9 - 4.0 (m, 2H), 6.5 (d, 1H), 6.6 (s, 1H), 6.9 (s, 1H), 7.15 (s, 1H), 7.3 (d, 1H), 7.5 (br s, 1H), 7.6 (s, 1H), 9.75 (s, 1H); MS m/z 321.2 (M+H), 253.3 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub> · )

<806> 실시예 15: 1-(3-(1H-օ]미다졸-1-일)프로필)-3-(3,5-디메톡시페닐)티오우레아

<807> 용점: 142.0 - 143.0°C

<808>  $^1\text{H}$  NMR δ 1.8 - 2.0 (br m, 2H), 3.4 - 3.5 (br m, 2H), 3.6 (s, 6H), 3.95 - 4.0 (m, 2H), 6.25 (m, 1H), 6.6 (m, 2H), 6.9 (s, 1H), 7.2 (s, 1H), 7.6 (s, 1H), 7.8 (s, 1H), 9.5 (s, 1H); MS m/z 321.2 (M+H), 253.3 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub> · )

<809> 실시예 23: 1-(3-(1H-օ]미다졸-1-일)프로필)-3-(2,3-디하이드로벤조[b][1,4]디옥신-7-일)티오우레아

<810> 용점: 103.0 - 103.5°C

<811>  $^1\text{H}$  NMR δ 1.9 - 2.0 (br m, 2H), 3.3 - 3.5 (br d, 2H), 3.9 - 4.0 (m, 2H), 4.2 - 4.3 (m, 4H), 6.7 (m, 1H), 6.8 - 6.8 (m, 1H), 6.9 (m, 2H), 7.2 (s, 1H), 7.6 (m, 2H), 9.3 (s, 1H); MS m/z 319.3 (M+H), 251.3 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub> · )

<812> 실시예 24: 1-(3-(1H-օ]미다졸-1-일)프로필)-3-(벤조[d][1,3]디옥솔-6-일)티오우레아

<813> 용점: 115.0 - 115.6°C

<814>  $^1\text{H}$  NMR δ 1.9 - 2.1 (br m, 2H), 3.4 - 3.5 (br d, 2H), 4.05 - 4.15 (m, 2H), 6.0 (s, 2H), 6.7 (m, 1H), 6.8 - 6.85 (m, 1H), 6.95 (d, 1H), 7.25 (s, 1H), 7.45 (s, 1H), 7.7 (br s, 1H), 8.5 (br s, 1H), 9.4 (br s, 1H); MS m/z 305.2 (M+H), 237.2 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub> · )

<815> 실시예 25: 1-(3-(1H-օ]미다졸-1-일)프로필)-3-(3,4,5-트리메톡시페닐)티오우레아

<816> 용점: 124.5 - 125.5°C

<817>  $^1\text{H}$  NMR δ 1.8 - 2.0 (m, 2H), 3.4 - 3.5 (br m, 2H), 3.6 (s, 3H), 3.7 (s, 6H), 3.9 - 4.0 (m, 2H), 6.65 (m, 2H), 6.85 (s, 1H), 7.2 (s, 1H), 7.6 (s, 1H), 7.7 (br s, 1H), 9.4 (s, 1H); MS m/z 351.3 (M+H), 283.2 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub> · )

<818> 실시예 26: 1-(3-(1H-օ]미다졸-1-일)프로필)-3-(3-메톡시페닐)티오우레아

<819> 용점: 89.5 - 90.0°C

<820>  $^1\text{H}$  NMR δ 1.9 - 2.1 (br m, 2H), 3.4 - 3.5 (br m, 2H), 3.7 (s, 3H), 3.9 - 4.0 (m, 2H), 6.6 - 6.7 (m, 1H), 6.8 - 6.9 (m, 2H), 7.1 (m, 2H), 7.15 - 7.25 (br m, 1H), 7.6 (s, 1H), 7.8 (br s, 1H), 9.5 (s, 1H);

MS m/z 291.1 (M+H), 223.2 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub> · )

<821> **실시예 27:** 1-(3-(1H-օ)미다졸-1-일)프로필)-3-(4-օ)톡시페닐)E]오우레아

<822> 용점: 126.0 - 126.5°C

<823> <sup>1</sup>H NMR δ 1.5 (br m, 3H), 1.9 - 2.0 (br m, 2H), 3.4 - 3.5 (br m, 2H), 3.9 - 4.0 (br m, 4H), 6.8 - 6.9 (m, 2H), 6.95 (s, 1H), 7.15 - 7.2 (m, 2H), 7.25 (s, 1H), 7.55 - 7.6 (br s, 1H), 7.8 (s, 1H), 9.3 (s, 1H); MS m/z 305.2 (M+H), 237.2 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub> · )

<824> **실시예 33:** 1-(3-(1H-օ)미다졸-1-일)프로필)-3-(4-(메틸E]오)페닐)E]오우레아

<825> 용점: 140.0 - 140.5°C

<826> <sup>1</sup>H NMR δ 1.8 - 2.05 (br m, 2H), 2.5 (s, 3H), 3.3 - 3.5 (br m, 2H), 3.9 - 4.1 (m, 2H), 6.9 (m, 1H), 7.1 - 7.3 (br m, 5H), 7.6 (s, 1H), 7.75 (br s, 1H), 9.4 (s, 1H); MS m/z 307.2 (M+H), 239.2 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub> · )

<827> **실시예 42:** 1-(3-(1H-օ)미다졸-1-일)프로필)-3-(4-나트로페닐)E]오우레아

<828> 용점: 165.0 . 166.0°C

<829> <sup>1</sup>H NMR δ 1.9 - 2.05 (m, 2H), 3.3 - 3.5 (br d, 2H), 3.95 - 4.05 (m, 2H), 6.85 (d, 1H), 7.15 (d, 1H), 7.6 (d, 1H), 7.7 (m, 2H), 8.1 (m, 2H), 8.3 (br s, 1H), 10.1 (br s, 1H); MS m/z 306.2 (M+H), 237.9 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub> · )

<830> **실시예 50:** 1-(3-(1H-օ)미다졸-1-일)프로필)-3-(4-(디메틸아미노)페닐)E]오우레아

<831> 용점: 146.5 - 147.0°C

<832> <sup>1</sup>H NMR δ 1.9 - 2.0 (m, 2H), 2.9 (s, 6H), 3.4 (m, 2H), 3.9 - 4.0 (m, 2H), 6.7 (m, 2H), 6.9 (s, 1H), 7.05 - 7.1 (m, 2H), 7.15 (s, 1H), 7.4 (br s, 1H), 7.6 (s, 1H), 9.2 (s, 1H); MS m/z 304.2 (M+H), 236.0 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub> · )

<833> **실시예 102:** 1-(3-(1H-օ)미다졸-1-일)프로필)-3-(3,4-디메톡시페닐)-E]오우레아

<834> 용점: 114.5 - 115.0°C

<835> <sup>1</sup>H NMR δ 1.7 - 1.9 (m, 2H), 2.9 - 3.1 (m, 2H), 3.7 (2s, 6H), 3.9 - 4.0 (m, 2H), 6.1 (t, 1H), 6.7 (s, 2H), 6.8 (s, 1H), 7.15 (d, 2H), 7.6 (s, 1H), 8.2 (s, 1H); MS m/z 321.2 (M+H), 253.3 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub> · )

<836> **실시예 106:** 1-((S)-3-(1H-օ)미다졸-1-일)-2-메틸프로필)-3-(3,4-디메톡시페닐)-E]오우레아

<837> 용점: 150.5 - 151.5°C

<838> <sup>1</sup>H NMR δ 0.9 (d, 3H), 2.3 - 2.4 (m, 2H), 2.5 (s, 1H), 3.7 (d, 6H), 4.0 - 4.1 (br m, 1H), 4.15 - 4.25 (br m, 1H), 6.75 - 6.8 (m, 1H), 6.85 (m, 1H), 6.9 - 7.0 (m, 1H), 7.65 (s, 1 H), 7.75 (s, 2H), 9.1 (s, 1H), 9.5 (s, 1H); MS m/z 335.6 (M+H), 267.1 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub> · )

<839> **실시예 107:** 1-((R)-3-(1H-օ)미다졸-1-일)-2-메틸프로필)-3-(3,4-디메톡시페닐)-E]오우레아

<840> 용점: 155.0 - 157.5 °C

<841> <sup>1</sup>H NMR δ 0.9 (d, 3H), 2.3 - 2.4 (m, 2H), 2.5 (s, 1H), 3.7 (d, 6H), 4.0 - 4.1 (br m, 1H), 4.15 - 4.25 (br m, 1H), 6.75 - 6.8 (m, 1H), 6.85 (m, 1H), 6.9 - 7.0 (m, 1H), 7.65 (s, 1 H), 7.75 (s, 2H), 9.1 (s, 1H), 9.5 (s, 1H); MS m/z 335.4 (M+H), 267.2 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub> · )

<842> **실시예 109:** 1-((1-((1H-օ)미다졸-1-일)메틸)사이클로프로필)메틸)-3-(3,4-디메톡시-페닐)E]오우레아

<843> 용점: 166.5 - 168.5°C

- <844>  $^1\text{H}$  NMR  $\delta$  0.7 - 0.8 (br m, 2H), 1.85 - 1.9 (m, 1H), 2.15 - 2.2 (m, 1H), 2.2 - 2.3 (m, 1H), 3.4 - 3.5 (m, 1H), 3.7 (d, 6H), 4.2 (s, 1H), 4.95 (s, 1H), 6.75 - 6.8 (br m, 1H), 6.85 - 6.9 (br m, 1H), 7.0 (s, 1H), 7.5 (m, 1H), 7.6 (m, 1H), 7.7 (s, 0.5H), 7.8 (s, 0.5H), 8.85 (s, 0.5H), 9.1 (s, 0.5H), 9.35 (s, 0.5H), 9.45 (s, 0.5H); MS m/z 347.2 (M+H), 279.2 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>·), 137.5 (M-C<sub>9</sub>H<sub>13</sub>N<sub>4</sub>S·)
- <845> **실시예 110:** N-(3-(1H-օ)미다졸-1-일)프로필)벤조[d]티아졸-2-օ민
- <846>  $^1\text{H}$  NMR  $\delta$  1.95 - 2.15 (m, 2H), 3.25 - 3.35 (m, 2H), 4.0 - 4.1 (t, 2H), 6.9 (s, 1H), 6.95 - 7.05 (t, 1H), 7.15 - 7.2 (m, 2H), 7.35 - 7.4 (d, 1H), 7.60 - 7.70 (m, 2H), 8.0 - 8.1 (br s, 1H); MS m/z 259.4 (M+H), 191.3 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>·)
- <847> **실시예 111:** N-(3-(1H-օ)미다졸-1-일)프로필)-6-클로로벤조[d]티아졸-2-օ민
- <848>  $^1\text{H}$  NMR  $\delta$  1.95 - 2.15 (m, 2H), 3.25 - 3.35 (m, 2H), 4.0 - 4.1 (t, 2H), 6.9 (s, 1H), 7.1 - 7.2 (d, 2H), 7.3 - 7.4 (d, 1H), 7.65 (s, 1H), 7.8 (s, 1H), 8.2 (s, 1H); MS m/z 293.3 (M+H), 225.3 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>·)
- <849> **실시예 112:** N-(3-(1H-օ)미다졸-1-일)프로필)-6-메톡시벤조[d]티아졸-2-օ민
- <850>  $^1\text{H}$  NMR  $\delta$  1.9 - 2.05 (m, 2H), 3.2 - 3.3 (m, 2H), 3.7 (s, 3H), 4.0 - 4.1 (t, 2H), 6.7 - 6.8 (d, 1H), 6.9 (s, 1H), 7.15 - 7.2 (s, 1H), 7.2 - 7.3 (m, 2H), 7.65 (s, 1H), 7.8 (s, 1H); MS m/z 289.1 (M+H), 221.4 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>·)
- <851> **실시예 115:** (R)-N-(3-(1H-օ)미다졸-1-일)프로필)-2-페닐프로판티오아미드
- <852> 용점: 82.0 - 82.5°C
- <853>  $^1\text{H}$  NMR  $\delta$  1.4 - 1.55 (d, 3H), 1.9 - 2.0 (m, 2H), 3.4 - 3.5 (m, 2H), 3.85 - 3.95 (m, 2H), 4.0 - 4.1 (q, 1H), 6.8 - 6.9 (s, 1H), 7.1 (s, 1H), 7.15 - 7.2 (m, 1H), 7.2 - 7.3 (m, 2H), 7.35 - 7.4 (m, 2H), 7.55 (s, 1H), 10.1 (s, 1H); MS m/z 274.4 (M+H), 206.3 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>·)
- <854> **실시예 116:** (S)-N-(3-(1H-օ)미다졸-1-일)프로필)-2-페닐프로판티오아미드
- <855> 용점: 82.5 - 83.5°C
- <856>  $^1\text{H}$  NMR  $\delta$  1.4 - 1.55 (d, 3H), 1.9 - 2.0 (m, 2H), 3.4 - 3.5 (m, 2H), 3.85 - 3.95 (m, 2H), 4.0 - 4.1 (q, 1H), 6.8 - 6.9 (s, 1H), 7.1 (s, 1H), 7.15 - 7.2 (m, 1H), 7.2 - 7.3 (m, 2H), 7.35 - 7.4 (m, 2H), 7.55 (s, 1H), 10.1 (s, 1H); MS m/z 274.4 (M+H), 206.3 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>·)
- <857> **실시예 121:** N-(3-(1H-օ)미다졸-1-일)프로필)-1-(4-클로로페닐)사이클로부탄카보-티오아미드
- <858> 용점: 137.5 - 139.0°C
- <859>  $^1\text{H}$  NMR  $\delta$  1.55 - 1.75 (br m, 2H), 1.85 - 1.95 (br m, 2H), 2.4 - 2.5 (br m, 2H), 2.7 - 2.85 (br m, 2H), 3.3 - 3.5 (br m, 2H), 3.8 (m, 2H), 6.9 (s, 1H), 7.0 (s, 1H), 7.3 (m, 2H), 7.45 (s, 1H), 7.5 (m, 2H), 9.6 (t, 1H); MS m/z 334.3 (M+H), 266.1 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>·)
- <860> **실시예 122:** N-(3-(1H-օ)미다졸-1-일)프로필)-1-(4-클로로페닐)사이클로펜탄카보-티오아미드
- <861> 용점: 140.0 - 141.0°C
- <862>  $^1\text{H}$  NMR  $\delta$  1.5 - 1.65 (br m, 4H), 1.8 - 1.9 (m, 2H), 2.0 - 2.1 (m, 2H), 2.6 (m, 2H), 3.4 - 3.5 (m, 2H), 3.7 - 3.8 (m, 2H), 6.85 (s, 1H), 7.0 (s, 1H), 7.35 (m, 2H), 7.4 (m, 2H), 7.5 (s, 1H), 9.4 (t, 1H); MS m/z 348.2 (M+H), 280.2 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>·)
- <863> **실시예 123:** N-(3-(1H-օ)미다졸-1-일)프로필)-1-(4-메톡시페닐)사이클로헥산카보-티오아미드
- <864> 용점: 162.5 - 164.0°C

<865>  $^1\text{H}$  NMR  $\delta$  1.2 – 1.3 (m, 1H), 1.35 – 1.5 (br m, 5H), 1.85 – 2.0 (br m, 4H), 2.4 – 2.6 (br m, 2H), 3.4 – 3.5 (m, 2H), 3.7 (s, 3H), 3.8 (m, 2H), 6.8 (m, 3H), 7.0 (s, 1H), 7.3 (m, 2H), 7.5 (s, 1H), 9.2 (t, 1H); MS m/z 358.3 (M+H), 290.3 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub> · )

<866> **실시예 124:** N-(3-(1H-օ/미다졸-1-일)프로필)-1-(4-메톡시페닐)사이클로프로판카보-티오아미드

<867> 용점: 129.0 – 129.5°C

<868>  $^1\text{H}$  NMR  $\delta$  1.0 – 1.1 (m, 2H), 1.5 – 1.6 (m, 2H), 1.9 – 2.0 (br m, 2H), 3.4 – 3.5 (m, 2H), 3.7 (s, 3H), 3.9 (m, 2H), 6.9 (m, 3H), 7.1 (s, 1H), 7.2 – 7.3 (m, 2H), 7.6 (s, 1H), 8.9 (br s, 1H); MS m/z 316.0 (M+H), 248.4 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub> · )

<869> **실시예 134:** 5-(1H-օ/미다졸-1-일)-N-(3,4-디메톡시페닐)펜탄티오아미드

<870> 용점: 128.0 – 128.5°C

<871>  $^1\text{H}$  NMR  $\delta$  1.65 – 1.70 (m, 2H), 1.75 – 1.80 (m, 2H), 2.7 – 2.75 (m, 2H), 3.7 (s, 3H), 3.75 (s, 3H), 4.0 – 4.05 (t, 2H), 6.9 – 7.0 (m, 2H), 7.2 (s, 1H), 7.3 (d, 1H), 7.5 (s, 1H), 7.75 (s, 1H), 11.0 (s, 1H); MS m/z 320.2 (M+H), 252.2 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub> · )

<872> **실시예 136:** 1-(2-(1H-օ/미다졸-1-일)에틸)-3-(3,4-디메톡시페닐)티오우레이

<873> 용점: 157.5 – 159.0°C

<874>  $^1\text{H}$  NMR  $\delta$  3.7 (2 s, 6H), 3.8 (m, 2H), 4.2 (m, 2H), 6.7 (m, 1H), 6.85 (m, 1H), 6.9 (m, 2H), 7.15 (s, 1H), 7.5 (br s, 1H), 7.6 (s, 1H), 9.5 (s, 1H); MS m/z 307.2 (M+H), 239.1 (M-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub> · )

### 도면의 간단한 설명

<539> **도 1**은 N-말단 글루타미닐(a) 또는 피로글루타밀(5-옥소-L-프롤릴) 잔기(b)를 보유하는 MCP-1<sub>(1-76)</sub>을 재조합 인간 DP4와 24 시간 동안 배양한 결과를 나타낸다. N-말단 글루타민을 피로글루타메이트로 고리화하기 위하여 MCP-1을 어세이 개시 3시간 전에 재조합 인간 QC와 배양하였다. Maldi-TOF 질량 분석법을 사용하여 0분, 15분, 30분, 1시간, 4시간 및 24시간 후에 DP4 분해 산물을 분석하였다.

