(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2013-0010708
(43) 공개일자 2013년01월29일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/415 (2006.01) *A61K 31/4155* (2006.01)
A61P 11/00 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2011-0071509
(22) 출원일자 2011년07월19일
심사청구일자 2011년07월19일

(71) 출원인
연세대학교 산학협력단
서울특별시 서대문구 연세로 50, 연세대학교 (신촌동)
이화여자대학교 산학협력단
서울특별시 서대문구 이화여대길 52 (대현동, 이화여자대학교)
(72) 발명자
윤주헌
서울특별시 강남구 남부순환로 3032, 미도아파트 209동 1302호 (대치동)
주정희
서울특별시 서초구 잠원로 157, 신반포 한신아파트 119동 618호 (잠원동)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
안소영

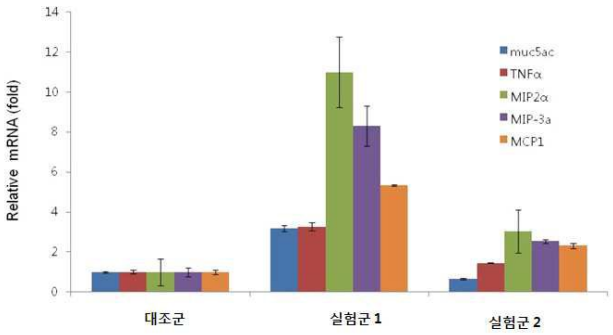
전체 청구항 수 : 총 4 항

(54) 발명의 명칭 **피라졸 유도체를 포함하는 호흡기 질환 예방 및 치료용 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 피라졸 유도체를 포함하는 조성물은, 호흡기 질환 예방 또는 치료용 조성물로서, 감염 또는 알러지 유발 인자에 의한 면역 반응에 기인한 염증을 효과적으로 억제하며, 특히 MUC5AC, MIP-2α, MIP-3α, MCP-1 및 TNF-α 발현 억제 효과가 뛰어나 호흡기 질환을 효과적으로 예방 또는 치료할 수 있다.

대 표 도 - 도1



(72) 발명자

유지환

서울특별시 서대문구 홍제동 453 무악 청구아파트 110동 1501호

배윤수

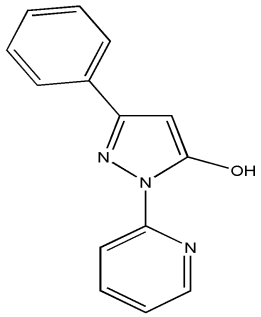
경기도 고양시 일산동구 호수로 606, 코오롱레이크폴리스 1차 A동 412호 (장항동)

특허청구의 범위

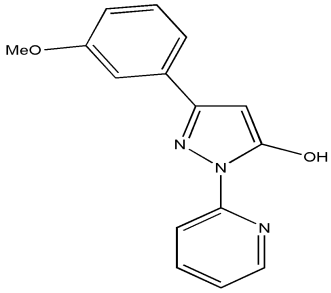
청구항 1

하기 화학식 1 내지 4 및 하기 화학식 1' 내지 4'로 표시되는 화합물로 이루어지는 군으로부터 선택된 피라졸 유도체 또는 이들의 염을 포함하는 호흡기 질환 예방 또는 치료용 조성물:

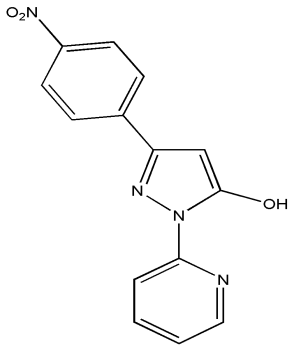
<화학식 1>



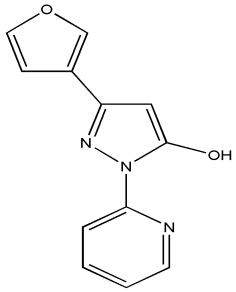
<화학식 2>



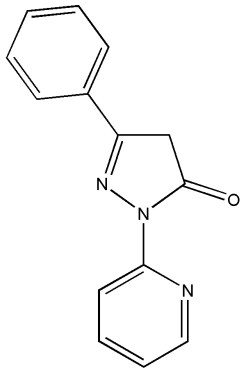
<화학식 3>



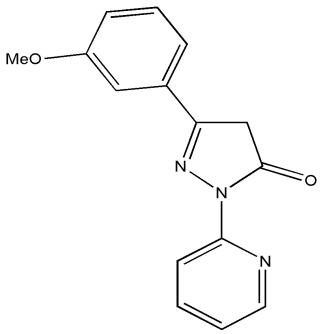
<화학식 4>



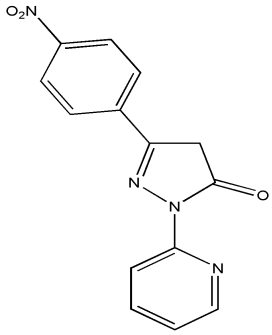
<화학식 1'>



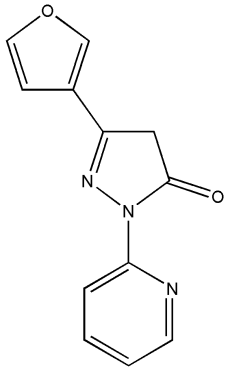
<화학식 2'>



<화학식 3'>



<화학식 4'>



청구항 2

제1항에 있어서, 상기 피라졸 유도체가 MUC5AC, MIP-2α, MIP-3α, MCP-1 및 TNF-α의 발현을 억제하는 것인 호흡기 질환 예방 또는 치료용 조성물.

청구항 3

하기의 열거된 화합물, 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 이들의 토토머로 이루어진 그룹으로부터 선택된 적어도 하나의 화합물을 포함하는 호흡기 질환 예방 또는 치료용 조성물.

화학식 1(3-페닐-1-(피리딘-2-일)-1H-피라졸-5-올);

화학식 2(3-(3-메톡시페닐)-1-(피리딘-2-일)-1H-피라졸-5-올);

화학식 3(3-(4-니트로페닐)-1-(피리딘-2-일)-1H-피라졸-5-올); 및

화학식 4(3-(퓨란-3-일)-1-(피리딘-2-일)-1H-피라졸-5-올).

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 한 항에 있어서, 상기 호흡기 질환은 감기, 비염, 부비강염, 상기도 감염증, 알러지성 비염 또는 천식인 것인 호흡기 질환 예방 또는 치료용 조성물.

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 피라졸 유도체를 포함하는 호흡기 질환 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다. 보다 구체적으로 본 발명은 감염 또는 알러지 유발 물질에 기인한 호흡기 질환을 효과적으로 예방 또는 치료할 수 있는 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 본 발명은 피라졸 유도체를 포함하는 호흡기 질환의 예방 및 치료용 조성물에 관한 것이다.

