

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2022년 5월 12일 (12.05.2022)

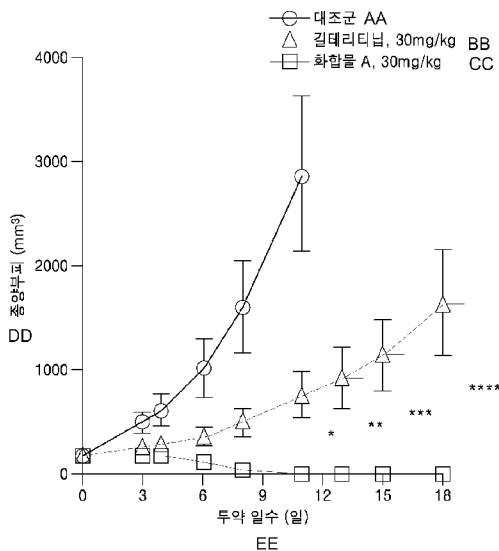


(10) 국제공개번호
WO 2022/098083 A1

- (51) 국제특허분류: *A61K 31/506* (2006.01) *A61P 35/02* (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01) *C12Q 1/6886* (2018.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2021/015794
- (22) 국제출원일: 2021년 11월 3일 (03.11.2021)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보: 10-2020-0147156 2020년 11월 5일 (05.11.2020) KR
- (71) 출원인: 한미약품 주식회사 (HANMI PHARM. CO., LTD.) [KR/KR]; 18536 경기도 화성시 팔탄면 무하로 214, Gyeonggi-do (KR).
- (72) 발명자: 배인환 (BAE, In Hwan); 18469 경기도 화성시 동탄기흥로 550, Gyeonggi-do (KR). 송지영 (SONG, Ji Young); 18469 경기도 화성시 동탄기흥로 550, Gyeonggi-do (KR). 최재술 (CHOI, Jae Yul); 18469 경기도 화성시 동탄기흥로 550, Gyeonggi-do (KR). 안영길 (AHN, Young Gil); 18469 경기도 화성시 동탄기흥로 550, Gyeonggi-do (KR).
- (74) 대리인: 김태현 (KIM, Tae-hun); 06626 서울특별시 서초구 강남대로343 신덕빌딩 9층, Seoul (KR).
- (81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.
- (84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(54) Title: PHARMACEUTICAL COMPOSITION FOR TREATING LEUKEMIA COMPRISING FLT3 INHIBITOR

(54) 발명의 명칭: FLT3 억제제를 포함하는 백혈병 치료용 약학적 조성물



(57) Abstract: The present invention relates to a pharmaceutical composition for treating leukemia, the pharmaceutical composition comprising an Fms-like tyrosine kinase-3 (FLT3) inhibitor and a pharmaceutically acceptable excipient.

(57) 요약서: 본 발명은 Fms- 유사 티로신 키나아제(Fms-like tyrosine kinase-3: FLT3) 억제제와 약학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 백혈병의 치료를 위한 약학적 조성물에 관한 것이다.

AA ... Control group
 BB ... Gilteritinib
 CC ... Compound A
 DD ... Tumor volume
 EE ... Number of days administered (days)

WO 2022/098083 A1

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))

명세서

발명의 명칭: FLT3 억제제를 포함하는 백혈병 치료용 약학적 조성물

기술분야

- [1] 본 발명은 Fms-유사 티로신 키나아제(Fms-like tyrosine kinase-3: FLT3) 억제제와 약학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 백혈병의 치료를 위한 약학적 조성물에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 키나아제(kinase)는 고에너지분자, 특히 ATP의 인산기를 기질로 옮기는 반응을 매개한다. 키나아제는 인산무수결합을 안정화시키고, 기질과 인산기를 특정한 위치에 자리잡게 하여 반응 속도를 높이는 역할을 담당한다. 음전하를 띤 인산기와 상호작용하여 나타나는 전이상태는 대부분의 경우 양전하를 띤 주변의 아미노산을 통해 정전기적으로 안정화되고, 일부 키나아제는 금속 보조인자를 이용하여 인산기와 배위결합하기도 한다.
- [3] 키나아제는 기질과 특성에 따라 단백질 키나아제, 지질 키나아제, 탄수화물 키나아제 등 다양한 그룹으로 나뉠 수 있다. 단백질, 지질 또는 탄수화물은 인산화 상태에 따라 활성, 반응성, 다른 분자와 결합할 수 있는 능력 등이 변화할 수 있다. 키나아제는 세포 내 신호전달(signal transduction)에 광범위한 영향을 미치고 세포 내부의 복잡한 생체 메커니즘을 조절한다. 어떤 분자는 인산화를 통하여 활성이 강화되거나 저해되며, 다른 분자와 상호작용하는 능력이 조절될 수 있다. 많은 키나아제가 환경 조건이나 신호에 따라 반응하기 때문에 세포는 키나아제를 통해 상황에 따라 세포 내의 분자를 통제할 수 있다. 따라서 키나아제는 세포의 성장, 분화, 증식, 생존, 물질대사, 신호전달, 세포 수송, 분비 및 그 밖에 수많은 세포반응경로에 매우 중요한 역할을 담당한다.
- [4] 키나아제는 박테리아에서 곰팡이, 곤충, 포유류에 이르기까지 다양한 종에서 발견되고, 인간에게서는 500개 이상의 키나아제가 현재까지 발견되었다.
- [5] 단백질 키나아제(Protein Kinase)는 단백질의 활성을 증가시키거나 감소시키고, 안정화하거나 분해를 위한 표식이 되기도 하며, 특정한 세포 구획에 위치시키기도 하고, 다른 단백질과의 상호작용을 개시하거나 교란할 수 있다. 단백질 키나아제는 전체 키나아제의 대부분을 차지하는 것으로 알려져 있으며, 중요한 연구대상이 되어 왔다. 단백질 키나아제는 인산분해효소와 함께 세포 신호전달뿐만 아니라 단백질 및 효소 조절 역할을 담당하는데, 세포 단백질은 수많은 공유결합의 대상이지만 인산화반응처럼 가역적인 공유결합은 많지 않기 때문에 단백질의 인산화가 조절적 기능을 갖는 것으로 설명될 수 있다. 단백질 키나아제는 종종 다수의 기질을 가지기도 하고, 때로는 특정 단백질이 하나 이상의 키나아제에 기질로 작용할 수도 있다. 이러한 이유로 단백질 키나아제는

스스로의 활성을 조절하는 인자를 사용하여 명명한다. 예를 들면, 칼모듈린 의존성 단백질 키나아제는 칼모듈린의 조절을 받는다. 때때로 키나아제는 하부 그룹으로 나뉘기도 한다. 예를 들어 제 1형 및 제 2형 고리형 AMP 의존성 단백질 키나아제는 동일한 효소 소단위로 구성되지만 다른 조절 소단위가 고리형 AMP에 결합하여 조절된다.

- [6] 단백질 키나아제는 단백질의 티로신, 세린 및 트레오닌 잔기에 위치하는 하이드록시 그룹의 인산화를 촉매하는 효소로서 세포의 성장, 분화 및 증식을 유발하는 성장 인자 신호 전달에 중요한 역할을 담당하며(Melnikova, I. *et al.*, *Nature Reviews Drug Discovery*, 3(2004), 993), 암세포에서는 특정 키나아제의 비정상적인 발현 또는 돌연변이가 빈번한 것으로 보고되고 있다.
- [7] 일반적으로 외부의 자극을 세포가 인지하는 방법 중의 하나로서 세포막에 있는 수용체인 티로신 키나아제를 통한 인지가 알려져 있다. 수용체 티로신 키나아제(Receptor tyrosine kinase: RTK)는 세포 밖에 노출된 세포 외 부분, 세포 내 세포질에 노출된 세포 내 부분 및 그 중간에 위치하는 원형질막을 통과하는 막 통과 부분으로 구성되어 있다. 수용체의 세포 외 부분은 특정 리간드가 결합하는 부분이며, 세포 내 부분은 리간드에 의하여 활성화된 수용체의 활성 신호를 세포 내로 전달하는 기능을 수행한다. 수용체 티로신 키나아제는 세포 내에 노출된 C-말단 부위에 티로신 키나아제 활성을 갖는 도메인이 존재하여, 세포 외 부분에 특정 리간드가 부착하면 수용체 단백질의 세포질 부분에 노출된 C-말단의 티로신 키나아제 도메인의 키나아제 효소가 활성화되어, 이중체 상에서 서로의 C-말단에 있는 티로신을 인산화 시킨다. 이와 같은 티로신의 인산화 과정은 세포 외의 자극에 대한 신호를 세포 내로 전달하는 가장 중요한 과정이 된다. 이러한 기작을 가지고 세포 외 자극을 세포 내로 전달하는 티로신 키나아제 활성을 갖는 수용체는 많이 알려져 있다. 대표적인 예로써 FLT3, VEGFR, SYK 등을 들 수 있다.
- [8] 이들 중 수용체 티로신 키나아제인 FMS 유사 티로신 키나아제(Fms-like tyrosine kinase 3: FLT3)는 조혈아세포에 의하여 통상적으로 조혈 전구세포에서 발현되고, 통상적인 줄기 세포의 발현 및 면역 시스템에 있어서 중요한 역할을 담당한다. FLT3의 비정상적인 과발현 및 돌연변이는 종종 백혈병 환자에서 관측된다. 특히, FLT3의 D835V, D835Y 및 ITD(internal tandem duplication) 등과 같은 다양한 돌연변이가 급성 골수성 백혈병(Acute myelogenous leukemia: AML)에서 관측된다. 급성 골수성 백혈병(AML)은 골수 및 말초 혈액 내의 아세포의 비정상적인 증식 및 분화를 특징으로 하는 단일성 조혈줄기세포 질환이다. FLT3는 최근 들어 AML의 치료적 관점에서 가장 주요한 타겟 중 하나로 여겨지고 있다.
- [9] 성인 AML에서 RAS 및 p53 유전자 돌연변이가 성인 AML의 약 20% 및 5%로 보고되는데 반해, FLT3 유전자 돌연변이는 성인 AML의 약 30%에서 발견되고 있다. AML에서 가장 대표적인 문제점은, 좋지 않은 예후를 야기하는 FLT3의

