(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0165413
(43) 공개일자 2024년11월22일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 417/14 (2006.01) *A61K 31/506* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) *A61P 35/02* (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01) *C07F 9/6558* (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07D 417/14 (2013.01)
A61K 31/506 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2024-7034837
(22) 출원일자(국제) 2023년03월22일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2024년10월18일
(86) 국제출원번호 PCT/US2023/015889
(87) 국제공개번호 WO 2023/183377
국제공개일자 2023년09월28일
(30) 우선권주장
63/322,955 2022년03월23일 미국(US)

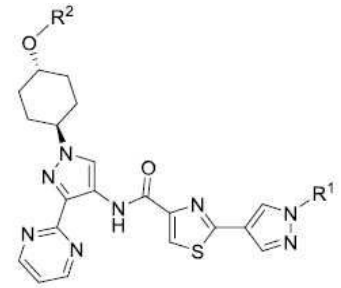
(71) 출원인
리겔 파마슈티칼스, 인크.
미국 94080 캘리포니아 사우쓰 샌프란시스코 게이트웨이 불러바드 611
(72) 발명자
마웅, 잭
미국 94080 캘리포니아 사우스 샌프란시스코 베테란스 불러바드 1180 리겔 파마슈티칼스, 인크. 내
천, 옌
미국 94080 캘리포니아 사우스 샌프란시스코 베테란스 불러바드 1180 리겔 파마슈티칼스, 인크. 내
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
양영준, 김영

전체 청구항 수 : 총 36 항

(54) 발명의 명칭 **IRAK 저해제로서의 피리미드-2-일-피라졸 화합물**

(57) 요 약

개시된 실시형태는 신규한 인터류킨 수용체 관련 카이네이스(IRAK) 저해제 화합물 및 이러한 화합물을 포함하는 조성물에 관한 것이다. 화합물은 하기 화학식 I에 따른 구조를 가질 수 있다:



화학식 I

또한, 화합물 및 조성물을 제조하는 방법 및 사용하는 방법이 개시된다. 개시된 화합물 및/또는 조성물은 IRAK 관련 질환 또는 병태를 치료 또는 예방하는 데 사용될 수 있다.

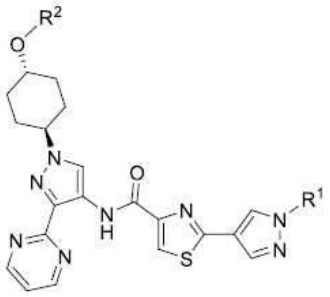
(52) CPC특허분류
A61P 35/00 (2018.01)
A61P 35/02 (2018.01)
A61P 37/00 (2018.01)
C07F 9/65583 (2013.01)
(72) 발명자
쇼우, 사이먼
미국 94080 캘리포니아 사우스 샌프란시스코 베테란스 불러바드 1180 리겔 파마슈티칼스, 인크. 내
스위니, 데이비드
미국 94080 캘리포니아 사우스 샌프란시스코 베테란스 불러바드 1180 리겔 파마슈티칼스, 인크. 내
마수다, 에스테반
미국 94080 캘리포니아 사우스 샌프란시스코 베테란스 불러바드 1180 리겔 파마슈티칼스, 인크. 내

명 세 서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 I에 따른 구조를 갖는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물:



화학식 I

상기 식에서,

R^1은 H, 지방족, 아실, 헤테로사이클릴, 카복실 에스터, 아마이드, 알킬 포스포라미데이트 또는 알킬 포스페이트이고;

R^2는 C_{1-6}알킬이다.

청구항 2

제1항에 있어서, R^1은 H, 알킬 또는 -알킬$OP(O)(OR)_2$이되, 각 OR은 -OH, -O알킬, -O아릴, -O헤테로아릴, -O아르아킬 또는 $-O^-M^+$이고, 여기서 M^+는 단일 양전하를 갖는 반대 이온인, 화합물.

청구항 3

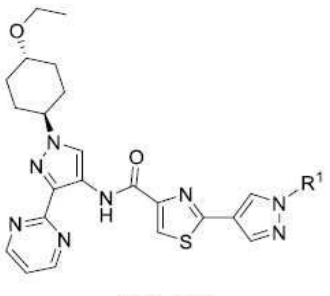
제1항 또는 제2항에 있어서, R^1은 $-CH(CH_3)OP(O)(OR)_2$ 또는 $-CH_2OP(O)(OR)_2$인, 화합물.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, R^2는 C_{1-4}알킬인, 화합물.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 화합물은 하기 화학식 II에 따른 구조 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 갖는, 화합물:



화학식 II

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, R^1은 H인, 화합물.

청구항 7

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, R^1은 C_{1-6}알킬인, 화합물.

청구항 8

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, R^1은 $-CH_2OP(O)(OR)_2$인, 화합물.

청구항 9

제8항에 있어서, R^1은 $-CH_2OP(O)(OH)_2$인, 화합물.

청구항 10

제8항에 있어서, R^1은 $-CH_2OP(O)(OC_{1-6}$알킬$)_2$인, 화합물.

청구항 11

제8항에 있어서, R^1은 $-CH_2OP(O)(O^-M^+)_2$인, 화합물.

청구항 12

제8항에 있어서, R^1은 $-CH_2OP(O)(O^-Na^+)_2$인, 화합물.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 화합물은 유리 염기 형태일 수 있는, 화합물.

청구항 14

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 화합물은 염 공결정인, 화합물.

청구항 15

제14항에 있어서, 상기 염 공결정은 타타르산염 공결정 또는 tris염 공결정인, 화합물.

청구항 16

제1항에 있어서,

I-1: N-(1-((1r,4r)-4-에톡시사이클로헥실)-3-(피리미딘-2-일)-1H-피라졸-4-일)-2-(1H-피라졸-4-일)티아졸-4-카복사마이드;

I-2: (4-(4-((1-((1r,4r)-4-에톡시사이클로헥실)-3-(피리미딘-2-일)-1H-피라졸-4-일)카바모일)티아졸-2-일)-1H-피라졸-1-일)메틸 다이하이드로겐 포스페이트;

I-3:
소듐(4-(4-((1-((1r,4r)-4-에톡시사이클로헥실)-3-(피리미딘-2-일)-1H-피라졸-4-일)카바모일)티아졸-2-일)-1H-피라졸-1-일)메틸 포스페이트;

I-4: N-(1-((1r,4r)-4-에톡시사이클로헥실)-3-(피리미딘-2-일)-1H-피라졸-4-일)-2-(1H-피라졸-4-일)티아졸-4-카복사마이드 타타르산염;

I-5: (4-(4-((1-((1r,4r)-4-에톡시사이클로헥실)-3-(피리미딘-2-일)-1H-피라졸-4-일)카바모일)티아졸-2-일)-1H-피라졸-1-일)메틸 하이드로겐 포스페이트 1,3-다이하이드록시-2-(하이드록시메틸)프로판-2-아미늄(tris염);

I-6: 1-(4-(4-((1-((1r,4r)-4-에톡시사이클로헥실)-3-(피리미딘-2-일)-1H-피라졸-4-일)카바모일)티아졸-2-일)-

1H-피라졸-1-일)에틸 다이하이드로겐 포스페이트;

I-7: 소듐 1-(4-(4-((1-((1r,4r)-4-에톡시사이클로헥실)-3-(피리미딘-2-일)-1H-피라졸-4-일)카바모일)티아졸-2-일)-1H-피라졸-1-일)에틸 포스페이트; 또는

I-8: 1-(4-(4-((1-((1r,4r)-4-에톡시사이클로헥실)-3-(피리미딘-2-일)-1H-피라졸-4-일)카바모일)티아졸-2-일)-1H-피라졸-1-일)에틸 하이드로겐 포스페이트 1,3-다이하이드록시-2-(하이드록시메틸)프로판-2-아미늄(tris염)

으로부터 선택되는, 화합물.

청구항 17

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 따른 화합물 및 약제학적으로 허용 가능한 부형제를 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 18

IRAK 효소를 저해하는 방법으로서, 상기 효소를 유효량의 제1항 내지 제16항 중 어느 한 항의 화합물과 접촉시키는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 19

제18항에 있어서, 접촉시키는 단계는 상기 화합물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 20

IRAK 저해제가 권고되는(indicated) 질환 또는 병태에 대해 대상체를 치료하는 방법으로서, 유효량의 제1항 내지 제16항 중 어느 한 항의 화합물 또는 제17항에 따른 약제학적 조성물을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 21

제20항에 있어서, 상기 질환 또는 병태는 자가면역 질환, 염증성 장애, 심혈관 질환, 신경퇴행성 장애, 알레르기성 장애, 다장기 부전, 신장 질환, 혈소판 응집, 과증식성 장애, 이식, 정자 운동성, 적혈구 결핍증, 이식편 거부, 폐 손상, 호흡기 질환, 허혈 병태, 세균 감염, 바이러스 감염, 면역 조절 장애, 겸상적혈구 질환, 화학적- 또는 방사선 유발 폐 손상, 출혈열 또는 이들의 조합을 포함하는, 방법.

청구항 22

제20항에 있어서, 상기 질환 또는 병태는 재생 불량성 빈혈, 아토피성 피부염, 농포성 건선, 손발바닥 농포증, 원발성 담관경화증, 농피증, 경화성 담관염, 전신성 소아 특발성 관절염, 화농성 한선염, 사이토카인 방출 증후군 또는 골수이형성 증후군(myelodysplastic syndrome: MDS)을 포함하는, 방법.

청구항 23

제20항에 있어서, 상기 질환은 근위축성 측색 경화증(amyotrophic lateral sclerosis: ALS), 전신 홍반성 루푸스, 만성 류마티스성 관절염, I형 진성 당뇨병, 염증성 장 질환, 담관성 간경변, 포도막염, 다발성 경화증, 크론병, 궤양성 대장염, 수포성 유천포창, 육아종증, 건선, 자가면역성 근염, 췌장염, 카포시 육종, 골수이형성 증후군, 베게너 과립종증, 어린선, 그레이브스 안증 또는 천식인, 방법.

청구항 24

제21항에 있어서, 상기 면역 조절 장애는 류마티스성 관절염, 전신 홍반성 루푸스, 하시모토 갑상선염, 다발성 경화증, 전신성 경화증, 중증 근무력증, I형 당뇨병, 포도막염, 후부 포도막염, 알레르기성 뇌척수염, 사구체신염, 류마티스성 열 및 감염후 사구체신염을 포함하는 감염후 자가면역성 질환, 염증성 및 과증식성 피부 질환, 건선, 아토피성 피부염, 접촉성 피부염, 습진 피부염, 지루성 피부염, 편평태선, 천포창, 수포성 유천포창, 수포성 표피박리증, 두드러기, 혈관부종, 맥관염, 홍반, 피부 호산구증가증, 홍반성 루푸스, 여드름, 원형 탈모, 각결막염, 봄철 결막염, 베체트병과 관련된 포도막염, 각막염, 포진성 각막염, 원추각막, 각막 상피 변성, 각막 백반, 안구 천포창, 무렌 궤양, 공막염, 그레이브스 안병증, 보고트-고야나기-하라다 증후군, 육아종증, 꽃가루 알레르기, 가역성 폐쇄성 기도 질환, 기관지 천식, 알레르기성 천식, 내인성 천식, 외인성 천식, 먼지 천식, 만

성 또는 상습적 천식, 후기 천식 및 기도 과민 반응, 기관지염, 위궤양, 허혈 질환 및 혈전증에 의한 혈관 손상, 허혈성 장 질환, 염증성 장 질환, 괴사성 소장결장염, 열 화상과 관련된 장 병변, 복강 질환, 직장염, 호산구성 위장염, 비만세포증, 크론병, 궤양성 대장염, 편두통, 비염, 습진, 간질성 신염, 굿파스처 증후군, 용혈성 요독 증후군, 당뇨병성 신증, 다발성 근염, 길랭-바레 증후군, 메니에르병, 다발 신경염, 다발성 신경염, 단일 신경염, 신경근증, 갑상선 기능 항진증, 바세도우병, 순수한 적혈구 무형성증, 재생 불량성 빈혈, 저형성 빈혈, 특발성 혈소판감소성 자반병, 자가면역성 용혈성 빈혈, 무과립구증, 악성 빈혈, 거대아구성 빈혈, 적혈구생성 결여증, 골다공증, 육아종증, 폐섬유증, 특발성 간질성 폐렴, 피부근염, 심상성 백반증, 심상성 어린선, 광알레르기성 민감증, 피부 T 세포 림프종, 만성 림프구성 백혈병, 동맥경화증, 아테롬성 동맥경화증, 대동맥염 증후군, 결절성 다발동맥염, 심근증, 경피증, 베게너 육아종, 쇼그렌 증후군, 지방증, 호산구성 근막염, 치은, 치주 조직, 치조골, 시멘트질의 병변, 사구체신염, 탈모를 예방하거나 모발 발아를 촉진하고/하거나 모발 생성 및 모발 성장을 촉진시키는 것에 의한 남성형 탈모증 또는 노인성 탈모증, 근이영양증, 농피증 및 세자리 증후군, 애디슨병, 보존, 이식 또는 허혈성 질환으로 인해 발생하는 장기의 허혈-재관류 손상, 내독소 쇼크, 위막성 대장염, 약물 또는 방사선으로 인한 대장염, 허혈성 급성 신부전증, 만성 신부전증, 폐 산소 또는 약물에 의한 독성증, 폐암, 폐기종, 백내장, 철분증, 색소성 망막염, 노인성 황반변성, 유리체 상흔, 각막 알칼리 화상, 피부 다형 홍반, 선형 IgA 수포성 피부염 및 시멘트 피부염, 치은염, 치주염, 패혈증, 췌장염, 환경 오염, 노화, 발암, 암의 전이 및 고산병으로 인한 질환, 히스타민 또는 류코트리엔-C4 방출로 인한 질환, 베체트병, 자가면역성 간염, 원발성 담관경화증, 경화성 담관염, 부분 간 절제, 급성 간 괴사, 독소에 의한 괴사, 바이러스 간염, 쇼크 또는 무산소증, B-바이러스 간염, 비-A/비-B 간염, 간경변, 알코올성 간경변, 간부전, 전격성 간부전, 후기 발병 간부전, "만성에서 급격히 악화된" 간부전, 화학요법 효과의 증강, 사이토메갈로바이러스 감염, HCMV 감염, 보조제, 암, 노인성 치매, 파킨슨병, 외상, CRS, ARDS, AKI 또는 만성 세균 감염인, 방법.

청구항 25

제20항에 있어서, 상기 질환 또는 병태는 진성 적혈구증가증을 제외한 골수증식성 신생물(myeloproliferative neoplasm: MPN), PDGFRA 재배열을 동반한 골수성/림프성 신생물, PDGFRB 재배열을 동반한 골수성/림프성 신생물, FGFR1 재배열을 동반한 골수성/림프성 신생물, PCM1-JAK2를 동반한 골수성/림프성 신생물, 골수이형성/골수증식성 신생물(MDS/MPN), 골수성 육종, 다운 증후군과 관련된 골수성 증식, 아구성 형질세포양 수지상 세포 신생물, B-림프아구성 백혈병/림프종; 및/또는 T-림프아구성 백혈병/림프종으로부터 선택되는 림프성 신생물을 포함하는, 방법.

청구항 26

제25항에 있어서, 상기 림프성 신생물은 만성 골수성 백혈병(chronic myeloid leukemia: CML), 만성 호중구성 백혈병(chronic neutrophilic leukemia: CNL), 원발성 골수섬유증(primary myelofibrosis: PMF), 본태성 혈소판증가증, 만성 호산구성 백혈병 또는 이들의 조합으로부터 선택되는 골수증식성 신생물인, 방법.

청구항 27

제26항에 있어서, 상기 림프성 신생물은 만성 골수성 백혈병인, 방법.

청구항 28

제25항에 있어서, 상기 림프성 신생물은 골수이형성/골수증식성 신생물 selected from 만성 골수단핵구성 백혈병, 비전형적인 만성 골수성 백혈병(atypical chronic myeloid leukemia: aCML), 소아 골수단핵구성 백혈병(juvenile myelomonocytic leukemia: JMML), 환상 철적혈아구 및 혈소판증가증을 동반한 MDS/MPN(MDS/MPN-RS-T) 또는 이들의 조합인, 방법.

청구항 29

제25항에 있어서, 상기 방법은 림프성 신생물을 갖고 있는 대상체를 식별하는 단계를 더 포함하는, 방법.

청구항 30

제29항에 있어서, 상기 림프성 신생물은 만성 골수단핵구성 백혈병이고, 상기 대상체를 식별하는 단계는 지속적인 말초 혈액 단핵구증가증이 $1\times10^{9}/\ell$ 이상이고, 단핵구가 백혈구(WBC) 감별 계수(differential count)의 10% 이상을 차지하고, PDGFRA, PDGFRB 또는 FGFR1 유전자 및 PCM1-JAK2 융합 유전자의 재배열이 관찰되지 않는 대상

체를 식별하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 31

치료 방법에 사용하기 위한, 제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 제17항에 따른 조성물.

청구항 32

제31항에 있어서, 상기 치료 방법은 IRAK 저해제가 권고되는 질환 또는 병태를 치료하는 방법인, 화합물.

청구항 33

제31항 또는 제32항에 있어서, 상기 질환 또는 병태는 자가면역 질환, 염증성 장애, 심혈관 질환, 신경퇴행성 장애, 알레르기성 장애, 다장기 부전, 신장 질환, 혈소판 응집, 과증식성 장애, 이식, 정자 운동성, 적혈구 결핍증, 이식편 거부, 폐 손상, 호흡기 질환, 허혈 병태, 세균 감염, 바이러스 감염, 면역 조절 장애, 겸상적혈구 질환, 화학적- 또는 방사선 유발 폐 손상, 출혈열 또는 이들의 조합을 포함하는, 화합물.

청구항 34

생체내 치료를 위한 약제의 제조에서의, 제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 제17항에 따른 조성물의 용도.

청구항 35

제34항에 있어서, 상기 약제는 IRAK 저해제가 권고되는 질환 또는 병태를 치료하기 위한 약제인, 용도.

청구항 36

제34항 또는 제35항에 있어서, 상기 질환 또는 병태는 자가면역 질환, 염증성 장애, 심혈관 질환, 신경퇴행성 장애, 알레르기성 장애, 다장기 부전, 신장 질환, 혈소판 응집, 과증식성 장애, 이식, 정자 운동성, 적혈구 결핍증, 이식편 거부, 폐 손상, 호흡기 질환, 허혈 병태, 세균 감염, 바이러스 감염, 면역 조절 장애, 겸상적혈구 질환, 화학적- 또는 방사선 유발 폐 손상, 출혈열 또는 이들의 조합을 포함하는, 용도.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] **관련 출원에 대한 상호참조**

[0002] 본 출원은 2022년 3월 23일자로 출원된 미국 특허 가출원 제63/322,955호의 특허출원일보다 빠른 출원일의 우선권을 주장하며, 이 기초출원은 전체가 참조에 의해 본 명세서에 원용된다.

[0003] **기술분야**

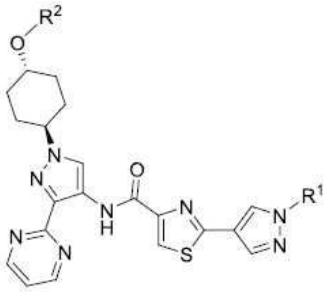
[0004] 본 개시내용은 피라졸 화합물 및 화합물을 제조하는 방법 및 인터류킨 수용체 관련 카이네이스(interleukin receptor-associated kinase: IRAK)를 저해하는 방법 및 IRAK와 관련된 질환 및 병태를 치료하는 방법과 같이 이를 사용하는 방법의 실시형태에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0005] 인터류킨-1 수용체 관련 카이네이스(IRAK)는 톨 유사 수용체(toll-like receptor: TLR) 및 인터류킨-1 수용체(IL-1R) 신호전달 과정과 같은 신호전달 과정의 중요한 매개체이다. IRAK는 염증, 세포자멸사 및 세포 분화를 제어하는 신호전달 네트워크를 조절하는 데 관여한다. 4개의 IRAK 유전자가 인간 게놈(IRAK1, IRAK2, IRAK3 및 IRAK4)에서 식별되었으며, 연구를 통해 별개의 중복되지 않는 생물학적 역할이 밝혀졌다. IRAK1 및 IRAK4는 카이네이스 활성을 보이는 것으로 나타났다.

발명의 내용

[0006] 하기 화학식 I에 따른 구조를 갖는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물의 실시형태가 본 명세서에 개시된다:



화학식 I

[0007]

[0008] 화학식 I과 관련하여, R^1은 H, 지방족, 아실, 헤테로사이클릴, 카복실 에스터, 아마이드, 알킬 포스포라미데이트 또는 알킬 포스페이트, 예컨대, H, 알킬 또는 -알킬OP(O)(OR)$_2$, 예를 들어, -CH(CH_3)OP(O)(OR)$_2$ 또는 -CH_2OP(O)(OR)$_2$이되, 각 OR은 -OH, -O알킬, -O아릴, -O헤테로아릴, -O아르아킬 또는 -O^-M^+이고, M^+는 단일 양전하를 갖는 반대 이온이고, R^2는 C_{1-6}알킬이다. 일부 실시형태에서, R^2는 C_{1-4}알킬이다. 일부 실시형태에서, 화합물은 화학식 II에 따른 구조 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 갖는다.

[0009] 일 실시형태에서, R^1은 H이다. 또 다른 실시형태에서, R^1은 C_{1-6}알킬이다. 추가 실시형태에서, R^1은 -CH_2OP(O)(OR)$_2$이고, -CH_2OP(O)(OH)$_2$, -CH_2OP(O)(OC_{1-6}알킬)$_2$ 또는 -CH_2OP(O)(O^-M^+)$_2$, 예컨대, -CH_2OP(O)(O^-Na^+)$_2$일 수 있다. 추가 실시형태에서, R^1은 -CH(CH_3)OP(O)(OR)$_2$이고, -CH(CH_3)OP(O)(OH)$_2$, -CH(CH_3)OP(O)(OC_{1-6}알킬)$_2$ 또는 -CH(CH_3)OP(O)(O^-M^+)$_2$, 예컨대, -CH(CH_3)OP(O)(O^-Na^+)$_2$일 수 있다.

[0010] 화합물은 유리 염기 형태 또는 염 형태, 예컨대, 공결정 형태, 예를 들어, 타타르산염 공결정 또는 tris염 공결정일 수 있다.

[0011] 또한, 본 명세서에 개시된 화합물 및 약제학적으로 허용 가능한 부형제를 포함하는 약제학적 조성물이 본 명세서에 개시된다.

[0012] IRAK 효소를 저해하는 방법이 본 명세서에 개시된다. 방법은 효소를 유효량의 본 명세서에 개시된 화합물과 접촉시키는 단계를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 효소를 접촉시키는 것은 화합물을 대상체에게 투여하는 것을 포함한다.

[0013] 또한, IRAK 저해제가 권고되는(indicated) 질환 또는 병태에 대해 대상체를 치료하는 방법이 본 명세서에 개시된다. 방법은 유효량의 본 명세서에 개시된 화합물 또는 이의 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 질환 또는 병태는 자가면역 질환, 염증성 장애, 심혈관 질환, 신경퇴행성 장애, 알레르기성 장애, 다장기 부전, 신장 질환, 혈소판 응집, 과증식성 장애, 이식, 정자 운동성, 적혈구 결핍증, 이식편 거부, 폐 손상, 호흡기 질환, 허혈 병태, 세균 감염, 바이러스 감염, 면역 조절 장애 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 질환 또는 병태는 재생 불량성 빈혈, 아토피성 피부염, 농포성 건선, 손발바닥 농포증, 원발성 담관경화증, 농피증, 경화성 담관염, 전신성 소아 특발성 관절염, 화농성 한선염, 사이토카인 방출 증후군 또는 골수이형성 증후군(myelodysplastic syndrome: MDS)을 포함한다.

[0014] 일부 실시형태에서, 질환 또는 병태는 림프성 신생물을 포함한다. 림프성 신생물은 진성 적혈구증가증을 제외한 골수증식성 신생물(myeloproliferative neoplasm: MPN), PDGFRA 재배열을 동반한 골수성/림프성 신생물, PDGFRB 재배열을 동반한 골수성/림프성 신생물, FGFR1 재배열을 동반한 골수성/림프성 신생물, PCM1-JAK2를 동반한 골수성/림프성 신생물, 골수이형성/골수증식성 신생물(MDS/MPN), 골수성 육종, 다운 증후군과 관련된 골수성 증식, 아구성 형질세포양 수지상 세포 신생물, B-림프아구성 백혈병/림프종; 및/또는 T-림프아구성 백혈병/림프종으로부터 선택될 수 있다. 일부 실시형태에서, 림프성 신생물은 만성 골수성 백혈병(chronic myeloid leukemia: CML), 만성 호중구성 백혈병(chronic neutrophilic leukemia: CNL), 원발성 골수섬유증(primary myelofibrosis: PMF), 본태성 혈소판증가증, 만성 호산구성 백혈병 또는 이들의 조합으로부터 선택되는 골수증식성 신생물이다. 소정의 실시형태에서, 림프성 신생물은 만성 골수성 백혈병이다.

[0015] 임의의 실시형태에서, 방법은 림프성 신생물을 갖고 있는 대상체를 식별하는 단계를 더 포함할 수 있다. 소정의 실시형태에서, 림프성 신생물은 만성 골수단핵구성 백혈병이고, 대상체를 식별하는 것은 지속적인 말초 혈액 단핵구증가증이 $1\times10^{9}/\ell$ 이상이고, 단핵구가 백혈구(WBC) 감별 계수(differential count)의 10% 이상을 차지하고, PDGFRA, PDGFRB 또는 FGFR1 유전자 및 PCM1-JAK2 융합 유전자의 재배열이 관찰되지 않는 대상체를 식별하는 것을 포함한다.

[0016] 본 기술의 전술한 그리고 다른 목적, 특징 및 장점은 기술은 다음의 상세한 설명을 통해 더욱 명확해질 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

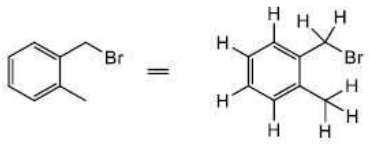
[0017] **I. 정의**

[0018] 이하의 용어 및 방법에 대한 설명은 본 개시내용을 보다 잘 설명하고 당업자가 본 개시내용을 실시하는 데 도움을 주기 위해 제공된다. "단수형"은 문맥상 명확히 달리 지시되지 않는 한 하나 이상을 지칭한다. 용어 "또는"은 문맥상 명확히 달리 표시되지 않는 한 명시된 대체 요소의 단일 요소 또는 두 개 이상의 요소의 조합을 지칭한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "포함하다(comprise)"는 "포함하다(include)를 의미한다". 따라서, "A 또는 B를 포함하는"은 추가적인 요소를 제외하지 않고 "A, B 또는 A와 B를 포함하는"을 의미한다. 본 명세서에 인용된 특허 및 특허 출원을 포함한 모든 참고문헌은 참조에 의해 원용된다.

[0019] 달리 명시되지 않는 한, 명세서 또는 청구범위에서 사용되는 성분의 양, 분자량, 백분율, 온도, 시간 등을 표현하는 모든 숫자는 용어 "약"으로 수식되는 것으로 이해되어야 한다. 따라서, 달리 명시되지 않는 한, 은연중에 또는 명시적으로, 제시된 수치적 매개변수는 목적하는 특성 및/또는 표준 테스트 조건/방법에 따른 검출 한계에 따라 달라질 수 있는 근사치이다. 실시형태를 논의된 선행 기술과 직접적이고 명시적으로 구별할 때, "약"이라는 단어가 언급되지 않는 한 실시형태의 수는 대략적인 것이 아니다.

[0020] 달리 설명하지 않는 한, 본 명세서에서 사용된 모든 기술 및 과학 용어는 본 개시내용이 속하는 기술 분야의 당업자가 일반적으로 이해하는 것과 동일한 의미를 갖는다. 본 명세서에 기재된 것과 유사하거나 동등한 방법 및 물질이 본 개시내용의 실시 또는 테스트에 사용될 수 있지만, 적합한 방법 및 물질이 아래에 기술되어 있다. 물질, 방법 및 예는 단지 설명을 위한 것일 뿐 제한하고자 하는 것은 아니다.

[0021] 화학적 구조를 묘사하거나 기술할 때, 달리 명확히 언급하지 않는 한, 모든 탄소는 각 탄소가 4의 원자가에 일치하도록 수소를 포함하는 것으로 가정된다. 예를 들어, 아래 도식의 왼쪽 구조에는 9개의 수소 원자가 암시되어 있다. 9개의 수소 원자는 오른쪽 구조에 묘사되어 있다.



[0022]

[0023] 때로는 구조의 특정 원자는 수소 또는 수소 원자를 갖는 문자식(textual formula), 예를 들어, $-CH_2CH_2-$로 기술된다. 당업자라면 전술한 기술 기법(descriptive technique)이 유기 구조에 대한 설명을 간결하고 단순하게 하기 위해 화학 분야에서 흔히 사용되는 기법이라는 것을 이해할 것이다.

[0024] 당업자라면 정의를 결합하여 특정 화합물을 더 자세히 설명할 수 있음을 이해할 것이다. 예를 들어, 하이드록시 지방족은 하이드록시(-OH)기로 치환된 지방족기를 지칭하고, 할로알킬아릴은 알킬기로 치환된 아릴기를 지칭하되, 알킬기 역시 할로겐으로 치환되고, 아릴은 치환기의 염기 명칭이기 때문에 모 구조에 대한 부착 지점은 아릴 모이어티를 통해 이루어진다.

[0025] 본 명세서에서 사용되는 용어 "**치환된**"은 용어의 모든 후속 수식어를 지칭하며, 예를 들어, 용어 "치환된 아릴 C_{1-8}알킬"에서 치환은 아릴C_{1-8}알킬기에서 "C_{1-8}알킬" 부분, "아릴" 부분 또는 두 부분 모두에서 발생할 수 있다. 또한, 예로서, 알킬은 치환된 사이클로알킬기를 포함한다.

[0026] "**치환된**"은, 명시된 기 또는 모이어티를 수식하는 데 사용될 때, 명시된 기 또는 모이어티의 수소 원자 중 적어도 하나, 아마도 2개 이상이 독립적으로 아래 정의된 바와 같은 동일하거나 상이한 치환기로 대체된다는 것을 의미한다. 특정 실시형태에서, 기, 모이어티 또는 치환기는 "비치환된" 또는 "치환된"으로 명확하게 정의되지 않는 한 치환 또는 비치환될 수 있다. 따라서, 본 명세서에 명시된 임의의 기는 비치환 또는 치환될 수 있다.

특정 실시형태에서, 치환기는 명확하게 치환된 것으로 정의될 수 있고 그렇지 않을 수도 있지만, 여전히 선택적으로 치환되는 것으로 상정된다. 예를 들어, "알킬" 치환기는 비치환 또는 치환될 수 있지만, "비치환된 알킬"은 치환될 수 없다.

[0027] 일 실시형태에서, 치환된 기는 1개의 치환기, 2개의 치환기, 치환기 또는 4개의 치환기를 갖는다.

[0028] 추가적으로, 기 또는 모이어티가 치환된 치환기로 치환된 실시형태에서, 이러한 치환된 치환기의 중첩(nesting)은 3개로 제한되어 중합체의 형성을 방지한다. 따라서, 첫 번째 기가 두 번째 기의 치환기이고 두 번째 기 자체가 세 번째 기의 치환기인, 모 구조에 부착된 첫 번째 기를 포함하는 기 또는 모이어티에서, 첫 번째(가장 바깥쪽) 기는 비치환된 치환기로만 치환될 수 있다. 예를 들어, -(헤테로아릴-1)-(헤테로아릴-2)-(헤테로아릴-3)을 포함하는 기에서, 헤테로아릴-3은 그 자체로 치환되지 않은 치환기로만 치환될 수 있다.

[0029] "**지방족**"은 **알킬**, **알켄일**, **알킨일기**, 이의 환식 버전, 예컨대, 사이클로알킬, 사이클로알켄일 또는 사이클로알킨일을 포함하며, 직쇄 및 분지쇄 배열과 모든 입체이성질체 및 위치이성질체도 추가로 포함하는 실질적으로 탄화수소 기반 기 또는 모이어티를 지칭한다. 달리 명확히 언급하지 않는 한, 지방족기는 1 내지 25개의 탄소 원자; 예를 들어, 1 내지 15개, 1 내지 10개, 1 내지 6개 또는 1 내지 4개의 탄소 원자를 포함하고, 환식 지방족은 3 내지 25개의 탄소 원자; 예를 들어, 3 내지 15개, 3 내지 10개, 3 내지 6개 또는 3 내지 4개의 탄소 원자를 포함한다.

[0030] "**아실**"은 -C(O)R 기를 지칭하되, R은 H, 지방족, 헤테로지방족, 헤테로환식 또는 아릴이다. 아실 모이어티의 예는 -C(O)H, -C(O)알킬, -C(O)C_1-C_6알킬, -C(O)C_1-C_6할로알킬-C(O)사이클로알킬, -C(O)알켄일, -C(O)사이클로알켄일, -C(O)아릴, -C(O)헤테로아릴 또는 -C(O)헤테로사이클릴을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 구체적인 예는 -C(O)H, -C(O)Me, -C(O)Et 또는 -C(O)사이클로프로필을 포함한다.

[0031] "**알킬**"은 1 내지 25개의 탄소 원자, 전형적으로 1 내지 10개의 탄소 원자, 예컨대, 1 내지 6개의 탄소 원자(C_1-C_6알킬)를 갖는 포화 지방족 하이드로카빌기를 지칭한다. 알킬 모이어티는 치환 또는 비치환될 수 있다. 달리 명시되지 않는 한, 이 용어는 예로서 선형 및 분지형 하이드로카빌기, 사이클로알킬기 및 이들의 조합, 예컨대, -CH_2사이클로프로필기를 포함한다. **사이클로알킬**은 3 내지 15개의 탄소 원자, 전형적으로, 3 내지 8개의 탄소 원자, 3 내지 6개의 탄소 원자 또는 3 내지 4개의 탄소 원자를 갖는 환식 지방족기를 지칭한다. 사이클로알킬기는 단일 고리(예를 들어, 사이클로헥실)일 수 있거나, 융합, 가교 또는 스피로환식 시스템에서와 같이 다중 고리를 포함할 수 있고, 이 중 적어도 하나는 지방족이되, 단, 부착 지점은 사이클로알킬기의 지방족 영역의 원자를 통해 이루어진다. 알킬기의 예는 메틸(CH_3), 에틸(-CH_2CH_3), n-프로필(-$CH_2CH_2CH_3$), 아이소프로필(-$CH(CH_3)_2$), n-뷰틸(-CH_2-$CH_2CH_2CH_3$), 아이소뷰틸(-$CH_2CH_2(CH_3)_2$), sec-뷰틸(-$CH(CH_3)(CH_2CH_3)$), t-뷰틸(-$C(CH_3)_3$), n-펜틸(-$CH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$), 네오펜틸(-$CH_2C(CH_3)_3$), 사이클로프로필, 사이클로프로필, 사이클로뷰틸, 사이클로펜틸, 사이클로헥실, 사이클로헵틸, -CH_2사이클로프로필, -CH_2사이클로뷰틸, -CH_2사이클로펜틸 또는 -CH_2사이클로헥실을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0032] "**아마이드**"는 -N(H)아실 또는 -C(O)아미노기를 지칭한다.

[0033] "**방향성 지방족(araliphatic)**"은 지방족 모이어티를 통해 모체에 부착된 아릴기를 지칭한다. 방향성 지방족은 아르아킬 또는 아릴알킬기, 예컨대, 벤질 및 페닐에틸을 포함한다.

[0034] "**아르아킬**"은 알킬 모이어티를 통해 모체에 부착된 아릴기를 지칭한다. 아르아킬은 벤질 및 페닐에틸과 같은 기를 포함한다.

[0035] "**아릴**"은 달리 명시되지 않는 한 단일 고리(예를 들어, 페닐) 또는 적어도 하나의 고리가 방향족(예를 들어, 나프틸)인 여러 개의 융합 고리를 갖는 5 내지 15개의 고리 원자의 방향족기를 지칭한다. 다중 고리를 가지며 이 중 적어도 하나가 방향족이 아닌 기의 경우, 이러한 기는 화합물의 나머지 부분에 대한 부착 지점이 아릴기의 방향족 부분의 원자를 통해 이루어지는 경우에 한하여 "아릴"로 지칭된다. 아릴기는 단환식, 이환식, 삼환식 또는 사환식일 수 있다. 달리 언급하지 않는 한, 아릴기는 치환 또는 비치환될 수 있다.

[0036] "**카복실**", "**카복시**" 또는 "**카복실레이트**"는 -CO_2H, -$C(O)O^-$ 또는 이들의 염을 지칭한다.

[0037] "**카복실 에스터**" 또는 "**카복시 에스터**"는 -C(O)OR 기를 지칭하되, R은 아릴 및 헤테로아릴을 포함한 지방족, 헤

테로지방족 및 헤테로환식이다.

[0038] "**지환족**"은 단일 고리(예를 들어, 사이클로헥실) 또는 융합, 가교 또는 스피로환식 시스템에서와 같이 다중 고리를 갖는 환식 지방족기를 지칭하며, 이 중 적어도 하나는 지방족이되, 단, 부착 지점은 지환족기의 지방족 영역의 원자를 통해 이루어진다. 지환족은 **사이클로알킬, 사이클로알켄일** 및 **사이클로알킨일**을 포함한 포화 및 불포화 시스템을 포함한다. 지환족기의 예는 사이클로프로필, 사이클로뷰틸, 사이클로펜틸, 사이클로헥실, 사이클로헵틸, 사이클로펜텐일 또는 사이클로헥센일을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0039] "**할로**", "**할라이드**" 또는 "**할로겐**"은 플루오로, 클로로, 브로모 또는 아이오도를 지칭한다.

[0040] "**할로알킬**"은 하나 이상의 할로겐으로 치환된 알킬 모이어티를 지칭한다. 예시적인 할로알킬 모이어티는 CF_3이다.

[0041] "**헤테로사이클릴**" 및 "**헤테로사이클**"은 방향족 및 비방향족 고리 시스템을 지칭하며, 보다 구체적으로 탄소 원자와 적어도 하나, 예컨대, 1 내지 5개의 헤테로원자를 포함하는 안정적인 3 내지 15원 고리 모이어티를 지칭한다. 헤테로사이클릴 모이어티는 단환식 모이어티일 수 있거나, 이환식 또는 삼환식 고리 시스템에서와 같은 다중 고리를 포함할 수 있되, 단, 고리 중 적어도 하나는 헤테로원자를 포함한다. 이러한 다중 고리 모이어티는 융합 또는 가교 고리 시스템뿐만 아니라 스피로환식 시스템을 포함할 수 있고; 헤테로사이클릴 모이어티의 질소, 인, 탄소, 규소 또는 황 원자는 선택적으로 다양한 산화 상태로 산화될 수 있다. 편의상, 특히 환상 방향족 질소로 정의되는 것들에만 해당되는 것은 아니지만, 질소는 특정 예에서 명확하게 정의되지는 않았지만 상응하는 N-산화물 형태를 포함하는 것으로 간주된다. 또한, 환상 질소 원자는 선택적으로 4차화될 수 있다. 헤테로사이클은 **헤테로아릴** 또는 방향족 헤테로사이클릴 모이어티 및 비방향족 헤테로사이클릴 모이어티를 포함하며, 이는 **헤테로사이클로알킬**과 같이 부분적으로 또는 완전히 포화된 헤테로사이클릴 고리이다.

[0042] "**헤테로아릴**"은, 달리 명시되지 않는 한, 적어도 하나의 탄소 원자와 N, S, O, P 또는 Si와 같은 적어도 하나의 헤테로원자를 포함하는 5 내지 15개의 고리 원자의 방향족기 또는 모이어티를 지칭한다. 헤테로아릴기 또는 모이어티는 단일 고리(예를 들어, 피리딘일, 피리미딘일 또는 피라졸릴) 또는 다중 축합 고리(예를 들어, 인돌릴, 벤조피라졸릴 또는 피라졸로피리딘일)을 포함할 수 있다. 헤테로아릴기 또는 모이어티는, 예를 들어, 단환식, 이환식, 삼환식 또는 사환식일 수 있다. 달리 언급하지 않는 한, 헤테로아릴기 또는 모이어티는 치환 또는 비치환될 수 있다.

