



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2022년09월30일

(11) 등록번호 10-2449712

(24) 등록일자 2022년09월27일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 417/14 (2006.01) *A61K 31/496* (2006.01)
A61K 31/5377 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07D 417/14 (2013.01)
A61K 31/496 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2018-7024997
- (22) 출원일자(국제) 2017년01월31일
 심사청구일자 2021년12월09일
- (85) 번역문제출일자 2018년08월29일
- (65) 공개번호 10-2018-0132618
- (43) 공개일자 2018년12월12일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2017/015765
- (87) 국제공개번호 WO 2017/136315
 국제공개일자 2017년08월10일
- (30) 우선권주장
 62/291,667 2016년02월05일 미국(US)
- (56) 선행기술조사문헌
 US20120225880 A1*
 *는 심사관에 의하여 인용된 문헌
- (73) 특허권자
 내셔널 헬스 리서치 인스티튜트
 대만 35053 마요리 카운티 주난 타운 케안 로드
 넘버 35
- (72) 발명자
 지앙 위어-툼
 타이완, 105, 타이펫 시티, 송산 디스트, 엘엔.
 330 양쇼우 스트리트, 알리.16, 넘버 6, 8에프.-3
- 수 츠
 타이완, 타이페이, 섹.2, 아세데미 로드, 레인
 182, 알리 57, 넘버 15, 4에프
- (74) 대리인
 특허법인한얼

전체 청구항 수 : 총 22 항

심사관 : 이기철

(54) 발명의 명칭 **아미노티아졸 화합물 및 이의 용도**

(57) 요약

본원에 기재된 화학식 (I)의 아미노티아졸 화합물 및 상기 화합물 중 하나를 포함하는 약학 조성물. 또한, 아미노티아졸 화합물 중 하나를 사용하여 단백질 키나아제를 억제하거나 단백질 키나아제와 관련된 암을 치료하는 각각의 방법이 개시되어 있다.

(52) CPC특허분류

A61K 31/5377 (2013.01)

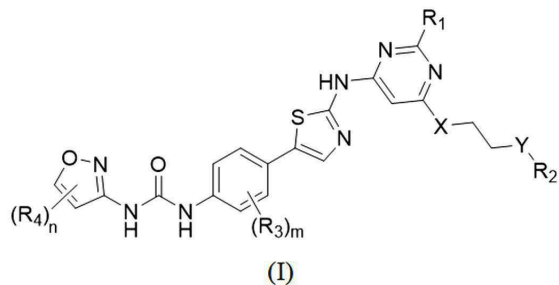
A61P 35/00 (2018.01)

명세서

청구범위

청구항 1

화학식 (I)의 화합물:



상기 식에서,

R_1 은 H이고;

X는 O 또는 NR_a 이고, 여기서 R_a 는 H 또는 C_{1-6} 알킬이고;

Y는 CR_bR_c 또는 NR_d 이고, 여기서 R_b 및 R_c 는 각각 독립적으로 H, 할로, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 알콕실 또는 아미노이고, R_d 는 H 또는 C_{1-6} 알킬이거나; 또는 R_b 는 R_a , R_b 에 결합된 탄소원자 및 R_a 에 결합된 질소원자와 함께 C_{3-10} 헤테로사이클로알킬이거나, 또는 R_d 는 R_a 및, R_d 및 R_a 에 결합된 질소원자와 함께 C_{3-10} 헤테로사이클로알킬이고;

R_2 는 $CH_2CH_2R_e$ 또는 NR_fR_g 이고, 여기서 R_e 는 H, 할로 또는 OR_h 이고, R_f 및 R_g 는 각각 독립적으로 C_{1-6} 알킬 또는 C_{3-8} 사이클로알킬이며, R_h 는 H 또는 C_{1-6} 알킬이거나, 또는 R_h 는 R_d , R_h 에 결합된 산소원자 및 R_d 에 결합된 질소원자와 함께 C_{3-10} 헤테로사이클로알킬이고;

R_3 은 H, 할로, 니트로, 시아노, 아미노, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 알콕실, C_{3-10} 사이클로알킬, C_{3-10} 헤테로사이클로알킬, 아릴 또는 헤테로아릴이고;

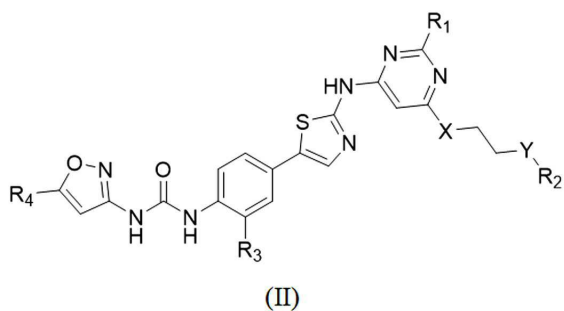
R_4 는 에틸이고,

m은 1, 2, 3 또는 4 이며;

n은 1 또는 2 이다.

청구항 2

제1항에 있어서, 화학식 (II)를 가지는 화합물:



상기 식에서,

X는 0 이다.

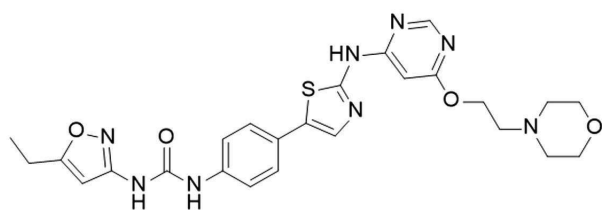
청구항 3

제2항에 있어서,

Y는 NR_d 이고 R_2 는 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{R}_e$ 이고, 여기서 R_e 는 OR_h 이고, R_h 는 R_d , R_h 에 결합된 산소원자 및 R_d 에 결합된 질소원자와 함께 C_{3-10} 헤테로사이클로알킬이고; R_3 은 H, 할로 또는 C_{1-6} 알킬인, 화합물.

청구항 4

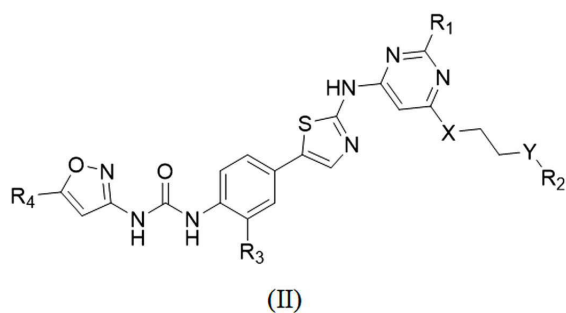
제3항에 있어서,



인, 화합물.

청구항 5

제1항에 있어서, 화학식 (II)를 가지는 화합물:



상기 식에서,

X는 NR_a 이고, 여기서 R_a 는 H 또는 C_{1-6} 알킬이다.

청구항 6

제5항에 있어서,

Y는 CR_bR_c 이고, 여기서 R_b 는 R_a , R_b 에 결합된 탄소원자 및 R_a 에 결합된 질소원자와 함께 C_{3-10} 헤테로사이클로알킬이며, R_c 는 H, 할로, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 알콕실 또는 아미노이고;

R_2 는 NR_fR_g 이고, 여기서 R_f 및 R_g 는 각각 독립적으로 C_{1-6} 알킬 또는 C_{3-8} 사이클로알킬이고;

R_3 은 H, 할로, C_{1-6} 알킬 또는 C_{3-10} 사이클로알킬인, 화합물.

청구항 7

제6항에 있어서,

R_b 는 R_a , R_b 에 결합된 탄소원자 및 R_a 에 결합된 질소원자와 함께 피롤리디닐 또는 피페리디닐인, 화합물.

청구항 8

제5항에 있어서,

Y 는 NR_d 이고, 여기서 R_d 는 R_a 및, R_d 및 R_a 에 결합된 질소원자와 함께 C_{3-10} 헤테로사이클로알킬이고;

R_2 는 $-CH_2CH_2R_e$ 이고, 여기서 R_e 는 H, 할로 또는 OR_h 이고, 여기서 R_h 는 H 또는 C_{1-6} 알킬이고;

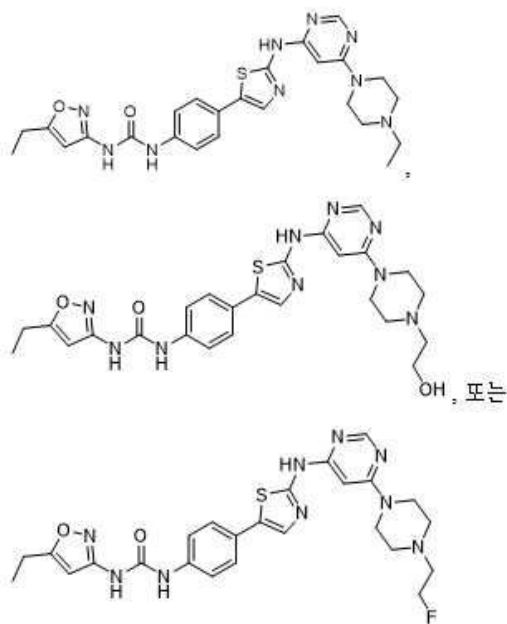
R_3 은 H, 할로, C_{1-6} 알킬 또는 C_{3-10} 사이클로알킬인, 화합물.

청구항 9

제8항에 있어서, R_d 는 R_a 및, R_d 및 R_a 에 결합된 질소원자와 함께 피페라지닐인, 화합물.

청구항 10

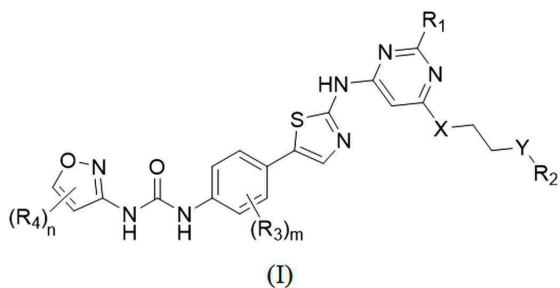
제9항에 있어서,



인, 화합물.

청구항 11

화학식 (I)의 화합물:



상기 식에서,

R_1 은 C_{1-6} 알킬 또는 C_{1-6} 티오알킬이고;

X 는 O 또는 NR_3 이고, 여기서 R_3 는 H 또는 C_{1-6} 알킬이고;

Y 는 CR_bR_c 또는 NR_d 이고, 여기서 R_b 및 R_c 는 각각 독립적으로 H , 할로, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 알콕실 또는 아미노이고, R_d 는 H 또는 C_{1-6} 알킬이거나; 또는 R_b 는 R_a , R_b 에 결합된 탄소원자와 R_a 에 결합된 질소원자와 함께 C_{3-10} 헤테로 사이클로알킬이거나, 또는 R_d 는 R_a 및, R_d 및 R_a 에 결합된 질소원자와 함께 C_{3-10} 헤테로사이클로알킬이고;

R_2 는 $-CH_2CH_2R_e$ 또는 NR_fR_g 이고, 여기서 R_e 는 할로이고, R_f 및 R_g 는 각각 독립적으로 C_{1-6} 알킬 또는 C_{3-8} 사이클로 알킬이고;

R_3 은 H , 할로, 니트로, 시아노, 아미노, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 알콕실, C_{3-10} 사이클로알킬, C_{3-10} 헤테로사이클로알킬, 아릴 또는 헤테로아릴이고;

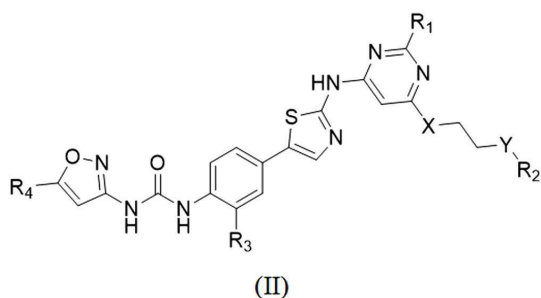
R_4 는 에틸이고;

m 은 1, 2, 3 또는 4이며;

n 은 1 또는 2이다.

청구항 12

제11항에 있어서, 화학식(II)를 가지는 화합물:

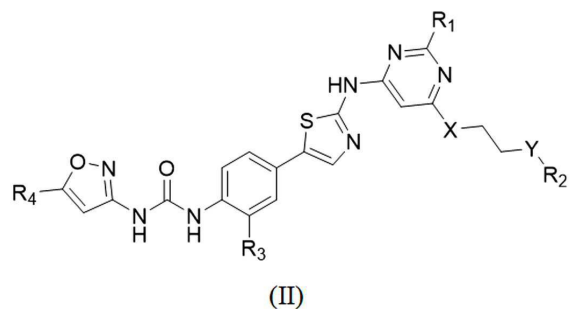


상기 식에서,

X 는 O 이다.

청구항 13

제11항에 있어서, 화학식(II)를 가지는 화합물:



상기 식에서,

X는 NR_a 이고, 여기서 R_a 는 H 또는 C_{1-6} 알킬이다.

청구항 14

제13항에 있어서,

Y는 CR_bR_c 이고, 여기서 R_b 는 R_a , R_b 에 결합된 탄소원자 및 R_a 에 결합된 질소원자와 함께 C_{3-10} 헤테로사이클로알킬이고, R_c 는 H 또는 C_{1-6} 알킬이고;

R_2 는 NR_fR_g 이고, 여기서 R_f 및 R_g 는 각각 독립적으로 C_{1-6} 알킬 또는 C_{3-8} 사이클로알킬이고;

R_3 은 H, 할로, C_{1-6} 알킬 또는 C_{3-10} 사이클로알킬인, 화합물.

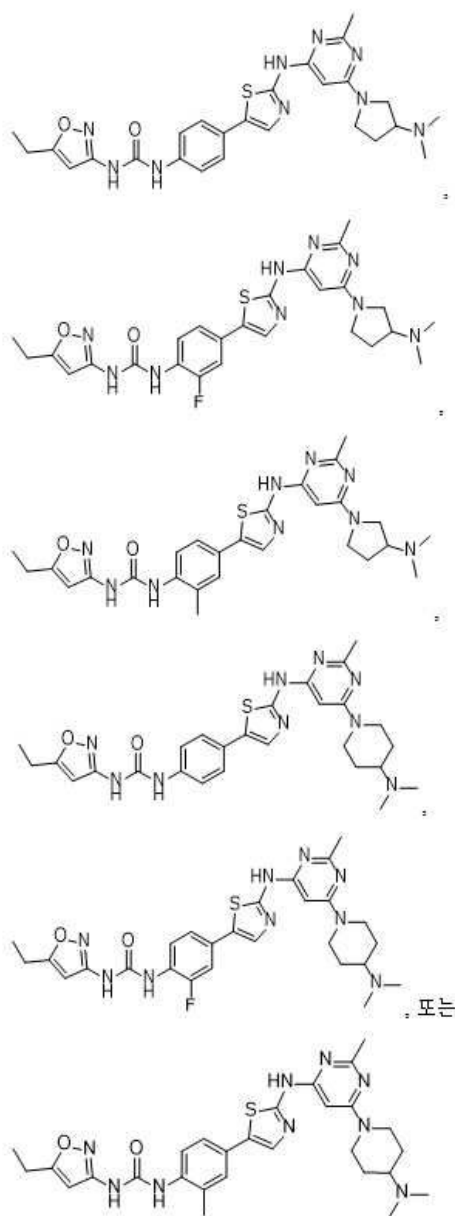
청구항 15

제14항에 있어서,

R_b 는 R_a , R_b 에 결합된 탄소원자 및 R_a 에 결합된 질소원자와 함께 피롤리딘닐 또는 피페리딘닐인, 화합물.

