(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0009331
(43) 공개일자 2021년01월26일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/55 (2006.01) *A61K 31/18* (2006.01)
A61K 31/36 (2006.01) *A61K 31/40* (2006.01)
A61K 31/4453 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
C07C 233/66 (2006.01) *C07D 223/06* (2006.01)
C07D 295/26 (2006.01) *C07D 317/58* (2006.01)
C07D 317/66 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/55 (2013.01)
A61K 31/18 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2020-7035159
(22) 출원일자(국제) 2019년05월10일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2020년12월07일
(86) 국제출원번호 PCT/US2019/031885
(87) 국제공개번호 WO 2019/217933
국제공개일자 2019년11월14일
(30) 우선권주장
62/669,926 2018년05월10일 미국(US)

(71) 출원인
유니버시티 오브 루이빌 리서치 파운데이션, 인코포레이티드
미국 40202-1959 켄터키주 루이빌 이스트 마켓 스트리트 300 스위트 300
(72) 발명자
클락, 제프리, 제이.
미국 40202 켄터키주 루이빌 스위트 300 이스트 마켓 스트리트 300 유니버시티 오브 루이빌 리서치 파운데이션, 인코포레이티드 내
트렌트, 존, 오.
미국 40202 켄터키주 루이빌 스위트 300 이스트 마켓 스트리트 300 유니버시티 오브 루이빌 리서치 파운데이션, 인코포레이티드 내
버리슨, 조셉, 에이.
미국 40202 켄터키주 루이빌 스위트 300 이스트 마켓 스트리트 300 유니버시티 오브 루이빌 리서치 파운데이션, 인코포레이티드 내
(74) 대리인
특허법인 무한

전체 청구항 수 : 총 17 항

(54) 발명의 명칭 **RAS 온코프로테인의 억제제, 이의 제조방법 및 이용방법**

(57) 요 약

RAS 내 돌연변이를 활성화시키는 것과 관련된 질병의 치료에 사용하기 위한, 또는 RAS 활성의 감소에 의해 치료

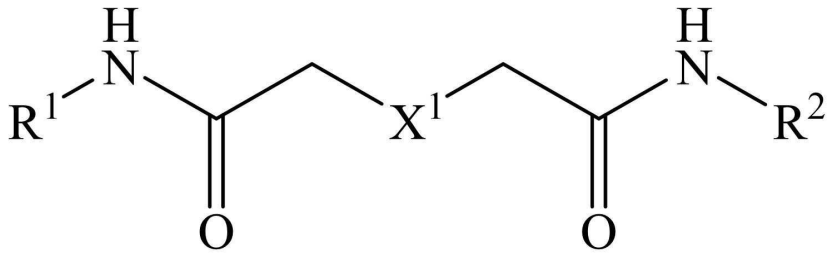
(뒷면에 계속)

대 표 도 - 도1

암	동형 (isoform)	퍼센트
췌장 관 선암(pancreatic ductal adenocarcinoma)	K	98
결장 선암 (colorectal adenocarcinoma)	K	52
다발성 골수종	K, N	43
폐 선암(lung adenocarcinoma)	K	32
피부 흑색종 (Skin cutaneous melanoma)	N	29
자궁내막모양암종 (Uterine corpus endometrioidcarcinoma)	K	25
자궁 암육종 (Uterine carcinosarcoma)	K	14
갑상선 암종 (Thyroid carcinoma)	N>K	13
급성골수성백혈병 (Acute myeloid leukemia)	N>K>H	11
요로상피성 방광 암종 (Bladder urothelial carcinoma)	H, K>N	11
위선암 (Gastric adenocarcinoma)	K	10
자궁경부선암종 (cervical adenocarcinoma)	K	8
두경부편평세포암종 (head and neck squamous cell carcinoma)	H	6

가능한 질병의 치료에 사용하기 위한 화합물은 화학식 (I)의 화합물, 이의 염 및 에스테르로부터 선택된 것이다:

[화학식 (I)]



.

상기 화합물은 특히 암의 치료에 유용하다.

(52) CPC특허분류
A61K 31/36 (2013.01)
A61K 31/40 (2013.01)
A61K 31/4453 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)
C07D 223/06 (2013.01)
C07D 295/192 (2013.01)
C07D 295/26 (2013.01)
C07D 317/58 (2013.01)
C07D 317/66 (2013.01)

명 세 서

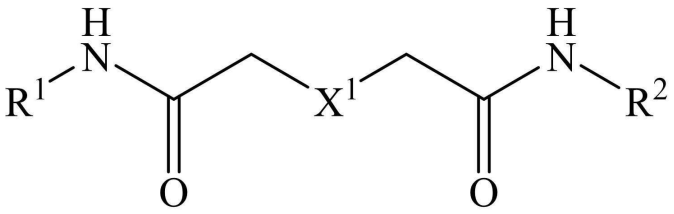
청구범위

청구항 1

RAS 내 돌연변이를 활성화시키는 것과 관련된 질병의 치료에 사용하기 위한, 또는 RAS 활성의 감소에 의해 치료 가능한 질병의 치료에 사용하기 위한 화합물로서,

상기 화합물은 화학식 (I)의 화합물, 이의 염 및 에스테르로부터 선택된 것이고:

[화학식 (I)]



이때 상기 화학식 (I)에서

R^1은 1가의(monovalent) H, 카복시, 니트로, 설포(sulfo), 할로겐, 아릴, 사이클로알킬, 헤테로사이클릴, 헤테로아릴, -(C_1-C_3)알킬-아릴, -(C_1-C_3)알킬-사이클로알킬, -(C_1-C_3)알킬-헤테로사이클릴, -(C_1-C_3)알킬-헤테로아릴, C_1-C_8 알킬, C_2-C_8 알케닐, C_2-C_8 알키닐, 또는 C_1-C_7 알콕시이되, 이들 1가의 기들은 할로겐, 하이드록시, C_1-C_5 알킬, C_1-C_4 알콕시, 메탄올리(methanoly), 카복시, 니트로, 시아노, 아미노, 카바모일, 에티닐 (ethynyl), $-CF_3$, $-CF_2CF_3$, $-OCF_3$, $-OCF_2CF_3$, 또는 설포로 임의로 치환되고;

X^1은 2가의(bivalent) -(NH)-, $-(CH_2)-$, $-(NHCH_2)-$, $-(CH_2NH)-$, $-(C_2H_4)-$, $-(C_2H_2)-$, $-(C_2)-$, -O-, $-O-(CH_2)-$, $-(CH_2)-O-$, -S-, $-S-(CH_2)-$, 또는 $-(CH_2)-S-$이되, 이들 2가의 기들은 할로겐, 하이드록시, $-R_x$, 메탄올리, 카복시, 니트로, 시아노, 아미노, 카바모일, 에티닐, $-CF_3$, $-CF_2CF_3$, $-OCF_3$, $-OCF_2CF_3$, 또는 설포로 임의로 치환되고;

R_x은 C_1-C_8 알킬, C_2-C_8 알케닐, C_2-C_8 알키닐, 또는 C_1-C_7 알콕시 그룹이되, 이들 그룹은 할로겐, 하이드록시, C_1-C_4 알킬, C_2-C_4 알케닐, C_2-C_4 알키닐, C_1-C_4 알콕시, 아릴, 사이클로알킬, 헤테로사이클릴, 헤테로아릴, 메탄올리, 카복시, 니트로, 시아노, 아미노, 카바모일, 에티닐, $-CF_3$, $-CF_2CF_3$, $-OCF_3$, $-OCF_2CF_3$, 또는 설포로 임의로 치환되고;

R^2은 아릴, 사이클로알킬, 헤테로사이클릴, 헤테로아릴, -(C_1-C_3)알킬-아릴, -(C_1-C_3)알킬-사이클로알킬, -(C_1-C_3)알킬-헤테로사이클릴, 또는 -(C_1-C_3)알킬-헤테로아릴 그룹이되, 이들 그룹은 할로겐, 하이드록시, C_1-C_{16} 알킬, C_2-C_{16} 알케닐, C_2-C_{16} 알키닐, C_1-C_{15} 알콕시, 메탄올리, 카복시, 니트로, 시아노, 아미노, 카바모일, 에티닐, $-CF_3$, $-CF_2CF_3$, $-OCF_3$, $-OCF_2CF_3$, 설포, $-SO_2-R^3$, -(C=O)-R_3, 또는 $-O-R^3$로 임의로 치환되고;

R^3은 $-NR_aR_b$, 아릴, 사이클로알킬, 헤테로사이클릴, 헤테로아릴, C_1-C_7 알킬, C_2-C_7 알케닐, C_2-C_7 알키닐, 또는 C_1-C_6 알콕시 그룹이되, 이들 그룹은 할로겐, 하이드록시, C_1-C_5 알킬, C_1-C_4 알콕시, 메탄올리, 카복시, 니트로, 시아노, 아미노, 카바모일, 에티닐, $-CF_3$, $-CF_2CF_3$, $-OCF_3$, $-OCF_2CF_3$, 또는 설포로 임의로 치환되고;

R_a은 1가의 H, 아릴, 사이클로알킬, 헤테로사이클릴, 헤테로아릴, C_1-C_7 알킬, C_2-C_7 알케닐, C_2-C_7 알키닐, 또는

C_1-C_6 알콕시이되, 이들 1가의 기들은 할로겐, 하이드록시, C_1-C_5 알킬, C_1-C_4 알콕시, 메탄올리, 카복시, 니트로, 시아노, 아미노, 카바모일, 에티닐, $-CF_3$, $-CF_2CF_3$, $-OCF_3$, $-OCF_2CF_3$, 또는 설포로 임의로 치환되고;

R_b은 1가의 H, 아릴, 사이클로알킬, 헤테로사이클릴, 헤테로아릴, C_1-C_7 알킬, C_2-C_7 알케닐, C_2-C_7 알키닐, 또는 C_1-C_6 알콕시이고, 이때 H, 아릴, 사이클로알킬, 헤테로사이클릴, 헤테로아릴, C_1-C_7 알킬, C_2-C_7 알케닐, C_2-C_7 알키닐, 또는 C_1-C_6 알콕시는 할로겐, 하이드록시, C_1-C_5 알킬, C_1-C_4 알콕시, 메탄올리, 카복시, 니트로, 시아노, 아미노, 카바모일, 에티닐, $-CF_3$, $-CF_2CF_3$, $-OCF_3$, $-OCF_2CF_3$, 또는 설포로 임의로 치환되고;

이때 R^2가 메탄올리, 카복시, 아미노, C_1-C_{16} 알킬, C_2-C_{16} 알케닐, C_2-C_{16} 알키닐, 및 C_1-C_{15} 알콕시로부터 선택된 치환체들을 포함하는 경우, 각각의 치환체는 할로겐, 하이드록시, C_1-C_4 알킬, C_2-C_4 알케닐, C_2-C_4 알키닐, C_1-C_4 알콕시, 메탄올리, 카복시, 니트로, 시아노, 아미노, $-NH(C_1$-C_4 알킬), $-N(C_1$-C_4 알킬)(C_1-C_4 알킬), 카바모일, 에티닐, $-CF_3$, $-CF_2CF_3$, $-OCF_3$, $-OCF_2CF_3$, 설포, 또는 $-R_c$로 독립적으로 그리고 임의로 치환될 수 있고;

R_c는 각각의 경우 동일하거나 상이할 수 있는 것으로서, $-CO-OCH_3$, $-CO-NR_fR_g$, $-SO_2-NR_fR_g$, $-NR_fR_g$, $-NH-CO-CH_3$, $-NH-CO-NR_fR_g$, $-NH-CO-OCH_3$, 아릴, 사이클로알킬, 헤테로사이클릴, 헤테로아릴, 5-7 원(membered) 모노사이클릭 헤테로사이클릴, 5-7 원 모노사이클릭 헤테로아릴, 테트라졸릴(tetrazolyl), 트리아졸릴(triazolyl), 이미다졸릴(imidazolyl), 피롤릴(pyrrolyl), 피롤리디닐(pyrrolidinyl), 피페리딜(piperidyl), 피페라지닐(piperazinyl), 모르폴리닐(morpholinyl), 피리딜(pyridyl), 피라지닐(pyrazinyl), 피리미디닐(pyrimidinyl), 티에닐(thienyl), 퓨릴(furyl), 피라닐(pyranyl), 피라졸릴(pyrazolyl), 이소티아졸릴(isothiazolyl), 이속사졸릴(isoxazolyl), 피리다지닐(pyridazinyl), 퓨라자닐(furazanyl), 피롤리닐(pyrrolinyl), 이미다졸리디닐(imidazolidinyl), 이미다졸리닐(imidazoliny), 피라졸리디닐(pyrazolidinyl), 또는 피라졸리닐(pyrazoliny) 그룹이되, 이들 그룹은 할로겐, 하이드록시, C_1-C_4 알킬, C_2-C_4 알케닐, C_2-C_4 알키닐, C_1-C_4 알콕시, 아릴, 사이클로알킬, 헤테로사이클릴, 헤테로아릴, 메탄올리, 카복시, 니트로, 시아노, 아미노, 카바모일, 에티닐, $-CF_3$, $-CF_2CF_3$, $-OCF_3$, $-OCF_2CF_3$, 또는 설포로 임의로 치환되고;

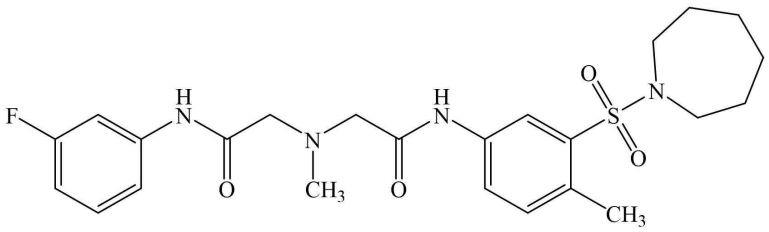
R_f는 각각의 경우 동일하거나 상이할 수 있는 것으로서, H 또는 C_1-C_4 알킬일 수 있고;

R_g는 각각의 경우 동일하거나 상이할 수 있는 것으로서, H 또는 C_1-C_4 알킬일 수 있는 것인, 화합물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 화합물은



가 아닌, 화합물.

청구항 3

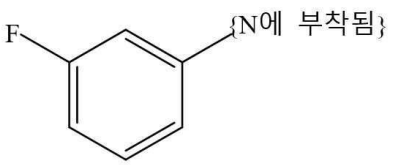
제1항에 있어서,

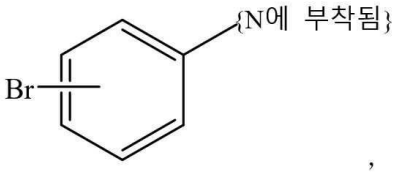
R^1은 아릴, 사이클로알킬, 헤테로사이클릴, 또는 헤테로아릴 그룹이되, 이들 그룹은 할로겐, 하이드록시, C_1-C_5 알킬, C_1-C_4 알콕시, 메탄올리, 카복시, 니트로, 시아노, 아미노, 카바모일, 에티닐, $-CF_3$, $-CF_2CF_3$, $-OCF_3$, $-OCF_2CF_3$, 또는 설포로 임의로 치환되는 것인, 화합물.

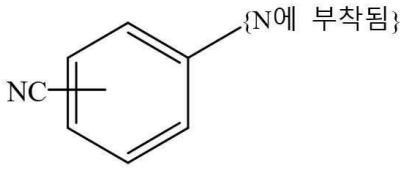
청구항 4

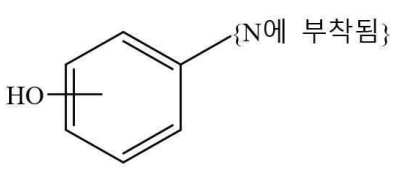
제1항에 있어서,

R^1은



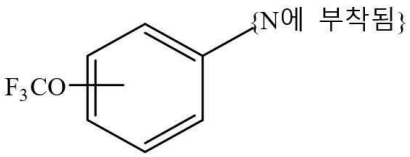
,


,


,


,

또는



인 것인, 화합물.

청구항 5

제1항에 있어서,

X^1은 2가의 -(NH)-, $-(CH_2)$-, -O-, 또는 -S- 그룹이되, 이들 그룹은 할로겐, 하이드록시, $-R_x$, 메탄올리, 카복시, 니트로, 시아노, 아미노, 카바모일, 에티닐, $-CF_3$, $-CF_2CF_3$, $-OCF_3$, $-OCF_2CF_3$, 또는 설포로 임의로 치환되는 것인, 화합물.

청구항 6

제1항에 있어서,

X^1는 $-N(CH_3)$-, -S-, -O-, $-C(CH_3)_2$-, 또는 $-C(HCH_3)$-인 것인, 화합물.

청구항 7

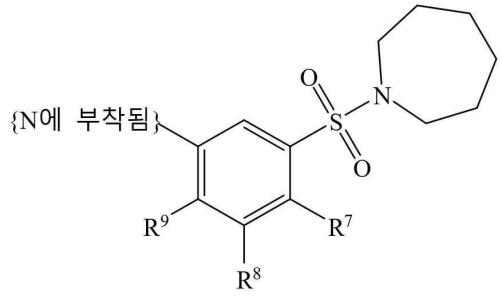
제1항에 있어서,

R^2는 $-SO_2-R^3$또는 $-(C=O)-R_3$로 치환된, 아릴, 사이클로알킬, 헤테로사이클릴, 또는 헤테로아릴 그룹이되, 이들 그룹은 할로겐, 하이드록시, C_1-C_{16} 알킬, C_2-C_{16} 알케닐, C_2-C_{16} 알키닐, C_1-C_{15} 알콕시, 메탄올리, 카복시, 니트로, 시아노, 아미노, 카바모일, 에티닐, $-CF_3$, $-CF_2CF_3$, $-OCF_3$, $-OCF_2CF_3$, 설포, $-SO_2-R^3$, $-(C=O)-R_3$, 또는 $-O-R^3$로 임의로 더 치환된 것인, 화합물.

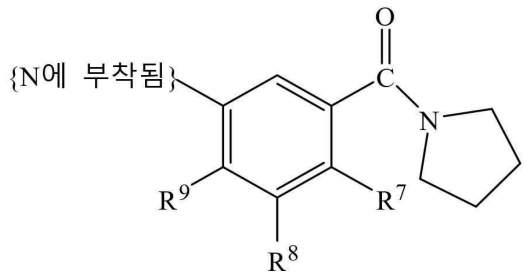
청구항 8

제1항에 있어서,

R^2는



또는



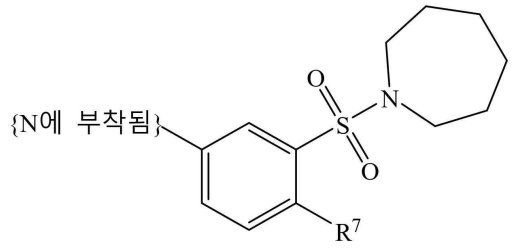
이고,

R^9, R^8 및 R^7은 각각 독립적으로 H, 할로겐, 하이드록시, C_1-C_{16} 알킬, C_2-C_{16} 알케닐, C_2-C_{16} 알키닐, C_1-C_{15} 알콕시, 메탄올리, 카복시, 니트로, 시아노, 아미노, 카바모일, 에티닐, $-CF_3$, $-CF_2CF_3$, $-OCF_3$, $-OCF_2CF_3$, 설포, $-SO_2-R^3$, $-(C=O)-R_3$, 또는 $-O-R^3$로부터 선택된 것인, 화합물.

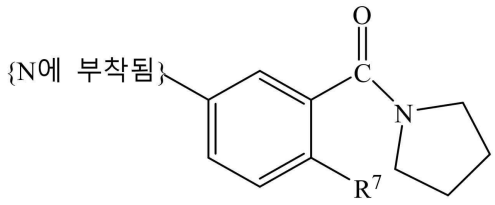
청구항 9

제1항에 있어서,

R^2은



또는



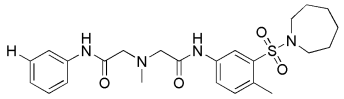
이고,

R^7은 H, 할로겐, 하이드록시, C_1-C_{16} 알킬, C_2-C_{16} 알케닐, C_2-C_{16} 알키닐, C_1-C_{15} 알콕시, 메탄올리, 카복시, 니트로, 시아노, 아미노, 카바모일, 에티닐, $-CF_3$, $-CF_2CF_3$, $-OCF_3$, $-OCF_2CF_3$, 설포, $-SO_2-R^3$, $-(C=O)-R_3$, 또는 $-O-R^3$로부터 선택된 것인, 화합물.