<540> **도 2**는 N-말단 글루타미닐(a) 또는 피로글루타밀(5-옥소-L-프롤릴) 잔기를 보유하는 MCP-1<sub>(1-76)</sub>을 인간 활액 섬유아세포 MMP-1과 24시간 동안 배양한 결과를 나타낸다. N-말단 글루타민을 피로글루타메이트로 고리화하기 위하여 MCP-1을 어세이 개시 3시간 전에 재조합 인간 QC와 배양하였다. Maldi-TOF 질량 분석법을 사용하여 0분, 15분, 30분, 1시간, 2시간, 4시간 및 24시간 후에 MMP-1 분해 산물을 분석하였다.

<541> **도 3**은 N-말단 글루타미닐(A) 또는 피로글루타밀(5-옥소-L-프롤릴)을 보유하는 MCP-1<sub>(1-76)</sub>을 인간 활액 섬유아세포 MMP-1 및 재조합 인간 DP4와 24시간 동안 배양한 결과를 나타낸다. N-말단 글루타민을 피로글루타메이트로 고리화하기 위하여 MCP-1을 어세이 개시 3시간 전에 재조합 인간 QC와 배양하였다. 생성된 MMP-1 분해 산물을 Maldi-TOF 질량 분석법을 사용하여 0분, 15분, 30분, 1시간, 2시간, 4시간 및 24시간 후에 분석하였다.

<542> **도 4**는 인간 신경모세포종 세포주 SH-SY5Y로부터 인간 MCP-1의 분리를 나타낸다(M:bp로 나타낸 DNA 표준; 1: SH-SY5Y로부터 분리된 전체 길이 인간 MCP-1).

<543> **도 5**는 SH-SY5Y로부터 분리된 인간 MCP-1의 뉴클레오티드(a) 및 아미노산(b) 정렬(상단) 및 인간 MCP-1 젠뱅크 등록 M24545(하단)를 나타낸다. 단일 뉴클레오티드 다형성은 굵은체로 표시되어 있다. c는 형질감염된 HEK293 세포의 상등액에서 인간 MCP-1<sub>(1-76)</sub>(WT) 및 N-말단 pGlu 잔기가 없는 돌연변이 인간 MCP-1(ΔQ1)의 농도를 벡터 형질감염된 대조군(pcDNA)과 비교하여 나타낸 것이다(n.s.: 유의성 없음, Student's t-test; n=6) d는 형질감염된 HEK293 세포에서 생성된 상등액의 1:1, 1:3, 1:10 및 1:30 희석물에 대한 THP-1 단핵구의 이동(\*, P<0.05; \*\*, P<0.01; \*\*\*, P<0.001; Student's t-test, n=3)을 나타낸다.

<544> **도 6a**는 형질감염된 HEK293 세포의 상등액에서 인간 MCP-1<sub>(1-76)</sub>(WT) 및 2개의 N-말단 아미노산이 없는 돌연변이 인간 MCP-1(ΔQ1P2)의 농도를 벡터 형질감염된 대조군(pcDNA)과 비교하여 나타낸 것이다(\*\*, P<0.01;

Student's t-test; n=6) b는 형질감염된 HEK293 세포에서 생성된 상등액의 1:1, 1:3, 1:10 및 1:30 희석물에 대한 THP-1 단핵구의 이동(\*, P<0.05; \*\*, P< 0.01; \*\*\*, P<0.001; Student's t-test, n=3)을 나타낸다.

<545> **도 7a**는 10  $\mu$ M 1-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-3-(3,4-디메톡시페닐)티오우레아 하이드로클로라이드의 부재 또는 존재하에 형질감염된 HEK293 세포의 상등액에서 인간 MCP-1<sub>(1-76)</sub>(WT)의 농도를 벡터 형질감염된 대조군 (pcDNA)과 비교하여 나타낸 것이다(n.s.: 유의성 없음; Student's t-test; n=6) b는 10  $\mu$ M 1-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-3-(3,4-디메톡시페닐)티오우레아 하이드로클로라이드의 부재 또는 존재하에 형질감염된 HEK293 세포에서 생성된 상등액의 1:1, 1:3, 1:10 및 1:30 희석물에 대한 THP-1 단핵구의 이동(\*\*, P< 0.01; Student's t-test, n=3)을 나타낸다.

<546> **도 8**은 비처리된 ApoE3 Leiden 마우스(검정색 막대) 및 1-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-3-(3,4-디메톡시페닐)티오우레아 하이드로클로라이드로 처리된 마우스(개방 막대)의 커프된 관 벽 세그먼트의 혈관 리모델링을 정량한 결과를 나타낸다. 커프 배치 14 일 후에 마우스가 희생되었다. 혈관 둘레(**a**), 즉, 관 세그먼트의 외부 직경 내 전체 면적 및 나머지 내강(**b**)에서의 결과를  $\mu\text{m}^2$ 으로 나타내었다.

<547> **도 9**는 비처리된 ApoE3 Leiden 마우스(검정색 막대) 또는 1-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-3-(3,4-디메톡시페닐)티오우레아 하이드로클로라이드로 처리된 마우스(개방 막대)의 커프된 관 벽 세그먼트의 혈관 리모델링을 정량한 결과를 나타낸다. 커프 배치 14일 후에 마우스가 희생되었다. 내강 협착 **a**를 %로 나타내고 신생혈관내막의 면적 **b**를  $\mu\text{m}^2$ 으로 나타내었다(\*, P<0.05, Student's t-test).

<548> **도 10**은 비처리된 ApoE3 Leiden 마우스(검정색 막대) 또는 1-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-3-(3,4-디메톡시페닐)티오우레아 하이드로클로라이드로 처리된 마우스(개방 막대)의 커프된 관 벽 세그먼트의 혈관 리모델링을 정량한 결과를 나타낸다. 커프 배치 14일 후에 마우스가 희생되었다. 중막 면적 **a**를  $\mu\text{m}^2$ 로 나타내고 내막/중막 비율 **b**를 나타내었다(\*, P<0.05, Student's t-test).

<549> **도 11**은 1-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-3-(3,4-디메톡시페닐)티오우레아 하이드로클로라이드 처리의 부재(검정색 막대) 또는 존재(개방 막대)하에 단면당 점착 및 침윤 세포를 나타낸다. 커프 배치 후 2 일에 수확된 커프된 대퇴 동맥의 단면에서 단면당 점착 세포의 총 수를 계수하였다. 점착 세포의 총 개체군 내에서 단핵구/대식세포에 대한 특이적 염색을 사용하여 점착 및 침윤 단핵구를 동정하였다(\*, P<0.05, Student's t-test).

<550> **도 12**는 비처리 마우스(대조군) 및 1-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-3-(3,4-디메톡시페닐)티오우레아 하이드로클로라이드에 의해 처리된 마우스에서 초기 시점(2 일) 및 후기 시점(14 일)에 병소의 면역조직화학에 의한 MCP-1 염색의 예시를 나타낸다.

<551> **도 13**은 1-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-3-(3,4-디메톡시페닐)티오우레아 하이드로클로라이드 처리의 부재(검정색 막대) 및 존재(개방 막대)하에 중막 및 신생혈관내막 내에서 2일(초기 시점) **a** 또는 14일(후기 시점) **b** 후에 희생된 마우스의 단면에서 MCP-1 염색을 정량한 결과를 나타낸다(\*, P<0.05; Student's t-test).

<552> **도 14**는 1-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-3-(3,4-디메톡시페닐)티오우레아 하이드로클로라이드 처리의 부재(검정색 막대) 및 존재(개방 막대)하에 중막 및 신생혈관내막 내에서 2일(초기 시점) (**a**) 또는 14일(후기 시점) (**b**) 후에 희생된 마우스의 단면에서 MCP-1 염색의 상대량(%)을 나타낸다(\*, P<0.05; Student's t-test).

<553> **도 15**는 표지자 AIA31240을 이용한 단핵구/대식세포 염색의 정량에 기초하여 관 벽에서 가속 죽상동맥경화를 정량한 결과를 나타낸다. 1-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-3-(3,4-디메톡시페닐)티오우레아 하이드로클로라이드의 부재(검정색 막대) 및 존재(개방 막대)하에 처리되고 후기 시점(14 일)에 희생된 마우스의 단면을 표시하였다. 포말 세포 축적은 (a) %로 나타낸 포말 세포 양성 면적/단면 및 (b)  $\mu\text{m}^2$ 으로 나타낸 포말세포 양성 면적/단면으로 설명하였다.

<554> **도 16**은 N-말단 글루타미닐 (**a**) 또는 피로글루타밀(5-옥소-L-프롤릴) 잔기 (**b**)를 보유하는 인간 MCP-1<sub>(1-76)</sub>을 재조합 인간 아미노펩티다제 P로 24시간 동안 분해한 결과를 나타낸다. N-말단의 피로글루타메이트 형성은 MCP-1을 재조합 인간 QC와 함께 어세이 전 3시간 동안 배양함으로써 이루어졌다. Maldi-TOF 질량 분석법을 이용하여 0분, 15분, 30분, 1시간, 2시간, 4시간 및 24시간 후에 DP4 분해 산물을 분석하였다.

<555> **도 17**은 N-말단 글루타미닐 (**a**) 또는 피로글루타밀(5-옥소-L-프롤릴) 잔기 (**b**)를 보유하는 인간 MCP-1<sub>(1-76)</sub>을 재

조합 인간 DP4로 4시간 동안 분해한 결과를 나타낸다. N-말단의 피로글루타메이트 형성은 MCP-1을 재조합 인간 QC와 함께 어세이 전 3시간 동안 배양함으로써 이루어졌다. 추가로,  $\text{Gln}^1\text{-MCP-1}$ 을  $10 \mu\text{M}$ 의 QC-특이적 저해제 1-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-3-(3,4-디메톡시페닐)티오우레아 하이드로클로라이드의 존재하에 재조합 인간 QC와 배양하였다. Maldi-TOF 질량 분석법을 이용하여 0분, 15분, 30분, 1시간, 2시간 및 4시간 후에 DP4 분해 산물을 분석하였다.

<556> **도 18**은 N-말단 글루타미닐 잔기(a) 또는 피로글루타밀(5-옥소-L-프롤릴) 잔기 (b)를 보유하는 인간 MCP-1<sub>(1-76)</sub>을 각각 7시간 및 24시간 동안 인간 혈청에서 분해한 결과를 나타낸다. N-말단 글루타민 잔기를 피로글루타메이트로 고리화하기 위하여 MCP-1을 어세이 개시 전 3시간 동안 재조합 인간 QC와 함께 배양하였다. 추가로,  $\text{Gln}^1\text{-MCP-1}$ 을  $9.6 \mu\text{M}$ 의 DP4 저해제 이소류실-티아졸리디드(P32/98)의 존재하에 24시간 동안 인간 혈청에서 배양하였다(c).  $\text{Gln}^1\text{-MCP-1}$ 에 대해서는 0분, 10분, 30분, 1시간, 2시간, 3시간, 5시간 및 7시간 후에,  $\text{pGlu}^1\text{-MCP-1}$ 에 대해서는 0분, 30분, 1시간, 2시간, 3시간, 5시간, 7시간 및 24시간 후에, 그리고 이소류실-티아졸리디드와 배합된  $\text{Gln}^1\text{-MCP-1}$ 에 대해서는 0분, 1시간, 2시간, 3시간, 5시간, 7시간 및 24시간 후에 Maldi-TOF 질량 분석법을 이용하여 분해 산물을 분석하였다.

<557> **도 19**는 N-말단 글루타미닐 (a) 또는 피로글루타밀(5-옥소-L-프롤릴) 잔기 (b)를 보유하는 인간 MCP-2<sub>(1-76)</sub>을 재조합 인간 DP4로 24시간 동안 분해한 결과를 나타낸다. N-말단 글루타민을 피로글루타메이트로 고리화하기 위하여, MCP-2를 재조합 인간 QC와 함께 어세이 개시 전 3시간 동안 배양하였다. Maldi-TOF 질량 분석법을 이용하여 0분, 15분, 30분, 1시간, 2시간, 4시간 및 24시간 후에 DP4 분해 산물을 분석하였다.

<558> **도 20**은 N-말단 글루타미닐 (a) 또는 피로글루타밀(5-옥소-L-프롤릴) 잔기 (b)를 보유하는 인간 MCP-3<sub>(1-76)</sub>을 재조합 인간 DP4로 24시간 동안 분해한 결과를 나타낸다. N-말단 글루타민을 피로글루타메이트로 고리화하기 위하여, MCP-3을 재조합 인간 QC와 함께 어세이 개시 전 3시간 동안 배양하였다. Maldi-TOF 질량 분석법을 이용하여 0분, 15분, 30분, 1시간, 2시간, 4시간 및 24시간 후에 DP4 분해 산물을 분석하였다.

<559> **도 21**은 N-말단 글루타미닐 (a) 또는 피로글루타밀(5-옥소-L-프롤릴) 잔기 (b)를 보유하는 인간 MCP-4<sub>(1-75)</sub>를 재조합 인간 DP4로 4시간 동안 분해한 결과를 나타낸다. N-말단 글루타민을 피로글루타메이트로 고리화하기 위하여, MCP-4를 재조합 인간 QC와 함께 어세이 개시 전 3시간 동안 배양하였다. Maldi-TOF 질량 분석법을 이용하여 0분, 15분, 30분, 1시간, 2시간 및 4시간 후에 DP4 분해 산물을 분석하였다.

<560> **도 22**는 N-말단 글루타민으로 시작하거나( $\text{Gln}^1\text{-MCP-1}$ ), 피로글루탐산으로 시작하거나( $\text{pGlu}^1\text{-MCP-1}$ )(5-옥소-L-프롤린), 프롤린 2로 시작하거나( $\text{Pro}^2\text{-MCP-1}$ , 아미노펩티다제 P 분해 산물), 아스파트산 3으로 시작하거나( $\text{Asp}^3\text{-MCP-1}$ , DP4 분해 산물) 또는 이소류신 5로 시작하는( $\text{Ile}^5\text{-MCP-1}$ , MMP-1 분해 산물) 인간 N-말단 MCP-1 변이체들의 인간 THP-1 단핵구를 향한 주화성 효능을 나타낸다.

<561> **도 23**은 QC-매개  $\text{pGlu}$  형성의 존재( $\text{Gln}^1\text{-MCP-1} + \text{QC} + \text{DP4}$ ) 및 부재( $\text{Gln}^1\text{-MCP-1} + \text{DP4}$ )하에 인간 재조합 DP4와 함께 배양된 인간 MCP-1의 주화성 효능을 분석한 결과를 나타낸다. 추가로, N-말단  $\text{pGlu}$ -잔기의 형성 및 DP4 분해에 대한 QC-저해제 1-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-3-(3,4-디메톡시페닐)티오우레아 하이드로클로라이드 (QCI)( $10 \mu\text{M}$ )( $\text{Gln}^1\text{-MCP-1} + \text{QC} + \text{QCI} + \text{DP4}$ )의 영향을 나타낸다.

<562> **도 24**는 N-말단 피로글루타밀 잔기의 부재 또는 존재하에 인간 MCP-1(a), MCP-2(b), MCP-3(c) 및 MCP-4(d)의 주화성 효능을 나타낸다.

<563> **도 25**는 N-말단 글루타민으로 시작되는 전체 길이 인간 MCP-1(a), MCP-3(b), MCP-2(c) 및 MCP-4(d)의 주화성 효능을 그들 각각의 DP4 분해 산물과 비교한 결과를 나타낸다.

<564> **도 26**은 LPS-유도된 랫트 패혈증 모델에서 QC-저해제 1-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-3-(3,4-디메톡시페닐)티오우레아 하이드로클로라이드를 적용한 후 TNF  $\alpha$ -수준의 유의적인 감소를 나타낸다(ANOVA,  $P<0.05$ ).

