



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0119458
(43) 공개일자 2022년08월29일

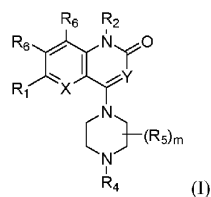
- | | |
|---|---|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 471/04 (2006.01) A61K 31/496 (2006.01)
A61K 31/5025 (2006.01) A61K 31/519 (2006.01)
A61P 31/12 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
C07D 487/04 (2006.01) C07D 495/04 (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
C07D 471/04 (2022.08)
A61K 31/496 (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2022-7025312</p> <p>(22) 출원일자(국제) 2020년12월22일
심사청구일자 없음</p> <p>(85) 번역문제출일자 2022년07월20일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/US2020/066510</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2021/133752
국제공개일자 2021년07월01일</p> <p>(30) 우선권주장
201911053558 2019년12월23일 인도(IN)</p> | <p>(71) 출원인
브리스톨-마이어스 스텝 컴퍼니
미국, 뉴저지 08543-4000, 프린스턴, 루트 206 앤드 프로빈스 라인 로드</p> <p>(72) 발명자
벨라파르티, 유펜더
미국 08543 뉴저지주 프린스턴 루트 206 앤드 프로빈스 라인 로드 브리스톨-마이어스 스텝 컴퍼니 내
다르네, 체탄 파드마카
미국 08543 뉴저지주 프린스턴 루트 206 앤드 프로빈스 라인 로드 브리스톨-마이어스 스텝 컴퍼니 내
(뒷면에 계속)</p> <p>(74) 대리인
양영준, 이귀동</p> |
|---|---|

전체 청구항 수 : 총 13 항

(54) 발명의 명칭 T 세포 활성화제로서 유용한 치환된 헤테로아릴 화합물

(57) 요약

하기 화학식 (I)의 화합물 또는 그의 염이 개시된다:



여기서 X는 CR₆ 또는 N이고; Y는 CR₃ 또는 N이고; R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, 및 m은 본원에 정의되어 있다. 디아실글리세롤 키나제 알파 (DGKα) 및 디아실글리세롤 키나제 제타 (DGKζ) 중 하나 또는 둘 다의 활성을 억제하기 위해 이러한 화합물을 사용하는 방법, 및 이러한 화합물을 포함하는 제약 조성물이 또한 개시된다. 이들 화합물은 바이러스 감염 및 증식성 장애, 예컨대 암의 치료에 유용하다.

(52) CPC특허분류

A61K 31/5025 (2013.01)

A61K 31/519 (2013.01)

A61P 31/12 (2018.01)

A61P 35/00 (2018.01)

C07D 487/04 (2022.08)

C07D 495/04 (2013.01)

(72) 발명자

울슨, 리차드 이.

미국 02139 매사추세츠주 캠브리지 코퍼럴 맥테르
넌 스트리트 20 유닛 305

잘라감, 프라사다 라오

인도 560 099 카르나타카 방갈로르 봄마산드라 지
가니 링크 로드 봄마산드라 인더스트리얼 에리어
포 페이즈 플롯 넘버스 2 앤드 3 비오콘 파크 비오
콘 스페셜 이코노믹 존 신진 인터내셔널 리미티드
내

와리에르, 자야कु마르 산카라

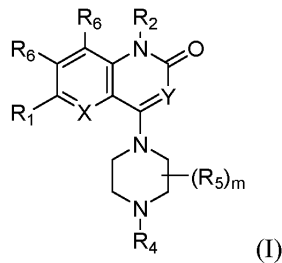
인도 560 099 카르나타카 방갈로르 봄마산드라 지
가니 링크 로드 봄마산드라 인더스트리얼 에리어
포 페이즈 플롯 넘버스 2 앤드 3 비오콘 파크 비오
콘 스페셜 이코노믹 존 신진 인터내셔널 리미티드
내

명세서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 (I)의 화합물 또는 그의 염:



여기서,

X는 CR₆ 또는 N이고;

Y는 CR₃ 또는 N이고;

R₁은 H, F, Cl, Br, -CN, 0 내지 4개의 R_{1a}로 치환된 C₁₋₃ 알킬, 0 내지 4개의 R_{1a}로 치환된 C₃₋₄ 시클로알킬, 0 내지 4개의 R_{1a}로 치환된 C₁₋₃ 알콕시, -C(O)NR_aR_a, -NR_aR_a, -S(O)_nR_e, 또는 -P(O)R_eR_e이고;

각각의 R_{1a}는 독립적으로 F, Cl, -CN, -OH, -OCH₃, 또는 -NR_aR_a이고;

각각의 R_a는 독립적으로 H 또는 C₁₋₃ 알킬이고;

각각의 R_e는 독립적으로 0 내지 4개의 R_{1a}로 치환된 C₁₋₃ 알킬 또는 C₃₋₄ 시클로알킬이고;

R₂는 H, 0 내지 4개의 R_{2a}로 치환된 C₁₋₃ 알킬, 0 내지 4개의 R_{2a}로 치환된 C₂₋₃ 알케닐, 또는 0 내지 4개의 R_{2a}로 치환된 C₃₋₄ 시클로알킬이고;

각각의 R_{2a}는 독립적으로 F, Cl, -CN, -OH, -O(C₁₋₂ 알킬), C₃₋₄ 시클로알킬, C₃₋₄ 알케닐, 또는 C₃₋₄ 알키닐이고;

R₃은 H, F, Cl, Br, -CN, C₁₋₃ 알킬, C₁₋₂ 플루오로알킬, C₃₋₄ 시클로알킬, C₃₋₄ 플루오로시클로알킬, -NO₂, 또는 0 내지 2개의 R_{3a}로 치환된 피리디닐이고;

각각의 R_{3a}는 할로, -CN, C₁₋₃ 알킬, 또는 C₁₋₃ 알콕시이고;

R₄는 C₆₋₁₀ 아릴, 또는 5- 내지 14-원 헤테로아릴이고, 각각은 0 내지 4개의 R_{4a}로 치환되고;

각각의 R_{4a}는 독립적으로 할로, -CN, -OH, C₁₋₆ 알킬-(CH₂)₁₋₂O(C₁₋₃ 알킬), C₁₋₄ 알콕시, -O(CH)₁₋₃O(C₁₋₃ 알킬), -O(CH)₁₋₃NR_cR_c, -OCH₂CH=CH₂, -OCH₂C≡CH, -C(O)(C₁₋₄ 알킬), -C(O)OH, -C(O)O(C₁₋₄ 알킬), -C(O)NH₂, -C(O)NH(C₁₋₄ 알킬), -C(O)N(C₁₋₄ 알킬)₂, -NR_cR_c, -NR_aS(O)₂(C₁₋₃ 알킬), -NR_aC(O)(C₁₋₃ 알킬), -NR_aC(O)O(C₁₋₄ 알킬), -P(O)(C₁₋₃ 알킬)₂, -S(O)₂(C₁₋₃ 알킬), -(CH₂)₀₋₃R_{4b}, -O(CH₂)₀₋₃R_{4b}, -NR_aR_{4b}, 또는 -C(O)R_{4b}이고, 여기서 각각의 상기 알킬 및 알콕시는 0 내지 6개의 R_{4c}로 치환되고;

R_{4b}는 C₃₋₇ 시클로알킬, 4- 내지 7-원 헤테로시클릴, 페닐, 또는 5- 또는 6-원 헤테로아릴이고, 각각은 0 내지 4개의 R_{4d}로 치환되고;

각각의 R_{4c}는 독립적으로 할로, -CN, -OH, C₁₋₃ 알콕시, -O(C₁₋₂ 플루오로알킬), 또는 -NR_aR_a이고;

각각의 R_{4d} 는 독립적으로 할로, -CN, -OH, C_{1-3} 알킬, C_{1-2} 플루오로알킬, C_{1-3} 알콕시, 또는 $-NR_aR_a$ 이고;

각각의 R_c 는 독립적으로 H 또는 C_{1-2} 알킬이고;

각각의 R_5 는 독립적으로 F, Cl, -CN, -OH, 0 내지 4개의 R_g 로 치환된 C_{1-6} 알킬, 0 내지 4개의 R_g 로 치환된 C_{1-3} 알콕시, 0 내지 4개의 R_g 로 치환된 C_{2-4} 알케닐, 0 내지 4개의 R_g 로 치환된 C_{2-4} 알키닐, 0 내지 4개의 R_g 로 치환된 C_{3-4} 시클로알킬, 0 내지 4개의 R_g 로 치환된 페닐, 0 내지 3개의 R_g 로 치환된 옥사디아졸릴, 0 내지 4개의 R_g 로 치환된 피리디닐, $-(CH_2)_{1-2}$ (0 내지 4개의 R_g 로 치환된 헤테로시클릴), $-(CH_2)_{1-2}NR_cC(O)(C_{1-4}$ 알킬), $-(CH_2)_{1-2}NR_cC(O)O(C_{1-4}$ 알킬), $-(CH_2)_{1-2}NR_cS(O)_2(C_{1-4}$ 알킬), $-C(O)(C_{1-4}$ 알킬), $-C(O)OH$, $-C(O)O(C_{1-4}$ 알킬), $-C(O)O(C_{3-4}$ 시클로알킬), $-C(O)NR_aR_a$, 또는 $-C(O)NR_a(C_{3-4}$ 시클로알킬)이거나, 또는 동일한 탄소 원자에 부착된 2개의 R_5 는 =O를 형성하고;

각각의 R_g 는 독립적으로 F, Cl, -CN, -OH, C_{1-3} 알콕시, C_{1-3} 플루오로알콕시, $-O(CH_2)_{1-2}O(C_{1-2}$ 알킬), C_{3-5} 시클로알킬, 또는 $-NR_cR_c$ 이고;

각각의 R_6 은 H, F, Cl, -CN, -CH₃, -CH₂F, -CHF₂, -CF₃, 또는 -OCH₃이고;

m은 0, 1, 2, 또는 3이고;

n은 0, 1 또는 2이다.

청구항 2

제1항에 있어서,

R_1 은 H, F, Cl, Br, -CN, 0 내지 4개의 R_{1a} 로 치환된 C_{1-3} 알킬, 0 내지 3개의 R_{1a} 로 치환된 시클로프로필, 0 내지 3개의 R_{1a} 로 치환된 C_{1-3} 알콕시, $-C(O)NR_aR_a$, $-NR_aR_a$, $-S(O)_nCH_3$, 또는 $-P(O)(CH_3)_2$ 이고;

각각의 R_{1a} 는 독립적으로 F, Cl, 또는 -CN이고;

각각의 R_a 는 독립적으로 H 또는 C_{1-3} 알킬이고;

R_2 는 H, 0 내지 2개의 R_{2a} 로 치환된 C_{1-2} 알킬, 또는 0 내지 2개의 R_{2a} 로 치환된 C_{2-3} 알케닐이고;

각각의 R_{2a} 는 독립적으로 F, Cl, -CN, -OH, $-O(C_{1-2}$ 알킬), 시클로프로필, C_{3-4} 알케닐, 또는 C_{3-4} 알키닐이고;

R_3 은 H, F, Cl, Br, -CN, C_{1-2} 알킬, C_{1-2} 플루오로알킬, C_{3-4} 시클로알킬, -NO₂, 또는 0 내지 2개의 R_{3a} 로 치환된 피리디닐이고;

R_4 는 페닐, 피롤릴, 티아졸릴, 피라졸릴, 이미다졸릴, 옥사졸릴, 이속사졸릴, 옥사디아졸릴, 피리디닐, 피리다지닐, 피리미디닐, 피라지닐, 트리아지닐, 인돌릴, 인다졸릴, 나프탈레닐, 퀴놀리닐, 이소퀴놀리닐, 퀴나졸리닐, 벤조[d]옥사졸릴, 벤조티아졸릴, 이미다조[1,2-a]피리디닐, 이미다조[1,2-b]피리다지닐, 피라졸로[1,5-a]피리미디닐, 또는 티에노[3,2-b]피리디닐이고, 각각은 0 내지 3개의 R_{4a} 로 치환되고;

각각의 R_{4a} 는 독립적으로 F, Cl, Br, -CN, -OH, C_{1-4} 알킬- $(CH_2)_{1-2}O(C_{1-3}$ 알킬), C_{1-3} 알콕시, $-O(CH)_{1-2}NR_cR_c$, $-C(O)(C_{1-3}$ 알킬), $-C(O)OH$, $-C(O)O(C_{1-3}$ 알킬), $-C(O)NH_2$, $-C(O)NH(C_{1-3}$ 알킬), $-C(O)N(C_{1-3}$ 알킬)₂, $-NR_cR_c$, $-NR_aS(O)_2(C_{1-2}$ 알킬), $-NR_aC(O)(C_{1-2}$ 알킬), $-NR_aC(O)O(C_{1-3}$ 알킬), $-S(O)_2(C_{1-2}$ 알킬), $-(CH_2)_{0-3}R_{4b}$, $-O(CH_2)_{0-3}R_{4b}$, $-NR_aR_{4b}$, 또는 $-C(O)R_{4b}$ 이고, 여기서 각각의 상기 알킬 및 알콕시는 0 내지 6개의 R_{4c} 로 치환되고;

R_{4b} 는 C_{3-6} 시클로알킬, 옥세타닐, 테트라히드로푸라닐, 테트라히드로피라닐, 피페리디닐, 피페라지닐, 모르폴리닐, 페닐, 푸라닐, 피라닐, 피롤릴, 피라졸릴, 이미다졸릴, 이속사졸릴, 옥사졸릴, 옥사디아졸릴, 트리아졸릴, 피리다지닐, 피리디닐, 피리미디닐, 피라지닐, 또는 트리아지닐이고, 각각은 0 내지 3개의 R_{4d} 로 치환되고;

각각의 R_{4c} 는 독립적으로 할로, $-\text{CN}$, $-\text{OH}$, $-\text{O}(\text{C}_{1-2} \text{ 알킬})$, $-\text{O}(\text{C}_{1-2} \text{ 플루오로알킬})$, 또는 $-\text{NR}_a\text{R}_a$ 이고;

각각의 R_{4d} 는 독립적으로 F, Cl, Br, $-\text{CN}$, $-\text{OH}$, C_{1-2} 알킬, C_{1-2} 플루오로알킬, C_{1-2} 알콕시, 또는 $-\text{NR}_a\text{R}_a$ 이고;

각각의 R_5 는 독립적으로 F, $-\text{CN}$, $-\text{OH}$, 0 내지 4개의 R_g 로 치환된 C_{1-5} 알킬, 0 내지 3개의 R_g 로 치환된 C_{1-2} 알콕시, 0 내지 4개의 R_g 로 치환된 C_{2-3} 알케닐, 0 내지 4개의 R_g 로 치환된 C_{2-3} 알키닐, 0 내지 4개의 R_g 로 치환된 C_{3-4} 시클로알킬, 0 내지 3개의 R_g 로 치환된 페닐, 0 내지 3개의 R_g 로 치환된 옥사디아졸릴, 0 내지 3개의 R_g 로 치환된 피리디닐, $-(\text{CH}_2)_{1-2}(\text{0 내지 4개의 } R_g \text{로 치환된 헤테로시클릴})$, $-(\text{CH}_2)_{1-2}\text{NR}_c\text{C}(\text{O})(\text{C}_{1-4} \text{ 알킬})$, $-(\text{CH}_2)_{1-2}\text{NR}_c\text{C}(\text{O})\text{O}(\text{C}_{1-4} \text{ 알킬})$, $-(\text{CH}_2)_{1-2}\text{NR}_c\text{S}(\text{O})_2(\text{C}_{1-4} \text{ 알킬})$, $-\text{C}(\text{O})(\text{C}_{1-4} \text{ 알킬})$, $-\text{C}(\text{O})\text{OH}$, $-\text{C}(\text{O})\text{O}(\text{C}_{1-4} \text{ 알킬})$, $-\text{C}(\text{O})\text{O}(\text{C}_{3-4} \text{ 시클로알킬})$, $-\text{C}(\text{O})\text{NR}_a\text{R}_a$, 또는 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}_a(\text{C}_{3-4} \text{ 시클로알킬})$ 이거나, 또는 동일한 탄소 원자에 부착된 2개의 R_5 는 $=\text{O}$ 를 형성하고;

각각의 R_6 은 H, F, 또는 $-\text{CH}_3$ 이고;

m 은 0, 1, 2, 또는 3인

화합물 또는 그의 염.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서,

X 는 N이고, Y 는 CR_3 이거나; 또는

X 는 N이고, Y 는 N이고;

R_1 은 $-\text{CN}$ 이고;

R_2 는 $-\text{CH}_3$ 이고;

R_3 은 H이고;

R_4 는 페닐, 티아졸릴, 퀴놀리닐, 이소퀴놀리닐, 벤조[d]옥사졸릴, 벤조[d]티아졸릴, 이미다조[1,2-a]피리디닐, 이미다조[1,2-b]피리다지닐, 피라졸로[1,5-a]피리미디닐 또는 티에노[3,2-b]피리디닐이고, 각각은 0 내지 2개의 R_{4a} 로 치환되고;

각각의 R_{4a} 는 독립적으로 F, Br, $-\text{OH}$, $-\text{CN}$, $-\text{CH}_3$, $-\text{CF}_3$, $-\text{OCH}_3$, $-\text{OCF}_3$, 또는 플루오로페닐이고;

각각의 R_5 는 독립적으로 수소, $-\text{CH}_3$, 또는 $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ 이고;

각각의 R_6 은 H인

화합물 또는 그의 염.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

X 는 N이고;

Y 는 CR_3 인

화합물 또는 그의 염.

청구항 5

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

X 는 N이고;

Y는 N인

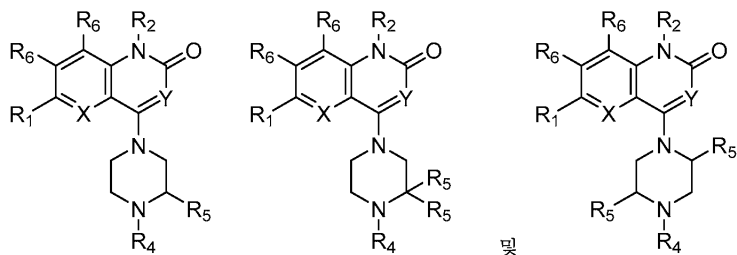
화합물 또는 그의 염.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, m은 1 또는 2인 화합물 또는 그의 염.

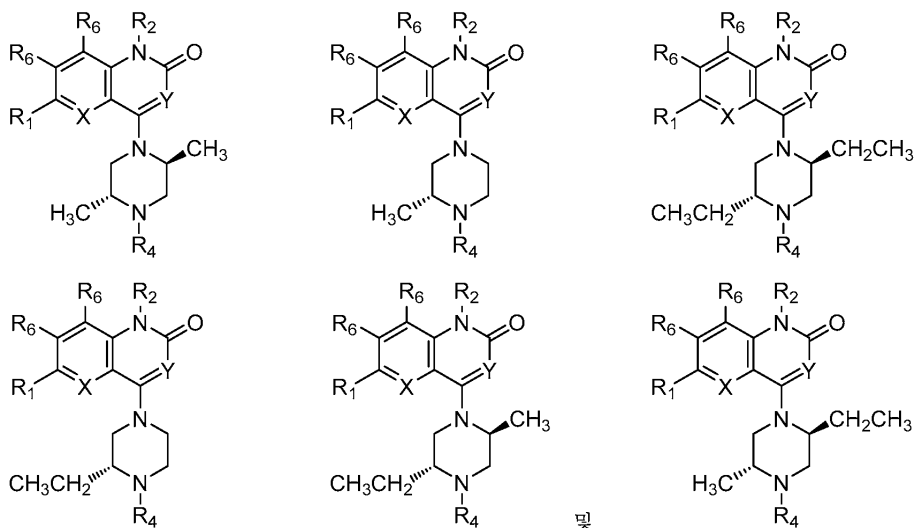
청구항 7

제1항 내지 제3항 및 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 하기로부터 선택된 구조를 갖는 화합물 또는 그의 염:



청구항 8

제1항 내지 제3항 및 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 하기로부터 선택된 구조를 갖는 화합물 또는 그의 염:



청구항 9

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 하기와 같은 화합물 또는 그의 염:

4-((2S,5R)-2,5-디에틸-4-(4-(트리플루오로메틸)페닐)피페라진-1-일)-1-메틸-2-옥소-1,2-디히드로피리도[3,2-d]피리미딘-6-카르보니트릴 (1);

4-((2S,5R)-2,5-디에틸-4-(3-(트리플루오로메틸)페닐)피페라진-1-일)-1-메틸-2-옥소-1,2-디히드로피리도[3,2-d]피리미딘-6-카르보니트릴 (2);

4-((2S,5R)-5-에틸-4-(3-플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐)-2-메틸피페라진-1-일)-1-메틸-2-옥소-1,2-디히드로피리도[3,2-d]피리미딘-6-카르보니트릴 (3);

4-((2S,5R)-5-에틸-2-메틸-4-(4-(트리플루오로메톡시)페닐)피페라진-1-일)-1-메틸-2-옥소-1,2-디히드로피리도[3,2-d]피리미딘-6-카르보니트릴 (4);

(S)-5-메틸-8-(2-메틸-4-(퀴놀린-8-일)피페라진-1-일)-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보니트릴 (5);

8-((2S,5R)-4-(6-플루오로퀴놀린-8-일)-2,5-디메틸피페라진-1-일)-5-메틸-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보니트릴 (6);

8-((2S,5R)-2,5-디메틸-4-(티에노[3,2-b]피리딘-3-일)피페라진-1-일)-5-메틸-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보니트릴 (7);

8-((2S,5R)-4-(이미다조[1,2-b]피리다진-3-일)-2,5-디메틸피페라진-1-일)-5-메틸-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보니트릴 (8);

(S)-5-메틸-8-(2-메틸-4-(퀴놀린-8-일)피페라진-1-일)-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보니트릴 (9);

8-((2S,5R)-4-(8-브로모-6-메틸퀴놀린-2-일)-2,5-디메틸피페라진-1-일)-5-메틸-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보니트릴 (10);

8-((2S,5R)-4-(이소퀴놀린-1-일)-2,5-디메틸피페라진-1-일)-5-메틸-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보니트릴 (11);

8-((2S,5R)-4-(4-브로모이소퀴놀린-1-일)-2,5-디메틸피페라진-1-일)-5-메틸-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보니트릴 (12);

8-((2S,5R)-4-(5-플루오로퀴놀린-8-일)-2,5-디메틸피페라진-1-일)-5-메틸-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보니트릴 (13);

8-((2S,5R)-4-(3-브로모피라졸로[1,5-a]피리미딘-5-일)-2,5-디메틸피페라진-1-일)-5-메틸-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보니트릴 (14);

8-((2S,5R)-2,5-디메틸-4-(7-(트리플루오로메틸)퀴놀린-4-일)피페라진-1-일)-5-메틸-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보니트릴 (15);

8-((2S,5R)-4-(5,7-디플루오로퀴놀린-4-일)-2,5-디메틸피페라진-1-일)-5-메틸-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보니트릴 (16);

8-((2S,5R)-2,5-디메틸-4-(퀴놀린-4-일)피페라진-1-일)-5-메틸-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보니트릴 (17);

8-((2S,5R)-4-(이미다조[1,2-a]피리딘-8-일)-2,5-디메틸피페라진-1-일)-5-메틸-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보니트릴 (18);

8-((2S,5R)-4-(이소퀴놀린-4-일)-2,5-디메틸피페라진-1-일)-5-메틸-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보니트릴 (19);

8-((2S,5R)-4-(벤조[d]옥사졸-7-일)-2,5-디메틸피페라진-1-일)-5-메틸-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보니트릴 (20);

8-((2S,5R)-4-(3-히드록시-6-(트리플루오로메톡시)퀴놀린-8-일)-2,5-디메틸피페라진-1-일)-5-메틸-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보니트릴 (21);

8-((2S,5R)-2,5-디메틸-4-(2-메틸퀴놀린-8-일)피페라진-1-일)-5-메틸-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보니트릴 (22);

8-((2S,5R)-4-(6-플루오로퀴놀린-4-일)-2,5-디메틸피페라진-1-일)-5-메틸-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보니트릴 (23);

8-((2S,5R)-4-(3-메톡시-6-메틸퀴놀린-8-일)-2,5-디메틸피페라진-1-일)-5-메틸-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보니트릴 (24);

8-((2S,5R)-4-(6-플루오로벤조[d]티아졸-2-일)-2,5-디메틸피페라진-1-일)-5-메틸-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보니트릴 (25);

8-((2S,5R)-4-(4-(4-플루오로페닐)티아졸-2-일)-2,5-디메틸피페라진-1-일)-5-메틸-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보니트릴 (26); 또는

8-((2S,5R)-4-(4-(4-플루오로페닐)-2-메틸티아졸-5-일)-2,5-디메틸피페라진-1-일)-5-메틸-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보닐 (27).

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염; 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 조성물.

청구항 11

암 또는 바이러스 감염의 치료를 위한 제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염의 용도.

청구항 12

제11항에 있어서, 상기 암이 결장암, 췌장암, 유방암, 전립선암, 폐암, 난소암, 자궁경부암, 신암, 두경부암, 림프종, 백혈병 및 흑색종으로부터 선택되는 것인 용도.

청구항 13

디아실글리세롤 키나제 알파 (DGK α) 및 디아실글리세롤 키나제 제타 (DGK ζ)로부터 선택된 디아실글리세롤 키나제 중 적어도 하나의 활성을 억제하기 위한, 제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염의 용도.

발명의 설명

기술 분야

- [0001] 상호 참조
- [0002] 본 출원은 2019년 12월 23일에 출원된 인도 가출원 번호 201911053558을 우선권 주장하며, 이는 그 전문이 본원에 포함된다.
- [0003] 기술분야
- [0004] 본 발명은 일반적으로 T 세포를 활성화시키고/거나, T 세포 증식을 촉진하고/거나, 항종양 활성을 나타내는 치환된 헤테로아릴 화합물에 관한 것이다. 치환된 헤테로아릴 화합물, 이러한 화합물을 포함하는 조성물, 및 그의 사용 방법이 본원에 제공된다. 추가로, 본 발명은 증식성 장애, 예컨대 암 및 바이러스 감염의 치료에 유용한 본 발명에 따른 적어도 1종의 화합물을 포함하는 제약 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

- [0005] 인간의 암은 면역계에 의해 잠재적으로 인식가능한 신생항원을 생성하는 수많은 유전적 변경 및 후성적 변경을 갖는다 (Sjoberg et al. (2006) Science 314:268-74). T 및 B 림프구로 구성된 적응 면역계는 다양한 종양 항원에 반응하는 정교한 특이성 및 광범위한 능력을 갖는 강력한 항암 잠재력을 지니고 있다. 또한, 면역계는 상당한 가소성 및 기억 구성요소를 보여준다. 이들 적응 면역계의 모든 속성들의 성공적인 활용은, 모든 암 치료 양식들 중에서도 면역요법을 특별하게 할 것이다. 그러나, 암에 대한 내인성 면역 반응이 전임상 모델 및 환자에게서 관찰되긴 하지만, 이러한 반응은 효과적이지 못하며, 정착된 암은 "자기"로서 간주되고, 면역계에 의해 관용된다. 이러한 관용 상태에 기인하여, 종양은 항종양 면역을 적극적으로 파괴하기 위해 몇 가지 별개의 메카니즘을 악용할 수 있다. 이들 메카니즘은 기능장애성 T-세포 신호전달 (Mizoguchi et al., (1992) Science 258:1795-98), 억제성 조절 세포 (Facciabene et al., (2012) Cancer Res. 72:2162-71), 및 면역 파괴를 피하기 위해 종양에 의한 부수적 손상으로부터 정상 조직을 보호하고 적응 면역 반응의 강도를 하향 조정해주는 작용을 하는 내인성 "면역 체크포인트"의 편입 (Topalian et al., (2012) Curr. Opin. Immunol. 24:1-6; Mellman et al. (2011) Nature 480:480-489)을 포함한다.
- [0006] 디아실글리세롤 키나제 (DGK)는 디아실글리세롤의 포스파티드산으로의 전환을 매개하여 TCR 신호전달 경로를 통해 전파되는 T 세포 기능을 종결시키는 지질 키나제이다. 따라서, DGK는 세포내 체크포인트로서의 역할을 하고, DGK의 억제는 T 세포 신호전달 경로 및 T 세포 활성화를 증진시킬 것으로 예상된다. 지지 증거는 파다-

반응성 T 세포 표현형 및 개선된 항종양 면역 활성을 나타내는 DGK α 또는 DGK ζ 녹아웃 마우스 모델을 포함한다 (Riese M.J. et al., Journal of Biological Chemistry, (2011) 7: 5254-5265; Zha Y et al., Nature Immunology, (2006) 12:1343; Olenchock B.A. et al., (2006) 11: 1174-81). 또한, 인간 신세포 암종 환자로부터 단리된 종양 침윤 림프구는 DGK α 를 과다발현하며, 이는 T 세포 기능을 억제한다는 것이 관찰되었다 (Prinz, P.U. et al., J Immunology (2012) 12:5990-6000). 따라서, DGK α 및 DGK ζ 는 암 면역요법을 위한 표적으로 여겨진다 (Riese M.J. et al., Front Cell Dev Biol. (2016) 4: 108; Chen, S.S. et al., Front Cell Dev Biol. (2016) 4: 130; Avila-Flores, A. et al., Immunology and Cell Biology (2017) 95: 549-563; Noessner, E., Front Cell Dev Biol. (2017) 5: 16; Krishna, S., et al., Front Immunology (2013) 4:178; Jing, W. et al., Cancer Research (2017) 77: 5676-5686).

[0007] DGK α 및 DGK ζ 중 하나 또는 둘 다의 억제제로서 유용한 화합물에 대한 필요가 존재한다. 추가적으로, 다른 디아실글리세롤 키나제, 단백질 키나제 및/또는 다른 지질 키나제에 비해 선택성을 갖는, DGK α 및 DGK ζ 중 하나 또는 둘 다의 억제제로서 유용한 화합물에 대한 필요가 존재한다.

[0008] 따라서, T 세포 활성화를 회복시키고/거나, 항원 역치를 낮추고/거나, 항종양 기능성을 증진시키고/거나, 하나 이상의 내인성 면역 체크포인트, 예컨대 PD-1, LAG-3 및 TGF β 의 억제 효과를 극복하는데 안전하고 효과적인 작용제가 증식성 장애, 예컨대 암, 뿐만 아니라 바이러스 감염을 갖는 환자의 치료를 위한 중요한 부가일 것이다.

발명의 내용

[0009] 본 출원인은 DGK α 및 DGK ζ 중 하나 또는 둘 다의 억제제로서의 활성을 갖는 화합물을 발견하였다. 추가로, 본 출원인은 DGK α 및 DGK ζ 중 하나 또는 둘 다의 억제제로서의 활성을 가지고, 다른 디아실글리세롤 키나제, 단백질 키나제 및/또는 다른 지질 키나제에 비해 선택성을 갖는 화합물을 발견하였다. 이들 화합물은 이들의 약물성에 중요한 바람직한 안정성, 생체이용률, 치료 지수 및 독성 값을 갖는 제약으로서 유용하도록 제공된다.

[0010] 본 발명은 DGK α , DGK ζ , 또는 DGK α 및 DGK ζ 둘 다의 억제제로서 유용한 화학식 (I)의 치환된 헥테로아릴 화합물 및 그의 염 및 전구약물을 제공한다.

[0011] 본 발명은 또한 화학식 (I)의 화합물 및/또는 그의 제약상 허용되는 염; 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 조성물을 제공한다.

[0012] 본 발명은 또한 포유동물 환자에게 화학식 (I)의 화합물 및/또는 그의 제약상 허용되는 염을 투여하는 것을 포함하는, DGK α , DGK ζ , 또는 DGK α 및 DGK ζ 둘 다의 활성과 연관된 질환 또는 장애를 치료하는 방법을 제공한다.

[0013] 본 발명은 또한 화학식 (I)의 화합물 및/또는 그의 염을 제조하기 위한 방법 및 중간체를 제공한다.

[0014] 본 발명은 또한 요법에 사용하기 위한 화학식 (I)의 화합물 및/또는 그의 제약상 허용되는 염을 제공한다.

[0015] 본 발명은 또한 증식성 장애, 예컨대 암 및 바이러스 감염의 치료를 위한 의학의 제조를 위한 화학식 (I)의 화합물 및/또는 그의 제약상 허용되는 염의 용도를 제공한다.

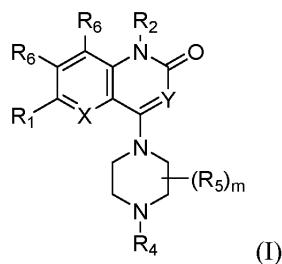
[0016] 화학식 (I)의 화합물 및 화학식 (I)의 화합물을 포함하는 조성물은 바이러스 감염 및 다양한 증식성 장애, 예컨대 암을 치료하거나, 예방하거나 또는 치유하는데 사용될 수 있다. 이들 화합물을 포함하는 제약 조성물은 다양한 치료 영역, 예컨대 바이러스 감염 및 암에서 질환 또는 장애의 진행을 치료하거나, 예방하거나, 또는 지연시키는데 유용하다.

[0017] 본 발명의 이들 및 다른 특징은 개시내용이 계속됨에 따라 확장된 형태로 설명될 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0018] 상세한 설명

[0019] 본 발명의 제1 측면은 하기 화학식 (I)의 적어도 1종의 화합물 또는 그의 염을 제공한다:



[0020]

[0021] 여기서,

[0022] X는 CR₆ 또는 N이고;

[0023] Y는 CR₃ 또는 N이고;

[0024] R₁은 H, F, Cl, Br, -CN, 0 내지 4개의 R_{1a}로 치환된 C₁₋₃ 알킬, 0 내지 4개의 R_{1a}로 치환된 C₃₋₄ 시클로알킬, 0 내지 4개의 R_{1a}로 치환된 C₁₋₃ 알콕시, -C(O)NR_aR_a, -NR_aR_a, -S(O)_nR_e, 또는 -P(O)R_eR_e이고;

[0025] 각각의 R_{1a}는 독립적으로 F, Cl, -CN, -OH, -OCH₃, 또는 -NR_aR_a이고;

[0026] 각각의 R_a는 독립적으로 H 또는 C₁₋₃ 알킬이고;

[0027] 각각의 R_e는 독립적으로 0 내지 4개의 R_{1a}로 치환된 C₁₋₃ 알킬 또는 C₃₋₄ 시클로알킬이고;

[0028] R₂는 H, 0 내지 4개의 R_{2a}로 치환된 C₁₋₃ 알킬, 0 내지 4개의 R_{2a}로 치환된 C₂₋₃ 알케닐, 또는 0 내지 4개의 R_{2a}로 치환된 C₃₋₄ 시클로알킬이고;

[0029] 각각의 R_{2a}는 독립적으로 F, Cl, -CN, -OH, -O(C₁₋₂ 알킬), C₃₋₄ 시클로알킬, C₃₋₄ 알케닐, 또는 C₃₋₄ 알키닐이고;

[0030] R₃은 H, F, Cl, Br, -CN, C₁₋₃ 알킬, C₁₋₂ 플루오로알킬, C₃₋₄ 시클로알킬, C₃₋₄ 플루오로시클로알킬, -NO₂, 또는 0 내지 2개의 R_{3a}로 치환된 피리디닐이고;

[0031] 각각의 R_{3a}는 할로, -CN, C₁₋₃ 알킬, 또는 C₁₋₃ 알콕시이고;

[0032] R₄는 C₆₋₁₀ 아릴, 또는 5- 내지 14-원 헤테로아릴이고, 각각은 0 내지 4개의 R_{4a}로 치환되고;

[0033] 각각의 R_{4a}는 독립적으로 할로, -CN, -OH, C₁₋₆ 알킬-(CH₂)₁₋₂O(C₁₋₃ 알킬), C₁₋₄ 알콕시, -O(CH)₁₋₃O(C₁₋₃ 알킬), -O(CH)₁₋₃NR_cR_c, -OCH₂CH=CH₂, -OCH₂C≡CH, -C(O)(C₁₋₄ 알킬), -C(O)OH, -C(O)O(C₁₋₄ 알킬), -C(O)NH₂, -C(O)NH(C₁₋₄ 알킬), -C(O)N(C₁₋₄ 알킬)₂, -NR_cR_c, -NR_aS(O)₂(C₁₋₃ 알킬), -NR_aC(O)(C₁₋₃ 알킬), -NR_aC(O)O(C₁₋₄ 알킬), -P(O)(C₁₋₃ 알킬)₂, -S(O)₂(C₁₋₃ 알킬), -(CH₂)₀₋₃R_{4b}, -O(CH₂)₀₋₃R_{4b}, -NR_aR_{4b}, 또는 -C(O)R_{4b}이고, 여기서 각각의 상기 알킬 및 알콕시는 0 내지 6개의 R_{4c}로 치환되고;

[0034] R_{4b}는 C₃₋₇ 시클로알킬, 4- 내지 7-원 헤테로시클릴, 페닐, 또는 5- 또는 6-원 헤테로아릴이고, 각각은 0 내지 4 개의 R_{4d}로 치환되고;

[0035] 각각의 R_{4c}는 독립적으로 할로, -CN, -OH, C₁₋₃ 알콕시, -O(C₁₋₂ 플루오로알킬), 또는 -NR_aR_a이고;

[0036] 각각의 R_{4d}는 독립적으로 할로, -CN, -OH, C₁₋₃ 알킬, C₁₋₂ 플루오로알킬, C₁₋₃ 알콕시, 또는 -NR_aR_a이고;

[0037] 각각의 R_c는 독립적으로 H 또는 C₁₋₂ 알킬이고;

[0038] 각각의 R₅는 독립적으로 F, Cl, -CN, -OH, 0 내지 4개의 R_g로 치환된 C₁₋₆ 알킬, 0 내지 4개의 R_g로 치환된 C₁₋₃ 알콕시, 0 내지 4개의 R_g로 치환된 C₂₋₄ 알케닐, 0 내지 4개의 R_g로 치환된 C₂₋₄ 알키닐, 0 내지 4개의 R_g로 치환

된 C₃₋₄ 시클로알킬, 0 내지 4개의 R_g로 치환된 페닐, 0 내지 3개의 R_g로 치환된 옥사디아졸릴, 0 내지 4개의 R_g로 치환된 피리디닐, -(CH₂)₁₋₂(0 내지 4개의 R_g로 치환된 헤테로시클릴), -(CH₂)₁₋₂NR_cC(O)(C₁₋₄ 알킬), -(CH₂)₁₋₂NR_cC(O)O(C₁₋₄ 알킬), -(CH₂)₁₋₂NR_cS(O)₂(C₁₋₄ 알킬), -C(O)(C₁₋₄ 알킬), -C(O)OH, -C(O)O(C₁₋₄ 알킬), -C(O)O(C₃₋₄ 시클로알킬), -C(O)NR_aR_a, 또는 -C(O)NR_a(C₃₋₄ 시클로알킬)이거나, 또는 동일한 탄소 원자에 부착된 2개의 R₅는 =O를 형성하고;

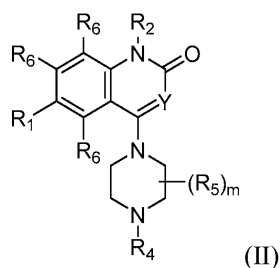
[0039] 각각의 R_g는 독립적으로 F, Cl, -CN, -OH, C₁₋₃ 알콕시, C₁₋₃ 플루오로알콕시, -O(CH₂)₁₋₂O(C₁₋₂ 알킬), C₃₋₅ 시클로알킬, 또는 -NR_cR_c이고;

[0040] 각각의 R₆은 H, F, Cl, -CN, -CH₃, -CH₂F, -CHF₂, -CF₃, 또는 -OCH₃이고;

[0041] m은 0, 1, 2, 또는 3이고;

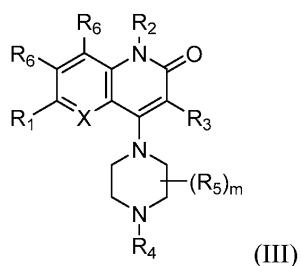
[0042] n은 0, 1 또는 2이다.

[0043] 한 실시양태에서, X는 CR₆이고; Y는 CR₃ 또는 N인 화학식 (I)의 화합물 또는 그의 염이 제공된다. 이러한 실시양태의 화합물은 하기 화학식 (II)의 구조를 갖는다:



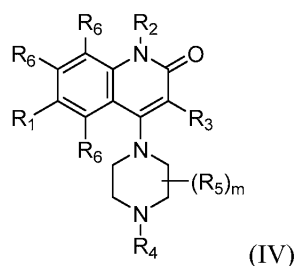
[0044]

[0045] 한 실시양태에서, X는 CR₆ 또는 N이고; Y는 CR₃인 화학식 (I)의 화합물 또는 그의 염이 제공된다. 이러한 실시양태의 화합물은 화학식 (III)의 구조를 갖는다:



[0046]

[0047] 한 실시양태는 X는 CR₆이고, Y는 CR₃인 화학식 (I)의 화합물 또는 그의 염을 제공한다. 이러한 실시양태의 화합물은 하기 화학식 (IV)의 구조를 갖는다:

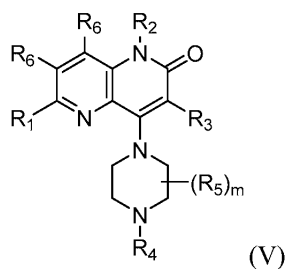


[0048]

[0049] 이러한 실시양태에는 X는 CH인 화합물이 포함된다. 또한, 이러한 실시양태에서, 각각의 R₆은 H인 화합물이 포함된다.

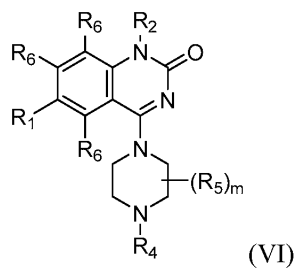
[0050] 한 실시양태는 X는 N이고, Y는 CR₃인 화학식 (I)의 화합물 또는 그의 염을 제공한다. 이러한 실시양태의 화합

물은 하기 화학식 (V)의 구조를 갖는다:



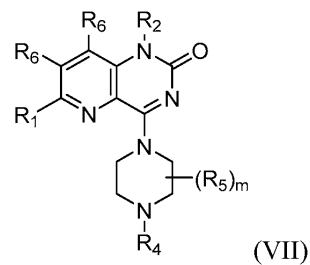
이러한 실시양태에서, 각각의 R_6 은 H인 화합물이 포함된다.

한 실시양태는 X는 CR_6 이고, Y는 N인 화학식 (I)의 화합물 또는 그의 염을 제공한다. 이러한 실시양태의 화합물은 화학식 (VI)의 구조를 갖는다:



이러한 실시양태에는 X는 CH인 화합물이 포함된다. 또한, 이러한 실시양태에서, 각각의 R_6 은 H인 화합물이 포함된다.

한 실시양태는 X는 N이고, Y는 N인 화학식 (I)의 화합물 또는 그의 염을 제공한다. 이러한 실시양태의 화합물은 화학식 (VII)의 구조를 갖는다:



이러한 실시양태에서, 각각의 R_6 은 H인 화합물이 포함된다.

