



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0004111  
(43) 공개일자 2022년01월11일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
C07D 471/04 (2006.01) A61K 31/155 (2006.01)  
A61K 31/4545 (2006.01) A61K 31/55 (2006.01)  
A61K 45/06 (2006.01) A61P 13/12 (2006.01)
- (52) CPC특허분류  
C07D 471/04 (2013.01)  
A61K 31/155 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2021-7038004
- (22) 출원일자(국제) 2020년04월21일  
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2021년11월22일
- (86) 국제출원번호 PCT/EP2020/061083
- (87) 국제공개번호 WO 2020/216740  
국제공개일자 2020년10월29일
- (30) 우선권주장  
1905711.6 2019년04월24일 영국(GB)

- (71) 출원인  
갈라파고스 엔.브이.  
벨기에 메헬렌 비-2800, 제너럴 드 위텔란 엘11/에이3
- (72) 발명자  
콘라스, 카트자, 엘스  
벨기에 메헬렌 2800 제너럴 드 위텔란 엘11/에이3  
갈라파고스 엔브이  
브리시, 레지널드 크리스토퍼 사비에르  
벨기에 메헬렌 2800 제너럴 드 위텔란 엘11/에이3  
갈라파고스 엔브이  
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인  
한라특허법인(유한)

전체 청구항 수 : 총 9 항

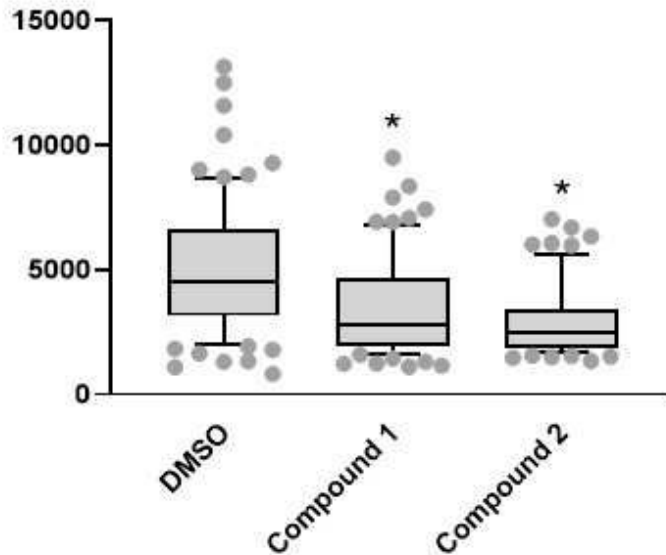
(54) 발명의 명칭 신장질환의 치료를 위한 신규 화합물 및 그의 약학 조성물

(57) 요약

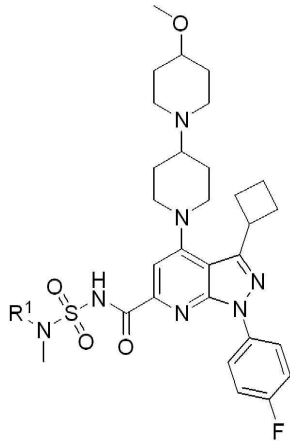
본 발명은 하기 화학식 I에 따른 화합물을 개시한다:

(뒷면에 계속)

대표도 - 도1



화학식 I



상기 식에서 R<sup>1</sup>은 본원에서 정의된 바와 같다.

본 발명은 다낭성 신장질환(PKD)의 예방 및/또는 치료에 유용할 수 있는 화합물, 이의 제조 방법, 이를 포함하는 약학 조성물, 및 본 발명의 화합물의 투여에 의한, 상기 질환의 예방 및/또는 치료를 위해 상기 화합물을 사용하는 치료 방법에 관한 것이다.

(52) CPC특허분류

A61K 31/4545 (2013.01)

A61K 31/55 (2013.01)

A61K 45/06 (2013.01)

A61P 13/12 (2018.01)

A61K 2300/00 (2013.01)

(72) 발명자

크리스토페, 티에리, 진-클라우드, 마리

벨기에 메헬렌 2800 제너럴 드 위텔란 엘11/에이3

갈라파고스 엔브이

반 더 지스트, 로날드

네덜란드 브레다 4835에이에이 조안 윌렘 프리소란  
27

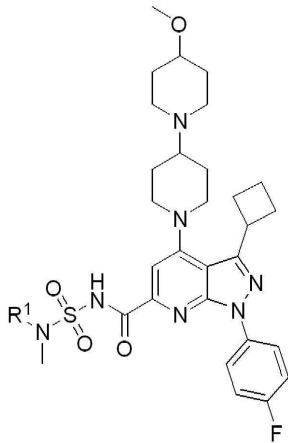
**명세서**

**청구범위**

**청구항 1**

다낭성 신장질환의 예방 및/또는 치료에 사용하기 위한 하기 화학식 I에 따른 화합물 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 또는 용매화물 또는 용매화물의 약학적으로 허용가능한 염:

화학식 I



상기 식에서 R<sup>1</sup>은 H 또는 -CH<sub>3</sub>이다.

**청구항 2**

제1항에 있어서,

R<sup>1</sup>이 H인 화합물 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염.

**청구항 3**

제1항에 있어서,

R<sup>1</sup>이 -CH<sub>3</sub>인 화합물 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염.

**청구항 4**

상염색체 우성 다낭성 신장질환의 예방 및/또는 치료에 사용하기 위한 제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 또는 제13항에 따른 약학 조성물.

**청구항 5**

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 약학적으로 허용가능한 염, 및 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약학 조성물.

**청구항 6**

제5항에 있어서,

추가 치료제를 포함하는 약학 조성물.

**청구항 7**

제6항에 있어서,

추가 치료제가 다낭성 신장질환제인 약학 조성물.

**청구항 8**

제6항에 있어서,

추가 치료제가 톨바탄(tolvaptan)인 약학 조성물.

**청구항 9**

제6항에 있어서,

추가 치료제가 메트포르민(Metformin)인 약학 조성물.

**발명의 설명**

**기술 분야**

[0001] 본 발명은 다낭성 신장질환(PKD)의 예방 및/또는 치료에 유용할 수 있는 화합물에 관한 것이다. 본 발명은 또한 본 발명의 화합물의 제조 방법, 본 발명의 화합물을 포함하는 약학 조성물, 본 발명의 화합물의 투여에 의한 다낭성 신장질환(PKD)의 예방 및/또는 치료 방법을 제공한다.

**배경 기술**

[0002] 다낭성 신장질환(PKD)은, 정상적인 신장 실질을 손상시키고 신부전을 유발하는 세뇨관 기원의 체액 충전 낭종의 대규모 확대를 특징으로 한다. 인간 상염색체 우성 PKD(ADPKD)는 PKD의 일반적인 형태로, 각각 상호작용하는 단백질인 폴리스티닌-1 및 폴리스티닌-2를 암호화하는 PKD1 및 PKD2의 두 유전자 중 하나의 돌연변이에 의해 유발되며 유전성 낭포성 신장질환 중 가장 흔하다.(Torres, Harris, and Pirson 2007)

[0003] PKD 발달에서, 총 신장 부피가 기하급수적으로 증가하여 낭종을 생성하는 반면, 신장 기능, 특히 사구체 여과율(GFR)은 역으로 감소한다. 이는 점차적으로 산뇨, 신장 결석 형성, 통증, 혈압 상승으로 이어지며 결국 동맥류 또는 심부전을 통해 사망하게 된다.(Torres, Harris, and Pirson 2007)

[0004] 또한, 낭종은 파열되어 감염을 유발할 수 있으며; 일반적으로 치료하기 어렵고 종종 항생제 내성을 유발할 수 있는 장기간의 항생제 치료를 요한다.

[0005] 최근에, 낭종 발달이 낭포성 섬유증 막관통 전도도 조절인자(CFTR)에 의한 염화물 수송을 필요로 할 수 있음이 확인되었으며, 여기에서 CFTR은 유체-충전 낭종의 생성 및 유지를 담당할 수 있다.(Yang et al. 2008) 따라서 CFTR을 억제하면 낭종의 형성 및/또는 성장을 예방하거나 감소시킬 수 있다.

[0006] 현재까지, PKD에 대한 치료법은 없으며 단지 하나의 식품의약품 안전청(FDA) 승인된 치료만이 존재한다. 또한, 현행 치료는 혈압 강하제 투여, 및 질병 말기 투석과 같은, 질병으로 인한 질병 합병증 관리에 중점을 두고 있으나(Torres 2010); 최종 단계에서는 신장 이식이 유일한 선택으로 남아 있다. ADPKD의 유병률은 1000명 중 1명으로 추산되며 미국에서만 600,000명이 병에 걸리고, 매년 약 2144명의 환자가 신대체 요법을 시작한다.(Torres, Harris, and Pirson 2007)

[0007] 또한, CFTR 억제는 장내 독소에 의해 유발된 장의 과도한 체액 분비로 인해 장세포상의 내강 Cl<sup>-</sup> 채널이 활성화되기 때문에 설사병 환자에게 이득이 될 수 있음이 확인되었다.(Thiagarajah and Verkman 2012)

**발명의 내용**

**해결하려는 과제**

[0008] 따라서, 현행 요법은 만족스럽지 못하며, PKD의 예방 및/또는 치료를 위한 신규의 약물이 여전히 필요하다.

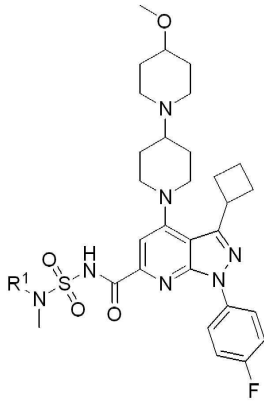
**과제의 해결 수단**

[0009] 본 발명은 다낭성 신장질환(PKD), 보다 특히 상염색체 우성 다낭성 신장질환(ADPKD)의 예방 및/또는 치료에 유

용할 수 있는 화합물에 관한 것이다. 본 발명은 또한 본 발명의 화합물의 제조 방법, 본 발명의 화합물을 포함하는 약학 조성물, 본 발명의 화합물의 투여에 의한 다낭성 신장질환(PKD)의 예방 및/또는 치료 방법을 제공한다.

[0010] 상응하게, 본 발명의 첫 번째 태양에서, 다낭성 신장질환의 예방 및/또는 치료에 사용하기 위한 하기 화학식 I에 따른 본 발명의 화합물을 제공한다:

[0011] [화학식 I]



[0012]

[0013] 상기 식에서 R<sup>1</sup>은 H 또는 -CH<sub>3</sub>이다.

[0014]

[0015] 보다 특정한 태양에서, 본 발명의 화합물은 다낭성 신장질환(PKD), 및 보다 특히 상염색체 우성 다낭성 신장질환(ADPKD)의 예방 및/또는 치료에 사용하기 위해 제공된다.

[0016]

[0017] 놀랍게도, 본 발명의 화합물은 CF 환자에서 CFTR 조절 활성, 특히 단백질 폴딩 및 수송 활성을 갖는 반면(WO 2017/060874), 뜻밖에도 야생형 CFTR(비-CF 질병)을 억제하며, 따라서 특히 PKD, 및/또는 난소 낭종에서 낭종 형성 및/또는 성장을 예방하고/하거나 감소시킬 수 있음이 관찰되었다.

[0018]

[0019] 추가의 태양에서, 본 발명은 본 발명의 화합물 및 약학 담체, 부형제 또는 희석제를 포함하는, PKD의 예방 및/또는 치료에 사용하기 위한 약학 조성물을 제공한다. 특정한 태양에서, 약학 조성물은 본 발명의 화합물과 함께 사용하기에 적합한 추가의 치료학적 활성 성분을 추가로 포함할 수 있다. 보다 특정한 태양에서, 추가의 치료학적 활성 성분은 PKD의 치료제이다.

[0020]

[0021] 더욱이, 본원에 개시된 약학 조성물 및 치료 방법에 유용한 본 발명의 화합물은 제조 및 사용시 약학적으로 허용가능하다.

[0022]

[0023] 본 발명의 추가의 태양에서, 본 발명은 본원에 나열된 상태 중에서 선택된 상태, 및 특히 PKD에 걸린 포유동물, 특히 인간의 치료 방법을 제공하며, 치료 방법은 유효량의 본원에 기재된 바와 같은 약학 조성물 또는 화합물을 투여함을 포함한다.

[0024]

[0025] 본 발명은 또한 약물에 사용하기 위한 본 발명의 화합물 및 적합한 약학 담체, 부형제 또는 희석제를 포함하는 약학 조성물을 제공한다. 특정한 태양에서, 약학 조성물은 PKD의 예방 및/또는 치료에 사용하기 위한 것이다.

[0026]

[0027] 추가의 태양에서, 본 발명은 나중에 본원에 개시되는 전형적인 합성 프로토콜 및 경로에 의해 본 발명의 화합물을 합성하는 방법을 제공한다.

[0028]

[0029] 다른 목적 및 이점은 이어지는 상세한 설명을 고려하여 당해 분야의 숙련자에게 자명할 것이다.

### 도면의 간단한 설명

[0030]

[0031] 도 1은 박스 플롯 다이어그램에서 10 μM의 시험 화합물 Cpd 1 및 Cpd 2 대 비히클(DMSO)의 8일 후 3D 인간 낭종 성장 분석시의 낭종 크기(낭종 면적, μm<sup>2</sup>) 분포를 도시하며, 여기에서 하단에서 상단까지의 박스는 데이터 점의 25% 백분위수 값, 중앙값 및 75% 백분위수 값을 나타내며, 하단의 수염은 10% 백분위수를 나타내고 상단의 수염은 90% 백분위수를 나타낸다.

[0032] 도 2는 (3 nM, 10 nM, 30 nM, 100 nM, 300 nM, 1 μM, 3 μM, 및 10 μM)의 시험 화합물 Cpd 1(채워진 원) 및

Cpd 2(채워진 삼각형)의 8일 후 3D 인간 낭종 성장 분석시의 낭종 수 대 비히클(DMSO)의 농도 의존적인 감소를 도시한다. 표준 편차는 보다 양호한 가시성을 위해 막대로 표시된다.

