(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2014-0023340
(43) 공개일자 2014년02월26일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 33/574 (2006.01) *G01N 33/48* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2013-7029129
(22) 출원일자(국제) 2012년03월30일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2013년11월01일
(86) 국제출원번호 PCT/US2012/031662
(87) 국제공개번호 WO 2012/135749
국제공개일자 2012년10월04일
(30) 우선권주장
61/471,036 2011년04월01일 미국(US)

(71) 출원인
제넨테크, 인크.
미합중국 캘리포니아 (우편번호 94080-4990) 사우쓰샌프란시스코 디엔에이 웨이 1
(72) 발명자
린, 쿠이
미국 94080-4990 캘리포니아 사우스 샌프란시스코 디엔에이 웨이 1
푼노오스, 엘리자베스
미국 94080-4990 캘리포니아 사우스 샌프란시스코 디엔에이 웨이 1
세샤기리, 소마세카르
미국 94080-4990 캘리포니아 사우스 샌프란시스코 디엔에이 웨이 1
(74) 대리인
위혜숙, 양영준

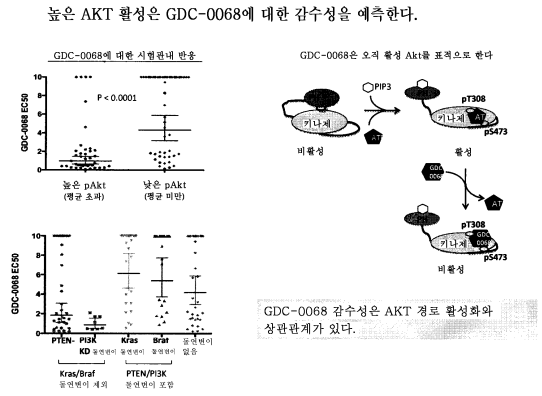
전체 청구항 수 : 총 30 항

(54) 발명의 명칭 **암 치료에 대한 감수성을 예측하기 위한 바이오마커**

(57) 요 약

Akt에 대한 돌연변이의 존재를 평가하는 단계를 포함하고, 상기 돌연변이의 존재는 Akt 억제제의 감수성과 상관관계가 있는 것인, 바이오마커 및 바이오마커 조합물을 평가하여 암 치료에 대한 감수성을 예측하는 방법을 제공한다.

대 표 도 - 도9



특허청구의 범위

청구항 1

AKT에 대한 돌연변이의 존재를 결정하는 단계를 포함하고, AKT에 대한 돌연변이의 존재가 AKT 억제제에 대한 종양 세포의 감수성과 상관관계가 있는 것인, AKT 억제제에 대한 종양 세포 성장의 감수성을 예측하는 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, AKT에 대한 돌연변이의 존재가 ATP 경쟁적 AKT 억제제에 대한 상기 세포의 감수성 증가와 상관관계가 있는 것인 방법.

청구항 3

제1항에 있어서, AKT에 대한 돌연변이의 존재가 알로스테릭(allosteric) AKT 억제제에 대한 상기 세포의 감수성 감소와 상관관계가 있는 것인 방법.

청구항 4

제1항에 있어서, AKT에 대한 돌연변이의 존재가 pan-PI3K AKT 억제제에 대한 상기 세포의 감수성 감소와 상관관계가 있는 것인 방법.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 돌연변이가 표 1, 표 2, 도 2, 도 3, 도 16 또는 도 17에 도시된 돌연변이에 상응하거나 그와 정렬되는 것인 방법.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 돌연변이가 L52, K189 또는 D323에 상응하거나 그와 정렬되는 것인 방법.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, AKT가 AKT1, AKT2 또는 AKT3인 방법.

청구항 8

제7항에 있어서, AKT가 AKT1인 방법.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, AKT에 대한 돌연변이가 AKT의 PH-도메인과 키나제 도메인 사이의 상호작용을 교란시키는 것인 방법.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, AKT에 대한 돌연변이가 AKT의 인산화를 증가시키는 것인 방법.

청구항 11

제10항에 있어서, 인산화 증가가 구성적(constitutive) 인산화에 의한 것인 방법.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 세포의 PTEN 상태를 결정하는 단계를 추가로 포함하고, PTEN 손실이 상기 억제제에 대한 감수성 증가와 상관관계가 있는 것인 방법.

청구항 13

제12항에 있어서, 종양 세포가 난소암 또는 전립선암 종양 세포인 방법.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 세포의 PI3K 돌연변이의 존재를 결정하는 단계를 추가로 포함하고, PI3K 돌연변이의 존재가 상기 억제제에 의한 억제에 대한 감수성 증가와 상관관계가 있는 것인 방법.

청구항 15

제14항에 있어서, 상기 PI3K 돌연변이가 H1047R 및 H1047L 중 하나 또는 둘 다인 방법.

청구항 16

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 세포의 pAKT 프로파일을 결정하는 단계를 추가로 포함하고, pAKT에 대한 높은 활성 프로파일이 상기 억제제에 의한 억제에 대한 감수성 증가와 상관관계가 있는 것인 방법.

청구항 17

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 세포의 pAKT 프로파일을 결정하는 단계를 추가로 포함하고, pAKT에 대한 낮은 활성 프로파일이 상기 억제제에 의한 억제에 대한 감수성 감소와 상관관계가 있는 것인 방법.

청구항 18

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 세포의 Her2 및/또는 Her3 상태를 결정하는 단계를 추가로 포함하고, 세포의 Her2+ 및/또는 Her3+ 상태가 상기 억제제에 의한 억제에 대한 감수성 증가와 상관관계가 있는 것인 방법.

청구항 19

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 세포의 Met 키나제 돌연변이의 존재를 결정하는 단계를 추가로 포함하고, Met 키나제 돌연변이의 존재가 AKT 억제제에 대한 상기 세포의 감수성과 상관관계가 있는 것인 방법.

청구항 20

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 세포의 B-Raf 또는 K-Ras 돌연변이의 존재를 결정하는 단계를 추가로 포함하고, B-Raf 또는 K-Ras 돌연변이의 존재가 AKT 억제제에 대한 상기 세포의 감수성 감소와 상관관계가 있는 것인 방법.

청구항 21

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 세포 내 FOXO3a의 국소화 프로파일을 결정하는 단계를 추가로 포함하고, FOXO3a의 세포질 국소화 프로파일이 Akt 억제제에 의한 억제에 대한 상기 세포의 감수성과 상관관계가 있는 것인 방법.

청구항 22

제1항 내지 제12항 및 제14항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 종양 세포가 전립선암, 난소암, 유방암, 위암 또는 췌장암 세포인 방법.

청구항 23

제23항에 있어서, 종양 세포가 내분비 내성 유방암 세포인 방법.

청구항 24

제1항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 세포의 INPP4B, PHLPP 및/또는 PP2A 상태를 결정하는 단계를 추가로 포함하고, INPP4B, PHLPP 및/또는 PP2A 손실이 상기 억제제에 대한 감수성 증가와 상관관계가 있는 것인 방법.

청구항 25

제1항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, AKT 억제제가 (S)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필아미노)프로판-1-온, 또는 그

의 제약상 허용되는 염인 방법.

청구항 26

제1항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, AKT에 대한 돌연변이의 존재를 결정하기 위해서 환자로부터 생리적 샘플을 수득하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 27

제26항에 있어서, 생리적 샘플 중 AKT에 대한 돌연변이의 존재를 결정하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 28

제1항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, AKT에 대한 돌연변이의 존재가 결정된 환자에게 AKT 억제제가 투여되어야 한다는 것을 알리는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 29

제1항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, AKT에 대한 돌연변이의 존재가 결정된 환자에게 AKT 억제제가 투여되어서는 안된다는 것을 알리는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 30

PI3k, PTEN 및 AKT 돌연변이 중 1종 이상을 포함하는 암 세포에 GDC-0068 또는 그의 염을 투여하는 것을 포함하는, 상기 암 세포의 치료 방법.

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 관련 출원(들)에 대한 상호 참조

[0002] 본 특허 출원은 2011년 4월 1일자로 출원된 미국 출원 제61/471,036호를 우선권 주장하며, 상기 출원은 본원에 참고로 포함된다.

배 경 기 술

[0003] 암은, 세포가 세포에 대한 성장 이점을 궁극적으로 부여하는 돌연변이를 갖는 경우에 발병할 수 있다. 체세포 돌연변이는, 예를 들어 뉴클레오티드 염기 치환, 결실, 삽입, 증폭 및 재배열을 포함한다. 암에서 발생하는 체세포 돌연변이의 확인은 암의 발병에 관하여 가치있는 정보를 제공한다. 이러한 정보는 또한 암에서 진단용 마커 및 치료 표적의 확인에 유용하다 (예를 들어, 문헌 [Bamford et al. (2004) British Journal of Cancer 91:355-358] 참조). 암과 관련이 있는 체세포 돌연변이의 확인은 임상 현장에서, 예를 들어 특정 요법에 반응성일 환자 집단을 구별함에 있어 가치있는 것으로 입증되었다 (예를 들어, 문헌 [Lynch et al. (2004) N. Engl. J. Med. 350:2129-2139], [O'Hare (2004) Blood 104:2532-2539] 참조). 따라서, 암에서 발생하는 체세포 돌연변이를 확인할 필요가 계속 존재한다.

[0004] 배선 변이, 또는 다형성은 유기체의 게놈에 존재하는 유전성 변이이다. 다형성은 제한 단편 길이 다형성 (RFLP), 짧은 병렬식 반복부 (STR) 및 단일 뉴클레오티드 다형성 (SNP)을 포함한다. 배선 변이는 또한 암을 비롯한 특정 질환에 대한 민감성과 관련이 있을 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Vierimaa et al. (2006) Science 312:1228-1230], [Landi et al. (2006) Science 313:521-522], [Zhu et al. (2004) Cancer Research 64:2251-2257] 참조). 따라서, 암과 관련이 있는 다형성을 확인할 필요가 계속 존재한다.

발명의 내용

[0005] 본 발명의 특정 실시양태에 대한 요약

[0006] 본원에 기재된 본 발명은 상기 기재된 필요성을 충족시키고, 다른 이점을 제공한다.

[0007] 본 출원인은 바이오마커가 증식성 장애, 예컨대 암을 치료함에 있어 AKT 억제제의 효능을 예측할 수 있다는 것을 발견하였다.

[0008] 본 출원인은 AKT에서의 특정 돌연변이가 AKT PH 도메인 및 키나제 도메인 사이에서 교란된 상호작용을 유발할 수 있다는 것을 발견하였다. 돌연변이(들)에 의해 유발된 이들 도메인 사이의 교란은 AKT의 구성적(constitutive) 인산화 및 구성적 AKT 신호전달을 유발한다고 여겨진다. 이들 효과는 또한 세포의 형질전환을 허용한다. 이들 돌연변이는 PI3K 및 알로스테릭(allosteric) Akt 억제제에 대한 내성을 부여한다. 따라서, 이러한 돌연변이의 존재는 PI3K 및 알로스테릭 Akt 억제제에 대한 유효 투여량이 보다 높을 것임을 나타내며, 또한 PI3K 및/또는 알로스테릭 Akt 억제제 이외의 억제제, 예컨대 ATP-경쟁적 Akt 억제제가 사용되어야 한다는 것을 나타낸다. 상기 바이오마커를 단독으로 또는 본원에 기재된 다른 바이오마커와 조합하여 사용하는 것은, 단독으로 또는 또 다른 치료 화합물, 예컨대 5-FU, 백금 작용제 (카르보플라틴, 시스플라틴, 옥살리플라틴 등), 이리노테칸, 도세탁셀, 독소루비신, 겜시타빈, SN-38, 카페시타빈, 테모졸로미드, 에를로티닙, PD-0325901, 파클리탁셀, 베바시주맙, 페르투주맙, 타목시펜, 라파마이신, 라파티닙, PLX-4032, MDV3100, 아비라테론, 및 GDC-0973 및 다른 MEK 억제제와 조합되어 투여되는 AKT 억제제에 대한 종양 세포 성장의 감수성을 예측하는데 유용하다.

도면의 간단한 설명

[0009] 도 1은 AKT, 및 PH와 키나제 도메인의 상호작용을 도시하며 (1A 및 1B), 또한 이들 도메인 사이의 상호작용의 위치를 도시한다 (1C).

도 2는 PH 도메인과 키나제 도메인의 상호작용을 교란시킨다고 여겨지는 부위에서의 합성 돌연변이가 Akt의 구성적 인산화를 유발한다는 것을 나타내는 결과를 도시한다.

도 3은 체세포 돌연변이를 도시한다.

도 4는 구성적 Akt 인산화를 유발하는 체세포 돌연변이가 구성적 Akt 신호전달을 유발한다는 것을 나타내는 결과를 도시한다.

도 5는 Akt1 돌연변이체가 세포를 형질전환시킬 수 있다는 것을 나타내는 결과를 도시한다.

도 6은 Akt1 돌연변이체가 PI3K 억제제 및 AKT 알로스테릭 억제제에 대한 내성을 부여한다는 것을 나타내는 결과를 도시한다.

도 7은 GDC-0068 처치된 환자로부터의 종양 내 pPRAS40 T246의 변화를 도시한다.

도 8은 활성화된 PI3K/AKT 경로를 갖는 종양을 도시한다.

도 9는 높은 AKT 활성 프로파일이 GDC-0068에 대한 감수성을 예측한다는 것을 나타내는 결과를 도시한다.

도 10은 전립선 및 난소 세포주에서 PTEN 손실과 GDC-0068에 대한 감수성의 강력한 상관관계를 입증하는 결과를 도시한다. 결과는 GDC-0068에서 표준화된 단일 화합물 용량 반응을 갖는다.

도 11은 시험관내에서 PTEN 손실 및 PIK3CA 돌연변이가 GDC-0068 단일 작용제 감수성과 강력하게 상관관계가 있다는 것을 입증하는 결과를 도시한다.

도 12A 및 12B는 최고 백분율의 종양 성장 억제가 또한 PTEN의 손실 또는 PI3K 돌연변이를 통한 경로 활성화의 증거를 갖는다는 것을 나타내는, 이종이식편 모델에서의 GDC-0068 단일 작용제 활성의 결과 (12A) 및 시험관내 세포주 스크리닝 데이터 (12B)를 도시한다. AKT 경로 활성화를 갖는 (그리고 MEK 경로 활성화를 갖지 않는) 모델에서 견고한 효능이 관찰된다.

도 13은 다양한 세포주의 GDC-0068 및 MEK 억제제 단일 작용제 감수성 사이의 음성 상관관계를 나타내는 결과를 도시한다.

도 14는 AKT 경로 활성화 (PTEN 손실, PI3K 돌연변이)를 갖는 세포주에서의 강력한 상승작용을 입증하는 결과를 도시한다. BLISS 분석은 MEK 억제제 (GDC-0973)와 조합된 GDC-0068에 대한 광범위한 상승작용을 나타낸다.

도 15는 GDC-0068과 시스플라틴 +5FU의 조합 효과가 AKT 경로 활성화와 관련이 있다는 결과를 도시한다. 5FU/시스플라틴 (FOLFOX)을 사용하는 콤보 스크리닝은 상가 효과의 증거를 보여준다. 상가 효과는 경로 활성화: PTEN, pAKT, PI3K 돌연변이와 관련이 있다.

도 16은 PH-키나제 도메인 접촉 부위 돌연변이가 AKT 활성화를 유발한다는 것을 보여준다. (A) 단독으로 또는 MEK1 N3과 조합하여 공벡터 (EV), 야생형 (WT), 미리스토일화 (Myr) 또는 E17K AKT1을 안정적으로 발현하는

BaF3 세포의 IL-3 독립적 증식. (B) 알로스테릭 억제제와 복합체를 형성한 AKT1의 PH 및 KD의 "오픈 북(open book)" 표현 (PDB 접근 코드 3096). (C) AKT1 PH-KD 계면 돌연변이의 효과를 평가하는데 이용된 스크리닝의 개략도. (D) PH-KD 계면 돌연변이는 BaF3 세포의 IL-3 독립적 증식을 촉진시킴. (E) 공벡터 및 제시된 AKT1 구축물을 안정적으로 발현하는 NIH3T3 세포의 이뮤노블롯 분석.

도 17은 인간 암에서의 체세포 AKT 돌연변이를 보여준다. AKT 부류 구성원에서의 체세포 돌연변이. 수평 흑색 바는 AKT 1, 2 및 3에 걸쳐 보존된 잔기를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0010] 상세한 설명

[0011] 최근의 구조적 연구는 억제성 도메인내 상호작용이 AKT 활성화를 조절하는데 있어서 중대한 역할을 수행한다는 것을 나타낸다. 돌연변이 스크리닝을 이용할 때, AKT의 활성화가 PH-키나제 도메인 접촉에 관여하는 잔기에서의 돌연변이로 인한 것일 수 있다고 나타났다. 추가로, 인간 암에서의 신규 돌연변이의 확인이 보고되어 있으며, 이 중 일부는 PH-KD 계면에 있는 잔기를 포함한다.

[0012] 이전에 확인된 돌연변이 E17K 이외에도, 임상 샘플에서 확인된 AKT1 PH 도메인 돌연변이체 L52R 및 키나제 도메인 돌연변이체 D323H는 세포 형질전환을 매개하고, 생체내 종양원성이다. 전장 AKT1의 구조의 검사는, E17, L52 및 D323이 PH-KD 계면에 놓여 있고, 이들 위치에서의 치환이 PH-KD 결합을 교란시키는 것으로 예측됨을 나타낸다. 이와 일치하게, L52R 및 D323H 둘 다가 2-하이브리드 검정에서 PH-KD 결합을 약화시킨다. 이전에, E17K 활성화 메카니즘은 변경된 지질-결합 특이성에 기인한다. 이러한 결과는 도메인내 상호작용의 교란이 E17K 활성화에 근거하는 추가의 메카니즘임을 나타낸다. 종합하면, 이들 발견은 여기서 확인된 AKT1 PH-KD 계면 돌연변이의 종양원성이 도메인내 접촉의 불안성으로부터 기인함을 시사한다.

[0013] AKT를 비롯한 PI3K-AKT 경로 구성원을 표적화하는 억제제는 현재 다양한 단계에서 발전되고 있다. 이전 연구는, AKT 알로스테릭 억제제가 폐쇄된 "PH-인(PH-in)" 입체형태에 우선적으로 결합하기 때문에, 이러한 억제제가 무손상 PH-KD 계면을 요구한다는 것을 나타내었다. 이와 일치하게, 개방 ("PH-아웃(PH-out)") 입체형태를 선호하는 AKT에서의 돌연변이는 ATP-경쟁적 억제제에 대해서는 감수성을 유지하지만, 알로스테릭 AKT 억제제에 대해 감소된 감수성을 나타낸다. 이것은 AKT 돌연변이 상태가 임상에서의 억제제 선택에 대해 중요한 영향을 가짐을 나타낸다. AKT 돌연변이는, 나이브 종양에서 구동자로서 기능할 수 있지만, 또한 AKT 경로의 상류 성분을 표적화하는 작용제에 반응하여 종양을 일으킬 수 있다.

[0014] 특정 실시양태에서, B-Raf 또는 K-Ras 돌연변이의 존재는 음성 예측자이고 (즉, 금기됨), 그러한 환자는 AKT 억제제, 예컨대 GDC-0068을 제공받는 처치군으로부터 선택되어야 한다.

[0015] GDC-0068 및 유사한 ATP 경쟁적 억제제는 활성 Akt를 우선적으로 표적화하고, 탈인산화를 차단함으로써 Akt를 과인산화 상태이지만 불활성인 상태로 고정시킨다. pAkt에서의 증가는 GDC-0068 및 유사한 ATP 경쟁적 억제제의 효과에 대한 약력학적 바이오마커 ("PD 바이오마커")로서 사용될 수 있다.

[0016] 본 발명의 특정 실시양태에서, pGSK-3β 또는 PRAS40은 AKT 억제제, 예컨대 GDC-0068에 대한 약력학적 바이오마커로서 사용될 수 있다. 추가로, 특정 실시양태에서, 화합물, 예컨대 GDC-0068의 적당한 투여량은 PD 바이오마커, 예를 들어 pGSK-3β 또는 PRAS40을 사용하는 AKT 경로의 억제를 기준으로 하여 결정되고 조정될 수 있다 (도 7 참조).

[0017] 또한 GDC-0068 및 유사한 ATP 경쟁적 억제제가 과활성화된 Akt에 대해 더 활성인 것으로 제안된다.

[0018] 활성 Akt의 우선적인 표적화는, Akt 돌연변이, PTEN 손실 (반접합 또는 동형접합), INPP4B 기능 손실, PHLPP 기능 손실, PP2A 기능 손실, PI3K 돌연변이 및 Her2 및/또는 Her3 증폭에 의해 유발되는 것을 비롯한 활성 Akt의 고도의 항정 상태 수준을 갖는 종양에 대한 GDC-0068 및 유사한 ATP 경쟁적 억제제의 치료 지수를 증가시키기 위해 종양유전자 부가와 협력하여 작용할 수 있다.

[0019] GDC-0068 효능은 PTEN 널(null)인 종양 또는 PI3k 돌연변이를 갖는 종양, 예를 들어 전립선암, 유방암 및 난소암에서 예측된다.

[0020] PTEN 손실은, 예를 들어 췌장암에서 MEK 억제제와의 상승작용을 예측하는 바이오마커이다.

[0021] 따라서, GDC-0068 활성은 AKT 경로 활성화와 관련이 있고, 예를 들어 선택적으로 관련이 있다. 이러한 관계에

대한 증거는 세포주 및 이종이식편 연구에서 입증되었다.

[0022] PTEN 손실, PI3K 키나제 도메인 돌연변이 및 고도의 pAKT 수준은, 화학요법 화합물의 조합과의 상가 효과 및 예를 들어 MEK 억제제와의 상승작용 효과를 갖는, 예를 들어 단일 작용제로서의 화합물 활성을 예측하는 중요한 마커이다. 흥미롭게도, MEK 억제제와의 상승작용은 MEK 경로 활성화와 함께 보여진다. 반대로, MEK 경로 (예를 들어, KRAS/BRAF)의 활성화는 단일 작용제 활성 (예를 들어, GDC-0068)에 대해 내성인 마커이다. 화합물 활성, 예를 들어 GDC-0068 활성의 다른 잠재적인 예측자는 RTK 구동된 경로 활성화 (유방암에서의 HER2, 위암에서의 HER2 및 Met), AKT1 E17K 돌연변이, AKT2 증폭, AKT3 과발현 및 PI3K 증폭을 포함한다.

[0023] <표 A>

문헌으로부터의 보고를 기초로 하는, 위암, 전립선암 및 췌장암에 대한 바이오마커의 유병률의 현재 추정치

	위암	CRPC	췌장암
PTEN 손실	40%	75-100%	20-75%
PI3K 돌연변이	8%	2%	
PI3K 증폭	36%		
AKT 증폭	20%		20%
KRAS 돌연변이			90%

[0024]

[0025] 본 명세서를 설명하려는 목적을 위해, 하기 정의가 적용될 것이고, 적절한 경우에는 언제라도, 단수형으로 사용된 용어는 또한 복수형도 포함할 것이고, 그 반대의 경우도 마찬가지이다. 하기 기재된 임의의 정의가 본원에 참고로 포함된 임의의 문헌과 모순되는 경우에는 하기 기재된 정의가 우선한다.

[0026] 본원에서 구별없이 사용되는 바와 같이, 용어 "폴리뉴클레오티드" 또는 "핵산"은 임의의 길이의 뉴클레오티드의 중합체를 지칭하고, DNA 및 RNA를 포함한다. 뉴클레오티드는 데옥시리보뉴클레오티드, 리보뉴클레오티드, 변형된 뉴클레오티드 또는 염기 및/또는 그의 유사체, 또는 DNA 또는 RNA 폴리머라제에 의해 중합체 내로 혼입될 수 있는 임의의 기질일 수 있다. 폴리뉴클레오티드는 변형된 뉴클레오티드, 예컨대 메틸화 뉴클레오티드 및 그의 유사체를 포함할 수 있다. 존재하는 경우에, 뉴클레오티드 구조에 대한 변형은 중합체의 조립 이전 또는 이후에 부여될 수 있다. 뉴클레오티드의 서열에 비-뉴클레오티드 성분이 개재될 수 있다. 폴리뉴클레오티드는, 예컨대 표지 성분과의 접합에 의해, 중합 후에 추가로 변형될 수 있다. 다른 유형의 변형은 예를 들어 "캡(cap)", 1개 이상의 천연 발생 뉴클레오티드의 유사체로의 치환, 뉴클레오티드간 변형, 예컨대 예를 들어 대전되지 않은 연결부 (예를 들어, 메틸 포스포네이트, 포스포트리에스테르, 포스포아미데이트, 카르바메이트 등)를 사용하는 것들 및 대전된 연결부 (예를 들어, 포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트 등)를 사용하는 것들, 펜던트 잔기, 예컨대 예를 들어 단백질 (예를 들어, 뉴클레아제, 독소, 항체, 신호 펩티드, 폴리-L-리신 등)를 함유하는 것들, 삽입제 (예를 들어, 아크리딘, 소랄렌 등)를 사용하는 것들, 킬레이팅제 (예를 들어, 금속, 방사성 금속, 붕소, 산화 금속 등)를 함유하는 것들, 알킬레이터를 함유하는 것들, 변형된 연결부 (예를 들어, 알파 아노머 핵산 등)를 사용하는 것들 뿐만 아니라 비변형된 형태의 폴리뉴클리오티드(들)를 포함한다. 추가로 당 내에 원래 존재하는 임의의 히드록실 기는 예를 들어 포스포네이트 기, 포스페이트 기에 의해 대체되거나, 표준 보호기에 의해 보호되거나, 또는 추가의 뉴클레오티드에 대한 추가의 연결부를 제조하기 위해 활성화될 수 있거나, 또는 고체 지지체에 접합될 수 있다. 5' 및 3' 말단 OH가 인산화되거나, 또는 아민 또는 1개 내지 20개 탄소 원자의 유기 캡핑기 잔기로 치환될 수 있다. 다른 히드록실이 또한 표준 보호기로 유도체화될 수 있다. 폴리뉴클레오티드는 또한 일반적으로 당업계에 공지된 리보스 또는 데옥시리보스 당의 유사한 형태, 예를 들어 2'-O-메틸-2'-O-알릴, 2'-플루오로- 또는 2'-아지도-리보스, 카르보시클릭 당 유사체, α-아노머 당, 에피머 당, 예컨대 아라비노스, 크실로스 또는 릭소스, 피라노스 당, 푸라노스 당, 세도헵툴로스, 비-시클릭 유사체 및 비-염기성 뉴클레오시드 유사체, 예컨대 메틸 리보시드를 함유할 수 있다. 1개 이상의 포스포디에스테르 연결부는 대안적인 연결 기로 대체될 수 있다. 이들 대안적인 연결 기는 포스페이트가 P(O)S ("티오에이트"), P(S)S ("디티오에이트"), (O)NR2 ("아미데이트"), P(O)R, P(O)OR', CO 또는 CH2 ("포름아세탈")로 대체된 실시양태를 포함하지만 이에 제한되지 않으며, 여기서 각각의 R 또는 R'는 독립적으로 H, 또는 에테르 (--O--) 연결부를 임의로 함유하는 치환 또는 비치환된 알킬 (1-20 C), 아릴, 알케닐, 시클로알킬, 시클로알케닐 또는 아르알킬이다. 폴리뉴클레오티드 내의 모든 연결부가 동일할 필요는 없다. 상기 기재는 RNA 및 DNA를 비롯하여 본원에서 언급된 모든 폴리뉴클레오티드에 적용된다.

