



(19)대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(51) 。 Int. Cl.

A61K 31/44 (2006.01)  
A61K 31/423 (2006.01)  
A61K 31/495 (2006.01)

(11) 공개번호 10-2007-0067165  
(43) 공개일자 2007년06월27일

(21) 출원번호 10-2007-7009154  
(22) 출원일자 2007년04월23일  
심사청구일자 없음  
번역문 제출일자 2007년04월23일  
(86) 국제출원번호 PCT/US2005/036764  
국제출원일자 2005년10월13일

(87) 국제공개번호 WO 2006/044505  
국제공개일자 2006년04월27일

(30) 우선권주장 60/617,633 2004년10월13일 미국(US)  
60/617,634 2004년10월13일 미국(US)  
60/617,653 2004년10월13일 미국(US)  
60/617,655 2004년10월13일 미국(US)  
60/617,670 2004년10월13일 미국(US)  
60/624,170 2004년11월03일 미국(US)

(71) 출원인 피티씨 테라퓨틱스, 인크.  
미국 07080 뉴저지주 사우쓰 플레인필드 미들섹스 비지니스 센터 코포레이트 코트 100

(72) 발명자 알름스테드, 네일  
미국 08540 뉴저지 프린스턴 롱뷰 드라이브 179  
카프, 게리, 엠  
미국 08550 뉴저지 프린스턴 정션 카트라이트 드라이브 37  
와일드, 리차드  
미국 08876 뉴저지 소머빌 캐스캐이즈 테라스 13  
웰치, 엘렌  
미국 07830 뉴저지 칼리폰 할로우 브룩 로드 33  
렌, 홍유  
미국 08810 뉴저지 데이튼 블로섬 씨클 407

(74) 대리인 남상선

전체 청구항 수 : 총 84 항

(54) 년센스 변이 억제용 화합물, 및 이의 사용 방법

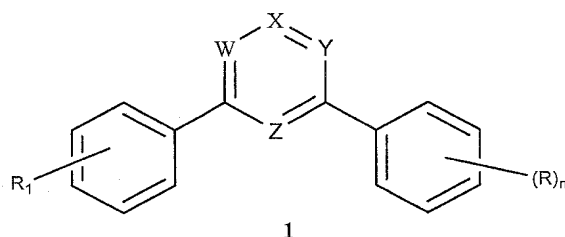
(57) 요약

본 발명은 본 발명의 화합물 또는 조성물을 투여함으로써 mRNA에서 넌센스 변이와 관련된 질환을 치료하거나 예방하기 위한 방법, 화합물 및 조성물에 관한 것이다. 특히, 본 발명은 mRNA에서 넌센스 변이와 관련된 조기 번역 종료를 억제하기 위한 방법, 화합물 및 조성물에 관한 것이다.

## 특허청구의 범위

### 청구항 1.

유효량의 하기 화학식 1의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 수화물, 용매화물, 클러스레이트 (clathrate), 다형체, 라세미체 또는 입체이성질체를 환자에 투여하는 것을 포함하여, 체세포 돌연변이로부터 초래된 질환을 치료하거나 예방하는 방법:



상기 식에서,

W, X, Y 및 Z는 독립적으로 N 또는 C-R<sub>a</sub>으로부터 선택되며, 여기서, R<sub>a</sub>는 수소 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬 그룹이며, W, X, Y, 또는 Z중 하나 이상은 N이며;

n은 0, 1, 2, 또는 3이며;

R<sub>1</sub>은 시아노 그룹; 하나 또는 두개의 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬 그룹으로 치환되거나 비치환된 카르바모일; 또는 히드록시, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬, 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알콕시 그룹으로 치환된 카르보닐 그룹이며;

R은 독립적으로 히드록시 그룹; 할로젠; 하나 이상의 독립적으로 선택된 할로젠 또는 히드록시 그룹으로 치환되거나 비치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬; 하나 이상의 독립적으로 선택된 할로젠 또는 페닐 그룹으로 치환되거나 비치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알콕시; 하나 이상의 독립적으로 선택된 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬 그룹으로 치환되거나 비치환된 C<sub>4</sub>-C<sub>8</sub> 시클로알킬; -R<sub>b</sub> 그룹; -O-R<sub>b</sub> 그룹; 하나 이상의 독립적으로 선택된 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬, 옥소, 또는 -R<sub>b</sub> 그룹으로 치환되거나 비치환된 5원 내지 6원 헤테로사이클; 두개의 고리 구조를 갖는 9원 내지 10원 헤테로사이클; 히드록시, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬, 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알콕시 그룹으로 치환된 카르보닐; 하나 또는 두개의 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬 그룹으로 치환되거나 비치환된 카르바모일; 니트로 그룹; 시아노 그룹; 히드록시, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬, 또는 -R<sub>b</sub> 그룹으로 치환되거나 비치환된 티오; 히드록시, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬, 또는 -R<sub>b</sub> 그룹으로 치환되거나 비치환된 설포닐; 하나 또는 두개의 독립적으로 선택된 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬, 설포닐, 또는 카르보닐 그룹으로 치환되거나 비치환된 아미노 (여기서, 아미노설포닐 그룹은 히드록시, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬, 또는 -R<sub>b</sub> 그룹으로 치환되거나 비치환되며, 아미노카르보닐 그룹은 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 할로알킬, 벤족시, 또는 -R<sub>b</sub> 그룹으로 치환되거나 비치환된 아미노 그룹으로 치환되거나 비치환됨)로부터 선택되거나; 두개의 R 그룹은 페닐 고리에 부착되어 함께 벤조[1,3]디옥솔 또는 2,3-디히드로-벤조[1,4]디옥시닐 그룹을 형성하며,

여기서, -R<sub>b</sub>는 히드록시, 할로젠, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬 그룹, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 할로알킬 그룹, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알콕시 그룹, 또는 하나 이상의 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬 그룹으로 치환되거나 비치환된 아미노 그룹중 하나 이상으로 치환되거나 비치환된 C<sub>6</sub>-C<sub>8</sub> 아릴이다.

## 청구항 2.

제 1항에 있어서, 화학식 1의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 수화물, 용매화물, 클러스레이트, 다형체, 라세미체 또는 입체이성질체가 화학식 1의 화합물 및 약제학적으로 허용되는 담체 또는 희석제를 포함하는 조성물로서 투여되는 방법.

## 청구항 3.

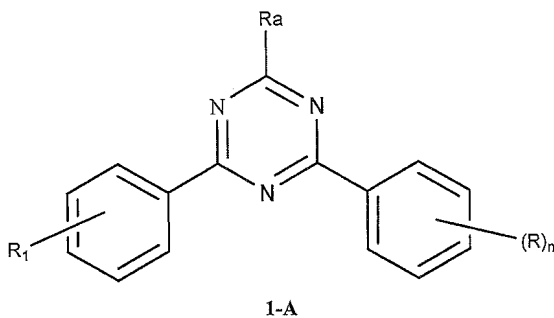
제 1항에 있어서, 정맥내 투여되는 방법.

## 청구항 4.

제 1항에 있어서,  $R_1$ 이 메타 또는 파라 위치에 존재하는 방법.

## 청구항 5.

제 1항에 있어서, W, Y, 및 Z가 각각 N이고, X는  $C-R_a$ 인 (하기 화학식 1-A) 방법:



## 청구항 6.

제 5항에 있어서,  $R_1$ 이 카르복시 그룹이며, 메타 또는 파라 위치에 존재하는 방법.

## 청구항 7.

제 5항에 있어서,  $R_a$ 가 수소인 방법.

## 청구항 8.

제 5항에 있어서, n이 1 또는 2인 방법.

**청구항 9.**

제 5항에 있어서,  $n$ 이 1인 방법.

**청구항 10.**

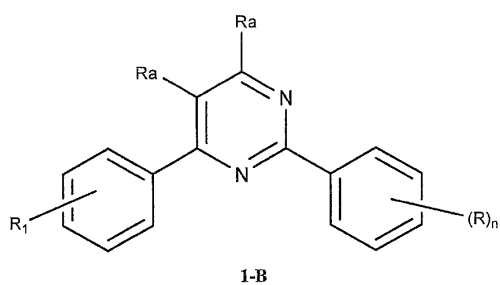
제 5항에 있어서, R이 독립적으로, 할로젠,  $C_1-C_4$  알킬,  $C_1-C_4$  할로알킬, 또는  $C_1-C_4$  알콕시로부터 선택되는 방법.

**청구항 11.**

제 5항에 있어서, R이 하나 이상의 메타 위치, 하나 이상의 파라 위치, 또는 하나 이상의 메타 및 파라 위치에 존재하는 방법.

**청구항 12.**

제 1항에 있어서, Y 및 Z는 모두 N이며, W 및 X는 모두 C- $R_a$ 인 (하기 화학식 1-B) 방법:

**청구항 13.**

제 12항에 있어서,  $R_1$ 이 카르복시 그룹이며, 메타 또는 파라 위치에 존재하는 방법.

**청구항 14.**

제 12항에 있어서,  $R_a$ 가 수소인 방법.

**청구항 15.**

제 12항에 있어서,  $n$ 이 0, 1 또는 2인 방법.

**청구항 16.**

제 12항에 있어서,  $n$ 이 1 또는 2인 방법.

### 청구항 17.

제 12항에 있어서, n이 0 또는 1인 방법.

### 청구항 18.

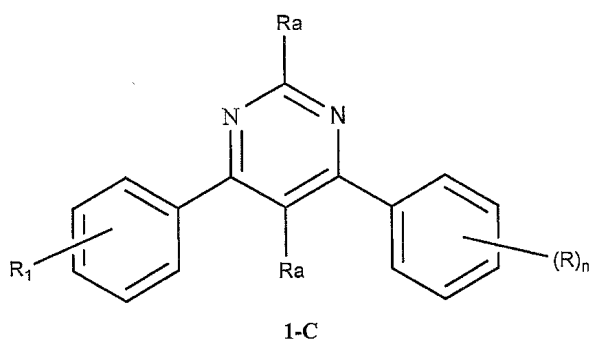
제 12항에 있어서, R이 독립적으로, 할로젠, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 할로알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알콕시, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 할로알콕시 또는 아미노 그룹으로부터 선택되는 방법.

### 청구항 19.

제 12항에 있어서, R이 하나 이상의 메타 위치, 하나 이상의 파라 위치, 또는 하나 이상의 메타 및 파라 위치에 존재하는 방법.

### 청구항 20.

제 1항에 있어서, W 및 Y는 모두 N이며, X 및 Z는 모두 C-R<sub>a</sub>인 (하기 화학식 1-C) 방법:



### 청구항 21.

제 20항에 있어서, R<sub>1</sub>이 카르복시 그룹이며, 메타 또는 파라 위치에 존재하는 방법.

### 청구항 22.

제 20항에 있어서, R<sub>a</sub>가 수소인 방법.

### 청구항 23.

제 20항에 있어서, n이 1 또는 2인 방법.

### 청구항 24.

제 20항에 있어서, n이 1인 방법.

**청구항 25.**

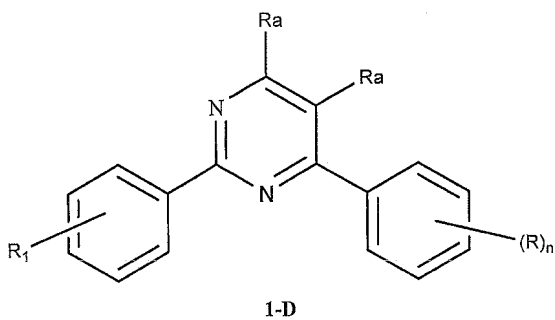
제 20항에 있어서, R이 독립적으로 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬로부터 선택되는 방법.

**청구항 26.**

제 20항에 있어서, R이 하나 이상의 메타 위치, 하나 이상의 파라 위치, 또는 하나 이상의 메타 및 파라 위치에 존재하는 방법.

**청구항 27.**

제 1항에 있어서, W 및 Z는 모두 N이며, X 및 Y는 모두 C-R<sub>a</sub>인 (하기 화학식 1-D) 방법:



**청구항 28.**

제 27항에 있어서, R<sub>1</sub>이 카르복시 그룹이며, 메타 또는 파라 위치에 존재하는 방법.

**청구항 29.**

제 27항에 있어서, R<sub>a</sub>가 독립적으로 수소 또는 메틸로부터 선택되는 방법.

**청구항 30.**

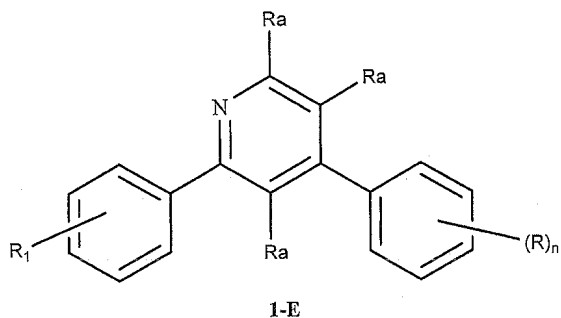
제 27항에 있어서, n이 1 또는 2인 방법.

**청구항 31.**

제 27항에 있어서, R이 하나 이상의 메타 위치, 하나 이상의 파라 위치, 또는 하나 이상의 메타 및 파라 위치에 존재하는 방법.

### 청구항 32.

제 1항에 있어서, W는 N이며, X, Y 및 Z는 각각 C-R<sub>a</sub>인 (하기 화학식 1-E) 방법:



### 청구항 33.

제 32항에 있어서, R<sub>1</sub>이 카르복시 그룹이며, 메타 또는 파라 위치에 존재하는 방법.

### 청구항 34.

제 32항에 있어서, R<sub>a</sub>가 수소인 방법.

### 청구항 35.

제 32항에 있어서, n이 1 또는 2인 방법.

### 청구항 36.

제 32항에 있어서, n이 1인 방법.

### 청구항 37.

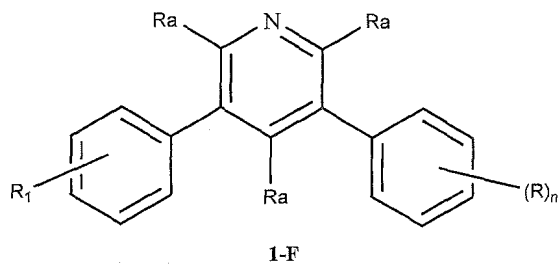
제 32항에 있어서, R이 독립적으로 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬로부터 선택되는 방법.

### 청구항 38.

제 32항에 있어서, R이 하나 이상의 메타 위치, 하나 이상의 파라 위치, 또는 하나 이상의 메타 및 파라 위치에 존재하는 방법.

### 청구항 39.

제 1항에 있어서, X는 N이며, W, Y 및 Z는 각각 C-R<sub>a</sub>인 (하기 화학식 1-F) 방법:



#### 청구항 40.

제 39항에 있어서,  $R_1$ 이 카르복시 그룹이며, 메타 또는 파라 위치에 존재하는 방법.

#### 청구항 41.

제 39항에 있어서,  $R_a$ 가 수소인 방법.

#### 청구항 42.

제 39항에 있어서,  $n$ 이 1 또는 2인 방법.

#### 청구항 43.

제 39항에 있어서,  $n$ 이 1인 방법.

#### 청구항 44.

제 39항에 있어서,  $R$ 이 독립적으로  $C_1-C_4$  알킬로부터 선택되는 방법.

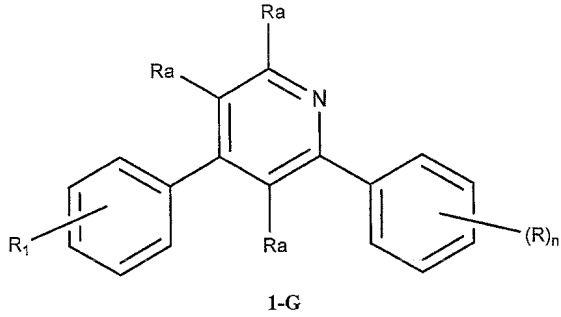
#### 청구항 45.

제 39항에 있어서,  $R$ 이 하나 이상의 메타 위치, 하나 이상의 파라 위치, 또는 하나 이상의 메타 및 파라 위치에 존재하는 방법.

#### 청구항 46.

제 1항에 있어서,  $Y$ 는  $N$ 이며,  $W$ ,  $X$  및  $Z$ 는 각각  $C-R_a$ 인 (하기 화학식 1-G) 방법:





#### 청구항 47.

제 46항에 있어서,  $R_1$ 이 카르복시 그룹이며, 메타 또는 파라 위치에 존재하는 방법.

#### 청구항 48.

제 46항에 있어서,  $R_a$ 가 수소인 방법.

#### 청구항 49.

제 46항에 있어서,  $n$ 이 1 또는 2인 방법.

#### 청구항 50.

제 46항에 있어서,  $n$ 이 1인 방법.

#### 청구항 51.

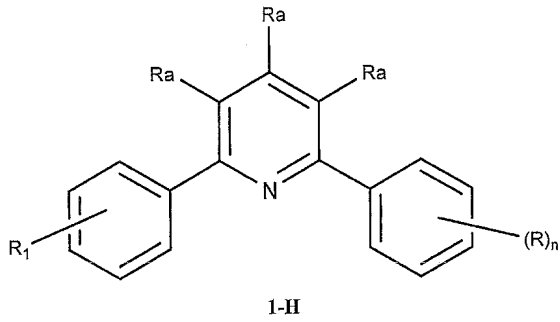
제 46항에 있어서,  $R$ 이 독립적으로  $C_1-C_4$  알킬로부터 선택되는 방법.

#### 청구항 52.

제 46항에 있어서,  $R$ 이 하나 이상의 메타 위치, 하나 이상의 파라 위치, 또는 하나 이상의 메타 및 파라 위치에 존재하는 방법.

#### 청구항 53.

제 1항에 있어서,  $Z$ 는 N이며,  $W$ ,  $X$  및  $Y$ 는 각각  $C-R_a$ 인 (하기 화학식 1-H) 방법:



#### 청구항 54.

제 53항에 있어서,  $R_1$ 이 카르복시 그룹이며, 메타 또는 파라 위치에 존재하는 방법.

#### 청구항 55.

제 53항에 있어서,  $R_a$ 가 수소인 방법.

#### 청구항 56.

제 53항에 있어서,  $n$ 이 0, 1 또는 2인 방법.

#### 청구항 57.

제 53항에 있어서,  $n$ 이 1 또는 2인 방법.

#### 청구항 58.

제 53항에 있어서,  $n$ 이 0 또는 1인 방법.

#### 청구항 59.

제 53항에 있어서,  $R$ 이 독립적으로  $C_1$ - $C_4$  알킬로부터 선택되는 방법.

#### 청구항 60.

제 53항에 있어서,  $R$ 이 하나 이상의 메타 위치, 하나 이상의 파라 위치, 또는 하나 이상의 메타 및 파라 위치에 존재하는 방법.

#### 청구항 61.

유효량의 화학식 1의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 수화물, 용매화물, 클러스레이트, 라세미체 또는 입체 이성질체를 환자에 투여하는 것을 포함하여, 자가면역질환, 혈액 질환, 콜라겐 질환, 당뇨, 퇴행성신경 질환, 심혈관 질환, 폐 질환, 염증 질환 또는 중추신경계 질환을 치료하거나 예방하는 방법.

#### 청구항 62.

제 61항에 있어서, 정맥내 투여되는 방법.

#### 청구항 63.

제 61항에 있어서, 자가면역 질환이 류마티스 관절염 또는 이식편대 숙주병인 방법.

#### 청구항 64.

제 61항에 있어서, 염증 질환이 관절염인 방법.

#### 청구항 65.

제 61항에 있어서, 중추신경계 질환이 다발성 경화증, 근위영양증, 뒤시엔느 근위영양증, 알츠하이머병, 퇴행성신경 질환 또는 파킨슨병인 방법.

#### 청구항 66.

제 61항에 있어서, 혈액 질환이 혈우병, 폰 빌레브란트병, 모세혈관확장성조화운동불증,  $\beta$ -지중해빈혈증 또는 신장 결석인 방법.

#### 청구항 67.

제 61항에 있어서, 콜라겐 질환이 불완전골형성증 또는 경화증인 방법.

#### 청구항 68.

유효량의 화학식 1의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 수화물, 용매화물, 클러스레이트, 라세미체 또는 입체 이성질체를 환자에 투여하는 것을 포함하여, 가족성 적혈구증가증, 면역결핍, 신장 질환, 낭성섬유증, 가족성 고콜레스테롤혈증, 망막색소변성, 아밀로이드증, 혈우병, 알츠하이머병, 테이삭스병, 니만피크병, 파킨슨병, 죽상경화증, 거인증, 난장이증, 갑상샘과대증, 노화, 비만, 뒤시엔느 근위영양증 또는 마르팡 증후군을 치료하거나 예방하는 방법.

#### 청구항 69.

제 68항에 있어서, 정맥내 투여되는 방법.

#### 청구항 70.

유효량의 화학식 1의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 수화물, 용매화물, 클러스레이트, 라세미체 또는 입체 이성질체를 인간에게 투여하는 것을 포함하며, 인간에서 암을 치료하거나 예방하는 방법.

#### 청구항 71.

제 70항에 있어서, 정맥내 투여되는 방법.

#### 청구항 72.

제 70항에 있어서, 암이 머리 및 목, 눈, 피부, 구강, 목, 식도, 가슴, 뼈, 혈액, 폐, 대장, S자 결장, 직장, 위, 전립선, 유방, 난소, 신장, 간, 췌장, 뇌, 장, 심장 또는 부신의 암인 방법.

#### 청구항 73.

제 70항에 있어서, 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 수화물, 용매화물, 클러스레이트, 또는 입체이성질체가 약제학적으로 허용되는 담체 또는 희석제를 포함하는 방법.

#### 청구항 74.

제 70항에 있어서, 암이 고형 종양인 방법.

#### 청구항 75.

제 70항에 있어서, 암이 육종, 암종, 섬유육종, 점액육종, 지방육종, 연골육종, 골육종, 척삭종, 혈관육종, 내피육종, 림프관육종, 림프관내피육종, 활막종, 중피종, 유잉육종, 자궁평활근육종, 횡문근육종, 대장암종, 췌장암, 유방암, 난소암, 전립선암, 편평세포 암종, 기저세포 암종, 선암종, 땀샘 암종, 피지선 암종, 유두 암종, 유두 선암종, 낭성암종, 수질성 암종, 기관지 암종, 신세포 암종, 간암, 담관 암종, 용모막암종, 고환종, 배아 암종, 윌름즈 종양, 자궁경부암, 고환종양, 폐 암종, 소세포 폐 암종, 방광 암종, 상피 암종, 신경교종, 별아교세포종, 수모세포종, 두개인두종, 상의세포종, 카포시 육종, 송과체종, 혈관모세포종, 청신경종, 지기신경교종, 수막종, 흑색종, 신경아세포종, 망막모세포종, 블러드-본 (blood-born) 종양 또는 다발골수종인 방법.

#### 청구항 76.

제 70항에 있어서, 암이 급성 림프성모구성 백혈병, 급성 림프성모구성 B-세포 백혈병, 급성 림프성모구성 T-세포 백혈병, 급성 골수아구성 백혈병, 급성 전골수구성 백혈병, 급성 단핵구성 백혈병, 급성 적백혈병성 백혈병, 급성 거핵구성 백혈병, 급성 골수단핵구성 백혈병, 급성 비립프구성 백혈병, 급성 미분형 백혈병, 만성 골구성 백혈병, 만성 림프구성 백혈병, 유모세포 백혈병 또는 다발골수종인 방법.

#### 청구항 77.

유효량의 화학식 1의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 수화물, 용매화물, 클러스레이트, 라세미체 또는 입체 이성질체를 환자에 투여하는 것을 포함하여, p53 유전자 변이와 관련된 질환을 치료하거나 예방하는 방법.

**청구항 78.**

제 77항에 있어서, 정맥내 투여되는 방법.

**청구항 79.**

제 77항에 있어서, 질환이 육종, 암종, 섬유육종, 점액육종, 지방육종, 연골육종, 골육종, 척삭종, 혈관육종, 내피육종, 림프관육종, 림프관내피육종, 활막종, 중피종, 유잉육종, 자궁평활근육종, 횡문근육종, 대장암종, 췌장암, 유방암, 난소암, 전립선암, 편평세포 암종, 기저세포 암종, 선암종, 땀샘 암종, 피지선 암종, 유두 암종, 유두 선암종, 낭성암종, 수질성 암종, 기관지 암종, 신세포 암종, 간암, 담관 암종, 융모막암종, 고환종, 배아 암종, 윌름즈 종양, 자궁경부암, 고환종양, 폐 암종, 소세포 폐 암종, 방광 암종, 상피 암종, 신경교종, 별아교세포종, 수모세포종, 두개인두종, 상의세포종, 카포시 육종, 송과체종, 혈관모세포종, 청신경종, 지기신경교종, 수막종, 흑색종, 신경아세포종, 망막모세포종, 블러드-본 종양 또는 다발골수종인 방법.

**청구항 80.**

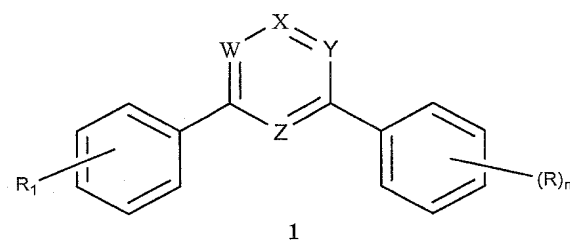
유효량의 화학식 1의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 수화물, 용매화물, 클러스레이트, 라세미체 또는 입체이성질체를 암 세포와 접촉시키는 것을 포함하여, 암 세포의 성장을 억제시키는 방법.

**청구항 81.**

포유동물의 넌센스 변이를 함유하는 유전자를 전사하고, 유효량의 화학식 1의 화합물을 포유동물에 제공하는 것을 포함하여, 포유동물의 단백질을 선택적으로 생성시키는 방법으로서, 상기 단백질이 포유동물에 의해 생성되는 방법.

**청구항 82.**

하기 화학식 1의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 수화물, 용매화물, 클러스레이트, 다형체, 라세미체 또는 입체이성질체:



상기 식에서,

W, X, Y 및 Z는 독립적으로 N 또는 C-R<sub>a</sub>으로부터 선택되며, 여기서, R<sub>a</sub>는 수소 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬 그룹이며, W, X, Y, 또는 Z중 하나 이상은 N이며;

n은 0, 1, 2, 또는 3이며;

R<sub>1</sub>은 시아노 그룹; 하나 또는 두개의 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬 그룹으로 치환되거나 비치환된 카르바모일; 또는 히드록시, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬, 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알콕시 그룹으로 치환된 카르보닐 그룹이며;

R은 독립적으로 히드록시 그룹; 할로젠; 하나 이상의 독립적으로 선택된 할로젠 또는 히드록시 그룹으로 치환되거나 비치환된  $C_1-C_4$  알킬; 하나 이상의 독립적으로 선택된 할로젠 또는 페닐 그룹으로 치환되거나 비치환된  $C_1-C_4$  알콕시; 하나 이상의 독립적으로 선택된  $C_1-C_4$  알킬 그룹으로 치환되거나 비치환된  $C_4-C_8$  시클로알킬;  $-R_b$  그룹;  $-O-R_b$  그룹; 하나 이상의 독립적으로 선택된  $C_1-C_4$  알킬, 옥소, 또는  $-R_b$  그룹으로 치환되거나 비치환된 5원 내지 6원 헤테로사이클; 두개의 고리 구조를 갖는 9원 내지 10원 헤테로사이클; 히드록시,  $C_1-C_4$  알킬, 또는  $C_1-C_4$  알콕시 그룹으로 치환된 카르보닐; 하나 또는 두개의  $C_1-C_4$  알킬 그룹으로 치환되거나 비치환된 카르바모일; 니트로 그룹; 시아노 그룹; 히드록시,  $C_1-C_4$  알킬, 또는  $-R_b$  그룹으로 치환되거나 비치환된 티오; 히드록시,  $C_1-C_4$  알킬, 또는  $-R_b$  그룹으로 치환되거나 비치환된 설포닐; 하나 또는 두개의 독립적으로 선택된  $C_1-C_4$  알킬, 설포닐, 또는 카르보닐 그룹으로 치환되거나 비치환된 아미노 (여기서, 아미노설포닐 그룹은 히드록시,  $C_1-C_4$  알킬, 또는  $-R_b$  그룹으로 치환되거나 비치환되며, 아미노카르보닐 그룹은  $C_1-C_4$  알킬,  $C_1-C_4$  할로알킬, 벤족시, 또는  $-R_b$  그룹으로 치환되거나 비치환된 아미노 그룹으로 치환되거나 비치환됨)로부터 선택되거나; 두개의 R 그룹은 페닐 고리에 부착되어 함께 벤조[1,3]디옥솔 또는 2,3-디히드로-벤조[1,4]디옥시닐 그룹을 형성하며,

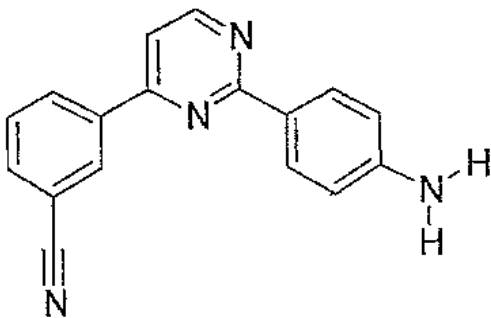
여기서,  $-R_b$ 는 히드록시, 할로젠,  $C_1-C_4$  알킬 그룹,  $C_1-C_4$  할로알킬 그룹,  $C_1-C_4$  알콕시 그룹, 또는 하나 이상의  $C_1-C_4$  알킬 그룹으로 치환되거나 비치환된 아미노 그룹중 하나 이상으로 치환되거나 비치환된  $C_6-C_8$  아릴이다.

### 청구항 83.

제 82항에 있어서, 화합물 1-89로부터 선택되는 화합물.

### 청구항 84.

하기 화학식의 화합물 (화합물 1):



명세서

#### 기술분야

본 발명은 본 발명의 화합물 또는 조성물을 투여함으로써 mRNA에서 넌센스 변이와 관련된 질환을 치료하거나 예방하기 위한 방법, 화합물 및 조성물에 관한 것이다. 특히, 본 발명은 mRNA에서의 넌센스 변이와 관련된 조기 번역 종료를 억제하기 위한 방법, 화합물 및 조성물에 관한 것이다.

#### 배경기술

세포의 유전자 발현은 전사 및 번역의 일련의 과정에 의존적이다. 또한, 이들 과정에 의해 이의 상응하는 유전자의 뉴클레오타이드 서열로부터 단백질이 생성된다.

전사는 RNA 폴리머라아제에 의한 DNA로부터의 mRNA의 합성에 관한 것이다. 전사는 유전자의 프로모터 영역에서 개시되어, 예컨대, 미성숙 RNA의 스템-루프 구조의 형성 또는 *rho* 유전자 생성물의 결합에 의해 종료가 유도될 때까지 계속된다.

그 후, 단백질이 번역 과정에 의해 mRNA로부터 생성되며, 이러한 번역 과정은 tRNA, tRNA 합성효소, 및 다양한 기타 단백질 및 RNA 종의 도움으로 리보솜상에서 발생한다. 번역은 개시, 연장 및 종료의 세 단계를 포함한다. 번역은 단백질 인자, mRNA, tRNA, 보조인자, 및 mRNA에서의 번역 개시를 위한 번역 조직 (machinery)을 유도하는 mRNA에서의 시그널을 인지하는 리보솜 서브유닛으로 이루어진 개시 복합물의 형성에 의해 개시된다. 일단 개시 복합물이 형성되면, 리보솜의 펩티드 트랜스퍼라아제 활성에 의해 또한, tRNA 및 tRNA 합성효소에 의해 아미노산이 반복 첨가됨으로써 폴리펩티드 사슬이 성장하게 된다. 리보솜의 A 부위에서 세 종료 코돈 (UAA, UAG, UGA)중 하나가 존재하게 되면 종료 시그널에 결합하고 이를 인지하는 폴리펩티드쇄 방출 인자 (RF)를 시그널링하게 된다. 그 후, 리보솜 P 부위에 위치한 tRNA의 3' 뉴클레오타이드와 미성숙 폴리펩티드쇄 간의 에스테르 결합이 가수분해되고, 완성된 폴리펩티드쇄가 방출되고, 리보솜 서브유닛이 또 다른 번역을 위해 재순환된다.

염기 수가 변형된 DNA 서열의 변이는 삽입 또는 결실 변이 (예를 들어, 프레임시프트 변이)로서 분류되며, 이는 대부분의 게놈 붕괴를 초래할 수 있다. 하나의 염기를 다른 염기로 변화시켜 아미노산 치환을 유도하는 DNA 변이는 미스센스 변이로 분류된다. 염기 치환은 전이 (하나의 퓨린이 다른 퓨린으로 또는 하나의 피리미딘이 또 다른 피리미딘으로 전이) 또는 교차 (퓨린이 피리미딘으로, 또는 피리미딘이 퓨린으로) 부류로 나누어진다.

전이 및 교차 변이는 아미노산 코돈을 세 정지 코돈중 하나로 변화시키는 넌센스 변이를 초래할 수 있다. 이러한 조기 정지 코돈은 조기 번역 종료의 결과로서 세포의 이상 단백질을 생성시킬 수 있다. 필수 유전자에서의 넌센스 변이는 치명적일 수 있으며, 또한 많은 인간의 질환 예컨대, 몇개의 예를 들자면, 암, 리소솜 축적증, 근위영양증, 남성성유증 및 혈우병을 초래할 수 있다.

인간 p53 유전자가 인간 암에서 가장 일반적으로 변이된 유전자이다 (Zambetti, G.P. 및 Levine, A., FASEB 7:855-865 (1993)). 유전적 및 자생적 암에서 발견된 50개가 넘는 상이한 유형의 인간 암은 p53 변이를 함유하며, 이러한 유전자의 변이는 모든 인간 암의 50-55%로 발생한다 (Hollstein, M., et al., Nucleic Acids Res. 22:3551-55 (1994); International Agency for Research on Cancer (IARC) database). 대략적으로 대장암중 70%, 폐암중 50% 및 유방암중 40%가 변이체 p53을 함유한다 (Koshland, D., Science 262:1953 (1993)). 이상 형태의 p53은 빈약한 예후, 더욱 공격적인 종양, 전이 및 5년 미만의 생존률과 관련이 있다 (Id.). DNA 손상시 세포 성장 억제 및/또는 아포토시스의 유도에서 p53의 역할은 변이된 세포의 파괴에 필수적인 것으로 여겨지며, 이러한 변이된 세포는 다르게는 성장 이점을 획득할 수 있을 것이다. 또한, p53은 아포토시스 시그널에 대한 세포 분할을 신속하게 감작한다. p53 유전자의 15,000개가 넘는 것으로 보고된 변이중 약 7%가 넌센스 변이다. 따라서, p53 넌센스 변이에 대한 안전하고 효과적인 치료법이 요구된다.

넌센스 변이를 갖는 박테리아 및 진핵세포 균주에서, 넌센스 변이의 억제는 tRNA 분자중 하나가 변이되어 일어날 수 있으며, 따라서 번역 과정과 관련된 단백질의 변이의 결과로서, 리보솜 (리보솜 RNA 또는 리보솜 단백질)의 변이 결과로서, 또는 번역 과정을 변형시키는 공지된 화합물 (예를 들어, 시클로헥시미드 또는 아미노글리코사이드 항생제)의 첨가에 의해 변이 tRNA는 넌센스 코돈을 인지할 수 있다. 그 결과, 아미노산은 넌센스 변이 부위에서 폴리펩티드쇄로 혼입될 것이며, 번역은 넌센스 코돈에서 조기에 종료되지 않을 것이다. 삽입된 아미노산은 야생형 단백질의 원래의 아미노산과 반드시 동일할 필요는 없으며, 많은 아미노산 치환이 단백질 구조 또는 기능에 막대한 영향을 끼치지 않는 것이다. 이와 같이, 넌센스 변이의 억제에 의해 생성된 단백질은 야생형 단백질의 활성과 유사한 활성을 가질 것이다. 이러한 시나리오는 넌센스 변이의 억제를 통해 번역의 조기 종료를 회피함으로써 넌센스 변이와 관련된 질환을 치료할 기회를 제공한다.

진핵세포 정지 코돈의 리드-쓰로 (read-through)를 촉진하는 아미노글리코사이드 항생제의 능력은 넌센스 변이에 의해 초래되는 인간 질환에서 잠재적인 치료제로서의 약물에서 흥미로운 관심의 대상이 된다. 이러한 치료법을 실행할 수 있는 질환은 전통적인 영아 후기형 신경 세포이드 리포푸신증 (LINCL), 즉 현재로서는 효과적인 치료법이 없는 치명적인 유년기 퇴행성신경질환이다. 리소솜 트리펩티딜펩티다아제 1(TPP-I)을 엔코딩하는 유전자 CLN2에서 조기 종료 코돈 변이는 LINCL로 진단된 아이들중 약 절반의 아이들의 질환과 관련있다. LINCL 세포주에서 TPP-I 활성을 복구하는 아미노글리코사이드 젠타마이신의 능력을 시험하였다. 일반적으로 관찰된 넌센스 변이 (Arg208Stop) 및 상이한 희귀 넌센스 변이에 대해 화합물 이형성인 환자 유래된 세포주에서, 정상 수준의 TPP-I중 약 7%가 젠타마이신 치료로 최대로 복구되었다. 이러한 결과는 아미노글리코사이드 또는 기능적으로 유사한 약제에 의한 넌센스 변이의 약물학적 억제가 LINCL에서 치료학적 잠재력을 가질 수 있음을 시사한다 (Sleat et al., Eur. J. Ped. Neurol. 5:Suppl 57-62 (2001)).

낭포성섬유증 막통과 전도성 조절인자 (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR)) 유전자에 조기 정지 코돈을 갖는 배양 세포에서, 아미노글리코시드로의 처리는 전장 CFTR의 생성을 유도한다 (Bedwell et al., Nat. Med. 3:1280-1284 (1997); Howard et al. Nat. Med. 2:467-469 (1996)). 뒤시엔느 근위영양증에 대한 마우스 모델에서, 젠타마이신 설페이트는 조기 종료 코돈에서 번역 종료를 억제하여 전장 디스트로핀을 생성시키는 것으로 관찰되었다 (Barton-Davis et al., J.Clin. Invest. 104:375-381 (1991)). 전장 디스트로핀의 양의 적은 증가는 mdx 마우스에서 수축-유도된 손상에 대한 보호를 제공한다. 이러한 연구에서 넌센스 코돈 부위에 삽입된 아미노산은 결정되지 않았다.

따라서, 넌센스 코돈의 미스리딩을 매개함으로써 조기 번역 종료를 억제하는 치료학적 또는 예방학적 소분자는 많은 질환의 치료에 유용할 것이다. 소분자 약물 특히, 경구적으로 생체활성인 약물의 발견은 광범위한 범위의 선택적 치료법 또는 예방법을 대중에게 소개할 수 있으며, 이는 넌센스 변이가 막 개시됨으로써 초래되는 질환에 대해 사용될 수 있다.

클리토신 (6-아미노-5-니트로-4-(β-D-리보-푸라노실아미노)피리미딘)은 버섯 클리토시브 인버사 (*Clitocybe inversa*)로부터 먼저 분리된 자연적으로 발생하는 엑소시클릭 아미노 뉴클레오시드이다 (Kubo et al., Tet. Lett. 27:4277 (1986)). 클리토신의 전체 합성법은 보고되어 있다 (Moss et al., J.Med.Chem. 31:786-790 (1988) 및 Kamikawa et al., J.Chem. Soc. Chem. Commun. 195 (1988)). 클리토신은 류케미아 세포주에 대한 살충 활성 및 세포증식 억제 활성을 갖는 것으로 보고되었다 (Kubo et al., Tet. Lett. 27:4277 (1986) and Moss et al., J.Med. Chem. 31:786-790 (1988)). 그러나, 넌센스 변이와 관련된 질환에 대한 치료제로서의 클리토신의 용도는 현재까지 밝혀지지 않았다. 넌센스 변이와 관련된 암 또는 질환에 대한 치료제로서 유용성을 갖는 클리토신의 유사체 또는 유도체에 대한 개발 또한 보고된 바 없다.

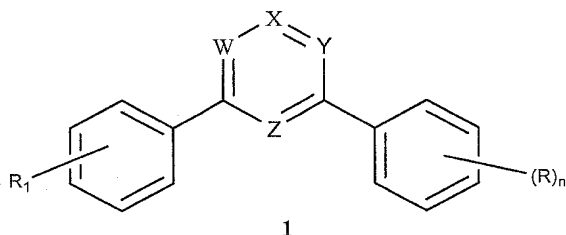
이와 같이, mRNA의 넌센스 변이와 관련된 질환을 치료하거나 예방하기 위한 신규한 약물 개발을 위한 리드 분자를 특징화시키고 최적화시킬 필요가 있다. 따라서, 본 발명의 목적은 이러한 화합물을 제공하는 것이다.

본원에 언급된 모든 문헌은 참고문헌으로서 인용되었다.

#### 발명의 요약

본 발명에 있어서, mRNA에서 넌센스 변이와 관련된 조기 번역 종료를 억제하는 화합물을 동정하고, 이의 사용 방법을 제공하였다.

본 발명의 한 양태에서, mRNA에서 넌센스 변이와 관련된 조기 번역 종료를 억제하고, mRNA에서 넌센스 변이와 관련된 질환을 치료하는데 유용한 하기 화학식 (I)의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 수화물, 용매화물, 클러스레이트, 다형체, 라세미체 또는 입체이성질체가 제공된다:



상기 식에서,

W, X, Y 및 Z는 독립적으로 N 또는 C-R<sub>a</sub>으로부터 선택되며, 여기서, R<sub>a</sub>는 수소 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬 그룹이며, W, X, Y, 또는 Z중 하나 이상은 N이며;

n은 0, 1, 2, 또는 3이며;

R<sub>1</sub>은 시아노 그룹; 하나 또는 두개의 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬 그룹으로 치환되거나 비치환된 카르바모일; 또는 히드록시, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬, 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알콕시 그룹으로 치환된 카르보닐 그룹이며;



R은 히드록시 그룹; 할로젠; 하나 이상의 독립적으로 선택된 할로젠 또는 히드록시 그룹으로 치환되거나 비치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬; 하나 이상의 독립적으로 선택된 할로젠 또는 페닐 그룹으로 치환되거나 비치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알콕시; 하나 이상의 독립적으로 선택된 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬 그룹으로 치환되거나 비치환된 C<sub>4</sub>-C<sub>8</sub> 시클로알킬; -R<sub>b</sub> 그룹; -O-R<sub>b</sub> 그룹; 하나 이상의 독립적으로 선택된 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬, 옥소, 또는 -R<sub>b</sub> 그룹으로 치환되거나 비치환된 5원 내지 6원 헤테로사이클; 두개의 고리 구조를 갖는 9원 내지 10원 헤테로사이클; 히드록시, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬, 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알콕시 그룹으로 치환된 카르보닐; 하나 또는 두개의 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬 그룹으로 치환되거나 비치환된 카르바모일; 니트로 그룹; 시아노 그룹; 히드록시, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬, 또는 -R<sub>b</sub> 그룹으로 치환되거나 비치환된 티오; 히드록시, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬, 또는 -R<sub>b</sub> 그룹으로 치환되거나 비치환된 설포닐; 하나 또는 두개의 독립적으로 선택된 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬, 설포닐, 또는 카르보닐 그룹으로 치환되거나 비치환된 아미노 (여기서, 아미노 설포닐 그룹은 히드록시, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬, 또는 -R<sub>b</sub> 그룹으로 치환되거나 비치환되며, 아미노카르보닐 그룹은 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 할로알킬, 벤족시, 또는 -R<sub>b</sub> 그룹으로 치환되거나 비치환된 아미노 그룹으로 치환되거나 비치환됨)이거나; 두개의 R 그룹은 페닐 고리에 부착되어 함께 벤조[1,3]디옥솔 또는 2,3-디히드로-벤조[1,4]디옥시닐 그룹을 형성하며,

여기서, -R<sub>b</sub>는 히드록시, 할로젠, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬 그룹, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 할로알킬 그룹, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알콕시 그룹, 또는 하나 이상의 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬 그룹으로 치환되거나 비치환된 아미노 그룹중 하나 이상으로 치환되거나 비치환된 C<sub>6</sub>-C<sub>8</sub> 아릴이다.