[0043] "**헤테로사이클로알킬**"은 적어도 하나의 탄소 원자, 전형적으로 복수의 탄소 원자와 적어도 하나, 예컨대, 1 내지 5개의 헤테로원자를 포함하는 안정적인 3 내지 15원 비방향족 고리 모이어티를 지칭한다. 헤테로원자(들)는 질소, 인, 산소, 규소 또는 황 원자(들)일 수 있다. 헤테로사이클로알킬 모이어티는 단환식 모이어티일 수 있거나, 이환식 또는 삼환식 고리 시스템에서와 같이 다중 고리를 포함할 수 있되, 단, 고리 중 적어도 하나는 헤테로원자를 포함한다. 이러한 다중 고리 모이어티는 융합 또는 가교 고리 시스템뿐만 아니라 스피로환식 시스템을 포함할 수 있고; 헤테로사이클로알킬 모이어티의 임의의 질소, 인, 탄소, 규소 또는 황 원자는 명확히 제외되거나 문맥상 제외되지 않는 한 선택적으로 다양한 산화 상태로 산화될 수 있다. 편의상, 특히 환상 방향족 질소로 정의되는 것들에만 해당되는 것은 아니지만, 질소는 특정 예에서 명확하게 정의되지는 않았지만 상응하는 N-산화물 형태를 포함하는 것으로 간주된다. 또한, 환상 질소 원자는 선택적으로 4차화될 수 있다.

[0044] 헤테로사이클로알킬기의 예는 테트라하이드로아이소퀴놀릴, 피페리딘일, 피페라진일, 2-옥소피페라진일, 2-옥소피페리딘일, 피롤리딘일, 4-피페리돈일, 다이하이드로피리딘일, 테트라하이드로피리딘일, 모폴린일, 다이아자바이사이클로헵테인, 다이아자페인, 다이아제핀, 테트라하이드로퓨릴 및 테트라하이드로피란일을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0045] "**포스페이트**"는 $-O-P(O)(OR')_2$기를 지칭하되, 각 -OR'는 독립적으로 -OH, -O-지방족, 예컨대, -O-알킬, -O-아릴 또는 -O-아르아킬이거나, -OR'는 $-O^-M^+$이되, M^+는 본 명세서에 개시된 바와 같은 단일 양전하를 갖는 반대 이온이다. 예를 들어, 각 M^+는 알칼리 이온, 예컨대, K^+, Na^+, Li^+; 암모늄 이온, 예컨대, $^+N(R")_4$일 수 있되, 각 R"는 독립적으로 H, 지방족, 예컨대, 알킬, 하이드록시알킬 또는 이들의 조합, 헤테로사이클릴 또는 아릴; 아미노산, 예컨대, 아르기닌 또는 라이신; 아미노 당, 예컨대, 메글루민; 또는 알칼리 토류 이온, 예컨대, $[Ca^{2+}]_{0.5}$, $[Mg^{2+}]_{0.5}$ 또는 $[Ba^{2+}]_{0.5}$이다. 알킬 포스페이트는 -알킬-포스페이트기, 예컨대, $-CH_2O-P(O)(OR')_2$ 또는

$-CH_2(CH_3)O-P(O)(OR')_2$, 예를 들어, $-CH_2OP(O)(O-$아이소프로필$)_2$, $-CH_2OP(O)(OH)(O-$tert-뷰틸), $-CH_2OP(O)(O-$tert-뷰틸$)_2$, $-CH_2OP(O)(OCH_2OCO_2$아이소프로필$)_2$, $-CH_2OP(O)(OH)_2$ 또는 이의 염, 예컨대, $-CH_2OP(O)(O^-Na^+)_2$, $-CH_2OP(O)(O^-)_2Mg^{2+}$ 또는 $-CH_2OP(O)(OH)(O^-Na^+)$를 지칭한다.

[0046] "**포스포라미데이트**"는 $-O-P(O)(OR')(N(R')_2)$기를 지칭하되, 각 R'는 독립적으로 H, 지방족, 예컨대, 알킬, 아릴 또는 아르아킬이거나, -OR'는 $-O^-M^+$이되, M^+는 본 명세서에 개시된 바와 같이 단일 양전하를 갖는 반대 이온이다. 예를 들어, 각 M^+는 알칼리 이온, 예컨대, K^+, Na^+, Li^+; 암모늄 이온, 예컨대, $^+N(R")_4$, 여기서 각 R"는 독립적으로 H, 지방족, 예컨대, 알킬, 하이드록시알킬 또는 이들의 조합, 헤테로사이클릴 또는 아릴; 아미노산, 예컨대, 아르기닌 또는 라이신; 아미노 당, 예컨대, 메글루민; 또는 알칼리 토류 이온, 예컨대, $[Ca^{2+}]_{0.5}$, $[Mg^{2+}]_{0.5}$ 또는 $[Ba^{2+}]_{0.5}$일 수 있다. 알킬 포스포라미데이트는 -알킬-포스포라미데이트기, 예컨대, 예를 들어, $-CH_2O-P(O)(OR')(N(R'_2))$ 또는 $-CH_2(CH_3)O-P(O)(OR')(N(R'_2))$, 예컨대, $-CH_2OP(O)(O-$페닐$)[NHC(CH_3)CO_2$아이소프로필] 또는 $-CH_2OP(O)(OH)(N(H)$알킬) 또는 이의 염, 예컨대, $-CH_2OP(O)(O^-Na^+)(N(H)$알킬)을 지칭한다.

[0047] "**환자**" 또는 "**대상체**"는 포유동물 및 기타 동물, 특히 인간을 지칭한다. 따라서, 개시된 방법은 인간 치료 및 수의학적 응용 분야 둘 다에 적용 가능하다.

[0048] "**약제학적으로 허용 가능한 부형제**"는 활성 성분의 제형에 포함되는 활성 성분 이외의 물질을 지칭한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 부형제는 약제학적 조성물의 입자 내에 혼입될 수 있거나 약제학적 조성물의 입자와 물리적으로 혼합될 수 있다. 부형제는, 예를 들어, 활성제를 희석하고/하거나 약제학적 조성물의 특성을 변형시키는 데 사용될 수 있다. 부형제는 항부착제, 결합제, 코팅제, 장용 코팅제, 붕해제, 향미료, 감미료, 착색제, 윤활제, 활택제, 흡착제, 방부제, 보조제, 담체 또는 비히클을 포함할 수 있지만 이에 제한되지 않는다. 부형제는 전분 및 변성 전분, 셀룰로스 및 셀룰로스 유도체, 당류 및 이의 유도체, 예컨대, 이당류, 다당류 및 당 알코올, 단백질, 합성 중합체, 가교 중합체, 항산화제, 아미노산 또는 방부제일 수 있다. 예시적인 부형제는 마그네슘 스테아레이트, 스테아르산, 식물성 스테아린, 수크로스, 락토스, 전분, 하이드록시프로필 셀룰로스, 하이드록시프로필 메틸셀룰로스, 자일리톨, 소르비톨, 말티톨, 젤라틴, 폴리바이닐피롤리돈(PVP), 폴리에틸렌글리콜(PEG), 토코페릴 폴리에틸렌 글리콜 1000 석시네이트(바이타민 E TPGS 또는 TPGS로도 알려져 있음), 카복시메틸 셀룰로스, 다이팔미토일 포스파티딜 콜린(DPPC), 바이타민 A, 바이타민 E, 바이타민 C, 레티닐 팔미테이트, 셀레늄, 시스테인, 메티오닌, 시트르산, 소듐 시트레이트, 메틸 파라벤, 프로필 파라벤, 당, 실리카, 활석, 마그네슘 카보네이트, 소듐 전분 글리콜레이트, 타트라진, 아스파탐, 벤잘코늄 클로라이드, 참깨유, 프로필 갈레이트, 소듐 메타바이설파이트 또는 라놀린을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0049] "**보조제**"는 다른 작용제, 전형적으로 활성 성분의 효과를 변형시키는 부형제이다. 보조제는 종종 약리학적 및/또는 면역학적 작용제이다. 보조제는 면역 반응을 증가시킴으로써 활성 성분을 효과를 변형시킬 수 있다. 보조제는 또한 제형에 대한 안정화제의 역할을 할 수 있다. 예시적인 보조제는 알루미늄 하이드록사이드, 명반, 알루미늄 포스페이트, 사멸된 세균, 스쿠알렌, 세제, 사이토카인, 파라핀 오일 및 조합 보조제, 예컨대, 프로인트 완전 보조제 또는 프로인트 불완전 보조제를 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0050] "**약제학적으로 허용 가능한 담체**"는 현탁 보조제, 용해 보조제 또는 에어로졸화 보조제와 같은 담체 또는 비히클인 부형제를 지칭한다. 참조에 의해 본 명세서에 원용되어 있는 문헌[*Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, The University of the Sciences in Philadelphia, Editor, Lippincott, Williams, & Wilkins, Philadelphia, PA, 21st Edition (2005)]은 하나 이상의 치료 조성물 및 추가적인 약제학적 작용제의 약제학적 전달에 적합한 예시적인 조성물 및 제형을 기술하고 있다.

[0051] 일반적으로, 담체의 성질은 사용되는 특정 투여 방식에 따라 달라질 것이다. 예를 들어, 비경구 제형은 일반적으로 비히클로서 물, 생리 식염수, 평형염 용액, 수성 덱스트로스, 글리세롤 등과 같은 약제학적으로 및 생리학적으로 허용 가능한 유체를 포함하는 주사 가능한 유체를 포함한다. 일부 예에서, 약제학적으로 허용 가능한 담체는 대상체에게 투여하기에 적합하도록(예를 들어, 비경구, 근육내 또는 피하 주사) 멸균될 수 있다. 생물학적으로 중성인 담체 외에도, 투여되는 약제학적 조성물은 습윤제 또는 유화제, 방부제 및 pH 완충제 등, 예를 들어, 소듐 아세테이트 또는 소르비탄 모노라우레이트와 같은 소량의 비독성 보조 물질을 포함할 수 있다.

[0052] "**약제학적으로 허용 가능한 염**"은 당업자에게 잘 알려진 바와 같이 다양한 유기 및 무기 반대 이온으로부터 유래되는 화합물의 약제학적으로 허용 가능한 염을 지칭하며, 단지 예로서 소듐, 포타슘, 칼슘, 마그네슘, 암모늄, 테트라알킬암모늄 등을 포함하고; 분자가 염기성 작용기를 포함하는 경우, 하이드로클로라이드, 하이드로브로마이드, 타타레이트, 메실레이트, 아세테이트, 말리에이트, 옥살레이트 등과 같은 유기산 또는 무기산의 염을 포함한다. "약제학적으로 허용 가능한 산 부가염"은 산 파트너에 의해 형성되는 동안 유리 염기의 생물학적 효능을 유지하는 "약제학적으로 허용 가능한 염"의 서브세트이다. 특히, 개시된 화합물은 제한 없이 염산, 브롬화수소산, 황산, 질산, 인산 등과 같은 무기산뿐만 아니라 폼산, 아세트산, 아디프산, 아스파르트산, 트라이플루오로아세트산, 프로피온산, 겐티스산, 글리콜산, 피루브산, 옥살산, 말레산, 말산, 말론산, 석신산, 퓨마르산, 타타르산, 시트르산, 벤조산, 신남산, 만델산, 벤젠 설폰산, 이세티온산, 락트산, 메테인설폰산, 에테인설폰산, 나프탈렌-1,5-다이설폰산, 나프탈렌-2-설폰산, *p*-톨루엔설폰산, 살리실산, 지나포산 등과 같은 유기산을 포함한 다양한 약제학적으로 허용 가능한 산과 염을 형성한다. "약제학적으로 허용 가능한 염기 부가염"은 소듐, 포타슘, 리튬, 암모늄, 칼슘, 마그네슘, 철, 아연, 구리, 망가니즈, 알루미늄 염 등과 같은 무기 염기로부터 유래되는 "약제학적으로 허용 가능한 염"의 서브세트이다. 예시적인 염은 암모늄, 포타슘, 소듐, 칼슘 및 마그네슘 염이다. 약제학적으로 허용 가능한 유기 염기로부터 유래되는 염은 1차, 2차 및 3차 아민, 자연적으로 발생하는 치환된 아민을 포함한 치환된 아민, 환식 아민 및 염기성 이온 교환 수지, 예컨대, 아이소프로필아민, 트라이메틸아민, 다이에틸아민, 트라이에틸아민, 트라이프로필아민, 트리스(하이드록시메틸)아미노메테인(Tris), 에탄올아민, 2-다이메틸아미노에탄올, 2-다이에틸아미노에탄올, 다이사이클로헥실아민, 라이신, 아르기닌, 히스티딘, 카페인, 프로카인, 하이드라바민, 콜린, 베타인, 에틸렌다이아민, 글루코사민, 메틸글루카민, 테오브로민, 퓨린, 피페라진, 피페리딘, *N*-에틸피페리딘, 폴리아민 수지 등의 염을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 예시적인 유기 염기는 아이소프로필아민, 다이에틸아민, 트리스(하이드록시메틸)아미노메테인(Tris), 에탄올아민, 트라이메틸아민, 다이사이클로헥실아민, 콜린 및 카페인이다(예를 들어, 참조에 의해 본 명세서에 원용되어 있는 문헌[S. M. Berge, *et al.*, "Pharmaceutical Salts," J. Pharm. Sci., 1977; 66:1-19] 참조). 특히 개시된 실시형태에서, 피라졸 화합물은 폼에이트 또는 소듐염일 수 있다.

[0053] 화합물 또는 조성물과 관련하여 "**유효량**"은 단백질 또는 효소, 특히 인터류킨-1 수용체 관련 카이네이스를 저해하는 것; 조직, 시스템, 대상체 또는 환자에서 목적하는 생물학적 또는 의학적 반응을 이끌어내는 것; 명시된 장애 또는 질환을 치료 또는 예방하는 것; 하나 이상의 증상을 개선 또는 근절하는 것; 및/또는 질환 또는 장애의 발생을 예방하는 것과 같이 특정한 목적하는 결과를 달성하는 데 충분한 화합물 또는 조성물의 양을 지칭한다. "유효량"을 구성하는 화합물의 양은 화합물, 목적하는 결과, 질환 상태 및 중증도, 치료받을 환자의 연령 등에 따라 달라질 수 있다.

[0054] "**용매화물**"은 용매의 분자와 용질의 분자 또는 이온의 조합에 의해 형성된 복합체를 지칭한다. 용매는 유기 용매, 무기 용매 또는 이 둘의 혼합물일 수 있다. 예시적인 용매는 알코올, 예컨대, 메탄올, 에탄올, 프로판올; 아마이드, 예컨대, N,N-이지방족 아마이드, 예컨대, N,N-다이메틸폼아마이드; 테트라하이드로퓨란; 알킬설폭사이드, 예컨대, 다이메틸설폭사이드; 물; 및 이들의 조합을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 본 명세서에 기재된 화합물은 물, 에탄올 등과 같은 약제학적으로 허용 가능하거나 가능하지 않은 용매와 배합될 경우 비용매화된 형태뿐만 아니라 용매화된 형태로 존재할 수 있다. 본 명세서에 개시된 화합물 용매화된 형태는 본 명세서에 개시된 실시형태의 범위 내에 있다.

[0055] 본 명세서에서 사용되는 "**치료하는**" 또는 "**치료**"는 환자 또는 대상체, 특히 관심 질환 또는 병태가 있는 인간에서 관심 질환 또는 병태의 치료를 의미하며, 예로서 제한 없이 다음을 포함한다:

[0056] (i) 질환 또는 병태를 저해하는 것, 예를 들어, 이의 발생을 멈추거나 늦추는 것;

[0057] (ii) 질환 또는 병태를 완화시키는 것, 예를 들어, 질환 또는 병태 또는 이의 증상의 퇴행을 유발시키는 것; 또는

[0058] (iii) 질환 또는 병태를 안정화시키는 것.

[0059] 본 명세서에서 사용되는 "**예방하는**"은 환자 또는 대상체가 병태에 대한 소인이 있지만 아직 이를 갖는 것으로 진단받지 않은 경우, 이러한 환자 또는 대상체에서 질환 또는 병태가 발생하는 것을 예방하는 것을 의미한다.

[0060] 본 명세서에서 사용되는 용어 "질환", "장애" 및 "병태"는 상호교환적으로 사용될 수 있거나, 특정 병(malady) 또는 병태에 알려진 원인 인자가 없을 수 있으므로(따라서 병인이 아직 결정되지 않음) 아직 질환으로 인식되지 않고 임상의가 대략 구체적인 일련의 증상을 식별한 바람직하지 않은 병태 또는 증후군으로만 인식될 수 있다는

점에서 상이할 수 있다.

[0061] 위의 정의 및 다음 일반식은 허용되지 않는 치환 패턴(예를 들어, 5개의 플루오로기로 치환된 메틸)을 포함하도록 의도되지 않는다. 이러한 허용되지 않는 치환 패턴은 당업자라면 쉽게 인식할 수 있다.

[0062] 본 명세서에 언급된 임의의 기는 선택적으로 본 명세서에 정의된 바와 같은 적어도 1개, 가능한 경우 2개 이상의 치환기로 치환될 수 있다. 즉, 치환된 기는 문맥상 달리 명시되어 있지 않거나 특정 구조식으로 인해 치환이 불가능한 경우가 아니면 본 명세서에 정의된 바와 같은 치환기 또는 치환기들로 대체된 적어도 1개, 가능한 경우 2개 이상의 치환 가능한 수소를 갖는다.

[0063] 당업자라면 화합물이 호변이성질성 현상, 형태 이성질 현상, 기하 이성질 현상 및/또는 광학 이성질 현상을 나타낼 수 있다는 것을 이해할 것이다. 예를 들어, 소정의 개시된 화합물은 하나 이상의 카이랄 중심 및/또는 이중 결합을 포함할 수 있고, 그 결과 입체이성질체, 예컨대, 이중 결합 이성질체(즉, 기하이성질체), 거울상이성질체, 부분입체이성질체 및 이들의 혼합물, 예컨대, 라세미 혼합물로 존재할 수 있다. 또 다른 예로서, 소정의 개시된 화합물은 에놀 형태, 케토 형태 및 이들의 혼합물을 포함한 여러 가지 호변이성질체 형태로 존재할 수 있다. 명세서 및 청구범위 내의 다양한 화합물명, 화학식 및 화합물 도면은 가능한 호변이성질체, 형태이성질체, 광학이성질체 또는 기하이성질체 형태 중 하나만을 나타낼 수 있으므로, 개시된 화합물은 본 명세서에 기재된 화합물의 임의의 호변이성질체, 형태이성질체, 광학이성질체 및/또는 기하이성질체 형태뿐만 아니라 이러한 다양한 상이한 이성질체 형태의 혼합물을 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 회전이 제한된 경우, 예를 들어, 아마이드 결합 주변 또는 피라졸 및 피리딘일 고리와 같은 두 개의 직접 부착된 고리 사이, 아트로프이성질체(atropisomer)도 가능하며, 이 또한 본 개시내용의 화합물에 구체적으로 포함된다.

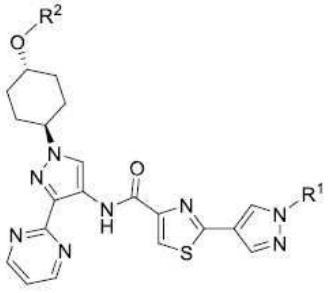
[0064] 본 명세서에 개시된 화합물의 특정 예는 하나 이상의 비대칭 중심을 포함하므로; 이들 화합물은 상이한 입체이성질체 형태로 존재할 수 있다. 따라서, 화합물 및 조성물은 개별적인 순수한 거울상이성질체 또는 부분입체이성질체, 또는 라세미 혼합물을 포함한 입체이성질체 혼합물로서 제공될 수 있다. 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 화합물은 순수한 거울상 형태(enantiopure)와 같이 적어도 90%의 거울상이성질체 과잉, 95%의 거울상이성질체 과잉, 97%의 거울상이성질체 과잉, 98%의 거울상이성질체 과잉, 99%의 거울상이성질체 과잉, 99.5%의 거울상이성질체 과잉 또는 99.5% 초과의 거울상이성질체 과잉과 같은 실질적으로 순수한 거울상 형태로 합성되거나 정제된다.

[0065] 임의의 실시형태에서, 화합물 또는 화합물 내의 특정 기 또는 모이어티에 존재하는 모든 수소는 중수소 또는 삼중수소로 대체될 수 있다. 따라서, 알킬의 기재(recitation)는 중수소화된 알킬을 포함하되, 1개에서 최대 개수의 수소가 중수소로 대체될 수 있다. 예를 들어, 에틸은 C_2H_5 또는 C_2H_5일 수 있되, 1 내지 5개의 수소가 중수소로 대체된다.

[0066] **II. 화합물**

[0067] 화합물, 화합물의 제조 방법 및 화합물의 사용 방법이 본 명세서에 개시된다. 일 실시형태에서, 개시된 화합물은 카이네이스 저해제, 특히 타이로신 카이네이스 저해제이다. 특정 실시형태에서, 화합물은 IL-17 신호전달 경로와 같은 하나 이상의 사이토카인 신호전달 경로를 차단하는 데 유용하다. 소정의 실시형태의 경우, 개시된 화합물은 인터류킨-1 수용체 관련 카이네이스(IRAK) 경로의 저해가 치료적으로 유용한 병태를 치료하는 데 유용하다. 일부 실시형태에서, 화합물은 IRAK1, IRAK2, IRAK3 및/또는 IRAK4와 같은 IRAK 단백질을 직접 저해한다.

[0068] 본 개시내용의 범위 내의 예시적인 화합물은 하기 일반식 I,



화학식 I

[0069]

[0070] 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 갖는다.

[0071] 화학식 I과 관련하여, R^1은 H, 지방족, 아실, 헤테로사이클릴, 카복실 에스터, 아마이드, 알킬 포스포라미데이트 또는 알킬 포스페이트이다. 일부 실시형태에서, R^1은 H가 아니거나, 대안적으로 R^1은 수소이다. R^1이 수소인 경우, 화합물은 유리 염기 또는 염의 형태일 수 있다. 다른 실시형태에서, R^1은 알킬, 아실, 카복실 에스터, 아마이드, 비방향족 헤테로사이클릴, 알킬 포스포라미데이트 또는 알킬 포스페이트이다. 당업자는 R^1이 H가 아닌 화합물이, 예를 들어, 대상체에게 투여될 때 R^1이 H인 화합물의 프로드러그로 작용할 수 있음을 알고 있다.

[0072] R^2는 C_{1-6}알킬, 예컨대, C_{1-4}알킬이다.

[0073] 일부 실시형태에서, R^2는 에틸이다.

[0074] 일부 실시형태에서, R^1은 H, C_{1-4}알킬 포스페이트, C_{1-4}알킬 포스포라미데이트, C_{1-6}알킬, C_{1-6}아실, $-C(O)O-C_{1-6}$지방족, $-C(O)N(R^b)_2$ 또는 5- 또는 6원 비방향족 헤테로사이클릴이지만, 소정의 실시형태에서, R^1은 H가 아니거나 R^1은 H이고, 화합물은 염이다.

[0075] R^1 모이어티와 관련하여, C_{1-6}알킬 모이어티는 비치환된 수 있거나, 예컨대, 5- 또는 6원 비방향족 헤테로사이클릴, OH, $-OC(O)-R^a$, $-N(R^b)_2$, $-OC(O)-R^c$, 카복실 또는 이들의 조합으로 치환될 수 있거나;

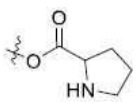
[0076] C_{1-6}아실 모이어티는 비치환된 수 있거나, $-C(O)O-C_{1-4}$알킬, $-C(O)O-C_{1-4}$알킬$-N(R^b)_2$, $N(R^b)_2$, $-NHC(O)C_{1-4}$알킬 또는 이들의 조합으로 치환될 수 있거나;

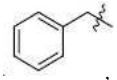
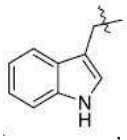
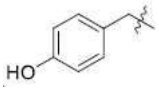
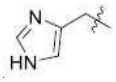
[0077] 5- 또는 6원 헤테로사이클릴 모이어티는 5- 또는 6원 산소 함유 헤테로사이클릴일 수 있고/있거나 하이드록실, 하이드록시메틸 또는 이들의 조합으로 치환될 수 있거나; 또는

[0078] $-C(O)O-C_{1-6}$지방족은 $-OC(O)C_{1-4}$알킬 또는 $N(R^b)_2$로 선택적으로 치환된 $-C(O)O-C_{1-6}$알킬일 수 있거나, $-C(O)O-C_{1-6}$지방족은 C_{1-4}알킬로 선택적으로 치환된 $-C(O)O-C_{3-6}$사이클로알킬일 수 있다.

[0079] 임의의 실시형태에서, 각각의 R^a는 독립적으로 5원 비방향족 헤테로사이클릴, $-CH_2N(R^b)_2$로 치환된 아릴, 카복실로 치환된 C_{3-6}사이클로알킬, C_{1-6}알콕시, 비치환된 C_{1-6}알킬 또는 $N(R^b)_2$, 카복실, 카복실 에스터, $-OC_{1-6}$아실, $-NHC(O)(NH_2)C_{1-6}$알킬 또는 $-(OCH_2CH_2)_{1-8}N(R^b)_2$ 중 1개 이상, 예컨대, 1, 2 또는 3개로 치환된 C_{1-6}알킬이고;

[0080] 각각의 R^b는 독립적으로 H, 비치환된 C_{1-6}알킬, $-N(R^g)_2$로 치환된 C_{1-6}알킬, 카복실 에스터 또는 5- 또는 6원 비방향족 헤테로사이클릴이거나, 2개의 R^b는 이들이 부착된 질소와 함께 선택적으로 1개 또는 2개의 -O- 또는 $-N(R^g)$로 중단된 C_{3-6}비방향족 헤테로사이클릴 모이어티를 형성하되, R^g는 H 또는 C_{1-4}알킬이고; 그리고

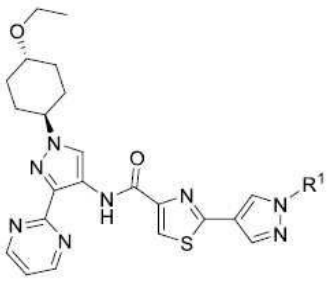
[0081] $-OC(O)-R^c$는 $-OC(O)-R^c$의 -OC(O)- 모이어티가 아미노산의 산 모이어티에 해당하며 R^c가 $-N(R^b)_2$ 또는 질소 함유 비방향족 헤테로사이클릴, 예컨대, 5- 또는 6원 불포화 질소 함유 헤테로사이클릴, 예를 들어, 피롤리딘일을 포함하는 아미노산으로부터 유래된다. 아미노산은 자연적으로 발생하는 아미노산과 같은 임의의 아미노산일 수 있고, 글리신, 발린, 알라닌, 류신, 아이소류신, 메티오닌, 페닐알라닌, 트립토판, 타이로신, 세린, 트레오닌, 아스파라긴, 글루타민, 아르기닌, 히스티딘, 라이신, 아스파르트산, 글루탐산, 시스테인 또는 프롤린으로부터 선택되는 아미노산일 수 있다. 당업자라면 아미노산이 하나 이상의 카이랄 중심을 포함하는 경우, 모든 거울상이성질체, 부분입체이성질체 및/또는 이들의 혼합물이 상정된다는 것을 이해할 것이다. 예를 들어, 아미노산은 L-아미노산, D-아미노산 또는 이들의 혼합물일 수 있다. 일부 실시형태에서, 아미노산은 L-아미노산이다. 소정의 실시형태에서, $-OC(O)-R^c$는 $-OC(O)CH(NH_2)R^d$,  또는 $-OC(O)-(CH_2)_{1-2}C(NH_2)CO_2H$이되, R^d는 아미노산 측

쇄이고/이거나 H, $-CH_3$, 아이소프로필, $-CH_2CH(CH_3)_2$, $-CH(CH_3)Et$, $-CH_2CH_2SCH_3$, , , , $-CH_2OH$, $-CH(OH)CH_3$, $-CH_2C(O)NH_2$, $-CH_2CH_2C(O)NH_2$, $-CH_2SH$, $-CH_2CH_2CH_2NHC(O)(NH)NH_2$, , $-CH_2CH_2CH_2CH_2NH_2$, $-CH_2CO_2H$ 또는 $CH_2CH_2CO_2H$일 수 있다.

[0082] 일부 실시형태에서, R^1은 H, 알킬 또는 -알킬$OP(O)(OR)_2$이되, 각 OR은 독립적으로 -OH, -O알킬, -O아릴, -O헤테로아릴, -O아르아킬 또는 $-O^-M^+$이고, M^+는 단일 양전하를 갖는 반대 이온이다. 각각의 OR은 독립적으로 -OH, $-O(C_{1-6}$알킬), $-OC_6$아릴, -O(3 내지 15원 헤테로아릴), $-OC_7$아르아킬 또는 $-O^-M^+$일 수 있다. 그리고, 일부 실시형태에서, 2개의 OR 모이어티는 상이하지만, 다른 실시형태에서, 2개의 OR 모이어티는 동일하다.

[0083] 일부 실시형태에서, R^1은 H, C_{1-6}알킬 또는 $-C_{1-4}$알킬$OP(O)(OR)_2$, 예컨대, H, C_{1-6}알킬, $-CH_2OP(O)(OR)_2$ 또는 $-CH(CH_3)OP(O)(OR)_2$이고, 소정의 실시형태에서, R^1은 H, C_{1-6}알킬 또는 $-CH_2OP(O)(OR)_2$이다.

[0084] 특정 실시형태에서, 화합물은 하기 화학식 II에 따른 구조 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 갖는다.

[0085] 

화학식 II

[0086] 화학식 II와 관련하여, R^1은 이전에 화학식 I에 대해 정의된 것이다.

[0087] 화학식 I 및 II의 일부 실시형태에서, R^1은 H이다.

[0088] 화학식 I 및 II의 다른 실시형태에서, R^1은 알킬, 예컨대, C_{1-6}알킬, C_{1-4}알킬이거나, 메틸 또는 에틸일 수 있다.

[0089] 화학식 I 및 II의 일부 다른 실시형태에서, R^1은 -알킬$OP(O)(OR)_2$, 예컨대, $-C_{1-4}$알킬$OP(O)(OR)_2$이고, $-CH_2OP(O)(OR)_2$ 또는 $-CH(CH_3)OP(O)(OR)_2$일 수 있다.

[0090] 일부 실시형태에서, R^1은 $-CH_2OP(O)(OR)_2$이다. 일 실시형태에서, R^1은 $-CH_2OP(O)(OH)_2$이다. 또 다른 실시형태에서, R^1은 $-CH_2OP(O)(OH)(O^-M^+)$이다. 또 다른 실시형태에서, R^1은 $-CH_2OP(O)(O^-M^+)_2$이고, $-CH_2OP(O)(O^-Na^+)_2$일 수 있다. 그리고 또 다른 실시형태에서, R^2는 $-CH_2OP(O)(OC_{1-6}$알킬$)_2$이다.

[0091] 화학식 I 및 II의 일부 실시형태에서, R^1은 $-CH(CH_3)OP(O)(OR)_2$이다. 일 실시형태에서, R^1은 $-CH(CH_3)OP(O)(OH)_2$이다. 또 다른 실시형태에서, R^1은 $-CH(CH_3)OP(O)(OH)(O^-M^+)$이다. 또 다른 실시형태에서, R^1은 $-CH(CH_3)OP(O)(O^-$

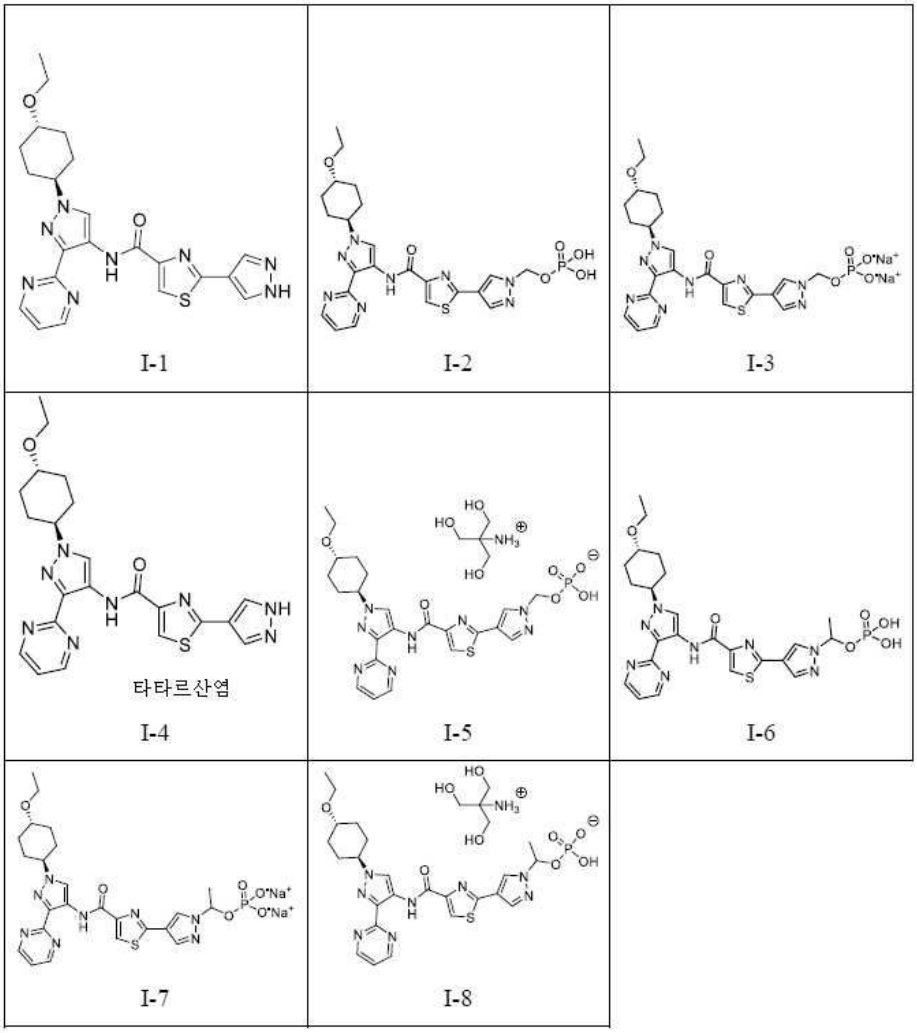
$M^+)_2$이고, $-CH(CH_3)OP(O)(O^-Na^+)_2$일 수 있다. 그리고 또 다른 실시형태에서, R^2는 $-CH(CH_3)OP(O)(OC_{1-6}$알킬$)_2$이다.

[0092] 본 명세서에 개시된 일 실시형태에서, 화합물은 IRAK 저해성 모이어티 및 생체내 IRAK 저해성 모이어티를 방출하거나 전달하기 위한 수단을 포함한다. 예로서, 일부 실시형태에서, R^1이 H가 아닌 경우, R^1은 본 명세서에 개시된 화합물 I-1과 같은 IRAK 저해제를 전달하기 위한 수단을 포함한다. 이러한 수단을 포함하는 화학식 I 및 II의 예시적인 실시형태는 본 명세서에 개시된 화학식 및 작업예를 고려하면 당업자에게 쉽게 명확해질 것이다. 예로서, IRAK 저해성 모이어티를 전달하기 위한 수단을 포함하는 화학식 I 및 II의 실시형태는 제한 없이 화합물 I-2, I-3, I-6, I-7 및 I-8을 포함한다.

[0093] 임의의 실시형태에서, 화합물은 유리 염기 형태일 수 있거나, 염일 수 있다. 일부 실시형태에서, 염은 본 명세서에 정의된 산 부가염과 같지만 이에 제한되지 않는 산 부가염이다. 특정 실시형태에서, 화합물은 타타르산염이다.

[0094] 다른 실시형태에서, 화합물은 본 명세서에 정의된 염 부가염과 같지만 이에 제한되지 않는 염 부가염의 형태이다. 일부 실시형태에서, 화합물은 다이소듐염 또는 tris염과 같은 소듐염이다.

[0095] 화학식 I에 따른 예시적인 화합물은 다음을 포함하지만 이에 제한되지 않는다:



[0096]

[0097] 화학식 1에 따른 일부 예시적인 화합물은 다음을 포함한다:

[0098] I-1: N-(1-((1r,4r)-4-에톡시사이클로헥실)-3-(피리미딘-2-일)-1H-피라졸-4-일)-2-(1H-피라졸-4-일)티아졸-4-카복사마이드;

[0099] I-2: (4-(4-((1-((1r,4r)-4-에톡시사이클로헥실)-3-(피리미딘-2-일)-1H-피라졸-4-일)카바모일)티아졸-2-일)-1H-피라졸-1-일)메틸 다이하이드로겐 포스페이트;

[0100] I-3:
소듐(4-(4-((1-((1r,4r)-4-에톡시사이클로헥실)-3-(피리미딘-2-일)-1H-피라졸-4-일)카바모일)티아졸-2-일)-1H-피라졸-1-일)메틸 포스페이트;

[0101] I-4: N-(1-((1r,4r)-4-에톡시사이클로헥실)-3-(피리미딘-2-일)-1H-피라졸-4-일)-2-(1H-피라졸-4-일)티아졸-4-카복사마이드 타타르산염;

[0102] I-5: (4-(4-((1-((1r,4r)-4-에톡시사이클로헥실)-3-(피리미딘-2-일)-1H-피라졸-4-일)카바모일)티아졸-2-일)-1H-피라졸-1-일)메틸 하이드로겐 포스페이트 1,3-다이하이드록시-2-(하이드록시메틸)프로판-2-아미늄(tris염);

[0103] I-6: 1-(4-(4-((1-((1r,4r)-4-에톡시사이클로헥실)-3-(피리미딘-2-일)-1H-피라졸-4-일)카바모일)티아졸-2-일)-1H-피라졸-1-일)에틸 다이하이드로겐 포스페이트;

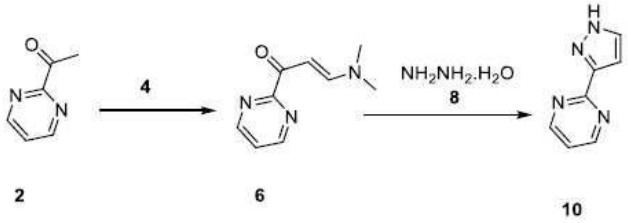
[0104] I-7: 소듐 1-(4-(4-((1-((1r,4r)-4-에톡시사이클로헥실)-3-(피리미딘-2-일)-1H-피라졸-4-일)카바모일)티아졸-2-일)-1H-피라졸-1-일)에틸 포스페이트; 또는

[0105] I-8: 1-(4-(4-((1-((1r,4r)-4-에톡시사이클로헥실)-3-(피리미딘-2-일)-1H-피라졸-4-일)카바모일)티아졸-2-일)-1H-피라졸-1-일)에틸 하이드로겐 포스페이트 1,3-다이하이드록시-2-(하이드록시메틸)프로판-2-아미늄(tris염).

[0106] 일부 실시형태에서, 화학식 I 및 II 중 어느 하나에 따른 화합물 또는 이의 염은 다른 IRAK 저해제에 비해 적어도 하나의 개선된 특성을 갖는다. 하나 이상의 개선된 특성은 녹는점, 유리 전이 온도, 유동성 및/또는 안정성, 예컨대, 열 안정성, 기계적 안정성, 저장 수명, 다형 전이에 대한 안정성 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는 물리적 특성; 흡습성, 물 및/또는 유기 용매에 대한 용해성, 반응성, 부형제 및/또는 전달 비히클과의 적합성과 같지만 이에 제한되지 않는 화학적 특성; 및/또는 생체이용률, 흡수, 분포, 대사, 배설, 세포독성을 포함한 독성, 용해 속도, 선택성, 예컨대, 다른 IRAK 단백질에 대한 하나의 IRAK 단백질에 대한 선택성, 활성 및/또는 반감기와 같지만 이에 제한되지 않는 약동학적 특성을 포함할 수 있지만 이에 제한되지 않는다.