[0027] 본원에서 사용된 바와 같이, "올리고뉴클레오티드"는 적어도 약 7개 뉴클레오티드 길이 및 약 250개 미만의 뉴클레오티드 길이의 짧은 단일 가닥 폴리뉴클레오티드를 지칭한다. 올리고뉴클레오티드는 합성된 것일 수 있다. 용어 "올리고뉴클레오티드" 및 "폴리뉴클레오티드"는 상호 배타적이지 않다. 폴리뉴클레오티드에 대한 상기 기재는 올리고뉴클레오티드에 대해 동일하고 완전하게 적용가능하다.

[0028] 용어 "프라이머"는, 핵산에 혼성화하고, 일반적으로 유리 3'-OH 기를 제공함으로써 상보적 핵산의 중합을 허용할 수 있는 단일 가닥 폴리뉴클레오티드를 지칭한다.

[0029] 용어 "뉴클레오티드 변이"는 참조 서열 (예를 들어, 야생형 서열)에 대한 뉴클레오티드 서열의 변화 (예를 들어, 1개 이상의 뉴클레오티드의 삽입, 결실, 역위 또는 치환, 예컨대 단일 뉴클레오티드 다형성 (SNP))를 지칭한다. 이 용어는 또한 달리 나타내지 않는다면, 뉴클레오티드 서열의 보체에서의 상응하는 변화도 포함한다. 뉴클레오티드 변이는 체세포 돌연변이 또는 배선 다형성일 수 있다.

[0030] 용어 "아미노산 변이"는 참조 서열 (예를 들어, 야생형 서열)에 비해 아미노산 서열의 변화 (예를 들어, 1개 이상의 아미노산의 삽입, 치환 또는 결실, 예컨대 내부 결실 또는 N- 또는 C-말단의 말단절단(truncation))를 지칭한다.

[0031] 용어 "검출"은 직접 및 간접 검출을 비롯한 임의의 검출 수단을 포함한다.

[0032] 용어 "진단"은 분자 또는 병리적 상태, 질환 또는 상태의 확인 또는 분류를 지칭하기 위해 본원에서 사용된다. 예를 들어, "진단"은 특정 유형의 암, 예를 들어 폐암의 확인을 지칭할 수 있다. "진단"은 또한 조직학에 의한 (예를 들어, 비소세포 폐 암종), 분자 특징에 의한 (예를 들어, 특정 유전자 또는 단백질에서 뉴클레오티드 및/또는 아미노산 변이(들)를 특징으로 하는 폐암), 또는 둘 다에 의한, 특정 유형의 암의 분류를 지칭할 수 있다.

[0033] 용어 "예후"는 본원에서 암-기인의 사망 또는 진행, 예를 들어 신생물성 질환, 예컨대 암의 재발, 전이성 확산 및 약물 내성의 가능성에 대한 예측을 지칭하는데 사용된다.

[0034] 용어 "예측" 또는 (및 변형 표현, 예를 들어 예측하는)은 본원에서 환자가 약물 또는 약물 세트에 대해 유리하게 또는 불리하게 반응할 가능성을 지칭하는데 사용된다. 한 실시양태에서, 예측은 이러한 반응의 정도에 관한 것이다. 또 다른 실시양태에서, 예측은 환자가 처치 후, 예를 들어 특정한 치료제의 처치 및/또는 원발성 종양의 수술적 제거 및/또는 특정 기간 동안의 화학요법 후에 암 재발 없이 생존할 지의 여부 및/또는 그러할 확률에 관한 것이다. 본 발명의 예측 방법은 임의의 특정 환자에 대한 가장 적절한 치료 방식을 선택함으로써 치료를 결정하는데 임상적으로 사용될 수 있다. 본 발명의 예측 방법은 환자가 치료 처치, 예컨대 주어진 치료적 처치, 예를 들어 주어진 치료제 또는 조합물의 투여, 수술적 개입, 화학요법 등에 유리하게 반응할 것인지 또는 치료적 처치 후에 환자의 장기 생존이 가능한 지의 여부를 예측하는데 있어서 유용한 도구이다.

[0035] 용어 "세포 증식 장애" 및 "증식 장애"는 측정가능한 정도의 비정상적인 세포 증식과 관련이 있는 장애를 지칭한다. 한 실시양태에서, 세포 증식 장애는 암이다.

[0036] 본원에서 사용된 바와 같이, "종양"은 모든 신생물성 세포 성장 및 증식 (악성이든 양성이든) 및 모든 전암성 및 암성 세포 및 조직을 지칭한다. 용어 "암", "암성", "세포 증식 장애", "증식 장애" 및 "종양"은 본원에서 지칭되는 바와 같이 상호 배타적이지 않다.

[0037] 용어 "암" 및 "암성"은 조절되지 않는 세포 성장 및 증식을 전형적인 특징으로 하는 포유동물에서의 생리적 상태를 지칭하거나 또는 기재한다. 암의 예는 암종, 림프종 (예를 들어, 호지킨 및 비-호지킨 림프종), 모세포종, 육종 및 백혈병을 포함하지만 이에 제한되지는 않는다. 암의 보다 특별한 예는 편평 세포암, 소세포 폐암, 비-소세포 폐암, 폐의 선암, 폐의 편평 상피종, 복막암, 간세포암, 신세포 암종, 위장암, 위암, 식도암, 췌장암, 신경교종, 자궁경부암, 난소암, 간암, 방광암, 간종양, 유방암 (예를 들어, 내분비 내성 유방암), 결장암, 직장암, 폐암, 자궁내막 또는 자궁 암종, 침샘 암종, 신장암, 간암, 전립선암, 외음부암, 갑상선암, 간 암종, 흑색종, 백혈병 및 다른 림프구증식 장애, 및 다양한 유형의 두경부암을 포함한다.

[0038] 용어 "폐 종양"은 소-세포 폐 암종 및 비-소세포 폐 암종 (후자는 선암, 편평 상피암 및 대세포 암종을 포함하나 이에 제한되지는 않음)을 포함하나 이에 제한되지는 않는 임의의 폐의 종양을 지칭한다.

[0039] 용어 "신생물" 또는 "신생물성 세포"는 상응하는 정상 조직 또는 세포보다 더 신속하게 증식하고 성장을 개시했던 자극을 제거한 후에도 계속 성장하는 비정상적인 조직 또는 세포를 지칭한다.

[0040] "폐 종양 세포"는 생체내 또는 시험관내 폐 종양 세포를 지칭하고, 원발성 폐 종양 또는 전이성 폐 종양으로부터 유래된 세포 뿐만 아니라 이러한 세포로부터 유래된 세포주를 포함한다.

[0041] 본원에 사용된 바와 같이, "치료" (및 "치료하다" 또는 "치료하는"과 같은 변형된 표현)는 치료할 개체 또는 세포의 자연적 과정을 변경시키려는 시도의 임상적 개입을 지칭하고, 예방을 위해 또는 임상 병리학 과정 동안 수행될 수 있다. 바람직한 치료 효과는 질환의 발생 또는 재발 방지, 증상의 호전, 질환의 임의의 직접 또는 간접적인 병리적 결과의 축소, 전이의 예방, 질환 질행 속도의 감소, 질환 상태의 호전 또는 완화, 및 차도 또는 개선된 예후를 포함한다.

[0042] "개체", "대상체" 또는 "환자"는 척추동물이다. 특정 실시양태에서, 척추동물은 포유동물이다. 포유동물은 가축 (예를 들어, 소), 스포츠 동물, 애완동물 (예를 들어, 고양이, 개, 및 말), 영장류 (인간 및 비-인간 영장류 포함), 및 설치류 (예를 들어, 마우스 및 래트)를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 특정 실시양태에서, 포유동물은 인간이고, 남성 또는 여성 인간일 수 있다.

[0043] "유효량"은 원하는 치료 또는 예방 결과 달성에 필요한 투여량에서 이러한 기간 동안 효과적인 양을 지칭한다.

[0044] 본 발명의 물질/분자의 "치료 유효량"은 개체의 질환 상태, 연령, 성별 및 체중, 및 개체에서 원하는 반응을 유발하는 물질/분자의 능력과 같은 인자에 따라 달라질 수 있다. 치료 유효량은 물질/분자의 임의의 독성 또는 유해한 효과를 치료상 유익한 효과가 능가하는 양을 포함한다. "예방 유효량"은 원하는 예방 결과 달성에 필요한 투여량에서 이러한 기간 동안 효과적인 양을 지칭한다. 전형적으로, 예방 용량은 질환의 보다 초기 단계 이전 또는 보다 초기 단계의 대상체에서 사용되기 때문에 예방 유효량은 치료 유효량보다 적을 것이지만 반드시 그러한 것은 아니다.

[0045] 용어 "장기" 생존은 본원에서 치료적 처치 후 적어도 1년, 5년, 8년 또는 10년 동안의 생존을 지칭하는데 사용된다.

[0046] 특정 치료제 또는 치료 옵션에 대한 용어 "내성 증가"가 본 발명에 따라 사용되는 경우, 이는 표준 용량의 약물 또는 표준 치료 프로토콜에 대한 반응 감소를 의미한다.

[0047] 특정 치료제 또는 치료 옵션에 대한 용어 "감수성 감소"가 본 발명에 따라 사용되는 경우, 이는 표준 용량의 작용제 또는 표준 치료 프로토콜에 대한 반응 감소를 의미하고, 여기서 반응 감소는 작용제의 용량을 증가시키거나 치료 강도를 증가시킴으로써 (적어도 부분적으로) 보상될 수 있다.

[0048] "환자 반응"은 (1) 종양 성장의 어느 정도까지의 억제, 예를 들어 저속화 및 완전한 성장 정지, (2) 종양 세포의 수 감소, (3) 종양 크기의 감소, (4) 인접한 말초 장기 및/또는 조직으로의 종양 세포 침윤의 억제 (즉, 감소, 저속화 또는 완전한 정지), (5) 전이의 억제 (즉, 감소, 저속화 또는 완전한 정지), (6) 종양의 퇴행 또는 거부를 야기할 수 있으나 반드시 그러한 것은 아닌, 항종양 면역 반응의 증진, (7) 종양과 관련된 하나 이상의 증상의 어느 정도까지의 경감, (8) 치료 후 생존 기간의 증가, 및/또는 (9) 치료 후 주어진 시점에서의 사망률 감소를 포함하지만 이에 제한되지 않는, 환자에 대한 이점을 나타내는 임의의 종점을 이용하여 평가할 수 있다.

[0049] "항체" (Ab) 및 "이뮤노글로불린" (Ig)은 유사한 구조적 특징을 갖는 당단백질을 지칭한다. 항체는 특정 항원에 대해 결합 특이성을 나타내지만, 이뮤노글로불린은 항체, 및 일반적으로 항원 특이성이 결여된 다른 항체 유사 분자 둘 다를 포함한다. 후자 종류의 폴리펩티드는 예를 들어 림프계에 의해 낮은 수준으로, 골수종에 의해 증가된 수준으로 생성된다.

[0050] 용어 "항체" 및 "이뮤노글로불린"은 가장 넓은 의미로 구별없이 사용되고, 모노클로날 항체 (예를 들어, 전장 또는 무손상 모노클로날 항체), 폴리클로날 항체, 1가 항체, 다가 항체, 다중특이적 항체 (예를 들어, 원하는 생물학적 활성을 나타내는 한은 이중특이적 항체)를 포함하고, 또한 특정 항체 단편 (본원에 보다 상세히 기재된 바와 같음)도 포함할 수 있다. 항체는 키메라, 인간, 인간화 및/또는 친화도 성숙 항체일 수 있다.

[0051] "FOXO3a"는 PI3K/AKT 키나제 신호전달 경로의 하류 표적인 포크헤드/윙드 헬릭스 박스 클래스 O 단백질을 지칭한다. 활성화된 AKT 키나제는 인산화를 통해 FOXO3a의 활성을 직접적으로 제어하여, 세포질로의 그의 전좌를 일으키며, 여기서 이는 14-3-3 샤페론 단백질에 의해 격리된다. PI3K/AKT 키나제의 억제는 FOXO3a의 탈인산화 및 핵 국소화를 일으켜, 그의 활성화를 유발한다. FOXO3a의 핵 국소화는, 이것이 전사 인자의 역할을 하여 그의 핵심 표적 유전자, 예컨대 p27Kip1 및 Bim의 상향조절을 통해 세포 주기 정지 및/또는 세포자멸을 유도할 수

있도록 한다.

[0052] "국소화 프로파일"은 제2 위치에서의 양과 비교한, 한 위치에서의 주어진 분자의 양을 지칭한다. 한 예에서, FOXO3a 국소화 프로파일은 세포 세포질의 양과 비교한 세포 핵에서의 FOXO3a의 양을 지칭한다. 국소화 프로파일은 비율 (예를 들어, 핵에서의 FOXO3a의 양 / 세포질에서의 FOXO3a의 양) 또는 차이 (예를 들어, 핵에서의 FOXO3a의 양 - 세포질에서의 FOXO3a의 양)에 의해 표현될 수 있다. "핵 국소화 프로파일"은 세포질에서보다 핵에서 실질적으로 더 높은 FOXO3a 수준을 갖는 것으로 결정된 국소화 프로파일을 지칭한다. 한 예에서, 핵 국소화 프로파일은 세포질에서보다 핵에서 약 50% 초과의 FOXO3a를 갖는다. 다른 예에서, 핵 국소화 프로파일은 세포질에서보다 핵에서 약 70% 초과, 대안적으로 약 80% 초과, 대안적으로 약 90% 초과의 FOXO3a를 갖는다. "세포질 국소화 프로파일"은 핵에서보다 세포질에서 실질적으로 더 높은 FOXO3a 수준을 갖는 것으로 결정된 국소화 프로파일을 지칭한다. 한 예에서, 세포질 국소화 프로파일은 핵에서보다 세포질에서 약 50% 초과의 FOXO3a를 갖는다. 다른 예에서, 세포질 국소화 프로파일은 핵에서보다 세포질에서 약 70% 초과, 대안적으로 약 80% 초과, 대안적으로 약 90% 초과의 FOXO3a를 갖는다.

[0053] 따라서, 한 측면은 종양 세포에서 FOXO3a의 국소화 프로파일을 결정하는 것을 포함하며, 여기서 FOXO3a의 세포질 국소화 프로파일은 AKT 키나제 억제제에 의한 억제에 대한 감수성과 상관관계가 있고, FOXO3a의 핵 국소화 프로파일은 AKT 키나제 억제제에 의한 억제에 대한 내성와 상관관계가 있는 것인, AKT 키나제 경로 억제제에 의한 억제에 대한 종양 세포 성장의 감수성을 예측하는 방법을 포함한다.

[0054] "pAKT 프로파일"은 주어진 샘플에서 비-활성화되거나 비-인산화된 AKT의 수준과 비교한 AKT의 활성화 또는 인산화 ("pAKT")의 수준을 지칭한다. 한 예에서, 샘플은 종양 세포이다. pAKT 프로파일은 비율 (예를 들어, 종양 세포에서의 pAKT의 양 / 상기 세포 또는 동일 유형의 비-종양성 세포에서의 비-인산화된 AKT의 양) 또는 차이 (예를 들어, 종양 세포에서의 pAKT의 양 - 상기 세포 또는 동일 유형의 비-종양성 세포에서의 비-인산화된 AKT의 양)에 의해 표현될 수 있다. pAKT 프로파일은 또한 AKT (예를 들어, pGSK 또는 PRAS40)의 인산화된 하류 표적의 양을 측정함으로써 경로의 활성화의 수준에 의해 표현될 수 있다. "높은 pAKT 프로파일"은 기준선 값보다 높은 샘플에서의 전체 AKT의 활성화 또는 인산화 수준을 지칭한다. 한 예에서, 기준선 값은 주어진 세포 유형에 대한 pAKT의 기저 수준이다. 또 다른 예에서, 기준선 값은 샘플 세포의 주어진 집단에서의 pAKT의 평균 또는 중간 수준이다. 또 다른 예에서, "높은 pAKT 프로파일"은 동일한 포유동물 또는 환자 집단으로부터의 동일 유형의 정상적인 건강한 (예를 들어, 비-종양성) 세포의 평균과 비교시, 세포에서 증폭된 인산화된 또는 활성화된 AKT를 갖거나 또는 이를 과다발현하는 종양 세포를 지칭한다. 높은 pAKT 프로파일이 AKT 억제제, 예를 들어 GDC-0068에 대한 감수성을 예측함을 입증하는 예가 도 9에 나타나 있다. pAKT 프로파일은 또한 특정 AKT 억제제의 효능을 예측하기 위한 다른 마커 (예를 들어, PTEN 손실, PI3K, Kras 또는 Braf 키나제에 대한 돌연변이, 또는 FOXO3 국소화 프로파일)와 함께 사용될 수 있다.

[0055] AKT 활성화 수준 및 샘플 내 pAKT 양의 측정 방법은 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 면역침전 검정, 예컨대 AKT 활성 검정 키트 (압캄(Abcam)®으로부터 입수가능, 캘리포니아주 샌프란시스코)가 이용될 수 있다. 또 다른 예에서, 웨스턴 블롯 검정, 예컨대 AKT 웨스턴 블롯 검정 키트 (셀 시그널링 테크놀로지(Cell Signaling Technology)로부터 입수 가능, 매사추세츠주 댄버스)가 이용될 수 있다. pAKT 수준에 대해 공지된 다른 검정 포맷은 화학발광-연계 면역흡착 검정을 포함하며, 문헌 [Cicenas, J, et al., "Increased level of phosphorylated akt measured by chemiluminescence-linked immunosorbent assay is a predictor of poor prognosis in primary breast cancer overexpressing ErbB-2," Breast Can. Res., 7(4), R394, 2005]을 참조한다. 이용될 수 있는 다른 검정, 예를 들어 알파스크린 슈어파이어(AlphaScreen SureFire) Akt 1 (p-Thr308) 검정 키트 (퍼킨 엘머로부터 입수 가능, 매사추세츠주 월섬)가 이용 가능하다.

[0056] PI3K 돌연변이의 존재를 결정하는 방법은 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 실시간 PCR을 이용한 PIK3CA 유전자의 특이적 돌연변이 (엑손 9 및 20에서의, 및 또한 H1047R 또는 H1047L 돌연변이)의 검출을 위한 검정이 공지되어 있다 (퀴아젠(Qiagen, 캘리포니아주 발렌시아)으로부터 입수가능).

[0057] 핵산은, 예를 들어 게놈 DNA, 게놈 DNA로부터 전사된 RNA, 또는 RNA로부터 생성된 cDNA일 수 있다. 핵산은 척추동물, 예를 들어 포유동물로부터 유래될 수 있다. 핵산은 특정 공급원으로부터 직접 얻거나 특정 공급원에서 발견되는 핵산의 카피일 경우 상기 공급원으로부터 "유래된" 것으로 언급된다.

[0058] 핵산 및 아미노산 서열에서의 변이는 당업자에게 공지되어 있는 특정 방법에 의해 검출될 수 있다. 이러한 방법은 DNA 서열분석; 대립유전자-특이적 뉴클레오티드 혼입 검정 및 대립유전자-특이적 프라이머 연장 검정 (예를 들어, 대립유전자-특이적 PCR, 대립유전자-특이적 라이게이션 연쇄 반응 (LCR) 및 갭-LCR)을 비롯한 프라이

머 연장 검정; 대립유전자-특이적 올리고뉴클레오티드 혼성화 검정 (예를 들어, 올리고뉴클레오티드 라이게이션 검정); 절단제로부터의 보호를 이용하여 핵산 이중나선 내의 미스매치된 염기를 검출하는 절단 보호 검정; MutS 단백질 결합 분석; 변이체 및 야생형 핵산 분자의 이동성을 비교하는 전기영동 분석; 변성-구배 겔 전기영동 (DGGE, 예를 들어 문헌 [Myers et al. (1985) Nature 313:495]에서와 같음); 미스매치된 염기 쌍에서의 RNase 절단의 분석; 헤테로이중나선 DNA의 화학적 또는 효소적 절단의 분석; 질량 분광측정법 (예를 들어, MALDI-TOF); 유전적 비트 분석 (GBA); 5' 뉴클레아제 검정 (예를 들어, 택맨(TaqMan)®); 및 분자 비콘을 사용하는 검정을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 상기 특정 방법은 하기에서 추가로 상세히 논의된다.

[0059] 표적 핵산에서 변이의 검출은 당업계에 널리 공지되어 있는 기술을 이용하여 표적 핵산의 분자 클로닝 및 서열 분석에 의해 수행될 수 있다. 대안적으로, 증폭 기술, 예를 들어 폴리머라제 연쇄 반응 (PCR)을 이용하여 종양 조직으로부터의 게놈 DNA 표본으로부터 직접 표적 핵산 서열을 증폭시킬 수 있다. 이어서, 증폭된 서열의 핵산 서열이 결정되고, 변이가 그로부터 확인될 수 있다. 증폭 기술은 당업계에 널리 공지되어 있으며, 예를 들어 문헌 [Saiki et al., Science 239:487, 1988]; 미국 특허 제4,683,203호 및 제4,683,195호에 폴리머라제 연쇄 반응이 기재되어 있다.

[0060] 당업계에 공지되어 있는 리가제 연쇄 반응을 또한 표적 핵산 서열을 증폭시키는데 이용할 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Wu et al., Genomics 4:560-569 (1989)]을 참조한다. 또한, 대립유전자-특이적 PCR로 공지된 기술은 또한 변이 (예를 들어, 치환)를 검출하는데 이용될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Ruano and Kidd (1989) Nucleic Acids Research 17:8392]; [McClay et al. (2002) Analytical Biochem. 301:200-206]을 참조한다. 상기 기술의 특정 실시양태에서, 프라이머의 3' 말단 뉴클레오티드가 표적 핵산 내의 특정 변이에 상보적인 (즉, 특이적으로 염기쌍을 형성할 수 있는) 대립유전자-특이적 프라이머가 사용된다. 특정 변이가 존재하지 않으면, 증폭 생성물은 관찰되지 않는다. 또한, 변이 (예를 들어, 치환)를 검출하기 위해 증폭 불응성 돌연변이 시스템 (ARMS)도 사용될 수 있다. ARMS는 예를 들어 유럽 특허 출원 공개 제0332435호 및 문헌 [Newton et al., Nucleic Acids Research, 17:7, 1989]에 기재되어 있다.

[0061] 변이 (예를 들어, 치환)을 검출하는데 유용한 다른 방법은 (1) 대립유전자-특이적 뉴클레오티드 혼입 검정, 예컨대 단일 염기 확장 검정 (예를 들어, 문헌 [Chen et al. (2000) Genome Res. 10:549-557]; [Fan et al. (2000) Genome Res. 10:853-860]; [Pastinen et al. (1997) Genome Res. 7:606-614]; 및 [Ye et al. (2001) Hum. Mut. 17:305-316] 참조); (2) 대립유전자-특이적 프라이머 연장 검정 (예를 들어, 문헌 [Ye et al. (2001) Hum. Mut. 17:305-316]; 및 [Shen et al., Genetic Engineering News, vol. 23, Mar. 15, 2003] 참조), 예를 들어 대립유전자-특이적 PCR; (3) 5' 뉴클레아제 검정 (예를 들어, 문헌 [De La Vega et al. (2002) BioTechniques 32:S48-S54] (택맨® 검정 기재); [Ranade et al. (2001) Genome Res. 11:1262-1268]; 및 [Shi (2001) Clin. Chem. 47:164-172] 참조); (4) 분자 비콘을 사용하는 검정 (예를 들어, 문헌 [Tyagi et al. (1998) Nature Biotech. 16:49-53]; 및 [Mhlanga et al. (2001) Methods 25:463-71] 참조); 및 (5) 올리고뉴클레오티드 라이게이션 검정 (예를 들어, 문헌 [Grossman et al. (1994) Nuc. Acids Res. 22:4527-4534]; 특허 출원 공개 제US 2003/0119004 A1호; PCT 국제 공개 제WO 01/92579 A2호; 및 미국 특허 제6,027,889호 참조)을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0062] 또한, 변이는 미스매치 검출 방법에 의해 검출될 수 있다. 미스매치는 100% 상보적이 아닌, 혼성화된 핵산 이중나선이다. 전체 상보성의 결여는 결실, 삽입, 반전, 또는 치환 때문일 수 있다. 미스매치 검출 방법의 한 예는, 예를 들어 문헌 [Faham et al., Proc. Natl Acad. Sci. USA 102:14717-14722 (2005)] 및 [Faham et al., Hum. Mol. Genet. 10:1657-1664 (2001)]에 기재된 미스매치 복구 검출 (MRD) 검정이다. 미스매치 절단 기술의 또 다른 예는 RNase 보호 방법이고, 이는 문헌 [Winter et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82:7575, 1985], 및 [Myers et al., Science 230:1242, 1985]에 상세하게 기재되어 있다. 예를 들어, 본 발명의 방법은 인간 야생형 표적 핵산에 상보성인 표지된 리보프로브의 사용을 수반할 수 있다. 리보프로브 및 조직 샘플로부터 유래된 표적 핵산은 함께 어닐링 (혼성화)된 후, 이중나선 RNA 구조에서 일부 미스매치를 검출할 수 있는 효소 RNase A로 소화된다. 미스매치가 RNase A에 의해 검출되면, 이 미스매치의 부위에서 절단한다. 따라서, 어닐링된 RNA 표본을 전기영동 겔 매트릭스 상에서 분리시킬 때, 미스매치가 RNase A에 의해 검출되어 절단되면, 리보프로브 및 mRNA 또는 DNA에 대해 전장 이중나선 RNA보다 작은 RNA 생성물이 관찰될 것이다. 리보프로브는 전장 표적 핵산일 필요는 없고, 변이를 갖는 것으로 의심되는 위치를 포함한다면 표적 핵산의 일부일 수 있다.

