



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0143457
(43) 공개일자 2017년12월29일

- | | |
|--|---|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 471/04 (2006.01) A23L 33/105 (2016.01)
A61K 31/437 (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
C07D 471/04 (2013.01)
A23L 33/105 (2016.08)</p> <p>(21) 출원번호 10-2017-0078179</p> <p>(22) 출원일자 2017년06월20일
심사청구일자 2017년06월20일</p> <p>(30) 우선권주장
1020160076666 2016년06월20일 대한민국(KR)</p> | <p>(71) 출원인
재단법인 대구경북첨단의료산업진흥재단
대구광역시 동구 동내로 88 (동내동, 커뮤니케이션센터)</p> <p>울산대학교 산학협력단
울산광역시 남구 대학로 93(무거동)</p> <p>재단법인 아산사회복지재단
서울특별시 송파구 올림픽로43길 88 (풍납동)</p> <p>(72) 발명자
최환근
서울특별시 서초구 신반포로 32, 28동 301호</p> <p>손정범
대구광역시 동구 동내로 20길 20-4, 304호
(뒷면에 계속)</p> <p>(74) 대리인
이원희</p> |
|--|---|

전체 청구항 수 : 총 15 항

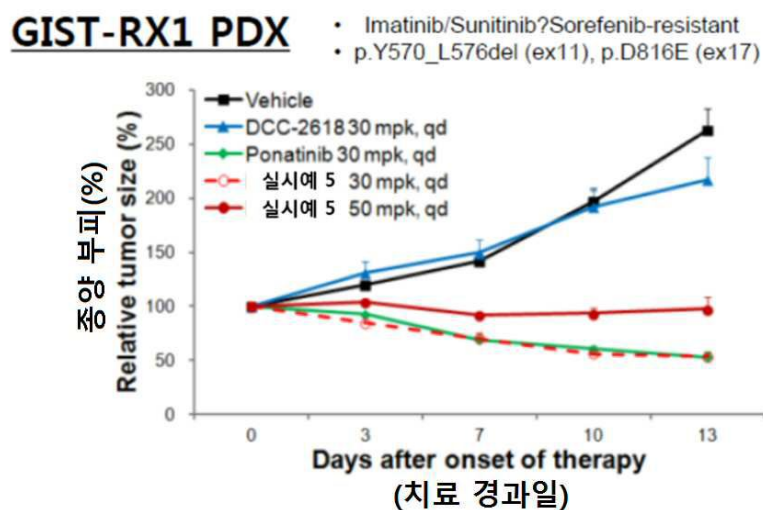
(54) 발명의 명칭 **신규한 이미다조피리딘 유도체, 이의 제조방법 및 이를 유효성분으로 함유하는 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물**

(57) 요약

본 발명은 신규한 이미다조피리딘 유도체, 이의 제조방법 및 이를 유효성분으로 함유하는 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것으로, 본 발명에 따른 신규한 이미다조피리딘 유도체, 이의 입체 이성질체 및 이의 약학적으로 허용 가능한 염은, 암세포 관련 효소(kinase)를 효과적으로 저해할 수 있고, 암 세포주에서 암의 세포 증식을 우수하게 억제할 수 있을 뿐 아니라, 암 세포 이중이식 모델에서 또한 암세포 증식 억제(암 세포 사멸) 효과가 있는 바, 이를 유효성분으로 함유하는 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.

또한, 본 발명에 따른 신규한 이미다조피리딘 유도체, 이의 입체 이성질체 및 이의 약학적으로 허용 가능한 염은, Src 및 Fyn을 효과적으로 저해할 수 있는 바, 이와 관련된 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물로 유용할 수 있고, 예를 들어 당뇨병성 신증의 예방 또는 치료용 약학적 조성물로 유용한 효과가 있다.

대표도 - 도3



(52) CPC특허분류

A61K 31/437 (2013.01)
A23V 2002/00 (2013.01)
A23V 2200/308 (2013.01)
C07B 2200/07 (2013.01)

(72) 발명자

고은화

대구광역시 동구 동호로 88 205동 501호

이승연

대구광역시 동구 율하동로17길 19-5 204호 (율하동,그랑프리)

김신애

대구광역시 중구 중앙대로 66길,20 101/803

조중희

대구광역시 동구 매디밸리로 35 이노힐즈 801동 1004호

강석용

서울특별시 중구 퇴계로86길 11 (신당동)

박진희

전라남도 목포시 신흥로 113 207동 102호 (옥암동, 제일2차아파트)

김소영

대구광역시 수성구 동대구로 300 101동 2403호 (범어동,범어롯데캐슬)

고이경

대구광역시 동구 반야월북로 333 303호 (괴전동)

