



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0081171
(43) 공개일자 2022년06월15일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 487/04 (2006.01) A61K 31/519 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07D 487/04 (2013.01)
A61K 31/519 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2020-0170759
(22) 출원일자 2020년12월08일
심사청구일자 2020년12월08일

(71) 출원인
한국화학연구원
대전광역시 유성구 가정로 141 (장동)
계명대학교 산학협력단
대구광역시 달서구 달구벌대로 1095, 계명대학교
산학협력관 201호(신당동)
(72) 발명자
전문국
대전광역시 유성구 가정로 141
최길돈
대전광역시 유성구 가정로 141
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
김순웅

전체 청구항 수 : 총 20 항

(54) 발명의 명칭 피라졸로피리미딘 설폰아마이드 유도체 및 이를 유효성분으로 포함하는 암 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물

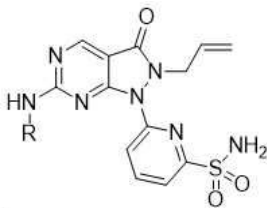
(57) 요약

본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 피라졸로피리미딘 설폰아마이드 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

본 발명에 따른 화학식 1의 피라졸로피리미딘 설폰아마이드 유도체는 우수한 Wee1 저해 활성 효과를 가지므로, 세포분열주기 조절 및 암줄기세포 기능 억제 등을 통해 암세포의 성장과 전이를 억제할 수 있으며, 암세포가 비정상적인 증식을 보이는 상태인 암 관련 질환의 예방 또는 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

또한 본 발명에 따른 피라졸로피리미딘 설폰아마이드 유도체는 화학 항암제, 면역 항암제 및 표적 치료제 등의 화학요법 또는 방사선 요법과의 병용을 통해 암 관련 질환의 예방 또는 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

[화학식 1]



(52) CPC특허분류

A61K 45/06 (2013.01)

A61P 35/00 (2018.01)

(72) 발명자

이윤한

대구광역시 달서구 달구벌대로 1095

임병호

대전광역시 유성구 가정로 141

정명은

대전광역시 유성구 가정로 141

김연주

대전광역시 유성구 가정로 141

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1711116953

과제번호 KK2031-00

부처명 과학기술정보통신부

과제관리(전문)기관명 한국화학연구원

연구사업명 한국화학연구원연구운영비지원(R&D)(주요사업비)

연구과제명 신약 파이프라인

기 여 율 7/10

과제수행기관명 한국화학연구원

연구기간 2020.01.01 ~ 2020.12.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1711115010

과제번호 2018R1A2B2007410

부처명 과학기술정보통신부

과제관리(전문)기관명 한국연구재단

연구사업명 개인기초연구(과기정통부)(R&D)

연구과제명 세포주기 촉진인자 Wee1 kinase의 암줄기능 조절 기전 규명 연구

기 여 율 3/10

과제수행기관명 계명대학교

연구기간 2020.03.01 ~ 2021.02.28

명세서

청구범위

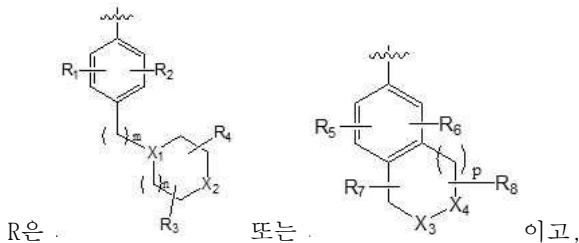
청구항 1

하기 화학식 1로 표시되는 피라졸로피리미딘 설폰아마이드 유도체, 이의 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염:

[화학식 1]



상기 화학식 1에서,



X_1 은 N 또는 CH이고;

X_2 , X_3 및 X_4 는 각각 독립적으로 CRa, NRb 또는 O 이고;

Ra 및 Rb는 각각 독립적으로 수소원자, C_1 - C_6 알킬, C_2 - C_6 알케닐, C_2 - C_6 알킬닐, C_3 - C_{15} 사이클로알킬, C_3 - C_{15} 헤테로사이클로알킬, C_6 - C_{15} 아릴, $-O-C_6-C_{15}$ 헤테로아릴, $-C(=O)-Rc$, $-C(=O)-O-Rc$, $-N(Rd)(Re)$, C_1 - C_6 알킬렌- $N(Rd)(Re)$, C_1 - C_6 하이드록시알킬, C_1 - C_6 할로알킬, 또는 C_1 - C_6 시아노알킬이고;

R_1 , R_2 , R_5 및 R_6 는 각각 독립적으로 수소원자, 할로겐 원자, $-OH$, $-CN$, C_1 - C_6 알킬, C_2 - C_6 알케닐, C_2 - C_6 알킬닐, $-O-C_1-C_6$ 알킬, C_1 - C_6 알킬렌- $O-C_1-C_6$ 알킬, $-O-C_3-C_{15}$ 사이클로알킬, $-O-C_3-C_{15}$ 헤테로사이클로알킬, $-O-C_6-C_{15}$ 아릴, $-O-C_6-C_{15}$ 헤테로아릴, $-S-C_1-C_6$ 알킬, $-S-C_3-C_{15}$ 헤테로사이클로알킬, $-S-C_6-C_{15}$ 아릴, $-S-C_6-C_{15}$ 헤테로아릴, C_1 - C_6 할로알킬, C_1 - C_6 하이드록시알킬, C_1 - C_6 시아노알킬 또는 C_1 - C_6 알킬렌- $N(Rd)(Re)$ 이고;

R_3 , R_4 , R_7 및 R_8 는 각각 독립적으로 수소원자, 할로겐 원자, $-OH$, $-CN$, C_1 - C_6 알킬, C_2 - C_6 알케닐, C_2 - C_6 알킬닐, $-O-C_1-C_6$ 알킬, C_1 - C_6 알킬렌- $O-C_1-C_6$ 알킬, $-O-C_3-C_{15}$ 사이클로알킬, $-O-C_3-C_{15}$ 헤테로사이클로알킬, $-O-C_6-C_{15}$ 아릴, $-O-C_6-C_{15}$ 헤테로아릴, $-S-C_1-C_6$ 알킬, $-S-C_3-C_{15}$ 헤테로사이클로알킬, $-S-C_6-C_{15}$ 아릴, $-S-C_6-C_{15}$ 헤테로아릴, C_1 - C_6 할로알킬, C_1 - C_6 하이드록시알킬, C_1 - C_6 시아노알킬 또는 C_1 - C_6 알킬렌- $N(Rd)(Re)$ 이고;

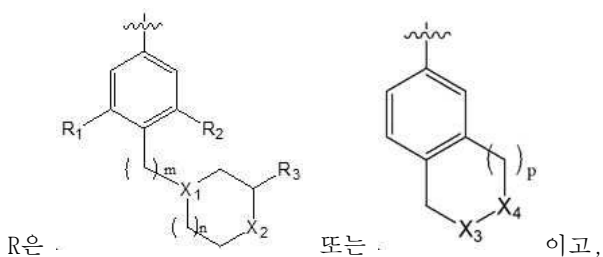
Rc, Rd 및 Re는 각각 독립적으로 수소원자, C_1 - C_6 알킬, C_3 - C_{15} 사이클로알킬, C_3 - C_{15} 헤테로사이클로알킬, C_6 - C_{15} 아릴 또는 $-O-C_6-C_{15}$ 헤테로아릴이고;

m, n 및 p는 각각 독립적으로, 0, 1 또는 2의 정수이다.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 화학식 1에서,



X_1 은 N 또는 CH이고;

X_2 , X_3 및 X_4 는 각각 독립적으로 CRa, NRb 또는 O 이고;

Ra 및 Rb는 각각 독립적으로 수소원자, C_1 - C_6 알킬, C_2 - C_6 알케닐, C_2 - C_6 알키닐, C_3 - C_{15} 사이클로알킬, C_3 - C_{15} 헤테로사이클로알킬, C_6 - C_{15} 아릴, $-O-C_6-C_{15}$ 헤테로아릴, $-C(=O)-Rc$, $-C(=O)-O-Rc$, $-N(Rd)(Re)$, C_1 - C_6 알킬렌- $N(Rd)(Re)$, C_1 - C_6 하이드록시알킬, C_1 - C_6 할로알킬, 또는 C_1 - C_6 시아노알킬이고;

R_1 및 R_2 는 각각 독립적으로 수소원자, 할로젠 원자, $-OH$, $-CN$, C_1 - C_6 알킬, C_2 - C_6 알케닐, C_2 - C_6 알키닐, $-O-C_1-C_6$ 알킬, C_1 - C_6 알킬렌- $O-C_1-C_6$ 알킬, $-O-C_3-C_{15}$ 사이클로알킬, $-O-C_3-C_{15}$ 헤테로사이클로알킬, $-O-C_6-C_{15}$ 아릴, $-O-C_6-C_{15}$ 헤테로아릴, $-S-C_1-C_6$ 알킬, $-S-C_3-C_{15}$ 헤테로사이클로알킬, $-S-C_6-C_{15}$ 아릴, $-S-C_6-C_{15}$ 헤테로아릴, C_1 - C_6 할로알킬, C_1 - C_6 하이드록시알킬, C_1 - C_6 시아노알킬 또는 C_1 - C_6 알킬렌- $N(Rd)(Re)$ 이고;

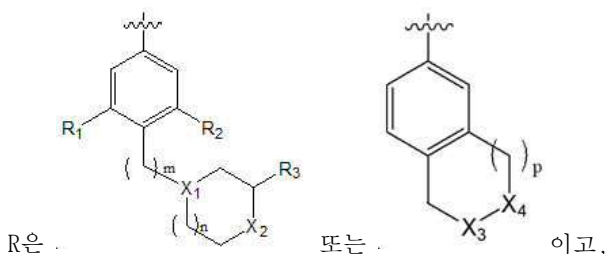
R_3 은 수소원자, 할로젠 원자, $-OH$, $-CN$, C_1 - C_6 알킬, C_2 - C_6 알케닐, C_2 - C_6 알키닐, $-O-C_1-C_6$ 알킬, C_1 - C_6 알킬렌- $O-C_1-C_6$ 알킬, $-O-C_3-C_{15}$ 사이클로알킬, $-O-C_3-C_{15}$ 헤테로사이클로알킬, $-O-C_6-C_{15}$ 아릴, $-O-C_6-C_{15}$ 헤테로아릴, $-S-C_1-C_6$ 알킬, $-S-C_3-C_{15}$ 헤테로사이클로알킬, $-S-C_6-C_{15}$ 아릴, $-S-C_6-C_{15}$ 헤테로아릴, C_1 - C_6 할로알킬, C_1 - C_6 하이드록시알킬, C_1 - C_6 시아노알킬 또는 C_1 - C_6 알킬렌- $N(Rd)(Re)$ 이고;

Rc, Rd 및 Re는 각각 독립적으로 수소원자, C_1 - C_6 알킬, C_3 - C_{15} 사이클로알킬, C_3 - C_{15} 헤테로사이클로알킬, C_6 - C_{15} 아릴 또는 $-O-C_6-C_{15}$ 헤테로아릴이고;

m, n 및 p는 각각 독립적으로, 0, 1 또는 2의 정수인 것인, 피라졸로피리미딘 설포아마이드 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

청구항 3

제2항에 있어서,



X_1 은 N 또는 CH이고;

X_2 , X_3 및 X_4 는 각각 독립적으로 CRa, NRb 또는 O 이고;

Ra 및 Rb는 각각 독립적으로 수소원자, C_1 - C_6 알킬, $-C(=O)-Rc$, $-C(=O)-O-Rc$, $-N(Rd)(Re)$, 또는 C_1 - C_6 하이드록시알킬이고;

R_1 및 R_2 는 각각 독립적으로 수소원자, 할로젠 원자, $-CN$, C_1 - C_6 알킬, $-O-C_1-C_6$ 알킬, 또는 C_1 - C_6 하이드록시알킬

이고;

R₃은 수소원자 또는 C₁-C₆ 알킬이고;

R_c, R_d 및 R_e는 각각 독립적으로 수소원자 또는 C₁-C₆ 알킬이고;

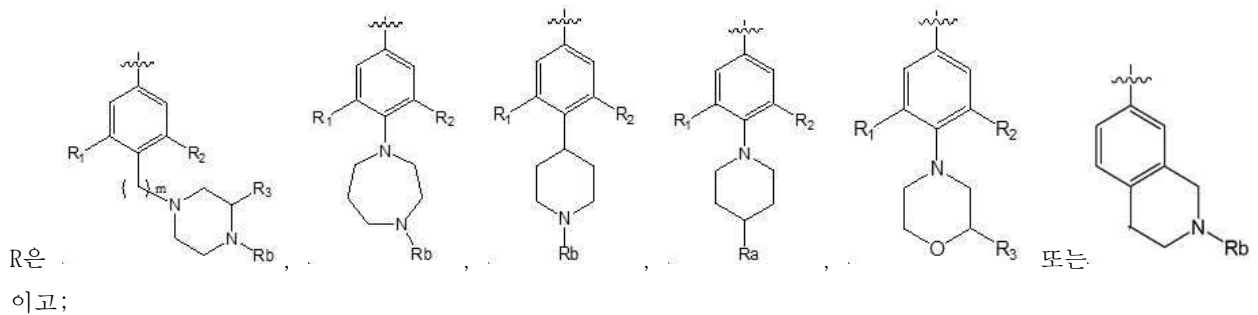
m은 0 또는 1의 정수이고;

n은 1 또는 2의 정수이고;

p는 0 또는 1의 정수인 것인, 피라졸로피리미딘 설포아마이드 유도체, 이의 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

청구항 4

제1항에 있어서,



R_a 및 R_b는 각각 독립적으로 수소원자, C₁-C₆ 알킬, -C(=O)-R_c, -C(=O)-O-R_c, -N(R_d)(R_e) 또는 C₁-C₆ 하이드록시 알킬이고;

R₁ 및 R₂는 각각 독립적으로 수소원자, 할로젠 원자, -CN, C₁-C₆ 알킬, -O-C₁-C₆ 알킬, -O-C₃-C₁₅ 사이클로알킬 또는 C₁-C₆ 하이드록시알킬이고;

R₃은 각각 독립적으로 수소원자 또는 C₁-C₆ 알킬이고;

R_c, R_d 및 R_e는 각각 독립적으로 수소원자 또는 C₁-C₆ 알킬이고;

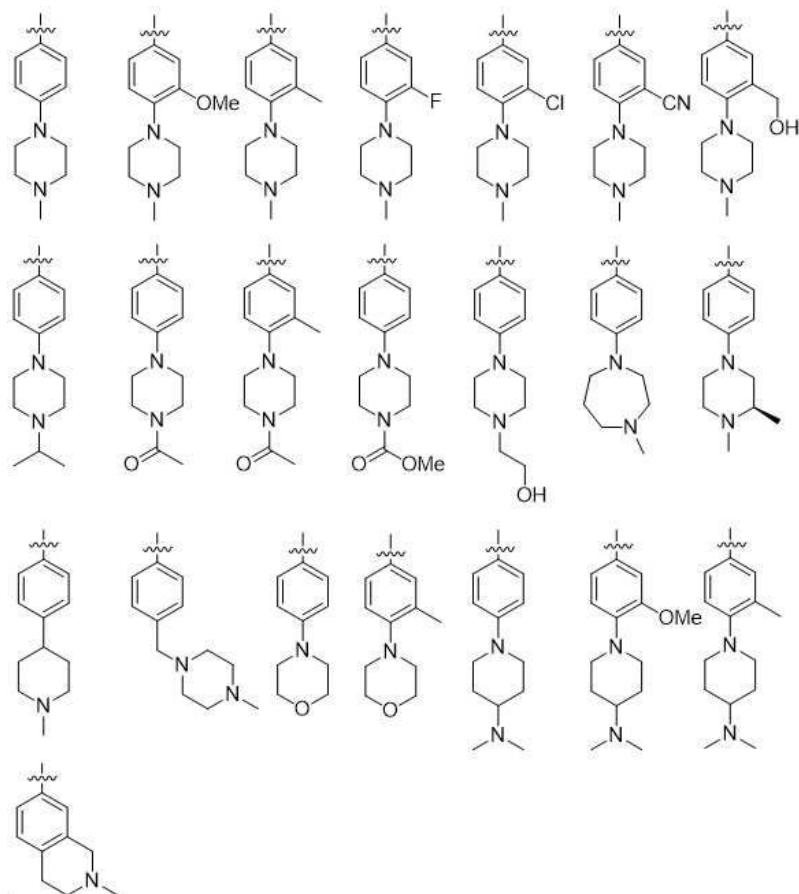
m은 0 또는 1의 정수이고;

p는 0 또는 1의 정수인 것인, 피라졸로피리미딘 설포아마이드 유도체, 이의 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 R은



으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인, 피라졸로피리미딘 설포아마이드 유도체, 이의 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

청구항 6

제1항의 화학식 1로 표시되는 피라졸로피리미딘 설포아마이드 유도체는 하기에 화합물 1 내지 22로 나타내는 화합물로 이루어진 군으로부터 선택된 것인, 피라졸로피리미딘 설포아마이드 유도체, 이의 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염:

- 1) 6-(2-알릴-6-((4-(4-메틸피페라진-1-일)페닐)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-1-일)피리딘-2-설포아마이드;
- 2) 6-(2-알릴-6-((3-메톡시-4-(4-메틸피페라진-1-일)페닐)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-1-일)피리딘-2-설포아마이드;
- 3) 6-(2-알릴-6-((3-메틸-4-(4-메틸피페라진-1-일)페닐)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-1-일)피리딘-2-설포아마이드;
- 4) 6-(2-알릴-6-((3-플루오로-4-(4-메틸피페라진-1-일)페닐)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-1-일)피리딘-2-설포아마이드;
- 5) 6-(2-알릴-6-((3-클로로-4-(4-메틸피페라진-1-일)페닐)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-1-일)피리딘-2-설포아마이드;
- 6) 6-(2-알릴-6-((3-시아노-4-(4-메틸피페라진-1-일)페닐)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-1-일)피리딘-2-설포아마이드;
- 7) 6-(2-알릴-6-((3-(하이드록시메틸)-4-(4-메틸피페라진-1-일)페닐)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-1-일)피리딘-2-설포아마이드;

