



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0054121
(43) 공개일자 2025년04월22일

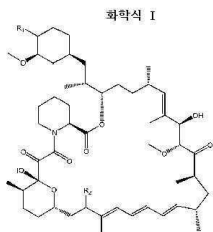
- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 491/18 (2006.01) A61K 31/439 (2006.01)
A61P 1/16 (2006.01) A61P 13/12 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) A61P 43/00 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07D 491/18 (2022.08)
A61K 31/439 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2025-7011373(분할)
- (22) 출원일자(국제) 2018년09월25일
심사청구일자 없음
- (62) 원출원 특허 10-2020-7007749
원출원일자(국제) 2018년09월25일
심사청구일자 2021년09월24일
- (85) 번역문제출일자 2025년04월08일
- (86) 국제출원번호 PCT/IB2018/057422
- (87) 국제공개번호 WO 2019/064182
국제공개일자 2019년04월04일
- (30) 우선권주장
62/563,312 2017년09월26일 미국(US)
- (71) 출원인
노파르티스 아게
스위스 체하-4056 바젤 리히트스트라쎄 35
- (72) 발명자
보나지, 사이먼
미국 02139 매사추세츠주 캠브리지 매사추세츠 애
비뉴 250 노바티스 인스티튜츠 포 바이오메디칼
리서치 인크.
코넬리, 마이클
미국 02139 매사추세츠주 캠브리지 매사추세츠 애
비뉴 250 노바티스 인스티튜츠 포 바이오메디칼
리서치 인크.
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
양영준, 이상영

전체 청구항 수 : 총 39 항

(54) 발명의 명칭 라파마이신 유도체

(57) 요약

본 개시내용은 화학식 I의 화합물 및 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 및 조성물에 관한 것이며, 치환기는 본 명세서에 정의한 바와 같다. 또한 화학식 I의 화합물의 제조 방법, 및 본 명세서에 기재된 장애 및 질환을 치료 하기 위한 화합물 또는 조성물을 수반하는 방법이 제공된다.



(52) CPC특허분류

A61P 1/16 (2018.01)

A61P 13/12 (2018.01)

A61P 35/00 (2018.01)

A61P 43/00 (2018.01)

(72) 발명자

글래스, 데이비드 조나단

미국 02139 매사추세츠주 캠브리지 매사추세츠 애
비뉴 250 노바티스 인스티튜츠 포 바이오메디칼 리
서치 인크.

미할릭, 마누엘

스위스 4002 바젤 포스트파흐 노파르티스 파마 아
게

패터슨, 앤드류 윌리엄

미국 02139 매사추세츠주 캠브리지 매사추세츠 애
비뉴 250 노바티스 인스티튜츠 포 바이오메디칼 리
서치 인크.

로고, 실비오

스위스 4002 바젤 포스트파흐 노파르티스 파마 아
게

샤블라카제, 테아

미국 02139 매사추세츠주 캠브리지 매사추세츠 애
비뉴 250 노바티스 인스티튜츠 포 바이오메디칼 리
서치 인크.

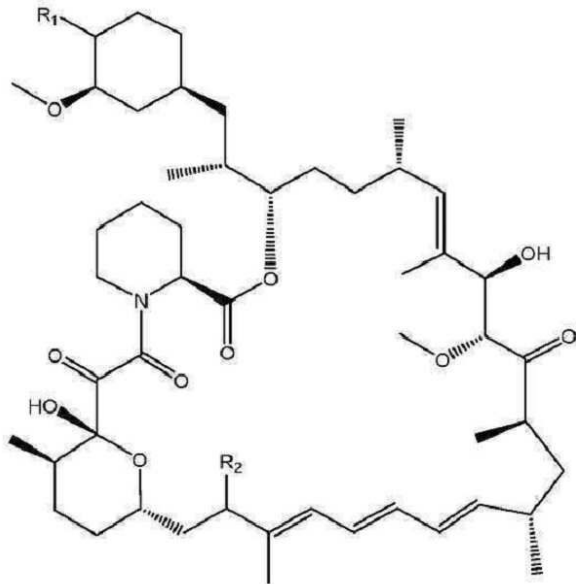
명세서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염:

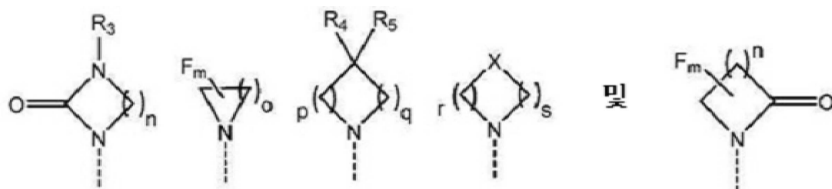
[화학식 I]



식 중,

R₁은 히드록시, ,

, , 및 로 이루어진 군으로부터 선택되고;



R₂는

택되고;

여기서,

m은 0, 1, 2 또는 3이며;

n은 1, 2 또는 3이고;

o는 1, 2, 3, 4, 5 또는 6이며;

p는 1, 2, 3, 4 또는 5이고,

q는 1, 2, 3, 4 또는 5이되, p와 q의 합은 2, 3, 4, 5 또는 6이며;

r은 2, 3 또는 4이고;

s는 2, 3 또는 4이되, r과 s의 합은 4, 5 또는 6이며;

X는 O, S, NR₆ 또는 SO₂이고;

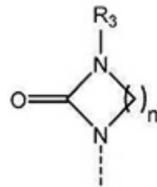
R₃은 수소, C₁₋₆알킬, 히드록시C₁₋₆알킬, C₃₋₈사이클로알킬C₀₋₆알킬 또는 페닐C₀₋₆알킬이며;

R₄는 수소이고;

R₅는 수소, 히드록시 또는 시아노이거나; 또는 R₄와 R₅는 함께 =O를 형성하고;

R₆은 수소, C₁₋₆알킬, C₃₋₈사이클로알킬C₀₋₆알킬, 페닐C₀₋₆알킬, C₁₋₆알킬-CO-, C₃₋₈사이클로알킬C₀₋₆알킬-CO-, C₁₋₆알킬-SO₂- 또는 C₃₋₈사이클로알킬C₀₋₆알킬-SO₂-이다.

청구항 2

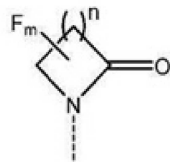


제1항에 있어서, R₂는 인 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 3

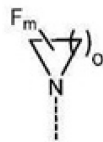
제2항에 있어서, R₃은 수소, C₁₋₆알킬 또는 히드록시C₁₋₆알킬인 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 4



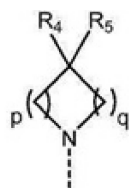
제1항에 있어서, R₂는 인 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 5



제1항에 있어서, R₂는 인 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 6

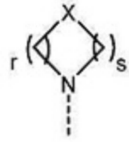


제1항에 있어서, R₂는 인 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 7

제6항에 있어서, R_5 는 수소인 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 8



제1항에 있어서, R_2 는 인 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 9

제1항에 있어서, R_1 는 히드록시인 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 10

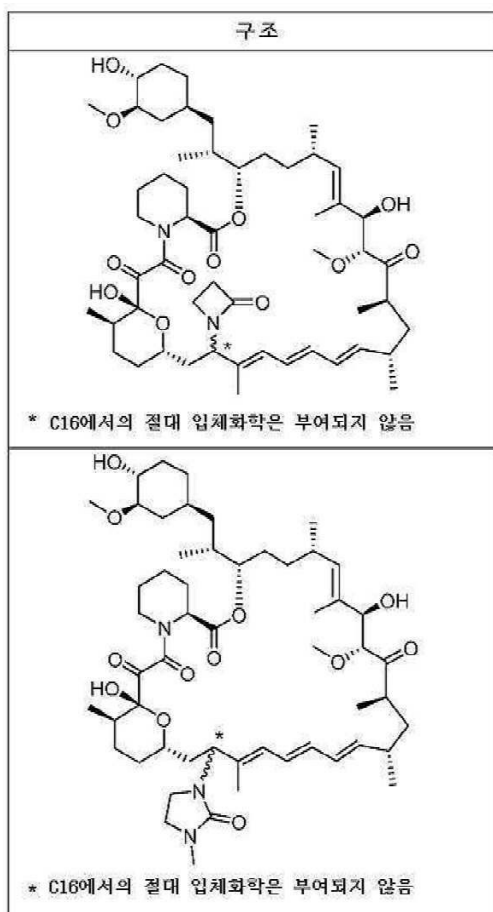
제1항에 있어서, X 는 S, NR_6 또는 SO_2 인 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

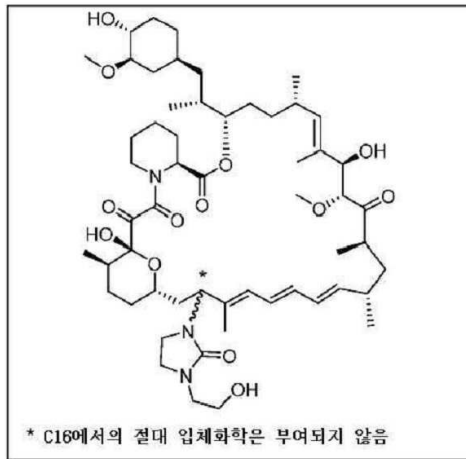
청구항 11

제10항에 있어서, R_6 는 수소 또는 C_{1-6} 알킬인 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 12

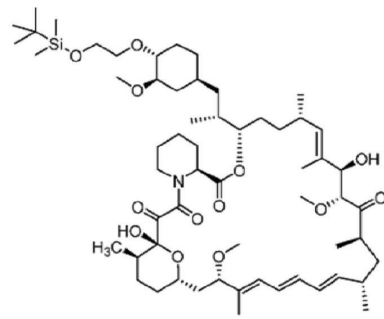
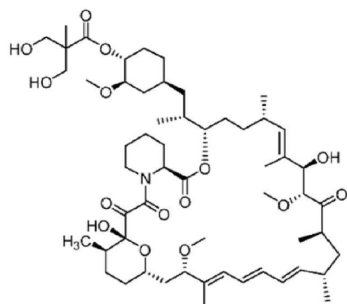
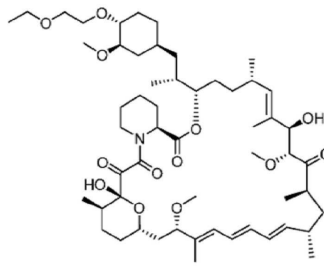
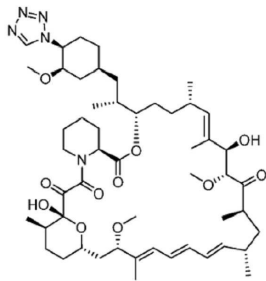
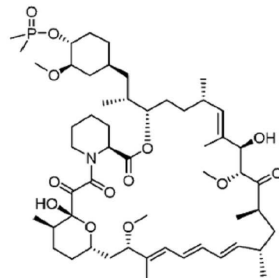
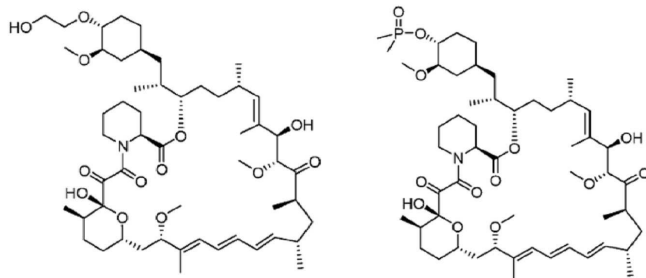
제1항에 있어서, 상기 화합물은 하기로부터 선택되는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염:



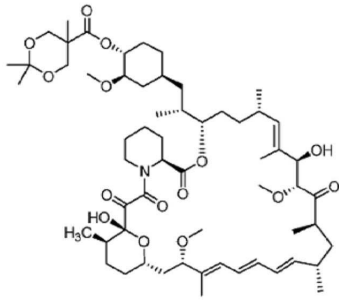


청구항 13

하기로부터 선택되는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염:



및



청구항 14

치료적 유효량의 제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 및 1종 이상의 약제학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약제학적 조성물이며, 근육감소증, 피부 위축, 버찌혈관증, 지루각화증, 뇌위축, 죽상동맥경화증, 동맥경화증, 폐기종, 골다공증, 골관절염, 고혈압, 발기부전, 백내장, 황반변성, 녹내장, 뇌졸중, 뇌혈관질환, 만성 신장병, 당뇨병-연관 신장병, 손상된 간 기능, 간 섬유증, 자가면역 간염, 자궁내막 증식증, 대사기능장애, 신혈관 질환, 청력손실, 운동성 장애, 인지력 감퇴, 힘줄 강직, 심장 기능장애, 심비대, 수축기 또는 확장기 기능장애, 고혈압, 박출물의 감소를 초래하는 심장 기능장애, 면역성 노화, 파킨슨병, 알츠하이머병, 암, 면역감시의 감소에 기인하여 암을 야기하는 면역노화, 면역기능의 감소에 기인하는 감염, 만성 폐쇄성 폐질환(chronic obstructive pulmonary disease: COPD), 비만, 미각 상실, 후각 상실, 관절염, 및 당뇨병으로부터 생기는 합병증, 신부전, 실명 및 신경병증을 포함하는 II형 당뇨병으로부터 선택되는 질환 또는 장애를 치료하기 위한 것인, 약제학적 조성물.

청구항 15

치료적 유효량의 제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 및 1종 이상의 치료적 활성제를 포함하는 약제학적 조합물이며, 근육감소증, 피부 위축, 버찌혈관증, 지루각화증, 뇌위축, 죽상동맥경화증, 동맥경화증, 폐기종, 골다공증, 골관절염, 고혈압, 발기부전, 백내장, 황반변성, 녹내장, 뇌졸중, 뇌혈관질환, 만성 신장병, 당뇨병-연관 신장병, 손상된 간 기능, 간 섬유증, 자가면역 간염, 자궁내막 증식증, 대사기능장애, 신혈관 질환, 청력손실, 운동성 장애, 인지력 감퇴, 힘줄 강직, 심장 기능장애, 심비대, 수축기 또는 확장기 기능장애, 고혈압, 박출물의 감소를 초래하는 심장 기능장애, 면역성 노화, 파킨슨병, 알츠하이머병, 암, 면역감시의 감소에 기인하여 암을 야기하는 면역노화, 면역기능의 감소에 기인하는 감염, 만성 폐쇄성 폐질환(COPD), 비만, 미각 상실, 후각 상실, 관절염, 및 당뇨병으로부터 생기는 합병증, 신부전, 실명 및 신경병증을 포함하는 II형 당뇨병으로부터 선택되는 질환 또는 장애를 치료하기 위한 것인, 약제학적 조합물.

청구항 16

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는, mTOR 경로에 의해 매개되는 장애 또는 질환의 치료가 필요한 대상체에서의 이러한 장애 또는 질환을 치료하기 위한 약제학적 조성물이며, 상기 장애 또는 질환은 근육감소증, 피부 위축, 버찌혈관증, 지루각화증, 뇌위축, 죽상동맥경화증, 동맥경화증, 폐기종, 골다공증, 골관절염, 고혈압, 발기부전, 백내장, 황반변성, 녹내장, 뇌졸중, 뇌혈관질환, 만성 신장병, 당뇨병-연관 신장병, 손상된 간 기능, 간 섬유증, 자가면역 간염, 자궁내막 증식증, 대사기능장애, 신혈관 질환, 청력손실, 운동성 장애, 인지력 감퇴, 힘줄 강직, 심장 기능장애, 심비대, 수축기 또는 확장기 기능장애, 고혈압, 박출물의 감소를 초래하는 심장 기능장애, 면역성 노화, 파킨슨병, 알츠하이머병, 암, 면역감시의 감소에 기인하여 암을 야기하는 면역노화, 면역기능의 감소에 기인하는 감염, 만성 폐쇄성 폐질환(COPD), 비만, 미각 상실, 후각 상실, 관절염, 및 당뇨병으로부터 생기는 합병증, 신부전, 실명 및 신경병증을 포함하는 II형 당뇨병으로부터 선택되는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 17

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는, 대상체에서의 질환 또는 장애를 치료하기 위한 약제학적 조성물이며, 여기서 상기 질환 또는 장애의 병리와 연관된 표적 조직, 세포 또는 기관은 mTORC1을 저해하는 데 충분한 FKBP12 수준을 갖는, 약제학적 조성물이며, 상기 질환 또

는 장애는 근육감소증, 피부 위축, 버찌혈관증, 지루각화증, 뇌위축, 족상동맥경화증, 동맥경화증, 폐기종, 골다공증, 골관절염, 고혈압, 발기부전, 백내장, 황반변성, 녹내장, 뇌졸중, 뇌혈관질환, 만성 신장병, 당뇨병-연관 신장병, 손상된 간 기능, 간 섬유증, 자가면역 간염, 자궁내막 증식증, 대사기능장애, 신혈관 질환, 청력손실, 운동성 장애, 인지력 감퇴, 힘줄 강직, 심장 기능장애, 심비대, 수축기 또는 확장기 기능장애, 고혈압, 박출물의 감소를 초래하는 심장 기능장애, 면역성 노화, 파킨슨병, 알츠하이머병, 암, 면역감시의 감소에 기인하여 암을 야기하는 면역노화, 면역기능의 감소에 기인하는 감염, 만성 폐쇄성 폐질환(COPD), 비만, 미각 상실, 후각 상실, 관절염, 및 당뇨병으로부터 생기는 합병증, 신부전, 실명 및 신경병증을 포함하는 II형 당뇨병으로부터 선택되는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 18

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는, mTORC1을 저해하는 데 충분한 FKBP12 수준을 갖거나 또는 갖는 것으로 이전에 결정된 대상체에서의 질환 또는 장애를 치료 하기 위한 약제학적 조성물이며, 상기 질환 또는 장애는 근육감소증, 피부 위축, 버찌혈관증, 지루각화증, 뇌위축, 족상동맥경화증, 동맥경화증, 폐기종, 골다공증, 골관절염, 고혈압, 발기부전, 백내장, 황반변성, 녹내장, 뇌졸중, 뇌혈관질환, 만성 신장병, 당뇨병-연관 신장병, 손상된 간 기능, 간 섬유증, 자가면역 간염, 자궁내막 증식증, 대사기능장애, 신혈관 질환, 청력손실, 운동성 장애, 인지력 감퇴, 힘줄 강직, 심장 기능장애, 심비대, 수축기 또는 확장기 기능장애, 고혈압, 박출물의 감소를 초래하는 심장 기능장애, 면역성 노화, 파킨슨병, 알츠하이머병, 암, 면역감시의 감소에 기인하여 암을 야기하는 면역노화, 면역기능의 감소에 기인하는 감염, 만성 폐쇄성 폐질환(COPD), 비만, 미각 상실, 후각 상실, 관절염, 및 당뇨병으로부터 생기는 합병증, 신부전, 실명 및 신경병증을 포함하는 II형 당뇨병으로부터 선택되는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 19

제16항에 있어서, 상기 장애는 간 섬유증인, 약제학적 조성물.

청구항 20

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는, 질환 또는 장애의 치료가 필요한 대상체에서 질환 또는 장애를 치료하기 위한 약제학적 조성물이며, 여기서 상기 장애 또는 질환은 하기로부터 선택되는, 약제학적 조성물:

- 급성 또는 만성 기관 또는 조직 이식 거부;
- 이식 혈관염;
- 혈관내막 비후, 혈관 폐색, 폐쇄성 관상동맥 족상동맥경화증, 재협착증을 야기하는 평활근 세포 증식 및 이동;
- 자가면역 질환 및 염증성 병태;
- 천식의 치료 및 예방;
- 다제약물 내성(Multi-drug resistance: MDR);
- 진균 감염;
- 염증;
- 감염;
- 연령-관련 질환:

여기서, 연령-관련 질환은 근육감소증, 피부 위축, 버찌혈관증, 지루각화증, 뇌위축, 족상동맥경화증, 동맥경화증, 폐기종, 골다공증, 골관절염, 고혈압, 발기부전, 백내장, 황반변성, 녹내장, 뇌졸중, 뇌혈관질환, 만성 신장병, 당뇨병-연관 신장병, 손상된 간 기능, 간 섬유증, 자가면역 간염, 자궁내막 증식증, 대사기능장애, 신혈관 질환, 청력손실, 운동성 장애, 인지력 감퇴, 힘줄 강직, 심장 기능장애, 심비대, 수축기 또는 확장기 기능장애, 고혈압, 박출물의 감소를 초래하는 심장 기능장애, 면역성 노화, 파킨슨병, 알츠하이머병, 암, 면역감시의 감소에 기인하여 암을 야기하는 면역노화, 면역기능의 감소에 기인하는 감염, 만성 폐쇄성 폐질환(COPD), 비만, 미각 상실, 후각 상실, 관절염, 및 당뇨병으로부터 생기는 합병증, 신부전, 실명 및 신경병증을 포함하는 II형

당뇨병으로부터 선택된다;

- 신경퇴행성 질환;
- 증식성 장애, 또는 암;
- 발작 및 발작 관련 장애;
- 미토콘드리아 근병증 및 미토콘드리아 스트레스; 및
- 연령-관련 질환을 발생시킬 가능성이 있는 것으로 나타난 치료 가능한 병태, 또는 시토키인을 유도하는 노쇠의 증가가 있는 경우.

청구항 21

제20항에 있어서, 상기 장애는 섬유증 또는 염증 과정을 포함하는 장애인, 약제학적 조성물.

청구항 22

제21항에 있어서, 상기 장애는 간 및 신장 장애로부터 선택되는, 약제학적 조성물.

청구항 23

제22항에 있어서, 상기 간 장애는 말기 간 질환에서 생기는 간 섬유증; 간경변증; 독성에 기인하는 간부전; 비알코올-연관 간 지방증 또는 NASH; 및 알코올-연관 지방증으로부터 선택되는, 약제학적 조성물.

청구항 24

제22항에 있어서, 상기 신장 장애는 신장 섬유증인, 약제학적 조성물.

청구항 25

제24항에 있어서, 상기 신장 섬유증은 급성 신장 손상의 결과로서 생기는, 약제학적 조성물.

청구항 26

제22항에 있어서, 상기 신장 장애는 만성 신장 장애인, 약제학적 조성물.

청구항 27

제22항에 있어서, 상기 신장 장애는 당뇨병성 신장질환인, 약제학적 조성물.

청구항 28

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는, 연령-관련 장애 또는 질환의 치료가 필요한 대상체에서 이러한 장애 또는 질환을 치료하기 위한 약제학적 조성물이며, 상기 장애 또는 질환은 근육감소증, 피부 위축, 뼈혈관종, 지루각화증, 뇌위축, 죽상동맥경화증, 동맥경화증, 폐기종, 골다공증, 골관절염, 고혈압, 발기부전, 백내장, 황반변성, 녹내장, 뇌졸중, 뇌혈관질환, 만성 신장병, 당뇨병-연관 신장병, 손상된 간 기능, 간 섬유증, 자가면역 간염, 자궁내막 증식증, 대사기능장애, 신혈관 질환, 청력손실, 운동성 장애, 인지력 감퇴, 힘줄 강직, 심장 기능장애, 심비대, 수축기 또는 확장기 기능장애, 고혈압, 박출물의 감소를 초래하는 심장 기능장애, 면역성 노화, 파킨슨병, 알츠하이머병, 암, 면역감시의 감소에 기인하여 암을 야기하는 면역노화, 면역기능의 감소에 기인하는 감염, 만성 폐쇄성 폐질환(COPD), 비만, 미각 상실, 후각 상실, 관절염, 및 당뇨병으로부터 생기는 합병증, 신부전, 실명 및 신경병증을 포함하는 II형 당뇨병으로부터 선택되는, 약제학적 조성물.

청구항 29

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는, 대상체에서 암을 치료하기 위한 약제학적 조성물.

청구항 30

제29항에 있어서, PD-1/PDL-1 저해제를 더 포함하는 억제학적 조성물.

청구항 31

제29항에 있어서, 상기 암은 신장암, 신세포암종, 결장직장암, 자궁 육종, 자궁내막 자궁암, 자궁내막암, 유방암, 난소암, 자궁경부암, 위암, 섬유육종, 췌장암, 간암, 흑색종, 백혈병, 다발성 골수종, 비인두암, 전립선암, 폐암, 교모세포종, 방광암, 중피종, 두부암, 횡문근육종, 육종, 림프종 및 경부암으로부터 선택되는, 억제학적 조성물.

청구항 32

제14항에 있어서, 의약으로서의 용도를 위한 억제학적 조성물.

청구항 33

제14항에 있어서, 섬유증 또는 염증 과정을 포함하는 장애 또는 질환의 예방 또는 치료에서의 용도를 위한 억제학적 조성물.

청구항 34

제33항에 있어서, 상기 장애는 간 및 신장 장애로부터 선택되는, 억제학적 조성물.

청구항 35

제34항에 있어서, 상기 간 장애는 말기 간 질환에서 생기는 간 섬유증; 간경변증; 독성에 기인하는 간부전; 비알코올-연관 간 지방증 또는 NASH; 및 알코올-연관 지방증으로부터 선택되는, 억제학적 조성물.

청구항 36

제34항에 있어서, 상기 신장 장애는 급성 신장 손상의 결과로서 생기는 신장 섬유증인, 억제학적 조성물.

청구항 37

제34항에 있어서, 상기 신장 장애는 만성 신장 장애인, 억제학적 조성물.

청구항 38

제34항에 있어서, 상기 신장 장애는 당뇨병성 신장질환인, 억제학적 조성물.

청구항 39

제14항에 있어서, 신장암, 신세포암종, 결장직장암, 자궁 육종, 자궁내막 자궁암, 자궁내막암, 유방암, 난소암, 자궁경부암, 위암, 섬유육종, 췌장암, 간암, 흑색종, 백혈병, 다발성 골수종, 비인두암, 전립선암, 폐암, 교모세포종, 방광암, 중피종, 두부암, 횡문근육종, 육종, 림프종 또는 경부암의 치료에서의 용도를 위한 억제학적 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 우선권 주장

[0002] 본 출원은 2017년 9월 26일자로 출원된 U.S.S.N. 62/563,312의 우선권을 주장하며, 이는 그의 전문이 본원에 참조에 의해 포함된다.

[0003] 기술분야

[0004] 본 발명은 32-테옥소-라파마이신 유도체를 제공하며, 이의 사용 방법에 관한 것이다.

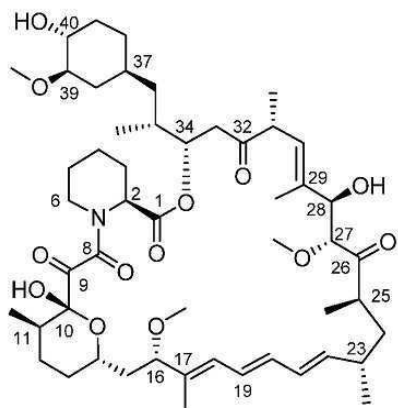
배경 기술

[0005] 포유류 세포에서, 라파마이신 표적(mTOR) 키나제는 mTORC1 복합체 및 mTORC2 복합체로서 기재되는 2가지의 별개

의 다중단백질 복합체로 존재하는데, 이들 둘 다 영양소와 에너지의 이용 가능성을 감지하며, 성장 인자 및 스트레스 신호전달로부터의 유입물을 통합한다. mTORC1은 성장 인자 및 영양소로부터의 신호를 통합하고, 세포 성장 및 대사를 제어한다. 문헌[Laplante M. *et al.* Cell. (2012) 149(2):274-93]. mTORC1은 단백질 번역 및 자가포식(autophagy)의 중요한 조절자이다. mTORC1 복합체는 다른자리 입체성 mTOR 저해제, 예컨대 라파마이신 및 라파마이신 유사체(소위 '라팔로그(rapalog)')에 민감하다. 라파마이신 및 이전에 생성된 라팔로그의 작용 방식은 FK506 결합 단백질, 즉, FKBP12, FKBP51 또는 FKBP52 중 하나(이들 3가지의 FKBP는 본 명세서에서 "FKBP" 또는 "FKBP"로서 언급될 것임)와의 세포내 복합체 형성, 다음에 mTOR의 FRB(FK506-라파마이신 결합) 도메인에 대한 FKBP-라팔로그 복합체의 결합을 수반한다. 문헌[März A.M. *et al.* Mol Cell Biol. (2013) 33(7):1357-1367. Large FK506-Binding Proteins Shape the Pharmacology of Rapamycin]. FKBP-라팔로그 복합체와 mTORC1의 이러한 상호작용은 복합체의 다른자리 입체성 저해를 초래한다. 라파마이신 및 라팔로그, 예컨대 RAD001(에베롤리무스; 아피니토(Afinitor)®은 양성 장애와 악성 증식 장애 둘 다와 관련되는 mTORC1의 활성을 저해함으로써 임상적 타당성을 획득하였다. 문헌[Royce M.E. *et al.* Breast Cancer (Auckl). (2015) 9:73-79; Pleniceanu O. *et al.* Kidney Int Rep. (2018) 3(1):155-159].

[0006]

라파마이신은 스트렙토마이세스 하이고스코피우스(*Streptomyces hygoscopius*)에 의해 생성되는 공지되어 있는 매크로라이드(macrolide) 항생제이다, 예를 들어, 문헌[McAlpine, J.B., *et al.*, J. Antibiotics (1991) 44:688; Schreiber, S.L.; *et al.*, J. Am. Chem. Soc. (1991) 113:7433]; 미국 특허 제3,929,992호 참조. 본 문헌에서 사용되는 라파마이신 및 그의 유도체에 대한 다음의 넘버링 협약은 이하에 나타난다:



[0007]

[0008]

라파마이신은 강력한 면역억제제이고, 또한 항종양 및 항진균 활성을 갖는 것으로 나타났다. 전신 홍반 루프스, 폐 염증, 인슐린 의존성 진성 당뇨병, 피부 장애, 예컨대 건선, 평활근 세포 증식 및 혈관 손상 후 혈관내막 비후, 성인 T-세포 백혈병/림프종, 악성 암종, 심장 염증 질환, 빈혈 및 증가된 축삭생성을 예방하거나 또는 치료하는 데 유용한 것으로 나타났다. 그러나 약제로서 그의 효용은 매우 낮고 가변적인 생체 이용 가능성에 의해 제한된다. 게다가, 라파마이신은 제형화하는 데 문제가 있어서, 안정한 생약(galenic) 조성물을 만드는 것을 어렵게 한다.

[0009]

이들 문제를 극복하기 위해, 수많은 라팔로그가 (반)합성되어왔다. 수용성 프로드러그는 C28 및 40에서 라파마이신을 유도체화하여 글리시네이트, 프로피오네이트 및 피롤리디노 부티레이트 프로드러그를 형성함으로써 제조된다(미국 특허 제4,650,803호). 라파마이신의 다른 유사체는 모노아실 및 다이아실 유사체(미국 특허 제4,316,885호), 아세탈 유사체(미국 특허 제5,151,413호) 실릴 에테르(미국 특허 제5,120,842호), 히드록시 에스테르(미국 특허 제5,362,718호)뿐만 아니라 아릴, 알킬, 알켄일 및 알킨일 유사체(미국 특허 제5,665,772호; 제5,258,389호; 제6,384,046호; W097/35575)를 포함한다. 라파마이신에 대한 변형은 탈메틸화, 메톡시기 중 하나 이상의 제거 또는 대체; 히드록시 모이어티 중 하나 이상의 제거, 유도체화 또는 대체; 케톤 모이어티 중 하나 이상의 환원, 제거 또는 유도체화; 6-원 피페콜레이트 고리의 5-원 프롤릴 고리로의 대체; 사이클로헥실 고리상의 치환된 사이클로펜틸 고리로의 대안의 치환을 포함한다. 본 분야에서의 특허 문헌의 예시적인 예는 미국 특허 제5,527,907호, W096/41865 및 W099/36553인데, 이들은 라파마이신의 면역억제 부작용을 피하기 위한 목적을 갖는 매우 다양한 라팔로그를 기재한다. 미국 특허 제5,985,890호는 32-데옥소-라파마이신 그 자체를 비롯한 32 데옥소-라파마이신 유사체의 예를 개시한다. 이들 화합물이 라파마이신에 대해 개선된 약리학 프로파일 및 보다 큰 안정성을 갖는 것으로 보고되었다는 것이 기재되어 있다.

[0010]

상기 문헌에 기재된 라팔로그는 라파마이신과 동일한 장애의 치료에 유용한 것으로 개시되어 있다. 미국 특허

제8,906,374호 및 미국 특허 제9,669,032호는 암에서의 용도를 개시한다. 미국 특허 제9,358,236호는 실행되행성 장애에서의 용도를 개시한다.

- [0011] 동물 모델에서, 라팔로고는 수명을 연장시키고, 연령-관련 질환의 개시를 지연시킨다. 다른 생물학적 과정과 같이 노화는 신호전달 경로, 예컨대 TOR 경로(이 경우에 효모 및 예쁜꼬마선충(*C. elegans*) 시스템을 포함하기 위해 "TOR"로 명명하며, 포유류 동등물[mTOR]은 단순히 "TOR"로 불림), 포유류에서, mTORC1 경로에 의해 조절된다. TOR 및 mTORC1 신호전달의 조절은 수명을 연장시키며, 파괴로부터 포유류까지의 다수의 유기체에서 연령-관련 질환의 개시를 지연시킨다. 예를 들어, 유전자 돌연변이에 의한 TOR에 의한 TOR 경로의 저해는 효모, 예쁜꼬마선충 및 초파리에서의 수명을 연장시켰고, mTORC1 경로의 저해는 마우스에서의 수명을 연장시켰다(Kaeberlein *et al.*, Science (2005) 310:1193-1196; Kapahi *et al.*, Curr Biol (2004) 14:885-890; Selman *et al.*, Science (2009) 326:140-144; Vellai *et al.*, Nature (2003) 426:620). 추가로, mTORC1 저해제 라파마이신은 생애의 후기에 주어질 때조차 마우스의 수명을 연장시켰다(Harrison *et al.*, Nature (2009) 460(7253):392-395). 이들 데이터는 포유류 TOR(mTOR) 경로를 표적화하는 약물이 인간에서의 노화 및 연령 관련 질환에서 치료 효과를 가질 것이라는 가능성을 상승시킨다. 예를 들어, WO2008/022256은 연령-관련 질환을 치료하거나 또는 예방하기 위해 mTOR 저해제를 포함하는 방법 및 국소 제형을 기재한다. 노인에서 라파마이신을 이용하는 임상시험의 보고는 문헌[M. Leslie in Science, 2013, 342]에 의해 기재되었다. J. Mannick 등은 문헌[Sci Transl Med. (2014) 6(268): 268ra179]에서 mTOR 저해가 노인에서의 면역 기능을 개선시킨다는 것을 기재한다. 그러나, 연구자는 현재 입수 가능한 mTOR 저해제를 인간 노화 시험에 이용하는 것을 그들의 부작용(면역 억제, 혈구감소증, 구내염, GI 고통 및 간질성 폐렴을 포함) 때문에 경계하였다.
- [0012] 국소 피질 이형성증(Focal Cortical Dysplasia: FCD) 및 결절성 경화증(Tuberous Sclerosis Complex: TSC)의 동물 및 인간 연구에서, mTOR 경로는 피질 기형의 형성 및 뇌전증의 발현을 야기하는 세포 및 분자 변화를 매개하는 데 연루된다(Wong *et al.*, Experimental Neurology (2013) 244:22-26). 국소 피질 이형성증(FCD)은 외피 발생의 기형인데, 이는 소아 집단에서의 내화성 뇌전증의 가장 흔한 원인이며 성인에서의 의학적으로 다루기 힘든 발작의 두/세 번째로 흔한 병인이다(Kabat J, *et al.*, Pol J. Radiology (2012) 77(2) 35-43). 결절성 경화증 복합증-1(TSC1) 및 결절성 경화증 복합증-2(TSC2)를 비롯한 결절성 경화증 복합증(TSC)에서의 돌연변이는 mTOR 경로 상류에서 작용하여, 양성 종양의 광범위한 발생, 정신지체, 및 뇌전증의 높은 발생률을 야기한다(문헌[Manning *et al.*, Identification of the tuberous sclerosis complex-2 tumor suppressor gene product tuberin as a target of the phosphoinositide 3-kinase/akt pathway, Mol. Cell, (2002) 10: 151-162; Inoki *et al.*, Dysregulation of the TSC-mTOR pathway in human Disease, Nat. Genet, (2005), 37:19-24]; 및 문헌[Holmes and Stafstrom, Tuberous sclerosis complex and epilepsy: recent developments and future Challenges, Epilepsia, (2007) 48:617-630]).
- [0013] 비정상적 mTOR 활성화는 정상적인 뇌 발생을 방해하고, 뇌전증을 야기한다. mTORC1 경로를 저해하는 라파마이신 치료는 구조적 이상을 약화시키고 TSC 및 PTEN 마우스 모델에서 발작을 감소시키는 것으로 나타난다(문헌[Ehninger *et al.*, Reversal of learning deficits in a Tsc2+/- mouse model of tuberous sclerosis]; 문헌[Nat. Med., (2008), 843-848; Meikle *et al.*, Response of a neuronal model of tuberous sclerosis to mammalian target of rapamycin, mTOR inhibitors: effects on mTORC1 and Akt signaling lead to improved survival and function; J. Neuroscience., (2008) 28:5422-5432]; 문헌[Zeng *et al.*, Rapamycin prevents epilepsy in a mouse model of tuberous sclerosis complex; Ann. Neurol., (2008) 63:444-453]; 문헌[Ljungberg *et al.*, Rapamycin suppresses seizures and neuronal hypertrophy in a mouse model of cortical dysplasia; (2009) pp. 389-398]; 및 문헌[Zhou *et al.*, Pharmacological inhibition of mTORC1 suppresses anatomical, cellular, and behavioral abnormalities in neural-specific Pten knock-out mice, J. Neurosci., (2009), 29:1773-1783]). 추가로, 신경학적 손상 전에 또는 직후에 mTOR 경로의 약리학적 저해는 동물 뇌의 병리학적 변화에서의 병리학적 변화 및 후천적 뇌전증 모델에서의 자발적 재발 발작의 발생을 방지할 수 있다(Zeng *et al.*, The mammalian target of rapamycin signaling pathway mediates epileptogenesis in a model of temporal lobe epilepsy; J. Neurosci., (2009) pp. 6964-6972). 따라서 라파마이신 및 라팔로고는 또한 이러한 적응증에서 잠재적 가치를 갖는 것으로 고려된다.
- [0014] 미토콘드리아 근병증(Mitochondrial myopathy: MM)은 성인발병 미토콘드리아 질환의 가장 통상적인 징후이며, 다면적 조직-특이적 스트레스 반응을 나타낸다: (1) 대사 시토카인 FGF21 및 GDF15를 비롯한 전사 반응; (2) 1-탄소 대사의 리모델링; 및 (3) 미토콘드리아 비접힘 단백질 반응(unfolded protein response). 문헌[Cell Metabolism 26, 419-428, August 1, 2017]에서, Khan 등에 의해, 이들 과정이 골격근에서 mTORC1에 의해 제어

되는 하나로 통합된 미토콘드리아 스트레스 반응(ISRmt)의 부분이라는 것이 기재되어 있다. mtDNA 복제 결함은 mTORC1를 활성화시키는데, 이는 ATF4 활성화를 통한 통합된 미토콘드리아 스트레스 반응을 유도하여, 드노보 뉴클레오타이드 및 세린 합성, 1C-주기, 및 FGF21 및 GDF15 생산을 유발한다. 라파마이신에 의한 mTORC1 저해는 미토콘드리아 생물발생설을 유발하는 일 없이, ISRmt(통합된 미토콘드리아 스트레스 반응)의 모든 성분을 하향조절하고, 모든 MM 특징을 개선시키며, 심지어 후기 MM의 진행을 반전시킨다. 따라서 라파마이신 및 라팔로그는 또한 이러한 적응증에서 잠재적 가치를 갖는 것으로 고려된다.

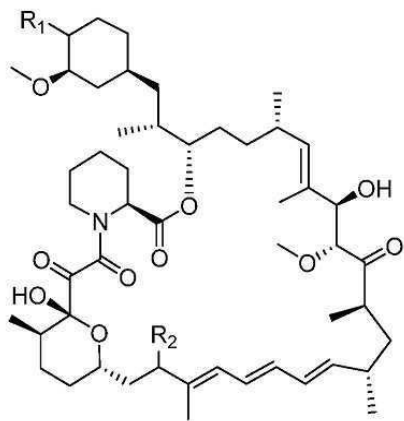
[0015] 양호한 약물 후보인 새로운 mTOR 저해제를 제공할 필요가 남아있다. 특히, 바람직한 화합물은 적어도 mTORC1 저해 능력을 가져야 하며, 위장관으로부터 잘 흡수되어야 하고, 충분히 대사적으로 안정하며, 바람직한 약동학적 특성을 가져야 한다. 더 나아가, 이상적인 약물 후보는 안정하고, 비흡습성이며 제형화에 적절한 물리적 형태로 존재할 수 있을 것이다.

발명의 내용

[0016] 구조식 I의 화합물은 mTORC1 저해제이고, 따라서 다양한 장애, 특히 연령-관련 장애, 또는 라팔로그를 이용하는 치료에 대해 현재 승인되어 있는 질환 및 장애의 치료에서 잠재적으로 유용하다. C32에서 케톤의 완전한 환원 및 C16 메톡시 기의 환식 N-함유 지방족 고리계, 예컨대 환식 아민, 아마이드 또는 설��탐에 의한 대체는 상기 언급한 목적하는 이점을 갖는 화합물을 제공하여, 양호한 효능, 안정성 및 생체 이용 가능성의 균형을 나타낸다.

