(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0089224
(43) 공개일자 2024년06월20일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 498/14 (2006.01) *A61K 31/519* (2006.01)
A61P 35/02 (2006.01) *C07D 498/04* (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07D 498/14 (2013.01)
A61K 31/519 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2024-7014535
(22) 출원일자(국제) 2022년09월29일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2024년04월30일
(86) 국제출원번호 PCT/CN2022/122536
(87) 국제공개번호 WO 2023/051681
국제공개일자 2023년04월06일
(30) 우선권주장
202111161691.X 2021년09월30일 중국(CN)

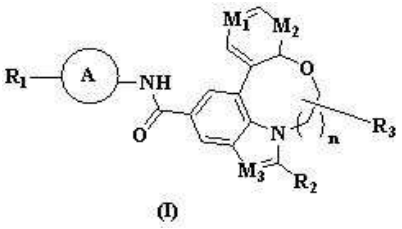
(71) 출원인
장쑤 한서 파마슈티칼 그룹 컴파니 리미티드
중국 222047 장쑤 롄윈강 이코노믹 앤드 테크놀로지컬 디벨로프먼트 존
(72) 발명자
왕, 샤오
중국 222047 장쑤 롄윈강 이코노믹 앤드 테크놀로지컬 디벨로프먼트 존
딩, 샤오화
중국 222047 장쑤 롄윈강 이코노믹 앤드 테크놀로지컬 디벨로프먼트 존
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
양영준, 이상영

전체 청구항 수 : 총 11 항

(54) 발명의 명칭 **4-원 융합 고리형 화합물 및 이의 제조방법 및 용도**

(57) 요 약

본 발명은 4-원 융합 고리 화합물 및 이의 제조 방법과 용도에 관한 것으로서, 구체적으로는 4-원 융합 고리 화합물, 이의 제조 방법 및 치료 유효량의 상기 화합물을 함유하는 약제학적 조성물, 뿐만 아니라 티로신 키나제 억제제로서의 이의 용도, 특히 ABL1 단백질, ABL2 관련 단백질 및 키메라 단백질 BCR-ABL1로 구성된 군으로부터 선택된 단백질의 티로신 키나제 활성을 억제하는 약물의 제조에서의 용도에 관한 것이다.



(I)

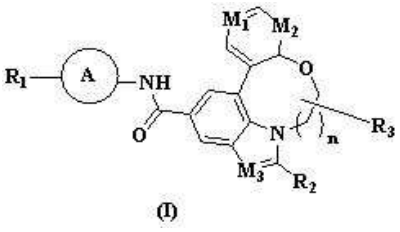
(52) CPC특허분류
A61P 35/02 (2018.01)
C07D 498/04 (2013.01)
(72) 발명자
첸, 궈후이
중국 222047 장쑤 롄윈강 이코노믹 앤드 테크놀로지컬 디벨로프먼트 존
순, 윤동
중국 222047 장쑤 롄윈강 이코노믹 앤드 테크놀로지컬 디벨로프먼트 존
왕, 샤오레이
중국 222047 장쑤 롄윈강 이코노믹 앤드 테크놀로지컬 디벨로프먼트 존

명 세 서

청구범위

청구항 1

화학식 (I)로 표시되는 화합물, 그의 입체이성질체 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염:



(I)

여기서:

고리 A는 C_{3-6} 사이클로알킬, 4-7-원 헤테로사이클릴, C_{6-10} 아릴 또는 5-7-원 헤테로아릴로부터 선택되고;

R_1은 수소, 중수소, 할로겐, 아미노, 하이드록실, 시아노, C_{1-6} 알킬, C_{2-6} 알케닐, C_{2-6} 알키닐, C_{1-6} 중수소화 알킬, C_{1-6} 할로알킬, C_{1-6} 하이드록시알킬, C_{1-6} 알콕시, C_{1-6} 알킬티오 또는 C_{1-6} 할로알콕시로부터 선택되고;

M_1은 N 또는 CR_a로부터 선택되고;

M_2는 NR_a 또는 $C(R_a)_2$로부터 선택되고;

M_3는 N 또는 CR_a로부터 선택되고;

R_a는 각각 독립적으로 수소, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 중수소화 알킬, C_{1-6} 할로알킬, C_{1-6} 하이드록시알킬, C_{1-6} 알콕시, C_{1-6} 알킬티오 또는 C_{1-6} 할로알콕시로부터 선택되고;

R_2 또는 R_3는 각각 독립적으로 수소, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 중수소화 알킬, C_{1-6} 할로알킬, C_{1-6} 하이드록시알킬, C_{1-6} 알콕시, C_{1-6} 알킬티오, C_{1-6} 할로알콕시, C_{3-6} 사이클로알킬, 4-7-원 헤테로사이클릴, C_{6-10} 아릴 또는 5-7-원 헤테로아릴로부터 선택되고; 그리고

n은 0, 1 또는 2임.

청구항 2

제1항에 있어서,

고리 A는 C6-10 아릴 또는 5-6-원 헤테로아릴이고;

R_1은 C_{1-3} 알킬, C_{1-3} 중수소화 알킬, C_{1-3} 할로알킬, C_{1-3} 하이드록시알킬, C_{1-3} 알콕시, C_{13} 알킬티오 또는 C_{1-3} 할로알콕시로부터 선택되고;

M_1은 N 또는 CH로부터 선택되고;

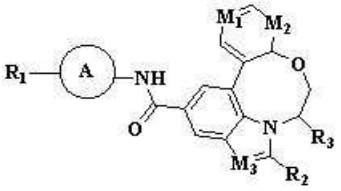
M_2는 NH 또는 CH_2로부터 선택되고;

M_3는 N 또는 CH로부터 선택되고; 그리고

R_2 또는 R_3는 각각 독립적으로 C_{1-3} 알킬, C_{1-3} 중수소화 알킬, C_{1-3} 할로알킬, C_{1-3} 하이드록시알킬, C_{1-3} 알콕시, C_{1-3} 알킬티오 또는 C_{1-3} 할로알콕시로부터 선택되는 화합물, 그의 입체이성질체 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염.

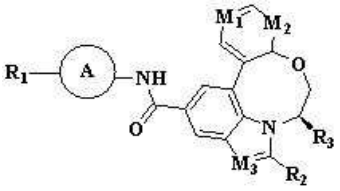
청구항 3

제1 또는 2항에 있어서, 화학식 (I)은 추가로 일반 화학식 (II) 또는 (II-a)에 기재된 바와 같은 화합물, 그의 입체이성질체 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염:



(II)

또는



(II-a)

.

청구항 4

제3 항에 있어서,

고리 A는 페닐 또는 피리딜이고;

R_1은 C_{1-3} 알킬, C_{1-3} 할로알킬, C_{1-3} 알콕시 또는 C_{1-3} 할로알콕시로부터 선택되고;

M_1은 N;

M_2은 NH;

M_3은 N; 그리고

R_2 또는 R_3는 각각 독립적으로 수소, C_{1-3} 알킬 또는 C_{1-3} 할로알킬로부터 선택되는 화합물, 그의 입체이성질체 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염.

청구항 5

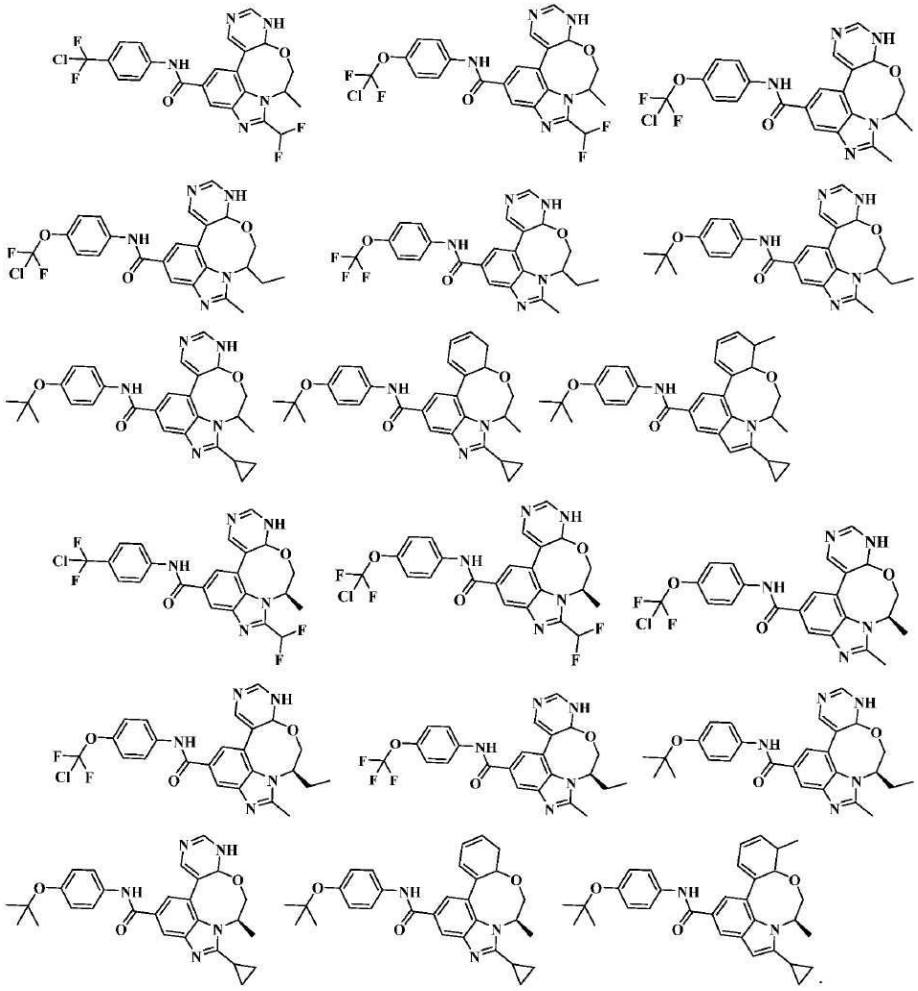
제 1-4항 중 어느 한 항에 있어서,

R_1은 $-CF_2$, $-CF_3$, $-CF_2Cl$, $-OCF_2$, $-OCF_3$ 또는 $-OCF_2Cl$로부터 선택되고; 그리고

R_2 또는 R_3는 각각 독립적으로 $-CH_3$, $-CH_2CH_3$, $-CF_2$, $-CF_3$ 또는 $-CF_2Cl$로부터 선택되는 화합물, 그의 입체이성질체 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 화합물의 구체적인 구조는 다음과 같은 화합물, 그의 입체이성질체 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염:



청구항 7

제1항 내지 제6항에 있어서, 상기 약제학적으로 허용되는 염이 설페이트, 염산염, 에틸 설포네이트, 메탄설포네이트, p-톨루엔설포네이트, 벤젠설포네이트, 이세티오네이트 또는 1,5-나프탈렌디설포네이트로부터 선택되고, 바람직하게는 p-톨루엔술폰산염인 화합물, 그의 입체이성질체 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염.

청구항 8

치료 유효량의 제1항 내지 제7항 중 어느 한 항의 화합물, 그의 입체이성질체 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염, 및 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 담체 또는 부형제를 함유하는 약제학적 조성물.

청구항 9

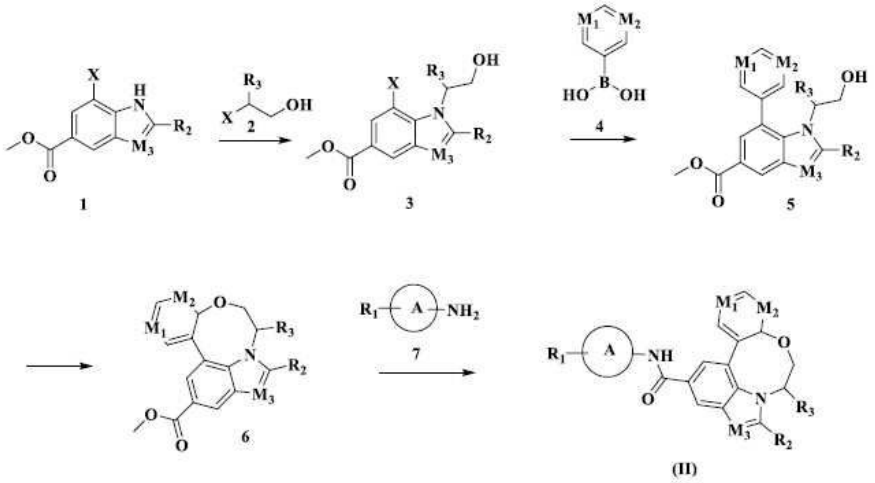
ABL1 및/또는 BCR-ABL1 티로신 키나제 억제제의 제조에 있어서, 제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 따른 화합물, 이의 입체이성질체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 및 제8항에 따른 약제학적 조성물의 용도.

청구항 10

백혈병 관련 질환 치료용 약물 제조에 있어서의, 제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 따른 화합물, 이의 입체이성질체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 및 제8항에 따른 약제학 조성물의 용도, 여기서 바람직하게는 백혈병은 만성 골수성 백혈병, 급성 골수성 백혈병 또는 급성 림프구성 백혈병 중에서 선택됨.