[0003] 현대인들은 산업의 발달로 대기오염, 알레르기원(동물의 털, 꽃가루 등), 흡연 등으로 인한 알레르기성 기관지 질환에 빈번하게 노출되며, 감기, 후두염, 급성 후두개염, 세기관지염, 폐렴, 천식, 편도선염 등과 같은 호흡기 질환은 선진국에서 가장 빈번하게 발생하는 질환 중 하나로 성인보다는 어린아이에게서 많이 발생된다는 보고가 있다(Sears, 1997).

[0004] 매년 5세 이하의 1,500만명의 어린이 중 약 400만명이 급성 호흡기질환 (acute resparatory disease)으로 사망하고 있으며, 이 사망자 중 90% 이상이 개발도상국가에서 일어난다. 또한, 이러한 호흡기 질환은 특히 대기 환경 오염이 심각한 지역에서 발생빈도가 높다.

[0005] 상기 호흡기 질환은 외부로부터 유입 물질들에 대한 호흡기의 점막 상피 세포의 면역반응에 의한 염증에 기인한다. 세균 또는 바이러스와 같은 감염 또는 알러지 유발 물질이 상기 호흡기의 점막조직과 접촉하게 되면 호흡기의 점막 상피 세포에서 다수의 사이토카인 및 뮤신이 현저하게 증가하면서 염증 반응을 유발하는 바, 상기 사이토카인 및 뮤신은 감염 또는 알러지 유발 물질에 의한 호흡기 질환에 대한 면역학적 지표로 기능할 수 있다.

[0006] 따라서, 감염 또는 알러지 유발 물질에 의한 호흡기 질환은 호흡기의 점막 상피 세포에서 면역반응에 의한 염증을 억제함으로써 효과적으로 예방 또는 치료할 수 있다.

[0007] 그러나 현재 이와 같은 호흡기 질환에 주로 사용되는 치료제는 항생제 또는 스테로이드제로 감염 또는 알러지 유발 물질에 의한 호흡기 질환을 효과적으로 치료하지 못하고 있는 실정이다.

선행기술문헌

특허문헌

[0008] (특허문헌 0001) KR 10-2010-0086186

(특허문헌 0002) KR 10-2010-0086158

(특허문헌 0003) KR 10-0987557

(특허문헌 0004) KR 10-0942382

비특허문헌

[0009] (비특허문헌 0001) Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 297: L1112-L1119, 2009

(비특허문헌 0002) Holck et al., Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology, 101, 455-458

발명의 내용

해결하려는 과제

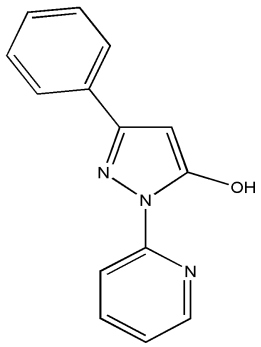
[0010] 본 발명은 피라졸 유도체를 포함하는 호흡기 질환 예방 또는 치료용 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

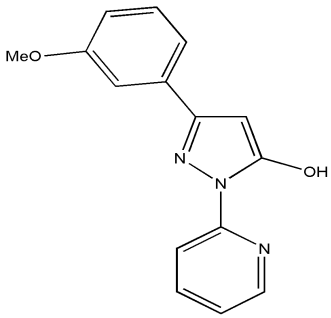
[0011] 본 발명은 피라졸 유도체를 포함하는 호흡기 질환 예방 및 치료용 조성물에 대한 것이다.

[0012] 본 발명의 호흡기 질환 예방 또는 치료용 조성물은 하기 화학식 1 내지 4로 표시되는 피라졸 유도체, 이들의 약제학적으로 허용되는 염 또는 이들의 토토머를 포함한다.

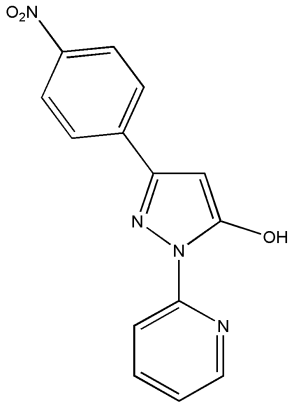
[0013] <화학식 1>

[0014] 

[0015] <화학식 2>

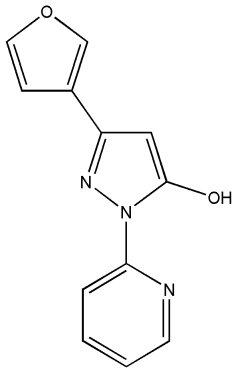
[0016] 

[0017] <화학식 3>



[0018]

[0019] <화학식 4>



[0020]

[0021] 상기 화학식 1 내지 4로 표시되는 화합물, 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 이들의 토토머를 포함하는 본원 발명에 따른 조성물은 호흡기의 점막 상피 조직의 염증 반응을 효과적으로 억제할 수 있다.

[0022] 다양한 미생물 또는 알러지 유발 물질들은 항상 외부로 개방된 호흡기의 점막에 다양한 면역 반응을 유발할 수 있으며, 이에 의해 과도하게 염증 반응이 진행되면서 호흡기 질환이 발병될 수 있다. 따라서, 감염 또는 알러지 유발 물질에 기인한 호흡기 질환에서 면역반응에 의한 염증을 유발하는 다양한 사이토카인과 뮤신 등이 호흡기의 점막 상피 세포에서 다량으로 나타나게 된다.

[0023] 사이토카인은 염증 및 면역 반응을 매개하여 호흡기 질환을 일으키는 가용성 단백질 및 당단백질로, 인터류킨(IL-1 내지 IL-32), 케모카인(IP-10, 란테스(RNATES), MIP-1α, MIP-1β, MIP-2α, MIP-3α, MCP-1, MCP-2, MCP-3, MCP-4, 에오탁신, I-TAC, 및 BCA-1), 및 1형 인터페론(IFN-α, IFN-β 등), 2형 인터페론(IFN-γ 등), 종양괴사인자-알파(TNF-α), 전환 성장인자-베타(TGF-β) 및 콜로니 자극 인자(CSF)가 포함된다.

[0024] 또한, 뮤신은 호흡기관, 위장관 및 여성 생식기관 등의 상피세포에서 분비되는 당단백질의 한 계열인 점액물질로, MUC5AC 및 MUC5B 등을 포함하며, 만성 기관지염, 만성 폐색성 폐 질환, 기관지확장증, 천식, 낭성섬유증 및 박테리아 감염증과 같은 다수의 호흡기 질환은 뮤신의 대량생산을 특징으로 한다(프레스코트(E. Prescott) 등의 문헌[Eur. Respir. J., 8, 1333-1338, 1995], 킴(K.C. Kim) 등의 문헌[Eur. Respir. J., 10, 1438, 1997] 및 스타이거(D. Steiger) 등의 문헌[Am. J. Respir. Cell Mol. Biol., 12, 307-314, 1995] 참조). 뮤신의 과분비에 의해 점액섬모가 손상되면, 만성 감염증 및 기류 폐쇄를 촉진시키며 때때로 사망에 이르게도 하는 기도내 점액전(mucus plugging)이 형성된다.