[0017] 일 양상에서, 본 개시내용은 하기 구조식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 제공한다:

[0018] [구조식 I]

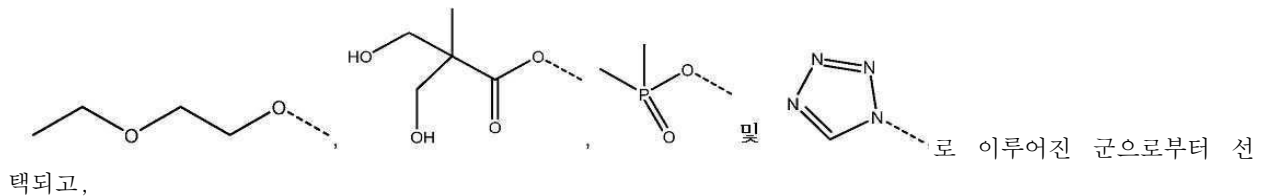


[0019]

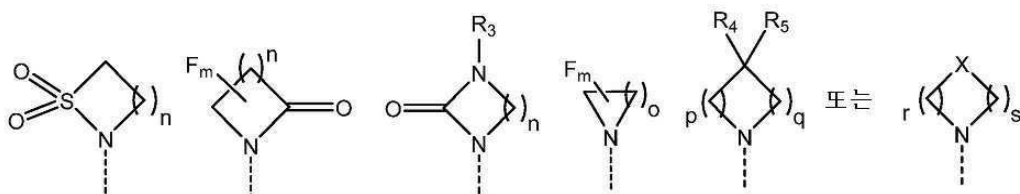
[0020] 식 중,

[0021] R₁은

히드록시,



택되고,



[0022]

R₂는

군으로부터 선택되고,

[0023]

여기서,

- [0024] m은 0, 1, 2 또는 3이며;
- [0025] n은 1, 2 또는 3이고;
- [0026] o는 1, 2, 3, 4, 5 또는 6이며;
- [0027] p는 1, 2, 3, 4 또는 5이고,
- [0028] q는 1, 2, 3, 4 또는 5이되, p와 q의 합은 2, 3, 4, 5 또는 6이며;
- [0029] r은 2, 3 또는 4이고;
- [0030] s는 2, 3 또는 4이되, r과 s의 합은 4, 5 또는 6이며;
- [0031] X는 O, S, NR₆ 또는 SO₂이고;
- [0032] R₃은 수소, C₁₋₆알킬, 히드록시C₁₋₆알킬, C₃₋₈사이클로알킬C₀₋₆알킬 또는 페닐C₀₋₆알킬이며;
- [0033] R₄는 수소이고;
- [0034] R₅는 수소, 히드록시 또는 시아노이거나; 또는 R₄와 R₅는 함께 =O를 형성하고;
- [0035] R₆은 수소, C₁₋₆알킬, C₃₋₈사이클로알킬C₀₋₆알킬, 페닐C₀₋₆알킬, C₁₋₆알킬-CO-, C₃₋₈사이클로알킬C₀₋₆알킬-CO-, C₁₋₆알킬-SO₂- 또는 C₃₋₈사이클로알킬C₀₋₆알킬-SO₂-이다.
- [0036] 실시형태에서, 본 개시내용은 치료적 유효량의 구조식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 및 1종 이상의 약제학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다.
- [0037] 실시형태에서, 본 개시내용은 치료적 유효량의 구조식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 및 1종 이상의 치료적 활성제를 포함하는 약제학적 조합물을 제공한다.
- [0038] 다른 양상에서, 본 개시내용 mTOR 경로에 의해 매개되는 장애 또는 질환의 치료가 필요한 대상체에서 이러한 장애 또는 질환을 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 대상체에게 치료적 유효량의 구조식 I의 화합물, 또는 이의 약제학적 조성물, 또는 약제학적 조합물을 투여하는 단계를 포함한다. 다른 양상에서, 본 개시내용은 대상체에서 질환 또는 장애를 치료하는 방법을 제공하되, 질환 또는 장애의 병리와 연관된 표적 조직 또는 기관은 mTORC1을 저해하는 데 충분한 FKBP12 수준을 갖고, 상기 방법은 질환 또는 장애의 치료가 필요한 대상체에게 치료적 유효량의 구조식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 또는 약제학적 조성물, 또는 이의 약제학적 조합물을 투여하는 단계를 포함한다.
- [0039] 실시형태에서, 구조식 I의 화합물로 치료될 질환 또는 장애의 병리와 연관된 표적 조직 또는 기관은 mTORC1을 저해하는 데 충분한 FKBP12 수준을 갖고, 이는, 예를 들어, 라파마이신 또는 RAD001에 비해 FKBP12-특이적 저해제를 이용하여, 경험적으로 결정된다.
- [0040] 다른 양상에서, 본 개시내용은 mTORC1을 저해하는 데 충분한 FKBP12 수준을 갖거나 또는 갖는 것으로 이전에 결정된 대상체에서의 질환 또는 장애를 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 질환 또는 장애의 치료가 필요한 대상체에게 치료적 유효량의 구조식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 또는 이의 약제학적 조성물, 또는 이의 약제학적 조합물을 투여하는 단계를 포함한다.
- [0041] 실시형태에서, 대상체는 표적 조직, 기관 또는 세포에서 mTORC1을 저해하는 데 충분한 FKBP12 수준을 갖거나 또는 갖는 것으로 이미 결정되었다.
- [0042] 다른 양상에서, 본 개시내용은 연령-관련 질환 또는 장애의 치료가 필요한 대상체에서 이러한 질환 또는 장애를 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 대상체에게 치료적 유효량의 구조식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 또는 약제학적 조성물, 또는 이의 조합물을 투여하는 단계를 포함한다,
- [0043] 실시형태에서, 질환 또는 장애는 근육감소증, 피부 위축, 버찌혈관증, 지루각화증, 뇌위축(치매로도 지칭됨), 죽상동맥경화증, 동맥경화증, 폐기증, 골다공증, 골관절염, 고혈압, 발기부전, 백내장, 황반변성, 녹내장, 뇌졸중, 뇌혈관질환(뇌졸중), 만성 신장병, 당뇨병-연관 신장병, 손상된 간 기능, 간 섬유증, 자가면역 간염, 자궁 내막 증식증, 대사기능장애, 신혈관 질환, 청력손실, 운동성 장애(예를 들어, 노쇠), 인지력 감퇴, 힘줄 강직, 심장 기능장애, 예컨대 심비대 및/또는 수축기 및/또는 확장기 기능장애 및/또는 고혈압, 박출물의 감소를 초래

하는 심장 기능장애, 면역성 노화, 파킨슨병, 알츠하이머병, 암, 면역감시의 감소에 기인하여 암을 야기하는 면역노화, 면역기능의 감소에 기인하는 감염, 만성 폐쇄성 폐질환(chronic obstructive pulmonary disease: COPD), 비만, 미각 상실, 후각 상실, 관절염, 및 당뇨병으로부터 생기는 합병증, 예컨대 신부전, 실명 및 신경병증을 포함하는 II형 당뇨병으로부터 선택된다.

- [0044] 다른 양상에서, 본 개시내용은 질환 또는 장애의 치료가 필요한 대상체에서 이러한 질환 또는 장애를 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 대상체에게 치료적 유효량의 구조식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 또는 약제학적 조성물, 또는 이의 조합물을 투여하는 단계를 포함하되, 장애 또는 질환은 하기로부터 선택된다:
- [0045] - 급성 또는 만성 기관 또는 조직 이식 거부;
- [0046] - 이식 혈관염;
- [0047] - 혈관내막 비후, 혈관 폐색, 폐쇄성 관상동맥 죽상동맥경화증, 재협착증을 야기하는 평활근 세포 증식 및 이동;
- [0048] - 자가면역 질환 및 염증성 병태;
- [0049] - 천식의 치료 및 예방;
- [0050] - 다제약물 내성(Multi-drug resistance: MDR);
- [0051] - 진균 감염;
- [0052] - 염증;
- [0053] - 감염;
- [0054] - 연령-관련 질환;
- [0055] - 신경퇴행성 질환;
- [0056] - 증식성 장애, 특히 암;
- [0057] - 발작 및 발작 관련 장애; 및
- [0058] - 미토콘드리아 근병증 및 미토콘드리아 스트레스.
- [0059] 다른 양상에서, 본 개시내용은 암의 치료가 필요한 대상체에서 암을 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 대상체에게 치료적 유효량의 구조식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 또는 약제학적 조성물, 또는 이의 약제학적 조합물을 투여하는 단계를 포함한다.
- [0060] 실시형태에서, 상기 방법은 PD-1/PDL-1 저해제를 더 포함한다.
- [0061] 실시형태에서, 암은 신장암, 신세포암종, 결장직장암, 자궁 육종, 자궁내막 자궁암, 자궁내막암, 유방암, 난소암, 자궁경부암, 위암, 섬유육종, 췌장암, 간암, 흑색종, 백혈병, 다발성 골수종, 비인두암, 전립선암, 폐암, 교모세포종, 방광암, 중피종, 두부암, 횡문근육종, 육종, 림프종 및 경부암으로부터 선택된다.
- [0062] 실시형태에서, 장애는 섬유증 및/또는 염증의 과정을 포함하는 간 장애, 예를 들어, 말기 간 질환에서 생기는 간 섬유증; 간경변증; 독성에 기인하는 간부전; 비알코올-연관 간 지방증 또는 NASH; 및 알코올-연관 지방증이다.
- [0063] 실시형태에서, 장애는 신장에서의 섬유증 또는 염증 과정을 포함하는 신장 장애, 예를 들어, 급성 신장 손상의 결과로서 생겨나 만성 신장병 및 당뇨병성 신장질환을 야기하는 신장 섬유증이다.
- [0064] 실시형태에서, 장애는 심장 기능장애, 예를 들어, 심근경색증 또는 심비대이다. 실시형태에서, 심장 기능장애는 수축기 및/또는 확장기 기능장애이다. 실시형태에서, 심장 기능장애는 고혈압이다. 실시형태에서, 심장 기능장애는 박출물의 감소를 초래한다.
- [0065] 실시형태에서, 장애는 면역감시의 감소에 기인하는 암을 야기하는 면역노화이다.
- [0066] 실시형태에서, 장애는 면역요법에 의해 치료되는 종양, 및 라파마이신, 또는 에베롤리무스 또는 다른 라팔로그 중 하나에 의해 이전에 치료된 적이 있는 종양을 비롯한 암이다. 실시형태에서, 암은 Tsc1 유전자의 돌연변이가

있는 경우, 또는 종양 미세환경이 라팔로그에 의해 적절하게 치료되는 경우를 비롯한, mTOR 경로가 활성화될 것으로 나타난 종양을 포함한다.

[0067] 본 개시내용의 하나 이상의 실시형태의 상세한 설명은 본 명세서에 제시되어 있다. 본 개시내용의 다른 특징, 목적 및 이점은 도면, 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용, 실시예 및 청구범위로부터 명백할 것이다.

도면의 간단한 설명

[0068] 도 1a는 FKBP12가 있는 실시예 1의 공결정 구조의 이미지이다. C16에서의 절대 입체배치는 (S)이다.

도 1b는 FKBP12 단백질이 제거된 실시예 1의 구조를 나타낸다.

도 2a는 FKBP12가 있는 실시예 2의 공결정 구조의 이미지이다. C16에서의 절대 입체배치는 (R)이다.

도 2b는 FKBP12 단백질이 제거된 실시예 2의 구조를 나타낸다.

도 3은 3 mg/kg의 단일 p.o. 투약 후 래트에서의 실시예 2의 약물동태학적 프로파일을 나타내는 선 그래프이다. Y 축 - 실시예 2의 혈액 농도(nM). X 축 - 실시예 2 투여 후 혈액 수집 동안의 시간(hr). 데이터는 3마리의 래트로부터의 평균 \pm 표* 편차이다.

도 4A는 화합물의 단일 용량이 3, 10 및 30 mg/kg에서 경구로 제공된 래트에서의 RAD001(속이 빈 막대)과 실시예 2(속이 찬 막대)의 비교를 통한 혈액 농도를 나타내는 막대 그래프이다. 투약 후 3 및 24시간(h)에 화합물 농도를 측정하였다. 데이터는 각각의 그룹에서 5 내지 6마리의 래트로부터의 평균 \pm 표준편차이다. 화합물이 정량한계 미만인 래트는 데이터 분석으로부터 제외되었다: 이를 RAD001 처리군에 적용한다. 별표(*)는 각각의 RAD001과 실시예 2 처리군 간의 유의한 차이를 나타낸다. ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$; **** $P < 0.0001$, t-검정. BQL - 정량한계 미만. Y 축 - 혈액 중의 화합물 농도(nM). X 축 - 경구 투약 및 경구로 주어진 용량(3, 10 및 30 mg/kg) 후의 시간(3 및 24시간).

도 4B는 화합물의 단일 용량이 3, 10 및 30 mg/kg에서 경구로 제공된 래트에서의 RAD001(속이 빈 막대)과 실시예 2(속이 찬 막대)의 비교를 통한 뇌 농도를 나타내는 막대 그래프이다. 투약 후 3 및 24시간(h)에 화합물 농도를 측정하였다. 데이터는 평균 \pm 표준편차이다. 각각의 그룹에서 5 내지 6마리의 래트를 사용하였다. 화합물이 정량한계 미만인 래트는 데이터 분석으로부터 제외되었다: 이를 RAD001 처리군에 적용한다. 별표(*)는 각각의 RAD001과 실시예 2 처리군 간의 유의한 차이를 나타낸다. ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$; **** $P < 0.0001$, t-검정. BQL - 정량한계 미만. Y 축 - 뇌에서의 화합물 농도(nM). X 축 - 투약 및 경구로 주어진 용량(3, 10 및 30 mg/kg) 후의 시간(3 및 24시간).

도 4C는 정맥내(i.v.) 및 경구(p.o.) 투약 후 래트에서의 실시예 2의 혈액 농도를 나타낸다. Y 축 - 실시예 2의 혈액 농도(nM). X 축 - 실시예 2 투여 후 혈액 수집 동안의 시간(hr). 데이터는 3마리의 래트로부터의 평균 \pm 표준편차이다.

도 4D는 정맥내(i.v.) 및 경구(p.o.) 투약 후 래트에서의 RAD001의 혈액 농도를 나타낸다. Y 축 - RAD001의 혈액 농도(nM). X 축 - RAD001 투여 후 혈액 수집 동안의 시간(hr). 데이터는 3마리의 래트로부터의 평균 \pm 표준편차이다.

도 5A 내지 도 5D는 실시예 2가 래트 간에서 mTORC1 경로를 저해한다는 것을 나타낸다. 래트에 실시예 2의 단일 경구 용량을 3 또는 10 또는 30 mg/kg에서 제공하였고, 간 샘플을 투약 후 3시간(h) 및 24시간에 수집하였다. 비히클(Veh)로 처리한 래트를 대조군으로서 사용하였다. (5A) 및 (5C)는 비히클 또는 3 또는 10 또는 30 mg/kg의 실시예 2로 처리하고 처리 후 3시간(5A) 및 24시간(5C)에 분석한 래트 간에서의 인산화된(p-) 및 총(t-) S6의 면역블롯 이미지를 나타낸다. (5B) 및 (5D)에서의 히스토그램은 처리 후 3시간(5B) 및 24시간(5D)에 p-S6 내지 t-S6의 농도계측 정량화를 나타낸다. 히스토그램에서(5B 및 5D), p-S6/t-S6 비를 나타내는 평균 임의의 값은 각각의 막대 위에 나타낸다. X 축은 경구로 주어진 용량(3, 10, 30 mg/kg)을 나타낸다. Y-축은 임의의 단위를 나타낸다. 각각의 실험군에서 6마리의 래트를 사용하였다. 데이터는 평균 \pm 표준편차이다. 일원 ANOVA 다음에 던넛(Dunnett) 다중 비교 검정으로 데이터를 분석하였고, 모든 그룹으로부터의 평균을 비히클 처리군과 비교하였다. ** $P < 0.01$, **** $P < 0.001$, ns - 유의하지 않음.

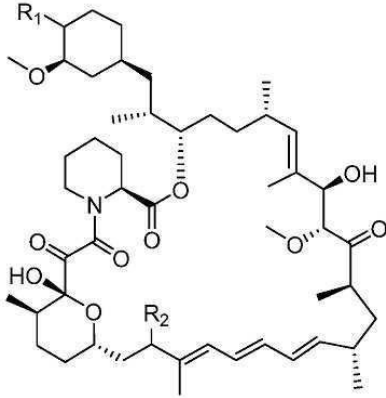
도 6a 내지 도 6c는 RAD001(점선) 및 실시예 2(실선)로 처리 후 야생형(6A), FKBP12 녹다운(knock-down)(6B) 및 FKBP12 녹아웃(knock-out)(6C) 293T 세포에서의 S6K1(Thr389)의 저해를 나타낸다. 세포를 3회 중복하여 처리하였다. Y 축은 배지 + DMSO로 처리한 세포에서의 S6K1(Thr389) 수준에 대한 저해%를 나타낸다. X 축은

RAD001 및 실시예 2의 농도를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

제1 양상에서, 본 개시내용은 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 제공한다

[화학식 I]



식 중:

R₁은

히드록시,



및

 로 이루어진 군으로부터 선택되고,

R₂는

군으로부터 선택되고:

여기서,

m은 0, 1, 2 또는 3이며;

n은 1, 2 또는 3이고;

o는 1, 2, 3, 4, 5 또는 6이며;

p는 1, 2, 3, 4 또는 5이고,

q는 1, 2, 3, 4 또는 5이되, p와 q의 합은 2, 3, 4, 5 또는 6이며;

r은 2, 3 또는 4이고;

s는 2, 3 또는 4이되, r과 s의 합은 4, 5 또는 6이며;

X는 O, S, NR₆ 또는 SO₂이고;

R₃은 수소, C₁₋₆알킬, 히드록시C₁₋₆알킬, C₃₋₈사이클로알킬C₀₋₆알킬 또는 페닐C₀₋₆알킬이며;

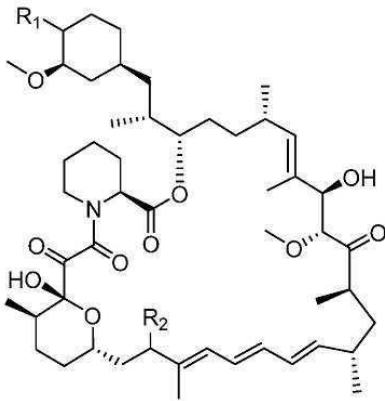
[0085] R_4 는 수소이고;

[0086] R_5 는 수소, 히드록시 또는 시아노이거나; 또는 R_4 와 R_5 는 함께 =O를 형성하고;

[0087] R_6 은 수소, C_{1-6} 알킬, C_{3-8} 사이클로알킬 C_{0-6} 알킬, 페닐 C_{0-6} 알킬, C_{1-6} 알킬-CO-, C_{3-8} 사이클로알킬 C_{0-6} 알킬-CO-, C_{1-6} 알킬-SO₂- 또는 C_{3-8} 사이클로알킬 C_{0-6} 알킬-SO₂-이다.

[0088] 실시형태에서, 본 개시내용은 하기 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 제공한다:

[0089] [화학식 I]

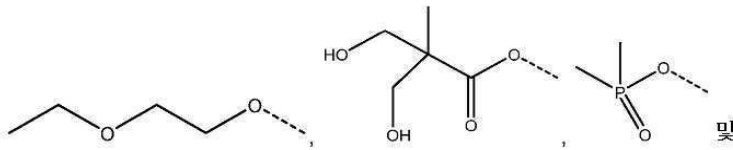


[0090]

[0091] 식 중,

[0092] R_1 은

히드록시,

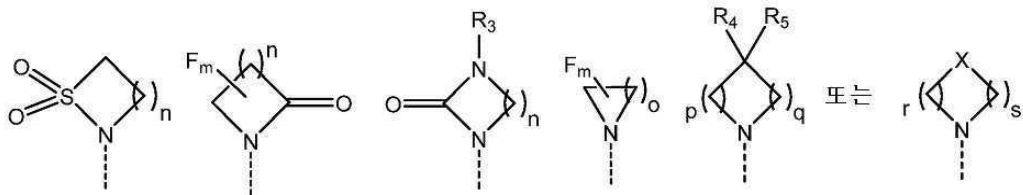


택되고,

및



로 이루어진 군으로부터 선



[0093] R_2 는

군으로부터 선택되고:

[0094] 여기서,

[0095] m은 0, 1, 2 또는 3이며;

[0096] n은 1, 2 또는 3이고;

[0097] o는 1, 2, 3, 4, 5 또는 6이며;

[0098] p는 1, 2, 3, 4 또는 5이고,

[0099] q는 1, 2, 3, 4 또는 5이되, p와 q의 합은 2, 3, 4, 5 또는 6이며;

[0100] r은 2, 3 또는 4이고;

[0101] s는 2, 3 또는 4이되, r과 s의 합은 4, 5 또는 6이며;

[0102] X는 O, S, NR₆ 또는 SO₂이고;

[0103] R₃은 수소, C₁₋₆알킬, C₃₋₈사이클로알킬C₀₋₆알킬 또는 페닐C₀₋₆알킬이며;

[0104] R₄는 수소이고;

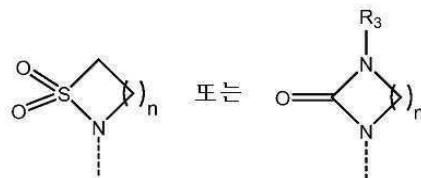
[0105] R₅는 수소, 히드록시 또는 시아노이거나; 또는 R₄와 R₅는 함께 =O를 형성하고;

[0106] R₆은 수소, C₁₋₆알킬, C₃₋₈사이클로알킬C₀₋₆알킬, 페닐C₀₋₆알킬, C₁₋₆알킬-CO-, C₃₋₈사이클로알킬C₀₋₆알킬-CO-, C₁₋₆알킬-SO₂- 또는 C₃₋₈사이클로알킬C₀₋₆알킬-SO₂-이다.

[0107] 정의

[0108] 달리 명시되지 않는 한, "본 개시내용의 화합물들" 또는 "본 개시내용의 화합물"이라는 용어는 화학식 I의 화합물 및 이의 예시된 화합물, 및 염뿐만 아니라, 모든 입체이성질체(부분입체이성질체 및 거울상이성질체를 포함함), 회전이성질체, 호변이성질체 및 동위원소 표지 화합물(중수소 치환체를 포함함) 및 고유하게 형성된 모이 어터를 지칭한다.

[0109] 본 명세서에서 사용되는, "-----" 는 염기 분자에 결합된 변수의 일부를 나타내고, (R)-입체화학과 (S)-입체



화학을 둘 다 포함한다. 예를 들어, R²가

일 때, "-----"는 C16에 결

합된 R₂의 일부를 나타내고, (R)-입체화학과 (S)-입체화학을 둘 다 포함한다.

[0110] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "C₁₋₆알킬"은 탄소 및 수소 원자만으로 이루어지고, 불포화는 포함하지 않으며, 1개 내지 6개의 탄소 원자를 갖고, 단일 결합에 의해 분자의 나머지에 부착되는, 직선형 또는 분지형 탄화수소 사슬 라디칼을 지칭한다. 용어 "C₁₋₄알킬"은 그에 맞춰 해석되어야 한다. C₁₋₆알킬의 예는 메틸, 에틸, *n*-프로필, 1-메틸에틸(이소-프로필), *n*-부틸, *n*-펜틸 및 1,1-디메틸에틸(*t*-부틸)을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0111] 본 명세서에서 사용되는 용어 "히드록시C₁₋₆알킬"은 하나 이상의 -OH 기로 치환되는 알킬기를 지칭한다. 히드록시C₁₋₆알킬기의 예는 HO-CH₂-, HO-CH₂CH₂- 및 -CH₂-CH(OH)-를 포함한다.

[0112] 본 명세서에서 사용되는 용어 "C₃₋₈사이클로알킬C₀₋₆알킬"은 탄소 및 수소 원자만으로 이루어지며, 3 내지 8개의 탄소 원자를 갖고, 단일 결합에 의해 또는 상기 정의한 바와 같은 C₁₋₆알킬 라디칼에 의해 분자의 나머지에 부착된 안정한 단환식 포화 탄화수소 라디칼을 지칭한다. C₃₋₈사이클로알킬C₀₋₆알킬의 예는 사이클로프로필, 사이클로프로필-메틸, 사이클로부틸, 사이클로부틸-에틸, 사이클로펜틸, 사이클로펜틸-프로필, 사이클로헥실, 사이클로헥틸 및 사이클로옥틸을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0113] 본 명세서에서 사용되는 용어 "페닐C₀₋₆알킬"은 단일 결합에 의해 또는 상기 정의한 바와 같은 C₁₋₆알킬 라디칼에 의해 분자의 나머지에 부착된 페닐 고리를 지칭한다. 페닐C₀₋₆알킬의 예는 페닐 및 벤질을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0114] 본 명세서에서 사용되는 "히드록시" 또는 "하이드록실"은 -OH를 지칭한다.

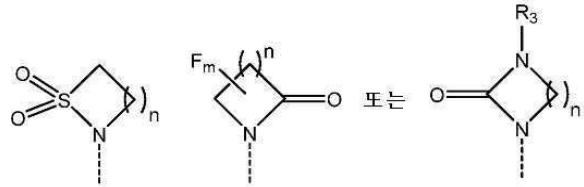
[0115] 본 개시내용의 다양한 (열거된) 실시형태가 본 명세서에 기재된다. 각각의 실시형태에 명시된 특징은 본 개시내용의 추가 실시형태를 제공하기 위하여 다른 명시된 특징과 조합될 수 있음이 인정될 것이다.

[0116] 실시형태 1. 상기 기재한 바와 같은 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

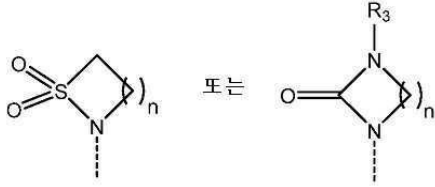
[0117] 실시형태 2. 실시형태 1에 있어서, R₁이 히드록시인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

[0118]

실시형태 3. 실시형태 1 또는 2에 있어서, R_2 는



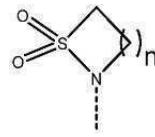
, 특히



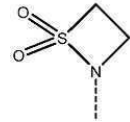
로부터 선택되고, m , n , X 및 R_3 이 상기 정의된 바와 같은, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

[0119]

실시형태 4. 실시형태 1 내지 3 중 어느 하나에 있어서, R_2 는



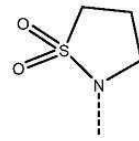
이고, n 은 1, 2 또는 3인 화합물 또는



는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염. 실시형태에서, R_2 는 이다.

[0120]

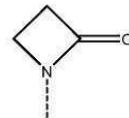
실시형태 5. 실시형태 1 내지 4 중 어느 하나에 있어서, R_2 는 허용 가능한 염.



인 화합물 또는 이의 약제학적으로

[0121]

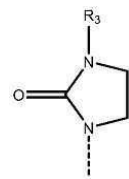
실시형태 6. 실시형태 1 내지 4 중 어느 하나에 있어서, R_2 는 용 가능한 염.



인 화합물 또는 이의 약제학적으로

[0122]

실시형태 7. 실시형태 1 내지 4 중 어느 하나에 있어서, R_2 는 용 가능한 염. 실시형태에서, R_3 은 수소, C_{1-6} 알킬 또는 히드록시 C_{1-6} 알킬이다.



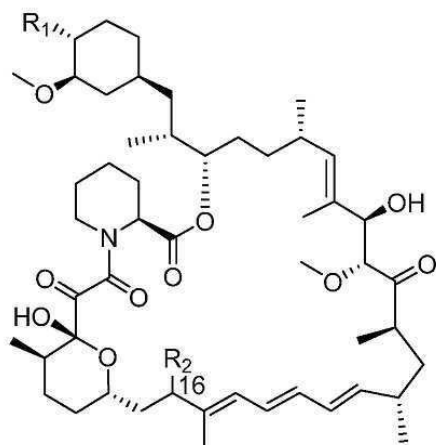
인 화합물 또는 이의 약제학적으로

[0123]

실시형태 8. 화학식 I-A의 실시형태 1 내지 5 중 어느 하나에 따른 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염:

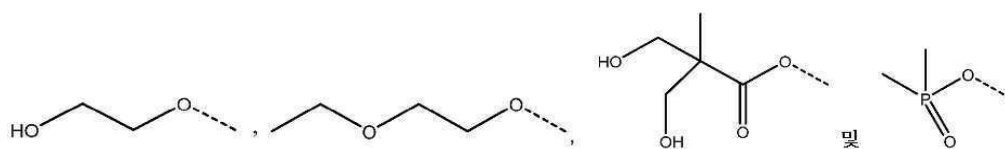
[0124]

[화학식 I-A]



[0125]

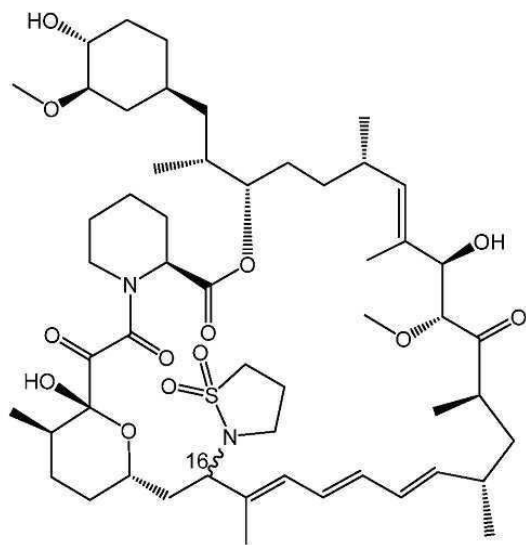
[0126]

식 중, R_1 은 히드록시,

부터 선택된다. 실시형태에서, R₁은 하이드록실이다. 실시형태에서, R₂는 화학식 I에 정의된 바와 같다. 실시형태에서, C16 위치는 (R) 입체화학을 가진다. 실시형태에서, C16 위치는 (S) 입체화학을 가진다.

[0127]

실시형태 9. 실시형태 1 내지 8 중 어느 하나에 있어서, 상기 화합물은 C16-(1,1-디옥시도이소티아졸리딘-2-일)-C32-테옥소-라파마이신(화합물 1)인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염:



[0128]

[0129]

실시형태 10. 실시형태 1 내지 9 중 어느 하나에 있어서, C16에서 단일 부분입체이성질체로서 존재하는, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염. 실시형태에서, C16 위치는 (R) 입체화학을 가진다. 실시형태에서, C16 위치는 (S) 입체화학을 가진다.

[0130]

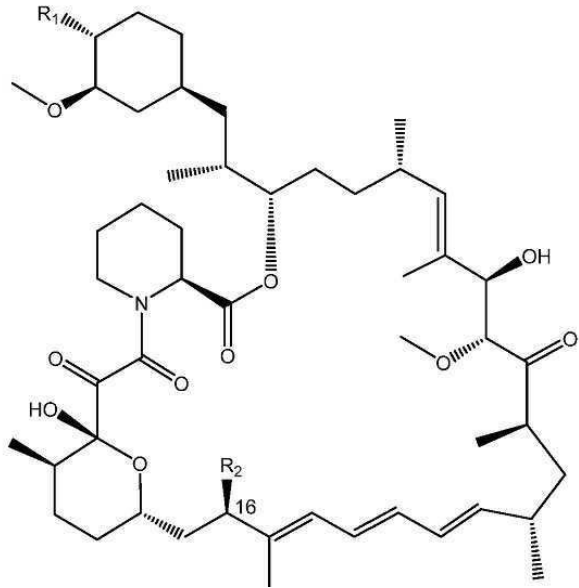
실시형태 11. 실시형태 1 내지 9 중 어느 하나에 있어서, C16에서 부분입체이성질체 혼합물로서 존재하는, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

[0131]

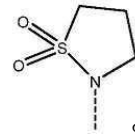
실시형태 12. 화학식 I-B의 실시형태 1 내지 10 중 어느 하나에 따른 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염:

[0132]

[화학식 I-B]



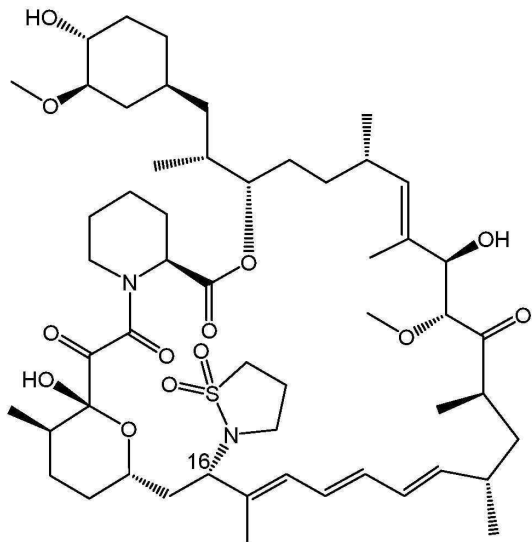
[0133]



[0134] 식 중, R_1 및 R_2 는 화학식 I에 대해 정의한 바와 같다. 실시형태에서, R_2 는

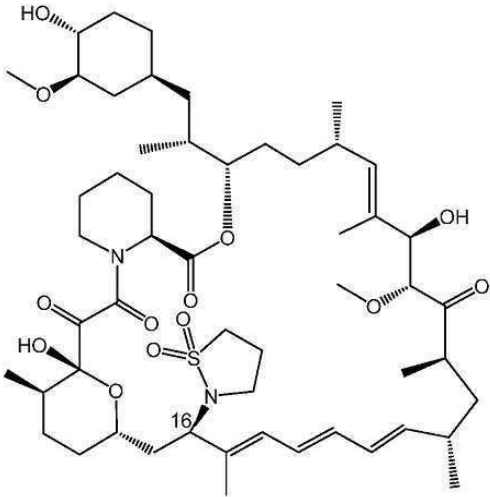
이다.

[0135] 실시형태 13. 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염으로서, 상기 화합물은 (S)-C16-(1,1-디옥시도이소티아졸리딘-2-일)-C32-데옥소-라파마이신(실시예 1)인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염):



[0136]

[0137] 실시형태 14. 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염으로서, 상기 화합물은 (R)-C16-(1,1-디옥시도이소티아졸리딘-2-일)-C32-데옥소-라파마이신(실시예 2)인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염):

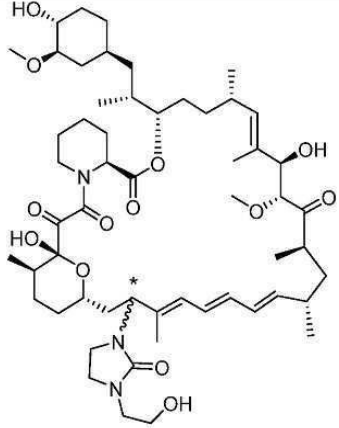
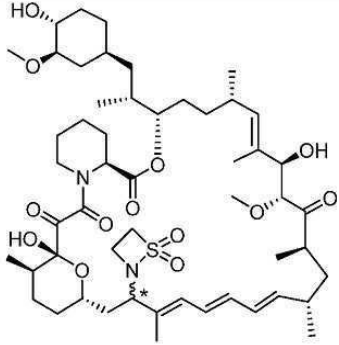
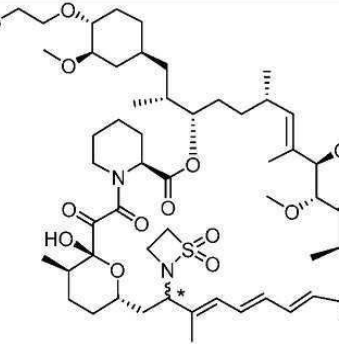


[0138]

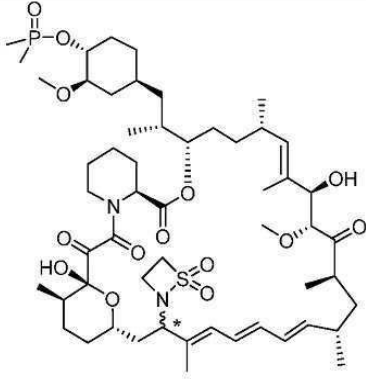
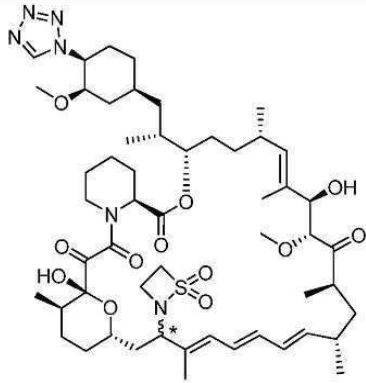
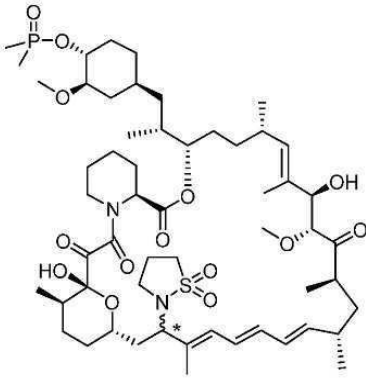
[0139] 실시형태 15: 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염으로서, 상기 화합물은 하기로부터 선택되는, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염:

화합물	구조
실시예 3	<p>* C16에서의 절대 입체화학은 부여되지 않음</p>
실시예 4	<p>* C16에서의 절대 입체화학은 부여되지 않음</p>

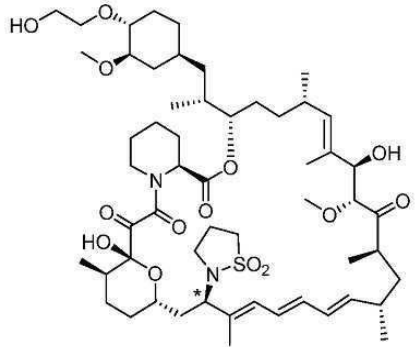
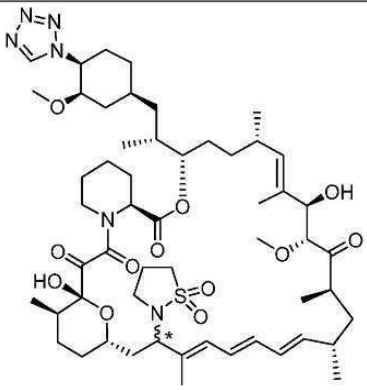
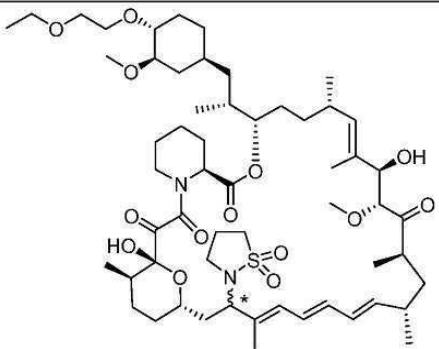
[0140]

<p>실시예 5</p>	 <p>* C16에서의 절대 입체화학은 부여되지 않음</p>
<p>실시예 6 실시예 7 C16에서의 부분입체이성질체</p>	 <p>* C16에서의 절대 입체화학은 부여되지 않음</p>
<p>실시예 8 실시예 9 C16에서의 부분입체이성질체</p>	 <p>* C16에서의 절대 입체화학은 부여되지 않음</p>

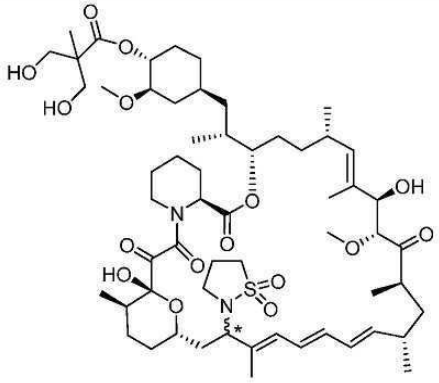
[0141]

<p>실시예 10 실시예 11 C16에서의 부분입체이성질체</p>	 <p>* C16에서의 절대 입체화학은 부여되지 않음</p>
<p>실시예 12 실시예 13 C16에서의 단일 부분입체이성질체</p>	 <p>* C16에서의 절대 입체화학은 부여되지 않음</p>
<p>실시예 14 실시예 15 C16에서의 부분입체이성질체</p>	 <p>* C16에서의 절대 입체화학은 부여되지 않음</p>

[0142]

<p>실시예 16</p>	
<p>실시예 17</p>	 <p>* C16에서의 절대 입체화학은 부여되지 않음</p>
<p>실시예 18</p>	 <p>* C16에서의 절대 입체화학은 부여되지 않음</p>

[0143]

<p>실시예 19</p>	 <p>* C16에서의 절대 입체화학은 부여되지 않음</p>
---------------	--

[0144]

[0145]

특정한 작용기 및 화학 용어의 정의가 하기에 더 상세하게 기술되어 있다. 화학 원소는 문헌[*Handbook of Chemistry and Physics*, 75th Ed.]의 커버 내부의 CAS 버전의 원소 주기율표에 따라 확인되며, 특정 작용기는 일반적으로 그 안에 기술된 바와 같이 정의된다. 추가적으로, 유기 화학의 일반 원리와, 특정한 작용성 모이어티 및 반응성은 문헌[Thomas Sorrell, *Organic Chemistry*, University Science Books, Sausalito, 1999]; 문

현[Smith and March, *March's Advanced Organic Chemistry*, 5th Edition, John Wiley & Sons, Inc., New York, 2001]; 문헌[Larock, *Comprehensive Organic Transformations*, VCH Publishers, Inc., New York, 1989]; 및 문헌[Carruthers, *Some Modern Methods of Organic Synthesis*, 3rd Edition, Cambridge University Press, Cambridge, 1987]에 기재되어 있다.

[0146] 출발물질 및 절차의 선택에 따라서, 본 개시내용의 화합물은 비대칭 탄소 원자 수에 따라서 화학식 I, 화학식 I-A 및 화학식 I-B에 의해 고정되지 않는 입체중심에 대해 가능한 입체이성질체 중 하나의 형태로 또는 이들의 혼합물로서(예를 들어 순수한 광학 이성질체로서, 또는 입체이성질체 혼합물, 예컨대 라세미체 및 부분입체이성질체 혼합물로서) 존재할 수 있다. 본 개시내용은 라세미 혼합물, 부분입체이성질체 혼합물 및 광학적으로 순수한 형태를 포함하여, 이러한 가능한 입체이성질체 모두를 포함하는 것을 의미한다. 광학적으로 활성인 (*R*)- 및 (*S*)- 입체이성질체는 키랄 신포논 또는 키랄 시약을 사용하여 제조될 수 있거나, 통상적인 기법을 사용하여 분할될 수 있다. 화합물이 이중 결합을 포함하는 경우, 치환체는 *E* 또는 *Z* 입체배치일 수 있다. 화합물이 이치환된 사이클로알킬을 포함하는 경우, 사이클로알킬 치환기는 시스- 또는 트랜스-입체배치를 가질 수 있다. 모든 호변 이성질체 형태가 또한 포함되도록 의도된다.