청구항 11

화학식 (II)의 화합물, 그의 입체이성질체 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 제조 방법,

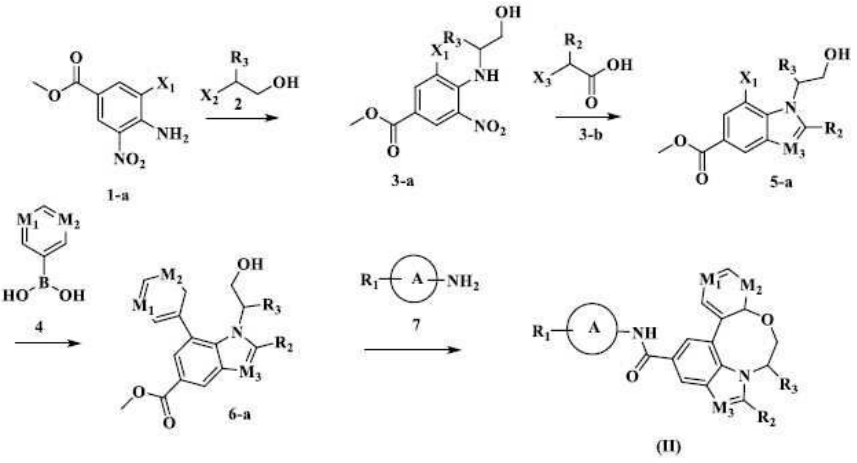


여기서, 화합물 1과 화합물 2는 치환을 거쳐 화합물 3을 제조하고, 화합물 5는 붕산 화합물 4의 작용 하에서 제조되고, 화합물 5는 산성 조건 하에서 고리형 화합물 6으로 제조되고, 이는 화합물 7과 축합되어 화합물(II) 이의 입체이성질체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이 제조되고;

X는 할로겐으로부터 선택되고;

고리 A, R_1-R_3 및 M_1-M_3은 제3항에 정의된 바와 같고;

또는,



화합물 1-a는 화합물 2로 치환되어 화합물 3-a를 제조하고, 이는 3-b와 반응하여 화합물 5-a를 제조하고, 화합물 6-a는 붕산 화합물 4의 작용 하에 화합물 5-a로부터 제조되고, 화합물 6-a와 화합물 7을 축합하여 화합물 (II)를 제조하고;

임의로, 화합물 (II)는 산과 반응하여 염 화합물을 제조하고;

X_1, X_2 및 X_3는 각각 독립적으로 할로겐으로부터 선택되고;

고리 A, R_1-R_3 및 M_1-M_3 의 정의는 일반 화학식 (II)에 정의된 바와 같고, 바람직하게는 M_3은 N이고; 그리고

산은 바람직하게는 p-톨루엔술폰산임.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 의학 생물학 분야에 속하며, 특히 4-원 융합 고리형 화합물과 이의 제조 방법 및 용도에 관한 것이다. 본 발명은 또한 암 및 기타 관련 질병의 치료에 있어서 이의 약제학적으로 허용되는 염 및 이의 약제학적 조성물의 용도에 관한 것이다.

배 경 기 술

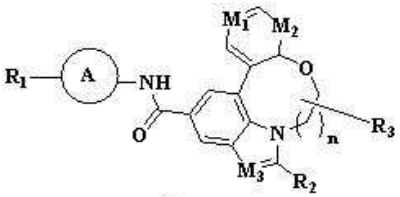
[0002] ABL1 단백질의 티로신 키나제 활성은 일반적으로 엄격하게 규제되며 SH3 도메인의 N-말단 캡핑 영역이 여기서 중요한 역할을 한다. 한 가지 조절 메커니즘은 N-말단 캡핑 글리신-2 잔기의 미리스토일화를 포함하며, 이는 SH1 촉매 도메인의 미리스테이트 결합 부위와 상호작용한다. 만성 골수성 백혈병(CML)의 지표는 조혈 줄기 세포에서 t(9,22) 염색체의 상호 전위에 의해 형성되는 필라델피아 염색체(Ph)이다. 이 염색체는 N 말단 캡이 없고 구성적으로 활성인 티로신 키나제 도메인을 갖는 키메라 BCR-ABL1 단백질을 코딩하는 BCR-ABL1 종양유전자를 운반한다. BCR-ABL1 단백질에 대한 티로신 키나제 억제제(TKI)는 CML 환자의 표준 치료법이며, 이마티닙, 닐로티닙, 다사티닙은 새로 진단된 CML 환자의 치료용으로 승인되었다.

[0003] 그러나 일부 환자에서는 SHI 도메인의 돌연변이가 억제제 결합을 손상시킬 수 있는 약물 내성 클론이 발생한다. 닐로티닙과 다사티닙은 모두 BCR-ABL1의 많은 이마티닙 내성 돌연변이 형태에 대해 효능을 유지하지만 트레오닌 315 잔기가 이소류신(T315I)으로 대체되는 돌연변이는 세 가지 약물 모두에 둔감하며 CML 환자가 치료에 대한 내성을 갖게 할 수 있다. 따라서 T315I와 같은 BCR-ABL1 돌연변이의 억제는 여전히 의학적 요구를 충족시키지 못한다. CML 외에도 BCR-ABL1 융합 단백질도 특정 비율의 급성 림프구성 백혈병을 유발한다. ABL 키나제 활성을 표적으로 하는 약물도 이 적응증에 사용될 수 있다. 따라서 임상적으로 더 많은 BCR-ABL1 억제제가 필요하다.

발명의 내용

[0004] **발명의 요약**

[0005] 본 발명의 목적은 하기 화학식 (I)의 화합물, 그의 입체이성질체 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 제공하는 것이다:

[0006] 

(I)

[0007] 여기서:

[0008] 고리 A는 C_{3-6} 사이클로알킬, 4-7-원 헤테로사이클릴, C_{6-10} 아릴 또는 5-7-원 헤테로아릴로부터 선택되고;

[0009] R_1은 수소, 중수소, 할로겐, 아미노, 하이드록실, 시아노, C_{1-6} 알킬, C_{2-6} 알케닐, C_{2-6} 알키닐, C_{1-6} 중수소화 알킬, C_{1-6} 할로알킬, C_{1-6} 하이드록시알킬, C_{1-6} 알콕시, C_{1-6} 알킬티오 또는 C_{1-6} 할로알콕시로부터 선택되고;

[0010] M_1은 N 또는 CR_a로부터 선택되고;

[0011] M_2는 NR_a 또는 $C(R_a)_2$로부터 선택되고;

[0012] M_3는 N 또는 CR_a로부터 선택되고;

[0013] R_a는 각각 독립적으로 수소, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 중수소화 알킬, C_{1-6} 할로알킬, C_{1-6} 하이드록시알킬, C_{1-6} 알콕시, C_{1-6} 알킬티오 또는 C_{1-6} 할로알콕시로부터 선택되고;

[0014] R_2 또는 R_3는 각각 독립적으로 수소, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 중수소화 알킬, C_{1-6} 할로알킬, C_{1-6} 하이드록시알킬, C_{1-6} 알콕시, C_{1-6} 알킬티오, C_{1-6} 할로알콕시, C_{3-6} 사이클로알킬, 4-7-원 헤테로사이클릴, C_{6-10} 아릴 또는 5-7-원 헤테로아릴로부터 선택되고; 그리고

[0015] n은 0, 1 또는 2이다.

[0016] 본발명의 바람직한 구체예에서, 화학식 (I)로 표시되는 화합물, 그의 입체이성질체 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염이 제공되고, 여기서:

[0017] 고리 A는 C6-10 아릴 또는 5-6-원 헤테로아릴이고;

[0018] R_1은 C_{1-3} 알킬, C_{1-3} 중수소화 알킬, C_{1-3} 할로알킬, C_{1-3} 하이드록시알킬, C_{1-3} 알콕시, C_{13} 알킬티오 또는 C_{1-3} 할로알콕시로부터 선택되고;

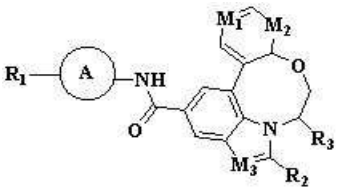
[0019] M_1은 N 또는 CH로부터 선택되고;

[0020] M_2는 NH 또는 CH_2로부터 선택되고;

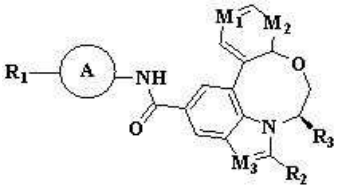
[0021] M_3는 N 또는 CH로부터 선택되고; 그리고

[0022] R_2 또는 R_3는 각각 독립적으로 C_{1-3} 알킬, C_{1-3} 중수소화 알킬, C_{1-3} 할로알킬, C_{1-3} 하이드록시알킬, C_{1-3} 알콕시, C_{1-3} 알킬티오 또는 C_{1-3} 할로알콕시로부터 선택된다.

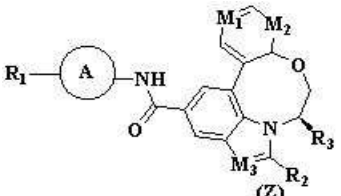
[0023] 본발명의 바람직한 구체예에서, 화학식 (I)로 표시되는 화합물은 추가로 일반 화학식 (II)에 기재된 바와 같다:

[0024] 
(II)
.

[0025] 본발명의 바람직한 구체예에서, 화학식 (I)로 표시되는 화합물은 추가로 일반 화학식 (II-a)에 기재된 바와 같다:

[0026] 
(II-a)
.

[0027] 본발명의 바람직한 구체예에서, 화학식 (I)로 표시되는 화합물은 추가로 일반 화학식 (II-b)에 기재된 바와 같다:

[0028] 
(II-b)
.

[0029] 본발명의 더욱 바람직한 구체예에서, 고리 A는 페닐 또는 피리딜이고;

[0030] R_1은 C_{1-3} 알킬, C_{1-3} 할로알킬, C_{1-3} 알콕시 또는 C_{1-3} 할로알콕시로부터 선택되고;

[0031] M_1은 N;

[0032] M_2은 NH;

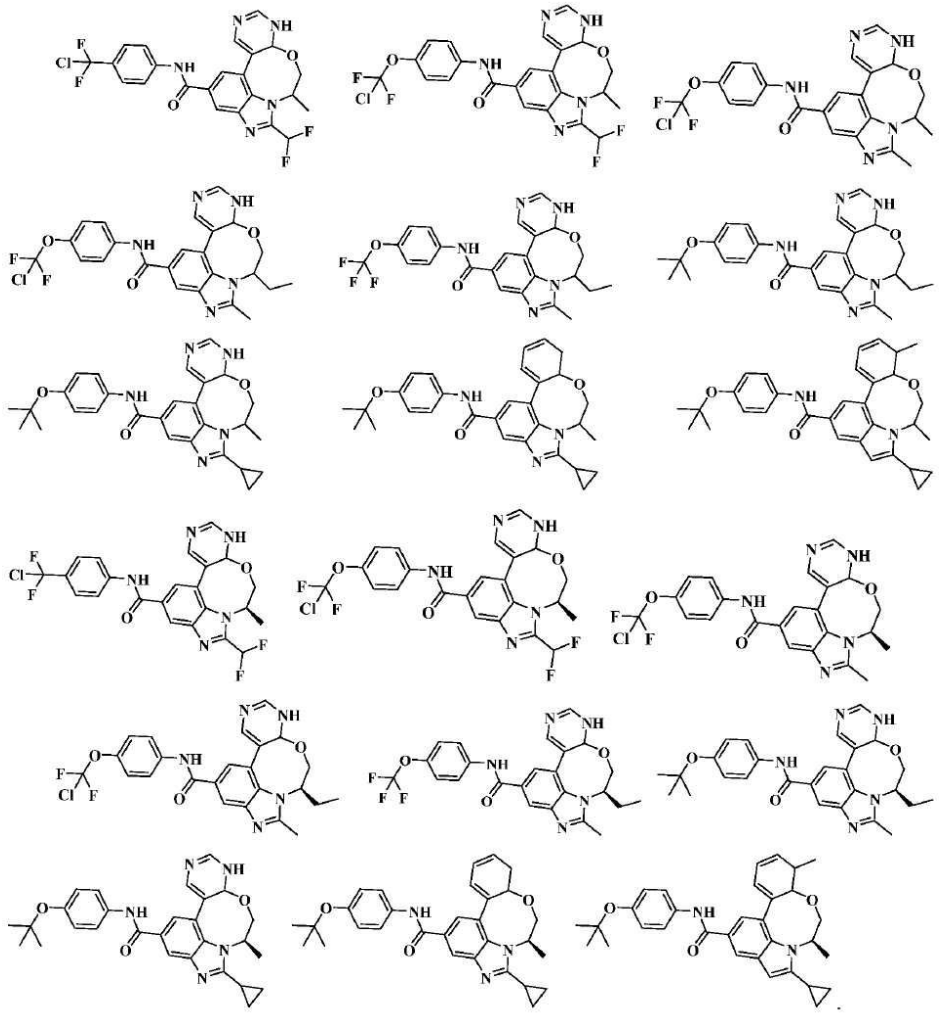
[0033] M_3은 N; 그리고

[0034] R_2 또는 R_3는 각각 독립적으로 수소, C_{1-3} 알킬 또는 C_{1-3} 할로알킬로부터 선택된다.

[0035] 본발명의 추가로 바람직한 구체예에서, R_1은 $-CF_2$, $-CF_3$, $-CF_2Cl$, $-OCF_2$, $-OCF_3$ 또는 $-OCF_2Cl$로부터 선택되고;

[0036] R_2 또는 R_3는 각각 독립적으로 $-CH_3$, $-CF_2$, $-CF_3$ 또는 $-CF_2Cl$로부터 선택된다.

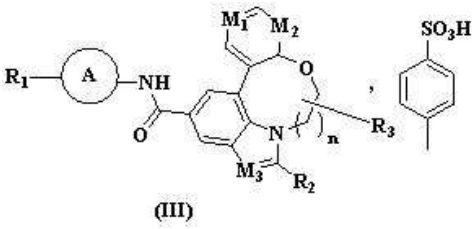
[0037] 본발명의 추가로 바람직한 구체예에서, 하기 특정 화합물이 포함된다:



[0038]

[0039] 본발명의 바람직한 구체예에서, 약제학적으로 허용되는 염은 황산염, 염산염, 에틸 술포네이트, 메탄술포네이트, p-톨루엔술포네이트, 벤젠술포네이트, 히드록시에틸 술포네이트 또는 1,5-나프탈렌 디술포네이트로부터 선택되고, 보다 바람직하게는 p-톨루엔술포네이트이다.