본 발명의 또 다른 양태에서, 넌센스 변이와 관련된 조기 번역 종료의 억제, 및 mRNA의 넌센스 변이와 관련된 질환의 예방 또는 치료를 위한 방법이 제공된다. 이러한 질환은 넌센스 변이와 관련된 조기 번역 종료에 의해 초래되는 유전병, 예컨대, CNS 질환, 염증 질환, 퇴행성신경 질환, 자가면역 질환, 심혈관 질환 또는 폐 질환을 포함하나 이에 제한되지 않으며; 더욱 바람직하게는, 질환은 암 (또는 기타 증식성 질환), 아밀로이드증, 알츠하이머병, 죽상경화증, 거인증, 난장이증, 갑상샘저하증, 갑상샘과대증, 남성성유증, 노화, 비만, 파킨슨병, 니만피크병, 가족성 고콜레스테롤혈증, 망막색소상피 변성증, 마르팡 증후군, 리소좀 축적증, 근위영양증, 남성성유증, 혈우병 또는 전통적인 영아 후기형 신경 세로이드 리포푸스신증 (LINCL)이다.

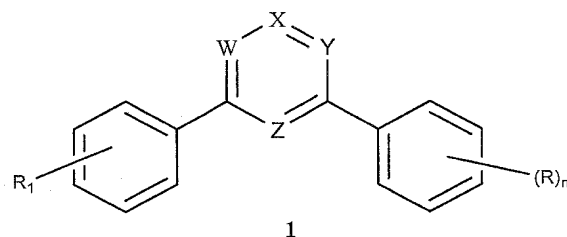
한 구체예에서, 본 발명은 넌센스 억제량의 본 발명의 하나 이상의 화합물을 이를 필요로 하는 피검체에 투여하는 것을 포함하여, mRNA의 넌센스 변이와 관련된 조기 번역 종료를 억제하는 방법에 관한 것이다.

또 다른 구체예에서, 치료학적 유효량의 본 발명의 하나 이상의 화합물을 이를 필요로 하는 피검체에 투여하는 것을 포함하여, 암, 리소좀 축적증, 근위영양증, 남성성유증, 혈우병 또는 전통적인 영아 후기형 신경 세로이드 리포푸스신증을 치료하기 위한 방법이 제공된다.

본 발명의 이러한 양태 및 기타 양태는 하기 바람직한 구체예 및 상세한 설명을 참조로 하여 더욱 명료하게 이해될 것이다.

## 특정 구체예

1. 유효량의 화학식 1의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 수화물, 용매화물, 클러스레이트, 다형체, 라세미체 또는 입체이성질체를 환자에 투여하는 것을 포함하여, 체세포 돌연변이로부터 초래된 질환을 치료하거나 예방하는 방법:



상기 식에서,

W, X, Y 및 Z는 독립적으로 N 또는 C-R<sub>a</sub>로부터 선택되며, 여기서, R<sub>a</sub>는 수소 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬 그룹이며, W, X, Y, 또는 Z중 하나 이상은 N이며;

n은 0, 1, 2, 또는 3이며;

R<sub>1</sub>은 시아노 그룹; 하나 또는 두개의 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬 그룹으로 치환되거나 비치환된 카르바모일; 또는 히드록시, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬, 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알콕시 그룹으로 치환된 카르보닐 그룹이며;

R은 독립적으로, 히드록시 그룹; 할로젠; 하나 이상의 독립적으로 선택된 할로젠 또는 히드록시 그룹으로 치환되거나 비치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬; 하나 이상의 독립적으로 선택된 할로젠 또는 페닐 그룹으로 치환되거나 비치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알콕시; 하나 이상의 독립적으로 선택된 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬 그룹으로 치환되거나 비치환된 C<sub>4</sub>-C<sub>8</sub> 시클로알킬; -R<sub>b</sub> 그룹; -O-R<sub>b</sub> 그룹; 하나 이상의 독립적으로 선택된 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬, 옥소, 또는 -R<sub>b</sub> 그룹으로 치환되거나 비치환된 5원 내지 6원 헤테로사이클; 두개의 고리 구조를 갖는 9원 내지 10원 헤테로사이클; 히드록시, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬, 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알콕시 그룹으로 치환된 카르보닐; 하나 또는 두개의 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬 그룹으로 치환되거나 비치환된 카르바모일; 니트로 그룹; 시아노 그룹; 히드록시, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬, 또는 -R<sub>b</sub> 그룹으로 치환되거나 비치환된 티오; 히드록시, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬, 또는 -R<sub>b</sub> 그룹으로 치환되거나 비치환된 설포닐; 하나 또는 두개의 독립적으로 선택된 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬, 설포닐, 또는 카르보닐 그룹으로 치환되거나 비치환된 아미노 (여기서, 아미노설포닐 그룹은 히드록시, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬, 또는 -R<sub>b</sub> 그룹으로 치환되거나 비치환되며, 아미노카르보닐 그룹은 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 할로알킬, 벤족시, 또는 -R<sub>b</sub> 그룹으로 치환되거나 비치환된 아미노 그룹으로 치환되거나 비치환됨)로부터 선택되거나; 두개의 R 그룹은 페닐 고리에 부착되어 함께 벤조[1,3]디옥솔 또는 2,3-디히드로-벤조[1,4]디옥시닐 그룹을 형성하며,

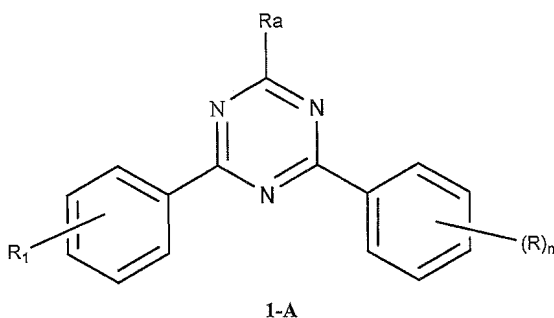
여기서, -R<sub>b</sub>는 히드록시, 할로젠, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬 그룹, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 할로알킬 그룹, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알콕시 그룹, 또는 하나 이상의 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬 그룹으로 치환되거나 비치환된 아미노 그룹중 하나 이상으로 치환되거나 비치환된 C<sub>6</sub>-C<sub>8</sub> 아릴이다.

2. 구체예 1에 있어서, 화학식 1의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 수화물, 용매화물, 클러스레이트, 다형체, 라세미체 또는 입체이성질체가 화학식 1의 화합물 및 약제학적으로 허용되는 담체 또는 희석제를 포함하는 조성물로서 투여되는 방법.

3. 구체예 1에 있어서, 정맥내 투여되는 방법.

4. 구체예 1에 있어서, R<sub>1</sub>이 메타 또는 파라 위치에 존재하는 방법.

5. 구체예 1에 있어서, W, Y, 및 Z가 각각 N이고, X는 C-R<sub>a</sub>인 (하기 화학식 1-A) 방법:



6. 구체예 5에 있어서, R<sub>1</sub>이 카르복시 그룹이며, 메타 또는 파라 위치에 존재하는 방법.

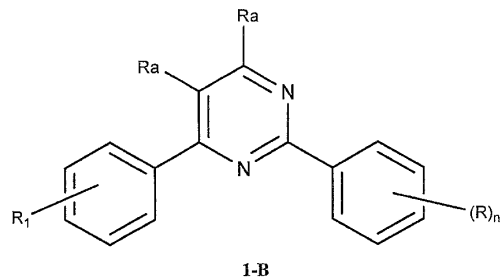
7. 구체예 5에 있어서,  $R_a$ 가 수소인 방법.

8. 구체예 5에 있어서,  $n$ 이 1 또는 2인 방법.

9. 구체예 5에 있어서,  $R$ 이 독립적으로, 할로젠,  $C_1-C_4$  알킬,  $C_1-C_4$  할로알킬, 또는  $C_1-C_4$  알콕시로부터 선택되는 방법.

10. 구체예 5에 있어서,  $R$ 이 메타 및/또는 파라 위치에 존재하는 방법.

11. 구체예 1에 있어서,  $Y$  및  $Z$ 는 모두  $N$ 이며,  $W$  및  $X$ 는 모두  $C-R_a$ 인 (하기 화학식 1-B) 방법:



12. 구체예 11에 있어서,  $R_1$ 이 카르복시 그룹이며, 메타 또는 파라 위치에 존재하는 방법.

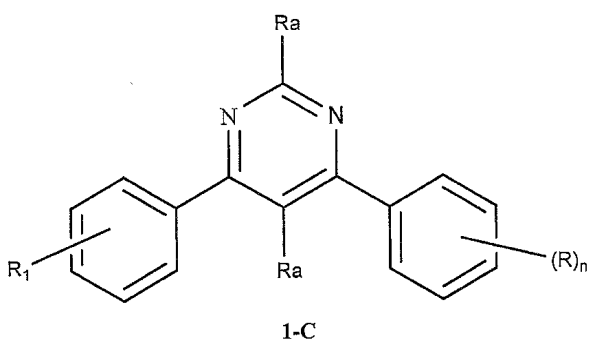
13. 구체예 11에 있어서,  $R_a$ 가 수소인 방법.

14. 구체예 11에 있어서,  $n$ 이 1 또는 2인 방법.

15. 구체예 11에 있어서,  $R$ 이 독립적으로, 할로젠,  $C_1-C_4$  알킬,  $C_1-C_4$  할로알킬,  $C_1-C_4$  알콕시,  $C_1-C_4$  할로알콕시, 아미노 또는 피롤릴 그룹으로부터 선택되는 방법.

16. 구체예 11에 있어서,  $R$ 이 메타 및/또는 파라 위치에 존재하는 방법.

17. 구체예 1에 있어서,  $W$  및  $Y$ 는 모두  $N$ 이며,  $X$  및  $Z$ 는 모두  $C-R_a$ 인 (하기 화학식 1-C) 방법:

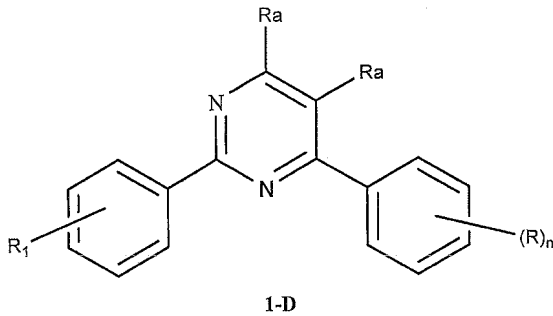


18. 구체예 17에 있어서,  $R_1$ 이 카르복시 그룹이며, 메타 또는 파라 위치에 존재하는 방법.

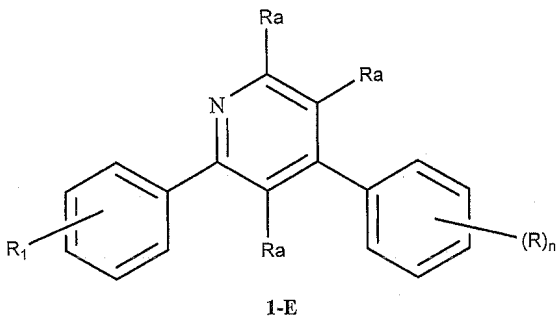
19. 구체예 17에 있어서,  $R_a$ 가 수소인 방법.

20. 구체예 17에 있어서,  $n$ 이 1 또는 2인 방법.

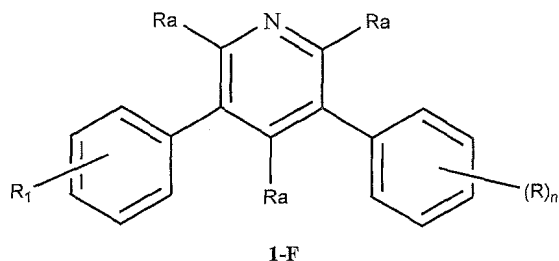
21. 구체예 17에 있어서, R이 독립적으로  $C_1-C_4$  알킬로부터 선택되는 방법.
22. 구체예 17에 있어서, R이 메타 및/또는 파라 위치에 존재하는 방법.
23. 구체예 1에 있어서, W 및 Z는 모두 N이며, X 및 Y는 모두  $C-R_a$ 인 (하기 화학식 1-D) 방법:



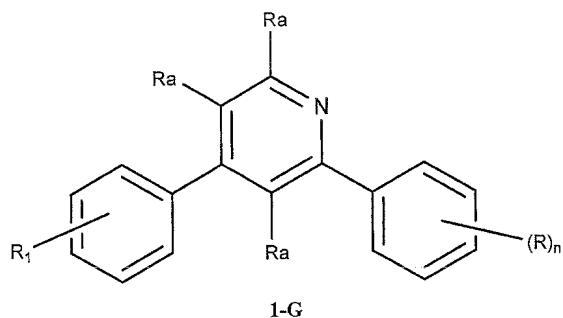
24. 구체예 23에 있어서,  $R_1$ 이 카르복시 그룹이며, 메타 또는 파라 위치에 존재하는 방법.
25. 구체예 23에 있어서,  $R_a$ 가 독립적으로 수소 또는 메틸로부터 선택되는 방법.
26. 구체예 23에 있어서, n이 1 또는 2인 방법.
27. 구체예 23에 있어서, R이 독립적으로 메타 및/또는 파라 위치에 존재하는 방법.
28. 구체예 1에 있어서, W는 N이며, X, Y 및 Z는 각각  $C-R_a$ 인 (하기 화학식 1-E) 방법:



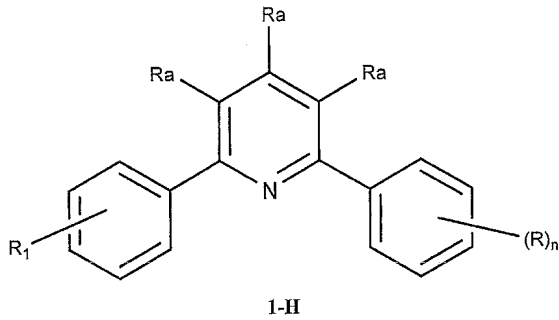
29. 구체예 28에 있어서,  $R_1$ 이 카르복시 그룹이며, 메타 또는 파라 위치에 존재하는 방법.
30. 구체예 28에 있어서,  $R_a$ 가 수소인 방법.
31. 구체예 28에 있어서, n이 1 또는 2인 방법.
32. 구체예 28에 있어서, R이 독립적으로  $C_1-C_4$  알킬로부터 선택되는 방법.
33. 구체예 28에 있어서, R이 메타 및/또는 파라 위치에 존재하는 방법.
34. 구체예 1에 있어서, X는 N이며, W, Y 및 Z는 각각  $C-R_a$ 인 (하기 화학식 1-F) 방법:



35. 구체예 34에 있어서,  $R_1$ 이 카르복시 그룹이며, 메타 또는 파라 위치에 존재하는 방법.
36. 구체예 34에 있어서,  $R_a$ 가 수소인 방법.
37. 구체예 34에 있어서,  $n$ 이 1 또는 2인 방법.
38. 구체예 34에 있어서,  $R$ 이 독립적으로  $C_1-C_4$  알킬로부터 선택되는 방법.
39. 구체예 34에 있어서,  $R$ 이 메타 및/또는 파라 위치에 존재하는 방법.
40. 구체예 1에 있어서,  $Y$ 는  $N$ 이며,  $W$ ,  $X$  및  $Z$ 는 각각  $C-R_a$ 인 (하기 화학식 1-G) 방법:



41. 구체예 40에 있어서,  $R_1$ 이 카르복시 그룹이며, 메타 또는 파라 위치에 존재하는 방법.
42. 구체예 40에 있어서,  $R_a$ 가 수소인 방법.
43. 구체예 40에 있어서,  $n$ 이 1 또는 2인 방법.
44. 구체예 40에 있어서,  $R$ 이 독립적으로  $C_1-C_4$  알킬로부터 선택되는 방법.
45. 구체예 40에 있어서,  $R$ 이 메타 및/또는 파라 위치에 존재하는 방법.
46. 구체예 1에 있어서,  $Z$ 는  $N$ 이며,  $W$ ,  $X$  및  $Y$ 는 각각  $C-R_a$  (화학식 1-H)인 방법:



47. 구체예 46에 있어서,  $R_1$ 이 카르복시 그룹이며, 메타 또는 파라 위치에 존재하는 방법.
48. 구체예 46에 있어서,  $R_a$ 가 수소인 방법.
49. 구체예 46에 있어서,  $n$ 이 1 또는 2인 방법.
50. 구체예 46에 있어서,  $R$ 이 독립적으로  $C_1$ - $C_4$  알킬로부터 선택되는 방법.
51. 구체예 46에 있어서,  $R$ 이 메타 및/또는 파라 위치에 존재하는 방법.
52. 유효량의 화학식 1의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 수화물, 용매화물, 클러스레이트, 라세미체 또는 입체이성질체를 환자에 투여하는 것을 포함하여, 자가면역질환, 혈액 질환, 콜라겐 질환, 당뇨, 퇴행성신경 질환, 심혈관 질환, 폐 질환, 염증 질환 또는 중추신경계 질환을 치료하거나 예방하는 방법.
53. 구체예 52에 있어서, 정맥내 투여되는 방법.
54. 구체예 52에 있어서, 자가면역 질환이 류마티스 관절염 또는 이식편대 숙주병인 방법.
55. 구체예 52에 있어서, 염증 질환이 관절염인 방법.
56. 구체예 52에 있어서, 중추신경계 질환이 다발성 경화증, 근위영양증, 뢰시엔느 근위영양증, 알츠하이머병, 퇴행성신경 질환 또는 파킨슨병인 방법.
57. 구체예 52에 있어서, 혈액 질환이 혈우병, 폰 빌레브란트병, 모세혈관확장성조화운동불증,  $\beta$ -지중해빈혈증 또는 신장 결석인 방법.
58. 구체예 52에 있어서, 콜라겐 질환이 불완전골형성증 또는 경화증인 방법.
59. 유효량의 화학식 1의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 수화물, 용매화물, 클러스레이트, 라세미체 또는 입체이성질체를 환자에 투여하는 것을 포함하여, 가족성 적혈구증가증, 면역결핍, 신장 질환, 낭성섬유증, 가족성 고콜레스테롤혈증, 망막색소변성, 아밀로이드증, 혈우병, 알츠하이머병, 테이삭스병, 니만피크병, 파킨슨병, 죽상경화증, 거인증, 난장이증, 갑상샘과대증, 노화, 비만, 뢰시엔느 근위영양증 또는 마르팡 증후군을 치료하거나 예방하는 방법.
60. 구체예 59에 있어서, 정맥내 투여되는 방법.
61. 유효량의 화학식 1의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 수화물, 용매화물, 클러스레이트, 라세미체 또는 입체이성질체를 인간에게 투여하는 것을 포함하며, 인간에서 암을 치료하거나 예방하는 방법.
62. 구체예 61에 있어서, 정맥내 투여되는 방법.

63. 구체예 61에 있어서, 암이 머리 및 목, 눈, 피부, 구강, 목, 식도, 가슴, 뼈, 혈액, 폐, 대장, S자 결장, 직장, 위, 전립선, 유방, 난소, 신장, 간, 췌장, 뇌, 장, 심장 또는 부신의 암인 방법.
64. 구체예 61에 있어서, 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 수화물, 용매화물, 클러스레이트 또는 입체이성질체가 약제학적으로 허용되는 담체 또는 희석제를 포함하는 방법.
65. 구체예 61에 있어서, 암이 고형 종양인 방법.
66. 구체예 61에 있어서, 암이 육종, 암종, 섬유육종, 점액육종, 지방육종, 연골육종, 골육종, 척삭종, 혈관육종, 내피육종, 림프관육종, 림프관내피육종, 활막종, 중피종, 유잉육종, 자궁평활근육종, 횡문근육종, 대장암종, 췌장암, 유방암, 난소암, 전립선암, 편평세포 암종, 기저세포 암종, 선암종, 땀샘 암종, 피지선 암종, 유두 암종, 유두 선암종, 낭성암종, 수질성 암종, 기관지 암종, 신세포 암종, 간암, 담관 암종, 용모막암종, 고환종, 배아 암종, 윌름즈 종양, 자궁경부암, 고환종양, 폐 암종, 소세포 폐 암종, 방광 암종, 상피 암종, 신경교종, 별아교세포종, 수모세포종, 두개인두종, 상의세포종, 카포시 육종, 송과체종, 혈관모세포종, 청신경종, 지기신경교종, 수막종, 흑색종, 신경아세포종, 망막모세포종, 블러드-본 (blood-born) 종양 또는 다발골수종인 방법.
67. 구체예 61에 있어서, 암이 급성 림프성모구성 백혈병, 급성 림프성모구성 B-세포 백혈병, 급성 림프성모구성 T-세포 백혈병, 급성 골수아구성 백혈병, 급성 전골수구성 백혈병, 급성 단핵구성 백혈병, 급성 적백혈병성 백혈병, 급성 거핵구성 백혈병, 급성 골수단핵구성 백혈병, 급성 비림프구성 백혈병, 급성 미분형 백혈병, 만성 골구성 백혈병, 만성 림프구성 백혈병, 유모세포 백혈병 또는 다발골수종인 방법.
68. 유효량의 화학식 1의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 수화물, 용매화물, 클러스레이트, 라세미체 또는 입체이성질체를 환자에 투여하는 것을 포함하여, p53 유전자 변이와 관련된 질환을 치료하거나 예방하는 방법.
69. 구체예 68에 있어서, 정맥내 투여되는 방법.
70. 구체예 68에 있어서, 질환이 육종, 암종, 섬유육종, 점액육종, 지방육종, 연골육종, 골육종, 척삭종, 혈관육종, 내피육종, 림프관육종, 림프관내피육종, 활막종, 중피종, 유잉육종, 자궁평활근육종, 횡문근육종, 대장암종, 췌장암, 유방암, 난소암, 전립선암, 편평세포 암종, 기저세포 암종, 선암종, 땀샘 암종, 피지선 암종, 유두 암종, 유두 선암종, 낭성암종, 수질성 암종, 기관지 암종, 신세포 암종, 간암, 담관 암종, 용모막암종, 고환종, 배아 암종, 윌름즈 종양, 자궁경부암, 고환종양, 폐 암종, 소세포 폐 암종, 방광 암종, 상피 암종, 신경교종, 별아교세포종, 수모세포종, 두개인두종, 상의세포종, 카포시 육종, 송과체종, 혈관모세포종, 청신경종, 지기신경교종, 수막종, 흑색종, 신경아세포종, 망막모세포종, 블러드-본 종양 또는 다발골수종인 방법.
71. 유효량의 화학식 1의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 수화물, 용매화물, 클러스레이트, 라세미체 또는 입체이성질체를 암 세포와 접촉시키는 것을 포함하여, 암 세포의 성장을 억제시키는 방법.
72. 포유동물의 넌센스 변이를 함유하는 유전자를 전사하고, 유효량의 화학식 1의 화합물을 포유동물에 제공하는 것을 포함하여, 포유동물의 단백질을 선택적으로 생성시키는 방법으로서, 상기 단백질이 포유동물에 의해 생성되는 방법.

## 도면의 간단한 설명

도 1은 넌센스 변이 억제를 평가하기 위한 루시페라아제 기재 검정을 위한 작제물을 나타낸 개략도이다.

도 2는 루시페라아제 단백질의 N-말단에 하나 이상의 에피토프 태그를 잠복시키도록 조작된 루시페라아제 작제물을 나타낸 개략도이다.

도 3은 리드쓰로 효율성을 평가하기 위한 루시페라아제 기재 검정을 위한 작제물을 나타낸 개략도이다.

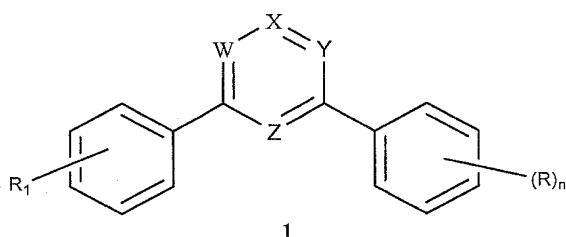
## 발명의 상세한 설명

조기 번역 종료는 치명적이거나, 비제한적인 예로서, 암, 리소좀 축적증, 근위영양증, 낭성섬유증 및 혈우병을 포함하는 많은 질환을 초래할 수 있는 이상 단백질을 생성시킬 수 있다. 본 발명에 있어서, 넌센스 변이를 억제하는 화합물이 확인되었으며, 이의 사용 방법이 제공된다.

#### A. 본 발명의 화합물

본 발명의 한 양태에서, 넌센스 변이의 억제에 유용한 본 발명의 화합물이 제공된다. 특정 구체예에서, 본 발명의 화합물은 넌센스 변이를 특정하게 억제하며, 다른 구체예에서, 본 발명의 화합물은 넌센스 변이를 억제하고, 비제한적인 예로서, 암, 리소좀 축적증, 근위영양증, 낭성섬유증 및 혈우병을 포함하는 질환을 치료한다.

넌센스 변이의 억제에 유용한 본 발명의 바람직한 화합물은 하기 화학식 (1)의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 수화물, 용매화물, 클러스레이트, 다형체, 라세미체 또는 입체이성질체를 포함한다.



상기 식에서,

W, X, Y 및 Z는 독립적으로 N 또는 C-R<sub>a</sub>으로부터 선택되며, 여기서, R<sub>a</sub>는 수소 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬 그룹이며, W, X, Y, 또는 Z중 하나 이상은 N이며;

n은 0, 1, 2, 또는 3이며;

R<sub>1</sub>은 시아노 그룹; 하나 또는 두개의 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬 그룹으로 치환되거나 비치환된 카르바모일; 또는 히드록시, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬, 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알콕시 그룹으로 치환된 카르보닐 그룹이며;

R은 히드록시 그룹; 할로젠; 하나 이상의 독립적으로 선택된 할로젠 또는 히드록시 그룹으로 치환되거나 비치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬; 하나 이상의 독립적으로 선택된 할로젠 또는 페닐 그룹으로 치환되거나 비치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알콕시; 하나 이상의 독립적으로 선택된 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬 그룹으로 치환되거나 비치환된 C<sub>4</sub>-C<sub>8</sub> 시클로알킬; -R<sub>b</sub> 그룹; -O-R<sub>b</sub> 그룹; 하나 이상의 독립적으로 선택된 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬, 옥소, 또는 -R<sub>b</sub> 그룹으로 치환되거나 비치환된 5원 내지 6원 헤테로사이클; 두개의 고리 구조를 갖는 9원 내지 10원 헤테로사이클; 히드록시, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬, 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알콕시 그룹으로 치환된 카르보닐; 하나 또는 두개의 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬 그룹으로 치환되거나 비치환된 카르바모일; 니트로 그룹; 시아노 그룹; 히드록시, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬, 또는 -R<sub>b</sub> 그룹으로 치환되거나 비치환된 티오; 히드록시, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬, 또는 -R<sub>b</sub> 그룹으로 치환되거나 비치환된 설포닐; 하나 또는 두개의 독립적으로 선택된 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬, 설포닐, 또는 카르보닐 그룹으로 치환되거나 비치환된 아미노 (여기서, 아미노설포닐 그룹은 히드록시, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬, 또는 -R<sub>b</sub> 그룹으로 치환되거나 비치환되며, 아미노카르보닐 그룹은 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 할로알킬, 벤족시, 또는 -R<sub>b</sub> 그룹으로 치환되거나 비치환된 아미노 그룹으로 치환되거나 비치환됨)이거나; 두개의 R 그룹은 페닐 고리에 부착되어 함께 벤조[1,3]디옥솔 또는 2,3-디히드로-벤조[1,4]디옥시닐 그룹을 형성하며,

여기서, -R<sub>b</sub>는 히드록시, 할로젠, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬 그룹, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 할로알킬 그룹, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알콕시 그룹, 또는 하나 이상의 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬 그룹으로 치환되거나 비치환된 아미노 그룹중 하나 이상으로 치환되거나 비치환된 C<sub>6</sub>-C<sub>8</sub> 아릴이다.

화학식 1의 또 다른 바람직한 구체예에서, 넌센스 변이 억제에 유용한 본 발명의 바람직한 화합물은



$n$ 이 0, 1 또는 2이며;

$R_1$ 이 시아노 그룹; 카르바모일; 또는 히드록시로 치환된 카르보닐 그룹이며;

$R$ 은 독립적으로 히드록시 그룹; 할로젠; 하나 이상의 독립적으로 선택된 할로젠으로 치환되거나 비치환된  $C_1$ - $C_4$  알킬; 하나 이상의 독립적으로 선택된 할로젠으로 치환되거나 비치환된  $C_1$ - $C_4$  알콕시;  $-R_b$  그룹; 5원 내지 6원 헤테로사이클; 하나 또는 두개의 독립적으로 선택된  $C_1$ - $C_4$  알킬로 치환되거나 비치환된 아미노이거나; 두개의  $R$  그룹은 페닐 고리에 부착되어 함께 벤조[1,3]디옥솔 또는 2,3-디히드로-벤조[1,4]디옥시닐 그룹을 형성하며, 여기서  $-R_b$ 는  $C_6$ - $C_8$  아릴인 화학식 (1)의 화합물, 또는 화학식 1의 약제학적으로 허용되는 염, 수화물, 용매화물, 클러스레이트, 다형체, 라세미체 또는 입체이성질체를 포함한다.

당업자에 의해 인지되는 바와 같이, 본 발명의 특정 화합물은 하나 이상의 키랄 중심을 포함할 수 있으며, 따라서, 라세미체 혼합물 또는 거울상이성질체적으로 순수한 조성물로서 존재할 수 있다. 본원에 사용된 바와 같은, "거울상이성질체적으로 순수한"은 실질적으로 단일 이성질체, 바람직하게는, 90%, 92%, 95%, 98%, 99% 또는 100%의 단일 이성질체로 이루어진 조성물을 의미한다.

본원에 사용된 바와 같은 용어 "알킬"은 일반적으로, 메틸, 에틸,  $n$ -프로필, 이소프로필,  $n$ -부틸, 이소부틸, sec-부틸, tert-부틸,  $n$ -펜틸,  $n$ -헥실, 시클로헥실,  $n$ -헵틸, 옥틸,  $n$ -옥틸 등을 포함하는 직쇄, 분지쇄 또는 시클릭 형태의 포화된 히드로카르빌 라디칼을 의미한다. 일부 구체예에서, 알킬 치환기는  $C_1$  내지  $C_8$ ,  $C_1$  내지  $C_6$ , 또는  $C_1$  내지  $C_4$  알킬 그룹일 수 있다. 특정 구체예에서, 알킬 그룹은 하나 이상의 할로젠 또는 알콕시 그룹으로 선택적으로 치환될 수 있다. 예를 들어, 알킬 그룹은 모노할로알킬, 디할로알킬, 및 트리할로알킬을 포함하는 할로알킬일 수 있다.

본원에 사용된 바와 같은 "알킬렌"은 일반적으로, 3-프로페닐을 포함하는  $C_2$  내지  $C_6$  알킬렌 그룹과 같이, 하나 이상의 탄소-탄소 이중 결합을 갖는 선형, 분지형 또는 시클릭 알켄 라디칼을 의미한다.

본원에 사용된 바와 같은 "아릴"은 카르보시클릭 방향족 고리 구조를 의미한다. 이러한 아릴 그룹의 범위에는 5 내지 20개 탄소 원자를 갖는 방향족 고리가 포함된다. 아릴 고리 구조는 하나 이상의 고리 구조를 갖는 화합물 예컨대, 모노-, 비-, 또는 트리시클릭 화합물을 포함한다. 아릴 그룹의 예로는 페닐, 톨릴, 안트라세닐, 플루오레닐, 인데닐, 아줄레닐, 펜안트레닐 (즉, 펜안트렌), 및 나프틸 (즉, 나프탈렌) 고리 구조가 포함된다. 특정 구체예에서, 아릴 그룹은 선택적으로 치환될 수 있다.

본원에 사용된 바와 같은 "헤테로사이클"은 고리중의 하나 이상의 원자, 즉 헤테로원자(들)가 탄소 이외의 원소인 시클릭 고리 구조를 의미한다. 헤테로원자는 전형적으로, O, N 또는 S 원자이다. 헤테로사이클의 범위에 포함되는 독립적으로 선택 가능한 것으로는 O, N 및 S 헤테로사이클 고리 구조가 있다. 고리 구조는 하나 이상의 고리 구조를 갖는 화합물 예컨대, 모노-, 비- 또는 트리시클릭 화합물을 포함할 수 있으며, 방향족일 수 있으며, 즉 고리 구조가 헤테로아릴일 수 있다. 헤테로시클로 그룹의 예로는 모르폴리닐, 피롤리디노닐, 피롤리디닐, 피페리디닐, 피페라지닐, 히단토이닐, 발레로락타닐, 옥시라닐, 옥세타닐, 테트라히드로푸라닐, 테트라히드로피라닐, 테트라히드로피리디닐, 테트라히드로피리미디닐, 테트라히드로티오펜일 또는 테트라히드로티오피라닐 등을 포함한다. 특정 구체예에서, 헤테로사이클은 선택적으로 치환될 수 있다.

본원에 사용된 바와 같은 "헤테로아릴"은 고리중의 하나 이상의 원자 즉, 헤테로원자가 탄소 이외의 원소인 시클릭 방향족 고리 구조를 의미한다. 헤테로원자는 전형적으로, O, N 또는 S 원자이다. 헤테로아릴의 범위에 포함되며 독립적으로 선택 가능한 것으로는 O, N 및 S 헤테로아릴 고리 구조가 있다. 고리 구조는 하나 이상의 고리 구조를 갖는 화합물 예컨대, 모노-, 비- 또는 트리시클릭 화합물을 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 헤테로아릴 그룹은 2개 이상의 헤테로원자, 3개 이상의 헤테로원자 또는 4개 이상의 헤테로원자를 함유하는 헤테로아릴 그룹으로부터 선택될 수 있다. 헤테로아릴 고리 구조는 5개 이상의 원자, 6개 이상의 원자, 또는 8개 이상의 원자를 함유하는 구조로부터 선택될 수 있다. 바람직한 구체예에서, 헤테로아릴은 5 내지 10개의 원자를 포함한다. 헤테로아릴 고리 구조의 예로는 아크리딘, 벤즈이미다졸, 벤족사졸, 벤조디옥솔, 벤조푸란, 1,3-디아진, 1,2-디아진, 1,2-디아졸, 1,4-디아자나프탈렌, 푸란, 푸라잔, 이미다졸, 인돌, 이속사졸, 이소퀴놀린, 이소티아졸, 옥사졸, 푸린, 피리다진, 피라졸, 피리딘, 피라진, 피리미딘, 피롤, 퀴놀린, 퀴녹살린, 티아졸, 티오펜, 1,3,5-트리아진, 1,2,4-트리아진, 1,2,3-트리아진, 테트라졸 및 퀴나졸린을 포함한다.

본원에 사용된 바와 같은 "알콕시"는 일반적으로 구조 -O-R을 갖는 그룹을 의미한다. 특정 구체예에서, R은 알킬 그룹, 예컨대, C<sub>1</sub> 내지 C<sub>8</sub> 알킬 그룹, C<sub>1</sub> 내지 C<sub>6</sub> 알킬 그룹, 또는 C<sub>1</sub> 내지 C<sub>4</sub> 알킬 그룹일 수 있다. 특정 구체예에서, 알콕시의 R 그룹은 하나 이상의 할로겐으로 선택적으로 치환될 수 있다. 예를 들어, 알콕시의 R 그룹은 할로알킬일 수 있으며, 즉 할로알콕시이다.

할로겐 치환기는 할로겐 예컨대, 불소, 염소, 브롬, 요오드 및 아스타틴으로부터 독립적으로 선택될 수 있다.

본 발명의 목적에 있어서, 하나 이상의 작용기 또는 치환기가 바람직한 구체예를 포함하는 본 발명의 화합물에 혼입되는 경우, 기술된 화합물내에 임의의 위치에 나타난 각각의 작용기 또는 치환기는 독립적으로 선택될 수 있으며, 적합하게는 독립적으로 치환될 수 있다. 또한, 더욱 일반적인 치환기가 본 발명의 분자중의 임의의 위치에 지정되는 경우, 이러한 일반적인 치환기는 더욱 특이적인 치환기로 대체될 수 있으며, 생성된 분자는 본 발명의 분자의 범위내에 있음이 이해될 것이다.

화학식 1에 있어서, 구체예에서, R은 바람직하게는 메타 및/또는 파라 위치에 존재하며, 바람직하게는, 할로겐, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 할로알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알콕시, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 할로알콕시, 하나 이상의 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬 그룹으로 치환되거나 비치환된 아미노, -R<sub>b</sub> 그룹, 피롤릴 그룹, 이미다졸릴 그룹이거나, 두개의 R 그룹은 페닐 고리에 부착되어 함께 벤조[1,3]디옥솔 또는 2,3-디히드로-벤조[1,4]디옥시닐 그룹을 형성한다. 바람직한 R 그룹은 하기 표에 기술된 것을 포함한다.

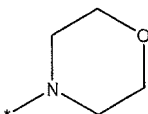
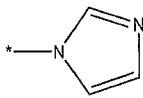
화학식 1의 구체예에서, R은 바람직하게는, 할로겐, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 할로알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알콕시, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 할로알콕시, 하나 이상의 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬 그룹으로 치환되거나 비치환된 아미노, -R<sub>b</sub> 그룹, 5원 내지 6원 헤테로사이클이거나, 두개의 R 그룹은 페닐 고리에 부착되어 함께 벤조[1,3]디옥솔 또는 2,3-디히드로-벤조[1,4]디옥시닐 그룹을 형성한다.

화학식 1의 구체예에서, R은 할로겐이다. 화학식 1의 또 다른 구체예에서, R은 불소, 염소 또는 브롬이다.

화학식 1의 구체예에서, R은 5원 내지 6원 헤테로사이클이다. 화학식 1의 또 다른 구체예에서, R은 하나 이상의 질소를 함유하는 5원 헤테로사이클이다. 화학식 1의 구체예에서, R은 하나의 질소를 함유하는 5원 헤테로사이클이다. 화학식 1의 구체예에서, R은 2개의 질소를 함유하는 5원 헤테로사이클이다. 화학식 1의 구체예에서, R은 3개의 질소를 함유하는 5원 헤테로사이클이다. 화학식 1의 구체예에서, R은 하나의 산소를 함유하는 5원 헤테로사이클이다. 화학식 1의 구체예에서, R은 2개의 산소를 함유하는 5원 헤테로사이클이다. 화학식 1의 구체예에서, R은 3개의 산소를 함유하는 5원 헤테로사이클이다. 화학식 1의 구체예에서, R은 하나 이상의 산소 및 하나 이상의 질소를 함유하는 5원 헤테로사이클이다.

화학식 1의 또 다른 구체예에서, R은 하나 이상의 질소를 함유하는 6원 헤테로사이클이다. 화학식 1의 구체예에서, R은 하나의 질소를 함유하는 6원 헤테로사이클이다. 화학식 1의 구체예에서, R은 2개의 질소를 함유하는 6원 헤테로사이클이다. 화학식 1의 구체예에서, R은 3개의 질소를 함유하는 6원 헤테로사이클이다. 화학식 1의 구체예에서, R은 하나의 산소를 함유하는 6원 헤테로사이클이다. 화학식 1의 구체예에서, R은 2개의 산소를 함유하는 6원 헤테로사이클이다. 화학식 1의 구체예에서, R은 3개의 산소를 함유하는 6원 헤테로사이클이다. 화학식 1의 추가의 구체예에서, R은 하나 이상의 산소 및 하나 이상의 질소를 함유하는 6원 헤테로사이클이다.


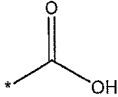
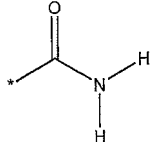
화학식 1의 구체예에서, 특히 바람직한 R 그룹은 하기 표에 기재된 그룹을 포함한다.

R		
	메틸	이소프로필
t-부틸	염소	불소
브롬	-CF <sub>3</sub>	메톡시
에톡시	-O-CF <sub>3</sub>	아미노
디메틸-아미노	페닐	
		두개의 R 그룹은 페닐 고리에 부착되어 2,3-디히드로-벤조[1,4]디옥시닐 그룹을 형성함

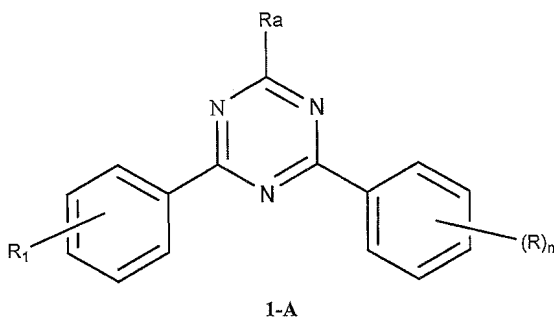
화학식 1의 구체예에서, n은 2이며, 두 R 그룹은 동일한 그룹이다.

화학식 1의 구체예에서, n은 3이며, 모든 3개의 R 그룹은 동일한 그룹이다.

화학식 1의 또 다른 구체예에서, R<sub>1</sub>은 바람직하게는, 메타 또는 파라 위치에 존재하며, 바람직하게는, 히드록시, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬, 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알콕시 그룹으로 치환된 카르보닐, 카르바모일 또는 시아노 그룹이다. 추가의 구체예에서, 특히 바람직한 R<sub>1</sub> 그룹은 하기 표에 기술된 것을 포함한다.

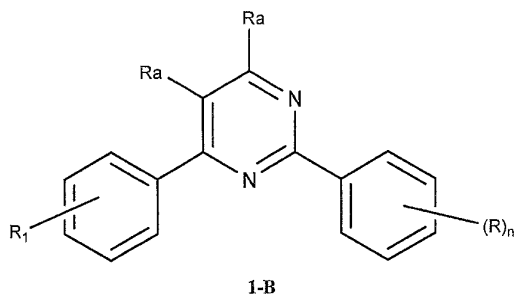
R <sub>1</sub>		
		

바람직한 구체예에서, W, Y, 및 Z는 각각 N이며, X는 C-R<sub>a</sub>이다 (화학식 1-A):



화학식 1-A에 있어서, 구체예에서, R<sub>1</sub>은 바람직하게는, 카르복시 그룹이며, 바람직하게는, 메타 또는 파라 위치에 존재한다. 화학식 1-A의 또 다른 바람직한 구체예에서, R<sub>a</sub>는 수소이다. 화학식 1-A의 또 다른 바람직한 구체예에서, R<sub>1</sub>은 메타 또는 파라 위치에 존재하는 카르복시 그룹이며, R<sub>a</sub>는 수소이다. 추가의 구체예에서, R<sub>a</sub>는 바람직하게는, 수소이고, n은 바람직하게는, 1 또는 2이다. 추가의 바람직한 구체예에서, R<sub>a</sub>는 수소이고, n은 1이다. 화학식 1-A의 또 다른 바람직한 구체예에서, R<sub>1</sub>은 메타 또는 파라 위치에 존재하는 카르복시 그룹이고, R<sub>a</sub>는 수소이며, n은 1 또는 2이다. 화학식 1-A의 또 다른 바람직한 구체예에서, R<sub>1</sub>은 메타 또는 파라 위치에 존재하는 카르복시 그룹이고, R<sub>a</sub>는 수소이고, n은 1이다. R은 바람직하게는, 할로젠, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 할로알킬, 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알콕시로부터 독립적으로 선택되며, 바람직하게는, 메타 및/또는 파라 위치에 존재하며, 더욱 바람직하게는, 파라 위치에 존재한다. 또 다른 바람직한 구체예에서, R은 독립적으로, 메틸 그룹, 불소 그룹, 메톡시 그룹, 에톡시 그룹, 및 트리플루오로메틸 그룹으로부터 선택된다.

또 다른 바람직한 구체예에서, Y 및 Z는 모두 N이고, W 및 X는 모두 C-R<sub>a</sub>이다 (화학식 1-B):

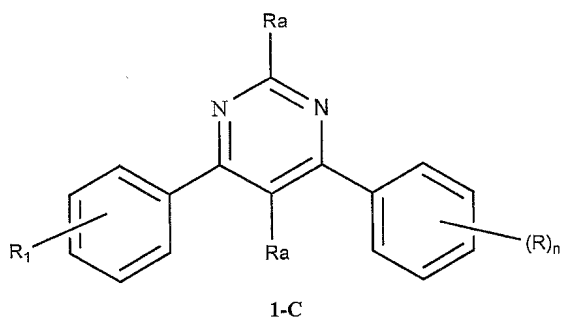


화학식 1-B에 있어서, 바람직한 구체예에서,  $R_a$ 는 수소이고,  $n$ 은 0, 1 또는 2이다. 또 다른 바람직한 구체예에서,  $R_a$ 는 수소이고,  $n$ 은 1 또는 2이다. 화학식 1-B의 추가의 바람직한 구체예에서,  $R_a$ 는 수소이고,  $n$ 은 1이다.