[0063] 유사한 방식으로, DNA 프로브를 사용하여, 예를 들어 효소적 또는 화학적 절단을 통해, 미스매치를 검출할 수

있다. 예를 들어, 문헌 [Cotton et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85:4397, 1988]; 및 [Shenk et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 72:989, 1975]을 참조한다. 대안적으로, 미스매치는 매치된 이중나선과 비교한 미스매치된 이중나선의 전기영동 이동성의 변화에 의해 검출될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Cariello, Human Genetics, 42:726, 1988]을 참조한다. 리보프로브 또는 DNA 프로브를 사용하여, 변이를 포함하는 것으로 의심되는 표적 핵산을 혼성화 전에 증폭시킬 수 있다. 또한, 표적 핵산 내의 변화는, 특히 변화가 육안 재배열, 예를 들어 결실 및 삽입일 경우에 써던 혼성화를 이용하여 검출될 수 있다.

[0064] 표적 핵산에 대한 제한 단편 길이 다형성 (RFLP) 프로브 또는 주위 마커 유전자를 사용하여 변이, 예를 들어 삽입 또는 결실을 검출할 수 있다. 또한, 삽입 및 결실은 표적 핵산의 클로닝, 서열분석 및 증폭에 의해 검출할 수 있다. 또한, 단일 가닥 형태 다형성 (SSCP) 분석을 이용하여 대립유전자의 염기 변화 변이체를 검출할 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Orita et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:2766-2770, 1989] 및 [Genomics, 5:874-879, 1989]을 참조한다.

[0065] 본 발명은 또한 본 발명의 방법의 수행에 사용하기에 적합한 다양한 조성물을 제공한다. 예를 들어, 본 발명은 이러한 방법에 사용될 수 있는 어레이를 제공한다. 한 실시양태에서, 본 발명의 어레이는 변이를 검출하는데 유용한 개별적 핵산 분자 또는 그의 컬렉션을 포함한다. 예를 들어, 본 발명의 어레이는 일련의 별개로 배치된 개별적인 대립유전자-특이적 올리고뉴클레오티드 또는 대립유전자 특이적 올리고뉴클레오티드의 세트를 포함할 수 있다. 핵산을 고체 기판, 예를 들어 유리 슬라이드에 부착시키기 위한 몇몇 기술이 당업계에 널리 공지되어 있다. 한 방법은 고체 기판에 부착시킬 수 있는 반응성 잔기, 예컨대 아민 기, 아민 기의 유도체, 또는 양전하를 갖는 또 다른 기를 함유하는 변형된 염기 또는 유사체를 합성되는 핵산 분자 내로 혼입시키는 것이다. 이어서, 합성된 생성물을 알데히드 또는 다른 반응성 기로 코팅된 고체 기판, 예컨대 유리 슬라이드와 접촉시킨다. 알데히드 또는 다른 반응성 기는 유리 슬라이드에 공유 부착되는 증폭 생성물 상의 반응성 잔기와 공유 연결을 형성할 것이다. 아미노 프로필 실리칸 표면 화학을 이용하는 것과 같은 다른 방법도 당업계에 공지되어 있다.

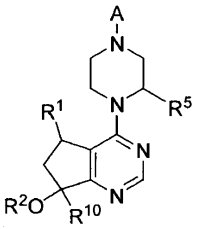
[0066] 임의의 상기 방법에 따른 생물학적 샘플은 당업자에게 공지된 특정 방법을 이용하여 얻을 수 있다. 생물학적 샘플은 척추동물, 특히 포유동물로부터 얻을 수 있다. 조직 생검은 종양 조직의 대표적인 조각을 얻기 위해 종종 사용된다. 대안적으로, 종양 세포는 관심 종양 세포를 함유하는 것으로 공지되어 있거나 그렇게 여겨지는 조직 또는 유체의 형태로 간접적으로 얻을 수 있다. 예를 들어, 폐암 병변의 샘플은 절제, 기관지경검사, 미세바늘 흡인, 기관지 찰과술에 의해, 또는 가래, 흉수 또는 혈액으로부터 얻을 수 있다. 표적 핵산 (또는 코딩된 폴리펩티드)에서의 변이는 종양 샘플로부터, 또는 소변, 침 또는 혈청과 같은 다른 신체 샘플로부터 검출될 수 있다. 암 세포가 종양으로부터 떨어져 나와 이러한 신체 샘플 내에서 나타난다. 상기 신체 샘플을 스크리닝함으로써, 간단한 조기 진단이 암과 같은 질환에 대해 수행될 수 있다. 또한, 요법의 진행은 표적 핵산 (또는 코딩된 폴리펩티드)에서의 변이에 대해 상기 신체 샘플을 시험함으로써 보다 용이하게 모니터링할 수 있다. 추가로, 종양 세포에 대해 조직 표본을 풍부화시키는 방법이 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 조직을 파라핀 또는 동결 절편으로부터 단리할 수 있다. 또한, 암 세포는 유동 세포계측 또는 레이저 포획 미세절제에 의해 정상적인 세포로부터 분리될 수 있다.

[0067] AKT 키나제 억제제

[0068] 특정 AKT 키나제 억제제는 AKT의 활성 부위와의 결합에 대해 ATP와 경쟁하는 능력이 있어서 ATP-경쟁적 억제제로 공지되어 있다. 알로스테릭 억제제로 공지된 특정 AKT 키나제 억제제는 AKT의 활성 부위에 결합하지 않는다. 또한, AKT 키나제 억제제는 pan-AKT 억제제일 수 있고, 상기 억제제는 AKT-1, AKT-2 및 AKT-3 중 2종 이상의 활성을 억제할 수 있다. AKT 키나제 억제제는 선택적 AKT 억제제일 수 있고, 상기 억제제는 AKT-1, AKT-2 및 AKT-3 중 1종의 활성은 억제할 수 있으나 다른 2종의 활성은 억제하지 않는다.

[0069] 한 실시양태에서, AKT 키나제 억제제는 ATP-경쟁적 억제제이다. 또 다른 실시양태에서, ATP-경쟁적 억제제는 pan-AKT 억제제이다. 예를 들어, 특정 실시양태에서, AKT 억제제는 하기 화학식 I의 ATP-경쟁적인 pan-AKT 억제제, 및 그의 호변이성질체, 분할된 거울상이성질체, 분할된 부분입체이성질체, 용매화물 및 염이다:

[0070] <화학식 I>

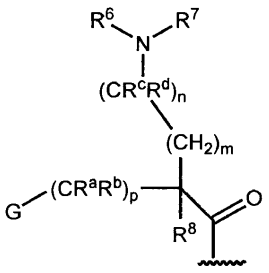
[0071] 

[0072] 상기 식에서,

[0073] R^1은 H, Me, Et 및 CF_3이고;

[0074] R^2는 H 또는 Me이고;

[0075] R^5는 H 또는 Me이고;

[0076] A는  이고;

[0077] 여기서,

[0078] G는 1개 내지 4개의 R^9기에 의해 임의로 치환된 페닐 또는 할로겐에 의해 임의로 치환된 5원 또는 6원 헤테로아릴이고;

[0079] R^6 및 R^7은 독립적으로 H, OCH_3, (C_3-C_6 시클로알킬)-(CH_2), (C_3-C_6 시클로알킬)-(CH_2CH_2), V-$(CH_2)_{0-1}$ (여기서, V는 5원 또는 6원 헤테로아릴임), W-$(CH_2)_{1-2}$ (여기서, W는 F, Cl, Br, I, OMe, CF_3 또는 Me로 임의로 치환된 페닐임), C_1-C_3 알킬 또는 O(C_1-C_3 알킬)로 임의로 치환된 C_3-C_6-시클로알킬, 히드록시-(C_3-C_6-시클로알킬), 플루오로-(C_3-C_6-시클로알킬), CH(CH_3)CH(OH)페닐, F, OH, C_1-C_3 알킬, 시클로프로필메틸 또는 C(=O)(C_1-C_3 알킬)로 임의로 치환된 4원 내지 6원 헤테로사이클, 또는 OH, 옥소, O(C_1-C_6-알킬), CN, F, NH_2, NH(C_1-C_6-알킬), N(C_1-C_6-알킬)$_2$, 시클로프로필, 페닐, 이미다졸릴, 피페리디닐, 피롤리디닐, 모르폴리닐, 테트라히드로푸라닐, 옥세타닐 또는 테트라히드로피라닐로부터 독립적으로 선택된 1개 이상의 기로 임의로 치환된 C_1-C_6-알킬이거나, 또는 R^6 및 R^7이 이것들이 부착된 질소와 함께 OH, 할로겐, 옥소, CF_3, CH_2CF_3, CH_2CH_2OH, O(C_1-C_3 alkyl), C(=O)CH_3, NH_2, NHMe, N(Me)$_2$, S(O)$_2CH_3$, 시클로프로필메틸 및 C_1-C_3 알킬로부터 독립적으로 선택된 1개 이상의 기로 임의로 치환된 4원 내지 7원 헤테로시클릭 고리를 형성하고;

[0080] R^a 및 R^b는 H이거나, 또는 R^a가 H이고, R^b 및 R^6이 이것들이 부착된 원자와 함께 1개 또는 2개의 고리 질소 원자를 갖는 5원 또는 6원 헤테로시클릭 고리를 형성하고;

[0081] R^c 및 R^d는 H 또는 Me이거나, 또는 R^c 및 R^d가 이것들이 부착된 원자와 함께 시클로프로필 고리를 형성하고;

[0082] R^8은 H, Me, F 또는 OH이거나, 또는 R^8 및 R^6이 이것들이 부착된 원자와 함께 1개 또는 2개의 고리 질소 원자를 갖는 5원 또는 6원 헤테로시클릭 고리 형성하고;

[0083] 각각의 R^9는 독립적으로 할로겐, C_1-C_6-알킬, C_3-C_6-시클로알킬, O-(C_1-C_6-알킬), CF_3, OCF_3, S(C_1-C_6-알킬), CN, OCH_2-페닐, CH_2O-페닐, NH_2, NH-(C_1-C_6-알킬), N-(C_1-C_6-알킬)$_2$, 피페리딘, 피롤리딘, CH_2F, CHF_2, OCH_2F, $OCHF_2$,

OH, $SO_2(C_1-C_6-$알킬), $C(O)NH_2$, $C(O)NH(C_1-C_6-$알킬) 또는 $C(O)N(C_1-C_6-$알킬$)_2$이고;

[0084] R^{10}은 H 또는 Me이며;

[0085] m, n 및 p는 독립적으로 0 또는 1이다.

[0086] 또 다른 실시양태는 R^1이 메틸이고, R^2, R^5 및 R^{10}이 H이고, G가 1개 내지 3개의 R^9로 임의로 치환된 페닐이고, R^9가 할로겐, C_1-C_3 알킬, CN, CF_3, OCF_3, OCH_3 또는 OCH_2페닐이고, R_c 및 R_d가 H 또는 메틸이고, m, n 및 p가 0 또는 1이며, R^8이 H 또는 메틸인 화학식 I의 AKT 억제제를 포함한다.

[0087] 또 다른 실시양태는 하기로부터 선택된 화학식 I의 AKT 억제제를 포함한다:

[0088] 2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필아미노)프로판-1-온 디히드로클로라이드;

[0089] (R)-2-아미노-3-(4-클로로페닐)-1-((S)-4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)-3-메틸피페라진-1-일)프로판-1-온 디히드로클로라이드;

[0090] (R)-2-아미노-3-(4-클로로-3-플루오로페닐)-1-((S)-4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)-3-메틸피페라진-1-일)프로판-1-온 디히드로클로라이드;

[0091] (R)-2-아미노-3-(4-클로로-3-플루오로페닐)-1-((S)-4-((5R,7R)-7-메톡시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)-3-메틸피페라진-1-일)프로판-1-온 디히드로클로라이드;

[0092] (S)-3-아미노-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온 디히드로클로라이드;

[0093] (R)-2-아미노-3-(4-클로로페닐)-1-((S)-4-((S)-7-히드록시-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)-3-메틸피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0094] (R)-2-아미노-3-(4-클로로-3-플루오로페닐)-1-((S)-4-((S)-7-히드록시-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)-3-메틸피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0095] (2R)-2-아미노-3-(4-클로로-3-플루오로페닐)-1-((3S)-4-((5R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)-3-메틸피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0096] (2R)-2-아미노-3-(4-클로로페닐)-1-(4-(7-히드록시-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0097] (R)-2-아미노-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(4-메톡시페닐)프로판-1-온;

[0098] 2-(4-클로로페닐)-1-((S)-4-((R)-7-히드록시-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)-3-메틸피페라진-1-일)-3-(이소프로필아미노)프로판-1-온;

[0099] 2-(4-클로로페닐)-1-(4-(7-히드록시-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필아미노)프로판-1-온 디히드로클로라이드;

[0100] 2-(4-클로로페닐)-3-(이소프로필아미노)-1-(4-(7-메톡시-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0101] (S)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필아미노)프로판-1-온;

[0102] 2-(4-플루오로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필아미노)프로판-1-온;

[0103] 2-(3,4-디플루오로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필아미노)프로판-1-온;

[0104] 2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-

1-일)-3-(피리딘-3-일메틸아미노)프로판-1-온;

[0105] 2-(2,4-디클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필아미노)프로판-1-온;

[0106] 2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(펜탄-3-일아미노)프로판-1-온;

[0107] 2-(4-클로로페닐)-3-((1S,2R)-1-히드록시-1-페닐프로판-2-일아미노)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0108] 2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-((1R,4R)-4-히드록시시클로헥실아미노)프로판-1-온;

[0109] ((3S,4R)-4-(3,4-디클로로페닐)피롤리딘-3-일)(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)메탄온;

[0110] ((3R,4S)-4-(3,4-디클로로페닐)피롤리딘-3-일)(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)메탄온;

[0111] 2-(4-클로로페닐)-2-히드록시-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필아미노)프로판-1-온;

[0112] 4-아미노-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-4-메틸펜탄-1-온;

[0113] 4-아미노-2-(3,4-디플루오로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-4-메틸펜탄-1-온;

[0114] (4-(4-클로로-3-플루오로페닐)피페리딘-4-일)(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)메탄온;

[0115] (3-(4-클로로페닐)피롤리딘-3-일)(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)메탄온;

[0116] 1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필아미노)-2-p-톨릴프로판-1-온;

[0117] 1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필아미노)-2-(4-메톡시페닐)프로판-1-온;

[0118] 3-(에틸아미노)-2-(4-플루오로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0119] 2-(4-플루오로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(메틸아미노)프로판-1-온;

[0120] (S)-3-아미노-2-(3,4-디클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0121] 2-(4-클로로페닐)-3-(시클로프로필메틸아미노)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0122] 2-(4-클로로-3-플루오로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필아미노)프로판-1-온;

[0123] 2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(피롤리딘-1-일)프로판-1-온;

[0124] (R)-2-아미노-3-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0125] 2-(4-클로로페닐)-1-((S)-4-((S)-7-히드록시-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)-3-메틸피페라진-

1-일)-3-(이소프로필아미노)프로판-1-온;

[0126] (R)-2-아미노-3-(4-클로로페닐)-1-((S)-4-((R)-7-히드록시-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)-3-메틸피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0127] (R)-2-아미노-3-(4-클로로-3-플루오로페닐)-1-((S)-4-((R)-7-히드록시-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)-3-메틸피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0128] 2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R)-7-히드록시-5,7-디메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필아미노)프로판-1-온;

[0129] (R)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필아미노)프로판-1-온;

[0130] (4-(3,4-디클로로페닐)피페리딘-4-일)(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)메탄온 디히드로클로라이드;

[0131] 4-(3,4-디클로로페닐)피롤리딘-3-일)(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)메탄온 디히드로클로라이드;

[0132] 1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-2-(4-메톡시페닐)-3-(피롤리딘-1-일)프로판-1-온;

[0133] 2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(2,2,2-트리플루오로에틸아미노)프로판-1-온;

[0134] 3-(tert-부틸아미노)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0135] (S)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(메틸(테트라히드로-2H-피란-4-일)아미노)프로판-1-온;

[0136] (S)-2-(4-클로로페닐)-3-(시클로프로필메틸아미노)-1-(4-((5R,7S)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0137] (S)-2-(5-클로로티오펜-2-일)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필아미노)프로판-1-온;

[0138] (R)-2-아미노-3-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7S)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0139] 1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필아미노)-2-(4-(트리플루오로메틸)페닐)프로판-1-온;

[0140] 4-(1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필아미노)-1-옥소프로판-2-일)벤조니트릴;

[0141] (S)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7S)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필아미노)프로판-1-온;

[0142] 3-(아제티딘-1-일)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0143] 2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(3-히드록시아제티딘-1-일)프로판-1-온;

[0144] 2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(네오펜틸아미노)프로판-1-온;

[0145] 2-(4-브로모페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필아미노)프로판-1-온;

[0146] 2-(4-클로로페닐)-3-(4-플루오로피페리딘-1-일)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타

[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0147] 2-(4-클로로페닐)-3-((S)-3-플루오로피롤리딘-1-일)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0148] 2-(4-클로로페닐)-3-(에틸아미노)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0149] 2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필(메틸)아미노)프로판-1-온;

[0150] 2-(4-클로로페닐)-3-(4,4-디플루오로피페리딘-1-일)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0151] 2-(4-클로로페닐)-3-(3,3-디플루오로피롤리딘-1-일)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0152] 2-(4-브로모-3-플루오로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필아미노)프로판-1-온;

[0153] (R)-2-아미노-3-(4-플루오로페닐)-1-(4-((5R,7S)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0154] (R)-2-아미노-3-(3,4-디클로로페닐)-1-(4-((5R,7S)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0155] (R)-2-아미노-3-(3,4-디플루오로페닐)-1-(4-((5R,7S)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0156] (R)-2-(4-클로로페닐)-3-(시클로프로필메틸아미노)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0157] (S)-2-(4-클로로페닐)-3-(시클로프로필메틸아미노)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0158] 2-(4-클로로페닐)-3-((R)-3-플루오로피롤리딘-1-일)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0159] (S)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필아미노)-2-(4-(트리플루오로메톡시)페닐)프로판-1-온;

[0160] (S)-2-(4-클로로페닐)-3-(시클로프로필아미노)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0161] (R)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(3-히드록시아제티딘-1-일)프로판-1-온;

[0162] (S)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(3-히드록시아제티딘-1-일)프로판-1-온;

[0163] (R)-4-아미노-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-4-메틸펜탄-1-온;

[0164] (S)-4-아미노-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-4-메틸펜탄-1-온;

[0165] (S)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-((R)-피롤리딘-3-일아미노)프로판-1-온;

[0166] (S)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-((S)-피롤리딘-3-일아미노)프로판-1-온;

[0167] (S)-3-((R)-1-아세틸피롤리딘-3-일아미노)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-

5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0168] (S)-3-((S)-1-아세틸피롤리딘-3-일아미노)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0169] (S)-2-(4-브로모페닐)-3-(시클로프로필메틸아미노)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0170] (S)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(피페리딘-4-일아미노)프로판-1-온;

[0171] (S)-3-(1-아세틸피페리딘-4-일아미노)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0172] (S)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(2-메톡시에틸아미노)프로판-1-온;

[0173] (R)-2-(4-클로로페닐)-4-(디메틸아미노)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)부탄-1-온;

[0174] (S)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(테트라히드로-2H-피란-4-일아미노)프로판-1-온;

[0175] (S)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-((1r,4S)-4-히드록시시클로헥실아미노)프로판-1-온;

[0176] (S)-3-(아제티딘-1-일)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0177] (R)-3-(아제티딘-1-일)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0178] 2-((S)-2-(4-클로로페닐)-3-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-옥소프로필아미노)아세트아미드;

[0179] 2-((S)-2-(4-클로로페닐)-3-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-옥소프로필아미노)-N,N-디메틸아세트아미드;

[0180] 2-((S)-2-(4-클로로페닐)-3-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-옥소프로필아미노)-N-메틸아세트아미드;

[0181] (R)-2-(4-브로모페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-4-(이소프로필아미노)부탄-1-온;

[0182] (R)-2-(4-브로모페닐)-4-(디메틸아미노)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)부탄-1-온;

[0183] (R)-2-(4-브로모페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-4-(이소부틸아미노)부탄-1-온;

[0184] (R)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-4-((2-메톡시에틸)(메틸)아미노)부탄-1-온;

[0185] (R)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-4-(이소프로필아미노)부탄-1-온;

[0186] (R)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-4-(3-히드록시아제티딘-1-일)부탄-1-온;

[0187] 2-((R)-3-(4-브로모페닐)-4-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-4-옥소부틸아미노)-N,N-디메틸아세트아미드;

[0188] (R)-2-(4-브로모페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라

진-1-일)-4-(2-히드록시에틸아미노)부탄-1-온;

[0189] (2R)-2-(4-브로모페닐)-4-(2-히드록시-1-(테트라히드로-2H-피란-4-일)에틸아미노)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)부탄-1-온;

[0190] (R)-2-아미노-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(4-아이오도페닐)프로판-1-온;

[0191] 4-((R)-2-아미노-3-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-옥소프로필)벤조니트릴;

[0192] (R)-2-아미노-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(4-(트리플루오로메틸)페닐)프로판-1-온;

[0193] (S)-3-(4-아세틸피페라진-1-일)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0194] (R)-3-(4-아세틸피페라진-1-일)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0195] (R)-3-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-2-(메틸아미노)프로판-1-온;

[0196] (S)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(4-(2-히드록시에틸)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0197] (R)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(4-(2-히드록시에틸)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0198] 2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(3-메톡시아제티딘-1-일)프로판-1-온;

[0199] (R)-2-(4-클로로페닐)-4-(시클로헥실아미노)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)부탄-1-온;

[0200] (R)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-4-(테트라히드로-2H-피란-4-일아미노)부탄-1-온;

[0201] (2R)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-4-(2-히드록시프로필아미노)부탄-1-온;

[0202] (2R)-2-(4-클로로페닐)-4-(2-히드록시-1-(테트라히드로-2H-피란-4-일)에틸아미노)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)부탄-1-온;

[0203] (2R)-2-(4-클로로페닐)-4-(2-히드록시-1-페닐에틸아미노)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)부탄-1-온;

[0204] (S)-2-(4-클로로페닐)-3-(에틸(테트라히드로-2H-피란-4-일)아미노)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0205] (R)-2-(4-브로모페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-4-(2-메톡시에틸아미노)부탄-1-온;

[0206] (2R)-2-(4-브로모페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-4-(3,3,3-트리플루오로-2-히드록시프로필아미노)부탄-1-온;

[0207] (R)-2-(4-브로모페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-4-((1-히드록시시클로프로필)메틸아미노)부탄-1-온;

[0208] 2-((R)-3-(4-브로모페닐)-4-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-4-옥소부틸아미노)아세트아미드;

[0209] (R)-2-(4-브로모페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라

진-1-일)-4-(테트라히드로-2H-피란-4-일아미노)부탄-1-온;

[0210] (R)-4-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필아미노)-2-(4-브로모페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)부탄-1-온;

[0211] (S)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-모르폴리노프로판-1-온;

[0212] (R)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-모르폴리노프로판-1-온;

[0213] (R)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(4-메틸피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0214] (S)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(4-메틸피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0215] (S)-3-(3-아미노아제티딘-1-일)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0216] (R)-3-(3-아미노아제티딘-1-일)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0217] (S)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-티오모르폴리노프로판-1-온;

[0218] (S)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0219] (R)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0220] (R)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-티오모르폴리노프로판-1-온;

[0221] (R)-2-(4-클로로페닐)-3-(4-플루오로피페리딘-1-일)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0222] (S)-2-(4-클로로페닐)-3-(4-플루오로피페리딘-1-일)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0223] (R)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(3-메톡시아제티딘-1-일)프로판-1-온;

[0224] (S)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(3-메톡시아제티딘-1-일)프로판-1-온;

[0225] (S)-2-(3,4-디클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필아미노)프로판-1-온;

[0226] (S)-2-(4-클로로페닐)-3-(디메틸아미노)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0227] (S)-2-(4-플루오로-3-(트리플루오로메틸)페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필아미노)프로판-1-온;

[0228] (S)-2-(3-플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필아미노)프로판-1-온;

[0229] (S)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(메톡시아미노)프로판-1-온;

[0230] (S)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라

진-1-일)-3-(4-메톡시피페리딘-1-일)프로판-1-온;

[0231] (R)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(4-메톡시피페리딘-1-일)프로판-1-온;

[0232] (S)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(4-히드록시피페리딘-1-일)프로판-1-온;

[0233] (R)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(4-히드록시피페리딘-1-일)프로판-1-온;

[0234] (S)-3-(4-아미노피페리딘-1-일)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0235] (R)-3-(4-아미노피페리딘-1-일)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0236] (S)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7S)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(테트라히드로-2H-피란-4-일아미노)프로판-1-온;

[0237] (S)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7S)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(메틸(테트라히드로-2H-피란-4-일)아미노)프로판-1-온;

[0238] (S)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필(메틸)아미노)프로판-1-온;

[0239] (R)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(4-(메틸술포닐)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0240] (S)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(4-(메틸아미노)피페리딘-1-일)프로판-1-온;

[0241] (R)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(4-(메틸아미노)피페리딘-1-일)프로판-1-온;

[0242] (S)-2-(4-클로로-3-(트리플루오로메톡시)페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필아미노)프로판-1-온;

[0243] (S)-2-(3-플루오로-4-(트리플루오로메톡시)페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필아미노)프로판-1-온;

[0244] (S)-2-(4-클로로-3-(트리플루오로메틸)페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필아미노)프로판-1-온;

[0245] (R)-2-(4-클로로페닐)-3-(4-에틸피페라진-1-일)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0246] (S)-2-(4-클로로페닐)-3-(4-에틸피페라진-1-일)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0247] (S)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(4-이소프로필피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0248] (R)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(4-이소프로필피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0249] (R)-2-(4-클로로페닐)-3-((S)-3-(디메틸아미노)피롤리딘-1-일)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0250] (S)-2-(4-클로로페닐)-3-((S)-3-(디메틸아미노)피롤리딘-1-일)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0251] (S)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라

진-1-일)-3-((R)-테트라히드로푸란-3-일아미노)프로판-1-온;

[0252] (S)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7S)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-((R)-테트라히드로푸란-3-일아미노)프로판-1-온;

[0253] (S)-2-(4-클로로페닐)-3-(2-플루오로에틸아미노)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0254] (S)-2-(4-플루오로-3-(트리플루오로메톡시)페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필아미노)프로판-1-온;

[0255] (S)-2-(3,5-비스(트리플루오로메틸)페닐)-1-(4-((5R,7S)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필아미노)프로판-1-온;

[0256] (S)-2-(3-플루오로-4-메톡시페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필아미노)프로판-1-온;

[0257] 4-((R)-2-(4-클로로페닐)-3-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-옥소프로필)피페라진-2-온;

[0258] (R)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-((R)-3-히드록시피롤리딘-1-일)프로판-1-온;