장보미

대구광역시 수성구 청호로 229 303동 303호 (황금동, 신천지하이츠)

류희윤

대구광역시 북구 관음중앙로28길 37-30 (관음동)

김남두

대구광역시 수성구 지범로 22길 20 현대아파트 10 3동 201호

김현경

대구광역시 동구 율하서로 85 세계육상선수촌아파트 108동 1304호

이윤호

대구광역시 동구 동내로 20길 20-4, 402호

이선화

대구광역시 동구 금호강변로 3길 22, 107동 1504호

김다예

대구광역시 동구 동내로 20길 20-4, 205호

이선주

대구광역시 동구 반야월북로 221 105동 2501호 (신서동, 신서화성파크드림아파트)

홍성호

부산광역시 서구 보수대로 151-16

민상현

대구광역시 수성구 청수로 214 1511동 2003호 (황금동, 캐슬골드파크5단지)

이성우

대구광역시 중구 동덕로 14길 17

최동규

경상북도 영천시 동부로 14 302동 402호 (망정동, 주공아파트)

마민정

대구광역시 북구 동북로 345 112동 1401호 (북현동, 대구북현푸르지오아파트)

김상범

대구광역시 동구 동내로 20길 20-4, 410호

윤석균

서울특별시 마포구 삼개로 33 16동 603호 (도화동, 도화우성아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 DG16C001
 부처명 대구광역시
 연구관리전문기관 한국연구재단
 연구사업명 첨단의료복합단지 입주(예정)기관 연구개발지원사업
 연구과제명 카이네이즈 저해 신규 항암제 개발
 기 여 율 80/100
 주관기관 대구경북첨단의료산업진흥재단
 연구기간 2016.07.01 ~ 2016.12.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 NRF-2013R1A1A1007596
 부처명 미래창조과학부
 연구관리전문기관 한국연구재단
 연구사업명 신진연구지원사업
 연구과제명 노화억제를 유도하는 새로운 메커니즘 연구
 기 여 율 10/100
 주관기관 대구경북첨단의료산업진흥재단
 연구기간 2013.06.01 ~ 2016.05.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2015024240
 부처명 미래창조과학부
 연구관리전문기관 한국연구재단
 연구사업명 일반연구자지원사업
 연구과제명 돌연변이 IDH1(R132H)에 의한 종양발생 기작 연구
 기 여 율 10/100
 주관기관 대구경북첨단의료산업진흥재단
 연구기간 2013.06.01 ~ 2016.05.31

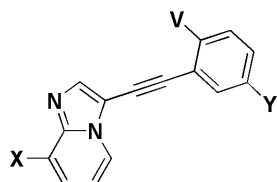
명세서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염:

[화학식 1]



(상기 화학식 1에 있어서,

V는 수소, 할로젠 또는 치환 또는 비치환된 C_{1-5} 의 직쇄 또는 측쇄의 알킬이되,

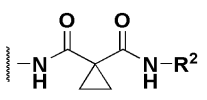
여기서, 상기 치환된 알킬은 히드록시기, 할로젠, 니트로기 및 $-CN$ 으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 치환기로 치환될 수 있고;

X는 $-NHR^1$ 이되,

상기 R^1 은 비치환 또는 치환된 C_{6-10} 의 아릴 또는 N, O, S로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 5 내지 10각환의 비치환 또는 치환된 헤테로아릴이고,

여기서, 상기 치환된 아릴 또는 치환된 헤테로아릴은 할로젠, 메톡시 및 디메틸아미노로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상이 치환되거나 비치환된 C_{1-10} 의 직쇄 또는 측쇄 알킬, 할로젠, 아미노 또는 N, O, S로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 5 내지 10각환의 헤테로 사이클로 알킬로 치환될 수 있고, 또는

상기 치환된 아릴 또는 치환된 헤테로아릴은 C_{3-10} 의 고리, 또는 N, O, S로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 5 내지 10각환의 고리와 융합(fused)되어 융합고리를 형성할 수 있고; 및

Y는 $-(C=O)NHR^2$, $-NH(C=O)R^2$, $-NH(C=O)NHR^2$ 또는  이되,

상기 R^2 는 치환된 C_{6-10} 의 아릴 또는 N, O, S로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 5 내지 10각환의 치환된 헤테로아릴이고,

여기서, 상기 치환된 아릴 또는 치환된 헤테로아릴은 $-CN$ 으로 치환된 C_{1-10} 의 직쇄 또는 측쇄 알킬, $-CN$ 으로 치환된 C_{1-2} 의 알콕시, $-CN$ 으로 치환된 C_{3-10} 의 사이클로 알킬로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종으로 치환되고,