화학식 1-B의 구체예에서,  $R$ 은 독립적으로 할로젠,  $C_1$ - $C_4$  알킬,  $C_1$ - $C_4$  할로알킬,  $C_1$ - $C_4$  알콕시,  $C_1$ - $C_4$  할로알콕시, 아미노, 또는 피롤릴 그룹으로부터 선택되며, 메타 및/또는 파라 위치에 존재하며, 바람직하게는, 파라 위치에 존재한다. 바람직한 구체예에서,  $R$ 은 독립적으로 할로젠,  $C_1$ - $C_4$  알킬,  $C_1$ - $C_4$  할로알킬,  $C_1$ - $C_4$  알콕시,  $C_1$ - $C_4$  할로알콕시, 및 아미노 그룹으로부터 선택되며, 바람직하게는, 메타 및/또는 파라 위치에 존재하며, 더욱 바람직하게는, 파라 위치에 존재한다. 화학식 1-B의 추가의 구체예에서,  $R_a$ 는 수소이고,  $n$ 은 1이며,  $R$ 은 독립적으로 할로젠,  $C_1$ - $C_4$  알킬,  $C_1$ - $C_4$  할로알킬,  $C_1$ - $C_4$  알콕시,  $C_1$ - $C_4$  할로알콕시, 및 아미노 그룹으로부터 선택된다.

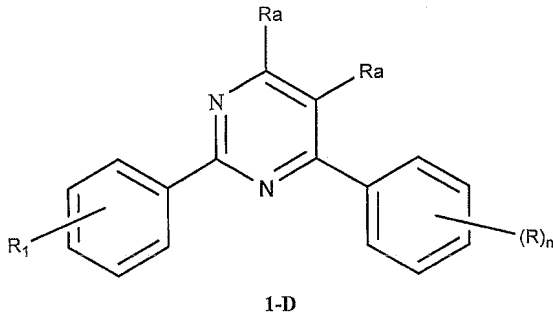
또 다른 바람직한 구체예에서,  $R$ 은 독립적으로 불소, 염소, 아미노 그룹, 메틸 그룹, 이소프로필 그룹, tert-부틸 그룹, 메틸 그룹, 트리플루오로메틸 그룹, 메톡시 그룹, 및 트리플루오로메톡시 그룹으로부터 선택된다. 화학식 1-B의 추가의 바람직한 구체예에서,  $R_a$ 는 수소이고,  $n$ 은 1이며,  $R$ 은 독립적으로 불소, 염소, 아미노 그룹, 메틸 그룹, 이소프로필 그룹, tert-부틸 그룹, 메틸 그룹, 트리플루오로메틸 그룹, 메톡시 그룹, 및 트리플루오로메톡시 그룹으로부터 선택된다.

또 다른 바람직한 구체예에서,  $W$  및  $Y$ 는 모두 N이며,  $X$  및  $Z$ 는 모두  $C-R_a$ 이다 (화학식 1-C):



화학식 1-C에 있어서, 구체예에서,  $R_1$ 은 바람직하게는, 카르복시 그룹이며, 바람직하게는, 메타 또는 파라 위치에 존재한다. 화학식 1-C의 추가의 구체예에서,  $R_a$ 는 바람직하게는, 수소이고,  $n$ 은 1 또는 2이다. 화학식 1-C의 추가의 바람직한 구체예에서,  $R_a$ 는 바람직하게는, 수소이고,  $n$ 은 바람직하게는, 1이다. 구체예에서,  $R$ 은 바람직하게는,  $C_1$ - $C_4$  알킬이며, 바람직하게는, 메타 및/또는 파라 위치에 존재하며, 더욱 바람직하게는, 파라 위치에 존재한다. 화학식 1-C의 바람직한 구체예에서,  $R$ 은 메틸 그룹이다. 화학식 1-C의 또 다른 바람직한 구체예에서,  $R_a$ 는 바람직하게는, 수소이고,  $n$ 은 바람직하게는, 1이며,  $R$ 은  $C_1$ - $C_4$  알킬이다. 화학식 1-C의 또 다른 바람직한 구체예에서,  $R_a$ 는 바람직하게는, 수소이고,  $n$ 은 바람직하게는, 1이며,  $R$ 은 메틸 그룹이다.

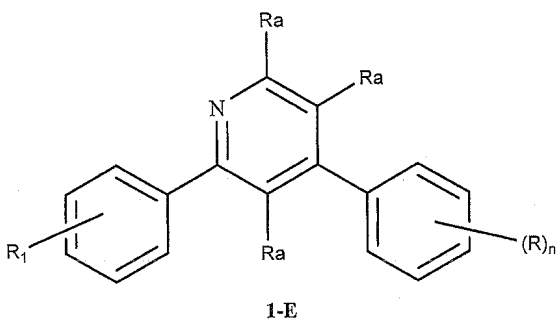
또 다른 바람직한 구체예에서,  $W$  및  $Z$ 는 모두 N이며,  $X$  및  $Y$ 는 모두  $C-R_a$ 이다 (화학식 1-D):



화학식 1-D에 있어서, 바람직한 구체예에서,  $R_1$ 은 카르복시 그룹이며, 바람직하게는, 메타 또는 파라 위치에 존재한다. 한 구체예에서, X는  $C-CH_3$ 이고, Y는 CH이다. 또 다른 구체예에서, X는 CH이고, Y는  $C-CH_3$ 이다. 화학식 1-D의 바람직한 구체예에서,  $R_a$ 는 바람직하게는, 독립적으로 수소 또는  $C_1-C_4$  알킬로부터 선택되며, n은 바람직하게는, 1 또는 2이다. 화학식 1-D의 또 다른 바람직한 구체예에서,  $R_a$ 는 바람직하게는, 독립적으로 수소 또는  $C_1-C_4$  알킬로부터 선택되며, n은 바람직하게는, 1이다.

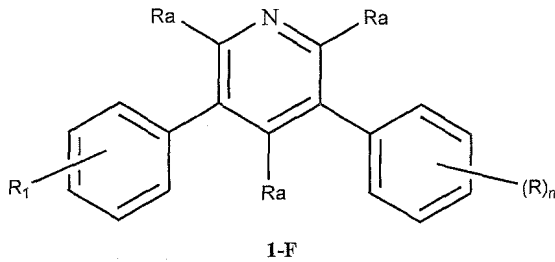
추가 바람직한 구체예에서,  $R_a$ 는 독립적으로 수소 또는 메틸로부터 선택되며, n은 1 또는 2이다. 또 다른 바람직한 구체예에서,  $R_a$ 는 독립적으로 수소 또는 메틸로부터 선택되며, n은 1이다.

또 다른 바람직한 구체예에서, W는 N이며, X, Y, 및 Z는 각각  $C-R_a$ 이다 (화학식 1-E):



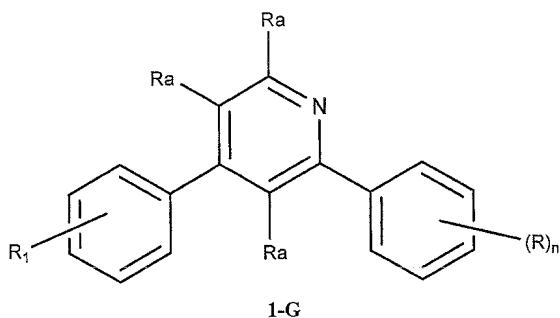
화학식 1-E에 있어서, 구체예에서,  $R_1$ 은 바람직하게는, 카르복시 그룹이며, 바람직하게는, 메타 또는 파라 위치에 존재한다. 추가 구체예에서,  $R_a$ 는 바람직하게는, 수소이며, n은 바람직하게는, 1 또는 2이다. 바람직한 구체예에서,  $R_a$ 는 수소이고, n은 1이다. 화학식 1-E의 구체예에서, R은 바람직하게는, 독립적으로  $C_1-C_4$  알킬 그룹으로부터 선택되며, 바람직하게는, 메타 및/또는 파라 위치에 존재하며, 더욱 바람직하게는, 파라 위치에 존재한다. 추가 구체예에서,  $R_a$ 는 바람직하게는, 수소이며, n은 바람직하게는, 1이고, R은 바람직하게는,  $C_1-C_4$  알킬 그룹이다. 화학식 1-E의 또 다른 구체예에서, R은 바람직하게는, 독립적으로 메틸 그룹 또는 이소프로필 그룹으로부터 선택되며, 바람직하게는, 메타 및/또는 파라 위치에 존재하며, 더욱 바람직하게는, 파라 위치에 존재한다. 추가 구체예에서,  $R_a$ 는 바람직하게는, 수소이며, n은 바람직하게는, 1이고, R은 바람직하게는, 메틸 그룹 또는 이소프로필 그룹이다.

또 다른 바람직한 구체예에서, X는 N이고, W, Y, 및 Z는 각각  $C-R_a$ 이다 (화학식 1-F):



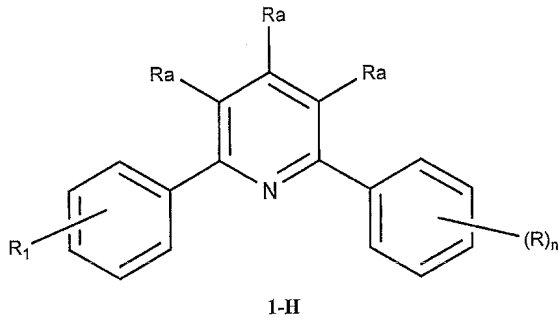
화학식 1-F에 있어서, 구체예에서,  $R_1$ 은 바람직하게는, 카르복시 그룹이고, 바람직하게는, 메타 또는 파라 위치에 존재한다. 화학식 1-F의 또 다른 구체예에서,  $R_a$ 는 바람직하게는, 수소이며,  $n$ 은 바람직하게는, 1 또는 2이다. 화학식 1-F의 바람직한 구체예에서,  $R_a$ 는 수소이고,  $n$ 은 1이다. 또 다른 바람직한 구체예에서,  $R$ 은 바람직하게는, 독립적으로  $C_1-C_4$  알킬 그룹으로부터 선택되며, 바람직하게는, 메타 및/또는 파라 위치에 존재하며, 더욱 바람직하게는, 파라 위치에 존재한다. 또 다른 바람직한 구체예에서,  $R_a$ 는 수소이고,  $n$ 은 1이며,  $R$ 은  $C_1-C_4$  알킬 그룹이다. 또 다른 바람직한 구체예에서,  $R$ 은 독립적으로 메틸 및 이소프로필 그룹으로부터 선택되며, 바람직하게는, 메타 및/또는 파라 위치에 존재하며, 더욱 바람직하게는, 파라 위치에 존재한다. 또 다른 바람직한 구체예에서,  $R_a$ 는 수소이고,  $n$ 은 1이며,  $R$ 은 바람직하게는, 메틸 및 이소프로필 그룹으로부터 선택된다.

또 다른 바람직한 구체예에서,  $Y$ 는 N이며,  $W$ ,  $X$ , 및  $Z$ 는 각각  $C-R_a$  이다(화학식 1-G):



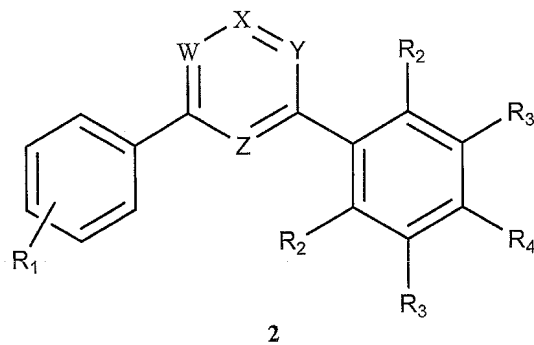
화학식 1-G에 있어서, 바람직한 구체예에서,  $R_1$ 은 카르복시 그룹이고, 바람직하게는, 메타 또는 파라 위치에 존재한다. 또 다른 바람직한 구체예에서,  $R_a$ 는 바람직하게는, 수소이며,  $n$ 은 바람직하게는, 1 또는 2이다. 추가의 바람직한 구체예에서,  $R_a$ 는 바람직하게는, 수소이고,  $n$ 은 바람직하게는, 1이다. 바람직한 구체예에서,  $R$ 은 바람직하게는, 독립적으로  $C_1-C_4$  알킬 그룹으로부터 선택되며, 바람직하게는, 메타 및/또는 파라 위치에 존재하며, 더욱 바람직하게는, 파라 위치에 존재한다. 또 다른 바람직한 구체예에서,  $R_a$ 는 수소이고,  $n$ 은 1이며,  $R$ 은  $C_1-C_4$  알킬 그룹이다. 바람직한 구체예에서,  $R$ 은 바람직하게는, 독립적으로 메틸 또는 이소프로필 그룹으로부터 선택되며, 바람직하게는, 메타 및/또는 파라 위치에 존재하며, 더욱 바람직하게는, 파라 위치에 존재한다. 또 다른 바람직한 구체예에서,  $R_a$ 는 수소이고,  $n$ 은 1이며,  $R$ 은 메틸 또는 이소프로필 그룹이다.

또 다른 바람직한 구체예에서,  $Z$ 는 N이고,  $W$ ,  $X$ , 및  $Y$ 는 각각  $C-R_a$  이다(화학식 1-H):



화학식 1-H에 있어서, 바람직한 구체예에서,  $R_1$ 은 바람직하게는, 카르복시 그룹이고, 바람직하게는, 메타 또는 파라 위치에 존재한다. 추가의 바람직한 구체예에서,  $R_a$ 는 수소이며,  $n$ 은 바람직하게는, 0 또는 1이다. 바람직한 구체예에서,  $n$ 은 1이고,  $R$ 은  $C_1$ - $C_4$  알킬 그룹이며,  $R$ 은 바람직하게는, 메타 및/또는 파라 위치에 존재하며, 더욱 바람직하게는, 파라 위치에 존재한다. 또 다른 바람직한 구체예에서,  $n$ 은 1이며,  $R$ 은 메틸 그룹 또는 이소프로필 그룹이며,  $R$ 은 바람직하게는, 메타 및/또는 파라 위치에 존재하며, 더욱 바람직하게는, 파라 위치에 존재한다.

또 다른 구체예에서, 본 발명의 바람직한 화합물은 하기 화학식 2의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 수화물, 용매화물, 클러스레이트, 다형체, 라세미체 또는 입체이성질체를 포함한다:



상기 식에서,

$W$ ,  $X$ ,  $Y$  및  $Z$ 는 독립적으로  $N$  또는  $C-R_a$ 으로부터 선택되며, 여기서,  $R_a$ 는 수소 또는  $C_1$ - $C_4$  알킬 그룹이며;

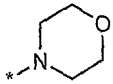
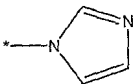
$R_1$ 은 시아노 그룹; 하나 또는 두개의  $C_1$ - $C_4$  알킬 그룹으로 치환되거나 비치환된 카르바모일; 또는 히드록시,  $C_1$ - $C_4$  알킬, 또는  $C_1$ - $C_4$  알콕시 그룹으로 치환된 카르보닐 그룹이며;

$R_2$ 는 독립적으로 수소, 할로젠,  $C_1$ - $C_4$  알킬 그룹, 또는  $C_1$ - $C_4$  할로알킬 그룹으로부터 선택되며;

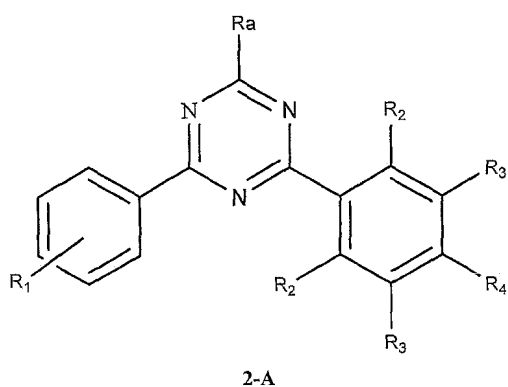
$R_3$  및  $R_4$ 은 독립적으로 수소; 할로젠;  $C_1$ - $C_4$  알킬;  $C_1$ - $C_4$  할로알킬;  $C_1$ - $C_4$  알콕시;  $C_1$ - $C_4$  할로알콕시; 하나 이상의  $C_1$ - $C_4$  알킬 그룹으로 치환되거나 비치환된 아미노;  $R_b$  그룹; 피롤릴 그룹; 이미다졸릴 그룹이거나; 이러한 두개의  $R$  그룹은 페닐 고리에 부착되어 벤조[1,3]디옥솔 또는 2,3-디히드로-벤조[1,4]디옥시닐 그룹을 형성하며,

여기서,  $-R_b$ 는 히드록시, 할로젠,  $C_1$ - $C_4$  알킬 그룹,  $C_1$ - $C_4$  할로알킬 그룹,  $C_1$ - $C_4$  알콕시 그룹, 또는 하나 이상의  $C_1$ - $C_4$  알킬 그룹으로 치환되거나 비치환된 아미노 그룹중 하나 이상으로 치환되거나 비치환된  $C_6$ - $C_8$  아릴이다.

화학식 2에 있어서,  $R_1$ 은 바람직하게는, 시아노 그룹, 카르바모일 그룹, 또는 카르복시 그룹이며, 바람직하게는, 메타 또는 파라 위치에 존재한다. 화학식 2의 구체예에서, 바람직한  $R_2$ ,  $R_3$ , 및  $R_4$  그룹은 독립적으로 하기 표로부터 선택된다.

R2	R3	R4
수소	수소	수소
메틸	메틸	메틸
염소	염소	이소프로필
불소	불소	t-부틸
-CF <sub>3</sub>	-CF <sub>3</sub>	염소
-OCF <sub>3</sub>	메톡시	불소
	-O-CF <sub>3</sub>	브롬
	$R_4$ 와 페닐 고리는 함께 2,3-디히드로-벤조[1,4]디옥시닐 그룹을 형성	$R_3$ 와 페닐 고리는 함께 2,3-디히드로-벤조[1,4]디옥시닐 그룹을 형성
		-CF <sub>3</sub>
		메톡시
		에톡시
		-O-CF <sub>3</sub>
		아미노
		디메틸-아미노
		페닐
		
		

화학식 2의 바람직한 구체예에서, W, Y, 및 Z는 각각 N이며, X는 C- $R_a$  이다 (화학식 2-A):

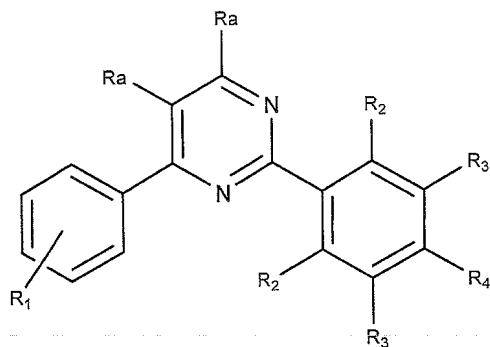


화학식 2-A에 있어서, 바람직한 구체예에서,  $R_1$ 은 바람직하게는, 카르복시 그룹이며, 바람직하게는, 메타 또는 파라 위치에 존재한다. 화학식 2-A의 또 다른 바람직한 구체예에서,  $R_a$  및  $R_2$ 는 바람직하게는, 수소이다. 화학식 2-A의 바람직한 구체예에서,  $R_3$ 는 독립적으로 수소, 할로젠, 및 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알콕시 그룹으로부터 선택된다. 화학식 2-A의 또 다른 바람직한 구



체에서,  $R_3$ 은 독립적으로 수소, 불소, 및 메톡시 그룹으로부터 선택된다. 화학식 2-A의 바람직한 구체예에서,  $R_4$ 는 수소, 할로젠,  $C_1$ - $C_4$  알킬,  $C_1$ - $C_4$  할로알킬, 또는  $C_1$ - $C_4$  알콕시이다. 화학식 2-A의 또 다른 바람직한 구체예에서,  $R_4$ 는 불소, 메틸, 트리플루오로메틸, 메톡시 또는 에톡시 그룹이다.

화학식 2의 또 다른 바람직한 구체예에서, Y 및 Z는 모두 N이며, W 및 X는 모두 C- $R_a$ 이다 (화학식 2-B):



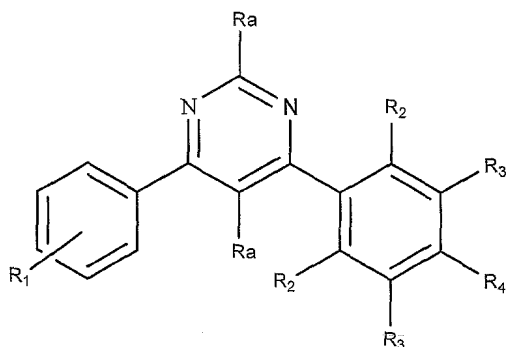
2-B.

화학식 2-B에 있어서, 바람직한 구체예에서,  $R_1$ 은 카르복시 그룹이며, 바람직하게는, 메타 또는 파라 위치에 존재한다. 추가의 바람직한 구체예에서,  $R_a$ 는 수소이다. 화학식 2-B의 바람직한 구체예에서,  $R_2$ 는 독립적으로 수소, 할로젠,  $C_1$ - $C_4$  알킬,  $C_1$ - $C_4$  할로알킬, 및  $C_1$ - $C_4$  할로알콕시로부터 선택된다. 화학식 2-B의 또 다른 바람직한 구체예에서,  $R_2$ 는 독립적으로 수소, 불소, 염소, 메틸, 트리플루오로메틸 및 트리플루오로메톡시 그룹으로부터 선택된다.

화학식 2-B의 구체예에서,  $R_3$ 는 바람직하게는, 독립적으로 수소, 할로젠,  $C_1$ - $C_4$  알콕시, 및  $C_1$ - $C_4$  할로알콕시로부터 선택된다. 화학식 2-B의 바람직한 구체예에서,  $R_3$ 는 독립적으로 수소, 불소, 염소, 메톡시, 및 트리플루오로메톡시 그룹으로부터 선택된다.

화학식 2-B의 구체예에서,  $R_4$ 는 수소, 할로젠,  $C_1$ - $C_4$  알킬,  $C_1$ - $C_4$  할로알킬,  $C_1$ - $C_4$  알콕시,  $C_1$ - $C_4$  할로알콕시, 아미노, 또는 피롤릴 그룹이다. 화학식 2-B의 또 다른 구체예에서,  $R_4$ 는 바람직하게는, 수소, 할로젠,  $C_1$ - $C_4$  알킬,  $C_1$ - $C_4$  할로알킬,  $C_1$ - $C_4$  알콕시,  $C_1$ - $C_4$  할로알콕시, 또는 아미노 그룹이다. 화학식 2-B의 바람직한 구체예에서,  $R_4$ 는 수소, 불소, 염소, 메틸, 이소프로필, tert-부틸, 트리플루오로메틸, 메톡시, 트리플루오로메톡시, 또는 아미노 그룹이다.

화학식 2의 또 다른 바람직한 구체예에서, W 및 Y는 모두 N이며, X 및 Z는 모두 C- $R_a$ 이다 (화학식 2-C):

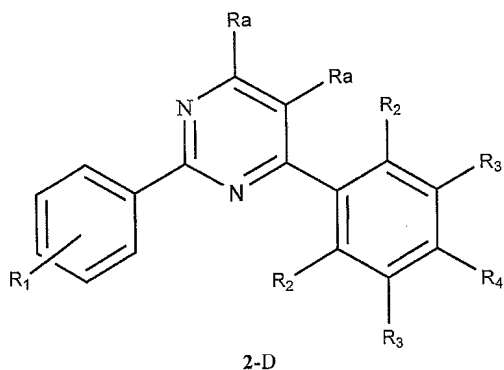


2-C

화학식 2-C에 있어서, 바람직한 구체예에서,  $R_1$ 은 카르복시 그룹이며, 바람직하게는, 메타 또는 파라 위치에 존재한다. 화학식 2-C의 바람직한 구체예에서,  $R_a$ 는 수소이다. 화학식 2-C의 또 다른 바람직한 구체예에서,  $R_3$ 는 독립적으로 수소 또는

는 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬로부터 선택된다. 화학식 2-C의 추가의 바람직한 구체예에서, R<sub>3</sub>는 독립적으로 수소 또는 메틸 그룹으로부터 선택된다. 화학식 2-C의 또 다른 바람직한 구체예에서, R<sub>4</sub>는 수소 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬이다. 화학식 2-C의 추가의 바람직한 구체예에서, R<sub>4</sub>는 수소 또는 메틸 그룹이다.

화학식 2의 또 다른 바람직한 구체예에서, W 및 Z는 모두 N이며, X 및 Y는 모두 C-R<sub>a</sub>이다 (화학식 2-D):

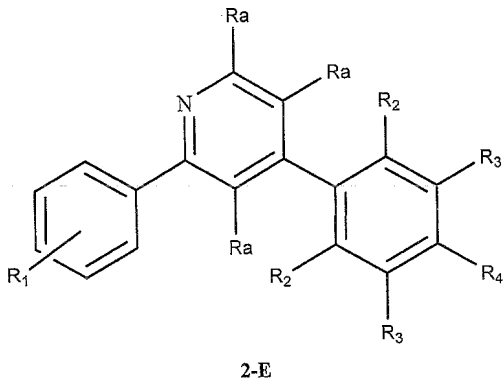


화학식 2-D에 있어서, 구체예에서, R<sub>1</sub>은 바람직하게는, 카르복시 그룹이며, 바람직하게는, 메타 또는 파라 위치에 존재한다. 화학식 2-D의 또 다른 구체예에서, Ra는 바람직하게는, 독립적으로 수소 또는 메틸로부터 선택된다. 한 구체예에서, X는 C-CH<sub>3</sub>이고, Y는 CH이다. 또 다른 구체예에서, X는 CH이고, Y는 C-CH<sub>3</sub>이다.

화학식 2-D의 구체예에서, R<sub>2</sub>는 바람직하게는, 독립적으로 수소 또는 할로젠으로부터 선택된다. 화학식 2-D의 바람직한 구체예에서, R<sub>2</sub>는 독립적으로 수소 또는 불소로부터 선택된다. 화학식 2-D의 구체예에서, R<sub>3</sub>는 바람직하게는, 독립적으로 수소, 할로젠, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알콕시, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 할로알콕시로부터 선택되거나, R<sub>3</sub> 및 R<sub>4</sub>가 부착되는 페닐 고리 및 R<sub>4</sub>와 함께 벤조[1,3]디옥솔 또는 2,3-디히드로-벤조[1,4]디옥시닐 그룹을 형성한다. 화학식 2-D의 또 다른 구체예에서, R<sub>3</sub>은 독립적으로 수소, 할로젠, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알콕시 그룹으로부터 선택되거나, R<sub>3</sub> 및 R<sub>4</sub>가 부착되는 페닐 고리 및 R<sub>4</sub>와 함께 벤조[1,3]디옥솔 또는 2,3-디히드로-벤조[1,4]디옥시닐 그룹을 형성한다. 화학식 2-D의 바람직한 구체예에서, R<sub>3</sub>는 바람직하게는, 독립적으로 수소, 불소, 메틸 그룹, 트리플루오로메틸 그룹, 메톡시 그룹으로부터 선택되거나, R<sub>3</sub> 및 R<sub>4</sub>가 부착되는 페닐 고리 및 R<sub>4</sub>와 함께 벤조[1,3]디옥솔 또는 2,3-디히드로-벤조[1,4]디옥시닐 그룹을 형성한다..

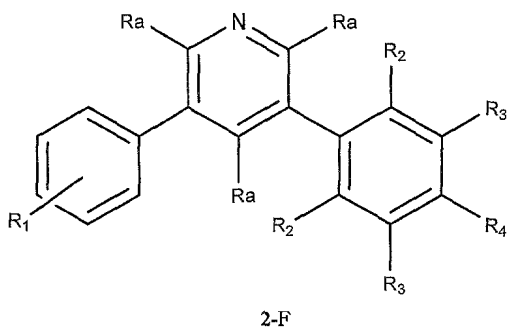
화학식 2-D의 구체예에서, R<sub>4</sub>는 바람직하게는, 수소, 할로젠, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 할로알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알콕시, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 할로알콕시, 하나 또는 두개의 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬 그룹으로 치환되거나 비치환된 아미노, -R<sub>b</sub> 그룹, 이미다졸릴 그룹, 모르폴리닐 그룹이거나, R<sub>3</sub> 및 R<sub>4</sub>가 부착되는 페닐 고리 및 R<sub>3</sub>와 함께 벤조[1,3]디옥솔 또는 2,3-디히드로-벤조[1,4]디옥시닐 그룹을 형성한다. 화학식 2-D의 또 다른 구체예에서, R<sub>4</sub>는 바람직하게는, 수소, 할로젠, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 할로알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알콕시, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 할로알콕시, 하나 또는 두개의 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬 그룹으로 치환되거나 비치환된 아미노, -R<sub>b</sub> 그룹, 이미다졸릴 그룹이거나, R<sub>3</sub> 및 R<sub>4</sub>가 부착되는 페닐 고리 및 R<sub>3</sub>와 함께 벤조[1,3]디옥솔 또는 2,3-디히드로-벤조[1,4]디옥시닐 그룹을 형성한다. 화학식 2-D의 바람직한 구체예에서, R<sub>4</sub>는 하기 그룹으로부터 선택된다: 불소, 브롬, 메틸, 이소프로필, 트리플루오로메틸, 메톡시, 트리플루오로메톡시, 페닐, 이미다졸릴, 모르폴리닐, 및 2개의 메틸 그룹으로 치환된 아미노.

화학식 2의 또 다른 바람직한 구체예에서, W는 N이며, X, Y, 및 Z는 각각 C-R<sub>a</sub>이다(화학식 2-E):



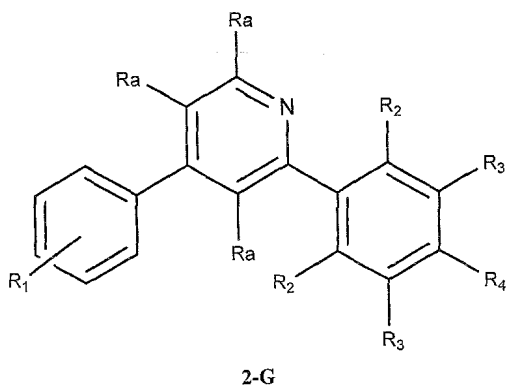
화학식 2-E에 있어서, 구체예에서,  $R_1$ 은 바람직하게는, 카르복시 그룹이며, 바람직하게는, 메타 또는 파라 위치에 존재한다. 화학식 2-E의 또 다른 구체예에서,  $R_a$ ,  $R_2$ , 및  $R_3$ 는 바람직하게는, 수소이다. 화학식 2-E의 바람직한 구체예에서,  $R_4$ 는  $C_1$ - $C_4$  알킬 그룹이다. 화학식 2-E의 또 다른 바람직한 구체예에서,  $R_4$ 는 메틸 또는 이소프로필 그룹이다.

화학식 2의 또 다른 바람직한 구체예에서, X는 N이며, W, Y, 및 Z는 각각  $C-R_a$  이다(화학식 2-F):



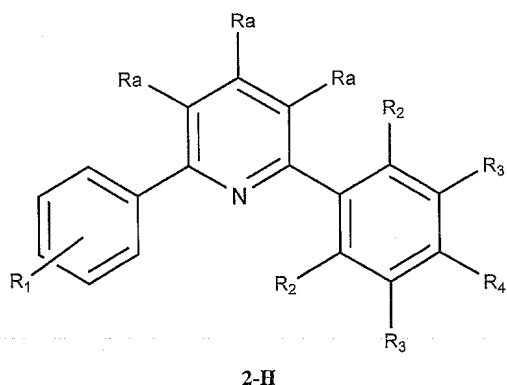
화학식 2-F에 있어서, 구체예에서,  $R_1$ 은 바람직하게는, 카르복시 그룹이며, 바람직하게는, 메타 또는 파라 위치에 존재한다. 화학식 2-F의 다른 바람직한 구체예에서,  $R_a$ ,  $R_2$ , 및  $R_3$ 는 바람직하게는, 수소이다. 화학식 2-F의 또 다른 바람직한 구체예에서,  $R_4$ 는  $C_1$ - $C_4$  알킬 그룹이다. 화학식 2-F의 또 다른 바람직한 구체예에서,  $R_4$ 는 메틸 또는 이소프로필 그룹이다.

화학식 2의 또 다른 바람직한 구체예에서, Y는 N이고, W, X, 및 Z는 각각  $C-R_a$  이다(화학식 2-G):



화학식 2-G에 있어서, 구체예에서,  $R_1$ 은 바람직하게는, 카르복시 그룹이며, 바람직하게는, 메타 또는 파라 위치에 존재한다. 화학식 2-G의 바람직한 구체예에서,  $R_a$ ,  $R_2$ , 및  $R_3$ 는 바람직하게는, 수소이다. 화학식 2-G의 또 다른 바람직한 구체예에서,  $R_4$ 는  $C_1-C_4$  알킬 그룹이다. 화학식 2-G의 또 다른 바람직한 구체예에서,  $R_4$ 는 메틸 또는 이소프로필 그룹이다.

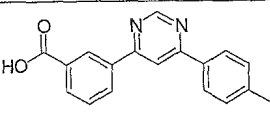
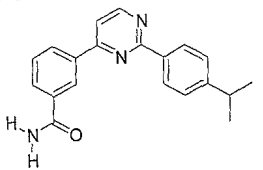
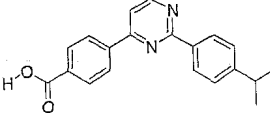
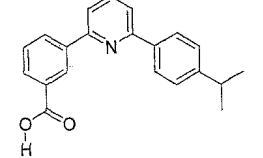
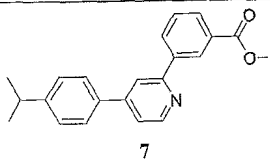
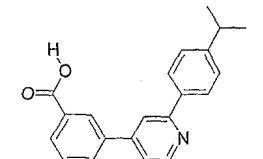
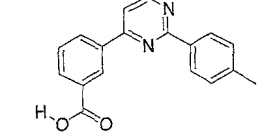
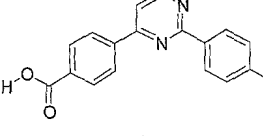
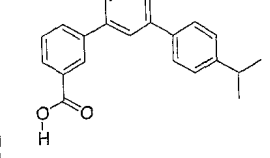
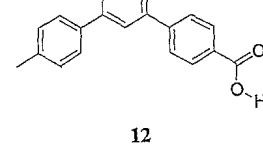
화학식 2의 또 다른 바람직한 구체예에서, Z는 N이고, W, X, 및 Y는 각각  $C-R_a$  이다(화학식 2-H):

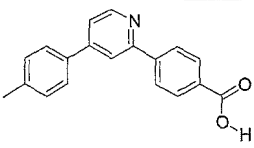
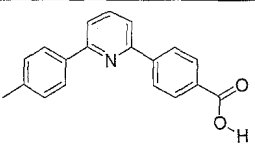
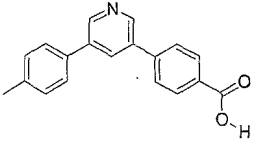
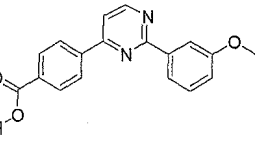
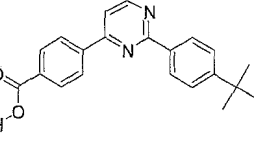
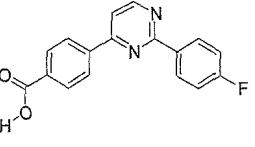
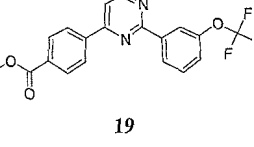
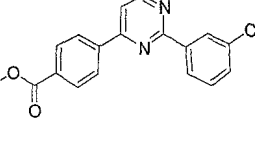
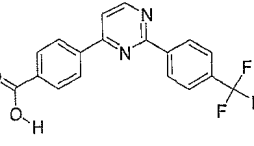
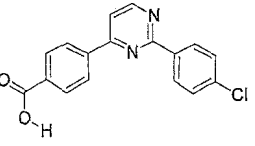


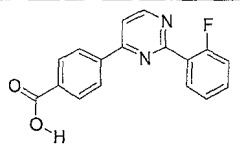
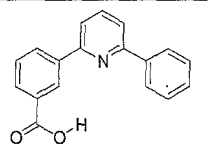
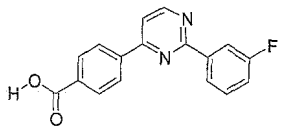
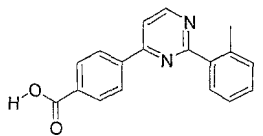
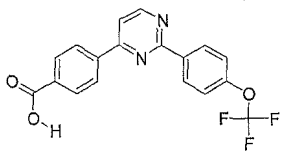
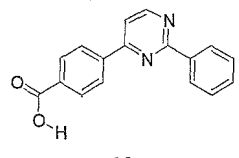
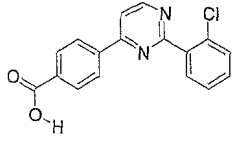
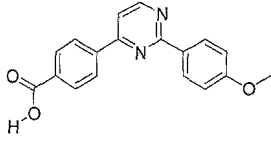
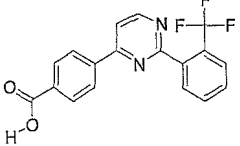
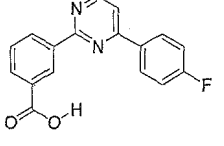
화학식 2-H에 있어서, 구체예에서,  $R_1$ 은 바람직하게는, 카르복시 그룹이며, 바람직하게는, 메타 또는 파라 위치에 존재한다. 또한, 화학식 2-H의 바람직한 구체예에서,  $R_a$ ,  $R_2$ , 및  $R_3$ 는 바람직하게는, 수소이다. 바람직한 구체예에서,  $R_4$ 는 수소 또는  $C_1-C_4$  알킬 그룹이다. 또 다른 바람직한 구체예에서,  $R_4$ 는 수소 또는 메틸 또는 이소프로필 그룹이다. 추가의 바람직한 구체예에서,  $R_4$ 는 수소이다. 또 다른 바람직한 구체예에서,  $R_4$ 는 메틸 또는 이소프로필 그룹이다.

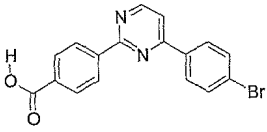
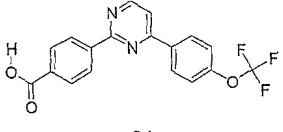
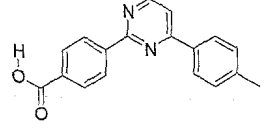
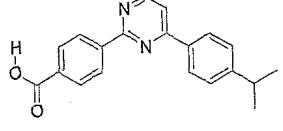
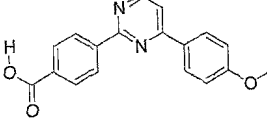
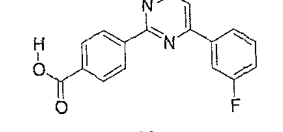
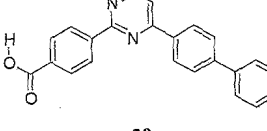
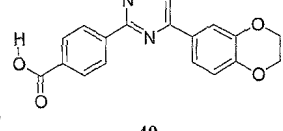
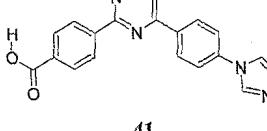
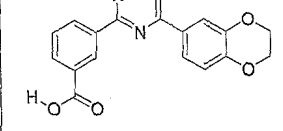
본 발명의 바람직한 화합물은 하기를 포함한다:

화합물	화합물
<p style="text-align: center;"><b>1</b></p>	<p style="text-align: center;"><b>2</b></p>

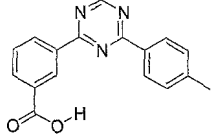
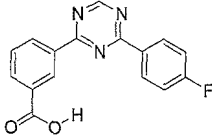
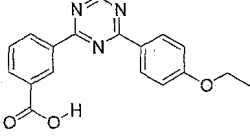
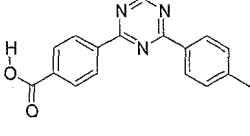
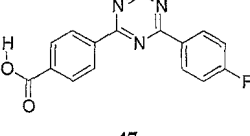
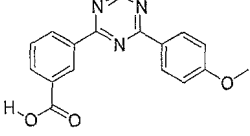
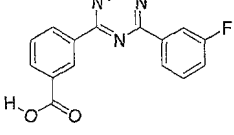
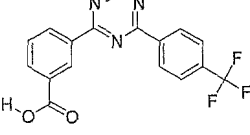
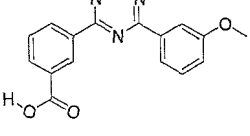
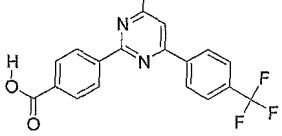
화합물	화합물
 <b>3</b>	 <b>4</b>
 <b>5</b>	 <b>6</b>
 <b>7</b>	 <b>8</b>
 <b>9</b>	 <b>10</b>
 <b>11</b>	 <b>12</b>

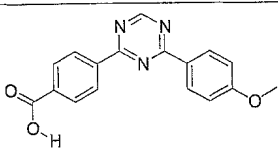
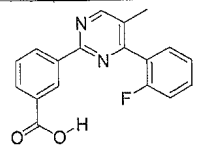
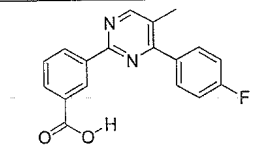
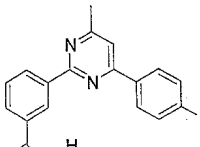
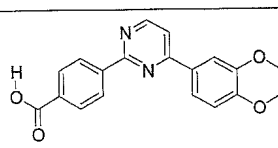
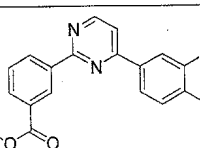
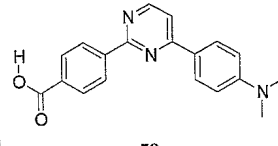
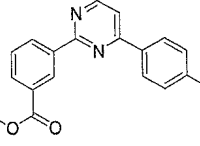
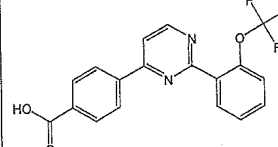
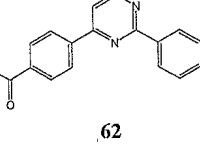
화합물	화합물
 <p>13</p>	 <p>14</p>
 <p>15</p>	 <p>16</p>
 <p>17</p>	 <p>18</p>
 <p>19</p>	 <p>20</p>
 <p>21</p>	 <p>22</p>

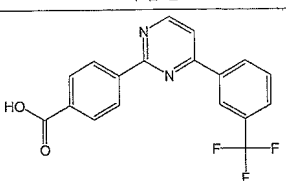
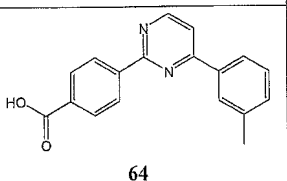
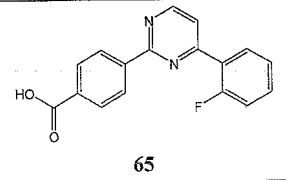
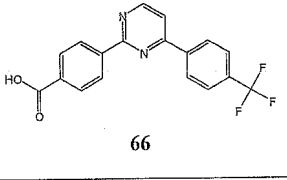
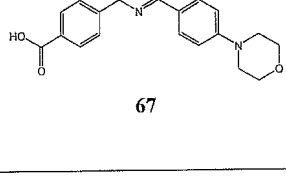
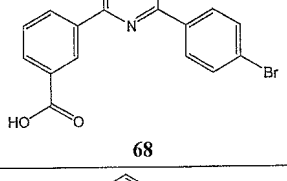
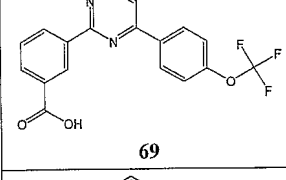
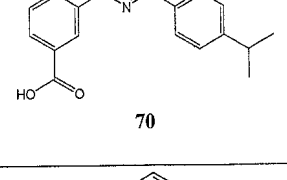
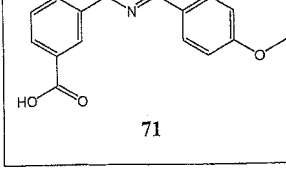
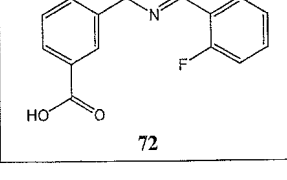
화합물	화합물
 <b>23</b>	 <b>24</b>
 <b>25</b>	 <b>26</b>
 <b>27</b>	 <b>28</b>
 <b>29</b>	 <b>30</b>
 <b>31</b>	 <b>32</b>

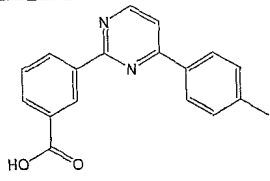
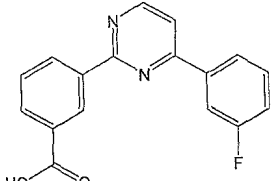
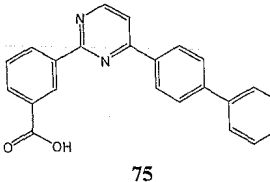
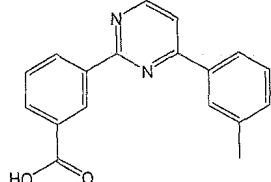
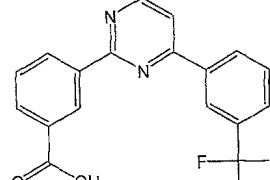
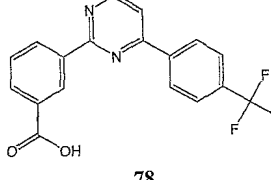
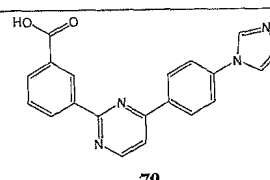
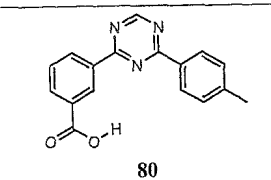
화합물	화합물
 <p>33</p>	 <p>34</p>
 <p>35</p>	 <p>36</p>
 <p>37</p>	 <p>38</p>
 <p>39</p>	 <p>40</p>
 <p>41</p>	 <p>42</p>

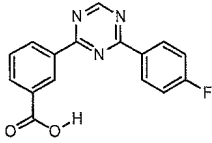
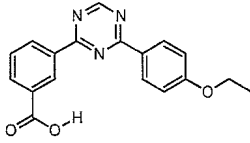
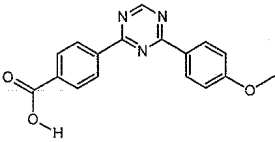
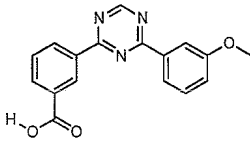
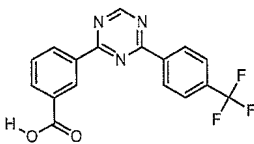
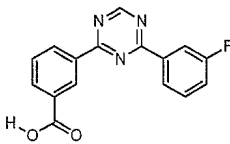
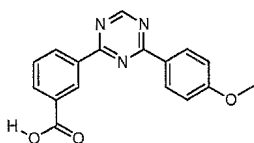
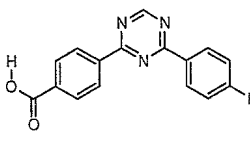
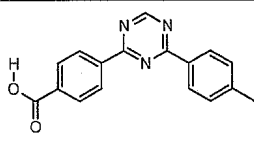


화합물	화합물
 <p>43</p>	 <p>44</p>
 <p>45</p>	 <p>46</p>
 <p>47</p>	 <p>48</p>
 <p>49</p>	 <p>50</p>
 <p>51</p>	 <p>52</p>

화합물	화합물
 <b>53</b>	 <b>54</b>
 <b>55</b>	 <b>56</b>
 <b>57</b>	 <b>58</b>
 <b>59</b>	 <b>60</b>
 <b>61</b>	 <b>62</b>

화합물	화합물
 <p>63</p>	 <p>64</p>
 <p>65</p>	 <p>66</p>
 <p>67</p>	 <p>68</p>
 <p>69</p>	 <p>70</p>
 <p>71</p>	 <p>72</p>

화합물	화합물
 <b>73</b>	 <b>74</b>
 <b>75</b>	 <b>76</b>
 <b>77</b>	 <b>78</b>
 <b>79</b>	 <b>80</b>

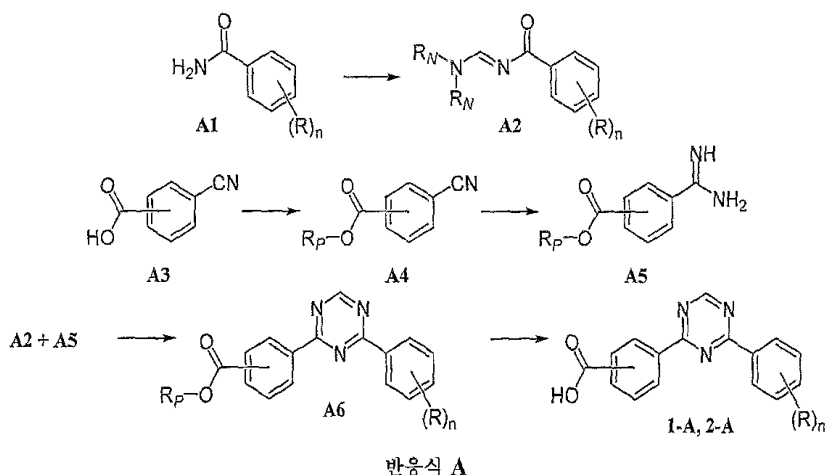
화합물	화합물
 <p>81</p>	 <p>82</p>
 <p>83</p>	 <p>84</p>
 <p>85</p>	 <p>86</p>
 <p>87</p>	 <p>88</p>
 <p>89</p>	

특히 바람직한 화합물은 화합물 10, 33, 35, 36, 37, 40, 42, 43, 56, 60, 63, 64, 65, 66 및 71이다.