[0025] 따라서, 상기 MIP-2α(macrophage inflammatory protein-2α), MIP-3α(macrophage inflammatory protein -3α), MCP-1(Monocyte chemotactic protein-1), TNF-α(Tumor Necrosis Factor α) 등의 사이토카인이나 MUC5AC(Mucin-5AC)과 같은 뮤신은 호흡기 질환에 대한 면역학적 지표로 기능할 수 있다.

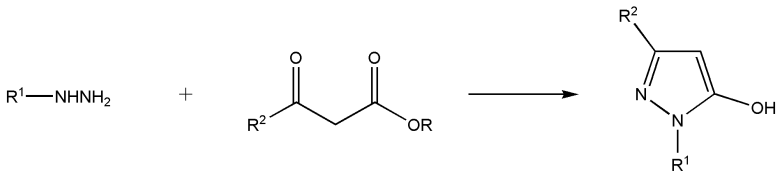
[0026] 본 발명에 따른 상기 화학식 1 내지 4로 표시되는 화합물, 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 이들의 토토머를 포함하는 조성물은 상기 MIP-2α, MIP-3α, MCP-1, TNF-α 등의 사이토카인이나 MUC5AC과 같은 뮤신과 같은 물질의 발현을 효과적으로 억제한다. 특히 본원발명의 조성물은 flagellin과 같은 미생물 감염에 의해 유

발되는 염증 반응(Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 297: L1112-L1119, 2009)뿐만 아니라 집먼지 진드기 등에 포함된 curdlan과 같은 알러지를 유발하는 물질에 의한 염증 반응(Holck et al., Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology, 101, 455-458)도 효과적으로 억제할 수 있다.

[0027] 따라서, 본원발명에 따른 조성물은 세균 또는 미생물 감염에 의해 유발되는 호흡기 질환뿐만 아니라 알러지 유발 물질에 기인한 호흡기 질환도 효과적으로 예방 또는 치료할 수 있다. 구체적으로, 본원발명에 따른 상기 조성물은 감기, 비염, 부비강염, 상기도 감염증, 알러지성 비염, 천식 등을 효과적으로 예방 또는 치료할 수 있다.

[0028] 본 발명의 조성물에 포함되는 상기 화학식 1 내지 4로 표시되는 피라졸 유도체는 이에 제한되는 것은 아니나, 하기 반응식 1과 같이, 히드라진과 β-케토에스테르의 고리화반응으로 합성될 수 있다.

[0029] <반응식 1>

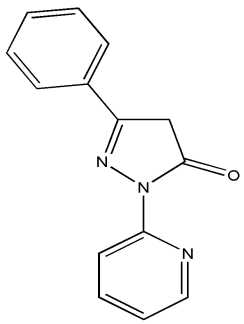
[0030] 

[0031] 상기 고리화반응은 한국등록특허 제 726,672호, Min-Sup Park et al. Synthetic Communications 2004, 34, 1541-1550; Hyun-Ja Park, et. al. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 2005, 15, 3307-3312에 공지된 방법을 통해 제조될 수 있다. 본래 한국등록특허 제726,672호에 따르면, 생성물은 케토형 (keto form)으로 표현되나, 케토-엔올 토토머 반응에 의하여 본 발명에 따른 생성물은 엔올형 (enol form)으로도 주로 존재한다.

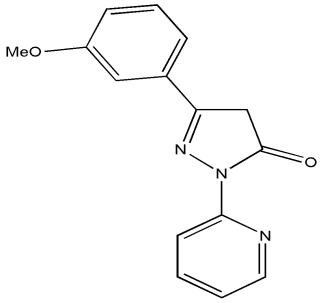
[0032] 상기 반응식 1에서, R^1은 피리딘, R^2는 페닐, 메톡시페닐, 니트로페닐, 퓨라닐이다. 따라서 상기 히드라진은 예를 들어 2-히드라지노피리딘이 사용될 수 있다. 또한, 상기 β-케토에스테르는 예를 들어 에틸 벤조일아세테이트, 3-(3-메톡시페닐)-3-옥소-프로피온 산 에틸 에스테르, 3-(4-니트로페닐)-3-옥소-프로피온 산 또는 에틸 3-(3-퓨릴)-3-옥소프로파노에이트가 사용될 수 있다. 반응용매로는 에탄올 또는 초산이 사용되는 것이 바람직하다. 상기 고리화 반응은 100 내지 130℃의 온도에서 2 내지 72시간 동안 수행하는 것이 바람직하다.

[0033] R^1과 R^2가 상기 정의된 바와 같을 경우, 본 발명의 조성물에 포함되는 피라졸 유도체는 상기 화학식 1 내지 4로 표시될 수 있으며, 화학식 1 내지 4로 표시되는 엔올형 화합물에 대응하는 케토형 화합물은 각각 다음의 화학식 1' 내지 4'일 수 있다. 호변이성질체 관계에 있는 엔올형과 케토형 화합물은 그 성질이 유사한 것으로 알려져 있다.

[0034] <화학식 1'>

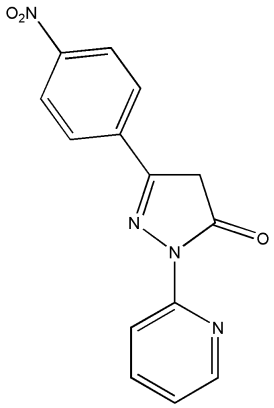
[0035] 

[0036] <화학식 2'>



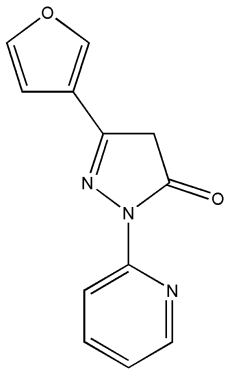
[0037]

[0038] <화학식 3'>



[0039]

[0040] <화학식 4'>



[0041]

[0042] 본 발명은 또한 하기 열거된 화합물 중에서 선택된 화합물, 이들의 약제학적으로 허용되는 염 또는 이들의 토토머를 포함하는 호흡기 질환 예방 또는 치료용 조성물을 제공한다:

[0043] 화학식 1(3-페닐-1-(피리딘-2-일)-1H-피라졸-5-올);

[0044] 화학식 2(3-(3-메톡시페닐)-1-(피리딘-2-일)-1H-피라졸-5-올);

[0045] 화학식 3(3-(4-니트로페닐)-1-(피리딘-2-일)-1H-피라졸-5-올); 및

[0046] 화학식 4(3-(퓨란-3-일)-1-(피리딘-2-일)-1H-피라졸-5-올).