상기 치환된 1종 외에 선택적으로 상기 치환된 아릴 또는 치환된 헤테로아릴은 $-CN$ 으로 치환된 C_{1-10} 의 직쇄 또는 측쇄 알킬, $-CN$ 으로 치환된 C_{1-2} 의 알콕시, $-CN$ 으로 치환된 C_{3-10} 의 사이클로 알킬, 할로젠, $-CH_2-R^3$, N, O, S로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 5 내지 10각환의 치환 또는 비치환된 헤테로 사이클로 알킬 및 N, O, S로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 5 내지 10각환의 비치환 또는 치환된 헤테로 아릴, 치환 또는 비치환된 아미노로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상으로 더 치환될 수 있고,

여기서 상기 치환된 헤테로아릴, 치환된 헤테로사이클로알킬, 및 치환된 아미노는 치환 또는 비치환된 C_{1-3} 의 직

쇄 또는 측쇄의 알킬로 치환될 수 있고,

다시 여기서, 치환된 C₁₋₃의 직쇄 또는 측쇄의 알킬은 디메틸 아미노기로 치환될 수 있고,

상기 R³는 N, O, S로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 5 내지 10각환의 헤테로 사이클로 알킬이되,

상기 헤테로 사이클로 알킬은 메틸, 에틸, 디메틸아미노 및 할로젠으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 치환기로 치환 또는 비치환될 수 있다).

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 R²는 치환된 C₆₋₁₀의 아릴 또는 N, O, S로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 5 내지 10각환의 치환된 헤테로아릴이고,

여기서, 상기 치환된 아릴 또는 치환된 헤테로아릴은 -CN으로 치환된 C₁₋₁₀의 직쇄 또는 측쇄 알킬, -CN으로 치환된 C₁₋₂의 알콕시, -CN으로 치환된 C₃₋₁₀의 사이클로 알킬로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종으로 치환되고,

상기 치환된 1종 외에 선택적으로 상기 치환된 아릴 또는 치환된 헤테로아릴은 -CN으로 치환된 C₁₋₁₀의 직쇄 또는 측쇄 알킬, -CN으로 치환된 C₁₋₂의 알콕시, -CN으로 치환된 C₃₋₁₀의 사이클로 알킬, 할로젠, -CH₂-R³, N, O, S로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 5 내지 10각환의 치환 또는 비치환된 헤테로 사이클로 알킬 및 N, O, S로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 5 내지 10각환의 비치환 또는 치환된 헤테로 아릴, 치환 또는 비치환된 아미노로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상으로 더 치환될 수 있고,

여기서 치환된 헤테로사이클로알킬, 및 치환된 아미노는 치환 또는 비치환된 C₁₋₃의 직쇄 또는 측쇄의 알킬로 치환될 수 있고,

다시 여기서, 치환된 C₁₋₃의 직쇄 또는 측쇄의 알킬은 디메틸 아미노기로 치환될 수 있는 것을 특징으로 하는 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염.