- 8) 6-(2-알릴-6-((4-(4-이소프로필피페라진-1-일)페닐)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-1-일)피리딘-2-설폰아마이드;
- 9) 6-(6-((4-(4-아세틸피페라진-1-일)페닐)아미노)-2-알릴-3-옥소-2,3-다이하이드로-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-1-일)피리딘-2-설폰아마이드;
- 10) 6-(6-((4-(4-아세틸피페라진-1-일)-3-메틸페닐)아미노)-2-알릴-3-옥소-2,3-다이하이드로-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-1-일)피리딘-2-설폰아마이드;
- 11) 메틸 4-(4-((2-알릴-3-옥소-1-(6-설펜아마이드)피리딘-2-일)-2,3-다이하이드로-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-6-일)아미노)페닐)피페라진-1-카르복실레이트;
- 12) 6-(2-알릴-6-((4-(4-(2-하이드록시에틸)피페라진-1-일)페닐)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-1-일)피리딘-2-설폰아마이드;
- 13) 6-(2-알릴-6-((4-(4-메틸-1,4-다이아제판-1-일)페닐)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-1-일)피리딘-2-설폰아마이드;
- 14) (R)-6-(2-알릴-6-((4-(3,4-다이메틸피페라진-1-일)페닐)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-1-일)피리딘-2-설폰아마이드;
- 15) 6-(2-알릴-6-((4-(1-메틸피페리딘-4-일)페닐)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-1-일)피리딘-2-설폰아마이드;
- 16) 6-(2-알릴-6-((4-(4-메틸피페라진-1-일)메틸)페닐)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-1-일)피리딘-2-설폰아마이드;
- 17) 6-(2-알릴-6-((4-(4-모르폴리노페닐)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-1-일)피리딘-2-설폰아마이드;
- 18) 6-(2-알릴-6-((3-메틸-4-모르폴리노페닐)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-1-일)피리딘-2-설폰아마이드;
- 19) 6-(2-알릴-6-((4-(4-(다이메틸아미노)피페리딘-1-일)페닐)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-1-일)피리딘-2-설폰아마이드;
- 20) 6-(2-알릴-6-((4-(4-(다이메틸아미노)피페리딘-1-일)-3-메톡시페닐)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-1-일)피리딘-2-설폰아마이드;
- 21) 6-(2-알릴-6-((4-(4-(다이메틸아미노)피페리딘-1-일)-3-메틸페닐)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-1-일)피리딘-2-설폰아마이드;
- 22) 6-(2-알릴-6-((2-메틸-1,2,3,4-테트라하이드로이소퀴놀린-7-일)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-1-일)피리딘-2-설폰아마이드.

청구항 7

제1항에 있어서,

상기 화학식 1로 표시되는 피라졸로피리미딘 설폰아마이드 유도체, 이의 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 Wee1 억제제인 것인, 피라졸로피리미딘 설폰아마이드 유도체, 이의 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

청구항 8

(A-1) 화학식 2의 화합물을 보호기화(protecting) 반응시켜 보호기(PG)가 도입된 화학식 3의 화합물을 제조하는 단계;

(A-2) 상기 단계 A-1에서 제조된 화학식 3의 화합물을 화학식 4의 화합물과 반응시켜 화학식 5의 화합물을 제조하는 단계;

(A-3) 상기 단계 A-2에서 제조된 화학식 5의 화합물에 대한 탈보호기화(deprotecting) 반응을 통해 화학식 6의

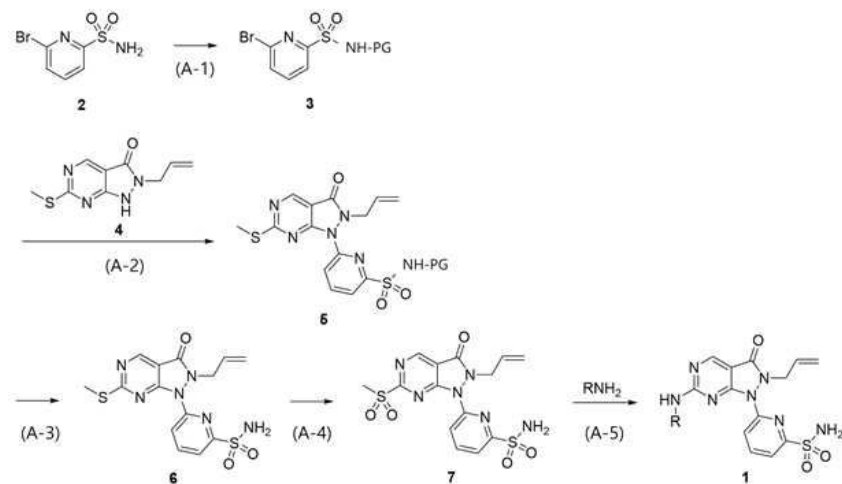
화합물을 제조하는 단계;

(A-4) 상기 단계 A-3에서 제조된 화학식 6의 화합물에 대한 산화 반응을 통해 화학식 7의 화합물을 제조하는 단계; 및

(A-5) 상기 단계 A-4에서 제조된 화학식 7의 화합물에 대해 R-NH₂를 이용한 치환 반응을 통해 화학식 1의 화합물을 제조하는 단계;를

포함하는 피라졸로피리미딘 설폰아마이드 유도체, 이의 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 제조방법:

[반응식 1]



상기 반응식에서,

R은 제1항의 화학식 1에서 정의한 바와 같다.

청구항 9

제8항에 있어서,

단계 (A-1)에서, 상기 보호기는 터트-부톡시카보닐기(tert-Butyloxycarbonyl, BOC), 카르보벤질옥실(Carbobenzyloxy, Cbz), 아세틸(Acetyl, Ac), 9-플루오레닐메틸옥시카보닐(9-Fluorenylmethyloxycarbonyl, Fmoc), 벤조일(Benzoyl, Bz), 벤질(Benzyl, Bn), 카바네이트(Carbamate), p-메톡시벤질(p-Methoxybenzyl, PMB), 3,4-디메톡시벤질(3,4-Dimethoxybenzyl, DMPM), p-메톡시페닐(p-Methoxyphenyl, PMP), 토실(Tosyl, Ts) 및 트리클로로에틸 클로로포르메이트(trichloroethyl chloroformate, Troc) 중에서 선택된 어느 하나인 것인, 피라졸로피리미딘 설폰아마이드 유도체, 이의 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 제조방법.

청구항 10

제8항에 있어서,

단계 (A-2)는 축매, 리간드, 염기 및 유기용매 하에서 수행되는 것인, 피라졸로피리미딘 설폰아마이드 유도체, 이의 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 제조방법.

청구항 11

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 따른 화학식 1로 표시되는 피라졸로피리미딘 설폰아마이드 유도체, 이의 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 암 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 12

제11항에 있어서,

상기 암 관련 질환은 혈액암, 난소암, 자궁경부암, 유방암, 대장암, 간암, 위암, 췌장암, 결장암, 복막 전이암, 피부암, 방광암, 전립선암, 폐암, 골육종, 섬유성 종양, 뇌종양, 골암, 두부 또는 경부암, 자궁암, 난소암, 직장암, 식도암, 소장암, 항문부근암, 나팔관암종, 자궁내막암종, 자궁경부암종, 질암종, 음문암종, 전립선암, 신장암, 수뇨관암, 신장세포암종, 신장골반암종 및 중추신경계 종양으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인, 약학적 조성물.

청구항 13

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 따른 화학식 1로 표시되는 피라졸로피리미딘 설펜아마이드 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염; 및 항암 요법제;를 포함하는 암 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 14

제13항에 있어서,

상기 피라졸로피리미딘 설펜아마이드 유도체, 이의 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염; 및 항암 요법제;가 동시에, 개별적으로 또는 순차적으로 병용하여 투여되는 것인, 약학적 조성물.

청구항 15

제13항에 있어서,

상기 항암 요법제는 화학 요법 및 방사선 요법 중에서 선택된 1종 이상인 것인, 약학적 조성물.

청구항 16

제15항에 있어서,

상기 화학 요법은 화학 항암제, 면역 항암제, 및 표적 치료제 중에서 선택된 1종 이상을 사용하는 것인, 약학적 조성물.

청구항 17

제16항에 있어서,

상기 화학 항암제는 알킬화제(alkylating agent), 항암성 항생물질(antitumor antibiotics), 대사 길항제(antimetabolite), 호르몬제 및 천연 약물을 포함하는 것인, 약학적 조성물.

청구항 18

제16항에 있어서,

상기 면역 항암제는 면역관문억제제, 면역세포치료제 및 항암바이러스치료제로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상인 것인, 약학적 조성물.

청구항 19

제16항에 있어서,

상기 표적 치료제는 신호전달경로 억제제(Signal Transduction Pathway Inhibitor), 신생혈관생성 억제제(Angiogenesis Inhibitors) 및 혈관내피세포 성장인자(VEGF, Vascular Endothelial Growth Factor) 억제제를 포함하는 것인, 약학적 조성물.

청구항 20

제13항에 있어서,

상기 암 관련 질환은 혈액암, 난소암, 자궁경부암, 유방암, 대장암, 간암, 위암, 췌장암, 결장암, 복막 전이암, 피부암, 방광암, 전립선암, 폐암, 골육종, 섬유성 종양, 뇌종양, 골암, 두부 또는 경부암, 자궁암, 난소암, 직장암, 식도암, 소장암, 항문부근암, 나팔관암종, 자궁내막암종, 자궁경부암종, 질암종, 음문암종, 전립선암, 신장암, 수뇨관암, 신장세포암종, 신장골반암종 및 중추신경계 종양으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인, 약

학적 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 피라졸로피리미딘 설폰아마이드 유도체, 이의 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 이의 제조방법 및 이를 유효성분으로 함유하는 암 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 세포주기(cell cycle)는 고도로 조절 및 통제되는 과정으로서 유사분열(mitosis) 개시 전에 손상된 DNA를 복구하기 위한 시간을 허용함으로써 유전체 보전(genomic integrity)을 가능하게끔 하는 G1-S 전이(G1-S transition)와 G2-M 전이(G2-M transition) 등에서의 여러 관문(checkpoint)들을 가지고 있다. P53은 G1-S 관문(G1-S checkpoint)의 핵심 단백질로서 p21의 발현을 유도하여 DNA 복제 전에 세포주기 저지(cell cycle arrest)가 일어나게 한다. 또한 p53은 사이클린-의존성 키나아제 1 (cyclin-dependent kinase 1, CDK1 또는 CDC2)와 사이클린 B(cyclin B)를 저해하여 G2-M 관문(G2-M checkpoint)의 조절에도 관여한다. 한편 G2-M 관문(G2-M checkpoint)에서는 CDK1, 사이클린 B(cyclin B), 그리고 그 둘 사이의 복합체(complex)가 중심적인 역할을 하는데 활성화된 CDK1-사이클린 B 복합체(CDK1-cyclin B complex)는 유사분열 진입(mitotic entry)을 촉발한다. CDK1의 인산화(phosphorylation)는 CDK1-사이클린 B 복합체(CDK1-cyclin B complex)의 형성을 저해함으로써 유사분열 진입을 억제하는데 그 과정은 두 단계로 이루어진다. 먼저 Wee1이 CDK1의 Y15 위치를 인산화하고 이어 MYT1(myelin transcription factor 1)이 CDK1의 T14 위치를 인산화한다. 반대로 포스파타아제(phosphatase)의 일종인 CDC25(cell division cycle 25 homologs)는 CDK1을 탈인산화(dephosphorylation)함으로써 CDK1을 활성화시킨다. (Biochimica et Biophysica Acta 2013, 1836, 227-235; Trends in Pharmacological Sciences 2016, 37, 872-881)

[0003] Wee1은 많은 암세포에서 과발현되어 있는데 특히 p53에 결함이 있는 경우 특히 그러하다. G1-S 관문(G1-S checkpoint)에서 핵심적인 역할을 하는 p53에 결함이 있는 경우 암세포는 유사분열(mitosis) 전에 DNA 손상 복구(DNA damage repair)를 위해 G2-M 관문(G2-M checkpoint)에 의존하게 된다. 그런 경우 G2-M 관문(G2-M checkpoint)의 핵심적인 조절자인 Wee1을 저해함으로써 CDK1-사이클린 B 복합체(CDK1-cyclin B complex)를 활성화시켜 G2 저지(G2 arrest)를 방해할 수 있고 손상된 DNA를 보유한 암세포가 유사분열(mitosis) 단계로 진입하게끔 함으로써 세포사멸을 유도할 수 있을 것이다. (Biochimica et Biophysica Acta 2013, 1836, 227-235) 또한, Wee1은 CDK1 뿐만 아니라, 암화과정에서는 히스톤 (histone) H2B의 Y37 잔기를 인산화함으로써 후기 S기에서의 히스톤 전사(histone transcription)를 억제함으로써 염색체 복제를 가속화함도 밝혀졌고, Wee1 siRNA 또는 Wee1 저해제 MK-1775를 처리함으로써 해당 인산화의 저해가 히스톤 전사의 활성화도 유도함을 증명하였다 (Nature Structural and Molecular Biology 2012, 19, 930-937). 이러한 발견들을 바탕으로 Wee1은 유사분열 문지기(mitosis gatekeeper) 뿐만 아니라 염색체 복제 감시관(chromatin synthesis surveyor)의 기능도 동시에 수행함이 밝혀졌다(Trends in Genetics 2013, 29, 394-402). 실제로, Wee1은 뇌암, 유방암, 피부암 그리고 간암 등에서 과발현함이 관찰되었다(Cancer Cell 2010, 18, 244-257; Breast Cancer Research and Treatment 2010, 122, 347-357; PLoS One 2012, 7, e38254; Hepatology 2003, 37, 534-543). Wee1의 과발현에 의한 히스톤 전사의 활성화를 통하여, 그 하류에서 암세포의 성장에 관여하는 다양한 암화유전자(oncogene)의 발현량이 증가하여 암화를 촉진할 것이다(Trends in Genetics 2013, 29, 394-402). 한편, 암세포에서 뿐만 아니라, Wee1 단백질의 발현 수준이 유방암줄기세포(breast cancer stem cell)에서도 상승함이 발견되었는데, 이는 Wee1이 암 미세환경내 암줄기능의 조절에도 관여함을 암시해 준다(Oncologist 2011, 16, 966-979). 또한, 암세포가 가지고 있는 킬러 T 세포에 대한 내성은 면역항암 전략을 사용하는 치료방법에 근본적인 제약이 되고 있다. 암세포에서의 G2/M 세포주기 조절 활성화는 암세포의 세포주기 멈춤을 유도하고 이에 따라 그람자임 B(granzyme-B)에 의해 유도되는 암세포 사멸에 저항성을 갖게 된다. 이러한 암세포의 면역항암에 대한 내제적 저항성이 Wee1 키나제 억제에 의해 극복될 수 있으며 면역세포에 의한 항암효과를 크게 증진시킬 수 있다 (Oncoimmunology. 2018, 7, e1488359).

[0004] 따라서 Wee1 저해제(Wee1 inhibitor)와 DNA 손상 물질(DNA damaging agent), 면역항암물질 및 표적 치료제 등을 포함하는 화학요법 및 방사선(radiation) 요법의 병용은 새로운 항암요법(anti-cancer therapy)의 개발을 위한 유효한 전략이 될 수 있으며 (Biochimica et Biophysica Acta 2013, 1836, 227-235), 위와 같은 논리에 입각하여 Wee1의 활성을 저해하는 강력하고 선택적인 저분자 기반 저해제 개발을 위한 노력들이 진행되어 왔다.

대표적으로 피라졸로피리미딘(pyrazolopyrimidine) 골격에 기반한 MK-1775 (또는 AZD-1775) 화합물은 동물 실험을 거쳐 현재 다양한 암종에 대해 임상 1상 또는 임상 2상이 진행되고 있는 것으로 보고되고 있다. MK-1775 화합물은 구조적으로 피라졸로피리미딘 고리 시스템의 1 위치의 피리딘-2-일(pyridin-2-yl)기의 6 위치에 2-하이드록시프로판-2-일(2-hydroxypropan-2-yl) 기를 특징적으로 가지고 있다 (Trends in Pharmacological Sciences 2016, 37, 872-881).

[0005] 이에, 본 발명자들은 효능과 안전성이 보장되는 암 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물 개발을 위한 노력을 통해, Wee1 저해 활성을 가지는 신규한 피라졸로피리미딘 설폰아마이드 유도체 및 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 제조하고, 그를 유효성분으로 함유하는 암 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공함으로써, 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 본 발명의 목적은 피라졸로피리미딘 설폰아마이드 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 제공하는 데 있다.

[0007] 본 발명의 다른 목적은 상기 피라졸로피리미딘 설폰아마이드 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염의 제조방법을 제공하는 데 있다.

[0008] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 피라졸로피리미딘 설폰아마이드 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 암 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 데 있다.

[0009] 본 발명의 다른 목적은 상기 피라졸로피리미딘 설폰아마이드 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 및 항암 요법을 포함하는 암 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 데 있다.

과제의 해결 수단

[0010] 본 발명자들은 WEE1 억제 활성을 갖는 피라졸로피리미딘 설폰아마이드 유도체 화합물을 발견하고 이의 WEE1 활성 관련 질환, 구체적으로 암 관련 질환을 예방 또는 치료하는데 사용함으로써 본 발명을 완성하였다.

