

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0027381

(43) 공개일자 2021년03월10일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C07H 15/226 (2006.01) A61K 31/702 (2006.01)

(2006.01) A61K 31/7036 (2006.01) A61K 31/7048

A61K 31/7056 (2006.01) A61P 37/02 (2006.01)

(52) CPC특허분류

C07H 15/226 (2013.01)

A61K 31/702 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2021-7001831

(22) 출원일자(국제) 2019년07월02일

심사청구일자 없음

(85) 번역문제출일자 2021년01월19일

(86) 국제출원번호 PCT/US2019/040313

(87) 국제공개번호 WO 2020/010090

국제공개일자 2020년01월09일

(30) 우선권주장

62/693,023 2018년07월02일 미국(US)

16/460,211 2019년07월02일 미국(US)

(71) 출원인

아유비스 리서치, 인코포레이티드

미국 텍사스주 76104 포트 워스 사우스 프리웨이 1120

(72) 발명자

아차리아 수시스미타

미국 텍사스주 76039 윌리스 그리즐리 런 레인 2302

다스 프라그냐

미국 펜실베이니아주 19018 세케인 #95B 프로비던스 로드 1250

아가월 빔은

미국 펜실베이니아주 19018 세케인 #95B 프로비던스 로드 1250

(74) 대리인

장훈

전체 청구항 수 : 총 41 항

(54) 발명의 명칭 신규 면역조절 소분자

(57) 요약

본 발명은 화학식 I를 갖는 화합물을 포함하는 신규 조성물 및 치료 방법을 포함한다:

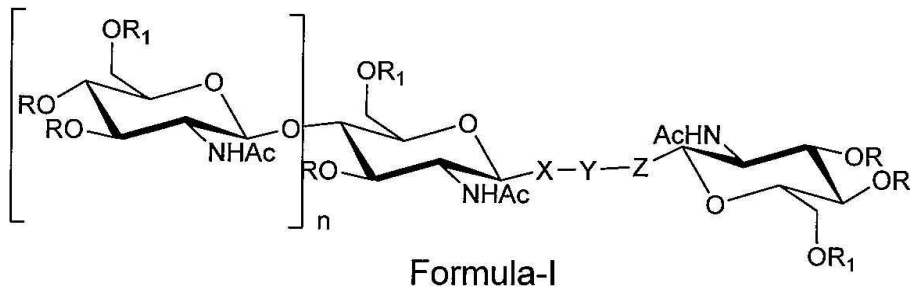
(뒷면에 계속)

대표도 - 도1

화합물 번호	구조	용도 (μM)	대조군 대비 억제 %			대조군 대비 활성화 %		
			TLR4	TLR2	TLR4	TLR2	TLR4	TLR2
1		1-10	+++					
		75-100	+++					
2		1	++	+				
		100	+++	+++				
3		1	++	++				
		100	+++	+++				
6		1	++					
		100	+++					
7		1	+++	++				
		100	+++	+++				
8		1	+++	+				
		100	+++	++	++			
11		1	+					
		100	+					
14		1	+++					
		100	+++					
17		1	++					
		100	+++	++				
23		1	+	+	+	+		
		100	+	+	++			
26		1						
		100						
27		1	+					
		100	++					
28		1	+					
		100		++				
29		1			++			
		100		+	+			
30		1	+		+			
		100						
32		1	+++	+++				
		100	+++	+				
35		1	+++					
		100		++				
38		1		++	+			
		100						
39		1			+			
		100						
40		1			+			
		100						

+ 억제 또는 활성화의 평균치는 15-25% 범위이다
++ 억제 또는 활성화의 평균치는 25-75% 범위이다
+++ 억제 또는 활성화의 평균치는 75-100% 범위이다

화학식 I



상기 식에서, n = 0-5; X = NH, O, S, CH₂; Y = 페닐, 적어도 하나의 메틸로 치환된 페닐 그룹, 적어도 하나의 니트로로 치환된 페닐 그룹, 적어도 하나의 질소로 치환된 페닐 그룹, 적어도 하나의 붕소로 치환된 페닐 그룹, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 4 내지 6원 사이클로알킬, 4 내지 6원 헤테로사이클로알킬; R = H, C(O)R₂, SO₂R₂; R₁ = H, C(O)R₂, SO₂R₂; R₂ = 에틸, 메틸, 이소프로필, n-프로필, t-부틸, n-부틸, NH₂, NR₃R₄; R₃, R₄ = 에틸, 메틸, 이소프로필, n-프로필, t-부틸, n-부틸, 3 내지 6원 사이클로알킬 및 Z = NH, O, S, CH₂, 또는 부재.

(52) CPC특허분류

A61K 31/7034 (2013.01)

A61K 31/7036 (2013.01)

A61K 31/7048 (2013.01)

A61K 31/7056 (2013.01)

A61P 37/02 (2018.01)

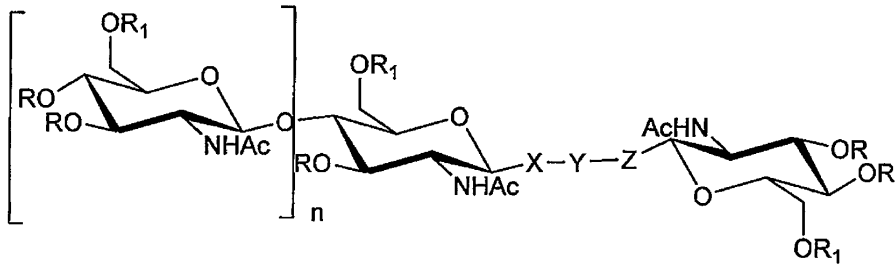
명세서

청구범위

청구항 1

면역 반응을 조절하기 위한 화합물로서, 상기 화합물이 하기 화학식을 갖고, 상기 화합물의 양이 면역 반응을 억제하거나 활성화시키도록 선택되는, 화합물:

화학식 I

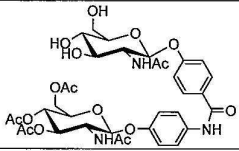
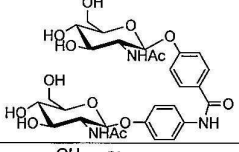
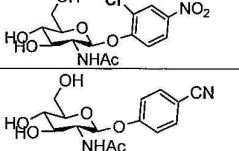
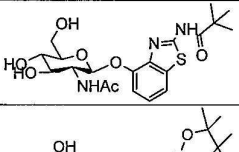
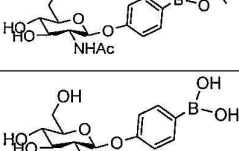
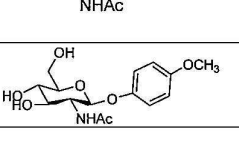
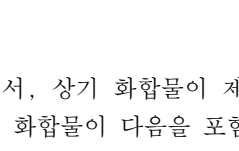


상기 식에서, $n = 0-5$; $X = \text{NH}, \text{O}, \text{S}, \text{CH}_2$; $Y =$ 페닐, 적어도 하나의 메틸로 치환된 페닐 그룹, 적어도 하나의 니트로로 치환된 페닐 그룹, 적어도 하나의 질소로 치환된 페닐 그룹, 적어도 하나의 붕소로 치환된 페닐 그룹, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 4 내지 6원 사이클로알킬, 4 내지 6원 헤테로사이클로알킬; $R = \text{H}, \text{C}(\text{O})\text{R}_2, \text{SO}_2\text{R}_2$; $\text{R}_1 = \text{H}, \text{C}(\text{O})\text{R}_2, \text{SO}_2\text{R}_2$; $\text{R}_2 =$ 에틸, 메틸, 이소프로필, n -프로필, t -부틸, n -부틸, $\text{NH}_2, \text{NR}_3\text{R}_4$; $\text{R}_3, \text{R}_4 =$ 에틸, 메틸, 이소프로필, n -프로필, t -부틸, n -부틸, 3 내지 6원 사이클로알킬 및 $Z = \text{NH}, \text{O}, \text{S}, \text{CH}_2$ 또는 부재.

청구항 2

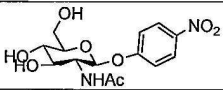
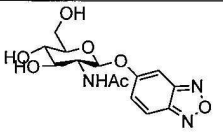
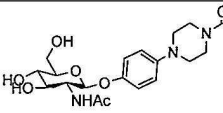
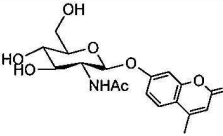
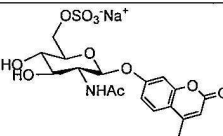
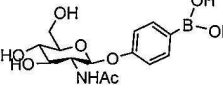
제1항에 있어서, 상기 화합물이 TLR4, TLR2, 또는 TLR2 및 TLR4 수용체 둘다를 억제하고 하기의 화학식 및 농도를 갖는, 화합물:

화합물 번호	구조	농도 (μM)	대조군 대비 % 억제	
			TLR4	TLR2
1		1-10	+++	
		75-100	+++	
2		1-10	++	+
		75-100	+++	+++
3		1-10	++	++
		75-100	+++	+++

6		1-10	++	
		75-100	+++	
7		1-10	+++	++
		75-100	+++	+++
11		1-10	+	
		75-100	+	
14		1	+++	
		100	+++	
23		1-10	+	
		75-100	+	
32		1-10	+++	+++
		75-100	+++	+
35		1-10	+++	
		75-100		
38		1-10		
		75-100		++

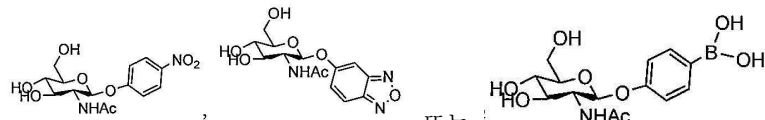
청구항 3

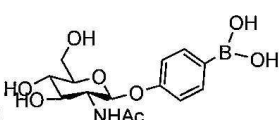
제1항에 있어서, 상기 화합물이 제1 농도에서 면역 반응을 억제하고, 제2 농도에서 면역 반응을 활성화시키고, 여기서, 상기 화합물이 다음을 포함하는 저용량 또는 고용량 조성물로 제형화된, 화합물:

화합물 번호	구조	농도 (μ M)	대조군 대비 % 억제		대조군 대비 % 활성화	
			TLR4	TLR2	TLR4	TLR2
8		1-10	+++	+		
		75-100		++	++	
17		1-10	---	++		
		75-100	----	+++	++	
28		1-10	+			
		75-100			++	
29		1-10				++
		75-100			+	+
30		1-10	+		+	
		75-100				
35		1-10	+++			
		75-100			++	

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 화합물이 화학식

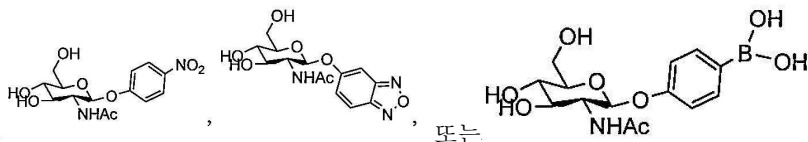


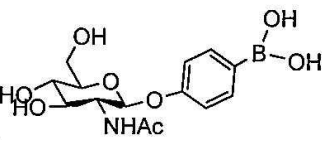
또는  을 갖고, 면역 반응을 억제하기 위해 0.1

내지 50 밀리그램/kg의 저농도에서 조성물로 제형화된, 화합물.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 화합물이 화학식

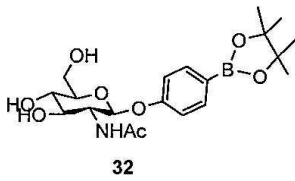
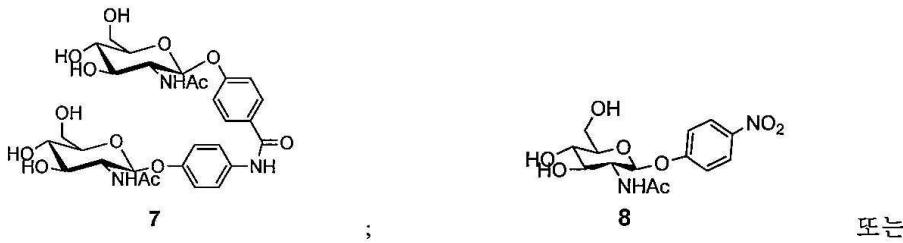
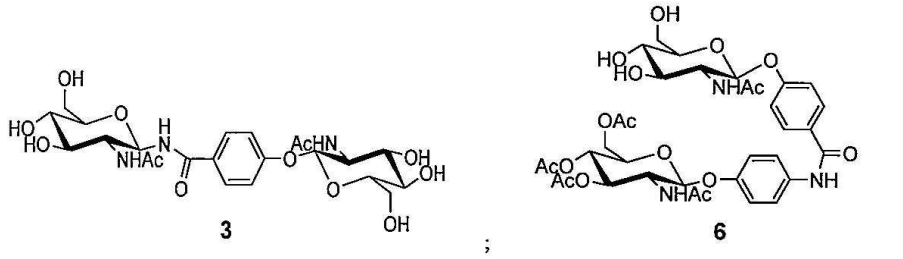
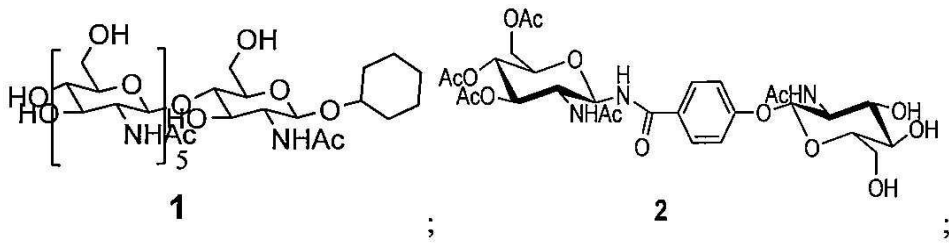


또는  을 갖고, 면역 반응을 활성화하기 위해

50밀리그램/kg 초과와 고농도에서 제형화된 조성물로 제형화된, 화합물.

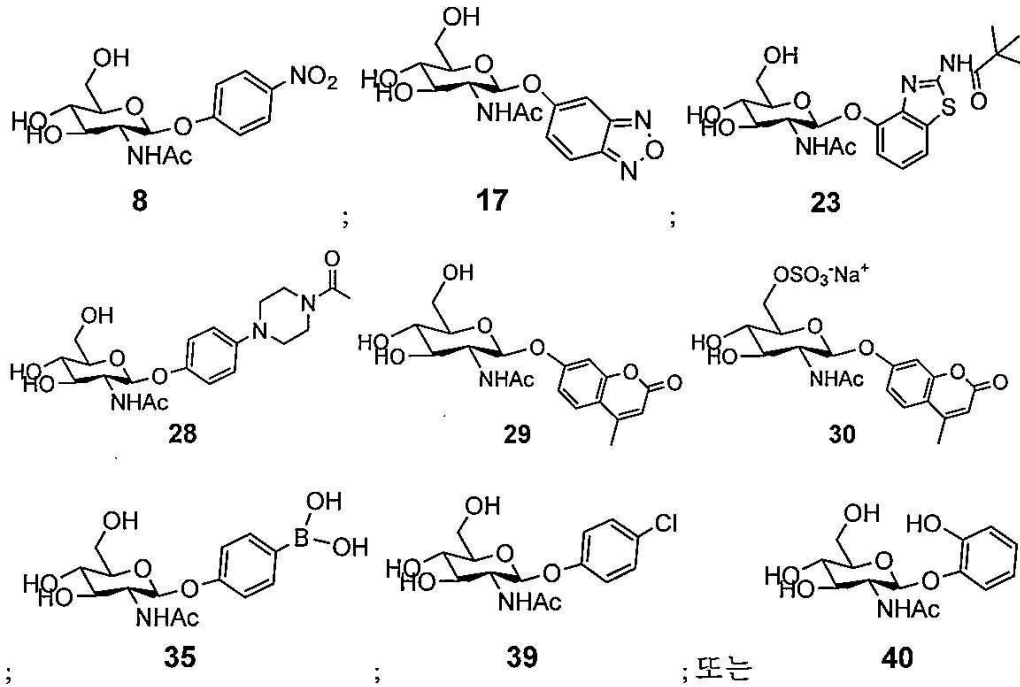
청구항 6

제1항에 있어서, 상기 화합물이 폐 상해, 폐암, 과민성 장 질환, 관절염, 건선, 여드름, BPD, 관절염, 괴사성 장염 또는 패혈증으로부터 선택되는 초염증을 치료하기 위한 조성물로 제형화되고, 면역 반응을 억제하기 위해 저농도로 제공되고, 여기서, 상기 화합물이 하기로 부터 선택되는, 화합물:



청구항 7

제1항에 있어서, 상기 화합물이 백신 보조제, 항미생물제, 항세균제, 항바이러스제 또는 면역 자극제로서 면역 반응을 활성화시키기 위한 조성물로 제형화되고, 여기서, 상기 화합물이 하기로부터 선택되는, 화합물:



청구항 8

제1항에 있어서, 상기 화합물이 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 부형제, 완충제 또는 염을 포함하는 약제학적 조성물로 제형화되는, 조성물.

청구항 9

제1항에 있어서, 상기 화합물이 폐, 폐포, 장, 비강, 정맥내, 국소 또는 경구 투여를 위해 적합한 약제학적 조성물로 제형화된, 조성물.

청구항 10

제1항에 있어서, 상기 화합물이 에어로졸, 분무기 또는 흡입기로 제형화된, 조성물.

청구항 11

제1항에 있어서, 하나 이상의 리포솜, 중합체, 계면활성제, 염 또는 완충제를 추가로 포함하는, 조성물.

청구항 12

제1항에 있어서, 코르티코스테로이드, 기관지확장제, 항콜린제, 혈관확장제, 이뇨제, 항-고혈압제, 아세트아미노이드, 항생제, 항바이러스제, 면역억제 약물 및 계면활성제로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 추가의 치료학적 제제를 추가로 포함하는 조성물.

청구항 13

제1항에 있어서, 상기 화합물이 염증을 경쟁적으로 억제하고 대식세포를 활성화시켜 폐 조직 손상을 보호하거나 폐 조직 상해를 제한하는 양으로 제공되는, 조성물.

청구항 14

제1항에 있어서, 상기 화합물이 TLR4 조절제이고 IL-10을 상향조절하는 양으로 제공되는, 조성물.

청구항 15

제1항에 있어서, 상기 화합물이 TLR2, TLR4, TLR7 및 TLR8 억제제이고 IL-1 β 를 하향조절하는 양으로 제공되는, 조성물.

청구항 16

제1항에 있어서, 상기 화합물이 TLR9 억제제이고 IFN- α 를 하향조절하는, 조성물.

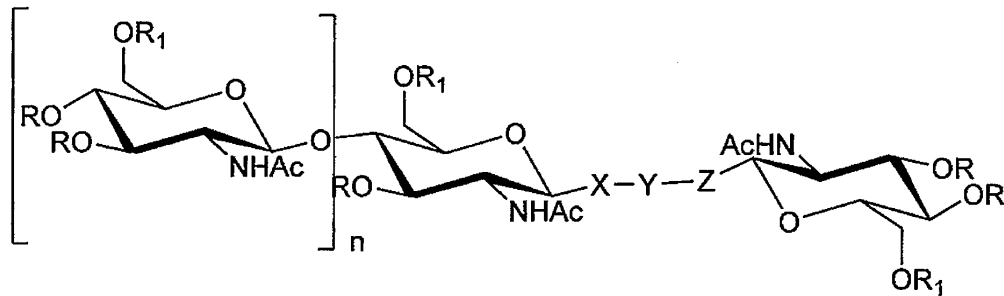
청구항 17

면역조절을 필요로 하는 대상체를 치료하는 방법으로서, 상기 방법이:

면역조절을 필요로 하는 대상체를 동정하는 단계; 및

상기 대상체에게 화학식 (화학식 I)를 갖는 유효량의 화합물을 제공하는 단계를 포함하고, 상기 화합물의 양이 면역반응을 억제하거나 활성화시키기 위해 다양한, 방법:

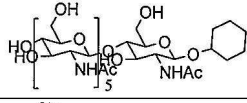
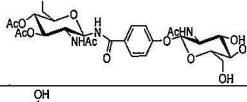
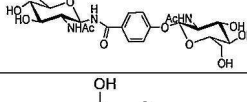
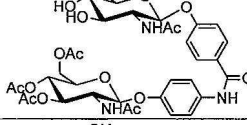
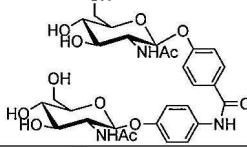
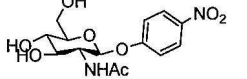
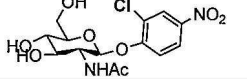
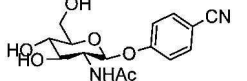
화학식 I

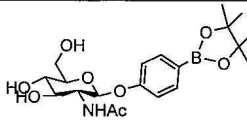
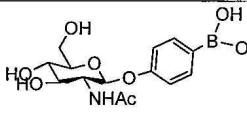
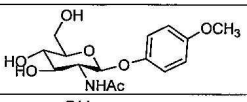
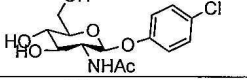
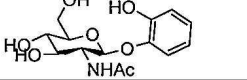


상기 식에서, $n = 0-5$; $X = NH, O, S, CH_2$; $Y =$ 페닐, 적어도 하나의 메틸로 치환된 페닐 그룹, 적어도 하나의 니트로로 치환된 페닐 그룹, 적어도 하나의 질소로 치환된 페닐 그룹, 적어도 하나의 붕소로 치환된 페닐 그룹, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 4 내지 6원 사이클로알킬, 4 내지 6원 헤테로사이클로알킬; $R = H, C(O)R_2, SO_2R_2$; $R_1 = H, C(O)R_2, SO_2R_2$; $R_2 =$ 에틸, 메틸, 이소프로필, n-프로필, t-부틸, n-부틸, NH_2, NR_3R_4 ; $R_3, R_4 =$ 에틸, 메틸, 이소프로필, n-프로필, t-부틸, n-부틸, 3 내지 6원 사이클로알킬 및 $Z = NH, O, S, CH_2$ 또는 부재.

청구항 18

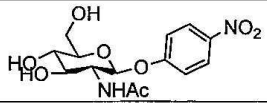
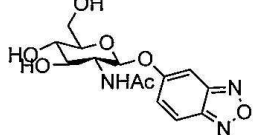
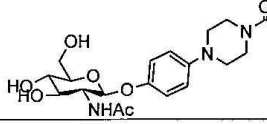
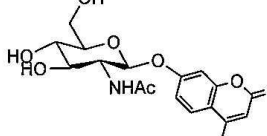
제17항에 있어서, 상기 화합물이 TLR4, TLR2, 또는 TLR2 및 TLR4 수용체 둘다를 억제하고 하기의 화학식 및 농도를 갖는, 방법:

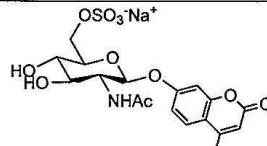
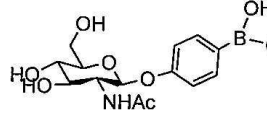
화합물 번호	구조	농도 (μ M)	대조군 대비 % 억제		대조군 대비 % 활성화	
			TLR4	TLR2	TLR4	TLR2
1		1	+++			
		100	+++			
2		1	++	+		
		100	+++	+++		
3		1	++	++		
		100	+++	+++		
6		1	++			
		100	+++			
7		1	+++	++		
		100	+++	+++		
8		1	+++	+		
		100		++	++	
11		1	+			
		100	+			
14		1	+++			
		100	+++			
23		1	+		+	

		100	+		++	
32		1	+++	+++		
		100	+++	+		
35		1	+++			
		100			++	
38		1				
		100		++	+	
39		1				
		100			+	
40		1				
		100			+	

청구항 19

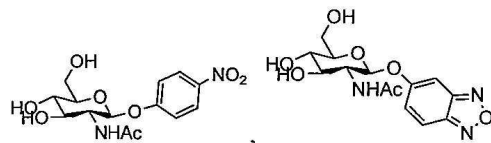
제17항에 있어서, 상기 화합물이 제1 농도에서 면역 반응을 억제하고, 제2 농도에서 면역 반응을 활성화시키고, 상기 조성물이 저용량 또는 고용량으로 제형화된, 방법:

화합물 번호	구조	농도 (μ M)	대조군 대비 % 억제		대조군 대비 % 활성화	
			TLR4	TLR2	TLR4	TLR2
8		1	+++	+		
		100		++	++	
17		1		++		
		100		+++	++	
28		1	+			
		100			++	
29		1				++
		100			+	+

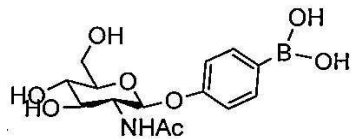
30		1	+		+	
		100				
35		1	+++			
		100			++	

청구항 20

제17항에 있어서, 상기 화합물이 화학식



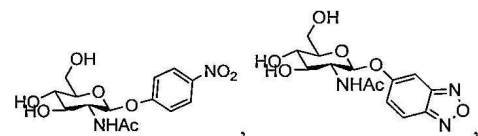
또는



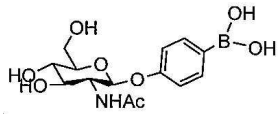
을 갖고, 면역 반응을 억제하기 위해 0.1 내지 50 밀리그램/kg의 저농도로 제형화된 조성물로 제형화된, 방법.

청구항 21

제17항에 있어서, 상기 화합물이 화학식



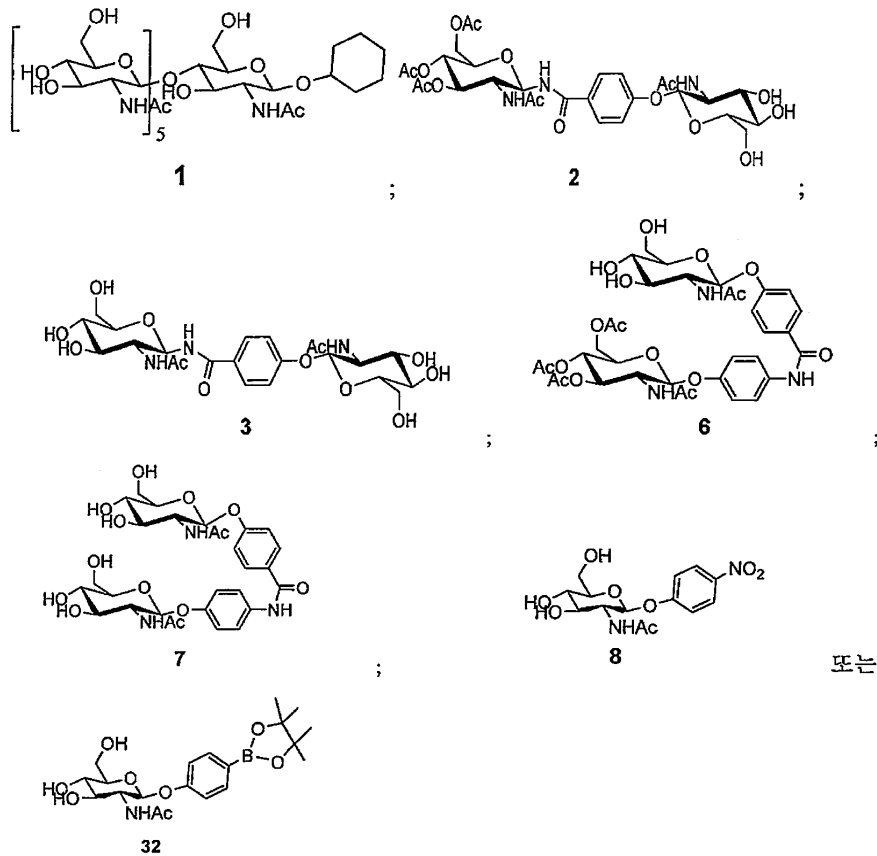
또는



을 갖고, 면역 반응을 활성화하기 위해 50밀리그램/kg 초과와 고농도로 제형화된 조성물로 제형화된, 방법.

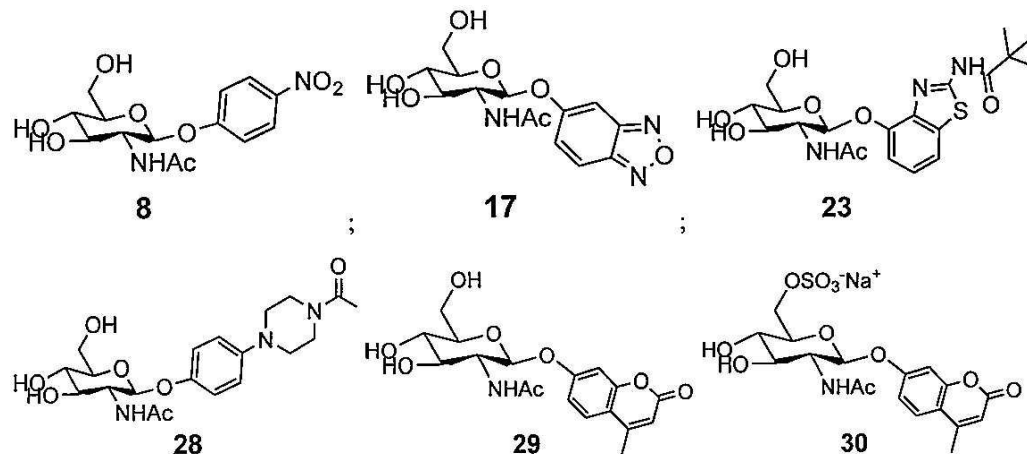
청구항 22

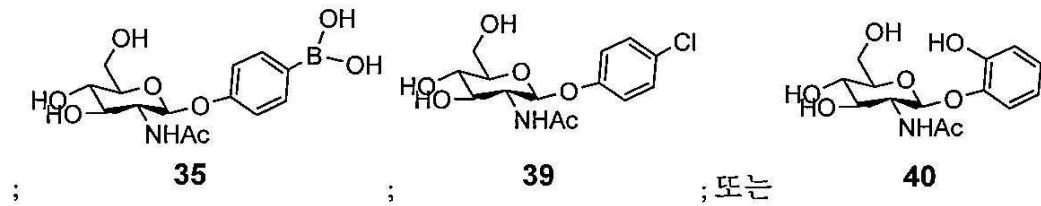
제17항에 있어서, 상기 화합물이 초염증-폐 상해, 과민성 장 질환, 또는 패혈증을 치료하기 위한 조성물로 제형화되고, 면역 반응을 억제하기 위해 저농도로 제공되고, 여기서, 상기 화합물이 하기로부터 선택되는, 방법:



청구항 23

제17항에 있어서, 상기 화합물이 백신 보조제, 항미생물제, 또는 면역 자극제로서 면역 반응을 활성화시키기 위한 조성물로 제형화되고, 여기서, 상기 화합물이 하기로부터 선택되는, 방법:





청구항 24

제17항에 있어서, 상기 화합물이 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 부형제, 완충제 또는 염을 포함하는 약제학적 조성물로 제형화된, 방법.

청구항 25

제17항에 있어서, 상기 화합물이 폐, 폐포, 장, 비경구, 정맥내, 국소 또는 경구 투여를 위해 적합한 약제학적 조성물로 제형화된, 방법.

청구항 26

제17항에 있어서, 상기 화합물이 에어로졸, 분무기 또는 흡입기로 제형화된, 방법.

청구항 27

제17항에 있어서, 하나 이상의 리포솜, 중합체, 계면활성제, 염 또는 완충제를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 28

제17항에 있어서, 코르티코스테로이드, 기관지확장제, 항콜린제, 혈관확장제, 이뇨제, 항-고혈압제, 아세타졸아마이드, 항생제, 항바이러스제, 면역억제 약물 및 계면활성제로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 추가의 치료학적 제제를 추가로 포함하는 방법.

청구항 29

제17항에 있어서, 상기 화합물이 염증을 경쟁적으로 억제하고, 대식세포를 활성화시켜 폐 조직 손상을 보호하거나 폐 조직 상해를 제한하는, 방법.

청구항 30

제17항에 있어서, 상기 대상체가 급성 호흡 곤란 증후군 (ARDS), 성인 호흡 곤란 증후군(ARDS), 산소과다 폐 상해, 또는 기관지폐 이형성증(BPD), 만성 폐쇄성 폐 질환(COPD), 악화된 COPD, 만성 섬유증, 천식, 중증 천식, 악화된 천식, 알레르기 천식, 급성 폐 상해, 특발성 폐 섬유증, 기도 리모델링 또는 폐색성 세기관지염 증후군 (Bronchiolitis obliterans syndrome)으로부터 선택되는 폐 장애를 갖는, 방법.

청구항 31

제17항에 있어서, 상기 화합물이 폐, 폐포, 장, 비경구, 정맥내, 국소 또는 경구 투여를 위해 적합한 약제학적 조성물로 제형화된, 방법.

청구항 32

제17항에 있어서, 상기 화합물이 분무기 또는 흡입기에 의해 투여되거나, 상기 화합물이, 직경이 10마이크로미터 미만인 소적을 포함하는 에어로졸화된 형태로 흡입되고, 상기 소적이 적합한 약리학적으로 허용되는 액체 담체 중에 화합물을 포함하는, 방법.

청구항 33

제17항에 있어서, 상기 대상체가 약 24 내지 약 32주 임신 기간에 출생된 조산아이고, 상기 조산아의 출생시 체중이 약 1500 그램 이하이거나, 상기 조산아의 체중이 약 1000 그램 이하이거나, 상기 적어도 하나의 추가의 제

제 또는 치료요법이 산소 치료요법, 산소 호흡기(ventilator) 치료요법 및 기관지확장제로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 방법.

청구항 34

제17항에 있어서, 코르티코스테로이드, 기관지확장제, 항콜린제, 혈관확장제, 이뇨제, 항-고혈압제, 아세타졸아마이드, 항생제, 면역억제 약물, 계면활성제 및 보충 산소로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 추가의 치료학적 제제를 투여함을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 35

제17항에 있어서, 상기 화합물이 염증을 경쟁적으로 억제하고 폐 조직 손상을 보호하거나 폐 조직 상해를 제한하는, 대식세포 활성화의 대체 경로를 활성화시키기에 충분한 양으로 제공되는, 방법.

청구항 36

제17항에 있어서, 상기 화합물이 TLR4 억제제이고 IL-10을 상향조절하는, 방법.

청구항 37

제17항에 있어서, 상기 화합물이 저농도에서 TLR7/8/9 억제제이고, 고농도에서 TLR7/8 활성화제인, 방법.

청구항 38

제17항에 있어서, 상기 화합물이 TLR6 활성화제인, 방법.

청구항 39

제17항에 있어서, 상기 화합물이 암 세포 증식을 억제하고, 암 세포사를 유도하는, 방법.

청구항 40

제17항에 있어서, 상기 화합물이 혈관형성을 억제하는, 방법.

청구항 41

제17항에 있어서, 상기 화합물이 염증 및 혈관형성을 경쟁적으로 억제하고, 안구 혈관형성 관련 상해로부터 보호하기에 충분한 양으로 제공되는, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원에 대한 상호 참조

[0002] [0001] 본 출원은 2019년 7월 2일자로 출원된 미국 가출원 번호 62/693,023호에 대한 우선권을 주장하며, 이의 전문은 본원에 참조로 인용된다.

