(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2018년03월08일
(11) 등록번호 10-1836538
(24) 등록일자 2018년03월02일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 487/04 (2006.01) *A61K 31/4155* (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2012-7023358
(22) 출원일자(국제) 2011년02월18일
심사청구일자 2016년01월21일
(85) 번역문제출일자 2012년09월06일
(65) 공개번호 10-2013-0009763
(43) 공개일자 2013년01월23일
(86) 국제출원번호 PCT/US2011/025433
(87) 국제공개번호 WO 2011/103423
국제공개일자 2011년08월25일
(30) 우선권주장
61/305,630 2010년02월18일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
US20070135461 A1*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
인사이트 홀딩스 코포레이션
미국 델라웨어주 19803 윌밍턴 어거스틴 컷-오프 1801
(72) 발명자
리, 연-롱
미국 피에이 19317, 체드 포드, 핀 오크 드라이브 1
로져스, 제임스, 디.
미국 피에이 19350, 렌든버그, 힐사이드 레인 2
(74) 대리인
손민

전체 청구항 수 : 총 24 항 심사관 : 이민정

(54) 발명의 명칭 **야누스 키나아제 억제제로서의 사이클로부탄 및 메틸사이클로부탄 유도체**

(57) 요 약

본 발명은 사이클로부탄 및 메틸사이클로부탄 유도체뿐만 아니라 이들의 염, 조성물, 및 사용방법에 관한 것으로, 이들은 예를 들어, 염증성 및 자가면역 장애 뿐만 아니라 암 및 골수증식성 장애를 포함하는 JAK-관련 질환의 치료에 유용한 야누스 키나아제(JAK) 억제제이다.

명 세 서

청구범위

청구항 1

3-사이클로부틸-3-[4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일]프로판니트릴 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염인 화합물.

청구항 2

제 1항에 있어서, (*R*)-3-사이클로부틸-3-[4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일]프로판니트릴 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염인 화합물.

청구항 3

제 1항에 있어서, (*S*)-3-사이클로부틸-3-[4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일]프로판니트릴 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염인 화합물.

청구항 4

3-(4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일)-3-(3-메틸사이클로부틸)프로판니트릴, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염인 화합물.

청구항 5

제 4항에 있어서, 3-(4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일)-3-((트랜스)-3-메틸사이클로부틸)프로판니트릴 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염인 화합물.

청구항 6

제 5항에 있어서, (3*R*)-3-(4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일)-3-((트랜스)-3-메틸사이클로부틸)프로판니트릴 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염인 화합물.

청구항 7

제 5항에 있어서, (3*S*)-3-(4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일)-3-((트랜스)-3-메틸사이클로부틸)프로판니트릴 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염인 화합물.

청구항 8

제 4항에 있어서, 3-(4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일)-3-((시스)-3-메틸사이클로부틸)프로판니트릴 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염인 화합물.

청구항 9

제 8항에 있어서, (3*R*)-3-(4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일)-3-((시스)-3-메틸사이클로부틸)프로판니트릴 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염인 화합물.

청구항 10

제 8항에 있어서, (3*S*)-3-(4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일)-3-((시스)-3-메틸사이클로부틸)프로판니트릴 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염인 화합물.

청구항 11

제 1항 내지 제 10항 중 어느 한 항의 화합물의 인산염.

청구항 12

삭제

청구항 13

제 1항 내지 제 10항 중 어느 한 항의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 치료학적 유효량을 포함하는, 자가면역 질환을 치료하기 위한 약제학적 조성물.

청구항 14

제 13항에 있어서, 상기 자가면역 질환이 아토피성 피부염, 건선, 피부 감작, 피부 자극, 피부 발진, 접촉 피부염, 알러지성 접촉 감작, 다발성 경화증, 류마티스성 관절염, 건선 관절염, 소아 관절염, I형 당뇨병, 루푸스, 염증성 장 질환, 크론병, 중증 근무력증, 면역글로불린 신장병, 심근염, 또는 자가면역 갑상선 장애인 것인 약제학적 조성물.

청구항 15

제 13항에 있어서. 상기 자가면역 질환이 류마티스성 관절염인 것인 약제학적 조성물.

청구항 16

제 13항에 있어서, 상기 자가면역 질환이 아토피성 피부염, 건선, 피부 감작, 피부 자극, 피부 발진, 접촉 피부염 또는 알러지성 접촉 감작인 것인 약제학적 조성물.

청구항 17

삭제

청구항 18

제 1항 내지 제 10항 중 어느 한 항의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 치료학적 유효량을 포함하는, 암을 치료하기 위한 약제학적 조성물.

청구항 19

제 18항에 있어서, 상기 암이 고형 종양인 것인 약제학적 조성물.

청구항 20

제 18항에 있어서, 상기 암이 전립선암, 신장암, 간암, 유방암, 폐암, 갑상선암, 카포시 육종, 캐슬만병 또는 췌장암인 것인 약제학적 조성물.

청구항 21

제 18항에 있어서, 상기 암이 림프종, 백혈병, 또는 다발성 골수종인 것인 약제학적 조성물.

청구항 22

제 1항 내지 제 10항 중 어느 한 항의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 치료학적 유효량을 포함하는, 골수증식성 장애를 치료하기 위한 약제학적 조성물.

청구항 23

제 22항에 있어서, 상기 골수증식성 장애(MPD)가 진성 적혈구 증가증(PV), 본태성 혈소판증가증(ET), 일차성 골수섬유증(PMF), 골수양화생을 동반한 골수섬유화증(MMM), 만성골수성 백혈병(CML), 만성 골수단구성 백혈병(CMML), 과호산구 증후군(HES), 원발성 골수섬유증(IMF), 전신성 비만 세포 질환(SMCD), 또는 후-진성 적혈구증가증(Post-PV) 또는 본태성 혈소판 증대증 골수섬유증(ET MF)인 것인 약제학적 조성물.

청구항 24

제 1항 내지 제 10항 중 어느 한 항의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 치료학적 유효량을 포함하는, 염증성 질환을 치료하기 위한 약제학적 조성물.

청구항 25

제 1항 내지 제 10항 중 어느 한 항의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 치료학적 유효량을 포함하는, 장기 이식 거부를 치료하기 위한 약제학적 조성물.

청구항 26

제 1항 내지 제 10항 중 어느 한 항의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 치료학적 유효량을 포함하는, 안구 건조를 치료하기 위한 약제학적 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] **관련 출원**

[0002] 본 출원은 2010년 2월 18일자로 출원되고, 발명의 명칭이 "야누스 키나아제 억제제로서의 사이클로부탄 및 메틸 사이클로부탄 유도체"인 미국 가특허 출원 제61/305,630호를 우선권으로 주장한다. 본 명세서 전체에 걸쳐서 인용된 모든 특허, 특허 출원, 및 참조문헌의 내용은 이들 전체가 참조로서 본원에 포함된다.

[0003] **발명의 분야**

[0004] 본 발명은 사이클로부탄 및 메틸사이클로부탄 유도체뿐만 아니라 이의 염, 조성물, 및 사용방법에 관한 것이다. 이러한 화합물은 예를 들어, 염증성 및 자가면역 장애뿐만 아니라 암 및 골수증식성 장애를 포함하는 JAK-관련 질환의 치료에 유용한 야누스 키나아제 (JAK) 억제제이다.

배 경 기 술

[0005] 단백질 키나아제 (PK)는 세포 성장, 생존 및 분화, 기관 형성 및 형태발생, 혈관신생, 조직 복구 및 재생을 포함하는 각종 중요한 생물학적 과정을 조절하는 일군의 효소이다. 단백질 키나아제는 단백질 (또는 기질)의 인산화를 촉매하고 이에 따라 각종 생물학적 상황에서 기질의 세포 활성을 조정하는 것을 통하여 이의 생리학적 기능을 나타낸다. 정상 조직/기관의 기능 이외에, 다수의 단백질 키나아제는 또한 암을 포함하는 인간 질환의 숙주에서 보다 특성화된 역할을 한다. 조절되지 않는 경우, 단백질 키나아제 (발암성 단백질 키나아제로도 지칭됨)의 아집단은 종양 형성 및 성장을 유발시킬 수 있으며, 나아가 종양 유지 및 진행에 기여할 수 있다. 따라서, 발암성 단백질 키나아제는 암 중재 시술 (intervention) 및 약물 개발에 관한 단백질 표적의 가장 크고 가장 매력적인 그룹 중 하나이다.

[0006] 야누스 키나아제 (JAK) 패밀리는 면역 반응에 관련된 세포의 증식 및 기능의 사이토카인-의존성 조절 역할을 한다. 현재, 4가지 포유류 JAK 패밀리 구성원이 공지되어 있다: JAK1 (야누스 키나아제-1로도 공지됨), JAK2 (야누스 키나아제-2로도 공지됨), JAK3 (야누스 키나아제, 백혈구; JAKL; L-JAK 및 야누스 키나아제-3으로도 공지됨) 및 TYK2 (단백질-티로신 키나아제 2로도 공지됨). JAK 단백질은 크기가 120 내지 140kDa 범위이고, 7개의 보존된 JAK 상동 (JH) 도메인을 포함하며; 이들 중의 하나는 기능성 촉매 키나아제 도메인이고, 또 다른 하나는 잠재적으로 조절 기능을 담당하고/하거나 STAT에 대한 결합 부위 (docking site)로서 담당하는 슈도키나아제 (pseudokinase) 도메인이다.

[0007] JAK 키나아제 수준에서의 신호 전달의 차단은, 몇 가지 예를 들자면, 염증성 질환, 자가면역 질환, 골수증식성 질환, 및 인간 암에 대한 치료를 개발하는데 잠재력을 갖는다. JAK 키나아제의 억제는 또한 건선과 같은 피부 면역 장애, 및 피부 민감화로 고통받는 환자에서 치료학적 이점을 갖는 것으로 예견된다.

[0008] 따라서, 야누스 키나아제와 같은 키나아제를 억제하는 신규하거나 개선된 제제는 암 및 다른 질환을 치료하기 위한 신규하고 보다 효과적인 치료학적 약제의 개발을 위해 지속적으로 요구된다. 본원에 기술된 화합물, 염, 및 조성물은 이들 및 기타 요구에 의한 것이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명은 3-사이클로부틸-3-[4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일]프로판니트릴, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염인 화합물을 제공한다. 일부 실시양태에서, 전술한 화합물은 R 또는 S 에난티오머이다.

[0010] 본 발명은 3-(4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일)-3-(3-메틸사이클로부틸)프로판니트릴, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염인 화합물을 추가로 제공한다. 본 발명은 R 및 S 에난티오머 및 시스 및 트랜스 기하이성질체를 포함하는, 전술한 화합물의 다양한 입체이성질체를 추가로 포함한다.

[0011] 본 발명은 본원에 기술된 사이클로부틸 또는 메틸사이클로부틸 화합물의 임의의 인산염을 추가로 제공한다.

[0012] 본 발명은 본원에 기술된 바와 같은 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 및 적어도 하나의 약제학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 조성물을 추가로 제공한다.

[0013] 본 발명은 본원에 기술된 바와 같은 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 치료학적 유효량을 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 환자에서 JAK-관련 질환 또는 장애를 치료하는 방법을 추가로 제공한다.

[0014] 본 발명은 치료요법 (therapy)에서 사용하기 위한, 본원에 기술된 화합물, 또는 이들의 약제학적으로 허용가능한 염을 추가로 제공한다.

[0015] 본 발명은 치료요법에서 사용하기 위한 약제의 조제를 위한, 본원에 기술된 화합물, 또는 이들의 약제학적으로 허용가능한 염의 용도를 추가로 제공한다.

[0016] 또한, 환자에게 본 발명의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 치료학적으로 유효량을 투여하는 것을 포함하는 환자에서 자가면역 질환을 치료하는 방법이 본원에 제공된다. 하나의 실시양태에서, 자가면역 질환은 피부 장애, 다발성 경화증, 류마티스성 관절염, 건선 관절염, 소아 관절염, I형 당뇨병, 루푸스, 염증성 장 질환, 크론병, 중증 근무력증, 면역글로불린 신장병, 심근염, 또는 자가면역 갑상선 장애이다. 다른 실시양태에서, 자가면역 질환은 류마티스성 관절염이다. 또 다른 실시양태에서, 자가면역 질환은 아토피성 피부염, 건선, 피부 감작, 피부 자극, 피부 발진, 접촉 피부염 또는 알러지성 접촉 감작과 같은 피부 장애이다.

[0017] 다른 관점에서, 본 발명의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 치료학적 유효량을 환자에게 투여하는 것을 포함하는 환자에서 암을 치료하는 방법이 본원에 제공된다. 하나의 실시양태에서, 암은 고형 종양이다. 다른 실시양태에서, 암은 전립선암, 신장암, 간암, 유방암, 폐암, 갑상선암, 카포시 육종, 캐슬만병 또는 췌장암이다. 또 다른 실시양태에서, 암은 림프종, 백혈병, 또는 다발성 골수종이다.

[0018] 또 다른 관점에서, 본 발명의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 치료학적 유효량을 상기 환자에게 투여하는 것을 포함하는 환자에서 골수증식성 장애를 치료하는 방법이 본원에 제공된다. 하나의 실시양태에서, 골수증식성 장애 (MPD)는 진성 적혈구 증가증 (PV), 본태성 혈소판증가증 (ET), 일차성 골수섬유증 (PMF), 골수양화생을 동반한 골수섬유화증 (MMM), 만성골수성 백혈병 (CML), 만성 골수단구성 백혈병 (CMML), 과호산구증후군 (HES), 원발성 골수섬유증 (IMF), 전신성 비만 세포 질환 (SMCD), 또는 후-진성 적혈구증가증/본태성 혈소판 증대증 골수섬유증 (Post-PV/ET MF)이다.

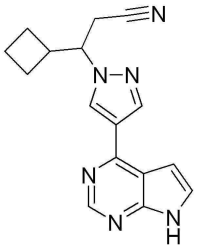
[0019] 다른 관점에서, 본 발명의 화합물, 또는 약제학적으로 허용가능한 이의 염의 치료학적 유효량을 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 환자에서 염증성 질환을 치료하는 방법이 본원에 제공된다.