[0047] 본 발명에서, 약제학적으로 허용되는 염은 의약업계에서 통상적으로 사용되는 염을 의미하며, 예를 들어 염산, 질산, 인산, 브롬산, 요오드산, 과염소산, 주석산 및 황산 등으로 제조된 무기산염, 아세트산, 트리플루오로아세트산, 시트르산, 말레인산, 숙신산, 옥살산, 벤조산, 타르타르산, 푸마르산, 만데르산, 프로피온산, 구연산, 젖산, 글리콜산, 글루콘산, 갈락투론산, 글루탐산, 글루타르산, 글루쿠론산, 아스파르트산, 아스코르브산, 카본산, 바닐릭산, 하이드로 아이오딕산 등으로 제조된 유기산염, 메탄설폰산, 에탄설폰산, 벤젠설폰산, p-톨루엔설폰산 및 나프탈렌설폰산 등으로 제조된 설폰산염 등일 수, 플루오로열거된 이들 염리콜의해 본 발명에서 의미하는 염의 종류가 한정되는 것은 아니다. 바람직하게는 상기 약제학적으로 허용 가능한 염은 염산염일 수 있다.

[0048] 본 발명의 조성물은 MUC5AC, MIP-2α, MIP-3α, MCP-1, TNF-α 등의 생성을 억제하므로, 호흡기 질환의 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

[0049] 본 발명에서 "호흡기 질환"은 감기, 비염, 부비강염, 상기도 감염증, 알러지성 비염 일 수 있다.

[0050] 본 발명의 조성물은 본 발명의 효과를 해치지 않는 범위 안에서 약학적으로 허용 가능한 희석제, 결합제, 붕해제, 윤활제, pH 조절제, 산화방지제, 용해보조제 등의 첨가제를 포함할 수 있다.

[0051] 희석제는 슈가, 전분, 미결정셀룰로오스, 유당(유당수화물), 포도당, 디-만니톨, 알기네이트, 알칼리토금속류염, 클레이, 폴리에틸렌글리콜, 무수인산수소칼슘, 또는 이들의 혼합물 등을 사용할 수 있으며; 결합제는 전분, 미결정셀룰로오스, 고분산성 실리카, 만니톨, 디-만니톨, 자당, 유당수화물, 폴리에틸렌글리콜, 폴리비닐피롤리돈(포비돈), 폴리비닐피롤리돈 공중합체(코포비돈), 히프로멜로오스, 히드록시프로필셀룰로오스, 천연검, 합성검, 코포비돈, 젤라틴, 또는 이들의 혼합물 등을 사용할 수 있다.

[0052] 붕해제는 전분글리콘산나트륨, 옥수수전분, 감자전분 또는 전호화전분 등의 전분 또는 변성전분; 벤토나이트, 몬모릴로나이트, 또는 비검(veegum) 등의 클레이; 미결정셀룰로오스, 히드록시프로필셀룰로오스 또는 카르복시메틸셀룰로오스 등의 셀룰로오스류; 알긴산나트륨 또는 알긴산 등의 알긴류; 크로스카멜로스(croscarmellose)나트륨 등의 가교 셀룰로오스류; 구아검, 잔탄검 등의 검류; 가교 폴리비닐피롤리돈(crospovidone) 등의 가교 중합체; 중탄산나트륨, 시트르산 등의 비등성 제제, 또는 이들의 혼합물을 사용할 수 있다.

[0053] 윤활제는 탈크, 스테아린산, 스테아린산 마그네슘, 스테아린산 칼슘, 라우릴설페이트나트륨, 수소화식물성오일, 나트륨벤조에이트, 나트륨스테아릴푸마레이트, 글리세릴 베헤네이트, 글리세릴 모노레이트, 글리세릴모노스테아레이트, 글리세릴 팔미토스테아레이트, 콜로이드성 이산화규소 또는 이들의 혼합물 등을 사용할 수 있다.

[0054] pH 조절제는 초산, 아디프산, 아스코르빈산, 아스코르빈산 나트륨, 에테르산 나트륨, 사과산, 숙신산, 주석산, 푸마르산, 구연산(시트르산)과 같은 산성화제와 침강 탄산 칼슘, 암모니아수, 메글루민, 탄산 나트륨, 산화 마그네슘, 탄산 마그네슘, 구연산 나트륨, 삼염기칼슘인산염과 같은 염기성화제 등을 사용할 수 있다.

[0055] 산화방지제는 디부틸 히드록시 톨루엔, 부틸레이티드 히드록시아니솔, 초산 토코페롤, 토코페롤, 프로필 갈레이트, 아황산수소나트륨, 피로아황산나트륨 등을 사용할 수 있다.본 발명의 선방출성 구획에서, 용해보조제는 라우릴황산나트륨, 폴리소르베이트 등의 폴리옥시에틸렌 소르비탄 지방산 에스테류, 도큐세이트 나트륨, 폴록사머(poloxamer) 등을 사용할 수 있다.

[0056] 또한, 지연방출성 제제를 만들기 위해 장용성 고분자, 수불용성 중합체, 소수성 화합물, 및 친수성 고분자를 포함할 수 있다.

[0057] 상기 장용성 고분자는 pH5 미만의 산성 조건하에서 불용성이거나 또는 안정한 것으로, pH5 이상인 특정 pH 조건하에서 용해되거나 또는 분해되는 고분자를 말하며, 예를 들어, 히프로멜로오스아세테이트숙시네이트, 히프로멜로오스프탈레이트(히드록시프로필메틸셀룰로오스 프탈레이트), 히드록시메틸에틸셀룰로오스프탈레이트, 셀룰로오스아세테이트프탈레이트, 셀룰로오스아세테이트숙시네이트, 셀룰로오스아세테이트말레이트, 셀룰로오스벤조에이트프탈레이트, 셀룰로오스프로피오네이트프탈레이트, 메틸셀룰로오스프탈레이트, 카르복시메틸에틸셀룰로오스 및 에틸히드록시에틸셀룰로오스프탈레이트, 메틸히드록시에틸셀룰로오스과 같은 장용성 셀룰로오스 유도체; 스티렌-아크릴산 공중합체, 아크릴산메틸-아크릴산 공중합체, 아크릴산메틸메타크릴산 공중합체(예컨대, 아크릴-이즈), 아크릴산부틸-스티렌-아크릴산 공중합체, 및 아크릴산메틸-메타크릴산-아크릴산옥틸공중합체과 같은 상기 장용성 아크릴산계 공중합체; 폴리(메타크릴산 메틸 메타크릴레이트) 공중합체(예컨대, 유드라짓 L, 유드라짓 S, 에보닉, 독일), 폴리 (메타크릴산 에틸아크릴레이트) 공중합체 (예컨대, 유드라짓 L100-55)와 같은 장용성 폴리메타크릴레이트 공중합체; 아세트산비닐-말레인산 무수물 공중합체, 스티렌-말레인산 무수물 공중합체, 스티렌-말레인산모노에스테를 공중합체, 비닐메틸에테르-말레인산 무수물 공중합체, 에틸렌-말레인산 무수물 공중합체, 비닐부틸에테르-말레인산 무수물 공중합체, 아크릴로니트릴-크릴산메틸·말레인산 무수물 공중합체, 및 아크릴산부틸-스티렌-말레인산 무수물 공중합체와 같은 장용성 말레인산계 공중합체; 및 폴리비닐알콜프탈레이트, 폴리비닐아세탈프탈레이트, 폴리비닐부틸레이트프탈레이트 및 폴리비닐아세트아세탈프탈레이트와 같은 장용성 폴리비닐 유도체가 있다.

