(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0041193
(43) 공개일자 2025년03월25일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/427 (2006.01) *A61K 31/4453* (2006.01)
A61P 25/02 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/427 (2013.01)
A61K 31/4453 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2025-7008744(분할)
(22) 출원일자(국제) 2018년12월11일
심사청구일자 2025년03월17일
(62) 원출원 특허 10-2020-7019986
원출원일자(국제) 2018년12월11일
심사청구일자 2021년12월09일
(85) 번역문제출일자 2025년03월17일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2018/084277
(87) 국제공개번호 WO 2019/115493
국제공개일자 2019년06월20일
(30) 우선권주장
17206813.2 2017년12월12일
유럽특허청(EPO)(EP)

(71) 출원인
돔페 파르마써티씨 에스.피.에이.
이탈리아, 20122 밀라노, 비아 산 마르티노, 12
(72) 발명자
브란돌리니 라우라
이탈리아, 라퀼라도, 아이-67100 라퀼라, 비아 캄포 디 필레 에스.엔.씨. 씨/오 돔페 파르마세우티시 에스.피.에이.
쿤하 티아고, 마타르
브라질, 14020-280 상파울루, 536 에이피 24 리베이라오 프레토, 루아 도 프로페서
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
강명구

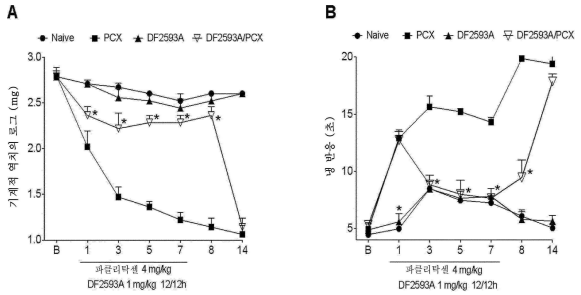
전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 발명의 명칭 **화학요법 유발 의인성 통증의 치료에 사용하기 위한 C5AR 억제제**

(57) 요 약

본 발명은 화학요법 유발 의인성 통증(CIIP)의 치료 및/또는 예방에서 유용한 C5aR 억제제 화합물, 바람직하게는 C5aR 비경쟁적 알로스테릭 억제제에 관한 것이다.

대 표 도



(52) CPC특허분류
A61P 25/02 (2018.01)
(72) 발명자
알레그레티 마르셀로
이탈리아, 라퀼라도, 아이-67100 라퀼라, 비아 캄포 디 필레 에스.엔.씨. 씨/오 돔페 파르마세우티시 에스.피.에이.
아라미니 안드레아
이탈리아, 라퀼라도, 아이-67100 라퀼라, 비아 캄포 디 필레 에스.엔.씨. 씨/오 돔페 파르마세우티시 에스.피.에이.
비안치니 지안루카
이탈리아, 라퀼라도, 아이-67100 라퀼라, 비아 캄포 디 필레 에스.엔.씨. 씨/오 돔페 파르마세우티시 에스.피.에이.

명 세 서

청구범위

청구항 1

C5aR 억제제를 포함하는, 화학요법 유발 의인성 통증의 예방 또는 치료를 위한 약제학적 조성물로서,

여기서 화학요법 유발 의인성 통증은 탁산에 의해 유발되고,

여기서 C5aR 억제제는 N-[(1R)-1-(4-트리플루오로메탄설포닐옥시)페닐에틸]-4-피페리딘-1-일부탄아미드, N-{4-[(1R)-1-(1H-테트라졸-5-일)에틸]페닐}-4-(트리플루오로메틸)-1,3-티아졸-2-아민, 및 이들의 약제학적으로 허용되는 염

으로 구성된 그룹으로부터 선택되는, 약제학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, C5aR 억제제는 N-[(1R)-1-(4-트리플루오로메탄설포닐옥시)페닐에틸]-4-피페리딘-1-일부탄아미드인 약제학적 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, C5aR 억제제는 N-[(1R)-1-(4-트리플루오로메탄설포닐옥시)페닐에틸]-4-피페리딘-1-일부탄아미드의 염화물 염인 약제학적 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, C5aR 억제제는 N-{4-[(1R)-1-(1H-테트라졸-5-일)에틸]페닐}-4-(트리플루오로메틸)-1,3-티아졸-2-아민인 약제학적 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, C5aR 억제제는 N-{4-[(1R)-1-(1H-테트라졸-5-일)에틸]페닐}-4-(트리플루오로메틸)-1,3-티아졸-2-아민의 소듐 염인 약제학적 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서,

화학요법 유발 의인성 통증은 화학요법 유발 의인성 통증과 관련된 이질통인 약제학적 조성물.

청구항 7

제1항에 있어서, 탁산은 파클리탁셀인 약제학적 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 화학요법 유발 의인성 통증(chemotherapy-induced iatrogenic pain, CIIP) 및 특히 이와 관련된 이질통의 예방 및 치료를 위한 C5a 수용체(C5aR) 억제제에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 경미한 인지 결핍에서부터 치매 또는 심지어 혼수상태를 동반한 뇌병증에 이르는 중추 신경독성 병태 및 말초 신경독성을 포함하는 여러 유형의 신경학적 합병증이 항신생물 약물 요법과 관련될 수 있다. 의인성 통증은 경미하고 일시적인 증상으로부터 중증이고 영구적인 형태의 다발신경병증에 이르는 일련의 증상을 나타내는 암 치료의 가장 일반적인 신경학적 합병증이다.

[0003] 이러한 종류의 신경독성은 항암제의 투여로 인한 것이므로 일반적으로 화학요법 유발 의인성 통증(CIIP)으로 지시된다 (M. Cascella *et al*, CURRENT MEDICAL RESEARCH AND OPINION, 2017; 42:1-3).

[0004] "화학요법 유발 의인성 통증 (CIIP)"은 말초 신경에 대한 화학요법의 용량 제한 신경독성 효과를 나타낸다. 다수의 여러 상이한 증상이 CIIP와 관련된다: 통각과민증, 이질통, 및 자발적 감각, 예컨대 작열감, 통증, 무감각, 연축 및 가려움증. 특히, 비록 화학요법제의 신경독성에 의해 유발된 일부 증상이 환자마다 상이하기는 하지만, 고통스러운 감각이상을 유발하는 일반적인 감각 붕괴가 모든 영향을 받는 환자에게 공통적이다.

[0005] CIIP는 약 60%의 암환자에게서 발생하며 (Windebank *et al*, J Peripher Nerv Syst 2008; 13:27-46) 용량 제한 또는 심지어 치료 중단으로 이어질 수 있으므로, 궁극적으로 환자의 생존에 영향을 미친다 (Mielke *et al*, Eur J Cancer 2006; 42:24-30).

[0006] 특히, 말초 통증의 발병과 가장 일반적으로 관련된 화학요법제는 백금계 약물, 예를 들어 시스플라틴, 카르보플라틴 및 옥살리플라틴; 탁산, 예를 들어 파클리탁셀, 카바지탁셀 및 도세탁셀; 에포틸론, 예를 들어 익사베필론; 식물 알칼로이드, 예를 들어 빈블라스틴, 빈크리스틴, 비노렐빈 및 에토포시드; 탈리도미드, 레날리도미드 및 포말리도미드; 카르필조밉 및 보르테조밉; 에리불린을 포함한다 (Brewer *et al*, Gynecologic Oncology 2016; 140:176-83).

[0007] 실험적 연구 및 임상 시험 모두에서 다양한 신경보호 접근법이 연구되었지만, CIIP의 병인이 또한 아직 완전히 설명되지 않았기 때문에 현재 이용 가능한 이에 대한 예방적 전략 또는 효과적인 치료법이 없다.

[0008] 통증의 발생 및 지속의 기저를 이루는 여러 메커니즘이 제안되었다.

[0009] 일부 증거는 염증성 사이토카인/케모카인 및 특히 TNF-α, IL-1β, IL-6 및 CCL2가 CIIP에서 화학요법제 유발 통증 증상에 역할을 할 수 있음을 시사한다 (Wang *et al*, Cytokine 2012; 59 (1): 3-9). 그러나, 강력한 증거가 또한 감각 뉴런에 대한 화학요법 약물의 직접적인 영향을 시사한다 (Argyriou et al, Crit Rev Onol Hematol 2012; 82(1): 51-77, Boyette-Davis et al, Pain, 2011; 152: 308-13; Pachman et al, Clin Pharmacol Ther 2011; 90: 377-387). 특히, 대부분의 화학요법 약물이 혈액-신경-장벽(blood-nerve-barrier, BNB)에 쉽게 침투하여 후근신경절(dorsal root ganglion, DRG) 및 말초 액손에 결합할 수 있음이 확립되었다 (Wang et al, 상기 참조). 또한 이들 약물이 이후 DRG 세포의 구조 및 말초 신경을 직접 손상시키고 결과적으로 표피층에서 감각 섬유가 퇴화되고 작은 신경 섬유가 손실된다는 증거가 있다 (Argyriou *et al*, Cancer Manag Res. 2014; 6: 135-147).

[0010] 세포 수준에서 신경독성 화학요법제는 미세소관을 손상시키고, 미세소관 기반의 축삭 운반을 방해하고 (LaPointe *et al*, Neurotoxicology 2013; 37: 231-9), α-튜불린 아세틸화를 유도하여 미세소관 동역학에 영향을 미치고, 미토콘드리아 기능을 방해하고, 또는 DNA를 직접 표적으로 한다. 파클리탁셀, 옥살리플라틴 또는 빈크리스틴으로 치료된 실험 동물 및 환자로부터의 신경 생검은 동일한 형태학적 변화를 나타내며, 근본적인 공통 병인 메커니즘을 시사한다.

[0011] 보체의 C5a 펩타이드 단편은 이의 화학주성 및 염증 활성으로 인해 "완전한" 전염증 매개체로 정의되었다. 실제로, 선택된 케모카인(IL-8, MCP-I 및 RANTES, 예를 들어)과 같은 다른 염증 매개체는 자기 유인 세포에 대해 매우 선택적인 한편, 히스타민 및 브라디키닌과 같은 다른 것들은 단지 약한 화학주성제이다.

[0012] 확실한 증거가 허혈/재관류, 자가면역성 피부염, 막-증식성 특발성 사구체신염, 기도 비반응성 및 만성 염증성 질환, ARDS 및 CODP, 알츠하이머병, 소아 류마티스 관절염을 포함하는 여러 병리학적 상태에서 생체 내 C5a의 관련성을 지지한다 (N.P. Gerard, Ann. Rev. Immunol., 12, 755, 1994).

[0013] 항체-의존성 2형 자가면역과 관련된 질환의 발달에서 C5a 및 이의 선택적 수용체 C5aR의 병리학적 중요성이, 특히 용혈을 일으키는 자기 적혈구(RBC)에 대한 항체 생성을 특징으로 하는 질환인 자가면역 용혈성 빈혈(AIHA)의 분란에서 또한 조사되었다. AIHA는 1-3 건/100.000/년의 발생빈도 추정값을 갖는 상당히 드문 장애이다. 이러한 아나필락시스독소의 화학주성 기능과 무관한 IgG-의존성 AIHA의 C5a의 중요한 역할이 실험 동물 모델에서 확인되었다 (V. Kumar, J. Clin. Invest., 116(2), 512, 2006). 실제로, C5aR이 결여된 마우스가 이러한 IgG 자가항체 유발 질환 모델에 부분적으로 내성임이 관찰되었고 특히 간 대식세포에서 C5aR과 활성화 Fcɣ 수용체의 혼선이 항-적혈구 항체의 투여시, 쿠퍼 세포에 대한 활성화 FcɣR의 상향조절이 C5aR-결핍 마우스에서 부재했고; 동시에, FcɣRs가 결핍된 마우스에서, C5 및 C5a 생성이 폐지되었다는 관찰을 통해 확인되엇다. 이는 이전에 미확인된 FcɣR-매개 C5a-생성 경로의 첫 번째 증거이며, 항체-의존성 자가면역 질환의 발달에서의 C5a의 역할 및

2형 자가면역 손상에 관련된 AIHA에서 C5a 및/또는 C5aR 봉쇄의 잠재적인 치료적 이점을 시사한다.

[0014] WO2007/060215는 (R)-아릴알킬아미노 유도체 및 C5a 유발 인간 PMN 화학주성과 관련된 질환, 예컨대 패혈증, 건선, 물집 유사천포창, 류마티스 관절염, 궤양성 대장염, 급성 호흡곤란 증후군, 특발성 섬유증, 낭포성 섬유증, 만성 폐쇄성 폐질환, 사구체신염의 치료 및 허혈 및 재관류에 의해 야기된 손상의 예방 및 치료에서의 이들의 용도를 개시한다.

[0015] WO2009/050258은 (R)-4-(헤테로아릴)페닐에틸 화합물 및 C5a 유발 인간 PMN 화학주성과 관련된 질환, 예컨대 자가면역 용혈성 빈혈(AIHA), 건선, 물집 유사천포창, 류마티스 관절염, 궤양성 대장염, 급성 호흡곤란 증후군, 특발성 섬유증, 사구체신염의 치료 및 허혈 및 재관류에 의해 야기된 손상의 예방 및 치료에서의 이들의 용도를 개시한다.

[0016] 공개된 논문 A. Moriconi *et al*, PNAS, 111(47), 16937-16942, 2014는 마우스에서 급성 및 만성 염증성 통증의 여러 모델 및 손상된 뒷발에서의 만성 이질통을 유발하기 위한 정강이 및 종아리 축삭절단을 사용하는 SNI 유발 신경병증성 통증 모델에서, 기계적 통각과민증 감소에서 C5a 아나필라톡신 수용체(C5aR)의 새로운 강력한 알로스테릭 억제제의 효과를 개시한다. 특정 모델의 신경병증 및 특정 특징을 유발하기 위해 따르는 절차는 기본 메커니즘을 이해하고 효과적인 관리 요법을 공식화하기 위해 중요하다. 특히 화학요법 유발 의인성 통증의 맥락에서, 치료적 접근법의 효능이 특정 표적의 확인과 엄밀하게 상관관계가 있는 것으로 보인다. 이 가설을 뒷받침하는 화학적 증거는 화학요법 유발 의인성 통증 관리에서 일반적인 통증 치료에 효과적인 약제의 사용을 지지하지 않는다 (Shinde SS et al, Support Care Cancer, 24(2):547-553, 2016).

