(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0001718
(43) 공개일자 2020년01월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 487/04 (2006.01) *A61K 31/519* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07D 487/04 (2013.01)
A61K 31/519 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2018-0074548
(22) 출원일자 2018년06월28일
심사청구일자 2018년06월28일

(71) 출원인
한국과학기술연구원
서울특별시 성북구 화랑로14길 5 (하월곡동)
인하대학교 산학협력단
인천광역시 미추홀구 인하로 100(용현동, 인하대학교)
(72) 발명자
금교창
서울특별시 성북구 화랑로14길 5
아쉬라프 카림 모하메드
서울특별시 성북구 화랑로14길 5
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
한라특허법인(유한)

전체 청구항 수 : 총 13 항

(54) 발명의 명칭 **신규한 피롤로[2,3-d]피리미딘-4-온 유도체 및 이를 포함하는 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 암세포에 대한 우수한 항 증식 효능을 나타내는 피롤로[2,3-*d*]피리미딘-4-온 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 이의 수화물 또는 이의 입체 이성질체와, 이의 제조 방법 및 이를 유효성분으로 함유하는 암 전이 및 증식성 질환의 예방, 경감 또는 치료용 약학 조성물, 및 암세포에 대한 항암 조성물에 관한 것으로서, 상기 화합물은 우수한 암세포 억제 활성 및 항증식 효능을 나타내므로, 암세포 저해는 물론이고 나아가 암 전이 및 증식성 질환의 예방 또는 암 치료에 유용하다.

(52) CPC특허분류
A61P 35/00 (2018.01)
(72) 발명자
홍순선
서울특별시 서대문구 문화촌길 6-24, 102동 1601호(홍제동, 문화촌현대아파트)
이주현
서울특별시 성북구 화랑로14길 5

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1711070275
부처명 과학기술정보통신부
연구관리전문기관 한국연구재단
연구사업명 STEAM연구(R&D)
연구과제명 세포내 단백질 타겟 항체의 임상적용 기술
기 여 율 1/1
주관기관 인하대학교
연구기간 2018.03.01 ~ 2018.12.31

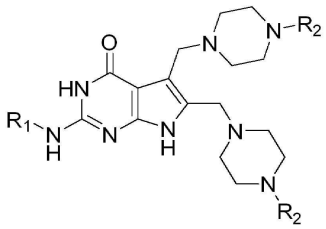
명 세 서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 1로 표시되는 피롤로[2,3-*d*]피리미딘-4-온 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 이의 수화물 또는 이의 입체 이성질체로부터 선택된 화합물:

[화학식 1]



상기 화학식 1에서,

R^1은 수소; C_1-C_{13} 알킬기; C_6-C_{10} 아릴기; C_3-C_{10} 헤테로아릴기; C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기; 또는 -C(O)-(C_1-C_{13} 알킬)이고;

R^2는 수소; C_1-C_{13} 알킬기; C_6-C_{10} 아릴기; C_3-C_{10} 헤테로아릴기; C_3-C_{10} 또는 헤테로사이클릴기이고;

상기 C_1-C_{13} 알킬기는, 수소; 히드록시기; 할로겐기; C_1-C_{13} 알킬기; C_1-C_6 알콕시기; 아마이드기(-(C=O)NR^3R^4); C_6-C_{10} 아릴기; C_3-C_{10} 헤테로아릴기; 및 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기로 이루어진 군으로부터 선택되는 1 이상의 치환기를 포함하며,

상기 C_6-C_{10} 아릴기, C_3-C_{10} 헤테로아릴기 또는 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기는, 수소; 히드록시기; 할로겐기; 카보닐기(-(C=O)R^3R^4); 할로겐 또는 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기로 치환 또는 비치환된 C_1-C_3 알킬기; 할로겐 또는 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기로 치환 또는 비치환된 C_1-C_3 알콕시기; C_6-C_{10} 페녹시; 아미노기(-NR^3R^4); 아마이드기(-(C=O)NR^3R^4); C_6-C_{10} 아릴기; C_3-C_{10} 헤테로아릴기 및 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기로 이루어진 군에서 선택되는 1 이상의 치환기를 포함하고,

상기 R^3및 R^4은 수소; C_1-C_6 알킬기; C_1-C_6 알케닐기; C_1-C_6 알키닐기; C_6-C_{10} 아릴기; C_3-C_{10} 헤테로아릴기; 및 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기로 이루어진 군에서 선택되는 1 이상을 포함하며,

상기 C_3-C_{10} 헤테로아릴기 및 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기는 N, O, 및 S로 이루어지는 군에서 선택된 1종 이상의 헤테로원자를 포함한다.

청구항 2

제1항에 있어서,

R^1은 수소; C_1-C_{13} 알킬기; C_6-C_{10} 아릴기; C_3-C_{10} 헤테로아릴기; C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기; 또는 -C(O)-(C_1-C_{13} 알킬)이고;

R^2는 수소; C_1-C_{13} 알킬기; C_6-C_{10} 아릴기; C_3-C_{10} 헤테로아릴기; C_3-C_{10} 또는 헤테로사이클릴기이고;

상기 C_1-C_{13} 알킬기는, 수소; 히드록시기; 할로겐기; C_1-C_{13} 알킬기; C_1-C_6 알콕시기; 아마이드기(-(C=O)NR^3R^4); C_6-C_{10} 아릴기; C_3-C_{10} 헤테로아릴기; 및 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기로 이루어진 군으로부터 선택되는 1 이상의 치환기를 포함하며,

상기 C_6-C_{10} 아릴기, C_3-C_{10} 헤테로아릴기 또는 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기는, 수소; 히드록시기; 할로겐기; 카보닐기(-(C=O)R^3R^4); 할로겐 또는 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기로 치환 또는 비치환된 C_1-C_3 알킬기; 할로겐 또는 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기로 치환 또는 비치환된 C_1-C_3 알콕시기; C_6-C_{10} 페녹시; 아미노기(-NR^3R^4); 아마이드기(-(C=O)NR^3R^4); C_6-C_{10} 아릴기; C_3-C_{10} 헤테로아릴기 및 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기로 이루어진 군에서 선택되는 1 이상의 치환기를 포함하고,

상기 R^3및 R^4은 수소; C_1-C_6 알킬기; C_1-C_6 알케닐기; C_1-C_6 알키닐기; C_6-C_{10} 아릴기; C_3-C_{10} 헤테로아릴기; 및 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기로 이루어진 군에서 선택되는 1 이상을 포함하며,

상기 C_3-C_{10} 헤테로아릴기 및 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기는 N, O, 및 S로 이루어지는 군에서 선택된 1종 이상의 헤테로원자를 포함하는,

피롤로[2,3-*d*]피리미딘-4-온 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 이의 수화물 또는 이의 입체 이성질체로부터 선택된 화합물.

청구항 3

제1항에 있어서,

R^1은 수소; 또는 -C(O)-(C_1-C_{13} 알킬)이고;

R^2는 C_1-C_{13} 알킬기; C_6-C_{10} 아릴기; 또는 C_3-C_{10} 헤테로아릴기이고;

상기 C_1-C_{13} 알킬기는, 수소; 히드록시기; 할로겐기; C_1-C_{13} 알킬기; C_1-C_6 알콕시기; 아마이드기(-(C=O)NR^3R^4); C_6-C_{10} 아릴기; C_3-C_{10} 헤테로아릴기; 및 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기로 이루어진 군으로부터 선택되는 1 이상의 치환기를 포함하며,

상기 C_6-C_{10} 아릴기, C_3-C_{10} 헤테로아릴기 또는 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기는, 수소; 히드록시기; 할로겐기; 카보닐기(-(C=O)R^3R^4); 할로겐 또는 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기로 치환 또는 비치환된 C_1-C_3 알킬기; 할로겐 또는 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기로 치환 또는 비치환된 C_1-C_3 알콕시기; C_6-C_{10} 페녹시; 아미노기(-NR^3R^4); 아마이드기(-(C=O)NR^3R^4); C_6-C_{10} 아릴기; C_3-C_{10} 헤테로아릴기 및 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기로 이루어진 군에서 선택되는 1 이상의 치환기를 포함하고,

상기 R^3및 R^4은 수소; C_1-C_6 알킬기; C_1-C_6 알케닐기; C_1-C_6 알키닐기; C_6-C_{10} 아릴기; C_3-C_{10} 헤테로아릴기; 및 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기로 이루어진 군에서 선택되는 1 이상을 포함하며,

상기 C_3-C_{10} 헤테로아릴기 및 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기는 N, O, 및 S로 이루어지는 군에서 선택된 1종 이상의 헤테로원자를 포함하는,

피롤로[2,3-*d*]피리미딘-4-온 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 이의 수화물 또는 이의 입체 이성질체로부터 선택된 화합물.

청구항 4

제1항에 있어서,

R^1은 수소 또는 -C(O)-(C_5-C_{10} 알킬)이고;

R^2는 디페닐메탄, 디클로로벤젠, 니트로벤젠, 벤질 또는 할로겐치환벤질 인;

피롤로[2,3-*d*]피리미딘-4-온 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 이의 수화물 또는 이의 입체 이성질체로부터 선택된 화합물.

청구항 5

제3항에 있어서,

하기 화합물번호 1 내지 14로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 화학식 1의 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 이의 수화물 또는 이의 입체 이성질체로부터 선택된 화합물:

(화합물번호 1) *N*-(5,6-비스((4-벤즈하이드릴피페라진-1-일)메틸)-4-옥소-4,7-디하이드로-3*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-2-일)옥탄아마이드;

(화합물번호 2) 2-아미노-5,6-비스((4-벤즈하이드릴피페라진-1-일)메틸)-3,7-디하이드로-4*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-4-온;

(화합물번호 3) *N*-(5,6-비스((4-(3,5-디클로로페닐)피페라진-1-일)메틸)-4-옥소-4,7-디하이드로-3*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-2-일)옥탄아마이드;

(화합물번호 4) 2-아미노-5,6-비스((4-(3,5-디클로로페닐)피페라진-1-일)메틸)-3,7-디하이드로-4*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-4-온;

(화합물번호 5) *N*-(5,6-비스((4-(4-나이트로페닐)피페라진-1-일)메틸)-4-옥소-4,7-디하이드로-3*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-2-일)옥탄아마이드;

(화합물번호 6) 2-아미노-5,6-비스((4-(4-나이트로페닐)피페라진-1-일)메틸)-3,7-디하이드로-4*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-4-온;

(화합물번호 7) *N*-(5,6-비스((4-벤질피페라진-1-일)메틸)-4-옥소-4,7-디하이드로-3*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-2-일)옥탄아마이드;

(화합물번호 8) 2-아미노-5,6-비스((4-벤질피페라진-1-일)메틸)-3,7-디하이드로-4*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-4-온;

(화합물번호 9) *N*-(5,6-비스((4-(2-플루오로벤질)피페라진-1-일)메틸)-4-옥소-4,7-디하이드로-3*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-2-일)옥탄아마이드;

(화합물번호 10) 2-아미노-5,6-비스((4-(2-플루오로벤질)피페라진-1-일)메틸)-3,7-디하이드로-4*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-4-온;

(화합물번호 11) *N*-(5,6-비스((4-(3-플루오로벤질)피페라진-1-일)메틸)-4-옥소-4,7-디하이드로-3*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-2-일)옥탄아마이드;

(화합물번호 12) 2-아미노-5,6-비스((4-(3-플루오로벤질)피페라진-1-일)메틸)-3,7-디하이드로-4*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-4-온;

(화합물번호 13) *N*-(5,6-비스((4-(4-플루오로벤질)피페라진-1-일)메틸)-4-옥소-4,7-디하이드로-3*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-2-일)옥탄아마이드; 및

(화합물번호 14) 2-아미노-5,6-비스((4-(4-플루오로벤질)피페라진-1-일)메틸)-3,7-디하이드로-4*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-4-온.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 약학적으로 허용 가능한 염은 염산, 브롬화수소산, 황산, 인산, 질산, 아세트산, 글리콜산, 락트산, 피루브산, 말론산, 석신산, 글루타르산, 푸마르산, 말산, 만델산, 타타르산, 시트르산, 아스코빈산, 팔미트산, 말레인산, 하이드록시말레인산, 벤조산, 하이드록시벤조산, 페닐아세트산, 신남산, 살리실산, 메탄설폰산, 벤젠설폰산 및 톨루엔설폰산으로 구성된 군에서 선택되는 무기산 또는 유기산의 염인, 피롤로[2,3-*d*]피리미딘-4-온 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 이의 수화물 또는 이의 입체 이성질체로부터 선택된 화합물.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항의 화합물이 활성성분으로 포함되어 있는, 암 예방, 경감 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 8

제7항에 있어서,

상기 암이 단백질 키나아제에 의해 매개되어 유발되는 것을 특징으로 하는, 암 예방, 경감 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 9

제7항에 있어서,

상기 단백질 키나아제는 FGFR4, FMS, IGF1R, LYN, TIE2/TEK, 및 TrkA으로부터 1 이상 선택되는 것인, 암 예방, 경감 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 10

제7항에 있어서,

상기 암은 유방암, 난소암, 자궁경부암, 전립선암, 정소암, 비뇨생식기관암, 식도암, 후두암, 교모세포종, 위암, 피부암, 각질극세포종, 폐암, 편평세포암종, 대세포 암종, 소세포 암종, 폐선암, 골암, 결장암, 선종, 췌장암, 선암종, 갑산성암, 여포상선암, 미분화암, 유두암, 정상피종, 흑색종, 육종, 방광암, 간암, 담즙관암, 신장암, 골수성 질환, 림프성 질환, 호지킨병, 모발세포암, 구강암, 인두(구두)암, 구순암, 설암, 소장암, 결장-직장암, 대장암, 직장암, 뇌암, 중추신경계암, 백혈병, 혈관종, 트라코마 및 화농성 육아종으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1 이상인, 암 예방, 경감 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 11

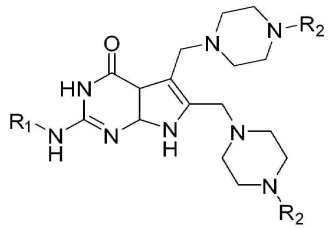
제7항에 있어서,

상기 화합물이 조성물 전체 중량에 대하여 0.5 중량% 내지 10 중량%로포함되어 있는, 암의 예방, 경감 또는 치료용 약학 조성물.