한 실시양태는

R_1 은 H, F, Cl, Br, -CN, 0 내지 4개의 R_{1a} 로 치환된 C_{1-3} 알킬, 0 내지 3개의 R_{1a} 로 치환된 시클로프로필, 0 내지 3개의 R_{1a} 로 치환된 C_{1-3} 알콕시, $-C(O)NR_aR_a$, $-NR_aR_a$, $-S(O)_nCH_3$, 또는 $-P(O)(CH_3)_2$ 이고;

각각의 R_{1a} 는 독립적으로 F, Cl, 또는 -CN이고;

각각의 R_a 는 독립적으로 H 또는 C_{1-3} 알킬이고;

R_2 는 H, 0 내지 2개의 R_{2a} 로 치환된 C_{1-2} 알킬, 또는 0 내지 2개의 R_{2a} 로 치환된 C_{2-3} 알케닐이고;

각각의 R_{2a} 는 독립적으로 F, Cl, -CN, -OH, $-O(C_{1-2}$ 알킬), 시클로프로필, C_{3-4} 알케닐, 또는 C_{3-4} 알킬닐이고;

R_3 은 H, F, Cl, Br, -CN, C_{1-2} 알킬, C_{1-2} 플루오로알킬, C_{3-4} 시클로알킬, $-NO_2$, 또는 0 내지 2개의 R_{3a} 로 치환된 피리디닐이고;

- [0066] R_4 는 페닐, 피롤릴, 티아졸릴, 피라졸릴, 이미다졸릴, 옥사졸릴, 이속사졸릴, 옥사디아졸릴, 피리디닐, 피리다지닐, 피리미디닐, 피라지닐, 트리아지닐, 인돌릴, 인다졸릴, 나프탈레닐, 퀴놀리닐, 이소퀴놀리닐, 퀴나졸리닐, 벤조[d]옥사졸릴, 벤조티아졸릴, 이미다조[1,2-a]피리디닐, 이미다조[1,2-b]피리다지닐, 피라졸로[1,5-a]피리미디닐, 또는 티에노[3,2-b]피리디닐이고, 각각은 0 내지 3개의 R_{4a} 로 치환되고;
- [0067] 각각의 R_{4a} 는 독립적으로 F, Cl, Br, -CN, -OH, C_{1-4} 알킬-(CH₂)₁₋₂O(C_{1-3} 알킬), C_{1-3} 알콕시, -O(CH)₁₋₂NR_cR_c, -C(O)(C_{1-3} 알킬), -C(O)OH, -C(O)O(C_{1-3} 알킬), -C(O)NH₂, -C(O)NH(C_{1-3} 알킬), -C(O)N(C_{1-3} 알킬)₂, -NR_cR_c, -NR_aS(O)₂(C_{1-2} 알킬), -NR_aC(O)(C_{1-2} 알킬), -NR_aC(O)O(C_{1-3} 알킬), -S(O)₂(C_{1-2} 알킬), -(CH₂)₀₋₃R_{4b}, -O(CH₂)₀₋₃R_{4b}, -NR_aR_{4b}, 또는 -C(O)R_{4b}이고, 여기서 각각의 상기 알킬 및 알콕시는 0 내지 6개의 R_{4c} 로 치환되고;
- [0068] R_{4b} 는 C₃₋₆ 시클로알킬, 옥세타닐, 테트라히드로푸라닐, 테트라히드로피라닐, 피페리디닐, 피페라지닐, 모르폴리닐, 페닐, 푸라닐, 피라닐, 피롤릴, 피라졸릴, 이미다졸릴, 이속사졸릴, 옥사졸릴, 옥사디아졸릴, 트리아졸릴, 피리다지닐, 피리디닐, 피리미디닐, 피라지닐, 또는 트리아지닐이고, 각각은 0 내지 3개의 R_{4d} 로 치환되고;
- [0069] 각각의 R_{4c} 는 독립적으로 할로, -CN, -OH, -O(C_{1-2} 알킬), -O(C_{1-2} 플루오로알킬), 또는 -NR_aR_a이고;
- [0070] 각각의 R_{4d} 는 독립적으로 F, Cl, Br, -CN, -OH, C_{1-2} 알킬, C_{1-2} 플루오로알킬, C_{1-2} 알콕시, 또는 -NR_aR_a이고;
- [0071] 각각의 R_5 는 독립적으로 F, -CN, -OH, 0 내지 4개의 R_g 로 치환된 C_{1-5} 알킬, 0 내지 3개의 R_g 로 치환된 C_{1-2} 알콕시, 0 내지 4개의 R_g 로 치환된 C_{2-3} 알케닐, 0 내지 4개의 R_g 로 치환된 C_{2-3} 알키닐, 0 내지 4개의 R_g 로 치환된 C₃₋₄ 시클로알킬, 0 내지 3개의 R_g 로 치환된 페닐, 0 내지 3개의 R_g 로 치환된 옥사디아졸릴, 0 내지 3개의 R_g 로 치환된 피리디닐, -(CH₂)₁₋₂(0 내지 4개의 R_g 로 치환된 헤테로시클릴), -(CH₂)₁₋₂NR_cC(O)(C_{1-4} 알킬), -(CH₂)₁₋₂NR_cC(O)O(C_{1-4} 알킬), -(CH₂)₁₋₂NR_cS(O)₂(C_{1-4} 알킬), -C(O)(C_{1-4} 알킬), -C(O)OH, -C(O)O(C_{1-4} 알킬), -C(O)O(C₃₋₄ 시클로알킬), -C(O)NR_aR_a, 또는 -C(O)NR_a(C₃₋₄ 시클로알킬)이거나, 또는 동일한 탄소 원자에 부착된 2개의 R_5 는 =O를 형성하고;
- [0072] 각각의 R_6 은 H, F, 또는 -CH₃이고;
- [0073] m은 0, 1, 2, 또는 3인
- [0074] 화학식 (I)의 화합물 또는 그의 염을 제공한다.
- [0075] 한 실시양태는
- [0076] X는 N이고, Y는 CR₃이거나; 또는
- [0077] X는 N이고, Y는 N이고;
- [0078] R₁은 -CN이고;
- [0079] R₂는 -CH₃이고;
- [0080] R₃은 H이고;
- [0081] R_4 는 페닐, 티아졸릴, 퀴놀리닐, 이소퀴놀리닐, 벤조[d]옥사졸릴, 벤조[d]티아졸릴, 이미다조[1,2-a]피리디닐, 이미다조[1,2-b]피리다지닐, 피라졸로[1,5-a]피리미디닐 또는 티에노[3,2-b]피리디닐이고, 각각은 0 내지 2개의 R_{4a} 로 치환되고;
- [0082] 각각의 R_{4a} 는 독립적으로 F, Br, -OH, -CN, -CH₃, -CF₃, -OCH₃, -OCF₃, 또는 플루오로페닐이고;
- [0083] 각각의 R_5 는 독립적으로 수소, -CH₃, 또는 -CH₂CH₃이고;
- [0084] 각각의 R_6 은 H인

- [0085] 화학식 (I)의 화합물 또는 그의 염을 제공한다.
- [0086] 한 실시양태에서, R_1 은 H, F, Cl, Br, -CN, 0 내지 4개의 R_{1a} 로 치환된 C_{1-3} 알킬, 0 내지 3개의 R_{1a} 로 치환된 시클로프로필, 0 내지 3개의 R_{1a} 로 치환된 C_{1-3} 알콕시, $-C(O)NR_aR_a$, $-NR_aR_a$, $-S(O)_nCH_3$, 또는 $-P(O)(CH_3)_2$ 인 화학식 (I)의 화합물 또는 그의 염이 제공된다. 이러한 실시양태에서, R_1 은 H, F, Cl, Br, -CN, $-CH_3$, $-CHF_2$, $-CF_3$, 시클로프로필, 또는 $-OCH_3$ 인 화합물이 포함된다. 또한 이러한 실시양태에서, R_1 은 H, F, -CN, 또는 $-OCH_3$ 인 화합물이 포함된다. 추가적으로, 이러한 실시양태에서, R_1 은 -CN인 화합물이 포함된다.
- [0087] 한 실시양태는 각각의 R_{1a} 는 독립적으로 F, Cl, -CN, -OH, 또는 $-OCH_3$ 인 화학식 (I)의 화합물 또는 그의 염을 제공한다. 이러한 실시양태에서, 각각의 R_{1a} 는 독립적으로 F, Cl, -CN, 또는 $-OCH_3$ 인 화합물이 포함된다. 또한, 이러한 실시양태에서, 각각의 R_{1a} 는 독립적으로 F, Cl, 또는 -CN인 화합물이 포함된다.
- [0088] 한 실시양태는 각각의 R_a 는 독립적으로 H 또는 C_{1-2} 알킬인 화학식 (I)의 화합물 또는 그의 염을 제공한다. 이러한 실시양태에서, 각각의 R_a 는 독립적으로 H 또는 $-CH_3$ 인 화합물이 포함된다.
- [0089] 한 실시양태에서, R_2 는 H, 0 내지 2개의 R_{2a} 로 치환된 C_{1-2} 알킬, 또는 0 내지 2개의 R_{2a} 로 치환된 C_{2-3} 알케닐인 화학식 (I)의 화합물 또는 그의 염이 제공된다. 이러한 실시양태에서, R_2 는 H, $-CH_3$, $-CH_2CN$, $-CH_2CH_2F$, 또는 $-CH_2CH=CH_2$ 인 화합물이 포함된다. 또한 이러한 실시양태에서, R_2 는 H, $-CH_3$, $-CH_2CN$, 또는 $-CH_2CH_2F$ 인 화합물이 포함된다. 추가적으로, 이러한 실시양태에서, R_2 는 $-CH_3$ 인 화합물이 포함된다.
- [0090] 한 실시양태는 각각의 R_{2a} 는 독립적으로 F, Cl, -CN, -OH, $-O(C_{1-2}$ 알킬), 시클로프로필, C_{3-4} 알케닐, 또는 C_{3-4} 알키닐인 화학식 (I)의 화합물 또는 그의 염을 제공한다. 이러한 실시양태에서, 각각의 R_{2a} 는 독립적으로 F, Cl, -CN, -OH, $-OCH_3$, 또는 시클로프로필인 화합물이 포함된다.
- [0091] 한 실시양태에서, R_3 은 H, F, Cl, Br, -CN, C_{1-2} 알킬, C_{1-2} 플루오로알킬, C_{3-4} 시클로알킬, $-NO_2$, 또는 0 내지 2개의 R_{3a} 로 치환된 피리디닐인 화학식 (I)의 화합물 또는 그의 염이 제공된다. 이러한 실시양태에서, R_3 은 H, -CN, $-CH_2OH$, $-C(O)OCH_2CH_3$, $-NO_2$, 또는 피리디닐인 화합물이 포함된다. 또한 이러한 실시양태에서, R_3 은 H, -CN, $-CH_2OH$, 또는 $-NO_2$ 인 화합물이 포함된다. 추가로, 이러한 실시양태에서, R_3 은 H인 화합물이 포함된다.
- [0092] 한 실시양태는 X는 CR_6 또는 N이고; Y는 CR_3 이고; R_1 은 Cl이고; R_3 은 -CN인 화학식 (I)의 화합물 또는 그의 염을 제공한다. 이러한 실시양태에서, X는 CR_6 이고, Y는 CR_3 인 화합물이 포함된다. 또한, 이러한 실시양태에서, X는 N이고, Y는 CR_3 인 화합물이 포함된다.
- [0093] 한 실시양태는 X는 CR_6 또는 N이고; Y는 CR_3 이고; R_1 은 Br이고; R_3 은 -CN인 화학식 (I)의 화합물 또는 그의 염을 제공한다. 이러한 실시양태에서, X는 CR_6 이고, Y는 CR_3 인 화합물이 포함된다. 또한, 이러한 실시양태에서, X는 N이고, Y는 CR_3 인 화합물이 포함된다.
- [0094] 한 실시양태는 X는 CR_6 또는 N이고; Y는 CR_3 이고; R_1 은 -CN이고; R_3 은 H인 화학식 (I)의 화합물 또는 그의 염을 제공한다. 이러한 실시양태에서, X는 CR_6 이고, Y는 CR_3 인 화합물이 포함된다. 또한, 이러한 실시양태에서, X는 N이고, Y는 CR_3 인 화합물이 포함된다.
- [0095] 한 실시양태는 X는 CR_6 또는 N이고; Y는 CR_3 이고; R_1 은 F이고; R_3 은 $-NO_2$ 인 화학식 (I)의 화합물 또는 그의 염을 제공한다. 이러한 실시양태에서, X는 CR_6 이고, Y는 CR_3 인 화합물이 포함된다. 또한, 이러한 실시양태에서, X는 N이고, Y는 CR_3 인 화합물이 포함된다.
- [0096] 한 실시양태는 X는 CR_6 또는 N이고; Y는 CR_3 이고; R_1 은 $-OCH_3$ 이고; R_3 은 -CN인 화학식 (I)의 화합물 또는 그의 염을 제공한다. 이러한 실시양태에서, X는 CR_6 이고, Y는 CR_3 인 화합물이 포함된다. 또한, 이러한

실시양태에서, X는 N이고, Y는 CR₃인 화합물이 포함된다.

[0097] 한 실시양태는 X는 CR₆ 또는 N이고; Y는 CR₃이고; R₁은 -CN이고; R₃은 -CN인 화학식 (I)의 화합물 또는 그의 염을 제공한다. 이러한 실시양태에서, X는 CR₆이고, Y는 CR₃인 화합물이 포함된다. 또한, 이러한 실시양태에서, X는 N이고, Y는 CR₃인 화합물이 포함된다.

[0098] 한 실시양태는 X는 CR₆ 또는 N이고; Y는 CR₃이고; R₁은 -CN이고; R₃은 -NO₂인 화학식 (I)의 화합물 또는 그의 염을 제공한다. 이러한 실시양태에서, X는 CR₆이고, Y는 CR₃인 화합물이 포함된다. 또한, 이러한 실시양태에서, X는 N이고, Y는 CR₃인 화합물이 포함된다.

[0099] 한 실시양태는 X는 CR₆ 또는 N이고; Y는 CR₃이고; R₁은 -C(O)NH₂이고; R₃은 H인 화학식 (I)의 화합물 또는 그의 염을 제공한다. 이러한 실시양태에서, X는 CR₆이고, Y는 CR₃인 화합물이 포함된다. 또한, 이러한 실시양태에서, X는 N이고, Y는 CR₃인 화합물이 포함된다.

[0100] 한 실시양태는 X는 CR₆ 또는 N이고; Y는 CR₃이고; R₁은 -CN이고; R₃은 -CH₃인 화학식 (I)의 화합물 또는 그의 염을 제공한다. 이러한 실시양태에서, X는 CR₆이고, Y는 CR₃인 화합물이 포함된다. 또한, 이러한 실시양태에서, X는 N이고, Y는 CR₃인 화합물이 포함된다.

[0101] 한 실시양태는 X는 CR₆ 또는 N이고; Y는 CR₃이고; R₁은 -CN이고; R₃은 F인 화학식 (I)의 화합물 또는 그의 염을 제공한다. 이러한 실시양태에서, X는 CR₆이고, Y는 CR₃인 화합물이 포함된다. 또한, 이러한 실시양태에서, X는 N이고, Y는 CR₃인 화합물이 포함된다.

[0102] 한 실시양태는 X는 CR₆ 또는 N이고; Y는 CR₃이고; R₁은 -CN이고; R₃은 Cl인 화학식 (I)의 화합물 또는 그의 염을 제공한다. 이러한 실시양태에서, X는 CR₆이고, Y는 CR₃인 화합물이 포함된다. 또한, 이러한 실시양태에서, X는 N이고, Y는 CR₃인 화합물이 포함된다.

[0103] 한 실시양태는 X는 CR₆ 또는 N이고; Y는 CR₃이고; R₁은 -CN이고; R₃은 Br인 화학식 (I)의 화합물 또는 그의 염을 제공한다. 이러한 실시양태에서, X는 CR₆이고, Y는 CR₃인 화합물이 포함된다. 또한, 이러한 실시양태에서, X는 N이고, Y는 CR₃인 화합물이 포함된다. 이러한 실시양태에서, X는 CR₆이고, Y는 CR₃인 화합물이 포함된다. 또한, 이러한 실시양태에서, X는 N이고, Y는 CR₃인 화합물이 포함된다.

[0104] 한 실시양태는 X는 CR₆ 또는 N이고; Y는 CR₃이고; R₁은 Cl이고; R₃은 H인 화학식 (I)의 화합물 또는 그의 염을 제공한다. 이러한 실시양태에서, X는 CR₆이고, Y는 CR₃인 화합물이 포함된다. 또한, 이러한 실시양태에서, X는 N이고, Y는 CR₃인 화합물이 포함된다.

[0105] 한 실시양태는 R₄는 페닐, 피롤릴, 티아졸릴, 피라졸릴, 이미다졸릴, 옥사졸릴, 이속사졸릴, 옥사디아졸릴, 피리디닐, 피리다지닐, 피리미디닐, 피라지닐, 트리아지닐, 인돌릴, 인다졸릴, 나프탈레닐, 퀴놀리닐, 이소퀴놀리닐, 퀴나졸리닐, 벤조[d]옥사졸릴, 벤조티아졸릴, 이미다조[1,2-a]피리디닐, 이미다조[1,2-b]피리다지닐, 피라졸로[1,5-a]피리미디닐, 또는 티에노[3,2-b]피리디닐이고, 각각은 0 내지 3개의 R_{4a}로 각각 치환된 것인 화학식 (I)의 화합물 또는 그의 염을 제공한다. 이러한 실시양태에서, R₄는 페닐, 티아졸릴, 퀴놀리닐, 이소퀴놀리닐, 벤조[d]옥사졸릴, 벤조[d]티아졸릴, 이미다조[1,2-a]피리디닐, 이미다조[1,2-b]피리다지닐, 피라졸로[1,5-a]피리미디닐 또는 티에노[3,2-b]피리디닐이고, 각각은 0 내지 2개의 R_{4a}로 치환되는 것인 화합물이 포함된다.

[0106] 한 실시양태는 R₄는 페닐, 피롤릴, 티아졸릴, 피라졸릴, 이미다졸릴, 옥사졸릴, 이속사졸릴, 옥사디아졸릴, 피리디닐, 피리다지닐, 피리미디닐, 피라지닐, 트리아지닐, 인돌릴, 인다졸릴, 나프탈레닐, 퀴놀리닐, 이소퀴놀리닐, 퀴나졸리닐, 벤조[d]옥사졸릴, 벤조티아졸릴, 이미다조[1,2-a]피리디닐, 이미다조[1,2-b]피리다지닐, 피라졸로[1,5-a]피리미디닐, 또는 티에노[3,2-b]피리디닐이고, 각각은 0 내지 3개의 R_{4a}로 치환되고; 각각

의 R_{4a} 는 독립적으로 F, Cl, Br, -CN, -OH, C_{1-4} 알킬-(CH_2)₁₋₂O(C_{1-3} 알킬), C_{1-3} 알콕시, -O(CH)₁₋₂NR_cR_c, -C(O)(C_{1-3} 알킬), -C(O)OH, -C(O)O(C_{1-3} 알킬), -C(O)NH₂, -C(O)NH(C_{1-3} 알킬), -C(O)N(C_{1-3} 알킬)₂, -NR_cR_c, -NR_aS(O)₂(C_{1-2} 알킬), -NR_aC(O)(C_{1-2} 알킬), -NR_aC(O)O(C_{1-3} 알킬), -S(O)₂(C_{1-2} 알킬), -(CH₂)₀₋₃R_{4b}, -O(CH₂)₀₋₃R_{4b}, -NR_aR_{4b}, 또는 -C(O)R_{4b}이고, 여기서 각각의 상기 알킬 및 알콕시는 0 내지 6개의 R_{4c} 로 치환되고; R_{4b} 는 C_{3-6} 시클로알킬, 옥세타닐, 테트라히드로푸라닐, 테트라히드로피라닐, 피페리디닐, 피페라지닐, 모르폴리닐, 페닐, 푸라닐, 피라닐, 피롤릴, 피라졸릴, 이미다졸릴, 이속사졸릴, 옥사졸릴, 옥사디아졸릴, 트리아졸릴, 피리다지닐, 피리디닐, 피리미디닐, 피라지닐, 또는 트리아지닐이고, 각각은 0 내지 3개의 R_{4d} 로 치환되고; 각각의 R_{4c} 는 독립적으로 할로, -CN, -OH, -O(C_{1-2} 알킬), -O(C_{1-2} 플루오로알킬), 또는 -NR_aR_a이고; 각각의 R_{4d} 는 독립적으로 F, Cl, Br, -CN, -OH, C_{1-2} 알킬, C_{1-2} 플루오로알킬, C_{1-2} 알콕시, 또는 -NR_aR_a이고; 각각의 R_a 는 독립적으로 H 또는 C_{1-3} 알킬인 화학식 (I)의 화합물 또는 그의 염을 제공한다.

[0107] 한 실시양태는 R_4 는 페닐, 티아졸릴, 퀴놀리닐, 이소퀴놀리닐, 벤조[d]옥사졸릴, 벤조[d]티아졸릴, 이미다조[1,2-a]피리디닐, 이미다조[1,2-b]피리다지닐, 피라졸로[1,5-a]피리미디닐, 또는 티에노[3,2-b]피리디닐이고, 각각은 0 내지 2개의 R_{4a} 로 치환되고; 각각의 R_{4a} 는 독립적으로 F, Br, -OH, -CN, -CH₃, -CF₃, -OCH₃, -OCF₃, 또는 플루오로페닐인 화학식 (I)의 화합물 또는 그의 염을 제공한다.

[0108] 한 실시양태는 R_4 는 0 내지 4개의 R_{4a} 로 치환된 C_{6-10} 아릴인 화학식 (I)의 화합물 또는 그의 염을 제공한다. 이러한 실시양태에서, R_4 는 0 내지 3개의 R_{4a} 로 치환된 페닐인 화합물이 포함된다. 또한, 이러한 실시양태에서, R_4 는 0 내지 2개의 R_{4a} 로 치환된 페닐인 화합물이 포함된다.

[0109] 한 실시양태는 R_4 는 0 내지 4개의 R_{4a} 로 치환된 5- 내지 14-원 헤테로아릴인 화학식 (I)의 화합물 또는 그의 염을 제공한다. 이러한 실시양태에서, R_4 는 0 내지 4개의 R_{4a} 로 치환된 5- 내지 6-원 헤테로아릴인 화합물이 포함된다. 또한 이러한 실시양태에서, R_4 는 9- 내지 10-원 헤테로아릴인 화합물이 포함된다.

[0110] 한 실시양태는 R_{4a} 는 R_{4a} 는 각각 독립적으로 F, Cl, Br, -CN, -OH, C_{1-4} 알킬-(CH_2)₁₋₂O(C_{1-3} 알킬), C_{1-3} 알콕시, -O(CH)₁₋₂NR_cR_c, -C(O)(C_{1-3} 알킬), -C(O)OH, -C(O)O(C_{1-3} 알킬), -C(O)NH₂, -C(O)NH(C_{1-3} 알킬), -C(O)N(C_{1-3} 알킬)₂, -NR_cR_c, -NR_aS(O)₂(C_{1-2} 알킬), -NR_aC(O)(C_{1-2} 알킬), -NR_aC(O)O(C_{1-3} 알킬), -S(O)₂(C_{1-2} 알킬), -(CH₂)₀₋₃R_{4b}, -O(CH₂)₀₋₃R_{4b}, -NR_aR_{4b}, 또는 -C(O)R_{4b}이고, 여기서 각각의 상기 알킬 및 알콕시는 0 내지 6개의 R_{4c} 로 치환되고; R_{4b} 는 C_{3-6} 시클로알킬, 옥세타닐, 테트라히드로푸라닐, 테트라히드로피라닐, 피페리디닐, 피페라지닐, 모르폴리닐, 페닐, 푸라닐, 피라닐, 피롤릴, 피라졸릴, 이미다졸릴, 이속사졸릴, 옥사졸릴, 옥사디아졸릴, 트리아졸릴, 피리다지닐, 피리디닐, 피리미디닐, 피라지닐, 또는 트리아지닐이고, 각각은 0 내지 3개의 R_{4d} 로 치환되고; 각각의 R_{4c} 는 독립적으로 할로, -CN, -OH, -O(C_{1-2} 알킬), -O(C_{1-2} 플루오로알킬), 또는 -NR_aR_a이고; 각각의 R_{4d} 는 독립적으로 F, Cl, Br, -CN, -OH, C_{1-2} 알킬, C_{1-2} 플루오로알킬, C_{1-2} 알콕시, 또는 -NR_aR_a이고; 각각의 R_a 는 독립적으로 H 또는 C_{1-2} 알킬인 화학식 (I)의 화합물 또는 그의 염을 제공한다. 이러한 실시양태에서, 각각의 R_{4a} 는 독립적으로 F, Br, -OH, -CN, -CH₃, -CF₃, -OCH₃, -OCF₃, 또는 플루오로페닐인 화합물이 포함된다.

[0111] 한 실시양태는 m은 1, 2 또는 3인 화학식 (I)의 화합물 또는 그의 염을 제공한다. 이러한 실시양태에서, m은 0, 1 또는 2인 화합물이 포함된다. 또한, 이러한 실시양태에서, m은 1 또는 2인 화합물이 포함된다.

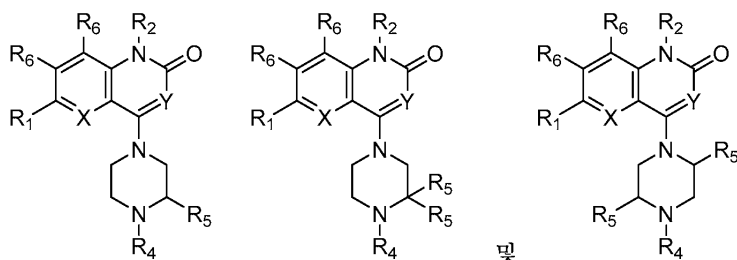
[0112] 한 실시양태는 m은 1, 2 또는 3이고; 각각의 R_5 는 독립적으로 F, -CN, -OH, 0 내지 4개의 R_g 로 치환된 C_{1-5} 알킬, 0 내지 3개의 R_g 로 치환된 C_{1-2} 알콕시, 0 내지 4개의 R_g 로 치환된 C_{2-3} 알케닐, 0 내지 4개의 R_g 로 치환된 C_{2-3} 알키닐, 0 내지 4개의 R_g 로 치환된 C_{3-4} 시클로알킬, 0 내지 3개의 R_g 로 치환된 페닐, 0 내지 3개의 R_g 로 치환된 옥사디아졸릴, 0 내지 3개의 R_g 로 치환된 피리디닐, -(CH₂)₁₋₂(0 내지 4개의 R_g 로 치환된 헤테로시클릴), -(CH₂)₁₋₂NR_cC(O)(C_{1-4} 알킬), -(CH₂)₁₋₂NR_cC(O)O(C_{1-4} 알킬), -(CH₂)₁₋₂NR_cS(O)₂(C_{1-4} 알킬), -C(O)(C_{1-4} 알킬), -C(O)OH, -C(O)O(C_{1-4} 알킬), -C(O)O(C_{3-4} 시클로알킬), -C(O)NR_aR_a, 또는 -C(O)NR_a(C_{3-4} 시클로알킬)인 화학식 (I)의 화합물 또는 그의 염을 제공한다. 이러한 실시양태에서, 각각의 R_5 는 독립적으로 수소, F, -CN, -OH, 0

내지 4개의 R_6 로 치환된 C_{1-2} 알킬, 또는 C_{1-2} 알콕시인 화합물이 포함된다. 또한, 이러한 실시양태에서, 각각의 R_5 는 독립적으로 수소, F, -OH, C_{1-2} 알킬, 또는 C_{1-2} 알콕시인 화합물이 포함된다. 추가로, 이러한 실시양태에서, 각각의 R_5 는 독립적으로 수소, -CH₃, 또는 -CH₂CH₃인 화합물이 포함된다.

[0113] 한 실시양태는 m은 1 또는 2이고; 각각의 R_5 는 독립적으로 수소, -CH₃, 또는 -CH₂CH₃인 화학식 (I)의 화합물 또는 그의 염을 제공한다.

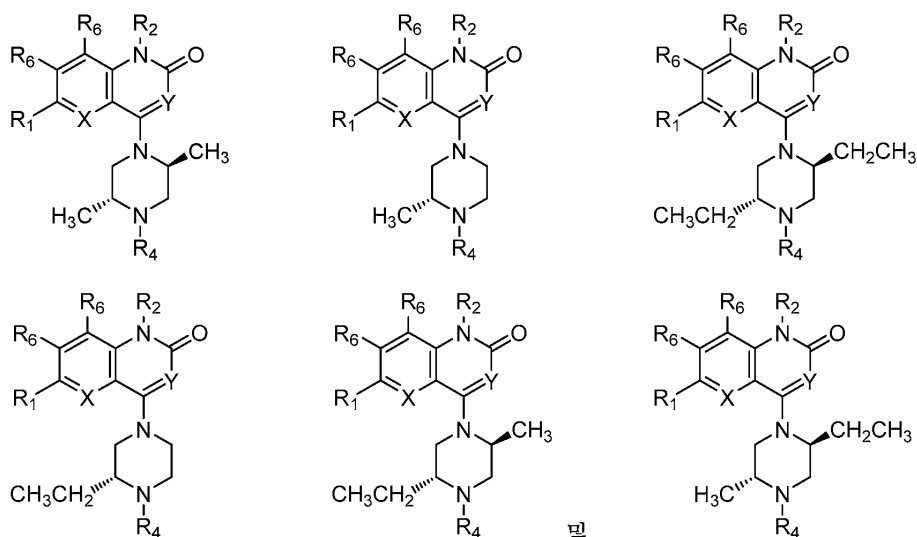
[0114] 한 실시양태는 m은 1이고; R_5 는 수소, F, -OH, C_{1-2} 알킬, 또는 C_{1-2} 알콕시인 화학식 (I)의 화합물 또는 그의 염을 제공한다.

[0115] 한 실시양태는 하기로부터 선택된 구조를 갖는 화학식 (I)의 화합물 또는 그의 염을 제공한다:



[0116]

[0117] 한 실시양태는 하기로부터 선택된 구조를 갖는 화학식 (I)의 화합물 또는 그의 염을 제공한다:



[0118]

[0119] 한 실시양태는 각각의 R_6 은 H, F, 또는 -CH₃인 화학식 (I)의 화합물 또는 그의 염을 제공한다. 이러한 실시양태에서, R_6 은 H인 화합물이 포함된다.

[0120] 한 실시양태는 하기와 같은 화학식 (I)의 화합물 또는 그의 염을 제공한다:

[0121] 4-((2S,5R)-2,5-디에틸-4-(4-(트리플루오로메틸)페닐)피페라진-1-일)-1-메틸-2-옥소-1,2-디히드로피리도[3,2-d]피리미딘-6-카르보닐트릴 (1);

[0122] 4-((2S,5R)-2,5-디에틸-4-(3-(트리플루오로메틸)페닐)피페라진-1-일)-1-메틸-2-옥소-1,2-디히드로피리도[3,2-d]피리미딘-6-카르보닐트릴 (2);

[0123] 4-((2S,5R)-5-에틸-4-(3-플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐)-2-메틸피페라진-1-일)-1-메틸-2-옥소-1,2-디히드로피리도[3,2-d]피리미딘-6-카르보닐트릴 (3);

[0124] 4-((2S,5R)-5-에틸-2-메틸-4-(4-(트리플루오로메톡시)페닐)피페라진-1-일)-1-메틸-2-옥소-1,2-디히드로피리도[3,2-d]피리미딘-6-카르보닐트릴 (4);

[0125] (S)-5-메틸-8-(2-메틸-4-(퀴놀린-8-일)피페라진-1-일)-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보닐트릴

(5);

- [0126] 8-((2S,5R)-4-(6-플루오로퀴놀린-8-일)-2,5-디메틸피페라진-1-일)-5-메틸-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보니트릴 (6);
- [0127] 8-((2S,5R)-2,5-디메틸-4-(티에노[3,2-b]피리딘-3-일)피페라진-1-일)-5-메틸-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보니트릴 (7);
- [0128] 8-((2S,5R)-4-(이미다조[1,2-b]피리다진-3-일)-2,5-디메틸피페라진-1-일)-5-메틸-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보니트릴 (8);
- [0129] (S)-5-메틸-8-(2-메틸-4-(퀴놀린-8-일)피페라진-1-일)-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보니트릴 (9);
- [0130] 8-((2S,5R)-4-(8-브로모-6-메틸퀴놀린-2-일)-2,5-디메틸피페라진-1-일)-5-메틸-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보니트릴 (10);
- [0131] 8-((2S,5R)-4-(이소퀴놀린-1-일)-2,5-디메틸피페라진-1-일)-5-메틸-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보니트릴 (11);
- [0132] 8-((2S,5R)-4-(4-브로모이소퀴놀린-1-일)-2,5-디메틸피페라진-1-일)-5-메틸-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보니트릴 (12);
- [0133] 8-((2S,5R)-4-(5-플루오로퀴놀린-8-일)-2,5-디메틸피페라진-1-일)-5-메틸-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보니트릴 (13);
- [0134] 8-((2S,5R)-4-(3-브로모피라졸로[1,5-a]피리미딘-5-일)-2,5-디메틸피페라진-1-일)-5-메틸-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보니트릴 (14);
- [0135] 8-((2S,5R)-2,5-디메틸-4-(7-(트리플루오로메틸)퀴놀린-4-일)피페라진-1-일)-5-메틸-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보니트릴 (15);
- [0136] 8-((2S,5R)-4-(5,7-디플루오로퀴놀린-4-일)-2,5-디메틸피페라진-1-일)-5-메틸-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보니트릴 (16);
- [0137] 8-((2S,5R)-2,5-디메틸-4-(퀴놀린-4-일)피페라진-1-일)-5-메틸-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보니트릴 (17);
- [0138] 8-((2S,5R)-4-(이미다조[1,2-a]피리딘-8-일)-2,5-디메틸피페라진-1-일)-5-메틸-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보니트릴 (18);
- [0139] 8-((2S,5R)-4-(이소퀴놀린-4-일)-2,5-디메틸피페라진-1-일)-5-메틸-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보니트릴 (19);
- [0140] 8-((2S,5R)-4-(벤조[d]옥사졸-7-일)-2,5-디메틸피페라진-1-일)-5-메틸-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보니트릴 (20);
- [0141] 8-((2S,5R)-4-(3-히드록시-6-(트리플루오로메톡시)퀴놀린-8-일)-2,5-디메틸피페라진-1-일)-5-메틸-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보니트릴 (21);
- [0142] 8-((2S,5R)-2,5-디메틸-4-(2-메틸퀴놀린-8-일)피페라진-1-일)-5-메틸-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보니트릴 (22);
- [0143] 8-((2S,5R)-4-(6-플루오로퀴놀린-4-일)-2,5-디메틸피페라진-1-일)-5-메틸-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보니트릴 (23);
- [0144] 8-((2S,5R)-4-(3-메톡시-6-메틸퀴놀린-8-일)-2,5-디메틸피페라진-1-일)-5-메틸-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보니트릴 (24);
- [0145] 8-((2S,5R)-4-(6-플루오로벤조[d]티아졸-2-일)-2,5-디메틸피페라진-1-일)-5-메틸-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보니트릴 (25);
- [0146] 8-((2S,5R)-4-(4-(4-플루오로페닐)티아졸-2-일)-2,5-디메틸피페라진-1-일)-5-메틸-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-

나프티리딘-2-카르보니트릴 (26); 또는

- [0147] 8-((2S,5R)-4-(4-(4-플루오로페닐)-2-메틸티아졸-5-일)-2,5-디메틸피페라진-1-일)-5-메틸-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보니트릴 (27).
- [0148] 본 발명은 본 발명의 취지 또는 본질적인 속성에서 벗어나지 않으면서 다른 구체적 형태로 구현될 수 있다. 본 발명은 본원에 언급된 본 발명의 측면 및/또는 실시양태의 모든 조합을 포함한다. 본 발명의 임의의 및 모든 실시양태가 임의의 다른 실시양태 또는 실시양태들과 함께 추가의 실시양태를 기재할 수 있는 것으로 이해된다. 또한, 실시양태의 각각의 개별 요소가 임의의 실시양태로부터의 임의의 및 모든 다른 요소와 조합되어 추가 실시양태를 기재하는 것으로 의도되는 것으로 이해된다.
- [0149] 정의
- [0150] 본 발명의 특징 및 이점은 하기 상세한 설명을 읽음으로써 통상의 기술자에 의해 보다 용이하게 이해될 수 있다. 명확성을 위해 개별 실시양태와 관련하여 상기 및 하기에 기재된 본 발명의 특정 특징이 또한 조합되어 단일 실시양태를 형성할 수 있음이 인지되어야 한다. 반대로, 간결성 이유로 단일 실시양태의 맥락으로 기재된 발명의 다양한 특징은 또한 그의 하위-조합을 형성하도록 조합될 수 있다. 본원에서 예시적이거나 또는 바람직한 것으로서 확인되는 실시양태는 예시하려는 의도이며, 제한하려는 의도가 아니다.
- [0151] 본 명세서에서 구체적으로 달리 언급되지 않는 한, 단수의 언급은 또한 복수를 포함할 수 있다. 예를 들어, 단수형은 하나 또는 하나 이상을 지칭할 수 있다.
- [0152] 본원에 사용된 어구 "화합물 및/또는 그의 염"은 적어도 1종의 화합물, 적어도 1종의 화합물의 염 또는 그의 조합을 지칭한다. 예를 들어, 화학식 (I)의 화합물 및/또는 그의 염은 화학식 (I)의 화합물; 화학식 (I)의 2종의 화합물; 화학식 (I)의 화합물의 염; 화학식 (I)의 화합물 및 화학식 (I)의 화합물의 1종 이상의 염; 및 화학식 (I)의 화합물의 2종 이상의 염을 포함한다.
- [0153] 달리 나타내지 않는 한, 충족되지 않은 원자가를 갖는 임의의 원자는 원자가를 충족시키기에 충분한 수소 원자를 갖는 것으로 가정된다.
- [0154] 본원에 기재된 정의는 본원에 참조로 포함된 임의의 특허, 특허 출원 및/또는 특허 출원 공개에 기재된 정의보다 우선한다.
- [0155] 본 발명을 기재하는데 사용된 다양한 용어의 정의를 하기에 열거한다. 이들 정의는 개별적으로 또는 보다 큰 군의 일부로서 (구체적인 경우에 달리 제한되지 않는 한) 명세서 전반에 걸쳐 사용된 것과 같이 용어에 적용된다.
- [0156] 본 명세서 전반에 걸쳐, 기 및 그의 치환기는 안정한 모이어티 및 화합물을 제공하도록 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 선택될 수 있다.
- [0157] 관련 기술분야에 사용된 규정에 따라,
- [0158] 
- [0159] 는 본원의 구조 화학식에서 코어 또는 백본 구조에 대한 모이어티 또는 치환기의 부착 지점인 결합을 도시하는데 사용된다.
- [0160] 본원에 사용된 용어 "할로" 및 "할로겐"은 F, Cl, Br 및 I를 지칭한다.
- [0161] 용어 "시아노"는 기 -CN을 지칭한다.
- [0162] 용어 "아미노"는 기 -NH₂를 지칭한다.
- [0163] 용어 "옥소"는 기 =O를 지칭한다.
- [0164] 본원에 사용된 용어 "알킬"은, 예를 들어 1 내지 12개의 탄소 원자, 1 내지 6개의 탄소 원자, 및 1 내지 4개의 탄소 원자를 함유하는 분지쇄 및 직쇄 포화 지방족 탄화수소 기 둘 다를 지칭한다. 알킬 기의 예는 메틸 (Me), 에틸 (Et), 프로필 (예를 들어, n-프로필 및 i-프로필), 부틸 (예를 들어, n-부틸, i-부틸, sec-부틸 및 t-부틸) 및 펜틸 (예를 들어, n-펜틸, 이소펜틸, 네오펜틸), n-헥실, 2-메틸펜틸, 2-에틸부틸, 3-메틸펜틸 및 4-메틸펜틸을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 숫자가 기호 "C" 다음에 아래첨자로 나타내어지는 경우에, 아

래첨자는 특정한 기가 함유할 수 있는 탄소 원자의 개수를 보다 구체적으로 정의한다. 예를 들어, " C_{1-4} 알킬"은 1 내지 4개의 탄소 원자를 갖는 직쇄 및 분지쇄 알킬 기를 나타낸다.

[0165] 본원에 사용된 용어 "플루오로알킬"은 1개 이상의 플루오린 원자로 치환된 분지쇄 및 직쇄 포화 지방족 탄화수소 기 둘 다를 포함하는 것으로 의도된다. 예를 들어, " C_{1-4} 플루오로알킬"은 1개 이상의 플루오린 원자로 치환된 C_1 , C_2 , C_3 , 및 C_4 알킬 기를 포함하는 것으로 의도된다. 플루오로알킬 기의 대표적인 예는 $-CF_3$ 및 $-CH_2CF_3$ 를 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

[0166] 용어 "히드록시알킬"은 1개 이상의 히드록실 기로 치환된 분지쇄 및 직쇄 포화 알킬 기 둘 다를 포함한다. 예를 들어, "히드록시알킬"은 $-CH_2OH$, $-CH_2CH_2OH$, 및 C_{1-4} 히드록시알킬을 포함한다.

[0167] 용어 "알케닐"은 2개 내지 12개의 탄소 원자 및 하나 이상의 탄소-탄소 이중 결합을 함유하는 직쇄 또는 분지쇄 탄화수소 라디칼을 나타낸다. 예시적인 이러한 기는 에테닐 또는 알릴을 포함한다. 예를 들어, " C_{2-6} 알케닐"은 2 내지 6개의 탄소 원자를 갖는 직쇄 및 분지쇄 알케닐 기를 나타낸다.

[0168] 용어 "알키닐"은 2 내지 12개의 탄소 원자 및 적어도 1개의 탄소 대 탄소 삼중 결합을 함유하는 직쇄 또는 분지쇄 탄화수소 라디칼을 지칭한다. 예시적인 이러한 기는 에티닐을 포함한다. 예를 들어, " C_{2-6} 알키닐"은 2 내지 6개의 탄소 원자를 갖는 직쇄 및 분지쇄 알키닐 기를 나타낸다.

[0169] 본원에 사용된 용어 "시클로알킬"은 포화 고리 탄소 원자로부터의 1개의 수소 원자의 제거에 의해 비-방향족 모노시클릭 또는 폴리시클릭 탄화수소 분자로부터 유도된 기를 지칭한다. 시클로알킬 기의 대표적인 예는 시클로프로필, 시클로펜틸 및 시클로헥실을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 숫자가 기호 "C" 다음에 아래첨자로 나타내어지는 경우에, 아래첨자는 특정한 시클로알킬 기가 함유할 수 있는 탄소 원자의 수를 보다 구체적으로 정의한다. 예를 들어, " C_{3-6} 시클로알킬"은 3 내지 6개의 탄소 원자를 갖는 시클로알킬 기를 나타낸다.

[0170] 본원에 사용된 용어 "플루오로시클로알킬"은 1개 이상의 플루오린 원자로 치환된 시클로알킬 기를 포함하는 것으로 의도된다.

[0171] 본원에 사용된 용어 "알콕시"는 산소 원자를 통해 모 분자 모이더티에 부착된 알킬 기, 예를 들어 메톡시 기 ($-OCH_3$)를 지칭한다. 예를 들어, " C_{1-3} 알콕시"는 1 내지 3개의 탄소 원자를 갖는 알콕시 기를 나타낸다.

[0172] 용어 "플루오로알콕시" 및 "-O(플루오로알킬)"은 산소 연결기 ($-O-$)를 통해 부착된 상기 정의된 바와 같은 플루오로알킬 기를 나타낸다. 예를 들어, " C_{1-4} 플루오로알콕시"는 C_1 , C_2 , C_3 , 및 C_4 플루오로알콕시 기를 포함하는 것으로 의도된다.

[0173] 용어 "카르보시클로", "카르보시클릭", 또는 "카르보시클릴"은 상호교환가능하게 사용될 수 있고, 모든 고리의 모든 원자가 탄소인 적어도 1개의 포화 또는 부분 포화 비-방향족 고리를 갖는 시클릭 기를 지칭한다. 카르보시클릴 고리는 비치환되거나 또는 원자가가 허용하는 바에 따라 1개 이상의 치환기를 함유할 수 있다. 따라서, 용어는 비방향족 고리, 예컨대 예를 들어 시클로알킬, 시클로알케닐, 및 시클로알키닐 고리를 포함한다. 예시적인 비시클릭 카르보시클릴 기는 인다닐, 인데닐, 디히드로나프탈레닐, 테트라히드로나프테닐, 헥사히드로나프탈레닐, 옥타히드로나프탈레닐, 데카히드로나프탈레닐, 비시클로헵타닐, 비시클로옥타닐, 및 비시클로노난일을 포함한다.

[0174] 본원에 사용된 용어 "아릴"은 방향족 고리(들)에 결합된 1개의 수소를 제거함으로써 방향족 고리(들)를 함유하는 분자로부터 유래된 원자의 기를 지칭한다. 아릴 기의 대표적인 예는 페닐 및 나프탈레닐을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 아릴 고리는 비치환될 수 있거나 또는 원자가가 허용하는 바에 따라 1개 이상의 치환기를 함유할 수 있다.

[0175] 본원에 사용된 용어 "벤질"은 수소 원자 중 1개가 페닐 기에 의해 대체된 메틸 기를 지칭한다. 페닐 고리는 비치환될 수 있거나 또는 원자가가 허용하는 바에 따라 1개 이상의 치환기를 함유할 수 있다.

[0176] 용어 "헤테로원자"는 산소 (O), 황 (S), 및 질소 (N)를 지칭한다.