[0020] 또 다른 관점에서, 본 발명의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 치료학적 유효량을 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 환자에서 장기 이식 거부를 치료하는 방법이 본원에 제공된다.

[0021] 또 다른 관점에서, 본 발명의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 치료학적 유효량을 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 환자에서 안구 건조 (dry eye)를 치료하는 방법이 본원에 제공된다.

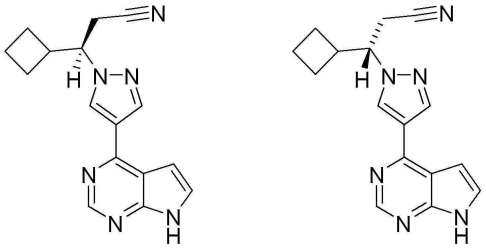
과제의 해결 수단

[0022] 본 발명은 특히, JAK-억제 화합물: 3-사이클로부틸-3-[4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일]프로판니트릴 (화학식 I), 및 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

[0023] 

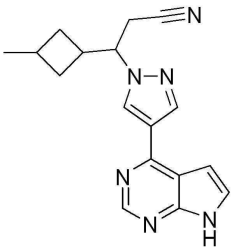
[0024] I

[0025] 본 발명은 추가로 (*R*)-3-사이클로부틸-3-[4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일]프로판니트릴(화학식 I-R) 및 (*S*)-3-사이클로부틸-3-[4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일]프로판니트릴(화학식 I-S)의 화합물, 및 약제학적으로 허용가능한 이들의 염을 제공한다.

[0026] 

[0027] I-R I-S

[0028] 본 발명은 추가로 JAK-억제 화합물 3-(4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일)-3-(3-메틸사이클로부틸)프로판니트릴(화학식 II), 및 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

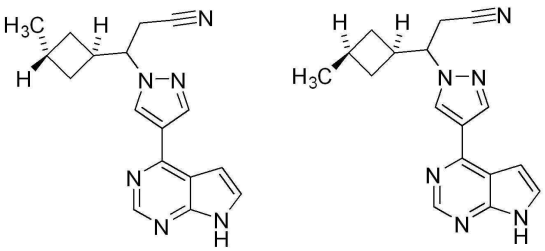
[0029] 

[0030] II

[0031] 본 발명은 추가로 화학식 II의 화합물의 시스 및 트랜스 이성체를 제공한다. 이러한 시스 및 트랜스 이성체는 하기와 같다:

[0032] 3-(4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일)-3-((트랜스)-3-메틸사이클로부틸)프로판니트릴(화학식 II-트랜스); 및

[0033] 3-(4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일)-3-((시스)-3-메틸사이클로부틸)프로판니트릴(화학식 II-시스).

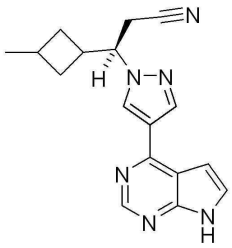
[0034] 

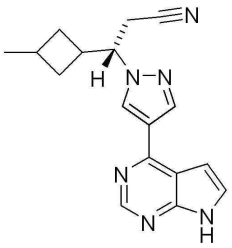
[0035] II-트랜스 II-시스

[0036] 본 발명은 추가로 화학식 II의 화합물의 R 및 S 에난티오머를 제공한다. 이러한 R 및 S 이성체는 하기와 같다:

[0037] (3R)-3-(4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일)-3-((3-메틸사이클로부틸)프로판니트릴 (화학식 II-R); 및

[0038] (3S)-3-(4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일)-3-(3-메틸사이클로부틸)프로판니트릴 (화학식 II-S).

[0039] 



[0040] II-R II-S

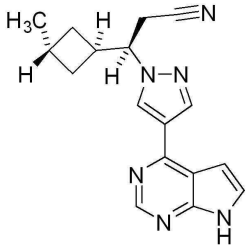
[0041] 본 발명은 추가로 화학식 II의 화합물의 R/트랜스, R/시스, S/트랜스, 및 S/시스 이성체를 제공한다. 이러한 이성체는 하기와 같다:

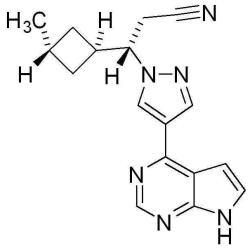
[0042] (3*R*)-3-(4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일)-3-((트랜스)-3-메틸사이클로부틸)프로판니트릴 (화학식 II-R/트랜스),

[0043] (3*S*)-3-(4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일)-3-((트랜스)-3-메틸사이클로부틸)프로판니트릴 (화학식 II-S/트랜스),

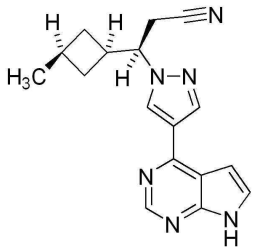
[0044] (3*R*)-3-(4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일)-3-((시스)-3-메틸사이클로부틸)프로판니트릴 (화학식 II-R/시스), 및

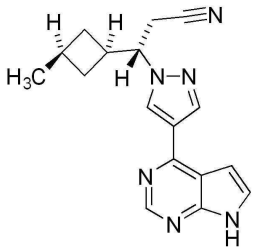
[0045] (3*S*)-3-(4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일)-3-((시스)-3-메틸사이클로부틸)프로판니트릴 (화학식 II-S/시스).

[0046] 



[0047] II-R/트랜스 II-S/트랜스

[0048] 



[0049] II-R/시스 II-S/시스

[0050] 상기 기술된 화합물은 "본 발명의 화합물"로서 본원에 지칭된다. 본원 곳곳에서, 화합물의 명칭과 화합물의 구조 사이에 불일치가 존재하는 경우에는, 화학 구조가 조정할 것이다.

[0051] 본 발명은 추가로 전술한 화합물의 임의의 약제학적으로 허용가능한 염을 제공한다. 일부 실시양태에서, 약제학

적으로 허용가능한 염은 인산염이다.

[0052] 본원에 기술된 화합물은 비대칭 (예를 들어, 하나 이상의 입체중심을 갖는)일 수 있다. 달리 명시하지 않는 한, 모든 입체이성체, 예컨대 에난티오머 및 부분입체이성체가 의도된다. 비대칭적으로 치환된 탄소원자를 함유하는 본 발명의 화합물은 광학 활성 또는 라세미체 형태로 분리될 수 있다. 예컨대 라세미체 혼합물의 분해 또는 입체선택적 합성에 의해 광학 활성 형태를 어떻게 제조할 것인지에 대한 방법은, 당해 분야에 공지되어 있다. 기하학적 이성질체는 또한 본원에 기술된 화합물로 존재할 수 있으며, 모든 이러한 안정한 이성질체가 본 발명에서 고려된다. 본 발명의 화합물의 시스 및 트랜스 기하학적 이성질체가 기술되며 이성질체의 혼합물로서 또는 실질적으로 분리된 이성질체 형태로서 분리될 수 있다. 입체이성질체현상 (예를 들어, 광학 및/또는 기하학적 이성체현상)이 가능한 화합물이 특정 R/S 또는 시스/트랜스 형상에 대한 언급없이 그의 구조 또는 명칭으로 지정된 경우, 이는 모든 이러한 이성질체가 고려되는 것으로 의도된다. 예를 들어, 상기에 나타낸 화학식 I 및 II는 분자들이 이러한 이성체현상을 가능케하는 수준으로 R 및 S 이성질체와 시스 및 트랜스 이성질체 모두를 포함하는 것으로 이해된다.

[0053] 라세믹 혼합물의 분해, 또는 광학 및/또는 기하학적 이성질체의 혼합물의 분리는 크로마토그래피 방법 (예를 들어, 키랄 컬럼 크로마토그래피), 또는 분별 재결정을 포함하는 당해 기술분야에 공지된 다수의 방법 중 임의의 것에 의해 수행될 수 있다.

[0054] 본 발명의 화합물은 또한 호변이성체 형태 (tautomeric form)를 포함할 수도 있다. 호변이성체 형태는, 양자의 동반 이동과 함께, 단일 결합이 인접한 이중 결합과 교환됨으로써 형성된다. 호변이성체 형태는, 동일한 실험식 및 총 전하량을 갖는 이성체 양자화 상태인 양성자성 호변이성체를 포함한다. 양성자성 호변이성체의 예로는 케톤-엔올 쌍, 아미드-이미드 산 쌍, 락탐-락팀 쌍, 아미드-이미드 산 쌍, 에나민-이민 쌍, 및 양자가 헤테로사이클릭 시스템의 2개 이상의 위치를 점유할 수 있는 고리모양의 형태, 예를 들어, 1H- 및 3H-이미다졸, 1H-, 2H- 및 4H-, 1,2,4-트리아졸, 1H- 및 2H-이소인돌, 및 1H- 및 2H-피라졸이 포함된다.

[0055] 본 발명의 화합물 및 염은 수화물 및 용매화물을 형성하도록 다른 분자, 예를 들어 용매 및 물 분자와 함께 발견될 수 있다.

[0056] 본 발명의 화합물 및 염은 또한 내부에 존재하는 원자들의 모든 동위원소를 포함할 수 있다. 동위원소는 동일한 원자수를 갖지만 상이한 질량수를 갖는 원자를 포함한다. 예를 들어, 수소의 동위원소는 트리튬 및 듀테륨을 포함한다.

[0057] 일부 실시양태에서, 본 발명의 화합물 및 이의 염은 실질적으로 분리된다. "실질적으로 분리된다"는 화합물이 형성되거나 검출된 환경으로부터 적어도 부분적으로 또는 실질적으로 분리된 것을 의미한다. 부분적인 분리는, 예를 들어, 본 발명의 화합물 또는 염의 농축된 조성물이다. 실질적인 분리는 본 발명의 화합물 또는 이의 염을 적어도 약 50중량%, 적어도 약 60중량%, 적어도 약 70중량%, 적어도 약 80중량%, 적어도 약 90중량%, 적어도 약 95중량%, 적어도 약 97중량%, 또는 적어도 약 99중량% 함유하는 조성물을 포함할 수 있다.

[0058] 본원에 사용된 문구 "약제학적으로 허용가능한"은, 타당한 의학적 판단의 범위 내에서, 합리적인 이익/위험 비(benefit/risk ratio)를 갖고, 과도한 독성, 자극, 알러지 반응 또는 기타 문제 또는 합병증 없이 인간 및 동물의 조직에 접촉하여 사용하기에 적합한 화합물, 염, 재료, 조성물 및/또는 투여 형태를 의미한다.

[0059] 본 발명은 또한 본원에 기술된 화합물의 약제학적으로 허용가능한 염을 포함한다. 본원 사용된 바와 같이, 문구 "약제학적으로 허용가능한 염"은 모체 화합물이 기존의 산 또는 염기 모이어티를 이의 염 형태로 전환시켜 변형되는 기술된 화합물의 유도체를 지칭한다. 약제학적으로 허용가능한 염의 예로는 아민과 같은 염기성 잔기의 무기산 또는 유기산 염; 카르복실산과 같은 산성 잔기의 알칼리 또는 유기 염, 등이 포함되나, 이로 제한되는 것은 아니다. 본 발명의 약제학적으로 허용가능한 염은, 예를 들어, 비독성 무기 또는 유기산으로부터 형성된 모체 화합물의 통상적인 비독성 염을 포함한다. 본 발명의 약제학적으로 허용가능한 염은 염기성 또는 산성 모이어티를 함유하는 모체 화합물로부터 통상적인 화학적 방법에 의해 합성될 수 있다. 일반적으로, 이러한 염은 이를 화합물의 유리 산 또는 염기 형태를 물 또는 유기 용매의 화학양론적 양과 또는 이들의 혼합물 중에 적합한 염기 또는 산 반응시켜 제조할 수 있다. 적합한 염의 목록은 각각 본원에서 그 전체가 참고로 포함된 문헌[참조: Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985, p. 1418 및 Journal of Pharmaceutical Science, 66, 2 (1977)]에서 찾아볼 수 있다.

[0060] **방법**

[0061] 본 발명의 화합물 및 염은 하나 이상의 야누스 키나아제 (JAK)의 활성을 억제할 수 있다. 본 발명의 화합물이 결합 및/또는 억제하는 JAK에는 JAK 패밀리의 임의의 구성원이 포함된다. 본 발명의 화합물은 JAK1 및 JAK2 모두의 활성을 억제한다.

[0062] 본 발명의 다른 관점은 JAK-관련 질환 또는 장애의 치료를 필요로 하는 개인 (예를 들어, 환자)에게 본 발명의 화합물 또는 염 또는 이의 약제학적 조성물을 치료학적 유효량 또는 투여량으로 투여함으로써, 개인에서 JAK-관련 질환 또는 장애를 치료하는 방법에 관한 것이다. JAK-관련 질환은 과 발현 및/또는 비정상적 활성 수준을 포함하는, JAK의 발현 또는 활성과 직접 또는 간접적으로 관련된 임의의 질환, 장애 또는 상태를 포함할 수 있다. 또한, JAK-관련 질환은 JAK 활성을 조절함으로써 예방, 개선, 또는 치유될 수 있는 임의의 질환, 장애 또는 상태를 포함할 수 있다.

[0063] JAK-관련 질환의 예로는, 예를 들어, 장기 이식 거부 (예를 들어, 동종이식거부 및 이식편 대 숙주 질환)을 포함하는 면역 체계와 관련된 질환이 포함된다.

[0064] JAK-관련 질환의 예로는, 다발성 경화증, 류마티스성 관절염, 소아 관절염, 건선 관절염, I형 당뇨병, 루푸스, 건선, 염증성 장 질환, 궤양성 대장염, 크론병, 중증 근무력증, 면역글로불린 신장병, 자가면역 갑상선 장애 등과 같은 자가면역 질환이 추가로 포함된다. 일부 실시양태에서, 자가면역 질환은 심상성 천포창 (PV) 또는 수포성 유사천포창 (BP)과 같은 자가면역 수포성 피부 장애이다.

