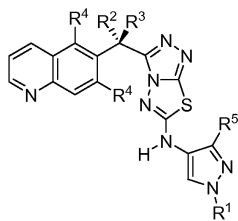
	(19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 10-2012-0030110 (43) 공개일자 2012년03월27일
(51) 국제특허분류(Int. Cl.) <i>C07D 513/04</i> (2006.01) <i>C07D 417/14</i> (2006.01) <i>A61K 31/429</i> (2006.01) <i>A61P 35/00</i> (2006.01)		(71) 출원인 버텍스 파마슈티칼스 인코포레이티드 미국 매사추세츠주 02139-4242 캄브리지 웨이벌리 스트리트 130
(21) 출원번호 10-2011-7031139	(22) 출원일자(국제) 2010년05월27일 심사청구일자 없음	(72) 발명자 로퍼 데이비드 미국 매사추세츠주 01775 스토크 테일러 로드 254 리 펜 미국 매사추세츠주 02421 렉싱턴 몰트 레인 3 맥긴티 키라 미국 뉴욕주 12304 스킵터디 스테이트 스트리트 1536
(85) 번역문제출일자 2011년12월27일	(86) 국제출원번호 PCT/US2010/036312	(74) 대리인 장훈
(87) 국제공개번호 WO 2010/138665 국제공개일자 2010년12월02일	(30) 우선권주장 61/181,786 2009년05월28일 미국(US)	
전체 청구항 수 : 총 16 항		

(54) 발명의 명칭 c-MET 단백질 키나제의 아미노피라졸 트리아졸로티아디아졸 억제제

(57) 요약

본 발명은 c-Met 단백질 키나제의 억제에 유용한 화학식 I의 화합물에 관한 것이다. 본 발명은 또한 화학식 I의 화합물을 포함하는 약제학적으로 허용되는 조성물 및 증식성 장애의 치료에 상기 조성물을 사용하는 방법에 관한 것이다.

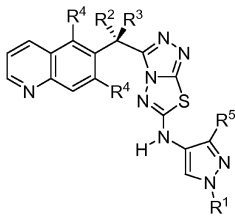
화학식 I



특허청구의 범위

청구항 1

화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염:



상기 화학식 I에서,

R^1 은 C_{1-3} 지방족이고;

R^2 는 수소, 플루오로 또는 메틸이고;

R^3 은 수소, 플루오로 또는 메틸이고;

R^4 각각은 독립적으로 수소 또는 플루오로이고;

R^5 는 수소, 클로로, 사이클로프로필, 또는 1 내지 3개의 불소 원자로 임의로 치환된 C_{1-4} 지방족이다.

청구항 2

제1항에 있어서, R^2 가 메틸이고, R^3 이 수소인 화합물.

청구항 3

제2항에 있어서, R^1 이 메틸이고, R^5 가 수소인 화합물.

청구항 4

제1항에 있어서, R^2 가 수소이고, R^3 이 메틸인 화합물.

청구항 5

제4항에 있어서, R^1 이 메틸이고, R^5 가 수소인 화합물.

청구항 6

제1항에 있어서, R^2 및 R^3 각각이 플루오로인 화합물.

청구항 7

제6항에 있어서, R^1 이 메틸이고, R^5 가 수소인 화합물.

청구항 8

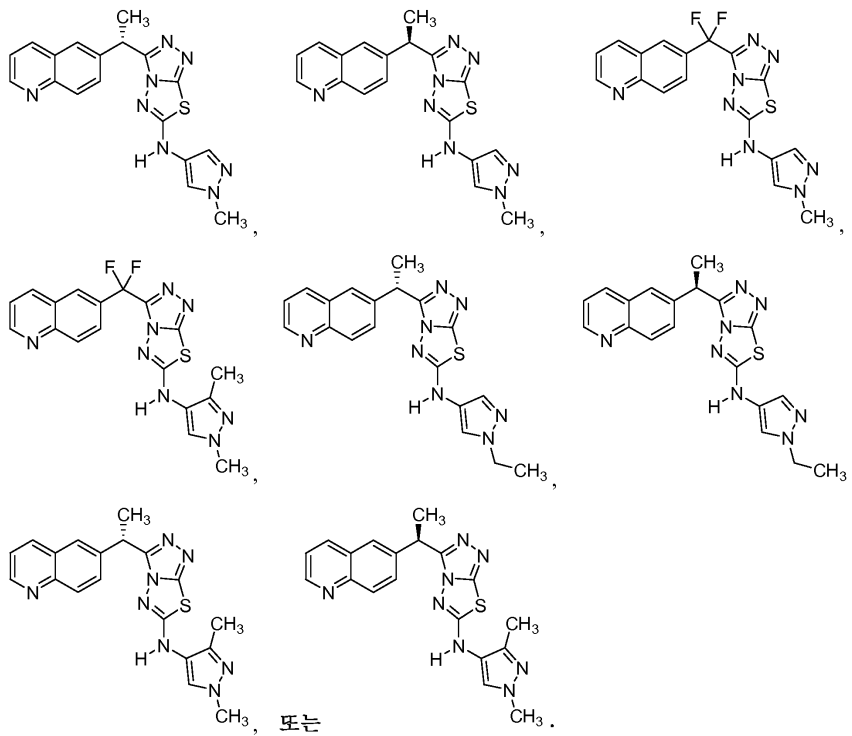
제1항 내지 제7항 중의 어느 한 항에 있어서, R^4 가 수소인 화합물.

청구항 9

제1항 내지 제7항 중의 어느 한 항에 있어서, R^4 가 플루오로인 화합물.

청구항 10

제1항에 있어서, 하기 구조를 갖는 화합물:



청구항 11

제1항에 따른 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 및 약제학적으로 허용되는 담체, 보조제 또는 비히클을 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 12

제11항에 있어서, 화학요법제, 항증식제, 소염제, 죽상동맥경화증의 치료제 또는 폐 섬유증의 치료제를 추가적으로 포함하는 조성물.

청구항 13

제1항에 따른 화합물 또는 상기 화합물을 포함하는 약제학적 조성물을 증식성 장애를 치료하거나 또는 증식성 장애의 중증도를 완화시키기에 충분한 양으로 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 환자에서 증식성 장애를 치료하거나 또는 증식성 장애의 중증도를 완화시키는 방법.

청구항 14

제13항에 있어서, 상기 장애가 전이성 암인 방법.

청구항 15

제13항에 있어서, 상기 장애가 교아종이거나; 위암종이거나; 또는 결장암, 유방암, 전립선암, 뇌암, 간암, 췌장암 또는 폐암으로부터 선택된 암인 방법.

청구항 16

제13항에 있어서, 상기 장애가 간세포 암종인 방법.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 c-Met의 선택적 억제제에 관한 것이다. 본 발명은 또한 c-Met 억제제를 포함하는 약제학적으로 허용되는 조성물 및 상기 조성물을 각종 증식성 장애의 치료에 사용하는 방법을 제공한다.

배경 기술

[0002] 산란 인자(scatter factor)로도 공지되어 있는 간세포 성장 인자(HGF: Hepatocyte growth factor)는 미토게네시스(mitogenesis) 및 세포 이동을 유발시킴으로써 형질전환 및 종양 발생을 증대시키는 다기능성 성장 인자이다. 또한, HGF는 다양한 신호전달 경로를 통해 세포 이동 및 침윤을 자극함으로써 전이를 촉진시킨다. 세포 효과를 산출하기 위해, HGF는 이의 수용체인 c-Met 수용체 티로신 키나제와 결합해야 한다. 50 킬로달톤(kDa: kilodalton) α-서브유닛 및 145 kDa 알파-서브유닛으로 이루어진 광범위하게 발현된 이형이량체(heterodimeric) 단백질인 c-Met(문헌[참조: Maggiora et al., *J. Cell Physiol.*, 173:183-186, 1997] 참조)는 사람 암에서 상당한 퍼센트로 과발현되고, 원발 종양과 전이 사이의 진행 동안에 증폭된다. c-Met 과발현과 관련이 있는 각종 암에는 위선암, 신장암, 소세포 폐암종, 결장암, 전립선암, 뇌암, 간암, 췌장암 및 유방암이 포함되지만, 이것으로 한정되지 않는다. c-Met는 또한 죽상동맥경화증 및 폐 섬유증과 관련된다.

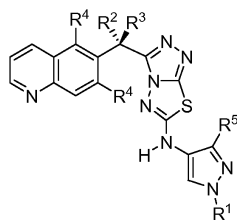
[0003] 따라서, c-Met 단백질 키나제 수용체의 억제제로서 유용한 화합물들의 개발이 강력하게 요구되고 있다. 특히, 바람직한 화합물은 c-Met 수용체에 대해 높은 친화성을 가지며 길항제로서 기능적 활성을 보여 주지만, 다른 키나제 수용체들 또는 부작용과 관련되는 것으로 알려진 표적과는 친화성을 거의 나타내지 않아야 한다.

발명의 내용

[0004] 3-(퀴놀린-6-일)메틸-N-(1H-피롤-3-일)-[1,2,4]트리아졸로[3,4-b][1,3,4]티아디아졸-6-아민이 c-Met의 억제에 효과적임을 알게 되었다.

[0005] 따라서, 본 발명은 하기 화학식 I을 갖는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 특징으로 한다:

[0006] 화학식 I



[0007]

[0008] 상기 화학식 I에서,

[0009] R^1 , R^2 , R^3 , R^4 및 R^5 는 본원 명세서의 다른 부분에 정의된 바와 같다.

[0010] 본 발명은 또한 화학식 I의 화합물 및 약제학적으로 허용되는 담체, 보조제 또는 비히클을 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다. 또한, 본 발명은 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적 조성물의 치료학적 유효 용량을 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 환자에서 증식성 질환, 상태 또는 장애를 치료하거나 증식성 질환, 상태 또는 장애의 중증도를 완화시키는 방법을 제공한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

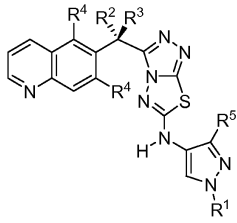
[0011] 정의 및 일반적 용어

[0012] 본원에서는 별도로 언급되지 않는 한 한 다음과 같은 정의가 적용될 것이다. 본 발명의 목적상, 화학 원소들은 문헌[참조: the Periodic Table of the Elements, CAS version, and The CAS the Handbook of Chemistry and Physics, 75th Ed., 1994]에 따라 규정된다. 부가적으로, 유기 화학의 일반적 원리는 문헌[참조: "Organic Chemistry", Thomas Sorrell, University Science Books, Sausalito: 1999, and "March's Advanced Organic Chemistry", 5th Ed., Smith, M.B. and March, J., eds. John Wiley & Sons, New York: 2001]에 기술되어 있으며, 이들의 전문은 본원에 참조로 인용된다.

[0013] 본 발명의 화합물의 설명

[0014] 제1 양상에서, 본 발명은 하기 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염에 관한 것이다:

[0015] 화학식 I



[0016]

[0017] 상기 화학식 I에서,

[0018] R^1 은 C_{1-3} 지방족이고;

[0019] R^2 는 수소, 플루오로 또는 메틸이고;

[0020] R^3 은 수소, 플루오로 또는 메틸이고;

[0021] R^4 각각은 독립적으로 수소 또는 플루오로이고;

[0022] R^5 는 수소, 클로로, 사이클로프로필, 또는 1 내지 3개의 불소 원자로 임의로 치환된 C_{1-4} 지방족이다.

[0023] 하나의 양태에서, R^2 는 메틸이고, R^3 는 수소이다. 또다른 양태에서, R^2 는 수소이고, R^3 은 메틸이다.

[0024] 또다른 양태에서, R^2 및 R^3 각각은 플루오로이다.

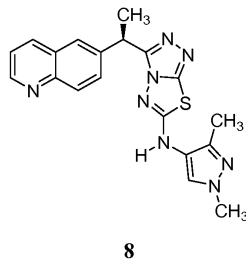
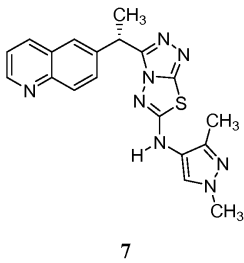
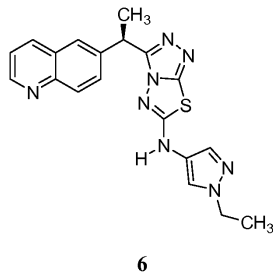
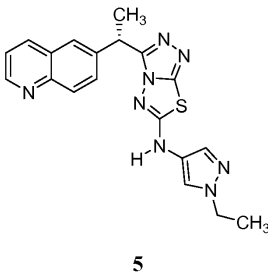
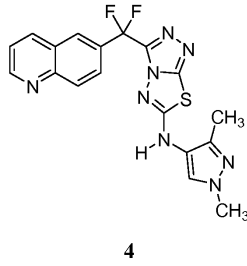
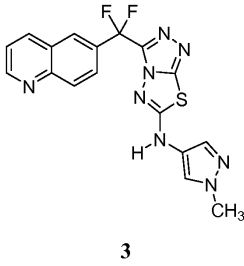
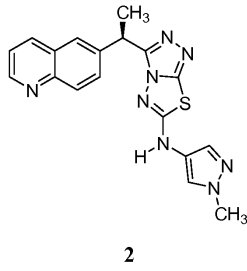
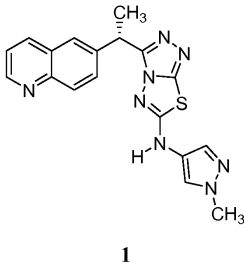
[0025] 본 발명의 화합물의 또다른 양태에서, R^4 는 수소이다.

[0026] 본 발명의 화합물의 또다른 양태에서, R^1 은 메틸이고, R^5 는 수소이다.

[0027] 추가적인 양태에서, R^1 은 메틸이고, R^2 및 R^3 각각은 불소이고, R^4 및 R^5 각각은 수소이다.

[0028] 또다른 양태에서, 상기 화합물은 하이드로클로라이드 염이다.

[0029] 화학식 I의 화합물은 다음을 포함한다:



[0030]

[0031]

[0032]

또다른 양태에서, 본 발명은 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 및 약제학적으로 허용되는 담체, 보조제 또는 비히클을 포함하는 약제학적 조성물을 특징으로 한다. 하나의 양태에서, 상기 조성물은 부가적인 화학요법제, 항증식제, 소염제, 죽상동맥경화증의 치료제 또는 폐 섬유증의 치료제를 포함한다.