[0147] 용어 "호변이성질체"는 특정 화합물 구조의 상호 호환 가능하며, 수소 원자 및 전자의 변위가 변하는 화합물을 지칭한다. 따라서, 두 구조는 π 전자 및 원자(보통 H)의 이동을 통해 평형상태가 될 수 있다. 예를 들어, 에놀 및 케톤은 산 또는 염기에 의한 처리에 의해 빠르게 상호 전환되기 때문에 호변이성질체이다. 호변이성질현상의 다른 예는 마찬가지로 산 또는 염기에 의한 처리에 의해 형성되는 페닐니트로메탄의 아시-(aci-) 및 니트로 형태이다. 호변이성질체 형태는 관심대상의 화합물의 최적의 화학적 반응성 및 생물학적 활성의 달성에 적절할 수 있다.

[0148] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은, 용어 "염" 또는 "염들"은 본 개시내용의 화합물의 산 부가염 또는 염기 부가염을 지칭한다. "염"은 특히 "약제학적으로 허용 가능한 염"을 포함한다. 용어 "약제학적으로 허용 가능한 염"은 본 개시내용의 화합물의 생물학적 효능성 및 특성(전형적으로 생물학적으로나 달리 바람직하지 않은 것이 아님)을 보유하는 염을 나타낸다. 많은 경우, 본 개시내용의 화합물은 아미노 기 및/또는 카르복실 기 또는 이와 유사한 기의 존재로 인해 산 및/또는 염기 염을 형성할 수 있다. 약제학적으로 허용되는 염은 당업계에 잘 공지되어 있다. 예를 들어, Berge 등은 본 명세서에 참고로 포함되는 문헌[J. Pharmaceutical Sciences, 1977, 66, 1-19]에서 상술되는 약제학적으로 허용 가능한 염을 기재한다.

[0149] 약제학적으로 허용 가능한 산 부가염은 무기산 및 유기산으로 형성될 수 있다.

[0150] 염이 유도될 수 있는 무기산은, 예를 들어 염산, 브롬화수소산, 황산, 질산, 인산 등을 포함한다.

[0151] 염이 유도될 수 있는 유기 산은, 예를 들어 아세트산, 프로피온산, 글리콜산, 옥살산, 말레산, 말론산, 숙신산, 푸마르산, 타르타르산, 시트르산, 벤조산, 만델산, 메탄설폰산, 에탄설폰산, 톨루엔설폰산, 설포살리실산 등을 포함한다.

[0152] 약제학적으로 허용 가능한 염기 부가 염은 무기 염기 및 유기 염기로 형성될 수 있다.

[0153] 염이 유도될 수 있는 무기 염기는 예를 들어, 암모늄 염 및 주기율표의 I 내지 XII족의 금속을 포함한다. 특정 실시형태에서, 염은 나트륨, 칼륨, 암모늄, 칼슘, 마그네슘, 철, 은, 아연, 및 구리로부터 유도되고; 특히 적합한 염은 암모늄, 칼륨, 나트륨, 칼슘 및 마그네슘 염을 포함한다.

[0154] 염이 유도될 수 있는 유기 염기는, 예를 들어 1차, 2차, 및 3차 아민, 천연 발생 치환 아민을 포함하는 치환된 아민, 환식 아민, 염기성 이온 교환 수지 등을 포함한다. 특정 유기 아민은 이소프로필아민, 벤자민, 콜리네이트, 디에탄올아민, 디에틸아민, 라이신, 메글루민, 피페라진 및 트로메타민을 포함한다.

[0155] 다른 양상에서, 본 발명은 아세테이트, 아스코르베이트, 아디페이트, 아스파르테이트, 벤조에이트, 베실레이트, 브로마이드/하이드로브로마이드, 비카르보네이트/카르보네이트, 비설페이트/설페이트, 캄포르설포네이트, 카프레이트, 클로라이드/하이드로클로라이드, 클로르테오필로네이트, 시트레이트, 에탄디설포네이트, 푸마레이트, 글루세이트, 글루코네이트, 글루쿠로네이트, 글루타메이트, 글루타레이트, 글리콜레이트, 히푸레이트, 하이드로요오다이드/요오다이드, 이세티오네이트, 락테이트, 락토비오네이트, 라우릴설페이트, 말레이트, 말레에이트, 말로네이트, 만델레이트, 메실레이트, 메틸설페이트, 뮤케이트, 나프토에이트, 나프실레이트, 니코티네이트, 니트레이트, 옥타데카노에이트, 올레이트, 옥살레이트, 팔미테이트, 파모에이트, 포스페이트/하이드로젠 포스페이트/디하이드로젠 포스페이트, 폴리갈락투로네이트, 프로피오네이트, 세바케이트, 스테아레이트, 석시네이트,

설포살리실레이트, 설페이트, 타르트레이트, 토실레이트 트리페나테이트, 트리플루오로아세테이트 또는 크시나 포에이트 염 형태의 화합물을 제공한다.

[0156] 본 명세서에 주어진 임의의 화학식은 또한 화합물의 동위원소 비표지 형태뿐만 아니라 동위원소 표지 형태를 나타내기 위한 것이다. 동위원소 표지된 화합물은 1개 이상의 원자가 선택된 원자 질량 또는 질량 수를 갖는 원자에 의해 대체된다는 점을 제외하고는 본 명세서에 주어진 화학식에 의해 도시된 구조를 갖는다. 본 개시내용의 화합물에 혼입될 수 있는 동위원소는, 예를 들어, 수소의 동위원소를 포함한다.

[0157] 추가로, 특정 동위원소, 특히 중수소(즉, ^2H 또는 D)의 포함은 더 큰 대사 안정성으로부터 야기되는 특정 치료적 이점, 예를 들어, 증가된 생체내 반감기 또는 감소된 투여량 요구 또는 치료 지수 또는 용인성의 개선을 제공할 수 있다. 이 맥락에서 중수소는 본 개시내용의 화합물의 치환기로 간주된다고 이해된다. 중수소의 농도는 동위원소 농축 계수에 의해 정의될 수 있다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같은, 용어 "동위원소 농축 계수"는 특정 동위원소의 동위원소 존재율과 천연 존재율 사이의 비를 의미한다. 본 개시내용의 화합물에서의 치환체가 중수소인 것으로 표시되는 경우, 이러한 화합물은 각각의 지정된 중수소 원자에 대하여 적어도 3500(각각의 지정된 중수소 원자에서 52.5%의 중수소 혼입률), 적어도 4000(60%의 중수소 혼입률), 적어도 4500(67.5%의 중수소 혼입률), 적어도 5000(75%의 중수소 혼입률), 적어도 5500(82.5%의 중수소 혼입률), 적어도 6000(90%의 중수소 혼입률), 적어도 6333.3(95%의 중수소 혼입률), 적어도 6466.7(97%의 중수소 혼입률), 적어도 6600(99%의 중수소 혼입률), 또는 적어도 6633.3(99.5%의 중수소 혼입률)의 동위원소 농축 계수를 갖는다. 용어 "동위원소 농축 계수"는 중수소에 대하여 기술되는 것과 동일한 방식으로 임의의 동위원소에 적용될 수 있다는 것이 이해되어야 한다.

[0158] 본 개시내용의 화합물 내에 포함될 수 있는 동위원소의 다른 예는 수소, 탄소, 질소, 산소, 인, 불소, 및 염소의 동위원소, 예를 들어, 각각 ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}F , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{36}Cl , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I 를 포함한다. 따라서 본 개시내용은, 예를 들어, ^3H 및 ^{14}C 와 같은 방사성 동위원소를 포함하는 하나 이상의 임의의 전술한 동위원소를 포함하는 화합물, 또는 ^2H 및 ^{13}C 와 같은 비-방사성 동위원소가 존재하는 것들을 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 이러한 동위원소 표지된 화합물은 약물 또는 기질 조직 분포 분석을 비롯하여, 대사 연구(^{14}C 사용), 반응 동역학 연구(예를 들어, ^2H 또는 ^3H 사용), 검출 또는 영상화 기법, 예를 들어 양전자 방출 단층촬영(positron emission tomography, PET) 또는 단일-광자 방출 컴퓨터 단층촬영(single-photon emission computed tomography, SPECT)에, 또는 환자의 방사성 치료에 유용하다. 특히, ^{18}F 또는 표지된 화합물은 PET 또는 SPECT 연구에 특히 바람직할 수 있다. 본 개시내용의 동위원소-표지된 화합물은 일반적으로 당업자에게 공지된 통상적인 기법에 의하거나, 첨부된 실시예 및 제법에서 기술된 것들과 유사한 공정에 의해, 이전에 이용된 비-표지된 시약 대신 적절한 동위원소-표지된 시약을 사용하여 제조될 수 있다.

[0159] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "약제학적 조성물"은 경구 또는 비경구 투여에 적합한 형태인, 적어도 하나의 약제학적으로 허용 가능한 담체와 함께, 본 개시내용의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 지칭한다.

[0160] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "약제학적으로 허용 가능한 담체"는 약제학적 조성물의 제조 또는 사용에 유용한 물질을 지칭하고, 예를 들어, 적합한 희석제, 용매, 분산 매질, 계면활성제, 항산화제, 보존제, 등장화제, 완충제, 유화제, 흡수 지연제, 염, 약물 안정화제, 결합제, 부형제, 봉해제, 활택제, 습윤제, 감미제, 착향제, 염료 및 이들의 조합물을 포함하는데, 이는 당업자에게 알려진 바와 같을 것이다(예를 들어, 문헌 [Remington The Science and Practice of Pharmacy, 22nd Ed. Pharmaceutical Press, 2013, pp. 1049-1070] 참조).

[0161] 본 개시내용의 화합물의 "치료적 유효량"이란 용어는 대상체의 생물학적 또는 의학적 반응, 예를 들어 효소 또는 단백질 활성의 감소 또는 저해를 유발하거나, 증상을 경감시키거나, 병태를 완화시키거나, 질환의 진행을 늦추거나 지연시키거나, 질환을 예방하는 등의 본 개시 내용의 화합물의 양을 지칭한다. 실시형태에서, 용어 "치료적 유효량"은 대상체에 투여될 때 (1) (i) mTOR 경로에 의해 매개되거나, 또는(ii) mTOR 활성화와 관련되거나, 또는 (iii) mTOR의 활성화(정상 또는 비정상)를 특징으로 하는 병태 또는 장애 또는 질환을 적어도 부분적으로 경감, 예방 및/또는 개선하거나; 또는 (2) mTOR의 활성을 감소 또는 저해하거나; 또는 (3) mTOR의 발현을 감소 또는 저해하는데 효과적인 본 개시 내용의 화합물의 양을 지칭한다. 실시형태에서, 용어 "치료 유효량"은 세포, 또는 조직, 또는 비-세포 생물학적 물질 또는 배지에 투여될 때, mTOR의 활성을 적어도 부분적으로 감소시키거나

나 저해하거나; mTOR의 발현을 적어도 부분적으로 감소시키거나 저해하는 데 효과적인 본 개시내용의 화합물의 양을 지칭한다.

[0162] 본 명세서에서 사용되는 용어 "대상체"는 영장류(예를 들어, 인간, 남성 또는 여성), 개, 토끼, 기니픽, 돼지, 래트 및 마우스를 지칭한다. 특정 실시형태에서, 대상체는 영장류이다. 또 다른 실시형태에서, 대상체는 인간이다.

[0163] 본 명세서에서 사용되는 용어 "투여하다", "투여하는" 또는 "투여"는 본 발명의 화합물 또는 이의 약제학적 조성물을 이식하거나, 흡수시키거나, 섭취시키거나, 주사하거나, 흡입하거나 또는 달리 도입하는 것을 지칭한다.

[0164] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "저해하다", "저해" 또는 "저해하는"은 주어진 병태, 증상, 또는 장애, 또는 질환의 감소 또는 억제, 또는 생물학적 활성 또는 과정의 기저 활성의 현저한 감소를 지칭한다.

[0165] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은, 임의의 질환 또는 장애를 "치료하다", "치료하는" 또는 "치료"라는 용어는 질환 또는 장애를 완화하거나, 질환 또는 장애의 개시를 지연시키거나, 질환 또는 장애를 개선시키거나(즉, 질환 또는 이의 임상 증상 중 적어도 하나의 발생을 늦추거나 저지하거나); 환자가 인식 가능하지 않을 수 있는 것을 포함하는 질환 또는 장애와 연관되는 적어도 하나의 신체 매개변수 또는 생체지표를 완화하거나 개선하는 것을 지칭한다. 일부 실시형태에서, "치료", "치료하다" 및 "치료하는"은 질환, 장애 또는 병태의 징후 또는 증상이 발생되거나 또는 관찰되는 것을 필요로 한다. 다른 실시형태에서, 치료는 질환 또는 병태의 징후 또는 증상의 부재 하에 투여될 수 있다. 예를 들어, 치료는 증상의 개시 전에(예를 들어, 증상의 이력에 비추어 그리고/또는 유전적 또는 다른 감수성 인자에 비추어) 민감한 개체에게 투여될 수 있다. 치료는 또한, 예를 들어, 재발을 지연시키거나 또는 예방하기 위해 증상이 해결된 후에 지속될 수 있다.

[0166] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은, 임의의 질환 또는 장애를 "예방하다", "예방하는" 또는 "예방"이라는 용어는 질환 또는 장애의 예방적 처치; 또는 질환 또는 장애의 발병 또는 진행을 지연시키는 것을 지칭한다.

[0167] 본 명세서에서 사용되는 "연령-관련 질환 또는 장애"는 집단 내 발생률 또는 개체에서의 중증도가 나이를 먹는 것과 상관관계가 있는 임의의 질환 또는 장애를 지칭한다. 더 구체적으로는, 연령-관련 질환 또는 장애는 25 내지 35세 사이의 인간 개체에 비해 65세 초과인 인간 개체 중에서 발생률이 적어도 1.5배 더 높은 질환 또는 장애이다. 연령-관련 장애의 예는 근육감소증, 피부 위축, 비저혈관증, 지루각화증, 뇌위축(치매로도 지칭됨), 죽상동맥경화증, 동맥경화증, 폐기종, 골다공증, 골관절염, 고혈압, 발기부전, 백내장, 황반변성, 녹내장, 뇌졸중, 뇌혈관질환(뇌졸중), 만성 신장병, 당뇨병-연관 신장병, 손상된 간 기능, 간 섬유증, 자가면역 간염, 자궁내막 증식증, 대사기능장애, 신혈관 질환, 청력손실, 운동성 장애(예를 들어, 노쇠), 인지력 감퇴, 힘줄 강직, 심장 기능장애, 예컨대 심비대 및/또는 수축기 및/또는 확장기 기능장애 및/또는 고혈압, 박출물의 감소를 초래하는 심장 기능장애, 면역성 노화, 파킨슨병, 알츠하이머병, 암, 면역감시의 감소에 기인하여 암을 야기하는 면역노화, 면역기능의 감소에 기인하는 감염, 만성 폐쇄성 폐질환(COPD), 비만, 미각 상실, 후각 상실, 관절염, 및 당뇨병으로부터 생기는 합병증, 예컨대 신부전, 실명 및 신경병증을 포함하는 II형 당뇨병을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0168] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 대상체가 생물학적으로, 의학적으로 또는 삶의 질에 있어서 치료로부터 이익을 얻는 경우, 대상체는 이러한 치료를 "필요로 한다".

[0169] 본 명세서에 기재된 모든 방법은 본 명세서에 달리 나타내지 않거나 문맥에 의해 달리 명백히 모순되지 않는 한 임의의 적합한 순서로 수행될 수 있다. 본 명세서에 제공된 일체의 예 또는 예시적인 표현(예를 들어, "예컨대")의 사용은 단지 본 개시내용을 보다 잘 설명하고자 한 것으로, 달리 청구된 본 개시내용의 범위를 제한하지 않는다.

[0170] 본 개시내용의 화합물(들)의 임의의 비대칭 원자(예를 들어, 탄소 등)는 라세미체로, 또는 거울상이성질체가 풍부한, 예를 들어 (R)-, (S)- 또는 (R,S)- 입체배치로 존재할 수 있다. 특정 실시형태에서, 각각의 비대칭 원자는 (R)- 또는 (S)- 입체배치에서 적어도 50% 거울상이성질체 과잉, 적어도 60% 거울상이성질체 과잉, 적어도 70% 거울상이성질체 과잉, 적어도 80% 거울상이성질체 과잉, 적어도 90% 거울상이성질체 과잉, 적어도 95% 거울상이성질체 과잉, 또는 적어도 99% 거울상이성질체 과잉을 갖는다. 불포화 이중 결합을 갖는 원자에서 치환기는, 가능한 경우, 시스- (Z)- 또는 트랜스- (E)- 형태로 존재할 수 있다.

[0171] 따라서, 본 명세서에 사용되는 바와 같이 본 개시내용의 화합물은 가능한 입체이성질체, 회전이성질체, 회전장애이성질체, 호변이성질체 또는 이의 혼합물 중 하나의 형태로, 예를 들어, 실질적으로 순수한 기하(시스 또는 트랜스) 입체이성질체, 부분입체이성질체, 광학 이성질체(거울상체), 라세미체 또는 이의 혼합물로서 존재할 수

있다.

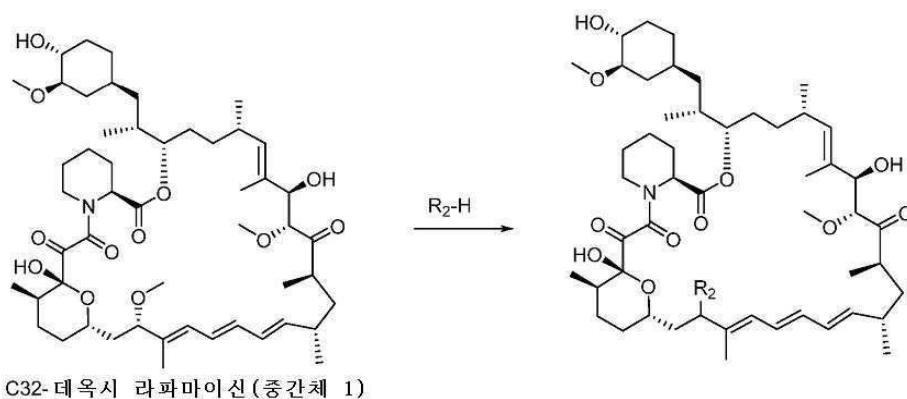
[0172] 입체이성질체의 임의의 생성된 혼합물은 구성성분의 물리화학적 차이를 기반으로 하여, 예를 들어, 크로마토그래피 및/또는 분별 결정에 의해 순수하거나 실질적으로 순수한 기하 또는 광학 이성질체, 부분입체이성질체, 라세미체로 분리될 수 있다.

[0173] 본 개시내용의 화합물 또는 중간체의 임의의 생성된 라세미체는 공지의 방법에 의해, 예를 들어, 광학적으로 활성인 산 또는 염기로 얻어진 이의 부분입체이성질체 염의 분리, 및 광학적으로 활성인 산 또는 염기 화합물을 유리시키는 것에 의해 광학적 거울상체로 분할될 수 있다. 특히, 예를 들어, 광학적으로 활성인 산, 예를 들어, 타르타르산, 디벤조일 타르타르산, 디아세틸 타르타르산, 디-*O,O'*-*p*-톨루오일 타르타르산, 만델산, 말산 또는 캄포-10-술폰산으로 형성된 염의 분별 결정에 의해, 본 개시내용의 화합물을 이들의 광학적 거울상체로 분할하기 위해 염기성 모이머가 이와 같이 이용될 수 있다. 본 개시내용의 라세미 화합물 또는 라세미 중간체는 또한 키랄 크로마토그래피, 예를 들어, 키랄 흡착제를 이용하는 고압 액체 크로마토그래피(HPLC)에 의해 분할될 수 있다.

[0174] 화학식 I의 화합물의 제조 방법

[0175] 다른 양상에서, 본 개시내용은 화학식 I, 화학식 I-A 및 화학식 I-B의 화합물 생성 과정을 제공한다. 화학식 I, 화학식 I-A 및 화학식 I-B의 화합물은 **반응식 1, 2 및 3**에 기재된 바와 같은 다음의 과정에 따라 제조될 수 있다:

[0176] **반응식 1:**



[0177]

[0178] 화학식 I의 화합물(R_2 가 화학식 I 하에 정의된 바와 같음)은 치환 반응을 위한 적합한 시약, 예를 들어, *p*-톨루엔설폰산의 존재 하에, 예를 들어, 디클로로메탄의 존재 하에 C32-테옥시 라파마이신(중간체 1)을 R_2 -H(여기서, R_2 는 화학식 I 하에 정의된 바와 같음)와 반응시킴으로써 반응시킴으로써 얻을 수 있다. 적합한 조건은 다음과 같다:

[0179] 1) R_2 -H, *p*-톨루엔설폰산- H_2O , 디클로로메탄, 실온

[0180] 2) R_2 -H, 트라이플루오로아세트산, $-40^\circ C$, 디클로로메탄(유럽 특허 제1212331B1호 참조)

[0181] 3) R_2 -H, 5M $LiClO_4$, Et_2O (0.1M), 실온(TL, 1995, 43, 7823 참조)

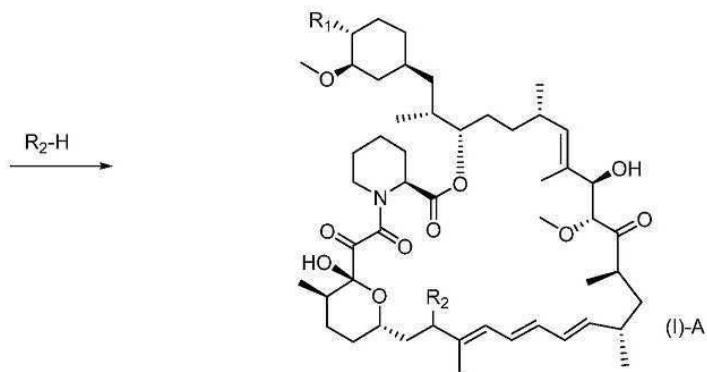
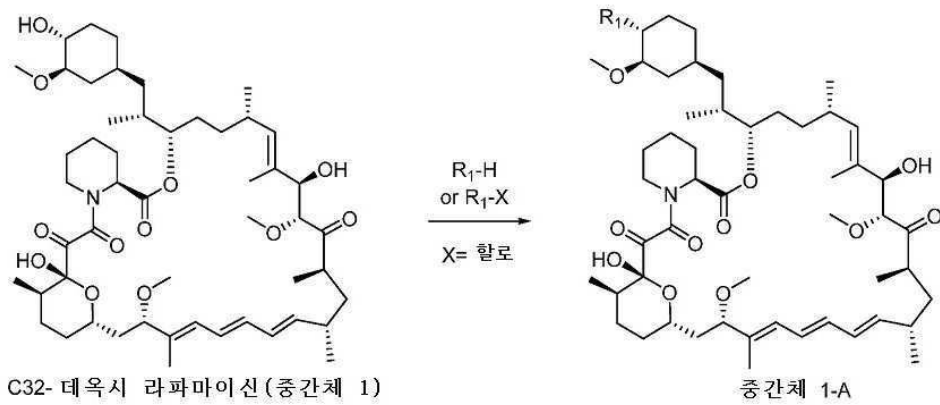
[0182] 4) R_2 -H, Cp_2HfCl_2 - $AgClO_4$ (스즈키 촉매), 4A MS, 디클로로메탄, 실온(TL, 1995, 43, 7823 참조)

[0183] 5) R_2 -H, $BF_3 \cdot OEt_2$ 또는 $Zn(OTf)_2$, THF, $0^\circ C$ (TL, 1994, 37, 6835 참조)

[0184] 6) R_2 -H, $ZnCl_2$, 디클로로메탄, $0^\circ C$ (JOC, 1994, 59, 6512 참조).

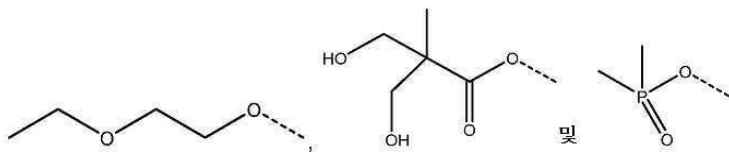
[0185] 출발물질로서 사용되는 C32-테옥시 라파마이신은 당업계에 공지된 방법에 의해, 예를 들어, 미국 특허 공개 제 005985890호 또는 W02007085400에 기재되어 있는 바와 같이 제조될 수 있다.

[0186] 반응식 2:



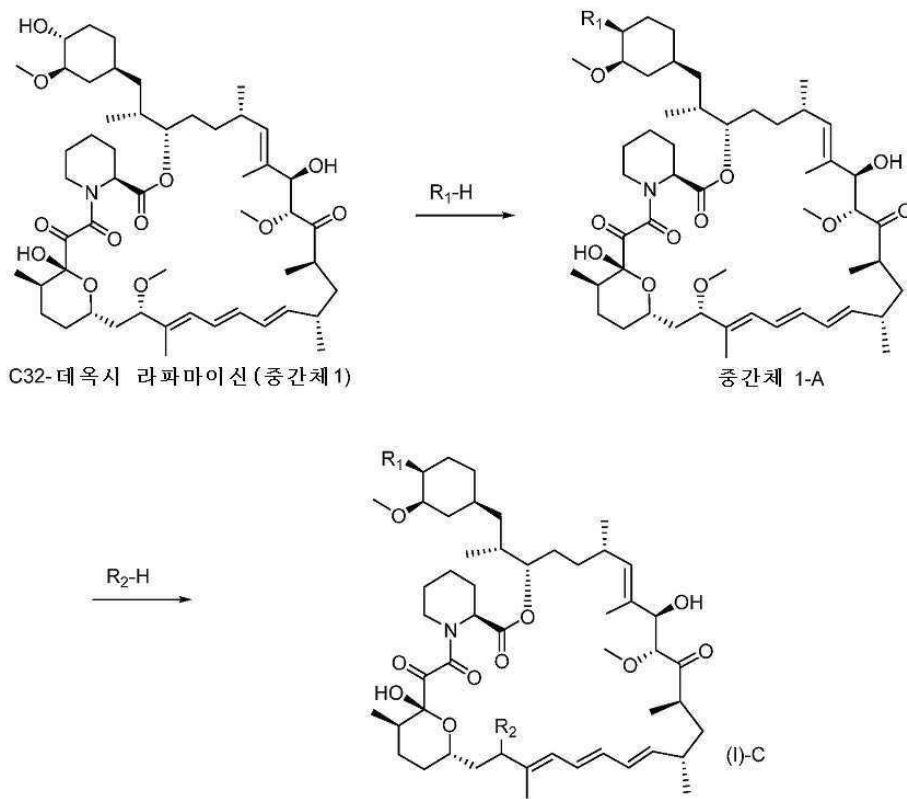
[0187]

[0188] 화학식 I-A의 화합물(R₁은

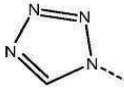


로부터 선택되고, R₂는 화학식 I 하에 정의된 바와 같음)은 중간체 1을 R₁-H 또는 R₁-X와 반응시킨 후에 R₂-H와 반응시킴으로써 얻을 수 있다. 실시형태에서, 중간체 1은 R₁-H 또는 R₁-X와 알킬화, 포스핀화(phosphination) 또는 에스테르화 조건 하에 반응되어 중간체 1-A를 제공한다. 실시형태에서, 중간체 1-A는 치환 반응 조건 하에, 예를 들어, 본 명세서에 제공된 바와 같이 R₂-H와 반응되어, 화학식 I-A의 화합물을 얻는다.

[0189] 반응식 3:



[0190]

[0191] 화학식 I-C의 화합물(R_1 은  이고; R_2 는 화학식 I 하에 정의된 바와 같음)은 중간체 1을 R_1-H 와 반응시킨 다음에 R_2-H 와 반응시킴으로써 얻을 수 있다. 실시형태에서, 중간체 1은 활성화되고 친핵 조건 하에 반응되어 중간체 1-A를 제공한다. 실시형태에서, 중간체 1-A는, 예를 들어, 본 명세서에 제공된 바와 같은 치환 반응 조건 하에 R_2-H 와 반응되어 화학식 I-C의 화합물을 얻는다.

[0192] 반응은, 예를 들어 실시예에 기재된 바와 같은 통상적인 방법에 따라 달성될 수 있다.

[0193] 반응 혼합물의 워크업 및 이렇게 얻을 수 있는 화합물의 정제는 공지된 절차에 따라 수행될 수 있다.

[0194] 산 부가 염은 공지된 방식으로 유리 염기로부터 생성될 수 있고, 그 반대일 수 있다.

[0195] 출발 물질은 공지되어 있거나 또는, 예를 들어 실시예에 기재된 바와 같이 공지된 화합물로부터 시작해서 통상적인 절차에 따라 제조될 수 있다.

[0196] 다른 양상에서, 본 개시내용은 본 개시내용의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 및 약제학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다. 추가의 실시형태에서, 조성물은 적어도 2종의 약제학적으로 허용 가능한 담체, 예를 들어 본 명세서에 기술된 것들을 포함한다. 약제학적 조성물은 경구 투여, 비경구 투여(예를 들어, 주사, 주입, 경피 또는 국소 투여에 의함), 및 직장 투여와 같은 특정 투여 경로를 위해 제형화될 수 있다. 국소 투여는 또한, 흡입 또는 비강내 적용과 관련될 수 있다. 본 개시내용의 약제학적 조성물은 고체 형태(캡슐, 정제, 환제, 과립제, 산제 또는 좌제를 제한 없이 포함함), 또는 액체 형태(용액, 현탁액 또는 에멀션을 제한 없이 포함함)로 제조될 수 있다. 정제는 당업계에 알려진 방법에 따라 필름 코팅되거나 장용 코팅될 수 있다. 전형적으로, 약제학적 조성물은 다음 중 1종 이상과 함께 활성 성분을 포함하는 정제 또는 젤라틴 캡슐이다:

[0197] a) 희석제, 예를 들어, 락토오스, 텍스트로오스, 수크로오스, 만니톨, 소르비톨, 셀룰로오스 및/또는 글리신;

[0198] b) 활택제, 예를 들어, 실리카, 탈크, 스테아르산, 이의 마그네슘 또는 칼슘 염 및/또는 폴리에틸렌글리콜; 정

제에 대해서는 또한

- [0199] c) 결합제, 예를 들어, 마그네슘 알루미늄 실리케이트, 전분 풀, 젤라틴, 트라가칸트, 메틸셀룰로오스, 카르복시메틸셀룰로오스 나트륨 및/또는 폴리비닐피롤리돈; 요망되는 경우
- [0200] d) 봉해제, 예를 들어, 전분, 한천, 알긴산 또는 이의 나트륨염, 또는 발포 혼합물; 및
- [0201] e) 흡착제, 착색제, 풍미제 및 감미제.
- [0202] 본 개시내용의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염은 또한 약물-용리 스텐트, 즉, 본 개시내용의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염으로 코팅된 스텐트의 형태일 수 있다.
- [0203] 유리 형태 또는 약제학적으로 허용 가능한 염 형태의 본 개시내용의 화합물은 가치있는 약리학적 특성, 예를 들어 mTOR 경로 조절 특성, 예를 들어 다음의 부문에서 제공되는 시험관내 및 생체내 시험에서 나타난 바와 같은 특성을 나타내며, 따라서 치료 또는 연구용 화학물질, 예를 들어 도구 화합물로서의 용도가 시사된다.
- [0204] mTORC1 저해제의 효능을 측정하는 방법은 당업계에 잘 공지되어 있다. 일반적으로, 효능은 mTORC1 신호전달 경로에 있는 S6의 인산화의 저해를 결정함으로써 측정되는 IC50 값에 의해 결정된다. mTORC1 저해제의 IC50 값은 동일한 분석에서의 라파마이신의 IC50 값과 비교된다. 특정 상황에서 mTORC1 활성의 부분적 저해만을 더 용이하게 달성하기 위해, 혈액 농도/효능 관계의 미조정(fine-tuning)에 도움을 주는 혈류 내 분자를 측정하는 능력을 개선시키기 위해(보다 높은 농도는 더 강력한 분자에 필수적이기 때문), 동일한 분석에서 라파마이신의 IC50 값의 100배 이내인 IC50 값을 갖는 mTORC1 저해제는 본 개시내용에서 사용하기에 적합하다(이는 덜 강력한 라팔로그가 여전히 바람직할 수도 있다는 것을 의미함).
- [0205] mTOR 저해제의 효능을 측정하기 위한 적합한 분석은, 예를 들어, 미국 특허 제5,665,772호에서 MLR(혼합 림프구 반응) 분석에서 그리고/또는 IL-6(인터류킨-6)-의존적 매개 증식 분석에서 IC50 값에 의해 측정하는 것과 같이 기재된다.
- [0206] MLR 분석은 전형적으로 다음과 같이 수행된다: Balb/c 마우스(암컷, 8 내지 10주)로부터의 비장 세포(0.5×10^6)는 CBA 마우스(암컷, 8 내지 10주)로부터의 0.5×10^6 개의 방사선 조사된(2000 rad) 또는 미토마이신 C 처리 비장 세포와 함께 5일 동안 공동 인큐베이션된다. 방사선 조사된 동종이계 세포는 Balb/c 비장 세포에서 증식 반응을 유도하는데, 이는 표지된 전구체를 DNA에 혼입시킴으로써 측정될 수 있다. 자극 세포를 방사선 조사(또는 미토마이신 C 처리)한 이후로, 그들은 증식하는 Balb/c 세포에 반응하지는 않지만, 그들의 항원성을 유지한다. Balb/c 세포에 대해 시험한 화합물의 항증식 효과는 다양한 희석으로 측정되고, 세포 증식의 50% 저해를 초래하는 농도(IC50)가 계산된다. 시험 샘플의 저해 능력은 라파마이신과 비교되고 상대적 IC50(즉, IC50 시험 샘플/IC50 라파마이신)으로서 표현될 수 있다.
- [0207] IL-6 매개된 증식 분석은 전형적으로 다음과 같이 수행된다: 분석은 인터류킨-6 (IL-6)-의존적 마우스 혼성 세포주를 사용하며, 96-웰 미량정량관에서 수행된다. 5000개의 세포/웰은 1 ng 재조합 IL-6/ml로 보충한 무혈청 배지(문헌[M. H. Schreier and R. Tees in Immunological Methods, I. Lefkovits and B. Pernis, eds., Academic Press 1981. Vol. II, pp. 263-275]에 기재된 바와 같음)에서 배양된다. 시험 샘플의 부재 또는 존재 하에 66시간 인큐베이션 후에, 세포를 다시 6시간 동안 1 μ Ci (3-H)-티미딘/웰로 펄싱하고, 채취 후에 액체 신틸레이션에 의해 계수한다. DNA 내로 (3-H)-티미딘 혼입은 세포 수의 증가와 상관관계가 있으며, 따라서 세포 증식의 측정이다. 시험 샘플의 연속 희석은 세포 증식의 50% 저해를 초래하는 농도(IC50)의 계산을 가능하게 한다. 시험 샘플의 저해 능력은 라파마이신과 비교되고 상대적 IC50(즉, IC50 시험 샘플/IC50 라파마이신)으로서 표현될 수 있다.
- [0208] mTOR 저해제의 효능은 또한 MEF TSC1-/- 세포 기반 분석을 이용하여 결정될 수 있다. MEF TSC1-/- 세포는 mTORC1 신호전달을 음성 조절하는 결절성 경화증 단백질인 TSC1이 결핍된 마우스 배아 섬유아세포이다. 따라서, TSC1의 결핍은 구성적 mTORC1 활성화를 유도하여, mTORC1 신호전달 경로에서 하류의 단백질의 인산화(활성화)를 초래한다. 이런 세포 기반 분석은 라팔로그 또는 다른 mTOR 저해제에 의한 mTORC1 신호전달 성분 S6 및 4EBP1의 저해(탈인산화)를 측정하는 데 사용된다.
- [0209] 분석은 전형적으로 다음과 같이 수행된다: MEF TSC1-/- 세포는 폴리-D-리신 코팅된 384 웰 그리에너(Griener) 투명 바닥 플레이트 상에 플레이팅시키고, 밤새 37°C, 5%CO2에서 인큐베이션시킨다. 다음날에, 세포는 "심하게 굶긴(Hard starve)" 용액(1ℓ DPBS + 1g D - (+) 글루코스 + 10 ml의 7.5% 중탄산나트륨 + 20 ml의 1M HEPES)으로 8회 세척하고 나서, 동일한 용액에서 추가 2시간 동안 인큐베이션시킨다. 세포를 다음에 농도를 감

소시키면서(3.16배 희석 시 8점) 화합물로 처리하고, 2시간 동안 37℃, 5% CO₂에서 인큐베이션시킨다. 세포를 4% 파라포름알데히드로 30분 동안 고정시키고, TBS-EDTA로 5회 세척한 후에 pS6 및 p4EBP1에 대해 형광 태그 표지된 항체로 면역 염색하였다. 핵색소(Hoechst) 염색으로 핵을 시각화한다. 각각의 형광 통로를 이용하여 세포를 영상화하고, mTOR 저해제의 효능을 pS6 IC₅₀(nM)에 의해 정한다.

- [0210] 질환 및 장애
- [0211] 본 개시내용의 화합물은 하기로부터 선택되는 적응증 또는 전구 병태의 예방 또는 치료에서 유용할 수 있다:
- [0212] - 급성 또는 만성 기관 또는 조직 이식 거부;
- [0213] - 이식 혈관염;
- [0214] - 혈관내막 비후, 혈관 폐색, 폐쇄성 관상동맥 죽상동맥경화증, 재협착증을 야기하는 평활근 세포 증식 및 이동;
- [0215] - 자가면역 질환 및 염증성 병태;
- [0216] - 천식의 치료 및 예방;
- [0217] - 다제약물 내성(MDR);
- [0218] - 진균 감염;
- [0219] - 염증;
- [0220] - 감염;
- [0221] - 연령-관련 질환;
- [0222] - 신경퇴행성 질환;
- [0223] - 증식성 장애, 특히 암;
- [0224] - 발작 및 발작 관련 장애;
- [0225] - 미토콘드리아 근병증 및 미토콘드리아 스트레스;
- [0226] - 연령-관련 질환을 발생시킬 가능성이 있는 것으로 나타난 치료 가능한 병태, 예컨대 시토카인(예를 들어, IL6)을 유도하는 노쇠의 증가가 있는 경우;
- [0227] - 섬유증 및/또는 염증 과정을 포함하는 장애, 예를 들어, 간 및 신장 장애. 예는 말기 간 질환에서 생기는 간 섬유증; 간경변증; 독성에 기인하는 간부전; 비알코올-연관 간 지방증 또는 NASH; 및 알코올-연관 지방증을 포함한다. 다른 예는 만성 신장병을 야기하는 급성 신장 손상의 결과로서 생기는 신장 섬유증이다. 또한, 당뇨병성 신장질환은 신장 섬유증 및 염증을 유도할 수 있다. 종종 신장 질환은 심부전을 야기하며, 혈압 증가의 결과로서, 이는 또한 심장 섬유증과 연관될 수 있다. 라팔로그는 심부전의 모델을 치료함에 있어서 전임상 효능을 가지며, 간 이식을 받은 환자에서 간 섬유증을 감소시키는 데 효과적이다(Buss, S.J. *et al.* Beneficial effects of Mammalian target of rapamycin inhibition on left ventricular remodeling after myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* (2009) 54(25): 2435-46; Buss, S.J. *et al.* Augmentation of autophagy by mTOR-inhibition in myocardial infarction: When size matters. *Autophagy.* (2010) 6(2):304-6; Villamil, F.G. *et al.* Fibrosis progression in maintenance liver transplant patients with hepatitis C recurrence: a randomized study of everolimus vs. calcineurin inhibitors. *Liver Int.* (2014) 34(10):1513-21).
- [0228] 급성 또는 만성 기관 또는 조직 이식 거부의 치료는, 예를 들어, 심장, 폐, 조합된 심장-폐, 간, 신장, 췌장, 피부 또는 각막 이식 수용자의 치료를 포함한다. 본 개시내용의 화합물은 또한, 예컨대 골수 이식 후 이식편대숙주병의 예방을 위해 지시된다.
- [0229] 이식 혈관염은 죽상동맥경화증을 포함한다.
- [0230] 자가면역 질환 및 염증성 병태는 특히 자가면역 요소, 예컨대 관절염(예를 들어 류마티스 관절염, 선형 만성 관절염 및 변형성 관절염) 및 류마티스성 질환을 비롯한 병인을 갖는 염증성 병태를 포함한다. 화학식 I, 화학식 I-A, 화학식 I-B 및 화학식 I-C의 화합물이 사용될 수 있는 특정 자가면역 질환은 자가면역 혈액장애(예를

들어, 용혈성 빈혈, 재생불량성 빈혈, 순적혈구 빈혈 및 특발성 혈소판 감소증을 포함), 전신 홍반 루프스, 다발연골염, 경화증, 베게너 육아종증, 피부근육염, 만성 활동성 간염, 중증근무력증, 건선, 스티븐-존슨 증후군, 특발 스프루, 자가면역 염증성 장 질환(예를 들어, 궤양성 대장염 및 크론병을 포함) 내분비 눈병증, 그레이브스병, 사르코이드증, 다발성 경화증, 원발성 담즙성 경변증, 소아 당뇨병(I형 진성 당뇨병), 포도막염(전측 및 후측), 건성각결막염 및 봄철 각결막염, 간질성 폐 섬유증, 건선 관절염, 사구체신염(예를 들어, 특발성 신증후군 또는 최소 변화 신증을 비롯한, 신증후군을 동반하는 사구체 신염 및 이들을 동반하지 않는 사구체신염) 및 청소년 피부근육염을 포함한다.