[0065] JAK-관련 질환의 예로는, 천식, 음식 알러지, 아토피성 피부염 및 비염과 같은 알러지 증상이 추가로 포함된다. JAK-관련 질환의 예로는, 엡스타인 바 바이러스 (EBV), B형 간염, C형 간염, HIV, HTLV 1, 수두 대상포진 바이러스 (VZV) 및 인간 유두종 바이러스 (HPV)와 같은 바이러스성 질환이 추가로 포함된다.

[0066] JAK-관련 질환 또는 상태의 예로는, 건선 (예를 들어, 심상성 건선), 아토피성 피부염, 피부 발진, 피부 자극, 피부 감작 (예를 들어, 접촉 피부염 또는 알러지성 접촉 피부염)과 같은 피부 장애가 추가로 포함된다. 예를 들어, 국소적으로 적용되는 경우 몇몇 약제를 포함하는 특정 물질은, 피부 감작을 유발할 수 있다. 일부 실시양태에서, 바람직하지 않은 감작을 일으키는 제제와 함께 본 발명의 적어도 하나의 JAK 억제제를 공동-투여 또는 연속 투여하는 것은 이러한 바람직하지 않은 감작 또는 피부염을 치료하는데 유용할 수 있다. 일부 실시양태에서, 피부 장애는 본 발명의 적어도 하나의 JAK 억제제를 국소 투여함으로써 치료된다.

[0067] 추가의 실시양태에서, JAK-관련 질환은 고형 종양 (예를 들어, 전립선암, 신장암, 간암, 췌장암, 위암, 유방암, 폐암, 두경부암, 갑상선암, 악성신경교종, 카포시 육종, 캐슬만병, 흑색종 등), 혈액암 (예를 들어, 림프종, 급성 림프구성 백혈병, 급성 골수성 백혈병 (AML)과 같은 백혈병, 또는 다발성 골수종), 및 피부 T-세포 림프종 (CTCL) 및 피부 B-세포 림프종과 같은 피부암을 특징으로 하는 것들을 포함하는 암이다. 피부 T-세포 림프종의 예로는 세자리 증후군 (Sezary syndrome) 및 균상 식육종 (mycosis fungoide)이 포함된다.

[0068] JAK-관련 질환은 슈도-키나아제 (pseudo-kinase) 도메인에서 적어도 하나의 돌연변이를 갖는 것들과 같은 돌연변이 JAK2 (예를 들어, JAK2V617F)의 발현을 특징으로 하는 질환을 추가로 포함할 수 있다.

[0069] JAK-관련 질환은 진성 적혈구 증가증 (PV), 본태성 혈소판증가증 (ET), 골수양화생을 동반한 골수섬유화증 (MMM), 만성 골수성 백혈병 (CML), 만성 골수단구성 백혈병 (CMML), 과호산구 증후군 (HES), 전신 비만 세포 질환 (SMCD) 등과 같은 골수증식성 장애 (MPD)를 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 골수증식성 장애는 일차성 골수섬유증 (PMF), 또는 후-진성 적혈구증가증/본태성 혈소판 증대증 골수섬유증 (Post-PV/ET MF)이다.

[0070] JAK-관련 질환은 염증 및 염증성 질환을 추가로 포함한다. 염증성 질환의 예로는 눈의 염증성 질환 (예를 들어, 홍채염, 포도막염, 공막염, 결막염, 또는 관련 질환), 기도의 염증성 질환 (예를 들어, 비염 또는 부비강염과 같은 코와 공동 (sinuses)을 포함하는 상부 기도 또는 기관지염, 만성 폐쇄성 폐 질환 등과 같은 하부 기도), 심근염과 같은 염증성 근병증, 및 기타 염증성 질환이 포함된다.

[0071] 본원에 기술된 JAK 억제제는 허혈 재관류 손상, 또는 발작 또는 심장 마비와 같은 염증성 허혈과 관련된 질환 또는 상태의 치료에 추가로 사용될 수 있다. 본원에 기술된 JAK 억제제는 암으로부터 비롯되거나 암과 관련된 식욕감퇴, 악액질 또는 피로의 치료에 추가로 사용될 수 있다. 본원에 기술된 JAK 억제제는 재협착증, 경피증, 또는 섬유증의 치료에 추가로 사용될 수 있다. 본원에 기재된 JAK 억제제는 예를 들어, 당뇨병성 망막증, 암 또는 신경퇴행과 같은 저산소증 또는 성상교세포증과 관련된 상태의 치료에 추가로 사용될 수 있다[참조: Dudley, A.C. et al. Biochem. J. 2005, 390 (Pt 2):427-36 및 Sriram, K. et al. J.Biol. Chem. 2004,

279(19):19936-47. Epub 2004 Mar 2]. 본원에 기술된 JAK 억제제는 알츠하이머병을 치료하는데 사용될 수 있다.

[0072] 본원에 기술된 JAK 억제제는 전신염증성반응증후군 (SIRS) 및 패혈성 쇼크와 같은 다른 염증성 질환을 치료하는데 추가로 사용될 수 있다.

[0073] 본원에 기술된 JAK 억제제는 예를 들어, 양성 전립선 비대 또는 양성 전립성 비대증으로 기인한 통풍 및 증가된 전립선 크기를 치료하는데 추가로 사용될 수 있다.

[0074] IL-6/STAT3 신호 전달에 영향을 미칠 수 있는 다른 JAK 억제제뿐만 아니라 본원에 기술된 JAK 억제제는 염증-관련 증식성 질환의 치료에 추가로 사용될 수 있다. 염증은 특정 유형의 암의 발달과 관련이 있는 것으로 나타났다. 예를 들어, 궤양성 대장염과 같은 염증성 장 질환을 앓고 있는 환자는 대장암이 발병할 위험이 더욱 높은 것으로 나타났다. 이러한 유형 염증-관련 암은 대장염-관련 암 (CAC)으로 불리고 있다. 다수의 연구에서 IL-6/STAT3 신호 전달이 CAC를 촉진하는데 관여하는 것으로 나타났다. 예를 들어, STAT3 장 상피 세포 결핍 마우스는 CAC의 동물 모델에서 감소된 종양 크기 및 발생 빈도를 나타내었다[참조: Bromberg, et al., "Inflammation and cancer: IL-6 and STAT3 complete the link", Cancer Cell, 15:79-80 (2009)]. 유사한 결과가 IL-6 결핍 마우스에서 수득되었는데, 야생형 마우스보다 더 적은 개수 및 더 작은 크기의 선종 (adenomas)이 발달하였다[참조: Grivennikov, et al., "IL-6 and STAT3 are required for survival of intestinal epithelial cells and the development of colitis-associated cancer", Cancer Cell, 15:103-111 (2009)]. 또한 문헌[Bollrath, et al.,"gp130-Mediated STAT3 activation in enterocytes regulatres cell survival and cell-cycle progression during colitis-associated tumorigenesis" Cancer Cell, 15:91-102 (2009); and Kortylewski, et al., "Regulation of the IL-23 and IL-12 balance by Stat3 signaling in the tumor microenvironment" Cancer Cell, 15:114-123 (2009)]을 참조하라.

[0075] 따라서, 일부 실시양태에서, 본 발명의 JAK 억제제 및 IL-6/STAT3 신호 전달에 영향을 끼치는 것들은 염증-관련 암을 치료하는데 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 암은 염증성 장 질환과 관련된다. 일부 실시양태에서, 염증성 장 질환은 궤양성 대장염이다. 일부 실시양태에서, 염증성 장 질환은 크론병이다. 일부 실시양태에서, 염증-관련 암은 대장염-관련된 암이다. 일부 실시양태에서, 염증-관련 암은 결장암 또는 대장암이다. 일부 실시양태에서, 암은 위암, 위장관 카르시노이드 종양, 위장관 기질 종양 (GIST), 샘암종, 소장암, 또는 직장암이다. 본원에 제공된 화합물에 추가로, 염증-관련 암의 치료에 사용될 수 있는 JAK 억제제의 예로는 미국 특허 공개 제2006/0106020호; 미국 특허 공개 제2006/0183906호; 미국 특허 공개 제2007/0149506호; 미국 특허 제2007/0135461호; 미국 특허 제2008/0188500호; 미국 특허 공개 제2008/0312258호; 미국 특허 공개 제2008/0312259호; 및 미국특허 출원 제12/270,135호에 기술된 것들이 포함된다 .

[0076] JAK 억제제는 염증-관련 암의 치료에 있어서 잠재적 효능에 대해 동물 모델에서 시험될 수 있다. 예를 들어, 문헌[Grivennikov, et al., "IL-6 and STAT3 are required for survival of intestinal epithelial cells and the development of colitis-associated cancer", Cancer Cell, 15:103-111 (2009)]에 요약된 방법에 의해서 처리 (예를 들어, JAK 억제제를 사용) 또는 비처리 마우스에서 CAC가 유발될 수 있다. 질환의 진행은 체중을 측정하고 직장 출혈 및 설사의 징후를 모니터링함으로써 추적할 수 있다. 동물을 희생시킨 후에, 분석을 위해서 말단 결장 부분을 제거한다.

[0077] 일부의 실시양태에서, 본원에 기술된 JAK 억제제는 추가로 안구 건조 장애를 치료하는 데 사용될 수 있다. 본원에 사용된 바와 같이, "안구 건조 장애"는, 안구 건조 워크샵 (Dry Eye Workshop, DEWS)의 최근 공식 보고서에 요약된 질환 상태들을 모두 포함하는 것으로 의도되며, 상기 보고서는 안구 건조를 "안구 표면에 대한 잠재적 손실과 함께 불편함, 시각 방해, 및 눈물막 불안정성의 증상을 유발하는 눈물 및 안구 표면의 다인자성 (multifactorial) 질환"으로 정의하였다. 또한, 안구 건조는 눈물막의 삼투압 증가 및 안구 표면의 염증을 수반한다. 문헌[Lemp, "The Definition and Classification of Dry Eye Disease: Report of the Definition and Classification Subcommittee of the International Dry Eye Workshop", The Ocular Surface, 5(2), 75-92 April 2007]이 그 전체로서 참고로 본원에 포함된다. 또한, 안구 건조는 종종 건성 각결막염으로 지칭되기도 한다. 일부 실시양태에서, 안구 건조 장애의 치료는 눈의 불편함, 시각 장애, 눈물막 불안정성, 눈물 과삼투압, 및 각막 표면의 염증과 같은 안구건조증의 특정 징후를 경감시키는 것을 포함한다. 안구 건조의 치료를 위한 JAK 억제제의 용도는 본원에 참조로서 포함된, 2009년 10월 1일자로 출원된 미국 특허 출원 제12/571,834호에 제공된다.

[0078] 추가의 관점에서, 본 발명은 치료학적 유효량의 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염 또

는 N-산화물을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 환자에서 결막염, 포도막염 (만성 포도막염 포함), 맥락막염, 망막염, 모양체염, 공막염, 상공막염 또는 홍채염을 치료하는 방법; 각막 이식, 라식 (LASIK; 레이저 각막절삭 가공 성형술), 굴절교정 레이저 각막절제술, 또는 라섹 (LASEK; 레이저 각막상피 절삭 성형술)과 관련 염증 또는 통증을 치료하는 방법; 각막 이식, 라식, 굴절교정 레이저 각막절제술, 또는 라섹과 관련 시력 손실을 억제하는 방법; 또는 이식 거부를 억제하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 상기 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염 또는 N-산화물은 각막 이식, 라식, 굴절교정 레이저 각막절제술, 및 라섹으로부터 선택된 절차가 시행되려고 하는 환자에게 시술 전에 투여된다. 일부 실시양태에서, 상기 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염 또는 N-산화물은 상기 절차를 수행하는 동안 및 그 후 염증 또는 통증을 억제하거나 감소시킨다. 일부 실시양태에서, 상기 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염 또는 N-산화물은 상기 절차를 수행하기 약 1일 내지 약 2일 전에 투여된다. 일부 실시양태에서, 상기 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염 또는 N-산화물은 각막 이식, 라식, 굴절교정 레이저 각막절제술, 및 라섹으로부터 선택된 절차가 시행된 환자에게 시술 후에 투여된다. 일부 실시양태에서, 시력 손실을 억제하는 것은 시력 손실을 감소시키는 것을 의미한다. 일부 실시양태에서, 시술 전 또는 시술 후 처리는 상기 절차에 수반되는 흉터 및 섬유 침착의 양을 감소시킨다. 일부 실시양태에서, 시력의 손실을 억제하는 것은 환자가 시력을 유지한다는 것을 의미한다. 일부 실시양태에서, 이식 거부를 억제하는 것은 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염 또는 N-산화물은 면역억제성이고, 그로인해 각막 이식의 완전 거부를 예방한다는 것을 의미한다.

[0079] 하나의 실시양태에서, 개체에게 3-사이클로부틸-3-[4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일]프로판니트릴, 이의 이성질체, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 본원에 제공된다. 다른 실시양태에서, 개체에게 3-사이클로부틸-3-[4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일]프로판니트릴, 이의 이성질체, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 골수섬유증을 치료하는 방법이 본원에 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 개체에게 3-사이클로부틸-3-[4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일]프로판니트릴, 이의 이성질체, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 류마티스성 관절염(RA)을 치료하는 방법이 본원에 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 개체에게 3-사이클로부틸-3-[4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일]프로판니트릴, 이의 이성질체, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 진성 적혈구 증가증(PV)을 치료하는 방법이 본원에 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 개체에게 3-사이클로부틸-3-[4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일]프로판니트릴, 이의 이성질체, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 본태성 혈소판 증가증(ET)을 치료하는 방법이 본원에 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 개체에게 3-사이클로부틸-3-[4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일]프로판니트릴, 이의 이성질체, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 고형 종양을 치료하는 방법이 본원에 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 개체에게 3-사이클로부틸-3-[4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일]프로판니트릴, 이의 이성질체, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 건선을 치료하는 방법이 본원에 제공된다.