[0177] 용어 "헤테로시클로", "헤테로시클릭" 또는 "헤테로시클릴"은 상호교환가능하게 사용될 수 있고, 적어도 1개의 포화 또는 부분 포화 비-방향족 고리를 갖는 시클릭 기를 지칭하며, 여기서 고리 중 1개 이상은 적어도 1개의 헤테로원자 (O, S 또는 N)를 갖고, 상기 헤테로원자 함유 고리는 바람직하게는 O, S 및/또는 N으로부터 독립적

으로 선택된 1 내지 3개의 헤테로원자를 갖는다. 헤테로원자를 함유하는 이러한 기의 고리는 1 또는 2개의 산소 또는 황 원자 및/또는 1 내지 4개의 질소 원자를 함유할 수 있으며, 단 각각의 고리 내의 헤테로원자의 총 개수는 4개 이하이고, 추가로 단 고리는 적어도 1개의 탄소 원자를 함유한다. 질소 및 황 원자는 임의로 산화될 수 있고, 질소 원자는 임의로 4급화될 수 있다. 헤테로시클로 기는 임의의 이용가능한 질소 또는 탄소 원자에서 부착될 수 있다. 헤테로시클로 고리는 비치환되거나 또는 원자가가 허용하는 바에 따라 1개 이상의 치환기를 함유할 수 있다.

[0178] 예시적인 모노시클릭 헤테로시클릭 기는 피롤리딘, 이미다졸리딘, 옥사졸리딘, 이속사졸리딘, 티아졸리딘, 이소티아졸리딘, 테트라히드로푸라린, 피페리딘, 피페라지린, 2-옥소피페라지린, 2-옥소피페리딘, 2-옥소피롤리딘, 2-옥소아제피린, 아제피린, 4-피페리도린, 테트라히드로피라린, 모르폴리딘, 티아모르폴리딘, 티아모르폴리딘 술폰, 1,3-디옥솔란, 테트라히드로-1,1-디옥소티에린, 디히드로이소인돌린, 및 테트라히드로퀴놀리딘을 포함한다.

[0179] 용어 "헤테로아릴"은 고리 중 적어도 1개에 적어도 1개의 헤테로원자 (O, S 또는 N)를 갖는 비치환 및 치환된 방향족 기를 지칭하며, 상기 헤테로원자-함유 고리는 바람직하게는 O, S, 및/또는 N으로부터 독립적으로 선택된 1, 2, 또는 3개의 헤테로원자를 갖는다. 헤테로원자를 함유하는 헤테로아릴 기의 각각의 고리는 1 또는 2개의 산소 또는 황 원자 및/또는 1 내지 4개의 질소 원자를 함유할 수 있으며, 단 각각의 고리 내의 헤테로원자의 총 개수는 4개 이하이고, 각각의 고리는 적어도 1개의 탄소 원자를 갖는다. 5- 내지 14-원 헤테로아릴 기는 5- 또는 6-원 모노시클릭 헤테로아릴 기, 9- 또는 10-원 비시클릭 헤테로아릴 기, 및 11 내지 14-원 트리시클릭 헤테로아릴 기를 포함한다. 비시클릭 기 및 트리시클릭 헤테로아릴 기를 완성하는 융합된 고리는 방향족이고, 탄소 원자만을 함유할 수 있다. 질소 및 황 원자는 임의로 산화될 수 있고, 질소 원자는 임의로 4급화될 수 있다. 비시클릭 및 트리시클릭 헤테로아릴 기는 방향족 고리만을 포함해야 한다. 헤테로아릴 기는 임의의 고리의 임의의 가능한 질소 또는 탄소 원자에 부착될 수 있다. 헤테로아릴 고리계는 비치환될 수 있거나 또는 1개 이상의 치환기를 함유할 수 있다.

[0180] 예시적인 모노시클릭 헤테로아릴 기는 피롤린, 피라졸린, 피라졸리딘, 이미다졸린, 옥사졸린, 이속사졸린, 티아졸린, 티아디아졸린, 이소티아졸린, 푸라린, 티오펜, 옥사디아졸린, 피리딘, 피라지린, 피리미디딘, 피리다지린, 및 트리아지린을 포함한다.

[0181] 예시적인 비시클릭 헤테로아릴 기는 인돌린, 벤조티아졸린, 벤조디옥솔린, 벤조사졸린, 벤조티에린, 퀴놀리딘, 테트라히드로이소퀴놀리딘, 이소퀴놀리딘, 벤즈이미다졸린, 벤조피라린, 인돌리지딘, 벤조푸라린, 크로모닌, 쿠마리딘, 벤조피라린, 신놀리딘, 퀴놀살리딘, 인다졸린, 및 피롤로피리딘을 포함한다.

[0182] 예시적인 트리시클릭 헤테로아릴 기는 아크리디딘, 벤조퀴놀리딘, 벤조이소퀴놀리딘, 및 벤조나프티리디딘을 포함한다.

[0183] 어구 "제약상 허용되는"은, 합리적인 이익/위험 비에 상응하여 과도한 독성, 자극, 알러지 반응 또는 다른 문제점 또는 합병증이 없이 인간 및 동물의 조직과 접촉하여 사용하기에 적합한 타당한 의학적 판단의 범주 내의 이들 화합물, 물질, 조성물 및/또는 투여 형태를 지칭하는 것으로 본원에 사용된다.

[0184] 화학식 (I)의 화합물은 염을 형성할 수 있으며, 이는 또한 본 발명의 범주 내에 있다. 달리 나타내지 않는 한, 본 발명의 화합물에 대한 언급은 그의 1종 이상의 염에 대한 언급을 포함하는 것으로 이해된다. 용어 "염(들)"은 무기 및/또는 유기 산 및 염기에 의해 형성된 산성 및/또는 염기성 염을 나타낸다. 또한, 용어 "염(들)"은, 예를 들어 화학식 (I)의 화합물이 염기성 모이어티, 예컨대 아민 또는 피리딘 또는 이미다졸 고리, 및 산성 모이어티, 예컨대 카복실산 둘 다를 함유하는 경우에 쯔비터이온 (내부 염)을 포함할 수 있다. 제약상 허용되는 (즉, 비-독성, 생리학상 허용되는) 염, 예컨대 예를 들어 양이온이 염의 독성 또는 생물학적 활성에 유의하게 기여하지 않는, 허용되는 금속 및 아민 염이 바람직하다. 그러나, 다른 염이 예를 들어 제조 동안 사용될 수 있는 단리 또는 정제 단계에서 유용할 수 있으며, 따라서 이는 본 발명의 범위 내로 고려된다. 화학식 (I)의 화합물의 염은, 예를 들어 화학식 (I)의 화합물을 매질, 예컨대 염이 침전되는 매질 또는 수성 매질 중에서 특정량, 예컨대 등량의 산 또는 염기와 반응시킨 후 동결건조함으로써 형성될 수 있다.

[0185] 예시적인 산 부가염은 아세테이트 (예컨대 아세트산 또는 트리할로아세트산, 예를 들어 트리플루오로아세트산으로 형성된 염), 아디페이트, 알기네이트, 아스코르베이트, 아스파르테이트, 벤조에이트, 벤젠술포네이트, 비스ulfate, 보레이트, 부티레이트, 시트레이트, 캄포레이트, 캄포르술포네이트, 시클로펜탄프로피오네이트, 디글루코네이트, 도데실술포네이트, 에탄술포네이트, 푸마레이트, 글루코헵타노에이트, 글리세로포스페이트, 헤미수페이트

트, 헵타노에이트, 헥사노에이트, 히드로클로라이드 (염산으로 형성됨), 히드로브로마이드 (브로민화수소로 형성됨), 히드로아이오다이드, 말레에이트 (말레산으로 형성됨), 2-히드록시에탄술포네이트, 락테이트, 메탄술포네이트 (메탄술폰산으로 형성됨), 2-나프탈렌술포네이트, 니코티네이트, 옥살레이트, 펙티네이트, 퍼슬페이트, 3-페닐프로피오네이트, 포스페이트, 피크레이트, 피발레이트, 프로피오네이트, 살리실레이트, 숙시네이트, 술페이트 (예컨대 황산으로 형성된 염), 술포네이트 (예컨대 본원에 언급된 염), 타르트레이트, 티오시아네이트, 톨루엔술포네이트, 예컨대 토실레이트, 운테카노에이트 등을 포함한다.

[0186] 예시적인 염기성 염은 암모늄 염, 알칼리 금속 염, 예컨대 나트륨, 리튬, 및 칼륨 염; 알칼리 토금속 염, 예컨대 칼슘 및 마그네슘 염; 바륨, 아연, 및 알루미늄 염; 유기 염기 (예를 들어, 유기 아민), 예컨대 트리알킬아민, 예컨대 트리에틸아민, 프로카인, 디벤질아민, N-벤질-β-페네틸아민, 1-에페나민, N,N'-디벤질에틸렌-디아민, 테히드로아비에틸아민, N-에틸피페리딘, 벤질아민, 디시클로헥실아민 또는 유사한 제약상 허용되는 아민과의 염 및 아미노산, 예컨대 아르기닌, 리신과의 염 등을 포함한다. 염기성 질소-함유 기는 저급 알킬 할라이드 (예를 들어, 메틸, 에틸, 프로필 및 부틸 클로라이드, 브로마이드 및 아이오다이드), 디알킬 술페이트 (예를 들어, 디메틸, 디에틸, 디부틸 및 디아밀 술페이트), 장쇄 할라이드 (예를 들어, 데실, 라우릴, 미리스틸 및 스테아릴 클로라이드, 브로마이드 및 아이오다이드), 아르알킬 할라이드 (예를 들어, 벤질 및 페네틸 브로마이드) 등과 같은 작용제로 4급화될 수 있다. 바람직한 염은 모노히드로클로라이드, 히드로겐술페이트, 메탄술포네이트, 포스페이트 또는 니트레이트 염을 포함한다.

[0187] 화학식 (I)의 화합물은 무정형 고체 또는 결정질 고체로서 제공될 수 있다. 동결건조가 화학식 (I)의 화합물을 고체로 제공하기 위해 사용될 수 있다.

[0188] 또한 화학식 (I)의 화합물의 용매화물 (예를 들어, 수화물)이 또한 본 발명의 범주 내에 있는 것으로 이해되어야 한다. 용어 "용매화물"은 유기 또는 무기든지 1개 이상의 용매 분자와 화학식 (I)의 화합물과의 물리적 회합물을 의미한다. 이러한 물리적 회합은 수소 결합을 포함한다. 특정 예에서, 용매화물은 예를 들어, 하나 이상의 용매 분자가 결정 고체의 결정 격자 내에 포함된 경우 단리될 수 있을 것이다. "용매화물"은 용액-상 및 단리가 가능한 용매화물 둘 다를 포괄한다. 예시적인 용매화물은 수화물, 에탄올레이트, 메탄올레이트, 이소프로판올레이트, 아세토니트릴 용매화물과 에틸 아세테이트 용매화물을 포함한다. 용매화의 방법은 관련 기술분야에 공지되어 있다.

[0189] 전구약물의 다양한 형태는 관련 기술분야에 널리 공지되어 있으며, 문헌 [Rautio, J. et al., Nature Review Drug Discovery, 17, 559-587 (2018)]에 기재되어 있다.

[0190] 또한, 화학식 (I)의 화합물을, 그의 제조에 후속하여 단리 및 정제하여 중량 기준으로 99% 이상의 양의 ("실질적으로 순수한") 화학식 (I)의 화합물을 함유하는 조성물을 수득할 수 있고, 이어서 이는 본원에 기재된 바와 같이 사용되거나 제제화된다. 이러한 "실질적으로 순수한" 화학식 (I)의 화합물은 또한 본원에서 본 발명의 일부로서 고려된다.

[0191] "안정한 화합물" 및 "안정한 구조"는, 반응 혼합물로부터 유용한 정도의 순도로의 단리를 견디고 효과적인 치료제로 제제화되기에 충분히 강건한 화합물을 나타내는 것으로 의도된다. 본 발명은 안정한 화합물을 실시하는 것으로 의도된다.

[0192] "치료 유효량"은 본 발명의 화합물 단독의 양 또는 청구된 화합물의 조합물의 양 또는 DGK α 및/또는 DGK ζ의 억제제로서 작용하기에 효과적이거나 또는 바이러스 감염 및 증식성 질환, 예컨대 암을 치료하거나 예방하는데 효과적인 다른 활성 성분과 조합된 본 발명의 화합물의 양을 포함하도록 의도된다.

[0193] 본원에 사용된 "치료하는" 또는 "치료"는 포유동물에서, 특히 인간에서 질환-상태의 치료를 포함하고, (a) 포유동물에서, 특히 이러한 포유동물이 질환-상태의 소인이 있지만 아직 이것을 갖는 것으로 진단되지 않은 경우에, 질환-상태의 발병을 예방하는 것; (b) 질환-상태를 억제하는 것, 즉 그의 진행을 저지하는 것; 및/또는 (c) 질환-상태를 경감시키는 것, 즉 질환 상태의 퇴행을 유발하는 것을 포함한다.

[0194] 본 발명의 화합물은 본 발명의 화합물에서 발생하는 원자의 모든 동위원소를 포함하는 것으로 의도된다. 동위원소는 동일한 원자 번호를 갖지만 상이한 질량수를 갖는 원자를 포함한다. 일반적인 예로서 및 제한 없이, 수소의 동위원소는 중수소 (D) 및 삼중수소 (T)를 포함한다. 탄소의 동위원소는 ¹³C 및 ¹⁴C를 포함한다. 본 발명의 동위원소-표지된 화합물은 일반적으로 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 통상의 기술에 의해 또는 본원에 기재된 것과 유사한 방법에 의해, 비-표지된 시약 대신에 달리 사용되는 적절한 동위원소-표지된 시약을

사용하여 제조될 수 있다.

- [0195] 화학식 (I)에 따른 화합물 및/또는 그의 제약상 허용되는 염은 치료할 상태에 적합한 임의의 수단에 의해 투여될 수 있으며, 이는 부위-특이적 치료에 대한 필요 또는 전달하려는 화학식 (I) 화합물의 양에 따라 달라질 수 있다.
- [0196] 또한, 본 발명은 화학식 (I)의 화합물 및/또는 그의 제약상 허용되는 염; 및 1종 이상의 비-독성의 제약상 허용되는 담체 및/또는 희석제 및/또는 아주반트 (본원에서 집합적으로 "담체" 물질로서 지칭됨), 및 원하는 경우에 다른 활성 성분을 포함하는 제약 조성물의 부류를 포괄한다. 화학식 (I)의 화합물은 임의의 적합한 경로에 의해, 바람직하게는 이러한 경로에 적합한 제약 조성물의 형태로, 및 의도된 치료에 유효한 용량으로 투여될 수 있다. 본 발명의 화합물 및 조성물은, 예를 들어 통상의 제약상 허용되는 담체, 아주반트 및 비히클을 함유하는 투여 단위 제제로, 경구로, 점막으로, 또는 비경구로, 예컨대 혈관내로, 정맥내로, 복강내로, 피하로, 근육내로 및 흉골내로 투여될 수 있다. 예를 들어, 제약 담체는 만니톨 또는 락토스 및 미세결정질 셀룰로스의 혼합물을 함유할 수 있다. 혼합물은 추가의 성분 예컨대 윤활제, 예를 들어 스테아르산마그네슘 및 붕해제 예컨대 크로스포비돈을 함유할 수 있다. 담체 혼합물은 젤라틴 캡슐 내로 충전되거나 또는 정제로서 압축될 수 있다. 제약 조성물은, 예를 들어 경구 투여 형태 또는 주입으로 투여될 수 있다.
- [0197] 경구 투여를 위해, 제약 조성물은, 예를 들어 정제, 캡슐, 액체 캡슐, 현탁액 또는 액체의 형태일 수 있다. 제약 조성물은 바람직하게는 특정한 양의 활성 성분을 함유하는 투여 단위 형태로 제조된다. 예를 들어, 제약 조성물은 약 0.1 내지 1000 mg, 바람직하게는 약 0.25 내지 250 mg, 보다 바람직하게는 약 0.5 내지 100 mg 범위 양의 활성 성분을 포함하는 정제 또는 캡슐로서 제공될 수 있다. 인간 또는 다른 포유동물에 적합한 1일 용량은 환자의 상태 및 다른 인자에 따라 광범위하게 달라질 수 있지만, 상용 방법을 사용하여 결정될 수 있다.
- [0198] 본원에서 고려되는 임의의 제약 조성물은, 예를 들어 임의의 허용되고 적합한 경구 제제를 통해 경구로 전달될 수 있다. 예시적인 경구 제제는, 예를 들어 정제, 트로키, 로젠지, 수성 및 유성 현탁액, 분산성 분말 또는 파립, 에멀전, 경질 및 연질 캡슐, 액체 캡슐, 시럽 및 엘릭시르를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 경구 투여를 위해 의도되는 제약 조성물은 경구 투여를 위해 의도되는 제약 조성물을 제조하는 것에 대한 관련 기술분야에 공지된 임의의 방법에 따라 제조될 수 있다. 제약상 맞추수한 제제를 제공하기 위해, 본 발명에 따른 제약 조성물은 감미제, 향미제, 착색제, 완화제, 항산화제 및 보존제로부터 선택된 적어도 1종의 작용제를 함유할 수 있다.
- [0199] 정제는, 예를 들어 화학식 (I)의 적어도 1종의 화합물 및/또는 그의 적어도 1종의 제약상 허용되는 염을 정제의 제조에 적합한 적어도 1종의 비-독성 제약상 허용되는 부형제와 혼합함으로써 제조될 수 있다. 예시적인 부형제는, 예를 들어 불활성 희석제, 예컨대 예를 들어 탄산칼슘, 탄산나트륨, 락토스, 인산칼슘 및 인산나트륨; 파립화제 및 붕해제, 예컨대 예를 들어 미세결정질 셀룰로스, 소듐 크로스카르멜로스, 옥수수 전분 및 알긴산; 결합제, 예컨대 예를 들어 전분, 젤라틴, 폴리비닐-피롤리돈 및 아카시아; 및 윤활제, 예컨대 예를 들어 스테아르산마그네슘, 스테아르산 및 활석을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 추가적으로, 정제는 비코팅되거나, 또는 불쾌한 맛의 약물의 나쁜 맛을 차폐하거나 또는 위장관에서 활성 성분의 붕해 및 흡수를 지연시켜 이에 의해 활성 성분의 효과를 더 장기간 동안 지속시키기 위해 공지된 기술에 의해 코팅될 수 있다. 예시적인 수용성 맛 차폐 물질은 히드록시프로필-메틸셀룰로스 및 히드록시프로필-셀룰로스를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 예시적인 시간 지연 물질은 에틸 셀룰로스 및 셀룰로스 아세테이트 부티레이트를 포함하나 이에 제한되지는 않는다.
- [0200] 경질 젤라틴 캡슐은, 예를 들어 화학식 (I)의 적어도 1종의 화합물 및/또는 그의 적어도 1종의 염을 적어도 1종의 불활성 고체 희석제, 예컨대 예를 들어, 탄산칼슘; 인산칼슘; 및 카올린과 혼합함으로써 제조될 수 있다.
- [0201] 연질 젤라틴 캡슐은, 예를 들어 화학식 (I)의 적어도 1종의 화합물 및/또는 그의 적어도 1종의 제약상 허용되는 염을 적어도 1종의 수용성 담체, 예컨대 예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜; 및 적어도 1종의 오일 매질, 예컨대 예를 들어, 땅콩 오일, 액상 파라핀 및 올리브 오일과 혼합함으로써 제조될 수 있다.
- [0202] 수성 현탁액은, 예를 들어 화학식 (I)의 적어도 1종의 화합물 및/또는 그의 적어도 1종의 제약상 허용되는 염을 수성 현탁액의 제조에 적합한 적어도 1종의 부형제와 혼합함으로써 제조될 수 있다. 수성 현탁액의 제조에 적합한 예시적인 부형제는, 예를 들어 현탁화제, 예컨대 예를 들어, 소듐 카르복시메틸셀룰로스, 메틸셀룰로스, 히드록시프로필-메틸셀룰로스, 알긴산나트륨, 알긴산, 폴리비닐-피롤리돈, 트라가칸트 검 및 아카시아 검; 분산화제 또는 습윤화제, 예컨대 예를 들어, 자연-발생 포스포티드, 예를 들어, 레시틴; 알킬렌 옥시드와 지방산과

의 축합 생성물, 예컨대 예를 들어, 폴리옥시에틸렌 스테아레이트; 알콜 에틸렌 옥시드와 장쇄 지방족 알콜과의 축합 생성물, 예컨대 예를 들어 헵타데카에틸렌-옥시세탄올; 지방산 및 헥시톨로부터 유래된 부분 에스테르와 에틸렌 옥시드와의 축합 생성물, 예컨대 예를 들어, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 모노올레에이트; 및 지방산 및 헥시톨 무수물로부터 유래된 부분 에스테르와 에틸렌 옥시드와의 축합 생성물, 예컨대 예를 들어, 폴리에틸렌 소르비탄 모노올레에이트를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 수성 현탁액은 또한 적어도 1종의 보존제, 예컨대 예를 들어, 에틸 및 n-프로필 p-히드록시벤조에이트; 적어도 1종의 착색제; 적어도 1종의 향미제; 및/또는 적어도 1종의 감미제, 예컨대 비제한적으로 예를 들어 수크로스, 사카린 및 아스파르탐을 함유할 수 있다.

[0203] 유성 현탁액은, 예를 들어 화학식 (I)의 적어도 1종의 화합물 및/또는 그이 적어도 1종의 제약상 허용되는 염을 식물성 오일, 예컨대 예를 들어, 아라키스 오일; 올리브 오일; 참깨 오일; 및 코코넛 오일 중에; 또는 미네랄 오일, 예컨대 예를 들어, 액상 파라핀 중에 현탁화시킴으로써 제조될 수 있다. 유성 현탁액은 또한 적어도 1종의 증점제, 예컨대 예를 들어, 밀랍; 경질 파라핀; 및 세틸 알콜을 포함할 수 있다. 맛우수한 유성 현탁액을 제공하기 위해, 상기 이미 기재된 적어도 1종의 감미제 및/또는 적어도 1종의 향미제가 유성 현탁액에 첨가될 수 있다. 유성 현탁액은 적어도 1종의 보존제, 예컨대 비제한적으로 예를 들어, 항산화제, 예컨대 예를 들어, 부틸화 히드록시아니솔 및 알파-토코페롤을 추가로 함유할 수 있다.

[0204] 분산성 분말 및 과립은, 예를 들어 화학식 (I)의 적어도 1종의 화합물 및/또는 그의 적어도 1종의 제약상 허용되는 염을 적어도 1종의 분산화제 및/또는 습윤화제; 적어도 1종의 현탁화제; 및/또는 적어도 1종의 보존제와 혼합함으로써 제조될 수 있다. 적합한 분산화제, 습윤화제 및 현탁화제는 상기 이미 기재된 바와 같다. 예시적인 보존제는, 예를 들어 항산화제, 예를 들어, 아스코르브산을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 또한, 분산성 분말 및 과립은 또한 적어도 1종의 부형제, 예컨대 비제한적으로 예를 들어, 감미제; 향미제; 및 착색제를 함유할 수 있다.

[0205] 화학식 (I)의 적어도 1종의 화합물 및/또는 그의 적어도 1종의 제약상 허용되는 염의 에멀전은, 예를 들어 수중 유 에멀전으로서 제조될 수 있다. 화학식 (I)의 화합물을 포함하는 에멀전의 유성 상은 공지된 성분으로부터 공지된 방식으로 구성될 수 있다. 유성 상은 비제한적으로 예를 들어, 식물성 오일, 예컨대 예를 들어, 올리브 오일 및 아라키스 오일; 미네랄 오일, 예컨대 예를 들어, 액상 파라핀; 및 그의 혼합물에 의해 제공될 수 있다. 상이 단지 유화제만을 포함할 수 있는 경우에, 이는 적어도 1종의 유화제와 지방 또는 오일과의 또는 지방 및 오일 둘 다와의 혼합물을 포함할 수 있다. 적합한 유화제는, 예를 들어 자연-발생 포스포티드, 예를 들어, 대두 레시틴; 지방산 및 헥시톨 무수물로부터 유래된 에스테르 또는 부분 에스테르, 예컨대 예를 들어, 소르비탄 모노올레에이트; 및 부분 에스테르와 에틸렌 옥시드와의 축합 생성물, 예컨대 예를 들어, 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노올레에이트를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 바람직하게는, 친수성 유화제는 안정제로서 작용하는 친유성 유화제와 함께 포함된다. 오일 및 지방 둘 다를 포함하는 것이 또한 바람직하다. 동시에, 유화제(들)는 안정화제(들)와 함께 또는 이들 없이 소위 유화 왁스를 형성하고, 왁스는 오일 및 지방과 함께 소위 유화 연고 베이스를 제조하며 이는 크림 제제의 유성 분산 상을 형성한다. 에멀전은 또한 감미제, 향미제, 보존제 및/또는 항산화제를 함유할 수 있다. 본 발명의 제제에 사용하기 위해 적합한 유화제 및 에멀전 안정화제는 트윈(Tween) 60, 스펀(Span) 80, 세토스테아릴 알콜, 미리스틸 알콜, 글리세릴 모노스테아레이트, 나트륨 라우릴 술페이트, 글리세릴 디스테아레이트를 단독으로, 또는 왁스 또는 관련 기술분야에 널리 공지된 다른 물질과 함께 포함한다.

[0206] 화학식 (I)의 화합물 및/또는 그의 적어도 1종의 제약상 허용되는 염은, 예를 들어 정맥내로, 피하로 및/또는 근육내로 임의의 제약상 허용되는 및 적합한 주사가능한 형태를 통해 또한 전달될 수 있다. 예시적인 주사가능한 형태는, 예를 들어 허용되는 비히클 및 용매, 예컨대 예를 들어, 물, 링거 용액 및 등장성 염화나트륨 용액을 포함하는 멸균 수용액; 멸균 수중유 마이크로에멀전; 및 수성 또는 유성 현탁액을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

[0207] 비경구 투여용 제제는 수성 또는 비-수성 등장성 멸균 주사 용액 또는 현탁액의 형태일 수 있다. 이들 용액 및 현탁액은 경구 투여용 제제에서의 사용을 위해 언급된 담체 또는 희석제 중 하나 이상을 사용하거나, 또는 다른 적합한 분산화제 또는 습윤화제 및 현탁화제를 사용함으로써 멸균 분말 또는 과립으로부터 제조될 수 있다. 혼합물은 물, 폴리에틸렌 글리콜, 프로필렌 글리콜, 에탄올, 옥수수 오일, 목화씨 오일, 땅콩 오일, 참깨 오일, 벤질 알콜, 염화나트륨, 트라가칸트 겔 및/또는 다양한 완충제 중에 용해될 수 있다. 다른 보조제 및 투여 방식은 제약 기술분야에 널리 광범위하게 공지되어 있다. 활성 성분은 또한 식염수, 텍스트로스 또는 물을 비롯한 적합한 담체, 또는 시클로텍스트린 (즉, 캡티솔(Captisol)), 공용매 가용화제 (즉, 프로필렌 글리콜) 또는

미셀 가용화제 (즉, 트윈 80)와의 조성물로서 주사 투여될 수 있다.

- [0208] 멸균 주사가 가능한 제제는 또한 비-독성 비경구로 허용되는 회석제 또는 용매 중의 멸균 주사가 가능한 용액 또는 현탁액, 예를 들어 1,3-부탄디올 중의 용액일 수 있다. 이들 중 사용될 수 있는 허용 가능한 비히클 및 용매는 물, 링거 용액 및 등장성 염화나트륨 용액이다. 또한, 멸균 고정 오일이 용매 또는 현탁 매질로서 통상적으로 사용된다. 본원의 목적을 위해, 임의의 무자극성(bland) 고정 오일이 사용될 수 있으며, 이는 합성 모노- 또는 디글리세리드를 포함한다. 또한, 올레산과 같은 지방산이 주사가 가능한 제제의 제조에 사용된다.
- [0209] 멸균 주사가 가능한 수중유 마이크로에멀전은, 예를 들어 1) 화학식 (I)의 적어도 1종의 화합물을 유성 상, 예컨대 예를 들어, 대두 오일 및 레시틴의 혼합물 중에 용해시키고; 2) 화학식 (I) 함유 유성 상을 물 및 글리세롤 혼합물과 조합하고; 3) 조합물을 처리하여 마이크로에멀전을 형성함으로써 제조될 수 있다.
- [0210] 멸균 수성 또는 유성 현탁액은 관련 기술분야에 이미 공지된 방법에 따라 제조될 수 있다. 예를 들어, 멸균 수용액 또는 현탁액은 비-독성의 비경구로 허용되는 회석제 또는 용매, 예컨대 예를 들어, 1,3-부탄 디올과 함께 제조될 수 있고; 멸균 유성 현탁액은 멸균 비-독성의 허용 가능한 용매 또는 현탁 매질, 예컨대 예를 들어, 멸균 고정 오일, 예를 들어, 합성 모노- 또는 디글리세리드; 및 지방산, 예컨대 예를 들어, 올레산과 함께 제조될 수 있다.
- [0211] 본 발명의 제약 조성물에 사용될 수 있는 제약상 허용되는 담체, 아주반트 및 비히클은 이온 교환체, 알루미늄, 스테아르산알루미늄, 레시틴, 자기-유화 약물 전달 시스템 (SEDDS), 예컨대 d-알파-토코페롤 폴리메틸렌글리콜 1000 숙시네이트, 제약 투여 형태에 사용되는 계면활성제, 예컨대 트윈, 폴리옥틸화 피마자 오일, 예컨대 크레모포르(CREMOPHOR) 계면활성제 (바스프(BASF)), 또는 다른 유사한 중합체 전달 매트릭스, 혈청 단백질, 예컨대 인간 혈청 알부민, 완충제 물질, 예컨대 포스페이트, 글리신, 소르브산, 소르브산칼륨, 포화 식물성 지방산, 물, 염 또는 전해질의 부분 글리세리드 혼합물, 예컨대 프로타민 술페이트, 인산수소이나트륨, 인산수소칼륨, 염화나트륨, 아연 염, 콜로이드성 실리카, 삼규산마그네슘, 폴리비닐 피롤리돈, 셀룰로스-기재 물질, 폴리메틸렌 글리콜, 소듐 카복시메틸셀룰로스, 폴리아크릴레이트, 왁스, 폴리메틸렌-폴리옥시프로필렌-블록 중합체, 폴리메틸렌 글리콜 및 양모 지방을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 시클로덱스트린, 예컨대 알파-, 베타- 및 감마-시클로덱스트린, 또는 화학적으로 개질된 유도체, 예컨대 히드록시알킬시클로덱스트린, 예컨대 2- 및 3-히드록시프로필-시클로덱스트린, 또는 다른 가용화된 유도체가 또한 본원에 기재된 화학식의 화합물의 전달을 증진시키는데 유리하게 사용될 수 있다.
- [0212] 본 발명의 제약 활성 화합물을 제약학의 통상의 방법에 따라 가공하여 인간 및 다른 포유동물을 비롯한 환자에게 투여하기 위한 의약을 제조할 수 있다. 제약 조성물은 통상적인 제약 작업, 예컨대 멸균에 적용될 수 있고/거나 통상적인 아주반트, 예컨대 보존제, 안정화제, 습윤화제, 유화제, 완충제 등을 함유할 수 있다. 정제 및 환제는 추가적으로 장용 코팅을 갖도록 제조될 수 있다. 이러한 조성물은 또한 아주반트, 예컨대 습윤화제, 감미제, 향미제 및 방향제를 포함할 수 있다.
- [0213] 본 발명의 화합물 및/또는 조성물로 질환 상태를 치료하기 위해 투여되는 화합물의 양 및 투여 요법은 대상체의 연령, 체중, 성별, 의학적 상태, 질환의 유형, 질환의 중증도, 투여 경로 및 빈도, 및 사용된 특정한 화합물을 비롯한 다양한 인자에 따라 좌우된다. 따라서, 투여 요법은 광범위하게 달라질 수 있으나, 표준 방법을 사용하여 통상적으로 결정될 수 있다. 약 0.001 내지 100 mg/kg 체중, 바람직하게는 약 0.0025 내지 약 50 mg/kg 체중, 가장 바람직하게는 약 0.005 내지 10 mg/kg 체중의 1일 용량이 적절할 수 있다. 1일 용량은 1일에 1 내지 4회 용량으로 투여될 수 있다. 다른 투여 스케줄은 1주에 1회 용량 및 2일에 1회 용량의 주기를 포함한다.
- [0214] 치료 목적을 위해, 본 발명의 활성 화합물은 지시된 투여 경로에 적절한 1종 이상의 아주반트와 통상적으로 조합된다. 경구로 투여되는 경우에, 화합물은 락토스, 수크로스, 전분 분말, 알칸산의 셀룰로스 에스테르, 셀룰로스 알킬 에스테르, 활석, 스테아르산, 스테아르산마그네슘, 산화마그네슘, 인산 및 황산의 나트륨 및 칼슘 염, 젤라틴, 아카시아 검, 알긴산나트륨, 폴리비닐피롤리돈 및/또는 폴리비닐 알콜과 혼합한 다음, 편리한 투여를 위해 정제화 또는 캡슐화될 수 있다. 이러한 캡슐 또는 정제는 히드록시프로필메틸 셀룰로스 중 활성 화합물의 분산액에 제공될 수 있는 바와 같은 제어-방출 제제를 함유할 수 있다.
- [0215] 본 발명의 제약 조성물은 화학식 (I)의 적어도 1종의 화합물 및/또는 그의 적어도 1종의 제약상 허용되는 염, 및 임의로 임의의 제약상 허용되는 담체, 아주반트 및 비히클로부터 선택된 추가의 작용제를 포함한다. 본 발명의 대안적 조성물은 본원에 기재된 화학식 (I)의 화합물 또는 그의 전구약물, 및 제약상 허용되는 담체, 아주반트 또는 비히클을 포함한다.

- [0216] 유용성
- [0217] 화학식 (I)의 화합물은 암의 치료에 유용하다.
- [0218] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 T 세포에서의 DGK 표적 억제와 연관된 다발성 질환 또는 장애의 치료 및/또는 예방에서의 동시, 개별 또는 순차적 사용을 위한, 화학식 (I)의 화합물 및/또는 그의 제약상 허용되는 염, 그의 입체이성질체 또는 그의 호변이성질체, 및 추가의 치료제(들)의 조합 제제를 제공한다.
- [0219] 또 다른 측면에서, 본 발명은 T 세포에서의 DGK 표적 억제와 연관된 의학적 상태를 앓고 있거나 또는 이에 걸리기 쉬운 환자를 치료하는 방법을 제공한다. 다수의 의학적 상태가 치료될 수 있다. 방법은 환자에게 치료 유효량의 화학식 (I)의 화합물 및/또는 그의 제약상 허용되는 염, 그의 입체이성질체 또는 그의 호변이성질체를 포함하는 조성물을 투여하는 것을 포함한다. 예를 들어, 본원에 기재된 화합물은 바이러스 감염 및 증식성 질환 예컨대 암을 치료하거나 예방하는데 사용될 수 있다.
- [0220] 화학식 (I)의 화합물 및 화학식 (I)의 적어도 1종의 화합물을 포함하는 제약 조성물은 T 세포에서의 DGK 표적 억제와 연관된 임의의 질환 또는 상태를 치료하거나 또는 예방하는데 유용하다. 이들은 바이러스 및 다른 감염 (예를 들어, 피부 감염, GI 감염, 요로 감염, 비뇨-생식기 감염, 전신 감염), 및 증식성 질환 (예를 들어, 암) 을 포함한다. 화학식 (I)의 화합물 및 화학식 (I)의 적어도 1종의 화합물을 포함하는 제약 조성물은 동물, 바람직하게는 포유동물 (예를 들어, 가축 동물, 고양이, 개, 마우스, 래트), 보다 바람직하게는 인간에게 투여될 수 있다. 임의의 투여 방법이 화합물 또는 제약 조성물을 환자에게 전달하는데 사용될 수 있다. 특정 실시양태에서, 화학식 (I)의 화합물 또는 적어도 화학식 (I)의 화합물을 포함하는 제약 조성물은 경구로 투여된다. 다른 실시양태에서, 화학식 (I) 또는 적어도 화학식 (I)의 화합물을 포함하는 제약 조성물은 비경구로 투여된다.
- [0221] 화학식 (I)의 화합물은 디아실글리세롤 키나제 알파 및 제타 (DGK α/ζ)의 활성을 억제할 수 있다. 예를 들어, 화학식 (I)의 화합물은 억제하는 양의 화학식 (I)의 화합물 또는 그의 염을 투여함으로써, DGK α 및 DGK ζ 의 조정을 필요로 하는 세포에서 또는 개체에서 DGK α 및 DGK ζ 의 활성을 억제하는데 사용될 수 있다.
- [0222] 본 발명은 또한 DGK α 및 DGK ζ 의 비정상적 활성 및/또는 과다발현을 포함한 활성 또는 발현과 연관된 질환의 치료를 필요로 하는 개체 (예를 들어, 환자)에게 치료 유효량 또는 용량의 화학식 (I)의 화합물 또는 그의 제약 조성물을 투여함으로써 상기 개체에서 상기 질환을 치료하는 방법을 제공한다. 예시적인 질환에는 DGK α 및 DGK ζ 효소의 발현 또는 활성, 예컨대 과발현 또는 비정상적 활성과 직접 또는 간접적으로 관련된 임의의 질환, 장애 또는 상태가 포함될 수 있다. DGK α 및 DGK ζ -연관 질환은 또한 DGK α 및 DGK ζ 효소 활성을 조정함으로써 예방, 호전 또는 치유될 수 있는 임의의 질환, 장애 또는 상태를 포함할 수 있다. DGK α 및 DGK ζ 연관 질환의 예는 암 및 바이러스 감염 예컨대 HIV 감염, B형 간염, 및 C형 간염을 포함한다.
- [0223] 한 측면에서, 화학식 (I)의 화합물(들)은 면역-종양학 작용제의 투여 전에 순차적으로 투여된다. 또 다른 측면에서, 화학식 (I)의 화합물(들)은 면역-종양학 작용제와 동시에 투여된다. 또 다른 측면에서, 화학식 (I)의 화합물(들)은 면역-종양학 작용제의 투여 후에 순차적으로 투여된다.
- [0224] 또 다른 측면에서, 화학식 (I)의 화합물은 면역-종양학 작용제와 공-제제화될 수 있다.
- [0225] 면역-종양학 작용제는, 예를 들어, 소분자 약물, 항체 또는 다른 생물학적 분자 또는 소분자를 포함한다. 생물학적 면역-종양학 작용제의 예는 암 백신, 항체 및 시토키인을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 한 측면에서, 항체는 모노클로날 항체이다. 또 다른 측면에서, 모노클로날 항체는 인간화 항체 또는 인간 항체이다.
- [0226] 한 측면에서, 면역-종양학 작용제는 T 세포에 대한 (i) 자극 (공동-자극 포함) 수용체의 효능제 또는 (ii) 억제 (공동-억제 포함) 신호의 길항제이며, 이들 둘 다는 항원-특이적 T 세포 반응 (종종 면역 체크포인트 조절제로서 지칭됨)의 증폭을 유발한다.
- [0227] 특정 자극 및 억제 분자는 이뮤노글로불린 슈퍼 패밀리를 (IgSF)의 구성원이다. 공동-자극 또는 공동-억제 수용체에 결합하는 막-결합 리간드의 하나의 중요한 패밀리는 B7 패밀리아이며, 이는 B7-1, B7-2, B7-H1 (PD-L1), B7-DC (PD-L2), B7-H2 (ICOS-L), B7-H3, B7-H4, B7-H5 (VISTA), 및 B7-H6을 포함한다. 공동-자극 또는 공동-억제 수용체에 결합하는 막-결합 리간드의 또 다른 패밀리는 동족 TNF 수용체 패밀리를 구성원에 결합하는 분자의 TNF 패밀리아이며, 이는 CD40 및 CD40L, OX-40, OX-40L, CD70, CD27L, CD30, CD30L, 4-1BBL, CD137 (4-1BB), TRAIL/Apo2-L, TRAILR1/DR4, TRAILR2/DR5, TRAILR3, TRAILR4, OPG, RANK, RANKL, TWEAKR/Fn14, TWEAK, BAFFR,

EDAR, XEDAR, TACI, APRIL, BCMA, LT β R, LIGHT, DcR3, HVEM, VEGI/TL1A, TRAMP/DR3, EDAR, EDA1, XEDAR, EDA2, TNFR1, 림프독소 α /TNF β , TNFR2, TNF α , LT β R, 림프독소 α 1 β 2, FAS, FASL, RELT, DR6, TROY, NGFR 을 포함한다.

- [0228] 한 측면에서, T 세포 반응은 화학식 (I)의 화합물과, (i) T 세포 활성화를 억제하는 단백질 예컨대 CTLA-4, PD-1, PD-L1, PD-L2, LAG-3, TIM-3, 갈렉틴 9, CEACAM-1, BTLA, CD69, 갈렉틴-1, TIGIT, CD113, GPR56, VISTA, 2B4, CD48, GARP, PD1H, LAIR1, TIM-1, 및 TIM-4의 길항제 (예를 들어, 면역 체크포인트 억제제), 및 (ii) T 세포 활성화를 자극하는 단백질 예컨대 B7-1, B7-2, CD28, 4-1BB (CD137), 4-1BBL, ICOS, ICOS-L, OX40, OX40L, GITR, GITRL, CD70, CD27, CD40, DR3 및 CD28H의 효능제 중 1종 이상의 조합에 의해 자극될 수 있다.
- [0229] 암의 치료를 위해 화학식 (I)의 화합물과 조합될 수 있는 다른 작용제는 NK 세포 상의 억제 수용체의 길항제 또는 NK 세포 상의 활성화 수용체의 효능제를 포함한다. 예를 들어, 화학식 (I)의 화합물은 KIR의 길항제, 예컨대 리틸루마프와 조합될 수 있다.
- [0230] 조합 요법을 위한 또 다른 작용제는 CSF-1R 길항제, 예컨대 RG7155 (WO11/70024, WO11/107553, WO11/131407, WO13/87699, WO13/119716, WO13/132044) 또는 FPA-008 (WO11/140249; WO13169264; WO14/036357)을 포함한 CSF-1R 길항제 항체를 포함하나 이에 제한되지는 않는, 대식세포 또는 단핵구를 억제 또는 고갈시키는 작용제를 포함한다.
- [0231] 또 다른 측면에서, 화학식 (I)의 화합물은 양성 공동자극 수용체를 라이게이션하는 효능작용제, 억제 수용체를 통한 신호전달을 감소시키는 차단제, 길항제, 및 항종양 T 세포의 빈도를 전신적으로 증가시키는 1종 이상의 작용제, 종양 미세환경 내에서 별개의 면역 억제 경로를 극복하는 (예를 들어, 억제 수용체 결속 (예를 들어, PD-L1/PD-1 상호작용)을 차단하거나, Treg를 고갈 또는 억제하거나 (예를 들어, 항-CD25 모노클로날 항체 (예를 들어, 다클리주맵)를 사용하여 또는 생체의 항-CD25 비드 고갈에 의해), 대사 효소 예컨대 IDO를 억제하거나, 또는 T 세포 무반응 또는 소진을 역전/예방하는) 작용제, 및 종양 부위에서 선천성 면역 활성화 및/또는 염증을 촉발하는 작용제 중 1종 이상과 함께 사용될 수 있다.
- [0232] 한 측면에서, 면역-종양학 작용제는 CTLA-4 길항제, 예컨대 길항작용 CTLA-4 항체이다. 적합한 CTLA-4 항체는, 예를 들어, 예르보이(YERVOY) (이필리무맵) 또는 트레멜리무맵을 포함한다.
- [0233] 또 다른 측면에서, 면역-종양학 작용제는 PD-1 길항제, 예컨대 길항작용 PD-1 항체이다. 적합한 PD-1 항체는, 예를 들어, 오피디보(OPDIVO) (니볼루맵), 키트루다(KEYTRUDA) (렘브롤리주맵) 또는 MEDI-0680 (AMP-514; WO2012/145493)을 포함한다. 면역-종양학 작용제는 피딜리주맵 (CT-011)을 포함할 수 있으나, PD-1 결합에 대한 그의 특이성에 의문이 제기되었다. PD-1 수용체를 표적화하기 위한 또 다른 접근법은 AMP-224로 불리는, IgG1의 Fc 부분에 융합된 PD-L2(B7-DC)의 세포의 도메인으로 구성된 재조합 단백질이다.
- [0234] 또 다른 측면에서, 면역-종양학 작용제는 PD-L1 길항제, 예컨대 길항작용 PD-L1 항체이다. 적합한 PD-L1 항체는, 예를 들어, MPDL3280A (RG7446; WO2010/077634), 두르발루맵 (MEDI4736), BMS-936559 (WO2007/005874), 및 MSB0010718C (WO2013/79174)를 포함한다.
- [0235] 또 다른 측면에서, 면역-종양학 작용제는 LAG-3 길항제, 예컨대 길항작용 LAG-3 항체이다. 적합한 LAG3 항체는, 예를 들어, BMS-986016 (WO10/19570, WO14/08218), 또는 IMP-731 또는 IMP-321 (WO08/132601, WO09/44273)을 포함한다.
- [0236] 또 다른 측면에서, 면역-종양학 작용제는 CD137 (4-1BB) 효능제, 예컨대 효능작용 CD137 항체이다. 적합한 CD137 항체는, 예를 들어, 우렐루맵 및 PF-05082566 (WO12/32433)을 포함한다.
- [0237] 또 다른 측면에서, 면역-종양학 작용제는 GITR 효능제, 예컨대 효능작용 GITR 항체이다. 적합한 GITR 항체는, 예를 들어, BMS-986153, BMS-986156, TRX-518 (WO06/105021, WO09/009116) 및 MK-4166 (WO11/028683)을 포함한다.
- [0238] 또 다른 측면에서, 면역-종양학 작용제는 IDO 길항제이다. 적합한 IDO 길항제는, 예를 들어, INCB-024360 (WO2006/122150, WO07/75598, WO08/36653, WO08/36642), 인독시모드, BMS-986205, 또는 NLG-919 (WO09/73620, WO09/1156652, WO11/56652, WO12/142237)를 포함한다.
- [0239] 또 다른 측면에서, 면역-종양학 작용제는 OX40 효능제, 예컨대 효능작용 OX40 항체이다. 적합한 OX40 항체는 예를 들어, MEDI-6383 또는 MEDI-6469를 포함한다.