[0012] 본 출원에서 사용한 용어는 단지 특정한 실시예를 설명하기 위해 사용된 것으로서 본 발명을 한정하려는 의도가 아니다. 단수의 표현은 문맥상 명백하게 다르게 뜻하지 않는 한, 복수의 표현을 포함한다. 본 출원에서, “포함하다” 또는 “가지다” 등의 용어는 명세서 상에 기재된 특징, 단계, 구조 또는 이들을 조합한 것이 존재함을 지정하려는 것이지, 하나 또는 그 이상의 다른 특징들이나 단계, 구조 또는 이들을 조합한 것들의 존재 또는 부가 가능성을 미리 배제하지 않는 것으로 이해되어야 한다.

[0013] 다르게 정의하지 않는 한, 기술적이거나 과학적인 용어를 포함해서 여기서 사용되는 모든 용어들은 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가지고 있다. 일반적으로 사용되는 사전에 정의되어 있는 것과 같은 용어들은 관련 기술의 문맥 상 가지는 의미와 일치하는 의미를 가지는 것으로 해석되어야 하며, 본 출원에서 명백하게 정의하지 않는 한, 이상적이거나 과도하게 형식적인 의미로 해석되지 않는다.

[0014] 본 발명에서, 용어 "치환된"은 주쇄의 하나 이상의 탄소상의 수소를 대체하는 치환기를 갖는 부분을 나타낸다. "치환", "~로 치환될 수 있는" 또는 "~로 치환된"은 이러한 치환이 치환된 원자 및 치환체의 허용되는 가(valency)에 따르며, 치환에 의해 안정한 화합물 예를 들어, 재배열, 고리화, 제거 등에 의해 자연적으로 변형되지 않는 화합물을 유도한다는 암묵적 조건을 포함하는 것으로 정의한다.

[0015] 본 발명에서, "Cx-Cy"는 탄소수가 x개 내지 y개를 가짐을 의미하는 것이다.

[0016] 본 발명에서, "알킬"는 선형(또는 직쇄형, linear) 포화탄화수소기 또는 분지형(또는 측쇄형, branched) 포화탄화수소기를 의미하는 것으로, 메틸, 에틸, n-프로필, 이소프로필, n-부틸, sec-부틸, 이소부틸, tert-부틸, n-펜틸, n-헥실, n-헵틸 등을 포함한다.

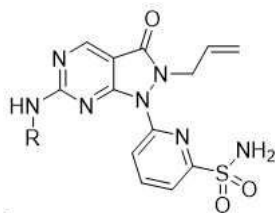
[0017] 본 발명에서, "알케닐"은 탄소 사이의 적어도 1개의 이중결합을 포함하는 불포화 탄화수소를 의미하는 것이고, "알키닐"은 탄소 사이의 적어도 1개의 삼중결합을 포함하는 불포화 탄화수소를 의미하는 것이다.

- [0018] 본 발명에서, "알킬렌"은 상기와 같이 정의된 알킬기로부터 유도된 2가의 작용기를 의미하는 것이다.
- [0019] 본 발명에서, "사이클로알킬"은 고리를 포함하는 명시된 수의 탄소원자를 일반적으로 갖는 포화탄화수소 고리를 의미하며 포화탄화수소 고리는 일환 및 다환, 2개 이상의 고리가 한쌍 이상의 탄소원자를 공유하고 있는 고리 구조 또는 스파이로 구조를 모두 포함하는 의미이다. 사이클로알킬은 사이클로프로판, 사이클로부탄, 사이클로펜탄, 사이클로헥실, 사이클로헵탄일, 사이클로옥탄일, 테트라하이드로나프탈렌일 등을 포함하며, 여기에 한정되는 것은 아니다.
- [0020] 본 발명에서, "헤테로시클로알킬"은 질소(N), 산소(O) 및 황(S)으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 헤테로원자를 함유하는 포화된 일환 및 다환의 헤테로 고리, 2개 이상의 고리가 한쌍 이상의 탄소원자를 공유하고 있는 고리 구조 또는 스파이로 구조를 포함한다.
- [0021] 본 발명에서, "아릴"은 일환 방향족 또는 다환 방향족과, 일환 또는 다환 방향족에 포화탄화수소 고리가 융합된 구조도 포함한다. 아릴은 페닐기, 바이페닐, 나프탈렌일, 테트라하이드로나프탈렌일, 안트라센일, 페난트렌일, 피렌일 등을 포함한다.
- [0022] 본 발명에서, "헤테로아릴"은 상기에서 정의된 아릴에서 적어도 1개 이상의 탄소원자가 질소(N), 산소(O) 또는 황(S)으로 치환된 일환 또는 다환의 헤테로 고리를 의미하는 것이다. 헤테로아릴은 피리디닐, 티오펜일, 트리아졸릴, 테트라졸릴, 벤조디옥솔일, 벤조티아졸일, 벤조티오펜일, 퀴놀린일, 인돌릴, 이소인돌릴, 벤조퓨란일, 벤조피롤일, 퓨란일, 피롤릴, 티아졸릴, 이소티아졸릴, 이미다졸릴, 피라졸릴, 옥사졸일, 이소옥사졸일, 피라진일, 피리다진일, 피리미딘일, 이소퀴놀린일, 카바졸릴, 벤조옥사졸일, 벤조다이옥사졸일, 벤조다이옥신일, 벤즈이미다졸릴, 디하이드로벤조티오펜일, 디하이드로벤조퓨란일, 퓨린일, 인돌리진일, 크로만일, 크로멘일, 디하이드로벤조디옥신일 등을 포함하며, 여기에 한정되는 것은 아니다.
- [0023] 본 발명에서, "할로젠 원자"는 주기율표에서 17족 원소를 의미하는 것으로, F, Cl, Br 및 I로 이루어진 군으로부터 선택되는 것이다.
- [0024] 본 발명에서 "할로알킬"은 알킬기의 말단의 CH₃의 H 중 하나 이상이 할로젠 원자로 치환된 구조를 포함하는 것이며, "하이드록시알킬"은 알킬기의 말단의 CH₃의 H 중 하나 이상이 하이드록시(-OH)기로 치환된 구조를 포함하는 것이고, "시아노알킬"은 알킬기의 말단의 CH₃의 H 중 하나 이상이 시아노(-CN)기로 치환된 구조를 포함하는 것이다.

[0026] **피라졸로피리미딘 설포아마이드 유도체 화합물**

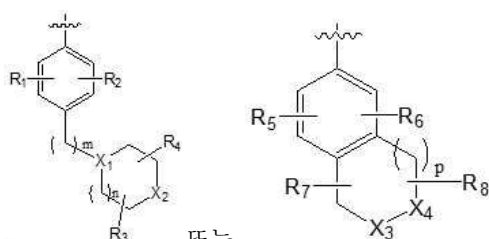
[0027] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 피라졸로피리미딘 설포아마이드 유도체, 이의 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

[0028] [화학식 1]



[0029]

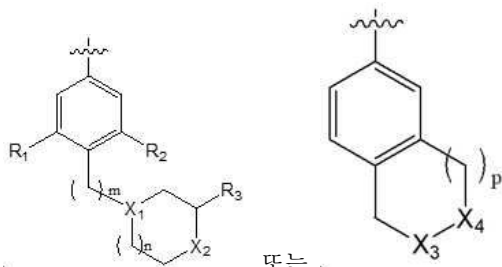
[0030] 상기 화학식 1에서,



[0031] R은 또는 이고,

- [0032] X_1 은 N 또는 CH이고;
- [0033] X_2 , X_3 및 X_4 는 각각 독립적으로 CRa, NRb 또는 O 이고;
- [0034] Ra 및 Rb는 각각 독립적으로 수소원자, C_1 - C_6 알킬, C_2 - C_6 알케닐, C_2 - C_6 알키닐, C_3 - C_{15} 사이클로알킬, C_3 - C_{15} 헤테로사이클로알킬, C_6 - C_{15} 아릴, $-O-C_6-C_{15}$ 헤테로아릴, $-C(=O)-Rc$, $-C(=O)-O-Rc$, $-N(Rd)(Re)$, C_1 - C_6 알킬렌- $N(Rd)(Re)$, C_1 - C_6 하이드록시알킬, C_1 - C_6 할로알킬, 또는 C_1 - C_6 시아노알킬이고;
- [0035] R_1 , R_2 , R_5 및 R_6 는 각각 독립적으로 수소원자, 할로젠 원자, $-OH$, $-CN$, C_1 - C_6 알킬, C_2 - C_6 알케닐, C_2 - C_6 알키닐, $-O-C_1-C_6$ 알킬, C_1 - C_6 알킬렌- $O-C_1-C_6$ 알킬, $-O-C_3-C_{15}$ 사이클로알킬, $-O-C_3-C_{15}$ 헤테로사이클로알킬, $-O-C_6-C_{15}$ 아릴, $-O-C_6-C_{15}$ 헤테로아릴, $-S-C_1-C_6$ 알킬, $-S-C_3-C_{15}$ 헤테로사이클로알킬, $-S-C_6-C_{15}$ 아릴, $-S-C_6-C_{15}$ 헤테로아릴, C_1 - C_6 할로알킬, C_1 - C_6 하이드록시알킬, C_1 - C_6 시아노알킬 또는 C_1 - C_6 알킬렌- $N(Rd)(Re)$ 이고;
- [0036] R_3 , R_4 , R_7 및 R_8 은 각각 독립적으로 수소원자, 할로젠 원자, $-OH$, $-CN$, C_1 - C_6 알킬, C_2 - C_6 알케닐, C_2 - C_6 알키닐, $-O-C_1-C_6$ 알킬, C_1 - C_6 알킬렌- $O-C_1-C_6$ 알킬, $-O-C_3-C_{15}$ 사이클로알킬, $-O-C_3-C_{15}$ 헤테로사이클로알킬, $-O-C_6-C_{15}$ 아릴, $-O-C_6-C_{15}$ 헤테로아릴, $-S-C_1-C_6$ 알킬, $-S-C_3-C_{15}$ 헤테로사이클로알킬, $-S-C_6-C_{15}$ 아릴, $-S-C_6-C_{15}$ 헤테로아릴, C_1 - C_6 할로알킬, C_1 - C_6 하이드록시알킬, C_1 - C_6 시아노알킬 또는 C_1 - C_6 알킬렌- $N(Rd)(Re)$ 이고;
- [0037] Rc, Rd 및 Re는 각각 독립적으로 수소원자, C_1 - C_6 알킬, C_3 - C_{15} 사이클로알킬, C_3 - C_{15} 헤테로사이클로알킬, C_6 - C_{15} 아릴 또는 $-O-C_6-C_{15}$ 헤테로아릴이고;
- [0038] m, n 및 p는 각각 독립적으로, 0, 1 또는 2의 정수이다.

[0040] 일 실시예에서, 상기 화학식 I에서,



[0041] R은 X_1 은 N 또는 CH이고;

[0042] X_1 은 N 또는 CH이고;

[0043] X_2 , X_3 및 X_4 는 각각 독립적으로 CRa, NRb 또는 O 이고;

[0044] Ra 및 Rb는 각각 독립적으로 수소원자, C_1 - C_6 알킬, C_2 - C_6 알케닐, C_2 - C_6 알키닐, C_3 - C_{15} 사이클로알킬, C_3 - C_{15} 헤테로사이클로알킬, C_6 - C_{15} 아릴, $-O-C_6-C_{15}$ 헤테로아릴, $-C(=O)-Rc$, $-C(=O)-O-Rc$, $-N(Rd)(Re)$, C_1 - C_6 알킬렌- $N(Rd)(Re)$, C_1 - C_6 하이드록시알킬, C_1 - C_6 할로알킬, 또는 C_1 - C_6 시아노알킬이고;

[0045] R_1 , 및 R_2 는 각각 독립적으로 수소원자, 할로젠 원자, $-OH$, $-CN$, C_1 - C_6 알킬, C_2 - C_6 알케닐, C_2 - C_6 알키닐, $-O-C_1-C_6$ 알킬, C_1 - C_6 알킬렌- $O-C_1-C_6$ 알킬, $-O-C_3-C_{15}$ 사이클로알킬, $-O-C_3-C_{15}$ 헤테로사이클로알킬, $-O-C_6-C_{15}$ 아릴, $-O-C_6-C_{15}$ 헤테로아릴, $-S-C_1-C_6$ 알킬, $-S-C_3-C_{15}$ 헤테로사이클로알킬, $-S-C_6-C_{15}$ 아릴, $-S-C_6-C_{15}$ 헤테로아릴, C_1 - C_6 할로알킬, C_1 - C_6 하이드록시알킬, C_1 - C_6 시아노알킬 또는 C_1 - C_6 알킬렌- $N(Rd)(Re)$ 이고;

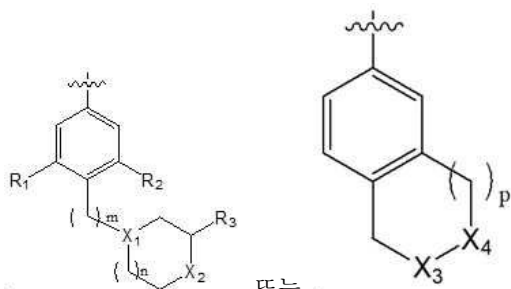
[0046] R_3 은 수소원자, 할로젠 원자, $-OH$, $-CN$, C_1 - C_6 알킬, C_2 - C_6 알케닐, C_2 - C_6 알키닐, $-O-C_1-C_6$ 알킬, C_1 - C_6 알킬렌- $O-C_1-C_6$ 알킬, $-O-C_3-C_{15}$ 사이클로알킬, $-O-C_3-C_{15}$ 헤테로사이클로알킬, $-O-C_6-C_{15}$ 아릴, $-O-C_6-C_{15}$ 헤테로아릴, $-S-C_1-C_6$ 알킬, $-S-C_3-C_{15}$ 헤테로사이클로알킬, $-S-C_6-C_{15}$ 아릴, $-S-C_6-C_{15}$ 헤테로아릴, C_1 - C_6 할로알킬, C_1 - C_6 하이드

록시알킬, C_1-C_6 시아노알킬 또는 C_1-C_6 알킬렌- $N(Rd)(Re)$ 이고;

[0047] R_c , R_d 및 R_e 는 각각 독립적으로 수소원자, C_1-C_6 알킬, C_3-C_{15} 사이클로알킬, C_3-C_{15} 헤테로사이클로알킬, C_6-C_{15} 아릴 또는 $-O-C_6-C_{15}$ 헤테로아릴이고;

[0048] m , n 및 p 는 각각 독립적으로, 0, 1 또는 2의 정수일 수 있다.

[0050] 일 실시예에서, 상기 화학식 I에서,



[0051] R 은 이고, 또는 이고,

[0052] X_1 은 N 또는 CH이고;

[0053] X_2 , X_3 및 X_4 는 각각 독립적으로 CRa, NRb 또는 O 이고;

[0054] Ra 및 Rb는 각각 독립적으로 수소원자, C_1-C_6 알킬, $-C(=O)-R_c$, $-C(=O)-O-R_c$, $-N(Rd)(Re)$, 또는 C_1-C_6 하이드록시알킬이고;

[0055] R_1 및 R_2 는 각각 독립적으로 수소원자, 할로겐 원자, $-CN$, C_1-C_6 알킬, $-O-C_1-C_6$ 알킬, 또는 C_1-C_6 하이드록시알킬 이고;

[0056] R_3 은 수소원자 또는 C_1-C_6 알킬이고;

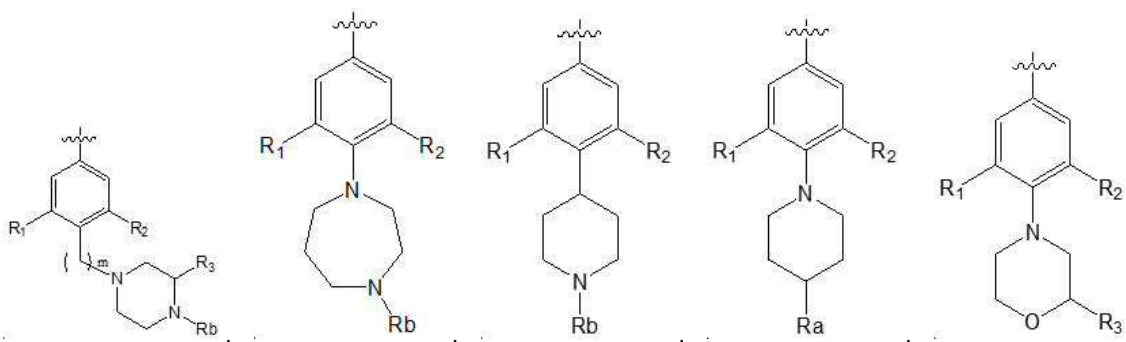
[0057] R_c , R_d 및 R_e 는 각각 독립적으로 수소원자 또는 C_1-C_6 알킬이고;

[0058] m 은 0 또는 1의 정수이고;

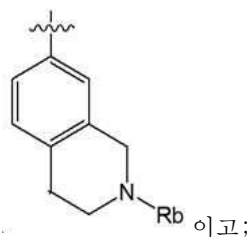
[0059] n 은 1 또는 2의 정수이고;

[0060] p 는 0 또는 1의 정수일 수 있다.