[0058] 상기 수불용성 중합체는 약물의 방출을 제어하는 약제학적으로 허용가능한 물에 용해되지 않는 고분자를 말한다. 예를 들어, 수불용성 중합체는 폴리비닐아세테이트(예컨대, 콜리코트 SR30D), 수불용성 폴리메타크릴레이트 공중합체[예컨대, 폴리(에틸아크릴레이트-메틸 메타크릴레이트) 공중합체(예컨대, 유드라짓 NE30D, 폴리

(에틸아크릴레이트-메틸 메타크릴레이트-트리메틸아미노에틸메타크릴레이트)공중합체(예컨대, 유드라짓RSP 0)등], 에틸셀룰로오스, 셀룰로오스 에스테르, 셀룰로오스 에테르, 셀룰로오스 아실레이트, 셀룰로오스 디아실레이트, 셀룰로오스 트리아실레이트, 셀룰로오스 아세테이트, 셀룰로오스 디아세테이트 및 셀룰로오스 트리아세테이트 등이 있다.

[0059] 상기 소수성 화합물은 약물의 방출을 제어하는 약제학적으로 허용가능한 물에 용해되지 않는 물질을 말한다. 예를 들어, 글리세릴 팔미토스테아레이트, 글리세릴 스테아레이트, 글리세릴 비헤네이트, 세틸 팔미테이트, 글리세릴 모노 올레이트 및 스레아린산과 같은 지방산 및 지방산 에스테르류; 세토스테아릴 알코올, 세틸알코올 및 스테아릴알코올과 같은 지방산 알코올류; 카르나우바왁스, 밀납, 및 미결정왁스와 같은 왁스류; 탈크, 침강탄산칼슘, 인산일수소칼슘, 산화아연, 산화티탄, 카올린, 벤토나이트, 몬모릴로나이트 및 비검과 같은 무기질 물질 등이 있다.

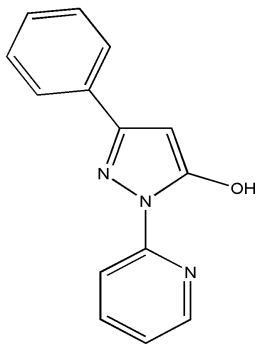
[0060] 상기 친수성 고분자는 약물의 방출을 제어하는 약제학적으로 허용가능한 물에 용해되는 고분자 물질을 말한다. 예를 들어, 덱스트린, 폴리덱스트린, 덱스트란, 펙틴 및 펙틴 유도체, 알긴산염, 폴리갈락투론산, 자일란, 아라비노자일란, 아라비노갈락탄, 전분, 히드록시프로필스타치, 아밀로오스, 및 아밀로펙틴와 같은 당류; 히프로멜로오스, 히드록시프로필셀룰로오스, 히드록시메틸셀룰로오스, 히드록시에틸셀룰로오스, 메틸셀룰로오스 및 카르복시메틸셀룰로오스 나트륨과 같은 셀룰로오스 유도체; 구아검, 로커스트 콩 검, 트라가칸타, 카라기난, 아카시아검, 아라비아검, 젤란검, 및 잔탄검과 같은 검류; 젤라틴, 카제인, 및 제인과 같은 단백질; 폴리비닐 알코올, 폴리비닐 피롤리돈, 및 폴리비닐아세탈디에틸아미노아세테이트과 같은 폴리비닐유도체; 폴리(부틸 메타크릴레이트-(2-디메틸아미노에틸)메타크릴레이트-메틸메타크릴레이트) 공중합체(예컨대, 유드라짓E100, 에보닉, 독일), 폴리(에틸 아크릴레이트-메틸 메타크릴레이드-트리에틸아미노에틸- 메타크릴레이트 클로라이드) 공중합체 (예컨대, 유드라짓 RL, RS, 에보닉, 독일)과 같은 친수성 폴리메타크릴레이트 공중합체; 폴리에틸렌 글리콜, 및 폴리에틸렌 옥사이드와 같은 폴리에틸렌 유도체; 카보머 등이 있다.

[0061] 이외에도 착색제, 향료 중에서 선택된 다양한 첨가제로서 약학적으로 허용 가능한 첨가제를 선택 사용하여 본 발명의 제제를 제제화할 수 있다.

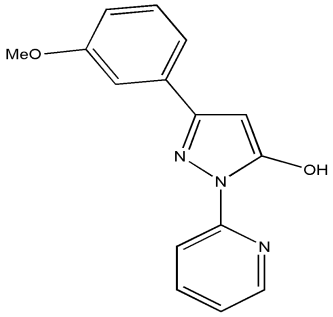
[0062] 본 발명에서 첨가제의 범위가 상기 첨가제를 사용하는 것으로 한정되는 것은 아니며, 상기한 첨가제를 선택에 의하여 통상 범위의 용량을 함유하여 제제화할 수 있다.

[0063] 또한, 본 발명은 화학식 1 내지 4로 표시되는 피라졸 유도체, 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 이들의 토토머를 포함하는 조성물을 대상체에 투여하여 호흡기 질환을 치료 또는 예방하는 방법에 관한 것이다.

[0064] <화학식 1>

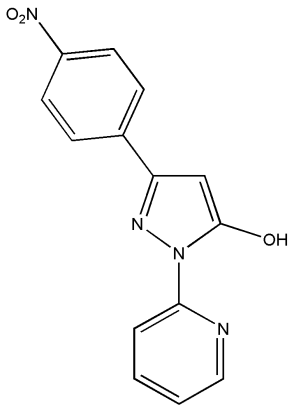
[0065] 

[0066] <화학식 2>



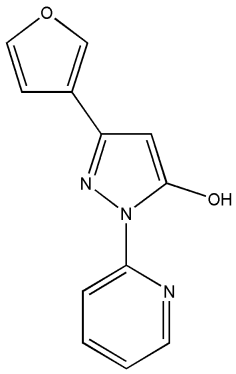
[0067]

[0068] <화학식 3>



[0069]

[0070] <화학식 4>



[0071]

[0072] 본 발명의 조성물을 사용하는 호흡기 질환 예방 또는 치료 방법은 감염 또는 알러지 유발 인지로 인한 염증 반응을 효과적으로 억제하면, 특히, MUC5AC, MIP-2α, MIP-3α, MCP-1, TNF-α 등의 생성을 억제하여 호흡기 질환을 효과적으로 치료 또는 예방할 수 있다.