청구항 16

제15항에 있어서,



인, 화합물.

청구항 17

제13항에 있어서,

Y 는 NR_d 이고, 여기서 R_d 는 R_a 및, R_d 및 R_a 에 결합된 질소원자와 함께 C_{3-10} 헤테로사이클로알킬이고;

R_2 는 $-CH_2CH_2R_e$ 이고, 여기서 R_e 는 할로이고;

R_3 은 H, 할로, C_{1-6} 알킬 또는 C_{3-10} 사이클로알킬인, 화합물.

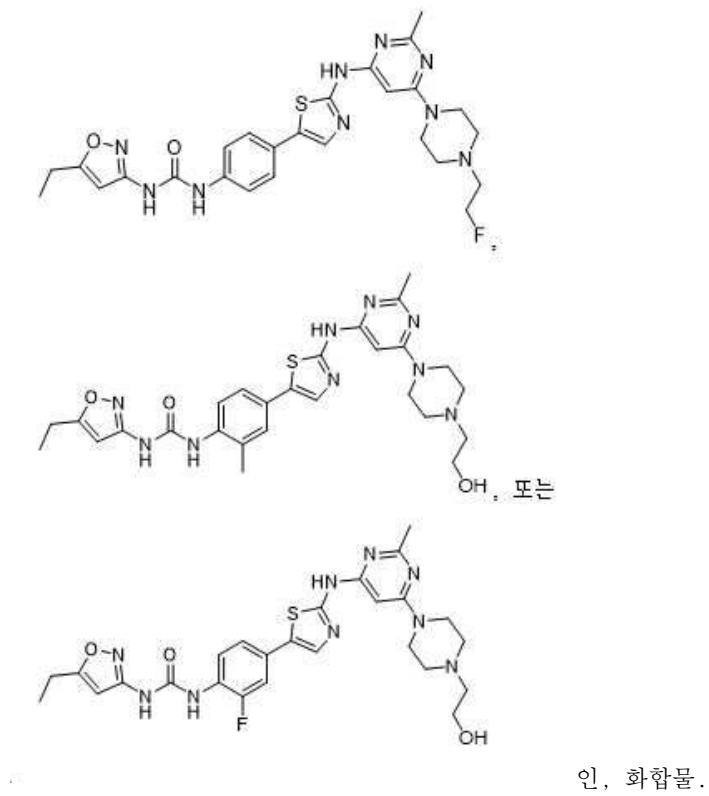
청구항 18

제17항에 있어서, R_d 는 R_a 및, R_d 및 R_a 에 결합된 질소원자와 함께 피페라지닐인, 화합물.

청구항 19

제18항에 있어서, R₁은 -CH₃인, 화합물.

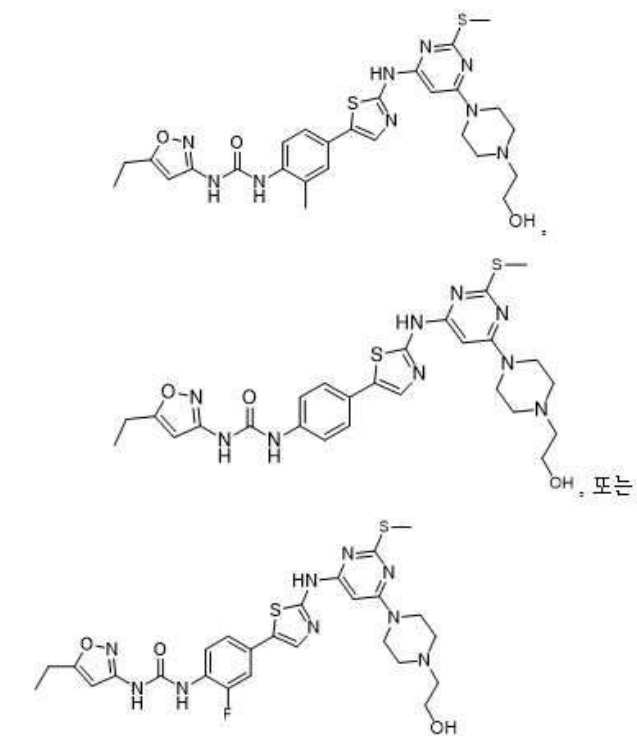
청구항 20



청구항 21

제18항에 있어서, R₁은 -SCH₃인, 화합물.

청구항 22



인, 화합물.

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

발명의 설명

기술 분야

배경 기술

[0001]

배경

[0002]

단백질 키나아제는 분화, 증식, 이동 및 세포사멸을 포함하는 다양한 세포 기능을 조절하는 세포 신호 경로에서 중요하다. 단백질 키나아제의 조절해제(deregulation)는 암 및 다른 여러 질병과 관련이 있다.

[0003]

헤테로사이클릭 화합물은 유력한 단백질 키나제 억제제로서 광범위하게 연구되어왔다. 헤테로사이클릭 화합물의 다양한 부류(class) 중에서, 아미노티아졸은 많은 생물학적 활성 화합물에서 반복되는 구조적 모티프(motif)로 나타난다.

[0004]

약물 후보물질로서, 아미노티아졸은 몇 가지 문제점을 안고 있다. 첫째, 이는 전-임상 또는 임상 연구에서 바람직한 효능을 발휘하기 위한 적절한 생체 내(*in vivo*) 노출이 일반적으로 부족하다. 또한, 무차별 단백질 키나아제 억제제인 아미노티아졸은 낮은 키나아제 선택성을 갖는다. 또한 독성연구에서 종종 동물의 사망을 초래하여 안전문제를 야기한다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005]

특정 단백질 키나아제를 효과적으로 억제하고, 표적 질환 치료에 충분한 생체 내 효능을 발휘하며 바람직한 안전 프로파일을 입증하는 새로운 아미노티아졸을 개발할 필요가 있다.

과제의 해결 수단

[0006]

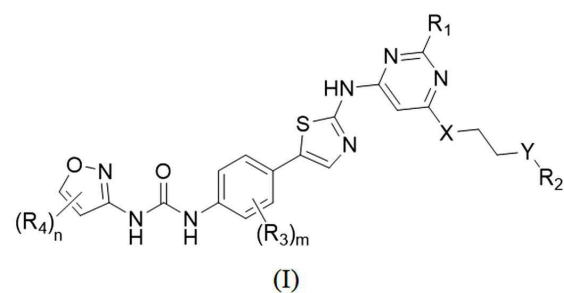
개요

[0007]

본 발명은 특정 아미노티아졸 화합물이 다수의 단백질 키나아제를 효과적으로 억제하고, 생체 내에서 높은 항-암 효능을 발휘하며, 우수한 안전성을 나타내는 예상치 못한 발견에 기초한다.

[0008]

일 측면에서, 본 발명은 화학식 (I)의 아미노티아졸 화합물에 관한 것이다:



[0009]

상기 식에서,

[0010]

R₁은 H이고;

[0011]

X는 O 또는 NR_a이고, 여기서 R_a는 H 또는 C₁₋₆ 알킬이고;

[0012]

Y는 CR_bR_c 또는 NR_d이고, 여기서 R_b 및 R_c는 각각 독립적으로 H, 할로, C₁₋₆ 알킬, C₁₋₆ 알콕실 또는 아미노이고, R_d는 H 또는 C₁₋₆ 알킬이거나; 또는 R_b는 R_a, R_b에 결합된 탄소원자 및 R_a에 결합된 질소원자와 함께 C₃₋₁₀ 헤테로사이클로알킬이거나, 또는 R_d는 R_a 및, R_d 및 R_a에 결합된 질소원자와 함께 C₃₋₁₀ 헤테로사이클로알킬이고;

[0013]

- [0014] R_2 는 $-CH_2CH_2R_e$ 또는 NR_fR_g 이고, 여기서 R_e 는 H, 할로, C_{1-6} 알킬 또는 OR_h 이고, R_f 및 R_g 는 각각 독립적으로 C_{1-6} 알킬 또는 C_{3-8} 사이클로알킬이며, R_h 는 H 또는 C_{1-6} 알킬이거나, 또는 R_h 는 R_d , R_h 에 결합된 산소원자 및 R_d 에 결합된 질소원자와 함께 C_{3-10} 헤테로사이클로알킬이고;
- [0015] R_3 및 R_4 는 각각 독립적으로 H, 할로, 니트로, 시아노, 아미노, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 알콕실, C_{3-10} 사이클로알킬, C_{3-10} 헤테로사이클로알킬, 아릴 또는 헤테로아릴이고;
- [0016] m 은 1, 2, 3 또는 4이며;
- [0017] n 은 1 또는 2이다.
- [0018] 또 다른 측면에서, 본 발명은 화학식 (I)의 아미노티아졸 화합물에 관한 것이고, 상기 식에서, R_1 은 C_{1-6} 알킬 또는 C_{1-6} 티오알킬이고; X 는 O 또는 NR_a 이고, 여기서 R_a 는 H 또는 C_{1-6} 알킬이고; Y 는 CR_bR_c 또는 NR_d 이고, 여기서 R_b 및 R_c 는 각각 독립적으로 H, 할로, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 알콕실 또는 아미노이고, R_d 는 H 또는 C_{1-6} 알킬이거나; 또는 R_b 는 R_a , R_b 에 결합된 탄소원자 및 R_a 에 결합된 질소원자와 함께 C_{3-10} 헤테로사이클로알킬이거나, 또는 R_d 는 R_a 및, R_d 및 R_a 에 결합된 질소원자와 함께 C_{3-10} 헤테로사이클로알킬이고; R_2 는 $-CH_2CH_2R_e$ 또는 NR_fR_g 이고, 여기서 R_e 는 할로, C_{1-6} 알킬 또는 OR_h 이고, R_f 및 R_g 는 각각 독립적으로 C_{1-6} 알킬 또는 C_{3-8} 사이클로알킬이며, R_h 는 H 또는 C_{1-6} 알킬이거나, 또는 R_h 는 R_d , R_h 에 결합된 산소원자 및 R_d 에 결합된 질소원자와 함께 C_{3-10} 헤테로사이클로알킬이고; R_3 은 H, 할로, 니트로, 시아노, 아미노, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 알콕실, C_{3-10} 사이클로알킬, C_{3-10} 헤테로사이클로알킬, 아릴 또는 헤테로아릴이고; R_4 는 할로, 시아노, C_{2-6} 알킬, C_{2-6} 알콕실, C_{3-10} 사이클로알킬, C_{3-10} 헤테로사이클로알킬, 아릴 또는 헤테로아릴이고; m 은 1, 2, 3 또는 4이며; n 은 1 또는 2이다.
- [0019] 본원에서 용어 "알킬"은 $-CH_3$ 또는 분지형 $-C_3H_7$ 과 같은 포화된 선형 또는 분지형 탄화수소 잔기를 지칭한다. 용어 "사이클로알킬"은 사이클로헥실, 사이클로 헥센-3-일 또는 아다만틸과 같은 비-방향족, 모노사이클릭, 바이사이클릭, 트리사이클릭 또는 테트라사이클릭 탄화수소 잔기를 지칭한다. 용어 "알콕실"은 -O-알킬 라디칼을 지칭한다. 알콕실의 예는 메톡시, 에톡시, n-프로폭시, 이소프로폭시, n-부톡시, 이소-부톡시, sec-부톡시 및 tert-부톡시를 포함하지만, 이에 제한되는 것은 아니다. 용어 "티오알킬"은 -S-알킬 라디칼을 지칭한다. 티오알킬의 예는 메틸티올, 에틸티올 및 벤질티올을 포함하지만, 이에 제한되는 것은 아니다. 용어 "헤테로사이클로알킬"은 하나 이상의 고리 헤테로원자(예컨대, N, O 또는 S)를 갖는 비-방향족, 모노사이클릭, 바이사이클릭, 트리사이클릭 또는 테트라사이클릭 잔기를 지칭한다. 헤테로사이클로 알킬의 예는 4-모르폴리닐, 1-피페라지닐, 4-테트라 히드로피라닐 및 4-피라닐을 포함하지만, 이에 제한되는 것은 아니다. 용어 "아릴"은 하나 이상의 방향족 고리를 갖는 탄화수소 잔기를 지칭한다. 아릴 잔기의 예는 페닐(Ph), 페닐렌, 나프틸, 나프틸렌, 피레닐(pyrenyl), 안트릴 및 페난트릴을 포함한다. 용어 "헤테로아릴"은 최소 하나의 헤테로 원자(예컨대, N, O 또는 S)를 포함하는 하나 이상의 방향족 고리를 갖는 잔기를 지칭한다. 헤테로 아릴 잔기의 예는 퓨릴(furyl), 퓨릴렌(furylene), 플루오레닐, 피롤릴, 티에닐(thienyl), 옥사 졸릴, 이미다졸릴, 티아졸릴, 피리디, 피리미디닐, 퀴나졸리닐, 퀴놀릴, 이소퀴놀릴 및 인돌릴을 포함한다.
- [0020] 본원에서 언급된 알킬, 티오알킬, 알콕실, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴 및 헤테로 아릴은 다르게 특정되지 않는 한, 치환 및 비치환 잔기 모두를 포함한다. 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴 및 헤테로 아릴상의 가능한 치환기는 C_{1-10} 알킬, C_{2-10} 알케닐, C_{2-10} 알키닐, C_{3-20} 사이클로알킬, C_{3-20} 사이클로알 케닐, C_{1-20} 헤테로사이클로알킬, C_{1-20} 헤테로사이클로알케닐, C_{1-10} 알콕시, 아릴, 아릴옥시, 헤테로아릴, 헤테로아릴옥시, 아미노, C_{1-10} 알킬아미노, C_{1-20} 디알킬아미노, 아릴아미노, 디아릴아미노, 히드록시, 할로젠, 티오, C_{1-10} 알킬티오, 아릴티오, C_{1-10} 알킬설포닐, 아릴설포닐, 아실아미노, 아미노아실, 아미노티오아실, 아미디노, 구아니딘, 우레이도(ureido), 시아노, 니트로, 아실, 티오아실, 아실옥시, 카르복실 및 카르복실릭 에스테르를 포함한다. 한편, 알킬상의 가능한 치환기는 C_{1-10} 알킬, C_{2-10} 알케닐 및 C_{2-10} 알키닐을 제외한 상기 언급된 모든 치환기를 포함한다. 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴 및 헤테로아릴은 또한 서로 융합될 수 있다.
- [0021] 상기 기재된 아미노티아졸 화합물은 적용 가능한 경우 화합물 자체 및 또한 이의 염, 전구약물 및 용매화물을 포함한다. 예컨대, 염은 음이온과 아미노티아졸 화합물상의 양으로 하전된 기(예: 아미노) 사이에서 형성될 수 있다. 적합한 음이온은 클로라이드, 브로마이드, 요오다이드, 설페이트, 나이트레이트, 포스페이트, 시트 레이

트, 메탄설폰네이트, 트리플루오로아세테이트, 아세테이트, 말레이트, 토실레이트, 타르트레이트, 푸마레이트, 글루타메이트, 글루쿠로네이트, 락테이트, 글루타레이트 및 말레에이트를 포함한다. 마찬가지로, 염은 양이온과 아미노티아졸 화합물상의 음으로 하전된 기(예: 카르복실레이트) 사이에 형성될 수 있다. 적절한 양이온은 나트륨 이온, 칼륨 이온, 마그네슘 이온, 칼슘 이온 및 테트라메틸암모늄 이온과 같은 암모늄 양이온을 포함한다. 아미노티아졸 화합물은 또한 4차(quaternary) 질소원자를 포함하는 염을 포함한다. 전구약물의 예는 대상체에게 투여 시 활성 아미노티아졸 화합물을 제공할 수 있는 에스테르 및 다른 약학적으로 허용가능한 유도체를 포함한다. 용매화물은 활성 아미노티아졸 화합물과 약학적으로 허용가능한 용매 사이에 형성된 복합체를 지칭한다. 약학적으로 허용가능한 용매의 예는 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 아세테이트, 아세트산 및 에탄올아민을 포함한다.