청구항 3

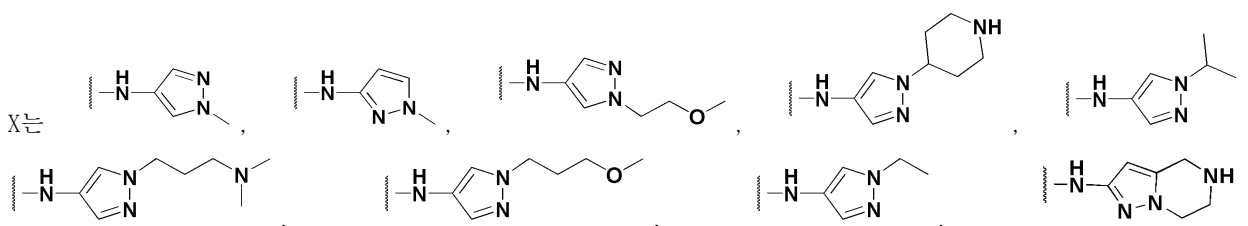
제1항에 있어서,

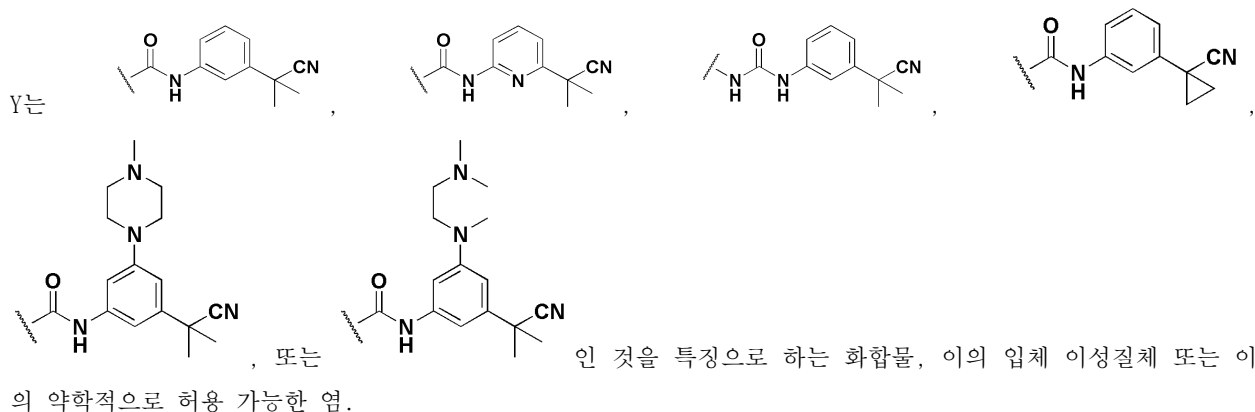
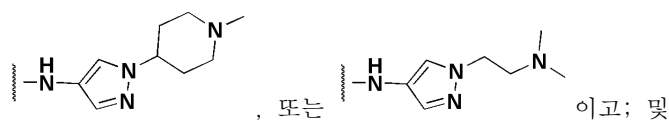
R¹이 헤테로아릴인 경우,

상기 헤테로아릴은 피라졸인 것을 특징으로 하는 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염.

청구항 4

제1항에 있어서,





청구항 5

제1항에 있어서,

상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 하기 화합물 군으로부터 선택되는 어느 하나인 것을 특징으로 하는 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염:

- (1) N-(3-(2-시아노프로판-2-일)페닐)-3-((8-((1-이소프로필-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)-4-메틸벤즈아마이드;
- (2) N-(3-(2-시아노프로판-2-일)페닐)-4-메틸-3-((8-((1-메틸-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)벤즈아마이드;
- (3) N-(6-(2-시아노프로판-2-일)피리딘-2-일)-3-((8-((1-이소프로필-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)-4-메틸벤즈아마이드;
- (4) N-(6-(2-시아노프로판-2-일)피리딘-2-일)-4-메틸-3-((8-((1-메틸-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)벤즈아마이드;
- (5) N-(3-(2-시아노프로판-2-일)페닐)-3-((8-((1-(2-메톡시에틸)-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)-4-메틸벤즈아마이드;
- (6) N-(3-(2-시아노프로판-2-일)페닐)-3-((8-((1-(3-메톡시프로필)-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)-4-메틸벤즈아마이드;
- (7) N-(6-(2-시아노프로판-2-일)피리딘-2-일)-3-((8-((1-(2-메톡시에틸)-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)-4-메틸벤즈아마이드;
- (8) N-(6-(2-시아노프로판-2-일)피리딘-2-일)-3-((8-((1-(3-메톡시프로필)-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)-4-메틸벤즈아마이드;
- (9) 1-(3-(2-시아노프로판-2-일)페닐)-3-(4-메틸-3-((8-((1-메틸-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)페닐)우레아;
- (10) N-(3-(2-시아노프로판-2-일)페닐)-4-메틸-3-((8-((4,5,6,7-테트라하이드로피라졸로[1,5-a]파라진-2-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)벤즈아마이드;
- (11) N-(3-(2-시아노프로판-2-일)페닐)-4-메틸-3-((8-((1-(1-메틸피페리딘-4-일)-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)벤즈아마이드;
- (12) N-(3-(2-시아노프로판-2-일)페닐)-3-((8-((1-(2-(디메틸아미노)에틸)-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조

[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)-4-메틸벤즈아마이드;

(13) N-(3-(2-시아노프로판-2-일)페닐)-3-((8-((1-(2-(디메틸아미노)프로필)1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)-4-메틸벤즈아마이드;

(14) N-(3-(2-시아노프로판-2-일)페닐)-4-메틸-3-((8-((1-(피페리딘-4-일)-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)벤즈아마이드;

(15) N-(3-(1-시아노사이클로프로필)페닐)-4-메틸-3-((8-((1-메틸-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)벤즈아마이드;

(16) N-(3-(1-시아노사이클로프로필)페닐)-3-((8-((1-이소프로필-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)-4-메틸벤즈아마이드;

(17) N-(3-(1-시아노사이클로프로필)페닐)-3-((8-((1-(2-메톡시에틸)-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)-4-메틸벤즈아마이드;

(18) N-(3-(1-시아노사이클로프로필)페닐)-3-((8-((1-(3-메톡시프로필)-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)-4-메틸벤즈아마이드;