[0231] 다제약물내성(multi-drug resistance: MDR)의 치료는 다제약물 내성 병태, 예컨대 다제약물 내성암 또는 다제약물 내성 AIDS의 치료 및 제어에서 다른 화학치료제의 효능을 향상시키는 것을 포함한다. MDR은 의약품 Pgp에 의해 세포 밖으로 펌핑되기 때문에 통상적인 화학요법에 반응하지 않는 암 환자 및 ADS 환자에서 특히 문제가 된다.

[0232] 감염은 Mip 또는 Mip-유사 인자를 갖는 병원균에 의한 감염을 포함한다.

[0233] 연령-관련 질환은 하기를 포함한다: 근육감소증, 피부 위축, 버찌혈관증, 지루각화증, 뇌위축(치매로도 지칭됨), 죽상동맥경화증, 동맥경화증, 폐기종, 골다공증, 골관절염, 고혈압, 발기부전, 백내장, 황반변성, 녹내장, 뇌졸중, 뇌혈관질환(뇌졸중), 만성 신장병, 당뇨병-연관 신장병, 손상된 간 기능, 간 섬유증, 자가면역 간염, 자궁내막 증식증, 대사기능장애, 신혈관 질환, 청력손실, 운동성 장애(예를 들어, 노쇠), 인지력 감퇴, 힘줄 강직, 심장 기능장애, 예컨대 심비대 및/또는 수축기 및/또는 확장기 기능장애 및/또는 고혈압, 박출물의 감소를 초래하는 심장 기능장애, 면역성 노화, 파킨슨병, 알츠하이머병, 암, 면역감시의 감소에 기인하여 암을 야기하는 면역노화, 면역기능의 감소에 기인하는 감염, 만성 폐쇄성 폐질환(COPD), 비만, 미각 상실, 후각 상실, 관절염, 및 당뇨병으로부터 생기는 합병증, 예컨대 신부전, 실명 및 신경병증.

[0234] 신경퇴행성 질환은 헌팅턴병, 파킨슨병, 3형 척수소뇌변성증, 알츠하이머병, 운동신경세포병 및 말초신경병증을 포함한다.

[0235] 증식성 장애는 암을 포함한다. 이러한 병태는 미국 특허 제9,669,032호에 열거된 것, 특히 신장암, 신세포암종, 결장직장암, 자궁 육종, 자궁내막 자궁암, 자궁내막암, 유방암, 난소암, 자궁경부암, 위암, 섬유육종, 췌장암, 간암, 흑색종, 백혈병, 다발성 골수종, 비인두 암, 전립선암, 폐암, 교모세포종, 방광암, 중피종, 두부암, 횡문근육종, 육종, 림프종 또는 경부암을 포함한다.

[0236] 발작 및 발작 관련 장애는 웨스트 증후군, 국소 피질 이형성증(FCD), 결절성 경화증 복합증(TSC), 소아 소발작 뇌전증, 소아의 양성 국소 근위축증, 청소년 근간대 뇌전증(JME), 측두엽 뇌전증, 전두엽 뇌전증, 난치성 뇌전증, 레녹스-가스토 증후군, 후두엽 뇌전증, 프로테우스 증후군, 반쪽 대뇌증 증후군(hemi-megalencephaly syndrome: HMEG), 거대뇌증 증후군(MEG), 대뇌증-모세혈관기형(MCAP) 및 대뇌증-다소뇌회증-다지증-수두증 증후군(MPPH)을 포함한다.

[0237] 미토콘드리아 근병증 및 미토콘드리아 스트레스는 문헌[Chinnery, P.F. (2015); EMBO Mol. Med. 7, 1503-1512; Koopman, W.J. et al., (2016); EMBO Mol. Med. 8, 311-327] 및 문헌[Young, M.J., and Yound and Copeland, W.C. 2016 Curr. Opin. Genet. Dev. 38, 52-62]에 기재되어 있는 바와 같은 미토콘드리아 장애이다.

[0238] 연령-관련 질환을 생성하는 것으로 나타난 치료 가능한 병태는 노쇠, 예를 들어, 면역성 노화를 포함할 가능성이 더 있다. 이는 (i) 시토카인, 예컨대 IL-6 순환의 증가에 의해서 뿐만 아니라 (ii) 근육, 신장, 간, 뇌, 뉴런, 간, 췌장 또는 심장에서 발견되는 노쇠 세포; 또한 (iii) 트랜스포존-암호화된 유전자를 포함하는 반복 요소의 전사 증가에 의해 나타날 수 있는 DNA-수선의 효율 감소에 의해 진단된다. 배경기술에 대해, 문헌[Baker, D. J. et al, Nature, 2016; 530(7589):184-9. doi: 10.1038/nature16932. Epub 2016 Feb 3.] 참조.

[0239] 치료 및 사용 방법

[0240] 본 개시내용은 치료에서의 용도를 위한 본 개시내용의 화합물의 용도를 제공한다. 추가 실시형태에서, 요법은 mTOR 경로의 조절에 의해 치료될 수 있는 질환 또는 장애 또는 동반이환으로부터 선택된다. 실시형태에서, 질환은 앞서 언급한 목록, 실시형태에서 연령-관련 질환, 예컨대 노인에서의 기도 감염-관련 이환율로부터 선택된다.

[0241] 본 개시내용은 요법에서의 용도를 위한 본 개시내용의 화합물을 제공한다. 추가 실시형태에서, 요법은 mTOR 경로의 조절에 의해 치료될 수 있는 질환으로부터 선택된다. 실시형태에서, 질환은 앞서 언급한 목록, 실시형태에

서 연령-관련 질환, 예컨대 노인에서의 기도 감염-관련 이환율로부터 선택된다.

- [0242] 본 개시내용은 의약의 제조를 위한 본 개시내용의 화합물의 용도를 제공한다. 추가 실시형태에서, 의약은 mTOR 경로의 조절에 의해 치료될 수 있는 질환의 예방 또는 치료를 위한 것이다. 실시형태에서, 질환은 앞서 언급한 목록, 실시형태에서 연령-관련 질환, 예컨대 노인에서의 기도 감염-관련 이환율로부터 선택된다.
- [0243] 일 양상에서, 본 개시내용은 mTOR 경로에 의해 매개되는 장애 또는 질환의 치료가 필요한 대상체에서의 이러한 장애 또는 질환의 치료 방법을 제공하며, 상기 방법은 대상체에게 치료적 유효량의 화학식 I, 화학식 I-A, 화학식 I-B 및 화학식 I-C의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 화학식 I, 화학식 I-A, 화학식 I-B 및 화학식 I-C의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 약제학적 조성물, 또는 화학식 I, 화학식 I-A, 화학식 I-B 및 화학식 I-C의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 약제학적 조합물을 투여하는 단계를 포함한다.
- [0244] 일 양상에서, 본 개시내용은 대상체에서의 질환 또는 장애의 치료 방법을 제공하되, 질환 또는 장애의 병리와 연관된 표적 조직 또는 기관은 mTORC1을 저해하는 데 충분한 FKBP12 수준을 갖고, 상기 방법은 질환 또는 장애의 치료가 필요한 대상체에게 치료적 유효량의 화학식 I, 화학식 I-A, 화학식 I-B 및 화학식 I-C의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 화학식 I, 화학식 I-A, 화학식 I-B 및 화학식 I-C의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 약제학적 조성물, 또는 화학식 I, 화학식 I-A, 화학식 I-B 및 화학식 I-C의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 약제학적 조합물을 투여하는 단계를 포함한다.
- [0245] 일 양상에서, 본 개시내용은 mTORC1을 저해하는 데 충분한 FKBP12 수준을 갖거나 또는 갖는 것으로 이전에 결정된 대상체에서 질환 또는 장애를 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 이러한 치료가 필요한 대상체에게 치료적 유효량의 화학식 I, 화학식 I-A, 화학식 I-B 및 화학식 I-C의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 화학식 I, 화학식 I-A, 화학식 I-B 및 화학식 I-C의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 약제학적 조성물, 또는 화학식 I, 화학식 I-A, 화학식 I-B 및 화학식 I-C의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 약제학적 조합물을 투여하는 단계를 포함한다.
- [0246] 실시형태에서, 질환 또는 장애는 근육감소증, 피부 위축, 버찌혈관증, 지루각화증, 뇌위축, 족상동맥경화증, 동맥경화증, 폐기종, 골다공증, 골관절염, 고혈압, 발기부전, 백내장, 황반변성, 녹내장, 뇌졸중, 뇌혈관질환(뇌졸중), 만성 신장병, 당뇨병-연관 신장병, 손상된 간 기능, 간 섬유증, 자가면역 간염, 자궁내막 증식증, 대사 기능장애, 신혈관 질환, 청력손실, 운동성 장애, 인지력 감퇴, 힘줄 강직, 심장 기능장애, 예컨대 심비대 및/또는 수축기 및/또는 확장기 기능장애 및/또는 고혈압, 박출물의 감소를 초래하는 심장 기능장애, 면역성 노화, 파킨슨병, 알츠하이머병, 암, 면역감시의 감소에 기인하여 암을 야기하는 면역노화, 면역기능의 감소에 기인하는 감염, 만성 폐쇄성 폐질환(COPD), 비만, 미각 상실, 후각 상실, 관절염, 및 당뇨병으로부터 생기는 합병증, 예컨대 신부전, 실명 및 신경병증을 포함하는 II형 당뇨병으로부터 선택된다.
- [0247] 실시형태에서, 장애는 간 섬유증이다.
- [0248] 일 양상에서, 본 개시내용은 질환 또는 장애의 치료가 필요한 대상체에서의 장애 또는 질환의 치료 방법을 제공하며, 상기 방법은 대상체에게 치료적 유효량의 화학식 I, 화학식 I-A, 화학식 I-B 및 화학식 I-C의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 화학식 I, 화학식 I-A, 화학식 I-B 및 화학식 I-C의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 약제학적 조성물, 또는 화학식 I, 화학식 I-A, 화학식 I-B 및 화학식 I-C의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 약제학적 조합물을 투여하는 단계를 포함하되, 장애 또는 질환은 하기로부터 선택된다:
- [0249] - 급성 또는 만성 기관 또는 조직 이식 거부;
- [0250] - 이식 혈관염;
- [0251] - 혈관내막 비후, 혈관 폐색, 폐쇄성 관상동맥 죽상동맥경화증, 재협착증을 야기하는 평활근 세포 증식 및 이동;
- [0252] - 자가면역 질환 및 염증성 병태;
- [0253] - 천식의 치료 및 예방;
- [0254] - 다제약물 내성(MDR);
- [0255] - 진균 감염;

- [0256] - 염증;
- [0257] - 감염;
- [0258] - 연령-관련 질환;
- [0259] - 신경퇴행성 질환;
- [0260] - 증식성 장애, 특히 암;
- [0261] - 발작 및 발작 관련 장애; 및
- [0262] - 미토콘드리아 근병증 및 미토콘드리아 스트레스.
- [0263] 실시형태에서, 장애는 섬유증 및/또는 염증 과정을 포함하는 장애이다.
- [0264] 실시형태에서, 장애는 간 및 신장 장애로부터 선택된다.
- [0265] 실시형태에서, 간 장애는 말기 간 질환에서 생기는 간 섬유증; 간경변증; 독성에 기인하는 간부전; 비알코올-연관 간 지방증 또는 NASH; 및 알코올-연관 지방증으로부터 선택된다.
- [0266] 실시형태에서, 신장 장애는 신장 섬유증이다.
- [0267] 실시형태에서, 신장 섬유증은 급성 신장 손상의 결과로서 생긴다.
- [0268] 실시형태에서, 신장 장애는 만성 신장 장애이다.
- [0269] 실시형태에서, 신장 장애는 당뇨병성 신장질환이다.
- [0270] 일 양상에서, 본 개시내용은 연령-관련 장애 또는 질환의 치료가 필요한 대상체에서 이러한 장애 또는 질환을 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 대상체에게 치료적 유효량의 화학식 I, 화학식 I-A, 화학식 I-B 및 화학식 I-C의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 화학식 I, 화학식 I-A, 화학식 I-B 및 화학식 I-C의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 약제학적 조성물, 또는 화학식 I, 화학식 I-A, 화학식 I-B 및 화학식 I-C의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 약제학적 조합물을 투여하는 단계를 포함하되, 장애 또는 질환은 근육감소증, 피부 위축, 버찌혈관증, 지루각화증, 뇌위축, 즉상동맥경화증, 동맥경화증, 폐기종, 골다공증, 골관절염, 고혈압, 발기부전, 백내장, 황반변성, 녹내장, 뇌졸중, 뇌혈관질환(뇌졸중), 만성 신장병, 당뇨병-연관 신장병, 손상된 간 기능, 간 섬유증, 자가면역 간염, 자궁내막 증식증, 대사기능장애, 신혈관 질환, 청력손실, 운동성 장애, 인지력 감퇴, 힘줄 강직, 심장 기능장애, 예컨대 심비대 및/또는 수축기 및/또는 확장기 기능장애 및/또는 고혈압, 박출률의 감소를 초래하는 심장 기능장애, 면역성 노화, 파킨슨병, 알츠하이머병, 암, 면역감시의 감소에 기인하여 암을 야기하는 면역노화, 면역기능의 감소에 기인하는 감염, 만성 폐쇄성 폐질환(COPD), 비만, 미각 상실, 후각 상실, 관절염, 및 당뇨병으로부터 생기는 합병증을 포함하는 II형 당뇨병, 예컨대 신부전, 실명 및 신경병증으로부터 선택된다.
- [0271] 일 양상에서, 본 개시내용은 대상체에서의 암 치료 방법을 제공하며, 상기 방법은 대상체에게 치료적 유효량의 화학식 I, 화학식 I-A, 화학식 I-B 및 화학식 I-C 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 화합물, 화학식 I, 화학식 I-A, 화학식 I-B 및 화학식 I-C의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 약제학적 조성물, 또는 화학식 I, 화학식 I-A, 화학식 I-B 및 화학식 I-C의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 약제학적 조합물을 투여하는 단계를 포함한다.
- [0272] 실시형태에서, 상기 방법은 PD-1/PDL-1 저해제를 더 포함한다.
- [0273] 실시형태에서, 암은 신장암, 신세포암종, 결장직장암, 자궁 육종, 자궁내막 자궁암, 자궁내막암, 유방암, 난소암, 자궁경부암, 위암, 섬유육종, 췌장암, 간암, 흑색종, 백혈병, 다발성 골수종, 비인두암, 전립선암, 폐암, 교모세포종, 방광암, 중피종, 두부암, 횡문근육종, 육종, 림프종 및 경부암으로부터 선택된다.
- [0274] 일 양상에서, 본 개시내용은 의약으로서 사용하기 위한 화학식 I, 화학식 I-A, 화학식 I-B 및 화학식 I-C의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 화학식 I, 화학식 I-A, 화학식 I-B 및 화학식 I-C의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 약제학적 조성물, 또는 화학식 I, 화학식 I-A, 화학식 I-B 및 화학식 I-C의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 약제학적 조합물을 제공한다.
- [0275] 일 양상에서, 본 개시내용은 mTOR 경로에 의해 매개되는 장애 또는 질환의 예방 또는 치료에서의 용도를 위한, 화학식 I, 화학식 I-A, 화학식 I-B 및 화학식 I-C의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 화학식 I,

화학식 I-A, 화학식 I-B 및 화학식 I-C의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 약제학적 조성물, 또는 화학식 I, 화학식 I-A, 화학식 I-B 및 화학식 I-C의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 약제학적 조합물을 제공한다.

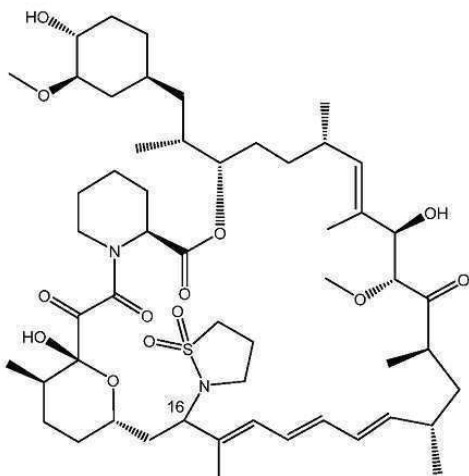
- [0276] 일 양상에서, 본 개시내용은 하기로부터 선택되는 장애 또는 질환의 예방 또는 치료에서의 용도를 위한, 화학식 I, 화학식 I-A, 화학식 I-B 및 화학식 I-C의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 화학식 I, 화학식 I-A, 화학식 I-B 및 화학식 I-C의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 약제학적 조성물, 또는 화학식 I, 화학식 I-A, 화학식 I-B 및 화학식 I-C의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 약제학적 조합물을 제공한다:
- [0277] - 급성 또는 만성 기관 또는 조직 이식 거부;
- [0278] - 이식 혈관염;
- [0279] - 혈관내막 비후, 혈관 폐색, 폐쇄성 관상동맥 죽상동맥경화증, 재협착증을 야기하는 평활근 세포 증식 및 이동;
- [0280] - 자가면역 질환 및 염증성 병태;
- [0281] - 천식의 치료 및 예방;
- [0282] - 다제약물 내성(MDR);
- [0283] - 진균 감염;
- [0284] - 염증;
- [0285] - 감염;
- [0286] - 연령-관련 질환;
- [0287] - 신경퇴행성 질환;
- [0288] - 증식성 장애, 특히 암;
- [0289] - 발작 및 발작 관련 장애;
- [0290] - 미토콘드리아 근병증 및 미토콘드리아 스트레스; 및
- [0291] - 연령-관련 질환을 발생시킬 가능성이 있는 것으로 나타난 치료 가능한 병태, 예컨대 시토카인을 유도하는 노쇠의 증가가 있는 경우.
- [0292] 일 양상에서, 본 개시내용은 섬유증 및/또는 염증 과정을 포함하는 장애 또는 질환의 예방 또는 치료에서의 용도를 위한, 화학식 I, 화학식 I-A, 화학식 I-B 및 화학식 I-C의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 화학식 I, 화학식 I-A, 화학식 I-B 및 화학식 I-C의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 약제학적 조성물, 또는 화학식 I, 화학식 I-A, 화학식 I-B 및 화학식 I-C의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 약제학적 조합물을 제공한다.
- [0293] 실시형태에서, 장애는 간 및 신장 장애로부터 선택된다.
- [0294] 실시형태에서, 간 장애는 말기 간 질환에서 생기는 간 섬유증; 간경변증; 독성에 기인하는 간부전; 비알코올-연관 간 지방증 또는 NASH; 및 알코올-연관 지방증으로부터 선택된다.
- [0295] 실시형태에서, 신장 장애는 급성 신장 손상의 결과로서 생기는 신장 섬유증이다.
- [0296] 실시형태에서, 신장 장애는 만성 신장 장애이다.
- [0297] 실시형태에서, 신장 장애는 당뇨병성 신장질환이다.
- [0298] 일 양상에서, 본 개시내용은 근육감소증, 피부 위축, 버찌혈관증, 지루각화증, 뇌위축(치매로도 지칭됨), 죽상동맥경화증, 동맥경화증, 폐기종, 골다공증, 골관절염, 고혈압, 발기부전, 백내장, 황반변성, 녹내장, 뇌졸중, 뇌혈관질환(뇌졸중), 만성 신장병, 당뇨병-연관 신장병, 손상된 간 기능, 간 섬유증, 자가면역 간염, 자궁내막 증식증, 대사기능장애, 신혈관 질환, 청력손실, 운동성 장애(예를 들어, 노쇠), 인지력 감퇴, 힘줄 강직, 심장 기능장애, 예컨대 심비대 및/또는 수축기 및/또는 확장기 기능장애 및/또는 고혈압, 박출물의 감소를 초래하는

심장 기능장애, 면역성 노화, 파킨슨병, 알츠하이머병, 암, 면역감시의 감소에 기인하여 암을 야기하는 면역노화, 면역기능의 감소에 기인하는 감염, 만성 폐쇄성 폐질환(COPD), 비만, 미각 상실, 후각 상실, 관절염, 및 당뇨병으로부터 생기는 합병증을 포함하는 II형 당뇨병, 예컨대 신부전, 실명 및 신경병증으로부터 선택되는 연령-관련 장애 또는 질환의 예방 또는 치료에서의 용도를 위한 화학식 I, 화학식 I-A, 화학식 I-B 및 화학식 I-C의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 화학식 I, 화학식 I-A, 화학식 I-B 및 화학식 I-C의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 약제학적 조성물, 또는 화학식 I, 화학식 I-A, 화학식 I-B 및 화학식 I-C의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 약제학적 조합물을 제공한다.

[0299] 일 양상에서, 본 개시내용은 암의 예방 또는 치료에서의 용도를 위한, 화학식 I, 화학식 I-A, 화학식 I-B 및 화학식 I-C의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 화학식 I, 화학식 I-A, 화학식 I-B 및 화학식 I-C의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 약제학적 조성물, 또는 화학식 I, 화학식 I-A, 화학식 I-B 및 화학식 I-C의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 약제학적 조합물을 제공한다.

[0300] 일 양상에서, 본 개시내용 신장암, 신세포암종, 결장직장암, 자궁 육종, 자궁내막 자궁암, 자궁내막암, 유방암, 난소암, 자궁경부암, 위암, 섬유육종, 췌장암, 간암, 흑색종, 백혈병, 다발성 골수종, 비인두 암, 전립선암, 폐암, 교모세포종, 방광암, 중피종, 두부암, 횡문근육종, 육종, 림프종 또는 경부암의 치료에서의 용도를 위한 화학식 I, 화학식 I-A, 화학식 I-B 및 화학식 I-C의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 화학식 I, 화학식 I-A, 화학식 I-B 및 화학식 I-C의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 약제학적 조성물, 또는 화학식 I, 화학식 I-A, 화학식 I-B 및 화학식 I-C의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 약제학적 조합물을 제공한다.

[0301] 실시형태에서, 본 개시내용은 연령-관련 질환, 예컨대 노인에서의 기도 감염 관련 이환율의 치료에서의 용도를 위한 화합물



[0302] 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 제공한다. 실시형태에서, 화합물은 (S)-C16-(1,1-디옥시도이소티아졸리딘-2-일)-C32-테옥소-라파마이신(실시예 1) 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이다. 실시형태에서, 화합물은 (R)-C16-(1,1-디옥시도이소티아졸리딘-2-일)-C32-테옥소-라파마이신(실시예 2) 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이다.

[0303] 실시형태에서, 장애 또는 질환는 하기로부터 선택된다:

[0304] - 급성 또는 만성 기관 또는 조직 이식 거부;

[0305] - 이식 혈관염;

[0306] - 혈관내막 비후, 혈관 폐색, 폐쇄성 관상동맥 죽상동맥경화증, 재협착증을 야기하는 평활근 세포 증식 및 이동;

[0307] - 자가면역 질환 및 염증성 병태;

[0308] - 천식의 치료 및 예방;

[0309] - 다제약물 내성(MDR);

- [0310] - 진균 감염;
- [0311] - 염증;
- [0312] - 감염;
- [0313] - 연령-관련 질환;
- [0314] - 신경퇴행성 질환;
- [0315] - 증식성 장애, 특히 암;
- [0316] - 발작 및 발작 관련 장애;
- [0317] - 미토콘드리아 근병증 및 미토콘드리아 스트레스; 및
- [0318] - 연령-관련 질환을 만드는 것으로 더 가능성있게 나타나는 치료 가능한 병태, 예컨대 시토카인(예를 들어, IL6)을 유도하는 노쇠의 증가가 있는 경우.
- [0319] 실시형태에서, 장애 또는 질환은 근육감소증, 피부 위축, 버찌혈관증, 지루각화증, 뇌위축(치매로도 지칭됨), 죽상동맥경화증, 동맥경화증, 폐기종, 골다공증, 골관절염, 고혈압, 발기부전, 백내장, 황반변성, 녹내장, 뇌졸중, 뇌혈관질환(뇌졸중), 만성 신장병, 당뇨병-연관 신장병, 손상된 간 기능, 간 섬유증, 자가면역 간염, 자궁 내막 증식증, 대사기능장애, 신혈관 질환, 청력손실, 운동성 장애(예를 들어, 노쇠), 인지력 감퇴, 힘줄 강직, 심장 기능장애, 예컨대 심비대 및/또는 수축기 및/또는 확장기 기능장애 및/또는 고혈압, 박출물의 감소를 초래하는 심장 기능장애, 면역성 노화, 파킨슨병, 알츠하이머병, 암, 면역감시의 감소에 기인하여 암을 야기하는 면역노화, 면역기능의 감소에 기인하는 감염, 만성 폐쇄성 폐질환(COPD), 비만, 미각 상실, 후각 상실, 관절염, 및 당뇨병으로부터 생기는 합병증을 포함하는 II형 당뇨병, 예컨대 신부전, 실명 및 신경병증으로부터 선택되는 연령-관련 장애 또는 질환이다.
- [0320] 실시형태에서, 장애 또는 질환은 섬유증 및/또는 염증 과정, 예를 들어, 간 및 신장 장애를 포함한다. 실시형태에서, 장애는 신장 장애이다. 실시형태에서, 장애는 간 장애이다. 예는 말기 간 질환에서 생기는 간 섬유증; 간 경변증; 독성에 기인하는 간부전; 비알코올-연관 간 지방증 또는 NASH; 및 알코올-연관 지방증을 포함한다. 다른 예는 만성 신장병을 야기하는 급성 신장 손상의 결과로서 생기는 신장 섬유증이다. 또한, 당뇨병성 신장 질환은 신장 섬유증 및 염증을 유도할 수 있다. 종종 신장 질환은 심부전을 야기하며, 혈압 증가의 결과로서, 이는 또한 심장 섬유증과 연관될 수 있다. 라팔로그는 심부전의 모델을 치료함에 있어서 전임상 효능을 가지며, 간 이식을 받은 환자에서 간 섬유증을 감소시키는 데 효과적이다.
- [0321] 화합물, 약제학적 조성물 또는 이들의 조합물의 치료적으로 유효한 투약량은 대상체의 종, 체중, 연령 및 개별 상태, 치료되는 장애 또는 질환 또는 이의 중증도에 따라 정해진다. 통상의 기술을 갖는 의사, 임상의 또는 수의사는 장애 또는 질환의 진행을 예방하거나, 치료하거나 억제하기 위해 필요한 각각의 활성 성분의 유효량을 용이하게 결정할 수 있다.
- [0322] 상기 열거된 투여량 특성은 포유류, 예를 들어, 마우스, 래트, 개, 원숭이 또는 분리된 기관, 조직 및 이의 조제물을 유리하게 사용한 시험관내 및 생체내 시험으로 입증 가능하다. 본 발명의 화합물은 용액, 예를 들어, 수용액의 형태로 시험관내, 그리고 경구로, 비경구로, 유리하게는 정맥내로, 예를 들어, 현탁액으로서, 또는 수용액으로 생체내 적용될 수 있다. 시험관내 투여량은 약 10^{-3} 몰 내지 10^{-9} 몰 농도 범위일 수 있다. 생체내 치료적 유효량은 투여의 경로에 따라 대상체당 약 0.1 내지 500 mg/kg, 또는 약 0.1 내지 500 mg/kg 범위일 수 있다.
- [0323] 본 개시내용의 화합물은 1종 이상의 다른 치료제와 동시에, 또는 전이나 후에 투여될 수 있다. 본 발명의 화합물은 동일하거나 상이한 투여 경로에 의해 별개로 투여되거나, 다른 작용제와 동일한 약제학적 조성물로 함께 투여될 수 있다. 치료제는, 예를 들어, 화학적 화합물, 펩티드, 항체, 항체 단편 또는 핵산으로, 이는 치료적으로 활성이거나 본 개시내용의 화합물과의 조합물로 환자에 투여 시 치료 활성을 증진시킨다.
- [0324] 실시형태에서, 본 개시내용은 요법에서 동시, 별개 또는 순차적 사용을 위한 조합 제제로서, 본 개시내용의 화합물 및 적어도 1종의 다른 치료제를 포함하는 제품을 제공한다. 실시형태에서, 요법은 mTOR의 부분적 또는 완전한 저해를 통한 질환 또는 병태의 치료이다. 조합 제제로서 제공되는 제품은 본 개시내용의 화합물 및 다른 치료제(들)를 동일한 약제학적 조성물에 함께 포함하는 조성물, 또는 본 개시내용의 화합물 및 다른 치료제

(들)를 별개의 형태로, 예를 들어 키트의 형태로 포함한다.

- [0325] 실시형태에서, 본 개시내용은 본 개시내용의 화합물 및 다른 치료제(들)를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다. 선택적으로, 약제학적 조성물은 상기 기재된 바와 같이, 약제학적으로 허용 가능한 담체를 포함할 수 있다.
- [0326] 실시형태에서, 본 개시내용은 2종 이상의 별개의 약제학적 조성물(이 중 적어도 하나는 본 개시내용의 화합물을 함유함)을 포함하는 키트를 제공한다. 일 실시형태에서, 키트는 상기 조성물을 별개로 보유하는 수단, 예를 들어 용기, 분리된 병, 또는 분리된 호일 팩킷을 포함한다. 이러한 키트의 예는, 정제, 캡슐 등을 포장하기 위해 전형적으로 사용되는 블리스터 팩이다.
- [0327] 본 개시내용의 키트는 상이한 투여 형태, 예를 들어, 경구 및 비경구 투여 형태를 투여하기 위해, 상이한 투여 간격으로 별개의 조성물을 투여하기 위해, 또는 서로에 대해 별개의 조성물을 적정하기 위해 사용될 수 있다. 순응성을 돕기 위해, 본 발명의 키트는 전형적으로 투여 지침을 포함한다.
- [0328] 본 개시내용의 병용 요법에서, 본 발명의 화합물 및 다른 치료제는 동일하거나 상이한 제조자에 의해 제조 및/또는 제형화될 수 있다. 게다가, 본 개시내용의 화합물 및 다른 치료제는 함께 병용 요법에 사용될 수 있다: (i) 의사에게 병용 제품을 배포하기 이전에(예를 들어 본 개시내용의 화합물 및 기타 치료제를 포함하는 키트의 경우); (ii) 투여 직전에 의사 자신에 의해(또는 의사의 지도 하에); (iii) 환자 자신 내에서, 예를 들어 본 개시내용의 화합물 및 기타 치료제를 순차적으로 투여하는 동안, 병용 요법제로 합쳐질 수 있다.
- [0329] 따라서, 본 개시내용은 mTOR의 부분적 또는 완전한 저해를 통해 질환 또는 병태를 예방하거나 또는 치료하기 위한 본 개시내용의 화합물의 용도를 제공하되, 의약은 다른 치료제와의 투여를 위해 제조된다. 본 발명은 또한 mTOR 저해에 의해 매개되는 질환 또는 병태를 예방하거나 또는 치료하기 위한 또 다른 치료제의 용도를 제공하되, 상기 약제는 본 개시내용의 화합물과 함께 투여된다.
- [0330] 본 개시내용은 또한 mTOR 저해에 의해 매개되는 질환 또는 병태를 예방하거나 또는 치료하는 방법에서의 용도를 위한 화학식 I, 화학식 I-A 및 화학식 I-B의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 제공하되, 본 개시내용의 화합물은 다른 치료제와의 투여를 위해 제조된다. 본 개시내용은 또한 mTOR 저해에 의해 매개되는 질환 또는 병태를 예방하거나 또는 치료하는 방법에서의 용도를 위한 다른 치료제를 제공하되, 다른 치료제는 화학식 I, 화학식 I-A 및 화학식 I-B의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염과의 투여를 위해 제조된다. 본 개시내용은 또한 mTOR 저해에 의해 매개되는 질환 또는 병태를 예방하거나 또는 치료하는 방법에서의 용도를 위한 화학식 I, 화학식 I-A 및 화학식 I-B의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 제공하되, 화합물은 다른 치료제와 함께 투여된다. 본 개시내용은 또한 mTOR 저해에 의해 매개되는 질환 또는 병태를 예방하거나 또는 치료하는 방법에서의 용도를 위한 다른 치료제를 제공하되, 다른 치료제는 화학식 I, 화학식 I-A 및 화학식 I-B의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염과 함께 투여된다.
- [0331] 본 개시내용은 또한 mTOR에 의해 매개되는 질환 또는 병태를 예방하거나 또는 치료하기 위한 화학식 I, 화학식 I-A 및 화학식 I-B의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 용도를 제공하되, 상기 환자는 다른 치료제로 이전에(예를 들어, 24시간 이내에) 치료된 적이 있다. 본 개시내용은 또한 mTOR에 의해 매개되는 질환 또는 병태를 예방하거나 또는 치료하기 위한 다른 치료제의 용도를 제공하되, 환자는 화학식 I, 화학식 I-A 및 화학식 I-B의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염으로 이전에(예를 들어, 24시간 이내에) 치료된 적이 있다.
- [0332] 다른 양상에서, 본 개시내용은 의약의 제조를 위한 화학식 I, 화학식 I-A 및 화학식 I-B의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 용도를 제공한다.
- [0333] 다른 양상에서, 본 개시내용은 mTOR 경로에 의해 매개되는 장애 또는 질환의 예방 또는 치료를 위한 의약의 제조를 위한 화학식 I, 화학식 I-A 및 화학식 I-B의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 용도를 제공한다.
- [0334] 다른 양상에서, 본 개시내용은 하기로부터 선택되는 장애 또는 질환의 예방 또는 치료를 위한 의약의 제조를 위한 화학식 I, 화학식 I-A 및 화학식 I-B의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 용도를 제공한다:
- [0335] - 급성 또는 만성 기관 또는 조직 이식 거부;
- [0336] - 이식 혈관염;
- [0337] - 혈관내막 비후, 혈관 폐색, 폐쇄성 관상동맥 죽상동맥경화증, 재협착증을 야기하는 평활근 세포 증식 및

이동;

- 자가면역 질환 및 염증성 병태;

- 천식의 치료 및 예방;

- 다제약물 내성(MDR);

- 진균 감염;

- 염증;

- 감염;

- 연령-관련 질환;

- 신경퇴행성 질환;

- 증식성 장애, 특히 암;

- 발작 및 발작 관련 장애;

- 미토콘드리아 근병증 및 미토콘드리아 스트레스; 및

- 연령-관련 질환을 발생시킬 가능성이 있는 것으로 나타난 치료 가능한 병태, 예컨대 시토키인을 유도하는 노쇠의 증가가 있는 경우.

다른 양상에서, 본 개시내용은 섬유증 또는 염증 과정을 포함하는 장애 또는 질환의 예방 또는 치료를 위한 의약의 제조를 위한 화학식 I, 화학식 I-A 및 화학식 I-B의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 용도를 제공한다.

실시형태에서, 장애는 간 및 신장 장애로부터 선택된다.

실시형태에서, 간 장애는 말기 간 질환에서 생기는 간 섬유증; 간경변증; 독성에 기인하는 간부전; 비알코올-연관 간 지방증 또는 NASH; 및 알코올-연관 지방증으로부터 선택된다.

실시형태에서, 신장 장애는 급성 신장 손상의 결과로서 생기는 신장 섬유증이다.

실시형태에서, 신장 장애는 만성 신장 장애이다.

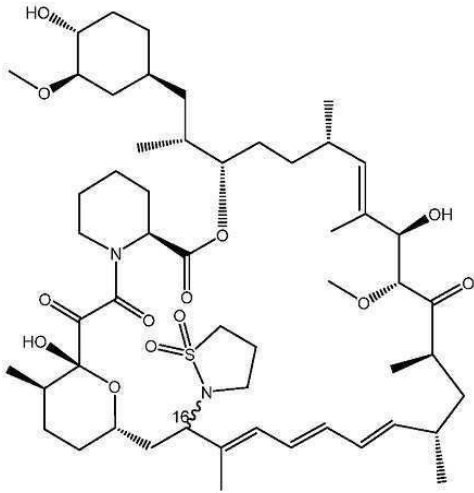
실시형태에서, 신장 장애는 당뇨병성 신장질환이다.

다른 양상에서, 본 개시내용은 근육감소증, 피부 위축, 버찌혈관증, 지루각화증, 뇌위축(치매로도 지칭됨), 죽상동맥경화증, 동맥경화증, 폐기종, 골다공증, 골관절염, 고혈압, 발기부전, 백내장, 황반변성, 녹내장, 뇌졸중, 뇌혈관질환(뇌졸중), 만성 신장병, 당뇨병-연관 신장병, 손상된 간 기능, 간 섬유증, 자가면역 간염, 자궁내막 증식증, 대사기능장애, 신혈관 질환, 청력손실, 운동성 장애, 인지력 감퇴, 힘줄 강직, 심장 기능장애, 예컨대 심비대 및/또는 수축기 및/또는 확장기 기능장애 및/또는 고혈압, 박출물의 감소를 초래하는 심장 기능장애, 면역성 노화, 파킨슨병, 알츠하이머병, 암, 면역감시의 감소에 기인하여 암을 야기하는 면역노화, 면역기능의 감소에 기인하는 감염, 만성 폐쇄성 폐질환(COPD), 비만, 미각 상실, 후각 상실, 관절염, 및 당뇨병으로부터 생기는 합병증을 포함하는 II형 당뇨병, 예컨대 신부전, 실명 및 신경병증으로부터 선택되는 연령-관련 장애 또는 질환의 예방 또는 치료를 위한 의약의 제조를 위한 화학식 I, 화학식 I-A 및 화학식 I-B의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 용도를 제공한다.

다른 양상에서, 본 개시내용은 암의 예방 또는 치료를 위한 의약의 제조를 위한 화학식 I, 화학식 I-A 및 화학식 I-B의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 용도를 제공한다.

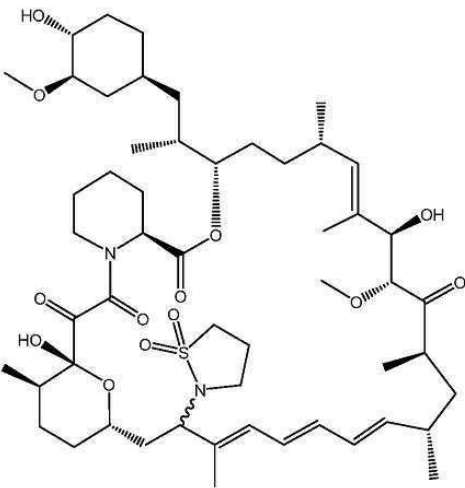
다른 양상에서, 본 개시내용은 신장암, 신세포암종, 결장직장암, 자궁 육종, 자궁내막 자궁암, 자궁내막암, 유방암, 난소암, 자궁경부암, 위암, 섬유육종, 췌장암, 간암, 흑색종, 백혈병, 다발성 골수종, 비인두 암, 전립선암, 폐암, 교모세포종, 방광암, 중피종, 두부암, 횡문근육종, 육종, 림프종 또는 경부암의 치료를 위한 의약의 제조를 위한 화학식 I, 화학식 I-A 및 화학식 I-B의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 용도를 제공한다.

특정 치료 유익을 제공할 수 있는 구체적 개개 조합은 화합물



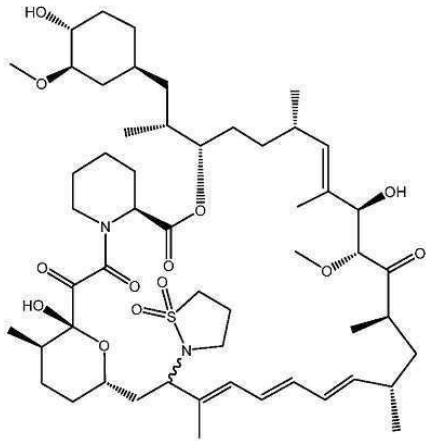
[0360] 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염과 촉매적 mTOR 저해제, 특히 상기 언급한 것의 조합을 포함한다. 실시형태에서, 화합물은 (S)-C16-(1,1-디옥시도이소티아졸리딘-2-일)-C32-테옥소-라파마이신(실시예 1) 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이다. 실시형태에서, 화합물은 (R)-C16-(1,1-디옥시도이소티아졸리딘-2-일)-C32-테옥소-라파마이신(실시예 2) 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이다.

[0361] 실시형태에서, 본 개시내용은 요법에서의 동시, 별개 또는 순차적 사용을 위한 조합된 제제로서 화합물



[0362] 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염과 촉매적 mTOR 저해제, 특히 상기 언급한 것을 포함하는 제품을 제공한다. 실시형태에서, 화합물은 (S)-C16-(1,1-디옥시도이소티아졸리딘-2-일)-C32-테옥소-라파마이신(실시예 1) 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이다. 실시형태에서, 화합물은 (R)-C16-(1,1-디옥시도이소티아졸리딘-2-일)-C32-테옥소-라파마이신(실시예 2) 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이다.

[0364] 실시형태에서, 본 개시내용은 화합물



[0365]

[0366]

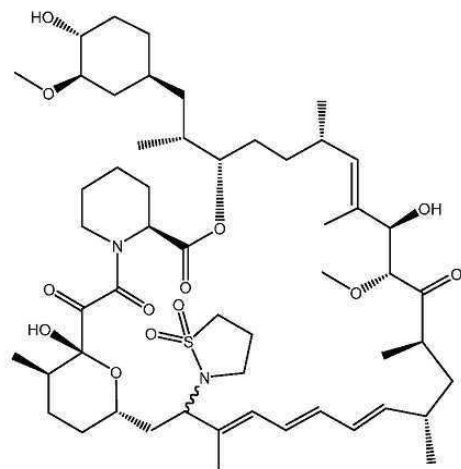
또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염과 축매적 mTOR 저해제, 특히 상기 언급한 것의 조합물, 및 약제학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다. 실시형태에서, 화합물은 (S)-C16-(1,1-디옥시도이소티아졸리딘-2-일)-C32-테옥소-라파마이신(실시예 1) 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이다. 실시형태에서, 화합물은 (R)-C16-(1,1-디옥시도이소티아졸리딘-2-일)-C32-테옥소-라파마이신(실시예 2) 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이다.

[0367]

실시형태에서, 다른 치료제는 CD4 림프구 고갈제(depleting agent), 예컨대 항-CD4 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 예컨대 인간화된 항-CD4 항체, 예를 들어, 자놀리무맙(zanolimumab)으로부터 선택된다. 이러한 치료제는 특히 증식성 장애, 특히 암의 치료를 위해 사용될 수 있다. 또한 이러한 병용요법에 대해 미국 특허 제 8,906,374호 및 미국 특허 제 9,427,463호 참조.