[0107] **III. 합성**

[0108] 개시된 피라졸 화합물은 아래 예시된 바와 같이 제조될 수 있고, 유기 합성 분야의 당업자라면 이를 이해할 것이다. 반응식 1에 따른 예시적인 합성은 다음의 첫 번째 반응 단계를 포함할 수 있다:

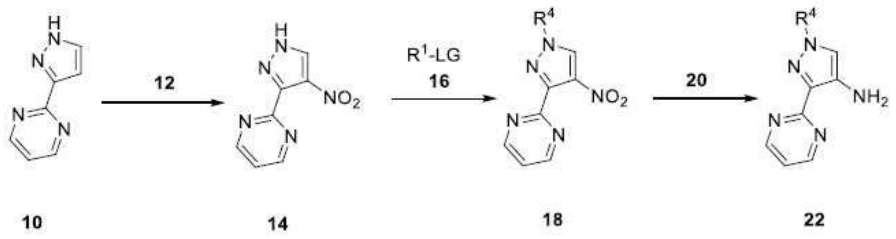


반응식 1

[0109]

[0110] 아세틸 화합물(2)는 반응을 촉진시키는 데 적합한 온도에서 다이메틸폼아마이드 다이메틸아세탈(4)과 반응하여 중간체 화합물(6)을 형성한다. 적합한 온도는 전형적으로 85℃ 내지 130℃이다. 그런 다음, 중간체 화합물(6)은 하이드라진 수화물(8)과 반응하여 피라졸 화합물(10)을 형성한다. 반응은 적합한 용매, 예를 들어, 에탄올, 메탄올 또는 아이소프로판올과 같은 알코올에서 수행되고, 전형적으로 환류시키는 것과 같이 가열된다.

[0111] 반응식 2에 따른 예시적인 합성의 두 번째 반응 단계가 아래에 제공된다:



반응식 2

[0112]

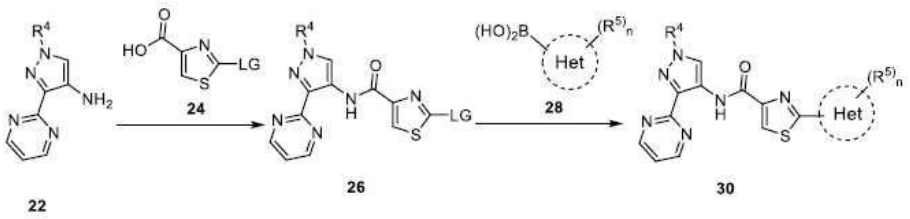
[0113] 화합물(10)은 적합한 나이트로화 시약 또는 시약의 혼합물(12)을 사용하여 질산화되어 화합물(14)을 형성한다.

적합한 나이트로화 조건은 선택적으로 황산의 존재하에 화합물(10)을 발연 질산과 같은 질산과 반응시키는 것을 포함한다. 전형적으로, 화합물(10) 및 질산은 서로 천천히 첨가된다. 얼음조에 의한 것과 같은 냉각은 반응 온도를 약 0℃ 내지 50℃ 미만, 0℃ 내지 20℃ 또는 0℃ 내지 10℃와 같은 적합한 범위 내로 유지시키는 데 사용될 수 있다. 첨가가 완료된 후, 반응은 반응이 실질적으로 완료될 때까지 진행되고, 반응을 촉진시키기 위해 실온으로 가온될 수 있다. 선택적으로, 반응 진행이 완료되도록 촉진시키기 위해 추가적인 나이트로화 시약 또는 나이트로화 시약의 혼합물이 첨가될 수 있다. 그런 다음, 반응은, 예컨대, 물 및/또는 얼음의 첨가에 의해 중단되고, 필요한 경우 생성물이 수용액으로부터 분리되거나 추출되고, 정제된다. 본 명세서에 개시된 임의의 반응으로부터 생성물을 정제하는 데 적합한 정제 기법은 결정화, 증류 및/또는 크로마토그래피를 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0114] 반응식 2를 계속해서 참조하면, 화합물(14)은 이후 화합물(16)과 반응하여 화합물(18)을 형성한다. 화합물(16)은 목적하는 R^1 모이어티와 적합한 이탈기인 LG를 포함한다. 적합한 이탈기는 화합물(14)에 R^1 모이어티를 첨가하는 것을 용이하게 하기 위해 이탈기 역할을 하는 임의의 기를 포함한다. 적합한 이탈기는 할로겐, 전형적으로 브로모, 클로로 또는 아이오도 및 토실레이트 또는 메실레이트기를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 화합물(14)은 적합한 용매에서 전형적으로 염기의 존재하에 화합물(16)과 반응한다. 적합한 용매는 비양자성 용매와 같이 반응을 촉진시키는 임의의 용매를 포함한다. 적합한 용매는 DMF, THF, DMSO, 아세토나이트릴, 클로린화 용매, 예컨대, 다이클로로메테인 및 클로로폼, DMA, 다이옥세인, N-메틸 피롤리돈 또는 이들의 조합을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 적합한 염기는 하이드라이드, 전형적으로 소듐 하이드라이드 또는 카보네이트, 예컨대, 포타슘 카보네이트, 소듐 카보네이트 또는 세슘 카보네이트와 같이 반응을 촉진시킬 수 있는 임의의 염기를 포함한다. 반응은 필요에 따라 50℃, 100℃ 이상과 같이 가열될 수 있거나, 반응은 실온에서 진행될 수 있다. 그런 다음, 화합물(18)은 반응 혼합물로부터 단리되고, 필요한 경우 정제된다.

[0115] 그런 다음, 화합물(18)은 나이트로 모이어티를 아민으로 환원시키는 데 적합한 환원제(20)와 반응한다. 적합한 환원제는 팔라듐 촉매와 같은 촉매의 존재하에 있는 수소 가스; 선택적으로 니켈 촉매와 같은 촉매의 존재하에 있는 소듐 보로하이드라이드와 같은 보로하이드라이드; 아세트산 중 아연 금속; 또는 물 또는 물과 산 중 철 분말을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 소정의 실시형태에서, 탄소 담지 팔라듐 촉매(palladium on carbon catalyst)의 존재하에 에틸 아세테이트 또는 메탄올과 같은 적합한 용매에서 수소 가스가 사용된다. 일부 실시형태에서, 환원제 및/또는 기법의 조합이 사용된다. 예를 들어, 환원은 처음에 첫 번째 환원제 및/또는 기법을 포함하는 첫 번째 방법을 사용하여 수행될 수 있지만, 결과적으로 생성물의 혼합물이 생성된다. 첫 번째 방법이 반복될 수 있고/있거나 두 번째 환원제 및/또는 기법을 포함하는 두 번째 방법이 수행될 수 있다. LC-MS, TLC 또는 HPLC와 같은 분석 기법에 의해 나타나는 바와 같이 반응이 완료되면, 생성물인 화합물(22)은 단리되고, 필요한 경우 정제된다.

[0116] 반응식 3에 따른 예시적인 반응 순서의 세 번째 단계가 아래에 제공된다:



반응식 3

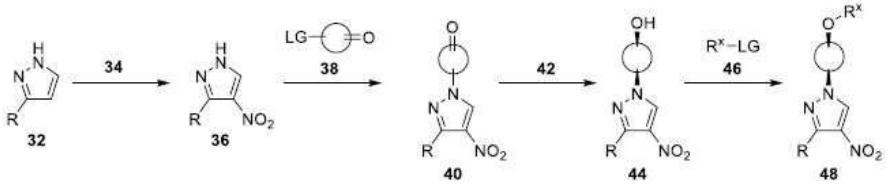
[0117]

[0118] 화합물(22)은 카복실산(24)과 반응하여 화합물(26)을 형성한다. 카복실산(24)은 임의의 적합한 방법에 의해 활성화된 다음, 화합물(22)의 아민과 반응한다. 적합한 활성화 방법은 티오닐 클로라이드로 처리하는 것; 1-[비스(다이메틸아미노)메틸렌]-1H-1,2,3-트라이아졸로[4,5-b]피리디늄 3-옥시드 헥사플루오로포스페이트(HATU) 및 다이아이소프로필에틸아민(DIPEA)과 같은 염기로 처리하는 것; 카보닐다이이미다졸(CDI)로 처리하는 것; 또는 다이사이클로헥실카보다이이미드(DCC) 또는 1-에틸-3-(3-다이메틸아미노프로필)카보다이이미드(EDC)와 같은 카보다이이미드로 처리하는 것에 의해 산 염화물을 형성하는 것을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0119] 그런 다음, 화합물(26)은 두 개의 고리 사이에 결합을 형성하기에 적합한 임의의 커플링 반응을 사용하여 화합물(28)과 커플링되어 화합물(30)을 형성한다. 위의 실시예에서, 보론산 커플링이 표시되어 있으며, 여기서 화합물(26)의 이탈기인 LG는 전형적으로 브로모 또는 아이오도이다. 다른 적합한 커플링 작용기는 트라이알킬 주석

또는 보론산 에스터를 포함한다. 커플링 반응은 전형적으로 적합한 촉매의 존재하에 진행된다. 보론산 커플링의 경우, 촉매는 전형적으로 $PdCl_2(dppf)_2$, $Pd[P(Ph)_3]_2Cl_2$, 팔라듐 아세테이트 및 트라이페닐 포스핀 또는 테트라키스(트라이페닐포스핀)팔라듐(0)과 같은 팔라듐 촉매이다. 반응은 소듐, 포타슘 또는 세슘 카보네이트와 같은 염기의 존재하에 수행되고, 다이옥세인, 다이옥세인/물 또는 DME/에탄올/물과 같은 적합한 용매 또는 용매 혼합물에서 수행된다. 반응은 반응 진행이 완료되도록 촉진시키기 위해 50℃ 내지 125℃, 전형적으로 약 100℃와 같은 적합한 온도에서 가열되고/되거나 1시간 내지 3일, 6시간 내지 24시간 또는 12시간 내지 18시간과 같은 적합한 시간 동안 교반될 수 있다. 그런 다음, 화합물(30)은 반응 혼합물로부터 단리되고, 적합한 기법에 의해 정제된다.

[0120] 반응식 4에 따른 대안적인 예시적인 합성은 다음의 첫 번째 반응 단계를 포함할 수 있다:



반응식 4

[0121]

[0122] 화합물(32)은 적합한 나이트로화 시약 또는 시약의 혼합물(34)을 사용하여 질산화되어 화합물(36)을 형성한다. 적합한 나이트로화 조건은 선택적으로 황산의 존재하에 화합물(32)을 발연 질산과 같은 질산과 반응시키는 것을 포함한다. 전형적으로, 화합물(32) 및 질산은 서로 천천히 첨가된다. 얼음조에 의한 것과 같은 냉각은 반응 온도를 약 0℃ 내지 50℃ 미만, 0℃ 내지 20℃ 또는 0℃ 내지 10℃와 같은 적합한 범위 내로 유지시키는 데 사용될 수 있다. 첨가가 완료된 후, 반응은 반응이 실질적으로 완료될 때까지 진행되고, 반응을 촉진시키기 위해 실온으로 가온될 수 있다. 선택적으로, 반응 진행이 완료되도록 촉진시키기 위해 추가적인 나이트로화 시약 또는 나이트로화 시약의 혼합물이 첨가될 수 있다. 그런 다음, 반응은, 예컨대, 물 및/또는 얼음의 첨가에 의해 중단되고, 필요한 경우 생성물이 수용액으로부터 분리되거나 추출되고, 정제된다. 본 명세서에 개시된 임의의 반응으로부터 생성물을 정제하는 데 적합한 정제 기법은 결정화, 증류 및/또는 크로마토그래피를 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

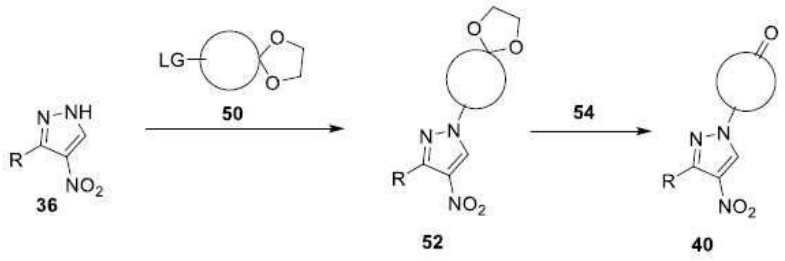
[0123] 반응식 4를 계속 참조하면, 화합물(36)은 이후 화합물(38)과 반응하여 화합물(40)을 형성한다. 화합물(38)은 사이클로뷰틸, 사이클로펜틸 또는 사이클로헥실 고리와 같은 목적하는 고리와 적합한 이탈기인 LG를 포함한다. 적합한 이탈기는 화합물(36)에 고리를 첨가하는 것을 용이하게 하기 위해 이탈기 역할을 하는 임의의 기를 포함한다. 적합한 이탈기는 할로겐, 전형적으로 브로모, 클로로 또는 아이오도 및 토실레이트 또는 메실레이트기를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 화합물(36)은 적합한 용매에서 전형적으로 염기의 존재하에 화합물(38)과 반응한다. 적합한 용매는 비양자성 용매와 같이 반응을 촉진시키는 임의의 용매를 포함한다. 적합한 용매는 DMF, THF, DMSO, 아세토나이트릴, 클로린화 용매 예컨대, 다이클로로메테인 및 클로로폼, DMA, 다이옥세인, N-메틸피롤리돈 또는 이들의 조합을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 적합한 염기는 하이드라이드, 전형적으로 소듐 하이드라이드 또는 카보네이트, 예컨대, 포타슘 카보네이트, 소듐 카보네이트 또는 세슘 카보네이트와 같이 반응을 촉진시킬 수 있는 임의의 염기를 포함한다. 반응은 필요에 따라 50℃, 100℃ 이상과 같이 가열될 수 있거나, 반응은 실온에서 진행될 수 있다. 그런 다음, 화합물(40)은 반응 혼합물로부터 단리되고, 필요한 경우 정제된다.

[0124] 그런 다음, 화합물(40)은 카보닐 모이어티를 하이드록실로 환원시키는 데 적합한 환원제(42)와 반응한다. 적합한 환원제는 소듐 보로하이드라이드, 다이-아이소뷰틸 알루미늄 하이드라이드 또는 리튬 알루미늄 하이드라이드를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 반응은 알코올, 특히 메탄올 또는 에탄올; THF; 또는 다이에틸 에터와 같이 반응을 촉진시키는 데 적합한 용매에서 수행된다. 반응은 필요에 따라 50℃, 100℃ 이상과 같이 가열될 수 있거나, 20℃ 미만, 10℃ 미만, 0℃ 미만 또는 그 이하와 같이 냉각될 수 있거나, 반응은 실온에서 진행될 수 있다. LC-MS, TLC 또는 HPLC와 같은 분석 기법에 의해 나타나는 바와 같이 반응이 완료되면, 생성물 화합물(44)은 단리되고, 필요한 경우 칼럼 크로마토그래피와 같은 적합한 기법에 의해 정제된다.

[0125] 선택적으로, 화합물(44)은 화합물(46)과 반응하여 화합물(48)을 형성할 수 있다. 화합물(46)은 목적하는 R^x 모이어티와 적합한 이탈기인 LG를 포함한다. 적합한 이탈기는 화합물(44)에 R^x 모이어티를 첨가하는 것을 용이하게

하기 위해 이탈기 역할을 하는 임의의 기를 포함한다. 적합한 이탈기는 할로겐, 전형적으로 브로모, 클로로 또는 아이오도 및 토실레이트 또는 메실레이트기를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 화합물(44)는 적합한 용매에서 전형적으로 반응을 촉진시키는 염기 또는 기타 시약 또는 시약들의 존재하에 화합물(46)과 반응한다. 적합한 용매는 비양자성 용매와 같이 반응을 촉진시키는 임의의 용매를 포함한다. 적합한 용매는 DMF, THF, DMSO, 아세토나이트릴, 클로린화 용매 예컨대, 다이클로로메테인 및 클로로폼, DMA, 다이옥세인, N-메틸 피롤리돈 또는 이들의 조합을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 반응을 촉진시키는 적합한 염기 또는 시약은 실버 트라이플레이트, 2,6-다이-t-뷰틸피리딘, 소듐 하이드라이드 또는 이들의 조합을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 전형적으로, 화합물(46)은 반응물과 천천히 결합된다. 얼음조에 의한 것과 같은 냉각은 약 0℃ 내지 50℃ 미만, 0℃ 내지 20℃ 또는 0℃ 내지 10℃와 같은 적합한 범위 내로 유지시키는 데 사용될 수 있다. 첨가가 완료된 후, 반응은 반응이 실질적으로 완료될 때까지 진행되고 실온으로 가온될 수 있거나, 반응은 반응을 촉진시키기 위해 50℃, 100℃ 이상과 같이 가열될 수 있다. LC-MS, TLC 또는 HPLC와 같은 분석 기법에 의해 나타나는 바와 같이 반응이 완료되면, 생성물 화합물(48) 단리되고, 필요한 경우 칼럼 크로마토그래피와 같은 적합한 기법에 의해 정제된다.

[0126] 대안적으로, 화합물(40)은 반응식 5에 따른 예시적인 합성 경로에 의해 제조될 수 있다:



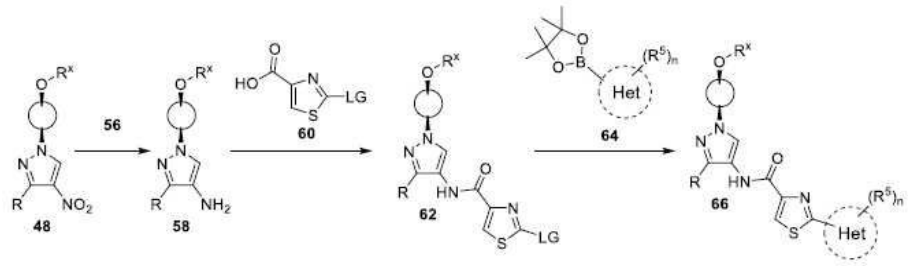
반응식 5

[0127]

[0128] 반응식 5와 관련하여, 화합물(36)은 화합물(50)과 반응하여 화합물(52)을 형성한다. 화합물(50)은 사이클로뷰틸, 사이클로펜틸 또는 사이클로헥실 고리와 같은 목적하는 고리, 적합한 이탈기인 LG 및 아세탈 또는 케탈과 같은 보호된 카보닐 모이어티를 포함한다. 위의 실시예에 환식 케탈 모이어티가 나타나 있다. 적합한 이탈기는 화합물(36)에 고리를 첨가하는 것을 용이하게 하기 위해 이탈기 역할을 하는 임의의 기를 포함하고, 할로겐, 전형적으로 브로모, 클로로 또는 아이오도 및 토실레이트 또는 메실레이트기를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 화합물(36)은 적합한 용매에서 전형적으로 염기의 존재하에 화합물(50)과 반응한다. 적합한 용매는 비양자성 용매와 같이 반응을 촉진시키는 임의의 용매를 포함한다. 적합한 용매는 DMF, THF, DMSO, 아세토나이트릴, 클로린화 용매 예컨대, 다이클로로메테인 및 클로로폼, DMA, 다이옥세인, N-메틸 피롤리돈 또는 이들의 조합을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 적합한 염기는 하이드라이드, 전형적으로 소듐 하이드라이드 또는 카보네이트, 예컨대, 포타슘 카보네이트, 소듐 카보네이트 또는 세슘 카보네이트와 같이 반응을 촉진시킬 수 있는 임의의 염기를 포함한다. 반응은 필요에 따라 50℃, 100℃ 이상과 같이 가열될 수 있거나, 반응은 실온에서 진행될 수 있다. 화합물(52)은 반응 혼합물로부터 단리되고, 필요한 경우 칼럼 크로마토그래피와 같은 적합한 기법에 의해 정제된다.

[0129] 그런 다음, 화합물(52)은 적합한 시약(54)과 반응하여 화합물(40)을 형성한다. 시약(54)은 보호기를 제거하고/하거나 카보닐 모이어티를 형성하는 데 적합한 임의의 시약일 수 있다. 반응식 5에 나타낸 예시적인 합성에서, 보호기는 환식 케탈이고, 적합한 시약(54)은 피리디늄 토실레이트(PPTS), 파라-톨루엔 설폰산, 염산 또는 아세트산을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 반응은 아세톤, THF, 아세트산, 물 또는 이들의 조합과 같은 반응을 촉진시키는 데 적합한 용매 또는 용매의 혼합물에서 수행된다. 반응은 필요에 따라 50℃, 100℃ 이상 또는 환류에서와 같이 가열될 수 있거나, 반응은 실온에서 진행될 수 있다. 화합물(40)은 반응 혼합물로부터 단리되고, 필요한 경우 칼럼 크로마토그래피와 같은 적합한 기법에 의해 정제된다

[0130] 반응식 6에 따른 예시적인 반응 순서의 두 번째 단계가 아래에 제공된다:



반응식 6

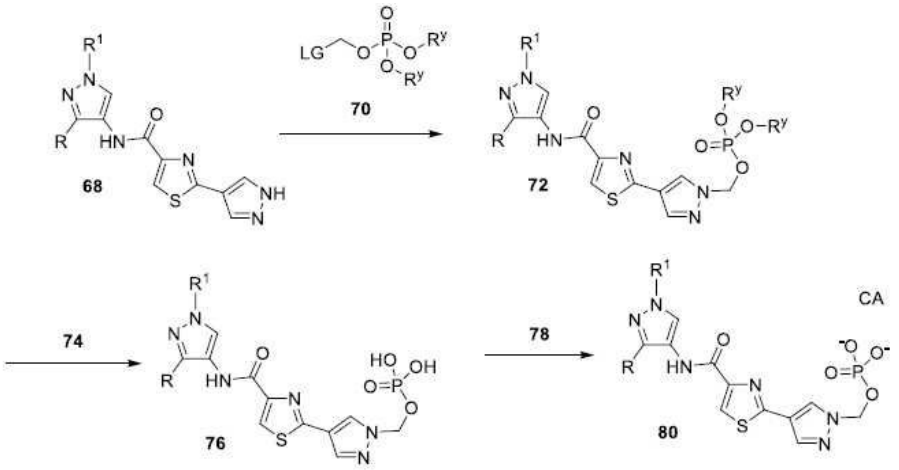
[0131]

[0132] 그런 다음, 화합물(48)은 나이트로 모이어티를 아민으로 환원시키는 데 적합한 환원제(56)와 반응한다. 소정의 실시형태에서, 목적하는 생성물 화합물이 하이드록실 모이어티를 포함하는 경우, 화합물(44)이 화합물(48) 대신 사용될 수 있다. 적합한 환원제는 팔라듐 촉매와 같은 촉매의 존재하에 있는 수소 가스; 선택적으로 니켈 촉매와 같은 촉매의 존재하에 있는 보로하이드라이드, 예컨대, 소듐 보로하이드라이드; 아세트산 중 아연 금속; 또는 물 또는 물과 산 중 철 분말을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 소정의 실시형태에서, 탄소 담지 팔라듐 촉매의 존재하에 에틸 아세테이트 또는 메탄올과 같은 적합한 용매에서 수소 가스가 사용된다. 일부 실시형태에서, 환원제 및/또는 기법의 조합이 사용된다. 예를 들어, 환원은 처음에 첫 번째 환원제 및/또는 기법을 포함하는 첫 번째 방법을 사용하여 수행될 수 있지만, 결과적으로 생성물의 혼합물이 생성된다. 첫 번째 방법이 반복될 수 있고/있거나 두 번째 환원제 및/또는 기법을 포함하는 두 번째 방법이 수행될 수 있다. LC-MS, TLC 또는 HPLC와 같은 분석 기법에 의해 나타나는 바와 같이 반응이 완료되면, 생성물 화합물(58) 단리되고, 필요한 경우 정제된다.

[0133] 화합물(58)은 카복실산(60)과 반응하여 화합물(62)을 형성한다. 카복실산(60)은 임의의 적합한 방법에 의해 활성화된 다음, 화합물(58)의 아민과 반응한다. 적합한 활성화 방법은 티오닐 클로라이드로 처리하는 것; 1-[비스(다이메틸아미노)메틸렌]-1H-1,2,3-트라이아졸로[4,5-b]피리디늄 3-옥시드 헥사플루오로포스페이트(HATU) 및 다이아이소프로필에틸아민(DIPEA)과 같은 염기로 처리하는 것; 카보닐다이이미다졸(CDI)로 처리하는 것; 또는 다이사이클로헥실카보다이이미드(DCC) 또는 1-에틸-3-(3-다이메틸아미노프로필)카보다이이미드(EDC)와 같은 카보다이이미드로 처리하는 것에 의해 산 염화물을 형성하는 것을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0134] 그런 다음, 화합물(62)은 두 개의 고리 사이에 결합을 형성하기에 적합한 임의의 커플링 반응을 사용하여 화합물(64)과 커플링되어 화합물(66)을 형성한다. 위의 실시예에서, 보론산 에스터 커플링이 표시되어 있으며, 여기서 화합물(62)의 이탈기인 LG는 전형적으로 브로모 또는 아이오도이다. 다른 적합한 커플링 작용기는 트라이알킬 주석 또는 보론산을 포함한다. 커플링 반응은 전형적으로 적합한 촉매의 존재하에 진행된다. 보론산 에스터 또는 보론산 커플링의 경우, 촉매는 전형적으로 $PdCl_2(dppf)_2$, $Pd[P(Ph)_3]_2Cl_2$, 팔라듐 아세테이트 및 트라이페닐포스핀 또는 테트라키스(트라이페닐포스핀)팔라듐(0)과 같은 팔라듐 촉매이다. 반응은 소듐, 포타슘 또는 세슘 카보네이트와 같은 염기의 존재하에 수행되고, 다이옥세인, 다이옥세인/물 또는 DME/에탄올/물과 같은 적합한 용매 또는 용매 혼합물에서 수행된다. 반응은 반응 진행이 완료되도록 촉진시키기 위해 50℃ 내지 125℃, 전형적으로 약 100℃와 같은 적합한 온도에서 가열되고/되거나 1시간 내지 3일, 6시간 내지 24시간 또는 12시간 내지 18시간과 같은 적합한 시간 동안 교반될 수 있다. 그런 다음, 화합물(66)은 반응 혼합물로부터 단리되고, 적합한 기법에 의해 정제된다.

[0135] 소정의 실시형태는 포스페이트 모이어티를 포함할 수 있다. 반응식 7은 소정의 이러한 실시형태의 예시적인 합성을 제공한다:



반응식 7

[0136]

[0137] 화합물(68)은 화합물(70)과 반응하여 화합물(72)을 형성한다. 화합물(70)은 목적하는 R^y 모이어티와 적합한 이탈기인 LG를 포함한다. 전형적인 R^y 모이어티는 지방족, 예컨대, 알킬, 전형적으로 메틸, 에틸, 프로필, 아이소프로필 또는 t-뷰틸; 아릴; 헤테로지방족; 또는 헤테로환식을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 두 개의 R^y 모이어티는 동일하거나 상이할 수 있다. 적합한 이탈기는 할로겐, 전형적으로 브로모, 클로로 또는 아이오도 및 토실레이트 또는 메실레이트기를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 화합물(68)은 적합한 용매에서 전형적으로 염기의 존재하에 화합물(70)과 반응한다. 적합한 용매는 비양자성 용매와 같이 반응을 촉진시키는 임의의 용매를 포함한다. 적합한 용매는 DMF, THF, DMSO, 아세토나이트릴, 클로린화 용매 예컨대, 다이클로로메테인 및 클로로폼, DMA, 다이옥세인, N-메틸 피롤리돈 또는 이들의 조합을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 적합한 염기는 하이드라이드, 전형적으로 소듐 하이드라이드 또는 카보네이트, 예컨대, 포타슘 카보네이트, 소듐 카보네이트 또는 세슘 카보네이트와 같은 반응을 촉진시킬 수 있는 임의의 염기를 포함한다. 반응은 필요에 따라 50℃, 100℃ 이상과 같이 가열될 수 있거나, 반응은 실온에서 진행될 수 있다. 화합물(72)은 반응 혼합물로부터 단리되고, 필요한 경우 정제된다.

[0138] 그런 다음, 화합물(72)은 화합물(74)과 반응하여 화합물(76)을 형성한다. 화합물(74)은 화합물(76)에서 산 모이어티를 형성하기에 적합한 임의의 화합물일 수 있다. 화합물(74)은 트라이플루오로아세트산, 염산 또는 브롬화수소산과 같은 산성 시약일 수 있거나, 소듐 하이드록사이드, 리튬 하이드록사이드 또는 포타슘 하이드록사이드와 같은 염기성 시약일 수 있다. 적합한 용매는 클로린화 용매, 예컨대, 다이클로로메테인 및 클로로폼, 알코올, 예컨대, 메탄올 및 에탄올, 물 또는 이들의 조합을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 반응은 필요에 따라 50℃, 100℃ 이상과 같이 가열될 수 있거나, 20℃ 미만, 10℃ 미만, 0℃ 미만 또는 그 이하와 같이 냉각될 수 있거나, 반응은 실온에서 진행될 수 있다. LC-MS, TLC 또는 HPLC와 같은 분석 기법에 의해 나타나는 바와 같이 반응이 완료되면, 생성물 화합물(76)은 단리되고, 필요한 경우 적합한 용매 또는 용매 시스템에서 교반(agitating 또는 stirring) 또는 초음파처리와 같이 적합한 기법에 의해 정제된다. 적합한 용매 또는 용매 시스템은 아세톤/물, 아세톤, 다이에틸 에터 또는 알코올/물을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0139] 그런 다음, 화합물(76)은 화합물(78)과 반응하여 염 화합물(80)을 형성한다. 화합물(78)은 염 화합물(80), 예컨대, 칼슘 하이드록사이드, 소듐 하이드록사이드, 포타슘 하이드록사이드, 리튬 하이드록사이드, 암모니아, 트라이메틸아민, 트리스(하이드록시메틸)아미노메테인 또는 아미노산, 예컨대, 라이신 또는 아르기닌에 적합한 반대 이온인 CA를 제공할 수 있는 임의의 화합물일 수 있다. 당업자라면 반대 이온인 CA가 Na^+, K^+, Li^+ 또는 NH_4^+와 같이 단일 양전하를 갖는다면 화합물(80)은 두 개의 CA 이온을 포함할 수 있는 반면, 반대 이온인 CA가 CA^{2+}와 같이 두 개의 양전하를 갖는다면 화합물(80)은 하나의 CA 이온을 포함할 것이라는 것을 이해할 것이다.

[0140] **IV. 치료제의 병용**

[0141] 본 개시내용의 화합물은 단독으로, 서로 조합하여, 별도의 약제학적 조성물로, 단일 조성물로 함께, 또는 다른 확립된 요법의 부가물로서 또는 이와 조합하여 사용될 수 있다. 화합물 또는 화합물들은 한 번 투여될 수 있고, 여러 번 투여될 가능성이 높다. 또 다른 양태에서, 본 개시내용의 화합물은 치료 중인 장애 또는 병태에 유용한

다른 치료제와 병용하여 사용될 수 있다. 이들 화합물 및/또는 작용제는 동시에, 임의의 순서로 순차적으로, 동일한 투여 경로 또는 상이한 경로를 통해 투여될 수 있다. 순차적 투여의 경우, 화합물(들) 및/또는 작용제(들)는 적어도 하나의 화합물 및/또는 작용제의 유효 기간이 적어도 하나의 다른 화합물 및/또는 작용제의 유효 기간과 겹치도록 투여될 수 있다. 네 가지 성분을 포함하는 조합의 예시적인 실시형태에서, 투여된 제1 성분의 유효 기간은 제2, 제3 및 제4 성분의 유효 기간과 겹칠 수 있지만, 제2, 제3 및 제4 성분의 유효 기간은 독립적으로 서로 겹칠 수도 있고 겹치지 않을 수도 있다. 네 가지 성분을 포함하는 조합의 또 다른 예시적인 실시형태에서, 투여된 제1 성분의 유효 기간은 제2 성분의 유효 기간과 겹치지만 제3 또는 제4 성분의 유효 기간과는 겹치지 않고; 제2 성분의 유효 기간은 제1 및 제3 성분과 겹치고; 제4 성분의 유효 기간은 제3 성분의 유효 기간하고만 겹친다. 일부 실시형태에서, 모든 화합물 및/또는 작용제의 유효 기간은 서로 겹친다.

[0142] 일부 실시형태에서, 개시된 화합물은 진통제, 항생제, 항응고제, 항체, 항염증제, 면역억제제, 구아닐레이트 사이클레이스-C 효능제, 장 분비 촉진제, 항바이러스제, 항암제, 항진균제 또는 이들의 조합과 같은 또 다른 치료제와 함께 투여된다. 소정의 실시형태에서, 제2 치료제는 항염증제, 면역억제제이고/이거나 스테로이드일 수 있다.

[0143] 항염증제는 스테로이드성 또는 비스테로이드성 항염증제일 수 있다. 소정의 실시형태에서, 비스테로이드성 항염증제는 아미노살리실레이트, 사이클로옥시게네이스 저해제, 다이클로페낙, 에토돌락, 파모티딘, 페노프로펜, 플루르비프로펜, 케토프로펜, 케토롤락, 이부프로펜, 인도메타신, 메클로페나메이트, 메페남산, 멜록시캄, 나부메톤, 나프록센, 옥사프로진, 피록시캄, 살살레이트, 설린닥, 톨메틴 또는 이들의 조합으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 면역억제제는 머캅토퓨린, 코르티코스테로이드, 알킬화제, 칼시뉴린 저해제, 이노신 모노포스페이트 데하이드로게네이스 저해제, 항림프구 글로불린, 항흉선세포 글로불린, 항-T 세포 항체 또는 이들의 조합이다. 일 실시형태에서, 항체는 인플릭시맙이다.

[0144] 일부 실시형태에서, 본 화합물은 항암제 또는 세포독성제와 함께 사용될 수 있다. 항암 및 항신생물 화합물의 다양한 클래스는 알킬화제, 항대사물질, BCL-2 저해제, 빈카 알킬로이드, 탁세인, 항생제, 효소, 사이토카인, 백금 배위 착물, 프로테아솜 저해제, 치환된 우레아, 카이네이스 저해제, 호르몬 및 호르몬 길항제 및 저메틸화제, 예를 들어, DNMT 저해제, 예컨대, 아자시티딘 및 데시타빈을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 예시적인 알킬화제는 제한 없이 메클로로타민, 사이클로포스파마이드, 아이포스파마이드, 멜팔란, 클로람부실, 에틸렌이민, 메틸멜라민, 알킬 설포네이트(예를 들어, 부설판) 및 카무스틴을 포함한다. 예시적인 항대사물질은 예로서 제한 없이 폴산 유사체인 메토트렉세이트; 피리미딘 유사체인 플루오로우라실, 사이토신 아라비노사이드; 퓨린 유사체인 머캅토퓨린, 티오구아닌 및 아자티오프린을 포함한다. 예시적인 빈카 알킬로이드는 예로서 제한 없이 빈블라스틴, 빈크리스틴, 파클리탁셀 및 콜히친을 포함한다. 예시적인 항생제는 예로서 제한 없이 악티노마이신 D, 다우노루비신 및 블레오마이신을 포함한다. 항신생물제로서 효과적인 예시적인 효소는 L-아스파라기네이스를 포함한다. 예시적인 배위 화합물은 예로서 제한 없이 시스플라틴 및 카보플라틴을 포함한다. 예시적인 호르몬 및 호르몬 관련 화합물은 예로서 제한 없이 아드레노코르티코스테로이드 프레드니손 및 덱사메타손; 아로마테이스 저해제인 아미노 글루테티미드, 포메스테인 및 아나스트로졸; 프로게스틴 화합물인 하이드록시프로게스테론 카프로에이트, 메드록시프로게스테론; 및 항에스트로겐 화합물 타목시펜을 포함한다.

[0145] 이들 및 다른 유용한 항암 화합물은 둘 다 참조에 의해 본 명세서에 원용되어 있는 문헌[Merck Index, 13th Ed. (O'Neil M. J. et al., ed.) Merck Publishing Group (2001) 및 Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 12th Edition, Brunton L.L. ed., Chapters 60-63, McGraw Hill, (2011)]에 기술되어 있다.

[0146] 본 명세서에 개시된 저해제와 병용하여 사용될 수 있는 CTLA 4개의 항체 중에는 Bristol-Myers Squibb에서 YERVOY®로 판매하고 있는 이필리무맙이 있다.

[0147] 병용을 위한 다른 화학치료제는 면역종양학 작용제, 예컨대, 관문 경로 저해제, 예를 들어, 니볼루맙 및 람브롤리주맙과 같은 PD-1 저해제 및 펨브롤리주맙, MEDI-4736 및 MPDL3280A/RG7446과 같은 PD-L1 저해제를 포함한다. 본 명세서에 개시된 화합물과 병용하기 위한 추가적인 관문 저해제는 BMS-986016(MDX-1408)과 같은 항-LAG-3 작용제를 포함한다.

[0148] 본 명세서에 개시된 저해제와 병용하기 위한 추가의 화학치료제는 인간화된 단일클론 항체인 엘로투주맙(BMS-901608)과 같은 항-SLAMF7 작용제, 항-KIR 단일클론 항체인 리릴루맙(BMS-986015)과 같은 항-KIR 작용제 및 완전 인간 단일클론 항체인 우렐루맙(BMS-663513)과 같은 항-CD137 작용제를 포함한다.

[0149] 본 개시내용의 화합물과 병용하기에 유용한 추가적인 항증식 화합물은 예로서 제한 없이 성장 인자 수용체(예를 들어, 항-Her2)에 대해 지시된 항체; 및 인터페론-α 및 인터페론-γ, 인터류킨-2 및 GM-CSF와 같은 사이토카인을 포함한다.

[0150] 본 화합물과 병용하기에 유용한 추가적인 화학치료제는 보르테조밉, 카르필조밉, 마리조밉 등과 같은 프로테아솜 저해제를 포함한다.

[0151] 본 명세서에 개시된 화합물과 함께, 특히 악성 종양을 치료하는 데 유용한 카이네이스 저해제의 예는 Btk 저해제, 예컨대, 이브루티닙; CDK 저해제, 예컨대, 팔보시클립; EGFR 저해제, 예컨대, 아파티닙, 에를로티닙, 게피티닙, 라파티닙, 어시머티닙 및 반데티닙; Mek 저해제, 예컨대, 트라메티닙; Raf 저해제, 예컨대, 다브라페닙, 소라페닙 및 베무라페닙; VEGFR 저해제, 예컨대, 악시티닙, 렌바티닙, 닌테다닙, 파조파닙; BCR-Abl 저해제, 예컨대, 보수티닙, 다사티닙, 이마티닙 및 닐로티닙; Syk 저해제, 예컨대, 포스타마티닙; 및 JAK 저해제, 예컨대, 룩소리티닙을 포함한다.