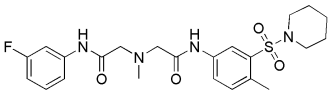
청구항 10

제1항에 있어서,

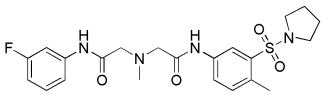
상기 화합물은 하기 화합물들로부터 선택된 것인, 화합물:



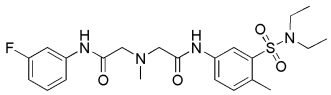
JAB-6-1



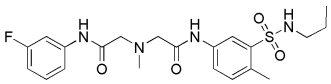
JAB-6-4



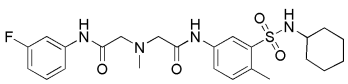
JAB-6-5



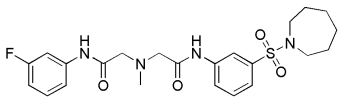
JAB-6-10



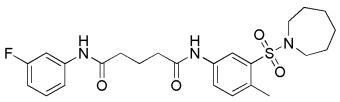
JAB-6-11



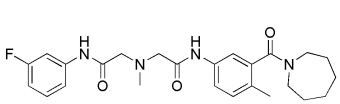
JAB-6-18



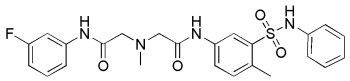
JAB-6-26



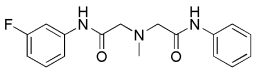
JAB-6-41



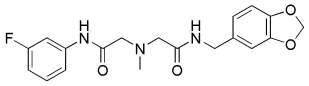
JAB-6-46



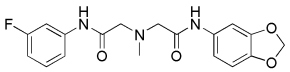
JAB-6-48



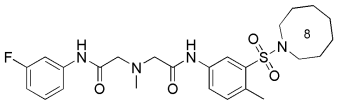
JAB-6-49



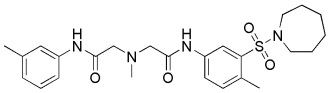
JAB-6-50



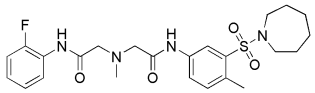
JAB-6-51



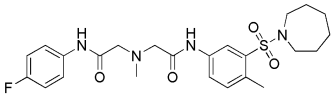
JAB-6-144



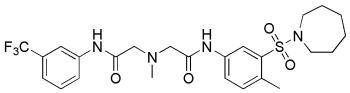
JAB-6-149



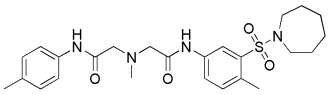
JAB-6-150



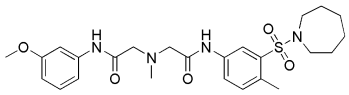
JAB-6-151



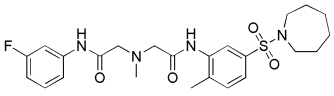
JAB-6-152



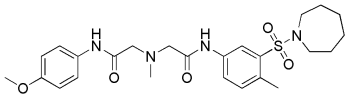
JAB-6-153



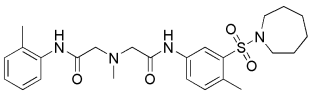
JAB-6-156



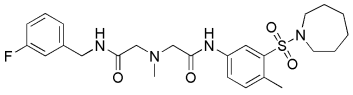
JAB-6-159



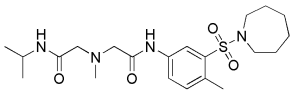
JAB-6-162



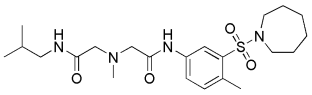
JAB-6-163



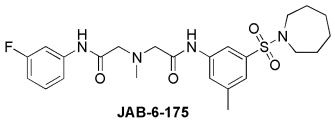
JAB-6-164



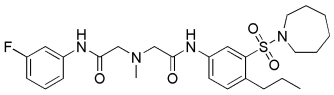
JAB-6-165



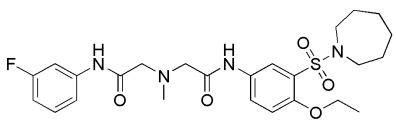
JAB-6-166



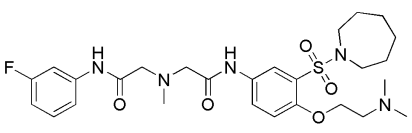
JAB-6-175



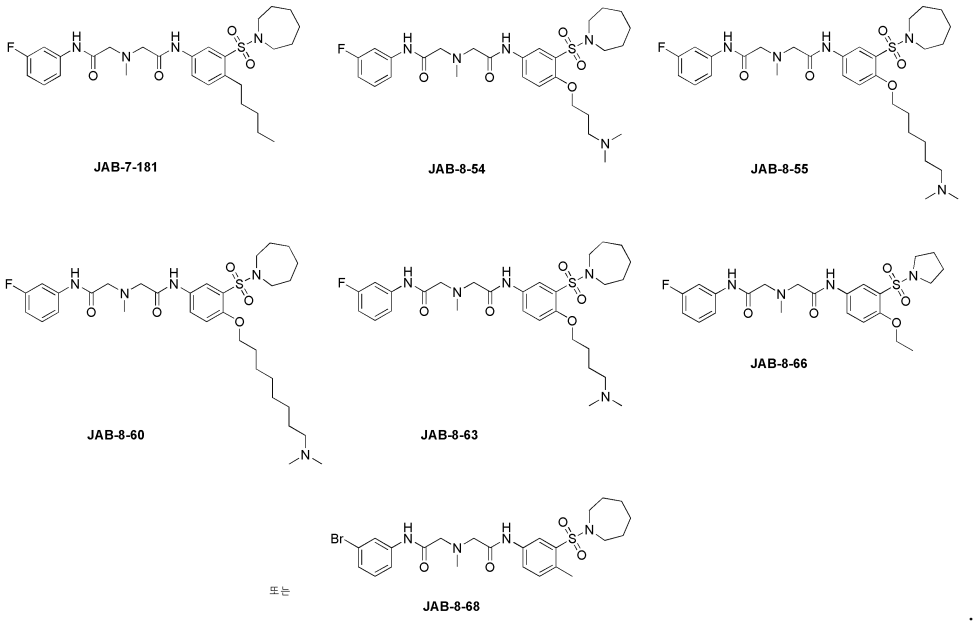
JAB-6-176



JAB-7-158



JAB-7-160



.

청구항 11

제1항에 기재된 화합물; 및 약제학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 12

암을 치료하기 위한 약제의 제조를 위한, 제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 기재된 임의의 화합물의 용도.

청구항 13

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 기재된 화합물.

청구항 14

RAS 내 돌연변이를 활성화시키는 것과 관련된 질병, 또는 RAS 활성의 감소에 의해 치료가능한 질병의 치료방법으로서, RAS 내 돌연변이를 활성화시키는 것과 관련된 질병, 또는 RAS 활성의 감소에 의해 치료가능한 질병의 치료를 필요로 하는 환자에게, 제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 기재된 화합물을 투여하는 단계를 포함하는, 치료방법.

청구항 15

제14항에 있어서, 상기 환자는 인간인 것인, 치료방법.

청구항 16

제14항에 있어서, 상기 질병은 종양(tumor) 또는 암(cancer)인 것인, 치료방법.

청구항 17

제14항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서,

펨브로리주맙 (pembrolizumab), 니볼루맙 (nivolumab), 및 금 나노입자에 결합된 AS1411 또는 AS1411 로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나를 투여하는 단계를 더 포함하는, 치료방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] **정부 권리**

[0002] 본 발명은 미국국립보건원 (National Institutes of Health; NIH)에 의해 자금 제공되는 승인 번호 RR018733의 미국 정부의 지원으로 만들어졌다. 미국 정부는 본 발명에서 일부 권리를 갖는다.

배 경 기 술

[0003] RAS는 인간 암에서 가장 흔한 종양 유전자(oncogene)이다. 모든 암의 약 4 분의 1에서, 3가지의 인간 RAS 유전자 동형(gene isoforms) (KRAS, HRAS 또는 NRAS) 중 하나에서의 돌연변이의 활성화가 존재한다 [1]. KRAS는 KRAS4A 및 KRAS4B라고 불리는 2개가 교대로 접합된 형태(two alternatively spliced forms)로도 발견된다. 예를 들어, 돌연변이체(mutant) KRAS는 췌장 관 선암(pancreatic ductal adenocarcinoma)의 98%, 결장암(colon cancer)의 52%, 폐 선암(lung adenocarcinoma)의 32%에서 발견된다 (도 1 및 [1]). 이러한 3가지 암 유형의 경우에만 해도, 즉, 돌연변이체 KRAS로 인한 암이 미국에서 매년 170,000 명 초과에서 진단되고 120,000 명 초과의 사망을 초래한다 [2]. 현재 사용 가능한 FDA-승인된 직접적인 RAS 단백질 억제제는 없다. RAS의 후속 신호전달을 타겟팅 하는 약물이 이용 가능하지만, 실망스러운 임상 활성을 보였는데, 이는 필시 RAS가 다중 효과기(multiple effector)를 활성화시키는(도 2A) "허브(hub)"여서 단일 경로 (또는 심지어 2개의 경로)를 차단하는 것이 효과적이지 않을 것이기 때문이다.

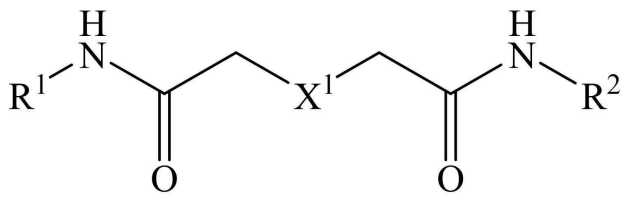
[0004] RAS는 구아노신(guanosine) 뉴클레오티드, GTP 또는 GDP에 결합될 때, "온(on)"과 "오프(off)" 사이를 전환하는 스위치로 작용하는 G-단백질이다. 암에서 발견되는 RAS 돌연변이는 대부분의 시간 동안 단백질이 온으로 바뀌는 (즉, GTP에 결합) 것을 유발한다 [1]. 대부분의 약물 타겟은, 효소 (기질 결합 부위) 또는 키나아제 (ATP 결합 부위)에서처럼, 소분자에 의해 타겟팅될 수 있는 잘-정의된(well-defined) "포켓(pocket)"을 가진 단백질이다. RAS에는 이러한 포켓이 없기 때문에 직접 타겟팅 하기가 더 어렵다.

[0005] RAS 억제제는 알려져 있지만 어느 것도 승인된 치료로 귀결되지 않아 왔다. 단일 특이적인 KRAS 돌연변이의 억제제인 KRAS(G12C)가 알려져 있는데, 이는 G12C 돌연변이를 가진 하나의 종양 세포주를 억제할 수 있었고 1-10 μM 농도에서 30% 세포 자연사(apoptosis)를 초래했다 [3]. 또한 Kobe0065 및 Kobe2602로 불리는 2개의 소분자 RAS 억제제는 HRAS 형질전환된 NIH 3T3 세포의 부착-의존성(anchorage-dependent) 및 부착-비의존성(anchorage-independent) 성장을 효과적으로 억제하여, 2-10 μM 농도에서 IC50을 나타냈다 [4]. 더 최근에는, 생체 내 이종 이식(xenograft) 마우스 암 모델에서 효과를 보여주는 저분자 pan-RAS가 확인되었다 [5].

발명의 내용

[0006] RAS 내 돌연변이를 활성화시키는 것과 관련된 질병의 치료에 사용하기 위한, 또는 RAS 활성의 감소에 의해 치료 가능한 질병의 치료에 사용하기 위한 화합물은 화학식 (I)의 화합물, 이의 염 및 에스테르로부터 선택된다:

[0007] [화학식 (I)]



[0008] . 상기 화합물은 특히 암의 치료에 유용하다.

[0009] **정의**

[0010] (달리 명시되지 않는 한) 본 명세서에서 사용된 용어 "알킬"은 1가의(monovalent), 직쇄 또는 분지쇄 탄화수소 사슬을 의미한다. 예를 들어, 용어 "C_1-C_7 알킬" 또는 "C_1-C_4 알킬"은 각각 1 내지 7개 (예를 들면, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 또는 7), 또는 1 내지 4개 (예를 들어, 1, 2, 3 또는 4) 탄소 원자를 갖는 직쇄 또는 분지쇄 포화 탄화수소 기를 가리킨다. C_1-C_7 알킬 기의 예시는 메틸, 에틸, n-프로필, i-프로필, n-부틸, s-부틸, t-부틸, n-펜틸, s-펜틸, n-헥실 및 n-셉틸(septyl)을 포함하지만 이에 제한되지는 않는다. C_1-C_4 알킬 기의 예시는 메틸, 에틸, n-프로필, i-프로필, n-부틸, s-부틸 및 t-부틸을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0011] (달리 명시되지 않는 한) 본 명세서에서 사용된 용어 "알케닐"은 하나 이상의 (예를 들어, 1, 2, 3 또는 4 개) 이중 결합을 포함하는 1가의, 직쇄 또는 분지쇄 탄화수소 사슬을 의미한다. 알케닐 기의 예시는 비닐, 알릴, 1-프로페닐, 2-프로페닐, 1-부테닐, 2-부테닐, 3-부테닐, 1-펜테닐, 2-펜테닐, 3-펜테닐, 4-펜테닐, 1-헥세닐, 2-헥세닐, 3-헥세닐, 4-헥세닐 및 5-헥세닐을 포함하지만 이에 제한되지는 않는다.

[0012] (달리 명시되지 않는 한) 본 명세서에서 사용된 용어 "알콕시"는 산소 원자에 의해 분자의 나머지 부분에 부착된 임의의 상기 알킬기(알킬-O-)를 의미한다. 알콕시 기의 예시는 메톡시 (때때로 MeO-로 표시됨), 에톡시, 이소프로폭시, 프로폭시 및 부틸옥시를 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0013] (달리 명시되지 않는 한) 본 명세서에 사용된 용어 "알키닐"은 하나 이상의 (예를 들어, 1, 2, 3 또는 4 개) 삼중 결합을 포함하고 또한 임의로 하나 이상의 (예를 들어, 1, 2, 3 또는 4 개) 이중 결합을 사슬 내에 포함할 수 있는 1가의, 직쇄 또는 분지쇄 탄화수소 사슬을 의미한다. 알키닐 기의 예시는 에티닐, 1-프로피닐, 2-프로피닐, 1-부티닐, 2-부티닐, 3-부티닐, 1-펜티닐, 2-펜티닐, 3-펜티닐, 4-펜티닐, 1-헥시닐, 2-헥시닐, 3-헥시닐, 4-헥시닐 및 5- 헥시닐을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0014] (달리 명시되지 않는 한) 본 명세서에서 사용된 용어 "아릴"은 1가의, 모노사이클릭 또는 바이사이클릭, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 12 원 방향족 탄화수소 기를 의미하며, 이는 비치환될 때이다. 아릴 기의 예시는 페닐, 나프틸, 톨릴(tolyl) 및 자일릴(xylyl)을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 바이사이클릭인 아릴의 경우, 하나 또는 두 개의 고리가 치환될 수 있다.

[0015] (달리 명시되지 않는 한) 본 명세서에서 사용된 용어 "사이클로알킬"은 1가의, 모노사이클릭 또는 바이사이클릭, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 12 원 탄화수소 기를 의미한다. 고리는 포화되거나 부분적으로 불포화될 수 있다. 사이클로알킬 기의 예시는 사이클로프로필, 사이클로부틸, 사이클로펜틸, 사이클로헥실, 사이클로헵틸, 사이클로옥틸 및 바이사이클로알킬 (예를 들어, 바이사이클로옥탄 예를 들면 [2.2.2]바이사이클로옥탄 또는 [3.3.0]바이사이클로옥탄, 바이사이클로노난 예를 들면 [4.3.0]바이사이클로노난, 및 바이사아클로데칸 예를 들면 [4.4.0]바이사이클로데칸 (데칼린) 또는 스피로 화합물)를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 모노사이클릭 사이클로알킬의 경우 고리는 방향족이 아니다. 바이사이클릭 사이클로알킬의 경우, 하나의 고리가 방향족이면 다른 고리는 방향족이 아니다. 바이사이클릭 사이클로알킬의 경우, 하나 또는 두 개의 고리가 치환될 수 있다.

[0016] (달리 명시되지 않는 한) 본 명세서에 사용된 용어 "할로겐"은 1가의 Cl, F, Br 또는 I를 의미한다.

[0017] (달리 명시되지 않는 한) 본 명세서에 사용된 용어 "헤테로아릴"은 1가의, 모노사이클릭 또는 바이사이클릭, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 12 원 탄화수소 기를 의미하는데, 이때 1, 2, 3, 4, 5 또는 6 개의 탄소 원자는 질소, 산소 또는 황 원자로부터 독립적으로 선택된 헤테로원자로 교체되고, 모노사이클릭 또는 바이사이클릭 고리 시스템은 방향족이다. 헤테로아릴 기의 예시는 티에닐(thienyl) (또는 티오페닐(thiophenyl)), 퓨릴(furyl), 인돌릴(indolyl), 피롤릴(pyrrolyl), 피리디닐(pyridinyl), 피라지닐(pyrazinyl), 옥사졸릴(oxazolyl), 티아솔릴(thiaxolyl), 퀴놀리닐(quinolinyl), 피리미디닐(pyrimidinyl), 이미다졸릴(imidazolyl), 1-메틸-이미다졸릴, 트리아졸릴(triazolyl), 테트라졸릴(tetrazolyl), 1H-피라졸-4-일(1H-pyrazol-4-yl), 1-Me-피라졸-4-일, 피리딘-3-일, 피리딘-4-일, 3,5-디메틸이속사졸릴(3,5-dimethylisoxazolyl), 1H-피롤-3-일(1H-pyrrol-3-yl), 3,5-디-Me-피라졸릴(3,5-di-Me-pyrazolyl) 및 1H-피라졸-4-일을 포함하지만 이에 제한되지는 않는다. 바이사이클릭 헤테로아릴의 경우, 하나의 고리가 아릴이면 다른 고리는 헤테로아릴이다. 바이사이클릭 헤테로아릴의 경우, 하나 또는 두 개의 고리는 하나 이상의 헤테로원자를 가질 수 있다. 바이사이클릭 헤테로아릴의 경우, 하나 또는 두 개의 고리가 치환될 수 있다. N-헤테로아릴은 하나 이상의 N 원자 (예를 들면, 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개의 N 원자)를 포함하는 헤테로아릴을 의미하고; N-헤테로아릴은 또한 다른 헤테로원자를 포함할 수 있다. O-헤테로아릴은 하나 이상의 O 원자 (예를 들면, 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개의 O 원자)를 포함하는 헤테로아릴을 의미하고; O-헤테로아릴은 또한 다른 헤테로원자를 포함할 수 있다. S-헤테로아릴은 하나

이상의 S 원자 (예를 들면, 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개의 S 원자)를 포함하는 헤테로아릴을 의미하고; S-헤테로아릴은 또한 다른 헤테로원자를 포함할 수 있다.

[0018] (달리 명시되지 않는 한) 본 명세서에서 사용된 용어 "헤테로사이클릴"은 1가의, 모노사이클릭 또는 바이사이클릭, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 12 원 탄화수소를 의미하는데, 이때 1, 2, 3, 4, 5 또는 6 개의 탄소 원자는 질소 원자, 산소 원자 또는 황 원자로부터 독립적으로 선택된 헤테로원자로 교체되고, 모노사이클릭 또는 바이사이클릭 고리 시스템은 방향족이 아니다. 헤테로사이크릴 기의 예시는 벤조디옥솔릴(benzodioxolyl), 테트라하이드로피라닐(tetrahydropyranyl), 피롤리디닐(pyrrolidinyl) (예를 들면, 피롤리딘-1-일, 피롤리딘-2-일, 피롤리딘-3-일 또는 피롤리딘-4-일), 피페라지닐(piperazinyl) (예를 들면, 피페라진-1-일, 피페라진-2-일, 피페라진-3-일 또는 피페라진-4-일), 피페리디닐 (예를 들면, 피페라딘-1-일, 피페라딘-2-일, 피페라딘-3-일 또는 피페라딘-4-일), 아제파닐(azepanyl) (예를 들면, 아제판-1-일, 아제판-2-일, 아제판-3-일, 아제판-4-일 또는 아제판-5-일), 아조카닐(azocanyl) (예를 들면, 아조칸-1-일, 아조칸-2-일, 아조칸-3-일, 아조칸-4-일, 아조칸-5-일, 아조칸-6-일, 또는 아조칸-7-일), 아조나닐 (예를 들면, 1-아조나닐), 및 모르폴리닐(morpholinyl) (예를 들어, 모르폴린-1-일, 모르폴린-2-일, 모르폴린-3-일 또는 모르폴린-4-일)을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 바이사이클릭 헤테로사이클릴의 경우, 하나의 고리가 방향족 (예를 들면, 모노사이클릭 아릴 또는 헤테로아릴)이면 다른 고리는 방향족이 아니다. 바이사이클릭 헤테로사이클릴의 경우, 하나 또는 두 개의 고리는 하나 이상의 헤테로원자를 가질 수 있다. 바이사이클릭 헤테로사이클릴의 경우, 하나 또는 두 개의 고리가 치환될 수 있다. N-헤테로사이클릴은 하나 이상의 N 원자 (예를 들면, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6 개의 N 원자)를 포함하는 헤테로사이클릴을 의미하고; N-헤테로사이클릴은 또한 다른 헤테로원자를 포함할 수 있다. O-헤테로사이클릴은 하나 이상의 O 원자 (예를 들면, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6 개의 O 원자)를 포함하는 헤테로사이클릴을 의미하고; O-헤테로사이클릴은 또한 다른 헤테로원자를 포함할 수 있다. S-헤테로사이클릴은 하나 이상의 S 원자 (예를 들면, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6 개의 S 원자)를 포함하는 헤테로사이클릴을 의미하고; S-헤테로사이클릴은 또한 다른 헤테로원자를 포함할 수 있다.