[0062] 일 실시예에서, 상기 화학식 I에서,



[0063] R 은 이고, 또는 이고,



[0064] Ra 및 Rb는 각각 독립적으로 수소원자, C₁-C₆ 알킬, -C(=O)-Rc, -C(=O)-O-Rc, -N(Rd)(Re) 또는 C₁-C₆ 하이드록시 알킬이고;

[0065] R₁ 및 R₂는 각각 독립적으로 수소원자, 할로젠 원자, -CN, C₁-C₆ 알킬, -O-C₁-C₆ 알킬, -O-C₃-C₁₅ 사이클로알킬 또는 C₁-C₆ 하이드록시알킬이고;

[0066] R₃은 각각 독립적으로 수소원자 또는 C₁-C₆ 알킬이고;

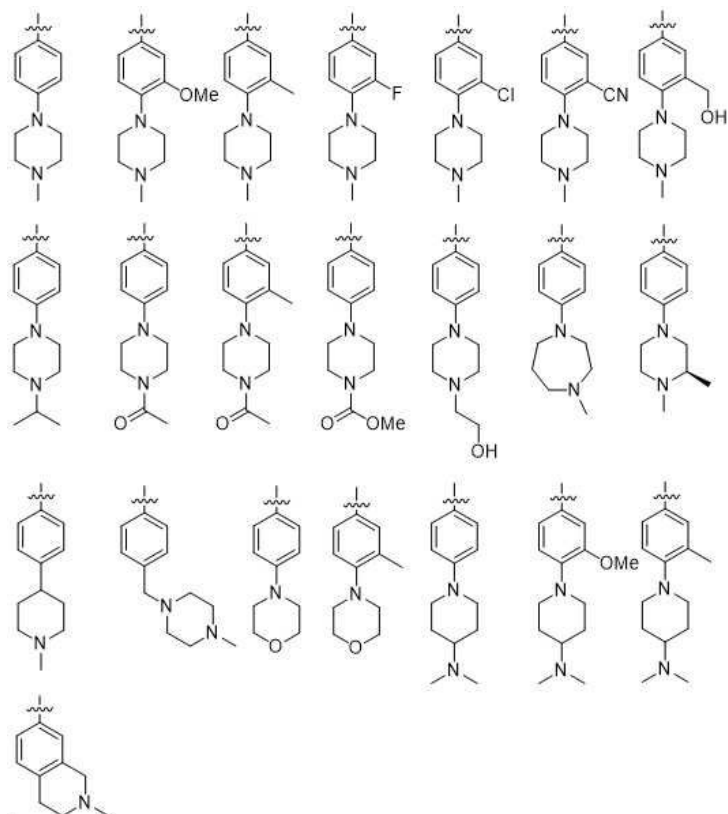
[0067] Rc, Rd 및 Re는 각각 독립적으로 수소원자 또는 C₁-C₆ 알킬이고;

[0068] m 은 0 또는 1의 정수이고;

[0069] p 는 0 또는 1의 정수이다.

[0071] 일 실시예에서, 상기 화학식 I에서,

[0072] 상기 R은



[0074] 으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것일 수 있다.

[0076] 본 발명에 따른 화학식 I로 표시되는 피라졸로피리미딘 설폰아마이드 유도체, 이의 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 하기에 화합물 1 내지 22로 나타내는 화합물로 이루어진 군으로부터 선택된 화합물을 포

함할 수 있다.

- [0077] 1) 6-(2-알릴-6-((4-(4-메틸피페라진-1-일)페닐)아미노)-3-옥소-2,3-다이하드로-1*H*-피라졸로[3,4-*d*]피리미딘-1-일)피리딘-2-설펜아마이드;
- [0078] 2) 6-(2-알릴-6-((3-메톡시-4-(4-메틸피페라진-1-일)페닐)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1*H*-피라졸로[3,4-*d*]피리미딘-1-일)피리딘-2-설펜아마이드;
- [0079] 3) 6-(2-알릴-6-((3-메틸-4-(4-메틸피페라진-1-일)페닐)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1*H*-피라졸로[3,4-*d*]피리미딘-1-일)피리딘-2-설펜아마이드;
- [0080] 4) 6-(2-알릴-6-((3-플루오로-4-(4-메틸피페라진-1-일)페닐)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1*H*-피라졸로[3,4-*d*]피리미딘-1-일)피리딘-2-설펜아마이드;
- [0081] 5) 6-(2-알릴-6-((3-클로로-4-(4-메틸피페라진-1-일)페닐)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1*H*-피라졸로[3,4-*d*]피리미딘-1-일)피리딘-2-설펜아마이드;
- [0082] 6) 6-(2-알릴-6-((3-시아노-4-(4-메틸피페라진-1-일)페닐)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1*H*-피라졸로[3,4-*d*]피리미딘-1-일)피리딘-2-설펜아마이드;
- [0083] 7) 6-(2-알릴-6-((3-(하이드록시메틸)-4-(4-메틸피페라진-1-일)페닐)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1*H*-피라졸로[3,4-*d*]피리미딘-1-일)피리딘-2-설펜아마이드;
- [0084] 8) 6-(2-알릴-6-((4-(4-이소프로필피페라진-1-일)페닐)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1*H*-피라졸로[3,4-*d*]피리미딘-1-일)피리딘-2-설펜아마이드;
- [0085] 9) 6-(6-((4-(4-아세틸피페라진-1-일)페닐)아미노)-2-알릴-3-옥소-2,3-다이하이드로-1*H*-피라졸로[3,4-*d*]피리미딘-1-일)피리딘-2-설펜아마이드;
- [0086] 10) 6-(6-((4-(4-아세틸피페라진-1-일)-3-메틸페닐)아미노)-2-알릴-3-옥소-2,3-다이하이드로-1*H*-피라졸로[3,4-*d*]피리미딘-1-일)피리딘-2-설펜아마이드;
- [0087] 11) 메틸 4-(4-((2-알릴-3-옥소-1-(6-설펜모일피리딘-2-일)-2,3-다이하이드로-1*H*-피라졸로[3,4-*d*]피리미딘-6-일)아미노)페닐)피페라진-1-카복실레이트;
- [0088] 12) 6-(2-알릴-6-((4-(4-(2-하이드록시에틸)피페라진-1-일)페닐)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1*H*-피라졸로[3,4-*d*]피리미딘-1-일)피리딘-2-설펜아마이드;
- [0089] 13) 6-(2-알릴-6-((4-(4-메틸-1,4-다이아제판-1-일)페닐)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1*H*-피라졸로[3,4-*d*]피리미딘-1-일)피리딘-2-설펜아마이드;
- [0090] 14) (*R*)-6-(2-알릴-6-((4-(3,4-다이메틸피페라진-1-일)페닐)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1*H*-피라졸로[3,4-*d*]피리미딘-1-일)피리딘-2-설펜아마이드;
- [0091] 15) 6-(2-알릴-6-((4-(1-메틸피페리딘-4-일)페닐)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1*H*-피라졸로[3,4-*d*]피리미딘-1-일)피리딘-2-설펜아마이드;
- [0092] 16) 6-(2-알릴-6-((4-(4-메틸피페라진-1-일)메틸)페닐)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1*H*-피라졸로[3,4-*d*]피리미딘-1-일)피리딘-2-설펜아마이드;
- [0093] 17) 6-(2-알릴-6-((4-모르폴리노페닐)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1*H*-피라졸로[3,4-*d*]피리미딘-1-일)피리딘-2-설펜아마이드;
- [0094] 18) 6-(2-알릴-6-((3-메틸-4-모르폴리노페닐)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1*H*-피라졸로[3,4-*d*]피리미딘-1-일)피리딘-2-설펜아마이드;
- [0095] 19) 6-(2-알릴-6-((4-(4-(다이메틸아미노)피페리딘-1-일)페닐)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1*H*-피라졸로[3,4-*d*]피리미딘-1-일)피리딘-2-설펜아마이드;
- [0096] 20) 6-(2-알릴-6-((4-(4-(다이메틸아미노)피페리딘-1-일)-3-메톡시페닐)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1*H*-피라졸로[3,4-*d*]피리미딘-1-일)피리딘-2-설펜아마이드;
- [0097] 21) 6-(2-알릴-6-((4-(4-(다이메틸아미노)피페리딘-1-일)-3-메틸페닐)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1*H*-피라

졸로[3,4-*d*]피리미딘-1-일)피리딘-2-설포아마이드;

- [0098] 22) 6-(2-알릴-6-((2-메틸-1,2,3,4-테트라하이드로이소퀴놀린-7-일)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1*H*-피라졸로[3,4-*d*]피리미딘-1-일)피리딘-2-설포아마이드.
- [0100] 본 발명의 상기 화학식 1로 표시되는 피라졸로피리미딘 설포아마이드 유도체는 이의 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염뿐만 아니라, 통상의 방법에 의해 제조될 수 있는 모든 염, 이성질체, 수화물 및 용매화물을 모두 포함한다.
- [0101] 본 발명에서, “약학적으로 허용가능”이란, 생리학적으로 허용되고 인간에게 투여될 때, 통상적으로 위장 장애, 현기증과 같은 알레르기 반응 또는 이와 유사한 반응을 일으키지 않고 이 분야의 통상의 지식을 가진 자가 의약제제 제조 시 통상적으로 사용되는 것을 의미할 수 있다.
- [0102] 본 발명에서 사용되는 용어, “염”은 약학적으로 허용가능한 유리산(free acid)에 의해 형성된 산부가염이 유용하다. 약학적으로 허용가능한 염이란 표현은 환자에게 비교적 비독성이고 무해한 유효작용을 갖는 농도로서 이 염에 기인한 부작용이 화학식 1의 염기 화합물의 이로운 효능을 떨어뜨리지 않는 화학식 1의 염기 화합물의 어떠한 유기 또는 무기 부가염을 의미한다. 이들 염은 유리산으로는 무기산과 유기산을 사용할 수 있으며, 무기산으로는 염산, 브롬산, 질산, 황산, 과염소산, 인산 등을 사용할 수 있고, 유기산으로는 구연산, 초산, 젖산, 말레산, 푸마린산, 글루콘산, 메탄설포산, 글리콘산, 숙신산, 타타르산, 갈락투론산, 엠본산, 글루탐산, 아스파르트산, 옥살산, (D) 또는 (L) 말산, 말레산, 메테인설포산, 에테인설포산, 4-톨루엔설포산, 살리실산, 시트르산, 벤조산 또는 말론산 등을 사용할 수 있다. 또한, 이들 염은 알칼리 금속염(나트륨염, 칼륨염 등) 및 알칼리 토금속염(칼슘염, 마그네슘염 등) 등을 포함한다. 예를 들면, 산부가염으로는 아세테이트, 아스파테이트, 벤조에이트, 베실레이트, 바이카보네이트/카보네이트, 바이설페이트/설페이트, 보레이트, 캄실레이트, 시트레이트, 에디실레이트, 에실레이트, 포메이트, 푸마레이트, 글루세이트, 글루코네이트, 글루코네이트, 헥사플루오로포스페이트, 하이벤레이트, 하이드로클로라이드/클로라이드, 하이드로브로마이드/브로마이드, 하이드로요오디드/요오디드, 이세티오네이트, 락테이트, 말레이트, 말리에이트, 말로네이트, 메실레이트, 메틸설페이트, 나프틸레이트, 2-나프틸레이트, 니코티네이트, 나이트레이트, 오로에이트, 옥살레이트, 팔미테이트, 파모에이트, 포스페이트/수소 포스페이트/이수소 포스페이트, 사카레이트, 스테아레이트, 석시네이트, 타르트레이트, 토실레이트, 트리플루오로아세테이트, 알루미늄, 알기닌, 벤자틴, 갈슘, 콜린, 디에틸아민, 디올아민, 글라이신, 라이신, 마그네슘, 메글루민, 올아민, 칼슘, 나트륨, 트로메타민, 아연염 등이 포함될 수 있으며, 이들 중 하이드로클로라이드 또는 트리플루오로아세테이트가 바람직하다.
- [0103] 본 발명에 따른 부가염은 통상의 방법으로 제조할 수 있으며, 예를 들면 화학식 1의 화합물을 수혼화성 유기용매, 예를 들면 아세톤, 메탄올, 에탄올, 또는 아세토니트릴 등에 녹이고 과량의 유기산을 가하거나 무기산의 산 수용액의 가한 후 침전시키거나 결정화시켜서 제조할 수 있다. 이어서 이 혼합물에서 용매나 과량의 산을 증발시킨 후 건조시켜서 부가염을 얻거나 또는 석출된 염을 흡인 여과시켜 제조할 수 있다.
- [0104] 본 발명에서 “이성질체”는 “입체 이성질체(stereoisomer)” 또는 “광학 이성질체(enantiomer)”를 포함하되, 입체 이성질체는 부분입체 이성질체(diastereomer) 각각 또는 이들의 혼합물을 포함할 수 있고, 광학 이성질체는 거울상 이성질체 각각 뿐만 아니라 거울상 이성질체의 혼합물 및 라세미체까지 모두 포함한다.
- [0105] 본 발명의 “수화물”은 피라졸로피리미딘 설포아마이드 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염이 물이 비공유적으로 분자간 힘으로 결합되어 있는 것으로 화학양론적 또는 비화학양론적의 양의 물을 포함하는 것일 수 있다. 구체적으로는, 상기 수화물은 활성성분 1 몰을 기준으로 물을 약 0.25몰 내지 약 10몰 비로 포함할 수 있으며, 보다 구체적으로는 약 0.5몰, 약 1.5몰, 약 2몰, 약 2.5몰, 약 3몰 등을 포함할 수 있으며, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0106] 본 발명의 “용매화물”은 피라졸로피리미딘 설포아마이드 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염이 물이 아닌 용매가 분자간 힘으로 결합되어 있는 것으로 화학양론적 또는 비화학양론적의 양의 물을 포함하는 것일 수 있다. 구체적으로는, 상기 수화물은 활성성분 1 몰을 기준으로 물을 약 0.25몰 내지 약 10몰 비로 포함할 수 있으며, 보다 구체적으로는 약 0.5몰, 약 1.5몰, 약 2몰, 약 2.5몰, 약 3몰, 약 5몰 등을 포함할 수 있으며, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0108] 피라졸로피리미딘 설폰아마이드 유도체 화합물의 제조방법

[0109] 본 발명은 하기 반응식 1에 나타난 바와 같은 피라졸로피리미딘 설폰아마이드 유도체 화합물의 제조방법을 제공한다.

[0110] 구체적으로 본 발명은 (A-1) 화학식 2의 화합물을 보호기화(protecting) 반응시켜 보호기(PG)가 도입된 화학식 3의 화합물을 제조하는 단계;

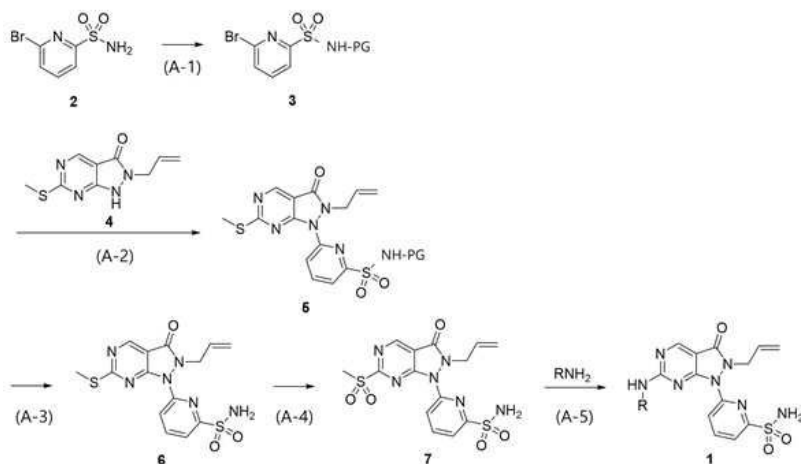
[0111] (A-2) 상기 단계 A-1에서 제조된 화학식 3의 화합물을 화학식 4의 화합물과 반응시켜 화학식 5의 화합물을 제조하는 단계;

[0112] (A-3) 상기 단계 A-2에서 제조된 화학식 5의 화합물에 대한 탈보호기화(deprotecting) 반응을 통해 화학식 6의 화합물을 제조하는 단계;

[0113] (A-4) 상기 단계 A-3에서 제조된 화학식 6의 화합물에 대한 산화 반응을 통해 화학식 7의 화합물을 제조하는 단계; 및

[0114] (A-5) 상기 단계 A-4에서 제조된 화학식 7의 화합물에 대해 R-NH₂를 이용한 치환 반응을 통해 화학식 1의 화합물을 제조하는 단계;를 포함하는 피라졸로피리미딘 설폰아마이드 유도체, 이의 이성질체 또는 이의 염의 제조방법을 제공한다.

[0115] [반응식 1]



[0116]

[0117] 상기 반응식에서, 상기 R은 제1항의 화학식 1에서 정의한 바와 같으며, 이하에서 본 발명에 따른 제조방법을 단계별로 상세히 설명한다.

[0118] (단계 A-1)

[0119] 본 발명에 따른 상기 단계 A-1은 출발물질인 화학식 2의 화합물에 아민 보호기를 도입하여 화학식 3의 화합물을 제조하는 단계이다. 구체적으로 상기 아민 보호기는 터트-부톡시카보닐기(tert-Butyloxycarbonyl, BOC), 카르보벤질옥실(Carbobenzyloxy, Cbz), 아세틸(Acetyl, Ac), 9-플루오렌메틸옥시카보닐(9-Fluorenylmethyloxycarbonyl, Fmoc), 벤조일(Benzoyl, Bz), 벤질(Benzyl, Bn), 카바네이트(Carbamate), p-메톡시벤질(p-Methoxybenzyl, PMB), 3,4-디메톡시벤질(3,4-Dimethoxybenzyl, DMPM), p-메톡시페닐(p-Methoxyphenyl, PMP), 토실(Tosyl, Ts) 및 트리클로로에틸 클로로포르메이트(trichloroethyl chloroformate, Troc) 등일 수 있으며, 바람직하게는 터트-부톡시카보닐기(tert-Butyloxycarbonyl, Boc)일 수 있다.

[0120] 상기 반응은 유기화학 분야에서 통상적으로 널리 알려져 있으며(Protective Groups in Organic Synthesis, Third Edition, John Wiley & Sons, Inc.), 시약, 반응 용매, 반응 온도, 반응 시간 등의 반응 조건은 반응물질, 생성물질 등을 고려하여 적절히 선택할 수 있다.

[0121] 일례로, 상기 화학식 2의 화합물을 용매인 다이클로로메탄(DCM)에 녹이고 다이-*t*-부틸 다이카르보네이트(Boc₂O), 4-다이메틸아미노피리딘(DMAP), 및 트라이에틸아민(TEA)을 가하여 Boc기를 도입할 수 있다.