- [0240] 또 다른 측면에서, 면역-종양학 작용제는 OX40L 길항제, 예컨대 길항작용 OX40 항체이다. 적합한 OX40L 길항제는, 예를 들어, RG-7888 (WO06/029879)을 포함한다.
- [0241] 또 다른 측면에서, 면역-종양학 작용제는 CD40 효능제, 예컨대 효능작용 CD40 항체이다. 또 다른 실시양태에서, 면역-종양학 작용제는 CD40 길항제, 예컨대 길항작용 CD40 항체이다. 적합한 CD40 항체는, 예를 들어, 루카투무맙 또는 다세투주맙을 포함한다.
- [0242] 또 다른 측면에서, 면역-종양학 작용제는 CD27 효능제, 예컨대 효능작용 CD27 항체이다. 적합한 CD27 항체는 예를 들어, 바를리루맙을 포함한다.
- [0243] 또 다른 측면에서, 면역-종양학 작용제는 MGA271 (B7H3에 대해) (WO11/109400)이다.
- [0244] 조합 요법은 이들 치료제를 순차적인 방식으로 투여하는 것, 즉 각각의 치료제를 상이한 시간에 투여하는 것, 뿐만 아니라 이들 치료제의 투여 또는 이들 치료제 중 적어도 2종을 실질적으로 동시에 투여하는 것을 포함하는 것을 의도한다. 실질적으로 동시에 투여하는 것은 예를 들어, 고정 비율의 각각의 치료제를 갖는 단일 투여 형태를 대상체에게 투여하거나, 또는 치료제 각각에 대한 단일 투여 형태를 여러 번 투여함으로써 달성될 수 있다. 각각의 치료제를 순차적으로 투여하는 것 또는 실질적으로 동시에 투여하는 것은 경구 경로, 정맥 경로, 근육내 경로 및 점막 조직을 통한 직접 흡수가 포함되지만, 이에 제한되지 않는 임의의 적절한 경로에 의해서 수행될 수 있다. 치료제들은 동일한 경로에 의해서 또는 상이한 경로에 의해서 투여될 수 있다. 예를 들어, 선택된 조합물의 제1 치료제는 정맥 주사에 의해서 투여될 수 있지만, 그 조합물의 다른 치료제는 경구 투여될 수 있다. 대안적으로, 예를 들어, 모든 치료제들이 경구 투여될 수 있거나 또는 모든 치료제들이 정맥 주사에 의해서 투여될 수 있다. 조합 요법은 또한 다른 생물학적 활성 성분 및 비-약물 요법 (예를 들어, 수술 또는 방사선 치료)과 추가로 조합된 상기 기재된 바와 같은 치료제의 투여를 포괄할 수 있다. 조합 요법이 비-약물 치료를 추가로 포함하는 경우, 비-약물 치료는 치료제와 비-약물 치료의 조합의 공동 작용으로부터 이로운 효과가 성취되는 한 임의의 적합한 시간에 수행될 수 있다. 예를 들어, 적절한 경우, 비-약물 치료가 아마도 수 일 또는 심지어는 수 주까지 치료제의 투여로부터 일시적으로 제거되는 경우에도 이로운 효과가 여전히 달성된다.
- [0245] 본원에 사용된 용어 "세포"는 시험관내, 생체외, 생체내 세포를 지칭하는 것으로 의도된다. 일부 실시양태에서, 생체외 세포는 생물, 예컨대 포유동물로부터 절단된 조직 샘플의 일부일 수 있다. 일부 실시양태에서, 시험관내 세포는 세포 배양액 내의 세포일 수 있다. 일부 실시양태에서, 생체내 세포는 생물, 예컨대 포유동물 내의 살아있는 세포이다.
- [0246] 본원에 사용된 용어 "접촉"은 시험관내 시스템 또는 생체내 시스템에서 지정된 모이어티를 함께 만나게 하는 것을 지칭한다. 예를 들어, DGK α 및 DGK ζ 효소를 화학식 (I)의 화합물과 "접촉시키는" 것은 DGK α 및 DGK ζ 를 갖는 개체 또는 환자, 예컨대 인간에게 본 발명의 화합물을 투여하는 것, 뿐만 아니라 예를 들어 DGK α 및 DGK ζ 효소를 함유하는 세포성 제제 또는 정제된 제제를 함유하는 샘플에 화학식 (I)의 화합물을 도입하는 것을 포함한다.
- [0247] 용어 "DGK α 및 DGK ζ 억제제"는 T 세포에서 디아실글리세롤 키나제 알파 및/또는 디아실글리세롤 키나제 제타 (DGK α 및 DGK ζ)의 활성을 억제하여 T 세포 자극을 유발할 수 있는 작용제를 지칭한다. DGK α 및 DGK ζ 억제제는 가역적 또는 비가역적 DGK α 및 DGK ζ 억제제일 수 있다. "가역적 DGK α 및 DGK ζ 억제제"는 촉매 자리 또는 비촉매 자리에서 DGK α 및 DGK ζ 효소 활성을 가역적으로 억제하는 화합물이고, "비가역적 DGK α 및 DGK ζ 억제제"는 DGK α 및 DGK ζ 효소와 공유 결합을 형성함으로써 DGK α 및 DGK ζ 효소 활성을 비가역적으로 파괴하는 화합물이다.
- [0248] 화학식 (I)의 화합물로 치료될 수 있는 암의 유형은 뇌암, 피부암, 방광암, 난소암, 유방암, 위암, 췌장암, 전립선암, 결장암, 혈액암, 폐암 및 골암을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 이러한 암 유형의 예에는 신경모세포종, 장암종, 예컨대 직장암종, 결장암종, 가족성 선종성 용종증 암종 및 유전성 비용종증 대장암, 식도암종, 음순암종, 후두암종, 하인두암종, 설암종, 타액선암종, 위암종, 선암종, 갑상선 수질암종, 유두암종, 신암종, 신장 실질조직암종, 난소암종, 자궁경부암종, 자궁체부암종, 자궁내막암종, 장막암종, 췌장암종, 전립선암종, 고환암종, 유방암종, 비뇨기암종, 흑색종, 뇌종양, 예컨대 교모세포종, 성상세포종, 뇌수막종, 수포세포종 및 말초신경 외배엽성 종양, 호지킨(Hodgkin) 림프종, 비호지킨(non-Hodgkin) 림프종, 버킷(Burkitt) 림프종, 급성 림프성 백혈병 (ALL), 만성 림프성 백혈병 (CLL), 급성 골수성 백혈병 (AML), 만성 골수성 백혈병 (CML), 성인 T-세포 백혈병 림프종, 미만성 대 B세포 림프종 (DLBCL), 간세포암종, 담낭암종, 기관지암종, 소세포 폐암종, 비소세포 폐암종, 다발성 골수종, 기저세포종, 기형종, 망막아세포종, 맥락막 흑색종, 정상피종, 횡문근육종,

두개인두종, 골육종, 연골육종, 근육종, 지방육종, 섬유육종, 유잉육종(Ewing sarcoma) 및 형질세포종이 포함된다.

- [0249] 1종 이상의 추가의 제약 작용제 또는 치료 방법 예컨대 예를 들어 항바이러스제, 화학요법제 또는 다른 항암제, 면역 증강제, 면역억제제, 방사선, 항종양 및 항바이러스 백신, 시토카인 요법 (예를 들어, IL2 및 GM-CSF), 및/또는 티로신 키나제 억제제는 임의로 DGK α 및 DGK ζ 연관 질환, 장애 또는 상태의 치료를 위해 화학식 (I)의 화합물과 조합되어 사용될 수 있다. 이러한 작용제는 단일 투여 형태로 본 발명의 화합물과 조합될 수 있거나 또는 이러한 작용제는 개별 투여 형태로 동시에 또는 순차적으로 투여될 수 있다.
- [0250] 적합한 화학요법제 또는 다른 항암제는 예를 들어, 알킬화제 (예컨대 비제한적으로 질소 머스타드, 에틸렌이민 유도체, 알킬 술포네이트, 니트로소우레아 및 트리아진), 예컨대 우라실 머스타드, 클로르메틴, 시클로포스파미드 (시토산(CYTOXAN)®), 이포스파미드, 멜팔란, 클로람부실, 피포브로만, 트리에틸렌-멜라민, 트리에틸렌티오포스포아민, 부술판, 카르무스틴, 로무스틴, 스트렙토조신, 다카르바진, 및 테모졸로미드를 포함한다.
- [0251] 흑색종의 치료에서, 화학식 (I)의 화합물과 조합하여 사용하기에 적합한 작용제는 하기를 포함한다: 임의로 다른 화학요법 약물, 예컨대 카르무스틴 (BCNU) 및 시스플라틴과 함께 다카르바진 (DTIC); DTIC, BCNU, 시스플라틴 및 타목시펜으로 이루어진 "다트머스(Dartmouth) 요법"; 시스플라틴, 빈블라스틴, 및 DTIC, 테모졸로미드 또는 예르보이(YERVOY)TM의 조합. 화학식 (I)의 화합물은 또한 흑색종의 치료에서 시토카인 예컨대 인터페론 알파, 인터류킨 2, 및 종양 괴사 인자 (TNF)를 포함한 면역요법 약물과 조합될 수 있다.
- [0252] 화학식 (I)의 화합물은 또한 흑색종의 치료 시에 백신 요법과 조합되어 사용될 수 있다. 항흑색종 백신은 일부 경우에는 바이러스에 의해서 유발되는 질환, 예컨대 소아마비, 홍역 및 볼거리를 예방하기 위해서 사용되는 항바이러스 백신과 유사하다. 항원이라 지칭되는 약해진 흑색종 세포 또는 흑색종 세포의 일부를 환자에게 주입하여 신체의 면역 시스템을 자극하여 흑색종 세포를 파괴할 수 있다.
- [0253] 팔 또는 다리에 국한된 흑색종은 또한 고체온 격리 사지 관류 기술을 사용하여, 화학식 (I)의 1종 이상의 화합물을 포함하는 작용제의 조합으로 치료될 수 있다. 이러한 치료 프로토콜은 연관된 사지의 순환을 신체의 나머지 부분으로부터 일시적으로 분리하고, 고용량의 화학요법제를 사지를 통해서 동맥에 주입함으로써, 달리 중증의 부작용을 유발할 수 있는 이러한 용량에 내부 장기를 노출시키지 않으면서, 고용량을 종양 영역에 제공한다. 통상적으로 유체는 38.9°C 내지 40°C로 가온된다. 멜팔란은 이러한 화학요법 절차에서 가장 자주 사용되는 약물이다. 이것은 종양 괴사 인자 (TNF)라 지칭되는 또 다른 작용제와 함께 제공될 수 있다.
- [0254] 적합한 화학요법제 또는 다른 항암제는, 예를 들어, 항대사물 (비제한적으로, 폴산 길항제, 피리미딘 유사체, 퓨린 유사체 및 아데노신 데아미나제 억제제 포함), 예컨대 메토트렉세이트, 5-플루오로우라실, 플록수리딘, 시타라빈, 6-메르캅토피리딘, 6-티오구아닌, 플루다라빈 포스페이트, 펜토스타틴 및 겐시타빈을 포함한다.
- [0255] 적합한 화학요법제 또는 다른 항암제는, 예를 들어, 특정 천연 생성물 및 그의 유도체 (예를 들어, 빈카 알칼로이드, 항종양 항생제, 효소, 림포카인 및 에피도도필로톡신), 예컨대 빈블라스틴, 빈크리스틴, 빈데신, 블레오마이신, 닥티노마이신, 다우노루비신, 독소루비신, 에피루비신, 이다루비신, ara-C, 파클리탁셀 (탁솔(Taxol)), 미트라마이신, 데옥시코-포르마이신, 미토마이신-C, L-아스파라기나제, 인터페론 (특히 IFN- α), 에토포시드, 및 테니포시드를 추가로 포함한다.
- [0256] 다른 세포독성제는 나벨벤, CPT-11, 아나스트라졸, 레트라졸, 카페시타빈, 텔록사핀 및 드롤록사핀이 포함한다.
- [0257] 세포독성제, 예컨대 에피도도필로톡신; 항신생물성 효소; 토포이소머라제 억제제; 프로카르바진; 미톡산트론; 백금 배위 착물, 예컨대 시스플라틴 및 카르보플라틴; 생물학적 반응 조절제; 성장 억제제; 항호르몬 치료제; 류코보린; 테가푸르 및 조혈 성장 인자가 또한 적합하다.
- [0258] 다른 항암제(들)는 항체 치료제, 예컨대 트라스투주맙 (헤르셉틴(HERCEPTIN)®), 공동자극 분자, 예컨대 CTLA-4, 4-1BB 및 PD-1에 대한 항체, 또는 시토카인 (IL-10 또는 TGF- β)에 대한 항체를 포함한다.
- [0259] 다른 항암제는 또한 면역 세포 이동을 막는 것, 예컨대 CCR2 및 CCR4를 비롯한 케모카인 수용체에 대한 길항제를 포함한다.
- [0260] 다른 항암제는 또한 면역계를 증강시키는 것, 예컨대 아주반트 또는 입양 T 세포 전달제를 포함한다.
- [0261] 항암 백신은 수지상 세포, 합성 펩티드, DNA 백신 및 재조합 바이러스를 포함한다.
- [0262] 본 발명의 제약 조성물은 적어도 하나의 신호 전달 억제제 (STI)를 임의로 포함할 수 있다. "신호 전달

억제제"는 암 세포의 정상 기능에서의 신호 경로에서 하나 이상의 필수적인 단계를 선택적으로 억제함으로써, 아폽토시스에 이르게 하는 작용제이다. 적합한 STI는 (i) bcr/abl 키나제 억제제, 예컨대 예를 들어 STI 571 (글리벡(GLEEVEC)®); (ii) 표피 성장 인자 (EGF) 수용체 억제제, 예컨대 예를 들어 키나제 억제제 (이레사 (IRESSA)®, SSI-774) 및 항체 (임클론: C225 [Goldstein et al., Clin. Cancer Res., 1:1311-1318 (1995)], 및 아브게닉스(Abgenix): ABX-EGF); (iii) her-2/neu 수용체 억제제, 예컨대 파르네실 트랜스퍼라제 억제제 (FTI), 예컨대 예를 들어 L-744,832 (Kohl et al., Nat. Med., 1(8):792-797 (1995)); (iv) Akt 패밀리 키나제 또는 Akt 경로의 억제제, 예컨대 예를 들어 라파마이신 (예를 들어, 문헌 [Sekulic et al., Cancer Res., 60:3504-3513 (2000)] 참조); (v) 세포 주기 키나제 억제제, 예컨대 예를 들어 플라보피리돌 및 UCN-01 (예를 들어, 문헌 [Sausville, Curr. Med. Chem. Anti-Canc. Agents, 3:47-56 (2003)] 참조); 및 (vi) 포스포티딜 이노시톨 키나제 억제제, 예컨대 예를 들어 LY294002 (예를 들어, 문헌 [Vlahos et al., J. Biol. Chem., 269:5241-5248 (1994)] 참조)를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 대안적으로, 적어도 1종의 STI 및 화학식 (I)의 적어도 1종의 화합물이 개별 제약 조성물에 존재할 수 있다. 본 발명의 구체적 실시양태에서, 화학식 (I)의 적어도 1종의 화합물 및 적어도 1종의 STI는 환자에게 공동으로 또는 순차적으로 투여될 수 있다. 다시 말해서, 화학식 (I)의 적어도 1종의 화합물이 먼저 투여될 수 있거나, 또는 적어도 1종의 STI가 먼저 투여될 수 있거나, 또는 화학식 (I)의 적어도 1종의 화합물 및 적어도 1종의 STI가 동시에 투여될 수 있다. 추가적으로, 화학식 (I)의 1종 초과 화합물 및 또는 STI가 사용되는 경우에, 화합물은 임의의 순서로 투여될 수 있다.

[0263] 본 발명은 제약상 허용되는 담체 중에 화학식 (I)의 적어도 1종의 화합물, 임의로 적어도 1종의 화학요법 약물, 및 임의로 적어도 1종의 항바이러스제를 포함하는, 환자에서 만성 바이러스 감염을 치료하기 위한 제약 조성물을 추가로 제공한다.

[0264] 또한, 유효량의 상기 제약 조성물을 투여함으로써 환자에서 만성 바이러스 감염을 치료하는 방법이 제공된다.

[0265] 본 발명의 구체적 실시양태에서, 화학식 (I)의 적어도 1종의 화합물 및 적어도 1종의 화학요법제는 환자에게 공동으로 또는 순차적으로 투여된다. 다시 말해서, 화학식 (I)의 적어도 1종의 화합물이 먼저 투여될 수 있거나, 적어도 1종의 화학요법제가 먼저 투여될 수 있거나, 화학식 (I)의 적어도 1종의 화합물 및 적어도 1종의 STI가 동시에 투여될 수 있다. 추가적으로, 1종 초과 화합물 및/또는 화학요법제가 사용되는 경우에, 화합물은 임의의 순서로 투여될 수 있다. 유사하게, 임의의 항바이러스제 또는 STI는 또한 화학식 (I)의 화합물의 투여와 비교하여 임의의 시점에 투여될 수 있다.

[0266] 본 발명의 조합 치료를 사용하여 치료될 수 있는 만성 바이러스 감염은 C형 간염 바이러스 (HCV), 인유두종 바이러스 (HPV), 거대세포바이러스 (CMV), 단순 포진 바이러스 (HSV), 엡스타인-바르(Epstein-Barr) 바이러스 (EBV), 수두 대상포진 바이러스, 콕사키 바이러스, 인간 면역결핍 바이러스 (HIV)를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 특히, 상기 방법에 의해서 기생충 감염 (예를 들어, 말라리아)이 또한 치료될 수 있으며, 여기서 기생충 상태를 치료하는데 공지된 화합물이 항바이러스제 대신에 임의로 첨가될 수 있다.

[0267] 화학식 (I)의 화합물과 조합하여 사용하기 위해 고려되는 적합한 항바이러스제는 뉴클레오시드 및 뉴클레오티드 리버스 트랜스크립타제 억제제 (NRTI), 비-뉴클레오시드 리버스 트랜스크립타제 억제제 (NNRTI), 프로테아제 억제제 및 다른 항바이러스 약물을 포함할 수 있다.

[0268] 적합한 NRTI의 예는 지도부딘 (AZT); 디다노신 (ddI); 잘시타빈 (ddC); 스타부딘 (d4T); 라미부딘 (3TC); 아바카비르 (1592U89); 아테포비르 디피복실 [비스(POM)-PMEA]; 로부카비르; BCH-I0652; 엠트리시타빈 [(-)-FTC]; 베타-L-FD4 (베타-L-D4C로 또한 불리고, 베타-L-2',3'-디데옥시-5-플루오로-시티덴으로 명명됨); DAPD, ((-)-베타-D-2,6-디아미노-퓨린 디옥솔란); 및 아이오데노신 (FddA)을 포함한다. 전형적인 적합한 NNRTI는 네비라핀 (BI-RG-587); 텔라비라딘 (BHAP, U-90152); 에파비렌즈 (DMP-266); PNU-142721; AG-1549; MKC-442 (1-(에톡시-메틸)-5-(1-메틸에틸)-6-(페닐메틸)-(2,4(1H,3H)-피리미딘디온); 및 (+)-칼라놀리드 A (NSC-675451) 및 B를 포함한다. 전형적인 적합한 프로테아제 억제제는 사퀴나비르 (Ro 31-8959); 리토나비르 (ABT-538); 인디나비르 (MK-639); 넬프나비르 (AG-1343); 암프레나비르 (141W94); 라시나비르; DMP-450; BMS-2322623; ABT-378; 및 AG-1549를 포함한다. 다른 항바이러스제는 히드록시우레아, 리바비린, IL-2, IL-12, 펜타푸시드 및 이숨 프로젝트 넘버(Yissum Project No.) 11607이 포함된다.

[0269] 본 발명은 치료 유효량의 화학식 (I)의 화합물을 포함하는 제약 조성물을 함유하는 1개 이상의 용기를 포함하는, 예를 들어 DGK α 및 DGK ζ -연관 질환 또는 장애, 및 본원에 언급된 다른 질환의 치료 또는 예방에 유용한 제약 키트를 또한 포함한다. 이러한 키트는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 용이하게 자명할 바와 같이, 바람직한 경우 다양한 통상적인 제약 키트 성분 중 1종 이상, 예컨대 예를 들어 1종 이상의 제약상 허용되

는 담체를 갖는 용기로서의 추가 용기를 추가로 포함할 수 있다. 투여될 성분의 양, 투여를 위한 지침, 및/또는 성분 혼합을 위한 지침을 기재한, 삽입지 또는 레이블로서의 지시사항이 또한 키트에 포함될 수 있다.

[0270] 조합 요법은 이들 치료제를 순차적인 방식으로 투여하는 것, 즉 각각의 치료제를 상이한 시간에 투여하는 것, 뿐만 아니라 이들 치료제의 투여 또는 이들 치료제 중 적어도 2종을 실질적으로 동시에 투여하는 것을 포함하는 것을 의도한다. 실질적으로 동시에 투여하는 것은 예를 들어, 고정 비율의 각각의 치료제를 갖는 단일 투여 형태를 대상체에게 투여하거나, 또는 치료제 각각에 대한 단일 투여 형태를 여러 번 투여함으로써 달성될 수 있다. 각각의 치료제를 순차적으로 투여하는 것 또는 실질적으로 동시에 투여하는 것은 경구 경로, 정맥 경로, 근육내 경로 및 점막 조직을 통한 직접 흡수가 포함되지만, 이에 제한되지 않는 임의의 적절한 경로에 의해서 수행될 수 있다. 치료제들은 동일한 경로에 의해서 또는 상이한 경로에 의해서 투여될 수 있다. 예를 들어, 선택된 조합물의 제1 치료제는 정맥 주사에 의해서 투여될 수 있지만, 그 조합물의 다른 치료제는 경구 투여될 수 있다. 대안적으로, 예를 들어, 모든 치료제들이 경구 투여될 수 있거나 또는 모든 치료제들이 정맥 주사에 의해서 투여될 수 있다. 조합 요법은 또한 다른 생물학적 활성 성분 및 비-약물 요법 (예를 들어, 수술 또는 방사선 치료)과 추가로 조합된 상기 기재된 바와 같은 치료제의 투여를 포괄할 수 있다. 조합 요법이 비-약물 치료를 추가로 포함하는 경우, 비-약물 치료는 치료제와 비-약물 치료의 조합의 공동 작용으로부터 이로운 효과가 성취되는 한 임의의 적절한 시간에 수행될 수 있다. 예를 들어, 적절한 경우, 비-약물 치료가 아마도 수 일 또는 심지어는 수 주까지 치료제의 투여로부터 일시적으로 제거되는 경우에도 이로운 효과가 여전히 달성된다.

[0271] 본 발명은 1종 이상의 제약상 허용되는 담체 (첨가제) 및/또는 희석제, 및 임의로 상기 기재된 1종 이상의 추가의 치료제와 함께 제제화된, 치료 유효량의 화학식 (I)의 화합물 중 1종 이상을 포함하는 제약상 허용되는 조성물을 또한 제공한다.

[0272] 본 발명의 화합물은 임의의 적합한 수단, 예를 들어 경구로, 예컨대 정제, 캡슐 (이들 각각은 지속 방출 또는 지연 방출 제제를 포함함), 환제, 분말, 과립, 엘릭시르, 탱크제, 현탁액 (나노현탁액, 마이크로현탁액, 분무-건조 분산액 포함), 시럽 및 에멀전에 의해; 설하로; 흡착으로; 비경구로, 예컨대 피하, 정맥내, 근육내 또는 흉골내 주사 또는 주입 기술에 의해 (예를 들어, 멸균 주사가 가능한 수성 또는 비수성 용액 또는 현탁액으로서); 코 점막으로의 투여를 비롯하여 비강으로, 예컨대 흡입 스프레이에 의해; 국소로, 예컨대 크림 또는 연고 형태로; 또는 직장으로, 예컨대 좌제 형태로 본원에 기재된 임의의 용도를 위해 투여될 수 있다. 이들은 단독으로 투여될 수 있지만, 일반적으로는 선택된 투여 경로 및 표준 제약 절차를 기반으로 선택된 제약 담체와 함께 투여될 것이다.

[0273] 어구 "제약상 허용되는 담체"는 본 명세서에서 사용되는 바와 같이 대상 화합물을 신체의 한 기관 또는 일부로부터 신체의 또 다른 기관 또는 일부로 이송 또는 전달하는데 포함되는, 제약상 허용되는 물질, 조성물 또는 비히클, 예컨대 액체 또는 고체 충전제, 희석제, 부형제, 제조 보조제 (예를 들어, 윤활제, 탈크 마그네슘, 칼슘 또는 아연 스테아레이트, 또는 스테아르산), 또는 용매 캡슐화 물질을 의미한다. 각각의 담체는, 투여 방식 및 투여 형태의 특성에 따라, 제제의 다른 성분, 예컨대 즉, 아주반트, 부형제 또는 비히클, 예컨대 희석제, 보존제, 충전제, 유동 조절제, 붕해제, 습윤화제, 유화제, 현탁화제, 감미제, 향미제, 펄프제, 향박테리아제, 향진균제, 윤활제 및 분배제와 상용성이고; 환자에게 유해하지 않다는 점에서 "허용가능한" 것이어야 한다.

[0274] 용어 "제약 조성물"은 적어도 1종의 추가의 제약상 허용되는 담체와 조합하여 본 발명의 화합물을 포함하는 조성물을 의미한다.

[0275] 제약상 허용되는 담체는 통상의 기술자의 이해 범위 내에서 다수의 인자에 따라서 제제화된다. 이들은 제제화된 활성제의 유형 및 성질; 작용제-함유 조성물이 투여될 대상체; 조성물의 의도되는 투여 경로; 및 표적 치료 적응증을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 제약상 허용되는 담체는 수성 및 비-수성 액체 매질 둘 다, 뿐만 아니라 다양한 고체 및 반고체 투여 형태를 포함한다. 이러한 담체는 활성제 이외에 다수의 상이한 성분 및 첨가제를 포함할 수 있고, 이러한 추가 성분은 통상의 기술자에게 널리 공지된 다양한 목적, 예를 들어 활성제, 결합제 등의 안정화를 위해서 제제에 포함된다. 적합한 제약상 허용되는 담체 및 그의 선택에 포함되는 인자의 설명은 용이하게 입수가능한 다양한 문헌, 예를 들어 문헌 [Allen, L. V. Jr. et al. Remington: The Science and Practice of Pharmacy (2 Volumes), 22nd Edition (2012), Pharmaceutical Press]에서 찾을 수 있다.

[0276] 본 발명의 화합물의 투여 요법은 물론 공지된 인자, 예컨대 특정 작용제의 약역학 특징 및 그의 투여 모드 및 경로; 수용자의 종, 연령, 성별, 건강, 의학적 상태 및 체중; 증상의 특성 및 정도; 병행 치료의 종류; 치료의 빈도; 투여 경로, 환자의 신장 및 간 기능, 및 목적하는 효과에 따라서 다를 것이다.

- [0277] 일반적인 복용법으로서, 지시된 효과를 위해서 사용되는 경우, 각각의 활성 성분의 1일 경구 투여량은 1일 당 약 0.001 내지 약 5000 mg, 바람직하게는 1일 당 약 0.01 내지 약 1000 mg, 가장 바람직하게는 1일 당 약 0.1 내지 약 250 mg일 것이다. 정맥 투여에서, 가장 바람직한 용량은 일정한 속도의 주입 동안 약 0.01 내지 약 10 mg/kg/분 범위일 것이다. 본 발명의 화합물은 단일 1일 용량으로 투여될 수 있거나 또는 총 1일 용량이 하루 2 회, 3회 또는 4회의 분할된 용량으로 투여될 수 있다.
- [0278] 화합물은 전형적으로는 의도된 투여 형태, 예를 들어, 경구 정제, 캡슐, 엘릭시르 및 시럽과 관련하여 적합하게 선택되고, 통상적인 제약 절차와 일치하는 적합한 제약 희석제, 부형제 또는 담체 (집합적으로 본 명세서에서 제약 담체로서 지칭함)와의 혼합물로 투여된다.
- [0279] 투여에 적합한 투여 형태 (제약 조성물)는 투여 단위당 약 1 밀리그램 내지 약 2000 밀리그램의 활성 성분을 함유할 수 있다. 이러한 제약 조성물에서, 활성 성분은 통상적으로 조성물의 총 중량을 기준으로 약 0.1 내지 95 중량%의 양으로 존재할 것이다.
- [0280] 경구 투여를 위한 전형적인 캡슐은 본 발명의 적어도 1종의 화합물 (250 mg), 락토스 (75 mg), 및 마그네슘 스테아레이트 (15 mg)를 함유한다. 혼합물은 60 메시 체에 통과되고, No. L 젤라틴 캡슐 내에 포장된다.
- [0281] 전형적인 주사가능한 제제는 본 발명의 적어도 1종의 화합물 (250 mg)를 바이알에 넣고, 무균 하에서 동결 건조하고, 밀봉함으로써 제조된다. 사용을 위해서, 바이알의 내용물을 생리 식염수 2 mL와 혼합하여 주사가능한 제제를 제조한다.
- [0282] 본 발명은 활성 성분으로서 치료 유효량의 본 발명의 적어도 1종의 화합물을 단독으로 또는 제약 담체와 조합하여 포함하는 제약 조성물을 그의 범주 내에 포함한다. 임의로, 본 발명의 화합물은 단독으로, 본 발명의 다른 화합물과 조합되어, 또는 1종 이상의 다른 치료제(들), 예를 들어, 항암제 또는 다른 제약 활성 물질과 조합하여 사용할 수 있다.
- [0283] 선택된 투여 경로와 관계없이, 적합한 수화 형태로 사용될 수 있는 본 발명의 화합물 및/또는 본 발명의 제약 조성물은 통상의 기술자에게 공지된 종래의 방법에 의해서 제약상 허용되는 투여 형태로 제제화된다.
- [0284] 본 발명의 제약 조성물 중의 활성 성분의 실제 투여 수준은 환자에게 유독성이 아니면서, 특정 환자, 조성물 및 투여 모드에 대해 치료 효과를 성취하기에 효과적인 활성 성분의 양을 수득하도록 달라질 수 있다.
- [0285] 선택된 투여 수준은 사용된 본 발명의 특정 화합물, 또는 그의 에스테르, 염 또는 아미드의 활성, 투여 경로, 투여 시기, 사용될 특정 화합물의 배설 또는 대사 속도, 흡수 속도 및 정도, 치료 기간, 사용된 특정 화합물과 조합되어 사용되는 다른 약물, 화합물 및/또는 물질, 치료될 환자의 연령, 성별, 몸무게, 상태, 일반적인 건강 및 이전 병력 및 의료 분야에 널리 공지된 유사한 인자를 비롯한 다양한 인자에 좌우될 것이다.
- [0286] 관련 기술분야의 숙련된 의사 또는 수의사는 요구되는 제약 조성물의 유효량을 쉽게 결정하고 처방할 수 있다. 예를 들어, 의사 또는 수의사는 제약 조성물에서 사용되는 본 발명의 화합물의 용량을, 치료 효과를 달성하기 위해서 요구되는 것보다 적은 수준에서 출발하여, 효과가 달성될 때까지 투여량을 점점 증가시킬 수 있다.
- [0287] 일반적으로, 본 발명의 화합물의 적합한 1일 용량은 치료 효과를 제공하기에 효과적인 최저 용량인 화합물의 양일 것이다. 이러한 유효 용량은 일반적으로 상기 기재된 인자에 의존할 것이다. 일반적으로, 환자에 대한 본 발명의 화합물의 경구, 정맥내, 뇌실내 및 피하 용량은, 1일에 체중 킬로그램당 약 0.01 내지 약 50 mg 범위일 것이다.
- [0288] 바람직한 경우, 활성 화합물의 유효 1일 용량은 임의로 단위 투여 형태로 하루에 걸쳐 적절한 간격으로 개별적으로 투여되는 2, 3, 4, 5, 6 또는 초과하의 하위-용량으로서 투여될 수 있다. 본 발명의 특정 측면에서, 투여는 1일 1회 투여이다.
- [0289] 본 발명의 화합물을 단독으로 투여하는 것이 가능하지만, 제약 제제 (조성물)로서 화합물을 투여하는 것이 바람직하다.
- [0290] 상기 다른 치료제는, 본 발명의 화합물과 조합되어 사용되는 경우에, 예를 들어, 문헌 [Physicians' Desk Reference (PDR)]에 지시되거나 또는 달리 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 결정된 바와 같은 양으로 사용될 수 있다. 본 발명의 방법에서, 이러한 다른 치료제(들)는 본 발명의 화합물의 투여 전, 그와 동시, 또는 그 후에 투여될 수 있다.

[0291] 제조 방법

[0292] 본 발명의 화합물은 유기 화학 분야의 숙련자에게 이용가능한 다수의 방법에 의해 합성될 수 있다. 본 발명의 화합물의 제조에 대한 일반적 합성 반응식이 하기에 기재된다. 이들 반응식은 예시적인 것이며, 관련 기술분야의 통상의 기술자가 본원에 개시된 화합물을 제조하는데 사용할 수 있는 가능한 기술을 제한하려는 것으로 의도되지 않는다. 본 발명의 화합물을 제조하기 위한 다른 방법이 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 자명할 것이다. 반응식에 기재된 방법에 의해 제조된 본 발명의 화합물의 예는 하기 제시된 실시예 섹션에 제공되어 있다. 호모키랄 실시예의 제조는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 기술에 의해 수행할 수 있다. 예를 들어, 호모키랄 화합물은 키랄 상 정제용 HPLC에 의한 라세미 생성물 또는 부분입체이성질체의 분리에 의해 제조될 수 있다. 대안적으로, 실시예 화합물은 거울상이성질체적으로 또는 부분입체이성질체적으로 풍부한 생성물을 제공하는 것으로 공지된 방법에 의해 제조될 수 있다.

[0293] 이 섹션에 기재된 반응 및 기술은 사용된 시약 및 물질에 적절한 용매 중에서 수행되며, 변형이 이루어지기에 적합하다. 또한, 하기 제공된 합성 방법의 설명에서, 용매, 반응 분위기, 반응 온도, 실험 지속기간 및 후처리 절차의 선택을 포함한 모든 제안된 반응 조건은, 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 용이하게 인식되는 그 반응에 대해 표준인 조건이도록 선택되는 것으로 이해되어야 한다. 유기 합성의 통상의 기술자는, 분자의 다양한 부분에 존재하는 관능기가 제안된 시약 및 반응과 상용성이어야 한다는 것을 이해한다. 반응 조건과 상용성인 치환기에 대한 이러한 제한은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 용이하게 명백할 것이며, 비상용성 치환기가 존재하는 경우에는 대안이 필요하다. 이는 때때로 본 발명의 화합물을 수득하기 위해 합성 단계의 순서를 변형하거나, 또는 하나의 특정한 공정 반응식을 또 다른 공정 반응식에 대신에 선택하는 것에 대한 판단을 필요로 할 것이다. 또한, 본원 분야의 임의의 합성 경로의 계획 시 또 다른 주요 고려사항은 본 발명에 기재된 화합물에 존재하는 반응성 관능기의 보호에 사용되는 보호기의 신중한 선택임이 인식될 것이다. 숙련된 진료의에게 많은 대안을 설명하는 권위있는 설명은 문헌 [Wuts and Greene, Greene's Protective Groups in Organic Synthesis, Fourth Edition, Wiley and Sons (2007)]에 있다.

[0294] 실시예

[0295] 하기 실시예는 본 발명의 특정하고 바람직한 실시양태를 예시하며, 이는 본 발명의 범주를 제한하지 않는다. 화학적 약어 및 기호 뿐만 아니라 과학적 약어 및 기호는, 달리 명시되지 않는 한, 그의 통상적이고 관례적인 의미를 갖는다. 실시예 및 본 출원의 다른 곳에 사용된 추가의 약어는 상기 정의되어 있다. 공통 중간체는 일반적으로 1개 초과 실시예의 제조에 유용하고, 순차적으로 확인되며 (예를 들어, 중간체 1, 중간체 2 등), Int. 1 또는 I1, Int. 2 또는 I2 등으로 약칭된다. 실시예의 화합물은 이들이 제조된 실시예 및 단계에 의해 확인되거나 (예를 들어, "1-A"는 실시예 1, 단계 A를 나타냄), 또는 단지 화합물이 실시예의 표제 화합물인 경우에 확인된다 (예를 들어, "1"은 실시예 1의 표제 화합물을 나타냄). 일부 경우에, 중간체 또는 실시예의 대안적 제조가 기재되어 있다. 빈번하게, 합성 분야의 숙련된 화학자는 하나 이상의 고려사항, 예컨대 보다 짧은 반응 시간, 보다 저렴한 출발 물질, 작업 또는 단리의 용이성, 개선된 수율, 촉매작용에 적용가능한 것, 독성 시약의 회피, 전문화된 기기의 접근성, 및 감소된 선행 단계의 수 등을 기반으로 하여 바람직할 수 있는 대안적 제조를 고안할 수 있다. 대안적 제조를 기재하는 의도는 본 발명의 실시예의 제조를 추가로 가능하게 하는 것이다. 일부 경우에, 약화된 실시예 및 청구범위에서의 일부 관능기는 관련 기술분야에 널리 공지된 생동배체 대체, 예를 들어 카르복실산 기의 테트라졸 또는 포스페이트 모이어티로의 대체에 의해 대체될 수 있다. 중수 소화 디메틸 술폭시드에서 수집된 ^1H NMR 데이터는 데이터 프로세싱에서 물 억제를 사용하였다. 기록된 스펙트럼은 물 억제의 효과에 대해 보정되지 않았다. 3.35 ppm의 물 억제 빈도에 인접한 양성자는 감소된 신호 강도를 나타낸다.

[0296] 약어

[0297] Ac 아세틸

[0298] anhyd. 무수

[0299] aq. 수성

[0300] BOP 벤조트리아졸-1-일옥시트리스-(디메틸아미노)-포스포늄 헥사플루오로포스페이트

[0301] Bu 부틸

[0302]	DCM 디클로로메탄
[0303]	DEA 디에틸아민
[0304]	DIEA 또는 DIPEA 디이소프로필에틸아민
[0305]	DMF 디메틸포름아미드
[0306]	DMSO 디메틸 술폰사이드
[0307]	dppf 1,1'-비스(디페닐포스피노)페로센
[0308]	Et 에틸
[0309]	EtOAc 에틸 아세테이트
[0310]	EtOH 에탄올
[0311]	h, hours 또는 hrs 시간
[0312]	HCl 염산
[0313]	HPLC 고압 액체 크로마토그래피
[0314]	LC 액체 크로마토그래피
[0315]	LCMS 액체 크로마토그래피- 질량 분광측정법
[0316]	M 몰
[0317]	mM 밀리몰
[0318]	Me 메틸
[0319]	MeOH 메탄올
[0320]	Mesyl-Cl 메탄술폰닐 클로라이드
[0321]	MHz 메가헤르츠
[0322]	mins 분
[0323]	$M^{+1}(M+H)^{+}$
[0324]	MS 질량 분광측정법
[0325]	n 또는 N 노르말
[0326]	NH ₄ OAc 아세트산암모늄
[0327]	nM 나노몰
[0328]	NMP <i>N</i> -메틸피롤리딘
[0329]	Pd ₂ (dba) ₃ 트리스-(디벤질리덴아세톤)디팔라듐
[0330]	pet 에테르 석유 에테르
[0331]	Ph 페닐
[0332]	POCl ₃ 옥시염화인
[0333]	rt 또는 Ret 시간 체류 시간
[0334]	sat. 포화
[0335]	TEA 트리에틸아민
[0336]	TFA 트리플루오로아세트산

[0337] THF 테트라히드로푸란

[0338] 본 발명의 실시예의 제조에 유용한 중간체의 합성에 사용될 수 있는 방법론은 하기 반응식에 제시된다.

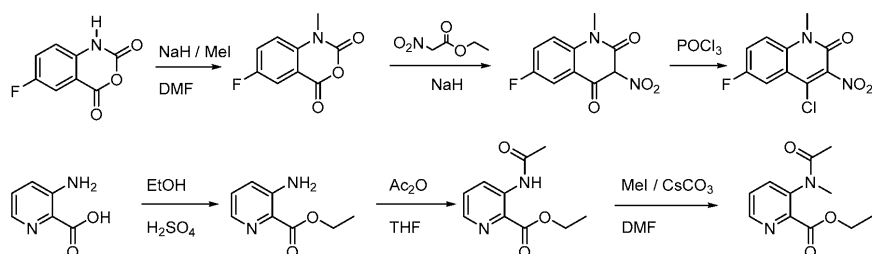
[0339] 제시된 유형의 벤조옥사진-2,4(1H)-디온을 강염기 및 메틸화 시약, 예컨대 메틸 아이오다이드로 처리하여 1-메틸-2H-벤조[d][1,3]옥사진-2,4(1H)-디온을 수득할 수 있다. 이들을 예를 들어 니트로 아세테이트로 처리하여 1-메틸-3-니트로퀴놀린-2,4(1H,3H)-디온을 생성할 수 있다. 이러한 화합물은 또한 관련된 4-클로로 유도체를 전환될 수 있고, 이는 다양한 관능화된 피페리딘과 반응하여 본 발명의 실시예를 제공할 수 있다.

[0340] 다른 방법론에서, 피콜린산은 표준 조건 하에 에스테르화된 다음, 예를 들어 아세트산 무수물로 처리되어 에틸 3-아세타미도피콜리네이트를 제공할 수 있다. 이들은 표준 조건 하에 알킬화되고, 후속적으로 과산화수소 및 트리플루오로아세트산 무수물의 혼합물로 처리되어 관련된 N-옥시드, 예를 들어 2-(에톡시카르보닐)-3-(N-메틸아세타미도)피리딘 1-옥시드에 접근할 수 있다. 관련 기술분야에 공지된 조건 하에, 이들 중간체를 6-시아노-3-(N-메틸아세타미도)피콜리네이트로 전환시킬 수 있고, 이를 염기로 처리하여 고리화시켜 1,5-나프티리딘-2,4(1H,3H)-디온을 수득할 수 있다. 이러한 유형의 화합물은 다수의 유용한 중간체에 접근하기 위해 복수의 방식으로 유도체화될 수 있다. 예를 들어, 표준 니트로화 조건 하의 처리는 관련된 1-메틸-3-니트로-1,5-나프티리딘-2,4(1H,3H)-디온을 생성할 수 있고, 이는 표준 조건 하에 4-클로로- 또는 4-트리플루오로메탄술포네이트 중간체로 전환될 수 있고, 이는 다양한 관능화된 피페리딘과 반응하여 본 발명의 추가의 실시예를 제공할 수 있다. 대안적으로, 브로민화 조건 하의 처리, 예를 들어 DMF 중 N-브로모숙신이미드는 관련된 3-브로모 유도체를 제공할 수 있으며, 이는 상기 기재된 바와 같이 유도체화된 경우에 헤테로사이클의 4-위치에서의 다양한 피페리딘의 도입, 뿐만 아니라 나프티리딘의 3-위치에서의 추가의 유도체화 둘 다를 가능하게 한다.