[0003] 연방 자금 지원을 받는 연구에 대한 언급

[0004] [0002] 상기 연구는 부분적으로 AyuVis 연구에 부여된 NIH/NIAID 연방정부 승인 1 R43 AI129164-01에 의해 지원받는다.

[0005] 본 발명의 기술분야

[0006] [0003] 본 발명은 일반적으로 신규 면역조절 분자 분야, 및 보다 특히 탄수화물 유래된 톨형 수용체 조절제에 관한 것이다. 하나의 구현예에서, 본 발명은 일반적으로 대상체에서 면역 반응을 자극하거나 조절할 수 있는 화합물에 관한 것이다. 보다 특히, 본 발명은 백신 치료요법에 사용될 소분자와 항원의 신규 조합에 관한 것이다. 하나의 구현예에서, 상기 화합물은 감염성 질환 및 암에 대한 예방학적 및 치료학적 백신을 위한 보조제로서 사용될 수 있다. 또 다른 구현예에서, 이들은 단독으로 또는 기존의 치료요법과 조합하여 암, 감염 질환, 알레르기/천식, 폐 상해, 기관지폐 이형성증에 대한 면역치료제로서 사용될 수 있다. 추가의 구현예에서, 본 발명은 일반적으로 소분자 면역조절제를 동정하는 방법 및 보다 특히 사이토킨, 케모킨 및/또는 성장 인자와 같은 면역

학적 마커의 측정에 의해 면역강화제 및 면역억제제의 검출을 위한 검정에 관한 것이다.

배경 기술

- [0007] [0004] 본 발명의 범위를 제한하는 것 없이, 이의 배경 기술은 염증 및 면역 조절과 연관된 질환과 연계하여 기재된다.
- [0008] [0005] 면역력. 상기 면역계가 외래 항원에 의해 공격을 받는 경우, 이것은 보호 반응을 착수함에 의해 반응한다. 이러한 반응은 선천성 및 후천성 둘다의 면역계의 협력적 상호작용을 특징으로 한다. 별도 및 독립적인 것으로 사료되었던 이들 면역계는 현재 통합되는 경우 2개의 상호 배타적 요건: 속도 (선천성 면역계에 의해 기여되는) 및 특이성 (후천적 면역계에 의해 기여되는)을 충족하는 2개의 상호의존성 부분으로서 인지된다.
- [0009] [0006] 선천성 면역계는 공격하는 병원체에 대한 제1의 방어선으로 작용하여 상기 병원체를 억류시키면서 후천적 반응을 성숙화시킨다. 이것은 항원-의존성 양상으로 감염 수분 이내에 촉발되어 병원체 내 광범위하게 보존된 패턴에 응답한다(그러나 이것은 비-특이적인 것이 아니고 자가와 병원체를 구분할 수 있다). 중요하게, 이것은 또한 염증 및 동시-자극 환경 (때로는 위험 신호로서 언급됨)을 생성하여 후천성 면역계를 강화하고 감염원을 퇴치하는데 가장 적합한 세포성 또는 체액성 반응을 향하도록 조정 (또는 분극화)한다(하기에서 보다 상세하게 논의됨).
- [0010] [0007] 후천성 반응은 수일 또는 수주에 걸쳐 효과적이지만 궁극적으로 병원체의 완전한 제거 및 면역학적 기억의 생성을 위해 요구되는 미세한 항원 특이성을 제공한다. 이것은 주로 생식계열 유전자 재배열을 거치고 섬세한 특이성 및 오래 지속적인 기억을 특징으로 하는 T 및 B 세포에 의해 매개된다. 그러나, 이것은 또한 선천성 면역계의 요소들의 동원을 포함하고, 이는 세균, 바이러스 및 심지어 상대적으로 큰 원생동물 기생충을 포식하는 특수 식세포 (대식세포, 호중구 등) 및 과립구 (호염기구, 호산구 등)를 포함한다. 일단 후천성 면역 반응이 성숙화되면, 병원체에 대한 후속 노출이 이의 신속한 제거를 유발하는데 (일반적으로 감염의 증상이 나타나기 전) 이는 고도로 특이적인 기억 세포가 생성되어 이들의 동족 항원에 후속 노출시 신속하게 활성화되기 때문이다.
- [0011] [0008] 선천성 및 후천성 반응의 상호의존성. 현재 병원체 침입 후 초기 이벤트들은 선천성 면역계의 세포 성분들에 의해 영향받는 것으로 사료된다. 상기 반응은 체류 조직 대식세포 및 수지상 세포 (DC)가 병원체를 접하여 패턴-인지 수용체 (PRP)와 대형 그룹의 미생물에 의해 공유되는 병원체-관련된 분자 패턴 (PAMP) 간의 상호작용에 의해 생성된 신호에 의해 활성화되는 경우 개시된다. 활성화된 대식세포 및 DC는 자극되어, “위험 신호”를 구성하고, 천연 킬러 (NK) 세포, 대식세포, 미성숙 수지상 세포의 조직으로의 유입을 촉발시키는 다양한 사이토킨 (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8, MIP-1 α 및 MIP-1 β 와 같은 사이토킨 및 케모킨을 포함함)을 방출한다.
- [0012] [0009] 항원이 부하되면, 활성화된 DC는 이어서 림프절로 이동한다. 일단 거기에서, 이들은 항원-제공 세포 (APC)로서 작용함에 의해 후천성 반응의 면역 세포 (주로 나이브 B- 및 T-세포)를 활성화시킨다. 이어서 활성화된 세포는 감염 부위로 이동하고 (“위험 신호”에 의해 가이드됨) 일단 거기에서 선천성 면역계의 세포(호산구, 호염기구, 단핵구, NK 세포 및 과립구를 포함함)를 동원함에 의해 반응을 추가로 증폭시킨다. 상기 세포성 트래픽킹(trafficking)은 대형 어레이의 사이토킨 (특히 케모킨 서브그룹의 것들)에 의해 구성되고 많은 상이한 유형 및 조직 공급원의 면역 세포가 관여한다(Luster 2002).
- [0013] [0010] 후천성 면역 반응의 분극화. 후천성 면역 반응은 주로 2개의 독립적 부분: 세포-매개된 (1형) 면역력 및 항체-매개된 및 체액성 (2형) 면역력을 통해 영향받는다.
- [0014] [0011] 1형 면역력은 외래 항원을 함유하는 감염된 세포에 작용하고 감염된 세포에 작용하도록 다른 세포를 자극하는 T-림프구의 활성화를 포함한다. 따라서 이러한 면역계의 분기는 암성이거나 병원체 (특히 바이러스)로 감염된 세포를 효과적으로 함유하거나 사멸시킨다. 2형 면역력은 B-림프구에 의한 외래 항원에 대한 항체의 생성을 포함한다. 면역계의 항체 매개된 분기는 세포의 외래 항원을 공격하고 효과적으로 중화시킨다.
- [0015] [0012] 면역계의 부분 둘다는 질환에 대항하는데 중요하고 면역 반응의 유형이 이의 강도 또는 이의 지속기간 만큼 중요하다는 인식이 증가하고 있다. 더욱이, 1형 및 2형 반응은 필수적으로 상호 배타적이지 않기 때문에 (많은 상황에서 효과적인 면역 반응은 상기 둘다가 병행하여 일어나는 것이 요구된다), 1형/2형 반응 (또한 반응 각각의 조절에 관여하는 특유의 사이토킨 및 이펙터 세포 서브세트와 관련하여 Th1:Th2 반응 비율/균형으로 언급됨-하기 참조)의 균형은 또한 면역 방어의 효과 (및 영향)를 결정하는데 역할을 수행할 수 있다.

- [0016] [0013] 많은 상황에서, 면역 반응은 항원에 노출 직후 1형 또는 2형 반응 쪽으로 크게 전환된다. 상기 1형/2형 전환 또는 분극화의 기전은 아직 완전히 이해되고 있지 않지만 세포-매개된 화학적 메신저 (사이토킨 및 특히 케모킨)의 복합 시스템에 관여하는 것으로 공지되어 있고, 여기서, 상기 1형/2형 분극화 (또는 균형)은 적어도 부분적으로 순수 면역계의 DC 및 대식세포가 처음 자극되는 경우 초기 PRR-PAMP 상호작용 성질에 의해 이어져 나이트 헬퍼 T 세포의 항원 프라이밍이 일어나는 사이토킨 환경에 의해 결정된다.
- [0017] [0014] 특히 2개의 사이토킨은 면역 반응의 경로를 결정하는데 초기 역할을 하는 것으로 보인다. 대식세포에 의해 분비되는 인터류킨-1 (IL-1)은 1형 반응을 감독하는 헬퍼 세포인 Th1 세포의 분화를 자극시킴에 의해 1형 반응을 구동시킨다. 또 다른 대식세포 사이토킨인, 인터류킨-10 (IL-10)은 2형 반응을 구동시키는 것 대신 상기 반응을 억제한다.
- [0018] [0015] 1형 및 2형 반응은 특히 나이트 헬퍼 T 세포의 프라이밍 및 후속적 분극화에 수반되는 특정 표현형 변화를 기초로 구분될 수 있다. 이들 표현형 변화는 적어도 부분적으로 분극화된 헬퍼 T 세포에 의해 분비되는 사이토킨의 특성을 특징으로 한다.
- [0019] [0016] Th1 세포는 소위 Th1 사이토킨을 생성하고, 이는 TNF- α , IL-1, IL-2, IFN- γ , IL-12 및/또는 IL-18 중 하나 이상을 포함한다. Th1 사이토킨은 대식세포 활성화에 관여하고 Th1 세포는 1형 반응을 조율한다. 대조적으로, Th2 세포는 소위 Th2 사이토킨을 생성하고, 이는 IL-4, IL-5, IL-10 및 IL-13 중 하나 이상을 포함한다. Th2 사이토킨은 다양한 항체의 생성을 촉진시키고 1형 반응을 억제할 수 있다.
- [0020] [0017] 1형:2형 면역 반응 분극화에서 Th1 및 Th2 세포 및 사이토킨의 관여는 각각 1형 및 2형 면역 반응을 정의하기 위해 사용되는 소위 Th1 반응 및 Th2 반응을 일으켰다. 따라서 이들 용어는 본원에서 상호교환적으로 사용된다.
- [0021] [0018] 면역 반응의 유형은 이의 강도 또는 이의 지속 기간 만큼 치료요법 및 예방에서 중요하다는 인식이 증가하고 있다. 예를 들어, 과잉의 Th1 반응은 자가면역 질환, 부적당한 염증 반응 및 이식 거부를 유도할 수 있다. 과잉의 Th2 반응은 알레르기 및 천식을 유발할 수 있다. 더욱이, Th1:Th2 비율에서의 섭동은 많은 면역학적 질환 및 장애 증상을 나타내고 Th1:Th2 비율을 변경하기 위한 방법의 개발은 지금 최우선이다.
- [0022] [0019] 백신 보조제. 다르게는 약간 항원성인 특정 항원에 대한 면역 반응은 백신 보조제의 사용을 통해 증진될 수 있다. 상기 보조제는 특정 항원에 대한 면역 반응을 강화시키고 따라서 의학계 내에서 상당한 관심 및 연구 대상이다.
- [0023] [0020] 연구는 이전에 생성되기 불가능가능한 항원성 에피토프를 소유하는 백신의 개발을 가능하게 하였다. 예를 들어, 현재 가용한 백신 후보물은 스트렙토코커스, 고노고칼 및 말라리아 항원을 모방한 합성 펩타이드를 포함한다. 이들 정제된 항원은 그러나 일반적으로 약한 항원이고 보호 면역력을 유발하기 위해서는 보조제를 요구한다. 그러나, 통상적인 백신 보조제는 다수의 결점을 가져 이들의 총괄적 용도 및 효과를 제한한다. 다시 말해서, 이것은 백신용으로는 좋지만 어떠한 다른 용도로는 좋지 않다.
- [0024] [0021] 시험관내 면역 세포를 자극하는 물질은 유사한 생체내 면역자극 효과를 나타낸다. 이들 화합물, 예를 들어, 재조합 사이토킨, 병원체 생성물(예를 들어, 독소, 지질, 단백질/펩타이드, 탄수화물 및 핵산) 및 기타 포유동물-유래된 면역자극 분자(예를 들어, 열 쇼크 단백질, 보체, 면역 복합체 및 프로테오글리칸) 모두는 시험관내 및 생체내 둘다에서 측정가능한 염증 촉진 반응을 유도한다.
- [0025] [0022] 역사적으로, 고전적 보조제는 프룬트 완전 또는 불완전 (즉, 마이코박테리아 부재) 보조제였다. 에드먼드 콜레이 (Edmund Coley)는 암 면역-치료요법을 위한 콜레이의 독소의 잠재력을 기재하였다. 다른 물질, 예를 들어, 미네랄 오일 및 수산화알루미늄은 또한 보조제로서 사용되어 왔지만 이들은 영구적인 단점을 갖고 있다. 예를 들어, 미네랄 오일은 조직 자극을 생성하고 잠재적으로 발암성인 것으로 공지되어 있다. 미국에서 유일하게 승인된 보조제인 알루미늄(Alum)은 접종 부위에 육아종을 유도할 수 있고 세포-매개된 면역력을 효과적으로 유도하지 못한다. 더욱이, 현재 가용한 많은 보조제는 이들이 사람에서 대사될 수 없는 성분들을 함유하고 있기 때문에 제한된 용도를 갖는다. 추가로, 대부분의 보조제는 제조하기 어려운데 이는 이들이 시간 소요 과정 및 일부 경우에 백신 및 보조제 시스템을 제형화하기 위해 정교하고 고가의 장비의 사용을 요구하기 때문이다.
- [0026] [0023] 면역학적 보조제는 문헌(참조: Immunological adjuvants are described in "Current Status of Immunological Adjuvants", Ann. Rev. Immunol., 1986, 4, pp. 369-388, and "Recent Advances in Vaccine Adjuvants and Delivery Systems" by Derek T O'Hagan and Nicholas M. Valiente)에 기재되어 있다. 또한 특히

문헌에 있는 다양한 백신 보조제의 기재에 대해 미국 특허 제4,806,352호; 제5,026,543호; 및 제5,026,546호를 참조한다.

- [0027] [0024] 면역 자극제로서 TLR4 효능제. 세균 감염에 대한 내성을 개선시킬 목적으로 면역조절 전략의 사용은 숙주가 감염성 합병증에 걸리기 쉬운 다양한 임상적 시나리오에서 이로울 수 있다. 이들 중에는 중증의 화상 또는 주요 외상을 갖는 환자들, 주요 수술 과정을 겪은 환자들 또는 암 또는 기관 이식을 위해 면역억제 치료요법을 받은 환자들이 있다. 감염에 대한 숙주 반응을 개선시킬 수 있는 중재의 매력은 세균, 특히 일반적으로 병원 감염을 유발하는 세균 중에서 항생제 내성 발생률이 증가함에 따라 더욱 높아진다.
- [0028] [0025] 면역손상된 환자들은 중추 신경계 (CNS)에서 세균 감염을 발병할 위험이 보다 높다(Safdieh, Mead et al. 2008). 병원체의 목록은 면역적격 숙주에서 낮은 병원성을 갖는 많은 유기체를 포함한다. 더욱이, 병원체의 분포는 면역숙주마다 상이하고 면역 결함 특성에 의존한다. B-림프구 기능이 감소되거나 비장 기능이 상실된 환자들은 캡슐화된 세균에 의해 유발되는 뇌수막염의 위험이 증가하고, 손상된 T-림프구-대식세포 시스템을 갖는 환자들은 세포내 병원체에 의해 유발되는 CNS 감염에 보다 민감할 수 있다. CNS 감염에 증가된 민감성의 하나의 추가의 원인은 아마도 국소 면역 방어의 감소때문이다.
- [0029] [0026] 세균성 리포폴리사카라이드 (LPS; 내독소)는 공지된 면역조절 성질을 갖는 그람-음성 세균 세포 벽의 성분이다(Broad, Jones et al. 2006). LPS는 다양한 백혈구 상에서 발현되고, TRIF- 및 MyD88-의존적 신호전달 경로 둘다를 활성화시키는 톨-형 수용체 4 (TLR4)에 의해 인지된다. TLR4 신호전달의 활성화는 증가된 혈관 투과성, 부종 형성 및 백혈구 동원과 같은 염증의 기본적인 특성을 촉진시키는, 다수의 염증 촉진 매개체, 예를 들어, 사이토킨, 케모킨 및 산화질소의 생성을 유도한다. 흥미롭게도, LPS에 대한 사전 노출은 LPS 또는 세균에 의한 후속적 챌린지가 염증 촉진 매개체의 현저히 감소된 생성을 유도하는 상태를 유도한다(Cavillon, Adrienne et al. 2003). LPS를 사용한 프라이밍에 의해 유발되는 변경된 면역학적 표현형은 역사적으로 내독소 관용성으로서 언급되어 왔다(Cross 2002). 내독소 관용성의 유도는 정상적으로 치사량의 LPS를 사용한 후속적 챌린지와 관련된 이환률 및 사망률 둘다를 감소시키는데 매우 효과적인 것으로 나타났다(Murphey, Fang et al. 2008). LPS 프라이밍은 LPS 또는 세균 챌린지에 반응하는 염증촉진 사이토킨 생성을 약화시키기 때문에, 많은 연구자들은 이전에 LPS 관용성을 면역억제 상태로서 특징화하였다. 그러나, 생 세균 감염에 대한 숙주 반응에 대한 LPS 처리 효과를 조사하는 연구는 거의 없다. 연구들은 LPS로 프라이밍된 마우스가 세균 감염에 대해 개선된 내성을 가짐을 입증하였다(Wy, Goto et al. 2000, Wynn, Scumpia et al. 2008). 그러나, 치료학적 또는 예방학적 제제로서 LPS의 임상적 적용능은 사람에서 독성 및 협소한 치료학적 지수에 의해 배제된다.
- [0030] [0027] 사람에서 백신 보조제로서 사용된 내독소 유도체인, 모노포스포릴 지질 A (MPLA)(Thielen, Van Damme et al. 1998)는 TLR4 효능제이다. MPLA의 전처리는 저체온증을 예방하고, 생존을 개선시키고, 전신 감염을 갖는 마우스에서 세균 소거율을 개선시킨다(Romero, Varma et al. 2011). MPLA의 보호 효과는 TLR4를 통해 매개된다. MPLA를 사용한 감염후 처리는 세균 소거율을 증진시키지만 염증성 사이토킨 생성을 약화시키지 않거나 저체온증을 예방하지 못한다.
- [0031] [0028] 면역 자극제로서 TLR7/8 효능제. 막관통 톨-형 수용체 (TLR)는 상이한 세균 및 바이러스 성분에 특이적인 결합 도메인을 갖는다(Takeda, Kaisho et al. 2003). TLR7/8은 단일 가닥의 바이러스 RNA를 인지한다(Diebold, Kaisho et al. 2004, Heil, Hemmi et al. 2004). 수용체-리간드 쌍의 연결 시, 세포내 신호전달이 개시되고 다운스트림 전사 인자들은 염증 촉진 사이토킨 (TNF, IL-1), I형 인터페론 (IFN α) 및 동시-자극 분자 (CD80, CD86)의 유전자를 활성화시킨다(Lore, Betts et al. 2003, Russo, Cornella-Taracido et al. 2011, Desmet and Ishii 2012). 이들 유전자들의 활성화는 수지상 세포 (DC)의 성숙화를 촉진시켜 항원의 제공 및 계속적인 후천적 면역 반응의 자극을 촉진한다. 생성된 정확한 면역 반응은 정확한 자극 및 수득한 전사 및 세포 변화에 의존한다. CD8⁺ T 림프구에 의해 수행되는 세포-매개된 면역력은 악세서리 Th1 세포 및 사이토킨 IFN α , IL-2 및 IL-12를 통해 가능해진다(Pennock, White et al. 2013). 그러나, 선천적인 경우, IL-1 및 TNF α 와 같은 염증 촉진 사이토킨은 과잉의 국소 및 전신 염증 결과 둘다에서 생성된다. 따라서, 소정의 항원에 대한 면역 반응을 증강시키는 안전한 보조제를 생성하기 위해, 이들 신호의 적당한 조합이 생성되어야만 한다.
- [0032] [0029] R848 및 R837을 포함하는 여러 TLR7/8 효능제는 잠재적 백신 보조제로서 연구되었다. 이들 효능제의 일부는 국소적으로 투여된 제제로서 성공한 것으로 밝혀졌지만 효능적 농도에 도달하기 전에 경구로 또는 정맥내로 투여되는 경우 용량-제한 독성을 입증한다. 상기 프로파일은 현재 TLR7/8 효능제가 전신 백신 보조제로서 비효과적이게 한다(Pockros, Guyader et al. 2007). 이들 제제는 CL075 (TLR7/8 효능제) 보다 강력하고 보다 낮은 염증성 사이토킨 수준을 유도하여 전신 보조제로서 이들의 문제점을 극복하도록 디자인되었다.

- [0033] [0030] 급성 호흡 곤란 증후군(ARDS)은 대량 출혈, 전신 감염, 유해 물질 흡입, 세균 감염, 화상 및 폭발 외상을 포함한 다양한 상해와 관련하여 발생하는 중증 형태의 호흡 부전이고 전체 사망률은 30-40%이다. 200,000명의 개체들이 미국에서 매년 ARDS를 발병하는 것으로 추정된다(Rubenfeld, Caldwell et al. 2005, Villar, Blanco et al. 2016). 군 전투에서 외상-기반 이환률의 주요 합병증 중 하나는 ARDS의 발병이고 이는 선택된 환자 집단의 8 내지 82%에서 발생한다. 이들은 폐 타박상, 중증 외상 (상해 중증도 스코어 > 25), 두부 상해, 주목할만한 수혈 요구 사항, 장골 및 골반 골절과 같은 주요 정형 외과적 상해가 있는 환자를 포함한다. ARDS의 존재는 이환률에서 유의적인 증가, 병원 재원의 증가된 용도 및 사망률에서 최대 4.3 배 증가와 연관된다(Salim, Martin et al. 2006).
- [0034] [0031] 지금까지, ARDS에 대한 어떠한 특이적 치유가 없다. 현재 치료요법은 폐가 완전히 회복 될 때까지 기계식 산소 호흡기를 사용한 지원 케어만을 포함한다. 따라서, 장기 질환에 대한 새로운 치료요법이 절실히 요구되고 있다.
- [0035] [0032] 이러한 또 다른 질환은 기관지폐 이형성증 (BPD)이고, 이는 유아에게 가장 흔한 만성 호흡기 질환이고 조산에 후속적 폐의 발달 프로그램을 방해하는 파괴적인 병태이다. BPD는 유전적 요인과 환경적 요인 (산소과다, 침습성 기계적 산소 호흡기 및 패혈증) 간의 상호 작용에 의해 후속적으로 일어난다.(Bhandari and Bhandari 2009, Bhandari and Bhandari 2011, Jensen and Schmidt 2014). BPD의 정의는 지난 10년 동안 발전해왔지만 현재는 생활 28일 동안 산소 (O₂) 보충에 대한 필요성과 월경 후 36 주에 O₂ 보충 요구 사항에 대한 "생리학적"평가로 정의된다(Bhandari and Bhandari 2011, Trembath and Laughon 2012, Bancalari and Claure 2016). 미국에서는 매년 10,000 ~ 15,000 건의 새로운 BPD 사례가 발생하는 것으로 추정되며, 모든 BPD 사례의 97 %가 출생 체중이 1250g 미만인 유아에서 유의적으로 발생한다(Bhandari and Bhandari 2011). 신생아 산소 호흡 기술의 많은 발전, 계면활성제 및 출산전 코르티코스테로이드의 광범위한 사용 및 적극적 유체 관리가 되었지만, BPD의 발생률은 동일한 (문헌참조: Smith, Zupancic et al. 2005)상태로 있거나 심지어 약간 증가하였다(문헌참조: Bhandari and Bhandari 2011, Trembath and Laughon 2012). BPD의 관리는 건강 서비스에 있어서 상당한 고역이다. 미숙아중에, 유아기 입원으로 인한 단일의 가장 큰 비용의 합병증은 BPD이며 퇴원 당 평균 비용은 \$ 116,000이다(문헌참조: Russell, Green et al. 2007). 또한 BPD는 성인기에 건강에 계속 영향을 미치는 중요한 폐 및 신경 발달 후유증과 관련이 있다(문헌참조: Bhandari and Bhandari 2011, Natarajan, Pappas et al. 2012, Bhandari and McGrath-Morrow 2013, Raju, Buist et al. 2017). 따라서 BPD의 장기적인 결과를 이해하는 것이 중요한데 이는 이들이 조산아의 일생 동안 치료와 비용 및 건강 관리 적용에 중대한 영향을 미칠 가능성이 있기 때문이다.
- [0036] [0033] BPD의 병리학적 특징은 다음을 포함한다: 폐의 손상된 폐포화 및 탈조절된 혈관화에 절정에 달하는 산소과다-유도된 폐 염증(문헌참조: Bhandari 2014, Balany and Bhandari 2015, Harijith and Bhandari 2016), 증가된 세포사 (문헌참조: Li, Choo-Wing et al. 2011, Choo-Wing R 2013, Sureshbabu, Syed et al. 2015, Sureshbabu, Syed et al. 2016), 탈조절된 혈관형성 인자(문헌참조: Bhandari, Choo-Wing et al. 2008, Sun H 2013, Sun H 2013, Syed, Choo-Wing et al. 2016) (문헌참조: Balany and Bhandari 2015). 호흡 곤란 증후군(RDS) 및 산소과다 노출은 BPD의 통상의 선례이다. 미숙아에서 RDS를 치료하기위한 현재의 표준 치료 접근법은 외인성 계면 활성제와 산소 보충이지만 BPD를 예방하거나 치료하는 구체적이고 효과적인 방법은 없다(문헌참조: Bhandari 2014). 국립 아동 건강 및 사람 발달 연구소 / 국립 심장, 폐 및 혈액 연구소 (NICHD / NHLBI)에 따르면 미숙아의 BPD를 표적으로 하는 잠재적 약물의 동정은 "연구 우선 순위"로 분류되었다(문헌참조: McEvoy, Jain et al. 2014). 국가 보건 기관 (National Institutes of Health) (NIH) 워크숍은 BPD에 초점을 맞춘 만성 폐 질환의 1 차 예방에 대해 NIH의 NHLBI의 후원으로 수행되었다(McEvoy, Jain et al. 2014). "1차 BPD 예방 연구를 위한 전망있는 단기적 기회", 구체적으로 "임상 연구 우선 순위 및 BPD 예방을위한 특정 임상 시험"측면에서 카페인과 흡입용 산화 질소 (iNO)라는 두 가지 특정 약물만 거론되었다는 점에서 실망스러웠다(Bhandari 2014).
- [0037] [0034] 항-염증성 사이토킨 IL-10의 활성화를 통한 염증의 감소는 세균 감염, 외상, 산소 및 독성 가스에 대한 과잉 노출의 결과로서 염증 촉진 사이토킨 TNF- α , IL-6, i-NOS 및 ROS의 과다생성을 특징으로 하는 급성 폐 상해 (ALI), ARDS 및 BPD에 치료가 될 것이다. 이들 매개체는 폐, 혈관 누출, 부종 및 혈관확장에서 내피 및 상피 상해를 유도하여 후속적으로 ALI 및 ARDS의 발병을 유발한다(Densmore, Signorino et al. 2006). T-헬퍼 2 세포, B 세포, 단핵구, 대식세포 및 각질세포에 의해 주로 생성되는 IL-10은 염증 촉진 사이토킨의 합성을 감소시키고 염증 반응을 종결시키는 것으로 공지되어 있다(Moore, Rousset et al. 1991). 저수준의 IL-10은 수혈 관련 ALI를 갖는 환자에서 발견된다(Kapur, Kim et al. 2017). 중요하게, IL-10을 사용한 치료는 허혈-재관류, 리포

폴리사카라이드 (LPS)(Bi, Wang et al. 2008), 블레오마이신 및 오존에 의해 유도된 폐 상해를 완화시켰고; 내인성 IL-10의 부재는 카라기난에 의해 유도된 ALI를 증진시켰다. 상기에 추가로, 또한 65% 산소과다 노출 전 재조합 IL-10을 사용한 배양된 태아 래트 폐포 II형 세포의 예비 항온처리가 세포 괴사를 감소시키고 세포 증식을 증가시키는 것으로 보고되었다(Lee and Kim 2011). 본원 발명자(Bhandari 2008), 및 기타 발명자에 의해 보고된 바와 같이(Li, Zhang et al. 2015), 외인성 IL-10 치료는 능히 호중구 동원 및 후속적 사이토킨, NO 및 매트릭스 메탈로프로테이나제의 생성을 조절함에 의해 마우스에서 산소과다 유도된 ALI를 완화시켰다.

[0035] 여드름은 미국에서만 1700만명에게 영향을 미치는 통상의 장애이다. 여드름은 거의 생명에 위협적이지 않지만, 환자의 물리적 및 정신적 복리에 상당한 효과를 가질 수 있는 질환이다. 여드름의 병인은 호르몬, 미생물 및 면역 기전을 포함하는 다인성이다. 여드름의 병인에 기여하는 인자들 중 하나는 여드름을 갖는 환자의 탈피지 유닛에서 상당히 증가될 수 있는 정상 피부 플로라의 프로피오니박테리움 아크네스(*Propionibacterium acnes*)이다(Leyden, McGinley et al. 1975). 피. 아크네스(*P. Acnes*)는 그람-양성 세균이지만 다양하고 약한 그람-양성이다. 이것은 막대 형태이고 약간 구부러져 있기 때문에 디프테리아 또는 코리네형으로 기재된다. 피. 아크네스 세포벽 및 외피의 다수의 특유의 특성은 추가로 이를 다른 그람 양성 세균과 구분되게 한다. 피. 아크네스는 포스포티딜이노시톨을 합성하고 이것은 거의 모든 다른 세균과는 상이한 것이지만 실제로는 모든 진핵세포에 의해 만들어진다. 피. 아크네스의 펩티도글리칸은 대부분의 그람-양성 세균과 구분되고, 이는, L-디아미노피멜산 및 D-알라닌과 함께 펩타이드 쇄의 가교-연결 영역을 함유하고, 여기서, 2개의 글라이신 잔기들은 2개의 L,L-디아미노피멜산 잔기의 아미노 및 카복실 그룹과 조합된다(Kamisango, Saiki et al. 1982).

[0036] 피. 아크네스(*P. Acnes*)는 단핵구가 TNF- α , IL-1 β , 및 IL-8을 포함하는 염증 촉진 사이토킨을 분비하도록 유도함에 의해 여드름의 염증 성질에 기여한다(Vowels, Yang et al. 1995). 특히, 다른 피. 아크네스-유도된 화학주성 인자들과 함께 IL-8은 호중구를 탈피질 유닛으로 유인하는데 중요한 역할을 수행할 수 있다. 추가로, 피. 아크네스(*P. Acnes*)는 리파제, 프로테아제 및 하이알루로니다제를 방출하고 이들은 조직 상해에 기여한다(Hoeffler, Ko et al. 1976, Hoeffler 1977). 이들 이유 때문에, 피. 아크네스는 염증성 여드름에서 치료요법의 주요 표적이 되어왔다.

[0037] 피. 아크네스가 단핵구 사이토킨 방출을 활성화시키는 기전은 공지되어 있지 않지만 선천성 면역계의 패턴 인지 수용체 (PRP)3에 관여하는 것으로 사료된다. 최근에 동정된 톨형 수용체 (TLR)는 PRR의 하나의 예이다. 톨 수용체는 드로소필라에서 처음으로 동정되었고, 포유동물 동족체는 미생물 리간드에 대한 면역 반응을 매개하는 것으로 밝혀졌다(Medzhitov, Preston-Hurlburt et al. 1997, Yang, Mark et al. 1998). TLR은 그람-양성과 그람-음성 유기체를 구분지을 수 있는 것으로 시사되었지만(Underhill, Ozinsky et al. 1999), 그람-음성 세균 기원의 세균 리간드는 TLR2 또는 TLR4를 통해 단핵구를 활성화시킬 수 있는 것으로 동정되었다(Takeuchi, Hoshino et al. 1999).

[0038] 보고된 증거는 피. 아크네스가 TLR-2 의존성 경로를 통해 단핵구에서 염증 사이토킨을 유도함을 시사한다. 여드름 병변에서 TLR-2의 발현은 TLR-2의 활성화가 질환 활성 부위에서 염증에 기여할 수 있음을 지적한다. 따라서, 이들 병태를 치료하는 개선된 조성물 및 방법이 여전히 필요하다.

[0039] 건선. 인터류킨 (IL)-10은 중요한 면역조절 사이토킨이다. 이의 주요 생물학적 기능 중 하나는 염증 반응을 제한하고 종결시키는 것으로 보인다. 주목할만하게, IL-10 발현에서의 상대적 결핍은 1형 사이토킨 패턴을 특징으로 하는 빈번한 염증성 피부 질환인 건선에서 발견된다. IL-10 발현의 유도는 통상적인 항건선 치료요법에 의해 밝혀졌고 이는 IL-10이 건선에서 주요 사이토킨일 수 있고 상기 사이토킨의 적용이 치료학적 효과를 가질 수 있음을 시사한다. 건선이 확립된 환자에서 3 내지 7주 동안의 제1 임상 시험에서, IL-10은 매우 관용성이고 임상적으로 효율적이었다. 차도가 있는 건선을 갖는 환자에서의 장기 시험에서, IL-10 치료요법은 재발의 발생률을 감소시키고 질환 부재 간격을 연장하였다. 실험실 연구는 IL-10이 항원 제공 세포 및 T-세포를 포함하는 상이한 세포 집단에 대한 효과에 의해 이의 항-건선 활성을 발휘함을 시사한다. IL-10은 지속적인 사이토킨 1형/2형 균형 전환을 유도하였다. 그러나 각질세포에 대한 IL-10의 직접적인 효과는 각질세포의 IL-10 무반응이 시험관내에서 밝혀졌기 때문에 임상 반응에 기여할 가능성이 없다. IL-10은 건선에서 매우 중요한 것으로 보인다. (Asadullah, Volk et al. 2002)

[0040] 지금까지, 사이토킨으로서 IL-10은 치료학적으로 재조합 단백질, 즉 대형 분자로서 사용되어왔다. 따라서, 제조 비용이 매우 높고, 주사에 의해 투여되어야 함으로 이는 환자에게 매우 불편하고 중화 항체의 유도로 이들의 효과를 제한할 수 있어 장기 적용은 배제되어야만 한다. 소분자를 사용한 약리학적 중재에 적합한 상기 사이토킨의 효과를 매개하는 분자의 동정은 따라서 관심이 증가하고 있다. 저분자량의 화합물을 사용한 IL-10

사이토킨 생성의 유도는 신규 치료학적 접근법임을 나타낸다.