[0152] 다른 실시형태에서, 제2 치료제는 다음 중 하나로부터 선택될 수 있다:

[0153] 진통제-모르핀, 펜타닐, 하이드로모르폰, 옥시코돈, 코데인, 아세트아미노펜, 하이드로코돈, 부프레노르핀, 트라마돌, 벤라팍신, 플루피르틴, 메페리딘, 펜타조신, 덱스트로모라마이드, 디피파논;

[0154] 항생제-아미노글리코시드(예를 들어, 아미카신, 겐타마이신, 카나마이신, 네오마이신, 네틸마이신, 토브라마이신 및 파로마이신), 카바페넴(예를 들어, 어타페넴, 도리페넴, 이미페넴, 실라스타틴 및 메로페넴), 세팔로스포린(예를 들어, 세파드록실, 세파졸린, 세팔로틴, 세팔렉신, 세파클로르, 세파만돌, 세폭시틴, 세프프로질, 세푸록심, 세픽심, 세프디니르, 세프디토렌, 세포페라존, 세포탁심, 세포독심, 세프타지딤, 세프티부텐, 세프티족심, 세프트리아손, 세페핌 및 세포비프롤), 당펩타이드(예를 들어, 테이코플라닌, 반코마이신 및 텔라반신), 린코사마이드(예를 들어, 클린다마이신 및 인코마이신), 지질펩타이드(예를 들어, 다프토마이신), 마크로라이드(아지트로마이신, 클라리트로마이신, 다이리트로마이신, 에리트로마이신, 록시트로마이신, 트롤레안도마이신, 텔리트로마이신 및 스펙티노마이신), 모노박탐(예를 들어, 아즈트레오남), 나이트로퓨란(예를 들어, 퓨라졸리돈 및 나이트로퓨란토인), 페니실린(예를 들어, 아목시실린, 암피실린, 아즐로실린, 카베니실린, 클록사실린, 다이클록사실린, 플루클록사실린, 메즐로실린, 메티실린, 나프실린, 옥사실린, 페니실린 G, 페니실린 V, 피페라실린, 테모실린 및 티카실린), 페니실린 조합(예를 들어, 아목시실린/클라불라네이트, 암피실린/설박탐, 피페라실린/타조박탐 및 티카실린/클라불라네이트), 폴리펩타이드(예를 들어, 바시트라신, 콜리스틴 및 폴리믹신 B), 퀴놀론(예를 들어, 시프로플록사신, 에녹사신, 가티플록사신, 레보플록사신, 로메플록사신, 목시플록사신, 날리딕산, 노르플록사신, 오플록사신, 트로바플록사신, 그레파플록사신, 스파르플록사신 및 테마플록사신), 설폰아마이드(예를 들어, 마페나이드, 설폰아미도크리소딘, 설프아세트아마이드, 설파다이아진, 은 설파다이아진, 설파메티졸, 설파메톡사졸, 설파닐이미드, 설파살라진, 설피속사졸, 트라이메토프림 및 트라이메토프림-설파메톡사졸), 테트라사이클린(예를 들어, 데메클로사이클린, 독시사이클린, 미노사이클린, 옥시테트라사이클린 및 테트라사이클린), 항마이코박테리아 화합물(예를 들어, 클로파지민, 다프손, 카프레오마이신, 사이클로세린, 에탐부톨, 에티온아마이드, 아이소니아지드, 피라진아마이드, 리팜피신(리팜핀), 리파부틴, 리파펜틴 및 스트렙토마이신) 등, 예컨대, 아르스페라민, 클로람페니콜, 포스포마이신, 푸시드산, 리네졸라이드, 메트로니다졸, 무피로신, 플라텐시마이신, 퀴누프리신/달포프리스틴, 리팍시민, 티암페니콜, 타이제사이클린 및 티미다졸;

[0155] 항체-항-TNF-α 항체, 예를 들어, 인플릭시맙(Remicade™), 아달리무맙, 골리무맙, 서톨리주맙; 항-B 세포 항체, 예를 들어, 리툭시맙; 항-IL-6 항체, 예를 들어, 토실리주맙; 항-IL-1 항체, 예를 들어, 아나킨라; 항-PD-1 및/또는 항-PD-L1 항체, 예를 들어, 니볼루맙, 펨브롤리주맙, 피딜리주맙, BMS-936559, MPDL3280A, AMP-224, MEDI4736; 이세키주맙, 브로달루맙, 오파투무맙, 시루쿠맙, 클레놀릭시맙, 클라자키우맙, 페자키누맙, 플레티쿠맙, 마브릴리무맙, 오크렐리주맙, 사릴루맙, 세쿠키누맙, 토랄리주맙, 자놀리무맙;

[0156] 항응고제-와파린(Coumadin™), 아세노쿠마롤, 펜프로쿠몬, 아트로멘틴, 페닌디온, 헤파린, 폰다파리눅스, 이드라파리눅스, 리바목사반, 아픽사반, 히루딘, 레피루딘, 비발리루딘, 아르가트로밤, 다비가트란, 자이멜라가트란, 바트록소빈, 혜멘틴;

[0157] 항염증제-스테로이드, 예를 들어, 부데소나이드, 비스테로이드성 항염증제, 예를 들어, 아미노살리실레이트(예를 들어, 설파살라진, 메살라민, 올살라진 및 발살라지드), 사이클로옥시게네이스 저해제(COX-2 저해제, 예컨대, 로페콕시브, 셀레콕시브), 다이클로페낙, 에토돌락, 파모티딘, 페노프로펜, 플루르비프로펜, 케토프로펜, 케토롤락, 이부프로펜, 인도메타신, 메클로페나메이트, 메페남산, 멜록시캄, 남부메톤, 나프록센, 옥사프로

진, 피록시캄, 살살레이트, 설린닥, 톨메틴;

[0158] 면역억제제-머캅토퓨린, 코르티코스테로이드, 예컨대, 덱사메타손, 하이드로코르티손, 프레드니손, 메틸프레드니솔론 및 프레드니솔론, 알킬화제, 예컨대, 사이클로포스파마이드, 칼시뉴린 저해제, 예컨대, 사이클로스포린, 시롤리무스 및 타크롤리무스, 이노신 모노포스페이트 데하이드로게네이스(IMPDH)의 저해제, 예컨대, 마이코페놀레이트, 마이코페놀레이트 모페틸 및 아자티오프린 및 다양한 항체(예를 들어, 항림프구 글로불린(ALG), 항흉선세포 글로불린(ATG), 단일클론 항-T 세포 항체(OKT3))를 포함한 수용자의 체액성 면역 반응을 그대로 유지하면서 세포 면역을 억제하도록 설계된 작용제 및 방사선 조사. 아자티오프린은 현재 Salix Pharmaceuticals, Inc.에서 Azasan이라는 상표명으로 입수 가능하고; 머캅토퓨린은 현재 Gate Laboratories, Inc.에서 Purinethol이라는 상표명으로 입수 가능하고; 프레드니손 및 프레드니솔론은 현재 Roxane Laboratories, Inc.에서 입수 가능하고; 메틸 프레드니솔론은 현재 Pfizer에서 입수 가능하고; 시롤리무스(라파마이신)는 Wyeth-Ayerst에서 Rapamune이라는 상표명으로 현재 입수 가능하고; 타크롤리무스는 현재 Fujiswa에서 Prograf라는 상표명으로 입수 가능하고; 사이클로스포린은 현재 Novartis에서 Sandimmune이라는 상표명으로 그리고 Abbott에서 Gengraf라는 상표명으로 입수 가능하고; IMPDH 저해제, 예컨대, 마이코페놀레이트 모페틸 및 마이코페놀산은 현재 Roche에서 Cellcept라는 상표명으로 그리고 Novartis에서 Myfortic이라는 상표명으로 입수 가능하고; 아자티오프린은 현재 Glaxo Smith Kline에서 Imuran이라는 상표명으로 입수 가능하고; 항체는 현재 Ortho Biotech에서 Orthoclone이라는 상표명으로, Novartis에서 Simulect(바실릭시맙)라는 상표명으로 그리고 Roche에서 Zenapax(다클리주맙)라는 상표명으로 입수 가능하고; 그리고

[0159] 구아닐레이트 사이클레이스-C 수용체 효능제 또는 장 분비 촉진제, 예를 들어, 리나클로티드는 Linzess라는 이름으로 판매된다.

[0160] 소정의 실시형태에서, 제2 치료제는 글루코코르티코이드 및/또는 미네랄로코르티코이드를 포함하지만 이에 제한되지 않는 코르티코스테로이드와 같은 스테로이드이거나 이를 포함한다. 개시된 화합물과 조합하여 사용하기에 적합한 스테로이드는 합성 및 비합성 글루코코르티코이드를 포함한다. 개시된 방법에 사용하기에 적합한 글루코코르티코이드와 같은 예시적인 스테로이드는 알클로메타손, 알게스톤, 베클로메타손(예를 들어, 베클로메타손 다이프로피오네이트), 베타메타손(예를 들어, 베타메타손 17-발레레이트, 베타메타손 소듐 아세테이트, 베타메타손 소듐 포스페이트, 베타메타손 발레레이트), 부데소나이드, 클로베타솔(예를 들어, 클로베타솔 프로피오네이트), 클로베타손, 클로코르톨론(예를 들어, 클로코르톨론 피발레이트), 클로프레드놀, 코르티코스테론, 코르티손, 코르티바졸, 데플라자코르트, 데소나이드, 데속시메타손, 덱사메타손(예를 들어, 덱사메타손 21-포스페이트, 덱사메타손 아세테이트, 덱사메타손 소듐 포스페이트), 다이플로라손(예를 들어, 다이플로라손 다이아세테이트), 다이플루코르톨론, 다이플루프레드네이트, 에녹솔론, 플루아자코르트, 플루클로로나이드, 플루드로코르티손(예를 들어, 플루드로코르티손 아세테이트), 플루메타손(예를 들어, 플루메타손 피발레이트), 플루니솔라이드, 플루오시놀론(예를 들어, 플루오시놀론 아세토나이드), 플루오시노나이드, 플루오코르틴, 플루오코르톨론, 플루오로메톨론(예를 들어, 플루오로메톨론 아세테이트), 플루페롤론(예를 들어, 플루페롤론 아세테이트), 플루프레드니덴, 플루프레드니솔론, 플루란드레놀라이드, 플루티카손(예를 들어, 플루티카손 프로피오네이트), 포르모코르탈, 할시노나이드, 할로베타솔, 할로메타손, 할로프레돈, 하이드로코르타메이트, 하이드로코르티손(예를 들어, 하이드로코르티손 21-뷰티레이트, 하이드로코르티손 아세포네이트, 하이드로코르티손 아세테이트, 하이드로코르티손 뷰테프레이트, 하이드로코르티손 뷰티레이트, 하이드로코르티손 사이피오네이트, 하이드로코르티손 헤미석시네이트, 하이드로코르티손 프로뷰테이트, 하이드로코르티손 소듐 포스페이트, 하이드로코르티손 소듐 석시네이트, 하이드로코르티손 발레레이트), 로테프레드놀 에타보네이트, 마지프레돈, 메드리손, 메프레드니손, 메틸프레드니솔론(메틸프레드니솔론 아세포네이트, 메틸프레드니솔론 아세테이트, 메틸프레드니솔론 헤미 석시네이트, 메틸프레드니솔론 소듐 석시네이트), 모메타손(예를 들어, 모메타손 퓨로에이트), 파라메타손(예를 들어, 파라메타손 아세테이트), 프레드니카베이트, 프레드니솔론(예를 들어, 프레드니솔론 25-다이에틸아미노아세테이트, 프레드니솔론 소듐 포스페이트, 프레드니솔론 21-헤미 석시네이트, 프레드니솔론 아세테이트; 프레드니솔론 파네실레이트, 프레드니솔론 헤미석시네이트, 프레드니솔론-21(베타-D-글루쿠로나이드), 프레드니솔론 메타설포벤조에이트, 프레드니솔론 스테아글레이트, 프레드니솔론 테뷰테이트, 프레드니솔론 테트라하이드로프탈레이트), 프레드니손, 프레드니발, 프레드닐리덴, 리멕솔론, 틱소코르톨, 트라이암시놀론(예를 들어, 트라이암시놀론 아세토나이드, 트라이암시놀론 베네토나이드, 트라이암시놀론 헥사세토나이드, 트라이암시놀론 아세토나이드 21-팔미테이트, 트라이암시놀론 다이아세테이트) 또는 이들의 임의의 조합을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 스테로이드 및 이의 염에 관한 추가적인 정보는, 예를 들어, 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences, A. Osol, ed., Mack Pub. Co., Easton, Pa. (16th ed. 1980)]에서 찾을 수 있다.

[0161] 일부 예에서, 스테로이드는 글루코코르티코이드이고, 코르티손, 덱사메타손, 하이드로코르티손, 메틸프레드니솔론, 프레드니솔론, 프레드니손 또는 이들의 조합으로부터 선택될 수 있다. 특정 예에서, 스테로이드는 프레드니손이거나 이를 포함한다. 또 다른 특정 예에서, 스테로이드는 덱사메타손이거나 이를 포함한다.

[0162] 이러한 다양한 작용제는 상업적으로 입수 가능한 약물 형태와 함께 제공되는 처방 정보에 명시된 표준 또는 일반적인 투여량에 따라 사용될 수 있다(또한, 개시내용이 참조에 의해 본 명세서에 원용되어 있는 문헌[the prescribing information in the 2006 Edition of The Physician's Desk Reference] 참조).

[0163] **V. 개시된 화합물을 포함하는 조성물**

[0164] 개시된 화합물은 단독으로, 임의의 조합으로, 그리고 적어도 하나의 제2 치료제와 조합하여 또는 이에 보조적으로 사용될 수 있다. 또한, 개시된 화합물 또는 화합물들 및/또는 적어도 하나의 제2 치료제는 대상체에게 투여하기 위한 조성물을 형성하는 데 유용한 임의의 적합한 부형제와 조합하여 사용될 수 있다. 부형제는 대상체에게 전달하기 위한 조성물을 희석하거나, 제형의 가공을 용이하게 하거나, 제형에 유리한 물질적 특성을 제공하거나, 전달 장치로부터 분산을 용이하게 하거나, 제형을 안정화시키거나(예를 들어, 항산화제 또는 완충액), 제형에 좋거나 맛있는 맛 또는 일관성을 제공하는 등의 다양한 목적을 위해 약제학적 조성물에 포함될 수 있다. 약제학적으로 허용 가능한 부형제(들)는 약제학적으로 허용 가능한 담체(들) 및/또는 약제학적으로 허용 가능한 보조제(들)를 포함할 수 있다. 예시적인 부형제는 단당류, 이당류 및 다당류, 당 알코올 및 다른 폴리올, 예컨대, 락토스, 글루코스, 라피노스, 멜레지토스, 락티톨, 말티톨, 트레할로스, 수크로스, 만니톨, 전분 또는 이들의 조합; 계면활성제, 예컨대, 소르비톨, 다이포스파티딜 콜린 및 레시틴; 증량제; 완충액, 예컨대, 포스페이트 및 시트레이트 완충액; 항부착제, 예컨대, 마그네슘 스테아레이트; 결합제, 예컨대, 당류(이당류, 예컨대, 수크로스 및 락토스 포함), 다당류(예컨대, 전분, 셀룰로스, 미세결정질 셀룰로스, 셀룰로스 에터(예컨대, 하이드록시프로필 셀룰로스), 젤라틴, 합성 중합체(예컨대, 폴리바이닐피롤리돈, 폴리알킬렌 글리콜); 코팅제(예컨대, 하이드록시프로필메틸 셀룰로스를 포함한 셀룰로스 에터, 셀락, 옥수수 단백질 제인 및 젤라틴); 방출 보조제(예컨대, 장용 코팅제); 붕해제(예컨대, 크로스포비돈, 가교 소듐 카복시메틸 셀룰로스 및 소듐 전분 글리콜레이트); 충전제(예컨대, 이염기성 칼슘 포스페이트, 식물성 지방 및 오일, 락토스, 수크로스, 글루코스, 만니톨, 소르비톨, 칼슘 카보네이트 및 마그네슘 스테아레이트); 향미료 및 감미료(예컨대, 민트, 체리, 아니스, 복숭아, 살구 또는 감초, 라즈베리 및 바닐라); 윤활제(예컨대, 활석 또는 실리카로 예시되는 광물, 식물성 스테아린, 마그네슘 스테아레이트 또는 스테아르산으로 예시되는 지방); 방부제(예컨대, 바이타민 A, 바이타민 E, 바이타민 C, 레티닐 팔미테이트 및 셀레늄으로 예시되는 항산화제, 시스테인 및 메티오닌으로 예시되는 아미노산, 시트르산 및 소듐 시트레이트, 메틸 파라벤 및 프로필 파라벤으로 예시되는 파라벤); 착색제; 압축 보조제; 유화제; 캡슐화제; 검; 과립화제; 및 이들의 조합을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0165] **VI. 사용 방법**

[0166] **A. 질환/장애**

[0167] 개시된 화합물뿐만 아니라 이들의 조합 및/또는 조성물은 다양한 질환, 병태 및/또는 장애를 개선, 치료 및/또는 예방하는 데 사용될 수 있다. 특정 실시형태에서, 개시된 화합물, 개시된 화합물의 조합 또는 이의 조성물은 인터류킨-1 수용체 관련 카이네이스(IRAK) 경로의 저해가 치료적으로 유용한 병태를 치료하는 데 유용할 수 있다. 일부 실시형태에서, 화합물은 IRAK1, IRAK2, IRAK3 및/또는 IRAK4와 같은 IRAK 단백질을 직접 저해한다. 소정의 실시형태에서, 개시된 화합물은 자가면역 질환, 염증성 장애, 심혈관 질환, 신경 장애, 신경퇴행성 장애, 알레르기성 장애, 천식, 췌장염, 다장기 부전, 신장 질환, 혈소판 응집, 암, 이식, 정자 운동성, 적혈구 결핍증, 이식편 거부, 폐 손상, 호흡기 질환, 허혈 병태 및 세균 및 바이러스 감염을 치료, 예방 및/또는 개선하는 데 유용하다.

[0168] 일부 실시형태에서, 개시된 화합물, 개시된 화합물의 조합 또는 이의 조성물은 알레르기성 질환, 근위축성 측색경화증(amyotrophic lateral sclerosis: ALS), 전신 홍반성 루푸스, 류마티스성 관절염, I형 진성 당뇨병, 염증성 장 질환, 담관성 간경변, 포도막염, 다발성 경화증, 크론병, 궤양성 대장염, 수포성 유천포창, 육아종증, 건선, 자가면역성 근염, 베게너 과립종증, 어린선, 그레이브스 안근병 또는 천식을 치료하거나 예방하는 데 사용될 수 있다.

[0169] 개시된 화합물, 개시된 화합물의 조합 또는 이의 조성물은 또한 골수 또는 장기 이식 거부 또는 이식편 대 숙주 질환과 관련된 면역 조절 장애를 개선, 치료 및/또는 예방하는 데 유용할 수 있다. 본 화합물로 치료될 수 있는 염증성 및 면역 조절 장애의 예는 장기 또는 조직 이식, 이식으로 인한 이식편 대 숙주 질환, 류마티스성 관절

염을 포함한 자가면역 증후군, 전신 홍반성 루푸스를 포함한 루푸스, 하시모토 갑상선염, 다발성 경화증, 전신성 경화증, 중증 근무력증, I형 당뇨병, 포도막염, 후부 포도막염, 알레르기성 뇌척수염, 사구체신염, 류마티스성 열 및 감염후 사구체신염을 포함한 감염후 자가면역성 질환, 염증성 및 과증식성 피부 질환, 건선, 아토피성 피부염, 접촉성 피부염, 습진 피부염, 지루성 피부염, 편평태선, 천포창, 수포성 유천포창, 수포성 표피박리증, 두드러기, 혈관부종, 맥관염, 홍반, 피부 호산구증가증, 홍반성 루푸스, 여드름, 원형 탈모, 각결막염, 봄철 결막염, 베체트병과 관련된 포도막염, 각막염, 포진성 각막염, 원추각막, 각막 상피 변성, 각막 백반, 안구 천포창, 무렌 궤양, 공막염, 그레이브스 안병증, 보고트-고야나기-하라다 증후군, 육아종증, 꽃가루 알레르기, 가역성 폐쇄성 기도 질환, 기관지 천식, 알레르기성 천식, 내인성 천식, 외인성 천식, 먼지 천식, 만성 또는 상습적 천식, 후기 천식 및 기도 과민 반응, 기관지염, 위궤양, 허혈 질환 및 혈전증에 의한 혈관 손상, 허혈성 장 질환, 염증성 장 질환, 괴사성 소장결장염, 열 화상과 관련된 장 병변, 복강 질환, 직장염, 호산구성 위장염, 비만세포증, 크론병, 궤양성 대장염, 편두통, 비염, 습진, 간질성 신염, 굿파스처 증후군, 용혈성 요독 증후군, 당뇨병성 신증, 다발성 근염, 길랭-바레 증후군, 메니에르병, 다발 신경염, 다발성 신경염, 단일 신경염, 신경근증, 갑상선 기능 항진증, 바세도우병, 순수한 적혈구 무형성증, 재생 불량성 빈혈, 저형성 빈혈, 특발성 혈소판감소성 자반병, 자가면역성 용혈성 빈혈, 무과립구증, 악성 빈혈, 거대아구성 빈혈, 적혈구생성 결여증, 골다공증, 육아종증, 폐섬유증, 특발성 간질성 폐렴, 피부근염, 심상성 백반증, 심상성 어린선, 광알레르기성 민감증, 피부 T 세포 림프종, 만성 림프구성 백혈병, 동맥경화증, 아테롬성 동맥경화증, 대동맥염 증후군, 결절성 다발동맥염, 심근증, 경피증, 베게너 육아종, 쇼그렌 증후군, 지방증, 호산구성 근막염, 치은, 치주 조직, 치조골, 시멘트질의 병변, 사구체신염, 탈모를 예방하거나 모발 발아를 촉진하고/하거나 모발 생성 및 모발 성장을 촉진시키는 것에 의한 남성형 탈모증 또는 노인성 탈모증, 근이영양증, 농피증 및 세자리 증후군, 애디슨병, 보존, 이식 또는 허혈성 질환으로 인해 발생하는 장기의 허혈-재관류 손상, 내독소 쇼크, 위막성 대장염, 약물 또는 방사선으로 인한 대장염, 허혈성 급성 신부전증, 만성 신부전증, 폐 산소 또는 약물에 의한 독성증, 폐암, 폐기종, 백내장, 철분증, 색소성 망막염, 노인성 황반변성, 유리체 상흔, 각막 알칼리 화상, 피부 다형 홍반, 선형 IgA 수포성 피부염 및 시멘트 피부염, 치은염, 치주염, 패혈증, 췌장염, 환경 오염, 노화, 발암, 암의 전이 및 고산병으로 인한 질환, 히스타민 또는 류코트리엔-C4 방출로 인한 질환, 베체트병, 자가면역성 간염, 원발성 담관경화증, 경화성 담관염, 부분 간 절제, 급성 간 괴사, 독소에 의한 괴사, 바이러스 간염, 쇼크 또는 무산소증, B-바이러스 간염, 비-A/비-B 간염, 간경변, 알코올성 간경변을 포함한 알코올성 간질환, 비알코올성 지방간염(NASH), 간부전, 전격성 간부전, 후기 발병 간부전, "만성에서 급격히 악화된(acute-on-chronic)" 간부전, 화학요법 효과의 증강, 사이토메갈로바이러스 감염, HCMV 감염, 보조제, 암, 노인성 치매, 파킨슨병, 외상, 만성 세균 감염, 손발바닥 농포증, 화농성 한선염, 사이토카인 방출 증후군(Cytokine release syndrome: CRS), 급성 호흡 곤란 증후군(Acute respiratory distress syndrome: ARDS), 급성 신장 손상(Acute kidney injury: AKI), 신장 기능 장애 또는 혈전증을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0170] 일부 실시형태에서, 질환 또는 병태는 화농성 한선염이거나, 진성 적혈구증가증을 제외한 골수증식성 신생물(MPN), PDGFRA 재배열을 동반한 골수성/림프성 신생물, PDGFRB 재배열을 동반한 골수성/림프성 신생물, FGFR1 재배열을 동반한 골수성/림프성 신생물, PCM1-JAK2를 동반한 골수성/림프성 신생물, 골수이형성/골수증식성 신생물(MDS/MPN), 골수성 육종, 다운 증후군과 관련된 골수성 증식, 아구성 형질세포양 수지상 세포 신생물, B-림프아구성 백혈병/림프종; 및/또는 T-림프아구성 백혈병/림프종으로부터 선택되는 림프성 신생물이다. 일부 실시형태에서, 림프성 신생물은 만성 골수성 백혈병(CML), 만성 호중구성 백혈병(CNL), 원발성 골수섬유증(PMF), 본태성 혈소판증가증, 만성 호산구성 백혈병 또는 이들의 조합으로부터 선택되는 골수증식성 신생물이다. 다른 실시형태에서, 림프성 신생물은 만성 골수단핵구성 백혈병, 비전형적인 만성 골수성 백혈병(aCML), 소아 골수단핵구성 백혈병(JMML), 환상 철적혈아구 및 혈소판증가증을 동반한 MDS/MPN(MDS/MPN-RS-T) 또는 이들의 조합으로부터 선택되는 골수이형성/골수증식성 신생물이다.

[0171] 소정의 실시형태에서, 본 화합물은 신경병성 통증 및 염증으로 인한 통증을 포함한 신경 통증을 치료하는 데 유용하다.

[0172] 소정의 실시형태에서, 개시된 화합물, 개시된 화합물의 조합 또는 이의 조성물은 류마티스성 관절염, 건선성 관절염, 골관절염, 전신 홍반성 루푸스, 루푸스 신염, 강직성 척추염, 골다공증, 전신성 경화증, 다발성 경화증, 건선, 특히 농포성 건선, I형 당뇨병, II형 당뇨병, 염증성 장 질환(크론병 및 궤양성 대장염), 고면역글로불린혈증 d 및 주기적 발열 증후군, 크리오피린 관련 주기적 증후군, 슈니츨러 증후군, 전신성 소아 특발성 관절염, 성인 발병 스틸병, 통풍, 통풍 발작, 가성 통풍, 사포 증후군, 캐슬만병, 패혈증, 뇌졸중, 아테롬성 동맥경화증, 복강 질환, DIRA(Il-1 수용체 길항제의 결핍), 알츠하이머병 또는 파킨슨병을 치료 및/또는 예방하

는 데 유용하다.

[0173] 개시된 화합물, 개시된 화합물의 조합 또는 이의 조성물에 의해 치료될 수 있는 증식성 질환은 양성 또는 악성 종양, 고형 종양, 뇌, 신장, 간, 부신, 방광, 유방, 위, 위 종양, 난소, 결장, 직장, 전립선, 췌장, 폐, 질, 자궁경부, 고환, 비뇨생식기, 식도, 후두, 피부, 뼈 또는 갑상선의 암종, 육종, 교아종, 신경아세포종, 다발성 골수종, 위장관암, 특히 결장 암종 또는 결장직장 선종, 두경부의 종양, 표피 과증식, 건선, 전립선 비대증, 신생물, 상피 특성의 신생물, 선종, 선암종, 각질극세포종, 표피양 암종, 거대 세포 암종, 비소세포 폐 암종, 림프종, 호지킨 및 비호지킨, 유방 암종, 모낭 암종, 미분화 암종, 유두 암종, 정상피종, 흑색종, IL-1 유발 장애, MyD88 유발 장애(예컨대, ABC 확산성 거대 B 세포 림프종(DLBCL), 발덴스트롬 거대글로불린혈증, 호지킨 림프종, 1차 피부 T 세포 림프종 또는 만성 림프구성 백혈병), 잠복성 또는 무통성 다발성 골수종 또는 혈액 악성 종양(백혈병, 급성 골수성 백혈병(AML), DLBCL, ABC DLBCL, 만성 림프구성 백혈병(CLL), 만성 림프구성 림프종, 원발성 삼출성 림프종, 버킷 림프종/백혈병, 급성 림프구성 백혈병, B 세포 전림프구성 백혈병, 림프형질세포성 림프종, 골수이형성 증후군(MDS), 골수섬유증, 진성 적혈구증가증, 카포시 육종, 발덴스트롬 거대글로불린혈증(WM), 비장 변연부 림프종, 다발성 골수종, 형질세포종, 혈관내 거대 B 세포 림프종 포함)을 포함한다. 특히, 본 명세서에 개시된 화합물은 이브루티닙 저항성 CLL 및 이브루티닙 저항성 발덴스트롬 거대글로불린혈증과 같은 이브루티닙 저항성 혈액 악성 종양을 포함한 JAK 저해제 이브루티닙 저항성 악성 종양에 저항성이 있는 것들과 같은 약물 저항성 악성 종양을 치료하는 데 유용하다.

[0174] 개시된 화합물, 개시된 화합물의 조합 또는 이의 조성물을 사용하여 치료될 수 있는 알레르기성 장애의 예는 천식(예를 들어, 아토피성 천식, 알레르기성 천식, 아토피성 기관지 IgE 매개 천식, 비아토피성 천식, 기관지 천식, 비알레르기성 천식, 본태성 천식, 선천성 천식, 병리생리학적 장애로 인한 내인성 천식, 원인을 알 수 없거나 원인이 명확하지 않은 본태성 천식, 기종성 천식, 운동 유발 천식, 감정 유발 천식, 환경적 요인에 의한 외인성 천식, 찬공기 유발 천식, 직업성 천식, 세균, 진균, 원생동물 또는 바이러스 감염에 의해 유발되거나 이와 관련된 감염성 천식, 초기 천식, 유아 천명 증후군, 세기관지염, 기침형 천식 또는 약물 유발 천식), 알레르기성 기관지폐 아스페르길루스증(ABPA), 알레르기성 비염, 통년성 알레르기성 비염, 통년성 비염, 혈관 운동성 비염, 후비루, 화농성 또는 비화농성 부비동염, 급성 또는 만성 부비동염 및 격막동염, 전두동염, 상악동염 또는 접형동염을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0175] 또 다른 예로서, 류마티스성 관절염(RA)은 전형적으로 신체 전체의 표적 관절에 붓기, 통증, 운동 상실 및 압통을 유발한다. RA는 림프구가 밀집되어 있는 만성염증이 있는 활막을 특징으로 한다. 전형적으로 하나의 세포층 두께인 활막은 세포성이 강해지며 수지상 세포, T-, B- 및 NK 세포, 대식세포 및 형질 세포 군집을 포함한 림프성 조직과 유사한 형태를 띈다. 이러한 과정뿐만 아니라 항원-면역글로불린 복합체의 형성을 포함한 수많은 면역병리학적 메커니즘은 결국 관절의 온전성을 파괴하여 관절이나 그 주변의 변형, 영구적인 기능 상실 및/또는 뼈 침식을 초래한다. 개시된 화합물, 개시된 화합물의 조합 또는 이의 조성물은 RA의 이러한 증상 중 어느 하나, 여러 개 또는 전부를 치료, 개선 또는 예방하는 데 사용될 수 있다. 따라서, RA의 맥락에서, 화합물은 기저 RA의 동시 치료 및/또는 순환 류마티스 인자("RF")의 양의 감소로 이어지는지 여부에 관계없이 RA와 일반적으로 연관된 임의의 증상의 감소 또는 개선이 달성될 때 치료적 이점을 제공하는 것으로 간주된다.

[0176] 미국 류마티스 학회(American College of Rheumatology: ACR)는 RA의 개선 및 임상적 관해를 정의하는 기준을 개발하였다. 이러한 매개변수인 ACR20(20% 임상적 개선에 대한 ACR 기준)은 연화성 및 종창형 관절 계수에서의 20%의 개선뿐만 아니라 다음 5가지 매개변수 중 3가지에서의 20%의 개선을 요구한다: 환자의 전반적인 평가, 의사의 전반적인 평가, 환자의 통증, 장애 정도 및 급성기 반응물질의 수준의 평가. 이러한 기준은 ACR50 및 ACR70에서 각각 50% 및 70%의 개선으로 확대되었다. 다른 기준은 Paulu 기준 및 방사선학적 진행(예를 들어, Sharp 점수)을 포함한다.

[0177] 일부 실시형태에서, RA를 앓고 있는 환자에서의 치료적 이점은 환자가 ACR20을 나타낼 때 달성된다. 특정 실시형태에서, ACRC50 또는 심지어 ACR70의 ACR 개선이 달성될 수 있다.

[0178] 사이토카인 방출 증후군(CRS)은 인플루엔자와 같은 심각한 바이러스 감염, 암 면역요법과 같은 면역요법에 사용되는 항체와 옥살리플라틴 및 레날리도마이드와 같은 비단백질 기반 항암제의 투여를 포함한 다양한 요인으로 인해 발생할 수 있는 잠재적으로 생명을 위협할 수 있는 병태이다. 면역요법은 자연적으로 발생하는 면역 활성화 수준을 초과하는 높은 수준의 면역 활성화를 수반할 수 있으며, CRS는 그 결과로 인해 발생할 수 있는 비항원 특이적 독성이다. 면역 기반 요법이 더욱 강력해짐에 따라, CRS가 점점 더 많이 진단되고 있다. CRS는 또한 동일단배체(haploidentical) 공여자 줄기 세포 이식 및 이식편 대 숙주 질환의 환경에서도 관찰되었다

(Shimabukuro-Vornhagen *et al.*, *Journal for ImmunoTherapy of Cancer* **6**:56 (2018)). CRS는 인터류킨(IL)-6 및 인터페론 γ를 포함한 여러 사이토카인의 순환 수준 상승과 관련이 있다(Lee *et al.*, *Blood* **124(2)**:188-195 (10 July 2014; Epub 29 May 2014).

[0179] CRS는 전형적으로 상당수의 림프구 및/또는 골수성 세포가 활성화되어 염증성 사이토카인을 방출할 때 임상적으로 관찰된다. 사이토카인 방출은 화학요법 또는 생물요법에 의해 유도될 수 있고/있거나, 예를 들어, 암 치료를 위한 면역요법과 같은 치료용 항체 치료와 연관될 수 있다. CRS를 유발할 수 있는 예시적인 면역요법은 세포가 키메라 항원 수용체(chimeric antigen receptor: CAR)와 같은 재조합 수용체 및/또는 T 세포 수용체(T cell receptor: TCR)와 같은 다른 트랜스제닉 수용체를 발현하는 요법을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. CAR T 요법에 의해 유발된 CRS는 일반적으로 CAR T 세포 확장의 정점인 T 세포 주입 후 며칠 이내에 발생한다(Giavridis *et al.*, *Nat Med.* **24(6)**:731-738 (June 2018; Epub 28 May 2018). CRS를 유발할 수 있는 CAR T 요법의 예는 액시캅타진 실로류셀(axicabtagene ciloleucel)(YESCARTA®로 판매됨) 및 티사젠렉류셀(tisagenlecleucel)(KYMRIAH®로 판매됨)을 포함한다.

[0180] CRS 환자 및 해당 질환의 뮤린 모델에서도 매우 높은 인터류킨 6(IL-6) 수준이 관찰되었으며, 이는 IL-6가 CRS 병태생리에 역할을 할 수 있음을 나타낸다(Shimabukuro-Vornhagen, *J Immunother Cancer* **6**(1), 56 (2018)). IL-6은 두 가지 상이한 모드를 통해 신호를 보낼 수 있다. 고전적인 IL-6 신호전달은 IL-6가 막 결합 IL-6 수용체에 결합하는 것을 수반한다. 그러나, IL-6 수용체는 세포내 신호전달 도메인을 가지고 있지 않다. 대신, 가용성 IL-6가 막 결합 IL-6 수용체에 결합한 후, IL-6/IL-6 수용체 복합체가 막 결합 gp130에 결합하여 세포내 도메인을 통해 신호전달을 시작한다. 트랜스 신호전달에서, IL-6는 IL-6 수용체의 가용성 형태에 결합하며, 이는 전형적으로 금속단백분해효소에 의해 세포 표면으로부터 절단된다. 그 결과 생성된 가용성 IL-6/IL-6 수용체 복합체는 gp130에 결합하므로 막 결합 IL-6 수용체를 발현하지 않는 세포 유형에서도 신호전달을 유도할 수 있다.

[0181] IL-6는 CRS의 많은 주요 증상에 기여한다. 트랜스 신호전달을 통해, IL-6는 중증 CRS의 특징적인 증상, 즉, 혈관 누출과 파종성 혈관내 응고(disseminated intravascular coagulation: DIC)를 유발하는 보체 및 응고 캐스케이드의 활성화를 일으킨다. 또한, IL-6는 심근 기능 장애를 촉진함으로써 CRS 환자에서 흔히 관찰되는 심근증에 기여할 가능성이 있다. 뮤린 모델에서, CRS는 CAR T 세포 주입 후 2 내지 3일 이내에 발생하며 치명적일 수 있다(Giavridis *et al.*, *Nat Med.* **24**(6): 731-738 (2018)). CRS 증상은 항체 치료를 시작한 후 몇 분 또는 몇 시간 이내에 시작될 수 있으며, 40℃에 달하거나 이를 초과할 수 있는 발열, 메스꺼움, 피로, 두통, 빈맥, 저혈압, 발진, 호흡 곤란 및/또는 근육통을 포함할 수 있다. 그러나, 소정의 경우에, 심장 기능 장애, 성인 호흡 곤란 증후군, 신경 독성, 신부전 및/또는 간부전 및/또는 파종성 혈관내 응고를 포함한 추가적이고 잠재적으로 더 심각한 합병증이 발생할 수 있다.

[0182] 미국 국립암연구소의 부작용에 대한 공통 용어 기준(CTCAE v. 5.0, 2017년 11월 27일 발행)은 CRS에 대한 등급 시스템을 포함하고 있다.

[0183] 1등급: 전신 증상이 있거나 없는 발열.

[0184] 2등급: 수액에 반응하는 저혈압; 40% 미만의 O2에 반응하는 저산소증.

[0185] 3등급: 하나의 승압제로 관리되는 저혈압; 저산소증은 40% 이상의 O2를 필요로 함.

[0186] 4등급: 생명을 위협하는 결과; 긴급 개입이 필요함.

[0187] 5등급: 사망.

[0188] 대상체는 CRS의 징후 또는 증상을 나타내지 않을 수 있고/있거나 CRS가 발생할 위험이 있을 수 있다. 이러한 실시형태에서, 화합물을 투여하면 CRS의 발병을 실질적으로 예방하거나 2등급 이상의 CRS의 발병을 예방한다.

[0189] 대안적으로, 대상체는 CRS의 적어도 하나의 징후 또는 증상을 나타내며, 1등급 CRS의 적어도 하나의 징후 또는 증상을 나타낼 수 있다. 또는, 대상체는 3등급 이상의 CRS와 같은 2등급 이상의 CRS의 적어도 하나의 징후 또는 증상을 나타낼 수 있다. 개시된 화합물(들)은 징후 또는 증상의 발병 24시간 이내에 투여될 수 있고/있거나 화합물(들)을 투여하면 화합물(들)을 투여하기 전의 징후 또는 증상의 중증도에 비해 CRS의 등급을 4에서 3, 2 또는 1로, 또는 3에서 2 또는 1로 또는 2에서 1로 낮추는 것과 같이 CRS의 징후 또는 증상을 개선시킬 수 있다. 대안적으로, CRS 증상은 1등급 미만 수준으로 실질적으로 감소되어 대상체는 더 이상 CRS와 관련된 증상을 경험하지 않는다. 일부 실시형태에서, 징후 또는 증상은 발열이며, 40℃ 이상의 열일 수 있다.

[0190] 개시된 화합물(들)은 CRS가 알려져 있거나, 의심되거나 잠재적인 부작용인 첫 번째 요법을 이전에 투여받은 대상체에게 투여될 수 있다. 첫 번째 요법의 투여는 화합물(들) 투여 0일 이상에서 10일 전까지 시작될 수 있다. 대안적으로, 화합물(들)은 CRS가 알려져 있거나, 의심되고/되거나 잠재적인 부작용인 첫 번째 요법을 투여받거나 동시에 투여받을 대상체에게 투여될 수 있다. 첫 번째 요법은 키메라 항원 수용체(CAR) 발현 요법 및/또는 트랜스제닉 수용체 요법을 포함하지만 이에 제한되지 않는 세포 요법을 포함할 수 있다. 무세포 항체, 특히 CAMPATH 1-H, 블리나투모맙 및/또는 리툭시맙을 포함하지만 이에 제한되지 않는 T 세포를 활성화시키는 것들도 이 증후군을 유발하는 것으로 알려져 있다.

[0191] 제2 치료제, 예를 들어, 스테로이드, 항염증제, 면역억제제 또는 이들의 조합도 CRS를 치료하거나 예방하기 위해 투여될 수 있다. 스테로이드는, 예를 들어, 덱사메타손 또는 프레드니손 또는 이들의 조합과 같은 코르티코스테로이드일 수 있다. 개시된 화합물(들)은 제2 치료제와 실질적으로 동시에 투여될 수 있거나, 화합물(들)과 제2 치료제는 임의의 순서로 순차적으로 투여될 수 있다.