[0019] (달리 명시되지 않는 한) 본 명세서에 사용된 용어 "헤테로원자"는 질소 원자, 산소 원자 또는 황 원자로부터 선택된 원자를 의미한다.

[0020] (달리 명시되지 않는 한) 본 명세서에 사용된 용어 "하이드록시" 또는 "하이드록실"은 1가의 -OH 기의 존재를 나타낸다.

[0021] (달리 명시되지 않는 한) 본 명세서에 사용된 용어 "치환된" (예를 들어, 치환된 알킬에서와 같이)은 (하나 이상의 수소 원자를 갖는) 화학 기의 하나 이상의 수소 원자가 지정된 선택지들(options)로부터 선택된 하나 이상의 비-수소 치환기로 교체될 수 있음을 의미한다. 교체는 하나 이상의 위치에서 발생할 수 있다. 용어 "임의로 치환된(optionally substituted)"은 (하나 이상의 수소 원자를 갖는) 화학 기의 하나 이상의 수소 원자가 치환될 수 있지만 반드시 치환 될 필요는 없음을 의미한다.

[0022] 본 발명의 일부 화합물은 하나 이상의 키랄 중심(chiral center)을 가질 수 있고 하나 이상의 키랄 중심들 중 임의의 키랄 중심에서 광학 활성(optically active) 형태 및 라세미 형태로 존재하고 분리될 수 있다. 일부 화합물은 동질이상(polymorphism)을 나타낼 수 있다. 본 발명의 화합물은 광학 활성, 라세미체 또는 이들의 혼합물 중 임의의 것을 포함한다. 키랄 중심이 화학 구조에서 형태(configuration) (즉, R 또는 S)를 표시하지 않는 경우, R, S 또는 라세미체를 나타내는 것으로 간주되어야 한다. 키랄 중심의 키랄성을 명시하지 않고 구조식을 제시하면 R, S 또는 라세미체를 나타내는 것으로 간주되어야 한다.

[0023] 달리 명시되지 않는 한, 모든 탄소 함유 기는 1 내지 20 개의 탄소 원자를 포함할 수 있다.

[0024] 종양 및 암은 고형, 증식 장애(dysproliferative) 조직 변화 및 미만성(diffuse) 종양을 포함한다. 종양 및 암의 예시는 흑색종(melanoma), 림프종(lymphoma), 형질세포종(plasmocytoma), 육종(sarcoma), 신경 교종(glioma), 흉선종(thymoma), 백혈병, 유방암, 전립선 암, 결장암, 간암, 식도암, 뇌암, 폐암, 난소 암, 자궁내막 암, 방광암, 신장 암, 자궁경부암, 간세포암(hepatoma) 및 기타 신생물(neoplasms)을 포함한다. 종양과 암의 더 많은 예는 예를 들어 Stedman [13]을 참고한다.

[0025] "종양 치료"또는 "암 치료"는 종양 또는 암의 성장 및/또는 전이를 현저하게 억제하는 것을 의미한다. 성장 억제는 종양 부피 감소 또는 전이의 발생 감소로 나타낼 수 있다. 종양 성장은, 예를 들어, 보통의 절차를 통해 종양 부피를 검사하여 (예를 들면, 다이얼 캘리퍼(dial caliper)로 2차원 측정값 획득), 측정될 수 있다. 전이는 2차 부위의 종양 세포를 검사하거나 생체 외 조직검사된(biopsied) 종양 세포의 전이 가능성을 검사하여 측

정될 수 있다.

[0026] "화학요법제(chemotherapeutic agent)"는 인간의 암 치료에 효과적으로 사용될 수 있는 화합물이다.

[0027] "약제학적으로 허용가능한 담체"는 약제학적 투여와 양립할 수 있는(compatible) 임의의 및 모든 용매, 분산 매질, 코팅, 항균제 및 항진균제, 등장 성 및 흡수 지연제를 포함한다. 이러한 담체 또는 희석제의 바람직한 예시는 물, 식염수, 링거 용액 및 덱스트로스(dextrose) 용액뿐만 아니라 고체 부형제를 포함한다. 보충 활성 화합물(Supplementary active compound)도 조성물에 포함될 수 있다.

[0028] "약제(medicament)", "치료 조성물(therapeutic composition)" 및 "약제학적 조성물(pharmaceutical composition)"은 개체에서 치료 효과를 발휘하는 화합물, 물질, 혼합물 또는 제제(preparation)를 나타내기 위해 상호교환적으로 사용된다.

[0029] 본 명세서에 사용된 바와 같이, RAS는 KRAS, HRAS, NRAS를 포함한 모든 형태의 유전자를 지칭하는 반면, KRAS는 KRAS4A 및 KRAS4B를 모두 지칭한다.

도면의 간단한 설명

[0030] 도 1은 상이한 유형의 암에서 돌연변이체 KRAS의 유병률(prevalence) 차트이다.

도 2a는 다중 효과기를 활성화시키는 "허브"인 RAS의 설명이다.

도 2b는 RAS가 RalGDS 단백질에 결합하는 경로를 도시한다.

도 3은 소분자 RAS 억제제 F3에 의한 종양 형성 표현형(tumorigenic phenotype) Mia PaCa-2의 특이적인 억제를 보여주는 그래프이다.

도 4는 소분자 RAS 억제제 F3에 의한 종양 형성 표현형 A549의 특이적인 억제를 보여주는 그래프이다.

도 5는 Mia PaCa-2 세포의 플라스틱 상 2-D 배양에서 정상적인 성장/생존에 대한 10 uM의 F3의 효과를 보여주는 그래프이다.

도 6은 A549 세포의 플라스틱 상 2-D 배양에서 정상적인 성장/생존에 대한 10 uM의 F3의 효과를 보여주는 그래프이다.

도 7은 F3가 야생형(wild-type) RAS 유도된 종양 세포에 대해서도 효과적임을 보여주는 그래프이다.

도 8은 야생형 RAS 유도된 종양 세포의 플라스틱 상 2-D 배양에서 정상적인 성장/생존을 보여주는 그래프이다.

도 9는 F3가 높은 수준의 아노이키스(anoikis)를 유도했다는 것을 보여주는 그래프이다.

도 10은 6.6 uM의 농도에서 3-D 연한천(soft agar) 약물 스크리닝에서 F3과 함께 12 개의 화합물 (JAB-6 화합물)을 테스트한 결과를 보여준다.

도 11은 3-D 연한천 약물 스크리닝에서 0.5 uM에서의 JAB-6-158 및 JAB-6-160을 시험한 결과를 도시한다.

도 12는 DMSO (대조군), F3 및 JAB-6-5로 처리된, 악성 말초 신경초 종양 (malignant peripheral nerve sheath tumor) 세포 (MPNST 종양 세포) 및 Mia-Paca-2 세포의 연한천 내 콜로니를 보여주는 사진이다.

도 13은 NRG 마우스에서 세포주 NCI-H441 이종 이식 종양을 사용한 생체 내 F3 시험 결과를 보여주는 그래프이다.

도 14는 NRG 마우스에서 세포주 Mia-Paca-2 이종 이식 종양을 사용한 생체 내 F3 시험 결과를 보여주는 그래프이다.

도 15는 NRG 마우스에서 세포주 Mia-Paca-2 이종 이식 종양을 사용한 생체 내 F3 시험 결과를 보여주는 그래프이다.

도 16은 재조합 K-RAS 단백질에 대한 F3/F3a 유도체의 직접 결합을 보여주는 그래프이다.

도 17은 CD1 마우스에서 생체 내 RAS 억제제의 혈장 농도를 보여주는 그래프이다.

도 18은 CD1 마우스에서 생체 내 RAS 억제제의 뇌에서의 농도를 보여주는 그래프이다.

도 19는 경구 투여 후 CD1 마우스에서 생체 내 RAS 억제제의 혈장 농도를 보여주는 그래프이다.

도 20은 간 기능에 대한 F3의 효과를 보여주는 그래프이다.

도 21은 신장 기능에 대한 F3의 효과를 보여주는 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0031] 본 출원은 효과기 단백질에 대한 RAS의 결합을 차단하는 단백질-단백질 상호작용 (protein-protein interaction; PPI) 억제제인 소분자의 개발에 기초한다. 백만 개 넘는 화합물 라이브러리에 대한 인실리코(in silico) 검사는 많은 잠재적인 억제제를 확인시켰다. 리드 화합물(lead compound)을 확인하기 위해, 최상위 순위의 잠재적인 억제제를 수득하고 시험했다. 리드 화합물의 변형이 시험관 내 및 생체 내 모두에서 준비되고 시험되었으며, 이는 RAS 억제제의 큰 패밀리의 확인을 초래했다.

[0032] RALGDS와 복잡한 HRAS 구조가 알려져 있기 때문에, 이러한 형태의 RAS가 인실리코 검사에 사용되었다. 그러나, 활성에 대한 화합물의 시험은 훨씬 더 중요한 K-RAS 동형에 대한 것이다. 아무튼, 서로 상이한 형태들 사이의 대부분의 서열은 고도로 보존되어 있으며 서로 상이한 형태들 사이의 RAS의 차이는 결합에 많은 영향을 미치지 않는 것으로 믿어지는 영역에 위치하므로, RAS의 억제에 대한 화합물의 효과는 상이한 형태들 사이에서 현저하게 달라지지 않을 것으로 예상된다.

[0033] 확인된 화합물은 RAS에 직접 결합하고 이의 효과기 상호작용 및 신호 활성을 차단한다. 이들은 정상적인 세포 성장과 생존을 억제하지 않으면서 RAS의 형질전환 활성(transforming activity)을 차단한다. 또한, 이들은 아노이키스 (적어도 부분적으로)를 통해 작용할 수 있으며 생체 내에서 종양 형성을 억제한다.

[0034] H-RAS 레퍼런스 서열(reference sequence):

[0035] MTEYKLVVVGAGGVGKSALTIQLIQNHFVDKYDPTIEDSYRKQVVIDGETCLLDILDTAGQEEYSAMRDQYMRTGEGFLCVFAINNTKSFEDIHQYREQIKR VKDSDDVPMVLVGNKCDLAARTVESRQAQDLARSYGIPYIETSAKTRQGVEDAFYTLVREIRQHK.

[0036] K-RAS4B 레퍼런스 서열:

[0037] MTEYKLVVVG AGGVGKSALT IQLIQNHFVD EYDPTIEDSY RKQVVIDGET CLLDILDTAG QEEYSAMRDQ YMRTGEGFLC VFAINNTKSF EDIHHYREQI KRVKDSEDVP MVLVGNKCDL PSRTVDTKQA QDLARSYGIP FIETSAKTRQ GVDDAFYTLV REIRKHKEKM SKDGKKKKKK SKTKCVIM.

[0038] 결합 파트너(binding partner)인 RalGEF와 접촉하는 RAS 레퍼런스 서열의 타겟 영역:

[0039] ILE 21, ILE 24, GLN 25, HIS 27, VAL 29, LYS 31, ASP 33, PRO 34, THR 35, ILE 36, GLU 37, ASP 38, SER 39, TYR 40, ARG 41, LYS 42, LEU 56, TYR 64, MET 67.

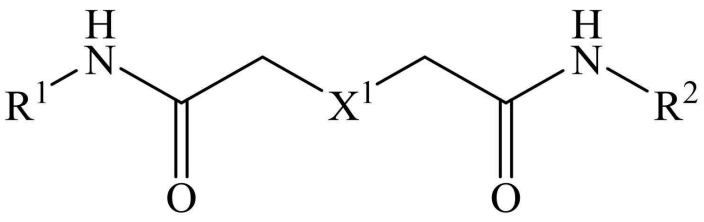
[0040] 다른 타겟 영역에 대한 RAS 레퍼런스 서열의 포켓 및 잔여 부분:

[0041] GLY 13, GLY 15, LYS 16, SER 17, ALA 18, LEU 19, ILE 21, GLN 22, HIS 27, PHE 28, VAL 29, ASP 30, LYS 31, TYR 32, ASP 33, PRO 34, THR 35, ASP 38, TYR 40, ASP 57, ALA 146.

[0042] 도 2b는 RAS가 RalGDS 단백질에 결합하고 이들을 활성화시키는 경로를 도시한다. 도시에서, F3은 RAS가 효과기 단백질에 결합하는 것을 차단하는 RAS 억제제를 나타낸다.

[0043] RAS 억제제는 화학식 (I)의 화합물 (광학 이성질체도 포함) 및 이의 염 및 에스테르로부터 선택된 임의의 화합물이다:

[0044] [화학식 (I)]

[0045] 

[0046] R^1, R^2 및 X^1는 다음의 의미를 갖는다:

[0047] R^1은 1가의(monovalent) H, 카복시 (-CO_2H), 니트로 (-NO_2), 설포(sulfo) (-SO_3H), 할로겐 (예를 들면, F, Cl, Br, 또는 I), 아릴 (예를 들면, 페닐), 사이클로알킬, 헤테로사이클릴, 헤테로아릴 (예를 들면, 피리디닐), -(C_1-C_3)알킬-아릴 (예를 들면, -메틸-페닐), -(C_1-C_3)알킬-사이클로알킬, -(C_1-C_3)알킬-헤테로사이클릴, -(C_1-C_3)알킬-헤테로아릴, C_1-C_8 알킬 (예를 들면, C_1, C_2, C_3, C_4, C_5, C_6, C_7, 또는 C_8 알킬), C_2-C_8 알케닐 (예를 들면, C_2, C_3, C_4, C_5, C_6, C_7, 또는 C_8 알케닐), C_2-C_8 알키닐 (예를 들면, C_2, C_3, C_4, C_5, C_6, C_7, 또는 C_8 알키닐), 또는 C_1-C_7 알콕시 (C_1, C_2, C_3, C_4, C_5, C_6, 또는 C_7 알콕시)이되, 이때 아릴 (예를 들면, 페닐), 사이클로알킬, 헤테로사이클릴, 헤테로아릴 (예를 들면, 피리디닐), -(C_1-C_3)알킬-아릴 (예를 들면, -메틸-페닐), -(C_1-C_3)알킬-사이클로알킬, -(C_1-C_3)알킬-헤테로사이클릴, -(C_1-C_3)알킬-헤테로아릴, C_1-C_7 알킬, C_2-C_7 알케닐, C_2-C_7 알키닐, 또는 C_1-C_6 알콕시는 할로겐 (예를 들면, F, Cl, Br, 또는 I), 하이드록시 (-OH), C_1-C_5 알킬 (예를 들면, C_1, C_2, C_3, C_4, 또는 C_5 알킬), C_1-C_4 알콕시 (C_1, C_2, C_3, 또는 C_4 알콕시), 메탄올리(methanoly) (-COH), 카복시 (-CO_2H), 니트로 (-NO_2), 시아노 (-CN), 아미노 (-NH_2), 카바모일 (-$CONH_2$), 에티닐 (-CCH), -CF_3, -CF_2CF_3, -OCF_3, -OCF_2CF_3, 또는 설포 (-SO_3H) 중 하나 이상(예를 들면, 0, 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6 개)으로 임의로 치환될 수 있다.

[0048] X^1은 2가의(bivalent) -(NH)-, -(CH_2)-, -($NHCH_2$)-, -(CH_2NH)-, -(C_2H_4)-, -(C_2H_2)-, -(C_2)-, -O-, -O-(CH_2)-, -(CH_2)-O-, -S-, -S-(CH_2)-, 또는 -(CH_2)-S-이고, 이때 -(NH)-, -(CH_2)-, -($NHCH_2$)-, -(CH_2NH)-, -(C_2H_4)-, -(C_2H_2)-, -O-(CH_2)-, -(CH_2)-O-, -S-(CH_2)-, 또는 -(CH_2)-S-은 할로겐 (예를 들면, F, Cl, Br, 또는 I), 하이드록시 (-OH), -R_x, 메탄올리 (-COH), 카복시 (-CO_2H), 니트로 (-NO_2), 시아노 (-CN), 아미노 (-NH_2), 카바모일 (-$CONH_2$), 에티닐 (-CCH), -CF_3, -CF_2CF_3, -OCF_3, -OCF_2CF_3, 또는 설포 (-SO_3H) 중 하나 이상(예를 들면, 0, 1, 2, 3, 또는 4 개)으로 임의로 치환될 수 있다.

[0049] R_x는 C_1-C_8 알킬 (예를 들면, C_1, C_2, C_3, C_4, C_5, C_6, C_7, 또는 C_8 알킬), C_2-C_8 알케닐 (예를 들면, C_2, C_3, C_4, C_5, C_6, C_7, 또는 C_8 알케닐), C_2-C_8 알키닐 (예를 들면, C_2, C_3, C_4, C_5, C_6, C_7, 또는 C_8 알키닐), 또는 C_1-C_7 알콕시 (C_1, C_2, C_3, C_4, C_5, C_6, 또는 C_7 알콕시)이고, 이때 C_1-C_8 알킬 (예를 들면, C_1, C_2, C_3, C_4, C_5, C_6, C_7, 또는 C_8 알킬), C_2-C_8 알케닐 (예를 들면, C_2, C_3, C_4, C_5, C_6, C_7, 또는 C_8 알케닐), C_2-C_8 알키닐 (예를 들면, C_2, C_3, C_4, C_5, C_6, C_7, 또는 C_8 알키닐), 또는 C_1-C_7 알콕시 (C_1, C_2, C_3, C_4, C_5, C_6, 또는 C_7 알콕시)는 할로겐 (예를 들면, F, Cl, Br, 또는 I), 하이드록시 (-OH), C_1-C_4 알킬 (예를 들면, C_1, C_2, C_3, 또는 C_4 알킬), C_2-C_4 알케닐 (예를 들면, C_2, C_3, 또는 C_4 알케닐), C_2-C_4 알키닐 (예를 들면, C_2, C_3, 또는 C_4 알키닐), C_1-C_4 알콕시 (C_1, C_2, C_3, 또는 C_4 알콕시), 아릴, 사이클로알킬, 헤테로사이클릴, 헤테로아릴, 메탄올리 (-COH), 카복시 (-CO_2H), 니트로 (-NO_2), 시아노 (-CN), 아미노 (-NH_2), 카바모일 (-$CONH_2$), ethynyl (-CCH), -CF_3, -CF_2CF_3, -OCF_3, -OCF_2CF_3, 또는 설포 (-SO_3H) 중 하나 이상(예를 들면, 0, 1, 2, 3, 또는 4 개)으로 임의로 치환될 수 있다.

[0050] R^2는 아릴 (예를 들면, 페닐), 사이클로알킬, 헤테로사이클릴 (예를 들면, 벤조디옥솔릴(benzodioxolyl)), 헤테로아릴 (예를 들면, 피리디닐), -(C_1-C_3)알킬-아릴 (예를 들면, -메틸-페닐), -(C_1-C_3)알킬-사이클로알킬, -(C_1-C_3)알킬-헤테로사이클릴 (예를 들면, -메틸-벤조디옥솔릴), 또는 -(C_1-C_3)알킬-헤테로아릴이고, 이때 아릴, 사이클로알킬, 헤테로사이클릴, 헤테로아릴 (예를 들면, 피리디닐), -(C_1-C_3)알킬-아릴 (예를 들면, -메틸-페닐), -(C_1-C_3)알킬-사이클로알킬, -(C_1-C_3)알킬-헤테로사이클릴 (예를 들면, -메틸-벤조디옥솔릴), 또는 -(C_1-C_3)알킬-헤테로아릴은 할로겐 (예를 들면, F, Cl, Br, 또는 I), 하이드록시 (-OH), C_1-C_{16} 알킬 (예를 들면, C_1, C_2, C_3, C_4, C_5, C_6, C_7, C_8, C_9, C_{10}, C_{11}, C_{12}, C_{13}, C_{14}, C_{15}, 또는 C_{16} 알킬), C_2-C_{16} 알케닐 (예를 들면, C_2, C_3, C_4, C_5, C_6, C_7, C_8, C_9, C_{10}, C_{11}, C_{12}, C_{13}, C_{14}, C_{15}, 또는 C_{16} 알케닐), C_2-C_{16} 알키닐 (예를 들면, C_2, C_3, C_4, C_5, C_6, C_7,

C_8, C_9, C_{10}, C_{11}, C_{12}, C_{13}, C_{14}, C_{15}, 또는 C_{16} 알키닐), C_1-C_{15} 알콕시 (C_1, C_2, C_3, C_4, C_5, C_6, C_7, C_8, C_9, C_{10}, C_{11}, C_{12}, C_{13}, C_{14}, 또는 C_{15} 알콕시), 메탄올리 (-COH), 카복시 (-CO_2H), 니트로 (-NO_2), 시아노 (-CN), 아미노 (-NH_2), 카바모일 (-$CONH_2$), 에티닐 (-CCH), -CF_3, -CF_2CF_3, -OCF_3, -OCF_2CF_3, 설포 (-SO_3H), -SO_2-R^3, -(C=O)-R_3, 또는 -O-R^3 중 하나 이상(예를 들면, 0, 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6 개)으로 임의로 치환될 수 있다.