<565> **도 27**은 티오글리콜레이트-유도된 마우스 복막염 모델에서 QC-저해제에 의해 유발된, 복막에 침윤하는 단핵구의 용량-의존적인 감소를 나타낸다. 티오글리콜레이트 및 QCI(1-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-3-(3,4-디메톡시페닐)티오우레아 하이드로클로라이드)는 3가지의 상이한 농도  $25 \text{ mg/kg}$ ,  $50 \text{ mg/kg}$  및  $100 \text{ mg/kg}$ 으로 주입되었다.

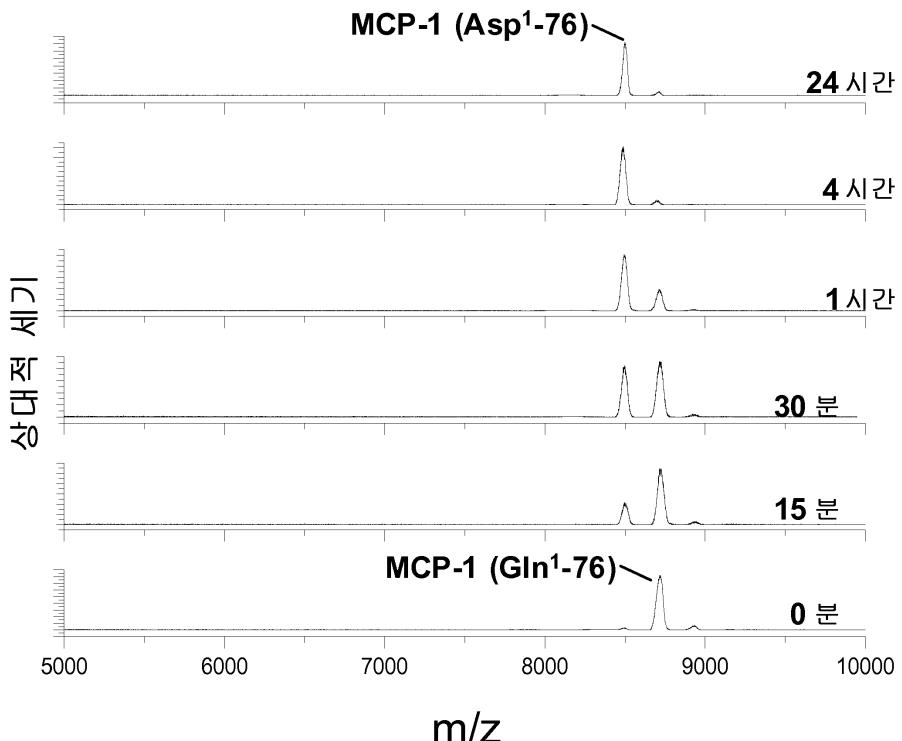
복막에 침윤하는 세포들은 복막염을 유도한 지 4시간 후에 FACS 분석을 이용하여 분류되었다(\*,  $P<0.05$ , Student's t-test).

&lt;566&gt;

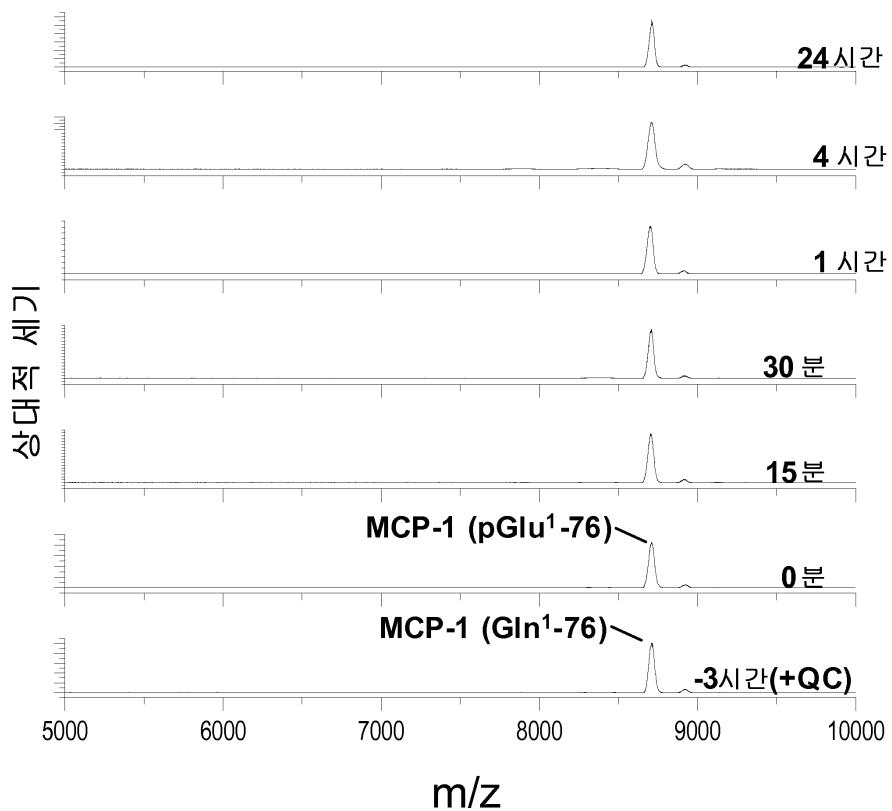
도 28은 QC-특이적 저해제 QCI(1-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-3-(3,4-디메톡시페닐)티오우레아)와 함께 티오글리콜레이트가 투여된 마우스의 복막 세척액에서 Moma2-양성 세포의 감소를, QCI가 투여되지 않은 동물과 비교하여 나타낸 것이다(\*,  $P<0.05$ , Student's t-test).

## 도면

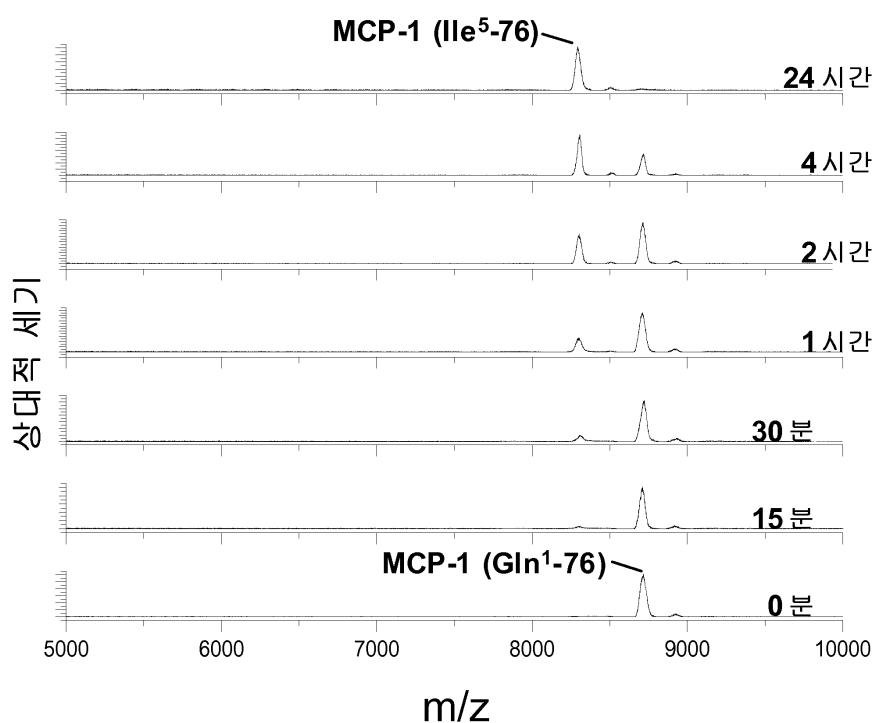
도면1a



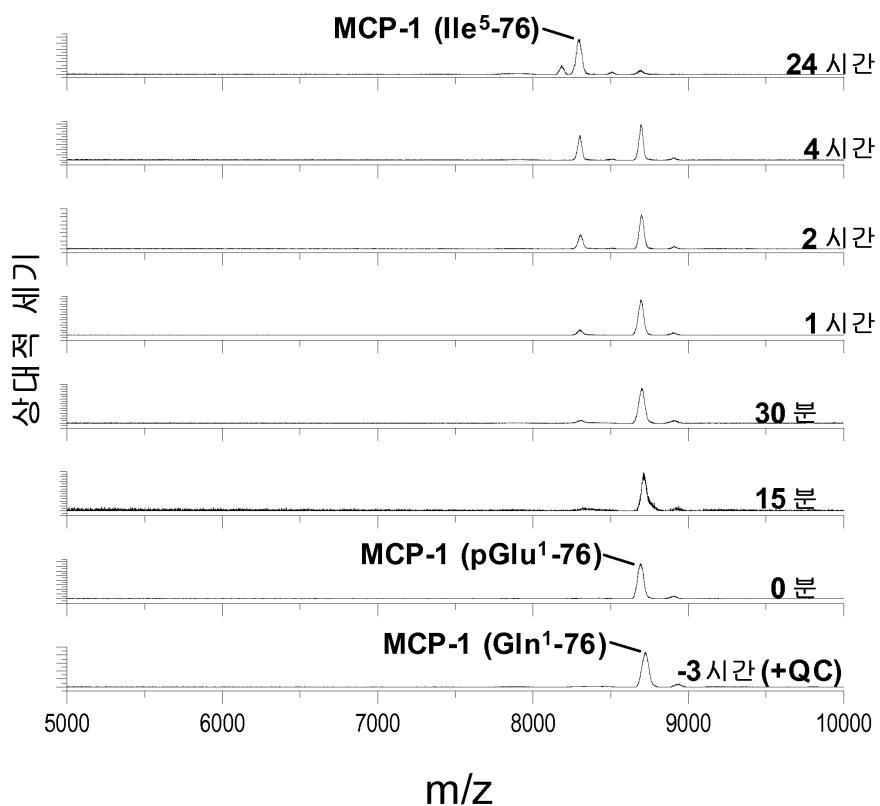
도면1b



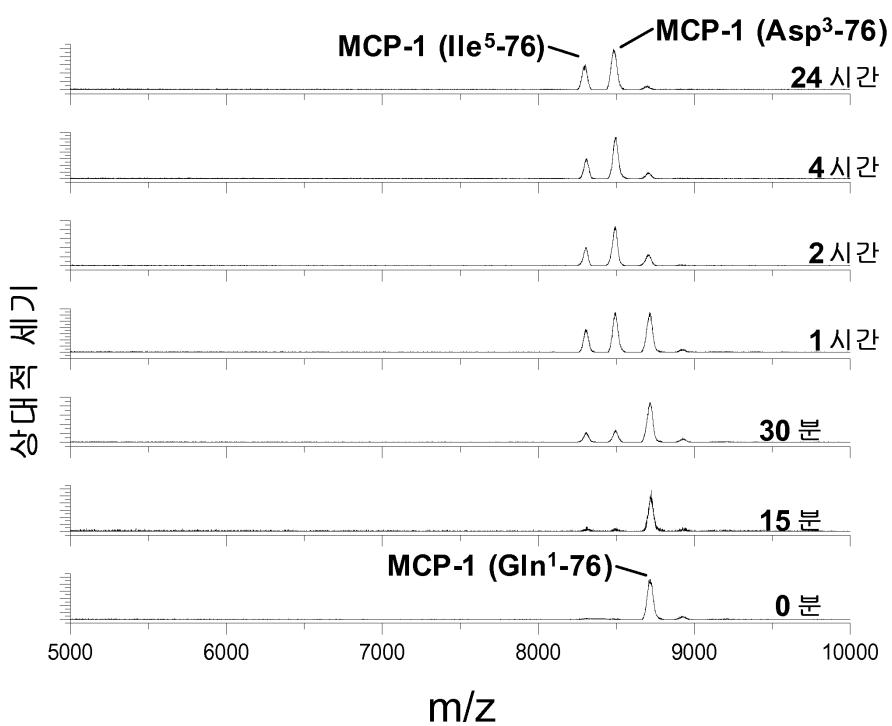
도면2a



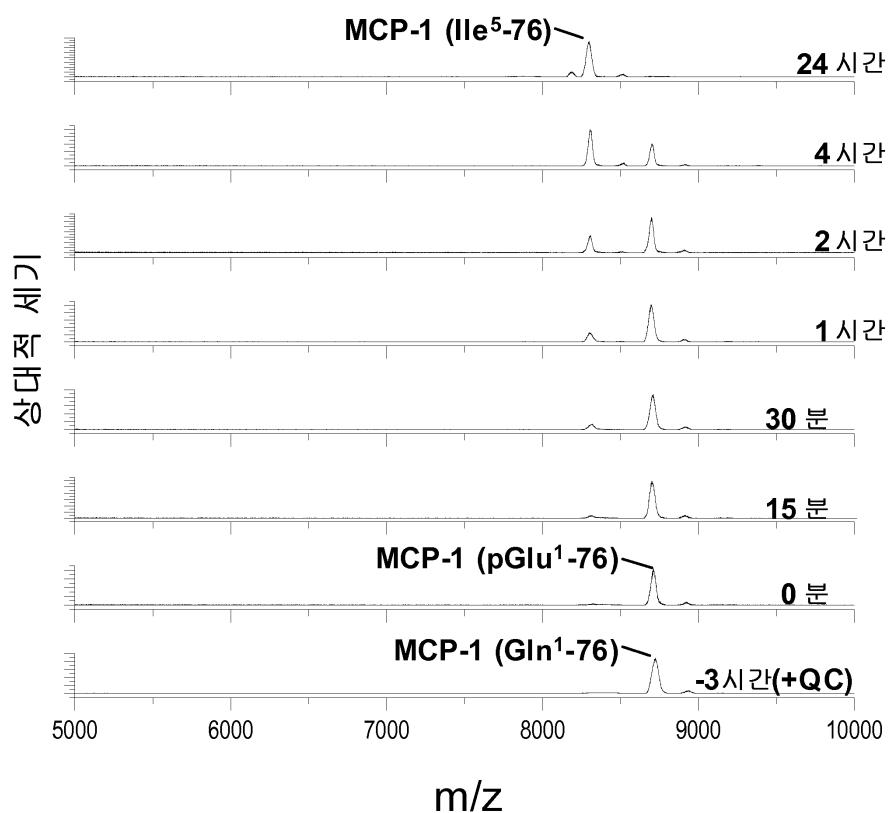
## 도면2b



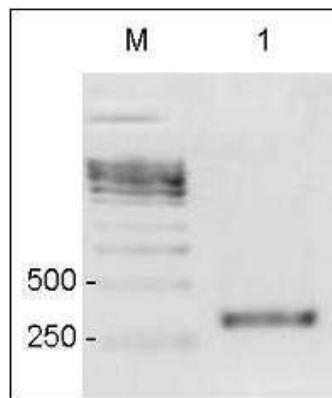
## 도면3a



도면3b



도면4

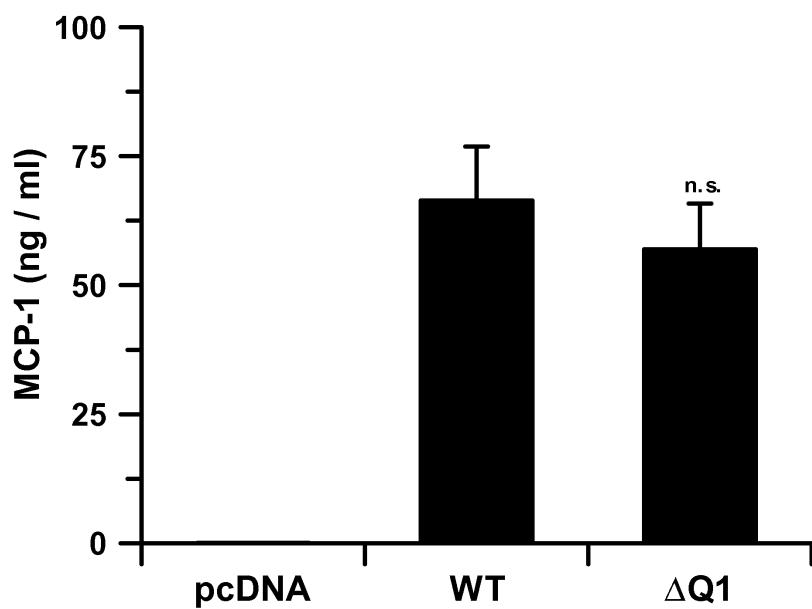


## 도면5a

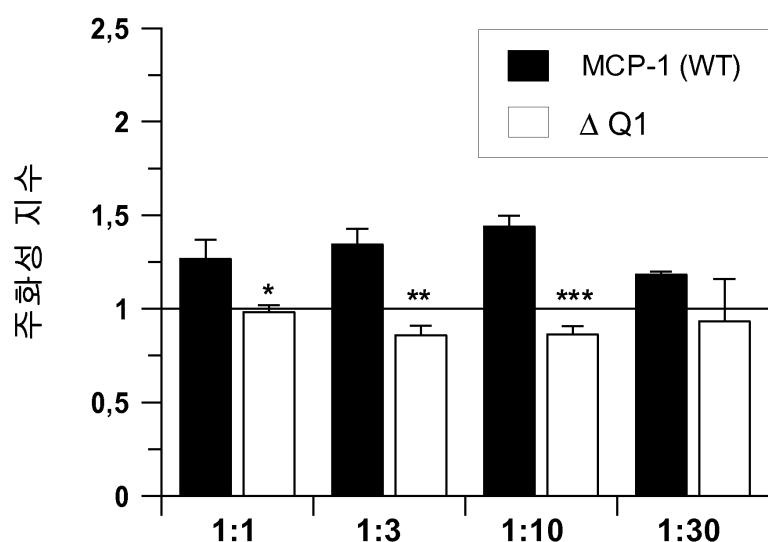
### 도면5b

SY5Y	MKVSAALLCLLLIAATFI PQGLAQPDAINAPVTCYNTNRKISVQL
WT	MKVSAALLCLLLIAATFI PQGLAQPDAINAPVTCYNTNRKISVQL
	*****
SY5Y	ASYRRITSSKCPKEAVIFKTTIVAKEICADPKQKWWQDSMDHLKDQQTQTPKT
WT	ASYRRITSSKCPKEAVIFKTTIVAKEICADPKQKWWQDSMDHLKDQQTQTPKT
	*****