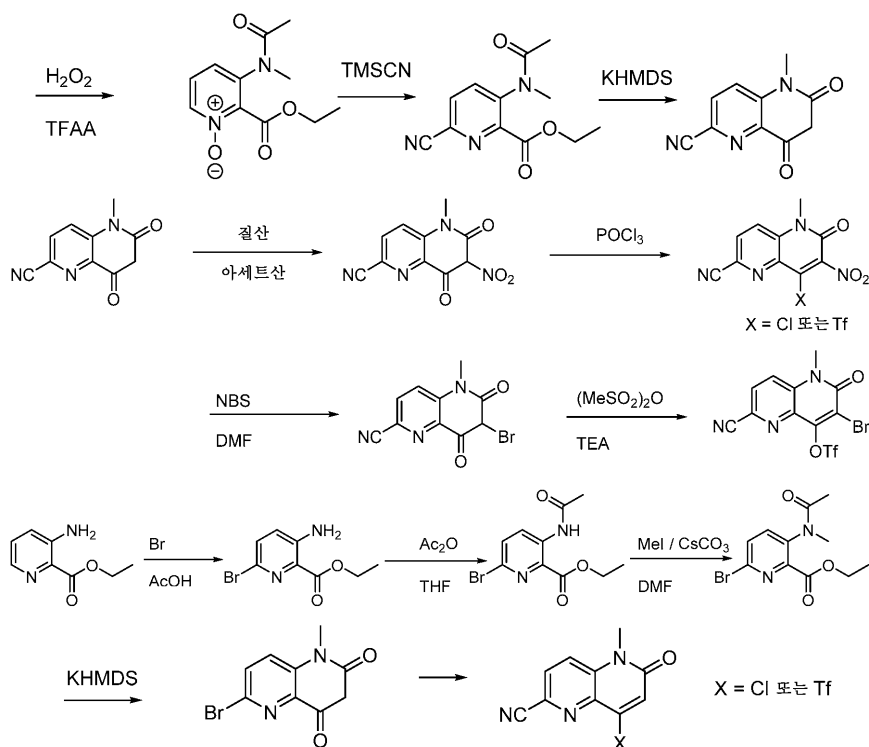
[0341] 예를 들어, 방향족 및 헤테로방향족 모이어티는 관련 기술분야에 공지된 커플링 화학을 통해 이러한 벡터에 도입될 수 있다.

[0342] 추가의 방법론에서, 관련된 에틸 3-아미노-피콜리네이트로부터 생성된 에틸 3-아미노-6-브로모피콜리네이트를 상기 기재된 바와 같이 처리하여 6-브로모-1-메틸-1,5-나프티리딘-2,4(1H,3H)-디온을 수득할 수 있으며, 이는 나프티리딘 헤테로사이클의 6-위치에 다양한 모이어티의 도입을 가능하게 하며, 한 경우는 반응식 1에 나타낸 바와 같이 이 위치에 시아노 관능기를 도입하는 것이다.

[0343] 반응식 1



[0344]



[0345]

[0346]

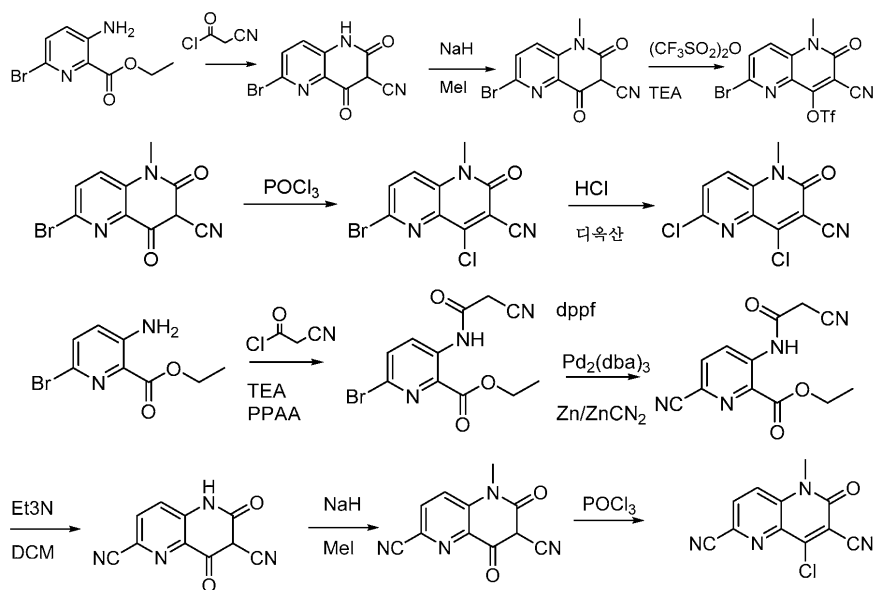
[0347]

본 발명의 중간체의 합성에 유용할 수 있는 추가의 방법론은 하기 반응식에 제시된다.

에틸 3-아미노-6-브로모피콜리네이트를 2-시아노아세트릴 클로라이드로 처리하여 고리화시켜 6-브로모-2,4-디옥소-1,2,3,4-테트라히드로-1,5-나프티리딘-3-카르보니트릴을 생성할 수 있다. 이들은 표준 조건 하에 N1에서 알킬 화되고, 후속적으로 다른 실시예의 제조에 유용한 관련된 6-브로모-3-시아노-1-메틸-2-옥소-1,2-디히드로-1,5-나프티리딘-4-일 트리플루오로메탄 술포네이트로 전환될 수 있다. 대안적으로, POCl₃ 및 디옥산 중 HCl로의 순차적 처리는 또한 유용한 중간체인 4,6-디클로로-1-메틸-2-옥소-1,2-디히드로-1,5-나프티리딘-3-카르보니트릴에 대한 접근을 제공한다.

[0348]

반응식 2



[0349]

[0350]

본 발명의 실시예의 6-위치에서의 시아노 모티프의 도입에 유용할 수 있는 다른 합성 방법은 에틸 6-브로모-3-(2-시아노아세트아미도)피콜리네이트 중간체를 팔라듐 촉매된 조건 하에 아연 및 시안화아연으로 처리하여 에틸 3-(2-시아노아세트아미도)-6-시아노피콜리네이트를 생성하는 것을 포함할 수 있다. 이들은 다양하게 관능화된 피페리딘과 반응하여 본 발명의 다수의 실시예를 생성할 수 있는 4-클로로-6-이소시아노-1-메틸-2-옥소-1,2-디

히드로-1,5-나프티리딘-3-카르보니트릴에 접근하기 위해 이전에 기재된 바와 같은 방법론을 사용하여 유도체화될 수 있다.

[0351] 추가의 유용한 중간체는 하기 반응식에 나타난 바와 같이 적합하게 관능화된 나프티리딘 및 퀴놀론 헤테로사이클을 다양하게 관능화된 피페리딘과 축합시킴으로써 제조될 수 있다. 이러한 중간체는, 예를 들어 적절하게 관능화된 방향족 또는 헤테로방향족 커플링 파트너와의 SN_{Ar} 반응 또는 미즈노부(Mitsunobu) 반응을 사용하여 추가의 정교화에 의해 본 발명의 실시예로 전환될 수 있다.

[0352] 실시예

[0353] 하기 실시예는 본 발명의 특정하고 바람직한 실시양태를 예시하며, 이는 본 발명의 범주를 제한하지는 않는다. 화학적 약어 및 기호 뿐만 아니라 과학적 약어 및 기호는, 달리 명시되지 않는 한, 그의 통상적이고 관례적인 의미를 갖는다. 실시예 및 본 출원의 다른 곳에 사용된 추가의 약어는 상기 정의되어 있다. 공통 중간체는 일반적으로 1개 초과 실시예의 제조에 유용하며, 순차적으로 확인되고 (예를 들어, 중간체 1, 중간체 2 등), Int. 1 또는 I1, Int. 2 또는 I2 등으로 약칭된다. 실시예의 화합물은 이들이 제조된 실시예 및 단계에 의해 확인되거나 (예를 들어, "1-A"는 실시예 1, 단계 A를 나타냄), 또는 화합물이 실시예의 표제 화합물인 경우에만 확인된다 (예를 들어, "1"은 실시예 1의 표제 화합물을 나타냄). 일부 경우에, 중간체 또는 실시예의 대안적 제조가 기재되어 있다. 빈번하게, 합성 기술분야의 숙련된 화학자는 하나 이상의 고려사항, 예컨대 보다 짧은 반응 시간, 보다 저렴한 출발 물질, 작업 또는 단리의 용이성, 개선된 수율, 촉매작용의 적용가능성, 독성 시약의 회피, 전문화된 기기의 접근성, 및 감소된 선형 단계의 수 등을 기반으로 하여 바람직할 수 있는 대안적 제조를 고안할 수 있다. 대안적 제조를 기재하는 의도는 본 발명의 실시예의 제조를 추가로 가능하게 하는 것이다. 일부 경우에, 약술된 실시예 및 청구범위에서의 일부 관능기는 관련 기술분야에 널리 공지된 생동배체 대체, 예를 들어 카르복실산 기의 테트라졸 또는 포스페이트 모이어티로의 대체에 의해 대체될 수 있다. 중수소화 디메틸 술폭시드에서 수집된 ^1H NMR 데이터는 데이터 프로세싱에서 물 억제체를 사용하였다. 기록된 스펙트럼은 물 억제의 효과에 대해 보정되지 않았다. 3.35 ppm의 물 억제 빈도에 인접한 양성자는 감소된 신호 강도를 나타낸다.

[0354] 약어

[0355] Ac 아세틸

[0356] anhyd. 무수

[0357] aq. 수성

[0358] BINAP 2,2'-비스(디페닐포스피노)-1,1'-비나프틸

[0359] Boc *tert*-부톡시카르보닐

[0360] BOP 벤조트리아졸-1-일옥시트리스-(디메틸아미노)-포스포늄 헥사플루오로포스페이트

[0361] Bu 부틸

[0362] DCM 디클로로메탄

[0363] DEA 디에틸아민

[0364] DIEA 또는 DIPEA 디이소프로필에틸아민

[0365] DMF 디메틸포름아미드

[0366] DMSO 디메틸 술폭시드

[0367] dppf 1,1'-비스(디페닐포스피노)페로센

[0368] Et 에틸

[0369] EtOAc 에틸 아세테이트

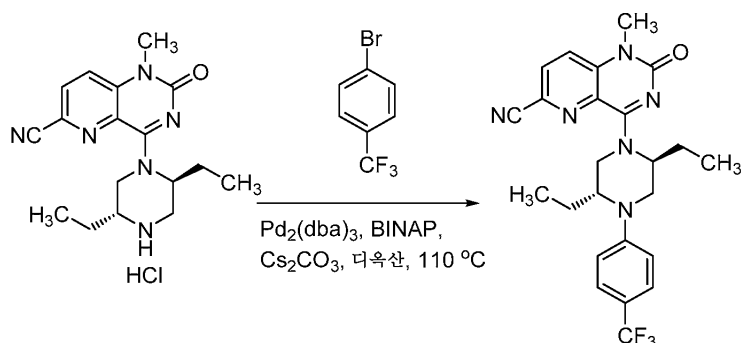
[0370] EtOH 에탄올

[0371] h, hours 또는 hrs 시간

- [0372] HCl 염산
- [0373] HPLC 고압 액체 크로마토그래피
- [0374] LC 액체 크로마토그래피
- [0375] LCMS 액체 크로마토그래피- 질량 분광측정법
- [0376] M 물
- [0377] mM 밀리몰
- [0378] Me 메틸
- [0379] MeOH 메탄올
- [0380] Mesyl-Cl 메탄술폰닐 클로라이드
- [0381] MHz 메가헤르츠
- [0382] mins 분
- [0383] $M^{+}(M+H)^{+}$
- [0384] MS 질량 분광측정법
- [0385] n 또는 N 노르말
- [0386] NH₄OAc 아세트산암모늄
- [0387] nM 나노몰
- [0388] NMP *N*-메틸피롤리디논
- [0389] Pd₂(dba)₃트리스-(디벤질리덴아세톤)디팔라듐
- [0390] pet 에테르 석유 에테르
- [0391] Ph 페닐
- [0392] POCl₃옥시염화인
- [0393] rt 또는 Ret 시간 체류 시간
- [0394] sat. 포화
- [0395] TEA 트리에틸아민
- [0396] TFA 트리플루오로아세트산
- [0397] THF 테트라히드로푸란
- [0398] 본 발명의 실시예의 제조에 유용한 중간체의 합성에 사용될 수 있는 방법론은 하기 반응식에 제시되어 있다.
- [0399] LCMS 조건:
- [0400] 방법 A: 칼럼: 엑스브리지(XBridge) BEH XP C18 (50 x2.1 mm), 2.5 μm; 이동상 A: 95% 물: 5% 아세트오니트릴; 10 mM 아세트산암모늄; 이동상 B: 5% 물: 95% 아세트오니트릴; 10 mM 아세트산암모늄; 유량: 1.1 mL/분; 온도: 50℃; 시간 (분): 0-3; %B: 0-100 %).
- [0401] 방법 B: 칼럼: 키네텍스(Kinetex) XB-C18 (3 x 75 mm) 2.6 μm; 이동상 A: 10 mM 포름산암모늄: 아세트오니트릴 (98:2), 이동상 B: 10 mM 포름산암모늄: 아세트오니트릴 (2:98), 구매 = 20-100% B 4분에 걸쳐, 이어서 100% B에서 0.6분 유지; 온도: 27℃; 유량: 1.0 mL/분; 검출: UV (220 nm).
- [0402] 방법 C: 칼럼: 워터스 엑스브리지(Waters XBridge) C18, 2.1 mm x 50 mm, 1.7 μm 입자; 이동상 A: 5:95 아세트오니트릴:물 (0.1 % 트리플루오로아세트산 함유); 이동상 B: 95:5 아세트오니트릴:물 (0.1 % 트리플루오로아세트산 함유); 온도: 50℃; 구매: 0%B에서 100%B 3분에 걸쳐, 이어서 100%B에서 0.50분 유지; 유량: 1mL/분; 검출:

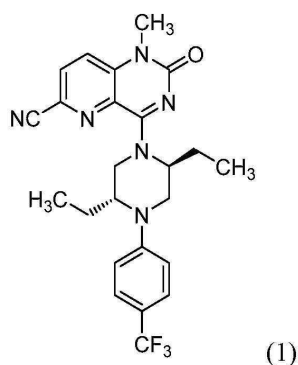
MS 및 UV (220 nm).

반응식 1



실시예 1

4-((2S,5R)-2,5-디에틸-4-(4-(트리플루오로메틸)페닐)피페라진-1-일)-1-메틸-2-옥소-1,2-디히드로피리도[3,2-d]피리미딘-6-카르보니트릴



1,4-디옥산 (3 mL) 중 4-((2S,5R)-2,5-디에틸피페라진-1-일)-1-메틸-2-옥소-1,2-디히드로피리도[3,2-d]피리미딘-6-카르보니트릴 히드록로라이드 (50 mg, 0.14 mmol)의 교반 용액에, 1-브로모-4-(트리플루오로메틸)벤젠 (78 mg, 0.34 mmol), 탄산세슘 (135 mg, 0.41 mmol) 및 rac-BINAP (17.2 mg, 0.028 mmol) 실온에서 순차적으로를 첨가하였다. 반응 혼합물을 아르곤으로 퍼징하고, $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (12.6 mg, 0.01 mmol)을 아르곤 하에 첨가하였다. 반응 바이알을 밀봉하고, 100°C에서 14시간 동안 가열하였다. 반응 혼합물을 실온으로 냉각시키고, EtOAc (2 X 30 mL)로 추출하고, 물, 염수로 세척하고, 황산나트륨 상에서 건조시키고, 감압 하에 농축시켜 조 잔류물을 수득하였으며, 이를 정제용 HPLC [방법: 워터스 엑스브리지 C18, 19 x 150 mm, 5- μm 입자; 이동상 A: 10-mM 아세트산암모늄; 이동상 B: 아세토니트릴; 구배: 20분에 걸쳐 15-75% B, 이어서 100% B에서 5분 유지; 유량: 15 mL/분]에 의해 정제하여 4-((2S,5R)-2,5-디에틸-4-(4-(트리플루오로메틸)페닐)피페라진-1-일)-1-메틸-2-옥소-1,2-디히드로피리도[3,2-d]피리미딘-6-카르보니트릴 (4.5 mg, 7% 수율)을 수득하였다.

LCMS: m/z, 471.2 (M+H); 체류 시간 2.20분; (LCMS 방법: 칼럼: 엑스브리지 BEH XP C18 (50 x 2.1) mm, 2.5 μm ; 이동상 A: 95% 물: 5% 아세토니트릴; 10 mM 아세트산암모늄; 이동상 B: 5% 물: 95% 아세토니트릴; 10 mM 아세트산암모늄; 유량: 1.1 mL/분; 온도: 50°C; 시간 (분): 0-3; %B: 0-100%);

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 8.28 (dd, J = 4.2, 8.8 Hz, 1H), 8.03 (br dd, J = 6.2, 8.7 Hz, 1H), 7.49 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.06 (br d, J = 8.1 Hz, 2H), 6.02- 5.65 (m, 1H), 5.24-4.90 (m, 1H), 4.16-3.97 (m, 1H), 3.78 (br d, J = 12.5 Hz, 1H), 3.46 (s, 3H), 3.42-3.35 (m, 1H), 3.30 (br s, 1H), 1.96-1.72 (m, 2H), 1.61 (br d, J = 7.6 Hz, 1H), 1.45-1.28 (m, 1H), 1.01-0.73 (m, 6H).

표 1의 실시예 2를 실시예 1에 개시된 일반적 절차에 따라 적절한 피페리딘으로부터 제조하였다.

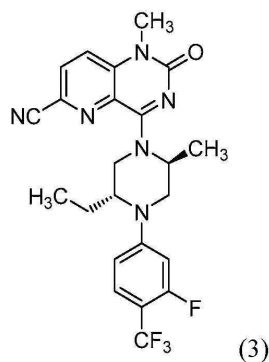
[0412] 표 1

Ex. No.	구조	임체 화학	LCMS 방법	LCMS RT	M+H
2		호모키랄	A	2.20	471.2

[0413]

[0414] 실시예 3

[0415] 4-((2S,5R)-5-에틸-4-(3-플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐)-2-메틸피페라진-1-일)-1-메틸-2-옥소-1,2-디히드로피리도[3,2-d]피리미딘-6-카르보니트릴



[0416]

[0417] 1,4-디옥산 (2 mL) 중 4-((2S,5R)-5-에틸-2-메틸피페라진-1-일)-1-메틸-2-옥소-1,2-디히드로피리도[3,2-d]피리미딘-6-카르보니트릴 (30 mg, 0.10 mmol)의 교반 용액에 실온에서 4-브로모-2-플루오로-1-(트리플루오로메틸)벤젠 (28.0 mg, 0.11 mmol), Cs₂CO₃ (94 mg, 0.29 mmol) 및 X-Phos Pd-G2(1310584-14-5) (8 mg, 9.60 μmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 아르곤으로 5분 동안 탈기하였다. 바이알을 밀봉하고, 110℃에서 14시간 동안 가열하였다. 반응 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 시린지 필터를 통해 여과하고, 과량의 EtOAc로 세척하고, 여과물을 감압 하에 농축시켜 조 잔류물을 수득하였으며, 이를 정제용 HPLC [방법: 워터스 엑스브리지 C18, 19 x 150 mm, 5-μm 입자; 이동상 A: 10-mM 아세트산암모늄; 이동상 B: 아세토니트릴; 구배: 20분에 걸쳐 15-75% B, 이어서 100% B에서 5분 유지; 유량: 15 mL/분]에 의해 정제하여 4-((2S,5R)-5-에틸-4-(3-플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐)-2-메틸피페라진-1-일)-1-메틸-2-옥소-1,2-디히드로피리도[3,2-d]피리미딘-6-카르보니트릴 (19 mg, 40% 수율)을 수득하였다.

[0418]

LCMS: m/z, 475.2 (M+H); 체류 시간 2.12분; (LCMS 방법: 칼럼: 엑스브리지 BEH XP C18 (50 x 2.1) mm, 2.5 μm; 이동상 A: 95% 물: 5% 아세토니트릴; 10 mM 아세트산암모늄; 이동상 B: 5% 물: 95% 아세토니트릴; 10 mM 아세트산암모늄; 유량: 1.1 mL/분; 온도: 50℃; 시간 (분): 0-3; %B: 0-100%);

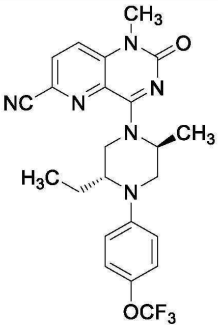
[0419]

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 8.27 (d, J=8.8 Hz, 1H), 8.03 (d, J=9.0 Hz, 1H), 7.47 (t, J=9.0 Hz, 1H), 6.95 (br d, J=15.4 Hz, 1H), 6.85 (dd, J=0.9, 8.4 Hz, ¹H), 5.93-5.79 (m, 1H), 5.21-4.89 (m, 1H), 4.20-4.02 (m, 1H), 3.87-3.69 (m, 2H), 3.47 (s, 3H), 3.42-3.35 (m, 1H), 1.76-1.57 (m, 1H), 1.53-1.18 (m, 4 H), 0.91 (t, J=7.5 Hz, 3H).

[0420]

표 2의 실시예 4를 실시예 3에 개시된 일반적 절차에 따라 적절한 피페리딘으로부터 제조하였다.

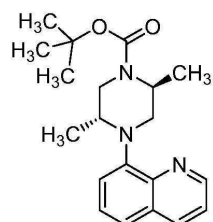
[0421] 표 2

Ex. No.	구조	입체 화학	LCMS 방법	LCMS RT	M+H
4		호모키랄	B	3.22	473.2

[0422]

[0423] 중간체 1

[0424] tert-부틸 (2S,5R)-2,5-디메틸-4-(퀴놀린-8-일)피페라진-1-카르복실레이트



[0425]

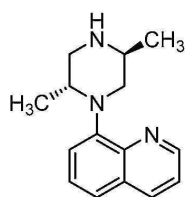
[0426] DMSO (4 mL) 중 tert-부틸 (2S,5R)-2,5-디메틸피페라진-1-카르복실레이트 (0.155 g, 0.721 mmol)의 용액에 8-브로모퀴놀린 (0.1 g, 0.481 mmol), [(2,6-디메틸페닐)카르바모일]포름산 (0.019 g, 0.096 mmol), 아이오딘화구리 (I) (9.15 mg, 0.048 mmol) 및 삼염기성 인산칼륨 (0.204 g, 0.961 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 아르곤으로 1분 동안 버블링하였다. 반응 용기를 마개를 막고, 100℃에서 밤새 가열하였다. 반응물을 LC-MS (액티브 UPLC BEH C18 2.1 X 50mm 1.7 μm 칼럼; 0-100% B; 2분 구배, 3분 실행 시간 0.8 mL/분 유량 (용매 A: 90% 물, 10% 메탄올, 0.1% TFA; 용매 B: 10% 물, 90% 메탄올, 0.1% TFA)에 의해 모니터링하였다. 생성물 형성이 관찰되었고, 일부 출발 물질이 관찰되었다. 추가의 [(2,6-디메틸페닐)카르바모일]포름산 (0.019 g, 0.096 mmol), 아이오딘화구리 (I) (9.15 mg, 0.048 mmol) 및 삼염기성 인산칼륨 (0.204 g, 0.961 mmol)을 첨가하고, 반응 혼합물을 100℃에서 밤새 가열하였다.

[0427] LC-MS에서는 어떠한 출발 물질도 검출되지 않았다. 반응 혼합물을 여과하고, 역상 정제용 HPLC [30 x 100 mm 엑스테라 칼럼 및 5-100%B, 12분 구배, 14분 실행. (용매 A: 90% 물, 10% 아세토니트릴, 0.1% TFA; 용매 B: 10% 물, 90% 아세토니트릴, 0.1% TFA)]를 이용하여 정제하였다. 목적 분획을 농축시켜 tert-부틸 (2S,5R)-2,5-디메틸-4-(퀴놀린-8-일)피페라진-1-카르복실레이트 (0.068 g, 0.199 mmol, 41.4% 수율)을 수득하였다.

[0428] LC-MS: R_t = 1.76분, (M+H) = 342.35.

[0429] 중간체 2

[0430] 8-((2R,5S)-2,5-디메틸피페라진-1-일)퀴놀린



[0431]

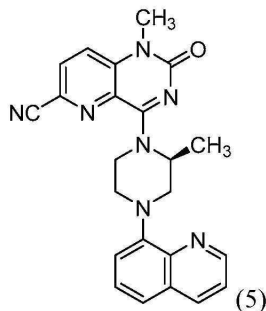
[0432] 실온에서 디클로로메탄 (4 mL) 중 tert-부틸 (2S,5R)-2,5-디메틸-4-(퀴놀린-8-일)피페라진-1-카르복실레이트 (0.068 g, 0.199 mmol)의 용액에 HCl (0.149 mL, 0.597 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교

반하였다. 반응물을 LC-MS (액유티 UPLC BEH C18 2.1 X 50 mm 1.7 μ m 칼럼; 0-100% B; 2분 구배, 3분 실행 시간 0.8 mL/분 유량 (용매 A: 90% 물, 10% 메탄올, 0.1% TFA; 용매 B: 10% 물, 90% 메탄올, 0.1% TFA)에 의해 모니터링하였다. 정확한 질량을 갖는 생성물 피크가 관찰되었다. 반응 혼합물을 농축시켜 8-((2R,5S)-2,5-디메틸피페라진-1-일)퀴놀린 (0.048 g, 0.199 mmol, 100% 수율)을 조 생성물로서 수득하였다.

[0433] LC-MS: R_t = 1.36분, (M+H) = 242.30.

[0434] 실시예 5

[0435] (S)-5-메틸-8-(2-메틸-4-(퀴놀린-8-일)피페라진-1-일)-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보니트릴



[0436]

[0437] 질소 하에 실온에서 DMF (15 mL) 중 6-시아노-1-메틸-2-옥소-1,2-디히드로-1,5-나프티리딘-4-일 트리플루오로메탄술포네이트 (0.030 g, 0.090 mmol)의 용액에 8-((2R,5S)-2,5-디메틸피페라진-1-일)퀴놀린 (0.024 g, 0.099 mmol) 및 DIEA (0.039 mL, 0.225 mmol)를 첨가하였다. 반응 용기를 마개를 막고, 80℃에서 밤새 가열하였다. 반응물을 LC-MS (액유티 UPLC BEH C18 2.1 X 50 mm 1.7 μ m 칼럼; 0-100% B; 2분 구배, 3분 실행 시간 0.8 mL/분 유량 (용매 A: 90% 물, 10% 메탄올, 0.1% TFA; 용매 B: 10% 물, 90% 메탄올, 0.1% TFA)에 의해 모니터링하였다. 생성물 형성이 관찰되었다. 반응 혼합물을 농축시키고, 잔류물을 메탄올 중에 재용해시키고, 여과하고, 정제용 LC/MS (칼럼: 엑스브리지 C18, 200 mm x 19 mm, 5- μ m 입자; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴: 물, 10-mM 아세트산암모늄 함유; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴: 물, 10-mM 아세트산암모늄 함유; 구배: 29% B에서 0-분 유지, 25분에 걸쳐 29-69% B, 이어서 100% B에서 5-분 유지; 유량: 20 mL/분)을 사용하여 정제하고; 목적 분획을 합하고, 농축시켜 (S)-5-메틸-8-(2-메틸-4-(퀴놀린-8-일)피페라진-1-일)-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보니트릴 (0.0057g, 0.013 mmol, 15% 수율)을 수득하였다.

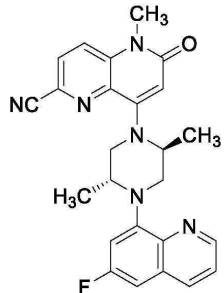
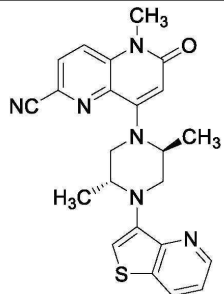
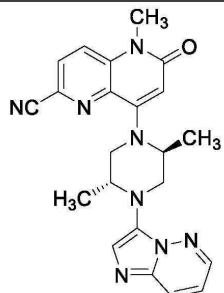
[0438] ^1H NMR (500MHz, DMSO- d_6) δ 8.94 (br d, J =3.1 Hz, 1H), 8.41 (br d, J =7.6 Hz, 1H), 8.23-8.08 (m, 2H), 7.57-7.50 (m, 1H), 7.24 (s, 2H), 7.13 (s, 1H), 7.03 (s, 1H), 6.16 (s, 1H), 5.04-4.93 (m, 1H), 4.91-4.81 (m, 1H), 3.99-3.82 (m, 2H), 3.57 (s, 2H), 3.13 (br d, J =11.3 Hz, 1H), 2.55 (s, 1H), 1.33 (d, J =6.7 Hz, 3H), 1.03 (d, J =6.7 Hz, 3H).

[0439] LC-MS: R_t = 1.21분, (M+H) = 425.26.

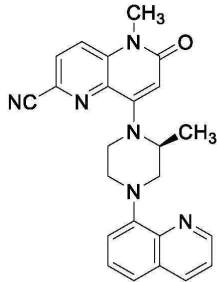
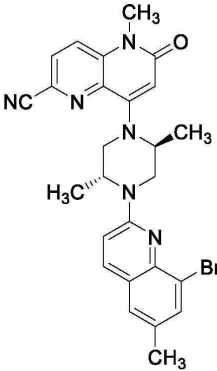
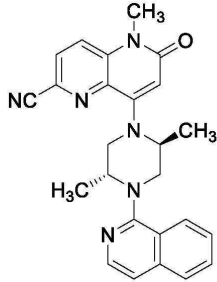
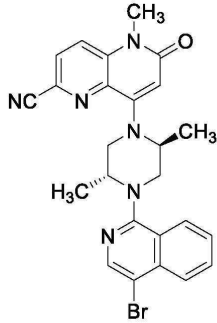
[0440] QC 방법 1: 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 2.1 mm x 50 mm, 1.7 μ m 입자; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:물, 0.1% 트리플루오로아세트산 함유; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:물, 0.1% 트리플루오로아세트산 함유; 온도: 50℃; 구배: 3분에 걸쳐 0%B에서 100%B, 이어서 100%B에서 0.50분 유지; 유량: 1mL/분; 검출: MS 및 UV (220 nm)

[0441] 표 3의 화합물을 상기 실시예 5에 언급된 동일한 화학을 사용하여 6-시아노-1-메틸-2-옥소-1,2-디히드로-1,5-나프티리딘-4-일 트리플루오로메탄술포네이트로부터 제조하였다.

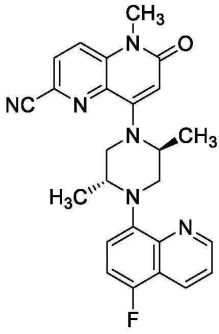
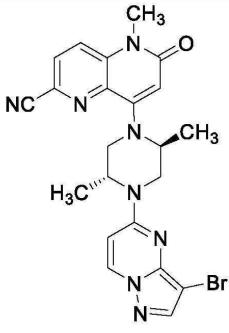
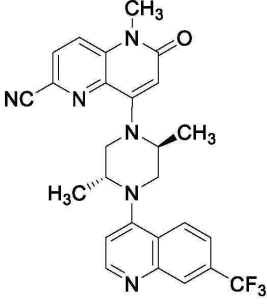
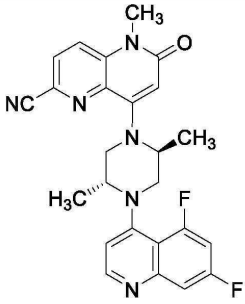
[0442] 표 3

Ex. No.	구조	LC MS 방법	Obs. MS 이온	입체 화학	RT
6		C	443.34	H	1.37
7		C	431.18	H	1.57
8		C	414.96	H	1.02

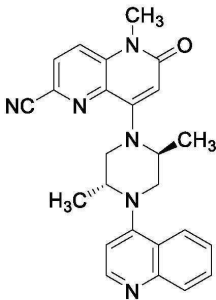
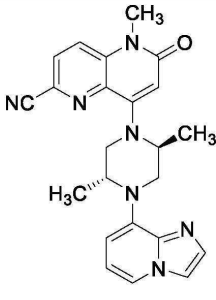
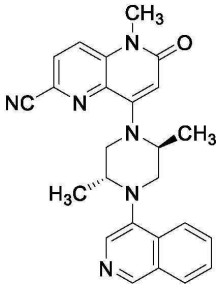
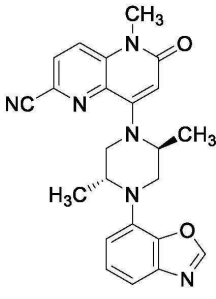
[0443]

9		C	410.96	H	1.24
10		C	517.12	H	2.58
11		C	425.16	H	2.11
12		C	503.06	H	1.98

[0444]

13		C	443.01	H	1.43
14		C	492.97	H	1.84
15		C	493.05	H	1.5
16		C	461.19	H	1.98

[0445]

17		C	425.18	H	1.71
18		C	414.23	H	1.07
19		C	425.12	H	1.29
20		C	415.09	H	1.72

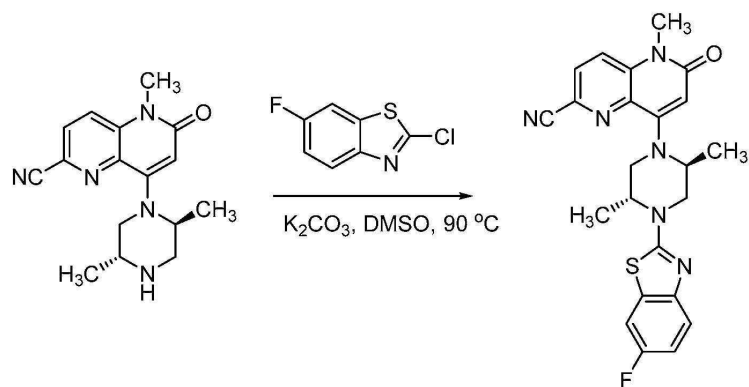
[0446]

21		C	525.32	H	1.43
22		C	439.31	H	1.3
23		C	443.32	H	1.28
24		C	469.32	H	1.51

[0447]

[0448]

실시예 25



[0449]

[0450]

DMSO (4 mL) 중 8-((2S,5R)-2,5-디메틸피페라진-1-일)-5-메틸-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보니 트릴 (50 mg, 0.17 mmol)의 교반 용액에 2-클로로-6-플루오로벤조[d]티아졸 (38 mg, 0.20 mmol) 및 K_2CO_3 (70

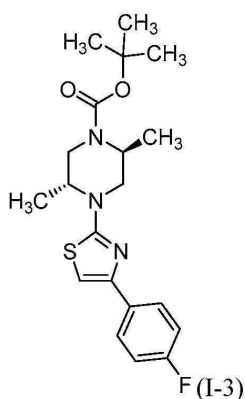
mg, 0.50 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 90℃에서 밤새 가열하였다. 반응 혼합물을 실온으로 냉각시키고, EtOAc (3X30 mL)로 추출하고, 물, 염수로 세척하고, 황산나트륨 상에서 건조시켰다. 용매를 감압 하에 제거하여 조 잔류물을 수득하였으며, 이를 정제용 HPLC (칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 19 x 150 mm, 5-μ m 입자; 이동상 A: 10-mM 아세트산암모늄; 이동상 B: 아세토니트릴; 구배: 20분에 걸쳐 15-50% B, 이어서 100% B에서 5분 유지; 유량: 15 mL/분)에 의해 정제하여 8-((2S,5R)-4-(6-플루오로벤조[d]티아졸-2-일)-2,5-디메틸 피페라진-1-일)-5-메틸-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보닐트릴 (10 mg, 13% 수율)을 수득하였다.

[0451] LCMS: m/z, 449.2 (M+H); RT 1.98분; (LCMS 방법: 칼럼: 엑스브리지 BEH XP C18 (50 x 2.1) mm, 2.5 μm; 이동상 A: 95% 물: 5% 아세토니트릴; 10 mM 아세트산암모늄; 이동상 B: 5% 물: 95% 아세토니트릴; 10 mM 아세트산암모늄; 유량: 1.1 mL/분; 온도: 50℃; 시간 (분): 0-3; %B: 0-100%).

[0452] ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 8.26-8.18 (m, 1H), 8.16-8.06 (m, 1H), 7.74 (dd, J = 2.7, 8.8 Hz, 1H), 7.46 (dd, J = 4.6, 8.8 Hz, 1H), 7.13 (dt, J = 2.7, 9.0 Hz, 1H), 6.14 (s, 1H), 4.74-4.62 (m, 1H), 4.43 (br d, J = 2.4 Hz, 1H), 3.93-3.70 (m, 3H), 3.64 (dd, J = 3.7, 13.2 Hz, 1H), 3.56 (s, 3H), 1.40 (d, J = 6.6 Hz, 3H), 1.20 (d, J = 6.6 Hz, 3H).

[0453] 중간체 3

[0454] tert-부틸 (2S,5R)-4-(4-(4-플루오로페닐)티아졸-2-일)-2,5-디메틸피페라진-1-카르복실레이트



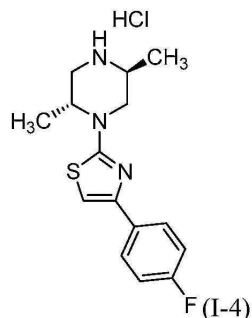
[0455]

[0456] 톨루엔 (4 mL) 중 tert-부틸 (2S,5R)-2,5-디메틸피페라진-1-카르복실레이트 (300 mg, 1.40 mmol)의 용액에 2-브로모-4-(4-플루오로페닐)티아졸 (400 mg, 1.54 mmol), 소듐 tert-부톡사이드 (404 mg, 4.20 mmol), Xantphos (81 mg, 0.14 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 아르곤으로 5분 동안 탈기하였다. 다음에, Pd₂(dba)₃ (128 mg, 0.14 mmol)을 실온에서 첨가하고, 이어서 110℃에서 14시간 동안 가열하였다. 반응 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 물로 희석하고, EtOAc (3 X 50 mL)로 추출하였다. 합한 유기 추출물을 염수로 세척하고, 황산나트륨 상에서 건조시키고, 감압 하에 농축시켰다. 조 생성물을 플래쉬 칼럼 크로마토그래피 (칼럼: 12 g 실리카; 용매 실행: 석유 에테르 중 25-40% EtOAc)에 의해 정제하여 5 tert-부틸 (2S,5R)-4-(4-(4-플루오로페닐)티아졸-2-일)-2,5-디메틸피페라진-1-카르복실레이트 (300 mg, 55% 수율)을 수득하였다.

[0457] LCMS: m/z, 392.3 (M+H); rt 2.34분; 칼럼: 워터스 액티비 UPLC BEH C18 (2.1 x 50 mm) 1.7 μm, 이동상 A: 10 mM 아세트산암모늄:아세토니트릴 (95:5); 이동상 B: 10 mM 아세트산암모늄:아세토니트릴 (5:95), 구배 = 1.1분에 걸쳐 20-90% B, 이어서 90% B에서 0.6분 유지; 온도: 50℃; 유량: 0.7 mL/분; 검출: 220 nm에서 UV.

[0458] 중간체 4

[0459] 2-((2R,5S)-2,5-디메틸피페라진-1-일)-4-(4-플루오로페닐)티아졸, HCl



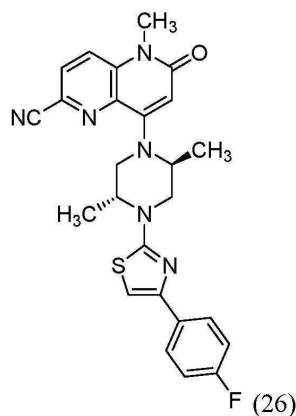
[0460]

[0461] DCM (5 mL) 중 tert-부틸 (2S,5R)-4-(4-(4-플루오로페닐)티아졸-2-일)-2,5-디메틸피페라진-1-카르복실레이트 (250 mg, 0.64 mmol)의 용액에 0℃에서 디옥산 중 4 N HCl (0.8 mL, 3.19 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에 도달하도록 하고, 2시간 동안 교반하였다. 용매를 감압 하에 제거하고, 건조시켜 2-((2R,5S)-2,5-디메틸피페라진-1-일)-4-(4-플루오로페닐)티아졸, HCl (150 mg, 81% 수율)을 수득하였다.

[0462] LCMS: m/z, 292.3 (M+H); rt 1.36분; 칼럼: 워터스 액티비티 UPLC BEH C18 (2.1 x 50 mm) 1.7 μm, 이동상 A: 10 mM 아세트산암모늄:아세트니트릴 (95:5); 이동상 B: 10 mM 아세트산암모늄:아세트니트릴 (5:95), 구배 = 1.1분에 걸쳐 20-90% B, 이어서 90% B에서 0.6분 유지; 온도: 50℃; 유량: 0.7 mL/분; 검출: 220 nm에서 UV.

[0463] 실시예 26

[0464] 8-((2S,5R)-4-(4-(4-플루오로페닐)티아졸-2-일)-2,5-디메틸피페라진-1-일)-5-메틸-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보닐트릴



[0465]

[0466] 아세트니트릴 (5 mL) 중 2-((2R,5S)-2,5-디메틸피페라진-1-일)-4-(4-플루오로페닐) 티아졸, HCl (54 mg, 0.16 mmol)의 용액에 실온에서 중탄산나트륨 (125 mg, 1.50 mmol) 및 6-시아노-1-메틸-2-옥소-1,2-디히드로-1,5-나프티리딘-4-일 트리플루오로메탄술포네이트 (50 mg, 0.15 mmol)를 첨가하였다. 생성된 혼합물을 80℃에서 14시간 동안 가열하였다. 반응 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 용매를 감압 하에 제거하여 조 잔류물을 수득하였다. 조 잔류물을 정제용 HPLC (칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 150 mm x 19 mm, 5-μm 입자; 이동상 A: 5:95 아세트니트릴: 물, 10-mM 아세트산암모늄 함유; 이동상 B: 95:5 아세트니트릴: 물, 10-mM 아세트산암모늄 함유; 구배: 15% B에서 0-분 유지, 25분에 걸쳐 15-55% B, 이어서 100% B에서 5-분 유지; 유량: 15 mL/분, 칼럼 온도: 25℃)를 사용하여 정제하여 8-((2S,5R)-4-(4-(4-플루오로페닐)티아졸-2-일)-2,5-디메틸피페라진-1-일)-5-메틸-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보닐트릴 (4.3 mg, 6% 수율)을 수득하였다.

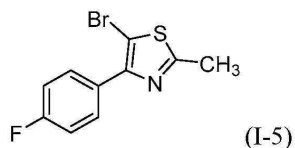
[0467] LCMS: m/z, 475.1 (M+H); RT 2.08분; (LCMS 방법: 칼럼: 엑스브리지 BEH XP C18 (50x2.1)mm, 2.5 μm; 이동상 A: 95% 물: 5% 아세트니트릴; 10 mM 아세트산암모늄; 이동상 B: 5% 물: 95% 아세트니트릴; 10 mM 아세트산암모늄; 유량: 1.1 mL/분; 온도 :50℃; 시간 (분): 0-3; %B: 0-100%).

[0468] ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 8.26-8.17 (m, 1H), 8.15-8.07 (m, 1H), 7.92 (dd, J = 5.6, 8.6 Hz, 2H), 7.30-7.14 (m, 3H), 6.14 (s, ¹H), 4.76-4.63 (m, 1H), 4.37 (br s, 1H), 3.87 (br d, J = 12.5 Hz, 1H),

3.76-3.61 (m, 3H), 3.56 (s, 3H), 1.37 (d, J = 6.6 Hz, 3H), 1.22 (d, J = 6.6 Hz, 3H).

[0469] 중간체 5

[0470] 5-브로모-4-(4-플루오로페닐)-2-메틸티아졸



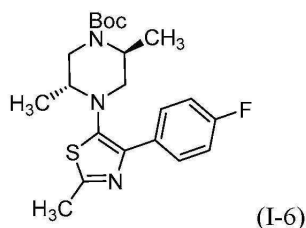
[0471]

[0472] DCM (8 mL) 중 4-(4-플루오로페닐)-2-메틸티아졸 (800 mg, 4.14 mmol)의 용액에 Br₂ (0.25 mL, 4.55 mmol)를 실온에서 첨가하고, 이어서 45℃에서 4시간 동안 가열하였다. 반응 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 물로 희석하고, EtOAc (3 X 50 mL)로 추출하였다. 합한 유기 추출물을 염수로 세척하고, 황산나트륨 상에서 건조시키고, 감압 하에 농축시켰다. 조 생성물을 플래쉬 칼럼 크로마토그래피 (석유 에테르 중 칼럼: 12 g 실리카; 용매 실행: 25-40% EtOAc)에 의해 정제하여 5-브로모-4-(4-플루오로페닐)-2-메틸티아졸 (900 mg, 80% 수율)을 수득하였다.

