

(19)대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)(51) Int. Cl.⁷
C07D 413/12(11) 공개번호 10-2005-0034603
(43) 공개일자 2005년04월14일(21) 출원번호 10-2004-7005289
(22) 출원일자 2004년04월09일
번역문 제출일자 2004년04월09일
(86) 국제출원번호 PCT/US2002/031910
국제출원출원일자 2002년10월07일(87) 국제공개번호 WO 2003/031419
국제공개일자 2003년04월17일

(30) 우선권주장 60/327,307 2001년10월09일 미국(US)

(71) 출원인 3-디멘셔널 파마슈티칼즈 인코포레이티드
미국 펜실베이니아 19341 엑스톤 스톡턴 드라이브 665 스위트104 이글뷰 코퍼레이트 센터
(72) 발명자 카버, 테오도르, 이., 주니어
미국 19335 펜실베이니아 다우닝타운 메도우레이크 드라이브 276
린커, 제임스, 엠.
미국 19605 펜실베이니아 리딩프래드릭 볼러바드 1223

(74) 대리인 남상선

심사청구 : 없음

(54) 치환된 디페닐옥사졸, 이의 합성 및 이의 형광프로브로서의 용도

명세서

기술분야

본 발명은 디페닐옥사졸 유도체 분야, 이의 합성, 및 형광 염료 및 프로브로서의 이의 용도에 관한 것이다. 본 발명의 염료는 2-(4'-술파모일페닐)-5-(4"-디메틸아미노페닐)옥사졸의 유도체이다.

배경기술

형광은 특정 분자가 에너지를 흡수했을 때 일어나는 3-단계 과정의 결과이다. 이 3 단계는 1) 여기; 2) 여기-상태 지속 기간; 및 3) 형광 방출로 이루어진다. 제 1 단계인 여기가 일어나는 동안 특정 에너지의 광자가 플루오로포어(fluorophore)에 의해 흡수된다. 플루오로포어는 그것의 바닥 상태(S_0)에 있다. 광자의 흡수는 플루오로포어가 여기되도록 유도한다. 흡수된 광자의 에너지는 전자에게 전달된다. 전자는 더 높은 에너지 상태로 전달된다. 플루오로포어는 여기된 전자 단일체(singlet) 상태(S_1)로 존재하는데, 이것은 여기 상태로도 불린다. 플루오로포어의 여기 상태는 제한된 시간, 전형적으로는 10^{-8} 내지 10^{-9} 초 동안 존재한다. 여기 상태 중에 플루오로포어는 그것의 번역, 진동, 및 전자 에너지 상태로 변화하고, 그것의 분자 환경과 상호작용을 일으키게 된다. 여기된 플루오로포어는 에너지를 방출하고, 형광 방출에 의해 바닥 상태, S_0 로 되돌아간다. 형광 에너지 전달, 시스템간 교차, 및 충돌 급냉과 같은 다른 과정도 또한 S_1 을 줄일 수 있다. 여기 단계 동안 흡수된 광자의 수에 대한, 방출 단계 동안 방출된 형광 광자의 수의 비율은 양자 수율로 정의한다. 양자 수율은 형광 에너지 전달, 시스템간 교차, 및 충돌 급냉과 같은 다른 과정들과 경쟁하는 형광의 효력의 척도이다.

제 3 단계인 형광 방출중에, 에너지 $h\nu$ (h 는 플랑크(Planck) 상수이고, ν 는 광자의 주파수이다)를 가지는 광자가 방출되며, 플루오로포어는 그것의 바닥 상태인 S_0 로 복귀된다. 방출된 광자의 에너지는 여기 상태 동안 흡수된 광자의 에너지보다 낮다. 이 에너지 차이는 여기-상태 지속 기간 동안의 과정을 통한 소실이 원인일 수 있는데, 그런 과정으로는 형광 에너지 전달, 시스템간 교차, 및 충돌 급냉이 있다. 흡수된 광자와 방출된 광자의 에너지의 차이는 스톡스 이동(Stokes shift)으로 부른다. 스톡스 이동은 그것으로 인해 광자가 낮은 바탕값에 반하여, 그리고 여기 광자와는 다른 파장에서 방출 광자가 검출되는 것이 가능해지기 때문에 형광 기법의 민감성에 대해 기초가 된다.

형광 성질을 가지는 화합물들의 용도는 수없이 많다. 형광 분자는 단일 분자 분광학에서 사용될 수 있다. 이의 스펙트럼 또는 양자 수율이 그것의 환경에 민감한 형광 분자는 이질성 매질, 유기화된 매질, 및 생물학적 매질의 연구에 가치있으며,

많은 형광 염료가 이들 응용분야에서 개발되었다. 그러나, 많은 염료는 흡수시간 및 방출 파장이 짧거나 (이것은 잠재적으로 샘플의 자동 형광 때문에 높은 바탕값을 야기한다), 아니면 여기 계수가 낮거나, 양자 수율이 낮거나 또는 스톡스 이동이 작다.

형광 분자는 또한 예컨대 미국 특허 제 6,020,141호에서 설명된 바와 같이 미소플레이트(microplate) 열 이동 분석(assay)에도 유용하다.

형광 방법론을 이용한 신속하고 처리량이 많은 스크리닝이 또한 1-아닐리노나프탈렌-8-술포네이트와 같은 형광 분자보다 더 긴 파장에서 형광하는 형광 프로브 분자의 사용에 의해 용이해질 수 있다. 이것은 화합물중의 많은 분자 및 이들의 조합 라이브러리가 현재 활용할 수 있는 형광 프로브 분자가 형광하는 것과 동일한 파장에서 형광하기 때문이다. 또한, 처리량이 많은 스크리닝 분석에서 사용되는 플라스틱 미소플레이트도 형광 프로브 분자가 형광하는 것과 같은 파장에서 형광할 수 있다.

그러므로, 여기될 때 형광하고 1-아닐리노나프탈렌-8-술포네이트 및 이의 유도체의 스펙트럼보다 더 유용한 방출 스펙트럼을 제공하는 분자가 요구된다.

형광 분자중 한 부류는 DAPOXYL 염료라 불리는 화합물 군이다. DAPOXYL 염료는 4-(4'-(디메틸아미노)페닐)-2-(4'-술포닐페닐)옥사졸 부분을 함유한다. 많은 종류의 DAPOXYL 염료가 공지되어 있으며, 예를 들면 Dapoxyl^R 염화 술포닐; Dapoxyl^R 카복실산, 숙신이미딜 에스테르; Dapoxyl^R 3-술포아미도프로피온산, 숙신이미딜 에스테르; Dapoxyl^R (2-브로모아세트아미도에틸)술포아미드; Dapoxyl^R 2-(3-(2-피리딜디티오)-프로피온아미도에틸) 술포아미드; Dapoxyl^R 3-술포아미도페닐보론산; Dapoxyl^R 술포닐 히드라진; Dapoxyl^R (2-아미노에틸)술포아미드; Dapoxyl^R 술포산, 나트륨 염; 및 Dapoxyl^R 부틸술포아미드가 있다.

그러나, 유기 및 수성 매질에서의 용해도가 개선된 2-(4'-술포모일페닐)-5-(4'-디메틸아미노페닐)옥사졸 유도체의 신규한 유도체가 필요하다. 또 기존의 옥사졸 염료보다 극성이 많거나 적은 신규한 유도체도 필요하다. 또한, 열 이동 분석에서 개선된 활용성을 나타내는 신규한 옥사졸 유도체가 필요하다.

발명의 상세한 설명

형광 분자로서 유용한 화합물의 신규한 부류가 발견되었다. 플루오로포어라고도 불리는 형광 분자는 고도로 민감한 검출 시약이 요구되는 생물학적 적용분야에서 특히 적절한 것으로 알려져 있다. 형광 염료는 눈에 보이는 색 및 다른 물질에 대한 형광 두 가지를 모두 부여하기 위해 사용된다. 본 발명의 염료는 2-(4'-술포모일페닐)-5-(4'-디메틸아미노페닐)옥사졸의 유도체이다.

본 발명의 제 1 측면은 하기 화학식 (I)의 화합물이다.

본 발명의 제 2 측면은 하기 화학식 (I)의 화합물을 포함하는 조성물이다.

본 발명의 제 3 측면은 하기 화학식 (I)의 화합물의 제조 방법이다.

본 발명의 제 4 측면은 열 변화로 인해 펼쳐질 수 있는 표적 분자에 대하여 다수의 상이한 분자의 각각의 친화력을 등급화하는 방법에서 하기 화학식 (I)의 화합물을 사용하는 방법을 제공한다.

본 발명의 제 5 측면은 열 변화로 인하여 펼쳐질 수 있는 표적 분자에 대하여 다수의 상이한 분자중 둘 이상의 조합의 친화력을 등급화하는 다중-변수 방법에서 하기 화학식 (I)의 화합물을 사용하는 방법을 제공한다.

본 발명의 제 6 측면은 열 변화로 인하여 펼쳐질 수 있는 표적 분자에 결합하는 분자에 대한 다수의 상이한 분자들의 집합(collection)을 분석하는 방법에서 하기 화학식 (I)의 화합물을 사용하는 방법을 제공한다.

본 발명의 제 7 측면은 열 변화로 인하여 펼쳐질 수 있는 표적 분자를 안정화시키는 다수의 상이한 생화학적 조건의 하나 이상의 효력을 등급화하는 다중-변수 방법에서 하기 화학식 (I)의 화합물을 사용하는 방법을 제공한다.

본 발명의 제 8 측면은 열 변화로 인하여 펼쳐질 수 있는 표적 분자의 저장 수명을 최적화하는 다중-변수 방법에서 하기 화학식 (I)의 화합물을 사용하는 방법을 제공한다.

본 발명의 제 9 측면은 변성되거나 펼쳐진 단백질 샘플의 재접힘 또는 복원(regeneration)을 촉진하기 위한 다수의 상이한 생화학적 조건의 하나 이상의 효력을 등급화하는 다중-변수 방법에서 하기 화학식 (I)의 화합물을 사용하는 방법을 제공한다.

본 발명의 제 10의 측면은 열 변화로 인하여 펼쳐질 수 있는 단백질의 결정화를 촉진하는 다수의 상이한 생화학적 조건의 하나 이상의 효력을 등급화하는 다중-변수 방법에서 하기 화학식 (I)의 화합물을 사용하는 방법을 제공한다.

본 발명의 추가의 특징 및 장점은 하기의 상세한 설명에서 첨부되는 도면을 참조로 하여 설명된다.

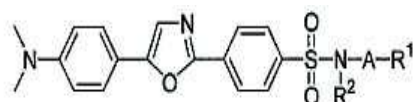
도면의 간단한 설명

도 1A는 메탄올 및 디메틸설폭시드 중에서의 4-[5-(4-디메틸아미노페닐)옥사졸-2-일]-N-(2-구아니디노에틸)-벤젠술폰아미드의 형광 방출 스펙트럼을 도시한다. 또한, 본 도면에는 완충액의 형광 방출 스펙트럼도 도시된다. 도 1B는 도 1A의 스펙트럼의 0 내지 10,000 cps 의 범위 부분을 도시한다.

도 2는 완충액 (50 mM HEPES, pH 7.5, 150 mM NaCl)중의 트롬빈 (0.1 mg/ml)과 혼합된 4-[5-(4-디메틸아미노페닐)옥사졸-2-일]-N-(2-구아니디노에틸)-벤젠술폰아미드 (10 μ M)의 형광 방출 스펙트럼을 도시한다. 도면에서 네모로 표시되는 방출 스펙트럼은 용액을 제조한 직후의 천연 (접혀진) 트롬빈을 사용하여 얻어졌다. 세모로 표시되는 방출 스펙트럼은 용액을 80 $^{\circ}$ C로 5분 동안 가열하여 트롬빈 단백질을 풀리게 한 후에 얻어졌다. 가열후 얻어진 스펙트럼은 형광 방출의 증가 및 적색 쪽으로 이동된 방출 최대치를 나타낸다.

도 3은 하기 실시예 3에서 설명되는 바와 같이 단백질 PPAR- γ 를 사용하여 ThermoFluor^R 기기로 분석되는 경우 3 가지 염료, 4-[5-(4-디메틸아미노페닐)옥사졸-2-일]-N-(2-구아니디노에틸)-벤젠술폰아미드, 5-(4"-디메틸아미노페닐)-2-(4'-페닐)옥사졸 설포네이트, 및 1,8-아닐리노-나프틸렌 설포네이트에 대한 각각의 형광 곡선을 도시한다.

본 발명의 제 1 측면은 하기 화학식 (I)의 화합물 및 화학적으로 허용될 수 있는 이의 염이다:



상기 식에서,

A는 단일 결합, 알킬렌, 알케닐렌 또는 알킬닐렌이며, 여기에서 알킬렌, 알케닐렌, 및 알킬닐렌 중 어느 하나는 임의로 치환되고;

R¹은 시클로알킬, 시클로알케닐, 시클로헥테로알킬, 시클로헥테로알케닐, 아릴, 헤테로아릴, -OR³, -NR³R⁴, -SR³, -S(O)R³, -S(O)₂R³, -C(O)H, -C(O)OR³, -OC(O)R³, -C(O)NR³R⁴, -NR³C(O)R⁴, -OC(O)OR³, -OC(O)NR³R⁴, -NR³C(O)OR⁴, -OS(O)₂OR³, -S(O)₂OR³, -S(O)OR³, -OP(O)(OR³)OR⁴, -P(O)(OR³)OR⁴, -P(O)HOR³, 아마미노, 구아니디노, 비구아니디노, 옥시구아니디노, 알킬이미노아미노, 포르밀이미노아미노, 또는 킬레이터이며;

R²는 H, 알킬, 알케닐, 알킬닐, 아릴, 아릴알킬, 또는 시클로알킬이며, 여기에서 알킬, 알케닐, 알킬닐, 아릴, 아릴알킬 및 시클로알킬중 어느 하나는 임의로 치환되고;

R³ 및 R⁴는 독립적으로 H, 알킬, 알케닐, 알킬닐, 아릴, 헤테로아릴, 아릴알킬, 또는 헤테로아릴알킬이며, 여기에서 알킬, 알케닐, 알킬닐, 아릴, 헤테로아릴, 아릴알킬, 및 헤테로아릴알킬 중 어느 하나는 임의로 치환되며;

또는 상기 식에서,

A는 단일 결합이고;

R¹, R², 및 A는 이들이 결합되는 N과 함께 질소 함유 시클로헥테로알킬 또는 시클로헥테로알케닐 기를 형성하며, 이들 기 중 어느 하나는 임의로 치환되며;

단, A가 C₁₋₈ 비치환된 알킬이고 R²가 H 또는 메틸이면 R¹은 -NH₂, -NHCH₃, -N(CH₃)₂ 또는 -NHC(O)CH₂Br이 아니며;

A가 C₁₋₃ 비치환된 알킬이고 R²가 H이면, R¹은 -C(O)OH, -C(O)OCH₃, 또는 -C(O)OCH₂CH₃가 아니며;

A가 C₁₋₃ 비치환된 알킬이고 R²가 H이면, R¹은 -NHC(O)C₆F₅가 아니며;

A가 단일 결합이고 R²가 H 또는 CH₃이면, R¹은 -B(OH)₂로 치환된 페닐이 아니며;

A가 단일 결합이면 R¹, R², 및 A는 이들이 결합되는 N과 함께 비치환된 모르폴리닐을 형성하지 않는다.

화합물의 한 부류는 A가 단일 결합이고, R¹, R² 및 A가 이들이 결합되는 N과 함께 질소 함유 시클로헥테로알킬 또는 질소 함유 시클로헥테로알케닐 기를 형성하며, 이것들 중 어느 하나는 임의로 치환되는 화학식 (I)의 화합물의 군에 속해 있다.

이러한 첫번째 하위부류의 화합물중에서, 바람직한 화합물 군은 R¹, R² 및 A가 이들이 결합되는 N과 함께 질소 함유 시클로헥테로알킬 기를 형성하는 화합물 군이다. 적당한 시클로헥테로알킬기로는 다음의 것들이 있다: 1-아지리디닐, 1-아제

티디닐, 1-피롤리디닐, 1-피페리디닐, 1-퍼히드로아제피닐, 1-퍼히드로아조시닐, 1-퍼히드로아조니닐, 1-퍼히드로아제시닐, 퍼히드로퀴놀리닐, 퍼히드로이소퀴놀리닐, 1-이미다졸리디닐, 1-피라졸리디닐, 2-피라졸리디닐, 3-옥사졸리디닐, 2-이소옥사졸리디닐, 3-티아졸리디닐, 2-이소티아졸리디닐, 1-피페라지닐, 1-헥사히드로피리다지닐, 1-헥사히드로피리미디닐, 치환된 모르폴리닐, 2-(1,2-헥사히드로티아지닐), 3-(1,3-헥사히드로티아지닐), 4-(1,4-헥사히드로티아지닐), 2-(1,2,5-옥사디아졸리디닐), 2-(1,2,5-티아디아졸리디닐), 및 옥사티아졸리디닐.

상기 첫번째 하위부류의 화합물 중에서, 다른 바람직한 화합물 군은 R^1 , R^2 및 A가 이들이 결합되는 N과 함께, 하나 또는 2 개의 헤테로원자를 함유하는 5-6원 질소 함유 시클로헥테로알킬 기를 형성하는 화합물 군으로, 여기에서 상기 시클로헥테로알킬 기는 임의로 치환된다. 치환된 질소 함유 시클로헥테로알킬 기의 적당한 실예는 다음으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 치환기를 함유하는 상기 열거된 시클로헥테로알킬 군을 포함한다: C_{1-6} 알킬, 히드록시, 옥소, 니트로, 할로젠, C_{1-6} 알콕시, C_{1-6} 아미노알콕시, 아미노, 모노(C_{1-4})알킬아미노, 디(C_{1-4})알킬아미노, C_{2-6} 알킬카르보닐아미노, C_{2-6} 알콕시카르보닐아미노, C_{2-6} 알콕시카르보닐, 카르복시, C_{2-6} 히드록시알콕시, (C_{1-6})알콕시(C_{2-6})알콕시, 모노- 및 디- C_{1-4} 알킬아미노(C_{2-6})알콕시, C_{2-10} 모노(카르복시알킬)아미노, 비스(C_{2-10} 카르복시알킬)아미노, C_{6-14} 아르(C_{1-6})알콕시카르보닐, C_{2-6} 알킬닐카르보닐, C_{1-6} 알킬술포닐, C_{2-6} 알케닐술포닐, C_{2-6} 알킬닐술포닐, C_{6-10} 아릴술포닐, C_{6-10} 아르(C_{1-6})알킬술포닐, C_{1-6} 알킬술포닐, C_{1-6} 알킬술포아미도, C_{6-10} 아릴술포아미도, C_{6-10} 아르(C_{1-6})알킬술포아미도, 아미디노, 구아니디노, C_{1-6} 알킬이미노아미노, 포르밀이미노아미노, C_{2-6} 카르복시알콕시, C_{2-6} 카르복시알킬, 카르복시알킬아미노, 시아노, 트리플루오로메톡시, 및 퍼플루오로메톡시.

바람직하게는 상기 치환된, 질소 함유 시클로헥테로알킬기상의 하나 이상의 치환기는 독립적으로 C_{1-6} 알킬, 히드록시, 옥소, 니트로, 할로젠, C_{1-6} 알콕시, 아미노, 모노(C_{1-4})알킬아미노, 디(C_{1-4})알킬아미노, 구아니딘, 및 카르복시로 이루어진 군으로부터 선택된다.

상기 첫번째 하위부류의 화합물 중에서, 다른 바람직한 화합물 군은 R^1 , R^2 및 A가 이들이 결합되는 N과 함께 질소 함유 시클로헥테로알케닐 기를 형성하는 화합물 군으로, 여기에서 상기 시클로헥테로알케닐 기는 임의로 치환된다. 적당한 질소 함유 시클로헥테로알케닐 기로는 다음의 것들이 있다: 2-피롤린-1-일, 3-피롤린-1-일, 2-이미다졸린-1-일, 3-이미다졸린-1-일, 4-이미다졸린-1-일, 3-피라졸린-2-일, 및 3-피라졸린-1-일, 치환된, 질소 함유 시클로헥테로알케닐기의 적당한 실예로는 다음으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 치환기를 함유하는 상기 열거된 시클로헥테로알케닐기가 있다: C_{1-6} 알킬, 히드록시, 옥소, 니트로, 할로젠, C_{1-6} 알콕시, C_{1-6} 아미노알콕시, 아미노, 모노(C_{1-4})알킬아미노, 디(C_{1-4})알킬아미노, C_{2-6} 알킬카르보닐아미노, C_{2-6} 알콕시카르보닐아미노, C_{2-6} 알콕시카르보닐, 카르복시, C_{2-6} 히드록시알콕시, (C_{1-6})알콕시(C_{2-6})알콕시, 모노- 및 디- C_{1-4} 알킬아미노(C_{2-6})알콕시, C_{2-10} 모노(카르복시알킬)아미노, 비스(C_{2-10} 카르복시알킬)아미노, C_{6-14} 아르(C_{1-6})알콕시카르보닐, C_{2-6} 알킬닐카르보닐, C_{1-6} 알킬술포닐, C_{2-6} 알케닐술포닐, C_{2-6} 알킬닐술포닐, C_{6-10} 아릴술포닐, C_{6-10} 아르(C_{1-6})알킬술포닐, C_{1-6} 알킬술포닐, C_{1-6} 알킬술포아미도, C_{6-10} 아릴술포아미도, C_{6-10} 아르(C_{1-6})알킬술포아미도, 아미디노, 구아니디노, C_{1-6} 알킬이미노아미노, 포르밀이미노아미노, C_{2-6} 카르복시알콕시, C_{2-6} 카르복시알킬, 카르복시알킬아미노, 시아노, 트리플루오로메톡시, 및 퍼플루오로메톡시.

바람직하게는 상기 치환된, 질소 함유 시클로헥테로알케닐기상의 하나 이상의 치환기는 C_{1-6} 알킬, 히드록시, 옥소, 니트로, 할로젠, C_{1-6} 알콕시, 아미노, 모노(C_{1-4})알킬아미노, 디(C_{1-4})알킬아미노, 구아니딘, 및 카르복시로 이루어진 군으로부터 선택된다.

두번째 하위부류의 화합물은 A가 알킬렌, 알케닐렌, 또는 알킬닐렌이고, 이들 중 어느 것이든지 임의로 치환되며, R^1 은 시클로알킬, 시클로알케닐, 시클로헥테로알킬, 또는 시클로헥테로알케닐이며, 이들 중 어느 것이든지 임의로 치환되는 화학식 (I)의 화합물 군이다.

상기 두번째 하위부류의 화합물 중에서, 바람직한 화합물 군은 A가 C_{1-8} 알킬렌, C_{1-8} 알케닐렌, 또는 C_{1-8} 알킬닐렌이고, 이들 중 어느 것이든지 임의로 치환되는 화합물, 보다 바람직하게는 C_{1-6} 알킬렌, C_{1-6} 알케닐렌, 또는 C_{1-6} 알킬닐렌이고, 이들 중 어느 것이든지 임의로 치환되는 화합물 군이다.

상기 두번째 하위부류의 화합물 중에서, 다른 바람직한 화합물 군은 R^1 이 시클로알킬 또는 시클로알케닐이고, 이들 중 어느 하나는 임의로 치환되는 화합물의 군이다. 바람직한 것은 R^1 이 4-8원, 보다 바람직하게는 5-7원의, 임의로 치환된 시클로알킬 또는 임의로 치환된 시클로알케닐 기이다. R^1 이 치환된 시클로알킬 또는 치환된 시클로알케닐 기인 경우, 상기 치환된 군의 치환기는 바람직하게는 1 또는 2 개의 C_{1-6} 알킬, 히드록시, 니트로, 할로젠, C_{1-6} 알콕시, C_{1-6} 아미노알콕시, 아미노, 모노(C_{1-4})알킬아미노, 디(C_{1-4})알킬아미노, C_{2-6} 알콕시카르보닐, 카르복시, C_{2-6} 히드록시알콕시, 모노- 및 디- C_{1-4} 알킬아미노(C_{2-6})알콕시, C_{2-10} 모노(카르복시알킬)아미노, 비스(C_{2-10} 카르복시알킬)아미노, 아미디노, 구아니디노, C_{1-6} 알킬이미노아미노, 포르밀이미노아미노, 시아노, 트리플루오로메톡시, 또는 퍼플루오로메톡시이다.

상기 두번째 하위부류의 화합물 중에서, 바람직한 화합물 군은 R^1 이 시클로헥테로알킬 또는 시클로헥테로알케닐이고, 이들 중 어느 하나는 임의로 치환되는 화합물의 군이다. 바람직한 것은 R^1 이 4-8원, 보다 바람직하게는 5-7원의, 임의로 치환된 시클로헥테로알킬 또는 임의로 치환된 시클로헥테로알케닐 기이다. R^1 이 치환된 시클로알킬 또는 치환된 시클로알케닐 기인 경우, 상기 치환된 군의 치환기는 바람직하게는 1 또는 2 개의 C_{1-6} 알킬, 히드록시, 니트로, 할로젠, C_{1-6} 알콕시, C_{1-6} 아미노알콕시, 아미노, 모노(C_{1-4})알킬아미노, 디(C_{1-4})알킬아미노, C_{2-6} 알콕시카르보닐, 카르복시, C_{2-6} 히드

록시알콕시, 모노- 및 디- C_{1-4} 알킬아미노(C_{2-6})알콕시, C_{2-10} 모노(카르복시알킬)아미노, 비스(C_{2-10} 카르복시알킬)아미노, 아미디노, 구아니디노, C_{1-6} 알킬이미노아미노, 포르밀이미노아미노, 시아노, 트리플루오로메톡시, 또는 퍼플루오로에톡시이다.

세번째 하위부류의 화합물은 A가 치환된 알킬렌, 치환된 알케닐렌, 또는 치환된 알키닐렌이고, R^1 이 $-OR^3$ 또는 $-NR^3R^4$ 인 경우의 화학식 (I)의 화합물 군이다.

상기 세번째 하위부류의 화합물 중에서, 바람직한 화합물 군은 A가 치환된 알킬렌, 치환된 알케닐렌, 또는 치환된 알키닐렌이고, R^1 은 $-OR^3$ 또는 $-NR^3R^4$ 인 경우의 화학식 (I)에 따르는 화합물이다. 화합물의 상기 세번째 하위부류에 속하는 다른 바람직한 화합물 군은 A가 치환된 알킬렌, 치환된 알케닐렌, 또는 치환된 알키닐렌이고, R^1 이 $-OR^3$ 또는 $-NR^3R^4$ 인 경우의 화학식 (I)에 따르는 화합물이다.

상기 세번째 하위부류의 화합물 중에서, 다른 바람직한 화합물 군은 A가 치환된 알킬렌인 경우의 화합물이다. 상기 치환된 알킬렌기는 분지된 또는 직쇄의 알킬렌기일 수 있다. 상기 알킬렌은 하나 이상의 히드록시, 니트로, 할로젠, C_{1-6} 알콕시, C_{1-6} 아미노알콕시, 아미노, 모노(C_{1-4})알킬아미노, 디(C_{1-4})알킬아미노, C_{2-6} 알킬카르보닐아미노, C_{2-6} 알콕시카르보닐아미노, C_{2-6} 알콕시카르보닐, 카르복시, C_{2-6} 히드록시알콕시, (C_{1-6})알콕시(C_{2-6})알콕시, 모노- 및 디- C_{1-4} 알킬아미노(C_{2-6})알콕시, C_{2-10} 모노(카르복시알킬)아미노, 비스(C_{2-10} 카르복시알킬)아미노, C_{6-14} 아르(C_{1-6})알콕시카르보닐, C_{2-6} 알키닐카르보닐, C_{1-6} 알킬술폰, C_{2-6} 알케닐술폰, C_{2-6} 알키닐술폰, C_{6-10} 아릴술폰, C_{6-10} 아르(C_{1-6})알킬술폰, C_{1-6} 알킬술폰, C_{1-6} 알킬술폰아미도, C_{6-10} 아릴술폰아미도, C_{6-10} 아르(C_{1-6})알킬술폰아미도, 아미디노, 구아니디노, C_{1-6} 알킬이미노아미노, 포르밀이미노아미노, C_{2-6} 카르복시알콕시, C_{2-6} 카르복시알킬, 카르복시알킬아미노, 시아노, 트리플루오로메톡시, 또는 퍼플루오로에톡시로 치환될 수 있다.

바람직하게는, 상기 치환된 알킬렌은 히드록시, 니트로, 할로젠, 아미노, 모노(C_{1-4})알킬아미노, 디(C_{1-4})알킬아미노, 아미디노, 구아니디노, C_{1-6} 알킬이미노아미노, 포르밀이미노아미노, 및 카르복시 중 하나 또는 그 이상으로 치환된다.

상기 세번째 하위부류의 화합물에 대해 A로서 적절한 정의는 다음과 같은 것들을 포함한다: 2-히드록시프로필렌, 2-아미노프로필렌, 3-히드록시부틸렌, 2-히드록시부틸렌, 2-아미노부틸렌, 3-아미노부틸렌, 2,3-디히드록시부틸렌, 1,2-디히드록시부틸렌, 1,3-디히드록시부틸렌, 1,2-디아미노부틸렌, 1,3-디아미노부틸렌, 2,3-디아미노부틸렌, 1-아미노-2-히드록시부틸렌, 2-아미노-1-히드록시부틸렌, 1-히드록시메틸에틸렌, 2-히드록시메틸에틸렌, 1,1-비스(히드록시메틸)에틸렌, 2,2-비스(히드록시메틸)에틸렌, 2,2-비스(아미노메틸)에틸렌, 1,1-비스(아미노메틸)에틸렌, 및 1-히드록시메틸-4-메틸아미노펜트-2-에닐렌.

상기 세번째 하위부류의 화합물 중에서, 또 다른 바람직한 화합물 군은 R^2 가 H 또는 C_{1-6} 알킬인 경우의 화합물이다.

상기 세번째 하위부류의 화합물 중에서, 또 다른 바람직한 화합물은 상기 알킬렌이 둘 이상의 OH로 치환된 화합물이다.

네번째 하위부류의 화합물은 A가 알킬렌, 알케닐렌, 또는 알키닐렌이며, 이들 중 어느 것이든지 임의로 치환되며, R^1 이 아릴 또는 헤테로아릴이며, 이들 중 어느 하나가 임의로 치환되는 경우의 화학식 (I)의 화합물 군이다.

상기 네번째 하위부류의 화합물 중에서, 바람직한 화합물 군은 A가 C_{1-8} 알킬렌, C_{2-8} 알케닐렌, 또는 C_{2-8} 알키닐렌이고, 이들 중 어느 것이든지 임의로 치환되는 경우의 화학식 (I)의 화합물이다. 상기 네번째 하위부류의 화합물 중에서, 바람직한 화합물 군은 A가 C_{1-6} 알킬렌, C_{2-6} 알케닐렌, 또는 C_{2-6} 알키닐렌이고, 이들 중 어느 것이든지 임의로 치환되는 경우의 화학식 (I)의 화합물이다.

바람직하게는, A는 C_{3-8} 알킬렌, C_{4-8} 알케닐렌, 또는 C_{4-8} 알키닐렌이다. 바람직하게는, R^1 은 치환된 아릴 또는 치환된 헤테로아릴이다. R^1 이 치환된 아릴 또는 치환된 헤테로아릴기인 경우 상기 치환된 기에 있는 치환기는 바람직하게는 1 또는 2 개의 C_{1-6} 알킬, 히드록시, 니트로, 할로젠, C_{1-6} 알콕시, C_{1-6} 아미노알콕시, 아미노, 모노(C_{1-4})알킬아미노, 디(C_{1-4})알킬아미노, C_{2-6} 알콕시카르보닐, 카르복시, C_{2-6} 히드록시알콕시, 모노- 및 디- C_{1-4} 알킬아미노(C_{2-6})알콕시, C_{2-10} 모노(카르복시알킬)아미노, 비스(C_{2-10} 카르복시알킬)아미노, 아미디노, 구아니디노, C_{1-6} 알킬이미노아미노, 포르밀이미노아미노, 시아노, 트리플루오로메톡시, 또는 퍼플루오로에톡시이다.