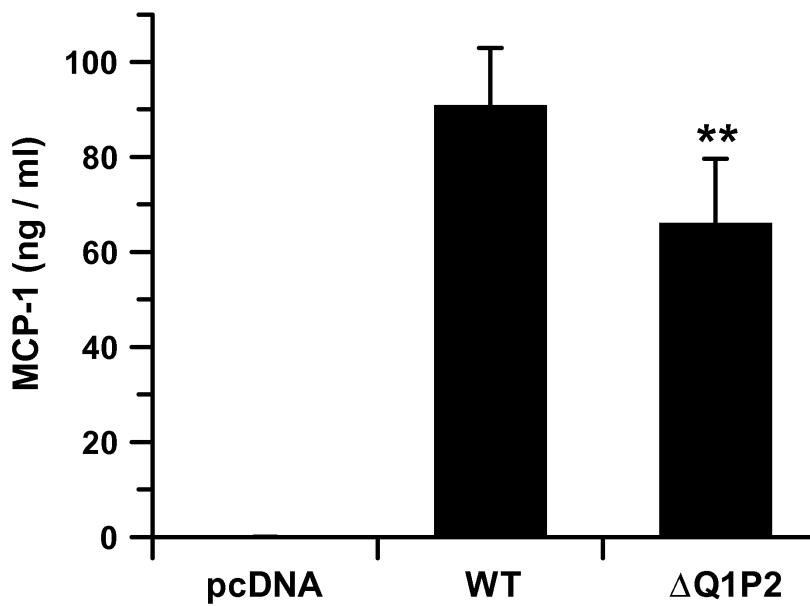
도면5c



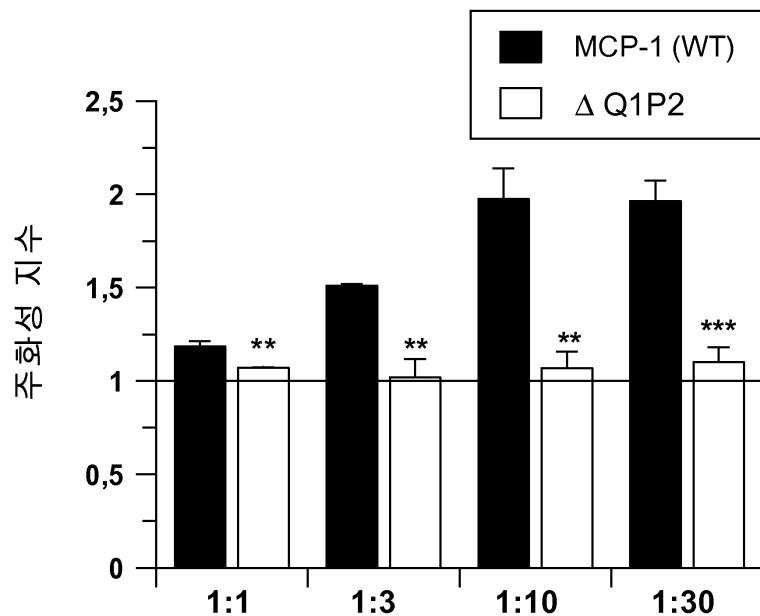
도면5d



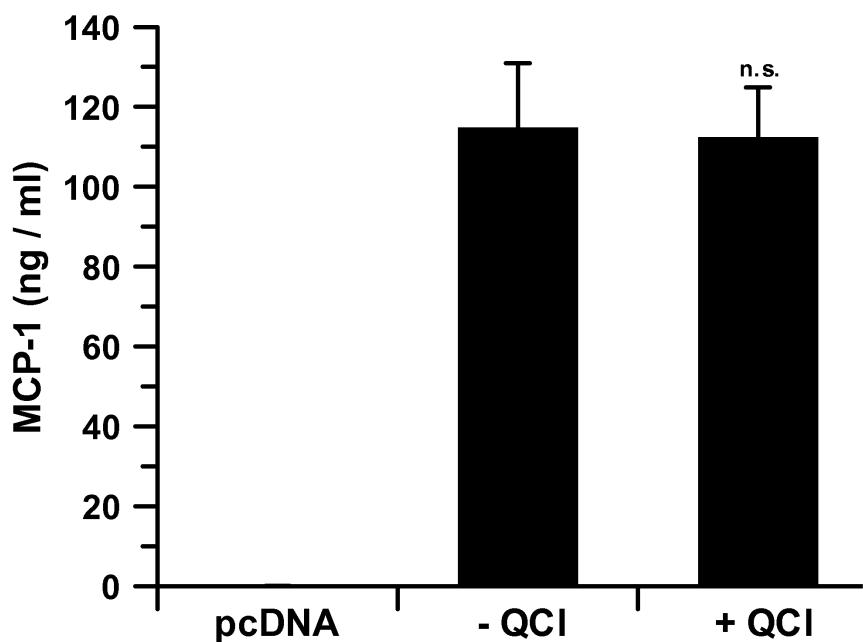
도면6a



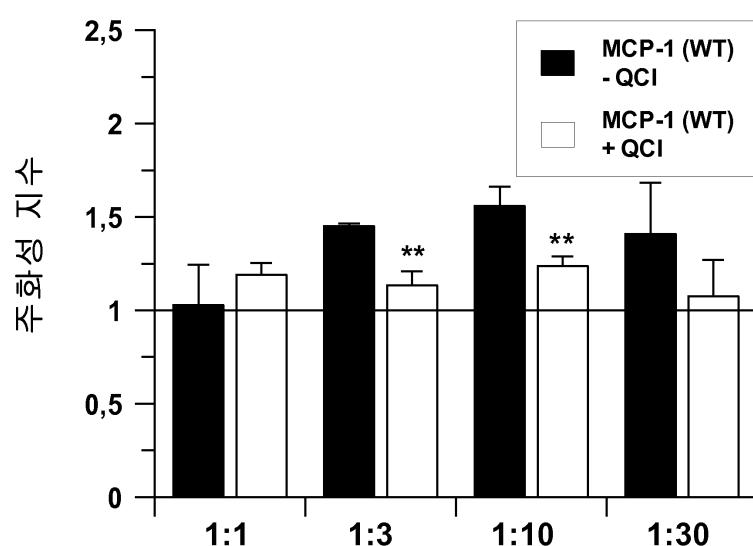
도면6b



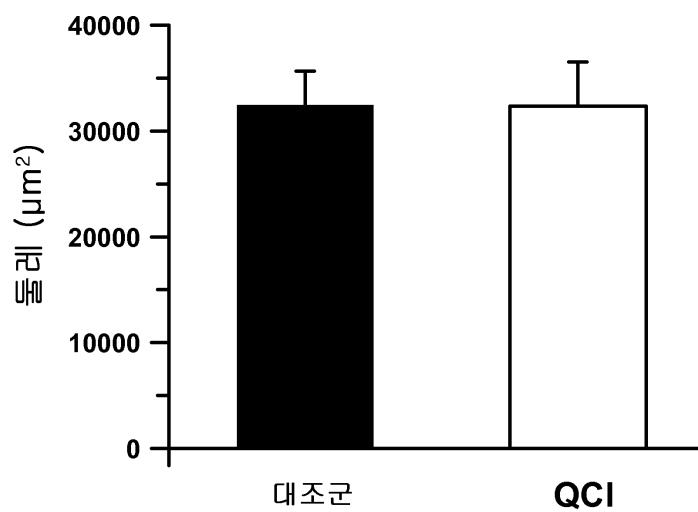
도면7a



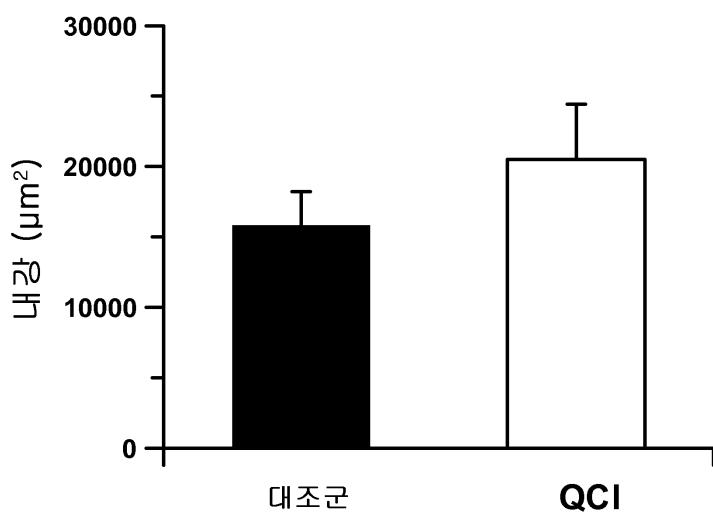
도면7b



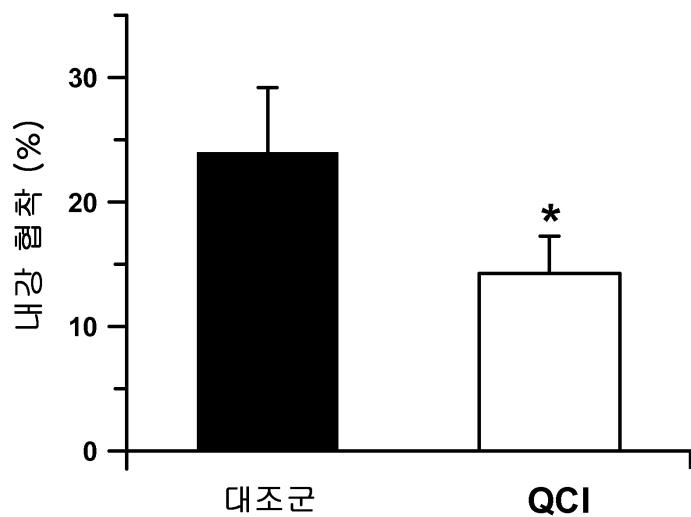
도면8a



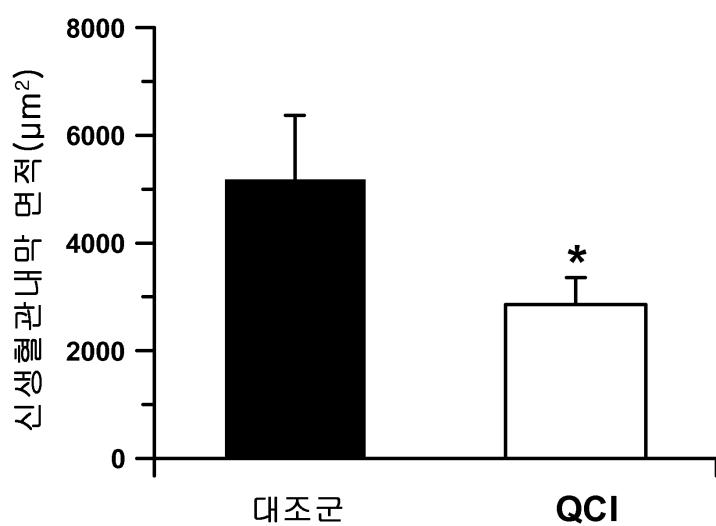
도면8b



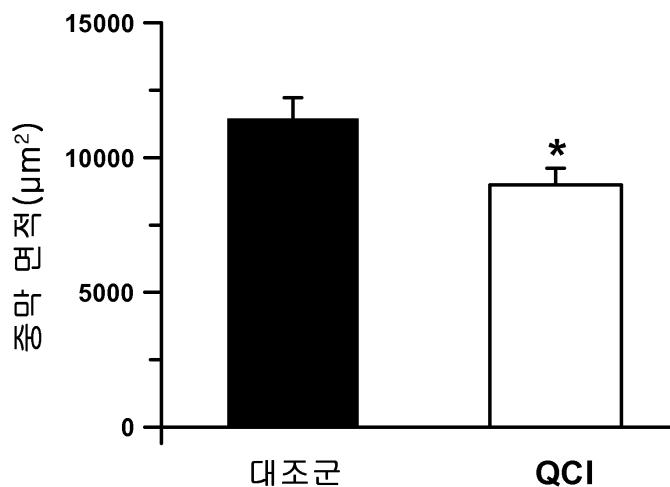
도면9a



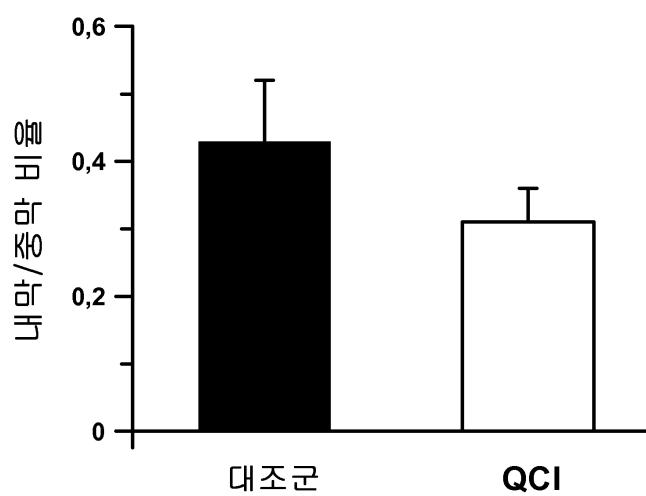
도면9b



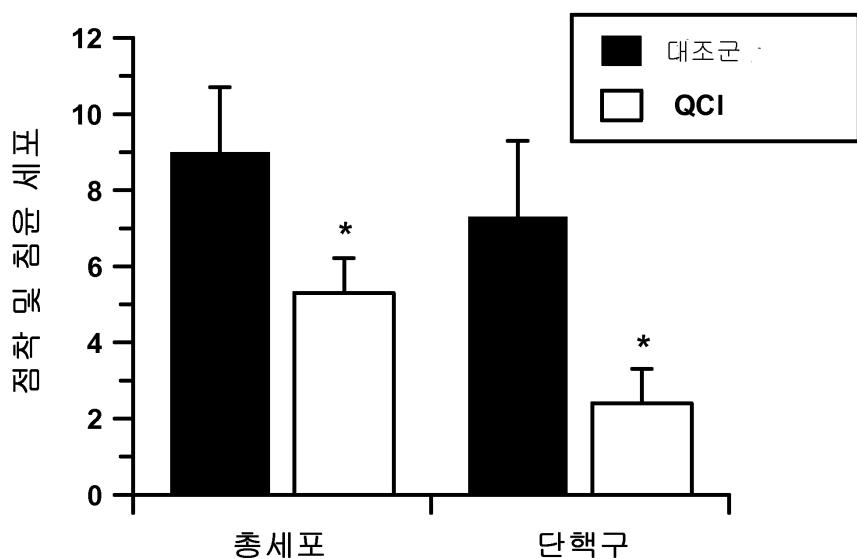
도면10a



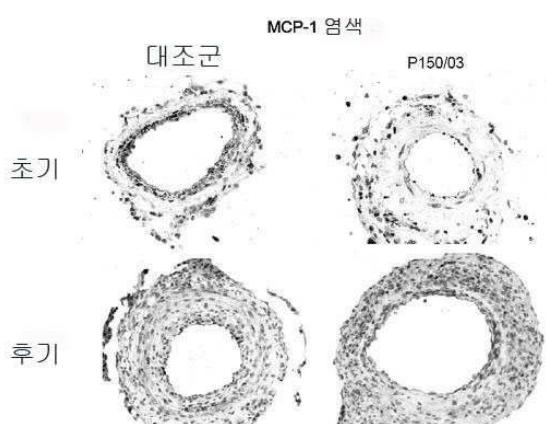
도면10b



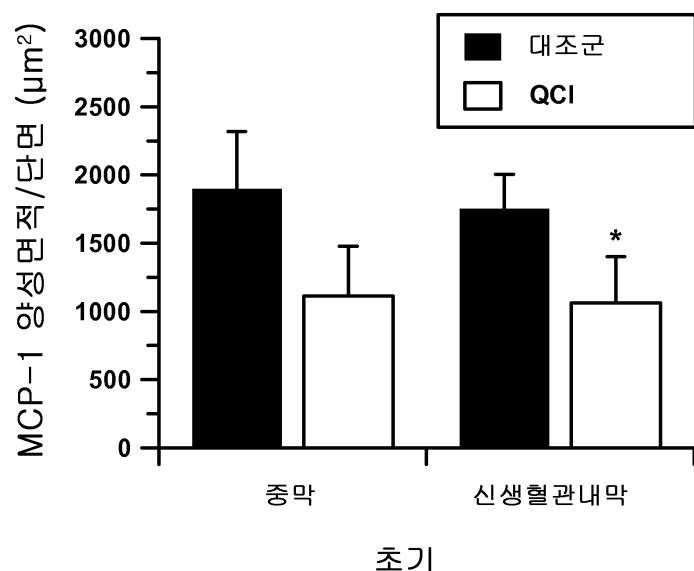
도면11



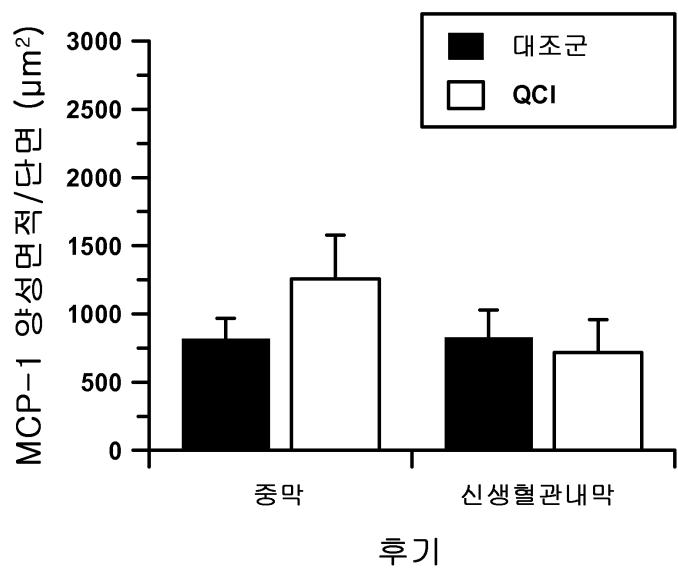
도면12



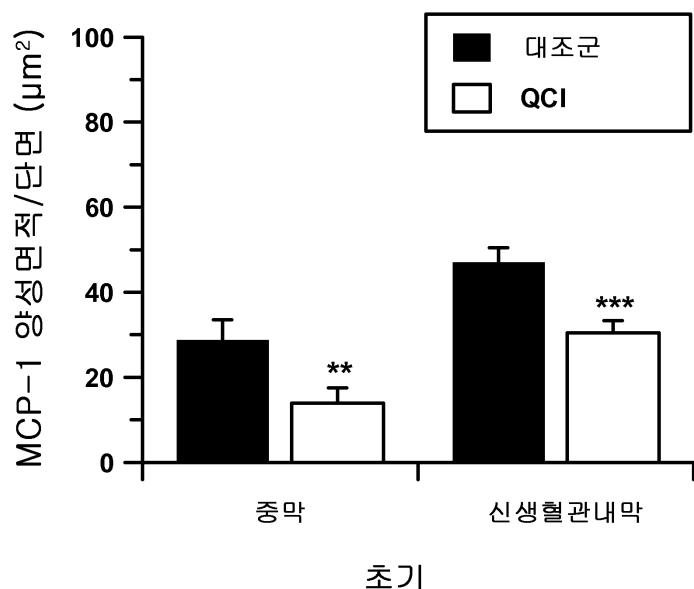
도면13a



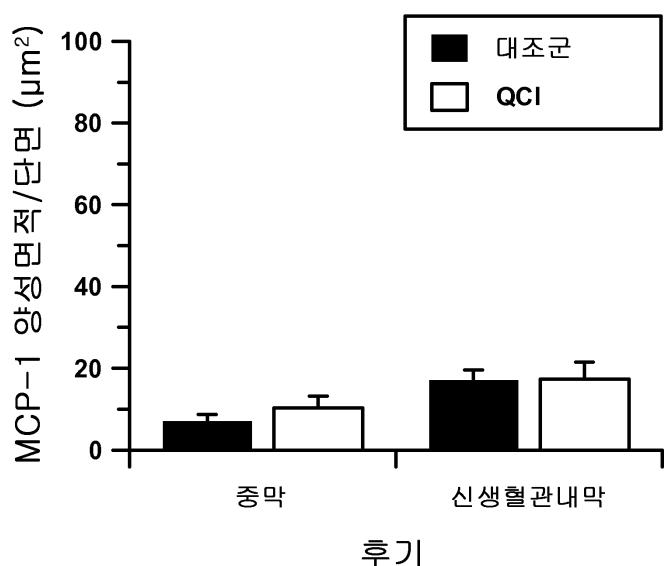
도면13b



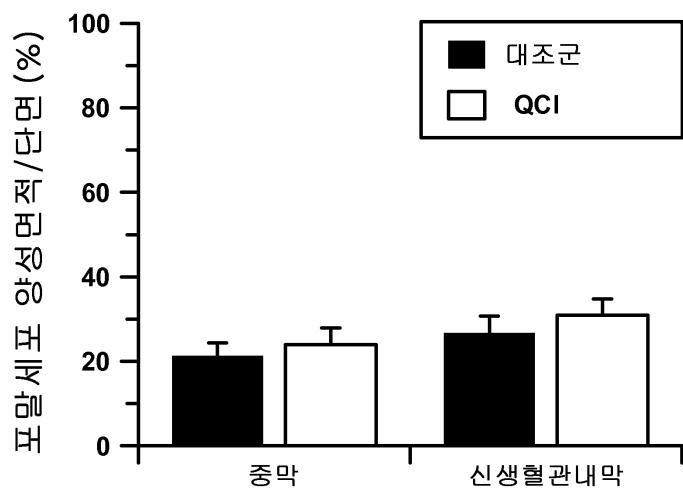
도면14a



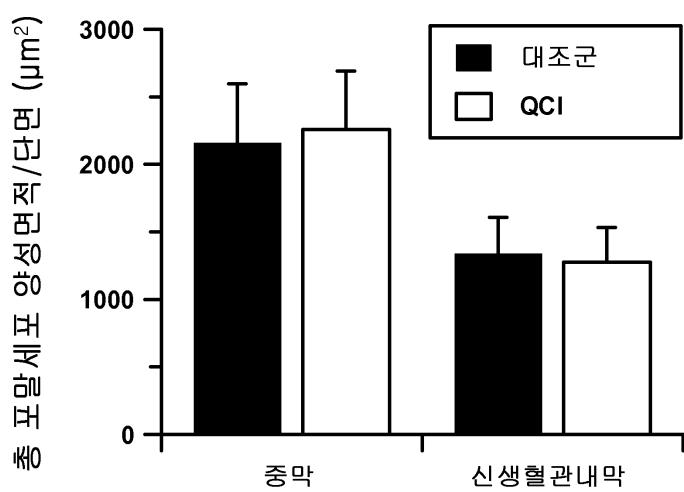
도면14b



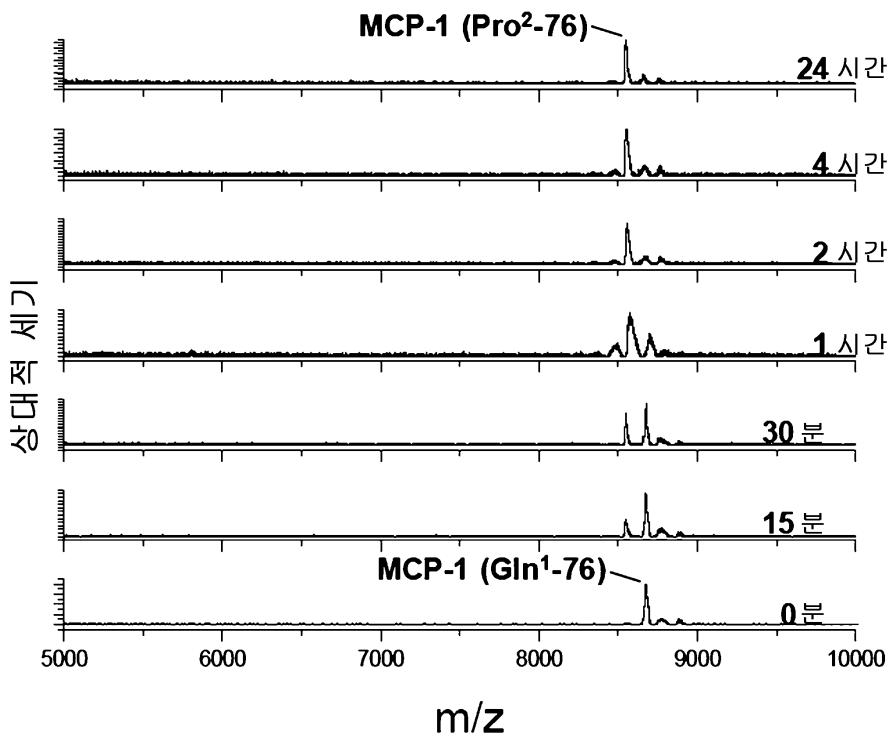
도면15a



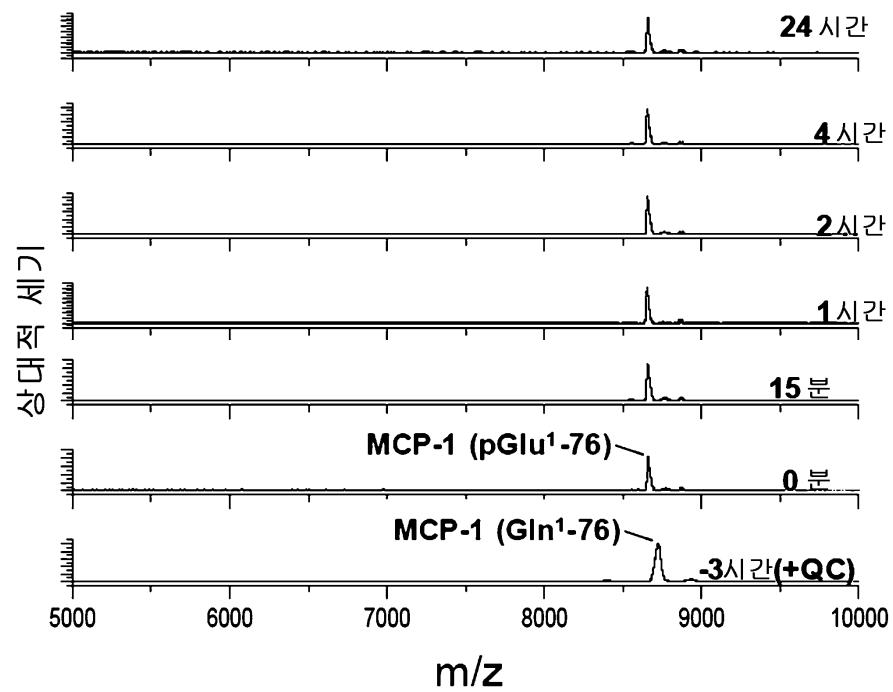
도면15b



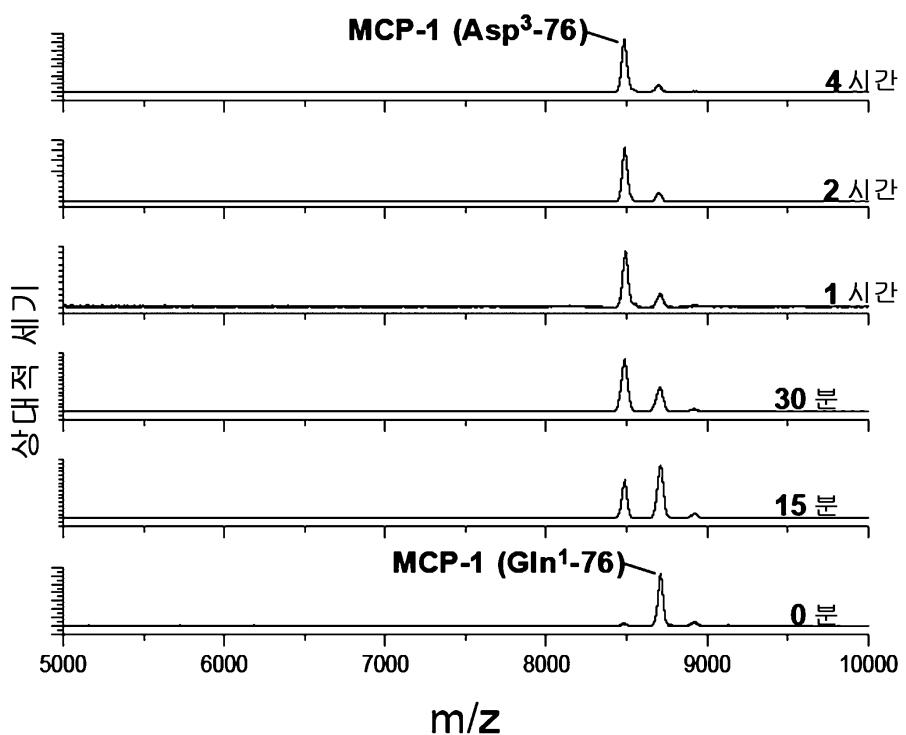
도면16a



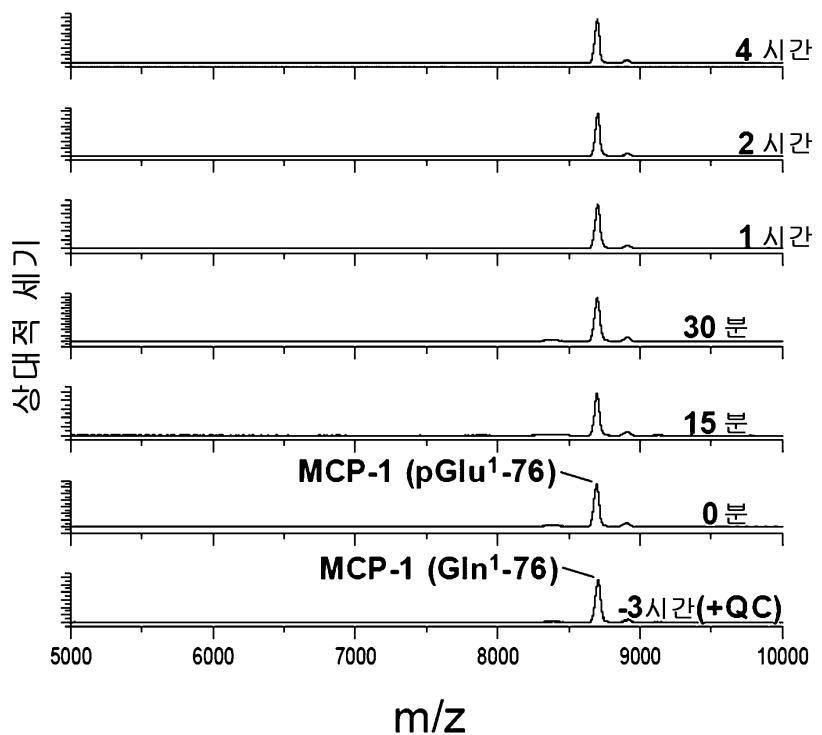
도면16b



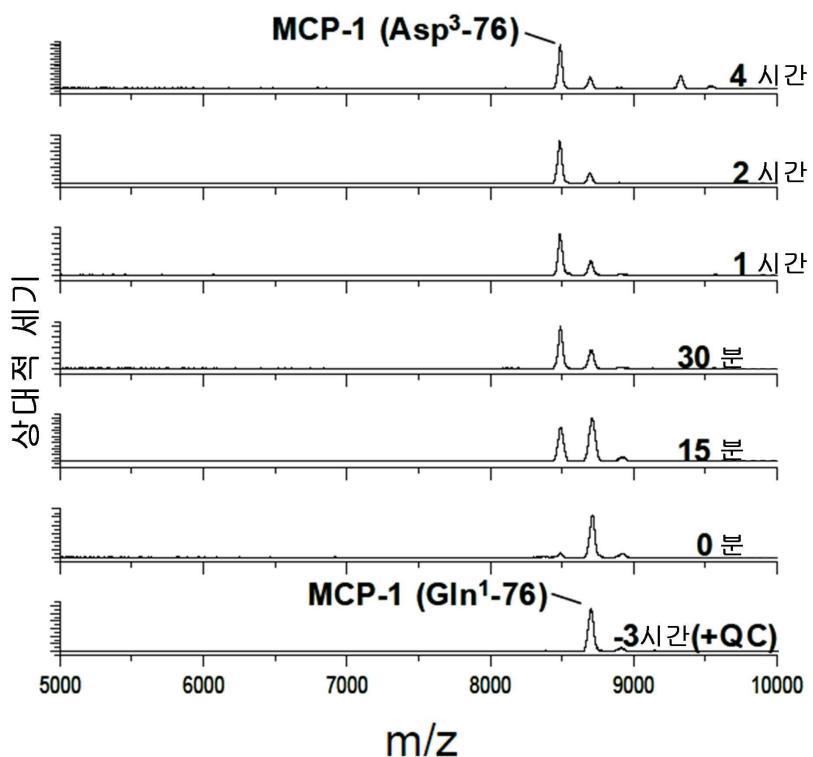
도면17a



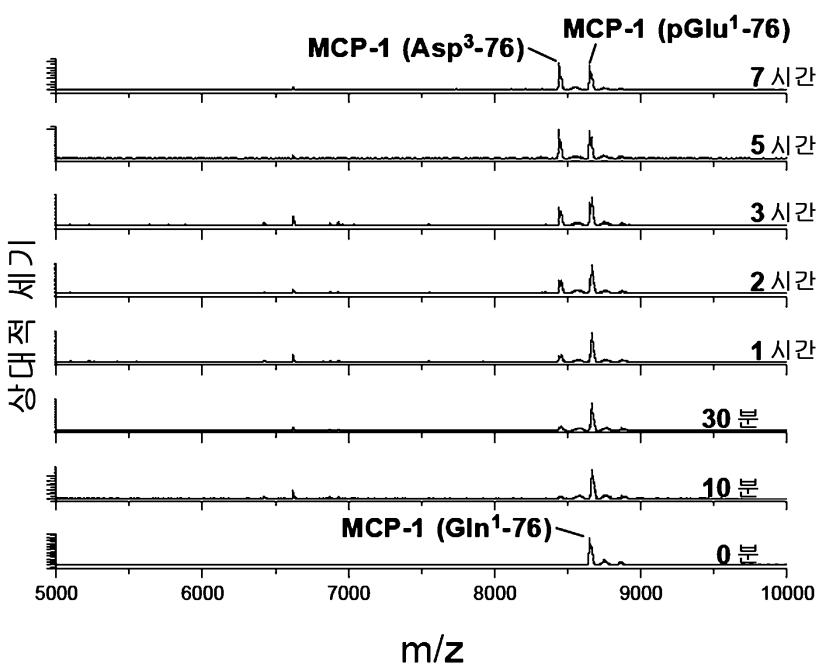
도면17b



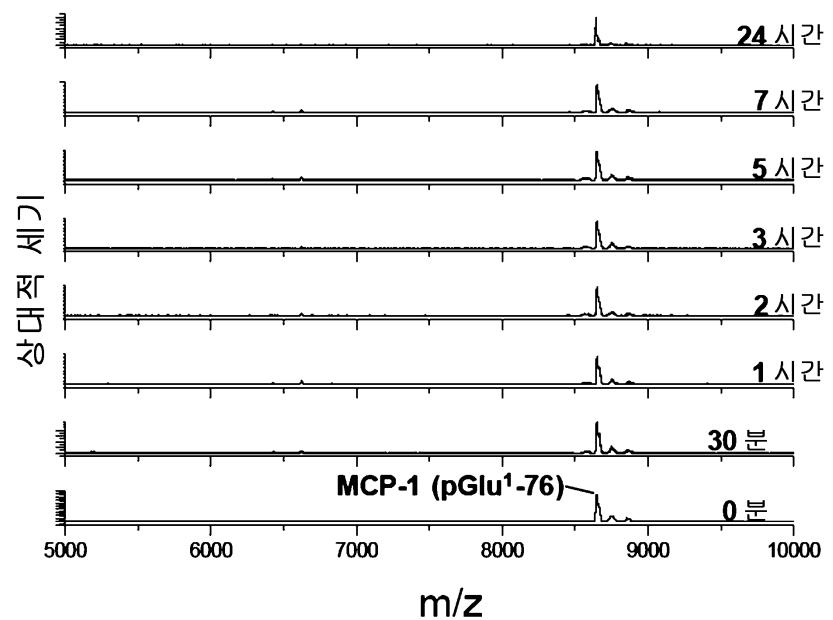
도면17c



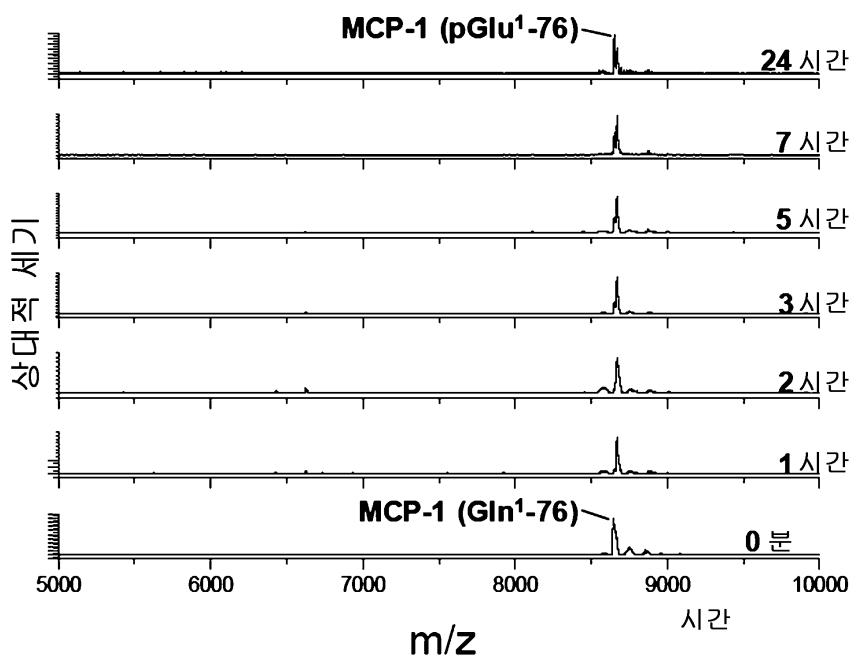
도면18a



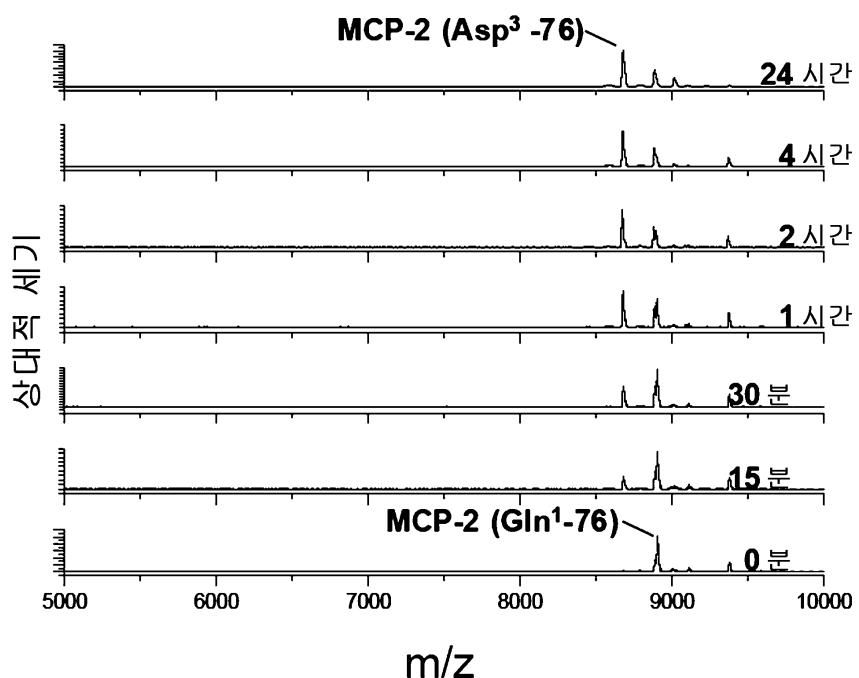
도면18b



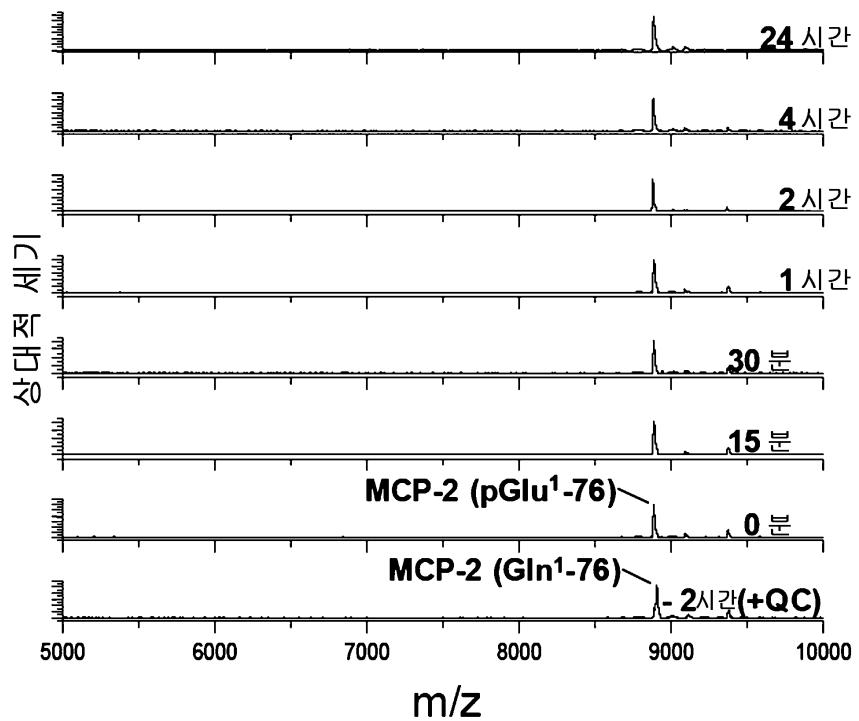
도면18c



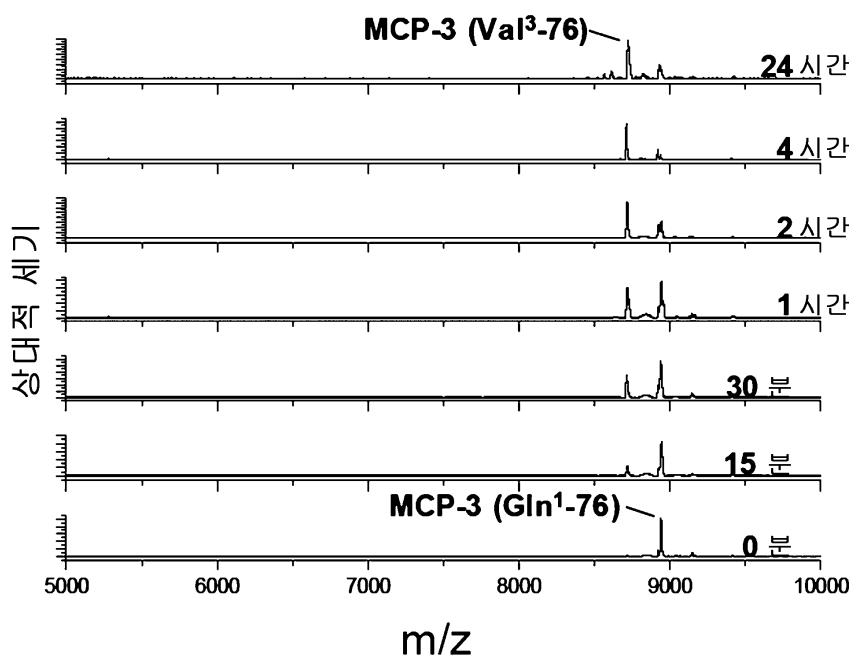
도면19a



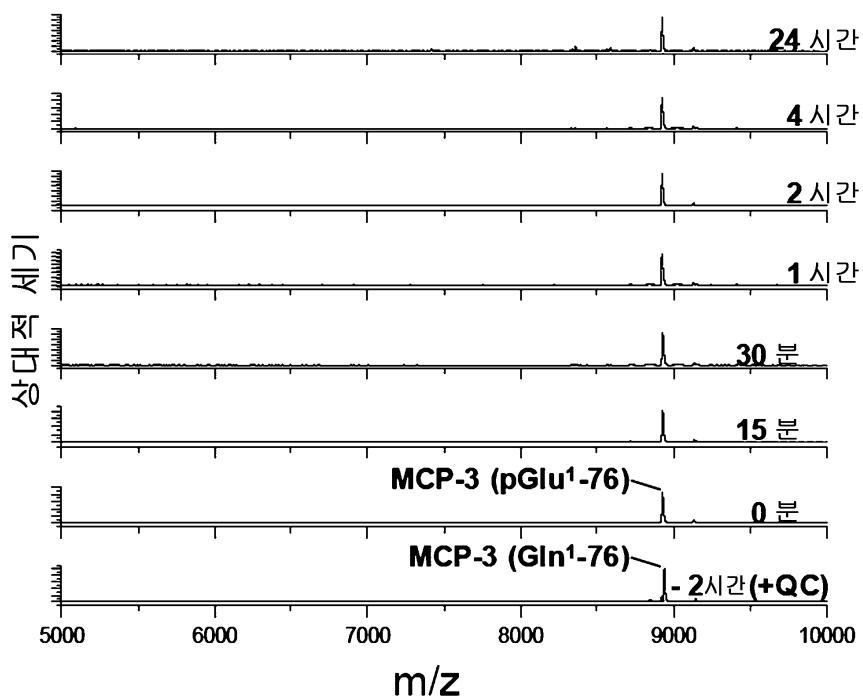
도면19b



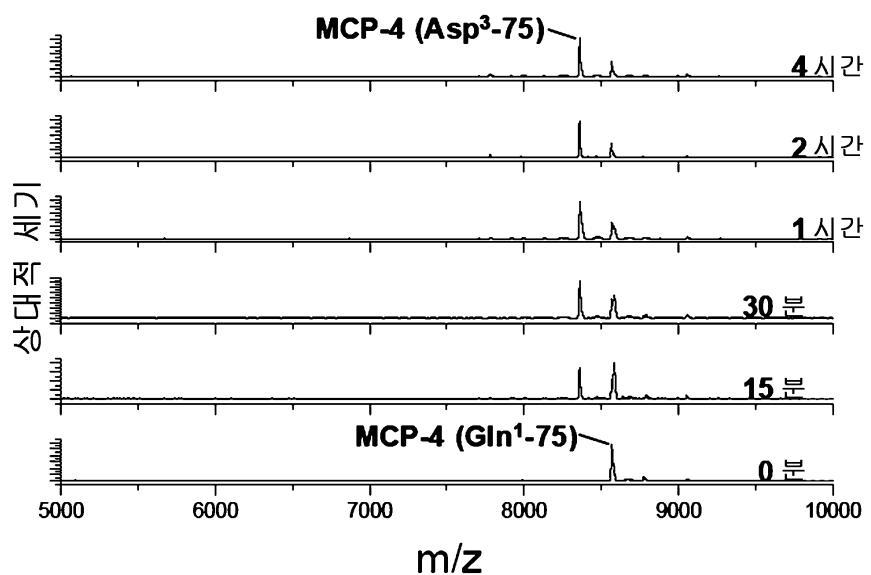
도면20a



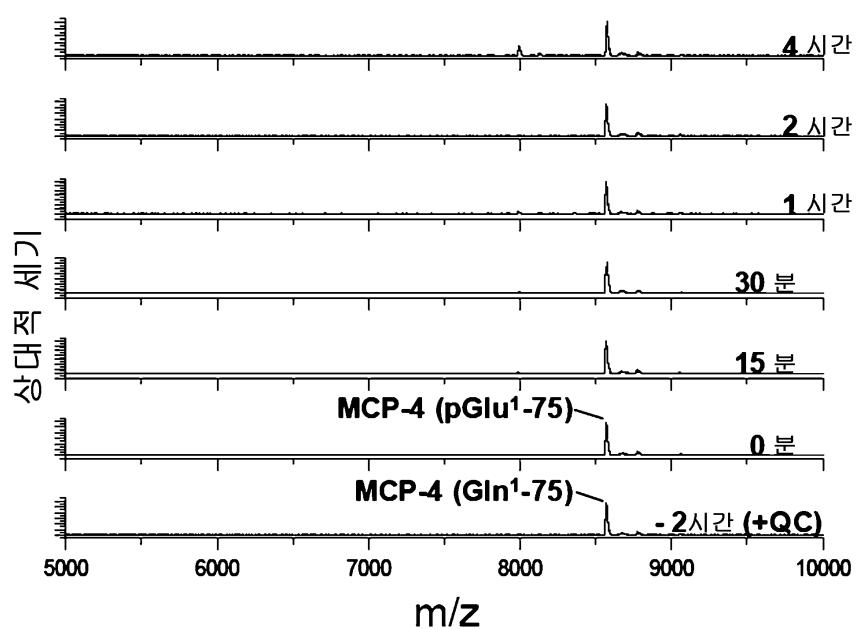
도면20b



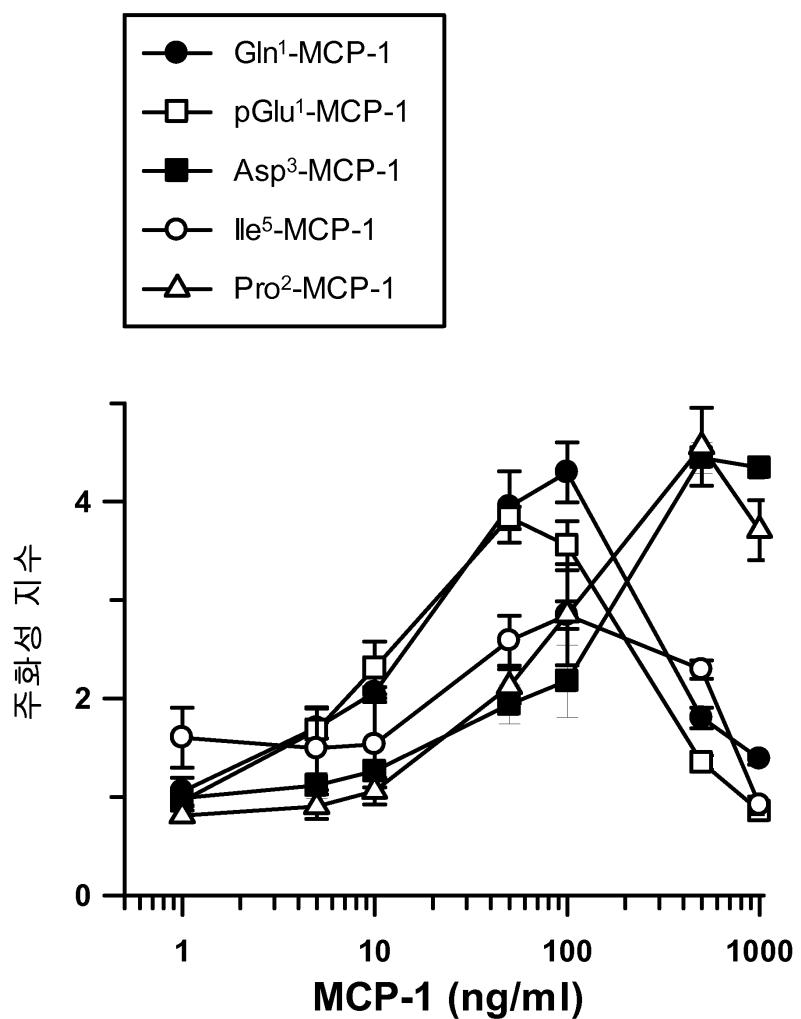
도면21a



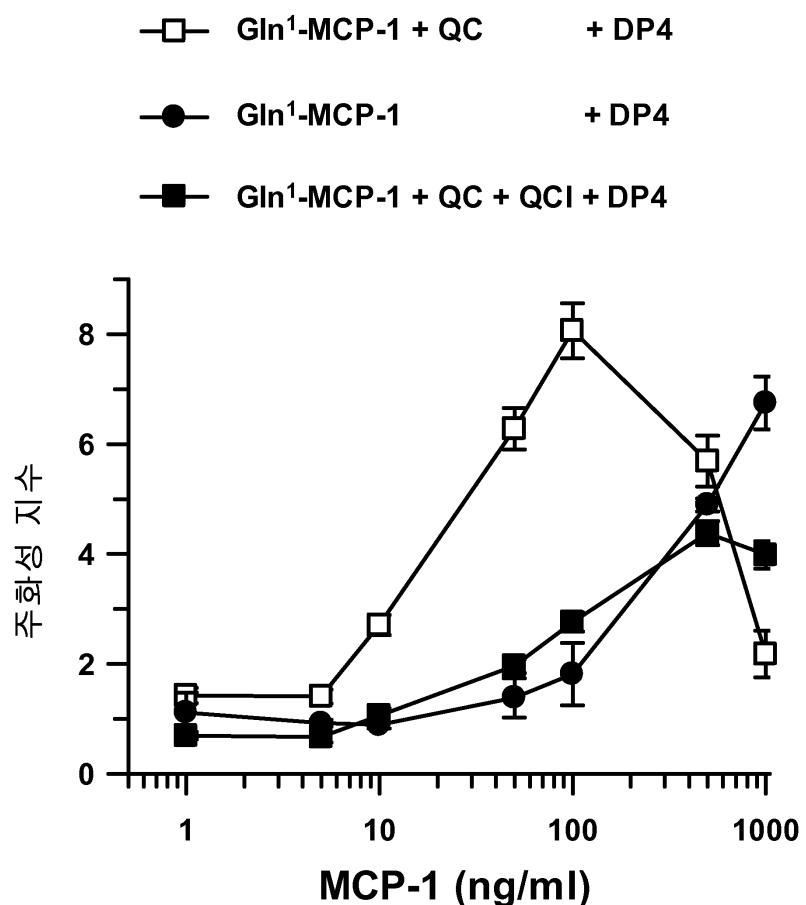
도면21b



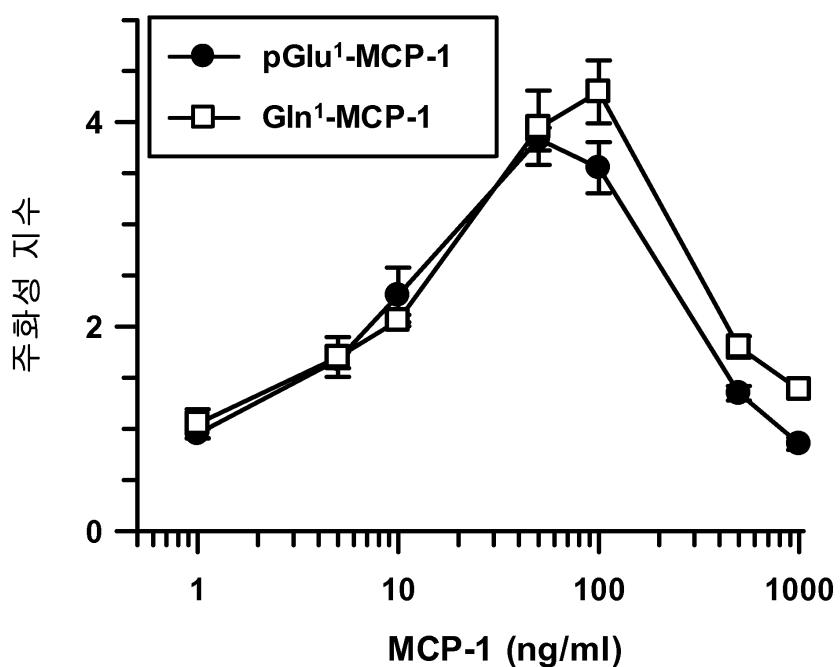
도면22



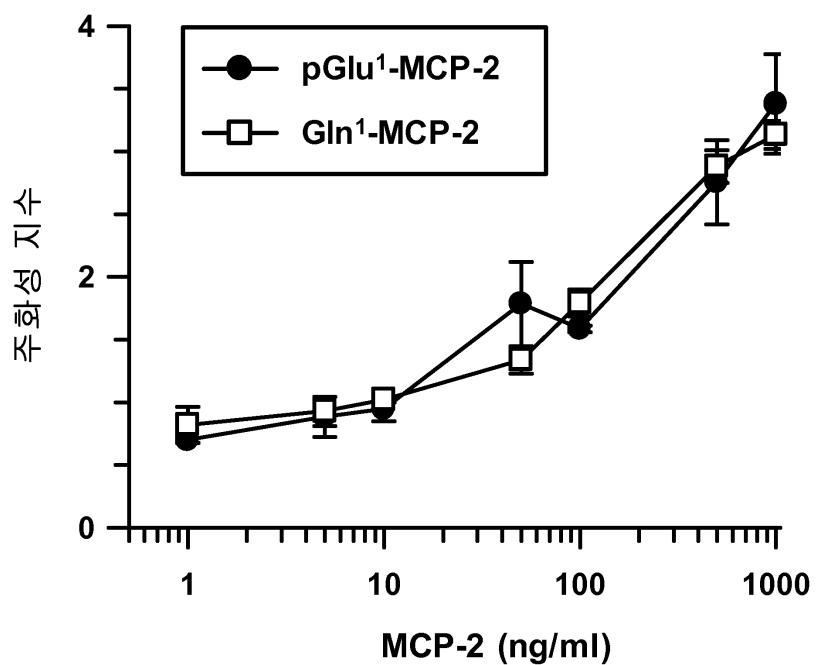
도면23



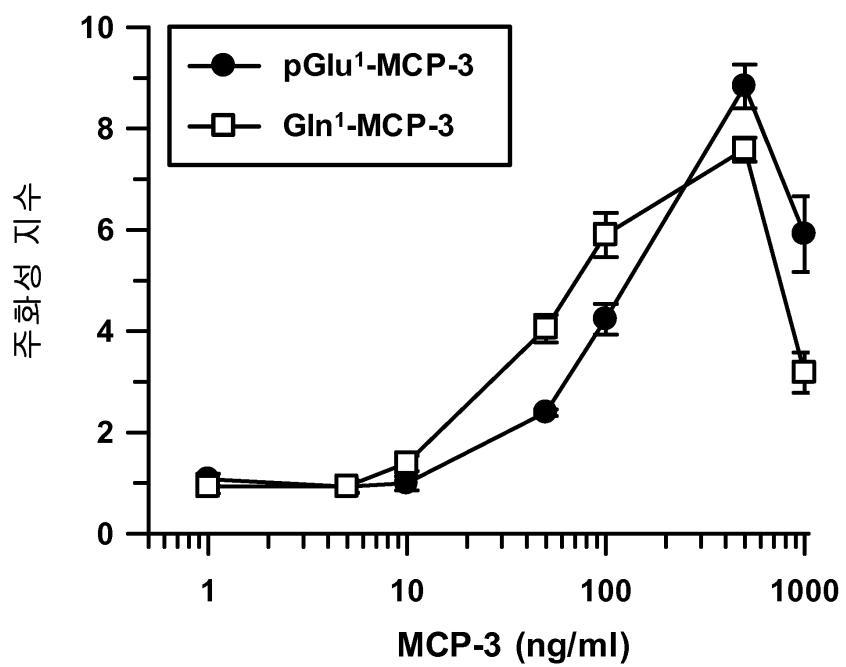
도면24a



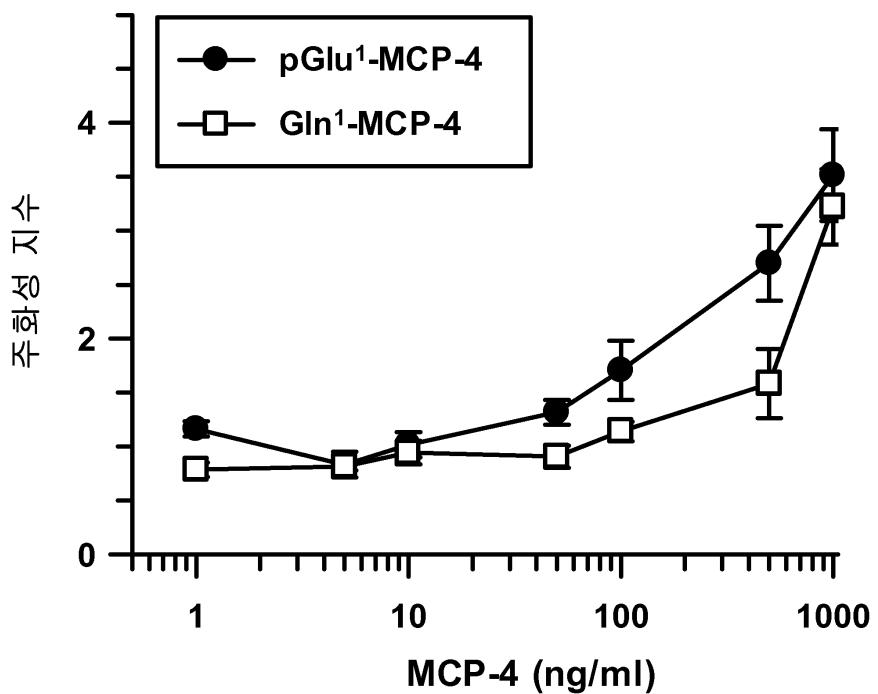
도면24b



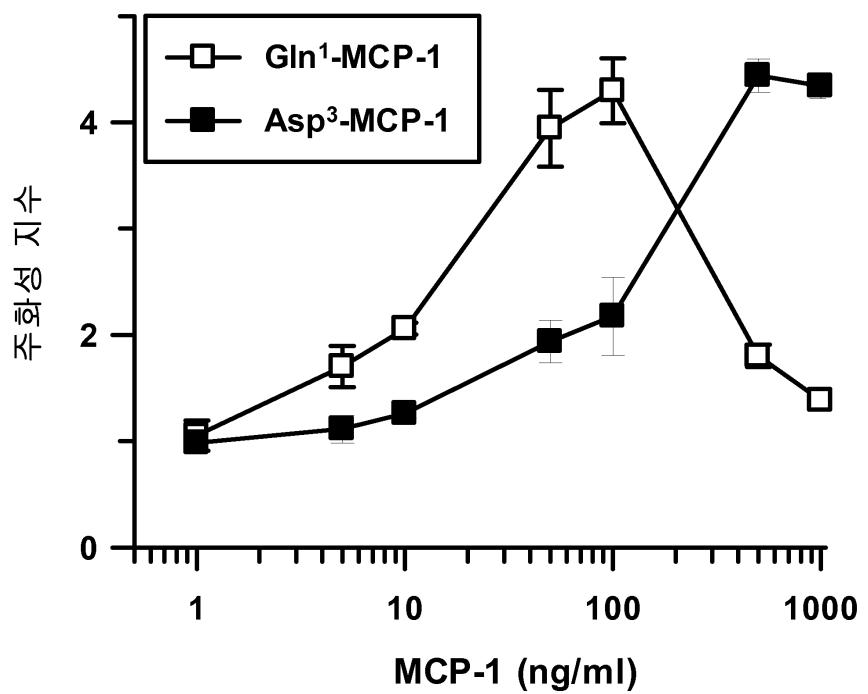
도면24c



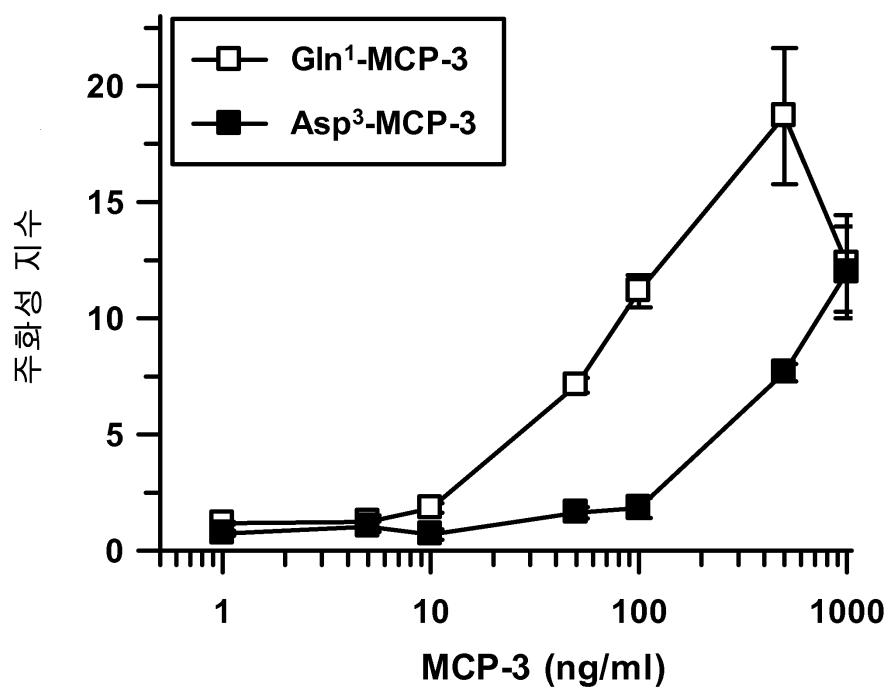
도면24d



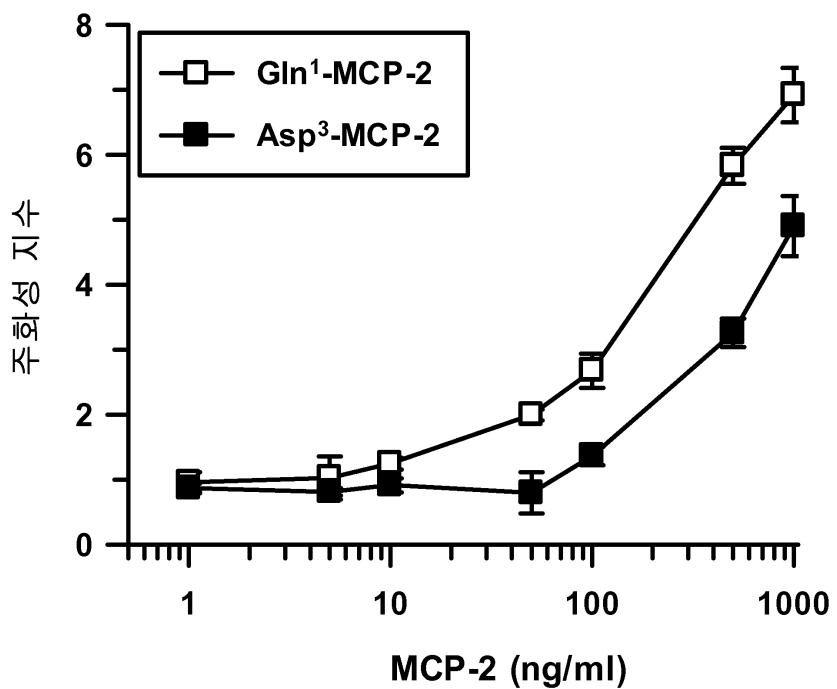
도면25a



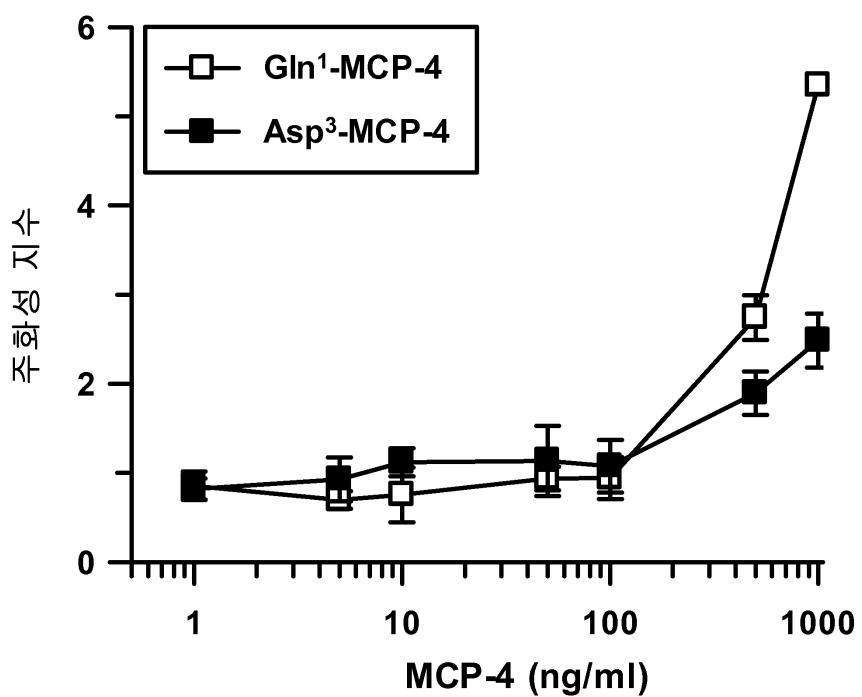
도면25b