도 3은 박스 플롯 다이어그램에서 3 nM, 10 nM, 30 nM, 100 nM, 300 nM, 1 μM, 3 μM, 및 10 μM의 Cpd 1의 8일 후 3D 인간 낭종 성장 분석시의 낭종 크기(낭종 면적, μm<sup>2</sup>) 대 비히클(DMSO)의 분포를 도시하며, 여기에서 하단에서 상단까지의 박스는 데이터 점의 25% 백분위수 값, 중앙값 및 75% 백분위수 값을 나타내며, 하단의 수염은 10% 백분위수를 나타내고 상단의 수염은 90% 백분위수를 나타낸다.

도 4는 박스 플롯 다이어그램에서 3 nM, 10 nM, 30 nM, 100 nM, 300 nM, 1 μM, 3 μM, 및 10 μM의 Cpd 2의 8일 후 3D 인간 낭종 성장 분석시의 낭종 크기(낭종 면적, μm<sup>2</sup>) 대 비히클(DMSO)의 분포를 도시하며, 여기에서 하단에서 상단까지의 박스는 데이터 점의 25% 백분위수 값, 중앙값 및 75% 백분위수 값을 나타내며, 하단의 수염은 10% 백분위수를 나타내고 상단의 수염은 90% 백분위수를 나타낸다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0023] 정의
- [0024] 하기의 용어는 하기에 함께 제공된 의미를 갖고자 하며 본 발명의 개시 및 의도된 범위를 이해하는데 유용하다.
- [0025] 화합물, 상기와 같은 화합물을 함유하는 약학 조성물 및 상기와 같은 화합물 및 조성물의 사용 방법을 포함할 수 있는 본 발명을 개시할 때, 하기의 용어(존재하는 경우)는 달리 나타내지 않는 한 하기의 의미를 갖는다. 본 발명에 개시될 때 이후 하기에 정의되는 부분 중 임의의 부분은 다양한 치환체로 치환될 수 있으며, 각각의 정의가 하기에 설명되는 바와 같은 그의 범위내에 상기와 같은 치환된 부분을 포함하고자 함은 또한 물론이다. 달리 서술되지 않는 한, "치환된"이란 용어는 하기에 설명되는 바와 같이 정의되어야 한다. "기" 및 "라디칼"이란 용어는 본 발명에서 사용시 호환 가능한 것으로 간주될 수 있음도 또한 물론이다.
- [0026] '하나의'란 관사는 본 발명에서 관사의 문법적 대상의 하나 또는 하나보다 많은(즉 적어도 하나)을 지칭하는데 사용될 수 있다. 예로서 '하나의 유사체'는 하나의 유사체 또는 하나보다 많은 유사체를 의미한다.
- [0027] '약학적으로 허용가능한'은 연방 정부 또는 주 정부의 규제 기관 또는 미국 이외 국가의 해당 당국에 의해 승인되거나 승인 가능함, 또는 동물, 및 보다 특히 인간에의 사용에 대해 미국 약전 또는 다른 일반적으로 인정된 약전에 나열됨을 의미한다.
- [0028] '약학적으로 허용가능한 염'은 약학적으로 허용가능하고 모 화합물의 목적하는 약물학적 활성을 갖는 화합물의 염을 지칭한다. 특히, 상기와 같은 염은 무독성이며 무기 또는 유기 산 부가염 및 염기 부가염일 수 있다. 구체적으로, 상기와 같은 염은 (1) 무기산, 예를 들어 염산, 브롬화수소산, 황산, 질산, 인산 등과 형성된 산 부가염; 또는 유기산, 예를 들어 아세트산, 프로피온산, 핵산산, 사이클로펜탄프로피온산, 글리콜산, 피루브산, 락트산, 말론산, 숙신산, 말산, 말레산, 푸마르산, 타타르산, 시트르산, 벤조산, 3-(4-하이드록시벤조일) 벤조산, 신남산, 만델산, 메탄설폰산, 에탄설폰산, 1,2-에탄-디설폰산, 2-하이드록시에탄설폰산, 벤젠설폰산, 4-클로로벤젠설폰산, 2-나프탈렌설폰산, 4-톨루엔설폰산, 캄포설폰산, 4-메틸비사이클로[2.2.2]-옥트-2-엔-1-카복실산, 글루코헵탄산, 3-페닐프로피온산, 트리메틸아세트산, 3급 부틸아세트산, 라우릴 황산, 글루콘산, 글루탐산, 하이드록시나프토산, 살리실산, 스테아르산, mycon산 등과 형성된 산 부가염; 또는 (2) 모 화합물 중에 존재하는 산성 양성자가 금속 이온, 예를 들어 알칼리 금속 이온, 알칼리 토 이온, 또는 알루미늄 이온에 의해 치환되거나; 또는 유기 염기, 예를 들어 에탄올아민, 디에탄올아민, 트리에탄올아민, N-메틸글루카민 등과 배위하는 경우 형성된 염을 포함한다. 염은 단지 예로서, 나트륨, 칼륨, 칼슘, 마그네슘, 암모늄, 테트라알킬암모늄 등; 및 화합물이 염기성 작용기를 함유하는 경우, 무독성 유기 또는 무기산의 염, 예를 들어 하이드로클로라이드, 하이드로브로마이드, 타르트레이트, 메실레이트, 아세테이트, 말리에이트, 옥살레이트 등을 추가로 포함한다. '약학적으로 허용가능한 양이온'이란 용어는 산성 작용기의 허용가능한 양이온성 대이온을 지칭한다. 상기와 같은 양이온은 나트륨, 칼륨, 칼슘, 마그네슘, 암모늄, 테트라알킬암모늄 양이온 등에 의해 예시된다.
- [0029] '약학적으로 허용가능한 비히클'은 본 발명의 화합물과 함께 투여되는 희석제, 보조제, 부형제 또는 담체를 지칭한다.
- [0030] '전구약물'은, 절단 가능한 기를 가지며 가용매분해에 의해서 또는 생리학적 조건 하에서 생체 내에서 약학적으로 활성인 본 발명의 화합물로 되는, 본 발명 화합물의 유도체를 포함한 화합물을 지칭한다. 상기와 같은 예는 비제한적으로 콜린 에스테르 유도체 등, N-알킬모르폴린 에스테르 등을 포함한다.

- [0031] '용매화물'은 용매와, 대개는 가용매분해 반응에 의해 회합되는 화합물의 형태를 지칭한다. 이러한 물리적 회합은 수소 결합을 포함한다. 통상적인 용매는 물, EtOH, 아세트산 등을 포함한다. 본 발명의 화합물을 예를 들어 결정성 형태로 제조할 수 있으며 용매화 또는 수화시킬 수 있다. 적합한 용매화물은 약학적으로 허용가능한 용매화물, 예를 들어 수화물을 포함하며, 화학량론적 용매화물 및 비-화학량론적 용매화물을 모두 추가로 포함한다. 몇몇 예에서, 용매화물은, 예를 들어 하나 이상의 용매 분자가 결정성 고체의 결정 격자 중에 통합된 경우 단리될 수 있을 것이다. '용매화물'은 용액-상 및 단리 가능한 용매화물 모두를 포함한다. 전형적인 용매화물은 수화물, 에탄올레이트 및 메탄올레이트를 포함한다.
- [0032] '피실험자'는 인간을 포함한다. '인간', '환자' 및 '피실험자'란 용어는 본원에서 호환적으로 사용된다.
- [0033] '유효량'은 질병의 치료를 위해 환자에게 투여 시, 질병에 대해 상기와 같은 치료를 수행하기에 충분한 본 발명 화합물의 양을 의미한다. '유효량'은 화합물, 질병 및 그의 중증도, 및 치료하려는 환자의 연령, 체중 등에 따라 변할 수 있다.
- [0034] '예방하는' 또는 '예방'은 질병 또는 질환을 얻거나 상기가 발병할 위험을 감소시킴(즉 질병 유발체에 노출되거나 또는 질병 개시에 앞서 질병의 소인이 있을 수 있는 환자에게서 질병의 임상적인 증상들 중 하나 이상이 발생하지 않게 함)을 지칭한다.
- [0035] '예방학'이란 용어는 '예방'과 관련되며, 질병의 치료 또는 치유보다는 예방을 목적으로 하는 조치 또는 기술을 지칭한다. 예방학적 조치의 비제한적인 예는 백신의 투여; 예를 들어 고정화에 기인하여 혈전증의 위험이 있는 입원 환자에 대한 저 분자량 헤파린의 투여; 및 말라리아가 풍토병이거나 또는 말라리아와 접촉할 위험성이 높은 지리학적 지역의 방문에 앞서 항-말라리아제, 예를 들어 클로로퀸의 투여를 포함할 수 있다.
- [0036] '대사산물'이란 용어는 본 발명의 화합물 또는 그의 약학 조성물의 섭취시 피실험자의 신체에서 형성된 화합물(들)을 지칭한다. 대사산물은 신체로부터, 예를 들어 소변 또는 담즙으로 배출되기 전에 추가로 대사될 수 있다. 대사산물은 원래 약물과 유사하거나 상이한 약물학적 활성을 유지할 수 있으며, 이에 의해 본 발명의 화합물의 전체 치료 활성에 기여할 수 있다. 대사산물은 산화(예를 들어 시토크롬 P450을 통해), 환원, 가수분해, 수화, 간 마이크로솜 효소 시스템에서의 접합(예를 들어 설페이트, 글리신 및/또는 글루쿠론산과의), 축합 및/또는 이성질화를 비롯한 다양한 반응을 통해 형성될 수 있다.
- [0037] 하나의 구현예에서, 임의의 질병 또는 질환을 '치료하는' 또는 '치료'는 질병 또는 질환을 개선시킴(즉 질병을 억제하거나 질병의 임상적 증상들 중 하나 이상의 징후, 정도 또는 중증도를 감소시킴)을 지칭한다. 또 다른 구현예에서 '치료하는' 또는 '치료'는 환자가 알아차릴 수 없는 하나 이상의 물리적 매개변수의 개선을 지칭한다. 더욱 또 다른 구현예에서, '치료하는' 또는 '치료'는 질병 또는 질환을 물리적으로(예를 들어 알아차릴 수 있는 증상의 안정화), 생리적으로(예를 들어 물리적 매개변수의 안정화), 또는 이들 둘 다에 의해 완화시킴을 지칭한다. 추가의 구현예에서, "치료하는" 또는 "치료"는 질병의 진행을 늦춤에 관한 것이다.
- [0038] 본원에 사용되는 바와 같은 다낭성 신장질환(PKD)은 세뇨관이 구조적으로 비정상적으로 되어 신장 내에 다수의 낭종의 발달 및 성장을 초래하는 상태의 그룹을 지칭한다. 특히, 용어는 상염색체 우성 다낭성 신장질환(ADPKD) 및 상염색체 열성 다낭성 신장질환(ARPKD)을 지칭한다. 보다 구체적으로, 용어는 상염색체 우성 다낭성 신장질환을 지칭한다.
- [0039] '본 발명의 화합물(들)' 및 동등한 표현은 본원에 개시된 바와 같은 화학식(들)의 화합물을 포함함을 의미하며, 상기 표현은 약학적으로 허용가능한 염 및 용매화물, 예를 들어 수화물, 및 약학적으로 허용가능한 염의 용매화물(문맥상 그렇게 허용되는 경우)을 포함한다. 유사하게, 중간체에 대한 언급은, 중간체 자체의 청구 여부에 관계 없이, 중간체의 염, 용매화물(문맥상 그렇게 허용되는 경우)을 포함함을 의미한다.
- [0040] 본원에서 범위를 언급하는 경우, 예를 들어 비제한적으로 C<sub>1-8</sub> 알킬의 경우, 범위의 인용은 상기 범위의 각 구성원들을 나타내는 것으로 간주해야 한다.
- [0041] 본 발명 화합물의 다른 유도체는 그의 산 및 산 유도체 형태 모두의 활성을 갖지만, 산 민감성 형태로 종종, 포유동물 유기체에 대한 용해도, 조직 적합성 또는 지연된 방출의 이점을 제공한다(Bundgaard 1985). 전구약물은 당해 분야의 숙련자에게 널리 공지된 산 유도체, 예를 들어 모 산과 적합한 알콜과의 반응에 의해 제조된 에스테르, 또는 모 산 화합물과 치환되거나 비치환된 아민과의 반응에 의해 제조된 아마이드, 또는 산 무수물 또는 혼합된 무수물을 포함한다. 본 발명의 화합물 상에 매달린 산성 그룹으로부터 유도된 간단한 지방족 또는 방향족 에스테르, 아마이드 및 무수물이 특히 유용한 전구약물이다. 일부의 경우에 이중 에스테르 유형의 전구약물, 예를

들어(아실옥시)알킬 에스테르 또는((알콕시카보닐)옥시)알킬에스테르를 제조하는 것이 바람직할 수 있다. 특정한 상기와 같은 전구약물은 본 발명 화합물의 C<sub>1-8</sub> 알킬, C<sub>2-8</sub> 알케닐, C<sub>6-10</sub> 임의로 치환된 아릴, 및(C<sub>6-10</sub> 아릴)-(C<sub>1-4</sub> 알킬) 에스테르이다.

[0042] 본 개시는 (i) 주어진 원자번호의 모든 원자가 자연에서 우세한 질량수(또는 질량수의 혼합물)를 갖는 형태(본원에서 "천연 동위원소 형태"로서 지칭된다)든, 또는 (ii) 하나 이상의 원자가, 동일한 원자번호를 갖지만 자연에서 우세한 원자의 질량수와 상이한 질량수를 갖는 원자에 의해 교체된 형태(본원에서 "비천연 변형 동위원소 형태"로서 지칭된다)간에, 본원에 제공된 본 발명의 화합물의 모든 동위원소 형태를 포함한다. 원자는 자연적으로는 질량수의 혼합물로서 존재할 수 있는 것으로 이해된다. "비천연 변형 동위원소 형태"란 용어는 또한 자연 중에 덜 통상적으로 발견되는 질량수를 갖는 주어진 원자번호의 원자(본원에서 "통상적이지 않은 동위원소"로서 지칭된다)의 비율이 천연인 경우에 비해, 상기 원자 번호의 원자의 수에 의해, 예를 들어 >20%, >50%, >75%, >90%, >95% 또는 > 99%의 수준까지 증가된 구현예를 포함한다(후자의 구현예는 "동위원소 풍부 변형 형태"로서 지칭된다). "비천연 변형 동위원소 형태"란 용어는 또한 통상적이지 않은 동위원소의 비율이 천연인 경우에 비해 감소된 구현예를 포함한다. 동위원소 형태는 방사성 형태(즉 방사성동위원소를 포함한다) 및 비-방사성 형태를 포함할 수 있다. 방사성 형태는 전형적으로 동위원소 풍부한 변형 형태일 것이다.