다섯번째 하위부류의 화합물은 A가 단일 결합이고, R^1 이 시클로알킬, 시클로알케닐, 시클로헤테로알킬, 시클로헤테로알케닐이며, 이들 중 어느 것이든지 임의로 치환되는 화학식 (I)의 화합물 군이다.

상기 다섯번째 하위부류의 화합물 중에서, 바람직한 화합물 군은 R^1 이 시클로알킬 또는 시클로알케닐이고, 이들 중 어느 하나는 임의로 치환되는 화합물 군이다. 바람직하게는, R^1 은 4-8원, 또는 보다 바람직하게는 5-7원의, 임의로 치환된 시클로알킬 또는 임의로 치환된 시클로알케닐 기이다. R^1 이 치환된 시클로알킬 또는 치환된 시클로알케닐 기인 경우, 상기 치환된 기 상의 치환기들은 바람직하게는 1 또는 2 개의 C_{1-6} 알킬, 히드록시, 니트로, 할로젠, C_{1-6} 알콕시, C_{1-6} 아미노

알콕시, 아미노, 모노(C_{1-4})알킬아미노, 디(C_{1-4})알킬아미노, C_{2-6} 알콕시카르보닐, 카르복시, C_{2-6} 히드록시알콕시, 모노- 및 디- C_{1-4} 알킬아미노 (C_{2-6})알콕시, C_{2-10} 모노(카르복시알킬)아미노, 비스(C_{2-10} 카르복시알킬)아미노, 아미디노, 구아니디노, C_{1-6} 알킬이미노아미노, 포르밀이미노아미노, 시아노, 트리플루오로메톡시, 또는 퍼플루오로에톡시이다.

상기 다섯번째 하위부류의 화합물 중에서, 다른 바람직한 화합물 군은 R^1 이 시클로헥테로아릴 또는 시클로헥테로알케닐인 경우의 화합물 군으로, 이들 중 어느 하나는 임의로 치환된다. 바람직하게는, R^1 은 4-8원, 보다 바람직하게는 5-7원의, 임의로 치환된 시클로헥테로알킬 또는 임의로 치환된 시클로헥테로알케닐 기이다. R^1 이 치환된 시클로알킬 또는 치환된 시클로알케닐 기인 경우, 상기 치환된 기 상의 치환기들은 바람직하게는 1 또는 2 개의 C_{1-6} 알킬, 히드록시, 니트로, 할로젠, C_{1-6} 알콕시, C_{1-6} 아미노알콕시, 아미노, 모노(C_{1-4})알킬아미노, 디(C_{1-4})알킬아미노, C_{2-6} 알콕시카르보닐, 카르복시, C_{2-6} 히드록시알콕시, 모노- 및 디- C_{1-4} 알킬아미노 (C_{2-6})알콕시, C_{2-10} 모노(카르복시알킬)아미노, 비스(C_{2-10} 카르복시알킬)아미노, 아미디노, 구아니디노, C_{1-6} 알킬이미노아미노, 포르밀이미노아미노, 시아노, 트리플루오로메톡시, 또는 퍼플루오로에톡시이다.

이 화합물의 바람직한 군 안에서는 화학식 (I)의 술파모일기의 질소는 화학적으로 반응성이고 안정할 때 둘 중 어느 하나가 임의로 치환되는 상기 시클로헥테로알킬 또는 시클로헥테로알케닐의 헤테로원자에 직접 결합될 수 있음이 분명하다. 예를 들면 만약 R^1 이 비치환된 피페리딘 기라면, 화학식 (I)의 술파모일기의 질소는 피페리딘기의 질소에 직접 결합될 수 있다.

여섯번째 하위부류의 화합물은 A가 알킬렌, 알케닐렌, 또는 알킬닐렌이고, 이들 중 어느 것이든지 임의로 치환되며, R^1 이 $-C(O)OR^3$, $-C(O)NHR^3$, $-C(O)NHOR^3$, $-OC(O)NHR^3$, $-OC(O)OR^3$, $-OS(O)_2OR^3$, $-S(O)_2OR^3$, $-OP(O)(OH)OR^3$, 또는 $-P(O)(OH)OR^3$ 인 경우의 화학식 (I)의 화합물이다.

상기 여섯번째 하위부류의 화합물 중에서, 바람직한 화합물 군은 A가 C_{1-8} 알킬렌, C_{2-8} 알케닐렌, 또는 C_{2-8} 알킬닐렌이고, 이들 중 어느 것이든지 임의로 치환되는 경우의 화학식 (I)에 따르는 화합물이다. 상기 여섯번째 하위부류의 화합물 중에서, 바람직한 화합물 군은 A가 C_{1-6} 알킬렌, C_{2-6} 알케닐렌, 또는 C_{2-6} 알킬닐렌이고, 이들 중 어느 것이든지 임의로 치환되는 경우의 화학식 (I)의 화합물이다.

바람직하게는, A는 하나 이상의 히드록시, 니트로, 할로젠, C_{1-6} 알콕시, C_{1-6} 아미노알콕시, 아미노, 모노(C_{1-4})알킬아미노, 디(C_{1-4})알킬아미노, C_{2-6} 알콕시카르보닐, 카르복시, C_{2-6} 히드록시알콕시, 모노- 및 디- C_{1-4} 알킬아미노 (C_{2-6})알콕시, C_{2-10} 모노(카르복시알킬)아미노, 비스(C_{2-10} 카르복시알킬)아미노, 아미디노, 구아니디노, C_{1-6} 알킬이미노아미노, 포르밀이미노아미노, 시아노, 트리플루오로메톡시, 또는 퍼플루오로에톡시로 치환된 C_{1-8} 알킬렌 기이다.

화합물의 일곱번째 하위부류는 A가 알킬렌, 알케닐렌, 또는 알킬닐렌이고, 이들 중 어느 것이든지 임의로 치환되며, R^1 이 아미디노, 구아니디노, 비구아니디노, 옥시구아니디노, 알킬이미노아미노, 또는 포르밀이미노아미노인 경우의 화학식 (I)의 화합물이다.

상기 화합물의 일곱번째 하위부류에 속하는 화합물의 바람직한 군은 A가 C_{1-8} 알킬렌, C_{2-8} 알케닐렌, 또는 C_{2-8} 알킬닐렌이고, 이들 중 어느 것이든지 임의로 치환되는 경우의 화학식 (I)에 따르는 화합물이다. 상기 화합물의 일곱번째 하위부류에 속하는 바람직한 화합물 군은 A가 C_{1-6} 알킬렌, C_{2-6} 알케닐렌, 또는 C_{2-6} 알킬닐렌이고, 이들 중 어느 것이든지 임의로 치환되는 경우의 화학식 (I)의 화합물이다.

화합물의 여덟번째 하위부류는 R^1 이 킬레이터인 경우의 화학식 (I)의 화합물이다. R^1 이 킬레이터일 때 킬레이터는 또한 임의로 A를 킬레이터에 연결시키는 링커(linker)기를 포함할 수 있다. 바람직한 킬레이터는 니트록로트리아세트산, EDTA, 비피리딘, 및 히스티딘이다.

화합물의 아홉번째 하위부류는 R^1 , R^2 및 A가 이들이 결합되는 N과 함께 pH 7 부근에서 이온화되는 화학적 부분을 형성하는 경우의 화학식 (I)에 따르는 화합물 군이다. 화합물의 상기 아홉번째 하위부류에 속하는 화합물의 바람직한 군은 R^1 , R^2 및 A가 이들이 결합되는 N과 함께 -1 내지 -3의 알짜 전하(net charge)를 가지는 화학적 부분을 형성하는 경우의 화합물 군이다. 화합물의 상기 아홉번째 하위부류에 속하는 화합물의 다른 바람직한 군은 R^1 , R^2 및 A가 이들이 결합되는 N과 함께 -1 내지 -2의 알짜 전하를 가지는 화학적 부분을 형성하는 경우의 화합물 군이다. 화합물의 상기 아홉번째 하위부류에 속하는 화합물의 다른 바람직한 군은 R^1 , R^2 및 A가 이들이 결합되는 N과 함께 +1 내지 +3의 알짜 전하를 가지는 화학적 부분을 형성하는 경우의 화합물 군이다. 화합물의 상기 아홉번째 하위부류에 속하는 화합물의 또 다른 바람직한 군은 R^1 , R^2 및 A가 이들이 결합되는 N과 함께 +1 내지 +2의 알짜 전하를 가지는 화학적 부분을 형성하는 경우의 화합물 군이다. 화합물의 상기 아홉번째 하위부류에 속하는 화합물의 바람직한 군은 R^1 , R^2 및 A가 이들이 결합되는 N과 함께 0의 알짜 전하를 가지는 화학적 부분을 형성하는 경우의 화합물 군이다.

화학식 (I)의 예시적인 화합물은 다음과 같다:

4-[5-(4-디메틸아미노페닐)옥사졸-2-일]-N-(2-피롤리딘-1-일-에틸)벤젠술폰아미드; 4-[5-(4-디메틸아미노페닐)옥사졸-2-일]-N-[3-(4-메틸피페라진-1-일)프로필]벤젠술폰아미드; 디메틸-(4-{2-[4-(피페라진-1-술폰)페닐]옥사졸-5-일}-페닐)아민; 디메틸-(4-{2-[4-(4-메틸피페라진-1-술폰)페닐]옥사졸-5-일}페닐)아민; 4-[5-(4-디메틸아미노페닐)옥사졸-2-일]-N-(4-메틸피페라진-1-일)벤젠술폰아미드; 2-{4-[5-(4-디메틸아미노페닐)옥사졸-2-

일]-벤젠술포닐아미노}숙신산; {4-[5-(4-디메틸아미노페닐)옥사졸-2-일]벤젠술포닐아미노}-아세트산; ({4-[5-(4-디메틸아미노페닐)옥사졸-2-일]벤젠술포닐}메틸-아미노)-아세트산; 4-[5-(4-디메틸아미노페닐)옥사졸-2-일]-N-(2-구아니디노에틸)-벤젠술포나미드; 4-[5-(4-디메틸아미노페닐)옥사졸-2-일]-N-(2-히드록시-1,1-비스-히드록시메틸에틸)벤젠술포나미드; 2-아미노-5-{4-[5-(4-디메틸아미노페닐)옥사졸-2-일]-벤젠술포닐아미노}펜탄산; 3-[4-[5-(4-디메틸아미노페닐)옥사졸-2-일]벤젠술포닐]-티아졸리딘-2,4-디카르복실산 디메틸 에스테르 및 이들의 염.

그러나, 본 발명으로부터 다음의 화합물들은 배제되는 것으로 이해해야 한다: N-(2-아미노에틸)-4-[5-(4-디메틸아미노페닐)옥사졸-2-일]벤젠술포나미드; N-메틸-N-(2-(디메틸아미노)에틸)-4-[5-(4-디메틸아미노페닐)옥사졸-2-일]벤젠술포나미드; N-부틸-4-[5-(4-디메틸아미노페닐)옥사졸-2-일]벤젠술포나미드; 3-[4-[5-(4-디메틸아미노페닐)옥사졸-2-일]벤젠술포나미드]-페닐보론산; N-(2-(2-브로모아세트아미드)에틸)-4-[5-(4-디메틸아미노페닐)옥사졸-2-일]벤젠술포나미드; N-(2-(3-(2-피리딜티오)프로피온아미도)에틸)-4-[5-(4-디메틸아미노페닐)옥사졸-2-일]벤젠술포나미드; 3-[4-[5-(4-디메틸아미노페닐)옥사졸-2-일]벤젠술포나미드]프로피온산 2,5-디옥소피롤리딘 에스테르; N-(2-(2-펜타플루오로벤즈아미도)에틸)-4-[5-(4-디메틸아미노페닐)옥사졸-2-일]벤젠술포나미드; N-(2-아미노에틸)-4-[5-(4-디메틸아미노페닐)옥사졸-2-일]벤젠술포나미드; 및 디메틸-[4-(2-[4-(모르폴린-4-술포닐)페닐]-옥사졸-5-일)페닐]아민.

본 발명은 또한 화학식 (I)에 따르는 화합물의 염도 포함한다. 용어 염은 화학식 (I)에 따르는 화합물의 산- 또는 염기 부가염을 말한다. 산 부가염은 적절한 산을 화학식 (I)에 따르는 화합물에 첨가함으로써 형성될 수 있다. 염기 부가염은 적절한 염기를 화학식 (I)에 따르는 화합물에 첨가함으로써 형성될 수 있는데, 상기 화합물은 상기 적절한 염기와 반응하기 위한 산 화학적 그룹을 가지고 있다. 상기 산 또는 염기는 상기 화학식 (I)에 따르는 화합물을 실질적으로 분해하거나 파괴하지 않는다.

또한, 본 발명은 광학 이성질체 뿐 아니라 입체 이성질체, 예컨대 각각의 거울상 이성질체 및 부분입체 이성질체 뿐만 아니라 본 발명의 일련의 선택된 화합물의 구조적인 비대칭의 결과로서 발생하는 거울상이성질체의 혼합물도 포함하는 것으로 간주되어야 한다.

화학식 (I)의 화합물은 또한 용매화, 특히 수화될 수 있다. 수화 (hydration)는 화합물 또는 화합물을 포함하는 조성물을 제조하는 과정에서 일어나거나 화합물의 흡습성 성질 때문에 시간이 지남에 따라 일어날 수도 있다.

어떤 구성체 또는 화학식 (I)에서 1 회 이상의 어떠한 변화가 일어나면, 그 변화가 일어날 때마다 이의 정의는 매 다른 발생시의 정의와는 무관하다. 또한 치환기 및/또는 변화의 조합은 그러한 조합이 안정한 화합물을 초래하는 경우에만 허용된다.

본 발명의 다른 측면은 화학식 (I)의 화합물과 하나 이상의 화학적으로 적절한 용매를 포함하는 조성물이다. 상기 화학적으로 적절한 용매는 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된다: 1-부탄올, 1-헵탄올, 1-헥산올, 1-메톡시-2-프로판올, 1-옥탄올, 1-펜탄올, 1-프로판올, 1,1,1-트리클로로-메탄, 1,1,2-트리클로로에틸렌, 1,1,2-트리클로로트리플루오로에탄, 1,2-디클로로테트라플루오로에탄, 1,3-부탄디올, 1,3-부틸렌 글리콜 메틸 에테르, 1,3-디메톡시-2-프로판올, 1,4-디옥산, 2-(2-n-부톡시에톡시)에탄올, 2-부탄올, 2-부타논, 2-부톡시에탄올 아세테이트, 2-디에틸아미노에탄올, 2-에톡시에탄올 아세테이트, 2-에톡시에탄올, 2-헵타논, 2-헥사논, 2-히드록시프로판올, 2-메톡시에탄올, 2-메틸아미노에탄올, 2-메틸프로판올, 2-옥탄올, 2-펜타논, 2,4-톨루엔디이소시아네이트, 2,5-헥사디온, 3-(3-메틸부톡시)-1,2-프로판디올, 3-부톡시-1,2-프로판디올, 3-에톡시-1-프로판올, 3-메톡시-1,2-프로판디올, 3-메틸-2-부타논, 4-메틸-2-펜탄올, 5-메틸-2-헥사논, 5-메틸-3-헵타논, α-테르피네올, 아세트산, 아세트산 2-메톡시-1-메틸에틸 에스테르, 아세톤, 아크롤레인, 아밀 아세테이트, 벤젠, 프로필 아세테이트, 부톡시에탄올, 부틸 아세테이트, 부틸아민, 메틸 부티레이트, 부틸 부티레이트, 사염화 탄소, 카테콜, 클로로디플루오로메탄, 클로로메탄, 클로로펜타플루오로에탄, 클로로트리플루오로메탄, 시클로헥사놀, 시클로헥사논, d-리모넨, 디아세톤 알코올, 디아밀 에테르, 디부틸 에테르, 디클로로디플루오로메탄, 디클로로플루오로메탄, 디클로로메탄, 디에탄올아민, 디에틸 옥살레이트, 디에틸렌 글리콜 디에틸 에테르, 디에틸렌 글리콜 모노에틸 에테르 아세테이트, 디에틸렌 글리콜 모노메틸 에테르, 디에틸렌 글리콜 모노메틸 에테르 아세테이트, 디에틸렌 글리콜, 디에틸렌 글리콜 디메틸 에테르, 디에틸렌 글리콜 모노에틸 에테르, 디이소부틸 케톤, 디이소프로필 에테르, 디이소프로필아민, 디메틸 술폰산 (DMSO), 디메틸아세테이트, 디메틸아민, 디메틸에탄올아민, 디펜렌, 디페닐 에테르, 디프로필렌 글리콜 모노메틸 에테르 아세테이트, 디프로필렌 글리콜 모노메틸 에테르, 에탄올, 에틸 아세테이트, 에틸 프로피오네이트, 에틸벤젠, 에틸렌 글리콜 모노페닐 에테르, 에틸렌 글리콜, 에틸렌 옥사이드, 에틸렌 글리콜 메틸 에테르 아세테이트, 에틸렌 글리콜 디부틸 에테르, 에틸렌 글리콜 디에틸 에테르, 에틸렌 글리콜 모노벤질 에테르, 포름알데히드, 포름산, 푸르푸랄, 푸르푸릴 알코올, γ-부티로락톤, 헵타논, 헥사메틸디실라잔, 헥사메틸렌 디이소시아네이트, 헥산, 히드로퀴논, 이소옥틸 알코올, 이소프로필 알코올, 이소프로필아세테이트, 락트산 에틸 에스테르, 락트산 메틸 에스테르, 락트산 부틸 에스테르, 락트산 아밀 에스테르, m-크실렌, 메탄술포산, 메탄올, 메톡시벤젠, 메틸 이소부틸 케톤, 메틸 tert-부틸 에테르, 메틸 아세테이트, 메틸 이소부틸 케톤, 메틸 프로피오네이트, 모노에탄올아민, 모노에틸아민, 모노메틸아민, n-헥실 아세테이트, n-헥실 에테르, N-메틸피롤리돈, N-니트로소디메틸아민, o-크실렌, p-크실렌, 펜타플루오로프로필 알코올, 폴리에틸렌 E 200, 프로필렌 글리콜 모노페닐 에테르, 프로필렌 옥사이드, 프로필렌 카보네이트, 프로필렌글리콜 디에틸 에테르, sec-부틸아세테이트, 솔폴란, 테르피넨 에틸렌 글리콜 에테르, 테트라클로로에틸렌, 테트라에틸렌 펜타민, 테트라에틸렌 글리콜, 테트라플루오로메탄, 테트라히드로푸란, 테트라히드로푸릴 알코올, 테트라히드로피란-2-메탄올, 톨루엔, 트리클로로플루오로메탄, 트리클로로메탄, 트리에탄올아민, 트리에틸아민, 트리에틸렌 글리콜, 트리에틸렌 글리콜 디메틸 에테르, 트리플루오로메탄, 트리메틸렌 글리콜, 트리옥산, VM & P 나프타, 물, 크실렌, 또는 이들의 어떠한 조합. 예시적인 조합으로는 DMSO와 물, 메탄올과 물, 에탄올과 메탄올, 및 이소프로판올과 물이 있다.

정의

본원에서 사용되는 용어 "알킬"은 그 자체로서 또는 다른 기의 일부로서, 사슬의 길이가 제한되지 않는 한 10개 이하의 탄소의 직쇄 및 분지된 사슬 라디칼 두가지를 말하며, 예를 들면 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 부틸, t-부틸, 이소부틸, 펜틸, 헥실, 이소헥실, 헵틸, 4,4-디메틸펜틸, 옥틸, 2,2,4-트리메틸펜틸, 노닐, 및 데실이 있다.

본원에서 사용되는 용어 "알킬렌"은 그 자체로서 또는 다른 기의 일부로서, 사슬 길이에 제한이 없는 한 10개 이하의 탄소의 직쇄 및 분지된 사슬 라디칼을 말한다. 전형적인 실예로는 메틸렌 ($-\text{CH}_2-$), 에틸렌 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2-$), n-프로필렌 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$), 이소프로필렌 ($-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$ 및 $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)-$), n-부틸렌 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$), 이소부틸렌, 3-메틸펜틸렌 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2-$), 헥실렌, 헵틸렌, 옥틸렌, 노닐렌, 및 데실렌이 있다.

본원에서 사용되는 용어 "알케닐"은 그 자체로서 또는 다른 기의 일부로서, 사슬 길이에 제한이 없는 한 2 내지 10개의 탄소 원자의 직쇄 또는 분지된 사슬 라디칼을 의미하고, 실예로는 이들에 한정되는 것은 아니나 에테닐, 1-프로페닐, 2-프로페닐, 2-메틸-1-프로페닐, 1-부테닐, 2-부테닐 등이 있다. 바람직하게는, 알케닐 사슬은 2 내지 8 탄소 원자이며, 보다 바람직한 것은 2 내지 4 탄소 원자 길이를 가지는 것이다.

본원에서 사용되는 용어 "알케닐렌"은 그 자체로서 또는 다른 기의 일부로서, 사슬 길이에 제한이 없는 한 2 내지 10개의 탄소 원자의 직쇄 또는 분지된 사슬 라디칼을 의미하며, 상기 직쇄 또는 분지된 사슬 라디칼은 최소한 하나의 탄소-탄소 이중 결합을 함유한다. 전형적인 실예로는 에테닐렌 ($-\text{CH}=\text{CH}-$), 프로페닐렌 ($-\text{CH}=\text{CHCH}_2-$ 및 $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}-$), n-부테닐렌 ($-\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}-$), 및 3-메틸-2-펜테닐렌 ($-\text{CH}_2\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2-$), 헥세닐렌, 헵테닐렌, 옥테닐렌, 노네닐렌 및 데세닐렌이 있다.

본원에서 사용되는 용어 "알키닐"은 그 자체로서 또는 다른 기의 일부로서, 사슬 길이에 제한이 없는 한 2 내지 10개의 탄소 원자의 직쇄 또는 분지된 사슬 라디칼을 의미하며, 사슬 내에는 두 개의 탄소 원자 사이에 최소한 하나의 삼중 결합이 있고, 그런 것의 예를 들면, 아세틸레닐, 1-프로피닐, 2-프로피닐, 등이 있으며, 이들에만 한정되지는 않는다. 바람직하게는, 알키닐 사슬은 길이가 2 내지 8개의 탄소 원자, 보다 바람직하게는 2 내지 4 개의 탄소 원자 길이를 가진다.

본원에서 사용되는 용어 "알키닐렌"은 그 자체로서 또는 다른 기의 일부로서, 사슬 길이에 제한이 없는 한 2 내지 10개의 탄소 원자의 직쇄 또는 분지된 사슬 라디칼을 의미하며, 상기 직쇄 또는 분지된 사슬 라디칼은 최소한 하나의 탄소-탄소 삼중 결합을 함유한다. 전형적인 실예로는 에티닐렌 ($-\text{C}\equiv\text{C}-$), 프로피닐렌 ($-\text{C}\equiv\text{CCH}_2-$ 및 $-\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{C}-$), n-부티닐렌 ($-\text{C}\equiv\text{CCH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CCH}_2-$, 및 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{C}-$), 4-메틸-2-펜티닐렌 ($-\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$), 1-부티닐렌, 2-부티닐렌, 3-부티닐렌, 4-부티닐렌, 펜티닐렌, 헥시닐렌, 헵티닐렌, 옥티닐렌, 노니닐렌, 및 데시닐렌이 있다. 상기의 모든 경우에 알케닐 또는 알키닐 부분은 치환기로서 존재하며 불포화 연결, 즉 비닐레닐 또는 아세틸레닐 연결은 바람직하게는 질소, 산소, 또는 황 부분에 직접적으로 결합되지는 않는다.

본원에서 사용되는 용어 "알콕시"는 그 자체로서 또는 다른 기의 일부로서, 산소 원자에 연결된 상기 알킬기의 어느 하나를 말한다. 전형적인 실예로는 메톡시, 에톡시, 이소프로필옥시, sec-부틸옥시, n-부틸옥시, t-부틸옥시, n-펜틸옥시, 2-메틸부틸옥시, 3-메틸부틸옥시, n-헥실옥시, 및 2-에틸부틸옥시가 있다.

본원에서 사용되는 용어 "아릴"은 그 자체로서 또는 다른 기의 일부로서, 고리 부분에 6 내지 14개의 탄소, 바람직하게는 고리 부분에 6 내지 10개의 탄소를 함유하고 있는 단일고리형, 이중고리형, 또는 삼중고리형 방향족 기를 말한다. 전형적인 실예로는 페닐, 비페닐, 나프틸, 안트라세닐, 및 테트라히드로나프틸이 있다.

본원에서 사용되는 용어 "아르알킬" 및 "아릴알킬"은 그 자체로서 또는 다른 기의 일부로서, 아릴 치환기를 가지는 상기에서 논의된 바와 같은 알킬기를 말한다. 그러한 기로는 벤질, 페닐에틸, 페닐프로필 또는 2-나프틸메틸이 있다.

본원에서 사용되는 용어 "헤테로아릴"은 그 자체로서 또는 다른 기의 일부로서, 5 내지 14 개의 고리 원자; 고리형 배열에 공유된 6, 10 또는 14개의 π 전자를 가지며, 탄소 원자와 1, 2, 3 또는 4개의 산소, 질소 또는 황 헤테로원자를 함유하고 있는 기를 말한다. 헤테로아릴 기의 실예로는 다음과 같은 것들이 있다: 티에닐, 벤조[b]티에닐, 나프토[2,3-b]티에닐, 티안트레닐, 푸릴, 피라닐, 이소벤조푸라닐, 벤조옥사졸릴, 크로메닐, 크산테닐, 페녹사티닐, 2H-피롤릴, 피롤릴, 이미다졸릴, 피라졸릴, 피리디닐, 피라지닐, 피리미디닐, 피리다지닐, 인돌리지닐, 이소인돌릴, 3H-인돌릴, 인돌릴, 인다졸릴, 푸리닐, 4H-퀴놀리지닐, 이소퀴놀릴, 퀴놀릴, 프탈라지닐, 나프티리디닐, 퀴나졸리닐, 신놀리닐, 프테리디닐, 4aH-카르바졸릴, 카르바졸릴, β -카르볼리닐, 페난트리디닐, 아크리디닐, 피이미디닐, 페난트롤리닐, 페나지닐, 이소티아졸릴, 페노티아지닐, 이소옥사졸릴, 푸라자닐, 페녹사지닐, 및 테트라졸릴 기.

본원에서 사용되는 용어 "헤테로아릴알킬"은 그 자체로서 또는 다른 기의 일부로서, 알킬기에 결합된 헤테로아릴기를 말한다. 전형적인 실예로는 2-(3-피리디닐)에틸, 3-(2-푸릴)-n-프로필, 3-(3-티에닐)-n-프로필, 및 4-(1-이소퀴놀리닐)-n-부틸이 있다. 본원에서 사용되는 용어 "헤테로아릴(C_{1-4})알킬"은 C_{1-4} 알킬기에 결합된 헤테로아릴기를 말한다.

본원에서 사용되는 용어 "시클로알킬"은 그 자체로서 또는 다른 기의 일부로서, 3 내지 10 개의 탄소 원자를 함유하는 시클로알킬기를 말한다. 전형적인 실예로는 시클로프로필, 시클로부틸, 시클로펜틸, 시클로헥실, 시클로헵틸, 시클로옥틸, 시클로노닐, 및 시클로데실이 있다. 시클로알킬은 또한 이중고리형 시클로알킬기를 포함한다. 전형적인 이중고리형 시클로알킬기로는 비시클로[2.2.1]헵틸, 비시클로[3.1.1]헵틸, 및 비시클로[2.2.2]옥틸이 있다.

본원에서 사용되는 용어 "시클로알킬알킬"은 그 자체로서 또는 다른 기의 일부로서, 알킬기에 결합된 시클로알킬기를 말한다. 전형적인 실예로는 2-시클로펜틸에틸, 시클로헥실메틸, 시클로펜틸메틸, 3-시클로헥실-n-프로필, 및 5-시클로부틸-n-펜틸이 있다. 본원에서 사용되는 용어 "시클로알킬(C_{1-4})알킬"은 그 자체 또는 다른 기의 일부로서 C_{1-4} 알킬기에 결합된 시클로알킬기를 말한다.

본원에서 사용되는 용어 "시클로알케닐"은 그 자체로서 또는 다른 기의 일부로서, 3 내지 10 개의 탄소 원자와 1 내지 3 개의 탄소-탄소 이중 결합을 함유하고 있는 시클로알케닐기를 말한다. 전형적인 실예로는 시클로프로페닐, 시클로부테닐,

시클로펜테닐, 시클로헥세닐, 시클로헥사디에닐, 시클로헵테닐, 시클로헵타디에닐, 시클로옥테닐, 시클로옥타디에닐, 시클로옥타트리에닐, 시클로노네닐, 시클로노나디에닐, 및 시클로데세닐이 있다. 시클로알케닐은 또한 이중고리형 시클로알케닐 기를 포함한다. 전형적인 이중고리 시클로알케닐 기는 비시클로[2.2.1]헵테닐, 비시클로[3.1.1]헵테닐, 및 비시클로[2.2.2]옥테닐이 있다.

본원에서 사용되는 용어 "시클로알케닐알킬"은 그 자체로서 또는 다른 기의 일부로서, 알킬기에 결합된 시클로알케닐 기를 말한다. 전형적인 실예로는 2-(2-시클로펜테닐)에틸, 2-(2-시클로헥세닐)에틸, 3-(2-시클로펜테닐)-n-프로필, 및 4-(3-시클로헥세닐)-n-부틸이 있다. 본원에서 사용되는 용어 "시클로알케닐알킬"은 그 자체로서 또는 다른 기의 일부로서, C₁₋₄ 알킬기에 결합된 시클로알케닐기를 말한다.

본원에서 사용되는 용어 "시클로헥테로알킬"은 그 자체로서 또는 다른 기의 일부로서, 탄소 원자 및 1 내지 4개의 헥테로 원자를 함유하는 5 내지 14 개의 고리 원자를 말한다. 전형적인 실예로는 피롤리디닐, 이미다졸리디닐, 피라졸리디닐, 테트라히드로푸라닐, 테트라히드로피라닐, 피페리디닐, 피페라지닐, 퀴누클리디닐, 모르폴리닐, 및 디옥사시클로헥실이다. 시클로헥테로알킬은 또한 이중고리 시클로헥테로알킬기를 포함한다. 전형적인 이중고리 시클로헥테로알킬기로는 퀴누클리디닐, 7-아자비시클로[2.2.1]헵틸, 8-아자비시클로[3.2.1]옥틸, 및 4-티아-1-아자비시클로[3.2.0]헵탄이 있다.

본원에서 사용되는 용어 "시클로헥테로알킬알킬"은 그 자체로서 또는 다른 기의 일부로서, 알킬기에 결합된, 탄소 원자 및 1 내지 4개의 헥테로원자를 함유하는 5 내지 14 개의 고리 원자를 말한다. 전형적인 실예로는 2-(2-푸라닐)에틸, 3-(2-모르폴리닐)-n-프로필, 4-(1-피페리디닐)-n-부틸, 및 2-(2-이미다졸리디닐)-에틸이 있다. 본원에서 사용되는 용어 "시클로헥테로알킬(C₁₋₄)알킬"은 탄소 원자 및 1, 2, 3 또는 4개의 산소, 질소, 또는 황 헥테로원자를 함유하고 C₁₋₄ 알킬기에 결합되어 있는 5 내지 14 개의 고리 원자를 말한다.