[0192] 급성 호흡 곤란 증후군(ARDS)은 심각한 호흡 곤란, 고통스럽고 비정상적으로 빠른 호흡, 저혈압, 혼란 및 극심한 피로를 특징으로 하는 증후군이다. 이 증후군은 PEEP가 5㎝ H_2O를 초과함에도 불구하고 PaO_2/FiO_2 비가 300㎜ Hg 미만인 것에 기초하여 진단될 수 있다(Fan et al JAMA. 319: 698-71).

[0193] ARDS는 폐포에 체액이 축적될 때 발생한다. 체액은 폐가 충분한 공기로 채워지는 것을 방해하여 혈류에 도달하는 산소량을 제한하며, 이는 결국 장기가 기능하는 데 필요한 산소를 빼앗는다. ARDS의 증상은 원인 및 중증도에 따라 강도가 다를 수 있다. ARDS의 특징인 심각한 호흡 곤란은 일반적으로 일부 호흡기 바이러스, 예를 들어, COVID-19 및 인플루엔자에 감염된 후 몇 시간에서 며칠 이내에 발생한다. ARDS에 걸린 많은 사람들이 생존하지 못하며, 사망 위험은 연령 및 질병의 중증도에 따라 증가한다. ARDS에서 살아남은 환자 중 일부는 완전히 회복하는 반면, 다른 환자는 폐에 지속적인 손상을 입는다. 일부 간행물에서 ARDS는 급성 폐 손상(Acute Lung Injury: ALI)으로 지칭될 수 있다.

[0194] 급성 콩팥 손상(acute renal injury: ARI) 또는 급성 신부전(acute renal failure: ARF)으로도 알려져 있는 급성 신장 손상(AKI)은, 예를 들어, 환자의 혈액으로부터 노폐물을 배설하는 능력을 포함한 신장 기능의 급격한 감소를 특징으로 하는 증후군이다. AKI는 사구체 여과율, 소변량 또는 둘 다의 감소를 특징으로 한다. 이러한 여과 능력의 상실로 인해 일반적으로 신장에 의해 배출되는 질소성(우레아 및 크레아티닌) 및 비질소성 노폐물이 체내에 잔류하거나, 소변량이 감소하거나 두 가지 모두가 발생한다. AKI는 원인에 따라 전신성, 내인성 신성(renal) 또는 신후성(postrenal)으로 분류될 수 있다. 내인성 신장 질환은 사구체, 세뇨관, 간질 및 혈관 이상으로 더 나뉠 수 있다. AKI는 염증성 반응을 동반하며, 이를 방치하면 신장 섬유증 및 만성 신부전으로 이어질 수 있다. AKI는 일반적으로 수 시간 또는 수 일에 걸쳐 발생하며, 잠재적으로 가역적이다. AKI는 혈청 크레아티닌의 0.3 ㎎/㎗ 이상(26.4 ㎛ol/ℓ 이상)의 절대 증가, 혈청 크레아티닌의 50%(기준선으로부터 1.5배) 이상의 백분율 증가, 소변량의 감소(적어도 6시간 동안 시간당 0.5 ㎖/㎏ 미만의 문서화된 소변량 감소(oliguria))로 식별되는 신장 기능의 급격한(즉, 예를 들어, 14일 이내, 7일 이내, 72시간 이내 또는 48시간 이내) 감소로 특징지어질 수 있다. 위험 요인은, 예를 들어, 주요 혈관 수술, 관상 동맥 우회술 또는 다른 심장 수술을 받고 있거나 받은 대상체; 기존의 울혈성 심부전, 자간전증, 자간, 진성 당뇨병, 고혈압, 관상 동맥 질환, 단백뇨, 신부전증, 정상 범위 미만의 사구체 여과, 간경변, 정상 범위 이상의 혈청 크레아티닌 또는 패혈증이 있는 대상체; 또는 NSAID, 사이클로스포린, 타크롤리무스, 아미노글리코시드, 포스카넷, 에틸렌 글리콜, 헤모글로빈, 미오글로빈, 아이포스파마이드, 중금속, 메토트렉세이트, 방사선 불투과성 조영제 또는 스트렙토조토신에 노출된 대상체를 포함한다. 이 목록은 제한 제한하려는 것이 아니다.

[0195] 신장 기능 장애는 신장 장애, 신장 질환, 신장 기능 장애, 신장암, 사고, 외과적 제거 또는 유전적 장애 또는 신장 중 하나 또는 둘 다 제대로 기능하지 않는 기타 병태로 인한 적어도 하나의 신장의 부재를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 신장 기능 장애는 급성 신장 손상을 포함할 수 있다.

[0196] 혈전증은 혈소판이 과도하게 생성되어 발생하는 응고 장애이다. 혈전증은 혈관 내부에 혈전(thrombus 또는 blood clot)이 형성되는 것을 지칭할 수 있다. 해당 용어는 제한 없이 심부 정맥 혈전증, 문맥 혈전증, 경정맥 혈전증, 신정맥 혈전증, 뇌졸중, 심근 경색, 버드-키아리 증후군, 파제트-슈뢰터병 및 뇌정맥동 혈전증을 포함한 동맥 및 정맥 혈전증을 포함한다. 일부 실시형태에서, 환자는 일반 인구에 비해 혈전성 사건의 위험이 높다(예를 들어, 알려진 위험 요인을 기준으로 측정됨). 일부 실시형태에서, 환자는 환자에게서 일반 인구에 비해 혈전증이 발생할 위험을 높이는 하나 이상의 위험 요인을 갖고 있다. 혈전증에 대한 위험 요인은, 예를 들어, 고전적인 심혈관 질환 위험 요인: 고지혈증, 흡연, 당뇨병, 고혈압 및 복부 비만; 강력한 고전적인 정맥 혈전색

전증 위험 요인: 외상 또는 골절, 주요 정형외과 수술 및 종양학적 수술; 중간의 고전적인 정맥 혈전색전증 위험 요인: 비종양학적 수술, 경구 피임약 및 호르몬 대체 요법, 임신 및 산욕기, 과응고성 및 이전의 정맥 혈전색전증; 및 약한 고전적인 정맥 혈전색전증 위험 요인: 연령, 장기 요양(3일 초과), 장기 여행 및 대사 증후군을 포함한다. 추가적인 위험 요인은 혈전증에 대한 유전적, 후천적 및 혼합적 응고 또는 대사 위험 요인, 예를 들어, 유전적의 경우: 항트롬빈 결핍증, 단백질 C 결핍증, 단백질 S 결핍증, 인자 V 라이덴, 프로트롬빈 G20210A; 후천적의 경우: 항인지질 항체 증후군; 혼합적의 경우: 고호모시스테인혈증, 증가된 피브리노겐 수준, 증가된 인자 VIII 수준, 증가된 인자 IX 수준을 포함한다. 일부 경우에, 헤파린을 사용하면, 예를 들어, 헤파린 유발 혈소판감소증(HIT)을 포함한 혈전증의 위험이 증가할 수 있다. 혈전증과 관련된 질환 및 병태는 제한 없이 급성 정맥 혈전증, 폐색전증, 임신 중 혈전증, 출혈성 피부 괴사, 급성 또는 만성 파종성 혈관내 응고(DIC), 패혈증 유발 응고병증(sepsis induced coagulopathy: SIC), 수술로 인한 혈전 생성, 장기 요양, 장기간 부동, 정맥 혈전증, 전격성 수막구균혈증, 급성 혈전성 뇌졸중, 급성 관상동맥 폐색, 급성 말초동맥 폐색, 대규모 폐색전증, 액와 정맥 혈전증, 대규모 장대퇴골 정맥 혈전증, 동맥 삽관 폐색, 정맥 삽관 폐색, 심근증, 간의 정맥폐색성 질환, 저혈압, 감소된 심박출량, 감소된 혈관 저항성, 폐고혈압, 감소된 폐 순응도, 백혈구감소증, 혈소판감소증(예를 들어, 면역성 혈소판감소증) 및 면역성 혈소판 자반증을 포함한다. 혈전증 위험이 있는 대상체에서, 대상체는 혈전증 위험이 있는 환자에서 지혈을 유지하는 당업자에게 알려진 방법을 사용하여 모니터링될 수 있다. 혈전증 위험이 있는 환자를 모니터링하기 위한 방법의 예로는 제한 없이 컴퓨터 조영 엑스레이 촬영법, 시험관내 검정 또는 비침습적 방법이 포함된다. 혈전증 위험이 있는 대상체를 식별하고 모니터링하고 본 방법을 사용하여 치료하는 데 유용한 시험관내 검정의 예는 제한 없이 기능 검정 및 항체 검출 검정을 포함한다.

[0197] 혈전성 이벤트는 혈전증으로 인해 동맥 또는 정맥이 막히거나 부분적으로 막히는 것을 수반하는 임의의 장애를 지칭한다. 혈전성 이벤트는 심근 경색, 불안정 협심증, 뇌졸중, 폐색전증, 일과성 허혈 발작, 심부 정맥 혈전증, 혈전성 재폐색 및 말초 혈관 혈전증과 같은 혈전성 장애를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 혈전성 이벤트는 관상동맥 중재술 또는 혈전용해 요법 후에 발생하는 혈전성 재폐색도 포함한다.

[0198] COVID-19는 중국 우한에서 처음 발견된 SARS-CoV-2(구명칭 2019-nCoV) 감염으로 인해 발생하는 질환이다.

[0199] COVID-19 관련 ARDS는 SARS-CoV-2 감염으로 인해 발생하는 ARDS를 지칭한다. COVID-19 관련 ARDS가 있는 환자는 COVID-19에 감염된 것으로 진단을 받았을 수 있거나, COVID19에 감염된 또 다른 사람에게 노출되었을 수 있거나, 증상으로 볼 때 COVID-19에 감염된 것으로 의심될 수 있다.

[0200] COVID-19 관련 AKI는 SARS-CoV-2 감염으로 인해 발생하는 AKI를 지칭한다. COVID-19 관련 AKI가 있는 환자는 COVID-19에 감염된 것으로 진단을 받았을 수 있거나, COVID-19에 감염된 또 다른 사람에게 노출되었을 수 있거나, 증상으로 볼 때 COVID-19에 감염된 것으로 의심될 수 있다. 일부 경우에, COVID-19 관련 AKI는, 예를 들어, 개시내용 전체가 참조에 의해 본 명세서에 원용되어 있는 문헌[Batlle et al. J. AM. SOC. NEPHROL. 2020, 31(7): 1380-1383 및 Gabarre et al. Intensive Care Med. 2020, 46(7): 1339-1348]에 기술되어 있는 증상을 나타내는 AKI를 포함한다.

[0201] COVID-19 관련 혈전증은 SARS-CoV-2 감염으로 인해 발생하는 혈전증을 지칭한다. COVID-19 관련 혈전증이 있는 환자는 COVID-19에 감염된 것으로 진단을 받았을 수 있거나, COVID-19에 감염된 또 다른 사람에게 노출되었을 수 있거나, 증상으로 볼 때 COVID-19에 감염된 것으로 의심될 수 있다. 일부 경우에, COVID-19 관련 혈전증은, 예를 들어, 개시내용 전체가 참조에 의해 본 명세서에 원용되어 있는 문헌[Connors et al. Blood 2020, 135(23): 2033-2040 및 Bikdeli et al. J. Am. Coll. Cardiol. 2020, 75(23): 2950-73]에 기술되어 있는 임의의 증상을 포함한다.

[0202] 용어 "COVID-19와 관련된"은 전형적으로 COVID-19로 인한 입원/징후 이후 28일 이내에 발생하는 증상 또는 적응증을 지칭한다.

[0203] COVID-19 관련 ARDS의 경우, 성공적인 치료는 호흡 곤란의 감소, 덜 고통스러운 호흡 또는 덜 빠른 호흡, 높은 혈압, 혼란 감소 및/또는 피로 감소를 포함할 수 있다. 치료는 예방적으로, 즉, ARDS가 발병하기 전에 투여될 수 있다. 예방적 치료는 ARDS를 예방하며, COVID-19에 감염되었거나 감염되었을 것으로 의심되지만 ARDS의 심각한 증상은 없는 환자에게 투여될 수 있다. 예를 들어, 예방적 치료는 ARDS의 다른 증상 없이 기침을 하는 환자에게 투여될 수 있다.

[0204] COVID-19 관련 AKI의 경우, 성공적인 치료는 신장 기능의 증가를 포함할 수 있다. 신장 기능은 혈청 크레아티닌

수준, 혈청 크레아티닌 제거율 또는 혈액 우레아 질소 수준을 측정함으로써 평가될 수 있다. 일부 경우에, 성공적인 치료는 대사성 산증, 고칼륨혈증, 소변량 감소 또는 무뇨증, 질소혈증이 감소하는 것, 체액 균형이 회복되는 것 및 다른 장기 시스템에 미치는 효과가 개선되는 것을 포함한다. 치료는 예방적으로, 즉, AKI가 발병하기 전에 투여될 수 있다. 예방적 치료는 AKI를 예방하며, COVID-19에 감염되었거나 감염되었을 것으로 의심되지만 AKI의 심각한 증상은 없는 환자에게 투여될 수 있다. 예를 들어, 예방적 치료는 AKI의 다른 증상이 없고 증가된 혈청 또는 소변 크레아티닌, 혈뇨, 저단백혈증, 감소된 항트롬빈 III 수준, 저알부민혈증, 백혈구감소증 또는 단백뇨 중 하나 이상이 있는 환자에게 투여될 수 있다.

[0205] COVID-19 관련 혈전증의 경우, 성공적인 치료는 대상체의 응고 프로파일을 개선시키거나, 대상체가 위험에 처한 응고 프로파일의 악화를 예방, 둔화, 지연 또는 중단시키는 것을 포함할 수 있다. 응고 프로파일은, 예를 들어, 대상체의 D-이량체, 인자 II, 인자 V(예를 들어, 인자 V 라이덴), 인자 VII, 인자 VIII, 인자 IX, 인자 XI, 인자 XII, 인자 XIII, F/피브린 분해 산물, 트롬빈-항트롬빈 111 복합체, 피브리노겐, 플라스미노겐, 프로트롬빈 및 폰빌레브란트 인자 중 하나 이상의 혈청 수준을 포함한 하나 이상의 응고 매개변수를 측정함으로써 평가될 수 있다. 응고 프로파일을 위해 측정될 수 있는 추가적인 응고 매개변수는, 예를 들어, 프로트롬빈 시간, 트롬보플라스틴 시간, 활성화된 부분적인 트롬보플라스트 시간(activated partial thromboplast time: aPTT), 항트롬빈 활성, 혈소판 수, 단백질 C 수준 및 단백질 S 수준을 포함한다. 또한, 치료 전에 환자에게서 C 반응성 단백질의 수준이 평가될 수도 있고, 이 수치가 높으면 환자의 혈전증 위험이 증가하였다는 추가 지표로서 사용될 수 있다.

[0206] 패혈증은 감염에 대한 면역 반응의 조절 장애로 인해 발생하는 생명을 위협하는 장기 기능 장애의 임상적 증후군이다. 더 심각한 형태의 패혈증인 "패혈성 쇼크"는 조직 관류의 심각한 감소; 폐, 신장 및 간을 포함한 여러 장기의 급성 기능 부전을 특징으로 한다. 면역 능력이 있는 환자에 있어서 흔한 원인은 다양한 종의 그람 양성 및 그람 음성 세균을 포함한다. 면역력이 약화된 환자에서는 흔하지 않은 세균 또는 진균 종이 원인일 수 있다. 징후는 발열, 저혈압, 소변량 감소 및 혼란을 포함한다. 진단은 감염을 나타내는 배양 결과와 함께 주로 임상적이며; 조기 인식 및 치료가 중요하다. 치료는 적극적인 수액 소생, 항생제, 감염되거나 괴사된 조직의 외과적 절제와 고름 배액 및 지지적 치료이다.

[0207] 인플루엔자는 일반적으로 "독감(flu)"으로 알려진 질환이다. 인플루엔자는 핵단백질 및 매트릭스 단백질을 기준으로 구분되는 4개의 별도의 그룹: 인플루엔자 A, 인플루엔자 B, 인플루엔자 C 및 인플루엔자 D으로 나눌 수 있는 바이러스 그룹에 의해 발생한다. 인플루엔자는 바이러스성 호흡기 감염을 일으켜 발열, 코감기, 기침, 두통 및 불쾌감을 유발한다. 인플루엔자 A, B 및 C는 모두 인간을 감염시키는 반면, 인간 인플루엔자 D 감염 사례는 기록되어 있지 않다. 반면, 인플루엔자 C는 인플루엔자 A, B 또는 C에 감염된 개체에게서 나타나는 전형적인 인플루엔자 질병을 유발하지 않는다.

[0208] 인플루엔자 A 균주는 두 가지 표면 단백질인 헤마글루티닌(H) 및 뉴라미니데이스(N)를 기준으로 추가로 분류된다. 18개의 상이한 헤마글루티닌 하위 유형과 11개의 상이한 뉴라미니데이스 하위 유형(각각 H1 내지 H18 및 N1 내지 N11)이 있다. 잠재적으로 198개의 상이한 인플루엔자 A 하위 유형 조합이 있을 수 있지만, 131개의 하위 유형만이 자연에서 발견되었다. 현재 사람들 사이에서 흔히 유행하는 인플루엔자 A 바이러스의 하위 유형은 A(H1N1) 및 A(H3N2)를 포함한다.

[0209] 인플루엔자와 관련된 사이토카인 방출 관련 병태는 폐 및/또는 신장에서 사이토카인 방출의 수준이 높아지는 인플루엔자와 관련된 임의의 병태를 지칭한다. 사이토카인 방출 관련 병태는 제한 없이 인플루엔자 관련 ARDS, 인플루엔자 관련 AKI, 인플루엔자 관련 혈전증, 인플루엔자 관련 패혈증, 인플루엔자 관련 패혈성 쇼크 등을 포함한다.

[0210] 인플루엔자 관련 ARDS는 인플루엔자 감염에 의해 발생하는 ARDS이다. 인플루엔자 관련 ARDS가 있는 환자는 인플루엔자에 감염된 것으로 진단을 받았을 수 있거나, 인플루엔자에 감염된 또 다른 사람에게 노출되었을 수 있거나, 증상으로 볼 때 인플루엔자에 감염된 것으로 의심될 수 있다.

[0211] 인플루엔자 관련 AKI는 인플루엔자 감염에 의해 발생하는 AKI이다. 인플루엔자 관련 AKI가 있는 환자는 인플루엔자에 감염된 것으로 진단을 받았을 수 있거나, 인플루엔자에 감염된 또 다른 사람에게 노출되었을 수 있거나, 증상으로 볼 때 인플루엔자에 감염된 것으로 의심될 수 있다. 일부 경우에, 인플루엔자 관련 AKI는, 예를 들어, 시내용 전체가 참조에 의해 본 명세서에 원용되어 있는 문헌[Batlle et al. J. AM. SOC. NEPHROL. 2020, 31(7): 1380-1383 및 Gabarre et al. Intensive Care Med. 2020, 46(7): 1339-1348]에 기술되어 있는 증상을 갖는 AKI를 포함한다.

[0212] 인플루엔자 관련 혈전증은 인플루엔자 감염에 의해 발생하는 혈전증이다. 인플루엔자 관련 혈전증이 있는 환자는 인플루엔자에 감염된 것으로 진단을 받았을 수 있거나, 인플루엔자에 감염된 또 다른 사람에게 노출되었을 수 있거나, 증상으로 볼 때 인플루엔자에 감염된 것으로 의심될 수 있다. 일부 경우에, 인플루엔자 관련 혈전증은, 예를 들어, 개시내용 전체가 참조에 의해 본 명세서에 원용되어 있는 문헌[Connors et al. Blood 2020, 135(23): 2033-2040 및 Bikdeli et al. J. Am. Coll. Cardiol. 2020, 75(23): 2950-73]에 기술되어 있는 임의의 증상을 포함한다.

[0213] 인플루엔자 관련 패혈증은 인플루엔자 감염에 의해 발생하는 패혈증이다. 인플루엔자 관련 패혈증이 있는 환자는 인플루엔자에 감염된 것으로 진단을 받았을 수 있거나, 인플루엔자에 감염된 또 다른 사람에게 노출되었을 수 있거나, 증상으로 볼 때 인플루엔자에 감염된 것으로 의심될 수 있다. 일부 경우에, 인플루엔자 관련 혈전증은, 예를 들어, 개시내용 전체가 참조에 의해 본 명세서에 원용되어 있는 문헌[Florescu et al. Virulence. 2014 Jan 1; 5(1): 137-142 및 Gu et al. Eur Respir Rev. 2020 Jul 21;29(157):200038]에 기술되어 있는 임의의 증상을 포함한다.

[0214] 용어 "인플루엔자와 관련된"은 인플루엔자 감염으로 인한 입원/징후 이후 28일 이내에 발생하는 증상 또는 적응증을 지칭한다.

[0215] 인플루엔자 관련 ARDS의 경우, 성공적인 치료는 호흡 곤란의 감소, 덜 고통스러운 호흡 또는 덜 빠른 호흡, 높은 혈압, 혼란 감소 및/또는 피로 감소를 포함할 수 있다. 치료는 예방적으로, 즉, ARDS가 발병하기 전에 투여될 수 있다. 예방적 치료는 ARDS를 예방하며, 인플루엔자에 감염되었거나 감염되었을 것으로 의심되지만 ARDS의 심각한 증상은 없는 환자에게 투여될 수 있다. 예를 들어, 예방적 치료는 ARDS의 다른 증상 없이 기침을 하는 환자에게 투여될 수 있다.

[0216] 인플루엔자 관련 AKI의 경우, 성공적인 치료는 신장 기능의 증가를 포함할 수 있다. 신장 기능은 혈청 크레아티닌 수준, 혈청 크레아티닌 제거율 또는 혈액 우레아 질소 수준을 측정함으로써 평가될 수 있다. 일부 경우에, 성공적인 치료는 대사성 산증, 고칼륨혈증, 소변량 감소 또는 무뇨증, 질소혈증이 감소하는 것, 체액 균형이 회복되는 것 및 다른 장기 시스템에 미치는 효과가 개선되는 것을 포함한다. 치료는 예방적으로, 즉, AKI가 발병하기 전에 투여될 수 있다. 예방적 치료는 AKI를 예방하며, 인플루엔자에 감염되었거나 감염되었을 것으로 의심되지만 AKI의 심각한 증상은 없는 환자에게 투여될 수 있다. 예를 들어, 예방적 치료는 AKI의 다른 증상이 없고 증가된 혈청 또는 소변 크레아티닌, 혈뇨, 저단백혈증, 감소된 항트롬빈 III 수준, 저알부민혈증, 백혈구감소증 또는 단백뇨 중 하나 이상이 있는 환자에게 투여될 수 있다.

[0217] 인플루엔자 관련 혈전증의 경우, 성공적인 치료는 대상체의 응고 프로파일을 개선시키거나, 대상체가 위험에 처한 응고 프로파일의 악화를 예방, 둔화, 지연 또는 중단시키는 것을 포함할 수 있다. 응고 프로파일은, 예를 들어, 대상체의 D-이량체, 인자 II, 인자 V(예를 들어, 인자 V 라이덴), 인자 VII, 인자 VIII, 인자 IX, 인자 XI, 인자 XII, 인자 XIII, F/피브린 분해 산물, 트롬빈-항트롬빈 111 복합체, 피브리노겐, 플라스미노겐, 프로트롬빈 및 폰빌레브란트 인자 중 하나 이상의 혈청 수준을 포함한 하나 이상의 응고 매개변수를 측정함으로써 평가될 수 있다. 응고 프로파일을 위해 측정될 수 있는 추가적인 응고 매개변수는, 예를 들어, 프로트롬빈 시간, 트롬보플라스틴 시간, 활성화된 부분적 트롬보플라스트 시간(aPTT), 항트롬빈 활성, 혈소판 수, 단백질 C 수준 및 단백질 S 수준을 포함한다. 또한, 치료 전에 환자에게서 C 반응성 단백질의 수준이 평가될 수도 있고, 이 수치가 높으면 환자의 혈전증 위험이 증가하였다는 추가 지표로서 사용될 수 있다.

[0218] 인플루엔자 관련 패혈증 또는 패혈성 쇼크의 경우, 성공적인 치료는 발열의 감소, 높거나 적당히 높은 심박수(예를 들어, 빈맥)의 감소, 발한(즉, 다한증) 감소, 혼란 감소 및/또는 피로 감소 및/또는 호흡 곤란의 감소, 덜 고통스러운 호흡 또는 덜 빠른 호흡을 포함할 수 있다. 치료는 예방적으로, 즉, 패혈증 또는 패혈성 쇼크가 발병하기 전에 투여될 수 있다. 예방적 치료는 패혈증 또는 패혈성 쇼크를 예방하며, 인플루엔자에 감염되었거나 감염되었을 것으로 의심되지만 패혈증 또는 패혈성 쇼크의 심각한 증상은 없는 환자에게 투여될 수 있다. 예를 들어, 예방적 치료는 패혈증 또는 패혈성 쇼크의 다른 증상 없이 기침을 하는 환자에게 투여될 수 있다.

[0219] 추가적으로, 개시된 화합물, 개시된 화합물의 조합 또는 이의 조성물은 겸상적혈구 질환을 치료하는 데, 특히 질환에서 나타나는 면역 반응을 감소시키는 데 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 대상체는 다음 증상 중 하나 이상을 나타낼 수 있다: 빈혈, 겸상적혈구 위기, 혈관 막힘 위기, 비장 격리 위기, 비장 격리 위기, 급성 흉부 증후군, 급성 흉부 증후군, 무형성 위기, 용혈 위기, 족지염, 폐렴, 호흡기 감염, 골수 색전증 또는 폐확장부전.

[0220] 겸상적혈구 질환(Sickle cell disease: SCD)은 전형적으로 유전되는 혈액 장애군이다. 가장 흔한 유형은 겸상적혈구 빈혈로 알려져 있고, 이로 인해 적혈구에서 발견되는 산소 운반 단백질 헤모글로빈에 이상이 발생한다. 이로 인해 소정의 상황에서 딱딱한 낫 모양이 생성된다. 겸상적혈구 질환의 문제는 전형적으로 생후 5 내지 6개월경에 시작되며, 통증 발작(겸상적혈구 위기로 알려져 있음), 빈혈, 손과 발의 부기, 세균 감염 및 뇌졸중과 같은 여러 가지 건강 문제가 발생할 수 있다. 사람이 나이가 들면서 장기적인 통증이 발생할 수 있다.

[0221] 겸상적혈구 질환은 헤모글로빈을 만드는 β-글로빈 유전자(HBB)의 비정상적인 카피 2개를 부모로부터 각각 하나씩 물려받을 때 발생한다. 해당 유전자는 11번 염색체에서 발생한다. 각 헤모글로빈 유전자의 정확한 돌연변이에 따라 여러 하위 유형이 존재한다. 발작은 온도 변화, 스트레스, 탈수 및 높은 고도에 의해 시작될 수 있다.

[0222] 겸상적혈구 질환이 있는 사람의 치료는 예방 접종 및 항생제, 고수분 섭취, 폴산 보충 및 진통제를 사용한 감염 예방을 포함할 수 있다. 다른 조치로는 수혈 및 하이드록시카바마이드(하이드록시우레아) 약물 치료를 포함할 수 있다. 소수의 사람들은 골수 세포의 이식으로 치료될 수 있다. 겸상적혈구 질환이 있는 환자는 다음과 같은 증상을 나타낼 수 있다:

[0223] 겸상적혈구 위기: 용어 "겸상적혈구 위기" 또는 "겸상적혈구화 위기"는 SCD가 있는 대상체에서 발생하는 여러 가지 독립적인 급성 병태를 설명하는 데 사용될 수 있으며, 이는 빈혈 및 혈관 막힘 위기, 무형성 위기, 비장 격리 위기, 용혈 위기 등을 포함한 여러 유형일 수 있는 위기를 초래한다. 겸상적혈구 위기의 대부분의 에피소드는 5 내지 7일 동안 지속된다. 감염, 탈수 및 산증(모두 겸상적혈구화에 유리함)이 트리거로서 작용할 수 있지만, 대부분의 경우 소인이 식별되지 않는다.

[0224] 혈관 막힘 위기: 혈관 막힘 위기는 모세혈관을 막고 장기로의 혈류를 제한하여 허혈, 통증, 괴사 및 종종 장기 손상을 초래하는 낫 모양의 적혈구에 의해 발생한다. 이러한 위기의 빈도, 중증도 및 지속 기간은 상당히 다양하다. 고통스러운 위기는 수분 공급, 진통제 및 수혈로 치료되고; 통증 관리는 위기가 가라앉을 때까지 정기적으로 오피오이드 약물 투여가 필요하다. 경증 위기의 경우, 대상체의 하위 집단은 다이클로페낙 또는 나프록센과 같은 비스테로이드성 항염증성 약물로 관리한다. 더 중증의 위기의 경우, 대부분의 대상체는 정맥내 오피오이드에 대한 대상체별 관리가 필요하고; 이러한 환경에서는 대상체 통제 진통 장치가 일반적으로 사용된다. 음경 또는 폐와 같은 장기를 포함하는 혈관 막힘 위기는 응급 상황으로 간주되며 적혈구 수혈로 치료된다. 폐확장부전의 발생을 최소화하기 위해 심호흡을 장려하는 기법인 유발폐활량 측정법(incentive spirometry)이 권장된다.

[0225] 비장 격리 위기: 낫 모양의 적혈구가 혈관을 좁히고 결함이 있는 세포를 제거하는 기능을 저하시키기 때문에 겸상적혈구 질환은 비장에 자주 영향을 미친다. 겸상적혈구 빈혈이 있는 개인의 경우 일반적으로 유년기가 끝나기 전에 경색이 발생한다. 이러한 비장 손상은 외피가 있는 유기체에 감염될 위험을 증가시키고; 적절한 비장 기능이 부족한 사람들에게는 예방적 항생제 및 예방 접종이 권장된다.

[0226] 비장 격리 위기는 비장의 급성적이고 고통스러운 비대증으로, 적혈구가 비장내에 갇혀 헤모글로빈 수준이 급격히 떨어지고 저혈량성 쇼크가 발생할 가능성이 있다. 격리 위기는 응급 상황으로 간주된다. 치료하지 않으면, 대상체는 순환 부전으로 인해 1 내지 2시간 이내에 사망할 수 있다. 관리는 지지적이며, 때로는 수혈을 포함한다. 이러한 위기는 일과성이며; 이는 3 내지 4시간 동안 지속되고 하루 종일 지속될 수 있다.

[0227] 급성 흉부 증후군: 급성 흉부 증후군은 이들 징후 또는 증상: 흉부 통증, 발열, 폐 침윤 또는 국소적 이상, 호흡기 증상 또는 저산소증 중 적어도 두 가지로 정의된다. 이는 두 번째로 가장 흔한 합병증이며, SCD가 있는 대상체의 사망률의 약 25%를 차지한다. 대부분의 경우 혈관 막힘 위기가 나타나고, 그 다음에 급성 흉부 증후군이 발생한다. 그럼에도 불구하고, 약 80%의 사람들이 급성 흉부 증후군 동안 혈관 막힘 위기를 겪는다.

[0228] 무형성 위기: 무형성 위기는 대상체의 기저 빈혈이 급격히 악화되어 창백한 모습, 빠른 심박수 및 피로를 유발하는 경우이다. 이 위기는 일반적으로 적혈구 전구체에 침입하여 증식하고 이를 파괴함으로써 적혈구 생성에 직접 영향을 미치는 파보바이러스 B19에 의해 촉발된다. 파보바이러스 감염은 2 내지 3일 동안 적혈구 생성을 거의 완전히 방해한다. 정상적인 개인에게는 별 문제가 없지만, SCD 대상체의 적혈구 수명이 짧아져 갑작스럽게 생명을 위협하는 상황이 초래된다. 이 질환에 걸린 동안 망상적혈구 수는 극적으로 떨어지고(망상적혈구감소증을 유발함), 적혈구의 빠른 교체로 인해 헤모글로빈이 감소한다. 이 위기는 사라지는 데 4 내지 7일이 걸린다. 대부분의 대상체는 지지적으로 관리될 수 있지만; 일부는 수혈이 필요하다.

[0229] 용혈 위기: 용혈성 위기는 헤모글로빈 수준이 급격히 떨어지는 것이다. 적혈구가 더 빠른 속도로 분해된다. 이는 특히 G6PD 결핍이 공존하는 사람들에게 흔하다. 겸상적혈구 질환에서 용혈성 위기가 미치는 또 다른 영향은

적혈구, 백혈구 및 혈소판에 대한 산화 스트레스이다. 골수에서 적혈구가 충분히 생성되지 않으면, 신체가 받아서 처리하고 운반하는 산소와 신체의 항산화제의 균형이 맞지 않는다. 세포 내 산소 반응성 종의 불균형이 발생하여, 적절하게 산소가 공급되지 않거나 형성되지 않은 적혈구가 더 많이 생성된다. 산화 스트레스는 조직 내 산소의 불균형으로 인해 빈혈로 이어질 수 있다. 관리는 지지적이며, 때로는 수혈을 포함한다.

[0230] 또한, 가장 이른 임상적 증상 중 하나는 족지염으로, 이는 생후 6개월 만에 나타나며 겸상적혈구 소질이 있는 어린이에게 발생할 수 있다. 위기는 최대 1개월까지 지속될 수 있다. 폐렴과 폐의 겸상적혈구화가 둘 다 급성 흉부 증후군의 증상을 유발할 수 있다는 점을 감안할 때, 대상체는 두 병태 모두에 대해 치료를 받는다. 이는 고통스러운 위기, 호흡기 감염, 골수 색전증 또는 아마도 폐확장부전, 아편제 투여 또는 수술에 의해 촉발될 수 있다. 조혈성 궤양도 발생할 수 있다.

[0231] 추가적으로, 개시된 화합물, 개시된 화합물의 조합 또는 이의 조성물은 폐 손상을 치료하는 데 사용될 수 있다. 폐 손상은 화학 물질 또는 방사선 유발 폐 손상일 수 있다.

[0232] 일부 실시형태에서, 대상체는 폐 자극물을 흡입하였을 수 있거나 이에 노출될 것으로 예상될 수 있다. 일부 실시형태에서, 대상체는 질식 작용제(choking agent)를 흡입하였을 수 있거나 흡입할 것으로 예상될 수 있다. 폐 작용제 또는 질식 작용제는 대상체의 호흡 능력을 방해하도록 설계된 화학 작용제이다. 이들 화합물은 일반적으로 폐에 체액을 축적시켜 질식을 유발한다. 이러한 작용제의 흡입은 인후 화상, 기침, 구토, 두통, 가슴 통증, 가슴 답답함, 호흡 및 순환 부전을 야기한다. 이러한 작용제의 예는 클로린 가스, 클로로피크린(PS), 다이포스겐(DP), 포스겐(CG), 이황 데카플루오라이드, 퍼플루오로아이소뷰텐, 아크롤레인 및 피페닐사이아노아르신을 포함한다. 포스겐 유발 급성 폐 손상(phosgene-induced acute lung injury: P-ALI)은 일반적으로 단기 포스겐 흡입과 관련이 있다. 장기 노출은 만성 호흡저하, 난치성 폐 부종 및 기타 관련 폐 손상을 유발할 수 있으며, 궁극적으로 ARDS로 이어질 수 있다. 화학성 폐렴은 화학물질 연기를 흡입하거나 소정의 화학 물질을 흡입하여 숨이 막혀 폐에 염증이 생기거나 호흡이 곤란해지는 것이다.

[0233] 추가적으로, 개시된 화합물, 개시된 화합물의 조합 또는 이의 조성물은 급성 흡입 손상(acute inhalation injury: AII) 및 전자 담배 또는 불연성 담배 제품 사용 관련 폐 손상(e-cigarette, or vaping, product use-associated lung injury: EVALI)을 치료 또는 예방하는 데 사용될 수 있다.

[0234] 다른 실시형태에서, 대상체는 이온화 방사선에 노출되었거나 노출될 것으로 예상된다. 이러한 실시형태에서, 대상체는 방사선 유발 폐 손상(radiation induced lung injury: RILI)을 갖고 있거나 가질 것으로 예상된다. 일부 실시형태에서, 대상체는 방사선 폐렴 또는 방사선 폐 섬유증을 가질 수 있다. 이러한 실시형태에서, 대상체는 흉부 방사선요법을 받았거나 받고 있을 수 있고, 방사성 물질을 흡입하였을 수 있거나 이온화 방사선에 직접 노출되었을 수 있다. 예를 들어, 대상체는 방사성 물질을 흡입하였거나, 예를 들어, 핵무기 또는 원자력 발전소의 누출로 인해 이온화 방사선에 직접 노출되었을 수 있다.

[0235] 개시된 화합물, 개시된 화합물의 조합 또는 이의 조성물은 또한 에볼라 바이러스 질환, 알쿠르마 출혈열, 차파레 출혈열, 크림-콩고 출혈열, 한타바이러스 폐 증후군(Hantavirus Pulmonary Syndrome: HPS), 신장 증후군을 동반한 출혈열(Hemorrhagic fever with renal syndrome: HFRS), 키아사누르 산림 질환(Kyasanur Forest Disease: KFD), 라사열, 루조 출혈열, 마르부르크 출혈열, 옴스크 출혈열, 리프트 밸리 열, 황열병 또는 뎅기열, 예컨대, 중증 뎅기열(뎅기 출혈열)을 포함한 출혈열 또는 이의 증상을 치료 또는 예방하는 데 사용될 수 있다.

[0236] **B. 제형 및 투여**

[0237] 본 개시내용의 하나 이상의 활성 화합물을 포함하는 약제학적 조성물은 혼합, 용해, 과립화, 당의정 제조, 분쇄, 유화, 캡슐화, 포집 또는 동결건조 과정과 같은 임의의 적합한 방법에 의해 제조될 수 있다. 조성물은 약제학적으로 사용될 수 있는 제제를 제공하기 위해 하나 이상의 생리학적으로 허용 가능한 부형제, 희석제, 담체, 보조제 또는 조제를 사용하여 제형화될 수 있다.

[0238] 활성 화합물(들)은 그 자체로 약제학적 조성물로 제형화될 수 있거나, 수화물, 용매화물, N-산화물 또는 약제학적으로 허용 가능한 염의 형태로 제형화될 수 있다. 전형적으로, 이러한 염은 상응하는 유리산과 염기보다 수용액에서 더 잘 용해되지만, 상응하는 유리산과 염기보다 용해도가 낮은 염이 형성될 수도 있다.

[0239] 개시된 화합물(들)을 포함하는 약제학적 조성물은, 예를 들어, 국소, 안구, 경구, 협측, 전신, 비강, 주사, 예컨대, i.v. 또는 i.p., 경피, 직장, 질 등을 포함하여 사실상 모든 투여 방식에 적합한 형태를 취할 수 있거나

흡입 또는 취입에 적합한 형태를 취할 수 있다.

[0240] 국소 투여의 경우, 활성 화합물(들)(또는 수화물, 용매화물, N-산화물 또는 약제학적으로 허용 가능한 이의 염)은 당업계에 잘 알려진 바와 같이 용액, 겔, 연고, 크림, 현탁액 등으로 제형화될 수 있다.

[0241] 전신 제형은 주사, 예를 들어, 피하, 정맥내, 근육내, 경막내 또는 복강내 주사 투여용으로 설계된 것뿐만 아니라 경피, 점막 경구 또는 폐 투여용으로 설계된 것을 포함한다.

[0242] 유용한 주사용 제제는 수성 또는 유성 비히클 중 활성 화합물(들)의 멸균 현탁액, 용액 또는 에멀션을 포함한다. 조성물은 현탁제, 안정화제 및/또는 분산제와 같은 제형화제도 포함할 수 있다. 주사용 제형은 단위 투여 형태, 예를 들어, 앰풀 또는 다중투여 용기로 제공될 수 있고, 방부제가 첨가될 수 있다.

[0243] 대안적으로, 주사용 제형은 사용 전에 멸균되고, 무발열원수, 완충액, 덱스트로스 용액 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는 적합한 비히클과 함께 재구성하기 위한 분말 형태로 제공될 수 있다. 이를 위해, 활성 화합물(들)은 동결건조와 같은 임의의 당업계에 공지된 기법을 사용하여 건조되고, 사용 전에 재구성될 수 있다.