[0473] ¹H NMR (400 MHz, 클로로포름-d) δ ppm 7.82-7.96 (m, 2 H), 7.08-7.16 (m, 2 H), 2.70 (s, 3 H).

[0474] 중간체 6

[0475] tert-부틸 (2S,5R)-4-(4-(4-플루오로페닐)-2-메틸티아졸-5-일)-2,5-디메틸피페라진-1-카르복실레이트



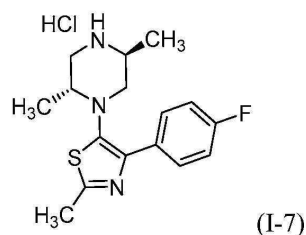
[0476]

[0477] 톨루엔 (4 mL) 중 tert-부틸 (2S,5R)-2,5-디메틸피페라진-1-카르복실레이트 (300 mg, 1.40 mmol)의 용액에 5-브로모-4-(4-플루오로페닐)-2-메틸티아졸 (420 mg, 1.54 mmol), 소듐 tert-부톡사이드 (410 mg, 4.20 mmol), 및 Xantphos (81 mg, 0.14 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 아르곤으로 5분 동안 탈기하였다. 다음에, Pd₂(dba)₃ (130 mg, 0.14 mmol)을 실온에서 첨가하고, 이어서 110℃에서 14시간 동안 가열하였다. 반응 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 물로 희석하고, EtOAc (3 X 50 mL)로 추출하였다. 합한 유기 추출물을 염수로 세척하고, 황산나트륨 상에서 건조시키고, 감압 하에 농축시켰다. 조 생성물을 플래쉬 칼럼 크로마토그래피 (석유 에테르 중 칼럼: 12 g 실리카; 용매 실행: 25-40% EtOAc)에 의해 정제하여 tert-부틸 (2S,5R)-4-(4-(4-플루오로페닐)-2-메틸티아졸-5-일)-2,5-디메틸피페라진-1-카르복실레이트 (350 mg, 62% 수율)을 수득하였다.

[0478] LCMS: m/z, 406.4 (M+H); rt 2.32분; 칼럼: 워터스 액티비 UPLC BEH C18 (2.1 x 50 mm) 1.7 μm, 이동상 A: 10 mM 아세트산암모늄:아세트니트릴 (95:5); 이동상 B: 10 mM 아세트산암모늄:아세트니트릴 (5:95), 구배 = 1.1분에 걸쳐 20-90% B, 이어서 90% B에서 0.6분 유지; 온도: 50℃; 유량: 0.7 mL/분; 검출: 220 nm에서 UV.

[0479] 중간체 7

[0480] 5-((2R,5S)-2,5-디메틸피페라진-1-일)-4-(4-플루오로페닐)-2-메틸티아졸 히드로클로라이드



[0481]

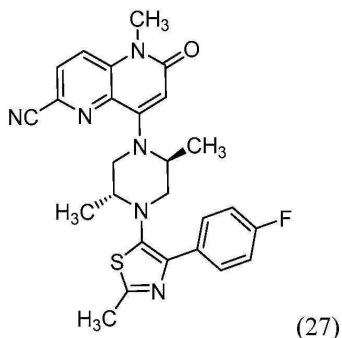
[0482] DCM (8 mL) 중 tert-부틸 (2S,5R)-4-(4-(4-플루오로페닐)-2-메틸티아졸-5-일)-2,5-디메틸피페라진-1-카르복실

레이트 (300 mg, 0.74 mmol)에 0℃에서 디옥산 중 4 N HCl의 용액 (0.8 mL, 3.70 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에 도달하도록 하고, 2시간 동안 교반하였다. 용매를 감압 하에 제거하고, 건조시켜 5-((2R,5S)-2,5-디메틸피페라진-1-일)-4-(4-플루오로페닐)-2-메틸티아졸, HCl (180 mg, 71% 수율)을 수득하였다.

[0483] LCMS: m/z, 306.3 (M+H); rt 1.11분; 칼럼: 워터스 액티비 UPLC BEH C18 (2.1 x 50 mm) 1.7 μm, 이동상 A: 10 mM 아세트산암모늄:아세트니트릴 (95:5); 이동상 B: 10 mM 아세트산암모늄:아세트니트릴 (5:95), 구배 = 1.1분에 걸쳐 20-90% B, 이어서 90% B에서 0.6분 유지; 온도: 50℃; 유량: 0.7 mL/분; 검출: 220 nm에서 UV.

[0484] 실시예 27

[0485] 8-((2S,5R)-4-(4-(4-플루오로페닐)-2-메틸티아졸-5-일)-2,5-디메틸피페라진-1-일)-5-메틸-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보닐트릴



[0486]

[0487] 아세트니트릴 (5 mL) 중 5-((2R,5S)-2,5-디메틸피페라진-1-일)-4-(4-플루오로페닐)-2-메틸티아졸, HCl (50 mg, 0.15 mmol)의 용액에 실온에서 중탄산나트륨 (62 mg, 0.73 mmol) 및 6-시아노-1-메틸-2-옥소-1,2-디히드로-1,5-나프티리딘-4-일 트리플루오로메탄술포네이트 (59 mg, 0.18 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 80℃에서 14시간 동안 가열하였다. 반응 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 용매를 감압 하에 제거하여 조 잔류물을 수득하였다. 조 잔류물을 정제용 HPLC (칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 150 mm x 19 mm, 5-μm 입자; 이동상 A: 5:95 아세트니트릴: 물, 10-mM 아세트산암모늄 함유; 이동상 B: 95:5 아세트니트릴: 물, 10-mM 아세트산암모늄 함유; 구배: 15% B에서 0-분 유지, 25분에 걸쳐 15-65% B, 이어서 100% B에서 5-분 유지; 유량: 15 mL/분, 칼럼 온도: 25℃)에 의해 정제하여 8-((2S,5R)-4-(4-(4-플루오로페닐)-2-메틸티아졸-5-일)-2,5-디메틸피페라진-1-일)-5-메틸-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보닐트릴 (7.8 mg, 10% 수율)을 수득하였다.

[0488] LCMS: m/z, 489.2 (M+H); rt 1.44분; (LCMS 방법: 칼럼: 엑스브리지 BEH XP C18 (50 x 2.1) mm, 2.5 μm; 이동상 A: 95% 물: 5% 아세트니트릴; 0.1% TFA; 이동상 B: 5% 물: 95% 아세트니트릴; 0.1% TFA; 유량: 1.1 mL/분; 온도: 50℃; 시간 (분): 0-3; %B: 0-100%).

[0489] ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 8.15-8.23 (m, 1 H), 7.95-8.12 (m, 4 H), 7.28 (t, J=8.8 Hz, 2 H), 6.10 (s, 1 H), 4.42-4.53 (m, 1 H), 4.02-4.13 (m, 1 H), 3.95 (d, J=15.9 Hz, 1 H), 3.58-3.61 (m, 1 H), 3.55 (s, 3 H), 3.23-3.30 (m, 1 H), 3.09-3.16 (m, 1 H), 1.27 (d, J=6.6 Hz, 3 H), 1.21 (d, J=6.4 Hz, 3 H), (3H는 용매 피크에 의해 가려질 수 있음).

[0490] 생물학적 검정

[0491] 본 발명의 화합물의 약리학적 특성은 수많은 생물학적 검정에서 확인할 수 있다. 하기 예시된 생물학적 검정을 본 발명의 화합물을 사용하여 수행되었다.

[0492] 검정 1: 시험관내 DGK 억제 검정 - 방법 A

[0493] DGK α 및 DGK ζ 반응을 압출된 리포솜 (DGK α 및 DGK ζ LIPGLO 검정)을 사용하여 수행하였다. 반응을 50 mM MOPS pH 7.5, 100 mM NaCl, 10 mM MgCl₂, 1 μM CaCl₂, 및 1 mM DTT (검정 완충제) 중에서 수행하였다. 지질 기질 농도는 압출된 리포솜 반응에 대해 2 mM PS, 0.25 mM DAG, 및 2.75 mM PC였다. 반응을 150 μM ATP 중에서 수행하였다. DGK α 및 DGK ζ에 대한 효소 농도는 5 nM이었다.

[0494] 화합물 억제 연구를 하기와 같이 수행하였다: DMSO 중에 가용화된 각각의 시험 화합물 (최고 농도 10 mM, 11 포인트, 각각의 화합물에 대해 3배 연속 희석물)의 50 nL 액적을 백색 1536 웰 플레이트 (코닝(Corning) 3725)의

웰로 옮겼다. 2x 최종 반응 농도의 5 mL 효소/기질 용액을 2.5 mL 4x 효소 용액 (검정 완충제 중 20 nM DGK α 또는 DGK ζ (하기 기재된 바와 같이 제조됨)) 및 2.5 mL의 4x 리포솜 용액 (하기 기재된 조성물)을 합하여 제조하고, 실온에서 10분 동안 인큐베이션하였다. 이어서 1 μ L 2x 효소/기질 용액을 시험 화합물을 함유하는 웰에 첨가하고, 1 μ L 300 μ M ATP를 첨가하여 반응을 개시하였다. 반응을 1시간 동안 진행되도록 한 후, 2 μ L 글로 (Glo) 시약 (프로메가(Promega) V9101)을 첨가하고, 40분 동안 인큐베이션하였다. 다음에, 4 μ L 키나제 검출 시약을 첨가하고, 30분 동안 인큐베이션하였다. 발광을 엔비전(EnVision) 마이크로플레이트 판독기를 사용하여 기록하였다. 100% 억제에 대한 효소 무함유 대조군 반응 및 0% 억제에 대한 비히클-단독 반응에 의해 생성된 ATP 전환율로부터 퍼센트 억제를 계산하였다. 화합물을 11가지 농도에서 평가하여 IC₅₀을 결정하였다.

[0495] 4x 리포솜 제조

[0496] 지질 조성은 4x 리포솜 용액에 대해 15.2 mg/mL의 총 지질 농도에서 5 mol% DAG (아반티 8008110), 40 mol% PS (아반티 840035P), 및 55 mol% PC (아반티 850457)였다. PC, DAG 및 PS를 클로로포름 중에 용해시키고, 합하고, 진공 하에 건조시켜 박막을 수득하였다. 지질을 50 mM MOPS pH 7.5, 100 mM NaCl, 5 mM MgCl₂에서 20 mM로 수화시키고, 5회 동결-해동시켰다. 지질 현탁액을 100 nm 폴리카르보네이트 필터를 통해 11회 압출하였다. 동적 광 산란을 수행하여 리포솜 크기 (50-60 nm 반경)를 확인하였다. 리포솜 제제를 4°C에서 4주 동안 저장하였다.

[0497] 인간 DGK α 및 DGK ζ 의 바큇로바이러스(Baculovirus) 발현

[0498] 인간 DGK-알파-TVMV-His-pFB게이트 및 인간 DGK-제타-전사체 변이체-2-TVMV-His-pFB게이트 바큇로바이러스 샘플을 백-투-백(Bac-to-Bac) 바큇로바이러스 발현 시스템 (인비트로젠(Invitrogen))을 사용하여 제조업체의 프로토콜에 따라 생성하였다. DGK-알파 및 DGK-제타의 발현에 사용된 DNA는 각각 서열식별번호: 1 및 3을 갖는다. 바큇로바이러스 증폭을 감염된 Sf9 세포를 사용하여 1:1500 바이러스/세포 비로 달성하고, 형질감염후 27°C에서 65시간 동안 성장시켰다.

[0499] 각각의 단백질에 대한 발현 규모 확대를 지이 헬스케어 바이오사이언스(GE Healthcare Bioscience)로부터의 셀백 50L 웨이브-바이오리액터 시스템(Cellbag 50L WAVE-Bioreactor System) 20/50에서 수행하였다. ESF921 곤충 배지 (익스프레션 시스템)에서 성장시킨 12 L의 2 x 10⁶ 개 세포/mL Sf9 세포 (익스프레션 시스템(Expression System), 캘리포니아주 데이비스)를 바이러스 스톡으로 1:200 바이러스/세포 비로 감염시키고, 감염후 27°C에서 66-68시간 동안 성장시켰다. 감염된 세포 배양물을 소르발(SORVALL)® RC12BP 원심분리기에서 4°C에서 20분 동안 2000 rpm에서 원심분리에 의해 수거하였다. 세포 펠릿을 정제할 때까지 -70°C에서 저장하였다.

[0500] 인간 DGK-알파 및 DGK-제타의 정제

[0501] 각각 TVMV-절단가능한 C-말단 Hexa-His 태그 서열을 함유하여 발현되고 상기 기재된 바와 같이 생산된 전장 인간 DGK α 및 DGK ζ (각각 서열식별번호: 2 및 4)를 Sf9 바큇로바이러스-감염된 곤충 세포 페이스트로부터 정제하였다. 질소 밤(bomb) (파르 인스트루먼트즈(Parr Instruments))으로 질소 공동화 방법을 사용하여 세포를 용해시키고, 용해물을 원심분리에 의해 정화하였다. 정화된 용해물을 AEKTA 퓨리파이어 플러스(AEKTA Purifier Plus) 시스템 상에서 3회 연속 칼럼 크로마토그래피 단계를 이용하여 ~90% 균질성으로 정제하였다. 3 단계 칼럼 크로마토그래피는 니켈 친화성 수지 포획 (즉, HisTrap FF 조물질, 지이 헬스케어(GE Healthcare))에 이어서 크기 배제 크로마토그래피 (즉, DGK-알파에 대해 하이로드(HiLoad) 26/600 슈퍼덱스(Superdex) 200 정제용 등급, 지이 헬스케어, 및 DGK-제타에 대해 하이프랩(HiPrep) 26/600 세파크릴(Sephacryl) S 300_{HR}, 지이 헬스케어)을 포함하였다. 제3 단계는 이온 교환 크로마토그래피였고, 2종의 이소형에 대해 상이하였다. DGK α 를 Q-세파로스(Q-Sepharose) 음이온 교환 크로마토그래피 (지이 헬스케어)를 사용하여 폴리싱하였다. DGK ζ 를 SP 세파로스 양이온 교환 크로마토그래피 (지이 헬스케어)를 사용하여 폴리싱하였다. 단백질을 ≥ 2 mg/mL의 농도로 전달하였다. 제제 완충제는 두 단백질 모두에 대해 동일하였다: 50 mM Hepes, pH 7.2, 500 mM NaCl, 10% v/v 글리세롤, 1 mM TCEP, 및 0.5 mM EDTA.

[0502] 검정 2: 시험관내 DGK 억제 검정 - 방법 B

[0503] DGK α 및 DGK ζ 반응을 압출된 리포솜 (DGK α 및 DGK ζ LIPGLO 검정)을 사용하여 수행하였다. 반응을 50 mM MOPS pH 7.5, 100 mM NaCl, 10 mM MgCl₂, 1 μ M CaCl₂, 및 1 mM DTT (검정 완충제) 중에서 수행하였다. 지질 기질 농도는 압출된 리포솜 반응 (5 mM 총 지질)에 대해 2 mM PS, 0.25 mM DAG, 및 2.75 mM PC였다. 반응은 150 μ M ATP 중에서 수행하였다. DGK α 및 DGK ζ 에 대한 효소 농도는 5 nM이었다.

- [0504] 화합물 억제 연구를 하기과 같이 수행하였다: DMSO 중에 가용화된 각각의 시험 화합물 (최고 농도 10 mM, 11 포인트, 각각의 화합물에 대해 3배 연속 희석물)의 25 nL 액적을 백색 1536 웰 플레이트 (코닝 3725)의 웰로 옮겼다. 2x 최종 반응 농도의 5 mL 효소/지질 기질 용액을 2.5 mL 4x 효소 용액 (검정 완충제 중 20 nM DGK α 또는 DGK ζ (하기 기재된 바와 같이 제조됨)) 및 2.5 mL의 4x 세제/지질 미셀 용액 (하기 기재된 조성물)을 합하여 제조하고, 실온에서 10분 동안 인큐베이션하였다. 다음에, 1 μ L 2x 효소/ 지질 기질 용액을 시험 화합물을 함유하는 웰에 첨가하고, 1 μ L 300 μ M ATP를 첨가하여 반응을 개시하였다. 반응을 2시간 동안 진행되도록 한 후, 2 μ L 글로 시약 (프로메가 V9101)을 첨가하고, 40분 동안 인큐베이션하였다. 다음에, 4 μ L 키나제 검출 시약을 첨가하고, 30분 동안 인큐베이션하였다. 발광을 엔비전 마이크로플레이트 판독기를 사용하여 기록하였다. 100% 억제에 대한 효소 무함유 대조군 반응 및 0% 억제에 대한 비히클-단독 반응에 의해 생성된 ATP 전환율로부터 퍼센트 억제를 계산하였다. 화합물을 11가지 농도에서 평가하여 IC₅₀를 결정하였다.
- [0505] 2x 리포솜 제조
- [0506] 지질 조성은 리포솜 용액에 대해 7-8 mg/mL의 총 지질 농도에서 5 mol% DAG (아반티 8008110), 40 mol% PS (아반티 840035P), 및 55 mol% PC (아반티 850457)였다. PC, DAG 및 PS를 클로로포름 중에 용해시키고, 합하고, 진공 하에 건조시켜 박막을 수득하였다. 지질을 50 mM MOPS pH 7.5, 100 mM NaCl, 5 mM MgCl₂에서 20 mM로 수화시키고, 5회 동결-해동시켰다. 지질 현탁액을 100 nm 폴리카르보네이트 필터를 통해 10-12회 압출하였다. 동적 광 산란을 수행하여 리포솜 크기 (50-60 nm 반경)를 확인하였다. 리포솜 제제를 4°C에서 4주 동안 저장하였다.
- [0507] 거의 전장의 인간 DGK α 및 전장 DGK ζ 의 바칼로바이러스 발현
- [0508] 인간 MA-hDGK α -(S9-S727)-Ct-TVMV-His-pFB게이트 및 전장 인간 DGK- ζ -전사체 변이체-2-TVMV-His-pFB게이트 바칼로바이러스 샘플을 백-투-백 바칼로바이러스 발현 시스템 (인비트로젠)을 사용하여 제조업체의 프로토콜에 따라 생성하였다 (주의: DGK α 시약 명칭의 MA-는 Ser-9 앞에 추가된 2개의 추가의 아미노산을 나타냄). DGK- α (9-727) 및 DGK- ζ 의 발현에 사용된 DNA는 각각 서열식별번호: 5 및 3을 갖는다. 바칼로바이러스 증폭을 감염된 Sf9 세포를 사용하여 1:1500 바이러스/세포 비로 달성하고, 형질감염 후 27°C에서 65시간 동안 성장시켰다.
- [0509] 거의 전장인 DGK- α (9-727) 단백질에 대한 발현 규모 확대를 2 L 플라스크에서 수행하고, 전장 DGK ζ 는 지이 헬스케어 바이오사이언스로부터의 셀백 50 L 웨이브-바이오리액터 시스템 20/50을 사용하여 수행하였다. 단백질을 유사한 조건을 사용하여 상이한 부피로 발현시켰다. DGK α (9-727)의 발현을 위해, 각각 0.8 L 최종 부피의 배양 배지를 함유하는 2 x 2 L 플라스크를 사용하였으며, DGK ζ 를 50 L 셀백에서 12 L 규모로 성장시켰다. 각각에 대해, 2 x 10⁶ 개 세포/mL Sf9 세포 (익스프레션 시스템, 캘리포니아주 데이비스)의 초기 밀도를 ESF921 곤충 배지 (익스프레션 시스템)에 시딩하고, 바이러스 스톡으로 1:200 바이러스/세포 비로 감염시키고, 감염후 27°C에서 66-68시간 동안 성장시켰다. 감염된 세포 배양물을 소르발® RC12BP 원심분리기에서 4°C에서 20분 동안 2000 rpm에서 원심분리에 의해 수거하였다. 세포 펠렛을 정제할 때까지 -80°C에서 저장하였다.
- [0510] 인간 DGK-알파 및 DGK-제타의 정제
- [0511] 각각 TVMV-절단가능한 C-말단 Hexa-His 태그 서열을 함유하여 발현되고 상기 기재된 바와 같이 생산된 인간 DGK α (9-727) 및 전장 DGK ζ (각각 서열식별번호: 2 및 4)를 Sf9 바칼로바이러스-감염된 곤충 세포 페이스트로부터 정제하였다. 세포 페이스트를 용해시키고, 완충제 (50 mM HEPES, pH 7.2, 300 mM NaCl, 10% v/v 글리세롤, 및 벤조나제 및 프로테아제 억제제를 함유하는 1 mM TCEP) 중에 원래 배양 부피의 1:10 v/v로 현탁시켰다. 질소 밤 (파르 인스트루먼트)으로 질소 공동화 방법을 사용하여 용해시키고, 용해물을 고속 원심분리에 의해 정화하였다. 정화된 용해물을 AEKTA 퓨리파이어 플러스 시스템 상에서 각각 2 또는 3회 연속 칼럼 크로마토그래피 단계를 이용하여 ~90% 균질성으로 정제하였다. 2종의 이소형을 이미다졸 구배 용리를 사용한 니켈 친화성 정제 (즉, HisTrap FF, 지이 헬스케어)에 이어서 크기 배제 크로마토그래피 (즉, DGK α (9-727)에 대해 하이로드 26/600 슈퍼텍스 200 정제용 등급, 지이 헬스케어, 및 DGK ζ 에 대해 하이프렙 26/600 세파크틸 S 300 HR, 지이 헬스케어)에 의해 정제하였다. 이들 두 단계로 DGK α (9-727)를 >90% 순도로 수득하였다. 전장 DGK ζ 에 대해 유사한 순도를 달성하기 위해서는 양이온 교환 크로마토그래피 (SP 세파로스 FF, 지이 헬스케어)를 사용하여 NaCl 구배로 용리하는 제3 단계를 필요로 하였다. 최종 제제 완충제는 두 단백질 모두에 대해 유사하였다: DGK α (9-727)은 50 mM Hepes, pH 7.3, 300 mM NaCl, 10% v/v 글리세롤, 및 1 mM TCEP에서 제조되었고, 전장 DGK ζ 는 50 mM Hepes, pH 7.3, 500 mM NaCl, 5% v/v 글리세롤, 및 1 mM TCEP에서 제조되었다. 단백질을 1-2 mg/mL

로 농축시키고, 급속 동결시키고, 장기간 저장을 위해 -80℃에서 유지하였다.

[0512] 검정 3: Raji CD4 T 세포 IL2 검정

[0513] 1536-웰 IL-2 검정을 사전-활성화된 CD4 T 세포 및 Raji 세포를 사용하여 4 μ L 부피로 수행하였다. 검정 전에, CD4 T 세포를 각각 1.5 μ g/mL, 1 μ g/mL 및 10 μ g/mL의 α -CD3, α -CD28 및 PHA로의 처리에 의해 예비-활성화시켰다. Raji 세포를 10,000 ng/mL의 스태필로코쿠스(Staphylococcal) 장독소 B (SEB)로 처리하였다. 연속 희석된 화합물을 먼저 1536-웰 검정 플레이트 (코닝, #3727)로 옮기고, 이어서 2 μ L의 사전-활성화된 CD4 T 세포 (6000개 세포/웰의 최종 밀도) 및 2 μ L의 SEB-처리된 Raji 세포 (2000개 세포/웰)를 첨가하였다. 37℃/5% CO₂ 인큐베이터에서 24시간 인큐베이션 후에, 4 μ L의 IL-2 검출 시약을 검정 플레이트 (시스바이오 (Cisbio), #64IL2PEC)에 첨가하였다. 검정 플레이트를 엔비전 판독기 상에서 판독하였다. 화합물 세포독성을 평가하기 위해, Raji 또는 CD4 T 세포를 연속 희석된 화합물과 함께 인큐베이션하였다. 24시간 인큐베이션 후, 4 μ L의 셀 타이터 글로(Cell Titer Glo) (프로메가, #G7572)를 첨가하고, 플레이트를 엔비전 판독기 상에서 판독하였다. 50% 유효 농도 (IC₅₀)를 4-파라미터 로지스틱 방정식 $y = A + ((B-A)/(1 + ((C/x)^D)))$ 을 사용하여 계산하였으며, 여기서 A 및 B는 각각 최소 및 최대 % 활성화 또는 억제를 나타내고, C는 IC₅₀이고, D는 힐 기울기이고, x는 화합물 농도를 나타낸다.

[0514] 검정 4: 셀타이터-글로 CD8 T 세포 증식 검정

[0515] 동결된 나이브 인간 CD8 T 세포를 RPMI+10% FBS에서 해동시키고, 37℃에서 2시간 동안 인큐베이션하고, 계수하였다. 384-웰 조직 배양 플레이트를 플레인 RPMI 중 0.1 μ g/mL의 20 μ L 항-인간 CD3으로 4℃에서 밤새 코팅하고, 이를 플레이트에서 제거한 후, 0.5 μ g/mL 가용성 항-인간 CD28을 갖는 20k/40 μ L CD8 T 세포를 각각의 웰에 첨가하였다. 세포를 플레이트링한 직후에 화합물을 세포 플레이트로 에코처리하였다. 37℃ 인큐베이터에서 72시간 인큐베이션 후에, 10 μ L 셀타이터-글로 시약 (프로메가 카탈로그 번호 G7570)을 각각의 웰에 첨가하였다. 플레이트를 5분 동안 격렬히 진탕시키고, 실온에서 추가로 15분 동안 인큐베이션하고, 엔비전 상에서 CD8 T 세포 증식에 대해 판독하였다. 분석에서, 0.1 μ g/mL 항-CD3 및 0.5 μ g/mL 항-CD28 자극된 CD8 T 세포 신호는 배경이었다. 참조 화합물인 8-(4-(비스(4-플루오로페닐)메틸)피페라진-1-일)-5-메틸-7-니트로-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보니트릴을 3 μ M로 사용하여 100% 범위를 설정하고, EC₅₀을 절대 50 %로 하여 데이터를 정규화하였다.

[0516] 검정 5: DGK AP1-리포터 검정

[0517] Jurkat AP1-루시페라제 리포터를 에스에이바이오사이언시스(SABiosciences)로부터의 시그널 렌티(Cignal Lenti) AP1 리포터 (luc) 키트 (CLS-011L)를 사용하여 생성하였다.

[0518] 화합물을 에코(Echo) LDV 플레이트로부터 384-웰 플레이트 (백색, 고체-바닥, 불투명 PE 컬처플레이트 (CulturPlate) 6007768)의 개별 웰로 에코550 기기를 사용하여 옮겼다. 샘플 크기는 웰당 30 nL였고; 공급원 플레이트당 1개의 목적 플레이트가 있었다. 40 mL 세포 (2x 20 mL)를 깨끗한 50 mL 원추형 튜브로 옮김으로써 세포 현탁액을 제조하였다. 세포를 원심분리 (1200 rpm; 5분; 주위 온도)에 의해 농축시켰다. 상청액을 제거하고, 모든 세포를 RPMI (김코(Gibco) 11875) +10% FBS에 현탁시켜 1.35x10⁶개 세포/mL 농도가 되도록 하였다. 다중-채널 피펫, 30 μ L/웰의 세포 현탁액을 사용하여 세포를 웰당 4.0x10⁴개 세포로 화합물을 함유하는 384-웰 TC 플레이트에 수동으로 첨가하였다. 세포 플레이트를 37℃ 및 5% CO₂에서 20분 동안 인큐베이션하였다.

[0519] 인큐베이션 동안, 항-CD3 항체 (α CD3) 용액을 3 μ L α CD3 (1.3 mg/mL)와 10 mL 배지를 혼합함으로써 제조하였다 [최종 농도 = 0.4 μ g/mL]. 이어서 1.5 μ L α CD3 (1.3 mg/mL)을 0.5 mL 배지와 혼합하였다 [최종 농도 = 4 μ g/mL]. 20분 후, 10 μ L 배지를 칼럼 1, 웰 A 내지 M의 모든 웰에 첨가하고, 참조를 위해 웰당 10 μ L α CD3 (4ug/mL)을 칼럼 1, N 내지 P 열에 첨가하였다. 이어서 다중-채널 피펫을 사용하여, 웰당 10 μ L α CD3 (0.4ug/mL)을 첨가하였다. α CD3 자극된 +/- 화합물-처리된 세포를 37℃, 5% CO₂에서 6시간 동안 인큐베이션하였다.

[0520] 이 인큐베이션 기간 동안, 스테디-글로(Steady-Glo) (프로메가 E2520) 시약을 주위 온도로 천천히 해동시켰다. 다음에, 웰당 20 μ L 스테디-글로 시약을 멀티-드롭 콤비-분배기(multi-drop Combi-dispenser)를 사용하여 첨가하였다. 기포를 원심분리 (2000 rpm, 주위 온도, 10초)에 의해 제거하였다. 세포를 실온에서 5분 동안 인큐베이션하였다. 샘플을 발광 프로토콜 상에서 엔비전 플레이트 판독기 기기를 사용하여 상대 광 단위 (RLU)를 측

정함으로써 특징화하였다. 데이터를 참조 화합물인 8-(4-(비스(4-플루오로페닐)메틸)피페라진-1-일)-5-메틸-7-니트로-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보닐트릴을 사용하여 분석하여 100% 억제를 정규화하였다.

[0521] 검정 6: 묶린 세포독성 T 림프구 검정

[0522] 이펙터 T 세포 매개 종양 세포 사멸 활성을 증진시키는 DGK α 및 DGK ζ 억제제의 능력을 기능적으로 평가하기 위해 항원-특이적 세포용해 T-세포 (CTL) 검정을 개발하였다. OT-1 트랜스제닉 마우스로부터 분리된 CD8+ T-세포는 오브알부민 유래 펩티드 SIINFEKL을 제시하는 항원 제시 세포, MC38을 인식한다. 동족 항원의 인식은 OT-1 항원-특이적 CD8+ T 세포의 세포용해 활성을 개시한다.

[0523] 기능성 CTL 세포를 하기와 같이 생성하였다: 8-12주령 마우스로부터의 OT-1 비장세포를 분리하고, 1 μ g/mL의 SIINFEKL 펩티드 및 10 U/mL의 mIL2의 존재 하에 확장시켰다. 3일 후, mIL2 U/ml을 갖는 신선한 배지를 첨가하였다. 확장 제5일에, CD8+ T 세포를 분리하고, 사용할 준비가 되었다. 활성화된 CTL 세포는 6개월 동안 동결 저장될 수 있다. 별도로, 1백만개의 MC38 종양 세포를 37°C에서 3시간 동안 1 μ g/mL의 SIINFEKL-OVA 펩티드로 펄싱하였다. 세포를 신선한 배지로 세척하여 (3X) 과량의 펩티드를 제거하였다. 최종적으로, 96-웰 U 바닥 플레이트에서 1시간 동안 DGK 억제제로 전처리된 CTL 세포를 항원 로딩된 MC38 종양 세포와 1:10 비로 혼합하였다. 이어서 세포를 700 rpm에서 5분 동안 회전시키고, 37°C에서 밤새 인큐베이터에 두었다. 24시간 후, 상청액을 퍼킨 엘머(Perkin Elmer)로부터 구입한 알파리사(AlphaLisa)에 의해 IFN- γ 시토카인 수준의 분석을 위해 수집하였다.

[0524] 검정 7: PHA 증식 검정

[0525] 동결된 스톱으로부터의 피토헤마글루티닌 (PHA)-자극 모세포를 10% 태아 소 혈청 (시그마 알드리치(Sigma Aldrich), 미주리주 세인트 루이스)으로 보충된 RPMI 배지 (김코, 써모피셔 사이언티픽(ThermoFisher Scientific), 매사추세츠주 월섬)에서 1시간 동안 인큐베이션한 후, 384-웰 플레이트의 개별 웰에 첨가하였다 (웰당 10,000개 세포). 화합물을 384-웰 플레이트의 개별 웰로 옮기고, 처리된 세포를 인간 IL2 (20 ng/mL)를 함유하는 배양 배지 중에서 72시간 동안 37°C, 5% CO₂에서 유지한 후, MTS 시약 [3-(4,5-디메틸-2-일)-5-(3-카복시메톡시페닐)-2-(4-술포페닐)-2H-테트라졸륨]을 제조업체의 지침 (프로메가, 위스콘신주 매디슨)에 따라 사용하여 성장을 측정하였다. 퍼센트 억제를 IL2 자극된 대조군 (0 % 억제) 및 비자극된 대조군 (100 % 억제) 사이의 값을 비교하여 계산하였다. 억제 농도 (IC₅₀) 결정은 IL2 자극된 처리 및 비자극된 처리 사이의 배수-유도에 대한 50% 억제를 기초로 하여 계산하였다.

[0526] 검정 8: 인간 CD8 T 세포 IFN- γ 검정

[0527] 동결된 나이브 인간 CD8 T 세포를 AIM-V 배지에서 해동시키고, 37°C에서 2시간 동안 인큐베이션하고, 계수하였다. 384-웰 조직 배양 플레이트를 20 μ L 항-인간 CD3을 사용하여 PBS 중 0.05 μ g/mL로 4°C에서 밤새 코팅하고, 이것을 플레이트에서 제거한 후, 0.1 μ g/mL 가용성 항-인간 CD28을 갖는 40 마이크로리터 CD8 T 세포당 40,000개 세포를 각각의 웰에 첨가하였다. 세포를 플레이팅한 직후에 화합물을 에코 액체 핸들러를 사용하여 세포 플레이트로 옮겼다. 37°C 인큐베이터에서 20시간 인큐베이션 후에, 시토카인 측정을 위해 웰당 3 마이크로리터의 상청액을 새로운 384-웰 백색 검정 플레이트로 옮겼다.

[0528] 인터페론- γ (IFN- γ)를 제조업체 매뉴얼 (퍼킨 엘머)에 의해 기재된 바와 같이 알파리사 키트 (Cat#AL217)를 사용하여 정량화하였다. 각각의 웰로부터의 카운트를 IFN- γ 농도 (pg/mL)로 전환시켰다. 화합물 EC₅₀ 값은, 0.05 μ g/mL 항-CD3 플러스 0.1 μ g/mL 항-CD28을 기준선으로서 설정하고, 3 μ M의 참조 화합물인 8-(4-(비스(4-플루오로페닐)메틸)피페라진-1-일)-5-메틸-7-니트로-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보닐트릴과 항-CD3 플러스 항-CD28을 100 % 활성화로서 공동-자극하여 결정하였다.

[0529] 검정 9: 인간 CD8 T 세포 pERK 검정

[0530] 동결된 나이브 인간 CD8 T 세포를 AIM-V 배지에서 해동시키고, 37°C에서 2시간 동안 인큐베이션하고, 계수하였다. CD8 양성 T 세포를 AIM-V 배지 중 웰당 20,000개 세포로 384-웰 조직 배양 플레이트에 첨가하였다. 한 화합물을 각각의 웰에 첨가한 다음, 비드 결합된 항-인간 CD3 및 항-CD28 mAb를 0.3 μ g/mL의 최종 농도로 첨가하였다. 세포를 37°C에서 10분 동안 인큐베이션하였다. 알파리사 슈어파이어(Surefire) 키트로부터의 용해 완충제를 첨가함으로써 반응을 정지시켰다. (퍼킨 엘머, cat# ALSU-PERK-A). 용해물 (웰당 5 μ L)을 pERK 활성화 측정을 위해 새로운 384-웰 백색 검정 플레이트로 옮겼다.

[0531] 화합물 EC₅₀은, 항-CD3 플러스 항-CD28을 기준선으로서 설정하고, 3 μ M 8-(4-(비스(4-플루오로페닐)메틸)피페라진-1-일)-5-메틸-7-니트로-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보니트릴과 항-CD3 플러스 항-CD28을 100% 활성화로서 공동-자극하여 결정하였다.

[0532] 검정 10: 인간 전혈 IFN- γ 검정

[0533] 건강한 공여자로부터 수득된 인간 정맥 전혈 (웰당 22.5 μ L)을 가습 95% 공기/5% CO₂ 인큐베이터에서 37°C에서 1시간 동안 화합물로 전처리하였다. 혈액을 2.5 μ L 항-인간 CD3 및 항-CD28 mAb을 사용하여 각각 1 μ g/mL의 최종 농도로 37°C에서 24시간 동안 자극하였다. 상청액 중 IFN- γ 를 알파리사 키트 (Cat#AL217)를 사용하여 측정하였다.

[0534] 화합물 EC₅₀은, 항-CD3 플러스 항-CD28을 기준선으로서 설정하여 결정하고, 3 μ M의 참조 화합물인 8-(4-(비스(4-플루오로페닐)메틸)피페라진-1-일)-5-메틸-7-니트로-6-옥소-5,6-디히드로-1,5-나프티리딘-2-카르보니트릴과 항-CD3 플러스 항-CD28을 100% 활성화로서 공동-자극하여 결정하였다.

[0535] 검정 11: DGK 인간 전혈 pERK 검정

[0536] 인간 전혈 ERK 인산화 검정을 건강한 공여자로부터 수득한 (항응고제로서 헤파린을 사용하여 채취함) 인간 정맥 전혈을 사용하여 수행하였다. DMSO 중 화합물의 연속 희석물 (11 포인트, 3배)을 ECHO 550 음향 분배기 (랩사이트(Labcyte))를 사용하여 384 웰 플레이트에 20 nL/웰로 첨가하여 검정에서 20 μ M의 최종 출발 농도를 달성하였다. 헤파린처리된 인간 전혈을 웰당 9 μ L로 화합물 플레이트에 첨가하고, 가습 95% 공기/5% CO₂ 인큐베이터에서 37°C에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 화합물 인큐베이션 1시간 후에, 가교 항체 염소 항-마우스 IgG (4 μ g/mL)의 존재 하에 1 μ L의 인간 항-CD3 항체 (실험실 내)를 경로의 자극을 위해 1 μ g/mL 최종 농도로 웰에 첨가하고, 37°C에서 15분 동안 추가로 인큐베이션하였다. 90 μ L Fix/Lyse 완충제 (BD 558049)를 첨가함으로써 자극을 정지시켰다. 세포를 세척하고, 실온에서 60분 동안 항-CD8 PE(BD 555635) 항체로 염색하고, 다시 세척하고, 30분 동안 Perm III 완충제 (BD 558050)를 사용하여 얼음 상에서 투과시켰다. 이어서 세포를 알렉사 플루오르(Alexa Fluor)® 647 항-ERK1/2 포스포 (Thr202/Tyr204) 항체 (바이올레지드(Biolegend) 675504)로 60분 동안 1:50 희석으로 염색하였다. 샘플을 세척하고, 1% BSA를 함유하는 dPBS (dPBS, 킵코 14190136; BSA, 시그마-알드리치 A9205) 중에 재현탁시켰다. 샘플을 인텔리시트(Intellicyt)® iQue 스크리너 PLUS를 사용하여 분석하였다. pERK 활성화를 CD8 양성 집단 내의 pERK 양성 집단의 백분율에 의해 정량화하였다. 화합물 효력의 계산은 100% 활성화로서의 20 μ M 농도의 내부 화합물, 및 0% 활성화로서의 항-CD3 대조군에 기초하였다.