[0022] 또 다른 측면에서, 본 발명은 단백질 키나아제를 억제하는 방법에 관한 것이다. 상기 방법은 단백질 키나아제를 하나 이상의 상기-기재된 아미노티아졸 화합물의 유효량과 접촉시키는 것을 포함한다.

[0023] 또한, 단백질 키나아제와 관련된 암을 치료하는 방법이 본 발명의 범위 내에 있다. 상기 방법은 유효량의 하나 이상의 상기 화학식 (I)의 아미노티아졸 화합물을 이를 필요로하는 대상체에게 투여하는 것을 포함한다.

[0024] 단백질 키나아제는 야생형 또는 돌연변이체(mutant)일 수 있다. 단백질 키나아제의 예는 FMS-유사 타이로신 키나아제 3(FLT3), FMS-유사 타이로신 키나아제 4(FLT4), 오로라 키나아제(AURK) A, AURK B, 혈관 내피 성장인자 수용체(VEGFR), 혈소판-유래 성장인자 수용체(PDGFR) A, PDGFR B, c-Src(SRC), 타이로신-단백질 키나아제 Lyn(LYN) A, LYN B, 형질감염동안 재배열된 타이로신 키나아제(rearranged during transfection tyrosine kinase)(RET), 콜로니 자극인자 1 수용체(CSF1R), 림프구-특이적 단백질 타이로신 키나아제(LCK), 가드너-라시드 고양이 육종 바이러스성(Gardner-Rasheed feline sarcoma viral) (V-fgr) 암유전자 동족체(oncogene homolog)(FGR), 디스코이딘(discoidin) 도메인 수용체 1(DDR1), 키나아제 삽입 도메인 수용체(KDR), 트로포마 이오신 수용체 키나아제(TRK) A, TRK B, B 림프구 키나아제(BLK), 타이로신-단백질 키나아제 Yes(YES1), 아벨슨 쥐 백혈병 바이러스성 암유전자 동족체 1 (ABL1:Abelson murine leukemia viral oncogene homolog 1), 타이로신-단백질 키나아제 Kit(KIT), 이중 특이성 마이트젠-활성화된 단백질 키나아제 키나아제 1(mitogen-activated protein kinase kinase 1)(MEK 1), 인터루킨-1 수용체-관련 키나아제 4(IRAK4), 타이로신-단백질 키나아제 Tek(TEK), RET V804L, RET Y791F, FLT3 D835Y, PDGFR A V561D 및 ABL1 T315I를 포함한다.

[0025] 상기 암의 예는 급성 골수성 백혈병(acute myeloid leukemia), 녹색종(chloroma), 만성 골수성 백혈병(chronic myelogenous leukemia), 급성 림프모구 백혈병(acute lymphoblastic leukemia), 만성 림프성 백혈병(chronic lymphocytic leukemia), 호지킨 병(Hodgkin's disease), 비-호지킨 림프종(non-Hodgkin's lymphoma), B-세포 림프종(B-cell lymphoma), 다발성 골수종(multiple myeloma), 발덴스트롬 마크로글로불린혈증(Waldenstrom's macroglobulinemia), 골수형성이상 증후군(myelodysplastic syndrome), 췌장암, 방광암, 결장직장암(colorectal cancer), 유방암, 남성 생식관암(male genital tract cancer), 신장암, 간세포암(hepatocellular cancer), 폐암, 난소암, 자궁경부암(cervical cancer), 자궁암, 임신영양막병(gestational trophoblastic disease), 위암, 담관암(bile duct cancer), 담낭암(gallbladder cancer), 소장암, 식도암(esophageal cancer), 입인두암(oropharyngeal cancer), 후두인두암(hypopharyngeal cancer), 안구암, 신경암, 두경부암(head and neck cancer), 흑색종(melanoma), 형질세포종(plasmacytoma), 내분비샘 종양(endocrine gland neoplasm), 신경내분비암(neuroendocrine cancer), 뇌종양, 골암 및 육종을 포함한다.

[0026] 또한, 본 발명의 범위 내에서, 상기-기재된 화학식 (I)의 아미노티아졸 화합물 하나 이상을 포함하는 약학 조성물이 존재한다. 상기 약학 조성물은 암 치료에 사용될 수 있다.

[0027] 본 발명은 또한 암을 치료하기 위한 의약의 제조를 위한 상기-기재된 화학식 (I)의 아미노티아졸 화합물 하나 이상의 용도를 포함한다.

[0028] 용어 "치료하는" 또는 "치료"는 하나 이상의 아미노티아졸 화합물을 상기-기재된 질병, 즉, 암, 상기 질병의 증상 또는 상기 질병에 대한 경향이 있는 대상체에게 치료효과를 부여하기 위한 목적으로, 예컨대 상기-기재된 질병, 그의 증상, 또는 그에 대한 경향을 치료, 완화, 변경, 영향, 개선 또는 예방의 목적으로 투여하는 것을 지칭한다. "유효량"은 치료효과를 부여하기 위해 필요한 활성 화합물의 양을 지칭한다. 당업자에 의해 인식되는 바와 같이, 유효량은 치료되는 질병의 유형, 투여 경로, 부형제 사용 및 다른 치료법과 병용 가능성에 따라 달라질 것이다.

[0029] 본 발명의 방법을 실시하기 위해, 하나 이상의 상기-기재된 아미노티아졸 화합물을 갖는 조성물은 비경구,

경구, 비강, 직장, 국소 또는 협측(buccal)으로 투여될 수 있다. 본원에서 사용되는 용어 "비경구"는 피하, 피부 내, 정맥 내, 복강 내, 근육 내, 관절 내, 동맥 내, 윤활 내, 흉골 내, 경막 내, 병변 내 또는 두개 내 주입 뿐만 아니라 임의의 적합한 주입 기술을 지칭한다.

[0030] 멸균 주사 조성물은 1,3-부탄디올 중의 용액과 같은 비-독성 비경구적으로 허용가능한 희석제 또는 용매 중의 용액 또는 현탁액 일 수 있다. 허용가능한 비히클(vehicle) 및 용매로는 만니톨, 물, 링거 용액 및 등장성 염화 나트륨 용액이 사용될 수 있다. 또한, 고정유(fixed oil)는 용매 또는 현탁매질(예: 합성 모노- 또는 디-글리세라이드)로서 통상적으로 사용된다. 올레산 및 그의 글리세라이드 유도체와 같은 지방산은 올리브 오일 및 피마자 오일(castor oil)과 같은 천연의 약학적으로 허용가능한 오일, 특히 그의 폴리옥시에틸화된 버전에서와 같이 주사제의 제조에 유용하다. 이들 오일 용액 또는 현탁액은 또한 장쇄 알콜 희석제 또는 분산제, 카르복시메틸 셀룰로즈 또는 유사한 분산제를 포함할 수 있다. 트윈(Tweens) 및 스팬(Spans)과 같은 다른 통상적으로 사용되는 계면 활성제 또는 다른 유사한 유화제 또는 약학적으로 허용가능한 고체, 액체 또는 다른 투여 형태의 제조에 통상적으로 사용되는 생체 이용률 증강제 또한 제형의 목적으로 사용될 수 있다.

[0031] 경구투여용 조성물은 캡슐, 정제(tablet), 에멀전 및 수성 현탁액, 분산액 및 용액을 비롯한 임의의 경구적으로 허용가능한 투여 형태 일 수 있다. 정제의 경우, 일반적으로 사용되는 담체에는 락토오스 및 옥수수 전분이 포함된다. 마그네슘 스테아레이트와 같은 윤활제도 일반적으로 첨가된다. 캡슐 형태의 경구투여를 위해, 유용한 희석제는 락토오스 및 건조 옥수수 전분을 포함한다. 수성 현탁액 또는 에멀전을 경구투여하는 경우, 활성성분을 유화제 또는 현탁제와 조합된 유상(oily phase)에 현탁 또는 용해시킬 수 있다. 원하는 경우, 특정 감미료, 향료 또는 착색제를 첨가할 수 있다.

[0032] 비강 에어로졸 또는 흡입 조성물은 약학제형 분야의 당 업계에 널리 공지된 기술에 따라 제조될 수 있다. 예컨대, 이러한 조성물은 벤질 알코올을 또는 다른 적절한 방부제, 생체 이용률을 향상시키는 흡수 촉진제, 플루오로 카본 및/또는 당업계에 공지된 다른 가용화제 또는 분산제를 사용하여 식염수 용액으로 제조될 수 있다.

[0033] 상기-기재된 아미노티아졸 화합물 중 하나 이상을 갖는 조성물은 또한 직장 투여용 좌약의 형태로 투여될 수 있다.

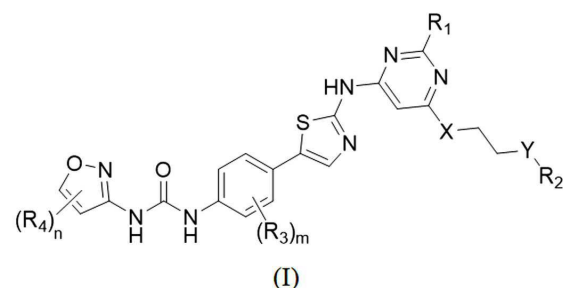
[0034] 약학 조성물중의 담체는 조성물의 활성성분에 적합하고(및 바람직하게는, 활성성분을 안정화시킬 수 있음), 치료될 대상체에게 해롭지 않다는 점에서 "허용가능" 해야한다. 하나 이상의 가용화제는 활성 1,5-디페닐-펜타-1,4-디엔-3-온 화합물의 전달을 위한 약학 부형제로서 이용될 수 있다. 다른 담체의 예는 콜로이드 성 산화규소, 마그네슘 스테아레이트, 셀룰로오스, 라우릴 황산나트륨(sodium lauryl sulfate) 및 D&C Yellow #10를 포함한다.

[0035] 본 발명의 하나 이상의 실시양태의 세부사항은 이하의 기재에서 설명된다. 본 발명의 다른 특징, 목적 및 이점은 상세한 설명 및 청구범위로부터 명백해질 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0036] 상세한 설명

[0037] 화학식 (I)의 아미노티아졸 화합물이 개시된다:

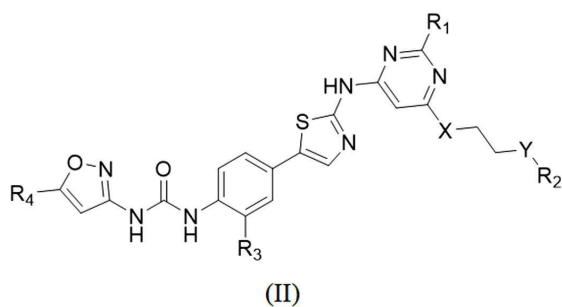


[0038]

[0039] 이 화학식을 참조하면, 두 세트의 아미노티아졸 화합물은 (i) R_1 은 H이고; X는 O 또는 NR_a 이고, 여기서 R_a 는 H 또는 C_{1-6} 알킬이고; Y는 CR_bR_c 또는 NR_d 이고, 여기서 R_b 및 R_c 는 각각 독립적으로 H, 할로, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 알콕실 또는 아미노이고, R_d 는 H 또는 C_{1-6} 알킬이거나; 또는 R_b 는 R_a , R_b 에 결합된 탄소원자 및 R_a 에 결합된 질소원자와

함께 C₃₋₁₀ 헤테로사이클로알킬이거나, 또는 R_d는 R_a 및, R_d 및 R_a에 결합된 질소원자와 함께 C₃₋₁₀ 헤테로사이클로알킬이고; R₂는 -CH₂CH₂R_e 또는 NR_fR_g이고, 여기서 R_e는 H, 할로, C₁₋₆ 알킬 또는 OR_h이고, R_f 및 R_g는 각각 독립적으로 C₁₋₆ 알킬 또는 C₃₋₈ 사이클로알킬이며, R_h는 H 또는 C₁₋₆ 알킬이거나, 또는 R_h는 R_d, R_h에 결합된 산소원자 및 R_d에 결합된 질소원자와 함께 C₃₋₁₀ 헤테로사이클로알킬이고; R₃ 및 R₄는 각각 독립적으로 H, 할로, 니트로, 시아노, 아미노, C₁₋₆ 알킬, C₁₋₆ 알콕실, C₃₋₁₀ 사이클로알킬, C₃₋₁₀ 헤테로사이클로알킬, 아릴 또는 헤테로아릴이고; m은 1, 2, 3 또는 4이며; n은 1 또는 2인 화합물; 및 (ii) R₁은 C₁₋₆ 알킬 또는 C₁₋₆ 티오알킬이고; X는 O 또는 NR_a이고, 여기서 R_a는 H 또는 C₁₋₆ 알킬이고; Y는 CR_bR_c 또는 NR_d이고, 여기서 R_b 및 R_c는 각각 독립적으로 H, 할로, C₁₋₆ 알킬, C₁₋₆ 알콕실 또는 아미노이고, R_d는 H 또는 C₁₋₆ 알킬이거나; 또는 R_b는 R_a, R_b에 결합된 탄소원자 및 R_a에 결합된 질소원자와 함께 C₃₋₁₀ 헤테로사이클로알킬이거나, 또는 R_d는 R_a 및, R_d 및 R_a에 결합된 질소원자와 함께 C₃₋₁₀ 헤테로사이클로알킬이고; R₂는 -CH₂CH₂R_e 또는 NR_fR_g이고, 여기서 R_e는 할로, C₁₋₆ 알킬 또는 OR_h이고, R_f 및 R_g는 각각 독립적으로 C₁₋₆ 알킬 또는 C₃₋₈ 사이클로알킬이며, R_h는 H 또는 C₁₋₆ 알킬이거나, 또는 R_h는 R_d, R_h에 결합된 산소원자 및 R_d에 결합된 질소원자와 함께 C₃₋₁₀ 헤테로사이클로알킬이고; R₃은 H, 할로, 니트로, 시아노, 아미노, C₁₋₆ 알킬, C₁₋₆ 알콕실, C₃₋₁₀ 사이클로알킬, C₃₋₁₀ 헤테로사이클로알킬, 아릴 또는 헤테로아릴이고; R₄는 할로, 시아노, C₂₋₆ 알킬, C₂₋₆ 알콕실, C₃₋₁₀ 사이클로알킬, C₃₋₁₀ 헤테로사이클로알킬, 아릴 또는 헤테로아릴이고; m은 1, 2, 3 또는 4이며; n은 1 또는 2인 화합물을 포함한다.

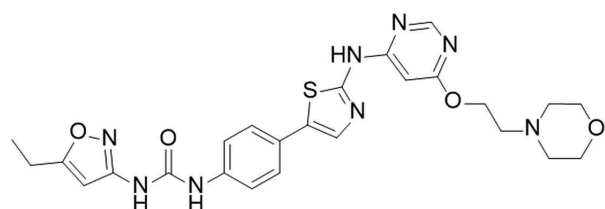
[0040] 일 실시양태에서, 상기 나타낸 아미노티아졸 화합물은 화학식 (II)의 화합물이다:



[0041]

[0042] 상기 식에서, R₁, R₂, R₃, R₄, X 및 Y는 상기 화학식 (I), 두 세트에서 기재된 것으로 정의된다.