[0123] (단계 A-2)

[0124] 본 발명에 따른 상기 단계 A-2는 상기 단계 A-1에서 제조된 화학식 3의 화합물을 전이금속, 리간드, 염기 및 유기 용매하에서 화학식 4의 화합물(ACS Chemical Biology 2016, 11, 921-930에 기술된 방법으로 화학식 4의 화합물을 얻었음)과 반응시켜 화학식 5의 화합물을 제조하는 단계로, 상기 단계 A-2의 반응은 *N*-아릴화 반응으로 통상적으로 알려진 반응이다.

[0125] 바람직하게, 상기 촉매는 Cu 기반 촉매 또는 Pd 기반 촉매를 사용할 수 있으며, 바람직하게는 요오드화구리(CuI)와 같은 구리 또는 Pd(OAc)₂와 같은 팔라듐을 사용할 수 있고, 가장 바람직하게는 요오드화구리(CuI)를 사용할 수 있다.

[0126] 또한, 리간드는 다이메틸에틸렌디아민(DMEDA)과 같은 다이아민을 사용할 수 있으며 염기는 포타슘 카보네이트(K₂CO₃) 또는 트라이포타슘 포스페이트(K₃PO₄) 등을 사용할 수 있으며, 상기 유기 용매는 1,4-다이옥산 또는 디메톡시에탄 등을 사용할 수 있다.

[0128] (단계 A-3)

[0129] 본 발명에 따른 상기 단계 A-3는 상기 단계 A-2에서 제조된 화학식 5의 보호기(PG)를 제거하여 화학식 6의 화합물을 제조하는 단계이다.

[0130] 상기 반응은 유기화학 분야에서 통상적으로 널리 알려져 있으며(Protective Groups in Organic Synthesis, Third Edition, John Wiley & Sons, Inc.), 시약, 반응 용매, 반응 온도, 반응 시간 등의 반응 조건은 반응물질, 생성물질 등을 고려하여 적절히 선택할 수 있다.

[0131] 일례로, 상기 화학식 5의 화합물을 용매인 다이클로로메탄(DCM)에 녹이고 산으로 트라이플루오로아세트산(TFA)을 가하여 보호기(PG)를 제거할 수 있다.

[0133] (단계 A-4)

[0134] 본 발명에 따른 상기 단계 A-4는 상기 단계 A-3에서 제조된 화학식 6의 산화 반응을 통해 화학식 7의 화합물을 제조하는 단계이다.

[0135] 상기 반응은 유기화학 분야에서 통상적으로 널리 알려져 있으며(Oxidation in Organic Synthesis, 2012, CRC Press), 시약, 반응 용매, 반응 온도, 반응 시간 등의 반응 조건은 반응물질, 생성물질 등을 고려하여 적절히 선택할 수 있다.

[0136] 일례로, 상기 화학식 6의 화합물을 용매인 다이클로로메탄(DCM)에 녹이고 산화제로 메타-클로로퍼옥시벤조산(mCPBA)을 가하여 설파이드를 설폰으로 변환할 수 있다.

[0137]

[0138] (단계 A-5)

[0139] 본 발명에 따른 상기 단계 A-5는 상기 단계 A-4에서 제조된 화학식 7에 대해 R-NH₂를 이용한 치환 반응을 통해 화학식 1의 화합물을 제조하는 단계이다.

[0140] 상기 반응은 유기화학 분야에서 통상적으로 널리 알려져 있으며, 시약, 반응 용매, 반응 온도, 반응 시간 등의 반응 조건은 반응물질, 생성물질 등을 고려하여 적절히 선택할 수 있다.

[0141] 일례로, 상기 화학식 7의 화합물을 용매인 2-부탄올에 녹이고 R-NH₂ 및 트라이플루오로아세트산(TFA)를 가하고 가열함으로써 치환 반응을 유도할 수 있다.

[0143] 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물의 제조방법에 있어서, 바람직한 양태로 하기 본 발명의 실시예 1 내지 실시예 22의 제조방법을 들 수 있고, 이로부터 해당 분야의 당업자가 통상 수행할 수 있는 변경 또는 수정의 범위도 본 발명의 제조방법에 포함된다.

- [0145] **본 발명의 피라졸로피리미딘 설펜아마이드 유도체 화합물을 포함하는 조성물, 이의 용도 및 이를 이용한 치료방법, 병용 치료방법**
- [0146] 본 발명의 일 측면에 있어서, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 피라졸로피리미딘 설펜아마이드 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 암 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0147] 본 발명의 약학적 조성물은 Wee1 활성을 억제함으로써 Wee1 활성 관련 질환, 구체적으로는 암 관련 질환의 예방 또는 치료에 현저한 효과를 보인다.
- [0148] 암 관련 질환은 혈액암, 난소암, 자궁경부암, 유방암, 대장암, 간암, 위암, 췌장암, 결장암, 복막 전이암, 피부암, 방광암, 전립선암, 폐암, 골육종, 섬유성 종양, 뇌종양, 골암, 두부 또는 경부암, 자궁암, 난소암, 직장암, 식도암, 소장암, 항문부근암, 나팔관암종, 자궁내막암종, 자궁경부암종, 질암종, 음문암종, 전립선암, 신장암, 수노관암, 신장세포암종, 신장골반암종 및 중추신경계 종양 등을 포함할 수 있으며, 이에 한정되는 것은 아니며, 이 외에도 wee1의 비정상적 기능과 관련된 증상 또는 질환을 포함할 수 있다.
- [0149] 상기 약학적으로 허용가능한 염은 앞서 본 발명의 피라졸로피리미딘 설펜아마이드 유도체의 허용되는 염에서 설명한 바와 같다.
- [0150] 본 발명에서 용어, 예방이란 본 발명에 따른 약학적 조성물의 투여에 의해 WEE1 활성을 억제, 암 관련 질환의 발병을 억제시키거나 지연시키는 모든 행위를 의미한다.
- [0151] 본 발명에서 용어, 치료란 본 발명에 따른 약학적 조성물의 투여에 의해 암 관련 질환에 대한 증세가 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미한다.
- [0152] 본 발명의 약학적 조성물은 유효성분 이외에 약학적으로 허용되는 담체를 포함할 수 있다. 이때, 약학적으로 허용되는 담체는 제제 시에 통상적으로 이용되는 것으로서, 약학적으로 허용가능한 담체는 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 텍스트로즈 용액, 말토 텍스트린 용액, 글리세롤, 에탄올 및 이들 성분 중 1 성분 이상을 혼합하여 사용할 수 있으며, 필요에 따라 향산화제, 완충액, 정균제 등 다른 통상의 첨가제를 첨가할 수 있다. 또한 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제 및 윤활제를 부가적으로 첨가하여 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 주사용 제형, 환약, 캡슐, 과립 또는 정제로 제제화할 수 있다. 따라서, 본 발명의 조성물은 패치제, 액제, 환약, 캡슐, 과립, 정제, 좌제 등일 수 있다. 이들 제제는 당 분야에서 제제화에 사용되는 통상의 방법 또는 Remington's Pharmaceutical Science(최근판), Mack Publishing Company, Easton PA 에 개시되어 있는 방법으로 제조될 수 있으며 각 질환에 따라 또는 성분에 따라 다양한 제제로 제제화될 수 있다.
- [0153] 본 발명의 약학적 조성물은 목적하는 방법에 따라 경구 투여하거나 비경구투여(예를 들어, 정맥 내, 피하, 복강 내 또는 국소에 적용) 형태로 제제화되어 투여될 수 있으며, 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물 형태, 투여경로 및 시간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다.
- [0154] 경구 투여용 제형으로는 예를 들면 정제, 환제, 경/연질 캡셀제, 액제, 현탁제, 유화제, 시럽제, 과립제, 엘릭시르제 등이 있는데, 이들 제형은 유효성분 이외에 희석제(예: 락토즈, 텍스트로즈, 수크로즈, 만니톨, 솔비톨, 셀룰로즈 및/또는 글리신), 활택제(예: 실리카, 탈크, 스테아르산 및 그의 마그네슘 또는 칼슘염 및/또는 폴리에틸렌 글리콜)를 함유하고 있다. 정제는 또한 마그네슘 알루미늄 실리케이트, 전분 페이스트, 젤라틴, 메틸셀룰로즈, 나트륨 카복시메틸셀룰로즈 및/또는 폴리비닐피롤리딘과 같은 결합제를 함유할 수 있으며, 경우에 따라 전분, 한천, 알긴산 또는 그의 나트륨 염과 같은 붕해제 또는 비등 혼합물 및/또는 흡수제, 착색제, 향미제, 및 감미제를 함유할 수 있다.
- [0155] 상기 화학식 1로 표시되는 유도체를 유효성분으로 하는 약학 조성물은 비경구 투여할 수 있으며, 비경구 투여는 피하주사, 정맥주사, 근육 내 주사 또는 흉부 내 주사를 주입하는 방법에 의한다.
- [0156] 이때, 비경구 투여용 제형으로 제제화하기 위하여 상기 화학식 1의 피라졸로피리미딘 설펜아마이드 유도체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 안정제 또는 완충제와 함께 물에 혼합하여 용액 또는 현탁액으로 제조하고, 이를 앰플 또는 바이알 단위 투여형으로 제조할 수 있다. 상기 조성물은 멸균되고/되거나 방부제, 안정화제, 수화제 또는 유화 촉진제, 삼투압 조절을 위한 염 및/또는 완충제 등의 보조제, 및 기타 치료적으로 유용한 물질을 함유할 수 있으며, 통상적인 방법인 혼합, 과립화 또는 코팅 방법에 따라 제제화할 수 있다.

- [0157] 본 발명의 약학적 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여한다. 본 발명에 있어서 약학적으로 유효한 양은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효용량 수준은 환자의 질환의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출비율, 치료기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다. 본 발명에 다른 약학적 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고 종래의 치료제와는 순차적 또는 동시에 투여될 수 있으며, 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기한 요소들을 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 이는 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.
- [0158] 구체적으로 본 발명의 약학적 조성물의 유효량은 환자의 연령, 성별, 상태, 체중, 체내에 활성 성분의 흡수도, 불활성을 및 배설속도, 질병종류, 병용되는 약물에 따라 달라질 수 있으며, 일반적으로는 몸무게가 70 kg인 성인 환자를 기준으로 할 때, 일반적으로 0.1-1,000 mg/일이며, 바람직하게는 1-500 mg/일이며, 의사 또는 약사의 판단에 따라 일정시간 간격으로 1일 1회 내지 수회로 분할 투여할 수도 있다. 그러나 투여 경로, 비만의 중증도, 성별, 체중, 연령 등에 따라서 증감될 수 있으므로 상기 투여량이 어떠한 방법으로도 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.
- [0160] 본 발명의 다른 일 측면에 있어서, 본 발명의 화학식 1로 표시되는 피라졸로피리미딘 설폰아마이드 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염; 및 항암 요법제;를 포함하는 암 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0161] 바람직하게는, 본 발명은 상기 피라졸로피리미딘 설폰아마이드 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염; 및 항암 요법제;가 동시에, 개별적으로 또는 순차적으로 병용하여 투여되는 약학적 조성물을 제공한다.
- [0162] 상기 항암 요법제는 화학 요법 및 방사선 요법 등일 수 있으며, 화학 요법은 의학 분야에서 통상적으로 알려진 바와 같이, 항암제를 사용하여 암을 치료하는 것으로 전신에 퍼져있는 암세포에 작용하는 전신적인 치료 방법을 의미할 수 있으며, 화학 요법은 단독으로 사용되기도 하지만, 완치(cure)를 위한 적극적인 치료 방법으로 사용될 경우에는 치료의 효과를 높이기 위하여 외과 수술 요법이나 방사선 치료요법과 함께 사용될 수 있다.
- [0163] 본 발명에서, 상기 화학 요법에서 사용될 수 있는 항암제는 DNA 손상 물질과 같은 화학 항암제, 면역 항암제 및 표적 치료제 등을 사용한 것일 수 있다.
- [0164] 구체적으로 화학 항암제는 DNA에 직접 결합하여 DNA 분자 자체를 파괴하고 DNA의 동일 나선 혹은 이중 나선 구조에 손상을 주어 암세포의 성장, 분열 및 분화를 막는 알킬화제 약물, 주로 염기쌍 사이에 끼어들어 DNA 나선을 풀어 항암 작용을 하는 항암성 항생물질, 정상세포의 DNA복제에 필요한 대사물질들과 유사한 구조를 가짐에 따라 DNA와 RNA의 구성 성분인 퓨린 (Purine)과 피리미딘(Pyrimidine)의 생합성 효소에 정상 대사물질들과 경쟁적으로 결합하여 그 작용을 방해하여 항암작용을 하는 대사 길항제 및 스테로이드계 기능적 작용을 하거나 길항 작용, 에스트로겐이나 프로게스테론 같은 호르몬에 의존해서 성장하는 암세포에 연료 공급선을 차단함으로써 항암 작용을 하는 호르몬제 등일 수 있다.
- [0165] 보다 구체적으로 상기 알킬화제는 스피라틴(Cisplatin), 카보플라틴(Carboplatin), 옥살리플라틴(Oxaliplatin), 메클로레타민(Mechlorethamine, nitrogen mustard), 사이클로포스파마이드(Cyclophosphamide), 이포스파마이드(Ifosfamide), 멜팔란(Melphalan), 클로람부실(Chlorambucil), 티오테파(Thiotepa), 알트레타민(Altretamine), 프로카바진(Procarbazine), 부설판(Busulfan), 카무스틴(Carmustine, BCNU), 로무스틴(Lomustine, CCNU) 및 다카바진(Dacarbazine,DTIC) 등일 수 있으며, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0166] 상기 항암성 항생물질은 닥티노마이신(Dactinomycin), 독소루비신(Doxorubicin), 다우노루비신(Daunorubicin), 마이토마이신(Mitomycin), 블레오마이신(Bleomycin) 등일 수 있으며, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0167] 또한, 상기 대사 길항제는 펜토스타틴(Pentostatin), 6-메르캅토피리딘(6-Mercaptopurine), 6-티오구아닌(6-Thioguanine), 아자티오프린(Azathioprine), 2-클로로디옥시아데노신(2-Chlorodeoxyadenosine), 히드록시우레아(Hydroxyurea), 메토트렉세이트(Methotrexate), 5-플루오로우라실(5-Fluorouracil), 카페시타빈(Capecitabine), 사이타라빈(Cytarabine), 아자시티딘(Azacitidine), 겐시타빈(Gemcitabine), 플루다라빈 포스페이트(Fludarabine phosphate), 아스파라기나제(Asparaginase), 페메트렉시드(Pemetrexed) 등일 수 있으며, 이에 한정되는 것은 아니다.

- [0168] 또한 상기 호르몬제는 마이토테인(Mitotane), 아미노글루테티미드(Aminoglutethimide) 등의 아로마타제(aromatase) 억제제, 프레드니손(Prednisone), 프레드니솔론(Prednisolone) 등을 포함하는 부신피질 스테로이드 호르몬, 프로게스틴(Progestin), 에스트로겐(Estrogen), 안드로젠(Androgen) 등을 포함하는 성호르몬, 타목시펜(tamoxifen) 등을 포함하는 항에스트로겐 약물, 플루타마이드(Flutamide) 등을 포함하는 항안드로젠 약물, 루프로라이드(Leuprolide) 등을 포함하는 생식선자극 호르몬 방출(Gonadotropine-releasing) 호르몬 유사물질 등을 포함할 수 있으며, 여기에 한정되는 것은 아니다.
- [0169] 또한, 천연 물질로는 세포의 유사분열 중에 염색체 분리에 필요한 미세소관에 결합하여 그 구성 성분인 튜불린을 파괴하여 세포분열을 중지시켜 항암작용을 나타내는 빈블라스틴(Vinblastine), 빈크리스틴(Vincristine), 비노렐빈(Vinorelbine)와 같은 빈카알칼로이드(Vinca Alkaloid); 세포분열 중에 미세소관의 작용을 방해하여 염색체 분리가 일어나지 않도록 항암 작용하는 파클리탁셀(Paclitaxel), 도세탁셀(Docetaxel) 등을 포함하는 택센(Taxane)계 물질 등을 포함할 수 있으나, 본 발명의 범위가 여기에 한정되는 것은 아니며, 항암 분야에서 통상적으로 사용되는 항암제를 제한 없이 사용할 수 있다.
- [0170] 본 발명에 있어서, 상기 면역 항암제는 인공 면역 단백질을 체내에 주입하여 면역체계를 자극함으로써 면역세포가 선택적으로 암세포만을 공격하도록 유도하는 치료약제로서, 면역관문억제제, 면역세포치료제 및 항암바이러스치료제 등을 포함할 수 있으며, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0171] 본 발명에 있어서, 상기 표적 치료제는 암의 성장과 발암에 관여하는 특별한 분자의 활동을 방해하여 암이 성장하고 퍼지는 것을 막는 약제로서, 신호전달경로 억제제(Signal Transduction Pathway Inhibitor), 신생혈관생성 억제제(Angiogenesis Inhibitors) 및 혈관내피세포 성장인자(VEGF, Vascular Endothelial Growth Factor) 억제제 등을 포함할 수 있다.
- [0172] 또한, 본 발명에 있어서, 방사선 요법은 방사선이 발생하는 장치 혹은 방사성 동위원소를 이용하여 고에너지 방사선을 조사하여 암세포를 직접 죽이거나 암세포가 주변으로 증식하는 것을 막기 위한 암 치료 방법 중 하나로, 해당 기술분야에서 통상적으로 사용되는 방법으로 방사선 요법을 수행할 수 있다.
- [0173] 또한, 본 발명은 상기 피라줄로피리미딘 설폰아마이드 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 개체에 투여하여 Wee1 활성을 억제하는 방법을 제공한다.
- [0174] 본 발명에서 “개체”란 질병의 치료가 있어야 하는 대상을 의미하고, 보다 구체적으로는, 인간 또는 비-인간인 영장류, 생쥐(mouse), 개, 고양이, 말, 소 등의 포유류를 의미한다.
- [0175] 본 발명의 Wee1 활성 관련 질환 또는 암 관련 질환의 예방 또는 치료 방법은 상기 피라줄로피리미딘 설폰아마이드 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 투여함으로써, 징후의 발현 전에 질병 그 자체를 다룰 뿐만 아니라, 이의 징후를 저해하거나 피하는 것을 또한 포함한다. 질환의 관리에 있어서, 특정 활성 성분의 예방적 또는 치료학적 용량은 질병 또는 상태의 본성(nature)과 심각도, 그리고 활성 성분이 투여되는 경로에 따라 다양할 것이다. 용량 및 용량의 빈도는 개별 환자의 연령, 체중 및 반응에 따라 다양할 것이다. 적절한 용량 용법은 이러한 인자를 당연히 고려하는 이 분야의 통상의 지식을 가진 자에 의해 쉽게 선택될 수 있다. 또한, 본 발명의 Wee1 활성 관련 질환 또는 암 관련 질환의 예방 또는 치료 방법은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물과 함께 질환 치료에 도움이 되는 추가적인 활성 제제의 치료학적으로 유효한 양의 투여를 더 포함할 수 있으며, 추가적인 활성제제는 상기 피라줄로피리미딘 설폰아마이드 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 시너지 효과 또는 보조적 효과를 나타낼 수 있다.
- [0176] 본 발명은 또한 Wee1 활성 관련 질환 또는 암 관련 질환의 치료용 약제의 제조를 위한 상기 화학식 I 로 표시되는 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 용도를 제공하고자 한다. 약제의 제조를 위한 상기 피라줄로피리미딘 설폰아마이드 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 허용되는 보조제, 희석제, 담체 등을 혼합할 수 있으며, 기타 활성제제와 함께 복합 제제로 제조되어 활성 성분들의 상승 작용을 가질 수 있다.
- [0177] 본 발명의 용도, 조성물, 치료 방법에서 언급된 사항은 서로 모순되지 않는 한 동일하게 적용된다.
- [0178] 이밖에 본 명세서에서 사용된 용어들과 약어들은 달리 정의되지 않는 한, 그 본래의 의미를 갖는다.