[0368]

특정 치료 유익을 제공할 수 있는 구체적 개개 조합은 화합물

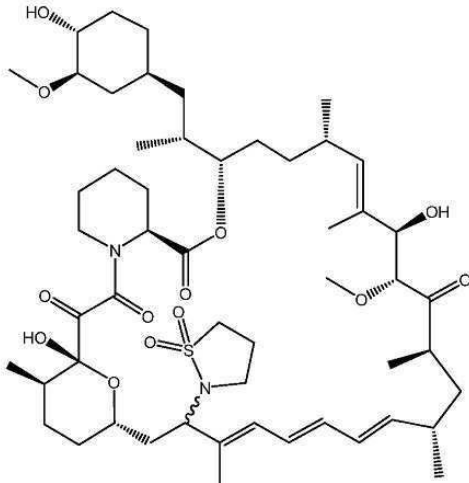


[0369]

특히 상기 언급한 것의 조합물을 포함한다. 실시형태에서, 화합물은 (S)-C16-(1,1-디옥시도이소티아졸리딘-2-일)-C32-테옥소-라파마이신(실시예 1) 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이다. 실시형태에서, 화합물은 (R)-C16-(1,1-디옥시도이소티아졸리딘-2-일)-C32-테옥소-라파마이신(실시예 2) 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이다.

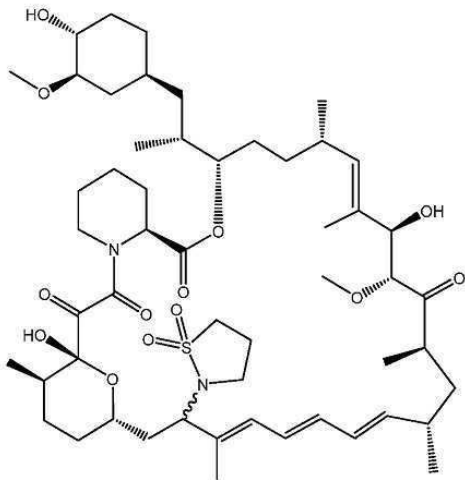
[0370]

실시형태에서, 본 개시내용은 요법에서의 동시, 별개 또는 순차적 사용을 위한 조합된 제제로서 화합물



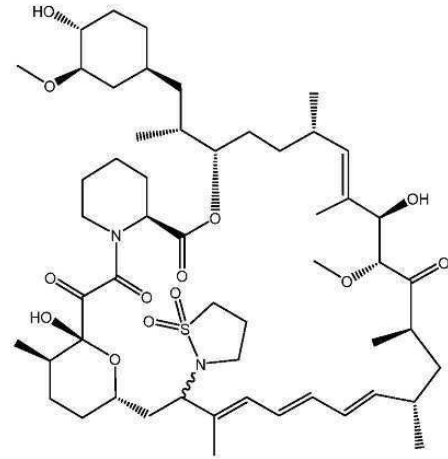
[0371] 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염과 CD4 림프구 고갈제, 특히 상기 언급한 것을 포함하는 제품을 제공한다. 실시형태에서, 화합물은 (S)-C16-(1,1-디옥시도이소티아졸리딘-2-일)-C32-테옥소-라파마이신(실시예 1) 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이다. 실시형태에서, 화합물은 (R)-C16-(1,1-디옥시도이소티아졸리딘-2-일)-C32-테옥소-라파마이신(실시예 2) 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이다.

[0372] 실시형태에서, 본 개시내용은 화합물



[0373] 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, CD4 림프구 고갈제, 특히 상기 언급한 것 및 약제학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다. 실시형태에서, 화합물은 (S)-C16-(1,1-디옥시도이소티아졸리딘-2-일)-C32-테옥소-라파마이신(실시예 1) 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이다. 실시형태에서, 화합물은 (R)-C16-(1,1-디옥시도이소티아졸리딘-2-일)-C32-테옥소-라파마이신(실시예 2) 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이다.

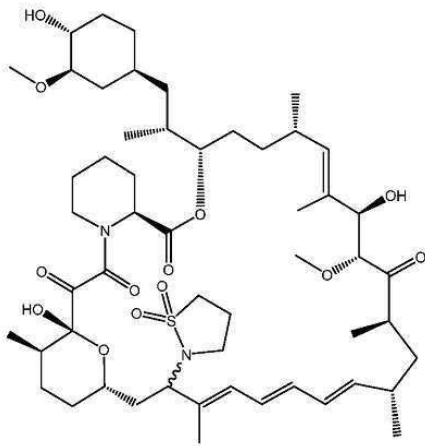
[0374] 실시형태에서, 다른 치료제는 면역저해 단백질, 예컨대 PD-1/PDL-1, 예컨대 항-PD-1 항체 또는 PDL-1 항체의 활성을 조절하는 제제로부터 선택된다. 이러한 치료제로서 유용한 항-PD-1 항체는 미국 특허 제9,683,048호에 개시된 바와 같다. 이러한 치료제는 암 치료에서, 특히 암 면역요법을 위해 사용될 수 있다.



또

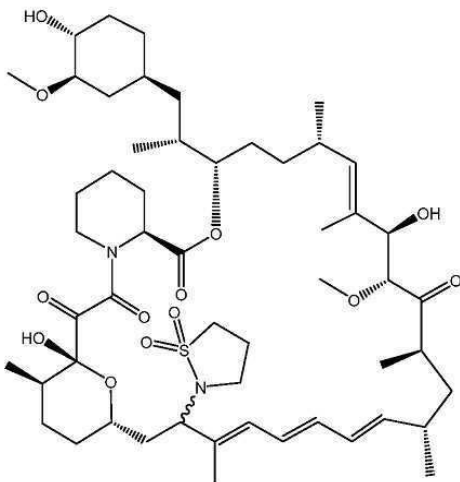
[0375] 특정 치료 유익을 제공할 수 있는 구체적 개개 조합은 화합물은 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 및 면역저해 단백질 활성, 예컨대 PD-1을 조절하는 제제, 특히 상기 언급한 것의 조합물을 포함한다. 실시형태에서, 화합물은 (S)-C16-(1,1-디옥시도이소티아졸리딘-2-일)-C32-테옥소-라파마이신(실시예 1) 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이다. 실시형태에서, 화합물은 (R)-C16-(1,1-디옥시도이소티아졸리딘-2-일)-C32-테옥소-라파마이신(실시예 2) 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이다.

[0376] 실시형태에서, 본 개시내용은 요법에서의 동시, 별개 또는 순차적 사용을 위한 조합된 제제로서 화합물



[0377] 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 및 면역저해 단백질, 예컨대 PD-1의 활성을 조절하는 제제, 특히 상기 언급한 것을 포함하는 제품을 제공한다. 실시형태에서, 화합물은 (S)-C16-(1,1-디옥시도이소티아졸리딘-2-일)-C32-테옥소-라파마이신(실시예 1) 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이다. 실시형태에서, 화합물은 (R)-C16-(1,1-디옥시도이소티아졸리딘-2-일)-C32-테옥소-라파마이신(실시예 2) 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이다.

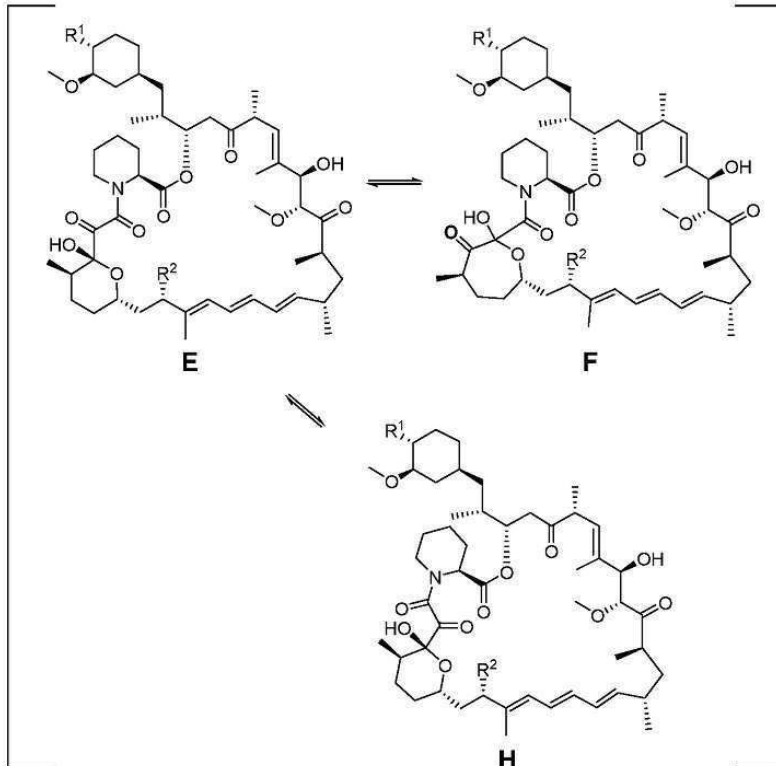
[0378] 실시형태에서, 본 개시내용은 하기 화합물



[0379]

- [0380] 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 면역저해 단백질 활성, 예컨대 PD-1을 조절하는 제제, 특히 상기 언급한 것 및 약제학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다. 실시형태에서, 화합물은 (S)-C16-(1,1-디옥시도이소티아졸리딘-2-일)-C32-테옥소-라파마이신(실시예 1) 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이다. 실시형태에서, 화합물은 (R)-C16-(1,1-디옥시도이소티아졸리딘-2-일)-C32-테옥소-라파마이신(실시예 2) 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이다.
- [0381] **실시예**
- [0382] 본 개시내용은 다음의 실시예를 제시한다. 본 출원에 기재되어 있는 합성 및 생물학적 실시예는 본 명세서에 제공된 화합물, 약제학적 조성물 및 방법을 설명하기 위해 제공하며, 그들의 범주를 제한하는 임의의 방법으로 해석되어서는 안 된다.
- [0383] 본 명세서에 제공하는 화합물은 당업자에게 잘 공지되어 있는 이하에 제시하는 구체적 합성 프로토콜에 대한 변형을 이용하여 용이하게 이용 가능한 출발 물질로부터 제조할 수 있다. 전형적인 또는 바람직한 공정 조건(즉, 반응 온도, 시간, 반응물의 몰 비, 용매, 압력 등)이 주어지는 경우, 달리 언급되지 않는 한 다른 공정 조건이 또한 사용될 수 있다는 것이 인식될 것이다. 최적의 반응 조건은 사용되는 특정 반응물 또는 용매에 따라 다를 수 있지만, 이러한 조건은 일상적인 최적화 절차에 의해 당업자에 의해 결정될 수 있다.
- [0384] 추가로, 당업자에게 명백할 바와 같이, 특정 작용기가 원치않는 반응을 겪는 것을 방지하기 위해 통상적인 보호기가 필요할 수 있다. 특정 작용기에 대한 적합한 보호기뿐만 아니라 보호 및 탈보호를 위한 적합한 조건의 선택은 당업계에 잘 공지되어 있다. 예를 들어, 수많은 보호기 및 그들의 도입 및 제거는 문헌[Greene *et al.*, *Protecting Groups in Organic Synthesis*, Second Edition, Wiley, New York, 1991] 및 이에 인용된 참고문헌에 기재되어 있다.
- [0385] 라파마이신 및 이의 유도체, 예를 들어, 화학식 I, 화학식 I-A 및 화학식 I-B의 화합물은 용매로서 그리고 **E** 및 **F(반응식 4 및 5)**로서 이하에 나타내는 6-원 및 7-원 헤미-케탈 형태의 pH 의존적 평형상태로서 존재한다. 문헌 [*The Journal of Antibiotics* (Tokyo) (1991) 44(6):688-90]; 및 문헌 [*Tetrahedron Letters* (1992) 33(33):4139-4142] 참조. 라파마이신 및 그의 유도체는 또한 **E**, **H**, **J** 및 **K(반응식 4 및 5)**로서 이하에 나타내는 시스-아미드와 트랜스-아미드의 혼합물로서 존재한다). [문헌[Mierke, D. F., Schmieder, P., Karuso, P. and Kessler, H. (1991), Conformational Analysis of the cis- and trans-Isomers of FK506 by NMR and Molecular Dynamics. *Helvetica Chimica Acta*, 74: 1027-1047.] 실시예에 나타낸 NMR 특성규명 데이터는 보고된 중수소 용매 조건 하에 관찰된 주요 평형상태 형태에만 대응한다.

반응식 4:



식 중,

R_1 은 히드록시, , , 로 이루어진 군으로 부터 선택되고,

R_2 는 , , , , 또는 로 이루어진 군으로부터 선택되고:

여기서,

m 은 0, 1, 2 또는 3이며;

n 은 1, 2 또는 3이고;

o 는 1, 2, 3, 4, 5 또는 6이며;

p 는 1, 2, 3, 4 또는 5이고,

q 는 1, 2, 3, 4 또는 5이되, p 와 q 의 합은 2, 3, 4, 5 또는 6이며;

r 은 2, 3 또는 4이고;

s 는 2, 3 또는 4이되, r 과 s 의 합은 4, 5 또는 6이며;

X 는 0, S, NR_6 또는 SO_2 이고;

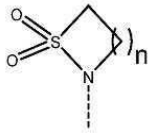
[0400] R_3 은 수소, C_{1-6} 알킬, 히드록시 C_{1-6} 알킬, C_{3-8} 사이클로알킬 C_{0-6} 알킬 또는 페닐 C_{0-6} 알킬이며;

[0401] R_4 는 수소이며, R_5 는 수소, 히드록시 또는 시아노이거나; 또는 R_4 와 R_5 는 함께 =O를 형성하고;

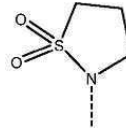
[0402] R_6 은 수소, C_{1-6} 알킬, C_{3-8} 사이클로알킬 C_{0-6} 알킬, 페닐 C_{0-6} 알킬, C_{1-6} 알킬-CO-, C_{3-8} 사이클로알킬 C_{0-6} 알킬-CO-, C_{1-6} 알킬-SO₂- 또는 C_{3-8} 사이클로알킬 C_{0-6} 알킬-SO₂-이다.

[0403] 실시형태에서, R_1 은 히드록시이다.

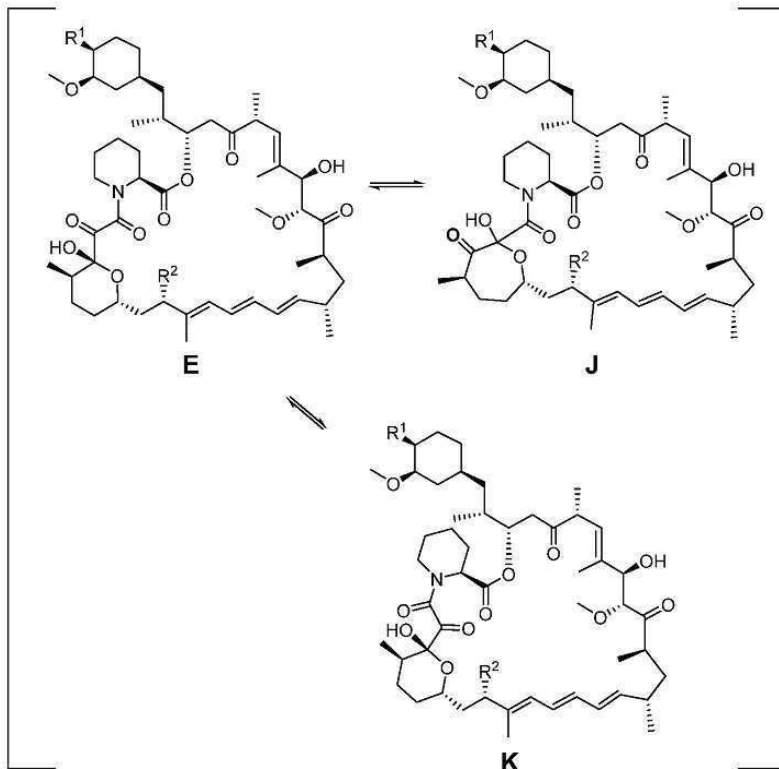
[0404] 실시형태에서, R_2 는



[0405] 이고, n 은 1, 2 또는 3이다. 실시형태에서, R_2 는



[0406] 반응식 5:



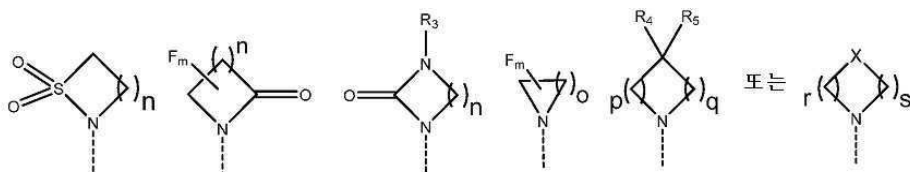
[0407]

[0408] 식 중,

[0409] R_1 은



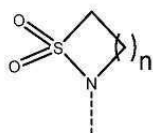
[0410] R_2 는

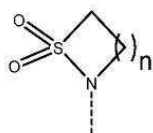
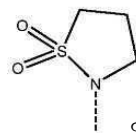


로 이루어진 군으로부터

터 선택되고:

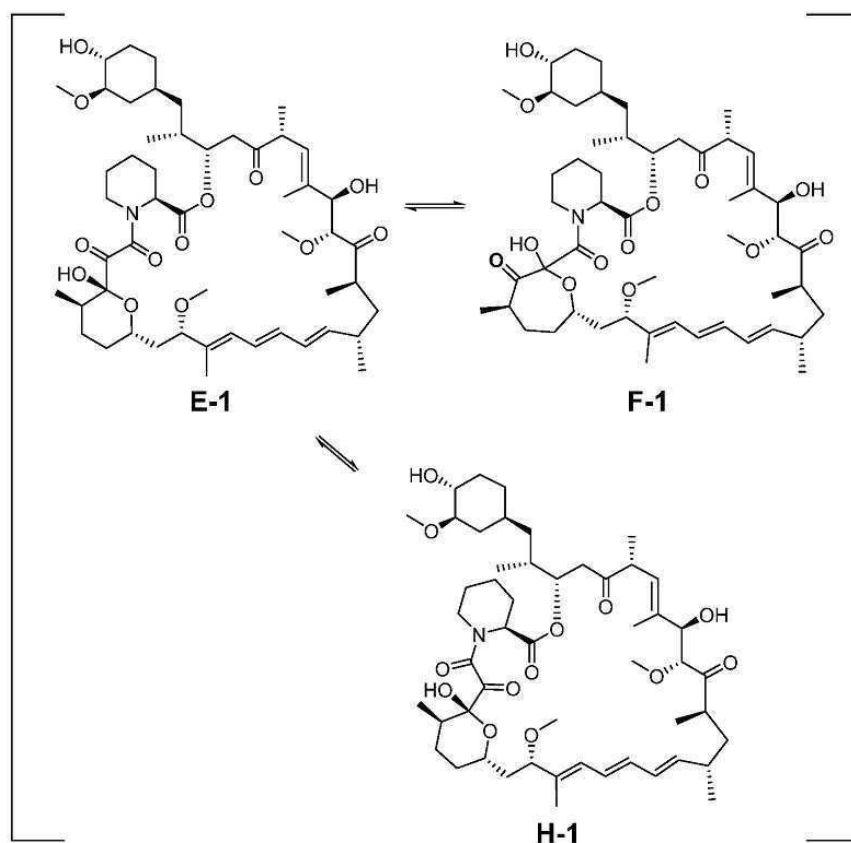
- [0411] 여기서,
- [0412] m은 0, 1, 2 또는 3이며;
- [0413] n은 1, 2 또는 3이고;
- [0414] o는 1, 2, 3, 4, 5 또는 6이며;
- [0415] p는 1, 2, 3, 4 또는 5이고,
- [0416] q는 1, 2, 3, 4 또는 5이되, p와 q의 합은 2, 3, 4, 5 또는 6이며;
- [0417] r은 2, 3 또는 4이고;
- [0418] s는 2, 3 또는 4이되, r과 s의 합은 4, 5 또는 6이며;
- [0419] X는 O, S, NR₆ 또는 SO₂이고;
- [0420] R₃은 수소, C₁₋₆알킬, 히드록시C₁₋₆알킬, C₃₋₈사이클로알킬C₀₋₆알킬 또는 페닐C₀₋₆알킬이며;
- [0421] R₄는 수소이며, R₅는 수소, 히드록시 또는 시아노이거나; 또는 R₄와 R₅는 함께 =O를 형성하고;
- [0422] R₆은 수소, C₁₋₆알킬, C₃₋₈사이클로알킬C₀₋₆알킬, 페닐C₀₋₆알킬, C₁₋₆알킬-CO-, C₃₋₈사이클로알킬C₀₋₆알킬-CO-, C₁₋₆알킬-SO₂- 또는 C₃₋₈사이클로알킬C₀₋₆알킬-SO₂-이다.



- [0423] 실시형태에서, R₂는  이고, n은 1, 2 또는 3이다. 실시형태에서, R₂는  이다.

- [0424] 실시형태에서, 화학식 I, 화학식 I-A 및 화학식 I-B의 화합물은 용매로서 그리고 **E-1** 및 **F-1**(**반응식 6**)로서 이하에 나타내는 6-원 및 7-원 헤미-케탈 형태의 pH 의존적 평형상태로서 존재한다. 실시형태에서, 화학식 I, 화학식 I-A 및 화학식 I-B의 화합물은 시스-아미드와 트랜스-아미드 **E-1** 및 **H-1**의 혼합물로서 존재한다.

반응식 6:



화합물의 제조

본 개시내용의 화합물은 다음의 실시예에 기재하는 바와 같이 제조할 수 있다.

약어:

4-EP 4-에틸 피리딘

AcOH 아세트산

ACN 아세토니트릴

aq 수성

C 썬씨

d 이중선

dd 이중선의 이중선

DCM 디클로로메탄

DIPEA *N,N*-디이소프로필에틸아민

DMSO 디메틸설폭사이드

EDTA 에틸렌디아민테트라아세트산

ESIMS 전기분무 이온화 질량 분석

EtOAc 에틸 아세테이트

EtOH 에탄올

FA 포름산

[0445]	g 그램
[0446]	h 시간
[0447]	HPLC 고성능 액체 크로마토그래피
[0448]	HRMS 고분해능 질량 분석법
[0449]	iPrOH 2-프로판올 또는 이소프로판올
[0450]	L 리터
[0451]	LC 액체 크로마토그래피
[0452]	LCMS 액체 크로마토그래피 및 질량 분석법
[0453]	MeOH 메탄올
[0454]	MS 질량 분석법
[0455]	M 몰농도
[0456]	m 다중선
[0457]	min 분
[0458]	mL 밀리리터
[0459]	μ M 마이크로몰농도
[0460]	m/z 질량 대 전하 비
[0461]	N ₂ 질소 기체
[0462]	nM 나노몰농도
[0463]	NMR 핵 자기 공명
[0464]	¹ HNMR: 양성자 핵 자기 공명 분광학
[0465]	PEI 폴리에틸렌이민
[0466]	PPU 프로필-피리딜-유레아
[0467]	pTsOH p-톨루엔술폰산
[0468]	prep 분취
[0469]	rac- 라세미
[0470]	rpm: 분당 회전 수
[0471]	r.t. 실온
[0472]	s 단일선
[0473]	sat. 포화
[0474]	SFC 초임계 유체 크로마토그래피
[0475]	t 삼중선
[0476]	TCEP 트리스(2-카르복시에틸)포스핀
[0477]	TFA 트리플루오로아세트산
[0478]	THF 테트라히드로푸란
[0479]	TLC 박막 크로마토그래피

[0480] vol. 용적

[0481] 실시예의 정제에 사용되는 방법

[0482] 중간체 및 최종 생성물의 정제는 순상 또는 역상 크로마토그래피를 통해 수행하였다.

[0483] 순상 크로마토그래피는 적절한 용매 시스템(예컨대, hexan 및 에틸 아세테이트; DCM 및 MeOH; 또는 달리 지시되지 않으면)의 구매로 용리시키는 사전포장된 SiO₂ 카트리지(예컨대, 텔레다인 아이스코 인코포레이티드(Teledyne Isco, Inc.)의 레디셉(RediSep)®Rf 칼럼)를 사용하여 수행하였다.

[0484] 이하에 기재하는 방법을 이용하여 SFC를 수행하였다:

[0485] 방법 1: 프린스턴(Princeton) PPU 5 μ m(100A) 칼럼(30×250mm); CO₂/MeOH

[0486] 방법 2: 프린스턴 4-EP 5 μ m (60A) 칼럼(30×250mm); CO₂/MeOH

[0487] 방법 3: 레프로스페어(ReproSpher) PEI 5 μ m(100A) 칼럼(30×250mm); CO₂/MeOH

[0488] 분석 분리에 기반하여 구매를 선택하였다.

[0489] 이하에 기재하는 방법을 이용하여 역상 분취 HPLC를 수행하였다:

[0490] 방법 1:(애질런트(Agilent)) 페노메넥스 루나(Phenomenex Luna) C18; 5 μ m 칼럼(30×250mm); 아세토니트릴 중의 0.1% 포름산 및 5% 물; 수 중의 0.1% 포름산 및 5% 아세토니트릴. 분석 분리에 기반하여 구매를 선택하였다.

[0491] 방법 2: (EZprep) YMC 액투스 트리아트(Actus Triart) C18; 5 μ m 칼럼(20×150mm); 아세토니트릴/물. 분석 분리에 기반하여 구매를 선택하였다.

[0492] 이하에 기재하는 방법을 이용하여 키랄 분취 HPLC를 수행하였다:

[0493] 방법 1: 키랄팩 IC; 5 μ m 칼럼(20×250 mm); n-헵탄/DCM/EtOH

[0494] 방법 2: 키랄팩 ID; 5 μ m 칼럼(20×250 mm); n-헵탄/DCM/iPrOH

[0495] 분석 분리에 기반하여 구매를 선택하였다.

[0496] LC-MS 방법

[0497] 칼럼: 액유티(Acquity) UPLC BEH C18, 130 옹스트롬, 1.7 μ M, 2.1 mm X 50 mm

[0498] 온도: 50°C

[0499] 주입: 1 μ l

[0500] 용매 A: 물 + 5 mM 수산화암모늄

[0501] 용매 B: 아세토니트릴 + 5 mM 수산화암모늄

[0502] 구매:

시간(분)	유속	A%	B%	곡선
초기	1.000	98.0	2.0	초기
4.40	1.0	2.0	98.0	6
5.15	1.0	2.0	98.0	6
5.19	1.0	98.0	2.0	6

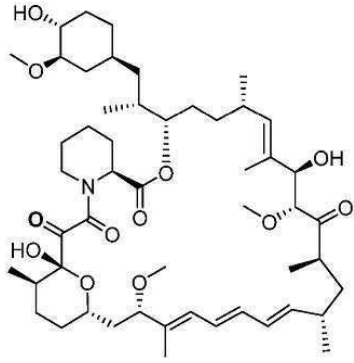
[0503]

[0504] ¹H NMR 기기:

[0505] 크라이오(cryo)-DCI 프로브가 있는 브루커 울트라실드(Bruker UltraShield)TM 어드밴스 III HD 400MHz. MestReNova 11.0 소프트웨어를 이용하여 데이터를 처리하였다.

[0506] 중간체 1 내지 7의 제조

[0507] **중간체 1: C32-테옥소-라파마이신**

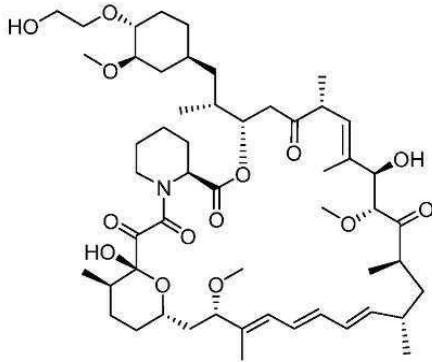


중간체 1

[0508]

[0509] 미국 특허 공개 제005985890호 및 W02007/085400 A1(이들 각각은 본 명세서에 이들의 전문이 참고로 포함됨)에 개시되어 있는 것을 포함하는 문헌에 공지된 절차에 따라 **중간체 1**을 제조하였다.

[0510] **중간체 2: RAD001(에베롤리무스; 아피니토®)**



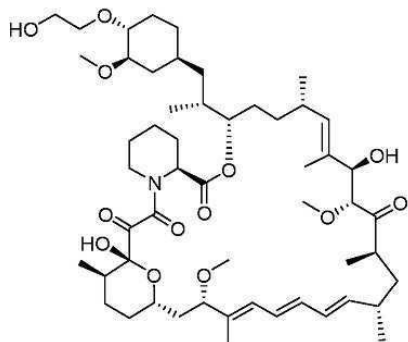
중간체 2

[0511]

[0512] **중간체 2**

[0513] 본 명세서에 전문이 참고로 포함되어 있는 W02012103959에 개시되어 있는 것을 포함하는 문헌에 공지된 절차에 따라 **중간체 2**를 제조하였다.

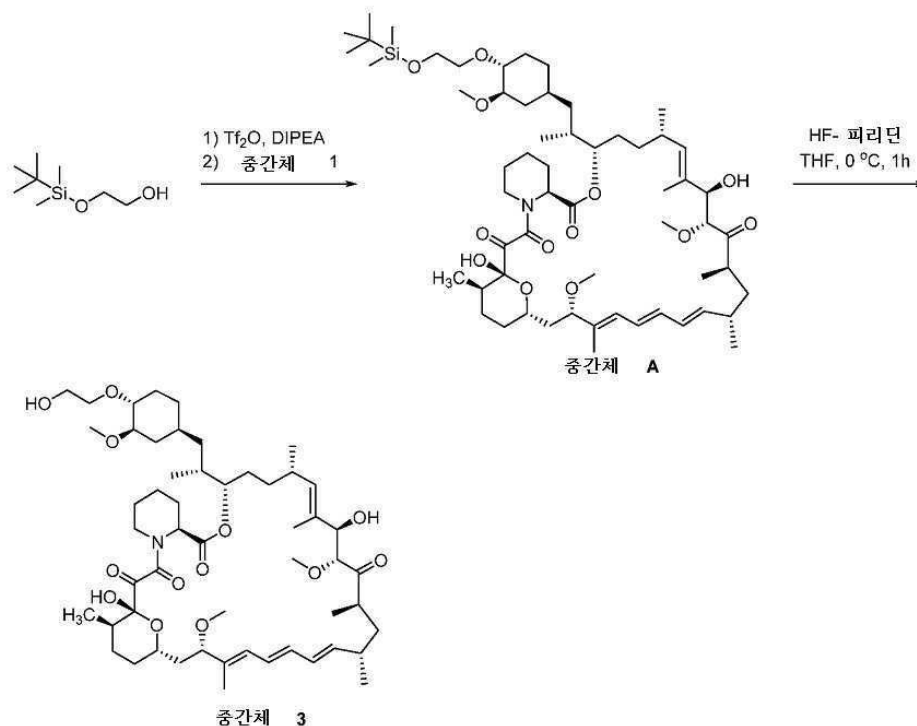
[0514] **중간체 3:**



중간체 3

[0515]

[0516] 중간체 3을 이하에 나타내는 중간체 A를 통해 2 단계로 제조하였다:



[0517]

[0518] 단계 1. 중간체 A의 합성

[0519] 2-((tert-부틸디메틸실릴)옥시)에탄올(0.471 g, 2.67 mmol)을 반응 바이알에서 무수 톨루엔(0.95 ml)에 용해시켰다. 바이알의 뚜껑을 덮고, 이어서, 질소로 진공 퍼지시켰다. 주사기를 통해 *N,N*-디이소프로필에틸아민 (DIPEA)(0.490 ml, 2.81 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 빙욕에서 0°C로 냉각시켰다. 트리플릭산 무수물 (TiF_2O)(0.438 ml, 2.59 mmol)을 0°C에서 약 2분의 기간에 걸쳐 적가시켰다. 반응 혼합물을 0°C에서 30분 동안 교반시켰다.

[0520] 바이알을 빙욕 밖으로 꺼냈다. 주사기를 통해 DIPEA(0.490 ml, 2.81 mmol)을 첨가하였다. 바이알을 열고, 고체 중간체 1(0.600 g, 0.667 mmol)을 한번에 빠르게 첨가하였다. 바이알을 빠르게 다시 뚜껑을 덮고, 혼합물을 질소로 진공 퍼지시켰다. 톨루엔(0.5 ml)을 첨가하였다.

[0521] 반응물을 40°C에서 질소 하에 밤새 교반시켰다. 반응물을 포화 수성 NaHCO_3 으로 희석시켰다. 반응 중단시킨 (quenched) 혼합물을 EtOAc로 5회 추출하였다. 유기 추출물을 합치고 나서, Na_2SO_4 로 건조시키고, 셀라이트를 통해 진공 여과시키고, 농축시켜 왁스 같은 백색 고체 조질의 생성물을 얻었다.

[0522] 조질의 생성물을 실리카겔 플래쉬 칼럼 크로마토그래피(0 내지 35% 아세톤-헥산, 구매 용리, 40g 실리카 칼럼, 35% 아세톤-헥산에서 TLC, UV 하에 시각화)에 의해 정제하여 목적하는 중간체 A(0.245 g, 0.231 mmol, 34.7% 수율)를 유리로서 제공하여 다음의 단계에서 "있는 그대로" 직접 사용하였다.

[0523] 중간체 A: ESIMS $[\text{M}+\text{NH}_4]$ 1076.1, ESIMS $[\text{M}-\text{H}]$ 1056.0.

[0524] 단계 2. 중간체 3의 합성

[0525] 중간체 A(0.135 g, 0.128 mmol)를 유리 반응 바이알에서 무수 THF(1.2 ml)에 용해시켰다. 바이알의 뚜껑을 덮고, 혼합물을 질소로 2회 진공 퍼지시켰다. 혼합물을 빙욕에서 0°C로 냉각시켰다. HF-피리딘(0.12 ml, 1.332 mmol)을 30초의 기간에 걸쳐 주사기를 통해 적가시켰다. 반응 혼합물을 0°C에서 60시간 동안 교반시켰다.

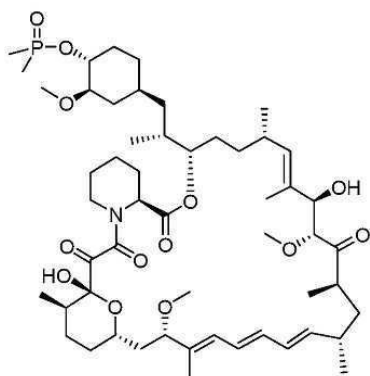
[0526] 반응 혼합물을 포화 수성 NaHCO_3 용액에 적가시켰다. 반응 중단시킨 혼합물을 EtOAc로 5회 추출하였다. 유기 추출물을 합치고 나서, Na_2SO_4 로 건조시키고, 셀라이트를 통해 진공 여과시키고, 농축시켜 백색 고체 조질의 생성물을 얻었다.

[0527] 조질의 생성물을 실리카겔 플래쉬 칼럼 크로마토그래피(0 내지 50% 아세톤-헥산 구매 용리, 40g 실리카 칼럼, 50% 아세톤-헥산에서 TLC, UV 하에 시각화)에 의해 정제하여 **중간체 3**(0.087 g, 0.092 mmol, 72.2% 수율)을 백색 고체로서 제공하였다.

[0528] **중간체 3**: ESIMS [M+NH₄] 962.0, ESIMS [M-H] 943.0

[0529] ¹H NMR (400 MHz, 클로로포름-*d*) δ 6.46 – 6.25 (m, 2H), 6.19 – 6.09 (m, 1H), 5.91 (m, 1H), 5.55 (m, 1H), 5.34 – 5.26 (m, 1H), 5.26 – 5.15 (m, 1H), 4.88 – 4.64 (m, 2H), 4.11 (m, 1H), 3.94 – 3.82 (m, 1H), 3.79 (m, 1H), 3.73 – 3.63 (m, 3H), 3.63 – 3.47 (m, 4H), 3.45 (m, 4H), 3.33 (m, 3H), 3.28 – 3.15 (m, 2H), 3.13 (s, 3H), 3.08 (m, 1H), 2.80 (m, 1H), 2.32 (m, 3H), 2.14 (m, 2H), 2.07 – 1.94 (m, 2H), 1.94 – 1.72 (m, 5H), 1.72 – 1.56 (m, 8H), 1.56 – 1.40 (m, 3H), 1.39 – 1.21 (m, 7H), 1.21 – 1.09 (m, 1H), 1.08 – 0.99 (m, 8H), 0.98 – 0.83 (m, 9H), 0.73 (q, *J* = 12.0 Hz, 1H).

[0530] **중간체 4**:



중간체 4

[0531]

[0532] **중간체 1**(0.233 g, 0.259 mmol)을 무수 디클로로메탄(2.6 ml)에서 2,6-디-*tert*-부틸-4-메틸피리딘(0.425 g, 2.071 mmol)과 합하였다. 반응 혼합물을 질소로 1회 진공 퍼지시켰다. 반응 혼합물을 빙욕에서 0℃로 냉각시켰다. 고체 디메틸포스핀 클로라이드(0.146 g, 1.294 mmol)를 한 번에 첨가하였다. 반응 혼합물을 0℃에서 80분 동안 교반시켰다.

[0533] 반응물을 포화 수성 NaHCO₃으로 희석시키고 나서, EtOAc로 여러 번 추출하였다. 유기 추출물을 합치고 나서, Na₂SO₄로 건조시키고, 디캔팅시키고 나서, 농축시켜 무색의 타르 조질 생성물(0.768 g)을 제공하였다.

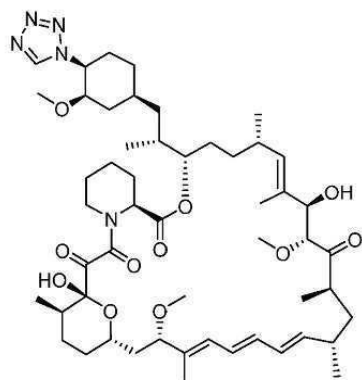
[0534] 조질의 생성물을 실리카겔 플래쉬 칼럼 크로마토그래피(0 내지 80% 아세톤-헥산 구매 용리, 24g 실리카 칼럼, 80% EtOAc-헥산에서 TLC, UV 하에 시각화)에 의해 정제하였다. 생성물 함유 분획을 모으고 나서, 농축시켜 **중간체 4**(0.087 g, 0.089 mmol, 34.4% 수율)를 백색 고체로서 제공하였다.

[0535] **중간체 4**: ESIMS [M+NH₄] 993.7, ESIMS [M-H] 974.7.

[0536] HRMS: 계산치: 999.5812(나트륨 부가물로서). 실측치: 999.5807.

[0537] ¹H NMR (600 MHz, 클로로포름-*d*) δ 6.47 – 6.26 (m, 2H), 6.22 – 6.08 (m, 1H), 6.02 – 5.83 (m, 1H), 5.54 (m, 1H), 5.35 – 5.26 (m, 1H), 5.21 (m, 1H), 4.85 – 4.76 (m, 1H), 4.12 (m, 2H), 3.93 – 3.81 (m, 1H), 3.67 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H), 3.62 (d, *J* = 6.7 Hz, 1H), 3.60 – 3.53 (m, 1H), 3.53 – 3.44 (m, 1H), 3.42 – 3.36 (m, 3H), 3.32 (m, 3H), 3.28 – 3.18 (m, 1H), 3.13 (m, 3H), 3.05 (m, 1H), 2.82 (m, 1H), 2.42 – 2.21 (m, 3H), 2.16 – 2.08 (m, 3H), 1.99 (m, 1H), 1.95 – 1.83 (m, 1H), 1.83 – 1.72 (m, 4H), 1.71 – 1.57 (m, 9H), 1.57 – 1.43 (m, 12H), 1.39 (m, 1H), 1.34 – 1.20 (m, 4H), 1.20 – 1.10 (m, 1H), 1.05 (m, 4H), 1.00 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H), 0.95 (dd, *J* = 6.6, 2.1 Hz, 3H), 0.92 (d, *J* = 6.6 Hz, 3H), 0.91 – 0.84 (m, 4H), 0.77 (q, *J* = 12.1 Hz, 1H).

[0538] **중간체 5**:



중간체 5

[0539]

[0540]

중간체 1(4.372 g, 4.86 mmol)을 무수 디클로로메탄(20 ml)에 용해시켰다. 무수 톨루엔(20 ml)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 회전증발기에서 증발건조시켰다. 이런 공비 건조 과정을 2회 이상 반복하였다.

[0541]

건조시킨 출발 물질을 무수 디클로로메탄(58 ml)에서 2,6-루티딘(1.388 ml, 11.91 mmol)과 합쳤다. 플라스크의 뚜껑을 덮고, 혼합물을 질소로 2회 진공 퍼지시켰다. 혼합물을 아세토니트릴/드라이아이스 욕에서 -30°C로 냉각시켰다.

[0542]

트리플릭산 무수물(1.209 ml, 7.16 mmol)을 4분의 기간에 걸쳐 주사기를 통해 적가시켰다. 반응 혼합물을 -30°C에서 30분 동안 교반시켰다. 반응 혼합물을 0°C 얼음-물 욕에 옮기고 나서, 20분 동안 0°C에서 교반시켰다.

[0543]

반응 혼합물을 회전증발기에 넣고 가열 없이 농축시켰다. 이소프로필 아세테이트(22 ml)를 첨가하였다. 테트라졸(1.170 g, 16.71 mmol)을 한 번에 첨가하였다. 플라스크의 뚜껑을 빠르게 덮고, 질소로 2회 진공 퍼지시켰다. *N,N*-디이소프로필에틸아민(4.18 ml, 23.94 mmol)을 1분의 기간에 걸쳐 주사기를 통해 첨가하였다. 반응 혼합물을 밤새 실온에서 교반시켰다.

[0544]

반응 혼합물을 회전증발기에서 농축시켰다. 농축물을 순상 실리카겔 플래쉬 칼럼 크로마토그래피(0 내지 40% 아세톤-헵탄 구배 용리, 80g 실리카 칼럼, TLC 40% 아세톤-헵탄, UV 하에 시각화)에 의해 정제하였다.