- [0044] [0041] 관절염. 류마티스 관절염 (RA)은 흔히 관절 파괴를 유도하는 만성 활막염을 특징으로 하는 자가면역 장애이다. 현재, TNF- β , IL-1, GM-CSF, 및 IL-6과 같은 염증 촉진 사이토킨이 모두 RA에서 활막에 의해 생성되는 것으로 밝혀졌고 질환의 병리학에 중요한 관여자인 것으로 고려된다(Di Giovine, Nuki et al. 1988, Hirano, Matsuda et al. 1988, Miyasaka, Sato et al. 1988, Harris 1990).
- [0045] [0042] IL-10에 대한 mRNA 및 단백질 둘다 RA 및 골관절염 (OA) 활막에 존재하고, IL-10은 류마티스 활막의 사이토킨 네트워크에서 중요한 관여자여서 염증 및 능히 T 세포 사이토킨 생성에서 면역조절 역할을 수행한다. 역으로, IL-10 자체는 IL-1 및 TNF- α 에 의해 조절되고, 따라서 IL-10은 류마티스 활막염의 복합 사이토킨 네트워크의 중요한 성분인 것으로 보인다. 최종적으로 외인성 IL-10은 RA 활막 배양에 의해 TNF- α 및 IL-1 β 생성 둘다를 억제하는 것으로 나타났다. 이들 발견은 치료 류마티스 관절염의 치료를 위한 IL-10 상향조절제의 새로운 치료학적 전략의 가능성을 제기한다(Katsikis, Chu et al. 1994).
- [0046] [0043] 폐암. 전 세계적으로 폐암은 남성 및 여성에서 암-관련 사망의 가장 중요한 원인이다. 폐암 사망률은 최근 수십년 동안 증가하였다. 만성 염증 질환, 예를 들어, 만성 폐쇄성 폐 질환 (COPD)은 폐암에 대한 위험 인자로서 동정되었다. TLR4는 또한 암에 대한 면역 반응에 능동적으로 관여하기 때문에, 연구자들은 TLR4가 정상 세포에서 방어적 역할 및 암 세포에서 안좋은 역할 둘다를 발휘함을 추정하였다(Starska, Forma et al. 2012). 그러나, 가용한 증거는 TLR4와 폐암간의 연계성에 대해 여전히 결정적이지 못하다. 마우스에서 기능성 TLR-4 및 돌연변이된 TLR4의 연구는 전자를 갖는 마우스가 적은 폐 모세관 투과, 적은 체중 손실, 백혈구 염증 및 1차 종양 형성을 가짐을 밝혔다. 따라서, 저자 (문헌참조: Bauer et al.)는 TLR4가 종양 진행을 억제함에 의해 폐 발암을 억제하는 것으로 추정하였다.(Bauer, Dixon et al. 2005) 연구자는 TLR4 활성화가 임의의 잠재적 종양 발생 동안에 폐가 염증성이 되지 않도록 보호할 수 있음을 입증하였다.(Bauer, Fostel et al. 2009) 그밖에, 비흡연자와 비교하여 흡연자의 비강 상피에서 보다 낮은 수준의 TLR4가 관찰되었고, 중증 COPD를 갖는 환자에서 크게 감소하였다.(MacRedmond, Greene et al. 2007) 이러한 발견은 기도 염증 및 폐 암 진행에 대한 TLR4의 잠재적 역할을 시사한다. 시험관내 연구는 또한 TLR4가 사람 폐암 세포상에서 일정하게 발현되고 상향조절됨을 밝혔다.(Zhang, He et al. 2009) 하나의 연구에서, TLR4의 수준은 면역억제 사이토킨의 생성, 혈관형성 촉진 케모킨의 생성 및 폐암 세포에 의한 아포토시스에 대한 내성과 유의적 관련이 있었다.(He, Liu et al. 2007) 폐암 진행에서 TLR-9의 보고된 유의성에도 불구하고, (Droemann, Albrecht et al. 2005, Wang, Rayburn et al. 2006, Manegold, Gravenor et al. 2008, Ren, Wen et al. 2008) 폐암 환자에서 종양 분화와 TLR4의 양성 상관관계 (P,0.05)가 보고되었지만, TLR-9는 아니었다.(Zhang, He et al. 2009).
- [0047] [0044] 혈관형성. 증식성 당뇨 망막증 (PDR), 삼출성 노인성 황반 변성 (AMD) 및 미숙아 망막증 (ROP)으로 나타나는 후안방(Posterior segment) 신생혈관성(neovascular) 안 질환은 점차 건강에 심각한 위협이 되고 있어서, 이에 대해 새로운 효과적인 치료요법이 요구되는 실정이다. PDR과 관련된 망막 혈관신생은 생리활동이 가능한 연령의 성인에 있어서 실명의 주된 요인이다. 맥락막 혈관신생 (CNV)은 미국에서 매년 200,000건의 새로운 삼출성 AMD의 원인으로, 제3 세계가 아닌 국가에서 이러한 신생혈관 병증을 법적 시각상실의 주요 요인이 되게 한다. 2020년에 AMD를 갖는 사람들의 예상된 수는 1억 9,600만명이고 2040년에는 2억 8,800만명으로 증가한다[문헌참조: Wong et al, The Lancet Global Health 2014, 2, e106-e116]. ROP와 관련된 병리학적 혈관형성은 7세 미만의 어린이에서 주요 실명의 원인이다[문헌참조: Harrell et al, Neonatal Network 2007, 26, 371-378].
- [0048] [0045] 톨형 수용체 (TLR2/4) 신호전달은 산화된 지질, 지질주입 및 드루젠 성분에 의한 AMD 눈을 포함하는. 망막 질환에서 병리학적 변화와 관련될 수 있다[문헌참조: Cho et al, Investigative Ophthalmology & Visual Science 2009, 50, 5614-5618]. TLR4는 일단 활성화되면 TNF- α , 인터루킨-1 β 및 기타 염증촉진 매개체의 방출과 같은 다수의 기전에 의해 AMD 발병에 일조할 수 있다. TLR4 활성화는 Wnt 신호전달을 억제하여, 성장 인자 발현, 분비의 감소, 및 산화적 스트레스에 대한 광수용체 사멸의 증가를 초래할 뿐만 아니라, 광수용체 외부 세그먼트의 산화적 손상을 유발할 수도 있다. TLR4는 MAPK, NF κ -B 및 Jak1/Stat1을 포함하는 여러 염증 관련된 신호전달 경로에 대해 직접적인 효과를 갖고 카스파제-3, 뉴런 iNOS 및 ERK1/2, JNK1/2 및 p38을 통한 뉴런 독성을 매개하는 것으로 나타났다. 흥미롭게도, 망막 염증에서 내인성 광수용체 단백질에 의한 TLR4-매개된 미세아교세포 활성화는 망막 세포사를 악화시킬 수 있다. 최종적으로, 허혈 신경 조직에서 고-이동성 그룹 박스-1의 방출은 망막 혈관신생에 기여하는 TLR4-의존성 반응을 개시하는 것으로 나타났다[문헌참조: He et al, Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. 2013; 33:330-338].

[0049] [0046] 따라서, 염증 및 특히 건성 및 습성 AMD 발병 모두에 있어서 보다 효과적인 치료에 대한 요구가 대두되고 있다. 본원에 기재된 화합물 및 방법은 따라서, TLR2/4 활성의 억제, ROP, DR, AMD 및 다른 망막 질환에서 치료학적 가치가 있음을 입증하였다. 본 발명의 혁신적인 화합물은 혈관형성, 염증을 상승작용적으로 억제할 수 있고 이들 질환을 치료하기 위한 치료학적 잠재력으로 식세포작용을 가속화시킬 수 있는 소분자이다.

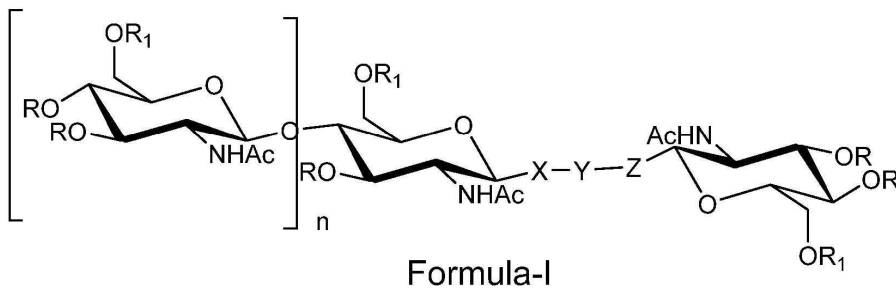
발명의 내용

[0050] 발명의 개요

[0051] [0047] 본 발명의 화합물은 MPLA 및 다른 TLR4 효능제와 비교하여 보다 용이한 합성 경로를 갖는 화학적 구조를 소유한다(Adanitsch, Shi et al. 2018). 본 발명의 화합물은 예상치 않게 TLR4, TLR6, TLR7 및 TLR8 효능제인 것으로 밝혀졌다. 이들은 감염 치료 후 염증성 사이토킨 생성을 감소시킬 뿐만 아니라 세균 및 바이러스 소거를 증진시키고 이는 MPLA에 의해 나타나지 않은 이들 화합물에 의한 Th1 및 Th2 사이토킨 생성에서의 균형을 입증한다. 본 발명의 화합물의 일부의 전처리인 사람 단핵구의 대식세포로의 전환을 자극하였고 세균의 세포내 식세포작용을 증가시킴에 따라서 면역 자극 활성을 소유한다. 본 발명의 화합물의 일부에 대한 후치료는 BPD, ARDS의 마우스 모델에서 염증성 사이토킨을 감소시키고, 조직 상해를 예방함에 따라서 항-염증 활성을 소유한다. 본 발명의 화합물은 예상치 않게 TLR2, TLR4, TLR7, TLR8 및 TLR9 길항제로서 밝혀졌다. 본 발명의 이들 화합물의 일부를 사용한 치료는 폐암 세포 증식을 정지시키고 내피 세포에서 새로운 튜브 형성을 감소시킴에 따라서 각각 항암 및 항-혈관형성 활성을 소유한다.

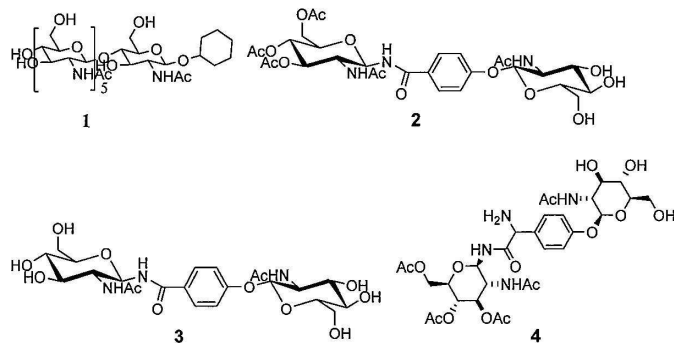
[0052] [0048] 하나의 구현예에서, 본 발명은 화학식 I를 갖는 화합물을 포함한다:

[0053] 화학식 I

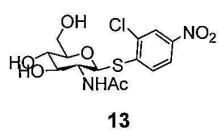
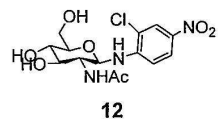
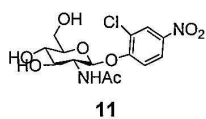
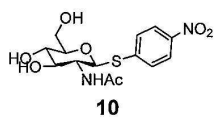
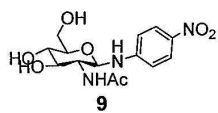
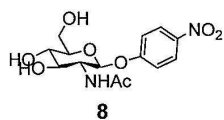
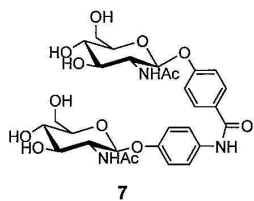
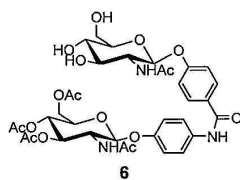
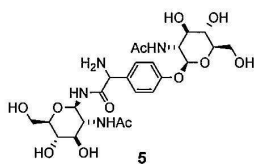


[0054]

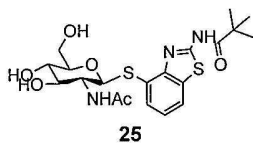
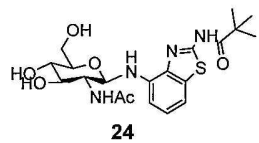
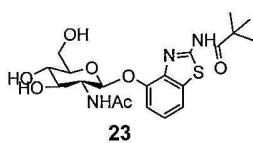
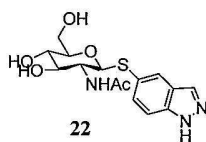
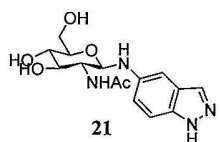
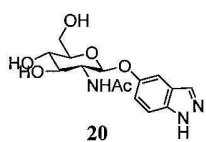
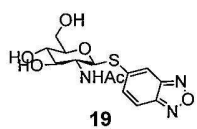
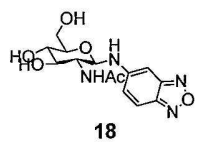
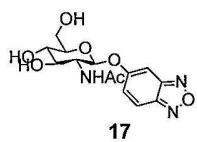
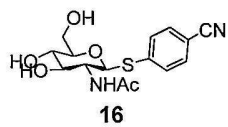
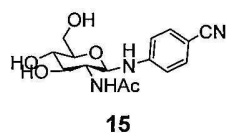
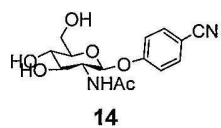
[0055] 상기 식에서, $n = 0-5$; $X = NH, O, S, CH_2$; $Y =$ 페닐 또는 적어도 하나의 메틸로 치환된 페닐 그룹, 적어도 하나의 니트로로 치환된 페닐 그룹, 적어도 하나의 질소로 치환된 페닐 그룹, 적어도 하나의 붕소로 치환된 페닐 그룹, 또는 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 4 내지 6원 사이클로알킬, 4 내지 6원 헤테로사이클로알킬; $R = H, C(O)R_2, SO_2R_2$; $R_1 = H, C(O)R_2, SO_2R_2$; $R_2 =$ 에틸, 메틸, 이소프로필, n-프로필, t-부틸, n-부틸, NH_2, NR_3R_4 ; $R_3, R_4 =$ 에틸, 메틸, 이소프로필, n-프로필, t-부틸, n-부틸, 3 내지 6원 사이클로알킬 및 $Z = NH, O, S, CH_2$, 또는 부재. 하나의 양상에서, 화합물의 양은 면역 반응을 억제하거나 활성화시키기 위해 다양하거나 선택된다. 하나의 양상에서, 상기 화합물은 하기 화학식을 갖는다:



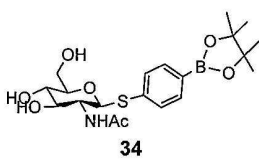
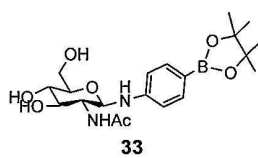
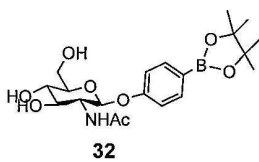
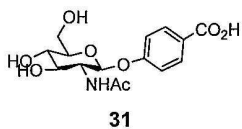
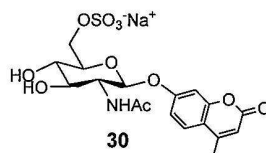
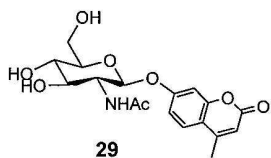
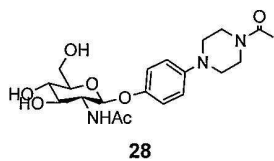
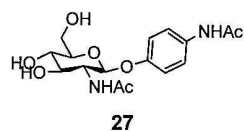
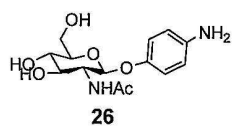
[0056]



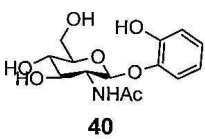
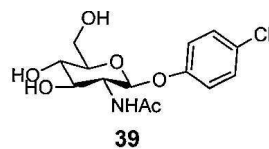
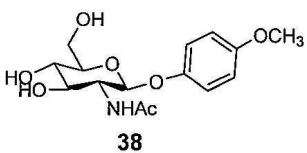
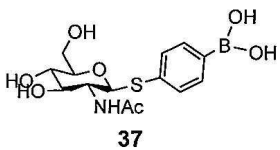
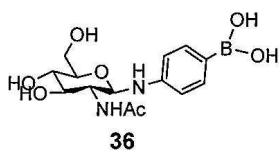
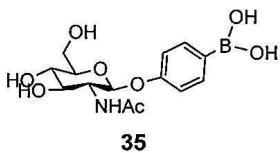
[0057]



[0058]



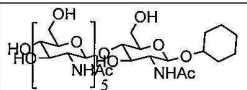
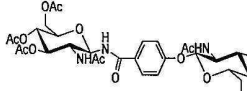
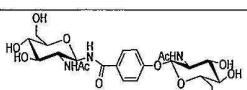
[0059]



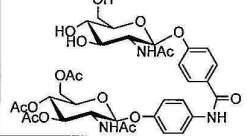
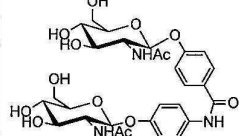
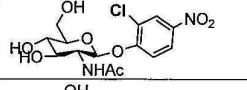
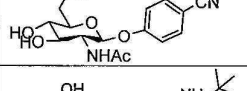
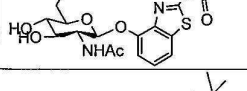
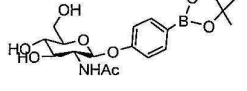
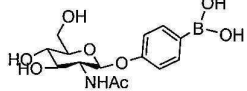
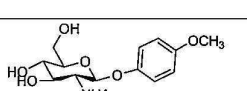
[0060]

[0061]

[0049] 하나의 양상에서, 화합물은 TLR4, TLR2, 또는 TLR2 및 TLR4 수용체 둘다를 억제하고 하기의 화학식 및 농도를 갖는다:

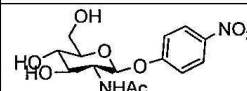
화합물 번호	구조	농도 (μ M)	대조군 대비 % 억제	
			TLR4	TLR2
1		1-10	+++	
		75-100	+++	
2		1-10	++	+
		75-100	+++	+++
3		1-10	++	++
		75-100	+++	+++

[0062]

6		1-10	++	
		75-100	+++	
7		1-10	+++	++
		75-100	+++	+++
11		1-10	+	
		75-100	+	
14		1	+++	
		100	+++	
23		1-10	+	
		75-100	+	
32		1-10	+++	+++
		75-100	+++	+
35		1-10	+++	
		75-100		
38		1-10		
		75-100		++

[0063]

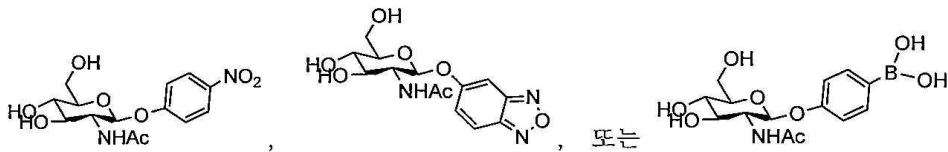
[0064] [0050] 또 다른 양상에서, 상기 화합물은 제1 농도에서 면역 반응을 억제하고 제2 농도에서 면역 반응을 활성화시키고, 여기서, 상기 화합물은 다음을 포함하는 저용량 또는 고용량 조성물로 제형화된다:

화합물 번호	구조	농도 (μ M)	대조군 대비 % 억제		대조군 대비 % 활성화	
			TLR4	TLR2	TLR4	TLR2
8		1-10	+++	+		
		75-100		++	++	

[0065]

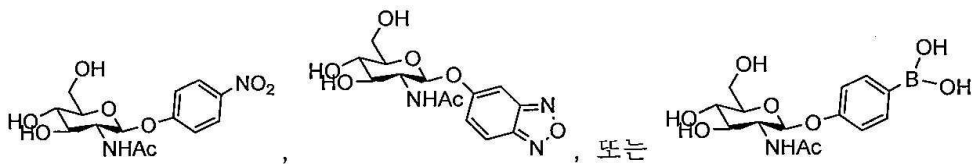
17		1-10	---	++		
		75-100	-----	+++	++	
28		1-10	+			
		75-100			++	
29		1-10				++
		75-100			+	+
30		1-10	+		+	
		75-100				
35		1-10	+++			
		75-100			++	

[0051] 또 다른 양상에서, 상기 화합물은 하기 화학식을 갖고;

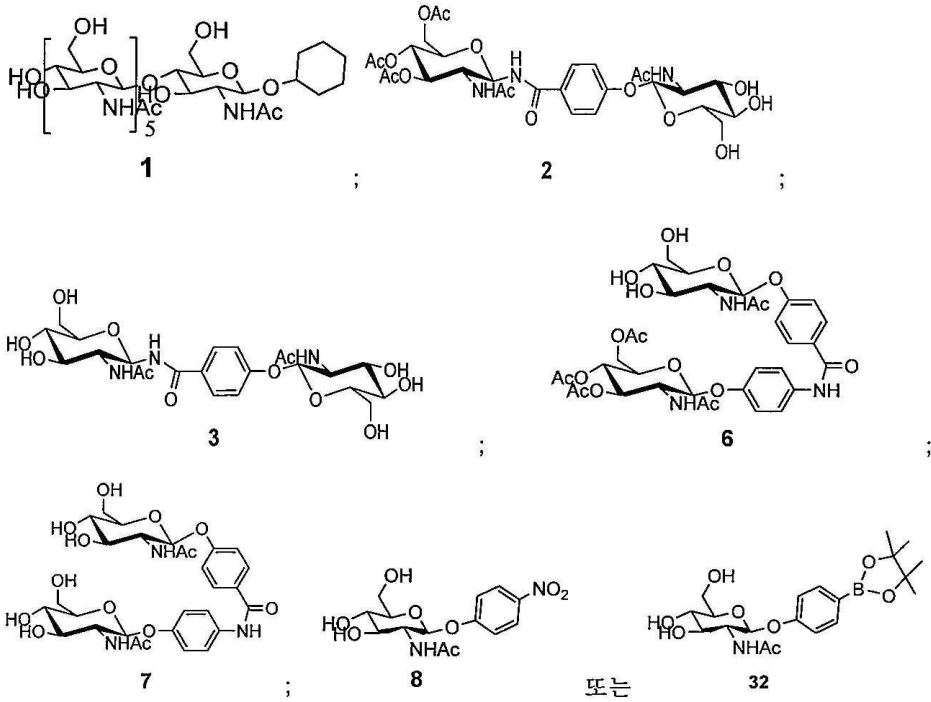


[0052] 면역 반응을 억제하기 위해 0.1 내지 50 밀리그램/kg의 저농도로 조성물로 제형화된다.

[0053] 또 다른 양상에서, 상기 화합물은 하기 화학식을 갖고;



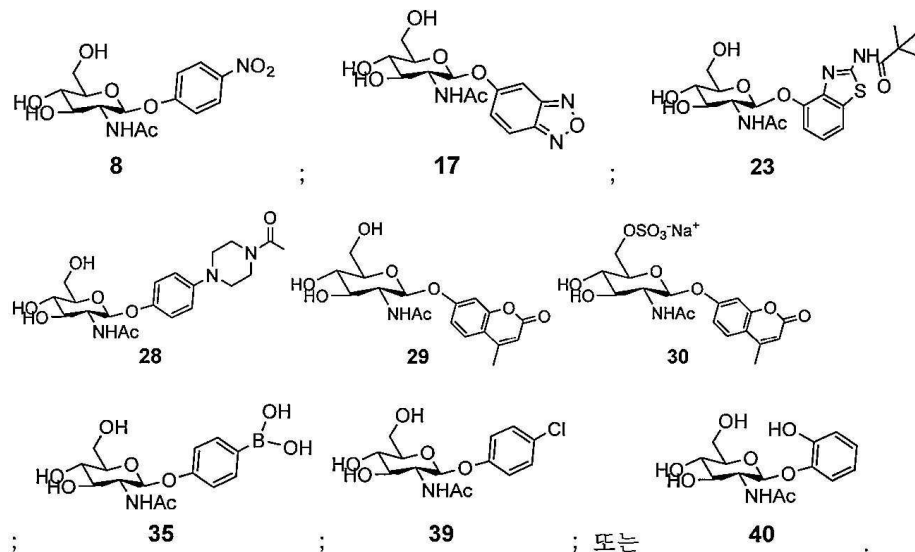
[0054] 면역 반응을 활성화하기 위해 50밀리그램/kg 초과와 고농도로 제형화되는 조성물로 제형화된다. 또 다른 양상에서, 상기 화합물은 폐 상해, 폐암, 과민성 장 질환, 관절염, 건선, 여드름, BPD, 관절염, 괴사성 장염 또는 패혈증으로부터 선택되는 초염증을 치료하기 위한 조성물로 제형화되고 면역 반응을 억제하기 위해 저농도로 제공되고, 여기서, 상기 화합물은 하기로 부터 선택된다:



[0073]

[0074]

[0055] 또 다른 양상에서, 상기 화합물은 백신 보조제, 향미생물제, 항세균제, 항바이러스제 또는 면역 자극제로서 면역 반응을 활성화시키기 위한 조성물로 제형화되고, 여기서, 상기 화합물은 하기로부터 선택된다:



[0075]

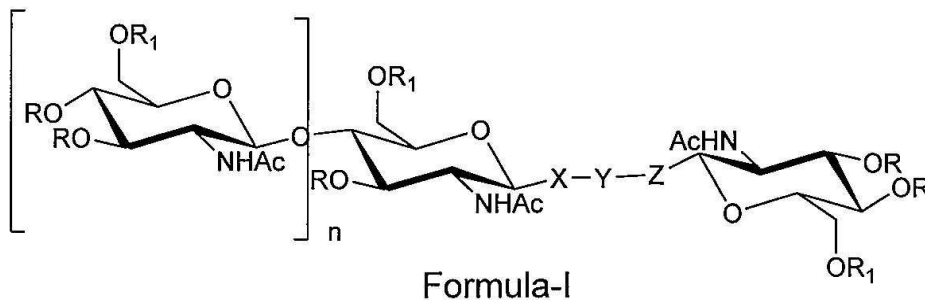
[0076]

[0056] 또 다른 양상에서, 상기 화합물은 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 부형제, 완충제 또는 염을 포함하는 약제학적 조성물로 제형화된다. 또 다른 양상에서, 상기 화합물은 폐, 폐포, 장, 비강, 정맥내, 국소 또는 경구 투여를 위해 적합한 약제학적 조성물로 제형화된다. 또 다른 양상에서, 상기 화합물은 에어로졸, 분무기 또는 흡입기로 제형화된다. 또 다른 양상에서, 상기 화합물은 하나 이상의 리포솜, 중합체, 계면활성제, 염 또는 완충제를 추가로 포함하는 조성물로 사용된다. 또 다른 양상에서, 상기 화합물은 코르티코스테로이드, 기관지확장제, 항콜린제, 혈관확장제, 이뇨제, 항-고혈압제, 아세트아미노이드, 항생제, 항바이러스제, 면역억제 약물 및 계면활성제로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 추가의 치료학적 제제를 추가로 포함하는 조성물로 사용된다. 또 다른 양상에서, 상기 화합물은 염증을 경쟁적으로 억제하고 대식세포를 활성화시켜 폐 조직 손상을 보호하거나 폐 조직 상해를 제한하는 양으로 제공된다. 또 다른 양상에서, 상기 화합물은 TLR4 조절제이고 IL-10을 상향조절하는 양으로 제공된다. 또 다른 양상에서, 상기 화합물은 TLR2, TLR4, TLR7 및 TLR8 억제제이고 IL-1 β 를 하향조절하는 양으로 제공된다. 또 다른 양상에서, 상기 화합물은 TLR9 억제제이고 IFN- α 를 하향조절한다.

[0077] [0057] 또 다른 양상에서, 하나 이상의 화합물들 각각은 TLR4의 활성 부위에 직접 결합할 수 있다. 또 다른 양상에서, 상기 화합물은 TLR2, TLR6, TLR7 및 TLR8에 결합하지만 TLR1 및 TLR5에 결합하지 않는다. 또 다른 양상에서, 상기 화합물은 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 부형제, 완충제 또는 염을 포함하는 약제학적 조성물로 제형화된다. 또 다른 양상에서, 상기 화합물은 폐, 폐포, 장, 비경구, 정맥내, 국소 또는 경구 투여를 위해 적합한 약제학적 조성물로 제형화된다. 또 다른 양상에서, 상기 화합물은 에어로졸화된 형태로 제형화된다. 또 다른 양상에서, 상기 화합물은 분무기 또는 흡입기에 사용하기 위해 적합하다. 또 다른 양상에서, 상기 조성물은 하나 이상의 리포솜, 중합체, 계면활성제, 염 또는 완충제를 추가로 포함한다. 또 다른 양상에서, 상기 조성물은 코르티코스테로이드, 기관지확장제, 항콜린제, 혈관확장제, 이뇨제, 항-고혈압제, 아세타졸아마이드, 항생제, 항바이러스제, 면역억제 약물 및 계면활성제로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 추가의 치료학적 제제를 추가로 포함한다. 또 다른 양상에서, 상기 화합물은 염증을 경쟁적으로 억제하고 폐 조직 손상을 보호하거나 폐 조직 상해를 제한하기 위해 대식세포의 대체 경로를 활성화시킨다. 또 다른 양상에서, 상기 화합물은 폐암 세포를 선택적으로 사멸시키고 정상 폐 상피 세포는 사멸시키지 않는다. 또 다른 양상에서, 상기 화합물은 말초 혈액 단핵구, 사람 태줄 혈관 내피 세포 (HUVEC)에 세포독성이 아니다. 또 다른 양상에서, 상기 화합물은 HUVEC에서 VEGF 유도된 혈관형성을 감소시킨다.

[0078] [0058] 폐 장애를 치료하는 방법은 폐 장애에 대한 치료를 필요로 하는 대상체를 동정하는 단계; 및 상기 대상체에게 하기 화학식 (화학식 I)을 갖는 유효량의 화합물을 제공하는 단계를 포함한다:

[0079] 화학식 I



[0080] ,

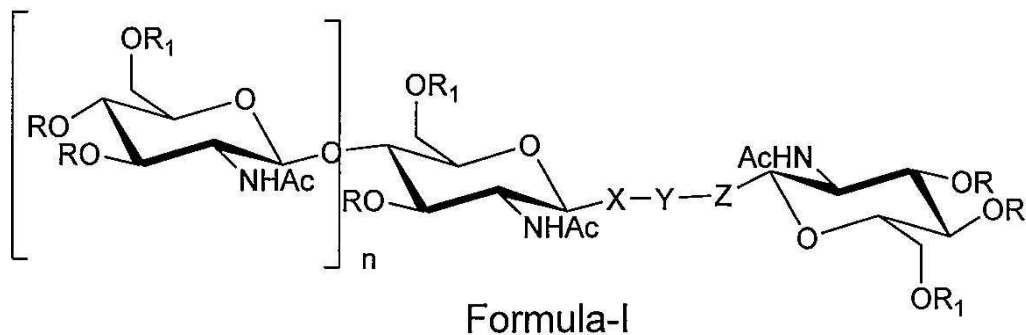
[0081] 상기 식에서, $n = 0-5$; $X = NH, O, S, CH_2$; $Y =$ 페닐 또는 적어도 하나의 메틸로 치환된 페닐 그룹, 적어도 하나의 니트로로 치환된 페닐 그룹, 적어도 하나의 질소로 치환된 페닐 그룹, 적어도 하나의 붕소로 치환된 페닐 그룹, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 4 내지 6원 사이클로알킬, 4 내지 6원 헤테로사이클로알킬; $R = H, C(O)R_2, SO_2R_2$; $R_1 = H, C(O)R_2, SO_2R_2$; $R_2 =$ 에틸, 메틸, 이소프로필, n-프로필, t-부틸, n-부틸, NH_2, NR_3R_4 ; $R_3, R_4 =$ 에틸, 메틸, 이소프로필, n-프로필, t-부틸, n-부틸, 3 내지 6원 사이클로알킬 및 $Z = NH, O, S, CH_2$ 또는 부재. 하나의 양상에서, 제형 또는 조성물 중에 화합물의 양은 면역 반응을 억제하거나 활성화시키기 위해 다양하거나 선택된다.

[0082] [0059] 하나의 양상에서, 상기 화합물은 1 또는 2 또는 3 또는 13이다. 또 다른 양상에서, 대상체는 사람이다. 또 다른 양상에서, 폐 장애는 급성 호흡 곤란 증후군(ARDS), 성인 호흡 곤란 증후군(성인 RDS), 산소과다 폐 상해 또는 기관지폐 이형성증(BPD)이다. 또 다른 양상에서, 폐 장애는 만성 폐쇄성 폐 질환(COPD), 악화된 COPD, 만성 섬유증, 천식, 중증 천식, 악화된 천식, 알레르기 천식, 급성 폐 상해, 특발성 폐 섬유증, 기도 리모델링, 폐색성 세기관지염 증후군(Bronchiolitis obliterans syndrome) 또는 폐암이다. 또 다른 양상에서, 상기 화합물은 폐, 폐포, 장, 비경구, 정맥내, 국소 또는 경구 투여를 위해 적합한 약제학적 조성물로 제형화된다. 또 다른 양상에서, 상기 화합물은 분무기 또는 흡입기에 의해 투여된다. 또 다른 양상에서, 상기 화합물은 에어로졸화된 형태로 흡입된다. 또 다른 양상에서, 상기 화합물은 직경이 10마이크로미터 미만인 소적을 포함하는 에어로졸화된 형태로 흡입되고, 여기서, 상기 소적은 적합한 약리학적으로 허용되는 액체 담체 중에 화합물을 포함한다. 또 다른 양상에서, 상기 화합물은 직경이 10마이크로미터 미만인 입자를 포함하는 분말 형태로 흡입된다. 또 다른 양상에서, 대상체는 임신 약 24 내지 약 32주에 태어난 조산아이다. 또 다른 양상에서, 대상체는 유아이고 출생시 유아의 체중은 약 1500 그램 이하이다. 또 다른 양상에서, 대상체는 유아이고 출생시 유아의 체중은 약 1000 그램 이하이다. 또 다른 양상에서, 대상체는 유아이고 적어도 하나의 추가의 제제 또는 치료요법은 산소 치료요법, 환풍기 치료요법 및 기관지확장제로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 또 다른 양상에서, 상기 방법은 코르티코스테로이드, 기관지확장제, 항콜린제, 혈관확장제, 이뇨제, 항-고혈압제, 아

세타졸아마이드, 항생제, 면역억제 약물, 계면활성제 및 보충적 산소로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 추가의 치료학적 제제를 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 또 다른 양상에서, 상기 화합물은 염증을 경쟁적으로 억제하고 폐 조직 손상을 보호하거나 폐 조직 상해를 제한하는 대식세포 활성화의 대체 경로를 활성화시키기에 충분한 양으로 제공된다. 또 다른 양상에서, 상기 화합물은 TLR4 조절제이고 IL-10을 상향조절한다. 또 다른 양상에서, 상기 화합물은 TLR2, TLR4, TLR7 및 TLR8 억제제이고 IL-1 β 를 하향조절한다. 또 다른 양상에서, 상기 화합물은 TLR9 억제제이고 IFN- α 를 하향조절한다. 또 다른 양상에서, 상기 화합물은 암 세포 증식을 억제하고 암 세포사를 유도한다. 또 다른 양상에서, 상기 화합물은 혈관형성을 억제한다. 또 다른 양상에서, 상기 화합물은 염증 및 혈관형성을 경쟁적으로 억제하고 안 혈관형성 관련 상해로부터 보호하기에 충분한 양으로 제공된다.