발명의 효과

- [0179] 본 발명에 따른 화학식 1의 피라줄로피리미딘 설폰아마이드 유도체는 우수한 Wee1 저해 활성 효과를 가지므로,

세포분열주기 조절 및 암줄기세포 기능 억제 등을 통해 암세포의 성장과 전이를 억제할 수 있으며, 암세포가 비정상적인 증식을 보이는 상태인 암 관련 질환의 예방 또는 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

[0180] 또한 본 발명에 따른 피라졸로피리미딘 설폰아마이드 유도체는 화학 항암제, 면역 항암제 및 표적 치료제 등의 화학요법 또는 방사선 요법과의 병용을 통해 암 관련 질환의 예방 또는 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0181] 이하, 본 발명을 실시예, 실험예, 및 제제예에 의하여 상세히 설명한다.

[0182] 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0184] <실시예 1> 6-(2-알릴-6-((4-(4-메틸피페라진-1-일)페닐)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-1-일)피리딘-2-설폰아마이드(6-(2-allyl-6-((4-(4-methylpiperazin-1-yl)phenyl)amino)-3-oxo-2,3-dihydro-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-1-yl)pyridin-2-sulfonamide)의 제조

[0185] 단계 1: t-부틸 ((6-브로모피리딘-2-일)설폰닐)카르바메이트 (t-butyl ((6-bromopyridin-2-yl)sulfonyl)carbamate) 제조

[0186] 6-브로모피리딘-2-설폰아마이드(300 mg, 1.27 mmol)과 다이-t-부틸 다이카르보네이트(321 mg, 1.47 mmol)을 다이클로로메탄(24 mL)에 녹인 후 다이메틸아미노피리딘(15 mg, 0.12 mmol)과 트라이에틸아민(210 μ L, 1.51 mmol)을 차례로 더하고 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 1N HCl 수용액을 더하고 에틸 아세테이트로 추출한 뒤 에틸 아세테이트 층을 소듐 클로라이드 포화 수용액으로 세척하고 마그네슘 설페이트로 건조하였다. 용매를 감압하에서 제거한 다음 남은 잔류물에 대해 실리카겔 관 크로마토그래피(*n*-헥산 : 에틸 아세테이트 = 3 : 1)를 수행하여 목적 화합물(426 mg, 99%)을 얻었다.

[0187] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.14 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.82 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 7.72 (d, J = 8.0 Hz 1H), 1.39 (s, 3H); MS (ESI) m/z 337 ($[\text{M}+\text{H}]^+$).

[0189] 단계 2: t-부틸 ((6-(2-알릴-6-(메틸싸이오)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-1-일)피리딘-2-일)설폰닐)카르바메이트 (t-Butyl ((6-(2-allyl-6-(methylthio)-3-oxo-2,3-dihydro-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-1-yl)pyridine-2-yl)sulfonyl)carbamate) 제조

[0190] t-부틸 ((6-브로모피리딘-2-일)설폰닐)카르바메이트(142 mg, 0.421 mmol), 2-알릴-6-(메틸싸이오)-1,2-다이하이드로-3H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-3-온(72 mg, 0.32 mmol), 요오드화제일구리(62 mg, 0.33 mmol), 및 포파슘 카보네이트(63 mg, 0.46 mmol)를 1,4-다이옥산(2 mL)에 넣은 후 다이메틸에틸렌다이아민(70 μ L, 0.65 mmol)을 더하고 95°C에서 18시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 실온으로 식힌 후 암모늄 하이드록사이드 포화 수용액을 더하고 에틸 아세테이트로 추출한 다음 유기층을 소듐 클로라이드 포화 수용액으로 세척 및 마그네슘 설페이트로 건조하였다. 용매를 감압하에서 제거한 다음 남은 잔류물에 대해 실리카겔 관 크로마토그래피(*n*-헥산 : 에틸 아세테이트 = 1 : 1)를 수행하여 목적 화합물(62 mg, 40%)을 얻었다.

[0191] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 9.00 (s, 1H), 8.30 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 8.13 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 8.08 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 5.64 (m, 1H), 4.98 (m, 4H), 2.62 (s, 3H), 1.39 (s, 9H); MS (ESI) m/z 479 ($[\text{M}+\text{H}]^+$).

[0193] 단계 3: 6-(2-알릴-6-(메틸싸이오)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-1-일)피리딘-2-설폰아마이드 (6-(2-allyl-6-(methylthio)-3-oxo-2,3-dihydro-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-1-yl)pyridine-2-sulfonamide) 제조

[0194] t-부틸 ((6-(2-알릴-6-(메틸싸이오)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-1-일)피리딘-2-일)설폰닐)카르바메이트(66 mg, 0.14 mmol)을 다이클로로메탄(1.4 mL)에 녹인 후 트라이플루오로아세트산(1.4 mL)을 더하고 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 용매를 감압하에서 제거한 다음 남은 잔류물에 대해 삭스 레진(SAX

resin)을 통과시켜 잔여 트라이플루오로아세트산을 제거하여 목적 화합물(52 mg, 98%)을 얻었다.

[0195] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.97 (s, 1H), 8.22 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 8.10 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 7.94 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 5.68 (m, 1H), 5.29 (s, 2H, NH_2), 5.02 (d, J = 10.4 Hz 1H), 4.98 (d, J = 17.2 Hz 1H), 4.90 (d, J = 6.4 Hz 2H), 2.61 (s, 3H); MS (ESI) m/z 379 ($[\text{M}+\text{H}]^+$).

[0197] **단계 4: 6-(2-알릴-6-(메틸설포닐)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-1-일)피리딘-2-설폰아마이드 (6-(2-allyl-6-(methylsulfonyl)-3-oxo-2,3-dihydro-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-1-yl)pyridine-2-sulfonamide) 제조**

[0198] 6-(2-알릴-6-(메틸싸이오)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-1-일)피리딘-2-설폰아마이드(51 mg, 0.13 mmol)를 다이클로로메탄(3 mL)에 녹인 후 메타-클로로퍼옥시벤조산(54 mg, 0.30 mmol)을 더하고 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 5 mol% 소듐 싸이오설페이트 수용액을 가하고 다이클로로메탄으로 추출한 다음 유기층을 소듐 바이카보네이트 포화 수용액과 소듐 클로라이드 포화 수용액으로 세척 및 마그네슘 설페이트로 건조하였다. 용매를 감압하에서 제거한 다음 남은 잔류물에 대해 실리카겔 판 크로마토그래피(다이클로로메탄 : 메탄올 = 30 : 1)를 수행하여 목적 화합물(29 mg, 52%)을 얻었다.

[0199] ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9.52 (s, 1H), 8.35 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 8.19 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.94 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 7.75 (s, 2H), 5.70 (m, 1H), 4.99-4.90 (m, 4H), 3.47 (s, 3H); MS (ESI) m/z 411 ($[\text{M}+\text{H}]^+$).

[0201] **단계 5: 6-(2-알릴-6-((4-(4-메틸피페라진-1-일)페닐)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-1-일)피리딘-2-설폰아마이드 (6-(2-allyl-6-((4-(4-methylpiperazin-1-yl)phenyl)amino)-3-oxo-2,3-dihydro-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-1-yl)pyridin-2-sulfonamide) 제조**

[0202] 6-(2-알릴-6-(메틸설포닐)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-1-일)피리딘-2-설폰아마이드(20 mg, 0.049 mmol)와 4-(4-메틸피페라진-1-일)아닐린(9.3 mg, 0.049 mmol)를 2-부탄올(1 mL)에 녹인 후 트라이플루오로아세트산(4.5 μL , 0.059 mmol)을 더하고 밀폐 튜브를 이용해 110 $^\circ\text{C}$ 에서 15시간 동안 교반하였다. 용매를 감압하에서 제거한 다음 남은 잔류물에 대해 삭스 레진(SAX resin)을 통과시켜 잔여 트라이플루오로아세트산을 제거하였다. 이어서 실리카겔 판 크로마토그래피(다이클로로메탄 : 메탄올 = 9 : 1)를 수행하여 목적 화합물(19 mg, 73%)을 얻었다.

[0203] ^1H NMR (400 MHz $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.25 (br, 1H), 8.86 (s, 1H), 8.31 (m, 1H), 8.17 (br, 1H), 7.84 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 7.65 (s, 2H), 7.55 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 6.96(d, J = 8.4 Hz, 2H), 5.65 (m, 1H), 4.96 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 4.88 (d, J = 17.2 Hz, 1H), 4.77 (d, J = 6.4 Hz, 2H), 3.5-2.4 (s, 4H), 3.12 (s, 4H), 2.24 (s, 3H); MS (ESI) m/z 522 ($[\text{M}+\text{H}]^+$).

[0205] <실시예 2> 6-(2-알릴-6-((3-메톡시-4-(4-메틸피페라진-1-일)페닐)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-1-일)피리딘-2-설폰아마이드(6-(2-allyl-6-((3-methoxy-4-(4-methylpiperazin-1-yl)phenyl)amino)-3-oxo-2,3-dihydro-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-1-yl)pyridin-2-sulfonamide) 의 제조

[0206] 상기 실시예 1의 단계 5와 동일한 방법으로 수행하되, 4-(4-메틸피페라진-1-일)아닐린 대신에 3-메톡시-4-(4-메틸피페라진-1-일)아닐린(16 mg, 0.071 mmol)을 사용하여 목적 화합물(2 mg, 9%)을 얻었다.

[0207] ^1H NMR (400 MHz $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.17 (br, 1H), 8.89 (s, 1H), 8.25 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 8.19 (br, 1H), 7.84 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.62 (s, 2H), 7.28 (m, 2H), 6.88 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 5.65 (m, 1H), 4.97 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 4.88z (d, J = 17.2 Hz, 1H), 4.76 (d, J = 5.6 Hz, 2H), 3.73 (s, 3H), 2.30 (s, 4H), 2.61 (s, 4H), 2.33 (s, 4H); MS (ESI) m/z 552 ($[\text{M}+\text{H}]^+$).

- [0209] <실시예 3> 6-(2-알릴-6-((3-메틸-4-(4-메틸피페라진-1-일)페닐)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-~~H~~-피라졸로[3,4-*d*]피리미딘-1-일)피리딘-2-설폰아마이드(6-(2-allyl-6-((3-methyl-4-(4-methylpiperazin-1-yl)phenyl)amino)-3-oxo-2,3-dihydro-1*H*-pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidin-1-yl)pyridin-2-sulfonamide)의 제조
- [0210] 상기 실시예 1의 단계 5와 동일한 방법으로 수행하되, 4-(4-메틸피페라진-1-일)아닐린 대신에 3-메틸-4-(4-메틸피페라진-1-일)아닐린(15 mg, 0.071 mmol)을 사용하여 목적 화합물(8 mg, 29%)을 얻었다.
- [0211] ¹H NMR (400 MHz DMSO-*d*₆) δ 10.20 (br, 1H), 8.88 (s, 1H), 8.25 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 8.19 (m, 1H), 7.84 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.62 (s, 2H), 7.40 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.88 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 5.66 (m, 1H), 4.96 (d, *J* = 10.0 Hz, 1H), 4.88z (d, *J* = 16.8 Hz, 1H), 4.76 (d, *J* = 6.4 Hz, 2H), 2.85 (s, 4H), 2.57 (s, 4H), 2.31 (s, 3H), 2.26 (s, 3H); MS (ESI) *m/z* 536 ([M+H]⁺).
- [0213] <실시예 4> 6-(2-알릴-6-((3-플루오로-4-(4-메틸피페라진-1-일)페닐)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-~~H~~-피라졸로[3,4-*d*]피리미딘-1-일)피리딘-2-설폰아마이드 (6-(2-allyl-6-((3-fluoro-4-(4-methylpiperazin-1-yl)phenyl)amino)-3-oxo-2,3-dihydro-1*H*-pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidin-1-yl)pyridin-2-sulfonamide)의 제조
- [0214] 상기 실시예 1의 단계 5와 동일한 방법으로 수행하되, 4-(4-메틸피페라진-1-일)아닐린 대신에 3-플루오로-4-(4-메틸피페라진-1-일)아닐린(13 mg, 0.063 mmol)을 사용하여 목적 화합물(7 mg, 25%)을 얻었다.
- [0215] ¹H NMR (400 MHz DMSO-*d*₆) δ 10.42 (br, 1H), 8.93 (s, 1H), 8.27 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 8.19 (m, 1H), 7.88 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.67 (dd, *J* = 2.6, 15.4 Hz, 1H), 7.55 (s, 2H), 7.36 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.02 (t, *J* = 9.4 Hz, 1H), 5.66 (m, 1H), 4.97 (d, *J* = 10.0 Hz, 1H), 4.87 (d, *J* = 17.2 Hz, 1H), 4.76 (d, *J* = 6.4 Hz, 2H), 3.02 (s, 4H), 2.60 (s, 4H), 2.32 (s, 3H); MS (ESI) *m/z* 540 ([M+H]⁺).
- [0217] <실시예 5> 6-(2-알릴-6-((3-클로로-4-(4-메틸피페라진-1-일)페닐)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-~~H~~-피라졸로[3,4-*d*]피리미딘-1-일)피리딘-2-설폰아마이드(6-(2-allyl-6-((3-chloro-4-(4-methylpiperazin-1-yl)phenyl)amino)-3-oxo-2,3-dihydro-1*H*-pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidin-1-yl)pyridin-2-sulfonamide)의 제조
- [0218] 상기 실시예 1의 단계 5와 동일한 방법으로 수행하되, 4-(4-메틸피페라진-1-일)아닐린 대신에 3-클로로-4-(4-메틸피페라진-1-일)아닐린(21 mg, 0.095 mmol)을 사용하여 목적 화합물(23 mg, 56%)을 얻었다.
- [0219] ¹H NMR (400 MHz DMSO-*d*₆) δ 10.46 (br, 1H), 8.94 (s, 1H), 8.30 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 8.17 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 8.05 (m, 1H), 7.86 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.67 (s, 2H), 7.49 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.16 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 5.64 (m, 1H), 4.97 (d, *J* = 10.0 Hz, 1H), 4.88 (d, *J* = 17.2 Hz, 1H), 4.78 (d, *J* = 6.4 Hz, 2H), 2.96 (s, 4H), 2.35-2.60 (4H), 2.25 (s, 3H); MS (ESI) *m/z* 556 ([M+H]⁺).
- [0221] <실시예 6> 6-(2-알릴-6-((3-시아노-4-(4-메틸피페라진-1-일)페닐)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-~~H~~-피라졸로[3,4-*d*]피리미딘-1-일)피리딘-2-설폰아마이드 (6-(2-allyl-6-((3-cyano-4-(4-methylpiperazin-1-yl)phenyl)amino)-3-oxo-2,3-dihydro-1*H*-pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidin-1-yl)pyridin-2-sulfonamide)의 제조
- [0222] 상기 실시예 1의 단계 5와 동일한 방법으로 수행하되, 4-(4-메틸피페라진-1-일)아닐린 대신에 3-시아노-4-(4-메틸피페라진-1-일)아닐린(17 mg, 0.079 mmol)을 사용하여 목적 화합물(9 mg, 28%)을 얻었다.
- [0223] ¹H NMR (400 MHz DMSO-*d*₆) δ 10.52 (br, 1H), 8.95 (s, 1H), 8.29 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 8.25 (m, 1H), 8.17 (d, 1H), 7.86 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.75 (m, 1H), 7.67 (s, 2H), 5.65 (m, 1H), 4.96 (d, *J* = 10.4 Hz, 1H), 4.86 (d, *J* = 17.2 Hz, 1H), 4.77 (d, *J* = 6.4 Hz, 2H), 3.12 (s, 4H), 2.35-2.60 (4H), 2.25 (s, 3H); MS (ESI) *m/z* 547 ([M+H]⁺).