[0017] 공개된 논문 A. Moriconi *et al*, PNAS, 111(47), 16937-16942, 2014에 원래 기재된 외상성 손상과는 달리, 현재 데이터는 특히 탁산에 대한 화학요법 특이적 메커니즘에 의해 유발된 신경독성의 검증된 모델을 언급했다 (Polomano RC et al, Pain, 94, 293, 2001). 탁산, 특히 파클리탁셀은 세포 생명 기능에 필수적인 미세소관 네트워크의 동적 생리학적 재구성을 방해하고, 산화적 스트레스를 유발한다. C5a 및 이의 세포막 수용체 C5aR은, 급성, 염증성 및 신경병증성 통증 상태와 관련되었지만; 화학요법 유발 의인성 통증에서 C5a/C5aR의 역할은 아직 조사되지 않았다.

발명의 내용

[0018] 발명의 요약

[0019] 본 발명자들은 놀랍게도 C5aR의 억제가 화학요법 유발 의인성 통증(CIIP)을 유발하는 전신 항암 화학요법의 독성과 관련된 증상의 발생을 감소시키거나 예방할 수 있음을 발견했다.

[0020] 더욱이, 화학요법 유발 의인성 통증의 예방 및/또는 치료에서 유용한 C5aR 억제제는 어떤 방식으로도 화학요법제의 활성을 간섭하지 않는다.

[0021] 따라서, 본 발명의 첫 번째 목적은 화학요법 유발 의인성 통증의 예방 및/또는 치료에서 사용하기 위한 C5aR 억제제, 바람직하게는 C5aR 비경쟁적 알로스테릭 억제제이다.

[0022] 본 발명의 두 번째 목적은 화학요법 유발 의인성 통증의 치료 및/또는 예방을 위한 약제의 제조를 위한 C5aR 억제제의 용도이다.

[0023] 본 발명의 세 번째 목적은 상기 C5aR 억제제의 치료적 유효량을 이를 필요로 하는 대상에게 투여하는 단계를 포함하는 CIIP의 예방 및/또는 치료 방법이다.

[0024] 본 발명의 네 번째 목적은 본 발명에 따른 C5aR 억제제 및 약제학적으로 허용 가능한 부형제를 포함하는 CIIP의 예방 및/또는 치료를 위한 약제학적 조성물이다.

도면의 간단한 설명

[0025] **도 1.** 수컷 Balb/C 마우스에서의 재조합 C5a (1, 10, 100, 300 및 600 ng/5 µL)의 척수강내 주사의 용량-반응 곡선. A, 기계적 역치 - 폰 프레이 헤어 테스트 - 및 B, 열적 역치 - Hargreaves- 테스트. B, 기준선. 평균 ± SEM으로 나타나는 데이터. N=5. 통계적 분석은 양방향 ANOVA, 사후 본페로니 테스트에 의해 수행되었다. 비히클과 비교하여 *P<0.05.

도 2. A, 기계적 역치 - 폰 프레이 헤어 테스트 - 및 B, 열적 역치 - Hargreaves 테스트 - 수컷 Balb/C 마우스에서 화학요법 유발 의인성 통증 (CIIP) 발생 동안. B, 기준선; PCX, 파클리탁셀; WT, 야생형. 평균 ± SEM으로

나타나는 데이터. N=5. 통계적 분석은 양방향 ANOVA, 사후 본페로니 테스트에 의해 수행되었다. WT PCX 그룹과 비교하여 *P<0.05.

도 3a, 3b. PCX, 파클리탁셀의 첫 번째 주사 후 8 (A 및 B) 또는 14 (C 및 D) 일에 1 mg/kg의 DF2593A를 사용한 경구 치료 후 (화살표) 수컷 Balb/C 마우스에서의 기계적 역치 (A 및 C) 및 냉 반응 (B 및 D). B, 기준선. 평균 ± SEM으로 나타나는 데이터. N=5. 통계적 분석은 양방향 ANOVA, 사후 본페로니 테스트에 의해 수행되었다. PCX 그룹과 비교하여 *P<0.05.

도 4. A, 기계적 역치 - 폰 프레이 헤어 테스트 및 B, 냉 반응- 아세톤 테스트, Balb/C 수컷 마우스에서 화학요법 유발 의인성 통증 (CIIP) 발생 동안. B, 기준선. 동물을 7 일 동안 DF2593A 1 mg/kg, 경구로, 12 시간 내에 12 회 처리했다. 일 1, 3 5 및 7 일에, DF2593A의 투여는 파클리탁셀(PCX) 전 1 시간이었다. PCX 주입 후 4 시간에 측정을 수행했다. 평균 ± SEM으로 나타나는 데이터. N=5. 통계적 분석은 양방향 ANOVA, 사후 본페로니 테스트에 의해 수행되었다. PCX 그룹과 비교하여 *P<0.05.

도 5a, 5b. 파클리탁셀(PCX)의 첫 번째 주사 후 8 (A 및 B) 및 14 (C 및 D) 일에 상이한 용량의 DF2593A를 사용한 척수강내 치료 후 수컷 Balb/C 마우스에서의 기계적 역치 (A 및 C) 또는 냉 반응 (B 및 D). B, 기준선. 평균 ± SEM으로 나타나는 데이터. N=5. 통계적 분석은 양방향 ANOVA, 사후 본페로니 테스트에 의해 수행되었다. PCX 그룹과 비교하여 *P<0.05.

도 6. 수컷 Balb/C 마우스의 기계적 (A) 및 냉 (B) 이질통이 DF3966A 치료 3h 후 (파클리탁셀 4h 후) 평가되었다. 그룹 간의 차이의 중요성은 분산의 양방향 분석(ANOVA)에 이어서 다중 비교를 위한 본페로니 사후 테스트에 의해 결정되었다. 유의 수준은 CTR에 대해 *p < 0.05에서 설정되었다.

도 7. C5a 단독 또는 DF3966Y와 조합의 챌린지하에 α-튜불린 수준. 데이터는 3 가지 상이한 실험의 평균 ± SD이다. **p<0.01 vs 미처리 세포, UT; # p< 0.05 vs C5a.

도 8. 기초 조건하에 유지되는 DRG 세포에서의 전기생리학적 기록의 대표적인 자취; 치료 A) 파클리탁셀로 챌린지된 DRG 세포에서의 전기생리학적 기록의 대표적인 자취; 치료 B) 파클리탁셀+DF3966Y로 챌린지된 DRG 세포에서의 전기생리학적 기록의 대표적인 자취.

도 9. 치료 C) C5a로 챌린지된 DRG 세포에서의 전기생리학적 기록의 대표적인 자취; 치료 D) C5a+DF3966Y로 챌린지된 DRG 세포에서의 전기생리학적 기록의 대표적인 자취.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0026] 발명의 상세한 설명

[0027] 실험 섹션에서 상세하게 개시될 것과 같이, 본 발명자들은 C5aR 활성의 억제제로서 작용하는 분자가 파클리탁셀에 의한 의인성 통증 유발의 동물 모델에서 치료적 효능을 가짐을 발견했다. 또한, 본 발명자들은 또한 C5aR 억제가 세포골격 구성요소에 대한 화학요법제의 활성 및 이의 신경독성 효과에 기여하는 조직화를 상쇄시킬 수 있음을 발견했다.

[0028] 따라서, 본 발명의 첫 번째 목적은 화학요법 유발 의인성 통증의 치료 및/또는 예방(CIIP)에서 사용하기 위한 C5aR 억제제이다.

[0029] 바람직한 구체예에 따르면, 상기 C5aR 억제제는 화학요법 유발 의인성 통증(CIIP)과 관련된 이질통의 예방 및/또는 치료에서 사용하기 위한 것이다.

[0030] 본 발명에 따른 용어 "C5aR 억제제"는 C5a 및/또는 C5aR의 생물학적 활성을 부분적으로 또는 완전히 억제할 수 있는 임의의 화합물을 지칭한다. 그러한 화합물은 C5a의 발현 또는 활성을 감소시키거나 C5a 수용체에 의해 활성화된 세포내 신호전달의 촉발을 억제하여 작용할 수 있다. 상기 C5a 억제제가 500 nM 이하, 바람직하게는 100 nM 이하의 농도의 PMN에서 C5a에 의해 유발된 화학주성의 적어도 50%, 바람직하게는 적어도 60%를 억제할 수 있는 것이 바람직하다.

[0031] 본 발명의 두 번째 목적은 화학요법 유발 의인성 통증(CIIP)의 치료 및/또는 예방을 위한 약제의 제조를 위한 C5aR 억제제의 용도이다.

[0032] 본 발명의 바람직한 구체예에 따르면, 상기 약제는 화학요법 유발 의인성 통증과 관련된 이질통의 치료 및/또는 예방을 위한 것이다.

[0033] 본 발명의 세 번째 목적은 상기 정의된 바와 같이 치료적 유효량의 C5aR 억제제를 이를 필요로 하는 대상에게 투여하는 단계를 포함하는 화학요법 유발 의인성 통증의 치료 및/또는 예방 방법이다.

[0034] 본 발명의 바람직한 구체예에 따르면, 상기 방법은 화학요법 유발 의인성 통증과 관련된 이질통의 치료 및/또는 예방을 위한 것이다.

[0035] 본원에 사용된 "치료적 유효량"은 질환의 치료 또는 예방을 달성하기에 충분한 양을 지칭한다. 유효량의 결정은 원하는 효과의 달성에 기초하여 당업자의 능력 내에 있다. 유효량은 대상의 체중 및/또는 질환의 정도 또는 대상이 겪는 원치 않는 상태를 포함하지만 이에 제한되지 않는 요인에 따라 달라질 것이다. 본원에서 사용된 용어 "치료" 및 "예방"은, 비록 환자가 여전히 기저 질환으로 고통받을 수 있더라도, 치료되는 장애 또는 이와 관련된 증상 중 하나 이상의 근절/개선 또는 발병의 예방/지연을 각각 언급한다.

[0036] 본 발명의 네 번째 목적은 약제학적으로 적합한 부형제와 함께, 화학요법 유발 의인성 통증(CIIP)의 치료 및/또는 예방에서 사용하기 위한 C5aR 억제제를 포함하는 약제학적 조성물이다.

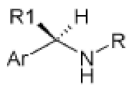
[0037] 본 발명의 바람직한 구체예에 따르면, 상기 약제학적 조성물은 화학요법 유발 의인성 통증과 관련된 이질통의 치료 및/또는 예방을 위한 것이다.

[0038] 바람직한 구체예에 따르면, 본 발명의 모든 목적의 C5aR 억제제는 C5a 수용체의 비경쟁적 알로스테릭 억제제이다.

[0039] 본 발명에 따른 "C5a 수용체의 비경쟁적 알로스테릭 억제제"는 TM 영역에 위치한 알로스테릭 부위에서 C5a 수용체와의 상호작용이, 수용체에 대한 내인성 리간드 C5a의 결합에 영향을 미치지 않고, 작용제 결합에 의해 활성화된 세포내 신호 전달 이벤트를 억제함을 나타냄을 의미한다.

[0040] 본 발명에 따른 바람직한 C5aR 억제제는 (R)-아릴알킬아미노 유도체, (R)-4-(헤테로아릴)페닐에틸 화합물 및 이들의 약제학적으로 허용되는 염으로부터 선택된다.

[0041] 상기 화합물 중에서, 상기 (R)-아릴알킬아미노 유도체는 바람직하게는 화학식 (I)의 화합물:

[0042] 

[0043] (I)

[0044] 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이고, 여기서

[0045] **R**은 다음으로부터 선택되고:

[0046] - 비치환되거나 메틸, tert -부틸 또는 트리플루오로메틸 기로부터 선택된 기에 의해 치환된 2 -티아졸릴 또는 2-옥사졸릴;

[0047] - C(Ra)=N-W, 여기서 W는 선형 또는 분지형 C_1-C_4 알킬,

[0048] - CORa, SORa, SO_2Ra, PORa, PO_2Ra,

[0049] 여기서

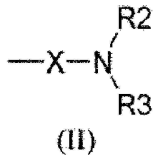
[0050] **Ra**는 다음으로부터 선택되고

[0051] - C_1-C_5-알킬, C_3-C_6-사이클로알킬, C_2-C_5-알케닐, 비치환되거나 할로겐, C_1-C_4-알킬, C_1-C_4-알콕시, 할로-C_1-C_4-알콕시, 하이드록시, C_1-C_4-아실옥시, 페녹시, 시아노, 니트로, 아미노로부터 선택된 기로 치환된 페닐;

[0052] - 피리딘, 피리미딘, 피롤, 티오펜, 퓨란, 인돌, 티아졸, 옥사졸로부터 선택된 헤테로아릴 기, 그러한 헤테로아릴은 비치환되거나 할로겐, C_1-C_4-알킬, C_1-C_4-알콕시, 할로-C_1-C_4-알콕시, 하이드록시, C_1-C_4- 아실옥시, 페녹시, 시아노, 니트로, 아미노로부터 선택된 기로 치환됨;

[0053] - 추가의 카르복시 (COOH) 기로 임의로 치환된, 선형 또는 분지형 C_1- C_6-알킬, C_3-C_6-사이클로알킬, C_2-C_6-알케닐, C_1-C_6-페닐알킬로 이루어진 α 또는 β 카르복시알킬 잔기;

[0054] - 화학식 II의 ω-아미노알킬아미노 기:

[0055] 

(II)

[0056] 여기서

[0057] **X**는 다음을 나타내고:

[0058] - CO_2R4 기 또는 CONHR5 기에 의해 임의로 치환된 선형 또는 분지형 C_1-C_6 알킬렌, C_4-C_6 알케닐렌, C_4-C_6 알키닐렌, 여기서 R4는 수소 또는 선형 또는 분지형 C_1-C_6 알킬 기 또는 선형 또는 분지형 C_2-C_6 알케닐 기를 나타내고, R5는 수소, 선형 또는 분지형 C_2- C_6 알킬 또는 OR4 기를 나타내고, R4는 상기 정의된 바와 같음;