[0073] 본 발명에서 용어, "투여"는 어떠한 적절한 방법으로 환자에게 본 발명의 호흡기 질환 예방 및 치료용 조성물을 도입하는 것을 의미하며, 본 발명의 호흡기 질환 예방 및 치료용 조성물의 투여 경로는 목적 조직에 도달할 수 있는 한 어떠한 일반적인 경로를 통하여 투여될 수 있다. 경구 투여, 복강 내 투여, 정맥내 투여, 근육내 투여, 피하 투여, 피내 투여, 비내 투여, 폐내 투여, 직장내 투여, 강내 투여 , 복강내 투여, 경막내 투여될 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다. 본 발명에 따른 호흡기 질환 예방 및 치료 용 조성물은 일 회 투여될 수도 있고, 또는 일정한 시간 간격을 두고 2회 또는 3회 투여될 수도 있다.

[0074] 호흡기 질환의 종류나 투여 형태, 그리고 치료 효과 등을 고려하여 당업자에게 통상적으로 알려진 다양한 방법에 따라 본 발명에 따른 호흡기 질환 예방 및 치료용 조성물을 적절히 투여할 수 있으며, 바람직하게 본 발명에 따른 호흡기 질환 예방 또는 치료용 조성물은 일일 1회 또는 일정한 시간 간격을 두고 일일 2회 이상 투여될 수 있다.

[0075] 본 발명의 화학식 1 내지 4로 표시되는 피라졸 유도체, 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 이들의 토토머

의 투여량은 환자의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 배설율 및 질환의 중증도 등에 따라 그 범위가 다양할 수 있으나, 바람직하게는 0.1 내지 100mg/kg/day 이며, 보다 바람직하게는 10 내지 40mg/kg/day이다.

발명의 효과

[0076] 본 발명에 따른 피라졸 유도체, 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염, 또는 이들의 토토머를 포함하는 조성물은 감염 또는 알러지 유발 인자에 의한 염증 반응을 효과적으로 억제하여 호흡기 질환을 예방 또는 치료할 수 있으며, 구체적으로, 호흡기 점막 조직의 면역 반응에 기인한 염증 반응에서 다량으로 나타나는 MUC5AC, MIP-2α, MIP-3α, MCP-1 및 TNF-α의 발현을 현저히 감소시켜 호흡기 질환을 효과적으로 치료 또는 예방할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0077] 도 1은 비강 점막 조직에서 본 발명에 따른 조성물이 flagellin에 의해 유발된 MUC5AC, MIP-2α, MIP-3α, MCP-1 및 TNF-α의 발현을 억제하는 정도를 보여주는 그래프이다.

도 2는 비강 점막 조직에서 본 발명에 따른 조성물이 curldan에 의해 유발된 MIP-3α의 발현을 억제하는 정도를 보여주는 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0078] 하기 제조예 및 실시예는 본 발명을 보다 구체적으로 설명하고자 한다. 이들 제조예 및 실시예는 본 발명을 설명하기 위한 것일 뿐, 본 발명의 범위가 하기 제조예 및 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

[0079] 또한, 이하에서 언급된 시약 및 용매는 특별한 언급이 없는 한 Sigma사부터 구입한 것이다.

[0080] **제조예 1. 화학식 1(3-페닐-1-(피리딘-2-일)-1H-피라졸-5-올)의 제조**

[0081] 둥근 바닥플라스크에 에틸 벤조일아세테이트(1당량)와 에탄올 4㎖을 넣고, 여기에 2-히드라지노피리딘(1.1당량)을 에탄올 3㎖에 희석시켜 0℃에서 천천히 적가하고 20분 동안 가열 환류시켰다. 감압증류하여 용매를 제거한 다음 생성된 고체를 헥산과 에틸아세테이트로 세척한 후 진공건조시켜 목적 화합물을 87%의 수율로 얻었다.

[0082] **제조예 2. 화학식 2(3-(3-메톡시페닐)-1-(피리딘-2-일)-1H-피라졸-5-올)의 제조**

[0083] 둥근 바닥플라스크에 3-(3-메톡시페닐)-3-옥소-프로피온 산 에틸 에스테르(1당량)와 에탄올 4㎖을 넣고, 여기에 2-히드라지노피리딘(1.1당량)을 에탄올 3㎖에 희석시켜 0℃에서 천천히 적가하고 20분 동안 가열 환류시켰다. 감압증류하여 용매를 제거한 다음 생성된 고체를 헥산과 에틸아세테이트로 세척한 후 진공건조시켜 목적 화합물을 67%의 수율로 얻었다.

[0084] **제조예 3. 화학식 3(3-(4-니트로페닐)-1-(피리딘-2-일)-1H-피라졸-5-올)의 제조**

[0085] 둥근 바닥플라스크에 3-(4-니트로페닐)-3-옥소-프로피온 산 에틸 에스테르(1당량)와 에탄올 4㎖을 넣고, 여기에 2-히드라지노피리딘(1.1당량)을 에탄올 3㎖에 희석시켜 0℃에서 천천히 적가하고 20분 동안 가열 환류시켰다. 감압증류하여 용매를 제거한 다음 생성된 고체를 헥산과 에틸아세테이트로 세척한 후 진공건조시켜 목적 화합물을 92%의 수율로 얻었다.

[0086] **제조예 4. 화학식 4(3-(퓨란-3-일)-1-(피리딘-2-일)-1H-피라졸-5-올)의 제조**

[0087] 둥근 바닥 플라스크에 에틸 3-(3-퓨릴)-3-옥소프로파노에이트(1.2당량)와 초산 3㎖을 넣고, 여기에 2-히드라지노피리딘(1당량)을 초산 2㎖에 희석한 용액을 천천히 적가한 후, 130℃에서 72시간 동안 가열 환류시켰다. 감압증류하여 용매를 제거한 다음 생성된 고체를 헥산으로 세척한 후 건조시켜 목적화합물을 66%의 수율로 얻었다.

[0088] 실시예 1: 염증 반응 예방 또는 치료 효과 확인 1

[0089] 본 발명의 피라졸 유도체가, 마우스에서 호흡기 염증반응억제에 미치는 효과를 알아보기 위하여 다음과 같은 실험을 수행하였다.