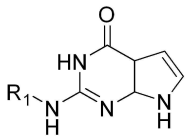
청구항 12

하기 화학식 2의 화합물과 화학식 3의 화합물을 반응시키는 단계를 포함하는, 화학식 1의 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 이의 수화물 또는 이의 입체 이성질체로부터 선택된 화합물의 제조방법:

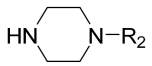
[화학식 1]



[화학식 2]



[화학식 3]



상기 화학식 1, 화학식 2 및 화학식 3에서,

R^1은 수소; C_1-C_{13} 알킬기; C_6-C_{10} 아릴기; C_3-C_{10} 헤테로아릴기; 또는 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기이고;

R^2는 수소; C_1-C_{13} 알킬기; C_6-C_{10} 아릴기; C_3-C_{10} 헤테로아릴기; C_3-C_{10} 또는 헤테로사이클릴기이고;

상기 C_1-C_{13} 알킬기는, 수소; 히드록시기; 할로겐기; C_1-C_{13} 알킬기; C_1-C_6 알콕시기; 아마이드기(-(C=O)NR^3R^4); C_6-C_{10} 아릴기; C_3-C_{10} 헤테로아릴기; 및 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기로 이루어진 군으로부터 선택되는 1 이상의 치환기를 포함하며;

상기 C_6-C_{10} 아릴기, C_3-C_{10} 헤테로아릴기 또는 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기는, 수소; 히드록시기; 할로겐기; 카보닐기(-(C=O)R^3R^4); 할로겐 또는 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기로 치환 또는 비치환된 C_1-C_3 알킬기; 할로겐 또는 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기로 치환 또는 비치환된 C_1-C_3 알콕시기; C_6-C_{10} 페녹시; 아미노기(-NR^3R^4); 아마이드기(-(C=O)NR^3R^4); C_6-C_{10} 아릴기; C_3-C_{10} 헤테로아릴기 및 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기로 이루어진 군에서 선택되는 1 이상의 치환기를 포함하고;

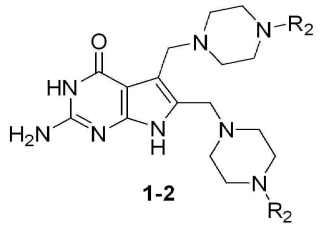
상기 R^3및 R^4는 수소; C_1-C_6 알킬기; C_1-C_6 알케닐기; C_1-C_6 알키닐기; C_6-C_{10} 아릴기; C_3-C_{10} 헤테로아릴기; 및 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기로 이루어진 군에서 선택되는 1 이상을 포함하고,

상기 C_3-C_{10} 헤테로아릴기 및 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기는 N, O, 및 S로 이루어지는 군에서 선택된 1종 이상의 헤테로원자를 포함한다.

청구항 13

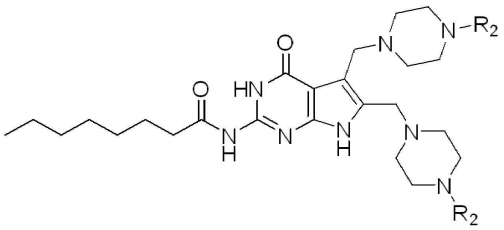
하기 화학식 1-1의 화합물과 수산화칼륨을 반응시키는 단계를 포함하는, 하기 화학식 1-2로 표시되는 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 이의 수화물 또는 이의 입체 이성질체로부터 선택된 화합물의 제조방법:

[화학식 1-2]



1-2

[화학식 1-1]



상기 화학식 1-1 및 화학식 1-2에서,

R^1은 수소; C_1-C_{13} 알킬기; C_6-C_{10} 아릴기; C_3-C_{10} 헤테로아릴기; 또는 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기이고;

R^2는 수소; C_1-C_{13} 알킬기; C_6-C_{10} 아릴기; C_3-C_{10} 헤테로아릴기; C_3-C_{10} 또는 헤테로사이클릴기이고;

상기 C_1-C_{13} 알킬기는, 수소; 히드록시기; 할로겐기; C_1-C_{13} 알킬기; C_1-C_6 알콕시기; 아마이드기(-(C=O)NR^3R^4); C_6-C_{10} 아릴기; C_3-C_{10} 헤테로아릴기; 및 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기로 이루어진 군으로부터 선택되는 1 이상의 치환기를 포함하며;

상기 C_6-C_{10} 아릴기, C_3-C_{10} 헤테로아릴기 또는 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기는, 수소; 히드록시기; 할로겐기; 카보닐기(-(C=O)R^3R^4); 할로겐 또는 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기로 치환 또는 비치환된 C_1-C_3 알킬기; 할로겐 또는 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기로 치환 또는 비치환된 C_1-C_3 알콕시기; C_6-C_{10} 페녹시; 아미노기(-NR^3R^4); 아마이드기(-(C=O)NR^3R^4); C_6-C_{10} 아릴기; C_3-C_{10} 헤테로아릴기 및 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기로 이루어진 군에서 선택되는 1 이상의 치환기를 포함하고;

상기 R^3및 R^4는 수소; C_1-C_6 알킬기; C_1-C_6 알케닐기; C_1-C_6 알키닐기; C_6-C_{10} 아릴기; C_3-C_{10} 헤테로아릴기; 및 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기로 이루어진 군에서 선택되는 1 이상을 포함하고,

상기 C_3-C_{10} 헤테로아릴기 및 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기는 N, O, 및 S로 이루어지는 군에서 선택된 1종 이상의 헤테로원자를 포함한다.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 신규한 피롤로[2,3-*d*]피리미딘-4-온 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 이의 수화물 또는 이의 입체 이성질체로부터 선택된 화합물, 및 상기 화합물의 제조방법, 상기 화합물을 포함하는 암의 예방, 경감 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0003] 단백질 키나아제는 ATP의 감마-인산기를 단백질의 타이로신, 세린 및 트레오닌의 히드록시 그룹에 전달하는 인산화 반응을 촉매하는 효소로서, 세포의 대사, 유전자 발현, 세포 성장, 분화 및 세포 분열 작용을 담당하며 세포 신호 전달에 중요한 역할을 하고 있다.

[0004] 단백질 키나아제는 진핵 생물 유전체의 약 2% 정도 되며, 사람 유전체에는 약 518 종이 존재한다. 단백질 키나아제는 타이로신을 인산화하는 타이로신 단백질 키나아제와 세린, 트레오닌을 인산화하는 세린/트레오닌 키나아제로 분류된다. 그 중 약 90 종 이상은 타이로신 키나아제이며, 수용체 타이로신 키나아제 (RTK)와 비수용체 타이로신 키나아제 (NRTK)로 나뉜다. 수용체 타이로신 키나아제는 세포 표면에 성장 인자를 수용할 수 있는 도메인을 가지고 있고, 세포질에 타이로신 잔기를 인산화할 수 있는 활성부위를 갖고 있는 막단백질이다. 비수용체 타이로신 키나아제는 핵과 세포질에 존재하는 단일 타이로신 키나아제 도메인으로 수용체의 모양은 아니지만 신호를 받아 타이로신 잔기를 인산회시킨다.

[0005] 단백질 키나아제는 분자 스위치로 세포 내에서 활성과 비활성 상태 사이의 전이가 원활하게 조절되어야 한다. 비정상적으로 조절되면 세포 내 신호 전달을 과도하게 활성화시켜 통제불능의 세포 분열 및 증식을 유도하게 된다. 또한, 단밴직 키나아제의 유전자 변이, 증폭 및 과발현에 의한 비정상적인 활성화는 다양한 종양의 발생 및 진행과 관련이 있어 암세포의 성장과 전이에 결정적인 역할을 하게 된다. 비정상적으로 조절되는 대표적인 단백질 키나아제로는 EGFR, VEGFR, PDGFRB, c-KIT, ABL1, SRC, BRAF, FGFR, BTK, SYK, ALK, MET, CDK, MEK, mTOR, JAK, LCK, PLK, RSK, LYN, FMS, TIE2, RET, AKT, MAP, FAK, DDR, FLT3, 그리고 FES 등이 있다. 특히 수용체 타이로신 키나아제는 세포 성장에 대한 외부 신호와 내부 반응에 대한 신호전달 경로에 주로 관여하므로, 이를 억제하여 암세포 성장의 억제 및 사멸도 일으킬 수 있다.

[0006] 이와 같은 특징으로 키나아제의 활성 억제는 항암제 개발을 위한 주요 타겟으로 주목받고 있으며, 다양한 키나아제를 표적으로 저분자 유기화합물의 개발 연구가 활발히 진행되었다.

[0007] 키나아제 억제제로는 Bcr-Abl 및 PDGFR 타이로신 키나아제 저해제인 글리벡 (Gleevec®: imatinib, Novartis), Her-2 항체인 허셉틴 (Herceptin®: trastuzumab, Genentech), EGFR 저해제인 이레사 (Iressa®: gefitinib, AstraZeneca), Raf, VEGFR, KIT, RET, PDGFR-B 및 FLT-3 저해제인 넥사바 (Nexavar®: sorafenib, bayer), BRAF 저해제인 젤보라프(Zelboraf®: vemurafenib, Roche), EGFR 항체인 어비툭스 (Erbitux®: cetuximab, Imclone), EGFR 저해제인 타세바 (Tarceva®: erlotinib, Genentech/ Roche), 그리고 KDR 저해제인 수텐트 (Sutent®: sunitinib, Pfizer) 등이 있으며, 이들은 백혈병, 유방암, 비소세포성 폐암, 간암, 악성 흑색종, 대장암 등의 항암치료제로 FDA 승인을 받아 탁월한 치료효능으로 1차 표준요법으로 널리 사용되고 있다. 이외에도, 여러 화합물들이 임상 실험 중에 있다.

[0008] 하지만, 이들 항암제의 약물 치료를 받은 환자 중 다수가 면역억제, 위장관 장애 및 다른 질병의 유발과 같은 약물 부작용을 가지고 있다. 또한, 최근에는 약물에 대한 내성을 일으키는 변이종이 확인되고 있다. 특히, 글리벡의 내성은 Bcr-Abl 타이로신 키나아제의 활성부위에서 발생되는 점돌연변이종에 의해 유발되는데, 315번째 트레오닌이 이소루이신으로 변하는 돌연변이 (T315I)와 253번째 타이로신이 히스티딘으로 변하는 돌연변이 (T253H)가 가장 빈번하다. 글리벡 내성 점돌연변이종 중에서도 T315I-Bcr-Abl 가장 높은 비중을 차지하고 있다. 또한, 젤보라프의 내성은 B-Raf 키나아제의 600번째 발린이 글루탐산으로 변하는 돌연변이 (V600E)에 의해 유발되며, 흑색종의 약 60%가 이 돌연변이를 갖는다. 이와 같은 점돌연변이를 가진 세포는 이들 약물에 의해 더 이상 세포증식이 조절되지 않으며, 용량을 증가시켜도 치료효과가 전혀 개선되지 않는 것으로 알려져 있다.

[0009] 암세포의 억제 효력 중대, 부작용의 감소, 그리고 내성을 치료할 수 있는 2세대 항암제가 개발되고 있지만, 돌연변이종을 저해하는 능력은 매우 미약한 것으로 밝혀지고 있어, 이의 약물 개발에 대한 연구가 더욱 활발하게 진행되고 있다. 따라서, 약물의 부작용 및 내성을 방지하거나 치료할 수 있는 새로운 차세대 항암제 개발이 필요한 시점이다.

선행기술문헌

특허문헌

[0011] (특허문헌 0001) 국제특허출원 WO 2016-050804

(특허문헌 0002) 미국등록특허 US 4,571,423

발명의 내용

해결하려는 과제

[0012] 본 발명의 목적은 신규의 피롤로[2,3-*d*]피리미딘-4-온 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 이의 수화물 또는 이의 입체 이성질체를 제공하는 것이다.

[0013] 본 발명의 또 다른 목적은 신규의 피롤로[2,3-*d*]피리미딘-4-온 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 이의 수화물 또는 이의 입체 이성질체를 유효성분으로 포함하는 암 또는 종양의 예방, 경감 또는 치료용 약학 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0015] 달리 명시되지 않는 한, 본 명세서에서 사용된 성분, 반응 조건, 성분의 함량을 표현하는 모든 숫자, 값 및/또는 표현은, 이러한 숫자들이 본질적으로 다른 것들 중에서 이러한 값을 얻는 데 발생하는 측정의 다양한 불확실성이 반영된 근사치들이므로, 모든 경우 "약"이라는 용어에 의해 수식되는 것으로 이해되어야 한다. 또한, 본 기재에서 수치범위가 개시되는 경우, 이러한 범위는 연속적이며, 달리 지적되지 않는 한 이러한 범 위의 최소값으로부터 최대값이 포함된 상기 최대값까지의 모든 값을 포함한다. 더 나아가, 이러한 범위가 정수를 지칭하는 경우, 달리 지적되지 않는 한 최소값으로부터 최대값이 포함된 상기 최대값까지를 포함하는 모든 정수가 포함된다.

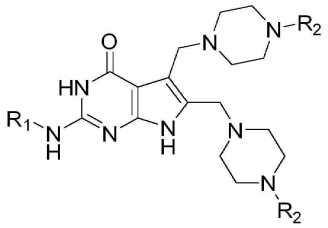
[0016] 본 명세서에 있어서, 범위가 변수에 대해 기재되는 경우, 상기 변수는 상기 범위의 기재된 종료점들을 포함하는 기재된 범위 내의 모든 값들을 포함하는 것으로 이해될 것이다. 예를 들면, "5 내지 10"의 범위는 5, 6, 7, 8, 9, 및 10의 값들뿐만 아니라 6 내지 10, 7 내지 10, 6 내지 9, 7 내지 9 등의 임의의 하위 범위를 포함하고, 5.5, 6.5, 7.5, 5.5 내지 8.5 및 6.5 내지 9 등과 같은 기재된 범위의 범주에 타당한 정수들 사이의 임의의 값도 포함하는 것으로 이해될 것이다. 또한 예를 들면, "10% 내지 30%"의 범위는 10%, 11%, 12%, 13% 등의 값들과 30%까지를 포함하는 모든 정수들뿐만 아니라 10% 내지 15%, 12% 내지 18%, 20% 내지 30% 등의 임의의 하위 범위를 포함하고, 10.5%, 15.5%, 25.5% 등과 같이 기재된 범위의 범주 내의 타당한 정수들 사이의 임의의 값도 포함하는 것으로 이해될 것이다.

[0018] 이하, 본 발명에 대하여 상세히 설명한다.

[0019] 본 발명자들은 상기 문제점을 해결하기 위하여 연구를 지속한 결과, 암세포에 대한 우수한 저해활성을 나타내는 항암 화합물, 특히 선택적인 키나아제 활성 억제제로서 암의 예방 또는 치료에 유용한 피롤로[2,3-*d*]피리미딘-4-온 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 또는 수화물과 이의 제조방법 및 이를 유효성분으로 포함하는 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 개발하였다.