돌연변이가 활성화된다는 것이다. FLT3 돌연변이는 크게 두 종류로 분류된다. 하나는 막근접(juxtamembrane) 영역 내의 내부 순차 중복(internal tandem duplications: ITD)이며, 다른 하나는 티로신 키나아제 도메인(tyrosine kinase domain: TKD) 내의 점돌연변이(point mutation)이다. 초기 AML 환자의 약 23%가 가장 많이 발견되는 돌연변이인 FLT3-ITD가 활성화 되어 있다. ITD 돌연변이가 있는 환자는 나쁜 예후를 보이며, 높은 재발률을 보인다. 또 다른 주요 FLT3 돌연변이는 FLT3 TKD 돌연변이로, 초기 AML 케이스의 약 7%가 이에 해당한다. 다양한 아미노산에 의하여 대체되는 아스파르트산염 835(D835)의 잔기에서의 점돌연변이는 ITD 돌연변이보다는 덜하나 가장 흔하게 일어나는 돌연변이 중 하나이다. 또한, AML에 있어서 FLT3의 또 다른 주요 활성화 방법은 야생형(wild type) FLT3 단백질의 과발현이다.

- [10] 이와 같이, FLT3에서 ITD(internal tandem duplication) 돌연변이의 활성화는 급성 골수성 백혈병 환자의 약 20%에서 검출되며, 이는 예후 불량과 연관되어 있다. 연구를 통해, FLT3-ITD가 악성 발병에 원인이 되는 역할을 하는 구동 병태(driver lesion)이며, 인간 AML에서 유효한 치료학적 타겟일 수 있는 것으로 확인되었다(비특허문헌 1). FLT3 유전자의 돌연변이는 AML에서 빈번하게 나타나는 현상으로, 통상적으로 막근접(juxtamembrane) 도메인 코딩 영역의 ITD(internal tandem duplication) 또는 티로신 키나아제 도메인 (TKD)의 점 돌연변이를 수반한다.
- [11] FLT3-ITD 돌연변이와 FLT3-TKD 돌연변이는 모두 구성 요소의 이량체화와 FLT3 수용체의 활성화로 인해 리간드-비의존적인 증식을 야기한다. FLT3-ITD의 야생형 대립유전자 대비 높은 돌연변이 비율은 성인과 어린이 모두에서 매우 불량한 예후와 연관되어 있다(비특허문헌 2). 다른 유형의 백혈병, 예컨대 만성 골수단핵구성 백혈병(Chronic myelomonocytic leukemia: CMML) 또한 FLT3의 활성화 돌연변이를 보유할 수 있다. 따라서, 활성화 돌연변이를 갖는 FLT3은 여러 암 유형에 대한 중요한 표적이다(비특허문헌 3 및 비특허문헌 4).
- [12] 특히나, 이미 승인된 약물 또는 개발중인 FLT3 저해제의 불응성/재발성 급성 골수성 백혈병 환자에 대한 분석에서 다양한 획득 내성(acquired resistance)로서 다양한 TKD 변이가 보고 되었다. 대표적인 예로서, receptor domain (RD)의 K429A 변이, JM 도메인의 Y572C, TK1 도메인의 A627P, N676K/D/I/S, F691L과 TK2 도메인의 D835Y/F/I/H/V/A, Y842C/H/N등이 있다(비특허문헌 5). FLT3 저해제 임상에서의 내성 환자 분석에서 가장 중요한 획득 내성으로 F691L이 있으며, F691L의 경우, 약물의 활성을 저해할 수 있는 gatekeeper 변이이다. 따라서 이러한 F691L 단독 또는 ITD-F691L의 이중변이를 타겟팅 할 수 있는 약물의 개발이 미충족 의료로 간주되고 있다(비특허문헌 6).
- [13] 혈액 세포에 주로 발현이 되어 있는 비장 티로신 키나아제(Spleen tyrosine kinase: SYK)은 B 세포 수용체(B-cell receptor) 및 마스트 세포와 같은 다른 면역 수용체들의 신호 전달 경로에서 중요한 역할을 한다. 비장 티로신 키나아제는

또한 신경 세포 및 혈관 내피 세포와 같은 비조혈 세포에서도 발현된다. 최근 연구에서는 IL-1, TNF- α , ITGB1을 포함하는 다양한 세포 자극의 산화화에서 중요한 역할을 하는 것이 증명 되었다. SYK은 다양한 혈액학적 악성 종양, 자가면역 질환, 기타 염증반응에 있어 잠재적으로 좋은 타겟으로 알려져 있다(비특허문헌 7 및 비특허문헌 8).

- [14] [비특허문헌]
- [15] (비특허문헌 1) Catherine *et al.*, Nature, 2012, 485, 260-263
- [16] (비특허문헌 2) A S Moore *et al.*, Leukemia, 2012, 26, 1462-1470
- [17] (비특허문헌 3) Cancer Cell, (2007), 12: 367-380
- [18] (비특허문헌 4) Current Pharmaceutical Design (2005), 11, 3449-3457
- [19] (비특허문헌 5) H Kiyoi *et al.*, Cancer Science (2020), 111, 312
- [20] (비특허문헌 6) Christine *et al.*, Cancer Discovery, 9, (2019), 1050
- [21] (비특허문헌 7) Liu *et al.*, Journal of Hematology & Oncology (2017), 10, 145
- [22] (비특허문헌 8) Yamada T *et al.*, J. Immunol., (2001) 167, 283-288

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [23] 본 발명의 일 양상은 Fms-유사 티로신 키나아제(Fms-like tyrosine kinase-3: FLT3) 억제제와 약학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 백혈병의 치료를 위한 약학적 조성물을 제공하는 것이다.
- [24] 본 발명의 다른 일 양상은 상기 일 양상에 따른 F691L 획득 돌연변이를 지닌 암 치료를 위한 의약 용도를 제공하는 것이다.

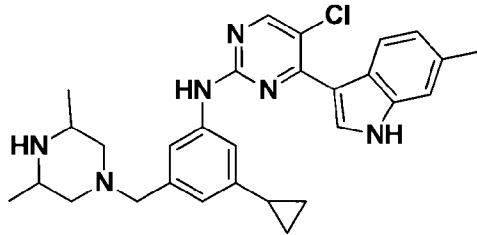
기술적 해결방법

- [25] 본 발명의 일 양상은 Fms-유사 티로신 키나아제(Fms-like tyrosine kinase-3: FLT3) 억제제와 약학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 백혈병의 치료를 위한 약학적 조성물을 제공한다.
- [26] 본 발명의 다른 일 양상은 상기 일 양상에 따른 F691L 획득 돌연변이를 지닌 암 치료를 위한 의약 용도를 제공한다.
- [27] 일 구체예는 Fms-유사 티로신 키나아제(Fms-like tyrosine kinase-3: FLT3) 억제제와 약학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 약학적 조성물로서,
- [28] 상기 FLT3 억제제는 하기 화학식 1의 화합물, 이의 입체 이성질체, 이의 호변 이성질체, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택하는 적어도 하나의 화합물이거나;
- [29] 이 선택한 적어도 하나의 화합물의 약제학적으로 허용되는 염 또는 이 선택한 적어도 하나의 화합물의 용매화물이며;
- [30] 상기 약학적 조성물은 백혈병의 치료를 위한 약학적 조성물로서, 상기 백혈병 암세포는 FLT3 유전자내 종렬 중복(internal tandem duplication; ITD) 변이를 지니며,

[31] F691L, D835Y, D835F, D835I, D835H, D835V와 D835A 중에서 선택하는 적어도 하나의 FLT3 돌연변이를 더 포함하는 약학적 조성물을 제공한다.

[32] [화학식 1]

[33]



[34] 일 구체예에서, 상기 백혈병은 급성 골수성 백혈병(acute myeloid leukemia: AML)이다.

[35] 일 구체예에서, 상기 약학 조성물은 SYK 억제제와 동시에 또는 순차적으로 병용 투여할 수 있다.

[36] 본 명세서에서 용어 “동시에” 투여는 동일 경로로 동시에 또는 실질적으로 동시에 두 가지 이상의 성분의 투여를 지칭되며, 실질적으로 동시 투여되는 경우 투여 경로는 동일하거나 상이할 수 있다. 본 명세서에서 용어 “순차적” 투여는 상이한 시점에 두 가지 이상의 성분의 투여를 지칭하며, 투여 경로는 동일하거나 상이할 수 있다.