[0083] [0060] TLR2, TLR4, TLR7, TLR8 및 TLR9 경로를 억제하고 항-염증 사이토킨 IL-10을 상향조절을 통해 염증을 억제하는 방법은 폐 장애에 대한 치료를 필요로 하는 대상체를 동정하는 단계; 및 상기 대상체에게 하기 화학식 I를 갖는 유효량의 화합물을 제공하는 단계를 포함하고, 여기서, 상기 화합물은 TLR4/TLR2 경로를 억제함을 통해 염증을 억제하고 생체내 항-염증 사이토킨 IL-10을 상향조절한다:

[0084] 화학식 I

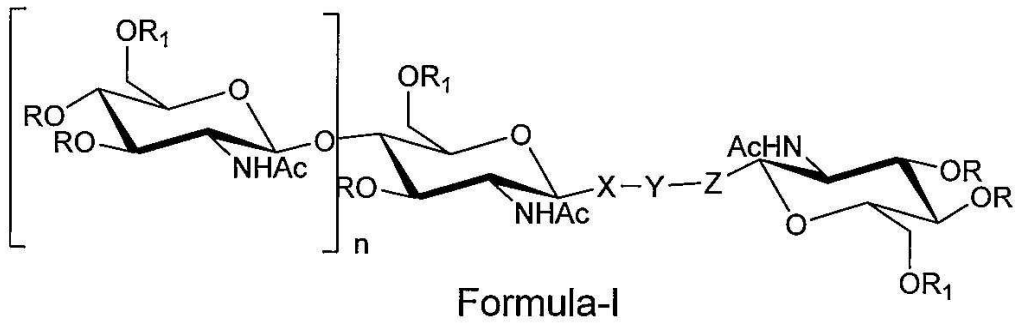


[0085] ,

[0086] 상기 식에서, $n = 0-5$; $X = NH, O, S, CH_2$; $Y =$ 페닐, 적어도 하나의 메틸로 치환된 페닐 그룹, 적어도 하나의 니트로로 치환된 페닐 그룹, 적어도 하나의 질소로 치환된 페닐 그룹, 적어도 하나의 붕소로 치환된 페닐 그룹, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 4 내지 6원 사이클로알킬, 4 내지 6원 헤테로사이클로알킬; $R = H, C(O)R_2, SO_2R_2$; $R_1 = H, C(O)R_2, SO_2R_2$; $R_2 =$ 에틸, 메틸, 이소프로필, n-프로필, t-부틸, n-부틸, NH_2, NR_3R_4 ; $R_3, R_4 =$ 에틸, 메틸, 이소프로필, n-프로필, t-부틸, n-부틸, 3 내지 6원 사이클로알킬 및 $Z = NH, O, S, CH_2$, 또는 부재. 특정 양상에서, 상기 화합물의 양은 본원에서 상기 표에 제시된 바와 같은 면역 반응을 억제하거나 활성화시키도록 선택된 양으로 제형화된다. 하나의 양상에서, 상기 조성물은 생체내 폐 장벽 기능을 개선시킨다. 또 다른 양상에서, 대상체는 임신 약 24 내지 약 32주에 태어난 조산아이다. 또 다른 양상에서, 대상체는 유아이고 출생시 유아의 체중은 약 1500 그램 이하이다. 또 다른 양상에서, 대상체는 유아이고 출생시 유아의 체중은 약 1000 그램 이하이다. 또 다른 양상에서, 대상체는 유아이고 적어도 하나의 추가의 제제 또는 치료요법은 산소 치료요법, 환풍기 치료요법 및 기관지확장제로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 또 다른 양상에서, 상기 화합물은 분무기 또는 흡입기에 의해 투여된다. 또 다른 양상에서, 상기 화합물은 에어로졸화된 형태로 흡입된다. 또 다른 양상에서, 상기 화합물은 직경이 10마이크로미터 미만인 소적을 포함하는 에어로졸화된 형태로 흡입되고, 여기서, 상기 소적은 적합한 약리학적으로 허용되는 액체 담체 중에 화합물을 포함한다. 또 다른 양상에서, 상기 화합물은 직경이 10마이크로미터 미만인 입자를 포함하는 분말 형태로 흡입된다. 또 다른 양상에서, 대상체는 만성 폐쇄성 폐 질환(COPD), 악화된 COPD, 만성 섬유증, 천식, 중증 천식, 악화된 천식, 알레르기 천식, 급성 폐 상해, 특발성 폐 섬유증, 기도 리모델링, 또는 폐색성 세기관지염 증후군으로부터 선택되는 폐 장애를 갖는다. 또 다른 양상에서, 대상체는 폐혈증 또는 급 폐 상해 (ALI)를 갖는다. 또 다른 양상에서, 상기 화합물은 폐, 폐포, 장, 비경구, 정맥내, 국소 또는 경구 투여를 위해 적합한 약제학적 조성물로 제형화된다.

[0087] [0061] 화학식 I를 갖는 화합물:

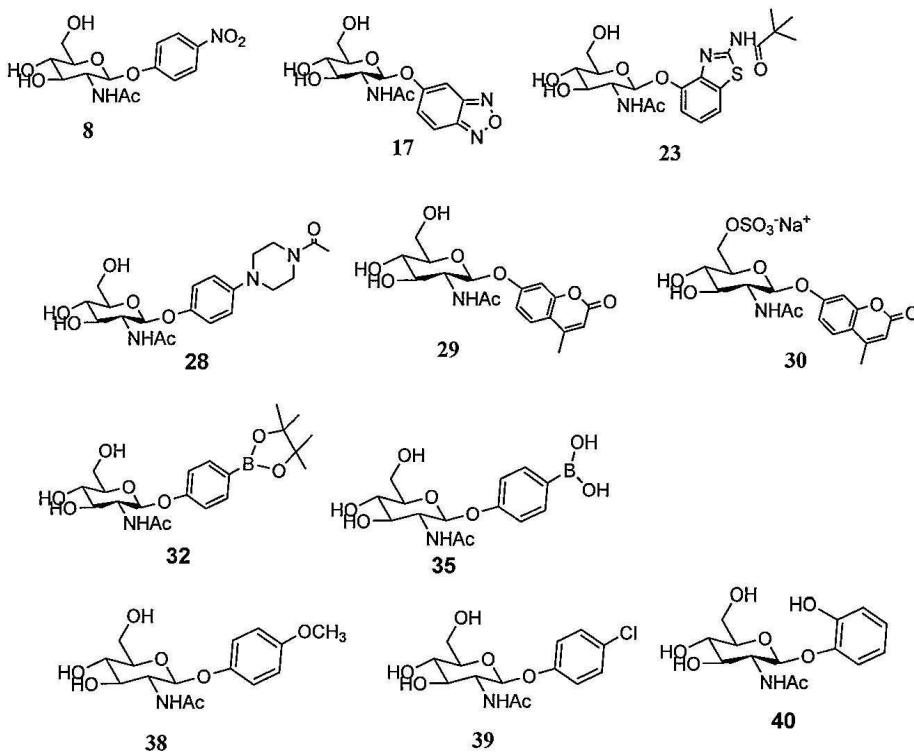
[0088] 화학식 I



[0089]

[0090] 상기 식에서, $n = 0-5$; $X = \text{NH}, \text{O}, \text{S}, \text{CH}_2$; $Y =$ 페닐 또는 적어도 하나의 메틸로 치환된 페닐 그룹, 적어도 하나의 니트로로 치환된 페닐 그룹, 적어도 하나의 질소로 치환된 페닐 그룹, 적어도 하나의 붕소로 치환된 페닐 그룹, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 4 내지 6원 사이클로알킬, 4 내지 6원 헤테로사이클로알킬; $R = \text{H}, \text{C}(\text{O})\text{R}_2, \text{SO}_2\text{R}_2$; $\text{R}_1 = \text{H}, \text{C}(\text{O})\text{R}_2, \text{SO}_2\text{R}_2$; $\text{R}_2 =$ 에틸, 메틸, 이소프로필, n -프로필, t -부틸, n -부틸, $\text{NH}_2, \text{NR}_3\text{R}_4$; $\text{R}_3, \text{R}_4 =$ 에틸, 메틸, 이소프로필, n -프로필, t -부틸, n -부틸, 3 내지 6원 사이클로알킬, $Z =$ 부재.

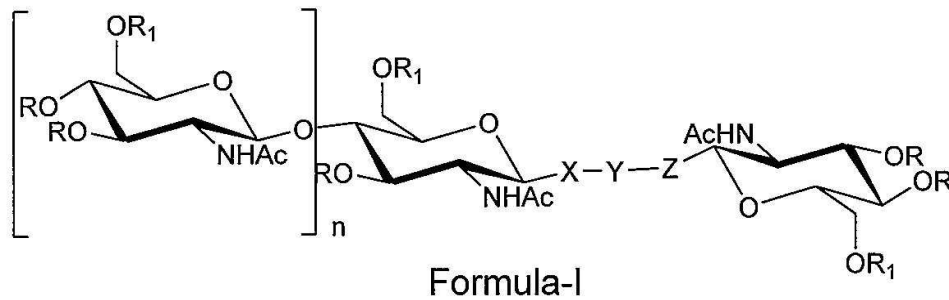
[0091] [0062] 하나의 양상에서, 상기 화합물은 하기로부터 선택된다:



[0092]

[0093] [0063] 또 다른 구현예에서, 본 발명은 TLR4, TLR6, TLR7 및 TLR8을 효능화하거나, 세균의 식세포작용을 증가시키거나 세균 소거를 증진시킴에 의해 Th1 면역 반응을 자극하는 방법을 포함하고, 상기 방법은 Th1 면역 반응을 자극할 필요가 있는 대상체를 동정하는 단계, 세균의 식세포작용을 증가시키거나, 세균 소거를 증진시키는 단계 및 상기 대상체에 하기 화학식 I의 유효량의 화합물을 제공하는 단계를 포함하고, 상기 양은 Th1 면역 반응을 자극하거나, 세균, 바이러스의 식세포작용을 증가시키거나 세균 또는 바이러스 소거를 증진시키기에 충분하다:

[0094] 화학식 I



[0095]

[0096] 상기 식에서, $n = 0-5$; $X = NH, O, S, CH_2$; $Y =$ 페닐, 적어도 하나의 메틸로 치환된 페닐 그룹, 적어도 하나의 니트로로 치환된 페닐 그룹, 적어도 하나의 질소로 치환된 페닐 그룹, 적어도 하나의 붕소로 치환된 페닐 그룹, 아틸, 치환된 아틸, 헤테로아틸, 4 내지 6원 사이클로알킬, 4 내지 6원 헤테로사이클로알킬; $R = H, C(O)R_2, SO_2R_2$; $R_1 = H, C(O)R_2, SO_2R_2$; $R_2 =$ 에틸, 메틸, 이소프로필, n -프로필, t -부틸, n -부틸, NH_2, NR_3R_4 ; $R_3, R_4 =$ 에틸, 메틸, 이소프로필, n -프로필, t -부틸, n -부틸, 3 내지 6원 사이클로알킬, $Z =$ 부재. 하나의 양상에서, 세균 소거는 전신 세균 감염, 패혈증, 폐 감염, 아토피 피부염 또는 피부 상처 감염 중 적어도 하나를 치료하는 것이다. 하나의 양상에서, 바이러스 소거는 전신 바이러스 감염, 패혈증, 폐 바이러스 감염, 아토피 피부염 또는 피부 상처 감염 중 적어도 하나를 치료하는 것이다. 특정 양상에서, 상기 화합물의 양은 본원에서 상기 표에 제시된 바와 같은 면역 반응을 억제하거나 활성화시키도록 선택된 양으로 제형화된다. 또 다른 양상에서, 상기 화합물은 TLR2, TLR4, TLR7 및 TLR8 억제제이고 IL-1 β 를 하향조절한다. 또 다른 양상에서, 상기 화합물은 TLR9 억제제이고 IFN- α 를 하향조절한다. 또 다른 양상에서, 상기 화합물은 암 세포 증식을 억제하고 암 세포 사를 유도한다. 또 다른 양상에서, 상기 화합물은 혈관형성을 억제한다. 또 다른 양상에서, 상기 화합물은 염증 및 혈관형성을 경쟁적으로 억제하고 안 혈관형성 관련 상해로부터 보호하기에 충분한 양으로 제공된다.

도면의 간단한 설명

[0097] [0064] 본 발명의 특성 및 이점을 보다 완전하게 이해하기 위해, 하기의 첨부된 도면과 함께 본 발명의 상세한 설명을 참조한다:

[0065] 도 1은 저농도 및 고농도에서 THP-1 세포에서 TLR2 및 TLR4 억제 및 활성화 활성을 갖는 화합물을 보여주는 표이다.

[0066] 도 2는 TLR4 효능제 활성을 갖는 화합물이 염증성 사이토킨 IL-1 β 를 상향조절하여, 선천성 면역력의 자극을 나타냄을 보여준다.

[0067] 도 3은 TNF- α 상향조절 활성을 갖는 화합물을 보여준다.

[0068] 도 4는 단핵구에서 IL-10 생성 조절을 보여준다.

[0069] 도 5는 화합물 8을 보여주고 이는 TLR4 리간드 LPS에 응답하여 단핵구에서 IL-1 β 생성을 농도 의존성으로 조절한다.

[0070] 도 6은 화합물 8을 보여주고 이는 TLR7/8 리간드 CL075에 응답하여 단핵구에서 IL-1 β 생성을 농도 의존성으로 조절한다.

[0071] 도 7은 화합물 8 및 32를 보여주고 이는 단핵구에서 IL-10 생성을 농도 의존성으로 조절한다.

[0072] 도 8은 화합물 8을 보여주고 이는 TLR4 리간드 LPS에 응답하여 단핵구에서 IL-10 생성을 농도 의존성으로 조절한다.

[0073] 도 9는 화합물 8을 보여주고 이는 TLR6 리간드 Pam₂CSK4에 응답하여 단핵구에서 IL-6 생성을 상향조절한다.

[0074] 도 10은 화합물 8을 보여주고 이는 TLR1/2 리간드 Pam₃CSK4에 응답하여 단핵구에서 IL-6 생성을 농도 의

존성으로 조절한다.

[0075] 도 11은 화합물 **8**을 보여주고 이는 TLR9 리간드 ODN2216에 응답하여 단핵구에서 IFN- α 생성을 하향조절한다.

[0076] 도 12는 사람 말초 혈액 (hPBMC) 단핵구에서 세포 독성이 없는 AVR 화합물을 보여준다.

[0077] 도 13은 사람 1차 폐포 I형 (AT-1) 폐 상피 세포에서 세포독성이 없는 AVR 화합물을 보여준다.

[0078] 도 14는 사람 폐 선암종 A549 세포에서 AVR 화합물의 세포독성 활성을 보여준다.

[0079] 도 15는 사람 태줄 혈관 내피 세포 (HUVEC)에서 세포독성이 없는 AVR 화합물을 보여준다.

[0080] 도 16은 HUVEC에서 폐쇄된 튜브 구조 수에서 VEGF 유도된 증가를 감소시키는 AVR 화합물을 보여준다.

[0081] 도 17은 HUVEC에서 분기된 튜브 구조의 수에서 VEGF 유도된 증가를 감소시키는 AVR 화합물을 보여준다.

[0082] 도 18은 THP-1 세포에서 슈도모나스 아에루기노사(*Pseudomonas aeruginosa*)의 식세포작용을 증가시키는 AVR 화합물을 사용한 치료를 보여준다.

[0083] 도 19는 THP-1 세포에서 슈도모나스 아에루기노사의 세포내 사멸을 증가시키는 화합물 **8**을 사용한 치료를 보여준다.

[0084] 도 20은 그람 양성 및 그람 음성 세균 둘다에 대하여 최소 억제 및 분획 억제 농도의 화합물과 콜리스틴의 상승작용 활성을 보여주는 표이다.

[0085] 도 21은 TLR4 효능제 활성을 갖는 화합물이 마우스 피부 상처 모델에서 슈도모나스 아에루기노사의 CFU 계수를 감소시킴을 보여준다.

[0086] 도 22a, 22b, 22f, 및 22g는 화합물 **1** 및 **8**의 존재 또는 부재하에 처리된 마우스에서 LPS 및 산소과다-유도된 폐 상해의 기관지폐포 세척 (BAL) 유체 중에 총 및 호중구 세포 계수를 보여준다. 도 22c-e, 22h-j는 화합물 **1** 및 **8**의 존재 또는 부재하에 처리된 마우스에서 LPS 및 산소과다-유도된 폐 상해의 BAL 유체 중에서 IL-6, IL-1 β 및 IL-10에 대한 ELISA 검정을 보여준다.

[0087] 도 23a, 23b, 23d, 및 23e는 폐에서 폐 부종 (BAL 유체 중 총 단백질 및 에반스 블루 염료 농도에 의한 측정시)을 보여준다. 도 23c 및 23f는 화합물 **1** 및 **8** 또는 대조군으로 처리된 마우스에서 폐 상해 스코어를 보여준다. 도 22a-j 및 23a-f 둘다에서의 데이터는 평균 $\pm$ SE ($n=6-8$, $*p<0.05$ $**p<0.01$ 및 $***p<0.001$)로서 나타낸다. 통계학적 유의성은 원-웨이 ANOVA에 이어서 터키 사후 분석을 사용하여 평가하였다.

[0088] 도 24는 화합물 **1** 및 **8**이 식염수 용액으로서 제형화되는 경우 돼지 새끼에서 복막내 (IP) 및 정맥내 (IV) 경로 둘다를 통한 투여에 의해 산소 과다 유도된 BPD가 예방됨을 보여준다.

[0089] 도 25a 내지 25c는 실내 공기 (RA), BPD, 및 IP 주사를 통한 화합물 **1** 또는 화합물 **8**을 사용하여 처리된 그룹에서 마우스 폐의 코드 (chord) 길이, 격막 두께 및 방사 폐포 계수에서의 개선을 보여준다. $n = 4-8$, $***p<0.001$, ANOVA.

[0090] 도 26 a-g는 10mg/kg의 화합물 **8**을 사용한 처리가 ELISA를 사용한 염증 사이토킨 및 케모킨 (MIP-2, MCP-1, IL-17, IFN- γ , TNF- α , IL-1 β , 및 IL-6)을 감소시킴을 보여준다. 도 26h는 10mg/kg의 화합물 **8**을 사용한 처리가 ELISA를 사용했을 때, 항-염증성 사이토킨 IL-10을 증가시킴을 보여준다. $n = 4-8$, $***p<0.001$, ANOVA.

[0091] 도 27a-c는 식염수 용액에서 PLGA 캡슐화된 나노현탁제 **3NP**, **8NP** 및 **32 NP**의 느린 약물 방출 프로필을 보여준다.

[0092] 도 28은 나노현탁제 제형 **3NP**, **8NP** 및 **32NP**가 마우스 새끼에서 비강내 흡입 투여 경로를 통한 산소과다 유도된 BPD를 예방함을 보여준다.

[0093] 도 29는 화합물 **32** 및 **35**를 제조하기 위한 합성 도식을 보여준다.

[0094] 도 30은 화합물 **17**을 제조하기 위한 합성 도식을 보여준다.

[0095] 도 31은 화합물 **8**을 제조하기 위한 합성 도식을 보여준다.

[0096] 도 32는 화합물 31을 제조하기 위한 합성 도식을 보여준다.

[0097] 도 33은 화합물 17을 제조하기 위한 합성 도식을 보여준다.

[0098] 도 34는 화합물 2 및 3를 제조하기 위한 합성 도식을 보여준다.

[0099] 도 35는 화합물 6 및 7를 제조하기 위한 합성 도식을 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

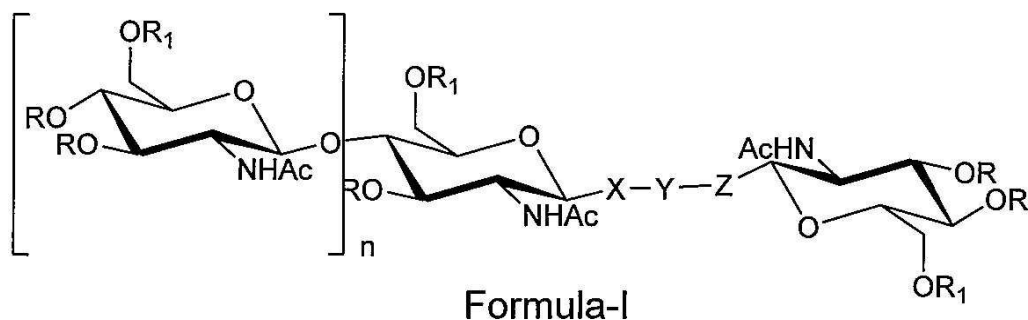
[0100] 본 발명의 다양한 구현예를 만들어 사용하는 것에 대해서 아래에 상세히 설명하지만, 본 발명이 광범위하게 다양한 구체적인 상황에 구현될 수 있는 여러가지로 응용가능한 독창적인 개념을 제공하고 있다는 점을 이해해야 할 것이다. 본원에 거론된 구체적인 구현예들은 본 발명을 만들어 사용하는 구체적인 방법들을 예시하는 것일 뿐이지 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

[0101] 본 발명의 이해를 촉진시키기 위해 다수의 용어가 하기에 정의되어 있다. 본원에 정의된 용어들은 본 발명과 관련된 분야의 기술자에 의해 통상적으로 이해되는 바와 같은 의미를 갖는다. “a”, “an” 및 “the” 와 같은 용어들은 단지 단수의 실체를 언급하는 것으로 의도되지 않지만 설명을 위해 특정 예가 사용될 수 있는 일반적인 부류를 포함한다. 본원에서의 용어는 본 발명의 특정 구현예를 기재하기 위해 사용되지만 이들의 용도는 청구범위에 명시된 것을 제외하고는 본 발명을 제한하지 않는다.

[0102] 본 발명은 신규 화합물 및/또는 상기 화합물의 양을 포함하고, 여기서, 면역 자극 또는 억제 활성을 평가하였다. 추가로, 면역 자극 또는 억제 활성은 또한 구조적으로 구분되는 TLR7/8 효능제/길항제에 대해 평가하였다. 본 발명의 혁신적인 화합물은 TLR 경로를 조절하고, IL-10을 상향조절하고 염증성 사이토킨을 하향조절할 수 있는 소분자이고 BPD, ARDS, ILD, 및 COPD를 치료하기 위한 치료학적 잠재력을 갖는다. 본 발명의 혁신적인 화합물은 TLR2 경로를 억제할 수 있는 소분자이고 건선, 여드름 및 다른 염증성 질환을 치료하기 위한 치료학적 잠재력을 갖는다. 본 발명의 혁신적인 화합물은 IL-10을 상향조절하는 소분자이고 이는 류마티스 관절염(RA) 및 골관절염(OA)을 치료하기 위한 치료학적 잠재력을 갖는다. 본 발명의 혁신적인 화합물은 TLR4 경로를 억제할 수 있는 소분자이고 이는 폐암을 치료하기 위한 잠재력을 갖는다.

[0103] 본 발명은 BPD, ARDS, COPD, 만성 섬유증 및 폐렴에 유용한 폐 내피 장벽 기능을 개선시키면서 폐 염증을 동시에 억제하기 위해 탄수화물 유래된 톨형 수용체 길항제를 사용하는 조성물 및 방법을 포함한다. 하나의 상기 화합물은 하기의 화학식(화학식 I)을 갖는다:

[0102] 화학식 I



[0104] 상기 식에서, $n = 0-5$;

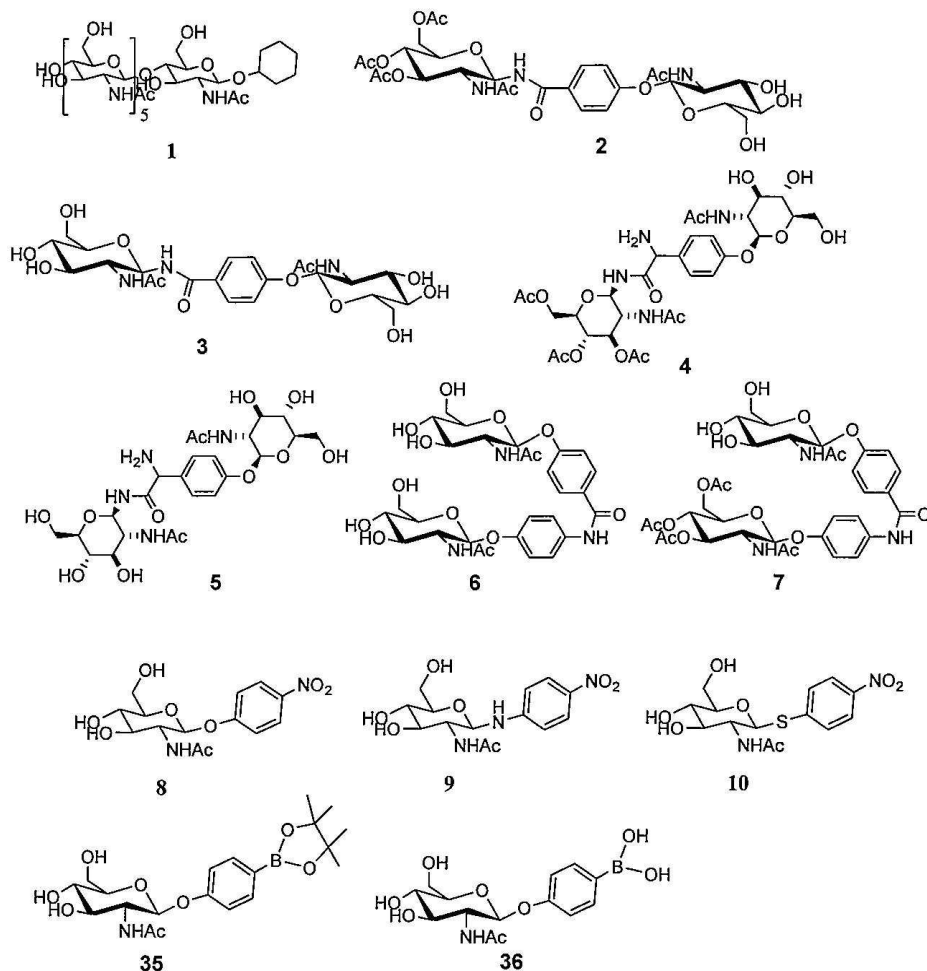
[0105] $X = NH, O, S, CH_2$;

[0106] $Y = 4$ 내지 9 원 사이클로알킬, 적어도 하나의 메틸로 치환된 페닐 그룹, 적어도 하나의 니트로로 치환된 페닐 그룹, 적어도 하나의 질소로 치환된 페닐 그룹, 적어도 하나의 붕소로 치환된 페닐 그룹, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 사이클로알킬;

[0107] $R = H, C(O)R_2, SO_2R_2$;

[0108] $R_1 = H, C(O)R_2, SO_2R_2$; 및

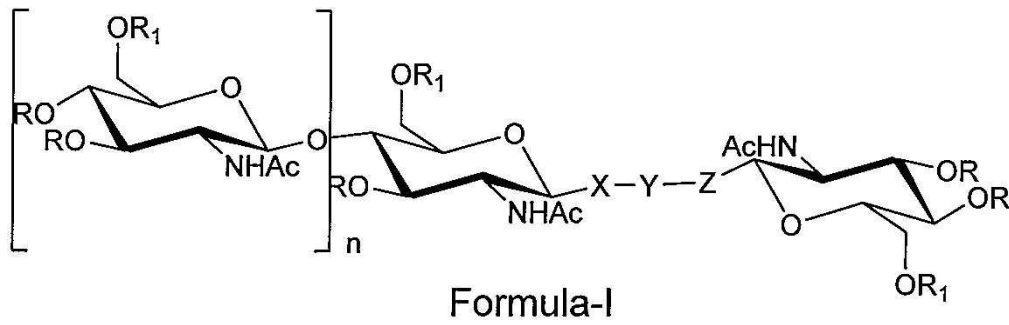
- [0109] R_2 = 알킬, 치환된 알킬, 아릴, 치환된 아릴, NHR_3 ;
- [0110] R_3 = H, 에틸, 메틸, 이소프로필, n-프로필, t-부틸, n-부틸,
- [0111] Z = NH, O, S, CH_2 또는 부재.
- [0112] [0104] 본원 발명자들은 하기의 대표적인 화합물을 제조하였다:



- [0113]
- [0114] [0105] 본 발명의 화합물은 폐 시스템으로의 약물 전달을 위한 저밀도 및 대형 크기의 입자의 전달에서 특정 용도를 발견한다. 생분해성 입자는 본원에 기재된 것들과 같이 화합물의 조절 방출 및 전달을 위해 개발되었다. Langer, R., Science, 249: 1527-1533 (1990).
- [0115] [0106] 기도는 구인두와 후두를 포함한 상부 기도와 이어서 기관을 포함하는 하부 기도를 포함하고, 기관지와 세기관지로의 분기가 이어진다. 상부 및 하부 기도는 전도 기도로 불리운다. 말단 세기관지는 이어서 호흡 세기관지로 나뉘고, 이는 이어서 궁극적인 호흡 영역, 폐포 또는 심폐 (deep lung)로 이어진다. 본 발명은 기도의 임의의 부분으로의 전달을 위해 제형화될 수 있고, 예를 들어, 관련 부분이 본원에 참조로 인용되는 문헌 (Gonda, I. "Aerosols for delivery of therapeutic and diagnostic agents to the respiratory tract," in Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems 6:273-313, 1990)을 참조한다. 하나의 비제한적인 예에서, 심폐 또는 폐포는 본 발명의 전신 약물 전달을 위한 흡입 치료학적 에어로졸의 1차 표적이다.
- [0116] [0107] 흡입된 에어로졸은 천식 및 만성 섬유증을 포함하는 국소 폐 장애의 치료를 위해 사용되어 왔고 본 발명의 화합물의 전신 전달을 위한 잠재력을 갖는다. 폐 약물 전달 전략은 거대입자의 전달을 위해 많은 어려움을 제공하고, 이는 다음을 포함한다: 구강인두 공동에서 흡입 약물의 과잉 손실(흔히 80% 초과), 침적 부위 상에 불량한 제어, 호흡 패턴의 변화로 인한 치료학적 결과의 재현불가능, 흔히 잠재적으로 국소 독성 효과를 유도하는 약물의 매우 신속한 흡수, 및 폐 대식세포에 의한 식세포작용.

- [0117] [0108] 흡입 치료요법의 효율을 개선하기 위한 치료학적 에어로졸 흡입기의 디자인 및 무수 분말 에어로졸 표면 텍스처의 디자인에 상당히 집중되었다. 본원 발명자들은 입자 응집, 입자 응집으로 인한 흡입 치료요법의 효율을 상당히 감소시키는 현상을 회피할 필요성이 효율적이고 일정한 심폐 전달을 위해 요구됨을 인지하였다.
- [0118] [0109] 폐 전달용 제형을 위한 하나의 예에서, 본 발명의 활성 화합물(들)을 함유하는 입자들은 치료학적 제제의 제어 방출을 제공하기 위해 국소 및 전신 흡입 치료요법과 함께 사용될 수 있다. 활성 화합물(들)을 함유하는 입자들은 치료학적 에어로졸로부터의 느린 방출을 가능하게 하고 기도 또는 소포 (acini)에서 투여된 약물의 체류를 연장시키고 혈류에서 약물 출현율을 감소시킨다. 사용 감소와 투여 일관성 증가로 인해 환자 순응도가 증가한다.
- [0119] [0110] 사람 폐는 수분 내지 수시간 범위의 기간 동안 가수분해적으로 절단될 수 있는 침적된 에어로졸을 제거할 수 있거나 신속하게 분해할 수 있다. 상부 기도에서, 섬모 상피는 입자가 기도에서 입으로 휩쓸리는 “점액 섬모 에스컬레이터”에 기여한다. 심폐에서, 폐포 대식세포는 이들의 침적 후 바로 입자를 식세포작용할 수 있는 것으로 널리 공지되어 있다. 본원에 제공된 활성 화합물(들)을 함유하는 입자들은 최소 응집과 함께 국소 또는 전신 전달을 위한 치료제의 단기 및 장기 방출 둘다에 대해 효과적인 무수-분말 흡입 치료요법을 가능하게 한다. 증가된 입자 크기 일관성은 약물이 효과적으로 전달될때까지 폐의 천연 가작에 의한 입자들의 소거를 감소시킬 것으로 예상된다.
- [0120] [0111] 연장된 약물 방출 프로필 나노입자 제형과 함께 PLGA 캡슐화된 나노현탁제. 나노입자 제형은 단일 또는 이중 에멀전 기술을 통해 수행될 수 있다. 예를 들어, 단일 에멀전 기술을 위해, 10mg의 화합물은 100mg의 PLGA를 함유하는 3mL의 클로로포름 중에 용해시켜 오일상을 형성하였다. 상기 용액은 이어서 20mL의 5% PVA 용액(수상)에 적가하고 50W에서 5분 동안 유화시켜 화합물 부하된 나노입자를 형성하였다. 상기 최종 에멀전은 밤새 교반하여 용매가 증발되도록 하였다. 나노입자를 세척하고 초원심분리에 의해 수거하고 사용전에 동결건조시켰다.
- [0121] [0112] 예를 들어, 이중 에멀전 기술을 사용하여, 30 mg의 폴리(D,L-락티드-코-글리콜리드) (PLGA)를 4° C에서 1mL의 클로로포름에 용해시켰다. 동시에, 2 mL의 2% w/v 폴리(비닐 알콜) (PVA) /증류된 탈이온수 용액을 형성하였다. 물 중에 PVA의 용해 시, 1 mL의 에탄올 또는 메탄올은 비용매로서 PVA 용액에 첨가하였다. 활성 화합물은 이어서 1mM의 농도로 PVA/에탄올 용액에 첨가하고 교반하였다. 활성제의 스톱 용액, 예를 들어, 10 mg/mL을 예를 들어, 0.5M NaOH를 사용하여 알칼리 조건하에서 커쿠민을 물에 용해시켜 형성한다. 활성제는 수성 용적의 150 마이크로리터 당 0.5, 1.0, 및 2.0 mg/mL의 농도로 PLGA/클로로포름 용액에 첨가하였다. 1차 에멀전의 형성은 20초 동안 활성제-PLGA/클로로포름 용액을 볼텍싱하고 이어서 Branson Sonifier 모델 W-350 (Branson, Danbury, Cn)상에서 1분동안 55W에서 팁 초음파처리하여 수행한다. 1차 에멀전은 이어서 BS3/PVA/에탄올 용액에 첨가하여 2차 에멀전의 형성을 개시한다. 2차 에멀전의 완성은 20초 동안 볼텍싱하고 55W에서 2분동안 팁 초음파처리하여 수행한다. 스테빌 활성화된 나노입자는 이어서 1.5mL 에펜도르프 튜브에 분취하고 18,000g에서 5분 동안 원심분리하였다. 클로로포름 및 잔류 PVA 상등액은 흡인 제거하고 입자는 예를 들어, 1mL의 포스페이트 완충 식염수 (PBS) pH 7.2에서 팁 초음파처리함에 의해 재현탁시켰다. 재현탁 후, 나노입자는 1시간동안 -80° C에 위치시키고 밤새 동결건조하였다. 동결건조는 250 μT의 진공하에 ATR FD 3.0 시스템 (ATR Inc, St. Louis, MO) 중에서 수행될 수 있다. 동결건조 후, 나노입자는 4° C에서 저장하였다. 사용시 나노입자는 에펜도르프 튜브에 칭량하여 첨가하고 1mL의 PBS pH 7.4에 재현탁시켰다.
- [0122] [0113] 본 발명은 탄수화물 유래된 틀형 수용체 2 및 4 (TLR2/4) 길항제를 사용하여 여드름 및 관련 세균 감염에 유용한 피부 염증을 억제하는 조성물 및 방법을 포함한다. 본 발명으로 치료될 수 있는 염증 병태의 예는 패혈증, 강직성 척추염, 건선, 건선 관절염, 베체트 질환(Behcet's disease), 관절염, 염증성 장 질환(IBD), 및/또는 알레르기를 포함한다. 이들 질환의 일부는 “사이토킨 스톱”과 연관되고, 본원에 교시된 양으로 제공된 조성물로 치료될 수 있다. 상기 화합물은 하기 화학식 (화학식 I)을 갖는다:

[0123] 화학식 I



[0124]

[0125] 상기 식에서, $n = 0-5$;

[0126] $X = \text{NH}, \text{O}, \text{S}$;

[0127] $Y =$ 적어도 하나의 메틸로 치환된 페닐 그룹, 적어도 하나의 니트로로 치환된 페닐 그룹, 적어도 하나의 질소로 치환된 페닐 그룹, 적어도 하나의 붕소로 치환된 페닐 그룹, 페닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 사이클로알킬;

[0128] $R = \text{H}, \text{C}(\text{O})\text{R}_2, \text{SO}_2\text{R}_2$;

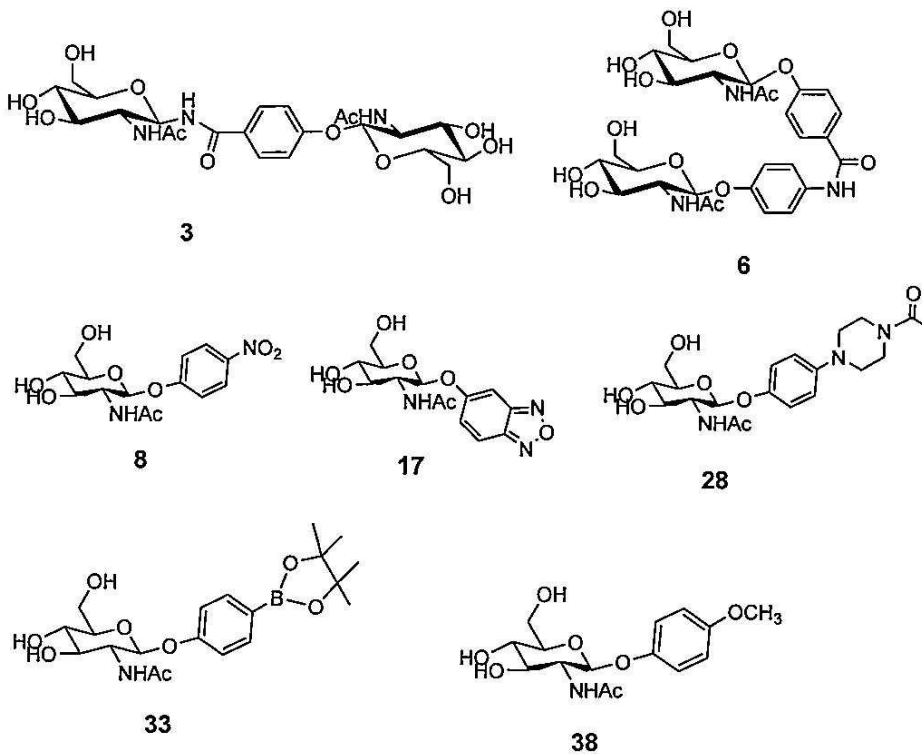
[0129] $\text{R}_1 = \text{H}, \text{C}(\text{O})\text{R}_2, \text{SO}_2\text{R}_2$; 및

[0130] $\text{R}_2 =$ 알킬, 치환된 알킬, 아릴, 치환된 아릴, NHR_3 ;

[0131] $\text{R}_3 = \text{H},$ 에틸, 메틸, 이소프로필, n -프로필, t -부틸, n -부틸;

[0132] $Z = \text{NH}, \text{O}, \text{S}, \text{CH}_2,$ 또는 부재.

