

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0031732

(43) 공개일자 2022년03월11일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 405/06 (2006.01) *A61K 31/517* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) *A61P 35/02* (2006.01)
A61P 35/04 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07D 405/06 (2013.01)
A61K 31/517 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2022-7006071(분할)
- (22) 출원일자(국제) 2012년03월02일
 심사청구일자 없음
- (62) 원출원 특허 10-2021-7010767
 원출원일자(국제) 2012년03월02일
 심사청구일자 2021년05월12일
- (85) 번역문제출일자 2022년02월23일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2012/027614
- (87) 국제공개번호 WO 2012/122058
 국제공개일자 2012년09월13일
- (30) 우선권주장
 61/449,088 2011년03월04일 미국(US)

- (71) 출원인
 뉴젠 세리퓨틱스 인코포레이티드
 미국 캘리포니아 94025 멘로 파크 스위트 알 에디슨 웨이 3475
- (72) 발명자
 쉐 왕
 미국 캘리포니아 94402 샌 마테오 모니셀로 로드 1719
- 장 아이민
 미국 캘리포니아 94552 카스트로 밸리 키트 레인 6700
 (뒷면에 계속)
- (74) 대리인
 특허법인와이에스장

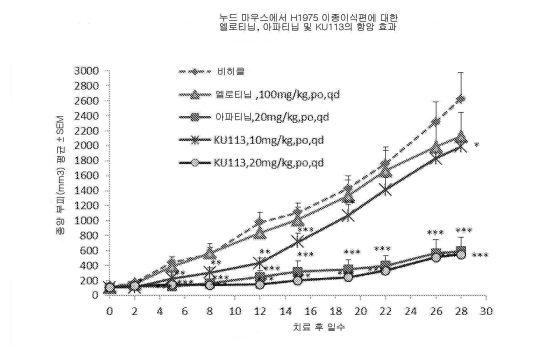
전체 청구항 수 : 총 36 항

(54) 발명의 명칭 알킨 치환된 퀴나졸린 화합물 및 그것의 사용 방법

(57) 요약

본 발명은 ErbB 키나아제 비가역적 억제제인 화학식(I)의 화합물과 같은 알킨 치환된 퀴나졸린 화합물을 제공한다. 화합물은 과증식성 장애(예를 들면, 암)와 같은 ErbB 키나아제 활성화와 관련된 질병 및 장애의 치료에 유용하다.

대표도



(52) CPC특허분류

A61P 35/00 (2018.01)

A61P 35/02 (2018.01)

A61P 35/04 (2018.01)

(72) 발명자

마웅 잭

미국 캘리포니아 94014 텔리 시티 이르빙톤 스트리트 162

청 요령

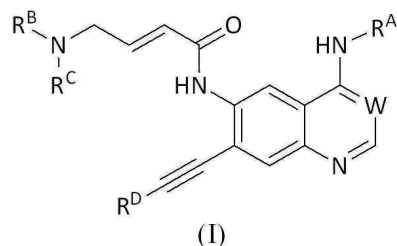
미국 캘리포니아 94539 프레몬트 미시온 크릭 코트 688

명세서

청구범위

청구항 1

화학식 (I):



의 화합물 또는 그것의 염, 용매 화합물, 또는 생리적 기능성 유도체:

(상기 식에서,

W는 N 또는 C-CN이고;

R^A 는 치환된 아릴 또는 치환된 헤테로아릴이고;

각 R^B 및 R^C 는 독립적으로 H, C_1-C_3 알킬 또는 C_3-C_6 시클로알킬이고, 여기서 C_1-C_3 알킬 및 C_3-C_6 시클로알킬은 각각 옥소, 할로겐 및 $-OR^1$ 으로 구성되는 군으로부터 독립적으로 선택된 1개 내지 3개의 기로 선택적으로 치환되고; 또는 R^B 및 R^C 는 그것들이 부착되어 있는 질소 원자와 함께 4 내지 7-원 헤테로시클릴을 형성하고, 이 헤테로시클릴은 할로겐, 옥소, $-OR^1$, $-NR^2R^3$, C_1-C_3 알킬 및 C_3-C_6 시클로알킬로 구성되는 군으로부터 독립적으로 선택된 1개 내지 3개의 기들로 선택적으로 치환되고;

R^D 는 "O", "N", "S", "S(O)", 또는 "S(O)₂"로부터 선택된 1 내지 3개의 헤테로 고리 원자를 함유하는 헤테로시클릴이고, 이 헤테로시클릴은 할로겐, 옥소, $-OCF_3$, $-OR^1$, $-CF_3$, $-NR^2R^3$, C_1-C_3 알킬 및 C_3-C_6 시클로알킬로부터 독립적으로 선택된 1개 내지 3개의 기로 선택적으로 치환되고; 및

각 R^1 , R^2 및 R^3 은 H 및 C_1-C_3 알킬로부터 독립적으로 선택된다.)

청구항 2

제1항에 있어서, W는 N인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 3

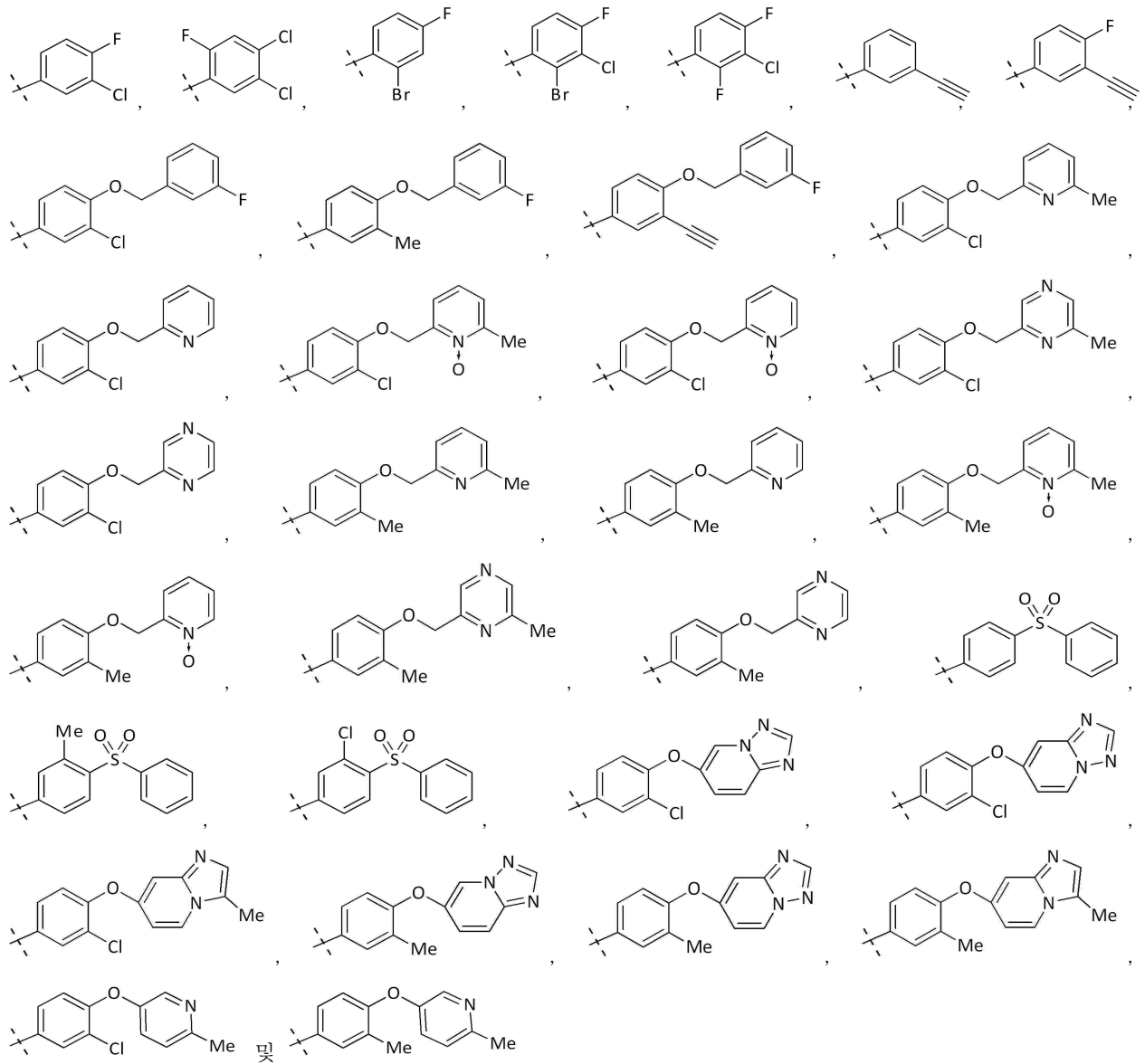
제1항 또는 제2항에 있어서, R^A 는 치환된 아릴인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 4

제3항에 있어서, R^A 는 치환된 페닐인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 5

제4항에 있어서, R^A 는



로 구성되는 군으로부터 선택되는 치환된 페닐인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 6

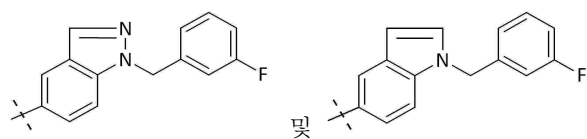
제4항에 있어서, R^A는 3-클로로-4-플루오로페닐인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 7

제1항 또는 제2항에 있어서, R^A는 치환된 헤테로아릴인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 8

제7항에 있어서, R^A는



로 구성되는 군으로부터 선택되는 치환된 헤테로아릴인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 각 R^B 및 R^C 는 독립적으로 H, C_1-C_3 알킬 또는 C_3-C_6 시클로알킬인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 10

제9항에 있어서, 각 R^B 및 R^C 는 독립적으로 C_1-C_3 알킬인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 11

제10항에 있어서, 각 R^B 및 R^C 는 메틸인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 12

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 각 R^B 및 R^C 는 독립적으로 H 이거나 옥소, 할로젠 및 $-OR^1$ 으로 구성되는 군으로부터 독립적으로 선택된 1개 내지 3개의 기로 선택적으로 치환된 C_1-C_3 알킬인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 13

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, R^B 및 R^C 는 그것들이 부착되어 있는 질소 원소와 함께 4 내지 7-원 헤테로시클릴을 형성하고, 이 헤테로시클릴은 할로젠, 옥소, $-OR^1$, $-NR^2R^3$, C_1-C_3 알킬 및 C_3-C_6 시클로알킬로 구성되는 군으로부터 독립적으로 선택된 3개 이하의 기로 선택적으로 치환되는 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, R^D 는 "O", "N", "S", "S(O)", 또는 "S(O)₂"에서 선택된 1 내지 3개의 헤테로 고리 원자를 함유하는 4 내지 10-원 헤테로시클릴이고, 이 헤테로시클릴은 할로젠, 옥소, $-OCF_3$, $-OR^1$, $-CF_3$, $-NR^2R^3$, C_1-C_3 알킬 및 C_3-C_6 시클로알킬로부터 독립적으로 선택된 1개 내지 3개의 기로 선택적으로 치환되는 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 15

제14항에 있어서, R^D 는 1개의 환상 헤테로 원자를 함유하는 5 또는 6-원 헤테로시클릴인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 16

제15항에 있어서, 1개의 환상 헤테로 원자는 산소인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 17

제14항에 있어서, R^D 는 테트라히드로퓨란-3-일, 3-옥사비시클로[3.1.0]헥산-6-일 또는 3-옥사비시클로[3.1.0]헥산-1-일인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 18

제17항에 있어서, R^D 는 3-옥사비시클로[3.1.0]헥산-6-일인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 19

제1항에 있어서,

(E)-N-(4-(3-클로로-4-플루오로페닐아미노)-7-(2-(테트라히드로퓨란-3-일)에틸)퀴나졸린-6-일)-4-(디메틸아미노)부트-2-엔아미드,

(*E*)-N-(4-(3-클로로-4-플루오로페닐아미노)-7-(2-((*S*)-테트라히드로퓨란-2-일)에티닐)퀴나졸린-6-일)-4-(디메틸아미노)부트-2-엔아미드,

(*E*)-N-(4-(3-클로로-4-플루오로페닐아미노)-7-(2-((*R*)-테트라히드로퓨란-2-일)에티닐)퀴나졸린-6-일)-4-(디메틸아미노)부트-2-엔아미드,

(*E*)-N-(4-(3-클로로-4-플루오로페닐아미노)-7-(2-((*1R, 5S, 6S*)-3-옥사-비시클로[3.1.0]헥산-6-일)에티닐)퀴나졸린-6-일)-4-(디메틸아미노)부트-2-엔아미드,

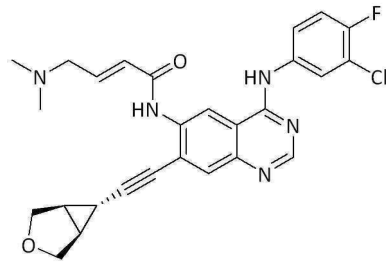
(*E*)-N-(4-(3-클로로-4-플루오로페닐아미노)-7-(2-(3-옥사-비시클로[3.1.0]헥산-1-일)에티닐)퀴나졸린-6-일)-4-(디메틸아미노)부트-2-엔아미드,

(*E*)-N-(4-(3-클로로-4-플루오로페닐아미노)-7-(2-((*1R, 5S*)-3-옥사-비시클로[3.1.0]헥산-1-일)에티닐)퀴나졸린-6-일)-4-(디메틸아미노)부트-2-엔아미드 및

(*E*)-N-(4-(3-클로로-4-플루오로페닐아미노)-7-(2-((*1S, 5R*)-3-옥사-비시클로[3.1.0]헥산-1-일)에티닐)퀴나졸린-6-일)-4-(디메틸아미노)부트-2-엔아미드로 구성되는 군으로부터 선택되는 화합물, 또는 그것의 염, 용매 화합물 또는 생리적 기능성 유도체.

청구항 20

제1항에 있어서, 화학식:



의 화합물, 또는 그것의 염, 용매 화합물 또는 생리적 기능성 유도체.

청구항 21

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항의 화합물, 또는 그것의 염, 용매 화합물 또는 생리적 기능성 유도체를 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 22

필요로 하는 개체에서의 과증식성 장애 치료 방법으로서, 제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 따른 화학식(I)의 화합물, 또는 그것의 염, 용매 화합물, 또는 생리적 기능성 유도체의 유효량을 상기 개체에 투여하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 23

제22항에 있어서, 과증식성 장애는 두경부 암, 폐암, 유방암, 결장암, 난소암, 방광암, 위암, 신장암, 피부암, 췌장암, 백혈병, 림프종, 식도암, 자궁암 또는 전립선암인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 24

제23항에 있어서, 과증식성 장애는 유방암, 위암 또는 폐암인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 25

제22항에 있어서, 과증식성 장애는 엘로티닙-저항성 암인 것을 특징으로 하는 치료 방법.

청구항 26

제25항에 있어서, 엘로티닙-저항성 암은 엘로티닙-저항성 비-소세포폐암인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 27

필요로 하는 개체에서의 뇌 종양 치료 방법으로서, 제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 따른 화합물, 또는 그것의 염, 용매 화합물, 또는 생리적 기능성 유도체의 유효량을 상기 개체에 투여하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 28

제27항에 있어서, 뇌 종양은 일차성 뇌 종양인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 29

제28항에 있어서, 뇌 종양은 신경교종인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 30

제28항에 있어서, 뇌 종양은 다형성신경교아종인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 31

제27항에 있어서, 뇌 종양은 전이성 뇌 종양인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 32

필요로 하는 개체에서의 뇌 전이성 암의 진행을 예방 또는 지연 방법으로서, 제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 따른 화합물, 또는 그것의 염, 용매 화합물, 또는 생리적 기능성 유도체의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 33

과증식성 장애 치료용 약물 제조에서의 제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 따른 화합물, 또는 그것의 염, 용매 화합물, 또는 생리적 기능성 유도체의 사용.

청구항 34

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 따른 화합물, 또는 그것의 염, 용매 화합물, 또는 생리적 기능성 유도체를 포함하는 키트.

청구항 35

제34항에 있어서, 과증식성 장애 치료에 사용되는 설명서를 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 키트.

청구항 36

제35항에 있어서, 과증식성 장애는 뇌 종양인 것을 특징으로 하는 키트.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원과의 상호 참조

[0002] 본 출원은 전체가 참고로써 본원에 포함되는 2011년 3월 4일 출원된 미국의 가특허 출원 번호 61/449,088의 우선권을 주장한다.

[0003] 본 발명은 I형 수용체 단백질 키나아제 비가역적 억제제로서 알킨 모이어티를 함유하는 신규 퀴나졸린 유도체에 관한 것이다. 이 억제제는 포유동물에서 암 및 염증과 같은 비정상적 단백질 키나아제 활성화와 관련된 장애를 치료하는데 유용하다. 본 발명은 또한 이 억제제를 함유하는 약제학적 조성물, 이 억제제의 제조 방법 및 그것의 약제학적으로 허용가능한 염에 관한 것이다.

배경 기술

[0004] I형 수용체 티로신 키나아제 패밀리는 4가지의 밀접하게 관련된 수용체: ErbB1 (EGFR 또는 HER1), ErbB2

(HER2), ErbB3 (HER) 및 ErbB4 (HER4)로 구성된다. 이 수용체들은 리간드 결합을 위한 세포막 도메인을 함유하고, HER3을 제외하고 세포내에서 촉매적으로 활성인 티로신 키나아제 도메인을 함유하는 막통과 당단백질이다. 이 수용체들은 핵에 신호 전달 캐스케이드에 의해 시토솔을 통해 세포막 신호를 전달한다. 세포막 신호는 고친화도 가용성 리간드가 아직 확인되지 않은 erbB2를 제외하고, 다imer 수용체에 리간드 결합에 의해 전달된다. 리간드 결합 후, I형 수용체 티로신 키나아제는 수용체의 서브 패밀리의 다른 멤버와 함께 호모다imer화 또는 헤테로다imer화한다(Lemmon MA, *Experiment. Cell Res.* (2009), 315:638-648). ErbB2는 헤테로다imer화에 의해 이 과정에 참여하고, 바람직한 헤테로다imer 상대이다(Brennan PJ, et al., *Oncogene* (2000), 19:6093). 다imer화는 세포내 도메인의 자기인산화에 의해 ErbB 수용체의 활성화를 야기한다. 이 자기인산화는 어댑터단백질을 채용하고, 세포 도처에 신호를 전달하는 인산화 캐스케이드를 야기한다. I형 수용체 티로신 키나아제 패밀리는(ErbB 패밀리는) PI3K/Akt 경로뿐만 아니라 ras/raf/MEK/MAPK 경로를 통해 신호를 전달한다. 이 신호전달 경로는 아포토시스의 억제를 통해 세포 증식 및 세포 생존을 야기한다.

[0005] ErbB 패밀리는 수용체는 암에서 중요한 역할을 한다(Burgess AW, *Growth Factors* (2008), 26:263-74). 두경부, 및 폐의 편평 상피암은 높은 수준의 EGFR을 발현시킨다. 또한, 본질적으로 활성 EGFR은 신경교종, 유방암 및 폐암에서 발견되었다(Salomon, et al., *Critical Rev. Oncol. Hematol.* (1995), 19:183-232; Klapper, et al., *Adv. Cancer Res.* (2000), 77:25-79, and Hynes and Stern, *Biochimica Biophysica Acta* (1994), 1198:165-184). ErbB2 과발현은 모든 유방암의 대략 30%에서 일어난다(Milanezi, et al., *Expert Rev. Mo. Diagnosis.* (2008), 8(4), 417-34). 또한, ErbB2은 결장, 난소, 방광, 위, 식도, 폐, 자궁 및 전립선을 포함하는 다른 인간 암에 연루되어 있다. ErbB2 과발현은 또한 전이를 포함하는 인간 암에서 불량한 예후, 및 조기 재발과 관련되어 있다(Baselga J and Swain SM, *Nature Rev. Cancer* (2009), 9:463-75).