[0040] 또 다른 측면에서, 본 발명은 하기 화학식 (III)으로 표시되는 톨루엔설포네이트 화합물을 제공하고:



(III)

[0041]

[0042] 여기서:

[0043] 고리 A는 C_{3-6} 사이클로알킬, 4-7-원 헤테로사이클릴, C_{6-10} 아릴 또는 5-7-원 헤테로아릴로부터 선택되고;

[0044] R_1은 수소, 중수소, 할로겐, 아미노, 하이드록실, 시아노, C_{1-6} 알킬, C_{2-6} 알케닐, C_{2-6} 알키닐, C_{1-6} 중수소화 알

킬, C_{1-6} 할로알킬, C_{1-6} 하이드록시알킬, C_{1-6} 알콕시, C_{1-6} 알킬티오 또는 C_{1-6} 할로알콕시로부터 선택되고;

[0045] M_1은 N 또는 CR_a로부터 선택되고;

[0046] M_2는 NR_a 또는 $C(R_a)_2$로부터 선택되고;

[0047] M_3는 N 또는 CR_a로부터 선택되고;

[0048] R_a는 각각 독립적으로 수소, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 중수소화 알킬, C_{1-6} 할로알킬, C_{1-6} 하이드록시알킬, C_{1-6} 알콕시, C_{1-6} 알킬티오 또는 C_{1-6} 할로알콕시로부터 선택되고;

[0049] R_2 또는 R_3는 각각 독립적으로 수소, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 중수소화 알킬, C_{1-6} 할로알킬, C_{1-6} 하이드록시알킬, C_{1-6} 알콕시, C_{1-6} 알킬티오, C_{1-6} 할로알콕시, C_{3-6} 사이클로알킬, 4-7-원 헤테로사이클릴, C_{6-10} 아릴 또는 5-7-원 헤테로아릴로부터 선택되고; 그리고

[0050] n은 0, 1 또는 2이다.

[0051] 본발명의 바람직한 구체예에서, 고리 A는 C6-10 아릴 또는 5-6-원 헤테로아릴이고;

[0052] R_1은 C_{1-3} 알킬, C_{1-3} 중수소화 알킬, C_{1-3} 할로알킬, C_{1-3} 하이드록시알킬, C_{1-3} 알콕시, C_{13} 알킬티오 또는 C_{1-3} 할로알콕시로부터 선택되고;

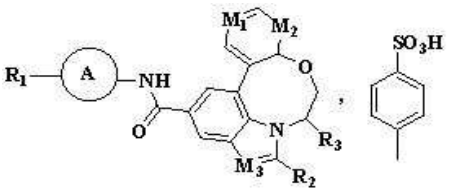
[0053] M_1은 N 또는 CH로부터 선택되고;

[0054] M_2는 NH 또는 CH_2로부터 선택되고;

[0055] M_3는 N 또는 CH로부터 선택되고; 그리고

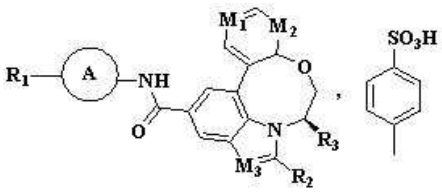
[0056] R_2 또는 R_3는 각각 독립적으로 C_{1-3} 알킬, C_{1-3} 중수소화 알킬, C_{1-3} 할로알킬, C_{1-3} 하이드록시알킬, C_{1-3} 알콕시, C_{1-3} 알킬티오 또는 C_{1-3} 할로알콕시로부터 선택된다.

[0057] 본발명의 바람직한 구체예에서, 화학식 (III)은 추가로 일반 화학식 (IV) 또는 (IV-a)에 기재된 바와 같다:



(IV)

[0058] 또는



(IV-a)

.

[0059] 본발명의 바람직한 구체예에서, 고리 A는 페닐 또는 피리딜이고;

[0060] R_1은 C_{1-3} 알킬, C_{1-3} 할로알킬, C_{1-3} 알콕시 또는 C_{1-3} 할로알콕시로부터 선택되고;

[0061] M_1은 N;

[0062] M_2은 NH;

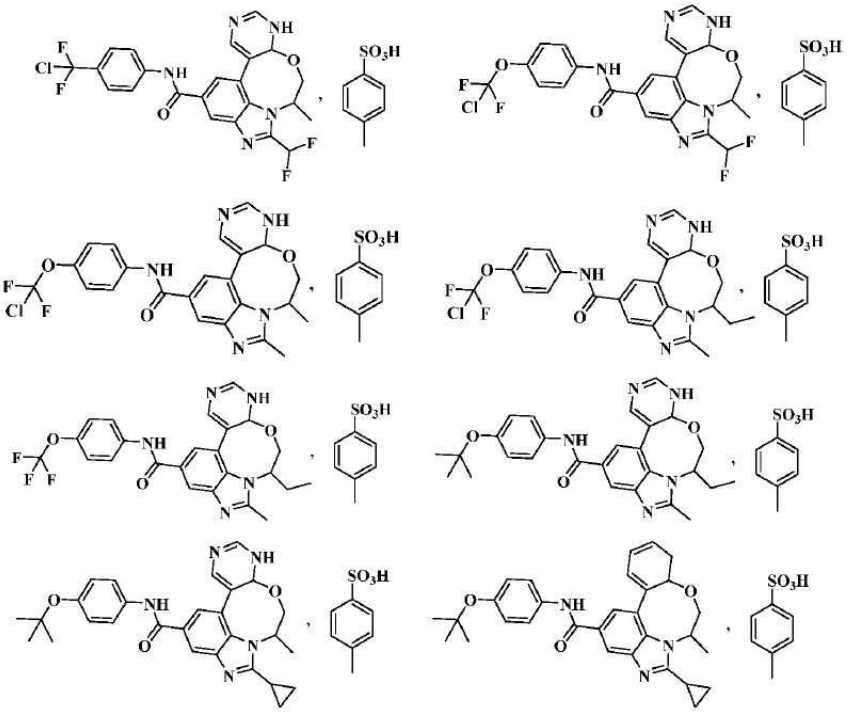
[0063] M_3은 N; 그리고

[0064] R_2 또는 R_3는 각각 독립적으로 수소, C_{1-3} 알킬 또는 C_{1-3} 할로알킬로부터 선택된다.

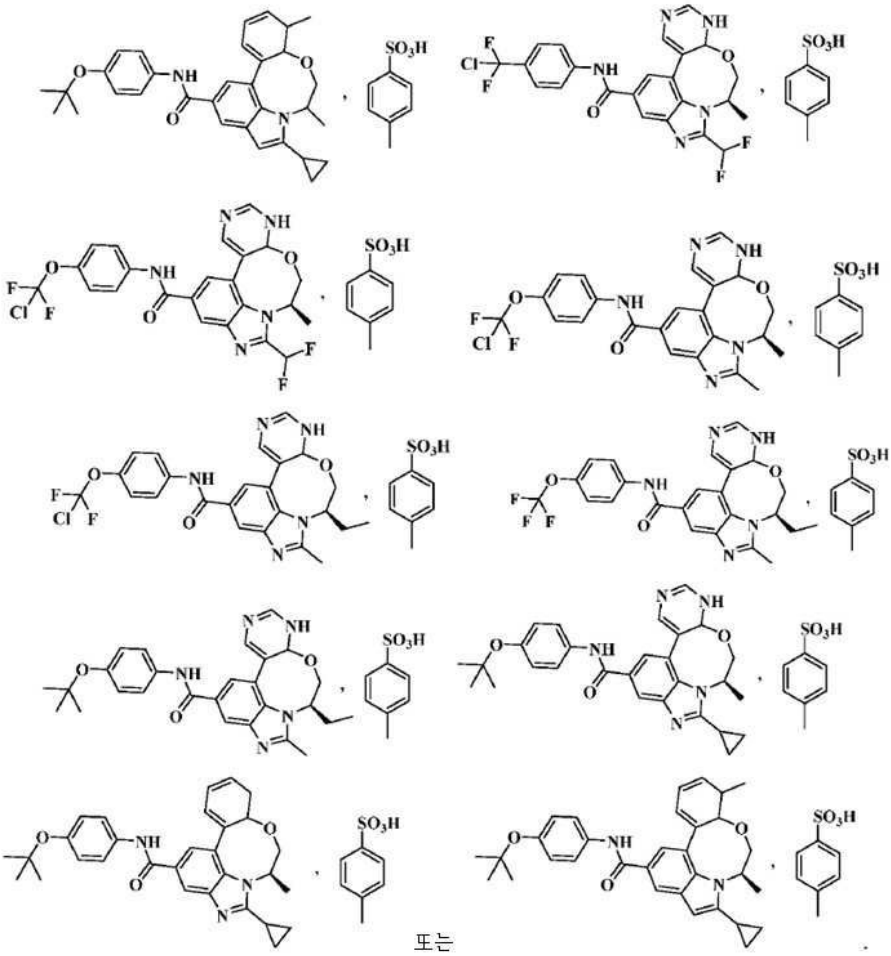
[0065] 본발명의 바람직한 구체예에서, R_1은 $-CF_2$, $-CF_3$, $-CF_2Cl$, $-OCF_2$, $-OCF_3$ 또는 $-OCF_2Cl$로부터 선택되고; 그리고

[0066] R_2 또는 R_3는 각각 독립적으로 $-CH_3$, $-CH_2CH_3$, $-CF_2$, $-CF_3$ 또는 $-CF_2Cl$로부터 선택된다.

[0067] 본발명의 바람직한 구체예에서, p-톨루엔설포네이트는 다음 화합물로부터 선택된다:



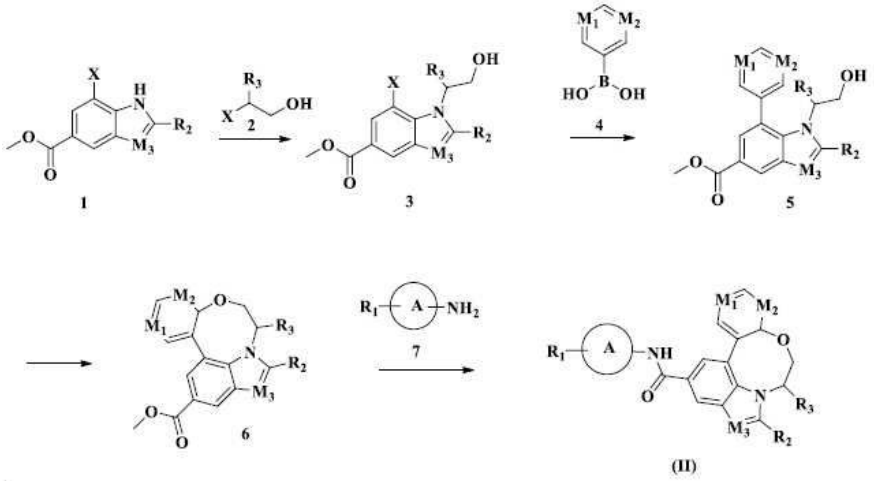
[0068]



또는

[0069]

[0070] 본 발명의 추가 목적은 하기 화학식 (II)의 화합물, 그의 입체이성질체 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 제조하는 방법을 제공하는 것이다:



[0071]

[0072] 여기서, 화합물 1과 화합물 2는 치환을 거쳐 화합물 3을 제조하고, 화합물 5는 붕산 화합물 4의 작용 하에서 제조되고, 화합물 5는 산성 조건 하에서 고리형 화합물 6으로 제조되고, 이는 화합물 7과 축합되어 화합물(II), 이의 입체이성질체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이 제조되고;

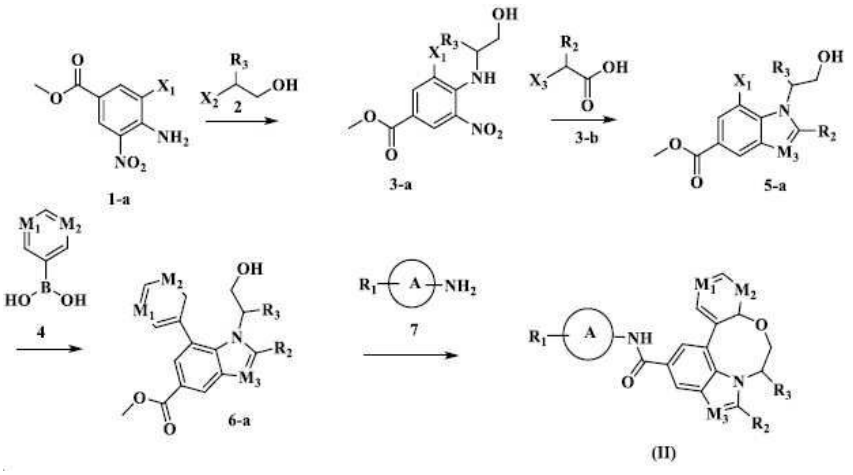
[0073] 임의로, 화합물 (II)는 산과 반응하여 염 화합물을 제조하고;

[0074] X는 할로겐으로부터 선택되고;

[0075] 고리 A, R_1-R_3 및 M_1-M_3 의 정의는 일반 화학식 (II)에 정의된 바와 같고; 그리고

[0076] 산은 바람직하게는 p-톨루엔술폰산이다.