본원에서 사용되는 용어 "시클로헥테로알케닐"은 그 자체로서 또는 다른 기의 일부로서, 탄소 원자, 1 내지 4개의 헥테로 원자, 및 1 내지 3개의 이중 결합을 함유하는 5 내지 14 개의 고리 원자를 말한다. 전형적인 실예로는 피롤리닐, 이미다졸리닐, 피라졸리닐, 디히드로피리디닐, 테트라히드로피리디닐, 및 디히드로피라닐이 있다. 시클로헥테로알케닐은 또한 이중고리 시클로헥테로알킬 기를 포함한다. 전형적인 이중고리 시클로헥테로알케닐 기로는 퀴누클리디닐, 7-아자비시클로[2.2.1]헵테닐 및 8-아자비시클로[3.2.1]옥테닐이 있다.

본원에서 사용되는 용어 "시클로헥테로알케닐알킬"은 그 자체로서 또는 다른 기의 일부로서, 알킬기에 결합된, 탄소 원자, 1 내지 4개의 헥테로원자, 및 1 내지 3 개의 이중 결합을 함유하는 5 내지 14 개의 고리 원자를 말한다. 전형적인 실예로는 2-(2-(1,2-디히드로피리디닐))에틸 및 3-(2-(1,2,3,6-테트라히드로피리디닐)-n-프로필)이 있다. 본원에서 사용되는 용어 "시클로헥테로알케닐(C₁₋₄)알킬"은 그 자체로서 또는 다른 기의 일부로서, C₁₋₄ 알킬 기에 결합된 시클로헥테로알케닐 기를 말한다.

본원에서 사용되는 용어 "알킬렌디옥시"는 그 자체로서 또는 다른 기의 일부로서, 고리를 말하고 특히 C₁₋₄ 알킬렌디옥시이다. 알킬렌디옥시 기는 임의로 할로젠 (특히 플루오르)으로 치환된다. 전형적인 실예로는 메틸렌디옥시 (OCH₂O) 또는 디플루오로메틸렌디옥시 (OCF₂O)가 있다.

본원에서 사용되는 용어 "할로젠" 또는 "할로"는 그 자체로서 또는 다른 기의 일부로서 염소, 브롬, 플루오르, 또는 요오드를 말한다.

본원에서 사용되는 용어 "모노알킬아민" 및 "모노알킬아미노"는 그 자체로서 또는 다른 기의 일부로서, 하나의 수소가 상기에서 정의된 바와 같은 알킬기에 의해 대체되는 NH₂ 기를 말한다.

본원에서 사용되는 용어 "디알킬아민" 및 "디알킬아미노"는 그 자체로서 또는 다른 기의 일부로서, 두 개의 수소가 상기에서 정의된 바와 같은 알킬기에 의해 대체되는 NH₂ 기를 말한다.

본원에서 사용되는 용어 "히드록시알킬"은 그 자체로서 또는 다른 기의 일부로서, 이의 하나 이상의 수소가 하나 이상의 히드록실 부분에 의해 치환되는 알킬 기를 말한다.

본원에서 사용되는 용어 "할로알킬"은 그 자체로서 또는 다른 기의 일부로서, 이의 하나 이상의 수소가 하나 이상의 할로 부분에 의해 치환되는 알킬 기를 말한다. 전형적인 실예로는 플루오로메틸, 디플루오로메틸, 트리플루오로메틸, 트리클로로에틸, 트리플루오로에틸, 플루오로프로필, 및 브로모부틸이 있다.

본원에서 사용되는 용어 "할로알케닐"은 그 자체로서 또는 다른 기의 일부로서, 이의 하나 이상의 수소가 하나 이상의 할로 부분에 의해 치환되는 알케닐 기를 말한다.

본원에서 사용되는 용어 "할로알킬닐"은 그 자체로서 또는 다른 기의 일부로서, 이의 하나 이상의 수소가 하나 이상의 할로 부분에 의해 치환되는 알킬닐 기를 말한다.

본원에서 사용되는 용어 "카르복시알킬"은 그 자체로서 또는 다른 기의 일부로서, 이의 하나 이상의 수소가 하나 이상의 카르복실산 부분에 의해 치환되는 알킬 기를 말한다.

본원에서 사용되는 용어 "헥테로원자"는 그 자체로서 또는 다른 기의 일부로서, 산소 원자 ("O"), 황 원자 ("S") 또는 질소 원자 ("N")를 의미한다. 헥테로원자가 질소일 때 그것은 NR^aR^b를 형성할 수 있는데 여기에서 R^a 및 R^b는 상호 독립적으로 수소 또는 C₁ 내지 C₈ 알킬, 또는 이들이 결합되는 질소와 함께 포화 또는 불포화 5-, 6- 또는 7원 고리를 형성한다.

본원에서 사용되는 약어 "t-Am"은 그 자체로서 또는 다른 기의 일부로서, 구조 $\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH}_3)_2\text{C}$ -를 가지고 있는 활성 아틸 부분을 나타낸다.

본원에서 사용되는 용어 "질소 함유"는 그 자체로서 또는 다른 기의 일부로서, 화학적 부분안에 최소한 하나의 질소 원자가 함유되어 있는 것을 의미한다. 구체적으로 질소 함유는 시클로헥테로알킬 및 시클로헥테로알케닐과 같은 부분을 변형시키기 위해 사용된다. 예를 들면 질소 함유 시클로헥테로알킬 기는 상기 기에 최소한 하나의 질소 원자가 고리의 일부로서 포함되어 있는 상기 정의된 바와 같은 시클로헥테로알킬 기이다. 질소 함유 시클로헥테로알킬 기의 실예로는 피롤리딘, 피페리딘, 모르폴린, 및 3-티아피롤리딘이 있다. 질소 함유 시클로헥테로알킬 기의 군에 포함되지 않는 시클로헥테로알킬 기의 예로는 테트라히드로푸란, 테트라히드로티오펜, 및 티아펜이 있다.

본원에 사용되는 용어 "킬레이터"는 그 자체로서 또는 다른 기의 일부로서, 하나 이상의 이온에 비공유적으로 결합하는, 또는 하나 이상의 이온과 복합체를 형성하는 화학적 부분을 말한다. 킬레이터는 리튬, 칼슘, 나트륨, 마그네슘, 칼륨, 및/또는 다른 생물학적으로 중요한 금속 이온에 결합할 수 있다. 이온에 대한 킬레이터의 결합은 킬레이터와 이온 사이의 해리 상수를 측정함으로써 측정될 수 있다. 본 발명에 따르면 킬레이터와 이온 사이의 해리 상수 K_D 는 약 10^{-3} 내지 약 10^{-15} M^{-1} 이다. 킬레이터와 이온 사이의 바람직한 해리 상수 K_D 는 약 10^{-6} 내지 10^{-15} M^{-1} 이다. R^1 이 킬레이터인 경우, R^1 을 A에 연결시키는 화학적 결합은 R^1 의 탄소 원자 또는 R^1 의 헤테로원자 상에 있을 수 있다. 상기 킬레이터를 A에 연결시키는 바람직한 결합은 상기 킬레이터의 탄소 원자상에 있다.

킬레이터는 어떠한 양이온 또는 음이온에 결합하는, 또는 이들과 복합체를 형성하는 화학적 부분을 포함한다. 킬레이터의 예는 당해 기술분야에 잘 알려져 있다. 바람직하게는, 킬레이터는 금속 양이온에 결합한다. 적당한 킬레이터는 비피리딘(bipy), 테르피리딘(terpy), 에틸렌디아민테트라아세트산(EDTA), 크라운 에테르, 아자-크라운 에테르, 숙신산, 시트르산, 살리실산, 히스티딘, 이미다졸, 에틸렌글리콜-비스-(베타-아미노에틸 에테르) N,N'-테트라아세트산(EGTA), 니트룰로아세트산, 아세틸아세토네이트(acac), 술페이트, 디티오키바메이트, 카르복실레이트, 알킬디아민, 에틸렌디아민(en), 디에틸렌트리아민(dien), 니트레이트, 니트로, 니트로소, $(\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{PCH}_2\text{CH}_2\text{P}(\text{C}_6\text{H}_5)_2$ (diphos), 글림(glyme), 디글림, 비스(아세틸아세토네이트)에틸렌디아민(acacen), 1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸테트라아세트산(DOTA), 1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸-1,4,7-트리아세트산(DO3A), 1-옥사-4,7,10-트리아자시클로도데칸-트리아세트산(OTTA), 1,4,7-트리아자시클로도데칸트리아세트산(NOTA), 1,4,8,11-테트라아자시클로테트라테트라아세트산(TETA), DOTA-N-(2-아미노에틸)아미드, DOTA-N-(2-아미노페네틸)아미드, 및 1,4,8,11-테트라아자시클로테트라테트라아세트산이다.

본원에서 사용되는 용어 "이온화된"은 화합물 또는 화학적 부분의 포지티브 및 네가티브 전하가 평형이 되어 있지 않은 상기 화합물 또는 화학적 부분의 상태, 또는 인접하였거나 인접하지 않은 원자상에 포지티브 및 네가티브 전하가 있는 화합물 또는 화학적 부분의 상태를 말하며, 상기 화합물 또는 화학적 부분은 전하를 띄지 않은 표준적인 표식을 가지지 않는다. 이온화된 화합물 또는 화학적 부분은 최종 네가티브 또는 포지티브 전하를 가질 수 있다. 바람직하게는, 포지티브와 네가티브 전하의 불균형은 각각 하나 이상의 양성자의 획득이거나 손실 때문이다. 하나 이상의 양성자의 획득 또는 손실은 상기 화합물 또는 화학적 부분내에 있는 기능기 사이에서 일어날 수 있다. 쪼비터이온인 화합물 또는 화학적 부분은 각각 이온화된 화합물 또는 화학적 부분안에 포함된다. 본 발명에 따르면 화합물은 만약 상기 화합물 또는 화학적 부분의 샘플의 약 89% 이상이 pH 7의 수용액중에서 이온화되는 경우, 바람직하게는 상기 화합물 또는 화학적 부분의 샘플의 약 98% 이상이 pH 7의 수용액중에서 이온화되는 경우라면 이온화된 것이다.

화합물은 당해 기술분야에 공지되어 있는 방법, 예를 들면 분광학적으로 또는 전위차계를 사용하여 이온화되는 지를 측정할 수 있다. 예를 들면 R^1 , R^2 및 A가 이들이 결합되는 N과 함께 $-\text{N}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHC}(\text{NH})\text{NH}_2$ 를 형성하는 화학식 (I)에 따르는 화합물은 약 pH 7의 수용액중에서 상기 화합물의 최소한 98%의 분자가 상기 $-\text{N}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHC}(\text{NH})\text{NH}_2$ 를 양성자화된 형태로 함유하는 것으로 측정된다. 그러므로, 본 발명에 따르면 R^1 , R^2 및 A가 이들이 결합되는 N과 함께 $-\text{N}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHC}(\text{NH})\text{NH}_2$ 를 형성하는 화학식 (I)에 따르는 화합물은 상기 화합물의 아홉번째 하위부류에 속하는 것으로 간주될 것이다.

본원에서 사용되는 용어 "치환된"은 다음의 것들로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되는 하나 이상의 치환기로 치환되는 기 또는 기들을 말한다: 히드록시, 옥소, 니트로, 트리플루오로메틸, 할로젠, C_{1-6} 알콕시, C_{6-10} 아르(C_{1-6})알콕시, C_{1-6} 알킬렌디옥시, C_{1-6} 아미노알킬, C_{1-6} 아미노알콕시, 아미노, 모노(C_{1-4})알킬아미노, 디(C_{1-4})알킬아미노, C_{2-6} 알킬 카르보닐아미노, C_{2-6} 알콕시카르보닐아미노, C_{2-6} 알콕시카르보닐, 카르복시, C_{2-6} 히드록시알콕시, (C_{1-6})알콕시(C_{2-6})알콕시, 모노(C_{1-4})알킬아미노(C_{2-6})알콕시, 디(C_{1-4})알킬아미노(C_{2-6})알콕시, C_{2-10} 모노(카르복시알킬)아미노, 비스(C_{2-10} 카르복시알킬)아미노, C_{6-14} 아르(C_{1-6})알콕시카르보닐, C_{2-6} 알킬카르보닐, C_{1-6} 알킬술포닐, C_{2-6} 알케닐술포닐, C_{2-6} 알킬닐술포닐, C_{6-10} 아릴술포닐, C_{6-10} 아르(C_{1-6})알킬술포닐, C_{1-6} 알킬술포닐, C_{1-6} 알킬술포아미도, C_{6-10} 아릴술포아미도, C_{6-10} 아르(C_{1-6})알킬술포아미도, C_{2-6} 카르복시알콕시, C_{2-6} 카르복시알킬, 카르복시알킬아미노, 시아노, 트리플루오로메톡시, 퍼플루오로에톡시, 구아니딘, 아미디노, 옥시구아니디노, 알킬이미노, 포르밀이미노, 아실 니트릴, 아실 아지드, 아세틸 아지드, 디클로로트리아젠, 이소티오시아네이트, 술폰일 할라이드, 술폰옥시이미딜 에스테르, 이소시아네이트, 아실 할라이드, 알데히드, 할로아세트아미드, 말레이미도, 아지리디닐, 알킬티오(디술폰아이드), 아크릴로, α -할로알킬카르보닐, 보로네이트, 히드라이드, 세미카바지드, 카르보히드라이드, 아릴알킬, 헤테로아릴알킬, 시클로알킬알킬, 시클로알케닐알킬, 시클로헥테로알킬알킬, 및 시클로헥테로알케닐알킬. 용어 "임의로 치환된"은 치환될 수도 그렇지 않을 수도 있는 기를 말한다.

용어 "치환된"이 시클로알킬, 시클로알케닐, 시클로헥테로알킬, 시클로헥테로알케닐, 아릴, 또는 헤테로아릴기에 대해 사용되는 경우, 본원에서 언급되는 용어 "치환된"은 다음의 것들로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된 하나 이상의 치

환기로 치환되는 기 또는 기들을 말한다: 히드록시, 옥소, 니트로, 트리플루오로메틸, 할로젠, C_{1-6} 알킬, C_{2-6} 알케닐, C_{2-6} 알킬닐, C_{6-10} 아릴, 5-10원 헤테로아릴, C_{1-6} 알콕시, C_{6-10} 아르(C_{1-6})알콕시, C_{1-6} 알킬렌디옥시, C_{1-6} 아미노알킬, C_{1-6} 아미노알콕시, 아미노, 모노(C_{1-4})알킬아미노, 디(C_{1-4})알킬아미노, C_{2-6} 알킬카르보닐아미노, C_{2-6} 알콕시카르보닐아미노, C_{2-6} 알콕시카르보닐, 카르복시, C_{1-6} 히드록시알킬, C_{2-6} 히드록시알콕시, (C_{1-6})알콕시(C_{2-6})알콕시, 모노(C_{1-4})알킬아미노(C_{2-6})알콕시, 디(C_{1-4})알킬아미노(C_{2-6})알콕시, C_{2-10} 모노(카르복시알킬)아미노, 비스(C_{2-10} 카르복시알킬)아미노, C_{6-14} 아르(C_{1-6})알콕시카르보닐, C_{2-6} 알킬닐카르보닐, C_{1-6} 알킬술폰, C_{2-6} 알케닐술폰, C_{2-6} 알킬닐술폰, C_{6-10} 아릴술폰, C_{6-10} 아르(C_{1-6})알킬술폰, C_{1-6} 알킬술폰, C_{1-6} 알킬술폰아미도, C_{6-10} 아릴술폰아미도, C_{6-10} 아르(C_{1-6})알킬술폰아미도, 아미디노, 구아니디노, C_{1-6} 알킬이미노아미노, 포르밀이미노아미노, C_{2-6} 카르복시알콕시, C_{2-6} 카르복시알킬, 카르복시알킬아미노, 시아노, 트리플루오로메톡시, 또는 퍼플루오로에톡시.

바람직하게는, 용어 "치환된"은 시클로알킬, 시클로알케닐, 시클로헤테로알킬, 시클로헤테로알케닐, 아릴, 또는 헤테로아릴기에 대해 사용되는 경우, 다음의 것들로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된 하나 이상의 치환기로 치환되는 기 또는 기들을 말한다: C_{1-4} 알킬, C_{2-4} 알케닐, C_{2-4} 알킬닐, C_{6-10} 아릴, 5-10원 헤테로아릴, 히드록시, C_{1-4} 알콕시, C_{1-4} 알킬렌디옥시, 할로, C_{1-4} 할로알킬, C_{1-4} 알킬티오, 티오, 아미노, 모노(C_{1-4})알킬아미노, 및 디(C_{1-4})알킬아미노.

용어 "형광 프로브 분자"는 화학식 (I)의 화합물을 나타낸다. 화학식 (I)의 화합물은 규정된 파장 또는 규정된 범위의 파장의 빛에 의해 여기된 후 형광 에너지를 방출할 수 있다. 형광 분자 또는 화합물은 펼쳐지거나 변성된 수용체에 결합할 수 있다.

용어 "조합 라이브러리"는 주어진 화합물 길이에 대해 가능한 모든 방식으로 구조상 관련되었거나 관련되지 않은 화학적 또는 생화학적 빌딩 블록의 세트를 조합함으로써 형성된 다수의 분자 또는 화합물을 말한다. 다르게는, 상기 용어는 화학적 빌딩 블록의 특정 세트를 선택적으로 조합함으로써 형성된 다수의 화학적 또는 생화학적 화합물을 말한다. 조합 라이브러리는 당업자들에게 친숙한 방법에 따라 구성될 수 있다[참조예: Rapoport et al., *Immunology Today* 16:43-49 (1995); Sepetov, N. F. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92:5426-5430 (1995); Gallop, M. A. et al., *J. Med. Chem.* 9:1233-1251 (1994); Gordon, E. M. et al., *J. Med. Chem.* 37:1385-1401 (1994); Stankova, M. et al., *Peptide Res.* 7:292-298 (1994); Erb, E. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91:11422-11426 (1994); DeWitt, S. H. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6909-6913 (1993); Barbas, C. F., et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:4457-4461 (1992); Brenner, S. et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:5381-5383 (1992); Lam, K. S. et al., *Nature* 354:82-84 (1991); Devlin, J. J. et al., *Science* 245:404-406 (1990); Cwirla, S. E. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:6378-6382 (1990); Scott, J. K. et al., *Science* 249:386-390 (1990)]. 바람직하게는, 용어 "조합 라이브러리"는 미국 특허 제 5,463,564호에서 설명된 바와 같은 다양한 화학적 라이브러리를 나타낸다. 조합 라이브러리가 구성되는 방식과 관계없이 라이브러리내의 각각의 분자 또는 화합물은 추후에 참조하기 위해 목록이 작성된다.

용어 "화합물 라이브러리"는 화학적 또는 생화학적 빌딩 블록을 조합하는 조합 접근법을 사용하여 형성되지 않는 다수의 분자 또는 화합물을 말한다. 대신, 화합물 라이브러리는 추후의 리간드-수용체 결합 분석에서 사용하기 위해 축적되고 보관되는 다수의 분자 또는 화합물을 말한다. 화합물 라이브러리의 각각의 분자 또는 화합물은 추후에 참조하기 위해 목록이 작성된다.

용어 "다수의 분자", "다수의 화합물", 및 "다수의 용기"는 최소한 2 개의 분자, 화합물, 또는 용기를 말한다.

용어 "다중-변수"는 하나 이상의 실험적 변수를 나타낸다.

용어 "스크리닝"은 다수의 분자 또는 화합물을, 변성 및/또는 펼쳐질 수 있는 표적 분자에 대한 이들의 결합 능력에 대해 시험하는 것을 말한다. 스크리닝은 분자가 열 이동 분석에서 표적 분자 (예컨대 단백질 수용체)에 대한 결합에 대해 시험되는 상황하거나 반복적인 과정이다. 예를 들어 열 이동 분석에서 다수의 분자 (예컨대 조합 라이브러리)로부터의 분자의 하위 세트중에서 어느 분자도 표적 분자에 결합하지 않는다면, 상이한 하위세트가 결합에 대해 시험된다.

용어 "등급화"는 어떠한 분자 또는 화합물의 부재시 표적 분자의 열 펼침 정보와 관련하여, 표적 분자에 대해 얻어진 열 펼침 정보 (예컨대 열 펼침 T_m)를 이동시키는 분자 또는 화합물의 능력에 따라, 표적 분자에 대한 다수의 분자 또는 화합물의 친화력의 순서를 매기는 것을 말한다.

용어 "많은 처리량"은 사람의 개입이 최소화되고 자동화가 최대화되는 스크리닝 활성을 나타낸다. 예를 들어 많은 처리량 스크리닝은 자동화된 피펫팅, 혼합, 및 가열, 열 펼침 정보의 소프트웨어-조정된 생성, 및 열 펼침 정보의 소프트웨어-조정된 비교를 포함한다. 다르게는, 많은 처리량 방법이란 수백 개의 화합물이, 적절한 하나의 장치를 개별적으로 단일하게 작동시킴으로써 24 시간 단위 기간에 스크린될 수 있는 방법이다.

"자동적으로 수행되는"이란 표현은 스크리닝 과정의 최소한 일부의 측면이 기계에 의해서, 및 임의로 컴퓨터로 조절되는 것을 의미한다.

용어 "등급화"는 또한 단백질 안정화, 단백질 접힘, 단백질 결정화, 또는 단백질 저장 수명을 최적화하는 데 있어 다수의 생화학적 조건의 효력의 순서를 정하는 것을 말한다. 단백질 안정화의 최적화, 단백질 접힘의 최적화, 단백질 결정화의 최적화, 및 단백질 저장 수명의 최적화라는 맥락에서 용어 "등급화"는, 참조 세트의 조건하에서 표적 분자의 열 펼침 정보와 관련하여 표적 분자에 대해 얻어진 열 펼침 정보 (예컨대 열 접힘 T_m)를 이동시키기 위한 하나 이상의 생화학적 조건의 조합의 효력의 순서를 정하는 것을 말한다.

상기에서 논의된 바와 같이 분자, 화합물, 또는 생화학적 조건을 T_m 의 변화에 따라 등급화하는 것이 바람직하다. 다르게는, 분자, 화합물, 또는 생화학적 조건은 전체 열 펼침 곡선에서의 변화에 따라 표적 분자를 안정화시키는 능력에 대하여 등급화될 수 있다.

본원에서 사용되는 용어 "단백질" 및 "폴리펩티드"는 동일한 의미이다. 단백질이나 펩티드에 대해 용어 "펼침"은 가열로 인한 어떠한 구조적인 변화를 포함한다. 예를 들어 용어 "펼침"은 액체 결정 상태에서 용융된 글로불 (globule) 상태까지의 과도기 (transition)를 의미한다. 용융된 글로불 상태에서 3차 및 4차 구조는 단백질의 천연 상태와 비교하여 변경되며, 최소한 약간의 2차 구조는 변하지 않은 채로 남아있다. 용어 "펼침"은 또한 아미노산 측쇄의 결정 배열 순서, 2차, 3차, 또는 4차 구조의 소실을 포함한다. 용어 "펼침"은 또한 무작위 코일의 형성을 포함한다.

용어 "접힘", "재접힘", 및 "복원 (renaturing)"은 생체내 분자의 완전한 화학적 및 생물학적 기능을 부여하는 정확한 아미노산 측쇄 배열 순서, 핵산 또는 단백질의 2차, 3차, 또는 4차 구조의 획득을 의미한다.

용어 "변성된 단백질"은 천연 아미노산 측쇄 배열 순서, 2차, 3차, 또는 4차 구조를 제거하기 위해 처리된 단백질을 나타낸다. 용어 "천연 단백질"은 단백질에 완전한 화학적 및 생물학적 기능을 부여하는 아미노산 측쇄 배열 순서의 정도, 2차, 3차, 또는 4차 구조를 가지고 있는 단백질을 나타낸다. 천연 단백질은 가열되지 않았고 우레아와 같은 화학적 펼침 제제로 처리되지 않은 단백질이다.

핵산의 경우, 용어 "펼침"은 펼침, 코일의 풀림, 꼬임의 풀림 또는 나선형 구조의 소실을 통하여 2차, 3차, 및/또는 4차 구조를 잃어버리는 것을 의미한다. 염기 짝짓기의 차단을 통한 이중- 또는 삼중-나선 구조의 소실은 핵산의 펼침의 한 예이다.

용어 "펼쳐진 핵산" 및 "변성된 핵산"은 접혀지거나, 코일이거나, 나선형이거나 꼬여있는 구조를 제거하기 위하여 처리된 핵산을 말한다. 삼중-가닥의 핵산 복합체의 펼침은 세번째 가닥이 두개의 상보하는 가닥으로부터 제거되었을 때 완료된다. 이중 가닥의 DNA의 펼침은 두개의 상보하는 가닥 사이의 염기 짝짓기가 차단되었고 따라서 무작위 형태를 추구하는 단일 가닥의 DNA 분자가 초래되었을 때 이루어진다. 단일 가닥의 RNA의 펼침은 분자내 수소 결합이 차단되어 RNA가 무작위한 비-수소 결합 형태를 취할 때 이루어진다.

"펼침 곡선"은 온도, 변성제 농도, 압력, 및 다른 생화학적 및 물리화학적 매개변수의 함수로서의 단백질의 펼침과 관련된 물리적 변화를 도시한 것이다. 펼침 곡선은 디지털 방식으로 또는 종이 또는 컴퓨터상에 도표화됨으로써 제작될 수 있다. "열 펼침 곡선"은 온도의 함수로서의 단백질 또는 핵산의 펼침과 관련된 물리적 변화의 도표이다 [참조예: Davidson et al., *Nature Structure Biology* 2:859 (1995); 및 Clegg, R. M. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:2994-2998 (1993)]. 열 펼침 곡선은 디지털 방식으로 또는 종이 또는 컴퓨터상에 도표화됨으로써 제작될 수 있다. 열 펼침 곡선은 디지털 방식으로 제작되는 것이 바람직하다.

"중간점 온도, T_m "은 열 펼침 곡선의 온도 중간점이다. 온도 중간점 T_m 에서 샘플중의 표적 분자의 절반은 펼쳐지며, 샘플중의 나머지 절반의 표적 분자는 접혀진 채로 남아 있다. T_m 은 당업자들에게 잘 알려져 있는 방법을 사용하여 쉽게 측정될 수 있다 [참조예: Weber, P. C. et al., *J. Am. Chem. Soc.* 116:2717-2724 (1994); Clegg, R. M. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:2994-2998 (1993)]. 바람직한 것은 T_m 이 디지털 열 펼침 곡선으로부터 디지털 방식으로 추론되는 것이다.

"열 펼침 정보"라는 표현은 가열에 대한 반응으로 표적 분자가 펼쳐지는 것과 관련된 정보이다. 예를 들어, 열 펼침 곡선은 열 펼침 정보의 한 종류이다. 열 펼침 곡선은 컴퓨터 스크린상에서 또는 종이에 도표화될 수 있다. 바람직한 것은 열 펼침 곡선이 컴퓨터 소프트웨어를 사용하여 디지털 방식으로 제작되고, 그런 다음 컴퓨터 스크린 상에서 볼 수 있게 되는 것이다. 보다 바람직한 것은 열 펼침 정보가 열 펼침 T_m 인 것이다. 디지털 방식으로 제작된 열 펼침 곡선은 열 펼침 T_m 을 디지털 방식으로 제작된 곡선으로부터 추론하기 위하여 인쇄되거나 표시되지 않아도 좋다. 가장 바람직한 것은 열 펼침 T_m 이 디지털 방식으로 제작된 열 펼침 곡선으로부터 디지털 방식으로 추론되는 것이다.

열 펼침 정보가 디지털 방식으로 제작되는 경우, 5가지의 적절한 매개변수가 평가된다: (1) y_f , 천연 단백질에 대한 전-과도기 형광; (2) y_u , 펼쳐진 단백질에 대한 후-과도기 형광; (3) T_m , 펼침 과도기에 대한 중간점에서의 온도; (4) ΔH_u , 반트 호프 (van't Hoff) 펼침 엔탈피 변화; 및 (5) ΔC_{pu} , 단백질이 펼쳐지고 있을 때의 열 용량의 변화. 가장 작은 사각형의 비-선형 곡선을 맞추는 것(fitting)은 적당한 소프트웨어, 예컨대 KALEIDAGRAPH™ 3.0 소프트웨어 (Synergy Software, Reading PA)를 사용하여 수행될 수 있는데, 상기 소프트웨어는 나머지 사각형의 합의 최소화를 위하여 Marquardt 방법을 활용하는 동안 다섯 가지의 적절한 매개변수가 떠오르는 것을 가능하게 한다. 온도 중간점 T_m 은 디지털 방식으로 제작된 열 펼침 정보로부터 추론된다.

본원에서 사용되는 용어 "온도 프로파일"은 시간의 경과에 따른 온도 변화를 말한다. 용어 "온도 프로파일"은 선형 및 비-선형 변화인 온도의 연속적인 상향 또는 하향 변화를 포함한다. 상기 용어는 또한 어떠한 단계식 온도 변화 프로토콜, 예컨대 온도가 일정하게 유지되는 동안의 기간에 의해 온도 증가 또는 감소가 차단되는 동안 온도의 점진적인 증가 또는 감소를 특징으로 하는 프로토콜을 포함한다.

용어 "유도 분자"는 표적 분자에 대하여 상대적으로 높은 친화력을 나타내는, 조합 라이브러리로부터 얻어지는 분자 또는 화합물을 말한다. 용어 "유도 화합물" 및 "유도 분자"는 동일한 의미이다. 용어 "상대적으로 높은 친화력"은 10^{-4} 내지 10^{-15} M의 K_d 범위내에 있는 친화력을 의미한다.

용어 "표적 분자"는 펩티드, 단백질, 핵산, 및 다른 수용체를 포함한다. 이 용어는 효소, 및 효소가 아닌 단백질 둘 다를 포함한다. 이 용어는 단량체 및 다량체 단백질을 모두 포함한다. 다량체 단백질은 동질성이거나 이질성일 수 있다. 상기 용어는 또한 최소한 두개의 뉴클레오타이드를 포함하고 있는 핵산, 예컨대 올리고뉴클레오타이드를 포함한다. 핵산은 단일 가닥, 이중 가닥, 또는 삼중 가닥일 수 있다. 용어는 또한 합성 올리고뉴클레오타이드, 재조합 DNA 분자의 일부분, 또는 염색체성 DNA의 일부분인 핵산을 포함한다. 용어 표적 분자는 또한 접힘, 코일링, 또는 꼬임을 통하여 2차, 3차, 또는 4차 구조를 획득할 수 있는 펩티드, 단백질, 및 다른 수용체의 부분도 포함한다. 표적 분자는 그것에 한정되는 것은 아니지만 보조인자, 보조효소, 치환기, 지질, 올리고당, 또는 포스페이트 기를 포함한 치환체들로 치환될 수 있다.

용어 "표적 분자" 및 "수용체"는 동일한 의미이다.