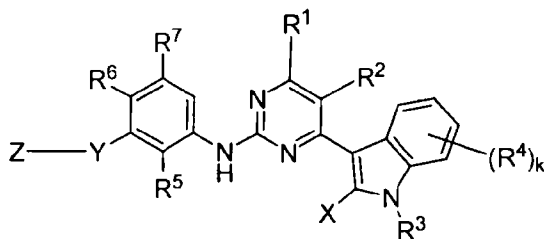
[37]

[38] FLT3 억제제를 포함하는 약학적 조성물의 다른 구체예는 다음과 같다.

[39] (1) 하기 화학식 A의 화합물, 이의 입체 이성질체, 호변 이성질체, 용매화물, 및 약제학적으로 허용 가능한 염 중에서 선택되는 화합물을 활성성분으로서 포함하는 암의 치료용 약학적 조성물일 수 있다.

[40] [화학식 A]

[41]



[42] 상기 화학식 A에서,

[43] R¹은 수소, 할로젠, 히드록시, C₁₋₄알콕시 또는 -NR_aR_b이고,

[44] 여기에서 R_a 및 R_b는 각각 독립적으로 수소 또는 C₁₋₄알킬이며;

[45] R²는 수소, 할로젠, 시아노, 니트로, 아미노, 카르복사미드, 포르밀, 할로C₁₋₄알킬 또는 C₁₋₄알킬이고;

[46] R³는 수소, 할로젠, 히드록시, 할로C₁₋₄알킬, C₁₋₄알킬, C₂₋₄알켄일 또는 C₂₋₄알킨일이고;

[47] 각각의 R⁴는 서로 독립적으로 수소, 할로젠, 히드록시, 시아노, 니트로, 아미노,

-S(=O)_l-R_c-, 할로C₁₋₄알킬, C₁₋₄알콕시, 히드록시C₁₋₄알킬, C₁₋₄알킬, C₂₋₄알켄일, C₂₋₄알킨일, -NR_dR_e-, -CO₂R_e 또는 -CO-NR_dR_e 이고,

[48] 여기에서 R_c는 C₁₋₄알킬 또는 -NR_dR_e 이고,

[49] R_d 및 R_e는 각각 독립적으로 수소 또는 C₁₋₄알킬이고,

[50] l는 0 내지 2의 정수이고;

[51] k는 0 내지 4의 정수이며;

[52] R⁵ 및 R⁶은 각각 독립적으로 수소, 할로젠, 히드록시, 니트로, 아미노, C₁₋₄알콕시 또는 C₁₋₄알킬이고;

[53] R⁷은 히드록시C₁₋₄알킬, C₁₋₄알킬, C₂₋₄알켄일, C₂₋₄알킨일, C₃₋₇사이클로알킬 또는 C₃₋₉헤테로사이클로알킬이고,

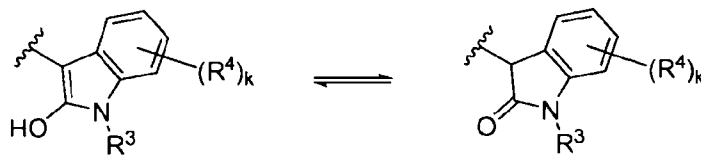
[54] 여기에서 C₃₋₇사이클로알킬 또는 C₃₋₉헤테로사이클로알킬은 할로젠, C₁₋₄알킬 또는 할로C₁₋₄알킬로 치환 또는 비치환될 수 있고;

[55] X는 H 또는 OH 이고;

[56] X는 OH인 경우, 화학식 A의 화합물은 하기 화학식 B와 같은 호변 이성질체 구조를 포함할 수 있고,

[57] [화학식 B]

[58]



[59] 화학식 B에서 R³, R⁴, 및 k의 정의는 화학식 A에서와 같으며;

[60] Y는 -(CH₂)_m-, -(CH₂)_m-O-(CH₂)_n-, -(CH₂)_m-CO-(CH₂)_n-, -(CH₂)_m-NR⁸-(CH₂)_n- 또는 -(CH₂)_m-SO₂-(CH₂)_n-이고,

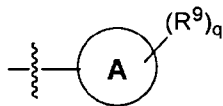
[61] 여기에서 R⁸은 수소 또는 C₁₋₄알킬이고,

[62] m 및 n은 각각 독립적으로 0 내지 2의 정수이고;

[63] Z는 하기 화학식 C의 구조이며;

[64] [화학식 C]

[65]



[66] 상기 화학식 C에서,

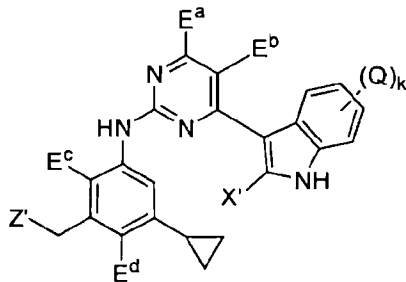
[67] (A)는 C₃₋₁₀사이클로알킬 또는 C₂₋₁₁헤테로사이클로알킬이고;

[68] R⁹는 할로젠, 히드록시, 시아노, 니트로, 아미노, 티올, 포르밀, 할로C₁₋₄알킬, C₁₋₄알콕시, 직쇄형 또는 분지형의 히드록시C₁₋₄알킬, 직쇄형 또는 분지형의 C₁₋₄알킬, C₂₋₄알켄일, C₂₋₄알킨일, C₃₋₁₀사이클로알킬, C₂₋₉헤테로사이클로알킬, 히드록시C₂₋₉헤테로사이클로알킬, 직쇄형 또는 분지형의 히드록시C₁₋₄알킬카르보닐, -NR¹⁰R¹¹, -COR¹², -COOR¹² 또는 -SO₂R¹³이고,

- [69] q는 0 내지 5의 정수이고,
 [70] 단, \textcircled{A} 가 피페라진일 또는 피페리딘일 경우 q는 0이 아니며;
 [71] 여기에서 2 이상의 R⁹는 서로 연결되거나 \textcircled{A} 와 융합되어 7 내지 12 원의 바이사이클로알킬(bicycloalkyl), 헤테로바이사이클로알킬(heterobicycloalkyl), 스피로사이클로알킬(spirocycloalkyl), 또는 스피로헤테로사이클로알킬(spiroheterocycloalkyl)을 형성할 수 있으며;
 [72] R¹⁰ 및 R¹¹은 각각 독립적으로 수소, 히드록시C₁₋₄알킬, 할로C₁₋₄알킬, C₁₋₄알킬, C₂₋₄알켄일 또는 C₂₋₄알킨일이고;
 [73] R¹²는 수소, 히드록시, 히드록시C₁₋₄알킬, 할로C₁₋₄알킬, C₁₋₄알킬, C₂₋₄알켄일, C₂₋₄알킨일, C₃₋₁₀사이클로알킬 또는 C₂₋₉헤테로사이클로알킬이고;
 [74] R¹³은 히드록시, 할로C₁₋₄알킬, C₁₋₄알킬, C₂₋₄알켄일, C₂₋₄알킨일, C₃₋₁₀사이클로알킬, C₂₋₉헤테로사이클로알킬, 아릴 또는 -NR_fR_g이고,
 [75] R_f 및 R_g는 각각 독립적으로 수소 또는 C₁₋₄알킬이다.
 [76] (2) 상기 (1)에서, 하기 화학식 D의 화합물, 이의 입체 이성질체, 호변 이성질체, 용매화물, 및 약제학적으로 허용 가능한 염 중에서 선택되는 화합물을 활성성분으로서 포함할 수 있다.

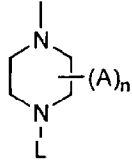
[77] [화학식 D]

[78]



- [79] 상기 화학식 D에서,
 [80] E^a는 수소, 히드록시 또는 C₁₋₄알콕시이고;
 [81] E^b는 수소, 할로젠, C₁₋₄알킬 또는 C₁₋₄플루오로알킬이며;
 [82] E^c와 E^d는 서로 독립적으로 수소 또는 히드록시이고;
 [83] X'는 수소 또는 히드록시이며;
 [84] k는 0 내지 4의 정수이고;
 [85] 각각의 Q는 서로 독립적으로 히드록시, 할로젠, C₁₋₄알킬, 히드록시C₁₋₄알킬 또는 C₁₋₄알콕시이며;
 [86] Z'는 화학식 E에 나타낸 1가 작용기이고;
 [87] [화학식 E]

[88]



[89] 이 때 상기 화학식 E에서, n은 1 내지 8의 정수이고;

[90] 각각의 치환기 A는 서로 독립적으로 히드록시, C₁₋₄알킬 및 히드록시C₁₋₄알킬 중에서 선택하는 작용기이고, 여기에서 n이 2 이상일 경우, 그 n들 중에서 두 개의 A는 서로 연결되어 알킬렌 다리를 형성함으로써 Z'가 7 내지 12 원의 다리걸친 헤테로바이사이클로알킬(bridged heterobicycloalkyl) 고리를 형성하거나, 또는 두 개의 A가 스피로 연결되어 7 내지 12 원의 스피로헤테로바이사이클로알킬(spiroheterocycloalkyl) 고리를 형성할 수 있으며;

[91] L은 수소, C₁₋₄알킬, 히드록시 또는 히드록시C₁₋₄알킬이다.[92] (3) 상기 (2)에서, E^b가 할로젠이고, n이 2이며, A가 메틸인 화합물을 포함하는 약학적 조성물.