(19) N-(3-(1-시아노사이클로프로필)페닐)-3-((8-((1-(2-(디메틸아미노)에틸)-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)-4-메틸벤즈아마이드;

(20) N-(3-(1-시아노사이클로프로필)페닐)-4-메틸-3-((8-((1-(피페리딘-4-일)-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)벤즈아마이드;

(21) N-(3-(2-시아노프로판-2-일)-5-(4-메틸피페라진-1-일)페닐)-4-메틸-3-((8-((1-메틸-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)벤즈아마이드;

(22)

N-(3-(2-시아노프로판-2-일)-5-(4-메틸피페라진-1-일)페닐)-3-((8-((1-이소프로필-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)-4-메틸벤즈아마이드;

(23) N-(3-(2-시아노프로판-2-일)-5-(4-메틸피페라진-1-일)페닐)-3-((8-((1-(2-메톡시에틸)-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)-4-메틸벤즈아마이드;

(24) N-(3-(2-시아노프로판-2-일)-5-(4-메틸피페라진-1-일)페닐)-3-((8-((1-(3-메톡시프로필)-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)-4-메틸벤즈아마이드;

(25) N-(3-(2-시아노프로판-2-일)-5-(4-메틸피페라진-1-일)페닐)-3-((8-((1-(2-(디메틸아미노)에틸)-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)-4-메틸벤즈아마이드;

(26) N-(3-(2-시아노프로판-2-일)-5-(4-메틸피페라진-1-일)페닐)-4-메틸-3-((8-((1-(피페리딘-4-일)-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)벤즈아마이드;

(27) N-(3-(2-시아노프로판-2-일)-5-((2-(디메틸아미노)에틸)(메틸)아미노)페닐)-4-메틸-3-((8-((1-메틸-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)벤즈아마이드;

(28) N-(3-(2-시아노프로판-2-일)-5-((2-(디메틸아미노)에틸)(메틸)아미노)페닐)-3-((8-((1-이소프로필-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)-4-메틸벤즈아마이드;

(29) N-(3-(2-시아노프로판-2-일)-5-((2-(디메틸아미노)에틸)(메틸)아미노)페닐)-3-((8-((1-(2-메톡시에틸)-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)-4-메틸벤즈아마이드;

(30) N-(3-(2-시아노프로판-2-일)-5-((2-(디메틸아미노)에틸)(메틸)아미노)페닐)-3-((8-((1-(3-메톡시프로필)-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)-4-메틸벤즈아마이드;

(31) N-(3-(2-시아노프로판-2-일)-5-((2-(디메틸아미노)에틸)(메틸)아미노)페닐)-3-((8-((1-(2-(디메틸아미노)에틸)-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)-4-메틸벤즈아마이드; 및

(32) N-(3-(2-시아노프로판-2-일)-5-((2-(디메틸아미노)에틸)(메틸)아미노)페닐)-4-메틸-3-((8-((1-(피페리딘-4-일)-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)벤즈아마이드.

청구항 6

하기 반응식 1에 나타난 바와 같이,

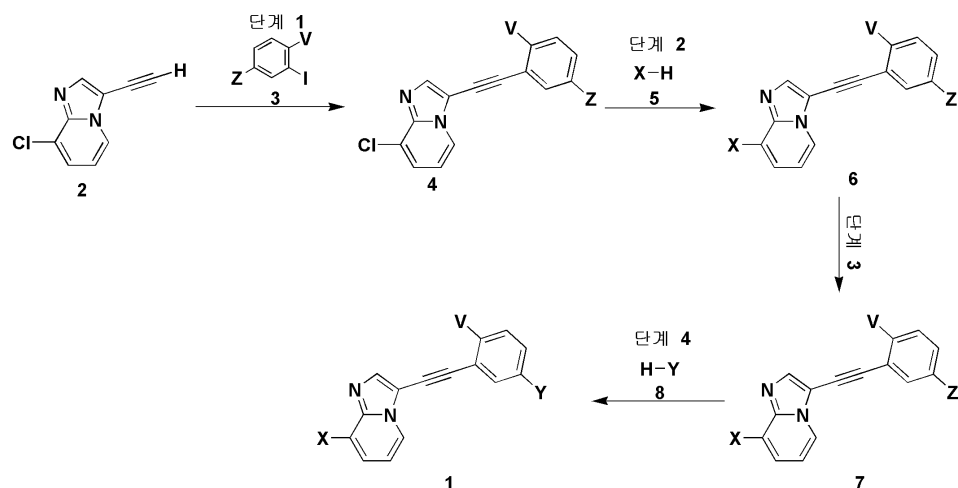
화학식 2로 표시되는 화합물과, 화학식 3으로 표시되는 화합물을 반응시켜 화학식 4로 표시되는 화합물을 제조하는 단계(단계 1);