[0080] 하나의 실시양태에서, 개체에게 3-(4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일)-3-(3-메틸사이클로부틸)프로판니트릴, 이의 이성질체, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 본원에 제공된다. 다른 실시양태에서, 개체에게 3-(4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일)-3-(3-메틸사이클로부틸)프로판니트릴, 이의 이성질체, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 골수섬유증을 치료하는 방법이 본원에 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 개체에게 3-(4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일)-3-(3-메틸사이클로부틸)프로판니트릴, 이의 이성질체, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 류마티스성 관절염(RA)을 치료하는 방법이 본원에 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 개체에게 3-(4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일)-3-(3-메틸사이클로부틸)프로판니트릴, 이의 이성질체, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 진성 적혈구 증가증(PV)을 치료하기 위한 방법이 본원에 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 개체에게 3-(4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일)-3-(3-메틸사이클로부틸)프로판니트릴, 이의 이성질체, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 본태성 혈소판증가증(ET)을 치료하는 방법이 본원에 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 개체에게 3-(4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일)-3-(3-메틸사이클로부틸)프로판니트릴, 이의 이성질체, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 고형 종양을 치료하는 방법이 본원에 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 개체에게 3-(4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일)-3-(3-메틸사이클로부틸)프로판니트릴, 이의 이성질체,

또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 건선을 치료하는 방법이 본원에 제공된다.

[0081] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "접촉시키는"은 시험관내 시스템 또는 생체내 시스템에서 지시된 모이어티들이 함께 모이도록 함을 의미한다. 예를 들어, JAK를 본 발명의 화합물과 "접촉시키는" 것은, JAK을 보유하는 개인 또는 환자, 예를 들어 인간에게 본 발명의 화합물을 투여하는 것을 포함할 뿐만 아니라, 예를 들어, JAK 함유 세포성 또는 정제된 제제를 함유하는 시료 내로 본 발명의 화합물을 도입하는 것을 포함한다.

[0082] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "개인" 또는 "환자"는 상호교환적으로 사용되고, 포유동물을 포함하는 임의의 동물, 바람직하게는 마우스, 랫트, 기타 설치류, 토끼, 개, 고양이, 돼지, 소, 양, 말 또는 영장류, 가장 바람직하게는 인간을 나타낸다.

[0083] 본원에 사용된 바와 같이, 문구 "치료학적 유효량"은 연구자, 수의사, 의사 또는 다른 임상의에 의해 조직, 시스템, 동물, 개인 또는 인간에게서 조사되고 있는 생물학적 또는 의학적 반응을 촉발하는 활성 화합물 또는 약제학적 제제의 양을 나타낸다.

[0084] 본원에서 사용한 바와 같이, 용어 "치료하는" 또는 "치료"는 다음 중 하나 이상을 나타낸다: (1) 질환의 예방: 예를 들어, 질환, 상태 또는 장애에 걸리기 쉽지만 아직 질환의 병인 또는 증상을 경험하지 않거나 나타내지 않은 개인에서의 질환, 상태 또는 장애의 예방; (2) 질환의 억제: 예를 들어, 질환, 상태 또는 장애의 병인 또는 증상을 경험하고 있거나 나타내는 개인에서의 질환, 상태 또는 장애의 억제; (3) 질환의 개선: 예를 들어, 질환, 상태 또는 장애의 병인 또는 증상을 경험하고 있거나 나타내는 개인에서 질환의 중증도를 감소시키는 것과 같은 질환, 상태 또는 장애의 개선 (즉, 병인 및/또는 증상의 회복).

[0085] 용어 "사용"은 달리 언급되지 않는 경우, 적절하며 편리하게 각각 본 발명의 하기 실시양태의 임의의 하나 이상을 포함한다: 장애 치료에서의 사용; 장애 치료에서의 사용을 위한 약제학적 조성물의 제조, 예를 들어 약제의 제조를 위한 사용; 이러한 질환의 치료에서 본 발명의 화합물의 사용 방법; 이러한 질환의 치료를 위한 본 발명의 화합물을 포함하는 약제학적 제제; 및 이러한 질환의 치료에서의 사용을 위한 본 발명의 화합물. 특히, 치료되는 질환 및 그로써 본 발명의 화합물의 사용을 위해 바람직한 질환은 JAK 키나아제의 활성과 관련된 질환으로부터 선택된다.

[0086] **병용요법**

[0087] 하나 이상의 추가적인 약제학적 제제, 예를 들어 화학요법제, 항-염증제, 스테로이드, 면역억제제 뿐만아니라, 예를 들어 WO 2006/056399호에 기술된 바와 같은 Bcr-Abl, Flt-3, RAF 및 FAK 키나아제 억제제, 또는 기타 치료제가 본 발명의 화합물 또는 염과 조합하여 JAK-관련 질환, 장애 또는 상태를 치료하는데 사용될 수 있다. 하나 이상의 추가의 약제학적 제제는 환자에게 동시에 또는 연속적으로 투여될 수 있다.

[0088] 화학요법제의 예로는 프로테오솜 억제제 (예를 들어, 보르테조미브 (bortezomib)), 탈리도마이드, 레브리미드, 및 멜팔란, 독소루비신, 사이클로포스파미드, 빈크리스틴, 에토포시드, 카무스틴 등과 같은 DNA-손상제가 포함된다.

[0089] 스테로이드의 예로는 덱사메타손 또는 프레드니손과 같은 코르티코스테로이드가 포함된다.

[0090] Bcr-Abl 억제제의 예로는 미국 특허 제5,521,184호, WO 04/005281호, 및 WO 2005/123719호에 기재된 속 및 종의 화합물 및 이의 약제학적으로 허용가능한 염이 포함된다.

[0091] 적합한 Flt-3 억제제의 예로는 WO 03/037347호, WO 03/099771호, 및 WO 04/046120호에 기재된 바와 같은, 화합물 및 이의 약제학적으로 허용가능한 염이 포함된다.

[0092] 적합한 RAF 억제제의 예로는 WO 00/09495호 및 WO 05/028444호에 기재된 바와 같은, 화합물 및 이의 약제학적으로 허용가능한 염이 포함된다.

[0093] 적합한 FAK 억제제의 예로는 WO 04/080980호, WO 04/056786호, WO 03/024967호, WO 01/064655호, WO 00/053595호, 및 WO 01/014402호에 기재된 바와 같은, 화합물 및 이의 약제학적으로 허용가능한 염이 포함된다.

[0094] 일부 실시양태에서, 하나 이상의 본 발명의 화합물은 이마티닙 (imatinib)을 포함하는 하나 이상의 다른 키나아제 억제제와 조합하여, 특히 이마티닙 또는 다른 키나아제 억제제에 대해 내성인 환자를 치료하는데 사용될 수

있다.

[0095] 일부 실시양태에서, 본 발명의 하나 이상의 JAK 억제제는 화학요법제와 조합하여 암의 치료에 사용될 수 있으며, 이의 독성 효과의 악화 없이, 화학요법제 단독에 의한 반응에 비해 치료 반응을 잠재적으로 향상시킬 수 있다. 다발성 골수종의 치료에 사용되는 추가의 약제학적 제제의 예로는, 예를 들어, 제한 없이, 멜팔란, 멜팔란+프레드니손[MP], 독소루비신, 덱사메타손, 및 벨케이드 (보르테조미브)가 포함될 수 있다. 다발성 골수종의 치료에 사용되는 추가의 제제는 Bcr-Abl, Flt-3, RAF 및 FAK 키나아제 억제제를 포함한다. 부가 또는 상승 효과는, 본 발명의 JAK 억제제를 추가의 제제와 조합한 바람직한 결과이다. 추가로, 덱사메타손과 같은 제제에 대한 다발성 골수종 세포의 내성은, 본 발명의 JAK 억제제를 이용한 치료시 회복될 (reversible) 수 있다. 제제는 단일 또는 연속 투여 형태로 본 발명의 화합물과 조합될 수 있고, 또는 제제는 별도의 투여 형태로서 동시에 또는 연속적으로 투여될 수 있다.

[0096] 일부 실시양태에서, 덱사메타손과 같은 코르티코스테로이드는 적어도 하나의 JAK 억제제와 조합되어 환자에게 투여되며, 여기서 덱사메타손은 연속적으로와 반대로 간헐적으로 투여된다.

[0097] 일부 추가의 실시양태에서, 본 발명의 하나 이상의 JAK 억제제와 다른 치료제의 조합물은, 골수 이식 또는 줄기 세포 이식 전에, 이식 과정에서, 및/또는 이식 후에 환자에게 투여될 수 있다.

[0098] 일부 실시양태에서, 적어도 하나의 추가의 치료제가 안구 건조 장애 및 다른 안구의 장애의 치료와 관련하여 사용할 수 있다. 일부 실시양태에서, 추가의 치료제는 플루오시놀론 아세토니드 (레티서트: Retisert®), 또는 리멕솔론 (rimexolone) (AL-2178, 벡솔, 알콘)이다. 일부의 실시양태에서, 추가의 치료제는 사이클로스포린 (레스타시스: Restasis®)이다. 일부 실시양태에서, 추가의 치료제는 코르티코스테로이드이다. 일부 실시양태에서, 코르티코스테로이드는 트리아미놀론, 덱사메타손, 플루오시놀론, 코르티손, 프레드니솔론, 또는 플루메톨론이다.

[0099] 일부 실시양태에서, 추가의 치료제는 디하이드렉스 (Dehydrex™)(홀스랩스), 시바미드(Civamide)((Opko)), 소디움 히알루오네이트(비스메드, 랜티바이오/TRB 케미디어(Vismed, Lantibio/TRB Chemedia)), 사이클로스포린(ST-603, 시리온 테러퓨틱스(Sirion Therapeutics), ARG101(T)(테스토스테론, 아르젠티스(Argentis), AGR1012(P)(아르젠티스), 에카벳 소디움((Senju-Ista)), 게파르네이트(gefarnate)(산텐(Santen)), 15-(s)-히드록시아이코사테트라엔산(15(S)-HETE), 세빌레민(cevilemine), 독시클린(ALTY-0501, 앨러크리티(Alacrity)), 미노사이클린, 아이데스트린(iDestrin™)(NP50301, 네슨트 파마슈티컬스), 사이클로스포린 A(노바(Nova)22007, 노바갈리(Novagali)), 옥시테트라사이클린(듀라마이신(Duramycin), MOLI1901, 랜티바이오), CF101(2S,3S,4R,5R)-3,4-디히드록시-5-[6-[(3-요오도페닐)메틸아미노]퓨린-9-일]-N-메틸-옥솔란-2-카르바밀, 캔-파이트 바이오파마), 보클로스포린(voclosporin)(LX212 또는 LX214, 럭스 바이오사이언스), ARG103(아젠티스(Agentis)), RX-10045(합성 레졸빈 유사체(레졸빅스(Resolvyx)), DYN15(다이나미스 테러퓨틱스(Dyanmis Therapeutics)), 리보글리타존(rivoglitazone)(DE011, 다이이치 산코), TB4(레젠Rx(RegeneRx)), OPH-01(옵탈미스 모나코(Ophtalmis Monaco)), PCS101(페리커 사이언스), REV1-31(에볼루텍(Evolutec)), 라크리틴(Lacritin)(센주), 레바미피드(오츠카-노바티스), OT-551(오테라(Othera)), PAI-2(유니버시티 오브 펜실베니아 앤드 템플 유니버시티), 필로카르핀, 타크롤리무스, 피메크롤리무스(AMS981, 노바티스), 로테프레드놀 에타보네이트, 리툭시맵, 디구아포솔 테트라나트륨(INS365, 인스파이어(Inspire)), KLS-0611(키세이 파마슈티컬스(Kissei Pharmaceuticals)), 데하이드로에피안드로스테론, 아나킨라(anakinra), 에팔리주맵(efalizumab), 미코페놀레이트 소디움, 에타너셉트(엠브렐(Embrel®)), 히드록시클로로퀸, NGX267(토레이파인즈 테러퓨틱스(TorreyPines Therapeutics)) 또는 탈리도미드로부터 선택된다.

[0100] 일부 실시양태에서, 추가의 치료제는 항-혈관형성제, 콜린성 작용제, TRP-1 수용체 조절자, 칼슘 채널 차단제, 뮤신 분비촉진제, MUC1 자극제, 칼시뉴린 억제제, 코르티코스테로이드, P2Y2 수용체 작용제, 무스카린 수용체 작용제, 다른 JAK 억제제, Bcr-Ab1 키나아제 억제제, Flt-3 키나아제 억제제, RAF 키나아제 억제제, 및 FAK 키나아제 억제제, 예를 들어 WO 2006/056399호에 개시된 것들이다. 일부 실시양태에서, 추가의 치료제는 테트라사이클린 유도체 (예를 들어, 미노사이클린 또는 독시클린)이다.

[0101] 일부 실시양태에서, 추가의 치료제(들)은 완화성의 점안액 ("인공누액"으로도 공지됨)이며, 폴리비닐 알코올, 히드록시프로필 메틸셀룰로오스, 글리세린, 폴리에틸렌 글리콜 (예를 들어, PEG400), 또는 카르복시메틸 셀룰로오스를 함유하는 조성물을 포함하나, 이에 제한되는 것은 아니다. 인공누액은 눈물막의 감소된 보습 및 윤활능을 보상함으로써 안구 건조를 치료하는데 유용할 수 있다. 일부 실시양태에서, 추가의 치료제는 점액 용해

약물, 예를 들어 N-아세틸-시스테인이며, 이는 점액단백질과 상호작용을 함으로써 눈물막의 점도를 감소시킬 수 있다.