표적 분자의 예로는 이들에 한정되는 것은 아니지만 다음의 문헌들에서 개시된 것들이 있다[참조: Faisst, S. et al., *Nucleic Acids Research* 20:3-26 (1992); Pimentel, E., *Handbook of Growth Factors*, Volumes I-III, CRC Press, (1994); Gilman, A. G. et al., *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, Pergamon Press (1990); Lewin, B., *Genes V*, Oxford University Press (1994); Roitt, I., *Essential Immunology*, Blackwell Scientific Publ. (1994); Shimizu, Y., *Lymphocyte Adhesion Molecules*, RG Landes (1993); Hyams, J. S. et al., *Microtubules*, Wiley-Liss (1995); Montreuil, J. et al., *Glycoproteins*, Elsevier (1995); Woolley, P., *Lipases. Their Structure Biochemistry and Applications*, Cambridge University Press (1994); Kurjan, J., *Signal Transduction: Prokaryotic and Simple Eukaryotic Systems*, Academic Press (1993); Kreis, T., et al., *Guide Book to the Extra Cellular Matrix and Adhesion Proteins*, Oxford University Press (1993); Schlesinger, M. J., *Lipid Modifications of Proteins*, CRC Press (1992); Conn, P. M., *Receptors: Model Systems and Specific Receptors*, Oxford University Press (1993); Lauffenberger, D. A. et al., *Receptors: Models For Binding Trafficking and Signaling*, Oxford University Press (1993); Webb, E. C., *Enzyme Nomenclature*, Academic Press (1992); Parker, M. G., *Nuclear Hormone Receptors ; Molecular Mechanisms, Cellular Functions Clinical Abnormalities*, Academic Press Ltd. (1991); Woodgett, J. R., *Protein Kinases*, Oxford University Press (1995); Balch, W. E. et al., *Methods in Enzymology*, Vol. 257, Pt. C: "Small GTPases and Their Regulators: Proteins Involved in Transport", Academic Press (1995); The Chaperonins, Academic Press (1996); Pelech, L., *Protein Kinase Circuitry in Cell Cycle Control*, RG Landes (1996); Atkinson, *Regulatory Proteins of the Complement System*, Franklin Press (1992); Cooke, D. T. et al., *Transport and Receptor Proteins of Plant Membranes : Molecular Structure and Function*, Plenum Press (1992); Schumaker, V. N., *Advances in Protein Chemistry: Lipoproteins, Apolipoproteins, and Lipases*, Academic Press (1994); Brann, M., *Molecular Biology of G Protein-Coupled Receptors: Applications of Molecular Genetics to Pharmacology*, Birkhauser (1992); Konig, W., *Peptide and Protein Hormones: Structure, Regulations, Activity-A Reference Manual*, VCH Publ. (1992); Tuboi, S. et al., *Post-Translational Modification of Proteins*, CRC Press (1992); Heilmeyer, L. M., *Cellular Regulation by Protein Phosphorylation*, Springer-Verlag (1991); Takada, Y., *Integrin: The Biological Problem*, CRC Press (1994); Ludlow, J. W., *Tumor Suppressors: Involvement in Human Disease, Viral Protein Interactions, and Growth Regulation*, RG Landes (1994); Schlesinger, M. J., *Lipid Modification of Proteins*, CRC Press (1992); Nitsch, R. M., *Alzheimer's Disease: Amyloid Precursor Proteins, Signal Transduction, and Neuronal Transplantation*, New York Academy of Sciences (1993); Cochrane, C. G., et al., *Cellular and Molecular Mechanisms of Inflammation, Vol. 3: Signal Transduction in Inflammatory Cells*, Part A, Academic Press (1992); Gupta, S. et al., *Mechanisms of Lymphocyte Activation and Immune Regulation IV: Cellular Communications*, Plenum Press (1992); Authi, K. S. et al., *Mechanisms of Platelet Activation and Control*, Plenum Press (1994); Grunicke, H., *Signal Transduction Mechanisms in Cancer*, RG Landes (1995); Latchman, D. S., *Eukaryotic Transcription Factors*, Academic Press (1995)].

용어 "분자"는 표적 분자에 대한 결합 친화력이 시험되는 화합물을 말한다. 이 용어는 이들에 한정되는 것은 아니지만 핵산 및 펩티드를 포함하는 어떠한 구조의 화학적 화합물을 포함한다. 보다 구체적으로 용어 "분자"는 화합물 라이브러리 또는 조합 라이브러리의 화합물을 포함한다.

용어 "형광"은 형광 에너지의 방출을 포함한다. 더 좁게는 용어 "형광"은 형광 방출, 시간에 따른 형광 변화 속도 (즉 형광 수명), 형광 편광, 형광 비등방성, 및 형광 공명 에너지 전달을 의미한다[참조: Eftink, M. R., *Biophysical J.* 66:482-501 (1994)].

용어 "표적 분자를 접촉하는 것"은 넓게는 표적 분자를, 결합에 대해 스크린하고자 하는 분자가 들어있는 용액 또는 표적 분자를 안정화하는 시험을 하기 위한 조건이 갖추어져 있는 용액중에 넣는 것을 말한다. 더 좁게는 접촉은 결합에 대해 스크린하려고 하는 분자와 표적 분자의 용액을 회전시키고, 휘저으며, 흔들어주거나 진동시키는 것을 말한다. 보다 구체적으로 접촉은 표적 분자와 결합에 대해 시험하고자 하는 분자와의 혼합을 의미한다. 혼합은 예를 들면 수동으로 또는 자동화된 피펫팅 장치를 사용하여 피펫 팁을 통한 반복되는 흡수 및 방출에 의해 이루어질 수 있다. 바람직하게는, 접촉이 표적 분자와 결합에 대해 시험하고자 하는 분자와의 사이에 결합의 평형을 나타낸다. 접촉은 아래에서 설명되는 용기에서, 또는 스크린하고자 하는 분자와 표적 분자가 용기 안에 놓여지기 전에 일어날 수 있다.

표적 분자는 결합에 대해 스크린하고자 하는 분자와 접촉되기 전에 핵산과 접촉될 수 있다. 표적 분자는 결합에 대해 스크린하고자 하는 분자와 접촉되기 전에 펩티드와 복합체를 형성하기도 한다. 표적 분자는 결합에 대해 스크린하고자 하는 분자와 접촉되기 전에 인산화되거나 탈인산화될 수 있다.

표적 분자가 결합에 대해 스크린될 분자와 접촉되기 전에 표적 분자에 탄수화물 부분이 첨가될 수 있다. 다르게는, 탄수화물 부분은 표적 분자가 결합에 대해 스크린될 분자와 접촉되기 전에 표적 분자로부터 제거될 수 있다.

용어 "용기"는 결합에 대해 시험될 분자와 수용체를 넣을 수 있는 어떠한 그릇 또는 챔버를 말한다. 용어 "용기"는 반응 튜브 (예컨대 시험관, 마이크로튜브, 바이알, 등)를 포함한다. 본 발명의 방법에서 용어 "용기"는 바람직하게는 다중웰 미소플레이트 또는 다중웰 미소적정 플레이트의 웰을 나타낸다.

용어 "샘플"은 용기의 내용물을 나타낸다.

용어 "스펙트럼 방출", "열 변화", 및 "물리적 변화"는 빛 또는 열의 형태로의 에너지의 방출, 빛 또는 열의 형태로의 에너지의 흡수, 혼탁도의 변화 및 빛의 극성 성질의 변화를 포함한다. 구체적으로 상기 용어는 형광 방출, 형광 에너지 전달, 자외선 또는 가시광선의 흡수, 빛의 편광 성질의 변화, 형광 방출의 편광 성질의 변화, 시간의 경과에 따른 형광의 변화 속도의 변화 (즉 형광 수명), 형광 비등방성의 변화, 형광 공명 에너지 전달의 변화, 혼탁도의 변화, 및 효소 활성의 변화를 의미한다. 바람직하게는, 용어는 형광을 나타내며, 보다 바람직하게는 형광 방출을 나타낸다. 형광 방출은 단백질에 고유한 것이거나 형광 리포터 분자로 인한 것일 수도 있다. 단백질 펼침을 모니터링하기 위한 형광 기법의 사용은 당업자들에게 잘 알려져 있다[참조예: Eftink, M. R., *Biophysical J.* 66:482-501 (1994)].

형광 미소플레이트 열 이동 분석은 2000년 2월 1일자 허여된 미국 특허 제 6,020,141호에 개시되어 있다.

용어 "담체"는 최소한 두 개의 용기를 지지할 수 있는 것이라면 어떠한 모양의 것이든지 플랫폼 또는 다른 물체를 포함한다. 담체는 그것에 한정되지는 않지만 유리, 플라스틱, 또는 금속을 포함하여 어떠한 물질로도 만들어질 수 있다. 바람직하게는, 담체는 다중웰 미소플레이트이다. 용어 미소플레이트 및 미소적정 플레이트는 동일한 의미이다. 담체는 가열 엘리먼트로부터 제거될 수 있다. 본 발명에서는 다수의 담체가 사용된다. 각각의 담체는 다수의 웰을 가지고 있다.

용어 "생화학적 조건"은 물리적, 화학적, 또는 생화학적 반응의 어떠한 성분든지 포함한다. 구체적으로 상기 용어는 온도, 압력, 단백질 농도, pH, 이온 강도, 염 농도, 시간, 전류, 전위차, 보조인자의 농도, 보조효소, 산화제, 환원제, 계면활성제, 금속 이온, 리간드, 또는 클리세롤의 조건을 말한다.

용어 "효력"은 펼쳐진 또는 변성된 단백질의 재접힘 또는 복원을 촉진하는 생화학적 조건의 특정 세트의 효력을 말한다.

용어 "참조 조건 세트"는 표적 분자에 대한 열 펼침 정보가 얻어지는 생화학적 조건의 세트를 말한다. 참조 조건과는 상이한 조건하에서 얻어진 열 펼침 정보는 참조 조건하에서 표적 분자에 대해 얻어진 열 펼침 정보에 비교된다.

용어 "편광학적 측정"은 형광의 편광의 변화를 측정하는 것과 관련된다.

용어 "집합"은 단일 용기에서 표적 분자 또는 수용체에 대한 결합에 대해 시험될 최소한 두 개의 분자의 풀 (pool) 또는 군을 말한다.

"숙주"는 숙주 박테리아 세포에 대해 이중성인 단백질을 발현시킬 목적으로 재조합 DNA로 형질전환된 박테리아 세포를 말한다.

형광 열 이동 분석은 표적 수용체, 예컨대 단백질 또는 핵산의 열 펼침 정보 (예컨대 T_m)의 리간드-의존성 변화를 토대로 한다. 일정 범위의 온도에서 가열될 때 수용체는 펼쳐질 것이다. 펼침 정도를 온도의 함수로서 도표화함으로써 수용체에 대한 열 펼침 곡선을 얻을 수 있다. 자연적으로 열 펼침 곡선은 컴퓨터 소프트웨어를 사용하여 디지털 방식으로 제작될 수 있다. 온도 중간점 T_m 은 수용체 분자의 절반이 펼쳐지고, 나머지 절반의 분자는 접혀진 채로 남아있는 온도이다.

리간드 결합은 수용체를 안정화시킨다[참조: Schellman, J., *Biopolymers* 14:999-1018 (1975)]. 결합의 정도 및 상호작용의 유리 에너지는 리간드 농도의 함수로서의 경로를 평행으로 (parallel) 따른다[참조: Schellman, J., *Biophysical Chemistry* 45:273-279 (1993); Barcelo, F. et al., *Chem. Biol. Interactions* 74:315-324 (1990)]. 리간드에 의한 안정화의 결과로서 더 많은 에너지(열)가 수용체를 펼치기 위해 필요해진다. 그러므로, 리간드 결합은 열 펼침 정보 (예컨대 T_m)를 이동시킨다. 이런 성질은 리간드가 수용체에 결합하는지: 변화, 또는 열 펼침 정보의 "이동", 즉 리간드가 수용체에 결합했음을 의미하는 측정에 사용될 수 있다.

화합물의 용도

본 발명의 화합물은 형광 프로브가 유용한 것으로 알려져 있는 응용분야에서 형광 프로브 분자로서 유용하다. 화학식 (I)의 화합물을 형광 프로브 분자로서 사용함에 있어서 화학식 (I)의 화합물은 프로브될 샘플에 첨가된다. 그러면 화학식 (I)의 화합물을 포함하고 있는 샘플은 광원에 노출된다. 상기 광원은 일정 범위의 파장에 제한되어 있는 빛을 생성한다. 파장의 범위는 약 200 내지 약 600 나노미터 (nm), 바람직하게는 약 250 내지 약 500 nm, 가장 바람직하게는 약 300 내지 약 400 nm 이다. 상기 광원에 노출되었을 때 화학식 (I)의 화합물은 형광하기 시작하고 형광 에너지를 방출한다. 바람직하게는, 상기 형광 에너지는 형광 빛 에너지이다. 상기 방출된 형광 에너지는 당해 기술분야에 잘 알려져 있는 방법을 사용하여 검출된다. 상기 방출된 형광 에너지의 강도 및 파장은 샘플에 관한 정보를 제공한다. 상기 방출된 형광 에너지는 바람직하게는, 약 300 내지 약 800 nm, 보다 바람직하게는 약 400 내지 약 700 nm, 가장 바람직하게는 약 450 내지 약 700 nm의 파장 범위를 갖는다. 특히 화학식 (I)의 화합물은 형광 열 이동 분석에서 형광 프로브 분자로서 유용하다. 형광 열 이동 분석에 대해서는 본원에서 참고 문헌으로 인용되는 미국 특허 제 6,020,141호에 자세하게 설명되어 있다.

본 발명의 다른 측면은 열 변화 때문에 펼쳐질 수 있는 표적 분자에 대한 다수의 상이한 분자들 각각의 친화력을 등급화하는 방법에서의 화학식 (I)의 화합물을 사용하는 방법을 제공하는데, 상기 방법은 (a) 다수의 용기 각각에서, 화학식 (I)의 화합물의 존재하에, 다수의 상이한 분자 중 한 분자와 표적 분자를 접촉시키는 단계; (b) 다수의 용기를 동시에 가열하는 단계; (c) 각각의 용기의 형광을 측정하는 단계; (d) 표적 분자에 대한 열 펼침 정보를 각각의 용기에 대하여 온도의 함수로서 제작하는 단계; (e) 각각의 용기에 대하여 얻어진 열 펼침 정보를 (i) 각각의 다른 용기에 대하여 얻어진 열 펼침 정보, 및 (ii) 다수의 상이한 분자중 어느 한 분자의 부재시 표적 분자에 대하여 얻어진 열 펼침 정보와 비교하는 단계; 및 (f) 각각의 용기의 표적 분자와 다수의 상이한 분자들중 어느 한 분자의 부재시 표적 분자 사이의 열 펼침 정보의 차이에 따라 각 분자의 친화력을 등급화하는 단계로 이루어진다.

본 발명의 다른 측면은 열 변화 때문에 펼쳐질 수 있는 표적 분자에 대한 다수의 상이한 분자중 둘 이상의 조합의 친화력을 등급화하기 위한 다중-변수 방법에서의 화학식 (I)의 화합물을 사용하는 방법을 제공하는데, 상기 방법은 (a) 다수의 용기 각각에서, 화학식 (I)의 화합물의 존재하에, 다수의 상이한 분자 중 둘 이상의 조합과 표적 분자를 접촉시키는 단계; (b) 다수의 용기를 동시에 가열하는 단계; (c) 각각의 용기의 형광을 측정하는 단계; (d) 표적 분자에 대한 열 펼침 정보를 각각의 용기에 대하여 온도의 함수로서 제작하는 단계; (e) 각각의 용기에 대하여 얻어진 열 펼침 정보를 (i) 각각의 다른 용기에 대하여 얻어진 열 펼침 정보, 및 (ii) 둘 이상의 상이한 분자중 어느 한 분자의 부재시 표적 분자에 대하여 얻어진 열 펼침 정보와 비교하는 단계; 및 (f) 각각의 용기의 표적 분자와 다수의 상이한 분자들중 어느 한 분자의 부재시 표적 분자에 대하여 얻어진 열 펼침 정보 사이의 열 펼침 정보의 차이에 따라 다수의 상이한 분자들중 둘 이상의 조합의 친화력을 등급화하는 단계로 이루어진다.

본 발명의 또 다른 측면은 열 변화 때문에 펼쳐질 수 있는 표적 분자에 결합하는 분자에 대한 다수의 상이한 분자들의 집합을 분석하는 방법에서 화학식 (I)의 화합물을 사용하는 방법을 제공하는데, 상기 방법은 (a) 다수의 용기 각각에서, 화학식 (I)의 화합물의 존재하에, 다수의 상이한 분자 중 최소한 두 개의 분자의 집합과 표적 분자를 접촉시키는 단계; (b) 다수의 용기를 동시에 가열하는 단계; (c) 각각의 용기의 형광을 측정하는 단계; (d) 표적 분자에 대한 열 펼침 정보를 각각의 용기에 대하여 온도의 함수로서 제작하는 단계; (e) 각각의 용기에 대하여 얻어진 열 펼침 정보를 (i) 각각의 다른 용기에 대하여 얻어진 열 펼침 정보, 및 (ii) 다수의 상이한 분자중 어느 한 분자의 부재시 표적 분자에 대하여 얻어진 열 펼침 정보와 비교하는 단계; (f) 각각의 용기의 표적 분자와 다수의 상이한 분자들중 어느 한 분자의 부재시 표적 분자에 대하여 얻어진 열 펼침 정보 사이의 열 펼침 정보의 차이에 따라 상이한 분자들의 집합의 친화력을 등급화하는 단계; (g) 표적 분자에 대하여 친화력을 가지고 있는 분자를 함유하는 상이한 분자들의 집합을 선택하는 단계; (h) 다수의 용기 각각에서 분자들의 더 작은 집합으로 선택된 집합을 나누는 단계; 및 (i) 다수의 상이한 분자들로부터 단일한 분자가 확인될 때까지 상기 단계 (a)-(h)를 반복하는 단계로 이루어진다.

본 발명의 또 다른 측면은 열 변화 때문에 펼쳐질 수 있는 표적 분자를 안정화시키기 위한 다수의 상이한 생화학적 조건중 하나 이상의 효력을 등급화하는 방법에서 화학식 (I)의 화합물을 사용하는 방법을 제공하는데, 상기 방법은 (a) 다수의 용기 각각에서, 화학식 (I)의 화합물의 존재하에, 다수의 생화학적 조건중 하나 이상의 조건과 표적 분자를 접촉시키는 단계; (b) 다수의 용기를 동시에 가열하는 단계; (c) 각각의 용기의 형광을 측정하는 단계; (d) 표적 분자에 대한 열 펼침 정보를 각각의 용기에 대하여 온도의 함수로서 제작하는 단계; (e) 각각의 용기에 대하여 얻어진 열 펼침 정보를 (i) 각각의 다른 용기에 대하여 얻어진 열 펼침 정보, 및 (ii) 생화학적 조건의 참조 세트하에 표적 분자에 대하여 얻어진 열 펼침 정보와 비교하는 단계; 및 (f) 각각의 용기의 표적 분자와 생화학적 조건의 참조 세트하에서의 표적 분자 사이의 열 펼침 정보의 차이에 따라 각 용기에 대한 생화학적 조건의 각각의 효력을 등급화하는 단계로 이루어진다.

본 발명의 또 다른 측면은 열 변화 때문에 펼쳐질 수 있는 표적 분자의 저장 수명을 최적화하는 다중-변수 방법에서 화학식 (I)의 화합물을 사용하는 방법을 제공하는데, 상기 방법은 (a) 다수의 용기 각각에서, 화학식 (I)의 화합물의 존재하에, 다수의 상이한 분자 또는 상이한 생화학적 조건중 하나 또는 그 이상과 표적 분자를 접촉시키는 단계; (b) 다수의 용기를 동시에 가열하는 단계; (c) 각각의 용기의 형광을 측정하는 단계; (d) 표적 분자에 대한 열 펼침 정보를 각각의 용기에 대하여 온도의 함수로서 제작하는 단계; (e) 각각의 용기에 대하여 얻어진 열 펼침 정보를 (i) 각각의 다른 용기에 대하여 얻어진 열 펼침 정보, 및 (ii) 참조 세트의 생화학적 조건 하에서 표적 분자에 대하여 얻어진 열 펼침 정보와 비교하는 단계; 및 (f) 각각의 용기의 표적 분자와 참조 세트의 생화학적 조건 하의 표적 분자 사이의 열 펼침 정보의 차이에 따라 각 용기에 대한 생화학적 조건의 각각의 효력을 등급화하는 단계로 이루어진다.

본 발명의 또 다른 측면은 변성 또는 펼쳐진 단백질의 샘플의 재접힘 또는 복원을 촉진하기 위한 다수의 생화학적 조건중 하나 이상의 효력을 등급화하기 위한 다중-변수 방법에 화학식 (I)의 화합물을 사용하는 방법을 제공하는데, 상기 방법은 (a) 다수의 용기 각각에, 화학식 (I)의 화합물의 존재하에, 이미 하나 이상의 다수의 조건에 따라 재접혀져 있거나 복원되어 있는 재접혀진 단백질 샘플 각각을 넣는 단계; (b) 다수의 용기를 동시에 가열하는 단계; (c) 각각의 용기의 형광을 측정하는 단계; (d) 표적 분자에 대한 열 펼침 정보를 각각의 용기에 대하여 온도의 함수로서 제작하는 단계; (e) 각각의 용기에 대하여 얻어진 열 펼침 정보를 (i) 각각의 다른 용기에 대하여 얻어진 열 펼침 정보, 및 (ii) 참조 세트의 생화학적 조건 하에서 표적 분자에 대하여 얻어진 열 펼침 정보와 비교하는 단계; 및 (f) 각각의 용기에 대한 표적 분자와 참조 세트의 생화학적 조건 하의 표적 분자 사이의 열 펼침 정보의 차이에 따라 각 용기에 대한 생화학적 조건의 각각의 효력을 등급화하는 단계로 이루어진다.

본 발명의 또 다른 측면은 열 변화 때문에 펼쳐질 수 있는 단백질의 결정화를 촉진하기 위한 다수의 상이한 생화학적 조건중 하나 이상의 효력을 등급화하기 위한 다중-변수 방법에 화학식 (I)의 화합물을 사용하는 방법을 제공하는데, 상기 방법은 (a) 다수의 용기 각각에서, 화학식 (I)의 화합물의 존재하에, 다수의 상이한 생화학적 조건중 하나 또는 그 이상과 단백질을 접촉시키는 단계; (b) 다수의 용기를 동시에 가열하는 단계; (c) 각각의 용기의 형광을 측정하는 단계; (d) 표적 분자에 대한 열 펼침 정보를 각각의 용기에 대하여 온도의 함수로서 제작하는 단계; (e) 각각의 용기에 대하여 얻어진 열 펼침 정보를 (i) 각각의 다른 용기에 대하여 얻어진 열 펼침 정보, 및 (ii) 참조 세트의 생화학적 조건 하에서 표적 분자에 대하여 얻어진 열 펼침 정보와 비교하는 단계; 및 (f) 각각의 용기에 대한 표적 분자와 참조 세트의 생화학적 조건 하의 표적 분자 사이의 열 펼침 정보의 차이에 따라 각 용기에 대한 생화학적 조건의 각각의 효력을 등급화하는 단계로 이루어진다.

본 발명의 화합물은 또한 유도 화합물을 제조하는 개선된 방법에도 사용될 수 있다. 화합물 또는 화합물의 조합 라이브러리가 열 이동 분석을 사용하여 스크린된 후에 표적 수용체에 결합하는 화합물은 화학적으로 변형되어 화합물의 2차 라이브러리가 생성된다. 그런 다음에 이 2차 라이브러리도 열 이동 분석을 사용하여 스크린된다. 새로운 라이브러리를 스크리닝하고 생성하는 이 과정은 10^{-4} 내지 10^{-15} M의 Kd 범위의 친화력으로 표적 수용체에 결합하는 화합물이 얻어질 때까지 반복된다.

형광 이미지화 시스템이 표적 분자 또는 수용체의 열 펼침을 모니터하기 위하여 사용될 수 있다. 형광 이미지화 시스템은 당업자들에게 잘 알려져 있다. 예를 들어 AlphaImagerTM 펄스 도큐멘테이션 앤드 어날리시스 시스템 (Alpha Innotech, San Leandro, CA)은 해상도가 768×494 픽셀인 고성능 전하 커플된 장치 카메라를 사용한다. 전하 커플된 장치 카메라는 컴퓨터와 결부되어 있고 이미지는 이미지 분석 소프트웨어TM를 사용하여 분석된다. CHEMIIMAGERTM (Alpha

Innotech)는 ALPHAIMAGERTM의 모든 기능을 수행하고, 그 외에 화학 발광하는 샘플 및 다른 저강도 샘플의 이미지를 포착하는 저온의 전하 커플된 장치이다. CHEMIIMAGERTM 전하 커플된 장치에는 펜티엄 프로세서 (1.2 Gb 하드 드라이브, 16 Mb RAM), AlphaEaseTM 분석 소프트웨어, 광 맞춤 캐비닛관, 및 UV 및 백색광 트랜스-조명기가 포함된다. 예를 들어 MRC-1024 UV/가시 레이저 공초점 이미지화 시스템 (BioRad, Richmond, CA)은 광범위한 조명 파장 (350 내지 700 nm)에 걸쳐 하나 이상의 플루오로포어의 동시 이미지화를 용이하게 해준다. Gel Doc 1000 형광 겔 도큐멘테이션 시스템 (BioRad, Richmond, CA)은 20 × 20 cm 정도로 크게, 또는 5 × 4 cm 정도로 작게 샘플 영역을 선명하게 나타낼 수 있다. 최소한 96개의 웰 미소플레이트는 20 × 20 cm 영역안에 맞춰질 수 있다. Gel Doc 1000 시스템은 또한 시간-기초 실험의 수행을 용이하게 해준다.

형광 열 이미지화 시스템은 미소플레이트 열 이동 분석에서 수용체의 펼침을 모니터하기 위해 사용될 수 있다. 이 구체예에서 다수의 샘플은 25 내지 110 °C의 온도에서 동시에 가열된다. 형광 판독은 다수의 샘플 각각에 대하여 동시에 이루어진다. 예를 들어 96 또는 384 웰 미소플레이트의 각 웰의 형광이 동시에 모니터될 수 있다. 다르게는, 형광 판독은 각 샘플에 대하여 연속적이면서도 동시에 이루어질 수 있다. 더 낮은 온도에서 모든 샘플은 저수준의 형광을 나타낸다. 온도가 증가할수록 각 샘플의 형광도 증가한다. 표적 분자에 대해 높은 친화력으로 결합하는 리간드를 함유하고 있는 웰은 열 펼침 T_m 을 더 높은 온도로 이동시킨다. 그 결과 높은 친화력으로 표적 분자에 결합하는 리간드를 함유하는 웰은 모든 리간드의 부재시 표적 분자의 T_m 이상으로 주어진 온도에서, 높은 친화력 리간드를 함유하지 않은 웰보다 덜 형광하게 된다. 만약 샘플이 점진적 단계로 가열된다면, 다수의 샘플 모두의 형광은 각 가열 단계에서 동시에 영상화된다. 만약 샘플이 지속적으로 가열된다면 다수의 샘플 모두는 가열중에 동시에 이미지화된다.

형광 열 이동 분석은 100 μ l의 부피로 수행될 수 있다. 그러나, 다음의 이유로 열 이동 분석은 1 내지 10 μ l의 부피로 수행되는 것이 바람직하다. 첫째, 축소화된 분석에는 대략 10 내지 100배의 단백질이 필요하다. 그러므로, 분석에는 단지 ~ 4 내지 40 pmol의 단백질만이 필요하다 (25 kDa 단백질에 대해 0.1 μ g 내지 1.0 μ g)(즉, 약 1 내지 약 4 μ m의 표적 분자 농도를 가지는 1 내지 10 μ l 작업 부피). 그러므로, 축소화된 포맷에서는 1 mg 정도의 적은 양의 단백질이 1,000 내지 10,000 회의 분석을 수행하는 데 사용될 수 있다. 이것은 표적 분자가 소량으로만 활용가능할 때 특히 유리하다.

둘째, 축소화된 분석에는 대략 10 내지 100 배의 리간드가 필요하다. 이 장점은 그것에 대한 라이브러리 화합물이 소량으로만 합성되는 의미있는 조합 라이브러리를 스크린할 때 연구자들에게 매우 중요한 것이다. 사람 α -트롬빈의 경우 이상적인 리간드 농도는 약 50 μ M이며, 이것은 축소화된 포맷에서는 1회 분석당 25 내지 250 pmol의 리간드로, 또는 10 내지 100 ng (MW를 대략 500 Da으로 하여)의 리간드로 나누어진다.

셋째, 축소화된 분석이 훨씬 더 작은 영역에 잘 맞기 때문에 더 작은 작업 부피가 더 큰 어레이의 분석을 사용하는 잠재력을 가능하게 한다. 예를 들어 384 웰 (16 × 24 어레이) 또는 864 웰 (24 × 36 어레이) 플레이트는 96 웰 플레이트 (8.5 × 12.5 cm)와 동일한 치수를 갖는다. 384 플레이트와 864 플레이트는 사용자가 96 웰 플레이트를 사용하여 수행될 수 있는 것보다 각각 4 및 9배 더 많은 분석을 수행하는 것을 가능하게 한다.

다르게는, 1536 웰 플레이트 (32 × 48 어레이; Matrix Technologies Corp.)도 사용될 수 있다. 1536 웰 플레이트는 96 웰 플레이트에 의해 제공되는 처리량보다 16배 더 많은 양의 처리를 용이하게 해 줄 것이다. 그러므로, 1536 웰 플레이트 구성을 사용하면 분석 속도는 96 웰 포맷을 사용하여 수행될 수 있는 분석 속도와 비교하여 약 16배나 증가될 수 있다. 8 × 12 분석 어레이 배열 (96-웰 플레이트에서)은 시간당 96회 분석, 또는 24 시간당 약 2300회 분석의 수행을 가능하게 한다. 32 × 48 어레이 분석 배열은 시간당 약 1536회 분석의 수행을 가능하게 하거나, 또는 24 시간당 약 37,000회 분석이 32 × 48 분석 어레이 구성을 사용하여 수행될 수 있다.

다르게는, 플레이트 당 1536 초과인 웰을 함유하는 미소플레이트가 본 발명의 방법에 사용될 수 있다.

분석 부피는 1 내지 100 μ l이다. 바람직한 분석 부피는 1 내지 50 μ l이다. 보다 바람직한 분석 부피는 1 내지 25 μ l이다. 보다 바람직하게는 분석 부피는 1 내지 10 μ l이다. 더 바람직한 분석 부피는 1 내지 5 μ l이다. 여전히 더 바람직한 분석 부피는 5 μ l이다. 가장 바람직한 분석 부피는 1 μ l 또는 2 μ l이다.

바람직하게는, 분석은 V-자형 바닥 폴리카보네이트 플레이트 또는 오목한 폴리카보네이트 플레이트에서 수행된다. 오목한 플레이트는 총 15 μ l의 부피를 담을 수 있는 둥근 바닥 웰을 다수 함유하는 플레이트다.

본 발명의 방법에서 열 펼침 정보의 생성은 추가로 열 펼침 T_m 을 측정하는 단계와 각 용기안의 표적 분자에 대한 T_m 을 (i) 다른 각각의 용기안의 표적 분자에 대한 T_m 및 (ii) 어떠한 상이한 분자의 부재시 또는 참조 세트의 생화학적 조건하에 얻어진 표적 분자에 대한 T_m 과 비교하는 단계를 포함하며, 여기에서 등급화 단계는 다수의 상이한 분자들 또는 다수의 상이한 생화학적 조건들의 효력을 T_m 의 차이에 따라 등급화하는 것을 포함한다.

본 발명의 방법에서 측정 단계는 다수의 용기의 각각에 존재하는 화학식 (I)의 분자의 존재시 하나 이상의 상이한 분자 또는 상이한 생화학적 조건들과 단백질을 접촉시키는 것을 포함하며, 여기에서 측정 단계는 다수의 용기 각각에서 화학식 (I)의 화합물을 빛으로 여기시키는 것과 각각의 다수의 용기로부터의 형광을 측정하는 것을 포함한다.

본 발명의 방법에서 표적 분자가 이중 가닥의 올리고뉴클레오타이드인 경우, 올리고뉴클레오타이드의 한 가닥은 공여체 플루오로포어를 함유하고 다른 가닥은 수용체 플루오로포어를 함유한다. 접촉 단계는 각각의 다수의 용기안에서 올리고뉴클레오타이드를 다수의 상이한 분자, 또는 다수의 상이한 생화학적 조건과 접촉시키는 것을 포함할 수 있으며, 여기에서 측정 단계는 각각의 다수의 용기안에서 공여체 플루오로포어를 빛으로 여기시키는 것과 각각의 다수의 용기안에서 수용체 플루오로포어로부터 나오는 형광을 측정하는 것을 포함한다.