[0006] I형 티로신 키나아제 수용체 패밀리는 항-암 연구의 활성 영역이었다(O'Donovan and Crown, *Anticancer Res.* (2007)27(3A):1285-94). EGFR 및 ErbB2 신호전달 경로의 몇몇 억제제가 암 치료에서 임상 효능을 증명하였다. 헤르셉틴(Herceptin), 항-ErbB2 단일 클론 항체의 인간화 버전, 및 파니투무맙(panitumumab) 및 세툽시맙(cetuximab), 두 개의 항-EGFR 단일 클론 항체는 최근에 미국에서 유방, 직장, 및 두경부 암에 유용하다는 것이 증명되었다. 게피티닙(Iressa®) 및 엘로티닙(Tarceva®)은 폐암을 포함하는 어떤 고형 암의 치료를 위해 착수된 EGFR의 작은 분자 억제제이다. 게다가, 라파티닙(lapatinib), EGFR 및 ErbB2의 이중 억제제는 2007년에 전이성 유방암의 치료에 대해 FDA에 의해 승인되었다. I형 티로신 키나아제 수용체 신호 전달 경로의 방해로 목표하는 수많은 다른 항체 및 작은 분자는 임상 및 전임상 개발중이고(Zhang, et al., *J. Clin. Investigation* (2007), 117:2051-2058), including some irreversible dual inhibitors of ErbB1, ErbB2 (Minkovsky N, Berezov A. *Curr. Opin. Investig. Drugs.* (2008); 9:1336-46; Bose P, Ozer H. *Expert Opin. Investig. Drugs.* (2009); 18:1735-51).

[0007] 한가지 중요한 충족되지 않은 의학적 필요는 일차성 뇌 종양, 특히 다형성신경교아종(GBM)의 새로운 치료법이다. 높은 백분율의 GBM 뇌종양은 질병-유발 EGFR 돌연변이, EGFRvIII을 잠복하고 있다. 그러나, 현재 이용 가능한 EGRF 작은 분자 억제제(엘로티닙 및 게피티닙) 및 항체(세툽시맙 및 파니투무맙)는 그것들의 혈액-뇌-장벽(BBB) 투과의 비효율성 때문에, 뇌에서 노출이 제한되어 있다(Broniscer, et al., *Clin. Cancer Res.* (2007):1511; Lassman, et al., *Clin. Cancer Res.* 2005:7841). 그러므로, 이것들은 GBM의 치료에 사용될 수 없다.

[0008] 암 환자, 특히, 폐암, 유방암 및 흑색종에서 뇌로의 전이의 발생률이 증가하고 있다. 뇌는 혈액-종양 장벽이 약물이 들어와 종양 세포를 죽이는 능력을 제한하기 때문에, '성역 부위'로 생각된다(Steeg, PS; et al., *Nat. Rev. Cancer* (2011) 11:352). 폐암으로부터 뇌로의 전이는 전체 뇌 전이의 40 내지 50%를 차지하고, 이러한 폐암의 뇌 전이의 거의 절반은 EGFR 돌연변이를 잠복시키고 있다(Eichler, AF, et al., *Neuro-Oncology* (2010), 12:1193). 마찬가지로, 헤르셉틴의 사용이 HER2 양성 유방암 환자의 결과를 상당히 개선 한 반면에 많은 이러한 유방암 환자는 헤르셉틴으로 치료 받으면서 뇌 전이가 발달하였다(<http://www.cityofhope.org/eHope>, 11(2) Feb. 21, 2012; Heitz, F.; et al., *Ann. Oncol.* (2011) 22:1571; Bendell, J. et al., *Cancer* (2003) 97:2972).

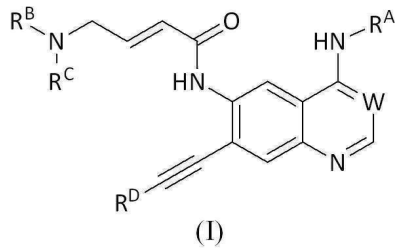
[0009] 새로운 암 치료의 계속되는 필요 및 뇌에서 종양을 치료할 수 있는 화합물에 대한 상당한 충족되지 않은 의학의 필요가 있다.

발명의 내용

[0010] 본 발명은 암과 같은 과증식성 질병의 치료에서 유용한 화학식(I)의 알킬 치환된 4-아닐리노 퀴나졸린 또는

본원에서 설명된 어떤 변형, 및 그것의 약제학적으로 허용가능한 염 및 프로드러그를 제공한다. 구체적으로, 본 발명은 EGFR 및 ErbB2 억제제로서 작용하는 화학식(I)의 화합물 또는 본원에서 설명된 어떤 변형에 관한 것이다. 또한 화학식(I)의 화합물을 함유하는 조제물 및 그것이 필요한 개체를 치료하는데에 화합물을 사용하는 방법이 제공된다. 게다가, 화학식(I)의 억제 화합물의 제조 방법이 설명된다.

한 양태에서, 화학식(I):



의 화합물 또는 그것의 염, 용매 화합물, 또는 생리적 기능성 유도체가 제공된다.

상기 식에서:

W는 N 또는 C-CN이고;

R^A는 치환된 아릴 또는 치환된 헤테로아릴이고;

각 R^B 및 R^C는 독립적으로 H, C₁-C₃ 알킬 또는 C₃-C₆ 시클로알킬이고, 여기에서 C₁-C₃ 알킬 및 C₃-C₆ 시클로알킬의 각각은 옥소, 할로젠 및 -OR¹으로 구성되는 군으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 기로 선택적으로 치환되고; 또는 R^B 및 R^C는 그것들이 부착되어 있는 질소 원소와 함께 4 내지 7-원 헤테로시클릴을 형성하고, 이것은 할로젠, 옥소, -OR¹, -NR²R³, C₁-C₃ 알킬 및 C₃-C₆ 시클로알킬로 구성되는 군으로부터 독립적으로 선택된 3개 이하의 기들로 선택적으로 치환되고;

R^D은 "O", "N", "S", S(O)", 또는 "S(O)₂"로부터 선택된 1 내지 3개의 헤테로 고리 원자를 함유하는 헤테로시클릴이고, 여기에서 헤테로시클릴은 할로젠, 옥소, -OCF₃, -OR¹, -CF₃, -NR²R³, C₁-C₃ 알킬 및 C₃-C₆ 시클로알킬로부터 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 기로 선택적으로 치환되고; 및

각 R¹, R² 및 R³은 H 및 C₁-C₃ 알킬로부터 독립적으로 선택된다.

어떤 구체예에서, 화합물은 화학식(I)의 화합물, 또는 그것의 염, 용매 화합물, 또는 생리적 기능성 유도체이고, 여기에서 W는 N이고, R^A는 3-클로로-4-플루오로페닐이고, 각 R^B 및 R^C는 메틸이고, 및 R^D는 테트라히드로푸라닐, 3-옥사비시클로[3.1.0]헥산-6-일 또는 3-옥사비시클로[3.1.0]헥산-1-일이다. 한 특정 변형에서, R^D는 3-옥사비시클로[3.1.0]헥산-6-일이다.

또 다른 양태에서, 과증식성 장애 치료를 필요로 하는 개체의 치료 방법을 제공하고, 방법은 화학식(I)의 화합물, 또는 그것의 염, 용매 화합물, 또는 생리적 기능성 유도체의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함한다. 어떤 구체예에서, 과증식성 장애는 일차성 뇌 종양과 같은 뇌에서의 종양(예를 들면, 신경교종 및 GBM) 또는 전이성 뇌 종양(예를 들면, 유방암 또는 폐암의 뇌 전이)이다.

또한, 본 발명은 화학식(I)의 화합물의 약제학적으로 허용 가능한 염, 약제학적으로 허용 가능한 프로드러그, 및 약제학적 활성 대사물질 또는 본원에서 설명된 어떤 변형을 제공한다. 또한, 화학식(I)의 화합물을 만드는 방법을 설명한다.

또한, 화학식(I)의 화합물과 같은 여기에서 설명된 화합물, 또는 이것의 약제학적 허용 가능 프로드러그, 약제학적 활성 대사물질, 또는 약제학적 허용 가능한 염, 및 약제학적 허용 가능한 담체 또는 부형제를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다. 또한, 본원에서 설명된 화합물 또는 이것의 약제학적 허용 가능 염은 암 치료용 약품의 제조를 위해 제공된다. 본원에서 설명된 화합물을 포함하는 키트를 제공하고, 이것은 본원에서 설명된 방

법(예를 들면, 뇌 종양을 포함하는 과증식성 장애 치료)에서 사용을 위한 설명서를 선택적으로 포함한다.

[0024] 본원에서 설명된 다양한 구체예의 특징의 하나, 일부, 또는 모든 것은 조합하여 본 발명의 다른 구체예들을 형성할 수 있다. 본 발명의 이들 및 다른 양태들은 당업자에게 명백하다.

도면의 간단한 설명

[0025] 도 1은 Balb/c 누드 마우스에서 NCI-N87 이종이식편에 대한 화합물 KU113의 항암 효과를 나타낸다. 또한, 화합물 KU113의 구조를 "NT113"로 언급하며, 실시예 4에서 설명한다.

도 2는 누드 마우스에서 H1975 이종이식편에 대한 화합물 KU113의 항암 효과를 엘로티닙 및 아파티닙과 비교하여 나타낸다.

도 3은 화합물 KU113의 래트 약동학 데이터를 뇌 농도로 보여준다.

도 4는 아파티닙(KU041)에 관한 래트 약동학 데이터를 보여준다. 뇌 농도는 검출 한계보다 낮았다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0026] 본 발명은 혈액-뇌-장벽을 가로지를 수 있는 EGFR 및 HER2 키나아제 억제제인 화합물을 제공한다. 뇌에서 내구성 노출을 갖는 본원에서 제공된 화합물 및 조성물은 현재 효과적인 치료법의 선택이 제한된 뇌암 환자를 도울 수 있다.

[0027] 정의

[0028] 달리 명확하게 정의된 것을 제외하고, 다음의 용어의 정의가 본 명세서 전반적으로 사용된다.

[0029] 본원에서 사용되는 용어 "알킬"은 1 내지 12개의 탄소 원자의 포화된 선형 또는 분지쇄 탄화수소를 말하며, 여기에서 알킬 라디칼은 하기에 설명되는 하나 이상의 치환체로 독립적으로 치환될 수 있다. 알킬 기의 예는, 제한되는 것은 아니지만, 메틸, 에틸, n-프로필, 이소프로필, 부틸, 이소부틸, sec-부틸, tert-부틸, 펜틸, 이소펜틸, tert-펜틸, 헥실, 이소헥실 등을 포함한다. 더 바람직한 알킬 라디칼은 1 내지 8개의 탄소 원자를 가진다("C₁-C₈ 알킬"). 더 바람직한 알킬 라디칼은 1 내지 4개의 탄소원자를 가진다("C₁-C₄ 알킬").

[0030] 용어 "알케닐"은 에테닐, 프로페닐 등과 같은 적어도 하나의 이중결합을 함유하는 2 내지 12개의 탄소 원자의 선형 또는 분지쇄 탄화수소 라디칼을 말하며, 여기에서 알케닐 라디칼은 독립적으로 본원에서 설명하는 하나 이상의 치환체로 선택적으로 치환될 수 있고, "시스" 및 "트랜스" 배향, 또는 또 다르게는 "E" 및 "Z" 배향을 가지는 라디칼을 포함한다. 바람직한 알킬 라디칼은 2 내지 6개의 탄소 원자를 가지는 것들이다("C₂-C₆ 알키닐").

[0031] 용어 "알키닐"은 적어도 하나의 3중 결합을 함유하는 2 내지 12개의 탄소 원자의 선형 또는 분지된 탄화수소 라디칼을 말한다. 예는 에티닐, 프로피닐 등을 포함하며, 여기에서 알키닐 라디칼은 독립적으로 본원에서 설명되는 하나 이상의 치환체로 선택적으로 치환될 수 있다. 바람직한 알키닐 라디칼은 2 내지 6개의 탄소 원자를 가지는 것들이다("C₂-C₆ 알키닐").

[0032] 용어 "시클로알킬"은 3 내지 12개의 탄소 원자를 가지는 포화된 또는 부분적으로 불포화된 환상의 탄화수소 라디칼을 말하며, 여기에서 시클로알킬은 독립적으로 본원에서 설명되는 하나 이상의 치환체로 선택적으로 치환될 수 있다. 용어 "시클로알킬"은 스피로고리, 2고리 및 3고리 시클로알킬 구조를 추가로 포함하며, 여기에서 2고리 및 3고리 구조는 포화된 또는 부분적으로 불포화된 시클로알킬 또는 헤테로시클릴알킬 환 또는 아릴 또는 헤테로아릴 환에 융합된 포화된 또는 부분적으로 불포화된 시클로알킬을 포함할 수 있다. 스피로 모이어티는 또한 본 정의의 범위 내에 포함된다. 바람직한 시클로알킬 기는 3 내지 8 탄소 원자를 가지는 것들이다("C₃-C₈ 시클로알킬"). 더 바람직한 시클로알킬 기는 3 내지 6 탄소 원자를 가지는 것들이다("C₃-C₆ 시클로알킬"). 시클로알킬 기의 예는, 제한되는 것은 아니지만, 시클로프로필, 시클로부틸, 시클로펜틸, 시클로헥실, 시클로헵틸, 아다만틸, 노르보르닐 등을 포함한다.

[0033] 용어 "헤테로알킬"은 1 내지 12개의 탄소 원자의 포화된 또는 부분적으로 불포화된 선형 또는 분지쇄 탄화수소 라디칼을 말하며, 여기에서 적어도 하나의 탄소 원자는 N, O, 또는 S로부터 선택되는 헤테로원자로 치환되고, 여기에서 라디칼은 탄소 라디칼 또는 헤테로원자 라디칼일 수 있다(즉, 헤테로원자는 라디칼의 중간 또는 말단에서 나타날 수 있다). 헤테로원자는 S(0) 및 S(O)₂와 같이 산화될 수 있다. 헤테로알킬 라디칼은 독립적으로

본원에서 설명되는 하나 이상의 치환체로 선택적으로 치환될 수 있다. 용어 "헤테로알킬"은 알콕시 및 헤테로알콕시 라디칼을 포함한다.

[0034] 용어 "헤테로시클릴"은 적어도 하나의 환 원자가 질소, 산소 및 황으로부터 선택되는 헤테로원자이고, 나머지 환 원자는 C인, 3 내지 14개의 환 원자의 포화된 또는 부분적으로 불포화된 고리 라디칼을 말하며, 하나 이상의 환 원자는 독립적으로 본원에서 설명된 하나 이상의 치환체로 선택적으로 치환될 수 있다. 라디칼은 탄소 라디칼 또는 헤테로원자 라디칼이다. "헤테로시클릴"은 또한 헤테로고리 라디칼이 방향족 또는 헤테로 방향족 환에 융합된 라디칼을 포함한다. "헤테로시클릴"은 1고리, 2고리, 다중-고리일 수 있다. 스피로 모이어티는 또한 본 정의의 범위 내에 포함된다. "헤테로시클릴"의 예는, 제한되는 것은 아니지만, 피롤리딜, 피페리딜, 피페라질, 테트라히드로퓨란일, 테트라히드로피란일, 모르폴리닐, 티오모르폴리닐, 호모피페라지닐, 프탈이미딜, 3-옥사비시클로[3.1.0]헥실(예를 들면, 3-옥사비시클로[3.1.0]헥산-6-일 및 3-옥사비시클로[3.1.0]헥산-1-일), 및 이들의 유도체를 포함한다.

[0035] 용어 "아릴"은 단일 환(예를 들어, 페닐), 다중환(예를 들어, 비페닐), 또는 적어도 하나가 방향족인 다중 축합 환(예를 들어, 1,2,3,4-테트라히드로나프틸, 나프틸)을 가지는 방향족 탄소고리 기를 의미하며, 이것은 선택적으로 예를 들어, 할로젠, 저급 알킬, 저급 알킬옥시, 트리플루오로메틸, 아릴, 헤테로아릴, 및 히드록시로 1-, 2-, 또는 3 치환된다.

[0036] "헤테로아릴"은 질소, 산소, 또는 황으로부터 선택되는 하나 이상의 환 헤테로원자를 함유하며, 나머지 환 원자는 탄소인 5 내지 10개의 환 원자의 1고리 방향족 라디칼 또는 다고리 방향족 라디칼을 의미한다. 방향족 라디칼은 독립적으로 본원에서 설명되는 하나 이상의 치환체로 선택적으로 치환된다. 예는, 제한되는 것은 아니지만, 푸릴, 티에닐, 피롤릴, 피리딜, 피라졸릴, 피리미디닐, 이미다졸릴, 피라지닐, 인돌릴, 티오펜-2-일, 퀴놀릴, 벤조피라닐, 티아졸릴, 및 이들의 유도체를 포함한다. 헤테로아릴의 다른 비-제한 예는 [1,2,4]트리아졸로[1,5-a]피리디닐, 이미다조[1,2-a]피리디닐 및 인다졸릴을 포함한다.

[0037] 용어 "할로"는 플루오로, 클로로, 브로모 또는 요오도를 나타낸다. 마찬가지로, 용어 "할로젠"은 불소, 염소, 브롬 또는 요오드 치환체를 말한다.

[0038] 용어 "치환된"은 모이어티의 하나 이상의 수소 원자가 1가 또는 2가 라디칼로 바뀌는 것을 의미한다. "선택적으로 치환된"은 모이어티가 치환된 것 또는 비치환되는 것을 의미한다. 용어 "선택적으로 치환된" 및 "치환된"이 기재되지 않은 모이어티는 비치환된 모이어티를 의미한다(예를 들면, 치환된 페닐 또는 선택적으로 치환된 페닐로 적혀 있지 않다면, "페닐"은 비치환된 페닐을 의미한다).

[0039] 본원에서 사용된 "치료법" 또는 "치료"는 하나 이상의 ErbB 패밀리 티로신 키나아제 및/또는 세린, 트레오닌 키나아제의 활성에 의해 적어도 부분적으로 영향을 받는 포유동물, 예컨대 인간에서 적어도 질병 상태의 완화를 의미하는 것으로 의도되며, 제한되는 것은 아니지만, 특히 포유동물이 질병 상태를 가지는 소인이 있는 것으로 발견되었지만, 아직 그것을 가지는 것으로 진단되지는 않았을 때 질병 상태가 포유동물에서 일어나는 것을 예방하는 것; 질병 상태를 조정 및/또는 억제하는 것; 및/또는 질병 상태를 완화시키는 것을 포함한다.

[0040] 본원에서 사용된 "질병의 진행을 지연"은 질병(예를 들면, 암)의 진행을 미룸, 저해, 늦춤, 지체, 안정, 및/또는 연기시키는 것을 의미한다. 이 지연은 질병의 이력 및/또는 치료받는 개체에 의존하여 다양한 길이로 될 수 있다. 충분 또는 상당한 지연은 개체에서 질병을 진행시키지 않는다는 점에서 실제로는 예방을 포함할 수 있다는 것은 당업자에게 명백하다. 예를 들면, 전이의 진행과 같은 말기 암이 지연될 수 있다.

[0041] "약제학적으로 허용 가능한 담체"는 약제학적 조제물에서 활성 성분 이외에, 대상에 비독성인 성분을 의미한다. 약제학적으로 허용 가능한 담체에는 완충제, 부형제, 안정화제, 또는 보존제가 포함되지만, 이것으로 제한되지는 않는다.

[0042] 본원에서 사용된, "~과 결합하여"는 한 치료 양식에 다른 치료 양식을 추가하여 투여하는 것을 의미한다. 이런 이유로, 엄밀한 의미의 "~과 결합하여"는 개체에 다른 치료 양식을 투여하기 전, 투여하는 동안 또는 투여한 후에 한 치료 양식을 투여하는 것을 의미한다.