[0102] 일부 실시양태에서, 추가의 치료제는, 항생제, 항바이러스제, 항진균제, 마취제, 스테로이드 및 비-스테로이드 항-염증제를 포함하는 항-염증제, 및 항-알레르기제를 포함한다. 적합한 약제의 예로는 아미노글리코사이드, 예를 들어 아미카신, 겐타마이신, 토브라마이신, 스트렙토마이신, 네틸마이신, 및 카나마이신; 플루오로퀴놀론, 예를 들어 시프로플록사신, 노르플록사신, 오플록사신, 트로바플록사신, 로메플록사신, 레보플록사신 및 에녹사신; 나프티리딘; 술폰아미드; 폴리믹신; 클로람페니콜; 네오마이신; 파라모마이신; 콜리스티메테이트; 바시트라신; 반코마이신; 테트라사이클린; 리팜핀 및 이의 유도체 ("리팜핀"); 사이클로세린; 베타-락탐; 세팔로스포린; 암포테리신; 플루코나졸; 플루시토신; 나타마이신; 미코나졸; 케토코나졸; 코르티코스테로이드; 디클로페낙; 플루비프로판; 케토로락; 수프로판; 코몰린; 로독사미드; 레보카바스틴; 나파졸링; 안타졸린; 페니라미만; 또는 아잘리드 항생제가 포함된다.

[0103] **약제학적 제형 및 투여 형태**

[0104] 약제로서 사용되는 경우, 본 발명의 화합물 및 염은 약제학적 조성물의 형태로 투여될 수 있다. 이들 조성물은 약제학적 기술분야에 널리 공지된 방식으로 제조될 수 있고, 국소 치료 또는 전신 치료가 바람직한지 여부 및 치료되는 영역에 따라서 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여는 국소 (경피, 상피, 안내, 및 비강내, 질 및 직장 전달을 포함하는 점막을 포함), 폐 (예를 들어, 분무제를 포함하는 분말 또는 에어로졸의 흡입 또는 통기; 기관내 또는 비강내), 경구 또는 비경구일 수 있다. 비경구 투여는 정맥내, 동맥내, 피하, 복강내 또는 근육내 주사 또는 주입; 또는 두개내, 예를 들어 척수강내 또는 뇌실내 투여를 포함한다. 비경구 투여는 단일 볼루스 (bolus) 투여 형태이거나, 예를 들어 연속적 관류 펌프에 의해서일 수 있다. 국소 투여용 약제학적 조성물 및 제형은 경피 패치, 연고, 로션, 크림, 겔, 점적제, 좌제, 분무제, 액제 및 분말을 포함할 수 있다. 통상의 약제학적 담체, 수성 분말 또는 유성 기재, 증점제 등이 필요하거나 바람직할 수 있다. 코팅된 콘돔, 장갑 등도 유용할 수 있다.

[0105] 본 발명은 하나 이상의 약제학적으로 허용가능한 담체 (부형제)와 함께 활성 성분으로서, 상기 본 발명의 하나 이상의 화합물을 함유하는 약제학적 조성물을 또한 포함한다. 본 발명의 조성물의 제조시 활성 성분은 전형적으로 부형제와 혼합되거나 부형제에 의해 희석되거나, 예를 들어, 캡슐, 향낭 (sachet), 종이 또는 기타 용기 형태의 담체 내에 봉입된다. 부형제가 희석제로서 사용되는 경우, 이는 활성 성분을 위한 비히클, 담체 또는 매질로서 작용하는 고체, 반고체 또는 액체 물질일 수 있다. 따라서, 조성물은 정제, 환제, 분말제, 로젠지, 향낭, 카세제 (cachet), 엘릭서제, 현탁제, 에멀젼, 용제, 시럽, 에어로졸 (고체 또는 액체 매질내), 예를 들어, 최대 10 중량%의 활성 화합물을 함유하는 연고, 연질 및 경질 젤라틴 캡슐, 좌제, 멸균 주사액 및 멸균 포장된 분말 형태일 수 있다.

[0106] 제형의 제조시, 활성 화합물은 다른 성분들과 조합되기 전에 적합한 입자 크기를 제공하도록 분쇄될 수 있다. 활성 화합물이 실질적으로 불용성인 경우, 200 메쉬 미만의 입자 크기로 분쇄될 수 있다. 활성 화합물이 실질적으로 수용성인 경우, 입자 크기는 조성물 내에서 실질적으로 균일한 분포, 약 40 메쉬를 제공하도록 분쇄하여 조절될 수 있다.

[0107] 본 발명의 화합물은 정제 형성 및 다른 제형 유형에 적합한 입자 크기를 얻기 위해 공지의 분쇄 절차, 예를 들어 습식 분쇄를 사용해서 분쇄될 수 있다. 본 발명의 화합물의 미세하게 분쇄된 (나노입자) 제제는 당해 분야에 공지된 절차에 의해 제조될 수 있으며, 예를 들어 WO 2002/000196호를 참조할 수 있다.

[0108] 적합한 부형제의 일부 예로는 락토오스, 덱스트로스, 수크로스, 소르비톨, 만니톨, 전분, 아카시아 고무, 칼슘 포스페이트, 알지네이트, 트라가칸트, 젤라틴, 칼슘 실리케이트, 미정질 셀룰로오스, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로오스, 물, 시럽, 및 메틸 셀룰로오스가 포함된다. 제형은 추가적으로: 탈크, 마그네슘 스테아레이트,및 미네랄 오일과 같은 윤활제; 습윤제; 유화제 및 현탁제; 메틸- 및 프로필하이드록실-벤조에이트와 같은 방부제; 감미제; 및 풍미제를 포함할 수 있다. 본 발명의 조성물은 당해 기술 분야에 공지된 방법을 사용하여, 환자에게 투여된 후에 활성 성분의 신속, 지속 또는 지연된 방출을 제공하도록 제조될 수 있다.

[0109] 조성물은 각각의 투여량이 약 5 내지 약 1000 mg (1g), 더욱 일반적으로 약 100 내지 약 500 mg의 활성 성분을 함유하는 단위 투여 형태로 제형화될 수 있다. 용어 " 단위 투여 형태"는 인간 개체 및 다른 포유동물에 대한 단일 투여량으로서 적합한 물리적으로 분리된 단위를 나타내며, 각각의 단위는 적합한 약제학적 부형제와 관련하여, 바람직한 치료 효과를 제공하도록 계산된 미리 결정된 양의 활성 물질을 함유한다.

[0110] 활성 화합물은 광범위한 투여 범위에서 효과적일 수 있고, 일반적으로 약제학적 유효량으로 투여된다. 그러나, 실제 투여되는 화합물의 양은 통상 치료되는 상태, 선택된 투여 경로, 투여되는 실제 화합물, 개별 환자의 연령, 체중 및 반응, 환자의 증상의 중증도 등을 포함하는 관련 상황에 따라 의사에 의해 결정될 수 있다.

[0111] 정제와 같은 고체 조성물을 제조하기 위해, 주요 활성 성분을 약제학적 부형제와 혼합하여 본 발명의 화합물의 균질한 혼합물을 함유하는 고체 예비제형 조성물을 형성한다. 이러한 예비제형 조성물이 균질하다고 언급되는 경우, 조성물이 동일하게 유효한 단위 투여 형태, 예를 들어, 정제, 환제 및 캡슐제로 용이하게 세분될 수 있도록 활성 성분은 전형적으로 조성물 전체에 균일하게 분산된다. 이어서 이 고체 예비제형은, 예를 들어, 약 0.1 내지 약 1000 ㎎의 본 발명의 활성 성분을 함유하는 상기에 기술된 형태의 단위 투여 형태로 세분된다.

[0112] 본 발명의 정제 또는 환제는 지속성 작용 이점을 제공하는 투여 형태를 제공하도록 코팅되거나 다르게는 배합될 수 있다. 예를 들어, 정제 또는 환제는 내부 투여 및 외부 투여 성분을 포함할 수 있고, 외부 투여 성분은 내부 투여 성분을 덮는 외피 형태이다. 이 두 성분들은 위에서의 분해에 내성을 갖고 내부 성분이 십이지장 내로 온전히 통과되게 하거나 방출이 지연되도록 제공되는 장용 (enteric) 층에 의해 분리될 수 있다. 다양한 재료가 이러한 장용층 또는 코팅제로 사용될 수 있고, 이러한 재료에는 다수의 중합체산 및 중합체산과 쉘락 (shellac), 세틸 알콜 및 셀룰로스 아세테이트와 같은 재료와의 혼합물을 포함한다.

[0113] 경구 투여 또는 주사에 의해 본 발명의 화합물 및 조성물이 도입될 수 있는 액체 형태는 수용액, 적합한 향미 시럽, 수성 또는 오일 현탁제 및 면실유, 참기름, 코코넛유 또는 땅콩유와 같은 식용유와의 향미 에멀젼, 뿐만 아니라, 엘릭서제 및 유사한 약제학적 비히클을 포함한다.

[0114] 흡입 또는 통기용 조성물은 약제학적으로 허용가능한 수성 또는 유기 용매, 또는 이의 혼합물 중의 용액 및 현탁제, 및 분말을 포함한다. 액체 또는 고체 조성물은 상기 기술한 바와 같은 적합한 약제학적으로 허용가능한 부형제를 함유할 수 있다. 일부 실시양태에서, 조성물은 경구 또는 코 호흡 경로로 국소 또는 전신 효과를 위해 투여된다. 조성물은 불활성 기체를 사용하여 분무화될 수 있다. 분무화된 용액은 분무 장치로부터 직접적으로 흡일될 수 있거나, 분무 장치는 안면 마스크 텐트 또는 간헐적 양압 호흡 기계에 부착될 수 있다. 용액, 현탁제 또는 분말 조성물은 제형을 적합한 방식으로 전달하는 장치로부터 경구 또는 비강으로 투여될 수 있다.

[0115] 환자에게 투여되는 화합물 또는 조성물의 양은 투여되는 물질, 예방 또는 치료와 같은 투여 목적, 환자의 상태, 투여 방식 등에 따라서 달라질 것이다. 치료학적 적용에서, 조성물은 이미 질환을 앓고 있는 환자에게 그 질환 및 이의 합병증의 증상을 치료하거나 적어도 부분적으로 정지시키기에 충분한 양으로 투여될 수 있다. 유효 투여량은 질환의 중증도, 환자의 연령, 체중 및 전반적 상태 등에 따른 요인에 따라서 담당 임상의의 판단에 의해서뿐만 아니라, 치료되는 질환 상태에 의해 좌우될 것이다.

[0116] 환자에게 투여되는 조성물은 상기에 기술된 약제학적 조성물의 형태일 수 있다. 이들 조성물은 통상적인 멸균 기술에 의해 멸균될 수 있거나, 멸균 여과될 수 있다. 수용액은 그대로 사용하도록 포장되거나, 동결건조될 수 있고, 동결건조 제제는 투여 전에 멸균 수성 담체와 조합될 수 있다. 화합물 제제의 pH는 전형적으로 3 내지 11, 보다 바람직하게는 5 내지 9, 가장 바람직하게는 7 내지 8 사이일 것이다. 특정한 상기한 부형제, 담체, 또는 안정화제의 사용은 약제학적 염을 형성할 수 있는 것으로 이해될 것이다.

[0117] 본 발명의 화합물의 치료학적 투여량은, 예를 들어, 치료가 이루어지는 특정 사용, 화합물의 투여 방식, 환자의 건강 및 상태, 및 처방 의사의 판단에 따라 달라질 것이다. 약제학적 조성물 내 본 발명의 화합물의 비율 또는 농도는 투여량, 화학적 특성 (예를 들어, 소수성) 및 투여 경로를 포함하는 다수의 요인에 따라서 다양할 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 화합물은 비경구 투여를 위해 약 0.1 내지 약 10% w/v의 화합물을 함유하는 생리학적 수성 완충용액 내에 제공될 수 있다. 일부 전형적 투여량 범위는 1일당 약 1㎍/kg 체중 내지 약 1g/kg 체중이다. 일부 실시양태에서, 투여량 범위는 1일당 약 0.01㎎/kg 체중 내지 약 100㎎/kg 체중이다. 투여량은 질환 또는 장애의 유형 및 진행 정도, 특정 환자의 전반적 건강 상태, 선택된 화합물의 상대적 생물학적 효능, 부형제의 제형, 및 이의 투여 경로와 같은 변수에 따라 좌우될 수 있다. 효과적인 투여량은 시험관내 또는 동물 모델 검사 시스템으로부터 유래된 투여-반응 곡선으로부터 추정될 수 있다.

[0118] 일부 실시양태에서, 본 발명의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염은 안과용 조성물로서 투여된다. 따라서, 일부 실시양태에서, 상기 방법은 상기 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염 및 안과학적으로 허용가능한 담체를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 안과용 조성물은 액상 조성물, 반-고형 조성물, 삽입물, 필름, 미세입자 또는 나노입자이다. 안과용 조성물은 본원에 참조로서 포함된, 2009년 10월 1일자로 출원된 미국 특허 출원 제 12/571,834호에 상세히 기술되어 있다.

[0119] 명료성을 위해, 별개의 실시양태의 개념으로 기술된 본 발명의 특정한 특성들이 또한 단일의 실시양태에 조합되어 제공될 수 있음이 추가로 이해되어야 한다. 역으로, 단일의 실시양태의 문맥에서 간결성을 위해 기술된 본 발명의 다양한 특성들은 또한 별개로 또는 임의의 적합한 하위조합으로 제공될 수도 있다.

[0120] 본원에 기술된 것들에 더하여, 본 발명의 각종 변형은 상기 기재로부터 당해 기술분야의 숙련가에게 명백할 것이다. 본 명세서에 인용된 각각의 참조 문헌은 그 전문이 본원에 참조로서 포함된다.

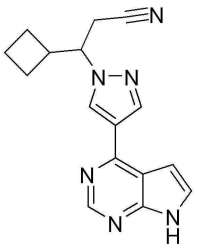
발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0121] 본 발명은 구체적인 실시예에 의해서 보다 상세하게 기술될 것이다. 다음의 실시예는 예시적인 목적으로 제공되며, 어떠한 방식으로도 본 발명을 한정하는 것으로 의도되지 않는다. 당해 기술분야의 숙련가는 본질적으로 동일한 결과를 수득하기 위해 변경되거나 변형될 수 있는 각종 비필수적 파라미터를 용이하게 인지할 것이다.