본 발명의 방법에서 형광은 모든 용기에서 동시에 측정될 수 있다. 다르게는, 형광은 용기의 하위세트에서 동시에 측정될 수 있다. 다르게는, 형광은 한번에 한 용기에서 측정될 수도 있다.

T_m 의 이동을 확인하기 위하여 리간드/표적 복합체에 대한 전체 열 펄침 곡선을 얻기 위해 치료적 표적의 T_m 주변의 온도 범위에 걸쳐 있는 형광을 판독하기 위한 한 가지 대안은 표적 분자의 T_m 에 가까운 단일 온도에서 분석을 수행하는 것이다. 이 구체예에서 대조 샘플 (표적 분자를 함유하지만 후보 리간드는 함유하지 않음)에 비교하여 덜 형광하는 샘플은 후보 리간드가 표적 분자에 결합하였음을 나타낸다.

이 구체예에서 가열로부터 초래된 표적 분자의 열 펄침과 관련된 형광은 하나 이상의 불연속 또는 고정된 온도 범위에 걸친 온도의 함수로서 표적 분자에 대한 열 펄침 정보를 생성함으로써 측정된다. 열 펄침과 관련된 형광이 측정된다. 모든 리간드가 없을 때 표적 분자에 대한 불연속 또는 고정된 온도에서의 형광이 주지된다. 각각의 다수의 상이한 분자, 예를 들어 조합 화합물의 존재시의 형광이 측정된다. 각각의 다수의 분자의 존재시에 표적 분자의 열 펄침과 관련된 형광은 다수의 상이한 분자중 어느 것도 없을 때에 불연속 또는 고정된 온도에서 표적 분자에 대해 얻어진 형광과 비교된다. 다수의 상이한 분자의 친화력은 형광의 차이에 따라 등급화된다.

형광이 측정되는 불연속 또는 고정된 온도는 열 안정성의 이동을 구별할 수 있다면 어느 온도든 될 수 있다. 바람직하게는, 불연속 또는 고정된 온도는 표적 분자에 대한 결합에 대해 시험된 다수의 상이한 분자중 어느 것도 없을 때 표적 분자에 대한 중간점 온도 T_m 이다.

본 발명의 방법은 리간드-단백질 상호작용을 분석하는 것에 한정되지 않는다. 본 발명의 방법은 단백질 안정화와 관련된 어떠한 다중-변수 시스템을 신속하게 분석하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어 본 발명의 방법은 하나 이상의 화합물 또는 리간드의 표적 분자에 대한 결합을 동시에 분석하는 데 사용될 수 있다. 이 접근법을 사용하여 다중-리간드 결합의 부가 효과를 평가할 수 있다. 포지티브 및 네가티브 협동성이 측정될 수 있다. 이 방법을 이루기 위하여 형광 열 이동 분석이 표적 분자, 예컨대 단백질에 대해 하나의 리간드도 없을 때, 단일 리간드가 있을 때, 및 둘 이상의 리간드가 있을 때 수행된다. 열 펄침 정보는 단백질 단독에 대하여 및 단백질 및 리간드(들)의 각각의 조합에 대하여 생성된다. 그런 다음 중간점 온도 T_m 이 단백질 단독에 대하여 및 각 조합에 대하여 측정된다. 그런 다음에 각 T_m 이 다른 조합에 대해 다른 각 T_m 에 대해 비교된다. 다르게는, 펄침 곡선은 단백질 단독에 대하여 및 각 조합에 대하여 생성되고, 각 열 펄침 곡선은 각각의 다른 열 펄침 곡선과 비교된다. 이들 방식중 어느 것이든지 하나 이상의 리간드가 결합 상호작용 또는 단백질 안정성에 미치는 부가 효과가 측정될 수 있다.

유사한 방식으로, 단백질 안정성에 미치는 하나 이상의 생화학적 조건의 부가 효과가 측정될 수 있다. 그러므로, 본 발명은 단백질 안정성, 및 그 결과 단백질의 저장 수명을 최적화하는 생화학적 조건을 신속하게 확인하기 위하여 사용될 수 있다. 나아가 본 발명의 방법은 펼쳐진 또는 변성된 단백질의 재접힘 또는 복원에 대한 다양한 생화학적 조건의 효력을 등급화하는데 사용될 수 있다. 이 구체예는 효과적인 재접힘 또는 복원 조건을 스크리닝하기 위한 신뢰할만한 방법에 대한 당해 기술분야에서의 요구를 만족시킨다.

예를 들어 박테리아 세포에서의 재조합 DNA의 발현은 통상 재조합 단백질의 박테리아 봉입체 안으로의 제거 (sequestration)를 초래한다[참조: Marston, F. A. O., *Biochem. J.* 240:1-12 (1986)]. 박테리아 발현 시스템 대신에 다른 발현 시스템도 사용될 수 있지만 박테리아 세포에서의 발현이, 선택된 방법이 재조합 단백질을 고-수준으로 발현할 수 있도록 유지시켜준다[참조: Rudolph, R., *Protein Engineering: Principles and Practices*, pp. 283-298, John Wiley & Sons (1995)]. 많은 경우 재조합 단백질의 회수는 단백질이 봉입체로부터 분리되는 것을 필요로 한다. 봉입체로부터의 단백질 정제 과정은 재조합 단백질의 변성을 필요로 한다. 그 결과로서 재조합 단백질은 이의 완전한 천연 기능성 형태의 단백질을 생성하기에 적당한 조건하에서 복원되거나 재접혀져야 한다.

이들 경우의 각각에서 변성된 단백질은 추후의 연구 또는 사용에 유용해지도록 복원되거나 재접혀져야 한다. 그러나, 불행히도 당업자는 주어진 단백질 또는 단백질의 단편이 복원될 수 있는 정확한 조건을 쉽게 예상할 수는 없다. 각 단백질은 다상이하다. 당업자는 언제나 어떤 세트의 조건이 최적인지를 알 수 있기 전에 복원 조건의 상이한 많은 조합을 시험해봐야 한다. 그러므로, 다양한 복원 조건의 효력을 등급화하기 위한 신뢰할만하고 신속한 방법을 가지는 것이 바람직하다.

재조합 DNA 기법은 박테리아 단백질 발현 장치의 보강을 통하여 상대적으로 많은 양의 관심의 광범위한 이중성 폴리펩티드의 생합성을 가능하게 한다. 그러나, 대장균에서 발현된 높은 치료적 가치를 가지고 있는 정확하게 접혀진 희귀한 사람 단백질을 값싸고 풍부하게 제공한다는 약속은, 펼쳐지거나 부분적으로 펼쳐진 표적 단백질이 불용성 단백질 봉입체로 압도적으로 우세하게 응집되는 바람에 실패로 돌아갔다[참조예: Rudolph, R., & Lilie, H., *FASEB J.* 10:49-56 (1995); Sadana, A., *Biotechnology & Bioengineering* 48:481-489 (1995); Jaenicke, R., *Phil. Trans. Royal Soc. London Ser. B-Biol. Sci.* 348:97-105 (1995)]. 대장균에서의 우세한 자체 응집 반응에 대한 이유는 부분적으로 펼쳐진 상태에서 다양한 정도로 발견된 상대적으로 높은 농도의 이중성 단백질 (세포 중량의 30 % 정도로 높음)에 초점이 맞춰진다. 그러므로, 과잉발현하는 대장균 스트레인의 증가된 단백질 농도에서, 펼쳐진 단백질의 노출된 소수성 잔기는 그 자체로서 완전히 접혀진 천연 상태로 진행되기 위하여 이들 소수성 잔기가 적절한 배향으로 채워지는 (분자내 과도기 상태) 깨어진 폴리펩티드 형태의 본보기가 되는 것들보다, 유사하게 노출된 기를 가지고 있는 다른 분자를 더 만나서 것 같다 (분자간 반응)(도 26 참조). 이러한 견해로부터 불용성 단백질 봉입체는 바람직한 단백질 접힘 과정을 방해하는, 역학적으로 트랩된 부분응 생성물인 것으로 여겨진다.

봉입체를 분리하는 기법, 봉입체로부터 재조합 단백질을 정제하는 기법, 및 단백질을 재접힘 또는 복원하기 위한 기법은 당업자들에게 잘 알려져 있다[참조예: Sambrook, J. et al., *Molecular Cloning: a Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989), pp. 17.37-17.41; Rudolph, R., et al., *FASEB J.* 10:49-56 (1995)].

대장균에서 정확하게 접혀진 단백질의 다량 생성을 방해하는 다른 요인은 대장균 시토솔의 감소하는 산화환원 가능성이 생체내에서의 이황화 결합의 형성을 방해한다는 사실이다. 이황화 결합의 형성은 때론 단백질 접힘과도 결합되는 많은 세

포의 단백질의 생체내 합성에서 중요한 공- 및 후-번역 사건이다. 또한, 시스-트랜스 이성질체화 반응이 특정 단백질의 정확한 접힘에 대한 속도 결정 단계인 것으로 증명되었다[참조: Lin, L. -N., & Brandts, J. F., *Biochemistry* 22:564-573 (1983)]. 그 결과로서 부분적으로 접혀진 중간체가 단백질 덩어리로 응집되고 침전되기에 충분한 양으로 생체내에서 축적된다.

세포는 봉입체 형성과 관련하여 상기에서 논의된 비생산적인 많은 부반응, 즉 응집 및 부적절한 이황화 결합 형성을 분명하게 방해함으로써 생체내에서 단백질 접힘을 보조하는, 소위 분자 샤프론이라 불리는 숙주 단백질 부류를 사용한다. 그러나, 부분적으로는 단백질에 포함되는 대장균 샤프론 장치인 GroEL 및 GroES는 아마도 강력한 과잉발현에 의해 압도당한다. 이런 샤프론 결손을 관심의 단백질과 분자 샤프론과의 공-발현에 의해 보정하기 위한 많은 시도에도 불구하고(Rudolph, R., & Lilie, H., *The FASEB J.* 10:49-56 (1995)) 단지 한 경우에만 긍정적인 결과가 보고되었다[참조: Goloubinoff, P., et al., *Nature* 342:884-889 (1989)].

어떻게 GroEL과 GroES가 생체내에서 단백질 접힘을 도와주는지 설명하기 위해 두개의 가설이 장려되었다. 첫번째 가설인 안핀센 케이지(Anfinsen cage) 가설하에서 분자 샤프론의 기능은, 단백질의 그것의 천연 상태로의 접힘이 세포에서의 선-응집 상태에 의해 간섭받지 않고 진행될 수 있는 보호된 환경을 제공한다는 것이다[참조: Martin, et al., *Nature* 352:36-42 (1991); Ellis, R. J., *Current Biology* 4:633-635 (1994)]. 두번째 가설인 "반복적인 아닐링(annealing)" 가설하에서 샤프론의 기능은, 기질 폴리펩티드의 형태 에너지로 쏠리는 ATP 가수분해의 에너지 일부를 가짐으로써 폴리펩티드가 더 높은 에너지 상태로 촉진되어, 그 상태에서부터 일단 다시 한번 용액으로부터 방출된 후 정확하게 재접혀지는 시도가 일어날 수 있도록, 잘못 접혀진 단백질(즉 역학적으로 트랩된 중간체)을 부분적으로 펼치는 것이다[참조: Todd, M. J. et al., *Science* 265:659-666 (1994); Jackson, et al., *Biochemistry* 32:2554-2563 (1993); Weissman, J. S., et al., *Cell* 78:693-702 (1994); Weissman, J. S., & Kim, P. S., *Science* 253:1386-1393 (1991)].

상기 논의된 생체내 결과는 많은 경우 보다 최근에 대장균에서 발현된 재조합 이중성 단백질의 시험관내 재접힘 경험과 일치한다. 즉, 단백질의 일차 아미노산 서열이 그것의 천연의 접혀진 형태를 결정하는 충분한 정보를 함유하는 한편(Anfinsen, C. B., *Science* 181:223-230 (1973)), 접힘 반응이 일어나는 생화학적 조건은 펼쳐지고, 응집되고, 정확하게 접혀진 형태 사이의 분포에 강력하게 영향을 줄 수 있다.

예를 들어, pH는 하기 식 (4)의 네번째 기간에 집약된 긴 범위의 정전기 상호작용에 미치는 그것의 영향에 의해 접힘 반응에 영향을 미치는 것으로 이해될 수 있다.

$$\Delta G_{fold} = \Delta G_{conf} + \sum \Delta g_{i,int} + \sum \Delta g_{i,s} + \Delta W_{el} + (\Delta G_{bind}) \quad (\text{식 4})$$

상기 식에서,

ΔG_{conf} = 형태 유리 에너지 (질서/무질서 기간);

$\Delta g_{i,int}$ = 짧은 범위의 상호작용 (H-결합, 반 데르 발스 상호작용, 염 가교,

보조인자 결합 등);

$\Delta g_{i,s}$ = 용매와의 짧은 범위의 상호작용 (소수성 효과, 이온의 수화 등);

ΔW_{el} = 긴 범위의 정전기 상호작용; 및

ΔG_{bind} = 리간드 결합 유리 에너지

단백질 용액의 pH가 단백질에 대한 pI 아래로 낮아짐에 따라 폴리펩티드상에 있는 기능기는 양성자화된 기능기들 사이의 정전기 척력이 결과적으로는 유리 에너지 식의 다른 기간의 평형을 이루게 되고 (식 (4)), 단백질은 더 이상 천연 형태를 취할 수 없게 되는 지점까지 점차적으로 양성자화된다.

단백질 접힘에 대한 다른 중요한 생화학적 매개변수는 지방족 및 방향족 측쇄 (및 가능하면 기본 사슬도 어느 정도까지)를 배제시켜서 그것의 노출된 표면적을 최소화시키는 용매인 물이다. 접힘 반응 동안의 용매의 영향은 유리 에너지 식 (식 (4))의 세번째 기간에서 집약된다. 특정 염이 수용액중의 단백질 측쇄 사이의 소수성 상호작용을 증가시키는 것으로 알려져 있다. 그 효과는 호프마이스터 (Hofmeister) 시리즈를 따르는 이온의 성질에 좌우된다: 양이온, $Mg^{2+} > Li^{+} > Na^{+} > K^{+} > NH_4^{+}$; 음이온, $SO_4^{2-} > HPO_4^{2-} > \text{아세테이트} > \text{타르타레이트} > Cl^{-} > NO_3^{-} > ClO_3^{-} > I^{-} > ClO_4^{-} > SCN^{-}$. SO_4^{2-} 및 HPO_4^{2-} 와 같은 호프마이스터 음이온을 0.4 M에서 안정화시키는 것은 정확하게 접혀진 단백질의 영역을 증가시키는 것으로 밝혀졌다[참조: Creighton, T. E., In: *Proteins: Structures and Molecular Properties*, Freeman, New York, (1984)]. 단백질의 천연 형태에 대한 이런 유리한 결과는 단백질의 바람직한 수화 (hydration)를 유도하는 양이온의 및 음이온의 "염석" 효과에 기인한다고 보여진다[참조: Creighton, T. E., In: *Proteins: Structures and Molecular Properties*, Freeman, New York, (1984)].

클리세롤은 단백질의 천연 형태에 유리하도록 물의 용매화 성질을 변경시킨다. 이런 현상이 일어나는 메카니즘은 호프마이스터 시리즈의 염의 염석 효과와는 달리 공-용매 배제 및 단백질의 바람직한 수화이다[참조: Timasheff & Arakawa, In: *Protein Structure, A Practical Approach*, T. E. Creighton, ed., IRL Press, Oxford, UK (1989), pp. 331-354].

환경이 단백질 접힘에 어떻게 영향을 미치는 지를 보여주는 다른 실험에는 공지된 리간드와 보조인자가 접혀진 단백질의 영역에 미치는 효과이다. 리간드 결합은 결합 유리 에너지를 접힘 반응의 결합 유리 에너지에 커풀링시키는 것을 통하여 펼쳐진 상태에서부터 천연-리간드 복합체로 평형을 이동시키는 효과를 나타낸다. 소의 탄산 탈수제 II의 재접힘에서 금속 이온의 역할이 설명된 바 있다[참조: Berghem & Carlsson, *Biochim. Biophys. Acta* 998:277-285 (1989)]. 단백질 접힘에 영향을 주는 것으로 밝혀진 다른 생화학적 매개변수는 다음과 같다: 단백질 농도, 온도, 글루타티온 산화환원 완충제 (GSH, GSSG), 계면활성제의 존재, 및 다른 첨가제, 예컨대 클리세올, 아르기닌-HCl, 폴리에틸렌 글리콜 (PEG), 및 유기 용매의 존재.

재접힘 조건하에서 인큐베이션되는 동안 재조합 단백질은 고체상 지지체에 고정될 수 있다. 이런 외형은 펼쳐진 단백질이 일시적으로 천연 상태로의 접힘이 결합하는 응집 반응으로부터 방해받지 않고 진행될 수 있는 보호된 환경에서 고정되는, GroEL 및 GroES의 기능에 대한 "안핀센 케이지(Anfinsen cage)" 가설과 닮아 있다. 단백질 접힘이 고체 지지체상에서 일어난다는 확증은 최근의 두 가지 문헌상의 보고로부터 드러난다. 말미에 폴리히스티딘이 있는 TIMP-2 단백질은 여전히 금속 킬레이트 킬럼에 결합되어 있으면서도 투석에 의해 재접혀질 수 있었다[참조: Negro, A. et al., *FEBS Lett.* 360:52-56 (1995)]. α -클루코시다제의 아미노 또는 카르복실 말단에 결합된 다가이온 용합 펩티드는 헤파린-세파로스 수지에 약 5 mg/ml에서도 결합되어 있으면서 접혀지는 것이 가능하게 한다[참조: Rudolph & Lilie, *FASEB J.* 10:49-56 (1995)]. α -클루코시다제를 고정화하고 다시 접히는 다가이온 아르기닌 태그 (tag) 방법은 문헌에 개시되어 있다[참조: Stempfer, G. et al., *Nature Biotechnology* 14:329-334 (1996)].

본 발명에서 열 이동 분석은 다양한 재접힘 또는 복원 조건의 효력을 등급화하기 위하여 사용된다. 다양한 상이한 생화학적 접힘 조건하에서 인큐베이트된 관심의 단백질의 다수의 일정액이 각각 용기안의 다중 용기 담체에 넣어진다. 농도를 알고 있는 완전히 기능적인 천연 단백질의 일정액이 대조 용기에 넣어진다. 샘플은 어떠한 다중용기 담체에도 놓일 수 있다. 바람직하게는 각 샘플은 다중웰 미소플레이트의 웰에 놓이는 것이다.

단백질 접힘 반응의 결과에 영향을 줄 수 있는 많은 생화학적 변수를 고려하면 단백질 접힘의 최적화는, 약물 발견시 단백질 결정화 및 정량적인 구조 활성 관계 (QSAR)와는 달리 다중-변수 최적화의 문제이다. 다중-변수 최적화 문제는 유리한 반응에 영향을 주기 위하여 가능한 한 많은 데이터를 수집하기 위해 대다수의 평행한 실험을 필요로 한다. 이런 관점에서 단백질 결정화 및 QSAR 분석은 둘 다 생화학적 또는 화학적 조성물의 점진적인 변화의 매트릭스 어레이를 사용하는 매스 (mass) 스크리닝 프로토콜로부터 매우 많은 이익을 본다.

본 발명은 또한 재접힘 또는 복원 조건의 효력을 등급화하기 위하여 사용될 수 있다. 그러한 조건으로는 그것에 한정되는 것은 아니지만 클리세올의 농도, 단백질의 농도, 2황화물 결합 형성의 형성을 촉매하는 제제의 사용, 온도, pH, 이온 강도, 용매의 유형, 환원된 글루타티온 (GSH) 및 산화된 글루타티온 (GSSG)과 같은 티올의 사용, 우레아, 구아니디늄 클로라이드, 알킬-우레아와 같은 케이오토로프 (chaotrope), 유기 용매, 예컨대 탄산 아미드, L-아르기닌 HCl, 트리스 완충액, 폴리에틸렌 글리콜, 비이온성 계면활성제, 이온성 계면활성제, 지비터이온성 계면활성제, 혼합된 미셀, 및 시클로덱스트린과 조합된 계면활성제를 포함한다. 본 발명은 계면활성제가 투석, 킬럼 크로마토그래피 기법, 또는 흡인 여과를 사용하여 단백질로부터 제거되는 것과는 무관하게 사용될 수 있다.

형광 열 이동 분석을 사용하면 최적 단백질 재접힘을 촉진하는 조건이 빠르게 측정될 수 있다. 이 구체예에서 변성된 단백질 샘플 및 대조 단백질 샘플 (즉 완전히 기능적인 형태로의 천연 단백질의 샘플)이 온도 범위에 걸쳐 가열된다. 비연속적인 온도 간격에서 형광 관독이 이루어진다. 다르게는, 형광 관독은 연속되는 사전측정된 온도 프로파일동안에 이루어질 수도 있다. 열 펄스 정보 (예컨대 열 펄스 T_m)가 각 샘플에 대해 생성된다. 완전히 기능적인 천연 참조 단백질에 대한 T_m 이 측정된다. 재접힘 조건의 상대적인 효력이 완전히 기능적인 천연 참조 단백질의 T_m 에서의 펄스와 결합된 형광의 크기에 따라, 그 T_m 에서 생화학적 조건의 샘플 단백질의 공지량의 형광의 크기와 비교하여 등급화된다. 형광 강도 변화의 크기가, 단백질 펄스 (열 펄스 곡선의 세로축, 또는 y-축에 반영됨)이 정확하게 접혀진 단백질의 양에 비례하는 지를 모니터하기 위해 사용된다.

본 발명은 단백질 접힘을 용이하게 하고 최적화하는 생화학적 조건을 스크리닝하는 방법을 제공한다. 주어진 단백질에 대한 조건을 스크리닝하기 위해서는 먼저 관심의 단백질에 대한 열 펄스 프로파일을 측정하는 것이 필요하다. 이것은 미소플레이트 열 이동 분석을 사용하여 열 펄스 정보를 생성함으로써 이루어진다. 다양한 조건, 예를 들어 pH 최적, 이온 강도 의존성, 호프마이스터 시리즈의 염의 농도, 클리세올 농도, 수크로스 농도, 아르기닌 농도, 디티오테이트 농도, 금속 이온 농도 등이 최적화될 수 있다.

미소플레이트 열 이동 분석을 사용하여 당업자는 단백질 안정성에 부가 효과를 나타내는 하나 이상의 생화학적 조건을 측정할 수 있다. 일단 단백질 안정성의 증가를 촉진하는 한 세트의 생화학적 조건이 열 이동 분석을 사용하여 확인되면, 동일한 세트의 조건이 재조합 단백질을 사용하는 단백질 접힘 실험에 사용될 수 있다. (도 27 참조). 만약 열 이동 분석에서 단백질 안정성을 촉진하는 조건이 재조합 단백질의 접힘을 촉진하는 조건과 상관관계가 있다면, 추가의 단백질 안정성의 증가를 초래하는 안정화 조건들의 조합을 확인할 때까지 추가의 열 이동 분석을 수행함으로써 조건은 추후로 최적화될 수 있다. 그런 다음 재조합 단백질이 그 조건하에서 접혀진다. 이 과정은 최적의 접힘 조건이 확인될 때까지 반복된다. 단백질 안정성은 단백질 접힘의 개선된 안정성과 상관관계가 있는 것으로 추측된다. 정확하게 접혀진 단백질의 수율은 어떠한 적당한 기법을 사용하여 측정될 수 있다. 예를 들어 정확하게 접혀진 단백질의 수율은 재접혀진 단백질을 친화성 킬럼, 예를 들면 그 단백질의 리간드가 결합되어 있는 킬럼위로 통과시키고, 샘플에 존재하는 단백질의 양을 정량함으로써 계산될 수 있다. 이 방법으로 접힘 조건은 이들의 정확한 접힘에 미치는 부가적인 기여도에 대해 평가될 수 있다. 단백질 접힘 반응에 대한 과도기 상태는 변성된 형태보다는 훨씬 더 단백질의 천연 형태를 닮아 있다. 이것은 많은 단백질의 경우에도 증명되었다[참조: Fersht, A. R., *Curr. Op. Struct. Biol.* 7:3-9 (1997)].

본 발명의 방법은 화학식 (I)의 화합물을 사용하여, 단백질 접힘에 유리한 생화학적 조건의 조합을 스크리닝하기 위한 신속하고 처리량이 많은 접근법을 제공한다. 그 방법은 단백질 접힘에 대한 종래의 접근법이 필요로 했던 번거롭고 시간 소모적인 단계들을 필요로 하지 않는다. 예를 들어 본 발명의 방법을 사용하면 종래의 재조합 단백질 재접힘 방법과 관련된 용

집 문제를 피하기 위하여 큰 부피 및 낮은 단백질 농도 (~ 10 µg/ml)로 단백질을 희석하는 것이 불필요하다. 단백질 응집의 억제제는 단백질 접힘 평형 (단백질의 펼쳐진 형태와 접혀진 형태 사이의)을 정확한 천연 형태로 이동시키는 생화학적 매개 변수의 스크리닝을 가능하게 할 것이다.

단백질 안정화, 단백질 접힘, 리간드 선택, 및 약물 디자인과 같이 단백질 결정화를 촉진하는 조건의 선택은 본 발명의 방법 및 장치를 사용하여 해결되는 다른 다중-변수 최적화 문제이다.

본 발명의 방법은 또한 단백질 결정화를 촉진하는 조건을 측정하는 데 유용하다. 용액으로부터의 분자의 결정화는 가역적인 평형 과정이며, 역학 및 열역학적 매개변수는 관심의 용매 시스템 및 용질의 화학적 및 물리적 성질의 함수이다 [참조: McPherson, A., In: *Preparation and Analysis of Protein Crystals*, Wiley Interscience (1982); Weber, P. C., *Adv. Protein Chem.* 41:1-36 (1991)]. 과도 포화 조건하에서, 시스템은 펼쳐진 상태와 천연 상태 대신에 가용성과 고체 상 사이에 용질이 분배되는 평형을 향하여 구동된다. 결정 상(phase)의 분자는 단백질 접힘에 중요한 많은 동일한 유형의 점착성 인자, 즉 반 데르 발스 상호작용, 정전기 상호작용, 수소 결합, 및 공유 결합에 의해 강력하게 우세하게 되는 질서정연하고 주기적인 3차원 배열로 채워진다(pack) [참조: Moore, W. J., in *Physical Chemistry*, 4th Ed., Prentice Hall, (1972), pp. 865-898].

그러므로, 많은 방법에서 단백질 결정화는 전체 분자가 개별적인 아미노산 잔기 대신에 점착성 에너지를 최대화하기 위하여 채워지는 단백질 접힘의 더 높은 수준의 변이 (variation)로서 볼 수 있다. 더욱이 단백질 결정화 및 단백질 접힘 두 가지 모두에 대하여 용매의 조성이 가용성 (펼쳐진) 형태와 결정성 (천연) 형태 사이의 분배 정도에 매우 중요한 기여를 할 수 있다. 단백질 거대분자에 존재하는 점착성 상호작용, 및 단백질 접힘과 단백질 결정화 두 가지 모두에 대하여 이들 상호작용을 조절하는 데 있어서 용매에 의해 수용되는 역할은 복잡하며, 현재로서는 완전히 이해되는 것은 아니다. 이런 관점에서 볼 때 단백질 안정성과 단백질 접힘을 촉진하는 생화학적 조건은 또한 단백질 결정화를 촉진한다.

예를 들어 D(II) FGF 수용체 1의 안정성을 증가시키는 것으로 밝혀진 생화학적 조건들은 x-선 회절 특질 단백질 결정의 결정화를 촉진했던 조건과 상관관계가 있다. D(II) FGFR1 단백질의 결정을 얻기 위해 사용된 조건은 하기 표 1에 제시한다.

단백질 결정을 호프마이스터(Hofmeister) 염 Li₂SO₄ (65 내지 72 %)의 존재하에 pH 범위 7.4 내지 9.2 에서 얻었다. 이들 결정화 조건은 약 8.0의 pH 최적과 관계가 있다. 호프마이스터 시리즈의 다른 염, 예컨대 Na₂SO₄, (NH₄)₂ SO₄ 및 Mg₂SO₄도 또한 침전으로서 요구되는 Li₂SO₄의 양을 감소시키기 위한 첨가제로서 유용한 것으로 발견되었다. 분명한 것은 성공적인 D(II) FGFR1 결정화를 위한 이들 조건이 미소플레이트 열 이동 분석을 사용하여 확인된 안정화 조건과 밀접한 관계가 있다는 것이다.

사람 α-트롬빈 안정화를 촉진하는 것으로 확인된 조건은 또한 사람 α-트롬빈 단백질 결정화를 촉진한다. 세명의 상이한 연구자들에 의해 확인된 x-선 회절 특질 사람 α-트롬빈 결정의 결정화를 촉진하는 조건을 다음 문헌에서 찾아볼 수 있다 [참조: 1) Bode, W., et al., *Protein Sci.* 1:426-471 (1992); 2) Vijayalaksluni, J. et al., *Protein Sci.* 3:2254-22271 (1994); 및 3) Zdanov, A. et al., *Proteins: Struct. Funct. Genet.* 17:252-265 (1993)].

하기 표 2에 요약된 조건은 미소플레이트 열 이동 분석에서 사람 α-트롬빈 안정성을 촉진하는 것으로 확인된 조건과 밀접한 관계가 있다. 형성된 결정은 약 7.0의 pH 최적에 가깝다. 나아가 0.1 내지 0.5 M NaCl (조건의 50 %) 또는 0.1 내지 0.2 M NaHPO₄의 존재가 분명하게 선호된다. 이것은 최근에 발견된 Na⁺ 결합 부위와 일치하며 (Dang et al., *Nature Biotechnology* 15:146-149 (1997)) 미소플레이트 열 이동 분석을 도 17A 내지 D 및 18의 결과를 초래한다. 하기 표 2에 기재된 양호한 결정을 생성한 모든 사람 α-트롬빈 샘플은 리간드와 복합체를 형성하고, 그로써 생화학적 조건으로부터 획득될 뿐만 아니라 이 단백질의 천연 구조를 추가로 안정화한다.

표 1. D(II) FGFR1 결정화 조건

완충액	침전물	첨가제	단백질 농도
50 mM Hepes pH 7.4	72 % Li ₂ SO ₄		10 mg/ml (10 mM Hepes pH 7.5)
50 mM Hepes pH 7.4	72 % Li ₂ SO ₄	3.4 mM ZnSO ₄	10 mg/ml (10 mM Hepes pH 7.5)
50 mM Hepes pH 7.4	68 % Li ₂ SO ₄	1 % PEG 8000	10 mg/ml (10 mM Hepes pH 7.5)
50 mM Hepes pH 7.4	66 % Li ₂ SO ₄	3.4 mM Na ₂ SO ₄	10 mg/ml (10 mM Hepes pH 7.5)
50 mM Hepes pH 7.4	66 % Li ₂ SO ₄	5.3 mM (NH ₄) ₂ SO ₄	10 mg/ml (10 mM Hepes pH 7.5)
50 mM Hepes pH 7.4	66 % Li ₂ SO ₄	2.1 mM MgSO ₄	10 mg/ml (10 mM Hepes pH 7.5)
10 mM Tris HCl, pH 8.0	65 % Li ₂ SO ₄		10 mg/ml (10 mM Hepes pH 7.5)
20 mM 클리신, pH 5.2	68 % Li ₂ SO ₄		10 mg/ml (10 mM Hepes pH 7.5)

단백질 결정화는 단백질 및 핵산 구조의 X-선 회절 측정을 위한 사실적으로 속도 결정 단계인 느리고 지루한 과정이다. 본 발명의 방법 및 장치는 주어진 단백질의 안정성을 촉진하고 그로써 X-선 특질 단백질 결정의 형성을 촉진하는, 신속하고 처리량이 많은 조건의 설명을 용이하게 해준다.