[0090] 24 마리의 8 주령의 C57BL/6 마우스를 3개의 그룹으로 나누어, 실험군 1은 10㎍의 flagellin을 멸균증류수에 분산시키고 생리적 식염수를 사용하여 flagellin의 농도가 5㎍/ml인 용액을 제조한 후, 이를 양쪽 비강 점막에 점적하였다.

[0091] 실험군 2는 상기 제조예 1에서 제조한 화학식 1(3-페닐-1-(피리딘-2-일)-1H-피라졸-5-올(3-phenyl-1-(pyridine-2-yl)-1H-pyrizol-5-ol))의 화합물을 DMSO(dimethylsufoxide)에 용해시키고 생리적 식염수를 사용하여 상기 화학식 1의 화합물의 농도가 100μM인 용액을 제조한 후, 상기 용액을 30분 동안 상기 실험군 2의 마우스 비강 양쪽에 25㎕씩 각각 투여하였다. 이 후, 10㎍의 flagellin을 멸균증류수에 분산시키고 생리적 식염수를 사용하여 flagellin의 농도가 5㎍/ml인 용액을 제조한 후, 이를 실험군 2의 마우스 양쪽 비강 점막에 각각 점적하였다. 대조군은 상기 실험군 1 및 실험군 2의 마우스에 flagellin을 점적하기 1시간 전에 생리적 식염수로만 양쪽 비강을 전처리하였다.

[0092] 4시간 후 상기 대조군, 실험군 1 및 실험군 2의 쥐를 희생시킨 후 비강 점막 조직을 적출하여 RNA를 추출한 후 염증매개인자로서 사이토카인 (cytokine)인 MIP2-α, MCP1, MIP3-α, TNF-α, 그리고 분비점액의 주요 성분인 MUC5AC의 발현 정도를 분석하였다. 적출된 점막조직은 trizol액을 넣어 분쇄기로 분쇄한 후 클로로포름을 넣고 10분동안 반응시킨후 20분동안 4℃에서 14000rpm으로 원심분리하여 수득된 상층액을 이소프롬알데하이드를 이용하여 침전시켜 RNA를 추출 하였다.

[0093] 상기 수득된 얻어진 RNA로부터 프라이머(ramdom hexamer preimer, PerkinElmer Life Sciences, Waltham, MA, USA 및 Roche Applied Science, Indianapolis, IN, USA)와 역전사 효소 Moloney murine leukemia virus reverse transcriptase (PerkinElmer Life Sciences, Waltham, MA, USA)를 이용하여 cDNA를 만들어 각 유전자의 발현정도를 real-time PCR (RT-PCR) 방법으로 조사하였다.

[0094] 상기 MIP-2α및 MUC5AC의 발현정도는 TaqManuiversal PCR master mix 및 PE Biosystems ABI PRISM 7700 sequence detection system (Foster City, CA, USA)를 사용하여 RT-PCT로 측정하였다. 사용한 프라이머 및 프로브는 하기 표 1에 기재된 것을 Applied Biosystems 에서 구매하여 사용하였으며, RT-PCR은 다음의 반응 조건 하에서 수행되어졌다: ① 50 ℃에서 2 분, ② 95 ℃에서 10 분, ③ 57 ℃에서 15 초 및 60℃에서 1분 40번 반복.

[0095] 또한, RT-PCR에 의한 증폭 산물의 양은 CT method(comprative threshold method)에 의해 정량되었으며 대조군으로는 GAPDH를 사용하였다.

[0096] [표 1]

유전자	상품명
MIP 2α	Mm00436450_m1
MUC5AC	Mm01276725_g1
GAPDH	Mm99999915_g1

[0097]

[0098] 한편, MIP-3α, TNF-α및 MCP-1의 발현정도는 SYBR Green qPCR 키트(Finnzymes, 핀란드) 및 PE Biosystems ABI PRISM 7700 sequence detection system (Foster City, CA, USA)를 사용하여 RT-PCT로 측정하였다. 사용한 프라이머는 하기 표 2에 기재된 것을 사용하였으며, RT-PCR은 다음의 반응 조건 하에서 수행되어졌다: ① 50 ℃에서 2 분, ② 95 ℃에서 10 분, ③ 57 ℃에서 15 초 및 60℃에서 1분 40번 반복.

[0099] 또한, RT-PCR에 의한 증폭 산물의 양은 CT method(comprative threshold method)에 의해 정량되었으며 대조군으로는 GAPDH를 사용하였다.

[0100] [표 2]

유전자		프라이머 서열
Mip-3α	서열번호 1: 정방향(up)	-CCTTGCTTTGGCATGGGTACT-
	서열번호 2:역방향(down)	-CAGTCGTAGTTGCTTGCTGCTT-
TNF-α	서열번호 3:정방향(up)	-ATAGCTCCCAGAAAAGCAAGC-
	서열번호 4:역방향(down)	-CACCCCGAAGTTCAGTAGACA-
MCP-1	서열번호 5:정방향(up)	-GGAAAAATGGATCCACACCTTGC-
	서열번호 6:역방향(down)	-TCTCTTCCTCCACCACCATGCAG-
GAPDH	서열번호 7:정방향(up)	-GAAGGTGAAGGTCGGTCGGAG-
	서열번호 8:역방향(down)	-GAAGATGGTGATGGGATTTC-

[0101]

[0102] MIP-2α, MUC5AC, MIP-3α, TNF-α및 MCP-1의 RNA 발현량을 RT-PCR을 사용하여 측정한 결과는 하기 도 1에 도시하였다.

[0103] 상기 도 1에서 RNA의 발현량은 대조군에서의 MIP2-α, MCP1, MIP3-α, TNF-α, MUC5AC의 RNA의 발현량을 기준값인 1로 표시하였으며, 실험군 1 및 실험군 2에서의 상기 인자들의 RNA 발현량은 대조군에서 상기 인자들의 RNA 발현량에 대한 상대적인 비율로 표시하였다.

[0104] 도 1에 나타난 바와 같이, flagellin을 투여하지 않은 대조군과 비교하여 flageline을 투여한 실험군 1은 사이토카인과 뮤신의 RNA의 발현량이 현저히 증가하였으며, 이로부터 마우스의 비강에 투여한 flagellin이 염증을 유발했음을 알 수 있었다.

[0105] 한편, flagellin 투여 전에 제조예 1에서 제조된 화합물을 투여한 실험군 2에서는 flagellin의 투여에도 불구하고 실험군 1에 비하여 사이토카인 및 뮤신의 RNA 발현량이 현저히 적었다. 이로부터, 제조예 1의 화합물이 flagellin에 의해 비강 조직에서 유발된 염증 반응을 효과적으로 억제함을 알 수 있었다.

[0106] 따라서, 본원발명의 화합물은 호흡기관에 염증을 억제하여 많은 호흡기 질환을 효과적으로 예방 또는 치료할 수 있음을 알 수 있다.