[0043] 명확하게 달리 지적하지 않은 한, 본원에서 사용된 용어 "개체"는 소, 말, 고양이, 토끼, 개, 설치류, 또는 영장류 (예를 들면, 인간)를 포함하지만 이것으로 제한되지는 않는다. 어떤 구체예에서, 개체는 인간이다. 어떤 구체예에서, 개체는 인간이 아닌 영장류, 예를 들면, 침팬지 및 다른 유인원, 및 원숭이 종이다. 어떤 구체예에서, 개체는 소, 말, 양, 염소 및 돼지와 같은 기르는 동물; 토끼, 개 및 고양이와 같은 애완동물, 레트, 마우스 및 기니아피그와 같은 설치류를 포함하는 실험 동물 등이다. 본 발명은 인간용 의약품 및 동물용 용품 모두에

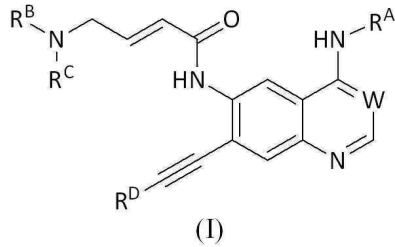
사용할 수 있다.

[0044] 본원에서 및 청구 범위에서 사용된 단수 형식은 본문이 명확하게 달리 나타내지 않은 한 복수를 포함한다.

[0045] 본원에서 설명된 발명의 양태 및 변형은 "구성되는" 및/또는 "본질적으로 구성되는" 양태 및 변형을 포함한다.

[0046] **화합물**

[0047] 한 양태에서, 화학식 (I):



[0048]

[0049] 의 화합물 또는 그것의 염, 용매 화합물, 또는 생리적 기능성 유도체가 제공된다.

[0050] 상기식에서:

[0051] W는 N 또는 C-CN이고;

[0052] R^A는 치환된 아릴 또는 치환된 헤테로아릴이고;

[0053] 각 R^B 및 R^C는 독립적으로 H, C₁-C₃ 알킬 또는 C₃-C₆ 시클로알킬이고, 여기서 C₁-C₃ 알킬 및 C₃-C₆ 시클로알킬의 각각은 옥소, 할로젠 및 -OR¹으로 구성되는 군으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 기로 선택적으로 치환되고; 또는 R^B 및 R^C는 그것들이 부착되어 있는 질소 원자와 함께 4 내지 7-원 헤테로시클릴을 형성하고, 이것은 할로젠, 옥소, -OR¹, -NR²R³, C₁-C₃ 알킬 및 C₃-C₆ 시클로알킬로 구성되는 군으로부터 독립적으로 선택된 3개 이하의 기들로 선택적으로 치환되고;

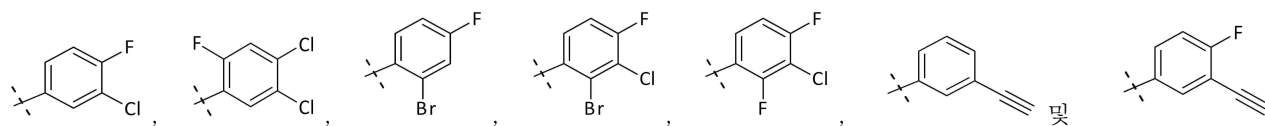
[0054] R^D는 "O", "N", "S", "S(O)", 또는 "S(O)₂"로부터 선택된 1 내지 3개의 헤테로 고리 원자를 함유하는 헤테로시클릴이고, 헤테로시클릴은 할로젠, 옥소, -OCF₃, -OR¹, -CF₃, -NR²R³, C₁-C₃ 알킬 및 C₃-C₆ 시클로알킬로부터 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 기로 선택적으로 치환되고; 및

[0055] 각 R¹, R² 및 R³은 H 및 C₁-C₃ 알킬로부터 독립적으로 선택된다.

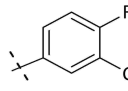
[0056] 화학식(I)의 화합물, 또는 그것의 염, 용매 화합물, 또는 생리적 기능성 유도체에서, R^A는 치환된 1고리, 2고리 또는 3고리 아릴 또는 치환된 1고리, 2고리 또는 3고리 헤테로아릴이다. 어떤 구체예에서, R^A는 치환된 1고리, 2고리 또는 3고리 아릴이다. 어떤 구체예에서, R^A는 치환된 페닐이다. 한 변형에서, R^A는 플루오로, 클로로, 브로모, 에틸닐, 벤젠술포닐, 선택적으로 치환된 C₁-C₃ 알킬(예를 들면, 메틸), 및 -OR⁴로부터 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 치환체로 치환된 페닐이고; R⁴는 선택적으로 치환된 C₁-C₃ 알킬(예를 들면, 치환된 메틸) 또는 선택적으로 치환된 헤테로아릴이다. 한 변형에서, R^A는 플루오로, 클로로, 브로모, 에틸닐 및 메틸로부터 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 치환체로 치환된 페닐이다.

[0057] 다른 변형에서, R^A는

[0058]



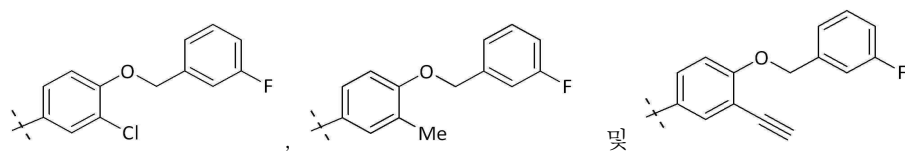
[0059]

로 구성되는 군으로부터 선택된 치환된 페닐이다. 한 구체적인 변형에서, R^A는 이다.

[0060]

다른 변형에서, R^A는

[0061]



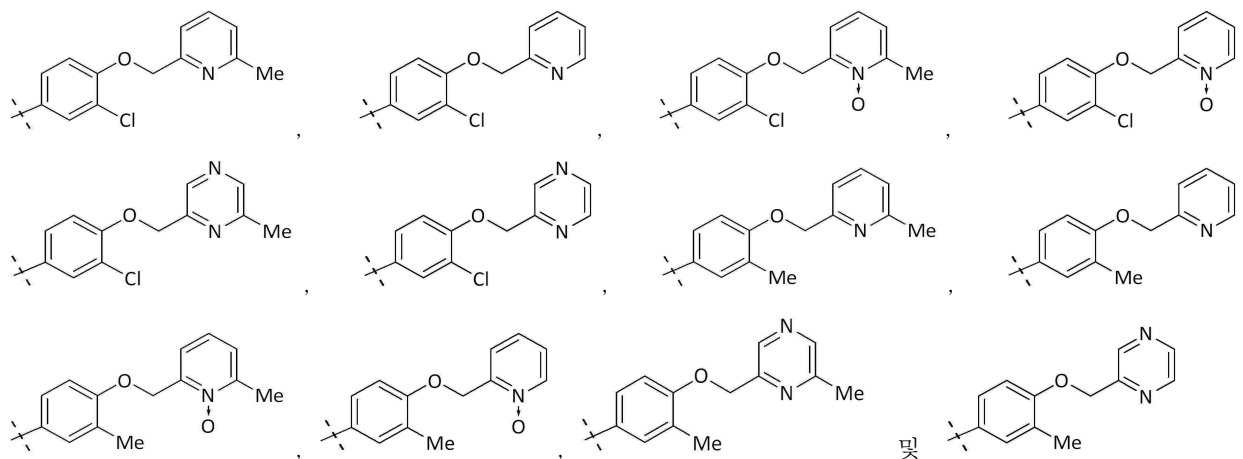
[0062]

로 구성되는 군으로부터 선택된 치환된 페닐이다.

[0063]

다른 변형에서, R^A는

[0064]



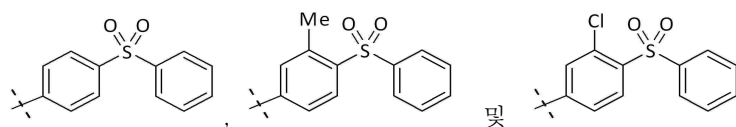
[0065]

로 구성되는 군으로부터 선택된 치환된 페닐이다.

[0066]

다른 변형에서, R^A는

[0067]



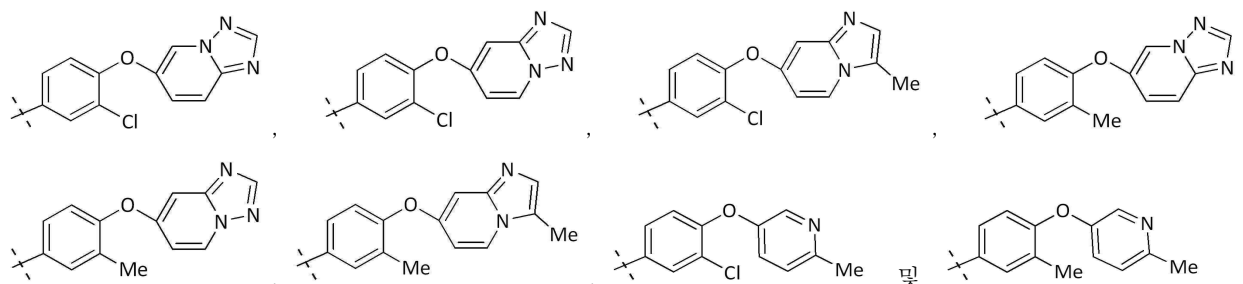
[0068]

로 구성되는 군으로부터 선택된 치환된 페닐이다.

[0069]

다른 변형에서, R^A는

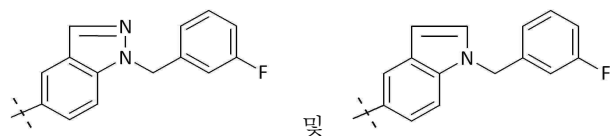
[0070]



[0071]

로 구성되는 군으로부터 선택된 치환된 페닐이다.

[0072] 어떤 구체예에서, R^A 는 치환된 1고리, 2고리 또는 3고리 헤테로아릴이다. 한 변형에서, R^A 는



[0073] 및

[0074] 로 구성되는 군으로부터 선택된 치환된 헤테로아릴이다.

[0075] 본원에서 설명된 R^A 의 각각 및 모든 변형은 본원에서 설명된 다른 변형(예를 들면, R^B , R^C , R^D 및 W)의 각각 및 모든 변형과 조합될 수 있는데, 적용 가능한 경우, 마치 각각 및 모든 조합은 별도로 열거된 것처럼 조합된다.

[0076] 어떤 구체예에서, 각 R^B 및 R^C 는 독립적으로 H, C_1-C_3 알킬 또는 C_3-C_6 시클로알킬이고, C_1-C_3 알킬 및 C_3-C_6 시클로알킬의 각각은 옥소, 할로젠 및 $-OR^1$ 으로 구성되는 군으로부터 독립적으로 선택된 3개 이하의 기로 선택적으로 치환된다. 어떤 구체예에서, 각 R^B 및 R^C 는 독립적으로 H, C_1-C_3 알킬 또는 C_3-C_6 시클로알킬이다. 어떤 구체예에서, 각 R^B 및 R^C 는 독립적으로 C_1-C_3 알킬이다. 한 특정 구체예에서, 각 R^B 및 R^C 는 메틸이다. 어떤 구체예에서, 각 R^B 및 R^C 는 독립적으로 옥소, 할로젠 및 $-OR^1$ 으로 구성되는 군으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 기로 선택적으로 치환된 H 또는 C_1-C_3 알킬이다. 이 중 어떤 구체예에서, R^1 는 H이다. 이 중 어떤 구체예에서, R^1 는 C_1-C_3 알킬(예를 들면, 메틸)이다.

[0077] 어떤 구체예에서, R^B 및 R^C 는 그것들이 부착되어 있는 질소 원소와 함께 4 내지 7-원 헤테로시클릴을 형성하고, 이것은 할로젠, 옥소, $-OR^1$, $-NR^2R^3$, C_1-C_3 알킬 및 C_3-C_6 시클로알킬로 구성되는 군으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 기로 선택적으로 치환되고, 각 R^1 , R^2 및 R^3 은 H 및 C_1-C_3 알킬로부터 독립적으로 선택된다.

[0078] 어떤 구체예에서, W는 N이다. 어떤 구체예에서, W는 C-CN이다.

[0079] 어떤 구체예에서, R^D 는 O", "N", "S", S(O)", 또는 "S(O)₂"로부터 선택된 1 내지 3개의 헤테로 고리 원자를 함유하는 4 내지 10-원 헤테로시클릴이고, 헤테로시클릴은 할로젠, 옥소, $-OCF_3$, $-OR^1$, $-CF_3$, $-NR^2R^3$, C_1-C_3 알킬 및 C_3-C_6 시클로알킬로부터 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 기로 선택적으로 치환된다. 어떤 구체예에서, R^D 는 할로젠, 옥소, $-OCF_3$, $-OR^1$, $-CF_3$, $-NR^2R^3$, C_1-C_3 알킬 및 C_3-C_6 시클로알킬로부터 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 기로 선택적으로 치환된 1개의 환상의 헤테로 원자(예를 들면, 산소)를 함유하는 5 또는 6-원 헤테로시클릴이다. 한 변형에서, R^D 는 테트라히드로푸라닐(예를 들면, 테트라히드로푸란-3-일)과 같은 1고리 헤테로시클릴이다. 한 변형에서, R^D 는 3-옥사비시클로[3.1.0]헥실(예를 들면, 3-옥사비시클로[3.1.0]헥산-6-일 및 3-옥사비시클로[3.1.0]헥산-1-일)과 같은 2고리 헤테로시클릴이다.

[0080] 본원에서 설명된 R^D 의 각각 및 모든 변형은 다른 변형(예를 들면, R^A , R^B , R^C 및 W)의 각각 및 모든 변형들과 조합될 수 있는데, 적용 가능한 경우, 마치 각각 및 모든 조합은 별도로 열거된 것처럼 조합된다. 본원에서 설명된, 적용에서, 각 및 모든 조합이 분리되어 기재된다. 예를 들면, 한 변형에서, 화학식(I)의 화합물, 또는 그것의 염, 용매 화합물, 또는 생리적 기능성 유도체를 제공하고, W는 N이고, N, R^A 는 3-클로로-4-플루오로페닐이고, 각 R^B 및 R^C 는 메틸이고, 및 R^D 는 테트라히드로푸란-3-일, 3-옥사비시클로[3.1.0]헥산-6-일 또는 3-옥사비시클로[3.1.0]헥산-1-일이다. 한 특정 변형에서, R^D 는 3-옥사비시클로[3.1.0]헥산-6-일이다.

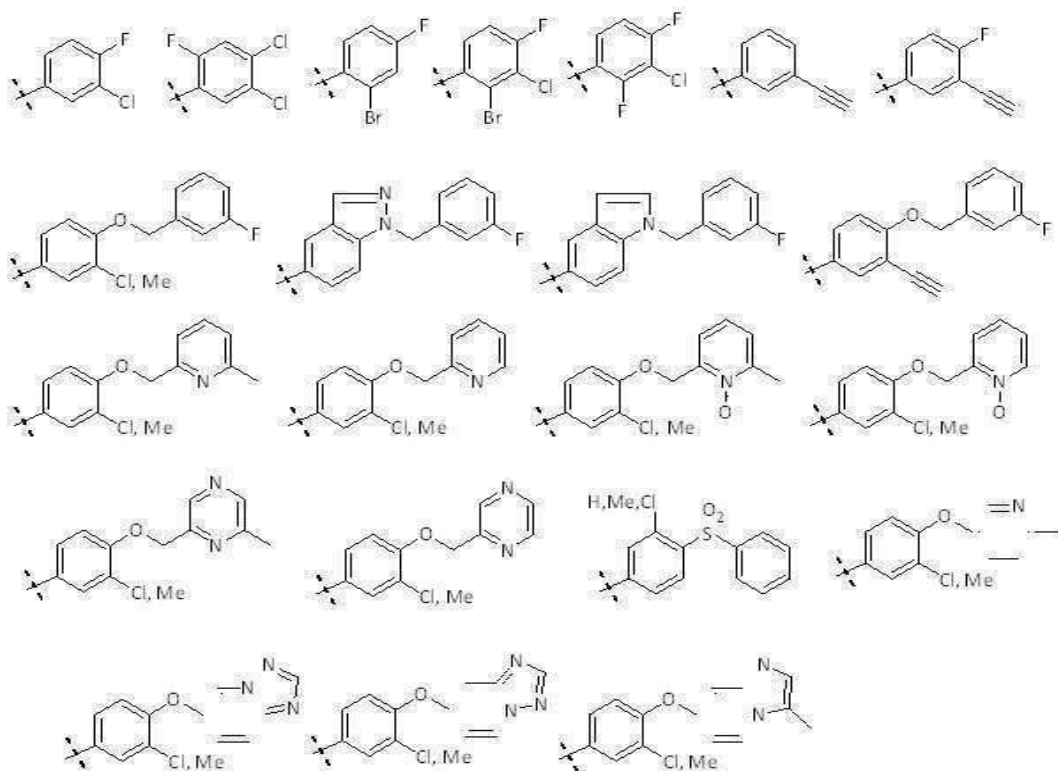
[0081] 어떤 구체예에서, 화합물은 화학식(I)의 화합물, 또는 그것의 염, 용매 화합물, 또는 생리적 기능성 유도체이고, W는 N 또는 C-CN이고; R^A 는 치환된 1고리, 2고리 또는 3고리 아릴 또는 헤테로아릴 모이어티이고;

각 R^B 및 R^C 는 H, C_1 - C_3 알킬 및 C_3 - C_6 시클로알킬로부터 독립적으로 선택되고, 상기 알킬 및 시클로알킬의 각각은 옥소, 할로젠 및 $-OR^1$ 로 구성되는 군으로부터 독립적으로 선택된 세 개 이하의 기로 선택적으로 치환되고; 또는 R^B 및 R^C 는 그것들이 부착되어 있는 질소 원자와 함께 4 내지 7-원 헤테로시클릴 환을 형성하고, 이것은 할로젠, 옥소, $-OR^1$, $-NR^2R^3$, C_1 - C_3 알킬 및 C_3 - C_6 시클로알킬로부터 독립적으로 선택된 3개 이하의 기로 선택적으로 치환되고; R^D 는 "O", "N", "S", "S(O)", 또는 "S(O)₂"로부터 선택된 1 내지 3개의 헤테로 고리 원자를 함유하는 1고리, 또는 2고리 또는 스피로-환 4 내지 10-원 헤테로시클릴이고, 헤테로시클릴 고리는 할로젠, 옥소, $-OCF_3$, $-OR^1$, $-CF_3$, $-NR^2R^3$, C_1 - C_3 알킬 및 C_3 - C_6 시클로알킬로부터 독립적으로 선택된 3개 이하의 기로 선택적으로 치환되고; 및 R^1 , R^2 , 및 R^3 는 H 및 C_3 - C_6 알킬로부터 독립적으로 선택된다.

[0082] 바람직한 구체에서, W는 N이다.

[0083] 다른 바람직한 구체에서, R^B 및 R^C 는 독립적으로 CH_3 이다.

[0084] 화학식(I)에서 R^A 의 바람직한 예는



[0085]

[0086] 을 포함하지만, 이것으로 제한되지는 않는다.

[0087]

어떤 구체에서, (*E*)-N-(4-(3-클로로-4-플루오로페닐아미노)-7-(2-(테트라히드로퓨란-3-일)에틸닐)퀴나졸린-6-일)-4-(디메틸아미노)부트-2-엔아미드, (*E*)-N-(4-(3-클로로-4-플루오로페닐아미노)-7-(2-((S)-테트라히드로퓨란-2-일)에틸닐)퀴나졸린-6-일)-4-(디메틸아미노)부트-2-엔아미드, (*E*)-N-(4-(3-클로로-4-플루오로페닐아미노)-7-(2-((R)-테트라히드로퓨란-2-일)에틸닐)퀴나졸린-6-일)-4-(디메틸아미노)부트-2-엔아미드, (*E*)-N-(4-(3-클로로-4-플루오로페닐아미노)-7-(2-((1R,5S,6s)-3-옥사-비시클로[3.1.0]헥산-6-일)에틸닐)퀴나졸린-6-일)-4-(디메틸아미노)부트-2-엔아미드, (*E*)-N-(4-(3-클로로-4-플루오로페닐아미노)-7-(2-(3-옥사-비시클로[3.1.0]헥산-1-일)에틸닐)퀴나졸린-6-일)-4-(디메틸아미노)부트-2-엔아미드, (*E*)-N-(4-(3-클로로-4-플루오로페닐아미노)-7-(2-((1R,5S)-3-옥사-비시클로[3.1.0]헥산-1-일)에틸닐)퀴나졸린-6-일)-4-(디메틸아미노)부트-2-엔아미드 및 (*E*)-N-(4-(3-클로로-4-플루오로페닐아미노)-7-(2-((1S,5R)-3-옥사-비시클로[3.1.0]헥산-1-일)에틸닐)퀴나졸린-6-일)-4-(디메틸아미노)부트-2-엔아미드로 구성되는 군으로부터 선택되는 화합물; 및 그것의 염, 용매 화합물 및

생리적 기능성 유도체가 제공된다.