[93] (4) 상기 (2)에서, Z'가 3,5-디메틸피페라진-1-일인 화합물을 포함하는 약학적 조성물.

[94] (5) 상기 (2)에서, E^b는 염소 또는 플루오로인 화합물을 포함하는 약학적 조성물.

[95] (6) 상기 (1) 또는 (2)에서, 상기 화학식 A의 화합물은 하기 화합물들로 구성된 군에서 선택되는 것인 화합물을 포함하는 약학적 조성물:

[96] 1) 5-클로로-N-(3-사이클로프로필-5-(((3R, 5S)-3,5-디메틸피페라진-1-일)메틸)페닐)-4-(6-플루오로-1H-인돌-3-일)피리미딘-2-아민

[97] 2) 5-클로로-4-(6-클로로-1H-인돌-3-일)-N-(3-사이클로프로필-5-(((3R, 5S)-3,5-디메틸피페라진-1-일)메틸)페닐)피리미딘-2-아민

[98] 3) 2-((2R, 6S)-4-(3-((5-클로로-4-(6-플루오로-1H-인돌-3-일)피리미딘-2-일)아미노)-5-사이클로프로필벤질)-2,6-디메틸피페라진-1-일)에탄-1-올

[99] 4) 2-((2R, 6S)-4-(3-((5-클로로-4-(1H-인돌-3-일)피리미딘-2-일)아미노)-5-사이클로프로필벤질)-2,6-디메틸피페라진-1-일)에탄-1-올

[100] 5) 2-((2R, 6S)-4-(3-((5-클로로-4-(6-메틸-1H-인돌-3-일)피리미딘-2-일)아미노)-5-사이클로프로필벤질)-2,6-디메틸피페라진-1-일)에탄-1-올

[101] 6) (R)-5-클로로-N-(3-사이클로프로필-5-((3-메틸피페라진-1-일)메틸)페닐)-4-(1H-인돌-3-일)피리미딘-2-아민

[102] 7) (R)-5-클로로-N-(3-사이클로프로필-5-((3-메틸피페라진-1-일)메틸)페닐)-4-(6-메틸-1H-인돌-3-일)피리미딘-2-아민

[103] 8) 5-클로로-N-(3-사이클로프로필-5-(((3R, 5S

- [104])-3,5-디메틸피페라진-1-일)메틸)페닐)-4-(6-메틸-1*H*-인돌-3-일)피리미딘-2-아민
9) 5-클로로-*N*-(3-사이클로프로필-5-(((3*S*, 5*R*
- [105])-3-에틸-5-메틸피페라진-1-일)메틸)페닐)-4-(6-메틸-1*H*-인돌-3-일)피리미딘-2-아민
10) 5-클로로-*N*
-(3-사이클로프로필-5-(((3,5-디메틸피페라진-1-일)메틸)페닐)-4-(6-메틸-1*H*-인돌-3-일)피리미딘-2-아민
- [106] 11) *N*-(3-사이클로프로필-5-(((3*R*,5*S*
- [107])-3,5-디메틸피페라진-1-일)메틸)페닐)-4-(6-메틸-1*H*-인돌-3-일)피리미딘-2-아민
12) *N*-(3-사이클로프로필-5-(((3*R*, 5*S*
- [108])-3,5-디메틸피페라진-1-일)메틸)페닐)-5-플루오로-4-(6-메틸-1*H*-인돌-3-일)피리미딘-2-아민
13) *N*-(3-사이클로프로필-5-(((3*R*, 5*S*)-3,5-디메틸피페라진-1-일)메틸)페닐)-4-(1*H*-인돌-3-일)-5-메틸피리미딘-2-아민
- [109] 14) *N*-(3-사이클로프로필-5-(((3*R*, 5*S*
- [110])-3,5-디메틸피페라진-1-일)메틸)페닐)-5-메틸-4-(6-메틸-1*H*-인돌-3-일)피리미딘-2-아민
15) *N*-(3-사이클로프로필-5-(((3*R*, 5*S*
- [111])-3,5-디메틸피페라진-1-일)메틸)페닐)-4-(6-메틸-1*H*-인돌-3-일)-5-(트리플루오로메틸)피리미딘-2-아민
16) 3-(5-클로로-2-((3-사이클로프로필-5-(((3*R*, 5*S*
- [112])-3,5-디메틸피페라진-1-일)메틸)페닐)아미노)피리미딘-4-일)-1*H*-인돌-6-일)메탄올
17) 5-클로로-*N*-(3-사이클로프로필-5-(((3*R*, 5*S*
- [113])-3,5-디메틸피페라진-1-일)메틸)페닐)-4-(5-메톡시-6-메틸-1*H*-인돌-3-일)피리미딘-2-아민
18) 3-(5-클로로-2-((3-사이클로프로필-5-(((3*R*, 5*S*
- [114])-3,5-디메틸피페라진-1-일)메틸)페닐)아미노)피리미딘-4-일)-6-메틸인돌린-2-온
19) 3-(5-클로로-2-((3-사이클로프로필-5-(((3*R*, 5*S*
- [115])-3,5-디메틸피페라진-1-일)메틸)페닐)아미노)피리미딘-4-일)-6-메틸인돌린-2-온
20) 5-클로로-*N*-(3-사이클로프로필-5-(((3*R*, 5*S*
- [116])-3,5-디메틸피페라진-1-일)메틸)페닐)-4-메톡시-6-(6-메틸-1*H*-인돌-3-일)피리미딘-2-아민
21) 5-클로로-2-((3-사이클로프로필-5-(((3*R*, 5*S*
- [117])-3,5-디메틸피페라진-1-일)메틸)페닐)아미노)-6-(6-메틸-1*H*-인돌-3-일)피리미딘-4-올
22) 3-(5-클로로-2-((3-사이클로프로필-5-(((3*R*, 5*S*

-)-3,5-디메틸피페라진-1-일)메틸)페닐)아미노)피리미딘-4-일)-6-메틸-1*H*-인돌-7-
올
- [118] 23) 2-((5-클로로-4-(6-메틸-1*H*
-인돌-3-일)피리미딘-2-일)아미노)-4-사이클로프로필-6-(((3*R*, 5*S*
)-3,5-디메틸피페라진-1-일)메틸)페놀
- [119] 24) 4-((5-클로로-4-(6-메틸-1*H*
-인돌-3-일)피리미딘-2-일)아미노)-2-사이클로프로필-6-(((3*R*, 5*S*
)-3,5-디메틸피페라진-1-일)메틸)페놀
- [120] 25) (*R*)-5-클로로-*N*
-(3-사이클로프로필-5-((3,3,5-트리메틸피페라진-1-일)메틸)페닐)-4-(6-메틸-1*H*-
인돌-3-일)피리미딘-2-아민
- [121] 26) ((2*R*, 6*R*)-4-(3-((5-클로로-4-(6-메틸-1*H*
-인돌-3-일)피리미딘-2-일)아미노)-5-사이클로프로필벤질)-6-메틸피페라진-2-일)
메탄올
- [122] 27) (*R*)-5-클로로-*N*
-(3-사이클로프로필-5-((5-메틸-4,7-디아자스피로[2.5]옥탄-7-일)메틸)페닐)-4-(6-
메틸-1*H*-인돌-3-일)피리미딘-2-아민
- [123] 28) 5-클로로-*N*-(3-사이클로프로필-5-(((3*R*, 5*R*
)-3,5-디메틸피페라진-1-일)메틸)페닐)-4-(6-메틸-1*H*-인돌-3-일)피리미딘-2-아민
- [124] 29) 5-클로로-*N*-(3-사이클로프로필-5-(((3*S*, 5*S*
)-3,5-디메틸피페라진-1-일)메틸)페닐)-4-(6-메틸-1*H*-인돌-3-일)피리미딘-2-아민
- [125] 30) 5-클로로-*N*-(3-사이클로프로필-5-(((3*R*, 5*S*
)-3,4,5-트리메틸피페라진-1-일)메틸)페닐)-4-(6-메틸-1*H*-인돌-3-일)피리미딘-2-
아민
- [126] 31) (2*R*, 6*S*)-4-(3-((5-클로로-4-(6-메틸-1*H*
-인돌-3-일)피리미딘-2-일)아미노)-5-사이클로프로필벤질)-2,6-디메틸피페라진-1-
-올
- [127] 32) (2*R*, 6*S*)-4-(3-사이클로프로필-5-((4-(6-메틸-1*H*
-인돌-3-일)피리미딘-2-일)아미노)벤질)-2,6-디메틸피페라진-1-올.
- [128] (7) 상기 (1)에서, 약학적으로 허용되는 첨가제를 더 포함하는 약학적 조성물.
- [129] (8) 상기 (1) 또는 (2)에서, 상기 암은 백혈병인 것인 약학적 조성물.
- [130] (9) 상기 (8)에서, 상기 백혈병은 급성 골수성 백혈병, 급성 림프구성 백혈병,
또는 만성 골수 백혈병인 것인 약학적 조성물.
- [131] (10) 상기 (1) 또는 (2)에서, FLT3 키나아제 활성 저해에 의한 암의 치료용
약학적 조성물.
- [132] (11) 상기 (1) 또는 (2)에서, FLT3 아미노산 서열의 티로신 키나아제
도메인(tyrosine kinase domain: TKD)(FLT3-TKD)에 돌연변이를 갖는 암의 치료용
약학적 조성물.