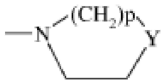
[0059] - 상기 정의된 바와 같은 CO_2R4 또는 CONHR5 기에 의해 임의로 치환된 $(CH_2)_m$-B-$(CH_2)_n$, 기, 여기서 B는 C_1-C_4 알킬 기에 의해 임의로 치환된 산소, 또는 황 원자, 또는 질소 원자이고, m은 영 또는 2 내지 3의 정수이고 n은 2 내지 3의 정수이고, 또는 B는 CO, SO 또는 CONH 기이고, m은 1 내지 3의 정수이고 n은 2 내지 3의 정수임;

[0060] - 또는 X는 이것이 결합된 질소 원자 및 R2 기와 함께 질소 포함 3-7 원 헤테로환, 단환 또는 다환 고리를 형성하고, R3은 수소, C_1-C_4 알킬, C_1-C_4 아실, 비치환되거나 할로겐, C_1-C_4-알킬, C_1-C_4-알콕시, 하이드록시, C_1-C_4-아실옥시, 페녹시, 시아노, 니트로, 아미노로부터 선택된 기로 치환된 페닐을 나타냄;

[0061] **R2** 및 **R3**은 독립적으로:

[0062] 수소; 산소 또는 황 원자에 의해 임의로 차단된 선형 또는 분지형 C_1-C_6 알킬; C_3-C_7 사이클로알킬, C_3-C_6 알케닐, C_3-C_6-알키닐, 아릴-C_1-C_3-알킬, 하이드록시-C_2-C_3-알킬 기;

[0063] 또는 R2 및 R3은 그들이 결합된 N 원자와 함께 화학식 (III)의 3-7 원 질소 헤테로환 고리를 형성함

[0064] 

(III)

[0066] *여기서

[0067] **Y**는 다음을 나타내고:

[0068] - 단일 결합, CH_2, O, S, 또는 N-R6 기, 여기서 R6는 수소, C_1-C_4 알킬, C_1-C_4 아실, 비치환되거나 할로겐, C_1-C_4-알킬, C_1-C_4- 알콕시, 하이드록시, C_1-C_4-아실옥시, 페녹시, 시아노, 니트로, 아미노로부터 선택된 기로 치환된 페닐을 나타내고,

[0069] p는 0 내지 3의 정수를 나타내고;

[0070] - 화학식 SO_2R7의 잔기, 여기서 R7은 C_1-C_6-알킬, C_3-C_6-사이클로알킬, C_2-C_6-알케닐, 아릴 및 헤테로아릴임;

[0071] **R1**은 선형 또는 분지형 C_1-C_5 알킬, C_3-C_5 사이클로알킬이고;

[0072] **Ar**은 비치환되거나 할로겐, C_1-C_4-알킬, C_1-C_4-알콕시, 하이드록시, C_1-C_4-아실옥시, 페녹시, 시아노, 니트로, 아미노, C_1-C_4-아실아미노, 할로-C_1- C_3- 알킬, 할로-C_1-C_3-알콕시, 벤조일, 헤테로아릴 카르보닐, 헤테로아릴, 선형 또는 분지형 C_1-C_8-알칸설포네이트, 선형 또는 분지형 C_1-C_8-알칸설폰아미드, 선형 또는 분지형 C_1-C_8 알킬 설포닐메틸로부터 독립적으로 선택된 하나 이상의 기로 치환된 페닐 기이고;

[0073] 또는 Ar은 피리딘, 피롤, 티오펜, 퓨란, 인돌로부터 선택된 헤테로아릴 고리이다.

[0074] 상기 화합물 중에서, 상기 화학식 (I)의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이 특히 바람직하고, 여기

서:

[0075] **R**은 다음으로부터 선택되고:

[0076] - 비치환되거나 메틸, tert-부틸 또는 트리플루오로메틸 기로부터 선택된 기에 의해 치환된 2-티아졸릴 또는 2-옥사졸릴;

[0077] - C(Ra)=N-W, 여기서 W는 선형 또는 분지형 C_1-C_4 알킬이고,

[0078] - CORa, SORa 또는 SO_2Ra,

[0079] 여기서 Ra는 위에 정의된 바와 같고;

[0080] **Ar**은 다음으로부터 선택되는 C5aR 억제제:

[0081] 3'-벤조일페닐, 3'-(4-클로로-벤조일)-페닐, 3'-(4-메틸-벤조일)-페닐, 3'-아세틸-페닐, 3'-프로피오닐-페닐, 3'-이소부타노일-페닐, 4'-이소부틸-페닐, 4' -트리플루오로메탄설포닐옥시-페닐, 4'-벤젠설포닐옥시-페닐, 4'-트리플루오로메탄설포닐아미노-페닐, 4'-벤젠설포닐아미노-페닐, 4'-벤젠설포닐메틸-페닐, 4'-아세톡시페닐, 4'-프로피오닐옥시-페닐, 4'-벤조일옥시-페닐, 4'-아세틸아미노-페닐, 4'-프로피오닐아미노-페닐, 4'- 벤조일아미노-페닐, 3'-(퓨란-2-카르보닐)-페닐, 3'-(벤조퓨란-2-카르보닐)-페닐, 3'-(티오펜-2-카르보닐)-페닐, 3'-(피리딘-2-카르보닐)-페닐, 3'-(티아졸-2-카르보닐)-페닐, 3'-(옥사졸-2-카르보닐)-페닐, 3'-(2-퓨릴)-페닐, 3'-(2-옥사졸릴)- 페닐, 3'-(3-이속사졸릴)-페닐, 3'-(2-벤즈옥사졸릴)-페닐, 3'-(3- 벤조이속사졸릴)-페닐, 3'-(2-티아졸릴)-페닐, 3'-(2-피리딜)-페닐, 3'-(2- 티오페닐)-페닐;

[0082] 또는 Ar은 피리딘, 피롤, 티오펜, 퓨란 또는 인돌로부터 선택된 헤테로아릴 고리이다.

[0083] 상기 화합물 중에서, 상기 화학식 (I)의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이 또한 특히 바람직하고, 여기서:

[0084] **R**은

[0085] - 비치환되거나 메틸 또는 트리플루오로메틸 기로부터 선택된 기에 의해 치환된 2-티아졸릴;

[0086] - CORa, SO_2Ra, SORa;

[0087] 여기서

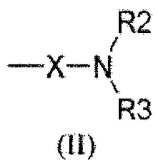
[0088] **Ra**는 다음으로부터 선택되고:

[0089] - C_1-C_5-알킬, C_3-C_5-사이클로알킬;

[0090] - 페닐, 2-피리딜, 2-티아졸릴, 2-퓨릴, 2-피롤릴, 2-티오페닐, 2-인돌릴 기;

[0091] - 선형 또는 분지형 C_1-C_6-알킬, C_1-C_6- 페닐알킬 기로 이루어진 카르복실알킬 기;

[0092] - 화학식 II의 ω-알킬아미노 기,



[0093] (II)

[0094] (II)

[0095] 여기서

[0096] **X**는 다음을 나타내고:

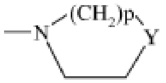
[0097] 선형 또는 분지형 C_1-C_6 알킬렌, C_4-C_6 알케닐렌, C_4-C_6 알키닐렌;

[0099] *또는 X는 이것이 결합된 질소 원자 및 R2 기와 함께 질소 포함 3-7 원 헤테로환 단환 고리를 형성하고 R3은 수

소 또는 C_1-C_4 알킬을 나타내고;

[0100] **R2** 및 **R3**은 독립적으로 수소, 선형 또는 분지형 C_1-C_6 알킬, C_3-C_7 사이클로알킬, C_3-C_6 알케닐, C_3-C_6-알키닐이고;

[0101] 또는 R2 및 R3은 이들이 결합된 N 원자와 함께, 화학식 (III)의 4-6 원 질소 포함 헤테로환 고리를 형성하고

[0102] 

(III)

[0103] 여기서 **Y**는 CH_2, O, S, 또는 N-R6 기를 나타내고, R6은 수소, C_1-C_4 알킬, C_1-C_4 아실을 나타내고, p는 0 내지 2의 정수를 나타내고;

[0104] **R1**은 메틸이고;

[0105] **Ar**은 다음으로부터 선택된다:

[0106] 3'-벤조일페닐, 3'-(4-클로로-벤조일)-페닐, 3'-(4-메틸-벤조일)-페닐, 3'-아세틸-페닐, 3'-프로피오닐-페닐, 3'-이소부타노일-페닐, 4'-이소부틸- 페닐, 4' -트리플루오로메탄설포닐옥시-페닐, 4'-벤젠설포닐옥시-페닐, 4'-트리플루오로메탄설포닐아미노-페닐, 4'-벤젠설포닐아미노-페닐, 4'-벤젠설포닐메틸-페닐, 4'-아세톡시페닐, 4'-프로피오닐옥시-페닐, 4'-벤조일옥시-페닐, 4'-아세틸아미노-페닐, 4'-프로피오닐아미노-페닐, 4'- 벤조일아미노-페닐; 3'-(퓨란-2-카르보닐)-페닐; 3'-(벤조퓨란-2-카르보닐)-페닐; 3'-(티오펜- 2-카르보닐)-페닐; 3'-(피리딘-2-카르보닐)-페닐, 3'-(티아졸-2-카르보닐)- 페닐, 3'-(옥사졸-2-카르보닐)-페닐; 3'-(2-퓨릴)-페닐, 3'-(2-옥사졸릴)- 페닐, 3'-(3-이속사졸릴)-페닐, 3'-(2-벤즈옥사졸릴)-페닐, 3'-(3- 벤조이속사졸릴)-페닐, 3'-(2-티아졸릴)-페닐, 3'-(2-피리딜)-페닐, 3'-(2- 티오페닐)-페닐.

[0107] 상기 화합물 중에서, 상기 화학식 (I)의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이 또한 특히 바람직하고, 여기서:

[0108] 여기서 **R**은

[0109] - 비치환되거나 메틸 또는 트리플루오로메틸로부터 선택된 기에 의해 치환된 2-티아졸릴;

[0110] - CORa,SO_2Ra

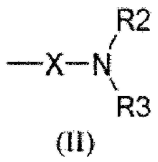
[0111] 여기서

[0112] **Ra**는 다음으로부터 선택되고:

[0113] - C_1-C_5-알킬, C_3-C_5-사이클로알킬;

[0114] - 페닐, 2-피리딜, 2-퓨릴, 2-티오페닐 기;

[0115] - 화학식 II의 기,

[0116] 

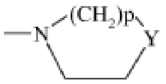
(II)

[0117] 여기서

[0118] **X**는 다음을 나타내고:

[0119] 선형 또는 분지형 C_1-C_6 알킬렌,

[0121] *R2 및 R3은 이들이 결합된 N 원자와 함께, 화학식 (III)의 4-6 원 질소 포함 헤테로환 고리를 형성하고

[0122]  (III)

[0123] 여기서 Y는 CH_2를 나타내고, p는 0 내지 2의 정수를 나타내고;

[0124] R1은 메틸이고;

[0125] Ar은 다음으로부터 선택된다:

[0126] 3'-벤조일페닐, 3' -(4-클로로-벤조일)-페닐, 3'-(4-메틸-벤조일)-페닐, 4'-트리플루오로메탄설포닐옥시-페닐, 4'-벤젠설포닐옥시-페닐, 3'-(퓨란-2-카르보닐)-페닐.

[0127] 다음으로부터 선택된 본 발명에 따른 화학식 (I)의 화합물이 특히 바람직하다:

[0128] 4-{(1R)-1-[(페닐설포닐)아미노]에틸}페닐 트리플루오로메탄설포네이트

[0129] N-[(1R)-1-(3-벤조일페닐)에틸]벤젠설폰아미드

[0130] 4-{(1R)-1-[(피리딘-3-일설포닐)아미노]에틸}페닐트리플루오로메탄설포네이트

[0131] N-[(1R)-1-(3-벤조일페닐)에틸]메탄설폰아미드

[0132] N-{(1R)-1-[3-(2-푸로일)페닐]에틸}티오펜-2-설폰아미드

[0133] N-{(1R)-1-[3-(2-푸로일)페닐]에틸}메탄설폰아미드

[0134] 4-{(1R)-1-[(티엔-2-일설포닐)아미노]에틸}페닐 트리플루오로메탄설포네이트

[0135] N-[(1R)-1-(3-벤조일페닐)에틸]티오펜-2-설폰아미드

[0136] N-[(1R)-1-(3-벤조일페닐)에틸]-3-피롤리딘-1-일프로판-1-설폰아미드

[0137] 메틸 5-({[(1R)-1-(3-벤조일페닐)에틸]아미노}설포닐)-2-푸로에이트

[0138] 5-({[(1R)-1-(3-벤조일페닐)에틸]아미노}설포닐)-2-푸로산

[0139] 4-{(1R)-2-메틸-1-[(메틸설포닐)아미노]프로필}페닐트리플루오로메탄설포네이트

[0140] N-((1R)-1-{4-[1-메틸-1-(페닐설포닐)에틸]페닐}에틸)메탄설폰아미드

[0141] 4-[(1R)-1-(이소부티릴아미노)에틸]페닐트리플루오로메탄설포네이트

[0142] 4-{[(1R)-1-(피리딘-3-일카르보닐)아미노]에틸]}페닐트리플루오로메탄설포네이트

[0143] N-[(1R)-1-(3-벤조일페닐)에틸]벤즈아미드

[0144] N-[(1R)-1-(3-벤조일페닐)에틸]-2-푸라미드

[0145] N-[(1R)-1-(3-벤조일페닐)에틸]사이클로부탄카르복스아미드

[0146] N-[(1R)-1-(4-트리플루오로메탄설포닐옥시)페닐에틸]-4-피페리딘-1-일부탄아미드

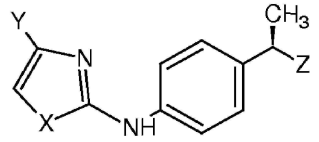
[0147] 4-{(1R)-1-[(4-피롤리딘-1-일부타노일)아미노]에틸]}페닐 트리플루오로메탄설포네이트

[0148] 3-{(1R)-1-[4-(4-트리플루오로메틸-1,3-티아졸-2-일)아미노]에틸}페닐) (페닐)메탄온.