[0033]

또다른 양태에서, 본 발명은 화학식 I의 화합물을 증식성 장애를 치료하거나 증식성 장애의 중증도를 완화시키기에 충분한 양으로 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 환자에서 증식성 장애를 치료하거나 또는 증식성 장애의 중증도를 완화시키는 방법을 특징으로 한다. 하나의 양태에서, 증식성 장애는 전이성 암이다. 또다른 양태에서, 증식성 장애는 교아종이거나; 간세포 암종, 위암종이거나; 또는 결장암, 유방암, 전립선암, 뇌암, 간암, 췌장암 또는 폐암으로부터 선택된 암이다.

[0034]

또다른 양태에서, 증식성 장애는 전이성 암이다.

[0035]

본 발명의 화합물의 조성물, 제형, 및 투여

[0036]

또다른 양태에서, 본 발명은 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 유도체 및 약제학적으로 허용되는 담체, 보조제 또는 비히클을 포함하는 조성물을 제공한다. 하나의 양태에서, 본 발명의 조성물 중의 화합물의 양은 생물학적 샘플 또는 환자에서 c-Met를 측정가능하게 억제시키기에 효과적인 양이다. 바람직하게는, 본 발명의 조성물은 이러한 조성물을 필요로 하는 환자에게 투여되도록 제형화된다. 가장 바람직하게는, 본 발

명의 조성물은 환자에게 경구 투여되도록 제형화된다.

[0037] 본원에서 사용되는 용어 "환자"는 동물, 바람직하게는 포유동물 및 가장 바람직하게는 사람을 의미한다.

[0038] 화학식 I의 화합물은 치료를 위해 유리된 형태로 존재하거나, 적합하다면 이의 약제학적으로 허용되는 유도체로서 존재할 수 있음을 이해할 것이다. 본 발명에 따라, 약제학적으로 허용되는 유도체에는 약제학적으로 허용되는 전구약물, 염, 에스테르, 이러한 에스테르의 염, 또는 필요로 하는 환자에 투여시 본원에 기술된 바와 같은 화학식 I의 화합물 또는 이의 대사물 또는 잔류물을 직접 또는 간접적으로 제공할 수 있는 임의의 다른 부가물 또는 유도체가 포함되지만, 이것으로 한정되지 않는다.

[0039] 본원에서 사용된 용어 "약제학적으로 허용되는 염"은 합당한 의학적 판단 범위 내에서 부적절한 독성, 자극, 알레르기 반응 등을 일으키지 않으면서 사람 및 하등 동물의 조직과 접촉하여 사용하기에 적합한 염을 의미한다.

[0040] 약제학적으로 허용되는 염은 당업계에 널리 공지되어 있다. 예를 들어, 베르게(S. M. Berge) 등은 본원에 참조로 인용되는 문헌[참조: *J. Pharmaceutical Sciences*, 66:1-19, 1977]에서 약제학적으로 허용되는 염을 상세하게 기술하고 있다. 화학식 I의 화합물의 약제학적으로 허용되는 염에는 적합한 무기 및 유기 산 및 염기로부터 유도된 것들이 포함된다. 약제학적으로 허용되는 무독성 산 부가염의 예에는 염화수소산, 브롬화수소산, 인산, 황산 및 과염소산과 같은 무기산에 의해, 또는 아세트산, 옥살산, 말레산, 타르타르산, 시트르산, 석신산 또는 말론산과 같은 유기산에 의해, 또는 이온 교환법과 같은 당업계에 사용되는 기타 방법의 사용에 의해 형성된 아미노 그룹의 염이 있다. 기타 약제학적으로 허용되는 염에는 아디페이트, 알기네이트, 아스코르베이트, 아스파르테이트, 벤젠설포네이트, 벤조에이트, 중황산염, 붕산염, 부티레이트, 캄포레이트, 캄포르설포네이트, 시트레이트, 사이클로펜탄프로피오네이트, 디글루코네이트, 도데실설페이트, 에탄설포네이트, 포르메이트, 푸마레이트, 글루코헵토네이트, 글리세로포스페이트, 글루코네이트, 헤미설페이트, 헵타노에이트, 헥사노에이트, 하이드로요오다이드, 2-하이드록시-에탄설포네이트, 락토비오네이트, 락테이트, 라우레이트, 라우릴 설페이트, 말레이트, 말레에이트, 말로네이트, 메탄설포네이트, 2-나프탈렌설포네이트, 니코티네이트, 질산염, 올레에이트, 옥살레이트, 팔미테이트, 파모에이트, 펙티네이트, 과황산염, 3-페닐프로피오네이트, 인산염, 피크레이트, 피발레이트, 프로피오네이트, 스테아레이트, 석시네이트, 황산염, 타르트레이트, 티오시아네이트, p-톨루엔설포네이트, 운데카노에이트, 발레레이트 등이 포함된다. 적합한 염기로부터 유도된 염에는 알칼리 금속염, 알칼리 토금속염, 암모늄염 및 $N^+(C_{1-4} \text{ 알킬})_4$ 염이 포함된다.

[0041] 상술된 바와 같이, 본 발명의 약제학적으로 허용되는 조성물은, 본원에 사용되는 바와 같이 바라는 특정 용량형에 적합한 임의의 모든 용매, 희석제 또는 기타 액체 비히클, 분산 또는 현탁 보조제, 표면 활성제, 등장화제, 증점제, 유화제, 보존제, 고체 결합제, 윤활제 등을 포함하는 약제학적으로 허용되는 담체, 보조제 또는 비히클을 추가로 포함한다. 각각의 내용이 본원에 참조로 인용된 문헌[참조: Remington: *The Science and Practice of Pharmacy*, 21st edition., 2005, ed. D.B. Troy, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 및 *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*, eds. J. Swarbrick and J. C. Boylan, 1988-1999, Marcel Dekker, New York]에는 약제학적으로 허용되는 조성물을 제형화하는 데 사용되는 각종 담체들 및 이의 제조를 위한 공지된 기술들이 기술되어 있다. 임의의 통상의 담체 매질이 임의의 바람직하지 않은 생물학적 효과를 산출하거나 또는 약제학적으로 허용되는 조성물의 임의의 기타 성분(들)과 유해한 방식으로 상호작용하는 것과 같이 화학식 I의 화합물과 혼화성이 될 수 없는 경우를 제외하고, 이의 용도는 본 발명의 범위 내에 포함되는 것으로 사료된다.

[0042] 약제학적으로 허용되는 담체로서 작용할 수 있는 물질의 몇몇 예에는 이온 교환제, 알루미늄, 알루미늄 스테아레이트, 레시틴, 사람 혈청 알부민과 같은 혈청 단백질, 인산염, 글리신, 소르브산 또는 소르브산칼륨과 같은 완충 물질, 식물성 포화 지방산들의 부분 글리세라이드 혼합물, 물, 염 또는 전해질, 예를 들면, 황산프로타민, 인산수소이나트륨, 인산수소칼륨, 염화나트륨, 아연염, 콜로이드성 실리카, 삼규산마그네슘, 폴리비닐 피롤리돈, 폴리아크릴레이트, 왁스, 폴리에틸렌-폴리옥시프로필렌-블록 중합체, 양모지, 락토오스, 글루코오스 및 수크로오스와 같은 당류; 옥수수 전분 및 감자 전분과 같은 전분; 나트륨 카복시메틸 셀룰로오스, 에틸 셀룰로오스 및 셀룰로오스 아세테이트와 같은 셀룰로오스 및 이의 유도체; 분말화 트라가칸트; 맥아; 젤라틴; 활석; 코코아 버터 및 좌제용 왁스와 같은 부형제; 땅콩유, 면실유, 홍화유, 참깨유, 올리브유, 옥수수유 및 대두유와 같은 오일; 프로필렌 글리콜 또는 폴리에틸렌 글리콜과 같은 글리콜; 에틸 올레에이트 및 에틸 라우레이트와 같은 에스테르; 한천; 수산화마그네슘 및 수산화알루미늄과 같은 완충제; 알긴산; 피로젠-유리 물(pyrogen-free water); 등장성 염수; 링거액; 에틸 알콜 및 인산염 완충 용액뿐만 아니라, 나트륨 라우릴 설페이트 및 스테아르산마그네슘과 같은 기타 무독성의 혼화성 윤활제가 포함되지만 이것으로 한정되지 않으며, 또한 착색제, 방출

제, 피복제, 감미제, 풍미제, 향신제, 보존제 및 산화방지제도 조제자의 판단에 따라 상기 조성물에 존재할 수 있다.

[0043] 본 발명의 조성물은 경구적으로, 비경구적으로, 흡입 스프레이에 의해, 국소적으로, 직장내, 비강내, 구강내, 질내에 또는 이식 저장기를 통해 투여될 수 있다. 본원에서 사용된 용어 "비경구"에는 피하, 정맥내, 근육내, 동맥내, 활액내, 흉골내, 척수강내, 안내, 간내, 병변내 및 두개강내 주사 또는 주입 기술이 포함된다. 바람직하게는, 상기 조성물은 경구적으로, 복강내에 또는 정맥내에 투여될 수 있다. 무균성 주사 형태의 본 발명의 조성물은 수성 또는 유성 현탁제일 수 있다. 이들 현탁제는 적합한 분산제 또는 습윤제 및 현탁제를 사용하여 당업계에 공지된 기술에 따라 제형화될 수 있다. 무균성 주사 제제는 또한 비경구적으로 허용될 수 있는 무독성 희석제 또는 용매 중의 무균성 주사 용액제 또는 현탁제, 예를 들어 1,3-부탄디올 중의 용액제일 수 있다. 사용될 수 있는 허용가능한 비히클 및 용매 중에는 물, 링거액 및 등장성 염화나트륨 용액이 있다. 또한, 무균성의 고정유(fixed oil)가 용매 또는 현탁 매질로서 통상적으로 사용된다.

[0044] 이러한 목적을 위해, 합성 모노글리세라이드 또는 디글리세라이드를 포함하는 임의의 무자극성(blade) 고정유를 사용할 수 있다. 올레산과 같은 지방산 및 이의 글리세라이드 유도체는, 올리브유 또는 피마자유, 특히 이들의 폴리옥시에틸화된 변형물과 같은 약제학적으로 허용되는 천연 오일과 같이, 주사제의 제조에 유용하다. 이들 오일 용액제 또는 현탁제는 카복시메틸 셀룰로오스와 같은 장쇄 알콜 희석제 또는 분산제; 또는 유화제 및 현탁제를 포함하는 약제학적으로 허용되는 용량형의 제형화에 통상적으로 사용되는 유사한 분산제를 또한 함유할 수 있다. 통상적으로 사용되는 기타 계면활성제, 예를 들어 트윈(Tween), 스팬(Span) 및 약제학적으로 허용되는 고체, 액체 또는 기타 용량형의 제조에 통상적으로 사용되는 기타 유화제 또는 생체이용율 증진제가 또한 제형화의 목적으로 사용될 수 있다.

[0045] 본 발명의 약제학적으로 허용되는 조성물은 캡슐제, 정제, 수성 현탁제 또는 용액제를 포함하지만 이것으로 제한되지 않는 경구적으로 허용되는 임의의 용량형으로 경구 투여될 수 있다. 경구용 정제의 경우, 통상적으로 사용되는 담체에는 락토오스 및 옥수수 전분이 포함된다. 스테아르산마그네슘과 같은 윤활제도 또한 전형적으로 첨가된다. 캡슐 형태의 경구 투여를 위해 유용한 희석제에는 락토오스 및 건조된 옥수수 전분이 포함된다. 경구용 수성 현탁제가 필요한 경우, 활성 성분은 유화제 및 현탁제와 배합된다. 필요에 따라, 특정 감미제, 풍미제 또는 착색제도 또한 첨가될 수 있다.

[0046] 대안적으로, 본 발명의 약제학적으로 허용되는 조성물은 직장 투여용 좌제 형태로 투여될 수 있다. 이것들은 실온에서는 고체이지만 직장 온도에서는 액체이어서 직장 내에서 용융됨으로써 약물을 방출시키는 적합한 비자극성 부형제와 약제를 혼합함으로써 제조될 수 있다. 이러한 물질에는 코코아 버터, 밀랍 및 폴리에틸렌 글리콜이 포함된다.

[0047] 본 발명의 약제학적으로 허용되는 조성물은 또한 특히 눈, 피부 또는 하부 장관의 질환을 포함하는 치료의 표적이 국소 적용에 의해 용이하게 접근될 수 있는 부위 또는 기관을 포함하는 경우에 국소 투여될 수도 있다. 이들 각각의 부위 또는 기관에 대해 적합한 국소 제형이 용이하게 제조된다.

[0048] 하부 장관을 위한 국소 적용은 직장용 좌제 제형(상기 참조) 또는 적합한 관장 제형에서 효과적일 수 있다. 국소 경피 패치가 또한 사용될 수 있다.

[0049] 국소 적용을 위해, 약제학적으로 허용되는 조성물은 하나 이상의 담체에 현탁 또는 용해된 활성 성분을 함유하는 적합한 연고로 제형화될 수 있다. 화학식 I의 화합물의 국소 투여를 위한 담체에는 미네랄 오일, 액체 바셀린, 백색 바셀린, 프로필렌 글리콜, 폴리옥시에틸렌, 폴리옥시프로필렌 화합물, 유화성 왁스 및 물이 포함되지만, 이것으로 한정되지 않는다. 대안적으로, 약제학적으로 허용되는 조성물은 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 담체에 현탁 또는 용해된 활성 성분들을 함유하는 적합한 로션 또는 크림으로 제형화될 수 있다. 적합한 담체에는 미네랄 오일, 소르비탄 모노스테아레이트, 폴리소르베이트 60, 세틸 에스테르 왁스, 세테아릴 알콜, 2-옥틸도데칸올, 벤질 알콜 및 물이 포함되지만, 이것으로 제한되지 않는다.

[0050] 안내 용도를 위해, 약제학적으로 허용되는 조성물은 벤질알코올 클로라이드와 같은 보존제가 함유되거나 함유되지 않은, pH 조절된 등장성 무균 염수 또는 기타 수성 용액 중의 미분 현탁제로서, 또는 바람직하게는 pH 조절된 등장성 무균 염수 또는 기타 수성 용액 중의 용액제로서 제형화될 수 있다. 대안적으로, 안내 용도를 위해, 약제학적으로 허용되는 조성물은 바셀린과 같은 연고로 제형화될 수 있다. 본 발명의 약제학적으로 허용되는 조성물은 또한 비강 에어로졸 또는 흡입에 의해 투여될 수 있다. 이러한 조성물은 약제학적 제형화 분야에 널리 공지된 기술에 따라 제조되고, 벤질 알콜 또는 기타 적합한 보존제, 생체이용율의 증진을 위한 흡수 촉진제,

플루오로카본 및/또는 기타 통상의 가용화제 또는 분산제를 사용하여 염수 중의 용액제로서 제조될 수 있다.