상기 화합물들은 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 예를 제공하기 위해 기술한 것이다. 본 기술에 기초하여, 당업자는 본원에 상술된 방법에 유용할 청구된 발명의 범위내에 포함되는 기타 화합물을 인지할 수 있을 것이다.

#### B. 본 발명의 화합물의 제법

본 발명의 화합물은 당해분야에 공지된 방식으로 생성될 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 화합물은 개별적 아진 고리 코어 구조에 관한 하기 반응식에 따라 제조될 수 있다. 예를 들어, 화학식 1-A 및 2-A의 트리아진 화합물은 반응식 A에 도시된 방식으로 제조될 수 있다.



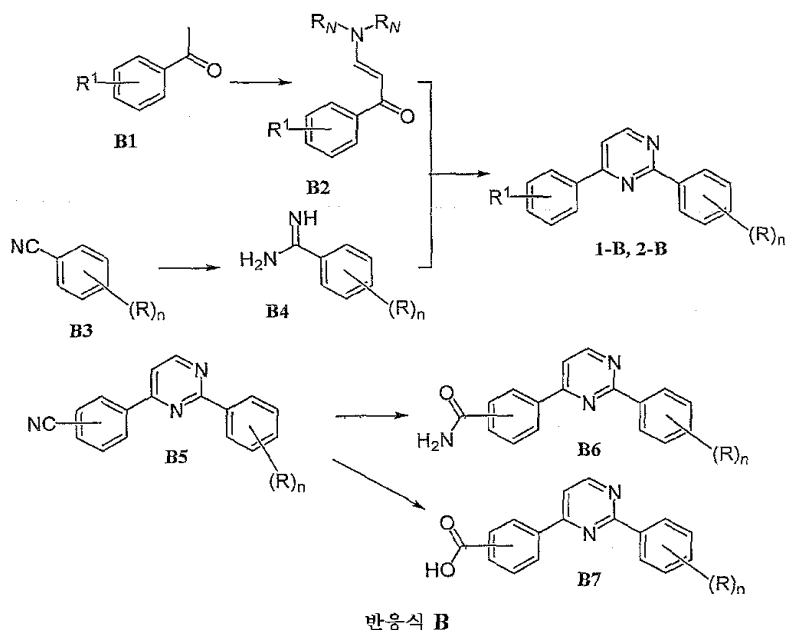
반응식 A에 있어서, 화학식 A1의 벤즈아미드 기질을 화학식  $(R_N)_2NCH(O알킬)_2$  (여기서,  $R_N$ 은 일반적으로, 작은 알킬이거나, 두개의  $R_N$  그룹은 5원 또는 6원 고리 (예를 들어, 피롤리딘, 피페라진, 모르폴린, 등)를 형성하고, O알킬은 작은 알콕시 그룹 예컨대, 메톡시 또는 에톡시이다. 이러한 축합 반응은 순수한 포름아미드 아세트알 시약 또는 고비등 용매 예컨대, 에탄올 또는 아세트산에서 수행되어 화학식 A2의 벤조일 포름아미딘 생성물을 제공할 수 있다.

각각의 반응에서, 화학식 A3의 시아노벤조산 시제는 화학식 A4의 에스테르 화합물로 변형될 수 있다. 그룹  $R_p$ 는 직쇄 또는 분지쇄의 알킬 그룹을 나타낼 수 있다. 이러한 에스테르화 반응은 당업자에게 친숙하며, a) 벤조일 클로라이드로 전환시킨 후, 염기의 존재하에 화학식  $R_pOH$ 의 상응하는 알코올 시제와 반응시키거나; b) 탈수화 시제 예컨대, 카르보다이미드로 동일계에서 활성화시키거나; c) 포스핀 화합물 및 디아조카르복실레이트 시제를 사용하는 미쓰노부 조건을 사용하는 것을 포함하나 이에 제한되지 않는다.  $R_p$ 는 바람직하게는, 가능한 크며, tert-부틸일 수 있으며, 상기 기술된 바와 같이 이소부틸렌과의 산-촉매된 반응 또는 벤조일 클로라이드와 tert-부탄올과의 축합에 의해 부착될 수 있다. 또 다른 구체예에서, 고체 지지체가  $R_p$ 로서 사용될 수 있으며, 이는 중간체의 정제를 보조할 수 있다. 왕 (Wang) 수지, 잔다 (Janda) 수지 등을 포함하는, 조합된 합성 화학작용의 공통된 고체 지지체가 사용될 수 있다.

그 후, 화학식 A4의 화합물의 니트릴 그룹은 아미딘 그룹으로 전환되어 화학식 A5의 화합물을 제공할 수 있다. 이러한 변형은 영하의 온도 내지 환류 온도범위에서 비양성자성 용매 예컨대, 테트라히드로푸란 또는 1,4-디옥산중에 시제 예컨대, 리튬, 나트륨 또는 칼륨 헥사메틸디실라지드로 처리함으로써 달성될 수 있다. 그 후, 수성 작업 및 중화는 규소 그룹을 제거하여 아미딘 생성물을 수득하는데 이용될 수 있다. 기타 이러한 전환은 니트릴 그룹의 산-촉매된 아민화를 포함할 수 있다.

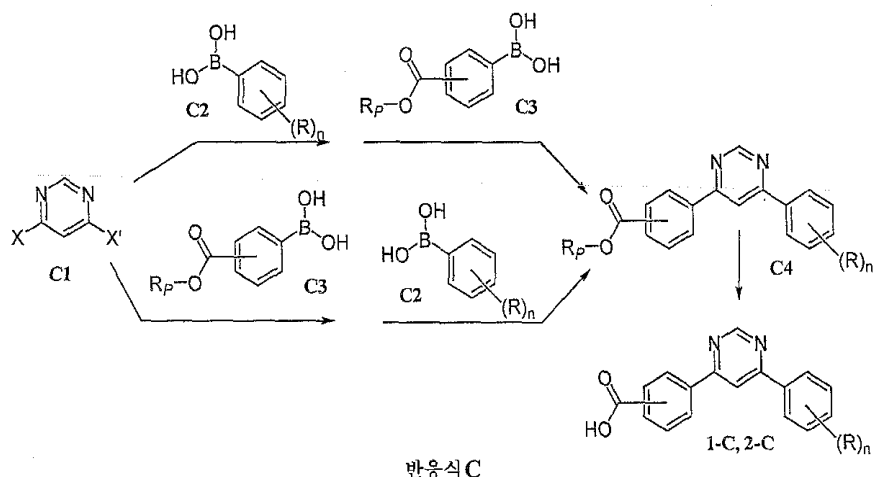
그 후, 화학식 A2 및 A5의 화합물은 화학식 A6의 화합물의 트리아진 고리로 시클로축합 반응 처리된다. 이러한 반응은 고비등 용매 예컨대, 아세트산, 글림 등에서 산-촉매될 수 있다. 반응은 또한 마이크로파 반응기를 사용함으로써 가속화될 수 있다. 합성의 최종 단계는 일반적으로, 필요에 따라 화학식 A6의 화합물의 카르복실레이트 그룹의 탈보호를 포함한다. 입체적으로 장애된  $R_p$  그룹에 있어서, 이는 바람직하게는, 일반적으로 소량의 물의 존재하에 실온 내지 증가된 온도에서 용매 예컨대, 에탄올, THF 등 중의 수산화 염 (예컨대, 수산화리튬 또는 수산화나트륨)으로 처리함으로써 달성될 수 있다. 작은  $R_p$  그룹 (특히, 메틸)은 극성 용매 예컨대, 디메틸 설펝사이드 또는 피리딘중의 요오드화 리튬과 같은 친핵성 시제에 의해 제거될 수 있다. 최종적으로, 산-불안정성  $R_p$  그룹 예컨대, tert-부틸은 필요에 따라, 이전 반응 (즉, A6을 수득하기 위한 반응)의 조건하에 절단되어 필요에 따라, 더욱 강한 산성 조건으로 카르복실산을 직접적으로 제공할 수 있다.

피리미딘 (화학식 1-B 및 2-B)의 합성에 사용된 일반적인 방법은 반응식 B에 도시되어 있다.



화학식 B1의 아세토페논 기질은 A1에서 A2로의 변형에서와 유사한 방식으로 포름아미드 아세트알 시제와 반응하여 화학식 B2의 생성물을 제공할 수 있다. 별도의 반응에서, 화학식 B3의 벤조니트릴 화합물은 A4에서 A5로의 전환에서와 유사한 방식으로 화학식 B4의 아미드로 전환될 수 있다. 그 후, 화학식 B2 및 B4의 화합물의 축합 반응은 화학식 1-B 또는 2-B의 피리미딘 생성물을 생성시킬 수 있다. 이러한 반응은 증가된 온도에서 극성 용매 (예컨대, 에탄올 또는 1,4-디옥산) 중의 염기 (예컨대, 수소화나트륨 또는 나트륨 에톡사이드)의 존재하에 수행될 수 있다.  $R_1$  그룹의 상호전환이 가능하며, 화학식 B5의 니트릴 화합물의 반응에 의해 구현된다. 니트릴은 강한 수성산 (염산 또는 황산)을 사용하여 카르복사미드로 가수분해되어 화학식 B6의 화합물을 제공할 수 있다. 유사하게는, 염기성 조건 (예를 들어, 수산화나트륨)은 니트릴 그룹을 화학식 B7의 생성물 중의 카르복시기로 가수분해시키는데 사용될 수 있다.

화학식 1-C 및 2-C의 4,6-디아릴피리미딘의 합성에 사용된 일반적인 방법은 하기 반응식 C에 도시되어 있다.

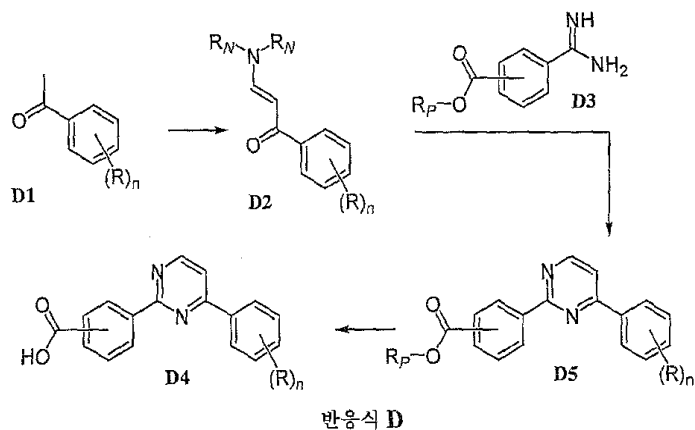


화학식 C1의 4,6-디할로피리미딘은 두개의 아릴 기를 갖는 붕산 유도체 (화학식 C2 및 C3)와의 연속적인 수주기 반응에 사용될 수 있으며, 여기서 X는 아릴 가교 반응에서 대체될 수 있는 그룹 예컨대, 클로로, 브로모, 요오도 또는 트리플루오로메탄설포닐을 나타낸다. 전체적인 변형에 대한 선택성을 개선하기 위해, 상이한 할로젠을 갖는 기질을 사용할 필요가 있을 수 있다 (즉,  $X \neq X'$ ). 기타 방법은 차폐된 할로젠인  $X'$  그룹 사용을 포함할 수 있다; 예를 들어, 아릴 아미노 그룹이 디아

조화 후 할로젠으로의 대체에 의해 할로젠으로 전환될 수 있다. 화학식 C2 또는 C3의 화합물이 시중에서 구입가능하지 않다면, 이들은 메탈-할로젠 교환 (브로모 또는 요오드의 리튬, 마그네슘, 아연 등으로의 교환) 후 붕소 공급원 예컨대, 트리메틸보레이트 또는 트리이소프로필보레이트의 켄칭에 의해 제조될 수 있다.

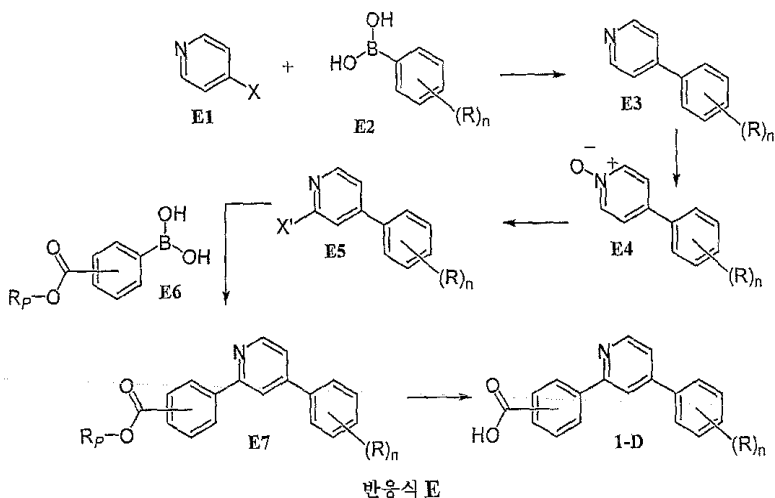
가교 반응은 포스핀 리간드 예컨대, 트리페닐포스핀, BINAP 등이 선택적으로 첨가되면서 테트라키스(트리페닐포스핀), 팔라듐 아세테이트 또는 비스(트리페닐포스핀)팔라듐 디클로라이드와 같은 화합물에 의해 촉매될 수 있다. 이러한 반응은 또한, 염기 예컨대, 탄산나트륨, 삼인산칼륨 또는 세슘 플루오라이드가 필요할 수 있다. 수주기형 가교 반응에 적합한 용매는 에탄올, 톨루엔, 1,4-디옥산 또는 글림을 포함하며, 반응은 우선적으로 산소의 부재하에 진행되기 때문에, 용매는 바람직하게는, 탈기될 수 있다. 중간체인 단일 결합된 화합물의 분리는 최종 생성물의 정제 관점에서 이로울 수 있다. 또한, 카르복실레이트 보호 그룹은 필요에 따라 최종 단계에서 제거되어 화학식 1-C 및 2-C의 최종 생성물을 제공할 수 있다.

반응식 B와 관련하여 논의된 일반적인 방법은 하기 반응식 D에 도시된 바와 같이 화학식 1-D 및 2-D의 역 피리미딘 위치 이성질체에 적합할 수 있다.



화학식 D1의 아세토펜은 화학식 D2의 아미노아크릴로일 화합물의 제조에 사용될 수 있으며, 그 후 화학식 D2의 화합물은 화학식 D3의 아미딘 시제 (이의 합성법은 상기에서 논의됨)와 축합되어 화학식 D4의 피리미딘을 생성시킬 수 있다. 그 후, 이전에서와 같이, 보호된 카르복실레이트를 사용하여 화학식 1-D 및 2-D의 화합물에서 필요에 따라 유리 카르복실레이트 그룹을 유리시킬 수 있다.

상기 반응식 C와 유사한 아릴 가교 방법을 이용하여 화학식 1-E 및 1-E의 피리딘 화합물을 제조할 수 있다 (하기 반응식 E 참조).

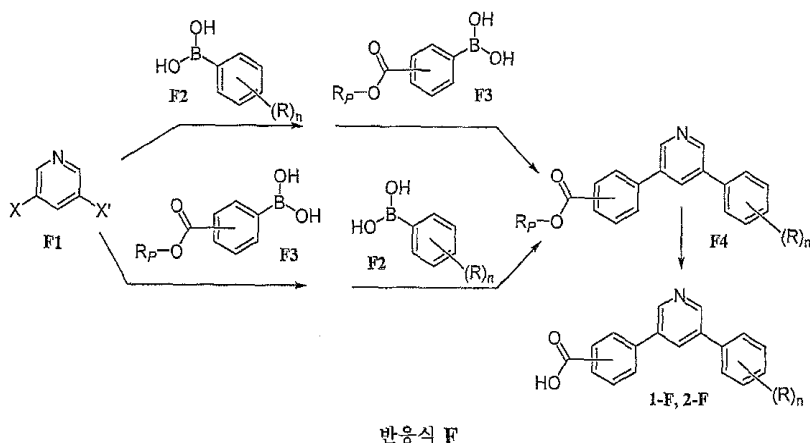




화학식 E1의 피리딘 시제는 출발 물질로서 작용할 수 있으며, 여기서 X는 아릴 가교 반응에서 대체될 수 있는 그룹 예컨대, 클로로, 브로모, 요오도 또는 트리플루오로메탄설포닐을 나타낸다. 결합 반응은 시제 예컨대, 화학식 E2의 붕산으로 수행될 수 있다. 화학식 E2의 화합물이 시중에서 입수할 수 없는 경우, 이들은 메탈-할로젠 교환 (브로모 또는 요오도의 리튬, 마그네슘, 아연 등으로의 교환) 후, 붕소 공급원 예컨대, 트리메틸보레이트 또는 트라이소프로필보레이트로의 켄칭에 의해 제조될 수 있다. 가교 반응은 포스핀 리간드 예컨대, 트리페닐포스핀, BINAP 등이 선택적으로 첨가되면서, 화합물 예컨대, 테트라키스(트리페닐포스핀), 팔라듐 아세테이트 또는 비스(트리페닐포스핀)팔라듐 디클로라이드에 의해 촉매될 수 있다. 이러한 반응은 또한, 염기 예컨대, 탄산나트륨, 삼인산칼륨 또는 세슘 플루오라이드가 필요할 수 있다. 수주기형 가교 반응에 적합한 용매는 에탄올, 톨루엔, 1,4-디옥산 또는 글림을 포함하며, 반응은 우선적으로 산소의 부재하에 진행되기 때문에, 용매는 탈기되어야 한다.

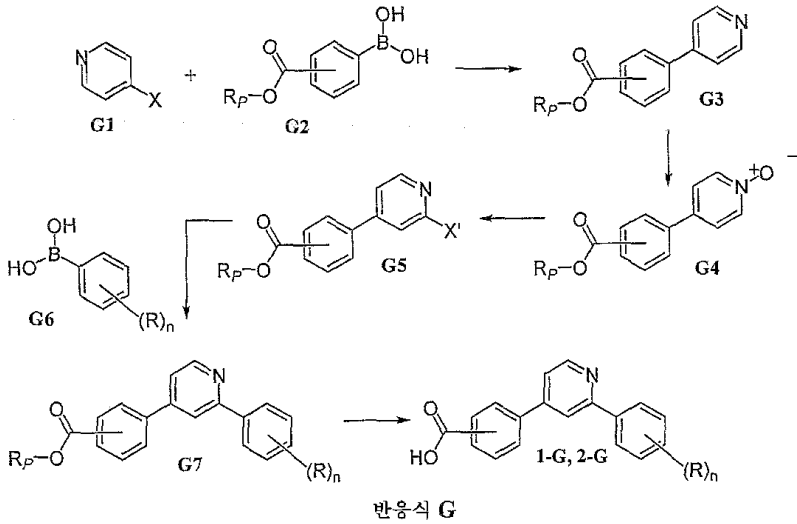
화학식 E3의 피리딘 화합물을 수득하면, 질소 원자는 화학식 E4의 피리딘 N-옥사이드 화합물로 산화될 수 있다. 이러한 전환을 위한 시제는 m-클로로퍼벤조산 또는 과산화수소 (및 다양한 첨가제)를 포함한다. 그 후, 산화물은 재배열 반응 처리되어 화학식 E5의 화합물을 수득할 수 있다. 이러한 전환을 위한 시제는 포스포러스 옥시클로라이드, 포스포러스 트리브로마이드 또는 트리메틸실릴 트리플루오로메탄설포네이트를 포함한다. X' 그룹은 할로젠 또는 슈도할로젠 (Cl, Br, OTf)를 나타내며, 이용된 피리딘 옥사이드-환성화 반응 조건 및 시제에 의존적일 것이다. 반응이 2-피리돈을 제공한다면, 이는 2-X'-피리딘으로 용이하게 전환될 수 있다; 예를 들어, 피리돈은 포스포러스 옥시클로라이드와 반응하여 2-클로로 피리딘을 제공한다. 그 후, 2-할로피리딘은 상기 기술된 수주기형 팔라듐-촉매된 반응을 이용하여 화학식 E6의 붕산 화합물과의 가교 반응에 사용되어 화학식 E7의 2,4-디아릴피리딘 화합물을 제공할 수 있다. 그 후, 카르복실레이트는 필요에 따라 상기에서와 같이 탈보호되어 화학식 1-E 및 2-E의 최종 생성물을 제공할 수 있다.

상기 반응식 E의 반응과 유사한 또 다른 이중 가교반응이 화학식 1-F 및 2-F의 피리딘 화합물을 합성하는데 사용될 수 있다 (반응식 F).

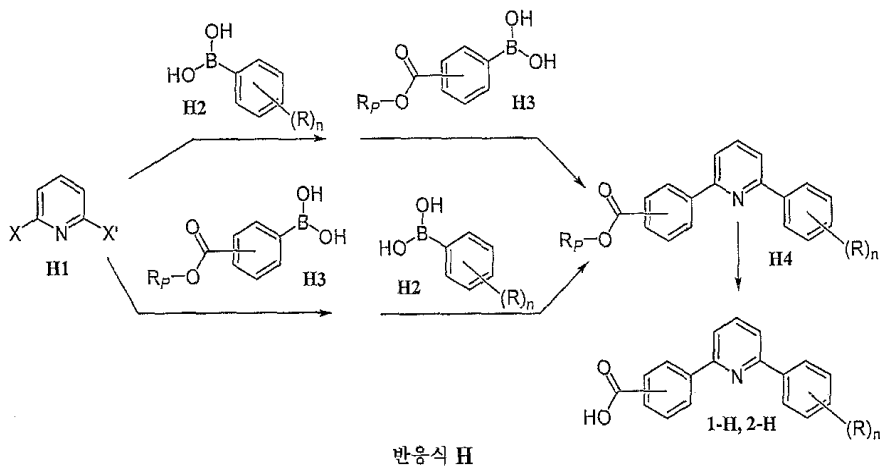


화학식 F1의 3,5-디할로피리딘은 두개의 아릴 그룹을 갖는 붕산 유도체 (화학식 F2 및 F3)와의 연속적 수주기 반응에 사용된다. 중간체인 단일 결합된 화합물의 분리는 최종 생성물 정제에 있어서 유리할 수 있다. 전체적인 변형에 대한 선택성을 개선하기 위해, 상이한 할로젠을 갖는 기질을 사용할 필요가 있을 수 있다 (즉,  $X \neq X'$ ). 기타 방법은 차폐된 할로젠인 X' 그룹 사용을 포함할 수 있다; 예를 들어, 아릴 아미노 그룹이 디아조화 후 할로젠으로의 대체에 의해 할로젠으로 전환될 수 있다. 이전에서와 같이, 결합 반응용 촉매는 대부분 Pd(0) 또는 Pd(2)를 기재로 한다. 또한, 카르복실레이트는 최종 단계에서 필요에 따라 제거되어 화학식 1-F 및 2-F의 최종 생성물을 제공할 수 있다.

화학식 1-G 및 2-G의 피리딘 화합물 (반응식 G)은 화학식 1-F 및 2-F의 위치이성질체의 합성법 (반응식 F)과 유사한 방식으로 제조될 수 있다.



화학식 1-G 및 2-G의 피리딘 3,5-이성질체의 제조 방법 (반응식 G)은 화학식 1-H 및 2-H의 2,6-이성질체의 제조에 이용될 수 있다 (반응식 H). 이전과 같이, 두개의 결합 반응은 더욱 편리한 것에 따라 순차적으로 수행될 수 있다.



특정 구체예에서, 본 발명의 화합물은 당해분야에 공지된 방법에 의해 거울상이성질체적으로 순수한 조성물로 분해되거나, 거울상이성질체적으로 순수한 조성물로서 합성될 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 화합물은 거울상이성질체 혼합물의 직접적인 결정화, 거울상이성질체의 부분입체이성질체 염 형성, 부분입체이성질체의 형성 및 분리, 또는 라세미체 혼합물의 효소적 분해에 의해 분해될 수 있다.

이러한 및 기타 반응 방법론이 당업자에게 인지되는 바와 같이 본 발명의 화합물의 제조에 유용할 수 있다. 상기 반응식 및 공정에 대한 다양한 변형이 당업자에게는 자명할 것이며, 본 발명은 본 발명의 화합물을 제조하기 위한 방법에 의해 특정하게 제한되지 않는다.

### C. 본 발명의 방법

본 발명의 또 다른 양태에서, 넌센스 변이와 관련될 수 있는 조기 번역 종료의 억제 및 질환의 예방 또는 치료를 위한 방법이 제공된다. 바람직한 구체예에서, 이러한 질환은 mRNA의 변이 특히, 넌센스 변이와 관련된다. 예시적 질환으로는 암, 리소좀 축적증, 근위영양증, 낭성섬유증, 혈우병, 표피수포증 및 전통적인 영아 후기형 신경 세포이도 리포푸스신증을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 이러한 구체예에서, 치료학적 유효량의 본 발명의 하나 이상의 화합물을 이를 필요로 하는 피검체에 투여하는 것을 포함하여, 암, 리소좀 축적증, 근위영양증, 낭성섬유증, 혈우병 또는 전통적인 영아 후기형 신경 세포이도 리포푸스신증을 치료하기 위한 방법을 제공한다.

한 구체예에서, 본 발명은 하나 이상의 특이적인 작용 단백질의 발현을 증가시키기 위한 방법에 관한 것이다. 본 발명의 모든 화합물이 작용 단백질의 발현을 특이적으로 증가시키는데 사용될 수 있다. 또 다른 구체예에서, 치료학적 유효량의 본 발명의 하나 이상의 화합물을 이를 필요로 하는 피검체에 투여함으로써 조기 번역 종료를 억제하는 경우, 작용 단백질 발현의 특이적 증가가 발생한다. 바람직한 구체예에서, 조기 번역 종료를 mRNA에서 넌센스 변이와 관련된다. 또 다른 구체예에서, 환자에서 mRNA 붕괴가 감소하는 경우, 작용 단백질 발현에서의 특이적 증가가 발생한다. 바람직한 구체예에서, 환자에서의 이상은 변이-매개된 mRNA 붕괴에 의해 초래된다. 특히 바람직한 구체예에서, 변이-매개된 mRNA 붕괴는 넌센스 변이의 결과이다. 본 발명의 방법은 특정 이론에 제한되지 않는다.

본 발명은 치료학적 유효량의 본 발명의 화합물을 치료 또는 예방이 필요한 환자에 투여하는 것을 포함하여, 환자에서 조기 번역 종료, 넌센스-매개된 mRNA 붕괴, 또는 조기 번역 종료와 넌센스-매개된 mRNA 붕괴의 억제에 의해 개선되는 질환 또는 장애를 치료하고 예방하는 방법을 포함한다.

한 구체예에서, 본 발명은 조기 번역 종료, 넌센스-매개된 mRNA 붕괴, 또는 조기 번역 종료와 넌센스-매개된 mRNA 붕괴를 나타내는 유전자와 관련된 질환의 치료법 또는 예방법을 포함한다. 한 구체예에서, 이러한 질환은 부분적으로는, 조기 정지 코돈으로부터 초래되는 유전자의 감소되거나 결여된 발현으로 인한 것이다. 조기 번역 종료 및/또는 넌센스-매개된 mRNA 붕괴를 나타낼 수 있는 유전자 및 조기 번역 종료 및/또는 넌센스-매개된 mRNA 붕괴와 관련된 질환의 특정 예는 문헌 [U.S. Provisional Patent Application No. 60/390,747, titled: Methods For Identifying Small Molecules That Modulate Premature Translation Termination And Nonsense Mediated mRNA Decay, filed June 21, 2002, and International Application PCT/US03/19760, filed June 23, 2003]에 기술되어 있으며, 상기 문헌은 전체가 본원에 참고 문헌으로 인용되었다.

조기 번역 종료, 넌센스-매개된 mRNA 붕괴, 또는 조기 번역 종료와 넌센스-매개된 mRNA 붕괴의 억제에 의해 개선되는 질환은 유전적 질환, 체질환, 암, 자가면역 질환, 혈액 질환, 콜라겐 질환, 당뇨, 퇴행성신경 질환, 증식성 질환, 심혈관 질환, 폐 질환, 염증 질환 또는 중추 신경계 질환을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

한 구체예에서, 유효량의 본 발명의 화합물을 환자에 투여함으로써 치료되거나 예방되는 질환으로는 아밀로이드증, 혈우병, 알츠하이머병, 테이삭스병, 니만피크병, 죽상경화증, 거인증, 난장이증, 갑상샘저하증, 갑상샘과대증, 노화, 비만, 파킨슨병, 남성성유증, 근위영양증, 심장질환, 신장 결석, 모세혈관확장성조화운동불증, 가족성 고콜레스테롤혈증, 망막색소상피 변성증, 뒤시엔느 근위영양증, 표피수포증 및 마르팡 증후군을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 한 구체예에서, 질환은 넌센스 변이와 관련된다.

한 구체예에서, 본 발명의 화합물은 자가면역 질환을 치료하거나 예방하는데 유용하다. 한 구체예에서, 자가면역 질환은 넌센스 변이와 관련있다. 바람직한 구체예에서, 자가면역 질환은 류마티스 관절염 또는 이식편대 숙주병이다.

또 다른 구체예에서, 본 발명의 화합물을 혈액 질환을 치료하거나 예방하는데 유용하다. 한 구체예에서, 혈액 질환은 넌센스 변이와 관련있다. 바람직한 구체예에서, 혈액 질환으로는 혈우병, 폰 빌레브란트병, 모세혈관확장성조화운동불증,  $\beta$ -지중해빈혈증 또는 신장 결석이 있다.

또 다른 구체예에서, 본 발명의 화합물을 콜라겐 질환을 치료하거나 예방하는데 유용하다. 한 구체예에서, 콜라겐 질환은 넌센스 변이와 관련있다. 바람직한 구체예에서, 콜라겐 질환으로는 불완전골형성증 또는 경화증이 있다.

또 다른 구체예에서, 본 발명의 화합물은 당뇨병을 치료하거나 예방하는데 유용하다. 한 구체예에서, 당뇨병은 넌센스 변이와 관련있다.

또 다른 구체예에서, 본 발명의 화합물은 염증 질환을 치료하거나 예방하는데 유용하다. 한 구체예에서, 염증 질환은 넌센스 변이와 관련있다. 바람직한 구체예에서, 염증 질환으로는 관절염, 류마티스 관절염 또는 골관절염이 있다.

또 다른 구체예에서, 본 발명의 화합물은 중추신경계 질환을 치료하거나 예방하는데 유용하다. 한 구체예에서, 중추신경계 질환은 넌센스 변이와 관련있다. 한 구체예에서, 중추신경계 질환으로는 퇴행성신경 질환이 있다. 바람직한 구체예에서, 중추신경계 질환으로는 다발성 경화증, 근위영양증, 뒤시엔느 근위영양증, 알츠하이머병, 테이삭스병, 니만피크병, 영아 후기형 신경 세로이드 리포푸스신증 (LINCL) 또는 파킨슨병이 있다.

또 다른 바람직한 구체예에서, 본 발명의 화합물은 특히 인간의 암의 치료 또는 예방에 유용하다. 바람직한 구체예에서, 암은 머리 및 목, 눈, 피부, 구강, 목, 식도, 가슴, 뼈, 혈액, 폐, 대장, S자 결장, 직장, 위, 전립선, 유방, 난소, 신장, 간, 췌장, 뇌, 장, 심장 또는 부신의 암이다. 한 구체예에서, 암은 고형 종양이다. 한 구체예에서, 암은 넢센스 변이와 관련있다. 또 다른 구체예에서, 암은 유전자 넢센스 변이와 관련이 있다. 또 다른 구체예에서, 암은 체세포 변이와 관련이 있다. 이론에 국한되지 않으면서, 암에 대한 본 발명의 화합물의 용도는 p53 유전자의 변이에 대한 이의 작용과 관련이 있을 수 있다.

한 구체예에서, 암은 혈액 암이 아니다. 또 다른 구체예에서, 암은 백혈병이 아니다. 또 다른 구체예에서, 암은 다발골수종이 아니다. 또 다른 구체예에서, 암은 전립선 암이 아니다.

또 다른 바람직한 구체예에서, 본 발명의 화합물은 종양 억제인자 유전자의 변이와 관련된 암을 치료하거나 예방하는데 유용하다. 이러한 유전자로는 PTEN, BRCA1, BRCA2, Rb 및 p53 유전자를 포함하나 이에 제한되지 않는다. 한 구체예에서, 변이는 유전자 변이이다. 또 다른 구체예에서, 변이는 체세포 변이이다. 본 발명의 방법은 특히, 종양 억제인자 유전자에서 넢센스 변이와 관련된 암을 치료하거나 예방하는데 유용하다. 바람직한 구체예에서, 본 발명의 방법은 아포토시스에서 p53의 역할로 인한 p53 유전자와 관련된 암을 치료하거나 예방하는데 특히 유용하다. 이론에 국한되지 않으면서, 아포토시스는 넢센스 변이의 억제를 초래하는 유효량의 본 발명의 화합물을 세포와 접촉시킴으로써 유도될 수 있으며, 이어서 전장 p53이 생성되게 된다. 넢센스 변이는 p53 유전자에서 확인되었으며, 이는 암과 관련이 있다. p53 유전자에서의 여러 넢센스 변이가 확인되었다 (예를 들어, 문헌 [Masuda *et al.*, 2000, Tokai J Exp Clin Med. 25(2):69-77; Oh *et al.*, 2000, Mol Cells 10(3):275-80; Li *et al.*, 2000, Lab Invest. 80(4):493-9; Yang *et al.*, 1999, Zhonghua Zhong Liu Za Zhi 21(2):114-8; Finkelstein *et al.*, 1998, Mol Diagn. 3(1):37-41; Kajiyama *et al.*, 1998, Dis Esophagus. 11(4):279-83; Kawamura *et al.*, 1999, Leuk Res. 23(2):115-26; Radig *et al.*, 1998, Hum Pathol. 29(11):1310-6; Schuyer *et al.*, 1998, Int J Cancer 76(3):299-303; Wang-Gohrke *et al.*, 1998, Oncol Rep. 5(1):65-8; Fulop *et al.*, 1998, J Reprod Med. 43(2):119-27; Ninomiya *et al.*, 1997, J Dermatol Sci. 14(3):173-8; Hsieh *et al.*, 1996, Cancer Lett. 100(1-2):107-13; Rail *et al.*, 1996, Pancreas. 12(1):10-7; Fukutomi *et al.*, 1995, Nippon Rinsho. 53(11):2764-8; Frebourg *et al.*, 1995, Am J Hum Genet. 56(3):608-15; Dove *et al.*, 1995, Cancer Surv. 25:335-55; Adamson *et al.*, 1995, Br J Haematol. 89(1):61-6; Grayson *et al.*, 1994, Am J Pediatr Hematol Oncol. 16(4):341-7; Lepelley *et al.*, 1994, Leukemia. 8(8):1342-9; McIntyre *et al.*, 1994, J Clin Oncol. 12(5):925-30; Horio *et al.*, 1994, Oncogene. 9(4):1231-5; Nakamura *et al.*, 1992, Jpn J Cancer Res. 83(12):1293-8; Davidoff *et al.*, 1992, Oncogene. 7(1):127-33; 및 Ishioka *et al.*, 1991, Biochem Biophys Res Commun. 177(3):901-6] 참조; 이들 문헌은 전체가 본원에 참고문헌으로 인용됨). 상기 참고문헌에 기술된 넢센스 변이를 포함하나 이에 제한되지 않는 조기 번역 코돈을 엔코딩하는 p53 유전자와 관련된 질환은 본 발명의 화합물에 의해 치료되거나 예방될 수 있다.

또 다른 구체예에서, 유효량의 본 발명의 화합물을 환자에 투여함으로써 치료하거나 예방되는 질환으로는 고형 종양 예컨대, 육종, 암종, 섬유육종, 점액육종, 지방육종, 연골육종, 골육종, 척삭종, 혈관육종, 내피육종, 림프관육종, 림프관내피육종, 활막종, 증피종, 유잉육종, 자궁평활근육종, 횡문근육종, 대장암종, 췌장암, 유방암, 난소암, 전립선암, 편평세포 암종, 기저세포 암종, 선암종, 땀샘 암종, 피지선 암종, 유두 암종, 유두 선암종, 낭성암종, 수질성 암종, 기관지 암종, 신세포 암종, 간암, 담관 암종, 용모막암종, 고환종, 배아 암종, 윌름즈 종양, 자궁경부암, 고환종양, 폐 암종, 소세포 폐 암종, 방광 암종, 상피 암종, 신경교종, 별아교세포종, 수모세포종, 두개인두종, 상의세포종, 카포시 육종, 송과체종, 혈관모세포종, 청신경종, 지기신경교종, 수막종, 흑색종, 신경아세포종, 망막모세포종, 블러드-본 (blood-born) 종양 또는 다발골수종을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

또 다른 구체예에서, 유효량의 본 발명의 화합물을 이를 필요로 하는 환자에 투여함으로써 치료하거나 예방되는 질환으로는 블러드-본 종양 예컨대, 급성 림프성모구성 백혈병, 급성 림프성모구성 B-세포 백혈병, 급성 림프성모구성 T-세포 백혈병, 급성 골수아구성 백혈병, 급성 전골수구성 백혈병, 급성 단핵구성 백혈병, 급성 적백혈병성 백혈병, 급성 거핵구성 백혈병, 골수단핵구성 백혈병, 급성 비림프구성 백혈병, 급성 미분형 백혈병, 만성 골구성 백혈병, 만성 림프구성 백혈병, 유모세포 백혈병 또는 다발골수종을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 예를 들어, 문헌 [Harrison's Principles of Internal medicine, Eugene Braunwald *et al.*, eds., pp. 491-762 (15th ed. 2001)] 참조.

또 다른 구체예에서, 본 발명은 고형 종양 또는 혈액 종양에 걸린 인간의 치료법을 포함한다.

바람직한 구체예에서, 본 발명은 조기 번역 종료, 넢센스-매개된 mRNA 붕괴, 또는 조기 번역 종료와 넢센스 매개된 mRNA 붕괴를 조정함으로써 완화되는 질환을 치료하거나 예방하거나, 치료학적 유효량의 본 발명의 화합물을 세포와 접촉시키는 것을 포함하여 상기와 관련된 하나 이상의 증상을 완화시키는 방법을 포함한다. 본 방법에 포함된 세포로는 동물

세포, 포유동물 세포, 박테리아 세포, 및 바이러스 감염된 세포를 포함한다. 한 구체예에서, 넌센스 변이는 유전자 변이이다 (즉, 넌센스 코돈이 원종 DNA에 존재한다). 또 다른 구체예에서, 넌센스 변이는 체세포 변이이다 (즉, 넌센스 코돈이 자연적으로 또는 돌연변이원에 의해 발생한다).

특정 구체예에서, 본 발명의 화합물은 조기 번역 종료, 넌센스-매개된 mRNA 붕괴, 또는 조기 번역 종료와 넌센스-매개된 mRNA 붕괴와 관련된 질환에 대한 예방적 분량으로서 식물, 파충류, 조류, 양서류 또는 바람직하게는, 포유동물, 더욱 바람직하게는 인간을 포함하나 이에 제한되지 않는 피검체에 투여된다.