- [133] (12) 상기 (11)에서, 상기 FLT3-TKD 돌연변이는 유전자내 종렬 중복(internal tandem duplication; ITD)을 추가로 포함하는 것인 암의 치료용 약학적 조성물.
- [134] (13) 상기 (1) 또는 (2)에서, F691L 돌연변이를 갖는 암 치료용 약학적 조성물.
- [135] (14) 상기 (1) 또는 (2)에서, F691L 단독 또는 ITD-F691L 이중변이를 갖는 암 치료용 약학적 조성물.
- [136] (15) 상기 (14)에서, 상기 암은 F691L 단독 또는 ITD-F691L 이중변이를 갖는 급성 골수성 백혈병(AML)인 것인 약학적 조성물.
- [137]
- [138] 본 명세서에서 FLT3는 조혈 간세포의 표면에서 통상 발현되는 클래스 III 수용체 티로신 키나아제(TK) 패밀리의 멤버이다. FLT3 및 그 리간드는 다능 줄기 세포의 증식, 생존 및 분화에 중요한 역할을 한다. FLT3은 다수의 AML 케이스에서 발현된다. 또한, 막근접 도메인에 그리고 그 주위에 유전자내 종렬 중복(ITD)을 갖는 활성화된 FLT3 및 활성화 루프에서 D835 근처에 티로신 키나아제 도메인(TKD) 돌연변이는 각각 AML 케이스의 28% 내지 34% 및 11% 내지 14%로 존재한다. FLT3에서 이들 활성화된 돌연변이는 종양원성이고 세포에서 변형 활성을 나타낸다. FLT3-ITD 돌연변이를 갖는 환자는 임상 연구에서 불량한 예후를 나타내고, 재발률이 더 높으며, 처음 치료로부터 완화 지속기간이 더 짧고(FLT3-ITD 돌연변이가 없는 환자의 11.5달에 대하여 6달), 무병 생존율이 감소되고 및 OS가 감소된다. 조혈 줄기세포 이식(HSCT) 후 재발 발생도 또한 FLT3-ITD 환자에 대해서 더 높다. 1차 치료에 대한 예후와 비슷하게, 재발된/불응성 FLT3-돌연변이 양성 AML 환자는 구제 항암 요법에 의한 완화율이 더 낮고, 2차 재발까지의 완화 기간이 더 짧으며 FLT3-돌연변이 음성 환자에 대하여 감소된 OS를 가진다.
- [139] 본 명세서에서 암은 백혈병 예컨대 급성 골수성 백혈병(Acute myelogenous leukemia: AML), 만성 골수성 백혈병(Chronic myelogenous leukemia: CML), 급성 림프구성 백혈병(Acute lymphocytic leukemia: ALL), 만성 림프구성 백혈병(Chronic lymphocytic leukemia, CLL), 급성전 골수성 백혈병(Acute promyelocytic leukemia: APL), 모상세포 백혈병(hairy cell leukemia), 만성 호중구성 백혈병(chronic neutrophilic leukemia: CNL) 등을 포함한다.
- [140] 일 구체예에서, 상기 암은 백혈병일 수 있다.
- [141] 일 구체예에서 상기 백혈병은 급성 골수성 백혈병, 급성 림프구성 백혈병, 또는 만성 골수성 백혈병을 포함할 수 있다.
- [142] 본 명세서에서 급성 골수성 백혈병(AML)은 FLT3 돌연변이를 갖는 급성 골수성 백혈병을 포함한다. 일 구체예에서, 급성 골수성 백혈병은 돌연변이체 FLT3 폴리뉴클레오티드-양성급성 골수성 백혈병, FLT3 유전자내 종렬 중복(ITD) 양성 급성 골수성 백혈병, 또는 FLT3 점 돌연변이를 갖는 급성 골수성 백혈병을 포함한다.
- [143] 상기 FLT3 점 돌연변이는 FLT3 아미노산 서열의 티로신 키나아제

- 도메인(tyrosine kinase domain: TKD)(FLT3-TKD) 영역 내에 돌연변이일 수 있다.
- [144] 본 명세서에서 "약학적으로 허용 가능한"은 일반적으로 비독성, 불활성, 및/또는 생리학적으로 양립가능한 조성물 또는 조성물의 구성요소를 지칭한다. "약학적 부형제(excipient)" 또는 "부형제"는 보조제, 담체, pH-조절 및 완충제, 등장성 조절제, 습윤제, 보존제 등과 같은 물질을 포함한다. "약학적 부형제"는 약학적으로 허용 가능한 부형제이다. 상기 약학적 조성물은 통상적인 약학적으로 허용되는 부형제 또는 첨가제를 포함할 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물은 통상적인 방법에 따라 제제화할 수 있으며, 정제, 환제, 산제, 캡셀제, 시럽, 에멀전, 마이크로에멀전 등의 다양한 경구 투여 형태 또는 근육내, 정맥내 또는 피하 투여와 같은 비경구 투여 형태로 제조될 수 있다.
- [145] 상기 약학적 조성물이 경구 제형의 형태로 제조되는 경우, 사용되는 담체 또는 첨가제, 부형제의 예로는 희석제, 붕해제, 결합제, 활택제, 계면활성제, 현탁제, 또는 유화제 등을 들 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물이 주사제의 형태로 제조되는 경우 상기 담체 또는 첨가제, 부형제로는 물, 식염수, 포도당 수용액, 유사 당수용액, 알콜, 글리콜, 에테르(예: 폴리에틸렌글리콜 400), 오일, 지방산, 지방산에스테르, 글리세라이드, 계면활성제, 현탁제, 또는 유화제 등을 들 수 있다. 이러한 제제화 방법은 당해 제제학 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 널리 알려져 있다.
- [146] 상기 약학적 조성물에 포함되는 활성성분으로서 화학식 A 또는 화학식 1의 화합물은 개체 또는 환자의 치료 또는 예방에 유효한 양으로서, 목적하는 바에 따라 경구 또는 비경구 투여할 수 있으며, 경구 투여시는 활성성분을 기준으로 하루에 체중 1 kg당 예를 들어 0.01 내지 1000 mg, 0.01 내지 500 mg, 0.1 내지 300 mg, 또는 0.1 내지 100mg의 양으로 투여되도록, 비경구 투여시는 활성성분을 기준으로 하루에 체중 1 kg당 예를 들어, 0.01 내지 100 mg 또는 0.1 내지 50 mg의 양으로 투여되도록 포함될 수 있으며, 상기 조성물은 1 내지 수회에 나누어 투여할 수 있다. 특정 개체 또는 환자에 대한 투여 용량은 환자의 체중, 연령, 성별, 건강 상태, 식이, 투여 시간, 투여 방법, 질환의 중증도 등의 여러 관련 인자에 비추어 결정되어야 하는 것이고 전문가에 의해 적절히 가감될 수 있는 것으로 이해되어야 하며, 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하기 위한 것은 아니다.
- [147] 본 발명의 다른 일 양상은 상기 약학적 조성물을 이용하여 암을 예방 또는 치료하는 방법을 제공한다.
- [148] 일 구체예에서 상기 치료방법에 사용되는 화합물의 투여량, 투여횟수 또는 투여방법은 처리되는 대상, 질병 또는 상태의 심각도, 투여의 속도 및 처방 의사의 판단에 따라 다를 수 있다. 통상 체중 70 kg의 사람에게 대한 투여량은 하루 0.1 내지 2,000 mg, 예를 들어 1 내지 1,000 mg 또는 10 내지 2,000 mg의 양으로 투여될 수 있다. 투여 횟수는 1회 내지 수회 예컨대 1 내지 4회 또는 온/오프(on/off) 스케줄로 투여될 수 있고, 투여방법은 경구 또는 비경구적 경로를

통해 투여될 수 있다. 일부 경우에 있어서, 상기 언급된 범위 보다 적은 투여량이 보다 적합할 수도 있고, 해로운 부작용을 일으키지 않으면서도 보다 많은 투여량이 사용될 수도 있으며, 보다 많은 투여량의 경우는 하루에 걸쳐 수회의 적은 투여량으로 분배될 수 있다. 관련 기술 분야의 통상의 기술을 갖는 의사는 사용되는 화합물의 투여량을 필요에 따라 용이하게 결정 및 처방할 수 있다. 예를 들어, 의사는 제약 조성물에 사용되는 본 발명의 화합물의 용량을 목적하는 치료 효과를 달성하는데 요구되는 것보다 낮은 수준에서 출발하여, 목적하는 효과가 달성될 때까지 투여량을 점진적으로 증가시킬 수 있다.