- [0051] 가장 바람직하게는, 본 발명의 약제학적으로 허용되는 조성물은 경구 투여용으로 제형화된다.
- [0052] 경구 투여용 액체 용량형에는 약제학적으로 허용되는 유화제, 미세유화제, 용액제, 현탁제, 시럽제 및 엘릭시르제가 포함되지만, 이것으로 한정되지 않는다. 활성 화합물에 더하여, 액체 용량형은 물 또는 기타 용매, 가용화제 및 유화제, 예를 들어 에틸 알콜, 이소프로필 알콜, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알콜, 벤질 벤조에이트, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸렌 글리콜, 디메틸포름아미드, 오일(특히, 면실유, 땅콩유, 옥수수유, 배아유, 올리브유, 피마자유 및 참깨유), 글리세롤, 테트라하이드로푸르푸릴 알콜, 폴리에틸렌 글리콜 및 소르비탄의 지방산 에스테르 및 이들의 혼합물과 같은 당업계에 통상적으로 사용되는 불활성 희석제를 함유할 수 있다. 불활성 희석제 이외에도, 경구 조성물은 습윤제, 유화제 및 현탁 제제, 감미제, 풍미제 및 향신제와 같은 보조제를 또한 포함할 수 있다.
- [0053] 주사 제제, 예를 들어 무균성의 주사용 수성 또는 유성 현탁제는 적합한 분산제 또는 습윤제 및 현탁제를 사용하여 공지된 기술에 따라 제형화될 수 있다. 무균성 주사 제제는 또한 비경구적으로 허용될 수 있는 무독성 희석제 또는 용매 중의 무균성 주사 용액제, 현탁제 또는 유화제, 예를 들면, 1,3-부탄디올 중의 용액제일 수 있다. 사용될 수 있는 허용가능한 비히클 및 용매 중에는 물, 링거액, U.S.P. 및 등장성 염화나트륨 용액이 있다. 또한, 무균성 고정유는 용매 또는 현탁 매질로서 통상적으로 사용된다. 이러한 목적을 위해, 합성 모노글리세라이드 또는 디글리세라이드를 포함하는 임의의 무자극성 고정유를 사용할 수 있다. 또한, 올레산과 같은 지방산이 주사제의 제조에 사용된다.
- [0054] 주사 제형은 예를 들어 세균-보유 필터를 통해 여과시킴으로써, 또는 사용 전에 무균수 또는 기타 무균성 주사 매질에 용해 또는 분산될 수 있는 무균성 고체 조성물 형태의 멸균제를 혼입시킴으로써 멸균될 수 있다.
- [0055] 화학식 I의 화합물의 효과를 지속시키기 위해, 피하 또는 근육내 주사로부터 상기 화합물의 흡수를 지연시키는 것이 종종 바람직하다. 이것은 불량한 수용도를 갖는 결정질 또는 비결정질 물질의 액체 현탁제를 사용함으로써 성취될 수 있다. 화학식 I의 화합물의 흡수 속도는 이에 따라 이의 용해 속도에 의존하고, 이것은 다시 결정 크기 및 결정 형태에 좌우될 수 있다. 대안적으로, 비경구적으로 투여된 화합물 형태의 지연된 흡수는, 화학식 I의 화합물을 오일 비히클 중에 용해 또는 현탁시킴으로써 성취될 수 있다. 주사 가능한 데포 형태는 폴리락타이드-폴리글리콜라이드와 같은 생분해성 중합체 중에 화학식 I의 화합물의 미세캡슐 매트릭스를 형성함으로써 제조된다. 중합체에 대한 화합물의 비율 및 사용되는 특정 중합체의 성질에 따라, 화합물의 방출 속도가 조절될 수 있다. 기타 생체분해성 중합체의 예에는 폴리(오르토에스테르) 및 폴리(안하이드라이드)가 포함된다. 주사 가능한 데포 제형은 또한 체조직과 혼화성이 될 수 있는 리포솜 또는 미세유화액 중에 화학식 I의 화합물을 포집시킴으로써 제조될 수 있다.
- [0056] 직장 또는 질 투여를 위한 조성물은, 주위 온도에서는 고체이지만 체온에서는 액체이어서 직장 또는 질강 안에서 용융되고 활성 화합물을 방출시키는, 코코아 버터, 폴리에틸렌 글리콜 또는 좌제용 왁스와 같은 적합한 비자극성 부형제 또는 담체를 화학식 I의 화합물과 혼합하여 제조할 수 있는 좌제가 바람직하다.
- [0057] 경구 투여용 고체 용량형은 캡슐제, 정제, 환제, 분말제 및 과립제가 포함된다. 이러한 고체 용량형에서 활성 화합물은 약제학적으로 허용되는 하나 이상의 불활성 부형제 또는 담체, 예를 들어 시트르산나트륨 또는 인산이 칼슘 및/또는 a) 전분, 락토오스, 수크로오스, 글루코오스, 만니톨 및 규산과 같은 충전제 또는 중량제, b) 예를 들어 카복시메틸셀룰로오스, 알기네이트, 젤라틴, 폴리비닐피롤리돈, 수크로오스 및 아카시아와 같은 결합제, c) 글리세롤과 같은 보습제, d) 한천, 탄산칼슘, 감자 또는 타피오카 전분, 알긴산, 특정 규산염 및 탄산나트륨과 같은 붕해제, e) 파라핀과 같은 용해 지연제, f) 4급 암모늄 화합물과 같은 흡수 촉진제, g) 예를 들어 세틸 알콜 및 글리세롤 모노스테아레이트와 같은 습윤제, h) 카올린 및 벤토나이트 점토와 같은 흡착제, 및 i) 탈크, 스테아르산칼슘, 스테아르산마그네슘, 고체 폴리에틸렌 글리콜, 나트륨 라우릴 설페이트 및 이들의 혼합물과 같은 윤활제와 혼합된다. 캡슐제, 정제 및 환제의 경우, 상기 용량형은 또한 완충제를 포함할 수 있다.
- [0058] 유사한 유형의 고체 조성물은 또한 락토오스 또는 유당 및 고분자량 폴리에틸렌 글리콜 등과 같은 부형제를 사용하는 연질 및 경질 충전된 젤라틴 캡슐제에서 충전제로서 사용될 수 있다. 정제, 당의정, 캡슐제, 환제 및 과립제의 고체 용량형은 피복물 및 쉘, 예를 들어 장용 피복물 및 약제 제형화 기술에 널리 공지되어 있는 기타 피복물로 제조될 수 있다. 이것들은 불투명화제를 임의로 함유할 수 있고, 또한 활성 물질(들)을 장관의 특정 부분에서 유일하게 또는 우세하게, 임의로 지연된 방식으로 방출시키는 조성물일 수 있다. 사용될 수 있는 매립 조성물의 예에는 중합체성 물질 및 왁스가 포함된다. 유사한 유형의 고체 조성물은 또한 락토오스 또는 유

당 및 고분자량 폴리에틸렌 글리콜 등과 같은 부형제를 사용한 연질 및 경질 충전 젤라틴 캡슐제에서 충전제로서 사용될 수 있다.

[0059] 활성 화합물은 또한 상기에서 언급된 하나 이상의 부형제를 갖는 미세캡슐화 형태로 존재할 수 있다. 정제, 당 의정, 캡슐제, 환제 및 과립제의 고체 용량형은, 피복물 및 셀, 예를 들어 장용 피복물, 방출 제어용 피복물 및 약제 제형화 기술에 널리 공지되어 있는 기타 피복물을 갖도록 제조될 수 있다. 이러한 고체 용량형에서, 활성 화합물을 하나 이상의 불활성 희석제, 예를 들어 수크로오스, 락토오스 또는 전분과 혼합할 수 있다. 이러한 용량형은, 통상의 실시에서와 같이, 불활성 희석제 이외의 부가 물질, 예를 들면, 타정 윤활제 및 기타의 타정 보조제, 예를 들어 스테아르산마그네슘 및 미세결정질 셀룰로오스를 또한 포함할 수 있다. 캡슐제, 정제 및 환제의 경우, 상기 용량형은 또한 완충제를 포함할 수 있다. 이들은 불투명화제를 임의로 포함할 수 있고, 활성 물질(들)을 장관의 특정 부분에서 유일하게 또는 우세하게, 임의로 지연된 방식으로 방출시키는 조성물일 수 있다. 사용될 수 있는 매립 조성물의 예로는 중합체성 물질 및 왁스가 포함된다.

[0060] 화학식 I의 화합물의 국소 또는 경피용 용량형에는 연고, 페이스트, 크림, 로션, 젤, 분말, 용액, 스프레이, 흡입제 또는 패치가 포함된다. 활성 성분은 멸균 조건하에 약제학적으로 허용되는 담체 및 필요한 임의의 보존제 또는 요구되는 완충제와 혼합된다. 안과용 제형, 점안액 및 점안액도 또한 본 발명의 범위 내에 포함된다. 부가적으로, 본 발명은 신체에 화학식 I의 화합물의 제어된 전달을 제공하는 부가의 이점을 갖는 경피 패치의 용도를 고려하고 있다. 이러한 용량형은 화학식 I의 화합물을 적합한 매질에 용해시키거나 분산시켜 제조된다. 피부를 통한 화학식 I의 화합물의 유동을 증가시키기 위해 흡수 증진제를 또한 사용할 수 있다. 속도는 속도 제어용 멤브레인을 제공함으로써 또는 화학식 I의 화합물을 중합체 매트릭스 또는 겔에 분산시킴으로써 제어할 수 있다.

[0061] 화학식 I의 화합물은 투여의 용이성 및 용량의 균일성을 위해 단위 용량형으로 제형화되는 것이 바람직하다. 본원에서 사용된 표현 "단위 용량형"은 치료될 환자에게 적절한 약제의 물리적으로 분리된 단위를 의미한다. 그러나, 화학식 I의 화합물 및 화학식 I의 화합물을 포함하는 조성물의 1일 총 사용량은 합당한 의학적 판단 범위 내에서 주치의가 결정할 것으로 이해된다. 임의의 특정 환자 또는 유기체에 대한 특정 유효 용량은 치료될 장애 및 상기 장애의 중증도; 사용되는 특정 화합물의 활성; 사용되는 특정 조성물; 환자의 연령, 체중, 전반적 건강 상태, 성별 및 식이; 사용되는 특정 화합물의 투여 시간, 투여 경로 및 방출 속도; 치료 기간; 사용되는 특정 화합물과 병용하여 또는 동시에 사용되는 약물 및 의학 분야에 널리 공지되어 있는 인자들을 비롯한 각종 인자들에 따라 달라질 것이다.

[0062] 단일 용량형의 조성물을 제조하기 위해 담체 물질과 배합될 수 있는 화학식 I의 화합물의 양은 치료 대상 및 특정한 투여 방식에 따라 달라질 것이다. 바람직하게는, 상기 조성물은 0.01 내지 100mg/kg(체중)/일의 용량의 억제제가 상기 조성물을 수용하는 환자에게 투여될 수 있도록 제형화되어야 한다. 하나의 예에서, 조성물은 화학식 I의 화합물의 용량이 3 내지 30mg/kg(체중)/일이 될 수 있도록 제형화된다. 또다른 예에서, 조성물은 화학식 I의 화합물의 용량이 5 내지 60mg/kg(체중)/일이 될 수 있도록 제형화된다.

[0063] 치료 또는 예방하고자 하는 특정 상태 또는 질환에 따라, 상기 상태의 치료 또는 예방을 위해 통상적으로 투여되는 부가의 치료제도 본 발명의 조성물에 존재할 수 있다. 본원에 사용된 바와 같이, 특정 질환 또는 상태의 치료 또는 예방을 위해 통상적으로 투여되는 부가의 치료제는 "치료되는 질환 또는 상태에 적합"한 것으로 공지되어 있다. 부가의 치료제의 예는 아래에 제공된다.

[0064] 본 발명의 조성물에 존재하는 부가의 치료제의 양은 상기 치료제를 유일한 활성제로서 포함하는 조성물에서 통상적으로 투여되는 양보다 크지 않을 것이다. 바람직하게는, 본원에 기재된 조성물 중의 부가의 치료제의 양은, 상기 약제를 유일한 치료학적 활성제로서 포함하는 조성물에 통상적으로 존재하는 양의 약 50% 내지 100% 범위일 것이다.

[0065] *화학식 I의 화합물 및 화학식 I의 화합물을 포함하는 조성물의 용도*

[0066] 하나의 양태에 따라서, 본 발명은 생물학적 샘플을 화학식 I의 화합물 또는 상기 화합물을 포함하는 조성물과 접촉시키는 단계를 포함하는, 생물학적 샘플에서 c-Met 단백질 키나제의 활성을 억제하는 방법에 관한 것이다. 본원에서 사용된 용어 "생물학적 샘플"은 살아있는 유기체 외부의 샘플을 의미하고, 세포 배양물 또는 이의 추출물; 포유동물로부터 수득되는 생검 재료 또는 이의 추출물; 혈액, 타액, 뇨, 변, 정액, 누액 또는 기타 체액 또는 이의 추출물을 포함하지만, 이것으로 한정되지 않는다. 생물학적 샘플에서의 키나제 활성의 억제는 당업

자에게 공지되어 있는 각종 목적에 유용하다. 이러한 목적의 예에는 생물학적 표본 저장 및 생물학적 검정이 포함되지만, 이것으로 한정되지 않는다. 하나의 양태에서, 생물학적 샘플에서 키나제의 활성을 억제하는 방법은 비-치료적 방법으로 한정된다.