[0020] 본 발명의 일측면은 하기 화학식 1로 표시되는 피롤로[2,3-*d*]피리미딘-4-온 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 이의 수화물 또는 이의 입체 이성질체로부터 선택된 화합물을 제공한다:

[0022] [화학식 1]



[0023]

[0025] 상기 화학식 1에서, R^1은 수소; C_1-C_{13} 알킬기; C_6-C_{10} 아릴기; C_3-C_{10} 헤테로아릴기; C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기; 또는 -C(O)-(C_1-C_{13} 알킬)이고; R^2는 수소; C_1-C_{13} 알킬기; C_6-C_{10} 아릴기; C_3-C_{10} 헤테로아릴기; C_3-C_{10} 또는 헤테로사이클릴기이고; 상기 C_1-C_{13} 알킬기는, 수소; 히드록시기; 할로겐기; C_1-C_{13} 알킬기; C_1-C_6 알콕시기; 아마이드기(-(C=O)NR^3R^4); C_6-C_{10} 아릴기; C_3-C_{10} 헤테로아릴기; 및 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기로 이루어진 군으로부터 선택되는 1 이상의 치환기를 포함하며, 상기 C_6-C_{10} 아릴기, C_3-C_{10} 헤테로아릴기 또는 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기는, 수소; 히드록시기; 할로겐기; 카보닐기(-(C=O)R^3R^4); 할로겐 또는 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기로 치환 또는 비치환된 C_1-C_3 알킬기; 할로겐 또는 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기로 치환 또는 비치환된 C_1-C_3 알콕시기; C_6-C_{10} 페녹시; 아미노기(-NR^3R^4); 아마이드기(-(C=O)NR^3R^4); C_6-C_{10} 아릴기; C_3-C_{10} 헤테로아릴기 및 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기로 이루어진 군에서 선택되는 1 이상의 치환기를 포함하고, 상기 R^3및 R^4은 수소; C_1-C_6 알킬기; C_1-C_6 알케닐기; C_1-C_6 알키닐기; C_6-C_{10} 아릴기; C_3-C_{10} 헤테로아릴기; 및 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기로 이루어진 군에서 선택되는 1 이상을 포함하며, 상기 C_3-C_{10} 헤테로아릴기 및 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기는 N, O, 및 S로 이루어지는 군에서 선택된 1종 이상의 헤테로원자를 포함한다.

[0026] 본 발명의 일측면에서, 화학식 1에서 R^1은 수소; C_1-C_{13} 알킬기; C_6-C_{10} 아릴기; C_3-C_{10} 헤테로아릴기; C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기; 또는 -C(O)-(C_1-C_{13} 알킬)이고; R^2는 수소; C_1-C_{13} 알킬기; C_6-C_{10} 아릴기; C_3-C_{10} 헤테로아릴기; C_3-C_{10} 또는 헤테로사이클릴기이고; 상기 C_1-C_{13} 알킬기는, 수소; 히드록시기; 할로겐기; C_1-C_{13} 알킬기; C_1-C_6 알콕시기; 아마이드기(-(C=O)NR^3R^4); C_6-C_{10} 아릴기; C_3-C_{10} 헤테로아릴기; 및 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기로 이루어진 군으로부터 선택되는 1 이상의 치환기를 포함하며, 상기 C_6-C_{10} 아릴기, C_3-C_{10} 헤테로아릴기 또는 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기는, 수소; 히드록시기; 할로겐기; 카보닐기(-(C=O)R^3R^4); 할로겐 또는 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기로 치환 또는 비치환된 C_1-C_3 알킬기; 할로겐 또는 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기로 치환 또는 비치환된 C_1-C_3 알콕시기; C_6-C_{10} 페녹시; 아미노기(-NR^3R^4); 아마이드기(-(C=O)NR^3R^4); C_6-C_{10} 아릴기; C_3-C_{10} 헤테로아릴기 및 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기로 이루어진 군에서 선택되는 1 이상의 치환기를 포함하고, 상기 R^3및 R^4은 수소; C_1-C_6 알킬기; C_1-C_6 알케닐기; C_1-C_6 알키닐기; C_6-C_{10} 아릴기; C_3-C_{10} 헤테로아릴기; 및 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기로 이루어진 군에서 선택되는 1 이상을 포함하며, 상기 C_3-C_{10} 헤테로아릴기 및 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기는 N, O, 및 S로 이루어지는 군에서 선택된 1종 이상의 헤테로원자를 포함하는, 피롤로[2,3-*d*]피리미딘-4-온 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 이의 수화물 또는 이의 입체 이성질체로부터 선택된 화합물을 제공한다.

[0027] 상기 C_5-C_6 헤테로사이클릴기는 피롤리딘(pyrrolidine), 피페리딘(piperidine), 피페라진(piperazine), 몰포린(morpholine), 및 디옥세인 (dioxane)으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있으며, C_1-C_3 알킬기, 아미노기(-NR^3R^4)로 치환 또는 비치환 가능하다.

[0028] 본 발명의 일측면에서, R^1은 수소; 또는 -C(O)-(C_1-C_{13} 알킬)이고; R^2는 C_1-C_{13} 알킬기; C_6-C_{10} 아릴기; 또는 C_3-C_{10} 헤테로아릴기이고; 상기 C_1-C_{13} 알킬기는, 수소; 히드록시기; 할로겐기; C_1-C_{13} 알킬기; C_1-C_6 알콕시기; 아마이드기(-(C=O)NR^3R^4); C_6-C_{10} 아릴기; C_3-C_{10} 헤테로아릴기; 및 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기로 이루어진 군으로부터 선택되는 1 이상의 치환기를 포함하며, 상기 C_6-C_{10} 아릴기, C_3-C_{10} 헤테로아릴기 또는 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기는, 수소; 히드록시기; 할로겐기; 카보닐기(-(C=O)R^3R^4); 할로겐 또는 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기로 치환 또는 비치환된 C_1-C_3 알킬기; 할로겐 또는 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기로 치환 또는 비치환된 C_1-C_3 알콕시기; C_6-C_{10} 페녹시; 아미노기(-NR^3R^4); 아마이드기(-(C=O)NR^3R^4); C_6-C_{10} 아릴기; C_3-C_{10} 헤테로아릴기 및 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기로 이루어진 군에서 선택되는 1 이상의 치환기를 포함하고, 상기 R^3및 R^4은 수소; C_1-C_6 알킬기; C_1-C_6 알케닐기; C_1-C_6 알키닐기; C_6-C_{10} 아릴기; C_3-C_{10} 헤테로아릴기; 및 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기로 이루어진 군에서 선택되는 1 이상을 포함하며, 상기 C_3-C_{10} 헤테로아릴기 및 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기는 N, O, 및 S로 이루어지는 군에서 선택된 1종 이상의 헤테로원자를 포함하는, 피롤로[2,3-*d*]피리미딘-4-온 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 이의 수화물 또는 이의 입체 이성질체로부터 선택된 화합물을 제공한다.

[0029] 본 발명의 일측면에서, R^1은 수소 또는 -C(O)-(C_5-C_{10} 알킬)이고; R^2는 디페닐메탄, 디클로로벤젠, 니트로벤젠, 벤질 또는 할로겐치환벤질인; 피롤로[2,3-*d*]피리미딘-4-온 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 이의 수화물 또는 이의 입체 이성질체로부터 선택된 화합물을 제공한다.

[0030] 본 발명에서 치환기에 대한 정의에서, 용어 '알킬'은 지방족 탄화수소 래디칼을 의미한다. 알킬은 알케닐이나 알키닐 부위를 포함하지 않는 "포화 알킬 (saturated alkyl)" 이거나, 적어도 하나의 알케닐 또는 알키닐 부위를 포함하는 "불포화 알킬 (unsaturated alkyl)" 일 수 있다. "알케닐 (alkenyl)"은 적어도 하나의 탄소-탄소 이중결합을 포함하는 그룹을 의미하며, "알키닐 (alkynyl)"은 적어도 하나의 탄소-탄소 삼중 결합을 포함하는 그룹을 의미한다. 알킬은 단독으로 또는 조합하여 사용되는 경우에 각각 고리형, 분지형 또는 직쇄형일 수 있다.

[0031] 용어 '아릴'은 단독으로 또는 다른 래디칼과 조합하여, 방향족, 포화 또는 불포화될 수 있는 제2의 5 또는 6원성 카보사이클릭기와 추가로 융합된 수 있는, 탄소 원자 6개를 포함하는 카보사이클릭 방향족 단환식 기를 의미한다. 아릴의 예로는 페닐, 인다닐, 1-나프틸, 2-나프틸, 테프라히아드로나프틸 등을 포함할 수 있으나 이에 한정되지 않는다. 아릴은 방향족 고리 상의 적정 위치에서 다른 기와 연결될 수 있다.

[0032] 용어 '알콕시'는 산소 원자를 통해 다른 기에 연결된 알킬기 (즉, -O-알킬)를 의미한다. 알콕시기는 치환되지 않거나 하나 이상의 적절한 치환기로 치환될 수 있다. 알콕시기의 예로는 (C1-C6)알콕시기, 예컨대 -O-메틸, -O-에틸, -O-프로필, -O-이소프로필, -O-2-메틸-1-프로필, -O－2-메틸-2-프로필, -O－2-메틸-1-부틸, -O-3-메틸-1-부틸, -O-2-메틸-3-부틸, -O-2,2-디메틸-1-프로필, -O－2-메틸-1-펜틸, 3-O-메틸-1-펜틸, -O-4-메틸-1-펜틸, -O-2-메틸-2-펜틸, -O-3-메틸-2-펜틸, -O-4-메틸-2-펜틸, -O-2,2-디메틸-1-부틸, -O-3,3-디메틸-부틸, -O-2-에틸-1-부틸, -O-부틸, -O-이소부틸, -O-t-부틸, -O-펜틸, -O-이소펜틸, -O-네오펜틸 및 -O-헥실을 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0033] 용어 '페녹시'는 산소 원자를 통해 다른 기에 연결된 페닐기 (즉, -O-아릴)를 의미한다. 페녹시기는 치환되지 않거나 하나 이상의 할로젠; 알킬기; 아릴기 및 헤테로 아릴기로 치환될 수 있으나 이에 한정되지 않는다.

[0034] 용어 '아미노기'는 질소 원자를 통해 다른 기에 연결된 알킬기 (즉, -NH- 또는 -N-알킬)를 의미한다. 아민기는 치환되지 않거나 하나 이상의 적절한 치환기로 치환될 수 있다. 알콕시기의 예로는 아민기의 예로는 (C1-C6)아미노기, 예컨대 -NH-메틸, -NH-에틸, -NH-프로필, -NH-이소프로필, -NH-2-메틸-1-프로필, -NH－2-메틸-2-프로필, -NH－2-메틸-1-부틸, -NH-3-메틸-1-부틸, -NH-2-메틸-3-부틸, -NH-2,2-디메틸-1-프로필, -NH－2-메틸-1-펜틸, 3-NH-메틸-1-펜틸, -NH-4-메틸-1-펜틸, -NH-2-메틸-2-펜틸, -NH-3-메틸-2-펜틸, -NH-4-메틸-2-펜틸, -NH-2,2-디메틸-1-부틸, -NH-3,3-디메틸-부틸, -NH-2-에틸-1-부틸, -NH-부틸, -NH-이소부틸, -NH-t-부틸, -NH-펜틸, -NH-이소펜틸, -NH-네오펜틸, -NH-헥실, -N,N-디메틸, -N-메틸-N-에틸, -N-메틸-N-프로필, -N-메틸-이소프로필, -N-메틸-N-부틸, -N-메틸-N-이소부틸, -N-메틸-N-펜틸, -N-메틸-N-이소펜틸, N-메틸-N-헥실, N-메틸-N-이소헥실, -N,N-디에틸, -N-에틸-N-프로필, -N-에틸-N-이소프로필, -N-에틸-N-부틸, -N-에틸-N-이소부틸,

-N-에틸-N-펜틸, -N-에틸-N-이소펜틸, -N-에틸-N-헥실, , -N-에틸-N-이소헥실, -N,N-디프로필, -N-프로필-N-이소프로필, -N-프로필-N-부틸, -N-프로필-N-이소부틸, -N-프로필-N-펜틸, -N-프로필-N-이소펜틸, -N-프로필-N-헥실, -N-프로필-N-이소헥실, -N,N-디부틸, -N-부틸-N-이소부틸, -N-부틸-N-펜틸, -N-부틸-N-이소펜틸, -N-부틸-N-헥실, -N-부틸-N-이소헥실, -N,N-디펜틸, -N-펜틸-N-헥실, -N-펜틸-N-이소헥실, -N,N-디헥실을 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

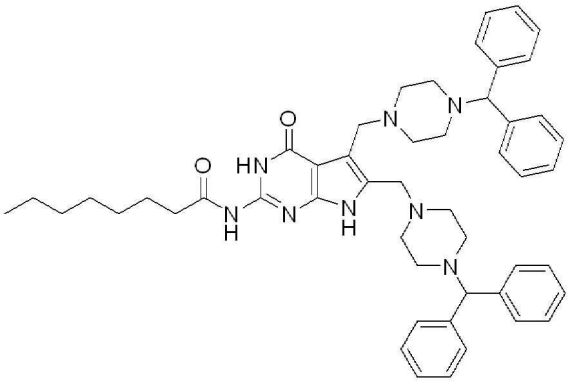
[0035] 용어 '할로겐기'는 불소, 염소, 브롬 또는 요오드를 의미한다.

[0036] 용어 '헤테로사이클기'는 다른 언급이 없으면, N, O, 및 S로 구성된 군으로부터 선택된 1 종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 헤테로방향족 화합물을 의미한다. 바람직하게는, 상기 헤테로사이클릴기는 피롤리딘, 퓨란기, 몰폴린기, 피페라진 및 피페리딘기를 포함할 수 있고, 더욱 바람직하게는 피롤리딘기, 피페리딘기, 피페라진기, 및 몰포린기를 포함할수 있으나 이에 한정되지 않는다.

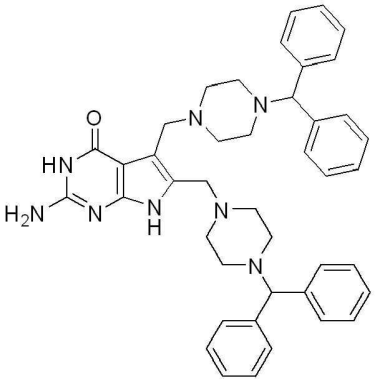
[0037] 용어 '헤테로아릴기'은 다른 언급이 없으면, N, O, 및 S로 구성된 군으로부터 선택된 1 종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 헤테로방향족 화합물을 의미한다. 바람직하게는 상기 헤테로아릴기는, 피리딘기, 피라진기, 피리미딘기, 피리다진기, 피라졸기, 이미다졸기, 트리아졸기, 인돌기, 옥사디아졸기, 싸이아디아졸기, 퀴놀린, 이소퀴놀린기, 아이속사졸기, 옥사졸기, 싸이아졸기롤기, 피롤기를 포함할 수 있으나 이에 한정되지 않는다.