[0043] 따라서 화합물의 비천연 변형 동위원소 형태는 하나 이상의 원자 중에 하나 이상의 인공적인 또는 통상적이지 않은 동위원소, 예를 들어 중수소(<sup>2</sup>H 또는 D), 탄소-11(<sup>11</sup>C), 탄소-13(<sup>13</sup>C), 탄소-14(<sup>14</sup>C), 질소-13(<sup>13</sup>N), 질소-15(<sup>15</sup>N), 산소-15(<sup>15</sup>O), 산소-17(<sup>17</sup>O), 산소-18(<sup>18</sup>O), 인-32(<sup>32</sup>P), 황-35(<sup>35</sup>S), 염소-36(<sup>36</sup>Cl), 염소-37(<sup>37</sup>Cl), 불소-18(<sup>18</sup>F) 요오드-123(<sup>123</sup>I), 요오드-125(<sup>125</sup>I)를 함유하거나 또는 하나 이상의 원자 중에, 자연에서 우세한 비율에 비해 증가된 비율의 상기 동위원소를 함유할 수 있다.

[0044] 방사성동위원소를 포함하는 비천연 변형 동위원소 형태는, 예를 들어 약물 및/또는 기질 조직 분포 연구에 사용될 수 있다. 방사성 동위원소인 삼중수소, 즉 <sup>3</sup>H 및 탄소-14, 즉 <sup>14</sup>C가 그들의 통합 용이성 및 편리한 검출 수단에 비추어 상기 목적에 특히 유용하다. 중수소, 즉 <sup>2</sup>H 또는 D를 포함하는 비천연 변형 동위원소 형태는 보다 큰 대사 안정성으로부터 생성되는 몇몇 치료학적 장점, 예를 들어 증가된 생체내 반감기 또는 감소된 투여량 요구를 제공할 수 있으며, 따라서 일부 상황에서 바람직할 수 있다. 더욱이, 양전자 방출 동위원소, 예를 들어 <sup>11</sup>C, <sup>18</sup>F, <sup>15</sup>O 및 <sup>13</sup>N이 통합된 비천연 변형 동위원소 형태를 제조할 수 있으며, 이는 기질 수용체 점유를 조사하기 위한 양전자 방출 단층촬영(PET) 연구에 유용할 것이다.

[0045] 동일한 분자식을 갖지만 원자들의 결합 성질 또는 순서 또는 상기 원자들의 공간 배열이 상이한 화합물을 '이성질체'라 칭함을 또한 알아야 한다. 원자들의 공간 배열이 상이한 이성질체를 '입체이성질체'라 칭한다.

[0046] 서로 거울상이 아닌 입체이성질체를 '부분입체이성질체'라 칭하며 서로 겹쳐지지 않는 거울상인 이성질체를 '거울상 이성질체'라 칭한다. 화합물이 비대칭 중심을 갖는 경우, 예를 들어 4 개의 상이한 그룹에 결합되는 경우, 한 쌍의 거울상 이성질체가 가능하다. 거울상 이성질체는 그의 비대칭 중심의 절대 배열을 특징으로 할 수 있으며, 이는 칸과 프레로그(Cahn and Prelog)의 R- 및 S-서열화 법칙에 의해서 또는 분자가 평평면을 회전하는 방식에 의해 개시되고 우회전성 또는 좌회전성(즉 각각(+) 또는(-)-이성질체)으로 표시된다. 키랄 화합물은 개별적인 거울상 이성질체로서 또는 이들의 혼합물로서 존재할 수 있다. 같은 비율의 거울상 이성질체를 함유하는 혼합물을 '라세미 혼합물'이라 칭한다.

[0047] '토오토머'는 특정한 화합물 구조의 상호전환 가능한 형태이고 수소 원자 및 전자의 치환이 다양한 화합물을 지칭한다. 따라서, 2 개의 구조는 π 전자 및 원자(대개는 H)의 이동을 통해 평형으로 존재할 수 있다. 예를 들어, 에놀과 케톤은 산 또는 염기에 의한 처리에 의해 신속하게 상호전환되기 때문에 토오토머이다. 토오토머화의 또 다른 예는 산 또는 염기에 의한 처리에 의해 마찬가지로 형성되는 페닐니트로메탄의 산- 및 질소-형태이다.

[0048] 토오토머 형태는 관심 화합물의 최적의 화학 반응성 및 생물 활성의 획득에 적합할 수 있다.

[0049] 본 발명의 화합물은 하나 이상의 비대칭 중심을 가질 수 있으며; 따라서 상기와 같은 화합물은 개별적인 (R)- 또는(S)-입체이성질체로서 또는 이들의 혼합물로서 생성될 수 있다.

[0050] 달리 나타내지 않는 한, 본원 및 청구의 범위에서 특정 화합물의 기술 또는 명칭은 개별적인 거울상 이성질체

및 이들의 라세미 또는 다른 혼합물 모두를 포함함을 의미한다. 입체이성질체의 입체화학의 결정 및 분리를 위한 방법은 당해 분야에 널리 공지되어 있다.

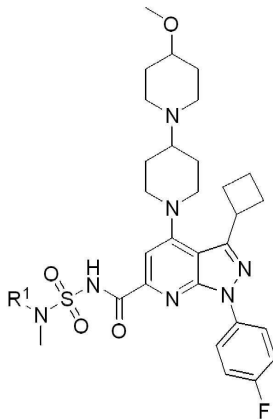
[0051] 본 발명의 화합물이 대사되어 생물학적으로 활성인 대사산물을 제공할 수 있음을 알 것이다.

[0052] 본 발명

[0053] 본 발명은 다낭성 신장질환(PKD)의 예방 및/또는 치료에 유용할 수 있는 화합물에 관한 것이다. 본 발명은 또한 본 발명의 화합물의 제조 방법, 본 발명의 화합물을 포함하는 약학 조성물, 본 발명의 화합물의 투여에 의한 PKD의 예방 및/또는 치료 방법을 제공한다.

[0054] 상응하게, 본 발명의 첫 번째 태양에서, PKD의 예방 및/또는 치료에 사용하기 위한 하기 화학식 I에 따른 본 발명의 화합물을 제공한다:

[0055] 화학식 I



[0056]

[0057] 상기 식에서 R<sup>1</sup>은 H 또는 -CH<sub>3</sub>이다.

[0058] 하나의 구현예에서, 본 발명의 화합물은 R<sup>1</sup>이 H인 화학식 I에 상응한다.

[0059] 하나의 구현예에서, 본 발명의 화합물은 R<sup>1</sup>이 -CH<sub>3</sub>인 화학식 I에 상응한다.

[0060] 하나의 구현예에서, 본 발명의 화합물은 천연 동위원소 형태로 제공된다.

[0061] 하나의 구현예에서, 본 발명의 화합물은 비천연 변형 동위원소 형태로 제공된다. 특정한 구현예에서, 비천연 변형 동위원소 형태는 본 발명의 화합물의 하나 이상의 원자에서 수소가 화학 구조 중에 명시되는 경우 중수소(즉 <sup>2</sup>H 또는 D)가 통합된 형태이다. 하나의 구현예에서, 본 발명의 화합물의 원자는 방사성이 아닌 동위원소 형태이다. 하나의 구현예에서, 본 발명의 화합물의 하나 이상의 원자는 방사성인 동위원소 형태이다. 적합한 방사성 동위원소는 안정한 동위원소이다. 적합하게 비천연 변형 동위원소 형태는 약학적으로 허용가능한 형태이다.

[0062] 하나의 구현예에서, 화합물의 단일 원자가 비천연 변형 동위원소 형태로 존재하는 본 발명의 화합물을 제공한다. 또 다른 구현예에서, 2개 이상의 원자가 비천연 변형 동위원소 형태로 존재하는 본 발명의 화합물을 제공한다.

[0063] 비천연 동위원소 변형 형태는 일반적으로 당업자에게 공지된 통상적인 기법에 의해 또는 본원에 기재된 과정, 예를 들어 천연 동위원소 형태의 제조에 대해서 첨부된 실시예에 기재된 바와 유사한 과정에 의해서 제조될 수 있다. 따라서, 비천연 동위원소 변형 형태를 실시예로서 예시된 실시예에 사용된 통상적인 시약 대신에 적합한 동위원소 변형(또는 표지된) 시약을 사용함으로써 제조할 수 있었다.

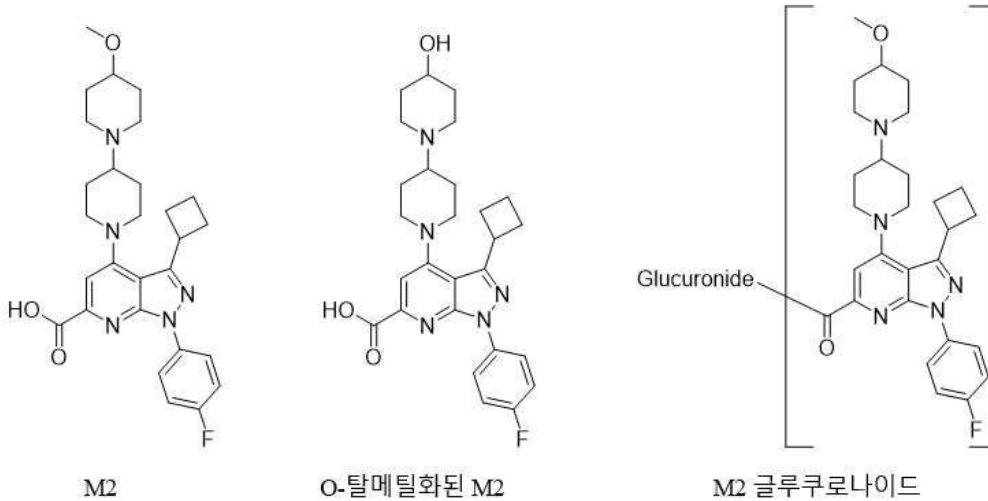
[0064] 하나의 태양에서 본원에 기재된 구현예 중 어느 하나에 따른 본 발명의 화합물은 유리 염기로서 존재한다.

[0065] 하나의 태양에서 본원에 기재된 구현예 중 어느 하나에 따른 본 발명의 화합물은 약학적으로 허용가능한 염이다.

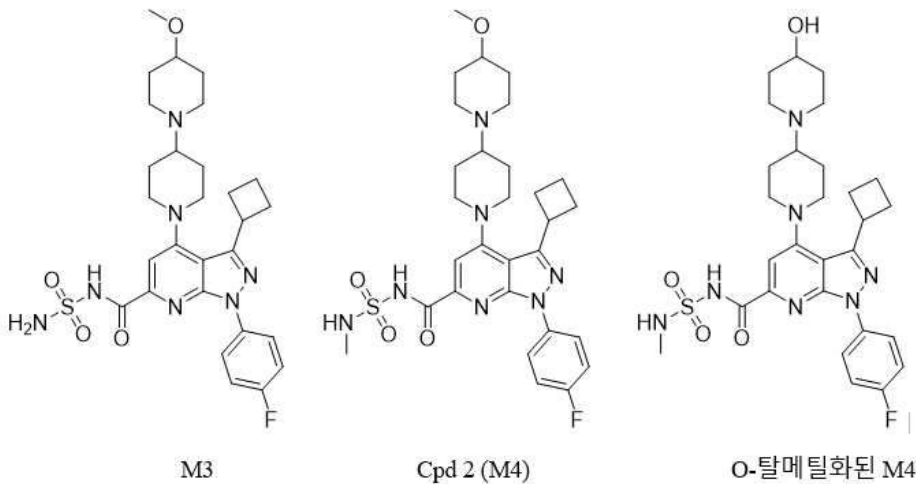
[0066] 하나의 태양에서 본원에 기재된 구현예 중 어느 하나에 따른 본 발명의 화합물은 화합물의 용매화물이다.

[0067] 하나의 태양에서 본원에 기재된 구현예 중 어느 하나에 따른 본 발명의 화합물은 화합물의 약학적으로 허용가능한 염의 용매화물이다.

[0068] 추가의 태양에서, 본 발명의 화합물은 대사될 수 있다. 특정한 태양에서 본 발명의 화합물의 대사산물은 본 발명의 화합물의 산화, 환원, 가수분해, 수화, 간 마이크로솜 효소 시스템에서의 접합, 축합 및/또는 이성질화로부터 생성될 수 있다. 추가의 태양에서 본 발명의 화합물의 대사산물은 본 발명의 화합물의 산화 및 글루쿠론산과의 접합으로부터 생성될 수 있다. 가장 특정한 태양에서, 대사산물은 하기의 M2, O-탈메틸화된 M2, M2 글루쿠로나이드, M3, Cpd 2(M4) 및 O-탈메틸화된 M4 중에서 선택된다:



[0069]



[0070]

[0071] 각 구현예의 명시된 그룹들을 별도로 상기에 일반적으로 나열하였지만, 본 발명의 화합물은 상기 화학식뿐만 아니라 본 발명에 제공된 다른 화학식의 다수의 또는 각각의 구현예가 각각의 변수에 대해서 각각 나타낸 특정한 구성원 또는 그룹 중 하나 이상으로부터 선택된 것이다. 따라서, 본 발명은 그의 범위내에 상기와 같은 구현예의 모든 조합을 포함하고자 한다.