단백질이 보다 안정할 때는 결정 격자로 채워지는 것을 억제하는 열역학적 움직임이 더 적어진다. 이런 더 적은 움직임으로 단백질은 결정 격자로 더 잘 맞춰간다. 종래의 결정화 방법을 사용하면 결정화 실험은 실온에서 한번에 수주 동안 세팅된다. 시간을 경과하면 단백질의 펼침이 일어난다. 본 발명의 방법을 사용하면 단백질을 안정화시키는 조건이 온도 범위에 걸쳐 조사된다.

단백질 안정성, 리간드 결합, 단백질 접힘, 및 단백질 결정화의 최적화는 다중-변수 사건이다. 다중-변수 최적화 문제는 변수가 유리한 반응에 어떤 영향을 주는지를 측정하기 위하여 가능한 한 많은 데이터를 수집하기 위해 대다수의 평행 실험을 필요로 한다. 예를 들어 다중-변수 최적화 문제는 변수가 단백질 안정성에 어떤 영향을 주는지를 측정하기 위하여 가능한 한 많은 데이터를 수집하기 위해 대다수의 평행 실험을 필요로 한다. 이런 관점에서 볼 때 단백질 결정화 및 정량적 구조-활성 관계 분석 두가지는 모두, 생화학적 또는 화학적 조성의 증가하는 변화의 매트릭스 배열을 사용하는 매스 스크리닝 프로토콜로부터 많은 덕을 본다. 그러므로, 리간드상의 화학적 기능기를 변형시키는 것을 주어진 치료적 수용체에 대한 결합 친화력에 미치는 영향과 결부시키기 위해 정량적 구조-활성 관계가 구성되는 훨씬 동일한 방식에서, 본 발명의 방법 및 장치는 실험적으로 측정된 단백질 안정성, 리간드 특이성, 접혀진 단백질 수율, 및 결정화된 단백질 수율과 상이한 생화학적 조건을 결부시키는 정량 모델의 구성을 촉진한다.

형광 미소플레이트 열 이동 분석을 사용하여 당업자는 단백질 안정성에 부가적인 효과를 나타내는 하나 이상의 생화학적 조건을 측정할 수 있다. 일단 열 이동 분석을 사용하여 단백질 안정성의 증가를 촉진하는 한 세트의 생화학적 조건이 확인되면, 동일한 세트의 조건이 재조합 단백질을 사용하는 단백질 접힘 실험에 사용될 수 있다. 만약 열 이동 분석에서 단백질 안정성을 촉진하는 조건이 재조합 단백질의 접힘을 촉진하는 조건과 상관관계가 있다면, 추가의 단백질 안정성의 증가를 초래하는 안정화 조건의 조합이 확인될 때까지 추가의 열 이동 분석을 수행함으로써 조건은 추가로 최적화될 수 있다. 그런 다음 재조합 단백질이 그런 조건하에서 접혀진다. 이 과정이 최적의 접힘 조건이 확인될 때까지 반복된다.

본 발명은 단백질 안정화, 리간드 결합, 단백질 접힘, 및 단백질 결정화와 같은 다중-변수 사건을 최적화하기 위해 사용된 선행 기법을 능가하는 많은 장점을 제공한다. 그런 장점 가운데서도 가장 으뜸인 것은 본 발명이 많은 처리량의 스크리닝을 용이하게 한다는 것이다. 미소플레이트 열 이동 분석을 실행하기 위해 화학식 (I)의 화합물을 사용하는 것은, 이 염료가 긴 방출 파장, 높은 흡광 계수, 높은 정량 수율, 및 큰 스톡 이동을 가지고 있기 때문에 증가된 분석 민감도와 증가된 분석 처리량을 제공한다.

나아가 본 발명의 방법은 조합 라이브러리를 스크리닝하기 위해 사용된 선행 기법을 능가하는 많은 장점을 제공한다. 그중에서도 가장 좋은 장점은 본 발명이 유도 화합물에 대한 조합 라이브러리의 많은 처리량 스크리닝을 용이하게 한다는 것이다. 현재 사용되는 많은 스크리닝 기법은 단순히 리간드가 수용체에 결합하는지의 여부만을 나타낸다. 그 경우에 정량적인 정보는 제공되지 않는다. 일련의 리간드의 상대적인 결합 친화력에 대한 정보도 제공되지 않는다. 대조적으로 본 발명은 표적 수용체에 대한 이들의 상대적인 친화력에 대해 일련의 화합물의 등급화를 용이하게 한다. 이런 정보를 활용하면 구조-활성 관계가 화합물 세트에 대해 개발될 수 있다. 상대적인 결합 친화력을 등급화하기 위하여 중간점 펼침 온도 (T_m)의 리간드-의존성 변화를 쉽게, 재생 반복적으로, 그리고 빠르게 사용함으로써, 본 발명은 약물 발견 과정에서 강력한 도구가 된다.

전형적으로 종래의 역학적 스크리닝 접근법은 K_d 를 측정하기 위하여 6 가지의 상이한 억제제 농도에서 최소한 6개의 추가적인 웰 분석을 필요로 하였다. 그러나, 본 발명을 사용하면, 다중웰 미소플레이트의 각 웰에서 수행될 수 있는 결합 실험을 누구라도 완료하기 때문에 화학식 (I)의 화합물을 사용할 때 효소-기초 분석보다 약 6배나 처리량이 증가된다. 역학적 스크리닝 접근법은 심지어 통상 약 1 nM의 단백질 농도에서 일어나는 희석과 신호 검출 사이의 통상적인 타협에 의해 추가로 제한되기도 한다. 이런 관점에서 보면 열량계 접근법은 그것이 차등 스캐닝 열량 측정법이든 등온성 적정 열량 측정법이든 간에, 열량 측정 접근법이 통상 한시간에 한번 단독의 결합 실험을 하는 것에 제한되기 때문에 가장 불리하기까지 하다. 대조적으로 본 발명은 단일 웰에서 $\sim 10^{-4}$ 부터 10^{-15} M 까지 측정가능한 결합 친화력의 넓은 역학적 범위를 제공한다.

본 발명의 매우 중요한 장점은 약물 표적인 어떠한 수용체에도 예외 없이 적용될 수 있다는 것이다. 그러므로, 새로운 수용체가 시험에 활용될 수 있게 되는 때 경우에 새로운 분석법을 발명할 필요가 없다. 연구중인 수용체가 효소일 때 연구자들은 일련의 화합물의 등급 순서를 종래의 역학적 방법을 사용할 수 있을 때보다 더 빠르게, 그리고 더 쉽게 측정할 수 있다. 또한, 연구자들은 결합이 활성 부위에서 일어나는 지, 알로스테릭(allosteric) 보조인자 결합 부위에서 일어나는 지, 또는 수용체 하위단위체 계면에서 일어나는 지의 여부와 관계없이 효소에 대한 리간드 결합을 검출할 수 있다. 본 발명은 단백질 및 핵산과 같은 비효소 수용체에도 동일하게 적용될 수 있다.

본 발명의 다른 구체예에서 화학식 (I)에 따르는 특정 화합물이 반응성 프로브로서 사용될 수 있다. 상기 반응성 프로브로는 아민 반응성 프로브, 티올 반응성 프로브, 히드록시 반응성 프로브, 알데히드 반응성 프로브, 케톤 반응성 프로브, 및 카복실산 반응성 프로브가 있다.

화학식 (I)의 특정 화합물은 아민 반응성 프로브로서 유용하다. 아민 반응성 프로브는 유리 아민 부분을 함유하는 관심의 물질과 반응하는 화학식 (I)의 화합물이다. 아민 반응성 프로브는 하나 이상의 아민 반응성 부분을 함유한다. 유리 아민 부분은 $-NH_2$, $-NHR^a$, $-NR^aR^b$, 또는 $NR^aR^bR^c$ 로, 여기에서 R^a , R^b , 및 R^c 는 상호간에 독립적으로 수소, 알킬, 또는 이들이 결합되는 질소와 함께 포화 또는 불포화 고리를 형성한다. 아민 반응성 프로브는 관심의 물질상에 있는 유리 아민기와 반응하여 공유 또는 이온 포합체를 형성할 수 있다. 바람직하게는, 아민 반응성 프로브는 관심의 물질상에 있는 유리 아민기와 반응하여 공유 포합체를 형성한다. 아민 반응성 부분은 카복실산, 카복실산 에스테르, 아세틸 아지드, 알킬 할라이드, 아릴 할라이드, 디클로로트리아젠, 이소티오시아네이트, 술폰일 할라이드, 술폰숙신이미딜 에스테르, 아실 할라이드, 또는 알데히드이다. 아민 반응성 프로브는 많은 용도, 예컨대 물질 상에 있는 아민의 존재의 측정; 면역조직화학; 제자리 혼성화; 신경 추적 (tracing); 올리고뉴클레오타이드 표지화; 및 자동화된 DNA 서열화 작업 등에 사용된다.

화학식 (I)의 특정 화합물은 티올 반응성 프로브로서 유용하다. 티올 반응성 프로브는 유리 티올기를 함유하는 관심의 물질과 반응하는 화학식 (I)의 화합물이다. 티올 반응성 프로브는 하나 이상의 티올 반응성 부분을 함유한다. 유리 티올기 부분은 SH이다. 티올 반응성 프로브는 관심의 물질상에 있는 유리 티올 부분과 반응하여 공유 또는 이온 포합체를 형성할 수 있다. 바람직하게는, 티올 반응성 프로브는 관심의 물질 상에 있는 유리 티올기와 반응하여 공유 포합체를 형성한다. 티올 반응성 부분은 이소티오시아네이트, 숙신이미딜 에스테르, 요오도아세트아미드, 말레이미드, 아지리딘, 디술파이드, 알킬 할라이드, 아크릴레이트, 또는 α -할로 케톤이다. 티올 반응성 프로브는 단백질 포합체의 생성, 저분자량 티올 화합물의 유도체화, 분석적 분석에의 사용등에 유용하다[참조: Shimada et al., *J. Chromat. B. Biomed. Appl.* 659:227-241 (1994)].

화학식 (I)의 특정 화합물은 히드록시 반응성 프로브로서 유용하다. 히드록시 반응성 프로브는 유리 히드록시 부분을 함유하는 관심의 물질과 반응하는 화학식 (I)의 화합물이다. 히드록시 반응성 프로브는 하나 이상의 히드록시 반응성 부분을 함유한다. 유리 히드록시 부분은 -OH 이다. 히드록시 반응성 프로브는 관심의 물질상에 있는 유리 히드록시기와 반응하여 공유 또는 이온 포합체를 형성할 수 있다. 바람직하게는, 히드록시 반응성 프로브는 관심의 물질 상에 있는 유리 히드록시기와 반응하여 공유 포합체를 형성한다. 히드록시 반응성 부분은 카르복실산, 카르복실산 에스테르, 술폰 할라이드, 술폰 클로라이드, 할로아세트아미드, 이소시아네이트, 이소티오시아네이트, 보론산, 아실 니트릴, 산 할라이드, 산 클로라이드, 아실 아지드, 트리아릴알킬할라이드이다. 히드록시 반응성 프로브는 물질상의 히드록실의 존재의 측정; 면역조직화학; 제자리 혼성체화; 신경 추적; 물질 상의 많은 히드록시 기의 측정을 포함하여 많은 용도를 갖는다[참조: Yan et al., *Anal. Chem.* 71:4564 (1999)].

화학식 (I)의 특정 화합물은 알데히드 반응성 프로브로서 유용하다. 알데히드 반응성 프로브는 유리 알데히드 부분을 함유하는 관심의 물질과 반응하는 화학식 (I)의 화합물이다. 알데히드 반응성 프로브는 하나 이상의 알데히드 반응성 부분을 함유한다. 유리 알데히드 부분은 -C(O)H 이다. 알데히드 반응성 프로브는 관심의 물질상에 있는 유리 알데히드기와 반응하여 공유 또는 이온 포합체를 형성할 수 있다. 바람직하게는, 알데히드 반응성 프로브는 관심의 물질 상에 있는 유리 알데히드기와 반응하여 공유 포합체를 형성한다. 알데히드 반응성 부분은 지방족이거나 방향족일 수 있는 일차 또는 이차 아민, 히드라지드, 세미카바지드, 또는 카보히드라지드이다. 알데히드 반응성 프로브는 물질상의 알데히드기의 존재의 측정; 면역조직화학; 제자리 혼성체화; 신경 추적; 모세관 전기영동에 의한 화합물의 분석; 탄수화물 중합체의 서열 분석; 및 리포다당의 염색을 포함하여 많은 용도를 갖는다.

화학식 (I)의 특정 화합물은 케톤 반응성 프로브로서 유용하다. 케톤 반응성 프로브는 유리 케톤 부분을 함유하는 관심의 물질과 반응하는 화학식 (I)의 화합물이다. 케톤 반응성 프로브는 하나 이상의 케톤 반응성 부분을 함유한다. 유리 케톤 부분은 -C(O)-이다. 케톤 반응성 프로브는 관심의 물질상에 있는 유리 케톤기와 반응하여 공유 또는 이온 포합체를 형성할 수 있다. 바람직하게는, 케톤 반응성 프로브는 관심의 물질 상에 있는 유리 케톤기와 반응하여 공유 포합체를 형성한다. 케톤 반응성 부분은 지방족이거나 방향족일 수 있는 일차 또는 이차 아민, 히드라지드, 세미카바지드, 또는 카보히드라지드이다. 케톤 반응성 프로브는 물질상의 케톤기의 존재의 측정; 면역조직화학; 제자리 혼성체화; 신경 추적; 모세관 전기영동에 의한 화합물의 분석; 탄수화물 중합체의 서열 분석; 및 리포다당의 염색을 포함하여 많은 용도를 갖는다.

화학식 (I)의 특정 화합물은 카르복실산 반응성 프로브로서 유용하다. 카르복실산 반응성 프로브는 유리 카르복실산 부분을 함유하는 물질과 반응하는 형광 프로브이다. 카르복실산 반응성 프로브는 하나 이상의 카르복실산 반응성 부분을 함유한다. 유리 카르복실산 부분은 -CO₂H 이다. 카르복실산 반응성 프로브는 관심의 물질상에 있는 유리 카르복실산기와 반응하여 공유 또는 이온 포합체를 형성할 수 있다. 바람직하게는, 카르복실산 반응성 프로브는 관심의 물질 상에 있는 유리 카르복실산기와 반응하여 공유 포합체를 형성한다. 카르복실산 반응성 부분은 아민, 히드록시, 카르복실산, 술폰 할라이드, 할로아세트아미드, 이소시아네이트, 이소티오시아네이트, 아실 니트릴, 산 할라이드, 산 클로라이드, 아실 아지드, 트리아릴알킬할라이드, 아민, 히드라진이다. 카르복실산 반응성 부분이 아민인 경우 바람직하게는 아마이드 포합체가 형성될 것이다. 카르복실산 반응성 부분이 히드록시인 경우 바람직하게는 에스테르 포합체가 형성될 것이다. 카르복실산 반응성 프로브는 물질상의 카르복실산 기의 존재의 측정; 면역조직화학; 제자리 혼성체화; 신경 추적; 올리고뉴클레오타이드 표지화; 및 자동화된 DNA 서열 분석 적용을 포함하여 많은 용도를 갖는다.

화학식 (I)에 따르는 화합물이 아민 반응성 프로브, 티올 반응성 프로브, 히드록시 반응성 프로브, 알데히드 반응성 프로브, 케톤 반응성 프로브, 및 카르복실산 반응성 프로브로서 사용될 때 프로브 화합물과 관심의 물질 사이의 반응을 용이하게 하기 위하여 하나 이상의 추가의 화학적 시약을 사용하는 것이 유익할 수 있다. 그러한 화합물로는 디시클로헥실카보디이미드 (DCC), 디에틸아조디카르복실레이트 (DEAD), 디이소프로필아조디카르복실레이트 (DIAD), N-히드록시숙신이미드 (NHS) 및 EDAC 가 있다.

만약 연구되는 표적 분자 또는 수용체가 핵산이라면 형광 분광학이 형광 공명 방출 전달을 사용하여 수행될 수 있다. 올리고뉴클레오타이드의 한 가닥상의 공여체 플루오로포어로부터 다른 가닥에 있는 수용체 플루오로포어로의 형광 에너지의 전달은, 수용체 플루오로포어의 형광을 측정함으로써 모니터링된다. 펄침 또는 변성은 형광 에너지의 전달을 방해한다. 형광 공명 방출 전달 방법론은 당업자들에게 잘 알려져 있다[참조예: Ozaki, H., et al., *Nucleic Acids Res.* 20:5205-5214 (1992); Clegg, R. M., et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:2994-2998 (1993); Clegg, R. M., et al., *Biochemistry* 31:4846-4856 (1993)].

이중 가닥의 올리고뉴클레오타이드의 한 가닥은 공여체 플루오로포어를 함유할 것이고, 올리고뉴클레오타이드의 다른 가닥은 수용체 플루오로포어를 함유할 것이다. 공여체 또는 수용체 플루오로포어를 "함유하는" 핵산에 대하여 플루오로포어는 직접 올리고뉴클레오타이드 서열에 통합될 수 있다. 다르게는, 플루오로포어는 올리고뉴클레오타이드의 5'- 또는 3'-말단의 어느 쪽이나 첨부될 수 있다.

화학식 (I)의 화합물은 올리고뉴클레오타이드 및 폴리뉴클레오타이드를 포함하여 핵산의 형광 공명 에너지 전달 연구에 유용하다. 특히 본 발명의 화합물은 핵산의 구조 및 형태학적 과도기 상태를 측정하는 데 사용될 수 있다[참조: Clegg, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:2994-2998 (1993)].

공여체 플루오로포어는 빛에 의해 여기될 때 형광 에너지를 방출할 것이다. 공여체 플루오로포어에 의해 방출된 에너지는 수용체 플루오로포어에 의해 흡수된다. 용어 "공여체 플루오로포어"는 모든 플루오로포어, 예를 들어 카르복시플루오레신, 요오도아세트아미도플루오레신, 및 플루오레신 이소티오시아네이트를 포함하며, 이것들에만 한정되지는 않는다. 용어 "수용체 플루오로포어"는 모든 플루오로포어, 예를 들면, 이들에 한정되지는 않지만 요오도아세트아미도에오신 및 테트라메틸로다민을 포함한다.

화학식 (I)의 화합물은 본원에서 전부가 참고 문헌으로 인용되는 미국 특허 제 6,037,130호에서 설명되는 바와 같이 분자 신호(beacon)로서도 유용하다.

화학식 (I)의 화합물은 다양한 세포 프로세스와 신호 경로의 작용의 순서 및 메커니즘의 모니터링에도 유용하다. 상이한 세포 프로세스의 시간 경과, 성질 및 순서는 화학식 (I)의 화합물을 사용하는 제자리 (in situ) 관찰에 의해 명료하게 설명될 수 있다. 연구중인 세포 프로세스 및 신호 경로의 특이한 억제제 및/또는 활성화제가 임의로 화학식 (I)의 화합물과 더불어 사용될 수 있다. 예를 들어 아크로솜성(acrosomal) 반응의 개시 및 진전은 화학식 (I)의 화합물을 사용하여 모니터링될 수 있다 [참조예: Rockwell, et al. *Mol. Reprod. Dev.* 55(3):335-339 (2000)]. 화학식 (I)의 화합물이 아크로솜성 반응을 모니터링하기 위해 사용될 때 다른 제제 및 화합물이 시험 조건에 투여(administer)될 수 있다. 이런 방식으로 아크로솜성 반응을 억제하는 화합물 및 제제를 스크린하는 것이 가능하다.

화학식 (I)의 화합물은 또한 세포에서 원형질 망 (ER)을 모니터링하고 가시화하는 데에도 유용하다. 본 발명의 화합물은 ER이 가시화되도록 세포에 투여될 수 있다[참조예: Skepper, et al., *J. Physiol.* 527P:72P (2000); R. Haugland, *Molecular Probes Handbook of Fluorescent Probes and Research Chemicals*, Chapters 1-3 (1996)]. 다른 제제들이 화학식 (I)의 화합물 외에 사용될 수 있다. 이런 방식으로 다른 제제 및 화합물이 ER에 미치는 영향이 가시화될 수 있다. 사용될 수 있는 추가의 화합물로는 노코다졸, 콜키친, 및 TAXOL이 있다. 다른 제제 및 화합물을 세포에 투여한 후에 세포내에서의 염료의 분포의 변화는 상기 제제 및 화합물의 작용과 관련된 정보를 제공한다.

화학식 (I)의 특정 화합물은 산성 환경을 포함하는 세포 소기관을 모니터링하고 가시화하는 데 유용하다. 본 발명의 화합물은 전형적으로 내부가 산성인 세포 소기관내에서 농축된다. 전형적으로 산성인 세포 소기관은 그 내부의 pH가 7 미만, 바람직하게는 6 미만인 세포 소기관이다. 그러한 세포 소기관으로는 리소솜이 있다.

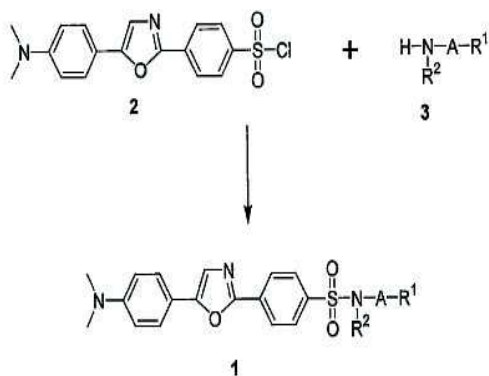
화학식 (I)의 화합물은 또한 아연 이온의 농도를 검출하는데도 유용하다. 특히 본 발명의 화합물은 피코몰 농도로 낮은 수준으로까지 유리 Zn^{2+} 를 정량하는 데 유용하다[참조예: Thomson et al. *J. Biomed. Opt.* 5(1):17-22 (2000)]. 화학식 (I)의 화합물은 아포카르본산 탈수 효소와 함께 사용될 때 선택성이 높은 유리 아연의 수준을 측정하기 위해 사용될 수 있다.

화학식 (I)에 따르는 화합물을 사용하는 모든 방법에서 상기 화합물의 농도는 약 0.1 nM 내지 약 10,000 μ M이다. 다른 바람직한 농도는 약 1 nM 내지 약 1,000 μ M, 약 0.1 μ M 내지 약 500 μ M, 약 1 μ M 내지 약 500 μ M, 및 약 1 μ M 내지 약 100 μ M이다.

화합물의 제조

본 발명은 또한 본원에서 설명되는 바와 같이 중간체 및 중간체 반응 단계를 포함하여, 화학식 (I)의 화합물의 다-단계 합성에 관한 것이다.

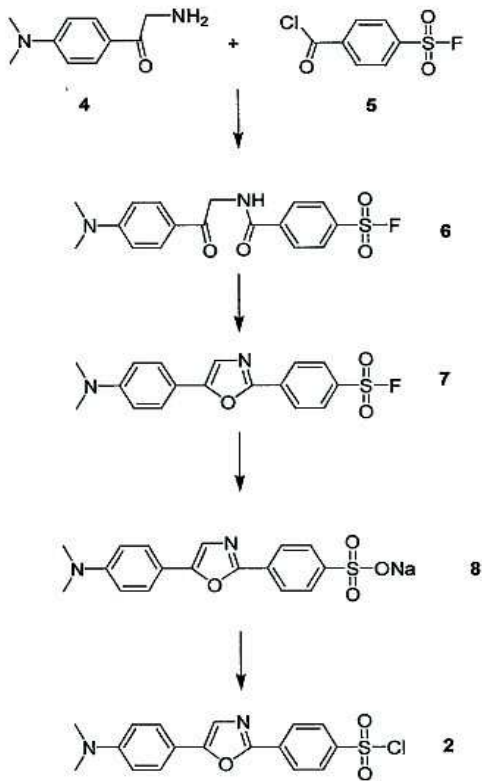
개략도 I: 화학식 (I)의 화합물은 개략도 I에 도시된 바와 같은 반응을 따라 제조될 수 있다. 여기에서 R^1 , R^2 , 및 A는 상기에서 정의된 바와 같다. 2-(4'-클로로술포닐페닐)-5-(4"-디메틸아미노페닐)옥사졸 (2, DAPOXYL 염화 술포닐)이 적절한 아민 (3)과 함께 적당한 용매중에서 교반되어 화학식 (I)의 화합물(1)이 형성된다. 화합물 2는 개략도 II에 따라서 제조될 수 있고 문헌에도 상세하게 설명되어 있다[참조: Diwu et al. *Photochem. Photobiol.* 66(4):424-431 (1997)].



개략도 I

개략도II: 2-(4'-플루오로술포닐벤조일아미노)-4"-디메틸아미노아세트페논(6)은 2-아미노-4"-디메틸아미노아세트페논(4)을 4-플루오로술포닐벤조일 클로라이드(5)와 디클로로메탄, 클로로포름, 또는 톨루엔과 같은 용매중에서 반응시킴으로써 제조된다. 화합물 6은 예컨대 농축 황산을 사용함에 의해 탈수되어 2-(4'-플루오로술포닐페닐)-5-(4"-디메틸아미노페닐)옥사졸 (7, DAPOXYL 플루오르화 술포닐)이 생성된다. 그런 다음 화합물 7은 염기, 예컨대 10 %의 NaOH와 반응

하여 2-(4'-술포페닐)-5-(4"-디메틸아미노페닐)옥사졸, 나트륨 염 (8, DAPOXYL 술포산, 나트륨 염)이 생성된다. 화합물 8은 다시 적당한 염소처리제, 예컨대 POCl₃, PCl₅, 또는 SOCl₂와 반응되어 2-(4'-클로로술포닐페닐)-5-(4"-디메틸아미노페닐)옥사졸 (2, DAPOXYL 염화 술포닐)이 얻어진다.



개략도 II

개략도 I에서 사용된 아민(3)은 화학식 (I)에 따르는 화합물을 생성하는 의미이면 어떠한 것이든지 적당하다. 개략도 I에서 사용된 아민은 당해 기술분야에 잘 알려져 있는 방법에 따라 제조될 수 있다. 화학식 (I)에 따르는 추가의 화합물은 2-(4'-클로로술포닐페닐)-5-(4"-디메틸아미노페닐)옥사졸 (2, DAPOXYL 염화 술포닐)을 다음의 아민중 어느 하나와 반응시킴으로써 제조된다: (시클로프로필메틸)아민, 2-(시클로프로필)에틸아민, 3-(시클로부틸)-1-프로필아민, N-메틸-3-시클로펜틸-1-펜틸아민, 4-시클로헥실-1-펜틸아민, 4-시클로헥실-2-펜틸아민, 시클로프로필아민, 시클로부틸아민, 시클로펜틸아민, N-메틸시클로펜틸아민, 시클로헥실아민, N-헥실시클로헥실아민, 시클로헥틸아민, 시클로옥틸아민, 시클로노닐아민, 시클로데실아민, 2-메틸시클로프로필아민, 2-메톡시시클로펜틸아민, 3-히드록시시클로펜틸아민, 3-(메톡시카르보닐)시클로펜틸아민, 2-(히드록시메틸)시클로펜틸아민, 1,4-시클로헥실디아민, N,N-디메틸-1,4-시클로헥실디아민, 4-옥소-2-시클로헥실아민, 1,2-디아미노시클로헥산, 1-아미노-cis-시클로펜탄-1,3-디카르복실산, cis-1-아미노-2-인돌, [2-(벤질아미노)시클로헥실]메탄올, 1-아미노-2-페닐시클로프로판카르복실산, 시클로프로페닐아민, 시클로부틸에틸아민, 시클로펜틸에틸아민, N-에틸시클로펜틸에틸아민, 시클로헥세닐아민, N-벤질시클로헥세닐아민, 시클로헥테닐아민, 시클로옥테닐아민, 시클로노네닐아민, 시클로데세닐아민, 2-메틸-3-시클로프로페닐아민, 4-메톡시-2-시클로펜틸에틸아민, 3-히드록시-2-시클로펜틸에틸아민, 5-(메톡시카르보닐)-2-시클로펜틸에틸아민, 4-(히드록시메틸)-3-시클로펜틸에틸아민, 4-옥소-2-시클로헥세닐아민, 4-아미노-2-시클로펜텐-1-카르복실산, N-에틸-2-(2-히드록시시클로프로필)에틸아민, 3-(3-카르복시시클로부틸)-1-프로필아민, N-메틸-3-(3-(디메틸아미노)시클로펜틸)-1-펜틸아민, 4-(2-클로로시클로헥실)-1-펜틸아민, 4-(3-에톡시시클로헥실)-2-펜틸아민, 이소피노캄페일아민, 3-피난메틸아민, 및 미르타닐아민.

화학식 (I)에 따르는 추가의 화합물은 2-(4'-클로로술포닐페닐)-5-(4"-디메틸아미노페닐)옥사졸 (2, DAPOXYL 염화 술포닐)을 다음의 아민중 어느 하나와 반응시킴으로써 제조된다: 트로메타민, 2,3-디히드록시-1-프로필아민, 1,2-디히드록시-2-프로필아민, 2,4-디히드록시-1-부틸아민, 3-히드록시-2-헥실아민, 3-히드록시메틸-2-헥실아민, 6-히드록시-1-헥실아민, 2-아미노-1,2-디페닐에탄올, N-에틸-6-히드록시-2-(메톡시카르보닐)메틸헥실아민, 4-히드록시-2-부틸-1-아민, N-메틸-4-히드록시-2-부틸-1-아민, 5-히드록시-3-펜틸-2-아민, 4-히드록시-2-부틸-1-아민, N-메틸-4-히드록시-2-부틸-1-아민, 5-히드록시-3-펜틸-2-아민, 및 2-아미노-2-데옥시-글루코스.

화학식 (I)에 따르는 추가의 화합물은 2-(4'-클로로술포닐페닐)-5-(4"-디메틸아미노페닐)옥사졸 (2, DAPOXYL 염화 술포닐)을 다음의 아민중 어느 하나와 반응시킴으로써 제조된다: 2-아미노아세트산, 4-아미노부티르산, 6-아미노헥산산, 7-아미노헵탄산, N-벤질-4-아미노부티르산, N-프로필-6-아미노헥산산, N-이소부틸-7-아미노헵탄산, 4-아미노-2-히드록시-부티르산, 6-아미노-3-메톡시헥산산, 7-아미노-2-(4-아미노페닐)헵탄산, N-벤질-4-아미노부티르산, N-프로필-6-아미노-4-이소프로필헥산산, N-이소부틸-7-아미노-3-클로로헵탄산, 4-아미노부텐산, 6-아미노헥센산, 7-아미노헵텐산, N-벤질-4-아미노부텐산, N-프로필-6-아미노헥센산, N-이소부틸-7-아미노헵텐산, 4-아미노-2-히드록시-부텐산, 6-아미노-3-메톡시헥센산, 7-아미노-2-(4-아미노페닐)헵텐산, N-벤질-4-아미노부텐산, N-프로필-6-아미노-4-이소프로필헥센산, N-이소부틸-7-아미노-3-클로로헵텐산, 4-아미노부텐산, 6-아미노헥신산, 7-아미노헵틴

산, N-벤질-4-아미노부틴산, N-프로필-6-아미노헥신산, N-이소부틸-7-아미노헥틴산, 4-아미노-2-히드록시-부틴산, 6-아미노-3-메톡시헥신산, 7-아미노-2-(4-아미노페닐)헥틴산, N-벤질-4-아미노부틴산, N-프로필-6-아미노-4-이소프로필헥신산, N-이소부틸-7-아미노-3-클로로헥틴산, 및 이들의 에스테르.