[0259] (S)-2-(4-클로로페닐)-3-(4-(디메틸아미노)피페리딘-1-일)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0260] (R)-2-(4-클로로페닐)-3-(4-(디메틸아미노)피페리딘-1-일)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0261] (S)-2-(3-클로로-5-플루오로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필아미노)프로판-1-온;

[0262] (S)-2-(3-브로모-4-메톡시페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필아미노)프로판-1-온;

[0263] (R)-3-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-2-(피페리딘-4-일아미노)프로판-1-온;

[0264] (R)-2-(1-아세틸피페리딘-4-일아미노)-3-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0265] 2-((R)-3-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-1-옥소프로판-2-일아미노)-N-이소프로필아세트아미드;

[0266] (R)-3-(4-클로로페닐)-2-(디메틸아미노)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0267] (R)-3-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-2-(2-모르폴리노에틸아미노)프로판-1-온;

[0268] (R)-3-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-2-(이소프로필아미노)프로판-1-온;

[0269] (R)-3-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-2-(테트라히드로-2H-피란-4-일아미노)프로판-1-온;

[0270] (R)-3-(4-클로로페닐)-1-((S)-4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)-3-메틸피페라진-1-일)-2-(이소프로필아미노)프로판-1-온;

[0271] 2-((R)-3-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-1-옥소프로판-2-일아미노)-N,N-디메틸아세트아미드;

[0272] (S)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라

진-1-일)-3-(1,4-옥사제판-4-일)프로판-1-온;

[0273] (R)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(1,4-옥사제판-4-일)프로판-1-온;

[0274] (R)-2-(4-클로로-2-플루오로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필아미노)프로판-1-온;

[0275] (S)-2-(4-클로로-2-플루오로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필아미노)프로판-1-온;

[0276] (S)-2-(2-플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필아미노)프로판-1-온;

[0277] (S)-2-(4-클로로페닐)-3-(시클로헥실아미노)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0278] (S)-2-(4-클로로페닐)-3-(시클로헥실아미노)-1-(4-((5R,7S)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0279] (S)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(4-메톡시시클로헥실아미노)프로판-1-온;

[0280] (S)-2-(3-플루오로-4-(트리플루오로메톡시)페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(테트라히드로-2H-피란-4-일아미노)프로판-1-온;

[0281] (S)-2-(3-플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(테트라히드로-2H-피란-4-일아미노)프로판-1-온;

[0282] (S)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-((S)-테트라히드로푸란-3-일아미노)프로판-1-온;

[0283] (S)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(4-메틸테트라히드로-2H-피란-4-일아미노)프로판-1-온;

[0284] (R)-3-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-2-(2-(테트라히드로-2H-피란-4-일)에틸아미노)프로판-1-온;

[0285] (R)-3-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-2-(3,3,3-트리플루오로프로필아미노)프로판-1-온;

[0286] (R)-3-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-2-((테트라히드로-2H-피란-4-일)메틸아미노)프로판-1-온;

[0287] (R)-3-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-2-(이소프로필(메틸)아미노)프로판-1-온;

[0288] (S)-3-(tert-부틸아미노)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0289] (R)-3-(tert-부틸아미노)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0290] (S)-2-(4-클로로-3-플루오로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(4-메틸피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0291] (R)-2-(4-클로로-3-플루오로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(4-메틸피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0292] (S)-2-(4-클로로-3-플루오로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(4-히드록시피페리딘-1-일)프로판-1-온;

[0293] (R)-2-(4-클로로-3-플루오로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-

4-일)피페라진-1-일)-3-모르폴리노프로판-1-온;

[0294] (R)-2-(4-클로로-3-플루오로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(4-히드록시피페리딘-1-일)프로판-1-온;

[0295] (S)-2-(3-플루오로-4-(트리플루오로메톡시)페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(4-메틸피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0296] (R)-2-(3-플루오로-4-(트리플루오로메톡시)페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(4-메틸피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0297] (S)-3-(시클로프로필메틸아미노)-2-(3-플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0298] (S)-3-(시클로프로필메틸아미노)-2-(3-플루오로-4-(트리플루오로메톡시)페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0299] (S)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필아미노)-2-(4-(트리플루오로메틸)페닐)프로판-1-온;

[0300] (S)-3-아미노-2-(4-브로모페닐)-1-(4-((5R,7S)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0301] (S)-3-아미노-2-(4-클로로-3-플루오로페닐)-1-(4-((5R,7S)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0302] (S)-2-(4-브로모페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(테트라히드로-2H-피란-4-일아미노)프로판-1-온;

[0303] 3-((S)-2-(4-클로로페닐)-3-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-옥소프로필아미노)프로판아미드;

[0304] 3-((S)-2-(4-클로로페닐)-3-(4-((5R,7S)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-옥소프로필아미노)프로판아미드;

[0305] (4-(4-클로로페닐)피페리딘-4-일)(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)메타논;

[0306] (S)-2-(4-브로모페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필아미노)프로판-1-온;

[0307] (S)-3-아미노-2-(4-클로로-3-플루오로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0308] (S)-3-아미노-2-(4-브로모페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0309] (S)-2-(4-브로모페닐)-1-(4-((5R,7S)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(테트라히드로-2H-피란-4-일아미노)프로판-1-온;

[0310] (S)-2-(4-클로로-3-플루오로페닐)-1-(4-((5R,7S)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(테트라히드로-2H-피란-4-일아미노)프로판-1-온;

[0311] (S)-2-(3,4-디클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(테트라히드로-2H-피란-4-일아미노)프로판-1-온;

[0312] (S)-3-아미노-2-(3,4-디클로로페닐)-1-(4-((5R,7S)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0313] (R)-2-(3,4-디클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(4-히드록시피페리딘-1-일)프로판-1-온;

[0314] (S)-2-(3,4-디클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피

페라진-1-일)-3-(4-이소프로필피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0315] (S)-2-(3-플루오로-4-(트리플루오로메톡시)페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(4-히드록시피페리딘-1-일)프로판-1-온;

[0316] (R)-2-(3-플루오로-4-(트리플루오로메톡시)페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(4-히드록시피페리딘-1-일)프로판-1-온;

[0317] (S)-2-(3-플루오로-4-(트리플루오로메톡시)페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(4-이소프로필피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0318] (S)-2-(3,5-디플루오로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필아미노)프로판-1-온;

[0319] (S)-3-((R)-3-아미노피롤리딘-1-일)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0320] (R)-3-((R)-3-아미노피롤리딘-1-일)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0321] (S)-2-(4-클로로-3-플루오로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(4-이소프로필피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0322] (S)-2-(3-플루오로-4-(트리플루오로메톡시)페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-모르폴리노프로판-1-온;

[0323] (R)-2-(3-플루오로-4-(트리플루오로메톡시)페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-모르폴리노프로판-1-온;

[0324] (S)-3-(4-에틸피페라진-1-일)-2-(3-플루오로-4-(트리플루오로메톡시)페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0325] (R)-3-(4-에틸피페라진-1-일)-2-(3-플루오로-4-(트리플루오로메톡시)페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0326] (S)-3-(4-아세틸피페라진-1-일)-2-(3-플루오로-4-(트리플루오로메톡시)페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0327] (R)-3-(4-아세틸피페라진-1-일)-2-(3-플루오로-4-(트리플루오로메톡시)페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0328] (S)-2-(3,4-디클로로페닐)-1-(4-((5R,7S)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(테트라히드로-2H-피란-4-일아미노)프로판-1-온;

[0329] (S)-2-(4-브로모페닐)-1-(4-((5R,7S)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필아미노)프로판-1-온;

[0330] (S)-2-(4-클로로-3-플루오로페닐)-1-(4-((5R,7S)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필아미노)프로판-1-온;

[0331] (S)-2-(4-클로로-3-플루오로페닐)-3-(시클로프로필메틸아미노)-1-(4-((5R,7S)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0332] (S)-3-(비스(시클로프로필메틸)아미노)-2-(4-클로로-3-플루오로페닐)-1-(4-((5R,7S)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0333] (S)-2-(4-브로모페닐)-3-(시클로프로필메틸아미노)-1-(4-((5R,7S)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0334] (S)-2-(4-클로로-3-플루오로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(테트라히드로-2H-피란-4-일아미노)프로판-1-온;

[0335] (S)-2-(4-클로로-3-플루오로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-

4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필아미노)프로판-1-온;

[0336] (S)-2-(4-브로모페닐)-3-((시클로프로필메틸)(메틸)아미노)-1-(4-((5R,7S)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0337] (S)-2-(4-클로로-3-플루오로페닐)-3-(시클로프로필메틸아미노)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0338] (S)-3-(시클로프로필메틸아미노)-2-(3,4-디클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0339] (S)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(테트라히드로-2H-피란-4-일아미노)-2-(4-(트리플루오로메톡시)페닐)프로판-1-온;

[0340] (R)-2-(4-클로로페닐)-3-((3S,5R)-3,5-디메틸피페라진-1-일)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0341] (R)-2-(4-클로로페닐)-3-((2S,6R)-2,6-디메틸모르폴리노)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0342] (S)-2-(4-클로로페닐)-3-((2S,6R)-2,6-디메틸모르폴리노)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0343] (S)-2-(4-클로로페닐)-3-((3S,5R)-3,5-디메틸피페라진-1-일)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0344] (S)-2-(3-플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(4-히드록시피페리딘-1-일)프로판-1-온;

[0345] (R)-2-(3-플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(4-히드록시피페리딘-1-일)프로판-1-온;

[0346] (S)-2-(3-플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(4-메틸피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0347] (R)-2-(3-플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(4-메틸피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0348] (S)-2-(3-플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(4-이소프로필피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0349] (R)-2-(3-플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(4-이소프로필피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0350] (S)-3-(시클로프로필메틸아미노)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-2-(4-(트리플루오로메톡시)페닐)프로판-1-온;

[0351] (S)-3-아미노-2-(4-브로모-3-플루오로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0352] (S)-3-아미노-2-(4-브로모-3-플루오로페닐)-1-(4-((5R,7S)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0353] (S)-2-(3,4-디클로로페닐)-1-(4-((5R,7S)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필아미노)프로판-1-온;

[0354] (S)-2-(4-브로모-3-플루오로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필아미노)프로판-1-온;

[0355] (S)-2-(4-브로모-3-플루오로페닐)-1-(4-((5R,7S)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필아미노)프로판-1-온;

[0356] (S)-2-(4-브로모-3-플루오로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-

4-일)피페라진-1-일)-3-(테트라히드로-2H-피란-4-일아미노)프로판-1-온;

[0357] (S)-2-(4-브로모-3-플루오로페닐)-1-(4-((5R,7S)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(테트라히드로-2H-피란-4-일아미노)프로판-1-온;

[0358] (S)-2-(4-브로모-3-플루오로페닐)-3-(시클로프로필메틸아미노)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0359] (S)-2-(4-브로모-3-플루오로페닐)-3-(시클로프로필메틸아미노)-1-(4-((5R,7S)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0360] (S)-2-(3-플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐)-1-(4-((5R,7S)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필아미노)프로판-1-온;

[0361] (S)-2-(4-브로모페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(4-이소프로필피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0362] (S)-2-(4-브로모페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(4-히드록시피페리딘-1-일)프로판-1-온;

[0363] (S)-3-(시클로프로필메틸아미노)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-2-(4-(트리플루오로메틸)페닐)프로판-1-온;

[0364] (S)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(테트라히드로-2H-피란-4-일아미노)-2-(4-(트리플루오로메틸)페닐)프로판-1-온;

[0365] (S)-3-(시클로프로필메틸아미노)-2-(2-플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0366] (R)-2-(4-브로모-3-플루오로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(4-히드록시피페리딘-1-일)프로판-1-온;

[0367] (S)-2-(4-브로모페닐)-1-(4-((5R,7S)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필(메틸)아미노)프로판-1-온;

[0368] (S)-3-아미노-2-(4-브로모-2-플루오로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0369] (S)-3-아미노-2-(4-브로모-2-플루오로페닐)-1-(4-((5R,7S)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0370] (S)-2-(4-브로모페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필(메틸)아미노)프로판-1-온;

[0371] (S)-2-(4-브로모-2-플루오로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필아미노)프로판-1-온;

[0372] (S)-2-(4-브로모-2-플루오로페닐)-1-(4-((5R,7S)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필아미노)프로판-1-온;

[0373] (S)-3-아미노-2-(4-클로로-2-플루오로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0374] 2-(4-클로로페닐)-3-((3S,4R)-4-(디메틸아미노)-3-플루오로피페리딘-1-일)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0375] (S)-2-(4-브로모-2-플루오로페닐)-3-(시클로프로필메틸아미노)-1-(4-((5R,7S)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0376] (S)-3-(tert-부틸아미노)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-2-(4-(트리플루오로메틸)페닐)프로판-1-온;

[0377] (S)-2-(3-플루오로-4-(트리플루오로메톡시)페닐)-1-(4-((5R,7S)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타

[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(테트라히드로-2H-피란-4-일아미노)프로판-1-온;

[0378] (S)-2-(3-플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐)-1-(4-((5R,7S)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(테트라히드로-2H-피란-4-일아미노)프로판-1-온;

[0379] (S)-2-(4-클로로-2-플루오로페닐)-3-(시클로프로필메틸아미노)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0380] (S)-2-(4-브로모-2-플루오로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(테트라히드로-2H-피란-4-일아미노)프로판-1-온;

[0381] (S)-2-(4-클로로-2-플루오로페닐)-1-(4-((5R,7S)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(테트라히드로-2H-피란-4-일아미노)프로판-1-온;

[0382] (S)-2-(4-클로로-2-플루오로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(테트라히드로-2H-피란-4-일아미노)프로판-1-온;

[0383] (S)-1-(4-((5R,7S)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(테트라히드로-2H-피란-4-일아미노)-2-(4-(트리플루오로메틸)페닐)프로판-1-온;

[0384] (S)-3-(시클로프로필메틸아미노)-1-(4-((5R,7S)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-2-(4-(트리플루오로메틸)페닐)프로판-1-온;

[0385] (S)-2-(4-브로모페닐)-3-(tert-부틸아미노)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0386] (S)-2-(4-클로로-3-플루오로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소부틸아미노)프로판-1-온;

[0387] (S)-2-(4-클로로-3-플루오로페닐)-3-(시클로펜틸메틸아미노)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0388] (S)-2-(4-클로로-3-플루오로페닐)-3-(시클로펜틸아미노)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0389] (S)-2-(2-플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필(메틸)아미노)프로판-1-온;

[0390] (S)-2-(4-클로로페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-((2-히드록시에틸)(이소프로필)아미노)프로판-1-온;

[0391] (S)-2-(2-플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐)-1-(4-((5R,7S)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필아미노)프로판-1-온;

[0392] (S)-2-(2-플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐)-1-(4-((5R,7S)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(테트라히드로-2H-피란-4-일아미노)프로판-1-온;

[0393] (S)-3-아미노-2-(2-플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0394] (S)-3-(시클로프로필메틸아미노)-2-(3-플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐)-1-(4-((5R,7S)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0395] (S)-3-(시클로프로필메틸아미노)-2-(3-플루오로-4-(트리플루오로메톡시)페닐)-1-(4-((5R,7S)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0396] (S)-2-(4-브로모페닐)-3-(4,4-디메틸시클로헥실아미노)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0397] (S)-2-(4-브로모페닐)-3-(3,3-디메틸시클로헥실아미노)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0398] (S)-2-(4-클로로페닐)-3-(4,4-디메틸시클로헥실아미노)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시

클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0399] (S)-2-(4-클로로페닐)-3-(3,3-디메틸시클로헥실아미노)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0400] (S)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필아미노)-2-(티오펜-2-일)프로판-1-온;

[0401] (S)-2-(5-브로모티오펜-2-일)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필아미노)프로판-1-온;

[0402] (S)-2-(5-브로모티오펜-2-일)-1-(4-((5R,7S)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필아미노)프로판-1-온;

[0403] (S)-2-(5-브로모티오펜-2-일)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(테트라히드로-2H-피란-4-일아미노)프로판-1-온;

[0404] (R)-2-(5-브로모피리딘-2-일)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필아미노)프로판-1-온;

[0405] (S)-2-(5-브로모피리딘-2-일)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필아미노)프로판-1-온;

[0406] (S)-2-(5-브로모티오펜-2-일)-1-(4-((5R,7S)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(테트라히드로-2H-피란-4-일아미노)프로판-1-온;

[0407] (S)-2-(5-브로모티오펜-2-일)-3-(시클로프로필메틸아미노)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0408] (S)-2-(5-클로로티오펜-2-일)-1-(4-((5R,7S)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(테트라히드로-2H-피란-4-일아미노)프로판-1-온;

[0409] (S)-2-(5-클로로티오펜-2-일)-1-(4-((5R,7S)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(이소프로필아미노)프로판-1-온;

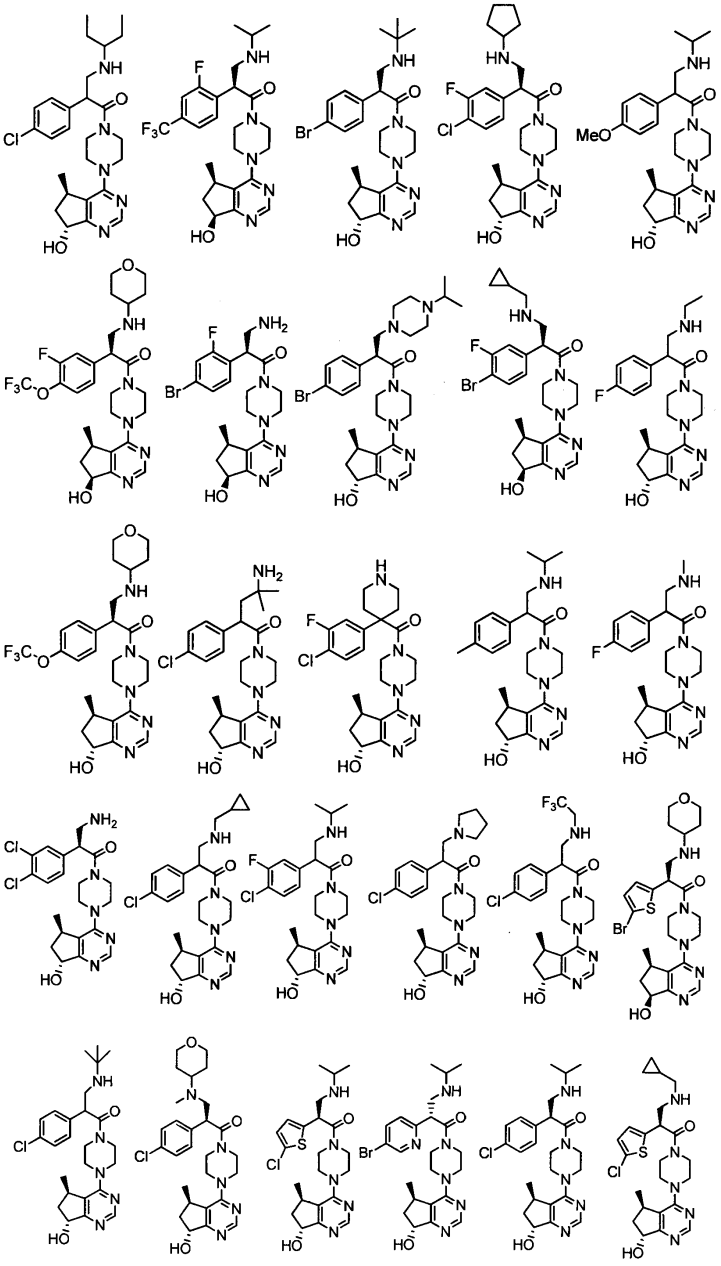
[0410] (S)-2-(5-클로로티오펜-2-일)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)-3-(테트라히드로-2H-피란-4-일아미노)프로판-1-온;

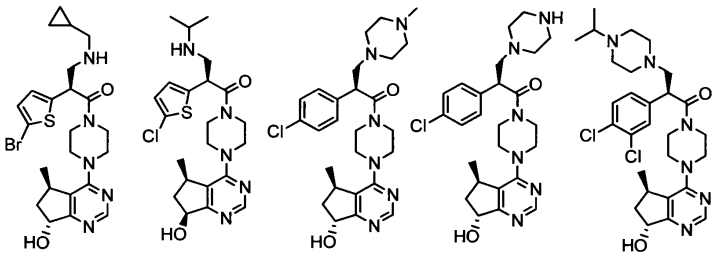
[0411] (S)-2-(5-클로로티오펜-2-일)-3-(시클로프로필메틸아미노)-1-(4-((5R,7R)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온;

[0412] (S)-2-(5-클로로티오펜-2-일)-3-(시클로프로필메틸아미노)-1-(4-((5R,7S)-7-히드록시-5-메틸-6,7-디히드로-5H-시클로펜타[d]피리미딘-4-일)피페라진-1-일)프로판-1-온; 및

[0413] 이것들의 염.

[0414] 또 다른 실시양태는 하기 화합물 및 그의 염을 포함하는, 화학식 I의 AKT 억제제를 포함한다:

[0415] 

[0416] 

[0417] 화학식 I의 화합물의 제조

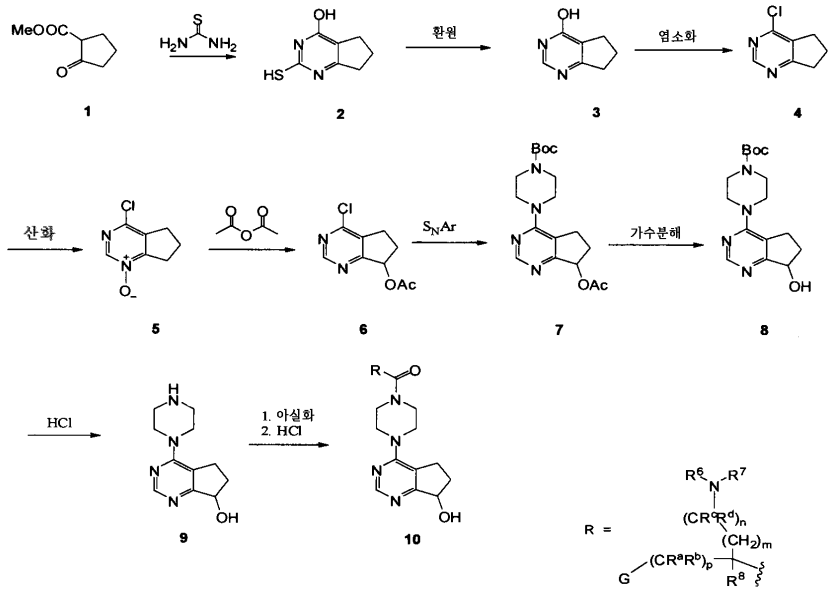
[0418] 화학식 I의 화합물은 미국 특허 공개 제2008/0051399호 (2007년 7월 5일자로 출원된 미국 특허 출원 제 11/773,949호, 발명의 영문 명칭: "Hydroxylated and Methoxylated Pyrimidyl Cyclopentanes as AKT Protein Kinase Inhibitors")에 기재된 방법에 따라 제조될 수 있고, 상기 문헌은 어떠한 목적을 위해서든지 본원에 참고로 포함된다.

[0419] 화학식 I의 화합물은 단독으로 제조될 수도 있고, 2종 이상, 예를 들어 5종 내지 1,000종의 화합물, 또는 10종

내지 100종의 화합물을 포함하는 화합물 라이브러리로서 제조될 수도 있다. 화학식 I의 화합물의 라이브러리는 조합적인 '분할 및 혼합' 접근법 또는 용액 상 또는 고체 상 화학을 사용하는 다중 병렬 합성법으로 제조될 수 있다.

[0420] 예시적인 목적을 위해서, 반응식 1 내지 4는 화학식 I의 화합물 및 또한 핵심 중간체를 제조하는 일반적인 방법을 보여준다. 당업자는 다른 합성 경로가 이용될 수 있다는 것을 알 것이다. 특정 출발 물질 및 시약이 반응식에 기재되고 하기 논의되었지만, 다른 출발 물질 및 시약이 용이하게 대체되어 다양한 유도체 및/또는 반응 조건을 제공할 수 있다. 추가로, 하기 방법으로 제조된 많은 화합물은 당업자에게 공지된 일반적인 화학을 이용하고 본 개시내용에 비추어 추가로 변형될 수 있다.

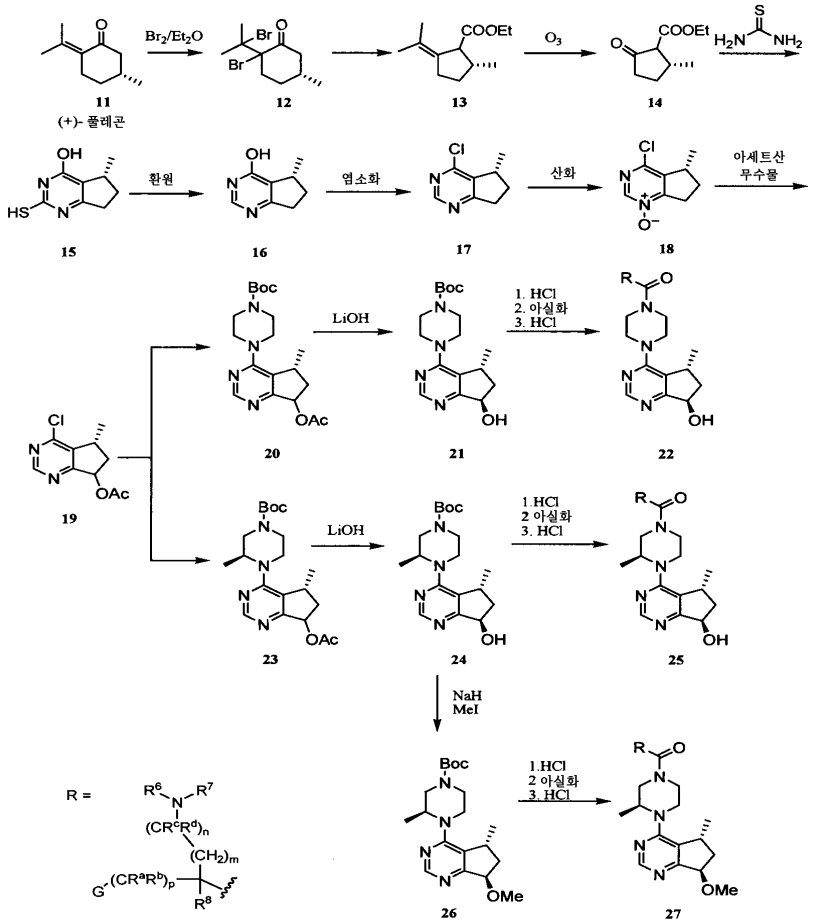
[0421] <반응식 1>



[0422]

[0423] 반응식 1은 R^1이 H이고 R^2가 OH이며 R^5가 H인 화학식 I의 화합물 10을 제조하는 방법을 나타낸다. 피리미딘 2의 형성은 에탄올과 같은 적절한 용매 중 KOH와 같은 염기의 존재하에 케토 에스테르 1을 티오우레아와 반응시켜 달성할 수 있다. 표준 환원 조건 (예를 들어, 라니(Raney) Ni 및 NH_4OH)하에 화합물 2의 메르캅토 기를 환원시킨 후에 화합물 3을 수득하고, 히드록시피리미딘 3을 표준 조건 (예를 들어, DIEA/DCE 중 $POCl_3$)하에 염소화하여 화합물 4를 수득할 수 있다. 이어서, 화합물 4를 표준 조건 (예를 들어, $CHCl_3$와 같은 적절한 용매 중 MCPBA)하에 산화시켜 피리미딘-옥시드 5를 수득한다. 피리미딘-옥시드를 아세트산 무수물로 처리하여 재배열 생성물 6을 수득한다. 화합물 7은, 화합물 6을 표준 S_NAr 반응 조건하에 화합물 7이 제공되도록 적절하게 치환된 피페리딘과 반응시켜 수득된다. 화합물 7을 가수분해하여 화합물 8을 수득한 후에 이것을 탈보호하여 중간체 9를 수득한다. 피페라지닐 시클로펜타[d]피리미딘 9를 HBTU와 같은 커플링 시약의 존재하에 적절한 아미노산으로 아실화하고, 필요한 경우에는 이후에 탈보호하여 화학식 I의 화합물 10을 수득한다.