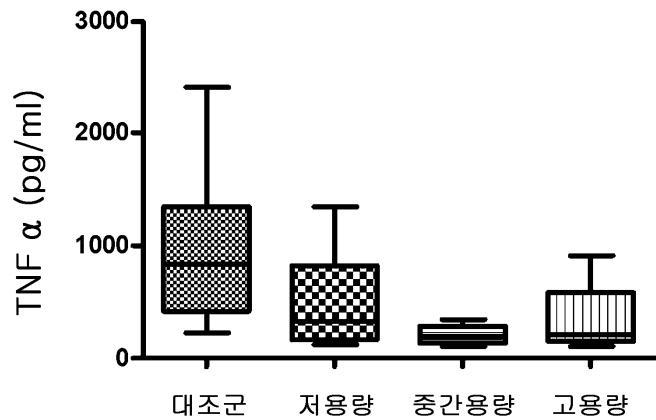
도면25c



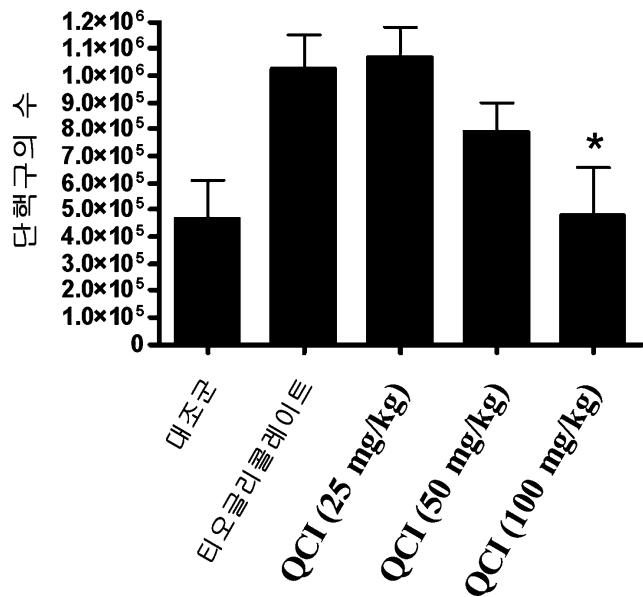
도면25d



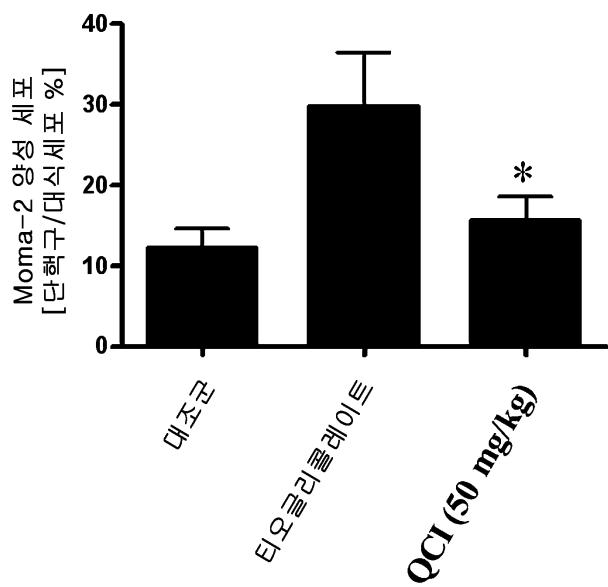
도면26



도면27



도면28



## 서 열 목록

<110> probiodrug AG  
 <120> NEW USE OF GLUTAMINYL CYCLASE INHIBITORS

<130> IPA090313

<150> US60/892,265

<151> 2007-03-01

<150> US11/685,881  
 <151> 2007-03-14

<160> 16

<170> Kopatent In 1.71

<210> 1  
 <211> 99  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 1  
 Met Lys Val Ser Ala Ala Leu Leu Cys Leu Leu Leu Ile Ala Ala Thr  
 1 5 10 15

Phe Ile Pro Gln Gly Leu Ala Gln Pro Asp Ala Ile Asn Ala Pro Val  
 20 25 30

Thr Cys Cys Tyr Asn Phe Thr Asn Arg Lys Ile Ser Val Gln Arg Leu  
 35 40 45

Ala Ser Tyr Arg Arg Ile Thr Ser Ser Lys Cys Pro Lys Glu Ala Val  
 50 55 60

Ile Phe Lys Thr Ile Val Ala Lys Glu Ile Cys Ala Asp Pro Lys Gln  
 65 70 75 80

Lys Trp Val Gln Asp Ser Met Asp His Leu Asp Lys Gln Thr Gln Thr  
 85 90 95

Pro Lys Thr

<210> 2  
 <211> 300  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<400> 2

atgaaagtct ctgcccccct tctgtgcctg ctgctcatag cagccacccctt cattcccaa	60
gggctcgctc agccagatgc aatcaatgcc ccagtcacct gctgttataa cttcaccaat	120
aggaagatct cagtgcagag gctcgcgagc tatagaagaa tcaccagcag caagtgtccc	180
aaagaagctg tcatcttcaa gaccatttg gccaaggaga tctgtgctga ccccaaggcag	240
aagtgggttc aggattccat ggaccacctg gacaaggaaa cccaaactcc gaagacttga	300
	300

<210> 3  
 <211> 1086  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<400> 3	
atggcaggcg gaagacacccg ggcgcgtcgtg ggcaccctcc acctgctgct gctggtgcc	60
gccctgcctt gggcatccag ggggtcagt ccgagtgccct cagcctggcc agaggagaag	120
aattaccacc agccagccat tttgaattca tcggctcttc ggcaattgc agaaggcacc	180
agtatctctg aaatgtggca aatgactta cagccattgc tgatagagcgt atacccggaa	240
tccctggaa gctatgctgc tcgtcagcac atcatgcagc gaattcagag gcttcaggct	300
gactgggtct tggaaataga caccccttg agtcagacac cctatggta ccggctttc	360
tcaaataatca tcagcacccctt caatcccact gctaaacgcac atttggctt cgcctgccac	420
tatgactcca agtatttttc ccactggaac aacagagtgt ttgttaggac cactgattca	480
gccgtgccat gtgcaatgat gttggaaactt gctcgccct tagacaagaa actcccttcc	540
ttaaagactg ttccagactc caagccagat ttgtcactcc agctgatctt ctttgatgg	600