[0122] **실시예**

[0123] **실시예 1**

[0124] **(*R* 또는 *S*)-3-사이클로부틸-3-[4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일]프로판니트릴**

[0125] 

[0126] *단계 1. 사이클로부탄카르복스알데히드*

[0127] 메틸렌 클로라이드 (100 mL) 중의 디메틸 설폭시드 (34.6 mL, 0.488 mol) 용액을 -78℃에서 메틸렌 클로라이드 (700 mL, 10 mol) 중의 옥살릴 클로라이드 (20.6 mL, 0.244 mol)에 첨가하였다. 10분 후, 메틸렌 클로라이드 (100 mL) 중의 사이클로부틸메탄올 (알드리치, 17.5 g, 0.203 mol)을 첨가하고 수득된 혼합물을 -78℃에서 30분 동안 교반하였다. 메틸렌 클로라이드 (100 mL) 중의 트리에틸아민 (140 mL, 1.0 mol) 용액을 첨가하고, 실온 (rt)에 이를 때까지 점차 가온하면서 혼합물을 5시간 동안 교반하였다. 물로 퀀칭 (quenching)한 후, 혼합물을 분리하였다. 유기층을 물 (x2), 염수로 세척하고, 소디움 설페이트 상에서 건조하고, 여과하였다. 여과물을 증류하고, 86-92℃ 분획을 수집하여 알데히드 (18.6 g, 54.4%)를 수득하였다.

[0128] *단계 2. 3-사이클로부틸아크릴로니트릴*

[0129] 테트라하이드로푸란 (116 mL, 0.116 mol) 중의 1.00 M의 포타슘 터트-부톡사이드 용액에 테트라하이드로푸란 (200 mL) 중의 다이에틸 시아노메틸포스포네이트 (알드리치, 19.7 mL, 0.122 mol)를 0℃에서 적가하였다. 반응물을 실온으로 가온하고 이어서 0℃로 다시 냉각시켰다. 반응 혼합물에 테트라하이드로푸란 (100 mL) 중의 사이클로부탄카르복스알데히드 (단계 1 참조, 18.6 g, 0.110mol)의 용액을 첨가하였다. 반응물을 실온 (rt)으로 가온시키고 실온에서 밤새 교반하였다. 물로 퀀칭한 후, 혼합물을 에테르로 추출하였다. 혼합된 유기층을 물, 염수로 세척하고, 건조하고 건조 상태로 증발시켰다. 조 혼합물을 실리카겔 상에서 정제하고, 헥산 중의 0 내지 40% EtOAc로 용출하여, 목적 생성물을 수득하였다 (5.30 g, 44.7%). $C_7H_{10}N(M+H)+$에 대한 LCMS 계산치: m/z = 108.1; 실측치:108.1.

[0130] *단계 3. (R)-3-사이클로부틸-3-[4-(7-{[2-(트리메틸실릴)에톡시]메틸}-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일]프로판니트릴 및 (S)-3-사이클로부틸-3-[4-(7-{[2-(트리메틸실릴)에톡시]-메틸}-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일]프로판니트릴*

[0131] 아세토니트릴 (124 mL, 2.37 mol) 중의 4-(1H-피라졸-4-일)-7-{[2-(트리메틸실릴)에톡시]메틸}-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘(미국 특허 공개 제2007/0135461호 참조, 15.6 g, 0.050 mol) 용액에 3-사이클로부틸아크릴로니트릴 (5.30 g, 0.050 mol)을 첨가하고, 이어서 1,8-다이아자바이시클로[5.4.0]운덱-7-엔 (3.70 mL, 0.025 mol)을 첨가하였다. 수득된 혼합물을 실온에서 밤새 교반한 후, 건조 상태로 증발시켰다. 혼합물을 실리카겔 상에서 정제하고, 헥산 중의 0 내지 60% EtOAc로 용출하여, 라세미체 혼합물로서 목적 생성물 (16 g, 76%)을 수득하였다. $C_{22}H_{31}N_6OSi(M+H)+$에 대한 LCMS 계산치: m/z = 423.2; 실측치: 423.0. 라세미체 혼합물을 키랄 HPLC (컬럼: ChiralCel OJ-H, 30 x 250 mm, 5 ㎛; 이동상: 30% 에탄올 / 70% 헥산; 유속: 24 mL/분)로 분리하여 2 개의 에난티오머를 수득하였다. 키랄 분석 HPLC (컬럼: ChiralCel OJ-H, 4.6 x 250 mm, 5 ㎛; 이동상: 30% 에탄올 / 70% 헥산; 유속: 0.8 mL/분) 상에서: 첫번째 피크 체류 시간: 6.6분; 두 번째 피크 체류 시간: 8.1분.

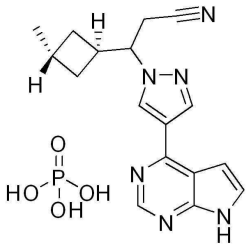
[0132] *단계 4. (R 또는 S)-3-사이클로부틸-3-[4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일]프로판니트릴*

[0133] 교반 막대, 냉각기, 및 질소 주입구가 장착된 500 mL 둥근 바닥 플라스크 내에 아세토니트릴 (55 mL), 물 (4.8 mL) 및 (*R* 또는 *S*)-3-사이클로부틸-3-[4-(7-{[2-(트리메틸실릴)에톡시]메틸}-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일]프로판니트릴 (단계 3의 키랄 분리로부터 두 번째 피크, 2.8 g, 6.6 mmol)을 충전하였다. 리튬 테트라플루오로보레이트 (7.50 g, 0.078 mol)를 첨가하였다. 수득된 혼합물을 밤새 가온하여 환류시키고, 실온으로 냉각시키고, 물 (9.78 mL) 중의 3.00 M의 암모늄 하이드록시드를 5분에 걸쳐 부분적으로 충전하여 pH를 9 내지 10로 조정하였다. 30분 후, 수득된 혼합물을 RP-HPLC (XBridge C18 30x100 mm 컬럼, 5 mL (~50 mg/주입)의 주입 용적)로 정제하고, 60 mL/분의 유속에서 0.15% NH_4OH을 함유하는 아세토니트릴/물 구배로 용출하여, 유리 염으로서 목적 생성물 (1.51 g, 77.96%)을 수득하였다. $C_{16}H_{17}N_6(M+H)+$에 대한 LCMS 계산치: m/z = 293.2; 측정치: 293.1. ^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD) d 8.65 (1H, s), 8.59 (1H, s), 8.34 (1H, s), 7.50 (1H, d, J = 3.6 Hz), 6.94 (1H, d, J = 3.6 Hz), 4.69 (1H, m), 3.07~2.97 (3H, m), 2.21 (1H, m), 1.97~1.84 (5H, m) ppm. ee 98.8%.

[0134] 다른 에난티오머는 단계 3의 키랄 분리로부터 수득된 첫 번째 피크에 상응하는 화합물을 출발물질로 하여 동일한 방식으로 제조될 수 있다.

[0135] **실시예 2**

[0136] **(3*R* 또는 3*S*)-3-(4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일)-3-((트랜스)-3-메틸사이클로부틸)프로판니트릴 인산염**

[0137] 

[0138] *단계 1. 3-메틸렌사이클로부탄카르복실산*

[0139] 냉각기가 장착된 둥근 바닥 플라스크에 3-메틸렌사이클로부탄카르보니트릴 (베파마 (BePharma), 10.0 g, 0.107 mol)을 첨가하였다. 이 플라스크에 에탄올 (112 mL) 중의 포타슘 하이드록시드 (24.1 g, 0.365 mol) 용액 및 물 (88 mL)을 첨가하고, 혼합물을 100℃에서 가열하였다. 약 2시간 후 암모니아 발생을 중지시키고, 용매를 감압하에 건조 상태로 증발시켰다. 고체를 물 (75 mL)에 용해시키고, 얼음-욕조에서 냉각시키고, 농축된 염산을 이용해 약 pH 1로 산성화시켰다. 수득된 상층을 다이클로로메탄으로 2회 추출하였다. 유기층을 병합하고 건조 마그네슘 설페이트상에서 건조하였다. 유기 용매를 제거하여 목적한 조 생성물 (11.8 g, 97.67%)을 수득하였다.

[0140] *단계 2. N-메톡시-N-메틸-3-메틸렌사이클로부탄카르복스아미드*

[0141] 메틸렌 클로라이드 (100 mL) 중의 3-메틸렌사이클로부탄카르복실산 (단계 1, 5.88 g, 52.4 mmol)의 혼합물에 옥살릴 클로라이드 (알드리치, 5.33 mL, 62.9 mmol)를 첨가하고, 이어서 촉매량의 다이메틸 포름아미드 (DMF)를 첨가하였다. 반응물을 2시간 동안 실온에서 교반한 후, 건조물 상태로 증발시켰다. 조 산 염화물을 메틸렌 클로라이드 (200 mL)에 용해시켰다. 결과 용액에 N,O-다이메틸하이드록실아민 하이드로클로라이드 (알드리치, 6.14 g, 62.9 mmol)를 첨가하고, 이어서 트리에틸아민 (TEA) (21.9 mL, 0.157 mol)을 0℃에서 적가하였다. 반응물을 밤새 실온에서 교반하고, TEA HCl 염을 여과하여 제거하였다. 여과물을 1 N HCl, 이어서 수성 소디움 디카르보네이트, 염수로 세척하고, 마그네슘 설페이트 상에서 건조시키고, 건조 상태로 증발시켰다. 조 아미드 (7.30 g, 89.7%)는 다음 단계에서 바로 사용하였다. $C_8H_{14}NO_2$(M+H)+에 대한 LCMS 계산치: m/z = 156.1; 측정치:156.3.

[0142] *단계 3. 3-메틸렌사이클로부탄카브알데히드*

[0143] 에테르 (200 mL) 중의 리튬 테트라하이드로알루미네이트 (2.18 g, 57.5 mmol)의 현탁액에 테트라하이드로푸란 (75 mL) 중의 N-메톡시-N-메틸-3-메틸렌사이클로부탄카르복스아미드 (단계 2, 7.14 g, 46.0 mmol)의 용액을 -15℃에서 적가하였다. 반응물을 30분 동안 0 내지 -15℃에서 교반한 후, 수성 포타슘 하이드로겐 설페이트로 퀀칭하였다. 수득된 혼합물을 에테르로 추출하였다. 결합한 유기 층을 염수로 세척하고, 마그네슘 설페이트상에서 건조하고, 증발시켰다. 조 생성물 (6.70 g, 151.5%)은 다음 단계에서 바로 사용하였다.

[0144] *단계 4. 3-(3-메틸렌사이클로부틸)아크릴로니트릴*

[0145] 테트라하이드로푸란 (48.3 mL, 48.3 mmol) 중의 1.00 M의 포타슘 터트-부톡사이드 용액에 테트라하이드로푸란 (80 mL) 중의 다이에틸 시아토메틸포스포네이트 (알드리치, 8.19 mL, 50.6 mmol) 용액을 0℃에서 적가하였다. 반응물을 실온으로 가온한 후, 0℃로 냉각하였다. 반응 혼합물에 테트라하이드로푸란 (40 mL) 중의 3-메틸렌사이클로부탄카르브알데히드 (단계 4, 4.42 g, 46.0 mmol) 용액을 첨가하였다. 반응물을 실온으로 가온시킨 다음, 실온에서 밤새 교반하였다. 물로 퀀칭한 후, 혼합물을 에테르로 추출하였다. 결합된 유기층을 물, 염수로 세척하고, 건조하고, 건조 상태로 증발시켰다. 조 혼합물 (5.90 g, 107.7%)을 다음 단계에서 바로 사용하였다.

[0146] *단계 5. 3-(3-메틸렌사이클로부틸)-3-[4-(7-{[2-(트리메틸실릴)에톡시]메틸}-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일]프로판니트릴*

[0147] 아세토니트릴 (57.4 mL) 중의 4-(1H-피라졸-4-일)-7-{[2-(트리메틸실릴)에톡시]메틸}-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘 (미국 특허 공개 제2007/0135461호 참조, 7.25 g, 23.0 mmol)에 조 3-(3-메틸렌사이클로부틸)아크릴로니트릴 (단계 4, 2.74 g, 23.0 mmol)를 첨가하고, 이어서 1,8-다이아자바이시클로[5.4.0]운덱-7-엔 (3.44 mL, 23.0 mmol)을 첨가하였다. 수득된 혼합물을 실온에서 주말 동안 교반하고, 그 후 건조 상태로 증발시켰다. 잔사를 실리카겔 상에서 정제하고, 헥산 중의 0 내지 80% EtOAc로 용출하여, 목적 생성물 (6.0 g, 60.1%)을 수득하였다. $C_{23}H_{31}N_6OSi$(M+H)+에 대한 LCMS 계산치: m/z = 435.2; 측정치: 435.4.