- [0088] 본원에서 제공된 화합물은 하나 이상의 비대칭 중심을 가지고, 그런 화합물은 개체 입체이성질체(예를 들면, (*R*)- 또는 (*S*)-거울상체 또는 부분입체이성질체) 또는 이들의 혼합물로서 생성될 수 있다. 달리 표시되지 않는 한, 명세서 및 청구항에서 특정 화합물의 설명 및 명명은 개개 거울상체 및 그것의 혼합물 라세미체 또는 기타를 포함하는 것을 의미한다. 따라서, 본 발명은 라세미체 및 분해된 거울상체, 및 화학식(I)의 화합물의 부분입체이성질체 또는 본원에서 설명된 어떤 변형도 또한 포함한다. 입체화학의 결정 및 입체이성체의 분리를 위한 방법은 당업계에 잘 알려져 있다. 본원에 참고자료로 포함된 "March's Advanced Organic Chemistry" 6th ed. M. B. Smith and J. March, John Wiley and Sons, New York, (2007)의 제 4장의 내용을 참조한다.
- [0089] 본 발명은 또한 화학식(I)의 동위원소-표지된 화합물 또는 본원에서 설명한 어떤 변형을 포함한다. 동위원소 표지된 화합물은 본 발명의 화합물과 동일하고, 일부에 대해 하나 이상의 원자가 같은 원소의 동위원소로 대체될 수 있다. 본 발명의 화합물에 포함될 수 있는 동위원소의 예들은 수소, 탄소, 질소, 산소, 인, 황, 염소의 동위원소, 예를 들면, ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{17}O , ^{18}O , ^{32}P , ^{35}S , ^{18}F , ^{36}Cl 를 포함한다. 어떤 동위원소 표지된 화합물(예를 들면, ^3H 및 ^{14}C)은 화합물 또는 기질 조직 분포 연구에 유용하다. 어떤 무거운 동위원소(예를 들면, ^2H)는 가능한 더 큰 대사 안정성으로부터 결과되는 어떤 치료적 이점을 제공할 수 있다.
- [0090] 본 발명은 또한 용매 화합물, 약제학적으로 허용 가능한 프로드러그, 약제학적 활성 대사물질, 및 화학식(I)의 화합물의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 본원에서 설명한 어떤 변형도 포함한다.
- [0091] 용어 "용매 화합물"은 분자와 하나 이상의 용매 분자의 집합체, 예를 들면, 수화, 알콜화물(알콜과의 집합체 및 애덕트), 등을 의미한다.
- [0092] 본원에서 사용된 용어 "생리적 기능성 유도체"는 예를 들어, 포유류, 예를 들면, 인간에 투여시 화학식(I)의 화합물 또는 그것의 활성 대사물질을 형성할 수 있는 화학식(I)의 본 발명 화합물의 어떤 생리적 허용 가능한 유도체, 예를 들면, 에스테르와 관련된다.
- [0093] 또한, 생리적 기능성 유도체는 본 발명의 화합물의 프로드러그를 포함한다. 이러한 프로드러그는 생체내에서 대사되어 본 발명의 화합물로 된다. 이들 프로드러그는 그 자체는 활성이 아닐 수 있고 또한 본 발명의 대상이다.
- [0094] "약제학적으로 허용가능한 프로드러그"는 생리적 조건하에서 또는 가용매분해에 의해 특정 화합물 또는 이러한 화합물의 약제학적으로 허용가능한 염으로 변환될 수 있는 화합물이다.
- [0095] "약제학적으로 활성인 대사물질"은 특정 화합물 또는 그것의 염의 신체 내에서 대사작용을 통해 생성된 약리학적으로 활성인 생성물이다. 화합물의 대사물질은 당업자에 알려진 통상적인 기술을 사용하여 확인될 수 있고, 그것의 활성은 본원에서 설명되는 것과 같은 시험을 사용하여 결정된다.
- [0096] 화합물의 프로드러그 및 활성 대사물질은 당업계에 알려진 통상적인 기술을 사용하여 확인될 수 있다. 다양한 프로드러그의 형태는 당업계에 알려져 있다. 이러한 프로드러그 유도체의 예는, 예를 들어 a) Design of Prodrugs, edited by H. Bundgaard, (Elsevier, 1985) and Methods in Enzymology, Vol. 42, p. 309-396, edited by K. Widder, et al. (Academic Press, 1985); b) Chapter 27, "Recent Advances in Oral Prodrug Discovery", A. Cho in Annual Reports in Medicinal Chemistry, edited by A. Wood (Academic Press, 2006), 41:395. c) Prodrugs: Challenges and Rewards, Part 1 and 2, edited by V. J. Stella, et al. (Springer, 2007)를 참조.
- [0097] "약제학적으로 허용가능한 염"은 특정 화합물의 자유산 및 염기의 생물학적 효능을 보유하고, 생물학적으로 또는 달리 바람직하지 않지 않은 염이다. 본 발명의 화합물은 충분히 산성이거나, 충분히 염기성이거나 또는 둘다의 작용성인 기를 지닐 수 있고, 따라서 임의의 수많은 무기 또는 유기 염기, 및 무기 및 유기 산과 반응하여, 약제학적으로 허용가능한 염을 형성할 수 있다. 약제학적으로 허용가능한 염의 예는, 본 발명의 화합물을 무기 또는 유기산 또는 무기 염기와 반응시킴으로써 제조된 염들을 포함하고, 이러한 염들은 술페이트, 카이로술페이트, 비술페이트, 술파이트, 비술파이트, 포스페이트, 모노히드로젠포스페이트, 디히드로젠포스페이트, 메타포스페이트, 파이로포스페이트, 클로라이드, 브로마이드, 아이오다이드, 아세테이트, 프로피오네이트, 데카노에이트, 카프릴레이트, 아크릴레이트, 포르메이트, 이소부티레이트, 카프로에이트, 헵타노에이트, 프로피올레이트, 옥살레이트, 말로네이트, 숙시네이트, 수베레이트, 세바케이트, 푸마레이트, 말레이트, 부틴-1,4-디오에이트, 헥신-1,6-디오에이트, 벤조에이트, 클로로벤조에이트, 메틸벤조에이트, 디니트로벤조에이트, 히드록시벤조에이트, 메톡시벤조에이트, 프탈레이트, 술포네이트, 크실렌술포네이트, 페닐

아세테이트, 페닐프로피오네이트, 페닐부티레이트, 시트레이트, 락테이트, γ -히드록시부티레이트, 글리콜레이트, 타르트레이트, 메탄술포네이트, 프로판술포네이트, 나프탈렌-1-술포네이트, 나프탈렌-2-술포네이트, 토실레이트, 베실레이트, 아세테이트 및 만델레이트를 포함한다.

[0098] 본 발명의 화합물이 염기라면, 원하는 약제학적으로 허용가능한 염은 당업계에서 이용가능한 어떤 적당한 방법, 예를 들어 자유 염기를 무기산, 예컨대 염산, 브롬화수소산, 황산, 질산, 인산 등, 또는 유기산, 예컨대 아세트산, 말레산, 숙신산, 만델산, 푸마르산, 말론산, 피루브산, 옥살산, 글리콜산, 살리실산, 피라노시딜산, 예컨대 글루쿠론산 또는 갈락투론산, 알파히드록시산, 예컨대 시트르산 또는 타르타르산, 아미노산, 예컨대 아스파르트산 또는 글루탐산, 방향족산, 예컨대 벤조산 또는 신남산, 술폰산, 예컨대 p-톨루엔술폰산 또는 에탄술폰산 등으로 처리에 의해 제조될 수 있다.

[0099] 본 발명의 화합물이 산성이라면, 원하는 약제학적으로 허용가능한 염은 어떤 적당한 방법, 예를 들어 자유산을 무기 또는 유기 염기, 예컨대 아민(1차, 2차 또는 3차), 알칼리 금속 수산화물 또는 알칼리 토금속 수산화물 등으로 처리에 의해 제조될 수 있다. 적당한 염의 예시적 예는, 제한되는 것은 아니지만, 아미노산, 예컨대 글리신 및 아르기닌, 암모니아, 1차, 2차 및 3차 아민, 및 고리 아민, 예컨대 피페리딘, 모르폴린 및 피페라진으로부터 유도된 유기염, 및 나트륨, 칼슘, 마그네슘, 망간, 철, 구리, 아연, 알루미늄 및 리튬으로부터 유도된 무기염을 포함한다.

[0100] 또한, 본원에서 언급된 화합물의 염, 예컨대 약제학적으로 허용 가능한 염도 제공된다. 본 발명은 또한 어떤 거울상체 또는 부분입체이성질체 형태, 및 어떤 토토머 또는 설명된 화합물의 다른 형태를 포함하는 입체화학적 형태의 어떤 또는 모든 것을 포함한다.

[0101] 또한, 본 발명의 화합물은 다양한 다형성 형태, 예를 들면, 비결정성 및 결정성 다형성 형태로 존재할 수 있다. 본 발명의 화합물의 모든 다형성 형태는 본 발명의 범위내에 포함되고, 본 발명의 다른 양태이다.

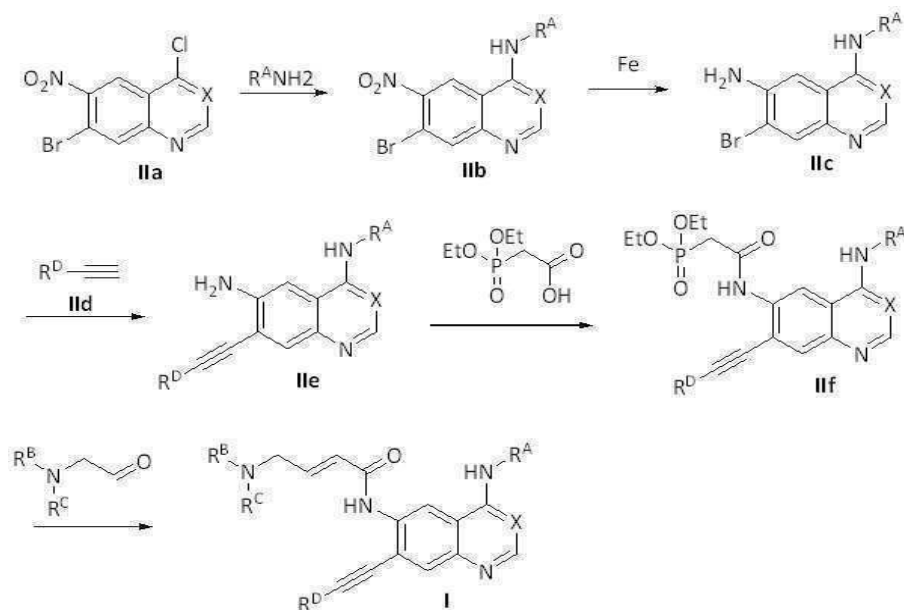
[0102] 본원에서 설명한 화합물은 한 양태에서는 정제된 형태이고, 정제된 형태의 화합물을 포함하는 조성물을 본원에서 설명한다. 본원에서 설명한 화합물 또는 그것의 염을 포함하는 조성물, 예를 들면, 실질적으로 순수 화합물의 조성물을 제공한다. 어떤 구체예에서, 본원에서 설명한 화합물을 함유하는 조성물 또는 그것의 염은 실질적으로 순수 형태이다. 다른 설명이 없다면, "실질적으로 순수"는 35% 이하의 불순물을 함유하는 조성물을 의미하고, 여기서, 불순물은 대부분의 조성물에 포함되는 화합물 이외의 화합물 또는 그것의 염을 표시한다. 어떤 구체예에서, 실질적으로 순수 화합물 또는 그것의 염의 조성물이 제공되고, 여기에서, 조성물은 25 %, 20%, 15%, 10%, 또는 5% 이하의 불순물을 함유한다. 어떤 구체예에서, 실질적으로 순수한 화합물 또는 그것의 염의 조성물이 제공되고, 여기에서, 조성물은 3 %, 2%, 1% 또는 0.5% 이하의 불순물을 함유한다.

[0103] 일반적인 합성 방법

[0104] 본 발명의 화합물은 본원에서 설명된 반응 경로 및 합성 도식을 이용하여, 쉽게 이용 가능한 시작 물질을 사용하여 당업계 기술을 사용하여 제조될 수 있다. 예를 들면, 화학식(I)의 화합물, 또는 그것의 약제학적으로 허용 가능한 염은 화학적으로 관련된 화합물 제조에 적용 가능한 것으로 알려진 어떤 공정으로 제조될 수 있다. 적합한 공정은, 예를 들면, W02007/054550에서, Cha, M. Y.; Lee, K.-O., et al., *J. Med. Chem.* (2009), 52:6880-6888에서, 및 Tsou, H.-R., Overbeek-Klumpers, E.G.; et al., *J. Med. Chem.* (2005), 48:1107-1131에서 설명된 것을 포함한다. 이러한 공정은 화학식(I)의 화합물 제조에 사용할 때 본 발명의 추가적인 특징으로서 제공된다. 필요한 시작 물질을 합성 유기 화학의 표준 과정에 의해 얻을 수 있다. 이러한 시작 물질의 제조는 아래의 대표적인 공정과 관련하여, 하기 실시예 내에서 설명된다. 대안으로, 필요한 시작 물질을 유기 화학자의 통상의 기술 범위에 있는 설명한 비슷한 과정으로도 얻어질 수 있다.

[0105] 다음 합성 도식은 대표적인 예를 의미하는 것이고, 어떤 방식으로든 본 발명을 제한하지 않는다.

[0106] 도식 1

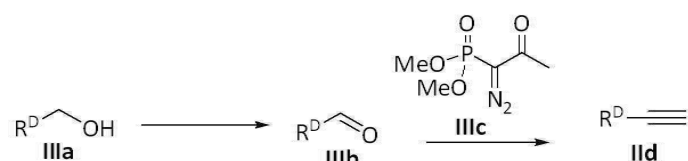


[0107]

[0108] 도식 1에 나타낸 바와 같이, 화학식(IIa)의 화합물(Rewcastle, G.W., et al, J. Med. Chem. (1996), 39:918 - 928 참조)과 아민 R^A-NH_2 사이의 방향족 친핵성 치환은 화학식(IIb)의 화합물을 제공한다. 화학식(IIc)의 아닐린은 수성 에탄올에서 철 가루 및 아세트산으로 니트로기로 환원에 의해 얻어진다. 대안으로는, 산 중의 염화 주석(II) 또는 탄소 상 백금이 환원을 위해 사용될 수 있다. 이어서, 화학식(IId)의 알킨 및 화학식(IIc)의 화합물 사이의 Sonogashira 반응을 무수의 비 양성자성 용매(예를 들면, THF 또는 DMF)에서 팔라듐 촉매(예를 들면, $Pd(dppf)Cl_2$ 또는 $Pd(PPh_3)_4$), 요오드화 구리(I) 및 알킬아민(예를 들면, 트리에틸아민 또는 부틸아민)으로 수행하여 화학식(IIe)의 화합물을 얻는다. 디에틸포스포노아세트산과 화학식(IIe)의 화합물의 결합을 카르보다이미다졸(CDI) 및 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카르보다이미드(EDC)와 같은 보통의 아미드 형성 방법으로 수행한다. 화학식(II'f)의 결과 화합물을 적절한 2-아미노아세트알데히드와 추가로 반응시켜 화학식(I)의 최종 화합물을 얻을 수 있다(Dppf는 1,1'-비스(디페닐포스피노)페로센, 팔라듐에의 비스 포스핀 리간드이다).

[0109] 다른 예상에서, 도식 2는 화학식(IIb)의 알킨의 제조를 위한 일반 방법 중의 하나를 설명한다.

[0110] 도식 2



[0111]

[0112] 화학식(IIIa)의 일차 알콜은 PDC 또는 PCC 또는 스웬(Swern) 산화와 같은 산화제로 화학식(IIIb)의 알데히드로 산화된다. 알데히드(IIIb)에서 화학식(IId)의 알킨으로의 추가 변환은 디아조 화합물(IIIc)과의 반응에 의해 달성될 수 있다(Ohira, S. *Synth. Commun.* (1989), 19:561-564; and S. Mueller, S.; Liepold, B.; Roth, G. J.; Bestmann, J. *Synlett.* (1996), 521-22 참고).

[0113] 치료 방법

[0114] 본원에서 제공된 화합물은 ErbB 패밀리의 수용체 티로신 키나아제의 활성을 억제한다. 따라서, 화학식(I)의 화합물, 또는 그것의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매 화합물 또는 체내 변환 가능한 프로드러그 유효량을 그것을 필요로 하는 개체(예를 들면, 포유류)에 투여하는 것을 포함하는 I형 수용체 티로신 키나아제에 의해 매개된 질병 또는 의료 상태의 치료 방법이 제공된다. 본 발명의 방법에 따라 치료할 수 있는 I형 수용체 티로신 키나아제 매개된 상태는 다른 과증식성 장애 종류 중에서도, 두경부, 폐, 유방, 결장, 난소, 방광, 위, 신장, 피부, 췌장, 혈액(예를 들면, 백혈병 및 림프종), 식도, 자궁 또는 전립선의 암과 같은 과증식성 장애를 포함한다. 어떤 구체예에서, 암은 두경부 암, 폐암(예를 들면, NSCLC), 유방암, 결장암, 난소암, 방광암, 위암, 신장암,

피부암, 췌장암, 백혈병, 림프종, 식도암, 자궁암 또는 전립선암이다. 어떤 구체예에서, 암은 유방암, 위암 또는 폐암이다. 어떤 구체예에서, 본 발명의 화합물을 사용하여 치료 가능한 암은 엘로티닙-저항성 폐암(예를 들면, 엘로티닙-저항성 비-소 세포 폐암)과 같은 엘로티닙(Tarceva®) 저항성 암이다. 어떤 구체예에서, 개체는 본원에서 설명된 암과 같은 과증식성 암을 가지는 것으로 진단되었다.

[0115] 한 양태에서, 본원에서 제공된 화합물은 뇌 혈액 장벽을 통과하고, 뇌 생체 이용률을 가진다. 따라서, 뇌 종양 치료를 필요로 하는 개체에 화학식(I)의 화합물, 또는 그것의 염, 용매 화합물, 또는 생리적 기능성 유도체의 유효량을 투여하는 것을 포함하는 치료 방법을 제공한다. 뇌 종양은 일차성 뇌 종양, 예를 들면, 신경교종(예를 들면, 재발성 악성 신경교종), CNS 림프종, 두개인두관종, 수막종, 성상 세포종, 다형성신경교아종(GBM) 및 뇌 또는 중추 신경 시스템에서 비롯된 다른 암이다. 뇌 종양의 더 흔한 형태는 다른 기관에서 비롯된 전이성 뇌 종양(병변 또는 뇌 전이로도 언급됨)이다. 사람들은 일차 암에서 더 오랜 기간 동안 생존해 있기 때문에 전이성 병변이 증가하고 있다. 개체에 화학식(I)의 화합물, 또는 그것의 염, 용매 화합물, 또는 생리적 기능성 유도체의 유효량을 투여하는 것을 포함하는 전이성 뇌 종양 치료 또는 예방 방법이 제공된다. 방법은 암, 예를 들면, 폐암, 유방암, 결장 암, 난소암, 방광암, 위암, 신장암, 피부암, 췌장암, 백혈병, 림프종, 식도암, 자궁암 및 전립선암의 발달을 예방하는 것 또는 지연시키는 것을 포함한다. 어떤 구체예에서, 개체는 일차성 뇌종양 또는 전이성 뇌 종양과 같은 뇌 종양을 가진 것으로 진단되었다.