[0107] 실시예 2: 염증 반응 예방 또는 치료 효과 확인 2

[0108] 본 발명의 피라졸 유도체가, 마우스에서 호흡기 염증반응억제에 미치는 효과를 알아보기 위하여 다음과 같은 실험을 수행하였다.

[0109] 9 마리의 8주령의 C57BL/6 마우스를 3개의 그룹으로 나누어, 실험군 1은 50㎍의 curdlan을 생리적 식염수에 용해시켜 농도가 5㎍/ml인 용액을 양쪽 비강 점막에 직접 점적하였다.

[0110] 실험군 2는 상기 제조예 1에서 제조한 화학식 1(3-페닐-1-(피리딘-2-일)-1H-피라졸-5-올(3-phenyl-1-(pyridine-2-yl)-1H-pyrizol-5-ol))의 화합물을 DMSO(dimethylsufoxide)에 용해시키고 생리적 식염수를 사용하여 상기 화학식 1의 화합물의 농도가 100μM인 용액을 제조한 후, 상기 용액을 30분 동안 상기 실험군 2의 마우스 양쪽 비강 점막에 25㎕씩 각각 투여하였다. 상기 화학식 1의 화합물 투여 후, 50㎍의 curdlan을 식염수에 용해시켜 농도가 5㎍/ml인 용액을 양쪽 비강 점막에 직접 점적하였다. 대조군은 상기 실험군 1 및 실험군 2의 마우스에 curdlan을 점적하기 1시간 전에 생리적 식염수만으로 비강을 전처리하였다.

[0111] 4시간 경과 후, 상기 실험군 1, 2 및 대조군의 마우스를 모두 희생시킨 후 비강내 점막 조직을 수득하고 RNA를 추출한 후, 염증매개인자로서 사이토카인인 MIP3-α의 유전자 발현 정도를 측정하였다.

[0112] 적출된 점막조직은 trizol액을 넣어 분쇄기로 분쇄한 후 클로로포름을 넣고 10분동안 반응시킨후 20분동안 4℃에서 14000rpm으로 원심분리하여 수득된 상층액을 이소프롬알데하이드를 이용하여 침전시켜 RNA를 추출 하였다.

[0113] 상기 추출된 RNA로부터 MIP3-α 발현량은 상기 실험예 1에서 MIP3-a의 유전자 발현량을 측정한 방법과 실질적으로 동일하게 방법으로 측정하였으며, 그 결과는 하기 도 2에 도시하였다. 상기 도 2에서 RNA의 발현량은 대조군에서의 MIP3-α의 RNA의 발현량을 기준값인 1로 표시하였으며, 실험군 1 및 실험군 2에서의 MIP3-α의 RNA 발현

량은 대조군에서 MIP3-α의 RNA 발현량에 대한 상대적인 비율로 표시하였다.

[0114] 상기 도 2에 나타난 바와 같이, curdlan을 투여하지 않은 대조군과 비교하여 curdlan을 투여한 실험군 1은 MIP-3a의 RNA 발현량이 현저히 증가하였으며, 이로부터 마우스의 비강에 투여한 curdlan이 염증을 유발했음을 알 수 있었다.

[0115] 한편, curdlan 투여 전에 제조예 1에서 제조된 화합물을 투여한 실험군 2에서는 curdlan의 투여에도 불구하고 실험군 1에 비하여 MIP-3a의 mRNA 발현량이 현저히 적었다. 이로부터, 제조예 1의 화합물이 curdlan에 의해 비강 조직에서 유발된 비강 조직에서 염증을 효과적으로 억제함을 알 수 있었다.

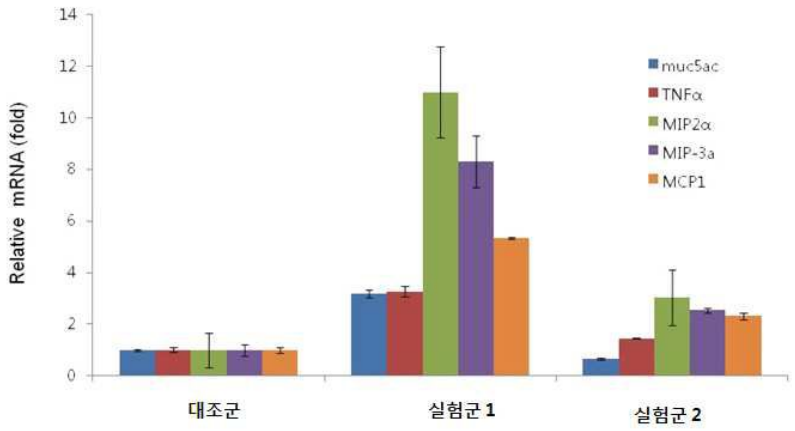
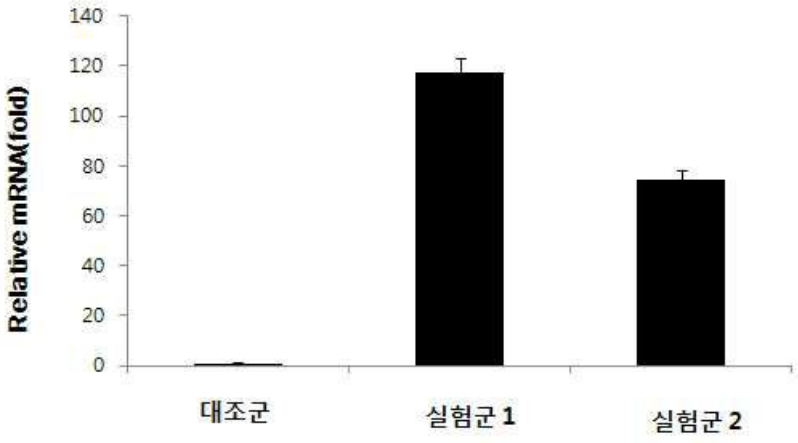
[0116] 따라서, 본원발명의 화합물은 호흡기관에 염증을 억제하여 많은 호흡기 질환을 효과적으로 예방 또는 치료할 수 있음을 알 수 있다.

산업상 이용가능성

[0117] 본 발명에 따른 피라졸 유도체, 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염, 또는 이들의 토토머를 포함하는 조성물은 감염 또는 알러지 유발 인자에 의한 염증 반응을 효과적으로 억제하여 호흡기 질환을 예방 또는 치료할 수 있으며, 구체적으로, 호흡기 점막 조직의 면역 반응에 기인한 염증 반응에서 다량으로 나타나는 MUC5AC, MIP-2α, MIP-3α, MCP-1 및 TNF-α의 발현을 현저히 감소시켜 호흡기 질환을 효과적으로 치료 또는 예방할 수 있다.

도면

도면1



도면2