바람직한 구체예에서, 먼저 환자가 조기 번역 종료 및/또는 넌센스-매개된 mRNA 붕괴와 관련된 질환으로 고통받는지 결정한다. 또 다른 구체예에서, 환자를 허용가능한 넌센스 변이 스크리닝 검정법에 의해 피검체 또는 이로부터 추출된 세포를 스크리닝하는 단계를 포함하는, 넌센스 변이의 존재 여부를 측정하기 위한 스크리닝 공정으로 처리한다. 바람직한 구체예에서, 넌센스 변이가 환자의 DNA중에 존재하는 지를 측정하기 위해, 환자의 DNA는 시퀀싱되거나, 서던 블롯, 숏 탠덤 리피트 (Short Tandem Repeat: STR)를 이용한 중합효소 연쇄 반응 (PCR), 또는 제한효소의 단편길이의 다형성 (RFLP) 검정법으로 처리될 수 있다. 한 구체예에서, 원종 DNA와의 비교에 의해 넌센스 변이가 유전자 변이인지 또는 체세포 변이인지가 결정된다. 대안적으로, 환자에서 넌센스 변이를 갖는 변형된 수준의 단백질이 발현되는지의 여부가 웨스턴 블롯 또는 기타 면역검정법에 의해 측정될 수 있다. 또 다른 구체예에서, 환자는 넌센스 변이의 존재에 대해 자궁내에서 스크리닝 처리된 태아이다. 본 발명의 화합물은 출생 전 또는 후에 투여될 수 있다. 관련된 구체예에서, 환자를 넌센스 변이 스크리닝 검정에 대해 스크리닝하고, 본 발명의 하나 이상의 화합물을 투여함으로써 치료하는 치료법은 개인적이다; 특히, 환자는 예를 들어, 질환의 유형, 세포 유형 및 문제의 유전자에 따라 문제의 변이에 대해 특히 적합한 화합물로 치료될 수 있다. 이러한 방법은 당업자에게 널리 공지되어 있다.

또 다른 구체예에서, 세포 (예를 들어, 동물 세포, 포유동물 세포, 박테리아 세포, 식물 세포 및 바이러스 감염된 세포)는 상기 기술된 바와 같은 방법에 의해 조기 번역 종료 및/또는 넌센스-매개된 mRNA 붕괴에 대해 스크리닝된다 (즉, 넌센스 변이가 세포의 DNA에 존재하는 지의 여부를 측정하기 위해, 세포의 DNA가 시퀀싱되거나, 서던 블롯, STR을 사용한 중합효소 연쇄 반응 (PCR), 또는 RFLP 검정법으로 처리될 수 있다; 세포의 RNA는 전사물 존재비를 측정하기 위해 정량적 실시간 PCR 처리될 수 있다).

본 발명의 특이적 방법은 추가의 치료제 (즉, 본 발명의 화합물 이외의 치료제)의 투여를 포함한다. 본 발명의 특정 구체예에서, 본 발명의 화합물은 하나 이상의 기타 치료제와 함께 사용될 수 있다. 치료제는 비마약성 진통제; 비스테로이드성 항염증제; 스테로이드, 진통제;  $\beta$ -아드레날린성 차단제; 항경련제; 항울제;  $Ca^{2+}$ -채널 차단제; 항암제(들) 및 항생제 및 이들의 혼합물과 함께 사용될 수 있다.

특정 구체예에서, 본 발명의 화합물은 항암제와 함께 투여되거나 제형화될 수 있다. 적합한 항암제로는 알킬화제; 질소 머스터드; 플레이트 안타고니스트; 퓨린 안타고니스트; 피리미딘 안타고니스트; 스피놀 독소; 토포아이조머라아제 억제제; 아포토시스 유도제; 혈관신생 억제제; 포도필로톡신; 니트로소우레아; 시스플라틴; 카르보플라틴; 인터페론; 아스파라기나아제; 타목시펜; 류프롤리드 (leuprolide); 플루타미드; 메게스트롤; 미토마이신; 블레오마이신; 독소루비신; 이리노테칸 및 탁솔을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

특정 구체예에서, 본 발명의 화합물은 항생제와 함께 투여되거나 제형화될 수 있다. 특정 구체예에서, 항생제는 아미노글리코시드 (예를 들어, 토브라마이신), 세팔로스포린 (예를 들어, 세팔렉신, 세프라딘, 세푸록심, 세프프로질, 세파클로, 세피심 또는 세파드록실), 클라리트로마이신 (예를 들어, 클라리트로마이신), 마크로라이드 (예를 들어, 에티트로마이신), 페니실린 (예를 들어, 페니실린 V) 또는 퀴놀론 (예를 들어, 오픈록사신, 시프로플록사신 또는 노르플록사신)이다. 바람직한 구체예에서, 항생제는 슈도모나스 애루기노사 (*Pseudomonas aeruginosa*)에 대해 활성이다.

이론에 국한되지 않으면서, 본 발명의 방법은 넌센스 변이를 억제하는 메커니즘의 조합을 통해 작용한다. 바람직한 구체예에서, 본 발명의 방법은 치료학적 유효량의 본 발명의 하나 이상의 화합물 예를 들어, 화학식 1의 화합물을 투여하는 것을 포함한다. 본 발명의 화합물의 상대적 활성은 본원의 실시예 2에 기술된 검정법을 포함하는 당해분야에 공지된 방법에 의해 측정될 수 있다.

본 발명의 화합물은 시험관내 루시퍼라아제 넌센스 억제 검정으로 특성결정될 수 있다. 루시퍼라아제 검정법은 본 발명의 방법에 포함된다. 루시퍼라아제는 작용성 리포터 유전자 검정법으로서 사용될 수 있으며 (단백질이 작용성일 경우에만 광이 생성됨), 루시퍼라아제는 극도로 민감하다 (광도는 nM 범위의 루시퍼라아제 농도에 비례한다). 한 구체예에서, 본 발명

의 검정법은 세포-기재 루시퍼라아제 리포터 검정법이다. 바람직한 세포-기재 루시퍼라아제 리포터 검정법에서, 조기 종료 코돈 (UGA, UAA 또는 UAG)을 함유하는 루시퍼라아제 리포터 작제물은 293 인간 배아 신장 세포로 안정하게 트랜스펙션된다.

본 발명의 또 다른 검정법에서, 바람직한 검정법은 래빗 망상적혈구 용해체 및 넌센스-함유 루시퍼라아제 리포터 mRNA로 이루어진 생화학 검정법이다. 본 발명의 또 다른 검정법에서, 검정법은 제조되고 최적화된 세포 추출물로 이루어진 생화학 검정법이다 (Lie & Macdonald, 1999, Development 126 (22):4989-4996 및 Lie & Macdonald, 2000, Biochem. Biophys. Res. Commun. 270 (2):473-481). 생화학 검정법에서, 조기 종료 코돈 (UGA, UAA 또는 UAG)를 함유하는 mRNA는 tRNA, 헤민, 크레아틴 키나아제, 아미노산, KOAc, Mg(OAc)<sub>2</sub> 및 크레아틴 포스페이트로 보충된 래빗 망상적혈구 용해체를 사용한 실험관내 번역 반응에 리포터로서 사용된다. mRNA의 번역은 바이러스 유래된 리더 서열내에서 개시되며, 이는 캡핑된 RNA가 요구되지 않기 때문에 검정 비용을 현저하게 감소시킨다. 합성 mRNA는 T7 프로모터 및 메가스크립트 (MegaScript) 실험관내 전사 키트를 사용하여 실험관내에서 제조된다 (Ambion, Inc.; Austin, Texas). 본 발명의 검정법에서, 젠타마이신 즉, 조기 종료 코돈의 리드쓰루(readthrough)를 허용하는 공지된 아미노글리코시드의 첨가는 루시퍼라아제 활성을 증가시키며, 내부 기준으로 사용될 수 있다. 본 발명의 검정법은 고처리량 스크린에 이용될 수 있다. 수십만 화합물들이 본 발명의 세포 기재 생화학 검정법으로 스크리닝될 수 있다. 바람직한 양태에서, 기술된 것과 유사한 작용성 세포-기재 검정법이 있다.

본 발명의 화합물은 조기 종료 코돈을 포함하는 mRNA 분자로부터 특이적인 작용성 단백질 발현을 증가시킬 수 있는 화합물을 포함한다. 한 구체예에서, 본 발명의 화합물은 우선적으로 조기 번역 종료를 억제할 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 화합물은 변이가 UAA를 유도하는 경우 넌센스 변이를 억제할 수 있으나, 변이가 UAG를 유도하는 경우 넌센스 변이를 억제할 수 없다. 변이가 UAA를 유도하고, 이어서 +1 위치에서 시토신이 인-프레임 (in-frame)에 존재하는 경우, 본 발명의 화합물은 넌센스 변이를 억제할 수 있는 반면, 변이가 UAA를 유도하며, 이어서 +1 위치에서 아데닌이 인-프레임에 존재하는 경우 넌센스 변이를 억제할 수 없는 다른 비제한적인 경우가 발생할 수 있다.

UGA 넌센스-함유 루시퍼라아제 유전자를 잠복시키고 있는 안정한 세포주는 시험 화합물로 처리될 수 있다. 본 양태에서, 세포를 1% 페니실린-스트렙토마이신 (P/S) 및 10% 소태 혈청 (FBS)으로 보충된 표준 배지에서 70% 컨플루언스로 성장시키고 처리 전날 1:1로 나눌 수 있다. 다음날, 세포를 티립신화시키고, 40,000 세포를 96-웰 조직 배양 디쉬의 각 웰에 첨가하였다. 각 화합물의 일련의 희석물을 제조하여 2 log에 걸친 6-지점 용량 반응 곡선을 만들었다 (30 $\mu$ M 내지 0.3 $\mu$ M). DMSO 용매의 최종 농도는 각 웰에서 1%로 일정하게 유지된다. 1% DMSO로 처리된 세포는 배경 기준으로서 작용하며, 젠타마이신으로 처리된 세포는 파지티브 대조군으로서 작용한다.

특이적 유전병에서 병형된 mRNA에 대한 넌센스-억제 화합물의 효과를 논의하기 위해, 아미노산 1282 (W1282X)에서 넌센스 코돈이 잠복된 기관지상피세포주를 본 발명의 화합물로 처리하고, SPQ 검정법을 사용한 cAMP-활성화된 클로라이드 채널로서 CFTR 작용을 모니터링할 수 있다 (Yang et al., Hum. Mol. Genet. 2(8):1253-1261 (1993) 및 Howard et al., Nat. Med. 2(4):467-469 (1996)). 본 발명의 화합물로 처리된 세포에서 SPQ 형광의 증가를 cAMP로 처리된 세포 및 미처리된 세포와 비교한다. 세포에서 SPQ 형광의 증가는 CFTR-매개된 할라이드 유출물의 자극 및 넌센스 코돈의 리드쓰루에서의 증가와 일치한다. 본 발명의 화합물로의 처리 후 이러한 넌센스-함유 대립유전자로부터의 전장 CFTR 발현은, 낭성섬유증 세포주가 본 발명의 화합물로 처리되는 경우 클로라이드 채널 활성을 증가시킨다는 것을 입증한다.

#### D. 본 발명의 화합물의 대사물

본원에 기술된 화합물의 생체내 대사 생성물 또한 본 발명의 범위내에 포함된다. 이러한 생성물은 투여된 화합물의 예를 들어, 산화, 환원, 가수분해, 아미드화, 에스테르화 등으로부터 주로 효소 과정에 의해 생성될 수 있다. 따라서, 본 발명은 본 발명의 화합물을 포유동물 조직 또는 포유동물과 이들의 대사 생성물을 생성하기에 충분한 기간 동안 접촉시키는 것을 포함하는 과정에 의해 생성된 화합물을 포함한다. 이러한 생성물은 전형적으로, 본 발명의 방사선-라벨링된 (예를 들어, C<sup>14</sup> 또는 H<sup>3</sup>) 화합물을 제조하고, 이를 검출가능한 용량 (예를 들어, 약 0.5mg/kg 초과)으로 포유동물 예컨대, 래트, 마우스, 기니아 피그, 원숭이 또는 사람에게 투여하고, 대사 발생하기에 충분한 시간을 부여하고 (전형적으로, 약 30초 내지 30시간), 소변, 혈액 또는 기타 생물학적 샘플로부터 이의 전환 생성물을 분리시킴으로써 확인된다. 이들 생성물은 라벨링되어 있기 때문에 용이하게 분리된다 (기타는 대사물중에 생존하는 에피포트에 결합할 수 있는 항체를 사용하여 분리됨). 대사물 구조는 통상적인 양식 예를 들어, MS 또는 NMR 분석에 의해 측정될 수 있다. 일반적으로, 대사물의 분석은 당업자에게 널리 공지된 통상적인 약물 대사 연구와 동일한 방식으로 수행될 수 있다. 전환 생성물이 생체내에서 다르게 밝혀지지 않는 한, 이들이 이들 자체로는 생물학적 활성을 갖지 못하더라도 본 발명의 화합물의 치료학적 투약을 위한 진단 검정에 유용하다.

## E. 본 발명의 약제 조성물

본 발명의 화합물이 순수하게 투여될 수 있지만, 화합물을 약제 조성물로서 제형화시키는 것이 바람직할 수 있다. 이와 같이, 본 발명의 또 다른 양태에서, 본 발명의 방법에 유용한 약제 조성물이 제공된다. 본 발명의 약제 조성물은 특정 투여 방식 및 투여 형태에 따라 약제학적으로 허용되는 부형제 예컨대, 담체, 용매, 안정화제, 애주번트, 희석제 등과 제형화될 수 있다. 약제학적 조성물은 일반적으로, 생리학적으로 양립가능한 pH를 달성하기 위해 제형화되어야 하며, 제형 및 투여 경로에 따라 pH 범위는 약 3 내지 약 11, 바람직하게는 약 3 내지 7이다. 또 다른 구체예에서, 본 발명의 약제 조성물의 pH는 약 4 내지 약 7의 범위로 조절될 수 있다. 대안적 구체예에서, pH를 약 5 내지 약 8의 범위로 조절하는 것이 바람직할 수 있다.

더욱 특히, 본 발명의 약제 조성물은 치료학적 또는 생리학적 유효량의 본 발명의 하나 이상의 화합물과 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함한다. 선택적으로, 본 발명의 약제 조성물은 본 발명의 화합물의 조합물을 포함할 수 있거나, 암, 당뇨병망막증, 또는 삼출성 황반변성의 치료에 유용한 제 2 활성 성분을 포함할 수 있다.

예를 들어, 비경구 또는 경구 투여용의 본 발명의 제형화물은 대부분 전형적으로 고체, 액체, 에멀션 또는 현탁액을 띠며, 폐 투여를 위한 흡입용 제형화물은 일반적으로 액체 또는 분말이며, 분말 제형이 일반적으로 바람직하다. 본 발명의 바람직한 약제 조성물은 또한, 투여된 생리학적으로 양립가능한 용매와 재구성되는 냉동건조된 고형물로서 제형화될 수 있다. 대안적인 본 발명의 약제 조성물은 시럽, 크림, 연고, 정제 등으로 제형화될 수 있다.

본 발명의 약제 조성물은 당해분야에 공지된 약물 전달 경로를 통해 피검체에 투여될 수 있다. 특정한 예시적 투여 경로는 경구, 눈, 직장, 구강, 국부, 비, 안구, 피하, 근내, 정맥내 (알약 및 주입), 뇌내, 피내 및 폐 투여를 포함한다.

용어 "약제학적으로 허용되는 부형제"는 본 발명의 화합물과 같은 약제의 투여를 위한 부형제를 의미한다. 본 용어는 과도한 독성 없이 투여될 수 있는 약제 부형제를 의미한다. 약제학적으로 허용되는 부형제는 부분적으로는, 투여되는 특정 조성물 및 조성물을 투여하기 위해 사용되는 특정 방법에 의해 결정된다. 따라서, 본 발명의 약제 조성물에 대한 매우 다양한 적합한 제형이 존재한다 (예를 들어, 문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences, 18<sup>th</sup> Ed., Mack Publishing Co., 1990] 참조).

적합한 부형제는 크고 느리게 대사되는 거대분자 예컨대, 단백질, 폴리사카라이드, 폴리락트산, 폴리글리콜산, 중합성 아미노산, 아미노산 공중합체, 및 불활성 바이러스 입자를 포함하는 담체 분자일 수 있다. 기타 예시적인 부형제는 항산화제 예컨대, 아스코르브산; 킬레이트화제 예컨대, EDTA; 카르보히드레이트 예컨대, 텍스트린, 히드록시알킬셀룰로오스, 히드록시알킬메틸셀룰로오스, 스테아르산; 액체 예컨대, 오일, 물, 염수, 글리세롤 및 에탄올; 습식화제 또는 에멀션화제; pH 완충 물질; 등을 포함한다. 리포솜이 또한, 약제학적으로 허용되는 부형제의 정의내에 포함된다.

본 발명의 약제 조성물은 의도하는 투여 방법에 적합한 형태로 제형화될 수 있다. 경구 투여하고자 하는 경우, 예를 들어, 정제, 트로키, 로젠지, 수성 또는 유성 현탁액, 비수성 용액, 분산성 분말 또는 과립 (미세화된 입자 또는 나노입자 포함), 에멀션, 경질 또는 연질 캡슐, 시럽 또는 엘릭시르가 제조될 수 있다. 경구 사용을 위한 조성물은 약제 조성물의 제조를 위한 당해분야에 공지된 방법에 따라 제조될 수 있으며, 이러한 조성물은 입에 맞는 제조물을 제공하기 위해 감미제, 향미제, 착색제 및 방부제를 포함하는 하나 이상의 제제를 함유할 수 있다.

정제와 함께 사용하는데 특히 적합한 약제학적으로 허용되는 부형제는 예를 들어, 불활성 희석제 예컨대, 셀룰로오스, 탄산칼슘, 탄산나트륨, 락토오스, 인산칼슘, 인산칼륨; 붕해제 예컨대, 크로스카르멜로스 나트륨, 가교된 포비돈, 옥수수 전분 또는 알긴산; 결합제 예컨대, 포비돈, 전분, 젤라틴 또는 아카시아; 및 윤활제 예컨대, 마그네슘 스테아레이트, 스테아르산 또는 활석을 포함한다. 정제는 코팅처리되지 않거나, 위장관에서의 분해 및 흡수를 지연시켜 더 장기간에 걸쳐 활성을 유지시키기 위해 마이크로캡슐화를 포함하는 공지된 기법에 의해 코팅될 수 있다. 예를 들어, 지연 물질 예컨대, 글리세릴 모노스테아레이트 또는 글리세릴 디스테아레이트는 단독으로 또는 왁스와 함께 사용될 수 있다.

경구 사용을 위한 제형은 또한, 활성 성분이 불활성 고형 희석제 예를 들어, 셀룰로오스, 락토오스, 인산칼슘 또는 카올린과 혼합되는 경우 경질 젤라틴 캡슐로서, 또는 활성 성분이 비수성 또는 유성 매질 예컨대, 글리세린, 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 땅콩유, 액체 파라핀 또는 올리브유와 혼합되는 경우 연질 젤라틴 캡슐로서 존재할 수 있다.

또 다른 구체예에서, 본 발명의 약제 조성물은 현탁액 제조에 적합한 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 부형제와 혼합되는 본 발명의 화합물을 포함하는 현탁액으로서 제형화될 수 있다. 또 다른 구체예에서, 본 발명의 약제 조성물은 적합한 부형제의 첨가에 의해 현탁액 제조에 적합한 분산성 분말 및 과립으로서 제형화될 수 있다.

현탁액과 함께 사용하기에 적합한 부형제는 현탁제 예컨대, 나트륨 카르복시메틸셀룰로오스, 메틸셀룰로오스, 히드록시프로필 메틸셀룰로오스, 나트륨 알기네이트, 폴리비닐피롤리돈, 검 트래거캔스, 검 아카시아, 분산제 또는 습식제 예컨대, 자연적으로 발생하는 포스파티드 (예를 들어, 레시틴), 알킬렌 옥사이드와 지방산의 축합 생성물 (예를 들어, 폴리옥시에틸렌 스테아레이트), 에틸렌 옥사이드와 장쇄 지방족 알코올의 축합 생성물 (예를 들어, 헵타데카에틸렌옥시세탄올), 에틸렌 옥사이드와 지방산 및 헥시톨 무수물로부터 유래된 부분 에스테르와의 축합 생성물 (예를 들어, 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노올레이트); 및 증점제 예컨대, 카르보머, 비스왁스, 경질 파라핀 또는 세틸 알코올을 포함한다. 현탁액은 또한 하나 이상의 방부제 예컨대, 아세트산, 메틸 및/또는 n-프로필 p-히드록시-벤조에이트; 하나 이상의 착색제; 하나 이상의 향미제; 및 하나 이상의 감미제 예컨대, 수크로오스 또는 사카린을 함유할 수 있다.

본 발명의 약제 조성물은 또한, 수중유 에멀션 형태일 수 있다. 오일상은 식물성 오일 예컨대, 올리브 오일 또는 아라키스 오일, 미네랄 오일 예컨대, 액체 파라핀, 또는 이들의 혼합물일 수 있다. 적합한 에멀션화제는 자연 발생 검 예컨대, 검 아카시아 및 검 트래거캔스; 자연 발생 포스파티드 예컨대, 콩 레시틴, 지방산으로부터 유래된 에스테르 또는 부분 에스테르; 헥시톨 무수물 예컨대, 소르비탄 모노올레이트; 및 이러한 부분 에스테르와 에틸렌 옥사이드와의 축합 생성물 예컨대, 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노올레이트를 포함한다. 에멀션은 또한, 감미제 및 향미제를 함유할 수 있다. 시럽 및 엘릭시르는 감미제 예컨대, 글리세롤, 소르비톨 또는 수크로오스와 제형화될 수 있다. 이러한 제형은 또한, 진통제, 방부제, 향미제 또는 착색제를 함유할 수 있다.

또한, 본 발명의 약제 조성물은 멸균의 주입용 제조물 예컨대, 멸균의 주입용 수성 에멀션 또는 유성 현탁액 형태로 존재할 수 있다. 이러한 에멀션 또는 현탁액은 상기 언급된 적합한 분산제 또는 습식제 및 현탁제를 사용하여 공지된 기술에 따라 제형화될 수 있다. 멸균 주입용 제조물은 또한, 비독성의 비경구적으로 허용가능한 희석제 또는 용매중의 멸균 주입용 용액 또는 현탁액, 예컨대, 1,2-프로판-디올중의 용액으로 존재할 수 있다. 또한, 멸균 주입용 제조물은 냉동건조된 분말로 제조될 수 있다. 사용될 수 있는 허용가능한 비히클 및 용매로는 물, 링거 용액 및 등장성 염화나트륨 용액이 있다. 또한, 멸균의 불휘발성유는 용매 또는 현탁 매질로서 사용될 수 있다. 이러한 목적을 위해, 합성 모노- 또는 디글리세리드를 포함하는 부드러운 불휘발성유가 사용될 수 있다. 또한, 지방산 예컨대, 올레산은 마찬가지로 주입용 제조물중에 사용될 수 있다.

일반적으로, 본 발명의 방법에 유용한 본 발명의 화합물은 실질적으로 물중에 불용성이며, 대부분의 약제학적으로 허용되는 양성자성 용매 및 식물성 오일중에 드물게 용해가능하다. 그러나, 본 화합물은 일반적으로 중쇄 지방산 (예를 들어, 카프릴산 및 카프릭산) 또는 트리글리세리드중에 용해성이며, 중쇄 지방산의 프로필렌 글리콜 에스테르중에서는 높은 용해도를 띤다. 예를 들어, 에스테르화, 글리코실화, PEG화 등에 의한 전달에 더욱 적합하게 되도록 (예를 들어, 용해도, 생활성도, 기호도 증가, 부작용 감소 등) 화학적 또는 생화학적 잔기의 치환 또는 부가에 의해 변형된 화합물 또한, 본 발명중에 고려된다.

바람직한 구체예에서, 본 발명의 화합물은 저용해도 화합물에 적합한 지질-기재 제형중에 경구 투여용으로 제형화될 수 있다. 지질-기재 제형은 일반적으로 이러한 화합물의 경구 생체이용율을 향상시킬 수 있다. 이와 같이, 본 발명의 바람직한 약제 조성물은 치료학적 또는 예방학적 유효량의 본 발명의 화합물과 함께 중쇄 지방산 또는 이의 프로필렌 글리콜 에스테르 (예를 들어, 식용성 지방산의 프로필렌 글리콜 에스테르 예컨대, 카프릴 및 카프릭 지방산)으로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 부형제 및 약제학적으로 허용되는 계면활성제 예컨대, 폴리옥실 40 수산화된 캐스터유를 포함한다.

대안적인 바람직한 구체예에서, 시클로텍스트린은 수성의 용해도 증진제로서 첨가될 수 있다. 바람직한 시클로텍스트린은  $\alpha$ -,  $\beta$ -, 및  $\gamma$ -시클로텍스트린의 히드록시프로필, 히드록시에틸, 글루코실, 말토실 및 말토트리오실 유도체를 포함한다. 특히 바람직한 시클로텍스트린 용해도 증진제는 히드록시프로필- $\beta$ -시클로텍스트린 (HPBC)이며, 이는 본 발명의 조성물의 수성 용해도 특성을 추가로 증진시키기 위해 상기 기술된 조성물에 첨가될 수 있다. 한 구체예에서, 본 조성물은 0.1% 내지 20%의 히드록시프로필- $\beta$ -시클로텍스트린, 더욱 바람직하게는 1% 내지 15%의 히드록시프로필- $\beta$ -시클로텍스트린, 심지어 더욱 바람직하게는 2.5% 내지 10%의 히드록시프로필- $\beta$ -시클로텍스트린을 포함한다. 사용된 용해도 증진제의 양은 조성물중의 본 발명의 화합물의 양에 따라 좌우될 것이다.



본원에 사용된 바와 같은 치료학적 유효량은 확인된 질환 또는 상태를 치료하거나, 개선시키거나 완화시키거나, 검출가능한 치료학적 효과 또는 억제 효과를 나타내는 본 발명의 약제 조성물의 양을 의미한다. 이러한 효과는 예를 들어, 본 발명의 검정법에 의해 검출될 수 있다. 또한, 이러한 효과는 질환 또는 상태가 개체 또는 높은 비율의 군집에 대해 예상되는 경우 질환 또는 상태를 예방할 수 있다.

피검체에 대한 정확한 유효량은 피검체의 체중, 크기 및 건강상태; 질환의 특성 및 정도; 투여를 위해 선택된 치료제 또는 복합 치료제, 단백질 반감기, mRNA 반감기 및 단백질 국소화에 따라 좌우될 것이다. 제공된 상황에서의 치료학적 유효량은 임상학자의 기술 및 판단하의 일정한 실험에 의해 결정될 수 있다.

화합물에 있어서, 치료학적 유효량은 동물 모델 일반적으로, 래트, 마우스, 래빗, 개 또는 돼지에서, 또는 예를 들어, 신생 세포의 세포 배양 검정으로 초기에 판단될 수 있다. 동물 모델은 또한, 적합한 농도 범위 및 투여 경로를 결정하는데 사용될 수 있다. 그 후, 이러한 정보는 사람에게 투여를 위한 유용한 용량 및 경로를 결정하는데 이용될 수 있다. 치료학적/예방학적 효력 및 독성은 세포 배양 또는 실험 동물의 표준 약제 과정에 의해 예를 들어, ED<sub>50</sub> (군집의 50%에 치료학적으로 유효한 용량) 및 LD<sub>50</sub> (군집의 50%를 치사하는 용량)에 의해 측정될 수 있다. 독성 및 치료학적 효과 사이의 용량 비는 치료학적 지수가 되며, 비 LD<sub>50</sub>/ED<sub>50</sub>로 나타낼 수 있다. 큰 치료학적 지수를 나타내는 약제 조성물이 바람직하다. 세포 배양 검정 및 동물 연구로부터 수득된 데이터는 사람에게 사용하기 위한 투여량 범위를 처방하는데 이용될 수 있다. 이러한 조성물 중에 함유된 투여량은 바람직하게는, 독성을 거의 나타내지 않거나 전혀 나타내지 않는 ED<sub>50</sub>을 포함하는 순환 농도 범위 내에 있다. 투여량은 사용된 투약 형태, 환자 민감도 및 투여 경로에 따라 좌우되는 범위내에서 변할 수 있다.

더욱 특별하게는, 본 발명의 화합물에 대해 관찰된 농도-생물학적 효과 관계는 약 5 $\mu$ g/mL 내지 약 100 $\mu$ g/mL, 바람직하게는 약 10 $\mu$ g/mL 내지 약 50 $\mu$ g/mL, 더욱 바람직하게는 약 10 $\mu$ g/mL 내지 약 25 $\mu$ g/mL의 초기 표적 혈장 농도 범위를 나타낸다. 이러한 혈장 농도를 달성하기 위해, 본 발명의 화합물은 투여 경로에 따라 1mg/kg 내지 150mg/kg의 투여량으로 투여될 수 있다. 특정 투여량 및 전달 방법에 대한 지침은 문헌에 제공되며, 일반적으로 당업자가 이용가능하다. 일반적으로, 용량은 약 40 내지 약 100kg 체중의 환자에 대해 단일 용량, 분할 용량 또는 연속 용량으로 약 1mg/일 내지 약 10g/일, 또는 약 0.1g 내지 약 3g/일, 또는 약 0.3g 내지 약 3g/일, 또는 약 0.5g 내지 약 2g/일일 것이다 (이러한 용량은 상기 체중을 초과하거나 미만이 환자 특히, 40kg 미만의 어린이에 대해 조절될 수 있다).

그러나, 급성 또는 만성 질환 또는 상태에서 본 발명의 특정한 활성 성분의 예방학적 또는 치료학적 용량의 범위는 질환 또는 상태의 특성 및 중증도, 및 활성 성분이 투여되는 경로에 따라 변할 것이다. 용량 및 아마도, 투여 빈도 또한, 개별 환자의 연령, 체중 및 반응에 따라 변할 것이다. 적합한 투여 요법은 이러한 인자를 적당히 고려하여 당업자에게 용이하게 선택될 수 있다. 일반적으로, 본원에 기술된 상태에 대해 권고되는 일일 용량 범위는 일일당 약 1mg/kg 내지 약 150mg/kg이다. 한 구체예에서, 본 발명의 화합물을 1일-1회 단일 용량으로 제공된다. 또 다른 구체예에서, 본 발명의 화합물을 하루에 걸쳐 분할된 용량으로 제공된다. 더욱 특히, 1일 용량은 단일 용량 또는 동일하게 분할된 용량으로 투여된다. 바람직하게는, 1일 용량은 1일당 약 5mg/kg 내지 약 100mg/kg, 더욱 바람직하게는 약 10mg/kg 내지 약 90mg/kg, 더욱 바람직하게는 20mg/kg 내지 60mg/kg이어야 한다. 환자 치료에 있어서, 치료는 환자의 전체적인 반응에 따라 단일 용량 또는 분할 용량으로서 더 낮은 용량, 아마도 1일당 약 200mg 내지 약 300mg으로 시작되어, 필요에 따라 1일당 약 600mg 내지 약 4000mg으로 증가되어야 한다. 본원에 기술된 범위 이외의 투여량의 활성 성분을 사용해야 할 수 있으며, 이는 당업자에게 자명할 것이다. 게다가, 임상학자 또는 치료 의사는 개별 환자 반응과 연계하여 어떻게 그리고, 언제 치료를 중단하거나, 조정하거나 종료해야 하는지 알 것이다.

본원에 사용된 바와 같은 용어 "치료학적 유효량", "예방학적 유효량" 및 "치료학적 또는 예방학적 유효량"은 상기 기술된 투여량 및 투여 빈도 스케줄을 포함한다. 상이한 치료학적 유효량은 상이한 질환 및 상태에 대해 적용가능하며, 이는 당업자에 의해 용이하게 인지될 것이다. 유사하게는, 이러한 질환을 치료하거나 예방하기에 충분하나, 통상적인 치료법과 관련된 부작용을 초래하는데 불충분하거나, 이러한 부작용을 감소시키는데 충분한 양은 또한, 상기 기술된 투여량 및 투여 빈도 스케줄에 포함된다.

정확한 투여량은 치료가 요망되는 피검체와 관련된 요소의 관점에서 의사에 의해 결정될 것이다. 투여량 및 투여는 충분한 수준의 활성제(들)를 제공하거나, 목적하는 효과를 유지하기 위해 조절된다. 고려될 수 있는 요소로는 질환 상태의 중증도, 피검체의 일반적인 건강 상태, 피검체의 연령, 체중 및 성별, 식이요법, 시간, 단백질의 해당 반감기, RNA의 해당 반감기, 투여 빈도, 약물 조합, 반응 민감도 및 치료에 대한 내성/반응성을 포함한다. 장기간 작용하는 약제 조성물은 반감기 및 특정 제형의 제거율에 따라 3 내지 4일마다, 매주, 또는 2주마다 1회씩 투여될 수 있다.

## F. 복합 치료법

치료가 필요한 환자에 동시 또는 연속 투여하기 위한 단일 투여 형태 또는 분리 투여 형태의 화합물을 포함하는, 본원에 기술된 바와 같은 mRNA의 넌센스 변이와 관련된 질환의 치료에 유용한 하나 이상의 기타 활성 성분과 본 발명의 화합물을 조합시키는 것이 또한 가능하다. 연속 투여의 경우, 조합물은 2회 이상으로 투여될 수 있다. 대안적인 구체예에서, 본 발명의 하나 이상의 화합물과 하나 이상의 추가적인 활성 성분을 상이한 경로로 투여하는 것이 가능하다.

다양한 활성 성분이 본 발명의 화합물과 함께 투여될 수 있으며, 이는 본 발명의 화합물의 넌센스 변이-억제 활성을 증대시키거나 상호의존적으로 향상시킬 수 있음을 담당자는 인지할 수 있을 것이다.

본 발명의 방법에 있어서, 활성 성분의 조합물은 (1) 조합된 제형으로 공동-제형화되어, 동시에 투여되거나 전달되거나; (2) 별도의 제형으로 교대로 또는 나란히 전달되거나; (3) 당해분야에 공지된 기타 복합 치료법에 따를 수 있다. 교대 치료법으로 전달되는 경우, 본 발명의 방법은 활성 성분을 연속적으로 예를 들어, 분리된 용액, 에멀션, 현탁액, 정제, 필 또는 캡슐로 또는 별도의 주사기로의 각각의 주입에 의해 투여하거나 전달하는 것을 포함할 수 있다. 일반적으로 교대 치료법 동안, 유효량의 각 활성 성분이 연속적으로 즉, 일련으로 투여되는 반면, 동시 치료법에서는, 유효량의 2개 이상의 활성 성분이 함께 투여된다. 다양한 순서의 간헐적 복합 치료법이 또한 이용될 수 있다.

## G. 유전자 치료법

본 발명의 화합물 또는 기타 넌센스 화합물이 유전자 치료법과 함께 이용될 수 있다. 이러한 구체예에서, 유전자는 목적하는 유전자에 특이적인 넌센스 변이를 갖는 포유동물 바람직하게는, 사람에 유입되거나 제공될 수 있다. 바람직한 양태에서, 목적하는 유전자는 IGF1, EPO, p53, p19ARF, p21, PTEN, EI 24 및 ApoAI로 구성된 군으로부터 선택된다. 환자 또는 포유동물에서 전장 폴리펩티드의 발현을 수득하기 위해, 이러한 폴리펩티드가 요망되는 경우, 환자 또는 포유동물에 본 발명의 유효량의 화합물 또는 기타 넌센스 화합물이 제공될 것이다.

환자 세포로 넌센스 변이를 함유하는 핵산 (선택적으로 벡터에 함유됨)을 유입시키기 위한 두가지 주요 기법이 있다: 생체 내 및 생체 외. 생체 내 전달에 있어서, 핵산은 일반적으로 폴리펩티드가 요망되는 부위, 즉 공지되어 있는 경우 폴리펩티드 합성 부위 및 폴리펩티드의 생활성이 요망되는 부위 (예를 들어, 고형 종양)로 환자에 직접적으로 주입된다. 생체 외 처리에 있어서, 환자 세포를 제거하고, 핵산을 이러한 단리된 세포에 유입시키고, 변형된 세포를 환자에 직접적으로 투여하거나, 또는 예를 들어, 환자에 이식되는 다공성 막내에 캡슐화되어 투여된다 (예를 들어, U.S. 특허 4,892,538 및 5,283,187 참조). 핵산을 생육가능한 세포로 유입시킬 수 있는 다양한 기법이 존재한다. 기법은 핵산이 실험관내에서 배양 세포로 이동되는지, 또는 의도된 숙주의 세포로 생체 내 이동되는지의 여부에 따라 변한다. 핵산을 포유동물 세포로 실험관내 이동시키는 데 적합한 기법은, 리포솜의 사용, 일렉트로포레이션, 미세주입, 트랜스덕션, 세포 융합, DEAE-텍스트란, 칼슘 포스페이트 침점 방법 등을 포함한다. 트랜스덕션은 복제 결핍 재조합 바이러스 (바람직하게는, 레트로바이러스) 입자를 세포 수용체와 회합시키고, 입자에 함유된 핵산을 세포에 유입시키는 것을 포함한다. 유전자의 생체 외 전달을 위해 일반적으로 사용되는 벡터는 레트로바이러스이다.

현재 바람직한 생체 내 핵산 이동 기법은 바이러스 또는 비바이러스 벡터 (예컨대, 아데노바이러스, 렌티바이러스, 헤르페스 심플렉스 I 바이러스, 또는 아데노-결합된 바이러스 (AAV)) 및 지질-기재 시스템 (유전자의 지질-매개된 이동에 유용한 지질은 예를 들어, DOTMA, DOPE, 및 DE-Chol이 있다; 예를 들어, 문헌 [Tonkinson et al, Cancer Investigation, 14 (1): 54-65 (1996)] 참조)으로의 트랜스펙션을 포함한다. 유전자 치료법에 사용하기 위한 가장 바람직한 벡터는 바이러스, 가장 바람직하게는, 아데노바이러스, AAV, 레티바이러스 또는 레트로바이러스이다. 바이러스 벡터 예컨대, 레트로바이러스 벡터는 하나 이상의 전사 프로모터/인핸서 또는 로코스-한정 엘리먼트(들), 또는 기타 수단 예컨대, 교체 스플라이싱, 핵 RNA 엑스포트, 또는 메신저의 번역후 변형에 의한 유전자 발현을 조정하는 기타 엘리먼트를 포함한다. 또한, 바이러스 벡터 예컨대, 레트로바이러스 벡터는 핵산 서열을 포함하며, 이는 폴리펩티드를 엔코딩하는 유전자로 전사되는 경우, 코딩 서열에 작동적으로 연결되며, 번역 개시 서열로서 작동한다. 이러한 벡터 구성물은 또한, 패키징 시그널, 긴 말단 반복부 (LTR) 또는 이의 일부, 및 사용된 바이러스에 적합한 과지티브 및 네거티브 스트랜드 프라이머 결합 부위 (바이러스 벡터에 이미 존재하지 않는 경우)를 포함한다. 또한, 이러한 벡터는 전형적으로, 이것이 위치하는 숙주세포로부터 폴리펩티드를 분비시키기 위한 시그널 서열을 포함한다. 바람직하게는, 이러한 목적을 위한 시그널 서열은 포유동물 시그널 서열, 가장 바람직하게는, 폴리펩티드에 대한 네거티브 시그널 서열이다. 선택적으로 벡터 작제물은 또한 폴리아데닐화를 유도하는 시그널, 및 하나 이상의 제한 부위 및 번역 종료 서열을 포함할 수 있다. 예를 들어, 이러한 벡터는 전형적으로, 5' LTR, tRNA 결합 부위, 패키징 시그널, 이차-스트랜드 DNA 합성 오리진, 및 3' LTR 또는 이의 일부를 포함할 것이다. 비바이러스인 기타 벡터 예컨대, 양이온성 지질, 폴리리신 및 덴드리머가 사용될 수 있다.

일부 상황에서, 표적 세포를 표적화시키는 제제를 갖는 핵산 공급원, 예컨대, 세포-표면 막 단백질 또는 표적 세포에 대해 특이적인 항체, 표적 세포상의 수용체에 대한 리간드 등을 제공하는 것이 바람직하다. 리포솜이 사용되는 경우, 엔도사이토시스와 관련된 세포-표면 막 단백질에 결합하는 단백질이 예를 들어, 특정 세포 유형에 대해 자극적인 캡시드 단백질 또는 이의 단편, 순환시 내부화되는 단백질에 대한 항체, 및 세포내 국소화를 표적으로 하고, 세포내 반감기를 증대시키는 단백질을 표적화시키고/거나 이의 흡수를 촉진하는데 사용될 수 있다. 수용체-매개된 엔도사이토시스 기법이 예를 들어, 문헌 [Wu et al., J.Biol.Chem. 262:4429-4432 (1987); 및 Wagner et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87:3410-3414 (1990)]에 기술되어 있다. 현재 공지된 유전자 마킹 및 유전자 치료 프로토콜을 검토하는데 있어서는 문헌 [Anderson et al., Science 256:808-813 (1992)]을 참조하시오. 또한, WO 93/25673 및 본원에 인용된 참고 문헌 참조.

적합한 유전자 치료법 및 레트로바이러스 입자 및 구조 단백질을 제조하는 방법은 예를 들어, U.S. 특허 5,681,746; 6,800,604 및 6,800,731에서 찾아볼 수 있다.

본 발명의 이해를 돕기 위해, 하기 실시예가 포함된다. 본 발명에 대한 실험은 물론, 본 발명의 특정하게 제한하기 위해서 제공된 것은 아니며, 당업자의 이해범위내에 있는 본 발명의 현재 공지되었거나 나중에 개발될 이러한 변형이 본원에 기술된 본 발명의 범위 및 이후의 청구범위내에 포함되는 것으로 간주된다.

## 실시예

본 발명은 하기 비제한적인 실시예를 참조로 하여 더욱 상세히 기술되어 있으며, 하기 실시예는 본 발명을 더욱 충분히 설명하고자 제공된 것이며, 본 발명의 범위를 한정하고자 하는 것은 아니다. 이러한 실시예는 본 발명의 특정 화합물의 제법, 이들 화합물의 실험관내 및/또는 생체내 실험을 나타낸다. 당업자는, 이러한 실시예에 기술된 기법이 본 발명을 잘 실시할 수 있도록 발명자에 의해 기술된 기법, 및 본 발명의 실시예 바람직한 구성 모드를 나타낸다는 것을 인지할 수 있을 것이다. 그러나, 본 기재의 관점에서 당업자는 기술된 특이적 방법에 많은 변화가 있을 수 있으며, 본 발명의 사상 및 범위로부터 이탈되지 않으면서 유사한 결과를 얻을 수 있음을 인지해야 한다.

### 실시예 1: 본 발명의 화합물의 제법

#### A. 3,5-트리아진의 제법

화학식 1-A 및 2-A의 트리아진은 하기와 같이 반응식 A에 따라 일반적으로 제조될 수 있다.

#### 3-(4-p-톨릴-[1,3,5] 트리아진-2-일)벤조산 (화합물 43)의 제조

파트 A. 10 mL 마이크로웨이브 튜브에 4-메틸벤즈아미드 (0.99 g, 7.32 mmol) 및 N,N-디메틸포름아미드 디메틸 아세탈 (2.23 g, 18.67 mmol)을 첨가하였다. 튜브를 150℃로 250 psi, 300 W에서 10분 동안 가열하였다. 에테르/헥산 (1:1)을 첨가하여 백색 고형물을 침전시켰다. 목적하는 생성물 (1.26 g, 91% 수율)을 여과에 의해 모으고, 헥산으로 세척하였다. 수득된 화합물, N-디메틸아미노메틸렌-4-메틸-벤즈아미드는 LC-MS로 측정시 순도가 90%를 초과하였다. MS (ES<sup>+</sup>): m/e 191.17.

파트 B. 메틸렌 클로라이드 (15 mL)중의 tert-부탄올 (3.50 g, 47.22 mmol), 피리딘 (3.72 g, 46.78 mmol) 및 촉매적 DMAP의 혼합물에 메틸렌 클로라이드 (10 mL)중의 3-시아노벤조일 클로라이드 (6.81 g, 41.07 mmol) 및 피리딘 (3 mL)을 0℃에서 적가하였다. 생성 혼합물을 실온에서 20h 동안 교반하였다. 용매를 증발시키고, 잔류물을 플래쉬 크로마토그래피 (1:1 메틸렌 클로라이드/헥산)에 의해 정제하여 3-시아노-벤조산 tert-부틸 에스테르 (6.84 g, 82.1% 수율)를 백색 고형물로서 수득하였다.