[0116] 본 발명의 화합물의 치료 유효량은 ErbB 패밀리 키나아제의 조정 또는 조절에 의해 매개되는 질병을 치료하기 위해 사용될 수 있다. "유효량"은 이러한 치료가 필요한 포유동물에게 투여될 때, 하나 이상의 ErbB 패밀리 키나아제의 활성에 의해 매개되는 질병에 대한 치료를 달성하기에 충분한 화합물의 양을 의미한다. 따라서, 예를 들면, 화학식(I)의 화합물, 또는 그것의 염, 활성 대사물질 또는 프로드러그의 치료 유효량은 하나 이상의 ErbB 패밀리 키나아제의 활성을 조정, 조절, 또는 억제하여 그 활성에 의해 매개되는 질병 상태를 감소 또는 완화시키기에 충분한 양이다. 암 또는 종양의 경우에, 약물의 유효량은 암 세포의 수를 감소시키는 것, 종양의 크기를 감소시키는 것, 말초 기관에서 암 세포 침투를 억제(즉, 어느 정도 속도를 늦춤, 바람직하게는 멈춤)시키는 것, 종양 전이를 억제(즉, 어느 정도 속도를 늦춤, 바람직하게는 멈춤)시키는 것, 어느 정도 종양 성장을 억제하는 것 및/또는 장애와 관련된 하나 이상의 증상을 경감시키는 것에 효과를 갖는다. 유효 투약량을 1회 이상의 투여로 투여될 수 있다. 본 발명의 목적을 위해, 약, 화합물, 또는 약제학적 조성물의 유효 투약량은 직접 또는 간접적으로 예방 또는 치료의 달성을 위한 충분한 양이다.

[0117] 이러한 양에 해당하는 주어진 약제의 양은 구체적인 화합물, 질병 상태 및 그것의 중증도, 치료가 필요한 포유동물의 실체(예를 들어, 체중)와 같은 인자에 의존하여 다양할 것이지만, 그럼에도 불구하고 당업자에 의해 통상적으로 결정될 수 있다.

[0118] 인간을 포함하는 포유동물의 치료적 처치를 위한(예방적 처치 포함), 화학식(I)의 화합물, 또는 그것의 약제학적으로 허용가능한 염 또는 생체내에서 분해가능한 프로드러그를 사용하기 위해서, 그것은 약제학적 조성물로서 표준 약제학적 실행에 따라서 일반적으로 조제된다. 본 발명의 이 양태에 따르면, 앞서 정의한 바와 같은 화학식(I)의 화합물, 또는 그것의 약제학적으로 허용가능한 염 또는 생체내에서 분해가능한 프로드러그를 약제학적으로 허용가능한 희석제 또는 담체와 회합하여 포함하는 약제학적 조성물이 제공된다.

[0119] 본 발명의 화합물은 다양한 종류의 암, 예를 들어, 결장암, 난소암, 방광암, 위선암, 폐암, 자궁암, 및 전립선암과 같은 과증식성 질병을 치료하기 위해 포유동물에서 단독으로 또는 조합하여 투여된다. 본 화합물은 어떤 허용가능한 경로, 예를 들어 정맥내, 경구, 근육내, 좌약 등을 통해 투여될 수 있다. 화합물은 경구 투약량 형태, 예를 들어, 정제, 캡슐, 액체 현탁액, 등으로서 좌약으로서 조제될 수 있고, 또는 예를 들어, 주사용 액체로서 제조될 수 있다. 당업자는 치료되어야 하는 특정 과증식성 질병의 치료를 위한 적절한 경로 및 투약량을 선택할 수 있다.

[0120] 화학식(I)의 화합물, 또는 본원에서 설명한 어떤 변형은 다른 알려진 치료제와 조합하여 유리하게 사용될 수 있다. 뇌 침투를 가지는 본 발명의 화합물은 암의 뇌 전이 예방 또는 치료를 위해 뇌에서 비롯되지 않은 암을 치료하기 위한 치료제와 함께 사용될 수 있다. 예를 들면, 화학식(I)의 화합물, 또는 본원에서 설명한 어떤 변형, 예를 들면, 실시예 1 내지 7의 화합물(예를 들면, 화합물 KU113), 또는 그것의 염, 또는 용매 화합물, 또는 생리적 기능성 유도체는 유방암의 뇌 전이 치료용 또는 예방용 헤르셉틴과 조합하여 사용될 수 있다.

[0121] **제조**

[0122] 본 발명의 조성물은 경구 사용(예를 들어, 정제, 로젠지, 캡슐, 현탁액, 에멀전, 분산가능한 분말, 또는 파립,

시럽 또는 엘릭시르), 국소 사용(예를 들어, 크림, 연고, 젤, 또는 수성 또는 유성 용액 또는 현탁액), 흡입(예를 들어, 미세하게 나뉘어진 분말 또는 액체 에어로졸), 흡입제에 의한 투여(예를 들어, 미세하게 나뉘어진 분말) 또는 비경구 투여(예를 들어 정맥, 피하 또는 근육내 투여를 위한 멸균 수용액 또는 유성 용액으로서 또는 직장 투여를 위한 좌약으로서)에 적당한 형태일 수 있다. 예를 들어, 경구 사용을 위해 의도되는 조성물은 하나 이상의 착색제, 감미제, 향미제 및/또는 보존제를 함유할 수 있다.

[0123] 정제 조제물을 위한 적당한 약제학적으로 허용가능한 부형제는, 예를 들어 락토오스, 탄산나트륨, 인산칼슘 또는 탄산칼슘과 같은 불활성 희석제, 과립 및 봉해제, 예컨대 옥수수 전분 또는 알긴산; 결합제, 예컨대 전분; 윤활제, 예컨대 마그네슘 스테아레이트, 스테아르산 또는 활석; 보존제, 예컨대 에틸 또는 프로필 p-히드록시벤조에이트, 및 항산화제, 예컨대 아스코르브산을 포함한다. 정제 조제물은 위장관 내에서 활성 성분의 분해 및 이후의 흡수를 변경시키기 위해, 또는 경우에 따라서 당업계에 잘 알려진 통상적인 코팅제 및 과정을 사용하여 그것의 안정성 및/또는 외관을 개선시키기 위해 비코팅 또는 코팅될 수 있다.

[0124] 경구 사용을 위한 조성물은 활성 성분이 불활성 고체 희석제, 예를 들어, 탄산 칼슘, 인산 칼슘 또는 카올린과 혼합되는 경질 젤라틴 캡슐, 또는 활성 성분이 물 또는 땅콩오일 또는 올리브 오일과 같은 오일과 혼합되는 연질 젤라틴 캡슐의 형태일 수 있다.

[0125] 수성 현탁액은 일반적으로 소듐 카르복시메틸셀룰로오스, 메틸셀룰로오스, 히드록시프로필메틸셀룰로오스, 소듐 아르기네이트, 폴리비닐-피롤리돈, 트래거캔스 검 및 아카시아 검과 같은 하나 이상의 현탁제; 분산 또는 습윤제, 예컨대 레시틴 또는 알킬렌옥사이드와 지방산의 축합 생성물(예를 들어, 폴리옥시에틸렌 스테아레이트), 또는 에틸렌 옥사이드와 장쇄 지방족 알코올의 축합 생성물, 예를 들어, 헵타데카에틸렌옥시세탄올, 또는 에틸렌 옥사이드와 지방산 및 헥시톨로부터 유도된 부분 에스테르의 축합 생성물, 예컨대, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 모노올레이트, 또는 에틸렌 옥사이드와 지방산 및 헥시톨 무수물로부터 유도되는 부분 에스테르의 축합 생성물, 예를 들어 폴리에틸렌 소르비탄 모노올레이트와 함께 미세하게 분말로된 형태로 활성 성분을 함유한다. 수성 현탁액은 또한 하나 이상의 보존제(예컨대 에틸 또는 프로필 p-히드록시벤조에이트, 항산화제(예컨대 아스코르브산), 착색제, 향미제, 및/또는 감미제(예컨대 수크로오스, 다당류 또는 아스파르탐)를 함유할 수 있다.

[0126] 유성 현탁액은 식물성 오일(예컨대, 땅콩 오일, 올리브 오일, 참깨 오일 또는 코코넛 오일) 또는 미네랄 오일(예컨대 액체 파라핀)에 활성 성분을 현탁시킴으로써 조제될 수 있다. 유성 현탁액은 또한 밀납, 경질 파라핀 또는 세틸 알코올과 같은 증점제를 함유할 수 있다. 상기 설명한 것과 같은 감미제, 및 향미제가 첨가되어 맛 좋은 경구 제제를 제공할 수 있다. 이 조성물은 아스코르브산과 같은 항산화제의 첨가에 의해 보존될 수 있다.

[0127] 물의 첨가에 의한 수성 현탁액의 제조에 적당한 분산가능한 분말 및 과립은 일반적으로 분산 또는 습윤제, 현탁제, 및 하나 이상의 보존제와 함께 활성 성분을 함유한다. 적당한 분산 또는 습윤제 및 현탁제는 이미 상기 언급한 것들에 의해 예시된다. 감미제, 향미제 및 착색제와 같은 추가적인 부형제가 또한 존재할 수 있다.

[0128] 본 발명의 약제학적 조성물은 또한 수중유 에멀전의 형태일 수 있다. 유성상은 식물성 오일, 예컨대 올리브 오일, 또는 낙화생 오일, 또는 액체 파라핀 또는 이들 중 어떤 것들의 혼합물일 수 있다. 적당한 유화제는, 예를 들어, 아카시아검, 트래거캔스 검과 같은 자연 발생 검, 자연 발생 포스파티드, 예컨대 대두, 레시틴, 지방산 및 헥시톨 무수물로부터 유도되는 에스테르 또는 부분 에스테르(예를 들어 소르비탄 모노올레이트) 및 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노올레이트와 같은 상기 부분 에스테르와 에틸렌 옥사이드의 축합 생성물일 수 있다. 에멀전은 또한 감미제, 향미제 및 보존제를 함유할 수 있다.

[0129] 시럽 및 엘릭시르는 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 소르비톨, 아스파르테임 또는 수크로오스와 같은 감미제로 조제될 수 있고, 또한 진통제, 보존제, 향미제 및/또는 착색제를 함유할 수 있다.

[0130] 약제학적 조성물은 또한 멸균 주사용 수성 또는 유성 현탁액의 형태일 수 있으며, 이것은 상기 언급된 하나 이상의 적절한 분산 또는 습윤제 및 현탁제를 사용하여 알려진 과정에 따라서 조제될 수 있다. 멸균 주사용 제제는 또한 비-독성의 비경구적으로 허용가능한 희석제 또는 용매 중의 멸균 주사용 용액 또는 현탁액, 예를 들어 1,3-부탄디올 중의 용액일 수 있다.

[0131] 좌약 조제물은 활성 성분을 적당한 비-자극성 부형제와 혼합함으로써 제조될 수 있고, 이것은 보통의 온도에서 고체이지만 직장 온도에서 액체이고, 따라서 직장내에서 녹아서 약물을 방출시킬 것이다. 적당한 부형제는, 예를 들어, 코코아 버터 및 폴리에틸렌 글리콜을 포함한다.

[0132] 크림, 연고, 젤 및 수성 또는 유성 용액 또는 현탁액과 같은 국소 조제물은 당업계에 잘 알려진 통상적인 과정을 사용하여 일반적으로 활성 성분을 통상적인, 국소적으로 허용가능한 비히클 또는 희석제와 함께 조제함으로써

써 얻을 수 있다.

[0133] 흡입제에 의한 투여를 위한 조성물은 예를 들어 30 μm 또는 그 미만의 평균 직경의 입자를 함유하는 미세하게 나뉘어진 분말의 형태일 수 있고, 분말 그 자체는 활성성분을 단독으로 또는 하나 이상의 생리적으로 허용가능한 담체, 예컨대 락토오스로 희석된 활성성분을 포함한다. 흡입제를 위한 분말은 통상적으로, 알려진 약제 소듐 크로모글리케이트의 흡입을 위해 사용되는 것과 같은 터보-흡입 장치를 가지고 사용하기 위해 예를 들어 1 내지 50 mg의 활성 성분을 함유하는 캡슐 내에 보유된다.

[0134] 흡입에 의한 투여를 위한 조성물은 미세하게 나뉘어진 고체 또는 액체 방울을 함유하는 에어로졸로서 활성 성분을 분배하도록 배열된 통상적인 가압 에어로졸의 형태일 수 있다. 휘발성 플루오르화된 탄화수소 또는 탄화수소와 같은 통상적인 에어로졸 추진제가 사용될 수 있고, 에어로졸 장치는 계량된 양의 활성성분을 분배하도록 편리하게 배열된다.

[0135] 1회 투약 형태를 만들기 위해 하나 이상의 부형제와 합쳐지는 본 발명의 화합물의 양은 처리되는 호스트 및 특정 경로의 투여에 의존하여 필연적으로 다양할 것이다. 예를 들어, 인간에 경구 투여를 위해 의도되는 조성물은, 예를 들어, 적절한 및 편리한 양의 부형제와 화합된 0.5 mg 내지 5 g의 활성성분을 함유할 수 있고, 이것은 총 조성물의 약 5 내지 약 98 중량%로 다양할 것이다. 투여량 단위는 약 1mg 내지 약 500mg의 활성 성분을 일반적으로 함유할 것이다. 투여 경로 및 투약 섭생의 추가적인 정보를 위해, Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, by Loyd V. Allen, Howard C. Ansel, Nicholas G. Popovich, Lippincott Williams & Wilkins, 2004 참조.

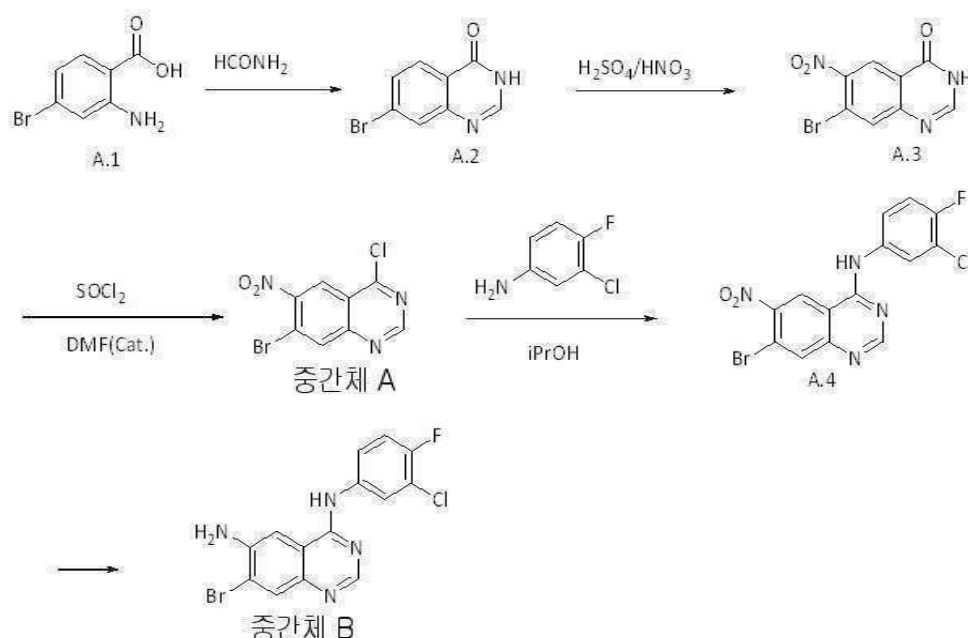
[0136] 화학식(I)의 화합물의 치료적 또는 예방적 목적을 위한 용량의 크기는 자연히 의학의 잘 알려진 원리에 따라서 질환의 특징 및 중증도, 동물 또는 환자의 연령 및 성별 및 투여 경로에 따라서 다양할 것이다.

[0137] 실시예

[0138] 실시예 A

[0139] 중간체 A 및 중간체 B의 합성

[0140] 도식 3



[0141]

[0142] 7-브로모퀴나졸린-4(3H)-온(화합물 A.1): 2-아미노-4-브로모벤조산(15.5g)을 100mL의 포름아미드에 용해시켰고, 용액을 190℃에서 10시간 동안 가열시켰다. 반응물을 실온으로 냉각시킨 후, 여과에 의해 고체를 수집하였고, 물로 세척하였고, 건조시켜 10.5g의 7-브로모-4-퀴나졸리논을 얻었다. LCMS ESI(+) m/z: 225/227 (M+1).

[0143] 7-브로모-6-니트로퀴나졸린-4(3H)-온(화합물 A.2): 5mL의 진한 H_2SO_4 와 5mL의 발연 HNO_3 중의 7-브로모-4-퀴나졸리논(2.6g)의 용액을 100℃에서 1시간 동안 가열시켰다. 반응물은 실온으로 냉각시킨 후, 혼합물을 얼음물에

부었다. 여과에 의해 고체를 수집하였고, 추가 정제 없이 사용하였다. 7-브로모-6-니트로-4-퀴나졸리논(7-브로모-8-니트로-4-퀴나졸리논과 혼합됨), LCMS ESI(+) m/z: 270/271 (M+1).

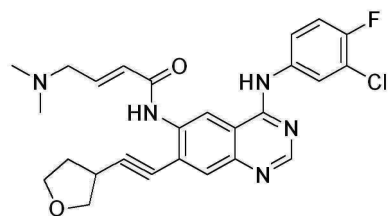
[0144] 4-클로로-7-브로모-6-니트로퀴나졸린(중간체 A): 50mL의 SOCl_2 와 1mL의 DMF 중의 7-브로모-6-니트로-4-퀴나졸리논(2.8 g)의 현탁액을 균질 용액 형성시까지 100°C 에서 가열하였다. 반응물을 감압하에 농축하여 노란 고체로서 중간체 A, 4-클로로-7-브로모-6-니트로퀴나졸린(3.0g, 91%, 4-클로로-7-브로모-8-니트로퀴나졸린과 혼합됨), LCMS ESI(+) m/z: 270/271 (M+1, LCMS 실행 동안 화합물 A.2로 역 가수분해된다)을 제공하였다.

[0145] N-(3-클로로-4-플루오로페닐)-7-브로모-6-니트로퀴나졸린-4-아민(화합물 A.3): 50 mL의 이소프로판올 중의 중간체 A(2.88g, 10mmol)와 3-클로로-4-플루오로아닐린(1.45g, 10 mmol)의 혼합물을 75°C 에서 4시간 동안 가열하였다. 혼합물을 실온에서 냉각시켰고, 여과를 통해 고체를 수집하고, 찬 에탄올로 세척하였다. 고체를 재결정화하여 순수한 N-(3-클로로-4-플루오로페닐)-7-브로모-6-니트로퀴나졸린-4-아민(2.03 g, 52%)을 제공하였다. LCMS ESI(+) m/z: 397/399/401 (M+1, Br 및 Cl의 동위원소 효과).

[0146] 7-브로모-N4-(3-클로로-4-플루오로페닐)퀴나졸린-4,6-디아민(중간체 B): 빙초산(3mL)을 EtOH:H₂O(90mL, 2:1(v/v)) 중의 A.3(588mg, 1.47mmol)의 교반 용액에 첨가하였고, 이어서 환원된 철(328mg, 5.87mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 1시간 동안 환류시켰고, 실온에서 냉각시켰다. 5M NaOH를 첨가하여 pH를 7 내지 8로 조정하고, EtOAc(100mL)로 희석하였고, 30분 동안 세차게 교반시켰고, 셀라이트를 통해 여과하였다. 검은 케이크를 따뜻한 EtOAc(2x100mL)로 세척하였고, 여액을 농축하였다. 잔여물을 H₂O(100mL)로 희석하였고, MeOH:DCM(2x100mL, 1:9(v/v))로 추출하였고, 유기층을 소금물(100mL)로 세척하였고, MgSO₄ 상에서 건조하였고, 중간체 B(1.21g, 높은 순도)로서 노란 녹색 잔여물로 농축하였다. LCMS ESI(+) m/z: 367/369/371 (M+1, Br 및 Cl의 동위원소 효과).