[0244] 점막 투여의 경우, 침투될 장벽에 적절한 침투제가 제형에 사용된다. 이러한 침투제는 당업계에 공지되어 있다.

[0245] 경구 투여의 경우, 약제학적 조성물은, 예를 들어, 결합제(예를 들어, 전호화 옥수수 전분, 폴리바이닐피롤리돈 또는 하이드록시프로필 메틸셀룰로스); 충전제(예를 들어, 락토스, 미세결정질 셀룰로스 또는 칼슘 하이드로겐 포스페이트); 윤활제(예를 들어, 마그네슘 스테아레이트, 활석 또는 실리카); 붕해제(예를 들어, 감자 전분 또는 소듐 전분 글리콜레이트); 및/또는 습윤제(예를 들어, 소듐 라우릴 설페이트)와 같은 약제학적으로 허용 가능한 부형제를 사용하여 통상적인 수단에 의해 제조되는 로젠지, 정제 또는 캡슐의 형태를 취할 수 있다. 정제는, 예를 들어, 당, 필름 또는 장용 코팅제를 사용하여 당업계에 잘 알려진 방법에 의해 코팅될 수 있다.

[0246] 경구 투여용 액체 제제는, 예를 들어, 엘릭서, 용액, 시럽 또는 현탁액의 형태를 취할 수 있거나, 사용 전에 물 또는 다른 적합한 비히클로 재구성하기 위해 건조 생성물로 제공될 수 있다. 이러한 액체 제제는 현탁제(예를 들어, 소르비톨 시럽, 셀룰로스 유도체 또는 수소화 식용 지방); 유화제(예를 들어, 레시틴 또는 아카시아); 비수성 비히클(예를 들어, 아몬드유, 유성 에스터, 에틸 알코올, cremophore™ 또는 분별 식물성유); 및 방부제(예를 들어, 메틸 또는 프로필-p-하이드록시벤조에이트 또는 소르브산)와 같은 약제학적으로 허용 가능한 부형제를 사용하여 통상적인 수단에 의해 제조될 수 있다. 제제는 필요에 따라 완충액 염, 방부제, 향미료, 착색제 및 감미료를 포함할 수도 있다.

[0247] 경구 투여용 제제는 잘 알려진 바와 같이 활성 화합물의 제어 방출을 제공하도록 적절히 제형화될 수 있다.

[0248] 협측 투여의 경우, 조성물은 통상적인 방식으로 제형화된 정제 또는 로젠지의 형태를 취할 수 있다.

[0249] 직장 및 질 투여 경로의 경우, 활성 화합물(들)은 코코아 버터 또는 기타 글리세리드와 같은 통상적인 좌약 베이스를 포함하는 용액(정체 관장용) 좌약 또는 연고로 제형화될 수 있다.

[0250] 비강 투여 또는 흡입 또는 취입에 의한 투여의 경우, 활성 화합물(들), 수화물, 용매화물, N-산화물 또는 약제학적으로 허용 가능한 염은 적합한 추진제, 예를 들어, 다이클로로다이플루오로메테인, 트라이클로로플루오로메테인, 다이클로로테트라플루오로에테인, 플루오로탄소, 이산화탄소 또는 기타 적합한 가스를 사용하여 가압 팩 또는 분무기로부터 에어로졸 스프레이의 형태로 편리하게 전달될 수 있다. 가압 에어로졸의 경우, 정량을 전달하기 위한 밸브를 제공함으로써 투여 단위가 결정될 수 있다. 흡입기 또는 취입기에 사용하기 위한 캡슐 및 카트리지(예를 들어, 젤라틴으로 구성된 캡슐 및 카트리지)는 화합물의 분말 믹스와 락토스 또는 전분과 같은 적합한 분말 베이스를 포함하여 제형화될 수 있다.

[0251] 약제학적 조성물은 멸균 주사용 수성 또는 유성 현탁액의 형태일 수 있다. 이 현탁액은 위에 언급된 적합한 분산제 또는 습윤제 및 현탁제를 사용하여 공지된 기술에 따라 제형화될 수 있다. 멸균 주사용 제제는 또한 비독성의 비경구적으로 허용 가능한 희석제 또는 용매 중 멸균 주사용 용액 또는 현탁액일 수 있다. 사용될 수 있는 허용 가능한 비히클 및 용매 중에는 물, 링거액 및 등장성 염화나트륨 용액이 있다.

[0252] 본 개시내용에 따르면, 개시된 화합물(들), 이의 용매화물, N-산화물, 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 프로드러그(들)의 형태는 또한, 예를 들어, 미국 특허 제6,241,969호; 미국 특허 제6,060,069호; 미국 특허 제6,238,647호; 미국 특허 제6,335,316호; 미국 특허 제5,364,838호; 미국 특허 제5,672,581호; 제WO96/32149호; 제WO95/24183호; 미국 특허 제5,654,007호; 미국 특허 제5,404,871호; 미국 특허 제5,672,581호; 미국 특허 제

5,743,250호; 미국 특허 제5,419,315호; 미국 특허 제5,558,085호; 제WO98/33480호; 미국 특허 제5,364,833호; 미국 특허 제5,320,094호; 미국 특허 제5,780,014호; 미국 특허 제5,658,878호; 제5,518,998호; 제5,506,203호; 미국 특허 제5,661,130호; 미국 특허 제5,655,523호; 미국 특허 제5,645,051호; 미국 특허 제5,622,166호; 미국 특허 제5,577,497호; 미국 특허 제5,492,112호; 미국 특허 제5,327,883호; 미국 특허 제5,277,195호; 미국 공개 제20010041190호; 미국 공개 제20020006901호; 및 미국 공개 제20020034477호를 포함하여 당업계에 공지된 임의의 다양한 흡입 장치 및 방법에 의해 전달될 수 있다.

[0253] 활성 화합물(들)의 형태를 투여하는 데 사용될 수 있는 장치에는 정량 흡입기, 액체 분무기, 건조 분말 흡입기, 분무기, 열 증발기 등과 같은 당업계에 잘 알려진 것들이 포함된다. 특정 2,4-피리미딘다이아민 화합물을 투여하는 데 적합한 다른 기술은 전기유체역학적 에어로졸화기를 포함한다.

[0254] 또한, 흡입 장치는 바람직하게는 사용하기 쉽고, 편리하게 휴대할 수 있을 만큼 작고, 여러 번 투여할 수 있고, 내구성이 있다는 의미에서 실용적이어야 한다. 상업적으로 이용 가능한 흡입 장치의 몇 가지 구체적인 예로는 Turbohaler(Astra, 델라웨어주 윌밍턴 소재), Rotahaler(Glaxo, 노스캐롤라이나주 리서치 트라이앵글 파크 소재), Diskus(Glaxo, 노스캐롤라이나주 리서치 트라이앵글 파크 소재), Ultravent 분무기(Mallinckrodt), Acorn II 분무기(Marquest Medical Products, Totowa, NJ), Ventolin 정량 흡입기(Glaxo, 노스캐롤라이나주 리서치 트라이앵글 파크 소재) 등이 있다. 일 실시형태에서, 개시된 화합물(들), 이의 용매화물, N-산화물, 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 프로드러그(들)는 건조 분말 흡입기 또는 분무기에 의해 전달될 수 있다.

[0255] 당업자라면 알겠지만, 개시된 화합물(들), 이의 용매화물, N-산화물, 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 프로드러그(들) 형태의 제형, 전달되는 제형의 양 및 단일 용량의 투여 기간은 사용되는 흡입 장치의 유형뿐만 아니라 기타 요인에 따라 달라진다. 분무기와 같은 일부 에어로졸 전달 시스템의 경우, 투여 빈도 및 시스템이 활성화되는 시간은 주로 에어로졸 내 개시된 화합물(들)의 농도에 따라 달라질 것이다. 예를 들어, 더 높은 농도의 개시된 화합물(들)을 분무기 용액에 사용하면 투여 기간이 단축될 수 있다. 일부 실시형태에서, 정량 흡입기와 같은 장치는 더 높은 에어로졸 농도를 생성할 수 있고, 더 짧은 기간 동안 작동하여 목적하는 양의 활성 화합물을 전달할 수 있다. 건조 분말 흡입기와 같은 장치는 주어진 양의 작용제가 장치로부터 방출될 때까지 활성제를 전달한다. 이러한 유형의 흡입기에서, 주어진 양의 분말 내 개시된 화합물(들), 이의 용매화물, N-산화물, 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 프로드러그(들)의 양은 단일 투여로 전달되는 용량을 결정한다. 개시된 화합물(들)의 제형은 선택된 흡입 장치에서 목적하는 입자 크기를 생성하도록 선택된다.

[0256] 건조 분말 흡입기로 투여하기 위한 개시된 화합물의 제형은 전형적으로 개시된 화합물(들)을 포함하는 미분된 건조 분말을 포함할 수 있지만, 분말은 또한 증량제, 완충액, 담체, 부형제, 또 다른 첨가제 등을 포함할 수 있다. 첨가제는, 예를 들어, 특정 분말 흡입기로 전달하기 위해 필요에 따라 분말을 희석하거나, 제형의 가공을 용이하게 하거나, 제형에 유리한 분말 특성을 제공하거나, 흡입 장치에서 분말의 분산을 용이하게 하거나, 제형을 안정화시키거나(예를 들어, 항산화제 또는 완충액), 제형에 맛을 제공하는 등의 목적으로 건조 분말 제형에 포함될 수 있다. 전형적인 첨가제는 단당류, 이당류 및 다당류; 당 알코올 및 다른 폴리올, 예컨대, 예를 들어, 락토스, 글루코스, 라피노스, 멜레지토스, 락티톨, 말티톨, 트레할로스, 수크로스, 만니톨, 전분 또는 이들의 조합; 계면활성제, 예컨대, 소르비톨, 다이포스파티딜 콜린 또는 레시틴; 등을 포함한다.

[0257] 개시된 방법은 흡입에 의한 투여에 적합한 개시된 화합물(들)을 포함하는 약제학적 조성물로 수행될 수 있다. 예를 들어, 건조 분말 제형은 위에 언급되고 참조에 의해 본 명세서에 명시적으로 원용되어 있는 임의의 간행물, 예를 들어, 전체 개시내용이 참조에 의해 본 명세서에 명시적으로 원용되어 있는 Baker 등의 미국 특허 제5,700,904호에 기술되어 있는 것과 같은 통상적인 기법을 사용하여 여러 가지 방식으로 제조될 수 있다. 하기도에 최대한 축적시키는 데 적절한 크기 범위의 입자는 마이크론화, 밀링 등에 의해 제조될 수 있다. 그리고, 액체 제형은 적절한 pH에서 완충액 또는 다른 부형제를 포함하여 물과 같은 적합한 용매에 화합물을 용해시킴으로써 제조될 수 있다.

[0258] 상업적으로 이용 가능한 비강 스프레이 장치를 사용하는 비강 투여에 적합한 수성 현탁 제형의 구체적인 예는 다음 성분을 포함한다: 활성 화합물(0.5 20 mg/mℓ); 벤잘코늄 클로라이드(0.1 0.2 mg/mℓ); 폴리소르베이트 80(TWEEN® 80; 0.5 5 mg/mℓ); 카복시메틸셀룰로스 소듐 또는 미세결정질 셀룰로스(1 15 mg/mℓ); 페닐에탄올(1 4 mg/mℓ); 및 덱스트로스(20 50 mg/mℓ). 최종 현탁액의 pH는 약 pH 5 내지 pH 7의 범위로 조정될 수 있고, 약 pH 5.5의 pH가 전형적이다.

[0259] 흡입을 통한 화합물의 투여에 적합한 수성 현탁액의 또 다른 구체적인 예는 20 mg/mℓ의 개시된 화합물(들),

1%(v/v) 폴리소르베이트 80(TWEEN® 80), 50mM 시트레이트 및/또는 0.9% 소듐 클로라이드를 포함한다.

[0260] 안구 투여의 경우, 활성 화합물(들)은 눈에 투여하기에 적합한 용액, 에멀션, 현탁액 등으로 제형화될 수 있다. 화합물을 눈에 투여하기에 적합한 다양한 비히클은 당업계에 공지되어 있다. 구체적인 비제한적인 예는 참조에 의해 본 명세서에 원용되어 있는 미국 특허 제6,261,547호; 제6,197,934호; 제6,056,950호; 제5,800,807호; 제5,776,445호; 제5,698,219호; 제5,521,222호; 제5,403,841호; 제5,077,033호; 제4,882,150호; 및 제4,738,851호에 기술되어 있다.

[0261] 장기간 전달의 경우, 활성 화합물(들)은 이식 또는 근육내 주사로 투여하기 위한 데포 제제로 제형화될 수 있다. 활성 성분은 적합한 중합성 또는 소수성 물질(예를 들어, 허용 가능한 오일 중 에멀션으로) 또는 이온 교환 수지 또는 난용성 유도체, 예를 들어, 난용성염으로 제형화될 수 있다. 대안적으로, 경피 흡수를 위해 활성 화합물(들)을 천천히 방출하는 접착성 디스크 또는 패치로 제조된 경피 전달 시스템이 사용될 수 있다. 이를 위해, 활성 화합물(들)의 경피 투과를 용이하게 하기 위해 투과 증강제가 사용될 수 있다. 적합한 경피 패치는, 예를 들어, 참조에 의해 본 명세서에 원용되어 있는 미국 특허 제5,407,713호; 제5,352,456호; 제5,332,213호; 제5,336,168호; 제5,290,561호; 제5,254,346호; 제5,164,189호; 제5,163,899호; 제5,088,977호; 제5,087,240호; 제5,008,110호; 및 제4,921,475호에 기술되어 있다.

[0262] 대안적으로, 다른 약제학적 전달 시스템이 사용될 수 있다. 리포솜 및 에멀션은 활성 화합물(들)을 전달하는 데 사용될 수 있는 전달 비히클의 잘 알려진 예이다. 다이메틸설폭사이드(DMSO)와 같은 소정의 유기 용매도 사용될 수 있지만, 일반적으로 독성이 더 크다는 단점이 있다.

[0263] 원하는 경우, 약제학적 조성물은 활성 화합물(들)을 포함하는 하나 이상의 단위 투여 형태를 포함할 수 있는 팩 또는 디스펜서 장치에 제공될 수 있다. 팩은, 예를 들어, 블리스터 팩과 같은 금속 또는 플라스틱 포일을 포함할 수 있다. 팩 또는 디스펜서 장치에는 투여를 위한 지침이 함께 제공될 수 있다.

[0264] **C. 투여량**

[0265] 개시된 화합물 또는 개시된 화합물의 조합은 일반적으로 의도된 결과를 달성하는 데 효과적인 양, 예를 들어, 특정 병태를 예방하거나 개선시키는 데 효과적인 양으로 사용될 것이다. 개시된 화합물(들) 또는 이의 조성물은 치료적 이점을 달성하기 위해 치료적으로 또는 예방적 이점을 달성하기 위해 예방적으로 투여될 수 있다. 치료적 이점은 치료 중인 기저 장애가 근절 또는 개선되고/되거나 기저 장애와 관련된 증상 중 하나 이상이 근절 또는 개선되어 환자가 아직 기저 장애를 앓고 있을 수도 있음에도 불구하고 환자가 느낌 또는 병태의 개선을 보고하는 것을 의미한다. 예를 들어, 알레르기를 앓고 있는 환자에게 화합물을 투여하면 근본적인 알레르기 반응이 근절 또는 개선될 뿐만 아니라 환자가 알레르겐에 노출된 후 알레르기와 관련된 증상의 중증도 또는 지속 기간이 감소하였음을 보고하는 경우에도 치료적 이점을 제공한다. 또 다른 예로서, 천식의 맥락에서 치료적 이점은 천식성 발작이 시작된 후 호흡이 개선되거나 천식성 에피소드의 빈도 또는 중증도가 감소되는 것을 포함한다. 치료적 이점은 또한 개선의 여부와 관계없이 질환의 진행을 멈추거나 늦추는 것을 포함한다.

[0266] 당업자가 알고 있는 바와 같이, 개시된 화합물의 바람직한 투여량은 치료 중인 환자 또는 대상체 연령, 체중, 전반적인 건강 및 병태의 중증도를 포함한 다양한 요인에 따라 달라질 수 있다. 흡입에 의해 투여되는 경우, 투여량은 또한 개체의 성별 및/또는 개체의 폐활량에 따라 조정되어야 할 수 있다. 투여량은 또한 하나 초과의 병태를 앓고 있는 개체 또는 폐활량 및 정상적인 호흡 능력에 영향을 미치는 추가적인 병태, 예를 들어, 폐기종, 기관지염, 폐렴 및 호흡기 감염이 있는 개체에게 맞게 조정될 수 있다. 개시된 화합물(들) 또는 이의 조성물의 투여량 및 투여 빈도는 또한 개시된 화합물(들)이 병태의 급성 에피소드의 치료를 위해 또는 장애의 예방적 치료를 위해 제형화되었는지에 따라 달라질 것이다. 당업자라면 특정 개체에게 맞는 최적의 용량을 결정할 수 있을 것이다.

[0267] 예방적 투여의 경우, 개시된 화합물, 개시된 화합물의 조합 또는 이의 조성물은 이전에 기재된 병태 중 하나가 발병할 위험이 있는 환자 또는 대상체에게 투여될 수 있다. 예를 들어, 환자 또는 대상체가 특정 약물에 알레르기가 있는지 알 수 없는 경우, 개시된 화합물, 개시된 화합물의 조합 또는 이의 조성물은 약물에 대한 알레르기 반응을 피하거나 이를 개선시키기 위해 약물의 투여 전에 투여될 수 있다. 대안적으로, 예방적 투여는 기저 장애가 있는 것으로 진단된 환자의 증상 발병을 피하거나 개선시키는 데 사용될 수 있다. 예를 들어, 개시된 화합물(들) 또는 이의 조성물은 알레르겐에 노출되기 전에 알레르기 환자에게 투여될 수 있다. 개시된 화합물, 개시된 화합물의 조합 또는 이의 조성물은 또한 장애의 발병을 예방하기 위해 위에 기재된 병 중 하나에 대해 알려진 작용제에 반복적으로 노출된 건강한 개체에게 예방적으로 투여될 수 있다. 예를 들어, 개시된 화합물, 개시

된 화합물의 조합 또는 이의 조성물은 개체가 알레르기가 발생하는 것을 예방하기 위한 노력으로 라텍스와 같이 알레르기를 유발하는 것으로 알려진 알레르겐에 반복적으로 노출된 건강한 개체에게 투여될 수 있다. 대안적으로, 개시된 화합물, 개시된 화합물의 조합 또는 이의 조성물은 천식 에피소드의 중증도를 줄이거나 이를 완전히 피할 수 있도록 천식 발작을 촉발하는 활동에 참여하기 전에 천식을 앓고 있는 환자에게 투여될 수 있다.

[0268] 효과적인 투여량은 시험관내 검정에서 초기에 추정될 수 있다. 예를 들어, 대상체에게 사용하기 위한 초기 투여량은 시험관내 검정에서 측정된 특정 화합물의 IC_{50} 또는 EC_{50} 이상인 활성 화합물의 순환 혈액 또는 혈청 농도를 달성하도록 제형화될 수 있다. 투여량은 특정 화합물의 생체이용률을 고려하여 이러한 순환 혈액 또는 혈청 농도를 달성하도록 계산될 수 있다. 문헌[Fingl & Woodbury, "General Principles," In: Goodman and Gilman's The Pharmaceutical Basis of Therapeutics, Chapter 1, pages 1-46, Pergamon Press] 및 여기에 인용된 참고문헌은 효과적인 투여량에 관한 추가적인 지침을 제공한다.

[0269] 일부 실시형태에서, 개시된 화합물은 IRAK 단백질과 같은 카이네이스 단백질에 대해 0 초과 내지 20μM, 예컨대, 0 초과 내지 10μM, 0 초과 내지 5μM, 0 초과 내지 1μM, 0 초과 내지 0.5μM, 0 초과 내지 0.1μM 또는 0 초과 내지 0.05μM의 EC_{50}을 갖는다.

[0270] 초기 투여량은 또한 동물 모델과 같은 생체내 데이터로부터 추정될 수 있다. 위에 기재된 다양한 질환을 치료 또는 예방하기 위한 화합물의 효능을 테스트하는 데 유용한 동물 모델은 당업계에 잘 알려져 있다. 과민증 또는 알레르기 반응의 적합한 동물 모델은 문헌[Foster, (1995) Allergy 50(21Suppl):6-9, discussion 34-38 및 Tumas *et al.*, (2001), J. Allergy Clin. Immunol. 107(6):1025-1033]에 기술되어 있다. 알레르기성 비염에 적합한 동물 모델은 문헌[Szelenyi *et al.*, (2000), Arzneimittelforschung 50(11):1037-42; Kawaguchi *et al.*, (1994), Clin. Exp. Allergy 24(3):238-244 및 Sugimoto *et al.*, (2000), Immunopharmacology 48(1):1-7]에 기술되어 있다. 당업자는 인간에게 투여하기에 적합한 투여량을 결정하기 위해 이러한 정보를 적용할 수 있다.

[0271] 개시된 화합물의 투여량은 전형적으로 0 mg/kg/일 초과의 범위, 예컨대, 0.0001 mg/kg/일 또는 0.001 mg/kg/일 또는 0.01 mg/kg/일, 최대 적어도 약 100 mg/kg/일일 것이다. 보다 전형적으로, 투여량(또는 유효량)은 하루에 적어도 1회 약 0.0025 mg/kg 내지 약 1 mg/kg, 예컨대, 0.01 mg/kg 내지 약 0.5 mg/kg 또는 약 0.05 mg/kg 내지 약 0.15 mg/kg의 범위일 수 있다. 일일 총 투여량은 전형적으로 하루에 약 0.1 mg/kg에서 약 5 mg/kg 또는 약 20 mg/kg, 예컨대, 하루에 0.5 mg/kg 내지 약 10 mg/kg 또는 하루에 약 0.7 mg/kg 내지 약 2.5 mg/kg/일의 범위이다. 투여량은 개시된 화합물의 활성, 이의 생체이용률, 투여 방식 및 위에 논의된 다양한 요인을 포함한 여러 인자에 따라 더 높거나 낮을 수 있다

[0272] 투여량 및 투여 간격은 치료적 또는 예방적 효과를 유지하기에 충분한 개시된 화합물의 혈장 수준을 제공하기 위해 개체에게 맞게 조정될 수 있다. 예를 들어, 화합물은 투여 방식, 치료 중인 특정 적응증 및 처방 의사의 판단을 포함한 여러 가지 사항에 따라 하루에 한 번, 하루에 여러 번, 일주일에 한 번, 일주일에 여러 번(예를 들어, 이틀에 한 번), 한 달에 한 번, 한 달에 여러 번 또는 일년에 한 번 투여될 수 있다. 당업자라면 과도한 실험 없이 효과적인 국부 투여량을 최적화할 수 있을 것이다.

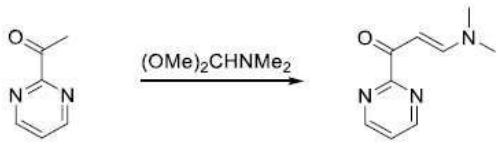
[0273] 개시된 화합물 중 하나 이상을 포함하는 조성물은 전형적으로 총 중량 백분율을 기준으로 개시된 화합물 또는 화합물 및/또는 다른 치료제의 0% 초과에서 최대 99%까지를 포함한다. 보다 전형적으로, 개시된 화합물 중 하나 이상을 포함하는 조성물은 개시된 화합물과 다른 치료제의 약 1 내지 약 20의 총 중량 백분율 및 약제학적으로 허용 가능한 부형제의 약 80 내지 약 99의 중량 백분율을 포함한다. 전형적인 일일 투여량은 100 내지 300 mg/일, 예를 들어, 100, 150, 200, 250 또는 300 mg/일의 범위일 수 있다. 투여는 하루에 한 번 또는 두 번 이상, 예를 들어, 100 또는 150mg BID일 수 있다. 따라서, 본 명세서에 개시된 화합물을 포함하는 약제학적 투여 형태는 50 내지 300mg의 개시된 화합물, 예를 들어, 50, 100, 150, 200, 250, 300mg의 개시된 화합물을 포함할 수 있다.

[0274] 바람직하게는, 개시된 화합물, 개시된 화합물의 조합 또는 이의 조성물은 실질적인 독성을 유발하지 않고도 치료적 또는 예방적 이점을 제공할 것이다. 개시된 화합물의 독성은 표준 약제학적 절차를 사용하여 결정될 수 있다. 독성과 치료(또는 예방적) 효과 사이의 용량비는 치료 지수이다. 높은 치료 지수를 나타내는 개시된 화합물이 바람직하다.

[0275] **VII. 실시예**

[0276] **실시예 1**

[0277] **3-(다이메틸아미노)-1-(피리미딘-2-일)프로프-2-엔-1-온(D-2)**



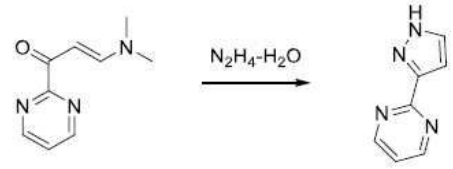
D-1 D-2

[0278]

[0279] 1-(피리미딘-2-일)에탄-1-온(**D-1**, 5g, 40.95mmol)의 1,1-다이메톡시-*N*,*N*-다이메틸메탄아민(11mℓ, 81.9mmol) 용액을 90℃에서 밤새 교반하였다. LCMS로 모니터링한 결과 반응이 완료되었다. 휘발성 물질을 진공에서 제거하였고, 미정제 생성물을 추가 정제 없이 다음 반응에 사용하였다: ^{1}H NMR (400 MHz, 클로로폼-*d*) δ 8.89 (d, *J* = 4.9 Hz, 2H), 8.00 (d, *J* = 10.3 Hz, 1H), 7.35 (dd, *J* = 4.9, 4.9 Hz, 1H), 6.39 (d, *J* = 10.3 Hz, 1H), 3.20 (s, 3H), 3.00 (s, 3H); LRMS (M+H) *m*/*z* 178.2.

[0280] **실시예 2**

[0281] **2-(1*H*-피라졸-3-일)피리미딘(D-3)**



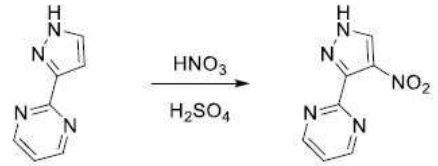
D-2 D-3

[0282]

[0283] 하이드라진 모노수화물 용액(64 내지 65% 수용액, 2.8mℓ, 약 0.9당량)을 3-(다이메틸아미노)-1-(피리미딘-2-일)프로프-2-엔-1-온(**D-2**, 41mmol)의 EtOH(15mℓ) 용액에 첨가하고, 얼음조에서 냉각시켰다. 3시간 동안 환류시킨 후, LCMS로 모니터링한 결과 반응이 완료되었다. 휘발성 물질을 진공에서 제거하였고, 미정제 생성물을 추가 정제 없이 다음 반응에 사용하였다; ^{1}H NMR (400 MHz, 클로로폼-*d*) δ 11.20 (br s, 1H), 8.79 (d, *J* = 4.9 Hz, 2H), 7.71 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.22 (dd, *J* = 4.9, 4.9 Hz, 1H), 7.08 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H); LRMS (M+H) *m*/*z* 147.1.

[0284] **실시예 3**

[0285] **2-(4-나이트로-1*H*-피라졸-3-일)피리미딘(D-4)**



D-3 D-4

[0286]

[0287] 90% 발연 질산(3.8mℓ, 81.9mmol)을 2-(1*H*-피라졸-3-일)피리미딘(**D-3**, 약 41mmol)의 진한 H_2SO_4(10mℓ) 현탁액에 적가하고, 얼음조에서 냉각시켰다. 질산을 완전히 첨가한 후, 혼합물을 70℃에서 밤새 교반하였다. LCMS로 모니터링한 결과 반응이 완료되었다. 실온으로 냉각시킨 후, 혼합물을 조심스럽게 얼음물에 부었다. NaOH 수용액으로 pH를 8로 조정하고, 생성물을 EtOAc(100mℓ×5)로 추출하였다. 합한 유기층을 건조시키고(Na_2SO_4), 여과하고, 용매를 진공에서 제거하였다. 실리카 겔 크로마토그래피 정제 후, 화합물 2-(4-나이트로-1*H*-피라졸-3-일)피리미딘(**D-4**)를 회백색 고체로서 얻었다: 5.6g(3단계에 걸쳐 71.5% 수율); ^{1}H NMR (400 MHz, 클로로폼-*d*) δ 11.26 (br s, 1H), 8.90 (d, *J* = 4.9 Hz, 2H), 8.28 (s, 1H), 7.40 (dd, *J* = 4.9, 4.9 Hz, 1H); LRMS (M+H) *m*/*z* 192.1.

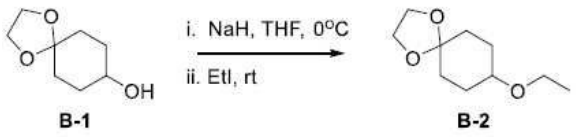
[0288] 대안적인 절차:

[0289] 2-(1*H*-피라졸-3-일)피리미딘(**D-3**, 32.6g, 223mmol)의 진한 H_2SO_4(200mℓ) 현탁액에 발연 질산(100mℓ)을 적가하고,

반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 혼합물을 조심스럽게 얼음 위에 붓고, 27N NaOH 수용액을 첨가하여 pH 6으로 조정하였다. 여과에 의해 고체를 수집하고, 물로 세척하고, 진공에서 건조시켰다. 화합물 2-(4-나이트로-1*H*-피라졸-3-일)피리미딘을 회백색 고체로서 얻었다: 29.2g(69% 수율).

[0290] **실시예 4**

[0291] **8-에톡시-1,4-다이옥사스피로[4.5]데케인(B-2)**

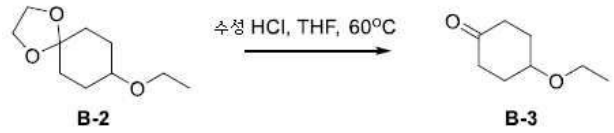


[0292]

[0293] 테트라하이드로퓨란(500㎖) 중 1,4-다이옥사스피로[4.5]데칸올 **B-1**(158g, 1.0몰, 1.0당량)의 용액을 0℃에서 테트라하이드로퓨란(500㎖) 중 헥세인 세척된 소듐 하이드라이드(미네랄 오일 중 48g의 60% 현탁액, 1.2몰, 1.2당량)의 현탁액에 첨가하였다. 반응물을 0℃에서 15분 동안 교반하고, 실온에서 4시간 동안 교반한 후 0℃로 냉각시키고, 아이오도에테인(104.5㎖, 1.3몰, 1.3당량)을 첨가하였다. 반응물을 0℃에서 10분 동안 교반하고, 실온에서 14시간 동안 교반하였다. NH_4Cl(대략 100㎖)을 조심스럽게 첨가하여 반응을 중지시켰다. 반응물을 농축시켜 테트라하이드로퓨란을 제거하고, 농축물을 EtOAc(800㎖)와 물(600㎖)로 분배하였다. 수성상을 EtOAc(300㎖)로 추출하였다. 합한 유기물을 $NaHCO_3$(500㎖) 및 염수(500㎖)로 세척하고, 건조시키고(Na_2SO_4), 감압하에 농축시켜 표제 화합물(177g, 95%)을 주황색 오일로서 얻고, 이를 정제 없이 사용하였다; ^{1}H nmr (400 MHz, CD_3Cl) δ 3.90, 3.89 (4H, 2d AB 시스템, J 2.5 Hz, OCH_2CH_2O), 3.44 (2H, q, J 7.0 Hz, $OC\underline{H}_2CH_3$), 3.35 (1H, tt, J 7.5, 3.0 Hz, H-8), 1.82-1.74 (4H, m, H-6, H-7, H-9, H-10의 4H), 1.70-1.63 (2H, m, H-6, H-7, H-9, H-10의 2H), 1.54-1.47 (2H, m, H-6, H-7, H-9, H-10의 2H), 1.15 (3H, t, J 7.0 Hz, $OCH_2C\underline{H}_3$).

[0294] **실시예 5**

[0295] **4-에톡시사이클로헥산-1-온(B-3)**

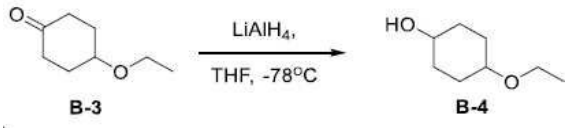


[0296]

[0297] 염산(3M 용액 450㎖)을 테트라하이드로퓨란(450㎖) 중 다이옥살레인 **B-2**(177g, 952㎜ol)의 용액에 첨가하였다. 반응물을 60℃에서 20시간 동안 격렬하게 교반하였다. NMR 분석 결과 75% 완료되었다. 추가로 염산(4M 용액 100㎖)을 첨가하고, 반응물을 60℃에서 24시간 더 교반한 후 냉각시키고, 농축시켜 테트라하이드로퓨란을 제거하였다. 유기물을 EtOAc(3×400㎖)로 추출하였다. 합한 유기물을 염수(400㎖)로 세척하고, 건조시키고(Na_2SO_4), 감압하에 농축시켜 표제 화합물(142.2g, 이론적 수율 135.1g)을 주황색 오일로서 얻었다; ^{1}H nmr (400 MHz, CD_3Cl) δ 3.71 (1H, m, 사이클로헥세인H-4), 3.55 (2H, q, J 7.0 Hz, $OC\underline{H}_2CH_3$), 2.58 (2H, ddd, J 15.5, 10.5, 6.0 Hz, 사이클로헥세인H-2, H-6의 2H), 2.25 (2H, m, 사이클로헥세인H-2, H-6의 2H), 2.10-2.02 (2H, m, 사이클로헥세인H-3, H-5의 2H), 1.98-1.90 (2H, m, 사이클로헥세인H-3, H-5의 2H), 1.24 (3H, t, J 7.0 Hz, $OCH_2C\underline{H}_3$).

[0298] **실시예 6**

[0299] **(1s,4s)-4-에톡시사이클로헥산-1-올(B-4)**



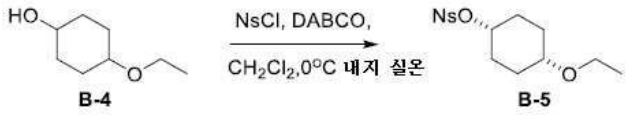
[0300]

[0301] 테트라하이드로퓨란(300㎖) 중 케톤 **B-3**(146.2g, 1.0당량)의 용액을 -78℃로 냉각시켰다. 리튬 알루미늄 하이드

라이드(테트라하이드로퓨란 중 1M 용액 400㎖, 400mmol, 0.4당량)를 90분에 걸쳐 적가하였다. 반응물을 -78℃에서 30분 더 교반하고, 초기에 -78℃에서 NaOH(1M, 300㎖)를 적가하여 반응을 중지시킨 후, 냉수조에서 꺼내었다. 겔이 생성되었다. 반응물을 EtOAc(400㎖)로 희석하고, 교반한 후 따라내어 겔을 제거하였다. 따라낸 유기물을 로셸염(400㎖)으로 세척하고, 수성상을 EtOAc(200㎖)로 역추출하였다. 합한 유기물을 로셸염(300㎖) 및 염수(400㎖)로 세척하고, 건조시키고(Na_2SO_4), 감압하에 농축시켜 정제 없이 표제 화합물(131.1g)을 주황색 오일로서 얻었다; ^{1}H nmr (400 MHz, CD_3Cl) δ 3.74 (1H 주 생성물, m, 사이클로헥세인H-1), 3.68 (1H 부 생성물, m, 사이클로헥세인H-1), 3.48 (2H 부 생성물, J 7.0 Hz, $OC\underline{H}_2CH_3$), 3.47 (2H 부 생성물, J 7.0 Hz, $OC\underline{H}_2CH_3$), 3.37 (1H 주 생성물, tt, J 6.5, 3.0 Hz, H-4), 3.25 (1H 부 생성물, m, H-4), 1.99 (1H, m, H-2, H-3, H-5, H-6의 1H), 1.81 (2H, m, H-2, H-3, H-5, H-6의 2H), 1.73-1.51 (5H, m, H-2, H-3, H-5, H-6의 5H), 1.19 (3H 주 생성물, t, J 7.0 Hz, $OCH_2C\underline{H}_3$), 1.19 (3H 부 생성물, J 7.0 Hz, $OCH_2C\underline{H}_3$).

[0302] **실시예 7**

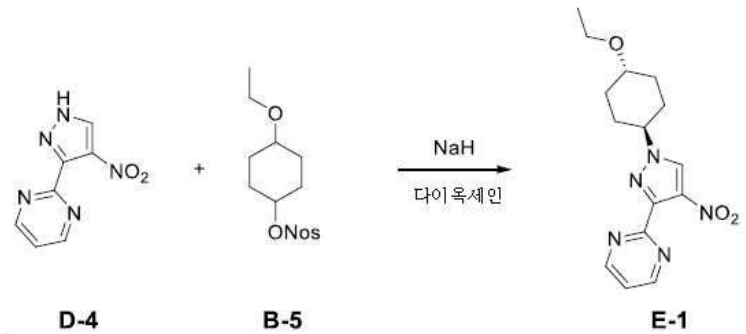
[0303] **(1r,4r)-4-에톡시사이클로헥실 4-나이트로벤젠설포네이트(B-5)**

[0304] 

[0305] 0℃에서 다이클로로메테인(800㎖) 중 4-에톡시사이클로헥산-1-올 **B-4**(1s,4s 및 1r,4s 부분입체이성질체의 대략 2:1의 비로서 112.9g, 782.9mmol, 1.0당량)의 용액에 1,4-다이아자바이사이클로[2.2.2]옥테인(105.4g, 939.5mmol, 1.2당량)을 첨가하였다. 4-나이트로벤젠설폰일 클로라이드(190.8g, 861.2mmol, 1.1당량)를 0℃에서 1시간에 걸쳐 조금씩 첨가하고, 반응물을 16시간에 걸쳐 실온으로 가온시켰다. 반응물을 CH_2Cl_2(400㎖)로 희석하고, $NaHCO_3$(1ℓ), 물(1ℓ) 및 염수(1ℓ)로 세척하였다. 유기물을 건조시키고(Na_2SO_4), 감압하에 농축시켰다. 생성된 고체를 에틸 아세테이트 및 헥세인으로 분쇄하여 160.8g의 4-에톡시사이클로헥실 4-나이트로벤젠설포네이트(1r,4r과 1s,4s의 혼합물로서)를 회백색 고체로서 얻었다; ^{1}H nmr (400 MHz, CD_3Cl) δ 8.39 (2H, d, J 9.0 Hz, $C_6H_4NO_2$의 2H), 8.11 (2H, d, J 9.0 Hz, $C_6H_4NO_2$의 2H), 4.75 (1H 주 생성물, tt, J 7.5, 3.5 Hz, H-1), 4.70 (1H 부 생성물, m, H-1), 3.45 (2H 부 생성물, J 7.0 Hz, $OC\underline{H}_2CH_3$), 3.44 (2H 주 생성물, J 7.0 Hz, $OC\underline{H}_2CH_3$), 3.34 (1H, tt, J 6.5, 3.0 Hz, H-4), 1.99-1.88 (3H, m, H-2, H-3, H-5, H-6의 3H), 1.80-1.71 (1H, m, H-2, H-3, H-5, H-6의 1H), 1.67-1.56 (3H, m, H-2, H-3, H-5, H-6의 3H), 1.48-1.40 (1H, m, H-2, H-3, H-5, H-6의 1H), 1.17 (3H 주 생성물, t, J 7.0 Hz, $OCH_2C\underline{H}_3$), 1.16 (3H 부 생성물, J 7.0 Hz, $OCH_2C\underline{H}_3$).