- [0067] 용어 "c-Met"는 "c-MET", "cMet", "MET", "Met" 또는 당업자에게 공지된 기타 표기와 동의어이다.
- [0068] 또다른 양태에 있어서, 본 발명은 화학식 I의 화합물 또는 상기 화합물을 포함하는 조성물을 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 환자에서 c-Met 키나제의 활성을 억제하는 방법에 관한 것이다.
- [0069] 본원에서 사용된 용어 "c-Met-매개된 질환" 또는 "c-Met-매개된 상태"는 c-Met가 작용하는 것으로 공지된 임의의 질환 상태 또는 기타의 유해한 상태를 의미한다. 용어 "c-Met-매개된 질환" 또는 "c-Met-매개된 상태"는 또한 c-Met 억제제로 치료함으로써 완화되는 질환 또는 상태를 의미한다. 이러한 상태에는 신장암, 위암, 결장암, 뇌암, 유방암, 전립선암, 간암, 췌장암 또는 폐암, 교아종, 죽상동맥경화증 또는 폐 섬유증이 포함되지만, 이것으로 한정되지 않는다.
- [0070] 하나의 양상에서, 본 발명은 화학식 I의 화합물 또는 화학식 I의 화합물을 포함하는 조성물의 치료학적 유효량을 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 환자에서 증식성 장애를 치료하는 방법에 관한 것이다.
- [0071] 하나의 양태에 따르면, 증식성 장애는 예를 들어 신장암, 위암, 결장암, 뇌암, 유방암, 간암, 전립선암 및 폐암과 같은 암 또는 교아종이다.
- [0072] 또다른 양태에서, 본 발명은 간세포 암종의 치료 또는 간세포 암종의 중증도의 완화를 필요로 하는 환자에게 화학식 I의 화합물 또는 이의 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서 간세포 암종을 치료하거나 또는 간세포 암종의 중증도를 완화시키는 방법에 관한 것이다.
- [0073] 또다른 양태에서, 증식성 장애는 진성 적혈구증가증, 본태성 혈소판증가증, 만성 특발성 골수섬유증, 골수섬유증이 동반된 골수화생증, 만성 골수성 백혈병(CML: chronic myeloid leukemia), 만성 골수단구성 백혈병, 만성 호산구성 백혈병, 과호산구 증후군, 전신성 비만 세포병, 비정형 CML 또는 소아 골수단구성 백혈병이다.
- [0074] 또다른 양태에서, 증식성 장애는 죽상동맥경화증 또는 폐 섬유증이다.
- [0075] 본 발명의 또다른 양상은 종양 전이의 억제를 필요로 하는 환자에게 화학식 I의 화합물 또는 이의 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 환자에서 종양 전이를 억제하는 방법에 관한 것이다.
- [0076] 치료하고자 하는 특정 상태 또는 질환에 따라, 상기 상태를 치료하기 위해 통상적으로 투여되는 부가의 치료제가 또한 본 발명의 조성물에 존재할 수 있다. 본원에 사용된 바와 같이, 특정 질환 또는 상태의 치료를 위해 통상적으로 투여되는 부가의 치료제는 "치료되는 질환 또는 상태에 적합"한 것으로 공지되어 있다.
- [0077] 하나의 양태에서, 증식성 질환 및 암을 치료하기 위해 화학요법제 또는 기타 항증식제를 화학식 I의 화합물과 병용시킬 수 있다. 공지된 화학요법제의 예에는, 예를 들어 사이클로포스파미드, 로무스틴, 부설판 프로카바진, 이포스파미드, 알트레타민, 멜팔란, 에스트라무스틴 포스페이트, 헥사메틸멜라민, 메클로레타민, 티오테파, 스트렙토조신, 클로람부실, 테모졸로마이드, 다카바진, 세무스틴 또는 카무스틴과 같은 알킬화제; 예를 들어 시스플라틴, 카보플라티늄, 옥살리플라틴, ZD-0473(AnorMED), 스피로플라티늄, 로바플라틴(Aeterna), 카복시프탈라토플라티늄, 사트라플라틴(Johnson Matthey), 테트라플라틴 BBR-3464(Hoffmann-La Roche), 오르미플라틴, SM-11355(Sumitomo), 이프로플라틴 또는 AP-5280(Access)과 같은 백금 약제; 예를 들어 아자시티딘, 토무텍스, 겐시타빈, 트리메트렉세이트, 카페시타빈, 데옥시코포르마이신, 5-플루오로우라실, 플루다라빈, 플록수리딘, 펜토스타틴, 2-클로로데옥시아데노신, 알티트렉세드, 6-머캅토프린, 하이드록시우레아, 6-티오구아닌, 데시타빈(SuperGen), 시타라빈, 클로파라빈(Bioenvision), 2-플루오로데옥시 시티딘, 이로폴벤(MGI Pharma), 메토티렉세이트, DMDC(Hoffmann-La Roche), 이다트렉세이트 또는 에티닐시티딘(Taiho)과 같은 항대사물질; 예를 들어 암사크린, 루비테칸(SuperGen), 에피루비신, 엑사테칸 메실레이트(Daiichi), 에토포시드, 퀴나메드(ChemGenex), 테니포사이드, 미톡산트론, 지마테칸(Sigma-Tau), 이리노테칸(CPT-11), 디플로모테칸(Beaufour-Ipsen), 7-에틸-10-하이드록시-캄토테신, TAS-103(Taiho), 토포테칸, 엘사미트루신(Spectrum), 텍스라족사네트(TopoTarget), J-107088(Merck & Co), 픽산트론(Novuspharma), BNP-1350(BioNumerik), 레벡카마이신 동족체(Exelixis), CKD-602(Chong Kun Dang), BBR-3576(Novuspharma) 또는 KW-2170(Kyowa Hakko)과 같은 토포이소머라제 억제제; 예를 들어 닥티노마이신(악티노마이신 D), 아모나피드, 독소루비신(아드리아마이신), 아조나피드, 데옥시루비신, 안트라피라졸, 발루비신, 옥산트라졸, 다우노루비신(다우노마이신), 로속산트론, 에피루비신, 블레오마이신, 황산염(블레녹산), 테라루비신, 블레오마이신산, 이다루비신, 블레오마이신 A, 루비다존, 블레오마

이신 B, 플리카마이신, 미토마이신 C, 포르피로마이신, MEN-10755(Menarini), 시아노모르폴리노독소루비신, GPX-100(Gem Pharmaceuticals) 또는 미톡산트론(노반트론)과 같은 항종양 항생제; 예를 들어 파클리탁셀, SB 408075(GlaxoSmithKline), 도세탁셀, E7010(Abbott), 콜키친, PG-TXL(Cell Therapeutics), 빈블라스틴, IDN 5109(Bayer), 빈크리스틴 A, 105972(Abbott), 비노렐빈, A 204197(Abbott), 빈데신, LU 223651(BASF), 돌라스타틴 10(NCI), D 24851(ASTAMedica), 리족신(Fujisawa), ER-86526(Eisai), 미보볼린(Warner-Lambert), 콤브레타스타틴 A4(BMS), 세마도틴(BASF), 이소호모할리콘드린-B(PharmaMar), RPR 109881A(Aventis), ZD 6126(AstraZeneca), TXD 258(Aventis), PEG-파클리탁셀(Enzon), 에포틸론 B(Novartis), AZ10992(Asahi), T 900607(Tularik), IDN-5109(Indena), T 138067(Tularik), AVL(B(Prescient NeuroPharma), 크립토피신 52(Eli Lilly), 아자에포틸론 B(BMS), 빈플루닌(Fabre), BNP-7787(BioNumerik), 아우리스타틴 PE(Teikoku Hormone), CA-4 프로드릭(OXiGENE), BMS 247550(BMS), 돌라스타틴-10(NIH), BMS 184476(BMS), CA-4(OXiGENE), BMS 188797(BMS) 또는 탁소프렉신(Protarga)과 같은 항유사분열제; 예를 들어 아미노글루테티미드, 엑세메스탄, 레트로졸, 아타메스탄(BioMedicines), 아나스트라졸, YM-511(Yamanouchi) 또는 포르메스탄과 같은 아로마타제 억제제; 예를 들어 페메트렉세드(Eli Lilly), 놀라트렉세드(Eximias), ZD-9331(BTG) 또는 CoFactor™(BioKeys)와 같은 티미딜레이트 신타제 억제제; 예를 들어 트라벡테딘(PharmaMar), 마포스파미드(Baxter International), 글루포스파미드(Baxter International), 아파지쿠온(Spectrum Pharmaceuticals), 알부민 + ³²P(Isotope Solutions), O6 벤질 구아닌(Paligent), 티맥타신(NewBiotics) 또는 에도트레오티드(Novartis)와 같은 DNA 길항제; 예를 들어 아르글라빈(NuOncology Labs), 티파파르니브(Johnson & Johnson), 로나파르니브(Schering-Plough), 페틸릴 알콜(DOR BioPharma) 또는 BAY-43-9006(Bayer)과 같은 파르네실트랜스퍼라제 억제제; 예를 들어 CBT-1(CBA Pharma), 조수퀴다르 트리하이드로콜로라이드(Eli Lilly), 타리퀴다르(Xenova), 비리코다르 디시트레이트(Vertex) 또는 MS-209(Schering AG)와 같은 펌프 억제제; 예를 들어 타세디날린(Pfizer), 피발로일옥시메틸 부티레이트(Titan), SAHA(Aton Pharma), 뎀시펩타이드(Fujisawa) 또는 MS-275(Schering AG)와 같은 히스톤 아세틸트랜스퍼라제 억제제; 예를 들어 네오바스타트(Aeterna Laboratories), CMT-3(CollaGenex), 마리마스타트(British Biotech) 또는 BMS-275291(Celltech)과 같은 메탈로프로테이나제 억제제; 예를 들어 갈륨 말톨레이트(Titan), 테자시타빈(Aventis), 트리아핀(Vion) 또는 디독스(Molecules for Health)와 같은 리보뉴클레오사이드 리덕타제 억제제; 예를 들어 비롤리진(Lorus Therapeutics), 레비미드(Celgene), CDC-394(Celgene), 에타네르셉트(Immunex Corp.), 인플릭시마브(Centocor, Inc.) 또는 아달리무마브(Abbott Laboratories)와 같은 TNF 알파 작용제/길항제; 예를 들어 아트라센탄(Abbott), YM-598(Yamanouchi) 또는 ZD-4054(AstraZeneca)와 같은 엔도텔린 A 수용체 길항제; 예를 들어 펜레티니드(Johnson & Johnson), 알리트레티노인(Ligand) 또는 LGD-1550(Ligand)과 같은 레티노산 수용체 작용제; 예를 들어 인터페론 텍소솜 테라피(Anosys), 온코파지(Antigenics), 펜트릭스(Australian Cancer Technology), GMK(Progenics), ISF-154(Tragen), 선암종 백신(Biomira), 암 백신(Intercell), CTP-37(AVI BioPharma), 노렐린(Biostar), IRX-2(Immuno-Rx), BLP-25(Biomira), PEP-005(Peplin Biotech), MGX(Progenics), 신크로박스 백신(CTL Immuno), 베타-알레틴(Dovetail), 흑색종 백신(CTL Immuno), CLL 테라피(Vasogen) 또는 p21 RAS 백신(Gem Vax)과 같은 면역 조절제; 예를 들어 에스트로젠, 프레드니손, 결합 에스트로젠, 메틸프레드니솔론, 에티닐 에스트라디올, 프레드니솔론, 클로르트리아니센, 아미노글루테티미드, 이데네스트롤, 루프롤리드, 하이드록시프로게스테론 카프로에이트, 고세렐린, 메드록시프로게스테론, 루포렐린, 테스토스테론, 비칼루타미드, 테스토스테론 프로피오네이트, 플루옥시메스테론, 플루타미드, 메틸테스토스테론, 옥트레오티드, 디에틸스틸베스트롤, 닐루타미드, 메게스트롤, 미토탄, 타목시펜, P-04(Novogen), 토레모핀, 2-메톡시에스트라디올(EntreMed), 텍사메타손 또는 아르족시펜(Eli Lilly)과 같은 호르몬제 및 항호르몬제; 예를 들어 탈라포르핀(Light Sciences), Pd-박테리오페오포르비드(Yeda), 테랄루스(Theratechnologies), 루테탐 텍사피린(Pharmacyclics), 모텍사핀 가돌리늄(Pharmacyclics) 또는 하이페리신과 같은 광역학적 약제; 및 예를 들어 이마티니브(Novartis), 카할라이드 F(PharmaMar), 레플루노미드(Sugen/Pharmacia), CEP-701(Cephalon), ZD1839(AstraZeneca), CEP-751(Cephalon), 에를로티니브(Oncogene Science), MLN518(Millennium), 카네르티니브(Pfizer), PKC412(Novartis), 스쿠알라민(Genaera), 페녹소디올, SU5416(Pharmacia), 트라스투주마브(Genentech), SU6668(Pharmacia), C225(ImClone), ZD4190(AstraZeneca), rhu-Mab(Genentech), ZD6474(AstraZeneca), MDX-H210(Medarex), 바탈라니브(Novartis), 2C4(Genentech), PKI166(Novartis), MDX-447(Medarex), GW2016(GlaxoSmithKline), ABX-EGF(Abgenix), EKB-509(Wyeth), IMC-1C11(ImClone) 또는 EKB-569(Wyeth)와 같은 티로신 키나제 억제제가 포함되지만, 이것으로 한정되지 않는다.

[0078]

추가적인 양태에서, 부가적인 치료제는 시토크롬 P₄₅₀ 3A4(CYP3A4)에 의해 90%를 초과하여 대사되지 않는다.