상기 단계 1에서 제조한 화학식 4로 표시되는 화합물과, 화학식 5로 표시되는 화합물을 반응시켜 화학식 6으로 표시되는 화합물을 제조하는 단계(단계 2);

상기 단계 2에서 제조한 화학식 6으로 표시되는 화합물로부터 화학식 7로 표시되는 화합물을 제조하는 단계(단계 3); 및

상기 단계 3에서 제조한 화학식 7로 표시되는 화합물을 화학식 8로 표시되는 화합물과 반응시켜 화학식 1로 표시되는 화합물을 제조하는 단계(단계4);를 포함하는 제1항의 화학식 1로 표시되는 화합물의 제조방법:

[반응식 1]



(상기 반응식 1에서,

상기 V, X 및 Y는 제1항의 화학식 1에서 정의한 바와 같고;

상기 Z 및 Z'는 Z가 $-\text{NO}_2$ 인 경우, Z'는 $-\text{NH}_2$ 이고, Z가 $-\text{O}-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2\text{CH}_3$ 인 경우, Z'는 $-\text{C}(=\text{O})\text{OH}$ 이다).

청구항 7

제1항의 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 함유하는,

ABL1(E255K)-phosphorylated, ABL1(F317I)-nonphosphorylated, ABL1(F317I)-phosphorylated, ABL1(F317L)-nonphosphorylated, ABL1(F317L)-phosphorylated, ABL1(H396P)-nonphosphorylated, ABL1(H396P)-phosphorylated, ABL1(M351T)-phosphorylated, ABL1(Q252H)-nonphosphorylated, ABL1(Q252H)-phosphorylated, ABL1(T315I)-nonphosphorylated, ABL1(T315I)-phosphorylated, ABL1(Y253F)-phosphorylated, ABL1-nonphosphorylated, ABL1-phosphorylated, ABL2, ALK, AURKB, AXL, BLK, BMX, BRAF, BRAF(V600E), BRK, BTK, CDKL2, CIT, CSF1R, CSK, DDR1, DDR2, DLK, EGR, EGFR, EGFR(E746-A750del), EGFR(G719C), EGFR(G719S), EGFR(L747-E749del, A750P), EGFR(L747-S752del, P753S), EGFR(L747-T751del, Sins), EGFR(L858R), EGFR(L861Q), EGFR(S752-I759del), EPHA1, EPHA2, EPHA3, EPHA4, EPHA5, EPHA6, EPHA7, EPHA8, EPHB1, EPHB2, EPHB3, EPHB4, EPHB6, ERBB4, ERK8, ERN1, FER, FES, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR3(G697C), FGFR4, FGR, FLT1,

FLT3, FLT3(D835H), FLT3(D835Y), FLT3(ITD), FLT3(ITD, F691L), FLT3(K663Q), FLT3(N841I), FLT3(R834Q), FLT4, FRK, FYN, GRK2, GRK3, HCK, HIPK4, HPK1, IKK-alpha, IRAK1, JAK2(JH1domian-catalytic), JAK3(JH1domian-catalytic), JNK1, JNK2, KIT, KIT(A829P), KIT(D816H), KIT(D816V), KIT(L576P), KIT(V559D), KIT(V559D, T670I), KIT(V559D, V654A), LCK, LOK, LYN, MAP3K1, MAP3K15, MAP4K2, MAP4K4, MAP4K5, MEK5, MERTK, MINK, MKNK2, MLK1, MLK3, MUSK, NEK4, NLK, p38-alpha, p38-beta, p38-gamma, PDGFRA, PDGFRB, PFCDPK1(P.falciparum), RAF1, RET, RET(M918T), RET(V804L), RET(V804M), RIPK1, RIPK2, SIK, SIK2, SLK, SRC, SRMS, STK33, STK39, TAK1, TEC, TIE1, TIE2, TNK1, TNK1, TNKI3K, TRKA, TRKB, TRKC, TXK, TYK2(JH1domian-catalytic), VEGFR2, YES, YSK4, 또는 ZAK 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 8

제1항의 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 함유하는 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 9