[0077] 본 발명의 추가 목적은 하기 화학식 (II)의 화합물, 그의 입체이성질체 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 제조하는 방법을 제공하는 것이다:



[0078] ,

[0079] 화합물 1-a는 화합물 2로 치환되어 화합물 3-a를 제조하고, 이는 3-b와 반응하여 화합물 5-a를 제조하고, 화합물 6-a는 붕산 화합물 4의 작용 하에 화합물 5-a로부터 제조되고, 화합물 6-a와 화합물 7을 축합하여 화합물 (II)를 제조하고;

[0080] 임의로, 화합물 (II)는 산과 반응하여 염 화합물을 제조하고;

[0081] X_1, X_2 및 X_3는 각각 독립적으로 할로겐으로부터 선택되고;

[0082] 고리 A, R_1-R_3 및 M_1-M_3 의 정의는 일반 화학식 (II)에 정의된 바와 같고, 바람직하게는 M_3은 N이고; 그리고

[0083] 산은 바람직하게는 p-톨루엔술폰산이다.

[0084] 본 출원의 추가 목적은 치료 유효량의 화학식 (I)의 화합물, 그의 입체이성질체 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염, 및 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 담체 또는 부형제를 함유하는 약제학적 조성물을 제공하는 것이

다.

[0085] 본 발명은 추가로 아벨슨(Abelson) 단백질(ABL1), 아벨슨 관련 단백질(ABL2) 및 키메라 단백질 BCR-ABL1로부터 선택된 단백질의 티로신 키나제 효소 활성을 억제하기 위한 약물 제조에서의 화학식 (I)의 화합물, 그의 입체이성질체 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염, 및 약제학적 조성물의 용도를 제공한다.

[0086] 본 발명은 또한 백혈병 관련 질환용 약물 제조에 있어서의, 화학식 (I)의 화합물, 이의 입체이성질체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 및 이의 약제학적 조성물의 용도를 제공한다.

[0087] 본발명의 바람직한 구체예에서, 백혈병은 만성 골수성 백혈병(CML), 급성 골수성 백혈병(AML) 또는 급성 림프구성 백혈병(ALL)이다.

[0088] 본발명의 더욱 바람직한 구체예에서, CML은 이마티닙, 닐로티닙 및 다사티닙과 같은 표준 치료 치료법 중 하나 이상을 사용한 치료에 내성이고, AML은 골수이형성 증후군(MDS) 또는 골수증식성 신생물(MPN)에 따라 발생하는 2차 AML이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0089] **발명의 상세한 설명**

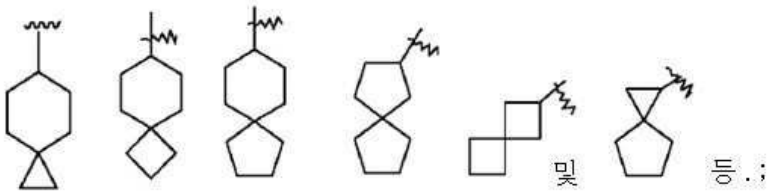
[0090] 달리 명시되지 않는 한, 명세서 및 청구범위에 사용된 용어는 다음과 같은 의미를 갖는다.

[0091] 용어 "알킬"은 탄소 원자 1 내지 20개를 포함하는 직쇄 또는 분지형 사슬 기인 포화 지방족 탄화수소 기, 바람직하게는 탄소 원자 1 내지 8개를 포함하는 알킬, 더욱 바람직하게는 탄소 원자 1 내지 6개 알킬, 가장 바람직하게는 탄소수 1~3개의 알킬을 의미한다. 비제한적 예는 메틸, 에틸, n-프로필, 이소프로필, n-부틸, 이소부틸, tert-부틸, sec-부틸, n-펜틸, 1,1-디메틸프로필, 1,2-디메틸프로필, 2,2-디메틸프로필, 1-에틸프로필, 2-메틸부틸, 3-메틸부틸, n-헥실, 1-에틸-2-메틸프로필, 1,1,2-트리메틸프로필, 1,1-디메틸부틸, 1,2-디메틸부틸, 2,2-디메틸부틸, 1,3-디메틸부틸, 2-에틸부틸, 2-메틸펜틸, 3-메틸펜틸, 4-메틸펜틸, 2,3-디메틸부틸, n-헵틸, 2-메틸헥실, 3-메틸헥실, 4-메틸헥실, 5-메틸헥실, 2,3-디메틸펜틸, 2,4-디메틸펜틸, 2,2-디메틸펜틸, 3,3-디메틸펜틸, 2-에틸펜틸, 3-에틸펜틸, n-옥틸, 2,3-디메틸헥실, 2,4-디메틸헥실, 2,5-디메틸헥실, 2,2-디메틸헥실, 3,3-디메틸헥실, 4,4-디메틸헥실, 2-에틸헥실, 3-에틸헥실, 4-에틸헥실, 2-메틸-2-에틸펜틸, 2-메틸-3-에틸펜틸, n-노닐, 2-메틸-2-에틸헥실, 2-메틸-3-에틸헥실, 2,2-디에틸펜틸, n-데실, 3,3-디에틸헥실, 2,2-디에틸헥실, 및 이들의 다양한 분지형 이성질체, 등을 포함한다. 더욱 바람직하게는 1 내지 6 탄소 원자를 함유하는 저급 알킬이고, 비제한적 예는 메틸, 에틸, n-프로필, 이소프로필, n-부틸, 이소부틸, tert-부틸, sec-부틸, n-펜틸, 1,1-디메틸프로필, 1,2-디메틸프로필, 2,2-디메틸프로필, 1-에틸프로필, 2-메틸부틸, 3-메틸부틸, n-헥실, 1-에틸-2-메틸프로필, 1,1,2-트리메틸프로필, 1,1-디메틸부틸, 1,2-디메틸부틸, 2,2-디메틸부틸, 1,3-디메틸부틸, 2-에틸부틸, 2-메틸펜틸, 3-메틸펜틸, 4-메틸펜틸, 2,3-디메틸부틸, 등을 포함한다. 알킬은 치환되거나 비치환될 수 있고, 치환되는 경우, 치환기는 임의의 이용 가능한 연결점에서 치환될 수 있다. 치환체는 바람직하게는 알킬, 알케닐, 알키닐, 알콕시, 알킬티오, 알킬아미노, 할로겐, 메르캅토, 히드록실, 니트로, 시아노, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 사이클로알콕시, 헤테로사이클로알콕시, 사이클로알킬티오, 헤테로사이클로알킬티오, 옥소, 카르복실 또는 카르복실산염으로부터 독립적으로 선택된 하나 이상의 기이다. 본 발명에서는 메틸, 에틸, 이소프로필, tert-부틸, 할로알킬, 중수소화 알킬, 알콕시 치환 알킬 및 히드록실 치환 알킬이 바람직하다.

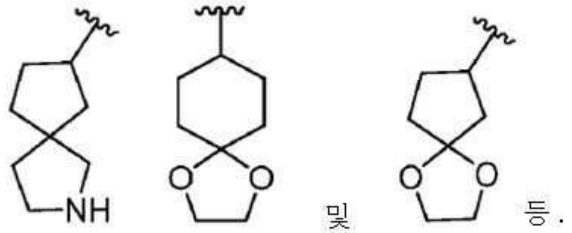
[0092] "사이클로알킬"이라는 용어는 포화 또는 부분 불포화 단환식 또는 다환식 고리형 탄화수소 치환기를 의미한다. 사이클로알킬 고리는 3 내지 20개의 탄소 원자, 바람직하게는 3 내지 12개의 탄소 원자, 보다 바람직하게는 3 내지 8개의 탄소 원자, 가장 바람직하게는 3 내지 6개의 탄소 원자를 포함한다. 단환식 사이클로알킬의 비제한적 예는 사이클로프로필, 사이클로부틸, 사이클로펜틸, 사이클로펜테닐, 사이클로헥실, 사이클로헥세닐, 사이클로헥사디에닐, 사이클로헵틸, 사이클로헵타트리에닐, 사이클로옥틸 등을 포함하며; 다환식 사이클로알킬은 스피로, 융합 및 가교된 사이클로알킬, 바람직하게는 사이클로프로필, 사이클로부틸, 사이클로헥실, 사이클로펜틸 및 사이클로헵틸을 포함한다.

[0093] "스피로사이클로알킬"이라는 용어는 단환이 단일 탄소 원자(스피로 원자라고 함)를 공유하는 5~20원 다환식 기를 의미하며, 이는 하나 이상의 이중 결합을 포함할 수 있지만 고리 중 어느 것도 완전히 공액된 π 전자 시스템을 갖지 않는다. 바람직하게는, 6~14-원, 더욱 바람직하게는 7~10원이다. 스피로사이클로알킬은 고리 사이에 공유되는 스피로 원자의 수에 따라 모노-스피로사이클로알킬, 바이-스피로사이클로알킬 또는 폴리-스피로사이클

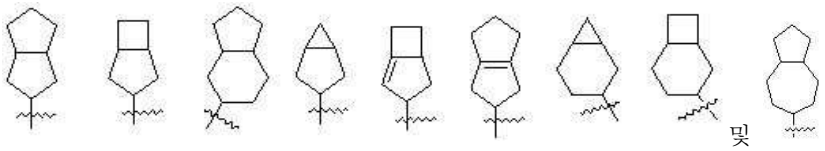
로알킬로 나뉘며, 바람직하게는 모노-스피로사이클로알킬 및 바이-스피로사이클로알킬이다. 더욱 바람직하게는, 3-원/6-원, 3-원/5-원, 4-원/4-원, 4-원/5-원, 4-원/6-원, 5-원/5-원 또는 5-원/6-원 모노-스피로사이클로알킬이다. 스피로사이클로알킬의 비제한적인 예는 다음을 포함한다:

[0094] 

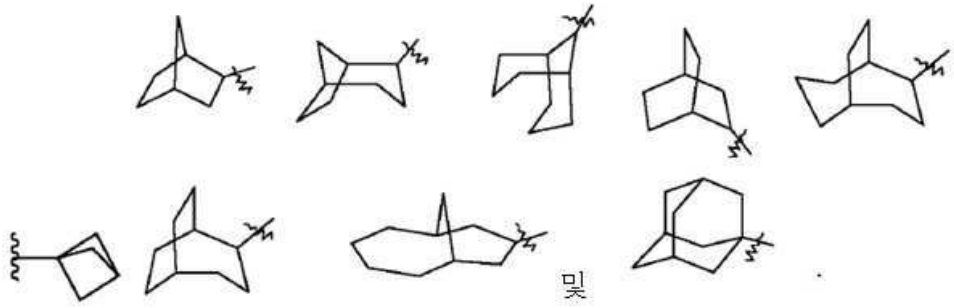
[0095] 모노-스피로사이클로알킬과 헤테로사이클로알킬이 스피로 원자를 공유하는 스피로사이클로알킬도 포함되며, 비제한적인 예는 다음을 포함한다:

[0096] 

[0097] 용어 "융합된 사이클로알킬"은 시스템의 각 고리가 시스템의 다른 고리와 인접한 탄소 원자 쌍을 공유하는 5 내지 20원의 전 탄소 다환식 기를 의미하며, 여기서 하나 이상의 고리는 하나 또는 그 이상의 고리를 포함할 수 있지만 고리 중 어느 것도 완전히 공액된 π 전자 시스템을 갖지 않는다. 바람직하게는, 6~14-원, 더욱 바람직하게는 7~10원이다. 구성 고리의 수에 따라, 이는 이환식, 삼환식, 사환식 또는 다환식 융합 사이클로알킬로 나눌 수 있으며, 바람직하게는 이환식 또는 삼환식, 보다 바람직하게는 5원/5원 또는 5원/6원 이환식 알킬이다. 융합된 사이클로알킬의 비제한적인 예는 다음을 포함한다:

[0098] 

[0099] "가교된 사이클로알킬"이라는 용어는 임의의 2개의 고리가 직접 연결되지 않은 2개의 탄소 원자를 공유하고 하나 이상의 이중 결합을 함유할 수 있지만 고리 중 어느 것도 완전 공액 π 전자 시스템을 갖지 않은 5 내지 20원의 전-탄소 다환식 기를 의미한다. 바람직하게는, 6~14-원, 더욱 바람직하게는 7~10원이다. 구성 고리의 수에 따라, 이는 이환식, 삼환식, 사환식 또는 다환식 가교 사이클로알킬로 나눌 수 있으며, 바람직하게는 이환식, 삼환식 또는 사환식, 더욱 바람직하게는 이환식 또는 삼환식이다. 가교된 사이클로알킬의 비제한적인 예는 다음을 포함한다:

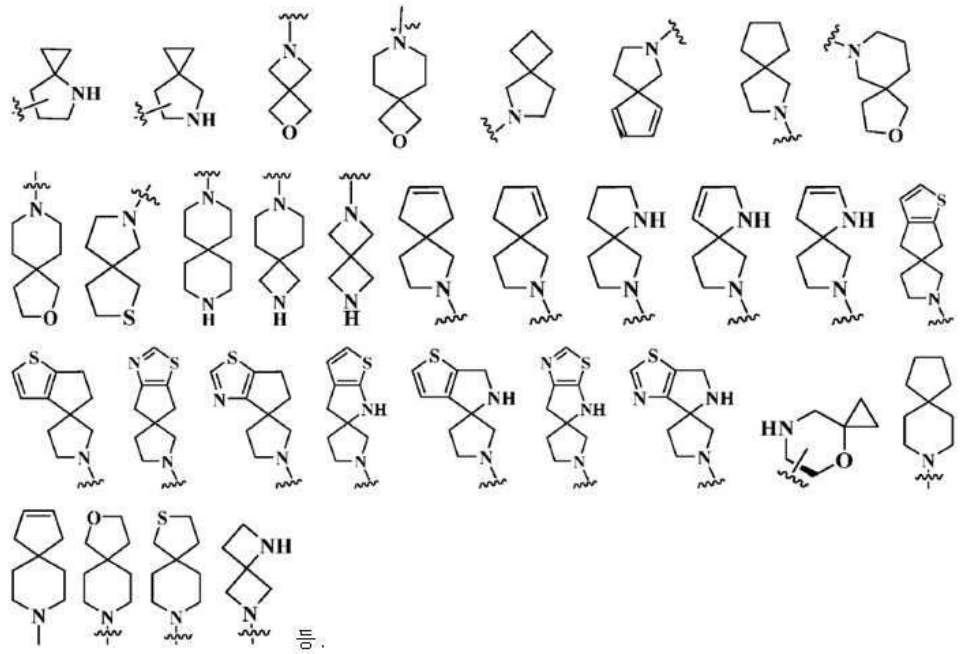
[0100] 

[0101] "헤테로사이클릴"이라는 용어는 3 내지 20개의 환형 원자를 포함하는 포화 또는 부분 불포화 단환식 또는 다환식 탄화수소 치환기를 의미하며, 여기서 하나 이상의 환형 원자는 질소, 산소, C(O) 또는 S(O)m(여기서 m은 0~2의 정수)로부터 선택된 헤테로원자이지만 -O-O-, -O-S- 또는 -S-S-의 고리 부분은 제외되고 나머지 고리 원자는

탄소이다. 바람직하게는, 이는 3 내지 12개의 고리 원자를 포함하며, 그 중 1 내지 4개는 헤테로원자이고; 보다 바람직하게는 3 내지 8개의 고리 원자를 포함하고; 가장 바람직하게는 3 내지 8개의 고리 원자를 포함하고; 더욱 바람직하게는 1-3개의 질소 원자를 포함하는 3-8원 헤테로사이클릴이고, 임의로 1-2개의 산소 원자, 황 원자 또는 옥소 기로 치환된다. 이는 질소 함유 단환식 헤테로사이클릴, 질소 함유 스피로헤테로사이클릴, 또는 질소 함유 융합 헤테로사이클릴을 포함한다.