[0051] R^3은 -NR_aR_b , 아릴, 사이클로알킬 (예를 들면, 사이클로헵틸), 헤테로사이클릴 (예를 들면, 1-아제파닐), 헤테로아릴 (예를 들면, 피리디닐), C_1-C_7 알킬 (예를 들면, C_1, C_2, C_3, C_4, C_5, C_6, 또는 C_7 알킬), C_2-C_7 알케닐 (예를 들면, C_2, C_3, C_4, C_5, C_6, 또는 C_7 알케닐), C_2-C_7 알키닐 (예를 들면, C_2, C_3, C_4, C_5, C_6, 또는 C_7 알키닐), 또는 C_1-C_6 알콕시 (C_1, C_2, C_3, C_4, C_5, 또는 C_6 알콕시)이고, 이때 아릴, 사이클로알킬 (예를 들면, 사이클로헵틸), 헤테로사이클릴 (예를 들면, 1-아제파닐), 헤테로아릴 (예를 들면, 피리디닐), C_1-C_7 알킬, C_2-C_7 알케닐, C_2-C_7 알키닐, 또는 C_1-C_6 알콕시는 할로겐 (예를 들면, F, Cl, Br, 또는 I), 하이드록시 (-OH), C_1-C_5 알킬 (예를 들면, C_1, C_2, C_3, C_4, 또는 C_5 알킬), C_1-C_4 알콕시 (C_1, C_2, C_3, 또는 C_4 알콕시), 메탄올리 (-COH), 카복시 (-CO_2H), 니트로 (-NO_2), 시아노 (-CN), 아미노 (-NH_2), 카바모일 (-$CONH_2$), 에티닐 (-CCH), -CF_3, -CF_2CF_3, -OCF_3, -OCF_2CF_3, 또는 설포 (-SO_3H) 중 하나 이상(예를 들면, 0, 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6 개)으로 임의로 치환될 수 있다.

[0052] R_a는 1가의, H, 아릴 (예를 들면, 페닐), 사이클로알킬 (예를 들면, 사이클로헥실), 헤테로사이클릴, 헤테로아릴 (예를 들면, 피리디닐), C_1-C_7 알킬 (예를 들면, C_1, C_2, C_3, C_4, C_5, C_6, 또는 C_7 알킬), C_2-C_7 알케닐 (예를 들면, C_2, C_3, C_4, C_5, C_6, 또는 C_7 알케닐), C_2-C_7 알키닐 (예를 들면, C_2, C_3, C_4, C_5, C_6, 또는 C_7 알키닐), 또는 C_1-C_6 알콕시 (C_1, C_2, C_3, C_4, C_5, 또는 C_6 알콕시)이고, 이때 H, 아릴, 사이클로알킬, 헤테로사이클릴, 헤테로아릴 (예를 들면, 피리디닐 및 1-메틸 이미다졸릴), C_1-C_7 알킬, C_2-C_7 알케닐, C_2-C_7 알키닐, 또는 C_1-C_6 알콕시는 할로겐 (예를 들면, F, Cl, Br, 또는 I), 하이드록시 (-OH), C_1-C_5 알킬 (예를 들면, C_1, C_2, C_3, C_4, 또는 C_5 알킬), C_1-C_4 알콕시 (C_1, C_2, C_3, 또는 C_4 알콕시), 메탄올리 (-COH), 카복시 (-CO_2H), 니트로 (-NO_2), 시아노 (-CN), 아미노 (-NH_2), 카바모일 (-$CONH_2$), 에티닐 (-CCH), -CF_3, -CF_2CF_3, -OCF_3, -OCF_2CF_3, 또는 설포 (-SO_3H) 중 하나 이상(예를 들면, 0, 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6 개)으로 임의로 치환될 수 있다.

[0053] R_b는 1가의, H, 아릴 (예를 들면, 페닐), 사이클로알킬 (예를 들면, 사이클로헥실), 헤테로사이클릴, 헤테로아릴 (예를 들면, 피리디닐), C_1-C_7 알킬 (예를 들면, C_1, C_2, C_3, C_4, C_5, C_6, 또는 C_7 알킬), C_2-C_7 알케닐 (예를 들면, C_2, C_3, C_4, C_5, C_6, 또는 C_7 알케닐), C_2-C_7 알키닐 (예를 들면, C_2, C_3, C_4, C_5, C_6, 또는 C_7 알키닐), 또는 C_1-C_6 알콕시 (C_1, C_2, C_3, C_4, C_5, 또는 C_6 알콕시)이고, 이때 H, 아릴, 사이클로알킬, 헤테로사이클릴, 헤테로아릴 (예를 들면, 피리디닐 및 1-메틸 이미다졸릴), C_1-C_7 알킬, C_2-C_7 알케닐, C_2-C_7 알키닐, 또는 C_1-C_6 알콕시는 할로겐 (예를 들면, F, Cl, Br, 또는 I), 하이드록시 (-OH), C_1-C_5 알킬 (예를 들면, C_1, C_2, C_3, C_4, 또는 C_5 알킬), C_1-C_4 알콕시 (C_1, C_2, C_3, 또는 C_4 알콕시), 메탄올리 (-COH), 카복시 (-CO_2H), 니트로 (-NO_2), 시아노 (-CN), 아미노 (-NH_2), 카바모일 (-$CONH_2$), 에티닐 (-CCH), -CF_3, -CF_2CF_3, -OCF_3, -OCF_2CF_3, 또는 설포 (-SO_3H) 중 하나 이상(예를 들면, 0, 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6 개)으로 임의로 치환될 수 있다.

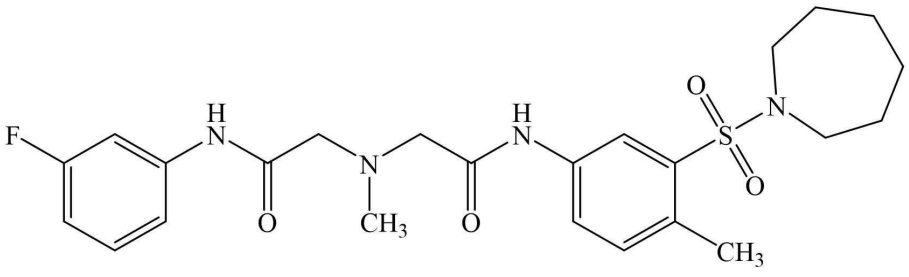
[0054] R^2가 메탄올리 (-COH), 카복시 (-CO_2H), 아미노 (-NH_2), C_1-C_{16} 알킬 (예를 들면, C_1, C_2, C_3, C_4, C_5, C_6, C_7, C_8, C_9, C_{10}, C_{11}, C_{12}, C_{13}, C_{14}, C_{15}, 또는 C_{16} 알킬), C_2-C_{16} 알케닐 (예를 들면, C_2, C_3, C_4, C_5, C_6, C_7, C_8, C_9, C_{10}, C_{11}, C_{12}, C_{13}, C_{14}, C_{15}, 또는 C_{16} 알케닐), C_2-C_{16} 알키닐 (예를 들면, C_2, C_3, C_4, C_5, C_6, C_7, C_8, C_9, C_{10}, C_{11}, C_{12}, C_{13}, C_{14}, C_{15}, 또는 C_{16} 알키닐), C_1-C_{15} 알콕시 (C_1, C_2, C_3, C_4, C_5, C_6, C_7, C_8, C_9, C_{10}, C_{11}, C_{12}, C_{13}, C_{14}, 또는 C_{15} 알콕시) 중 하나 이상으로의 치환(substitution)을 포함하는 경우, 메탄올리 (-COH), 카복시 (-CO_2H), 아미노 (-NH_2), C_1-C_{16} 알킬 (예를 들면, C_1, C_2, C_3, C_4, C_5, C_6, C_7, C_8, C_9, C_{10}, C_{11}, C_{12}, C_{13}, C_{14}, C_{15}, 또는

C_{16} 알킬), C_2-C_{16} 알케닐 (예를 들면, C_2, C_3, C_4, C_5, C_6, C_7, C_8, C_9, C_{10}, C_{11}, C_{12}, C_{13}, C_{14}, C_{15}, 또는 C_{16} 알케닐), C_2-C_{16} 알키닐 (예를 들면, C_2, C_3, C_4, C_5, C_6, C_7, C_8, C_9, C_{10}, C_{11}, C_{12}, C_{13}, C_{14}, C_{15}, 또는 C_{16} 알키닐), C_1-C_{15} 알콕시 (C_1, C_2, C_3, C_4, C_5, C_6, C_7, C_8, C_9, C_{10}, C_{11}, C_{12}, C_{13}, C_{14}, 또는 C_{15} 알콕시) 중 각각은 할로겐 (예를 들면, F, Cl, Br, 또는 I), 하이드록시 (-OH), C_1-C_4 알킬 (예를 들면, C_1, C_2, C_3, 또는 C_4 알킬), C_2-C_4 알케닐 (예를 들면, C_2, C_3, 또는 C_4 알케닐), C_2-C_4 알키닐 (예를 들면, C_2, C_3, 또는 C_4 알키닐), C_1-C_4 알콕시 (C_1, C_2, C_3, 또는 C_4 알콕시), 메탄올리 (-COH), 카복시 (-CO_2H), 니트로 (-NO_2), 시아노 (-CN), 아미노 (-NH_2), -NH(C_1-C_4 알킬) (예를 들면, -NHCH_2CH_3), -N(C_1-C_4 알킬)(C_1-C_4 알킬) (예를 들면, -N$(CH_3)_2$), 카바모일 (-$CONH_2$), 에티닐 (-CCH), -CF_3, -CF_2CF_3, -OCF_3, -OCF_2CF_3, 설포 (-SO_3H), 또는 -R_c 중 하나 이상(예를 들면, 0, 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6 개)으로 독립적으로 및 임의로 치환될 수 있다.

[0055] R_c는 각각의 경우 동일하거나 상이할 수 있는 것으로서, -CO-OCH_3(메틸 카복시), -CO-NR_fR_g, -SO_2-NR_fR_g, -NR_fR_g, -NH-CO-CH_3, -NH-CO-NR_fR_g, -NH-CO-OCH_3, 아릴, 사이클로알킬, 헤테로사이클릴, 헤테로아릴, 5-7 원(membered) 모노사이클릭 헤테로사이클릴, 5-7 원 모노사이클릭 헤테로아릴, 테트라졸릴 (예를 들면, 5-테트라졸릴, 2-테트라졸릴, 또는 1-테트라졸릴), 트리아졸릴 (예를 들면, 1-트리아졸릴, 2-트리아졸릴, 또는 4-트리아졸릴), 이미다졸릴 (예를 들면, 1-이미다졸릴), 피롤릴 (예를 들면, 1-피롤릴), 피롤리디닐 (예를 들면, 1-피롤리디닐), 피페리딜 (예를 들면, 1-피페리딜), 피페라지닐 (예를 들면, 1-피페라지닐), 모르폴리닐 (예를 들면, 4-모르폴리닐), 피리딜 (예를 들면, 2-피리딜), 피라지닐 (예를 들면, 2-피라지닐), 피리미디닐 (예를 들면, 4-피리미디닐), 티에닐, 퓨릴, 피라닐, 피라졸릴, 이소티아졸릴, 이속사졸릴, 피리다지닐, 퓨라자닐, 피롤리닐, 이미다졸리디닐, 이미다졸리닐, 피라졸리디닐, 또는 피라졸리닐일 수 있고, 이때 -CO-OCH_3(메틸 카복시), -CO-NR_fR_g, -SO_2-NR_fR_g, -NR_fR_g, -NH-CO-CH_3, -NH-CO-NR_fR_g, -NH-CO-OCH_3, 아릴, 사이클로알킬, 헤테로사이클릴, 헤테로아릴, 5-7 원 모노사이클릭 헤테로사이클릴, 5-7 원 모노사이클릭 헤테로아릴, 테트라졸릴 (예를 들면, 5-테트라졸릴, 2-테트라졸릴, 또는 1-테트라졸릴), 트리아졸릴 (예를 들면, 1-트리아졸릴, 2-트리아졸릴, 또는 4-트리아졸릴), 이미다졸릴 (예를 들면, 1-이미다졸릴), 피롤릴 (예를 들면, 1-피롤릴), 피롤리디닐 (예를 들면, 1-피롤리디닐), 피페리딜 (예를 들면, 1-피페리딜), 피페라지닐 (예를 들면, 1-피페라지닐), 모르폴리닐 (예를 들면, 4-모르폴리닐), 피리딜 (예를 들면, 2-피리딜), 피라지닐 (예를 들면, 2-피라지닐), 피리미디닐 (예를 들면, 4-피리미디닐), 티에닐, 퓨릴, 피라닐, 피라졸릴, 이소티아졸릴, 이속사졸릴, 피리다지닐, 퓨라자닐, 피롤리닐, 이미다졸리디닐, 이미다졸리닐, 피라졸리디닐, 또는 피라졸리닐은 할로겐 (예를 들면, F, Cl, Br, 또는 I), 하이드록시 (-OH), C_1-C_4 알킬 (예를 들면, C_1, C_2, C_3, 또는 C_4 알킬), C_2-C_4 알케닐 (예를 들면, C_2, C_3, 또는 C_4 알케닐), C_2-C_4 알키닐 (예를 들면, C_2, C_3, 또는 C_4 알키닐), C_1-C_4 알콕시 (C_1, C_2, C_3, 또는 C_4 알콕시), 아릴, 사이클로알킬, 헤테로사이클릴, 헤테로아릴, 메탄올리 (-COH), 카복시 (-CO_2H), 니트로 (-NO_2), 시아노 (-CN), 아미노 (-NH_2), 카바모일 (-$CONH_2$), 에티닐 (-CCH), -CF_3, -CF_2CF_3, -OCF_3, -OCF_2CF_3, 또는 설포 (-SO_3H) 중 하나 이상(예를 들면, 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 또는 7 개)으로 임의로 치환될 수 있다.

[0056] R_f는 각각의 경우 동일하거나 상이할 수 있는 것으로서, H 또는 C_1-C_4 알킬 (예를 들면, C_1, C_2, C_3, 또는 C_4 알킬)일 수 있다. R_g는 각각의 경우 동일하거나 상이할 수 있는 것으로서, H 또는 C_1-C_4 알킬 (예를 들면, C_1, C_2, C_3, 또는 C_4 알킬)일 수 있다.

[0057] 일 측면에서, 화학식 (I)의 화합물은 F3을 제외할 수 있다:

[0058] 

.

[0059] 바람직하게는 X^1는 R_X 또는 -(CH_2)-로 치환된 -NH-이다. 바람직하게는 R^1는 하나의 할로겐으로 메타(meta) 치환된 아릴, 아릴, C_1 알킬로 메타 치환된 아릴, 하나의 할로겐으로 오르쏘(ortho) 치환된 아릴, -CF_3로 메타 치환된 아릴, C_1 알킬로 파라(para) 치환된 아릴, C_1 알콕시로 메타 치환된 아릴, C_1 알콕시로 파라 치환된 아릴, C_1 알킬로 오르쏘 치환된 아릴, 하나의 할로겐으로 메타 치환된 알킬-아릴, C_3 알킬 또는 C_4 알킬이고, 이때 바람직한 할로겐은 F이다.

[0060] 바람직하게는 R^2는 SO_2-R^3로 메타 치환되고 C_1 알킬로 파라 치환된 아릴, SO_2-R^3로 메타 치환된 아릴, -(C=O)-R^3로 메타 치환되고 C_1 알킬로 파라 치환된 아릴, 아릴, 알킬-헤테로사이클릴 (예를 들면 메틸-벤조디옥솔릴), 헤테로사이클릴 (예를 들면 벤조디옥솔릴), SO_2-R^3로 메타 치환되고 C_1 알킬로 오르쏘 치환된 아릴, SO_2-R^3로 메타 치환되고 C_3 알킬로 파라 치환된 아릴, SO_2-R^3로 메타 치환되고 C_2 알콕시로 파라 치환된 아릴, SO_2-R^3로 메타 치환되고 -O($(CH_2)_2$)-N$(CH_3)_2$로 파라 치환된 아릴, SO_2-R^3로 메타 치환되고 C_5 알킬로 파라 치환된 아릴, SO_2-R^3로 메타 치환되고 -O($(CH_2)_3$)-N$(CH_3)_2$로 파라 치환된 아릴, SO_2-R^3로 메타 치환되고 -O($(CH_2)_6$)-N$(CH_3)_2$로 파라 치환된 아릴, SO_2-R^3로 메타 치환되고 -O($(CH_2)_8$)-N$(CH_3)_2$로 파라 치환된 아릴, SO_2-R^3로 메타 치환되고 -O($(CH_2)_3$)-N$(CH_3)_2$로 파라 치환된 아릴, 또는 SO_2-R^3로 메타 치환되고 C_2 알콕시로 파라 치환된 아릴이다. 바람직하게는 R_x는 메틸이다. 바람직하게는 R^3는 C_{4-7} 헤테로사이클릴, -NR_aR_b (R_a는 C_2 알킬이고 R_b는 C_2 알킬임), -NR_aR_b (R_a는 C_3 알킬이고 R_b는 H임), -NR_aR_b (R_a는 사이클로알킬이고 R_b는 H임), 또는 -NR_aR_b (R_a는 사이클로아릴이고 R_b는 H임)이다. R^1, R^2, X^1, R_x 및 R^3의 이러한 바람직한 선택지들의 모든 순열(permutation) 및 조합도 포함된다.

[0061] 바람직하게는, 화합물은 RAS 서열, 또는 RAS 서열 중 하나 이상의 아미노산과 상호작용할 수 있으며, 특히 화합물은 RAS 레퍼런스 서열 중 다음의 아미노산들 중 하나 이상과 상호작용 (예를 들어, 공유 결합, 이온 결합, 반데르발스 힘을 통해, 소수성 상호작용, 입체적 상호작용(steric interaction), 친수성 상호작용, 수소 결합 또는 이들의 조합) 할 수 있거나 하기에 적합하다:

[0062] ILE 21, ILE 24, GLN 25, HIS 27, VAL 29, LYS 31, ASP 33, PRO 34, THR 35, ILE 36, GLU 37, ASP 38, SER 39, TYR 40, ARG 41, LYS 42, LEU 56, TYR 64, MET 67, GLY 13, GLY 15, LYS 16, SER 17, ALA 18, LEU 19, ILE 21, GLN 22, HIS 27, PHE 28, VAL 29, ASP 30, LYS 31, TYR 32, ASP 33, PRO 34, THR 35, ASP 38, TYR 40, ASP 57, 또는 ALA 146.

[0063] RAS 내 돌연변이를 활성화시키는 것과 관련된 질병, 또는 RAS 활성의 감소에 의해 치료가능한 질병은 암 및 종양, 특히 활성화 RAS 돌연변이를 갖는 것으로 확인된 질병을 포함한다. 돌연변이가 된 RAS 유전자 또는 샘플 내의 유전자를 검출하는 것과 같이, RAS 억제제로 치료하기 전에, 환자로부터 조직검사 샘플을 시험하는 것이 바람직할 수 있다. 도 1은 돌연변이체 KRAS 유전자를 가지고 있는 것으로 밝혀진 다양한 암과 종양을 나열한다. RAS 억제제로 치료될 수 있는 다른 질병은 다음을 포함한다: 모세관 기형-동정맥 기형 증후군(capillary malformation-AV malformation syndrome), 자가면역 림프구 증식 증후군(autoimmune lymphoproliferative syndrome), 심장-얼굴-피부 증후군(cardiofaciocutaneous syndrome), 유전성 치은섬유종증 1 형 (hereditary gingival fibromatosis type 1), 신경섬유종증 1 형 (neurofibromatosis type 1), 누난 증후군 (noonan syndrome), 코스텔로 증후군(costello syndrome), 레기우스 증후군 (legius syndrome) 및 다발성 흑자증이 있는 누난 증후군(noonan syndrome with multiple lentigines).