[0038] 본 발명에 따른 화합물로서 바람직한 화합물의 구체적인 예는 다음과 같다:

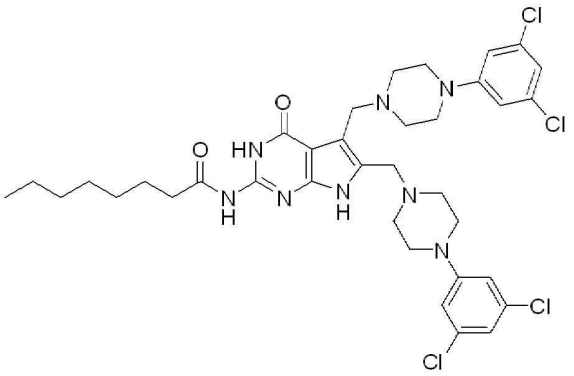
[0040] [화합물 번호 1: *N*-(5,6-비스((4-벤즈하이드릴피페라진-1-일)메틸)-4-옥소-4,7-디하이드로-3*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-2-일)옥탄아마이드];

[0041] 

[0043] [화합물 번호 2: 2-아미노-5,6-비스((4-벤즈하이드릴피페라진-1-일)메틸)-3,7-디하이드로-4*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-4-온];

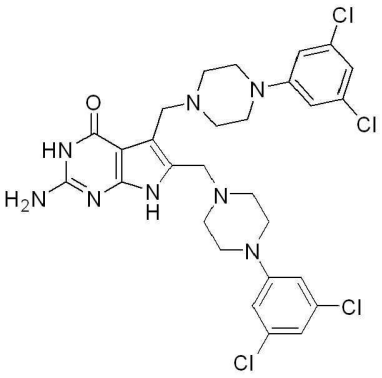
[0044] 

[0046] [화합물 번호 3: *N*-(5,6-비스((4-(3,5-디클로로페닐)피페라진-1-일)메틸)-4-옥소-4,7-디하이드로-3*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-2-일)옥탄아마이드];



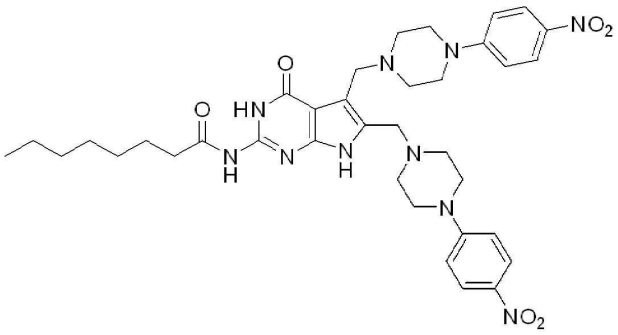
[0047]

[0049] [화합물 번호 4: 2-아미노-5,6-비스((4-(3,5-디클로로페닐)피페라진-1-일)메틸)-3,7-디하이드로-4*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-4-온];



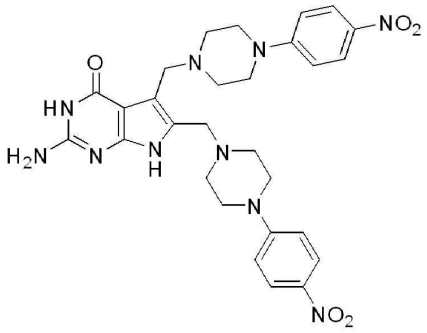
[0050]

[0052] [화합물 번호 5: *N*-(5,6-비스((4-(4-나이트로페닐)피페라진-1-일)메틸)-4-옥소-4,7-디하이드로-3*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-2-일)옥탄아마이드];



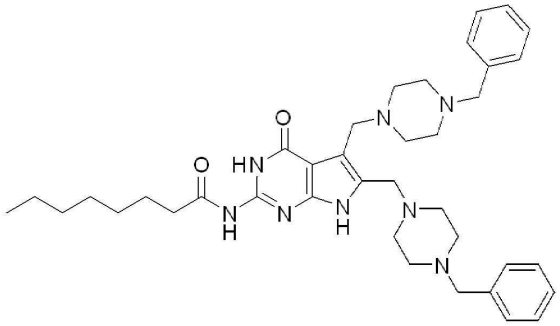
[0053]

[0055] [화합물 번호 6: 2-아미노-5,6-비스((4-(4-나이트로페닐)피페라진-1-일)메틸)-3,7-디하이드로-4*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-4-온];



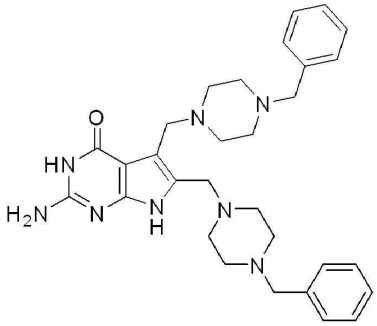
[0056]

[0058] [화합물 번호 7: *N*-(5,6-비스((4-벤질피페라진-1-일)메틸)-4-옥소-4,7-디하이드로-3*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-2-일)옥탄아마이드];



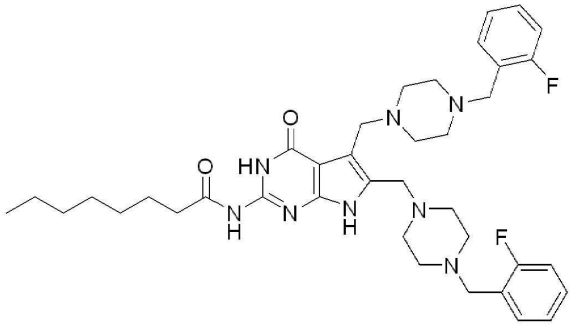
[0059]

[0061] [화합물 번호 8: 2-아미노-5,6-비스((4-벤질피페라진-1-일)메틸)-3,7-디하이드로-4*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-4-온];



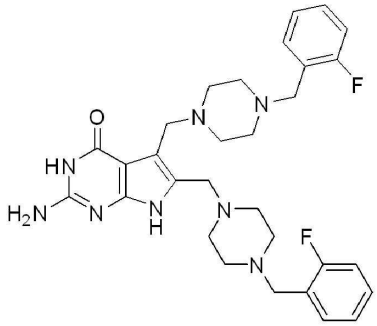
[0062]

[0064] [화합물 번호 9: *N*-(5,6-비스((4-(2-플루오로벤질)피페라진-1-일)메틸)-4-옥소-4,7-디하이드로-3*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-2-일)옥탄아마이드];

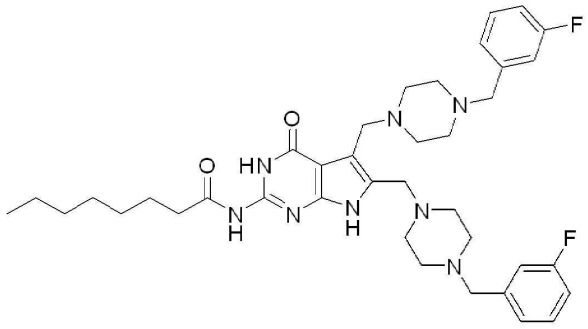


[0065]

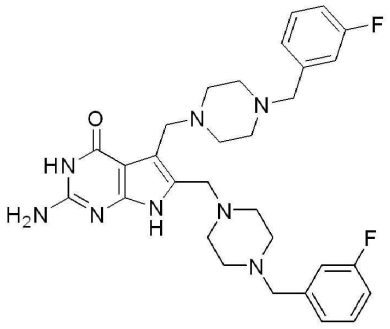
[0067] [화합물 번호 10: 2-아미노-5,6-비스((4-(2-플루오로벤질)피페라진-1-일)메틸)-3,7-디하이드로-4*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-4-온];

[0068] 

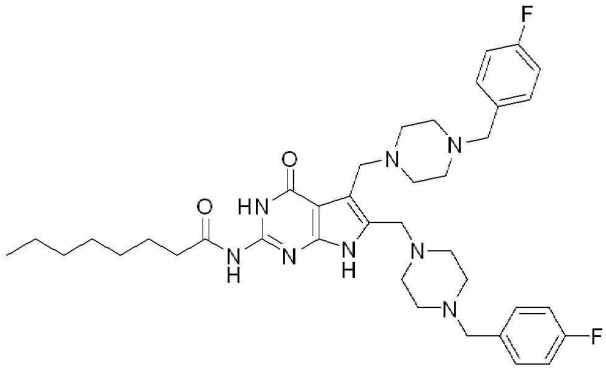
[0070] [화합물 번호 11: *N*-(5,6-비스((4-(3-플루오로벤질)피페라진-1-일)메틸)-4-옥소-4,7-디하이드로-3*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-2-일)옥탄아마이드];

[0071] 

[0073] [화합물 번호 12: 2-아미노-5,6-비스((4-(3-플루오로벤질)피페라진-1-일)메틸)-3,7-디하이드로-4*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-4-온];

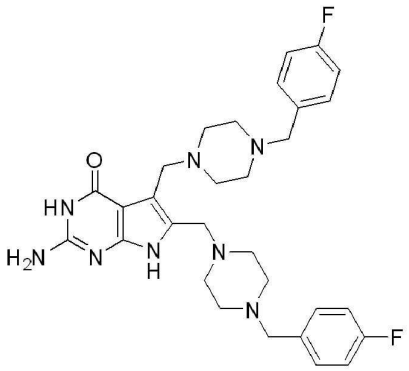
[0074] 

[0076] [화합물 번호 13: *N*-(5,6-비스((4-(4-플루오로벤질)피페라진-1-일)메틸)-4-옥소-4,7-디하이드로-3*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-2-일)옥탄아마이드]; 및



[0077]

[0079] [화합물 번호 14: 2-아미노-5,6-비스((4-(4-플루오로벤질)피페라진-1-일)메틸)-3,7-디하이드로-4*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-4-온].



[0080]

[0082] 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물은 무기산 또는 유기산으로부터 유도된 약학적으로 허용 가능한 염의 형태로 사용될 수 있으며, 바람직한 염으로는 염산, 브롬화수소산, 황산, 인산, 질산, 아세트산, 글리콜산, 락트산, 피루브산, 말론산, 석신산, 글루타르산, 푸마르산, 말산, 만델산, 타타르산, 시트르산, 아스코빈산, 팔미트산, 말레인산, 하이드록시말레인산, 벤조산, 하이드록시벤조산, 페닐아세트산, 신남산, 살리실산, 메탄설폰산, 벤젠설폰산 및 톨루엔설폰산으로 구성된 군에서 선택되는 하나 이상일 수 있다.

[0083] 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염은 수화물 및 용매화물을 포함할 수 있다. 상기 수화물은 화학식 1의 화합물이 물 분자와 결합하여 형성된 것을 의미할 수 있다.

[0084] 본 발명의 다른 측면은 활성성분으로서 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물, 이의 약학적으로 허용가능한 염, 이의 수화물 또는 이의 입체 이성질체로부터 선택된 화합물을 포함하는, 암의 예방, 경감 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0085] 바람직하게는, 상기 암은 단백질 키나아제에 의해 매개되어 유발되는 것을 특징으로 하고, 더욱 바람직하게는 상기 단백질 키나아제는 FGFR4, FMS, IGF1R, LYN, TIE2/TEK, 및 TrkA으로부터 1 이상 선택되는 것일 수 있다.

[0086] 상기 약학 조성물은 마우스, 토끼, 랫트, 기니피그, 또는 햄스터와 같은 실험 동물 또는 인간을 포함한 영장류 등에 적용될 수 있으나 이에 제한되지 않으며, 바람직하게는 인간을 포함한 영장류, 더욱 바람직하게는 인간에 적용될 수 있다.

[0087] 본 명세서에서, '치료'는 증상의 경감 또는 개선, 질환의 범위의 감소, 질환 진행의 지연 또는 완화, 질환 상태의 개선, 경감 또는 안정화, 부분적 또는 완전한 회복, 생존의 연장 기타 다른 이로운 치료 결과 등을 모두 포함하는 의미로 사용될 수 있다.

[0088] 또한 본 명세서에서 암의 치료는 모든 암세포에 대한 치료를 의미하며, 암이란, 내피 세포의 혈관신생 및 이의 유사분열 (고형 종양, 종양 전이 및 양성 종양)도 포함한다. 예를 들어, 암이란 유방암, 난소암, 자궁경부암, 전립선암, 정소암, 비뇨생식기관 암, 식도암, 후두암, 교모세포종, 위암, 피부암, 각질극세포종, 폐암, 편평세포암종, 대세포 암종, 소세포 암종, 폐선암, 골암, 결장암, 선종, 췌장암, 선암종, 갑산성암, 여포상선암, 미분

화암, 유두암, 정상피종, 흑색종, 육종, 방광암, 간암 및 담즙관암, 신장암, 골수성 질환, 림프성 질환, 호지킨병, 모발세포암, 구강암, 인두(구두)암, 구순암, 설암, 소장암, 결장-직장암, 대장암, 직장암, 뇌암, 중추신경계암, 백혈병, 혈관종, 트라코마 또는 화농성 육가종을 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0089] 본 발명의 약학 조성물의 사용태양 및 사용방법에 따라 유효성분인 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 또는 수화물의 함량은 당업자의 선택에 따라 적절히 조절하여 사용될 수 있다.

[0090] 일예로, 상기 약학 조성물은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 또는 수화물을 전체 조성물의 총 중량에 대하여 0.1 내지 10 중량%, 더욱 바람직하게는 0.5 내지 5 중량%의 양으로 포함할 수 있다.

[0091] 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 또는 수화물은 상기 약학 조성물 내에 단독으로 포함될 수 있으며, 또는 그 외 약리학적으로 허용 가능한 담체, 부형제, 희석제 또는 부성분과 함께 포함될 수도 있다.

[0092] 상기 약학적으로 허용되는 담체, 부형제 또는 희석제의 예로는, 락토즈, 덱스트로즈, 수크로즈, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로즈, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸하이드록시벤조에이트, 프로필하이드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유, 프로필하이드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유, 덱스트린, 칼슘카보네이트, 프로필렌글리콜, 리퀴드 파라핀 및 생리식염수로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 들 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니며 통상의 담체, 부형제 또는 희석제 모두 사용 가능하다. 또한, 상기 약학 조성물은 통상의 충진제, 증량제, 결합제, 붕해제, 항응집제, 윤활제, 습윤제, pH 조절제, 영양제, 비타민, 전해질, 알긴산 및 그의 염, 펙트산 및 그의 염, 보호성 콜로라이드, 글리세린, 향료, 유화제 또는 방부제 등을 추가로 포함할 수 있다.

[0093] 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염은, 암 또는 종양을 치료하기 위한 다른 항암제와 함께 병용 투여함으로써 항암제의 치료효과를 강화시킬 수 있다.

[0094] 구체적으로, 상기 약학 조성물은 상기 유효성분 이외에도 암의 치료 또는 예방에 유효한 것으로 공지된 1종 이상의 다른 항암제 또는 기타 치료제를 더욱 포함하여 동시 또는 이시에 적용되는 병용 요법으로 사용할 수 있다. 상기 병용 요법에 적용 될 수 있는 다른 항암제 또는 기타 치료제는 는 예를 들어, 글리벡 (Gleevec®, imatinib), 수텐트 (Sutent®, sunitinib), 허셉틴 (Herceptin®, Trastuzumab), 벌케이드 (Velcade®, Bortezomib), 덱사메타손 (dexamethasone), 넥사바 (Nexavar®, Sorafenib), 아로마타제 저해제 또는 키나아제 저해제로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 화합물을 포함할 수 있으나 이에 한정되지는 않는다.