[0133] [0114] 본원 발명자들은 하기의 대표적인 화합물을 제조하였다:

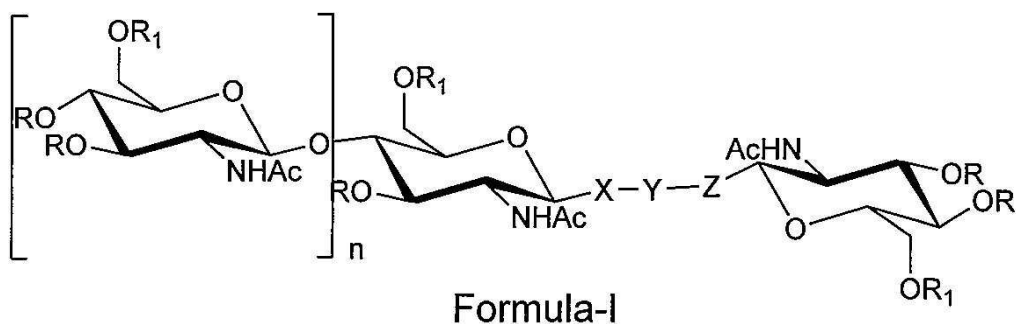


[0134]

[0135] [0115] 본 발명은 Th1 면역 반응을 자극하거나, 세균의 식세포작용을 증가시키거나, 전신 세균 감염, 패혈증, 폐 감염, 아토피 피부염 및 피부 상처 감염에 유용한 세균 소거를 증진시키는 탄수화물 유래된 톨형 수용체 효

능제를 사용하는 조성물 및 방법을 포함한다. 하나의 상기 화합물은 하기의 화학식 I를 갖는다:

화학식 I



상기 식에서, $n = 0-5$;

$$X = \text{NH}, \text{O}, \text{S};$$

Y = 적어도 하나의 메틸로 치환된 페닐 그룹, 적어도 하나의 니트로로 치환된 페닐 그룹, 적어도 하나의 질소로 치환된 페닐 그룹, 적어도 하나의 붕소로 치환된 페닐 그룹, 페닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 사이클로알킬;

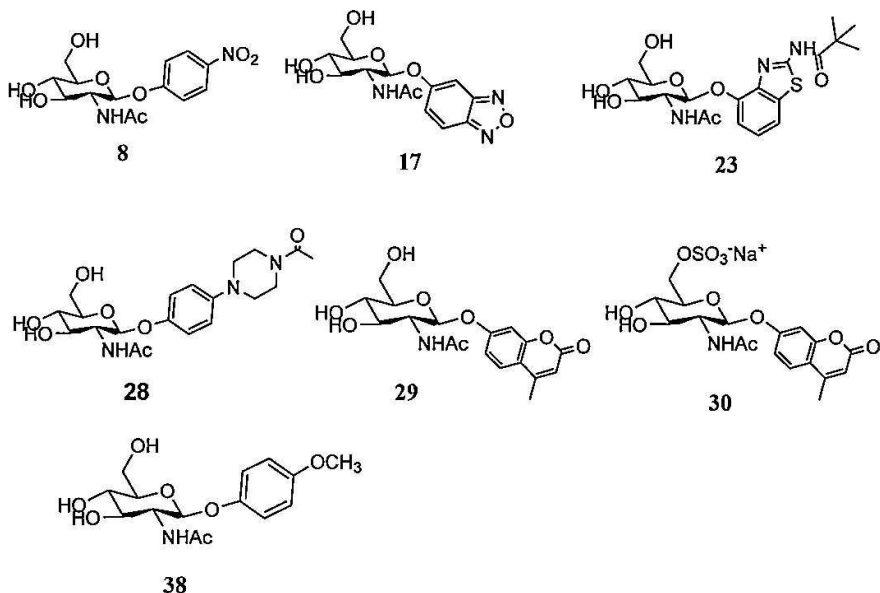
$$R = H, C(O)R_2, SO_2R_2;$$
$$R_1 = H, C(O)R_2, SO_2R_2; \text{ 및}$$

R₂ = 알킬, 치환된 알킬, 아릴, 치환된 아릴, NHR₃;

R₃ = H, 에틸, 메틸, 이소프로필, n-프로필, t-부틸, n-부틸;

 $Z = \text{부재.}$

[0116] 본원 발명자들은 하기의 대표적인 화합물을 제조하였다:



[0117] 일부 구현예에서, 본 발명의 화합물은 비경구 제제 내에 포함된다. 본원에 사용된 "비경구"라는 용어는 다양한 기법과 함께 피하, 정맥내, 근육내 및 동맥내 주사를 포함한다. 본원에 사용된 동맥내 및 정맥내 주사는 카테터를 통한 투여를 포함한다. 특정 징후들에 있어서는 치료될 조직 또는 장기에 대하여 신속한 접촉을 허용하는 투여 방법이 바람직하데, 예컨대 내독소혈증 또는 패혈증의 치료를 위해서는 정맥 주사가 바람직하다.

[0118] 본원 개시내용의 화합물은 표적 세포의 TLR의 적합한 억제 또는 활성화를 제공하는 용량으로 투여되고;

일반적으로, 이들 용량은, 바람직하게는 0.25-50 mg/환자, 또는 1.0-100 mg/환자 또는 5.0-1000 mg/환자 또는 100-500 mg/환자, 보다 바람직하게는, 0.25-50 mg/환자 및 가장 바람직하게는, 1.0-100 mg/환자이다. 투여는 바람직하게는 28일 동안 하루에 한번, 보다 바람직하게는 14일 동안 하루에 두번 또는 가장 바람직하게는 7일 동안 하루에 3번이다.

- [0150] [0119] 활성 성분을 함유하는 약제학적 조성물은 의도한 투여 방법에 적절한 임의의 형태일 수 있다. 본 발명을 사용하여 유용한 투여 형태를 제조하기 위한 기술 및 조성물은 하기의 문헌 중 하나 이상에 기재되어 있다: Anderson, Philip O.; Knoben, James E.; Troutman, William G, eds., Handbook of Clinical Drug Data, Tenth Edition, McGraw-Hill, 2002; Pratt and Taylor, eds., Principles of Drug Action, Third Edition, Churchill Livingstone, New York, 1990; Katzung, ed., Basic and Clinical Pharmacology, Ninth Edition, McGraw Hill, 2007; Goodman and Gilman, eds., The Pharmacological Basis of Therapeutics, Tenth Edition, McGraw Hill, 2001; Remington's Pharmaceutical Sciences, 20th Ed., Lippincott Williams & Wilkins., 2000, and updates thereto; Martindale, The Extra Pharmacopoeia, Thirty-Second Edition (The Pharmaceutical Press, London, 1999); 이 모두는 참조 등으로 인용되고 관련 부분이 본원에 참조로 인용된다.
- [0151] [0120] 본 발명은 특정 용량에서 본원에 기재된 활성제의 전달을 위해 에어로졸을 제조하고 생성하기 위한 조성물 및 방법을 포함한다. 하나의 구현예에서, 상기 화합물은 에어로졸-생성 장치를 사용하여 에어로졸화된 제형이다. 본 발명의 전형적인 구현예는 상기 제형의 에어로졸의 형성을 촉진시키는 소정의 물리적 및 화학적 성질을 갖는 액체 조성물을 포함한다. 상기 제형은 전형적으로 3개 또는 4개의 기본 파라미터, 예를 들어, (i) 활성 성분; (ii) 활성 성분을 위한 액체 담체; (iii) 에어로졸 성질 조정 재료; 및 임의로, (iv) 적어도 하나의 부형제를 포함한다. 이들 성분들의 조합은 폐 전달용으로 흡입 가능한 에어로졸을 생성함에 의해 사용자에게 전달하기 위해 증진된 성질을 갖는 치료학적 조성물을 제공한다.
- [0152] [0121] 본 발명의 화합물의 수성 현탁제는 수성 현탁제의 제조를 위해 적합한 부형제와 혼합된 활성 재료를 함유한다. 이러한 부형제로는 현탁제, 예컨대 나트륨 카르복시메틸셀룰로스, 메틸셀룰로스, 하이드록시프로필메틸셀룰로스, 알긴산나트륨, 폴리비닐피롤리돈, 트라가칸트 검 및 아카시아 검, 및 분산제 또는 습윤제, 예컨대 자연 발생 포스파티드 (예컨대, 레시틴), 산화알킬렌과 지방산의 축합 생성물 (예컨대, 폴리옥시에틸렌 스테아레이트), 산화에틸렌과 장쇄 지방족 알코올의 축합 생성물 (예컨대, 헵타데아에틸렌옥시케탄올), 지방산과 헥시톨 무수물에서 유래된 부분 에스테르와 산화에틸렌의 축합 생성물 (예컨대, 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노올레이트)를 포함한다. 상기 수성 현탁제는 하나 이상의 보존제, 예컨대 n-프로필 p-하이드록시벤조에이트의 에틸을 포함할 수도 있다.
- [0153] [0122] 본 발명의 약제학적 조성물은 멸균 주사가 가능한 수성 또는 유성 현탁제와 같은 멸균 주사가 가능한 제제 형태일 수 있다. 상기 현탁제는 상기 적합한 분산제 또는 습윤제 및 상기 언급한 현탁제들을 사용하여 공지된 방법에 따라 제형화될 수 있다. 상기 멸균 주사제는 비독성의 비경구적으로 허용가능한 희석제 또는 용매 중의 멸균 주사제 또는 현탁제, 예컨대 1,3-부탄디올 중의 용액일 수 있거나, 또는 동결건조 분말로서 제조될 수도 있다. 사용될 수 있는 허용가능한 비히클과 용매로는, 물, 링거액 및 등장성 염화나트륨 용액을 들 수 있다. 또한, 멸균 고정유도 용매 또는 현탁 매질로서 일반적으로 이용될 수 있다. 상기 목적을 위해, 합성 모노- 또는 디-글리세리드를 비롯한 임의의 통상적인 고정유가 사용될 수 있다. 또한, 올레산과 같은 지방산도 마찬가지로 주사제의 제조에 사용될 수 있다.
- [0154] [0123] 일부 구현예에서, 상기 제형은 PLA 또는 PLGA 미세입자를 포함하며, Na_2HPO_4 , 하이드록시프로필 메틸셀룰로스, 폴리소르베이트 80, 염화나트륨 및/또는 에데트산이나트륨과 추가로 혼합될 수 있다.
- [0155] [0124] 비경구 투여에 적절한 제제로는 항산화제, 완충제, 정균제 및 해당 제제를 대상 수취인의 혈액과 등장성으로 만드는 용질을 포함할 수 있는 수성 및 비수성의 등장성 멸균 주사액; 및 현탁제 및 증점제를 포함할 수 있는 수성 및 비수성 멸균 현탁제를 포함한다. 상기 제제는 단일 용량 또는 다회 용량의 밀봉된 용기, 예를 들어, 앰플 및 바이알로 제공될 수 있으며, 사용 직전에 멸균 액체 담체, 예를 들어 주사용수를 첨가하기만 하면 되는 동결 건조된 (냉동건조) 상태로 보관될 수 있다. 즉석 조제용 주사제 및 현탁제는 상기 기술한 종류의 멸균 분말로부터 제조될 수 있다.
- [0156] [0125] 그러나, 임의의 특정 환자에 대한 구체적인 용량 수준은 사용된 특정 화합물의 활성; 연령, 체중, 치료받을 대상체의 전반적인 건강 상태와 성별; 투여 시간과 경로; 배설 속도; 이전에 투여받았던 기타 약물; 및 치료 중인 해당 질환의 중증도를 비롯한 다양한 요인들에 따라 좌우될 것이다.

- [0157] [0126] 일부 구현예에서, 본 발명의 조성물은 약 80% 내지 약 99.5%, 바람직하게는 약 90 또는 95% 내지 약 98.5%의 혼화가능한 비수성의 약제학적으로 허용가능한 국소 비히클도 포함한다. 일부 비히클들은 이러한 내용을 위해 본원에 포함되는 미국 특허 4,621,075호에 기술되어 있다. 상기 비히클은 물이 없는 것이 바람직하지만, 본 발명의 조성물은 목적하는 겔의 형성에 현저한 부작용이 없이 약 5% 이하의 물을 포함할 수 있다. 이러한 비수성 비히클 성분들은 약학 업계에서도 잘 알려져 있으며, 이들의 예로는 (이에 제한되지는 않지만) 단쇄 알콜과 케톤 및 연화제, 예컨대 탄화수소 오일 및 왁스, 라놀린 및 라놀린 유도체, 실리콘유, 모노글리세리드, 디글리세리드, 및 트리글리세리드 에스테르, 지방 알콜, 지방산의 알킬 및 알케닐 에스테르, 디카르복실산의 알킬 및 알케닐 디에스테르, 다가 알콜 및 이들의 에테르 및 에스테르 유도체; 왁스 에스테르 및 밀랍 유도체를 포함한다. 바람직한 비히클로는 메탄올, 에탄올, n-프로판올, 이소프로판올, 부탄올, 폴리프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜 및 상기 성분들의 혼합물을 포함한다. 특히 바람직한 비히클로는 에탄올, n-프로판올 및 부탄올, 특히 에탄올을 포함한다. 이러한 바람직한 용매들은 디이소프로필 세바케이트, 이소프로필 미리스테이트, 메틸 라우레이트, 실리콘, 글리세린 및 상기 성분들의 혼합물과 같은 다른 성분들과 혼합되어, 본 발명에도 유용한 비수성 비히클을 제공할 수도 있다. 상기 추가의 성분들 중에서, 디이소프로필 세바케이트가 특히 유용하다. 실제로, 바람직한 비히클은 약 4:1 내지 약 1:4의 중량 비율의 에탄올과 디이소프로필 세바케이트의 혼합물을 포함한다. 바람직한 비히클은 약 15% 내지 약 35%의 디이소프로필 세바케이트 및 약 65% 내지 약 85%의 에탄올을 포함한다.
- [0158] [0127] 본 발명의 조성물은, 국소 약학 조성물의 제조에 일반적으로 사용되는 혼화가능한 보조 성분들을 당업계에서 확립된 사용 수준으로 추가로 포함할 수 있다. 이러한 보조 성분들로는, 이에 제한되지는 않지만, 약제학적 활성 물질 (예컨대, 보충 항미생물성 또는 항염증성 성분, 예컨대, 스테로이드) 또는 제제 자체를 강화하는데 사용되는 성분 (예컨대 부형제, 염료, 향료, 피부 침투 증진제, 안정화제, 보존제 및 향산화제)을 포함할 수 있다. 상기 겔화제의 예로는 약제학적으로 허용가능한 산성 카복시 중합체, 예컨대 미국 오하이오주 클레버랜드 소재의 B. F. 굿리치 케미컬스(Goodrich Chemicals)에서 시판되는 카보폴(Carbopol) 화합물을 포함한다.
- [0159] [0128] 하나의 구현예에서, 본 발명의 화합물은 통상적인 트리거 분무기 용기 내에 팩킹된 크림, 로션 또는 겔로 제형화될 수 있고 보통의 크림이 용기로부터 분무되어 나온 후처럼 관심 대상의 영역에 굳게 부착될 것이다. 이에 대해서는 본원에 참조로 포함되는 WO 98/51273호에 기재되어 있다. 따라서, 하나의 양상에서, 본원의 개시내용은 본원에 기재된 바와 같은 화합물을 단독으로 또는 조합하여 포함하는, 국소 적용을 위한 비-에어로졸 분무 조성물에 혼입될 수 있는 약제를 제공한다. 본 발명의 화합물은 0.1% 내지 20% 범위의 양으로 존재하거나, 또는 일부 구현예에서 크림, 로션 또는 겔 중에서 1 내지 15 중량%, 또는 일부 구현예에서 2 내지 10 중량%로 존재한다. 본 발명의 화합물은 중성의 친수성 매트릭스 크림, 로션 또는 겔에 혼입될 수 있다. 바람직한 제1 구현예에서, 국소용의 크림 또는 로션 매트릭스는 폴리옥시에틸렌 알킬 에테르를 특징으로 한다. 바람직한 제2 구현예에서, 겔은 가교결합된 아크릴산의 고분자량 중합체를 특징으로 한다. 폴리옥시에틸렌 알킬 에테르는 국소용 약제학적 제형 및 화장품에서 주로 유증수 및 수증유 에멀전을 위한 유화제로서 널리 사용되는 비이온성 계면활성제이다. 이는 본 발명에서 비에어로졸의 트리거 분무가능한 크림 또는 로션을 위한 베이스로서의 특징이 있다. 본 발명의 또 다른 목적은 겔을 형성하기 위해 사용된 가교결합된 아크릴산 중합체 (카보머)이다.
- [0160] [0129] 따라서, 비에어로졸 분무에 특히 적절한 베이스는 1 내지 25%의 폴리옥시에틸렌 알킬 에테르, 3 내지 40%의 보습제 및 0.1 내지 1%의 보존제(들) 및 100%까지 채우는 잔량의 정제수를 포함하는 크림 또는 로션이다. 적절하게는, 상기 폴리옥시에틸렌 알킬 에테르는 폴리옥실 20 세토스테아릴 에테르 (아틀라스 G-3713), 폴리옥실 2 세틸 에테르 (세테스-2), 폴리옥실 10 세틸 에테르 (세테스-10), 폴리옥실 20 세틸 에테르 (세테스-20), 폴리옥실 4 라우릴 세틸 에테르 (라우레스-4), 폴리옥실 23 라우릴 세틸 에테르 (라우레스-23), 폴리옥실 2 올레일 에테르 (올레스-2), 폴리옥실 10 올레일 에테르 (올레스-10), 폴리옥실 20 올레일 에테르 (올레스-20), 폴리옥실 2 스테아릴 에테르 (스테아레스-2), 폴리옥실 10 스테아릴 에테르 (스테아레스-10), 폴리옥실 20 스테아릴 에테르 (스테아레스-20) 및 폴리옥실 100 스테아릴 에테르 (스테아레스-100)로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 또는 임의의 조합일 수 있다. 적절한 보습제는 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 소르비톨 및 글리세린으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 또는 임의의 조합일 수 있다. 적절한 보존제는 메틸파라벤, 프로필파라벤, 벤질 알콜, 벤조산, 나트륨 벤조에이트, 소르브산 및 이의 염 및 페닐에틸 알콜로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 또는 임의의 조합이다.
- [0161] [0130] 비에어로졸 분무에 적절한 또 다른 베이스는 0.1 내지 2.0%의 카보머, 0.1 내지 1%의 알칼리 용액, 3 내지 40%의 보습제 및 0.1 내지 1%의 보존제(들) 및 100%까지 채우는 잔량의 정제수를 포함하는 겔이다. 적절하게는, 상기 카보머는 카보머 934, 카보머 940 및 카보머 941로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 또는 임의의 조

합일 수 있다. 겔을 위해 적절한 보습제, 보존제 및 정제수는 크림 또는 로션의 경우에서와 동일하다. 기타 분무가능한 제제들에 대해서는 본원에 참조로 명백히 포함되는 미국 특허 공보(Pre-Grant Publication) US2005/00255048호에 기재되어 있다.

[0162] [0131] 안과 제형 (국소 및 유리체내 투여):

[0163] [0132] 본 발명의 화합물은 통상적으로 전체 안용 조성물 중 적은 비율을 차지할 것이다. 본 발명의 화합물은 일반적으로 안용 조성물 중 적어도 0.01 w/v %, 보다 일반적으로는 적어도 0.1 w/v % 및 보다 더 일반적으로는 적어도 0.5 w/v %를 차지할 것이다. 본 발명의 화합물은 일반적으로 안용 조성물 중 5.0 w/v % 이하, 보다 일반적으로는 3.0 w/v % 이하 및 보다 더 일반적으로는 1.5 w/v % 이하를 차지할 것이다.

[0164] [0133] 또한, 상기 안용 조성물은 통상적으로 안구에 본 발명의 화합물을 전달하기에 적절한 안용 비히클도 포함할 것이다. 안용 조성물은 눈으로 국소 또는 유리체내 적용을 위해 구성될 수 있는 것으로 고려되고 안용 비히클은 또한 적용 방식에 따라 상이할 것이다. 일반적으로, 국소 또는 유리체내 적용을 위해, 안용 조성물이 수성이고 상당량의 물을 포함하는 것이 바람직할 수 있다. 일반적으로, 본 조성물은 적어도 30 w/v %, 보다 일반적으로는 적어도 80 w/v % 및 보다 더 일반적으로는 적어도 90 w/v %의 물 (예컨대, 정제수)을 포함할 것이다.

[0165] [0134] 유리체내 적용을 위해, 특히 안용 조성물이 시린지로 눈에 적용되는 경우, 상기 안용 조성물은 물과 본 발명의 화합물만을 포함할 수 있거나 또는 필수적으로 물과 본 발명의 화합물로 이루어질 수 있다. 서방형 약물 방출을 위해서는, 본 발명의 화합물의 PLGA 또는 PLA 마크로입자 조성물이 셸케(Shelke) 등에 의해 기술된 바와 같이 사용될 것이다 [Drug Deliv Transl Res. 2011, (1): 76-90]. 물론, 상기 안용 조성물은 다른 성분들, 예컨대 Na_2HPO_4 , 하이드록시프로필 메틸셀룰로스, 폴리소르베이트 80, 염화나트륨 및 에데트산이나트륨도 포함할 수 있다.

[0166] [0135] 비히클은 국소 적용, 특히 해당 국소 적용이 물과 시험 화합물이 혼합된 후 곧바로 수행되거나 또는 해당 조성물이 오염을 방지하기 위한 방식으로 포장되는 국소 적용을 위해, 오직 물이거나 또는 필수적으로 물로 이루어지는 경우도 있을 수 있다. 그러나, 상기 안용 조성물이 장시간에 걸쳐 (예컨대, 며칠 동안 하루에 1회, 2회, 3회 또는 그 이상 점안기의 액적으로서) 다회 용량으로 적용되는 경우, 상기 안용 조성물은 추가의 성분들, 예컨대 항미생물제 또는 보존제, 또는 항미생물 시스템 또는 보존 시스템, 계면활성제, 완충제, 등장화제, 향산화제, 점도 조절제 및 이들의 임의의 조합 등을 포함할 것이다.

[0167] [0136] 국소 적용을 위해, 본 발명의 조성물은 일반적으로 항미생물제를 포함한다. 가능한 항미생물제로는, 제한없이, 과산화수소, 염소 함유 보존제, 예컨대 염화벤잘코늄 또는 기타 물질을 포함한다. 그러나, 바람직한 양태에 따르면, 본 발명의 조성물은 임의의 비중합체성 4급 항미생물제, 예컨대 염화벤잘코늄 (BAK)이 전부 또는 실질적으로 없다. 약제학적 조성물에서 가장 바람직한 항미생물제로는 중합체성 4급 암모늄 화합물을 포함한다.

[0168] [0137] 본원에서, 안용 조성물의 성분을 언급할 때 “실질적으로 없는”이라는 말은 상기 안용 조성물이 특정 성분을 완전히 결여할 수 있거나 또는 그 특정 성분의 명목상의 양만을 포함할 수 있음을 의미한다.

[0169] [0138] 본 발명의 조성물에서 유용한 중합체성 4급 암모늄 화합물은 항미생물성 효과를 가지며 안용으로서 허용 가능한 것들이다. 이러한 유형의 바람직한 화합물에 대해서는 본원에 참조로 명백히 포함되는 미국 특허 3,931,319호; 4,027,020호; 4,407,791호; 4,525,346호; 4,836,986호; 5,037,647호 및 5,300,287호; 및 PCT 출원 WO 91/09523호 (Dziabo et al.)에 기재되어 있다. 가장 바람직한 중합체성 암모늄 화합물은 수평균 분자량이 2,000 내지 30,000인 POLYQUAD™ 또는 ONAMERM™으로도 알려져 있는, 폴리쿼터늄 1이다. 바람직하게는, 수평균 분자량은 3,000 내지 14,000이다.

[0170] [0139] 상기 중합체성 4급 암모늄 화합물은 일반적으로 현탁제의 약 0.00001 w/v % 초과, 보다 일반적으로는 약 0.0003 w/v % 초과 및 보다 더 일반적으로는 약 0.0007 w/v % 초과와 양으로 본 발명의 현탁제 중에 사용된다. 또한, 상기 중합체성 4급 암모늄 화합물은 일반적으로 조성물의 약 3 w/v % 미만, 보다 일반적으로는 약 0.003 w/v % 미만 및 보다 더 일반적으로는 약 0.0015 w/v % 미만의 양으로 본 발명의 조성물 중에 사용된다.

[0171] [0140] 본 발명의 조성물 중의 항미생물제는 추가로 또는 대안적으로 항미생물 시스템, 예컨대 보레이트/폴리올 복합체 시스템을 포함할 수 있다. 본원에서, “보레이트”라는 용어는 붕산, 붕산의 염, 보레이트 유도체 및 기타 약제학적으로 허용가능한 보레이트, 또는 이들의 조합을 지칭한다. 가장 적절한 것들로는 붕산, 나트륨 보레이트, 칼륨 보레이트, 칼슘 보레이트, 마그네슘 보레이트, 망간 보레이트 및 기타 상기 보레이트 염을 들 수 있다. 보레이트는 폴리올, 예컨대 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 소르비톨 및 만니톨과 상호작용하여 보레이트 폴리

올 복합체를 형성한다. 상기 복합체의 유형과 비율은 서로에 대해 트랜스 구조로 존재하지 않는 인접한 탄소 원자들 상에서 폴리올의 OH 그룹의 수에 의존한다. 폴리올과 보레이트 성분의 중량/부피 %는 복합체의 일부로서 포함되는 양 또는 복합체의 일부로서 포함되지 않는 양을 포함한다.

- [0172] [0141] 본원에서, “폴리올”이라는 용어는 서로에 대해 트랜스 구조로 존재하지 않는 2개의 인접한 탄소 원자들 각각의 상에서 적어도 하나의 히드록실 그룹을 갖는 임의의 화합물을 포함한다. 상기 폴리올은, 생성된 복합체가 수용성이며 약제학적으로 허용가능하기만 하면 치환 또는 비치환된 선형 또는 환형 폴리올, 또는 이들의 혼합물일 수 있다. 이러한 화합물의 예로는 당, 당알콜, 당산 및 우론산을 포함한다. 바람직한 폴리올로는 당, 당알콜 및 당산, 예컨대, 이에 제한되지는 않지만: 만니톨, 글리세린, 자일리톨, 소르비톨 및 프로필렌 글리콜을 들 수 있다.
- [0173] [0142] 보레이트/폴리올 복합체 항미생물성 시스템 (즉, 보레이트와 폴리올 모두)이 사용되는 경우, 이는 일반적으로 적어도 0.05 w/v %, 보다 일반적으로는 적어도 0.5 w/v % 및 더 적절하게는 적어도 1 또는 심지어 적어도 1.2 w/v %로 조성물 중에 포함되며, 또한 일반적으로 5 w/v % 미만, 보다 일반적으로는 2.2 w/v % 미만 및 더 적절하게는 1.6 w/v % 미만으로 조성물에 포함된다. 조성물 내에서 보레이트 대 폴리올 비율 (중량 대 중량 비율)은 일반적으로 1 대 1 내지 1 대 10, 및 보다 일반적으로는 1 대 2 내지 1 대 4 (예컨대, 약 1 대 3)이다.
- [0174] [0143] 티록사폴, 폴리소르베이트-80 및 폴리옥실 수소화된 피마자유가 바람직한 계면활성제이다. 티록사폴은 매우 바람직한 계면활성제이다. 계면활성제가 사용되는 경우, 이는 일반적으로 적어도 0.01 w/v %, 보다 일반적으로는 적어도 0.025 w/v % 및 더 적절하게는 적어도 0.1 w/v %의 농도로 조성물 중에 존재하며, 또한 일반적으로 5 w/v % 미만, 보다 일반적으로는 2.0 w/v % 미만 및 더 적절하게는 1.0 w/v % 미만으로 조성물에 존재한다.
- [0175] [0144] 국소 적용을 위해 사용될 본 발명의 조성물은 일반적으로 눈에 사용이 가능하도록 제형화된다. 눈에 대해 직접 적용하려는 목적의 안용 조성물은 눈에 사용이 가능한 pH 및 긴장성(tonicity)을 보유하도록 제형화될 것이다. 본 조성물의 pH는 일반적으로 4 내지 9, 바람직하게는 5.5 내지 8.5, 및 가장 바람직하게는 5.5 내지 8.0 범위의 pH를 갖는다. 특히 바람직한 pH 범위는 6.0 내지 7.8이고, 보다 구체적으로는 6.4 내지 7.6이다. 본 조성물의 삼투질 농도는 킬로그램당 200 내지 400 또는 450 밀리오스몰 (mOsm/kg)이고, 보다 바람직하게는 240 내지 360 mOsm/kg이다.
- [0176] [0145] 바람직한 본 발명의 조성물은 예를 들어, 해당 조성물이 점안기에 존재하여 하루에 1회, 2회, 3회 또는 그 이상 한방울 이상으로서 눈에 국소 투여될 수 있는, 다회 용량의 안용 조성물이다. 그러한 경우, 본 조성물은 바람직하게는 충분한 항미생물 활성을 보유하여 상기 조성물이 USP 보존제 효능 요건 뿐만 아니라, 수성 약제학적 조성물에 대한 기타 보존제의 효능 표준을 충족시킬 수 있도록 해준다. 유럽 약전에는 2가지의 보존제 효능 표준인 “A”와 “B”가 있다.
- [0177] [0146] USP 27에서 확인된 상기 기준은 USP의 이전 판, 특히 USP 24, USP 25 및 USP 26에 기재되어 있는 요건들과 실질적으로 동일하고, 이들 각각은 본원에 참조로 인용된다. 추가의 이점으로서, 본 발명의 TLR4 길항제 화합물을 포함하는 안용 조성물은 안구에 국소적으로 적용하기에 적절하다. 본원에 기술된 제제는 추가의 활성 성분, 예컨대, 이에 제한되지는 않지만, 상기 기술된 바와 같은 항미생물제, 통증 완화제 등도 포함할 수 있다.
- [0178] [0147] 산소과다-유도된 염증은 BPD(Bhandari 2014)의 병인의 코너스톤 (즉, 반응성 산소 종 또는 ROS의 생성에 부수적인)(Harijith and Bhandari 2016), 예를 들어, 종양 괴사 인자- α (TNF- α), 인터류킨-1 β (IL-1 β), IL-6, 유도성 산화질소 신타제 (iNOS)에 대한 다양한 염증성 분자들은 BPD의 발병에 연루되어 있고/있거나 연관되어 있다 (Bhandari and Bhandari 2013). 톨형 수용체 4 (TLR-4)는 상기 공정에서 (Menden, Xia et al. 2016, Yao, Shi et al. 2017), 특히 BPD를 유도하는 출산전 패혈증/염증에 관여하는 하나의 상기 신호 전달 경로이다(문헌참조: Glaser and Speer 2016).
- [0179] [0148] 키틴 및 키토산은 고분자량의 올리고사카라이드이고 이는 저콜레스테롤혈증, 항미생물, 면역자극, 항종양성, 가속화 칼슘 및 철 흡수, 항-염증, 및 항산화제 성질을 갖는 다양한 생물학적 활성을 갖는다(Xia, Liu et al. 2011). 이들폴리사카라이드는 대체 경로를 활성화시키고 그람-음성 세균에 의한 패혈증을 억제하는 것으로 공지되어 있다(Okawa, Kobayashi M Fau - Suzuki et al. , Minami, Suzuki et al. 1998, Qiao, Bai et al. 2011, Solov, #039 et al. 2013). 그러나, 최적의 약물 유사 성질을 성취하기 위한 이들 고분자량의 폴리사카라이드의 화학적 코어 구조의 조작은 임의의 그룹에 의해 연구되지 않았다.
- [0180] [0149] 본 발명은 처음으로 달리 활성화된 대식세포를 생성하고 LPS 유도된 염증을 경쟁적으로 억제하여 기관 보호를 유도하고 조직 상해를 제한할 수 있는 이중 작용 소분자를 제공한다. 하나의 상기 화합물은 화합물 1이

고, 이는 이의 표적에 상이하게 결합하도록 디자인되고 동정되었다. 에리토란과 같은 다른 길항제와 같이 TLR4-MD2 복합체에 결합하는 것 대신(Kim, Park et al. 2007), 이것은 TLR4의 활성 부위에 직접 결합함에 따라서 다운스트림 성분들을 억제한다. 추가로, 신규 계열의 화합물들은 또한 BPD를 갖는 신생아 새끼를 사용하여 생체내 모델 시스템에서 TLR4를 억제하는 화합물 **1**, **3**, **8** 및 **32**와 같이, SAR 연구에 의해 디자인되고 동정되었다.