[0064] RAS 억제제는 약제학적 조성물로 투여될 수 있다. 약제학적 조성물은 정맥 내, 피내, 피하, 경구, 흡입, 경피, 경점막(transmucosal) 및 직장 투여를 포함하여, 의도된 투여 경로와 양립할 수 있도록 제형화된다. 투여 후 효능에 대한 시험이 있을 수 있고, 이어서 하나 이상의 투여 및 시험 단계가 있을 수 있다.

[0065] "약제학적으로 허용가능한 담체"는 약제학적 투여와 양립가능한 임의의 및 모든 용매, 분산 매질, 코팅, 항균제 및 항진균제, 등장성 및 흡수 지연제, 고체 부형제 등을 포함한다. 이러한 담체 또는 희석제의 바람직한 예시는 물, 식염수, 링거 용액 및 덱스트로스 용액을 포함한다. 보충 활성 화합물도 조성물 내에 포함될 수 있다.

비경구 투여에 사용되는 용액 및 현탁액은 다음을 포함한다: 주사용 물, 식염수 용액, 폴리에틸렌 글리콜, 글리세린, 프로필렌 글리콜 또는 기타 합성 용매와 같은 멸균 희석제; 벤질 알코올 또는 메틸 파라벤과 같은 항균제; 아스코르브산 또는 중아황산나트륨과 같은 항산화제; 아세테이트, 시트레이트 또는 포스페이트와 같은 완충액, 및 염화나트륨 또는 덱스트로스와 같은 장성 조절용 제제(agents for the adjustment of tonicity). pH는 염산 또는 수산화나트륨과 같은 산 또는 염기로 조정할 수 있다. 비경구 제제는 앰플, 일회용 주사기 또는 유리 또는 플라스틱으로 만들어진 다회 투여 바이알(multiple dose vial)에 넣을 수 있다.

[0066] 약제학적 조성물은 정맥 내, 피내, 피하, 경구, 흡입, 경피, 경점막 및 직장 투여를 포함하여, 의도된 투여 경로와 양립할 수 있도록 제형화된다. 비경구, 피내 또는 피하 적용에 사용되는 용액 및 현탁액은 다음을 포함할 수 있다: 주사용 물, 식염수 용액, 폴리에틸렌 글리콜, 글리세린, 프로필렌 글리콜 또는 기타 합성 용매와 같은 멸균 희석제; 벤질 알코올 또는 메틸 파라벤과 같은 항균제; 아스코르브산 또는 중아황산나트륨과 같은 항산화제; 아세테이트, 시트레이트 또는 포스페이트와 같은 완충액, 및 염화나트륨 또는 덱스트로스와 같은 장성 조절용 제제. pH는 염산 또는 수산화나트륨과 같은 산 또는 염기로 조정할 수 있다.

[0067] 바람직한 투여는 분말, 정제 또는 캡슐, 경구 용액 또는 현탁액, 또는 설하(sublingual) 또는 볼 점막(buccal) 정제를 포함하는 경구 투여이다. 대안적인 투여 형태는 직장 좌약, 흡입, 경막외(epidural), 피하, 나잘 스프레이(nasal spray), 경점막 및 피내 제형을 포함한다. 바람직하게는 단위 투여 형태로 투여한다. 단위 투여 형태의 예시는 정제 (예를 들어, 설하 또는 볼 점막 정제), 캡슐 (예를 들어, 경질 젤라틴 및 연질 젤라틴 캡슐), 경점막 및 설하 패치 및 필름, 사전 측정된 분말 패킷 (packet) 및 봉지(sachet), 향미 및/또는 가당(sweetened) 수용액 또는 현탁액과 같은 경구 조성물을 포함한다. 바람직하게는, 경구 단위 투여 형태는 1일 1회 투여량(dosage)으로 존재한다. 부형제 및 아쥬반트(adjuvant)는 또한 경구 및 비경구의 임의의 단위 투여 형태 내에 포함될 수 있다.

[0068] 2 내지 30, 3 내지 25, 또는 5 내지 14 개의 단위 투여 형태를 함유하는 키트와 같은 다중-투여 형태(multi-dosage form), 예를 들어 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 15, 20, 40, 50 또는 60 개의 단위 투여 형태가 제공될 수 있다. 바람직하게는, 다중-투여 형태는 2 내지 30 일, 3 내지 25 일, 또는 7 내지 14 일, 예를 들어 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 20 또는 30 일의 기간에 걸친 투여를 위한 충분한 단위 투여 형태를 함유한다.

[0069] 주사에 적합한 약제학적 조성물은 멸균 주사가능한 용액 또는 분산액의 즉석(extemporaneous) 제조를 위한 멸균 수용액 또는 분산액을 포함한다. 주사에 적합한 약제학적 조성물에는 다양한 부형제가 포함될 수 있다. 정맥 내 투여를 위해서, 적합한 담체는 생리식염수, 정균수(bacteriostatic water), CREMOPHOR EL® (BASF; Parsippany, NJ) 또는 인산염 완충 식염수 (PBS)를 포함한다. 모든 경우에, 조성물은 멸균되어야 하고 주사기를 사용하여 투여되도록 유체여야 한다. 이러한 조성물은 제조 및 저장 동안 안정해야 하며, 박테리아 및 곰팡이와 같은 미생물의 오염으로부터 보존되어야 한다. 파라벤, 클로로부탄올, 페놀, 아스코르브산 및 티메로살(thimerosal)과 같은 다양한 항균제 및 항진균제는 미생물 오염을 포함할 수 있다. 등장성 제제 예를 들면, 슈거, 폴리알코올, 예를 들면 만니톨, 소르비톨 및 염화나트륨이 조성물 내에 포함될 수 있다. 흡수를 지연시킬 수 있는 조성물은 알루미늄 모노스테아레이트(aluminum monostearate) 및 젤라틴과 같은 제제를 포함한다. 멸균 주사가능한 용액은 화합물 및 선택적으로 다른 치료 성분을 필요한 양으로 적절한 용매 중에 포함시키고, 필요에 따라 하나 또는 조합된 성분과 같이 포함시키며, 이어서 멸균시킴으로써 제조될 수 있다. 멸균 주사가능한 용액의 제조를 위한 멸균 고체의 제조방법은 고체를 생성하기 위한 진공 건조 및 동결 건조를 포함한다.

[0070] 국소 적용은 피부에 존재하는 암 및 잠재적으로-악성인 신생물, 예를 들어 흑색종, 지루성 각화증(seborrheic keratosis) 및 광선 각화증(actinic keratosis)에 효과적일 수 있다. 국소 투여용 조성물은 크림 또는 로션의 형태 일수 있다.

[0071] 각 유형의 RAS 억제제 화합물의 적절한 투여량 수준은 일반적으로 환자 체중 kg 당 약 0.01 내지 500 mg일 것이다. 바람직하게는, 투여량 수준은 약 0.1 내지 약 250 mg/kg일 것이다; 더 바람직하게는 약 0.5 내지 약 100 mg/kg일 것이다. 적절한 투여량 수준은 약 0.01 내지 250 mg/kg, 약 0.05 내지 100 mg/kg, 또는 약 0.1 내지 50 mg/kg일 수 있다. 이 범위 내에서 투여량은 0.05 내지 0.5, 0.5 내지 5, 또는 5 내지 50 mg/kg일 수 있다. 각 유형의 약제학적 조성물은 하루 1회 내지 4 회, 예를 들어 하루 1 회 또는 2 회의 요법(regimen)으로 투여될 수 있지만, 구체적인 투여 빈도는 RAS 억제제의 생체 내 반감기에 따라 달라질 것이다. 따라서, 각각의 RAS 억제제는 하루 1 회, 1 주일에 1 회, 2 주 또는 3 주에 1 회, 월 1 회, 또는 60 내지 90 일에 1 회 투여될 수 있다.

[0072] 그러나 임의의 특정한 환자에 대한 구체적인 투여량 수준 및 투여 빈도는 변화될 수 있으며 다음을 포함하는 다

양한 요인에 따라 달라질 수 있다: 사용된 구체적인 화합물의 활성, 해당 화합물의 대사 안정성 및 작용 기간, 연령, 체중, 일반적인 건강, 성별, 식이 요법, 투여 방식 및 시간, 배설 속도, 약물 조합, 특정 상태의 중증도, 및 치료중인 환자.

[0073] 동물 모델에서 유효 용량을 보여주는 적용의 데이터는 인간의 유효 용량을 결정하기 위해 사용될 수도 있다. 지침은 미국 보건 복지부에서 이용 가능하다 [14].

[0074] RAS 억제제의 투여를 받는 개체는 신체의 다른 부위로, 특히 림프절의 부위로의 암의 확산에 대해 환자를 검사함으로써, 암 치료에 효과적인지 여부를 결정하기 위해 시험될 수 있다. 조직검사, 내시경 검사, 혈액 검사 또는 진단 영상 시험 예를 들면 X-레이 또는 CT 스캔과 같은 임의의 적절한 진단 검사가 사용될 수 있다. RAS 억제제의 투여 및 후속 시험은 원하는 치료 결과가 달성될 때까지 반복될 수 있다. 유사하게, 개체는 잠재적으로-악성인 종양, 암 또는 신생물이 종양, 암 또는 신생물의 크기 감소 또는 소멸에 의해 효과적으로 치료되었는지를 측정하기 위해 시험될 수 있다.

[0075] 본 명세서에 설명된 약제학적 조성물은 다른 치료 활성 화합물을 추가로 포함할 수 있고/있거나 암 및 종양의 치료에 적합한 본 명세서에 언급된 물리적 기술과 함께 사용될 수 있다. 일반적으로 사용되는 치료 활성 화합물의 예시는 다음을 포함한다: 비노렐빈 (vinorelbine) (Navelbine®), 미토마이신 (mytomycin), 캄프토테신 (camptothecin), 사이클리포스파미드 (cyclyphosphamide) (Cytoxin®), 메토트렉세이트(methotrexate), 구연산 타목시펜 (tamoxifen citrate), 5-플루오로우라실(5-fluorouracil), 이리노테칸 (irinotecan), 독소루비신 (doxorubicin), 플루타미드 (flutamide), 파클리탁셀 (paclitaxel) (Taxol®), 도세탁셀 (docetaxel), 빈블라스틴 (vinblastine), 이매티닙 메실레이트 (imatinib mesylate) (Gleevec®), 안트라사이클린 (anthracycline), 레트로졸 (letrozole), 삼산화비소(arsenic trioxide) (Trisenox®), 아나스트로졸 (anastrozole), 트립토렐린 파모에이트 (triptorelin pamoate), 오조가마이신(ozogamicin), 이리노테칸 염산염 (Camptosar®), BCG,live (Pacis®), 류프로라이드 아세트산염 임플란트 (leuprolide acetate implant) (Viadur), 벡사로텐 (bexarotene) (Targretin®), 엑세메스탄 (exemestane) (Aromasin®), 토포테칸 염산염 (topotecan hydrochloride)(Hycamtin®), 젬시타빈 HCL (Gemzar®), 다우노루비신 염산염 (daunorubicin hydrochloride) (Daunorubicin HCL®), 젬시타빈 HCL (Gemzar®), 토레미펜 시트레이트 (toremifene citrate) (Fareston), 카보플라틴 (Paraplatin®), 시스플라틴 (Platinol® 및 Platinol-AQ®) 옥살리플라틴 및 임의의 다른 백금-함유 종양학 약물, 트라스투주맙 (trastuzumab) (Herceptin®), 라파티닙 (lapatinib) (Tykerb®), 게피티닙(gefitinb) (Iressa®), 세툭시맙 (cetuximab) (Erbitux®), 파니투무맙 (panitumumab) (Vectibix®), 템시롤리무스 (템시롤리무스) (Torisel®), 에베로리무스 (everolimus) (Afinitor®), 반데타닙(vandetanib) (Zactima™), 베무라페닙 (vemurafenib) (Zelboraf™), 크리조티닙 (crizotinib) (Xalkori®), 보리노스탓 (vorinostat)(Zolinza®), 베바시주맙 (bevacizumab) (Avastin®), 면역항암제(immunotherapy), 항암 항체 (anti-cancer antibodies), 항-뉴클레오린 제제(anti-nucleolin agents), 방사선 요법(radiation therapy), 열치료법 (hyperthermia), 유전자 치료법 (gene therapy) 및 광역동 치료법 (photodynamic therapy). 이러한 제제 또는 치료는 본 명세서에 설명된 하나 이상의 RAS 억제제와 동시에, 전에, 또는 후에 투여될 수 있다. 특히 바람직한 것은 면역항암제 (예를 들면, PD-1을 차단하는 면역 체크 포인트 억제제인 펨브로리주맙 (pembrolizumab) 또는 니볼루맙(nivolumab)) 또는 항-뉴클레오린 제제 (예를 들면, 금 나노 입자에 접합된 AS1411 또는 AS1411)를 사용한 투여이다.

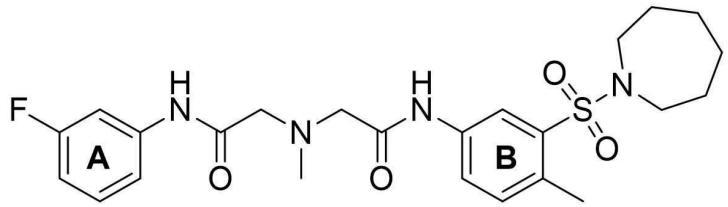
[0076] 종양, 암 또는 전이성 암을 발달시킬 수 있는 모든 포유 동물은 본 명세서에 설명된 방법으로 치료될 수 있다. 인간은 치료에 바람직한 포유류이다. 치료될 수 있는 다른 포유류는 마우스, 랫트, 염소, 양, 낙타, 소, 말 및 반려 동물, 예를 들면, 개 또는 고양이를 포함한다. 치료를 필요로 하는 개체는 종양이나 암의 진단으로 확인될 수 있다. 다음을 포함하는, 임의의 형태의 종양 또는 암이 치료될 수 있다: 유방암, 난소암, 자궁경부암, 피부암, 폐암, 결장암, 췌장암, 대장암, 갑상선암, 정상피종(seminoma), 흑색종, 육종(sarcoma), 방광암, 간암, 신장암, 신경교종, 골수암(myeloid cancer) (예를 들면, MDS, IMF, AML 또는 CML) 또는 림프 성 장애(lymphoid disorder) (예를 들면, ALL, NHL, 호지킨병(Hodgkin's) 또는 모발 세포(hairy cell)). 전이성 암도 치료될 수 있다; 특히 전이되는 암은 다음을 포함한다: 폐암, 흑색종, 결장암, 신세포암종(renal cell carcinoma), 전립선암, 자궁경부암, 방광암, 직장암, 식도암, 간암, 구강 및 인후암, 다발성 골수종, 난소암 및 위암. 전이성 암을 경험하는 환자가 치료될 수 있다. 암에 걸렸지만 어떠한 전이가 확인되기 전인 환자에게도, 전이를 예방하기 위해 투여되어 치료될 수 있다. 유사하게, 잠재적으로 악성인-신생물을 발달시킬 수 있는 모든 포유 동물은 본 명세서에 설명된 방법으로 치료될 수 있다.

[0077] **실시예**

[0078] 실시예 1: 화합물의 합성

[0079] 화학식 (I)의 화합물은 먼저 상응하는 아민 R^1-NH_2 및 R^2-NH_2 를 제조한 다음, 다이액시드(diacid) $X^1(CH_2COOH)_2$와 순차적으로 반응하여 제조될 수 있으며, 이때 상기 다이액시는 임의로 고리형 무수물의 형태일 수 있다. 다음 실시예에서, R_1 및 R_2는 치환된 페닐기를 포함한다. 첫번째 실시예에서 치환된 페닐 기는 각각 "A" 및 "B"로 표시되었다.

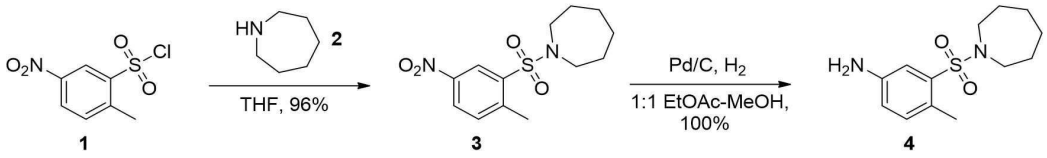
[0080] 화합물 F3의 합성:



[0081]

[0082] 설폰아마이드(sulfonamide) 부분(fragment)의 합성:

[0083] [반응식 1]



[0084]

[0085] F3 설폰아마이드 부분의 합성.

[0086] F3의 합성은 설폰아마이드 4 (F3의 고리 B)를 구성하여 시작되었다. 설폰아마이드는 시판되는 설포닐 클로라이드 1를 2당량의 아민 2로 처리하여 제조되었다. 합성은 촉매성 수소화 조건(catalytic hydrogenation conditions) 하에서 니트로 3을 환원시킴으로써 우수한 전체 수율로 완료되었다. 2를 적합한 2차 또는 3차 아민으로 교체하여 다양한 설폰아마이드 유도체를 제조하였다.

[0087] 일부 유사체(analogs)의 경우, 설포닐 클로라이드는 시판되지 않았으며 한 단계로 제조되었다. 예를 들어 아래 화합물 9에 대한 실험을 참고한다. 화합물 4는 공지되어 있으며 변경된 문헌의 제조법으로부터 제조된다 [6].

[0088] 실험:

[0089] **1-((2-메틸-5-니트로페닐)설포닐)아제판 3.** 0 ℃에서 75 mL의 THF 중 설포닐 클로라이드 1의 2.50 g (10.6 mmol)의 용액에 2.4 mL (2.1 g, 21.2 mmol)의 헥사메틸렌이민 2를 적가했다. 생성된 용액을 0 ℃에서 1.5 시간 동안 교반하고 실온에서 2 시간 동안 교반하였으며, 이 시점에 TLC에 의해 지시된 바와 같이 반응이 완료되었다. 90 mL의 물을 천천히 첨가하고 5 분 동안 교반하여 반응을 퀀칭(quenching)시켰다. 층들을 분리하고 수성상을 에틸 아세테이트의 100mL-부분(portion)으로 2 번 추출하였다. 합한 유기층을 소금물(brine)로 세척하고, 건조 (황산나트륨)하고, 실리카 겔(에틸 아세테이트로 세척됨)의 플러그를 통해 여과하였다. 용매를 진공에서 제거하여 3.04g (96%)의 3을 짙은 황색 오일로 수득했다.

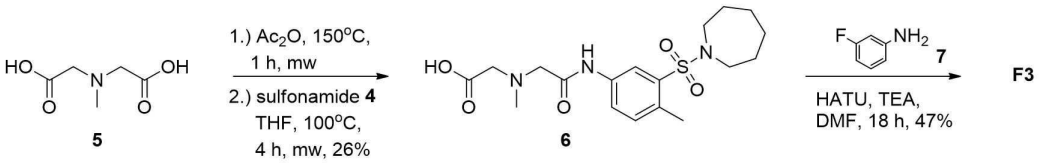
[0090] **3-(아제판-1-일설포닐)-4-메틸아닐린 4.** 에틸 아세테이트-메탄올 1:1 용액 125mL 중 아릴 니트로 3의 3.04g (10.3mmol)의 용액에 400mg의 10% 탄소상 팔라듐 (palladium on carbon)을 조심스럽게 첨가했다. 현탁액을 수소 가스 (풍선) 분위기 하에서 16 시간 동안 교반하였다. 이어서 현탁액을 셀라이트(celite) (에틸 아세테이트로 세척됨)의 플러그를 통해 여과하고, 진공에서 농축하여 2.89g (100%)의 아닐린 4를 무색 오일로 수득했다.

[0091] 다른 아닐린은 아민 2 대신 적합한 2차 또는 3차 아민을 사용하여 합성된 또는 시판되는 설포닐 클로라이드로부

터 제조될 수 있다.

[0092] F3 및 관련 유도체의 합성:

[0093] [반응식 2]



[0094]

[0095] F3 및 관련 유도체의 합성

[0096] 현재 다루고 있는 설폰아마이드 4를 이용해, F3 합성은, 아세트산 무수물과 함께 마이크로파 조사를 통해 시판되는 이미노디아세트산(iminodiacetic acid) 5를 가열하여 반응성 고리형 무수물을 생성하는 것으로 시작되었다 [7]. 아닐린 4로 고리를 열어서 원하는 산 (6)을 우수한 수율로 제공했다 [8,9]. HATU/TEA 프로토콜을 사용하여 산 6과 아닐린 7을 결합하여 F3의 합성을 완료했다. 본 발명자는 EDCI가 수율이 좋지 않음을 발견했다. 또한, 아마이드 형성 단계에서 아닐린 4 및 7이 바뀔 수 있다 (즉, 아닐린 4 또는 7이 첫번째 단계에서 사용될 수 있음).