[0306] **실시예 8**

[0307] **2-(1-(트랜스 4-에톡시사이클로헥실)-4-나이트로-1*H*-피라졸-3-일)피리미딘(E-1)**

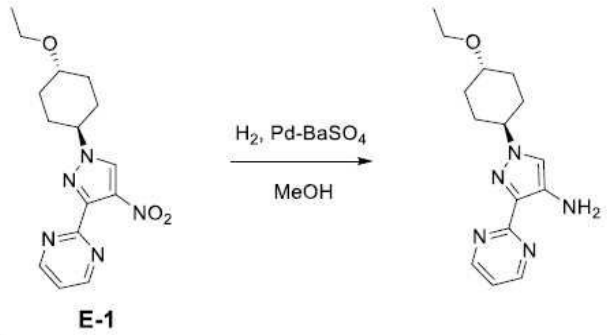
[0308] 

[0309] 질소 분위기하에 얼음조에서 냉각하면서 NaH(미네랄 오일 중 60% 분산, 1.68g, 42mmol)를 2-(4-나이트로-1*H*-피라졸-3-일)피리미딘(**D-4**, 5.73g, 30mmol)의 1,4-다이옥세인(150㎖, 0.2M) 현탁액에 조금씩 첨가하였다. 얼음조를 제거한 후, 현탁액을 25℃에서 교반하였다. 3시간 후, 화합물 4-에톡시사이클로헥실 4-나이트로벤젠설포네이트(**B-5**, 11.86g, 36mmol, 시스/트랜스 비 ≥ 2)를 첨가하고, 반응 혼합물을 100℃에서 부드럽게 환류시키면서 교반

하였다. 19시간 후, 또 다른 약 0.4당량(5g)의 **B-5**를 첨가하고, 반응을 계속하였다. 반응 진행은 LC-MS로 모니터링하였으며, 반응은 4일차에 중단하였다. 실온으로 냉각시킨 후, $NaHCO_3$ 포화 수용액(100㎖)으로 반응을 중지시키고, 대부분의 다이옥세인은 감압하에 회전 증발을 통해 제거하였다. 생성물을 EtOAc(150㎖)로 추출하고, 염수로 추가로 세척하였다. 유기층을 건조시키고(Na_2SO_4), 여과하고, 용매를 감압하에 회전 증발을 통해 제거하였다. 생성물을 실리카 겔 크로마토그래피로 정제한 후, 이를 헥세인-EtOAc로 분쇄하였다(8㎖-2㎖, 35℃, 밤새, 그 후 실온에서 침전물로 수집함). 화합물 2-(1-(트랜스 4-에톡시사이클로헥실)-4-나이트로-1*H*-피라졸-3-일)피리미딘(**E-1**)을 회백색 고체로서 얻었다: 1.98g(21% 수율); ^{1}H NMR (400 MHz, 클로로폼-*d*) δ 8.89 (d, *J* = 4.9 Hz, 2H), 8.24 (s, 1H), 7.37 (dd, *J* = 4.9, 4.9 Hz, 1H), 4.27 (tt, *J* = 11.8, 3.9 Hz, 1H), 3.55 (q, *J* = 7.0 Hz, 1H), 3.35 (tt, *J* = 10.7, 4.2 Hz, 1H), 2.35 - 2.29 (m, 2H), 2.26 - 2.20 (m, 2H), 1.94 - 1.83 (m, 2H), 1.50 - 1.40 (m, 2H), 1.22 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H); LRMS (M+H) *m/z* 318.3.

[0310] **실시예 9**

[0311] **1-(트랜스 4-에톡시사이클로헥실)-3-(피리미딘-2-일)-1*H*-피라졸-4-아민**

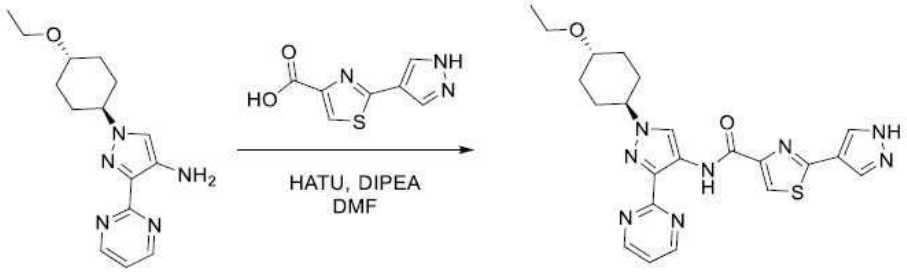
[0312] 

E-1

[0313] Parr 플라스크에서, 15psi의 수소하에 2-(1-(트랜스 4-에톡시사이클로헥실)-4-나이트로-1*H*-피라졸-3-일)피리미딘(**E-1**, 974.2㎎, 3.07㎜ol) 및 Pd-$BaSO_4$($BaSO_4$ 상의 5% Pd, 450㎎)의 MeOH(30㎖) 용액을 실온에서 4시간 동안 진탕시켰다. LC-MS로 모니터링한 결과 반응이 완료되었다. 질소 분위기하에, 반응 혼합물을 셀라이트 패드에 통과시키고, 이를 MeOH로 추가로 세척하였다. 여과액을 수집하고, 용매를 진공에서 제거하였다. 화합물 1-(트랜스 4-에톡시사이클로헥실)-3-(피리미딘-2-일)-1*H*-피라졸-4-아민을 밝은 황색 고체로서 얻었다(추가 정제 없이 다음 반응에 사용함); ^{1}H NMR (400 MHz, 클로로폼-*d*) δ 8.75 (d, *J* = 4.9 Hz, 2H), 7.09 - 7.06 (m, 2H), 4.56 (br s, 2H), 4.20 (tt, *J* = 12.1, 3.7 Hz, 1H), 3.54 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H), 3.33 (tt, *J* = 10.7, 4.0 Hz, 1H), 2.26 - 2.17 (m, 4H), 1.88 - 1.78 (m, 2H), 1.47 - 1.36 (m, 2H), 1.21 (t, *J* = 7.0, Hz, 3H); LRMS (M+H) *m/z* 288.3.

[0314] **실시예 10**

[0315] ***N*-(1-(트랜스 4-에톡시사이클로헥실)-3-(피리미딘-2-일)-1*H*-피라졸-4-일)-2-(1*H*-피라졸-4-일)옥사졸-4-카복사마이드(I-1)**

[0316] 

I-1

[0317] 2-(1*H*-피라졸-4-일)티아졸-4-카복실산(599.2㎎, 3.07㎜ol)을 얼음조에서 냉각시키면서 1-(트랜스 4-에톡시사이클로헥실)-3-(피리미딘-2-일)-1*H*-피라졸-4-아민(3.07㎜ol)의 DMF(12㎖) 용액에 첨가한 후, 30분 후에 HATU(1.28g, 3.38㎜ol)를 첨가하였다. 1시간 후, *N*-에틸-*N*-아이소프로필프로판-2-아민(DIPEA, 1.6㎖, 9.2㎜ol)을 적가하였다.

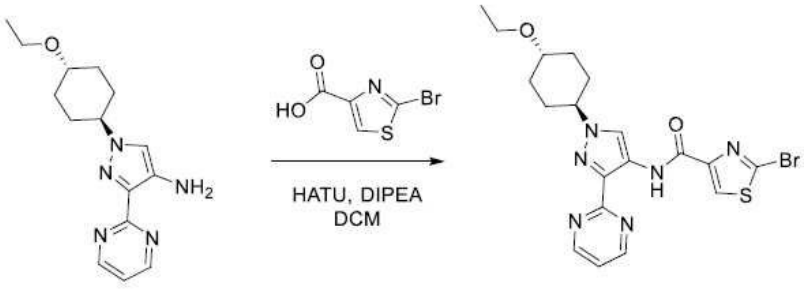
얼음조를 제거하고, 혼합물을 실온에서 16시간 동안 교반하였다. $NaHCO_3$ 포화 수용액(300㎖)을 조금씩 첨가하여 반응을 중지시키고, 1시간 후에 침전물을 여과하여 수집하고, H_2O로 세척한 다음, 진공에서 건조시켰다. 황색 고체(약 1.17g)를 얻고, CH_2Cl_2-MeOH(10:1)에 용해시켰다. 그런 다음, 용액을 실리카 겔 패드에 통과시켜 더 어두운 색의 불순물을 제거하였다. 화합물 *N*-(1-(트랜스 4-에톡시사이클로헥실)-3-(피리미딘-2-일)-1*H*-피라졸-4-일)-2-(1*H*-피라졸-4-일)옥사졸-4-카복사마이드(**I-1**)를 밝은 황색 고체로서 얻었다: 1.10g(77% 수율); ^{1}H NMR (400 MHz, 클로로폼-*d*) δ 12.04 (s, 1H), 11.10 (v br s, 1H), 8.90 (d, *J* = 4.9 Hz, 2H), 8.49 (s, 1H), 8.16 (s, 2H), 8.10 (s, 1H), 7.23 (dd, *J* = 4.9, 4.9 Hz, 1H), 4.34 (tt, *J* = 12.0, 3.9 Hz, 1H), 3.56 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H), 3.37 (tt, *J* = 10.8, 4.2 Hz, 1H), 2.33 - 2.29 (m, 2H), 2.25 - 2.20 (m, 2H), 2.00 - 1.89 (m, 2H), 1.51 - 1.41 (m, 2H), 1.22 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, 클로로폼-*d*) δ 161.47, 160.21, 158.35, 157.15, 150.29, 136.25, 132.67, 122.71, 121.86, 119.89, 118.68, 117.15, 76.33, 63.62, 61.83, 31.09, 31.01, 15.65; LRMS (M+H) *m/z* 465.4.

[0318] 타타레이트 염/공결정을 제조하고 프로드러그를 합성하기 위해 화합물을 추가 정제 없이 사용하였다. 추가적으로, 필요한 경우, 화합물은 실리카 겔 크로마토그래피 또는 RP-HPLC로 추가 정제하였다.

[0319] **실시예 11**

[0320] **I-1의 대안적인 합성**

[0321] **A. 2-브로모-*N*-(1-(트랜스 4-에톡시사이클로헥실)-3-(피리미딘-2-일)-1*H*-피라졸-4-일)티아졸-4-카복사마이드(E-2)**

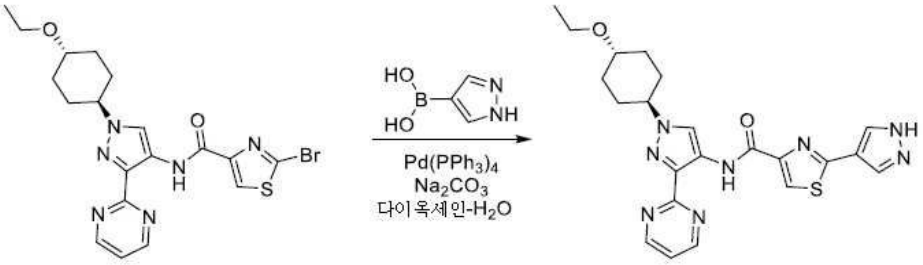


E-2

[0322]

[0323] 2-브로모티아졸-4-카복실산(298mg, 1.43mmol) 및 HATU(572mg, 1.50mmol)의 CH_2Cl_2(20㎖) 용액을 실온에서 15분 동안 교반하였다. *N*-에틸-*N*-아이소프로필프로판-2-아민(0.623㎖, 3.58mmol)을 얼음조에서 냉각시키면서 첨가한 후, 1-(트랜스 4-에톡시사이클로헥실)-3-(피리미딘-2-일)-1*H*-피라졸-4-아민(452mg, 1.576mmol)의 CH_2Cl_2(5㎖) 용액을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 17시간 동안 교반하고, 그 후 LC-MS에 의해 반응이 완료되었음을 확인하였다. $NaHCO_3$ 포화 수용액을 첨가하여 반응을 중지시키고, 30분 동안 계속 교반하였다. 두 층을 분리하고, 유기층을 $NaHCO_3$ 포화 수용액으로 다시 세척하고, Na_2SO_4로 건조시키고, 여과하고, 감압하에 회전 증발을 통해 용매를 제거하였다. 실리카 겔 크로마토그래피 후, 화합물 2-브로모-*N*-(1-(트랜스 4-에톡시사이클로헥실)-3-(피리미딘-2-일)-1*H*-피라졸-4-일)티아졸-4-카복사마이드(**E-2**)를 백색 고체로서 얻었다: 581.1mg(85% 수율); ^{1}H NMR (400 MHz, 클로로폼-*d*) δ 8.89 (d, *J* = 4.9 Hz, 2H), 8.42 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.22 (dd, *J* = 4.9, 4.9 Hz, 1H), 4.33 (tt, *J* = 12.0, 3.9 Hz, 1H), 3.56 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H), 3.36 (tt, *J* = 10.8, 4.2 Hz, 1H), 2.32 - 2.28 (m, 2H), 2.24 - 2.20 (m, 2H), 1.99 - 1.89 (m, 2H), 1.50 - 1.41 (m, 2H), 1.22 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H); LRMS (M+H) *m/z* 477.3, 479.3.

[0324] **B. *N*-(1-(트랜스 4-에톡시사이클로헥실)-3-(피리미딘-2-일)-1*H*-피라졸-4-일)-2-(1*H*-피라졸-4-일)옥사졸-4-카복사마이드(I-1)**



E-2

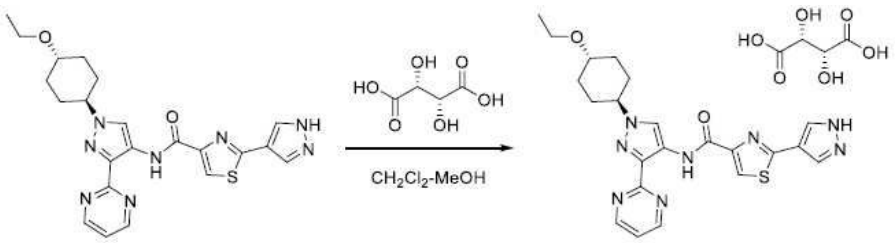
[0325]

[0326] 2-브로모-*N*-(1-(트랜스 4-에톡시사이클로헥실)-3-(피리미딘-2-일)-1*H*-피라졸-4-일)티아졸-4-카복사마이드(**E-2**, 477.4㎎, 1㎜ol), (1*H*-피라졸-4-일)보론산(279.8㎎, 2.5㎜ol), Na_2CO_3(318㎎, 3㎜ol) 및 테트라키스(트라이페닐포스핀)팔라듐(0)(28㎎, 0.02㎜ol)의 1,4-다이옥세인-H_2O(4㎖-1㎖) 현탁액을 탈기시킨 다음, 다시 질소를 세 번 채웠다. 혼합물을 질소 분위기하에 90℃에서 21.5시간 동안 가열하고, 그 후 LC-MS에 의해 반응이 완료되었음을 확인하였다. 대부분의 다이옥세인을 감압하에 회전 증발을 통해 제거하고, 미정제 생성물을 자유롭게 흐르는 고체가 나타날 때까지 물 및 $NaHCO_3$ 포화 수용액과 혼합하였다. 여과에 의해 고체를 수집하고, H_2O로 세척한 다음, 35℃에서 주말 동안 헥세인-EtOAc-EtOH(1㎖-3㎖-0.5㎖)에서 교반하였다. 고체 생성물을 여과하여 수집하고, 얼음 냉각된 헥세인-EtOAc(약 1:1)로 세척하고, 진공에서 건조시켰다. 화합물 *N*-(1-(트랜스 4-에톡시사이클로헥실)-3-(피리미딘-2-일)-1*H*-피라졸-4-일)-2-(1*H*-피라졸-4-일)옥사졸-4-카복사마이드(**I-1**)를 밝은 베이지색 고체로서 얻었다: 287.1㎎(62% 수율); ^{1}H NMR (400 MHz, 클로로폼-*d*) δ 12.04 (s, 1H), 11.10 (v br s, 1H), 8.90 (d, *J* = 4.9 Hz, 2H), 8.49 (s, 1H), 8.16 (s, 2H), 8.10 (s, 1H), 7.23 (dd, *J* = 4.9, 4.9 Hz, 1H), 4.34 (tt, *J* = 12.0, 3.9 Hz, 1H), 3.56 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H), 3.37 (tt, *J* = 10.8, 4.2 Hz, 1H), 2.33 - 2.29 (m, 2H), 2.25 - 2.20 (m, 2H), 2.00 - 1.89 (m, 2H), 1.51 - 1.41 (m, 2H), 1.22 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H); LRMS (M+H) *m/z* 465.4.

[0327] **실시예 12**

[0328] ***N*-(1-(트랜스 4-에톡시사이클로헥실)-3-(피리미딘-2-일)-1*H*-피라졸-4-일)-2-(1*H*-피라졸-4-일)티아졸-4-카복사마이드(2R,3R)-2,3-다이하이드록시석신산**

[0329] **(I-4; I-1의 타타르산염/공결정)**



I-1 I-4

[0330]

[0331] *N*-(1-(트랜스 4-에톡시사이클로헥실)-3-(피리미딘-2-일)-1*H*-피라졸-4-일)-2-(1*H*-피라졸-4-일)옥사졸-4-카복사마이드(**I-1**, 1.10g, 2.37㎜ol) 및 (L)-타타르산(177.9㎎, 1.19㎜ol)의 CH_2Cl_2-MeOH(12㎖-1㎖) 용액을 35℃에서 18시간 동안 교반하였다. 또 다른 12㎖의 CH_2Cl_2를 첨가하고, 5시간 더 계속 교반하였다. 실온으로 냉각시킨 후, 침전물을 여과하여 수집하고, 얼음 냉각된 CH_2Cl_2로 세척하고, 진공에서 건조시켰다. 생성물을 연한 황색 고체로서 얻었다: 702.7㎎; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 13.41 (br s, 1H), 12.68 (br s, 2H), 11.93 (s, 1H), 8.98 (d, *J* = 4.9 Hz, 2H), 8.52 (v br s, 1H), 8.50 (s, 1H), 8.31 (s, 1H), 8.13 (v br s, 1H), 7.49 (dd, *J* = 4.9, 4.9 Hz, 1H), 5.08 (br s, 2H), 4.39 - 4.31 (m, 3H), 3.50 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H), 3.41 - 3.31 (m, H_2O와 중첩됨, 1H), 2.13 - 2.06 (m, 4H), 1.96 - 1.86 (m, 2H), 1.41 - 1.32 (m, 2H), 1.12 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO-d_6) δ 173.14, 161.27, 160.61, 157.55, 157.31, 149.07, 135.61, 132.61,

123.08, 121.86, 120.21, 119.46, 115.64, 75.64, 72.13, 62.58, 60.34, 30.60, 30.50, 15.67; LRMS (M+H) *m/z* 465.5.

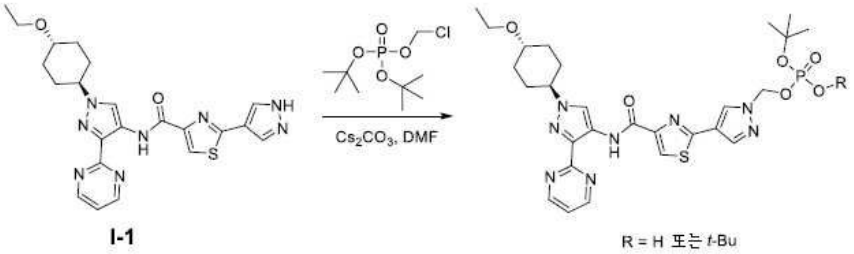
[0332] 여과액의 경우: 용매를 제거한 후, 물질을 CH_2Cl_2-MeOH(12㎖-1㎖)에 재용해시키고, 추가 (L)-타타르산(177.9mg, 1.19mmol)을 첨가하였다. 유사한 반응 및 워크업 절차 후, 또 다른 생성물을 밝은 황색 고체로서 얻었으며: 280.9mg, ^{1}H NMR은 첫 번째 생성물과 같다.

[0333] 총 합계: 983.6mg, 68% 수율.

[0334] **실시예 13**

[0335] **다이-*tert*-뷰틸((4-(4-((1-(트랜스 4-에톡시사이클로헥실)-3-(피리미딘-2-일)-1*H*-피라졸-4-일)카바모일)옥사졸-2-일)-1*H*-피라졸-1-일)메틸) 포스페이트**

[0336] ***tert*-뷰틸((4-(4-((1-(트랜스 4-에톡시사이클로헥실)-3-(피리미딘-2-일)-1*H*-피라졸-4-일)카바모일)티아졸-2-일)-1*H*-피라졸-1-일)메틸) 하이드로겐 포스페이트**

[0337] 

I-1

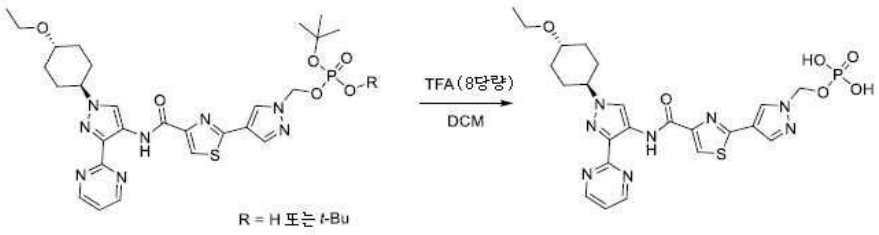
[0338] Cs_2CO_3(495mg, 1.52mmol)를 실온에서 *N*-(1-(트랜스 4-에톡시사이클로헥실)-3-(피리미딘-2-일)-1*H*-피라졸-4-일)-2-(1*H*-피라졸-4-일)옥사졸-4-카복사마이드(**I-1**, 470.6mg, 1.01mmol)의 DMF(5㎖) 용액에 첨가하였다. 10분 후, 다이-*tert*-뷰틸(클로로메틸) 포스페이트(524mg, 2.03mmol)를 첨가하였다. 22시간 후, LC-MS의 주요 피크는 목적하는 생성물(*m/z* 687.7(M+H))이었으며, 5% 미만의 화합물 I-1이 남아 있었다. 얼음조에서 냉각시키면서, 물(60㎖)을 조금씩 첨가하여 반응을 중지시키고, 실온에서 계속 교반하였다. 3시간 후, 생성물을 CH_2Cl_2(50㎖×2)로 추출하였다. 합한 유기층을 건조시키고(Na_2SO_4), 여과하고, 용매를 진공에서 제거하였다. 밝은 갈색 오일을 얻었으며, 이는 주로 모노-^{t}Bu 생성물인 것으로 나타났다: 635mg; ^{1}H NMR (400 MHz, 클로로폼-*d*) δ 11.97 (s, 1H), 8.88 (d, *J* = 4.9 Hz, 2H), 8.01 - 8.00 (m, 3H), 7.97 (s, 1H), 7.25 (dd, *J* = 4.9, 4.9 Hz, 1H), 5.96 (d, *J* = 12.1 Hz, 2H), 4.32 (tt, *J* = 11.8, 3.9 Hz, 1H), 3.57 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H), 3.37 (tt, *J* = 10.7, 4.2 Hz, 1H), 2.33 - 2.30 (m, 2H), 2.25 - 2.21 (m, 2H), 1.99 - 1.89 (m, 2H), 1.45 (s, 부분적으로 중첩됨, 9H), 1.51 - 1.36 (m, 부분적으로 중첩됨, 2H), 1.23 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H); ^{31}P NMR (162 MHz, 클로로폼-*d*) δ -5.03; LRMS (M+H) *m/z* 631.6.

[0339] 수성층을 1N HCl(수성)로 pH 2로 조정하고, 침전물을 수집하고, 이를 H_2O로 추가로 세척하여 55.3mg의 밝은 황색 고체를 얻었으며, 이는 LCMS에 따르면 주로 산성이었다.

[0340] 유사한 워크업 절차를 거친 다른 반응에서, 유기층으로부터 다이-^{t}Bu 생성물을 얻었다: ^{1}H NMR (400 MHz, 클로로폼-*d*) δ 12.08 (s, 1H), 8.96 (d, *J* = 4.9 Hz, 2H), 8.47 (s, 1H), 8.35 (s, 1H), 8.09 (s, 1H), 8.08 (s, 1H), 7.25 (dd, *J* = 4.9, 4.9 Hz, 1H), 5.96 (d, *J* = 13.2 Hz, 2H), 4.34 (tt, *J* = 11.6, 3.8 Hz, 1H), 3.56 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H), 3.37 (tt, *J* = 10.4, 4.5 Hz, 1H), 2.33 - 2.30 (m, 2H), 2.24 - 2.20 (m, 2H), 2.00 - 1.89 (m, 4H), 1.50 - 1.41 (m, 부분적으로 중첩됨, 2H), 1.44 (s, 부분적으로 중첩됨, 18H), 1.22 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H); LRMS (M+H) *m/z* 687.7.)

[0341] **실시예 14**

[0342] **(4-(4-((1-(트랜스 4-에톡시사이클로헥실)-3-(피리미딘-2-일)-1*H*-피라졸-4-일)카바모일)티아졸-2-일)-1*H*-피라졸-1-일)메틸 다이하이드로겐 포스페이트(I-2)**



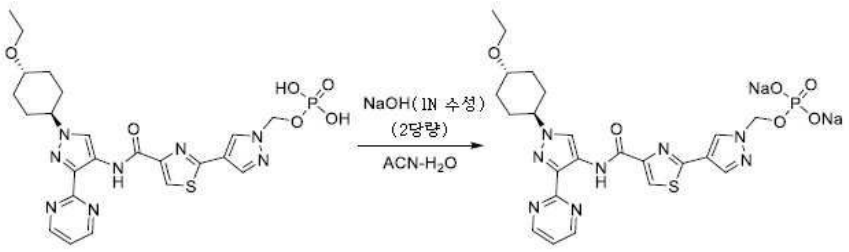
I-2

[0343]

[0344] 트라이플루오로아세트산(TFA)(0.613㎖, 8mmol)을 얼음조에서 냉각시키면서 *tert*-뷰틸((4-(4-((1-(트랜스 4-에톡시사이클로헥실)-3-(피리미딘-2-일)-1*H*-피라졸-4-일)카바모일)티아졸-2-일)-1*H*-피라졸-1-일)메틸) 하이드로겐 포스페이트(635mg, 1mmol)의 CH_2Cl_2(7㎖) 용액에 첨가하고, 실온에서 계속 교반하였다. 2시간 후, LC-MS에 의해 반응이 완료되었음을 확인하였다. 휘발성 물질을 진공에서 제거하였고, 밝은 갈색 오일을 얻었다. 미정제 생성물을 35℃에서 15시간 동안 아세톤-H_2O(10:1, 12㎖)에 현탁시켰다. 여과에 의해 고체를 수집하고, 아세톤으로 세척한 다음, 실온에서 1시간 동안 CH_2Cl_2(5㎖)에 추가로 현탁시켰다. 침전물을 여과하여 수집하고, CH_2Cl_2로 세척하고, 진공에서 건조시켰다. 화합물(4-(4-((1-(트랜스 4-에톡시사이클로헥실)-3-(피리미딘-2-일)-1*H*-피라졸-4-일)카바모일)티아졸-2-일)-1*H*-피라졸-1-일)메틸 다이하이드로겐 포스페이트(**I-2**)를 밝은 황색 고체로서 얻었다: 277.6mg(52% 수율); ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.97 (s, 1H), 11.62 (v br s, 1H), 9.02 (d, *J* = 4.9 Hz, 2H), 8.63 (d, *J* = 0.8 Hz, 1H), 8.49 (s, 1H), 8.36 (s, 1H), 8.20 (d, *J* = 0.8 Hz, 1H), 7.46 (dd, *J* = 4.9, 4.9 Hz, 1H), 5.92 (d, *J* = 11.2 Hz, 2H), 4.35 (tt, *J* = 11.5, 3.7 Hz, 1H), 3.50 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H), 3.37 (tt, *J* = 10.7, 3.8 Hz, 1H), 2.13 - 2.07 (m, 4H), 1.96 - 1.85 (m, 2H), 1.41 - 1.31 (m, 2H), 1.12 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H); ^{31}P NMR (162 MHz, DMSO-d_6) δ -2.17; LRMS (M+H) *m/z* 575.5.

[0345] **실시예 15**

[0346] **소듐(4-(4-((1-(트랜스 4-에톡시사이클로헥실)-3-(피리미딘-2-일)-1*H*-피라졸-4-일)카바모일)티아졸-2-일)-1*H*-피라졸-1-일)메틸 포스페이트(I-3)**



I-2 I-3

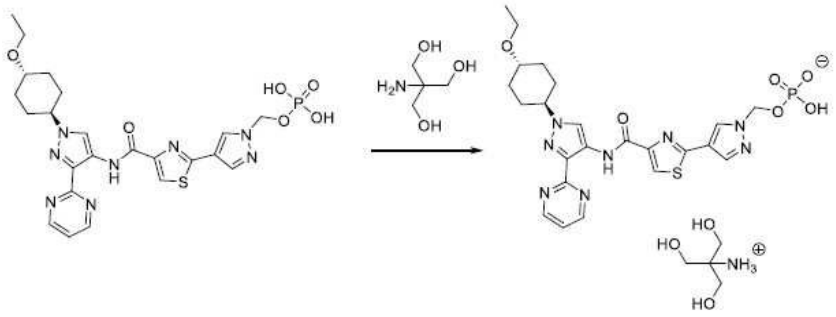
[0347]

[0348] 1N NaOH 용액(0.9㎖, 0.9mmol)을 얼음조에서 냉각시키면서 (4-(4-((1-(트랜스 4-에톡시사이클로헥실)-3-(피리미딘-2-일)-1*H*-피라졸-4-일)카바모일)티아졸-2-일)-1*H*-피라졸-1-일)메틸 다이하이드로겐 포스페이트(**I-2**, 258.5mg, 0.45mmol)의 CH_3CN(2㎖)와 H_2O(2㎖) 현탁액에 pH = 8이 될 때까지 적가하였다. 실온에서 10분 더 교반하고, 용매를 동결건조를 통해 제거하였다. 화합물 소듐(4-(4-((1-(트랜스 4-에톡시사이클로헥실)-3-(피리미딘-2-일)-1*H*-피라졸-4-일)카바모일)티아졸-2-일)-1*H*-피라졸-1-일)메틸 포스페이트(**I-3**)를 크림색 고체로서 얻었다: 278mg(99% 수율); ^{1}H NMR (400 MHz, 중수소 산화물) δ 8.63 (d, *J* = 5.0 Hz, 2H), 8.23 (s, 1H), 8.10 (s, 1H), 7.81 (s, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.27 (dd, *J* = 5.0, 5.0 Hz, 1H), 5.74 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H), 4.21 (br t, *J* = 12.1 Hz, 1H), 3.73 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 3.69 - 3.59 (m, 1H), 2.31 - 2.23 (m, 4H), 1.93 - 1.84 (m, 2H), 1.53 - 1.44 (m, 2H), 1.25 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H); ^{31}P NMR (162 MHz, 중수소 산화물) δ 2.10; LRMS (M+H) *m/z* 575.4.

[0349] **실시예 16**

[0350] **1,3-다이하이드록시-2-(하이드록시메틸)프로판-2-아미늄(4-(4-((1-(트랜스 4-에톡시사이클로헥실)-3-(피리미딘-**

2-일)-1*H*-피라졸-4-일)카바모일)티아졸-2-일)-1*H*-피라졸-1-일)메틸 하이드로겐 포스페이트(I-5)



[0351]

[0352] (4-(4-((1-(트랜스 4-에톡시사이클로헥실)-3-(피리미딘-2-일)-1*H*-피라졸-4-일)카바모일)티아졸-2-일)-1*H*-피라졸-1-일)메틸 다이하이드로겐 포스페이트(I-2, 25㎎, 0.0435㎜ol)의 *i*-PrOH-H_2O(0.2㎖-0.2㎖) 현탁액에 2-아미노-2-(하이드록시메틸)프로페인-1,3-다이올(5.4㎎, 0.044㎜ol) 첨가하고, 묽은 현탁액을 30℃에서 밤새 교반하였다. 실온으로 냉각시킨 후, 추가 *i*-PrOH를 첨가하였으며(0.2㎖, 이후 최대 0.5㎖), 혼합물은 자유롭게 흐르는 침전물 없이 흐린 상태를 유지하였다. 감압하에 회전 증발을 통해 대부분의 유기 용매를 제거한 후, 백색 고체가 나타날 때까지 혼합물을 *i*-PrOH-ACN-H_2O에 재용해시켰다. 여과 후, 수집된(흡습성) 고체를 물에 용해시키고, 용매를 진공에서 제거하였다. 표제 화합물 1,3-다이하이드록시-2-(하이드록시메틸)프로판-2-아미늄(4-(4-((1-(트랜스 4-에톡시사이클로헥실)-3-(피리미딘-2-일)-1*H*-피라졸-4-일)카바모일)티아졸-2-일)-1*H*-피라졸-1-일)메틸 하이드로겐 포스페이트(**I-5**)를 회백색 고체로서 얻었다: 15.2㎎(50% 수율); ^{1}H NMR (400 MHz, 중수소 산화물) δ 8.45 (d, *J* = 4.9 Hz, 2H), 8.01 (s, 1H), 7.92 (s, 1H), 7.60 (s, 1H), 7.51 (s, 1H), 7.13 (dd, *J* = 4.9, 4.9 Hz, 1H), 5.68 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H), 4.11 (br t, *J* = 12.2 Hz, 1H), 3.72 - 3.67 (m, 8H), 3.58 (tt, *J* = 11.1, 3.9 Hz, 1H), 2.28 - 2.25 (m, 2H), 2.20 - 2.17 (m, 2H), 1.86 - 1.77 (m, 2H), 1.49 - 1.40 (m, 2H), 1.23 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H); ^{31}P NMR (162 MHz, 중수소 산화물) δ 0.18; LRMS (M+H) *m/z* 576.1.

[0353] **실시예 17**

[0354] **LPS는 THP-1 세포(IFNɣ 프라이밍됨) 검정에서 IL23p19를 유도하였다**

[0355] **물질 및 장비**

[0356] THP-1 세포(ATCC, 카탈로그 번호 TIB-202), 다이메틸 설폭사이드(DMSO)(Sigma-Aldrich, 카탈로그 번호 D2650), RPMI 1640(Cellgro, 카탈로그 번호 10-040-CM), 소태아 혈청(Sigma, 카탈로그 번호 F4135), 소 혈청으로부터의 알부민(BSA)(Sigma-Aldrich, 카탈로그 번호 A7906), LPS(혈청형 K-235, Sigma, 제품 번호 L 2143), IFNɣ (Peprotech, 카탈로그 번호 300-02), 포획 항체: 인간 IL-23p19 ELISA(e-Bioscience, 카탈로그 번호 14-7238-85), 검출 항체: 1차 마우스 바이오티닐화 항-인간 IL-12(p40/p70)(e-Bioscience, 카탈로그 번호 13-7129-85), 2차 HRP 접합 스트렙타비딘(R&D Systems, 카탈로그 번호 DY998), 1x PBST 세척 완충액(PBS-Tween 정제)(VWR International, 카탈로그 번호 80058-558), ELISA 차단 완충액(1% BSA가 포함된 PBS), ELISA 희석 완충액(1% BSA가 포함된 PBS), 384웰 평저, MaxiSorp Black Immuno 플레이트(Thermo Scientific, 카탈로그 번호 12-565-346), 384웰 평저, 흰색 조직 배양 플레이트(Thermo Scientific, 카탈로그 번호 12-565-343), Super Signal ELISA Pico 화학발광 기질(Thermo Scientific, 카탈로그 번호 37070), Cell Titer Glo 시약(Promega, 카탈로그 번호 G7573), 양성 대조군, IKK2VI 저해제(Calbiochem, 카탈로그 번호 401483), AquaMax 4000 플레이트 세척기(Molecular Devices), 광도계, Wallac Victor2 1420 멀티라벨 카운터.

[0357] **방법**

[0358] ***THP-1 세포 자극:***

[0359] 제1일에, 50K/웰 THP-1 세포를 384웰 플레이트에 시딩하고, 10% FBS가 포함된 RPMI 배지에서 약 18시간 동안 IFNɣ(50 ng/㎖)로 프라이밍하였다. 제2일에, 화합물을 DMSO에서 5mM부터 3배로 연속 희석한 다음, 10% FBS가 포함된 RPMI 배지에서 1:125로 희석하였다. 384웰 조직 배양 플레이트에서 50 ㎕/웰 2x 화합물을 50 ℓ/웰 THP-1 세포(IFNɣ로 프라이밍됨)에 2회 반복하여 첨가하였다. 세포를 37℃, 5% CO_2에서 1시간 동안 화합물과 함께 사전 인큐베이션한 후, 10 ℓ/웰 11x LPS를 첨가하여 최종 농도가 1 ㎍/㎖ LPS가 되도록 하였다. 제3일에,

37℃, 5% CO_2에서 18시간 동안 자극한 후, 검정 플레이트를 원심분리하고, 70 ㎕/웰 상청액을 수거하였다. 70 ㎕/웰의 상청액에 있는 IL-23p19 단백질을 샌드위치 ELISA로 측정하고, 나머지 세포에 25 ㎕/웰의 Cell Titer Glo 시약을 첨가하여 화합물 독성을 측정하였다.

[0360] *인간 IL-23p19 샌드위치 ELISA:*

[0361] Maxisorp immuno ELISA 플레이트를 PBS 중 25 ㎕/웰의 항-IL-23p19 포획 항체(2.5 ㎍/㎖)로 실온에서 밤새 미리 코팅하였다. 1x PBST로 세척한 후, 플레이트를 100 ㎕/웰의 PBS 중 1% BSA를 사용하여 실온에서 2시간 동안 차단하였다. 플레이트를 1x PBST로 3회 세척하고, 70 ㎕/웰의 상청액을 첨가하였다. 플레이트를 진탕시키면서 실온에서 2시간 동안 인큐베이션하고, 1x PBST로 3회 세척하였다. 1% BSA가 포함된 PBS 중 25 ㎕/웰의 바이오틴 표지된 항-IL-12(p40/p70) 검출 항체(100 ng/㎖)를 첨가하고, 플레이트를 진탕시키면서 실온에서 2시간 동안 인큐베이션하였다. 1x PBST로 3회 세척한 후, 1% BSA가 포함된 PBS 중 25 ㎕/웰의 스트렙타비딘-HRP(1:200)를 첨가하고, 플레이트를 교반하면서 실온에서 20분 동안 인큐베이션하였다. 플레이트를 1x PBST로 3회 세척하고, 25 ㎕/웰의 Super Signal ELISA Pico 화학발광 기질을 첨가하였다. 플레이트를 광도계로 판독하고, 곡선 피팅, EC_{50} 계산 및 데이터베이스 저장을 위해 화학발광 값을 Athena(Rigel)에 입력하였다. 결과는 표 1에 나타나 있다.

[0362] **실시예 18**

[0363] **DC 세포를 사용한 화합물 스크리닝**

[0364] **물질**

[0365] 인간 PBMC 세포(All Cells, 카탈로그 번호 PB002)

[0366] 10% FBS를 포함하는 RPMI 성장 배지

[0367] IFNγ(Peprotech, 카탈로그 번호 300-02)

[0368] GMCSF(Peprotech, 카탈로그 번호 300-03) 및 IL4(Peprotech 카탈로그 번호 200-04)

[0369] 흰색 투명 바닥 96웰 플레이트(Fisher, 카탈로그 번호 07-200-587, Corning #3903)

[0370] Sigma Aldrich의 LPS(카탈로그 번호 L2018-5MG)(PBS 중 2.5 ㎎/㎖ 스톡으로 만듦)

[0371] Cell Titer Glo 시약(Promega, 카탈로그 번호 G7573)

[0372] 양성 대조군, IKK2VI 저해제(Calbiochem, 카탈로그 번호 401483)

[0373] **프로토콜**

[0374] **1. PBMC의 DC 세포로의 분화:**

[0375] 공급업체로부터 구입한 인간 PBMC 세포(400억개)를 15㎖의 RPMI 배지(10% FBS)가 담긴 T-175 플라스크로 옮기고, 37℃에서 2시간 동안 인큐베이션하였다. 2시간 후, 부유 세포를 포함하는 배지를 조심스럽게 흡인하여 제거하고, GMCSF(100 ng/㎖)와 IL4(20 ng/㎖)를 포함하는 12㎖의 새로운 RPMI 배지(10% FBS)를 첨가하고, 플라스크를 37℃ 인큐베이터에서 7일 동안 보관하였다.