[0095] 상기 약학 조성물의 투여방법은 경구 또는 비경구 모두 가능하며, 일 예로는 경구, 경피, 피하, 정맥 또는 근육을 포함한 여러 경로를 통해 투여될 수 있다. 또한, 상기 조성물의 제형은 사용방법에 따라 달라질 수 있으며, 포유동물에 투여된 후 활성 성분의 신속, 지속 또는 지연된 방출을 제공할 수 있도록 본 발명이 속하는 기술분야에 잘 알려진 방법을 사용하여 제형화될 수 있다. 일반적으로는, 경구 투여를 위한 고형제제에는 정제(TABLETS), 알약, 연질 또는 경질 캅셀제(CAPSULES), 환제(PILLS), 산제(POWDERS) 및 과립제(GRANULES) 등이 포함되고, 이러한 제제는 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제될 수 있다. 또한, 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용될 수 있다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제(SUSTESIONS), 내용액제, 유제(EMULSIONS) 및 시럽제(SYRUPS) 등이 해당되는데, 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제 예를 들면, 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구투여를 위한 형태는 크림(CREAM), 로션제(LOTIONS), 연고제(ONITMENTS), 경고제(PLASTERS), 액제(LIQUIDS AND SOULTIONS), 에어로솔제(AEROSOLS), 유동엑스제(FRUIDEXTRACTS), 엘릭서(ELIXIR), 침제(INFUSIONS), 향낭(SACHET), 패취제(PATCH) 또는 주사제(INJECTIONS) 등의 형태일 수 있으며, 주사용 제형이 될 경우 바람직하게는 등장성 수용액 또는 현탁액의 형태가 될 수 있다.

[0096] 상기 약학 조성물은 멸균제, 방부제, 안정화제, 수화제 또는 유화 촉진제, 삼투압 조절을 위한 염 및/또는 완충제 등의 보조제와, 기타 치료학적으로 유용한 물질을 더 함유할 수 있으며, 통상적인 혼합, 과립화 또는 코팅방법에 따라 제제화할 수 있으며, 이외에도 당해 기술 분야의 공지된 적절한 방법을 사용하여 제형화할 수 있다.

[0097] 또한, 상기 약학 조성물의 투여량은 투여방법, 복용자의 연령, 성별, 환자의 중증도, 상태, 체내에서 활성 성분의 흡수도, 불활성율 및 병용되는 약물을 고려하여 결정할 수 있으며, 1회 또는 수회로 나누어 투여할 수 있

다. 약학 조성물의 유효성분으로서 바람직하게는 사람을 비롯한 포유류에게 1일 기준으로 0.001 내지 100 ㎎/㎏ 체중, 바람직하게는 0.01 내지 35 ㎎/㎏ 체중의 양으로, 1일 1회 또는 분할하여 경구 또는 비경구 경로로 투여될 수 있다.

[0098] 본 발명의 또 다른 일 구현예는, 하기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 또는 수화물을 치료학적 유효량으로 투여하는 단계를 포함하는, 암의 치료방법을 제공한다.

[0099] 바람직하게는 상기 치료방법은 상기 투여 단계 이전에 상기 암의 예방 또는 치료를 필요로 하는 환자를 확인하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.

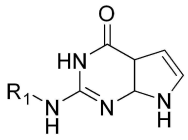
[0100] 본 발명의 "치료학적 유효량"은 암의 예방 또는 치료에 효과적인, 포유류에 대한 유효 성분의 양을 의미하며, 상기 치료학적 유효량은 질환의 종류, 질환의 중증도, 조성물에 함유된 유효 성분 및 다른 성분의 종류 및 함량, 제형의 종류 및 환자의 연령, 체중, 일반 건강 상태, 성별 및 식이, 투여 시간, 투여 경로 및 조성물의 혈중 청소율, 치료 기간, 동시 사용되는 약물을 비롯한 다양한 인자에 따라 조절될 수 있으나, 바람직하게는 상술한 바와 같이, 1일 기준으로 0.001 내지 100 ㎎/㎏ 체중, 바람직하게는 0.01 내지 35 ㎎/㎏ 체중의 양으로, 1일 1회 또는 분할하여 경구 또는 비경구 경로로 투여할 수 있다.

[0101] 또한, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 피롤로[2,3-*d*]피리미딘-4-온 유도체 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 수화물의 제조방법에 관한 것이다.

[0103] **제조방법 1: 화학식 1의 피롤로[2,3-*d*]피리미딘-4-온 유도체 제조**

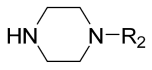
[0104] 하기 예시된 바와 같이, 화학식 1의 피롤로[2,3-*d*]피리미딘-4-온 유도체, 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 수화물의 제조방법은 하기 화학식 2와 화학식 3의 화합물을 반응시키는 단계를 포함할 수 있다.

[0105] [화학식 2]

[0106] 

[0107] 상기 화학식 2에서, R^1은 수소; C_1-C_{13} 알킬기; C_6-C_{10} 아릴기; C_3-C_{10} 헤테로아릴기; 또는 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기이다.

[0109] [화학식 3]

[0110] 

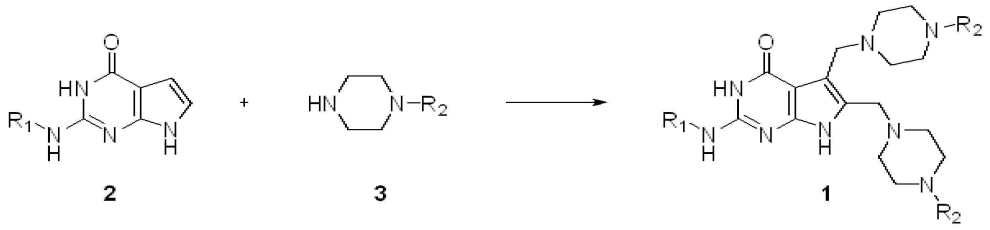
[0111] 상기 화학식 3에서,

[0112] R^2는 수소; C_1-C_{13} 알킬기; C_6-C_{10} 아릴기; C_3-C_{10} 헤테로아릴기; C_3-C_{10} 또는 헤테로사이클릴기이다.

[0113] 상기 C_1-C_{13} 알킬기는, 수소; 히드록시기; 할로겐기; C_1-C_{13} 알킬기; C_1-C_6 알콕시기; 아마이드기(-(C=O)NR^3R^4); C_6-C_{10} 아릴기; C_3-C_{10} 헤테로아릴기; 및 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기로 이루어진 군으로부터 선택되는 1 이상의 치환기를 포함하며; 상기 C_6-C_{10} 아릴기, C_3-C_{10} 헤테로아릴기 또는 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기는, 수소; 히드록시기; 할로겐기; 카보닐기(-(C=O)R^3R^4); 할로겐 또는 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기로 치환 또는 비치환된 C_1-C_3 알킬기; 할로겐 또는 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기로 치환 또는 비치환된 C_1-C_3 알콕시기; C_6-C_{10} 페녹시; 아미노기(-NR^3R^4); 아마이드기(-(C=O)NR^3R^4); C_6-C_{10} 아릴기; C_3-C_{10} 헤테로아릴기 및 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기로 이루어진 군에서 선택되는 1 이상의 치환기를 포함하고; 상기 R^3및 R^4는 수소; C_1-C_6 알킬기; C_1-C_6 알케닐기; C_1-C_6 알키닐기; C_6-C_{10} 아

릴기; C_3-C_{10} 헤테로아릴기; 및 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기로 이루어진 군에서 선택되는 1 이상을 포함하고, 상기 C_3-C_{10} 헤테로아릴기 및 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기는 N, O, 및 S로 이루어지는 군에서 선택된 1종 이상의 헤테로원자를 포함한다.

[0116] [반응식 1]

[0118] 

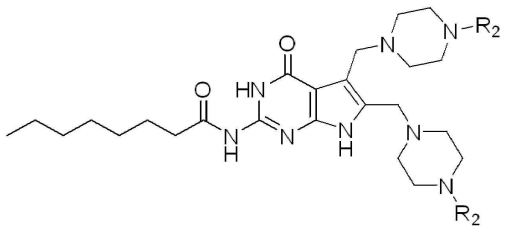
[0120] 상기 반응식 1의 제조 방법은 상기 화학식 2의 메틸렌(C_5=C_6)과 화학식 3의 NH의 만니히 반응 (미국등록특허 US 4,571,423, Akimoto, Hiroshi et al. *Journal of the Chemical Society*, Perkin Transactions 1: *Organic and Bio-Organic Chemistry* (1972-1999), (7), 1637-44; 1988)으로 수행할 수 있다.

[0121] 상기 화학식 2의 화합물은 다음 참고문헌 (국제 특허 출원 공개 WO 2016-050804)과 같이 2-아미노-3,7-디하이드로-4*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-4-온을 이용하여 아마이드 합성 반응으로 제조할 수 있다.

[0123] **제조방법 2: 화학식 1-2의 피롤로[2,3-*d*]피리미딘-4-온 유도체 제조**

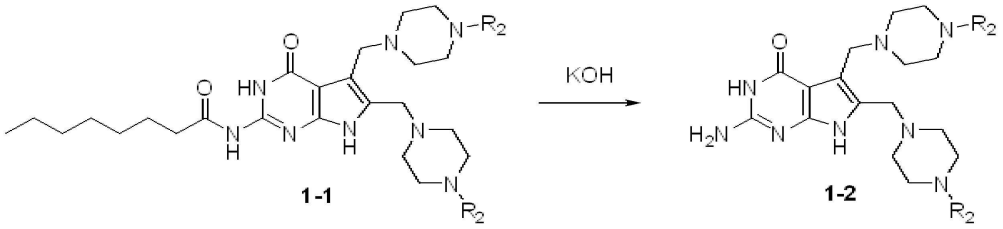
[0125] 또 다른 제조방법으로, 하기 예시된 바와 같이, 화학식 1-2의 피롤로[2,3-*d*]피리미딘-4-온 유도체, 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 수화물의 제조방법은 하기 화학식 1-1과 수산화칼륨을 반응시키는 단계를 포함할 수 있다.

[0127] [화학식 1-1]

[0129] 

[0131] 상기 화학식 1-1의 화합물과 수산화칼륨을 반응시키는 단계는 하기 반응식 2의 방법으로 수행할 수 있다.

[0133] [반응식 2]

[0135] 

[0137] 상기 반응식 2에서

[0138] 상기 화학식 1-1에서, R^2는 수소; C_1-C_{13} 알킬기; C_6-C_{10} 아릴기; C_3-C_{10} 헤테로아릴기; C_3-C_{10} 또는 헤테로사이클릴기이다.

[0139] 상기 C_1-C_{13} 알킬기는, 수소; 히드록시기; 할로겐기; C_1-C_{13} 알킬기; C_1-C_6 알콕시기; 아마이드기(-(C=O)NR^3R^4); C_6-C_{10} 아릴기; C_3-C_{10} 헤테로아릴기; 및 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기로 이루어진 군으로부터 선택되는 1 이상의 치환기를 포함하며; 상기 C_6-C_{10} 아릴기, C_3-C_{10} 헤테로아릴기 또는 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기는, 수소; 히드록시기; 할로겐기; 카보닐기(-(C=O)R^3R^4); 할로겐 또는 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기로 치환 또는 비치환된 C_1-C_3 알킬기; 할로겐 또는 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기로 치환 또는 비치환된 C_1-C_3 알콕시기; C_6-C_{10} 페녹시; 아미노기(-NR^3R^4); 아마이드기(-(C=O)NR^3R^4); C_6-C_{10} 아릴기; C_3-C_{10} 헤테로아릴기 및 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기로 이루어진 군에서 선택되는 1 이상의 치환기를 포함하고; 상기 R^3및 R^4는 수소; C_1-C_6 알킬기; C_1-C_6 알케닐기; C_1-C_6 알키닐기; C_6-C_{10} 아릴기; C_3-C_{10} 헤테로아릴기; 및 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기로 이루어진 군에서 선택되는 1 이상을 포함하고, 상기 C_3-C_{10} 헤테로아릴기 및 C_3-C_{10} 헤테로사이클릴기는 N, O, 및 S로 이루어지는 군에서 선택된 1종 이상의 헤테로원자를 포함한다.

[0141] 반응식 2의 제조 방법은 상기 화학식 1-1과 KOH의 가수분해 반응 (국제 특허 출원 공개 WO 2016-050804)으로 수행할 수 있다.

[0142] 상기 화학식 1-1의 화합물의 제조 방법은 다음 참고자료와 같은 방법으로 제조 할 수 있다: 미국등록특허 US 4571423.

발명의 효과

[0144] 본 발명의 피롤로[2,3-*d*]피리미딘-4-온 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 또는 수화물 및 이를 유효성분으로 포함하는 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물은 낮은 세포독성을 보이면서 암 세포에 대하여 선택적으로 높은 억제 활성 및 항증식 효과를 나타내므로, 암의 예방 또는 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

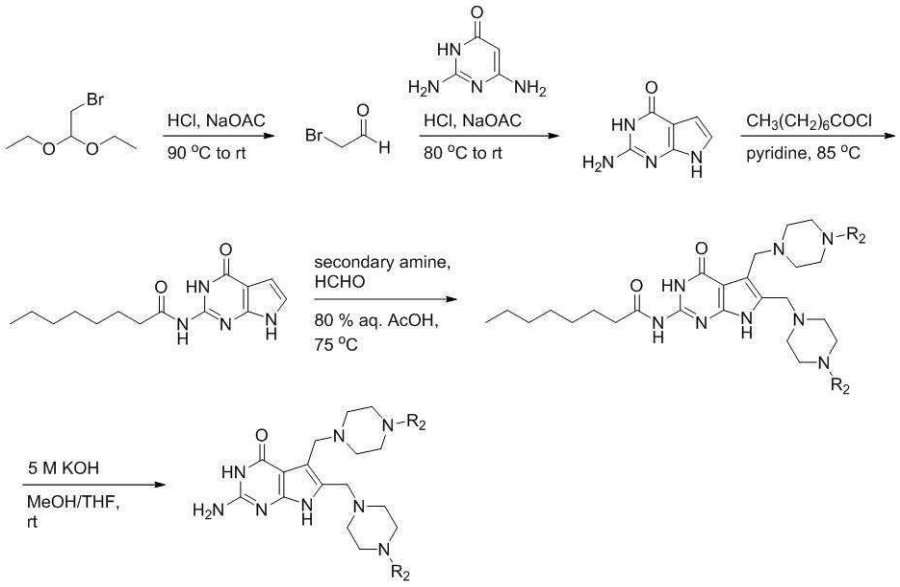
발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0146] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

[0147] **[실시예]**

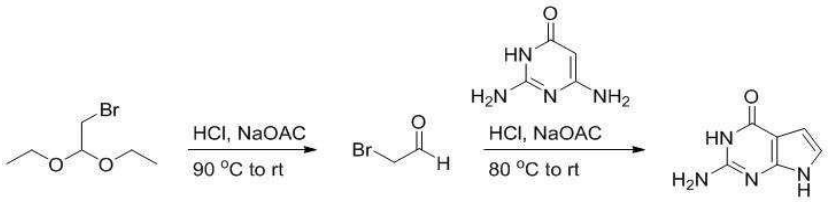
[0149] 실시예 1: N-(5,6-비스((4-벤즈하이드릴피페라진-1-일)메틸)-4-옥소-4,7-디하이드로-3H-피롤로[2,3-d]피리미딘-2-일)옥탄아마이드 (화합물 1)의 제조

[0151] [전체 반응식 1]



[0152]

[0154] 단계 (1) 2-아미노-3,7-디하이드로-4*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-4-온의 제조

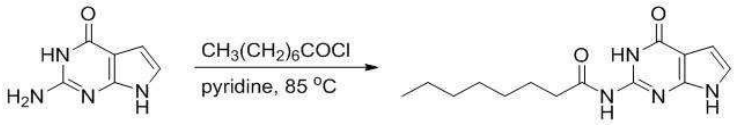


[0155]

[0156] 아르곤 대기 하에서 브로모아세트알데하이드 디에틸아세탈 (10.4 mL, 69.0 mmol)을 물 (35 mL) 용매에 녹인 후 염산 (1.5 mL, 150.6 mmol)을 반응물에 적가한 후, 90° C에서 30분 동안 교반하였다. 반응 용액을 상온으로 식혀준 후 아세트산나트륨 (6.8 g, 82.8 mmol)을 넣었으며, 이 반응 혼합액을 아르곤 대기 하에 물 (75 mL) 용매에 있는 2,6-디아미노-4-피리미디논 (10.0 g, 79.3 mmol)과 아세트산나트륨 (3.5 g, 42.8 mmol) 반응 용액에 천천히 적가하였다. 반응 용액을 80° C에서 2시간 동안 교반한 후, 0° C에서 1시간 30분 동안 더 교반하였으며, 반응의 완결을 TLC (디클로로메탄:메탄올 = 10:1)로 확인하였다. 생성된 침천물을 차가운 물과 아세톤으로 여과하여 목적 화합물 (11.9 g, quant. 수율)을 얻었다.