[0149] N-[(1R)-1-(4-트리플루오로메탄설포닐옥시)페닐에틸]-4-피페리딘-1-일부탄아미드 (여기서 DF2593Y로도 나타남) 및 이의 약제학적으로 허용되는 염, 바람직하게는 이의 염화물 염(여기서 DF2593A로도 나타남)으로부터 선택된 본 발명에 따른 화학식 (I)의 화합물이 특히 바람직하다.

[0150] 화학식 (I)의 화합물은 WO2007/060215에 개시되고, 이는 또한 이들의 합성 방법, C5aR 억제제로서 이들의 활성 및 C5a 유발 인간 PMN 화학주성과 관련된 질환, 예컨대 패혈증, 건선, 물집 유사천포창, 류마티스 관절염, 궤양성 대장염, 급성 호흡곤란 증후군, 특발성 섬유증, 낭포성 섬유증, 만성 폐쇄성 폐 질환, 사구체신염의 치료 및 허혈 및 재관류에 의해 야기되는 손상의 예방 및 치료에서의 이들의 용도를 개시한다.

[0151] 상기 C5aR 억제제 중에서, 상기 (R)-4-(헤테로아릴)페닐에틸 화합물은 바람직하게는 화학식 (II)의 화합물:

[0152] 

[0153] (II)

[0154] 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이고,

[0155] 여기서

[0156] **X**는 다음으로부터 선택된 헤테로원자이고

[0157] - S, O 및 N

[0158] **Y**는 H 또는 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 잔기이고:

[0159] - 할로겐, 선형 또는 분지형 C_1-C_4-알킬, C_2-C_4-알케닐, C_1-C_4-알콕시, 하이드록시, -COOH, C_1-C_4-아실옥시, 페녹시, 시아노, 니트로, $-NH_2$, C_1-C_4-아실아미노, 할로-C_1-C_3-알킬, 벤조일, 선형 또는 분지형 C_1-C_8-알칸설포네이트, 선형 또는 분지형 C_1-C_8-알칸설폰아미드, 선형 또는 분지형 C_1-C_8-알킬 설포닐메틸;

[0160] **Z**는 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 헤테로아릴 고리이다:

[0161] 비치환 테트라졸 및

[0162] 하나의 하이드록시 기에 의해 치환되고, 할로겐, 선형 또는 분지형 C_1-C_4-알킬, C_2-C_4-알케닐, C_1-C_4-알킬아미노, C_1-C_4-알콕시, C_1-C_4-알킬티오, C_1-C_4-아실옥시, 시아노, 니트로, NH_2, C_1-C_4-아실아미노, 할로-C_1-C_3-알킬, 할로-C_1-C_3-알콕시, 선형 또는 분지형 C_1-C_8-알칸설포네이트 및 선형 또는 분지형 C_1-C_8-알칸설폰아미드로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 기에 의해 임의로 추가로 치환된 트리아졸, 피라졸, 옥사졸, 티아졸, 이소옥사졸, 이소티아졸, 티아디아졸 및 옥사디아졸.

[0163] 상기 화합물 중에서, 화학식 (II)의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이 바람직하고, 여기서:

[0164] **X**는 다음으로부터 선택된 헤테로원자이고

[0165] - S 및 O

[0166] **Y**는 H 또는 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 잔기이고:

[0167] - 바람직하게는 트리플루오로메틸, 염소, 메틸 및 tert-부틸로 이루어진 군으로부터 선택된; 할로겐, 선형 또는 분지형 C_1-C_4-알킬 및 할로-C_1-C_3-알킬;

[0168] **Z**는 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 헤테로아릴 기이다:

[0169] 비치환 테트라졸 및 하나의 하이드록시 기에 의해 치환되고, 바람직하게는 메틸, 트리플루오로메틸 및 염소로 이루어진 군으로부터 선택된; 할로겐, 선형 또는 분지형 C_1-C_4-알킬, C_1-C_4-알킬티오 및 할로-C_1-C_3-알킬로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 기에 의해 임의로 추가로 치환된 트리아졸, 피라졸, 이소옥사졸, 이소티아졸, 티아디아졸 및 옥사디아졸.

[0170] 본 발명에 따른 화학식 (II)의 특히 바람직한 화합물은 다음으로부터 선택된다:

[0171] N-{4-[(1R)-1-(1H-테트라졸-5-일)에틸]페닐}-4-(트리플루오로메틸)-1,3-티아졸-2-아민;

[0172] 4-메틸-N-{4-[(1R)-1-(1H-테트라졸-5-일)에틸]페닐}-1,3-티아졸-2-아민;

[0173] 4-tert-부틸-N-{4-[(1R)-1-(1H-테트라졸-5-일)에틸]페닐}-1,3-티아졸-2-아민;

[0174] N-{4-[(1R)-1-(1H-테트라졸-5-일)에틸]페닐}-1,3-티아졸-2-아민;

[0175] N-{4-[(1R)-1-(1H-테트라졸-5-일)에틸]페닐}-4-(트리플루오로메틸)-1,3-옥사졸-2-아민;

[0176] 4-메틸-N- {4-[(1R)-1-(1H 테트라졸-5-일)에틸]페닐}-1,3-옥사졸-2-아민;

[0177] 5-[(1R)-1-(4-{[4-(트리플루오로메틸)-1,3-티아졸-2-일]아미노}페닐)에틸]-1H 피라졸-1-올;

[0178] 4-메틸-5-[(1R)-1-(4-{[4-(트리플루오로메틸)-1,3-티아졸-2-일]아미노}페닐) 에틸]-1H-피라졸-1-올;

[0179] 5-[(1R)-1-(4-([4-(트리플루오로메틸)-1,3-티아졸-2-일]아미노}페닐)에틸]-1H-1,2,3-트리아졸-1-올;

[0180] 5-[(1R)-1-(4-{[4-(트리플루오로메틸)-1,3-티아졸-2-일]아미노}페닐)에틸] 이속사졸-3-올;

[0181] 4-메틸-5-[(1R)-1-(4-{[4-(트리플루오로메틸)-1,3-티아졸-2-일]아미노}페닐) 에틸]이속사졸-3-올;

[0182] 5-[(1R)-1-(4-{[4-(트리플루오로메틸)-1,3-티아졸-2-일]아미노}페닐)에틸] 이소티아졸-3-올;

[0183] 4-[(1R)-1-(4-{[4-(트리플루오로메틸)-1,3-티아졸-2-일]아미노}페닐)에틸]-1,2,5-옥사디아졸-3-올;

[0184] 4-[(1R)-1-(4-{[4-(트리플루오로메틸)-1,3-티아졸-2-일]아미노}페닐)에틸]-1,2,5-티아디아졸-3-올;

[0185] 5-[(1R)-1-(4-{[4-(트리플루오로메틸)-1,3-티아졸-2-일]아미노}페닐)에틸]-1H 1,2,4-트리아졸-1-올.

[0186] 본 발명에 따른 화학식 (II)의 특히 바람직한 화합물은 1-N-[4-[(1R)-1-(1H-테트라졸-5-일)에틸]페닐}-4-(트리플루오로메틸)-11,3-티아졸-2-아민(여기서 DF3966Y로도 나타남) 및 이의 약제학적으로 허용되는 염, 바람직하게는 이의 소듐 염(여기서 DF3966A로도 나타남)으로부터 선택된다.

[0187] 화학식 (II)의 C5aR 억제제는 WO2009/050258에 개시되며, 이는 또한 이들의 합성 방법, C5aR 억제제로서의 이들의 활성뿐만 아니라 C5a 유발 인간 PMN 화학주성에 관련된 질환, 예컨대 자가면역 용혈성 빈혈(AIHA), 건선, 물집 유사천포창, 류마티스 관절염, 궤양성 대장염, 급성 호흡곤란 증후군, 특발성 섬유증, 사구체신염의 치료 및 허혈 및 재관류에 의해 야기된 손상의 예방 및 치료에서의 용도를 개시한다.

[0188] 본 발명에 따른 화학요법 유발 의인성 통증은 신경독성 부작용을 갖는 임의의 화학요법제에 의해 유도된 것일 수 있다. 바람직하게는, 상기 화학요법제는 백금계 약물, 탁산, 에포틸론, 식물 알칼로이드, 탈리도미드, 레날리도미드 및 포말리도미드, 카르필조밉, 보르테조밉 및 에리불린으로부터 선택된다. 보다 바람직하게는, 상기 화학요법제는 시스플라틴, 카르보플라틴, 옥살리플라틴, 파클리탁셀, 카바지탁셀, 도세탁셀, 익사베필론, 빈블라스틴, 빈크리스틴, 비노렐빈, 에토포시드, 탈리도미드, 레날리도미드, 포말리도미드, 카르필조밉, 보르테조밉 및 에리불린으로부터 선택된다. 바람직한 구체예에 따르면, 화학요법 유발 의인성 통증은 탁산에 의해, 보다 바람직하게는 파클리탁셀에 의해 유발된 것이다.

[0189] 실시예

[0190] **방법 및 물질**

[0191] *약물 및 시약*

[0192] 다음 물질은 지시된 공급원으로부터 획득되었다: 재조합 마우스 C5a는 R&D, 로트 MJJ0714041로부터 구입되고, BSA 0.1%에 희석되고 -70℃에서 유지되었다. 파클리탁셀(Evotaxel®Evolabis, 로트 A37053)은 4℃에서 유지되었고, 사용 순간에 식염수로 희석되었다. 척수강내 주사를 위해 사용된 비히클은 Tocris의 aCSF(인공 뇌척수액)이었다.

[0193] *생화학적 키트 및 시약*

[0194] CellTag 700 Stain ICW Kit (Li-cor #cat. 926-41091)

[0195] Gro/KC, Peprotech #cat. 400-10

[0196] 재조합 래트 CXCL1/GRO alpha/KC/ CINC-1 Protein - R&D Systems cat. #515-CN 로트 44S0211121

[0197] 파클리탁셀 (Taxol) - Tocris- R&D systems #1097 *로트 7A/177205*

[0198] C5a 성분 - 재조합 마우스 보체 - R&D Systems #2150-c5 *로트 MJJ0715041*

[0199] Hoechst 33342 - Thermo Fischer Sc. #H3570

[0200] *동물*

[0201] 실험은 수컷 Balb/c 야생형 (WT) 및 C5aR 결핍 ($C5aR^{-/-}$) 마우스 (6-8 주령)에서 수행되었다. DF2593A를 사용한

실험을 위해, 상파울루 대학교 리베이라오 프레토 의과 대학의 동물 관리 시설에서, 동물을 임의의 물과 음식 및 제어된 명/암 주기를 갖는 20℃±1℃의 플라스틱 케이지에 넣었다. 경구 급성 치료를 마쳤을 때, 동물은 2-4 시간 동안 음식 없이 있었다. 동물을 실험 전 적어도 1 h에 테스트실로 가져와서 한 번만 사용했다. 동물 관리 및 취급 절차는 국제 통증 연구 협회 지침 및 리베이라오 프레토 의과 대학의 동물 윤리위원회, 프로토콜 120/2014의 통제에 따라 이루어졌다.

[0202] DF3966A를 사용한 실험을 위해, 동물들은 이탈리아, 나폴리 대학 약학과의 동물 관리 시설에서, 제어된 온도(22±1℃), 습도 (60±10%) 및 빛(1 일당 12 h)이 있는 방에서 수용되었고; 음식 및 물은 자유롭에 이용 가능했다. 모든 행동 테스트는 오전 9:00에서 오후 5:00 사이에 수행되었고, 동물은 한 번만 사용되었다. 동물 관리 및 조작은 국제 및 국가 법률 및 정책(동물 실험에 대한 EU Directive 2010/63/EU, ARRIVE 지침 및 3R 개념을 포함하는 Basel 선언)에 따라 수행되었다. 여기에 보고된 절차는 나폴리 페데리코 2세 대학의 동물 실험 윤리 위원회(CVS) 및 프로토콜 n. 2014-00884607하에 보건부에 의해 승인되었다.

[0203] *CIIP (화학요법 유발 의인성 통증) 실험 프로토콜*

[0204] 사용된 프로토콜은 마우스에게 적합화된 POLOMANO *et al.*, 2001에 따라 수행되었다. 동물은 파클리탁셀 4 mg/kg을 네 번의 격일(1, 3, 5 및 7 일) 동안 복강내로(i.p.) 받았다. 치료 기간 동안, 기계적 및 냉 이질통을 파클리탁셀의 주사 후 4 시간에 측정했다.

[0205] *급성 사후 치료*

[0206] DF2593A를 첫 번째 파클리탁셀 주사 후 8 및 14 일에 1 mg/kg의 용량으로 경구 투여했다. 약물의 효과를 투여 후 2, 4, 6 및 24 시간에 평가했다.

[0207] *만성 사전 치료*

[0208] DF2593A는 CIIP의 유발 단계 동안 7 일 동안 1 mg/kg의 용량으로, 12 시간 내에 12 회 경구로 주어졌다. 일 1, 3 5 및 7 일에, DF2593A의 투여는 파클리탁셀 전 1 시간이었다.

[0209] DF3966A는 1 내지 14일에 30 mg/kg/os 투여되었다 (하루에 두 번; 오전 8.00 및 오후 20.00). 1-3-5-7 일에 DF3966A는 파클리탁셀 후 1h에 투여되었다.

[0210] *척수강내 치료*

[0211] 10, 30 또는 100 μg/5 μL 용량의 DF2593A는 파클리탁셀(CIIP)의 첫 번째 주사 후 8 및 14 일에 주사했다.

[0212] 재조합 마우스 C5a는 척수강내 경로에 의해 5 μL의 부피로 주어졌고, 이의 효과는 주사 후 1, 3, 5, 7 및 24 시간 동안 이어진다.