화학식 (I)에 따르는 추가의 화합물은 2-(4'-클로로술포닐페닐)-5-(4"-디메틸아미노페닐)옥사졸 (2, DAPOXYL 염화 술포닐)을 다음의 아민중 어느 하나와 반응시킴으로써 제조된다: 2-페닐에틸아민, 3-페닐-1-프로필아민, 4-페닐-1-부틸아민, 3-페닐-1-부틸아민, 5-페닐-1-펜틸아민, 4-페닐-1-펜틸아민, 4-페닐-2-펜틸아민, 6-페닐-1-헥실아민, 5-페닐-1-헥실아민, 5-페닐-2-헥실아민, 7-페닐헥틸아민, 8-페닐옥틸아민, N-벤질-2-페닐에틸아민, N-프로페닐-3-페닐-1-프로필아민, N-벤질-4-페닐-1-부틸아민, N-에틸-3-페닐-1-부틸아민, N-메틸-5-페닐-1-펜틸아민, N-시클로프로필-4-페닐-1-펜틸아민, N-부틸-4-페닐-2-펜틸아민, N-벤질-6-페닐-1-헥실아민, N-헥세닐-5-페닐-1-헥실아민, N-n-부틸-5-페닐-2-헥실아민, N-프로피닐-7-페닐헥틸아민, N-벤질-8-페닐옥틸아민, 3-페닐-1-프로페닐아민, 4-페닐-1-부틸아민, 3-페닐-1-부틸아민, 5-페닐-1-펜틸아민, 4-페닐-1-펜틸아민, 4-페닐-2-펜틸아민, 6-페닐-1-헥세닐아민, 5-페닐-1-헥세닐아민, 5-페닐-2-헥세닐아민, 7-페닐헥틸아민, 8-페닐옥틸아민, N-프로페닐-3-페닐-1-부틸아민, N-벤질-4-페닐-1-부틸아민, N-에틸-3-페닐-1-부틸아민, N-메틸-5-페닐-1-펜틸아민, N-시클로프로필-4-페닐-1-펜틸아민, N-부틸-4-페닐-2-펜틸아민, N-벤질-6-페닐-1-헥세닐아민, N-n-부틸-5-페닐-2-헥세닐아민, N-프로피닐-7-페닐헥틸아민, N-벤질-8-페닐옥틸아민, 3-페닐-1-프로피닐아민, 4-페닐-1-부틸아민, 3-페닐-1-부틸아민, 5-페닐-1-펜틸아민, 4-페닐-1-펜틸아민, 4-페닐-2-펜틸아민, 6-페닐-1-헥시닐아민, 5-페닐-1-헥시닐아민, 5-페닐-2-헥시닐아민, 7-페닐헥틸아민, 8-페닐옥틸아민, N-프로페닐-3-페닐-1-프로피닐아민, N-벤질-4-페닐-1-부틸아민, N-에틸-3-페닐-1-부틸아민, N-메틸-5-페닐-1-펜틸아민, N-시클로프로필-4-페닐-1-펜틸아민, N-부틸-4-페닐-2-펜틸아민, N-벤질-6-페닐-1-헥시닐아민, N-헥세닐-5-페닐-1-헥시닐아민, N-n-부틸-5-페닐-2-헥시닐아민, N-프로피닐-7-페닐헥틸아민, N-벤질-8-페닐옥틸아민, 2-히드록시메틸-2-페닐에틸아민, 2-메톡시메틸-3-페닐-1-프로필아민, 3-니트로-4-페닐-1-부틸아민, 2-디메틸아미노-3-페닐-1-부틸아민, 5-(4-아미노페닐)-1-펜틸아민, 4-(3,4-메틸렌디옥시페닐)-1-펜틸아민, 4-(3-카르복시페닐)-2-펜틸아민, 6-페닐-3-옥소-1-헥실아민, 5-(4-페녹시페닐)-1-헥실아민, 5-페닐-4-2-헥실아민, 7-(3-구아니디노페닐)-1-헥틸아민, 및 8-페닐-3-(메틸술포닐)옥틸아민.

화학식 (I)에 따르는 추가의 화합물은 2-(4'-클로로술포닐페닐)-5-(4"-디메틸아미노페닐)옥사졸 (2, DAPOXYL 염화 술포닐)을 다음의 아민중 어느 하나와 반응시킴으로써 제조된다: N-벤질-2-메틸티오-2-페닐에틸아민, N-프로페닐-3-(4-(페닐에틸)페닐)-1-프로필아민, N-벤질-3-아미노에틸-4-페닐-1-부틸아민, N-에틸-2-(2-(디메틸아미노)에톡시)3-페닐-1-부틸아민, N-메틸-3-벤젠술포닐-5-페닐-1-펜틸아민, N-시클로프로필-3-부톡시카르보닐아미노-4-페닐-1-펜틸아민, N-부틸-4-(4-(아미노메틸)페닐)-2-펜틸아민, N-벤질-6-페닐-1-헥실아민, N-헥세닐-5-페닐-1-헥실아민, N-n-부틸-3,4-디히드록시-5-페닐-2-헥실아민, N-프로피닐-3,4,5-트리히드록시-7-페닐헥틸아민, N-벤질-8-(2,4,6-트리히드록시페닐)옥틸아민, 2-(4-브로모-2,5-디메톡시페닐)-1-에틸아민, 2,3-디클로로- α -메틸벤질아민, 2-아미노-1-(4-니트로페닐)-1,3-프로판디올, 2-아미노-1-페닐-1,3-프로판디올, 2-아미노-3-메톡시-1-페닐-1-프로판올, 비스(α -메틸벤질)아민, N-(1-페닐에틸)-1-아자비스클로[2.2.2]옥탄-3-아민, 1,2-디페닐에틸렌디아민, 1-페닐에틸렌디아민, 1,3-디페닐프로판렌디아민, 6-메틸아미노-4,4-디페닐헥탄-3-온, 1-(1-나프틸)에틸아민, 2-(1-나프틸)에틸아민, 3-(1-나프틸)프로필-1-아민, 4-(1-나프틸)부틸-1-아민, 3-(1-나프틸)부틸-1-아민, 및 4-(1-나프틸)부틸-1-아민.

화학식 (I)에 따르는 추가의 화합물은 2-(4'-클로로술포닐페닐)-5-(4"-디메틸아미노페닐)옥사졸 (2, DAPOXYL 염화 술포닐)을 다음의 아민중 어느 하나와 반응시킴으로써 제조된다: 2-(2-피리딜)에틸아민, 3-(2-피리딜)-1-프로필아민, 4-(2-피리딜)-1-부틸아민, 2-(2-퀴놀리닐)에틸아민, 3-(2-이미다졸릴)-1-프로필아민, 4-(3-이소옥사졸릴)-1-부틸아민, 5-(3-피리딜)-1-펜틸아민, 2-(6-아미노-2-피리딜)에틸아민, 3-(6-클로로-2-피리딜)-1-프로필아민, 4-(6-메톡시-3-피리딜)-1-부틸아민, 3-히드록시-5-(3-피리딜)-1-펜틸아민, 및 α -아미노-3-히드록시-5-메틸이소옥사졸-4-프로피온산.

화학식 (I)에 따르는 추가의 화합물은 2-(4'-클로로술포닐페닐)-5-(4"-디메틸아미노페닐)옥사졸 (2, DAPOXYL 염화 술포닐)을 다음의 아민중 어느 하나와 반응시킴으로써 제조된다: 아제티딘, 아제리딘, 피롤리딘, 피페리딘, 피페라진, 아제핀, 2-메톡시카르보닐아제티딘, 아제리딘, 3-(히드록시메틸)피롤리딘, 4-(구아니디노)피페리딘, 2-카르복시메틸피페라진, 및 3-에틸아제핀.

화학식 (I)에 따르는 추가의 화합물은 2-(4'-클로로술포닐페닐)-5-(4"-디메틸아미노페닐)옥사졸 (2, DAPOXYL 염화 술포닐)을 다음의 아민중 어느 하나와 반응시킴으로써 제조된다: 인산 모노아미노에틸 에스테르, 인산 모노-(3-아미노프로필)에스테르, 인산 모노아미노에틸 에스테르 디에틸 에스테르, 인산 모노-(3-아미노프로필)에스테르 디에틸 에스테르, (1-아미노프로필)포스폰산, (1-아미노-2-메틸프로필)포스폰산, (1-아미노부틸)포스폰산, (1-아미노헥실)포스폰산, (1-아미노에틸)포스폰산, (1-아미노에틸)포스폰산 디이소프로필 에스테르, (2-벤질아미노에틸)포스폰산 모노에틸 에스테르, (1-아미노프로필)포스핀산, (1-아미노-2-메틸프로필)포스핀산, (1-아미노부틸)포스핀산, (1-아미노헥실)포스핀산, (1-아미노에틸)포스핀산, (1-아미노에틸)포스핀산 디이소프로필 에스테르, 및 (2-벤질아미노에틸)포스핀산 모노에틸 에스테르.

화학식 (I)에 따르는 추가의 화합물은 2-(4'-클로로술포닐페닐)-5-(4"-디메틸아미노페닐)옥사졸 (2, DAPOXYL 염화 술포닐)을 다음의 아민중 어느 하나와 반응시킴으로써 제조된다: 아스파르트산, 글리신, 알라닌, 리신, 트립토판, 티로신, 프롤린, 페닐알라닌, 호모페닐알라닌, 호모티로신, 발린, 류신, 이소류신, 세린, 시스테인, 시스틴, 호모세린, 메티오닌, 아스파라긴, 글루타민, 아르기닌, 히스티딘, 트레오닌, 티록신, 리오티로닌 (O-(4-히드록시-3-요오도페닐)-3,5-디요오도-L-티록신), 히드록시프롤린, 에틸 2-아미노-4-시클로헥실부티레이트, 3-히드록시페닐글리신, 및 α -메틸-4-카르복시페닐글리신.

화학식 (I)에 따르는 추가의 화합물은 2-(4'-클로로술포닐페닐)-5-(4"-디메틸아미노페닐)옥사졸 (2, DAPOXYL 염화 술포닐)을 다음의 아민중 어느 하나와 반응시킴으로써 제조된다: 세로토닌, 에피네프린, 노르에피네프린, 노르니코틴, L-도파, 메틸도파, 카르비도파, 메티로신, L-디히드록시페닐세린, p-티라민, 도파민, γ -아미노부티르산, 에페드린, 암페타민, 메탐페타민, 메스칼린, 1-(2,5-디메톡시-4-메틸페닐)-2-아미노프로판, p-메톡시암페타민, 3,4-메틸렌디옥시암페타민, 2,5-디메톡시-4-브로모암페타민, 3,4-메틸렌디옥시-N-에틸암페타민, 6-히드록시-3,4-메틸렌디옥시메탐페타민, 1-

(2,5-디메톡시-4-요오도페닐)-2-아미노프로판, 3-(4-클로로페닐)- γ -아미노부티르산, 이소프로테레놀, N-tert-부틸 노르에피네프린, 테르부탈린, 알부테롤, 이소에타린, 에피네프릴 보레이트, 디피베프린, 메타프로테레놀, 비톨테롤, 콜테롤, 페닐프로판올아민, 메펜테르민, 메타라미놀 (α -(1-아미노에틸)-m-히드록시벤질 알코올), 히드록시암페타민 (1-(4-히드록시페닐)-2-아미노프로판), 레보노르테프린, (α -(1-아미노에틸)-3,4-디히드록시벤질 알코올), 에틸노르에피네프린, 메톡시펜아민 (2-(2-메톡시페닐)이소프로필메틸아민), 메톡사민 (2-아미노-1-(2,5-디메톡시페닐)프로판올), 프로파놀롤, 디클로로이소프로테레놀, 4-히드록시프로파놀롤, 프로락톨롤, 메토프롤롤, 나돌롤, 티몰롤, 부톡사민, 아테놀롤, 아세부톨롤, 디아세톨롤, 핀돌롤, 에스몰롤, 및 베타솔롤.

화학식 (I)에 따르는 추가의 화합물은 2-(4'-클로로술포닐페닐)-5-(4"-디메틸아미노페닐)옥사졸 (2, DAPOXYL 염화 술포닐)을 다음의 아민중 어느 하나와 반응시킴으로써 제조된다: 펜테라민, 디에틸프로피온, 펜롤루라민, 클로르펜테르민, 클로르테르민, 펜메트라진, 메틸페니데이트, 페닐진 (2-(페닐에틸)히드라진), 트라닐시프로민 (2-페닐시클로프로필아민), 데시프라민 (10,11-디히드로-N-메틸-5H-디벤조[b,f]아제핀-5-프로판아민), 노르트리프틸린 (3-(10,11-디히드로-5H-디벤조[a,d]시클로헵텐-5-일리텐)-N-메틸-1-프로판아민), 프로트리프틸린 (N-메틸-5H-디벤조[a,d]시클로헵텐-5-프로필아민, 마프로틸린 (N-메틸-9,10-에타노안트라센-9(10H)-프로판아민), 플루옥세틴, 히스타민, 3-(2-아미노에틸)피라졸, 2-(디페닐메톡시)-N-메틸에틸아민, 2-[α -(2-메틸아미노)에톡시]- α -메틸벤질]피리딘, 및 6-아미노페니실란산.

화학식 (I)에 따르는 추가의 화합물은 2-(4'-클로로술포닐페닐)-5-(4"-디메틸아미노페닐)옥사졸 (2, DAPOXYL 염화 술포닐)을 다음의 아민중 어느 하나와 반응시킴으로써 제조된다: 황산 모노아미노에틸 에스테르, 황산 모노-(3-아미노프로필)에스테르, 황산 모노아미노에틸 에스테르 에틸 에스테르, 황산 모노-(3-아미노프로필)에스테르 에틸 에스테르, (1-아미노프로필)술폰산, (1-아미노-2-메틸프로필)술폰산, (1-아미노부틸)술폰산, (1-아미노헥실)술폰산, (1-아미노에틸)술폰산, (1-아미노에틸)술폰산 디이소프로필 에스테르, (2-벤질아미노에틸)술폰산 모노에틸 에스테르, (1-아미노프로필)술폰산, (1-아미노-2-메틸프로필)술폰산, (1-아미노부틸)술폰산, (1-아미노헥실)술폰산, (1-아미노에틸)술폰산, (1-아미노에틸)술폰산 디이소프로필 에스테르, 및 (2-벤질아미노에틸)술폰산 모노에틸 에스테르.

화학식 (I)에 따르는 추가의 화합물은 개략도 I에 따라 제조되는 화합물을 추가로 변형시킴으로써 제조된다. 화합물 1에서 R^1 이 NHR^3 이면, 상기 R^1 은 다음의 기능기중 하나로 전환되어 화학식 (I)에 따르는 추가의 화합물이 제조될 수 있다: - $NR^3C(O)R^4$, - $NR^3C(O)OR^4$, 아미디노, 구아니디노, 비구아니디노, 알킬이미노아미노, 포르밀이미노아미노, 및 킬레이터. - $NR^3C(O)R^4$, - $NR^3C(O)OR^4$, 아미디노, 구아니디노, 비구아니디노, 알킬이미노아미노, 포르밀이미노아미노, 및 킬레이터중 하나로 NHR^3 가 전환되는 것은 당해 기술분야에 공지되어 있는 화학적 반응을 사용하여 수행된다. 예를 들어 말단 아민의 구아니디닐화는 표준 시약, 예컨대 아미노이미노술폰산 (Miller, A. E. and Bischoff, J. J. Synthesis 777 (1986)), 또는 1H-피라졸-1-카르복사미딘 염산염 (Bernatowicz, M. S. et. al. *J. Org. Chem.* 57:2497 (1992))을 사용하여, 또는 치환된 구아니디닐화 시약, 예컨대 N,N'-비스(tert-부톡시카르보닐)-S-메틸이소티오우레아 (Bergeron, R. J. and McManis, J. S. *J. Org. Chem.* 52:1700 (1987)) 또는 NR^a , NR^b , N^c -1H-피라졸-1-카르복사미딘 (R^a , R^b , 및 R^c 는 상기에서 화학식 (I)에 대해 정의된 바와 같다)으로 이루어진다. 유용한 1H-피라졸-1-카르복사미딘으로는 N,N'-비스(tert-부톡시카르보닐)-1H-피라졸-1-카르복사미딘 및 N,N'-비스(벤질옥시카르보닐)-1H-피라졸-1-카르복사미딘이 있다(이들 모두는 Bernatowicz, M. S. et. al., *Tetrahedron Lett.* 34:3389 (1993)에 따라 제조될 수 있음).

나아가 화합물 1에서 R^1 이 OH이면, 화학식 (I)에 따르는 추가의 화합물은 상기 OH를 다음의 기중 하나로 전환시킴으로써 제조된다: 시클로알킬, 시클로알케닐, 시클로헥테로알킬, 시클로헥테로알케닐, 아릴, 헥테로아릴, - OR^3 , - NR^3R^4 , - SR^3 , - $S(O)R^3$, - $S(O)_2R^3$, - $C(O)H$, - $C(O)OR^3$, - $OC(O)R^3$, - $C(O)NR^3R^4$, - $NR^3C(O)R^4$, - $OC(O)OR^3$, - $OC(O)NR^3R^4$, - $NR^3C(O)OR^4$, - $OS(O)_2OR^3$, - $S(O)_2OR^3$, - $OP(O)(OR^3)OR^4$, 또는 - $P(O)(OR^3)OR^4$, 아미디노, 구아니디노, 비구아니디노, 옥시구아니디노, 알킬이미노아미노, 포르밀이미노아미노, 또는 킬레이터. 예를 들어 화학식 (I)에 따르는 화합물에서 R^1 이 OH라면, 화학식 (I)에 따르는 추가의 화합물은 화합물 1을 $Cl-C(O)R^3$ 와 반응시킴으로써 R^1 이 - $OC(O)R^3$ 인, 화학식 (I)에 따르는 화합물이 생성된다.

다른 많은 화학적 반응 및 변형이 화학식 (I)에 따르는 추가의 화합물을 제조하기 위하여 사용된다. 상기 화학적 반응 및 변형은 예컨대 화합물 1의 R^1 을 변형시키기 위해 사용된다. 다르게는, 상기 화학적 반응 및 변형은 A 또는 R^2 를 변형시키는 데 사용되어 화학식 (I)에 따르는 추가의 화합물이 제조된다. 상기 화학적 반응 및 변형은 당업자에게 잘 알려져 있다[참조: March, J., "Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure," 4th ed., New York: Wiley, 1992; Larock, R. C., "Comprehensive Organic Transformations: A Guide to Functional Group Preparations," 2nd Ed., New York: Wiley-VCH, 1999; 및 Greene, T. W., "Protective Groups in Organic Synthesis," New York: Wiley, 1981].

실시예

실시예 1: 화학식 (I)에 따르는 화합물

다음의 화합물들은 화학식 (I)에 따르는 화합물들의 실시예이다. 화합물 9-21을 개략도 I에 도시된 과정을 따라 제조하거나 제조하였다.

4-[5-(4-디메틸아미노페닐)옥사졸-2-일]-N-(2-피롤리딘-1-일에틸)벤젠술폰아미드 (9)

화합물 9를 화합물 2와 2-(1-피롤리디닐)에틸아민을 반응시켜서 만들었다. 화합물 9는 다음의 특징을 나타낸다: 분자량 (MW): 440.566; 질량 스펙트럼 (M+H): 441.4.

4-[5-(4-디메틸아미노페닐)옥사졸-2-일]-N-(3-(4-메틸피페라진-1-일)프로필)벤젠술폰아미드 (10)

화합물 10을 화합물 2와 3-(4-메틸피페라진-1-일)프로필아민을 반응시켜서 만들었다. 화합물 10은 다음의 특징을 나타낸다: 분자량 (MW): 483.635; 질량 스펙트럼 (M+H): 484.4.

디메틸-(4-{2-[4-(피페라진-1-술포닐)페닐]옥사졸-5-일}페닐)아민 (11)

화합물 11을 화합물 2와 피페라진을 반응시켜서 만들었다. 화합물 11은 다음의 특징을 나타낸다: 분자량 (MW): 412.513; 질량 스펙트럼 (M+H): 413.5; 질량 스펙트럼 (2M+Na): 847.1.

디메틸-(4-{2-[4-(4-메틸피페라진-1-술포닐)페닐]-옥사졸-5-일}페닐)아민 (12)

화합물 12를 화합물 2와 4-메틸피페라진을 반응시켜서 만들었다. 화합물 12는 다음의 특징을 나타낸다: 분자량 (MW): 426.539; 질량 스펙트럼 (M+H): 427.5.

4-[5-(4-디메틸아미노페닐)옥사졸-2-일]-N-(4-메틸피페라진-1-일)-벤젠술폰아미드 (13)

화합물 13을 화합물 2와 1-아미노-4-메틸피페라진을 반응시켜서 만들었다. 화합물 13은 다음의 특징을 나타낸다: 분자량 (MW): 441.554; 질량 스펙트럼 (M+H): 442.6.

2-{4-[5-(4-디메틸아미노페닐)옥사졸-2-일]-벤젠술폰아미노}숙신산 (14)

화합물 14를 화합물 2와 아스파르트산을 반응시켜서 만들었다. 화합물 14는 다음의 특징을 나타낸다: 분자량 (MW): 459.48; 질량 스펙트럼 (M+H): 460.3.

{4-[5-(4-디메틸아미노페닐)옥사졸-2-일]-벤젠술폰아미노}아세트산 (15)

화합물 15를 화합물 2와 글리신을 반응시켜서 만들었다. 화합물 15는 다음의 특징을 나타낸다: 분자량 (MW): 401.443; 질량 스펙트럼 (M+H): 402.6.

({4-[5-(4-디메틸아미노페닐)옥사졸-2-일]벤젠술폰}-메틸아미노)아세트산 (16)

화합물 16을 화합물 1과 3-아미노프로판산을 반응시켜서 만들었다. 화합물 16은 다음의 특징을 나타낸다: 분자량 (MW): 415.47; 질량 스펙트럼 (M+H): 416.3.

4-[5-(4-디메틸아미노페닐)옥사졸-2-일]-N-(2-구아니디노에틸)벤젠술폰아미드 (17)

화합물 17을, 4-[5-(4-디메틸아미노페닐)옥사졸-2-일]-N-(2-아미노에틸)벤젠술폰아미드를 N,N'-비스(tert-부톡시 카르보닐)-1H-피라졸-1-카르복사미드와 반응시킴으로써 제조하였다. 그결과 형성된 비스-Boc 보호된 구아니디노 화합물을 다음 단계에서 표준 탈보호 화학을 사용하여 탈보호하여 화합물 17을 얻었다. 화합물 17은 다음의 특징을 나타낸다: 분자량 (MW): 428.551; 질량 스펙트럼 (M+H): 429.5

4-[5-(4-디메틸아미노페닐)옥사졸-2-일]-N-(2-히드록시-1,1-비스-히드록시메틸에틸)벤젠술폰아미드 (18)

화합물 18을 화합물 2와 트로메타민을 반응시켜서 만들었다. 화합물 18은 다음의 특징을 나타낸다: 분자량 (MW): 447.512; 질량 스펙트럼 (M+H): 448.4; 질량 스펙트럼 (2M+Na): 916.9.

3-{4-[5-(4-디메틸아미노페닐)옥사졸-2-일]벤젠술폰}티아졸리딘-2,4-디카르복실산 디메틸 에스테르 (19)

화합물 19는 화합물 2와 2,4-(디메톡시카르보닐)티아졸리딘을 반응시킴으로써 제조하였다. 화합물 19는 다음의 특징을 나타낸다: 분자량 (MW): 531.61; 질량 스펙트럼 (M+H): 532.6.

2-아미노-5-{4-[5-(4-디메틸아미노페닐)옥사졸-2-일]-벤젠술폰아미노}펜탄산 (20)

화합물 20은 화합물 2와 2,5-디아미노펜탄산을 반응시킴으로써 제조하였다. 화합물 20은 다음의 특징을 나타낸다: 분자량 (MW): 458.532.

3-{4-[5-(4-디메틸아미노-페닐)-옥사졸-2-일]-벤젠술폰}-티아졸리딘-2,4-디카르복실산 (21)

화합물 21을 화합물 19와 LiOH를 반응시킴으로써 디에스테르를 비누화하여 제조하였다. 화합물 21은 다음의 특징을 나타낸다: 분자량 (MW): 503.550.

실시예 2: 상이한 환경에서 디페닐 옥사졸 유도체 염료의 형광 방출 스펙트럼의 비교

4-[5-(4-디메틸아미노페닐)옥사졸-2-일]-N-(2-구아니디노에틸)-벤젠술폰아미드를 상이한 용매와, 최종 염료 농도가 10 μM 이 되도록 혼합하였다. 이 염료의 메탄올 (MeOH), 디메틸 술폰산 (DMSO), 및 수성 완충액 (50 mM HEPES, pH 7.5, 150 mM 염화 나트륨)중에서의 스펙트럼을 도 1에 도시한다. 이 도면은 수성 환경에서 비수성 환경으로 이동하였을 때 이 염료에 대해 관찰된 뚜렷한 방출 강도의 증가 (200 내지 500 배)를 도시한다. 4-[5-(4-디메틸아미노페닐)옥사졸-2-일]-N-(2-구아니디노에틸)-벤젠술폰아미드를 완충액 (50 mM HEPES, pH 7.5, 150 mM 염화 나트륨)중의 0.1 mg/ml의 트롬빈, 단백질 용액과, 최종 염료 농도가 10 μM 이 되도록 혼합하였다. 이 용액의 형광 방출 스펙트럼을 혼합 직후와 80 $^{\circ}\text{C}$ 에서 5분 동안 가열한 후에 기록하였다. 천연 트롬빈/염료 스펙트럼은 가열전의 형광 방출을 나타내고, 펼쳐진 트롬빈/염료 스펙트럼은 가열후의 형광 방출을 나타낸다. 이들 두 개의 스펙트럼은 형광 방출의 실질적인 증가는 4-[5-(4-디메틸아미노페닐)옥사졸-2-일]-N-(2-구아니디노에틸)-벤젠술폰아미드가 펼쳐진 단백질과 결합할 때 일어나며, 펼쳐진 단백질에 결합된 염료로부터의 방출이 5-(4"-디메틸아미노페닐)-2-(4'-페닐)옥사졸 술포네이트 및 1,8-아닐리노나프틸렌 술포네이트에 대해 대략 460 nm에서 최대 방출이 일어난 것과 비교하여 520 nm에서 유리하게 적색쪽으로 이동된 최대치를 보이는 것으로 나타난다.

실시예 3: 다른 염료로는 데이터를 만들지 못하는 단백질에 대하여 펼침 과도기를 측정하기 위해 디페닐 옥사졸 유도체 염료를 사용하는 방법

4-[5-(4-디메틸아미노페닐)옥사졸-2-일]-N-(2-구아니디노에틸)-벤젠술폰아미드, 5-(4"-디메틸아미노페닐)-2-(4'-페닐)옥사졸 술포네이트 및 1,8-아닐리노나프틸렌 술포네이트를 단백질, PPAR-감마와, 폴리프로필렌 384-웰 플레이트의 각 개별적인 웰에서 혼합하였다. 각각의 용액은 25 mM HEPES pH 7.9, 200 mM의 NaCl, 5 mM의 디티오프레이톨, 및 1 mM의 EDTA로 이루어진 완충액중에 0.2 mg/ml의 단백질과 혼합된 100 μM 의 각 염료로 구성되었다. 개별적인 형광 곡선을 도 3에 도시된 바와 같이 Thermofluor^R 기기에서 상이한 온도로 가열함으로써 생성하였다. 이 도면은 PPAR- γ 와 같은 특정 단백질이 두 가지의 술포네이트 염료의 존재하에 측정가능한 과도기를 생성하지 못하는 반면, 이 단백질의 펼침은 4-[5-(4-디메틸아미노페닐)옥사졸-2-일]-N-(2-구아니디노에틸)-벤젠술폰아미드 염료가 단백질의 펼쳐진 형태와 결합할 때 염료의 증가된 형광을 측정함으로써 쉽게 모니터링될 수 있었음을 보여준다.

실시예 4: 원형질 망의 모니터링

마우스 췌장의 포도상선 (acinar) 세포를 CLSPA 콜라게나제 (Worthington, USA)로 6분 처리하여 분리하였다. 세포는 전체 세포 패치를 클램프로 고정시키고 CaCl_2 흐름을 문헌에 기재되어 있는 바와 같은 조건하에서 기록하였다[참조: Kidd, et al., *J. Physiol.* 520:187-201 (1999)]. 국소 분비 극 (pole) Ca^{2+} 스파이크는 패치 피펫을 통한 10 mM의 이노시톨-2,4,5-트리포스페이트의 주입에 의하여 유도되었다. 두개의 별도의 실험에서 에이드(eide)-영역 형광 현미경 사용 또는 2-광자 여기 현미경 사용중 어느 하나 (Leica TCS-Sp-MP, Germany)를 사용하여 ER의 분포를 가시화하기 위해 화학식 (I)의 화합물을 사용하였다. 세포를 100 내지 200 nM의 화학식 (I)의 화합물과 함께 30분 동안 인큐베이션하고 400 nm의 여기시키는 빛을 쬔었다 (크세논 광원, 광역; 또는 800 nm, 2-광자로 튜닝된 펄프된 티타늄/사파이어 레이저로 쬔). 방출 광은 450 내지 700 nm에서 모았다. 세포 소기관의 초기 가시화 후에, 추가의 화합물 또는 제제를 투여하였다. 한 실험에서는 화학식 (I)의 화합물 외에 100 μM 의 노코다졸을 세포에 투여하였다. 두번째 실험에서는 화학식 (I)의 화합물 외에 10 mM의 TAXOL을 세포에 투여하였다.

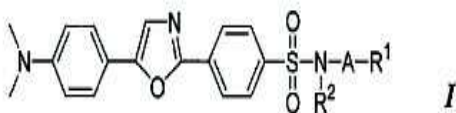
본원에 인용된 모든 특허, 공보, 및 다른 문헌들은 참고로 인용된다.

특정 구체예의 기술한 설명은 본 발명의 일반적인 성질을 충분히 나타내는 것이며, 다른 사람들은 당해 기술분야 (본원에 인용된 참조문헌의 내용을 포함함)내의 지식을 적용하여 본 발명의 일반적인 개념으로부터 벗어남이 없이, 또 적절하지 않은 실험이 없이도 그러한 특정 구체예의 다양한 적용을 위해 쉽게 수정 및/또는 적용할 수 있을 것이다. 그러므로, 그러한 적용 및 수정은 본원에 제시된 교시와 지침을 토대로 개시된 구체예와 동등한 의미 및 범위내에 있을 것으로 간주된다. 본원에 사용된 표현이나 술어는 설명을 목적으로 한 것으로 제한하려는 것은 아니며, 본 발명의 표현이나 술어는 본원에서 제공되는 교시와 지침의 견지에서 당업자에 의해 당업자의 지식과 결합되어 해석될 수 있음이 분명하다.

(57) 청구의 범위

청구항 1.