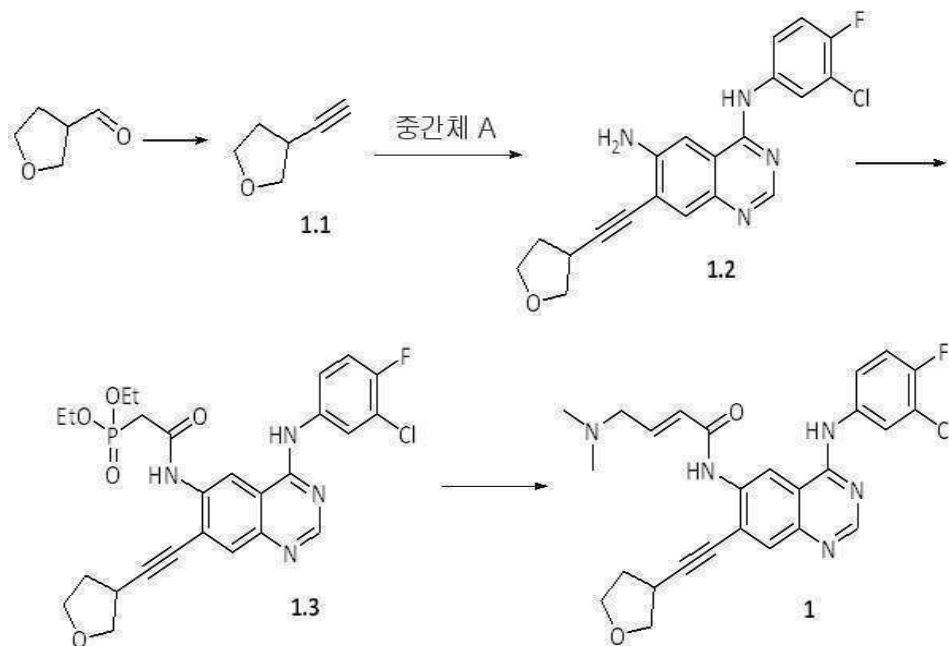
[0147] **실시예 1**

[0148] (E)-N-(4-(3-클로로-4-플루오로페닐아미노)-7-(2-(테트라히드로퓨란-3-일)에티닐)퀴나졸린-6-일)-4-(디메틸아미노)부트-2-엔아미드



[0149]

[0150] 도식 1A



[0151]

[0152] 3-에티닐-테트라히드로푸란 (화합물 1.1): 테트라히드로푸란-3-카르복스알데히드(상업적으로 이용가능한 50% 수용액, 2.5 g, 25 mmol로부터 추출됨), K_2CO_3 (5g), 및 MeOH(30mL)의 교반 용액에 Ohira-Bestmann 시약(5.0g, 26mmol)(Ohira, S. *Synth. Commun.* 1989, 19, 561-4; and S. Muller, S.; Liepold, B.; Roth, G. J.; Bestmann, J. *Synlett* 1996, 521-22 참조)을 실온에서 첨가하였다. 2시간 후에, 용액을 펜테인/에테르(1: 1, 100mL)로 희석하였고, H_2O (50mL, 2X)로 세척하였고, NaCl 포화 수용액(100mL)으로 세척하였다. 건조된 추출물($MgSO_4$)를 욕온도를 15°C 보다 아래로 유지하면서 약 5mL의 부피가 될 때까지 진공에서 농축시켰다. 이 화합물 1.1의 미정제 용액을 다음 단계에서 사용한다.

[0153]

N4-(3-클로로-4-플루오로페닐)-7-(2-(테트라히드로푸란-3-일)에티닐)퀴나졸린-4,6-디아민(화합물 1.2): 화합물 1.1의 미정제 용액에 CuI (0.38g, 0.20mmol), $Pd(dppf)Cl_2$ (70mg, 0.10mmol), 중간체 B(367mg, 1.0mmol), DMF(3mL), 및 트리에틸아민(3mL)을 첨가하였다. 반응물을 밀봉하였고, 70°C에서 14시간 동안 가열하였다. 반응물을 에틸 아세테이트(40mL)로 희석하였고, 실리카 플러그(약 25g)를 통해 여과시켰고, 에틸 아세테이트(50mL)로 세척하였다. 여액을 H_2O (50mL, 2X) 및 NaCl 포화 수용액(100mL)으로 세척하고, $MgSO_4$ 로 건조시켰고, 여과시키고, 농축시켰다. 잔여물을 디클로로메테인 중의 0-5% 메탄올로 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 연한 노란색 고체로서 원하는 생성물 1.2(358mg, 94%)을 얻었다. LCMS (ESI) m/z = 383 (M+1).

[0154]

디에틸(4-(3-클로로-4-플루오로페닐아미노)-7-(2-(테트라히드로푸란-3-일)에티닐)퀴나졸린-6-일카바모일)메틸 포스포네이트(화합물 1.3): THF (5mL) 중의 1,1-카보닐디이미다졸(CDI, 155mg, 0.96mmol) 및 디에틸포스포노아세트산(188mg, 0.96mmol)을 40°C에서 30분 동안 교반시켰다. THF(3mL) 중의 화합물 1.2(344mg, 0.90mmol)의 용액을 첨가하였고, 혼합물을 45°C에서 밤새 교반시켰다. 반응 혼합물을 EtOAc(100mL)로 희석하였고, 포화 $NaHCO_3$ (50mL), H_2O (100mL), 소금물(100mL)로 세척하였고, $MgSO_4$ 로 건조시켰고, 농축시켰다. 갈색 고체물을 에테르(20mL)에서 초음파 처리하였고, 여과하고 진공에서 건조시켰다. 결과된 회백색 생성물 1.3을 추가 정제 없이 사용하였다. LCMS (ESI) m/z = 561 (M+1).

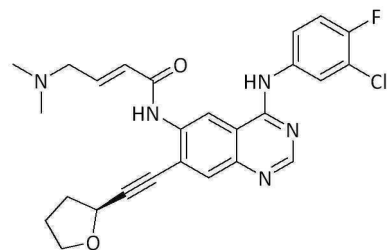
[0155]

(E)-N-(4-(3-클로로-4-플루오로페닐아미노)-7-(2-(테트라히드로푸란-3-일)에티닐)퀴나졸린-6-일)-4-(디메틸아미노)부트-2-엔아미드(실시예 1): 리튬 클로라이드 일수화물(105mg, 1.28mmol)을 EtOH(3mL) 중의 1.3(358mg, 0.64mmol)의 용액에 첨가하였고, 이어서 실온에서 KOH(45% wt, 0.5mL)를 첨가하였다. 5분 후에, H_2O (2mL) 중의 디메틸아미노아세트알데히드 아황산 수소 부가물(214mg, 1.28mmol)의 용액을 첨가하였고, 2시간 동안 교반시켰다. 물(5 mL)을 반응물에 첨가하였다. 제공을 위해, 15분 후에, 고체를 여과에 의해 수집하고, 물로 세척하고, 건조시켜 흰 고체(246 mg, 78 %)로서 실시예 1을 얻었다. 1H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 9.16 (s, 1H), 8.66 (s,

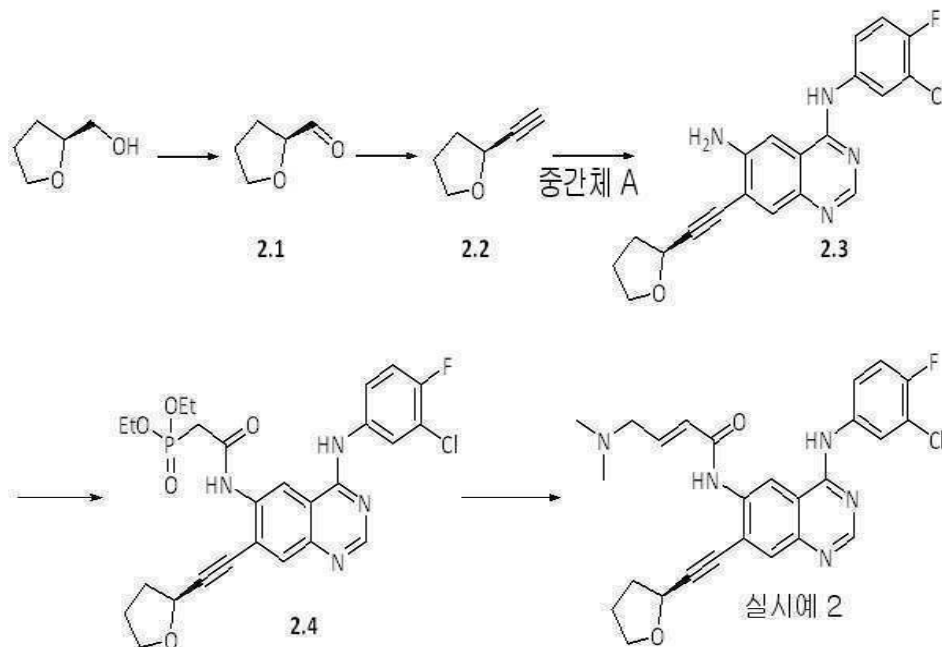
1H), 8.25 (s, 1H), 7.98 (dd, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.72 (s, 1H), 7.56 (m, 1H), 7.17 (t, 1H), 7.08 (dt, 1H), 6.24 (d, 1H), 4.10 (m, 2H), 3.97 (m, 2H), 3.41 (m, 1H), 3.21 (d, 2H), 2.44 (m, 1H), 2.35 (s, 6H), 2.23 (m, 1H). MS (ESI) m/z = 494 (M+1).

[0156] 실시예 2

[0157] (E)-N-(4-(3-클로로-4-플루오로페닐아미노)-7-(2-((S)-테트라히드로퓨란-2-일)에티닐)퀴나졸린-6-일)-4-(디메틸아미노)부트-2-엔아미드



[0159] 도식 2A



[0160] (S)-테트라히드로퓨란-2-카르복스알데히드(화합물 2.1): 0℃에서 DCM(40mL) 중의 ((S)-테트라히드로퓨란-2-일) 메탄올(1.02 g, 10 mmol) 및 분자체 4A 활성화된 분말(5g)의 용액에, PCC(2.58g, 12mmol)를 첨가하였다. 반응물을 0℃에서 2시간 동안 교반하였다. 교반 반응 혼합물을 에테르/헵테인(1:1, 100mL)을 첨가하였다. 그 후, 혼합물을 Celite®(10g)를 통해 여과시켰고, 에테르로 세척하였다. 잔여물을 ~2mL 부피가 될 때까지 농축하였다(수욕온도 15℃ 미만).

[0162] (S)-2-에티닐-테트라히드로퓨란(화합물 2.2): 미정제 화합물 2.2를 화합물 1.1의 제조와 같은 과정으로 테트라히드로퓨란-3-카르복스알데히드 대신에 (S)-테트라히드로퓨란-2-카르복스알데히드(화합물 2.1)를 사용하여 제조하였다.

[0163] N4-(3-클로로-4-플루오로페닐)-7-(2-((S)-테트라히드로퓨란-2-일)에티닐)퀴나졸린-4,6-디아민(화합물 2.3): 화합물 2.3을 화합물 1.2의 제조와 같은 과정으로 (S)-2-에티닐-테트라히드로퓨란(화합물 1.1) 대신에 (S)-2-에티닐-테트라히드로퓨란(화합물 2.2)을 사용하여 제조하였다. MS (ESI) m/z = 383 (M+1).

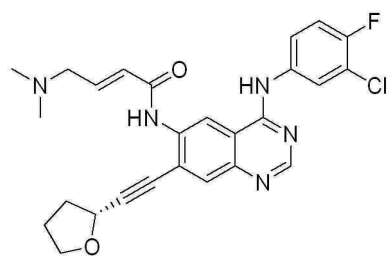
[0164] 디에틸(4-(3-클로로-4-플루오로페닐아미노)-7-(2-((S)-테트라히드로퓨란-2-일)에티닐)퀴나졸린-6-일)카바모일)메틸포스포네이트(화합물 2.4): 화합물 2.4를 화합물 1.3의 제조와 같은 과정으로 화합물 1.2 대신에 화합물 2.3을 사용하여 제조하였다. MS (ESI) m/z = 562 (M+1).

[0165] (E)-N-(4-(3-클로로-4-플루오로페닐아미노)-7-(2-((S)-테트라히드로퓨란-2-일)에티닐)퀴나졸린-6-일)-4-(디메

틸아미노)부트-2-엔아미드(실시예 2): 실시예 2의 화합물을 실시예 1에서의 제조와 같은 과정으로 화합물 1.3 대신에 화합물 2.4를 사용하여 제조하였다. ^1H NMR (CD_3OD , 300 MHz) δ 8.78 (s, 1 H), 8.55 (s, 1 H), 8.03 (s, 1 H), 7.82 (s, 1 H), 7.76 (m, 1 H), 7.28 (m, 1 H), 7.01 (m, 1 H), 6.5 (m, 1 H), 4.68 (m, 1 H), 4.01 (m, 1 H), 3.92 (m, 1H), 3.09 (m, 1 H), 2.98 (s, 1H), 2.47 (s, 6 H), 2.20 (m, 2H), 2.06 (m, 2 H). MS (ESI) m/z = 494 (M+1).

[0166] **실시예 3**

[0167] (E)-N-(4-(3-클로로-4-플루오로페닐아미노)-7-(2-((R)-테트라히드로퓨란-2-일)에티닐)퀴나졸린-6-일)-4-(디메틸아미노)부트-2-엔아미드

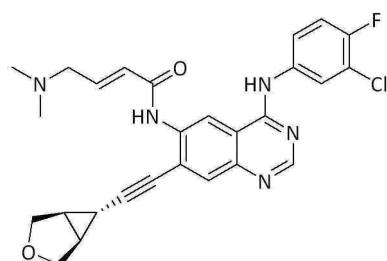


[0168]

[0169] 실시예 3의 화합물은 실시예 2에서의 제조와 같은 과정으로 합성의 시작시에 (S)-테트라히드로퓨란-2-메탄올 대신에 (R)-테트라히드로퓨란-2-메탄올을 사용하여 제조하였다. ^1H NMR (CD_3OD , 300 MHz) δ 8.78 (s, 1 H), 8.55 (s, 1 H), 8.03 (s, 1 H), 7.82 (s, 1 H), 7.76 (m, 1 H), 7.28 (m, 1 H), 7.01 (m, 1 H), 6.5 (m, 1 H), 4.68 (m, 1 H), 4.01 (m, 1 H), 3.92 (m, 1H), 3.09 (m, 1 H), 2.98 (s, 1H), 2.47 (s, 6 H), 2.20 (m, 2H), 2.06 (m, 2 H). MS (ESI) m/z = 494 (M+1).

[0170] **실시예 4**

[0171] (E)-N-(4-(3-클로로-4-플루오로페닐아미노)-7-(2-((1R,5S,6s)-3-옥사-비시클로[3.1.0]헥산-6-일)에티닐)퀴나졸린-6-일)-4-(디메틸아미노)부트-2-엔아미드

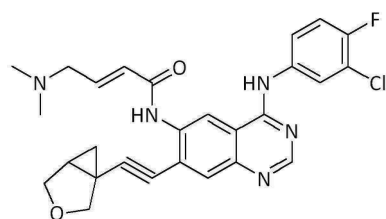


[0172]

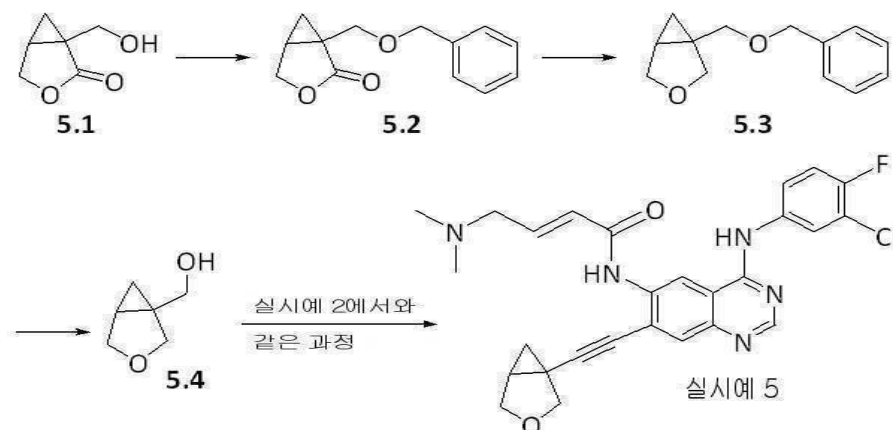
[0173] 실시예 4의 화합물을 실시예 2에서의 제조와 같은 과정으로 합성의 시작시에 (S)-테트라히드로퓨란-2-메탄올 대신에 (3-옥사-비시클로[3.1.0]헥산-6-일)메탄올(제조시 참조: US2008/249087)을 사용하여 제조하였다. ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 9.10 (s, 1H), 8.69 (s, 1H), 8.24 (s, 1H), 8.00 (m, 1H), 7.91 (s, 1H), 7.87 (s, 1H), 7.56 (m, 1H), 7.15 (m, 3H), 6.23 (d, 1H), 4.05 (d, 1H), 3.81 (d, 1H), 3.23 (d, 1H), 2.36 (s, 4H), 2.19 (d, 1H), 1.65 (s, 6H). MS (ESI) m/z = 506 (M+1).

[0174] **실시예 5**

[0175] (E)-N-(4-(3-클로로-4-플루오로페닐아미노)-7-(2-(3-옥사-비시클로[3.1.0]헥산-1-일)에티닐)퀴나졸린-6-일)-4-(디메틸아미노)부트-2-엔아미드



도식 5A



1-((벤질옥시)메틸)-3-옥사-비시클로[3.1.0]헥산-2-온(화합물 5.2): THF(200mL) 중의 1-(히드록시메틸)-3-옥사-비시클로[3.1.0]헥산-2-온(화합물 5.1, 12.8g, 100mmol)(제조: Ostrowski, Tomasz; et al. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2006, 14 (10), p. 3535-3542)의 0℃ 용액에 수소화나트륨(광물유 중의 60%, 4.8g)을 균등한 5개 부분으로 첨가하였다. 10분 후에, 벤질 브로마이드(20.5g, 120mmol)를 첨가하였다. 반응물을 주위 온도에서 12시간 동안 교반하였고, 그 후 0℃로 냉각하였다. 포화된 NH₄Cl 수용액(50 mL)을 반응물에 첨가하였고, 혼합물을 에테르(300mL) 및 물(50mL) 사이에서 분배하였다. 유기층을 소금물(50 mL)로 추출하였고, MgSO₄에서 건조시켰고, 여과하고 진공에서 농축하였다. 잔여물을 헥산 중의 0-30% 에틸 아세테이트로 용리하는 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 무색 액체(20.1g, 92%)로서 생성물 5.2를 얻었다. MS (ESI) m/z = 219 (M+1).

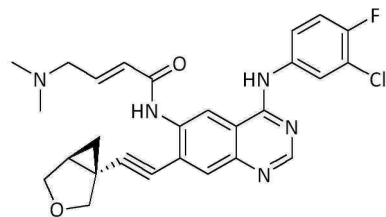
1-((벤질옥시)메틸)-3-옥사-비시클로[3.1.0]헥산(화합물 5.3): 이 제조에 대한 참고문헌: Sakai, N., et al. Synthesis, 2008 p. 3533 - 3536. 클로로포름(200mL) 중의 화합물 5.2(10.9g, 50mmol), 인듐 브로마이드(InBr₃, 0.35g)의 용액에 트리에틸실레인(23.2g, 200mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 65℃에서 16시간 동안 가열하였다. 반응 혼합물을 실온에서 냉각하였고, 농축하였다. 그 후, 잔여물을 헥산 중의 0-20% 에틸 아세테이트로 용리하는 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 무색 액체(8.9g, 87%)로서 생성물 5.3을 얻었다. MS (ESI) m/z = 205 (M+1).