[0537] hDGK α -(M₁-S735)-Ct-TVMV-His를 코딩하는 뉴클레오타이드 서열:

```

1   ATGGCCAAGG AGAGGGGCCT AATAAGCCCC AGTGATTTTG CCCAGCTGCA
51  AAAATACATG GAATACTCCA CAAAAAGGT CAGTGATGTC CTAAAGCTCT
101 TCGAGGATGG CGAGATGGCT AAATATGTCC AAGGAGATGC CATTGGGTAC
151 GAGGGATTCC AGCAATTCCCT GAAAACTAT CTGGAAGTGG ATAATGTTCC
201 CAGACACCTA AGCCTGGCAC TGTTCATC CTTTGAGACT GGTCAGTCTG
251 TAAATGAGAC AAATGTGACA AAAGATGTGG TGTGTCTCAA TGATGTTTCC
301 TGCTACTTTT CCCTTCTGGA GGGTGGTCGG CCAGAAGACA AGTTAGAATT
351 CACCTTCAAG CTGTACGACA CGGACAGAAA TGGGATCCTG GACAGCTCAG
401 AAGTGGACAA AATTATCCTA CAGATGATGC GAGTGGCTGA ATACCTGGAT
451 TGGGATGTGT CTGAGCTGAG GCCGATTCTT CAGGAGATGA TGAAAGAGAT
501 TGACTATGAT GGCAGTGGCT CTGTCTCTCA AGCTGAGTGG GTCCGGGGCTG
551 GGGCCACCAC CGTGCCACTG CTAGTGCTGC TGGGTCTGGA GATGACTCTG
601 AAGGACGACG GACAGCACAT GTGGAGGCC AAGAGGTCC CCAGACCAGT
651 CTAAGTCAAT CTGTGCGAGT CAAGCATTTG TCTTGGCAA CAGGGACTGA
701 GCTGTAACCT CTGTAAGTAC ACTGTTACAG ACCAGTGTGC CATGAAAGCC
751 CTGCCCTTGT AAGTCAGCAC CTATGCCAAG TCTCGGAAG ACATTGGTGT
801 CCAATCACAT GTGTGGGTGC GAGGAGGCTG TGAGTCCGGG CGCTGCGACC
851 GCTGTGAGAA AAAGATCCGG ATCTACCACA GTCTGACCGG GCTGCATTGT
901 GTATGGTGCC ACCTAGAGAT CCACGATGAC TGCCTGCAAG CGGTGGGCCA
951 TGAGTGTGAC TGTGGGCTGC TCCGGGATCA CATCTGCCT CCATCTTCCA
1001 TCTATCCCAG TGTCTGGGCC TCTGGACCGG ATCGTAAAAA TAGCAAAACA
1051 AGCCAGAAGA CCATGGATGA TTAAATTTG AGCACCTCTG AGGCTCTGCG
1101 GATTGACCCT GTTCCTAACA CCCACCCACT TCTCGTCTTT GTCAATCCTA
1151 AGAGTGGCGG GAAGCAGGGG CAGAGGGTGC TCTGGAAGTT CCAGTATATA
1201 TTAACCCCTC GACAGGTGTT CAACCTCCTA AAGGATGGTC CTGAGATAGG
1251 GCTCCGATTA TTCAAGGATG TTCCTGATAG CCGGATTTTG GTGTGTGGTG
1301 GAGACGGCAC AGTAGGCTGG ATTCTAGAGA CCATTGACAA AGCTAACTTG

```

[0538]

```

1351      CCAGTTTTGC CTCCTGTTGC TGTGTTGCCC CTGGGTACTG GAAATGATCT
1401      GGCTCGATGC CTAAGATGGG GAGGAGGTTA TGAAGGACAG AATCTGGCAA
1451      AGATCCTCAA GGATTTAGAG ATGAGTAAAG TGGTACATAT GGATCGATGG
1501      TCTGTGGAGG TGATACCTCA ACAAACTGAA GAAAAAAGTG ACCCAGTCCC
1551      CTTTCAAATC ATCAATAACT ACTTCTCTAT TGGCGTGGAT GCCTCTATTG
1601      CTCATCGATT CCACATCATG CGAGAGAAAT ATCCGGAGAA GTTCAACAGC
1651      AGAATGAAGA ACAAGCTATG GTACTTCGAA TTTGCCACAT CTGAATCCAT
1701      CTTCTCAACA TGCAAAAAGC TGGAGGAGTC TTTGACAGTT GAGATCTGTG
1751      GGAAACCGCT GGATCTGAGC AACCTGTCCC TAGAAGGCAT CGCAGTGCTA
1801      AACATCCCTA GCATGCATGG TGGCTCCAAC CTCTGGGGTG ATACCAGGAG
1851      ACCCCATGGG GATATCTATG GGATCAACCA GGCCTTAGGT GCTACAGCTA
1901      AAGTCATCAC CGACCCTGAT ATCCTGAAAA CCTGTGTACC AGACCTAAGT
1951      GACAAGAGAC TGGAAAGTGGT TGGGCTGGAG GGTGCAATTG AGATGGGCCA
2001      AATCTATACC AAGCTCAAGA ATGCTGGACG TCGGCTGGCC AAGTGCTCTG
2051      AGATCACCTT CCACACCACA AAAACCCCTT CCATGCAAAAT TGACGGAGAA
2101      CCCTGGATGC AGACGCCCTG TACAATCAAG ATCACCACACA AGAACCAGAT
2151      GCCCATGCTC ATGGGCCCAC CCCCCGCTC CACCAATTTC TTGGCTTCT
2201      TGAGCGGATC CTCGGAGACA GTGCGGTTTC AGGGACACCA CCACCATCAC
2251      CACTGA

```

[0539]

[0540] (서열식별번호: 1)

[0541] hDGK α-(M1-S735)-Ct-TVMV-His의 아미노산 서열:

```

0001 MAKERGLISP SDFALQKYM EYSTKKVSDV LKLFEDGEMA KYVQGDAGY EGFQQFLKIY 0060
0061 LEVDNVRPHL SLALQSFET GHCLNETNVT KDVVCLNDVS CYFSLLEGGR PEDKLEFTFK 0120
0121 LYDTRNGIL DSSEVDKIIL QMMRVAEYLD WDVSELRPIL QEMMKEIDYD GSGSVSQAEW 0180
0181 VRAGATTVPV LVLGLLEMTL KDDGQHMWRP KRFRPVVYCN LCESSIGLGK QGLSCNLCKY 0240
0241 TVHDQCAMKA LPCEVSTYAK SRKDIGVQSH VWVRGGCESG RCDRCQKKIR IYHSLTGLHC 0300
0301 VWCHLEIHDD CLQAVGHECD CGLLRDHILP PSSIYPSVLA SGPDRKNSKT SQRTMDDLNL 0360
0361 STSEALRIDP VPNTHPLLVF VNPKSGGKQG QRVLWKFYI LNPRQVFNLL KDGFEIGLRL 0420
0421 FKDVDPDRIL VCGGDGTVGW ILETIDKANL PVLPPVAVLP LGTGNDLARC LRWGGGYEGQ 0480
0481 NLAKILKDLE MSKVVMMDRW SVEVIPQQTE EKSDVPVFI INNYFSIGVD ASIAHRFHIM 0540
0541 REKYPEKFNS RMKNKLWYFE FATSESIFST CKKLEESLTV EICGKPLDLS NLSLEGIAVL 0600
0601 NIPSMHGGSN LWGDRRRPHG DIYGINQALG ATAKVITDPD ILKTCVPDLS DKRLEVVGLE 0660
0661 GAITEMGIYT KLKNAGRRLA KCSEITFHIT KTLPMQIDGE PWMQTFCTIK ITHKNQMPML 0720
0721 MGPPPRSTNF FGFLSGSSET VRFQGHHHHH H 0751

```

[0542]

[0543] (서열식별번호: 2)

[0544] hDGK ζ-(M1-A928)-전사체 변이체-2 Ct-TVMV-His를 코딩하는 뉴클레오타이드 서열:

```

1      ATGGAGCCGC GGGACGGTAG CCCCAGAGCC CGGAGCAGCG ACTCCGAGTC
51     GGCTTCCGCC TCGTCCAGCG GCTCCGAGCG CGACGCCGGT CCCGAGCCGG
101    ACAAGGCGCC GCGGCGACTC AACAAGCGGC GCTTCCCGGG GCTGCGGCTC
151    TTCGGGCACA GGAAGCCAT CACGAAGTCG GGCCTCCAGC ACCTGGCCCC
201    CCCTCCGCCC ACCCCTGGGG CCCCGTGCAG CGAGTCAGAG CGGCAGATCC
251    GGAGTACAGT GGACTGGAGC GAGTCAGCGA CATATGGGGA GCACATCTGG
301    TTCGAGACCA ACGTGTCCGG GGAATTCTGC TACGTTGGGG AGCAGTACTG
351    GTAGCCAGG ATGCTGCAGA AGTCAGTGTC TCGAAGAAAG TGCGCAGCCT
401    GCAAGATTGT GGTGCACACG CCCTGCATCG AGCAGCTGGA GAAGATAAAT
451    TTCCGCTGTA AGCCGTCCTT CCGTGAATCA GGCTCCAGGA ATGTCCGCGA
501    GCCAACCTTT GTACGGCACC ACTGGGTACA CAGACGACGC CAGGACGGCA

```

[0545]

551 AGTGTCCGCA CTGTGGGAAG GGATTCCAGC AGAAGTTCAC CTTCCACAGC
601 AAGGAGATTG TGGCCATCAG CTGCTCGTGG TGCAAGCAGG CATACCACAG
651 CAAGGTGTCC TGCTTCATGC TGCAGCAGAT CGAGGAGCCG TGCTCGCTGG
701 GGGTCCACGC AGCCGTGGTC ATCCCGCCCA CCTGGATCCT CCGCGCCCGG
751 AGGCCCCAGA ATACTCTGAA AGCAAGCAAG AAGAAGAAGA GGGCATCCTT
801 CAAGAGGAAG TCCAGCAAGA AAGGGCCTGA GGAGGGCCGC TGGAGACCCT
851 TCATCATCAG GCCCACCCTC TCCCCGCTCA TGAAGCCCT GCTGGTGTTT
901 GTGAACCCCA AGAGTGGGG CAACCAGGGT GCAAAGATCA TCCAGTCTTT
951 CCTCTGGTAT CTCAATCCCC GACAAGTCTT CGACCTGAGC CAGGGAGGGC
1001 CCAAGGAGGC GCTGGAGATG TACCGCAAAG TGCACAACCT GCGGATCCTG
1051 GCGTGCGGGG GCGACGGCAC GGTGGGCTGG ATCCTCTCCA CCCTGGACCA
1101 GCTACGCTTG AAGCCGCCAC CCCCTGTTGC CATCCTGCCC CTGGGTACTG
1151 GCAACGACTT GGCCCGAACC CTCAACTGGG GTGGGGGCTA CACAGATGAG
1201 CCTGTGTCCA AGATCCTCTC CCACGTGGAG GAGGGGAACG TGGTACAGCT
1251 GGACCGCTGG GACCTCCACG CTGAGCCCAA CCCCAGAGCA GGGCCTGAGG
1301 ACCGAGATGA AGGCGCCACC GACCGGTTGC CCCTGGATGT CTTCAACAAC
1351 TACTTCAGCC TGGGCTTTGA CGCCACGTC ACCCTGGAGT TCCACGAGTC
1401 TCGAGAGGCC AACCAGAGA AATTCAACAG CCGCTTTCGG AATAAGATGT
1451 TCTACGCCGG GACAGCTTTC TCTGACTTCC TGATGGGCAG CTCCAAGGAC
1501 CTGGCCAAGC ACATCCGAGT GGTGTGTGAT GGAATGGACT TGAATCCCAA
1551 GATCCAGGAC CTGAAACCCC AGTGTGTTGT TTTCCTGAAC ATCCCCAGGT
1601 ACTGTGCGGG CACCATGCCC TGGGGCCACC CTGGGGAGCA CCACGACTTT
1651 GAGCCCCAGC GGCATGACGA CGGCTACCTC GAGGTCATG GCTTCACCAT
1701 GACGTGCTTG GCCGCGCTGC AGGTGGGCGG ACACGGCGAG CGGTGACGC
1751 AGTGTGCGGA GGTGGTGCTC ACCACATCCA AGGCCATCCC GGTGCAGGTG
1801 GATGGCGAGC CCTGCAAGCT TGCAGCCTCA CGCATCCGCA TCGCCCTGCG
1851 CAACCAGGCC ACCATGGTGC AGAAGGCCAA GCGGCGGAGC GCCGCCCCC
1901 TGCACAGCGA CCAGCAGCCG GTGCCAGAGC AGTTGCGCAT CCAGGTGAGT
1951 CGCGTCAGCA TGCACGACTA TGAGGCCCTG CACTACGACA AGGAGCAGCT
2001 CAAGGAGGCC TCTGTGCCGC TGGGCACTGT GGTGGTCCA GGAGACAGTG
2051 ACCTAGAGCT CTGCCGTGCC CACATTGAGA GACTCCAGCA GGAGCCCGAT
2101 GGTGCTGGAG CCAAGTCCCC GACATGCCAG AAAGTGTCCC CCAAGTGGTG
2151 CTTCTGGGAC GCCACCACTG CCAGCCGCTT CTACAGGATC GACCGAGCCC
2201 AGGAGCACCT CAACTATGTG ACTGAGATCG CACAGGATGA GATTATATC
2251 CTGGACCCCT AGCTGCTGGG GGCATCGGCC CGGCCTGACC TCCAACCCC
2301 CACTTCCCCT CTCCCCACCT CACCCTGCTC ACCCACGCCC CGGTCACTGC
2351 AAGGGGATGC TGCACCCCTT CAAGGTGAAG AGCTGATTGA GGCTGCCAAG
2401 AGGAACGACT TCTGTAAGCT CCAGGAGCTG CACCGAGCTG GGGGCGACCT
2451 CATGCACCGA GACGAGCAGA GTCGCACGCT CCTGCACCAC GCAGTCAGCA
2501 CTGGCAGCAA GGATGTGGTC CGTACCTGC TGGACCACGC CCCCCAGAG
2551 ATCCTTGATG CGGTGGAGGA AAACGGGGAG ACCTGTTTGC ACCAAGCAGC
2601 GGCCCTGGGC CAGCGCACCA TCTGCCACTA CATCGTGGAG GCCGGGGCCT
2651 CGCTCATGAA GACAGACCAG CAGGGCGACA CTCCCCGGA GCGGGCTGAG
2701 AAGGCTCAGG ACACCGAGCT GGCCGCTAC CTGGAGAACC GCGAGCACTA
2751 CCAGATGATC CAGCGGGAGG ACCAGGAGAC GGCTGTGGGA TCCTCGGAGA
2801 CAGTGCGGTT TCAGGGACAC CACCACCATC ACCACTGA

[0546]

[0547]

(서열식별번호: 3)

[0548]

hDGK ζ-(M1-A928)-전사체 변이체-2 Ct-TVMV-His의 아미노산 서열:

0001 MEPRDGSPEA RSSDSESASA SSSGSERDAG PEPDKAPRRL NKRRFPGLRL FGHKAITKS 0060
0061 GLQHLAPPPP TPGAPCSESE RQIRSTVDWS ESATYGEHIW FETNVSGDFC YVGEQYCVAR 0120
0121 mLQKSVSRRK CAACKIVVHT PCIEQLEKIN FRCKPSFRES GSRNVREPTF VRHHWVHRRR 0180
0181 QDGKCRHCGK GFQQRFTFHS KEIVAIKSCW CKQAYHSKVS CFMLQQIEEP CSLGVHAAVV 0240
0241 IPPTWILRAR RPQNTLKASK KKKRASFKRK SSKKGPEEGR WRPFIIRPTP SPLMKPLLVF 0300

[0549]

0301 VNPKSGGNQG AKIIQSFLWY LNPQVFDLS QGGPKEALEM YRKVHNLRL ACAGDGTGVG 0360
0361 ILSTLDQLRL KPPFPVAILP LGTGNLART LNWGGGYTDE FVSKILSHVE EGNVQLDRW 0420
0421 DLHAEPNPEA GPEDRDEGAT DRLPLDVFN YFSLGFDHVA TLEFHESREA NPEKFNSRFR 0480
0481 NKMFIYAGTAF SDFLMGSSKD LAKHIRVVCD GMDLTPKIQD LKPQCQVFLN IPRYCAGTMP 0540
0541 WGHPGEHHDF EPQRHDDGYL EVIGFTMTSL AALQVGGHGE RLTQCREVVL TTSKAIPVQV 0600
0601 DGEPCCKLAAS RIRIALRNQA TMVQKAKRRS AAPLHSDQQP VPEQLRIQVS RVSMHDYEAL 0660
0661 HYDKEQLKEA SVPLGTVVVP GDSLELCRA HIERLQQEPD GAGAKSPTCQ KLSPKWCFLD 0720
0721 ATTASRFYRI DRAQEHNLNV TEIAQDEIYI LDPELLGASA RPDLPFTPTSP LPTSPCSPTP 0780
0781 RSLQGDAAAP QGEELIEAAK RNDPCKLQEL HRAGGDLMHR DEQSRTLLHH AVSTGSKDVV 0840
0841 RYLLDHAPPE ILDAVEENGE TCLHQAAALG QRTICHYIVE AGASLMKTDQ QGDTPRQRAE 0900
0901 KAQDTELAAY LENRQHYQMI QREDQETAVG SSETVRFQGH HHHHH 0945

[0550]

[0551] (서열식별번호: 4)

[0552] MA-hDGK α-(S9-S727)-Ct-TVMV-His를 코딩하는 뉴클레오타이드 서열:

```

0001 ATGGCTTCCC CAAGCGACTT CGCCAGCTG CAGAAGTACA TGGAATACAG CACCAAGAAG 0060
0061 GTGTCTGACG TCCTGAAGCT GTTCGAGGAC GGTGAAATGG CTAAGTACGT CCAGGGCGAC 0120
0121 GCTATCGGAT ACGAGGGATT CCAGCAGTTC CTGAAGATCT ACCTGGAAGT GGACAACGTC 0180
0181 CCCAGGCACC TGTCACCTGGC TCTGTTCAG TCCTTCGAGA CTGGCCACTG CCTGAACGAA 0240
0241 ACCAACGTCA CTAAGGACGT GGTCTGCCTG AACGACGTGA GCTGCTACTT CTCTCTGCTG 0300
0301 GAGGGTGGCA GACCAGAGGA CAAGCTGGAA TTCACCTTCA AGCTGTACGA CACTGACCGC 0360
0361 AACGGAATCC TGGACTCCAG CGAAGTGGAC AAGATCATCC TGCAGATGAT GCGTGTCTGCT 0420
0421 GAGTACCTGG ACTGGGACGT GAGCGAAGT AGGCCTATCC TGCAGGAGAT GATGAAGGAA 0480
0481 ATCGACTACG ACGGCTCTGG ATCAGTGTCC CAGGCTGAGT GGGTCCGCGC TGGTGTCTACC 0540
0541 ACTGTGCCAC TGCTGGTCTCT GCTGGGACTG GAAATGACCC TGAAGGACGA CGGTCAGCAC 0600
0601 ATGTGGCGCC CAAAGCGTTT CCCCAGGCCA GTCTACTGCA ACCTGTGCGA GTCTTCAATC 0660
0661 GGTCTGGGCA AGCAGGGCCT GTCATGCAAC CTGTGCAAGT ACACCGTGCA CGACCAAGTGC 0720
0721 GCTATGAAGG CCCTGCCCTG CGAGGTCTCA ACTTACGCTA AGTCCCGTAA GGACATCGGA 0780
0781 GTGCAGTCAC ACGTGTGGGT CAGGGGAGGT TGCGAATCCG GTAGATGCGA CCGCTGCCAG 0840
0841 AAGAAGATCC GTATCTACCA CTCCTGACC GGAAGTGCCT GCGTCTGGTG CCACCTGGAG 0900
0901 ATCCACGACG ACTGCCTGCA GGCCGTGGGA CACGAATGCG ACTGCGGTCT GCTGCGTGAC 0960
0961 CACATCCTGC CTCCTCCAG CATCTACCTT TCAGTCTCTG CTTCCGGTCC CGACAGGAAG 1020
1021 AACAGCAAGA CCTCTCAGAA GACTATGGAC GACCTGAACC TGAGCACCTC TGAGGCCCTG 1080
1081 CGCATCGACC CTGTGCCCAA CACTCACCCA CTGCTGGTGT TCGTCAACCC TAAGAGCGGC 1140
1141 GGAAAGCAGG GTCAGAGAGT CCTGTGGAAG TTCCAGTACA TCCTGAACCC ACGCCAGGTG 1200
1201 TTCAACCTGC TGAAGGACGG CCCTGAGATC GGACTGAGAC TGTTCAGGA CGTGCCCGAC 1260
1261 TCTCGCATCC TCGTCTGCGG TGGCGACGGT ACTGTGGGAT GGATCCTGGA AACTATCGAC 1320
1321 AAGGCTAACC TGCCAGTGCT GCCACCTGTG GCTGTCTGTC CACTGGGAAC CGGTAACGAC 1380
1381 CTGGCTCGTT GCCTGCGTGG GGGAGGTGGC TACGAGGGAC AGAACCTGGC CAAGATCCTG 1440
1441 AAGGACCTGG AAATGAGCAA GGTGTGCCAC ATGGACAGAT GGTCTGTGGA GGTTCATCCA 1500
1501 CAGCAGACTG AGGAAAAGTC AGACCCAGTC CCTTTCAGA TCATCAACAA CTACTTCAGC 1560
1561 ATCGGTGTGG ACGCTCTTAT CGCCACAGA TTCCACATCA TGCAGCAGAA GTACCCCTGAA 1620
1621 AAGTTCAACT CCCGCATGAA GAACAAGCTG TGGTACTTCG AGTTCGCTAC CTCAGAATCC 1680
1681 ATCTTCTCAA CTTGCAAGAA GCTGGAGGAA FCCCTGACCG TCGAGATCTG CGGCAAGCCT 1740
1741 CTGGACCTGT CAAACCTGTC CCTGGAAGGC ATCGCTGTGC TGAACATCCC AAGCATGCAC 1800

```

[0553]

```

1801 GGAGGTTCTA ACCTCTGGGG CGACACTAGG AGGCCTCACG GTGACATCTA CGGCATCAAC 1860
1861 CAGGCCCTGG GAGCTACCGC CAAGGTCATC ACTGACCCCG ACATCCTGAA GACCTGCGTG 1920
1921 CCAGACCTGA GCGACAAGCG TCTGGAGGTG GTCGGACTGG AGGGTGCCAT CGAAATGGGC 1980
1981 CAGATCTACA CTAAGCTGAA GAACGCTGGA AGGAGACTGG CCAAGTGCTC TGAGATCACC 2040
2041 TTCCACACCA CTAAGACTCT GCCTATGCAG ATCGACGGTG AACCTTGGAT GCAGACCCCA 2100
2101 TGCACTATCA AGATCACCCA CAAGAACCAG ATGCCCATGC TGATGGGTCC TCCTCCTCGC 2160
2161 TCTGGATCTT CAGAACTGT GAGGTTCCAG GGCCACCACC ACCACCACCA CTGA 2214

```

[0554]

[0555] (서열식별번호: 5)

[0556] MA-hDGK α-(S9-S727)-Ct-TVMV-His의 아미노산 서열:

```

0001 MASPSDFAQL QKMEYSTKK VSDVLKLFED GEMAKYVQGD AIGYEGFQQF LKIYLEVDNV 0060
0061 PRHLSLALFQ SFETGHCLNE TNVTKDVVCL NDVSCYFSL EGGRPEDKLE FTFKLYDTR 0120
0121 NGILDSSEVD KIILQMMRVA EYLDWDVSEL RPILQEMMKE IDYDGSQSVS QAEWVRAGAT 0180
0181 TVPLLVLLGL EMTLKDDGQH MWRPKRFPRP VYCNLCESI GLGKQGLSCN LCKYTVHDQC 0240
0241 AMKALPCEVS TYAKSRKDIG VQSHVWVRGG CESGRCDRCQ KKIRIYHSLT GLHCVWCHLE 0300
0301 IHDDCLQAVG HECDCGLLRD HILPSSIYP SVLASGPDRK NSKTSQKTMD DLNLSTSEAL 0360
0361 RIDFVPTHNP LLVFVNPKSG GKQGQVRVLWK FQYILNPRQV FNLLKDGPEI GLRLFKDVPD 0420
0421 SRILVCGGDG TVGWILETID KANLPLVLPV AVLPLGTGND LARCLRWGGG YEQNLAKIL 0480
0481 KLEMSKVHV MDRWSVEVIP QQTEEKSDPV PFQIINNYFS IGVDAIAHR FHIMREKYPE 0540
0541 KFNMRMKNKL WYFEFATES IFSTCKKLEE SLTVEICGKP LDLSNLSLEG IAVLNIPSMH 0600
0601 GGSNLWGDTR RPHGDIYGIN QALGATAKVI TDPDILKTCV PDLSDKRLEV VGLEGAIEMG 0660
0661 QIYTKLKNAG RRLAKCSEIT FHTTKTLPMQ IDGEPWMQTP CTIKITHKNQ MPMLMGPPPR 0720
0721 SGSSETVRFQ GHHHHHH 0737

```

[0557]

[0558] (서열식별번호: 6)

서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY

<120> SUBSTITUTED HETEROARYL COMPOUNDS USEFUL AS T CELL ACTIVATORS

<130> 13370-WO-PCT

<150> IN 201911053558

<151> 2019-12-23

<160> 6

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 2256

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 1

atggccaagg agaggggcct aataagcccc agtgattttg cccagctgca aaaatacatg 60

gaatactcca ccaaaaaggt cagtgatgtc ctaaagctct tcgaggatgg cgagatggct 120

aaatatgtcc aaggagatgc cattgggtac gagggattcc agcaattcct gaaaatctat 180

ctcgaagtgg ataatgttcc cagacaccta agcctggcac tgtttcaatc ctttgagact 240

ggtcactgct taaatgagac aaatgtgaca aaagatgtgg tgtgtctcaa tgatgtttcc 300

tgctactttt cccttctgga ggggtggcgg ccagaagaca agttagaatt caccttcaag 360

ctgtacgaca cggacagaaa tgggatcctg gacagctcag aagtggacaa aattatccta 420

cagatgatgc gagtggctga atacctggat tgggatgtgt ctgagctgag gccgattctt 480

caggagatga tgaagagat tgactatgat ggcagtggct ctgtctctca agctgagtgg 540

gtccgggctg gggccaccac cgtgccactg ctagtgtctg tgggtctgga gatgactctg 600

aaggacgacg gacagcacat gtggaggccc aagaggttcc ccagaccagt ctactgcaat 660

ctgtgcgagt caagcattgg tcttggcaaa cagggaactga gctgtaacct ctgtaagtac 720

actgttcacg accagtgtgc catgaaagcc ctgccttgtg aagtcagcac ctatgccaag 780

tctcggaagg acatttgtgt ccaatcacat gtgtgggtgc gaggaggctg tgagtccggg 840

cgctgcgacc gctgtcagaa aaagatccgg atctaccaca gtctgaccgg gctgcattgt 900

glatggtgcc acctagagat ccacgatgac tgcttgaag cgggtggcca tgagtgtgac 960

tgtgggctgc tccgggatca catcctgcct ccattctcca tctatcccag tgcctggcc 1020

tctggaccgg atcgtaaaaa tagcaaaaca agccagaaga ccatggatga tttaaatttg 1080

agcacctctg aggtctctcg gattgacctt gttcctaaca cccaccact tctcgtcttt 1140

gtcaatccta agagtggcgg gaagcagggg cagagggtgc tctggaagt ccagtatata 1200

ttaaaccctc gacaggtgtt caacctccta aaggatggtc ctgagatagg gctccgatta 1260

ttcaaggatg ttctgatag ccggattttg gtgtgtggtg gagacggcac agtagctgg 1320

attctagaga ccattgacaa agctaacttg ccagttttgc ctctgttgc tgtgttgccc 1380

ctgggtactg gaaatgatct ggctcgatgc ctaagatggg gaggaggtta tgaaggacag 1440

aatctggcaa agatcctcaa ggatttagag atgagtaaag tggtaacat ggatcgatgg 1500

tctgtggagg tgatacctca acaactgaa gaaaaaagt acccagtcct ctttcaaate 1560

atcaataact acttctctat tggcgtggat gcctctattg ctcatcgatt ccacatcatg 1620

cgagagaaat atccggagaa gttcaacagc agaatgaaga acaagctatg gtacttcgaa 1680

tttgccacat ctgaatccat cttctcaaca tgcaaaaagc tggaggagtc ttgacagtt 1740

gagatctgtg ggaaaccgt ggatctgagc aacctgtccc tagaaggcat cgcagtgcta 1800

aacatcccta gcatgatgg tggctccaac ctctggggtg ataccaggag acccatggg 1860

gatatctatg ggatcaacca ggccttaggt gctacagcta aagtcacac cgacctgat 1920

atcctgaaaa ccgtgtgacc agacctaat gacaagagac tggaaagtgt tgggctggag 1980

ggtgcaattg agatgggcca aatctatacc aagctcaaga atgctggacg tcggctggcc 2040

aagtgtctg agatcacctt ccacaccaca aaaaccctt ccatgcaaat tgacggagaa 2100

ccctggatgc agacgcctg tacaatcaag atcaccaca agaaccagat gccatgctc 2160

atgggcccac cccccgctc caccaattt tttggcttct tgagcggatc ctcgagaca 2220

gtcgggtttc agggacacca ccacatcac cactga 2256

<210> 2

<211> 737

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Met Ala Ser Pro Ser Asp Phe Ala Gln Leu Gln Lys Tyr Met Glu Tyr

1 5 10 15

Ser Thr Lys Lys Val Ser Asp Val Leu Lys Leu Phe Glu Asp Gly Glu

20 25 30

Met Ala Lys Tyr Val Gln Gly Asp Ala Ile Gly Tyr Glu Gly Phe Gln
35 40 45
Gln Phe Leu Lys Ile Tyr Leu Glu Val Asp Asn Val Pro Arg His Leu
50 55 60
Ser Leu Ala Leu Phe Gln Ser Phe Glu Thr Gly His Cys Leu Asn Glu
65 70 75 80
Thr Asn Val Thr Lys Asp Val Val Cys Leu Asn Asp Val Ser Cys Tyr
85 90 95
Phe Ser Leu Leu Glu Gly Gly Arg Pro Glu Asp Lys Leu Glu Phe Thr
100 105 110
Phe Lys Leu Tyr Asp Thr Asp Arg Asn Gly Ile Leu Asp Ser Ser Glu
115 120 125
Val Asp Lys Ile Ile Leu Gln Met Met Arg Val Ala Glu Tyr Leu Asp
130 135 140
Trp Asp Val Ser Glu Leu Arg Pro Ile Leu Gln Glu Met Met Lys Glu
145 150 155 160
Ile Asp Tyr Asp Gly Ser Gly Ser Val Ser Gln Ala Glu Trp Val Arg
165 170 175
Ala Gly Ala Thr Thr Val Pro Leu Leu Val Leu Leu Gly Leu Glu Met
180 185 190
Thr Leu Lys Asp Asp Gly Gln His Met Trp Arg Pro Lys Arg Phe Pro
195 200 205
Arg Pro Val Tyr Cys Asn Leu Cys Glu Ser Ser Ile Gly Leu Gly Lys
210 215 220
Gln Gly Leu Ser Cys Asn Leu Cys Lys Tyr Thr Val His Asp Gln Cys
225 230 235 240
Ala Met Lys Ala Leu Pro Cys Glu Val Ser Thr Tyr Ala Lys Ser Arg
245 250 255
Lys Asp Ile Gly Val Gln Ser His Val Trp Val Arg Gly Gly Cys Glu
260 265 270
Ser Gly Arg Cys Asp Arg Cys Gln Lys Lys Ile Arg Ile Tyr His Ser

275 280 285
 Leu Thr Gly Leu His Cys Val Trp Cys His Leu Glu Ile His Asp Asp
 290 295 300
 Cys Leu Gln Ala Val Gly His Glu Cys Asp Cys Gly Leu Leu Arg Asp

 305 310 315 320
 His Ile Leu Pro Pro Ser Ser Ile Tyr Pro Ser Val Leu Ala Ser Gly
 325 330 335
 Pro Asp Arg Lys Asn Ser Lys Thr Ser Gln Lys Thr Met Asp Asp Leu
 340 345 350
 Asn Leu Ser Thr Ser Glu Ala Leu Arg Ile Asp Pro Val Pro Asn Thr
 355 360 365
 His Pro Leu Leu Val Phe Val Asn Pro Lys Ser Gly Gly Lys Gln Gly

 370 375 380
 Gln Arg Val Leu Trp Lys Phe Gln Tyr Ile Leu Asn Pro Arg Gln Val
 385 390 395 400
 Phe Asn Leu Leu Lys Asp Gly Pro Glu Ile Gly Leu Arg Leu Phe Lys
 405 410 415
 Asp Val Pro Asp Ser Arg Ile Leu Val Cys Gly Gly Asp Gly Thr Val
 420 425 430
 Gly Trp Ile Leu Glu Thr Ile Asp Lys Ala Asn Leu Pro Val Leu Pro

 435 440 445
 Pro Val Ala Val Leu Pro Leu Gly Thr Gly Asn Asp Leu Ala Arg Cys
 450 455 460
 Leu Arg Trp Gly Gly Gly Tyr Glu Gly Gln Asn Leu Ala Lys Ile Leu
 465 470 475 480
 Lys Asp Leu Glu Met Ser Lys Val Val His Met Asp Arg Trp Ser Val
 485 490 495
 Glu Val Ile Pro Gln Gln Thr Glu Glu Lys Ser Asp Pro Val Pro Phe

 500 505 510
 Gln Ile Ile Asn Asn Tyr Phe Ser Ile Gly Val Asp Ala Ser Ile Ala
 515 520 525

His Arg Phe His Ile Met Arg Glu Lys Tyr Pro Glu Lys Phe Asn Ser
530 535 540
Arg Met Lys Asn Lys Leu Trp Tyr Phe Glu Phe Ala Thr Ser Glu Ser
545 550 555 560
Ile Phe Ser Thr Cys Lys Lys Leu Glu Glu Ser Leu Thr Val Glu Ile
565 570 575
Cys Gly Lys Pro Leu Asp Leu Ser Asn Leu Ser Leu Glu Gly Ile Ala
580 585 590
Val Leu Asn Ile Pro Ser Met His Gly Gly Ser Asn Leu Trp Gly Asp
595 600 605
Thr Arg Arg Pro His Gly Asp Ile Tyr Gly Ile Asn Gln Ala Leu Gly
610 615 620
Ala Thr Ala Lys Val Ile Thr Asp Pro Asp Ile Leu Lys Thr Cys Val
625 630 635 640
Pro Asp Leu Ser Asp Lys Arg Leu Glu Val Val Gly Leu Glu Gly Ala
645 650 655
Ile Glu Met Gly Gln Ile Tyr Thr Lys Leu Lys Asn Ala Gly Arg Arg
660 665 670
Leu Ala Lys Cys Ser Glu Ile Thr Phe His Thr Thr Lys Thr Leu Pro
675 680 685
Met Gln Ile Asp Gly Glu Pro Trp Met Gln Thr Pro Cys Thr Ile Lys
690 695 700
Ile Thr His Lys Asn Gln Met Pro Met Leu Met Gly Pro Pro Pro Arg
705 710 715 720
Ser Gly Ser Ser Glu Thr Val Arg Phe Gln Gly His His His His His
725 730 735
His

<210> 3

<211> 2838

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

Ala Thr Gly Gly Ala Gly Cys Cys Gly Cys Gly Gly Gly Ala Cys Gly
1 5 10 15

Gly Thr Ala Gly Cys Cys Cys Cys Gly Ala Gly Gly Cys Cys Cys Gly
20 25 30

Gly Ala Gly Cys Ala Gly Cys Gly Ala Cys Thr Cys Cys Gly Ala Gly
35 40 45

Thr Cys Gly Gly Cys Thr Thr Cys Cys Gly Cys Cys Thr Cys Gly Thr
50 55 60

Cys Cys Ala Gly Cys Gly Gly Cys Thr Cys Cys Gly Ala Gly Cys Gly
65 70 75 80

Cys Gly Ala Cys Gly Cys Cys Gly Gly Thr Cys Cys Cys Gly Ala Gly
85 90 95

Cys Cys Gly Gly Ala Cys Ala Ala Gly Gly Cys Gly Cys Cys Gly Cys
100 105 110

Gly Gly Cys Gly Ala Cys Thr Cys Ala Ala Cys Ala Ala Gly Cys Gly
115 120 125

Gly Cys Gly Cys Thr Thr Cys Cys Cys Gly Gly Gly Gly Cys Thr Gly
130 135 140

Cys Gly Gly Cys Thr Cys Thr Thr Cys Gly Gly Gly Cys Ala Cys Ala
145 150 155 160

Gly Gly Ala Ala Ala Gly Cys Cys Ala Thr Cys Ala Cys Gly Ala Ala
165 170 175

Gly Thr Cys Gly Gly Gly Cys Cys Thr Cys Cys Ala Gly Cys Ala Cys
180 185 190

Cys Thr Gly Gly Cys Cys Cys Cys Cys Cys Cys Thr Cys Cys Gly Cys
195 200 205

Cys Cys Ala Cys Cys Cys Cys Thr Gly Gly Gly Gly Cys Cys Cys Cys
210 215 220

Gly Thr Gly Cys Ala Gly Cys Gly Ala Gly Thr Cys Ala Gly Ala Gly
225 230 235 240

Cys Gly Gly Cys Ala Gly Ala Thr Cys Cys Gly Gly Ala Gly Thr Ala
 245 250 255
 Cys Ala Gly Thr Gly Gly Ala Cys Thr Gly Gly Ala Gly Cys Gly Ala
 260 265 270

 Gly Thr Cys Ala Gly Cys Gly Ala Cys Ala Thr Ala Thr Gly Gly Gly
 275 280 285
 Gly Ala Gly Cys Ala Cys Ala Thr Cys Thr Gly Gly Thr Thr Cys Gly
 290 295 300
 Ala Gly Ala Cys Cys Ala Ala Cys Gly Thr Gly Thr Cys Cys Gly Gly
 305 310 315 320
 Gly Gly Ala Cys Thr Thr Cys Thr Gly Cys Thr Ala Cys Gly Thr Thr
 325 330 335

 Gly Gly Gly Gly Ala Gly Cys Ala Gly Thr Ala Cys Thr Gly Thr Gly
 340 345 350
 Thr Ala Gly Cys Cys Ala Gly Gly Ala Thr Gly Cys Thr Gly Cys Ala
 355 360 365
 Gly Ala Ala Gly Thr Cys Ala Gly Thr Gly Thr Cys Thr Cys Gly Ala
 370 375 380
 Ala Gly Ala Ala Ala Gly Thr Gly Cys Gly Cys Ala Gly Cys Cys Thr
 385 390 395 400

 Gly Cys Ala Ala Gly Ala Thr Thr Gly Thr Gly Gly Thr Gly Cys Ala
 405 410 415
 Cys Ala Cys Gly Cys Cys Cys Thr Gly Cys Ala Thr Cys Gly Ala Gly
 420 425 430
 Cys Ala Gly Cys Thr Gly Gly Ala Gly Ala Ala Gly Ala Thr Ala Ala
 435 440 445
 Ala Thr Thr Thr Cys Cys Gly Cys Thr Gly Thr Ala Ala Gly Cys Cys
 450 455 460

 Gly Thr Cys Cys Thr Thr Cys Cys Gly Thr Gly Ala Ala Thr Cys Ala
 465 470 475 480
 Gly Gly Cys Thr Cys Cys Ala Gly Gly Ala Ala Thr Gly Thr Cys Cys

485 490 495
 Gly Cys Gly Ala Gly Cys Cys Ala Ala Cys Cys Thr Thr Thr Gly Thr
 500 505 510
 Ala Cys Gly Gly Cys Ala Cys Cys Ala Cys Thr Gly Gly Gly Thr Ala
 515 520 525

 Cys Ala Cys Ala Gly Ala Cys Gly Ala Cys Gly Cys Cys Ala Gly Gly
 530 535 540
 Ala Cys Gly Gly Cys Ala Ala Gly Thr Gly Thr Cys Gly Gly Cys Ala
 545 550 555 560
 Cys Thr Gly Thr Gly Gly Gly Ala Ala Gly Gly Gly Ala Thr Thr Cys
 565 570 575
 Cys Ala Gly Cys Ala Gly Ala Ala Gly Thr Thr Cys Ala Cys Cys Thr
 580 585 590

 Thr Cys Cys Ala Cys Ala Gly Cys Ala Ala Gly Gly Ala Gly Ala Thr
 595 600 605
 Thr Gly Thr Gly Gly Cys Cys Ala Thr Cys Ala Gly Cys Thr Gly Cys
 610 615 620
 Thr Cys Gly Thr Gly Gly Thr Gly Cys Ala Ala Gly Cys Ala Gly Gly
 625 630 635 640
 Cys Ala Thr Ala Cys Cys Ala Cys Ala Gly Cys Ala Ala Gly Gly Thr
 645 650 655

 Gly Thr Cys Cys Thr Gly Cys Thr Thr Cys Ala Thr Gly Cys Thr Gly
 660 665 670
 Cys Ala Gly Cys Ala Gly Ala Thr Cys Gly Ala Gly Gly Ala Gly Cys
 675 680 685
 Cys Gly Thr Gly Cys Thr Cys Gly Cys Thr Gly Gly Gly Gly Gly Thr
 690 695 700
 Cys Cys Ala Cys Gly Cys Ala Gly Cys Cys Gly Thr Gly Gly Thr Cys
 705 710 715 720

 Ala Thr Cys Cys Cys Gly Cys Cys Cys Ala Cys Cys Thr Gly Gly Ala
 725 730 735

Thr Cys Cys Thr Cys Cys Gly Cys Gly Cys Cys Cys Gly Gly Ala Gly
740 745 750

Gly Cys Cys Cys Cys Ala Gly Ala Ala Thr Ala Cys Thr Cys Thr Gly
755 760 765

Ala Ala Ala Gly Cys Ala Ala Gly Cys Ala Ala Gly Ala Ala Gly Ala
770 775 780

Ala Gly Ala Ala Gly Ala Gly Gly Gly Cys Ala Thr Cys Cys Thr Thr
785 790 795 800

Cys Ala Ala Gly Ala Gly Gly Ala Ala Gly Thr Cys Cys Ala Gly Cys
805 810 815

Ala Ala Gly Ala Ala Ala Gly Gly Gly Cys Cys Thr Gly Ala Gly Gly
820 825 830

Ala Gly Gly Gly Cys Cys Gly Cys Thr Gly Gly Ala Gly Ala Cys Cys
835 840 845

Cys Thr Thr Cys Ala Thr Cys Ala Thr Cys Ala Gly Gly Cys Cys Cys
850 855 860

Ala Cys Cys Cys Cys Cys Thr Cys Cys Cys Cys Gly Cys Thr Cys Ala
865 870 875 880

Thr Gly Ala Ala Gly Cys Cys Cys Cys Thr Gly Cys Thr Gly Gly Thr
885 890 895

Gly Thr Thr Thr Gly Thr Gly Ala Ala Cys Cys Cys Cys Ala Ala Gly
900 905 910

Ala Gly Thr Gly Gly Gly Gly Gly Cys Ala Ala Cys Cys Ala Gly Gly
915 920 925

Gly Thr Gly Cys Ala Ala Ala Gly Ala Thr Cys Ala Thr Cys Cys Ala
930 935 940

Gly Thr Cys Thr Thr Thr Cys Cys Thr Cys Thr Gly Gly Thr Ala Thr
945 950 955 960

Cys Thr Cys Ala Ala Thr Cys Cys Cys Cys Gly Ala Cys Ala Ala Gly
965 970 975

Thr Cys Thr Thr Cys Gly Ala Cys Cys Thr Gly Ala Gly Cys Cys Ala

980					985					990						
Gly	Gly	Gly	Ala	Gly	Gly	Gly	Gly	Cys	Cys	Cys	Ala	Ala	Gly	Gly	Ala	Gly
995					1000					1005						
Gly	Cys	Gly	Cys	Thr	Gly	Gly	Ala	Gly	Ala	Thr	Gly	Thr	Ala	Cys		
1010					1015					1020						
Cys	Gly	Cys	Ala	Ala	Ala	Gly	Thr	Gly	Cys	Ala	Cys	Ala	Ala	Cys		
1025					1030					1035						
Cys	Thr	Gly	Cys	Gly	Gly	Ala	Thr	Cys	Cys	Thr	Gly	Gly	Cys	Gly		
1040					1045					1050						
Thr	Gly	Cys	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Cys	Gly	Ala	Cys	Gly	Gly	Cys		
1055					1060					1065						
Ala	Cys	Gly	Gly	Thr	Gly	Gly	Gly	Cys	Thr	Gly	Gly	Ala	Thr	Cys		
1070					1075					1080						
Cys	Thr	Cys	Thr	Cys	Cys	Ala	Cys	Cys	Cys	Thr	Gly	Gly	Ala	Cys		
1085					1090					1095						
Cys	Ala	Gly	Cys	Thr	Ala	Cys	Gly	Cys	Cys	Thr	Gly	Ala	Ala	Gly		
1100					1105					1110						
Cys	Cys	Gly	Cys	Cys	Ala	Cys	Cys	Cys	Cys	Cys	Thr	Gly	Thr	Thr		
1115					1120					1125						
Gly	Cys	Cys	Ala	Thr	Cys	Cys	Thr	Gly	Cys	Cys	Cys	Cys	Thr	Gly		
1130					1135					1140						
Gly	Gly	Thr	Ala	Cys	Thr	Gly	Gly	Cys	Ala	Ala	Cys	Gly	Ala	Cys		
1145					1150					1155						
Thr	Thr	Gly	Gly	Cys	Cys	Cys	Gly	Ala	Ala	Cys	Cys	Cys	Thr	Cys		
1160					1165					1170						
Ala	Ala	Cys	Thr	Gly	Gly	Gly	Gly	Thr	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Cys		
1175					1180					1185						
Thr	Ala	Cys	Ala	Cys	Ala	Gly	Ala	Thr	Gly	Ala	Gly	Cys	Cys	Thr		
1190					1195					1200						
Gly	Thr	Gly	Thr	Cys	Cys	Ala	Ala	Gly	Ala	Thr	Cys	Cys	Thr	Cys		
1205					1210					1215						

Thr Cys Cys Cys Ala Cys Gly	Thr Gly Gly Ala Gly	Gly Ala Gly
1220	1225	1230
Gly Gly Gly Ala Ala Cys Gly	Thr Gly Gly Thr Ala	Cys Ala Gly
1235	1240	1245
Cys Thr Gly Gly Ala Cys Cys	Gly Cys Thr Gly Gly	Gly Ala Cys
1250	1255	1260
Cys Thr Cys Cys Ala Cys Gly	Cys Thr Gly Ala Gly	Cys Cys Cys
1265	1270	1275
Ala Ala Cys Cys Cys Cys Gly	Ala Gly Gly Cys Ala	Gly Gly Gly
1280	1285	1290
Cys Cys Thr Gly Ala Gly Gly	Ala Cys Cys Gly Ala	Gly Ala Thr
1295	1300	1305
Gly Ala Ala Gly Gly Cys Gly	Cys Cys Ala Cys Cys	Gly Ala Cys
1310	1315	1320
Cys Gly Gly Thr Thr Gly Cys	Cys Cys Cys Thr Gly	Gly Ala Thr
1325	1330	1335
Gly Thr Cys Thr Thr Cys Ala	Ala Cys Ala Ala Cys	Thr Ala Cys
1340	1345	1350
Thr Thr Cys Ala Gly Cys Cys	Thr Gly Gly Gly Cys	Thr Thr Thr
1355	1360	1365
Gly Ala Cys Gly Cys Cys Cys	Ala Cys Gly Thr Cys	Ala Cys Cys
1370	1375	1380
Cys Thr Gly Gly Ala Gly Thr	Thr Cys Cys Ala Cys	Gly Ala Gly
1385	1390	1395
Thr Cys Thr Cys Gly Ala Gly	Ala Gly Gly Cys Cys	Ala Ala Cys
1400	1405	1410
Cys Cys Ala Gly Ala Gly Ala	Ala Ala Thr Thr Cys	Ala Ala Cys
1415	1420	1425
Ala Gly Cys Cys Gly Cys Thr	Thr Thr Cys Gly Gly	Ala Ala Thr
1430	1435	1440
Ala Ala Gly Ala Thr Gly Thr	Thr Cys Thr Ala Cys	Gly Cys Cys

1445	1450	1455
Gly Gly Gly Ala Cys Ala Gly Cys Thr Thr Thr Cys Thr Cys Thr		
1460	1465	1470
Gly Ala Cys Thr Thr Cys Cys Thr Gly Ala Thr Gly Gly Gly Cys		
1475	1480	1485
Ala Gly Cys Thr Cys Cys Ala Ala Gly Gly Ala Cys Cys Thr Gly		
1490	1495	1500
Gly Cys Cys Ala Ala Gly Cys Ala Cys Ala Thr Cys Cys Gly Ala		
1505	1510	1515
Gly Thr Gly Gly Thr Gly Thr Gly Thr Gly Ala Thr Gly Gly Ala		
1520	1525	1530
Ala Thr Gly Gly Ala Cys Thr Thr Gly Ala Cys Thr Cys Cys Cys		
1535	1540	1545
Ala Ala Gly Ala Thr Cys Cys Ala Gly Gly Ala Cys Cys Thr Gly		
1550	1555	1560
Ala Ala Ala Cys Cys Cys Cys Ala Gly Thr Gly Thr Gly Thr Thr		
1565	1570	1575
Gly Thr Thr Thr Thr Cys Cys Thr Gly Ala Ala Cys Ala Thr Cys		
1580	1585	1590
Cys Cys Cys Ala Gly Gly Thr Ala Cys Thr Gly Thr Gly Cys Gly		
1595	1600	1605
Gly Gly Cys Ala Cys Cys Ala Thr Gly Cys Cys Cys Thr Gly Gly		
1610	1615	1620
Gly Gly Cys Cys Ala Cys Cys Cys Thr Gly Gly Gly Gly Ala Gly		
1625	1630	1635
Cys Ala Cys Cys Ala Cys Gly Ala Cys Thr Thr Thr Gly Ala Gly		
1640	1645	1650
Cys Cys Cys Cys Ala Gly Cys Gly Gly Cys Ala Thr Gly Ala Cys		
1655	1660	1665
Gly Ala Cys Gly Gly Cys Thr Ala Cys Cys Thr Cys Gly Ala Gly		
1670	1675	1680