[0424] <반응식 2>

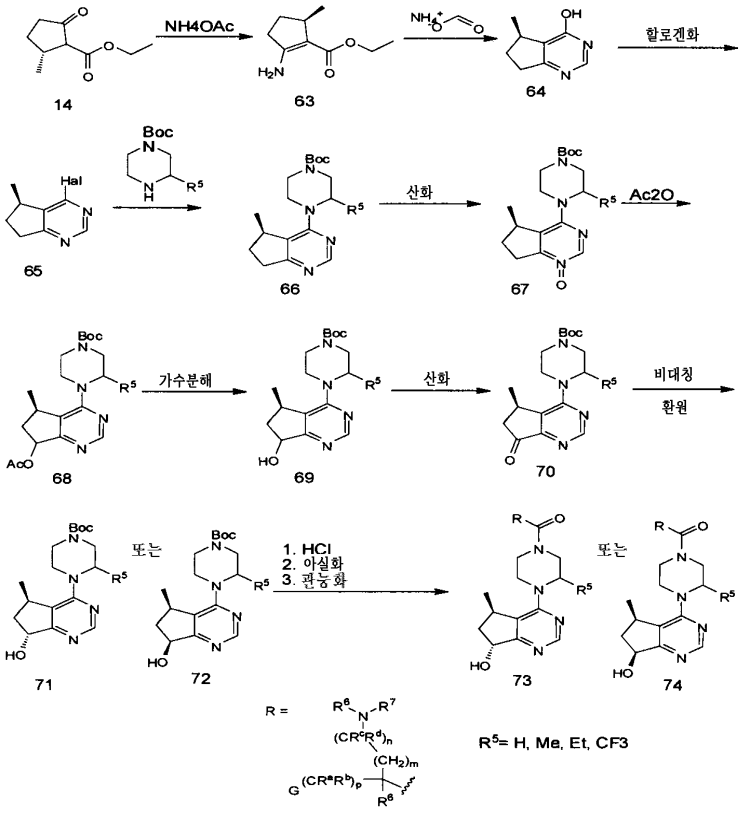


[0425]

[0426] 반응식 2는 R^1, R^2 및 R^5가 메틸인 화학식 I의 화합물 22, 25 및 27을 제공하는 방법을 나타낸다. 반응식 2에 따라, (+)-풀레곤 11을 브로민으로 브롬화하여 디브로마이드 12를 수득한다. 디브로마이드 12를 나트륨 에톡시드와 같은 염기로 처리하여 풀레게네이트 13을 수득한다. 풀레게네이트 13의 오존분해로 케토에스테르 14를 수득한다. 케토에스테르 14를 에탄올 중 KOH와 같은 염기의 존재하에 티오우레아로 처리하고 표준 조건 (예를 들어, 암모니아 중 라니 Ni 촉매)하에 메르캅토 기를 환원시켜 히드록시피리미딘 16을 수득한다. 표준 조건 (예를 들어, $POCl_3$)하에 히드록시피리미딘 16을 염소화하여 4-클로로피리미딘 17을 수득한다. 4-클로로피리미딘 17을 MCPBA 또는 과산화수소와 같은 산화제로 산화시켜 N-옥시드 18을 수득한다. N-옥시드 18을 아세트산 무수물로 재배열하여 중간체 19를 수득한다. 화합물 19를 반응식 1에 기재된 절차에 따라 원하는 피페라진과 반응시켜 R^5가 H인 화합물 20 및 R^5가 Me인 화합물 23을 수득한다. 화합물 20 및 23을 키랄 정지를 이용한 HPLC를 사용하여 키랄 분리시킨 후에 수산화리튬과 같은 염기 처리로 가수분해하여 각각 화합물 21 및 24를 수득한다. 탈보호 후, 화합물 21 및 24를 이후 적절한 아미노산과 반응시켜 각각 화합물 22 및 25를 수득한다.

[0427] 대안적으로, 화합물 24의 7-히드록시 기는 NaH 또는 KOH와 같은 염기의 존재하에 알킬 할라이드와 같은 알킬화 시약으로 알킬화하여 R^2가 Me인 화합물 26을 수득할 수 있다. 탈보호 후, 화합물 26을 이후 적절한 아미노산과 반응시켜 화합물 27을 수득한다.

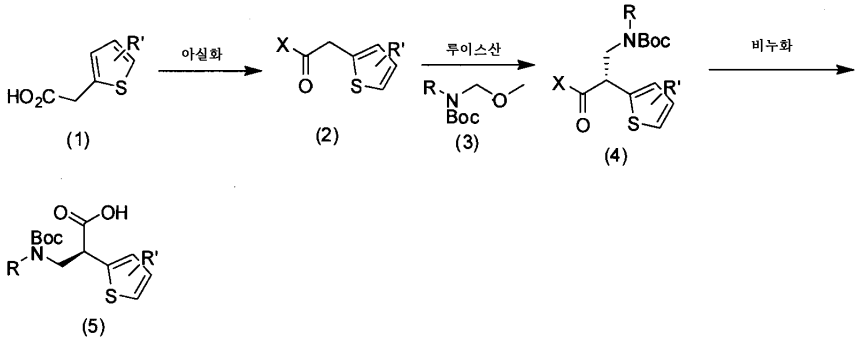
[0428] <반응식 3>



[0429]

[0430] 반응식 3은 화합물 73 및 74를 제조하는 대안적인 방법을 나타낸다. 반응식 3에 따라, 암모니아 합성단위체를 사용하여 14를 아미노화하여 63을 수득한다. 예를 들어, 50℃ 내지 250℃ 및/또는 고압에서 포름아미드의 존재하에 포름산암모늄을 사용한 피리미딘 형성으로 비시클릭 단위 64를 수득한다. 예를 들어, $POCl_3$ 또는 $SOCl_2$를 사용한 64의 활성화로 활성화된 피리미딘 65를 수득한다. 0℃ 내지 150℃에서 적합한 보호된/치환된 피페리딘을 사용한 상기 이탈기의 치환으로 피페리딘 66을 수득한다. 예를 들어, -20℃ 내지 50℃에서 m-클로로퍼옥시벤조산 ("MCPBA" 또는 "m-CPBA") 또는 옥손(Oxone)®을 사용한 산화로 N-옥시드 67을 수득한다. 아실화 시약 (예를 들어, 아세트산 무수물)으로 처리하고 가열 (40℃ 내지 200℃)하여 재배열을 일으켜 68을 수득한다. 예를 들어, 0℃ 내지 50℃에서 LiOH 또는 NaOH를 사용한 가수분해로 알콜 69를 수득한다. 예를 들어, 적절한 온도에서 스원(Swern) 조건, MnO_4 또는 피리딘-SO_3 착체를 사용한 산화로 케톤 70을 수득한다. 예를 들어, 키랄 리간드의 존재하에 수소, CBS 촉매 또는 붕수소화물 환원제의 존재하에 촉매적 키랄 촉매를 사용한 비대칭 환원으로 (R) 또는 (S) 입체화학을 갖는 알콜 71 또는 72를 수득한다. 대안적으로, 시클로펜탄 단위에서 메틸 기를 가능하게 하는 비-키랄 환원제를 사용하여 (예를 들어, H_2, Pd/C) 면 선택성(facial selectivity) 및 궁극적으로는 부분입체선택성을 제공할 수 있다. 환원에 의해 더 낮은 부분입체선택성이 제공되는 경우, 부분입체이성질체를 (예를 들어) 크로마토그래피, 결정화 또는 유도체화에 의해 분리할 수 있다. 마지막으로, 예를 들어 0℃ 내지 50℃에서 산을 사용하여 Boc-기의 탈보호, 적절하게 관능화된 아미노산을 사용한 아실화 및 상기 아미노산의 아민의 최종 관능화 (예를 들어, 임의의 보호기의 제거, 알킬화, 환원적 아미노화 또는 아실화에 의한 새로운 치환기의 도입)로 최종 화합물 73 및 74를 수득한다.

[0431] <반응식 4>

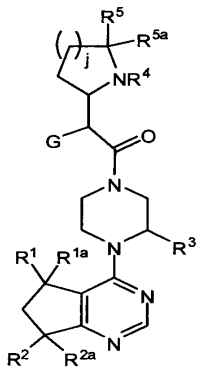


[0432]

[0433] 화합물 1에 대한 키랄 보조제 (예를 들어, 에반스 옥사졸리디논 등)의 도입을 표준 아실화 절차에 의해 달성하여 접합체 2를 수득할 수 있다. 예를 들어, -20℃ 내지 100℃에서 아민 염기의 존재하에 산을 활성화 시약 (예를 들어, $COCl_2$)으로 처리하거나 혼합 무수물 형성 (예를 들어, 2,2-디메틸프로파노일 클로라이드)을 수행한 후에 적절한 키랄 보조제 (X)로 처리하여 화합물 2를 수득한다. 키랄 보조제의 입체화학 및 선택이, 새롭게 생성되는 키랄 중심의 입체화학 및 부분입체선택성을 결정할 수 있다. 저온 (예를 들어, -20℃ 내지 -100℃)에서 화합물 2를 루이스산 (예를 들어, $TiCl_4$) 및 아민 염기 (예를 들어, 휘니그 염기)로 처리하고 저온에서 적절하게 치환된 이미늄 이온 전구체 3을 사용한 후에 화합물 4를 수득한다. 온도, 루이스산 및 키랄 보조제 모두가 상기 첨가 부가물의 부분입체선택성에 영향을 미칠 것이 예상될 수 있다. 마지막으로, 중간 조건 (예를 들어, -10℃ 내지 30℃에서 $LiOH/H_2O$)하에 비누화하여 원하는 산 5를 수득한다.

[0434] 또 다른 실시양태에서, AKT 키나제 억제제는 하기 화학식 II의 ATP-경쟁적인 pan-AKT 억제제 및 이의 입체이성질체, 호변이성질체 또는 제약상 허용되는 염이다:

[0435] <화학식 II>



[0436]

[0437] 상기 식에서,

[0438] G는 1개 내지 3개의 R^a 기로 임의로 치환된 페닐 또는 할로겐으로 임의로 치환된 5원 또는 6원 헤테로아릴이고;

[0439] R^1 및 R^{1a}는 H, Me, CF_3, CHF_2 또는 CH_2F로부터 독립적으로 선택되고;

[0440] R^2는 H, F 또는 -OH이고;

[0441] R^{2a}는 H이고;

[0442] R^3은 H이고;

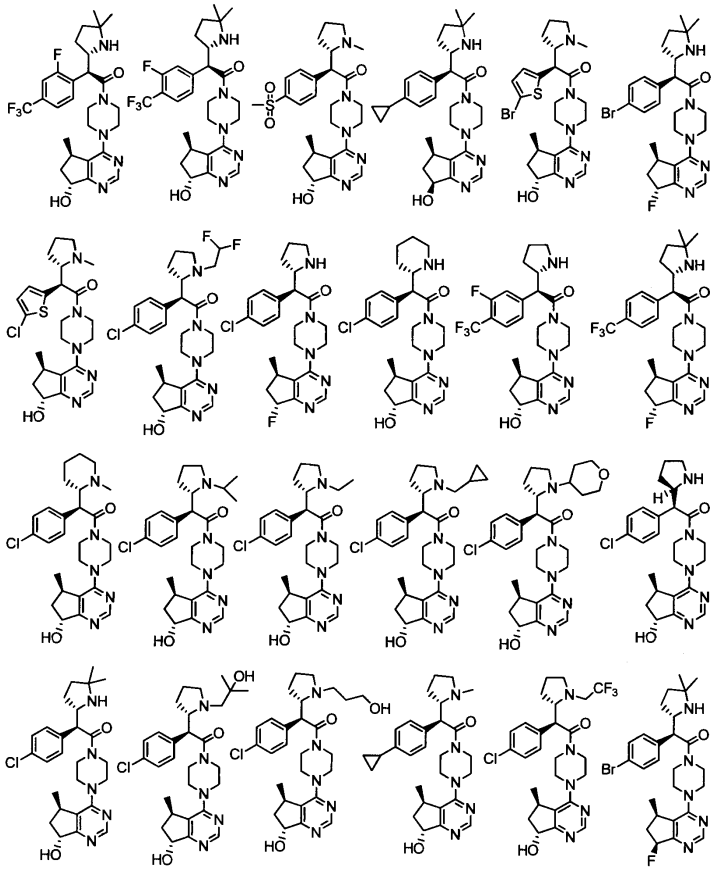
[0443] R^4는 H, 또는 F, -OH 또는 -O(C_1-C_3 알킬)로 임의로 치환된 C_1-C_4 알킬이며;

[0444] R^5 및 R^{5a}는 H 및 C_1-C_4 알킬로부터 독립적으로 선택되거나, 또는 R^5 및 R^{5a}가 이것들이 부착된 원자와 함께 5원 또는 6원 시클로알킬 또는 5원 또는 6원 헤테로사이클을 형성하며, 여기서의 헤테로사이클은 산소 헤테로원자를 갖고;

[0445] 각각의 R^a는 독립적으로 할로겐, C_1-C_6-알킬, C_3-C_6-시클로알킬, -O-(C_1-C_6-알킬), CF_3, $-OCF_3$, S(C_1-C_6-알킬), CN, $-OCH_2$-페닐, NH_2, $-NO_2$, -NH-(C_1-C_6-알킬), -N-(C_1-C_6-알킬)$_2$, 피페리딘, 피롤리딘, CH_2F, CHF_2, $-OCH_2F$, $-OCHF_2$, -OH, $-SO_2$(C_1-C_6-알킬), C(O)NH_2, C(O)NH(C_1-C_6-알킬) 또는 C(O)N(C_1-C_6-알킬)$_2$이고;

[0446] j는 1 또는 2이다.

[0447] 또 다른 실시양태는 다음을 포함하는 AKT 억제제 화합물을 포함한다:

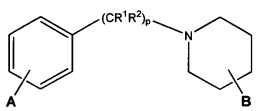
[0448] 
.

[0449] 한 실시양태에서, AKT 억제제는 GDC-0068로부터 선택된 상기 화학식의 화합물이다.

[0450] 화학식 II의 화합물은 WO 2009006567에 기재된 방법에 따라 제조될 수 있고, 상기 문헌은 어떠한 목적을 위해서든지 본원에 참고로 포함된다.

[0451] 한 실시양태에서, AKT 억제제는 하기 화학식 III의 알로스테릭 AKT 억제제이다:

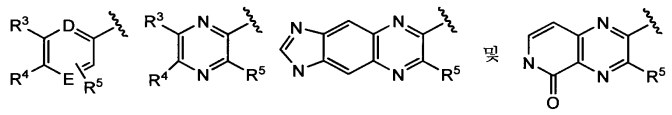
[0452] <화학식 III>

[0453] 

[0454] 상기 식에서,

[0455] R^1 및 R^2는 독립적으로 수소, C_1-C_5 알킬, 히드록실, C_{1-5} 알콕시 또는 아민이고; p는 1 내지 6의 정수이고; A는 5개 내지 14개 탄소의 시클릭, 비시클릭 또는 트리시클릭 방향족 또는 헤테로방향족 고리이고, 이것은 할로겐,

OH, 아미노, 디알킬아미노, 모노알킬아미노, C_1-C_6-알킬 또는 페닐로 임의로 치환될 수 있고, 이것은 할로겐, OH, C_1-C_3 알킬 또는 시클로프로필메틸로 임의로 치환되며, 한 실시양태에서는 A가 하기 구조 중 하나를 갖는다:

[0456] 

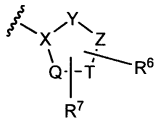
[0457] 여기서,

[0458] D 및 E는 독립적으로 -CH 또는 N이고;

[0459] R^3 및 R^4는 각각 독립적으로 수소, 할로겐, OH, 아미노, 디알킬아미노, 모노알킬아미노 또는 C_1-C_6-알킬이고, 이것은 할로겐, OH, C_1-C_3 알킬 또는 시클로프로필메틸로 임의로 치환되고;

[0460] R^5는 할로겐, OH, 아미노, 디알킬아미노, 모노알킬아미노 또는 C_1-C_6-알킬로 임의로 치환된 5원 또는 6원 방향족 또는 헤테로방향족 고리이고, 이것은 할로겐, OH, C_1-C_3 알킬 또는 시클로프로필메틸로 임의로 치환되고; 한 실시양태에서는 R^5가 페닐이며;

[0461] B는 하기 화학식을 갖는 방향족, 헤테로방향족, 시클릭 또는 헤테로시클릭 고리이다:

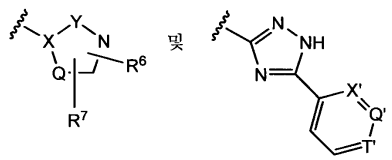
[0462] 

[0463] 여기서,

[0464] Q, T, X 및 Y는 각각 독립적으로 -CH, $-CH_2$, C=O, N 또는 O로 이루어진 군으로부터 선택되고;

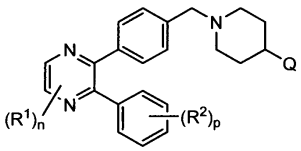
[0465] Z는 -CH, $-CH_2$, C=O, N, O 또는 -C=C-이고;

[0466] R^6 및 R^7은 독립적으로 수소, 할로겐, 카르보닐, 및 할로겐, OH, 아미노, 디알킬아미노, 모노알킬아미노 또는 C_1-C_6-알킬로 임의로 치환된 5원 또는 6원 방향족 또는 헤테로방향족 고리로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고, 이것은 할로겐, OH, C_1-C_3 알킬 또는 시클로프로필메틸로 임의로 치환되고; 한 실시양태에서는 R^6 또는 R^7이 피리디닐이거나, 또는 R^6 및 R^7이 함께 5원 또는 6원 방향족, 헤테로방향족, 시클릭 또는 헤테로시클릭 고리를 형성하고, 이것은 할로겐, OH, 아미노, 디알킬아미노, 모노알킬아미노 또는 C_1-C_6-알킬로 임의로 치환될 수 있고, 이것은 할로겐, OH, C_1-C_3 알킬 또는 시클로프로필메틸로 임의로 치환되고; 한 실시양태에서는 B가 하기 구조 중 하나를 갖는다:

[0467] 

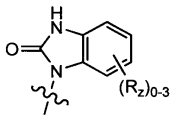
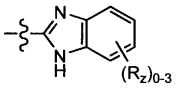
[0468] 여기서, X, Y, Q, R^6 및 R^7은 상기 기재된 바와 같고, X', Q' 및 T'는 -CH 또는 N이다.

[0469] 또 다른 실시양태는 하기 화학식을 갖는 알로스테릭 AKT 억제제 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 입체이성질체를 포함한다:

[0470] 

[0471] 상기 식에서,

[0472] a는 0 또는 1이고; b는 0 또는 1이고; m은 0, 1 또는 2이고; n은 0, 1 또는 2이고; p는 0, 1 또는 2이고; r은 0 또는 1이고; s는 0 또는 1이고;

[0473] Q는 --NR^7R^8,  및  로부터 선택되고;

[0474] R^1은 $(C=O)_aO_bC_1$-C_6 알킬, $(C=O)_aO_b$아릴, C_2-C_6 알케닐, C_2-C_6 알키닐, $(C=O)_aO_b$헤테로시클릴, $(C=O)_aO_bC_3$-C_6 시클로알킬, CO_2H, 할로겐, CN, OH, O_bC_1-C_6 퍼플루오로알킬, $O_a(C=O)_bNR^7R^8$, $NR^c(C=O)NR^7R^8$, $S(O)_mR^a$, $S(O)_2NR^7R^8$, $NR^cS(O)_mR^a$, 옥소, CHO, NO_2, $NR^c(C=O)O_bR^a$, $O(C=O)O_bC_1$-C_6 알킬, $O(C=O)O_bC_3$-C_6 시클로알킬, $O(C=O)O_b$아릴 및 $O(C=O)O_b$-헤테로사이클로부터 독립적으로 선택되고, 여기서의 상기 알킬, 아릴, 알케닐, 알키닐, 헤테로시클릴 및 시클로알킬은 R^z로부터 선택된 1개 이상의 치환기로 임의로 치환되고;

[0475] R^2는 C_1-C_6 알킬, 아릴, 헤테로시클릴, CO_2H, 할로, CN, OH 및 $S(O)_2NR^7R^8$로부터 독립적으로 선택되고, 여기서의 상기 알킬, 아릴 및 헤테로시클릴은 R^z로부터 선택된 1개, 2개 또는 3개의 치환기로 임의로 치환되고;

[0476] R^7 및 R^8은 H, $(C=O)O_bC_1$-C_{10} 알킬, $(C=O)O_bC_3$-C_8 시클로알킬, $(C=O)O_b$아릴, $(C=O)O_b$헤테로시클릴, C_1-C_{10} 알킬, 아릴, C_2-C_{10} 알케닐, C_2-C_{10} 알키닐, 헤테로시클릴, C_3-C_8 시클로알킬, SO_2R^a 및 $(C=O)NR^b_2$로부터 독립적으로 선택되고, 여기서의 상기 알킬, 시클로알킬, 아릴, 헤테로시클릴, 알케닐 및 알키닐은 R^z로부터 선택된 1개 이상의 치환기로 임의로 치환되거나; 또는

[0477] R^7 및 R^8이 이것들이 부착된 질소와 함께 각각의 고리에 5개 내지 7개의 구성원을 갖고 질소에 추가하여 N, O 및 S로부터 선택된 1개 또는 2개의 추가의 헤테로원자를 임의로 함유하는 모노시클릭 또는 비시클릭 헤테로사이클을 형성할 수 있고, 상기 모노시클릭 또는 비시클릭 헤테로사이클은 R^z로부터 선택된 1개 이상의 치환기로 임의로 치환되고;

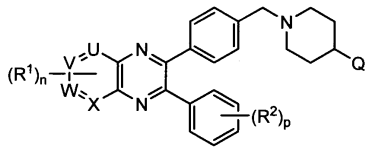
[0478] R^z는 $(C=O)_rO_s(C_1$-$C_{10})$ 알킬, $O_r(C_1$-$C_3)$퍼플루오로알킬, $(C_0$-$C_6)$알킬렌-$S(O)_mR^a$, 옥소, OH, 할로, CN, $(C=O)_rO_s(C_2$-$C_{10})$ 알케닐, $(C=O)_rO_s(C_2$-$C_{10})$ 알키닐, $(C=O)_rO_s(C_3$-$C_6)$ 시클로알킬, $(C=O)_rO_s(C_0$-$C_6)$ 알킬렌-아릴, $(C=O)_rO_s(C_0$-$C_6)$ 알킬렌-헤테로시클릴, $(C=O)_rO_s(C_0$-$C_6)$ 알킬렌-$N(R^b)_2$, $C(O)R^a$, $(C_0$-$C_6)$알킬렌-CO_2R^a, C(O)H, $(C_0$-$C_6)$알킬렌-CO_2H, $C(O)N(R^b)_2$, $S(O)_mR^a$, 및 $S(O)_2N(R^b)_2$ $NR^c(C=O)O_bR^a$, $O(C=O)O_bC_1$-C_{10} 알킬, $O(C=O)O_bC_3$-C_8 시클로알킬, $O(C=O)O_b$아릴 및 $O(C=O)O_b$-헤테로사이클로부터 선택되고, 여기서의 상기 알킬, 알케닐, 알키닐, 시클로알킬, 아릴 및 헤테로시클릴은 R^b, OH, $(C_1$-$C_6)$알콕시, 할로겐, CO_2H, CN, $O(C=O)C_1$-C_6 알킬, 옥소 및 $N(R^b)_2$로부터 선택된 최대 3개의 치환기로 임의로 치환되고;

[0479] R^a는 $(C_1$-$C_6)$알킬, $(C_3$-$C_6)$시클로알킬, 아릴 또는 헤테로시클릴이고;

[0480] R^b는 H, $(C_1$-$C_6)$알킬, 아릴, 헤테로시클릴, $(C_3$-$C_6)$시클로알킬, $(C=O)OC_1$-C_6 알킬, $(C=O)C_1$-C_6 알킬 또는 $S(O)_2R^a$이며;

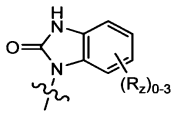
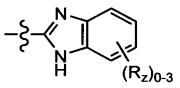
[0481] R^c는 H, C_1-C_6 알킬, 아릴, C_2-C_6 알케닐, C_2-C_6 알키닐, 헤테로시클릴, C_3-C_8 시클로알킬 및 C_1-C_6 퍼플루오로알킬로부터 선택되고, 여기서의 상기 알킬, 시클로알킬, 아릴, 헤테로시클릴, 알케닐 및 알키닐은 R^z로부터 선택된 1개 이상의 치환기로 임의로 치환된다.