[0157] ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 10.97 (s, 1H), 10.23 (s, 1H), 6.616.60 (m, 1H), 6.186.17 (m, 1H), 6.05 (s, 2H).

[0159] 단계 (2) *N*-(4-옥소-4,7-디하이드로-3*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-2-일)옥탄아마이드의 제조



[0160]

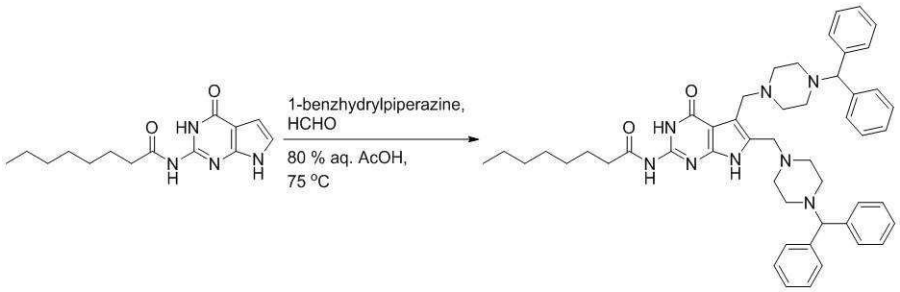
[0161] 아르곤 대기 하에서 상기 단계 (1)에서 제조한 2-아미노-3,7-디하이드로-4*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-4-온 (20.0 g, 133.2 mmol)을 피리딘 (133 mL) 용매에 녹인 후 옥타노일 클로라이드 (68.2 mL, 399.6 mmol)를 0° C에서 적

가하였으며, 반응 용액을 85° C에서 30분 동안 교반하였다. 반응의 완결을 TLC (디클로로메탄:메탄올 = 10:1)로 확인하였으며, 반응 혼합액을 상온으로 식혀준 후 0° C에서 에탄올에 녹아있는 6.5% 암모니아수 (400 mL)로 중화시켜 상온에서 11 시간 동안 교반하였다. 생성된 침전물을 에탄올과 에테르로 여과하여 목적 화합물 (17.4 g, 75% 수율)을 얻었다.

[0162] ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.75 (s, 1H), 11.66 (s, 1H), 11.36 (s, 1H), 6.95 (s, 1H), 6.41 (s, 1H), 2.44(t, J = 7.4 Hz, 2H), 1.59 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 1.28 (s, 8H), 0.87 (t, J = 6.3 Hz, 3H);

[0163] ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO-d_6) δ 176.4, 157.3, 148.3, 146.6, 120.0, 104.2, 102.7, 36.4, 31.6, 28.9, 24.9, 22.5, 14.4.

[0165] 단계 (3) *N*-(5,6-비스((4-벤즈하이드릴피페라진-1-일)메틸)-4-옥소-4,7-디하이드로-3*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-2-일)옥탄아마이드의 제조

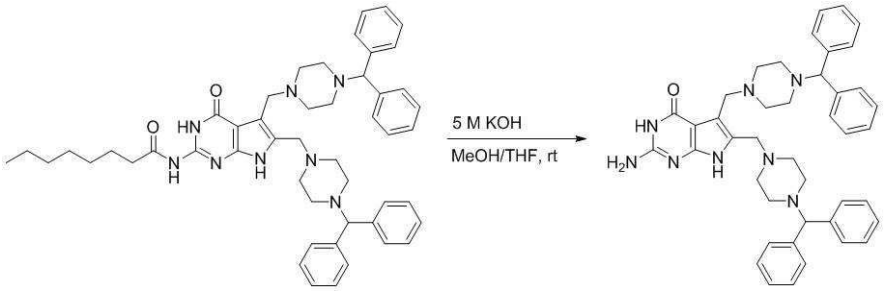
[0166] 

[0168] 아르곤 대기 하에서 상기 단계 (2)에서 제조한 *N*-(4-옥소-4,7-디하이드로-3*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-2-일)옥탄아마이드 (1.27 g, 4.60 mmol)을 80% 아세트산 (18 mL) 용매에 녹인 후 37% 포말린 (0.68 mL, 9.19 mmol)과 1-벤즈하이드릴피페라진 (2.32 g, 9.19 mmol)을 반응물에 적가하였다. 반응 용액을 75° C에서 24시간 동안 교반하였으며, 0.5 M 염산 용액 (24 mL)을 적가한 후 30분 동안 상온에서 교반하였다. 반응의 완결을 TLC (디클로로메탄:메탄올 = 10:1)로 확인하였으며, 암모니아수 (45 mL)로 중화시킨 후 디클로로메탄 (50 mL X 3)으로 추출하였다. 추출한 유기 용매 층을 염화나트륨 포화용액 (150 mL)으로 다시 세척한 후 유기 용매 층을 무수 황산나트륨으로 건조시키고 여과 및 감압 농축하여 용매를 제거하였다. 농축액을 칼럼 크로마토그래피 (디클로로메탄:메탄올 = 15:1, 10:1)로 분리 정제하여 목적 화합물 (388 mg, 10% 수율)을 얻었다.

[0169] ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 11.62 (bs, 1H), 11.50 (s, 1H), 11.33 (bs, 1H), 7.38 (t, J = 7.5 Hz, 8H), 7.30-7.23 (m, 8H), 7.20-7.12 (m, 4H), 4.23 (s, 1H), 4.15 (s, 1H), 3.66 (s, 2H), 3.47 (s, 2H), 2.41 (t, J = 6.7 Hz, 10H), 2.27 (bs, 7H), 1.55 (t, J = 6.3 Hz, 2H), 1.24 (s, 8H), 0.84 (t, J = 6.1 Hz, 3H);

[0170] ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO-d_6) δ 176.4, 157.5, 147.4, 146.3, 143.5, 143.4, 128.9, 128.8, 128.0, 127.3, 127.2, 113.2, 104.0, 75.8, 75.5, 53.2, 52.5, 52.1, 51.8, 50.9, 36.3, 31.5, 28.8, 25.0, 22.5, 14.4.

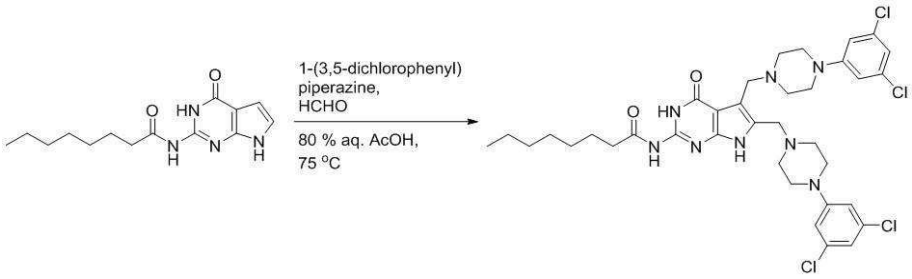
[0172] 실시예 2. 2-아미노-5,6-비스((4-벤즈하이드릴피페라진-1-일)메틸)-3,7-디하이드로-4*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-4-온 (화합물 2)의 제조



[0173]

[0174] 실시예 1에서 제조한 *N*-(5,6-비스((4-벤즈하이드릴피페라진-1-일)메틸)-4-옥소-4,7-디하이드로-3*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-2-일)옥탄아마이드 (159 mg, 0.20 mmol)을 메탄올/테트라히드로퓨란 (1/1, 1.0 mL) 용매에 녹인 후 5 M 수산화칼륨 (9.9 μL) 용액을 적가하였다. 반응 혼합액을 3일 동안 상온에서 교반하였으며, 반응의 완결을 TLC (디클로로메탄:메탄올 = 10:1)로 확인하였다. 반응 용액을 감압 농축하여 용매를 제거한 후 농축액을 칼럼 크로마토그래피 (디클로로메탄:메탄올:물:암모니아수 = 80:16:1:1)로 분리 정제하여 목적 화합물 (124 mg, 92% 수율)을 얻었다.

[0176] 실시예 3. *N*-(5,6-비스((4-(3,5-디클로로페닐)피페라진-1-일)메틸)-4-옥소-4,7-디하이드로-3*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-2-일)옥탄아마이드 (화합물 3)의 제조



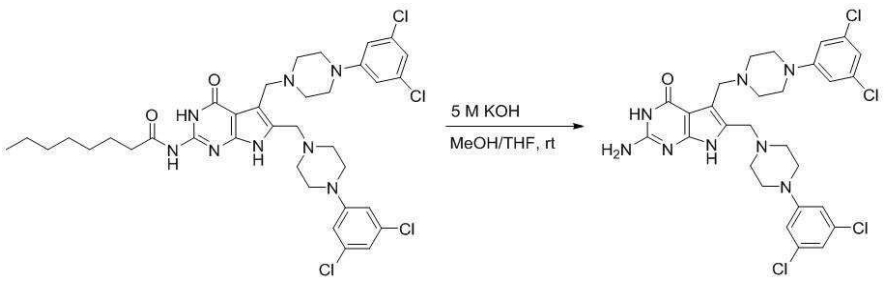
[0177]

[0178] 실시예 1의 단계 (3)과 같은 방법으로 실시예 1의 단계 (2)에서 제조한 *N*-(4-옥소-4,7-디하이드로-3*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-2-일)옥탄아마이드 (1.38 g, 4.99 mmol), 37% 포말린 (0.74 mL, 9.97 mmol)과 1-(3,5-디클로로페닐)피페라진 (2.30 g, 9.97 mmol)으로부터 목적 화합물 (1.28 g, 34% 수율)을 얻었다.

[0179] ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 11.67 (s, 1H), 11.63 (s, 1H), 11.36 (s, 1H), 6.90 (d, J = 8.5 Hz, 4H), 6.82 (d, J = 6.2 Hz, 2H), 3.73 (s, 2H), 3.57 (s, 2H), 3.22 (s, 4H), 3.16 (s, 4H), 2.43 (t, J = 7.3 Hz, 2H), 1.58 (t, J = 6.6 Hz, 2H), 1.26 (s, 8H), 0.86 (t, J = 6.3 Hz, 3H);

[0180] ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO-d_6) δ 176.4, 157.5, 153.14, 153.10, 147.6, 146.5, 135.1, 135.0, 128.8, 117.3, 117.2, 113.42, 113.40, 104.0, 52.6, 52.1, 51.0, 47.7, 47.6, 36.3, 31.6, 28.8, 25.0, 22.5, 14.4.

[0182] 실시예 4. 2-아미노-5,6-비스((4-(3,5-디클로로페닐)피페라진-1-일)메틸)-3,7-디하이드로-4*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-4-온 (화합물 4)의 제조

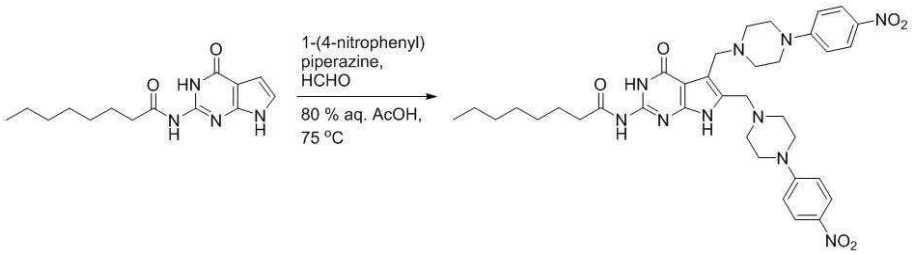


[0183]

[0185] 실시예 2와 같은 방법으로 실시예 3에서 제조한 *N*-(5,6-비스((4-(3,5-디클로로페닐)피페라진-1-일)메틸)-4-옥소-4,7-디하이드로-3*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-2-일)옥탄아마이드 (1.00 g, 1.32 mmol)과 5M 수산화칼륨 (97 μL) 용액으로부터 목적 화합물 (772 mg, 63% 수율)을 얻었다.

[0186] ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 10.99 (bs, 1H), 10.95 (s, 1H), 6.91-6.89 (m, 4H), 6.82 (s, 2H), 6.06 (s, 2H), 3.70 (s, 2H), 3.48 (s, 2H), 3.19 (s, 8H), 2.50 (s, 8H); ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO-d_6) δ 159.6, 153.1, 152.7, 150.9, 135.1, 125.8, 117.3, 117.2, 113.4, 111.9, 100.1, 52.5, 52.0, 51.2, 47.6.

[0188] 실시예 5. *N*-(5,6-비스((4-(4-나이트로페닐)피페라진-1-일)메틸)-4-옥소-4,7-디하이드로-3*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-2-일)옥탄아마이드 (화합물 5)의 제조



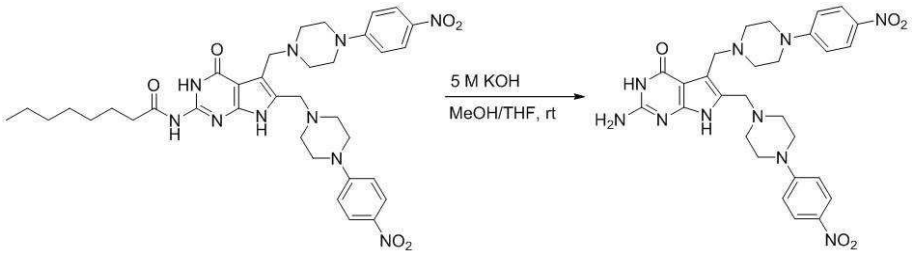
[0189]

[0190] 실시예 1의 단계 (3)과 같은 방법으로 실시예 1의 단계 (2)에서 제조한 *N*-(4-옥소-4,7-디하이드로-3*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-2-일)옥탄아마이드 (600 mg, 2.39 mmol), 37% 포말린 (0.36 mL, 4.78 mmol)과 1-(4-나이트로페닐)피페라진 (990 mg, 4.78 mmol)으로부터 목적 화합물 (241 mg, 52% 수율)을 얻었다.