- [0225] <실시예 7> 6-(2-알릴-6-((3-(하이드록시메틸)-4-(4-메틸피페라진-1-일)페닐)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-1-일)피리딘-2-설포아마이드(6-(2-allyl-6-((3-(hydroxymethyl)-4-(4-methylpiperazin-1-yl)phenyl)amino)-3-oxo-2,3-dihydro-1H-Pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-1-yl)pyridin-2-sulfonamide) 의 제조
- [0226] 상기 실시예 1의 단계 5와 동일한 방법으로 수행하되, 4-(4-메틸피페라진-1-일)아닐린 대신에 3-(하이드록시메틸)-4-(4-메틸피페라진-1-일)아닐린(18 mg, 0.079 mmol)을 사용하여 목적 화합물(11 mg, 33%)을 얻었다.
- [0227] ¹H NMR (400 MHz DMSO-d₆) δ 10.33 (br, 1H), 8.89 (s, 1H), 8.27 (s, 1H), 8.26 (s, 1H), 8.04 (br, 1H), 8.19 (t, J = 4.2 Hz, 1H), 7.64 (s, 2H), 7.42 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.05 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 5.65 (m, 1H), 5.17 (m, 1H), 4.96 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 4.87 (d, J = 16.8 Hz, 1H), 4.77 (d, J = 6.0 Hz, 2H), 4.59 (d, J = 5.2 Hz, 2H), 2.83 (s, 4H), 3.50-2.40 (4H), 2.24 (s, 3H); MS (ESI) m/z 552 ([M+H]⁺).
- [0229] <실시예 8> 6-(2-알릴-6-((4-(4-이소프로필피페라진-1-일)페닐)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-1-일)피리딘-2-설포아마이드 (6-(2-allyl-6-((4-(4-isopropylpiperazin-1-yl)phenyl)amino)-3-oxo-2,3-dihydro-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-1-yl)pyridin-2-sulfonamide) 의 제조
- [0230] 상기 실시예 1의 단계 5와 동일한 방법으로 수행하되, 4-(4-메틸피페라진-1-일)아닐린 대신에 4-(4-이소프로필피페라진-1-일)아닐린(17 mg, 0.079 mmol)을 사용하여 목적 화합물(8 mg, 24%)을 얻었다.
- [0231] ¹H NMR (400 MHz DMSO-d₆) δ 10.24 (br, 1H), 8.86 (s, 1H), 8.29 (m, 1H), 8.18 (m, 1H), 7.82 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.65 (s, 2H), 7.54 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 6.93 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 5.65 (m, 1H), 4.96 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 4.88 (d, J = 17.2 Hz, 1H), 4.76 (d, J = 6.0 Hz, 2H), 3.10 (s, 4H), 2.60 (s, 4H), 1.01 (d, 6H), 0.860 (m, 1H); MS (ESI) m/z 550 ([M+H]⁺).
- [0233] <실시예 9> 6-(6-((4-(4-아세틸피페라진-1-일)페닐)아미노)-2-알릴-3-옥소-2,3-다이하이드로-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-1-일)피리딘-2-설포아마이드(6-(6-((4-(4-acetylpiperazin-1-yl)phenyl)amino)-2-allyl-3-oxo-2,3-dihydro-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-1-yl)pyridin-2-sulfonamide)의 제조
- [0234] 상기 실시예 1의 단계 5와 동일한 방법으로 수행하되, 4-(4-메틸피페라진-1-일)아닐린 대신에 4-(4-아세틸피페라진-1-일)아닐린(17 mg, 0.079 mmol)을 사용하여 목적 화합물(21 mg, 63%)을 얻었다.
- [0235] ¹H NMR (400 MHz DMSO-d₆) δ 10.28 (br, 1H), 8.88 (s, 1H), 8.29 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 8.18 (m, 1H), 7.83 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.65 (s, 2H), 7.57 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 6.98 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 5.66 (m, 1H), 4.96 (d, J = 10.4 Hz, 1H), 4.88 (d, J = 17.2 Hz, 1H), 4.76 (d, J = 6.4 Hz, 2H), 3.59 (s, 4H), 3.14 (t, J = 4.8 Hz, 4H), 3.07 (t, J = 10.4 Hz, 6H), 2.06 (s, 3H); MS (ESI) m/z 550 ([M+H]⁺).
- [0237] <실시예 10> 6-(6-((4-(4-아세틸피페라진-1-일)-3-메틸페닐)아미노)-2-알릴-3-옥소-2,3-다이하이드로-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-1-일)피리딘-2-설포아마이드(6-(6-((4-(4-acetylpiperazin-1-yl)-3-methylphenyl)amino)-2-allyl-3-oxo-2,3-dihydro-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-1-yl)pyridin-2-sulfonamide)의 제조
- [0238] 상기 실시예 1의 단계 5와 동일한 방법으로 수행하되, 4-(4-메틸피페라진-1-일)아닐린 대신에 4-(4-아세틸피페라진-1-일)-3-메틸아닐린(19 mg, 0.079 mmol)을 사용하여 목적 화합물(20 mg, 57%)을 얻었다.
- [0239] ¹H NMR (400 MHz DMSO-d₆) δ 10.32 (br, 1H), 8.90 (s, 1H), 8.27 (t, J = 6.2, 6.2 Hz, 1H), 8.20 (br, 1H), 7.8 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 7.67 (s, 3H), 7.41 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 7.01 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 5.65 (m, 1H), 4.96 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 4.87 (d, J = 13.6 Hz, 1H), 4.76 (d, J = 5.2 Hz, 2H), 3.59 (s, 4H), 2.82 (t, J = 3.6, 3.6 Hz, 2H), 2.75 (t, J = 4.0, 4.0 Hz, 2H), 2.30 (s, 3H), 2.05 (s, 1H); MS (ESI) m/z 564

($[M+H]^+$).

- [0241] <실시예 11> 메틸 4-(4-((2-알릴-3-옥소-1-(6-설파모일피리딘-2-일)-2,3-다이하이드로-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-6-일)아미노)페닐)피페라진-1-카르복실레이트(Methyl 4-(4-((2-allyl-3-oxo-1-(6-sulfamoylpyridin-2-yl)-2,3-dihydro-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidine-6-yl)amino)phenyl)piperazine-1-carboxylate)의 제조
- [0242] 상기 실시예 1의 단계 5와 동일한 방법으로 수행하되, 4-(4-메틸피페라진-1-일)아닐린 대신에 메틸 4-(4-아미노페닐)피페라진-1-카르복실레이트(12 mg, 0.049 mmol)를 사용하여 목적 화합물(7 mg, 25%)을 얻었다.
- [0243] ^1H NMR (400 MHz DMSO- d_6) δ 10.26 (br, 1H), 8.87 (s, 1H), 8.30 (m, 1H), 8.17 (br, 1H), 7.84 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.64 (br, 2H), 7.56 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 6.93 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 5.65 (m, 1H), 4.96 (d, J = 10.4 Hz, 1H), 4.87 (d, J = 17.2 Hz, 1H), 4.76 (d, J = 6.4 Hz, 2H), 3.63 (s, 3H), 3.52 (t, J = 5.2 Hz, 4H), 3.09 (t, J = 5.2 Hz, 4H); MS (ESI) m/z 566 ($[M+H]^+$).
- [0245] <실시예 12> 6-(2-알릴-6-((4-(4-(2-하이드록시에틸)피페라진-1-일)페닐)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-1-일)피리딘-2-설포나마이드(6-(2-allyl-6-((4-(4-(2-hydroxyethyl)piperazin-1-yl)phenyl)amino)-3-oxo-2,3-dihydro-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-1-yl)pyridin-2-sulfonamide)의 제조
- [0246] 상기 실시예 1의 단계 5와 동일한 방법으로 수행하되, 4-(4-메틸피페라진-1-일)아닐린 대신에 4-(4-(2-하이드록시에틸)피페라진-1-일)아닐린(18 mg, 0.079 mmol)을 사용하여 목적 화합물(19 mg, 55%)을 얻었다.
- [0247] ^1H NMR (400 MHz DMSO- d_6) δ 10.25 (br, 1H), 8.86 (s, 1H), 8.30 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 8.17 (br, 1H), 7.82 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.65 (s, 2H), 7.54 (d, J = 4.0 Hz, 2H), 6.94 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 5.65 (m, 1H), 4.96 (d, J = 10.4 Hz, 1H), 4.88 (d, J = 17.2 Hz, 1H), 4.76 (d, J = 6.4 Hz, 2H), 4.42 (t, J = 5.2 Hz, 1H), 3.53 (q, J = 5.8, 11.8 Hz, 2H), 3.11 (s, 4H), 2.57 (s, 4H), 2.44 (t, J = 6.2 Hz, 2H); MS (ESI) m/z 552 ($[M+H]^+$).
- [0249] <실시예 13> 6-(2-알릴-6-((4-(4-메틸-1,4-다이아제판-1-일)페닐)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-1-일)피리딘-2-설포나마이드(6-(2-allyl-6-((4-(4-methyl-1,4-diazepan-1-yl)phenyl)amino)-3-oxo-2,3-dihydro-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-1-yl)pyridin-2-sulfonamide)의 제조
- [0250] 상기 실시예 1의 단계 5와 동일한 방법으로 수행하되, 4-(4-메틸피페라진-1-일)아닐린 대신에 4-(4-메틸-1,4-다이아제판-1-일)아닐린(16 mg, 0.079 mmol)을 사용하여 목적 화합물(17 mg, 51%)을 얻었다.
- [0251] ^1H NMR (400 MHz DMSO- d_6) δ 10.14 (br, 1H), 8.83 (s, 1H), 8.25 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 8.18 (br, 1H), 7.83 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.64 (s, 2H), 7.48 (m, 2H), 6.71 (m, 2H), 5.66 (m, 1H), 4.96 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 4.88 (d, J = 16.8 Hz, 1H), 4.75 (d, J = 6.4 Hz, 2H), 3.10 (s, 4H), 2.43 (s, 4H), 3.5-2.4(8H), 2.63 (m, 2H), 2.28 (s, 3H); MS (ESI) m/z 536 ($[M+H]^+$).
- [0253] <실시예 14> (R)-6-(2-알릴-6-((4-(3,4-다이메틸피페라진-1-일)페닐)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-1-일)피리딘-2-설포나마이드((R)-6-(2-allyl-6-((4-(3,4-dimethylpiperazin-1-yl)phenyl)amino)-3-oxo-2,3-dihydro-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-1-yl)pyridin-2-sulfonamide)의 제조
- [0254] 상기 실시예 1의 단계 5와 동일한 방법으로 수행하되, 4-(4-메틸피페라진-1-일)아닐린 대신에 (R)-4-(3,4-다이메틸피페라진-1-일)아닐린(16 mg, 0.079 mmol)을 사용하여 목적 화합물(15 mg, 47%)을 얻었다.
- [0255] ^1H NMR (400 MHz DMSO- d_6) δ 10.26 (br, 1H), 8.87 (s, 1H), 8.30 (m, 1H), 8.17 (br, 1H), 7.84 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.64 (br, 2H), 7.56 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 6.93 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 5.65 (m, 1H), 4.96 (d, J =

10.4 Hz, 1H), 4.87 (d, J = 17.2 Hz, 1H), 4.76 (d, J = 6.4 Hz, 2H), 2.84 (m, 2H), 2.72 (m, 2H), 2.35 (m, 2H), 2.21 (s, 3H), 2.14 (m, 1H), 1.05 (d, J = 6.2 Hz, 3H); MS (ESI) m/z 536 ($[M+H]^+$).

[0257] <실시예 15> 6-(2-알릴-6-((4-(1-메틸피페리딘-4-일)페닐)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1H-피라졸로[3,4-*d*]피리미딘-1-일)피리딘-2-설폰아마이드(6-(2-allyl-6-((4-(1-methylpiperidin-4-yl)phenyl)amino)-3-oxo-2,3-dihydro-1H-pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidin-1-yl)pyridin-2-sulfonamide)의 제조

[0258] 상기 실시예 1의 단계 5와 동일한 방법으로 수행하되, 4-(4-메틸피페라진-1-일)아닐린 대신에 4-(1-메틸피페리딘-4-일)아닐린(9.3 mg, 0.049 mmol)을 사용하여 목적 화합물(17 mg, 66%)을 얻었다.

[0259] ^1H NMR (400 MHz DMSO- d_6) δ 10.35 (br, 1H), 8.92 (s, 1H), 8.29 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 8.15 (br, 1H), 7.86 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.67 (m, 3H), 7.25(d, J = 8.4 Hz, 2H), 6.52 (m, 1H), 5.66 (m, 1H), 4.99 (d, J = 10.4 Hz, 1H), 4.87 (d, J = 17.2 Hz, 1H), 4.77 (d, J = 6.4 Hz, 2H), 3.2-3.5 (1H), 3.10 (s, 4H), 2.43 (s, 4H), 2.30 (s, 3H); MS (ESI) m/z 521 ($[M+H]^+$).

[0261] <실시예 16> 6-(2-알릴-6-((4-((4-메틸피페라진-1-일)메틸)페닐)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1H-피라졸로[3,4-*d*]피리미딘-1-일)피리딘-2-설폰아마이드(6-(2-allyl-6-((4-((4-methylpiperazin-1-yl)methyl)phenyl)amino)-3-oxo-2,3-dihydro-1H-pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidin-1-yl)pyridin-2-sulfonamide)의 제조

[0262] 상기 실시예 1의 단계 5와 동일한 방법으로 수행하되, 4-(4-메틸피페라진-1-일)아닐린 대신에 4-((4-메틸피페라진-1-일)메틸)아닐린(16 mg, 0.079 mmol)을 사용하여 목적 화합물(9 mg, 27%)을 얻었다.

[0263] ^1H NMR (400 MHz DMSO- d_6) δ 10.38 (br, 1H), 8.92 (s, 1H), 8.26 (t, J = 8.0 Hz 1H), 8.19 (m, 1H), 7.84 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.68 (s, 1H), 7.65 (s, 2H), 7.26 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 5.66 (m, 1H), 4.96 (d, J = 10.4 Hz, 1H), 4.88 (d, J = 16.8 Hz, 1H), 4.76 (d, J = 6.0 Hz, 2H), 3.41 (s, 2H), 3.36 (s, 4H), 2.33 (s, 4H), 2.14 (s, 3H); MS (ESI) m/z 536 ($[M+H]^+$).

[0265] <실시예 17> 6-(2-알릴-6-((4-모르폴리노페닐)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1H-피라졸로[3,4-*d*]피리미딘-1-일)피리딘-2-설폰아마이드(6-(2-allyl-6-((4-morpholinophenyl)amino)-3-oxo-2,3-dihydro-1H-pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidin-1-yl)Pyridine-2-sulfonamide)의 제조

[0266] 상기 실시예 1의 단계 5와 동일한 방법으로 수행하되, 4-(4-메틸피페라진-1-일)아닐린 대신에 4-모르폴리노아닐린(8.7 mg, 0.049 mmol)을 사용하여 목적 화합물(12 mg, 50%)을 얻었다.

[0267] ^1H NMR (400 MHz DMSO- d_6) δ 10.26 (br, 1H), 8.67 (s, 1H), 8.29 (m, 1H), 8.17 (br, 1H), 7.82 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.59 (m, 4H), 6.95 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 6.52 (m, 1H), 5.66 (m, 1H), 4.99 (d, J = 10.4 Hz, 1H), 4.88 (d, J = 17.2 Hz, 1H), 4.77 (d, J = 6 Hz, 2H), 3.10 (t, J = 4.8 Hz, 2H), 3.09 (t, J = 4.8 Hz, 2H), 3.50-2.40 (4H); MS (ESI) m/z 509 ($[M+H]^+$).

[0269] <실시예 18> 6-(2-알릴-6-((3-메틸-4-모르폴리노페닐)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1H-피라졸로[3,4-*d*]피리미딘-1-일)피리딘-2-설폰아마이드(6-(2-allyl-6-((3-methyl-4-morpholinophenyl)amino)-3-oxo-2,3-dihydro-1H-pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidine-1-yl)pyridin-2-sulfonamide)의 제조

[0270] 상기 실시예 1의 단계 5와 동일한 방법으로 수행하되, 4-(4-메틸피페라진-1-일)아닐린 대신에 3-메틸-4-모르폴리노아닐린(15 mg, 0.079 mmol)을 사용하여 목적 화합물(18 mg, 58%)을 얻었다.

[0271] ^1H NMR (400 MHz DMSO- d_6) δ 10.28 (br, 1H), 8.90 (s, 1H), 8.27 (t, J = 7.5 Hz 1H), 8.19 (br, 1H), 7.84

(d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.66 (br, 3H), 7.42(d, $J = 9.6$ Hz, 2H), 7.03 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 5.65 (m, 1H), 4.97 (d, $J = 10.2$ Hz, 1H), 4.87 (d, $J = 17.0$ Hz, 1H), 4.77 (d, $J = 6.4$ Hz, 2H), 3.75 (s, 4H), 2.83 (s, 4H), 2.29 (s, 3H); MS (ESI) m/z 523 ($[M+H]^+$).

[0273] <실시예 19> 6-(2-알릴-6-((4-(4-(다이메틸아미노)피페리딘-1-일)페닐)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-1-일)피리딘-2-설포아마이드(6-(2-allyl-6-((4-(4-(dimethylamino)piperidin-1-yl)phenyl)amino)-3-oxo-2,3-dihydro-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-1-yl)pyridin-2-sulfonamide)의 제조

[0274] 상기 실시예 1의 단계 5와 동일한 방법으로 수행하되, 4-(4-메틸피페라진-1-일)아닐린 대신에 4-(4-(다이메틸아미노)피페리딘-1-일)아닐린(17 mg, 0.079 mmol)을 사용하여 목적 화합물(16 mg, 46%)을 얻었다.