[0043] 일 하위군에서, 화학식 (II)의 화합물은 R₁을 H로 가지고, X를 O로 가진다. 바람직하게는, Y는 NR_d이고 R₂는 -CH₂CH₂R_e이고, 여기서 R_e는 OR_h이고, R_h는 R_d, R_h에 결합된 산소원자 및 R_d에 결합된 질소원자와 함께 C₃₋₁₀ 헤테로사이클로알킬이고; R₃은 H, 할로 또는 C₁₋₆ 알킬이며; R₄는 C₁₋₆ 알킬 또는 C₃₋₁₀ 사이클로알킬이다. 예시적인 화합물은

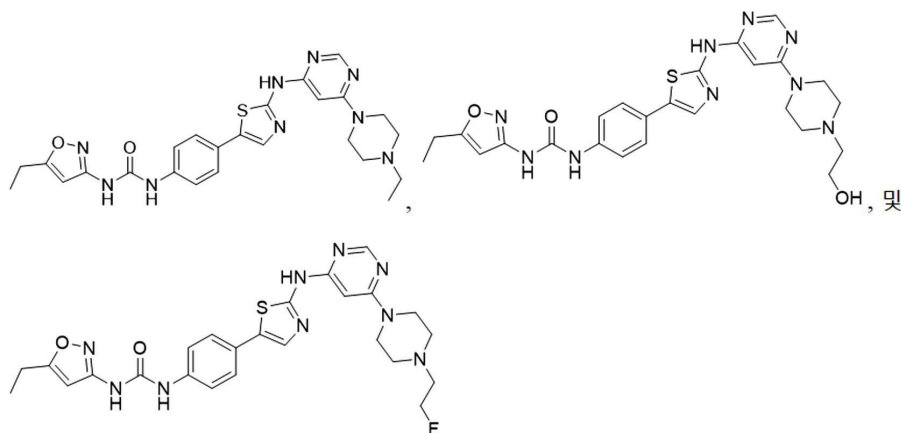


[0044]

이다.

[0045] 또 다른 하위군에서, 화학식 (II)의 화합물은 R₁을 H로 가지고, X를 NR_a로 가지는데, R_a는 H 또는 C₁₋₆ 알킬이다. 특히, 이 하위군의 일부 화합물은 Y를 CR_bR_c로 가지는데, 여기서 R_b는 R_a, R_b에 결합된 탄소원자 및 R_a에 결합된 질소원자와 함께 C₃₋₁₀ 헤테로사이클로알킬이고, R_c는 H, 할로, C₁₋₆ 알킬, C₁₋₆ 알콕실 또는 아미노이고; R₂를 NR_fR_g로 가지는데, R_f 및 R_g는 각각 독립적으로 C₁₋₆ 알킬 또는 C₃₋₈ 사이클로알킬이고; R₃를 H, 할로, C₁₋₆ 알킬 또는 C₃₋₁₀ 사이클로알킬로가지며; R₄를 C₁₋₆ 알킬 또는 C₃₋₁₀ 사이클로알킬로 가진다. 바람직하게는, R_b는 R_a, R_b에 결합된 탄소원자 및 R_a에 결합된 질소원자와 함께 피롤리딘일 또는 피페리딘일이다. 이 하위군의 다른 화합물은

Y를 NR_d 로 가지는데, 여기서 R_d 는 R_a 및, R_d 및 R_a 에 결합된 질소원자와 함께 C_{3-10} 헤테로사이클로알킬이고; R_2 를 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{R}_e$ 로 가지는데, 여기서 R_e 는 H, 할로, C_{1-6} 알킬 또는 OR_h 이고, R_h 는 H 또는 C_{1-6} 알킬이고; R_3 를 H, 할로, C_{1-6} 알킬 또는 C_{3-10} 사이클로알킬로 가지며; R_4 를 C_{1-6} 알킬 또는 C_{3-10} 사이클로알킬로 가진다. 바람직하게는, R_d 는 R_a 및, R_d 및 R_a 에 결합된 질소원자와 함께 피페라지닐이다. 이러한 화합물 군의 예는



[0046]

을 포함한다.

[0047]

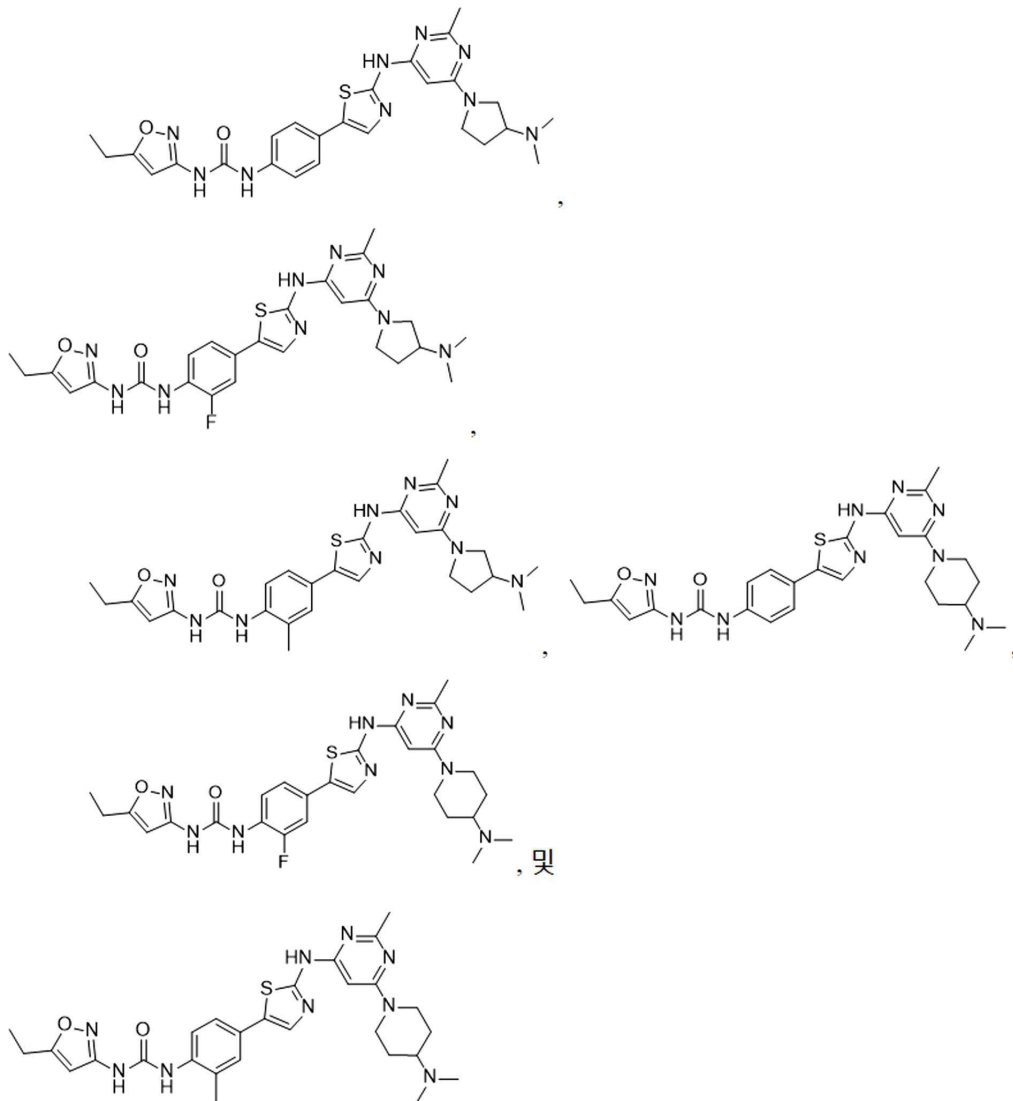
또 다른 하위군에서, 화학식 (II)의 화합물은 R_1 을 C_{1-6} 알킬(예: $-\text{CH}_3$) 또는 C_{1-6} 티오알킬(예: $-\text{SCH}_3$)로 가지고, X를 0로 가진다.

[0048]

추가 하위군에서, 화학식 (II)의 화합물은 R_1 을 C_{1-6} 알킬(예: $-\text{CH}_3$) 또는 C_{1-6} 티오알킬(예: $-\text{SCH}_3$)로 가지고, X를 NR_a 로 가지는데, R_a 는 H 또는 C_{1-6} 알킬이다. 특히, 이 추가 하위군의 일부 화합물은 Y를 CR_bR_c 로 가지는데, 여기서 R_b 는 R_a , R_b 에 결합된 탄소원자 및 R_a 에 결합된 질소원자와 함께 C_{3-10} 헤테로사이클로알킬이고, R_c 는 H, 할로, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 알콕실, 또는 아미노이고; R_2 를 NR_fR_g 로 가지는데, R_f 및 R_g 는 각각 독립적으로 C_{1-6} 알킬 또는 C_{3-8} 사이클로알킬이고; R_3 를 H, 할로, C_{1-6} 알킬 또는 C_{3-10} 사이클로알킬로 가지며; R_4 를 C_{1-6} 알킬 또는 C_{3-10} 사이클로알킬로 가진다. 바람직하게는, R_b 는 R_a , R_b 에 결합된 탄소원자 및 R_a 에 결합된 질소원자와 함께 피롤리디닐 또는 피페리디닐이다.

[0049]

예시적인 화합물은

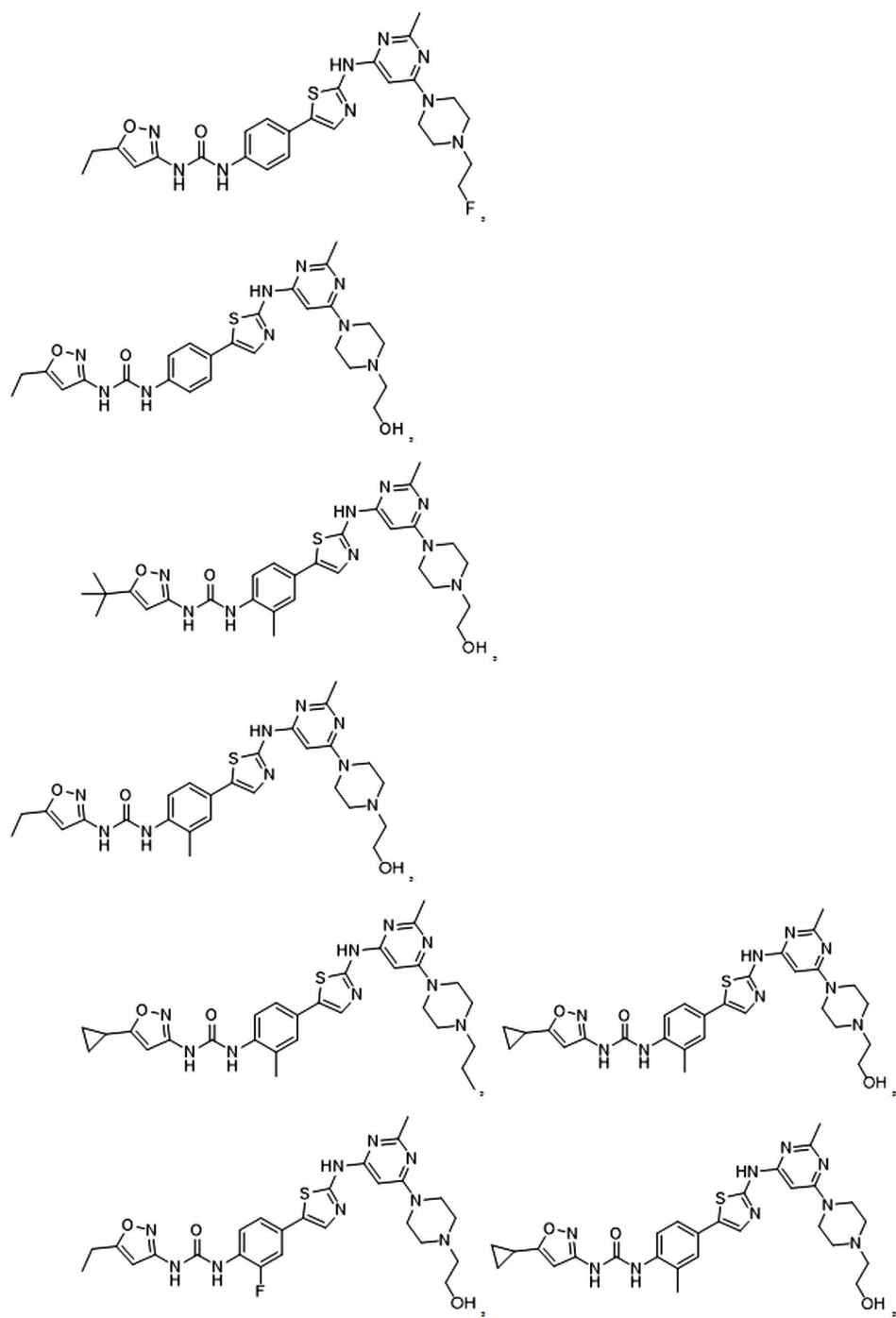


[0050]

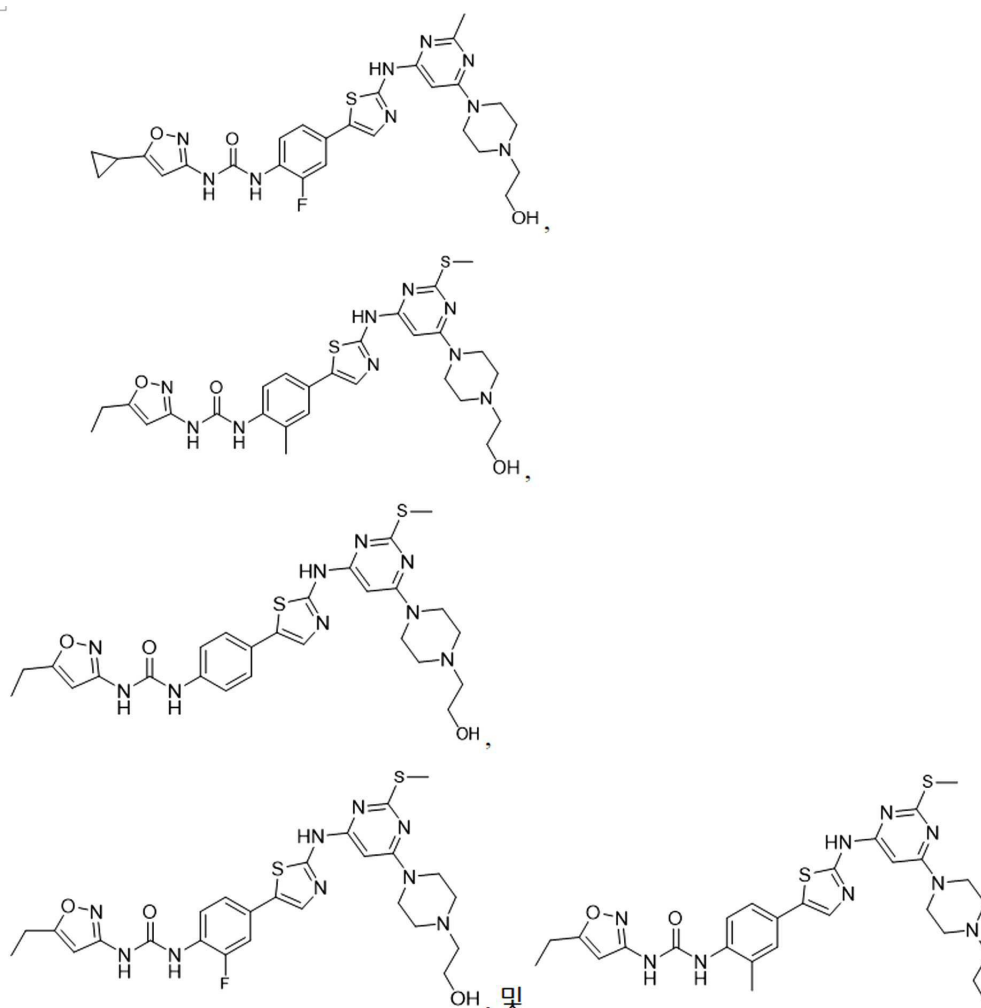
을 포함한다.