[149] 일 구체예에서 상기 치료 방법은 본 발명의 일 양상에 따른 화합물을 활성 성분으로서 단독으로, 또는 암, 종양 또는 백혈병을 치료하기 위한 알려진 하나 이상의 다른 약제 또는 약학적 담체와 조합하여 사용할 수 있다. 일 구체예에 따른 화학식 A 또는 화학식 1의 화합물, 이의 입체 이성질체, 호변 이성질체, 용매화물, 및 약제학적으로 허용 가능한 염 중에서 선택되는 화합물은, 다른 FLT3 키나아제 활성 저해용 약제 또는 FLT3 키나아제 활성 저해의 효능을 높이거나 상승 작용을 나타내는 다양한 기전의 다른 약제와 함께 병용 투여함으로써 FLT3 활성의 저하 또는 FLT3 매개 질환의 치료효과를 강화시킬 수 있다.

[150] 본 명세서에서 용어 “치료”는 질병의 치료(treatment), 개선(improvement), 완화(amelioration) 또는 관리(management)를 모두 포함하는 개념으로서 사용된다. 본 명세서에서 용어 “치료하는” 또는 “치료”는 질환을 저해하는 것, 예를 들어, 질환, 병태 또는 장애의 병리 또는 징후를 경험하거나 또는 나타내는 개체에서 질환, 병태 또는 장애를 저해하는 것, 병리 및/또는 징후의 추가적인 발생을 막는 것, 질환을 개선시키는 것, 또는 병리 및/또는 징후를 반전시키는 것, 예컨대 질환 중증도를 감소시키는 것을 말한다.

[151] 본 명세서에서 용어 “예방하는” 또는 “예방”은 질환을 예방하는 것, 예를 들어 질환, 병태 또는 장애의 성향이 있을 수 있지만 질환의 병리 또는 징후를 아직 경험하지 않았거나 나타내지 않는 개체에서 질환, 병태 또는 장애를 예방하는 것을 말한다.

[152] 본 명세서에서 용어 “개체” 또는 “환자”는 포유류, 예를 들어, 마우스, 래트, 기타 설치류, 토끼, 개, 고양이, 돼지, 소, 양, 말 또는 영장류 및 인간을 포함하는 임의의 동물을 말한다.

[153] 본 명세서에서 용어, “가진다”, “가질 수 있다”, “포함한다”, 또는 “포함할 수 있다” 등의 표현은 해당 특징(예: 수치, 또는 성분 등의 구성요소)의 존재를 가리키며, 추가적인 특징의 존재를 배제하지 않는다.

발명의 효과

[154] 본 발명의 일 양상에 따른 약학적 조성물은 FLT3 억제 활성이 우수하므로, 암, 예컨대 백혈병 등의 비정상적 FLT3 활성에 의한 세포 증식 질환의 예방 또는

치료에 효과적으로 사용될 수 있다. 또한, 상기 약학적 조성물은 F691L 획득 돌연변이를 지닌 백혈병을 포함한 암의 치료에 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [155] 도 1은 MOLM-14 FLT3-ITD/F691L 세포주로 이종 이식된 누드 마우스에서 대조군, 화합물 A 및 길테리티닙을 투여하였을 때의 항종양 효과를 나타낸 것이다.

발명의 실시를 위한 형태

- [156] 이하, 본 발명을 보다 상세하게 설명한다.
- [157] 본 발명에서 사용되는 모든 기술용어는, 달리 정의되지 않는 이상, 본 발명의 관련 분야에서 통상의 당업자가 일반적으로 이해하는 바와 같은 의미로 사용된다. 또한, 본 명세서에는 바람직한 방법이나 시료가 기재되나, 이와 유사하거나 동등한 것들도 본 발명의 범주에 포함된다. 또한, 본 명세서에 기재된 수치는 명시하지 않아도 “약”의 의미를 포함하는 것으로 간주한다. 본 명세서에 참고문헌으로 기재되는 모든 간행물의 내용은 전체가 본 명세서에 참고로 통합된다.

[158]

- [159] 이하, 본 발명을 하기 실시예 및 실험예에 의해 더욱 구체적으로 설명한다. 그러나, 이들 실시예 및 실험예는 본 발명에 대한 이해를 돕기 위한 것일 뿐, 어떤 의미로든 본 발명의 범위가 이들에 의해 제한되는 것은 아니다.

[160]

- [161] **[실시예 1] 키나아제 저해 시험법**

[162] FLT3 억제제인

5-클로로-N-(3-사이클로프로필-5-(((3R,5S)-3,5-디메틸피페라진-1-일)메틸)페닐)-4-(6-메틸-1H-인돌-3-일)피리미딘-2-아민 (이하 화합물A)에 대하여 야생형 혹은 돌연변이형 FLT3 및 SYK에 대한 저해 활성을 측정하였다.

- [163] 활성 측정은 Thermo Fisher Scientific사에 의해 개발된 란타스크린(LanthaScreen) 시험법 (야생형 및 돌연변이형 FLT3) 혹은 Z'-LYTE 시험법 (SYK)을 이용하였다. 란타스크린(LanthaScreen) 시험법은 Alexa Fluor 647-라벨된, ATP-경쟁적 키나아제 저해제(kinase tracer-236)의 키나아제에 대한 결합(binding)을 기반으로, 유로피움-결합항체(europium-conjugated antibody)의 존재 하에 FRET(fluorescence resonance energy transfer) 신호(signal)를 측정함으로써 단백질의 활성을 측정하는 방법이다. Z'-LYTE 시험법은 비인산화된 기질을 절단할 수 있는 효소를 이용한 방법으로 펩타이드 기질의 각 끝에 달린 두개의 형광의 FRET 신호를 측정 함으로써 키나아제 단백질의 활성을 측정하는 방법이다. 두 실험은 모두 384웰 플레이트(well plate)에서, 50 mM HEPES pH 7.5, 0.01% BRIJ-35, 10 mM MgCl₂, 1 mM EGTA, 1% DMSO 조건 하에서 수행되었다. 기저신호(Background signal)를 각 키나아제가 없는 상태에서

측정하고, 비저해신호로서 용매(1% DMSO)만을 첨가하여 측정한 후에, 평가하고자 하는 화합물A 를 설정된 농도(예를 들면, 50 ~ 0.05 nM, 1/10 희석)로 계단식 희석하여 처리하였고, 화합물A의 야생형 FLT3, FLT3-ITD, FLT3 D835Y 및 SYK에 대한 50% 활성 저해값(IC₅₀)은 GraphPad Prism 소프트웨어를 이용하여 산출하였다. 그 결과는 하기 표 1에 나타내었다.

[164] [표 1]

[165]

키나아제	nM	키나아제	nM
FLT3 야생형	1.1	FLT3-ITD	1.8
SYK	2.9	FLT3 D835Y	1.0

[166]

[167] [실시예 2] 야생형 혹은 돌연변이형 FLT3에 대한 결합능력 측정 시험법

[168] 화합물 A에 대하여 야생형 혹은 돌연변이형 FLT3에 대한 결합 능력은

DiscoverX사의 KINOMEScan 스크리닝 플랫폼을 이용하여 측정되었다.

KINOMEScan 시험법은 DNA가 연결된 키나아제 효소의 활성 부위에 대해

경쟁결합측정법(competitive binding assay)을 이용해 시험하고자 하는 물질과

키나아제(kinase)간의 결합을 정량 PCR(quantitative PCR)을 이용하여 정량적으로

측정하는 방법이다. 시험은 DiscoverX사에 의뢰하여 진행 되었으며, 각 야생형

혹은 돌연변이형 FLT3에 대한 억제제의 결합 능력은 Kd 값으로 산출 되었다. 그

결과는 하기 표 2에 나타내었다.

[169] [표 2]

[170]

FLT3 키나아제	nM
야생형	0.58
ITD	0.37
D835Y	0.29
D835V	0.50
ITD/D835V	0.48
ITD/F691L	1.3

[171]

[172] [실시예 3]

[173] MOLM-14 FLT3-ITD/F691L 세포주가 피하 이식된 마우스 모델

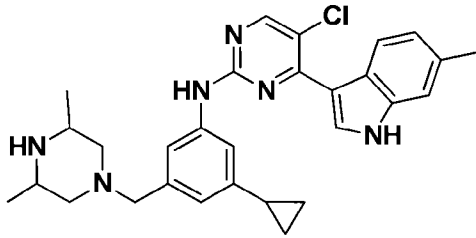
[174] MOLM-14 FLT3-ITD/F691L 세포주가 피하 이식된 마우스 모델에서 FLT3

저해제인 화합물 A와 또다른 FLT3 저해제인 6-에틸-3-[3-메톡시-4-[4-(4-메틸피페라진-1-일)피페리딘-1-일]아닐리노]-5-(옥산-4-일아미노)피라진-2-카르복스아드 (이하 길테리티닙)의 비교 효능 시험을 진행하였다.