[0376] 3일 후, 새로운 GMCSF(100 ng/㎖)와 IL4(20 ng/㎖)를 플라스크에 첨가하고, 계속 인큐베이션하였다. 7일 후, 완전히 분화된 세포를 스핀 다운(1200rpm/5분)하고 배지를 흡인하여 수거하였다. 세포를 50 ng/㎖의 IFNγ(1000 U/㎖)를 포함하는 새로운 RPMI 배지(10% FBS)에 현탁시킨 다음, 흰색 투명 바닥 96웰 플레이트에 플레이팅하고(100㎕ 중 50 K/웰), 37℃ 인큐베이터에서 24시간 동안 방치하였다.

[0377] **2. 화합물 첨가:**

[0378] 24시간 인큐베이션 후, 웰당 2X 농축 테스트 화합물을 포함하는 100㎕의 RPMI 배지에 위의 세포 배양 배지를 첨가하고(최종 농도는 1X가 됨), 플레이트를 37℃에서 1시간 동안 사전 인큐베이션한 후 LPS로 자극하였다.

[0379] 1시간 동안 화합물을 사전 인큐베이션한 후, RPMI 배지에 20X 농축 LPS 용액을 웰당 10㎕씩 첨가하여 최종 농도가 1 ㎍/㎖가 되도록 하였다. 혼합물을 진탕시키고, 플레이트를 37℃에서 18시간 더 인큐베이션하였다.

[0380] 155㎕의 상청액을 각 웰로부터 조심스럽게(팁이 웰의 바닥에 닿지 않게) 수거하고, 세포 배양 플레이트의 나머

지 50 ㎕/웰에 50㎕의 Cell Titer Glo 시약을 첨가하였다. 혼합물을 진탕기에서 1 내지 2분 동안 인큐베이션하고, 플레이트의 발광 강도를 판독하여 화합물의 세포독성을 결정하였다. 위에서 수집한 세포 배양 상청액을 사용하여 아래 기술된 바와 같이 IL23 ELISA(65㎕ - 상청액) 및 IL10 ELISA(90㎕ - 상청액)를 수행하였다.

[0381] **실시예 19**

[0382] **인간 IL-23(p19/p40) ELISA 프로토콜(e-Biosciences)**

[0383] **물질:**

[0384] 96웰 고결합 불투명 흰색 플레이트(from Pierce, 카탈로그 번호 15042);

[0385] 1X PBS; 1X TBST 세척 완충액;

[0386] 차단 용액: PBS 중 0.5% 카세인(BDH, 카탈로그 번호 440203H);

[0387] 희석 용액: PBS 중 1% BSA(Fisher의 10% BSA, 카탈로그 번호 37525);

[0388] 포획 항체: 래트 항-인간 IL-23(p19)(e-Biosciences, 카탈로그 번호 14-7238-85);

[0389] 검출 항체: 1차 마우스 바이오티닐화 항-인간 IL-12(p40/p70)(e-biosciences, 카탈로그 번호 13-7129-85);

[0390] 2차 HRP 접합 스트렙타비딘(R&D Systems, 카탈로그 번호 DY998);

[0391] rHumanIL-23(e-biosciences, 카탈로그 번호 34-8239)(제안 출발 농도 = RPMI 세포 배양 배지 중 5 ng/㎖);

[0392] 세포 배양 상청액(IFNγ(50 ng/㎖ - 1000 U/㎖)로 프라이밍하고 0.01% SAC로 자극시킨 THP-1 세포에서 65㎕);

[0393] SuperSignal ELISA Pico 화학발광성 기질[Pierce, 카탈로그 번호 37069].

[0394] **플레이트 코팅**:

[0395] 50㎕의 항-IL23(p19)을 첨가한 10.5㎖ PBS에 포획 항체(2.5 ㎍/㎖)를 첨가하였다. 혼합물을 잘 혼합하고, 100㎕의 코팅 용액을 Pierce의 96웰 흰색 플레이트의 각 웰에 첨가하였다. 웰을 덮고, 4℃에서 밤새 인큐베이션하였다.

[0396] **플레이트 차단:**

[0397] 항-IL23(p19)-항체 코팅된 플레이트를 TBST를 사용하여 2회 세척하고(플레이트 세척기 사용), 진탕시키면서 실온에서 1.5 내지 2시간 동안 200㎕의 0.5% 카세인을 사용하여 차단하였다.

[0398] **상청액의 첨가 및 검출:**

[0399] 플레이트를 TBST를 사용하여 2회 세척하고, 상청액을 위의 미리 차단된/IL23(p19)-항체 코팅된 96웰 플레이트로 옮기고(65 ㎕/웰), 진탕시키면서 실온에서 1.5시간 동안 인큐베이션하였다.

[0400] 플레이트를 TBST를 사용하여 4회 세척하고(플레이트 세척기), 11㎖의 1% BSA/PBS 용액(1 내지 5000 희석) 중 2㎕의 바이오틴 표지된 항-IL-12(p40/p70) 항체로부터 제조된 100 ㎕/웰의 검출 항체 용액을 첨가하였다. 플레이트를 실온에서 진탕시키면서 1시간 동안 인큐베이션하였다.

[0401] 다시, 플레이트를 TBST로 4회 세척하고, 100㎕의 HRP 표지된 스트렙타비딘(R&D Systems) 용액(10㎕/10㎖ 1% BSA 용액)을 첨가하고, 플레이트를 진탕시키면서 실온에서 45분 더 인큐베이션하였다.

[0402] 45분 후, 플레이트를 TBST로 4회 세척하고, Pierce의 100 ㎕/웰의 Super Signal ELISA Pico 화학발광 기질(3.5㎖ A + 3.5㎖ B + 3.5㎖ MQ 물)을 첨가하였다 플레이트를 1 내지 2분 동안 진탕시킨 다음, 플레이트 판독기에서 판독하였다.

[0403] **실시예 20**

[0404] **IRAK4 ADP-GLO 검정**

[0405] **물질**

[0406] IRAK4 카이네이스 효소(Signalchem, I12-10G-20); 0.1M DTT(Signalchem, D86-09B); MBP 기질(Signalchem, M42-51N); ADP Glo(Promega, V9101); 1M $MgCl_2$(Teknova, M03304); 1M Tris-HCl pH 7.4(Teknova, T1074);

BSA(Sigma(A3059); 증류된 H_2O

[0407] **장비**

[0408] Wallac Victor2 1420 멀티라벨 카운터

[0409] **방법**

[0410] ADP-Glo™ 시약을 주위 온도로 해동시켰다. 카이네이스 검출 완충액과 동결건조된 카이네이스 검출 기질을 혼합하여 카이네이스 검출 시약을 제조하고, 따로 보관하였다.

[0411] 증류된 H_2O 중 100mM $MgCl_2$, 200mM Tris-HCl 및 0.5 mg/mℓ의 BSA의 최종 농도와 최종 pH가 7.4인 5X 반응 카이네이스 완충액의 스톡 부피를 제조하였다. 100μM DTT의 최종 농도를 포함하는 2X 작업 스톡 부피의 반응 카이네이스 완충액을 제조하였다.

[0412] IRAK4 효소의 성분을 얼음 위에서 해동시켰다. 1X 카이네이스 반응 완충액에 희석된 IRAK4(2X 완충액에서 희석됨)를 5.0 ng/㎕로 준비하였다. 250μM의 작업 스톡 ATP 검정 용액을 1X 카이네이스 반응 완충액에 준비하였다(2X 완충액에서 희석됨).

[0413] 화합물을 DMSO에 250μM에서 4배 연속 희석하여 8 포인트로 희석하였다. 그런 다음, 96웰 플레이트에서 2X 반응 완충액으로 1:5로 희석하였다. 1.0㎕를 384웰 플레이트로 2회 반복하여 옮겼다. 2㎕의 희석된 활성 IRAK4를 첨가하고(칼럼 1에는 첨가하지 않음), 2X 반응 완충액을 칼럼 1에 첨가하였다. MBP 기질의 1 mg/mℓ 스톡 용액 1.1㎕를 첨가하였다. 참고: MBP는 동일한 부피의 ATP 믹스와 합한 다음, 2 ㎕/웰로 첨가될 수 있다. 최종 반응 부피는 5mℓ였다.

[0414] 플레이트를 원심분리하고, 반응 혼합물을 실온에서 60분 또는 30℃에서 30분 동안 인큐베이션하였다.

[0415] 반응을 종료시키고, 5㎕의 ADP-Glo™ 시약을 첨가하여 남은 ATP를 고갈시켰다. 384웰 플레이트를 원심분리한 다음, 반응 혼합물을 주위 온도에서 40분 더 인큐베이션하였다.

[0416] 10㎕의 카이네이스 검출 시약을 첨가하였다. 플레이트를 원심분리한 다음, 반응 혼합물을 주위 온도에서 30분 더 인큐베이션하였다.

[0417] 384웰 반응 플레이트를 WALLAC 플레이트 판독기(발광 0.1초)를 사용하여 판독하였다.

[0418] **실시예 21**

[0419] **IRAK1 ADAPTA 검정**

[0420] 물질

[0421] • 바코드가 있는 Corning의 저용량 흰색 384웰 플레이트(Corning 카탈로그 번호 4512)

[0422] • 테스트 화합물: 테스트 화합물은 웰에서 1% DMSO(최종)로 스크리닝하였다. 10 포인트 적정의 경우, 3배 연속 희석 10μM.

[0423] • 기질/카이네이스 혼합물: 2X IRAK1/히스톤 H3(1-20) 펩타이드 혼합물은 50mM HEPES(pH 7.5), 0.01% BRIJ-35, 10mM $MgCl_2$, 1mM EGTA에서 제조하였다.

[0424] • ATP 용액: 모든 ATP 용액은 물에 4X 작업 농도로 희석하였다.

[0425] • ATP Km 겉보기는 이용 가능한 기질이 없는 경우를 제외하고 방사성 검정을 사용하여 사전에 결정하였으며, 이 경우 Adapta 검정을 수행하였다.

[0426] • 검출 믹스: 검출 믹스는 TR-FRET 희석 완충액에서 제조하였다. 검출 믹스는 EDTA(30mM), Eu-항-ADP 항체(6nM) 및 ADP 트레이서로 이루어진다. 검출 믹스는 5 내지 150mM ATP에 대한 트레이서의 EC_{60} 농도를 포함한다.

[0427] **IRAK1 방법**

[0428] 1. 100nℓ - 100% DMSO 중 100X 테스트 화합물

[0429] 2. 2.4㎕ - 30mM HEPES

[0430] 3. 2.5㎕ - 4X ATP 용액

[0431] 4. 5㎕ - 2X 기질/카이네이스 혼합물

[0432] 최종 10㎕ 카이네이스 반응물은 32.5mM HEPES(pH 7.5), 0.005% BRIJ-35, 5mM $MgCl_2$, 0.5mM EGTA에 3.17 내지 42ng의 IRAK1과 100 μM 히스톤 H3(1-20) 펩타이드로 이루어진다.

[0433] 5. 30초 플레이트 진탕

[0434] 6. 1000xg에서 1분 원심분리

[0435] 7. 실온에서 60분 카이네이스 반응물 인큐베이션

[0436] 8. 5㎕ - 검출 믹스

[0437] 9. 30초 플레이트 진탕

[0438] 10. 1000xg에서 1분 원심분리

[0439] 11. 실온에서 60분 검출 믹스 평형화

[0440] 12. 형광 플레이트 판독기의 판독 및 데이터 분석

[0441] **실시예 22**

[0442] **IRAK4 Z'-LYTE 검정**

[0443] **물질**

[0444] • 바코드가 있는 Corning의 저용량 NBS 검은색 384웰 플레이트(Corning 카탈로그 번호 4514)

[0445] • 테스트 화합물: 테스트 화합물은 웰에서 1% DMSO(최종)로 스크리닝하였다. 10 포인트 적정의 경우, 10□M에서 3배 연속 희석을 수행하였다.

[0446] • 펩타이드/카이네이스 혼합물: 2X IRAK4/Ser/Thr 07 혼합물을 50mM HEPES(pH 7.5), 0.01% BRIJ-35, 10mM $MnCl_2$, 1mM EGTA, 2mM DTT, 0.02% NaN_3에서 제조하였다.

[0447] • ATP 용액: 모든 ATP 용액은 카이네이스 완충액(50mM HEPES(pH 7.5), 0.01% BRIJ-35, 10mM $MgCl_2$, 1mM EGTA)에 4X 작업 농도로 희석하였다. ATP Km 겉보기는 Z'-LYTE® 검정을 사용하여 사전에 결정하였다.

[0448] • 발색 시약 용액: 발색 시약은 발색 완충액에 1:45000으로 희석하였다.

[0449] **일반적인 방법**

[0450] 1. 100nℓ - 100% DMSO 중 100X 테스트 화합물

[0451] 2. 2.4㎕ - 카이네이스 완충액

[0452] 3. 5㎕ - 2X 펩타이드/카이네이스 혼합물

[0453] 4. 2.5㎕ - 4X ATP 용액

[0454] 최종 10㎕ 카이네이스 반응물은 50mM HEPES(pH 7.5), 0.01% BRIJ-35, 5mM $MgCl_2$, 5mM $MnCl_2$, 1mM EGTA, 1mM DTT, 0.01% NaN_3에 3.45 내지 63.6ng의 IRAK4와 2 μM Ser/Thr 07로 이루어진다.

[0455] 5. 30초 플레이트 진탕

[0456] 6. 실온에서 60분 카이네이스 반응물 인큐베이션

[0457] 7. 5㎕ - 발색 시약 용액

[0458] 8. 30초 플레이트 진탕

[0459] 9. 실온에서 60분 발색 반응물 인큐베이션

[0460] 10. 형광 플레이트 판독기에서 판독 및 데이터 분석

[0461] 검정으로부터의 결과는 표 1에 나타나 있다.

표 1

시험관내 결과.

[0462]

	IL23-p19 ELISA, THP1-IFNy, LPS, 10pt EC_{50} (μM)	IL23-p19 ELISA, 수지상, LPS, 10pt EC_{50} (μM)	IRAK4 ADP-Glo 카이네이스, 8pt EC_{50} (μM)	IRAK1 ADP-Glo 카이네이스, 8pt EC_{50} (μM)	IRAK4 Z'-LYTE 검정 EC_{50} (μM)	IRAK1 ADAPTA 검정 EC_{50} (μM)
I-1	0.008	0.18	0.007	0.0081	0.006	0.004
I-2	0.011		0.0464	3.909		
I-3	0.0544		0.1284	0.0618		
I-4	0.0025		0.0188	0.0281		

[0463] **실시예 23**

[0464] **I-1에 대한 혈장 단백질 결합**

[0465] **실험 절차**

[0466] 신속 평형 투석(Rapid Equilibrium dialysis: RED) 장치를 사용하여 평형 투석에 의해 뇌 및 혈장 약물 결합을 수행하였다. 간략하게는, 약물(5μM)을 포함하는 300㎕의 혈장 또는 뇌 균질액(1 뇌/3 완충액)을 500㎕의 완충 식염수에 대해 평형화시켰다(4 내지 18시간). 인큐베이션 후, 혈장/뇌 균질액과 완충액 중 약물의 농도를 LC-MS/MS로 결정하였다.

[0467] **회수값**

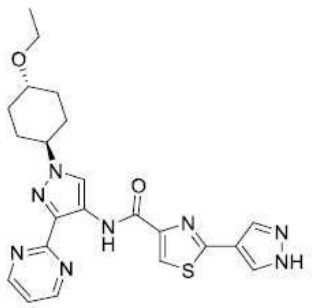
[0468] 회수율은 인큐베이션 후 50㎕의 혈장과 50㎕ 완충액 중 약물의 총량을 결정하고, 해당 값을 인큐베이션하지 않은 50㎕의 혈장 샘플 중 약물의 양과 비교함으로써 계산하였다. 단백질 결합 검정의 경우, 약물을 혈장에 첨가하고, 이 혈장을 투석 장치의 한쪽에 첨가하고 완충액을 다른 쪽에 첨가하였다. 평형 장치의 플라즈마 챔버를 채운 후, 혈장의 50㎕ 분취량을 50㎕의 완충액과 혼합한 다음, 정지 시약으로 반응을 정지시켰다.

[0469] 약물 회수 = (약물 완충액 + 약물 혈장)/(초기 혈장 내 약물)

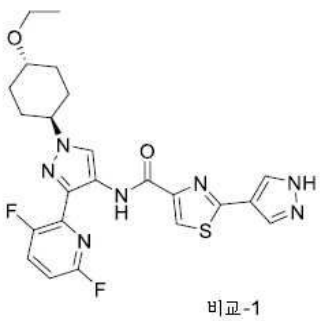
[0470] 혈장에서 약물이 가수분해(즉, 아마이드 가수분해)되어 기구와의 결합이 손실되면 회수율이 낮아질 수 있다.

[0471] **유리 약물**

[0472] 혈장 및 뇌에 유리 약물이 더 많을수록 표적과 상호작용하는 약물의 양이 늘어난다.

[0473] 

I-1



비교-1

[0474] 유리 약물의 관점에서, 화합물 I-1은 래트, 개, 원숭이 및 인간 단백질에서 비교군-1보다 대략 6배 더 유리되었다.

[0475] 마우스 회수율은 가수분해로 인해 낮았으며, 이는 마우스에서의 다른 유사한 시험과 일치한다.

표 2

혈장 단백질 결합 결과

[0476]

	비교군-1		I-1	
	결합%	회수 (%)	결합%	회수 (%)
개	99.0	77.2	93.4	70.7
래트	99.3	68.3	96.3	73.9
인간	99.6	75.5	97.0	77.1
원숭이	99.7	71.6	98.3	104*
마우스	97.8	10	91.5	23.6

*결과는 실험 오차로 인해 100%보다 큰 것으로 보인다.

[0477] I-1과 비교군-1을 비교한 래트 뇌 균질액 결합의 두 가지 실행. I-1은 비교군-1보다 래트 뇌에서 대략 10배 더 유리된다.

[0478] 비교군-1 0.102% 및 0.114%

[0479] I-1 1.06% 및 1.43%

[0480] **실시예 24**

[0481] **전혈 검정**

[0482] 화합물 I-1은 시험관내 검정에서 비교군-1과 유사한 생화학적 효능을 보였지만(비교군-1의 구조에 대해서는 실시예 23 참조), I-1은 세포 내에서 그리고 전혈의 존재하에 수행된 검정에서 훨씬 더 강력하였다.

표 3

시험관내 검정

[0483]

화합물	IRAK4 IC_{50} (μM)		
	ADP-Glo (n>=3)	Z'LYTE (n=1)	Adapta (n=1)
I-1	0.007 ± 0.004	0.006	0.004
비교군-1	0.006 ± 0.006	0.015	0.014

표 4

전혈 검정에서의 유리 분획

[0484]

화합물	래트	인간
I-1	3.7%	3.0%
비교군-1	0.7%	0.4%

[0485] 전혈 검정에서 I-1의 더 큰 효능은 혈장 유리 분획에 의해 유도된다. 그리고, 유리 분획 백분율은 종 전체에 걸

처 일관된다.

[0486] TLR 및 IL-1R 의존성 사이토카인 방출에 대한 화합물 I-1의 효과를 평가하기 위해, 여러 세포 유형을 단리하고, 화합물 I-1 또는 비교군-1의 존재하에 자극하였다. 결과는 표 5에 제공되어 있다.

표 5

세포 검정

[0487]

화합물	세포 검정 IC_{50} (μM)			
	IL-23 (LPS, THP-1)	TNFα (PBMC, 레시퀴모드)	TNFα (DC, Gard)	평균
I-1	0.008	0.003	0.005	0.005
비교군-1	0.063	0.015	0.019	0.032

[0488] 위의 세포 검정에서 얻은 결과는 화합물 I-1이 여러 세포 유형에서 TLR- 및 IL-1R 의존성 사이토카인 생성의 강력한 저해제임을 보여준다(표 5). 화합물 I-1은 인간 THP-1 세포에 의한 TLR4 유도성 IL-23 및 TNF-α 생성을 저해한다. 인간의 1차 수지상 세포(DC)에서, 화합물 I-1은 TLR4 유도성 IL-23 생성, TLR7- 및 TLR2 유도성 TNF-α 생성을 차단한다. 화합물 I-1은 또한 인간 PBMC에서의 TLR7 의존성 사이토카인 생성 및 마우스 대식세포에서의 TLR4 의존성 사이토카인 생성의 강력한 저해제이다. 또한, 화합물 I-1은 1차 인간 내피 세포에서 사이토카인 IL-6의 IL-1β 유도성 생성을 강력하게 저해한다. 화합물 I-1은 IRAK1/4 카이네이스 활성의 저해를 통해 여러 1차 인간 세포 유형에서 TLR- 및 IL-1R 의존성 전염증성 사이토카인 생성을 광범위하게 저해한다. 더욱이, 화합물 I-1은 여러 세포 유형에서 TLR- 및 IL-1R 의존성 신호전달의 보다 강력한 저해제이다.

[0489] **검정 프로토콜: TLR4 및 TLR2는 THP-1 세포에서 사이토카인을 유도하였다.**

[0490] **물질**

[0491] • 다이메틸 설폭사이드(DMSO)(Sigma-Aldrich, 카탈로그 번호 D2650)

[0492] • 소태아 혈청(Sigma, 카탈로그 번호 F4135)

[0493] • RPMI 1640(Cellgro, 카탈로그 번호 10-040-CM)

[0494] • THP-1(ATCC, 카탈로그 번호 TIB-202)

[0495] • 재조합 인간 IFN-γ(Peprotech, 카탈로그 번호 AF-300-02)

[0496] • 대장균 K-235의 지질다당류(LPS)(Sigma-Aldrich, 카탈로그 번호 L2018)

[0497] • LTA(InvivoGen, 카탈로그 번호 tlrl-pslta)

[0498] • 항-인간 IL-23p19(eBioscience, 카탈로그 번호 14-7238-85)

[0499] • 바이오틴 항-인간 IL-12(p40/70)(eBioscience, 카탈로그 번호 13-7129-85)

[0500] • 소 혈청으로부터의 알부민(BSA)(Sigma-Aldrich, 카탈로그 번호 A7906)

[0501] • 1x PBST 세척 완충액(PBS-Tween 정제)(VWR International, 카탈로그 번호 80058-558)

[0502] • ELISA 차단 완충액(2% BSA가 포함된 PBS)

[0503] • ELISA 희석 완충액(PBST 중 0.2% BSA)

[0504] • 인간 TNF-α DuoSet ELISA 키트(R&D Systems, 카탈로그 번호 DY210)

[0505] • CellTiter-Glo® 발광 세포 생존력 검정(Promega, 카탈로그 번호 G7571)

[0506] • 96웰 평저 흰색 투명 바닥 조직 배양 플레이트(Costar 3903)

[0507] • 96웰 평저 MaxiSorp Black Immuno 플레이트(Thermo Scientific, 카탈로그 번호 12-566-24)

[0508] • Super Signal ELISA Pico 화학발광 기질(Thermo Scientific, 카탈로그 번호 37070)

[0509] **장비**

[0510] • Scan Washer 400 플레이트 세척기(Molecular Devices)

[0511] • 광도계, Wallac Victor2 1420 멀티라벨 카운터

[0512] **방법**

[0513] THP-1 세포(100 ㎕/웰 중 100K)를 37℃, 5% CO_2에서 18시간 동안 25 ng/㎖의 IFN-γ로 프라이밍하였다. 화합물을 DMSO에서 2.5mM부터 4배 희석으로 연속 희석한 다음, 10% FBS가 포함된 RPMI 1640 완전 배지에서 1:125로 희석하였다. 96웰 평저 흰색 조직 배양 플레이트에서 100 ㎕/웰 2x 화합물을 100 ㎕/웰의 IFN-γ 프라이밍된 THP-1과 혼합하였다. 세포를 37℃, 5% CO_2에서 1시간 동안 화합물과 함께 사전 인큐베이션한 후, 10 ㎕/웰 21x LPS를 첨가하여 최종 농도가 1㎍/㎖ LPS가 되도록 하였다. 세포를 37℃, 5% CO_2에서 18시간 동안 LPS로 자극하였다. 원심분리 후, 100 ㎕/웰의 상청액을 다중채널 피펫을 사용하여 추출하였다. 상청액 중 IL-23p19 또는 TNF-α 단백질을 샌드위치 ELISA로 측정하였다. 나머지 IFN-γ 프라이밍된 THP-1 세포 펠릿을 사용하여 세포 생존력 검정을 수행하여 화합물 세포 독성을 결정하였다. 플레이트를 광도계로 판독하고, 곡선 피팅, EC_{50} 계산 및 데이터베이스 저장을 위해 화학발광 값을 Athena(Rigel)에 입력하였다.

[0514] 이전에 기술된 바와 같이 IFN-γ로 프라이밍된 THP1 세포를 37℃, 5% CO_2에서 추가로 18시간 동안 LTA(RPMI 배지에서 20x 농축 LTA 용액의 웰당 10㎕로 최종 농도 4 ㎍/㎖를 제공)로 자극하였다. 상청액(155 ㎕/웰)을 수거하여 TNF-α를 측정하였다. 키트 프로토콜을 따라 인간 TNF-α DuoSet ELISA 키트를 사용하여 TNF-α를 ELISA로 정량화하였다.

[0515] *인간 IL-23p19 샌드위치 ELISA:*

[0516] Maxisorp immuno ELISA 플레이트를 PBS 중 100 ㎕/웰의 항-IL-23p19 포획 항체(2.4 ㎍/㎖)로 실온에서 밤새 미리 코팅하였다. 1x PBST로 세척한 후, 플레이트를 300 ㎕/웰의 PBS 중 1% BSA를 사용하여 실온에서 2시간 동안 차단하였다. 플레이트를 1x PBST로 3회 세척하고, 100 ㎕/웰 상청액을 첨가하였다. 플레이트를 진탕시키면서 실온에서 2시간 동안 인큐베이션하였다. 플레이트를 1x PBST로 3회 세척하고, 0.1% BSA가 포함된 PBS 중 100 ㎕/웰의 바이오틴 항-인간 IL-12(p40/70) 검출 항체(10 ng/㎖)를 첨가하였다. 플레이트를 진탕시키면서 실온에서 2시간 동안 인큐베이션하였다. 플레이트를 1x PBST로 3회 세척하고, 0.1% BSA가 포함된 PBS 중 100 ㎕/웰 스트렙타비딘-HRP(1:200)를 첨가하였다. 플레이트를 교반하면서 실온에서 20분 동안 인큐베이션하였다. 플레이트를 1x PBST로 3회 세척하고, 100 ㎕/웰의 Super Signal ELISA Pico 화학발광 기질을 첨가하였다. 플레이트를 광도계로 판독하고, 화학발광 값을 곡선 피팅, EC_{50} 계산 및 데이터베이스 저장을 위해 Athena(Rigel)에 입력하였다.

[0517] **검정 프로토콜: 인간 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)에서의 TLR7 유도성 TNF-α.**

[0518] **물질**

[0519] • Corning™ Costar™ 96웰 세포 배양 처리된 U형 바닥 마이크로플레이트(Fisher, 카탈로그 번호 07-200-95)

[0520] • 인간 PBMC(All Cells, 카탈로그 번호 PB002)

[0521] • 레시퀴모드(InvivoGen, 카탈로그 번호 tlrl-r848)

[0522] • 인간 TNF-α DuoSet ELISA 키트(R&D Systems, 카탈로그 번호 DY210)

[0523] • 재조합 인간 IFN-β(Peprotech, 카탈로그 번호 300-02BC)

[0524] • 10% FBS가 포함된 RPMI

[0525] • Axygen 96웰, 1.1㎖, 멸균(VWR International, 카탈로그 번호 47734-788)

[0526] **방법**

[0527] 인간 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)를 10% FCS가 포함된 100㎕의 RPMI에 웰당 100,000개의 세포로 시딩하고, 37℃, 5% CO_2에서 8 ng/㎖의 IFN-β로 밤새 프라이밍하였다. 화합물을 DMSO에서 2mM부터 3배 희석으로 연속 희석한 다음, 10% FBS가 포함된 RPMI 1640 완전 배지에서 1:100으로 희석하였다(2x 스톡). PBMC를 웰당 2x 농축 테스트 화합물(0.5% 최종 DMSO 농도)을 포함하는 RPMI 배지 100㎕를 첨가하여 37℃, 5% CO_2에서 1시간 동안 테스트 화합물과 함께 사전 인큐베이션하였다.

[0528] *레시퀴모드 자극:*

[0529] PBMC를 37℃, 5% CO_2에서 추가로 18시간 동안 레시퀴모드(RPMI 배지에서 21x 농축 레시퀴모드 용액의 웰당 10㎕로 최종 농도 0.1 ㎍/㎖를 제공)로 자극하였다. 웰당 100㎕의 상청액을 수거하여 TNF-α를 측정하였다. 제조업체의 프로토콜에 따라 DuoSet ELISA 키트를 사용하여 TNF-α를 정량화하였다.

[0530] **검정 프로토콜: 인간 1차 단핵구 유래 수지상 세포(DC)에서의 TLR 유도성 사이토카인.**

[0531] **물질**

[0532] • 다이메틸 설폭사이드(DMSO)(Sigma-Aldrich, 카탈로그 번호 D2650)

[0533] • 소태아 혈청(Sigma, 카탈로그 번호 F4135)

[0534] • 인간 PBMC 세포(All Cells, 카탈로그 번호 PB002)

[0535] • 10% FBS를 포함하는 RPMI 성장 배지

[0536] • IFN-γ(Peprotech, 카탈로그 번호 300-02)

[0537] • GMCSF(Peprotech, 카탈로그 번호 300-03) 및 IL4(Peprotech 카탈로그 번호 200-04)

[0538] • 흰색 투명 바닥 96웰 플레이트(Fisher, 카탈로그 번호 07-200-587, Corning #3903)

[0539] • Sigma Aldrich의 LPS(PBS 중 2.5 mg/㎖ 스톡으로 만듦)(카탈로그 번호 L2018-5MG)

[0540] • 대장균 K-235의 지질다당류(LPS)(Sigma-Aldrich, 카탈로그 번호 L2018)

[0541] • 가디퀴모드 NEW 이미다조퀴놀린 화합물(InvivoGen, 카탈로그 번호 tlrl-gdqs)

[0542] • 항-인간 IL-23p19(eBioscience, 카탈로그 번호 14-7238-85)

[0543] • 바이오틴 항-인간 IL-12(p40/70)(eBioscience, 카탈로그 번호 13-7129-85)

[0544] • 소 혈청으로부터의 알부민(BSA)(Sigma-Aldrich, 카탈로그 번호 A7906)

[0545] • 1x PBST 세척 완충액(PBS-Tween 정제)(VWR International, 카탈로그 번호 80058-558)

[0546] • ELISA 차단 완충액(2% BSA가 포함된 PBS)

[0547] • ELISA 희석 완충액(PBST 중 0.2% BSA)

[0548] • 인간 TNF-α DuoSet ELISA 키트(R&D Systems, 카탈로그 번호 DY210)

[0549] • Cell Titer Glo 시약(Promega, 카탈로그 번호 G7573)

[0550] • 양성 대조군, IKK2VI 저해제(Calbiochem, 카탈로그 번호 401483)

[0551] **장비**

[0552] • Scan Washer 400 플레이트 세척기(Molecular Devices)

[0553] • 광도계, Wallac Victor2 1420 멀티라벨 카운터

[0554] **방법**

[0555] *수지상 세포의 분화 및 IFN-γ 프라이밍:*

[0556] 단핵구를 포획하기 위해 인간 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)(400억개)를 37℃, 5% CO_2에서 2시간 동안 15㎖의 RPMI 배지(10% FBS)가 담긴 T-175 플라스크에 부착시켰다.

[0557] 2시간 후, 부유 세포를 포함하는 배지를 조심스럽게 제거하고, GM-CSF(100 ng/㎖)와 IL-4(20 ng/㎖)를 포함하는 12㎖의 새로운 RPMI 배지(10% FBS)를 부착 단핵구에 첨가하였다. 37℃, 5% CO_2에서 7일 동안 단핵구를 분화시키고, 3일 후 새로운 GM-CSF와 IL-4를 보충하였다.

[0558] 분화된 수지상 세포(DC)를 원심분리(1200rpm/5분)로 수거하였다. 흰색 투명 바닥 96웰 플레이트에서 100 ㎕/웰의 새로운 RPMI 배지(10% FBS) 중 50 ng/㎖ IFN-γ(1000 U/㎖)를 50K/웰로 사용하여 37℃, 5% CO_2에서 24시간 동안 DC를 프라이밍하였다.

[0559] *화합물 사전 인큐베이션:*

[0560] 화합물을 DMSO에서 2.5mM부터 4배 희석으로 연속 희석한 다음, 10% FBS가 포함된 RPMI 1640 완전 배지에서 1:125로 희석하였다. 프라이밍된 DC를 웰당 2X 농축 테스트 화합물(0.5% 최종 DMSO 농도)을 포함하는 RPMI 배지 100㎕를 첨가하여 37℃, 5% CO_2에서 1시간 동안 테스트 화합물과 함께 사전 인큐베이션하였다.

[0561] *LPS 자극:*

[0562] DC를 37℃, 5% CO_2에서 추가로 18시간 동안 LPS(RPMI 배지에서 20x 농축 LPS 용액의 웰당 10㎕로 최종 농도 1 ㎍/㎖를 제공)로 자극하였다.

[0563] 상청액(155 ㎕/웰)을 수거하여 ELISA(65㎕-상청액)로 IL-23을 측정하였다. Cell Titer Glo 시약(50 ㎕/웰)을 세포 배양 플레이트의 나머지 50 ㎕/웰에 첨가하고, 진탕기에서 1 내지 2분 동안 인큐베이션하고, 발광 강도에 대해 플레이트를 판독하여 화합물의 세포독성을 결정하였다. 곡선 피팅, EC_{50} 계산 및 데이터베이스 저장을 위해 화학발광 값을 Athena(Rigel)에 입력하였다.

[0564] *가디퀴모드 자극:*

[0565] DC를 37℃, 5% CO_2에서 추가로 18시간 동안 가디퀴모드(RPMI 배지에서 20x 농축 가디퀴모드 용액의 웰당 10㎕로 최종 농도 4 ㎍/㎖를 제공)로 자극하였다. 상청액(155 ㎕/웰)을 수거하여 TNF-α를 측정하였다. TNF-α를 키트 프로토콜에 따라 ELISA로 정량화하였다.

[0566] **전혈 검정:**

[0567] 전혈이 화합물 I-1 및 비교군-1의 효능에 미치는 영향을 평가하기 위해, 화합물을 인간 혈액에서 TLR 의존성 사이토카인 방출에 대한 저해 잠재력에 대해 평가하였다. 건강한 자원자로부터 신선하게 채취한 말초 혈액을 테스트 화합물과 함께 인큐베이션하고, LPS 또는 가디퀴모드로 밤새 자극하였다. 원심분리 후 혈청을 단리하고, TNF-α 및 IL-6를 ELISA로 측정하였다. 결과는 표 6에 나타나 있다.

[0568] **검정 프로토콜: LPS는 인간 혈액에서 TNF-α를 유도한다.**

[0569] **물질**

[0570] • RPMI 1640(Cellgro, 카탈로그 번호 10-040-CM)

[0571] • 소태아 혈청(Sigma, 카탈로그 번호 F4135)

[0572] • 대장균 K-235의 지질다당류(Sigma-Aldrich Chemicals 카탈로그 번호 L2018-5MG)

[0573] • BD 진공 채혈 소듐 헤파린 튜브(BD 카탈로그 번호 4191982)

[0574] • 96웰 폴리스타이렌 플레이트(Fisher 카탈로그 번호 12-565-500)

[0575] • 다이메틸 설폭사이드(DMSO)(Sigma-Aldrich, 카탈로그 번호 D2650)

[0576] • 인간 사이토카인 MAGNETIC 패널: Magnetic(EMD Millipore Corp. 카탈로그 번호 HCYTOMAG-60K-02)

[0577] **장비**

[0578] Luminex Flexmap 3d.

[0579] **방법**

[0580] 건강한 자원자의 전혈을 소듐 헤파린이 담긴 진공 채혈기에 수집하고, 각 웰에 40㎕의 혈액을 넣었다. 화합물을 DMSO에서 2mM부터 3배 희석으로 연속 희석한 다음, 10% FBS가 포함된 배지에서 1:100으로 희석하였다. 50㎕의 2x 화합물을 각 웰에 웰당 2회 반복하여 첨가하고, 1시간 동안 인큐베이션하였다. 10㎕의 LPS를 각 웰에 0.5 ng/㎖의 최종 농도가 되도록 첨가하고, 세포를 밤새 인큐베이션하였다.

[0581] 100㎕의 PBS를 각 웰에 첨가하고, 1000RPM에서 10분 동안 원심분리하였다. 25㎕의 상청액을 취하여, Luminex Flexmap 3d에서 TNF-α를 측정하였다.

[0582] **검정 프로토콜: 인간 혈액에서 가디퀴모드 유도성 IL-6는 인간 혈액에서 TNF-α를 유도한다.**

[0583] **물질**

[0584] • RPMI 1640(Cellgro, 카탈로그 번호 10-040-CM)

[0585] • 소태아 혈청(Sigma, 카탈로그 번호 F4135)

[0586] • 가디퀴모드(InvivoGen 카탈로그 번호 tlrl-gdqs)

[0587] • BD 진공 채혈 소듐 헤파린 튜브(BD 카탈로그 번호 4191982)

[0588] • 96웰 폴리스타이렌 플레이트(Fisher 카탈로그 번호 12-565-500)

[0589] • 다이메틸 설폭사이드(DMSO)(Sigma-Aldrich, 카탈로그 번호 D2650)

[0590] • 인간 사이토카인 MAGNETIC 패널: I16 Magnetic(EMD Millipore Corp. 카탈로그 번호 HCYTOMAG-60K-02)

[0591] **장비**

[0592] Luminex Flexmap 3d.

[0593] **방법**

[0594] 건강한 자원자의 전혈을 소듐 헤파린이 담긴 진공 채혈기에 수집하고, 각 웰에 40㎕의 혈액을 넣었다. 화합물을 DMSO에서 2mM부터 3배 희석으로 연속 희석한 다음, 10% FBS가 포함된 배지에서 1:100으로 희석하였다. 50㎕의 2X 화합물을 각 웰에 웰당 2회 반복하여 첨가하고, 1시간 동안 인큐베이션하였다. 10㎕의 가디퀴모드를 각 웰에 4 ㎍/㎖의 최종 농도가 되도록 첨가하고, 세포를 밤새 인큐베이션하였다.

[0595] 100㎕의 PBS를 각 웰에 첨가하고, 1000RPM에서 10분 동안 원심분리하였다 25㎕의 상청액을 취하여, Luminex Flexmap 3d에서 IL-6를 측정하였다.

표 6

인간 전혈 검정

화합물	인간 전혈 검정 ($IC50_{50}$) (μM)		
	IL-6 Gard	TNFα LPS	평균
I-1	0.124	0.224	0.174
비교군-1	1.400	1.399	1.400

[0596]

[0597] 화합물 I-1은 세포 기반 검정에서 염증성 신호전달을 차단하는 효능이 더 강하고, 인간 전혈의 존재하에 테스트하였을 때 비교군-1보다 효능의 손실이 적음을 보여준다.

[0598] **실시예 25**

[0599] **프로드러그 화합물 I-3**

표 7

화합물 I-3 의 생체이용률

종	화합물 I-3 의 생체이용률(F%)
마우스	34
래트	12
원숭이	71
개	53

[0600]

[0601] 화합물 I-3의 생체이용률은 검출된 모 화합물 I-1의 양으로 측정하였으며, 이를 통해 화합물 I-3이 생체내에서 I-1의 프로드러그로 작용한다는 것을 입증하였다.

[0602] 개시된 기술의 원리가 적용될 수 있는 가능한 많은 실시형태를 고려할 때, 예시된 실시형태는 단지 기술의 바람직한 예일 뿐이며 기술의 범위를 제한하는 것으로 간주되어서는 안된다는 것을 인식하여야 한다. 오히려, 기술의 범위는 다음 청구범위에 따라 정의된다. 따라서, 본 발명자들은 이들 청구범위의 범위 및 사상 내에 있는 것을 모두 본 발명의 기술로 청구한다.