[0181] [0150] 키틴 및 키토산은 이상적인 약물 전달을 위해 우수한 성질을 갖는다(Janes, Fresneau et al. 2001, Williams, Lansdown et al. 2003, Li, Zhuang et al. 2009). LMW 키토산은 전신 독성을 갖지 않는 천연 분자이다. 이들은 중합체 나노입자로서 전달되는 능력을 갖는 약물-유사 표적을 위해 우수한 후보물이다. TLR4 활성 부위로의 N-헥사아세틸 키토헥사오스의 결합의 인 실리코 모델은 발명자의 이전의 공개된 공보에 제공된다(Panda, Kumar et al. 2012). 예비 결과 및 분자 도킹을 기준으로, 본원 발명자는 상기 나타난 여러 화합물을 디자인하고 합성하였고 시험관내 검정에서 스크리닝하였다. 최적의 물리화학적 성질을 기준으로, 본원 발명자는 개발에 적당한 산소과다-노출된 BPD 마우스 모델에서 연구될 화합물 **1**, **3**, **8** 및 **32**를 선택하였다.

[0182] [0151] 신규 화합물은 개념 및 방법 둘다에서 혁신적이다. ARDS의 다인자 병인은 단독치료요법으로는 완전히 대응할 수 없고; 따라서, 본원 발명자들은 이기능성 분자를 개발하였고, 이는 폐 장벽 기능을 개선하고 TLR4로의 결합을 통해 보상적 항-염증성 사이토킨 IL-10을 상향조절하고 염증성 사이토킨 (TNF- α , IL-1 β , IL-6) 염증을 억제하는 이기능성 분자를 개발하였다. 추가로, 본원에 사용된 구조 활성 관계 (SAR) 접근법 및 화학식 I를 기준으로 다양한 화합물을 합성한 결과로서, 당업자는 아미노 당 계열의 화합물의 체계적인 구조 변형을 수행하여 추가의 효과적인 유사체를 생성할 수 있다. 따라서, 본 발명은 ALI에서 뿐만 아니라 패혈증, ARDS에서 유발된 과다-염증에 대한 활성을 갖는 1-O-치환된 아미노사카라이드 유사체의 유도체를 생성하기 위한 SAR 조성물 및 방법을 포함한다. 도 1은 저농도 및 고농도에서 THP-1 세포에서 TLR2 및 TLR4 억제 및 활성화 활성을 갖는 화합물을 보여주는 표이다.

[0183] [0152] 화합물 **1**, **2**, **3**, **6**, **7**, **8**, **14**, **32** 및 **35**는 강력한 TLR2/4 길항제인 반면 화합물 **17**, **23**, **28**, **-29**, **30**, **38**, **39** 및 **40**은 표 1에 나타난 바와 같이 TLR4 효능제이다. 화합물 **8**, **32** 및 **35**는 농도 의존성 TLR4 조절 활성을 보여준다. TLR4 효능제 활성을 갖는 화합물은 염증성 사이토킨 IL-1 β (도 2) 및 TNF- α (도 3)의 상향조절을 보여주고 이는 선천성 면역력의 자극을 지적하고 Th1:Th2 비율을 Th1 쪽으로 전환시킨다. 상기 부류의 TLR4 효능제는 백신 보조제로 유용 할 수 있고 환자의 면역계가 억제되고 2차 감염이 발생하기 쉬운 패혈증의 퇴치에 유용 할 수 있다. 면역계의 부스팅은 선천성 면역력이 손상된 HIV 환자 뿐만 아니라 암에서 유용하다.

[0184] [0153] THP-1 (사람 단핵구) 세포는 100-200 μ M의 화합물 **8**, **14**, **17**, **23**, **29**, 및 **32**로 처리하는 경우, 이들은 증가된 IL-1 β 및 TNF- α 반응 및 감소된 항-염증 사이토킨 IL-10 (도 4)을 생성하였다.

[0185] [0154] 놀랍게도, 이들 2개의 화합물 **8** 및 **32**는 용량 의존적으로 48시간 후 사람 말초 혈액 단핵구에서 IL-10 생성을 증가시키거나 (0.1-1.0 μ M 농도에서 Th2 대식세포를 자극하는) 감소(10-100 μ M 농도에서)시킨다(도 7 및 8).

[0186] [0155] 이들 2개의 화합물 **8** 및 **32**는 단핵구의 대식세포로의 분화를 자극하였고, 슈도모나스 아에루기노사 (*Pseudomonas aeruginosa*) (도 18)의 식세포작용을 증가시키고 세균의 세포내 사멸을 증가시켰다(도 19). 이들 화합물은 백신 보조제로서 및 낭성 섬유증 환자에서와 같이 예방적 치료를 위해 기존의 항생제와 조합하여 사용될 잠재력을 갖는다.

[0187] [0156] 화합물 **8**은 농도 의존적 방식으로 TLR4 활성을 조절한다. 낮은 농도 (0.1 μ M 내지 <1 μ M)에서 단독으로 또는 TLR4 리간드 LPS와 조합된 화합물 **8**은 ELISA에 의해 검출된 바와 같이 24시간 후 hPBMC에서 IL-1 β 단백질 수준을 하향조절하고 TLR4 길항제 활성을 입증한다. 그러나, 1.0 μ M의 농도에서, 단독으로 및 LPS와 조합된 화합물 **8**은 IL-1 β 의 생성을 크게 자극하여 TLR4 효능제 활성을 지적한다(도 5).

[0188] [0157] 화합물 **8**은 농도 의존적 방식으로 TLR7/8 활성을 조절한다. 낮은 농도 (0.1 μ M 내지 <1 μ M)에서 단독으로 또는 TLR7/8 리간드 CL075와 조합된 화합물 **8**은 ELISA에 의해 검출된 바와 같이 24시간 후 hPBMC에서 IL-1 β 단백질 수준을 하향조절하고 TLR7/8 길항제 활성을 입증한다. 그러나, 1.0 μ M의 농도에서, 단독으로 및 CL075와 조합된 화합물 **8**은 IL-1 β 의 생성을 크게 자극하여 TLR7/8 효능제 활성을 지적한다(도 6).

[0189] [0158] 화합물 **8**은 농도 의존적 방식으로 TLR1/2 활성을 조절한다. 낮은 농도 (0.1 μ M 내지 <1 μ M)에서 단독으로 또는 TLR1/2 리간드 Pam₃CSK4와 조합된 화합물 **8**은 ELISA에 의해 검출된 바와 같이 24시간 후 hPBMC에서 IL-6 단백질 수준을 하향조절하고 TLR1/2 길항제 활성을 입증한다. 그러나, 1.0, 10 및 100 μ M의 농도에서,

CL075와 조합된 화합물 8은 IL-6의 생성을 크게 자극하여 TLR1/2 효능제 활성을 지적한다(도 10).

- [0190] [0159] 화합물 8은 TLR6 리간드 Pam₂CSK4와 조합되어 ELISA에 의해 검출된 바와 같이 처리 24시간 후 hPBMC에서 TLR6 활성을 자극하고 IL-6 사이토킨의 생성을 상향조절한다(도 9).
- [0191] [0160] 화합물 8은 TLR9 리간드 ODN2216과 조합되어 ELISA에 의해 검출된 바와 같이 처리 48시간 후 hPBMC에서 TLR9 활성에 길항작용하고 IFN- α 의 생성을 하향조절한다(도 11).
- [0192] [0161] 화합물 1, 2, 7, 8, 14, 17 및 32는 0.1, 1.0, 10, 100 및 1000 μ M의 농도에서 hPBMC 내 세포독성에 대해 시험하였다. 세포는 화합물로 처리하고 24시간 동안 항온처리하였다. 세포 생존능은 MTT 세포 증식 키트(Promega)를 사용하여 평가하였다. 모든 화합물은 hPBMC에 독성이 아니다(도 12).
- [0193] [0162] 화합물 8, 17, 29 및 35는 1mM 및 2mM의 농도에서 정상 폐 상피 세포(AT-1)에서 세포 독성에 대해 시험하였다. 세포는 화합물로 처리하고 48시간동안 항온처리하였다. 세포 생존능은 트립탄 블루 생/사 검정을 사용하여 평가하였다. 모든 화합물은 양성 대조군 탁솔(Taxol)이 독성인 AT1 세포에 독성이 아니다(도 13).
- [0194] [0163] 화합물 8, 17, 29 및 35는 1mM 및 2mM의 농도에서 A549 폐 선암종 세포에서 이들의 세포 독성에 대해 시험하였다. 세포는 화합물로 처리하고 48시간동안 항온처리하였다. 세포 생존능은 트립탄 블루 생/사 검정을 사용하여 평가하였다. 화합물 8, 17 및 35는 A549 세포에 독성이고 표준 항암 약물 탁솔이 작용하지 않은 암 세포를 사멸시키는데 우수하였다(도 14).
- [0195] [0164] 선택된 TLR2/4 길항제 화합물 2, 6, 7, 8, 14, 17 및 32는 100 μ M 농도에서 HUVEC에서 세포독성에 대해 평가하였다. 세포는 화합물로 처리하고 24시간 동안 항온처리하였다. 세포 생존능은 MTT 세포 증식 키트(Promega)를 사용하여 평가하였다. 모든 화합물은 HUVEC에 독성이 아니다(도 15).
- [0196] [0165] 선택된 TLR2/4 길항제 화합물 2, 6, 7, 8, 14, 17 및 32는 튜브 형성 키트(Tube Formation kit)(Cat#3470-096-K)를 사용하여 항-혈관형성 활성에 대해 평가하였다. VEGF (100ng/mL)는 양성 대조군으로서 사용하였다. 모든 화합물은 도 16 및 17에 나타낸 바와 같이 VEGF 유도된 튜브 형성을 상당히 감소시켰다. 이들 화합물은 AMD 뿐만 아니라 고형 종양, 미성숙 망막염, 당뇨병성 망막증과 같은 병리학적 혈관형성과 연관된 질환에서 잠재적 응용을 갖는다.
- [0197] [0166] 선택된 그람 음성(이. 콜라이, 피. 아에루기노사, 에이 바우마니(*A. baumannii*) 및 그람 양성(MRSA) 세균(브로쓰 희석 검정을 사용하여)에 대해 스크리닝되는 경우, 화합물 1 및 8은 살균 활성을 보여주었고 MIC₉₀는 50-200 mg/L이다. 예상치 않게, 표준 항생제 콜리스틴과 조합된 화합물의 MIC는 3.1-6.25 μ g/mL로 저하되었고(도 20) 이는 상승작용 및 부가적 활성을 입증한다.
- [0198] [0167] 항-염증 및 항미생물 활성을 기준으로, 화합물 1 및 8은 피부 상처 감염의 뮌 연구에서 평가하였다. 화합물 1 및 8 둘다 100 μ M의 용량으로 국소적으로 투여되는 경우 C57BL6 마우스(n=4)에서 피. 아에루기노사(ATCC-10145 GFP) 감염된 피부 상처를 효과적으로 봉합하였고 조직 내 CFU를 감소시켰다(도 18).
- [0199] [0168] C57BL/6 마우스의 5개 그룹(8-10주령, n = 4)은 등쪽 표면 상에 상처를 입었다. PBS 현탁액 중에 10⁶ CFU/mL 피. 아에루기노사를 함유하는 25 μ l를 상처 상에 피펫팅하고 적어도 3분동안 흡수되도록 하였다. 마우스는 이어서 25 μ l의 콜리스틴(4 μ g/ml), 또는 화합물 1 또는 8 (100 μ g /ml)로 처리하였다. 후속적으로 및 다음 13일 동안, 감염된 상처는 각각 별도로 콜리스틴 또는 시험 화합물로 처리하였다. 13일에, 피. 아에루기노사 + 콜리스틴 및 피. 아에루기노사 + 화합물 1 또는 8 그룹의 상처는 완전한 봉합에 도달한 반면 피.아에루기노사 + 비히클의 피사딱지는 봉합되지 않았다.
- [0200] [0169] 피. 아에루기노사에 의한 감염 후(감염 후 13일), 처리되지 않은 대조군 동물로부터의 세균 수는 피. 아에루기노사 + 콜리스틴 및 피. 아에루기노사 + 화합물 1로 처리된 동물로부터 수득된 수와는 완전히 상이하였다. 화합물 8은 또한 대조군과 비교하여 세균 수에서 통계학적으로 상당한 감소를 보여주었다(도 21).
- [0201] [0170] 상해 후 13일에 단리된 H&E 염색된 상처의 조직학적 검사는 피. 아에루기노사 + 비히클 주사된 상처는 불완전 재-상피화 및 상처 베드에서 국소 염증의 존재와 함께 지연된 치유 표현형을 나타냈다. 재-상피화 및 파립화 조직은 대조군과 비교하여 피. 아에루기노사(PA) +콜리스틴 및 PA+화합물 1 그룹에서 상당히 증진되었다(p=0.050). 동일한 경향이 화합물 8 그룹에서 관찰되었지만, 차이는 경계선으로 비유의적이다(p=0.073). 이와 함께 화합물 처리된 그룹 대 PA 그룹에서는 국소 염증이 적은 것으로 관찰되었다.

- [0202] [0171] 2개의 TLR4 조절인자 화합물 **1** 및 **8**은 복막내 (IP) 주사를 통해 전달하였고 마우스에서 산소과다-유도된 폐 염증을 개선시켰다.
- [0203] [0172] 케이지 당 5마리로 수용된 12-15주령, 25-28gms의 수컷 C57BL/6 마우스 (Jackson Laboratories,)를 사용하였다.
- [0204] [0173] 산소과다 유도된 ALI 모델: 상기 ARDS 모델은 성체 마우스를 48시간 동안 100% 산소에 노출시킴에 이어 시험 화합물을 주사하는 것으로 이루어진다. 성체 마우스(N=5)는 48시간 동안 100% 산소가 일정하고 연속적으로 공급되는 플렉시 챔버에 수용하였다. 산소 노출 4시간 후, 화합물 **1** 및 **8**은 IP (10 mg/kg) 주사하였고; 상기 마우스는 케이지로 다시 복귀시키고 다시 12시간 후 2차 반복 주사 투여를 위해 취하였다. 마우스는 48시간 후 희생시켜 폐 조직을 수거하고 (BAL) 유체를 수집하였다.
- [0205] [0174] LPS-유도된 ALI 모델: 성체 마우스(N=5)에 단일 용량의 LPS (100 μ l 용적의 100 μ g/마우스, 기관내)를 주사함에 이어서 LPS 주사 후 4h 및 12h에 화합물 **1** 또는 **8** (10mg/kg 체중)을 IP 주사하고 이어서 24시간 후 마우스를 희생시켜 폐 조직을 수거하고 BAL 유체를 수집하였다. 폐는 H/E 염색 후 조직병리학적 평가를 위해 절개하고 BAL 유체를 사용하여 총 세포 계수 (호중구 및 대식세포)를 검출하고 단백질 (누출에 의해 방출되는)을 측정한다. 폐 용해물을 만들어 산소과다 노출 후, 화합물 **1** 또는 **8**을 사용한 처리 후 웨스턴 블롯팅에 의해 특정 마커를 정량하였다. 상기 화합물 둘다 각각 ARDS 및 세균 폐렴 병태를 모사하는 마우스 모델에서 산소과다 및 LPS 유도된 폐 상해에 대한 유의적 보호를 입증하였다.
- [0206] [0175] 도 22a, 22b, 22f, 및 22g는 화합물 **1** 및 **8**의 존재 또는 부재하에 처리된 마우스에서 LPS 및 산소과다-유도된 폐 상해의 기관지폐포 세척 (BAL) 유체 중에 총 및 호중구 세포 계수를 보여준다. 도 22c, 22d, 22e, 22h, 22i 및 22j는 화합물 **1** 및 **8**의 존재 또는 부재하에 처리된 마우스에서 LPS 및 산소과다-유도된 폐 상해의 BAL 유체 중에서 IL-6, IL-1 β 및 IL-10에 대한 ELISA 검정을 보여준다.
- [0207] [0176] 도 23a, 23b, 23d, 및 23e는 폐에서 폐 부종 (BAL 유체 중 총 단백질 및 에반스 블루 염료 농도에 의한 측정시)을 보여준다. 도 23c 및 23f는 화합물 **1** 및 **8** 또는 대조군으로 처리된 마우스에서 폐 상해 스코어를 보여준다. 도 22 및 23 둘다에서의 데이터는 평균 $\pm$ SE (n=6-8, *p<0.05 **p<0.01 및 ***p<0.001)로서 나타낸다. 통계학적 유의성은 원-웨이 ANOVA에 이어서 터키 사후 분석을 사용하여 평가하였다.
- [0208] [0177] 웨스턴 블롯팅 결과는 화합물 **1** 또는 **8**으로 처리된 마우스 또는 대조군에서 폐 내 연결 접착 단백질 VE-캐드헤린, β -카테닌 및 Src를 보여주었다.
- [0209] [0178] 이어서, 본원 발명자는 BPD 폐 상해 모델에서 화합물 **1**, **3**, **8** 및 **32**의 보호 효과를 입증하였다. 개념을 입증하고 실행가능성을 입증하기 위해, 본원 발명자들은 BPD의 마우스 모델에서 화합물 **1**, **3**, **8** 및 **32**를 시험하였고 모든 화합물은 BPD를 신생아 새끼에서 폐 상해를 예방한다. 신생아 마우스 및 사람은 폐 발육의 유사한 단계를 거치지만 각각의 단계의 지속기간 및 임신기간과 이의 일시적 관계와 관련하여 상이하다. 만삭에 출생한 마우스의 폐는 낭상 단계에 있고 계면활성제로 충분하고; 이것은 어느정도 출산 전 스테로이드 (계면활성제 생성을 증진시키는 것으로 공지된)의 완전한 상보체에 노출된 동일한 폐 발달 단계에있는 사람 조산 신생아와 다소 유사하다고 고려될 수 있다. 사람 병태를 모방하는 측면에서, 가장 성공적인 산소과다 모델은 산소과다에 대한 노출이 폐 발달의 낭상 단계로 제한하는 것들이다. 마우스 BPD 모델은 신생아 마우스 (생후 1일 또는 Pn1)를 PN4에 이어서 또 다른 10일 동안 실온 (RA)에서 회수 때까지 100% 산소에 노출시킴을 포함한다. 상기 모델은 임상적 시나리오에서 사람 모델을 설명한다.
- [0210] [0179] 화합물 **1** 또는 **8**의 각각을 복막내(IP) 또는 정맥내 (Iv)로 5mg/kg 또는 10 mg/kg의 용량으로 PN2 및 PN4 상의 신생아 새끼에 주사하였다(도 24). 회복 기간 후, 이들의 폐를 수거하고 정량 PCR, 웨스턴 블롯팅, 조직병리 및 ELISA를 위해 가공하였다.
- [0211] [0180] 염증성 사이토킨은 화합물 **1** 및 **8** 주사 후 폐 조직 및 혈청에서 감소하였다. 염증은 BPD의 특징적인 특성이므로, 본원 발명자들은 이어서 화합물이 염증을 억제할 수 있는지의 여부를 결정하였다. ELISA에 의해, 화합물 **8** 치료 후 항-염증 마커인 IL-10에서 수반되는 증가와 함께 여러 염증 촉진 사이토킨의 발현이 감소되었음을 확인하였다(도 26 a-h).
- [0212] [0181] 지속적 약물 방출 프로필을 갖는 화합물의 비강내 전달의 실행가능성을 시험하고 전신 노출을 회피하기 위해, 화합물 **3**, **8** 또는 **32** 각각을 PLGA 나노입자에 캡슐화하였다. 나노입자의 크기는 350-400 nm이다. 약물 부하 및 약물 방출 프로필은 본원 발명의 조기 공개된 방법을 사용하여 결정하였다(문헌참조: Le et al, Nat Sci,

Rep, 2017). 본 발명의 나노현탁제는 느린 약물 방출 프로필을 보여주었다(도 27 a-c).

- [0213] [0182] **3NP**, **8NP** 및 **32NP**로서 언급되는 PLGA 나노입자에 캡슐화된 화합물 **3**, **8** 또는 **32** 각각은 상이한 용량으로 PN2 및 PN4 상에서 나노현탁제로서 신생아 새끼에 비강내 (IN) 점적하였다(도 28). 회복 기간 후, 이들의 폐를 수거하고 정량 PCR, 웨스턴 블롯팅, 및 조직병리 및 ELISA를 위해 가공하였다.
- [0214] [0183] 폐 형태는 시험 화합물로 치료 후 BPD를 갖는 신생아 새끼에서 개선된다. BPD는 대형 단순화된 폐포, 염증, 증가된 세포사, 감소된 세포 증식, 이형증 모세관 형태, 및 다양한 간세포 세포질 및/또는 섬유증식을 특징으로 한다. 폐 구조는 각각 IV 및 IN 경로를 통한 식염수 및 나노현탁제 제형 둘다에서 화합물 **3**, **8** 및 **32**를 사용한 치료 후 회복된다. 이것은 폐포 코드(chord) 길이, 격막 두께 및 방사 폐포 계수(RAC)를 측정함에 의해 결정한다. BPD에서, 폐포 면적은 증가하고, 이는 폐포 낭의 직경 증가를 특징으로 하고, 격막은 비후해지고 (따라서 가스 교환을 방해한다), 호흡기내과 의사에 의해 말단 호흡 유닛의 복잡성을 평가하기 위해 사용되는 RAC는 중단된 폐 발달의 결과로서 감소한다. 모든 이들 변화는 시험 화합물을 사용한 치료 후 정상에 건강한 폐의 파라미터에 귀속된다(도 25a-c).
- [0215] [0184] 여드름에서 통형 수용체 2의 활성화는 염증성 사이토킨 반응을 촉발하고(문헌참조: J Immunol. 2002 August 1; 169(3): 1535-1541) 따라서 TLR2 활성화의 차단은 스타필로코커스 에피더미스(*Staphylococcus epidermis*), 스타필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*) 및 프로피오니박테리움 아크네스(*Propionibacterium acnes*)을 포함하는 그람 양성 세균 감염에 의해 유발되는 피부 병태를 치료하는데 이롭다.
- [0216] [0185] THP-1 단핵구 세포 (1×10^5)는 48시간 동안 200nM의 PMA로 자극하고 상이한 농도의 시험 화합물로 처리하였다. TLR2 활성화는 ELISA를 사용하여 세포 용해물로부터 24시간 후 측정하였다.
- [0217] [0186] 화합물 **32**의 합성(도 29). 2-아세트아미도-3,4,6-트리-O-아세틸-2-데옥시-a-D-글루코피라노실 클로라이드 **41**: 시판되는 2-아세트아미도-2-데옥시-β-D-글루코스(25 g, 0.113 mmol)의 교반 용액에, 아세틸 클로라이드(50 mL)를 첨가하고 반응 혼합물을 밤새 교반하였다. 반응 혼합물을 추가 부분의 CH₂Cl₂ (100 mL)로 희석시키고 빙수 혼합물에 부었다. 유기상은 NaHCO₃의 빙냉 포화된 수용액 (2×150 mL) 및 빙냉수 (150mL)로 추출하였다. 유기상을 건조시키고, 농축시키고 용출제로서 헥산 중 EtOAc (15-50%)를 사용하여 짧은 컬럼 상에 전개하여 고체 생성물로서 68%의 수율로 순수 생성물 **41**을 수득하였다. NMR 스펙트럼은 보고된 문헌에 따른다(Sauerzapfe, Namdjou et al. 2008).
- [0218] [0187] *p*-피나콜로네보로나테페닐 2-아세트아미도-3,4,6-트리-O-아세틸-2-데옥시-β-D-글루코피라노시드 **42**: CH₂Cl₂ (100 mL) 및 1N NaOH (50 mL)의 혼합물 중 2-아세트아미도-3,4,6-트리-O-아세틸-2-데옥시-β-D-글루코피라노실 클로라이드 **2** (5.0g, 13.67 mmol), 테트라부틸암모늄 하이드로젠 설페이트(4.65g, 13.67 mmol), 및 4-(4, 4,5,5-테트라메틸-1,3,2-디옥사보롤란-2-일) 페놀(3.15 g, 1.05 equiv.)의 용액은 1시간 동안 왕성하게 교반하였다. 상기 혼합물은 CH₂Cl₂ (2×125 mL)로 추출하였고, 물 및 염수로 세척하였다. 조합된 유기상은 무수 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시키고 용출제로서 헥산 중에 EtOAc (15-50%)를 사용한 실리카-겔 컬럼에 의해 정제하여 고체 생성물로서 48%의 수율로 순수 생성물 **42**를 수득하였다.
- [0219] [0188] *p*-피나콜로네보로나테페닐 2-아세트아미도-2-데옥시-β-D-글루코피라노시드 **32** : 상기 *p*-피나콜로네보로나테페닐 2-아세트아미도-3,4,6-트리-O-아세틸-2-데옥시-β-D-글루코피라노시드 **42** (2.45g, 4.45 mmol)를 무수 MeOH (70 mL)에 현탁시키고 NaOMe의 메탄올 용액 (1M 용액, 4.25 당량)을 첨가하고 상기 혼합물을 용해가 완료될 때까지 (15분) RT에서 교반하였다. Dowex 50WX2-200 (메탄올 중에서 이전에 세척된, 5g)을 첨가하고 15분 후 여과에 의해 제거하였다. 용액은 진공 증발시켜 건조시켰다. 백색 고체는 CH₂Cl₂ 중에 용해시키고 MTBE를 첨가하여 백색 고체를 침전시켰다. 고체는 여과 제거하고 고진공하에 건조시켜 89%의 수율로 화합물 **32**를 수득하였다. LC/MS = 423.9 (M+1); ¹H NMR (CD₃OD, 500MHz): δ 1.41 (s, 12H), 2.01 (s, 3H), 3.41-3.45 (m, 1H), 3.58-3.64 (m, 2H), 3.68-3.80 (m, 1H), 3.90-4.15 (m, 2H), 5.19 (d, 1H), 7.10 (d, 2H), 7.65 (d, 2H).
- [0220] [0189] *P*-보론산 페닐 2-아세트아미도-2-데옥시-β-D-글루코피라노시드 **35**: 아세톤/H₂O (4:1) 중에 상기 화합물 *p*-피나콜로네보로나테페닐 2-아세트아미도-3,4,6-트리-O-아세틸-2-데옥시-β-D-글루코피라노시드 **42** (1.5g, 2.73 mmol)은 NaIO₄ (2.5 equiv.), NH₄OAc (1.5 equiv)로 처리하고 24시간 동안 RT에서 교반하였다. 반응 혼합

물의 pH는 1N HCl을 첨가함에 의해 3으로 조정하고 추가로 30분동안 교반하였다. 반응 혼합물은 DCM으로 추출하고 염수로 세척하고, 무수 Na₂SO₄상에서 건조시키고 여과 제거하였다. 배합 여과물을 농축시켜 조 붕소산을 수득하고 용출제로서 헥산 중에 EtOAc (0-50%)를 사용하여 실리카-겔 컬럼에 의해 정제하여 고체 생성물로서 75% 수율로 생성물 **43**을 수득하였다. 상기 생성물은 이어서 **32**에 대한 상기 과정에 따라 NaOMe로 처리하여 백색 고체로서 91%의 수율로 화합물 **35**를 수득하였다. NMR 및 MS 스펙트럼은 상기 생성물의 구조를 확인하였다. ¹H NMR (D₂O + DMSO-d₆, 500MHz): δ 1.21 (s, 3H), 2.6-2.8 (m, 4H), 3.15 (m, 2H), 3.68-3.80 (m, 1H), 4.35 (m, 1H), 6.25 (d, 2H), 7.01 (d, 2H).

[0221] [0190] 화합물 **17**의 합성(도 30). 2R,3S,4S,5R,6S)-5-아세트아미도-2-(아세톡시메틸)-6-(벤조[c][1,2,5]옥사디아졸-5-일옥시)테트라하이드로-2H-피란-3,4-디일 디아세테이트 **44**: 화합물 **32**에 대한 상기 과정에 따라, 화합물 2-아세트아미도-3,4,6-트리-O-아세틸-2-데옥시-β-D-글루코피라노실 클로라이드 **41** (1.0g, 2.73 mmol)은 시판되는 벤조[c][1,2,5]옥사디아졸-5-올 (1.05 equiv.)과 반응시켜 백색 고체로서 65% 수율로 중간체 **44**를 수득한다. NMR 스펙트럼은 상기 생성물의 구조를 확인하였다.

[0222] [0191] N-((2S,3R,4S,5S,6R)-2-(벤조[c][1,2,5]옥사디아졸-5-일옥시)-4,5-디하이드록시-6-(하이드록시메틸)테트라하이드로-2H-피란-3-일)아세트아미드 **17**: 화합물 **32**에 대해 기재된 바와 동일한 과정 후, 중간체 **44** (0.25g, 0.53 mmol)는 백색 고체로서 92% 수율로 화합물 **17**로 전환시켰다. NMR 및 MS 스펙트럼은 상기 생성물의 구조를 확인하였다. LC/MS = 339.9 (M+1); ¹H NMR (CD₃OD, 500MHz): δ 2.01 (s, 3H), 3.41-3.45 (m, 1H), 3.58-3.64 (m, 2H), 3.68-3.80 (m, 1H), 3.90-4.15 (m, 2H), 5.25 (d, 1H), 7.21 (d, 1H), 7.32 (s, 1H), 7.83 (s, 1H).

[0223] [0192] 화합물 **8**의 합성(도 31). p-니트로페닐 2-아세트아미도-3,4,6-트리-O-아세틸-2-데옥시-β-D-글루코피라노시드 중간체 **45**: 화합물 **42**에 대한 과정 후, 화합물 2-아세트아미도-3,4,6-트리-O-아세틸-2-데옥시-β-D-글루코피라노실 클로라이드 **41** (1.0g, 2.73 mmol)은 시판되는 p-니트로-페놀(1.05 equiv.)과 커플링시켜 백색 고체로서 89% 수율로 중간체 **45**를 수득한다. ¹H NMR

[0224] [0193] p-니트로페닐 2-아세트아미도-2-데옥시-β-D-글루코피라노시드 **8**: **32**를 합성하기 위해 사용된 바와 동일한 과정 후, 상기 중간체 **45** (0.25g, 0.53 mmol)는 순수 백색 고체로서 92%의 수율로 화합물 **8**로 전환시켰다. LC/MS = 343.1 (M+1); ¹H NMR (D₂O) + CD₃OD, 500MHz): δ 2.01 (s, 3H), 3.46 (t, 1H), 3.60-3.65 (m, 2H), 3.68-3.81 (dd, 1H), 3.90-4.15 (m, 2H), 5.24 (d, 2H), 7.20 (d, 2H), 8.23 (d, 2H).

[0225] [0194] 화합물 **14**의 합성(도 33). p-시아노페닐-2-아세트아미도-3,4,6-트리-O-아세틸-2-데옥시-β-D-글루코피라노시드 중간체 **48**: 화합물 **42**에 대한 과정 후, 화합물 2-아세트아미도-3,4,6-트리-O-아세틸-2-데옥시-β-D-글루코피라노실 클로라이드 **41** (1.0g, 2.73 mmol)은 시판되는 p-시아노페놀(1.05 equiv.)과 커플링시켜 백색 고체로서 65% 수율로 화합물 **48**을 수득한다. ¹H NMR (CD₃OD, 500MHz): δ 1.65 (s, 3H), 2.18 (s, 12H), 3.88 (m, 1H), 4.15-4.22 (m, 2H), 4.25 (m, 1H), 5.19 (m, 1H), 5.45 (m, 2H), 5.80 (m, 1H), 7.15 (d, 2H), 7.65 (d, 2H).

[0226] [0195] p-시아노페닐 2-아세트아미도-2-데옥시-β-D-글루코피라노시드 **14**: 화합물 **32**에 대한 과정 후, 상기 중간체 **48** (0.25g, 0.53 mmol)는 순수 백색 고체로서 91%의 수율로 화합물 **14**로 전환시켰다. LC/MS = 323.1 (M+1); ¹H NMR (D₂O + CD₃OD, 600MHz): δ 2.01 (s, 3H), 3.52 (t, 1H), 3.60-3.68 (m, 2H), 3.75-3.81 (dd, 1H), 3.90-4.15 (m, 2H), 5.24 (d, 2H), 7.20 (d, 2H), 7.75 (d, 2H).

[0227] [0196] 화합물 **31**의 합성(도 32). p-에틸카복실레이트페닐 -2-아세트아미도-3,4,6-트리-O-아세틸-2-데옥시-β-D-글루코피라노시드 중간체 **46**: 화합물 **42**에 대한 과정 후, 화합물 2-아세트아미도-3,4,6-트리-O-아세틸-2-데옥시-β-D-글루코피라노실 클로라이드 **41** (1.0g, 2.73 mmol)은 시판되는 4-하이드록시에틸벤조에이트(1.05 equiv.)과 커플링시켜 오일로서 89% 수율로 중간체 **46**을 수득한다.

[0228] [0197] 4-카복실레이트페닐 2-아세트아미도-2-데옥시-β-D-글루코피라노시드 화합물 **1**: 화합물 **32**에 대한 과정 후, 상기 중간체 **46** (0.25g, 0.53 mmol)는 순수 백색 고체로서 90%의 수율로 화합물 **31**로 전환시켰다. ¹H NMR (D₂O, 500MHz): δ 1.85 (s, 3H), 3.41-3.45 (m, 1H), 3.58-3.64 (m, 3H), 3.80-3.95 (m, 2H), 5.19 (d, 2H),

6.95 (m, 2H), 7.85 (m, 2H).