[0275] 1H NMR (400 MHz DMSO- d_6) δ 10.25 (br, 1H), 8.87 (s, 1H), 8.30 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H), 1H), 8.18 (br, 1H), 7.83 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.66 (s, 2H), 7.53 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 6.95 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 5.65 (m, 1H), 4.97 (d, $J = 10.0$ Hz, 1H), 4.88 (d, $J = 17.0$ Hz, 1H), 4.76 (d, $J = 6.4$ Hz, 2H), 3.66 (d, $J = 12.0$ Hz, 2H), 2.61 (t, $J = 11.8$ Hz, 2H), 2.20 (s, 6H), 1.83 (d, $J = 11.6$ Hz, 2H), 1.48 (m, 2H); MS (ESI) m/z 550 ($[M+H]^+$).

[0277] <실시예 20> 6-(2-알릴-6-((4-(4-(다이메틸아미노)피페리딘-1-일)-3-메톡시페닐)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-1-일)피리딘-2-설포아마이드(6-(2-allyl-6-((4-(4-(dimethylamino)piperidin-1-yl)-3-methoxyphenyl)amino)-3-oxo-2,3-dihydro-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-1-yl)pyridin-2-sulfonamide)의 제조

[0278] 상기 실시예 1의 단계 5와 동일한 방법으로 수행하되, 4-(4-메틸피페라진-1-일)아닐린 대신에 4-(4-(다이메틸아미노)피페리딘-1-일)-3-메톡시아닐린(15 mg, 0.079 mmol)을 사용하여 목적 화합물(16 mg, 46%)을 얻었다.

[0279] 1H NMR (400 MHz DMSO- d_6) δ 10.23 (br, 1H), 8.89 (s, 1H), 8.26 (t, $J = 8.2$ Hz, 1H), 1H), 8.18 (br, 1H), 7.84 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.66 (s, 2H), 7.25 (m, 2H), 6.89 (d, $J = 7.2$ Hz, 2H), 5.64 (m, 1H), 4.96 (d, $J = 10.0$ Hz, 1H), 4.87 (d, $J = 17.0$ Hz, 1H), 4.75 (d, $J = 6.4$ Hz, 2H), 3.72 (s, 3H), 3.13 (d, $J = 12.0$ Hz, 2H), 2.67 (t, $J = 11.8$ Hz, 2H), 2.20 (s, 6H), 1.79 (d, $J = 11.6$ Hz, 2H), 1.48 (m, 2H); MS (ESI) m/z 580 ($[M+H]^+$).

[0281] <실시예 21> 6-(2-알릴-6-((4-(4-(다이메틸아미노)피페리딘-1-일)-3-메틸페닐)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-1-일)피리딘-2-설포아마이드(6-(2-allyl-6-((4-(4-(dimethylamino)piperidin-1-yl)-3-methylphenyl)amino)-3-oxo-2,3-dihydro-1H-Pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-1-yl)pyridin-2-sulfonamide)의 제조

[0282] 상기 실시예 1의 단계 5와 동일한 방법으로 수행하되, 4-(4-메틸피페라진-1-일)아닐린 대신에 4-(4-(다이메틸아미노)피페리딘-1-일)-3-메틸아닐린(14 mg, 0.079 mmol)을 사용하여 목적 화합물(23 mg, 66%)을 얻었다.

[0283] 1H NMR (400 MHz DMSO- d_6) δ 10.26 (br, 1H), 8.89 (s, 1H), 8.25 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H), 1H), 8.20 (m, 1H), 7.84 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.66 (s, 3H), 7.39 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.01 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 5.65 (m, 1H), 4.97 (d, $J = 10.4$ Hz, 1H), 4.88 (d, $J = 17.2$ Hz, 1H), 4.76 (d, $J = 6.4$ Hz, 2H), 3.10 (d, $J = 12.0$ Hz, 2H), 2.61 (t, $J = 11.8$ Hz, 2H), 2.55-2.45 (s, 6H), 2.26 (s, H), 1.97 (d, $J = 11.6$ Hz, 2H), 1.65 (m, 2H); MS (ESI) m/z 564 ($[M+H]^+$).

[0285] <실시예 22> 6-(2-알릴-6-((2-메틸-1,2,3,4-테트라하이드로이소퀴놀린-7-일)아미노)-3-옥소-2,3-다이하이드로-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-1-일)피리딘-2-설포아마이드(6-(2-allyl-6-((2-methyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-7-yl)amino)-3-oxo-2,3-dihydro-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-1-yl)pyridin-2-

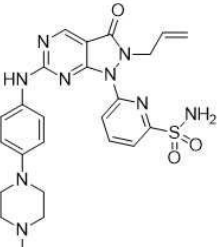
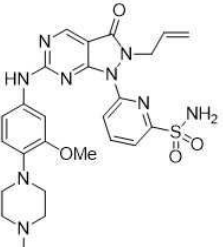
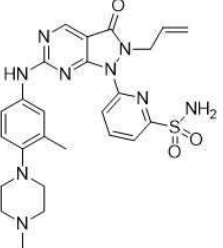
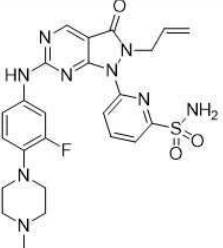
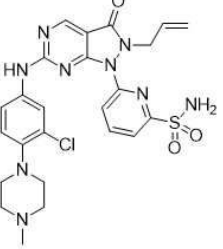
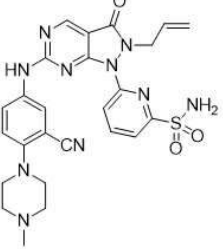
sulfonamide)의 제조

[0286] 상기 실시예 1의 단계 5와 동일한 방법으로 수행하되, 4-(4-메틸피페라진-1-일)아닐린 대신에 7-아미노-2-메틸-1,2,3,4-테트라하이드로이소퀴놀린(13 mg, 0.079 mmol)을 사용하여 목적 화합물(11 mg, 36%)을 얻었다.

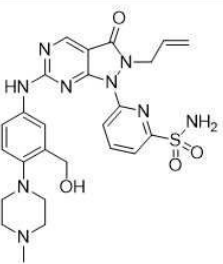
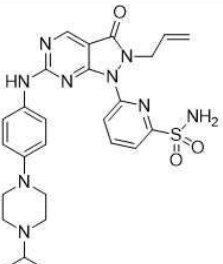
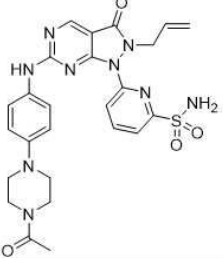
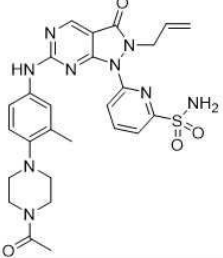
[0287] ^1H NMR (400 MHz DMSO- d_6) δ 10.32 (br, 1H), 8.92 (s, 1H), 8.24 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 8.18 (m, 1H), 7.87 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.67 (s, 2H), 7.53(s, 1H), 7.39 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.08 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 5.66 (m, 1H), 4.97 (d, J = 10.4 Hz, 1H), 4.87 (d, J = 16.8 Hz, 1H), 4.76 (d, J = 6.4 Hz, 2H), 3.48 (s, 2H), 2.43 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 2.30 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 2.37 (s, 3H); MS (ESI) m/z 493 ($[\text{M}+\text{H}]^+$).

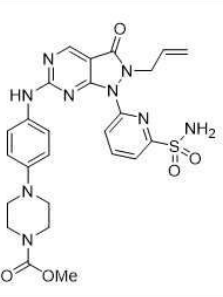
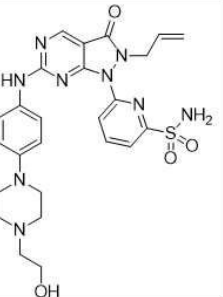
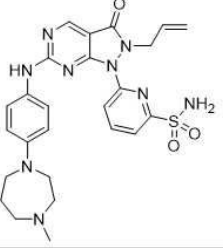
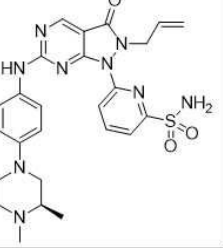
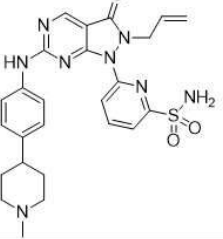
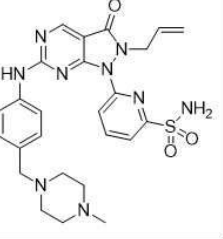
[0289] 상기 실시예 1 내지 22에서 제조된 화합물들의 구조를 확인하기 위하여 최종 화합물들을 ^1H NMR 스펙트럼과 질량분석 스펙트럼으로 분석하였으며, 하기 표 1에 구조와 함께 질량분석 결과를 기재하였다.

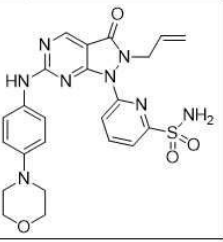
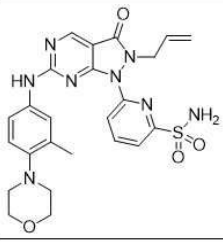
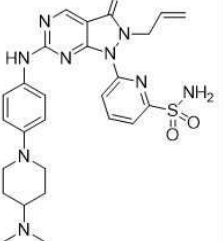
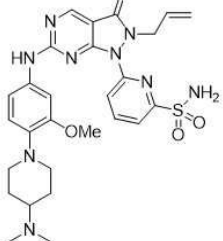
[0290] [표 1]

실시예	구조	분자량	MS (ESI)	실시예	구조	분자량	MS (ESI)
1		521.60	522	2		551.63	552
3		535.63	536	4		539.59	540
5		556.04	556	6		546.61	547

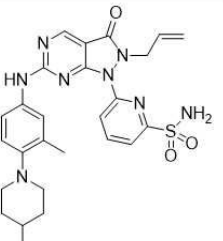
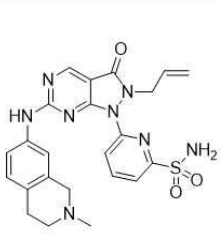
[0291]

7		551.63	552	8		549.65	550
9		549.61	550	10		563.64	564

11		565.61	566	12		551.63	552
13		535.63	536	14		535.63	536
15		520.61	521	16		535.63	536

17		508.56	509	18		522.28	523
19		549.65	550	20		579.68	580

[0294]

21		563.68	564	22		492.56	493
----	---	--------	-----	----	---	--------	-----

[0295]

[0297] <실험예 1> Wee1 약리활성 확인 실험 (Wee1 효소 활성 저해 실험)

[0298] Wee1 재조합 단백질은 카르나 바이오사이언스 (Carna biosciences, Inc)에서 구입하여 사용하였으며 키나제 효소 활성 측정은 프로메가 (Promega, Inc.)에서 제공되는 ADP-Glo™ 키트를 사용하였다. 키나제 반응에 사용한 완충용액 A는 60 mM Tris-Cl (pH 7.5), 30 mM MgCl₂, 0.15 % BSA를 포함하였으며 1 mM DTT는 실험 직전에 1M 용액을 희석하여 추가하였다.

[0299] Wee1 활성측정을 위한 단백질 기질로는 히스톤 단백질 H3의 1번부터 21번까지의 아미노산 서열을 기반으로 제작된 펩타이드 H3(1-21)을 사용하였으며 펩타이드와 ATP를 효소와 함께 섞어준 후 적절한 시간이 흐른 후에 그 반응 산물인 ADP의 양을 정량적으로 분석함으로써 이루어졌다. 완충용액 A를 이용하여 ATP와 H3(1-21) 펩타이드 최종 농도가 각각 1 uM이 되도록 3배 농도가 높은 3x 기질 용액을 만들고 이를 Optiplate 384 (perkin-elmer) 마이크로플레이트에 2.5 ul 씩 분주하였다. 그 후에 최종 농도의 3배가 되도록 만든 화합물 용액도 각각 2.5 ul 씩 분주하였다. 마지막으로 완충용액 A로 적절하게 희석한 Wee1 효소 용액을 2.5 ul 씩 넣어주고 800 rpm에서 1분간 원심분리를 실행한 뒤 30℃에서 효소 반응을 시작하였다.

[0300] 2시간이 경과한 후에 효소반응을 종료시키고 남아있는 ATP를 없애기 위하여 ADP-Glo™에 포함되어 있는 ADP-Glo™ 시약을 앞서 넣은 시약의 합과 같은 7.5 ul 씩 각각의 웰(well)에 넣어주고 앞의 조건과 같은 회전수와 시간으로 원심분리를 실행한 후 상온에서 추가로 40분간 반응시켰다. 마지막으로 키나제 활성화에 의해 생성되었던 ADP를 ATP로 바꾸주기 위하여 Kinase Detection Buffer 15 ul를 각각의 웰 (well)에 넣어주고 원심분리를 실행하였다. 원심분리가 끝나고 5분 후에 마이크로플레이트리더기 (Envision™, Perkin-Elmer)를 사용하여 반응물의 발광(luminescence)값을 구하여 화합물에 의한 효소활성 억제 정도를 측정하였고 Prism 프로그램을 활용하여 실시예 1 내지 22에 따라 제조된 화합물의 IC₅₀을 결정하였다.

[0301] 본 발명 실시예 1 내지 22에 따라 제조된 화합물에 대한 IC₅₀을 하기 표 2에 나타내었다.

표 2

화합물	Wee1 저해 활성 (IC ₅₀ , μM)	화합물	Wee1 저해 활성 (IC ₅₀ , μM)
실시예 1	< 0.001	실시예 12	0.01
실시예 2	0.01	실시예 13	0.01
실시예 3	0.01	실시예 14	0.002
실시예 4	0.02	실시예 15	0.02
실시예 5	0.005	실시예 16	0.01
실시예 6	0.009	실시예 17	0.02
실시예 7	0.01	실시예 18	0.001
실시예 8	0.02	실시예 19	0.005
실시예 9	0.01	실시예 20	0.003
실시예 10	0.003	실시예 21	0.005
실시예 11	0.007	실시예 22	0.003

상기 표 2에 나타난 바와 같이, 본 발명에 따라 제조된 피라졸로피리미딘 설펜아마이드 유도체 화합물은 IC₅₀ 값이 0.02 μM 이하로 우수한 Wee1 저해 활성을 갖는 것으로 나타났다. 특히, 실시예 1 및 18에 따라 제조된 화합물은 0.001 μM 이하의 IC₅₀ 값을 가지는 것으로 나타나 Wee1 저해 활성이 현저히 우수한 것을 확인할 수 있었다.

따라서 본 발명의 실시예에 나타난 화합물들은 우수한 Wee1 저해 활성 효과를 나타냄에 따라 암세포가 비정상적인 증식을 보이는 상태인 암 관련 질환의 예방 또는 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

한편, 본 발명에 따른 상기 화학식 1로 표시되는 피라졸로피리미딘 설펜아마이드 유도체는 목적에 따라 여러 형태로 제제화가 가능하다. 하기는 본 발명에 따른 상기 화학식 1로 표시되는 화합물을 활성성분으로 함유시킨 몇몇 제제화 방법을 예시한 것으로 본 발명이 이에 한정되는 것은 아니다.

<제제예 1> 산제의 제조

성분	함량
실시예 1의 피라졸로피리미딘 설펜아마이드 유도체	2 g
유당	1 g

상기의 성분을 혼합하고 기밀포에 충전하여 산제를 제조하였다.

또한, 상기 실시예 1의 피라졸로 피리미딘 설펜아마이드 유도체 대신에 실시예 2 내지 22에 따라 제조된 화합물 중 하나 이상을 사용하여 산제를 제조할 수 있다.

<제제예 2> 정제의 제조

성분	함량
실시예 1의 피라졸로피리미딘 설펜아마이드 유도체	100 mg
옥수수전분	100 mg
유당	100 mg
스테아린산 마그네슘	2 mg

상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조하였다.

또한, 상기 실시예 1의 피라졸로 피리미딘 설펜아마이드 유도체 대신에 실시예 2 내지 22에 따라 제조된 화합물 중 하나 이상을 사용하여 정제를 제조할 수 있다.

[0318] <제제예 3> 캡슐제의 제조

성분	함량
실시예 1의 피라졸로피리미딘 설펜아마이드 유도체	100 mg
옥수수전분	100 mg
유당	100 mg
스테아린산 마그네슘	2 mg

[0319]

[0320] 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 캡슐제의 제조방법에 따라서 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조하였다.

[0321] 또한, 상기 실시예 1의 피라졸로 피리미딘 설펜아마이드 유도체 대신에 실시예 2 내지 22에 따라 제조된 화합물 중 하나 이상을 사용하여 캡슐제를 제조할 수 있다.

[0323] <제제예 4> 주사제의 제조

성분	함량
실시예 1의 피라졸로피리미딘 설펜아마이드 유도체	100 mg
만니톨	180 mg
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	26 mg
증류수	2791 mg

[0324]

[0325] 통상적인 주사제의 제조방법에 따라, 상기 성분들을 제시된 함량으로 함유시켜 주사제를 제조하였다.

[0326] 또한, 상기 실시예 1의 피라졸로 피리미딘 설펜아마이드 유도체 대신에 실시예 2 내지 22에 따라 제조된 화합물 중 하나 이상을 사용하여 주사제를 제조할 수 있다.

[0328] 상기에서는 본 발명의 바람직한 실시예를 참조하여 설명하였지만, 해당 기술 분야의 숙련된 당업자는 하기의 특허 청구 범위에 기재된 본 발명의 사상 및 영역으로부터 벗어나지 않는 범위 내에서 본 발명을 다양하게 수정 및 변경시킬 수 있음을 이해할 수 있을 것이다.