[0213] *기계적 통각성 발 테스트*

[0214] DF2593A 실험에서, 폰 프레이 필라멘트를 사용하여 기계적 통각과민증을 테스트했다. 마우스를 테스트 시작 15-30 분 전에 조용한 방에서 와이어 그리드 바닥이 있는 아크릴 케이지(12 × 10 × 17 cm)에 두었다. 초승달 모양의 일련의 필라멘트를 CIIP 마우스의 오른쪽 발에 적용했다. 움츠러드는 움직임을 유도할 수 있는 하부 필라멘트가 기계적 역치로서 기록되었다. 동물은 치료 전후에 테스트되었고 결과는 기계적 역치의 로그로 표현된다.

[0215] DF3966A 실험에서, 촉각 자극에 대한 민감도는 동적 발바닥 촉각계(Dynamic Plantar Aesthesiometer (DPA, Ugo Basile, Italy)를 사용하여 측정되었다. 동물이 자유롭게 걸을 수 있지만 뛸 수는 없는 플라스틱 돔으로 덮인 메쉬 금속 바닥이 있는 챔버에 동물을 넣었다. 이후 기계적 자극이 뒷발의 중간 발바닥 피부에 전달되었다. 컷오프는 50 g에서 고정되었다. 테스트를 양발에서 파클리탁셀 첫 번째 투여 전 및 파클리탁셀 첫 번째 투여 후 3, 5, 7, 10 및 14 일에 수행했다.

[0216] *냉 이질통 - 아세톤 테스트*

[0217] 폰 프레이 테스트의 동일한 장치에서, 기계적 테스트 후 거의 15 분에 아세톤 테스트를 수행했다. 1 mL 시린지를 사용하여, 양발 표면(발등 및 발바닥)에 액체가 퍼지도록 한 방울(50 μL)의 순수한 아세톤이 방출되었다. 발의 핥기, 움찔거림 또는 들어올림과 같은 모든 움직임은 2 분의 총 테스트 시간에 크로노미터로 기록되었다.

[0218] *열 지연 - Hargreaves 테스트*

[0219] Hargreaves 테스트는 전술한 바와 같이 수행되었다 (HARGREAVES et al., 1988). 동물은 온도가 조절된 유리 표

면에 익숙해졌고, 이는 발에 균일한 적외선을 전달할 수 있도록 한다. 광원의 활성화 후, 크로노미터를 켰다. 점점 증가하는 온도가 발에 도달했고 동물이 빛을 피하는 동작을 하는 즉시 크로노미터가 꺼졌다. 기록된 시간이 열 지연으로 간주되었다. 발의 손상을 피하기 위해 20 초의 컷 오프를 정했다. 결과는 초 단위로 표시된다.

[0220] *후근신경절(DRG) 뉴런의 일차 배양*

[0221] 후근신경절 뉴런이 잘 정의된 프로토콜을 따라 출생 후 (P2) 스프라그 다울리 래트 신경절(Envigo, Bresso Italy)의 분리에 의해 획득되었다 (O' Meara et al, 2011; Owen et al, 2012). 배양으로의 오염 세포의 도입을 최소화하기 위해, 과도하게 긴 뿌리를 DRG로부터 손질했다. 단리 후, DRG를 다음과 같이 효소적으로 해리시켰다:

[0222] - 37℃에서 20 분의 1.5 mg/ml 파파인 노출,

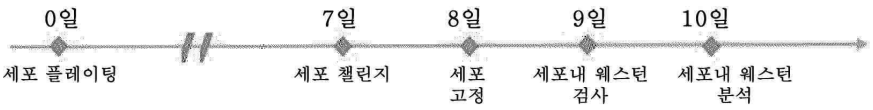
[0223] - 37℃에서 30 분의 4mg/ml 콜라게네이스 노출.

[0224] 이어서, 단일 세포 현탁액을 수득하기 위해 세포를 화염 연마된 유리 파스츄어 피펫으로 기계적으로 해리시켰다.

[0225] 일단 해리가 달성되면, 세포를 선택된 밀도에서 Laminin으로 코팅된 96 블랙 멀티웰 플레이트에 시딩했다 (10ug/mL, 실온, RT에서 밤새). 10%FBS, 1x N2, 1x B27, 100 IU/ml 페니실린, 10 mg/ml 스트렙토마이신이 보충된 DMEM 고 글루코스 배지에서의 1 주의 배양 후, 세포를 실험적 필요에 따라 처리했다.

[0226] *α-튜불린 평가를 위한 세포내 웨스턴(in - cell western) 분석*

[0227] 아전에 보고된 바와 같이 단리된 후근신경절 뉴런에 다음의 실험적 챌린지 계획이 적용되었다:



[0228]

[0229] 파클리탁셀, C5a 및 약물은 세포내 웨스턴 실험 24hr 전에 투여되었다.

[0230] 앞서 지시한 바와 같이 적절한 자극으로 24hr의 처리 후, 세포를 1x PBS로 세척하고 3.7% 포름알데하이드로 15 분 동안 고정시켰다. 고정 용액의 제거 후, 세포를 1x PBS로 세척하고 5 분 동안 RT에서 1xPBS-0.1% Triton X-100으로 투과화시켰다. 이후 제조업체의 프로토콜에 따라 Odyssey Blocking 버퍼에 1:500으로 희석된 항-아세틸화 α-튜불린 항체로 4℃에서 밤새 세포를 염색했다.

[0231] 다음 날, 세포를 1x PBS-0.1% Tween20으로 세척하고, 이차 항체(프로토콜에 의해 권장되는 바와 같이 Odyssey Blocking 버퍼에 1:800로 희석됨) 및 CellTag 700Stain 0.2 M으로 염색했다. 배경을 낮추기 위해, 0.2%의 최종 농도의 Tween20을 Odyssey Blocking 버퍼에 첨가했다. 이후 96-웰 플레이트를 Odyssey CLx 이미징 시스템에서 판독하고 이미지를 획득했다. 데이터 분석은 Image Studio 2.1 소프트웨어의 사용에 의해 수행되었다.

[0232] *알파 튜불린 아세틸화*

[0233] DRG-유래 뉴런을 7 일 동안 배양한 다음 다음으로 처리했다:

[0234] - DF3966Y(0.1, 1 및 10μM) 또는 DF2593A(0.1, 1 및 10μM)의 존재 또는 부재에서 파클리탁셀(200nM, 500nM, 1μM 및 5μM, 20 μM)

[0235] - 또는 DF3966Y(1μM)의 존재 또는 부재에서 C5a(500ng/ml 및 1μg/ml)

[0236] 처리 24hr 후, 세포를 면역형광에 의해 염색했다.

[0237] *면역형광법*

[0238] 세포를 사카로스-파라포름알데하이드로 고정시킨 다음 밤새 염색을 수행했다. 일차 항체(항- III 튜불린 및 항-시냅토타시냅토태그민 1)를 1:500으로 1x PBS-4% BSA-2% 정상 염소 혈청 및 0.3% Triton x-100에 희석했다.

[0239] 다음 날, 세포를 1x PBS-4% BSA로 세척하고 이차 항체를 1x PBS-4% BSA-2% 정상 염소 혈청 및 0.3% Triton x-100에 1:500으로 희석했다. 1hr의 배양 후, 세포를 1x PBS로 세척했다. Hoechst를 대비염색제로 사용했다.

[0240] *이미지 분석*

[0241] 웰당 열여섯 개의 이미지를 ArrayScan XTI HCA Reader(Thermo Fisher Scientific) 및 40x 대물렌즈로 촬영했다. 모든 분석은 HCS Studio 소프트웨어(Thermo Fisher Scientific)로 수행되었다.

[0242] 시냅스 계수를 위해 역치가 설정되었고, 특히 시냅토태그민 염색에 양성인 모든 물체가, 0.365 - 2.457 μm^2 범위에서 시냅스로 간주되었다.

[0243] *전기생리학적 치료*

[0244] 후근신경절(DRG)-유래 뉴런을 7 일 동안 배양한 다음 10 nM 파클리탁셀, 10 nM 파클리탁셀 + 1 μM DF3966Y, 1 μg/ml C5a, 1μg/ml C5a + 1 μM DF3966Y의 조합으로 맹검으로 처리했다.

[0245] 화합물을 1 분 30 초 (단기 급성 자극) 또는 5 분 (장기 만성 자극) 동안 투여했다. 화합물의 적용에 이어 생리학적 대조 용액에서 동등한 시간 (약 10 분) 동안 세척되었다.

[0246] *전기생리학적 기록*

[0247] 전체 세포 구성에서 패치-클램프 기법에 의해 전기생리학적 기록을 수행했다. 표준 엑스트라셀 용액은 욕(bath) 적용되었고 다음을 함유했다 (mM): NaCl 135, KCl 2, CaCl2 2, MgCl2 2, 헤페스 10, 글루코스 5, pH 7.4. 표준 피펫 용액은 다음을 함유했다 (mM): 포타슘 아스파테이트 130, NaCl 10, MgCl2 2, CaCl2 1.3, EGTA 10, Hepes 10, pH 7.3. pClamp8.2 소프트웨어 및 MultiClamp 700A 증폭기 (Axon Instruments)에 의해, 전류-클램프 모드에서 기록이 획득되었다.

[0248] *데이터 분석*

[0249] 생체 내 실험의 경우, 데이터는 평균 ± SEM으로 보고된다. 범례에서 문자 N은 각 실험의 각 실험 그룹에서 사용된 마우스의 수를 지칭한다. 실험 그룹 사이의 차이는 ANOVA(일방향)에 의해 비교되었고, 개별 비교는 이후 본페로니 사후 테스트로 이루어졌다. 과다통각성 반응이 자극 주사 후 상이한 시간에 측정될 때 군을 비교하기 위해 양방향 ANOVA를 사용했다. $P < 0.05$는 유의한 것으로 간주되었다.

[0250] **결과**

[0251] *재조합 C5a의 척수강내 주사가 기계적 및 열 통각성 역치를 감소시킴*

[0252] 본 결과는 마우스에서 재조합 C5a (100, 300 및 600 ng/5 μL)의 척수강내 주사가 주사 후 최대 24 시간까지 용량 의존적 방식으로 기계적 역치의 감소를 촉진함을 나타냈다. C5a 전통각성(pro-nociceptive) 효과는 $C5aR^{-/-}$ 마우스에서 폐기되었다. 더 높은 용량은 또한 주사 후 5 내지 7 시간에 열 지연 감소를 야기했다 (**도 1, A 및 B**).

[0253] *C5a/C5aR의 부재는 의인성 통증의 더 적은 발생을 결정함*

[0254] 본 발명자들은 CIIP의 생성 및 유지가 모두 $C5aR^{-/-}$ 동물에서 발휘되지 못함을 입증했다. 실제로, CIIP의 유발 및 유지 단계 동안 $C5aR^{-/-}$ 마우스에서 기계적 (**도 2, A**) 및 열 (**도 2, B**) 과민증 발생이 더 적다.

[0255] 이러한 결과는 CIIP에서 C5a의 관련성을 지적하고, 상이한 통증 경로 및 섬유의 감작에 중요한 역할을 함을 나타내고, 중요한 임상 증상을 수용한다.

[0256] 실시예 1

[0257] *CIIP에서 DF2593A의 효과*

[0258] 수컷 마우스에서 1 mg/kg의 DF2593A의 경구 투여가 CIIP의 두 단계 동안 기계적 과민증을 감소시킬 수 있다: 유발 종료, 8 일 (**도 3a, A**) 및 확립됨, 14 일 (**도 3b, C**). 이외에도, CIIP에서 기인한 냉 반응이 (**도 3a, B 및 도 3b, D**) DF2593A 치료 후 감소된다. 이러한 효과는 약물 투여 후 2 시간부터 6 시간까지 관찰된다.

[0259] 종합하면, 이들 데이터는 확립된 통증 상태에서 DF2593A를 사용한 경구 요법 치료가, 투여 후 적어도 6 시간 동안 물리적 또는 화학적 신경 병변으로 인한 기계적 및 냉 과민증을 감소시킬 수 있음을 나타낸다.

[0260] 실시예 2

[0261] *CIIP의 유도 동안 DF2593A를 사용한 전신 치료가 의인성 통증의 발병을 예방함*

[0262] 만성적으로 주어질 경우, CIIP의 유발 단계 동안, DF2593A는 비록 치료 동안만이지만 기계적 (**도 4, A**) 및 냉 (**도 4, B**) 통각성 반응의 발생을 방지한다. CIIP 모델의 1일부터 7일까지 DF2593A 1 mg/kg p.o.의 2회 일일 용량(12/12 시간)이 음식 제한이 없는 마우스에게 주어졌다. 약물은 항상 파클리탁셀의 투여 1 시간 전에 주어졌다. 기준선에서 동물을 측정한 다음 첫 번째 파클리탁셀 주사로부터 8일까지 매일 통증이 확립된 시점까지 측정했다.

[0263] 약물은 CIIP의 유발 단계 동안 기계적 및 냉 반응의 발생을 효과적으로 예방할 수 있다. 그러나, 최종 DF2593A 투여 후 24 시간에는 효과가 관찰되지 않았으며, 이는 이전의 결과 및 약물의 약동학적 프로파일로 입증되었다.

[0264] 마찬가지로, 척수강내 경로에 의한 10, 30 또는 100 μg/5 μL의 DF2593A의 주사는, 확립된 CIIP(8 및 14 일)를 갖는 수컷 마우스에서, 통각성 행동을 감소시키고 기계적 및 냉 이질통을 개선할 수 있다. 용량이 많을수록 가장 유의미한 효과가 관찰된다: 10 μg/5 μL의 효능은 여전히 통계적으로 유의하지만, 8일째에 30 및 100 μg/5 μL (**도 5a, A 및 B**).

[0265] 실시예 3

[0266] *파클리탁셀 유발 기계적 및 냉 이질통에서 DF3966A의 효과*

[0267] 파클리탁셀 투여 후, 비히클 대조군(CTR)은 샴 래트와 비교하여 명백한 기계적 및 냉 이질통을 나타냈다. 특히, DPA 테스트에서, 통증의 증거인 발 회피 역치가 5, 7, 10 및 14 일에 현저하게 감소되었다 (**도 6, A**).