[0482] 또 다른 실시양태는 하기 화학식을 갖는 알로스테릭 AKT 억제제 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 입체이성질체를 포함한다:

[0483] 

[0484] 상기 식에서,

[0485] a는 0 또는 1이고; b는 0 또는 1이고; m은 0, 1 또는 2이고; n은 0, 1, 2 또는 3이고; p는 0, 1 또는 2이고; r은 0 또는 1이고; s는 0 또는 1이고; u, v, w 및 x는 CH 및 N으로부터 독립적으로 선택지만, u, v, w 및 x 중 오직 1개만이 N일 수 있고;

[0486] Q는 --NR^5R^6,  및  로부터 선택되고,

[0487] R^1은 $(C=O)_aO_bC_1$-C_6 알킬, $(C=O)_aO_b$아릴, C_2-C_6 알케닐, C_2-C_6 알키닐, $(C=O)_aO_b$헤테로시클릴, $(C=O)_aO_bC_3$-C_6 시클로알킬, CO_2H, 할로겐, CN, OH, O_bC_1-C_6 퍼플루오로알킬, $O_a(C=O)_bNR^7R^8$, $NR^c(C=O)NR^7R^8$, $S(O)_mR^a$, $S(O)_2NR^7R^8$, $NR^cS(O)_mR^a$, 옥소, CHO, NO_2, $NR^c(C=O)O_bR^a$, $O(C=O)O_bC_1$-C_6 알킬, $O(C=O)O_bC_3$-C_6 시클로알킬, $O(C=O)O_b$아릴 및 $O(C=O)O_b$-헤테로사이클로부터 독립적으로 선택되고, 여기서의 상기 알킬, 아릴, 알케닐, 알키닐, 헤테로시클릴 및 시클로알킬은 R^z로부터 선택된 1개 이상의 치환기로 임의로 치환되고;

[0488] R^2는 C_1-C_6 알킬, 아릴, 헤테로시클릴, CO_2H, 할로, CN, OH 및 $S(O)_2NR^7R^8$로부터 독립적으로 선택되고, 여기서의 상기 알킬, 아릴 및 헤테로시클릴은 R^z로부터 선택된 1개, 2개 또는 3개의 치환기로 임의로 치환되고;

[0489] R^7 및 R^8은 H, $(C=O)O_bC_1$-C_{10} 알킬, $(C=O)O_bC_3$-C_8 시클로알킬, $(C=O)O_b$아릴, $(C=O)O_b$헤테로시클릴, C_1-C_{10} 알킬, 아릴, C_2-C_{10} 알케닐, C_2-C_{10} 알키닐, 헤테로시클릴, C_3-C_8 시클로알킬, SO_2R^a 및 $(C=O)NR^b_2$로부터 독립적으로 선택되고, 여기서의 상기 알킬, 시클로알킬, 아릴, 헤테로시클릴, 알케닐 및 알키닐은 R^z로부터 선택된 1개 이상의 치환기로 임의로 치환되거나; 또는

[0490] R^7 및 R^8이 이것들이 부착된 질소와 함께 각각의 고리에 5개 내지 7개의 구성원을 갖고 질소에 추가하여 N, O 및 S로부터 선택된 1개 또는 2개의 추가의 헤테로원자를 임의로 함유하는 모노시클릭 또는 비시클릭 헤테로사이클을 형성하고, 상기 모노시클릭 또는 비시클릭 헤테로사이클은 R^z로부터 선택된 1개 이상의 치환기로 임의로 치환되고;

[0491] R^z는 $(C=O)_rO_s(C_1$-$C_{10})$ 알킬, $O_r(C_1$-$C_3)$퍼플루오로알킬, $(C_0$-$C_6)$알킬렌-$S(O)_mR^a$, 옥소, OH, 할로, CN, $(C=O)_rO_s(C_2$-$C_{10})$ 알케닐, $(C=O)_rO_s(C_2$-$C_{10})$ 알키닐, $(C=O)_rO_s(C_3$-$C_6)$ 시클로알킬, $(C=O)_rO_s(C_0$-$C_6)$ 알킬렌-아릴, $(C=O)_rO_s(C_0$-$C_6)$ 알킬렌-헤테로시클릴, $(C=O)_rO_s(C_0$-$C_6)$ 알킬렌-$N(R^b)_2$, $C(O)R^a$, $(C_0$-$C_6)$알킬렌-CO_2R^a, C(O)H, $(C_0$-$C_6)$알킬렌-CO_2H, $C(O)N(R^b)_2$, $S(O)_mR^a$, 및 $S(O)_2N(R^b)_2NR^c(C=O)O_bR^a$, $O(C=O)O_bC_1$-C_{10}알킬, $O(C=O)O_bC_3$-C_8시클로알킬, $O(C=O)O_b$아릴 및 $O(C=O)O_b$-헤테로사이클로부터 선택되고, 여기서의 상기 알킬, 알케닐, 알키닐, 시클로알킬, 아릴 및 헤테로시클

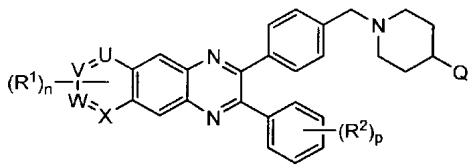
릴은 R^b, OH, (C_1-C_6)알콕시, 할로겐, CO_2H, CN, $O(C=O)C_1-C_6$ 알킬, 옥소 및 $N(R^b)_2$로부터 선택된 최대 3개의 치환기로 임의로 치환되고;

[0492] R^a는 (C_1-C_6)알킬, (C_3-C_6)시클로알킬, 아릴 또는 헤테로시클릴이고;

[0493] R^b는 H, (C_1-C_6)알킬, 아릴, 헤테로시클릴, (C_3-C_6)시클로알킬, $(C=O)OC_1-C_6$ 알킬, $(C=O)C_1-C_6$알킬 또는 $S(O)_2R^a$이고;

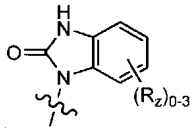
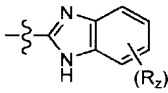
[0494] R^c는 H, C_1-C_6 알킬, 아릴, C_2-C_6 알케닐, C_2-C_6 알키닐, 헤테로시클릴, C_3-C_8 시클로알킬 및 C_1-C_6 퍼플루오로알킬로부터 선택되고, 여기서의 상기 알킬, 시클로알킬, 아릴, 헤테로시클릴, 알케닐 및 알키닐은 R^z로부터 선택된 1개 이상의 치환기로 임의로 치환된다.

[0495] 또 다른 실시양태는 하기 화학식을 갖는 알로스테릭 AKT 억제제 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 입체이성질체를 포함한다:

[0496] 

[0497] 상기 식에서,

[0498] a는 0 또는 1이고; b는 0 또는 1이고; m은 0, 1 또는 2이고; n은 0, 1, 2 또는 3이고; p는 0, 1 또는 2이고; r은 0 또는 1이고; s는 0 또는 1이고; u, v 및 x는 CH 및 N으로부터 독립적으로 선택되고; W는 결합, CH 또는 N이고;

[0499] Q는 $--NR^5R^6$,  및 으로부터 선택되고;

[0500] R^1은 $(C=O)_aO_bC_1-C_6$ 알킬, $(C=O)_aO_b$아릴, C_2-C_6 알케닐, C_2-C_6 알키닐, $(C=O)_aO_b$헤테로시클릴, $(C=O)_aO_bC_3-C_6$ 시클로알킬, CO_2H, 할로겐, CN, OH, $O_bC_1-C_6$ 퍼플루오로알킬, $O_a(C=O)_bNR^7R^8$, $NR^c(C=O)NR^7R^8$, $S(O)_mR^a$, $S(O)_2NR^7R^8$, $NR^cS(O)_mR^a$, 옥소, CHO, NO_2, $NR^c(C=O)O_bR^a$, $O(C=O)O_bC_1-C_6$ 알킬, $O(C=O)O_bC_3-C_6$ 시클로알킬, $O(C=O)O_b$아릴 및 $O(C=O)O_b$-헤테로사이클로부터 독립적으로 선택되고, 여기서의 상기 알킬, 아릴, 알케닐, 알키닐, 헤테로시클릴 및 시클로알킬은 R^z로부터 선택된 1개 이상의 치환기로 임의로 치환되고;

[0501] R^2는 C_1-C_6 알킬, 아릴, 헤테로시클릴, CO_2H, 할로, CN, OH 및 $S(O)_2NR^7R^8$로부터 독립적으로 선택되고, 여기서의 상기 알킬, 아릴 및 헤테로시클릴은 R^z로부터 선택된 1개, 2개 또는 3개의 치환기로 임의로 치환되고;

[0502] R^7 및 R^8은 H, $(C=O)O_bC_1-C_{10}$ 알킬, $(C=O)O_bC_3-C_8$ 시클로알킬, $(C=O)O_b$아릴, $(C=O)O_b$헤테로시클릴, C_1-C_{10} 알킬, 아릴, C_2-C_{10} 알케닐, C_2-C_{10} 알키닐, 헤테로시클릴, C_3-C_8 시클로알킬, SO_2R^a 및 $(C=O)NR^b_2$로부터 독립적으로 선택되고, 여기서의 상기 알킬, 시클로알킬, 아릴, 헤테로시클릴, 알케닐 및 알키닐은 R^z로부터 선택된 1개 이상의 치환기로 임의로 치환되거나, 또는

[0503] R^7 및 R^8이 이것들이 부착된 질소와 함께 각각의 고리에 5개 내지 7개의 구성원을 갖고 질소에 추가하여 N, O 및 S로부터 선택된 1개 또는 2개의 추가의 헤테로원자를 임의로 함유하는 모노시클릭 또는 비시클릭 헤테로사이클을 형성할 수 있고, 상기 모노시클릭 또는 비시클릭 헤테로사이클은 R^z로부터 선택된 1개 이상의 치환기로 임의

로 치환되고;

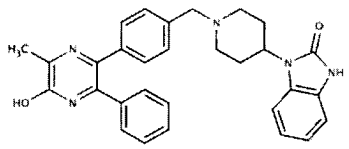
[0504] R^z는 $(C=O)_rO_s(C_1-C_{10})$ 알킬, $O_r(C_1-C_3)$퍼플루오로알킬, (C_0-C_6)알킬렌-$S(O)_mR^a$, 옥소, OH, 할로, CN, $(C=O)_rO_s(C_2-C_{10})$ 알케닐, $(C=O)_rO_s(C_2-C_{10})$ 알키닐, $(C=O)_rO_s(C_3-C_6)$ 시클로알킬, $(C=O)_rO_s(C_0-C_6)$ 알킬렌-아릴, $(C=O)_rO_s(C_0-C_6)$ 알킬렌-헤테로시클릴, $(C=O)_rO_s(C_0-C_6)$ 알킬렌-$N(R^b)_2$, $C(O)R^a$, (C_0-C_6)알킬렌-CO_2R^a, C(O)H, (C_0-C_6)알킬렌-CO_2H, $C(O)N(R^b)_2$, $S(O)_mR^a$ 및 $S(O)_2N(R^b)_2$ $NR^c(C=O)O_bR^a$, $O(C=O)O_bC_1-C_{10}$ 알킬, $O(C=O)O_bC_3-C_8$ 시클로알킬, $O(C=O)O_b$아릴 및 $O(C=O)O_b$-헤테로사이클로부터 선택되고, 여기서의 상기 알킬, 알케닐, 알키닐, 시클로알킬, 아릴 및 헤테로시클릴은 R^b, OH, (C_1-C_6)알콕시, 할로겐, CO_2H, CN, $O(C=O)C_1-C_6$ 알킬, 옥소 및 $N(R^b)_2$로부터 선택된 3개 이하의 치환기로 임의로 치환되고;

[0505] R^a는 (C_1-C_6)알킬, (C_3-C_6)시클로알킬, 아릴 또는 헤테로시클릴이고;

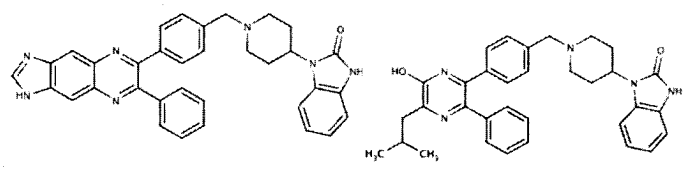
[0506] R^b는 H, (C_1-C_6)알킬, 아릴, 헤테로시클릴, (C_3-C_6)시클로알킬, $(C=O)OC_1-C_6$ 알킬, $(C=O)C_1-C_6$ 알킬 또는 $S(O)_2R^a$이고;

[0507] R^c는 H, C_1-C_6 알킬, 아릴, C_2-C_6 알케닐, C_2-C_6 알키닐, 헤테로시클릴, C_3-C_8 시클로알킬 및 C_1-C_6 퍼플루오로알킬로부터 선택되고, 여기서의 상기 알킬, 시클로알킬, 아릴, 헤테로시클릴, 알케닐 및 알키닐은 R^z로부터 선택된 1개 이상의 치환기로 임의로 치환된다.

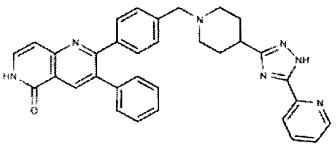
[0508] 또 다른 실시양태는 하기 화학식으로부터 선택된 알로스테릭 AKT 억제제 및 그의 염을 포함한다:



[0509]

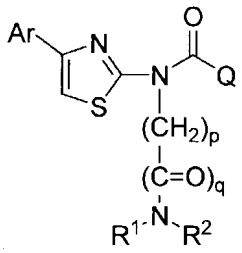


[0510]



[0511] 한 실시양태에서, 키나제 억제제는 AKT-1 선택적인 ATP-경쟁적 억제제이며, 하기 화학식 IV의 화합물 및 그의 제약상 허용되는 염이다:

[0512] <화학식 IV>



[0513]

[0514] 상기 식에서,

[0515] Ar은 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴 및 치환된 헤테로아릴로부터 선택되고;

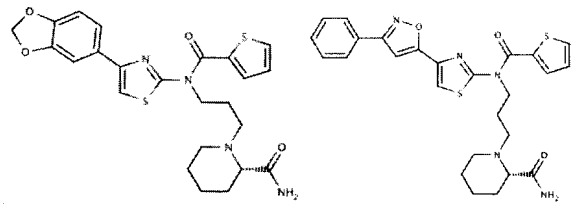
[0516] Q는 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 시클로헤테로알킬, 치환된 시클로헤테로알킬, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴 및 치환된 헤테로아릴로부터 선택되고;

[0517] R^1 및 R^2는 수소, 알킬, 치환된 알킬, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클로알킬, 치환된 헤테로시클로알킬, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴 및 치환된 헤테로아릴로부터 독립적으로 선택되거나; 또는 R^1 및 R^2는 R^1 및 R^2가 부착된 질소와 함께 시클로헤테로알킬, 치환된 시클로헤테로알킬, 헤테로아릴 및 치환된 헤테로아릴로부터 선택된 고리를 형성하고;

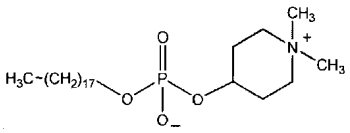
[0518] p는 2, 3, 4 및 5로부터 선택되고;

[0519] q는 0 또는 1이다.

[0520] 화학식 IV의 화합물은

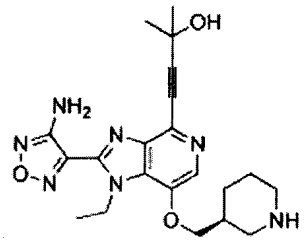
[0521]  및 그의 염을 포함한다.

[0522] 또 다른 실시양태는 AKT 억제제, 예컨대 하기 화학식을 갖는 페리포신을 포함한다:

[0523] 

[0524] 또 다른 실시양태는 AKT 억제제, 예컨대 항-AKT 항체 및 항-AKT DNA 또는 RNA를 포함한다.

[0525] 또 다른 실시양태는 하기 화학식을 갖는 AKT 억제제 및 그의 제약상 허용되는 염을 포함한다:

[0526] 

[0527] 또 다른 실시양태는 AKT 억제제, 예컨대 하기 서열을 갖는 안티센스 올리고뉴클레오티드를 비롯한 올리고뉴클레오티드를 포함한다:

[0528] 5' ccagcccccaccagtccact 3' (서열 1), 5' cgccaaggagatcatgcagc 3' (서열 2), 5' gctgcatgatctccttggcg 3' (서열 3), 5' agatagctggtgacagacag 3' (서열 4), 5' cgtggagagatcatctgagg 3' (서열 5), 5' tcgaaaaggtcaagtgctac 3' (서열 6), 5' tggtgcagcggcagcggcag 3' (서열 7) 및 5' ggcgcgagcgcgggcctagc 3' (서열 8).

[0529] 본 발명의 특정 실시양태는 이제 하기 비-제한적인 예에 의해 예시될 것이다.

[0530] AKT1에서의 활성화 돌연변이

[0531] 본 출원인은 AKT1에서의 특정 돌연변이가 AKT1 PH 도메인 및 키나제 도메인 사이에서 교란된 상호작용을 유발할 수 있다는 것을 발견하였다. 돌연변이(들)에 의해 유발된 이들 도메인 사이의 교란은 AKT1의 구성적 인산화 및 구성적 AKT1 신호전달을 유발한다고 여겨진다. 이들 효과는 또한 세포의 형질전환을 허용한다. 이들 돌연변이

는 PI3K 및 알로스테릭 Akt 억제제에 대한 내성을 부여한다. 따라서, 이러한 돌연변이의 존재는 PI3K 및 알로스테릭 Akt 억제제에 대한 유효 투여량이 보다 높을 것임을 나타내며, 또한 PI3K 및/또는 알로스테릭 Akt 억제제 이외의 억제제, 예컨대 경쟁적 Akt 억제제가 사용되어야 한다는 것을 나타낸다.

[0532] AKT, 및 PH와 키나제 도메인의 상호작용을 도 1A 및 1B에 도시한다. 본 출원인은 또한 PH와 키나제 도메인 사이의 상호작용 위치를 도 1C에 나타낸다.

[0533] PH 도메인과 키나제 도메인의 상호작용을 교란시킨다고 여겨지는 부위에서의 합성 돌연변이가 AKT의 구성적 인산화를 유발한다는 것을 나타내는 결과는 도 2에 나타낸다.

[0534] 암 환자에게서 발견되는 체세포 돌연변이는 도 3에 나타낸다.

[0535] 본 출원인은 체세포 돌연변이가 구성적 Akt 인산화 및 또한 구성적 Akt 신호전달을 유발한다는 점을 발견하였다 (도 4 참조).

[0536] 본 출원인은 Akt1 돌연변이체가 세포를 형질전환시킬 수 있다는 것을 입증하였다 (도 5 참조).

[0537] 흥미롭게도, Akt1 돌연변이체는 PI3K 억제제 및 AKT 알로스테릭 억제제에 대한 내성을 부여한다. 어떤 처치 요법이 가장 유익할지 나타내는 바이오마커를 갖는 환자에게 있어서 이러한 바이오마커의 발견은 유익할 것이다. 따라서, 이들 돌연변이는 암 진단 및 적당한 치료적 처치의 결정에 중요하다.

[0538] 추가로, Akt 돌연변이는 또한 원형질막 전좌를 최소로 하며 Akt 막 국소화에 영향을 미친다.

[0539] 특정 실시양태에서, 본 발명은 단리되거나 또는 정제될 수 있고 AKT 돌연변이체를 코딩하는 핵산 분자 (예를 들어, DNA 또는 RNA 분자), 및 AKT 돌연변이체의 아미노산 서열을 제공한다. 특정 실시양태에서, 본 발명은 이러한 돌연변이체를 사용하여 잠재적인 AKT 억제제 화합물을 스크리닝하는 방법을 제공한다.

[0540] AKT의 구성적 활성화를 유발하는 돌연변이

[0541] 단백질 키나제 AKT는 세포 생존 및 증식의 핵심 조절자로서, 인간 암에서 흔히 과활성화된다. 분자내 플렉스트린 상동성 (PH) 도메인-키나제 도메인 (KD) 상호작용은 AKT를 비활성 상태로 유지하는 데 있어서 중요하다. AKT 활성화는, 키나제 도메인으로부터 PH를 떨어뜨리는 형태 변화 후에 진행된다. 이들 자가-억제성 상호작용을 이해하기 위해, PH-KD 계면에서 돌연변이를 생성시켰고, 이들 중 대다수는 AKT의 구성적 활성화를 유발한다는 것을 발견하였다. 이러한 돌연변이는, 인간 암 및 다른 질환에서 발생할 수 있는 또 다른 활성화 메커니즘일 것이다. 이를 뒷받침하는 것으로서, 인간 암에서 이전에는 기재된 바 없었던, PH-KD 계면에서의 AKT1의 체세포 돌연변이가 발견되었다. 추가로, AKT1 체세포 돌연변이체는 구성적으로 활성이며, 이는 종양원성 신호전달을 유발한다. 추가로, AKT1 돌연변이체는 알로스테릭 AKT 억제제에 의해 효과적으로 억제되지 않는데, 이는 알로스테릭 억제를 위해서는 무손상 PH-KD 계면이 필요하다는 점과 일치한다. 이러한 결과는 PH-KD 계면에서 AKT 돌연변이를 갖는 환자를 위한 치료적 개입에 대한 중요한 시사이다.

[0542] 본 연구에서는, AKT의 활성화에 대한 PH-KD 상호작용의 교란 효과를 이해하기 위해 체계적인 분석을 수행하였다. PH-KD 계면에서의 잔기 돌연변이화에 의한 도메인간 접촉부의 교란은 AKT 활성화를 유발한다. 이를 기초로, PH-KD 접촉 부위에서의 돌연변이가 암에서 발생하는지 알아보기 위해 다수의 인간 종양을 서열분석하였다. 흥미롭게도, 인간 종양이 이들 부위에서의 AKT 돌연변이 (PH-KD 상호작용의 교란을 나타냄)를 가지며, 이것은 암에서의 AKT 활성화에 중요한 메커니즘이라는 것을 발견하였다. 이들 종양 특이적 체세포 돌연변이를 활성에 대해 시험하였고, 이것들은 종양원성인 것으로 나타났다. 또한, AKT 억제제를 이들 돌연변이체에 대해 시험하였으며, ATP-경쟁적 억제제가 알로스테릭 AKT 억제제에 비해 더 효과적이었다.

[0543] **PH-키나제 도메인 접촉부의 교란은 AKT 활성화를 유발함**

[0544] AKT의 활성화 상태를 평가하기 위해, IL-3-의존적 BaF3 세포의 성장 인자 독립적 생존을 촉진시키는 AKT의 능력을 측정하는 검정법을 개발하였다. BaF3 프로(pro)-B-세포는 종양유전자의 강제 발현에 의해 성장 인자 독립적이 될 수 있다. 야생형 AKT1 (WT AKT1), 미리스토일화된 (Myr) 또는 E17K AKT1 돌연변이체를 발현하는 BaF3 세포를 생성하였고, 활성화된 AKT 자체로는 인자 독립성을 촉진시킬 수 없음을 발견하였다. 그러나, Myr AKT1 또는 종양원성 E17K AKT1 및 활성화된 형태의 MAP2 키나제 MEK1 (Mek1 ΔN3, S218E, S222D)의 공동 발현은 BaF3 세포의 인자 독립적 성장 및 생존을 촉진시켰다. 활성 MEK1 (MEK1 N3)과 조합된 WT AKT1은 이 검정에서 약간의 활성을 나타냈지만, 돌연변이체 AKT1에 비해서는 덜 효과적이었다.

[0545] BaF3 검정을 이용하여 PH-KD 상호작용의 교란 결과를 조사하였다. AKT1의 최근 공개된 전장 구조 (문헌 [Wu et

al. (2010). PLoS One 5, e12913])를 사용하여, PH-KD 계면에 있는 잔기를 확인하였다. 이들 부위에서의 돌연변이는 유리한 상호작용을 제거함으로써 입체적 크기(steric bulk)를 증가시키거나 도메인간 극성 접촉부에 포함된 측쇄의 전하를 반전시켜서 PH-KD 상호작용이 방해되도록 디자인되었다. 35개의 이러한 AKT1 돌연변이체의 라이브러리를 생성하였다 (도 16; 표 1). 또한 이 풀 안에는 활성에 있어서 양성 대조군으로서 기능하는 AKT1 E17K 돌연변이체 구축물 및 음성 대조군으로서 기능하는 무증후 돌연변이를 갖는 WT AKT1 클론이 포함되었다. 3개의 AKT 돌연변이체 라이브러리를 사용하여, 상기 돌연변이체를 MEK1 N3과 함께 안정적으로 공동 발현하는 BaF3 세포의 풀을 유도하였다. IL-3 부재하에 성장시킨 후, IL-3 배제 후 제3일 및 제4일에 세포의 풀을 샘플링하고, 차세대 서열분석을 사용하여 풀 내에서의 다양한 돌연변이체의 비율을 투입 제0시간에 대해 결정하였다 (도 16C). 각각의 돌연변이를 투입 빈도에 대해 주어진 시점에서 관찰된 빈도의 표준화된 비율에 기초하여 점수화하였고, 이어서 이들 비율을 WT AKT1에 대한 비율로 표준화하였다. 예상된 바와 같이, AKT1 E17K는 야생형에 비해 50배 초과로 풍부하였다. 유사하게, T81Y 및 D323A와 같은 돌연변이체도 매우 풍부하였으며 (WT에 비해 15배 초과), 이는 이들 돌연변이가 AKT 활성화를 유발한다는 것을 나타낸다. 다른 돌연변이체, R23A, N53A, F55Y, L78T, Q79E, W80A, E191A, T195I, V270A, V271A, L321A, D325A 및 R328A는 상기 검정에서 중간 정도의 풍부화를 나타내었고 (제3일 또는 제4일 시점에서 WT에 비해 2배 내지 6배), 활성화시킬 것으로 여겨진다 (도 16D, 표 1).