[0545]

제2 용리 피크 분획(279 nm에서의 UV 흡광도에 의해 결정한 바와 같음)을 모으고 나서, 농축시켜 **중간체 5**(2.194 g, 2.304 mmol, 47.4% 수율)를 백색 고체로서 제공하였다.

[0546]

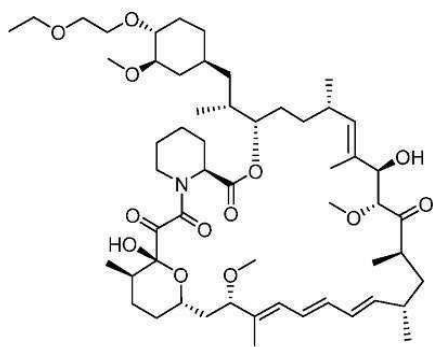
중간체 5: ESIMS [M+NH₄] 969.8, ESIMS [M-H] 950.8.

[0547]

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.33 (d, *J* = 6.4 Hz, 1H), 6.58 - 6.41 (m, 2H), 6.35 - 6.14 (m, 2H), 6.09 - 5.98 (m, 1H), 5.55 - 5.43 (m, 1H), 5.19 (m, 1H), 5.05 (m, 1H), 5.00 - 4.93 (m, 1H), 4.87 - 4.79 (m, 1H), 4.67 - 4.56 (m, 1H), 3.98 - 3.87 (m, 1H), 3.87 (d, *J* = 6.9 Hz, 1H), 3.61 (m, 2H), 3.55 (dd, *J* = 11.8, 1.9 Hz, 1H), 3.49 - 3.38 (m, 1H), 3.31 - 3.17 (m, 4H), 3.10 (m, 4H), 3.04 (s, 3H), 2.88 - 2.75 (m, 1H), 2.29 - 2.09 (m, 3H), 2.07 - 1.86 (m, 3H), 1.88 - 1.60 (m, 9H), 1.59 - 1.44 (m, 7H), 1.43 - 1.01 (m, 11H), 0.96 (t, *J* = 7.1 Hz, 5H), 0.95 - 0.77 (m, 7H), 0.72 (m, 4H).

[0548]

중간체 6:



중간체 6

[0549]

[0550]

2-에톡시에탄올(0.538 ml, 5.55 mmol)을 무수 톨루엔(2.0 ml)과 무수 디옥산(0.22 ml)에서 합쳤다. *N,N*-디이소프로필에틸아민(1.067 ml, 6.11 mmol)을 주사기를 통해 첨가하였다. 반응 혼합물을 질소로 2회 진공 퍼지시켰다. 혼합물을 빙욕에서 0℃로 냉각시켰다.

[0551]

트리플릭산 무수물(0.901 ml, 5.33 mmol)을 2분의 기간에 걸쳐 주사기를 통해 적가시켰다. 반응 혼합물을 0℃에서 15분 동안 교반시켰다. 빙욕을 제거하고 나서, 반응물을 15분에 걸쳐 실온과 평형상태가 되도록 하였다.

[0552]

N,N-디이소프로필에틸아민(1.067 ml, 6.11 mmol)을 30초의 기간에 걸쳐 주사기를 통해 적가시켰다. **중간체 1**(1.00 g, 1.111 mmol)을 한 번에 첨가하였다. 반응 혼합물에 빠르게 뚜껑을 덮고 나서, 질소로 진공 퍼지시켰다. 무수 톨루엔(2.0 ml)과 무수 디옥산(0.22 ml)을 주사기를 통해 첨가하였다. 반응 혼합물을 55℃에서 24시간 동안 교반시켰다.

[0553]

반응 혼합물을 염수로 희석시키고 나서, EtOAc로 여러 번 추출하였다. 유기 추출물을 합치고 나서, Na₂SO₄로 건조시키고, 디캔팅시키고 나서, 농축시켜 무색의 타르 조질 생성물(4.25 g)을 제공하였다.

[0554]

조질의 생성물을 실리카겔 플래쉬 칼럼 크로마토그래피(0 내지 50% 아세톤-헥산 구배 용리, 80g 실리카 칼럼, 40% 아세톤-헥산에서 TLC, UV 하에 시각화)에 의해 정제하였다. 생성물 함유 분획을 모으고 나서, 농축시켜 **중간체 6**(0.443 g, 0.456 mmol, 41.0% 수율)을 무색 유리로서 제공하였다.

[0555]

중간체 6: ESIMS (M+H⁺) 970.9.

[0556]

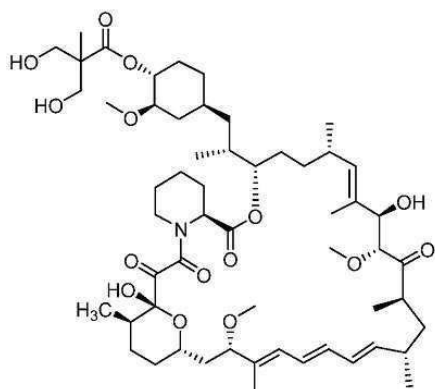
HRMS: 계산치 - 989.6678(암모늄 부가물로서); 실측치 - 989.6655

[0557]

계산치 - 994.6232(나트륨 부가물로서); 실측치 - 994.6215.

[0558]

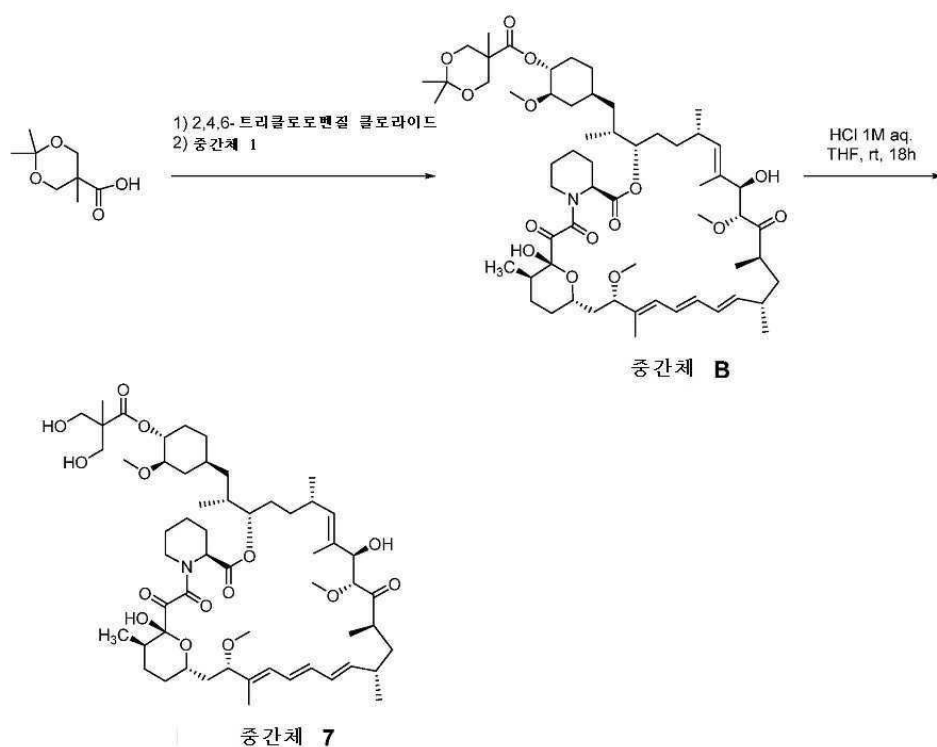
중간체 7:



중간체 7

[0559]

[0560] 중간체 7을 이하에 나타내는 중간체 B를 통해 2 단계로 제조하였다:



[0561]

[0562] 단계 1. 중간체 B의 합성

[0563] 2,2,5-트리메틸-1,3-디옥산-5-카복실산(0.400 g, 2.296 mmol)과 트리에틸아민(0.320 ml, 2.296 mmol)을 합치고 나서, 무수 THF(7.6 ml)에서 용해시켰다. 반응 혼합물을 0℃로 냉각시켰다. 2,4,6-트리클로로벤조일 클로라이드(0.359 ml, 2.296 mmol)를 주사기를 통해 첨가하였다. 반응물을 0℃에서 10분 동안 교반시켰다. 빙욕을 제거하고 나서, 반응물을 실온에서 2.5시간 동안 교반시켰다. 백색 고체를 침전시켰다.

[0564] 반응 혼합물을 주사기 필터를 통해 여과시켰다. 필터를 THF (2 ml)로 린스하였다. 여과액을 합치고 나서, 회전 증발기에서 농축시켜 무색 타르를 남겼다.

[0565] 농축물에 톨루엔(7.6 ml)을 첨가하였다. 중간체 1(1.447 g, 1.607 mmol)을 한 번에 첨가한 후에 4-디메틸아미노 피리딘(0.281 g, 2.296 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반시켰다.

[0566] 혼합물을 물로 희석시키고 나서, EtOAc로 4회 추출하였다. 유기 추출물을 합치고 나서, Na₂SO₄로 건조시키고, 디캔팅시키고 나서, 농축시켜 황색의 타르 조질 생성물(2.15 g)을 제공하였다.

[0567] 조질의 생성물을 실리카겔 플래쉬 칼럼 크로마토그래피(0 내지 40% 아세톤-헥산 구배 용리, 40g 실리카 칼럼, 40% 아세톤-헥산에서 TLC, UV 하에 시각화)에 의해 정제하였다. 생성물 함유 분획을 모으고 나서, 농축시켜 중간체 B(0.438 g, 0.415 mmol, 18.1% 수율)를 백색 거품으로서 제공하였다.

[0568] 중간체 B: ESIMS [M+NH₄] 1074.0, ESIMS [M-H] 1055.1.

[0569] 단계 2. 중간체 7의 합성

[0570] 중간체 B(0.431 g, 0.408 mmol)를 THF(4 ml)에서 용해시켰다. HCl (1M, aq.)(2.0 ml, 2.00 mmol)을 주사기를 통해 첨가하였다. 반응물을 실온에서 36시간 동안 교반시켰다.

[0571] 반응 혼합물을 물로 희석시키고 나서, EtOAc로 4회 추출하였다. 유기 추출물을 합치고 나서, Na₂SO₄로 건조시키고, 디캔팅시키고 나서, 농축시켜 희미한 황색 타르를 제공하였다. 타르를 디클로로메탄에 용해시키고 나서, 헥산으로 희석시켰다. 혼합물을 농축시키고 나서, 고진공에서 건조시켜 중간체 7(0.407 g, 0.400 mmol, 98% 수율)을 백색 고체로서 제공하였다.

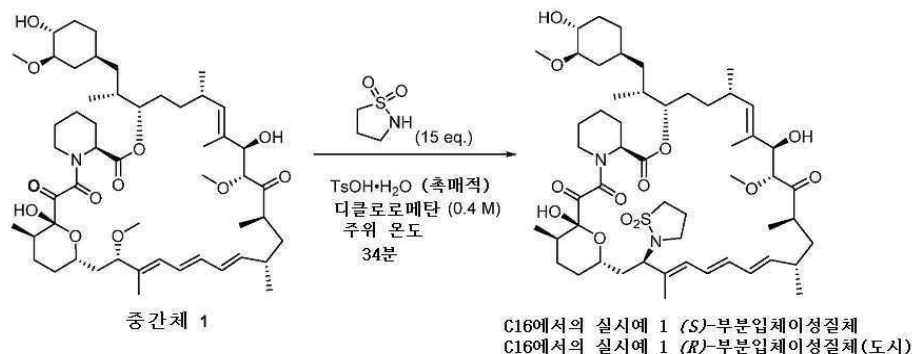
[0572] 중간체 7: ESIMS [M+NH₄] 1034.0, ESIMS [M-H] 1015.0.

[0573] HRMS 계산치 - 1033.6576 (암모늄 부가물로서); 실측치 - 1033.6588

[0574] 계산치 - 1038.6130(나트륨 부가물로서); 실측치 - 1038.6138.

[0575] 실시예 1: (S)-C16-(1,1-디옥시도이소티아졸리딘-2-일)-C32-테옥소-라파마이신

[0576] 실시예 2: (R)-C16-(1,1-디옥시도이소티아졸리딘-2-일)-C32-테옥소-라파마이신



[0577]

[0578] 무수 디클로로메탄(5.6 ml) 중의 중간체 1(2.0 g, 2.222 mmol) 및 이소티아졸리딘 1,1-디옥시드(4.04 g, 33.3 mmol, 15 당량)의 교반 용액에 p-톨루엔설폰산·H₂O (0.042 g, 0.222 mmol, 0.1 당량)을 한번에 첨가하였다. 반응물을 주위 온도에서 질소 분위기 하에 34분 동안 교반시켰다. 전체 반응 혼합물을 실리카를 거쳐서 직접 크로마토그래피하여(100% 헵탄 내지 40% 아세톤-헵탄의 구배 용리) LC/MS 분석에 대해 279 nm에서의 UV 흡광도로 부분입체이성질체 둘 다의 생성물 혼합물을 약 3:1의 비에서 제공하였다.

[0579] 부분입체이성질체 혼합물을 실리카 상의 순상 크로마토그래피(100% 디클로로메탄 내지 40% 아세토니트릴-디클로로메탄의 구배 용리)에 의해 분리시켰다.

[0580] 제1 용리 부분입체이성질체(30% 아세토니트릴-디클로로메탄에서 전개시킨 실리카 TLC 상에서 R_f ~0.23)는 실시예 1 (S)-부분입체이성질체를 백색 고체로서 얻는다.

[0581] 실시예 1: ESIMS [M+NH₄] 1006.7, ESIMS [M-H] 987.8.

[0582] ¹H NMR (600 MHz, 클로로포름-d) δ 6.43 (dd, J = 14.9, 10.4 Hz, 1H), 6.35 (dd, J = 14.9, 10.7 Hz, 1H), 6.16 (dd, J = 15.1, 10.2 Hz, 1H), 6.06 - 6.01 (m, 1H), 5.67 (dd, J = 15.2, 8.6 Hz, 1H), 5.35 (dd, J = 6.4, 1.8 Hz, 1H), 5.26 (d, J = 9.6 Hz, 1H), 4.83 (td, J = 6.6, 4.7 Hz, 1H), 4.12 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 3.88 (dd, J = 11.1, 5.1 Hz, 1H), 3.84 - 3.77 (m, 1H), 3.63 - 3.60 (m, 2H), 3.51 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 3.46 (s, 3H), 3.45 - 3.42 (m, 3H), 3.35 (s, 3H), 3.29 - 3.14 (m, 3H), 3.06 - 2.96 (m, 2H), 2.93 (ddd, J = 10.4, 6.4, 1.5 Hz, 1H), 2.44 (tt, J = 8.6, 6.2 Hz, 1H), 2.37 - 2.23 (m, 4H), 2.22 - 2.14 (m, 2H), 2.03 (dt, J = 12.3, 3.8 Hz, 1H), 1.96 (pd, J = 6.4, 5.7, 3.5 Hz, 2H), 1.92 - 1.82 (m, 3H), 1.80 - 1.76 (m, 2H), 1.75 (d, J = 1.2 Hz, 4H), 1.72 (d, J = 3.1 Hz, 1H), 1.68 (d, J = 1.3 Hz, 3H), 1.65 - 1.53 (m, 4H), 1.48 - 1.17 (m, 9H), 1.07 (d, J = 6.5 Hz, 1H), 1.06 (s, 3H), 1.04 (d, J = 7.3 Hz, 3H), 1.01 (d, J = 6.6 Hz, 3H), 0.99 (dd, J = 6.7, 2.3 Hz, 3H), 0.95 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 0.74 (q, J = 11.9 Hz, 1H).

[0583] 제2 용리 부분입체이성질체(30% 아세토니트릴-디클로로메탄에서 전개시킨 실리카 TLC 상에서 R_f ~0.16)는 실시예 2 (R)-부분입체이성질체를 백색 고체로서 얻는다.

[0584] 실시예 2: ESIMS [M+NH₄] 1006.9, ESIMS [M-H] 988.1.

[0585] ¹H NMR (클로로포름-d) δ 6.48 (dd, J = 14.7, 10.9 Hz, 1H), 6.24 (dd, J = 14.6, 10.6 Hz, 1H), 6.16 (dd, J = 14.9, 10.6 Hz, 1H), 6.01 (d, J = 11.0 Hz, 1H), 5.38 (dd, J = 14.9, 9.8 Hz, 1H), 5.23 (dd, J = 6.2, 2.0 Hz, 1H), 5.12 (d, J = 9.9 Hz, 1H), 4.73 (dd, J = 12.1, 2.9 Hz, 1H), 4.65 (dt, J = 8.3, 3.9 Hz, 1H), 4.14 (d, J = 6.7 Hz, 1H), 3.97 (m, 1H), 3.74 (d, J = 6.7 Hz, 1H), 3.62 (qd, J = 13.9, 12.7, 5.5 Hz, 2H), 3.42 (s, 3H), 3.39 (m, 1H), 3.31 (s, 3H), 3.24 (ddd, J = 12.2, 7.5, 4.6 Hz, 1H), 3.10 (td, J = 8.2, 3.8 Hz, 1H), 3.08 (s, 1H), 3.02 - 2.97 (m, 1H), 2.97 - 2.92 (m, 1H), 2.83 - 2.71 (m, 1H), 2.42 (ddt, J = 13.1, 9.5, 6.4 Hz, 1H), 2.34 (d, J = 4.3 Hz, 1H), 2.31 (s, 1H), 2.28 - 2.23 (m, 1H), 2.22 -

2.19 (m, 1H), 2.19 (s, 2H), 2.12 - 2.08 (m, 2H), 2.03 - 1.99 (m, 1H), 1.90 (s, 3H), 1.88 (s, 1H), 1.79 (s, 1H), 1.77 (s, 1H), 1.76 (s, 1H), 1.72 - 1.68 (m, 1H), 1.48 (s, 1H), 1.46 (s, 1H), 1.40 (d, J = 3.0 Hz, 1H), 1.38 (s, 1H), 1.66 (d, J = 3.0 Hz, 2H), 1.64 (d, J = 2.9 Hz, 1H), 1.62 (s, 2H), 1.62 (s, 2H), 1.58 - 1.53 (m, 1H), 1.37 (s, 1H), 1.36 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 1.33 (d, J = 2.9 Hz, 1H), 1.30 (dd, J = 6.7, 1.8 Hz, 1H), 1.28 (s, 2H), 1.28 (s, 2H), 1.24 (s, 1H), 1.09 (s, 1H), 1.07 (d, J = 6.6 Hz, 3H), 1.05 (d, J = 6.6 Hz, 3H), 1.01 (d, J = 3.2 Hz, 1H), 0.95 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 0.92 (s, 1H), 0.92 - 0.90 (m, 3H), 0.88 (d, J = 6.8 Hz, 2H), 0.66 (q, J = 12.0 Hz, 1H)

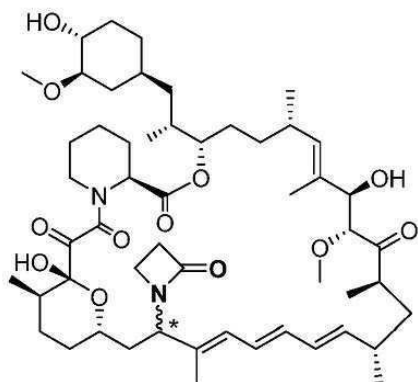
[0586] 실시예 1 및 실시예 2에서 C16 치환의 절대 입체배치를 FKBP12와의 X-선 결정학 공동 결정화에 의해 결정하였다. [Stuart L. Schrieber and Jon Clardy, *et al.*, Atomic Structure of the Rapamycin Humano Immunophilin FKBP-12 Complex, *J. Am. Chem. Soc.*, **1991**, *113*, 7433-7434]. 결정 구조를 도 1a 및 도 1b 및 도 2a 및 도 2b에 도시한다.

[0587] 순수 FKBP12(1-108) 단백질을 50 mM 트리스 pH 8.0, 150 mM NaCl, 1 mM EDTA, 1 mM TCEP에서 9 mg/ml로 농축시켰다. 단백질을 3 mM의 화합물과(90% DMSO, 10% D2O에서 제조한 50 mM 저장액으로부터) 혼합함으로써 공동결정화를 위한 복합체를 제조하였다. 복합체를 2시간 동안 4℃에서 인큐베이션시키고, 이어서, 10000 rpm에서 2분 동안 원심분리시켜 결정화 전에 임의의 잠재적 펠릿을 제거하였다. 20 ℃에서 미세증자 기질 선별을 이용하는 점적 증기 확산(drop vapor diffusion)을 이용하여 위치시킴으로써 공결정을 얻었다[Allan D'Arcy et al., An automated microseed matrix-screening method for protein crystallization, *Acta Cryst.*, (2007) D63, 550-554.] 점적은 200 nℓ의 단백질 용액, 160 nℓ의 웰 용액 및 40 nℓ의 증자-저장액으로 구성되었다. 결정은 쿼아젠(Qiagen)으로부터의 상업적으로 입수 가능한 "황산암모늄" 선별의 A1 조건에서 며칠 이내에 나타났다. 저장조 용액은 2.2M 황산암모늄으로 이루어졌다. 결정을 20%의 에틸렌 글리콜을 보충한 저장조 용액에서 동결보존시키고 나서, 액체 질소 내로 급속 냉동시켰다. 스위스 라이트 소스 퍼실리티(Swiss Light Source Facility)(SLS, 스위스 빌리겐에 소재)에서 빔라인 X10SA 상에서 데이터를 수집하였다.

[0588] 데이터를 XDS로 처리하였다(Kabsch, W. (2010), XDS. *Acta Cryst. D*, 66: 125-132]). 검색 모델로서 이전의 FKBP12 X-선 구조를 이용하는 분자 대체에 의해 구조를 결정하였다(Collaborative Computational Project, Number 4 (1994). *Acta Cryst. D*50, 760-763). 프로그램 REFMAC(Murshudov GN, Skubak P, Lebedev AA, et al., *REFMAC5* for the refinement of macromolecular crystal structures. *Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography*. 2011;67(Pt 4):355-367) 및 COOT(Emsley P, Lohkamp B, Scott WG, Cowtan K. Features and development of *Coot*, *Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography*. 2010;66(Pt 4):486-501)를 정제 및 모델(재)구성을 위해 사용하였다.

[0589] 다음의 실시예에서, X-선 공결정화에 의해 C16 치환체의 절대 입체화학을 결정하지 않았고, 알려져 있지 않다. 일부 예에서, 반응으로부터의 주요 부분입체이성질체 생성물만을 단리시키고 특성규명하였다. 다른 예에서, 각각의 부분입체이성질체를 단리시키고 절대 입체 화학적 배치 없이 특성규명하였다.

[0590] 실시예 3: C16-(4-옥소아제티딘-2-일)-C32-데옥소-라파마이신



실시예 3

* C16에서의 절대 입체화학은 부여되지 않음

[0591]

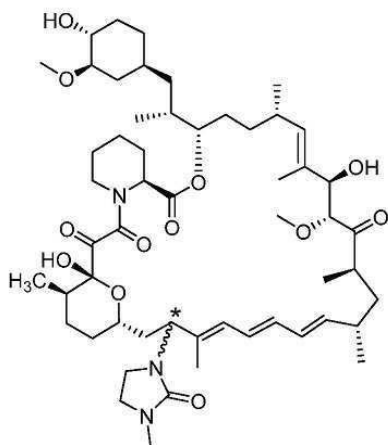
[0592] 아세트오니트릴(3 ml)에서 **중간체 1**(130 mg, 0.144mmol, 1.0eq) 및 아제티딘-2-온(205 mg, 2.89mmol, 20eq)의 용액에 파라-톨루엔설폰산 일수화물(82 mg, 0.433mmol, 3eq)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 15분 동안 교반시키고, 이어서, H₂O로 희석시키고 나서, 에틸아세테이트로 추출하였다. 유기 추출물을 감압 하에 증발시켰다. 조질의 생성물을 분취-HPLC 크로마토그래피(방법 1)에 의해 정제한 다음 SFC 정제(방법 1)에 의해 **실시예 3**(2.5 mg, 1.7% 수율)을 백색 고체로서 제공하였다.

[0593] **실시예 3**: ESIMS (M+H⁺) 938.0

[0594] 정확한 질량: 938.59

[0595] ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 6.45 (dd, J = 14.0, 11.0 Hz, 1H), 6.28 - 6.11 (m, 2H), 5.98 (d, J = 10.9 Hz, 1H), 5.95 - 5.85 (m, 1H), 5.50 (dd, J = 14.2, 9.5 Hz, 1H), 5.06 (d, J = 4.7 Hz, 1H), 5.02 - 4.97 (m, 1H), 4.94 (d, J = 9.8 Hz, 1H), 4.63 - 4.53 (m, 2H), 4.34 - 4.22 (m, 1H), 3.99 - 3.92 (m, 1H), 3.84 - 3.74 (m, 1H), 3.61 - 3.53 (m, 1H), 3.49 (d, J = 7.3 Hz, 1H), 3.46 - 3.39 (m, 1H), 3.37 - 3.25 (m, 3H), 3.22 - 3.12 (m, 4H), 3.10 - 3.04 (m, 1H), 3.04 - 2.95 (m, 1H), 2.92 - 2.65 (m, 4H), 2.27 - 2.11 (m, 2H), 2.10 - 1.99 (m, 2H), 1.96 - 1.87 (m, 1H), 1.84 - 1.70 (m, 5H), 1.69 - 1.37 (m, 15H), 1.37 - 1.05 (m, 8H), 1.03 - 0.93 (m, 4H), 0.90 (d, J = 6.4 Hz, 3H), 0.88 - 0.83 (m, 5H), 0.79 (d, J = 6.7 Hz, 3H), 0.75 (d, J = 6.7 Hz, 3H), 0.59 (q, J = 11.8 Hz, 1H).

[0596] **실시예 4**: C16-(3-메틸이미다졸리딘-2-온-1-일)-C32-테옥소-라파마이신



실시예 4

* C16에서의 절대 입체화학은 부여되지 않음

[0597]

[0598] DCM(2 ml) 중의 **중간체 1**(100 mg, 0.111mmol, 1.0eq) 및 1-메틸이미다졸리딘-2-온(167 mg, 1.66mmol, 15eq) 용액에 파라-톨루엔설폰산 일수화물(63 mg, 0.333mmol, 3eq)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 24시간 동안 교반시켰다. 혼합물을 H₂O로 희석시키고 나서, DCM으로 추출하였다. 유기 추출물을 감압 하에 증발시켰다. 조질의 생성물을 분취-HPLC 크로마토그래피(방법 1)에 의해 정제하여 **실시예 4**(9.0 mg, 8% 수율)를 백색 고체로서 얻었다.

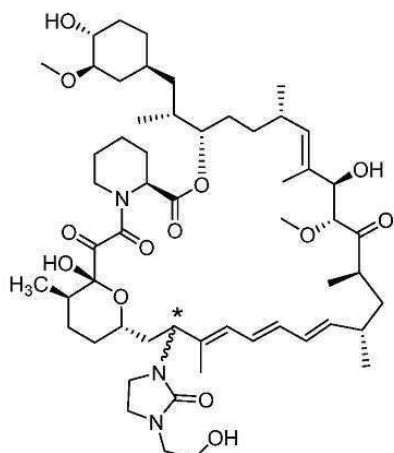
[0599] **실시예 4**: ESIMS (M+H⁺) 966.5

[0600] 정확한 질량: 967.61

[0601] ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 0.59 (q, J = 11.9 Hz, 1H), 0.74 (d, J = 6.7 Hz, 3H), 0.79 (d, J = 6.7 Hz, 3H), 0.80 - 0.90 (m, 8H), 0.92 - 1.00 (m, 4H), 1.04 - 1.10 (m, 1H), 1.12 - 1.34 (m, 7H), 1.34 - 1.67 (m, 14H), 1.69 (s, 3H), 1.71 - 1.78 (m, 2H), 1.88 - 1.94 (m, 1H), 1.96 - 2.08 (m, 3H), 2.10 - 2.25 (m, 2H), 2.60 - 2.69 (m, 4H), 2.80 - 2.94 (m, 2H), 3.07 - 3.20 (m, 5H), 3.21 - 3.26 (m, 2H), 3.33 (s, 3H), 3.41 - 3.48 (m, 1H), 3.56 - 3.66 (m, 3H), 3.99 (dd, J = 6.5, 3.5 Hz, 1H), 4.53 - 4.63 (m, 3H), 4.95 - 5.00 (m, 2H), 5.07 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 5.35 (s, 1H), 5.45 (dd, J = 14.9, 9.8 Hz, 1H), 5.98 (d, J = 11.0 Hz, 1H), 6.15 (dd, J = 14.8, 10.7 Hz, 1H), 6.23 (dd, J = 14.6, 10.7 Hz, 1H), 6.44 (dd, J = 14.6,

11.0 Hz, 1H).

[0602] 실시예 5: C16-(2-히드록시에틸)-2-옥소이미다졸리딘-1-일)-C32-데옥소-라파마이신



실시예 5

* C16에서의 절대 입체화학은 부여되지 않음

[0603]

[0604] DCM(2 ml) 중의 **중간체 1**(100 mg, 0.111mmol, 1.0eq)과 1-(2-히드록시에틸)이미다졸리딘-2-온(289 mg, 1.66mmol, 15eq)의 용액에 4-메틸벤젠설폰산 일수화물(119 mg, 0.626mmol, 3eq)을 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 밤새 교반시켰다. 반응물을 H₂O로 희석시키고 나서, DCM으로 추출하였다. 유기 추출물을 감압 하에 증발시켰다. 조질의 생성물을 분취 HPLC 크로마토그래피(방법 1)에 의해 정제한 다음 키랄 분취 HPLC(방법 2)에 의해 정제하여 **실시예 5**(13.7 mg, 12% 수율)를 백색 고체로서 수득하였다.

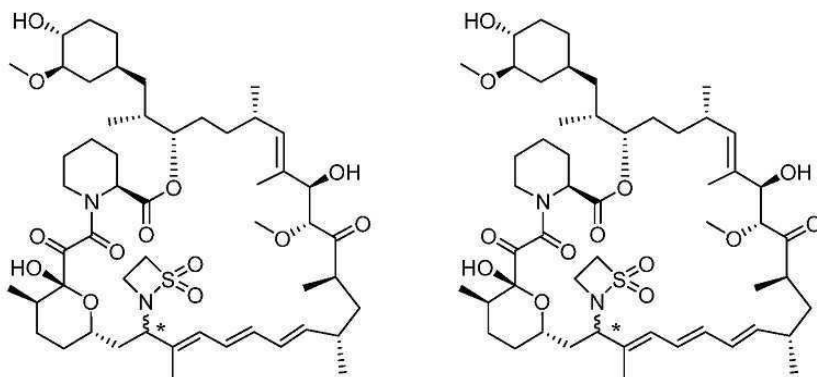
[0605] 실시예 5: ESIMS (M+H⁺) 998.5

[0606] 정확한 질량: 997.62

[0607] ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 6.45 (dd, J = 14.3, 11.0 Hz, 1H), 6.23 (dd, J = 14.3, 10.6 Hz, 1H), 6.14 (dd, J = 14.6, 10.6 Hz, 1H), 5.98 (d, J = 10.9 Hz, 1H), 5.44 (dd, J = 14.5, 9.8 Hz, 1H), 5.28 (s, 1H), 5.07 (d, J = 4.7 Hz, 1H), 5.02 - 4.96 (m, 2H), 4.67 (t, J = 5.3 Hz, 1H), 4.64 - 4.53 (m, 3H), 4.03 - 3.96 (m, 1H), 3.71 - 3.57 (m, 3H), 3.52 - 3.42 (m, 2H), 3.42 - 3.29 (m, 6H), 3.22 - 3.07 (m, 7H), 2.95 - 2.79 (m, 2H), 2.71 - 2.56 (m, 1H), 2.27 - 1.87 (m, 6H), 1.80 - 1.36 (m, 20H), 1.36 - 1.12 (m, 6H), 1.11 - 1.02 (m, 1H), 1.00 - 0.91 (m, 4H), 0.91 - 0.76 (m, 11H), 0.74 (d, J = 6.7 Hz, 3H), 0.59 (q, J = 11.9 Hz, 1H).

[0608] 실시예 6: C16-(1,1-디옥시도-1,2-티아제티딘-2-일)-C32-데옥소-라파마이신(부분입체이성질체 1)

[0609] 실시예 7: C16-(1,1-디옥시도-1,2-티아제티딘-2-일)-C32-데옥소-라파마이신(부분입체이성질체 2)

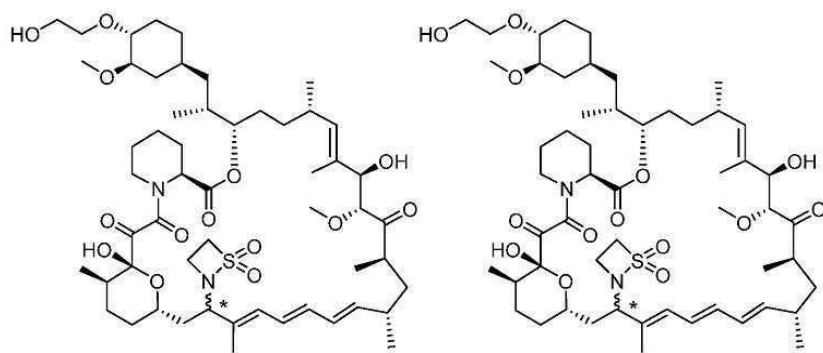


실시예 6 및 실시예 7

* C16에서의 절대 입체화학은 부여되지 않음

[0610]

- [0611] 부분입체이성질체 1: DCM(3 ml) 중의 **중간체 1**(150 mg, 0.167mmol, 1.0eq)과 1,2-티아제티딘 1,1-디옥시드 (89 mg, 0.833mmol, 5eq) 용액에 염화아연(II)(디에틸 에테르 중의 1M 용액, 0.5 ml, 0.500mmol, 3eq)을 0℃에서 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반시켰다. 혼합물을 H₂O로 희석시키고 나서, 에틸아세테이트로 추출하였다. 유기 추출물을 감압 하에 증발시켰다. 부분입체이성질체 혼합물의 조질의 생성물을 플래쉬 크로마토그래피(실리카; MeCN/DCM 0:100 내지 100:0)에 의해 분리시켰다.
- [0612] 분취 HPLC(방법 2)에 의한 제1 용리 부분입체이성질체의 최종 정제로 **실시예 6**(18 mg, 10.7% 수율)을 백색 고체로서 수득하였다.
- [0613] **실시예 6**: ESIMS [M+NH₄]⁺ 992.6, [M+FA-H]⁻ 1019.6.
- [0614] 정확한 질량: 974.55
- [0615] ¹H NMR (400 MHz, 클로로포름-*d*) δ 6.39 (dd, J = 14.8, 9.8 Hz, 1H), 6.34 (dd, J = 14.8, 10.3 Hz, 1H), 6.18 - 6.10 (m, 1H), 6.02 (d, J = 10.3, 1.5 Hz, 1H), 5.66 (dd, J = 15.1, 8.6 Hz, 1H), 5.38 (s, 1H), 5.32 (dd, J = 6.4, 1.8 Hz, 1H), 5.23 (d, J = 9.6 Hz, 1H), 4.87 - 4.76 (m, 1H), 4.12 - 4.06 (m, 1H), 3.99 (ddd, J = 12.0, 8.2, 6.2 Hz, 1H), 3.92 - 3.86 (m, 1H), 3.84 (dd, J = 10.7, 4.4 Hz, 1H), 3.81 - 3.74 (m, 1H), 3.63 - 3.59 (m, 2H), 3.59 (d, J = 3.6 Hz, 1H), 3.46 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 3.43 (s, 3H), 3.40 - 3.37 (m, 1H), 3.32 (s, 3H), 3.04 (ddd, J = 8.2, 5.8, 3.8 Hz, 1H), 3.00 - 2.94 (m, 1H), 2.94 - 2.89 (m, 1H), 2.88 - 2.84 (m, 1H), 2.64 (d, J = 6.7 Hz, 1H), 2.47 - 2.38 (m, 1H), 2.36 - 2.27 (m, 2H), 2.21 - 2.12 (m, 1H), 2.03 - 1.97 (m, 1H), 1.95 - 1.77 (m, 7H), 1.76 - 1.67 (m, 5H), 1.65 (s, 3H), 1.60 - 1.50 (m, 6H), 1.47 - 1.39 (m, 2H), 1.38 - 1.27 (m, 4H), 1.25 - 1.10 (m, 3H), 1.08 - 1.04 (m, 1H), 1.03 - 1.01 (m, 3H), 1.00 (d, J = 1.4 Hz, 3H), 0.99 - 0.97 (m, 3H), 0.97 (d, J = 6.6 Hz, 3H), 0.93 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 0.75 - 0.66 (m, 1H).
- [0616] SFC 크로마토그래피(방법 2)를 이용하면 제2 용리 부분입체이성질체의 최종 정제로 **실시예 7**(15.8 mg, 9.2% 수율)을 백색 고체로서 수득하였다.
- [0617] **실시예 7**: ESIMS [M+NH₄]⁺ 992.7, [M+FA-H]⁻ 1019.6
- [0618] 정확한 질량: 974.55
- [0619] ¹H NMR (400 MHz, 클로로포름-*d*) δ 6.46 (dd, J = 14.2, 10.9 Hz, 1H), 6.22 (dd, J = 14.2, 10.6 Hz, 1H), 6.14 (dd, J = 14.5, 10.6 Hz, 1H), 6.00 (d, J = 10.9 Hz, 1H), 5.38 (dd, J = 14.5, 9.6 Hz, 1H), 5.27 - 5.19 (m, 1H), 5.12 - 5.05 (m, 1H), 4.66 - 4.59 (m, 1H), 4.59 - 4.53 (m, 1H), 4.25 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 4.17 - 4.06 (m, 3H), 4.02 (ddd, J = 11.8, 8.0, 3.5 Hz, 1H), 3.66 (d, J = 7.0 Hz, 1H), 3.60 - 3.52 (m, 2H), 3.43 - 3.34 (m, 4H), 3.28 (s, 3H), 3.17 - 3.07 (m, 1H), 3.03 - 2.95 (m, 1H), 2.95 - 2.89 (m, 1H), 2.84 - 2.73 (m, 1H), 2.65 - 2.62 (m, 1H), 2.35 - 2.26 (m, 1H), 2.27 - 2.21 (m, 1H), 2.21 - 2.12 (m, 3H), 2.12 - 2.05 (m, 1H), 2.02 - 1.98 (m, 1H), 1.97 - 1.95 (m, 3H), 1.91 - 1.83 (m, 1H), 1.82 - 1.70 (m, 3H), 1.70 - 1.51 (m, 10H), 1.50 - 1.17 (m, 10H), 1.11 - 1.06 (m, 1H), 1.06 - 1.02 (m, 6H), 1.01 - 0.96 (m, 1H), 0.93 (d, J = 6.8 Hz, 4H), 0.89 (d, J = 6.6 Hz, 3H), 0.86 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 0.64 (q, J = 11.9 Hz, 1H).
- [0620] **실시예 8**: C16-(1,1-디옥시도-1,2-티아제티딘-2-일)-C32-테옥소-C40-(2-히드록시에톡시)-라파마이신(부분입체이성질체 1)
- [0621] **실시예 9**: C16-(1,1-디옥시도-1,2-티아제티딘-2-일)-C32-테옥소-C40-(2-히드록시에톡시)-라파마이신(부분입체이성질체 2)



실시예 8 및 실시예 9

* C16에서의 절대 입체화학은 부여되지 않음

[0622]

[0623]

DCM(1 ml) 중의 **중간체 3**(50 mg, 0.053 mmol, 1.0eq)과 1,2-티아제틴 1,1-디옥시드(56.7 mg, 0.530mmol, 10eq) 용액에 염화아연(II)(디에틸에테르 1M 용액, 0.265 ml, 0.265mmol, 5eq)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 1.5시간 동안 교반시켰다. 반응물을 H₂O로 희석시키고 나서, 에틸아세테이트로 추출하였다. 유기 추출물을 감압 하에 증발시켰다. 부분입체이성질체 혼합물의 조질의 생성물을 플래쉬 크로마토그래피(실리카; MeCN/DCM 0:100 내지 100:0)에 의해 분리시켰다.

[0624]

분취 HPLC(방법 2)를 이용하는 제1 용리 부분입체이성질체의 최종 정제로 **실시예 8**(3.1 mg, 5.5% 수율)을 백색 고체로서 수득하였다.

[0625]

실시예 8: ESIMS [M+NH₄]⁺ 1037.0, [M+FA-H]⁻ 1064.1

[0626]

정확한 질량: 1018.58

[0627]

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 6.53 - 6.44 (m, 1H), 6.41 (dd, J = 11.0, 5.6 Hz, 1H), 6.29 - 6.14 (m, 2H), 6.07 (dd, J = 11.0, 1.5 Hz, 1H), 5.54 (dd, J = 14.6, 9.1 Hz, 1H), 5.06 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 4.99 - 4.93 (m, 1H), 4.92 - 4.83 (m, 1H), 4.70 - 4.60 (m, 1H), 4.49 - 4.42 (m, 1H), 4.13 - 4.02 (m, 3H), 3.92 - 3.86 (m, 1H), 3.69 - 3.64 (m, 1H), 3.59 - 3.54 (m, 1H), 3.52 - 3.42 (m, 5H), 3.33 (s, 3H), 3.30 - 3.27 (m, 1H), 3.13 (s, 3H), 3.10 - 3.02 (m, 2H), 3.02 - 2.94 (m, 2H), 2.90 - 2.80 (m, 1H), 2.30 - 2.21 (m, 1H), 2.21 - 2.10 (m, 1H), 2.10 - 2.00 (m, 2H), 2.00 - 1.87 (m, 3H), 1.82 (s, 3H), 1.81 - 1.62 (m, 6H), 1.58 - 1.54 (m, 1H), 1.53 - 1.47 (m, 5H), 1.47 - 1.35 (m, 5H), 1.36 - 1.23 (m, 2H), 1.23 - 1.09 (m, 4H), 1.06 - 1.01 (m, 1H), 1.01 - 0.95 (m, 6H), 0.90 - 0.87 (m, 1H), 0.87 - 0.83 (m, 3H), 0.81 (d, J = 6.7 Hz, 3H), 0.76 - 0.70 (m, 4H), 0.68 - 0.60 (m, 1H).