[0051]

이 추가 하위군의 다른 화합물은 Y를 NR_d로 가지는데, 여기서 R_d는 R_a 및, R_d 및 R_a에 결합된 질소원자와 함께 C₃₋₁₀ 헤테로사이클로알킬이고; R₂를 -CH₂CH₂R_e로 가지는데, 여기서 R_e는 할로, C₁₋₆ 알킬 또는 OR_h이고, R_h는 H 또는 C₁₋₆ 알킬이고; R₃를 H, 할로, C₁₋₆ 알킬 또는 C₃₋₁₀ 사이클로알킬로 가지며; R₄를 C₁₋₆ 알킬 또는 C₃₋₁₀ 사이클로알킬로 가진다. 바람직하게는, R_d는 R_a 및, R_d 및 R_a에 결합된 질소원자와 함께 피페라지닐이다. 예는



[0052]



[0053] 을 포함한다.

[0054] 암을 치료하기 위한 화학식 (I)의 아미노티아졸 화합물 하나 이상을 포함하는 약학 조성물 또한 본 발명내에 존재한다.

[0055] 유효량의 화학식 (I)의 화합물을 이를 필요로하는 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 암을 치료하는 방법은 추가로 본 발명에 포함된다.

[0056] 화학식 (I)의 화합물을 합성하기 위해 사용되는 합성화학 변형(transformations) 및 보호기(protecting group) 방법론(보호 및 탈-보호)은 당 업계에 잘 알려져 있다. 예컨대, R. Larock, Comprehensive Organic Transformations(2nd Ed., VCH Publishers 1999); P. G. M. Wuts and T. W. Greene, Greene's Protective Groups in Organic Synthesis(4th Ed., John Wiley and Sons 2007); L. Fieser and M. Fieser, Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis(John Wiley and Sons 1994); L. Paquette, ed., Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis(2nd ed., John Wiley and Sons 2009); and G. J. Yu *et al.*, *J. Med. Chem.* 2008, 51, 6044-6054 이 있다.

[0057] 이와 같이 제조된 화학식 (I)의 화합물은 생화학적 분석법, 예컨대 하기 실시예 21에 기재된 키나아제 분석법을 사용하여 단백질 키나아제를 억제하는 그들의 효능에 대해 초기에 스크리닝될 수 있다. 화합물은 포유류에서의 종양 성장을 억제하는 활성에 대한 생체 내 분석법, 예컨대 이중익식 동물 모델 분석법을 사용하여 추후 평가될 수 있다. 선택된 화합물은 암 치료에 대한 효능을 확인하기 위해 추가로 테스트할 수 있다. 예컨대, 화합물은 암을 갖는 동물(예: 마우스)에 투여될 수 있고, 그 후 그 치료 효과가 평가된다. 결과에 기초하여, 적절한 투여량 범위 및 투여 경로를 조사하고 결정할 수 있다.

[0058] 추가의 상세한 설명없이, 당업자는 상기 설명에 기초하여 본 발명을 최대한 활용할 수 있다고 믿어진다. 따라서, 하기 특정 실시예는 단지 예시적인 것으로 해석되어야하며, 임의의 방식으로 본 발명의 나머지 부분을 제한하는 것으로 해석되지 않아야 한다. 본원에 인용된 모든 간행물은 그 전체가 참고문헌으로 포함된다.

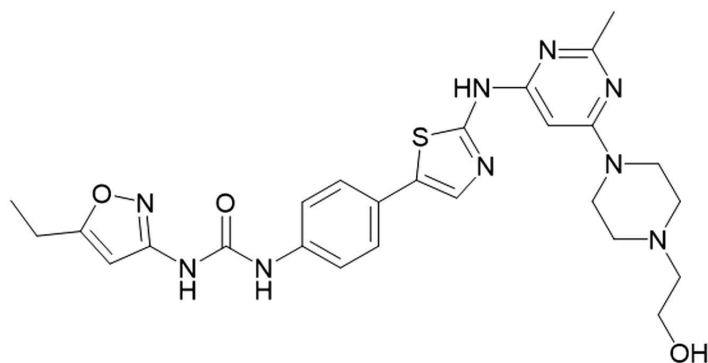
[0059] 하기 실시예 1 내지 20은 20개의 예시적인 화학식 (I)의 화합물의 구조 및 이들의 제조방법을 나타낸다. 이와 같이 제조된 화합물에 대한 분석 데이터도 실시예 1 내지 20에 나타내었고, 이들 화합물을 테스트하기 위한 절차는 하기 실시예 21 내지 25에 기재되어있다.

[0060] 실시예 1 : 화합물 1의 합성

[0061] 화합물 1은 Chen et al., *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2015, 100, 151-161에 기재된 합성방법에 따라 제조하였다.

[0062] 모든 화합물질과 용매는 상업용 공급업체에서 구입하여 수령한대로 사용하였다. 모든 반응은 건조 질소 대기 하에서 수행되었다. 반응은 Merck 60 F254 실리카겔 유리판(5 × 10cm)을 사용하여 TLC로 모니터링 하였다; 자외선 조사(254 nm) 또는 인몰리브덴(phosphomolybdic) 산 시약(Aldrich)으로 분무한 다음 80 °C에서 가열하여 구역을 시각적으로 검출하였다. 모든 플래시(flash) 컬럼 크로마토그래피는 Merck Kieselgel 60, No. 9385, 230-400 mesh ASTM 실리카겔을 고정상(stationary phase)으로 사용하여 수행되었다. 양성자(¹H) 핵 자기 공명 스펙트럼을 Varian Mercury-300 또는 Varian Mercury-400 분광기로 측정하였다. 용매 피크의 공명에 대하여 델타(δ) 스케일에서 화학적 이동(Chemical shift)이 백만분율(ppm)로 기록되었다. 하기 약어가 커플링을 설명하는데 사용되었다: s = 단일 선; d = 이중 선; t = 삼중 선; q = 사중 선; quin = 오중 선; br = 넓은(broad); 및 m = 다중 선. LCMS 데이터는 Agilent MSD-1100 ESI-MS/MS, Agilent 1200 series LC/MSD VL 및 Waters Acquity UPLC-ESI-MS/MS 시스템에서 측정되었다.

[0063] 1-(5-에틸이속사졸-3-일)-3-(4-(2-((6-(4-(2-히드록시에틸)피페라진-1-일)-2-메틸피리미딘-4-일)아미노)티아졸-5-일)페닐)우레아 (HCl 염)



(1)

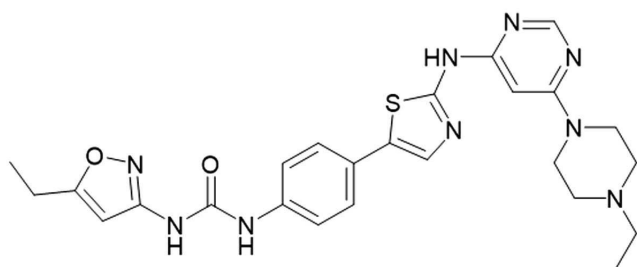
[0064]

[0065] ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 10.87 (s, 1H), 9.79 (s, 1H), 9.74 (s, 1H), 7.75 (s, 1H), 7.51 (q, *J* = 8.8 Hz, 4H), 6.54 (s, 1H), 6.34 (s, 1H), 5.55 (br s, 1H), 4.37 (d, *J* = 4.0 Hz, 2H), 3.78 (t, *J* = 4.8 Hz, 2H), 3.61 (d, *J* = 12.0 Hz, 2H), 3.48 (t, *J* = 12.8 Hz, 2H), 3.19-3.12 (m, 4H), 2.69 (q, *J* = 8.0 Hz, 2H), 2.47 (s, 3H), 1.19 (t, *J* = 6.0 Hz, 3H); MS (ES⁺) *m/z* C₂₆H₃₁N₉O₃S에 대한 계산치 549.23; 실측치: 550.3 (M+H⁺).

[0066] 하기 실시예 2 내지 20의 각각에서, 화합물은 실시예 1에 기재된 것과 동일한 방식으로 합성되었다. 화합물 구조 및 분석 데이터만 도시된다.

[0067] 실시예 2

[0068] 1-(5-에틸이속사졸-3-일)-3-(4-(2-((6-(4-에틸피페라진-1-일)피리미딘-4-일)아미노)티아졸-5-일)페닐)우레아 (HCl 염)

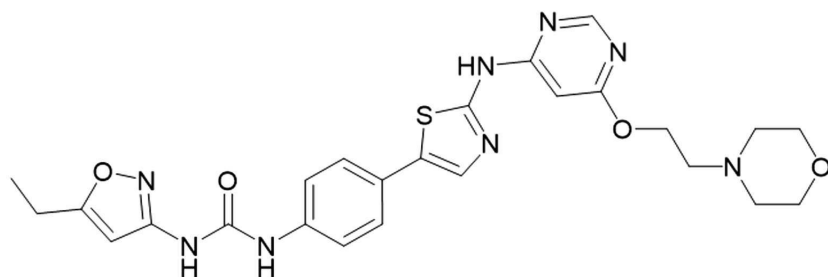


(2)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 11.14 (s, 1H), 9.78 (s, 1H), 9.62 (s, 1H), 8.48 (s, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.50 (q, *J* = 8.8 Hz, 4H), 6.55 (s, 1H), 6.38 (s, 1H), 4.34 (d, *J* = 14.0 Hz, 2H), 3.55 (d, *J* = 11.6 Hz, 2H), 3.44-3.38 (m, 2H), 3.14-3.08 (m, 2H), 3.00 (q, *J* = 9.6 Hz, 2H), 2.69 (q, *J* = 7.6 Hz, 2H), 1.26 (t, *J* = 7.6 Hz, 3H), 1.19 (t, *J* = 7.6 Hz, 3H); MS (ES⁺) *m/z* C₂₅H₂₉N₉O₂S에 대한 계산치: 519.22; 실측치: 520.2 (M+H⁺).

실시예 3

1-(5-에틸이속사졸-3-일)-3-(4-(2-((6-(2-모르폴리노에톡시)피리미딘-4-일)아미노)티아졸-5-일)페닐)우레아 (HCl 염)

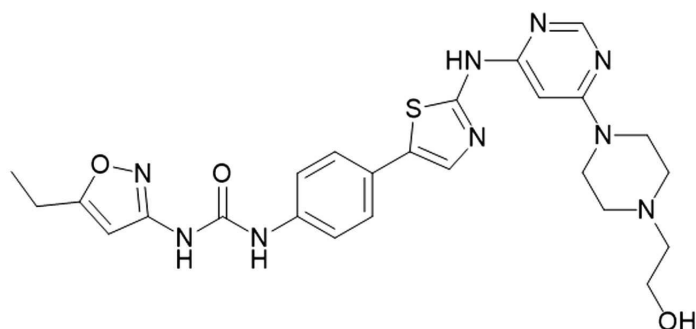


(3)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 11.08 (s, 1H), 9.75 (s, 1H), 9.56 (s, 1H), 8.62 (s, 1H), 7.73 (s, 1H), 7.50 (q, *J* = 8.8 Hz, 4H), 6.54 (s, 1H), 6.50 (s, 1H), 4.71 (s, 2H), 3.95 (d, *J* = 11.6 Hz, 2H), 3.79 (t, *J* = 12.4 Hz, 2H), 3.56 (s, 2H), 3.47 (d, *J* = 12.4 Hz, 2H), 3.15 (d, *J* = 10.0 Hz, 2H), 2.69 (q, *J* = 7.6 Hz, 2H), 1.19 (t, *J* = 7.6 Hz, 3H); MS (ES⁺) *m/z* C₂₅H₂₈N₈O₄S에 대한 계산치: 536.20; 실측치: 537.2 (M+H⁺).

실시예 4

1-(5-에틸이속사졸-3일)-3-(4-(2-((6-(4-(2-히드록시에틸)피페라진-1-일)피리미딘-4-일)아미노)티아졸-5-일)페닐)우레아 (HCl 염)

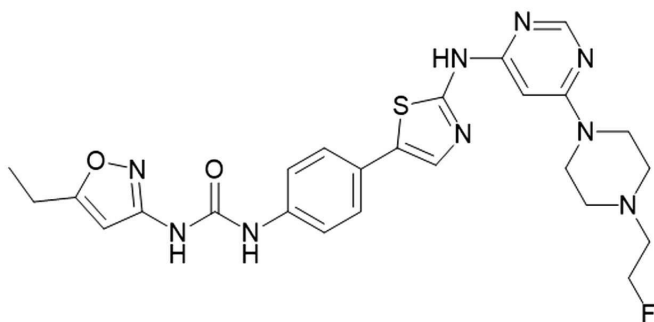


(4)

[0078] ^1H NMR (300 MHz, DMSO-*d*6): δ 10.69 (s, 1H), 9.75 (s, 1H), 9.57 (s, 1H), 8.48 (s, 1H), 7.73 (s, 1H), 7.52 (s, 4H), 6.56 (s, 1H), 6.39 (s, 1H), 5.27 (br s, 1H), 4.34 (d, J = 12.9 Hz, 2H), 3.80 (s, 2H), 3.62 (d, J = 11.4 Hz, 2H), 3.44 (t, J = 11.7 Hz, 2H), 3.22-3.12 (m, 4H), 2.71 (q, J = 7.2 Hz, 2H), 1.21 (t, J = 7.2 Hz, 3H); MS (ES^+) m/z $\text{C}_{25}\text{H}_{29}\text{N}_9\text{O}_3\text{S}$ 에 대한 계산치: 535.21; 실측치: 536.2 ($\text{M}+\text{H}^+$).

[0079] 실시예 5

[0080] 1-(5-에틸이속사졸-3-일)-3-(4-(2-((6-(4-(2-플루오로에틸)피페라진-1-일)피리미딘-4-일)아미노)티아졸-5-일)페닐)우레아 (HCl 염)



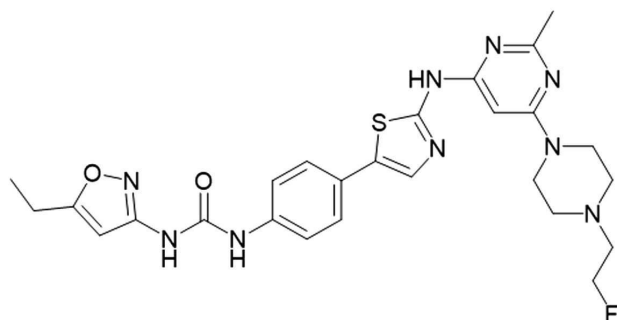
(5)

[0081]

[0082] ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 11.56 (s, 1H), 9.78 (s, 1H), 9.62 (s, 1H), 8.48 (s, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.52 (q, J = 8.8 Hz, 4H), 6.56 (s, 1H), 6.39 (s, 1H), 4.99 (t, J = 3.6 Hz, 1H), 4.88 (t, J = 3.6 Hz, 1H), 4.38 (d, J = 10.4 Hz, 2H), 3.59 (s, 2H), 3.44 (d, J = 12.0 Hz, 4H), 3.19 (s, 2H), 2.71 (q, J = 7.2 Hz, 2H), 1.21 (t, J = 7.6 Hz, 3H); MS (ES^+) m/z $\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{FN}_9\text{O}_2\text{S}$ 에 대한 계산치: 537.21; 실측치: 538.2 ($\text{M}+\text{H}^+$).