[0072] 각 구현예에 대해 명시된 그룹들을 상기에 별도로 일반적으로 나열하였지만, 본 발명의 화합물은 하나 이상의 변수(예를 들어 R 기)가 상기 나열된 화학식(들) 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 구현예 중에서 선택된 것일 수 있다. 따라서, 본 발명은 그의 범위내에 개시된 구현예 중 어느 하나로부터의 변수의 모든 조합을 포함하고자 한다.

[0073] 한편으로, 그룹 또는 구현예로부터의 명시된 변수 중 하나 이상, 또는 이들의 조합의 제외도 또한 본 발명에 의해 고려된다.

[0074] 몇몇 태양에서, 본 발명은 상기 화학식에 따른 화합물의 전구약물 및 유도체를 제공한다. 전구약물은 대사적으로 절단가능한 그룹을 가지며 용매분해에 의해서 또는 생리학적 조건하에서 본 발명의 화합물로 되는, 생체내에

서 약학적으로 활성인 본 발명의 화합물의 유도체이다. 상기와 같은 예는 비제한적으로 콜린 에스테르 유도체 등, N-알킬모르폴린 에스테르 등을 포함한다.

[0075] 본 발명의 화합물의 다른 유도체는 상기 화합물의 산 및 산 유도체 형태 모두에서 활성을 갖지만, 종종 산 민감성 형태가 용해도, 조직 적합성, 또는 포유동물 유기체에서 지연된 방출의 이점을 제공한다(Bundgaard 1985). 전구약물은 당해 분야의 전문가에게 널리 공지된 산 유도체, 예를 들어 모산과 적합한 알콜과의 반응에 의해 제조된 에스테르, 또는 모산 화합물과 치환되거나 비치환된 아민과의 반응에 의해 제조된 아미드, 또는 산 무수물, 또는 혼합된 무수물을 포함한다. 본 발명의 화합물에 대해 펜던트인 산성 기로부터 유도된 간단한 지방족 또는 방향족 에스테르, 아미드 및 무수물이 바람직한 전구약물이다. 일부의 경우에 이중 에스테르 유형의 전구약물, 예를 들어(아실옥시)알킬 에스테르 또는((알콕시카보닐)옥시)알킬에스테르를 제조하는 것이 바람직하다. 본 발명의 화합물의 C<sub>1</sub> 내지 C<sub>8</sub> 알킬, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> 알케닐, 아릴, C<sub>7</sub>-C<sub>12</sub> 치환된 아릴, 및 C<sub>7</sub>-C<sub>12</sub> 아릴알킬 에스테르가 특히 유용하다.

[0076] 약학 조성물

[0077] 본 발명의 화합물은 약제로서 사용될 때, 전형적으로는 약학 조성물의 형태로 투여된다. 상기와 같은 조성물은 제약 분야에 널리 공지된 방식으로 제조될 수 있으며 하나 이상의 화학식 I에 따른 본 발명의 활성 화합물을 포함한다. 일반적으로, 본 발명의 화합물을 약학적으로 유효한 양으로 투여한다. 실제 투여되는 화합물의 양은 전형적으로는 의사에 의해, 관련된 상황, 예를 들어 치료하려는 질환, 선택된 투여 경로, 실제 투여되는 화합물, 개인 환자의 연령, 체중 및 반응, 환자의 증상의 중증도 등에 비추어 결정될 것이다.

[0078] 본 발명의 약학 조성물을 경구, 직장, 경피, 피하, 관절-내, 정맥 내, 근육 내 및 비 내를 포함한 다양한 경로에 의해 투여할 수 있다. 의도하는 전달 경로에 따라, 본 발명의 화합물을 바람직하게는 주사성 또는 경구 조성물로서 또는 연고로서, 로션으로서 또는 모든 경피 투여의 경우 패치로서 제형화한다.

[0079] 경구 투여용 조성물은 벌크 액체 용액 또는 현탁액, 또는 벌크 분말의 형태를 취할 수 있다. 그러나, 보다 통상적으로, 조성물을 단위 투여형으로 제공하여 정확한 투여를 용이하게 한다. '단위 투여형'이란 용어는 인간 환자 및 다른 포유동물에 대해 단일 투여량으로서 적합한 물리적으로 분리된 단위를 지칭하며, 각각의 단위는 목적하는 치료 효과를 생성시키도록 계산된 소정량의 활성 물질을, 적합한 약학 부형제, 비히클 또는 담체와 함께 함유한다. 전형적인 단위 투여형은 액체 조성물의 미리 충전되거나, 미리 측정된 앰플 또는 주사기 또는 고체 조성물의 경우에 환제, 정제, 캡슐 등을 포함한다. 상기와 같은 조성물에서, 화학식 I에 따른 본 발명의 화합물은 대개 소량 성분(약 0.1 내지 약 50 중량% 또는 바람직하게는 약 1 내지 약 40 중량%)이며, 나머지는 다양한 비히클 또는 담체 및 목적하는 투여형의 형성에 도움이 되는 가공 보조제이다.

[0080] 경구 투여용으로 적합한 액체 형태는 완충제, 현탁 및 분배제, 착색제, 풍미제 등과 함께 적합한 수성 또는 비수성 비히클을 포함할 수 있다. 고체 형태는 예를 들어 하기의 성분들 중 임의의 것 또는 유사한 성질의 화합물을 포함할 수 있다: 결합제, 예를 들어 미정질 셀룰로스, 검 트라가칸트 또는 젤라틴; 부형제, 예를 들어 전분 또는 락토오스, 붕해제, 예를 들어 알긴산, 프리모젤, 또는 옥수수 전분; 윤활제, 예를 들어 마그네슘 스테아레이트; 활주제, 예를 들어 콜로이드성 이산화 규소; 감미제, 예를 들어 슈크로스 또는 사카린; 또는 풍미제, 예를 들어 페퍼민트, 또는 오렌지향.

[0081] 주사성 조성물은 전형적으로는 주사성 멸균 염수 또는 포스페이이트-완충된 염수 또는 당해 분야에 공지된 다른 주사성 담체를 기본으로 한다. 이전과 같이, 상기와 같은 조성물 중의 화학식 I에 따른 본 발명의 활성 화합물은 전형적으로는 소량 성분(중중 약 0.05 내지 10 중량%)이며, 나머지는 주사성 담체 등이다.

[0082] 경피 조성물을 전형적으로는 활성 성분(들)을 일반적으로 약 0.01 내지 약 20 중량%, 바람직하게는 약 0.1 내지 약 20 중량%, 바람직하게는 약 0.1 내지 약 10 중량%, 및 보다 바람직하게는 약 0.5 내지 약 15 중량% 범위의 양으로 함유하는 국소 연고 또는 크림으로서 제형화한다. 연고로서 제형화 시, 활성 성분을 전형적으로는 파라핀성 또는 수-혼화성 연고 베이스와 배합할 것이다. 한편으로, 활성 성분을 예를 들어 수중 유적형 크림 베이스와 함께 크림으로 제형화할 수도 있다. 상기와 같은 경피 제형은 당해 분야에 널리 공지되어 있으며 일반적으로는 활성 성분 또는 제형의 피부 침투 안정성을 증대시키기 위해서 추가적인 성분들을 포함한다. 모든 상기와 같은 공지된 경피 제형 및 성분들은 본 발명의 범위 내에 포함된다.

[0083] 본 발명의 화합물을 또한 경피 장치에 의해 투여할 수 있다. 따라서, 경피 투여를 수용조 또는 다공성 막 유형, 또는 고체 기질 작동사니의 패치를 사용하여 수행할 수 있다.

- [0084] 경구 투여성, 주사성 또는 국소 투여성 조성물에 대한 상술한 성분들은 단지 예시적인 것이다. 다른 물질들뿐만 아니라 가공 기법 등이 본 발명에 참고로 인용된 문헌[Part 8 of Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th edition, 1985, Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania]에 나열되어 있다.(Remington and Gennaro 1985)
- [0085] 본 발명의 화합물을 또한 서방성 형태로 또는 서방성 약물 전달 시스템으로부터 투여할 수 있다. 전형적인 서방성 물질에 대한 명세를 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences]에서 찾을 수 있다.
- [0086] 하기의 제형에는 본 발명에 따라 제조될 수 있는 전형적인 약학 조성물을 예시한다. 그러나, 본 발명을 하기의 약학 조성물로 제한하지 않는다.
- [0087] **제형 1 - 정제**
- [0088] 화학식 I에 따른 본 발명의 화합물을 대략 1:2 중량비로 건조 젤라틴 결합제와 함께 건조 분말로서 혼합할 수 있다. 소량의 마그네슘 스테아레이트를 윤활제로서 첨가할 수도 있다. 혼합물을 정제 프레스에서 240 내지 270 mg 정제(정제당 80 내지 90 mg의 화학식 I에 따른 본 발명의 활성 화합물)로 형성시킬 수 있다.
- [0089] **제형 2 - 캡슐**
- [0090] 화학식 I에 따른 본 발명의 화합물을 대략 1:1 중량비로 전분 희석제와 함께 건조 분말로서 혼합할 수 있다. 혼합물을 250 mg 캡슐에 충전할 수 있다(캡슐당 125 mg의 화학식 I에 따른 본 발명의 활성 화합물).
- [0091] **제형 3 - 액체**
- [0092] 화학식 I에 따른 본 발명의 화합물(125 mg)을 슈크로스(1.75 g) 및 잔탄 검(4 mg)과 혼합하고, 생성된 혼합물을 블렌딩하고, 10번 메쉬 U.S. 체에 통과시키고, 이어서 앞서 제조된 미정질 셀룰로스와 나트륨 카복시메틸 셀룰로스(11:89, 50 mg)의 수중 용액과 혼합할 수 있다. 나트륨 벤조에이트(10 mg), 풍미제 및 착색제를 물로 희석하고, 교반하면서 첨가할 수도 있다. 이어서 충분한 물을 교반하면서 가할 수 있다. 이어서 충분한 물을 가하여 총 5 mL의 부피를 생성시킬 수 있다.
- [0093] **제형 4 - 정제**
- [0094] 화학식 I에 따른 본 발명의 화합물을 대략 1:2 중량비로 건조 젤라틴 결합제와 함께 건조 분말로서 혼합할 수 있다. 소량의 마그네슘 스테아레이트를 윤활제로서 첨가할 수 있다. 혼합물을 정제 프레스에서 450 내지 900 mg 정제(150 내지 300 mg의 화학식 I에 따른 본 발명의 활성 화합물)로 형성시킬 수 있다.
- [0095] **제형 5 - 주사액**
- [0096] 화학식 I에 따른 본 발명의 화합물을 대략 5 mg/mL의 농도로 완충된 멸균 염수 주사성 수성 매질에 용해시키거나 현탁시킬 수 있다.
- [0097] **제형 6 - 국소용**
- [0098] 스테아릴 알콜(250 g) 및 백색 바셀린(250 g)을 약 75 °C에서 용융시키고 이어서 수(약 370 g) 중에 용해된 화학식 I에 따른 본 발명의 화합물(50 g), 메틸파라벤(0.25 g), 프로필파라벤(0.15 g), 나트륨 라우릴 설페이트(10 g), 및 프로필렌 글리콜(120 g)의 혼합물을 가하고, 생성되는 혼합물을 응결시까지 교반할 수 있다.
- [0099] 치료 방법
- [0100] 하나의 구현예에서, 본 발명은 다낭성 신장질환(PKD)의 예방 및/또는 치료에 사용하기 위한, 본 발명의 화합물 또는 본 발명의 화합물을 포함하는 약학 조성물을 제공한다. 특정한 구현예에서, PKD는 상염색체 우성 다낭성 신장질환(ADPKD)이다.
- [0101] 또 다른 구현예에서, 본 발명은 PKD의 예방 및/또는 치료에 사용하기 위한 약제의 제조에 사용하기 위한 본 발명의 화합물 또는 본 발명의 화합물을 포함하는 약학 조성물을 제공한다. 특정한 구현예에서, PKD는 상염색체 우성 다낭성 신장질환(ADPKD)이다.
- [0102] 추가의 치료 방법 태양에서, 본 발명은 PKD에 걸린 포유동물의 예방 및/또는 치료 방법을 제공하며, 방법은 유효량의 본 발명의 화합물 또는 상기 상태의 치료 또는 예방을 위해 본 명세서에 기재된 약학 조성물 중 하나 이상을 투여함을 포함한다. 특정한 구현예에서, PKD는 상염색체 우성 다낭성 신장질환(ADPKD)이다.
- [0103] 하나의 구현예에서, 본 발명은 본 발명의 화합물, 및 또 다른 치료제를 포함하는 약학 조성물을 제공한다. 특정

한 구현예에서, 다른 치료제는 PKD 치료제이다. 특정한 구현예에서, PKD는 상염색체 우성 다낭성 신장질환 (ADPKD)이다.