[0097] 실험:

[0098] **2-((2-((3-(아제판-1-일설포닐)-4-메틸페닐)아미노)-2-옥소에틸)(메틸)아미노)아세트산 6**

[0099] 3 mL의 아세트산 무수물 중 500mg (3.40mmol)의 이미노디아세트산 5의 용액을 마이크로파 조사를 통해 150 ℃에서 1 시간 동안 교반하였다. 실온으로 냉각한 후, 용매를 진공에서 제거하고 조 중간체(crude intermediate)를 고진공 하에서 5 시간 동안 건조시켰다. 중간체를 20mL의 THF 중에 용해시키고 생성된 용액에 913 mg (3.40 mmol)의 아닐린 4를 첨가하였다. 반응물을 마이크로파 조사를 통해 100 ℃에서 4 시간 동안 교반하였다. 실온으로 냉각시킨 후, 혼합물을 실리카 겔 플러그를 통해 여과시켰는데, 이때 상기 실리카 겔의 플러그는 에틸 아세테이트로 세척하고 이어서 1:1 에틸 아세테이트-메탄올의 용액으로 세척한 것이다. 1:1 에틸 아세테이트-메탄올 용액을 함유하는 분획을 진공에서 농축하여 350 mg의 6 (26%)을 밝은 갈색 고체로 수득하였다.

[0100] ***N*-(3-(아제판-1-일설포닐)-4-메틸페닐)-2-((2-((3-플루오로페닐)아미노)-2-옥소에틸)(메틸)아미노)-아세트아마이드 F3.**

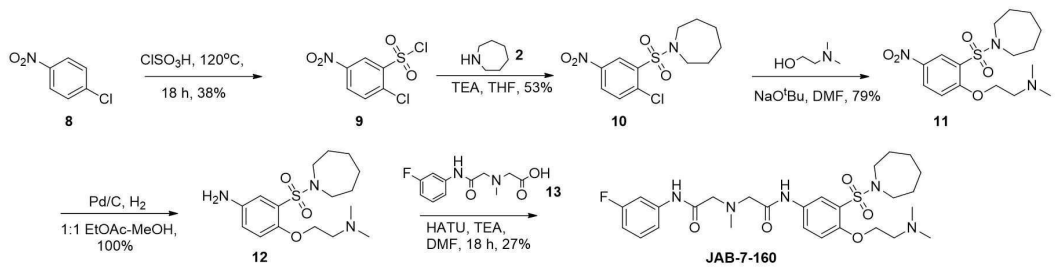
[0101] 4mL의 DMF 중 159 mg (0.400 mmol)의 산 6 및 0.08 mL (89 mg, 0.800 mmol)의 아닐린 7의 용액에 228 mg (0.600 mmol)의 HATU을 첨가한 다음 0.17 mL (121 mg, 1.20 mmol)의 트리에틸아민을 첨가했다. 반응 용액을 18 시간 동안 교반하고 이어서 40 mL의 물로 희석하였다. 5 분 동안 교반한 후 용액을 에틸 아세테이트의 30 mL 부분으로 3번 추출했다. 조합된 유기층을 물과 소금물로 세척하였다. 황산나트륨으로 건조시킨 후, 용매를 진공에서 제거하고 조 생성물(crude)을 실리카겔 (4g Combiflash, 0 -> 100% 헥산-에틸 아세테이트, 11 분에 걸쳐)상에서 크로마토그래피를 거쳐서 93mg (47%)의 F3를 백색 폼(foam)으로 수득하였다.

[0102] 유도체를 준비하기 위해 개발된 추가 화학:

[0103] **JAB-7-160**의 합성

[0104] JAB-7-160, JAB-7-160, JAB-7-158 및 JAB-7-181의 동족체(homologs)를 포함하는 다른 프로토콜에 의해 여러 화합물을 제조했다. 이들은 조밀하게 작용화 된 아닐린을 제조하는 것을 포함한다.

[0105] [반응식 3]



[0106]

[0107] JAB-7-160의 합성

[0108] 합성은 하룻밤동안 클로로설폰산 중에서 아릴 클로라이드 8을 가열하여 설포닐 클로라이드 9를 생성함으로써 시작되었다 [10,11]. 헥사메틸렌이민 2으로 처리하여 설폰아마이드 10을 우수한 수율로 수득했다. 아릴 클로라이드의 치환을 피하기 위해 반응을 주의 깊게 모니터링하는 것이 필요했다. 핵심 단계에서, 나트륨 터트-부톡사이드의 존재 하에서 시판되는 2-(디메틸아미노)에탄올로의 아릴 치환은 우수한 수율로 아릴 에테르 11을 생성했다. 합성은 아릴 니트로의 수소화에 이어서 생성된 아닐린 (12)을 HATU/TEA 프로토콜을 사용하여 산 13과 결합시킴으로써 완료되었다. 선택적으로, 아릴 브로마이드 (아릴 플루오라이드는 아님)가 아릴 클로라이드 8 대신 사용될 수 있다.

[0109] 유도체 JAB-7-158, JAB-8-54, JAB-8-55, JAB-8-60, JAB-8-63 및 JAB-8-66은 유사한 방법으로 제조되었다.

[0110] 실험:

[0111] **2-클로로-5-니트로벤젠-1-설포닐 클로라이드 9**. 3mL의 클로로설폰산 (주의!) 중 1 g (6.35 mmol)의 아릴 클로라이드 8의 용액을 120 ℃에서 18 시간 동안 교반하였다. 실온으로 냉각시킨 후, 반응물을 150 mL의 얼음에 조심스럽게 적가하였다 (발열성!). 수성 현탁액을 에틸 아세테이트의 75mL 부분으로 3번 추출하였다. 합친 유기 분획을 소금물로 세척하고, 건조시키고 (황산나트륨), 진공에서 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 (12g Combiflash, 0 -> 50% 헥산-에틸 아세테이트, 11 분에 걸쳐)을 이용해 크로마토그래피를 거쳐 저융점(low-melting) 갈색 고체인 620 mg (38%)의 9을 수득하였다.

[0112] **1-((2-클로로-5-니트로페닐)설포닐)아제판 10**. 0 ℃에서 30 mL의 THF 중 620 mg (2.42 mmol)의 설포닐 클로라이드 9의 용액에 0.30 mL (264 mg, 2.66 mmol)의 헥사메틸렌이민 2 및 이어서 0.33 mL (244 mg, 2.42 mmol)의 트리메틸아민을 첨가했다. 생성된 용액을 실온으로 천천히 가온하면서 5 시간 동안 교반하였다. TLC에 의해 지시된 바와 같이 반응이 완료되었다. 30 mL의 물을 천천히 첨가하고 5 분 동안 교반하여 반응을 퀀칭시켰다. 층들을 분리하고 수성상을 에틸 아세테이트의 40mL 부분으로 2번 추출하였다. 합한 유기층을 소금물로 세척하고 건조시키고 (황산나트륨), 진공에서 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 (12 g Combiflash, 0 -> 20% 헥산-에틸 아세테이트, 11 분에 걸쳐)를 이용해 크로마토그래피를 거쳐 636 mg (53%)의 10을 황색 고체로서 수득하였다.

[0113] **2-(2-(아제판-1-일설포닐)-4-니트로페녹시)-*N*,*N*-디메틸에탄아민 11**.

[0114] 7 mL의 DMF 중 90 mg (0.94 mmol)의 나트륨 터트-부톡사이드 용액에 0.09 mL (76 mg, 0.86 mmol)의 2- (디메틸아미노)에탄올을 적가했다. 30 분 동안 교반한 후, 4 mL의 DMF 중 300 mg (0.94 mmol)의 아릴 클로라이드 10의 용액을 반응 혼합물에 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 18 시간 동안 교반하고, 이어서 15 mL의 물을 첨가하여 퀀칭시켰다. 5 분 동안 교반한 후, 수용액을 에틸 아세테이트의 10mL 부분으로 3번 추출하였다. 조합된 유기물을 건조시키고 (황산나트륨), 진공에서 농축시켰다. 잔류물을 실리카겔 (4g Combiflash, 0 -> 50% 에틸 아세테이트-메탄올, 11 분에 걸쳐)을 이용해 크로마토그래피를 거쳐 275 mg (79%)의 11을 갈색 오일로 수득하였다.

[0115] **3-(아제판-1-일설포닐)-4-(2-(디메틸아미노)에톡시)아닐린 12**. 유도체는 4의 제조에 대해 기술된 바와 같이 제조되었다. 250 mg (0.672 mmol)의 아릴 니트로 11로부터 236 mg (100%)의 12를 걸쭉한 시럽으로 분리했다.

[0116] **2-((2-((3-플루오로페닐)아미노)-2-옥소에틸)(메틸)아미노)아세트산 13**.

[0117] 유도체는 설폰아마이드 유도체 대신 아닐린 7을 사용한 것을 제외하고 6의 제조에 대해 설명된 것과 같이 제조

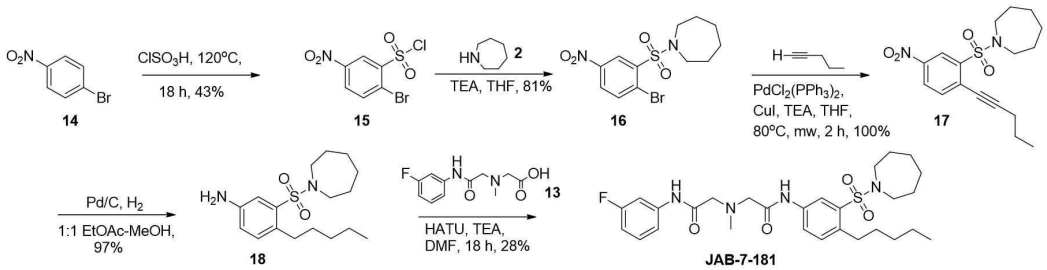
되었고, 조 생성물을 크로마토그래피 (실리카 겔, 4g Combiflash, 0 -> 20% 디클로로메탄-메탄올, 11 분에 걸쳐)로 정제하였다. 566 mg (5.10 mmol)의 아닐린 7에서 541 mg (44%)의 13을 갈색 폼으로 분리했다.

[0118] ***N*-(3-(아제판-1-일설포닐)-4-(2-(디메틸아미노)에톡시)페닐)-2-((2-((3-플루오로페닐)아미노)-2-옥소에틸)-(메틸)아미노)아세트아마이드 (JAB-7-160).**

[0119] 유도체는 F3의 제조에 대해 설명된 것과 같이 제조되었다. 87 mg (27%)의 JAB-7-160을 갈색 고체로 분리했다.

[0120] JAB-7-181의 합성

[0121] [반응식 4]



[0122]

[0123] JAB-7-181의 합성

[0124] 합성은 하룻밤 동안 클로로설폰산 중에서 아릴 브로마이드 14를 가열하여 설포닐 클로라이드 15를 생산함으로써 시작되었다 [10,11]. 헥사메틸렌이민 2로 처리하여 설폰아마이드 16을 허용가능한 수율로 얻었다. 아릴 브로마이드의 치환을 피하기 위해 반응을 주의 깊게 모니터링하는 것이 필요했다. 핵심 단계에서, 아릴 브로마이드 16과 1-펜틴 사이의 팔라듐-촉매 교차 결합 (palladium-catalyzed cross coupling) (Sonogashira 결합)은 정량적 수율로 진행되었다. 아릴 니트로 및 알킨의 동시 수소화 후, 생성된 아닐린 (18)을 HATU/TEA 프로토콜을 사용하여 산 13을 결합하여 합성을 완료했다.

[0125] 실험:

[0126] **2-브로모-5-니트로벤젠-1-설포닐 클로라이드 15.** 9의 제조에 대해 설명된 것과 유도체를 제조하였다. 1.00 g (4.95 mmol)의 아릴 니트로 14로부터 650 mg (43%)의 15를 저융점 갈색 고체로 분리했다.

[0127] **1-((2-브로모-5-니트로페닐)설포닐)아제판 16.**

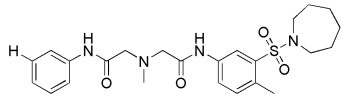
[0128] 유도체를 10의 제조에 대해 설명된 것과 같이 제조했다. 650 mg (2.16 mmol)의 설포닐 클로라이드 15로부터 640 mg (81%)의 15를 황색 고체로 분리했다.

[0129] **1-((5-니트로-2-(펜트-1-인-1-일)페닐)설포닐)아제판 17.** 3 mL의 THF-트리에틸아민의 2:1 용액 중 100 mg (0.302 mmol)의 아릴 브로마이드 16의 용액에, 0.04 mL (25 mg, 0.36 mmol)의 1-펜틴, 3.0 mg (0.15 mmol)의 요오드화 구리 (I) 및 11 mg (0.15 mmol)의 비스(트리페닐포스핀)팔라듐 (II) 이염화물을 첨가했다. 용액을 탈기(degassing)시킨 다음 마이크로파 조사 하에 80 ℃에서 2 시간 동안 교반하였다. 생성된 용액을 실온에서 하룻밤동안 교반을 계속하고, 이어서 실리카겔의 플러그(에틸 아세테이트로 세척됨)를 통해 여과하였다. 용매를 진공에서 제거하고 잔류물을 실리카 겔 (4g Combiflash, 0 -> 15% 헥산, 11 분에 걸쳐 에틸 아세테이트)를 이용해 크로마토그래피를 거쳐 111mg (100%)의 17을 갈색 오일로 수득하였다.

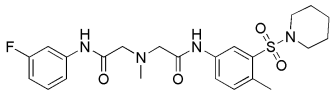
[0130] **3-(아제판-1-일설포닐)-4-펜틸아닐린 18.** 유도체를 4의 제조에 대해 설명한 것과 같이 제조했다. 111 mg (0.317 mmol)의 아릴 니트로 17에서 100 mg (97%)의 18을 노란색 반고체(semisolid)로 분리했다.

[0131] ***N*-(3-(아제판-1-일설포닐)-4-펜틸페닐)-2-((2-((3-플루오로페닐)아미노)-2-옥소에틸)(메틸)아미노)아세트아마이드 (JAB-7-181).** 유도체는 F3의 제조에 대해 설명된 것과 같이 제조되었다. 105 mg (0.32 4mmol)의 아닐린 18로부터 49 mg (28%)의 JAB-7-181을 백색 폼으로 분리하였다.

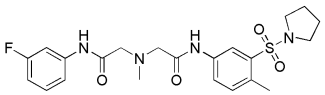
[0132] F3에 더하여, 합성된 화합물들의 구조는 다음과 같이 보여진다:



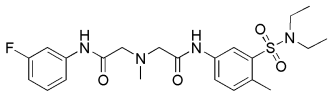
JAB-6-1



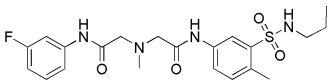
JAB-6-4



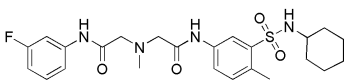
JAB-6-5



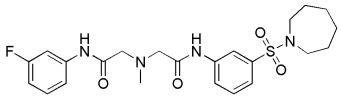
JAB-6-10



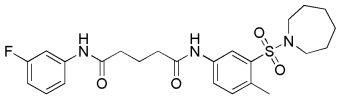
JAB-6-11



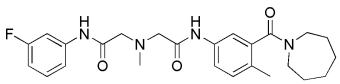
JAB-6-18



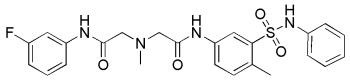
JAB-6-26



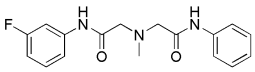
JAB-6-41



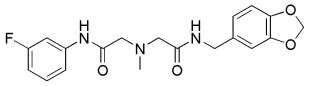
JAB-6-46



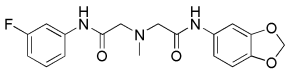
JAB-6-48



JAB-6-49

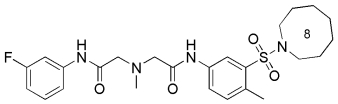


JAB-6-50

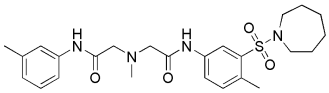


JAB-6-51

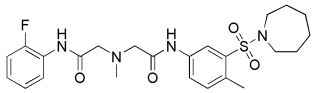
[0133]



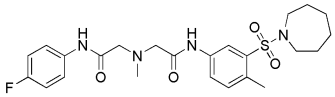
JAB-6-144



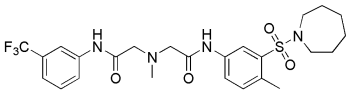
JAB-6-149



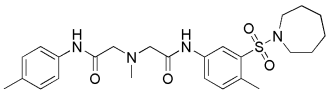
JAB-6-150



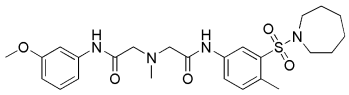
JAB-6-151



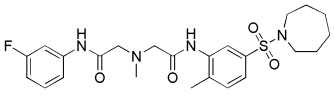
JAB-6-152



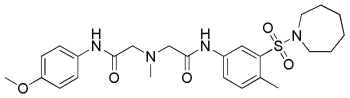
JAB-6-153



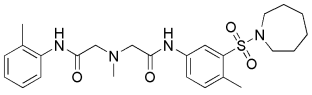
JAB-6-156



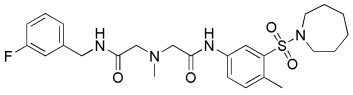
JAB-6-159



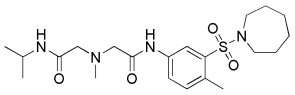
JAB-6-162



JAB-6-163

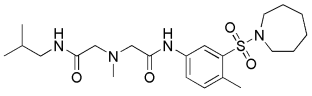


JAB-6-164

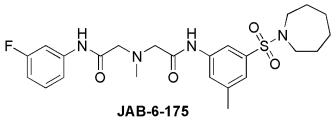


JAB-6-165

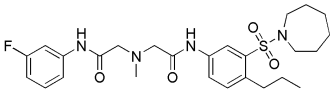
[0134]



JAB-6-166

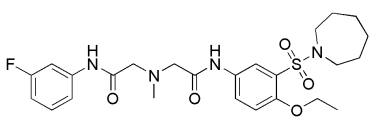


JAB-6-175

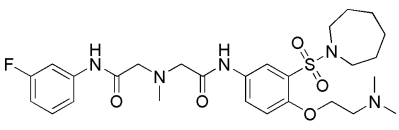


JAB-6-176

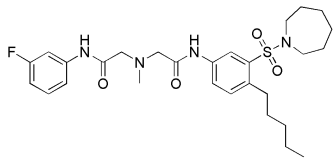
[0135]



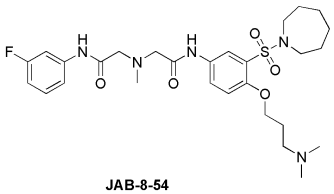
JAB-7-158



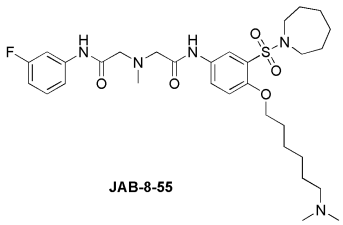
JAB-7-160



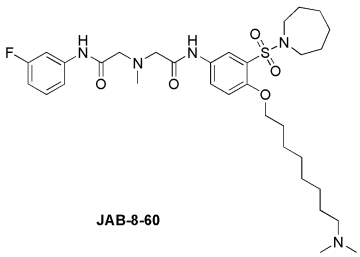
JAB-7-181



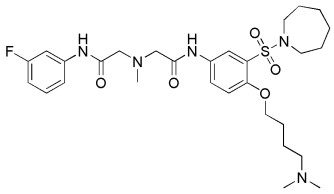
JAB-8-54



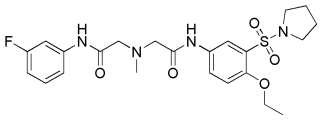
JAB-8-55



JAB-8-60

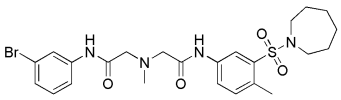


JAB-8-63



JAB-8-66

또는



JAB-8-68

[0136]

[0137] 실시예 2: 화합물의 시험

[0138] 결합 분석(Binding assays)

[0139] **재조합 K-RAS 단백질에 대한 F3/F3a 유도체의 직접 결합.** Thermofluor 분석은 재조합 K-RAS 단백질과 화합물 F3, 또는 재조합 K-RAS 단백질과 화합물 JAB-6-5 사이에 직접적인 상호작용이 검출될 수 있는지 여부를 분석하기 위해 수행되었다. 재조합 K-RAS12v 단백질을 감마 GTPS로 로딩하고 200 uM 화합물/5uM 단백질의 비율로 결합 분석에 사용했다. 대조군 화합물 C4는 다른 단백질을 타겟팅하며 RAS에 결합할 것으로 예상되지 않았다. 결과는 세 번 수행된 세 가지 분석으로부터 유도된 것이다. F3 및 JAB-6-5 모두에서 유의한 곡선 이동이 관찰되지만 C4에서는 관찰되지 않는다. 예측된 kD는 곡선에서 추정할 수 있다: 55.5 ℃에서 ~ 25uM. 결과는 도 16에서 나타난다.