[0191] ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 8.03 (dd, J = 9.4 Hz, 2.1 Hz, 4H), 7.00 (t, J = 9.0 Hz, 4H), 3.75 (s, 2H), 3.59 (s, 2H), 3.46 (s, 5H), 3.40 (s, 6H), 2.42 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 1.57 (t, J = 6.3 Hz, 2H), 1.27 (s, 8H), 0.86 (t, J = 6.4 Hz, 3H);

[0192] ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO-d_6) δ 176.4, 157.5, 155.2, 147.6, 146.5, 137.3, 137.1, 128.8, 126.2, 113.1, 113.0, 104.0, 52.6, 52.0, 50.8, 46.9, 46.8, 36.3, 31.5, 28.8, 25.0, 22.5, 14.4.

[0194] 실시예 6. 2-아미노-5,6-비스((4-(4-나이트로페닐)피페라진-1-일)메틸)-3,7-디하이드로-4*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-4-온 (화합물 6)의 제조



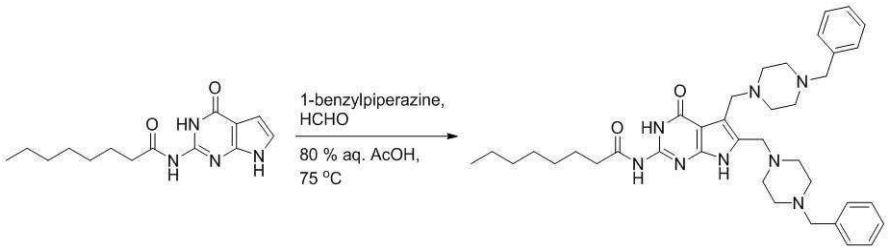
[0195]

[0196] 실시예 2와 같은 방법으로 실시예 5에서 제조한 *N*-(5,6-비스((4-(4-나이트로페닐)피페라진-1-일)메틸)-4-옥소-4,7-디하이드로-3*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-2-일)옥탄아마이드 (154 mg, 0.22 mmol)과 5M 수산화칼륨 (10.7 μL) 용액으로부터 목적 화합물 (60 mg, 47% 수율)을 얻었다.

[0197] ^{1}H NMR (300 MHz, D_2O) δ 5.54-5.49 (m, 4H), 4.75 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 4.61 (d, J = 9.2 Hz, 2H), 1.51-1.48 (m, 4H), 1.36-1.28 (m, 3H), 1.14 (bs, 3H), 1.07-0.99 (m, 5H), 0.95 (bs, 4H).

[0199] 실시예 7. *N*-(5,6-비스((4-벤질피페라진-1-일)메틸)-4-옥소-4,7-디하이드로-3*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-2-일)옥

탄아마이드 (화합물 7)의 제조



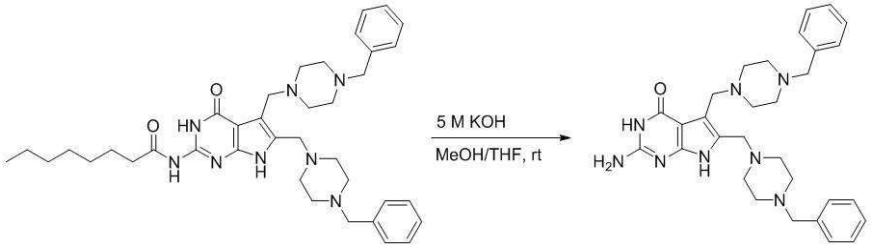
[0200]

[0201] 실시예 1의 단계 (3)과 같은 방법으로 실시예 1의 단계 (2)에서 제조한 *N*-(4-옥소-4,7-디하이드로-3*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-2-일)옥탄아마이드 (1.50 g, 5.43 mmol), 37% 포말린 (0.81 mL, 10.86 mmol)과 1-벤질피페라진 (1.89 mL, 5.43 mmol)으로부터 목적 화합물 (303 mg, 9% 수율)을 얻었다.

[0202] ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 11.62 (bs, 1H), 11.33 (bs, 1H), 11.28 (s, 1H), 7.24-7.17 (m, 10H), 3.67 (s, 2H), 3.48 (s, 2H), 3.42 (s, 2H), 3.38 (s, 2H), 2.41-2.37 (m, 18H), 1.57 (t, J = 6.7 Hz, 2H), 1.25 (s, 8H), 0.84 (t, J = 6.4 Hz, 3H);

[0203] ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO-d_6) δ 176.1, 157.9, 157.6, 148.1, 147.5, 146.5, 146.3, 138.71, 138.66, 138.5, 129.1, 129.0, 128.7, 128.31, 128.28, 127.1, 127.0, 118.4, 115.1, 113.3, 104.0, 103.6, 62.73, 62.67, 53.2, 53.1, 53.0, 52.8, 52.4, 51.1, 36.4, 31.6, 28.91, 28.89, 25.1, 22.5, 14.3.

[0205] 실시예 8. 2-아미노-5,6-비스((4-벤질피페라진-1-일)메틸)-3,7-디하이드로-4*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-4-온 (화합물 8)의 제조

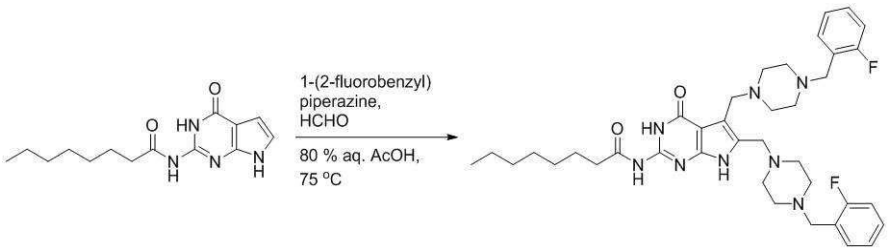


[0206]

[0207] 실시예 2와 같은 방법으로 실시예 7에서 제조한 *N*-(5,6-비스((4-벤질피페라진-1-일)메틸)-4-옥소-4,7-디하이드로-3*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-2-일)옥탄아마이드 (150 mg, 0.23 mmol)과 5M 수산화칼륨 (12 μL) 용액으로부터 목적 화합물 (65 mg, 54% 수율)을 얻었다.

[0208] ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 10.71 (s, 1H), 10.02 (s, 1H), 7.28 (s, 10H), 6.00 (s, 2H), 3.57 (bs, 8H), 2.35 (bs, 12H).

[0210] 실시예 9. *N*-(5,6-비스((4-(2-플루오로벤질)피페라진-1-일)메틸)-4-옥소-4,7-디하이드로-3*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-2-일)옥탄아마이드 (화합물 9)의 제조



[0211]

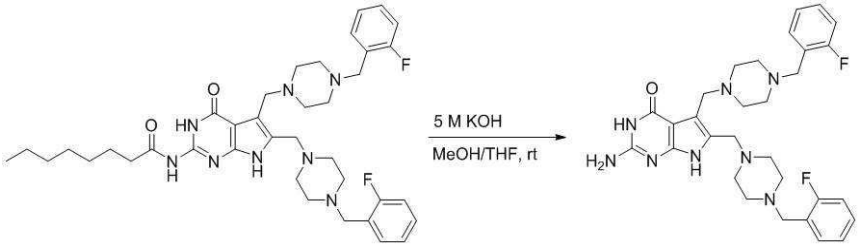
[0212] 실시예 1의 단계 (3)과 같은 방법으로 실시예 1의 단계 (2)에서 제조한 *N*-(4-옥소-4,7-디하이드로-3*H*-피롤로

[2,3-*d*]피리미딘-2-일)옥탄아마이드 (1.50 g, 5.43 mmol), 37% 포말린 (0.81 mL, 10.86 mmol)과 1-(2-플루오로벤질)피페라진 (1.80 mL, 10.86 mmol)으로부터 목적 화합물 (565 mg, 15% 수율)을 얻었다.

[0213] ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 11.48 (s, 1H), 11.36 (bs, 1H), 7.39-7.24 (m, 4H), 7.18-7.08 (m, 4H), 3.64 (s, 2H), 3.49 (s, 2H), 3.46 (s, 4H), 2.43-2.31 (m, 18H), 1.56 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 1.25 (s, 8H), 0.84 (t, J = 6.3 Hz, 3H);

[0214] ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO-d_6) δ 176.3, 162.8, 159.6, 157.5, 147.5, 146.4, 131.92, 131.86, 129.5, 129.4, 129.3, 128.8, 125.2, 125.1, 125.0, 124.9, 124.5, 115.7, 115.6, 115.4, 113.3, 103.9, 54.9, 54.2, 53.1, 52.7, 52.4, 51.0, 45.9, 36.3, 31.6, 28.8, 25.0, 22.5, 14.4.

[0216] 실시예 10. 2-아미노-5,6-비스((4-(2-플루오로벤질)피페라진-1-일)메틸)-3,7-디하이드로-4*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-4-온 (화합물 10)의 제조



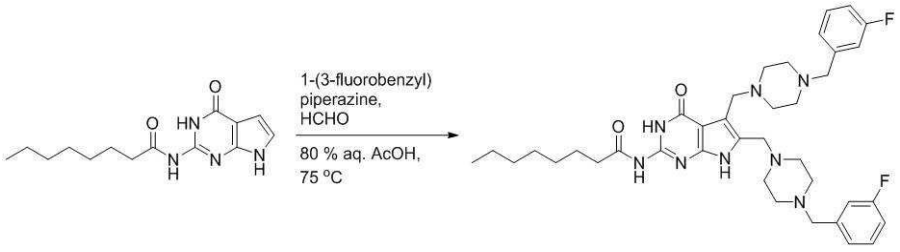
[0217]

[0218] 실시예 2와 같은 방법으로 실시예 9에서 제조한 *N*-(5,6-비스((4-(2-플루오로벤질)피페라진-1-일)메틸)-4-옥소-4,7-디하이드로-3*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-2-일)옥탄아마이드 (150 mg, 0.22 mmol)과 5M 수산화칼륨 (11 μL) 용액으로부터 목적 화합물 (115 mg, 94% 수율)을 얻었다.

[0219] ^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.35-7.24 (m, 4H), 7.14-6.99 (m, 4H), 3.83 (s, 2H), 3.60-3.55 (m, 6H), 2.69 (bs, 4H), 2.52 (s, 12H);

[0220] ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 167.0, 165.1, 163.8, 157.3, 155.2, 135.9, 135.8, 133.3, 133.2, 133.0, 129.9, 127.8, 127.5, 127.4, 127.3, 127.2, 119.22, 119.18, 118.92, 118.88, 115.2, 103.8, 59.4, 58.8, 58.7, 57.1, 56.3, 56.1, 55.9, 55.5, 54.8, 48.8.

[0222] 실시예 11. *N*-(5,6-비스((4-(3-플루오로벤질)피페라진-1-일)메틸)-4-옥소-4,7-디하이드로-3*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-2-일)옥탄아마이드 (화합물 11)의 제조



[0223]

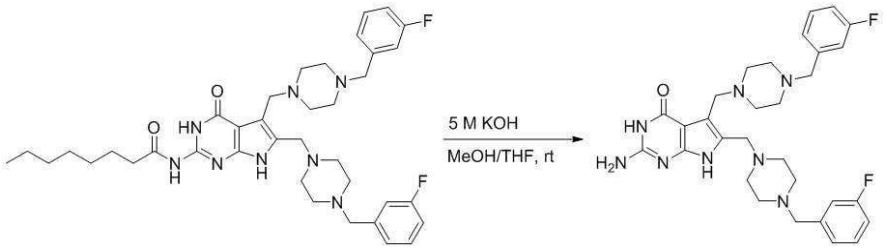
[0225] 실시예 1의 단계 (3)과 같은 방법으로 실시예 1의 단계 (2)에서 제조한 *N*-(4-옥소-4,7-디하이드로-3*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-2-일)옥탄아마이드 (723 mg, 2.62 mmol), 37% 포말린 (0.39 mL, 5.23 mmol)과 1-(3-플루오로벤질)피페라진 (0.92 mL, 5.23 mmol)으로부터 목적 화합물 (1.27 g, 70% 수율)을 얻었다.

[0226] ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 11.59 (s, 1H), 11.52 (s, 1H), 11.35 (s, 1H), 7.37-7.28 (m, 2H), 7.12-7.00 (m, 6H), 3.65 (s, 2H), 3.48-3.41 (m, 6H), 2.43-2.38 (m, 17H), 1.55 (t, J = 5.9 Hz, 2H), 1.24 (s, 8H),

0.84 (t, J = 6.4 Hz, 3H);

[0227] ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO-d_6) δ 176.3, 164.3, 161.1, 147.5, 146.5, 142.1, 142.0, 141.9, 130.5, 130.4, 128.9, 125.1, 115.6, 115.4, 114.2, 113.9, 103.9, 61.7, 53.1, 52.9, 52.4, 51.1, 36.3, 31.6, 28.8, 25.0, 22.5, 14.4.

[0229] 실시예 12. 2-아미노-5,6-비스((4-(3-플루오로벤질)피페라진-1-일)메틸)-3,7-디하이드로-4*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-4-온 (화합물 12)의 제조

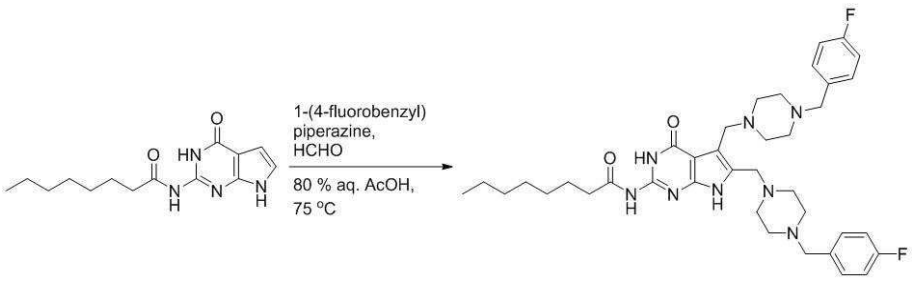
[0230] 

[0232] 실시예 2와 같은 방법으로 실시예 11에서 제조한 *N*-(5,6-비스((4-(3-플루오로벤질)피페라진-1-일)메틸)-4-옥소-4,7-디하이드로-3*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-2-일)옥탄아마이드 (150 mg, 0.22 mmol)과 5M 수산화칼륨 (11 μL) 용액으로부터 목적 화합물 (90 mg, 73% 수율)을 얻었다.