[0102] 단환식 헤테로시클릴의 비제한적 예는 옥세타닐, 아제티디닐, 티에타닐, 피롤리디닐, 이미다졸리디닐, 테트라히드로푸라닐, 테트라히드로티에닐, 테트라히드로피라닐, 디히드로이미다졸릴, 디히드로푸라닐, 디히드로피라졸릴, 디히드로피롤릴, 피페리디닐, 피페라지닐, 모르폴리닐, 티오모르폴리닐, 호모피페라지닐, 아제파닐, 1,4-디아제파닐, 피라닐 또는 테트라히드로티오피라닐디옥사이드 등; 바람직하게는, 옥세타닐, 아제티디닐, 티에타닐, 테트라히드로푸라닐, 테트라히드로피라닐, 테트라히드로티오페닐, 테트라히드로티오피라닐, 테트라히드로티오피라닐디옥사이드, 피롤리디닐, 모르폴리닐, 피페리디닐, 피페라지닐, 헥사히드로피라지닐, 헥사히드로피리미디닐, 아제파닐, 1,4-디아제파닐 및 피페라지닐; 및 더욱 바람직하게는, 피페리디닐, 피페라지닐, 피롤리디닐, 모르폴리닐, 옥세타닐 또는 아제티디닐을 포함한다. 다환식 헤테로사이클릴은 스피로, 융합 및 가교된 헤테로사이클릴을 포함하며; 관련된 스피로, 융합 및 가교된 헤테로시클릴은 단일 결합을 통해 다른 기에 임의로 연결되거나, 고리 상의 임의의 2개 이상의 원자를 통해 다른 사이클로알킬, 헤테로시클릴, 아릴 및 헤테로아릴에 추가로 연결된다.

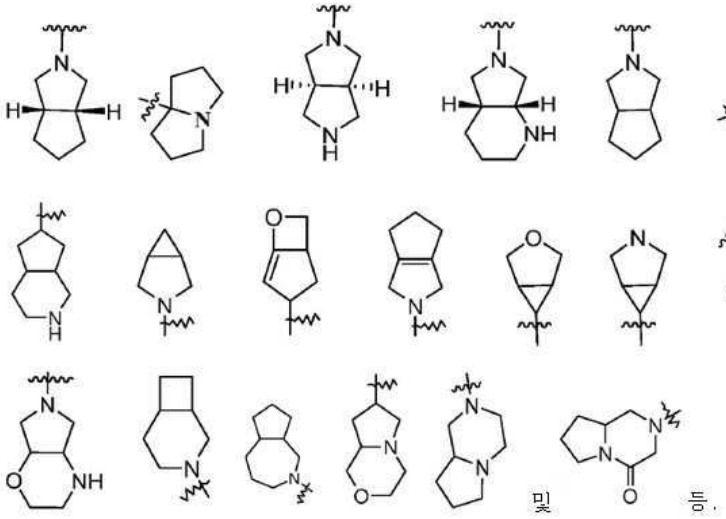
[0103] 용어 "스피로헤테로시클릴"은 단환 고리가 하나의 원자(스피로 원자라고 함)를 공유하는 5 내지 20원 다환식 헤테로고리 기를 나타내며, 여기서 고리 원자 중 하나 이상이 질소, 산소 또는 $S(O)_m$(m은 0~2의 정수)로부터 선택된 헤테로원자임 이고 나머지 고리 원자는 탄소이다. 이는 하나 이상의 이중 결합을 포함할 수 있지만, 고리 중 어느 것도 완전히 공액된 π-전자 시스템을 갖지 않는다. 바람직하게는 5~12원, 더욱 바람직하게는 7~10원이다. 고리 사이에 공유된 스피로 원자의 수에 따라 스피로헤테로시클릴은 모노-스피로헤테로시클릴, 바이-스피로헤테로시클릴 또는 폴리-스피로헤테로시클릴로 나뉘며, 바람직하게는 모노-스피로헤테로시클릴 및 바이-스피로헤테로시클릴로 분류된다. 더욱 바람직하게는, 3-원/5-원, 3-원/6-원, 4-원/4-원, 4-원/5-원, 4-원/6-원, 5-원/5-원 또는 5-원/6-원 노-스피로헤테로시클릴이다. 스피로헤테로시클릴의 비제한적인 예는 다음과 같다:



[0104]

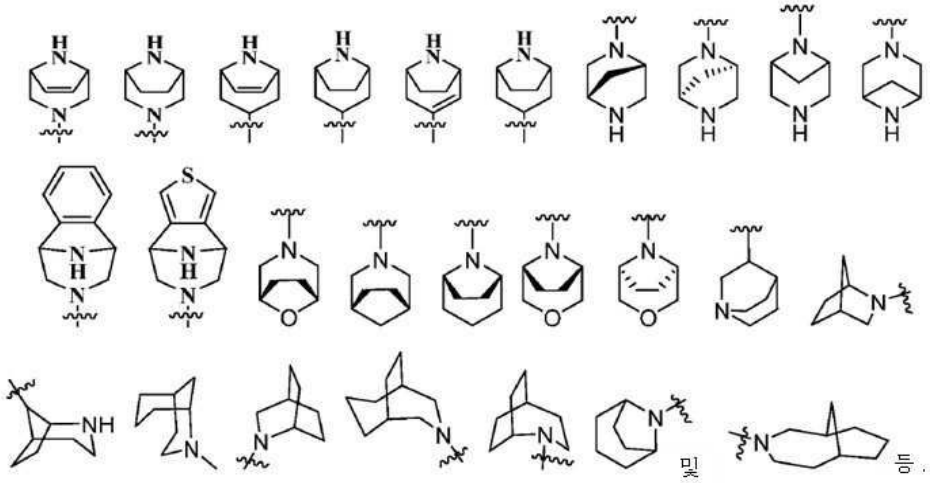
[0105] 용어 "융합된 헤테로시클릴"은 5 내지 20원의 다환식 복소환기를 의미하며, 여기서 시스템의 각 고리는 시스템의 다른 고리와 인접한 원자 쌍을 공유하고, 하나 이상의 고리는 하나 이상의 이중 고리를 포함할 수 있지만, 고리 중 어느 것도 완전히 공액된 π 전자 시스템을 갖지 않으며, 여기서 하나 이상의 고리 원자는 질소, 산소 또는 $S(O)_m$(여기서 m은 0~2의 정수) 중에서 선택된 헤테로원자이며, 나머지 고리 원자는 탄소이다. 바람직하게는, 6~14-원, 더욱 바람직하게는 7~10원이다. 구성 고리의 수에 따라, 이는 이환식, 삼환식, 사환식 또는 다환

식 융합 헤테로사이클릴로 나눌 수 있으며, 바람직하게는 이환식 또는 삼환식, 보다 바람직하게는 5원/5원 또는 5원/6원 이환식 융합 헤테로사이클릴이다. 융합된 헤테로사이클릴의 비제한적인 예는 다음을 포함한다:



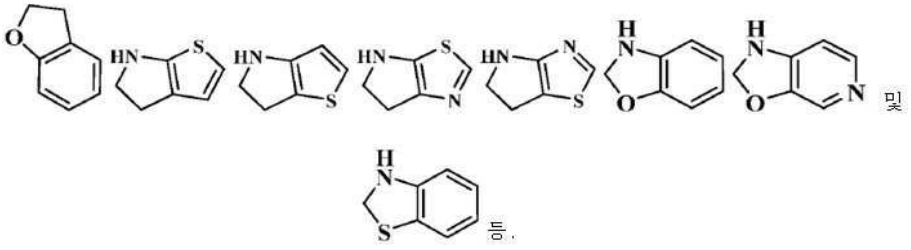
[0106] 및 등.

[0107] "가교된 헤테로시클릴"이라는 용어는 임의의 2개의 고리가 직접 연결되지 않은 2개의 원자를 공유하는 5 내지 14-원 다환식 헤테로고리 기를 의미하며, 이는 하나 이상의 이중 결합을 함유할 수 있지만 고리 중 어느 것도 완전히 공액된 π 전자 시스템를 갖지 않고 고리 원자 중 하나 이상이 질소, 산소 또는 $S(O)_m$(여기서 m은 0 내지 2의 정수)으로부터 선택된 헤테로원자이고, 나머지 고리 원자는 탄소이다. 바람직하게는 6~14-원, 더욱 바람직하게는 6~10원이다. 구성 고리의 수에 따라, 이는 이환식, 삼환식, 사환식 또는 다환식 가교 헤테로사이클릴로 나눌 수 있으며, 바람직하게는 이환식, 삼환식 또는 사환식, 더욱 바람직하게는 이환식 또는 삼환식이다. 가교된 헤테로사이클릴의 비제한적인 예는 다음을 포함한다:



[0108] 및 등.

[0109] 헤테로시클릴 고리는 아릴, 헤테로아릴 또는 사이클로알킬 고리에 융합될 수 있으며, 여기서 모 구조에 연결된 고리는 헤테로시클릴이고, 이의 비제한적인 예는 다음을 포함한다:



[0110] 및 등.

[0111] 헤테로사이클릴은 임의로 치환되거나 비치환될 수 있다. 치환되는 경우, 치환기는 바람직하게는 알킬, 알케닐,

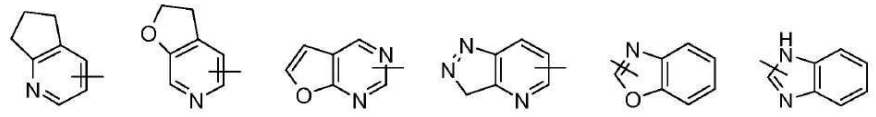
알키닐, 알콕시, 알킬티오, 알킬아미노, 할로겐, 메르캅토, 히드록실, 니트로, 시아노, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 사이클로알콕시, 헤테로사이클로알콕시로부터 독립적으로 선택된 하나 이상의 기이다., 사이클로알킬티오, 헤테로사이클로알킬티오, 옥소, 카르복실 또는 카르복실레이트로부터 독립적으로 선택된 하나 이상의 기이다.

[0112] 용어 "아릴"은 예를 들어 페닐 및 나프틸과 같이 공액 π 전자 시스템을 갖는 6 내지 14-원, 바람직하게는 6 내지 10원의 전탄소 단환식 또는 융합 다환식(즉, 인접한 탄소 원자 쌍을 공유하는 고리) 기를 지칭한다. 더욱 바람직하게는 페닐이다. 아릴 고리는 벤조-3-8원 사이클로알킬, 벤조-3-8원 헤테로알킬, 바람직하게는 벤조-3-6원 사이클로알킬, 벤조-3-6-원 헤테로아릴을 포함하는, 헤테로아릴, 헤테로사이클릴 또는 사이클로알킬 고리에 융합될 수 있고, 여기서 헤테로사이클릴은 1-3개의 질소 원자, 산소 원자 및 황 원자를 포함하는 헤테로사이클릭기이고; 또는 이는 또한 벤젠 고리를 함유하는 3원 질소 함유 융합 고리를 포함하며, 여기서 모 구조에 연결된 고리는 아릴 고리이다.

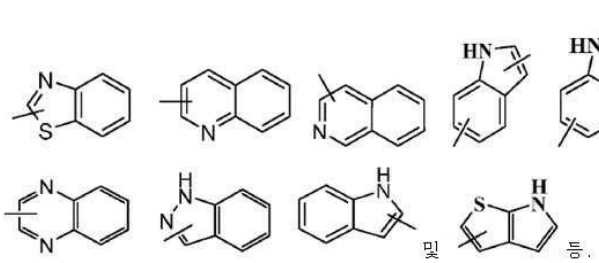
[0113] 아릴은 치환 또는 비치환될 수 있다. 치환되는 경우, 치환기는 바람직하게는 알킬, 알케닐, 알키닐, 알콕시, 알킬티오, 알킬아미노, 할로겐, 메르캅토, 히드록실, 니트로, 시아노, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 사이클로알콕시, 헤테로사이클로알콕시, 사이클로알킬티오, 헤테로사이클로알킬티오, 카르복실 또는 카르복실레이트로부터 독립적으로 선택된 하나 이상의 기이다.