[0140] 3차원 연한천 약물 스크리닝 (생체 외 분석)

[0141] 대부분의 고형 종양은 상피 세포에서 발생한다. 신체 내 정상 상피 세포는 기저막 구조에서 살고/성장한다. 이러한 세포를 생체 외에서 성장시키기 위해, 코팅된 플라스틱 조직 배양물품(ware) 상에서 이들을 2차원으로 배양한다. 플라스틱에 대한 부착은 기저막 상의자연 성장과 유사하며 고체 2차원 표면과의 인테그린 상호작용으로부터의 세포에 대한 필수적인 생존 신호를 제공한다. 이러한 비-암 세포가 고체 표면으로부터 떨어진 배양 배지 중에 현탁되면, 이들은 인테그린 생존 신호를 잃고 프로그램된 세포 사멸의 일종인 아노이키스라 불리는 과정에 의해 죽는다.

[0142] 종양 세포는 RAS와 같은 종양 유전자에서 돌연변이를 획득했다. RAS 내 돌연변이는 단백질의 구성적 활성화(constitutive activation)를 유발하고 그 결과 중 하나는 일부 종양 세포가 인테그린 생존 신호와 독립적이 된다는 것이며, 그 이유는 RAS 신호가 이들을 보충하기 때문이다. 따라서 이들은 더 이상 2차원의 기저막에서 성장할 필요가 없다. 이러한 기능은 이들이 종양으로 성장할 수 있게 한다. 또한, 이것은 이러한 세포가 생체 외 3차원 배양 시스템에서 성장할 수 있도록 하는데, 정상 세포는 이러한 생체 외 3차원 배양 시스템에서 성장할 수 없다. 실제로 3차원 배양에서 성장하는 능력은 동물의 종양 형성 능력과 밀접한 관련이 있다 [12].

[0143] 따라서, 2차원 종양 세포의 표준 성장은 RAS 기능 장애를 전적으로 반드시 필요로 하는 것은 아니지만, 실제 종양에서와 같이 3차원 성장은 이를 반드시 필요로 한다. 이것은 RAS 억제 분자에 대한 분석이, 표준 2차원 (완전히 RAS 의존적이지 않음)가 아닌 3차원 (RAS 의존적) 성장 조건 하에서 성장하는 세포에 대해 수행될 때 가장 민감하다는 것을 의미한다.

[0144] 3차원 배양의 기술적인 과정은 배양액 중 1.6%의 용융 한천(molten agar)을 준비하고 혈청을 10%까지 첨가하는 단계를 수반한다. 1 ml의 이러한 한천 배지를 12 웰 플레이트에 웰마다 위치시키고 경화되도록 둔다. 이것은 바닥 한천이며, 웰에 첨가된 임의의 세포가 플레이트의 플라스틱 바닥에 닿는 것을 방지하여, 모든 것이 현탁되

어 유지되는 것을 보장한다. 한편, 한천 배지의 나머지 스탁(stock)은 경화를 방지하기 위해 42 ℃에서 유지된다. 이어서 타겟 세포를 단일 세포 현탁액으로 트립신화(trypsinize)하고 정상 배지/약물 조합과 혼합한다. 이어서 2/3 부피의 용융 한천 배지를 첨가하고 혼합물을 바닥 한천에 상으로 위치시킨다. 한천/배지가 냉각되도록 두고, 3차원 환경에서 세포를 현탁시킨다. 일반적으로, 2 주 이내에, 종양 구(sphere) (콜로니)가 한천 내에 현탁되어 형성된다. 콜로니의 수 또는 심지어 크기를 도립 현미경으로 카운팅하고 정량화하여 종양 구 억제를 분석할 수 있다.

[0145] F3, JAB-6-176 및 JAB-8-60을 포함하여 합성된 화합물은 3차원 연한천 약물 스크리닝에서 시험되었다. 시험된 모든 화합물은 3차원 연한천 성장을 억제했지만, 정상적인 2차원 성장에는 거의 영향을 미치지 않았다. 이것은 화합물이 정상적인 비-종양 세포에 대해 낮은 독성을 가질 것임을 시사한다. 아래 표 2에서, "REMARKS" 열에 F3을 시험한 결과와 함께, 다른 세포주가 나열되어 있다. 모든 세포주는 일반적이며 ATCC 저장소 (www.atcc.org/en/Products/Cells_and_Microorganisms/Cell_Lines.aspx)에서 공개적으로 이용 가능하다. NF1 뮤트(mute)는 NF1 유전자 (RAS의 음성 조절자(negative regulator))에 결함이 있는 세포이며, 야생형 RAS의 과다-활성화(hyper-activation)를 유발한다. DAB2IP 결핍 세포도 마찬가지이다. EGFR+++ 세포는 EGFR 수용체를 과발현하며, 이는 또한 야생형 RAS의 과다-활성화를 초래한다.

[0146] [표 2]

세포주	유전자	조직	비고
Mia-Paca-2	K12C	췌장	연한천 성장 억제됨
A549	K12S	폐	연한천 성장 억제됨
Panc-1	K12D	췌장	연한천 성장 억제됨
H1299	Hras61	폐	연한천 성장 억제됨
CaoV3	NF1뮤트	난소	연한천 성장 억제됨
S462.TY	NF1-뮤트	MPNST	연한천 성장 억제됨
A375	B-RAF 뮤트*	흑색종	10uM에서 패 적당히(very modest) 효과 있음, 2uM에서 효과 없음
HTB-185	DAB2IP 결핍	Medulloblastoma	연한천 성장 억제됨
MDA-MB-231	Kras13D, NF1에 대해 결핍	유방	연한천에서 잘 성장하지 않지만, 억제된 것으로 보임
SK-RC-45	EGFR++++	신장	연한천 성장 억제됨
HL-60	NRASQ61L	AML	현택액 배지, 현탁액 중 성장이 억제됨

*돌연변이체 B-RAF는 RAS에 독립적이어야 내성이 있어야 한다.

[0147]

[0148] 도 3 및 4는 소분자 RAS 억제제 F3에 의한 종양형성 표현형의 특이적인 억제를 보여주는 그래프이다. A549 K-RAS 유도된 폐 종양 세포주 및 K-RAS 유도된 췌장암 세포주 MiaPaCa-2의 연한천 내 성장에 대한 소분자의 효과가 나타난다. 0 = 캐리어 (DMSO). P 값은 0.05 미만이다. 도 5 및 도 6은 동일한 세포의 플라스틱 상 2차원 배양에서의 정상적인 성장/생존에 대한 10 uM의 F3의 효과를 보여준다. 플라스틱 상 정상적인 성장에 대한 약물의 효과의 분석은 약물이 10 uM에서도 2차원 세포 성장에 대해 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. 도 7은 F3가 야생형 유도된 종양 세포에 대해서도 효과적임을 보여주는 그래프이고, 도 8은 동일한 세포의 플라스틱 상 2차원 배양에서 정상적인 성장/생존을 보여주는 그래프이다.

[0149] RAS 활성화는 아노이키스에 대한 내성으로 이어지고 RAS 기능을 억제하면 RAS 형질전환된 세포가 아노이키스에 다시 민감해지게 한다 (re-sensitizes). RAS/RalGDS 경로는 RAS 매개 아노이키스 억제의 중요한 구성요소로 연루되어 왔다. 이러한 효과를 입증하기 위해, Mia-Paca-2 세포를 polyHEMA로 처리된 조직 배양 웰 내에 플레이팅하여 세포 부착을 방지했다. 48 시간 후, 트립판 블루 제외법(trypan blue exclusion)에 의해 세포 사멸에 대해서 배양물을 분석하였다. F3가 높은 수준의 아노이키스를 유도하는 것으로 밝혀졌다. 도 9는 이러한 결과를 나타내는 그래프이다.

[0150] 도 10은 6.6 uM의 농도에서, 3차원 연한천 약물 스크리닝에서 F3과 함께 12개의 추가 화합물들 (JAB-6 화합물들)을 시험한 결과를 도시한다. 도 11은 동일한 분석에서 0.5 uM에서의 JAB-6-158 및 JAB-6-160을 시험한 결과를 도시한다. 도 12는 DMSO (대조군), F3 및 JAB-6-5로 처리된 악성 말초신경초 종양 세포 (MPNST 종양 세포) 및 Mia-Paca-2 세포의 연한천 내 콜로니를 보여주는 사진이다. 이러한 데이터는 화학식 (I)의 모든 화합물이 RAS 기능을 억제할 것으로 예상된다는 것을 입증한다.

[0151] 이종 이식 마우스의 종양 억제 (생체 내 분석)

[0152] 화합물 F3은 NRG 마우스에서 세포주 이종이식 종양을 사용하여 생체 내에서 시험되었다. 사용된 세포주는 Mia-Paca-2 (췌장암) 및 NCI-H441 (폐암)을 포함했다. 시험은 대조군에 비해 종양 부피의 감소를 나타냈다. NCI-H441에 대한 결과는 도 13에 도시되어 있다. 도 14 및 도 15 (DMSO/PBS (담체) 또는 F3 약물로 3 일마다 12mg/kg으로 처리된 NRG 마우스)에서 Mia-Paca-2에 대한 결과가 나타나 있다. Mia-Paca-2의 경우, F3 처리된 동물에서 발생한 종양은 부피의 약 절반이었다 (실험에 대한 P 값은 0.014 였음).

[0153] 약물동태학 (Pharmacokinetics) (생체 내)

[0154] 생체 내 RAS 억제제의 제거율을 측정하기 위해, CD1 마우스에 F3를 5 mg/kg IP로 주사했다. 시간에 따른 혈장 농도를 측정했다. 결과는 도 17에 도시되어 있다. 유사하게, 뇌에서의 농도도 측정했으며, 그 결과는 도 18에 도시되어 있다. 30mg/kg 경구 투여 후 혈장 농도를 측정하였으며, 그 결과는 도 19에 나타난다.

[0155] 독성 (생체 내)

[0156] 사전 생체 내 독성 분석을 F3에 대해 수행하였다. NRG 마우스에 2 주 동안 격일로 10mg/kg의 약물을 i.p. 주사했다. 통증이나 고통의 명백한 징후는 관찰되지 않았고 체중 감소는 관찰되지 않았다. 따라서, 화합물은 이러한 수준에서 생체 내에서 특히 독성이 없는 것으로 보인다.

[0157] 간 독성 및 신장 기능을 시험하기 위해, 마우스에 대조군인 DMSO 또는 F3를 주입하고, 아스파트산아미노기전달효소 (aspartate aminotransferase; AST) 및 혈중 요소질소 (blood urea nitrogen; BUN)의 혈중 수준을 측정했다. 결과는 도 20 및 도 21에서 나타난다.

[0158] **참고문헌들**

[0159] 1. Hobbs GA, Der CJ, Rossman KL. RAS isoforms and mutations in cancer at a glance. *J Cell Sci.* **2016** Apr 1;129(7):1287-92.

[0160] 2. American Cancer Society. Cancer Facts and Figures 2017.

[0161] 3. Ostrem JM, Peters U, Sos ML, Wells JA, Shokat KM. K-RAS(G12C) inhibitors allosterically control GTP affinity and effector interactions. *Nature*. **2013**;503(7477):548-551.

[0162] 4. Shima F, Yoshikawa Y, Ye M, et al. In silico discovery of small-molecule RAS inhibitors that display antitumor activity by blocking the RAS-effector interaction. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **2013**;110(20):8182-8187.

[0163] 5. Welsch ME, Kaplan A, Chambers JM, et al. Multivalent Small-Molecule Pan-RAS Inhibitors. *Cell*. 2017;168(5):878-889.e29.

[0164] 6. Han, C. G.; Kim, J. U.; Yoon, J. H.; Lee, S. U.; Kim, N. D.; Jung, Y. S.; Lee, Y. H.; Park, S. J.; Shin, J. C.; Yang, J. W. "2-Phenyl-4-[3-(substituted-sulfonyl)anilino]quinazoline derivative for the treatment of hepatitis C and preparative method thereof." KR patent. KR 2012048223, May 15, 2012.

[0165] 7. Burke, M. D.; Dick, G. R.; Knapp, D. M.; Gillis, E. P.; Klubnick, J. A. "Methods for forming protected organoboronic acids." US 20110201806 A1. Aug 18, 2011.

[0166] 8. Henry, D. W. "A facile synthesis of piperazines from primary amines." *J. Heterocyclic Chem.* 1966, *3*, 503-511.

[0167] 9. Yamaoka, N.; Kodama, H.; Izuhara, Y.; Miyata, T.; Meguro, K. "Structure-activity relationships of new N-acylanthranilic acid derivatives as plasminogen activator inhibitor-1 inhibitors." *Chem.Pharm. Bull.*. 2011, *59*, 215-224.

[0168] 10. Kil, K.-E.; Poutiainen, P.; Zhang, Z.; Zhu, A.; Kuruppu, D.; Prabhakar, S.; Choi, J.-K.; Tannous, B. A.; Brownell, A.-L. "Synthesis and evaluation of *N*-(메틸thiophenyl)picolinamide derivatives as PET radioligands for metabotropic glutamate receptor subtype 4." *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2016, *26*, 133-139.

[0169] 11. Aono, T.; Endo, M. "2-Chloro-5-nitrobenzenesulfonamide." JP patent. JP 60233051, Nov 19, 1985.

[0170] 12. Colburn NH, Bruegge WF, Bates JR, Gray RH, Rossen JD, Kelsey WH, et al. Correlation of anchorage-independent growth with tumorigenicity of chemically transformed mouse epidermal cells. *Cancer Res* 1978;38:624-34.

[0171] 13. Stedman, T.L. 2000. Stedman's medical dictionary. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia. xxxvi, [127], 2098.

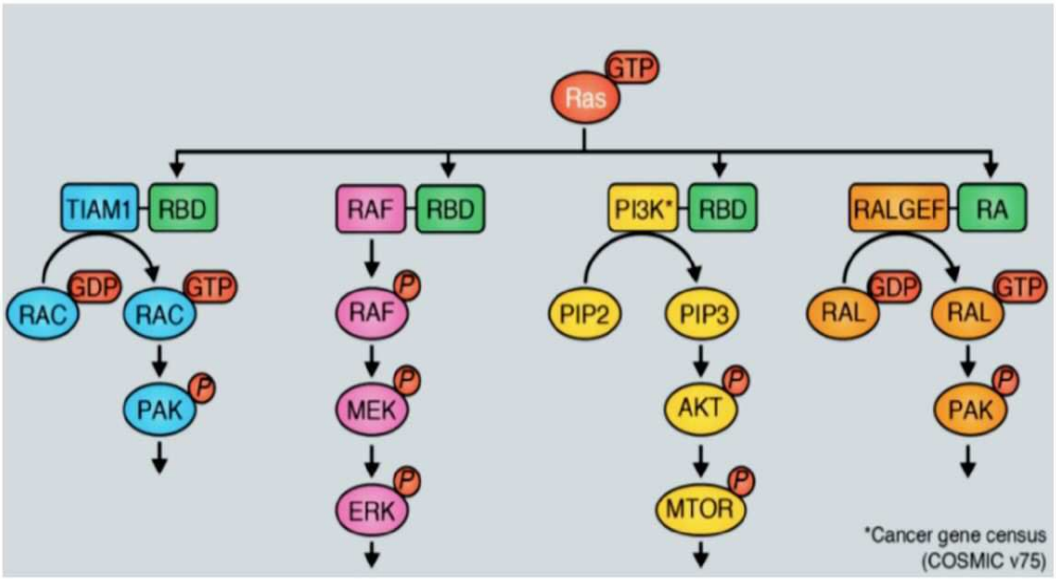
[0172] 14. "Guidance for Industry: Estimating the Maximum Safe Starting Dose in Initial Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers" (July 2005) by U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research CDER.

도면

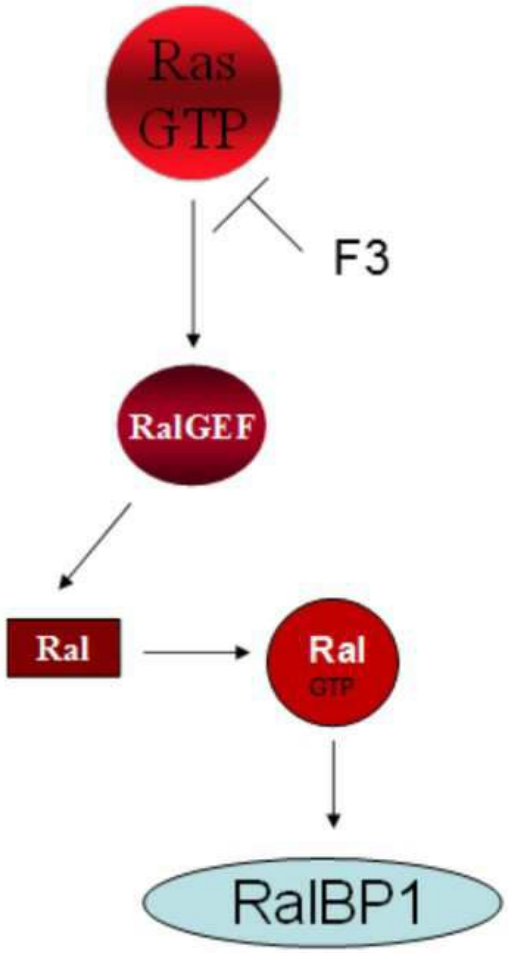
도면1

암	동형 (isoform)	퍼센트
췌장 관 선암(pancreatic ductal adenocarcinoma)	K	98
결장 선암 (colorectal adenocarcinoma)	K	52
다발성 골수종	K, N	43
폐 선암(lung adenocarcinoma)	K	32
피부 흑색종 (Skin cutaneous melanoma)	N	29
자궁내막모양암종 (Uterine corpus endometrioidcarcinoma)	K	25
자궁 암육종 (Uterine carcinosarcoma)	K	14
갑상선 암종 (Thyroid carcinoma)	N>K	13
급성골수성백혈병 (Acute myeloid leukemia)	N>K>H	11
요로상피성 방광 암종 (Bladder urothelial carcinoma)	H, K>N	11
위선암 (Gastric adenocarcinoma)	K	10
자궁경부선암종 (cervical adenocarcinoma)	K	8
두경부편평세포암종 (head and neck squamous cell carcinoma)	H	6

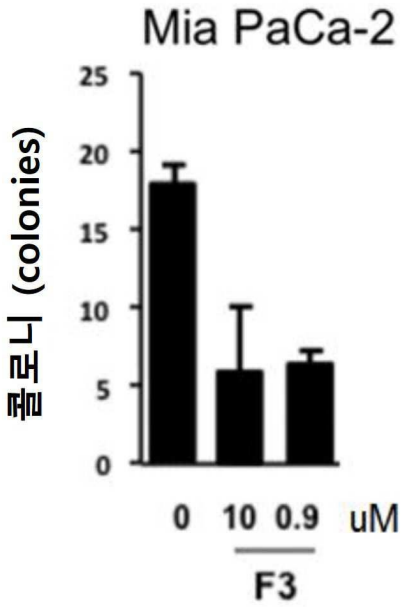
도면2a


GTP
Ras
TIAM1
RBD
RAF
RBD
PI3K*
RBD
RALGEF
RA
GDP
GTP
RAC
RAC
RAF
PIP2
PIP3
GDP
GTP
RAL
RAL
P
PAK
MEK
AKT
PAK
ERK
MTOR
*Cancer gene census
(COSMIC v75)