제8항에 있어서,

상기 화합물은 ABL1(E255K)-phosphorylated, ABL1(F317I)-nonphosphorylated, ABL1(F317I)-phosphorylated, ABL1(F317L)-nonphosphorylated, ABL1(F317L)-phosphorylated, ABL1(H396P)-nonphosphorylated, ABL1(H396P)-phosphorylated, ABL1(M351T)-phosphorylated, ABL1(Q252H)-nonphosphorylated, ABL1(Q252H)-phosphorylated, ABL1(T315I)-nonphosphorylated, ABL1(T315I)-phosphorylated, ABL1(Y253F)-phosphorylated, ABL1-nonphosphorylated, ABL1-phosphorylated, ABL2, ALK, AURKB, AXL, BLK, BMX, BRAF, BRAF(V600E), BRK, BTK, CDKL2, CIT, CSF1R, CSK, DDR1, DDR2, DLK, EGR, EGFR, EGFR(E746-A750del), EGFR(G719C), EGFR(G719S), EGFR(L747-E749del, A750P), EGFR(L747-S752del, P753S), EGFR(L747-T751del, Sins), EGFR(L858R), EGFR(L861Q), EGFR(S752-I759del), EPHA1, EPHA2, EPHA3, EPHA4, EPHA5, EPHA6, EPHA7, EPHA8, EPHB1, EPHB2, EPHB3, EPHB4, EPHB6, ERBB4, ERK8, ERN1, FER, FES, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR3(G697C), FGFR4, FGR, FLT1, FLT3, FLT3(D835H), FLT3(D835Y), FLT3(ITD), FLT3(ITD, F691L), FLT3(K663Q), FLT3(N841I), FLT3(R834Q), FLT4, FRK, FYN, GRK2, GRK3, HCK, HIPK4, HPK1, IKK-alpha, IRAK1, JAK2(JH1domian-catalytic), JAK3(JH1domian-catalytic), JNK1, JNK2, KIT, KIT(A829P), KIT(D816H), KIT(D816V), KIT(L576P), KIT(V559D), KIT(V559D, T670I), KIT(V559D, V654A), LCK, LOK, LYN, MAP3K1, MAP3K15, MAP4K2, MAP4K4, MAP4K5, MEK5, MERTK, MINK, MKNK2, MLK1, MLK3, MUSK, NEK4, NLK, p38-alpha, p38-beta, p38-gamma, PDGFRA, PDGFRB, PFCDPK1(P.falciparum), RAF1, RET, RET(M918T), RET(V804L), RET(V804M), RIPK1, RIPK2, SIK, SIK2, SLK, SRC, SRMS, STK33, STK39, TAK1, TEC, TIE1, TIE2, TNK1, TNK1, TNKI3K, TRKA, TRKB, TRKC, TXK, TYK2(JH1domian-catalytic), VEGFR2, YES, YSK4, 또는 ZAK을 억제하여 암을 예방 또는 치료하는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 10

제8항에 있어서,

상기 암은 상기 암은 가성점액종, 간내 담도암, 간모세포종, 간암, 갑상선암, 결장암, 고환암, 골수이형성증후군, 교모세포종, 구강암, 구순암, 균상식육종, 급성골수성백혈병, 급성림프구성백혈병, 기저세포암, 난소상피암, 난소생식세포암, 남성유방암, 뇌암, 뇌하수체선종, 다발성골수종, 담낭암, 담도암, 대장암, 만성골수성백혈병, 만성림프구백혈병, 망막모세포종, 맥락막흑색종, 미만성거대B세포림프종, 바터팡대부암, 방광암, 복막암, 부갑상선암, 부신암, 비부비동암, 비소세포폐암, 비호지킨림프종, 설암, 성상세포종, 소세포폐암, 소아 뇌암, 소아림프종, 소아백혈병, 소장암, 수막종, 식도암, 신경교종, 신경모세포종, 신우암, 신장암, 심장암, 십이지장암, 악성 연부조직 암, 악성골암, 악성림프종, 악성종괴종, 악성흑색종, 안암, 외음부암, 요관암, 요도암, 원발부위불명암, 위림프종, 위암, 위유암종, 위장관간질암, 윌름스암, 유방암, 육종, 음경암, 인두암, 임신용모질환, 자궁경부암, 자궁내막암, 자궁육종, 전립선암, 전이성 골암, 전이성뇌암, 종격동암, 직장암, 직

장유암종, 질암, 척수암, 청신경초종, 췌장암, 침샘암, 카포시 육종, 파제트병, 편도암, 편평상피세포암, 폐선암, 폐암, 폐편평상피세포암, 피부암, 항문암, 횡문근육종, 후두암, 흉막암, 및 흉선암으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상인 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 11

제1항의 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 함유하는 암의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 12

제1항의 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 광학 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 함유하는 당뇨병성 신증의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 13

제12항에 있어서,

상기 화합물은 SRC, 또는 Fyn을 억제하여 당뇨병성 신증을 예방 또는 치료하는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 14