gaagaggctt ttcttcactg gtctcctcaa gattctctt atgggtctcg acacttagct	660

gcaaagatgg catcgacccc gcacccacct ggagcgagag gcaccagcca actgcatggc	720
atggatttat tggcttatt ggatttgatt ggagctccaa acccaacgtt tcccaattt	780
tttccaaact cagccaggtg gttcgaaaga cttcaagcaa ttgaacatga acttcatgaa	840
ttgggttgc tcaaggatca ctcttggag gggcggtatt tccagaatta cagttatgga	900
ggtgtgattc aggtgacca tattccattt ttaagaagag gtgttccagt tctgcatctg	960
ataccgttc ctccctga agtctggcac accatggatg acaatgaaga aaatttggat	1020
gaatcaacca ttgacaatct aaacaaaatc ctacaagtc ttgtgttggaa atatctcat	1080
ttgtaa	1086

<210>	4
<211>	361
<212>	PRT
<213>	Homo sapiens

<400>	4		
Met Ala Gly Gly Arg His Arg Arg Val Val Gly Thr Leu His Leu Leu			
1	5	10	15

Leu Leu Val Ala Ala Leu Pro Trp Ala Ser Arg Gly Val Ser Pro Ser		
20	25	30

Ala Ser Ala Trp Pro Glu Glu Lys Asn Tyr His Gln Pro Ala Ile Leu		
35	40	45

Asn Ser Ser Ala Leu Arg Gln Ile Ala Glu Gly Thr Ser Ile Ser Glu		
50	55	60

Met Trp Gln Asn Asp Leu Gln Pro Leu Leu Ile Glu Arg Tyr Pro Gly			
65	70	75	80

Ser Pro Gly Ser Tyr Ala Ala Arg Gln His Ile Met Gln Arg Ile Gln		
85	90	95

Arg Leu Gln Ala Asp Trp Val Leu Glu Ile Asp Thr Phe Leu Ser Gln  
 100 105 110

Thr Pro Tyr Gly Tyr Arg Ser Phe Ser Asn Ile Ile Ser Thr Leu Asn  
 115 120 125

Pro Thr Ala Lys Arg His Leu Val Leu Ala Cys His Tyr Asp Ser Lys  
 130 135 140

Tyr Phe Ser His Trp Asn Asn Arg Val Phe Val Gly Ala Thr Asp Ser  
 145 150 155 160

Ala Val Pro Cys Ala Met Met Leu Glu Leu Ala Arg Ala Leu Asp Lys  
 165 170 175

Lys Leu Leu Ser Leu Lys Thr Val Ser Asp Ser Lys Pro Asp Leu Ser  
 180 185 190

Leu Gln Leu Ile Phe Phe Asp Gly Glu Glu Ala Phe Leu His Trp Ser  
 195 200 205

Pro Gln Asp Ser Leu Tyr Gly Ser Arg His Leu Ala Ala Lys Met Ala  
 210 215 220

Ser Thr Pro His Pro Pro Gly Ala Arg Gly Thr Ser Gln Leu His Gly  
 225 230 235 240

Met Asp Leu Leu Val Leu Leu Asp Leu Ile Gly Ala Pro Asn Pro Thr  
 245 250 255

Phe Pro Asn Phe Phe Pro Asn Ser Ala Arg Trp Phe Glu Arg Leu Gln  
 260 265 270

Ala Ile Glu His Glu Leu His Glu Leu Gly Leu Leu Lys Asp His Ser  
 275 280 285