[0546] <표 1>

AKT1 PH-KD 돌연변이 및 그의 효과 요약

AKT1 돌연변이	잔기 위치	활성화 상태 (NIH3T3 내 pT308/pS473)	BaF3 생존 검정	WT에서 핵심 도메인간 상호작용
WT (L52L)	음성 대조군	-	-	n/a
Myr (K189K)	양성 대조군	+	+	n/a
E17K	양성 대조군	nd	+	D323 포켓에 근접
m	도메인간 접촉부*	+	-	D323과 극성 접촉
G16A	계면 가장자리	+	-	D323 포켓에 근접
Y18S	도메인간 접촉부*	+	-	R273, K297, V320 및 Y326과 극성 및 소수성 접촉
I19E	도메인간 접촉부*	+	-	L321 및 F358과 소수성 접촉
R23A	도메인간 접촉부*	-	+	D323과 극성 접촉
L52A	도메인간 접촉부*	+	-	V270, V271 및 Y326과 소수성 접촉
N53A	계면 가장자리	+	+	N269 및 V270에 근접
N54A	도메인간 접촉부*	+	-	계면 수에 수소 결합; V271 및 Y326에 근접
F55Y	도메인간 접촉부*	+	+	Y326과 소수성 접촉
Q59E	계면 가장자리	-	-	188-198 루프에 근접할 것으로 여겨짐
L78T	도메인간 접촉부*	+	+	L181, L223 및 F225과 소수성 접촉
Q79E	계면 가장자리	+	+	알로스테릭 억제제 포켓에 근접
W80A	도메인간 접촉부*	+	+	V201 및 L213과 소수성 접촉
T81Y	도메인간 접촉부*	+	+	F225에 소수성 접촉; D292에 HB
V83D	도메인간 접촉부*	+	+	F161, L181 및 I186과 소수성 접촉
E114A	계면 가장자리	+	-	PH-KD 링커의 일부 (구조가 정의되지 않은 루프)
E191A	계면 가장자리	+	-	KD 결손부의 구조 중 188-198 루프 중 일부
T195I	계면 가장자리	+	+	KD 결손부의 구조 중 188-198 루프 중 일부

[0547]

L196R	계면 중심	+	-	KD 결손부의 구조 중 188-198 루프 중 일부
R200A	계면 가장자리	+	-	W80에 근접
L202F	도메인간 접촉부*	+	-	W80과 소수성 접촉
V270A	도메인간 접촉부*	nd	+	L52 및 N53과 소수성 접촉
V271A	도메인간 접촉부*	nd	+	L52와 소수성 접촉
L316A	도메인간 접촉부*	+	-	Y18과 소수성 접촉
V320A	도메인간 접촉부*	+	+	Y18과 소수성 접촉
L321A	도메인간 접촉부*	+	+	Y18과 소수성 접촉
D323A	도메인간 접촉부*	+	+	K14, R23 및 R25와 극성 접촉
N324K	도메인간 접촉부*	+	+	R25와 수소 결합 접촉
D325A	계면 가장자리	+	+	K39 bb 및 계면수에 수소 결합
Y326A	도메인간 접촉부*	+	+	F55와 소수성 접촉
R328A	계면 가장자리	+	+	L52에 근접
E355A	계면 가장자리	+	-	I19에 근접
F358S	도메인간 접촉부*	+	-	I19와 소수성 접촉
L362R	계면 가장자리	+	-	I19에 근접

* AKT1의 결정 구조로부터 도메인간 접촉부로 확인된 잔기 (문헌 [Wu et al., Plos One, 2010], PDB 접근 코드 3096)
nd = 측정하지 않음

[0548]

[0549] PH-KD 계면 돌연변이체의 효과를 추가적으로 이해하기 위해, 각각의 AKT1 돌연변이체를 안정적으로 발현하는 NIH3T3 세포주를 생성하고, T308 및 S473 인산화 상태 (pT308 및 pS473)를 평가하였다. 생존 검정 스크리닝과 일치되게, N53A, F55Y, L78T, Q79E, W80A, T81Y, E191A, T195I, L321A, D323A, D325A 및 R328A 돌연변이체는 T308 및 S473에 대해 상승된 인산화를 나타냈다 (도 16E). 추가로, AKT1 돌연변이체 N54A, V83D, E114A, L202F, V320A, N324K 및 Y326A는 생존 스크리닝에서 약한 풍부화 (WT에 비해 약 1.5배 내지 2배)를 나타냈지만, 이들은 상승된 수준의 pT308 및 pS473을 나타냈다. 이러한 결과는 PH-KD 접촉부의 교란이 AKT의 구성적 인산화를 유발한다는 것을 나타낸다.

[0550] **암에서의 AKT 체세포 돌연변이의 확인**

[0551] PH-KD 계면의 교란이 AKT 활성화를 유발한다는 것을 기초로, 이러한 돌연변이가 인간 원발성 종양에서 발생하는지의 여부를 평가하였다. 잠재적인 AKT 돌연변이를 확인하기 위해, AKT1, 2 및 3의 모든 코딩 엑손을 65개의 결장직장암, 51개의 유방암, 48개의 비-소세포 폐 (NSCLC) 선암 (선암), 43개의 NSCLC (편평), 43개의 신장 암종, 37개의 흑색종, 33개의 위암, 32개의 난소암, 15개의 식도암, 11개의 간세포암 (HCC), 10개의 소세포 폐암 (SCLC) 및 6개의 기타 암 (5개의 폐 대세포암 및 1개의 다른 폐암)으로 이루어진 총 394개의 인간 원발성 종양 샘플에서 서열분석하였다. 단백질-변경 체세포 AKT1 돌연변이가 유방암의 4% (2/51) 및 결장암의 1.5%

(1/65)에서 발견되었다. AKT2 체세포 돌연변이는 NSCLC (선암; 2/43)의 약 5%에서 발견되었다 (도 17).

[0552] E17K 돌연변이 외에도 코돈 52에서의 AKT1 돌연변이인 L52R가 존재한다. L52는 PH-KD 계면에 존재하며, 키나제 도메인에서 V270, V271, Y326, 및 R328의 메틸렌 부분과 소수성 접촉부를 만든다. L52A 돌연변이는 WT에 비해 AKT1의 인산화 수준을 증가시켰지만, BaF3 검정에서 생존율 증가를 유발하지는 않았다. 그러나, L52R 돌연변이에서는 유리한 소수성 상호작용이 사라지고 R328과의 불리한 상호작용이 도입될 것이어서 이것이 PH-KD 상호작용에 악영향을 줄 것 (따라서 AKT1 활성을 촉진시킬 것)으로 여겨진다. 유사하게, 유방 종양에서 확인된 D323H 돌연변이는 AKT1 키나제 도메인에 존재하고, PH 도메인의 3개의 염기성 잔기 (K14, R23 및 R25)에 근위이다 (도 1B, 2B). 합성 돌연변이체 D323A는 구성적으로 활성이며, 이는 히스티딘이 알라닌보다 도메인간 접촉부에 대해 훨씬 더 많이 교란적이기 때문에 (증가된 입체적 크기; 전하 반전에 대한 잠재성) D323H 또한 구성적으로 활성일 것임을 시사한다. R96 잔기는 주 PH 도메인 나선에 존재하고 키나제 도메인 계면과는 멀리 떨어져 있어서, PH-KD 상호작용의 교란을 통해 활성화를 촉진하지는 않을 것으로 여겨진다. 전장 AKT1 결정 구조에서 잔기 K189 내지 E198에 대한 전자 밀도는 관찰되지 않는다. 이 키나제 도메인 루프가 PH 도메인 나선의 C-말단 종결부의 근위에 있을 것으로 여겨지지만, K189N 돌연변이체와 관련이 있는 AKT1 활성 변화의 구조-기재 추정은 불가능하다.

[0553] <표 2>

인간 암에서 AKT 부류 단백질 변경 돌연변이

유전자	종양	돌연변이 (아미노산 변화)
AKT1	유방암	E17K
AKT1	NSCLC (선암)	F35L, E17K
AKT1	유방암 (HR+)	L52R, E17K
AKT1	흑색종	E17K
AKT1	자궁내막암	E17K
AKT1	전립선암	E17K
AKT1	방광암 (종양 및 세포주)	E17K
AKT1	방광암 (세포주)	E49K
AKT2	결장암	S302G, R371H
AKT3	NSCLC (선암)	Q124L,
AKT3	신경교종	G171R
AKT3	백혈병 (CLL)	K172Q
AKT3	흑색종 (종양 및 세포주)	E17K

[0554]

[0555] **AKT1 체세포 돌연변이체는 구성적으로 신호전달하고 형질전환을 유발함**

[0556] AKT1 체세포 돌연변이의 기능적 관련성을 평가하기 위해, PH-KD 상호작용에 영향을 줄 것으로 예상되는 L52R 및 D323H 돌연변이체를 시험하였다. 추가로, 키나제 도메인에서 발생하는 K189N 돌연변이를 시험하였다. N-말단 FLAG-태그가 부착된 AKT1 WT, 미리스토일화된 AKT1 (Myr AKT1), 또는 돌연변이체 E17K, L52R, K189N 및 D323H를 안정적으로 발현하는 NIH3T3 세포를 사용하여, 이들 돌연변이체를 신호전달에 미치는 이들에 효과에 대해 시험하였다. 이뮤노블롯 분석 결과, 형질도입된 벡터 또는 AKT1 WT 세포와는 달리, K189N을 제외한 모든 돌연변이체가 Myr AKT1과 유사하게 pT308 및 pS473 양쪽에 대해 증가를 나타냈다. 이와 일치되게, 본 발명자들은 공벡터, WT AKT1, 또는 K189N AKT1 돌연변이체를 발현하는 세포에 비해 Myr 또는 돌연변이체 AKT1을 발현하는 세포에서 AKT 기질 FOXO 및 S6 리보솜 단백질의 인산화가 동시에 증가하였음을 관찰하였다. 흥미롭게도, Myr AKT 또는 L52R 돌연변이체와는 달리, E17K 또는 D323H의 발현은 AKT 기질 PRAS40의 인산화를 상승시키지 않았고, 이는 이들 돌연변이체가 상이한 하류 이펙터 경로와 연관될 수 있음을 시사한다.

[0557] **AKT1 PH-키나제 도메인 돌연변이체는 도메인간 상호작용을 약화시키고 원형질막 전좌를 감소시킴**

[0558] 암 특이적 AKT1 돌연변이인 L52R 및 D323H가 PH-KD 상호작용을 교란시킬 것으로 예상되는 위치에서 발생하지만, 관찰된 아미노산 치환은 이전에 생성되고 분석된 합성 돌연변이체와 상이했다. 이들 체세포 돌연변이가 도메인간 상호작용을 약화시키는지의 여부를 직접적으로 시험하기 위해, VP16 활성화 도메인 (VP16 AD) 및 Ga14 DNA 결합 도메인 (Ga14 DBD)에 각각 융합된 AKT PH 및 KD 구축물을 사용하여 포유동물 2-하이브리드 검정을 수행하였다. 상호작용의 강도는 루시퍼라제 리포터를 사용하여 측정하였으며, 이때 루시퍼라제 활성은 상호작용의 강도에 비례한다. L52R PH 도메인/WT-KD 및 WT-PH/D323H KD 조합은 WT-PH/WT-KD 또는 E17K-PH/WT-KD에 비해 상호작용 신호의 50% 감소를 나타냈고, 이는 L52R 및 D323H 돌연변이체에 PH-KD 상호작용이 결핍되어 있음을 입증한다.

[0559] AKT 돌연변이체의 활성화 메커니즘을 추가로 이해하기 위해, 이들의 세포 국소화를 측정하였다. 휴면 세포에서, 야생형 AKT1은 세포질 및 핵 전체에 걸쳐 산만하게 국소화되고, 유사분열촉진인자 자극에 반응하여 원형질막으로 신속하게 전위되어 그의 활성화를 유발한다.

[0560] GFP-AKT1 PH 도메인 융합 구축물을 사용하여 L52R PH 도메인 돌연변이체에 대한 세포내 국소화 및 막 전좌를 시험하였다. WT 및 E17K AKT1 PH 도메인 GFP 융합 구축물은 대조군으로서 기능하였다. 성장 인자 자극의 부재하에, WT AKT1 PH 도메인은 세포질 및 핵 전체에 걸쳐 분포되었지만, E17K AKT1 PH 도메인은 원형질막에 구성적으로 국소화되었다. E17K AKT1 PH 도메인과는 반대로, L52R AKT1 PH 도메인은 세포질 및 핵 전체에 걸쳐 분포되어 WT AKT1 PH 도메인처럼 거동하였다. 그러나, 성장 인자 자극 후, WT AKT1 PH 도메인과는 달리, 돌연변이체 L52R PH 도메인은 원형질막에 대해 전위되지 않았다. 이는 변경된 지질 친화도 및 국소화에 반응하여 활성화되는 E17K 돌연변이체와는 달리, L52R 돌연변이체는 자가-억제성 상호작용의 부재로 인해 세포질에서 가장 활성화될 것임을 시사한다.

[0561] **AKT2 및 AKT3 PH-KD 상호작용의 교란은 이것들의 활성화를 유발함**

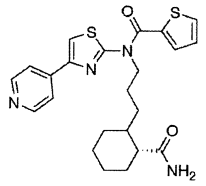
[0562] AKT 부류 구성원의 공통적인 도메인 구조를 기초로, AKT2 및 AKT3에서 PH-KD 상호작용의 교란이 이것들의 활성화를 유발할 수 있는지의 여부를 시험하였다. 이를 시험하기 위해, AKT2 돌연변이체인 L52R 및 D324H, 및 AKT3 돌연변이체인 L51R 및 D320H (AKT1 L52R 및 D323H의 등가물)를 생성하였고, 이들 모두는 PH-KD 상호작용을 교란시킬 것으로 예상된다. AKT3 E17K 돌연변이는 흑색종에서 발견될 수 있고, 인간 저혈당증에서 AKT2 E17K 돌연변이의 발견이 보고되었으므로, 인간 암에서 확인된 추가의 AKT2 및 AKT3 체세포 돌연변이와 함께 E17K AKT2 및 AKT3 돌연변이체를 생성하였다. 추가로, Myr AKT2 및 Myr AKT3을 양성 대조군으로서 생성하였다. AKT2 및 AKT3 돌연변이체는 NIH3T3 세포에서 안정적으로 발현되었고, T308 및 S473의 인산화 상태를 평가하였다. AKT2 E17K, L52R 및 D324H, 및 AKT3 E17K, L51R 및 D320H는 모두 WT AKT2 또는 AKT3 발현 세포에 비해 상승된 pT308 및 pS473을 나타냈다. 활성화 상태와 일치하게, 이들 AKT2 및 AKT3 돌연변이체는 활성화된 MEK1와 조합되어 BaF3 세포의 성장 인자 독립적 생존을 지지할 수 있었다. 흥미롭게도, 인간 암에서 확인된 AKT2 돌연변이체 R371H 또한 상승된 pT308 및 pS473을 나타냈지만, BaF3의 성장 인자 독립적 생존은 촉진시킬 수 없었다. 나머지 돌연변이체 (AKT2 V90L 및 R101L, 및 AKT3 Q124L 및 G171R)는 pT308 및 pS473에서 증가를 나타내지 않았고, BaF3 세포의 성장 인자 독립적 생존을 지지할 수 없었다. 전장 AKT2 및 AKT3에 대해 생성한 상동성 모델의 검사는, 이들 돌연변이 모두가 표면-노출된 루프에서 발생하고 PH-KD 계면에 근위가 아님을 나타낸다. AKT2 V90L 및 AKT3 Q124L이 AKT1 전자 밀도가 규명되지 않은 루프에 있다고 하더라도, 이들 루프의 말단은 PH-KD 계면에 근위가 아님이 주목된다. 따라서, 구조적 분석은 AKT2 R371H가 인산화를 얼마나 상승시킬 수 있는지, 또는 이들 돌연변이체 중 임의의 것이 이것들이 확인된 암에 대한 어느 정도의 구동력일 수 있는지에 대해 어떠한 식견도 제공하지 않는다.

[0563] **AKT1 체세포 돌연변이체는 생체내 종양발생을 촉진시킴**

[0564] 기존의 연구는, 종양유전자를 안정적으로 발현하는 BaF3 세포가 마우스에 이식되면 이것이 백혈병-유사 질환을 촉진시켜서 전체 생존율을 감소시킨다는 것을 보여주었다. AKT1 돌연변이체는 활성 MEK1과 협력하여 BaF3 세포의 인자-독립적 성장을 촉진시키기 때문에, 이 모델 시스템을 사용하여 이들의 생체내 종양형성 잠재성을 시험하였다. MEK1 N3 및 Myr AKT1, 또는 돌연변이체 AKT1 E17K, L52R 또는 D323H를 공동 발현하는 BaF3 세포가 이식된 마우스는 19일 내지 20.5일의 중앙 생존 기간을 나타냈다. 반대로, MEK1 N3 및 AKT1 WT를 공동 발현하는 BaF3 세포를 이식한 마우스는 29일로 유의하게 더 긴 중앙 생존 기간을 갖는다. 이는, 활성 MEK1과 관련하여 AKT1 WT가 BaF3 세포의 인자-독립적 생존을 지지할 수 있지만, 그 효과는 AKT 돌연변이체에 비해 중간 정도였다는 사실과 일치한다. 예상된 바와 같이, MEK1 N3을 단독 발현하는 대조군 BaF3 세포를 이식한 마우스는 55일의 연구 기간이 끝날 때까지 생존하였다. 이식후 제19일에는, 질환 진행을 추적하기 위해 처치군 당 3마리의 마우스 코호트에 대해 부검을 수행하였다. 감소된 전체 생존율과 일치하게, WT AKT1 또는 벡터 대조군 세포를 이식한 마우스에 비해 돌연변이체 AKT1가 부여된 마우스의 골수 및 비장에서는 GFP 태그가 부착된 BaF3 세포가 유의한 비율로 발견되었다. 돌연변이체 AKT1을 발현하는 마우스에서는 간 및 비장의 유의한 팽윤이 관찰되었다. 헤마톡실린 및 에오신 (H&E) 염색된 간, 비장, 및 골수 절편의 조직학적 조사는, 벡터 대조군 또는 WT AKT1 세포를 이식한 마우스와 비교할 때 돌연변이체 AKT1 형질도입된 세포를 이식한 마우스에서는 백혈병 모세포 (leukemic blast)에 의한 침윤이 있다는 증거를 나타냈다. 이러한 결과는 AKT1 돌연변이체의 생체내 형질전환 잠재성을 입증한다.

[0565] **AKT1 PH-KD 상호작용 결핍 돌연변이체에서는 알로스테릭 억제제에 대한 감수성이 감소됨**

[0566] AKT의 몇몇 ATP-경쟁적 및 알로스테릭 소분자 억제제가 개발 중이고/이거나 임상 시험 중이다 (문헌 [Mattmann et al. (2011). Expert Opin Ther Pat.], [Pal et al. (2010). Expert Opin Investig Drugs 19, 1355-1366]). 기존의 연구는, AKT의 알로스테릭 억제제가 그의 활성을 위해서는 무손상 PH-KD 계면의 존재를 필요로 한다는 것을 보여주었다. 일부 AKT1 체세포 돌연변이체에서 PH-KD 접촉이 손상된다는 점을 기초로 할 때, 알로스테릭 억제제는 이들 돌연변이체의 활성 억제에 대한 효능이 덜할 것으로 예상되었다. 2종의 ATP-경쟁적 억제제인 GNE-692 (문헌 [Bencsik et al. (2010). Bioorg Med Chem Lett 20, 7037-7041]) 및 GSK690693 (문헌 [Rhodes et al. (2008). Cancer Res 68, 2366-2374]) 및 2종의 알로스테릭 억제제인 억제제 VIII (문헌 [Lindsley et al. (2005). Bioorg Med Chem Lett 15, 761-764]) 및 GNE-929의 활성을 재조합 전장 WT 및 돌연변이체 AKT1 효소에 대해 시험하였다. WT 또는 AKT1 돌연변이체를 발현하는 NIH3T3 세포의 증식에 대한 상기 억제제의 효과 또한 시험하였다.

[0567] 
GNE-929

[0568] 생화학적 활성 검정에서, ATP-경쟁적 억제제 GNE-692 및 GSK690693은 WT AKT1 효소 (GNE-692 IC_{50} 24.3 nM) 및 또한 돌연변이체 효소 (E17K, L52R 및 D323H; GNE-692 IC_{50} 3.7 내지 15.8 nM)의 활성 차단에 효과적이었다. 유사하게, ATP-경쟁적 억제제는 세포-기재의 증식 검정에서 WT 및 돌연변이체 AKT1 양쪽에 대해 동등하게 효과적이었다. 반대로, 알로스테릭 억제제인 억제제 VIII 및 GNE-929는 WT AKT1 (억제제 VIII: IC_{50} 119.3 nM; 도 6C)에 비해 재조합 전장 돌연변이체 효소 (억제제 VIII: L52R의 경우 IC_{50} 268.4 nM; D323H의 경우 IC_{50} > 1 μM)에 대해 덜 효과적이었다. 이와 일치하게, 세포-기재의 검정에서, 알로스테릭 억제제인 억제제 VIII은 WT AKT에 비해 돌연변이체 AKT1을 발현하는 세포의 증식 차단에 50% 이상 덜 효과적이라는 것을 발견하였다.

[0569] 알로스테릭 억제제에 대한 돌연변이체의 감수성 감소가 PH-KD 상호작용 감소 때문이라는 점을 확인하기 위해, 정제된 재조합 PH 및 키나제 도메인을 사용하여 시험관내 생화학적 재구성 검정을 수행하였다. 이 시스템에서, 알로스테릭 억제제 VIII은 AKT1 키나제 도메인 단독에 대해 검정시에 그의 활성을 차단할 수 없었다. 그러나, 정제된 WT PH 도메인을 키나제 도메인에 부가하고 효소를 재구성한 경우에는 억제제 VIII이 효소의 활성을 차단할 수 있었는데, 전장 WT 효소 (IC_{50} 80.8 nM)에 비해 재구성된 효소 (IC_{50} 238.8 nM)의 경우에서 IC_{50}이 3배 증가했다. 반대로, 돌연변이체 PH 도메인 (L52R 또는 E17K)과의 재구성은 억제제 VIII의 AKT1 차단 능력을 더 감소시켰다 (L52R IC_{50} 713.5 nM 및 E17K IC_{50} > 1 μM). 유사하게, 억제제 VIII은 WT PH 도메인이 돌연변이체 D323H 키나제 도메인과 재구성된 경우에는 활성을 나타내지 않았다. 알로스테릭 억제제에 의한 E17K 억제의 결여는 PIP2에 대한 친화도 증가 뿐만이 아니라 이 돌연변이가 또한 PH-KD 상호작용에 영향을 미쳐서 그의 활성화를 유발할 수 있음을 시사한다. 세포-기재의 2-하이브리드 검정에서, E17K 돌연변이체에서는 PH-KD 상호작용의 결핍이 밝혀지지 않았고, 이는 E17K 활성화의 정확한 메카니즘은 더 조사될 필요가 있음을 나타낸다. 이들 데이터는 AKT1 알로스테릭 억제제에는 무손상 PH-KD 계면이 중요함을 확인시켜 준다.

[0570] 대리 PD 바이오마커 검정

[0571] 혈소판 풍부 혈장 (PRP) 내 포스포-GSK-3b를 대리 PD 바이오마커로 사용하여 GDC-0068 처치후의 환자에서의 Akt 경로 억제를 22일에 걸쳐 상이한 시점에서 측정하였다. 항응고제로서 0.38% 시트레이트를 함유하는 진공채혈기로 말초혈을 수집하였다. 혈액 200 g을 15분간 실온에서 회전시켰다. PRP 층을 튜브로부터 조심스럽게 취한 후, 세제, 프로테아제 및 포스파타제 억제제 함유 완충제에 용해시켰다. PRP 용해물 중 인산화된 전체 GSK-3β 수준을, 포스포-GSK3β/총-GSK3β 멀티플렉스된 MSD 검정을 사용하여 측정하였다. pGSk-3β 수준을 총 GSk-3β 수준에 대해 표준화하고, pGSk-3β의 투여후 억제를 각각의 환자에서 투여전 수준의 비율로서 표시하였다. 용량- 및 시간-의존적 약리학적 반응은 200 mg 이상의 용량에서 pGSK3β 수준 감소가 75% 이상이라는 것으로서 입증되었다.

[0572] 역상 단백질 어레이

[0573] GDCC0068 처치된 환자의 코어-바늘 종양 생검체를 OCT에서 급속 냉동하고, 8 ㎛ 슬라이스로 절편화하였다. 조

직을 TPER, 300 mM NaCl 및 포스파타제 억제제 함유 RPPA 용해 완충제에 용해시켰다. 용해물의 인단백질 특징을 역상 단백질 어레이를 사용하여 분석하였다: 샘플을 니트로셀룰로스 슬라이드 위에 프린팅하고, 전체 단백질 농도를 측정하기 위해 사이프로(Sypro)로 염색하였다. 각각의 슬라이드를 상이한 항체로 4℃에서 밤새 염색하였다. 이어서, 데이터를 단백질 수준에 대해 표준화시키고, 사분면 중앙 표준화를 사용하여 공간 효과를 제거하였다. pPRAS40에서의 60% 내지 70% 감소 및 시클린 D1에서의 약 50% 감소 (기준선 대비)가 1일 400 mg 처치된 3명의 환자 모두에게서 발생하였다. RPPA 방법 및 개요는 문헌 [Reverse phase protein microarrays advance to use in in clinical trials, Molecular Oncology. 2010 Dec;4(6):461-81, Mueller C et al.]을 참조한다. 특정 실시양태에서, 본원에서 치료할 암은 AKT, PI3k, PTEN 및 HER2 돌연변이 또는 AKT, PI3k, PTEN 또는 HER2 이상 신호전달 중 1종 이상을 포함한다. 한 예에서, 암은 pAKT 높은 활성 및 PTEN의 낮은 또는 널 상태를 포함하는 위암이다.

[0574] 한 구체적인 측면에서, 본 발명은 PTEN 돌연변이 또는 발현의 손실, AKT 돌연변이 또는 증폭, PI3K 돌연변이 또는 증폭, 또는 Her2/ErbB2 증폭과 관련이 있는 암을 갖는 환자에게 본 발명의 조합물을 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자의 치료 방법을 제공한다. 또 다른 측면에서, 본 발명은 환자의 암이 PTEN 돌연변이 또는 발현의 손실, AKT 돌연변이 또는 증폭, PI3K 돌연변이 또는 증폭, 또는 Her2/ErbB2 증폭과 관련이 있는지의 여부를 결정하는 것을 포함하는, 본 발명의 조합물로 치료할 수 있는 암을 갖는 환자의 확인 방법을 제공하며, 이 때 환자의 암과 PTEN 돌연변이 또는 발현의 손실, AKT 돌연변이 또는 증폭, PI3K 돌연변이 또는 증폭, 또는 Her2/ErbB2 증폭과의 관련성은 본 발명의 조합물로 치료할 수 있는 암에 대한 지표이다. 추가의 측면에서, 본 발명은 이와 같이 하여 확인된 환자를 본 발명의 조합물로 치료하는 것을 추가로 포함하는 방법을 제공한다.

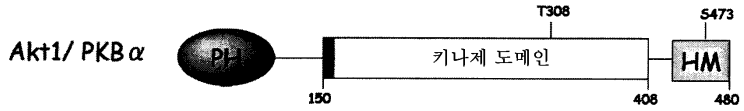
[0575] 또 다른 예에서, 치료될 암은 HER2 양성 또는 음성 상태와 조합된 PTEN 양성, 낮은 또는 널 상태와 관련이 있다. 예는 (i) PTEN 음성 (H점수(HScore): 약 10 미만, 또는 0) 및 Her2 음성, (ii) PTEN 낮은 상태 (H점수: 약 200 미만) 및 Her2 음성, (iii) PTEN 음성 및 Her2 양성, 또는 (iv) PTEN 양성 및 Her2 음성인 위암을 포함한다. 이 예에서, 암은 화학식 I의 화합물, 예를 들어 GDC-0068 또는 그의 염, 및 FOLFOX의 조합으로 치료될 수 있다.