[0628]

분취 HPLC(방법 2)를 이용하는 제2 용리 부분입체이성질체의 최종 정제로 **실시예 9**(2.8 mg, 4.9% 수율)를 백색 고체로서 수득하였다.

[0629]

실시예 9: ESIMS [M+NH₄]⁺ 1037.2, [M+FA-H]⁻ 1064.3

[0630]

정확한 질량: 1018.58

[0631]

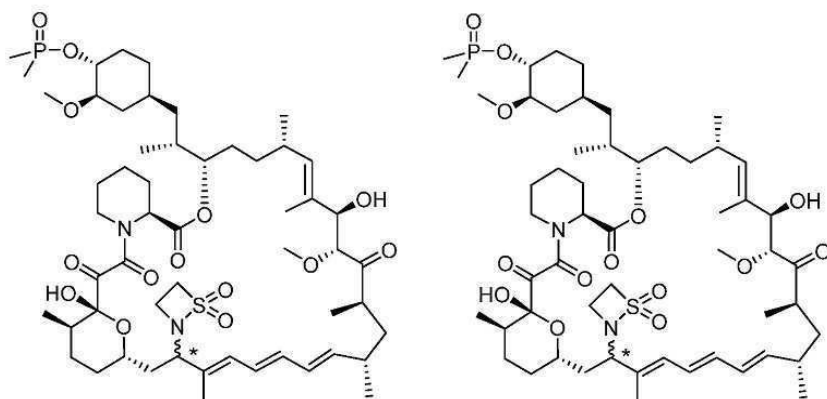
¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 6.48 - 6.40 (m, 1H), 6.27 - 6.19 (m, 1H), 6.19 - 6.13 (m, 1H), 6.10 - 6.05 (m, 1H), 5.52 (dd, J = 14.2, 9.3 Hz, 1H), 5.13 - 5.00 (m, 2H), 4.96 (d, J = 9.4 Hz, 1H), 4.67 - 4.57 (m, 1H), 4.48 - 4.40 (m, 1H), 4.17 - 4.10 (m, 2H), 4.10 - 4.02 (m, 2H), 3.98 - 3.90 (m, 1H), 3.56 - 3.49 (m, 2H), 3.50 - 3.43 (m, 4H), 3.37 (d, J = 11.2 Hz, 1H), 3.33 (s, 3H), 3.23 - 3.15 (m, 1H), 3.15 - 3.10 (m, 4H), 3.07 - 2.95 (m, 2H), 2.75 - 2.64 (m, 1H), 2.27 - 2.14 (m, 2H), 2.11 - 2.00 (m, 2H), 2.00 - 1.89 (m, 3H), 1.82 (s, 3H), 1.76 - 1.65 (m, 2H), 1.65 - 1.56 (m, 3H), 1.56 - 1.49 (m, 7H), 1.48 - 1.36 (m, 3H), 1.34 - 1.23 (m, 3H), 1.23 - 1.04 (m, 5H), 1.01 - 0.94 (m, 4H), 0.90 (d, J = 6.4 Hz, 3H), 0.88 - 0.83 (m, 5H), 0.80 (d, J = 6.7 Hz, 3H), 0.75 (d, J = 6.7 Hz, 3H), 0.62 (q, J = 11.8 Hz, 1H).

[0632]

실시예 10: C16-(1,1-디옥시도-1,2-티아제틴-2-일)-C32-데옥소-C40-디메틸포스포닐-라파마이신(부분입체이성

질체 1)

실시예 11: C16-(1,1-디옥시도-1,2-티아제티딘-2-일)-C32-테옥소-C40-디메틸포스포닐-라파마이신(부분입체이성질체 2)



실시예 10 및 실시예 11

* C16에서의 절대 입체화학은 부여되지 않음

DCM(5 ml) 중의 **중간체 4**(100 mg, 0.102mmol, 1.0eq)와 1,2-티아제티딘 1,1-디옥시드 (54.9 mg, 0.512mmol, 5eq)의 용액에 염화아연(II)(디에틸에테르 중의 1M, 0.512 ml, 0.512mmol, 5eq)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 15분 동안 교반시켰다. 반응물을 H₂O로 희석시키고 나서, 에틸아세테이트로 추출하였다. 유기 추출물을 감압 하에 증발시켰다. 부분입체이성질체 혼합물의 조질의 생성물을 SFC 크로마토그래피에 의해 분리시켰다(방법 3).

분취 HPLC(방법 2)를 이용하는 제1 용리 부분입체이성질체의 최종 정제로 **실시예 10**(20.7 mg, 18.8% 수율)을 백색 고체로서 수득하였다.

실시예 10: ESIMS [M+H]⁺ 1051.9, [M+FA-H]⁻ 1096.0

정확한 질량: 1050.56

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 6.49 – 6.39 (m, 2H), 6.30 – 6.14 (m, 2H), 6.11 – 6.01 (m, 1H), 5.60 – 5.50 (m, 1H), 5.06 – 5.00 (m, 1H), 4.98 – 4.93 (m, 1H), 4.87 (d, J = 9.7 Hz, 1H), 4.67 – 4.58 (m, 1H), 4.17 – 4.01 (m, 3H), 4.01 – 3.92 (m, 1H), 3.92 – 3.85 (m, 1H), 3.73 – 3.64 (m, 1H), 3.60 – 3.52 (m, 1H), 3.50 – 3.42 (m, 1H), 3.35 – 3.26 (m, 4H), 3.15 – 3.12 (m, 3H), 3.11 – 3.01 (m, 2H), 3.01 – 2.95 (m, 1H), 2.88 – 2.79 (m, 1H), 2.29 – 2.20 (m, 1H), 2.20 – 2.12 (m, 1H), 2.10 – 1.99 (m, 2H), 1.99 – 1.87 (m, 3H), 1.82 (s, 3H), 1.80 – 1.71 (m, 1H), 1.71 – 1.62 (m, 4H), 1.58 – 1.54 (m, 1H), 1.52 – 1.48 (m, 5H), 1.47 – 1.31 (m, 13H), 1.28 – 1.11 (m, 4H), 1.07 – 1.02 (m, 1H), 1.01 – 0.95 (m, 8H), 0.87 – 0.84 (m, 3H), 0.82 (d, J = 6.7 Hz, 3H), 0.79 – 0.76 (m, 1H), 0.74 (d, J = 6.7 Hz, 3H), 0.72 – 0.66 (m, 1H).

분취 HPLC(방법 2)를 이용하는 제2 용리 부분입체이성질체의 최종 정제로 **실시예 11**(13.4 mg, 12.2% 수율)을 백색 고체로서 수득하였다.

실시예 11: ESIMS [M+H]⁺ 1051.8, [M+FA-H]⁻ 1095.8

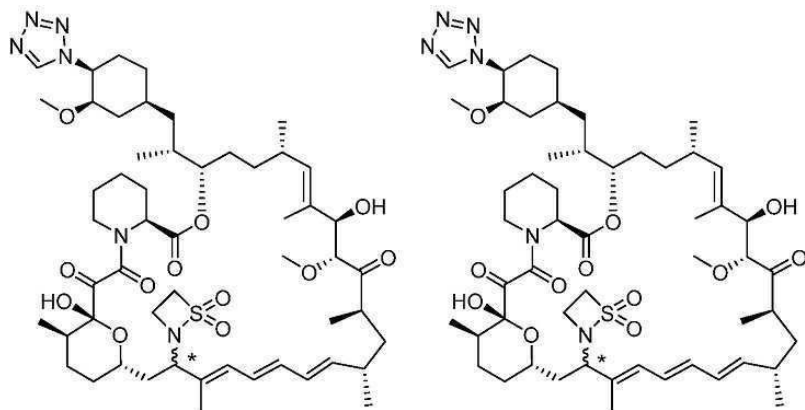
정확한 질량: 1050.56

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 6.51 – 6.39 (m, 1H), 6.28 – 6.13 (m, 2H), 6.08 (d, J = 11.1 Hz, 1H), 6.04 – 5.88 (m, 1H), 5.57 – 5.46 (m, 1H), 5.05 (s, 1H), 5.03 (d, J = 5.7 Hz, 1H), 4.96 (d, J = 9.9 Hz, 1H), 4.67 – 4.56 (m, 1H), 4.18 – 4.11 (m, 2H), 4.09 – 4.02 (m, 2H), 3.99 – 3.89 (m, 2H), 3.60 – 3.49 (m, 2H), 3.37 (d, J = 13.3 Hz, 1H), 3.30 (s, 3H), 3.18 (dt, J = 7.7, 5.1 Hz, 1H), 3.15 – 3.11 (m, 4H), 3.07 – 3.00 (m, 1H), 2.73 – 2.63 (m, 1H), 2.28 – 2.13 (m, 2H), 2.13 – 2.05 (m, 2H), 2.05 – 1.97 (m, 2H), 1.97 – 1.88 (m, 1H), 1.83 (s, 3H), 1.80 – 1.69 (m, 1H), 1.68 – 1.58 (m, 4H), 1.58 – 1.48 (m, 7H), 1.48 – 1.43 (m, 1H), 1.42 – 1.34 (m, 10H), 1.34 – 1.28 (m, 1H), 1.28 – 1.22 (m, 2H), 1.22 – 1.13 (m,

2H), 1.13 - 1.03 (m, 1H), 1.03 - 0.94 (m, 5H), 0.94 - 0.88 (m, 4H), 0.86 (d, J = 6.5 Hz, 3H), 0.81 (d, J = 6.7 Hz, 3H), 0.75 (d, J = 6.6 Hz, 3H), 0.66 (q, J = 12.0 Hz, 1H).

[0644] 실시예 12: C16-(1,1-디옥시도-1,2-티아제티딘-2-일)-C32-테옥소-C40-(S)-(1H-테트라졸-1-일)-라파마이신(부분 입체이성질체 1)

[0645] 실시예 13: C16-(1,1-디옥시도-1,2-티아제티딘-2-일)-C32-테옥소-C40-(S)-(1H-테트라졸-1-일)-라파마이신(부분 입체이성질체 2)



실시예 12 및 실시예 13

* C16에서의 절대 입체화학은 부여되지 않음

[0646]

[0647] DCM(6 ml) 중의 **중간체 5**(118 mg, 0.124mmol, 1.0eq)와 1,2-티아제티딘 1,1-디옥시드(66.4 mg, 0.620mmol, 5eq)의 용액에 염화아연(II)(디에틸에테르 중의 1M 용액, 0.620 ml, 0.620mmol, 5eq)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 3시간 동안 교반시켰다. 반응물을 H₂O로 희석시키고 나서, 에틸아세테이트로 추출하였다. 유기 추출물을 감압 하에 증발시켰다. 부분입체이성질체 혼합물의 조질의 생성물을 SFC 크로마토그래피에 의해 분리시켰다(방법 3).

[0648] 분취 HPLC(방법 2)를 이용하는 제1 용리 부분입체이성질체의 최종 정제로 **실시예 12**(14.8 mg, 11.3% 수율)을 백색 고체로서 수득하였다.

[0649] **실시예 12**: ESIMS [M+NH₄]⁺ 1050.0, [M+FA-H]⁻ 1072.1

[0650] 정확한 질량: 1026.57

[0651] ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.32 (s, 1H), 6.52 (s, 1H), 6.45 - 6.37 (m, 1H), 6.31 - 6.14 (m, 2H), 6.10 - 6.04 (m, 1H), 5.60 - 5.49 (m, 1H), 5.23 - 5.12 (m, 1H), 5.07 - 5.01 (m, 1H), 4.99 - 4.93 (m, 1H), 4.87 (d, J = 9.7 Hz, 1H), 4.69 - 4.59 (m, 1H), 4.15 - 4.02 (m, 3H), 3.94 - 3.84 (m, 1H), 3.72 - 3.54 (m, 3H), 3.51 - 3.42 (m, 1H), 3.27 (s, 4H), 3.11 (s, 3H), 3.07 (dd, J = 7.3, 5.1 Hz, 1H), 3.01 - 2.91 (m, 1H), 2.85 (td, J = 10.6, 9.5, 4.7 Hz, 1H), 2.28 - 2.13 (m, 3H), 2.10 - 2.00 (m, 2H), 1.98 - 1.88 (m, 3H), 1.82 (s, 3H), 1.80 - 1.75 (m, 1H), 1.73 - 1.67 (m, 4H), 1.59 - 1.53 (m, 4H), 1.53 - 1.45 (m, 6H), 1.45 - 1.34 (m, 3H), 1.33 - 1.20 (m, 3H), 1.20 - 1.07 (m, 3H), 1.05 - 1.01 (m, 1H), 1.00 - 0.94 (m, 6H), 0.88 - 0.82 (m, 6H), 0.80 - 0.75 (m, 1H), 0.73 (d, J = 6.7 Hz, 3H).

[0652] 분취 HPLC(방법 2)를 이용하는 제2 용리 부분입체이성질체의 최종 정제로 **실시예 13**(12.3 mg, 9.4% 수율)을 백색 고체로서 수득하였다.

[0653] **실시예 13**: ESIMS [M+H]⁺ 1027.7, [M-H]⁻ 1025.6, [M+FA-H]⁻ 1071.6

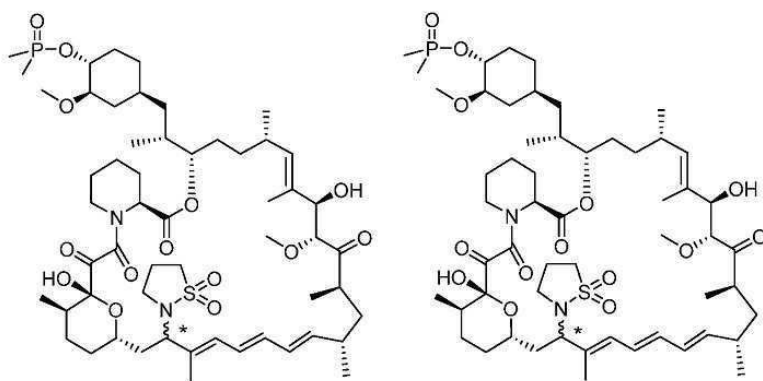
[0654] 정확한 질량: 1026.57

[0655] ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.30 (s, 1H), 6.52 - 6.38 (m, 1H), 6.28 - 6.14 (m, 2H), 6.08 (d, J = 11.1 Hz, 1H), 5.58 - 5.42 (m, 1H), 5.21 - 5.14 (m, 1H), 5.10 - 5.00 (m, 2H), 5.00 - 4.92 (m, 1H), 4.69 - 4.57 (m, 1H), 4.16 - 4.10 (m, 3H), 4.08 - 4.01 (m, 1H), 3.97 - 3.91 (m, 1H), 3.61 (dt, J = 10.6, 4.1

Hz, 1H), 3.57 - 3.51 (m, 1H), 3.51 - 3.46 (m, 1H), 3.46 - 3.36 (m, 1H), 3.27 (s, 3H), 3.19 - 3.15 (m, 1H), 3.12 (s, 3H), 3.11 - 3.08 (m, 1H), 2.80 - 2.68 (m, 1H), 2.25 - 2.15 (m, 3H), 2.10 - 2.01 (m, 2H), 2.01 - 1.89 (m, 2H), 1.83 (s, 3H), 1.79 - 1.65 (m, 4H), 1.64 - 1.58 (m, 2H), 1.57 - 1.54 (m, 2H), 1.54 - 1.47 (m, 7H), 1.46 - 1.35 (m, 3H), 1.32 - 1.18 (m, 5H), 1.14 - 1.04 (m, 3H), 0.98 (d, J = 6.6 Hz, 3H), 0.91 - 0.85 (m, 7H), 0.83 (d, J = 6.7 Hz, 3H), 0.72 (d, J = 6.6 Hz, 3H).

[0656] 실시예 14: C16-(1,1-디옥시도이소티아졸리딘-2-일)-C32-테옥소-C40-디메틸포스포닐-라파마이신(부분입체이성질체 1)

[0657] 실시예 15: C16-(1,1-디옥시도이소티아졸리딘-2-일)-C32-테옥소-C40-디메틸포스포닐-라파마이신(부분입체이성질체 2)



실시예 14 및 실시예 15

* C16에서의 절대 입체화학은 부여되지 않음

[0658]

[0659] 중간체 4(0.146 g, 0.150 mmol)와 이소티아졸리딘 1,1-디옥시드(0.181 g, 1.496 mmol)를 무수 아세트니트릴(1.5 mL)에 용해시켰다. 파라-톨루엔설폰산 일수화물(2.84 mg, 0.015 mmol)을 한 번에 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반시켰다.

[0660] 수성 포화 NaHCO_3 를 첨가하였다. 혼합물을 에틸아세테이트로 여러 번 추출하였다. 유기 추출물을 합치고 나서, Na_2SO_4 로 건조시키고, 디캔팅시키고 나서, 농축시켜 무색의 타르 조질 생성물을 제공하였다.

[0661] 조질의 생성물을 MeOH(2.5 mL)에 용해시키고 나서, 분취-스케일 역상 크로마토그래피(100g C18 ISCO 칼럼 상에서 40 내지 90% 아세트니트릴-물 + 0.1% TFA 개질제)를 통해 한 번의 주입으로 정제하였다.

[0662] 제1 용리 피크 분획을 모으고 나서, 회전증발기에서 약 1/3 용적으로 감소시켰다. 남아있는 용액을 포화 수성 NaHCO_4 로 염기성으로 만들고 나서, EtOAc로 여러 번 추출하였다. 유기 추출물을 합치고 나서, Na_2SO_4 로 건조시키고, 디캔팅시키고 나서, 농축시켜 실시예 14(0.055 g, 0.044 mmol, 29.3% 수율)를 백색 고체로서 제공하였다.

[0663] 실시예 14: ESIMS $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ 1082.8, $[\text{M}-\text{H}]^-$ 1063.7.

[0664] HRMS: 나트륨 부가물로서 $\text{C}_{55}\text{H}_{89}\text{N}_{20}\text{PNa}$ 에 대한 계산치- 1087.5670. 실측치-1087.5725.

[0665] ^1H NMR (400 MHz, 클로로포름-*d*) δ 6.45 (dd, J = 14.4, 10.9 Hz, 1H), 6.22 (dd, J = 14.5, 10.6 Hz, 1H), 6.13 (dd, J = 14.6, 10.5 Hz, 1H), 5.98 (d, J = 10.8 Hz, 1H), 5.35 (dd, J = 14.7, 9.8 Hz, 1H), 5.23 - 5.17 (m, 1H), 5.10 (d, J = 9.8 Hz, 1H), 4.67 (m, 2H), 4.47 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 4.18 - 4.04 (m, 2H), 4.03 - 3.91 (m, 1H), 3.72 (d, J = 6.5 Hz, 1H), 3.68 - 3.48 (m, 2H), 3.38 (m, 4H), 3.28 (s, 3H), 3.26 - 3.12 (m, 2H), 3.12 - 2.91 (m, 4H), 2.74 (m, 1H), 2.48 - 2.26 (m, 3H), 2.26 - 2.12 (m, 3H), 2.12 - 2.04 (m, 2H), 1.87 (s, 3H), 1.85 - 1.72 (m, 4H), 1.72 - 1.54 (m, 12H), 1.54 - 1.43 (m, 6H), 1.43 - 1.33 (m, 3H), 1.33 - 1.21 (m, 2H), 1.21 - 1.09 (m, 2H), 1.03 (m, 7H), 1.00 - 0.78 (m, 9H), 0.72 (q, J = 11.9 Hz, 1H).

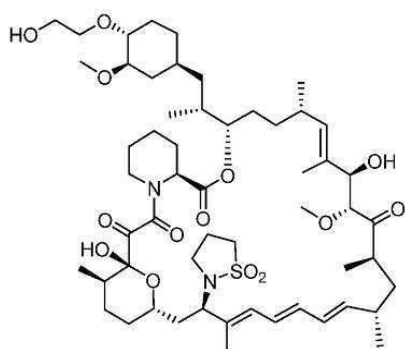
[0666] 제2 용리 피크 분획을 모으고 나서, 회전증발기에서 약 1/3 용적으로 감소시켰다. 남아있는 용액을 포화 수성 NaHCO_3 로 염기성으로 만들었다. 혼합물을 에틸아세테이트로 여러 번 추출하였다. 유기 추출물을 합치고 나서, Na_2SO_4 로 건조시키고, 디캔팅시키고 나서, 농축시켜 실시예 15(0.010 g, 7.51 μmol , 5.02% 수율)를 백색 고체

로서 제공하였다.

실시예 15: ESIMS [M+NH₄] 1082.8, [M-H] 1063.8.

¹H NMR (400 MHz, 클로로포름-*d*) δ 6.36 (dd, *J* = 19.2, 10.3 Hz, 1H), 6.13 (m, 1H), 6.04 - 5.84 (m, 1H), 5.65 (m, 1H), 5.32 (m, 1H), 6.21 (m, 1H), 5.11 (m, 1H), 4.81 (dd, *J* = 13.7, 7.5 Hz, 1H), 4.21 - 4.03 (m, 1H), 3.83 (dd, *J* = 15.2, 5.1 Hz, 2H), 3.74 (d, *J* = 13.2 Hz, 1H), 3.59 (dq, *J* = 10.9, 6.8, 5.6 Hz, 2H), 3.52 (d, *J* = 7.1 Hz, 1H), 3.46 - 3.33 (m, 7H), 3.30 (m, 3H), 3.18 (m, 3H), 3.10 - 2.82 (m, 3H), 2.39 (t, *J* = 4.1 Hz, 1H), 2.28 (m, 3H), 2.14 (m, 3H), 1.90 - 1.77 (m, 4H), 1.74 (m, 4H), 1.66 (d, *J* = 10.4 Hz, 3H), 1.61 - 1.41 (m, 12H), 1.34 - 1.19 (m, 5H), 1.18 - 1.11 (m, 1H), 1.11 - 0.79 (m, 19H), 0.78 - 0.68 (m, 1H).

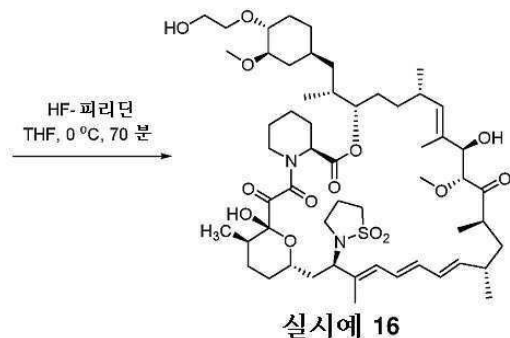
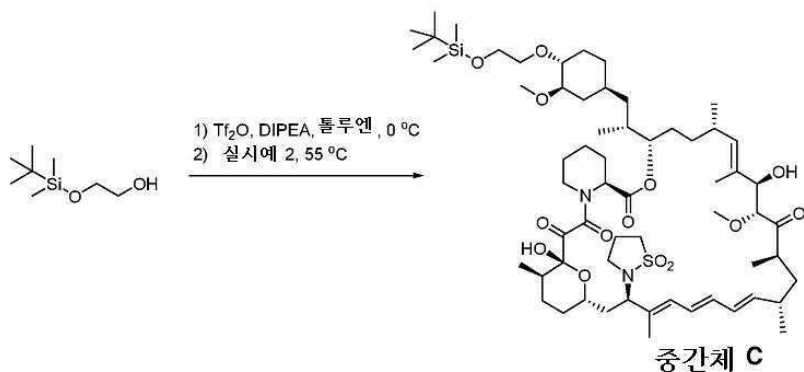
실시예 16: (R)-C16-(1,1-디옥시도이소티아졸리딘-2-일)-C32-테옥소-C40-(2-히드록시에톡시)-라파마이신



실시예 16

출발 물질로서 **실시예 2**를 이용하는 것에 기반하여 (*R*)이 되는 것으로 알려진 C16에서의 절대 입체화학.

실시예 16을 2-((*tert*-부틸디메틸실릴)옥시)에탄올 및 **실시예 2**로부터의 2단계 절차로 제조하였다.



단계 1. 중간체 C의 제조

2-((*tert*-부틸디메틸실릴)옥시)에탄올(0.142 g, 0.803 mmol)을 무수 톨루엔(0.4 ml) 중에 용해시켰다. *N,N*-다이

소프로필에틸아민(0.147 mL, 0.843 mmol)을 주사기를 통해 첨가하였다. 이어서, 혼합물을 질소로 진공 퍼지시키고, 이어서, 빙수 욕에서 0℃로 냉각시켰다. 트리플릭산 무수물(0.132 mL, 0.779 mmol)을 60초의 기간에 걸쳐 주사기를 통해 첨가하였다. 반응물을 0℃에서 30분 동안 교반시켰다.

[0676] *N,N*-디이소프로필에틸아민(0.147 mL, 0.843 mmol), 톨루엔(0.5 mL) 및 **실시예 2**(0.198 g, 0.200 mmol)를 첨가하였다. 빙욕을 제거하고 나서, 반응물을 밤새 40℃에서 교반시키고, 이어서, 1시간 동안 55℃에서 교반시켰다.

[0677] 반응물을 포화 수성 NaHCO₃으로 희석시키고 나서, EtOAc로 4회 추출하였다. 유기 추출물을 합치고 나서, Na₂SO₄로 건조시키고, 셀라이트를 통해 진공 여과시키고, 농축시켜 무색 오일로서 조질의 생성물을 제공하였다.

[0678] 조질의 생성물을 실리카겔 플래쉬 칼럼 크로마토그래피(0 내지 40% 아세톤-헥산, 구배 용리, 12g 실리카 칼럼, 30% 아세톤-헥산에서 TLC, UV 하에 시각화)에 의해 정제하여 **중간체 C**(0.077 g, 0.067 mmol, 33.5% 수율)를 백색 고체로서 제공하였다.

[0679] **중간체 C**: ESIMS [M+NH₄] 1164.7, [M-H] 1147.0.

[0680] 단계 2. 실시예 16의 제조

[0681] **중간체 C**(0.077 g, 0.067 mmol)를 무수 THF(0.7 mL)에서 피리딘(5.43 μL, 0.067 mmol)과 합하였다. 이어서, 혼합물을 질소로 2회 진공 퍼지시키고, 이어서, 빙수 욕에서 0℃로 냉각시켰다. HF-피리딘(0.086 mL, 0.671 mmol)을 15초의 기간에 걸쳐 주사기를 통해 적가시켰다. 반응물을 0℃에서 70분 동안 교반시켰다.

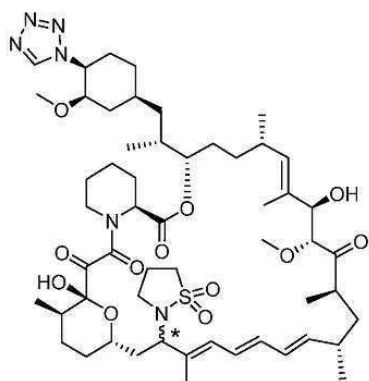
[0682] 반응물을 포화 수성 NaHCO₃으로 반응 중단시키고 나서, EtOAc로 여러 번 추출하였다. 유기 추출물을 합치고 나서, Na₂SO₄로 건조시키고, 셀라이트를 통해 진공 여과시키고, 농축시켜 백색 고체 조질의 생성물을 제공하였다.

[0683] 조질의 생성물을 실리카겔 플래쉬 칼럼 크로마토그래피(0 내지 40% 아세톤-헥산, 구배 용리, 12g 실리카 칼럼, 40% EtOAc-헥산에서 TLC, UV 하에 시각화)에 의해 정제하여 **실시예 16**(0.049 g, 0.046 mmol, 69.0% 수율)을 백색 고체로서 제공하였다.

[0684] **실시예 16**: ESIMS [M+NH₄] 1050.9, [M-H] 1031.9.

[0685] ¹H NMR (600 MHz, 클로로포름-*d*) δ 6.45 (dd, *J* = 14.6, 10.9 Hz, 1H), 6.22 (dd, *J* = 14.7, 10.6 Hz, 1H), 6.13 (dd, *J* = 14.9, 10.6 Hz, 1H), 5.98 (d, *J* = 10.9 Hz, 1H), 5.35 (dd, *J* = 14.9, 9.8 Hz, 1H), 5.20 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 5.09 (d, *J* = 9.9 Hz, 1H), 4.71 (d, *J* = 12.3 Hz, 1H), 4.62 (m, 1H), 4.46 (s, 1H), 4.11 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 3.96 (t, *J* = 11.3 Hz, 1H), 3.78 (m, 1H), 3.70 (m, 3H), 3.63 - 3.55 (m, 3H), 3.43 (s, 3H), 3.28 (s, 3H), 3.24 - 3.15 (m, 2H), 3.12 - 3.04 (m, 2H), 3.07 - 2.98 (m, 1H), 2.97 (q, *J* = 7.9 Hz, 1H), 2.75 (m, 1H), 2.44 - 2.33 (m, 1H), 2.30 (M, 2H), 2.23 (m, 1H), 2.16 (m, 2H), 2.09 (d, *J* = 13.1 Hz, 1H), 2.01 (m, 1H), 1.88 (s, 3H), 1.84 (d, *J* = 13.1 Hz, 1H), 1.78 - 1.70 (m, 3H), 1.70 - 1.62 (m, 4H), 1.52 (dd, *J* = 11.8, 7.7 Hz, 1 H), 1.50 - 1.41 (m, 2 H), 1.43 - 1.32 (m, 1H), 1.34 - 1.27 (m, 1H), 1.30 - 1.17 (m, 8H), 1.04 (dd, *J* = 9.5, 6.6 Hz, 7H), 1.02 - 0.85 (m, 10H), 0.85 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 0.69 (q, *J* = 12.0 Hz, 1H).

[0686] **실시예 17**: C16-(1,1-디옥시도이소티아졸리딘-2-일)-C32-테옥소-C40-(*S*)-(1H-테트라졸-1-일)-라파마이신



실시예 17

* C16에서의 절대 입체화학은 부여되지 않음

[0687]

[0688]

중간체 5(0.109 g, 0.114 mmol)를 무수 아세트니트릴(1.1 ml)에서 이소티아졸리딘 1,1-디옥시드(0.139 g, 1.145 mmol)와 합하였다. 파라-톨루엔설폰산 일수화물(0.0022 g, 0.011 mmol)을 첨가하였다. 반응물을 실온에서 2시간 동안 교반시켰다.

[0689]

반응물을 포화 수성 NaHCO_3 으로 희석시켰다. 혼합물을 EtOAc로 여러 번 추출하였다. 유기 추출물을 합치고 나서, Na_2SO_4 로 건조시키고, 디캔팅시키고 나서, 농축시켜 황색의 타르 조질 생성물을 제공하였다.

[0690]

조질의 생성물을 실리카겔 플래쉬 칼럼 크로마토그래피(0 내지 40% 아세톤-헥산, 구매 용리, 24g 실리카 칼럼, 40% 아세톤-헥산에서 TLC, UV 하에 시각화)에 의해 정제하여 실시예 17(0.053 g, 0.046 mmol, 40.0% 수율)을 백색 고체로서 제공하였다.

[0691]

실시예 17: ESIMS $[\text{M}+\text{H}]$ 1041.8, $[\text{M}-\text{H}]$ 1039.8.

[0692]

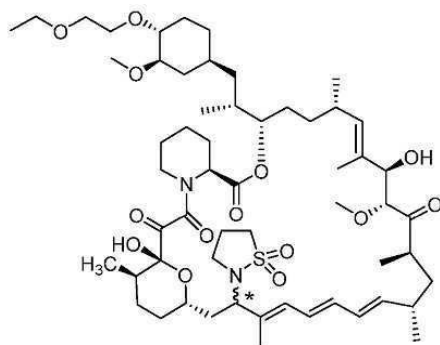
HRMS: $\text{C}_{54}\text{H}_{84}\text{N}_{6}\text{O}_{12}\text{SNa}$ 에 대한 계산치 - 1063.5765. 실측치 - 1063.5759.

[0693]

^1H NMR (600 MHz, 클로로포름- d) δ 8.86 (s, 1H), 6.39 (dd, J = 14.7, 11.0 Hz, 1H), 6.22 (dd, J = 14.7, 10.7 Hz, 1H), 6.11 (dd, J = 15.0, 10.5 Hz, 1H), 5.99 (d, J = 10.9 Hz, 1H), 5.34 (dd, J = 14.9, 9.8 Hz, 1H), 5.18 (d, J = 5.7 Hz, 1H), 5.10 (d, J = 9.8 Hz, 1H), 4.87 (m, 1H), 4.67 (m, 1H), 4.63 (d, J = 12.2 Hz, 1H), 4.50 (s, 1H), 4.13 (d, J = 6.1 Hz, 1H), 3.97 (t, J = 11.4 Hz, 1H), 3.78 (d, J = 6.2 Hz, 1H), 3.69 - 3.62 (m, 1H), 3.55 (dt, J = 11.2, 4.0 Hz, 1H), 3.50 - 3.39 (m, 1H), 3.39 (s, 3H), 3.38 - 3.30 (m, 1H), 3.27 (s, 3H), 3.25 - 3.13 (m, 1H), 3.07 (td, J = 8.4, 3.8 Hz, 1H), 3.01 (m, 1H), 2.96 (q, J = 7.9 Hz, 1H), 2.70 - 2.63 (m, 2H), 2.39 (m, 1H), 2.35 - 2.21 (m, 3H), 2.18 (d, J = 13.7 Hz, 1H), 2.16 - 2.09 (m, 1H), 1.95 - 1.81 (m, 3H), 1.82 (s, 3H), 1.75 (m, 3H), 1.65 (s, 3H), 1.60 (m, 6H), 1.58 - 1.50 (m, 1H), 1.53 - 1.34 (m, 2H), 1.32 (m, 1H), 1.29 (m, 1H), 1.25 (m, 6H), 1.12 (m, 1H), 1.05 (d, J = 6.6 Hz, 3H), 1.05 - 0.78 (m, 12H).

[0694]

실시예 18: C16-(1,1-디옥시도이소티아졸리딘-2-일)-C32-데옥소-C40-(2-에톡시에톡시)-라파마이신



실시예 18

* C16에서의 절대 입체화학은 부여되지 않음

[0695]

[0696] 중간체 6(0.090 g, 0.093 mmol)을 무수 디클로로메탄(0.93 mL)에서 이소티아졸리딘 1,1-디옥시드(0.112 g, 0.926 mmol)와 합쳤다. 파라-톨루엔설포산 일수화물(1.761 mg, 9.26 μ mol)을 한 번에 첨가하였다. 반응물을 실온에서 100분 동안 교반시켰다.

[0697] 전체 반응 혼합물을 실리카겔 플래쉬 칼럼 크로마토그래피(0 내지 40% 아세톤-헥산, 구매 용리, 24g 실리카 칼럼, 40% 아세톤-헥산에서 TLC, UV 하에 시각화)에 의해 정제하여 실시예 18과 잔여 비반응 이소티아졸리딘 1,1-디옥시드의 혼합물을 제공하였다.

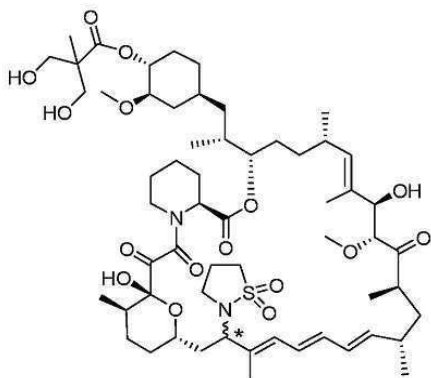
[0698] 혼합된 물질을 다시 실리카겔 플래쉬 칼럼 크로마토그래피(0 내지 50% 아세토니트릴-디클로로메탄, 구매 용리, 24g 칼럼, 30% 아세토니트릴-디클로로메탄에서 TLC, UV 하에 시각화)에 의해 정제하여 실시예 18(0.021 g, 0.019 mmol, 20.4% 수율)을 백색 고체로서 제공하였다.

[0699] 실시예 18: ESIMS [M+NH₄]⁺ 1078.9, [M-H]⁻ 1059.9.

[0700] HRMS: C₅₇H₉₂N₂O₁₄Sn 나트륨 부가물에 대한 계산치 - 1083.6167. 실측치 1083.6151.

[0701] ¹H NMR (600 MHz, 클로로포름-*d*) δ 6.45 (dd, *J* = 14.5, 11.0 Hz, 1H), 6.21 (dd, *J* = 14.6, 10.7 Hz, 1H), 6.14 (dd, *J* = 14.8, 10.8 Hz, 1H), 5.98 (d, *J* = 10.9 Hz, 1H), 5.35 (dd, *J* = 14.8, 9.8 Hz, 1H), 5.20 (d, *J* = 5.8 Hz, 1H), 5.09 (d, *J* = 9.8 Hz, 1H), 4.72 (d, *J* = 12.1 Hz, 1H), 4.61 (m, 1H), 4.46 (s, 1H), 4.10 (d, *J* = 6.9 Hz, 1H), 3.96 (t, *J* = 11.4 Hz, 1H), **3.73 (t, *J* = 5.5 Hz, 2H), 3.68 (d, *J* = 6.9 Hz, 1H), 3.59 (m, 4H), 3.53 (m, 2H), 3.46 (s, 3H), 3.28 (s, 3H), 3.21 (m, 1H), 3.13 (m, 1H), 3.07 (m, 2H), 3.05 - 2.99 (m, 1H), 2.97 (q, *J* = 8.0 Hz, 1H), 2.78 (dq, *J* = 14.4, 7.1 Hz, 1H), 2.44 - 2.33 (m, 1H), 2.31 (m, 2H), 2.27 - 2.19 (m, 1H), 2.19 - 2.12 (m, 2H), 2.07 - 1.94 (m, 2H), 1.88 (s, 3H), 1.83 (d, *J* = 12.9 Hz, 1H), 1.74 (m, 3H), 1.66 (m, 7H), 1.56 - 1.44 (m, 1H), 1.43 (m, 2H), 1.41 - 1.15 (m, 12H), 1.04 (m, 7H), 0.91 (m, 8H), 0.84 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H), 0.70 (q, *J* = 12.0 Hz, 1H).

[0702] 실시예 19: C16-(1,1-디옥시도이소티아졸리딘-2-일)-C32-데옥소-C40-((3-히드록시-2-(히드록시메틸)-2-메틸프로판오일)옥시)-라파마이신



실시예 19

* C16에서의 절대 입체화학은 부여되지 않음

[0703]

[0704] 중간체 7(0.088 g, 0.087 mmol)을 무수 디클로로메탄(0.87 mL)에서 이소티아졸리딘 1,1-디옥시드(0.105 g, 0.866 mmol)와 합쳤다. 파라-톨루엔설포산 일수화물(1.647 mg, 8.66 μ mol)을 첨가하였다. 반응물을 실온에서 30분 동안 교반시켰다.

[0705] 전체 반응 혼합물을 순상 플래쉬 칼럼 크로마토그래피(0 내지 60% 아세토니트릴-디클로로메탄, 구매 용리, 12g 실리카 칼럼, 30% 아세토니트릴-디클로로메탄 중의 TLC)에 의해 정제하여 실시예 19(0.020 g, 0.017 mmol, 19.9% 수율)를 백색 고체로서 제공하였다.

[0706] 실시예 19: ESIMS [M+NH₄]⁺ 1123.0, [M-H]⁻ 1104.0.

[0707] HRMS: 암모늄 부가물 C₅₈H₉₂N₂O₁₆SNH₄에 대한 계산치 - 1122.6511; 실측치 1122.652.

[0708] ¹H NMR (600 MHz, 클로로포름-*d*) δ 6.45 (dd, *J* = 14.7, 10.9 Hz, 1H), 6.22 (dd, *J* = 14.7, 10.7 Hz, 1H), 6.13 (dd, *J* = 14.9, 10.6 Hz, 1H), 5.99 (d, *J* = 10.9 Hz, 1H), 5.35 (dd, *J* = 14.9, 9.8 Hz, 1H), 5.21 (d,

$J = 5.8$ Hz, 1H), 5.10 (d, $J = 9.9$ Hz, 1H), 4.73 (ddd, $J = 11.0, 9.2, 4.7$ Hz, 1H), 4.69 (d, $J = 12.4$ Hz, 1H), 4.64 (m, 1H), 4.49 (s, 1H), 4.13 (d, $J = 6.5$ Hz, 1H), 3.97 (t, $J = 11.3$ Hz, 1H), 3.84 (dd, $J = 18.5, 11.4$ Hz, 2H), 3.78 - 3.69 (m, 2H), 3.64 (m, 2H), 3.56 (td, $J = 13.5, 3.0$ Hz, 1H), 3.43 - 3.31 (m, 4H), 3.28 (m, 3H), 3.26 - 3.17 (m, 2H), 3.12 - 2.92 (m, 3H), 2.76 - 2.68 (m, 1H), 2.45 - 2.34 (m, 1H), 2.31-2.21 (m, 3H), 2.20 - 2.10 (m, 3H), 2.06 (m, 1H), 1.87 (m, 4H), 1.75 (m, 3H), 1.71 - 1.59 (m, 3H), 1.60 (s, 3H), 1.60 - 1.50 (m, 1H), 1.48 - 1.39 (m, 1H), 1.42 - 1.31 (m, 2H), 1.33 - 1.20 (m, 8H), 1.11 (s, 3H), 1.11 - 1.05 (m, 2H), 1.03 (dd, $J = 18.2, 6.6$ Hz, 6H), 0.99 - 0.82 (m, 10H), 0.79 (q, $J = 12.0$ Hz, 1H).

[0709] **실시예 20: 생물학적 분석 및 데이터**

[0710] 본 발명에 따른 화합물의 활성은 하기 시험관내 및 생체내 방법에 의해 평가될 수 있다.

[0711] **약리학적 특성규명**

[0712] **물질 및 방법**

[0713] **라팔로그 효능 결정을 위한 세포-기반 분석.** MEF TSC1-/- 세포 기반 분석을 이용하여 라팔로그 효능을 결정하였다. MEF TSC1-/- 세포는 mTORC1 신호전달을 음성 조절하는 결절성 경화증 단백질인 TSC1이 결핍된 마우스 배아 섬유아세포이며, 따라서 구성적 mTORC1 활성화를 나타내어 하류 분자의 인산화(활성화)를 초래한다. 이런 세포 기반 분석은 라팔로그 또는 다른 mTOR 저해제에 의한 S6 및 4EBP1의 저해(탈인산화)를 측정하는 데 사용된다.