3-옥사-비시클로[3.1.0]헥산-1-일)메탄올(화합물 5.4): 메탄올 중의 화합물 5.3(4.1g, 20mmol) 및 Pd-C(5%, 500mg)의 혼합물을 수소로 플러싱 하고, 수소 별론 하에 4시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 Celite®을 통해 여과하였고, 에테르로 세척하였고, 조심스럽게 농축하여(휘발성 생성물) 원하는 생성물 5.4를 얻고, 이것을 추가 정제 없이 사용한다.

(E)-N-(4-(3-클로로-4-플루오로페닐아미노)-7-(2-(3-옥사-비시클로[3.1.0]헥산-1-일)에티닐)퀴나졸린-6-일)-4-(디메틸아미노)부트-2-엔아미드(실시예 5): 실시예 5의 화합물을 실시예 2에서의 제조와 같은 과정으로 (S)-테트라히드로퓨란-2-메탄올 대신에 3-옥사-비시클로[3.1.0]헥산-1-일)메탄올 (화합물 5.4)을 사용하여 제조하였다. ¹HNMR (DMSO-d₆, 300 MHz) δ 9.96 (s, 1H), 9.86 (s, 1 H), 8.68 (s, 1H), 8.57 (s, 1H), 8.13 (dd, 1 H), 7.99 (m, 2H), 7.43 (t, 1H), 6.80 (tt, 1 H), 6.41 (d, 1 H), 3.89 (d, 1 H), 3.76 (s, 2 H), 3.70 (d, 1 H), 3.09 (d, 1H), 2.19 (s, 6 H), 1.21 (m, 4H), 0.95 (m, 1H). MS (ESI) m/z = 506 (M+1).

실시예 6

(E)-N-(4-(3-클로로-4-플루오로페닐아미노)-7-(2-((1R,5S)-3-옥사-비시클로[3.1.0]헥산-1-일)에티닐)퀴나졸린-

6-일)-4-(디메틸아미노)부트-2-엔아미드

[0185]

[0186]

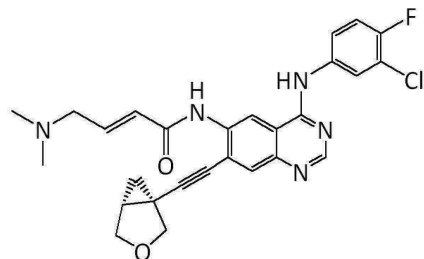
실시예 6의 화합물을 실시예 5에서의 제조와 같은 과정으로 1-(히드록시메틸)-3-옥사-비시클로[3.1.0]헥산-2-온(화합물 5.1) 대신에 (1R)-1-(히드록시메틸)-3-옥사-비시클로[3.1.0]헥산-2-온(제조: Moon, H.R.; et al., *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids* (2007), 26:975-978)을 사용하여 제조하였다. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ 9.96 (s, 1H), 9.86 (s, 1H), 8.68 (s, 1H), 8.57 (s, 1H), 8.13 (dd, 1H), 7.99 (m, 2H), 7.43 (t, 1H), 6.80 (tt, 1H), 6.41 (d, 1H), 3.89 (d, 1H), 3.76 (s, 2H), 3.70 (d, 1H), 3.09 (d, 1H), 2.19 (s, 6H), 1.21 (m, 4H), 0.95 (m, 1H). MS (ESI) m/z = 506 (M+1).

[0187]

실시예 7

[0188]

(E)-N-(4-(3-클로로-4-플루오로페닐아미노)-7-(2-((1S,5R)-3-옥사-비시클로[3.1.0]헥산-1-일)에틸)퀴나졸린-6-일)-4-(디메틸아미노)부트-2-엔아미드



[0189]

[0190]

실시예 7의 화합물을 실시예 5에서의 제조와 같은 과정으로 1-(히드록시메틸)-3-옥사-비시클로[3.1.0]헥산-2-온(화합물 5.1) 대신에 (1S)-1-(히드록시메틸)-3-옥사-비시클로[3.1.0]헥산-2-온(제조: Moon, H.R.; et al., *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids* (2007), 26:975-978)을 사용하여 제조하였다. ^1H NMR (CD_3OD , 300 MHz) δ 8.85 (s, 1H), 8.53 (s, 1H), 8.05 (s, 1H), 7.80 (s, 1H), 7.75 (m, 1H), 7.25 (m, 1H), 7.0 (m, 2H), 6.60 (d, 1H), 6.40 (d, 1H), 3.95 (d, 1H), 3.86 (m, 1H), 3.58 (m, 2H), 3.21 (m, 2H), 2.34 (s, 6H), 1.20 (m, 1H), 1.1 (m, 1H), 0.95 (m, 1H). LCMS (ESI) m/z = 506 (M+1).

[0191]

실시예 8

[0192]

EGFR에 대한 키나아제 분석

[0193]

본 발명의 화합물이 EGFR 키나아제 활성을 조절하는 정도를 시간-분해 FRET (TR-FRET) 분석(LanthaScreen® kinase activity assay, Invitrogen 제)을 사용하여 결정할 수 있다. 분석은 EGFR 키나아제(PV3872, Invitrogen), Tb-Py20 항체 (PV3552, Invitrogen) 및 플루오레세인-폴리 GT (PV3610, Invitrogen)를 사용한다.

[0194]

분석을 Black 384-웰 플레이트(Corning으로부터 이용가능)에서 수행한다. EGFR 키나아제를 저장 용액으로서 0.4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 TR-FRET 희석 버퍼(PV3189, Invitrogen)에 희석하고 그 다음에 2-배 순차 희석하였다. 1 mM ATP의 첨가로 반응을 시작하였고, 반응물을 실온에서 1시간 반응 동안 인큐베이션하였다. 제조한 10 μL 의 Tb-항체(Invitrogen제) + EDTA (Invitrogen제) 용액을 분석 플레이트의 각 웰에 첨가하였고, 간단히 혼합하였고, 30 분 동안 인큐베이션하였다. 신호를 M5 마이크로플레이트 판독기(Ex = 332nm, Em = 488nm 및 518nm)를 사용하여 모니터링한다. 각 화합물을 두벌 웰로 시험하였다. 화합물이 없는 EGFR을 대조군으로서 사용하였다. 스타우로스 포린(Sigma으로부터 이용가능)을 양성 대조군 화합물로서 사용하였다. 억제 EGFR 활성의 백분율로서 계산하였다(화합물 없음). 실시예 1 내지 7에서 각 화합물은 100nM에서 50% 초과 억제제를 보여주었다.

[0195]

실시예 9

[0196] ErbB2에 대한 키나아제 분석

[0197] EGFR 키나아제 단백질 대신 ErbB2 키나아제 단백질을 사용하는 것을 제외하고는, 분석을 상기 설명한 바와 같은 ErbB2에 대한 키나아제 분석과 유사하게 수행한다. 실시예 1 내지 7에서 각 화합물은 100nM에서 50% 초과 억제제를 보여준다.

[0198] 실시예 10

[0199] BT474에 대한 세포 증식 억제 분석

[0200] 인간 유방암 BT474 세포를 습기가 있는 10% CO₂, 90% 에어 인큐베이터에서 37°C에서 10% 소태아 혈청(FBS)을 함유하는 낮은 글루코오스 DMEM (Life Technologies 12320-032)에서 배양하였다. 세포를 트립신/EDTA를 사용하여 수확하였고, 혈구계(haemocytometer)를 사용하여 계수하였고, 96-웰 깨끗한 조직 배양 플레이트에서 10000 세포/웰을 플레이트하였다. 세포를 37°C에서 24시간 동안 인큐베이션하여 부착시켰다. 96-웰 플레이트에서 각 화합물의 일련의 농도(30uM 내지 0.16nM 범위, 5-배 희석)로, 72시간 동안 인큐베이션 하였다. 각 농도를 3별 웰 중로 시험하였다. 세포 증식 분석 동안, BT474 세포를 5% FBS, 50ug/ml 겐타마이신, 및 0.3% v/v DMSO를 함유하는 낮은-글루코오스 DMEM에서 배양하였다. 배양 배지를 흡인을 통해 제거하였고, 세포 생존율을 CCK-8 세포 증식 키트를 사용하여 검출하였다. 실시예 1 내지 7에서 각 화합물에 대하여 측정된 IC₅₀ 값은 100 nM 미만이었다.

[0201] 실시예 11

[0202] NCI-N87 세포의 항-확산 분석

[0203] 항-증식 분석을 3별로 수행하였다. 3000 세포/웰의 N87 세포를 96-웰 플레이트에 시딩하였고, 세포를 24 시간 동안 37 °C에서 점착되도록 인큐베이션 하였다. 세포 증식 분석을 위해, N87 세포를 0.3% v/v DMSO를 함유하는 충분한 세포 배양 배지에서 배양하였다. 일련의 농도의 시험된 화합물(농도 범위: 30uM 내지 0.16nM, 5-배 희석)을 96-웰 플레이트에 시딩하였다. 배양을 72 시간 동안 지속시켰다. 그 후, 배양 배지를 제거하였고, 세포 생존율을 제조업자가 제공한 설명서에서 설명한 대로 CCK-8 세포 증식 키트를 사용하여 측정하였다. 분율 성장 억제제의 로그를 약물 농도의 로그에 대해 도시하였고, IC₅₀ 값을 결과된 회귀 곡선 맞춤으로부터 내삽하였다. 화합물 NT113의 IC₅₀ 값은 100nM 미만이었다.

[0204] 실시예 12

[0205] NCI-H1975 세포의 항-증식 분석

[0206] 항-증식 분석을 3별로 수행하였다. 3000 세포/웰의 N1975 세포를 96-웰 플레이트(배지: RPMI 1640, 5% FBS, 2mM L-글루타민)에 시딩하였다. 24 시간 후에, 플레이트에서 배지의 제거에 이어서 배지 중의 일련의 희석의 화합물을 웰에 첨가하였다. 3일 후에, 세포를 CCK-8 키트로 처리하였고, 추가 4시간 동안 37 °C에서 배양하였다. 플레이트를 450nm에서 판독하였다. 분율 성장 억제제의 로그를 약물 농도의 로그에 대해 도시하였고, IC₅₀ 값을 결과된 회귀 곡선 맞춤으로부터 내삽하였다. 화합물 NT113에 대해 측정된 IC₅₀ 값은 1000nM 미만이었다.

[0207] EGFR 및 ErbB2(HER2) 키나아제 억제, BT474, NCI-N87 및 NCI-H1975 세포 증식 억제제의 생물학적 활성을 표 1에 열거하였다.

표 1

[0208]

실시예 No.	키나아제 억제 IC ₅₀ (nM)		세포 증식 억제 IC ₅₀ (nM)		
	EGFR	ErbB2	BT474	NCI-N87	NCI-H1975
1	++	++	++		
2	++	++	++		
3	++	++	++		
4	++	++	++	++	+
5	++	++	++		
6	++	++	++		
7	++	++	++		

기호: "++"는 100nM에서 >50% 억제, 또는 IC₅₀ < 100nM를 나타내고, "+"는 100nM에서 20% 내지 50% 사이 억제, 또는 100 내지 1000nM의 IC₅₀를 나타낸다.

- [0209] **실시예 13**
- [0210] NCI-N87 이종이식편 마우스 모델에서 생체 내 효험
- [0211] NCI-N87 셀라인을 ATCC (American Type Culture Collection)로부터 구입하였고, RPMI1640 +10% FBS+1% P/S 항 생물질에서 배양하였다.
- [0212] Balb/c 누드 마우스, 수컷, 6-8 주령, 18 ± 2 g(공급처: Shanghai SLAC Laboratory Animal Co. Ltd.)을 시험에 사용하였다. 구입한 마우스를 사용하기 전 7일 동안 환경에 적응시켰고, 22-25 °C, 습도 40-70%, 및 형광 불빛 12시간 (8:00-20:00)과 12 시간 어둠의 빛 사이클에서 수용하였다. 마우스를 음식과 물에 자유롭게 접근하도록 하였다.
- [0213] 암 세포(NCI-N87)를 누드 마우스(우측 옆구리)에 0.1ml PBS 중의 5.0×10^6 세포로 피하에 이식하였다. 종양 크기가 200(150-200) mm³의 부피에 도달하였을 때, NCI-N87 세포로부터 유래된 종양을 지니는 누드 마우스를 무작위로 그룹을 정하고(10마리 마우스/그룹), 한 그룹은 비히클로서 제공하고, 한 그룹은 라파티닙 디토실레이트 1 수화물(80mg/kg, 라파티닙 자유염기, 염 아님, 경구로 하루 두 번)로 투여하였다. 다른 두 그룹은 NT113(또한, KU113으로도 언급됨)을 (15 및 30 mg/kg, p.o. q.d) 투여하였다. 투여 기간은 4주 동안 지속되었다.
- [0214] 마우스의 외형 및 행동, 및 병적 상태 및/또는 치사율의 징후를 하루에 두 번 모니터하였다. 종양의 부피를 한 주에 두 번 측정하였고, 체중을 전체 연구 중 종양 부피 측정 직전에 측정하였다.
- [0215] 실험(4주 동안 화합물 투여) 마지막에 모든 종양을 지니는 마우스를 마취 상태에서 경추 탈골로 희생시켰다. 종양 덩어리를 잘라내고, 무게를 측정했다.
- [0216] 종양 크기를 캘리퍼스로 2차원으로 매주 두 번 측정하였고, 부피를 식: $V = 1/2 \times a \times b^2$ (여기서, a 및 b는 장경 및 단경이다.)을 사용하여 mm³으로 표시하였다. 종양 덩어리를 수집 후 실험 마지막에 무게를 측정하였다.
- [0217] $V = 1/2 \times a \times b^2$ (a, b는 각각 최대 지름 및 최소 지름)
- [0218] RTV(상대 종양 부피) = V_t/V_o
- [0219] V_o 는 실험 물품의 초기 투여시 종양 부피이다.
- [0220] V_t 는 실험 물품의 투여 후에 매 측정일의 종양 부피이다.
- [0221] $T/C(\%) = TRTV/CRTV \times 100\%$
- [0222] TRTV: 시험 물품-치료 그룹의 RTV; CRTV: 대조군의 RTV
- [0223] 억제율(%) = (대조군의 평균 종양 부피 - 시험 물품 치료 그룹의 평균 암 부피) / 대조군의 평균 종양 부피 x 100%
- [0224] 종양을 지니는 마우스를 다른 용량들의 KU113(15mg/kg, 30mg/kg, po, qd) 및 라파티닙 KUA-1, 80mg/kg, p.o., bid, 7 일/주로 4주 동안 처치하였다. 처치 후 7일째에, RTV T/C KU113(15mg/kg, 30mg/kg) 그룹은 30% 미만이었고, 종양 성장 억제는 70%보다 높았으나, RTV T/C는 31%이었고, 종양 성장 억제율 라파티닙 그룹에서 69%이었다. 종양 무게에 관한 같은 결과가 또한 관찰되었다. 처치 후 28일째에, 모든 종양을 지니는 마우스를 희생시켰고, 모든 종양 덩어리를 수집하여 무게를 측정하였다.
- [0225] 라파티닙(KUA-1, GlaxoSmithKline), EGFR 및 ErbB2의 작은-분자 키나아제 억제제는 제28일에(연구의 마지막 날) 92.9%의 종양 억제율을 가져왔다.
- [0226] 30mg/kg, p.o., qd, 7일/주의 KU113 치료는 NCI-N87 이종이식편 종양 모델에서 체중 감소를 가져왔다. 30mg/kg, p.o., qd, 7 일/주로 투약 후 제3일에 KU113 처치된 그룹에서 체중이 감소하기 시작하였고, 제11일에 최대 체중 감소에 도달할 때까지 계속 감소되었다. 높은 용량(30mg/kg)의 KU113의 투여는 중단하였고, 다시 재개하지 않았다. 체중은 제28일에 회복되었다. 15mg/kg, po, qd 투여 그룹은 기존 부작용 없이 지속되었다. 도 1 참조.

- [0227] 본원에서 사용된, 용어 "po", "p.o." 또는 "PO"는 용어 "qd" 또는 "q.d."와 조합되어 사용되었고, 하루에 한번 경구 투여를 의미한다.
- [0228] **실시예 14**
- [0229] NCI-H1975 이종이식편 마우스 모델에서 생체내 표현
- [0230] H1975 세포를 ATCC에서 구입하였고, RPMI1640 +10% FBS+1% P/S 항생물질에서 배양하였다. Balb/c 누드 마우스, 암컷, 6-8주령, 18 + 2g를 Shanghai Laboratory Animal Co. Ltd에서 구입하였다. 구입한 마우스를 사용하기 전 7일 동안 환경에 적응시켰고, 22-25℃, 습도 40-70%, 및 형광 불빛 12시간(8:00-20:00)과 12 시간 어둠에서 수용하였다.
- [0231] 조제물: 엘로티닙, 아파티닙 (BIBW2992), 및 KU113를 2% DMA 및 98% (탈염수 중의 40%HP-β-CD)에 용해시켰다.
- [0232] 암 세포(H1975)를 증식시키고, 누드 마우스(우측 옆구리)에 PBS 중의 5.0×10^6 세포로 및 0.1ml/마우스의 총 부피로 매트릭젤(matrigel)로 1:1 이식하였다. 종양이 200(150-200)mm³의 부피가 될 때, H1975 세포에서 유도된 종양을 지니는 누드 마우스를 몇 개의 그룹으로 무작위로 정하였고(10마리 마우스/그룹), 그룹 1은 비히클로서 제공하고, 그룹 2 내지 5는 각각 아파티닙 20mg/kg(p.o. q.d.), 화합물 KU113 10mg/kg(po, qd), 화합물 KU113 20mg/kg(po, qd) 및 엘로티닙 100mg/kg(자유 염기, p.o. q.d.)을 투여하였다. 동물을 4주 후에 희생시켰다.
- [0233] 마우스의 외형 및 행동, 및 병적 상태 및/또는 치사율의 징후를 하루에 두 번 모니터하였다. 종양 부피를 한 주에 두 번 측정하였고, 체중을 전체 연구 중 종양 부피 측정 직전에 측정하였다.
- [0234] 실험(4주 동안 화합물 투여) 마지막에 모든 종양을 지니는 마우스를 마취 상태에서 경추 탈골로 희생시켰다. 종양 덩어리를 잘라내고, 무게를 측정했다.
- [0235] 종양 크기를 캘리퍼스 2차원으로 매주 두 번 측정하였고, 부피를 식: $V = 1/2 \times a \times b^2$ (여기서 a 및 b는 각각 장경 및 단경이다)을 사용하여 mm³으로 표시하였다. 종양 덩어리를 수집 후 실험 마지막에 무게를 측정하였다.
- [0236] $V = 1/2 \times a \times b^2$ (a, b는 최대 지름 및 최소 지름)
- [0237] $RTV(\text{상대 종양 부피}) = V_t / V_o$
- [0238] V_o 는 실험 물품이 초기 투여될 때의 종양 부피이다.
- [0239] V_t 는 실험 물품이 투여된 후에 매 측정일의 종양 부피이다.
- [0240] $T/C(\%) = TRTV / CRTV \times 100\%$
- [0241] TRTV: 시험 물품-치료 그룹의 RTV ; CRTV: 대조군의 RTV
- [0242] 억제율(%)=(대조군의 평균 종양 부피 - 시험 물품 치료 그룹의 평균 암 부피) / 대조군의 평균 종양 부피 x 100%
- [0243] 유의한 효과: $T/C \% < 40\%$, $P < 0.05$
- [0244] 비-유의 효과: $T/C \% > 40\%$.
- [0245] 도 2에서 도시한 바와 같이, 이 모델에서 화합물 KU113은 엘로티닙 보다 상당히 더 효과적이고 아파티닙과는 비교할만하다.
- [0246] **실시예 15**
- [0247] 두개 내 뇌 종양 이종이식 연구
- [0248] 종양 세포 제조.
- [0249] 인간 뇌 종양 이종이식편에 대한 세포는 무흉선 마우스에서 피하 성장으로서 증식시킨 종양으로부터 또는 세포 배양물로부터 공급된다. 두개 내 구획으로 이동하기 위한 피하 종양으로부터의 세포를 준비하기 위해, 절개된 옆구리 종양을 배지 디쉬에 위치시켰고, 여기서 조직을 초기에 메스로 최초로 갈았고, 그 후 세포 집합 현탁물을 만들기 위해 반복적인 피펫팅으로 기계적으로 붕괴시켰다. 그 다음 세포 집합 현탁물을 70 μM 나일론 메시 필터를 통과시켜 단일 세포 현탁물을 만들었다. 세포 현탁물을 세포 집합 현탁물 4℃에서 10분 동안 1000rpm에

서 원심분리하였고, 상층액을 흡입한 수 적절한 부피의 혈청 없는 배지에 세포 펠릿을 재현탁하여 최종 작업 농도를 얻었다. 두개 내 이식을 위한 확립된 셀라인을 준비하기 위해, 단일층을 트립신화하거나 또는 신경구 현탁 배양물을 수집함으로써 세포를 수집하였고, 그 후 원심 분리하였고, 위에서와 같이 세포를 재현탁하였다. 주입된 세포 수는 신경해부학상 주입 위치에 따라 가변적이다. 천막위 주입에 대해, 혈청 없는 배지(DMEM) 3 μ L에 3-5 x 10⁵ 세포를 주입하고, 뇌간 주입에 대해, 0.5 μ L에 5 x 10⁴ 세포를 주입한다.