- [0104] 주사 용량 수준은 모두 약 1 내지 약 120h 및 특히 24 내지 96h 동안 약 0.1 mg/kg/h 내지 적어도 10 mg/kg/h의 범위이다. 약 0.1 mg/kg 내지 약 10 mg/kg 이상의 프리로딩 일시주사를 또한 투여하여 적합한 정상 상태 수준을 성취할 수 있다. 최대 총 용량은 40 내지 80 kg 인간 환자의 경우 약 1 g/일을 초과하지 않을 것으로 예상된다.
- [0105] 장기적인 상태, 예를 들어 퇴행 상태의 예방 및/또는 치료를 위해서, 치료 섭생을 대개는 수개월 또는 수년에 걸쳐 늘릴 수 있으며 따라서 경구 투여가 환자의 편의성 및 허용성을 위해 바람직하다. 경구 투여의 경우, 매일 1 내지 4 회의 정규 용량, 특히 매일 1 내지 3회의 정규 용량, 전형적으로는 매일 1 내지 2회의 정규 용량, 및 가장 전형적으로는 매일 1회의 정규 용량이 전형적인 섭생이다. 한편으로, 장기간 지속 효과의 약물의 경우, 경구 투여에 의해, 2주마다 1회, 매주 1회, 및 하루에 1회가 전형적인 섭생이다. 특히, 투여량 섭생은 1 내지 14 일마다, 보다 특히 1 내지 10일마다, 훨씬 더 특히 1 내지 7일마다, 및 가장 특히는 1 내지 3일마다일 수 있다.
- [0106] 이러한 투여 패턴을 사용하는 경우, 각각의 용량은 약 1 내지 약 1000 mg의 본 발명의 화합물을 제공하며, 특히 각각의 용량은 약 10 내지 약 500 mg 및 특히 약 30 내지 약 250 mg을 제공한다.
- [0107] 경피 용량은 일반적으로 주사 용량을 사용하여 성취되는 것과 유사하거나 더 낮은 혈중 수준을 제공하도록 선택된다.
- [0108] 질환의 발병을 예방하기 위해 사용될 때, 본 발명의 화합물을 질환이 발병할 위험이 있는 환자에게, 전형적으로는 의사의 충고 및 감독 하에서, 상술한 투여량 수준으로 투여할 것이다. 특정 질환이 발병할 위험이 있는 환자는 일반적으로 질환의 가족력이 있는 환자 또는 상기 질환의 발병에 특히 민감한 것으로 유전자 시험 또는 선별에 의해 확인된 환자를 포함한다.
- [0109] 본 발명의 화합물을 단독 활성제로서 투여하거나 또는 다른 치료제, 예를 들어 동일하거나 유사한 치료 활성을 나타내고 병행 투여에 대해 안전하고 효능 있는 것으로 결정된 본 발명의 다른 화합물과 함께 투여할 수 있다. 특정한 구현예에서, 2개(이상)의 작용제의 동시 투여는 각각 현저하게 더 낮은 용량의 사용을 허용하며, 이에 의해 나타나는 부작용이 감소된다.
- [0110] 하나의 구현예에서, 본 발명의 화합물 또는 본 발명의 화합물을 포함하는 약학 조성물을 약제로서 투여한다. 특정 구현예에서, 상기 약학 조성물은 추가의 활성 성분을 추가로 포함한다.
- [0111] 하나의 구현예에서, 본 발명의 화합물을 PKD를 수반하는 질병의 치료 및/또는 예방을 위한 또 다른 치료제와 함께 투여하며, 특정한 작용제는 비제한적으로 바소프레신 수용체의 길항제, 특히 바소프레신-2 수용체의 길항제(톨باط탄, 릭시باط탄), 프라바스타틴, 벤글루스타트, 보수티닙, 안지오텐신-전환 효소(ACE) 억제제(예를 들어 베나제프릴, 조페노프릴, 페린도프릴, 트란돌라프릴, 캡토프릴, 에날라프릴, 리시노프릴, 또는 라미프릴), 메트포르민, 옥타펩티드(옥트레오티드), 사이클로헵티드(란레오티드), 미세RNA의 짧은 올리고뉴클레오티드 억제제(항-miR)(예를 들어 항-miR17(RGLS4326)(Lee et al. 2019)) 및 안지오텐신 II 수용체 차단제(ARB)(예를 들어 로사탄, 이르베사탄, 올메사탄, 칸데사탄, 발사탄, 피마사탄 및 아질사탄)를 포함한다. 특정한 구현예에서, 다른 치료제는 톨باط탄 및 메트포르민 중에서 선택된다. 또 다른 특정 구현예에서, 다른 특정 작용제는 RGLS4326이다.
- [0112] 동시 투여는 숙련자에게 자명한 바와 같이 2개 이상의 치료제를 동일한 치료 섭생의 부분으로서 환자에게 전달하는 임의의 수단을 포함한다. 2개 이상의 작용제를 단일 제형으로, 즉 단일 약학 조성물로서 동시에 투여할 수도 있지만, 이는 필수적인 것은 아니다. 작용제를 상이한 제형으로 상이한 시점에서 투여할 수도 있다.

[0113] 약어

약어	정의
ADPKD	상염색체 우성 다낭성 신장 질환
CAS#	미국 화학협회 번호
CFTR	낭포성 섬유증 막관통 전도도 조절인자
CF	낭포성 섬유증
DBU	1,8-디아자비사이클로[5.4.0]운데크-7-엔 CAS# 6674-22-2
DMSO	디메틸설폭사이드
HEPES	4-(2-하이드록시에틸)-1-피페라진에탄설폰산 - CAS# 7365-45-9
LCMS	질량 분광분석에 결합된 액체 크로마토그래피
LiHMDS	리튬 비스(트리메틸실릴)아미드 (CAS#4039-32-1)
MeCN	아세토니트릴
mg	밀리그램
equiv	당량
h	시간
equiv	당량
min	분
min	분
ml	밀리리터
mmol	밀리몰
$\mu$ l	마이크로리터
$\mu$ m	마이크로미터
$\mu$ m <sup>2</sup>	제곱 마이크로미터
RT	실온
N	노르말
g	그램
nM	나노몰
PKD	다낭성 신장질환
wt CFTR	야생형 CFTR
TECC	트랜스-상피 클램프 회로
THF	테트라하이드로푸란

[0114]

[0115] 화학 합성 과정

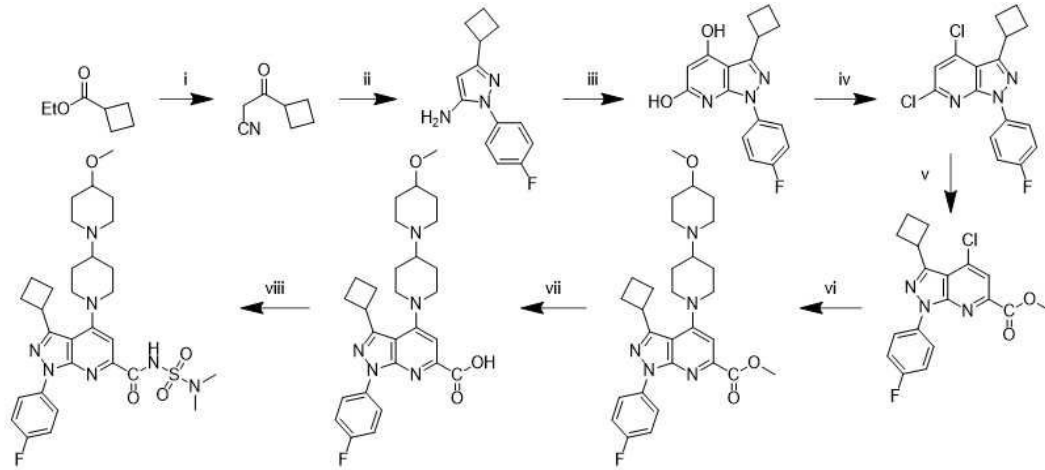
[0116] 일반적인 내용

[0117] 본 발명의 화합물을 WO 2017/060874에 개시된 바와 같이 제조할 수 있다.

[0118] 특히 Cpd 1은 WO 2017/060874, 687 페이지에 Cpd 381로서 기재되어 있고, Cpd 2(M4)는 WO 2017/060874, 758 페이지에 Cpd 629로서 기재되어 있으며, M3은 WO 2017/060874, 758 페이지에 Cpd 630으로서 기재되어 있고,

[0119] M2는 WO 2017/060873, 655 페이지에 Cpd 892로서 기재되어 있으며; O-탈메틸화된 M2는 WO 2017/060873, 656 페이지에 Cpd 898로서 기재되어 있다.

[0120] 실시예 1. 예시적인 합성



[0121]

[0122] 1.1. 단계 i: 사이클로부틸-3-옥소-프로피오나이트릴

[0123] 1 L 4목 환저 플라스크에 2개의 적하 깔때기 및 장치 상단의 격막이 장착되었다. 전체 시스템을 진공하에서 10 분간 화염-건조시키고(히트 건) 이어서 양의 질소(별분) 스트림하에서 RT로 냉각시켰다. 저온 온도계를 양의 질소 스트림하에 적용시킨 다음, THF(468.0 ml, 468.0 mmol, 1.5 당량) 중의 1 N LiHMDS 용액을 양의 질소 스트림을 사용하여 플라스크에 캐놀러로 삽입하였다. 온도계로 확인되는 바와 같이 용액이 -78℃(드라이 아이스/아세톤 냉각욕)로 냉각되었다. 무수 MeCN(24.4 ml, 468.0 mmol, 1.5 당량)을 주사기를 통해 첫 번째 적하 깔때기에 첨가한 다음, 반응 혼합물에 적가(20분에 걸쳐)하였다. 첨가 종료 후, 혼합물을 -78℃에서 1h 동안 교반하였다. 이 시점에서, 무수 THF(106 ml) 중의 용액으로서 사이클로부탄카복실산 에틸 에스테르(CAS#14924-53-9, 43.1 ml, 312.1 mmol, 1.0 당량)를 두 번째 적하 깔때기에 도입하였다. 이 용액을 -78℃에서 반응 혼합물에 2h에 걸쳐 서서히 가하였다. 혼합물을 -78℃에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 300 ml의 냉수에 붓고, 30분 동안 교반하고, 실온으로 가온되도록 하였다. 이어서, 혼합물을 에틸 아세테이트와 H<sub>2</sub>O 사이에 분배하였다. 유기층을 분리하고, 수성층을 에틸 아세테이트(3 x 300 ml)로 추출하였다. 합한 유기상을 버렸다. 이어서 수성층을 100 ml의 2N HCl로 산성화한 다음, 에틸 아세테이트(3 x 300 ml)로 추출하고, 50 ml의 염수로 세척하고, MgSO<sub>4</sub>상에서 건조시키고, 여과하고, 진공에서 농축시켜 표제 화합물을 제공하고 이를 추가의 정제 없이 사용하였다.

[0124] 1.2. 단계 ii: 3-사이클로부틸-1-(4-플루오로페닐)-1H-피라졸-5-아민

[0125] 환저 플라스크에 3-사이클로부틸-3-옥소-프로피오나이트릴(10 g, 81.4 mmol), 4-플루오로페닐하이드라진 하이드로클로라이드(CAS#823-85-8, 12 g, 74 mmol) 및 EtOH(35 ml)를 충전하였다. 반응 혼합물을 2h 동안 환류시키고 RT로 냉각시켰다. 용매의 절반을 진공하에서 제거하였다. 혼합물을 격렬히 교반하고 디이소프로필 에테르(350 ml)를 가하였다. 교반을 1h 동안 계속하고, 형성된 침전물을 여과하고, 디이소프로필 에테르로 세척하고, 감압하에 40℃에서 건조시켜 표제 화합물을 제공하였다.

[0126] 1.3. 단계 iii: 3-사이클로부틸-1-(4-플루오로페닐)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-4,6-디올

[0127] 3-사이클로부틸-1-(4-플루오로페닐)-1H-피라졸-5-아민(5 g, 18.6 mmol) 및 디에틸 말로네이트(CAS#105-53-3, 8.5 ml, 55.8 mmol)를 100℃에서 30분간 가열하고 이어서 170℃에서 3h 동안 가열하였다. 반응 혼합물을 RT로 냉각시키고 디클로로메탄(60 ml)에 용해시켰다. 생성 용액을 n-헵탄의 교반된 용액(700 ml)에 부었다. 침전물을 여과에 의해 수집하고, n-헵탄으로 세척하고 감압하에 40℃에서 건조시켜 표제 화합물을 제공하였다.

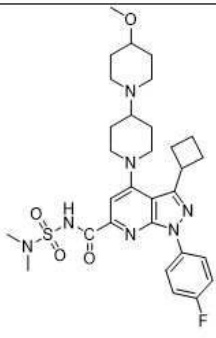
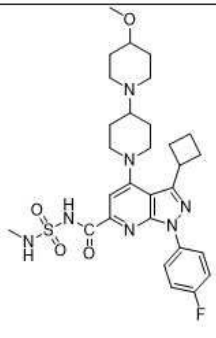
[0128] 1.4. 단계 iv: 4,6-디클로로-3사이클로부틸-1-(4-플루오로페닐)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘

[0129] 딤-스타크 장치가 장착된 3목 환저 플라스크에 페닐 디클로로포스페이트(CAS#770-12-7, 854 g, 4.05 mol)를 충전하였다. 3-사이클로부틸-1-(4-플루오로페닐)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-4,6-디올(404 g, 1.35 mol)을 5분의 기간에 걸쳐 나누어 가하였다. 온도를 1h의 기간에 걸쳐 170℃로 증가시키고, 170℃에서 교반을 21h 동안 계속하였다. 반응 혼합물을 50℃로 냉각시키고 온도를 20℃ 아래로 유지시키면서 교반된 수성 4 N NaOH(5 L)에 서서히 가하였다. 현탁액을 10-15℃에서 1h 동안 교반하고, 이어서 냉수(3 L)를 가하였다. 침전물을 여과에 의해 수

집하고, 수로 세척하고 감압하에 40℃에서 건조시켜 표제 화합물을 제공하였다.