Leu Glu Gly Arg Tyr Phe Gln Asn Tyr Ser Tyr Gly Gly Val Ile Gln  
 290 295 300

Asp Asp His Ile Pro Phe Leu Arg Arg Gly Val Pro Val Leu His Leu  
 305 310 315 320

Ile Pro Ser Pro Phe Pro Glu Val Trp His Thr Met Asp Asp Asn Glu  
 325 330 335

Glu Asn Leu Asp Glu Ser Thr Ile Asp Asn Leu Asn Lys Ile Leu Gln  
 340 345 350

Val Phe Val Leu Glu Tyr Leu His Leu  
 355 360

<210> 5  
 <211> 32  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> DNA primer

<400> 5  
 atataaggctt atgaaaagtct ctgcccgcct tc 32

<210> 6  
 <211> 32  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> DNA primer

<400> 6  
 atatgcggcc gctcaagtct tcggagtttgg 32

<210> 7  
 <211> 37  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> DNA primer

<400> 7  
 cattcccaa gggctcgctc cagatgaaat caatgcc 37

<210> 8  
 <211> 37  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> DNA primer

<400> 8  
 ggcattgatt gcatctggag cgagcccttg ggaaatg 37

<210> 9  
 <211> 38  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> DNA primer

<400> 9  
 cattcccaa gggctcgctg atgcaatcaa tgccccag 38

<210> 10  
 <211> 38  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> DNA primer

<400> 10  
 ctggggcatt gattgcatca gcgagccctt gggaaatg 38

<210> 11  
 <211> 99  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 11  
 Met Lys Val Ser Ala Ala Leu Leu Cys Leu Leu Leu Met Ala Ala Thr  
 1 5 10 15

Phe Ser Pro Gln Gly Leu Ala Gln Pro Asp Ser Val Ser Ile Pro Ile  
 20 25 30

Thr Cys Cys Phe Asn Val Ile Asn Arg Lys Ile Pro Ile Gln Arg Leu  
 35 40 45

Glu Ser Tyr Thr Arg Ile Thr Asn Ile Gln Cys Pro Lys Glu Ala Val  
 50 55 60

Ile Phe Lys Thr Gln Arg Gly Lys Glu Val Cys Ala Asp Pro Lys Glu  
 65 70 75 80

Arg Trp Val Arg Asp Ser Met Lys His Leu Asp Gln Ile Phe Gln Asn  
 85 90 95

Leu Lys Pro

<210> 12  
 <211> 300  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<400> 12  
 atgaaggttt ctgcagcgct tctgtgcctg ctgctcatgg cagccacttt cagccctcag 60

ggacttgcctc agccagattc agtttccatt ccaatcacct gctgctttaa cgtgatcaat 120

aggaaaattc ctatccagag gctggagagc tacacaagaa tcaccaacat ccaatgtccc 180

aaggaagctg tcatcttcaa gacccaacgg ggcaaggagg tctgtgctga ccccaaggag 240