- [0079] 이들 부가의 약제들은 다중 용량 용법의 일부로서 화학식 I의 화합물-함유 조성물과 별도로 투여될 수 있다. 대안적으로, 이들 약제들은 단일 조성물 중에 화학식 I의 화합물과 혼합되어 있는 단일 용량형의 일부일 수 있다. 다중 용량 용법의 일부로서 투여되는 경우, 두 활성제는 동시에 투여되거나, 순차적으로 투여되거나, 서로 일정한 시간 간격, 통상적으로는 서로 5시간 이내의 간격을 두고 제공될 수 있다.
- [0080] 단일 용량형을 제공하기 위해 담체 물질과 배합될 수 있는 화학식 I의 화합물 및 부가의 치료제(상기된 바와 같은 부가의 치료제를 포함하는 조성물에서)의 둘 다의 양은 치료 대상 및 특정 투여 방식에 따라 달라질 것이다. 바람직하게는, 본 발명의 조성물은 0.01 내지 100mg/kg(체중)/일의 용량의 화학식 I의 화합물이 투여될 수 있도록 제형화되어야 한다. 하나의 예에서, 조성물은 화학식 I의 화합물의 용량이 3 내지 30mg/kg(체중)/일이 되도록 제형화된다. 또다른 예에서, 조성물은 화학식 I의 화합물의 용량이 5 내지 60mg/kg(체중)/일이 될 수 있도록 제형화된다.
- [0081] 부가의 치료제를 포함하는 조성물에서, 상기 부가의 치료제와 화학식 I의 화합물은 상승적으로 작용할 수 있다. 따라서, 이러한 조성물 중의 부가의 치료제의 양은 상기 치료제를 단독으로 사용하는 단일요법에서 요구되는 양보다 적을 것이다. 이러한 조성물에서 0.01 내지 100mg/kg(체중)/일의 용량의 부가의 치료제가 투여될 수 있다.
- [0082] 본 발명의 조성물에 존재하는 부가의 치료제의 양은 상기 치료제를 유일한 활성제로서 포함하는 조성물에서 통상적으로 투여되는 양보다 크지 않을 것이다. 바람직하게는, 본원에 기재된 조성물 중의 부가의 치료제의 양은, 상기 약제를 유일한 치료학적 활성제로서 포함하는 조성물에 통상적으로 존재하는 양의 약 50% 내지 100% 범위일 것이다.
- [0083] 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적 조성물은 또한 보철물, 인공 판막, 혈관 그래프트, 스텐트 및 카테터와 같은 이식형 의료 장치를 피복하기 위한 조성물 내에 혼입될 수 있다. 혈관 스텐트는, 예를 들어 재협착(손상 후 혈관벽이 다시 좁아지는 것)을 극복하는 데 사용되고 있다. 그러나, 스텐트 또는 기타 이식형 장치를 사용하는 환자는 응괴 형성 또는 혈소판 활성화의 위험을 갖고 있다. 이러한 원치않는 효과는 상기 장치를 키나제 억제제를 포함한 약제학적으로 허용되는 조성물로 미리 피복시킴으로써 예방 또는 완화시킬 수 있다. 적합한 피복물 및 피복된 이식형 장치의 일반적 제조 방법은 미국 특허 제6,099,562호, 제5,886,026호 및 제5,304,121호에 기술되어 있다. 상기 피복물은 전형적으로 하이드로겔 중합체, 폴리메틸디실록산, 폴리카프로락톤, 폴리에틸렌 글리콜, 폴리락트산, 에틸렌 비닐 아세테이트 및 이들의 혼합물과 같은 생체적합성 중합체성 물질이다. 상기 피복물은 임의로 조성물에서 제어된 방출 특성을 부여하기 위해 플루오로실리콘, 폴리스카라이드, 폴리에틸렌 글리콜, 인지질 또는 이들의 조합물의 적합한 탑코트(topcoat)로 추가로 도포될 수 있다. 화학식 I의 화합물로 피복된 이식형 장치는 본 발명의 또다른 양태이다.
- [0084] *화학식 I의 화합물의 제조*
- [0085] 본원에 기술된 본 발명을 더욱 충분히 이해할 수 있도록 하기 위해, 하기 실시예가 제시된다. 이들 실시예들은 예시를 위한 것으로 어떤 방식으로든 본 발명을 제한하는 것으로 해석되어서는 안된다는 것을 이해해야 한다.
- [0086] 본원에서 사용된 기타 약어, 기호 및 규약은 현재의 과학 문헌에서 사용되는 것들과 일치한다. 예를 들어 이의 전문이 본원에 참조로 인용된 문헌[참조: Janet S. Dodd ed., *The ACS Style Guide: A Manual for Authors and Editors*, 2nd Ed., Washington, D.C.: American Chemical Society, 1997]를 참조할 수 있다. 본원에서 사용된 용어 및 약어는 다음과 같은 정의를 갖는다:
- [0087] 염수: 물 중의 NaCl 포화 용액
- [0088] BSA: 소 혈청 알부민
- [0089] DMSO: 디메틸설폭사이드
- [0090] ESMS: 전기분무(electrospray) 질량 분석법
- [0091] EtOAc: 에틸 아세테이트
- [0092] EtOH: 에틸 알콜
- [0093] HPLC: 고성능 액체 크로마토그래피

[0094] LCMS: 액체 크로마토그래피-질량 분석법

[0095] Me: 메틸

[0096] MeOH: 메탄올

[0097] MTBE: 메틸 t-부틸에테르

[0098] Ph: 페닐

[0099] RT: 실온

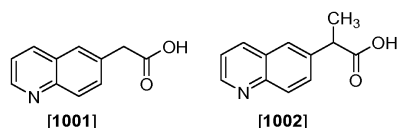
[0100] TCA: 트리클로로아세트산

[0101] THF: 테트라하이드로푸란

[0102] TFA: 트리플루오로아세트산

[0103] 실시예 1. 화학식 II의 화합물

[0104] 화합물 1001 및 1002를 중국 베이징 소재의 Okeanos Tech로부터 입수하였다(각각, 카탈로그 번호 OK-J-05024 및 OK-J-05025이다).



[0105]

[0106] 화합물 1004를 반응식 1에 나타난 바와 같이 제조하였다. 따라서, 단계 1-i에 나타난 바와 같이, 0℃에서 DMSO(260ml) 중의 NaH(무기질 오일 중의 60%, 8.47g, 212mmol)의 현탁액에 디에틸 2-메틸말로네이트(화합물 1005, 29.5g, 169.4mmol)를 천천히 첨가하였다. 혼합물을 0℃에서 2시간 동안 교반시키고, 3,4,5-트리플루오로니트로벤젠(25.0g, 141.2mmol)을 첨가하였다. 형성된 혼합물을 실온으로 가온시키고, 12시간 동안 교반시켰다. 반응 혼합물을 포화 수성 NH₄Cl 용액에 붓고, 침전물을 여과에 의해 수집하였다. 물로 3번 세척한 후, 형성된 디에틸 2-(2,6-디플루오로-4-니트로페닐)-2-메틸말로네이트(화합물 1006 [R = CH₃], 44.5g, 95% 수율)를 감압 하에서 건조시키고, 다음 반응에 그대로 사용하였다.

[0107] 단계 1-ii에 나타난 바와 같이, MeOH 중의 디에틸 2-(2,6-디플루오로-4-니트로페닐)-2-메틸말로네이트(44.5g, 135mmol)의 용액에 질소 대기 하에서 Pd/C(10%, 4.0g)를 첨가하였다. 대기를 H₂로 대체시키고, 혼합물을 50 psi에서 3일 동안 수소화시켰다. 대기를 질소로 대체시키고, 혼합물을 규조토를 통해 여과시키고, 휘발성 물질을 감압 하에서 제거하였다. 형성된 디에틸 2-(4-아미노-2,6-디플루오로페닐)-2-메틸말로네이트(화합물 1007 [R = CH₃], 40.5g, 99% 수율)를 감압 하에서 건조시키고, 다음 반응에서 그대로 사용하였다.

[0108] 단계 1-iii에 나타난 바와 같이, 메탄올(200ml) 중의 디에틸 2-(4-아미노-2,6-디플루오로페닐)-2-메틸말로네이트(40.0g, 132.8mmol)의 용액에 6M NaOH(110.7ml, 664.0mmol)를 첨가하였다. 상기 혼합물을 100℃에서 4시간 동안 가열시키고, 0℃로 냉각시킨 후, pH가 3이 될 때까지 진한 HCl로 산성화시켰다. 혼합물을 실온으로 가온시키고, 3시간 동안 교반시켰다. 형성된 침전물을 여과에 의해 수집하고, 물로 세척하고, 고진공 하에 50℃에서 20시간 동안 건조시켜 2-(4-아미노-2,6-디플루오로페닐)프로판산을 수득하였다(화합물 1008 [R = CH₃], 22g, 84% 수율):

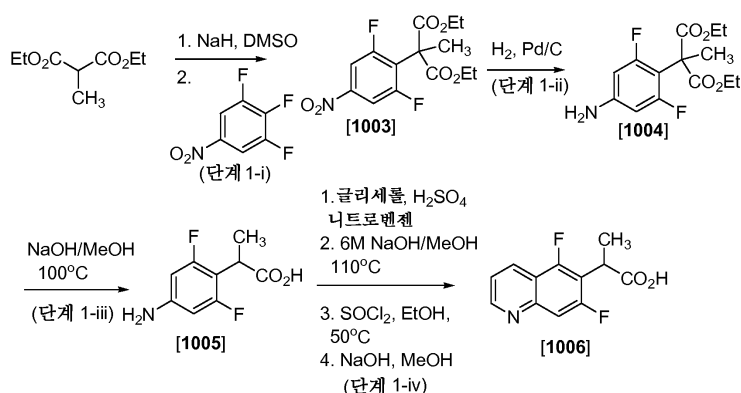
¹H NMR (300.0 MHz, DMSO) δ 12.25 (brs, 1H),
6.16 (d, J = 10.8 Hz, 2H), 5.58 (s, 2H), 3.74 (q, J = 7.2 Hz, 1H) 및 1.28 (d, J = 7.2 Hz, 3H)
ppm.

[0109]

[0110] 단계 1-iv에 나타난 바와 같이, 2-(4-아미노-2,6-디플루오로페닐)프로판산(19.0g, 94.45mmol), 글리세롤(35.83g, 28.41ml, 389.1mmol), 니트로벤젠 (7.209g, 6.028ml, 58.56mmol) 및 진한 황산(30.57g, 16.61ml, 311.7mmol)의 혼합물을 온건하게 가열시켰다. 초기의 격렬한 반응의 중단 후, 혼합물을 170℃로 16시간 동안 가열시켰다. 냉각시킨 후, 휘발성 물질을 감압 하에서 제거하고, MeOH (150ml)에 용해된 잔류물 및 150ml의 6N

NaOH를 첨가하고, 혼합물을 110℃에서 3시간 동안 가열시켰다. 실온으로 냉각시킨 후, 진한 HCl을 사용하여 혼합물을 pH 3으로 산성화시켰다. 형성된 짙은색 침전물을 여과에 의해 수집하고 물로 세척하였다. 침전물을 에탄올에 수집하고, 티오닐 클로라이드(11.24g, 6.891ml, 94.45mmol)를 조심스럽게 적가하였다. 첨가의 완료 후, 혼합물을 50℃에서 20시간 동안 가열시켰다. 실온으로 냉각시킨 후, 휘발성 물질을 감압 하에서 제거하고, 잔류물을 포화 NaHCO₃ 및 DCM의 혼합물에 용해시켰다. 층들을 분리시키고, 수성 층을 DCM으로 추출시켰다. 합한 유기 물질을 MgSO₄ 상에서 건조시키고, 감압 하에 부피를 줄이고, 중간 압력의 실리카겔 크로마토그래피(0% EtOAc/헥산 내지 30%; 36분)로 처리하여 메틸 2-(5,7-디플루오로퀴놀린-6-일)프로파노에이트(14.0g, 두 단계에서 수율 56%)를 수득하였다. 메틸 에스테르(5.0g)를 메탄올(30ml)에 흡수시키고, 형성된 용액을 NaOH(6 M의 16.58ml, 99.50mmol)로 처리하고, 실온에서 20시간 동안 교반시켜 비누화하였다. 진한 HCl로 pH 2로 조심스럽게 산성화시킨 후, 형성된 침전물을 여과에 의해 수집하고, 고진공 하에서 건조시켜 2-(5,7-디플루오로퀴놀린-6-일)프로판산을 수득하고, 이것을 후속 반응에서 그대로 사용하였다. 디에틸 2-메틸말로네이트를 디에틸 말로네이트로 대체하여 화합물 1004의 제조에 사용된 바와 동일한 절차를 사용함으로써 화합물 1003을 제조할 수 있다.

[0111] 반응식 1

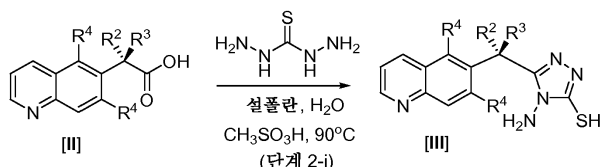


[0112]

[0113] 실시예 2. 화학식 III의 화합물의 제조

[0114] R² 및 R³이 수소 또는 메틸인 화학식 III의 화합물은 반응식 2에 나타난 바와 같이 제조할 수 있다. 따라서, 반응식 2의 단계 2-i에 나타난 바와 같이, 화학식 II의 적절하게 치환된 퀴놀린 아세트산(248.5mmol, 1.0당량) 및 1,3-디아미노티오우레아(273.4mmol, 1.1당량)를 테트라메틸렌 설폰(설폰란, 38ml) 및 물(57ml)의 혼합물에 현탁시킨다. 메탄 설폰산(546.7mmol, 2.2당량)을 상기 혼합물에 첨가하여 모든 고체를 용해시킨다. 반응 혼합물을 90℃로 천천히 가온시키고, 반응물을 90℃에서 40시간 동안 가열시킨다. 반응 혼합물을 얼음 욕에서 냉각시키고, 물(75ml)을 첨가한 후, pH가 8이 될 때까지 포화 중탄산나트륨(500ml)을 조심스럽게 첨가한다. 형성된 침전물을 진공 여과에 의해 수집하고, 물, 포화 중탄산나트륨, 물 및 메틸 t-부틸 에테르로 각각 세척한다. 생성물을 55℃의 진공 오븐에서 건조시켜 화학식 III의 화합물을 수득한다.

[0115] 반응식 2



[0116]

[0117] 실시예 3. 5-(디플루오로(퀴놀린-6-일)메틸)-4-(이미노트리페닐포스포라노)-4H-1,2,4-트리아졸-3-티올(화합물 1011)의 제조

[0118] R² 및 R³ 각각이 플루오로이고, R⁴가 수소인 화학식 III의 화합물은 반응식 3에 나타난 바에 따라 제조할 수 있다.

다. 따라서, 단계 3-i에 나타낸 바와 같이, DMSO(150ml) 중의 6-요오도퀴놀린(10.0g, 39.21mmol, 중국의 Hangzhou Trylead Chemical Technology Co., Ltd로부터 구매) 및 구리(나노분말)(9.964g, 156.8mmol)의 혼합물에 에틸 2-브로모-2,2-디플루오로-아세테이트(10.35g, 50.97mmol)를 첨가하였다. 상기 혼합물을 60℃에서 6시간 동안 가열시키고, 그 동안에 혼합물은 적색 구리 현탁액에서 거의 균질한 암적색 용액으로 변화하였다. 실온으로 냉각시킨 후, 혼합물을 에틸 아세테이트(300ml) 및 수성 포화 NH₄Cl 용액(450ml)으로 희석시켰다. 30분 동안 교반시킨 후, 유기 층을 분리시키고, 물로 세척하고, 염수로 세척한 후 황산마그네슘에서 건조시켰다. 휘발성 물질을 감압 하에서 제거하여 조 생성물을 적색 액체로서 수득하였다. 중간 압력의 실리카겔 크로마토그래피(DCM/에틸 아세테이트: 100% 내지 30%, 25분)에 의해 정제하여 에틸 2,2-디플루오로-2-(퀴놀린-6-일)아세테이트를 수득하였다(화합물 1009, 51% 수율):

¹H

NMR (300.0 MHz, CDCl₃) δ 9.04 - 9.03 (m, 1H), 8.29 - 8.21 (m, 2H), 8.15 (s, 1H), 7.93 (dd, J = 2.1, 8.9 Hz, 1H), 7.52 (q, J = 4.2 Hz, 1H), 4.35 (q, J = 7.1 Hz, 2H) 및 1.34 (t, J = 7.1 Hz, 3H) ppm.