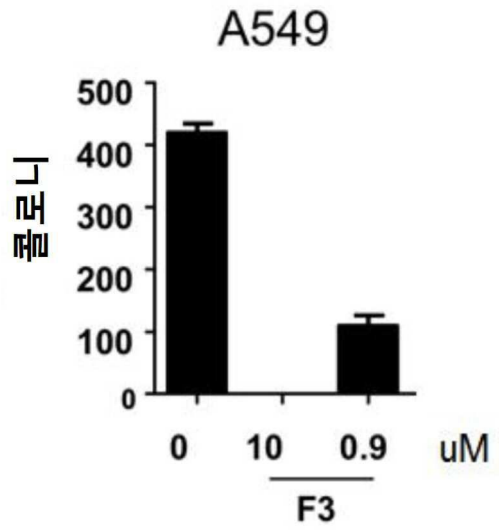
도면2b


Ras
GTP
F3
RalGEF
Ral
Ral
GTP
RalBP1

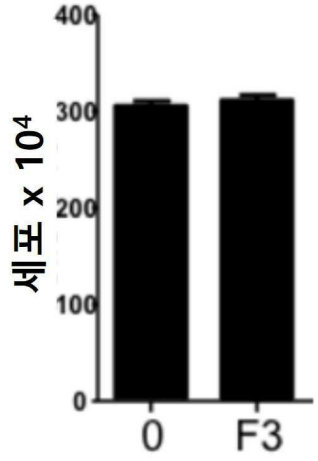
도면3


Mia PaCa-2
콜로니 (colonies)
25
20
15
10
5
0
0
10
0.9
uM
F3

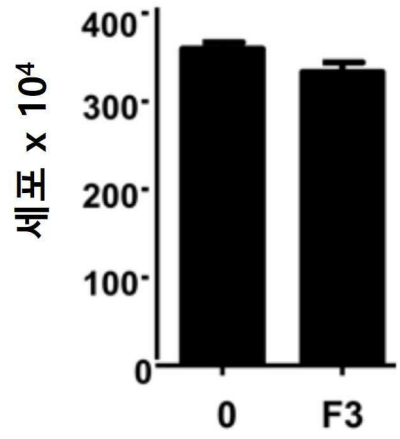
도면4


A549
콜로니
500
400
300
200
100
0
0
10
0.9
uM
F3

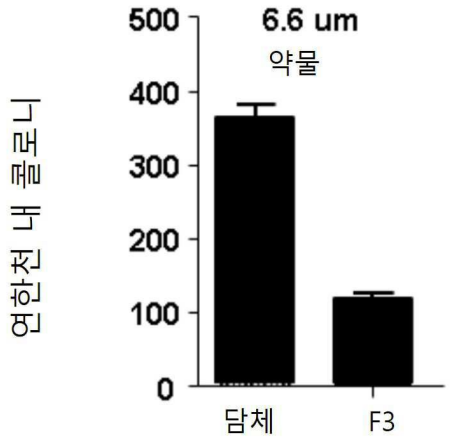
도면5


세포 x 10⁴
400
300
200
100
0
0
F3

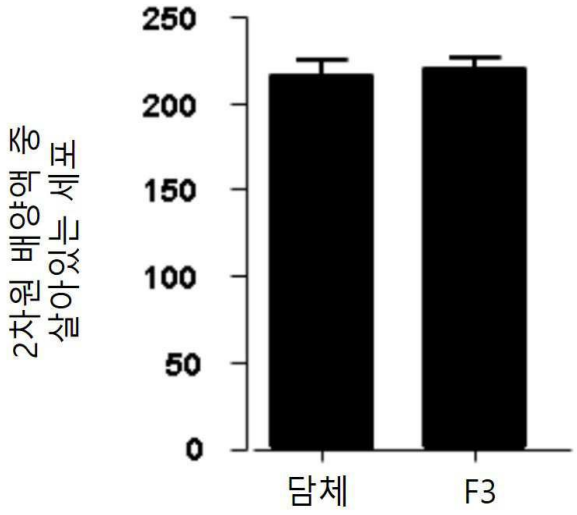
도면6


세포 x 10⁴
400
300
200
100
0
0
F3

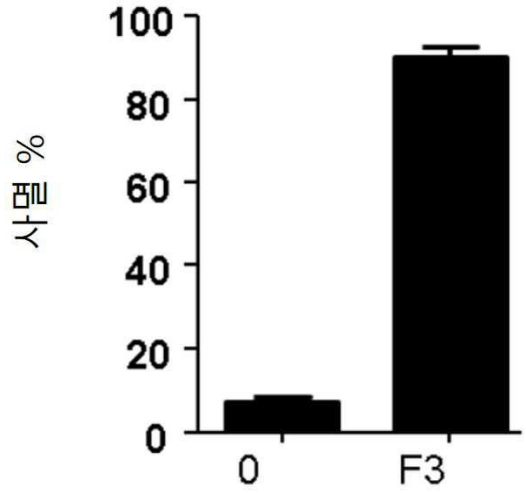
도면7


6.6 um
약물
500
400
300
200
100
0
연한천 내 콜로니
담체
F3

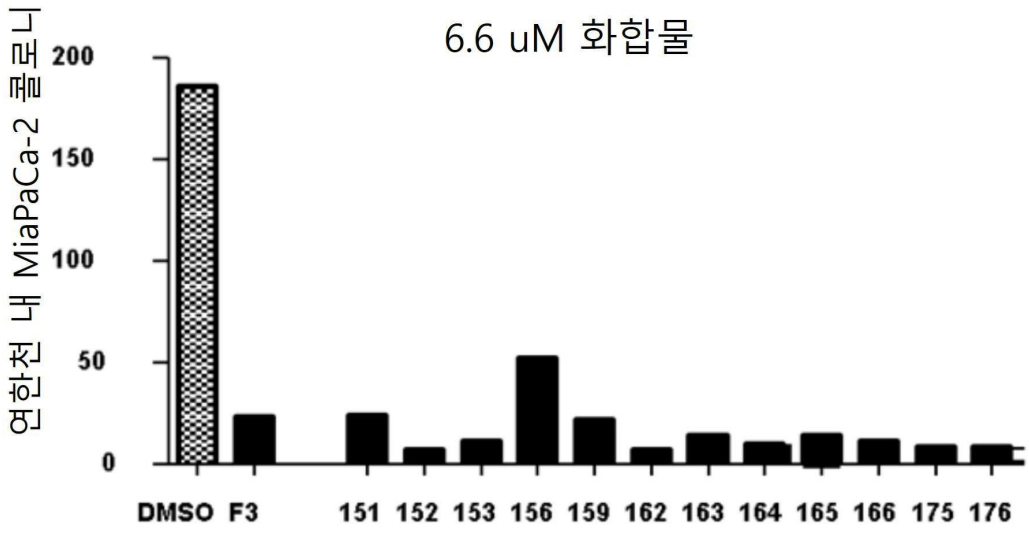
도면8


250
200
150
100
50
0
2차원 배양액 중
살아있는 세포
담체
F3

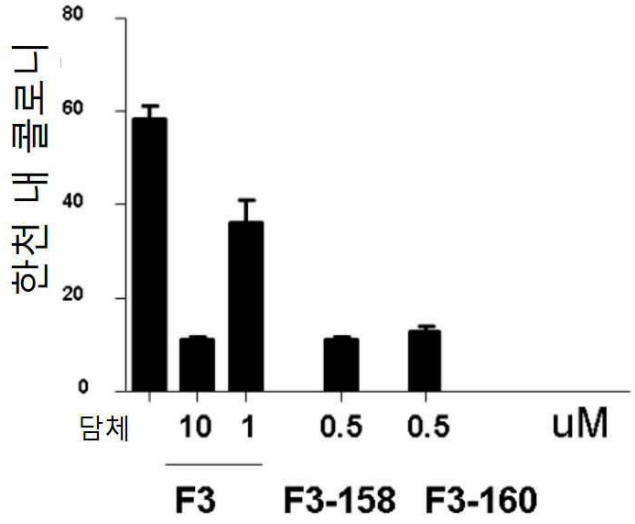
도면9


100
80
60
40
20
0
사멸 %
0
F3

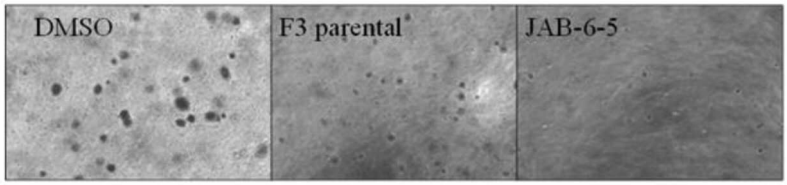
도면10


6.6 uM 화합물
연한천 내 MiaPaCa-2 콜로니
200
150
100
50
0
DMSO
F3
151
152
153
156
159
162
163
164
165
166
175
176

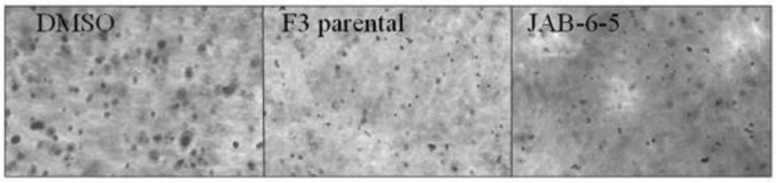
도면11



도면12

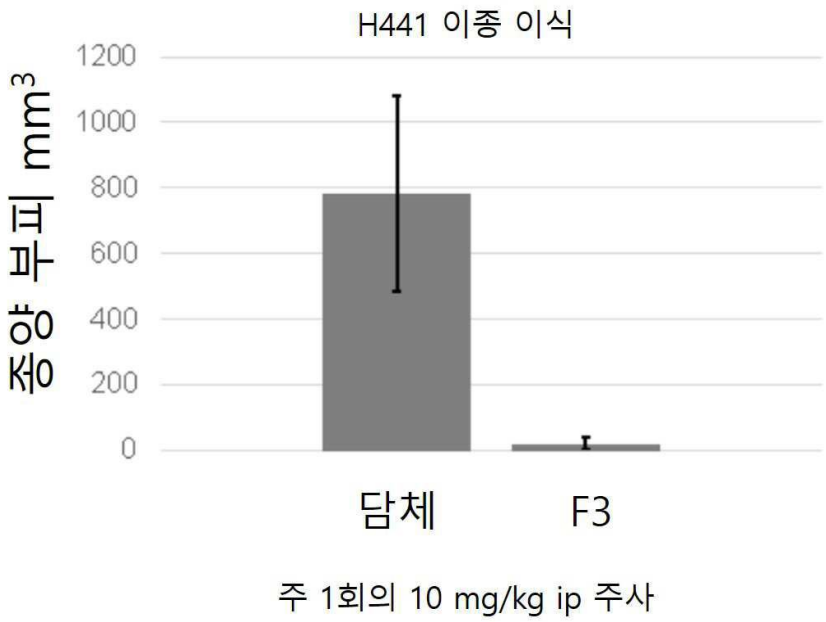


MiaPaCa-2



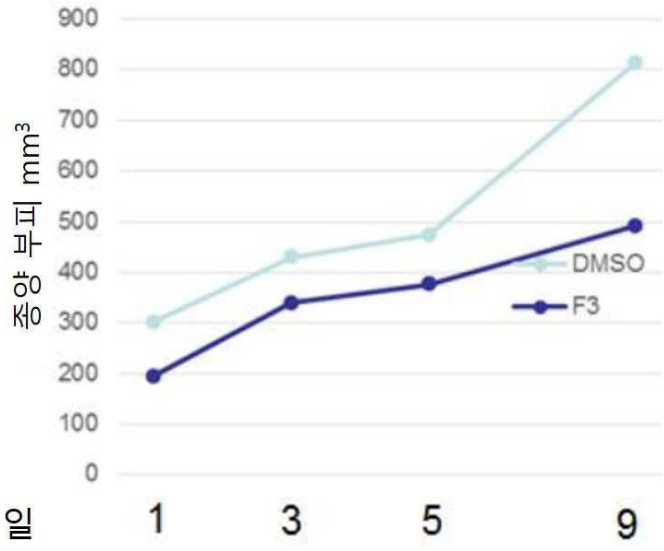
MPNST 종양 세포

도면13

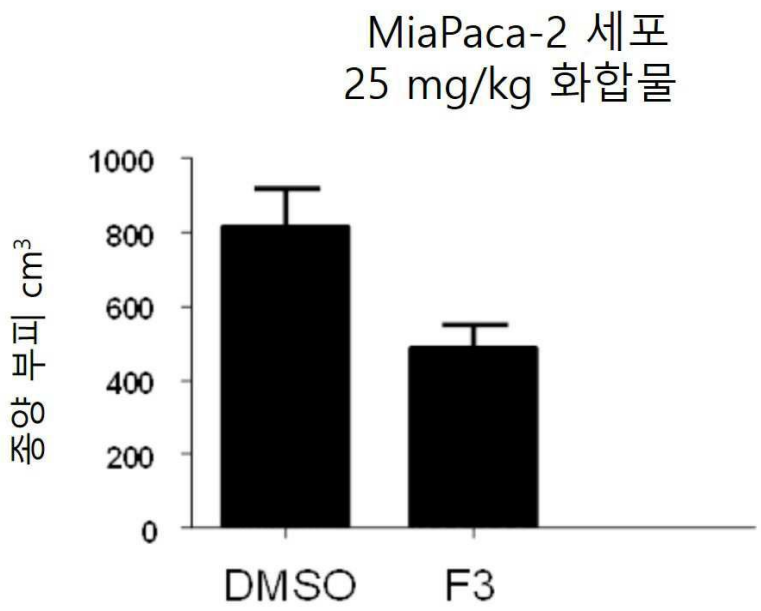


주 1회의 10 mg/kg ip 주사

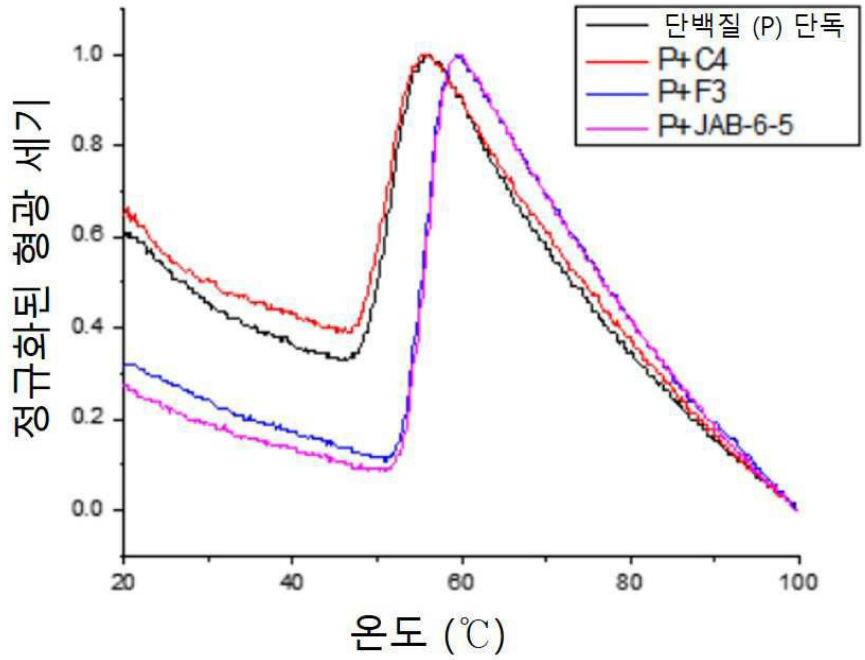
도면14



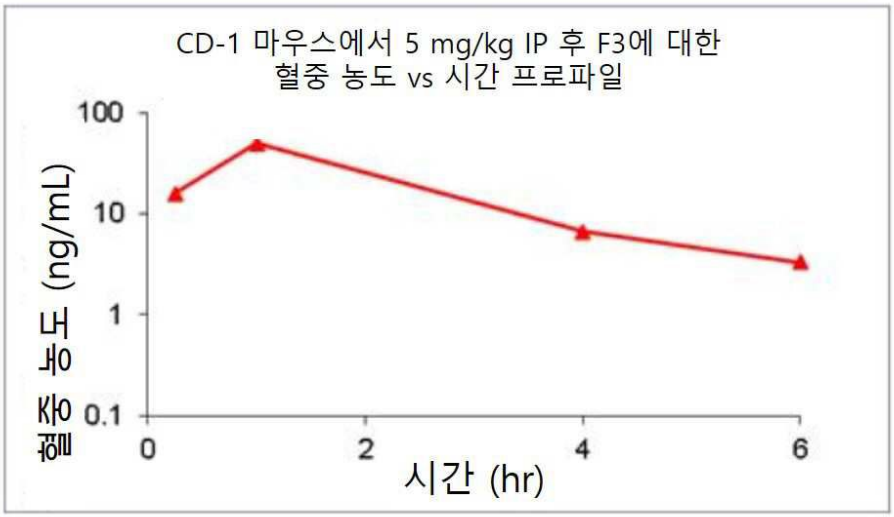
도면15


MiaPaca-2 세포
25 mg/kg 화합물
종양 부피 cm3
1000
800
600
400
200
0
DMSO
F3

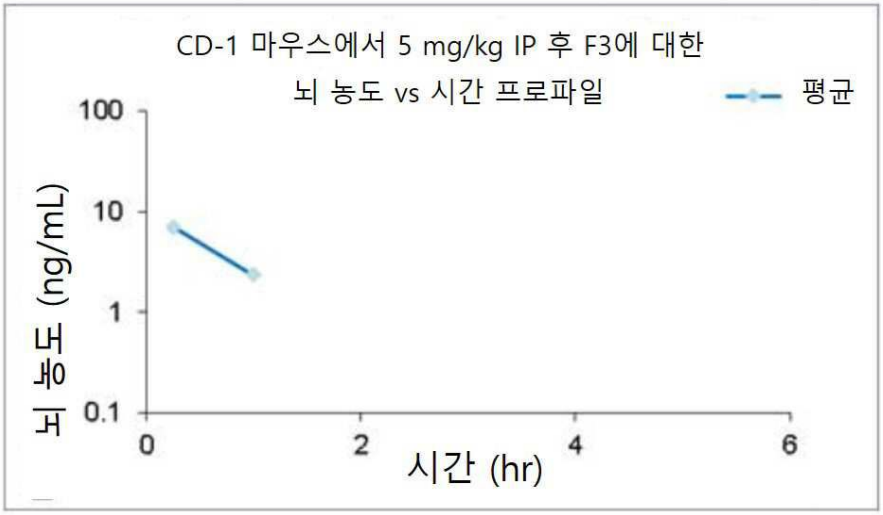
도면16


단백질 (P) 단독
P+C4
P+F3
P+JAB-6-5
정규화된 형광 세기
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
20
40
60
80
100
온도 (℃)

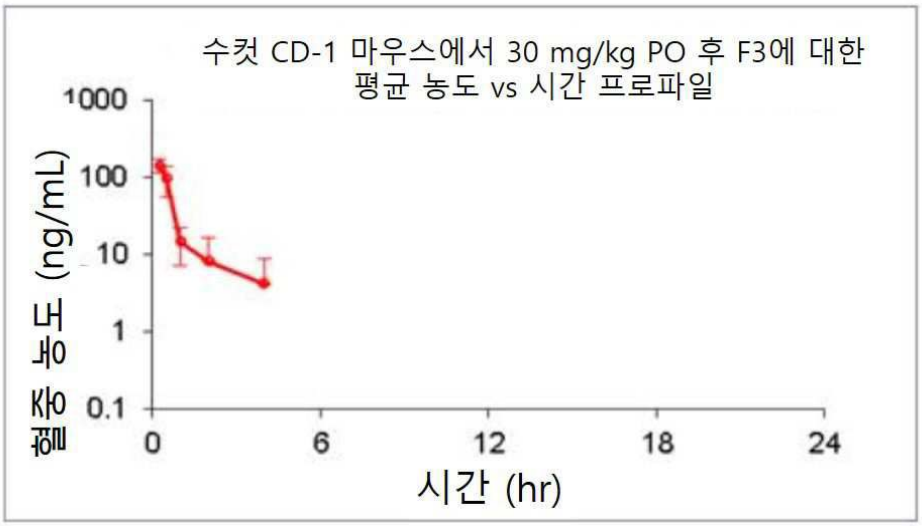
도면17


CD-1 마우스에서 5 mg/kg IP 후 F3에 대한
혈중 농도 vs 시간 프로파일
혈중 농도 (ng/mL)
100
10
1
0.1
0
2
4
6
시간 (hr)

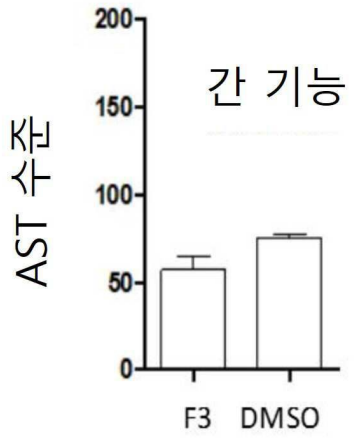
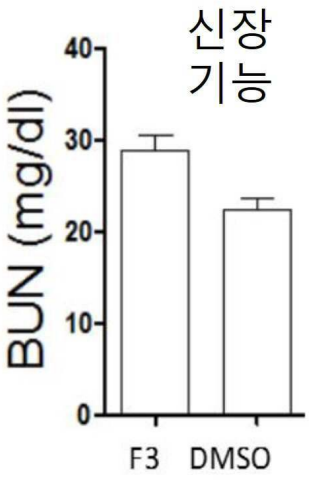
도면18


CD-1 마우스에서 5 mg/kg IP 후 F3에 대한
뇌 농도 vs 시간 프로파일
평균
뇌 농도 (ng/mL)
100
10
1
0.1
0
2
4
6
시간 (hr)

도면19



도면20



도면21