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.24 (1H, s), 8.20 (1H, dd, J = 7.9, 1.2 Hz),

7.78 (1H, dd, J = 6.7, 1.1 Hz), 7.52 (1H, m), 1.58 (9H, s).

파트 C. 15 mL의 THF (무수물)중의 3-시아노-벤조산 tert-부틸 에스테르 (6.54 g, 31.98 mmol) 용액에 N<sub>2</sub>의 보호하에 리튬 헥사메틸디실라잔 (8.65 g, 51.17 mmol, THF중의 1.0 M)을 첨가하였다. 출발 물질이 소모될 때 까지 (TLC에 의해 모니터링) 용액을 실온하에 3h 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 THF (120 mL)중의 실리카 겔 (80 g) 슬러리에 붓고, 5분

동안 교반시킨 후, 실리카 겔을 여과하였다. 추가로, 필터 케이크를 THF/메탄올 (2:1)로 세척하였다. 여과물을 증발시키고, 진공하에 잔류물을 결정화시켜 목적 생성물 3-카르바미미도일-벤조산 tert-부틸 에스테르 (5.80 g, 82.5% 수율)을 수득하였다. 수득된 화합물은 LC-MS로 측정시 순도가 90%를 초과하였다. MS (ES<sup>+</sup>): *m/e* 212.20.

파트 D. 무수성 아세트산 (8 mL)중의 N-디메틸아미노메틸렌-4-메틸-벤즈아미드 (221.9 mg, 1.15 mmol) 및 3-카르바미미도일-벤조산 tert-부틸 에스테르 (196.0 mg, 0.89 mmol)의 혼합물을 115°C로 150 W, 250 psi에서 마이크로웨이브 반응기중에서 30분 동안, TLC에 의해 출발 물질의 완전한 소모가 확인될 때 까지 가열하였다. 백색 고형물을 1N HCl을 첨가하여 침전시키고, 여과에 의해 모으고, 물 및 헥산으로 세척하였다. 수득된 고형물을 추가로, 메탄올/메틸렌 클로라이드 (1: 20)로 용리시킨 플래쉬 칼럼 크로마토그래피에 의해 정제하여 표제 생성물 (23.1 mg, 5.3% 수율), m.p. 298-300 °C을 수득하였다.

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 9.40 (1H, s), 8.63 (2H, d, J = 8.3 Hz), 8.48 (2H, d, J = 8.0 Hz), 8.13 (2H, d, J = 8.0 Hz), 7.41 (2H, m), 2.41 (3H, s). MS (ES<sup>+</sup>): *m/e* 292.30.

실시에 A의 상기 기술된 방법은 본 발명의 하기 화합물을 제조하는데 사용될 수 있다:

#### 화합물 44

3-[4-(4-플루오로-페닐)-[1,3,5]트리아진-2-일]-벤조산:

m.p. 266-269 °C. <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 9.43 (1H, s), 9.08 (1H, s), 8.77 (1H, dd, J = 6.1, 0.9 Hz), 8.62 (2H, m), 8.20 (1H, dd, J = 6.2, 1.0 Hz), 7.74 (1H, m), 7.43 (2H, m). MS (ES<sup>+</sup>): *m/e* 297.25 (20), 296.28 (100). MS (ES<sup>-</sup>): *m/e* 295.24 (20), 294.26 (100).

#### 화합물 45

3-[4-(4-에톡시-페닐)-[1,3,5]트리아진-2-일]-벤조산:

m.p. 269-272 °C. <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 9.33 (1H, s), 9.09 (1H, s), 8.74 (1H, dd, J = 7.4, 1.0 Hz), 8.50 (2H, d, J = 8.8 Hz), 8.20 (1H, dd, J = 6.4, 0.8 Hz), 7.71 (1H, t, J = 7.9 Hz), 7.13 (2H, d, J = 8.8 Hz), 4.14 (2H, q, J = 6.6 Hz), 1.36 (3H, t, J = 6.8 Hz). MS (ES<sup>+</sup>): *m/e* 323.30 (20), 322.33 (100). MS (ES<sup>-</sup>): *m/e* 321.30 (20), 320.28 (100).

#### 화합물 46

4-(4-p-톨릴-[1,3,5]트리아진-2-일)-벤조산:

m.p. 288-290 °C. <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 9.41 (1H, s), 8.65 (2H, d, J = 8.5 Hz), 8.47 (2H, d, J = 8.3 Hz), 8.13 (2H, d, J = 8.5 Hz), 7.42 (2H, d, J = 8.3 Hz), 2.06 (3H, s). MS (ES<sup>+</sup>): *m/e* 293.31 (20), 292.30 (100). MS (ES<sup>-</sup>): *m/e* 291.28 (20), 290.30 (100).

#### 화합물 47

4-[4-(4-플루오로-페닐)-[1,3,5]트리아진-2-일]-벤조산:

m.p. 295-298 °C. <sup>1</sup>H

NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 9.44 (1H, s), 8.65 (4H, m), 8.13 (2H, d, J = 8.3 Hz), 7.45 (2H, m). MS (ES<sup>+</sup>): *m/e* 297.24 (20), 296.22 (100). MS (ES<sup>-</sup>): *m/e* 295.23 (20), 294.21 (100).

화합물 48

3-[4-(4-메톡시-페닐)-[1,3,5]트리아진-2-일]-벤조산:

m.p. 307-309 °C. MS

(ES<sup>+</sup>): *m/e* 309.27 (20), 308.26 (100). MS (ES<sup>-</sup>): *m/e* 307.26 (20), 306.25 (100).

화합물 49

3-[4-(3-플루오로-페닐)-[1,3,5]트리아진-2-일]-벤조산:

m.p. 273-276 °C. <sup>1</sup>H

NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 9.49 (1H, s), 8.68 (2H, m), 8.43 (1H, dd, J = 7.7, 1.1 Hz), 8.31 (1H, dd, J = 8.8, 1.4 Hz), 8.14 (2H, m), 7.67 (1H, m), 7.55 (1H, m). MS (ES<sup>+</sup>): *m/e* 297.27 (20), 296.25 (100). MS (ES<sup>-</sup>): *m/e* 295.26 (20), 294.24 (100).

화합물 50

3-[4-(4-트리플루오로메틸-페닐)-[1,3,5]트리아진-2-일]-벤조산:

m.p. 290-293

°C. <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 9.53 (1H, s), 8.67 (2H, d, J = 8.3 Hz), 8.52 (2H, m), 8.11 (2H, m), 7.97 (2H, d, J = 8.3 Hz). MS (ES<sup>+</sup>): *m/e* 347.23 (20), 346.22 (100). MS (ES<sup>-</sup>): *m/e* 345.21 (20), 344.24 (100).

화합물 51

3-[4-(3-메톡시-페닐)-[1,3,5]트리아진-2-일]-벤조산:

m.p. 227-229 °C. <sup>1</sup>H

NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 9.44 (1H, s), 8.65 (2H, m), 8.15 (3H, m), 8.06 (1H, s), 7.54 (1H, t, J = 7.7 Hz), 7.24 (1H, dd, J = 8.0, 1.2 Hz), 3.87 (3H, s). MS (ES<sup>+</sup>): *m/e* 309.27 (20), 308.26 (100). MS (ES<sup>-</sup>): *m/e* 307.26 (20), 306.23 (100).

## 화합물 53

4-[4-(4-메톡시-페닐)-[1,3,5]트리아진-2-일]-벤조산:

m.p. >300 °C.  $^1\text{H}$ 

NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  9.35 (1H, s), 8.64 (2H, d,  $J = 8.5$  Hz), 8.53 (2H, d,  $J = 8.9$  Hz), 8.12 (2H, d,  $J = 8.5$  Hz), 7.13 (2H, d,  $J = 8.9$  Hz), 3.87 (3H, s). MS (ES+):  $m/e$  309.27 (20), 308.26 (100). MS (ES-):  $m/e$  307.26 (20), 306.25 (100).

B. 4,2-피리미딘의 제조

본 발명의 피리미딘은 일반적으로 하기와 같은 반응식 B에 따라 제조될 수 있다.

*3-[2-(4-아미노-페닐)-피리미딘-4-일]-벤조니트릴 (화합물 1)의 제조*

파트 A. 순수한 에탄올 (10 mL)을 함유하는 플라스크를 0°C로 냉각시키고, 수소화나트륨 (42 mg, 광유를 갖는 60% w/w, 1.05 mmol)을 첨가하였다. 0.5h 동안 교반시킨 후, 용액을 4-아미노벤즈아미딘 디히드로클로라이드 (104 mg, 0.50 mmol)로 처리하고, 혼합물을 5분 동안 교반시켰다. 그 후, 3-(3-디메틸아미노-아크릴로일)-벤조니트릴 (100 mg, 0.50 mmol)을 첨가하고, 생성 혼합물을 3h 동안 가열 환류시킨 후, 실온으로 냉각시키고, 60h 동안 교반하였다. 혼합물을 증발시키고, 생성 혼합물을 디에틸 에테르와 분쇄하고, 여과하였다. 여과물을 증발시켜 황색 오일을 제공하고, 이를 칼럼 크로마토그래피 (1:1 에틸 아세테이트-헥산)에 의해 분리하여, 생성물 3-[2-(4-아미노-페닐)-피리미딘-4-일]-벤조니트릴 (76 mg, 56%)을 제공하였다.

 $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.93-8.90

(2H, m), 8.44 (1H, s), 8.21-8.19 (2H, m), 7.89 (1H, d,  $J = 7$  Hz), 7.64 (1H, t,  $J = 8$  Hz), 7.61 (2H, d,  $J = 9$  Hz), 7.39 (2H, d,  $J = 9$  Hz), 3.00 (1H, heptet,  $J = 7$  Hz), 1.30 (6H, d,  $J = 7$  Hz). MS (ES+):  $m/e$  319 (22), 318 (100).

*3-[2-(4-이소프로필-페닐)-피리미딘-4-일]-벤즈아미드 (화합물 4)의 제조*

3-[2-(4-이소프로필-페닐)-피리미딘-4-일]-벤조니트릴 (50 mg, 0.167 mmol) 및 aq.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (257  $\mu\text{L}$ , 0.65 M)의 혼합물을 70°C로 12h 동안 가열하였다. 혼합물을 냉각시키고, 수성 수산화나트륨 (1 M)으로 pH7로 조절하였다. 혼합물을 물과 에틸 아세테이트로 분할하고, 유기층을 포화된 염화나트륨 수용액으로 세척하고, 황산마그네슘으로 건조시키고, 여과하고, 증발시켜 표제 화합물을 백색 결정질 고형물 (52 mg, 98%), m.p. 167-169 °C로서 수득하였다.

 $^1\text{H}$  NMR (300

MHz, 아세톤- $d_6$ ):  $\delta$  8.91 (1H, d,  $J = 6$  Hz), 8.87 (1H, t,  $J = 2$  Hz), 8.54 (2H, d,  $J = 9$  Hz), 8.52 (1H, ddd,  $J = 8, 2, 1$  Hz), 8.15 (1H, ddd,  $J = 8, 2, 1$  Hz), 7.93 (1H, d,  $J = 6$  Hz), 7.80 (1H, br s), 7.68 (1H, t,  $J = 8$  Hz), 7.41 (2H, d,  $J = 9$  Hz), 6.96 (1H, br s), 3.01 (1H, heptet,  $J = 7$  Hz), 1.30 (6H, d,  $J = 7$  Hz).  $^{13}\text{C}$  NMR (아세톤- $d_6$ ):  $\delta$  205.9, 168.4, 164.8, 163.4, 159.0, 152.4, 137.8, 136.2, 135.9, 130.6 (2C), 129.7, 128.9, 127.2 (2C), 126.8, 115.4, 34.7, 24.1 (2C). MS (ES+):  $m/e$  319 (25), 318 (100).

*4-[2-(4-이소프로필-페닐)-피리미딘-4-일]-벤조산 (화합물 5)의 제조*

파트 A. 에탄올 (5 mL) 중의 메틸 4-아세틸벤조에이트 (1.00 g, 5.61 mmol) 및 디메틸포름아미드 디메틸 아세탈 (746  $\mu$ L, 5.61 mmol) 용액을 12h 동안 가열하여 환류시켰다. 용액을 냉각시키고, 증발시키고, 잔류물을 칼럼 크로마토그래피에 의해 분리하여 생성물을 4-(3-디메틸아미노-아크릴로일)벤조산의 메틸 및 에틸 에스테르의 혼합물 (679 mg)로서 수득하였다. 이러한 물질의 일부 (121 mg)를 에탄올 (5 mL) 중에 용해시키고, 4-이소프로필-벤즈아미딘 (81 mg)으로 처리하였다. 용액을 12h 동안 가열 환류하고, 냉각시키고, 셀라이트로 여과시키고 증발시켰다. 잔류물을 칼럼 크로마토그래피 (실리카 겔, 1:4 에틸 아세테이트-헥산)로 분리하여 생성물 에틸 4-[2-(4-이소프로필-페닐)-피리미딘-4-일]-벤조에이트를 제공하였다.

파트 B. THF-물-에탄올 (2 mL/2 mL/1 mL) 중의 에틸 4-[2-(4-이소프로필-페닐)-피리미딘-4-일]-벤조에이트 용액을 리튬 히드록시드 수화물 (60 mg)로 처리하고, 12h 동안 교반하였다. 용액을 증발시키고, 잔류물을 1 M aq. HCl 및 에틸 아세테이트로 분할하였다. 유기상을 물 (20 mL)로 세척하고, 황산마그네슘으로 건조시키고, 여과하고 증발시켜 표제 화합물을 백색 고형물 (65 mg, 41%), m.p. 262-264 °C로서 제공하였다.

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz, acetone- $d_6$ ):  $\delta$  8.96 (1H, d, J = 6 Hz), 8.48 (2H, d, J = 9 Hz), 8.23 (2H, d, J = 9 Hz), 8.12 (2H, d, J = 9 Hz), 7.98 (1H, d, J = 6 Hz), 7.44 (2H, d, J = 9 Hz), 3.02 (1H, heptet, J = 7 Hz), 1.33 (6H, d, J = 7 Hz). MS (ES+): m/e 320 (20), 319 (100). MS (ES-): m/e 318 (20), 317 (100).

하기 화합물은 화합물 5을 참조로 하여 상기 기술된 방식과 유사한 방식으로 제조될 수 있다.

#### 화합물 10

4-(2-p-톨릴-피리미딘-4-일)-벤조산:

m.p. >310 °C.  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  8.96 (1H, d, J = 6 Hz), 8.43 (2H, d, J = 9 Hz), 8.40 (2H, d, J = 9 Hz), 8.10 (2H, d, J = 9 Hz), 8.03 (1H, d, J = 6 Hz), 7.35 (2H, d, J = 9 Hz), 2.39 (3H, s). MS (ES+): m/e 292 (20), 291 (100). MS (ES-): m/e 290 (20), 289 (100).

#### 3-(2-p-톨릴피리미딘-4-일)-벤조산 (화합물 9)의 제조

파트 A. 4-메틸벤조니트릴은 상기 기술된 방식으로 4-메틸벤즈아미딘을 제조하는데 사용되며, 3-(3-디메틸아미노-아크릴로일)-벤조니트릴과 함께 상기 기술된 조건하에서 3-(2-p-톨릴-피리미딘-4-일)-벤조니트릴을 합성하는데 사용되었다.

파트 B. 에탄올 (2 mL) 중의 3-(2-p-톨릴-피리미딘-4-일)-벤조니트릴 (87 mg, 0.321 mmol) 용액을 수산화나트륨 수용액 (1 mL, 10 N)으로 처리하고, 출발 물질이 LC/MS에 의해 소모된 것으로 확인될 때 까지 가열 환류시켰다. 냉각시킨 후, 용액을 증발시키고 수성 처리하였다. 아미드와 산성 화합물의 혼합물을 함유하는 추출물을 칼럼 크로마토그래피에 의해 분리하여 순수한 표제 화합물 (11 mg)을 백색 고형물, m.p. 225-226 °C로서 제공하였다.

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  8.94 (1H, d, J = 6 Hz), 8.82 (1H, s), 8.53 (1H, d, J = 8 Hz), 8.39 (2H, d, J = 9 Hz), 8.11 (1H, d, J = 8 Hz), 8.03 (1H, d, J = 6 Hz), 7.71 (1H, t, J = 8 Hz), 7.37 (2H, d, J = 9 Hz), 2.40 (3H, s). MS (ES+): m/e 292 (20), 291 (100). MS (ES-): m/e 290 (20), 289 (100).

하기 화합물은 화합물 9를 참조로 하여 상기 기술된 방식과 유사한 방식으로 제조될 수 있다.

화합물 16

4-[2-(3-메톡시-페닐)-피리미딘-4-일]-벤조산:

m.p. 270-273 °C. <sup>1</sup>H

NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 13.22 (1H, br s), 9.00 (1H, d, J = 5 Hz), 8.44 (2H, d, J = 8 Hz), 8.14-8.03 (5H, m), 7.48 (1H, t, J = 8 Hz), 7.16-7.11 (1H, m), 3.86 (3H, s). MS (ES<sup>+</sup>): *m/e* 307.11 (100). MS (ES<sup>-</sup>): *m/e* 305.13 (100).

화합물 17

4-[2-(4-tert-부틸-페닐)-피리미딘-4-일]-벤조산:

m.p. 293-296 °C. <sup>1</sup>H

NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 13.23 (1H, br s), 8.97 (1H, d, J = 5 Hz), 8.43 (4H, d, J = 8 Hz), 8.12 (2H, d, J = 8 Hz), 8.03 (1H, d, J = 5 Hz), 7.57 (2H, d, J = 8 Hz). MS (ES<sup>+</sup>): *m/e* 333.18 (100). MS (ES<sup>-</sup>): *m/e* 331.15 (100).

화합물 18

4-[2-(4-플루오로-페닐)-피리미딘-4-일]-벤조산:

m.p. >300 °C. <sup>1</sup>H NMR

(300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 13.21 (1H, br s), 8.99 (1H, d, J = 5 Hz), 8.57 (2H, dd, J = 8, 6 Hz), 8.44 (2H, d, J = 8 Hz), 8.11 (2H, d, J = 8 Hz), 8.08 (1H, d, J = 5 Hz), 7.38 (2H, t, J = 8 Hz). MS (ES<sup>+</sup>): *m/e* 295.10 (100). MS (ES<sup>-</sup>): *m/e* 293.06 (100).

화합물 19

4-[2-(3-트리플루오로메톡시-페닐)-피리미딘-4-일]-벤조산:

m.p. >300 °C.

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 9.07-9.04 (1H, m), 8.37 (2H, d, J = 8 Hz), 8.18-8.16 (1H, m), 8.13-8.08 (3H, m), 7.71-7.53 (3H, m). MS (ES<sup>+</sup>): *m/e* 361.09 (100). MS (ES<sup>-</sup>): *m/e* 359.05 (100).

화합물 20

4-[2-(3-클로로-페닐)-피리미딘-4-일]-벤조산:



m.p. 291-294 °C. <sup>1</sup>H NMR

(300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 9.03 (1H, d, J = 5 Hz), 8.49-8.43 (4H, m), 8.14-8.11 (3H, m), 7.65-7.60 (2H, m). MS (ES+): *m/e* 311.07 (100). MS (ES-): *m/e* 309.06 (100).

#### 화합물 21

4-[2-(4-트리플루오로메틸-페닐)-피리미딘-4-일]-벤조산:

m.p. >300 °C. <sup>1</sup>H

NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 13.22 (1H, br s), 9.06 (1H, d, J = 5 Hz), 8.70 (2H, d, J = 8 Hz), 8.46 (2H, d, J = 8 Hz), 8.15 (1H, d, J = 5 Hz), 8.12 (2H, d, J = 8 Hz), 7.93 (2H, d, J = 8 Hz). MS (ES+): *m/e* 345.16 (100).

#### 화합물 61

4-[2-(2-트리플루오로메톡시-페닐)-피리미딘-4-일]-벤조산:

m.p. 258-261

°C. <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 9.05 (1H, d, J = 5 Hz), 8.36 (2H, d, J = 8 Hz), 8.16-8.06 (4H, m), 7.70-7.51 (3H, m). MS (ES+): *m/e* 361.12 (100).

#### 화합물 22

4-[2-(4-클로로-페닐)-피리미딘-4-일]-벤조산:

m.p. >300 °C. <sup>1</sup>H NMR

(300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 13.24 (1H, br s), 9.01 (1H, d, J = 5 Hz), 8.52 (2H, d, J = 8 Hz), 8.44 (2H, d, J = 8 Hz), 8.13-8.08 (3H, m), 7.62 (2H, d, J = 5 Hz). MS (ES+): *m/e* 311.11 (100).

#### 화합물 23

4-[2-(2-플루오로-페닐)-피리미딘-4-일]-벤조산:

m.p. >300 °C. <sup>1</sup>H NMR

(300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 13.22 (1H, br s), 9.04 (1H, d, J = 5 Hz), 8.39 (2H, d, J = 8 Hz), 8.14-8.08 (4H, m), 7.62-7.58 (1H, m), 7.40-7.36 (2H, m). MS (ES+): *m/e* 295.15 (100).

#### 화합물 62

4-[2-(3-트리플루오로메틸-페닐)-피리미딘-4-일]-벤조산:

<sup>1</sup>H NMR (300

MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 9.04 (1H, d, J = 5 Hz), 8.82 (1H, d, J = 8 Hz), 8.76 (1H, s), 8.42 (2H, d, J = 8 Hz), 8.16 (1H, d, J = 5 Hz), 8.07 (2H, d, J = 8 Hz), 7.94 (1H, d, J = 8 Hz), 7.82 (1H, d, J = 8 Hz), 7.55 (1H, s). MS (ES<sup>+</sup>): *m/e* 345.21 (100).

#### 화합물 25

4-[2-(3-플루오로-페닐)-피리미딘-4-일]-벤조산:

m.p. 300-303 °C. <sup>1</sup>H NMR

(300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 13.22 (1H, br s), 9.00 (1H, d, J = 5 Hz), 8.45-8.09 (7H, m), 7.59 (1H, m), 7.39 (1H, m). MS (ES<sup>+</sup>): *m/e* 295.15 (100).

#### 화합물 26

4-(2-*o*-톨릴-피리미딘-4-일)-벤조산:

m.p. 198-200 °C. <sup>1</sup>H NMR (300 MHz,

DMSO-d<sub>6</sub>): δ 13.21 (1H, br s), 9.02 (1H, d, J = 5 Hz), 8.37 (2H, d, J = 8 Hz), 8.11-8.07 (2H, m), 7.89 (1H, d, J = 5 Hz), 7.38-7.33 (3H, m), 2.58 (3H, s). MS (ES<sup>+</sup>): *m/e* 291.20 (100).

#### 화합물 27

4-[2-(4-트리플루오로메톡시-페닐)-피리미딘-4-일]-벤조산:

m.p. 299-302

°C. <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 9.02 (1H, d, J = 5 Hz), 8.62 (2H, d, J = 8 Hz), 8.44 (2H, d, J = 8 Hz), 8.12 (1H, d, J = 5 Hz), 8.11 (2H, d, J = 8 Hz), 7.54 (2H, d, J = 8 Hz). MS (ES<sup>+</sup>): *m/e* 361.18 (100).

#### 화합물 28

4-(2-페닐-피리미딘-4-일)-벤조산:

m.p. >300 °C. <sup>1</sup>H NMR (300 MHz,

DMSO-d<sub>6</sub>): δ 9.00 (1H, d, J = 5 Hz), 8.54-8.50 (2H, m), 8.45 (2H, d, J = 8 Hz), 8.11 (2H, d, J = 8 Hz), 8.08 (1H, d, J = 5 Hz), 7.57-7.54 (3H, m). MS (ES<sup>+</sup>): *m/e* 277.22 (100).

#### 화합물 30

4-[2-(4-메톡시-페닐)-피리미딘-4-일]-벤조산:

m.p. >300 °C. <sup>1</sup>H NMR

(300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 13.20 (1H, br s), 8.93 (1H, d, J = 5 Hz), 8.46 (2H, d, J = 8 Hz), 8.42 (2H, d, J = 8 Hz), 8.11 (2H, d, J = 8 Hz), 7.98 (1H, d, J = 5 Hz), 7.09 (2H, d, J = 8 Hz), 3.84 (3H, s). MS (ES<sup>+</sup>): m/e 307.27 (100). MS (ES<sup>-</sup>): m/e 305.23 (100).

화합물 31

4-[2-(2-트리플루오로메틸-페닐)-피리미딘-4-일]-벤조산:

m.p. 251-252 °C.

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 9.04 (1H, d, J = 5 Hz), 8.35 (2H, d, J = 8 Hz), 8.19 (1H, d, J = 5 Hz), 8.08 (2H, d, J = 8 Hz), 7.92-7.73 (4H, m). MS (ES<sup>+</sup>): m/e 345.29 (100).

#### C. 4,6-피리미딘

화합식 1-C 및 2-C의 4,6 피리미딘은 일반적으로 하기와 같이 반응식 C에 따라 제조될 수 있다.

##### 4-(6-m-톨릴-피리미딘-4-일)-벤조산 (화합물 2)의 제조

파트 A. 50 mL 삼구 둥근바닥 플라스크를 2,4-디클로로피리미딘 (0.58 g, 3.89 mmol), 3-메틸페닐붕산 (0.31 g, 2.28 mmol), Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0.73 g, 6.88 mmol), 테트라키스(트리페닐포스핀) 팔라듐 (13.0 mg, 1.12 x 10<sup>-2</sup> mmol)으로 충전시켰다. 플라스크를 비우고, N<sub>2</sub>로 재충전시켰다. 그 후, DMF (15 mL, 무수물)를 플라스크에 첨가하였다. 플라스크를 다시 비우고, N<sub>2</sub>로 재충전시키고, 이를 2회 반복하였다. 반응물을 밤새 100 °C로 가열시켰다. 반응 혼합물을 에틸 에테르 및 물로 분할하였다. 유기층을 염수로 세척하고, MgSO<sub>4</sub>로 건조시킨 후, 제거하였다. 잔류물을 추가로 메틸렌 클로라이드/헥산 (1:10)으로 용리시킨 플래시 칼럼 크로마토그래피로 정제하여 45.7 mg (5.8 % 수율)의 목적 생성물을 제공하였다. 수득된 화합물 (4-클로로-6-m-톨릴-피리미딘)의 순도는 LC-MS로 측정시 80%를 초과하였다. MS (ES<sup>+</sup>): m/e 205.23.

파트 B. 10 mL 마이크로웨이브 튜브를 4-클로로-6-m-톨릴-피리미딘 (45.7 mg, 0.22 mmol), 4-카르복시페닐붕산 (39.2 mg, 0.23 mmol), (235.3mg, 2.22mmol), Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (70.6 mg, 0.67 mmol), 테트라부틸암모늄 요오다이드 (83.0 mg, 0.22mmol), 팔라듐 아세테이트 (0.5 mg, 2.2 x 10<sup>-3</sup> mmol) 및 2 mL의 물로 충전시켰다. 반응 혼합물을 60 w, 250 psi하에 마이크로웨이브 반응기에서 10분 동안 150°C로 가열시켰다. 반응 혼합물을 5 mL의 6N HCl에 첨가하고, 에틸 아세테이트 (10 mL)로 추출하였다. 유기상 부분을 포화된 NaHCO<sub>3</sub> 및 염수로 세척하고, 건조시키고 (MgSO<sub>4</sub>), 회전 증발기 상에서 농축시켰다. 유성 잔류물을 에틸 아세테이트/헥산 (1:1)중에 현탁시켜 9.8 mg (15.1 % 수율)의 백색 분말을 목적 생성물, m.p. 211-213 °C로서 제공하였다.

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 9.31 (1H, s), 8.66 (1H, s),

8.46 (2H, d, J = 8.3 Hz), 8.20 (1H, s), 8.15 (1H, dd, J = 8.0, 1.2 Hz), 8.09 (2H, d, J = 8.3

Hz), 7.45 (1H, t, J = 7.7 Hz), 7.38 (1H, dd, J = 7.7, 1.0 Hz). MS (ES<sup>+</sup>): m/e 291.58.

하기 화합물은 화합물 2를 참조로 하여 상기 기술된 방식과 유사한 방식으로 제조될 수 있다.

화합물 3

## 3-(6-p-톨릴-피리미딘-4-일)-벤조산:

m.p. 201-203 °C.  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  9.19 (1H, s), 8.69 (1H, s), 8.30 (1H, dd,  $J = 7.9, 1.1$  Hz), 8.11 (1H, dd,  $J = 7.7, 1.0$  Hz), 8.06 (1H, s), 7.97 (2H, d,  $J = 8.2$  Hz), 7.52 (1H, t,  $J = 7.7$  Hz), 7.25 (2H, d,  $J = 8.2$  Hz). MS (ES+):  $m/e$  292.40 (20), 291.37 (100). MS (ES-):  $m/e$  291.46 (20), 290.47 (100).

## D. 2,4-피리미딘의 제조

화학식 1-D 및 2-D의 2,4 피리미딘은 일반적으로 하기와 같이 반응식 D에 따라 제조될 수 있다.

## 3-[4-(4-플루오로-페닐)-피리미딘-2-일]-벤조산 (화합물 32)의 제조.

파트 A. 10 mL 마이크로웨이브 튜브에 4-플루오로아세트페논 (1.01 g, 7.31 mmol) 및 N,N-디메틸포름아미드 디메틸 아세탈 (0.87 g, 7.32 mmol)을 첨가하였다. 튜브를 10분 동안 250 psi, 300 W에서 100 °C로 가열하였다. 헥산을 첨가하여 황색 고형물을 침전시켰다. 목적 생성물 (1.03 g, 73.0% 수율)을 여과에 의해 모으고, 헥산으로 세척하였다. 수득된 화합물인 3-디메틸아미노-1-(4-플루오로-페닐)-프로페논은 LC-MS로 측정된 경우 순도가 90%를 초과하였다. MS (ES+):  $m/e$  194.14.

파트 B. 3-카르바미도일-벤조산 tert-부틸 에스테르 (220.2 mg, 0.94 mmol), 3-디메틸아미노-1-(4-플루오로-페닐)-프로페논 (182.6 mg, 0.95 mmol) 및 수소화나트륨 (39.2 mg, 1.63 mmol, 헥산중 60%)의 혼합물에 무수 에탄올 (5.0 mL)을 첨가하였다. 출발 물질이 완전히 소모된 것으로 TLC에 의해 확인될 때까지 생성 혼합물을 8h 동안 환류하에 교반하였다. 용매를 제거하고, 잔류물을 1N HCl (15 mL)에 첨가하여 황색 고형물을 침전시켰다. 표제 생성물 (137.8 mg, 41.3% 수율)을 물 및 연속해서 에틸 에테르로 세척한 후 생성시켰다, m.p. 239-241 °C.

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  9.05 (1H, s), 8.97 (1H, d,  $J = 5.0$  Hz), 8.73 (1H, dd,  $J = 7.7, 1.2$  Hz), 8.38 (2H, m), 8.11 (1H, dd,  $J = 8.0, 1.2$  Hz), 8.04 (1H, d,  $J = 5.3$  Hz), 7.68 (1H, t,  $J = 7.8$  Hz), 7.43 (2H, m). MS (ES+):  $m/e$  295.27.

하기 화합물은 화합물 32를 참조로 하여 상기 기술된 방식과 유사한 방식으로 제조될 수 있다.

## 화합물 33

## 4-[4-(4-브로모-페닐)-피리미딘-2-일]-벤조산:

m.p. 302-305 °C.  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  9.00 (1H, d,  $J = 5.1$  Hz), 8.60 (2H, d,  $J = 8.3$  Hz), 8.30 (2H, d,  $J = 8.5$  Hz), 8.10 (3H, m), 7.85 (2H, d,  $J = 8.5$  Hz). MS (ES+):  $m/e$  358.13 (20), 357.12 (100). MS (ES-):  $m/e$  356.01 (20), 355.08 (100).

## 화합물 34

## 4-[4-(4-트리플루오로메톡시-페닐)-피리미딘-2-일]-벤조산:

m.p. 234-236

°C.  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  9.01 (1H, d,  $J = 5.4$  Hz), 8.58 (2H, d,  $J = 8.3$  Hz), 8.46 (2H, d,  $J = 8.8$  Hz), 8.09 (3H, m), 7.57 (2H, d,  $J = 8.3$  Hz). MS (ES+):  $m/e$  362.22 (20), 361.23 (100). MS (ES-):  $m/e$  360.20 (20), 359.20 (100).

#### 화합물 35

4-(4-p-톨릴-피리미딘-2-일)-벤조산:

m.p. 287-289 °C.  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,

DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  8.94 (1H, d,  $J = 5.4$  Hz), 8.60 (2H, d,  $J = 8.3$  Hz), 8.23 (2H, d,  $J = 8.3$  Hz), 8.10 (2H, d,  $J = 8.5$  Hz), 8.02 (1H, d,  $J = 5.4$  Hz), 7.38 (2H, d,  $J = 8.1$  Hz), 2.40 (3H, s). MS (ES+):  $m/e$  292.29 (20), 291.26 (100). MS (ES-):  $m/e$  290.24 (20), 289.26 (100).

#### 화합물 36

4-[4-(4-이소프로필-페닐)-피리미딘-2-일]-벤조산:

m.p. 243-245 °C.  $^1\text{H}$

NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  8.95 (1H, d,  $J = 5.1$  Hz), 8.60 (2H, d,  $J = 8.0$  Hz), 8.25 (2H, d,  $J = 8.3$  Hz), 8.10 (2H, d,  $J = 8.3$  Hz), 8.01 (1H, d,  $J = 5.1$  Hz), 7.45 (2H, d,  $J = 8.0$  Hz), 2.97 (1H, m), 1.25 (6H, d,  $J = 5.1$  Hz). MS (ES+):  $m/e$  320.30 (20), 319.29 (100). MS (ES-):  $m/e$  318.30 (20), 317.30 (100).

#### 화합물 37

4-[4-(4-메톡시-페닐)-피리미딘-2-일]-벤조산:

m.p. 263-265 °C.  $^1\text{H}$

NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  8.89 (1H, d,  $J = 5.5$  Hz), 8.59 (2H, d,  $J = 7.2$  Hz), 8.32 (2H, d,  $J = 7.5$  Hz), 8.10 (2H, d,  $J = 7.2$  Hz), 8.00 (1H, d,  $J = 5.5$  Hz), 7.12 (2H, d,  $J = 7.5$  Hz), 3.84 (3H, s). MS (ES+):  $m/e$  308.26 (20), 307.25 (100). MS (ES-):  $m/e$  306.34 (20), 305.25 (100).

#### 화합물 38

4-[4-(3-플루오로-페닐)-피리미딘-2-일]-벤조산:

m.p. 249-252 °C.  $^1\text{H}$  NMR

(300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  9.02 (1H, d,  $J = 5.5$  Hz), 8.61 (2H, d,  $J = 8.0$  Hz), 8.12 (5H, m), 7.65 (1H, m), 7.41 (1H, m). MS (ES+):  $m/e$  296.22 (20), 295.20 (100). MS (ES-):  $m/e$  294.26 (20), 293.21 (100).

화합물 39

4-(4-비페닐-4-일-피리미딘-2-일)-벤조산:

m.p. 293-296 °C.  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  9.01 (1H, d,  $J$  = 5.2 Hz), 8.63 (2H, d,  $J$  = 8.5 Hz), 8.45 (2H, d,  $J$  = 8.0 Hz), 8.12 (3H, m), 7.89 (2H, d,  $J$  = 8.3 Hz), 7.77 (2H, d,  $J$  = 8.3 Hz), 7.44 (3H, m). MS (ES+):  $m/e$  354.26 (20), 353.24 (100). MS (ES-):  $m/e$  352.25 (20), 351.23 (100).

화합물 40

4-[4-(2,3-디히드로-벤조[1,4]디옥신-6-일)-피리미딘-2-일]-벤조산:

m.p. 272-274 °C.  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  8.89 (1H, d,  $J$  = 5.3 Hz), 8.58 (2H, d,  $J$  = 8.4 Hz), 8.09 (2H, d,  $J$  = 8.4 Hz), 7.97 (1H, d,  $J$  = 5.3 Hz), 7.87 (2H, m), 7.03 (1H, d,  $J$  = 9.1 Hz), 4.32 (4H, t,  $J$  = 1.2 Hz). MS (ES+):  $m/e$  336.27 (20), 335.25 (100). MS (ES-):  $m/e$  334.31 (20), 333.29 (100).

화합물 41

4-[4-(4-이미다졸-1-일-페닐)-피리미딘-2-일]-벤조산:

m.p. >305 °C. MS (ES+):  $m/e$  344.25 (20), 343.23 (100). MS (ES-):  $m/e$  342.28 (20), 341.27 (100).

화합물 63

4-[4-(3-트리플루오로메틸-페닐)-피리미딘-2-일]-벤조산:

m.p. 271-273 °C.  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  9.04 (1H, d,  $J$  = 5.2 Hz), 8.60 (4H, m), 8.20 (1H, d,  $J$  = 5.2 Hz), 8.10 (2H, d,  $J$  = 8.3 Hz), 7.95 (1H, dd,  $J$  = 7.4, 0.9 Hz), 7.82 (1H, t,  $J$  = 7.4 Hz). MS (ES+):  $m/e$  346.28 (20), 345.26 (100). MS (ES-):  $m/e$  344.25 (20), 343.25 (100).

화합물 64

4-(4-m-톨릴-피리미딘-2-일)-벤조산:

m.p. 220-222 °C.  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  8.97 (1H, d,  $J$  = 4.3 Hz), 8.60 (2H, d,  $J$  = 7.4 Hz), 8.12 (4H, m), 8.06 (1H, d,  $J$  = 4.3 Hz), 7.45 (2H, m), 2.43 (3H, s). MS (ES+):  $m/e$  292.29 (20), 291.28 (100). MS (ES-):  $m/e$  290.29 (20), 289.29 (100).

화합물 65

4-[4-(2-플루오로-페닐)-피리미딘-2-일]-벤조산:

m.p. 234-236 °C. MS

(ES+): *m/e* 296.22 (20), 295.20 (100). MS (ES-): *m/e* 294.25 (20), 293.23 (100).

화합물 66

4-[4-(4-트리플루오로메틸-페닐)-피리미딘-2-일]-벤조산:

m.p. 282-285 °C.

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 9.05 (1H, d, J = 5.2 Hz), 8.59 (2H, d, J = 7.7 Hz), 8.51 (2H, d, J = 8.3 Hz), 8.14 (1H, d, J = 5.2 Hz), 8.09 (2H, d, J = 7.7 Hz), 7.92 (2H, d, J = 8.3 Hz). MS (ES+): *m/e* 346.39 (20), 345.42 (100). MS (ES-): *m/e* 344.45 (20), 343.45 (100).

화합물 67

4-[4-(4-모르폴린-4-일-페닐)-피리미딘-2-일]-벤조산:

m.p. 289-291 °C.

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 8.83 (1H, d, J = 5.5 Hz), 8.58 (2H, d, J = 8.3 Hz), 8.22 (2H, d, J = 8.5 Hz), 8.08 (2H, d, J = 8.3 Hz), 7.90 (1H, d, J = 5.5 Hz), 7.08 (2H, d, J = 8.5 Hz), 3.74 (4H, t, J = 1.2 Hz), 3.26 (4H, t, J = 1.2 Hz). MS (ES+): *m/e* 363.32 (20), 362.31 (100). MS (ES-): *m/e* 361.31 (20), 360.29 (100).

화합물 68

3-[4-(4-브로모-페닐)-피리미딘-2-일]-벤조산:

m.p. >300 °C. MS (ES+):

*m/e* 357 (100), 355 (100).

화합물 69

3-[4-(4-트리플루오로메톡시-페닐)-피리미딘-2-일]-벤조산:

m.p. 241-243

°C. <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 9.05 (1H, s), 9.00 (1H, d, J = 5.5 Hz), 8.73 (1H, dd, J = 8.0, 1.1 Hz), 8.43 (2H, d, J = 8.6 Hz), 8.07 (2H, m), 7.68 (1H, t, J = 8.0 Hz), 7.57 (2H, d, J = 8.6 Hz). MS (ES+): *m/e* 362.24 (20), 361.23 (100). MS (ES-): *m/e* 360.25 (20), 359.25 (100).

화합물 70

3-[4-(4-이소프로필-페닐)-피리미딘-2-일]-벤조산:

m.p. 242-244 °C. <sup>1</sup>H

NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 9.07 (1H, s), 8.94 (1H, d, J = 5.2 Hz), 8.73 (1H, dd, J = 7.7, 1.0 Hz), 8.23 (2H, d, J = 8.4 Hz), 8.10 (1H, dd, J = 8.0, 1.2 Hz), 7.98 (1H, d, J = 5.2 Hz), 7.69 (1H, t, J = 7.7 Hz), 7.45 (2H, d, J = 8.4 Hz), 2.95 (1H, m), 1.23 (6H, d, J = 6.9 Hz). MS (ES<sup>+</sup>): m/e 320.30 (20), 319.29 (100). MS (ES<sup>-</sup>): m/e 318.40 (20), 317.30 (100).

화합물 71

3-[4-(4-메톡시-페닐)-피리미딘-2-일]-벤조산:

m.p. 243-244 °C. <sup>1</sup>H

NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 9.06 (1H, s), 8.89 (1H, d, J = 5.2 Hz), 8.72 (1H, dd, J = 7.4, 1.0 Hz), 8.30 (2H, d, J = 9.0 Hz), 8.09 (1H, dd, J = 7.4, 1.0 Hz), 7.95 (1H, d, J = 5.5 Hz), 7.66 (1H, t, J = 7.7 Hz), 7.13 (2H, d, J = 9.0 Hz), 3.85 (3H, s). MS (ES<sup>+</sup>): m/e 308.30 (20), 307.29 (100). MS (ES<sup>-</sup>): m/e 306.26 (20), 305.25 (100).

화합물 72

3-[4-(2-플루오로-페닐)-피리미딘-2-일]-벤조산:

m.p. 201-203 °C. <sup>1</sup>H NMR

(300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 9.01 (2H, m), 8.70 (1H, dd, J = 7.7, 1.0 Hz), 8.23 (1H, t, J = 6.9 Hz), 8.10 (1H, dd, J = 7.7, 0.9 Hz), 7.85 (1H, d, J = 3.6 Hz), 7.61 (2H, m), 7.41 (2H, m). MS (ES<sup>+</sup>): m/e 296.27 (20), 295.27 (100). MS (ES<sup>-</sup>): m/e 294.28 (20), 293.26 (100).

화합물 42

3-[4-(2,3-디히드로-벤조[1,4]디옥신-6-일)-피리미딘-2-일]-벤조산:

m.p.

239-241 °C. <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 9.05 (1H, s), 8.88 (1H, d, J = 5.2 Hz), 8.70 (1H, dd, J = 8.0, 1.2 Hz), 8.09 (1H, d, J = 7.4 Hz), 7.95 (1H, d, J = 5.0 Hz), 7.86 (1H, s), 7.82 (1H, m), 7.67 (1H, t, J = 7.7 Hz), 7.01 (1H, dd, J = 8.3, 1.3 Hz), 4.32 (4H, t, J = 1.2 Hz). MS (ES<sup>+</sup>): m/e 336.27 (20), 335.25 (100). MS (ES<sup>-</sup>): m/e 334.22 (20), 333.23 (100).

화합물 73

3-(4-p-톨릴-피리미딘-2-일)-벤조산: m.p. 252-253 °C



<sup>1</sup>H NMR (300 MHz,

DMSO-d<sub>6</sub>): δ 9.06 (1H, s), 8.93 (1H, d, J = 5.0 Hz), 8.73 (1H, dd, J = 7.4, 1.0 Hz), 8.22 (2H, d, J = 7.7 Hz), 8.09 (1H, dd, J = 6.9, 0.8 Hz), 7.99 (1H, d, J = 5.2 Hz), 7.68 (1H, t, J = 7.4 Hz), 7.39 (2H, d, J = 7.7 Hz), 2.38 (3H, s). MS (ES<sup>+</sup>): *m/e* 292.30 (20), 291.28 (100). MS (ES<sup>-</sup>): *m/e* 290.33 (20), 289.15 (100).