[0576] 본원에서 언급된 모든 문헌은 참고로 포함된다. 본 발명의 특정 실시양태를 기재하였지만, 많은 상세사항은 예시의 목적으로 기재된 것이고, 특정한 상세사항은 본 발명의 기본 원칙을 벗어나지 않는 한 변경될 수 있다.

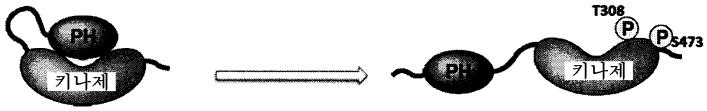
[0577] 본 발명의 실시양태를 기재함에 있어서 단수 용어 ("a" 및 "an" 및 "the") 및 유사 용어의 사용은 본원에서 달리 지적하거나 문맥 내에서 명확히 반박되지 않는 한은 단수형 및 복수형을 모두 포괄하는 것으로 해석된다. 용어 "포함하는", "갖는", "포괄하는" 및 "함유하는"은 달리 언급하지 않는 한은 개방형 용어 (즉, "~을 포함하지만 이에 제한되지 않는"의 의미)로 해석된다. 본원에서 언급하는 값의 범위는 본원에서 달리 나타내지 않는 한은 그 범위에 속하는 각각의 별개 값을 개별적으로 언급하는 간략한 방법으로서 의도되는 것일 뿐이며, 각각의 별개 값은 그것이 본원에서 개별적으로 언급되는 것으로 본원에 포함된다. 본원에서 상술된 순서 이외에도 본원에 기재한 방법은 본원에서 달리 지적하거나 문맥 내에서 명확히 반박되지 않는 한은 임의의 적합한 순서로 수행될 수 있다. 본원에서 제공되는 임의의 및 모든 예, 또는 예시적인 어구 (예를 들어, "예컨대")의 사용은 본 발명의 실시양태를 보다 잘 예시하기 위한 의도일 뿐이며, 특허청구범위에서 구체적으로 달리 지적되지 않는 한은 본 발명의 범위를 제한하는 것은 아니다. 명세서에서의 어구 중 청구되지 않은 임의의 요소가 본 발명의 실시에 필수적이라고 해석되는 어구는 없다.

도면

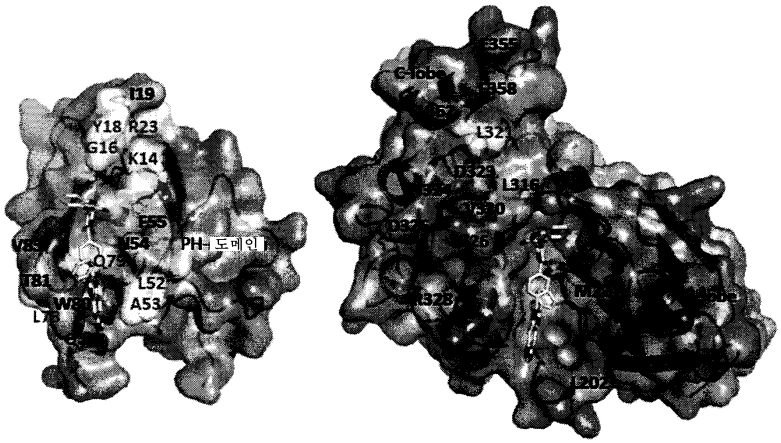
도면1



1A



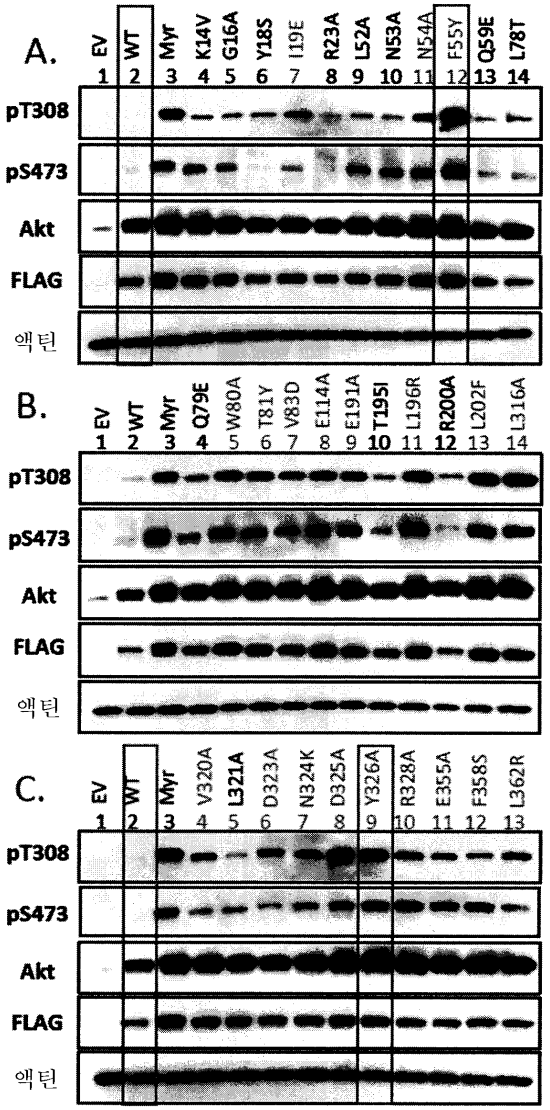
1B



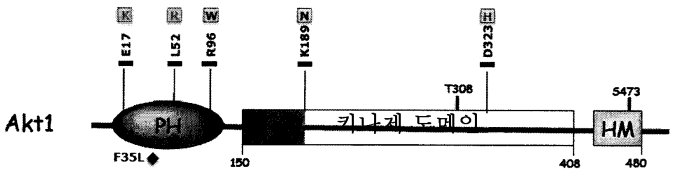
PH- 도메인 키나제 도메인

1C

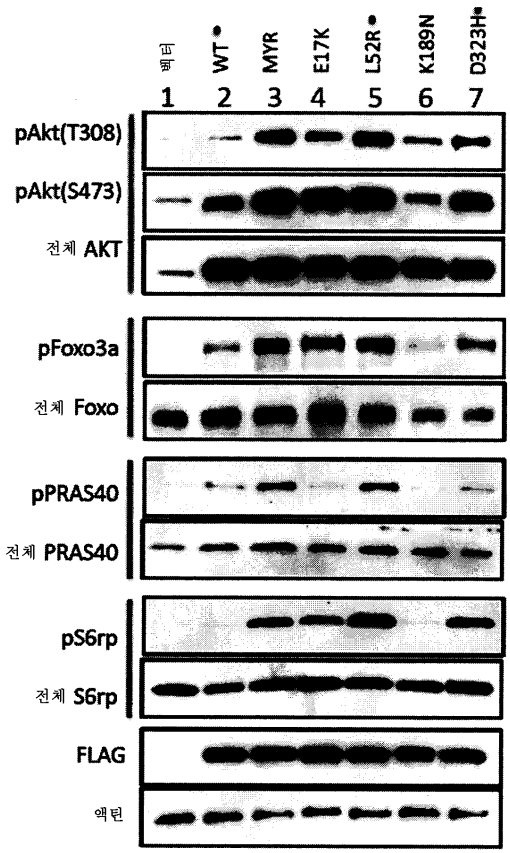
도면2


A.
EV 1
WT 2
Myr 3
K14V 4
G16A 5
Y18S 6
I19E 7
R23A 8
L52A 9
N53A 10
N54A 11
F55Y 12
Q59E 13
L78T 14
pT308
pS473
Akt
FLAG
액틴
B.
EV 1
WT 2
Myr 3
Q79E 4
W80A 5
T81Y 6
V83D 7
E114A 8
E191A 9
T195I 10
L196R 11
R200A 12
L202F 13
L316A 14
pT308
pS473
Akt
FLAG
액틴
C.
EV 1
WT 2
Myr 3
V320A 4
L321A 5
D323A 6
N324K 7
D325A 8
Y326A 9
R328A 10
E355A 11
F358S 12
L362R 13
pT308
pS473
Akt
FLAG
액틴

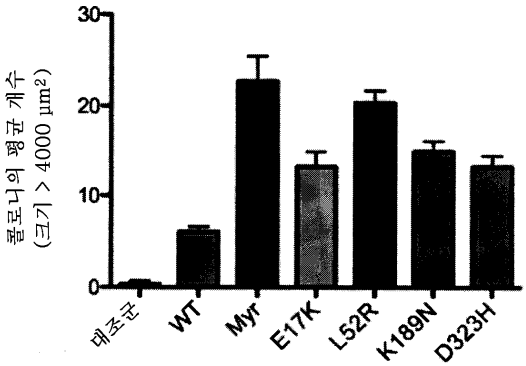
도면3


K
R
W
N
H
E17
L52
R96
K189
D323
T308
S473
Akt1
PH
키나제 도메인
HM
F35L
150
408
480

도면4

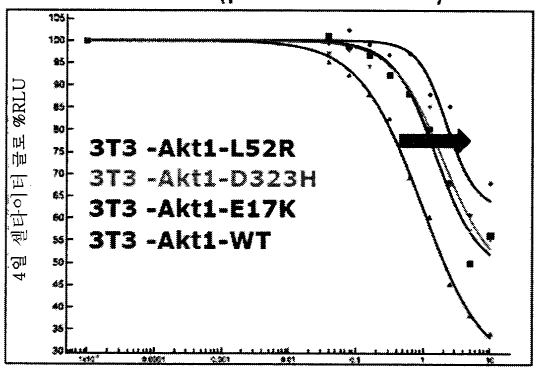

베타
WT
MYR
E17K
L52R
K189N
D323H
1 2 3 4 5 6 7
pAkt(T308)
pAkt(S473)
전체 AKT
pFoxo3a
전체 Foxo
pPRAS40
전체 PRAS40
pS6rp
전체 S6rp
FLAG
액틴

도면5

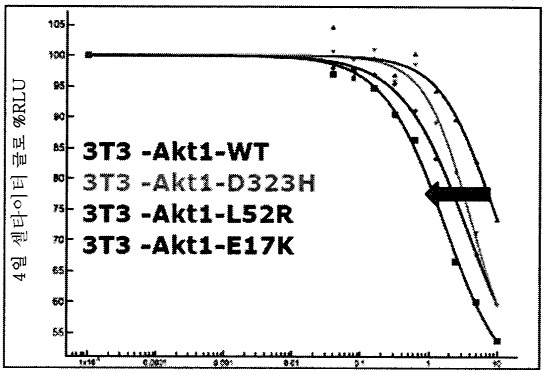

콜로니의 평균 개수
(크기 > 4000 μm²)
30
20
10
0
대조군
WT
Myr
E17K
L52R
K189N
D323H

도면6

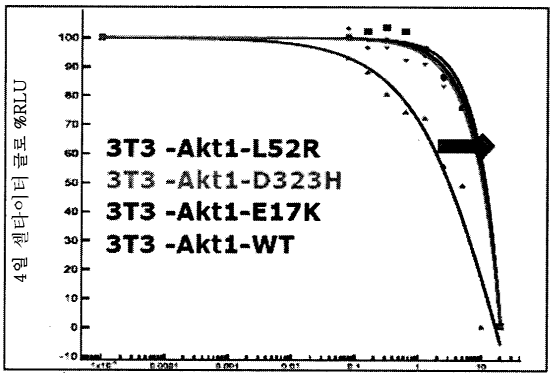
A. GDC-0941 (pan-PI3K 억제제)



B. GDC-0068 (Akt ATP 경쟁적 억제제)

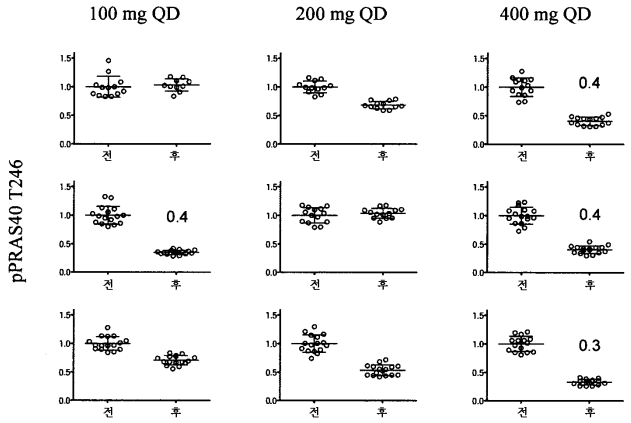


C. MK2206 (Akt 알로스테릭 억제제)



도면7

처치된 환자로부터의 종양에서의 pPRAS40 T246의 변화



• 400 mg 코호트에서 환자 3명 모두는 >60% 억제를 나타낸다.

도면8

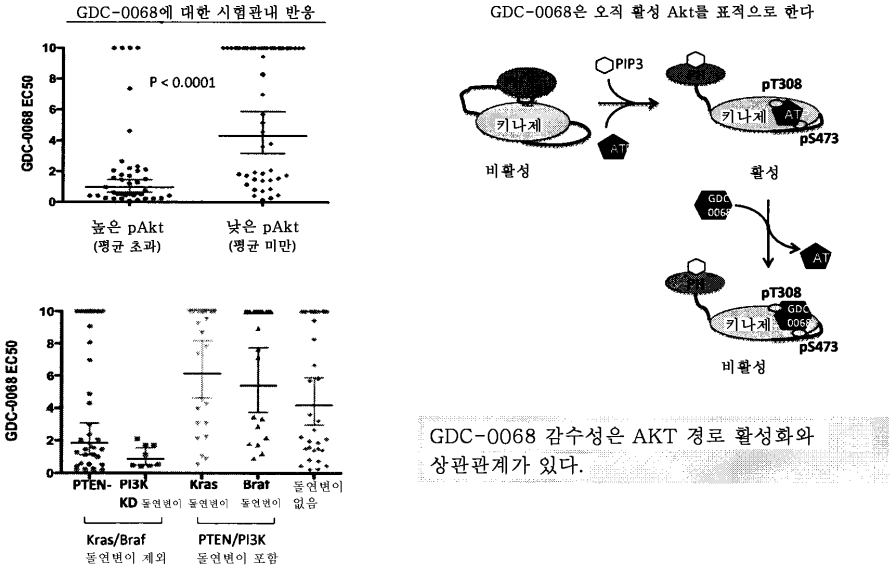
활성화된 PI3K/AKT 경로를 갖는 종양

	경로 구동자																	
	BC	NSCLC	전립선암	HNSCC	위암	CRC	PDAC	흑색종	HCC	신장암	난소암	자궁내막암	방광암	중피종	SCLC	GBM	AML	NHL	MM
PI3K 돌연변이	28%	3%	2%	11%	8%	14-30%			35%	3%	6%	35%	12%			6%			
PI3K 증폭		73% aq, 24% ad		37%	36%	30%					30%	10%	10-50%						
PTEN 손실	30%	24%	75-100%	29%	40%	10-20%	20-75%	30%	16-40%	35%	50% endo 25% ser	30-80%	40%	0-62%	10-20%	70-90%	4%	5%	6%
AKT 증폭	3%			17-30%AKT2	20% AKT1		20% AKT2				12%								
AKT 돌연변이	2-6%	1%				1%					2%								
LKB1 돌연변이		15%																	
KRAS		20%				40%	~90%												
BRAF						15%	2%	50%											
NRAS								15%											

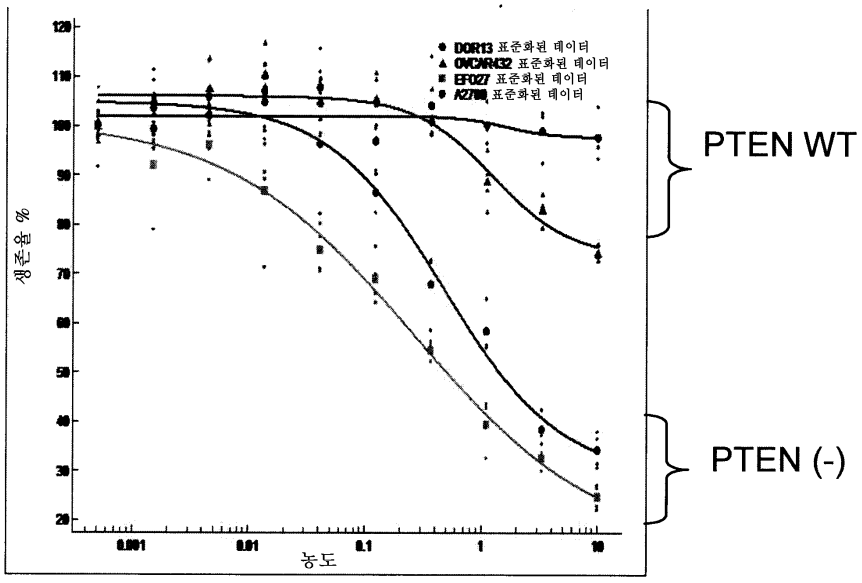
- PTEN 손실 개수는 IHC, FISH, aCHG, 돌연변이로부터 유래된다.
  - 확인된 사내 검정법을 이용하여 확인할 필요가 있다.
- PTEN 손실은 전형적으로 진행성 질환과 관련된다. 불량한 예후 (전립선암, BrCa, 위암, 예외: 난소암)

도면9

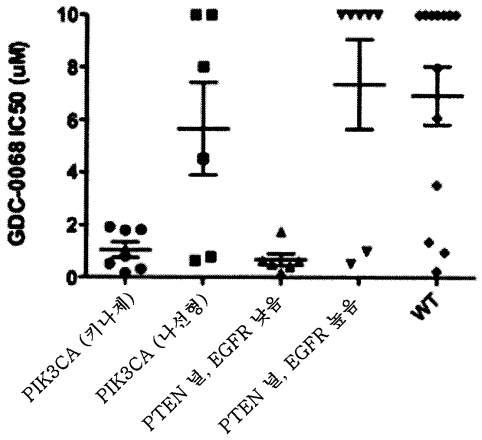
높은 AKT 활성은 GDC-0068에 대한 감수성을 예측한다.



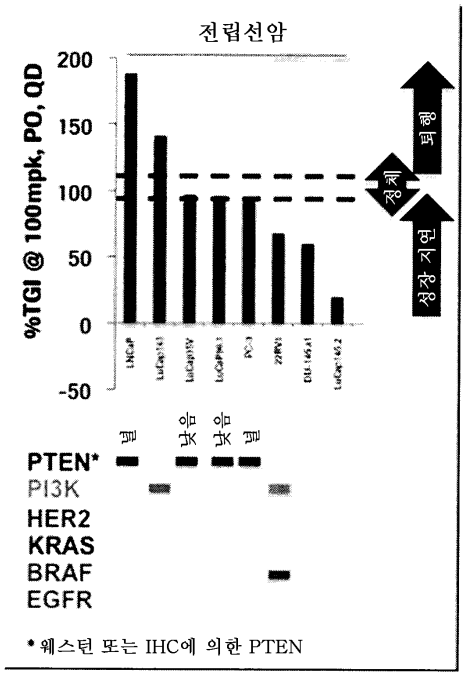
도면10



도면11



도면12a



12A

도면12b

❑ 견고한 효능
(정체/퇴행):

✓ **LnCaP** 전립선암
✓ **PC3** 전립선암
✓ **LuCaP35v** 전립선암 **(1° 종양)**
✓ **LuCaP141** 전립선암 **(1° 종양)**
✓ **LuCaP96.1** 전립선암 **(1° 종양)**
✓ **U87MG** 교모세포종
✓ **IGROV-1** 난소암
✓ **SKOV3** 난소암
✓ **TOV-21G-X1** 난소암
✓ **BT474M1** 유방암
✓ **KPL4** 유방암
✓ **MCF7.1** 유방암
✓ **HCC1954.x1** 유방암
✓ **HM7** 결장암
✓ **537Mel** 흑색종
✓ **HGC-27** 위암
• **MAXF401** 유방암 **(1° 종양)**
• **Fo5** 유방암 **(Tg Her2+** 마우스 동종이식편**)**

❑ 완만한 효능
(성장 지연):

✓ LuCaP145.2 전립선암 (1° 종양)
✓ LuCaP77 전립선암 (1° 종양)
✓ OVCAR3 난소암
✓ A2058.x1 흑색종
❖ Lovo 결장암
• DoHH2 NHL

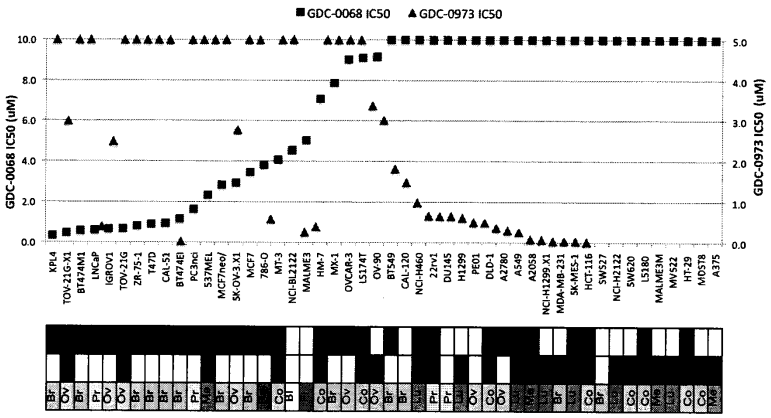
❑ 거의/전혀 활성 없음:

❖ Panc-1 췌장암
❖ NCI H2122 NSCLC
❖ MDA-MB-231 유방암

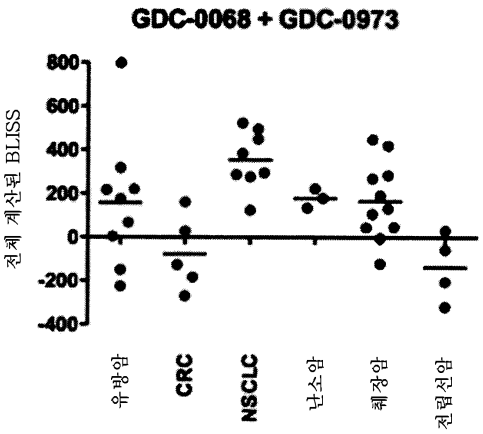
✓ PI3K 돌연변이/증폭 또는 PTEN 돌연변이
❖ KRas 또는 BRaf 돌연변이

12B

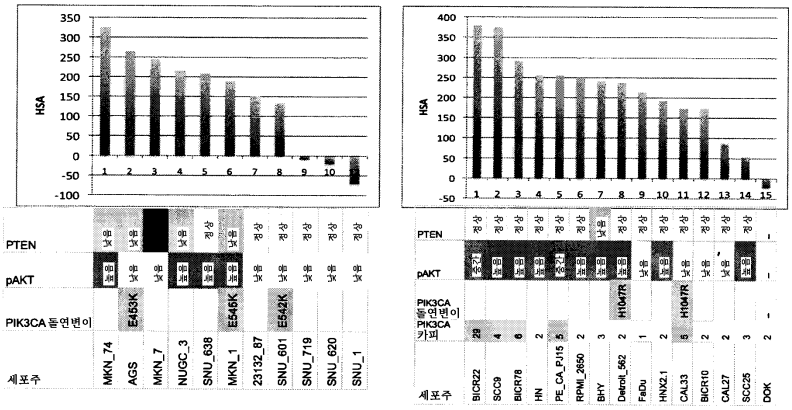
도면13



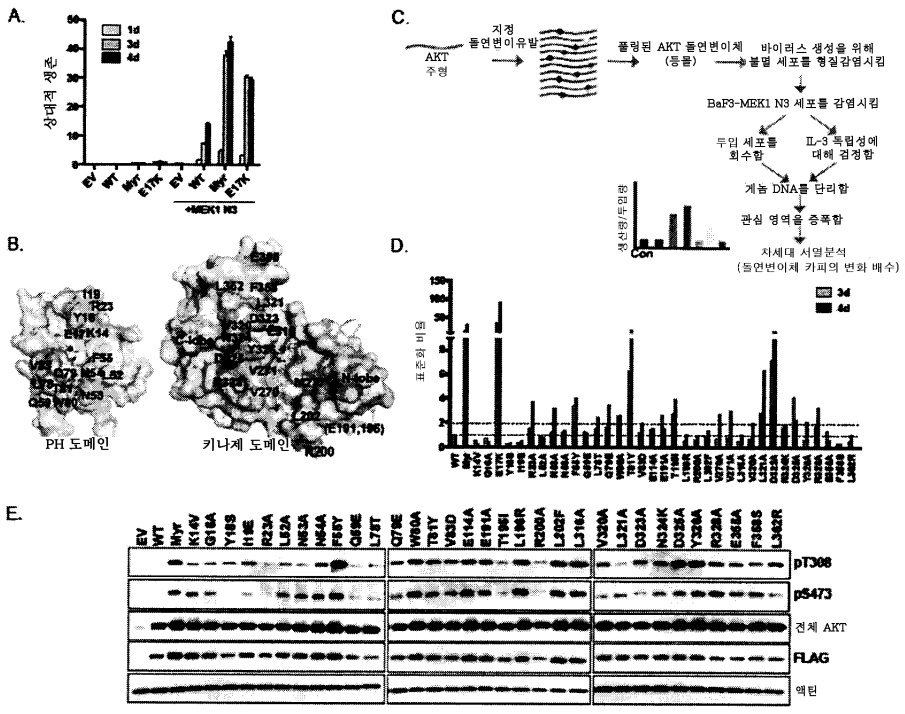
도면14



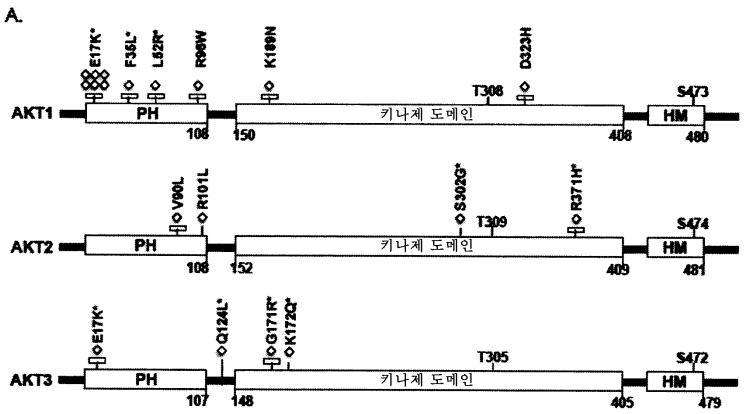
도면15



도면16



도면17


A.
AKT1
PH
키나제 도메인
HM
E17K*
F35L*
L52R*
R86W
K189N
T308
D323H
S473
108
150
408
480
AKT2
PH
키나제 도메인
HM
V90L
R101L
S302G*
T309
R371H*
S474
108
152
409
481
AKT3
PH
키나제 도메인
HM
E17K*
Q124L*
G171R*
K172Q*
T305
S472
107
148
405
479