- [0130] 1.5. 단계 v: 메틸 4-클로로-3-사이클로부틸-1-(4-플루오로페닐)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-6-카복실레이트
- [0131] 가압 용기에 디옥산/메탄올(1:1, 25 ml) 중의 4,6-디클로로-3-사이클로부틸-1-(4-플루오로페닐)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘(5 g, 14.9 mmol), Pd(Dppf)Cl<sub>2</sub>·DCM(CAS#95464-05-4, 218 mg, 0.3 mmol) 및 나트륨 아세테이트(1.8 g, 22.3 mmol)를 충전하였다. 시스템에 CO(4 bar)를 로딩하고 40℃에서 2h 동안 가열하였다. 용기를 RT로 냉각시키고, 전환을 LCMS에 의해 모니터링하였다. 반응 용기에 CO(4 bar)를 다시 충전하고 40℃에서 가열하였다. 완전한 전환이 관찰될 때까지 시퀀스를 반복하였다. 조 혼합물을 감압하에서 농축시키고 n헥산/디클로로메탄(90/10 내지 30/70)의 혼합물로 용출시키면서 플래시 컬럼 크로마토그래피에 의해 정제시켜 표제 화합물을 제공하였다.
- [0132] 1.6. 단계 vi: 메틸 3-사이클로부틸-1-(4-플루오로페닐)-4-[4-(4-메톡시-1-피페리딘)-1-피페리딘]피라졸로[3,4-b]피리딘-6-카복실레이트
- [0133] 무수 N-메틸피롤리디논(100 ml) 중의 메틸 4-클로로-3-사이클로부틸-1-(4-플루오로페닐)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-6-카복실레이트(8.11 g, 22.6 mmol)의 용액에 4-메톡시-1,4'-비피페리딘(5.37 g, 27.1 mmol) 및 디이소프로필에틸아민(9.42 ml, 54.2 mmol)을 가하였다. 반응 혼합물을 100℃에서 24h 동안 교반하고 이어서 주변 온도로 냉각시키고 수로 희석하였다. 0℃에서 냉각시 현탁액이 형성되었다. 현탁액을 여과하고, 수득된 침전물을 수로 세척하였다. 건조 후에, 표제 화합물을 수득하였다.
- [0134] 1.7. 단계 vii: 3-사이클로부틸-1-(4-플루오로페닐)-4-[4-(4-메톡시-1-피페리딘)-1-피페리딘]피라졸로[3,4-b]피리딘-6-카복실산
- [0135] 메틸 3-사이클로부틸-1-(4-플루오로페닐)-4-[4-(4-메톡시-1-피페리딘)-1-피페리딘]피라졸로[3,4-b]피리딘-6-카복실레이트(80 μmol)를 THF/에탄올의 혼합물(1/1; 6 ml)에 용해시키고 수 중의 1 N 수산화 나트륨(0.5 ml, 500 μmol)을 RT에서 가하였다. 용액을 4h 동안 교반하였다. 수성 1 N HCl(0.5 ml, 500 μmol) 및 포스페이트 완충제를 가하였다(pH 6.2). 용매를 감압하에서 부분적으로 제거하고, 생성 혼합물을 클로로포름으로 2회 추출하였다. 합한 유기상을 황산 마그네슘 상에서 건조시키고, 여과하고 감압하에서 증발시켜 표제 화합물을 제공하였다.
- [0136] 1.8. 단계 viii: N-(디메틸설파모일)-1-(4-플루오로페닐)-4-[4-(4-메톡시피페리딘-4-일)피페리딘-1-일]-3-(프로판-2-일)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-6-카복사미드
- [0137] 3-사이클로부틸-1-(4-플루오로페닐)-4-[4-(4-메톡시-1-피페리딘)-1-피페리딘]피라졸로[3,4-b]피리딘-6-카복실산(0.15 mmol) 및 카보닐 디이미다졸(37 mg, 0.23 mmol)을 실온에서 1h 동안 무수 DMF(800 μl) 중에서 교반하였다. 이어서 Cpd 1의 경우 N,N-디메틸설파미드(37 mg, 0.30 mmol) 또는 Cpd 2의 경우 N-메틸설파미드(33 mg, 0.30 mmol) 및 트리에틸아민(42 μl, 0.30 mmol)을 가한 다음 DBU(34 μl, 0.23 mmol)를 서서히 가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 30분 교반하고, 메탄올로 희석하고 40 내지 70% 구배의 10 mM 수성 암모늄 아세테이트 중의 아세토니트릴과 함께 Waters® Sunfire™ C8 컬럼(30 x 150 mm)상에서 예비 HPLC에 의해 정제시켜 표제 화합물을 제공하였다.
- [0138] Cpd 1 NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 8.01 ppm (dd, J=8.84, 4.55 Hz, 2H), 7.44 ppm (s, 1H), 7.25 ppm (t, J=8.46 Hz, 2H), 4.03-3.94 ppm (m, 1H), 3.73-3.69 ppm (m, 2H), 3.37 ppm (s, 3H), 3.3-3.24 ppm (m, 1H), 3.04 ppm (s, 6H), 2.97-2.87 ppm (m, 4H), 2.65-2.56 ppm (m, 2H), 2.52-2.36 ppm (m, 5H), 2.13-2.02 ppm (m, 4H), 1.9 ppm (s, 2H), 2.01-1.9 ppm (m, 2H), 1.73-1.61 ppm (m, 3H)
- [0139] Cpd 2 NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 7.90 - 8.08 (m, 2 H), 7.45 (s, 1 H), 7.13 - 7.36 (m, 2 H), 5.65 (d, J=4.6 Hz, 1 H), 3.87 - 4.00 (m, 1 H), 3.82 (d, J=12.2 Hz, 2 H), 3.65 (br. s., 1 H), 3.39 (s, 3 H), 3.15 - 3.45 (m, 4 H), 3.04 (t, J=12.0 Hz, 2 H), 2.73 - 2.87 (m, 3 H), 2.35 - 2.70 (m, 9 H), 1.94 - 2.22 (m, 6 H)
- [0140] [표 I]

[0141] 본 발명의 예시적인 화합물

Cpd#	명칭	MW	Mes
1	 <p>3-사이클로부틸-1-(4-플루오로페닐)-4-(4-메톡시[1,4'-비피페리딘]-1'-일)-N-(디메틸설파모일)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-6-카복사아미드</p>	613	614
2	 <p>3-사이클로부틸-1-(4-플루오로페닐)-4-(4-메톡시[1,4'-비피페리딘]-1'-일)-N-(메틸설파모일)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-6-카복사아미드</p>	599	600

[0142]

[0143] 생물학적 실시예

[0144] 실시예 2. 시험관내 분석

[0145] 2.1. 야생형 CFTR에서 황색 형광 단백질(YFP) 할라이드 분석

[0146] 2.1.1. 분석 원리

[0147] 야생형 CFTR을 억제하는 시험 화합물의 능력을 평가하기 위해서, 야생형 인간 CFTR로 형질감염된 HEK293 세포를 사용하는 YFP 할라이드 분석이 개발되었다.(Galietta, Jayaraman, and Verkman 2001) 세포를 24h 동안 용량 범위의 시험 화합물과 배양하고 생성되는 야생형 CFTR 활성을 플롯팅하여 EC<sub>50</sub>을 획득하였다.

[0148] 원형질막에서 이용가능한 CFTR을 충분히 활성화하고 채널 활성의 억제를 정확하게 측정하기 위해서 시험 화합물을 또한 포스콜린과 함께 야생형 CFTR 발현 세포에 가하였다.

[0149] 2.1.2. 프로토콜

[0150] HEK293 세포를 jetPEI(Polyplus 형질감염)를 사용하여 10 내지 80 ng의 야생형 CFTR 및 20 ng의 YFP를 암호화하는 플라스미드(H148Q/I152L/F47L)로 형질감염시켰다. 형질감염 직후에, 세포를, 폴리-D-리신으로 코팅한 흑색 96-웰 플레이트에 웰당 70,000 세포의 밀도로 시딩하였다. 다음날, 세포를 24h 동안 중화제(corrector)(들)로 처리하였다. 이 배양 기간 후에, 세포를 Ca<sup>2+</sup> 및 Mg<sup>2+</sup>를 갖는 DPBS로 2회 세척하였다. 후속적으로, 세포를 40 μl 부피의 10 μM 포스콜린 및 목적하는 농도의 강화제(potentiator)로 처리하고 실온에서 10분간 배양하였으며, 시점은 선행 실험에서 최적화되어 양호한 창(양성 대조군/음성 대조군 >2) 및 신호 대 배경 비를 생성시켰다. YFP 형광을 EnVision 플레이트 판독기(PerkinElmer)를 사용하여 측정하였다. 신호를, 110 μl의 NaI 완충제(137 mM NaI, 2.7 mM KI, 1.7 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 10.1 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 5 mM D-글루코스)를 웰에 150 μl/s의 속도로 주입하기 바로 전에 시작하여 150 μl의 최종 부피를 생성시키는 7초간 기록하였다. 여기 파장은 485 nm이고 방출 파장은

530 nm였다.

- [0151] 농도-반응 실험을 반응 = 하단 + (상단-하단)/(1 + (EC<sub>50</sub>/농도)<sup>HillSlope</sup>) 형태의 4 모수 힐(hill) 함수를 사용하여 적합시켜 EC<sub>50</sub> 값을 결정하였다.
- [0152] 2.1.3. 결과
- [0153] 이 분석에서, Cpd 1은 728 nM의 EC<sub>50</sub>으로 WT CFTR을 억제하며, Cpd 2는 102 nM의 EC<sub>50</sub>으로 wt CFTR을 억제한다
- [0154] 실시예 3. TECC 분석
- [0155] 3.1. 분석 원리
- [0156] TECC 분석을 사용하여, 생리학적 조건에 보다 가까운 정상적인 1차 기관지 상피 세포(HBE 세포)상에서 화합물을 평가한다.
- [0157] 3.2. 인간 기관지 상피(HBE) 세포 배양
- [0158] 정상(wt CFTR)로부터 이식된 폐에서 단리된 기관지 상피세포를 계획된 이식을 겪은 공여자로부터 수득된 폐에서 단리하였다. 이들 1차 세포를, 6.5 mm의 직경 및 0.4 μm의 기공 크기를 갖는 IV형 콜라겐-코팅된 폴리카보네이트 트랜스웰 지지체(Costar, #3397)상에서 직접, 필수적으로 TECC에 대해 앞서 기재된 바와 같이(Fulcher et al. 2005) 공기 액체(ali) 계면에서 18 내지 25일 동안 배양하였다.
- [0159] 3.3. 프로토콜
- [0160] 트랜스-상피 클램프 회로(TECC) 기록을 EP Design(Bertem, Belgium)에 의해 개발되고 판매된 TECC 장비를 사용하여 수행하였다. 기록하는 동안 상피 세포를 기부측면(640 μl) 및 정점면(160 μl) 모두에서 NaCl-링거액(120 mM NaCl, 20 mM HEPES, 1.2 mM CaCl<sub>2</sub>, 1.2 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.8 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.8 mM K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 5 mM 글루코스, pH 7.4) 중에 담그고 37°C에서 유지시켰다. 정점 아밀로라이드를 사용하여 내인성 ENaC 전류(100 μM)를 억제한 반면, 포스콜린(0.3 μM)을 정점면과 기저측면 모두에 적용하여 CFTR을 자극하였다. 실험 중에 사용된 모든 촉발제 및 화합물은 먼저 DMSO에 1000X 농축된 용액으로 용해되었으며, 처리 직전에 10X 모액이, 실험하는 동안 정확한 농도의 촉발제 및 또는 화합물의 첨가에 사용된 NaCl-링거액 중에서 제조되었다. 세포를 기록 전에 24시간 동안 시험 화합물로 처리하였으며, 이 처리를 전기생리학적 기록 전에 TECC 완충제에서 반복하였다. 측정을 20분 간격으로 2분마다 기록하면서 수행하였다. 경상피 전위(PD)와 경상피 저항(Rt)을 개방 회로에서 측정하고 옴의 법칙을 사용하여 I<sub>eq</sub>로 변환하였다. I<sub>eq</sub>의 최대 증가(Δ I<sub>eq</sub>)는 증가된 CFTR 활성화에 대한 척도로 사용되었다.
- [0161] 3.3.1. 결과
- [0162] 이 분석에서, Cpd 1 및 Cpd 2의 조합과 정상적인 HBE 세포와의 배양은 CFTR 채널의 활성화를 위해 0.3 μM 포스콜린을 사용한 경우 전류를 10.7 μA/cm<sup>2</sup>(DMSO 대조군; 비히클)에서 3.06 μA/cm<sup>2</sup>(채널 활성의 72% 감소)로 감소시켰다.
- [0163] Cpd 1 및 Cpd 2의 조합과 정상적인 HBE 세포와의 배양은 CFTR 채널의 활성화를 위해 0.1 μM 포스콜린을 사용한 경우 전류를 4.09 μA/cm<sup>2</sup>(DMSO 대조군; 비히클)에서 0.8 μA/cm<sup>2</sup>(채널 활성의 80% 감소)로 감소시켰다.
- [0164] Cpd 1 단독과 정상적인 HBE 세포와의 배양은 CFTR 채널의 활성화를 위해 0.3 μM 포스콜린을 사용한 경우 6.97의 pIC<sub>50</sub>(108 nM의 IC<sub>50</sub> 값을 생성시킴)과 함께 전류를 14.4 μA/cm<sup>2</sup>(DMSO 대조군; 비히클)에서 6.6 μA/cm<sup>2</sup>(채널 활성의 54% 감소)로 감소시켰다.
- [0165] Cpd 2 단독과 정상적인 HBE 세포와의 배양은 CFTR 채널의 활성화를 위해 0.3 μM 포스콜린을 사용한 경우 7.50의 pIC<sub>50</sub>(32 nM의 IC<sub>50</sub> 값을 생성시킴)과 함께 전류를 14.1 μA/cm<sup>2</sup>(DMSO 대조군; 비히클)에서 5.9 μA/cm<sup>2</sup>(채널 활성의 58% 감소)로 감소시켰다.
- [0166] 포스콜린 부재하에서 채널 활성은 0.25 μA/cm<sup>2</sup>의 전류를 생성시켰다.
- [0167] 실시예 4. YHA 분석에서 CFTR 활성화에 대한 메트포르민 및 화합물 1의 조합
- [0168] 4.1. 분석 원리
- [0169] 세노관 세포를 사용하여 야생형 CFTR을 억제하는 시험 화합물 조합의 능력을 평가하기 위해서, 야생형 마우스

CFTR로 형질감염된 mIMCD3\_wt 세포(ATCC® CRL-2123)를 사용하는 YFP 할라이드 분석이 개발되었다(Galietta, Jayaraman, and Verkman 2001). 세포를 24h 동안 용량 범위의 화합물 1 또는 용량 범위의 화합물 1과 증가하는 용량의 메트포르민과의 조합과 배양하였다. 측정 직전에, 원형질막에서 이용가능한 CFTR을 충분히 활성화하기 위해서 포스콜린을 용량 범위의 조합된 화합물 1과 함께 또는 증가하는 용량의 메트포르민 없이 야생형 CFTR 발현 mIMCD3 세포에 가하였다. 시험 화합물에 의한 채널의 억제를 플랫폼하여 IC<sub>50</sub>을 획득하였다.