[0148] *단계 6. (3R 또는 3S)-3-((트랜스)-3-메틸사이클로부틸)-3-(4-(7-((2-(트리메틸실릴)에톡시)메틸)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일)프로판니트릴*

[0149] 100 mL의 메탄올 중의 3-(3-메틸렌사이클로부틸)-3-[4-(7-{[2-(트리메틸실릴)에톡시]메틸}-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일]프로판니트릴 (단계 5, 4.0 g, 9.2 mol) 혼합물을 0.6 g의 10% Pd/C 존재 하 및, 수소 풍선압 하에서 1시간 동안 수소화시켰다. 촉매를 여과하며 제거한 후, 여과물을 건조 상태로 증발시키고, 실리카겔 상에서 정제하고, 헥산 중의 0 내지 100% EtOAc로 용출하여, 트랜스- 및 시스-이성질체의 혼합물로서 목적 생성물을 수득하였다. $C_{23}H_{33}N_6OSi$(M+H)+에 대한 LCMS 계산치: m/z = 437.3; 측정치: 437.4. 생성물을 키랄 HPLC 컬럼에서 2회 정제하였다. 첫 번째 HPLC 분리 (컬럼: ChiralCel OD-H, 30x250mm, 5 ㎛; 이동상: 15% 에탄올 / 85% 헥산; 유속: 28 mL/분)에서 2개 분획, 분획 A 및 분획 B를 수득하였다. 분획 A는 하나의 에난티오머의 시스/트랜스 혼합물이었다. 체류 시간: 10.51 분. 분획 B는 다른 하나의 에난티오머의 시스/트랜스 혼합물이었으며, 13.05분 및 13.92분의 체류 시간을 갖는 분리할 수 없는 2개의 피크를 나타내었다. 첫 번째 분획 (A)을 추가로 키랄 HPLC 분리 (컬럼: ChiralPak IA, 20x250mm, 5 ㎛; 이동상: 10% 에탄올 / 90% 헥산; 유속: 15 mL/분)에 적용하여 2개의 피크, A1 및 A2를 수득하였으며, 하나의 피크는 시스에 상응하였고 다른 하나는 트랜스에 상응하였다. 키랄 분석 HPLC (컬럼: ChiralPak IA, 4.6x250mm, 5 ㎛ ; 이동상: 15% 에탄올 / 85% 헥산; 유속: 1.0 mL/분)에 따르면: 첫번째 피크 (A1) 체류 시간: 11.79분; 두번째 피크 (A2) 체류 시간: 12.78분. 두번째 분획 (B)을 키랄 HPLC 분리 (컬럼: ChiralPak IA, 20x250mm, 5 ㎛; 이동상: 15% 에탄올 / 85% 헥산; 유속: 15 mL/분)에 적용하여 2개의 피크, B1 및 B2 (각 피크 800 mg, 19.9%)를 수득하였다. B1은 후에 nOe에 의해 시스-

이성질체인 것으로 나타났고 B2는 다른 하나의 에난티오머의 트랜스-이성질체인 것으로 나타났다. 키랄 분석 HPLC (컬럼: ChiralPak IA, 4.6x250mm, 5 ㎛; 이동상: 15% 에탄올 / 85% 헥산; 유속: 1.0 mL/분)에 따르면: 첫 번째 피크 (B1) 체류 시간: 12.48분 및 두 번째 피크 (B2) 체류 시간: 14.16분.

[0150] *단계 7. (3R 또는 3S)-3-(4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일)-3-((트랜스)-3-메틸사이클로부틸)프로판니트릴*

[0151] 교반 막대, 냉각기 및 질소 주입구가 장착된 500 mL의 둥근 바닥 플라스크에 아세토니트릴 (9.69 mL), 물 (0.84 mL) 및 3-((트랜스)-3-메틸사이클로부틸)-3-[4-(7-{[2-(트리메틸실릴)에톡시]메틸}-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일]프로판니트릴 (0.60 g, 1.4 mol) (이전 단계의 키랄 분리로부터의 B2 (즉, 두번째 분획의 피크 2))을 충전하였다. 리튬 테트라플루오로보레이트 (1.31 g, 13.7 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 밤새 가온하여 환류시킨 후, 실온에서 5분에 걸쳐 물 (0.71 mL, 5.1 mmol) 중의 7.2 M의 암모늄 하이드록시드를 부분적으로 충전하여 pH를 9 내지 10로 조정하였다. 반응물을 2시간 동안 실온에서 교반하였다. 고형물을 여과하여 제거하고 여과물을 RP-HPLC (XBridge C18 30x100mm 컬럼, (5 mL(~50 mg/주입)의 주입 용적) 상에서 정제하고, 유속 60 mL/분에서 0.15% NH_4OH을 함유하는 아세토니트릴/물 구배로 용출하여 유리 염으로서 목적 생성물을 수득하였다. $C_{17}H_{19}N_6(M+H)^+$에 대한 LCMS 계산치: m/z = 307.2; 측정치: 307.4. ^1H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) d 12.08 (1H, s), 8.78 (1H, s), 8.68 (1H, s), 8.36 (1H, s), 7.59 (1H, d, J = 3.0 Hz), 6.99 (1H, d, J = 3.0 Hz), 4.78 (1H, m), 3.12 (2H, m), 2.88 (1H, m), 2.30 (1H, m), 2.06 (1H, m), 1.88 (1H, m), 1.74 (1H, m), 1.44 (1H, m), 1.08 (3H, d, J = 7.0 Hz) ppm. ee 93.3%.

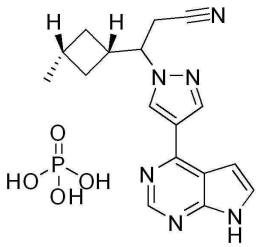
[0152] 다른 에난티오머는 단계 6으로부터의 분획 A에 상응하는 화합물을 출발물질로 하여 동일한 방법으로 제조될 수 있다.

[0153] 단계 8. (3*R* 또는 3*S*)-3-(4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일)-3-((트랜스)-3-메틸사이클로부틸)프로판니트릴 인산염

[0154] 이소프로필 알콜 (5.83 mL) 중의 (3*R* 또는 3*S*)-3-((트랜스)-3-메틸사이클로부틸)-3-[4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일]프로판니트릴 (단계 7, 0.275 g, 0.898 mmol)의 용액에 1.0 mL의 이소프로판올 중의 인산 (96.8 mg, 0.987 mmol)을 60℃에서 첨가하였다. 1 시간 동안 교반한 후, 혼합물을 실온으로 냉각되게 하였다. 침전물을 여과하에 제거하고 공기 중에서 건조시킨 후, 에틸 에테르로 세척하고 공기 중에서 더욱 건조시켜 목적한 인산염 생성물 (330 mg, 90.9%)을 수득하였다.

[0155] **실시예 3**

[0156] **(3*R* 또는 3*S*)-3-(4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일)-3-((시스)-3-메틸사이클로부틸)-프로판니트릴 인산염**



[0157]

[0158]

[0159] 단계 1. (3*R* 또는 3*S*)-3-((시스)-3-메틸사이클로부틸)-3-(4-(7-((2-(트리메틸실릴)에톡시)메틸)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일)프로판니트릴

[0160] 교반 막대, 냉각기, 및 질소 주입구가 장착된 500 mL의 둥근 바닥 플라스크에 아세토니트릴 (8.1 mL), 물 (0.70 mL) 및 (3*R* 또는 3*S*)-3-((시스)-3-메틸사이클로부틸)-3-[4-(7-{[2-(트리메틸실릴)에톡시]메틸}-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일]프로판니트릴 (0.50 g, 1.1 mmol) (실시예 2, 단계 6에 기술된 키랄 분리로부터의 B1 (즉, 두번째 분획의 피크 1))을 충전하였다. 리튬 테트라플루오로보레이트 (1.10 g,11.4 mmol)를 첨가하였다. 용액을 밤새 가온하여 환류시켰다. 이어서 (7.2 M, 0.59 mL, 4.3 mmol) 중의 암모늄 하이드

록사이드의 용액을 실온에서 5분에 걸쳐 부분적으로 상기 용액에 충전하여 pH를 9 내지 10으로 맞추었다. 반응물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 고형물을 여과로 제거하고 여과물을 RP-HPLC (XBridge C18 30x100 mm 컬럼, (5mL 주입 용적 (~50 mg/주입)) 상에서 정제하고, 유속 60 mL/분에서 0.15% NH_4OH를 함유하는 아세토니트릴/물 구배로 용출하여 목적 생성물을 수득하였다. $C_{17}H_{19}N_6(M+H)+$에 대한 LCMS 측정치: m/z = 307.2; 실측치: 307.4. ^1H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) d 12.08 (1H, s), 8.75 (1H, s), 8.68 (1H, s), 8.36 (1H, s), 7.59 (1H, d, J = 3.0 Hz), 6.99 (1H, d, J = 3.0 Hz), 4.66 (1H, m), 3.11 (2H, m), 2.66 (1H, m), 2.20 (2H, m), 1.88 (1H, m), 1.42 (2H, m), 0.97 (3H, d, J = 6.0 Hz) ppm. ee 99.8%.

[0161] 다른 에난티오머는 실시예 2, 단계 6으로부터의 분획 A에 상응하는 화합물을 출발물질로 하여 동일한 방식으로 제조될 수 있다.

[0162] *단계 2. (3R 또는 3S)-3-(4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일)-3-((시스)-3-메틸사이클로부틸)프로판니트릴 인산염*

[0163] 이소프로필 알코올 (4.87 mL) 중의 (3*R* 또는 3*S*)-3-((시스)-3-메틸사이클로부틸)-3-[4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일]프로판니트릴 (단계 1, 0.23 g, 0.751 mmol)의 용액에 1.0 mL의 이소프로판올 중의 인산 (80.9 mg, 0.83 mmol)을 60℃에서 첨가하였다. 혼합물을 2시간 동안 교반한 후, 실온으로 냉각되게 하였다. 침전물을 여과하여 제거하고 공기 중에서 건조시킨 후, 에틸 에티르로 세척하고 공기 중에서 더욱 건조하여 목적하는 인산염 생성물 (300 mg, 98.8%)을 수득하였다. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) d 12.08 (1H, s), 8.75 (1H, s), 8.65 (1H, s), 8.34 (1H, s), 7.58 (1H, d, J = 2.4 Hz), 6.97 (1H, d, J = 2.4 Hz), 4.63 (1H, m), 3.09 (2H, m), 2.64 (1H, m), 2.18 (2H, m), 1.86 (1H, m), 1.40 (2H, m), 0.96 (3H, d, J = 6.4 Hz) ppm.

[0164] **실시예 A: 시험관내 JAK 키나아제 분석**

[0165] 문헌[Park et al., Analytical Biochemistry 1999, 269, 94-104]에 기술된 하기의 시험관내 분석에 따라 본원의 화합물을 JAK 표적의 억제 활성에 대해 시험하였다. N-말단 His 태그를 갖는 인간 JAK1 (a.a. 837-1142), JAK2 (a.a. 828-1132) 및 JAK3 (a.a. 781-1124)의 촉매 도메인을 바큘로바이러스를 사용하여 곤충 세포에서 발현시키고 정제하였다. JAK1, JAK2 또는 JAK3의 촉매 활성을 바이오틴화 (biotinylated) 펩티드의 인산화를 측정함으로써 분석하였다. 인산화된 펩티드는 균일 시분해 형광 (homogenous time resolved fluorescence; HTRF)에 의해서 검출하였다. 100 mM NaCl, 5 mM DTT, 및 0.1 mg/mL (0.01%) BSA 함유 50 mM 트리스 (pH 7.8) 완충용액 중에 효소, ATP 및 500nM 펩티드를 함유하는 반응물에서 각각의 키나아제에 대해 화합물의 C_{50}을 측정하였다. 반응물 중에 ATP 농도는 JAK1에 대해 90 μM, JAK2에 대해 30 μM 및 JAK3에 대해 3 μM이었다. 실온에서 1시간 동안 반응을 수행한 후, 분석 완충용액 중의 20㎕ 45mm EDTA, 300nM SA-APC, 6nM Eu-Py20 (미국 매사추세츠주 보스턴, 퍼킨 엘머 (Perkin Elmer))로 중지시켰다. 유로퓸 (Europium)으로 표지된 항체에 대한 결합을 40분 동안 수행하고, HTRF 신호를 융합 플레이트 판독기 (Fusion plate reader) (미국 매사추세츠주 보스턴, 퍼킨 엘머) 상에서 측정하였다. 실시예 1, 2 및 3의 화합물은 JAK1에 대해 2 nM 미만 및 JAK2에 대해 1 nM 미만의 IC_{50} 값을 갖는 것으로 밝혀졌다.

[0166] **실시예 B: 세포 분석**

[0167] 다음의 세포 분석들의 적어도 하나에 따라서 JAK 표적의 억제 활성에 대해 본원의 하나 이상의 화합물을 시험하였다.

[0168] 사이토카인 및 JAK/STAT 신호 전달에 의존적인 암 세포주를, 성장을 위해, RPMI 1640, 10% FBS, 및 적합한 사이토카인 1 nG/mL 중에 웰 (96 웰 플레이트 형식) 당 6000개 세포로 도말하였다. 화합물을 DMSO/배지 (최종 농도 0.2% DMSO) 중의 세포에 첨가하고, 72시간 동안 37℃, 5% CO_2에서 배양하였다. 세포 생존력에 대한 화합물의 효과를 세포역가-글로 발광 세포 생존력 분석기 (CellTiter-Glo Luminescent Cell Viability Assay) (프로메가 (Promega))를 사용하여 평가한 다음, 탑카운트 (TopCount) (미국 매사추세츠주 보스턴, 퍼킨 엘머)로 정량화하였다. 화합물의 잠재적 표적이탈 (off-target) 효과를 동일한 분석 판독을 갖는 비 (non)-JAK 유도된 세포주를 사용하여, 병행 측정하였다. 모든 실험은 2회 수행하였다.

[0169] 상기 세포주는 또한, JAK 키나아제, 또는 STAT 단백질, Akt, Shp2 또는 Erk와 같은 잠재적 하류 기질의 인산화에 대한 화합물의 효과를 조사하기 위해 사용될수 있다. 이들 실험은 밤새 사이토카인 고갈에 이은 화합물과의 단기 사전 배양 (2시간 이하), 및 대략 1시간 이하의 사이토카인 자극에 따라 수행할 수 있다. 그 후, 단백질을 세포로부터 추출하고, 인산화된 단백질과 전체 단백질 사이를 구별할 수 있는 항체를 사용하는, 웨스턴 블롯팅 또는 ELISA를 포함하는 당업자에게 익숙한 공지된 기술에 의해 분석한다. 이들 실험은 종양 세포 생존 생물학 또는 염증성 질환의 매개체에 대한 화합물의 활성을 조사하기 위해 정상 세포 및 암 세포를 사용할 수 있다. 예를 들어, 후자와 관련하여, IL-6, IL-12, IL-23 또는 IFN과 같은 사이토카인은, STAT 단백질(들)의 인산화 및 잠재적으로 전사 프로파일 (어레이 또는 qPCR 기술에 의해 평가됨) 또는 IL-17과 같은 단백질의 생산 및/또는 분비를 초래하는 JAK 활성화를 자극하기 위해 사용될 수 있다. 이러한 사이토카인 매개 효과를 억제하는 화합물의 능력은 당업자에게 통상적인 기술을 사용하여 측정될 수 있다.