[0083] 실시예 6

[0084] 1-(5-에틸이속사졸-3-일)-3-(4-(2-((6-(4-(2-플루오로에틸)피페라진-1-일)-2-메틸피리미딘-4-일)아미노)티아졸-5-일)페닐)우레아 (HCl 염)



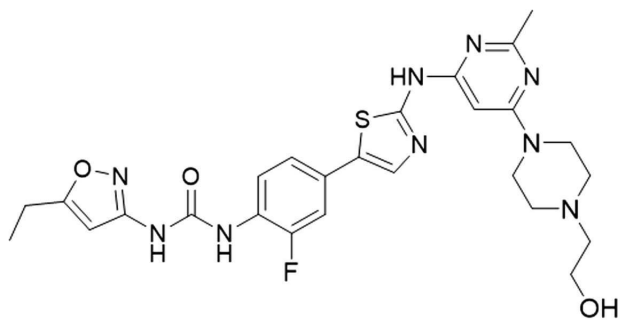
(6)

[0085]

[0086] ^1H NMR (300 MHz, DMSO-*d*6): δ 11.56 (s, 1H), 9.76 (s, 1H), 9.63 (s, 1H), 7.75 (s, 1H), 7.52 (t, J = 13.2 Hz, 4H), 6.55 (s, 1H), 6.30 (s, 1H), 5.01 (s, 1H), 4.85 (s, 1H), 4.39 (s, 2H), 3.75-3.30 (m, 6H), 3.19 (s, 2H), 2.50 (s, 3H), 2.71 (q, J = 7.2 Hz, 2H), 1.21 (t, J = 7.5 Hz, 3H); MS (ES^+) m/z $\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{FN}_9\text{O}_2\text{S}$ 에 대한 계산치: 551.22; 실측치: 552.2 ($\text{M}+\text{H}^+$).

[0087] 실시예 7

[0088] 1-(5-에틸이속사졸-3-일)-3-(2-플루오로-4-(2-((6-(4-(2-히드록시에틸)피페라진-1-일)-2-메틸피리미딘-4-일)아미노)티아졸-5-일)페닐)우레아 (유리염기)



(7)

[0089]

[0090]

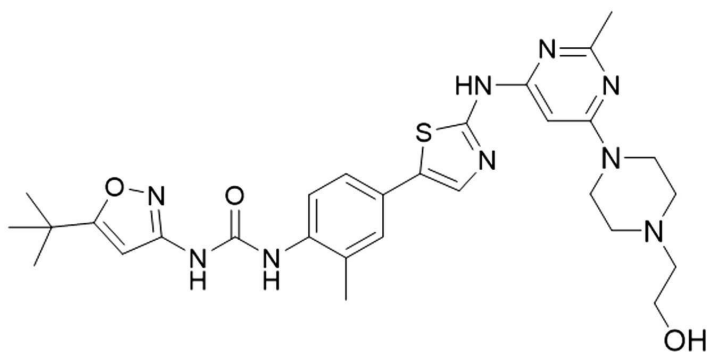
^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 11.17 (s, 1H), 9.80 (s, 1H), 8.86 (s, 1H), 8.11 (t, J = 8.6 Hz, 1H), 7.75 (s, 1H), 7.54 (d, J = 12.8 Hz, 1H), 7.33 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 6.53 (s, 1H), 6.02 (s, 1H), 4.43 (t, J = 5.4 Hz, 1H), 3.54-3.48 (m, 6H), 2.70 (q, J = 8.2 Hz, 2H), 2.48-2.39 (m, 9H, DMSO와 중첩), 1.20 (t, J = 8.2 Hz, 3H); MS (ES^+) m/z $\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{FN}_9\text{O}_3\text{S}$ 에 대한 계산치: 567.22; 실측치: 568.2 ($\text{M}+\text{H}^+$).

[0091]

실시예 8

[0092]

1-(5-(*Tert*-부틸)이속사졸-3-일)-3-(4-(2-((6-(4-(2-히드록시에틸)피페라진-1-일)-2-메틸피리미딘-4-일)아미노)티아졸-5-일)-2-메틸페닐)우레아 (유리염기)



(8)

[0093]

[0094]

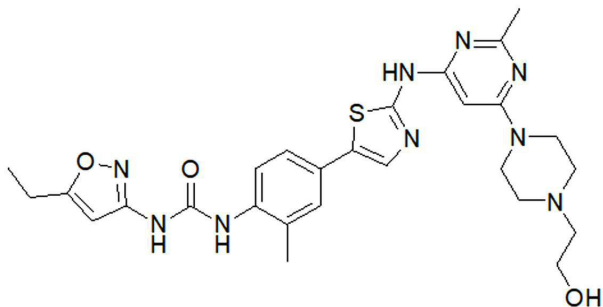
^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 11.12 (s, 1H), 9.93 (s, 1H), 8.33 (s, 1H), 7.90 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.67 (s, 1H), 7.43 (s, 1H), 7.38 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 6.47 (s, 1H), 6.04 (s, 1H), 4.46 (s, 1H), 3.53-3.49 (m, 6H), 2.50-2.43 (m, 6H, D-DMSO 용매 피크와 중첩), 2.42 (s, 3H), 2.28 (s, 3H), 1.30 (s, 9H); MS (ES^+) m/z $\text{C}_{29}\text{H}_{37}\text{N}_9\text{O}_3\text{S}$ 에 대한 계산치: 591.27; 실측치: 592.3 ($\text{M}+\text{H}^+$).

[0095]

실시예 9

[0096]

1-(5-에틸이속사졸-3-일)-3-(4-(2-((6-(4-(2-히드록시에틸)피페라진-1-일)-2-메틸피리미딘-4-일)아미노)티아졸-5-일)-2-메틸페닐)우레아 (HCl 염)



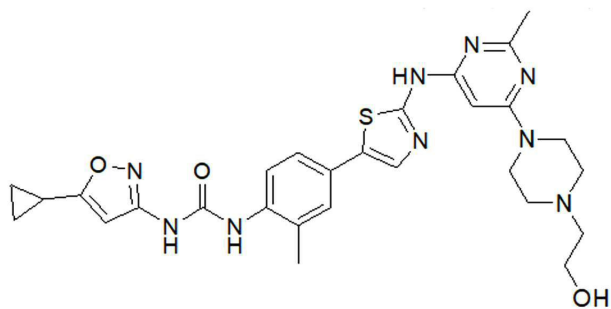
(9)

[0097]

[0098] ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 10.88 (s, 1H), 10.18 (s, 1H), 8.72 (s, 1H), 7.92 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.56 (s, 1H), 7.45 (s, 1H), 7.40 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 6.52 (s, 1H), 6.33 (s, 1H), 6.08 (bs, 1H), 4.29 (d, J = 6.6 Hz, 2H), 3.81 (d, J = 4.8 Hz, 2H), 3.64-3.61 (m, 2H), 3.51-3.41 (m, 2H), 3.22 (s, 2H), 3.16-3.13 (m, 2H), 2.71 (q, J = 7.4 Hz, 2H), 2.54 (s, 3H), 2.31 (m, 3H), 1.21 (t, J = 7.6 Hz, 3H); MS (ES^+) m/z $\text{C}_{27}\text{H}_{33}\text{N}_9\text{O}_3\text{S}$ 에 대한 계산치: 563.24; 실측치: 564.2 ($\text{M}+\text{H}^+$).

[0099] 실시예 10

[0100] 1-(5-사이클로프로필이속사졸-3-일)-3-(4-(2-((6-(4-(2-히드록시에틸)피페라진-1-일)-2-메틸피리미딘-4-일)아미노)티아졸-5-일)-2-메틸페닐)우레아 (HCl 염)



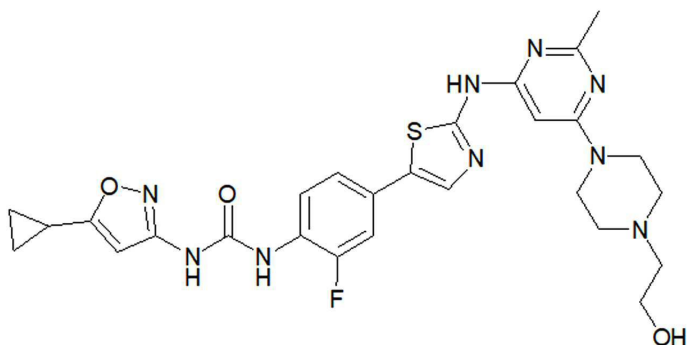
(10)

[0101]

[0102] ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 11.01 (s, 1H), 10.21 (s, 1H), 8.78 (s, 1H), 7.92 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.78 (s, 1H), 7.45 (s, 1H), 7.40 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.45 (s, 1H), 6.38 (s, 1H), 6.18 (bs, 1H), 4.38 (bs, 2H), 3.82 (d, J = 5.0 Hz, 2H), 3.64 (d, J = 5.6 Hz, 2H), 3.52 (t, J = 6.1 Hz, 2H), 3.22 (m, 2H), 3.16-3.13 (m, 2H), 2.53 (s, 3H), 2.30 (s, 3H), 2.13-2.07 (m, 1H), 1.07-1.01 (m, 2H), 0.89-0.86 (m, 2H); MS (ES^+) m/z $\text{C}_{28}\text{H}_{33}\text{N}_9\text{O}_3\text{S}$ 에 대한 계산치: 575.24; 실측치: 576.3 ($\text{M}+\text{H}^+$).

[0103] 실시예 11

[0104] 1-(5-사이클로프로필이속사졸-3-일)-3-(2-플루오로-4-(2-((6-(4-(2-히드록시에틸)피페라진-1-일)-2-메틸피리미딘-4-일)아미노)티아졸-5-일)페닐)우레아 (HCl 염)



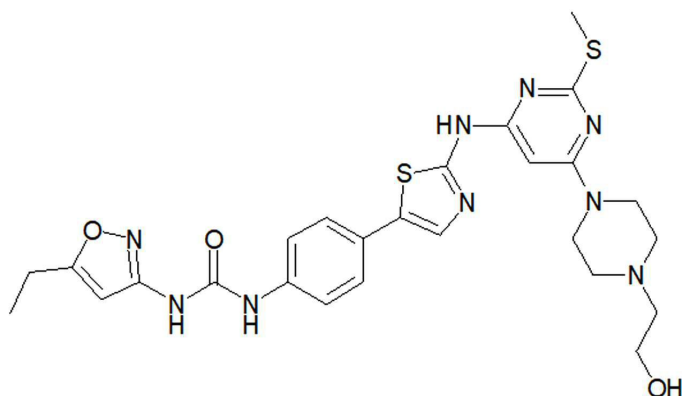
(11)

[0105]

[0106] ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 11.16 (s, 1H), 10.16 (s, 1H), 9.23 (s, 1H), 8.09 (t, J = 8.4 Hz, 1H), 7.82 (s, 1H), 7.55 (d, J = 12.4 Hz, 1H), 7.34 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.45 (s, 1H), 6.28 (s, 1H), 4.33 (bs, 2H), 3.80 (t, J = 4.8 Hz, 2H), 3.60 (d, J = 11.6 Hz, 2H), 3.49-3.40 (m, 2H), 3.19-3.11 (m, 4H), 2.35 (s, 3H), 2.10-2.06 (m, 1H), 1.04-0.99 (m, 2H), 0.88-0.84 (m, 2H); MS (ES^+) m/z $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{FN}_9\text{O}_3\text{S}$ 에 대한 계산치: 579.22; 실측치: 580.2 ($\text{M}+\text{H}^+$).

[0107] 실시예 12

[0108] 1-(5-에틸이속사졸-3-일)-3-(4-(2-((6-(4-(2-히드록시에틸)피페라진-1-일)-2-(메틸티오)피리미딘-4-일)아미노)티아졸-5-일)페닐)우레아 (HCl 염)



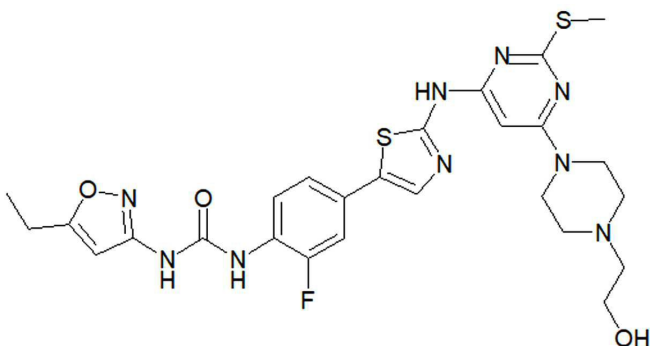
(12)

[0109]

[0110] ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 10.66 (s, 1H), 9.74 (s, 1H), 9.58 (s, 1H), 7.71 (s, 1H), 7.52-7.50 (s, 3H), 6.56 (s, 2H), 6.06 (s, 1H), 4.27 (d, J = 6.0 Hz, 2H), 3.79 (t, J = 5.0 Hz, 2H), 3.60 (d, J = 6.0 Hz, 2H), 3.58 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 3.22-3.08 (m, 4H), 2.71 (q, J = 7.6 Hz, 2H), 2.61 (s, 3H), 2.51 (s, 3H, DMSO와 중첩), 1.18-1.23 (m, 3H); MS (ES^+) m/z $\text{C}_{26}\text{H}_{33}\text{ClN}_9\text{O}_3\text{S}_2$ 에 대한 계산치: 581.20; 실측치: 582.2 ($\text{M}+\text{H}^+$).

[0111] 실시예 13

[0112] 1-(5-에틸이속사졸-3-일)-3-(2-플루오로-4-(2-((6-(4-(2-히드록시에틸)피페라진-1-일)-2-(메틸티오)피리미딘-4-일)아미노)티아졸-5-일)페닐)우레아 (HCl 염)



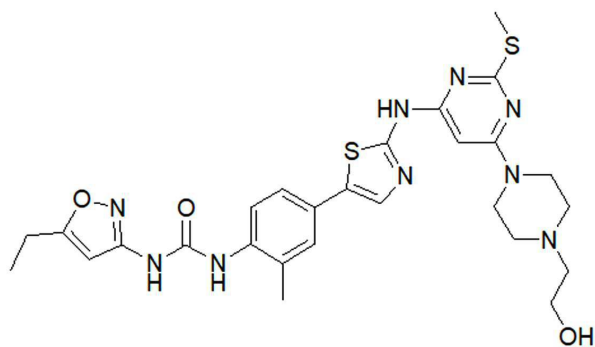
(13)

[0113]

[0114] ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ 11.45 (s, 1H), 10.58 (s, 1H), 9.97 (s, 1H), 9.03 (s, 1H), 8.11 (t, J = 8.6 Hz, 1H), 7.78 (s, 1H), 7.51 (d, J = 12.9 Hz, 1H), 7.29 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 6.52 (s, 1H), 6.03 (s, 1H), 4.26 (d, J = 12.6 Hz, 2H), 3.77 (d, J = 4.8 Hz, 2H), 3.58 (d, J = 11.4 Hz, 2H), 3.38 (t, J = 12.3 Hz, 2H), 3.20-3.08 (m, 4H), 2.70 (q, J = 7.6 Hz, 2H), 2.6 (s, 3H), 1.19 (t, J = 7.5 Hz, 3H); MS (ES^+) m/z $\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{FN}_9\text{O}_3\text{S}_2$ 에 대한 계산치: 599.19; 실측치: 600.3 ($\text{M}+\text{H}^+$).