[0170] 4.2. 분석 프로토콜

[0171] 마우스 mIMCD3\_wt 세포를 jetPEI(Polyplus 형질감염)를 사용하여 20 ng의 야생형 CFTR 및 80 ng의 YFP를 암호화하는 플라스미드(H148Q/I152L/F47L)로 형질감염시켰다. 형질감염 직후에, 세포를, 폴리-D-리신으로 코팅한 흑색 96-웰 플레이트에 웰당 40,000 세포의 밀도로 시딩하였다. 다음날, 세포를 24h 동안 화합물로 처리하였다. 이 배양 기간 후에, 세포를 Ca<sup>2+</sup> 및 Mg<sup>2+</sup>를 갖는 DPBS로 2회 세척하였다. 후속적으로, 세포를 40 μl 부피의 10 μM 포스콜린 및 목적하는 농도의 화합물로 처리하고 실온에서 15분간 배양하였으며, 시점은 선행 실험에서 최적화되어 양호한 창(양성 대조군/음성 대조군 >2) 및 신호 대 배경 비를 생성시켰다. YFP 형광을 EnVision 플레이트 판독기(PerkinElmer)를 사용하여 측정하였다. 신호를, 110 μl의 NaI 완충제(137 mM NaI, 2.7 mM KI, 1.7 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 10.1 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 5 mM D-글루코스)를 웰에 150 μl/s의 속도로 주입하기 바로 전에 시작하여 150 μl의 최종 부피를 생성시키는 7초간 기록하였다. 여기 파장은 485 nm이고 방출 파장은 530 nm였다.

[0172] 농도-반응 실험을 반응 = 하단 + (상단-하단)/(1 + (EC<sub>50</sub>/농도)<sup>HillSlope</sup>) 형태의 4 모수 힐(hill) 함수를 사용하여 적합시켜 EC<sub>50</sub> 값을 결정하였다.

[0173] 4.3. 결과

[0174] 상기 분석 수행시, 하기의 결과가 획득되었다.

[0175] [표 11]

[0176] 증가하는 농도의 메트포르민 및 30 μM의 Cpd 1의 존재하에서 mIMCD3\_wt YHA 분석에서 IC<sub>50</sub>

[Cpd 1](μM)	[메트포르민](μM)	IC <sub>50</sub> (μM)
30	0	3.12
30	20	3.67
30	40	2.32
30	80	3.79
30	160	2.91
30	310	1.91
30	630	1.77
30	1250	1.82
30	2500	0.83
30	5000	0.92

[0177]

[0178] 화합물 1은 단독으로 30 μM에서, 마우스 mIMCD3\_wt 세포에서 마우스 CFTR 활성을 3.12 μM의 EC<sub>50</sub>으로 억제할 수 있었다.

[0179] 화합물 1은 메트포르민과 함께, 증가하는 용량의 메트포르민을 화합물 1과 병용할 때 증가하는 효능으로 마우스 mIMCD3 세포에서 마우스 CFTR 채널을 억제하는 것으로 나타났다. 5 μM의 메트포르민을 화합물 1과 병용하는 경우, 화합물 1은 0.92 μM의 IC<sub>50</sub>으로 마우스 CFTR을 억제하였다. 메트포르민을 화합물 1과 병용할 때 관찰된 효능의 이동은 이 분석에서 마우스 CFTR의 억제에 대한 메트포르민과 화합물 1과의 부가적인 및/또는 상승작용적인 효과를 가리킬 수 있다.

[0180] 실시예 5. 세포 분석

[0181] 5.1. 3D 마우스 낭종 분석

[0182] 5.1.1. 분석 원리

[0183] 본 분석은 작은 낭종을 형성하는 PKD1<sup>-/-</sup> 녹다운된 수질 마우스 관 세포를 사용한다. 이어서 이 낭종을 포스콜린으로 추가로 자극하여 확대를 야기한다. 이어서 시험 화합물을 낭종 형성에 대응하는 능력을 평가하기 위해서

추가적인 포스폴린과 함께 가한다. 3일 후에, 이들 세포를 영상화하여, 특히 낭종 크기, 세포수, 핵 모양, 벽 두께를 측정한다.

[0184] 5.1.2. 분석 프로토콜

[0185] 3D 낭종 배양 분석을 앞서 기재된 바와 같이(Booij et al. 2017) Pkd1-KO 마우스-내부 수질 집합관 세포 (mIMRFNPKD 5E4)로 수행하였다. 간단히: mIMRFNPKD 5.10<sup>4</sup> 세포를 Cyst-Gel(Ocellio B.V., Oortweg 21, Leiden, 2333CH, Netherlands.)과 혼합하였다. 15  $\mu$ l의 세포-젤 믹스를 CyBio Felix 96/60 로봇 액체 분배기(Analytik Jena AG)를 사용하여 384-웰 플레이트(Greiner  $\mu$ Clear, Greiner Bio-One B.V.)에 피펫팅하였다. 젤-세포 믹스를 웰당 2250 세포의 최종 세포 밀도로 도말하였다. 37°C에서 30분간 젤 중합 후에, 33  $\mu$ l의 배양 배지를 각 웰에 가하였다. 세포를 96h 동안 젤에서 증식시키고, 그 후에 세포를 포스폴린(Calbiochem) 및 하기의 분자에 동시-노출시켰다: 라파마이신(SelleckChem, S1039), 스타우로스포린(SelleckChem, S1421)을 각각 낭종 억제 또는 독성 대조군으로서 사용하였다. 시험 화합물을 표시된 최종 농도로 3D 분석에서 시험하였다. 72h 후에, 배양물을 4% 포름알데히드(Sigma Aldrich)로 고정시키고 동시에 0.2% 트리톤-X100(Sigma Aldrich)으로 투과화하고 4°C에서 2일 동안 1x PBS(Sigma Aldrich) 중의 0.25  $\mu$ M 로다민-팔로이딘(Sigma Aldrich) 및 0.1% Hoechst 33258(Sigma Aldrich)로 염색하고, 빛을 차단하였다. 고정 및 염색 후에, 플레이트를 1x PBS로 세척하고, 그 후에 플레이트를 Greiner SilverSeal(Greiner Bio-One B.V.)로 실링하고 영상화에 앞서 4°C에서 보관하였다. 영상화는 4x NIKON 대물렌즈를 갖는 Molecular Devices ImageXpress Micro XLS(Molecular Devices)를 사용하여 수행하였다. 각각의 웰에 대해서 Z-방향으로 34개의 상이 2개의 채널 모두에 대해 생성되었으며, 각 상의 전체 z-평면을 캡처하였다. 액틴 및 핵에 대한 상 분석을 Ominer 소프트웨어(Ocellio BV.)를 사용하여 수행하였다.

[0186] 5.1.3. 결과

[0187] 3D 낭종 분석에서 72h 동안 Cpd 1(10  $\mu$ M)의 배양은 비히클(100%로 설정됨)에 비해 14.5%의 낭종 팽창을 생성시켰으며, 이는 낭종 팽창의 85.5%의 감소에 상응하였다.

[0188] 3D 낭종 분석에서 72h 동안 Cpd 2(10  $\mu$ M)의 배양은 비히클(100%로 설정됨)에 비해 -1.7%의 낭종 팽창을 생성시켰으며, 이는 낭종 팽창의 100%의 감소에 상응하였다.

[0189] 5.2. 3D 인간 낭종 성장 분석

[0190] 5.2.1. 분석 원리

[0191] 본 분석은 3D로 배양시 낭종을 형성하는 인간 ADPKD 공여자 신장에서 유래된 인간 세포를 사용하여 DiscoveryBioMed, Inc(400 Riverhills Business Park, Suite 435, Birmingham, AL 35242-8101, USA)에서 수행되었다. 이 분석 설계에서, 시험 화합물 처리(낭종 감소 설계) 전에 4일 동안 낭종이 형성되게 하였다. 낭종 형성을 지원하기 위한 특별한 촉발제는 사용되지 않았다. 시험 화합물을 이미 형성된 낭종의 성장과 새로운 낭종의 형성을 방지하는 능력에 대해 평가하였다. 시험 화합물 처리 8일 후에 이들 세포를 영상화하여 특히 세포수, 낭종 수 및 낭종 크기를 측정하였다.

[0192] 5.2.2. 분석 프로토콜

[0193] *pkd1* 유전자에서 돌연변이가 확인된 Discovery BioMed의 상염색체 우성 다낭성 신장질환(ADPKD) 공여자 5로부터 기원한 낭종으로부터 수집된 세포를 사용하여 3D 인간 낭종형성 분석을 수행하였다.

[0194] 일단 낭종이 이미 젤에서 형성되기 시작했으면 낭종 팽창을 늦추거나 멈추는 시험 화합물의 능력을 시험하기 위해 감소 분석 패러다임을 선택하였다. 화합물 1 및 2를 8개의 상이한 용량(3 nM, 10 nM, 30 nM, 100 nM, 300 nM, 1  $\mu$ M, 3  $\mu$ M 및 10  $\mu$ M)에서 시험하였다.

[0195] 공여자 5 세포를 0일째에 웰당 5,500 세포로 독점적인 Discovery BioMed 바이오젤에 시딩하고 시험 화합물 또는 비히클을 5, 7, 9 및 11일째에 세포에 가하였다. 세포를 유지하기 위해서, 2.5% FBS를 갖는 독점적인 Discovery BioMed RenalCyte 배지를 연구 전체에 걸쳐 사용하였다. 중요하게는, 포스폴린 또는 아르기닌-바소프레신과 같은 자극을 추가하지 않았다. 4일째(약물 처리 전) 및 12일째에 4x 배율 대물렌즈를 사용하여 Cytation 5(BioTek)로 실험 종료 시 상을 획득하였으며, 이때 6개의 상을 캡처하고 함께 스티치하여 전체 384-웰 플레이트에서 단일 웰의 완전한 필드를 형성시켰다. 필드를 젤 전체를 통해 다수의 지점에서 캡처하였으며 전체 스택을 z-투영으로 전환시켰다. 명시야 상을, 낭종을 인식하고 그의 수 및 크기를 측정하도록 훈련된 딥-러닝 알고리즘을 사용하여 분석하였다. 13일째에 상 획득 후, 세포수를 Promega 3D CellTiterGlo(CTG)를 이용하여 추정하

였다.

[0196]

5.2.3. 결과

[0197]

10  $\mu\text{M}$  용량의 Cpd 1과의 배양은 정량화된 인간 낭종 면적의 31%의 감소를 생성시켰다(DMSO 대조군에 대해  $p < 0.05$ , 일원 ANOVA에 이어서 Kruskal-Wallis 사후 검정 분석에 의해 측정된 유의수준). (도 1)

[0198]

10  $\mu\text{M}$  용량의 Cpd 2와의 배양은 정량화된 인간 낭종 면적의 41%의 감소를 생성시켰다(DMSO 대조군에 대해  $p < 0.05$ , 일원 ANOVA에 이어서 Kruskal-Wallis 사후 검정 분석에 의해 측정된 유의수준). (도 1)

[0199]

Cpd 1과의 배양은 형성된 인간 낭종 수의 농도-의존적인 감소를 생성시켰다. Cpd 1은 0.1  $\mu\text{M}$ 의 용량에서부터 10  $\mu\text{M}$ 의 용량까지 유의수준의 효과를 나타내었다(DMSO 대조군에 대해  $p < 0.05$ , 이원 ANOVA에 이어서 Dunnett의 사후 검정 분석에 의해 측정된 유의수준). (도 2)

[0200]

Cpd 2와의 배양은 형성된 인간 낭종 수의 농도-의존적인 감소를 생성시켰다. Cpd 2는 0.1  $\mu\text{M}$ 의 용량에서부터 10  $\mu\text{M}$ 의 용량까지 유의수준의 효과를 나타내었다(DMSO 대조군에 대해  $p < 0.05$ , 이원 ANOVA에 이어서 Dunnett의 사후 검정 분석에 의해 측정된 유의수준). (도 2)

[0201]

[표 III]

[0202]

Cpd 1 & Cpd 2 대 비히클(DMSO)에 대한 박스 플롯 낭종 크기 분포

시험 그룹	DMSO	Cpd 1(10 $\mu\text{M}$ )	Cpd 2(10 $\mu\text{M}$ )
데이터 점 수	85	71	67
10% 백분위수( $\mu\text{m}^2$ )	1993	1608	1689
25% 백분위수( $\mu\text{m}^2$ )	3141	1941	1858
중앙값( $\mu\text{m}^2$ )	4526	2764	2444
75% 백분위수( $\mu\text{m}^2$ )	6646	4682	3406
90% 백분위수( $\mu\text{m}^2$ )	8647	6765	5589
p 값	NA	<0.0001	<0.0001

[0203]

[0204]

[표 IV]

[0205]

도 2: Cpd 1 & Cpd 2 대 비히클(DMSO)에 대한 농도 의존적인 낭종 크기 분포

농도( $\mu\text{M}$ )	Cpd 1			Cpd 2		
	낭종 n#	표준 편차	p 값	낭종 n#	표준 편차	p 값
0	72	6.798693	NA	72	6.449806	NA
0.003	67.5	6.240548	0.6068	70.7	5.780846	0.9994
0.01	64	5.270463	0.077	67.5	5.400337	0.6068
0.03	70.7	5.945119	0.9994	67.2	8.419674	0.5366
0.1	61.5	7.835106	0.0084	54.9	9.81094	<0.0001
0.3	60.2	6.646637	0.0021	50.9	7.947555	<0.0001
1	60	6.960204	0.0017	47.8	7.308774	<0.0001
3	57.1	5.743595	<0.0001	52.1	7.955558	<0.0001
10	57	7.363574	<0.0001	50.5	9.137336	<0.0001

[0206]

[0207]

[표 V]