하기 화학식 (I)의 화합물 및 이의 염:



상기 식에서,

A는 단일 결합, 알킬렌, 알케닐렌 또는 알킬닐렌이며, 여기에서 알킬렌, 알케닐렌, 및 알킬닐렌 중 어느 하나는 임의로 치환되고;

R^1 은 시클로알킬, 시클로알케닐, 시클로헥테로알킬, 시클로헥테로알케닐, 아릴, 헥테로아릴, $-OR^3$, $-NR^3R^4$, $-SR^3$, $-S(O)R^3$, $-S(O)_2R^3$, $-C(O)H$, $-C(O)OR^3$, $-OC(O)R^3$, $-C(O)NR^3R^4$, $-NR^3C(O)R^4$, $-OC(O)OR^3$, $-OC(O)NR^3R^4$, $-NR^3C(O)OR^4$, $-OS(O)_2OR^3$, $-S(O)_2OR^3$, $-S(O)OR^3$, $-OP(O)(OR^3)OR^4$, $-P(O)(OR^3)OR^4$, $-P(O)HOR^3$, 아미디노, 구아니디노, 비구아니디노, 옥시구아니디노, 알킬이미노아미노, 포르밀이미노아미노, 또는 킬레이터이며;

R^2 는 H, 알킬, 알케닐, 알키닐, 아릴, 아릴알킬, 또는 시클로알킬이며, 여기에서 알킬, 알케닐, 알키닐, 아릴, 아릴알킬 및 시클로알킬중 어느 하나는 임의로 치환되고;

R^3 및 R^4 는 독립적으로 H, 알킬, 알케닐, 알키닐, 아릴, 헥테로아릴, 아릴알킬, 또는 헥테로아릴알킬이며, 여기에서 알킬, 알케닐, 알키닐, 아릴, 헥테로아릴, 아릴알킬, 및 헥테로아릴알킬 중 어느 하나는 임의로 치환되며;

또는 상기 식에서,

A는 단일 결합이고;

R^1 , R^2 , 및 A는 이들이 결합되는 N과 함께 질소 함유 시클로헥테로알킬 또는 시클로헥테로알케닐 기를 형성하며, 이들 기중 어느 하나는 임의로 치환되며;

단, A가 C_{1-8} 비치환된 알킬이고 R^2 가 H 또는 메틸이면 R^1 은 $-NH_2$, $-NHCH_3$, $-N(CH_3)_2$ 또는 $-NHC(O)CH_2Br$ 이 아니며;

A가 C_{1-3} 비치환된 알킬이고 R^2 가 H이면, R^1 은 $-C(O)OH$, $-C(O)OCH_3$, 또는 $-C(O)OCH_2CH_3$ 가 아니며;

A가 C_{1-3} 비치환된 알킬이고 R^2 가 H이면, R^1 은 $-NHC(O)C_6F_5$ 가 아니며;

A가 단일 결합이고 R^2 가 H 또는 CH_3 이면, R^1 은 $-B(OH)_2$ 로 치환된 페닐이 아니며;

A가 단일 결합이면 R^1 , R^2 , 및 A는 이들이 결합되는 N과 함께 비치환된 모르폴리닐을 형성하지 않는다.

청구항 2.

제 1항에 있어서, A가 단일 결합이고, R^1 , R^2 및 A가 이들이 결합되는 N과 함께 질소 함유 시클로헥테로알킬 또는 질소 함유 시클로헥테로알케닐기를 형성하며, 이들 중 어느 것이든지 임의로 치환됨을 특징으로 하는 화합물.

청구항 3.

제 2항에 있어서, R^1 , R^2 및 A가 이들이 결합되는 N과 함께, 1 또는 2 개의 헥테로원자를 함유하는, 임의로 치환된 5-6원 질소 함유 시클로헥테로알킬기를 형성함을 특징으로 하는 화합물.

청구항 4.

제 2항에 있어서, R^1 , R^2 및 A가 이들이 결합되는 N과 함께, 1 내지 2 개의 헥테로원자를 함유하는, 임의로 치환된 5-6원 질소 함유 시클로헥테로알케닐기를 형성함을 특징으로 하는 화합물.

청구항 5.

제 3항에 있어서, 시클로헥테로알킬기가 임의로 치환된 티아졸리딘 고리임을 특징으로 하는 화합물.

청구항 6.

제 5항에 있어서, 티아졸리딘 고리가 C_{1-6} 알킬, 히드록시, 할로젠, C_{1-6} 알콕시, C_{1-6} 아미노알콕시, 아미노, 모노(C_{1-4}) 알킬아미노, 디(C_{1-4})알킬아미노, C_{2-6} 알콕시카르보닐, 카르복시, C_{2-6} 히드록시알콕시, 모노- 및 디- C_{1-4} 알킬아미노(C_{2-6})알콕시, C_{2-10} 모노(카르복시알킬)아미노, 비스(C_{2-10} 카르복시알킬)아미노, 아미디노, 구아니디노, C_{1-6} 알킬이미노아미노, 포르밀이미노아미노, 시아노, 트리플루오로메톡시, 및 퍼플루오로에톡시로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되는 1 또는 2개의 치환기로 치환됨을 특징으로 하는 화합물.

청구항 7.

제 1항에 있어서,

A가 알킬렌, 알케닐렌, 또는 알키닐렌이며, 이들 중 어느 것이든지 임의로 치환되며,

R^1 은 시클로알킬, 시클로알케닐, 시클로헥테로알킬, 또는 시클로헥테로알케닐이며, 이들 중 어느 것이든지 임의로 치환됨을 특징으로 하는 화합물.

청구항 8.

제 7항에 있어서,

R^1 이 시클로알킬, 또는 시클로알케닐이며, 이들 중 어느 것이든지 임의로 치환됨을 특징으로 하는 화합물.

청구항 9.

제 7항에 있어서,

R^1 이 시클로헥테로알킬, 또는 시클로헥테로알케닐이며, 이들 중 어느 것이든지 치환됨을 특징으로 하는 화합물.

청구항 10.

제 1항에 있어서,

A가 C_{1-8} 치환된 알킬렌, C_{2-8} 치환된 알케닐렌, 또는 C_{2-8} 치환된 알키닐렌이고,

R^1 이 $-OR^3$ 또는 $-NR^3R^4$ 임을 특징으로 하는 화합물.

청구항 11.

제 10항에 있어서,

A가 알킬렌, 알케닐렌, 또는 알키닐렌이고, 히드록시, 니트로, 할로젠, C_{1-6} 알콕시, C_{1-6} 아미노알콕시, 아미노, 모노- 또는 디(C_{1-4})알킬아미노, C_{2-6} 알콕시 카르보닐, 및 카르복시로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되는 하나 이상의 치환기로 치환됨을 특징으로 하는 화합물.

청구항 12.

제 11항에 있어서, A가 1 내지 3개의 히드록시기로 치환됨을 특징으로 하는 화합물.

청구항 13.

제 11항에 있어서, A가 아미노, 모노(C_{1-4})알킬아미노, 및 디(C_{1-4})알킬아미노로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 3 개의 기로 치환됨을 특징으로 하는 화합물.

청구항 14.

제 1항에 있어서,

A가 C_{3-8} 알킬렌, C_{4-8} 알케닐렌, 또는 C_{4-8} 알키닐렌이고,

R^1 이 아릴 또는 헤테로아릴이며, 이들 중 어느 것이든지 임의로 치환됨을 특징으로 하는 화합물.

청구항 15.

제 1항에 있어서,

A가 단일 결합이고,

R^1 이 시클로알킬, 시클로알케닐, 시클로헤테로알킬, 또는 시클로헤테로알케닐이며, 이들 중 어느 것이든지 임의로 치환됨을 특징으로 하는 화합물.

청구항 16.

제 15항에 있어서, R^1 이 시클로알킬 또는 시클로알케닐이며, 이들 중 어느 것이든지 임의로 치환됨을 특징으로 하는 화합물.

청구항 17.

제 15항에 있어서, R^1 이 시클로헤테로알킬 또는 시클로헤테로알케닐이며, 이들 중 어느 것이든지 임의로 치환됨을 특징으로 하는 화합물.

청구항 18.

제 16항에 있어서, R^1 이 5- 내지 7원 시클로알킬 또는 시클로알케닐 기이며, 이들 중 어느 것이든지 임의로 치환됨을 특징으로 하는 화합물.

청구항 19.

제 17항에 있어서, R^1 이 5- 내지 7원 시클로헤테로알킬 또는 시클로헤테로알케닐기이고, 이들 중 어느 것이든지 임의로 치환됨을 특징으로 하는 화합물.

청구항 20.

제 1항에 있어서,

A가 알킬렌, 알케닐렌, 또는 알키닐렌이며, 이들 중 어느 것이든지 임의로 치환되고,

R^1 이 $-C(O)OR^3$, $-OC(O)R^3$, $-C(O)NR^3R^4$, $-NR^3C(O)R^4$, $-OC(O)OR^3$, $-OC(O)NR^3R^4$, $-NR^3C(O)OR^4$, $-OS(O)_2OR^3$, $-S(O)_2OR^3$, $-S(O)OR^3$, $-OP(O)(OR^3)OR^4$, $-P(O)(OR^3)OR^4$, 또는 $-P(O)HOR^3$ 이며, 여기에서 R^3 및 R^4 는 독립적으로 H, 알킬, 아릴알킬 또는 알케닐임을 특징으로 하는 화합물.

청구항 21.

제 20항에 있어서, R¹이 -C(O)OR³임을 특징으로 하는 화합물.

청구항 22.

제 20항에 있어서, A가 치환된 알킬렌, 치환된 알케닐렌, 또는 치환된 알키닐렌임을 특징으로 하는 화합물.

청구항 23.

제 1항에 있어서,

A가 알킬렌, 알케닐렌, 또는 알키닐렌이며, 이들 중 어느 것이든지 임의로 치환되며,

R¹이 아미디노, 구아니디노, 비구아니디노, 옥시구아니디노, 알킬이미노아미노, 또는 포르밀아미노임을 특징으로 하는 화합물.

청구항 24.

제 23항에 있어서, R¹이 구아니디노임을 특징으로 하는 화합물.

청구항 25.

제 24항에 있어서, A가 알킬렌, 알케닐렌, 또는 알키닐렌이고, 히드록시, 니트로, 할로젠, C₁₋₆ 알콕시, C₁₋₆ 아미노알콕시, 아미노, 모노- 또는 디(C₁₋₄)알킬아미노, C₂₋₆ 알콕시 카르보닐, 및 카르복시로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되는 1 내지 3개의 기로 치환됨을 특징으로 하는 화합물.

청구항 26.

제 1항에 있어서, R¹이 킬레이터임을 특징으로 하는 화합물.

청구항 27.

제 26항에 있어서, 킬레이터가 EDTA, 니트로로트리아세트산, 및 히스티딘으로 이루어진 군으로부터 선택되는 부분임을 특징으로 하는 화합물.

청구항 28.

제 1항에 있어서, 화합물이 히드록시 반응성 프로브임을 특징으로 하는 화합물.

청구항 29.

제 1항에 있어서, 화합물이 아민 반응성 프로브임을 특징으로 하는 화합물.

청구항 30.

제 1항에 있어서, 화합물이 케톤 반응성 프로브임을 특징으로 하는 화합물.

청구항 31.

제 1항에 있어서, 화합물이 카르복실산 반응성 프로브임을 특징으로 하는 화합물.

청구항 32.

제 1항에 있어서, 화합물이 티올 반응성 프로브임을 특징으로 하는 화합물.

청구항 33.

제 1항에 있어서, R^1 , R^2 , 및 A가 이들이 결합되는 N과 함께 약 pH 7 에서 이온화되는 화학적 부분을 형성함을 특징으로 하는 화합물.

청구항 34.

제 33항에 있어서, R^1 , R^2 , 및 A가 이들이 결합되는 N과 함께 -1 내지 -3의 알짜 전하(net charge)를 가지는 화학적 부분을 형성함을 특징으로 하는 화합물.

청구항 35.

제 33항에 있어서, R^1 , R^2 , 및 A가 이들이 결합되는 N과 함께 +1 내지 +3의 알짜 전하를 가지는 화학적 부분을 형성함을 특징으로 하는 화합물.

청구항 36.

제 33항에 있어서, R^1 , R^2 , 및 A가 이들이 결합되는 N과 함께 0의 알짜 전하를 가지는 화학적 부분을 형성함을 특징으로 하는 화합물.

청구항 37.

제 1항에 있어서,

4-(5-(4-디메틸아미노페닐)옥사졸-2-일)-N-(2-피롤리딘-1-일-에틸)벤젠술폰아미드;

4-(5-(4-디메틸아미노페닐)옥사졸-2-일)-N-(3-(4-메틸피페라진-1-일)프로필)벤젠술폰아미드;

디메틸-(4-{2-(4-(피페라진-1-술폰)페닐)옥사졸-5-일}-페닐)아민;

디메틸-(4-{2-(4-(메틸피페라진-1-술폰)페닐)옥사졸-5-일}-페닐)아민;

4-(5-(4-디메틸아미노페닐)옥사졸-2-일)-N-(4-메틸-피페라진-1-일)벤젠술폰아미드;

2-{4-(5-(4-디메틸아미노페닐)옥사졸-2-일)벤젠술폰아미노}숙신산;

{4-(5-(4-디메틸아미노페닐)옥사졸-2-일)벤젠술폰아미노}-아세트산;

({4-(5-(4-디메틸아미노페닐)옥사졸-2-일)벤젠술폰}메틸아미노)아세트산;

4-(5-(4-디메틸아미노페닐)옥사졸-2-일)-N-(2-구아니디노에틸)벤젠술폰아미드;

4-(5-(4-디메틸아미노페닐)옥사졸-2-일)-N-(2-히드록시-1,1-비스히드록시메틸에틸)벤젠술폰아미드;

2-아미노-5-(4-(5-(4-디메틸아미노페닐)옥사졸-2-일)벤젠술포닐아미노)펜탄산; 및

3-(4-(5-(4-디메틸아미노페닐)옥사졸-2-일)벤젠술포닐)티아졸리딘-2,4-디카르복실산 디메틸 에스테르로 이루어진 군으로부터 선택됨을 특징으로 하는 화합물.

청구항 38.

제 1항에 따른 화합물 및 화학적으로 적절한 용매를 포함하는 조성물.

청구항 39.

제 38항에 있어서, 용매가 디메틸설폭시드임을 특징으로 하는 조성물.

청구항 40.

제 1항에 따른 화합물을 환경을 모니터링하는 데 사용하는 방법으로서,

화합물을 환경에 또는 상기 환경에 인접하여 놓는 단계;

화합물을 200 내지 700 nm 사이의 파장을 가지는 빛을 내는 광원에 노출시키는 단계; 및

화합물에 의해 방출되는 형광 에너지를 검출하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 41.

제 40항에 있어서, 상기 광원이 300 내지 600 nm 사이의 파장을 가지는 빛을 내는 특징으로 하는 방법.

청구항 42.

제 41항에 있어서, 형광 열 이동 분석(fluorescence thermal shift assay)으로서 수행됨을 특징으로 하는 방법.

청구항 43.

제 41항에 있어서, 환경이 원형질 망임을 특징으로 하는 방법.

청구항 44.

제 41항에 있어서, 화합물이 히드록시 반응성 프로브로서 사용됨을 특징으로 하는 방법.

청구항 45.

제 41항에 있어서, 화합물이 아민 반응성 프로브로서 사용됨을 특징으로 하는 방법.

청구항 46.

제 41항에 있어서, 화합물이 케톤 반응성 프로브로서 사용됨을 특징으로 하는 방법.

청구항 47.

열 변화로 인해 펼쳐질 수 있는 표적 분자에 대한 다수의 상이한 분자들의 각각의 친화력을 등급화하기 위한 방법으로서,

- (a) 다수의 용기 각각에서, 제 1항에 따른 화합물의 존재하에, 다수의 상이한 분자 중 한 분자와 표적 분자를 접촉시키는 단계;
- (b) 다수의 용기를 동시에 가열하는 단계;
- (c) 각각의 용기의 형광을 측정하는 단계;
- (d) 표적 분자에 대한 열 펼침 정보를 각각의 용기에 대하여 온도의 함수로서 제작하는 단계;
- (e) 각각의 용기에 대하여 얻어진 열 펼침 정보를 (i) 각각의 다른 용기에 대하여 얻어진 열 펼침 정보, 및 (ii) 다수의 상이한 분자중 어느 한 분자의 부재시 표적 분자에 대하여 얻어진 열 펼침 정보와 비교하는 단계; 및
- (f) 각각의 용기의 표적 분자와 다수의 상이한 분자들중 어느 한 분자의 부재시 표적 분자 사이의 열 펼침 정보의 차이에 따라 각 분자의 친화력을 등급화하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 48.

열 변화로 인하여 펼쳐질 수 있는 표적 분자에 대한 다수의 상이한 분자들중 둘 이상의 조합의 친화력을 등급화하는 방법으로서,

- (a) 다수의 용기 각각에서, 제 1항에 따른 화합물의 존재하에, 다수의 상이한 분자들 중 둘 이상의 조합과 표적 분자를 접촉시키는 단계;
- (b) 다수의 용기를 동시에 가열하는 단계;
- (c) 각각의 용기의 형광을 측정하는 단계;
- (d) 표적 분자에 대한 열 펼침 정보를 각각의 용기에 대하여 온도의 함수로서 제작하는 단계;
- (e) 각각의 용기에 대하여 얻어진 열 펼침 정보를 (i) 각각의 다른 용기에 대하여 얻어진 열 펼침 정보, 및 (ii) 둘 이상의 상이한 분자중 어느 한 분자의 부재시 표적 분자에 대하여 얻어진 열 펼침 정보와 비교하는 단계; 및
- (f) 각각의 용기의 표적 분자와 다수의 상이한 분자들중 어느 한 분자의 부재시 표적 분자에 대하여 얻어진 열 펼침 정보 사이의 열 펼침 정보의 차이에 따라 다수의 상이한 분자들중 둘 이상의 조합의 친화력을 등급화하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 49.

열 변화로 인해 펼쳐질 수 있는 표적 분자에 결합하는 분자에 대한 다수의 상이한 분자들의 집합을 분석하는 방법으로서,

- (a) 다수의 용기 각각에서, 제 1항에 따른 화합물의 존재하에, 다수의 상이한 분자 중 최소한 두 개의 분자의 집합과 표적 분자를 접촉시키는 단계;
- (b) 다수의 용기를 동시에 가열하는 단계;
- (c) 각각의 용기의 형광을 측정하는 단계;
- (d) 표적 분자에 대한 열 펼침 정보를 각각의 용기에 대하여 온도의 함수로서 제작하는 단계;
- (e) 각각의 용기에 대하여 얻어진 열 펼침 정보를 (i) 각각의 다른 용기에 대하여 얻어진 열 펼침 정보, 및 (ii) 다수의 상이한 분자중 어느 한 분자의 부재시 표적 분자에 대하여 얻어진 열 펼침 정보와 비교하는 단계;
- (f) 각각의 용기의 표적 분자와 다수의 상이한 분자들중 어느 한 분자의 부재시 표적 분자에 대하여 얻어진 열 펼침 정보 사이의 열 펼침 정보의 차이에 따라 상이한 분자들의 집합의 친화력을 등급화하는 단계;
- (g) 표적 분자에 대하여 친화력을 가지고 있는 분자를 함유하는 상이한 분자들의 집합을 선택하는 단계;
- (h) 다수의 용기 각각에서 분자들의 더 작은 집합으로 선택된 집합을 나누는 단계; 및

(i) 다수의 상이한 분자들로부터 단일한 분자가 확인될 때까지 상기 단계 (a)-(h)를 반복하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 50.

열 변화로 인해 펼쳐질 수 있는 표적 분자를 안정화시키기 위한 다수의 상이한 생화학적 조건중 하나 이상의 효력을 등급화하는 방법으로서,

(a) 다수의 용기 각각에서, 제 1항에 따른 화합물의 존재하에, 다수의 생화학적 조건중 하나 이상의 조건과 표적 분자를 접촉시키는 단계;

(b) 다수의 용기를 동시에 가열하는 단계;

(c) 각각의 용기의 형광을 측정하는 단계;

(d) 표적 분자에 대한 열 펼침 정보를 각각의 용기에 대하여 온도의 함수로서 제작하는 단계;

(e) 각각의 용기에 대하여 얻어진 열 펼침 정보를 (i) 각각의 다른 용기에 대하여 얻어진 열 펼침 정보, 및 (ii) 생화학적 조건의 참조 세트하에 표적 분자에 대하여 얻어진 열 펼침 정보와 비교하는 단계; 및

(f) 각각의 용기의 표적 분자와 생화학적 조건의 참조 세트하에서의 표적 분자 사이의 열 펼침 정보의 차이에 따라 각 용기에 대한 생화학적 조건의 각각의 효력을 등급화하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 51.

열 변화로 인해 펼쳐질 수 있는 표적 분자의 저장 수명을 최적화하는 방법으로서,

(a) 다수의 용기 각각에서, 제 1항에 따른 화합물의 존재하에, 다수의 상이한 분자 또는 상이한 생화학적 조건중 하나 또는 그 이상과 표적 분자를 접촉시키는 단계;

(b) 다수의 용기를 동시에 가열하는 단계;

(c) 각각의 용기의 형광을 측정하는 단계;

(d) 표적 분자에 대한 열 펼침 정보를 각각의 용기에 대하여 온도의 함수로서 제작하는 단계;

(e) 각각의 용기에 대하여 얻어진 열 펼침 정보를 (i) 각각의 다른 용기에 대하여 얻어진 열 펼침 정보, 및 (ii) 참조 세트의 생화학적 조건 하에서 표적 분자에 대하여 얻어진 열 펼침 정보와 비교하는 단계; 및

(f) 각각의 용기의 표적 분자와 참조 세트의 생화학적 조건 하의 표적 분자 사이의 열 펼침 정보의 차이에 따라 각 용기에 대한 생화학적 조건의 각각의 효력을 등급화하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 52.

변성 또는 펼쳐진 단백질의 샘플의 재접힘 또는 복원을 촉진하기 위한 다수의 생화학적 조건중 하나 이상의 효력을 등급화하기 위한 방법으로서,

(a) 다수의 용기 각각에, 제 1항에 따른 화합물의 존재하에, 이미 하나 이상의 다수의 조건에 따라 재접혀져 있거나 복원되어 있는 각각의 재접혀진 단백질 샘플을 넣는 단계;

(b) 다수의 용기를 동시에 가열하는 단계;

(c) 각각의 용기의 형광을 측정하는 단계;

(d) 표적 분자에 대한 열 펼침 정보를 각각의 용기에 대하여 온도의 함수로서 제작하는 단계;

(e) 각각의 용기에 대하여 얻어진 열 펼침 정보를 (i) 각각의 다른 용기에 대하여 얻어진 열 펼침 정보, 및 (ii) 참조 세트의 생화학적 조건 하에서 표적 분자에 대하여 얻어진 열 펼침 정보와 비교하는 단계; 및

(f) 각각의 용기에 대한 표적 분자와 참조 세트의 생화학적 조건 하의 표적 분자 사이의 열 펄침 정보의 차이에 따라 각 용기에 대한 생화학적 조건의 각각의 효력을 등급화하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 53.

열 변화로 인해 펼쳐질 수 있는 단백질의 결정화를 촉진하기 위한 다수의 상이한 생화학적 조건중 하나 이상의 효력을 등급화하기 위한 방법으로서,

(a) 다수의 용기 각각에서, 제 1항에 따른 화합물의 존재하에, 다수의 상이한 생화학적 조건중 하나 또는 그 이상과 단백질을 접촉시키는 단계;

(b) 다수의 용기를 동시에 가열하는 단계;

(c) 각각의 용기의 형광을 측정하는 단계;

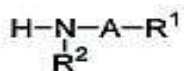
(d) 표적 분자에 대한 열 펄침 정보를 각각의 용기에 대하여 온도의 함수로서 제작하는 단계;

(e) 각각의 용기에 대하여 얻어진 열 펄침 정보를 (i) 각각의 다른 용기에 대하여 얻어진 열 펄침 정보, 및 (ii) 참조 세트의 생화학적 조건 하에서 표적 분자에 대하여 얻어진 열 펄침 정보와 비교하는 단계; 및

(f) 각각의 용기에 대한 표적 분자와 참조 세트의 생화학적 조건 하의 표적 분자 사이의 열 펄침 정보의 차이에 따라 각 용기에 대한 생화학적 조건의 각각의 효력을 등급화하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 54.

2-(4'-클로로술폰닐페닐)-5-(4"-디메틸아미노페닐)옥사졸을 하기 화학식의 아민과 반응시키는 것을 포함하여, 제 1항에 따른 화합물을 제조하는 방법:



상기 식에서,

A는 단일 결합, 알킬렌, 알케닐렌 또는 알킬닐렌이며, 여기에서 알킬렌, 알케닐렌, 및 알킬닐렌 중 어느 하나는 임의로 치환되고;

R¹은 시클로알킬, 시클로알케닐, 시클로헥테로알킬, 시클로헥테로알케닐, 아릴, 헤테로아릴, -OR³, -NR³R⁴, -SR³, -S(O)R³, -S(O)₂R³, -C(O)H, -C(O)OR³, -OC(O)R³, -C(O)NR³R⁴, -NR³C(O)R⁴, -OC(O)OR³, -OC(O)NR³R⁴, -NR³C(O)OR⁴, -OS(O)₂OR³, -S(O)₂OR³, -S(O)OR³, -OP(O)(OR³)OR⁴, -P(O)(OR³)OR⁴, -P(O)HOR³, 아마이드노, 구아니디노, 비구아니디노, 옥시구아니디노, 알킬이미노아미노, 포르밀이미노아미노, 또는 킬레이터이며;

R²는 H, 알킬, 알케닐, 알킬닐, 아릴, 아릴알킬, 또는 시클로알킬이며, 여기에서 알킬, 알케닐, 알킬닐, 아릴, 아릴알킬 및 시클로알킬중 어느 하나는 임의로 치환되고;

R³ 및 R⁴는 독립적으로 H, 알킬, 알케닐, 알킬닐, 아릴, 헤테로아릴, 아릴알킬, 또는 헤테로아릴알킬이며, 여기에서 알킬, 알케닐, 알킬닐, 아릴, 헤테로아릴, 아릴알킬, 및 헤테로아릴알킬 중 어느 하나는 임의로 치환되며;

또는 상기 식에서,

A는 단일 결합이고;

R¹, R², 및 A는 이들이 결합되는 N과 함께 질소 함유 시클로헥테로알킬 또는 시클로헥테로알케닐 기를 형성하며, 이들 기 중 어느 하나는 임의로 치환되며;

단, A가 C₁₋₈ 비치환된 알킬이고 R²가 H 또는 메틸이면 R¹은 -NH₂, -NHCH₃, -N(CH₃)₂ 또는 -NHC(O)CH₂Br이 아니며;

A가 C₁₋₃ 비치환된 알킬이고 R²가 H이면, R¹은 -C(O)OH, -C(O)OCH₃, 또는 -C(O)OCH₂CH₃가 아니며;

A가 C₁₋₃ 비치환된 알킬이고 R²가 H이면, R¹은 -NHC(O)C₆F₅가 아니며;

A가 단일 결합이고 R²가 H 또는 CH₃이면, R¹은 -B(OH)₂로 치환된 페닐이 아니며;

A가 단일 결합이면 R¹, R², 및 A는 이들이 결합되는 N과 함께 비치환된 모르폴리닐을 형성하지 않는다.

요약

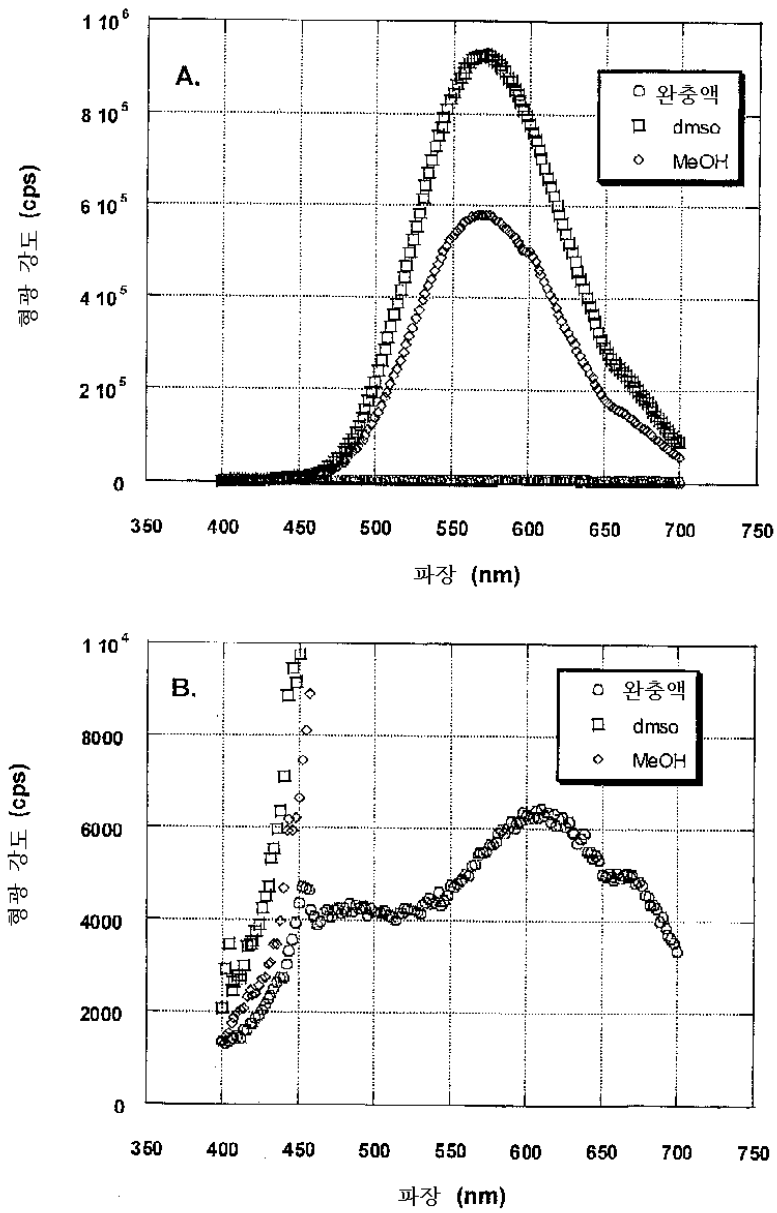
본 발명은 화학식 (I)의 화합물(여기에서, A, R¹, 및 R²가 본원의 명세서에 개시됨)에 관한 것이다. 본 발명은 또한 화학식 (I)의 화합물을 포함하는 조성물, 화학식 (I)의 화합물의 사용 방법, 및 화학식 (I)의 화합물의 제조 방법에 관한 것이다.

대표도

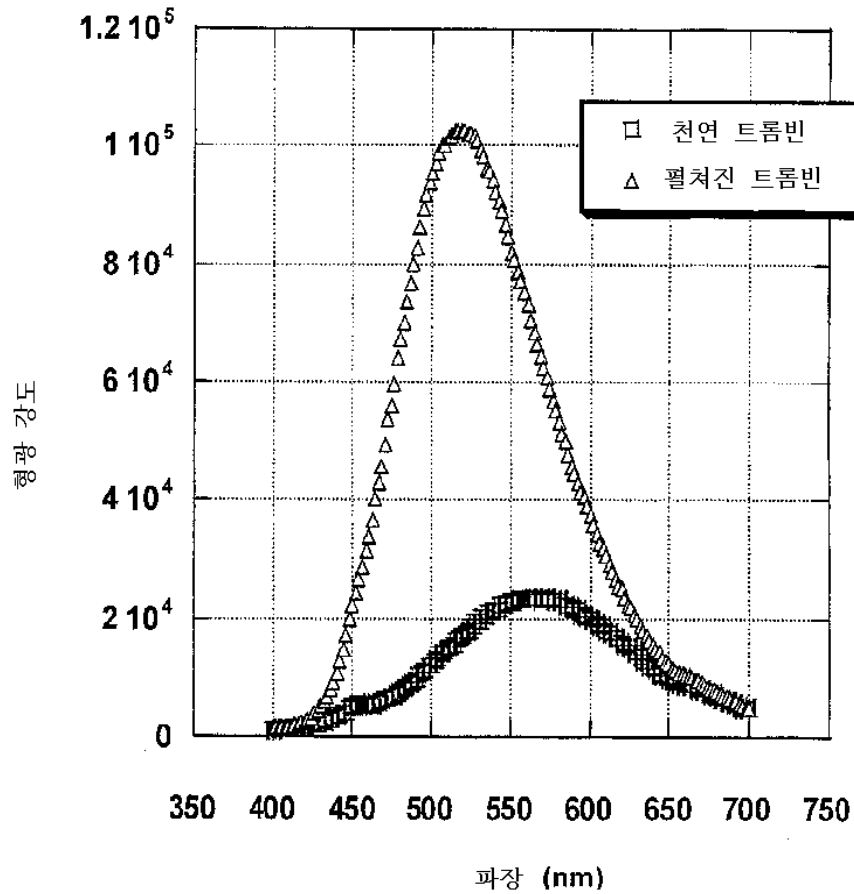
도 3

도면

도면1



도면2



도면3