- [175] MOLM-14 FLT3-ITD/F691L 세포주를 3×10^6 세포/0.15mL/마우스로 누드 마우스에 피하 접종(subcutaneous injection)하고 자라게 두었다.
- [176] 대조군은 DMSO/PEG400/DW (비율=0.5/2/7.5, v/v) 혼합 용액을 1일 1회 경구로 투여 받았고, 화합물 A군은 30 mg/kg/day 용량으로 1일 1회 경구 투여 받았으며, 길테리티닙군은 30 mg/kg/day 용량으로 1일 1회 경구 투여 받았다. 대조군은 13일 동안, 약물 투약군은 18일동안 개별 약물을 투여 받았다.
- [177] 실험 결과를 도 1에 나타내었다. 도 1은 MOLM-14 FLT3-ITD/F691L 세포주로 이종 이식된 누드 마우스에서 대조군, 화합물 A 및 길테리티닙을 투여하였을 때의 항종양 효과를 나타낸 것이다. Y축은 각군에서의 생존마우스의 종양 부피(mm³)을 나타내고, X축은 투약 일수를 나타낸다. 약물 투여에 따른 효과를 평가하기 위해 종양이 완전히 소실되는 완전 반응(CR)의 결과를 확인하였다. 도 1에서와 같이, 약물 투여에 따른 종양 부피를 측정하여 확인한 결과, 화합물 A의 완전 반응이 투여 12일차에 나타났다. 또한, 도 1에서와 같이, 상기 결과는 길테리티닙 투여군보다 화합물 A의 투여군에서의 종양 부피가 크게 감소 되어 보다 우수한 항종양 효능을 보였다. (* p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001, and **** p < 0.0001 이원분산분석 비교 후 Sidk's test수행)
- [178]
- [179] 이제까지 본 발명에 대하여 그 구체예들을 중심으로 살펴보았다. 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명이 본 발명의 본질적인 특성에서 벗어나지 않는 범위에서 변형된 형태로 구현될 수 있음을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로, 상기 개시된 구체예들은 한정적인 관점이 아니라 설명적인 관점에서 고려되어야 한다. 본 발명의 범위는 전술한 설명이 아니라 특허청구범위에 나타나 있으며, 그와 동등한 범위 내에 있는 모든 차이점은 본 발명에 포함된 것으로 해석되어야 할 것이다.

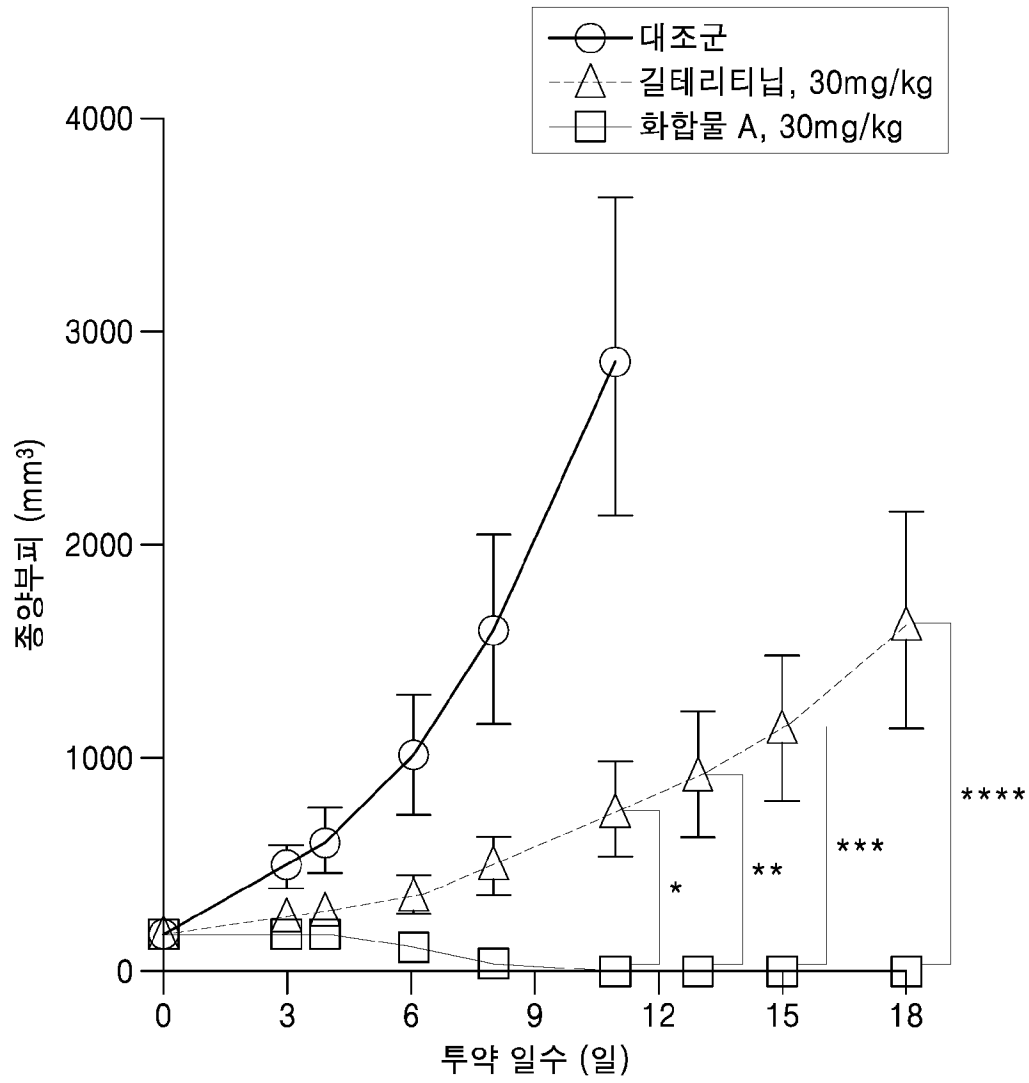
청구범위

- [청구항 1] Fms-유사 티로신 키나아제(Fms-like tyrosine kinase-3: FLT3) 억제제와 약학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 약학적 조성물로서, 상기 FLT3 억제제는 하기 화학식 1의 화합물, 이의 입체 이성질체, 이의 호변 이성질체, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택하는 적어도 하나의 화합물이거나; 이 선택한 적어도 하나의 화합물의 약제학적으로 허용되는 염 또는 이 선택한 적어도 하나의 화합물의 용매화물이며; 상기 약학적 조성물은 백혈병의 치료를 위한 약학적 조성물로서, 상기 백혈병 암세포는 FLT3 유전자내 종렬 중복(internal tandem duplication; ITD) 변이를 지니며, F691L, D835Y, D835F, D835I, D835H, D835V와 D835A 중에서 선택하는 적어도 하나의 FLT3 돌연변이를 더 포함하는 약학적 조성물:
[화학식 1]



- [청구항 2] 제 1항에 있어서, 상기 백혈병은 급성 골수성 백혈병(acute myeloid leukemia: AML)인 것이 특징인 약학적 조성물.
- [청구항 3] 제 1항에 있어서, 상기 약학 조성물은 SYK 억제제와 동시에 또는 순차적으로 병용 투여하는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

[도1]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2021/015794

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
A61K 31/506(2006.01)i; A61K 45/06(2006.01)i; A61P 35/02(2006.01)i; C12Q 1/6886(2018.01)i		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K 31/506(2006.01); A61K 31/496(2006.01); A61K 31/517(2006.01); A61K 31/519(2006.01); A61K 31/5377(2006.01); C07D 401/14(2006.01); C07D 403/04(2006.01); C07D 403/14(2006.01); C07D 471/04(2006.01); C07D 495/04(2006.01)		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Korean utility models and applications for utility models: IPC as above Japanese utility models and applications for utility models: IPC as above		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) eKOMPASS (KIPO internal), STN (Registry, Caplus) & keywords: Fms-유사 티로신 키나아제(Fms-like tyrosine kinase-3, FLT3), 백혈병(leukemia), 돌연변이(mutation)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	KR 10-2020-0102948 A (HANMI PHARM. CO., LTD.) 01 September 2020 (2020-09-01) See claims 1 and 9; and paragraphs [0150] and [0181].	1,2
Y		3
Y	KR 10-2110573 B1 (BEIJING HANMI PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 13 May 2020 (2020-05-13) See claims 7 and 8.	3
X	KR 10-1954370 B1 (HANMI PHARM. CO., LTD.) 05 March 2019 (2019-03-05) See claims 10, 14(compound 8), 17 and 18.	1,2
Y		3
A	US 2009-0318446 A1 (FISCHER, P. M. et al.) 24 December 2009 (2009-12-24) See entire document.	1-3
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "D" document cited by the applicant in the international application "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 10 February 2022		Date of mailing of the international search report 10 February 2022
Name and mailing address of the ISA/KR Korean Intellectual Property Office Government Complex-Daejeon Building 4, 189 Cheongsaro, Seo-gu, Daejeon 35208 Facsimile No. +82-42-481-8578		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2021/015794

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2011-0183975 A1 (GOTO, Y et al.) 28 July 2011 (2011-07-28) See entire document.	1-3
A	WO 2015-154039 A2 (SYROS PHARMACEUTICALS, INC.) 08 October 2015 (2015-10-08) See entire document.	1-3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2021/015794