- [0250] 종양 세포 이식
- [0251] 수술 영역을 2% 클로르헥시딘 용액으로 모든 표면에 분사함으로써 준비하였다. 소독약을 사용한 후에, 다음 공급물들을 수술 영역에 위치시켰다.
- [0252] - 마우스 체온을 유지시키기 위한 가열 패드
- [0253] - 두 개의 작은 페트리 접시, 3% 과산화수소를 함유한 것 및 2% 클로르헥시딘을 함유하는 것
- [0254] - 멸균 거즈 및 면봉
- [0255] - 멸균 일회용 메스, 및
- [0256] - 오토클래빙한 외과용 스테플러
- [0257] 마취를 위해, 케타민-자일라진 혼합물을 사용했다. 마우스를 마취한 후에는, 클로르헥시딘 용액에 담긴 멸균 거즈 조각으로 몇 차례 문질러 두피를 준비하였다. 과정 동안에 습기를 유지하도록 안연고를 발랐다. 멸균 메스를 사용하여, 약 1cm길이의 두정후두골에서 시상면 절개를 하였다. 그 후, 노출된 두개골 표면을 3% 과산화수소 용액에 적신 면봉을 사용하여 씻었다. 이 이점에서 브레그마(bregma)가 명백해져야 한다. 종양세포 주입 전에, 멸균 25 게이지의 예리한 바늘을 사용하여 브레그마의 오른쪽 2mm에서 관상 봉합 앞쪽 1mm에서 두개골을 뚫었고, 이로써 종양 세포의 주입을 위한 개구부를 만들었다. 세포 현탁물의 바람직한 양을 공기 방울이 생기지 않도록 주의하여 주사기에 로딩하였다. 주사기 외부에 어떤 부착 세포가 존재하지 않도록 알콜 면봉으로 닦아내었고, 이 과정은 두개 밖의 종양의 생성 및 성장을 방지한다. 적절한 주입 깊이가 달성 되도록 P20 피펫맨 팁의 뾰족한 끝을 메스로 3mm 잘라내었다. 팁의 이 섹션은 주사기와 들어맞고, 주입 깊이를 제한하는 역할을 하고, 주사기 바늘의 팁이 두개골 아래로부터 3mm 인 것을 보장할 것이다. 주사기를 두개골에 수직으로 앞서 만든 구멍에 위치시키고, 세포 현탁물을 천천히 주입시킨다(3 μ L 현탁물을 1분의 기간에 걸쳐 주입한다). 주입이 완료된 후에, 1 분 동안 바늘을 그 자리에 둔 다음, 천천히 뽑고, 이 단계는 종양 세포 환류를 감소시킨다. 두개골을 3% 과산화수소로 닦고, 멸균 건조 면봉을 사용하여 건조시켰다. 멸균 뼈 왁스를 구멍에 발랐다. 검자를 사용하여, 두피를 두개골 및 스테이플 위로 끌어당겨 폐쇄시켰다. 최적의 치료를 위해, 두피를 두피의 각 측면의 피부에 서로(밀면 대 밀면으로) 스테이플시켰다. 클로르헥시딘 용액을 사용하여 스테이플 시킨 두피를 씻어야하고, 그 후 수술 후 통증 경감을 위해 부프레노르핀을 피하 주사로 투여하였다. 수술 후 걸터다닐 수 있고 정상 활동을 유지할 때까지 모든 마우스를 관찰하였다. 회복 시간은 보통 약 30 분 정도이다.
- [0258] 약물 투여 및 분석
- [0259] 치료 그룹은 치료에 대한 종양 반응, 또는 그것의 결핍에 관한 결론의 통계적 확실성을 높이기 위해 적어도 8개의 동물을 포함시켰다. 문헌에 기초하여 정해진 일수 후에, 시험 화합물의 3가지 용량, 아파티닙의 한가지 용량(20mg/kg), BCNU의 한가지 용량(20mg/제곱미터)을 위관영양법으로 경구 투여하였다. 조절된 비히클 그룹을 또한 유지하였다. 생존률 분석을 위하여, Kaplan-Meier 평가기를 사용하였고, 생존 곡선을 생성하였고, 생존률 중앙값을 결정하였다. 생존률 곡선 사이의 차이를 로그-순위 시험을 사용하여 비교하였다.
- [0260] **실시예 16**
- [0261] 약동학 연구
- [0262] 샘플 제조 : 정맥 또는 경구 투여를 위해 2 mg/mL 농도가 되도록 시험 물품 각각을 10% DMSO 및 90%의 (탈 이온수 물 중의 40%HP- β -CD)에 용해시켰다.
- [0263] LC-MS/MS에 의해 Analytical Sciences Division of the Testing Facility에 의해 방법 진행 및 혈장 샘플 분석을 수행하였다. 분석 내 변동(날짜 변동 내에서)에 대한 품질 제어 샘플을 사용하여 분석 결과를 확인하였다. 품질 제어 샘플의 66% 보다 높은 정확도는 알려진 값의 80 - 120% 사이이었다.
- [0264] 각 그룹은 3마리 수컷 Sprague Dawley 래트(7-8 주령, 체중은 200-300g)로 구성되었다. 시험 물품을 꼬리 정맥

주입을 통해 또는 위장관 영양법으로 1회 볼루스 주입으로 투여하였다.

[0265] 적절한 시점에 EDTA-K3 항 응고제를 함유하는 튜브에 혼합 가스($\text{CO}_2 : \text{O}_2 = 7:3$)를 사용하여 마취 후에 안와 채혈(retro-orbital puncture)로 혈액 샘플(약 $300 \mu\text{l}$)을 수집하였다. 10개의 시점(그룹 1 내지 2): 투약 전과, 투약 후 5분, 15분, 30분, 1시간, 2시간, 4시간, 6시간, 8시간 및 24시간.

[0266] 분석 : PK 혈액 샘플을 약 8000rpm에서 6분 동안 $2-8^\circ\text{C}$ 에서 원심분리하였고, 결과된 혈장을 분리하였고 -80°C 에서 냉동 보관하였다(분리에 이어서, 혈장을 -80°C 냉동기에 저장하기 전에 초기에는 얼음에 놓는다.). 모든 혈장 샘플에 연구 번호, 동물 번호, 매트릭스, 수집 시점 및 수집 일자와 같은 상세 정보를 라벨링하였다.

[0267] 곡선 아래 면적($\text{AUC}_{(0-t)}$ 및 $\text{AUC}_{(0-\infty)}$), 제거 반감기($T_{1/2}$), 최대 혈장 농도(C_{\max}), 최대 혈장 농도 도달 시간(T_{\max}), 클리어런스(CL), 및 분포 부피(V_z)를 포함하는 파라미터 표준 세트를 Study Director에 의해 FDA 보증된 약동학 프로그램 WinNonlin Professional v5.2(Pharsight, USA)의 비구획 분석 모듈을 사용하여 계산한다. 추가로, 생체 이용률을 다음 식을 사용하여 추정하였다.

$$F = \frac{\text{AUC}_{(0-\infty)(\text{PO})} \times \text{용량}_{\text{IV}}}{\text{AUC}_{(0-\infty)(\text{IV})} \times \text{용량}_{(\text{PO})}} \times 100\%$$

[0268]

약어:

[0270] $\text{AUC}_{(0-t)}$ 투여 시간부터 마지막 측정 농도까지의 곡선 아래 면적

[0271] $\text{AUC}_{(0-\infty)}$ 마지막 관찰된 농도에 기초하여 무한대로 외삽된 투여 시간으로부터의 곡선 아래 면적

[0272] CL 체내 총 클리어런스, $\text{CL} = \text{용량} / \text{AUC}$

[0273] C_{\max} T_{\max} 에서 일어나는 최대 관찰된 농도

[0274] F 생체 이용률

[0275] $\text{MRT}_{(0-\infty)}$ 투여 시간으로부터 무한대까지 평균 체류 시간

[0276] T_{\max} 최대 관찰된 농도의 시간

[0277] $T_{1/2}$ 최종 반감기 = $\ln(2) / \lambda_z$

[0278] V_z 최종 상에 기초한 분포의 부피

[0279] 뇌 농도: 세 마리의 래트가 단지 뇌 수집(2시간)된다. 세 마리의 래트가 단지 뇌 수집(4시간)된다. 나머지 세 마리의 래트는 혈장(9시간 시점) 및 뇌 수집(24시간)된다.

[0280] 뇌 수집 및 조직 가공: 혈액 수집 후, 뇌를 먼저 pH 7.4에서 빙냉 0.1M 포스페이트 완충된 식염수(PBS) ~150mL로 심장 내로 관류하였다. 이후에, 뇌의 무게를 재기 전에 경뇌를 제거하였다. 뇌를 작은 조각으로 절개하였고, ~ 10mL PBS로 두 번 행궜고, 드라이 아이스 상에서 순간 냉동하였고, 분석 전에 -80°C 에 저장하였다.

[0281] 조직 가공 전에, 래트 뇌를 녹였다. 분석 표준의 준비를 위해, 구입한 냉동 래트 뇌(Pelfreez제)를 유사하게 녹였고, 절개하였고, PBS로 행궜고, 100 μL 의 화합물 A 표준 용액(아세토니트릴 중에 500ng/mL 및 1, 2, 5, 10, 및 50 $\mu\text{g/mL}$)을 조직에 직접 고정시켰다. 화합물 A를 투여 및 고정시킨 뇌는 하기 설명된 같은 가공 과정을 경험하였다.

[0282] 간단히 말해서, 2 mL의 물을 균질화 전에 각 뇌에 첨가하였다. 뇌를 각각 대략 15초인, 2 내지 3 세션으로 균질화하였다. 균질기의 기계적 프로브를 각 샘플 이후에 물, 70% 에탄올, 및 에틸 아세테이트에서 세척하였다. 결과의 뇌 균질물을 에틸 아세테이트로 세 번 추출하였고(총 14mL), 각 추출 후에 수상 및 유기상을 분리하기 위해 원심분리하였다. 뇌마다, 풀링된 유기상을 40°C 에서 질소의 흐름 하에 증발시켰고 잔류물을 4mL의 이동상 B로 복원하였다. 4mL 용액 중의 화합물 A가 고정된 뇌 샘플은 12.5, 25, 50, 125, 250, 1250 ng/mL의 최종 농도를 가졌다. 복원 샘플을 60°C 에서 ~15분 동안 배양하였고 10분 동안 보텍스하여 분해물질을 완전히

용해시켰다. 샘플을 원심분리하였고, LC/MS/MS 분석 전에 이동상 B(이하에 나옴)로 추가로 희석하였다. 복원된 샘플의 20 μ L를 1.5mL 이동상 B로 희석하였다. 상층액을 분석을 위해 LC/MS/MS 시스템으로 옮기고 주입한다.

[0283] 뇌 농도와 함께 화합물 KU113의 래트 약동학(PK)(실시예 4)을 도 3에 나타낸다.

화합물 KU113에 대하여 측정된 래트 PK 파라미터

혈장 PK 파라미터	C _{max} ng/mL	T _{1/2} hr	CL L/h/Kg	V _z L/Kg	AUC _{0-t} ng*hr/mL	AUC _{0-∞} ng*hr/mL	F %
IV 1mg/Kg	44.4	7.48	6.31	20.5	135	158	100
PO 5mg/Kg	39.3	14.86	9.00	58.1	542	555	70.1

주: 경구 생체 이용률의 추정치는 마지막 세개의 관찰 데이터 점에서 PO 데이터의 평평성 때문에 높은 불확실성 가진다. 비교로서, AUC(0-∞) 대신에 AUC(0-t)를 사용하는 경우, 생물학적 이용률은 80.5%가 된다.

[0284]

화합물 KU11에 대해 측정된 뇌 농도

P.O. 5 mg/Kg						
시간(hr)	농도(ng/g)					B/P 비율
	No.1	No.2	No.3	평균	SD	
2	118	156	194	156	37.8	4.0
4	127	209	185	173	42.0	4.4
24	26.0	11.0	15.8	17.6	7.7	8.7

[0285]

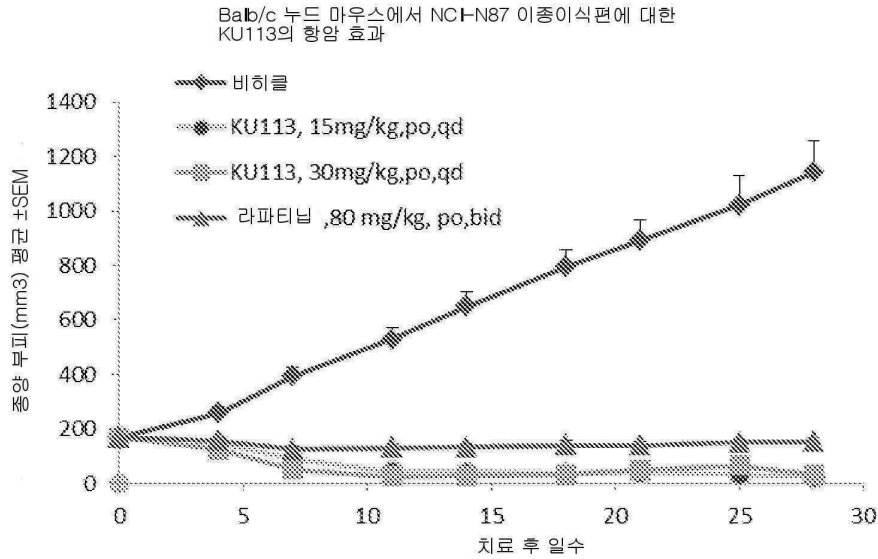
[0286] 화합물 KU113는 경구 투여로 양호한 경구 생체 이용률 및 뇌 침투를 나타낸 반면에, 구조적으로 비슷한 화합물인 아파티닙(bibw-2992)은 낮은 PK(도 4)와 정해진 시점들에서 뇌 농도를 검출할 수 없었다. 뇌/혈장 농도 비율 < 0.05 (뇌 농도 < 1ng/g).

[0287] 앞서 언급한 발명이 이해의 명확함의 목적을 위해 예시 및 실시예의 방법으로써 일부 상세하게 설명되지만, 특정 부수적 변화 및 변형이 상기 가르침에 비추어 실행될 것이라는 것은 당업자에게 명백하다. 따라서, 본 상세한 설명 및 실시예는 본 발명의 범주를 제한하는 것으로서 해석되어서는 안 된다.

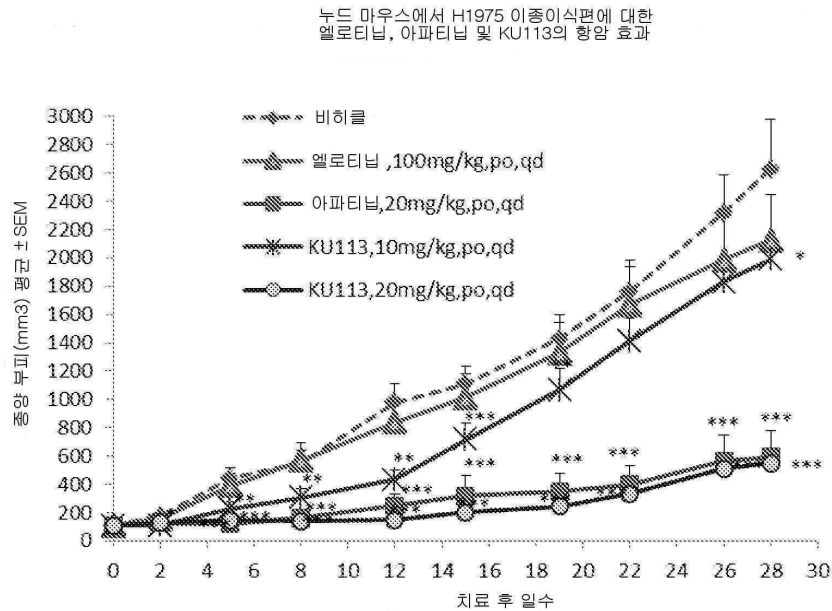
[0288] 본원에서 인용된 모든 특허 및 과학 문헌의 개시 내용은 명백히 그것 전체가 참고로써 여기에 포함된다.

도면

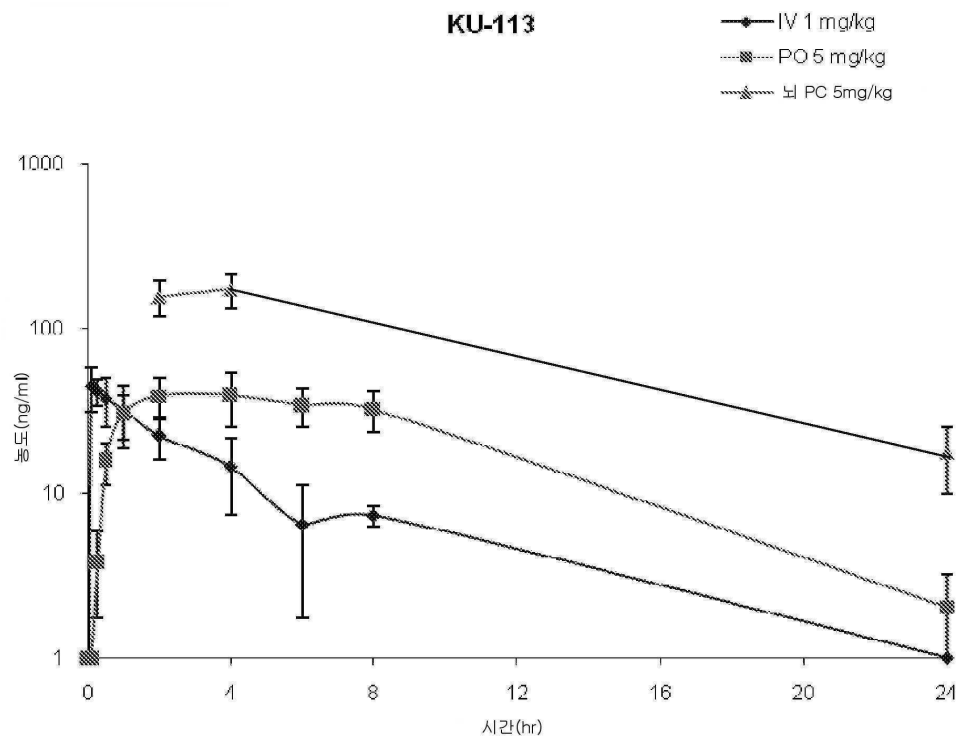
도면1



도면2



도면3



도면4