[0208] 도 3 - Cpd 1 대 비히클(DMSO)에 대한 농도 의존적인 낭종 크기 분포

시험 그룹	데이터 점 수	10% 백분위수 ( $\mu\text{m}^2$ )	25% 백분위수 ( $\mu\text{m}^2$ )	중앙값 ( $\mu\text{m}^2$ )	75% 백분위수 ( $\mu\text{m}^2$ )	90% 백분위수 ( $\mu\text{m}^2$ )	p 값
DMSO	85	1993	3141	4526	6646	8647	NA
3nM	77	2088	3172	4398	6698	9145	>0.9999
10nM	71	2519	3346	5204	6607	8079	>0.9999
30nM	78	2012	2670	4074	6130	8092	>0.9999
100nM	71	2145	2897	4088	6588	8844	>0.9999
300nM	71	1774	2517	3943	5897	6798	>0.9999
1 $\mu\text{M}$	69	1962	2530	3616	5655	7720	0.3339
3 $\mu\text{M}$	65	2011	2500	3527	5710	8111	0.5649
10 $\mu\text{M}$	71	1608	1941	2764	4682	6765	<0.0001

[0209]

[0210] [표 VI]

[0211] 도 4 - Cpd 2 대 비히클(DMSO)에 대한 농도 의존적인 낭종 크기 분포

시험 그룹	데이터 점 수	10% 백분위수 ( $\mu\text{m}^2$ )	25% 백분위수 ( $\mu\text{m}^2$ )	중앙값 ( $\mu\text{m}^2$ )	75% 백분위수 ( $\mu\text{m}^2$ )	90% 백분위수 ( $\mu\text{m}^2$ )	p 값
DMSO	85	1993	3141	4526	6646	8647	NA
3nM	84	1977	2946	4242	6213	7976	>0.9999
10nM	77	2178	2918	4471	6789	8825	>0.9999
30nM	81	1940	2641	4361	6223	7730	>0.9999
100nM	66	1799	2294	3640	6330	7663	0.4492
300nM	65	1648	2218	3378	5611	6706	0.064
1 $\mu\text{M}$	58	1615	2028	2787	4670	6944	0.0012
3 $\mu\text{M}$	65	1493	1982	2894	4922	6220	0.0006
10 $\mu\text{M}$	67	1689	1858	2444	3406	5589	<0.0001

[0212]

[0213] 5.3. 톨랍탄과 병용된 생체내 실험

[0214] 5.3.1. 모델 원리

[0215] ADPKD 마우스 모델은 PKD1<sup>flox/flox</sup>(엑손 2-4에 측면 인접하는 lox 부위 포함)/유비쿼터스 CreER<sup>T2</sup> 마우스를 기반으로 하며, 여기에서 PKD1 유전자는 산후 12일째에(수유 중인 암컷에서) 타목시펜으로 마우스 처리에 의한 Cre 재조합효소의 활성화에 의해 유비쿼터스 녹아웃된다. PKD1 유전자의 동형접합 녹아웃은 인간에서 ADPKD 질환의 발병을 어느 정도 모방한 신장 낭종의 급속한 형성으로 이어진다.

[0216] 시험 화합물(톨랍탄, Cpd 2 및 톨랍탄 + Cpd 2의 조합)을 이 모델에서, 신장 기능의 마커인 혈중 요소 질소(BUN) 농도에 의해 측정되는, 신장 낭종의 형성을 감소시키는 능력(낭종 부피 %) 뿐만 아니라 부전으로부터 마우스 신장을 보호하는 능력에 대해 평가하였다.

[0217] 특히, 요소 질소는 식품 단백질의 분해 및 신체 대사로부터 발생하는 혈액 내 통상적인 폐기물로, 통상적으로 신장에 의해 제거된다. 신장 기능이 저하되면 BUN 수준이 상승한다.

[0218] 5.3.2. 분석 프로토콜

[0219] 실험 전에, PKD1<sup>flox/flox</sup>(엑손 2-4에 측면 인접하는 lox 부위 포함)/유비쿼터스 CreER<sup>T2</sup>의 마우스 콜로니를 Charles River Laboratories(France)에서 유지시켰다. Cre 재조합효소 활성을 유도하기 위해서, 타목시펜(해바라기 오일 중의 60 mg/kg)을 산후 12일째에 복강내 주사에 의해 수유 중인 암컷에게 전달하였다. 후속적으로, 타목시펜-함유 젖을 새끼에게 투여하였다. 4주령에서 시작하여 11주 동안 처리하였다. 톨랍탄을 식사에 혼입하고(0.1%) 단독으로 또는 Cpd 2와 함께, 250 mg/kg으로 q.d., p.o. 투여하였다. 처리의 개시시, 및 연구 중 규칙적으로, 혈청을 수집하여 Spotchem 생물분석기상에서 혈중 요소 질소(BUN)의 수준을 측정하였다. 부검시, 신장

을 수집하고 칭량하여 신장 중량/체중 비를 측정하였다.

[0220] 각각의 마우스에 대해서 시상면으로 절단된 신장의 절반을 표준 절차를 사용하여 파라핀 포매 전에 완충된 포름알데히드(VWR, France) 중에 24h 동안 고정시켰다. 신장 섹션을 상 분석 전에 헤마톡실린으로 염색하였다.

[0221] 낭종 백분율을 Calopix™ 상 분석 소프트웨어(Tribvn, France)를 사용하여 헤마톡실린 염색된 신장 섹션으로부터 계산하였다. 낭종 백분율을 낭종 면적 대 전체 섹션 면적의 비로서 측정하였다(Rodger et al, 2016). 낭종 부피를 추정하기 위해서, 낭종 백분율에 총 2개의 신장 중량을 곱하여 전체 낭종 중량을 측정하였으며, 이어서 1 g/ml의 낭종액을 가정하여 이를 전체 낭종 부피로 전환하였다(Rodger et al, 2016).

[0222] 2개의 독립적인 실험을 수행하였다. Cpd 2 및 그의 톨बाट과 조합의 효과를 유의수준으로 측정하는 능력을 증가시키기 위해서 2개의 실험 결과(BUN 및 낭종 부피%)를 합하는 메타-분석을 수행하였다.

[0223] 5.3.3. 메타-분석의 결과

[0224] 모든 실험 그룹 대 질병 그룹의 Dunnett 사후 검정 다중 비교와 함께 이원 ANOVA를 그룹 및 연구의 함수로서 희생(15주째) BUN(mg/ml) 대 4주째 BUN의 로그 변화 배수(logFC)에 적용하였다.

[0225] 15주째(희생) 대 4주째(치리 개시)의 평균 변화 배수를, 질병 그룹(치리되지 않은)에 대해 100% 변화를 가정하여 계산한다.

[0226] [표 VII]

[0227] 연구에서 4주째와 비교된 15주째의 BUN 평균 변화 배수

그룹	15주째 대 4주째의 평균 변화 배수	평균 질병 그룹의 변화 배수의 %	조정된 p-값
질병	2.341	100	NA
Cpd 2	1.941	82.9	0.2068
톨बाट	1.889	80.7	0.0891
톨बाट + Cpd 2	1.419	60.6	<0.0001

[0228]

[0229] 4주 내지 15주까지 톨बाट 또는 Cpd 2 단독 투여가 질병 그룹에 대해 유의수준의 변화 배수를 생성시키지 않았지만, 톨बाट과 Cpd 2의 조합은 질병 그룹에 비해 통계학적 유의수준의 변화 배수 차이를 생성시키며, 이는 시험된 용량의 Cpd 2와 병용되는 톨बाट이 질병 진행에 영향을 미칠 수 있음을 암시한다.

[0230] 최종 소견

[0231] 당해 분야의 숙련가는 상기 설명이 사실상 예시적이고 설명적이며, 본 발명과 그의 바람직한 구현예를 예시하고자 함을 알 것이다. 통상적인 실험을 통해서, 숙련가는 본 발명의 진의로부터 이탈될 없이 수행될 수 있는 명백한 변형 및 변화를 인식할 것이다. 첨부된 청구의 범위 내에 있는 모든 상기와 같은 변형들을 포함시키고자 한다. 따라서, 본 발명을 상기 설명에 의해서가 아닌, 하기의 청구의 범위 및 그의 등가물들에 의해서 한정하고자 한다.

[0232] 본 명세서에 인용된, 비제한적으로 특허 및 특허 출원을 포함한 모든 공보는, 각각의 개별적인 공보가 마치 완전히 개시된 것처럼 본 발명에 참고로 인용됨을 구체적이고 개별적으로 가리키는 바와 같이 본 발명에 참고로 인용된다.

[0233] 다양한 화합물의 차별적인 세포 침투 능력과 같은 인자가 시험관 내 생화학에서 화합물의 활성과 세포 분석 간의 불일치에 기여할 수도 있음은 물론이다.

[0234] 본 출원에 제공되고 나타낸 바와 같은 본 발명 화합물의 화학 명칭 중 적어도 일부는 상업적으로 입수할 수 있는 화학물질 명명 소프트웨어 프로그램의 사용에 의해 자동화된 토대로 발생될 수 있으며 독립적으로 입증되지는 않았다. 이러한 기능을 수행하는 전형적인 프로그램은 Open Eye Software, Inc.에 의해 판매되는 렉시켄(Lexichem) 명명 도구 및 MDL, Inc.에 의해 판매되는 오토놈(Autonom) 소프트웨어 도구를 포함한다. 상기 나타낸 화학물질 명칭 및 도시된 구조가 상이한 경우에, 상기 도시된 구조는 억제될 것이다.

[0235] 참고문헌

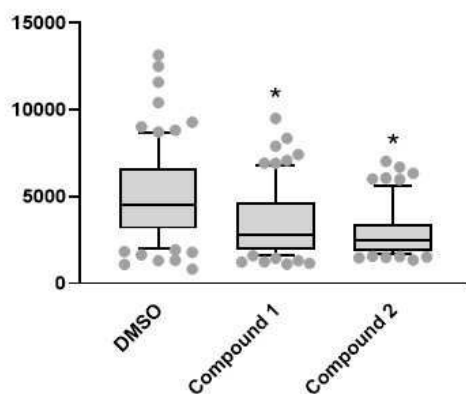
[0236] Booi, Tijmen H., Hester Bange, Wouter N. Leonhard, Kuan Yan, Michiel Fokkelman, Steven J. Kunnen, Johannes G. Dauwse, et al. 2017. "High-Throughput Phenotypic Screening of Kinase Inhibitors to

Identify Drug Targets for Polycystic Kidney Disease." *SLAS DISCOVERY: Advancing Life Sciences R&D* 22 (8): 974-84. <https://doi.org/10.1177/2472555217716056>.

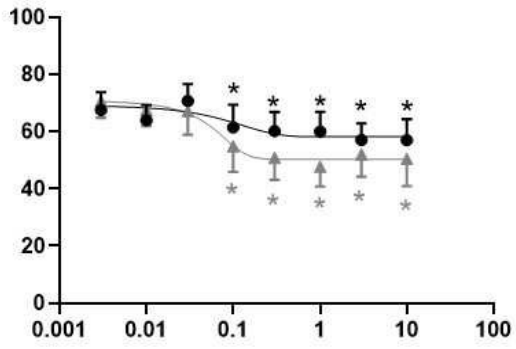
- [0237] Bundgaard, Hans. 1985. *Design of Prodrugs*. Elsevier.
- [0238] Fulcher, M. Leslie, Sherif Gabriel, Kimberlie A. Burns, James R. Yankaskas, and Scott H. Randell. 2005. "Well-Differentiated Human Airway Epithelial Cell Cultures." *Methods in Molecular Medicine* 107: 183-206.
- [0239] Galiotta, Luis V. J., Sujatha Jayaraman, and A. S. Verkman. 2001. "Cell-Based Assay for High-Throughput Quantitative Screening of CFTR Chloride Transport Agonists." *American Journal of Physiology-Cell Physiology* 281 (5): C1734-42. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.2001.281.5.C1734>.
- [0240] Lee, Edmund C., Tania Valencia, Charles Allerson, Annelie Schairer, Andrea Flaten, Matanel Yheskel, Kara Kersjes, et al. 2019. "Discovery and Preclinical Evaluation of Anti-MiR-17 Oligonucleotide RGLS4326 for the Treatment of Polycystic Kidney Disease." *Nature Communications* 10 (1): 4148. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-11918-y>.
- [0241] Remington, Joseph P., and Alfonso R. Gennaro, eds. 1985. *Remington's Pharmaceutical Sciences*. 17 ed. Easton, Pa: Mack.
- [0242] Thiagarajah, J R, and A S Verkman. 2012. "CFTR Inhibitors for Treating Diarrheal Disease." *Clinical Pharmacology & Therapeutics* 92 (3): 287-90. <https://doi.org/10.1038/clpt.2012.114>.
- [0243] Torres, Vicente E. 2010. "Treatment Strategies and Clinical Trial Design in ADPKD." *Advances in Chronic Kidney Disease* 17 (2): 190-204. <https://doi.org/10.1053/j.ackd.2010.01.006>.
- [0244] Torres, Vicente E, Peter C Harris, and Yves Pirson. 2007. "Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease." *The Lancet* 369 (9569): 1287-1301. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)60601-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)60601-1).
- [0245] Yang, Baoxue, Nitin D. Sonawane, Dan Zhao, Stefan Somlo, and A. S. Verkman. 2008. "Small-Molecule CFTR Inhibitors Slow Cyst Growth in Polycystic Kidney Disease." *Journal of the American Society of Nephrology: JASN* 19 (7): 1300-1310. <https://doi.org/10.1681/ASN.2007070828>.

## 도면

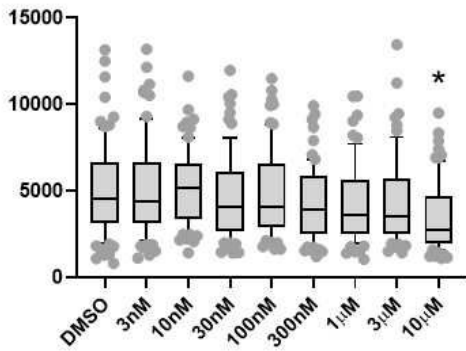
### 도면1



도면2



도면3



도면4