[0114] 용어 "헤테로아릴"은 1 내지 4개의 헤테로원자 및 5 내지 14개의 고리 원자를 포함하는 헤테로방향족 시스템을 지칭하며, 여기서 헤테로원자는 산소, 황 및 질소로부터 선택된다. 헤테로아릴은 바람직하게는 5 내지 10원, 보다 바람직하게는 5원 또는 6원, 예를 들어 이미다졸릴, 푸릴, 티에닐, 티아졸릴, 피라졸릴, 옥사졸릴, 피롤릴, 트리아졸릴, 테트라졸릴, 피리딜, 피리미디닐, 티아디아졸릴, 피라지닐 등이고, 바람직하게는 트리아졸릴, 티에닐, 이미다졸릴, 피라졸릴, 옥사졸릴, 피리미디닐 또는 티아졸릴; 더욱 바람직하게는 피라졸릴 및 옥사졸릴이다. 헤테로아릴 고리는 아릴, 헤테로사이클릴 또는 사이클로알킬 고리에 융합될 수 있으며, 여기서 모 구조에 연결된 고리는 헤테로아릴 고리이고, 이의 비제한적인 예는 다음을 포함한다:

[0115]



[0116]



[0117] "알콕시"라는 용어는 -O-(알킬) 및 -O-(비치환 사이클로알킬)을 의미하며, 여기서 알킬은 상기 정의된 바와 같다. 알콕시의 비제한적 예는 메톡시, 에톡시, 프로폭시, 부톡시, 사이클로프로폭시, 사이클로부톡시, 사이클로펜틸옥시, 사이클로헥실옥시를 포함한다. 알콕시는 임의로 치환되거나 치환되지 않을 수 있다. 치환되는 경우, 치환기는 바람직하게는 알킬, 알케닐, 알키닐, 알콕시, 알킬티오, 알킬아미노, 할로겐, 메르캅토, 히드록실, 니트로, 시아노, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 사이클로알콕시, 헤테로사이클로알콕시, 사이클로알킬티오, 헤테로사이클로알킬티오, 카르복실 또는 카르복실레이트로부터 독립적으로 선택된 하나 이상의 기이다.

[0118] 용어 "할로알킬"은 하나 이상의 할로겐으로 치환된 알킬을 의미하며, 여기서 알킬은 상기 정의된 바와 같다.

[0119] 용어 "할로알콕시"는 하나 이상의 할로겐으로 치환된 알콕시를 의미하며, 여기서 알콕시는 상기 정의된 바와 같다.

[0120] 용어 "하이드록시알킬"은 하이드록실로 치환된 알킬을 의미하며, 여기서 알킬은 상기 정의된 바와 같다.

[0121] "알킬티오"라는 용어는 -S-(알킬) 및 -S-(비치환 사이클로알킬)을 의미하며, 여기서 알킬은 상기 정의된 바와

같다. 알킬티오의 비제한적 예는 메틸티오, 에틸티오, 프로필티오, 부틸티오, 사이클로프로필티오, 사이클로부틸티오, 사이클로펜틸티오 및 사이클로헥실티오:를 포함한다. 알킬티오는 임의로 치환되거나 비치환될 수 있고, 이것이 치환되는 경우, 치환기는 바람직하게는 알킬, 알케닐, 알키닐, 알콕시, 알킬티오, 알킬아미노, 할로겐, 메르캅토, 히드록실, 니트로, 시아노, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 사이클로알콕시, 헤테로사이클로알콕시, 사이클로알킬티오, 헤테로사이클로알킬티오, 카르복실 또는 카르복실레이트로부터 독립적으로 선택된 하나 이상의 기이다.

[0122] "알케닐"은 2 내지 20개의 탄소 원자를 포함하는 직쇄 또는 분지쇄 기, 바람직하게는 2 내지 8개의 탄소 원자를 포함하는 알케닐, 더욱 바람직하게는 2 내지 6개의 탄소 원자를 포함하는 알케닐, 가장 바람직하게는 2 내지 4개의 탄소 원자를 포함하는, 알킬렌기로 알려진, 알케닐 직쇄 또는 분지쇄 기를 의미한다. 알케닐은 알킬, 알케닐, 알키닐, 알콕시, 알킬티오, 알킬아미노, 할로겐, 메르캅토, 히드록실, 니트로, 시아노, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 사이클로알콕시, 헤테로사이클로알콕시, 사이클로알킬티오, 헤테로사이클로알킬티오, 카르복실 또는 카르복실레이트와 같은 다른 관련 기로 추가로 치환될 수 있다.

[0123] "알키닐"은 2 내지 20개의 탄소 원자를 포함하는 직쇄 또는 분지쇄 기를 지칭하며, 바람직하게는 2 내지 8개의 탄소 원자를 포함하는 알키닐, 더욱 바람직하게는 2 내지 6개의 탄소 원자를 포함하는 알키닐, 가장 바람직하게는 2 내지 4개의 탄소 원자를 포함하는 알키닐을 의미한다. 알키닐은 알킬, 알케닐, 알키닐, 알콕시, 알킬티오, 알킬아미노, 할로겐, 메르캅토, 히드록실, 니트로, 시아노, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 사이클로알콕시, 헤테로사이클로알콕시, 사이클로알킬티오, 헤테로사이클로알킬티오, 카르복실 또는 카르복실레이트와 같은 다른 관련 기로 추가로 치환될 수 있다.

[0124] "하이드록실"은 -OH 기를 의미한다.

[0125] "할로겐"은 불소, 염소, 브롬 또는 요오드를 의미한다.

[0126] "아미노"는 $-NH_2$를 의미한다.

[0127] "시아노"는 -CN을 의미한다.

[0128] "X는 A, B, C 중에서 선택된다", "X는 A, B, C 중에서 선택된다", "X는 A, B, 또는 C이다", 및 "X는 A, B, 및 C이다"는 같은 의미를 표현하는 다른 용어이다, 즉, X는 A, B, C 중 하나 이상이 될 수 있다.

[0129] 본 발명에 기술된 수소 원자는 동위원소 중수소로 대체될 수 있고, 본 발명에 포함된 예시 화합물의 임의의 수소 원자는 또한 중수소 원자로 대체될 수 있다.

[0130] "임의의" 또는 "임의로 "는 이후에 설명되는 사건 또는 상황이 발생할 수 있지만 반드시 발생하지 않을 수 있음을 의미하며, 이 기술은 해당 사건 또는 상황이 발생하거나 발생하지 않는 상황을 포함한다. 예를 들어, "알킬로 임의로 치환된 헤테로고리기"는 알킬이 존재할 수 있으나 반드시 존재할 필요는 없음을 의미하며, 헤테로고리기가 알킬로 치환된 경우와 헤테로고리기가 알킬로 치환되지 않은 경우도 포함된다.

[0131] "치환된"은 기 내의 하나 이상의 수소 원자, 바람직하게는 최대 5개, 보다 바람직하게는 1 내지 3개의 수소 원자가 상응하는 수의 치환기로 독립적으로 치환되는 것을 의미한다. 치환체가 가능한 화학적 위치에만 존재하며, 당업자는 과도한 노력 없이 (실험적으로 또는 이론적으로) 가능하거나 불가능한 치환을 결정할 수 있다는 것은 말할 필요도 없다. 예를 들어, 유리 수소가 있는 아미노 또는 하이드록실은 불포화(예: 올레핀) 결합으로 탄소 원자에 결합되면 불안정할 수 있다. 임의의 치환체는 중수소, 할로겐, 아미노, 하이드록실, 시아노, 옥소, 티오, 알킬, 알케닐, 알키닐, 중수소화 알킬, 할로알킬, 하이드록시알킬, 알콕시, 알킬티오, 할로알콕시, 사이클로알킬, 헤테로사이클릴, 아릴 및 헤테로아릴, 바람직하게는 중수소, 할로겐, 아미노, 하이드록실, 시아노, 옥소, 티오, C_{1-6} 알킬, C_{2-6} 알케닐, C_{2-6} 알키닐, C_{1-6} 중수소화 알킬, C_{1-6} 할로알킬, C_{1-6} 하이드록시알킬, C_{1-6} 알콕시, C_{1-6} 알킬티오, C_{1-6} 할로알콕시, C_{3-12} 사이클로알킬, 3-12-원 헤테로사이클릴, C_{6-14} 아릴 및 5-14-원 헤테로아릴 중 하나 이상을 포함한다.

[0132] "약제학적 조성물"은 본원에 기재된 하나 이상의 화합물 또는 그의 생리학적/약제학적으로 허용되는 염 또는 전구약물과 다른 화학 성분, 및 생리학적/약제학적으로 허용되는 담체 및 부형제와 같은 기타 성분의 혼합물을 의미한다. 약제학적 조성물의 목적은 살아있는 유기체에의 투여를 촉진하고 활성 성분의 흡수를 촉진하여 생물학적 활성을 발휘하는 것이다.

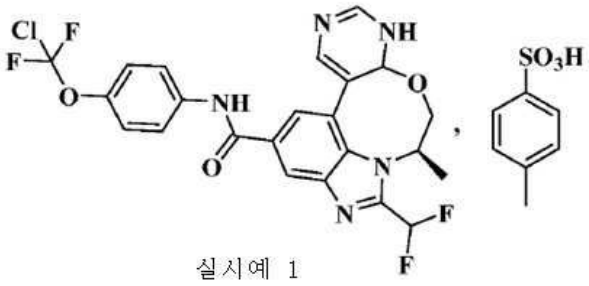
[0133] "약제학적으로 허용되는 염"은 포유동물에 사용될 때 안전하고 효과적이며 바람직한 생물학적 활성을 갖는 본

발명의 화합물의 염을 의미한다.

[0134] **발명의 상세한 설명**

[0135] 이하, 실시예를 들어 본 발명을 추가로 설명하지만, 이들 실시예가 본 발명의 범위를 제한하는 것은 아니다.

[0136] 실시예 1 (3R)-N-(4-(클로로디플루오로메톡시)페닐)-2-(디플루오로메틸)-3-메틸-3,4,5a,6-테트라하이드로-5-옥사-1,2a,6,8-테트라아자벤조[4,5]사이클로옥틸[1,2,3-cd]인데네-11-카르복사미드 p-톨루엔설포네이트 염

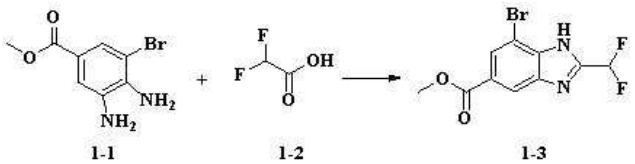


실시예 1

[0137]

[0138] 방법 1:

[0139] 단계 1: 메틸 7-브로모-2-(디플루오로메틸)-1H-디디플루오로메틸-벤조[d]이미다졸-5-카르복실레이트의 합성

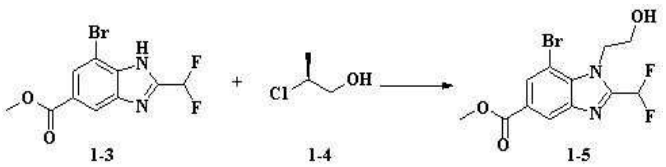


1-1 1-2 1-3

[0140]

[0141] 100 mL 반응 플라스크에 메틸 3,4-디아미노-5-브로모벤조에이트 20 g과 디플루오로아세트산 60 mL를 첨가하고 10~30분 동안 교반한 후 3회 질소 치환을 실시했다. 온도를 70℃로 가열하고, 반응물을 18~20시간 동안 교반했다. 반응이 완료된 후, 에틸 아세테이트 100 mL를 첨가하고, 중탄산나트륨 수용액을 사용하여 유기상을 pH=7로 조정하고, 혼합물을 5 내지 10분 동안 교반했다. 유기상을 수집하고, 수성상을 폐기했다. 유기상을 염화나트륨 용액 50mL를 첨가하여 세척하고 무수 황산나트륨으로 건조시켰다. 시스템을 여과하고 농축 건조시킨 후 컬럼 크로마토그래피를 수행하여 생성물 22.3g을 90%의 수율로 얻었다.

[0142] 단계 2: 메틸 (*R*)-7-브로모-2-(디플루오로메틸)-1-[1-하이드록시프로프-2-일]-1H-벤조[d]이미다졸-5-카르복실레이트의 합성

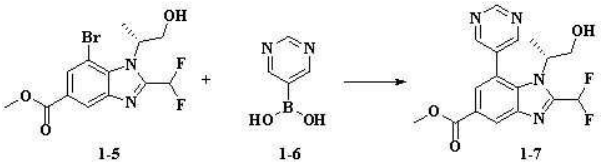


1-3 1-4 1-5

[0143]

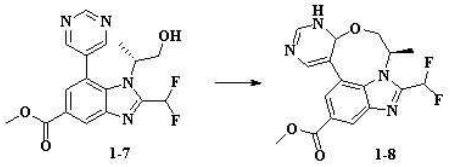
[0144] 500 mL 반응 플라스크에 메틸 7-브로모-2-(디플루오로메틸)-1H-디플루오로메틸-벤조[d]이미다졸-5-카르복실레이트 20 g, 세틸 트리메틸 암모늄 브로마이드 4.8 g, 탄산칼륨 18.1 g 및 200 mL의 아세토니트릴을 첨가하고, 9.3g/50mL의 (S)-2-클로로-1-프로판올/아세토니트릴 용액을 실온에서 교반하면서 적가했다. 적가가 완료된 후, 혼합물을 환류 가열하여 8시간 동안 반응시켰다. 반응이 완료된 후, 반응 혼합물을 상온으로 식힌 후 얼음물에 부어 고체를 침전시키고, 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 생성물 16.3g을 얻었다(수율 60%).