agatgggtca gggattccat gaagcatctg gaccaaataat ttcaaaatct gaagccatga 300

300

<210> 13  
 <211> 99

<212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 13  
 Met Lys Ala Ser Ala Ala Leu Leu Cys Leu Leu Leu Thr Ala Ala Ala  
 1 5 10 15

Phe Ser Pro Gln Gly Leu Ala Gln Pro Val Gly Ile Asn Thr Ser Thr  
 20 25 30

Thr Cys Cys Tyr Arg Phe Ile Asn Lys Lys Ile Pro Lys Gln Arg Leu  
 35 40 45

Glu Ser Tyr Arg Arg Thr Thr Ser Ser His Cys Pro Arg Glu Ala Val  
 50 55 60

Ile Phe Lys Thr Lys Leu Asp Lys Glu Ile Cys Ala Asp Pro Thr Gln  
 65 70 75 80

Lys Trp Val Gln Asp Phe Met Lys His Leu Asp Lys Lys Thr Gln Thr  
 85 90 95

Pro Lys Leu

<210> 14  
 <211> 300  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<400> 14  
 atgaaaggct ctgcagcaact tctgtgtctg ctgctcacag cagctgcttt cagccccag 60

gggcttgctc agccagttgg gattaatact tcaactacct gctgctacag atttatcaat 120

aagaaaaatcc ctaaggcagag gctggagagc tacagaagga ccaccagtag ccactgtccc 180

cgggaagctg taatcttcaa gaccaaactg gacaaggaga tctgtgctga ccccacacag 240

aagtgggtcc aggactttat gaagcacctg gacaagaaaa cccaaactcc aaagcttga 300

<210> 15  
 <211> 98  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 15  
 Met Lys Val Ser Ala Val Leu Leu Cys Leu Leu Leu Met Thr Ala Ala  
 1 5 10 15

Phe Asn Pro Gln Gly Leu Ala Gln Pro Asp Ala Leu Asn Val Pro Ser  
 20 25 30

Thr Cys Cys Phe Thr Phe Ser Ser Lys Lys Ile Ser Leu Gln Arg Leu  
 35 40 45

Lys Ser Tyr Val Ile Thr Thr Ser Arg Cys Pro Gln Lys Ala Val Ile  
 50 55 60

Phe Arg Thr Lys Leu Gly Lys Glu Ile Cys Ala Asp Pro Lys Glu Lys  
 65 70 75 80

Trp Val Gln Asn Tyr Met Lys His Leu Gly Arg Lys Ala His Thr Leu  
 85 90 95

Lys Thr

<210> 16  
 <211> 297  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<400> 16  
 atgaaagtct ctgcagtgct tctgtgcctg ctgctcatga cagcagctt caaccccccag 60

ggacttgctc agccagatgc actcaacgtc ccatctactt gctgcttcac attagcagt 120

aagaagatct ccttgcagag gctgaagagc tatgtatca ccaccagcag gtgtccccag 180

aaggctgtca tttcagaac caaactggc aaggagatct gtgctgaccc aaaggagaag 240

tgggtccaga attatatgaa acacctggc cgaaagctc acaccctgaa gacttga 297