Gly Thr Cys Ala Thr Thr Gly Gly Cys Thr Thr Cys Ala Cys Cys
1685 1690 1695

Ala Thr Gly Ala Cys Gly Thr Cys Gly Thr Thr Gly Gly Cys Cys
1700 1705 1710

Gly Cys Gly Cys Thr Gly Cys Ala Gly Gly Thr Gly Gly Gly Cys
1715 1720 1725

Gly Gly Ala Cys Ala Cys Gly Gly Cys Gly Ala Gly Cys Gly Gly
1730 1735 1740

Cys Thr Gly Ala Cys Gly Cys Ala Gly Thr Gly Thr Cys Gly Cys
1745 1750 1755

Gly Ala Gly Gly Thr Gly Gly Thr Gly Cys Thr Cys Ala Cys Cys
1760 1765 1770

Ala Cys Ala Thr Cys Cys Ala Ala Gly Gly Cys Cys Ala Thr Cys
1775 1780 1785

Cys Cys Gly Gly Thr Gly Cys Ala Gly Gly Thr Gly Gly Ala Thr
1790 1795 1800

Gly Gly Cys Gly Ala Gly Cys Cys Cys Thr Gly Cys Ala Ala Gly
1805 1810 1815

Cys Thr Thr Gly Cys Ala Gly Cys Cys Thr Cys Ala Cys Gly Cys
1820 1825 1830

Ala Thr Cys Cys Gly Cys Ala Thr Cys Gly Cys Cys Cys Thr Gly
1835 1840 1845

Cys Gly Cys Ala Ala Cys Cys Ala Gly Gly Cys Cys Ala Cys Cys
1850 1855 1860

Ala Thr Gly Gly Thr Gly Cys Ala Gly Ala Ala Gly Gly Cys Cys
1865 1870 1875

Ala Ala Gly Cys Gly Gly Cys Gly Gly Ala Gly Cys Gly Cys Cys
1880 1885 1890

Gly Cys Cys Cys Cys Cys Thr Gly Cys Ala Cys Ala Gly Cys
1895 1900 1905

Gly Ala Cys Cys Ala Gly Cys Ala Gly Cys Cys Gly Gly Thr Gly

1910	1915	1920
Cys Cys Ala Gly Ala Gly Cys	Ala Gly Thr Thr Gly Cys Gly Cys	
1925	1930	1935
Ala Thr Cys Cys Ala Gly Gly	Thr Gly Ala Gly Thr Cys Gly Cys	
1940	1945	1950
Gly Thr Cys Ala Gly Cys Ala	Thr Gly Cys Ala Cys Gly Ala Cys	
1955	1960	1965
Thr Ala Thr Gly Ala Gly Gly	Cys Cys Cys Thr Gly Cys Ala Cys	
1970	1975	1980
Thr Ala Cys Gly Ala Cys Ala	Ala Gly Gly Ala Gly Cys Ala Gly	
1985	1990	1995
Cys Thr Cys Ala Ala Gly Gly	Ala Gly Gly Cys Cys Thr Cys Thr	
2000	2005	2010
Gly Thr Gly Cys Cys Gly Cys	Thr Gly Gly Gly Cys Ala Cys Thr	
2015	2020	2025
Gly Thr Gly Gly Thr Gly Gly	Thr Cys Cys Cys Ala Gly Gly Ala	
2030	2035	2040
Gly Ala Cys Ala Gly Thr Gly	Ala Cys Cys Thr Ala Gly Ala Gly	
2045	2050	2055
Cys Thr Cys Thr Gly Cys Cys	Gly Thr Gly Cys Cys Cys Ala Cys	
2060	2065	2070
Ala Thr Thr Gly Ala Gly Ala	Gly Ala Cys Thr Cys Cys Ala Gly	
2075	2080	2085
Cys Ala Gly Gly Ala Gly Cys	Cys Cys Gly Ala Thr Gly Gly Thr	
2090	2095	2100
Gly Cys Thr Gly Gly Ala Gly	Cys Cys Ala Ala Gly Thr Cys Cys	
2105	2110	2115
Cys Cys Gly Ala Cys Ala Thr	Gly Cys Cys Ala Gly Ala Ala Ala	
2120	2125	2130
Cys Thr Gly Thr Cys Cys Cys	Cys Cys Ala Ala Gly Thr Gly Gly	
2135	2140	2145

Thr Gly Cys Thr Thr Cys Cys Thr Gly Gly Ala Cys Gly Cys Cys		
2150	2155	2160
Ala Cys Cys Ala Cys Thr Gly Cys Cys Ala Gly Cys Cys Gly Cys		
2165	2170	2175
Thr Thr Cys Thr Ala Cys Ala Gly Gly Ala Thr Cys Gly Ala Cys		
2180	2185	2190
Cys Gly Ala Gly Cys Cys Cys Ala Gly Gly Ala Gly Cys Ala Cys		
2195	2200	2205
Cys Thr Cys Ala Ala Cys Thr Ala Thr Gly Thr Gly Ala Cys Thr		
2210	2215	2220
Gly Ala Gly Ala Thr Cys Gly Cys Ala Cys Ala Gly Gly Ala Thr		
2225	2230	2235
Gly Ala Gly Ala Thr Thr Thr Ala Thr Ala Thr Cys Cys Thr Gly		
2240	2245	2250
Gly Ala Cys Cys Cys Thr Gly Ala Gly Cys Thr Gly Cys Thr Gly		
2255	2260	2265
Gly Gly Gly Gly Cys Ala Thr Cys Gly Gly Cys Cys Cys Gly Gly		
2270	2275	2280
Cys Cys Thr Gly Ala Cys Cys Thr Cys Cys Cys Ala Ala Cys Cys		
2285	2290	2295
Cys Cys Cys Ala Cys Thr Thr Cys Cys Cys Cys Thr Cys Thr Cys		
2300	2305	2310
Cys Cys Cys Ala Cys Cys Thr Cys Ala Cys Cys Cys Thr Gly Cys		
2315	2320	2325
Thr Cys Ala Cys Cys Cys Ala Cys Gly Cys Cys Cys Cys Gly Gly		
2330	2335	2340
Thr Cys Ala Cys Thr Gly Cys Ala Ala Gly Gly Gly Gly Ala Thr		
2345	2350	2355
Gly Cys Thr Gly Cys Ala Cys Cys Cys Cys Cys Thr Cys Ala Ala		
2360	2365	2370
Gly Gly Thr Gly Ala Ala Gly Ala Gly Cys Thr Gly Ala Thr Thr		

2375	2380	2385
Gly Ala Gly Gly Cys Thr	Gly Cys Cys Ala Ala Gly	Ala Gly Gly
2390	2395	2400
Ala Ala Cys Gly Ala Cys Thr	Thr Cys Thr Gly Thr	Ala Ala Gly
2405	2410	2415
Cys Thr Cys Cys Ala Gly Gly	Ala Gly Cys Thr Gly	Cys Ala Cys
2420	2425	2430
Cys Gly Ala Gly Cys Thr Gly	Gly Gly Gly Gly Cys	Gly Ala Cys
2435	2440	2445
Cys Thr Cys Ala Thr Gly Cys	Ala Cys Cys Gly Ala	Gly Ala Cys
2450	2455	2460
Gly Ala Gly Cys Ala Gly Ala	Gly Thr Cys Gly Cys	Ala Cys Gly
2465	2470	2475
Cys Thr Cys Cys Thr Gly Cys	Ala Cys Cys Ala Cys	Gly Cys Ala
2480	2485	2490
Gly Thr Cys Ala Gly Cys Ala	Cys Thr Gly Gly Cys	Ala Gly Cys
2495	2500	2505
Ala Ala Gly Gly Ala Thr Gly	Thr Gly Gly Thr Cys	Cys Gly Cys
2510	2515	2520
Thr Ala Cys Cys Thr Gly Cys	Thr Gly Gly Ala Cys	Cys Ala Cys
2525	2530	2535
Gly Cys Cys Cys Cys Cys Cys	Cys Ala Gly Ala Gly	Ala Thr Cys
2540	2545	2550
Cys Thr Thr Gly Ala Thr Gly	Cys Gly Gly Thr Gly	Gly Ala Gly
2555	2560	2565
Gly Ala Ala Ala Ala Cys Gly	Gly Gly Gly Ala Gly	Ala Cys Cys
2570	2575	2580
Thr Gly Thr Thr Thr Gly Cys	Ala Cys Cys Ala Ala	Gly Cys Ala
2585	2590	2595
Gly Cys Gly Gly Cys Cys Cys	Thr Gly Gly Gly Cys	Cys Ala Gly
2600	2605	2610

Cys Gly	Cys Ala Cys Cys Ala	Thr Cys Thr Gly Cys	Cys Ala Cys
2615	2620	2625	
Thr Ala	Cys Ala Thr Cys Gly	Thr Gly Gly Ala Gly	Gly Cys Cys
2630	2635	2640	
Gly Gly	Gly Gly Cys Cys Thr	Cys Gly Cys Thr Cys	Ala Thr Gly
2645	2650	2655	
Ala Ala	Gly Ala Cys Ala Gly	Ala Cys Cys Ala Gly	Cys Ala Gly
2660	2665	2670	
Gly Gly	Cys Gly Ala Cys Ala	Cys Thr Cys Cys Cys	Cys Gly Gly
2675	2680	2685	
Cys Ala	Gly Cys Gly Gly Gly	Cys Thr Gly Ala Gly	Ala Ala Gly
2690	2695	2700	
Gly Cys	Thr Cys Ala Gly Gly	Ala Cys Ala Cys Cys	Gly Ala Gly
2705	2710	2715	
Cys Thr	Gly Gly Cys Cys Gly	Cys Cys Thr Ala Cys	Cys Thr Gly
2720	2725	2730	
Gly Ala	Gly Ala Ala Cys Cys	Gly Gly Cys Ala Gly	Cys Ala Cys
2735	2740	2745	
Thr Ala	Cys Cys Ala Gly Ala	Thr Gly Ala Thr Cys	Cys Ala Gly
2750	2755	2760	
Cys Gly	Gly Gly Ala Gly Gly	Ala Cys Cys Ala Gly	Gly Ala Gly
2765	2770	2775	
Ala Cys	Gly Gly Cys Thr Gly	Thr Gly Gly Gly Ala	Thr Cys Cys
2780	2785	2790	
Thr Cys	Gly Gly Ala Gly Ala	Cys Ala Gly Thr Gly	Cys Gly Gly
2795	2800	2805	
Thr Thr	Thr Cys Ala Gly Gly	Gly Ala Cys Ala Cys	Cys Ala Cys
2810	2815	2820	
Cys Ala	Cys Cys Ala Thr Cys	Ala Cys Cys Ala Cys	Thr Gly Ala
2825	2830	2835	

<210> 4

<211> 945

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

Met Glu Pro Arg Asp Gly Ser Pro Glu Ala Arg Ser Ser Asp Ser Glu

1 5 10 15

Ser Ala Ser Ala Ser Ser Ser Gly Ser Glu Arg Asp Ala Gly Pro Glu

20 25 30

Pro Asp Lys Ala Pro Arg Arg Leu Asn Lys Arg Arg Phe Pro Gly Leu

35 40 45

Arg Leu Phe Gly His Arg Lys Ala Ile Thr Lys Ser Gly Leu Gln His

50 55 60

Leu Ala Pro Pro Pro Pro Thr Pro Gly Ala Pro Cys Ser Glu Ser Glu

65 70 75 80

Arg Gln Ile Arg Ser Thr Val Asp Trp Ser Glu Ser Ala Thr Tyr Gly

85 90 95

Glu His Ile Trp Phe Glu Thr Asn Val Ser Gly Asp Phe Cys Tyr Val

100 105 110

Gly Glu Gln Tyr Cys Val Ala Arg Met Leu Gln Lys Ser Val Ser Arg

115 120 125

Arg Lys Cys Ala Ala Cys Lys Ile Val Val His Thr Pro Cys Ile Glu

130 135 140

Gln Leu Glu Lys Ile Asn Phe Arg Cys Lys Pro Ser Phe Arg Glu Ser

145 150 155 160

Gly Ser Arg Asn Val Arg Glu Pro Thr Phe Val Arg His His Trp Val

165 170 175

His Arg Arg Arg Gln Asp Gly Lys Cys Arg His Cys Gly Lys Gly Phe

180 185 190

Gln Gln Lys Phe Thr Phe His Ser Lys Glu Ile Val Ala Ile Ser Cys

195 200 205

Ser Trp Cys Lys Gln Ala Tyr His Ser Lys Val Ser Cys Phe Met Leu

210 215 220

Gln Gln Ile Glu Glu Pro Cys Ser Leu Gly Val His Ala Ala Val Val
225 230 235 240
Ile Pro Pro Thr Trp Ile Leu Arg Ala Arg Arg Pro Gln Asn Thr Leu
245 250 255
Lys Ala Ser Lys Lys Lys Lys Arg Ala Ser Phe Lys Arg Lys Ser Ser
260 265 270
Lys Lys Gly Pro Glu Glu Gly Arg Trp Arg Pro Phe Ile Ile Arg Pro
275 280 285
Thr Pro Ser Pro Leu Met Lys Pro Leu Leu Val Phe Val Asn Pro Lys
290 295 300
Ser Gly Gly Asn Gln Gly Ala Lys Ile Ile Gln Ser Phe Leu Trp Tyr
305 310 315 320
Leu Asn Pro Arg Gln Val Phe Asp Leu Ser Gln Gly Gly Pro Lys Glu
325 330 335
Ala Leu Glu Met Tyr Arg Lys Val His Asn Leu Arg Ile Leu Ala Cys
340 345 350
Gly Gly Asp Gly Thr Val Gly Trp Ile Leu Ser Thr Leu Asp Gln Leu
355 360 365
Arg Leu Lys Pro Pro Pro Pro Val Ala Ile Leu Pro Leu Gly Thr Gly
370 375 380
Asn Asp Leu Ala Arg Thr Leu Asn Trp Gly Gly Gly Tyr Thr Asp Glu
385 390 395 400
Pro Val Ser Lys Ile Leu Ser His Val Glu Glu Gly Asn Val Val Gln
405 410 415
Leu Asp Arg Trp Asp Leu His Ala Glu Pro Asn Pro Glu Ala Gly Pro
420 425 430
Glu Asp Arg Asp Glu Gly Ala Thr Asp Arg Leu Pro Leu Asp Val Phe
435 440 445
Asn Asn Tyr Phe Ser Leu Gly Phe Asp Ala His Val Thr Leu Glu Phe
450 455 460
His Glu Ser Arg Glu Ala Asn Pro Glu Lys Phe Asn Ser Arg Phe Arg

465 470 475 480
 Asn Lys Met Phe Tyr Ala Gly Thr Ala Phe Ser Asp Phe Leu Met Gly
 485 490 495
 Ser Ser Lys Asp Leu Ala Lys His Ile Arg Val Val Cys Asp Gly Met

 500 505 510
 Asp Leu Thr Pro Lys Ile Gln Asp Leu Lys Pro Gln Cys Val Val Phe
 515 520 525
 Leu Asn Ile Pro Arg Tyr Cys Ala Gly Thr Met Pro Trp Gly His Pro
 530 535 540
 Gly Glu His His Asp Phe Glu Pro Gln Arg His Asp Asp Gly Tyr Leu
 545 550 555 560
 Glu Val Ile Gly Phe Thr Met Thr Ser Leu Ala Ala Leu Gln Val Gly

 565 570 575
 Gly His Gly Glu Arg Leu Thr Gln Cys Arg Glu Val Val Leu Thr Thr
 580 585 590
 Ser Lys Ala Ile Pro Val Gln Val Asp Gly Glu Pro Cys Lys Leu Ala
 595 600 605
 Ala Ser Arg Ile Arg Ile Ala Leu Arg Asn Gln Ala Thr Met Val Gln
 610 615 620
 Lys Ala Lys Arg Arg Ser Ala Ala Pro Leu His Ser Asp Gln Gln Pro

 625 630 635 640
 Val Pro Glu Gln Leu Arg Ile Gln Val Ser Arg Val Ser Met His Asp
 645 650 655
 Tyr Glu Ala Leu His Tyr Asp Lys Glu Gln Leu Lys Glu Ala Ser Val
 660 665 670
 Pro Leu Gly Thr Val Val Val Pro Gly Asp Ser Asp Leu Glu Leu Cys
 675 680 685
 Arg Ala His Ile Glu Arg Leu Gln Gln Glu Pro Asp Gly Ala Gly Ala

 690 695 700
 Lys Ser Pro Thr Cys Gln Lys Leu Ser Pro Lys Trp Cys Phe Leu Asp
 705 710 715 720

Ala Thr Thr Ala Ser Arg Phe Tyr Arg Ile Asp Arg Ala Gln Glu His
725 730 735
Leu Asn Tyr Val Thr Glu Ile Ala Gln Asp Glu Ile Tyr Ile Leu Asp
740 745 750
Pro Glu Leu Leu Gly Ala Ser Ala Arg Pro Asp Leu Pro Thr Pro Thr
755 760 765
Ser Pro Leu Pro Thr Ser Pro Cys Ser Pro Thr Pro Arg Ser Leu Gln
770 775 780
Gly Asp Ala Ala Pro Pro Gln Gly Glu Glu Leu Ile Glu Ala Ala Lys
785 790 795 800
Arg Asn Asp Phe Cys Lys Leu Gln Glu Leu His Arg Ala Gly Gly Asp
805 810 815
Leu Met His Arg Asp Glu Gln Ser Arg Thr Leu Leu His His Ala Val
820 825 830
Ser Thr Gly Ser Lys Asp Val Val Arg Tyr Leu Leu Asp His Ala Pro
835 840 845
Pro Glu Ile Leu Asp Ala Val Glu Glu Asn Gly Glu Thr Cys Leu His
850 855 860
Gln Ala Ala Ala Leu Gly Gln Arg Thr Ile Cys His Tyr Ile Val Glu
865 870 875 880
Ala Gly Ala Ser Leu Met Lys Thr Asp Gln Gln Gly Asp Thr Pro Arg
885 890 895
Gln Arg Ala Glu Lys Ala Gln Asp Thr Glu Leu Ala Ala Tyr Leu Glu
900 905 910
Asn Arg Gln His Tyr Gln Met Ile Gln Arg Glu Asp Gln Glu Thr Ala
915 920 925
Val Gly Ser Ser Glu Thr Val Arg Phe Gln Gly His His His His His
930 935 940
His
945
<210> 5
<211> 2214

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 5

Ala Thr Gly Gly Cys Thr Thr Cys Cys Cys Cys Ala Ala Gly Cys Gly

1 5 10 15

Ala Cys Thr Thr Cys Gly Cys Cys Cys Ala Gly Cys Thr Gly Cys Ala

20 25 30

Gly Ala Ala Gly Thr Ala Cys Ala Thr Gly Gly Ala Ala Thr Ala Cys

35 40 45

Ala Gly Cys Ala Cys Cys Ala Ala Gly Ala Ala Gly Gly Thr Gly Thr

50 55 60

Cys Thr Gly Ala Cys Gly Thr Cys Cys Thr Gly Ala Ala Gly Cys Thr

65 70 75 80

Gly Thr Thr Cys Gly Ala Gly Gly Ala Cys Gly Gly Thr Gly Ala Ala

85 90 95

Ala Thr Gly Gly Cys Thr Ala Ala Gly Thr Ala Cys Gly Thr Cys Cys

100 105 110

Ala Gly Gly Gly Cys Gly Ala Cys Gly Cys Thr Ala Thr Cys Gly Gly

115 120 125

Ala Thr Ala Cys Gly Ala Gly Gly Gly Ala Thr Thr Cys Cys Ala Gly

130 135 140

Cys Ala Gly Thr Thr Cys Cys Thr Gly Ala Ala Gly Ala Thr Cys Thr

145 150 155 160

Ala Cys Cys Thr Gly Gly Ala Ala Gly Thr Gly Gly Ala Cys Ala Ala

165 170 175

Cys Gly Thr Cys Cys Cys Cys Ala Gly Gly Cys Ala Cys Cys Thr Gly

180 185 190

Thr Cys Ala Cys Thr Gly Gly Cys Thr Cys Thr Gly Thr Thr Cys Cys

195 200 205

Ala Gly Thr Cys Cys Thr Thr Cys Gly Ala Gly Ala Cys Thr Gly Gly

210 215 220

Cys Cys Ala Cys Thr Gly Cys Cys Thr Gly Ala Ala Cys Gly Ala Ala
 225 230 235 240
 Ala Cys Cys Ala Ala Cys Gly Thr Cys Ala Cys Thr Ala Ala Gly Gly
 245 250 255

 Ala Cys Gly Thr Gly Gly Thr Cys Thr Gly Cys Cys Thr Gly Ala Ala
 260 265 270
 Cys Gly Ala Cys Gly Thr Gly Ala Gly Cys Thr Gly Cys Thr Ala Cys
 275 280 285
 Thr Thr Cys Thr Cys Thr Cys Thr Gly Cys Thr Gly Gly Ala Gly Gly
 290 295 300
 Gly Thr Gly Gly Cys Ala Gly Ala Cys Cys Ala Gly Ala Gly Gly Ala
 305 310 315 320

 Cys Ala Ala Gly Cys Thr Gly Gly Ala Ala Thr Thr Cys Ala Cys Cys
 325 330 335
 Thr Thr Cys Ala Ala Gly Cys Thr Gly Thr Ala Cys Gly Ala Cys Ala
 340 345 350
 Cys Thr Gly Ala Cys Cys Gly Cys Ala Ala Cys Gly Gly Ala Ala Thr
 355 360 365
 Cys Cys Thr Gly Gly Ala Cys Thr Cys Cys Ala Gly Cys Gly Ala Ala
 370 375 380

 Gly Thr Gly Gly Ala Cys Ala Ala Gly Ala Thr Cys Ala Thr Cys Cys
 385 390 395 400
 Thr Gly Cys Ala Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Cys Gly Thr Gly Thr
 405 410 415
 Cys Gly Cys Thr Gly Ala Gly Thr Ala Cys Cys Thr Gly Gly Ala Cys
 420 425 430
 Thr Gly Gly Gly Ala Cys Gly Thr Gly Ala Gly Cys Gly Ala Ala Cys
 435 440 445

 Thr Gly Ala Gly Gly Cys Cys Thr Ala Thr Cys Cys Thr Gly Cys Ala
 450 455 460
 Gly Gly Ala Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Ala Ala Gly Gly Ala Ala

465 470 475 480
 Ala Thr Cys Gly Ala Cys Thr Ala Cys Gly Ala Cys Gly Gly Cys Thr
 485 490 495
 Cys Thr Gly Gly Ala Thr Cys Ala Gly Thr Gly Thr Cys Cys Cys Ala
 500 505 510

 Gly Gly Cys Thr Gly Ala Gly Thr Gly Gly Gly Thr Cys Cys Gly Cys
 515 520 525
 Gly Cys Thr Gly Gly Thr Gly Cys Thr Ala Cys Cys Ala Cys Thr Gly
 530 535 540
 Thr Gly Cys Cys Ala Cys Thr Gly Cys Thr Gly Gly Thr Cys Cys Thr
 545 550 555 560
 Gly Cys Thr Gly Gly Gly Ala Cys Thr Gly Gly Ala Ala Ala Thr Gly
 565 570 575

 Ala Cys Cys Cys Thr Gly Ala Ala Gly Gly Ala Cys Gly Ala Cys Gly
 580 585 590
 Gly Thr Cys Ala Gly Cys Ala Cys Ala Thr Gly Thr Gly Gly Cys Gly
 595 600 605
 Cys Cys Cys Ala Ala Ala Gly Cys Gly Thr Thr Thr Cys Cys Cys Cys
 610 615 620
 Ala Gly Gly Cys Cys Ala Gly Thr Cys Thr Ala Cys Thr Gly Cys Ala
 625 630 635 640

 Ala Cys Cys Thr Gly Thr Gly Cys Gly Ala Gly Thr Cys Thr Thr Cys
 645 650 655
 Ala Ala Thr Cys Gly Gly Thr Cys Thr Gly Gly Gly Cys Ala Ala Gly
 660 665 670
 Cys Ala Gly Gly Gly Cys Cys Thr Gly Thr Cys Ala Thr Gly Cys Ala
 675 680 685
 Ala Cys Cys Thr Gly Thr Gly Cys Ala Ala Gly Thr Ala Cys Ala Cys
 690 695 700

 Cys Gly Thr Gly Cys Ala Cys Gly Ala Cys Cys Ala Gly Thr Gly Cys
 705 710 715 720

Gly Cys Thr Ala Thr Gly Ala Ala Gly Gly Cys Cys Cys Thr Gly Cys
725 730 735

Cys Cys Thr Gly Cys Gly Ala Gly Gly Thr Cys Thr Cys Ala Ala Cys
740 745 750

Thr Thr Ala Cys Gly Cys Thr Ala Ala Gly Thr Cys Cys Cys Gly Thr
755 760 765

Ala Ala Gly Gly Ala Cys Ala Thr Cys Gly Gly Ala Gly Thr Gly Cys
770 775 780

Ala Gly Thr Cys Ala Cys Ala Cys Gly Thr Gly Thr Gly Gly Gly Thr
785 790 795 800

Cys Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Thr Thr Gly Cys Gly Ala Ala
805 810 815

Thr Cys Cys Gly Gly Thr Ala Gly Ala Thr Gly Cys Gly Ala Cys Cys
820 825 830

Gly Cys Thr Gly Cys Cys Ala Gly Ala Ala Gly Ala Ala Gly Ala Thr
835 840 845

Cys Cys Gly Thr Ala Thr Cys Thr Ala Cys Cys Ala Cys Thr Cys Cys
850 855 860

Cys Thr Gly Ala Cys Cys Gly Gly Ala Cys Thr Gly Cys Ala Cys Thr
865 870 875 880

Gly Cys Gly Thr Cys Thr Gly Gly Thr Gly Cys Cys Ala Cys Cys Thr
885 890 895

Gly Gly Ala Gly Ala Thr Cys Cys Ala Cys Gly Ala Cys Gly Ala Cys
900 905 910

Thr Gly Cys Cys Thr Gly Cys Ala Gly Gly Cys Cys Gly Thr Gly Gly
915 920 925

Gly Ala Cys Ala Cys Gly Ala Ala Thr Gly Cys Gly Ala Cys Thr Gly
930 935 940

Cys Gly Gly Thr Cys Thr Gly Cys Thr Gly Cys Gly Thr Gly Ala Cys
945 950 955 960

Cys Ala Cys Ala Thr Cys Cys Thr Gly Cys Cys Thr Cys Cys Cys Thr

965	970	975
Cys Cys Ala Gly Cys Ala Thr Cys Thr Ala Cys Cys Cys Thr Thr Cys		
980	985	990
Ala Gly Thr Cys Cys Thr Gly Gly Cys Thr Thr Cys Cys Gly Gly Thr		
995	1000	1005
Cys Cys Cys Gly Ala Cys Ala Gly Gly Ala Ala Gly Ala Ala Cys		
1010	1015	1020
Ala Gly Cys Ala Ala Gly Ala Cys Cys Thr Cys Thr Cys Ala Gly		
1025	1030	1035
Ala Ala Gly Ala Cys Thr Ala Thr Gly Gly Ala Cys Gly Ala Cys		
1040	1045	1050
Cys Thr Gly Ala Ala Cys Cys Thr Gly Ala Gly Cys Ala Cys Cys		
1055	1060	1065
Thr Cys Thr Gly Ala Gly Gly Cys Cys Cys Thr Gly Cys Gly Cys		
1070	1075	1080
Ala Thr Cys Gly Ala Cys Cys Cys Thr Gly Thr Gly Cys Cys Cys		
1085	1090	1095
Ala Ala Cys Ala Cys Thr Cys Ala Cys Cys Cys Ala Cys Thr Gly		
1100	1105	1110
Cys Thr Gly Gly Thr Gly Thr Thr Cys Gly Thr Cys Ala Ala Cys		
1115	1120	1125
Cys Cys Thr Ala Ala Gly Ala Gly Cys Gly Gly Cys Gly Gly Ala		
1130	1135	1140
Ala Ala Gly Cys Ala Gly Gly Gly Thr Cys Ala Gly Ala Gly Ala		
1145	1150	1155
Gly Thr Cys Cys Thr Gly Thr Gly Gly Ala Ala Gly Thr Thr Cys		
1160	1165	1170
Cys Ala Gly Thr Ala Cys Ala Thr Cys Cys Thr Gly Ala Ala Cys		
1175	1180	1185
Cys Cys Ala Cys Gly Cys Cys Ala Gly Gly Thr Gly Thr Thr Cys		
1190	1195	1200

Ala Ala Cys Cys Thr Gly Cys Thr Gly Ala Ala Gly Gly Ala Cys		
1205	1210	1215
Gly Gly Cys Cys Cys Thr Gly Ala Gly Ala Thr Cys Gly Gly Ala		
1220	1225	1230
Cys Thr Gly Ala Gly Ala Cys Thr Gly Thr Thr Cys Ala Ala Gly		
1235	1240	1245
Gly Ala Cys Gly Thr Gly Cys Cys Cys Gly Ala Cys Thr Cys Thr		
1250	1255	1260
Cys Gly Cys Ala Thr Cys Cys Thr Cys Gly Thr Cys Thr Gly Cys		
1265	1270	1275
Gly Gly Thr Gly Gly Cys Gly Ala Cys Gly Gly Thr Ala Cys Thr		
1280	1285	1290
Gly Thr Gly Gly Gly Ala Thr Gly Gly Ala Thr Cys Cys Thr Gly		
1295	1300	1305
Gly Ala Ala Ala Cys Thr Ala Thr Cys Gly Ala Cys Ala Ala Gly		
1310	1315	1320
Gly Cys Thr Ala Ala Cys Cys Thr Gly Cys Cys Ala Gly Thr Gly		
1325	1330	1335
Cys Thr Gly Cys Cys Ala Cys Cys Thr Gly Thr Gly Gly Cys Thr		
1340	1345	1350
Gly Thr Cys Cys Thr Gly Cys Cys Ala Cys Thr Gly Gly Gly Ala		
1355	1360	1365
Ala Cys Cys Gly Gly Thr Ala Ala Cys Gly Ala Cys Cys Thr Gly		
1370	1375	1380
Gly Cys Thr Cys Gly Thr Thr Gly Cys Cys Thr Gly Cys Gly Thr		
1385	1390	1395
Thr Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Thr Gly Gly Cys Thr Ala Cys		
1400	1405	1410
Gly Ala Gly Gly Gly Ala Cys Ala Gly Ala Ala Cys Cys Thr Gly		
1415	1420	1425
Gly Cys Cys Ala Ala Gly Ala Thr Cys Cys Thr Gly Ala Ala Gly		

1430	1435	1440
Gly Ala Cys Cys Thr Gly Gly Ala Ala Ala Thr Gly Ala Gly Cys		
1445	1450	1455
Ala Ala Gly Gly Thr Gly Gly Thr Cys Cys Ala Cys Ala Thr Gly		
1460	1465	1470
Gly Ala Cys Ala Gly Ala Thr Gly Gly Thr Cys Thr Gly Thr Gly		
1475	1480	1485
Gly Ala Gly Gly Thr Cys Ala Thr Cys Cys Cys Ala Cys Ala Gly		
1490	1495	1500
Cys Ala Gly Ala Cys Thr Gly Ala Gly Gly Ala Ala Ala Ala Gly		
1505	1510	1515
Thr Cys Ala Gly Ala Cys Cys Cys Ala Gly Thr Cys Cys Cys Thr		
1520	1525	1530
Thr Thr Cys Cys Ala Gly Ala Thr Cys Ala Thr Cys Ala Ala Cys		
1535	1540	1545
Ala Ala Cys Thr Ala Cys Thr Thr Cys Ala Gly Cys Ala Thr Cys		
1550	1555	1560
Gly Gly Thr Gly Thr Gly Gly Ala Cys Gly Cys Thr Thr Cys Thr		
1565	1570	1575
Ala Thr Cys Gly Cys Cys Cys Ala Cys Ala Gly Ala Thr Thr Cys		
1580	1585	1590
Cys Ala Cys Ala Thr Cys Ala Thr Gly Cys Gly Cys Gly Ala Gly		
1595	1600	1605
Ala Ala Gly Thr Ala Cys Cys Cys Thr Gly Ala Ala Ala Ala Gly		
1610	1615	1620
Thr Thr Cys Ala Ala Cys Thr Cys Cys Cys Gly Cys Ala Thr Gly		
1625	1630	1635
Ala Ala Gly Ala Ala Cys Ala Ala Gly Cys Thr Gly Thr Gly Gly		
1640	1645	1650
Thr Ala Cys Thr Thr Cys Gly Ala Gly Thr Thr Cys Gly Cys Thr		
1655	1660	1665

Ala Cys Cys Thr Cys Ala Gly	Ala Ala Thr Cys Cys	Ala Thr Cys
1670	1675	1680
Thr Thr Cys Thr Cys Ala Ala	Cys Thr Thr Gly Cys	Ala Ala Gly
1685	1690	1695
Ala Ala Gly Cys Thr Gly Gly	Ala Gly Gly Ala Ala	Thr Cys Cys
1700	1705	1710
Cys Thr Gly Ala Cys Cys Gly	Thr Cys Gly Ala Gly	Ala Thr Cys
1715	1720	1725
Thr Gly Cys Gly Gly Cys Ala	Ala Gly Cys Cys Thr	Cys Thr Gly
1730	1735	1740
Gly Ala Cys Cys Thr Gly Thr	Cys Ala Ala Ala Cys	Cys Thr Gly
1745	1750	1755
Thr Cys Cys Cys Thr Gly Gly	Ala Ala Gly Gly Cys	Ala Thr Cys
1760	1765	1770
Gly Cys Thr Gly Thr Gly Cys	Thr Gly Ala Ala Cys	Ala Thr Cys
1775	1780	1785
Cys Cys Ala Ala Gly Cys Ala	Thr Gly Cys Ala Cys	Gly Gly Ala
1790	1795	1800
Gly Gly Thr Thr Cys Thr Ala	Ala Cys Cys Thr Cys	Thr Gly Gly
1805	1810	1815
Gly Gly Cys Gly Ala Cys Ala	Cys Thr Ala Gly Gly	Ala Gly Gly
1820	1825	1830
Cys Cys Thr Cys Ala Cys Gly	Gly Thr Gly Ala Cys	Ala Thr Cys
1835	1840	1845
Thr Ala Cys Gly Gly Cys Ala	Thr Cys Ala Ala Cys	Cys Ala Gly
1850	1855	1860
Gly Cys Cys Cys Thr Gly Gly	Gly Ala Gly Cys Thr	Ala Cys Cys
1865	1870	1875
Gly Cys Cys Ala Ala Gly Gly	Thr Cys Ala Thr Cys	Ala Cys Thr
1880	1885	1890
Gly Ala Cys Cys Cys Cys Gly	Ala Cys Ala Thr Cys	Cys Thr Gly

1895	1900	1905
Ala Ala Gly Ala Cys Cys Thr	Gly Cys Gly Thr Gly	Cys Cys Ala
1910	1915	1920
Gly Ala Cys Cys Thr Gly Ala	Gly Cys Gly Ala Cys	Ala Ala Gly
1925	1930	1935
Cys Gly Thr Cys Thr Gly Gly	Ala Gly Gly Thr Gly	Gly Thr Cys
1940	1945	1950
Gly Gly Ala Cys Thr Gly Gly	Ala Gly Gly Gly Thr	Gly Cys Cys
1955	1960	1965
Ala Thr Cys Gly Ala Ala Ala	Thr Gly Gly Gly Cys	Cys Ala Gly
1970	1975	1980
Ala Thr Cys Thr Ala Cys Ala	Cys Thr Ala Ala Gly	Cys Thr Gly
1985	1990	1995
Ala Ala Gly Ala Ala Cys Gly	Cys Thr Gly Gly Ala	Ala Gly Gly
2000	2005	2010
Ala Gly Ala Cys Thr Gly Gly	Cys Cys Ala Ala Gly	Thr Gly Cys
2015	2020	2025
Thr Cys Thr Gly Ala Gly Ala	Thr Cys Ala Cys Cys	Thr Thr Cys
2030	2035	2040
Cys Ala Cys Ala Cys Cys Ala	Cys Thr Ala Ala Gly	Ala Cys Thr
2045	2050	2055
Cys Thr Gly Cys Cys Thr Ala	Thr Gly Cys Ala Gly	Ala Thr Cys
2060	2065	2070
Gly Ala Cys Gly Gly Thr Gly	Ala Ala Cys Cys Cys	Thr Gly Gly
2075	2080	2085
Ala Thr Gly Cys Ala Gly Ala	Cys Cys Cys Cys Ala	Thr Gly Cys
2090	2095	2100
Ala Cys Thr Ala Thr Cys Ala	Ala Gly Ala Thr Cys	Ala Cys Cys
2105	2110	2115
Cys Ala Cys Ala Ala Gly Ala	Ala Cys Cys Ala Gly	Ala Thr Gly
2120	2125	2130

Cys Cys Cys Ala Thr Gly Cys Thr Gly Ala Thr Gly Gly Gly Thr

2135 2140 2145

Cys Cys Thr Cys Cys Thr Cys Cys Thr Cys Gly Cys Thr Cys Thr

2150 2155 2160

Gly Gly Ala Thr Cys Thr Thr Cys Ala Gly Ala Ala Ala Cys Thr

2165 2170 2175

Gly Thr Gly Ala Gly Gly Thr Thr Cys Cys Ala Gly Gly Gly Cys

2180 2185 2190

Cys Ala Cys Cys Ala Cys Cys Ala Cys Cys Ala Cys Cys Ala Cys

2195 2200 2205

Cys Ala Cys Thr Gly Ala

2210

<210> 6

<211> 737

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 6

Met Ala Ser Pro Ser Asp Phe Ala Gln Leu Gln Lys Tyr Met Glu Tyr

1 5 10 15

Ser Thr Lys Lys Val Ser Asp Val Leu Lys Leu Phe Glu Asp Gly Glu

20 25 30

Met Ala Lys Tyr Val Gln Gly Asp Ala Ile Gly Tyr Glu Gly Phe Gln

35 40 45

Gln Phe Leu Lys Ile Tyr Leu Glu Val Asp Asn Val Pro Arg His Leu

50 55 60

Ser Leu Ala Leu Phe Gln Ser Phe Glu Thr Gly His Cys Leu Asn Glu

65 70 75 80

Thr Asn Val Thr Lys Asp Val Val Cys Leu Asn Asp Val Ser Cys Tyr

85 90 95

Phe Ser Leu Leu Glu Gly Gly Arg Pro Glu Asp Lys Leu Glu Phe Thr

100 105 110

Phe Lys Leu Tyr Asp Thr Asp Arg Asn Gly Ile Leu Asp Ser Ser Glu

115	120	125
Val Asp Lys Ile Ile Leu Gln Met Met Arg Val Ala Glu Tyr Leu Asp		
130	135	140
Trp Asp Val Ser Glu Leu Arg Pro Ile Leu Gln Glu Met Met Lys Glu		
145	150	155
Ile Asp Tyr Asp Gly Ser Gly Ser Val Ser Gln Ala Glu Trp Val Arg		
165	170	175
Ala Gly Ala Thr Thr Val Pro Leu Leu Val Leu Leu Gly Leu Glu Met		
180	185	190
Thr Leu Lys Asp Asp Gly Gln His Met Trp Arg Pro Lys Arg Phe Pro		
195	200	205
Arg Pro Val Tyr Cys Asn Leu Cys Glu Ser Ser Ile Gly Leu Gly Lys		
210	215	220
Gln Gly Leu Ser Cys Asn Leu Cys Lys Tyr Thr Val His Asp Gln Cys		
225	230	235
Ala Met Lys Ala Leu Pro Cys Glu Val Ser Thr Tyr Ala Lys Ser Arg		
245	250	255
Lys Asp Ile Gly Val Gln Ser His Val Trp Val Arg Gly Gly Cys Glu		
260	265	270
Ser Gly Arg Cys Asp Arg Cys Gln Lys Lys Ile Arg Ile Tyr His Ser		
275	280	285
Leu Thr Gly Leu His Cys Val Trp Cys His Leu Glu Ile His Asp Asp		
290	295	300
Cys Leu Gln Ala Val Gly His Glu Cys Asp Cys Gly Leu Leu Arg Asp		
305	310	315
His Ile Leu Pro Pro Ser Ser Ile Tyr Pro Ser Val Leu Ala Ser Gly		
325	330	335
Pro Asp Arg Lys Asn Ser Lys Thr Ser Gln Lys Thr Met Asp Asp Leu		
340	345	350
Asn Leu Ser Thr Ser Glu Ala Leu Arg Ile Asp Pro Val Pro Asn Thr		
355	360	365

His Pro Leu Leu Val Phe Val Asn Pro Lys Ser Gly Gly Lys Gln Gly
370 375 380

Gln Arg Val Leu Trp Lys Phe Gln Tyr Ile Leu Asn Pro Arg Gln Val
385 390 395 400

Phe Asn Leu Leu Lys Asp Gly Pro Glu Ile Gly Leu Arg Leu Phe Lys
405 410 415

Asp Val Pro Asp Ser Arg Ile Leu Val Cys Gly Gly Asp Gly Thr Val
420 425 430

Gly Trp Ile Leu Glu Thr Ile Asp Lys Ala Asn Leu Pro Val Leu Pro
435 440 445

Pro Val Ala Val Leu Pro Leu Gly Thr Gly Asn Asp Leu Ala Arg Cys
450 455 460

Leu Arg Trp Gly Gly Gly Tyr Glu Gly Gln Asn Leu Ala Lys Ile Leu
465 470 475 480

Lys Asp Leu Glu Met Ser Lys Val Val His Met Asp Arg Trp Ser Val
485 490 495

Glu Val Ile Pro Gln Gln Thr Glu Glu Lys Ser Asp Pro Val Pro Phe
500 505 510

Gln Ile Ile Asn Asn Tyr Phe Ser Ile Gly Val Asp Ala Ser Ile Ala
515 520 525

His Arg Phe His Ile Met Arg Glu Lys Tyr Pro Glu Lys Phe Asn Ser
530 535 540

Arg Met Lys Asn Lys Leu Trp Tyr Phe Glu Phe Ala Thr Ser Glu Ser
545 550 555 560

Ile Phe Ser Thr Cys Lys Lys Leu Glu Glu Ser Leu Thr Val Glu Ile
565 570 575

Cys Gly Lys Pro Leu Asp Leu Ser Asn Leu Ser Leu Glu Gly Ile Ala
580 585 590

Val Leu Asn Ile Pro Ser Met His Gly Gly Ser Asn Leu Trp Gly Asp
595 600 605

Thr Arg Arg Pro His Gly Asp Ile Tyr Gly Ile Asn Gln Ala Leu Gly

610	615	620	
Ala Thr Ala Lys Val Ile Thr Asp Pro Asp Ile Leu Lys Thr Cys Val			
625	630	635	640
Pro Asp Leu Ser Asp Lys Arg Leu Glu Val Val Gly Leu Glu Gly Ala			
	645	650	655
Ile Glu Met Gly Gln Ile Tyr Thr Lys Leu Lys Asn Ala Gly Arg Arg			
	660	665	670
Leu Ala Lys Cys Ser Glu Ile Thr Phe His Thr Thr Lys Thr Leu Pro			
	675	680	685
Met Gln Ile Asp Gly Glu Pro Trp Met Gln Thr Pro Cys Thr Ile Lys			
690	695	700	
Ile Thr His Lys Asn Gln Met Pro Met Leu Met Gly Pro Pro Pro Arg			
705	710	715	720
Ser Gly Ser Ser Glu Thr Val Arg Phe Gln Gly His His His His His			
	725	730	735
His			