[0119]

[0120]

반응식 3의 단계 3-ii에 나타낸 바와 같이, 화합물 1009(10.0g, 39.80mmol)를 에탄올(100ml)에 용해시키고, 히드라진(7.65g, 7.50ml, 239mmol)을 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에서 10분 동안 교반시켰다. 혼합물을 2N HCl 용액에 부은 후, 수성 혼합물을 DCM으로 두번 세척하고, 질소 가스를 상기 용액에 버블링시키면서 pH를 8로 조절하였다. 형성된 수용액을 DCM(10회)로 철저히 추출시키고, 합한 유기물질을 MgSO₄에서 건조시키고, 여과시킨 후, 휘발성 물질을 감압 하에서 제거하여 황색 고체로서 2,2-디플루오로-2-(퀴놀린-6-일)아세트히드라지드(화합물 1010, 91% 수율)를 수득하였다. 상기 화합물을 추가의 정제없이 직접적으로 사용하였다.

[0121]

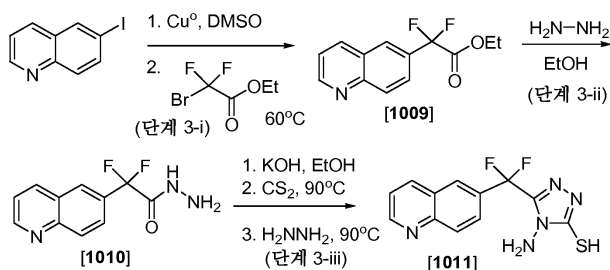
반응식 3의 단계 3-iii에 나타낸 바와 같이, EtOH(71ml) 중의 화합물 1010(3.55g, 14.97mmol)을 수산화칼륨(924mg, 16.5mmol)으로 처리하고, 균질성이 달성되도록 반응 혼합물을 온건하게 가온시켰다. 이황화탄소(1.38g, 1.09ml, 18.2mmol)를 첨가하고, 혼합물을 90℃에서 4시간 동안 교반시키고, 이때 중간 화합물인 5-(디플루오로(퀴놀린-6-일)메틸)-1,3,4-옥사디아졸-2-티올, 나트륨 염이 형성되었다. 환류 용액에 히드라진(4.80g, 4.70ml, 150mmol)을 첨가한 후, 3A 분자 체(3g)를 첨가하였다. 2시간 동안의 환류 후에, 상기 체를 여과에 의해 제거하고, EtOH로 세척하였다. 합한 유기 물질을 얼음 욕에서 0℃로 냉각시키고, pH가 6.5가 될 때까지 질소 대기 하에서 진한 HCl로 처리하였다. 침전물을 여과에 의해 제거하고, 여액을 4시간 동안 환류시키고, 딘-스타크(Dean-Stark) 트랩을 사용하여 임의의 과량의 물을 수집하였다. 휘발성 물질을 감압 하에서 제거하고, 잔류물을 물에 흡수시키고, pH를 6.5로 조절하였다. 수득된 고체를 여과에 의해 수집하고, 물로 세척하고 건조시켜 5-(디플루오로(퀴놀린-6-일)메틸)-4-아미노-4H-1,2,4-트리아졸-3-티올을 수득하였다(화합물 1011, 61% 수율):

¹H NMR (300.0 MHz, DMSO) δ 14.28 (s, 1H), 9.03 - 9.02 (m, 1H), 8.56 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 8.31 (s, 1H), 8.16 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.90 (dd, J = 1.9, 8.8 Hz, 1H), 7.65 (q, J = 4.2 Hz, 1H) 및 5.69 (s, 2H) ppm.

[0122]

[0123]

반응식 3



[0124]

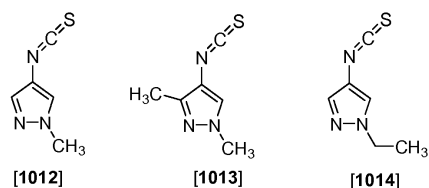
[0125]

실시예 4. 화학식 IV의 화합물

[0126]

4-이소티오시아네이트-1-메틸-1H-피라졸(화합물 1012), 4-이소티오시아네이트-1,3-디메틸-1H-피라졸(화합물 1013) 및 1-에틸-4-이소티오시아네이트-1H-피라졸(화합물 1014)을, 각각 1-메틸-1H-피라졸-4-아민, 1,3-디메틸

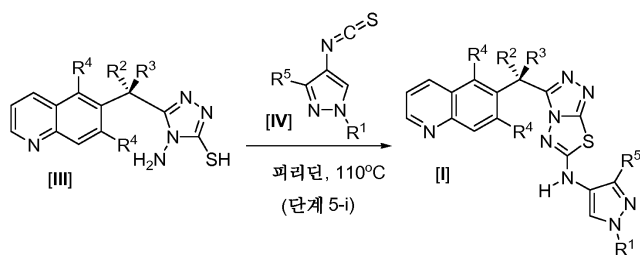
-1H-피라졸-4-아민(제조원: Matrix Chemical Co.) 및 1-에틸-1H-피라졸-4-아민(제조원: Oakwood Products)으로부터 출발하여, 상기 피라졸아민을 티오포스겐과 0℃에서 피리딘의 존재 하에 반응시킴으로써 제조하였다.



[0128] 실시예 5. 화학식 I의 화합물의 제조

화학식 I의 화합물은 반응식 5에 나타난 바와 같이 제조할 수 있다. 반응식 5의 단계 5-i에 나타난 바와 같이, 피리딘 중에서 화학식 III의 화합물(453.3mmol, 1.00당량) 및 화학식 IV의 화합물을 함께 110℃에서 15시간 동안 가열시킨다. 실온으로 냉각시킨 후, 반응 혼합물을 1N HCl 용액에 붓고, 침전물을 여과에 의해 수집하고, 물로 세척하고, 중간 압력의 실리카겔 크로마토그래피에 의해 정제한다. 목적하는 경우, ChiralPak[®] AD-H 칼럼(20mm x 250mm, 5 마이크론 칼럼) 또는 ChiralCel[®] OJ-H 칼럼(20mm x 250mm, 5 마이크론 칼럼)을 사용하고 적절한 유속에서 적절한 MeOH(0.1% DEA)/CO₂ 비로 용출시키는 초임계 유체 크로마토그래피에 의해 화합물의 라세미 혼합물을 각각의 에난티오머로 분리시킬 수 있다.

[0130] 반응식 5



[0132] 실시예 6. 화학식 I의 화합물의 대안적인 제조 - 3-(디플루오로(퀴놀린-6-일)메틸)-N-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-(1,2,4)트리아졸로[3,4-b][1,3,4]티아디아졸-6-아민(화합물 3)의 제조

화학식 I의 화합물은 또한 4-(이미노트리페닐포스포라노)-4H-1,2,4-트리아졸-3-티올을 이소시아네이트와 반응시킴으로써 제조할 수 있다. 따라서, 반응식 6의 단계 6-i에 나타난 바와 같이, 6-요오도퀴놀린(750g, 2.94mol)을 기계적인 교반기, 온도 프로브, 온도 판독기, 질소 주입 라인 및 냉각 욕이 구비된 질소-폐지된 22ℓ의 둥근 바닥 플라스크에 적재시켰다. 무수 THF(5.25ℓ)를 첨가하고, 형성된 용액을 iPrOH/드라이아이스 욕을 사용하여 -27℃로 냉각시켰다. i-PrMgCl·LiCl(2.45ℓ, THF 중의 1.3 M, 1.1 eq)을 첨가 깔때기를 통하여 1시간 17분에 걸쳐 첨가하고, 온도를 -26℃ 내지 -29℃로 유지시켰다. 이어서, 반응 혼합물을 2.5시간 동안 교반시키고, 온도를 -20℃ 내지 -29℃로 유지시켰다. 갈색 슬러리를 i-PrOH/드라이아이스 욕을 사용하여 25분에 걸쳐 -53℃로 냉각시키고, 디에틸 옥살레이트(469g, 0.44ℓ, 1.1 eq)를 첨가 깔때기를 통하여 1시간 15분에 걸쳐 첨가하고, 온도를 -51℃ 내지 -53℃로 유지시켰다. 형성된 질은 용액을 밤새(약 18시간) 실온으로 가온시켜 겨자색 슬러리를 수득하였다. 물(4.5ℓ) 중의 염화암모늄(500g, 9.35mol, 3.18 eq) 용액을 제조하고 얼음 욕을 사용하여 10℃로 냉각시켰다. 교반된 염화암모늄 용액을 함유한 22ℓ의 플라스크에 약간의 진공을 적용시킴으로써 반응 혼합물을 이송관을 통해 37분에 걸쳐 염화암모늄 용액으로 이동시켰다. 이동이 완결된 후, 얼음 욕을 제거하고, EtOAc(3.75ℓ)를 첨가하고, 교반을 개시하였다. 약 15분 후, 교반을 중지하고, 층들을 분리시켰다. 수성 상(pH = 8)을 EtOAc(3.75ℓ)로 추출시켰다. 두 개의 유기 층을 합하여 NaCl 용액(2.5ℓ 물 중의 112g)으로 세척하였다. 유기 상을 25℃에서 진공 하에 농축시켜 오일(763g)을 수득하고, 이것을 실리카겔 크로마토그래피(7:1 내지 1:1 헥산/EtOAc)에 의해 정제하였다. 순수한 생성물을 함유한 분획을 합하고, 진공에서 농축시켜 갈색 오일로서 에틸 2-옥소-2-(퀴놀린-6-일)아세테이트를 수득하였다(화합물 1015, 503g, 74.5 % 수율):

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 1.40 (t, 3H), 4.51 (q, 2H), 7.71 (dd, 1H), 8.21 (d, 1H), 8.24 (dd, 1H), 8.68 (dd, 1H), 8.77 (dd, 1H), 9.11 (dd, 1H).

[0134]

반응식 6의 단계 6-ii에 나타난 바와 같이, 화합물 1015(282g, 1.230mol) 및 DCM(2.82ℓ)을 기계적인 교반기, 질소 주입구, 온도 프로브 및 실온 물 욕이 구비된 12ℓ 질소-퍼징된 둥근 바닥 플라스크에서 합하였다. 형성된 용액에 비스-(2-메톡시에틸)아미노설파 트리플루오라이드(DeoxoFluor™, 615g, 0.50ℓ, 2.26 eq)를 45분간에 걸쳐 첨가 깔때기를 통해 첨가하였다. 무수 EtOH(12.8g, 15ml, 0.21 eq)를 시린지를 통해 3분에 걸쳐 분획으로 첨가하고, 반응을 주위 온도에서 밤새 교반시켰다. 공정 중의 샘플을 수집하고, 후처리하고, ¹H-NMR에 의해 분석하여 반응의 진행을 모니터링하였다. 제1 에탄올의 첨가 후에 전형적인 출발 물질 대 생성물의 몰비는 약 2:3이었다. 따라서, 관찰된 출발 물질 함량이 10% 미만인 될 때까지 추가의 EtOH 분획(12.3g, 0.2 eq)을 첨가 사이에 10 내지 20 시간의 간격을 두고서 시린지를 통해 연속적으로 첨가하였다. 물(8.3ℓ)에서 중탄산나트륨(827g, 8당량)을 혼합하고, 얼음 욕에서 13℃로 냉각시킴으로써 켄칭 용액을 제조하였다. 교반된 중탄산나트륨 용액을 함유한 22ℓ 플라스크에 진공을 적용시킴으로써 이송관을 통해 0.5 시간에 걸쳐 중탄산나트륨 켄칭 용액으로 반응 혼합물을 이동시켰다. 격렬한 가스 방출이 관찰되었다. 켄칭 동안에 온도를 10 내지 13℃로 유지시키고, 그 후 얼음 욕을 제거하고, 혼합물을 2시간 동안 12 내지 15℃에서 교반시켰다. DCM 층을 분리시키고, 수성 층을 DCM(2 x 1ℓ)으로 추출시켰다. DCM 층을 합하고 진공 하에 26℃에서 농축시켜 조 오일 349g을 수득하고, 이것을 실리카 크로마토그래피(7:1 내지 4:1 헥산/EtOAc)에 의해 정제하였다. 순수한 생성물을 함유한 분획을 합하고, 농축시켜 오일을 수득하고, 이것을 2 x 180ml 무수 EtOH에 넣고, 회전 증발기에서 농축시켜 오일로서 에틸 2,2-디플루오로-2-(퀴놀린-6-일)아세테이트를 수득하였다(화합물 1009, 164g, 53 % 수율):

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 1.24 (t, 3H), 4.35 (q, 2H), 7.67 (dd, 1H), 7.91 (dd, 1H), 8.20 (d, 1H), 8.37 (s, 1H), 8.60 (d, 1H), 9.05 (dd, 1H); ¹⁹F NMR (470 MHz, DMSO-*d*₆) δ -101.2.

[0136]

반응식 6의 단계 6-iii에 나타난 바와 같이, 교반 막대 및 열전쌍을 구비한 1ℓ 둥근 바닥 플라스크에 화합물 1009(164g, 633.9mmol) 및 EtOH (398ml)를 첨가하였다. 얼음/물 욕을 사용하여 황색 용액을 0℃로 냉각시켰다. 수산화나트륨(2 M의 수용액 중의 570.5ml, 1.141mol)을 반응 혼합물에 1시간에 걸쳐 천천히 첨가하고, 그 동안에 내부 온도를 20℃ 미만으로 유지시켰다. 얼음/물 욕을 제거하고, 혼합물을 2시간 동안 실온에서 교반시켰다. 반응 혼합물을 진공에서 농축시키고, 황색 고체를 진공 오븐[50℃, 20 내지 25mm Hg, N₂ 스위프(sweep)]에서 건조시켜 나트륨 2,2-디플루오로-2-(퀴놀린-6-일)아세테이트를 수득하였다(화합물 1016, 156.0g, 99% 수율):

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.50-7.55 (dd, 1H), 7.90-7.85 (dd, 1H), 8.10-8.15 (d, 1H), 8.10 (s, 1H), 8.40 – 8.45 (d, 1H), 8.95-8.90 (dd, 1H); ¹⁹F NMR (470 MHz, DMSO-*d*₆) δ -98.15.