[0714] MEF TSC1-/- 세포는 폴리-D-리신 코팅된 384 웰 그리에너 투명 바닥 플레이트 상에서 플레이트하고, 밤새 37°C, 5%CO₂에서 인큐베이션시켰다. 다음날에, 세포는 "심하게 굵긴" 용액(1ℓ DPBS + 1g D - (+) 글루코스 + 10mℓ 의 7.5% 중탄산나트륨 + 20 mℓ의 1M HEPES)으로 8회 세척하고 나서, 동일한 용액에서 추가 2시간 동안 인큐베이션시켰다. 세포를 다음에 농도를 감소시키면서(3.16배 희석 시 8점) 화합물로 처리하고, 2시간 동안 37°C, 5% CO₂에서 인큐베이션시켰다. 세포를 4% 파라포름알데히드로 30분 동안 고정시키고, TBS-EDTA로 5회 세척한 후에 pS6 (Ser240/244)(셀 시그널링(Cell Signaling2) #9468) 및 p4EBP1(Thr 37/46)(셀 시그널링 #5123)에 대해 형광 태그 표지된 항체로 면역 염색하였다. 핵을 핵스트(썬코퍼서 사시언티픽(ThermoFisher Scientific) #H3570) 염색으로 시각화시켰다. 각각의 형광 통로를 이용하여 세포를 영상화하고(InCell 600), mTOR 저해제의 효능을 pS6 IC₅₀(nM)에 의해 정하였다.

[0715] **동물 유지, 화합물에 의한 처리 및 조직 수집.** 동물과 연루된 모든 절차를 미국 매사추세츠주 캠프리지에 소재한 노바티스 생의학 연구소(Novartis Institutes for Biomedical Research)의 동물실험윤리위원회에 의해 승인 받았다. 성체 스프래그 돌리(Sprague Dawley: SD) 수컷 래트를 엔비고(Envigo)(미국 인디애나폴리스에 소재) 또는 찰스 리버(Charles River)(미국)로부터 구입하였다. 일단 반입되면, 래트를 온도 및 빛(22°C, 12시간 명/12시간 암 주기: 0600시간 빛/1800시간 빛 차단)이 제어되고 사료와 물에 대한 임의의 접근을 허용하여 특정 병원균이 없는 시설에서 유지시켰다. 실험을 시작하기 전에 적어도 3일 동안 래트를 순응시켰다.

[0716] 실시예 2 및 RAD001을 경구(경구적(*per os*), p.o.) 투약을 위해 제형화하였다. 블랭크 제형(실시예 2 또는 RAD001이 없음)을 비히클 대조군으로서 제공하였다. 래트는 실시예 2, RAD001 또는 각각의 비히클 p.o의 단일 용량을 받았다. 처리 후 사전 결정된 시간에, 래트를 3.5% 이소플루란으로 마취시키고, 안락사시켰다. 다양한 기관을 수집하고 나서, 액체 질소에서 냉동시켰다. 혈액을 꼬리 정맥 또는 심장천자(말단)를 통해 수집하고 나서, 추가 약물동태학 분석을 위해 냉동시켰다. 분석할 때까지 모든 조직을 -80°C에서 저장하였다.

[0717] **혈액 및 조직에서 실시예 2 및 RAD001 농도의 결정.** HPLC/질량분석법을 이용하여 농도를 결정하였다.

[0718] **단백질 추출 및 면역블롯.** 단백질 추출을 위해, 급속 냉동 조직을 완전 EDTA 무 프로테아제 저해제 및 PhosSTOP 포스파타제 저해제 정제(독일 맨하임 로슈에 소재)로 보충한 MSD 용해 완충제(MSD, 메릴랜드주 록빌에 소재)에서 용해시키고 나서, 13,000g 에서 20분 동안 4°C에서 원심분리시켰다. 면역블롯을 위해 얻어진 상층액을 사용하였다. BCA 단백질 분석(매사추세츠주에 소재한 썬코퍼서 사시언티픽(Thermo Scientific))을 이용하여 단백질을 정량화하였다. 샘플을 4 내지 20% 크라이티어리언(Criterion)TM TGXTM 프레캐스트 미디 단백질 겔스(Precast Midi Protein gels)(캘리포니아주에 소재한 바이오-래드(Bio-Rad))에 채용해시키고 나서, 트랜스 터보 블롯 시스템(Trans Turbo Blot system)(캘리포니아주에 소재한 바이오-래드)을 이용하여 니트로셀룰로스 막(캘리포니아주에 소재한 바이오-래드)에 옮겼다. 셀 시그널링 테크놀로지스(Cell Signaling Technologies)로부터의 p-S6 및 t-

S6에 대한 항체(5% BSA가 있는 TBS-T에서 모두 1:1000)를 이용하여 면역블롯을 수행하였다. 'p' 및 't' 접두사는 각각 '인산화된' 그리고 '총' 형태를 나타낸다. 토끼에 대한 HRP-접합 2차 항체(#7074)는 매사추세츠주 셀 시그널링 테크놀로지로부터 유래되었다. 슈퍼시그널(SuperSignal)TM 웨스트 펄토 증강 화학발광 기질(West Femto Enhanced Chemiluminescent Substrate)(#34095, 매사추세츠주에 소재한 써모 사이언티픽) 또는 웨스턴 라이트닝(Western Lightning)[®] 플러스-ECL 증강 화학발광 기질(NEL103001EA, 매사추세츠주에 소재한 퍼킨 엘머(Perkin Elmer))를 이용하여 화학발광 신호를 생성하였고, ChemiDoc MP 영상화 시스템(바이오-라드)을 이용하여 캡처하였다. 얻어진 디지털 영상을 TIFF 형식으로 변환시켰고, ImageJ 소프트웨어를 이용하여 정량화하였다.

[0719] **FKBP12 녹다운 세포의 생성.** FKBP12 C-말단을 표적화하는 gRNA 서열(GCTTCTAAACTGGAATGAC)을 함유하는 CRISPR/CAS9 벡터를 293T 세포에 형질감염시켰다. 푸로마이신을 이용하여 48시간 동안 선택을 수행하고 나서, 콜로니 형성을 위해 세포를 플레이트팅하였다. 항-FKBP12 항체(써모 사이언티픽, 피어스(Pierce)#PA1-026A)로 면역블롯함으로써 FKBP12 녹다운 클론을 선별하였다. 유의하게 감소된 FKBP12(비동요 293T 세포에서의 수준에 비해 대략 80% 감소)를 갖는 클론을 선택하였다.

[0720] **FKBP12 녹아웃 세포의 생성.** 아막사(Amaxa)[®] 4D-뉴클레오펙터(Nucleofector)TM X 키트(론자(Lonza), V4XC-2032)를 이용하여 FKBP12를 표적화하는 가이드 RNA(gRNA) 서열(GCCACTACTCACCGTCTCCT)을 함유하는 리보핵산단백질 복합체를 293T 세포에 전달하기 위해 CRISPR/Cas9 시스템을 사용하였다. 항-FKBP12 항체(노부스(Novus), NB300-508)로 면역블롯함으로써 세포 클론을 선별하고, 완전 FKBP12 녹아웃(측정 가능한 FKBP12 없음)을 보여주는 단일 클론을 선택하였다.

[0721] **RAD001 및 실시예 2에 의한 야생형(WT), FKBP12 녹다운 및 FKBP12 녹아웃 293T 세포의 처리.** 10% 소태아 혈청(써모피셔, #16140-071)로 보충한 둘베코 변형 이글 배지(써모피셔, #11995-065) 내 폴리-D-리신 코팅된 96-웰 플레이트(코닝(Corning), #354461)에서 웰당 30,000개 세포의 밀도로 WT, FKBP12 녹다운 및 FKBP12 녹아웃 293T 세포를 플레이트팅하였다. 세포를 대략 80% 컨플루언스(confluence)에 도달될 때까지 37°C, 5% CO₂에서 48시간 동안 인큐베이션시켰다. 세포를 1000 nM 내지 0.0033 nM의 12점 용량 범위를 이용하여 2시간 동안 37°C에서 2회 중복하여 RAD001 및 실시예 2로 처리하였다. 블랭크 디메틸 설폭시드(DMSO)로 보충한 배지를 화합물 둘다에 대한 대조군으로서 사용하였다. 제조업자의 프로토콜에 따라 샌드위치 ELISA 키트(셀 시그널링, #7063C)에 의해 S6K1(Thr389)의 인산화된 양을 검출하였다.

[0722] **FK506-결합 단백질(FKBP)에 대한 결합 친화도를 결정하기 위한 SPR 분석.**

[0723] FKBP12, FKBP51 및 FKBP52에 대한 N-말단의 avi-his6 태그된 FKBP 융합을 이콜라이(*E. coli*)에서 발현시켰고, 표준 크로마토그래피를 이용하여 정제하였다. 후속적으로 비아코어(Biacore) 8K SPR 기기(GE 헬스케어(GE Healthcare))에서 스트렙타비딘 칩 상에 각각의 단백질을 고정시켰다. 단일-주기 역학을 이용하여, 50 mM 트리스 pH 7.5/150 mM NaCl/0.01% 트윈(Tween) 20/1 mM DTT/2% DMSO를 함유하는 완충제에서 2분 결합기 및 30분 해리기를 이용하여 각각의 표면에 대해 45 uL/분으로 화합물 적정을 진행시켰다. 저분자량(low molecular weight: LMW) 단일-주기 역학을 이용하여 데이터를 적합화시켰다. 평형 해리상수(K_d)를 보고한다.

[0724] 라팔로그의 차별적 약리학은 1) 이들 세포/조직에서 FKBP 상동체의 상대적 존재비 및 2) 이들 상이한 FKBP 상동체에 대한 결합 특이성(Mol. Cell Biol. (2013) 33:1357-1367 참고)에 따라서 상이한 세포 또는 조직 유형에서 달성될 수 있다.

[0725] **결과**

[0726] mTOR 저해제의 생체내 효능을 MEF TSC1-/- 세포에서 pS6 IC₅₀(nM)에 의해 정하였다.

화합물	IC50 (nM)
라파마이신	0.050
RAD001	0.050
중간체 1	0.092
중간체 3	0.0591
중간체 4	0.066
중간체 5	0.106
실시예 1	2.4
실시예 2	0.274
실시예 3	1.45
실시예 4	>500
실시예 5	153
실시예 6	0.170
실시예 7	0.300
실시예 8	0.328
실시예 9	1.45
실시예 10	0.557
실시예 11	3.33
실시예 12	0.374
실시예 13	0.656
실시예 14	7.77
실시예 15	3.2
실시예 16	0.645
실시예 17	1.1
실시예 18	1.55

[0727]

[0728] IC50 값을 다회 분석으로부터의 평균으로서 계산한다.

FKBP12, FKBP51 및 FKBP52 에 대한 평형 해리 상수 (K_D) .

화합물	FKBP 결합 단백질	평균 K_D (nM)
RAD001	FKBP12:	500
	FKBP51:	811
	FKBP52:	1765
실시예 1	FKBP12:	0.35
	FKBP51:	153
	FKBP52:	174
실시예 2	FKBP12:	16
	FKBP51:	>10000
	FKBP52:	>10000
실시예 6	FKBP12:	0.32
	FKBP51:	39
	FKBP52:	53
실시예 7	FKBP12:	1.2
	FKBP51:	287
	FKBP52:	236
실시예 10	FKBP12:	1.6
	FKBP51:	95
	FKBP52:	176
실시예 14	FKBP12:	16
	FKBP51:	—
	FKBP52:	542
실시예 16	FKBP12:	35
	FKBP51:	4064
	FKBP52:	4073

[0729]

[0730] 래트에서의 실시예 2의 약물동태학적 프로파일. 4개월령의 래트를 실시예 2의 단일 p.o. 용량으로 3 mg/kg으로 처리하였고, 투약 후 0.25, 0.5, 1, 2, 4 및 7시간에 혈액을 수집하였다. 이 실험에서, 실시예 2를 밀리큐 (MilliQ) 워터 중의 15% 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 300, 7.5% 솔루톨(Solutol) HS15, 7.5% 크레모포어 (Cremophore) EL에서 제형화시켰다. 실시예 2의 농도를 HPLC-MS에 의해 측정하였다(도 3).

[0731] 래트에서 실시예 2 및 RAD001의 비교적인 혈액 및 뇌 농도.

[0732] 4개월령의 래트를 실시예 2(밀리큐 워터 중의 15% PEG300, 7.5% 솔루톨 HS15, 7.5% 크레모포어 EL에서 제형화) 로 3, 10 및 30 mg/kg에서 p.o.로 처리하였다. 다른 실험에서, 8개월령의 래트를 RAD001(2%(w/w)에서 마이크로에멀션으로서 제형화시키고, 밀리큐 워터에서 최종 농도로 희석시킴)로 3, 10 및 30 mg/kg에서 p.o.로 처리하였다. 화합물의 농도를 결정하기 위해 처리 후 3시간(h) 및 24시간에 혈액 및 뇌 조직을 수집하였다. 동일 용량 (3, 10 및 30 mg/kg)으로 투여할 때, 실시예 2에 대한 혈액 및 뇌 농도는 RAD001에 대한 농도에 비해 더 높았다 (도 4A 및 도 4B).

[0733] 래트에서 실시예 2의 생체이용가능성을 RAD001에 비교하기 위해, 화합물을 용액 제형으로서 제형화시켰다: 실시예 1을 PBS 중의 15% PEG300, 7.5% 솔루톨 HS15, 7.5% 크레모포어 EL에서 제형화시키고, RAD001을 PBS 중의 10% PEG300, 10% 솔루톨 HS15, 10% 크레모포어 EL에서 제형화시켰다. 화합물을 7 내지 9주령(그룹당 N=3)의 래트에 p.o.로 3 mg/kg으로, 정맥내로(i.v.). 1 mg/kg으로 투여하였다(도 4C 및 도 4D). 실시예 2 및 RAD001 각각에 대해, 생체이용 가능성은 18% 및 19%이고, i.v. 최종 반감기는 9.9시간 및 9.5시간이며, 청소율은 9 ml/분/kg 및 32 ml/분/kg이고, V_{dss} (정상상태에서의 분포 용적(volume of distribution at the steady state))는 4.4 l/kg 및 18.8 l/kg이었다.

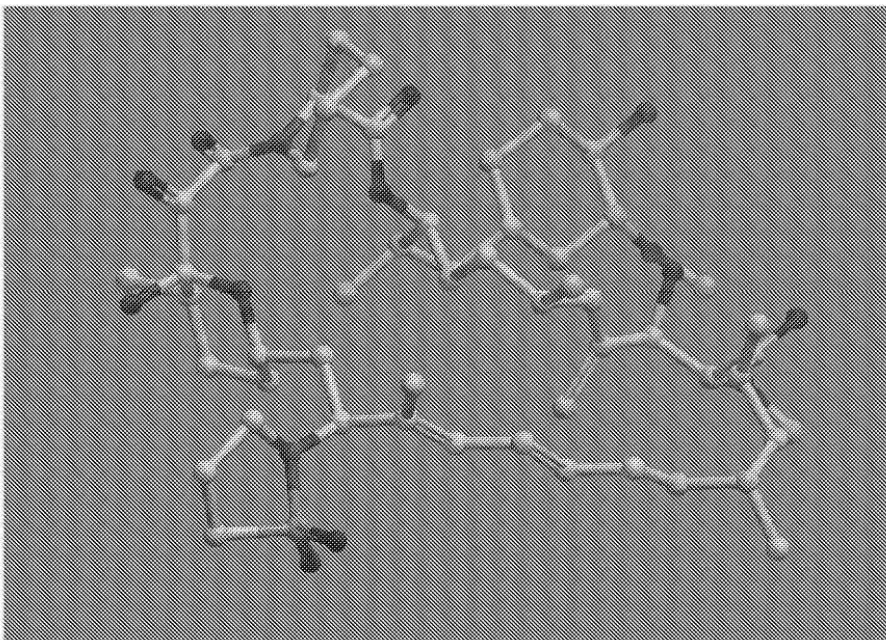
- [0734] 실시예 2는 래트 간에서 mTORC1 경로를 저해한다. 실시예 2가 생체내에서 mTORC1 경로를 저해하는 능력을 4개월령의 래트에서 결정하였다(도 5A 내지 도 5D). 실시예 2의 3, 10 및 30 mg/kg에서의 단일 투약은 투약 후 3시간에 래트 간(비히클 대조군과 비교함)에서 S6의 유의한 탈인산화(비활성화)를 초래하였다(도 5A 및 도 5B). 10 (경향 p=0.06) 및 30 mg/kg으로 투약 후 24시간에 S6은 비활성화된 채로 남아있었다(도 5C 및 도 5D).
- [0735] FKBP12는 실시예 2의 저해 효과에 필요하지만, RAD001은 그렇지 않다. WT, FKBP12 녹다운 및 FKBP12 녹아웃 293T 세포에서 S6K1(Thr389)의 인산화된 양을 측정하였고, RAD001 또는 실시예 2로 처리하였다. S6K1은 mTORC1의 하류 표적이며, 그의 라팔로그-민감성 Thr389 부위의 인산화를 mTORC1 활성화의 기능성 관독으로서 사용한다. 문헌[Lee, C. H., Inoki, K. and Guan, K. L. (2007). mTOR pathway as a target in tissue hypertrophy. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 47, 443-467]. WT 293T 세포에서, RAD001과 실시예 2는 둘 다 S6K1(Thr389) 저해에서 대략 80%만큼 효능이 있었다 (도 6a). FKBP12 녹다운 세포에서, 실시예 2는 S6K1(Thr389) 인산화를 RAD001과 동일한 수준으로 저해하지 못하였다: RAD001에 의한 S6K1(Thr389)의 최대 저해는 대략 70%인 반면, 실시예 2에 의해 달성된 저해는 대략 40%였다 (도 6b). FKBP12 녹아웃 세포에서, 실시예 2는 S6K1(Thr389) 인산화를 저해하지 못한 반면, RAD001에 의해 60% 초과 저해가 여전히 달성되었다(도 6c). 이들 결과는 실시예 2의 약리학적 효과가 FKBP12에 대해 제한된다는 것을 나타낸다. FKBP12에 대한 실시예 2의 이러한 특이성은 상대적으로 높은 수준의 FKBP12 발현을 갖는 세포 및 조직의 표적화를 용이하게 하는 반면, FKBP12가 약하게 발현되는 조직에서의 부작용을 피한다(또는 최소화한다).
- [0736] 균등론 및 범주
- [0737] 청구범위에서, 단수 용어와 같은 항목은 문맥으로부터 반대로 또는 달리 분명하게 표시되지 않는 한, 하나 이상을 의미할 수 있다. 그룹의 하나 이상의 구성원 사이에 "또는"을 포함하는 청구범위 또는 설명은, 문맥으로부터 반대로 또는 달리 분명하게 나타나지 않는 한, 하나의, 하나 초과 또는 그룹 구성원 모두가 주어진 생성물 또는 공정에 존재하거나, 이에 사용되거나 또는 달리 적절하다면 충족되는 것으로 고려된다. 본 개시내용은 그룹 중 정확히 하나의 구성원은 주어진 생성물 또는 공정에 존재하거나, 사용되거나 또는 달리 적절한 실시형태를 포함한다. 본 개시내용은 그룹 구성원 중 하나 초과 또는 모두가 주어진 생성물 또는 공정에 존재하거나, 사용되거나 또는 달리 적절한 실시형태를 포함한다.
- [0738] 더 나아가, 본 개시내용은 열거된 청구범위 중 하나 이상으로부터의 하나 이상의 제한, 요소, 조항 및 설명적 용어가 다른 청구범위에 도입되는 모든 변형, 조합 및 순열을 포함한다. 예를 들어, 다른 청구범위에 의존하는 임의의 청구범위는 동일한 독립항에 종속되는 임의의 다른 청구항에서 발견되는 하나 이상의 한계를 포함하도록 변형될 수 있다. 구성요소가 열거로서, 예를 들어, 마쿠쉬 형식으로 제시되는 경우에, 구성요소의 각각의 그룹이 또한 개시되며, 임의의 구성요소(들)는 그룹으로부터 제거될 수 있다. 일반적으로, 본 개시내용 또는 본 개시내용의 양상이 특정 구성요소 및/또는 특징을 포함하는 것으로 언급되는 경우에, 본 개시내용의 특정 실시형태 또는 본 개시내용의 양상은 이러한 구성요소 및/또는 특징으로 이루어지거나 또는 본질적으로 이루어진다는 것이 이해되어야 한다. 또한 용어 "포함하는" 및 "함유하는"은 개방적인 것으로 의도되며, 추가적인 구성요소 또는 단계의 포함을 허용한다. 범위가 제공되는 경우에, 종점이 포함된다. 더 나아가, 달리 표시되거나 또는 문맥 및 당업자의 이해로부터 달리 증명되지 않는 한, 범위로서 표현되는 값은 본 개시내용의 상이한 실시형태에서 언급된 범위 내의 임의의 특정 값 또는 하위 범위를, 문맥에서 달리 분명하게 나타내지 않는 한, 범위의 하한 단위의 1/10로 추정할 수 있다.
- [0739] 본 출원은 다양한 발행된 특허, 공개된 특허 출원, 논문 및 기타 간행물을 언급하며, 이들 모두는 본 명세서에 참조에 의해 포함된다. 포함된 참고문헌 중 어느 것과 본 명세서 간에 모순이 있다면, 본 명세서로 조절할 것이다. 추가로, 선행 기술 내에 속하는 본 개시내용의 임의의 특정 실시형태는 청구범위 중 임의의 하나 이상으로부터 명확하게 제외될 수 있다. 이러한 실시형태는 당업자에게 공지되어 있는 것으로 여겨지기 때문에, 본 명세서에서 제외가 명확하게 제시되어 있지 않더라도, 그들은 제외될 수 있다. 본 개시내용의 임의의 특정 실시형태는 선행기술의 존재와 관련되든 아니든, 임의의 이유로, 임의의 청구범위로부터 제외될 수 있다.
- [0740] 당업자는 일상적인 실험 범위를 넘지 않고 이를 사용하여 본 명세서에 기재된 발명의 구체적 실시형태의 다수의 균등물을 인식하거나 확인할 수 있을 것이다. 본 명세서에 기재된 본 실시형태의 범주는 상기 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용으로 제한되는 것으로 보지 않으며, 오히려 첨부하는 청구범위에서 제시하는 바와 같다. 당업자는 본 설명에 대한 다양한 변화 및 변형이 다음의 청구범위에서 규정하는 바와 같은 본 개시내용의 정신 또는 범주로부터 벗어나는 일 없이 본 설명에 대한 다양한 변화 및 변형을 인식할 것이다.

도면

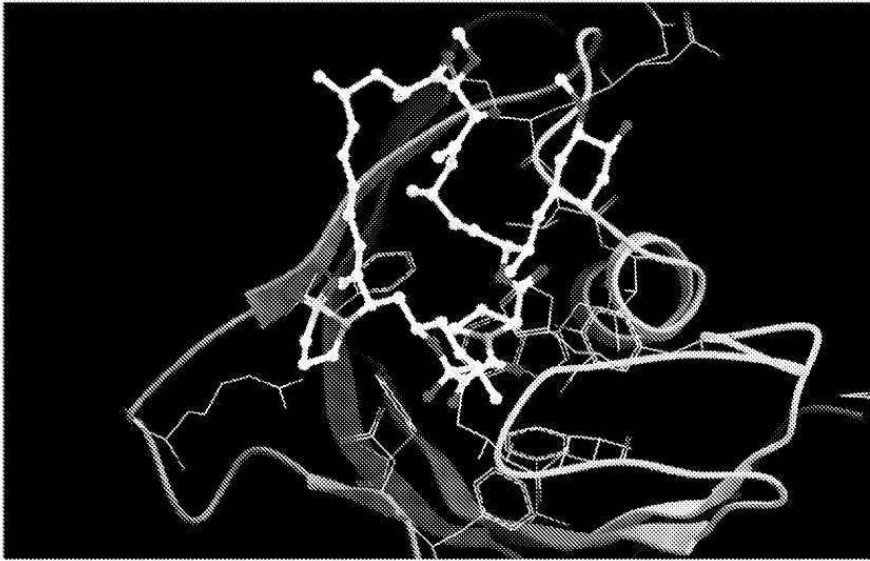
도면1a



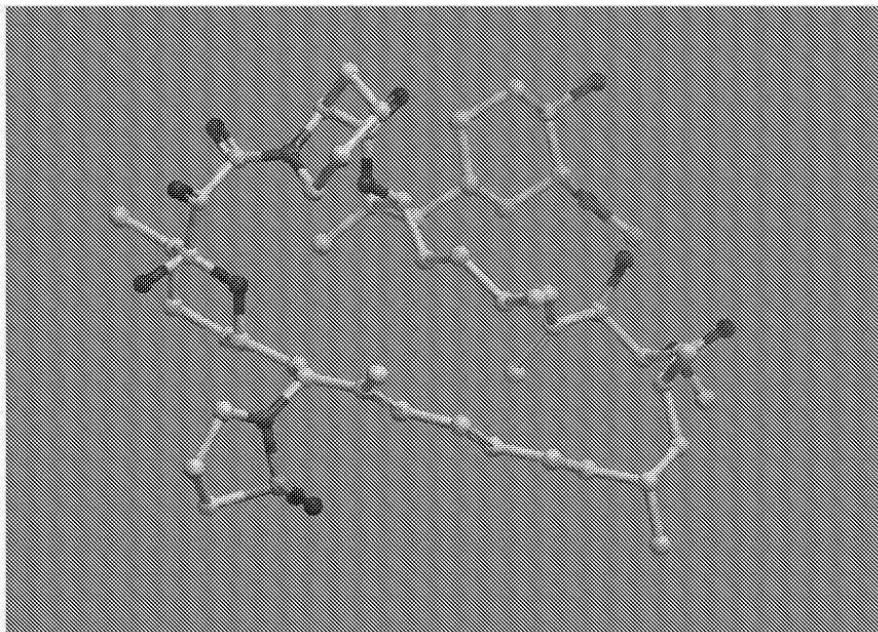
도면1b



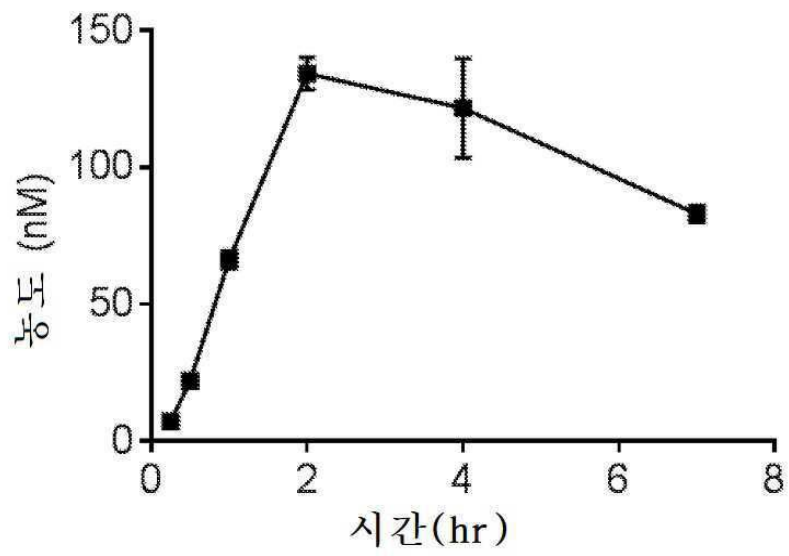
도면2a



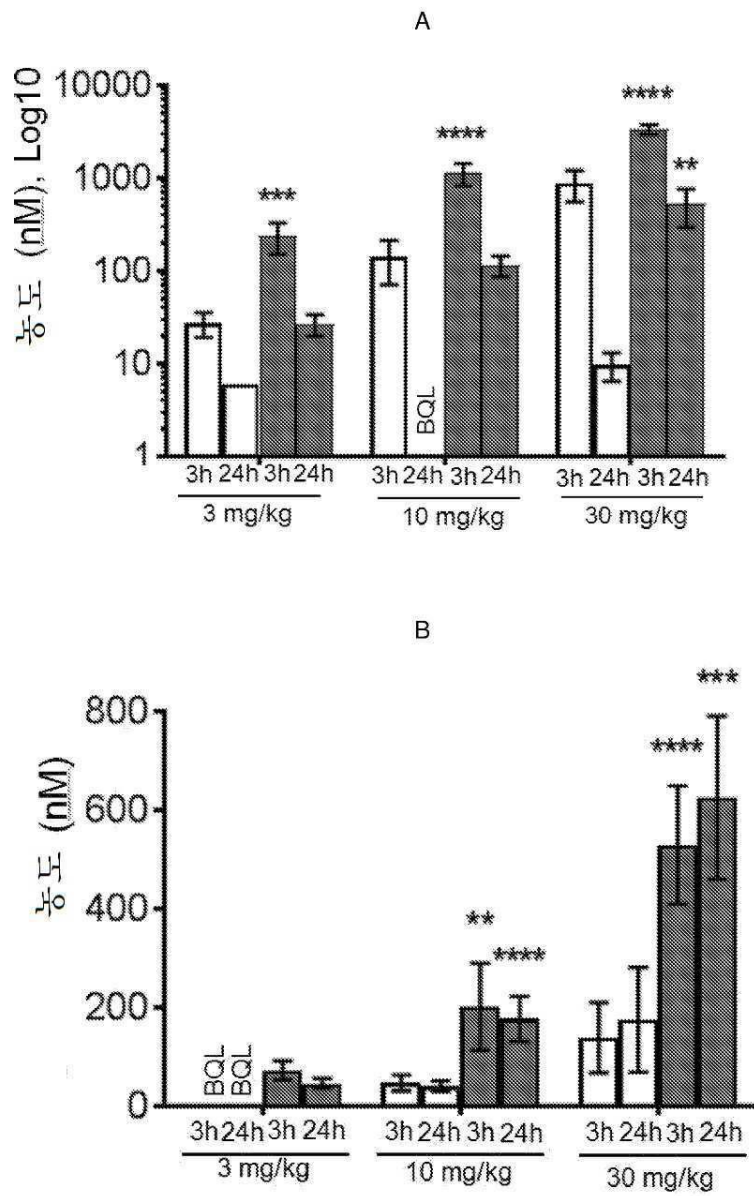
도면2b



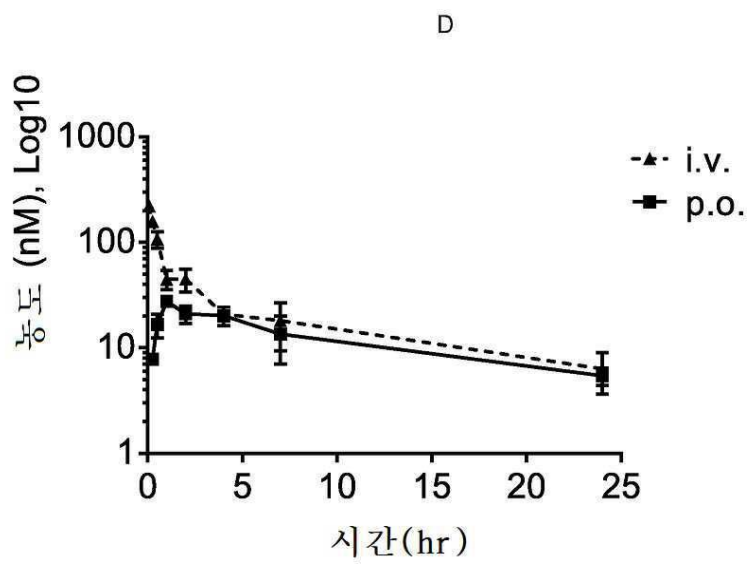
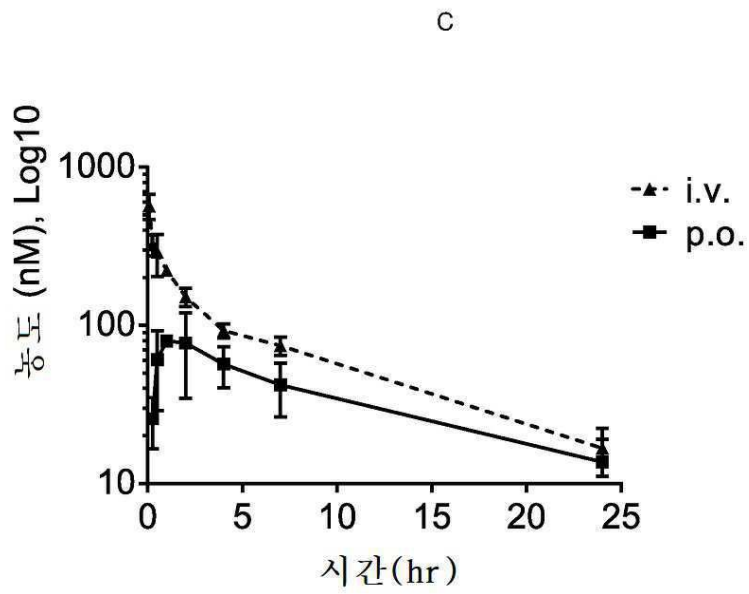
도면3



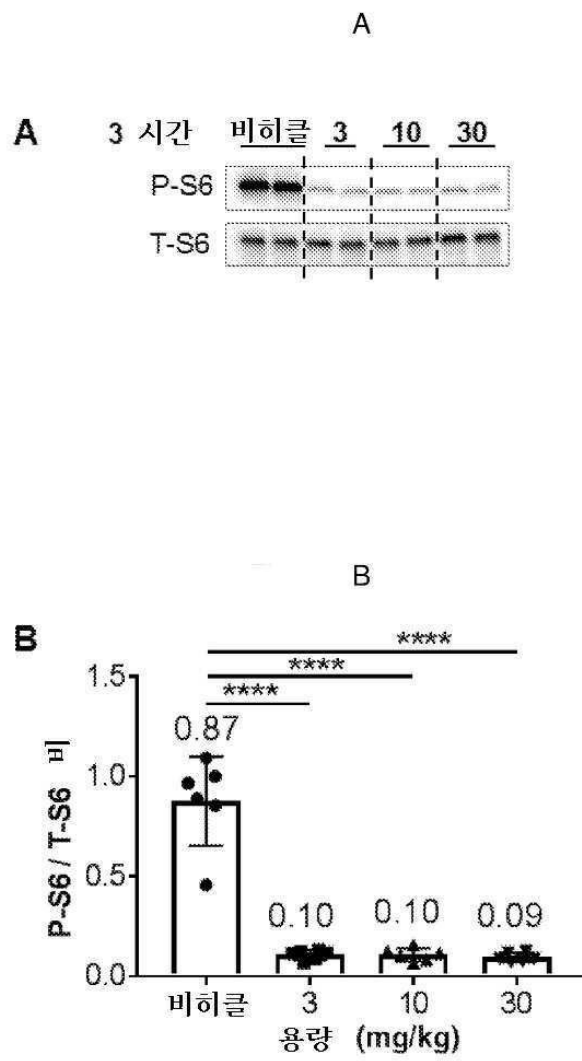
도면4ab



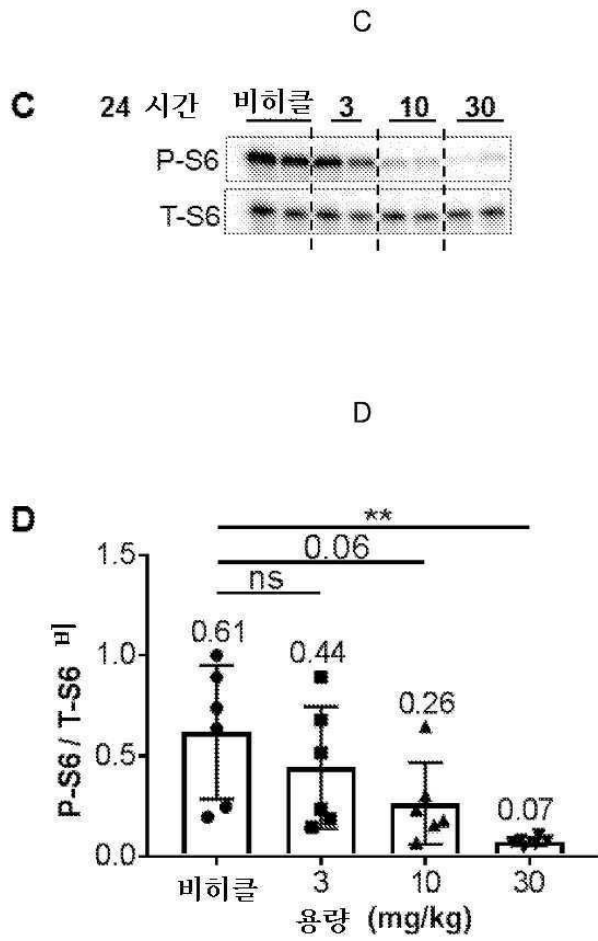
도면4cd



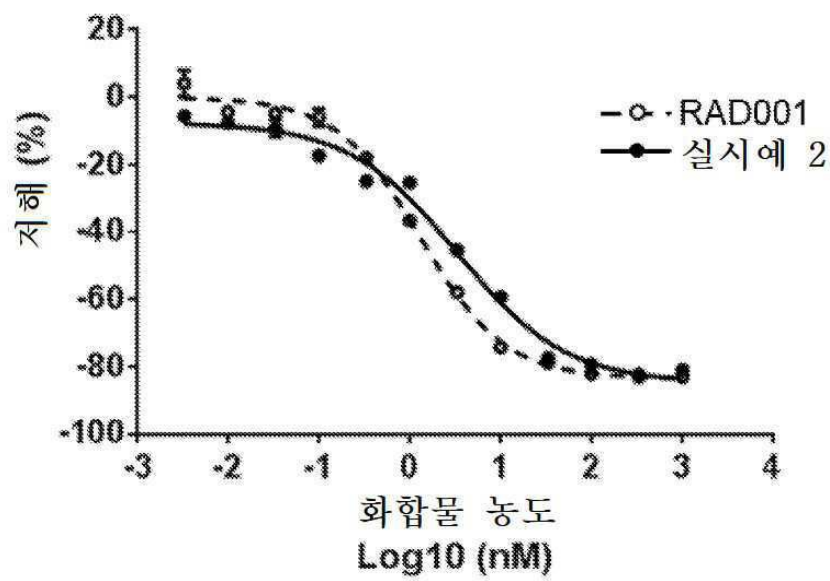
도면5ab



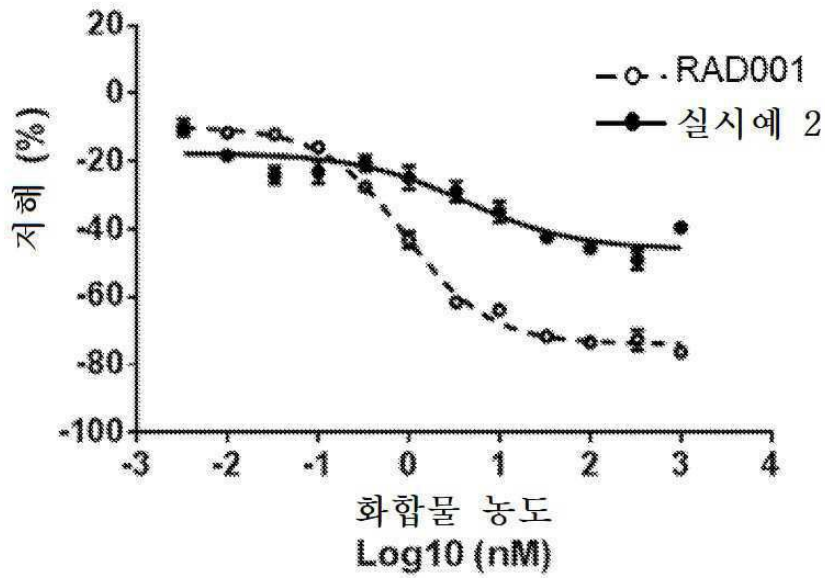
도면5cd



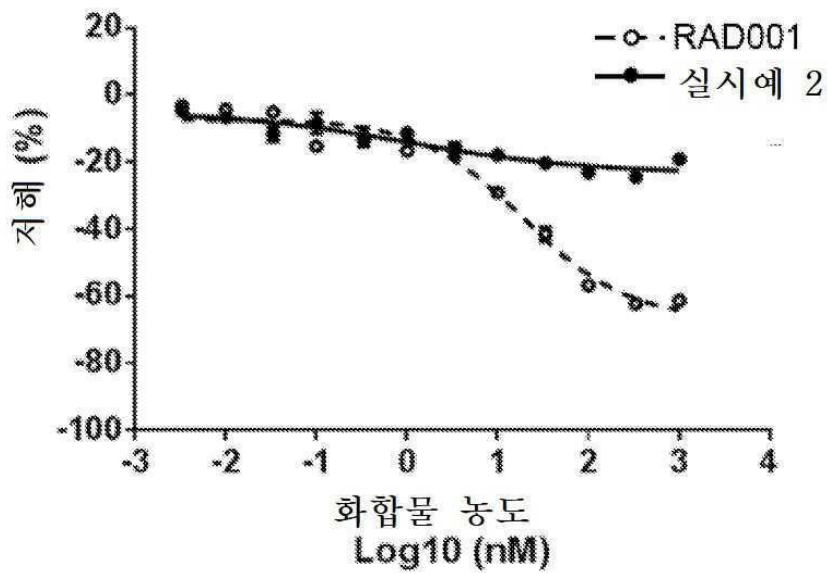
도면6a



도면6b



도면6c



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> NOVARTIS AG

<120> NOVEL RAPAMYCIN DERIVATIVES

<130> PAT057873-WO-PCT

<140> PCT/IB2018/057422

<141> 2018-09-25

<150> 62/563,312

<151> 2017-09-26

<160> 3

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1

gcttctaaaa ctggaatgac

20

<210> 2

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 2

gccactactc accgtctcct

20

<210> 3

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
6xHis tag"

<400> 3

His His His His His His

1

5