#### 화합물 74

3-[4-(3-플루오로-페닐)-피리미딘-2-일]-벤조산:

m.p. 253-255 °C. <sup>1</sup>H NMR

(300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 9.05 (1H, s), 9.00 (1H, d, J = 5.0 Hz), 8.74 (1H, dd, J = 7.2, 1.0 Hz), 8.18 (4H, m), 7.68 (2H, m), 7.43 (1H, m). MS (ES<sup>+</sup>): *m/e* 296.41 (20), 295.39 (100). MS (ES<sup>-</sup>): *m/e* 294.41 (20), 293.42 (100).

#### 화합물 75

3-(4-비페닐-4-일-피리미딘-2-일)-벤조산:

m.p. 296-299 °C. <sup>1</sup>H NMR (300

MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 9.18 (1H, s), 9.00 (1H, d, J = 5.4 Hz), 8.77 (1H, dd, J = 7.8, 1.1 Hz), 8.43 (2H, d, J = 8.0 Hz), 8.17 (2H, m), 7.95 (2H, d, J = 8.0 Hz), 7.87 (3H, m), 7.43 (3H, m). MS (ES<sup>+</sup>): *m/e* 354.28 (20), 353.31 (100). MS (ES<sup>-</sup>): *m/e* 352.29 (30), 351.21 (100).

#### 화합물 76

3-(4-m-톨릴-피리미딘-2-일)-벤조산:

m.p. 217-219 °C. <sup>1</sup>H NMR (300

MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 9.06 (1H, s), 8.96 (1H, d, J = 5.5 Hz), 8.77 (1H, dd, J = 7.9, 1.0 Hz), 8.13 (3H, m), 8.02 (1H, d, J = 5.5 Hz), 7.69 (1H, t, J = 7.0 Hz), 7.41 (2H, m), 2.43 (3H, s). MS (ES<sup>+</sup>): *m/e* 292.30 (20), 291.28 (100). MS (ES<sup>-</sup>): *m/e* 290.18 (20), 289.26 (100).

#### 화합물 77

3-[4-(3-트리플루오로메틸-페닐)-피리미딘-2-일]-벤조산:

m.p. 271-273 °C.

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 9.02 (2H, m), 8.70 (1H, dd, J = 8.8, 1.2 Hz), 8.68 (2H, m), 8.15 (1H, d, J = 5.2 Hz), 8.08 (1H, dd, J = 7.2, 1.0 Hz), 7.91 (1H, m), 7.80 (1H, m), 7.67 (1H, t, J = 7.0 Hz). MS (ES<sup>+</sup>): *m/e* 346.26 (20), 345.26 (100). MS (ES<sup>-</sup>): *m/e* 344.26 (20), 343.25 (100).

화합물 78

3-[4-(4-트리플루오로메틸-페닐)-피리미딘-2-일]-벤조산:

m.p. 271-273 °C.

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 9.04 (2H, m), 8.72 (1H, dd, J = 7.7, 1.0 Hz), 8.49 (2H, d, J = 8.3 Hz), 8.10 (2H, m), 7.93 (2H, d, J = 8.3 Hz), 7.68 (1H, t, J = 7.4 Hz). MS (ES<sup>+</sup>): m/e 346.26 (20), 345.26 (100). MS (ES<sup>-</sup>): m/e 344.22 (20), 343.24 (100).

화합물 79

3-[4-(4-이미다졸-1-일-페닐)-피리미딘-2-일]-벤조산:

m.p. >310 °C. <sup>1</sup>H

NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 9.64 (1H, s), 9.03 (2H, m), 8.73 (1H, dd, J = 7.8, 1.0 Hz), 8.52 (2H, d, J = 8.3 Hz), 8.32 (1H, s), 8.15 (4H, m), 7.70 (2H, m). MS (ES<sup>+</sup>): m/e 344.30 (20), 343.30 (100). MS (ES<sup>-</sup>): m/e 342.27 (20), 341.27 (100).

화합물 57

4-[4-(3,4-디메톡시-페닐)-피리미딘-2-일]-벤조산:

m.p. 250-252 °C. <sup>1</sup>H

NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 8.89 (1H, d, J = 5.5 Hz), 8.59 (2H, d, J = 8.5 Hz), 8.10 (2H, d, J = 8.5 Hz), 8.01 (1H, d, J = 5.5 Hz), 7.93 (1H, d, J = 8.5 Hz), 7.88 (1H, s), 7.12 (1H, d, J = 8.5 Hz), 3.90 (3H, s), 3.84 (3H, s). MS (ES<sup>+</sup>): m/e 338.27 (20), 337.22 (100). MS (ES<sup>-</sup>): m/e 336.26 (20), 335.26 (100).

화합물 58

3-[4-(3,4-디메톡시-페닐)-피리미딘-2-일]-벤조산:

m.p. 240-243 °C. <sup>1</sup>H

NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 8.90 (1H, d, J = 5.2 Hz), 8.60 (2H, m), 8.09 (2H, m), 8.02 (1H, d, J = 5.2 Hz), 7.86 (1H, dd, J = 8.5, 1.3 Hz), 7.70 (1H, s), 7.14 (1H, dd, J = 8.3, 1.2 Hz), 3.91 (3H, s), 3.84 (3H, s). MS (ES<sup>+</sup>): m/e 338.28 (20), 337.25 (100). MS (ES<sup>-</sup>): m/e 336.27 (20), 335.26 (100).

화합물 59

4-[4-(4-디메틸아미노-페닐)-피리미딘-2-일]-벤조산:

m.p. 292-295 °C.

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  8.78 (1H, d,  $J$  = 5.5 Hz), 8.58 (2H, d,  $J$  = 8.5 Hz), 8.21 (2H, d,  $J$  = 9.1 Hz), 8.09 (2H, d,  $J$  = 8.5 Hz), 7.85 (1H, d,  $J$  = 5.5 Hz), 6.84 (2H, d,  $J$  = 9.1 Hz), 3.02 (6H, s). MS (ES+):  $m/e$  321.32 (20), 320.30 (100). MS (ES-):  $m/e$  319.33 (20), 318.30 (100).

## 화합물 60

3-[4-(4-디메틸아미노-페닐)-피리미딘-2-일]-벤조산:

m.p. 281-283 °C.

MS (ES+):  $m/e$  321.32 (50), 320.30 (100). MS (ES-):  $m/e$  319.33 (20), 318.29 (100).

## 4-[4-메틸-6-(4-트리플루오로메틸-페닐)피리미딘-2-일]-벤조산 (화합물 52) [PTC-0169003]의 제조

파트 A. 10 mL 마이크로웨이브 튜브에 4-트리플루오로메틸아세트페논(0.95 g, 7.32 mmol) 및 디메틸아세트아미드 디메틸 아세탈 (1.60 g, 12.01 mmol)를 첨가하였다. 튜브를 30분 동안 250 psi, 300 W에서 140 °C로 가열하였다. 백색 고형물을 헥산을 첨가하여 침전시켰다. 이를 여과하고 헥산으로 세척하여 목적 생성물 (290.1 mg, 22.1% 수율)을 수집하였다. 수득된 화합물, 3-디메틸아미노-1-(4-트리플루오로메틸-페닐)-부트-2-엔-1-온은 LC-MS로 측정한 경우 순도가 90%를 초과하였다. MS (ES+):  $m/e$  258.20.

파트 B. 3-디메틸아미노-1-(4-트리플루오로메틸-페닐)-부트-2-엔-1-온 (290.1 mg, 1.13 mmol), 4-카르바미도일-벤조산 tert-부틸 에스테르 (220.3 mg, 1.00 mmol, 3-카르바미도일-벤조산 tert-부틸 에스테르와 동일한 방식으로 제조됨) 및 수소화나트륨 (79.9 mg, 2.00 mmol, 헥산중 60%)의 혼합물에 무수 에탄올 (5.0 mL)을 첨가하였다. 출발 물질이 완전히 소모됐음이 TLC에 의해 확인될 때 까지 생성 혼합물을 14h 동안 환류하에 교반하였다. 용매를 제거하고, 잔류물을 pH < 7일 될 때까지 1N HCl로 중화시켜 백색 고형물을 침전시키고, 이를 여과하고, 물 및 에틸 에테르 / 헥산 (1:1)으로 세척하여 수집하였다. 수득된 고형물을 추가로 메탄올 / 메틸렌 클로라이드 (1: 40)로 용리시킨 플래쉬 칼럼 크로마토그래피로 정제하여 표제 생성물 (10.7 mg, 2.7 % 수율), m.p. 272-275 °C을 제공하였다.

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub> + 2 드롭 DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  8.54 (2H, d,  $J$  = 8.3 Hz), 8.23 (2H, d,  $J$  = 8.6 Hz), 8.09 (2H, d,  $J$  = 8.3 Hz), 7.71 (2H, d,  $J$  = 8.6 Hz), 7.48 (1H, s), 2.61(3H, s). MS (ES+):  $m/e$  359.27.

하기 화합물은 화합물 52를 참조로 하여 상기 기술된 것과 유사한 방식으로 제조될 수 있다.

## 화합물 56

3-[4-(4-플루오로-페닐)-6-메틸-피리미딘-2-일]-벤조산:

m.p. 305-307 °C.

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  8.60 (2H, d,  $J$  = 8.0 Hz), 8.41 (2H, m), 8.08 (2H, d,  $J$  = 8.0 Hz), 7.96 (1H, s), 7.41 (2H, m), 2.60 (3H, s). MS (ES+):  $m/e$  310.34 (20), 309.34 (100). MS (ES-):  $m/e$  308.30 (20), 307.32 (100).

## 3-[4-(4-플루오로-페닐)-5-메틸-피리미딘-2-일]-벤조산 (화합물 55)의 제조

파트 A. 4-플루오로프로피오페논 (1.83 g, 10.60 mmol) 및 *N,N*-디메틸포름아미드 디메틸 아세탈 (4.45 g, 37.35 mmol)의 혼합물을 16h 동안 가열 환류시켰다. 용매 제거 후 수득된 잔류물 (3-디메틸아미노-1-(4-플루오로-페닐)-프로판-1-온 함유)을 정제 없이 다음 단계에 사용하였다.

파트 B. 무수성 아세트산 (8 mL)중의 3-디메틸아미노-1-(4-플루오로-페닐)-프로판-1-온 (641.9 mg, 3.10 mmol) 및 3-카르바미도일-벤조산 tert-부틸 에스테르 (426.1 mg, 1.91mmol)의 혼합물을 마이크로웨이브 반응기에서 300 W, 250 psi에서 30분 동안 130℃로 가열하였다. 백색 고형물을 1N HCl을 첨가하여 침전시키고, 여과에 의해 모으고, 물 및 헥산으로 세척하였다. 수득된 고형물을 메탄올/메틸렌 클로라이드 (1:40)로 용리시킨 플래쉬 칼럼 크로마토그래피로 추가로 정제하여 표제 생성물 (114.1 mg, 12.0% 수율), m.p. 272-275 °C를 제공하였다.

 $^1\text{H}$ 

NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  8.50 (2H, d,  $J = 8.0$  Hz), 8.06 (2H, d,  $J = 8.0$  Hz), 7.85 (2H, m), 8.13 (2H, m), 7.38 (2H, m), 2.40 (3H, s). MS (ES<sup>+</sup>):  $m/e$  309.34.

하기 화합물은 화합물 55를 참조로 하여 상기 기술된 방식과 유사한 방식으로 제조될 수 있다.

화합물 54

3-[4-(2-플루오로-페닐)-5-메틸-피리미딘-2-일]-벤조산:

m.p. 279-281 °C.

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  8.92 (1H, s), 8.46 (2H, m), 8.05 (2H, m), 7.43 (2H, m), 7.38 (2H, m), 2.22 (3H, s). MS (ES<sup>+</sup>):  $m/e$  310.29 (20), 309.27 (100). MS (ES<sup>-</sup>):  $m/e$  308.29 (20), 307.27 (100).

#### E. 2,4-피리딘의 제조

화학식 1-E 및 2-E의 2,4 피리딘은 일반적으로 하기와 같이 반응식 E에 따라 제조될 수 있다.

3-[4-(4-이소프로필-페닐)-피리딘-2-일]-벤조산 (화합물 7)의 제조

파트 A. 아세토니트릴-물 (50 mL/20 mL)중의 4-브로모피리딘 히드로클로라이드 (1.0 g, 6.3 mmol) 용액을 4-이소프로필벤젠붕산 (1.04 g, 6.3 mmol) 및 탄산나트륨 (2.1 g, 25.2 mmol)으로 처리하였다. 혼합물을 2회 탈기시키고, 촉매량의 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐을 첨가하였다. 혼합물을 12h 동안 가열 환류시키고, 냉각시키고, 물 (50 mL)에 부었다. 혼합물을 여과하고, 에틸 아세테이트 (3 x 50 mL)로 추출하였다. 추출물을 혼합하고, 염수로 세척하고, 황산마그네슘으로 건조시키고, 여과하고, 증발시켜 1.01 g의 충분히 순수한 생성물 4-(4-이소프로필-페닐)-피리딘을 제공하였다.

파트 B. 디클로로메탄 (20 mL)중의 4-(4-이소프로필-페닐)-피리딘 (1.01 g, 5.1 mmol) 용액을 0 °C로 냉각시키고, 디클로로메탄 (20 mL)중의 *m*-클로로퍼옥시벤조산 (1.33 g, 7.6 mmol) 용액을 적가하였다. 혼합물을 12h에 걸쳐 교반시키면서 실온으로 가온시킨 후, 2h 동안 가열 환류시켰다. 과량의 *m*-클로로퍼옥시벤조산 (0.5 g)을 첨가하고, 2h 동안 계속해서 환류시켰다. 용액을 냉각시키고, 연속적으로 10% 수성 아황산나트륨, 10% 수성 탄산나트륨 및 포화된 염수로 세척하였다. 유기상을 무수성 황산마그네슘으로 건조시키고 증발시켰다. 잔류물을 플래쉬 크로마토그래피로 분리하여 4-(4-이소프로필-페닐)-피리딘-N-옥사이드 (0.85 g, 78%)를 제공하였다.

파트 C. 4-(4-이소프로필-페닐)-피리딘-N-옥사이드 (126 mg, 0.59 mmol) 및 포스포러스 옥시클로라이드 (5 mL)의 혼합물을 12h 동안 가열 환류시켰다. 혼합물을 냉각하고, 증발시키고, 잔류물을 물중에 용해시키고, 포화된 수성  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 로

중화시키고, 에틸 아세테이트로 추출하였다. 추출물을 염수로 세척하고, 황산마그네슘으로 건조시키고, 여과하고 증발시켰다. 잔류물을 칼럼 크로마토그래피에 의해 분리하여 2-클로로-4-(4-이소프로필-페닐)-피리딘 (110 mg, 81%)을 제공하였다.

파트 D. 아세토니트릴-물 (1 mL/0.5 mL)중의 2-클로로-4-(4-이소프로필-페닐)-피리딘 (110 mg, 0.48 mmol) 용액을 3-카르보에톡시벤젠붕산 (186 mg, 0.96 mmol), 탄산나트륨 (153 mg, 1.44 mmol) 및 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐 (촉매량)으로 처리하였다. 혼합물을 12h 동안 가열 환류시킨 후, 냉각시키고 물 및 에틸 아세테이트로 분할하였다. 유기상을 염수로 세척하고, 황산마그네슘으로 건조시키고, 여과하고 증발시켰다. 잔류물을 칼럼 크로마토그래피로 분리하여 에틸 3-[4-(4-이소프로필-페닐)-피리딘-2-일]-벤조에이트 (116 mg, 70%)를 제공하였다.

파트 E. 메탄올-물 (3 mL/1 mL)중의 에틸 3-[4-(4-이소프로필-페닐)-피리딘-2-일]-벤조에이트 (116 mg, 0.34 mmol) 용액을 리튬 히드록시드 수화물 (41 mg, 1.7 mmol)로 처리하였다. 혼합물을 실온에서 12h 동안 교반시킨 후, 물 및 디에틸 에테르로 분할하였다. 수성상을 3 N aq. HCl로 pH 7로 중화시키고, 에틸 아세테이트로 추출하였다. 추출물을 염수로 세척하고, 황산마그네슘으로 건조시키고, 여과시키고 증발시켜 표제 화합물을 백색 분말 (92 mg, 85%), m.p. 233-234 °C로서 수득하였다.

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz, 메탄올 - $d_4$ ):  $\delta$  8.66 (1H, s), 8.65 (1H, d,  $J = 8$  Hz), 8.25 (1H, d,  $J = 8$  Hz), 8.14-8.11 (2H, m), 7.78 (2H, d,  $J \approx 9$  Hz), 7.69-7.62 (2H, m), 7.42 (2H, d,  $J = 9$  Hz), 3.00 (1H, 헵테트,  $J \approx 7$  Hz), 1.30 (6H, d,  $J \approx 7$  Hz). MS (ES+):  $m/e$  x. MS (ES-):  $m/e$  319 (20), 318 (100).

하기 화합물은 화합물 7를 참조로 하여 상기 기술된 방식과 유사한 방식으로 제조될 수 있다.

화합물 13

4-(4-p-톨릴-피리딘-2-일)-벤조산:

m.p. 288-291 °C.  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  8.78 (1H, d,  $J = 7$  Hz), 8.42 (1H, s), 8.30 (2H, d,  $J = 9$  Hz), 8.08 (2H, d,  $J \approx 9$  Hz), 7.94-7.90 (3H, m), 7.38 (2H, d,  $J = 9$  Hz), 2.39 (3H, s). MS (ES+):  $m/e$  291 (19), 290 (100).

#### F. 3,5-피리딘

화합식 1-F 및 2-F의 3,5 피리딘은 일반적으로 하기와 같이 반응식 F에 따라 제조될 수 있다.

3-[5-(4-이소프로필-페닐)피리딘-3-일]-벤조산 (화합물 11)의 제조

파트 A. 에탄올-톨루엔-물 (10 mL/5 mL/3 mL)의 혼합물중의 3,5-디브로모피리딘 (1.0 g, 4.2 mmol) 및 4-이소프로필벤젠붕산 (346 mg, 2.1 mmol) 용액을 탄산나트륨 (450 mg)으로 처리하였다. 혼합물을 2회 탈기시키고, 촉매량의 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐으로 처리하고, 12h 동안 교반하면서 80 °C로 가열시켰다. 혼합물을 냉각시키고, 여과하고, 증발시켰다. 잔류물을 물 및 에틸 아세테이트로 분할하고, 유기상을 염수로 세척하고, 황산나트륨으로 건조시키고, 여과하고, 증발시켰다. 잔류물을 칼럼 크로마토그래피에 의해 분리하여 3-브로모-5-(4-이소프로필-페닐)-피리딘 (300 mg, 55%)를 제공하였다.

파트 B. 에탄올-톨루엔-물 (10 mL/5 mL/3 mL)중의 3-브로모-5-(4-이소프로필-페닐)-피리딘 (300 mg, 1.1 mmol) 및 3-카르보에톡시벤젠붕산 (180 mg, 1.1 mmol) 용액을 탄산나트륨 (345 mg)으로 처리하고, 2회 탈기시키고, 촉매량의 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐으로 처리하였다. TLC에 의해 출발 물질이 소모된 것으로 추정될 때 까지 혼합물을 교반

하면서 80 °C로 가열하였다. 그 후, 혼합물을 냉각시키고, 여과하고, 증발시키고, 잔류 물질을 물 및 에틸 아세테이트로 분할하였다. 유기상을 염수로 세척하고, 황산나트륨으로 건조시키고, 여과하고, 증발시키고, 잔류물을 칼럼 크로마토그래피에 의해 분리하여 에틸 3-[5-(4-이소프로필-페닐)-피리딘-3-일]-벤조에이트 (252 mg, 79%)를 제공하였다.

파트 C. 메탄올-물 (3 mL/1 mL)중의 에틸 3-[5-(4-이소프로필-페닐)-피리딘-3-일]-벤조에이트 (100 mg) 용액을 리튬 히드록시드 수화물 (50 mg)로 처리하고, 용액을 12h 동안 40 - 50 °C로 가열하였다. 냉각 후, 용액을 3 N HCl로 pH 7로 중화시키고, 에틸 아세테이트로 추출하였다. 추출물을 염수로 세척하고, 황산나트륨으로 건조시키고, 여과시키고 증발시켜 표제 화합물을 분말 (80 mg, 87%), m.p. 155-156 °C로서 제공하였다.

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.93-8.90

(2H, m), 8.44 (1H, s), 8.21-8.19 (2H, m), 7.89 (1H, d,  $J = 7$  Hz), 7.64 (1H, t,  $J = 8$  Hz),

7.61 (2H, d,  $J = 9$  Hz), 7.39 (2H, d,  $J = 9$  Hz), 3.00 (1H, heptet,  $J = 7$  Hz), 1.30 (6H, d,  $J =$

7 Hz). MS (ES+):  $m/e$  319 (22), 318 (100).

하기 화합물은 화합물 11을 참조로 하여 상기 기술된 방식과 유사한 방식으로 제조될 수 있다.

#### 화합물 15

4-(5-p-톨릴-피리딘-3-일)-벤조산:

m.p. 260-262 °C.  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,

$\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  8.92 (2H, s), 8.38 (1H, s), 8.05 (2H, d,  $J = 9$  Hz), 7.98 (2H, d,  $J = 9$  Hz),

7.75 (2H, d,  $J = 9$  Hz), 7.33 (2H, d,  $J = 9$  Hz), 2.36 (3H, s). MS (ES+):  $m/e$  291 (20), 290

(100).

#### G. 4.2-피리딘

화학식 1-G 및 2-G의 4,2 피리딘은 일반적으로 하기와 같이 반응식 G에 따라 제조될 수 있다.

3-[2-(4-이소프로필-페닐)-피리딘-4-일]-벤조산 (화합물 8)의 제조

파트 A. 아세토니트릴-물 (1025 mL/5 mL)중의 4-브로모피리딘 (1.0 g, 5.2 mmol) 용액을 3-카르보에톡시벤젠산 (0.93 g, 5.2 mmol), 탄산나트륨 (2.2 g, 21 mmol) 및 촉매적 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐으로 처리하였다. 용액을 12h 동안 가열 환류시킨 후, 냉각시키고, 에틸 아세테이트로 추출하였다. 추출물을 염수로 세척하고, 황산나트륨으로 건조시키고, 여과시키고 증발시켰다. 잔류 물질을 플래쉬 크로마토그래피에 의해 분리하여 에틸 3-피리딘-4-일-벤조에이트 (1.0 g, 86%)를 제공하였다.

파트 B. 디클로로메탄 (5 mL)중의 에틸 3-피리딘-4-일-벤조에이트 (150 mg, 0.66 mmol) 용액을 m-클로로퍼옥시벤조산 (340 mg, 2.0 mmol)로 처리하였다. 2일 동안 교반시킨 후, 혼합물을 350 mg 초과 m-클로로퍼옥시벤조산으로 처리하고, 반응 혼합물을 밤새 가열 환류시켰다. 용액을 냉각시키고, 연속하여 10% 수성 아황산나트륨, 10% 수성 탄산나트륨 및 염수로 세척하였다. 유기상을 무수성 황산마그네슘으로 건조시키고, 여과하고 증발시켜 충분히 순수한 에틸 3-피리딘-4-일-벤조에이트-N-옥사이드를 제공하였다. 이러한 물질을 포스포러스 옥시클로라이드중에 용해시키고, 12h 동안 가열 환류시켰다. 반응 혼합물을 냉각시키고, 증발시키고, 잔류물을 에틸 아세테이트에 용해시켰다. 이 용액을 포화된 수성 탄산나트륨, 물 및 염수로 세척한 후, 황산마그네슘으로 건조시키고, 여과하고 증발시켰다. 잔류물을 플래쉬 크로마토그래피로 분리하여 에틸 3-(2-클로로-피리딘-4-일)-벤조에이트 (81 mg, 47% 전체)를 제공하였다.

파트 C. 아세토니트릴-물 (2 mL/0.5 mL)중의 에틸 3-(2-클로로-피리딘-4-일)-벤조에이트 (81 mg, 0.31 mmol), 탄산나트륨 (99 mg, 0.93 mmol) 및 4-이소프로필벤젠산 (60 mg) 용액을 촉매량의 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐으로

처리하고, 24h 동안 가열 환류시켰다. 혼합물을 물 (60 mL)에 붓고, 이러한 혼합물을 디에틸 에테르 (3 x 60 mL)로 추출하였다. 추출물을 혼합하고, 염수로 세척하고, 황산마그네슘으로 건조시키고, 여과하고 증발시켜 에틸 3-[2-(4-이소프로필-페닐)-피리딘-4-일]-벤조에이트 (75 mg, 76%)를 제공하였다.

파트 D. 표준 리튬 히드록시드 에스테르 가수분해 방법을 이용하여 에틸 3-[2-(4-이소프로필-페닐)-피리딘-4-일]-벤조에이트를 표제 화합물, m.p. 247-249 °C로 전환시켰다.

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.80 (1H, d,  $J = 8$  Hz), 8.45 (1H, s), 8.21 (1H, d,  $J = 8$  Hz), 7.99 (2H, d,  $J = 9$  Hz), 7.98-7.94 (2H, m), 7.64 (1H, t,  $J = 8$  Hz), 7.52-7.48 (1H, m), 7.37 (2H, d,  $J = 9$  Hz), 2.99 (1H, 헵테트,  $J = 7$  Hz), 1.30 (6H, d,  $J = 7$  Hz). MS (ES+):  $m/e$  319 (24), 318 (100).

하기 화합물은 화합물 8을 참조로 하여 상기 기술된 방식과 유사한 방식으로 제조될 수 있다.

## 화합물 12

4-(2-p-톨릴-피리딘-4-일)-벤조산:

m.p. 286-289 °C.  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.71 (1H, br d,  $J = 6$  Hz), 8.22 (1H, s), 8.12-8.02 (6H, m), 7.30 (2H, d,  $J = 9$  Hz), 2.36 (3H, s). MS (ES+):  $m/e$  291 (20), 290 (100).

## H. 2,6-피리딘

화학식 1-H 및 2-H의 4,2 피리딘은 일반적으로 하기와 같이 반응식 H에 따라 제조될 수 있다.

### 3-[6-(4-이소프로필-페닐)피리딘-2-일]-벤조산 (화합물 6)의 제조

파트 A. 아세트니트릴 (20 mL)중의 2,6-디브로모피리딘 (6.16 g, 26 mmol) 및 3-카르보에톡시벤젠붕산 (0.5 g, 2.6 mmol) 용액을 물 (5 mL)중의 탄산나트륨 (0.88 g) 용액으로 처리하였다. 혼합물을 2회 탈기시키고, 촉매량의 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐을 첨가하였다. 반응 혼합물을 80 °C로 가열시키고, 12h 동안 교반한 후, 냉각시키고, 여과시키고 증발시켰다. 잔류물을 물 및 에틸 아세테이트로 분할하고, 유기상을 포화된 수성 염수로 세척하고, 황산나트륨으로 건조시키고, 여과시키고 증발시켰다. 잔류 물질을 칼럼 크로마토그래피로 분리하여 에틸 3-(6-브로모-피리딘-2-일)-벤조에이트 (154 mg, 20%)를 제공하였다.

파트 B. 아세트니트릴중의 에틸 3-(6-브로모-피리딘-2-일)-벤조에이트 (154 mg, 0.5 mmol) 및 4-이소프로필벤젠붕산 (83 mg, 0.5 mmol) 용액을 물 (1 mL)중의 탄산나트륨 (160 mg) 용액으로 처리하였다. 혼합물을 2회 탈기시키고, 촉매량의 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐을 질소의 보호하에 첨가하였다. 출발 물질이 소모된 것으로 TLC에 의해 확인될 때까지 반응 혼합물을 80 °C에서 교반시켰다. 혼합물을 냉각시키고, 여과하고, 증발시키고, 잔류 물질을 물 및 에틸 아세테이트로 분할하였다. 유기상을 염수로 세척하고, 황산나트륨으로 건조시키고, 여과하고 증발시켰다. 잔류물을 칼럼 크로마토그래피로 정제하여 에틸 3-[6-(4-이소프로필-페닐)-피리딘-2-일]-벤조에이트 (120 mg, 69 %)를 제공하였다.

파트 C. 3 mL 메탄올 - 1 mL 물중의 에틸 3-[6-(4-이소프로필-페닐)-피리딘-2-일]-벤조에이트 (90 mg) 용액을 리튬 히드록시드 수화물 (50 mg)로 처리하였다. 용액을 12h 동안 40 내지 50 °C로 가열한 후, 냉각시키고, 3 N aq. HCl로 pH 7로 중화시켰다. 혼합물을 에틸 아세테이트로 추출하고, 추출물을 염수로 세척하고, 황산나트륨으로 건조시키고, 여과하고, 증발시켜 표제 생성물을 분말 (70 mg, 85%), m.p. 215-216 °C로서 제공하였다.

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz,

CDCl<sub>3</sub>): δ 8.86 (1H, s), 8.47 (1H, d, J = 8 Hz), 8.18 (1H, d, J = 8 Hz), 8.08 (2H, d, J = 9 Hz), 7.85 (1H, t, J = 7 Hz), 7.77 (1H, d, J = 7 Hz), 7.76 (1H, d, J = 7 Hz), 7.62 (1H, t, J = 8 Hz), 7.38 (2H, d, J = 9 Hz), 2.99 (1H, heptet, J = 7 Hz), 1.30 (6H, d, J = 7 Hz). MS (ES<sup>+</sup>): m/e 319 (20), 318 (100).

하기 화합물은 화합물 6을 참조로 하여 상기 기술된 방식과 유사한 방식으로 제조될 수 있다.

#### 화합물 14

4-(6-p-톨릴-피리딘-2-일)-벤조산: m.p. 283-284 °C.

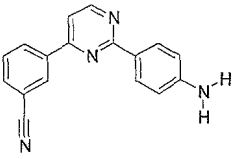
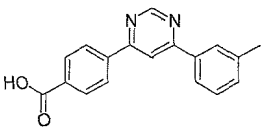
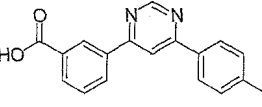
#### 3-(6-페닐-피리딘-2-일)-벤조산 (화합물 24)의 제조

파트 A. 에탄올 (50 mL)중의 메틸 4-아세틸벤조에이트 (5.00 g, 28.1 mmol) 현탁액을 비스(디메틸아미노)-메톡시메탄 (7.50 mL, 56.1 mmol)로 처리하고, 혼합물을 2일 동안 교반시키면서 80 °C로 가열하였다. 용매를 감압하에 제거하고, 목 적 생성물 (메틸 4-(3-디메틸아미노-아크릴로일)-벤조에이트) 를 백색 고형물로서 수득하였다.

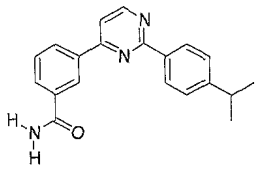
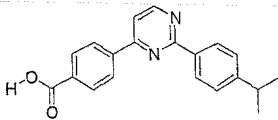
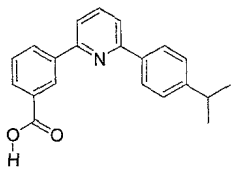
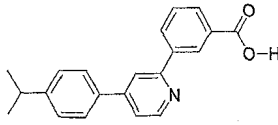
파트 B. 아세트산 (5 mL)중의 (메틸 4-(3-디메틸아미노-아크릴로일)-벤조에이트) (100 mg) 용액을 아세트페논 및 암모 늄 아세테이트 (77 mg)로 처리하였다. 생성 혼합물을 18h 동안 80 °C로 가열하고, 냉각시키고, 질소 스트림하에 증발시켰 다. 생성된 고형물을 에틸 아세테이트-헥산중에서 재결정화시켜 메틸 3-(6-페닐-피리딘-2-일)-벤조에이트를 제공하였 다. MS (ES<sup>+</sup>): m/e 290.2 (100).

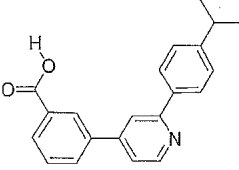
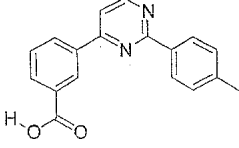
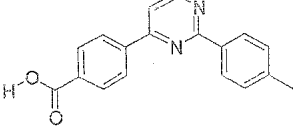
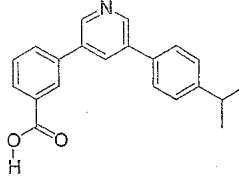
파트 C. 메틸 3-(6-페닐-피리딘-2-일)-벤조에이트를 수산화나트륨을 사용하여 비누화시키고, 산성 표제 생성물을 제 공 하였다. MS (ES<sup>+</sup>): m/e 276 (100).

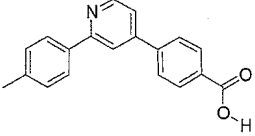
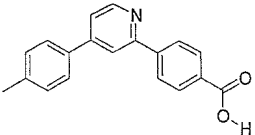
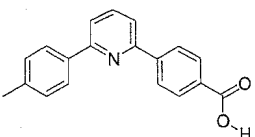
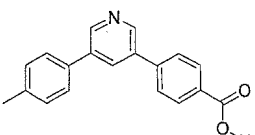
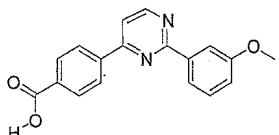
본 발명의 특정 바람직한 화합물에 대한 용융점 및 질량 분석 데이터는 하기 표에 제시되어 있다.

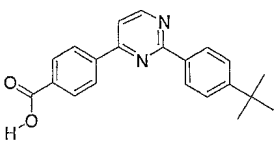
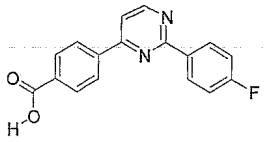
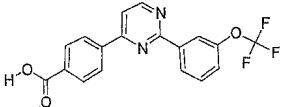
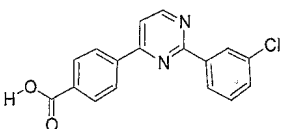
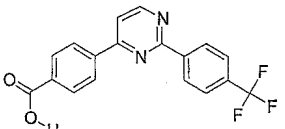
화합물	용융점 °C	질량분석 (ES <sup>+</sup> )
 <p>1</p>		273
 <p>2</p>	211-213	291.58
 <p>3</p>	201-203	291

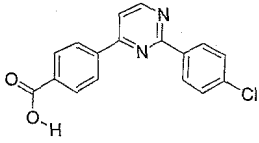
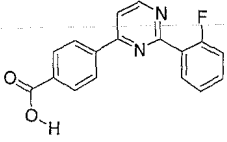
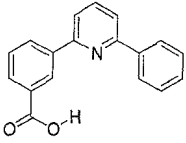
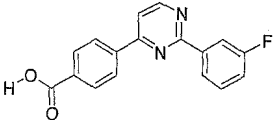
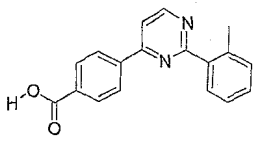


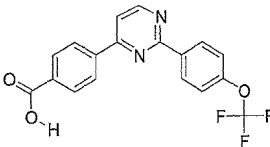
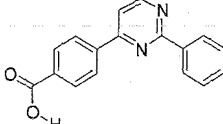
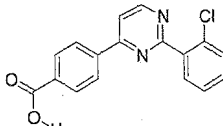
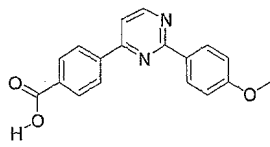
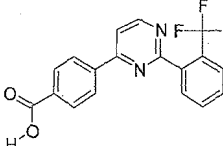
화합물	용융점 °C	질량분석 (ES+)
 <b>4</b>	167-169	318
 <b>5</b>	262-264	317
 <b>6</b>	215-216	318
 <b>7</b>	233-234	318

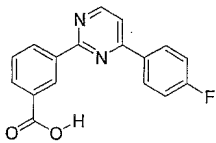
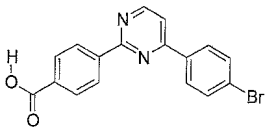
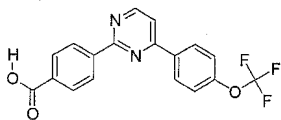
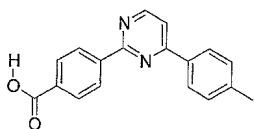
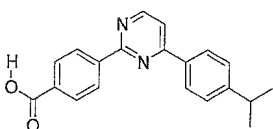
화합물	용융점 °C	질량분석 (ES+)
 <b>8</b>	247-249	318
 <b>9</b>	225-226	289
 <b>10</b>	>310	289
 <b>11</b>	155-156	318

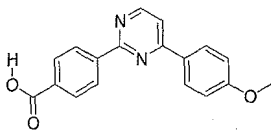
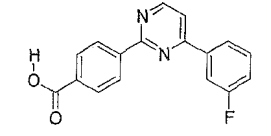
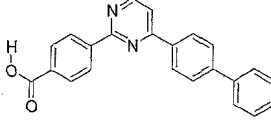
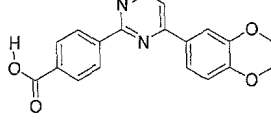
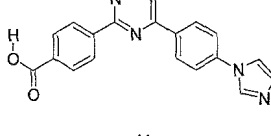
화합물	용융점 °C	질량분석 (ES+)
 <b>12</b>	286-289	290
 <b>13</b>	288-291	290
 <b>14</b>	283-284	
 <b>15</b>	260-262	290
 <b>16</b>	270-273	305

화합물	용융점 °C	질량분석 (ES+)
 <p>17</p>	293-296	333
 <p>18</p>	>300	295
 <p>19</p>	>300	361
 <p>20</p>	291-294	311
 <p>21</p>	>300	345

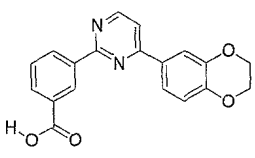
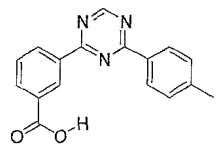
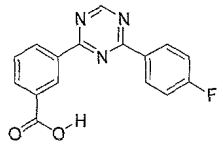
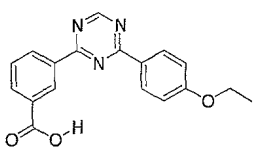
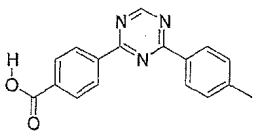
화합물	용융점 °C	질량분석 (ES+)
 22	>300	311
 23	>300	295
 24		276
 25	300-303	295
 26	198-200	291

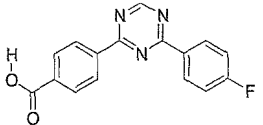
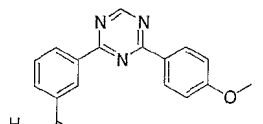
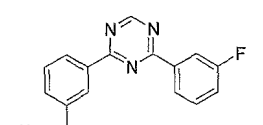
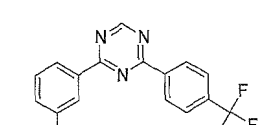
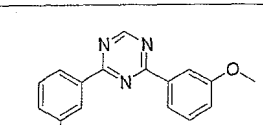
화합물	용융점 °C	질량분석 (ES+)
 <b>27</b>	299-302	361
 <b>28</b>	>300	277
 <b>29</b>		
 <b>30</b>	>300	307
 <b>31</b>	251-252	345

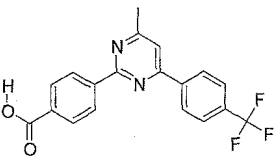
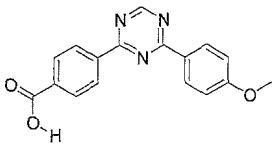
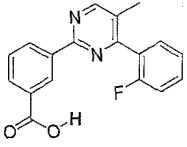
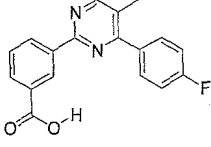
화합물	용융점 °C	질량분석 (ES+)
31		
		
32	239-241	295
		
33	302-305	358
		
34	234-236	362
		
35	287-289	291
		
36	243-245	319

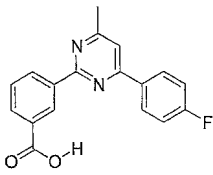
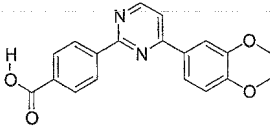
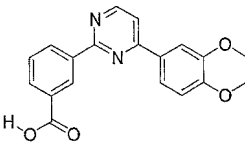
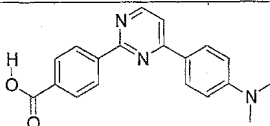
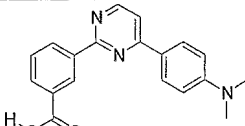
화합물	용융점 °C	질량분석 (ES+)
 <b>37</b>	263-265	307
 <b>38</b>	249-252	295
 <b>39</b>	293-296	353
 <b>40</b>	272-274	335
 <b>41</b>	>305	342

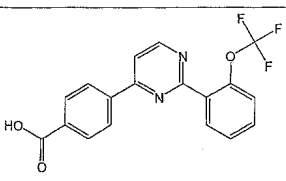
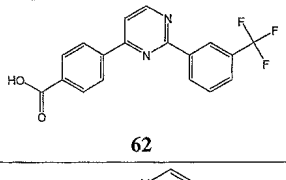
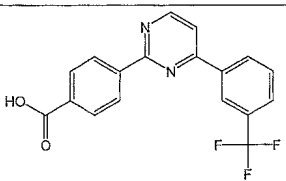
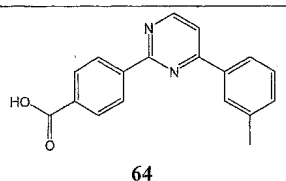
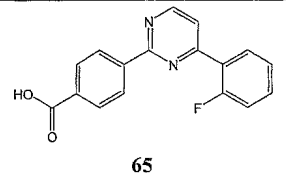


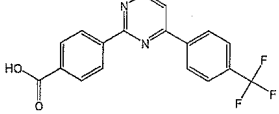
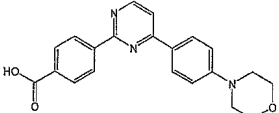
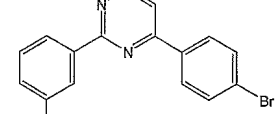
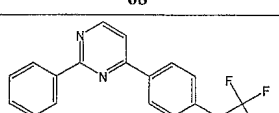
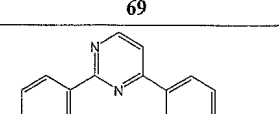
화합물	용융점 °C	질량분석 (ES+)
 <b>42</b>	239-241	335
 <b>43</b>	298-300	292
 <b>44</b>	266-269	297
 <b>45</b>	269-272	322
 <b>46</b>	288-290	292

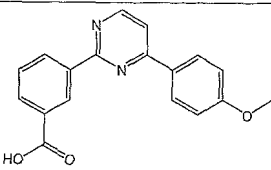
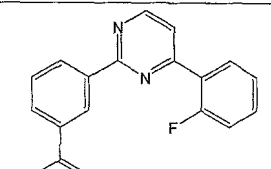
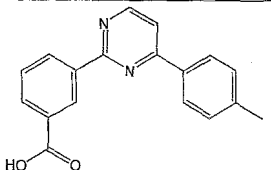
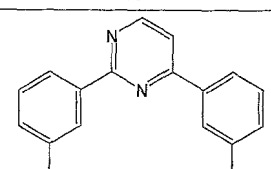
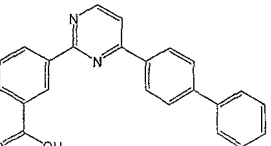
화합물	용융점 °C	질량분석 (ES+)
 47	295-298	296
 48	307-309	308
 49	273-276	296
 50	290-293	346
 51	227-229	308

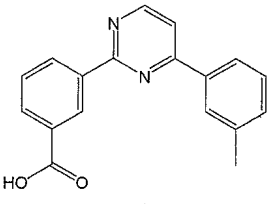
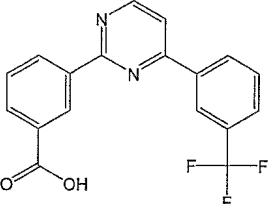
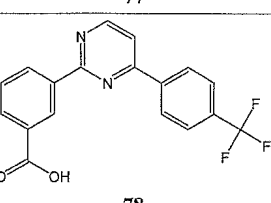
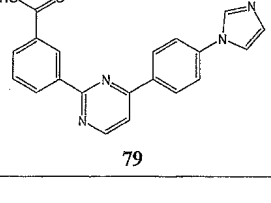
화합물	용융점 °C	질량분석 (ES+)
 <b>52</b>	272-275	359
 <b>53</b>	>300	308
 <b>54</b>	279-281	307
 <b>55</b>	272-275	309

화합물	용융점 °C	질량분석 (ES+)
 <b>56</b>	305-307	307
 <b>57</b>	250-252	337
 <b>58</b>	240-243	337
 <b>59</b>	292-295	320
 <b>60</b>	281-283	318

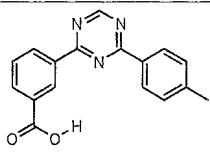
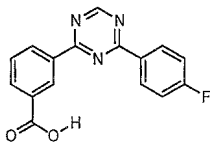
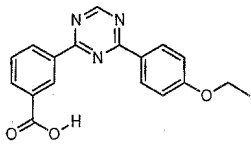
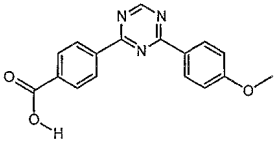
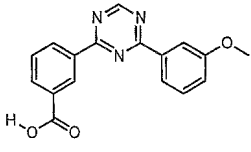
화합물	용융점 °C	질량분석 (ES+)
 <b>61</b>	258-261	361
 <b>62</b>		345
 <b>63</b>	271-273	345
 <b>64</b>	220-222	291
 <b>65</b>	234-236	295

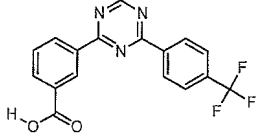
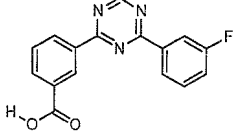
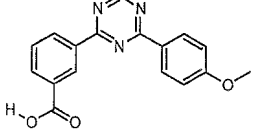
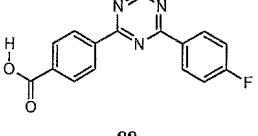
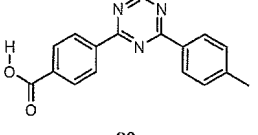
화합물	용융점 °C	질량분석 (ES+)
 <b>66</b>	282-285	345
 <b>67</b>	289-291	362
 <b>68</b>	>300	355
 <b>69</b>	241-243	361
 <b>70</b>	242-244	319

화합물	용융점 °C	질량분석 (ES+)
 <p>71</p>	243-244	307
 <p>72</p>	201-203	295
 <p>73</p>	252-253	291
 <p>74</p>	253-255	295
	296-299	353

화합물	용융점 °C	질량분석 (ES+)
75		
 <p>75</p>	217-219	291
 <p>76</p>	271-273	345
 <p>77</p>	271-273	345
 <p>78</p>	>310	343



화합물	용융점 °C	질량분석 (ES+)
 <b>80</b>	298-300	292.30
 <b>81</b>	266-269	296.28
 <b>82</b>	269-272	322.27
 <b>83</b>	>300	308.26
 <b>84</b>	227-229	308.26

화합물	용융점 °C	질량분석 (ES+)
 <b>85</b>	290-293	346.22
 <b>86</b>	273-276	296.25
 <b>87</b>	307-309	308.26
 <b>88</b>	295-298	296.22
 <b>89</b>	288-290	292.30

## 실시예 2: 넌센스 억제 활성

루시페라아제-매개된 화학발광에 기초한 작용성 세포-기재 번역 검정법 (International Application PCT/US2003/023185, filed on July 23, 2003, 본원에 참고문헌으로 인용됨)에 의해 넌센스 억제 수준의 정량적 평가가 가능하다. 인간 배아 신장 세포 (293 세포)를 소태 혈청 (FBS)을 함유하는 배지에서 성장시켰다. 이러한 세포를 190번 아미노산 위치에서 조기 종료 코돈을 갖는 루시페라아제 유전자로 안정하게 트랜스펙션시킬 수 있다. 이러한 부위에서 루시페라아제 유전자 중에 일반적으로 존재하는 트레오닌 코돈 (ACA) 자리에, 넌센스 코돈 이후 관계상 중요한 다운스트림 + 1 위치에서 3개의 가능한 넌센스 코돈 (TAA, TAG 또는 TGA) 각각 및 4개의 가능한 뉴클레오티드 (아데닌, 티민, 시토신 또는 구아닌) 각각이 부위-특이적 돌연변이원에 의해 유입시켰다. 이와 같이, 조기 종료 코돈을 함유하는 루시페라아제 유전자에서 190번 아미노산은 TAA, TAG 또는 TGA이다. 각각의 정지 코돈에 있어서, 조기 종료 코돈을 함유하는 루시페라아제 유전자의 190번 아미노산 이후의 뉴클레오티드는 아데닌, 티민, 시토신 또는 구아닌 (A, T, C, G)로 대체될 수 있으며, 이러한 변이는 루시페라아제 유전자의 리딩 프레임을 변화시키지 못한다. 이러한 작제물의 개략도는 도 1에 도시되어 있다.