[0138]

반응식 6의 단계 6-iv에 나타난 바와 같이, 가열 맨틀, 환류 콘덴서, 열전쌍, 기계적인 교반기가 구비되고 N₂로 퍼징된 3ℓ 둥근 바닥 플라스크에 화합물 1016(98.6g, 326.4mmol), 1,3-디메틸-2-이미다졸리디논(1.607ℓ) 및 피리딘(38.73g, 39.60ml, 489.6mmol)을 첨가하였다. 2-메틸테트라하이드로푸란(415.4g, 652.8mmol) 중의 50% 프로판포스폰산 무수물(T3P[®])을 단일 분획으로 첨가하고, 15 내지 20℃의 발열이 관찰되었다. 반응 혼합물을 1 시간 동안 70℃로 가열시키고, 이때 티오카보히드라진(53.03g, 489.6mmol)을 단일 분획으로 첨가하였다. 반응 혼합물을 다시 3시간 동안 교반시키고, 이어서 2-MeTHF 중의 50% T3P의 추가의 분획(207.7g, 326.4mmol)을 첨가한 후, 70℃에서 밤새 교반시켰다. 반응 혼합물을 실온으로 냉각시켰다. 개별 플라스크에서, 물(2.41ℓ) 중의 중탄산나트륨(219.3g, 2.611mol)의 용액을 얼음/물 욕을 사용하여 냉각시켰다. 반응 혼합물을 캐놀러를 통해 45분에 걸쳐 켄칭 용액에 천천히 첨가하고, 그 동안에 생성물의 발포 및 침전이 관찰되었다. 용액을 5℃에서 다시 1시간 동안 pH 7에서 교반시켰다. 형성된 고체를 흡입 여과에 의해 수집하고, 케익을 물(3.2ℓ) 및 MTBE (3.2ℓ)로 세척하였다. 백색 고체를 진공 오븐(50℃, 20 내지 25mm Hg)에서 건조시켜 4-아미노-5-(디플루오로(퀴놀린-6-일)메틸)-4H-1,2,4-트리아졸-3-티올을 수득하였다(화합물 1011, 57g, 58% 수율):

[0139]

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ 5.70-5.65 (s, 2H), 7.50-7.55 (dd, 1H), 7.90-7.85 (dd, 1H), 8.10-8.15 (d, 1H), 8.10 (s, 1H), 8.40-8.45 (d, 1H), 8.95-8.90 (dd, 1H), 14.3-14.25 (s, 1H); ¹⁹F NMR (470 MHz, DMSO-d₆) δ -92.50.

[0140]

[0141]

반응식 6의 단계 6-v에 나타난 바와 같이, 트리페닐포스핀(17.66g, 67.35mmol), 1,1,1,2,2,2-헥사클로로에탄(15.94g, 67.35mmol), 화합물 1011(13.37g, 44.90mmol)을 질소 대기 하에서 기계적인 교반기, 열전쌍이 장착된 500ml 둥근 바닥 플라스크에서 합하였다. 무수 아세토니트릴(461.0ml)을 첨가한 후, Et₃N(14.09g, 19.41ml, 139.2mmol)을 교반된 혼합물에 첨가하고, 그 동안에 온도를 21.4 내지 25.1℃로 유지시켰다. 반응 혼합물은 투명한 용액이 되었으며, 이어서 생성물이 형성되자마자 슬러리가 되었다(약 2분 이내). 이어서, 물(808.9mg, 808.9μl, 44.90mmol)을 첨가한 후, MeOH(14.39g, 18.19ml, 449.0mmol)를 첨가하고, 이어서 반응을 추가적으로 45분 동안 교반시켰다. 고체를 여과에 의해 수집하고, 케익을 CH₃CN(132ml)으로 세척하였다. 케익을 45℃의 진공 오븐에서 질소를 용출시키면서 건조시켜 베이지색 고체로서 5-(디플루오로(퀴놀린-6-일)메틸)-4-(이미노트리페닐포스포라노)-4H-1,2,4-트리아졸-3-티올을 수득하였다(화합물 1017, 25.57g, 98.8% 수율):

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7.51-7.42 (m, 6H), 7.70-7.56 (m, 12H), 8.11 (d, 1H), 8.16 (m, 1H), 8.49 (dd, 1H), 9.03 (dd, 1H), 13.64 (br s, 1H); ¹⁹F NMR (376 MHz, DMSO-d₆) δ -91.77; ³¹P NMR (162 MHz, DMSO-d₆) δ 19.71.

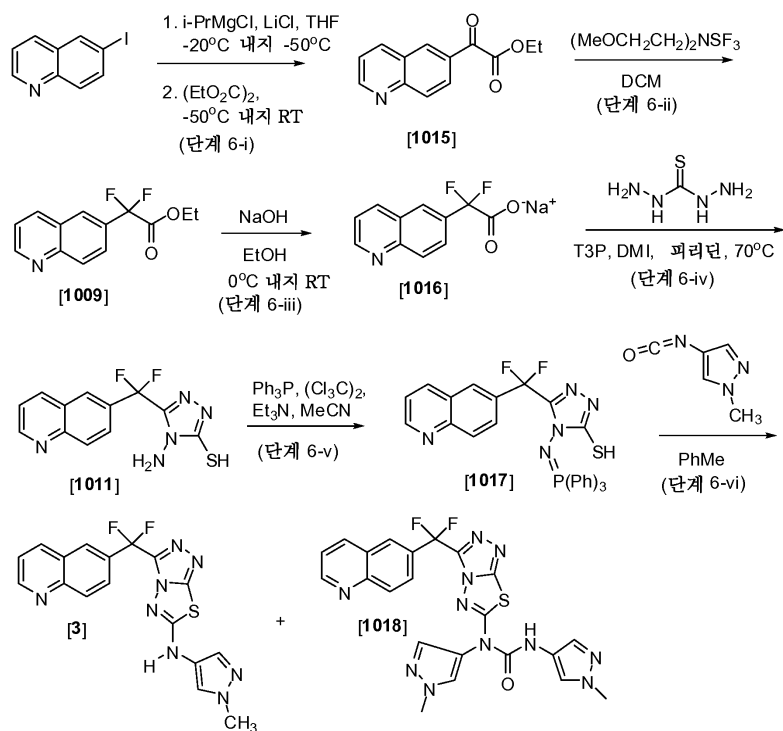
[0142]

[0143]

반응식 6의 단계 6-vi에 나타난 바와 같이, 오버헤드 교반기, 열전쌍, 환류 콘덴서 및 질소 버블러(bubbler)를 구비한 2ℓ의 4목 둥근 바닥 플라스크에 1-메틸피라졸-4-카복실산(27.33g, 216.7mmol)을 첨가하였다. 톨루엔(600ml) 및 트리에틸아민(30.70g, 42.29ml, 303.4mmol)을 20.1℃에서 첨가하고, 이때 어떠한 온도 증가도 관찰되지 않았다. 형성된 백색 슬러리는 103℃로 가열된 후에 무색 용액이 되었다. 디페닐포스포릴 아지드(DPPA, 61.48g, 48.14ml, 216.7mmol)를 30분간에 걸쳐 첨가하고 온도를 103.1 내지 107℃로 유지시켰다. 가열을 중단하고, 실온으로 냉각시켰다. 형성된 4-이소시아네이트-1-메틸-1H-피라졸은 유리되지 않았으며, 대신에 실온에서 화합물 1017(120g, 216.7mmol)을 하나의 분획으로 첨가하였다. 첨가 직후에 분석용 HPLC 분석에 의해 출발 물질이 화합물 3으로 51.2% 전환되었음을 확인하였다. 216.7mmol의 1-메틸피라졸-4-카복실산으로부터 시작하여, 추가의 4-이소시아네이트-1-메틸-1H-피라졸을 상기에서 지시된 바에 따라 개별 플라스크에서 제조하였다. 실온으로 냉각시킨 후, 상기 반응 혼합물을 캐놀러를 통해 제1 반응 혼합물로 옮겼다. HPLC 분석으로, 첨가 후에 100% 전환되었음을 확인하였다. EtOAc(240ml)를 반응 혼합물에 첨가하고, 백색 침전물을 형성하였다. 반응을 30분 동안 교반시킨 후, 고체를 흡입 여과에 의해 수집하였다. 케익[부산물로서 1-(3-(디플루오로(퀴놀린-6-일)메틸)-[1,2,4]트리아졸로[3,4-b][1,3,4]티아디아졸-6-일)-1,3-비스(1-메틸-1H-피라졸-4-일)우레아(화합물 1018)를 포함함]을 EtOAc(600.0ml)로 세척하였다. 여액을 35℃에서 회전 증발에 의해 진공에서 농축시켜 272.4g의 갈색 오일을 수득하였다. 오일을 고진공에서 건조시키고, 8:1 비의 SiO₂ 대 조 오일을 사용하고, DCM 중의 EtOH 1% 내지 5%의 구배로 용출시키는 칼럼 크로마토그래피에 의해 정제하여 3-(디플루오로(퀴놀린-6-일)메틸)-N-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-[1,2,4]트리아졸로[3,4-b][1,3,4]티아디아졸-6-아민(화합물 3, 111g)을 수득하고, 이것을 결정화에 의해 추가적으로 정제하였다. 따라서, 상기 물질 중의 33.5g 분획을 기계적인 교반기 및 질소 버블러가 구비된 250ml의 3목 둥근 바닥 플라스크에 첨가하였다. 고체는 오렌지색을 띤 갈색이었다. 총 135ml의 CH₃CN을 첨가하여 진한 슬러리를 수득하였다. 2.5시간 후, 고체를 3시간 후에 흡입 여과에 의해 수집하였다. 습윤한 케익을 CH₃CN(67ml)으로 세척하여 13.9g의 습윤한 고체를 수득하였다. 15.5시간에 걸쳐 진공 건조를 실시(43℃, 20 내지 25 in Hg, N₂ 스위프)하여 10.25g의 순수한 화합물 3(HPLC 분석에 의한 순도 99.9% 초과, 0.1% 미만의 PPh₃O)을 수득하였다. MeCN 여액을 동량의 물로 처리하였다. 고체를 침전시키고, 슬러리를 2시간 동안 교반시켰다. 고체를 흡입 여과에 의해 수집하였다. 습윤한 케익을 35ml의 물로 세척하였다. 케익을 건조(43℃, 20 내지 25 in Hg, N₂ 스위프)시켜 9.5g의 고체 물질을 수득하고, 이것을 상기와 같이 CH₃CN으로 처리하여 추가의 4.78g의 순수한 화합물 3(총 = 15.03g, 화합물 1017로부터의 전체 수율 57.7%)을 수득하였다. NH₃/MeOH로 우레아 부산물(화합물 1018)을 아미노분해시켜 추가의 화합물 3을 회수함으로써 수율을 추가적으로 증가시킬 수 있다.

[0144]

반응식 6



[0145]

[0146] 화합물 1 내지 8에 대한 분석 데이터는 표 1에 제시되어 있다.

표 1

화학식 I의 화합물의 물리적인 특성

화합물 번호	ESMS (M+H)	¹ H NMR (300 MHz, 달리 나타내지 않은 한), δ 값으로서 제시된 NMR 피크(ppm)
1	377.17	(메탄올 -d ₄) δ 8.81 (dd, J = 1.7, 4.3 Hz, 1H), 8.37 (dd, J = 0.9, 8.4 Hz, 1H), 8.04 - 7.98 (m, 2H), 7.79 (dd, J = 2.1, 8.8 Hz, 1H), 7.55 (dd, J = 1.9, 2.4 Hz, 1H), 7.52 (d, J = 4.3 Hz, 1H), 7.42 (d, J = 0.7 Hz, 1H), 4.86 - 4.80 (m, 1H), 3.79 (s, 3H) 및 1.94 (d, J = 7.2 Hz, 3H)
2	377.17	(메탄올 -d ₄) δ 8.81 (dd, J = 1.7, 4.3 Hz, 1H), 8.37 (dd, J = 0.9, 8.4 Hz, 1H), 8.04 - 7.98 (m, 2H), 7.79 (dd, J = 2.1, 8.8 Hz, 1H), 7.55 (dd, J = 1.9, 2.4 Hz, 1H), 7.52 (d, J = 4.3 Hz, 1H), 7.42 (d, J = 0.7 Hz, 1H), 4.86 - 4.80 (m, 1H), 3.79 (s, 3H) 및 1.94 (d, J = 7.2 Hz, 3H)
3	399.06	(DMSO-d ₆) δ 10.86 (s, 1H), 9.18 (dd, J = 1.5, 4.5 Hz, 1H), 8.83 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 8.61 (s, 1H), 8.31 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 8.11 (dd, J = 2.0, 8.9 Hz, 1H), 7.85 (dd, J = 4.6, 8.3 Hz, 1H), 7.66 (s, 1H), 7.43 (d, J = 0.4 Hz, 1H) 및 3.79 (s, 3H)
4	413.21	(DMSO-d ₆) δ 10.20 (br, 1H), 9.04 (d, J = 2.9 Hz, 1H), 8.58 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 8.45 (s, 1H), 8.20 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.97 (dd, J = 1.9, 8.9 Hz, 1H), 7.67 (q, J = 4.2 Hz, 1H), 7.56 (s, 1H), 3.68 (s, 3H) 및 2.07 (s, 3H)
5	391.24	(메탄올 -d ₄) δ 9.25 (d, J = 6.3 Hz, 2H), 8.48 (s, 1H), 8.32 (s, 1H), 8.15 (dd, J = 6.3, 7.6 Hz, 1H), 8.14 (s, 1H), 7.80 (s, 1H), 7.51 (s, 1H), 5.21 (q, J = 7.2 Hz, 1H), 4.16 (q, J = 7.3 Hz, 2H), 2.03 (d, J = 7.2 Hz, 3H) 및 1.42 (t, J = 7.3 Hz, 3H)
6	391.24	(메탄올 -d ₄) δ 9.25 (d, J = 6.3 Hz, 2H), 8.48 (s, 1H), 8.32 (s, 1H), 8.15 (dd, J = 6.3, 7.6 Hz, 1H), 8.14 (s, 1H), 7.80 (s, 1H), 7.51 (s, 1H), 5.21 (q, J = 7.2 Hz, 1H), 4.16 (q, J = 7.3 Hz, 2H), 2.03 (d, J = 7.2 Hz, 3H) 및 1.42 (t, J = 7.3 Hz, 3H)
7	391.20	(DMSO-d ₆) δ 9.91 (s, 1H), 8.93 - 8.92 (m, 1H), 8.47 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 7.80 - 7.75 (m, 1H), 7.62 - 7.58 (m, 2H), 4.78 (q, J = 7.5 Hz, 1H), 3.69 (s, 3H), 2.03 (s, 3H) 및 1.83 (d, J = 7.2 Hz, 3H) ppm
8	391.20	(DMSO-d ₆) δ 9.91 (s, 1H), 8.93 - 8.92 (m, 1H), 8.47 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 7.80 - 7.75 (m, 1H), 7.62 - 7.58 (m, 2H), 4.78 (q, J = 7.5 Hz, 1H), 3.69 (s, 3H), 2.03 (s, 3H) 및 1.83 (d, J = 7.2 Hz, 3H) ppm