[0145] 단계 3: 메틸 (*R*)-2-(디플루오로메틸)-1-[1-하이드록시프로프-2-일]-7-(피리미딘-5-일)-1H-벤조[d]이미다졸-5-카르복실레이트의 합성

[0146] 

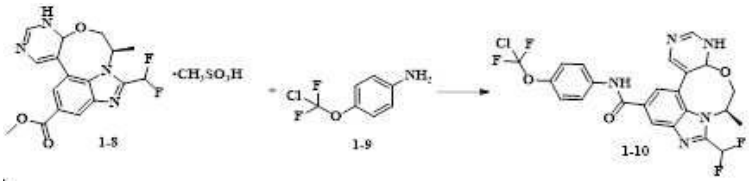
[0147] 250 mL 3구 플라스크에 메틸 (R)-7-브로모-2-(디플루오로메틸)-1-[1-히드록시프로프-2-일]-1H-벤조[d]이미다졸-5-카르복실레이트 15 g, 아세트산 칼륨 16.2g, 불화 칼륨 7.9g, 1,4-디옥산 105mL, 물 15mL를 첨가하고, 시스템을 3회 질소 치환했다. 2.4 g 의 $Pd(PPh_3)_4$ 을 첨가하고 질소치환을 3회 수행한 후 시스템을 80℃로 가열하고 5-피리미딘보론산의 테트라히드로푸란 용액(6.1g/15mL)을 적가했다. 적가가 완료된 후, 반응물을 5시간 동안 추가로 교반하고, TLC 모니터링으로 원료가 완전히 반응한 것으로 나타난 후, 시스템을 실온으로 냉각시켰다. 반응 시스템에 물 250 mL, 에틸 아세테이트 120 mL 및 N-아세틸 시스테인 3 g을 첨가하고, 시스템을 0.5시간 동안 교반한 후, 포화 중탄산나트륨 용액 3 L를 첨가했다. 시스템을 층으로 분리하고, 수성상을 에틸 아세테이트 120mL로 추출했다. 유기층을 합치고 포화 염화나트륨 용액 5L로 세척한 후 농축 건조하고 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 10.3g의 생성물을 69%의 수율로 얻었다.

[0148] 단계 4: 메틸 (3R)-2-(디플루오로메틸)-3-메틸-3,4,5a,6-테트라하이드로-5-옥사-1,2a,6,8-테트라아자벤조[4,5]사이클로옥틸[1,2,3-cd]인데네-11-카르복실레이트의 합성

[0149] 

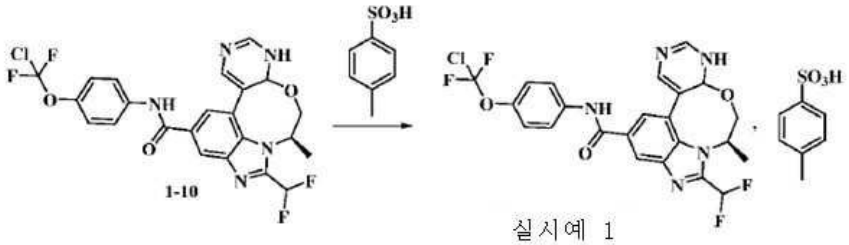
[0150] 250 mL 반응 플라스크에 10 g의 메틸 (R)-2-(디플루오로메틸)-1-[1-히드록시프로필-2-일]-7-(피리미딘-5-일)-1H-벤조[d]이미다졸 -5-카르복실레이트, 메탄술폰산 2.6g 및 염화메틸렌 150mL를 첨가하고 상온에서 1시간 동안 교반한 후 여과 및 건조하여 생성물 11.5g을 91%의 수율로 얻었다.

[0151] 단계 5: (3R)-N-(4-(클로로디플루오로메톡시)페닐)-2-(디플루오로메틸)-3-메틸-3,4,5a,6-테트라하이드로-5-옥사-1,2a,6,8-테트라아자벤조[4,5]사이클로옥틸[1,2,3-cd]인데네-11-카르복사미드의 합성

[0152] 

[0153] 250 mL 반응 플라스크에 화합물 1-8 10 g, 4-(클로로디플루오로메톡시)아닐린 5.8 g 및 테트라히드로푸란 100 mL를 첨가하고, 리튬 비스트리메틸실릴아미드(THF 중 1.0 M) 44 mL를 5-10° C(THF 내 1.0 M)에서 적가했다. 적가가 완료된 후, 반응물을 실온에서 15시간 동안 교반했다. 반응 혼합물에 포화 염화암모늄 수용액 100 mL를 적가하여 반응을 종결시키고, 에틸아세테이트 200 mL를 첨가하여 추출한 후, 유기상을 농축건조시켰다. 농축물에 에틸아세테이트 100 mL를 첨가하고 농축물을 50℃로 가열한 후 0.5시간 동안 교반한 후 n-헵탄 50 mL를 천천히 적가했다. 시스템을 0.5시간 동안 추가로 교반한 다음, 20-30℃로 냉각하고, 3시간 동안 교반하고, 여과하고, 진공 하에서 건조하여 회백색 고체 9.1g을 82%의 수율로 얻었다.

[0154] 단계 6: (3R)-N-(4-(클로로디플루오로메톡시)페닐)-2-(디플루오로메틸)-3-메틸-3,4,5a,6-테트라하이드로-5-옥사-1,2a,6,8-테트라아자벤조[4,5]사이클로옥틸[1,2,3-cd]인데네-11-카르복사미드 4-메틸벤젠설포네이트 염의 합성



실시예 1

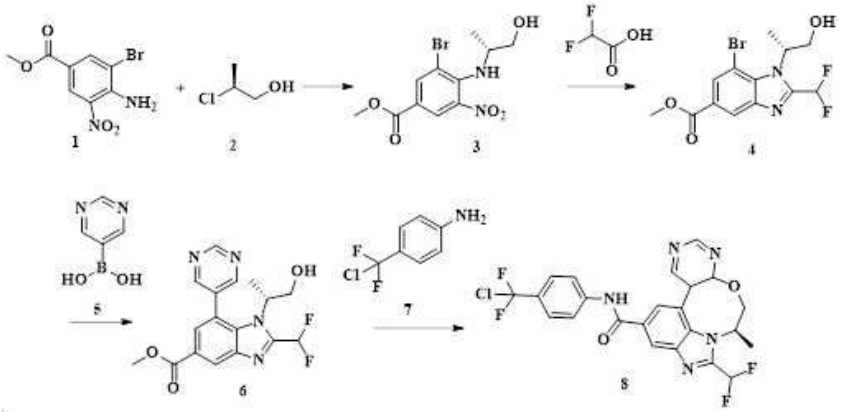
[0155]

[0156] 화합물 1-10 9 g을 칭량하고 아세토니트릴 90 mL를 첨가한 후 50 ℃로 가열하고 30분간 가열 교반했다. 에탄올(4g/20mL)에 용해된 p-톨루엔술폰산 용액을 첨가한 후 시스템을 22~24시간 동안 반응하도록 배양했다. 혼합물을 여과하고, 필터 케이크를 50℃에서 24시간 동안 진공 건조하여 10.1g의 생성물을 84%의 수율로 얻었다.

[0157] ^{1}HNMR(400Hz, DMSO-d_6) δ 10.51 (s, 1H), 8.68 (s, 1H), 8.35 (s, 1H), 8.58-8.59 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 7.92-7.95 (d, J = 9.2 Hz, 2H), 7.84-7.85 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 7.58-7.62 (m, 1H), 7.56 (t, J = 52.0 Hz, 1H), 7.48-7.50 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 7.36-7.38 (d, J = 9.2 Hz, 2H), 7.11-7.13 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 6.93 (br, 1H), 5.05 (s, 1H), 4.34-4.39 (m, 1H), 3.47-3.60 (m, 2H), 2.29 (s, 3H), 1.36-1.38 (d, J = 7.2 Hz, 3H).

[0158] MS (ESI, m/z): 524.2 $[M-C_7H_8O_3S+H]^+$.

[0159] 방법 2:



[0160]

[0161] 500 mL 반응 플라스크에 메틸 4-아미노-3-브로모-5-니트로벤조에이트(화합물 1) 20 g, 세틸 트리메틸 암모늄 브로마이드 5.30 g, 탄산칼륨 20.07 g 및 아세토니트릴 200 mL를 첨가했다. (S)-2-클로로-1-프로판올/아세토니트릴 용액 10.3g/50mL를 실온에서 교반하면서 적가했다. 적가가 완료된 후, 혼합물을 환류 가열하여 8시간 동안 반응시켰다. 반응이 완결된 후, 반응 혼합물을 농축 건조시키고, 잔류물에 에틸 아세테이트 및 물을 첨가하고 추출했다. 유기상을 포화 염화나트륨으로 세척하고 무수 황산나트륨으로 건조시켰다. 시스템을 여과하고, 여액을 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 13.32g의 화합물 3을 55%의 수율로 얻었다.

[0162] 100 mL 반응 플라스크에 메틸 (R)-3-브로모-4-[(1-히드록시이소프로판-2-일)아미노]-5-니트로벤조에이트(화합물 3) 10 g 및 디플루오로아세트산 38 mL를 첨가하고, 상온에서 철분말 16.76g을 첨가하고, 혼합물을 40~50℃로 가열하여 3시간 동안 반응시켰다. 반응시스템을 냉각하고, 에틸아세테이트를 첨가했다. 반응 시스템을 여과했다. 여액을 물과 포화 염화나트륨으로 각각 1회 세척하고, 무수 황산나트륨으로 건조시킨 후 여과했다. 여과액을 농축하고 다음 반응 단계에 직접 투입했다.

[0163] 250 mL 3구 플라스크에 메틸 (R)-7-브로모-2-(디플루오로메틸)-1-[1-히드록시프로프-2-일]-1H-벤조[d]이미다졸-5-카르복실레이트 (화합물 4) 15 g, 아세트산 칼륨 16.2g, 불화 칼륨 7.9g, 1,4-디옥산 105mL, 물 15mL를 첨가하고, 시스템을 3회 질소 치환했다. 2.4 g 의 $Pd(PPh_3)_4$ 을 첨가하고 질소치환을 3회 수행한 후 시스템을 80℃로 가열하고 5-피리미딘보론산의 테트라히드로푸란 용액(6.1g/15mL)을 적가했다. 적가가 완료된 후, 반응물을 5시간 동안 추가로 교반하고, TLC 모니터링으로 원료가 완전히 반응한 것으로 나타난 후, 시스템을 실온으로 냉각시켰다. 반응 시스템에 물 250 mL, 에틸 아세테이트 120 mL 및 N-아세틸 시스테인 3 g을 첨가하고, 시스템을

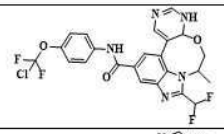
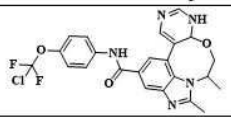
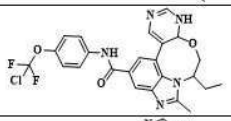
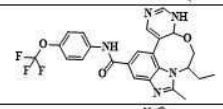
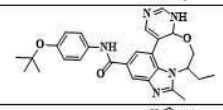
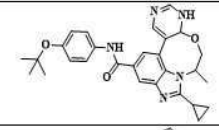
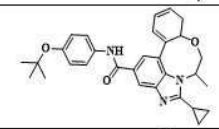
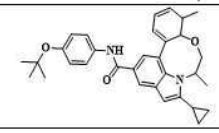
0.5시간 동안 교반한 후, 포화 중탄산나트륨 용액 3 L를 첨가했다. 시스템을 층으로 분리하고, 수성상을 에틸 아세테이트 120mL로 추출했다. 유기층을 합치고 포화 염화나트륨 용액 5L로 세척한 후 농축 건조하고 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 10.3g의 화합물 6을 69%의 수율로 얻었다.

[0164] 250 mL 반응 플라스크에 화합물 6 10 g, 4-(클로로디플루오로메톡시)아닐린 5.8 g 및 테트라히드로푸란 100 mL를 첨가하고, 리튬 비스트리메틸실릴아미드(THF 중 1.0 M) 44 mL를 5-10° C에서 적가했다. 적가가 완료된 후, 반응 시스템을 실온에서 15시간 동안 교반하여 반응시켰다. 반응 혼합물에 포화 염화암모늄 수용액 100 mL를 적가하여 반응을 종결시키고, 에틸아세테이트 200 mL를 첨가하여 추출한 후, 유기상을 농축건조시켰다. 농축물에 에틸아세테이트 100 mL를 첨가하고 농축물을 50℃로 가열한 후 0.5시간 동안 교반한 후 n-헵탄 50 mL를 천천히 적가했다. 시스템을 0.5시간 동안 추가로 교반한 다음, -20 내지 -30℃로 냉각하고, 3시간 동안 교반하고, 여과하고, 진공 하에서 건조하여 회백색 고체 9.1g을 82%의 수율로 얻었다.

[0165] ^{1}HNMR(400Hz, 아세톤-d_6) δ 10.13 (s, 1H), 9.51 (s, 1H), 9.37 (s, 1H), 9.09-9.10 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 7.90-7.92 (m, 3H), 7.7.81 (s, 1H), 7.74 (t, J = 52.4 Hz, 1H), 7.27-7.29 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 6.04 (s, 1H), 4.66-4.67 (m, 1H), 3.98-4.04 (m, 1H), 3.73-3.77 (m, 1H), 1.56-1.58 (d, J = 6.8 Hz, 3H).

[0166] 다른 실시예의 제조에 대해서는 실시예 1을 참조.

[0167]

실시예 번호	구조	ESI-MS [M-$C_7H_5O_3S$+H]$^+$
2		524.1
3		488.2
4		502.3
5		486.2
6		474.3
7		486.3
8		484.2
9		497.3

[0168] **생물학적 시험 평가**

[0169] 이하, 시험예를 참조하여 본 발명을 더 설명하고 설명할 것이나, 이들 실시예는 본 발명의 범위를 제한하려는 의도는 아니다.