[0268] DF3966A로 처리된 동물은 비히클 대조 동물과 비교시 일 3, 5, 7, 10 및 14 일에 기계적 이질통의 현저한 감소를 나타냈다 (**도 6, A**). 냉 이질통 실험에서, 대조군에서, 통증의 증거인 발 회피 역치의 수가 3, 5, 7, 10 및 14 일에 현저하게 증가했다 (**도 6, B**). DF3966A로 처리된 동물은 비히클 대조 동물과 비교시 일 3, 5, 7, 10 및 14 일에 냉 이질통의 현저한 감소를 나타냈다. 획득된 결과는 DF3966A가 파클리탁셀 투여 후 5, 7, 10 및 14 일에 기계적 및 냉 이질통의 현저한 감소를 유발함을 명백하게 나타낸다.

[0269] 실시예 4

[0270] *파클리탁셀 치료하에 α-튜불린 수준에 대한 DF2593A 및 DF3966Y의 효과*

[0271] 파클리탁셀은 200nM의 농도에서 7 일의 배양 후 DRG 뉴런에 제공되었다 (Scuteri et al. 2006).

[0272] 표 1에 보고된 바와 같이, 200nM 파클리탁셀은 대조군 (UT) 세포에 대하여 아세틸화 α-튜불린의 한계는 있지만 현저한 증가를 나타냈다.

표 1

[0273]

	아세틸화 α-튜불린 (UT의 %)							
	UT (대조군)	**파클리탁셀** (200nM)	**DF2593A** (0.1μM)	**DF2593A** (1μM)	**DF2593A** (10μM)	**DF3966Y** (0.1μM)	**DF3966Y** (1μM)	**DF3966Y** (10μM)
평균 ± SD	100.12±2.21	111.41± 5.43*	107.38± 18.61	100.67± 11.29	70.72± 10.11*##	76.45± 7.61*##	65.16± 12.65*##	89.05± 6.11##

[0274] 데이터는 2 상이한 실험의 평균 ± SD이다. *p<0.05 vs UT; # p<0.05 vs 파클리탁셀; ##p<0.01 vs 파클리탁셀
표 1에 나타나는 바와 같이, 화합물 DF2593A는 용량-의존적 방식으로 파클리탁셀 효과를 되돌리는 것으로 보인다. 특히, 0.1 μM 농도에서 적용될 때, 약물은 아세틸화 α-튜불린에서 파클리탁셀 유발 증가를 되돌릴 수 없다. DF2593A가 1μM 농도에서 적용될 때, 약물은 파클리탁셀 유발 챌린지를 되돌렸고 아세틸화 α-튜불린의 관찰된 수준이 대조군 (UT) 세포와 유사했다. 10μM에서, 약물은 대조군 (UT) 세포에 대하여 약 25%의 아세틸화 α-튜불린 감소와 함께 DRG 뉴런에 대한 상당히 유익한 효과를 나타내는 것으로 보인다.

[0275] 화합물 DF3966Y(0.1, 1, 10μM)는 파클리탁셀 유발 챌린지를 상당히 되돌렸다. 테스트된 최저 농도(0.1 μM 및 1μM)에서, 약물은 DRG 뉴런에 유리한 효과를 나타내는 것으로 보인다.

[0276] 실시예 5

[0277] *C5a 유발 뉴런 독성에서 DF3966Y의 효과*

[0278] 관찰된 효과가 C5a에 의해 또한 촉발될 수 있는지를 결정하기 위해, 재조합 마우스 C5a 1μg/ml (111.11 nM)가

DF3966Y 1μM의 존재 또는 부재에서 7 일의 배양 후 DRG 뉴런에 주어졌다.

[0279] 24hr의 인큐베이션 후, 전술한 바와 같이 아세틸화 α-튜불린을 세포 내 웨스턴 기법을 사용하여 정량했다.

[0280] **도 7**은 C5a 1 μg/ml이 아세틸화 α-튜불린의 수준을 증가시킬 수 있고 DF3966Y가 C5a 노출에 의해 유발된 챌린지를 상당히 감소시킴을 나타낸다.

[0281] 실시예 6

[0282] *뉴런 기능에 대한 DF3966Y의 효과*

[0283] 세포 수, 시냅스 수 및 수상돌기 분지는 미처리 세포 및 파클리탁셀 및 C5a 단독 또는 약물의 존재에서 자극된 세포에서 평가되었다.

[0284] 화학요법 유발 독성의 표지로서, DRG 뉴런 상의 시냅스의 총 수는 미처리 (UT) 대조군에 대한 시냅스의 수의 백분율로서 정량적으로 평가되었다.

[0285] 수상돌기 분지는 시냅스 발생 및 입력에 직접적으로 영향을 미친다. 잘 발달된 분지는 기능적인 시냅스 네트워크를 나타낸다. 이러한 이유로, 수상돌기 분지에 의해 점유된 영역이 정량화되었다.

[0286] 데이터는 각각의 실험에 대해 웰당 16 개의 필더를 분석하여 얻은 값의 합계로서 획득된다. 상대 평균 미처리 그룹에 대한 값의 백분율을 계산했다. 4 가지 개별 실험의 백분율의 평균이 하기 표 2-7에 플로팅되었다.

[0287] **표 2 - PAC (파클리탁셀) 및 DF3966Y 단독 또는 조합하의 세포 수. 데이터는 3 가지 상이한 실험의 평균 ±SD이다.**

표 2

[0288]

	세포 수의 %			
	UT (대조군)	파클리탁셀	DF3966Y (1μM)	DF3966Y (1μM) + PAC
평균±SD	100	88.87±6.04	101.55±10.59	98.83±12.49

[0289] DRG 뉴런에 대한 파클리탁셀의 투여는 세포 수의 약간의 감소를 유발했다. 이러한 효과는 파클리탁셀이 항증식 효과를 발휘한 증식 세포(퍼킨제 세포)의 존재로 인한 것일 수 있으며 실제 뉴런 사멸로 인한 것이 아닐 수 있다. 따라서, DF3966Y를 사용한 치료는, 단독으로 투여되거는 경우 또는 PAC와 함께 투여되는 경우에, 세포 수에 현저한 영향을 미치지 않았다.**표 3 - C5a 및 DF3966Y 단독 또는 조합하의 세포 생존력. 데이터는 2 가지 상이한 실험의 평균 ±SD이다.**

표 3

[0290]

	세포 수의 %			
	UT (대조군)	C5a	DF3966Y (1μM)	DF3966Y (1μM) + C5a
평균±SD	100	98.69±4.22	96.96±6.45	96.65±10.77

[0291] 얻어진 결과는 C5a가 단독으로 투여될 경우 또는 DF3966Y 1μM와 조합으로 투여될 경우에 뉴런 사멸을 유발하지 않았음을 나타낸다.**표 4 - PAC 및 DF3966Y 단독 또는 조합하의 시냅스 수. 데이터는 3 가지 상이한 실험의 평균 ±SD이다.**

표 4

[0292]

	시냅스 수의 %			
	UT (대조군)	PAC	DF3966Y (1μM)	DF3966Y (1μM) + PAC
평균± SD	100	88.02±2.99	99.89±12.94	92.04±21.01

[0293] 파클리탁셀은 현저한 시냅스 수 감소를 유발했다. DF3966Y 1μM을 사용한 치료는 파클리탁셀 유발 효과를 현저하게 상쇄시켰다.이들 데이터는 화학요법에 의해 유발된 뉴런 기능 장애에 대한 1μM DF3966Y의 긍정적인 효과를 명확하게 나타낸다.**표 5 - C5a 및 DF3966Y 단독 또는 조합하의 시냅스 수. 데이터는 3 가지 상이한 실험의 평균 ±SD이다.**

표 5

[0294]

	시냅스 수의 %			
	UT (대조군)	C5a	DF3966Y (1μM)	DF3966Y (1μM) + C5a
평균± SD	100	116.90±17.43	99.89±12.94	111.33±9.27

[0295] 데이터는 C5a가 이러한 실험 조건하에서 뉴런 활성 손상을 유발하지 않았음을 나타낸다.**표 6 - 파클리탁셀 및 DF3966Y 단독 또는 조합하의 수상돌기 나무 면적. 데이터는 3 가지 상이한 실험의 평균 ±SD이다.**

표 6

[0296]

	% 수상돌기 나무 면적			
	UT (대조군)	PAC	DF3966Y (1μM)	DF3966Y (1μM) + PAC
평균± SD	100	92.22±3.47	103.07±8.17	101.21±7.97

[0297] 수상돌기 분지에 의해 점유된 면적에서 현저하지 않은 감소가 파클리탁셀에 의해 유발되었고 DF3966Y를 사용하여 수행된 치료가 그러한 감소를 상쇄시키는 것으로 보인다.이러한 발견은 시냅스 수의 정량에 의해 얻은 결과와 일치하며, 뉴런 기능에 대한 파클리탁셀의 독성 효과 및 화합물의 긍정적인 효과를 나타낸다.

[0298] **표 7 - C5a 및 DF3966Y 단독 또는 조합하의 수상돌기 나무 면적. 데이터는 3 가지 상이한 실험의 평균 ±SD이다.**

표 7

[0299]

	% 수상돌기 나무 면적			
	UT (대조군)	C5a	DF3966Y (1μM)	DF3966Y (1μM) + C5a
평균± SD	100	102.68±9.48	103.07±8.17	106.45±9.43

[0300] 데이터는 급성 자극이 세포 손상을 유발하기에 충분하지 않음을 나타낸다.기재된 결과는 뉴런 기능성에 대한 파클리탁셀의 유해한 효과를 명확하게 나타낸다. 다른 한편으로, C5a는 이 시점에서 뉴런 기능에 대한 현저한 효과를 나타내지 않았는데, 화학요법 유발 뉴런 독성의 후기 매개자일 수 있기 때문일 것이다.DF3966Y를 사용한 치료는 뉴런 시냅스의 파클리탁셀 유발 손실에 대항하여 유리한 효과를 발휘했다.

[0301] 실시예 7

[0302] *DRG의 전기생리학에 대한 DF3966Y 및 파클리탁셀의 효과*

[0303] 생리학적 대조군 용액에서 DRG 뉴런의 활동 전위 발화 속도는 **도 8**에 나타나는 바와 같이 **(기준 조건)** 최대 30-40 분의 오랜 시간 동안 안정하게 유지되었다.

[0304] 파클리탁셀이 투여될 때 (**도 8 - 처리 A**), 탈분극 단계를 대표하는 활동 전위 발화 속도가 즉각적이고 현저하게 증가했고 (+54.64% vs CTRL), 이후 전압 게이트 채널의 비활성화로 인해 더 긴 노출 시간에서 (-83.51% vs CTRL) 전기적 활성 강하가 이어졌다. 대조 생리학적 용액의 투여로 효과가 완전히 회복되었다.

[0305] DF3966Y의 존재에서 파클리탁셀이 투여될 때 (**도 8 - 처리 B**), 첫 번째의 즉각적인 단계에서 또는 더 긴 노출

시간에서 전기적 활성의 현저한 변화가 관찰되지 않았다. 따라서 DF3966Y는 짧은 노출 시간 및 긴 노출 시간 모두에서 파클리탁셀 노출에 의해 변경된 전기적 활성을 완전히 복구할 수 있는 것으로 보인다.

[0306] 실시예 8

[0307] *DRG의 전기생리학에 대한 DF3966Y 및 C5a의 효과*

[0308] C5a가 DRG 뉴런에 투여될 때 (**도 9 - 처리 C**), 발화 속도의 즉각적인 증가(+55.61%)에 이어서 더 긴 노출 시간에서 현저한 전기적 활성 감소(약 70% 감소)가 관찰되었다. 대조 생리학적 용액의 투여로 효과가 완전히 회복되었다.

[0309] C5a가 DF3966Y의 존재에서 DRG 뉴런에 투여될 때 (**도 9 - 처리 D**), 단시간에 전기적 활성의 현저한 변화가 관찰되지 않았다. 또한, 더 긴 노출 시간(3-5 분)에서, DF3966Y는 약 35% 전기 활성을 억제하여, C5a 유발 효과를 개선했다. 대조 생리학적 용액의 투여로 효과가 완전히 회복되었다.

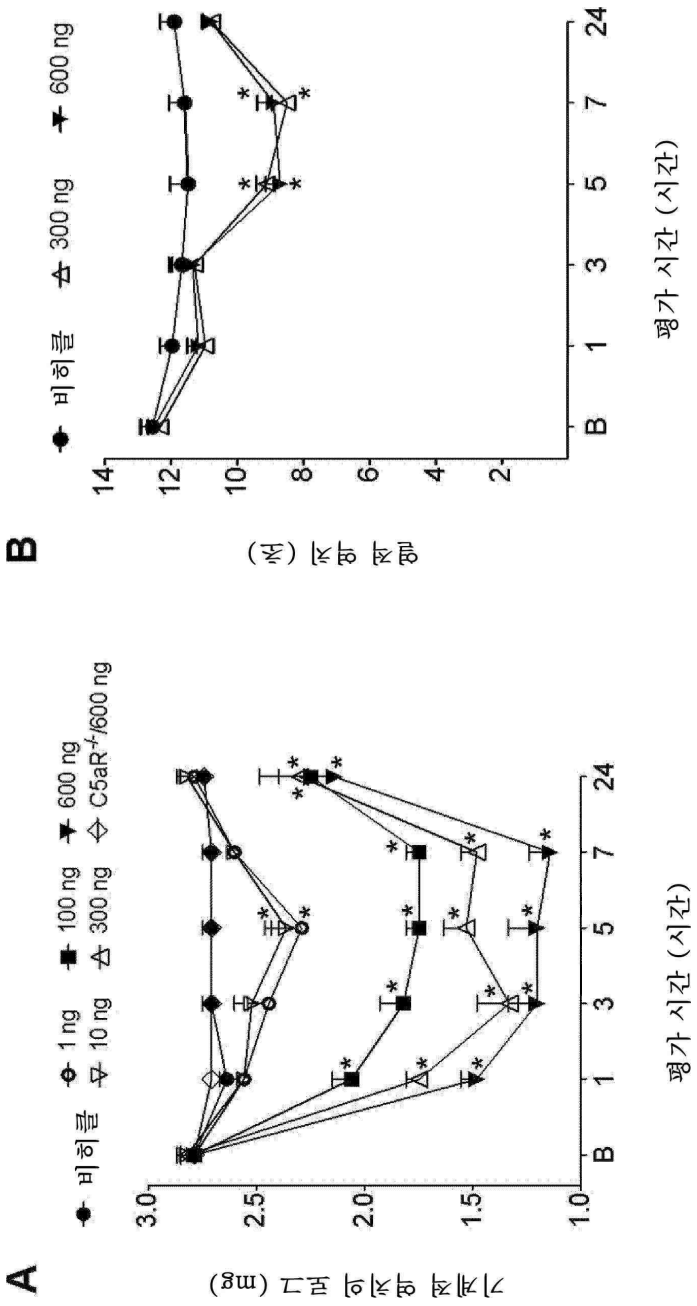
[0310] 단독으로 투여될 때 두 가지 과제(파클리탁셀 및 C5a)는 비록 상이한 실체를 갖지만 DRG 뉴런에 유해한 작용을 한다: 파클리탁셀은 C5a보다 더 강력한 자극이다.