- [0229] [0198] 2-아세트아미도-3,4,6-트리-O-아세틸-2-데옥시-β-D-글루코피라노시드 중간체 **49**(도 34): 2-아세트아미도-3,4,6-트리-O-아세틸-2-데옥시-β-D-글루코피라노실 클로라이드 **41**은 문헌 프로토콜에 따라 슈가 아지드 **49**로 전환시키고, 이는 백색 고체로서 89% 수율로 TPP 및 H₂O를 사용하여 아민 **50**으로 전환시켰다.
- [0230] [0199] 디-사카라이드 화합물 **2**: 무수 DMF 중에 아민 **50** (0.25g, 0.72 mmol)의 교반 용액에 화합물 **31** (0.197g, 0.72 mmol), EDCI (0.179g, 1.44mmol), HOBt (0.089g, 0.866 mmol) 및 DIPEA (0.195g, 1.8 mmol)을 첨가하고 반응 혼합물은 밤새 동안 교반하였다. 반응 혼합물은 물을 첨가하여 켄칭하고 모든 용매는 고진공하에 제거하였다. 조 고체 매쓰는 용출제로서 EtOAc 중에 MeOH (0-20%)를 사용한 실리카-겔 컬럼에 의해 정제하여 고체로서 89%의 수율로 순수 생성물 **2**를 수득하였다. ¹H NMR (CD₃OD +D₂O, 500MHz): δ 1.90 (d, 3H), 2.0-2.11 (m, 12H), 3.45-3.58 (m, 2H), 3.60-3.68 (m, 1H), 3.68-3.80 (m, 1H), 3.82-4.05 (m, 3H), 4.110-4.21 (m, 1H), 4.35-4.45 (m, 1H), 5.08- 5.10 (m, 2H), 5.20 (m, 1H), 5.42 (m, 1H), 5.45 (m, 1H), 7.12 (d, 2H), 7.80 (d, 2H).
- [0231] [0200] 디-슈가 유사체 화합물 **3**: 화합물 **32**에 대한 과정 후, 상기 화합물 **2** (0.21g, 0.313 mmol)는 순수 백색 고체로서 95%의 수율로 화합물 **3**으로 전환시켰다. LC/MS = 544.2 (M+1); ¹H NMR (CD₃OD +D₂O, 600MHz): δ 1.80 (d, 6H), 3.30-3.45 (m, 3H), 3.45-3.60 (m, 4H), 3.60-3.68 (m, 2H), 3.71-3.90 (m, 4H), 5.10 (m, 2H), 6.90 (d, 2H), 7.55 (d, 2H).
- [0232] [0201] 화합물 **23**은 화합물 **17**에 대해 기재된 바와 동일한 과정 후 합성하였다: ¹H NMR (CD₃OD, 500MHz): δ 1.01(s, 12H), 1.65 (s, 3H), 3.20 (m, 1H), 3.31 (m, 1H), 3.40-3.51 (m, 2H), 3.60 (m, 1H), 3.75 (m, 1H), 5.20 (d, 1H), 6.8 (d, 1H), 7.05 (t, 1H), 7.21 (d, 1H), 7.8 (bs, 1H).
- [0233] [0202] 디-슈가 유사체 화합물 **6** (도 35). -NO₂의 Fe, NH₄Cl을 사용한 아민으로의 환원을 위해 널리 공지된 문헌의 과정을 사용하여, 화합물 **45**는 반고체 생성물로서 91% 수율로 아민 **51**로 전환시키고 이는 화합물 **2**에 대해 기재된 바와 상기 동일한 과정 후 화합물 **31**과 직접 커플링시켜 89%의 수율로 디-슈가 아미드 화합물 **6**을 수득한다. ¹H NMR (CD₃OD +D₂O, 500MHz): δ 1.80-2.2 (m, 15H), 3.40-3.65 (m, 4H), 3.75-3.85 (m, 1H), 3.85-4.25 (m, 4H), 5.08- 5.10 (m, 2H), 5.20 (m, 1H), 5.42 (m, 1H), 5.45 (m, 1H), 7.0-7.20 (dd, 4H), 7.60 (d, 2H), 7.90 (d, 2H).
- [0234] [0203] 화합물 **32**에 대해 기재된 바와 동일한 과정 후, 화합물 **6**은 순수 백색 고체로서 92%의 수율로 화합물 **7**로 전환시켰다. ¹H NMR (CD₃OD +D₂O, 500MHz): δ 1.80-2.2 (2s, 6H), 3.30-3.45 (m, 7H), 3.55-3.85 (m, 5H), 5.08- 5.10 (m, 2H), 7.0-7.20 (dd, 4H), 7.60 (d, 2H), 7.90 (d, 2H).
- [0235] [0204] 본 명세서에 논의된 임의의 구현에는 본 발명의 임의의 방법, 키트, 시약 또는 조성물을 사용하고 그 역으로 사용하여 수행될 수 있는 것으로 고려된다. 추가로, 본 발명의 조성물은 본 발명의 방법을 성취하기 위해 사용될 수 있다.
- [0236] [0205] 본원에 기재된 특정 구현에는 설명을 위한 것이고 발명을 제한하지 않는 것으로 이해된다. 본 발명의 기본 특성은 본 발명의 범위로부터 벗어나는 것 없이 다양한 구현으로 사용될 수 있다. 당업자라면 단지 일상적인 실험만을 이용하여 본원에 구체적으로 기술된 특정 과정에 대한 다양한 균등물을 인지할 것이거나, 또는 확인할 수 있을 것이다. 상기 균등물은 본 발명의 범위 내에 있는 것으로 고려되고 청구항에 의해 보호된다.
- [0237] [0206] 본 명세서에 언급된 모든 간행물 및 특허 출원들은 본 발명이 속하는 분야의 당업자의 기술 수준을 나타낸다. 모든 간행물 및 특허 출원들은 각각의 개별 문헌이 참조로 인용될 구체적으로 및 개별적으로 지적된 것처럼 동일한 정도로 참조로 인용된다.
- [0238] [0207] 청구항 및/또는 명세서에서 용어 “포함하는”과 연계하여 사용되는 경우 “a” 또는 “an”의 사용은 “하나”를 의미할 수 있으나 이것은 또한 “하나 이상”, “적어도 하나” 및 “하나 초과”와 일치한다. 청구항에서 “또는”이라는 용어의 사용은, 그것이 명시적으로 대안만을 언급하지 않는 한 또는 명세서가 대안 및 “및/또는”만을 언급하는 정의를 뒷받침하고 있더라도 그 대안이 상호 배타적이지 않는 한 “및/또는”을 의미하는 것으로 사용된다. 본 출원 전반에 걸쳐, “약”이라는 용어는 어떠한 값이 해당 장치, 그 값을 측정하는데 사

용되는 방법에 대한 고유의 오차 변화, 또는 해당 연구 대상들 간에 존재하는 변화를 포함함을 나타내는데 사용된다.

- [0239] [0208] 본 명세서 및 청구항(들)에 사용된 바와 같이, 용어 “포함하는” (및 예를 들어, “포함한다(comprise)” 및 “포함한다(comprises)” 를 포함하는 임의의 형태), “갖는” (및 “갖는다(have)” 및 갖는다(has)” 와 같은 갖는의 임의의 형태), “포함하는(including)” (및 “포함한다(includes)” 및 “포함한다(include)” 와 같은 포함하는의 임의의 형태) 또는 “함유하는” (및 “함유한다(contains)” 및 “함유한다(contain)” 와 같은 함유하는 임의의 형태)는 포괄적이거나 말단 개방형이고 추가의, 인용되지 않는 요소 또는 방법 단계를 배제하지 않는다. 본원에 제공된 임의의 조성물 및 방법의 구현예에서, “포함하는”은 “로 필수적으로 이루어진” 또는 “로 이루어진”으로 대체될 수 있다. 본원에 사용된 바와 같은 용어 “로 필수적으로 이루어진”은 청구된 발명의 특징 또는 기능에 실질적으로 영향을 주지 않는 것들 뿐만 아니라 특정 정수(들) 또는 단계들을 요구한다. 본원에 사용된 바와 같은, 용어 “이루어진”은 언급된 정수 (예를 들어, 특성, 요소, 특징, 성질, 방법/공정 단계 또는 제한)의 존재 또는 정수 그룹 (예를 들어, 특성(들), 요소(들), 특징(들), 성질(들), 방법/공정 단계 또는 단지 한계치(들)의 존재를 지적하기 위해 사용된다.
- [0240] [0209] 본원에 사용된 바와 같은 용어 “또는 이의 조합”은 용어 앞의 열거된 용어들의 모든 순열 및 조합을 언급한다. 예를 들어, “A, B, C, 또는 이의 조합”은 하기 중 적어도 하나를 포함하는 것으로 의도된다: A, B, C, AB, AC, BC, 또는 ABC, 및 특정 문단에서 순서가 중요한 경우 또한 BA, CA, CB, CBA, BCA, ACB, BAC, 또는 CAB. 이 예에서는 BB, AAA, AB, BBC, AAABCCCC, CBBAAA, CABABB 등과 같은 하나 이상의 항목 또는 용어의 반복을 포함하는 조합이 명시 적으로 포함됩니다. 당업자는 전형적으로 문헌으로서 달리 명백하지 않는 경우 항목의 수 또는 임의의 조합된 용어에 대해 제한되지 않는 것으로 이해한다.
- [0241] [0210] 제한 없이 “약”, “실질적인” 또는 “실질적으로”와 같은 “대략화”의 용어는 변형된 경우 필수적으로 또는 완벽할 필요가 없는 것으로 이해되지만 조건을 존재하는 것으로서의 지정을 보장하기에 본원의 당업자에게 충분히 고려된다. 기재가 다양할 수 있는 정도는 변화가 얼마나 크게 구성될 수 있는지에 의존하고 여전히 당업자는 여전히 변형되지 않은 특성의 요구되는 특징 및 능력을 갖는 것으로서 변형된 특성을 인지한다. 일반적으로, 그러나 이전의 논의에 적용된 바와 같이 “약”과 같은 대략화의 용어에 의해 변형된 본원의 수치 값은 기재된 값이 적어도 $\pm 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 10, 12$ 또는 15% 정도로 다양할 수 있다.
- [0242] [0211] 본원에 개시되고 청구된 모든 조성물과 방법들은 본 명세서의 내용을 고려하여 과도한 실험없이도 고안하여 수행할 수 있다. 본 발명의 조성물 및 방법은 바람직한 구현예의 관점에서 기술되었지만, 본 발명의 당업계의 개념, 의미 및 범위를 벗어나지 않으면서 다양한 변화들을 본원에 기술된 조성물과 방법들, 상기 방법의 단계들 또는 상기 방법 단계들의 순서에 적용할 수 있다는 사실은 당업계의 숙련자들에게는 명백할 것이다. 당업계의 숙련자들에게 명백한 이러한 모든 유사한 대체물 및 변형은 첨부된 특허청구범위에 정의된 본 발명의 의미, 범위 및 개념에 속하는 것으로 간주된다.
- [0243] [0212] 특허청 및 임의의 독자가 여기에 첨부된 청구항을 해석하는데 있어서 본원에 대해 문제가 되는 임의의 특허의 독자들을 원조하기 위해, 출원인은 이들이 이것이 용어 “에 대한 의미” 또는 “특정 청구항에 명백히 사용되지 않는 경우 이의 출원일에 존재하는 바와 같이 35 U.S.C. § 112, U.S.C. § 112 문단 (f)의 문단 6에 첨부된 임의의 청구항이 적용된 것으로 의도되지 않음을 주지해야 한다.
- [0244] [0213] 청구항 각각에 대해, 각각의 종속항은 독립항 및 이전의 청구항이 청구항 용어 또는 요소에 대한 적당한 선례의 기반을 제공하는 한 각각 및 모든 청구항에 대한 이전 종속항 각각에 의존할 수 있다.

[0245] 참고문헌

- [0214] 1. Luster, A. D., The role of chemokines in linking innate and adaptive immunity. *Current Opinion in Immunology* 2002, 14, 129-135.
- [0215] 2. Safdieh, J. E.; Mead, P. A.; Sepkowitz, K. A.; Kiehn, T. E.; Abrey, L. E., Bacterial and fungal meningitis in patients with cancer. *Neurology* 2008, 70, 943-7.
- [0216] 3. Broad, A.; Jones, D. E.; Kirby, J. A., Toll-like receptor (TLR) response tolerance: a key physiological "damage limitation" effect and an important potential opportunity for therapy. *Current medicinal chemistry* 2006, 13, 2487-502.
- [0217] 4. Cavaillon, J. M.; Adrie, C.; Fitting, C.; Adib-Conquy, M., Endotoxin tolerance: is there a clinical relevance? *Journal of endotoxin research* 2003, 9, 101-7.
- [0218] 5. Cross, A. S., Endotoxin tolerance-current concepts in historical perspective. *Journal of endotoxin research* 2002, 8, 83-98.
- [0219] 6. Murphey, E. D.; Fang, G.; Sherwood, E. R., Endotoxin pretreatment improves bacterial clearance and decreases mortality in mice challenged with *Staphylococcus aureus*. *Shock (Augusta, Ga.)* 2008, 29, 512-8.
- [0220] 7. Wy, C. A.; Goto, M.; Young, R. I.; Myers, T. F.; Muraskas, J., Prophylactic treatment of endotoxic shock with monophosphoryl lipid A in newborn rats. *Biology of the neonate* 2000, 77, 191-5.

[0246]

- [0221] 8. Wynn, J. L.; Scumpia, P. O.; Winfield, R. D.; Delano, M. J.; Kelly-Scumpia, K.; Barker, T.; Ungaro, R.; Levy, O.; Moldawer, L. L., Defective innate immunity predisposes murine neonates to poor sepsis outcome but is reversed by TLR agonists. *Blood* 2008, 112, 1750-8.
- [0222] 9. Thoelen, S.; Van Damme, P.; Mathei, C.; Leroux-Roels, G.; Desombere, I.; Safary, A.; Vandepapeliere, P.; Slaoui, M.; Meheus, A., Safety and immunogenicity of a hepatitis B vaccine formulated with a novel adjuvant system. *Vaccine* 1998, 16, 708-14.
- [0223] 10. Romero, C. D.; Varma, T. K.; Hobbs, J. B.; Reyes, A.; Driver, B.; Sherwood, E. R., The Toll-Like Receptor 4 Agonist Monophosphoryl Lipid A Augments Innate Host Resistance to Systemic Bacterial Infection. *Infection and Immunity* 2011, 79, 3576-3587.
- [0224] 11. Adanitsch, F.; Shi, J.; Shao, F.; Beyaert, R.; Heine, H.; Zamyatina, A., Synthetic glycan-based TLR4 agonists targeting caspase-4/11 for the development of adjuvants and immunotherapeutics. *Chemical Science* 2018, 9, 3957-3963.
- [0225] 12. Rubenfeld, G. D.; Caldwell, E.; Peabody, E.; Weaver, J.; Martin, D. P.; Neff, M.; Stern, E. J.; Hudson, L. D., Incidence and outcomes of acute lung injury. *N Engl J Med* 2005, 353, 1685-93.
- [0226] 13. Villar, J.; Blanco, J.; Kacmarek, R. M., Current incidence and outcome of the acute respiratory distress syndrome. *Current opinion in critical care* 2016, 22, 1-6.
- [0227] 14. Salim, A.; Martin, M.; Constantinou, C.; Sangthong, B.; Brown, C.; Kasotakis, G.; Demetriades, D.; Belzberg, H., Acute respiratory distress syndrome in the trauma intensive care unit: Morbid but not mortal. *Arch Surg* 2006, 141, 655-8.
- [0228] 15. Bhandari, A.; Bhandari, V., "New" Bronchopulmonary Dysplasia: A clinical review. *Clin Pulm Med* 2011, 18, 137-143.
- [0229] 16. Bhandari, A.; Bhandari, V., Pitfalls, problems, and progress in bronchopulmonary dysplasia. *Pediatrics* 2009, 123, 1562-73.
- [0230] 17. Jensen, E. A.; Schmidt, B., Epidemiology of bronchopulmonary dysplasia. *Birth defects research. Part A, Clinical and molecular teratology* 2014, 100, 145-57.
- [0231] 18. Trembath, A.; Laughon, M. M., Predictors of bronchopulmonary dysplasia. *Clin Perinatol* 2012, 39, 585-601.
- [0232] 19. Bancalari, E.; Claure, N., Bronchopulmonary dysplasia: definitions and epidemiology. In *Bronchopulmonary Dysplasia*, First ed.; Bhandari, V., Ed. Springer International Publishing: Switzerland, 2016; pp 167-182.

[0247]

- [0233] 20. Smith, V. C.; Zupancic, J. A.; McCormick, M. C.; Croen, L. A.; Greene, J.; Escobar, G. J.; Richardson, D. K., Trends in severe bronchopulmonary dysplasia rates between 1994 and 2002. *J Pediatr* 2005, 146, 469-73.
- [0234] 21. Russell, R. B.; Green, N. S.; Steiner, C. A.; Meikle, S.; Howse, J. L.; Poschman, K.; Dias, T.; Potetz, L.; Davidoff, M. J.; Damus, K.; Petrini, J. R., Cost of hospitalization for preterm and low birth weight infants in the United States. *Pediatrics* 2007, 120, e1-9.
- [0235] 22. Bhandari, A.; McGrath-Morrow, S., Long-term pulmonary outcomes of patients with bronchopulmonary dysplasia. *Semin Perinatol* 2013, 37, 132-7.
- [0236] 23. Natarajan, G.; Pappas, A.; Shankaran, S.; Kendrick, D. E.; Das, A.; Higgins, R. D.; Laptook, A. R.; Bell, E. F.; Stoll, B. J.; Newman, N.; Hale, E. C.; Bara, R.; Walsh, M. C., Outcomes of extremely low birth weight infants with bronchopulmonary dysplasia: impact of the physiologic definition. *Early Hum Dev* 2012, 88, 509-15.
- [0237] 24. Raju, T. N. K.; Buist, A. S.; Blaisdell, C. J.; Moxey-Mims, M.; Saigal, S., Adults born preterm: a review of general health and system-specific outcomes. *Acta Paediatr* 2017, 106, 1409-1437.
- [0238] 25. Balany, J.; Bhandari, V., Understanding the Impact of Infection, Inflammation, and Their Persistence in the Pathogenesis of Bronchopulmonary Dysplasia. *Front Med (Lausanne)* 2015, 2, 90.
- [0239] 26. Bhandari, V., Postnatal inflammation in the pathogenesis of bronchopulmonary dysplasia. *Birth defects research. Part A, Clinical and molecular teratology* 2014, 100, 189-201.
- [0240] 27. Harijith, A.; Bhandari, V., Hyperoxia in the pathogenesis of bronchopulmonary dysplasia. In *Bronchopulmonary Dysplasia*, First ed.; Bhandari, V., Ed. Springer International Publishing: Switzerland, 2016; pp 3-26.
- [0241] 28. Li, Z.; Choo-Wing, R.; Sun, H.; Sureshbabu, A.; Sakurai, R.; Rehan, V. K.; Bhandari, V., A potential role of the JNK pathway in hyperoxia-induced cell death, myofibroblast transdifferentiation and TGF-beta1-mediated injury in the developing murine lung. *BMC Cell Biol* 2011, 12, 54.
- [0242] 29. Choo-Wing R, S. M., Harijith A, Bowen B, Pryhuber G, Janer C, Andersson S, Homer RJ, Bhandari V, Hyperoxia and interferon- γ -induced injury in developing lungs occur via cyclooxygenase-2 and the endoplasmic reticulum stress-dependent pathway *Am J Respir Cell Mol Biol* 2013, 48, 749-757.

[0248]

- [0243] 30. Sureshbabu, A.; Syed, M.; Das, P.; Janer, C.; Pryhuber, G.; Rahman, A.; Andersson, S.; Homer, R. J.; Bhandari, V., Inhibition of RPTOR Prevents Hyperoxia-induced Lung Injury by Enhancing Autophagy and Reducing Apoptosis in Neonatal Mice. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2016.
- [0244] 31. Sureshbabu, A.; Syed, M. A.; Boddupalli, C. S.; Dhodapkar, M. V.; Homer, R. J.; Minoo, P.; Bhandari, V., Conditional overexpression of TGFβ1 promotes pulmonary inflammation, apoptosis and mortality via TGFβR2 in the developing mouse lung. *Respir Res* 2015, 16, 4.
- [0245] 32. Sun H, C.-W. R., Sureshbabu A, Fan J, Leng L, Yu S, Jiang D, Noble P, Homer RJ, Bucala R, Bhandari V, A critical regulatory role for macrophage migration inhibitory factor in hyperoxia-induced injury in the developing murine lung. *PLoS ONE* 2013, 8.
- [0246] 33. Sun H, C.-W. R., Fan J, Leng L, Syed MA, Hare AA, Jorgensen WL, Bucala R, Bhandari V, Small molecular modulation of macrophage migration inhibitory factor in the hyperoxia-induced mouse model of bronchopulmonary dysplasia. *Respir Res* 2013, 14.
- [0247] 34. Bhandari, V.; Choo-Wing, R.; Lee, C. G.; Yusuf, K.; Nedrelow, J. H.; Ambalavanan, N.; Malkus, H.; Homer, R. J.; Elias, J. A., Developmental regulation of NO-mediated VEGF-induced effects in the lung. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2008, 39, 420-30.
- [0248] 35. Syed, M. A.; Choo-Wing, R.; Homer, R. J.; Bhandari, V., Role of Nitric Oxide Isoforms in Vascular and Alveolar Development and Lung Injury in Vascular Endothelial Growth Factor Overexpressing Neonatal Mice Lungs. *PLoS One* 2016, 11, e0147588.
- [0249] 36. Bhandari, V., Drug therapy trials for the prevention of bronchopulmonary dysplasia: current and future targets. *Front Pediatr* 2014, 2, 76.
- [0250] 37. McEvoy, C. T.; Jain, L.; Schmidt, B.; Abman, S.; Bancalari, E.; Aschner, J. L., Bronchopulmonary dysplasia: NHLBI Workshop on the Primary Prevention of Chronic Lung Diseases. *Annals of the American Thoracic Society* 2014, 11 Suppl 3, S146-53.
- [0251] 38. Densmore, J. C.; Signorino, P. R.; Ou, J.; Hatoum, O. A.; Rowe, J. J.; Shi, Y.; Kaul, S.; Jones, D. W.; Sabina, R. E.; Pritchard, K. A., Jr.; Guice, K. S.; Oldham, K. T., Endothelium-derived microparticles induce endothelial dysfunction and acute lung injury. *Shock* 2006, 26, 464-71.
- [0252] 39. Moore, K. W.; Rousset, F.; Banchereau, J., Evolving principles in immunopathology: interleukin 10 and its relationship to Epstein-Barr virus protein BCRF1. *Springer seminars in immunopathology* 1991, 13, 157-66.

[0249]

- [0253] 40. Kapur, R.; Kim, M.; Rebetz, J.; Rondina, M. T.; Porcelijn, L.; Semple, J. W., Low levels of interleukin-10 in patients with transfusion-related acute lung injury. *Annals of Translational Medicine* 2017, 5, 339.
- [0254] 41. Bi, M. H.; Wang, B. E.; Zheng, X. X.; Li, M.; Mayer, K.; Zhang, S. W., [The effect of recombinant interleukin-10/Fc fusion protein on lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice]. *Zhongguo wei zhong bing ji jiu yi xue = Chinese critical care medicine = Zhongguo weizhongbing jijiuyixue* 2008, 20, 461-4.
- [0255] 42. Lee, H.-S.; Kim, C.-K., Effect of recombinant IL-10 on cultured fetal rat alveolar type II cells exposed to 65%-hyperoxia. *Respiratory Research* 2011, 12, 68-68.
- [0256] 43. Bhandari, V., Molecular mechanisms of hyperoxia-induced acute lung injury. *Frontiers in bioscience : a journal and virtual library* 2008, 13, 6653-61.
- [0257] 44. Li, H. D.; Zhang, Q. X.; Mao, Z.; Xu, X. J.; Li, N. Y.; Zhang, H., Exogenous interleukin-10 attenuates hyperoxia-induced acute lung injury in mice. *Experimental physiology* 2015, 100, 331-40.
- [0258] 45. Bhandari, A.; Bhandari, V., Biomarkers in bronchopulmonary dysplasia. *Paediatr Respir Rev* 2013, 14, 173-9.
- [0259] 46. Menden, H. L.; Xia, S.; Mabry, S. M.; Navarro, A.; Nyp, M. F.; Sampath, V., Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate Oxidase 2 Regulates LPS-Induced Inflammation and Alveolar Remodeling in the Developing Lung. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2016, 55, 767-778.
- [0260] 47. Yao, L.; Shi, Y.; Zhao, X.; Hou, A.; Xing, Y.; Fu, J.; Xue, X., Vitamin D attenuates hyperoxia-induced lung injury through downregulation of Toll-like receptor 4. *Int J Mol Med* 2017, 39, 1403-1408.
- [0261] 48. Glaser, K.; Speer, C. P., Pre and Postnatal inflammation in the pathogenesis of bronchopulmonary dysplasia. In *Bronchopulmonary Dysplasia*, First ed.; Bhandari, V., Ed. Springer International Publishing: Switzerland, 2016; pp 55-77.
- [0262] 49. Xia, W.; Liu, P.; Zhang, J.; Chen, J., Biological activities of chitosan and chitooligosaccharides. *Food Hydrocolloids* 2011, 25, 170-179.
- [0263] 50. Minami, S.; Suzuki, H.; Okamoto, Y.; Fujinaga, T.; Shigemasa, Y., Chitin and chitosan activate complement via the alternative pathway. *Carbohydrate Polymers* 1998, 36, 151-155.

[0250]

- [0264] 51. Qiao, Y.; Bai, X.-F.; Du, Y.-G., Chitosan oligosaccharides protect mice from LPS challenge by attenuation of inflammation and oxidative stress. *International Immunopharmacology* 2011, 11, 121-127.
- [0265] 52. Okawa, Y.; Kobayashi M Fau - Suzuki, S.; Suzuki S Fau - Suzuki, M.; Suzuki, M., Comparative study of protective effects of chitin, chitosan, and N-acetyl chitohexaose against *Pseudomonas aeruginosa* and *Listeria monocytogenes* infections in mice.
- [0266] 53. Solov, #039; eva, T.; Davydova, V.; Krasikova, I.; Yermak, I., Marine Compounds with Therapeutic Potential in Gram-Negative Sepsis. *Marine Drugs* 2013, 11, 2216-2229.
- [0267] 54. Kim, H. M.; Park, B. S.; Kim, J.-I.; Kim, S. E.; Lee, J.; Oh, S. C.; Enkhbayar, P.; Matsushima, N.; Lee, H.; Yoo, O. J.; Lee, J.-O., Crystal Structure of the TLR4-MD-2 Complex with Bound Endotoxin Antagonist Eritoran. *Cell* 2007, 130, 906-917.
- [0268] 55. Li, N.; Zhuang, C.; Wang, M.; Sun, X.; Nie, S.; Pan, W., Liposome coated with low molecular weight chitosan and its potential use in ocular drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics* 2009, 379, 131-138.
- [0269] 56. Janes, K. A.; Fresneau, M. P.; Marazuela, A.; Fabra, A.; Alonso, M. a. J., Chitosan nanoparticles as delivery systems for doxorubicin. *Journal of Controlled Release* 2001, 73, 255-267.
- [0270] 57. Williams, J.; Lansdown, R.; Sweitzer, R.; Romanowski, M.; LaBell, R.; Ramaswami, R.; Unger, E., Nanoparticle drug delivery system for intravenous delivery of topoisomerase inhibitors. *Journal of Controlled Release* 2003, 91, 167-172.
- [0271] 58. Panda, S. K.; Kumar, S.; Tupperwar, N. C.; Vaidya, T.; George, A.; Rath, S.; Bal, V.; Ravindran, B., Chitohexaose Activates Macrophages by Alternate Pathway through TLR4 and Blocks Endotoxemia. *PLoS Pathog* 2012, 8, e1002717.
- [0272] 59. Sauerzapfe, B.; Namdjou, D. J.; Schumacher, T.; Linden, N.; Křenek, K.; Křen, V.; Elling, L., Characterization of recombinant fusion constructs of human β 1,4-galactosyltransferase 1 and the lipase pre-propeptide from *Staphylococcus hyicus*. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* 2008, 50, 128-140.

[0251]

도면

도면1

표-1

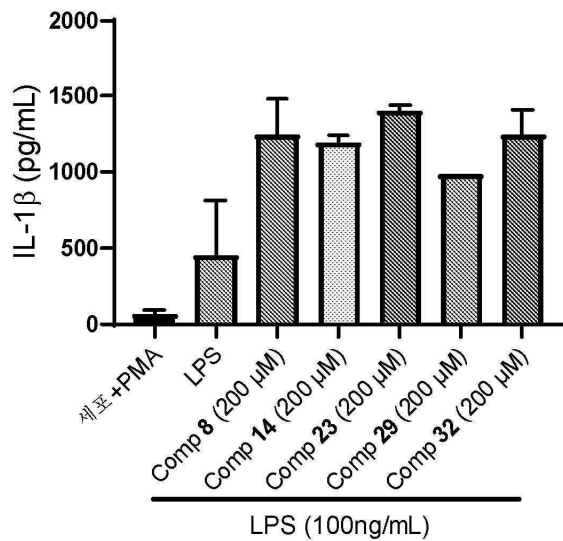
화합물 번호	구조	농도 (μM)	대조군 대비 억제 %		대조군 대비 활성화 %	
			TLR4	TLR2	TLR4	TLR2
1		1-10	+++			
		75-100	+++			
2		1	++	+		
		100	+++	+++		
3		1	++	++		
		100	+++	+++		
6		1	++			
		100	+++			
7		1	+++	++		
		100	+++	+++		
8		1	+++	+		
		100		++	++	
11		1	+			
		100	+			
14		1	+++			
		100	+++			
17		1		++		
		100		+++	++	

23		1	+		+	
		100	+		++	
26		1				
		100				
27		1		+		
		100		++		
28		1	+			
		100			++	
29		1				++
		100			+	+
30		1	+		+	
		100				
32		1	+++	+++		
		100	+++	+		
35		1	+++			
		100			++	
38		1				
		100		++	+	
39		1				
		100			+	
40		1				
		100			+	

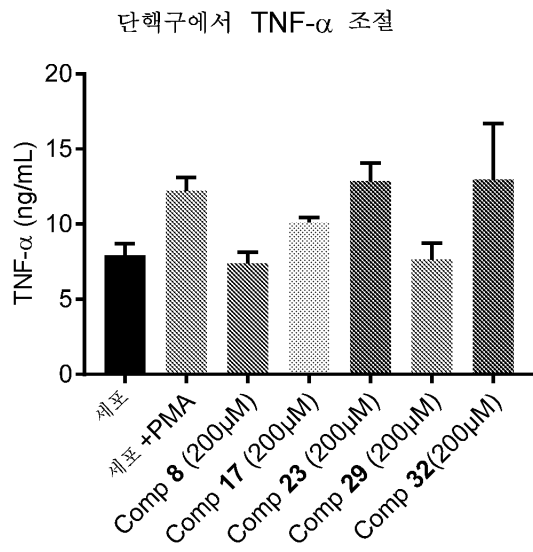
+ 억제 또는 활성화의 평균 %는 15-25% 범위이다
 ++ 억제 또는 활성화의 평균 %는 25-75% 범위이다
 +++ 억제 또는 활성화의 평균 %는 75-95% 범위이다

도면2

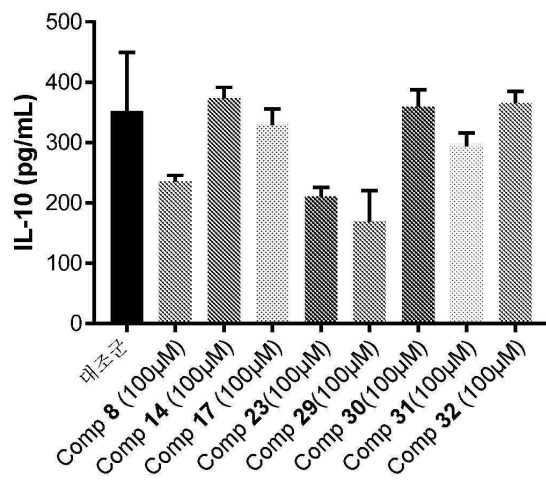
AVR 화합물은 THP-1 사람 단핵구 세포에서 IL-1β를 상향 조절한다