[0115] 실시예 14

[0116] 1-(5-에틸이속사졸-3-일)-3-(4-(2-((6-(4-(2-히드록시에틸)피페라진-1-일)-2-(메틸티오)피리미딘-4-일)아미노)티아졸-5-일)-2-메틸페닐)우레아 (HCl 염)



(14)

[0117]

[0118]

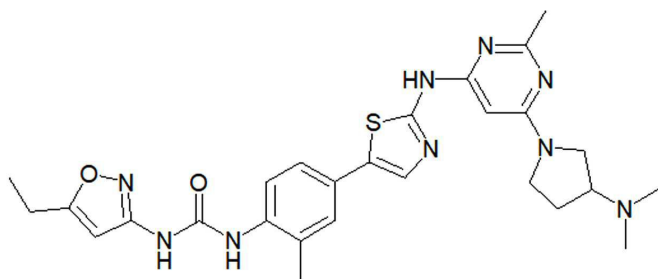
^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 10.72 (s, 1H), 10.12 (s, 1H), 8.66 (s, 1H), 7.90 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.71 (s, 1H), 7.41 (s, 1H), 7.35 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 6.51 (s, 1H), 6.07 (s, 1H), 5.96 (bs, 1H), 4.28 (d, $J = 6.6$ Hz, 2H), 3.80 (d, $J = 5.0$ Hz, 2H), 3.60 (d, $J = 5.8$ Hz, 2H), 3.46-3.38 (m, 2H), 3.21-3.20 (m, 2H), 3.16-3.10 (m, 2H), 2.71 (q, $J = 7.5$ Hz, 2H), 2.61 (s, 3H), 2.30 (s, 3H), 1.21 (t, $J = 7.6$ Hz, 3H); MS (ES^+) m/z $\text{C}_{27}\text{H}_{33}\text{N}_9\text{O}_3\text{S}_2$ 에 대한 계산치: 595.21; 실측치: 596.3 ($\text{M}+\text{H}^+$).

[0119]

실시예 15

[0120]

1-(4-(2-((6-(3-(디메틸아미노)피롤리딘-1-일)-2-메틸피리미딘-4-일)아미노)티아졸-5-일)-2-메틸페닐)-3-(5-에틸이속사졸-3-일)우레아 (HCl 염)



(15)

[0121]

[0122]

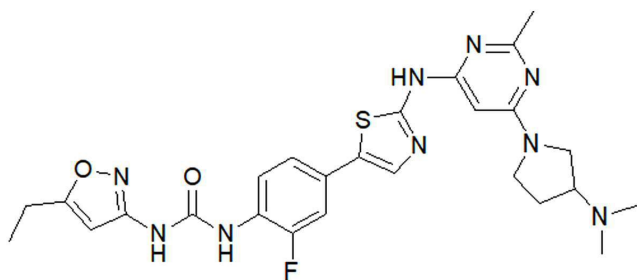
^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 11.70 (s, 1H), 10.22 (s, 1H), 8.75 (s, 1H), 7.93 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.78 (s, 1H), 7.45 (s, 1H), 7.39 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 6.52 (s, 1H), 6.16 (s, 1H), 4.02 (s, 2H), 3.89 (s, 1H), 3.75 (s, 1H), 3.48 (s, 1H), 2.80 (s, 6H), 2.71 (q, $J = 7.2$ Hz, 2H), 2.59 (s, 3H), 2.44-2.39 (m, 2H), 1.07-1.03 (m, 3H); MS (ES^+) m/z $\text{C}_{27}\text{H}_{33}\text{N}_9\text{O}_2\text{S}$ 에 대한 계산치: 547.25; 실측치: 548.2 ($\text{M}+\text{H}^+$).

[0123]

실시예 16

[0124]

1-(4-(2-((6-(3-(디메틸아미노)피롤리딘-1-일)-2-메틸피리미딘-4-일)아미노)티아졸-5-일)-2-플루오로페닐)-3-(5-에틸이속사졸-3-일)우레아 (HCl 염)



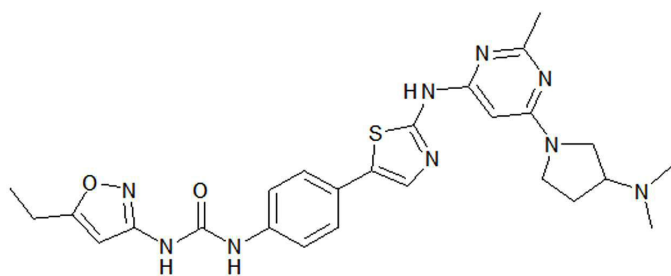
(16)

[0125]

[0126] ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 11.78 (s, 1H), 10.16 (s, 1H), 9.21 (s, 1H), 8.11 (t, J = 8.8 Hz, 1H), 7.86 (s, 1H), 7.57 (d, J = 12.0 Hz, 1H), 7.34 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.52 (s, 1H), 6.17 (s, 1H), 4.10-3.76 (m, 4H), 3.49 (bs, 1H), 2.78 (s, 6H), 2.69 (q, J = 7.6 Hz, 2H), 2.61 (s, 3H), 1.19 (t, J = 7.6 Hz, 3H); MS (ES^+) m/z $\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{FN}_9\text{O}_2\text{S}$ 에 대한 계산치: 551.22; 실측치: 552.2 ($\text{M}+\text{H}^+$).

[0127] 실시예 17

[0128] 1-(4-(2-((6-(3-(디메틸아미노)피롤리딘-1-일)-2-메틸피리미딘-4-일)아미노)티아졸-5-일)페닐)-3-(5-에틸이속사졸-3-일)우레아 (HCl 염)



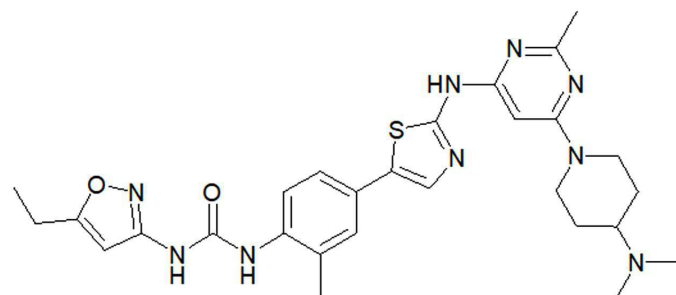
(17)

[0129]

[0130] ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 11.73 (s, 1H), 9.85 (s, 1H), 9.84 (s, 1H), 7.79 (s, 1H), 7.55-7.47 (m, 4H), 6.56 (s, 1H), 6.19 (s, 1H), 4.03 (d, J = 6.4 Hz, 2H), 3.93 (s, 1H), 3.77 (s, 1H), 3.50 (s, 1H), 2.81 (s, 6H), 2.61 (s, 3H), 2.80-2.68 (m, 2H), 2.43 (q, J = 8.4 Hz, 2H), 1.21 (t, J = 7.6 Hz, 3H); MS (ES^+) m/z $\text{C}_{26}\text{H}_{31}\text{N}_9\text{O}_2\text{S}$ 에 대한 계산치: 533.23; 실측치: 534.2 ($\text{M}+\text{H}^+$).

[0131] 실시예 18

[0132] 1-(4-(2-((6-(4-(디메틸아미노)피페리딘-1-일)-2-메틸피리미딘-4-일)아미노)티아졸-5-일)-2-메틸페닐)-3-(5-에틸이속사졸-3-일)우레아 (HCl 염)



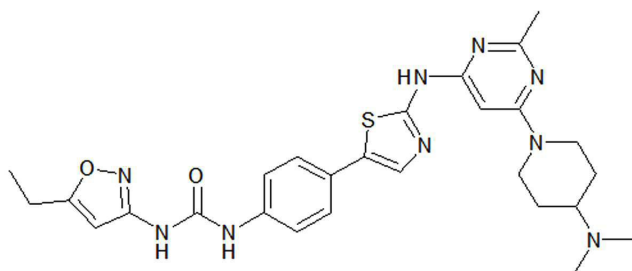
(18)

[0133]

[0134] ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 11.10 (s, 1H), 10.23 (s, 1H), 8.77 (s, 1H), 7.92 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.78 (s, 1H), 7.45 (s, 1H), 7.40 (d, J = 6.4 Hz, 1H), 6.52 (s, 1H), 6.44 (s, 1H), 4.44 (s, 2H), 3.46 (bs, 1H), 3.05 (t, J = 12.0 Hz, 2H), 2.74-2.68 (m, 8H), 2.55 (s, 3H), 2.31 (s, 3H), 2.46 (d, J = 10.8 Hz, 2H), 2.66 (q, J = 11.6 Hz, 2H), 1.20 (t, J = 7.6 Hz, 3H); MS (ES^+) m/z $\text{C}_{28}\text{H}_{35}\text{N}_9\text{O}_2\text{S}$ 에 대한 계산치: 561.26; 실측치: 562.2 ($\text{M}+\text{H}^+$).

[0135] 실시예 19

[0136] 1-(4-(2-((6-(4-(디메틸아미노)피페리딘-1-일)-2-메틸피리미딘-4-일)아미노)티아졸-5-일)페닐)-3-(5-에틸이속사졸-3-일)우레아 (HCl 염)



(19)

[0137]

[0138]

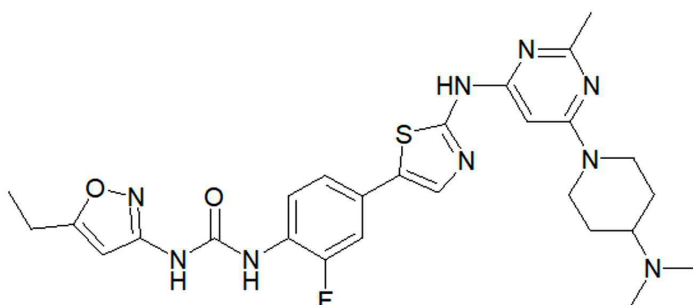
^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ 10.98 (s, 1H), 9.78 (s, 1H), 9.72 (s, 1H), 7.76 (s, 1H), 7.55-7.48 (m, 4H), 6.54 (s, 1H), 6.40 (s, 1H), 4.42 (bs, 2H), 3.43 (t, J = 6.8 Hz, 1H), 3.02 (t, J = 12.3 Hz, 2H), 2.73-2.66 (m, 8H), 2.52-2.48 (m, 3H, DMSO와 중첩), 2.16 (t, J = 10.8 Hz, 2H), 1.64 (q, J = 11.1 Hz, 2H), 1.22-1.17 (m, 3H); MS (ES^+) m/z $\text{C}_{27}\text{H}_{33}\text{N}_9\text{O}_2\text{S}$ 에 대한 계산치: 547.25; 실측치: 548.2 ($\text{M}+\text{H}^+$).

[0139]

실시예 20

[0140]

1-(4-(2-((6-(4-(디메틸아미노)피페리딘-1-일)-2-메틸피리미딘-4-일)아미노)티아졸-5-일)-2-플루오로페닐)-3-(5-에틸이속사졸-3-일)우레아 (HCl 염)



(20)

[0141]

[0142]

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 10.78 (s, 1H), 9.98 (s, 1H), 9.05 (s, 1H), 8.11 (t, J = 8.8 Hz, 1H), 7.82 (s, 1H), 7.57 (d, J = 12.4 Hz, 1H), 7.34 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 6.52 (s, 1H), 6.26 (s, 1H), 4.39 (bs, 2H), 3.41 (t, J = 6.8 Hz, 1H), 2.95 (t, J = 11.2 Hz, 2H), 2.74-2.68 (m, 8H), 2.52-2.47 (m, 3H, DMSO와 중첩), 2.13 (d, J = 10.8 Hz, 2H), 1.60 (q, J = 12.0 Hz, 2H), 1.19 (t, J = 7.6 Hz, 3H); MS (ES^+) m/z $\text{C}_{27}\text{H}_{32}\text{FN}_9\text{O}_2\text{S}$ 에 대한 계산치: 565.24; 실측치: 566.2 ($\text{M}+\text{H}^+$).

[0143]

실시예 21: 단백질 키나아제의 억제

[0144]

키나아제 억제 데이터는 SelectScreen® Biochemical Kinase Profiling Service에서 얻었다.

[0145]

보다 구체적으로, 테스트 화합물은 384-웰 플레이트(well plate)의 웰 중 160 nL의 1 % DMSO 용액에서 스크리닝 되었고; 키나아제/항체 혼합물(8 μL)을 적절한 키나아제 완충액(3.84 μL)에서 2-배 작용 농도로 희석하고, 4-배 AlexaFluor® 표지된 추적자(tracer)(4 μL)를 키나아제 완충액에서 제조하였다; 테스트 용액의 배양을 실온에서 60분 동안 수행하였다; 형광 플레이트 판독기에서 판독값(readout)을 기록하고 분석하였다.

표 1

[0146]

키나아제 억제 데이터

단백질 키나아제	100 nM에서 억제(대조군의 %)		
	1	2	3
ABL1	81	-	-
ABL1 T315I	65	-	15
DDR1	-	80	77

KIT	66 (41 nM)*	67	85
PDGFR A	95 (9 nM)*	89	79
PDGFR B	82 (19 nM)*	80	92
RET	96	94	56
SRC	96 (6 nM)*	79	66
TRK A	-	60	69
TRK B	-	72	73
VEGFR2	95 (19 nM)*	-	-

* 괄호 안의 숫자는 IC₅₀ 값을 나타낸다.

화학식 (I)의 특정 화합물, 예컨대, 화합물 1, 2 및 3은 최대의 반 억제 농도(half maximal inhibitory concentrations) 또는 IC₅₀ 값이 100nM 미만으로 다수의 단백질 키나아제를 예상치 않게 억제하였다.

상기 결과는 화학식 (I)의 화합물이 다수의 단백질 키나아제를 억제하는데 높은 활성을 발휘한다는 것을 나타낸다.

실시예 22 : 시험관 내 세포 활성

AC220은 FLT3-내부 tandem 복제(FLT3-ITD: FLT3-internal tandem duplication) 돌연변이체에 대해 높은 효력을 발휘하는, 임상 시험중인 작은 분자 FLT3 억제제이다. 임상적으로 관련된 AC220 저항성-수여하는 돌연변이는 FLT3 키나아제 도메인의 잔기, 예컨대 ITD-D835Y, ITD-D835V, ITD-D835F, ITD-F691L 및 ITD-F691I로 제한되었다.

화합물 AC220의 효능과 비교하여, 이들 돌연변이를 포함하는 세포주의 성장을 억제하는데 있어 화학식 (I)의 화합물의 효능을 평가하기 위한 연구가 하기와 같이 수행되었다.