[0233] ^{1}H NMR (300 MHz, DMSOd_6) δ 8.24 (s, 2H), 7.35-7.28 (m, 2H), 7.12-7.00 (m, 6H), 6.42 (s, 1H), 4.24 (s, 2H), 3.12 (bs, 4H), 2.50 (s, 2H), 2.42 (bs, 4H), 2.38 (bs, 4H);

[0234] ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO-d_6) δ 164.3, 161.1, 160.6, 153.1, 152.0, 141.6, 141.5, 140.9, 140.8, 131.8, 130.6, 130.5, 130.3, 127.6, 126.4, 125.1, 125.0, 115.8, 115.7, 115.6, 115.4, 114.5, 114.2, 113.9, 106.7, 99.0, 61.7, 60.9, 52.7, 52.6, 52.3, 51.2, 51.1, 50.5, 49.5, 43.4.

[0236] 실시예 13. *N*-(5,6-비스((4-(4-플루오로벤질)피페라진-1-일)메틸)-4-옥소-4,7-디하이드로-3*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-2-일)옥탄아마이드 (화합물 13)의 제조

[0237] 

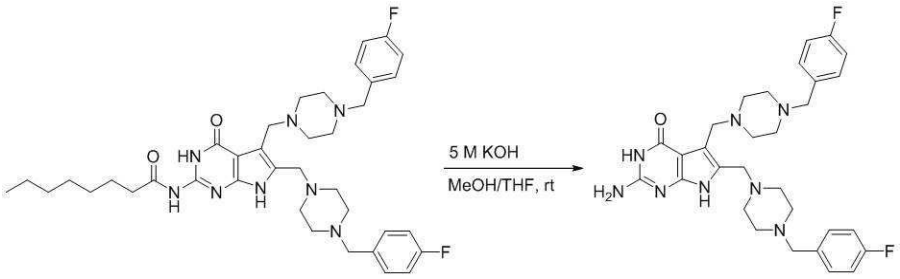
[0239] 실시예 1의 단계 (3)과 같은 방법으로 실시예 1의 단계 (2)에서 제조한 *N*-(4-옥소-4,7-디하이드로-3*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-2-일)옥탄아마이드 (1.50 g, 5.43 mmol), 37% 포말린 (0.81 mL, 10.86 mmol)과 1-(4-플루오로벤질)피페라진 (2.11 g, 10.86 mmol)으로부터 목적 화합물 (667 mg, 18% 수율)을 얻었다.

[0240] ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 11.46 (s, 1H), 7.32-7.25 (m, 4H), 7.14-7.06 (m, 4H), 3.65 (s, 2H), 3.48 (s, 2H), 3.40 (d, J = 9.2 Hz, 4H), 2.67 (t, J = 4.8 Hz, 1H), 2.44-2.27 (m, 16H), 1.57 (t, J = 6.3 Hz, 2H), 1.25 (s, 8H), 0.83 (t, J = 6.4 Hz, 3H);

[0241] ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO-d_6) δ 176.1, 163.2, 160.0, 157.6, 147.5, 146.3, 134.8, 134.7, 134.6, 130.8,

130.7, 128.7, 115.2, 114.9, 113.3, 104.0, 62.5, 61.7, 54.3, 53.1, 52.9, 52.4, 51.1, 46.0, 36.4, 31.6, 28.9, 25.1, 22.5, 14.3.

[0243] 실시예 14. 2-아미노-5,6-비스((4-(4-플루오로벤질)피페라진-1-일)메틸)-3,7-디하이드로-4*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-4-온 (화합물 14)의 제조

[0244] 

[0246] 실시예 2와 같은 방법으로 실시예 13에서 제조한 *N*-(5,6-비스((4-(4-플루오로벤질)피페라진-1-일)메틸)-4-옥소-4,7-디하이드로-3*H*-피롤로[2,3-*d*]피리미딘-2-일)옥탄아마이드 (150 mg, 0.22 mmol)과 5M 수산화칼륨 (11 μL) 용액으로부터 목적 화합물 (111 mg, 90% 수율)을 얻었다.

[0247] ^{1}H NMR (300 MHz, MeOD-d_4) δ 7.29-7.22 (m, 4H), 7.01-6.93 (m, 4H), 3.79 (s, 2H), 3.54 (s, 2H), 3.48 (s, 2H), 3.44 (s, 2H), 2.63 (bs, 4H), 2.47 (s, 12H);

[0248] ^{13}C NMR (75 MHz, MeOD-d_4) δ 163.78, 163.74, 161.0, 160.53, 160.49, 153.3, 151.0, 132.9, 132.8, 132.75, 132.71, 131.01, 130.99, 130.91, 130.88, 125.9, 115.0, 114.9, 114.72, 114.65, 111.5, 100.0, 61.9, 52.4, 52.2, 51.6, 50.8.

[0250] **[실험예]**

[0251] 상기 실시예 1 내지 14 화합물의 암세포에 대한 활성 억제 효과 및 정상 세포에 대한 독성 실험은 실험예 1과 2에 나타내었으며, 키나아제 활성 억제 효과에 대한 실험은 실험예 3에 나타내었다.

[0253] **실험예 1. 암세포 억제제의 항암 효과 검증 (MCF-7, SK-BR-3, HCT116)**

[0254] MTT assay에 사용한 세포주들은 MCF-7 (Human breast cancer), SK-BR-3 (Human breast cancer)와 HCT116 (Human colon carcinoma cancer), 이며 모두 한국세포주은행에서 분양 받아 배양하였다. 배양액은 10 % 소태아 혈청 (fetal bovine serum)을 포함한 RPMI 1640 medium을 사용하였으며 37 ℃ 항온 항습 5 % CO_2 배양기 (incubator)에서 배양하였다. 배양 중인 세포를 96 well microplate에 각 well당 세포수가 3X10^{3}이 되도록 분주하여 CO_2 배양기에서 24시간 배양한 후 media를 제거하고 농도 별로 희석한 저해제 (inhibitor) 용액들을 100 ㎕씩 넣어서 72시간 배양하였다. MTT 용액 (Promega,CellTiter 96) 을 15 ㎕씩을 가하여 4시간 배양한 후. Stop solution (Promega,CellTiter 96) 을 100 ㎕씩 가하여 형성된 blue formazan 을 녹인다. 18 시간이상 방치 후, 570 nm에서 흡광도를 측정하여 GI_{50} (암세포를 50% 저해하는 농도)를 구하였다. 화합물 1내지 14의 화합물을 각각 10 μM 농도 또는 농도 별로 처리 하거나 처리하지 않고 72 시간 경과한 시점에서 암세포에 대한 % 저해 활성 및 GI_{50}를 각각 측정하여 첨가된 화합물 별로 그 결과를 하기 표 1에 나타내었다.

[0255] 하기 표 1은 화합물을 처리하지 않은 경우 (음성 대조군)의 암세포 활성을 100%로 하여, 화합물의 첨가 농도 별 암세포의 활성을 정량화하여 나타낸 것이다. 양성 대조군으로 BIIB021 (6-chloro-9-((4-methoxy-3,5-dimethylpyridin-2-yl)methyl)-9*H*-purin-2-amin, 항암물질)과 17-AAG (17-allylamino-17-demethoxygeldanamycin, 항암물질)를 사용하였다. 상기, BIIB021 및 17-AAG 모두 임상 중인 항암물질이며,

BIIB021은 실험실에서 직접 합성하였고, 17-AAG는 LC Laboratroies®에서 구매하였다.

표 1

[0256]

화합물	MCF-7		SK-BR-3		HCT116	
	% Inhibition 10 μM	GI50, μM	% Inhibition 10 μM	GI50, μM	% Inhibition 10 μM	GI50, μM
1	15.16	-	67.33	-	41.53	-
2	13.77	-	11.08	-	10.69	-
3	10.70	-	42.54	-	6.88	-
4	82.46	4.02±0.53	90.03	3.22±0.14	91.73	2.89±0.13
5	12.56	-	64.59	-	27.04	-
6	1.26	-	6.79	-	1.94	-
7	96.57	2.78±0.01	93.40	3.64±0.03	97.01	4.09±0.03
8	21.19	-	15.69	-	21.36	-
9	96.13	4.20±0.03	93.39	3.73±0.06	97.28	1.89±0.30
10	8.91	-	58.96	-	12.80	-
11	94.76	2.15±0.09	93.06	3.91±0.34	95.54	2.25±0.12
12	16.08	-	10.50	-	13.59	-
13	97.23	1.75±0.15	93.52	3.60±0.06	97.14	4.13±0.15
14	18.36	-	23.21	-	22.97	-
BIIB021	84.81	0.392±0.03	71.94	0.35±0.02	86.20	0.23±0.02
17-AAG	79.74	0.498±0.06	74.44	0.14±0.01	88.89	0.21±0.01

[0257] 상기 실험 1에서 상기 표 1에 나타난 바와 같이 음성 대조군 (control, DMSO를 처리한 세포)의 암세포 (%) 값을 100%로 하였을 때, 본 발명의 실시예 1내지 14에 따른 화합물들의 암세포 억제 효과는 MCF-7 암세포 10 μM의 농도에서 최소 약 1.26%에서부터 최대 96.57%정도에 이르기 까지 암세포를 억제한 것으로 나타냈다. SK-BR-3 암세포에서는 최소 약 6.79%에서 93.52%까지 억제하였고, HCT116 암세포에서는 최소 약 1.94%에서 97.28%까지 억제하였다. 높은 %저해를 나타내는 화합물에 대하여 GI_{50}를 측정한 결과, 화합물 4, 7, 9, 11, 그리고 13은 MCF-7 암세포에서 약 1.75±0.15 μM 에서 4.20±0.03 μM의 농도를 나타냈다. SK-BR-3 암세포에서는, 약 3.22±0.14 μM에서 3.91±0.34 μM의 농도로 MCF-7의 경우와 유사한 억제 활성을 나타내었다. HCT116 암세포에서는 약 1.89±0.30 μM에서 4.13±0.15 μM의 농도를 확인하였다.

[0258] 참고로, 상기 표 1에서 GI_{50} 결과 값이 없는 화합물들은 농도별로 % inhibition 값을 구했을 때 Maximum 농도와 Minimum 농도의 범위가 좁아 50%의 값을 구하기 어려워 기재하지 않았다.

[0260] **실험예 2. 정상 세포에서의 세포 독성 측정**

[0261] 실험예 1에서와 같은 방법으로 실험예 2를 진행하였으며, HFF-1 (Human Fibroblast) 정상 세포주 (ATCC®, SCRC-1041)에 암세포 저해 활성이 좋은 화합물 4, 7, 9, 11, 그리고 13을 각각 10 ㎜ 농도 또는 농도 별로 처리하거나 처리하지 않고 72 시간 경과한 시점에서 정상 세포에 대한 % 저해 활성을 각각 측정하여 첨가된 화합물별로 그 결과를 하기 표 2에 나타내었다.

[0262] 항암활성을 보이는 화합물 4, 7, 9, 11, 그리고 13은 세포 독성 (cytotoxicity) 측정 결과 정상세포에 대해 10 ㎜ 농도에서 28% 미만의 저해 효과를 보였으며, 이는 대조 물질 (BIIB021과 17-AAG) 보다 3배에서 5배 낮은 세포 독성을 보였다.

표 2

[0264]

화합물	HFF-1
	% Inhibition 10 ㎜
4	15.77

7	-7.91
9	25.31
11	14.12
13	26.60
BIIB021	51.28
17-AAG	65.49

[0265] 따라서 본 발명의 실시예에 따라 제조된 화합물은 정상 세포에는 독성이 없으면서 암세포를 선택적으로 억제하는 우수한 효과를 보여주었으며, 유효용량을 초과하여 과다량을 사용할 경우라도 위험성이 매우 낮아 안전하게 사용 가능함을 확인할 수 있었다.

[0267] **실험예 3. 키나아제 억제 효과 검증 (FGFR4, FMS, IGF1R, LYN, TIE2/TEK, TrkA)**

[0268] 실시예 13 화합물을 FGFR4, FMS, IGF1R, LYN, TIE2/TEK, 그리고 TrkA의 키나아제에 대한 억제 효과를 측정하였으며, % 활성을 하기 표 3에 나타내었다.

표 3

[0270]

키나아제	% Inhibition 10 ㎛M
FGFR4	95.71
FMS	86.11
IGF1R	84.09
LYN	74.14
TIE2/TEK	97.63
TrkA	95.22

[0271] 상기 실험 3에서 상기 표 3에 나타난 바와 같이 음성 대조군 (control, DMSO를 처리한 키나아제)의 키나아제 활성(%) 값을 100%로 하였을 때, 본 발명의 실시예 13 화합물의 키나아제 억제 효과는 최소 약 74.14%에서부터 최대 97.63%정도에 이르는기 까지 키나아제를 억제한 것으로 나타냈다. 특히, FGFR4, TIE2/TEK, 그리고 TrkA에서 95% 이상의 억제 효과를 나타냈으며, 이는 키나아제를 선택적으로 억제하는 우수한 효과를 보여주었다.

[0273] **[제제예]**

[0274] 한편, 본 발명에 따른 상기 화학식 1로 표시되는 신규 화합물은 목적에 따라 여러 형태로 제제화가 가능하다. 다음은 본 발명에 따른 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 중 실시예 13의 화합물을 활성성분으로 함유시킨 몇몇 제제화 방법을 예시한 것으로 본 발명이 이에 한정되는 것은 아니다.

[0276] **제제예 1. 정제 (직접 가압)**

[0277] 활성성분 5.0 mg을 체로 친 후, 락토스 14.1 mg, 크로스포비돈 USNF 0.8 mg 및 마그네슘 스테아레이트 0.1 mg을 혼합하고 가압하여 정제로 만들었다.

[0279] **제제예 2. 정제 (습식 조립)**

[0280] 활성성분 5.0 mg을 체로 친 후, 락토스 16.0 mg과 녹말 4.0 mg을 섞었다. 폴리솔베이트 80 0.3 mg을 순수한 물에 녹인 후 이 용액의 적당량을 첨가한 다음, 미립화하였다. 건조 후에 미립을 체질한 후 콜로이달 실리콘 디옥사이드 2.7 mg 및 마그네슘 스테아레이트 2.0 mg과 섞었다. 미립을 가압하여 정제로 만들었다.

[0282] **제제예 3. 분말과 캡슐제**

[0283] 활성성분 5.0 mg을 체로 친 후에, 락토스 14.8 mg, 폴리비닐 피롤리돈 10.0 mg, 마그네슘 스테아레이트 0.2 mg와 함께 섞었다. 혼합물을 적당한 장치를 사용하여 단단한 No. 5 젤라틴 캡슐에 채웠다.

[0285] **제제예 4. 주사제**

[0286] 활성성분 100 mg을 함유시키고, 그 밖에도 만니톨 180 mg, Na_2HPO_4/H_2O 26 mg 및 증류수 2974 mg를 함유시켜 주사제를 제조하였다.

[0288] 이상, 본 발명의 실시예를 설명하였지만, 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명이 그 기술적 사상이나 필수적인 특징으로 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 실시될 수 있다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예는 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다.