[0311] 급성 자극에서 관찰되는 즉각적인 효과는 (파클리탁셀 및 C5a의 경우) 탈분극 단계를 대표하는 발화 속도의 증가이며, 이후 전압 게이트 채널의 비활성화로 인해 더 긴 노출 시간에서 전기적 활성 강하가 이어졌다.

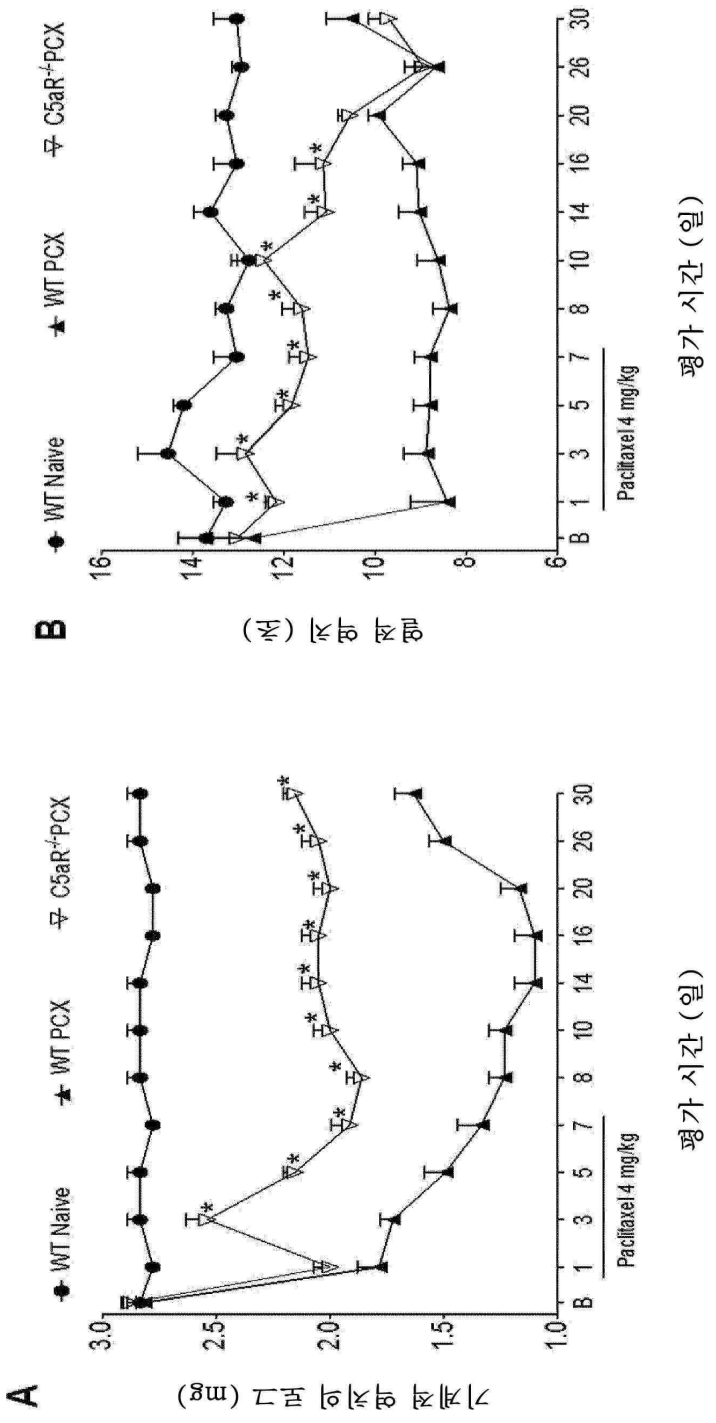
[0312] 이 효과는 특히 파클리탁셀 자극시 DF3966Y에 의해 상쇄된다.

도면

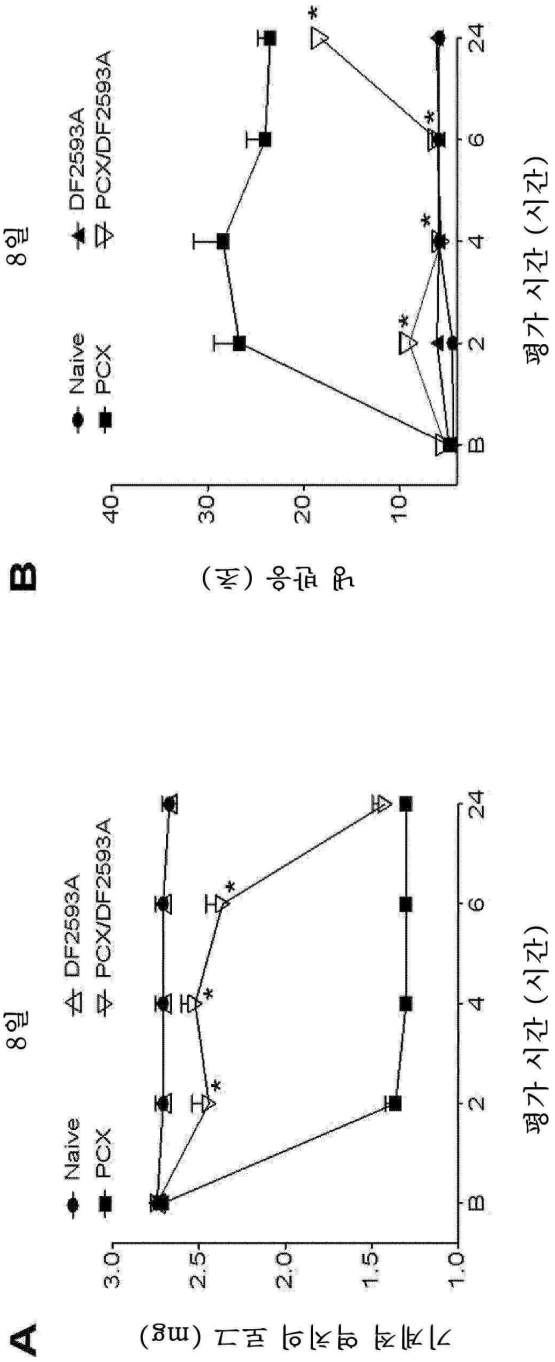
도면1


A
기계적 역치의 로그 (mg)
비히클
1 ng
10 ng
100 ng
300 ng
600 ng
C5aR-/-/600 ng
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
B
1
3
5
7
24
평가 시간 (시간)
B
열적 역치 (℃)
비히클
300 ng
600 ng
14
12
10
8
6
4
2
B
1
3
5
7
24
평가 시간 (시간)

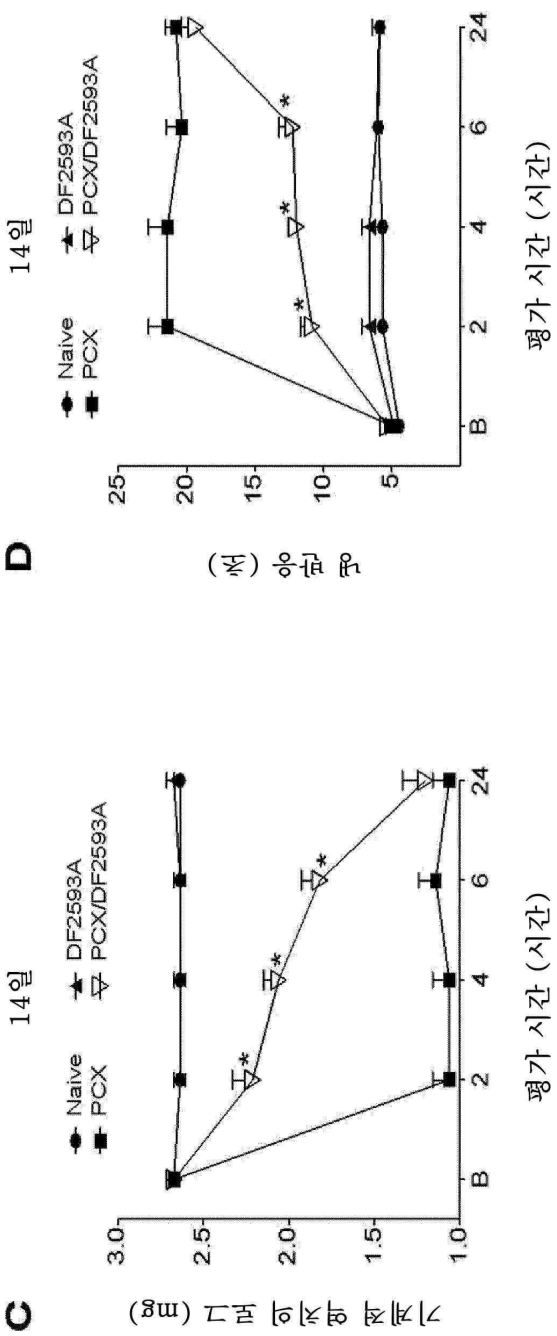
도면2


A
기계적 역치의 로그 (mg)
WT Naive
WT PCX
C5aR-/-PCX
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
B 1 3 5 7 8 10 14 16 20 26 30
Paclitaxel 4 mg/kg
평가 시간 (일)
B
열적 역치 (초)
WT Naive
WT PCX
C5aR-/-PCX
16
14
12
10
8
6
B 1 3 5 7 8 10 14 16 20 26 30
Paclitaxel 4 mg/kg
평가 시간 (일)

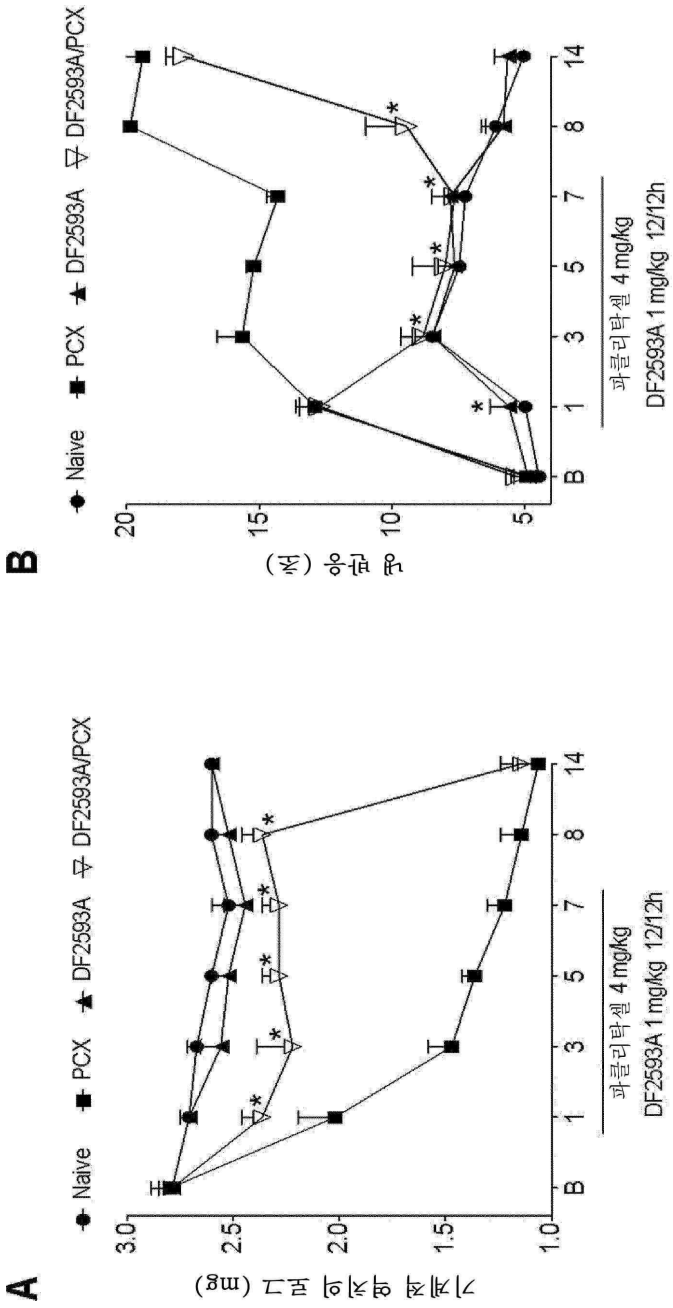
도면3a


A
8일
Naive
PCX
DF2593A
PCX/DF2593A
기계적 역치의 로그 (mg)
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
B
2
4
6
24
평가 시간 (시간)
B
8일
Naive
PCX
DF2593A
PCX/DF2593A
냉 반응 (초)
40
30
20
10
B
2
4
6
24
평가 시간 (시간)