5개의 백혈병 32D 세포주는 American Type Culture Collection(ATCC, Manassas, VA, USA)에서 구입하였다. ITD 돌연변이(32D-ITD 세포), ITD 및 D835Y (32D-ITD/D835Y 세포), ITD 및 D835V(32D-ITD/D835V 세포), ITD 및 D835F(32D-ITD/D835F 세포) 및 ITD 및 F691L(32D-ITD/F691L 세포) 돌연변이를 포함하는 인간 FLT3을 코딩하는 발현 벡터로 쥐 프로-B 림프구 32D 세포주(murine pro-B lymphocyte 32D cell lines)를 안정하게 형질감염 시켰는데, 상기 돌연변이는 FLT3 다운스트림 신호 단백질의 구조 활성화(constitutive activation)를 유도한다. 세포 생존력(cell viability)은 *PLoS One*, 2014, 9, e97116에 기재된 MTS 분석법으로 평가하였다. 32D-ITD/D835Y, 32D-ITD/D835V, 32D-ITD/D835F, 32D-ITD/F691L 및 32D-ITD/F691I 세포를 96-웰 플레이트에 1×10^4 세포/mL(웰 당 100 μ l)로 시딩(seeding)하고, 24 시간 동안 배양하였다. 이어서, (디메틸설폭사이드(DMSO) 중의 다양한 농도의) 테스트 화합물을 배양 배지에 첨가하고, 72 시간 동안 배양하였다. 세포 생존력은 MTS 분석법(Promega, Madison, WI, USA)에 의해 측정하였다.

하기 표 2에 나타난 결과는 ITD 돌연변이체를 포함하는 세포주의 성장 억제에 있어 테스트 화합물의 연구로부터 수득되었다.

표 2

FLT3-ITD의 AC220-내성 돌연변이체를 발현하는 32D 세포에 대한 화합물의 활성

GI ₅₀ (nM)	AC220	1	2	4
ITD-D835Y	19	1.1	1.8	1.0
ITD-D835V	103	0.76	1.5	0.87
ITD-D835F	57	3.2	5.8	5.5
ITD-F691L	101	8.5	14	12
ITD-F691I	>300	45	158	19

예상치 않게, 화합물 1, 2 및 4 모두 모든 돌연변이체 ITD-D835Y, ITD-D835V, ITD-D835F, ITD-F691L 및 ITD-F691I에 대하여 AC220에 의해 수행된 것 보다 훨씬 높은 세포성장 억제 효과를 나타냈다. 보다 구체적으로, 예상치 않게 모든 화합물 1, 2 및 4는 돌연변이체 ITD-D835Y, ITD-D835V 및 ITD-D835F에 대해 6nM 미만의 GI₅₀ 값

을 가져, AC220에 의해 수행된 19-103nM의 GI_{50} 값과 비교하여 높은 세포성장 억제 효과를 나타냈고; 화합물 4는 돌연변이체 ITD-F691L 및 ITD-F691I에 대해 20nM 미만의 GI_{50} 값을 가져, AC220에 의해 수행된 100nM보다 높은 GI_{50} 값과 비교하여 예상치 않게 높은 세포성장 억제 효과를 나타내었다.

[0157] 비교 데이터는 화학식 (I)의 화합물이 예상치 않게 높은 세포 효능을 발휘하고, 특정 단백질 키나아제 돌연변이체를 억제하는데 있어 임상 화합물보다 우수한 것을 나타낸다.

[0158] 실시예 23: 화학식 (I)의 화합물의 경구 생체이용률(F%)

[0159] 경구 투여된 경우 화학식 (I)의 화합물의 생체 내 노출을 평가하기 위한 연구가 하기와 같이 수행되었다.

[0160] 각각 체중 25 내지 35 g의 수컷 ICR 마우스를 BioLASCO(Taiwan Co., Ltd, Ilan, Taiwan)에서 얻었다. 동물 연구는 국립 보건 연구원(National Health Research Institute, NHRI)의 기관 동물 관리 및 위원회-승인된 절차에 따라 수행되었다. 화합물 2, 3, 5 및 6 각각 2.0 mg/kg의 단일 용량(single dose)을 총 33 마리의 수컷 마우스에게 정맥 내(IV)로 투여하였다. 이들 4 가지 화합물 각각 10mg/kg의 단일 용량을 총 27 마리의 수컷 마우스에게 경구(PO) 투여하였다. 각각의 마우스에게 정맥 내 꼬리-정맥 주사에 의해 IV 투여 용액 100 mL 및 경구 위관병(oral gavage)에 의해 PO 투여 용액 200 mL를 주었다. IV 투여를 받은 동물은 금식하지 않았고, PO 투여를 받은 동물은 투여하기 전에 밤새 금식하였다. 투여 후 0(투여 직전), 2(IV 단독), 5(IV 단독), 15 및 30 분 및 투여 후 1, 2, 4, 6, 8, 16 및 24 시간에 혈액 (~500 mL)을 각 시점에서 심장 찌름(cardio puncture)에 의해 3 마리 마우스의 군으로부터 수집하고 얼음(0-4 °C)에 저장하였다. 항응고제로 에틸렌디아민테트라아세트산(EDTA)을 사용했다. 혈액을 원심분리(Beckman Model Allegra 6R 원심분리기 4 °C에서 3000rpm으로 15분 동안)하여 혈액으로부터 분리하고 냉장고(-20 °C)에 저장하였다. 표준곡선을 작도하는 용도 및 품질관리(QC) 샘플의 제조를 위해, 대조군 혈액을 화합물을 투여받지 않은 마우스로부터 수득하였다. 모든 샘플은 모 화합물에 대해 LC-MS/MS로 분석하였다.

[0161] 백분율(F%)로 나타낸 경구 생체이용률은 PO 투여 후 화합물의 평균 곡선아래 면적(AUC: area under the curve) 값을 IV 투여 후 화합물의 평균 AUC 값으로 나누고 투여량 표준화(normalization) 후 계산하였다. AUC 및 F%의 값을 하기 표 3에 나타내었다.

표 3

[0162] 마우스에서의 화학식 (I)의 화합물의 약동학적 프로파일

화합물	IV (용량: 2 mg/kg)	PO (용량: 10 mg/kg)	F(%)
	AUC _(0-inf) (ng/mL*hr)	AUC _(0-inf) (ng/mL*hr)	
2	1441	2796	38
3	2074	11371	96
5	2725	8239	67
6	1837	7583	89

[0163] 4 개의 모든 화합물, 즉, 2, 3, 5 및 6은 IV AUC 및 PO AUC 값 모두에 의해 나타낸 바와 같이, 예상치 않게 높은 노출을 나타냈다는 것이 관찰되었다. 또한, 화합물 2, 3, 5 및 6은 각각 38, 96, 67 및 89의 F% 값으로 예상치 않게 높은 경구 생체이용률을 나타냈다.

[0164] 상기 표 3에 기재된 결과는 화학식 (I)의 화합물이 경구 투여 시 예상치 않게 높은 생체 내 노출을 나타냄을 나타낸다.

[0165] 실시예 24: 이종이식 마우스 모델에서의 효능

[0166] 화학식 (I)의 화합물의 생체 내 효능, 즉 종양 성장 억제(TGI:tumor growth inhibition)를 평가하기 위한 연구가 하기와 같이 수행되었다.

[0167] 8주령의 수컷 누드 마우스(*Nu-FoxI^{nu}*)를 BioLASCO(Taipei, Taiwan, R.O.C.)로부터 구입하였다. 인간 결장직장 Colo205, 췌장 Mia-PaCa 2 종양세포 또는 MOLM-13, 32D-ITD/D835Y 백혈병 세포를 누드 마우스에 각각 1×10^6

세포로 피하 접종하였다. 동물에 주사하기 전에 모든 인간 암세포는 *Mycoplasma spp*가 검출되지 않았다. 종양 세포는 이종이식 종양으로 자라며, 종양 크기는 누드 마우스에서 약 200~250 mm³에 도달하여 투여 치료를 준비 하였다. 누드 마우스에 경구 위관병을 위해, 테스트 화합물을 20 % 2-히드록시 프로피-β-사이클로텍스트린에 개별적으로 용해시켰다. 종양-보유 마우스를 다양한 용량으로 1 주일에 5 번씩 2 주 동안 테스트 화합물로 처리 하였다. 종양 크기는 전자 캘리퍼스(electronic caliper)로 측정하였고, 종양 크기 = 길이 × 폭² / 2의 공식 으로 계산하였다. 관찰기간 내내, 종양 세포 접종 전과 후에 종양 크기와 동물 체중을 일주일에 두 번 측정하였 다. 동물의 사용과 이의 실험절차는 국립 보건 연구원의 기관 동물 관리 및 사용위원회(IACUC:Institutional Animal Care and Use Committee)의 승인을 받았다.

표 4

[0168] 누드 마우스에서의 이종이식 colo205 모델에 대한 화학식 (I)의 화합물의 생체 내 효능

누드 마우스에서 Colo205 이종이식	18일째 TGI
1	> 80%
2	~ 80%
3	~ 80%
4	~ 80%
6	~ 80%

[0169] 상기 표 4에 나타난 바와 같이, 누드 마우스의 이종이식 colo205 모델에서 모든 테스트 화합물, 즉, 화합물 1(P0; 50 mg/kg), 2(P0; 50 mg/kg), 3(P0; 100mg/kg) 4(P0; 150 mg/kg) 및 6(P0; 25 mg/kg)은 예상치 않게 18 일째에 80%의 높은 TGI를 나타냈다.

표 5

[0170] 이종이식 Mia-paca2 종양 모델에 대한 화학식 (I)의 화합물의 생체 내 항종양 효능

Mia-paca2 종양 모델	18일째 TGI
5	65%
6	68%

[0171] 상기 표 5에 나타난 바와 같이, 이종이식 Mia-paca2 종양 모델에서, 화합물 5 및 6 (25 mg/kg으로 경구 투여 됨) 둘 다는 예상치 않게 18 일째에 각각 65 % 및 68 %의 높은 TGI를 나타냈다.

표 6

[0172] 누드 마우스에서 이종이식 MOLM-13 모델에 대한 화학식 (I)의 화합물의 생체 내 효능

누드 마우스에서 MOLM-13 이종이식	25일째 종양 크기
2	53 mm ³ (50 mpk), 270 mm ³ (25 mpk)
4	193 mm ³ (150 mpk)

[0173] * 시작 종양 크기 ~250 mm³. 18 일째, 대조군의 종양 크기는 > 2000 mm³에 이르렀고 마우스를 희생시켰다.

[0174] 상기 표 6에 나타난 바와 같이, 누드 마우스에서 이종이식 MOLM-13 모델에서, 화합물 2(P0; 25 및 50 mg/kg) 및 4(P0; 150 mg/kg) 모두 25 일째에 예상치 않은 높은 TGI 및 종양 퇴행(regression)을 나타냈다.

표 7

[0175] 누드 마우스에서 이종이식 FLT3-ITD-D835Y 모델에 대한 화학식 (I)의 화합물의 생체 내 효능

누드 마우스에서 MOLM-13 이종이식	12 일째 종양 퇴행
2	34%
5	22%

[0176] 상기 표 7에 나타난 바와 같이, 누드 마우스의 이종이식 FLT3-ITD-D835Y 모델에서, 화합물 2(P0; 25 mg/kg) 및 5(P0; 25 mg/kg) 모두 예상치 않게 12 일째에 >20 %의 높은 종양 퇴행을 나타냈다.

[0177] 이러한 결과는 화학식 (I)의 화합물이 경구 투여될 때, 이종이식 동물 모델에서 높은 항종양 효능을 예상치 않게 발휘한다는 것을 나타낸다.

[0178] 실시예 25: 마우스에서의 독성 연구

[0179] 화학식 (I)의 화합물의 생체 내 독성을 평가하기 위한 연구가 하기와 같이 수행되었다.

[0180] 실시예 24에 기재된 절차에 따라, 화학식 (I)의 화합물의 생체 내 효능에 대해 화학식 (I)의 화합물을 동물에서 테스트하였다. 9 주령의 무흉선(athymic) nu/nu 누드 마우스를 1-5 일 및 8-12 일에 25, 50, 100 또는 150 mg/kg의 1 일 1 회 투여량으로 경구 투여하였다. 마우스의 임상 징후를 관찰하고 14 일의 치료 후 관찰기간 동안 체중을 측정하였다.

표 8

[0181] 이종이식 colo205 누드 마우스에서 화학식 (I)의 화합물의 생체 내 독성 연구

화합물	독성: 5 on 2 off X 2 사망률(누드 마우스 n = 6)
1	0/6 (50 mg/kg)
2	0/6 (50 mg/kg)
3	0/6 (100 mg/kg)
4	0/6 (150 mg/kg)
6	0/6 (25 mg/kg)

[0182] 상기 표 8에 나타난 바와 같이, 이종이식 colo205 누드 마우스는 양호한 내성을 보였다. 화합물 1, 2, 3, 4 및 6을 1 일 1 회 경구 투여하였다(50, 50, 100, 150 및 25 mg/kg). 연구 중에 사망률은 관찰되지 않았다.

표 9

[0183] 이종이식 Mia-paca2 누드 마우스에서 화학식 (I)의 화합물의 생체 내 독성 연구

Mia-paca2 종양 모델	독성: 5 on 2 off X 2 사망률(누드 마우스 n = 6)
5	0/6 (25 mg/kg)
6	0/6 (25 mg/kg)

[0184] 상기 표 9에 나타난 바와 같이, 이종이식 Mia-paca2 누드 마우스는 양호한 내성을 보였다. 화합물 5 및 6을 1 일 1 회 경구 투여(25 mg/kg) 하였다. 다시, 이 연구 중에 사망률은 관찰되지 않았다.

표 10

[0185] 이종이식 MOLM-13 누드 마우스에서 화학식 (I)의 화합물의 생체 내 독성 연구

화합물	독성: 5 on 2 off X 2 사망률(누드 마우스 n = 6 또는 7)
2	0/6 (25 or 50 mg/kg)
4	0/6 (150 mg/kg)

[0186] 상기 표 10에 나타난 바와 같이, 이종이식 MOLM-13 누드 마우스는 양호한 내성을 보였다. 화합물 2 및 4를 1 일 1 회 경구 투여(25 및 50, 50 또는 150 mg/kg) 하였다. 또한, 이 연구 중에 사망률은 관찰되지 않았다.

표 11

[0187] 이중이식 FLT3-ITD-D835Y 누드 마우스에서 화학식 (I)의 화합물의 생체 내 독성 연구

화합물	독성: 5 on 2 off X 2 사망률(누드 마우스 n = 8)
2	0/8 (25 mg/kg)
5	0/8 (25 mg/kg)

[0188] 상기 표 11에 나타난 바와 같이, 이중이식 FLT3-ITD-D835Y 누드 마우스는 양호한 내성을 보였다. 화합물 2 및 5를 1 일 1 회 경구 투여(25 mg/kg) 하였다. 이 연구 중에 사망률은 관찰되지 않았다.

[0189] 상기의 결과들은 예상치 않게 화학식 (I)의 화합물이 바람직한 안전성 프로파일을 나타내는 것을 입증한다.

[0190] 다른 실시양태

[0191] 본 명세서에 개시된 모든 특징은 임의의 조합으로 조합될 수 있다. 본 명세서에 개시된 각각의 특징은 동일, 동등 또는 유사한 목적을 수행하는 대안적인 특징으로 대체될 수 있다. 따라서, 달리 명시적으로 언급되지 않는 한, 개시된 각 특징은 동등하거나 유사한 특징의 일반적인 시리즈의 예시일 뿐이다.

[0192] 상기 설명으로부터, 당업자는 본 발명의 본질적인 특성을 쉽게 확인할 수 있으며, 본 발명의 사상 및 범위를 벗어나지 않고, 다양한 용도 및 조건에 적응시키기위해 본 발명의 다양한 변형 및 수정을 할 수 있다. 따라서, 다른 실시양태 또한 하기 청구범위의 범위 내에 있다.