[0147]

[0148] 화학식 I의 화합물의 생물학적 검정

[0149] 실시예 3. c-Met 키나제 억제 검정

[0150] 본 발명의 화합물을 표준 방사 검정(radiometric assay)을 사용하여 c-Met 키나제를 억제하는 이의 능력에 대해 스크리닝하였다. 간략하게 설명하자면, 이러한 키나제 검정에서는 ³³P-ATP에서의 말단 ³³P-인산염이 기질 polyE4Y로 이동하는 것을 조사하였다. 당해 검정은 0.5 nM c-Met, 100mM HEPES(pH 7.5), 10mM MgCl₂, 25mM NaCl, 0.01% BSA, 1mM DTT, 0.5mg/ml polyE4Y 및 35 μM ATP를 함유하는 웰 당 100μl의 최종 부피로 96-웰 플레이트에서 실시하였다. 따라서, 본 발명의 화합물을 DMSO에 용해시켜서 10mM 초기 스톱 용액을 제조하였다. 이어서, 검정을 위한 최종 용액들을 수득하기 위해 DMSO 중의 일련의 희석액들을 제조하였다. DMSO 또는 DMSO 중의 억제제 1.5μl 분취량을 각각의 웰에 첨가한 후, ³³P-ATP를 첨가하고, 마지막으로 c-Met 및 polyE4Y[시그마(Sigma)로부터 구입]를 첨가하였다. 20분 후, 4mM ATP를 함유하는 30% 트리클로로아세트산(TCA) 50μl로 상기 반응을 쉼치시켰다. 반응 혼합물을 0.66mm GF 필터 플레이트(Corning)로 옮기고, 5% TCA로 3회 세척하였다. 울티메이트 골드(Ultimate Gold™) 고효율 신틸런트(scintillant)(Packard Bioscience) 50μl를 첨가한 후, 패커드 탑카운트(Packard TopCount) NXT 마이크로플레이트 섬광 및 발광 계수기(Packard Bioscience)에서 샘플들을 계수하였다. 마이크로소프트 엑셀 솔버 매크로(Microsoft Excel Solver macros)를 사용하여 경쟁적 밀접-결합 억제(competitive tight-binding inhibition)에 대한 동력학적 모델에 데이터를 대입시켜 K_i 값들을 계산하였다. 화합물 1 내지 8 각각은 c-Met의 억제에 대한 K_i 값이 200 nM 미만이었다.

[0151] 실시예 4. Snu5 위암종 세포에서의 c-Met 활성 억제

[0152] 화학식 I의 화합물에 대해 유전자 변형된 Snu5 세포주에서 루시페라제-유도된 신호를 억제하는 이의 능력을 또한 스크리닝하였다. Snu5[American Type Culture Collection로부터 구입(카탈로그 번호 CRL-5973)]는, 구성적으로 활성인 c-Met를 과발현하는 것으로 공지된 사람 위암종이다. 6xAP1 프로모터 반응 요소 및 C-말단 PEST 서열(루시페라제의 반감기를 감소시키는 마우스 오르니틴 데카복실라제로부터의 단백질 가수분해 신호)을 갖는 루시페라제 유전자로 이루어진 유전 구성체를 함유하는 레트로바이러스 pCLPCX를 세포주에 형질 도입하였다. 구성적으로 활성인 c-Met는 세포 경로들(주로 MAP 키나제)을 활성화하여 루시페라제-PEST의 AP-1-유도 전사 및 최종 생성물로의 번역을 초래하고, 이의 활성은 루시페린(Steady-Glo, 제조원: Promega)의 첨가시 화학발광 판독으로서 정량화시킬 수 있다. 잔류 발광은 c-Met의 억제와 크게 관련된다. 푸로마이신을 갖는 새로운 세포주(Snu5-AP1-Luc-Pest)를 선택함으로써 안정한 세포주를 획득하였다. 세포들을 완전 배지[10% 소 태아 혈청(FBS: fetal bovine serum, Hyclone) 및 페니실린/겐타마이신(Invitrogen)을 함유하는 Iscove 배지(Invitrogen)] 중에서 성장시켰다. 본 발명의 화합물을 DMSO에 용해시켜서 10mM 초기 스톱 용액을 제조하였다. 이어서, DMSO 중의 일련의 희석액들을 제조하고, 완전 배지로 옮겨 10 x 용액을 제조하였다. Snu5-AP1-Luc-Pest 세포들을 계수하고, 200,000개의 세포/㎖ 용액으로 희석하였다. 투명한 바닥 플레이트를 갖는 96-웰 블랙(Costar) 내의 각각의 웰에 세포들(90 μ l)을 첨가하였다. 이어서, 10 x 화합물 용액 10 μ l를 삼중으로 세포에 첨가하였다. 플레이트를 37℃/5% CO₂ 인큐베이터에서 항온배양시켰다. 6시간 후, 스테디-글로(Steady-Glo) 시약(Promega) 50 μ l를 각각의 웰에 첨가하고, 플레이트 진탕기 상에 5분간 위치시켜서 세포를 완전히 용해시켰다. 플레이트를 1450 마이크로베타(Microbeta) 액체 섬광 및 발광 계수기(Perkin-Elmer) 상에서 판독하였다. 화합물 1 내지 8 각각은 Snu5 위암종 세포에서의 c-Met 활성 억제에 대한 IC₅₀ 값이 200 nM 미만이었다.

[0153] 실시예 5. 마우스 모델에서의 종양 성장의 억제

[0154] 화합물 3에 대해 중증합병면역결핍증(SCID: severe combined immunodeficiency) 마우스에서 피하에 이식된 SNU-5 위암 세포의 종양 성장을 억제하는 능력을 조사하였다. SNU-5 세포(CRL-5973, 미국 버지니아 마나사스 소재의 American Type Culture Collection)를 10% 소 태아 혈청(FBS)(미국 유타 로간 소재의 Hyclone), 100 단위/㎖ 페니실린, 100mg/㎖ 스트렙토마이신(캐나다 칼스버드 소재의 Invitrogen) 및 2mM L-글루타민으로 보충된 ISCOVE 변형 돌베코 배지(IMDM: ISCOVE's Modified Dulbecco's Medium)(캐나다 칼스버드 소재의 Invitrogen)에서 배양시켰다. 세포들을 이식하기 전에 4 세대 미만 동안 배양시켰다. 0일째(제0일)에 암컷 SCID 마우스(Fox Chase SCID, CB-17, 미국 매사추세츠 윌밍톤 소재의 Charles River Laboratories에서 입수된 17 내지 19g 체중의 마우스)의 우측 등부 겨드랑이 부분에 5x10⁶ SNU-5 세포를 피하(s.c) 주사하였다. 평균 종양 부피가 약 358mm³에 도달하는 25일째(제25일)에 처리를 개시하였다.

[0155] 30%(중량/부피) 프로필렌 글리콜 및 10% 솔루톨(Solutol)(미국 미주리 세인트 루이스 소재의 Sigma-Aldrich)을 함유한 비히클에서 현탁된 균질 형태로 제형화시킨 화합물 3을 14일 동안 3, 10 및 30mg/kg/일의 총 1일 용량으로 1일 1회(QD) 경구(p.o) 투여하였다. 종양 부피[타원체 공식을 사용하여 계산함; (길이 x 너비²)/2(여기서, 길이 및 너비는 각각 종양의 가장 큰 크기 및 가장 작은 크기를 나타낸다)]를 사용하여 계산됨을 처리 개시 후 2주일 동안 기록하였다. 종양 이식 38일 후에 연구를 종결하였다. 평균 종양 부피는 표 2에 제시된다. 연구의 종결 시의 종양 중량은 표 3에 제시된다.

표 2

SNU-5 종양 부피*

	25 일	28 일	31 일	35 일	38 일
비히클 대조군	357.6 ± 36.7	487.1 ± 45.8	578.4 ± 66.0	753.2 ± 77.9	937.1 ± 101.0
화합물 3, 30mg/kg/일	359.5 ± 35.1	281.3 ± 28.7	256.5 ± 23.6	255.7 ± 21.1	273.4 ± 24.2
화합물 3, 10mg/kg/일	358.0 ± 17.1	354.2 ± 21.7	381.8 ± 25.6	406.6 ± 23.4	453.9 ± 27.3
화합물 3, 3mg/kg/일	356.1 ± 24.5	432.6 ± 31.2	511.9 ± 36.3	587.8 ± 39.5	670.4 ± 46.2

[0156]

[0157] * 종양 부피는 mm³으로 측정되고 평균 ± 표준 오차로서 기록된다.

표 3

연구 종결 시의 SNU-5 종양 중량

동물 ID	비히클, 10 mL/kg	화합물 3 30 mg/kg/일	화합물 3 10 mg/kg/일	화합물 3 3 mg/kg/일
1	863	350	275	508
2	838	327	305	368
3	896	150	371	679
4	974	246	309	596
5	857	180	319	619
6	1607	173	476	505
7	760	260	358	525
8	629	420	469	485
9	896	250	279	605
10	1151	156	660	655
11			418	851
12			400	770
13			387	405
14			410	790
15			349	938
평균	947.1	251.2	385.7	619.9
SD	268.0	91.0	98.2	163.5
SE	84.7	28.8	25.4	42.2

[0158]

[0159] 표 2 및 3에 나타난 바와 같이, 화합물 3은 시험된 3개의 용량 수준 모두에서 유의하고 용량-의존성 항종양 활성을 보여 주었다. 30mg/kg/일의 용량에서 종양 부피를 분석하면 -23.9%(P < 0.001)의 종양 퇴축이 나타났다. 3, 10 및 30mg/kg/일 VRT-846198 처리 그룹으로부터 획득된 종양은 비히클 대조 그룹으로부터 획득된 종양보다

매우 적었으며, 중량 감소 %는 각각 34.5%, 59.3% 및 73.5%이었다(모두 $P < 0.002$).

[0160] 실시예 6. 마우스 모델에서의 종양 전이의 억제

[0161] 화합물 3에 대해 중증합병면역결핍증(SCID) 마우스의 폐에 피하 이식된 종양의 전이를 억제하는 능력을 조사하였다. 따라서, A549 세포(A549HGF-1m1115, 간세포 성장 인자, 루시페라제 및 녹색 형광 단백질로 형질감염됨)를 10% 소 태아 혈청(FBS)(미국 유타 로간 소재의 Hyclone), 100 단위/ml 페니실린, 100mg/ml 스트렙토마이신(캐나다 칼스버트 소재의 Invitrogen) 및 2mM L-글루타민으로 보충된 RPMI 1640 배지(캐나다 칼스버트 소재의 Invitrogen)에서 이식 전에 4 계대 미만 동안 배양시켰다. 3-(디플루오로(퀴놀린-6-일)메틸)-N-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-[1,2,4]트리아졸로[3,4-b][1,3,4]티아디아졸-6-아민(화합물 3)을 0.5%(중량/부피) 메틸셀룰로즈(미국 미주리 세인트 루이스 소재의 Sigma-Aldrich) 및 0.1%(부피/부피) 트윈(Tween) 80™을 함유한 비히클에서 용해된 균질 형태로서 제형화시키고, 이것을 매일 새롭게 제조하고, 10ml/kg의 용량 부피로 위관 영양법을 통해 마우스에 투여하였다.

[0162] 0일째에 암컷 SCID 마우스의 우측 등부 겨드랑이 부분에 5×10^6 A549HGF 세포를 피하(s.c.) 주사하였다. 같은 날에 화합물 3을 30 및 60mg/kg/일의 총 1일 용량으로 22일 동안에 1일 1회(QD) 경구투여(p.o)함으로써 처리를 개시하였다. 처리 개시 후에 3 주일 동안 1주일 당 2회 이소성 종양 측정치를 기록하였다. 비히클 단독으로 투여된 마우스의 종양 세포 성장과 비교하여, 화합물 3에서는 30 또는 60mg/kg/일로 투여된 마우스의 이식 자리에 원발성 A549 종양 세포 성장에 유의한 변화가 없음을 확인하였다.

[0163] 화합물 3의 항전이 효능을 평가하기 위해, 연구의 종결 시에 모든 동물의 폐 조직을 획득하고, 루시페라제 발광을 통한 생체외 정량화를 위해 균질화시켜 용해하였다. 표 4는 연구 종결 시에 폐 조직에서의 종양 세포 함량을 설명하는 것으로, 이의 데이터는 비히클 대조(평균 형광 계수: 23531.5 ± 8278.2 SEM, $p < 0.02$)와 비교하여 60mg/kg/일에서의 화합물 3(평균 형광 계수: 6672.3 ± 1986.1 SEM)으로 처리된 마우스에서 폐 전이의 형성이 유의하게 억제됨을 나타낸다.

표 4

비히클 단독으로 처리된 대조 마우스 동물과 비교한, 화합물 3으로 처리된 SCID 마우스 동물에서 균질화된 폐 조직의 발광

동물 ID	비히클, 10 mL/kg (계수)	화합물 3 30 mg/kg/일 (계수)	화합물 3 60 mg/kg/일 (계수)
1	6610	16300	4860
2	2980	5640	2470
3	1850	3890	2170
4	4300	5270	1480
5	21300	2270	2540
6	53200	2620	19300
7	9670	17200	21100
8	22600	21300	3800
9	26700	6430	16500
10	13300	4340	1440
11	112000	65400	2620
12	19300	2230	2920
13	12100		5540
평균	23531.5	12740.8	6672.3
표준 편차	29884.3	17828.3	7169.7
표준 오차	8278.2	5146.7	1986.1

[0164]

[0165] 본 명세서에서 언급된 모든 문헌 및 특허들은 각각의 개별 문헌 또는 특허가 구체적이고 개별적으로 참조로 인용되는 것과 마찬가지로 본원에 참조로 인용된다. 앞에서는 명확한 이해를 위해 본 발명을 예시와 실시예를 통해 다소 상세히 기술하였으나, 당업자들은 본 발명의 교시에 비추어서 첨부된 청구범위의 취지 또는 범주로부터 벗어남이 없이 변형 및 개선이 실시될 수 있다는 것을 용이하게 알 것이다.