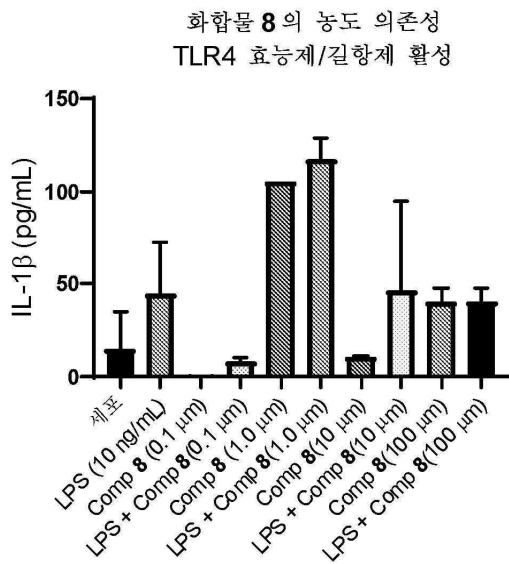
도면3



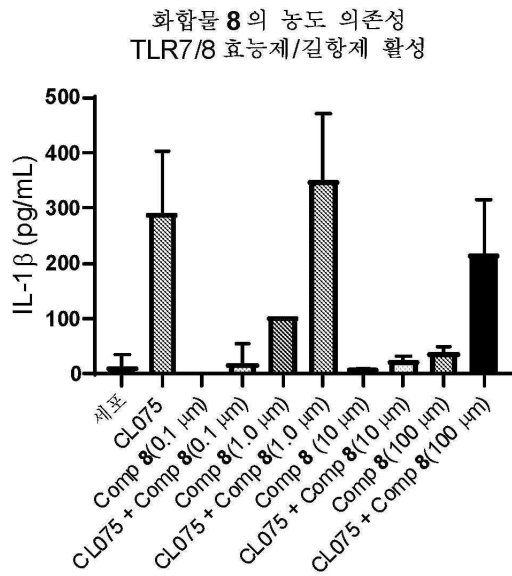
도면4



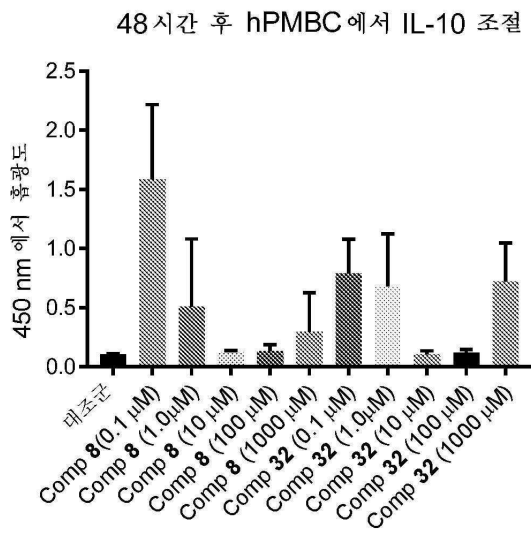
도면5



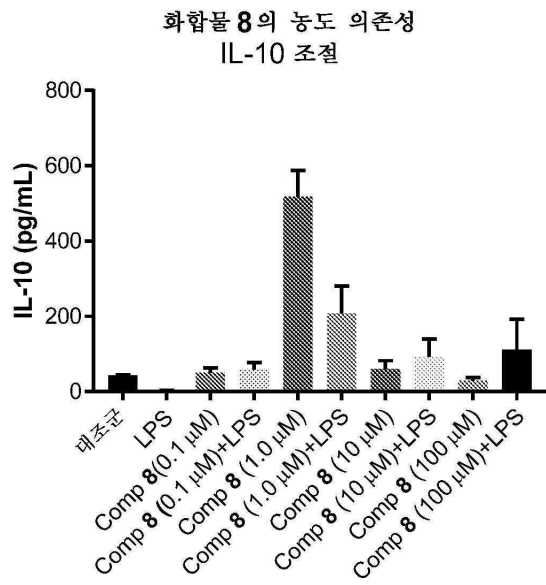
도면6



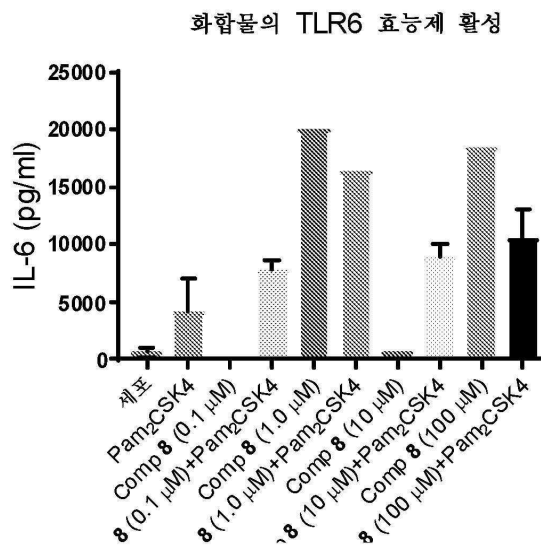
도면7



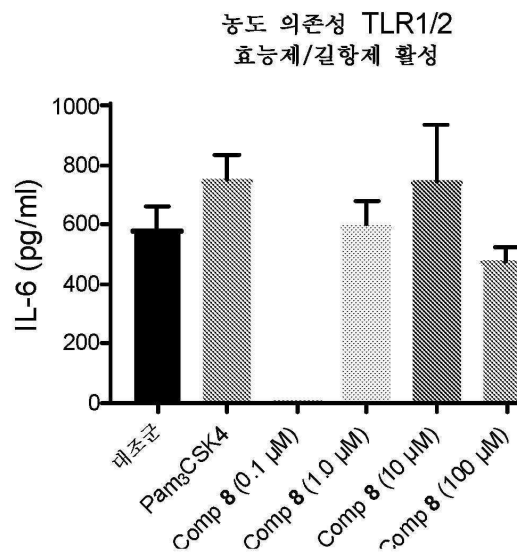
도면8



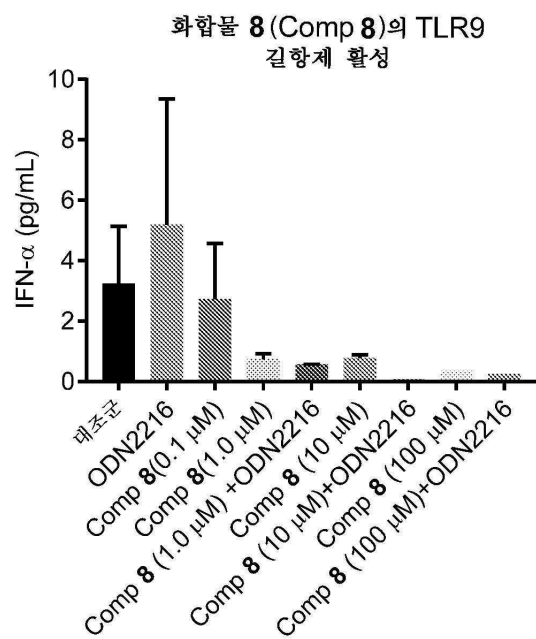
도면9



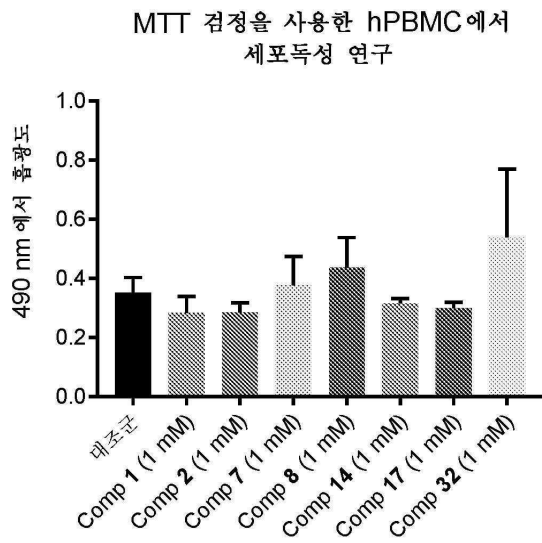
도면10



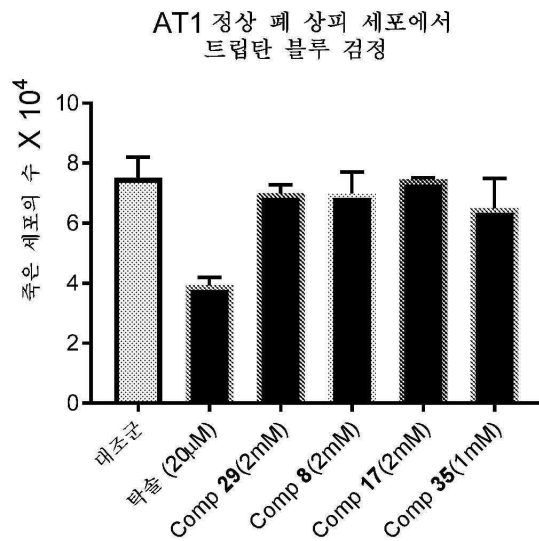
도면11



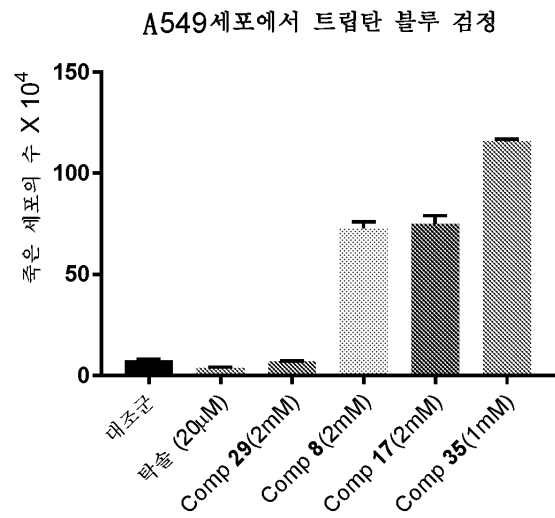
도면12



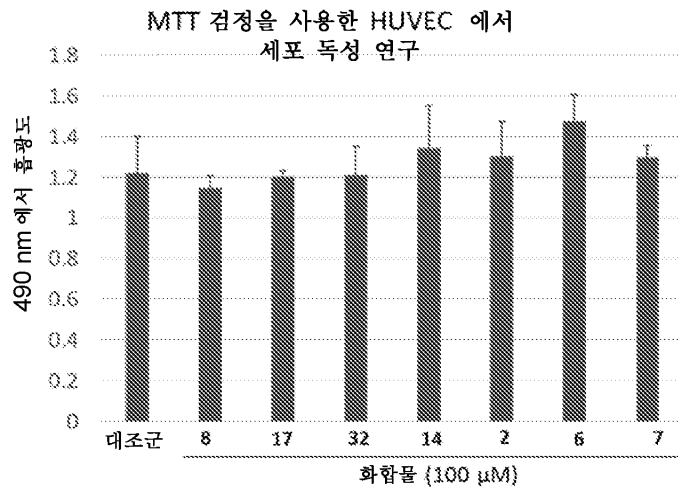
도면13



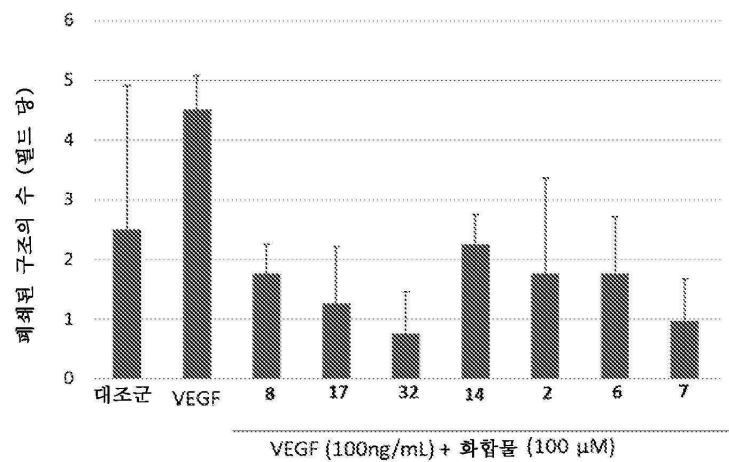
도면14



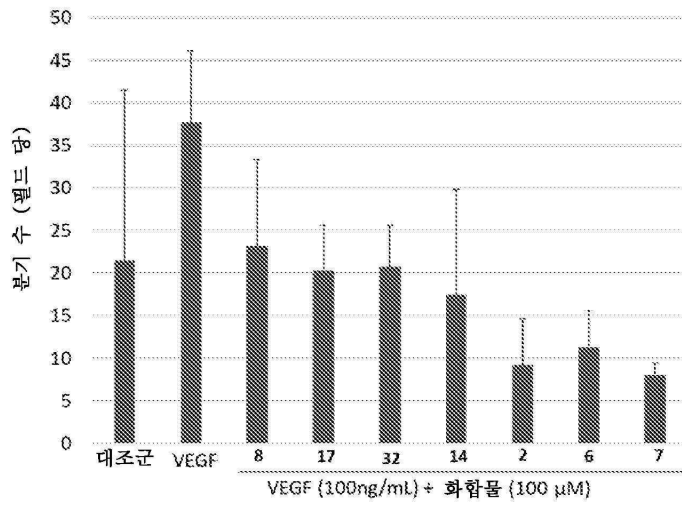
도면15



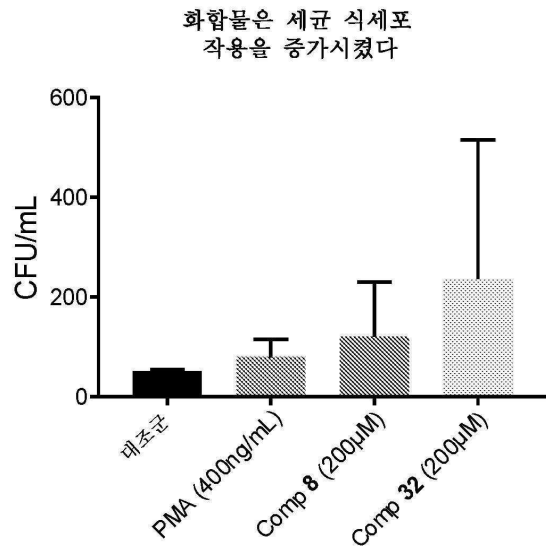
도면16



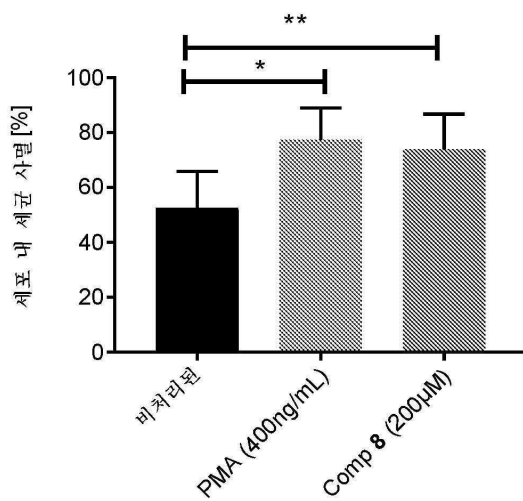
도면17



도면18



도면19

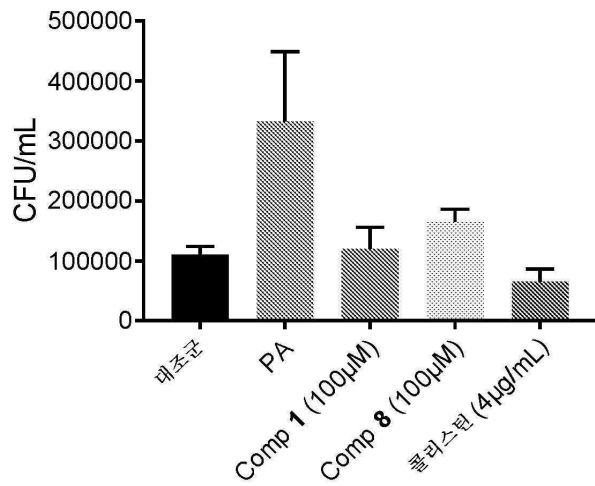


도면20

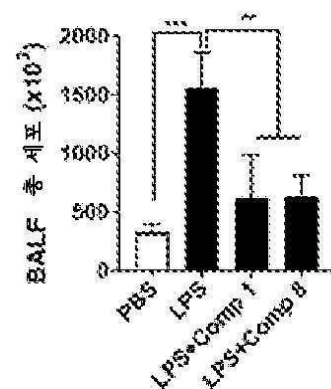
세균	MIC ₅₀ (μg/mL)					ΣFIC AVR45	ΣFIC AVR48
	콜리스틴	AVR-45	AVR-48	AVR45w의 MIC/ 콜리스틴의 MIC	AVR48w의 MIC/¼ 콜리스틴의 MIC		
피.아에루기노사	4	100	200	25	3.1	1.1 부가적	0.5 상승작용적
MRSA*(MIC ₂₀)	200*	100*	100*	6.25*	3.1*	1.0 부가적	1.0 부가적
이.콜리	8	100	200	ND	6.25	ND	0.9 부가적

도면21

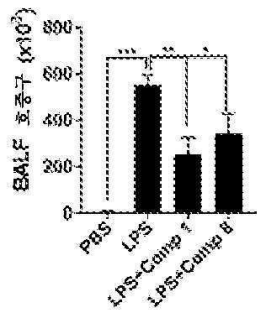
마우스 피부 상처에서 슈도모나스
아에루기노사(PA) CFU에서의 감소



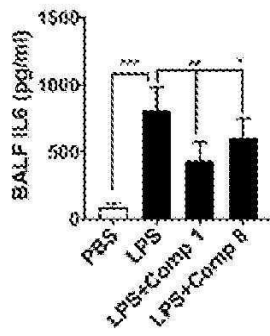
도면22a



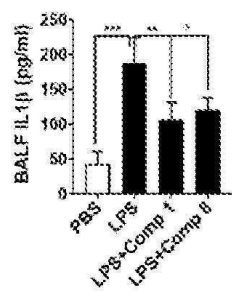
도면22b



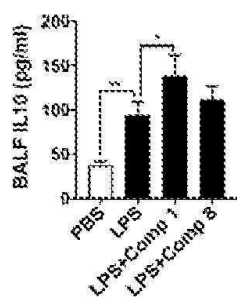
도면22c



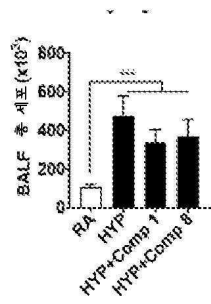
도면22d



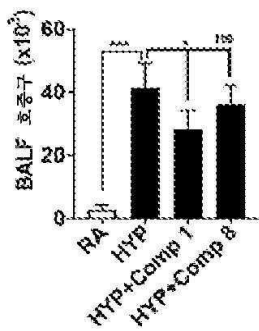
도면22e



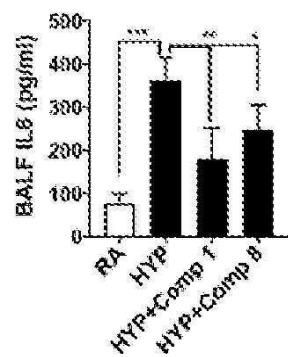
도면22f



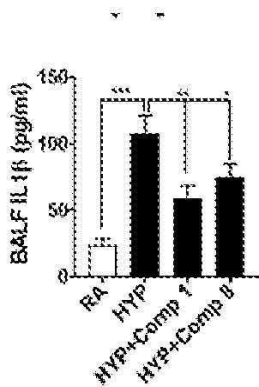
도면22g



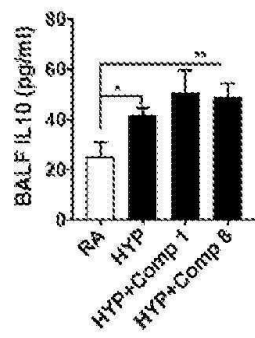
도면22h



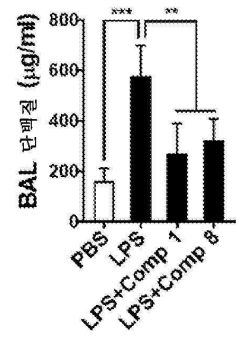
도면22i



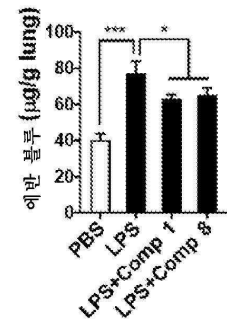
도면22j



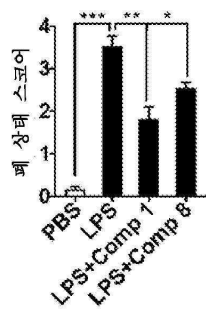
도면23a



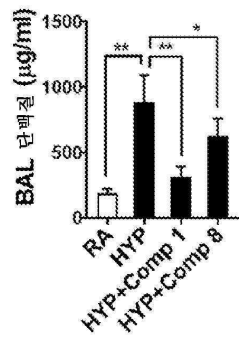
도면23b



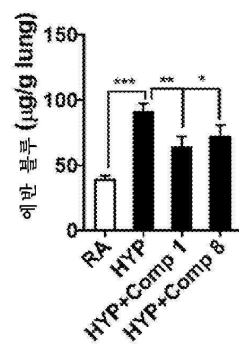
도면23c



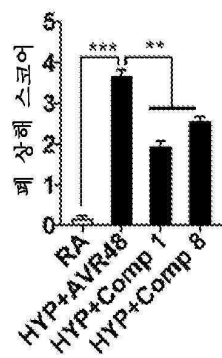
도면23d



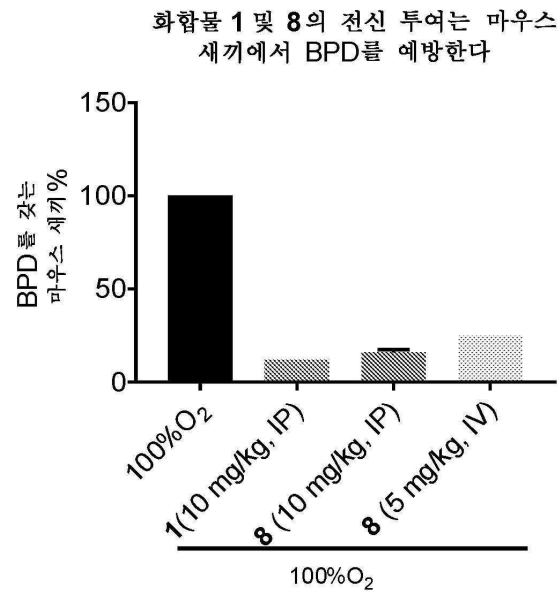
도면23e



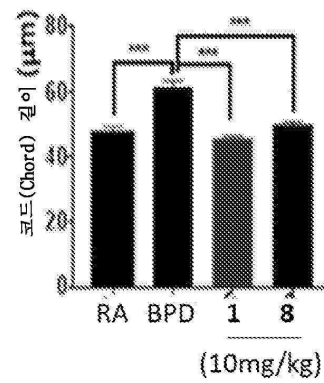
도면23f



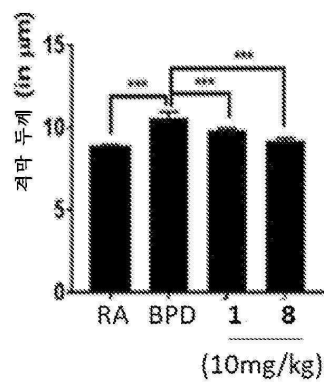
도면24



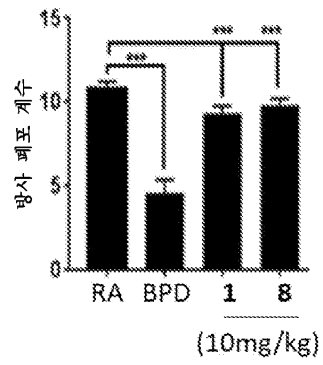
도면25a



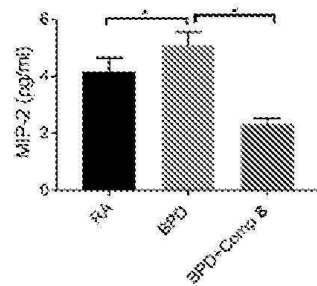
도면25b



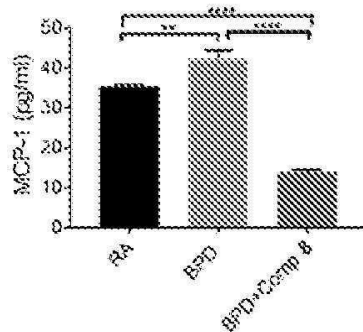
도면25c



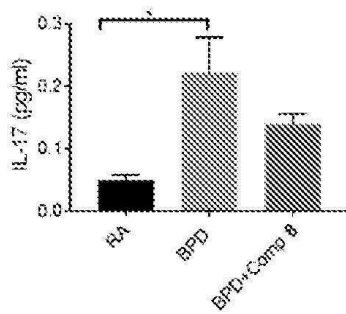
도면26a



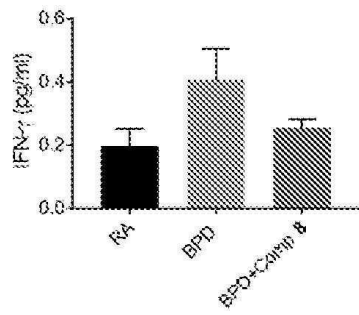
도면26b



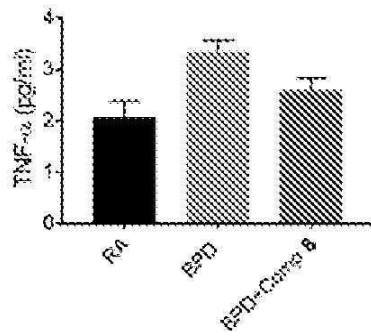
도면26c



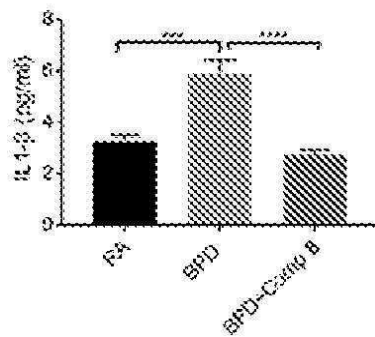
도면26d



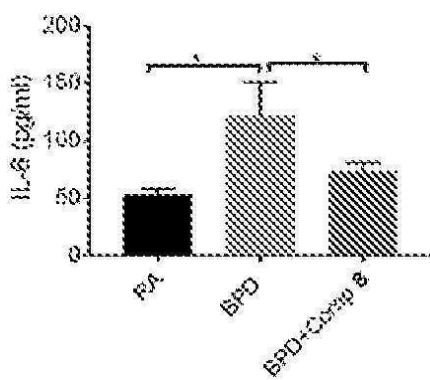
도면26e



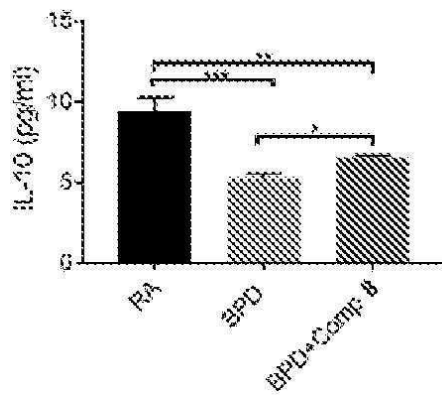
도면26f



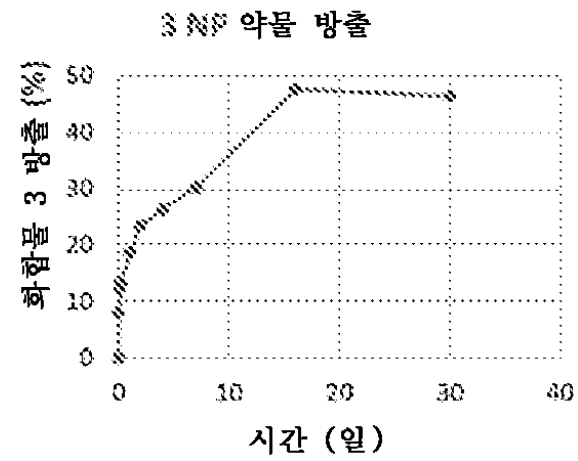
도면26g



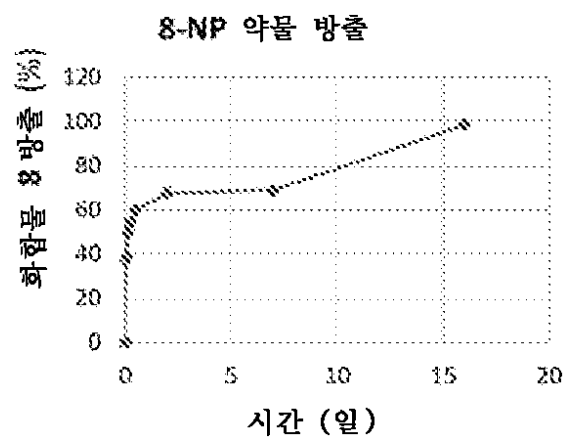
도면26h



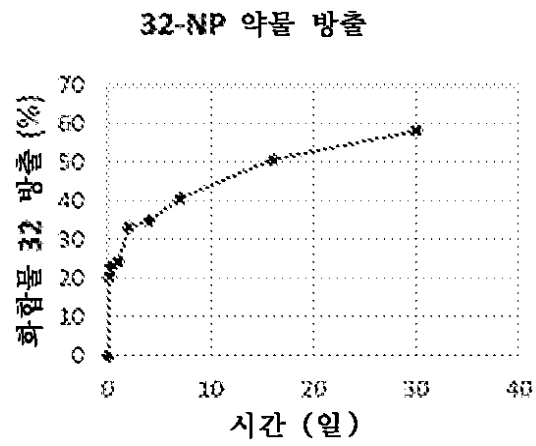
도면27a



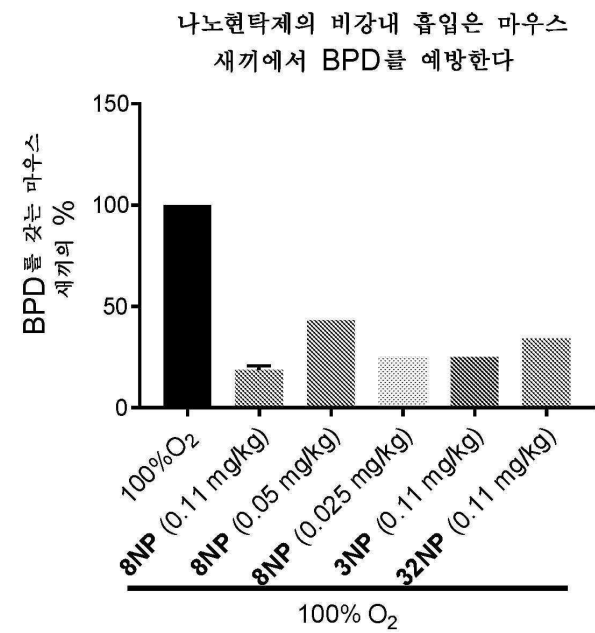
도면27b



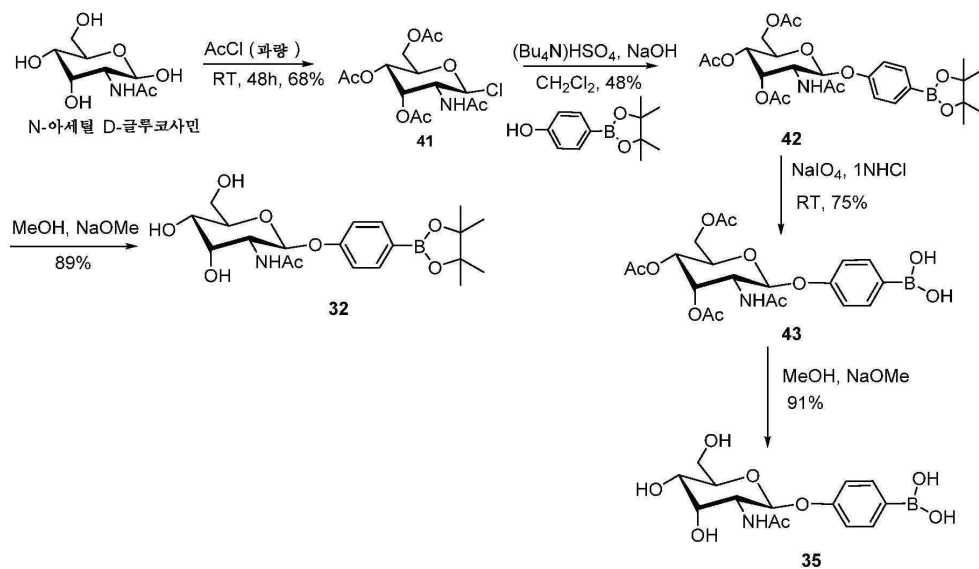
도면27c



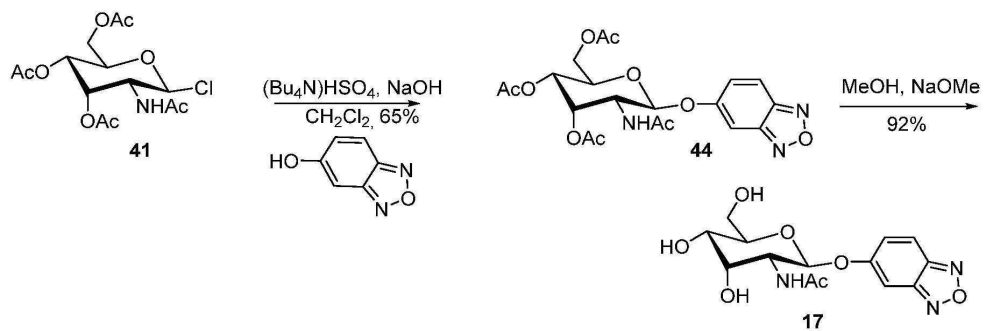
도면28



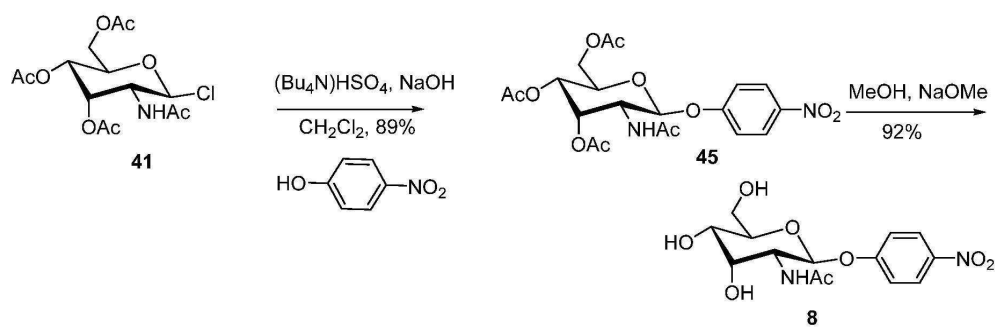
도면29



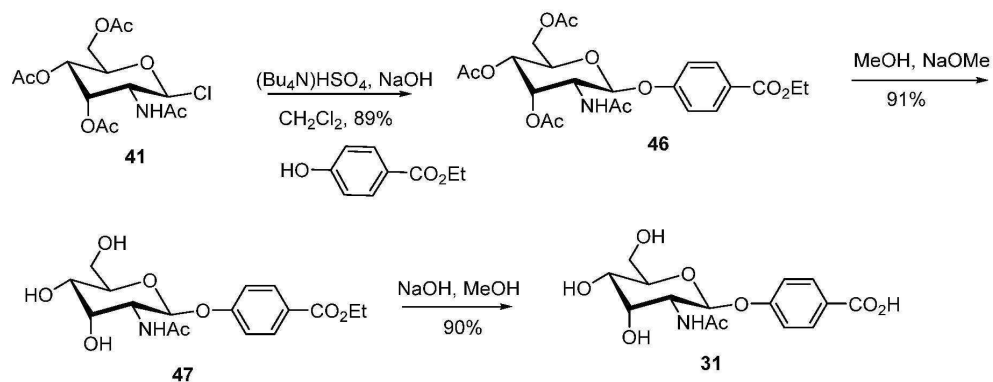
도면30



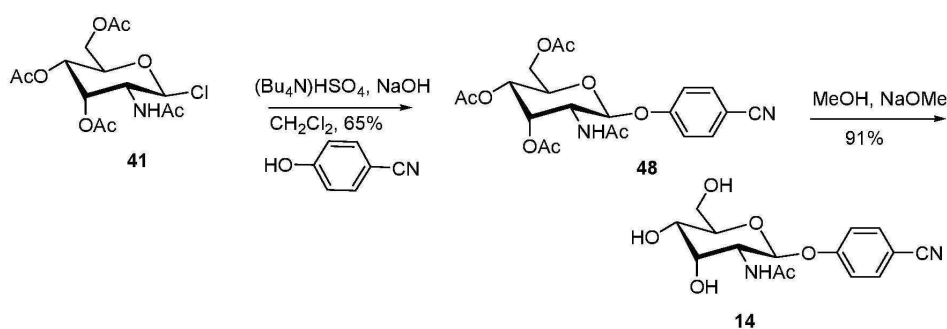
도면31



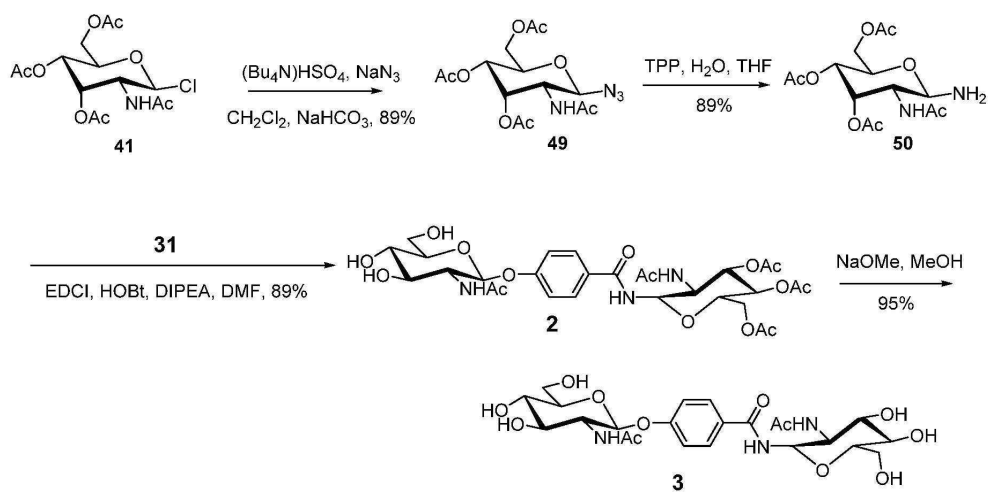
도면32



도면33



도면34



도면35