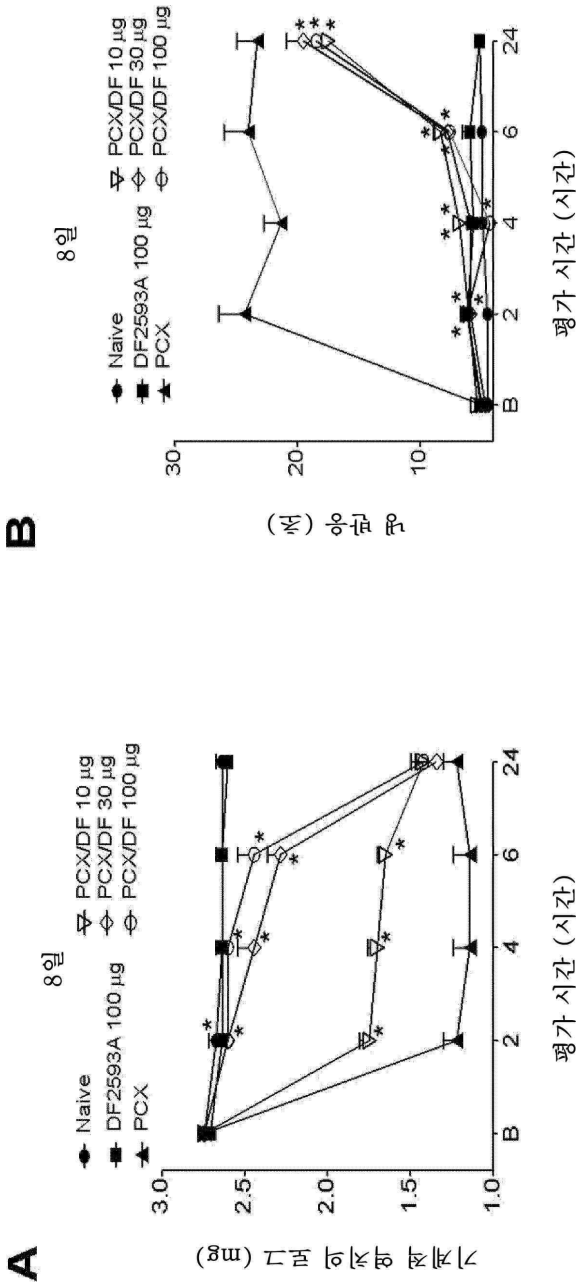
도면3b


D
14일
Naive
PCX
DF2593A
PCX/DF2593A
냉 반응 (초)
25
20
15
10
5
B
2
4
6
24
평가 시간 (시간)
C
14일
Naive
PCX
DF2593A
PCX/DF2593A
기계적 역치의 로그 (mg)
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
B
2
4
6
24
평가 시간 (시간)

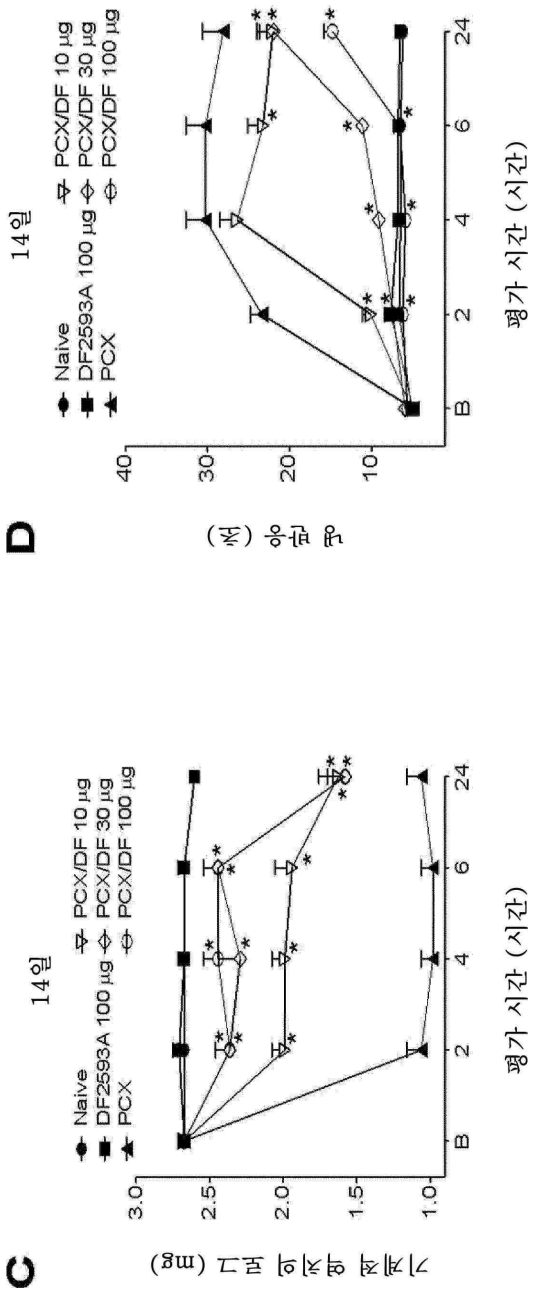
도면4


A
B
Naive
PCX
DF2593A
DF2593A/PCX
기계적 역치의 로그 (mg)
냉 반응 (초)
파클리탁셀 4 mg/kg
DF2593A 1 mg/kg 12/12h
B
1
3
5
7
8
14

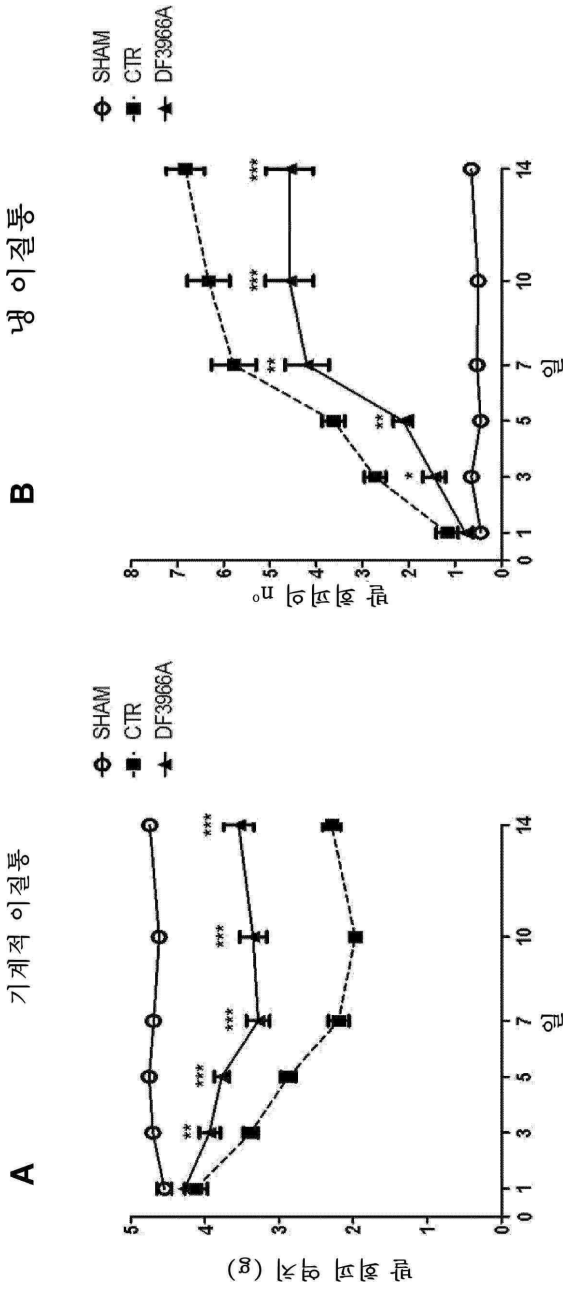
도면5a


A
기계적 역치의 로그 (mg)
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
B
2
4
6
24
평가 시간 (시간)
8일
Naive
DF2593A 100 μg
PCX
PCX/DF 10 μg
PCX/DF 30 μg
PCX/DF 100 μg
B
냉 반응 (초)
30
20
10
B
2
4
6
24
평가 시간 (시간)
8일
Naive
DF2593A 100 μg
PCX
PCX/DF 10 μg
PCX/DF 30 μg
PCX/DF 100 μg

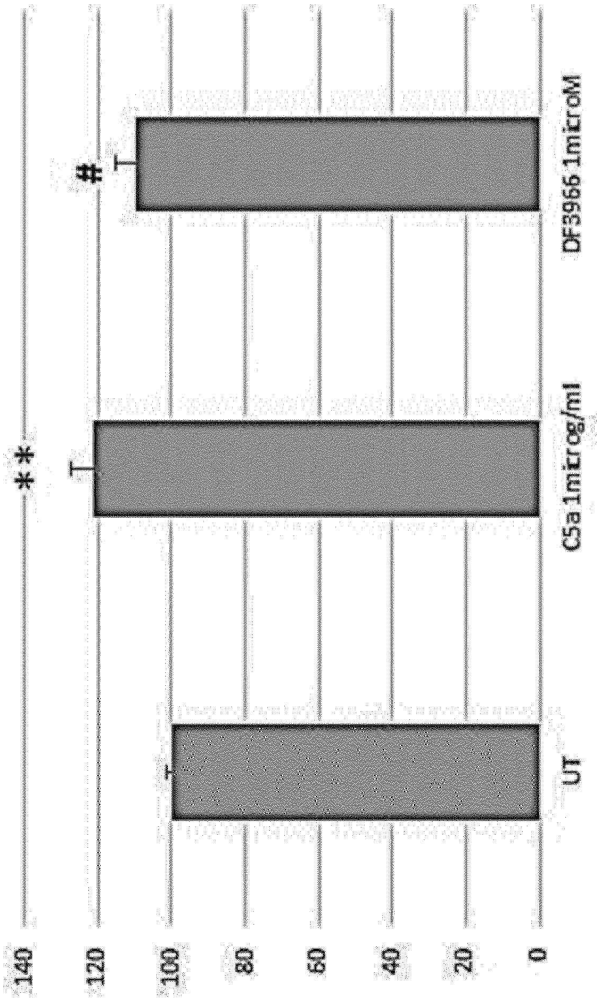
도면5b


C
14일
Naive
DF2593A 100 μg
PCX
PCX/DF 10 μg
PCX/DF 30 μg
PCX/DF 100 μg
기계적 역치의 로그 (mg)
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
B
2
4
6
24
평가 시간 (시간)
D
14일
Naive
DF2593A 100 μg
PCX
PCX/DF 10 μg
PCX/DF 30 μg
PCX/DF 100 μg
냉 반응 (초)
40
30
20
10
B
2
4
6
24
평가 시간 (시간)

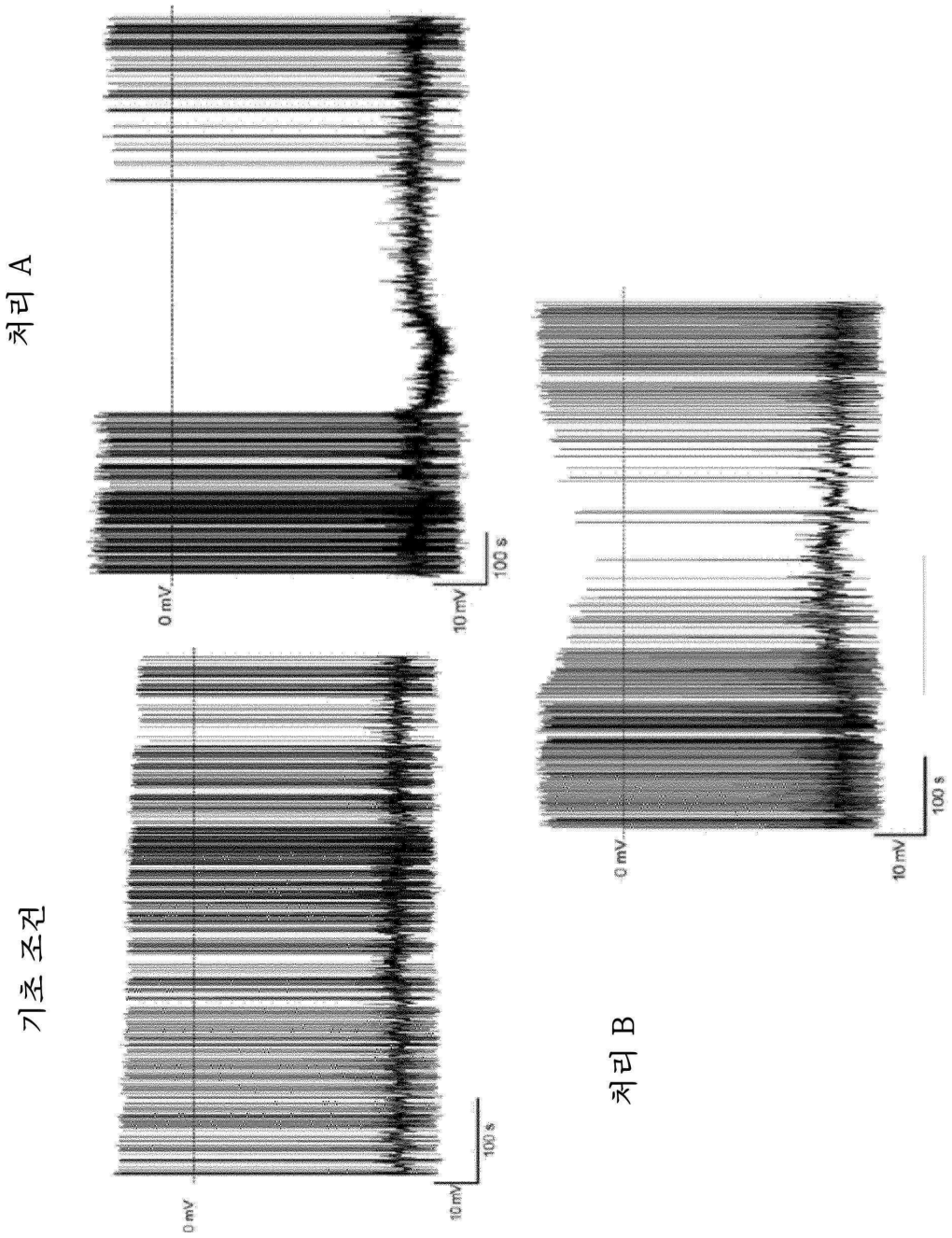
도면6


A
기계적 이질통
SHAM
CTR
DF3966A
발 회피 역치 (g)
일
B
냉 이질통
SHAM
CTR
DF3966A
발 회피의 n°
일

도면7


아세틸화 α-튜불린 (UT의 %)
140
120
100
80
60
40
20
0
UT
C5a 1microg/ml
DF3966 1microM
**
#

도면8



도면9