[0170] **I. ABL1 WT 키나제에 대한 본 발명의 화합물의 억제 활성에 관한 연구**

[0171] 1. 시험 목적

[0172] ABL1 WT 키나제에 대한 본 발명의 화합물의 시험관내 억제 활성을 평가하기 위함.

[0173] 2. 시험방법

[0174] 키나제 억제 시험 화합물(ABL1-WT)의 IC_{50} 값을 결정하기 위해 기질 펩타이드의 인산화 전환율을 측정하기 위해 모세관 전기영동을 사용했다. 시험에서 시험된 화합물의 최대 농도는 1000nM이었고, 3배 희석하여 총 12가지 농도(1000 - 0.0056nM)였다. 먼저, 효소 반응 시스템(효소 ABL1-WT의 농도는 1.3nM, 기질 FLPeptide2의 농도는 1.5μM, 반응 인자는 10mM $MgCl_2$)을 제조했다. 실온에서 30분 동안 배양한 후, 4xATP 용액 5μL를 첨가하여 효소 반응을 시작했다. 실온에서 90분 동안 반응시킨 후 정지 완충액(0.5 M EDTA 함유)을 첨가하여 반응을 정지시켰다. 샘플을 EZ 리더를 이용하여 분석했다(분석 조건: 압력 -1.5PSI, 상한 전압 전류 -2250V, 하한 전압 전류 -500V, 분리 시간 40초, 시스템 지연 100.0초).

[0175] 3. 데이터 처리

[0176] EZ Reader에서 읽은 전환율로부터 다음 공식에 따라 잔존 활성을 계산했다.

[0177] $$\text{잔존 활성}\,(\%) = 100\% \times \frac{CR_{\text{샘플}} - CR_{LC}}{CR_{HC} - CR_{LC}}$$

[0178] IC_{50}은 XLfit을 이용하여 계산하였고, IC_{50}은 피팅 공식으로 공식 201을 이용하여 계산했다.

[0179] 4. 시험 결과

[0180] **표 1. ABL1 WT 키나제에 대한 본 발명의 화합물의 시험관내 효소 억제 활성**

[0181]

화합물	최대 농도 (μM)	ABL1-WT IC_{50} (nM)
실시예 1	1	0.43

[0182] 시험관 내 효소 시험는 본 발명의 화합물이 ABL1 WT 키나제에 대해 우수한 억제 활성을 나타냄을 보여준다.

[0183] **II. 다양한 BCR-ABL1 융합 돌연변이를 과발현하는 BaF3 세포주의 증식 억제 활성에 관한 연구**

[0184] 1. 시험 목적

[0185] Ba/F3 BCR-ABL1-T315I, Ba/F3 BCR-ABL1-E255K, Ba/F3 BCR-ABL1-E255V 및 Ba/F3 BCR-ABL1-G250E의 증식에 대한 본 발명 화합물의 저해활성을 평가함.

[0186] 2. 세포주

[0187]

세포주	세포 타입
Ba/F3 BCR-ABL1-T315I	마우스 1차 B 세포 BCR-ABL1 융합 유전자를 과발현하고, ABL1의 315번 위치의 아미노산이 I로 돌연변이됨
Ba/F3 BCR-ABL1-E255V	마우스 1차 B 세포 BCR-ABL1 융합 유전자를 과발현하고, ABL1의 255번 위치의 아미노산이 V로 돌연변이됨
Ba/F3 BCR-ABL1-E255K	마우스 1차 B 세포 BCR-ABL1 융합 유전자를 과발현하고, ABL1의 255번 위치의 아미노산이 K로 돌연변이됨
Ba/F3 BCR-ABL1-G250E	마우스 1차 B 세포 BCR-ABL1 융합 유전자를 과발현하고, ABL1의 250번 위치의 아미노산이 E로 돌연변이됨

[0188] 3. 시험방법

[0189] CellTiter-Glo® 발광 세포 생존율 분석을 사용하여 종양 세포 증식 및 성장에 대한 약물의 억제 효과를 검출했다. 밤새 배양한 대수 성장기 세포를 직접 취하고, 불어넣고, 혼합하고, 계수하고, 세포 밀도를 다양한 세포 밀도 요건에 따라 조정하고, 세포를 세포 현탁액으로 제조하고 96웰 플레이트에 플레이팅했다. 다양한 농도의 약물을 추가하고 각 농도에 대해 3개의 복제 웰을 설정하고 해당 비히클 컨트롤을 설정했다. Ba/F3 BCR-ABL1-T315I 및 Ba/F3 BCR-ABL1-E255K 세포의 최대 시험 농도는 10000nM이었고, 3.16배 기울기 희석과 총 9가지 농도

(10000-1.0058nM)였다. 다른 세포에서 검출된 화합물의 최대 농도는 500nM이었고, 3.16배 구배 희석, 총 9가지 농도(500-0.0503nM)였다. 화합물이 첨가된 세포를 37° C 및 5% CO_2에서 추가로 72시간 동안 배양했다. 배양 플레이트와 그 내용물을 실온으로 평형화시키고, CellTiter-Glo® 시약을 첨가하고, 내용물을 진탕기에서 5분간 혼합하여 세포 용해를 유도한 후, 배양 플레이트를 실온에서 암실에서 20분간 추가로 배양하고, 발광을 마이크로플레이트 리더로 판독했다.

[0190] 4. 시험 결과

[0191] **표 2. BCR-ABL1 돌연변이 세포의 증식에 대한 본 발명의 화합물의 억제 활성**

[0192]

화합물	IC_{50} (nM)			
	Ba/F3 BCR-ABL1-T315I	Ba/F3 BCR-ABL1-E255V	Ba/F3 BCR-ABL1-E255K	Ba/F3 BCR-ABL1-G250E
실시예 1	46.76	7.15	26.27	5.36

[0193] 본 발명의 화합물은 Ba/F3 BCR-ABL1-T315I, E255K, E255V 및 G250E 돌연변이 세포의 증식을 유의하게 억제할 수 있다.

[0194] **III. BCR-ABL1 융합 돌연변이를 갖는 종양세포주의 증식 억제 활성에 관한 연구**

[0195] 1. 시험 목적

[0196] 시험관 내에서 배양된 인간 적백혈병 세포 K562, 인간 말초 혈액 호염기성 백혈병 세포 Ku812, 인간 만성 골수성 백혈병 세포 KCL22-s 및 KCL22-r의 증식에 대한 본 발명의 화합물의 억제 활성을 평가함.

[0197] 2. 세포주

[0198]

세포주	세포 타입
K562	인간 적백혈병 세포 BCR-ABL1 유전자 융합 돌연변이
Ku812	인간 말초 혈액 호염기성 백혈병 세포 BCR-ABL1 유전자 융합 돌연변이
KCL22-s	인간 만성 골수성 백혈병 세포, BCR-ABL1 유전자 융합 돌연변이, 이마티닙 민감성 균주
KCL22-r	인간 만성 골수성 백혈병 세포, BCR-ABL1 유전자 융합 돌연변이, 이마티닙 내성 균주

[0199] 3. 시험방법

[0200] CellTiter-Glo® 발광 세포 생존율 분석을 사용하여 종양 세포 증식 및 성장에 대한 약물의 억제 효과를 검출했다. 밤새 배양한 대수 성장기 세포를 직접 취하고, 불어넣고, 혼합하고, 계수하고, 세포 밀도를 다양한 세포 밀도 요건에 따라 조정하고, 세포를 세포 현탁액으로 제조하고 96웰 플레이트에 플레이팅했다. 다양한 농도의 약물을 추가하고 각 농도에 대해 3개의 복제 웰을 설정하고 해당 용매 컨트롤을 설정했다. 검출된 화합물의 최대 농도는 500nM이었으며, 3배 기울기 희석으로 총 9가지 농도(500-0.076nM)가 있었다. 화합물이 첨가된 세포를 37° C 및 5% CO_2에서 추가로 72시간 동안 배양했다. 배양 플레이트와 그 내용물을 실온으로 평형화시키고, CellTiter-Glo® 시약을 첨가하고, 내용물을 진탕기에서 3분간 혼합하여 세포 용해를 유도한 후, 배양 플레이트를 실온, 암소에서 10분간 추가로 배양하고, 화학발광 신호 값을 마이크로플레이트 리더(BioTek SynergyH1)를 사용하여 결정했다.

[0201] 4. 시험 결과

[0202] **표 3 BCR-ABL1 유전자 융합 돌연변이 세포의 증식에 대한 본 발명의 화합물의 억제 활성**

[0203]

화합물	IC_{50} (nM)			
	K562	Ku812	KCL22-s	KCL22-r
실시예 1	13.00	4.13	2.99	14.64

[0204] 시험 결과는 본 발명의 화합물이 BCR-ABL1 융합 돌연변이를 갖는 종양 세포의 증식을 유의하게 억제할 수 있음

을 보여주었다.

[0205] **IV. 인간 만성 골수성 백혈병 세포주 KCL22-s 이종이식 종양 모델에 대한 약효 연구**

[0206] 1 실험 목적:

[0207] BALB/c 누드 마우스 피하 이종이식 종양 모델에서 인간 만성 골수성 백혈병 세포주 KCL22-s에 대한 시험 화합물의 효능을 평가하기 위함.

[0208] 2 실험 작업 및 데이터 처리:

[0209] 2.1 동물

[0210] BALB/c 누드 마우스, 8~10주.

[0211] 2.2 세포 배양 및 세포 현탁액 제조

[0212] a, KCL22-s 세포주를 세포은행에서 꺼내어 RPMI-1640 배지(RPMI-1640+10% FBS+1% P/S)를 이용하여 세포를 소생시켰다. 소생된 세포를 세포 배양 플라스크에 넣고(세포 종류, 날짜, 배양자 이름 등을 플라스크 벽면에 표시) 배양을 위한 CO_2 인큐베이터(인큐베이터 온도 37° C, CO_2 농도는 5%)에 넣었다.

[0213] b, 세포를 계대배양시켰다. 계대 후, 세포를 CO_2 인큐베이터에서 계속 배양했다. 세포 수가 생체내 약물 효능 요건을 충족할 때까지 이 과정을 반복했다.

[0214] c, 배양된 세포를 수집하고 전자동 세포 계수기로 계수했다. 계수 결과에 따라 세포를 PBS에 재현탁하여 세포 현탁액(밀도 5×10^7/mL)을 만들고 나중에 사용하기 위해 아이스 박스에 넣었다.

[0215] 2.3 세포 접종

[0216] a, 누드 마우스에는 접종 전 마우스 및 래트용 일회용 귀표를 부착하여 라벨을 붙였다.

[0217] b, 접종 시 세포 현탁액을 균일하게 혼합한 후 1 mL 주사기를 사용하여 세포 현탁액 0.1~1 mL를 뽑아 기포를 제거한 후 주사기를 얼음팩 위에 올려 놓고 사용했다.

[0218] c, 누드마우스를 왼손으로 고정하고, 누드마우스의 등 오른쪽 오른쪽 어깨 부근(접종 부위)을 75% 알코올로 소독하고, 30초 후에 접종을 시작했다.

[0219] d, 실험용 누드 마우스에 순차적으로 접종했다(각 마우스에 대해 0.1 mL의 세포 현탁액 접종).

[0220] 2.4 종양 보유 마우스에 대한 종양 측정, 분류 및 투여

[0221] a, 종양의 성장 정도에 따라 접종 후 15일째에 종양을 측정하여 종양의 크기를 계산했다.

[0222] 종양 부피 계산: 종양 부피(mm^3) = 길이(mm) × 너비(mm) × 너비(mm) /2

[0223] b, 종양이 있는 생쥐의 체중과 종양 크기에 따라 무작위 그룹화 방법을 사용하여 생쥐를 그룹화했다.

[0224] c, 그룹화 결과에 따라 시험약의 투여를 시작했다(투여경로: 경구투여; 용량: 1.5, 3, 7.5 mg/kg; 투여량: 10 mL/kg; 투여횟수: 1-2회/ 일, 투여 주기: 15일, 용매: 0.5% HPMC K4M).

[0225] .d, 시험약 투여를 시작한 후, 일주일에 2회 종양을 측정하고 무게를 측정했다.

[0226] e, 실험 후 동물을 안락사시켰다.

[0227] f, 데이터는 Excel 및 기타 소프트웨어를 사용하여 처리되었다. 복합 종양 억제율 계산 TGI(%): 종양 퇴행이 없는 경우 TGI(%) = [1-(치료군에서 투여 종료 시 평균 종양 부피 - 치료군에서 투여 시작 시 평균 종양 부피)/(용매 대조군에서 치료 종료 시 평균 종양 부피 - 용매 대조군에서 치료 시작 시 평균 종양 부피)] × 100%. 종양 퇴행이 존재하는 경우, TGI(%) = [1-(특정 치료군에서 투여 종료 시 평균 종양 부피 - 치료군에서 투여 시작 시 평균 종양 부피)/치료군에서 투여 시작 시점에서의 평균 종양 부피] × 100%.

[0228] 3 실험 결과:

[0229] **표 4. KCL22-s 이종이식 종양 모델에 대한 본 발명의 화합물의 항종양 효능 평가**

그룹화	종양 부피 (mm^3) [a]	T/C (%)	TGI (%)
비히클 bid	2,034±235	-	-
이마티닙 75 mg/kg qd	954±220	46.92	56.03
실시예 1 3 mg/kg qd	81±19	3.98	127.26
실시예 1 1.5 mg/kg bid	143±35	7.05	98.20
실시예 1 3 mg/kg bid	14±5	0.69	187.08
실시예 1 7.5 mg/kg bid	11±7	0.52	190.62

[0230]

[0231] 본 발명의 화합물은 인간 만성 골수성 백혈병 세포주 KCL22-s 이종이식 종양 모델에 대해 유의미한 종양 억제 효과를 갖는다.