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
KR	10-2020-0102948	A	01 September 2020	WO	2020-171649	A1	27 August 2020
KR	10-2110573	B1	13 May 2020	CN	107531725	A	02 January 2018
				CN	107531725	B	19 March 2021
				EP	3336091	A1	20 June 2018
				EP	3336091	A4	23 January 2019
				EP	3336091	B1	02 December 2020
				JP	2018-523672	A	23 August 2018
				JP	6851367	B2	31 March 2021
				KR	10-2018-0035920	A	06 April 2018
				US	10988482	B2	27 April 2021
				US	2020-0062775	A1	27 February 2020
				WO	2017-024589	A1	16 February 2017
KR	10-1954370	B1	05 March 2019	AU	2019-203034	B1	26 September 2019
				BR	112021001122	A2	13 April 2021
				CA	3106961	A1	30 January 2020
				CL	2021000175	A1	02 July 2021
				CN	112469715	A	09 March 2021
				DO	P2021000017	A	15 April 2021
				EP	3810601	A1	28 April 2021
				JP	2020-527128	A	03 September 2020
				JP	6806931	B2	06 January 2021
				PE	20210373	A1	26 February 2021
				PH	12021550124	A1	27 September 2021
				TW	202014417	A	16 April 2020
				US	10870639	B2	22 December 2020
				US	2020-0031806	A1	30 January 2020
				US	2020-0255410	A1	13 August 2020
				WO	2020-022600	A1	30 January 2020
US	2009-0318446	A1	24 December 2009	AU	2006-205710	A1	20 July 2006
				BR	PI0606313	A2	16 June 2009
				CA	2592723	A1	20 July 2006
				CN	101111490	A	23 January 2008
				EP	1836194	A1	26 September 2007
				JP	2008-526824	A	24 July 2008
				MX	2007008373	A	06 September 2007
				WO	2006-075152	A1	20 July 2006
US	2011-0183975	A1	28 July 2011	WO	2010-042337	A1	15 April 2010
WO	2015-154039	A2	08 October 2015	AU	2015-240535	A1	20 October 2016
				CA	2944669	A1	08 October 2015
				CN	106458990	A	22 February 2017
				CN	106458990	B	07 June 2019
				CN	110229142	A	13 September 2019
				CY	1121077	T1	11 December 2019
				DK	3126352	T3	21 January 2019
				EP	3126352	A2	08 February 2017
				EP	3126352	B1	17 October 2018
				EP	3489232	A2	29 May 2019
				EP	3489232	A3	31 July 2019
				ES	2702951	T3	06 March 2019

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2021/015794

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
		HR P20190039 T1	08 March 2019
		HU E042753 T2	29 July 2019
		JP 2017-510651 A	13 April 2017
		JP 6594949 B2	23 October 2019
		KR 10-2017-0003553 A	09 January 2017
		LT 3126352 T	10 January 2019
		MX 2016012967 A	10 May 2017
		MX 358346 B	15 August 2018
		PH 12016501935 A1	09 January 2017
		PL 3126352 T3	30 April 2019
		PT 3126352 T	27 December 2018
		RS 58175 B1	29 March 2019
		RU 2016141934 A	07 May 2018
		RU 2016141934 A3	13 November 2018
		SI 3126352 T1	29 March 2019
		US 10059690 B2	28 August 2018
		US 10106526 B2	23 October 2018
		US 10519135 B2	31 December 2019
		US 2017-0183355 A1	29 June 2017
		US 2018-0208578 A1	26 July 2018
		US 2018-0319772 A1	08 November 2018
		WO 2015-154038 A1	08 October 2015
		WO 2015-154039 A3	03 December 2015
		WO 2015-154039 A8	27 October 2016

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC)) A61K 31/506(2006.01)i; A61K 45/06(2006.01)i; A61P 35/02(2006.01)i; C12Q 1/6886(2018.01)i		
B. 조사된 분야 조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재) A61K 31/506(2006.01); A61K 31/496(2006.01); A61K 31/517(2006.01); A61K 31/519(2006.01); A61K 31/5377(2006.01); C07D 401/14(2006.01); C07D 403/04(2006.01); C07D 403/14(2006.01); C07D 471/04(2006.01); C07D 495/04(2006.01) 조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌 한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우)) eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템), STN(Registry, Caplus) & 키워드: Fms-유사 티로신 키나아제(Fms-like tyrosine kinase-3, FLT3), 백혈병(leukemia), 돌연변이(mutation)		
C. 관련 문헌		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X	KR 10-2020-0102948 A (한미약품 주식회사) 2020.09.01 청구항 1, 9; 단락 [0150], [0181]	1,2
Y		3
Y	KR 10-2110573 B1 (베이징 한미 파마슈티컬 컴퍼니 리미티드) 2020.05.13 청구항 7, 8	3
X	KR 10-1954370 B1 (한미약품 주식회사) 2019.03.05 청구항 10, 14(화합물 8), 17, 18	1,2
Y		3
A	US 2009-0318446 A1 (FISCHER, P. M. 등) 2009.12.24 전체 문헌	1-3
A	US 2011-0183975 A1 (GOTO, Y 등) 2011.07.28 전체 문헌	1-3
<input checked="" type="checkbox"/> 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다. <input checked="" type="checkbox"/> 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.		
* 인용된 문헌의 특별 카테고리: "A" 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌 "D" 본 국제출원에서 출원인이 인용한 문헌 "E" 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌 "L" 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌 "O" 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌 "P" 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌 "T" 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌 "X" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다. "Y" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다. "&" 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌		
국제조사의 실제 완료일	국제조사보고서 발송일	
2022년02월10일(10.02.2022)	2022년02월10일(10.02.2022)	
ISA/KR의 명칭 및 우편주소	심사관	
대한민국 특허청 (35208) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사)	허주형	
팩스 번호 +82-42-481-8578	전화번호 +82-42-481-5373	

C. 관련 문헌		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	WO 2015-154039 A2 (SYROS PHARMACEUTICALS, INC.) 2015.10.08 전체 문헌	1-3

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2020-0102948 A	2020/09/01	WO 2020-171649 A1	2020/08/27
KR 10-2110573 B1	2020/05/13	CN 107531725 A	2018/01/02
		CN 107531725 B	2021/03/19
		EP 3336091 A1	2018/06/20
		EP 3336091 A4	2019/01/23
		EP 3336091 B1	2020/12/02
		JP 2018-523672 A	2018/08/23
		JP 6851367 B2	2021/03/31
		KR 10-2018-0035920 A	2018/04/06
		US 10988482 B2	2021/04/27
		US 2020-0062775 A1	2020/02/27
		WO 2017-024589 A1	2017/02/16
KR 10-1954370 B1	2019/03/05	AU 2019-203034 B1	2019/09/26
		BR 112021001122 A2	2021/04/13
		CA 3106961 A1	2020/01/30
		CL 2021000175 A1	2021/07/02
		CN 112469715 A	2021/03/09
		DO P2021000017 A	2021/04/15
		EP 3810601 A1	2021/04/28
		JP 2020-527128 A	2020/09/03
		JP 6806931 B2	2021/01/06
		PE 20210373 A1	2021/02/26
		PH 12021550124 A1	2021/09/27
		TW 202014417 A	2020/04/16
		US 10870639 B2	2020/12/22
		US 2020-0031806 A1	2020/01/30
		US 2020-0255410 A1	2020/08/13
		WO 2020-022600 A1	2020/01/30
US 2009-0318446 A1	2009/12/24	AU 2006-205710 A1	2006/07/20
		BR PI0606313 A2	2009/06/16
		CA 2592723 A1	2006/07/20
		CN 101111490 A	2008/01/23
		EP 1836194 A1	2007/09/26
		JP 2008-526824 A	2008/07/24
		MX 2007008373 A	2007/09/06
		WO 2006-075152 A1	2006/07/20
US 2011-0183975 A1	2011/07/28	WO 2010-042337 A1	2010/04/15
WO 2015-154039 A2	2015/10/08	AU 2015-240535 A1	2016/10/20
		CA 2944669 A1	2015/10/08
		CN 106458990 A	2017/02/22
		CN 106458990 B	2019/06/07
		CN 110229142 A	2019/09/13
		CY 1121077 T1	2019/12/11
		DK 3126352 T3	2019/01/21
		EP 3126352 A2	2017/02/08
		EP 3126352 B1	2018/10/17
		EP 3489232 A2	2019/05/29
		EP 3489232 A3	2019/07/31
		ES 2702951 T3	2019/03/06

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
		HR P20190039 T1	2019/03/08
		HU E042753 T2	2019/07/29
		JP 2017-510651 A	2017/04/13
		JP 6594949 B2	2019/10/23
		KR 10-2017-0003553 A	2017/01/09
		LT 3126352 T	2019/01/10
		MX 2016012967 A	2017/05/10
		MX 358346 B	2018/08/15
		PH 12016501935 A1	2017/01/09
		PL 3126352 T3	2019/04/30
		PT 3126352 T	2018/12/27
		RS 58175 B1	2019/03/29
		RU 2016141934 A	2018/05/07
		RU 2016141934 A3	2018/11/13
		SI 3126352 T1	2019/03/29
		US 10059690 B2	2018/08/28
		US 10106526 B2	2018/10/23
		US 10519135 B2	2019/12/31
		US 2017-0183355 A1	2017/06/29
		US 2018-0208578 A1	2018/07/26
		US 2018-0319772 A1	2018/11/08
		WO 2015-154038 A1	2015/10/08
		WO 2015-154039 A3	2015/12/03
		WO 2015-154039 A8	2016/10/27