하기 기술된 바와 같은 본 발명의 세포-기재 루시페라아제 리포터 검정으로부터의 넌센스 억제 활성은 하기 표에 기술되어 있다 (표 2). 인간 배아 신장 293 세포를 인-프레임내에서 아데닌 뉴클레오티드가 뒤에 오는 190번 위치에서 UGA 넌센스 변이부를 포함하는 루시페라아제 리포터 작제물로 안정하게 트랜스펙션시켰다.

표 2의 활성 측정치는 UGA 조기 종료 코돈을 함유하는 본 발명의 작제물의 세포-기재 루시페라아제 리포터 검정법으로 결정된다. 조기 종료 코돈의 리드쓰로를 허용하는 것으로 공지된 젠타마이신 즉, 아미노글리코시드 항생제를 내부 표준물로서 사용하였다. 활성 측정치는 세포에서 주어진 단백질을 생성하는데 요구되는 화합물의 최소 농도 대 이러한 농도에서 세포에 의해 생성되는 단백질의 양간의 정성비 (qualitative ratio)에 기초한다. 단백질 합성의 매우 높은 가능성 및 매우

높은 유효성중 하나 또는 이 둘 모두를 갖는 것으로 밝혀진 화합물은 "\*\*\*\*\*"으로 분류하였다. 단백질 합성의 중간 정도의 가능성 및/또는 유효성을 갖는 것으로 밝혀진 화합물은 "\*\*\*\*\*"; "\*\*\*"; 또는 "\*\*"로 분류하였다. 유사하게는, 단백질 합성의 더 낮은 가능성 및/또는 유효성을 갖는 것으로 밝혀진 화합물은 "\*"로 분류하였다.

화합물	UGA
1	*
2	***
3	**
4	*
5	**
6	***
7	**
8	*
9	***
10	*****
11	**
12	***
13	*****
14	*****
15	***
16	**
17	***
18	*
19	*
20	***
21	***
22	*
23	**
24	***
25	*
26	**

화합물	UGA
27	***
28	*
29	*
30	**
31	*
32	**
33	***
34	***
35	*****
36	***
37	*****
38	*
39	**
40	*****
41	*
42	*****
43	*****
44	*
45	***
46	***
47	**
48	***
49	**
50	***
51	***
52	***
53	***
54	**
55	*****

화합물	UGA
56	*****
57	***
58	**
59	***
60	*****
61	*
62	*
63	*****
64	*****
65	***
66	*****
67	*
68	*
69	*
70	**
71	**
72	*
73	**
74	**
75	**
76	*****
77	***
78	*
79	*
80	*****
81	*
82	***
83	***
84	***

화합물	UGA
85	***
86	**
87	***
88	**
89	***

190번 위치에서 UAG 넌센스 변이를 가지며, 이어서 인-프레임내에 아데닌 뉴클레오티드를 갖는 작제물 (UAGA); 및 190번 위치에서 UAA 넌센스 변이를 가지며, 이어서 인-프레임내에 아데닌 뉴클레오티드를 갖는 작제물 (UAAA)에 대한 상기 기술된 검정에서 넌센스 억제 활성은 하기 표 3에 기술되어 있다. "POSWB"는 본 발명의 화합물이 UGA 넌센스 변이 및 이어서 시토신 뉴클레오티드를 갖는 (UGAC) 본 발명의 검정에 사용되는 경우, 웨스턴 블롯에서 파지티브 시그널을 생성시킴을 의미한다.

표 3

화합물 번호	UGAC	UAG	UAA
33		*	**
35		*	*
43		*	
44		*	
45		*	
46		*	*
47		*	*
48		*	*
49		*	*
50	POSWB	*	*
51	POSWB	*	*
52		*	*
53		*	*
56		*	*
60		*	*

### 실시예 3: 리드쓰로 검정

루시페라아제-매개된 화학발광에 기초한 작용성 세포-기재 번역 검정법 (International Application PCT/US2003/023185, filed on July 23, 2003, 본원에 참고문헌으로 인용됨)에 의해 mRNA에서 일반적인 정지 코돈의 번역-리드쓰로의 평가가 가능하다. 인간 배아 신장 세포 (293 세포)를 소태 혈청 (FBS)을 함유하는 배지에서 성장시켰다. 이러한 세포를 190번 아미노산 위치에서 조기 종료 코돈을 갖는 루시페라아제 유전자로 안정하게 트랜스펙션시켰다. 이러한 부위에서 루시페라아제 유전자중에 일반적으로 존재하는 트레오닌 코돈 (ACA) 자리에, 넌센스 코돈 이후 관계상 중요한 다운스트림 +1 위치에서 3개의 가능한 넌센스 코돈 (TAA, TAG 또는 TGA) 각각 및 4개의 가능한 뉴클레오티드 (아데닌, 티민, 시토신 또는 구아닌) 각각이 부위-특이적 돌연변이원에 의해 유입시켰다. 이와 같이, 조기 종료 코돈을 함유하는 루시페라아제 유전자에서 190번 아미노산은 TAA, TAG 또는 TGA이다. 각각의 정지 코돈에 있어서, 조기 종료 코돈을 함유하는 루시페라아제 유전자의 190번 아미노산 이후의 뉴클레오티드는 아데닌, 티민, 시토신 또는 구아닌 (A, T, C, G)로 대체될 수 있으며, 이러한 변이는 루시페라아제 유전자의 리딩 프레임을 변화시키지 못한다. 이러한 작제물의 개략도는 도 1에 도시되어 있다.

본 발명의 또 다른 검정법으로 넌센스 변이 억제제를 증진시키는 화합물을 평가할 수 있다. 도 1에서 상기 기술된 루시페라아제 작제물은 루시페라아제 단백질의 N-말단에 두개의 에피토프 태그를 갖도록 조작되었다. 루시페라아제 단백질 생성에 기초하여, 이들 작제물을 번역-리드쓰로의 수준을 정성적으로 평가하였다. 조기 종료 코돈의 억제에 의해 생성된 전장 루시페라아제 단백질의 존재는 억제된 루시페라아제 단백질의 면역침강법 (His 태그에 대한 항체 이용) 이어서, 제 2 에피토프 (Xpress<sup>TM</sup> 에피토프; Invitrogen<sup>®</sup>; Carlsbad, California)에 대한 항체를 이용한 웨스턴 블롯에 의해 평가된다. 이러한 작제물은 도 2에 기술되어 있다.

도 2의 작제물을 갖는 세포는 본 발명의 화합물로 처리할 경우 증가된 전장 단백질 생성을 나타낸다. 20시간 동안 처리 후, 도 2의 작제물을 갖는 세포를 수집하고, His 에피토프를 인지하는 항체를 사용하여 루시페라아제 단백질을 면역침강시켰다. 면역침강 후, Xpress<sup>TM</sup> 에피토프 (Invitrogen<sup>®</sup>; Carlsbad, California)에 대한 항체를 사용하여 웨스턴 블롯을 수행하여 절두된 루시페라아제 (넌센스 억제가 발생하지 않은 경우 생성됨)를 검출하고, 전장 단백질 (넌센스 코돈의 억제에 의해 생성됨)을 검출하였다. 시험 화합물로 세포를 처리하면, 리드쓰로 단백질이 아니라 전장 단백질을 생성한다 (예를 들어, 도 3 참조). 리드쓰로 단백질은 일반적인 종료 코돈의 억제가 발생하는 경우 생성된다. 본 발명의 화합물은 조기 즉, 넌센스 변이를 억제하나, 루시페라아제 mRNA중의 일반적인 종료 코돈은 억제시키지 않는다.

본 발명의 화합물은 선택적으로 조기 종료 코돈에 대해 작용하나, 포유동물의 일반적인 종료 코돈에는 작용하지 않는다.

랫트 및 개에 1일당 1회 위관영양법 (경구)에 의해 높은 용량의 화합물 (1800mg/kg 이하)을 14일 동안 투여하였다. 처리 후, 조직을 모으고, 용해체를 제조하고, 웨스턴 블롯 검정을 수행하였다. 일반적인 종료 코돈 리드쓰로의 평가를 위한 단백질 선택은 먼저 인-프레임내에 일반적 종료 코돈을 갖는 3'-UTR에서 제 2 정지 코돈을 갖는 상응하는 mRNA에 기초한다. 이러한 두 정지 코돈 사이에, 각각 선택된 단백질은 제 1 종료 코돈의 리보솜 리드쓰로의 경우 단백질 연장부를 코딩하는 뉴클레오티드의 중간 서열을 갖는다. 화합물이 비특이적인 리보솜 리드쓰로를 유도할 수 있는 능력을 갖는 경우, 연장된

단백질은 웨스턴 블롯을 사용한 야생형 단백질로부터 구별된다. 래트로부터 조직을 수집하고, 비오티닌 mRNA에서 일반적인 종료 코돈 (UAA)의 억제에 대해 검정하였다. 억제에 대한 어떠한 증거도 명백하지 않았다. 본 발명의 화합물로 처리된 개로부터 조직을 수집하였다. UAG 정지 코돈을 갖는 베타 액틴의 일반적 종료 코돈의 억제에 대한 증거가 없었다.

건강한 인간 지원자에서, 본 발명의 단일 용량의 화합물 (200mg/kg)을 경구 투여하였다. 혈액 샘플을 수집하고, 혈장을 제조하고, 여성 및 남성 피검체로부터 혈장 샘플을 사용하여 웨스턴 블롯을 수행하였다. UGA 종료 코돈을 갖는 C-반응성 단백질 (CRP)을 사용하여, 본 발명의 화합물로 피검체를 처리하면 CRP mRNA에서 일반적인 종료 코돈이 억제되는 지의 여부를 측정하였다. 조기 종료 검정법과 복합된 루시페라아제 검정법은 조기 종료 코돈을 선택적으로 억제하며, 일반적인 종료 코돈은 억제하지 않음을 입증해 준다.

#### **실시예 4: 동물 모델**

동물 모델 시스템은 또한, 본 발명의 화합물의 안정성 및 유효성을 입증하는데 사용될 수 있다. 대상 질환, 상태 또는 증상에 대해 동물 모델을 이용하여 생물학적 활성에 대해 본 발명의 화합물을 시험하였다. 이는 작용성 판독 시스템에 결합된 표적 RNA 엘리먼트를 함유하도록 조작된 동물 예컨대, 형질전환 마우스를 포함한다.

#### **낭성섬유증**

낭성섬유증에 대한 동물 모델의 예로는 *cftr*(-/-) 마우스 (예를 들어, 문헌 [Freedman et al, 2001, Gastroenterology 121(4):950-7] 참조), *cftr*(tmlHGU/tmlHGU) 마우스 (예를 들어, 문헌 [Bernhard et al, 2001, Exp Lung Res 27(4):349- 66] 참조), 결핍성 cAMP-매개된 Cl(-) 컨덕턴스를 갖는 CFTR-결핍 마우스 (예를 들어, 문헌 [Stotland et al, 2000, Pediatr Pulmonol 30(5):413-24] 참조), 및 C57BL/6- *Cftr*(m1UNC)/*Cftr*(m1UNC) 녹아웃 (knockout) 마우스 (예를 들어, 문헌 [Stotland et al, 2000, Pediatr Pulmonol 30(5):413-24] 참조)를 포함하나 이에 제한되지 않는다.

#### **근위영양증**

근위영양증에 대한 동물 모델의 예로는 마우스, 햄스터, 고양이, 개, 및 *C. 엘레간스* (*C. elegans*)를 포함하나 이에 제한되지 않는다. 근위영양증에 대한 마우스 모델의 예로는 *dy*-/- 마우스 (예를 들어, 문헌 [Connolly et al, 2002, J Neuroimmunol 127(1-2):80-7] 참조), 근염을 동반하는 근위영양증 (*mdm*) 마우스 돌연변이 (예를 들어, 문헌 [Garvey et al, 2002, Genomics 79(2): 146-9] 참조), *mdx* 마우스 (예를 들어, 문헌 [Nakamura et al, 2001, Neuromuscul Disord 11(3):251-9] 참조), 우트로핀-디스트로핀 (*utrophin-dystrophin*) 녹아웃 (*dko*) 마우스 (예를 들어, 문헌 [Nakamura et al, 2001, Neuromuscul Disord 11(3):251- 9] 참조), *dy/dy* 마우스 (예를 들어, 문헌 [Dubowitz et al, 2000, Neuromuscul Disord 10(4-5):292- 8] 참조), *mdx*(Cv3) 마우스 모델 (예를 들어, 문헌 [Pillers et al, 1999, Laryngoscope 109(8): 1310- 2] 참조), 및 근이영양증 ADR-MDX 돌연변이 마우스 (예를 들어, 문헌 [Kramer et al, 1998, Neuromuscul Disord 8(8):542-50] 참조)를 포함하나 이에 제한되지 않는다. 근위영양증에 대한 햄스터 모델의 예로는 사르코글리칸-결핍 햄스터 (예를 들어, 문헌 [Nakamura et al, 2001, Am J Physiol Cell Physiol 281(2):C690-9] 참조) 및 BIO 14.6 이영양성 햄스터 (예를 들어, 문헌 [Schlenker & Burbach, 1991, JAppl Physiol 71(5):1655-62] 참조)를 포함하나 이에 제한되지 않는다. 근위영양증에 대한 고양이과 모델의 예로는 비대성 고양이과 근위영양증 모델 (예를 들어, 문헌 [Gaschen & Burgunder, 2001, Acta Neuropathol (Berl) 101(6):591-600] 참조)를 포함하나 이에 제한되지 않는다. 근위영양증에 대한 개과 모델은 골든 리트리버 근위영양증 (예를 들어, 문헌 [Fletcher et al, 2001, Neuromuscul Disord 11(3):239-43] 참조) 및 개과 X-연결된 근위영양증 (예를 들어, 문헌 [Valentine et al, 1992, Am J Med Genet 42(3):352-6] 참조)을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 근위영양증에 대한 *C. 엘레간스*의 예는 문헌 [Chamberlain & Benian, 2000, Curr Biol 10(21):R795-7 and Culette & Sattelle, 2000, Hum Mol Genet 9(6):869-77]에 기술되어 있다.

#### **가족성 고콜레스테롤혈증**

가족성 고콜레스테롤혈증에 대한 동물 모델의 예로는 작용성 LDL 수용체 유전자가 결여된 마우스 (예를 들어, 문헌 [Aji et al, 1997, Circulation 95(2):430-7] 참조), 요시다 (Yoshida) 래트 (예를 들어, 문헌 [Fantappie et al, 1992, Life Sci 50(24):1913-24] 참조), JCR:LA-cp 래트 (예를 들어, 문헌 [Richardson et al, 1998, Atherosclerosis 138(1):135-46] 참조), 돼지 (swine) (예를 들어, 문헌 [Hasler-Rapacz et al, 1998, Am J Med Genet 76(5):379- 86] 참조), 및 와타나베 유전성 고지방질 래트 (Watanabe heritable hyperlipidaemic rabbit) (예를 들어, 문헌 [Tsutsumi et al, 2000, Arzneimittelforschung 50(2):118-21; Harsch et al, 1998, Br J Pharmacol 124(2):227-82; and Tanaka et al, 1995, Atherosclerosis 114(1):73-82] 참조)를 포함하나 이에 제한되지 않는다.

## 인간 암

인간 암에 대한 동물 모델의 예로는 일반적으로, 자연적으로 발생하는 종양을 갖는 컴패니언 애니멀 (companion animals) (예를 들어, 문헌 [Vail & MacEwen, 2000, Cancer Invest 18(8):781-92] 참조)을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 폐암에 대한 동물 모델의 예로는 문헌 [Zhang & Roth (1994, In Vivo 8(5):755-69]에 기술된 폐암 동물 모델, 및 파괴된 p53 기능을 갖는 형질전환 마우스 (예를 들어, 문헌 [Morris et al, 1998, JLa State Med Soc 150(4): 179-85] 참조)를 포함하나 이에 제한되지 않는다. 유방암에 대한 동물 모델의 예로는 시클린 D1을 과다발현하는 형질전환 마우스 (예를 들어, 문헌 [Hosokawa et al, 2001, Transgenic Res 10(5):471-8] 참조)를 포함하나 이에 제한되지 않는다. 대장암에 대한 동물 모델의 예로는 TCRbeta 및 p53 이중 녹아웃 마우스 (예를 들어, 문헌 [Kado et al, 2001, Cancer Res 61(6):2395-8] 참조)를 포함하나 이에 제한되지 않는다. 췌장암에 대한 동물 모델의 예로는 Panc02 무린 췌장 아테노칼시노마의 전이성 모델 (예를 들어, 문헌 [Wang et al, 2001, Int J Pancreatol 29(1):37-46] 참조) 및 피하 췌장 종양에서 발생된 nu-nu 마우스 (예를 들어, 문헌 [Ghaneh et al, 2001, Gene Ther 8(3): 199- 208] 참조)를 포함하나 이에 제한되지 않는다. 비호지킨 림프종에 대한 동물 모델의 예로는 중증의 복합된 면역결핍 ("SCID") 마우스 (예를 들어, 문헌 [Bryant et al, 2000, Lab Invest 80(4):553-73] 참조) 및 IgHmu-HOX11 형질전환 마우스 (예를 들어, 문헌 [Hough et al, 1998, Proc Natl Acad Sci USA 95(23):13853-8] 참조)를 포함하나 이에 제한되지 않는다. 식도암에 대한 동물 모델의 예로는 사람 파필로마바이러스형 16 E7 종양유전자에 대해 형질전환 마우스 (예를 들어, 문헌 [Herber et al, 1996, J Virol 70(3):1873-81] 참조)를 포함하나 이에 제한되지 않는다. 직장암에 대한 동물 모델의 예로는 Apc 마우스 모델 (예를 들어, 문헌 [Fodde & Smits, 2001, Trends Mol Med 7(8):369-73 and Kuraguchi et al, 2000, Oncogene 19(50):5755-63] 참조)을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 신경섬유종증에 대한 동물 모델의 예로는 변이체 NF1 마우스 (예를 들어, 문헌 [Cichowski et al, 1996, Semin Cancer Biol 7(5):291-8] 참조)를 포함하나 이에 제한되지 않는다. 망막모세포종에 대한 동물 모델의 예로는 망막에서 시미안 바이러스 40 T 항원을 발현하는 형질전환 마우스 (예를 들어, 문헌 [Howes et al, 1994, Invest Ophthalmol Vis Sci 35(2):342-51 and Windle et al, 1990, Nature 343(6259):665-9] 참조) 및 동종교배 래트 (예를 들어, 문헌 [Nishida et al, 1981, Curr Eye Res 1(1):53-5 and Kobayashi et al, 1982, Acta Neuropathol (Berl) 57(2-3):203-8] 참조)를 포함하나 이에 제한되지 않는다. 율름종양에 대한 동물 모델의 예로는 WT1 녹아웃 마우스 (예를 들어, 문헌 [Scharnhorst et al, 1997, Cell Growth Differ 8(2): 133-43] 참조), 뉴프로브라스토마 (neuroblastoma) 발병율이 높은 래트 서브라인 (subline) (예를 들어, 문헌 [Mesfin & Breech, 1996, Lab Anim Sci 46(3):321-6] 참조), 및 율름종양을 갖는 위스타트/푸르스 래트 (Wistar/Furth rat) (예를 들어, 문헌 [Murphy et al, 1987, Anticancer Res 7(4B):717-9] 참조)를 포함하나 이에 제한되지 않는다.

## 망막색소상피 변성증

망막색소상피 변성증에 대한 동물 모델의 예로는 로얄 콜리제 오브 서전 (Royal College of Surgeons ("RCS")) 래트 (예를 들어, 문헌 [Vollrath et al, 2001, Proc Natl Acad Sci USA 98(22):12584-9 and Hanitzsch et al, 1998, Acta Anat (Basel) 162(2- 3):119-26] 참조), 로돕신 녹아웃 마우스 (예를 들어, 문헌 [Jaissle et al, 2001, Invest Ophthalmol Vis Sci 42(2):506-13] 참조), 및 Wag/Rij 래트 (예를 들어, 문헌 [Lai et al, 1980, Am J Pathol 98(1):281-4] 참조)를 포함하나 이에 제한되지 않는다.

## 간경화

간경화에 대한 동물 모델의 예로는 CCl<sub>4</sub>-노출된 래트 (예를 들어, 문헌 [Kloehn et al, 2001, Horm Metab Res 33(7):394-401] 참조) 및 박테리아 세포 요소 또는 대장염에 의해 자극된 설치류 모델 (예를 들어, 문헌 [Vierling, 2001, Best Pract Res Clin Gastroenterol 15(4):591-610] 참조)을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

## 혈우병

혈우병에 대한 동물 모델의 예로는 혈우병 A에 대한 설치류 모델 (예를 들어, 문헌 [Reipert et al, 2000, Thromb Haemost 84(5):826-32; Jarvis et al., 1996, Thromb Haemost 75(2):318-25; and Bi et al, 1995, Nat Genet 10(1):119-21] 참조), 혈우병 A에 대한 개과 모델 (예를 들어, 문헌 [Gallo-Penn et al, 1999, Hum Gene Ther 10(11):1791-802 and Connelly et al, 1998, Blood 91(9):3273-81] 참조), 혈우병 B에 대한 무린 모델 (예를 들어, 문헌 [Snyder et al, 1999, Nat Med 5(1):64-70; Wang et al, 1997, Proc Natl Acad Sci USA 94(21):11563-6; and Fang et al, 1996, Gene Ther 3(3):217-22] 참조), 혈우병 B에 대한 개과 모델 (예를 들어, 문헌 [Mount et al, 2002, Blood 99



(8):2670-6; Snyder et al, 1999, Nat Med 5(1):64-70; Fang et al, 1996, Gene Ther 3(3):217-22); and Kay et al, 1994, Proc Natl Acad Sci USA 91(6):2353-7] 참조), 및 혈우병 B에 대한 붉은털 원숭이 (예를 들어, 문헌 [Lozier et al, 1999, Blood 93(6): 1875-81] 참조)를 포함하나 이에 제한되지 않는다.

#### 폰 빌레브란트병

폰 빌레브란트병에 대한 동물 모델의 예로는 동종변식 마우스종 RIIS/J (예를 들어, 문헌 [Nichols et al, 1994, 83(11):3225-31 and Sweeney et al, 1990, 76(11):2258-65] 참조), 보트로세틴 주입된 래트 (예를 들어, 문헌 [Sanders et al, 1988, Lab Invest 59(4):443-52] 참조), 및 폰 빌레브란트병에 대한 돼지 모델 (예를 들어, 문헌 [Nichols et al, 1995, Proc Natl Acad Sci USA 92(7):2455-9; Johnson & Bowie, 1992, J Lab Clin Med 120(4):553-8); and Brinkhous et al, 1991, Mayo Clin Proc 66(7):733-42] 참조)를 포함하나 이에 제한되지 않는다.

#### $\beta$ -지중해빈혈증

$\beta$ -지중해빈혈증에 대한 동물 모델의 예로는 글로빈 유전자가 변이된 무린 모델 (예를 들어, 문헌 [Lewis et al, 1998, Blood 91(6):2152-6; Raja et al, 1994, Br J Haematol 86(1):156-62; Popp et al, 1985, 445:432-44; and Skow et al, 1983, Cell 34(3): 1043-52] 참조)을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

#### 신장 결석

신장 결석에 대한 동물 모델의 예로는 유전적 고칼슘뇨형 래트 (예를 들어, 문헌 [Bushinsky et al, 1999, Kidney Int 55(1):234-43 and Bushinsky et al, 1995, Kidney Int 48(6):1705-13] 참조), 화학적으로 처리된 래트 (예를 들어, 문헌 [Grases et al, 1998, Scand J Urol Nephrol 32(4):261-5; Burgess et al, 1995, Urol Res 23(4):239-42; Kumar et al, 1991, J Urol 146(5):1384-9; Okada et al, 1985, Hinyokika Kiyo 31(4):565-77; and Bluestone et al, 1975, Lab Invest 33(3):273-9] 참조), 고수산뇨형 래트 (예를 들어, 문헌 [Jones et al, 1991, J Urol 145(4):868-74] 참조), 유니레테럴 레트로그레이트 플렉서블 뉴프로스코피 (unilateral retrograde flexible nephroscopy)를 갖는 돼지 (예를 들어, 문헌 [Seifmah et al, 2001, 57(4):832-6] 참조), 및 차단된 상위 요로를 갖는 래빗 (예를 들어, 문헌 [Itatani et al, 1979, Invest Urol 17(3):234-40] 참조)를 포함하나 이에 제한되지 않는다.

#### 모세혈관확장성조화운동불증

모세혈관확장성조화운동불증에 대한 동물 모델의 예로는 모세혈관확장성조화운동불증의 무린 모델 (예를 들어, 문헌 [Barlow et al, 1999, Proc Natl Acad Sci USA 96(17):9915-9 and Inoue et al, 1986, Cancer Res 46(8):3979-82] 참조)을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

#### 리소좀 축적증

리소좀 축적증에 대한 동물 모델의 예로는 뮤코폴리사카리도시스 타입 VII (mucopolysaccharidosis type VII)에 대한 마우스 모델 (예를 들어, 문헌 [Brooks et al, 2002, Proc Natl Acad Sci USA. 99(9):6216-21; Monroy et al, 2002, Bone 30(2):352-9; Vogler et al, 2001, Pediatr Dev Pathol 4(5):421-33; Vogler et al, 2001, Pediatr Res. 49(3):342-8; and Wolfe et al, 2000, Mol Ther. 2(6):552-6] 참조), 이염성 백질이영양증에 대한 마우스 모델 (예를 들어, 문헌 [Matzner et al, 2002, Gene Ther. 9(1):53-63] 참조), 샌드호프병에 대한 마우스 모델 (예를 들어, 문헌 [Sango et al, 2002, Neuropathol Appl Neurobiol 28(1):23-34] 참조), 뮤코폴리사카리도시스 타입 III A에 대한 마우스 모델 (예를 들어, 문헌 [Bhattacharyya et al, 2001, Glycobiology 11(1):99-10 and Bhaumik et al, 1999, Glycobiology 9(12):1389-96] 참조), 아릴설패타아제 A (ASA)-결핍 마우스 (예를 들어, 문헌 [D'Hooge et al, 1999, Brain Res. 847(2):352-6 and D'Hooge et al, 1999, Neurosci Lett. 273(2):93-6] 참조); 아스파르틸글루코사아미누리아 변이를 갖는 마우스 (예를 들어, 문헌 [Jalanko et al, 1998, Hum Mol Genet. 7(2):265-72] 참조); 뮤코폴리사카리도시스 타입 VI에 대한 고양이과 모델 (예를 들어, 문헌 [Crawley et al, 1998, J Clin Invest. 101(1):109-19 and Norrdin et al, 1995, Bone 17(5):485-9] 참조); 니만-피크병 타입 C에 대한 고양이과 모델 (예를 들어, 문헌 [March et al, 1997, Acta Neuropathol (Berl). 94(2): 164-72] 참조); 산성 스핀고미엘리나아제-결핍 마우스 (예를 들어, 문헌 [Otterbach & Stoffel, 1995, Cell 81(7): 1053-6] 참조), 및 만노스축적증 소 (예를 들어, 문헌 [Jolly et al, 1975, Birth Defects Orig Arctic Ser. 11(6):273-8] 참조)를 포함하나 이에 제한되지 않는다.

#### 결절성 경화증

결절성 경화증 ("TSC")에 대한 동물 모델이 예로는 TSC1의 마우스 모델 (예를 들어, 문헌 [see, e.g., Kwiatkowski et al, 2002, Hum Mol Genet. 11(5):525-34] 참조), Tsc1 (TSC1 상동성) 녹아웃 마우스 (예를 들어, 문헌 [Kobayashi et al, 2001, Proc Natl Acad Sci USA. 2001 Jul 17;98(15):8762-7] 참조), TSC2 유전자 변이(Eker) 래트 모델 (예를 들어, 문헌 [Hino 2000, Nippon Rinsho 58(6):1255-61; Mizuguchi et al, 2000, J Neuropathol Exp Neurol. 59(3): 188-9; and Hino et al, 1999, Prog Exp Tumor Res. 35:95-108] 참조); 및 Tsc2(+/-) 마우스 (예를 들어, 문헌 [Onda et al, 1999, J Clin Invest. 104(6):687- 95] 참조)를 포함하나 이에 제한되지 않는다.

## 실시예 5: mdx 마우스, 동물 모델 연구

엑손 23의 3185번 위치에서 C가 T로 변이된, 427kDa 디스트로핀 폴리펩티드의 조기 번역 종료를 초래하는 mdx 마우스에서의 변이는 공지되어 있다 (Sicinski et al, Science 244(4912):1578-1580(1989)). 1일령 mdx 마우스로부터 유래된 마우스 일차 골격근 배양물을 종래 기술된 바와 같이 제조하였다 (Barton-Davis et al, J. Clin. Invest. 104(4):375-381 (1999)). 세포를 본 발명의 화합물의 존재하에 10일 동안 배양시켰다. 배양 배지를 4일마다 교체하고, 금모세포 배양물중 디스트로핀의 존재 여부를 종래 기술된 바와 같은 면역염색법으로 검출하였다 (Barton-Davis et al, J. Clin. Invest. 104(4):375-381(1999)). 디스트로핀 단백질의 C-말단에 대한 일차 모노클로날 항체를 사용하고, 비회색된 로다민 컨쥬게이팅된 항-마우스 IgG를 이차 항체로서 사용하였다. 항체는 넌센스 코돈의 억제에 의해 생성된 전장 단백질을 검출한다. 레리카 DMR (Leica DMR) 마이크로스코프, 디지털 카메라, 및 관련 이미징 소프트웨어를 사용하여 염색부를 관찰하였다.

종래 기술된 바와 같이 (Barton-Davis et al, J. Clin. Invest. 104(4):375- 381(1999)), 화합물은 마취된 마우스의 피부 아래로 이식된 알제트 삼투성 펌프 (Alzet osmotic pumps)에 의해 전달된다. 두 용량의 본 발명의 화합물을 투여하였다. 젠타마이신은 파지티브 대조군으로서 작용하며, 단지 용매로만 채워진 펌프는 네거티브 대조군으로서 작용한다. 조직에 노출되도록 계산된 용량이 10mM 및 20mM이 되도록 펌프를 적합한 화합물로 로딩시켰다. 젠타마이신 농도를 약 200mM의 조직 노출이 달성되도록 계산하였다. 초기 실험에서, 마우스를 14일 동안 처리한 후, 동물을 케타민으로 마취시키고, 방혈치사시켰다. 그 후, 실험 동물의 경골 전방 (TA) 근육을 절제하고, 냉동시키고, 가로무늬근으로의 디스트로핀 혼입의 면역혈관 검정에 사용하였다. TA 근육에서의 디스트로핀의 존재는 종래 기술된 바와 같은 면역염색법에 의해 검출된다 (Barton-Davis et al, J. Clin. Invest. 104(4):375-381(1999)).

## 웨스턴 블롯 분석

4주 동안 본 발명의 화합물로 처리된 mdx 마우스로부터의 사두근을 디스트로핀에 대한 통상적으로 입수가 가능한 항체를 사용하여 웨스턴 블롯으로 분석하였다. 야생형 마우스의 사두근으로부터 추출된 단백질은 파지티브 대조군으로서 작용한다. 전장 디스트로핀의 생성이 처리된 동물에서 관찰되었다. 이론에 의해 국한되는 것은 아니나 넌센스 억제 결과 생성된 전장 디스트로핀의 양은 야생형 발현 수준의 약 10%이다.

## 면역형광법

수컷 mdx 마우스 (9-11 주령)를 본 발명의 상이한 화합물로 처리하였다 (n = 각 화합물에 대해 2회 이상). 이들 화합물을 25mg/kg으로 2주 동안 1일 1회 SQ 주입하였다. 처리 2주 후, 마우스를 희생시켜 근육을 제거하여 디스트로핀 리드스로 유효성을 측정하였다.

디스트로핀 항체를 사용하여 10μm 냉동 절편에 대한 면역형광법 (IF)을 수행하였다. 항체는 mdx 마우스에서 발견된 조기 정지 변이에 대한 에피토프 C-말단을 인지하였다. 모든 섹션에서 동일한 방식으로 이미지 분석을 수행하였다. 처리된 마우스 및 미처리된 마우스의 이미지를 분석하고, 비처리된 대조군에서의 시그널 보다 큰 시그널은 파지티브인 것으로 간주되며, 이는 디스트로핀 mRNA에서 조기 종료 코돈의 억제가 발생한 것을 의미한다.

## 근육 역학

동물로부터의 EDL 근육에 대해 분리된 전체 근육 역학을 수행하였다. 최적의 근육 길이 (Lo)는 최대 경련 강도를 유도하는 길이로서 정의된다. Lo에서의 최대 강직력은 초최대 전압에서 120Hz, 500msec 펄스를 사용하여 측정하였다. 일련의 5가지 테타니성 신장성 수축에 의해 유도된 기계적 손상에 대한 보호를 관찰하였다. 이러한 측정은 700msec 자극을 사용하여 수행하였으며, 이러한 기간 동안 근육은 첫번째 500msec에 대해 등척성 수축으로 유지되며, 이어서 0.5Lo/sec의 속도로 8 또는 10% Lo 스트레칭된다. 기계적 손상에 대한 보호는 80Hz 자극 빈도에서 평가하였다. 손상은 처음 및 마지막 신장성 수축간의 힘의 손실로서 측정하였다.

**실시예 6: p53 유전자에서 넌센스 변이의 억제**

동물 모델 시스템에 있어서, CAO-3 세포 ( $1 \times 10^7$ )를 nude/nude 마우스 플랑크에 주입하였다. 12일 후, 마우스를 무작위로 분류하고 (그룹당 10마리), 본 발명의 화합물 3mg/kg을 피하내 (주마다 5일) 또는 본 발명의 화합물 30mg/kg을 복강내 (주마다 1일) 처리하였다. 종양 부피를 매주 측정하였다. 본 발명의 화합물에 의한 p53 유전자에서 넌센스 변이의 억제는 생체내 암 성장을 억제시킬 수 있다.

**실시예 7: 28S rRNA의 특이적 뉴클레오티드의 접근은 본 발명의 화합물에 의해 변형될 수 있다**

16S rRNA의 A 부위로의 번역 결합의 적합도를 감소시키는 젠타마이신 및 아미노글리코사이드계의 기타 구성원이 종래 연구에 의해 입증되었다. 화학적 풋프린팅, UV 가교 및 NMR에 의해, 젠타마이신은 뉴클레오티드 1406번, 1407번, 1494번, 및 1496번 (Moazed & Noller, Nature 327(6121):389-394 (1978); Woodcock et al, EMBO J. 10(10):3099-3103 (1991); and Schroeder et al, EMBOJ. 19:1-9 (2000))의 A 부위 (뉴클레오티드 1400-1410 및 1490-1500, E.coli 넘버링)에 결합하는 것으로 입증되었다.

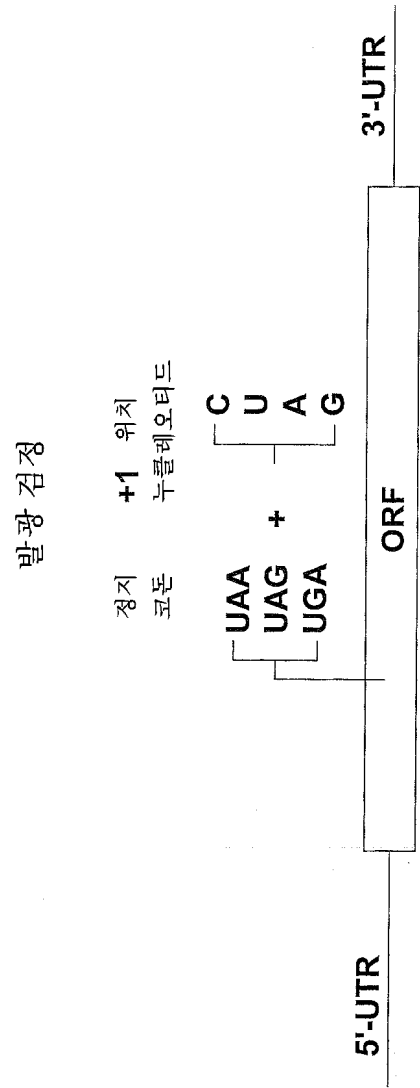
HeLa 세포로부터 제조된 리보솜을 소분자 (100mM 농도)와 인큐베이션시킨 후, 화학적 개질제 (디메틸 설페이트 [DMS] 및 케톡살 [KE])로 처리하였다. 화학적 변형 후, rRNA를 페놀-클로로포름 추출시키고, 에탄올 침전시키고, 3개의 rRNA의 상이한 영역으로의 말단-라벨링된 올리고뉴클레오티드 하이브리다이제이션을 이용한 프라이머 연장 반응으로 검정하고, 6% 폴리아크릴아미드 겔상에서 분석하였다. 프라이머 연장부에 대한 프로브는 전체 18S (7 올리고뉴클레오티드 프라이머), 28S (24 올리고뉴클레오티드 프라이머) 및 5S (1 프라이머)를 망라한다. 이러한 실험에서 대조군은 DMSO (DMSO에 의해 유도된 rRNA 접근성을 변화시키기 위한 조절제), 파로모마이신 (18S rRNA 결합을 위한 마커), 및 아니소마이신 (28S rRNA 결합에 대한 마커)를 포함한다.

각각의 개별적인 문헌 또는 특허 출원이 특정하고 개별적으로 참고문헌으로 인용되는 것으로 기재되는 것처럼 본원에 언급된 모든 문헌 및 특허 출원은 동일한 범위로 본원에 참고문헌으로 인용된 것이다.

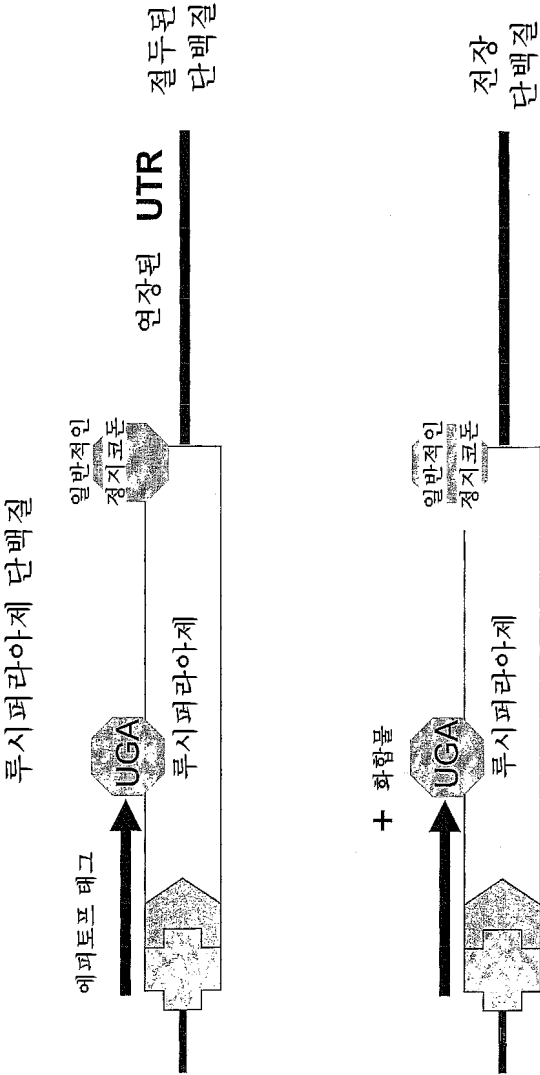
특정 구체예가 상기 상세히 기술되었지만, 당업자는 본 발명의 교시로부터 벗어나지 않으면서 구체예에 대한 많은 변형이 가능하다는 것을 분명히 인지할 수 있을 것이다. 모든 이러한 변형 또한 본 발명의 청구범위내에 포함된다.

도면

도면1



도면2



도면3

리드쓰로(Read through) 검정