[0170] 본원에서 화합물은 또한 돌연변이 JAK, 예를 들어, 골수 증식성 장애에서 발견되는 JAK2V617F 돌연변이에 대한 화합물의 효능 및 활성을 평가하도록 고안된 세포 모델에서 시험될 수 있다. 이들 실험은 야생성 또는 돌연변이 JAK 키나아제가 전위성으로 발현되는 혈액 계통 (hematological lineage)의 사이토카인 의존성 세포 (예를 들어, BaF/3)를 종종 사용한다[참조: James, C., et al. Nature 434:1144-1148; Staerk, J., et al. JBC 280:41893-41899]. 종료점은 세포 생존, 증식, 및 인산화된 JAK, STAT, Akt 또는 Erk 단백질에 대한 화합물의 효과를 포함한다.

[0171] 본원에서 특정한 화합물은, 이들의 T-세포 증식 억제 활성에 대해 평가되어 왔거나 평가될 수 있다. 이러한 분석은 제2 사이토카인 (즉, JAK) 유도되는 증식 분석으로 간주될 수 있고, 또한 면역 저해 또는 면역 활성화 억제의 단순화된 분석으로 간주될 수 있다. 다음은 이러한 실험이 수행될 수 있는 방법을 개략적으로 나타낸다. 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC)를 피콜 하이팩 (Ficoll Hypaque) 분리 방법을 사용하여 인간 전혈 시료로부터 제조하고, 정화 (elutriation)에 의해 PBMC로부터 T-세포 (fraction 2000)를 수득할 수 있다. 새롭게 분리된 인간 T-세포를 배양 배지 (10% 소 태아 혈청, 100U/㎖ 페니실린, 100㎍/㎖ 스트렙토마이신으로 보충된 RPMI 1640)에 2×10^6 개 세포/㎖의 밀도로 37℃에서 최대 2일 동안 유지시킬 수 있다. IL-2 자극된 세포 증식 분석을 위해, T-세포를 우선 피토헤마글루티닌 (PHA)으로 10㎍/mL의 최종 농도로 72시간 동안 처리한다. PBS로 1회 세척한 후에, 6000개 세포/웰을 96-웰 플레이트에 도말하고, 100U/mL 인간 IL-2 (이스라엘 레호봇, 프로스펙-테니 테크노젠 (ProSpec-Tany TechnoGene))의 존재하에 배양 배지에서 상이한 농도의 화합물들로 처리한다. 상기 플레이트를 37℃에서 72시간 동안 인큐베이션하고, 제조자 (미국 위스콘신주 메디슨, 프로메가)에 의해 제안된 프로토콜에 따라서 CellTiter-Glo 발광 시약을 사용하여 증식 지수를 평가한다.

[0172] **실시예 C: 생체내 항종양 효능**

[0173] 본원에서 화합물을 면역 손상된 (compromised) 마우스내 인간 종양 이종이식 모델에서 평가할 수 있다. 예를 들어, INA-6 형질세포종 (plasmacytoma) 세포주의 발암성 변형체를 SCID 마우스에 피하 접종하는 데 사용할 수 있다[참조: Burger, R., et al. Hematol J. 2:42-53, 2001]. 이어서 종양 보유 동물을 약물 또는 비히클 처리 그룹으로 무작위로 나누고, 상이한 투여량의 화합물을 경구 또는 복강내를 포함하는 임의의 개수의 일반적인 경로로, 또는 이식가능한 펌프를 사용한 연속 주입으로 투여할 수 있다. 캘리퍼스 (calipers)를 사용하여 시간에 걸쳐 종양 성장을 추적한다. 나아가, 종양 샘플을 위에서 기술한 바와 같은 처리 (실시예 B)의 개시 후에 임의의 시간에 취득하여, JAK 활성 및 하류 신호전달 경로에 대한 화합물 효과를 평가할 수 있다. 또한, 화합물(들)의 선택성은 K562 종양 모델과 같이, 다른 공지된 키나아제 (예를 들어, Bcr-Abl)에 의해 유도되는 이종이식 종양 모델을 사용하여 평가할 수 있다.

[0174] **실시예 D: 뮤린 피부 접촉 지연형 과민성 반응 시험**

[0175] 본원에서 화합물은 또한 T-세포 유도된 뮤린 지연형 과민성 시험 모델에서 (JAK 표적을 억제하는) 이의 효능에 대해 시험될 수 있다. 뮤린 피부 접촉 지연-형 과민증 (DTH) 반응은 임상학적 접촉 피부염, 및 건선과 같은 피부의 기타 T-림프구 매개된 면역 장애의 유효한 모델로서 간주된다[참조: ImmunolToday. 1998 Jan;19(1):37-44]. 뮤린 DTH는 면역 침윤을 염증성 사이토카인의 동반되는 증가, 및 케라티노사이트 과다증식을 포함하고, 건선과 다수의 특성을 공유한다. 더욱이, 진료소에서 건선 치료에 효능이 있는 제제의 많은 종류가 마우스에서 DTH 반응의 효과적인 억제제이기도 하다[Agents Actions. 1993 Jan; 8(1-2):116-21].

[0176] 0일째 및 1일째에서, Balb/c 마우스의 면도된 복부에 항원 2,4,다이니트로-플루오로벤젠 (DNFB)을 국소 도포함으로써, Balb/c 마우스를 감작시킨다. 5일째에, 엔지니어용 미세측정기를 사용하여 귀의 두께를 측정한다. 이러

한 측정치를 기록하고 기준선으로서 사용한다. 0.2%의 농도로 총 20㎕ (내부 귓바퀴에 10㎕ 및 외부 귓바퀴에 10㎕)의 DNFB를 국소 도포하여 동물의 귀 양쪽을 시험감염 (challenge)시킨다. 시험감염하고 24 내지 72시간이 지난 후에, 귀를 재측정한다. 시험 화합물로의 처리는 감작 및 시험감염 기 (challenge phase) 동안 내내 (-1일째 내지 7일째) 또는 시험감염 기 전에 또는 시험감염 기 동안 내내 (통상 4일째의 오후 내지 7일째) 제공되었다. 시험 화합물을 (상이한 농도로) 전신에 또는 국소로 처리하였다 (귀에 대한 처리의 국소 도포). 시험 화합물의 효능은, 미처리 상태에 비해 귀 부종의 감소로 표시된다. 20% 이상의 감소를 유발한 화합물을 효능이 있는 것으로 간주하였다. 일부 실험에서, 마우스는 시험접종되지만 감작되지는 않는다 (음성 대조군).

[0177] 시험 화합물의 억제 효과 (JAK-STAT 경로의 활성화 억제)는 면역조직화학적 분석에 의해 확인할 수 있다. JAK-STAT 경로(들)의 활성화로 인하여 기능적 전사 인자가 형성되고 전위 (translocation)된다. 또한, 면역세포의 유입 및 각질형성세포의 증가된 증식은, 조사되고 정량화될 수 있는 귀에서의 고유 발현 프로파일 변화를 또한 제공해야 한다. 포르말린 고정되고 파라핀 포매된 (embeded) 귀 절편 (DTH 모델에서 시험접종 기 후에 수확됨)에 대해 인산화된 STAT3와 특이적으로 상호작용하는 항체 (클론 58E12, 셀 시그널링 테크놀로지스)를 사용하여 면역조직화학적 분석을 수행한다. 마우스 귀를 시험 화합물, 비히클 또는 덱사메타손 (건선에 대해 임상학적으로 효과적인 처리)으로 처리하거나, 또는 비교를 위해 DTH 모델에서 어떠한 처리도 하지 않는다. 시험 화합물 및 덱사메타손은 질적 및 양적으로 유사한 전사적 변화를 나타낼 수 있으며, 시험 화합물 및 덱사메타손은 모두 침윤 세포의 수를 감소시킬 수 있다. 시험 화합물의 전신 및 국소 투여는 모두 억제 효과, 즉, 침윤 세포의 개수 감소 및 전사 변화의 억제를 나타낼 수 있다.

[0178] **실시예 E: 생체내 항-염증 활성**

[0179] 본원에서 화합물은 단일 또는 복합 염증 반응을 모사하도록 고안된 설치류 또는 비-설치류 모델에서 평가될 수 있다. 예를 들어, 관절염의 설치류 모델은 예방용 또는 치료용으로 투여된 화합물의 치료학적 잠재성을 평가하는 데 사용될 수 있다. 이들 모델은 마우스 또는 랫트 콜라겐-유도된 관절염, 랫트 보조제-유도된 관절염 및 콜라겐 항체-유도된 관절염을 포함하나, 이로 제한되지 않는다. 다발성 경화증, I형 당뇨병, 포도망막염, 갑상선염, 중증 근무력증, 면역글로불린 신장병, 심근염, 기도 감작 (천식), 루푸스 또는 대장염을 포함하나 이로 제한되지 않는, 자가면역 질환은 또한 본원에서 화합물의 치료학적 잠재성을 평가하는 데 사용할 수 있다. 이들 모델은 연구 집단에서 잘 확립되어 있으며, 당업자에게 익숙하다[참조: Current Protocols in Immunology, Vol 3., Coligan, J.E. et al, Wiley Press.; Methods in Molecular Biology: Vol. 225, Inflammation Protocols., Winyard, P.G. and Willoughby, D.A., Humana Press, 2003].

[0180] **실시예 F: 안구 건조, 포도막염, 및 결막염 치료를 위한 동물 모델**

[0181] 본원에서 화합물은 토끼의 콘카나발린 A (ConA) 눈물샘 모델, 스코폴라민 마우스 모델 (피하 또는 경피), 보툴리넘 (Botulinumn) 마우스 눈물샘 모델, 또는 안구샘 기능 이상 (ocular gland dysfunction)을 일으키는 다수의 자발성 설치류 자가면역 모델 중 임의의 모델 (예를 들어, NOD-SCID, MRL/lpr, 또는 NZB/NZW)이 포함되나, 이들로 제한되지 않는, 당업자에게 공지된 하나 이상의 안구 건조 전임상 모델에서 평가될 수 있다 ([Barabino et al., Experimental Eye Research 2004, 79, 613-621], 및 [Schrader et al., Developmental Opthalmology, Karger 2008, 41, 298-312] 참조, 각각이 본 명세서에 그 전체가 참고로서 인용됨). 이러한 모델에서 종료점은 안구샘과 눈 (각막 등)의 조직병리학 및 가능하게는 눈물 생산을 측정하는 전통적인 셔머 (Schirmer) 테스트 또는 그의 변형된 형태 (Barabino et al.)를 포함할 수 있다. 활성은 측정 가능한 질환이 존재하기 이전 또는 이후에 시작될 수 있는 다양한 투여 경로 (예를 들어, 전신 또는 국소)를 통한 투여에 의해 평가될 수 있다.

[0182] 화합물은 당업자에게 공지된 하나 이상의 전임상 포도막염 모델에서 평가될 수 있다. 이들은 실험 자가면역 포도막염 (EAU) 및 엔도톡신 유도된 포도막염 (EIU)을 포함하나, 이로 제한되는 것은 아니다. EAU 실험은 토끼, 랫트, 또는 마우스에서 수행될 수 있으며, 수동 또는 능동 면역을 수반할 수 있다. 예를 들어, 다수의 망막 항원들 중 임의의 하나를 관련 면역원에 대해 동물을 감작시키고, 그 후에 동일한 항원으로 동물의 안구를 시험접종할 수 있다. EIU 모델은 더욱 급성이며, 치사량에 가까운 리포폴리사카라이드의 전신 또는 국소 투여를 수반한다. EIU 및 EAU 모델 모두에 대한 종료점은 그중에서도 안저검사, 조직병리학 등을 포함할 수 있다. 이러한 모델은 문헌[Smith et al., Immunology and Cell Biology 1998, 76, 497-512, 본 명세서에 그 전체로서 참고로 포함됨]에 검토되어 있다. 활성은 측정 가능한 질병이 존재하기 이전 또는 이후에 시작될 수 있는 여러 가지 투여 경로 (예를 들어, 전신 또는 국소)를 통한 투여에 의해 평가될 수 있다. 상기 열거한 일부 모델은 또한 공막염/상공막염, 맥락막염, 모양체염, 또는 홍채염을 발병할 수 있으므로, 따라서 이들 질병의 치료학적 치료를 위

한 화합물의 잠재적인 활성을 조사하는 데 또한 유용하다.

[0183] 화합물은 또한 당업자에게 공지된 결막염의 하나 이상의 전임상 모델에서 평가될 수 있다. 이들에는, 기니피그, 랫트 또는 마우스를 사용하는 설치류 모델이 포함되나, 이들로 제한되는 것은 아니다. 기니피그 모델은 난알부민 (ovalbumin) 또는 돼지풀과 같은 항원을 사용한 능동 또는 수동 면역 및/또는 면역 시험감염 프로토콜을 이용하는 모델을 포함할 수 있다 (본 명세서에 그 전체가 참고로 포함된 문헌[Groneberg, D.A., et al., Allergy 2003, 58, 1101-1113]에서 검토됨). 랫트 및 마우스 모델은 전반적인 구성면에서 기니피그 모델과 유사하다 (Groneberg에 의해 또한 검토됨). 활성은 측정 가능한 질병이 존재하기 이전 또는 이후에 시작될 수 있는 여러 가지 투여 경로 (예를 들어, 전신 또는 국소)를 통한 투여에 의해 평가될 수 있다. 이와 같은 연구에 대한 종료점은 예를 들어, 결막과 같은 안구 조직의 조직학적 분석, 면역학적 분석, 생화학적 분석, 또는 분자학적 분석이 포함될 수 있다.

[0184] 본원에 기술된 것 이외에도 본 발명의 각종 변형이 상기 기술로부터 당해 기술분야의 숙련가에 의해 명백할 것이다. 본 출원에 인용된 각각의 참조 문헌은 그 전문이 본원에 참조로서 포함된다.