제12항에 있어서,

상기 화합물은 당뇨병성 신증 초기 미세 알부민뇨 단계에서 알부민뇨를 감소시키며, 알부민-크레아티닌 비를 감소시키는 것을 특징으로 하는 당뇨병성 미세알부민뇨증의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 15

제1항의 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 광학 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 함유하는 당뇨병성 신증의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 신규한 이미다조피리딘 유도체, 이의 제조방법 및 이를 유효성분으로 함유하는 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 만성골수성백혈병 (chronic myeloid leukemia, CML)은 골수 내에 존재하는 조혈모세포의 염색체 이상으로 발현되는 일종의 혈액암이다. 즉, 22번 염색체에 있는 Bcr (breakpoint cluster region) 유전자와 9번 염색체에 있는 Abl (V-abl Abelson murine leukemia viral oncogene homolog) 유전자가 교차를 일으켜 자리바꿈을 하면서 Bcr-Abl이라는 티로신 융합 종양유전자의 형성한다. Bcr-Abl 유전자에 의해 만들어지는 티로신 효소(tyrosine kinase)는 계속 활성을 가지면서 세포내 세포분열과 관련된 신호전달 체계를 활성화시켜 백혈구의 과도 증식을 초래하고, 세포자살 유도작용(apoptosis)과 관련된 신호전달을 억제하여 백혈병을 일으키는 것으로 알려져있다.

p210-Bcr-Abl은 만성골수성백혈병 (CML)을 유발하는 직접적인 종양요인으로 알려져 있다.

- [0005] 글리벡 (Gleevec™, imatinib mesylate)은 Bcr-Abl 타이로신 효소에 선택적으로 작용하는 저해제로 개발된 최초의 표적 항암제이다. 글리벡은 탁월한 치료효과와 우수한 안전성을 가지고 있어, 만성골수성백혈병 치료의 1차 표준요법으로 널리 사용되고 있으나, 글리벡 치료를 받은 환자 중 다수가 내성을 보이고 있으며, 최근에는 내성을 일으키는 변이종이 확인되고 있다. 글리벡의 내성은 Bcr-Abl 타이로신 효소의 활성부위에서 발생하는 점돌연 변이종에 의해 유발되는데, 예를 들면 315번째 쓰레오닌이 이소루이신으로 변하는 돌연변이(T315I)와 253번째 티로신이 히스티딘으로변하는 돌연변이(T253H)가 가장 빈번하다. 글리벡 내성 점돌연변이종 중에서도 T315I-Bcr-Abl가 가장 높은 비중을 차지하고 있다.
- [0006] 점돌연변이를 가진 세포는 글리벡에 의해 더 이상 세포증식이 조절되지 않으며, 글리벡의 용량을 증가시켜도 치료효과가 전혀 개선되지 않는 것으로 알려져 있다.
- [0008] 현재 글리벡의 내성을 치료할 수 있는 2세대 항암제로 닐로티닙(nilotinib, Tasigna)과 다사티닙(dasatinib, Sprycel)이 있으나, T315I-Bcr-Abl 돌연변이종을 저해하는 능력이 매우 미약하다. 이처럼, 현존하는 2세대 항암제는 T315I-Bcr-Abl 돌연변이종을 저해하는 활성이 미약하여, 지속적인 연구가 요구되고 있고, 글리벡의 내성을 방지하거나 치료할 수 있는 새로운 차세대 항암제 개발이 절실히 요구되고 있다.
- [0010] 한편, Ret(Rearranged during transfection)는 카드헤린에 속하는 수용체형 티로신 키나아제 중 하나로, RET 티로신 키나아제는 중앙부에 세포막 관통영역을 갖고, 그 카르복실 말단 측에 티로신 키나아제 영역, 아미노 말단 측에 세포 외 영역을 갖고, 카르복실 말단의 스플라이싱의 차이에 의해 3종류의 단백질이 존재하는 것이 알려져 있다.
- [0012] RET는 리간드/GFR 복합체를 매개로 하여 2량체를 형성함으로써 자기의 티로신을 인산화하여 활성화된다. RET 유전자에 이상(점변이, 염색체 전좌, 염색체 역위, 유전자 증폭)이 발생한 결과, 암화에 관여하는 것이 보고되 있는데, 예를 들어 갑상선암의 경우, RET 유전자에 점변이가 발생함으로써 암화를 유발하는 RET 티로신 키나아제가 발현되어 있는 것으로 확인되었다. 또한, 갑상선 유두암의 경우, RET 유전자가 염색체 역위 또는 염색체 전좌에 의해 CCDC6 유전자(coiled-coildomain containing 6)나 NCOA4 유전자(nuclearreceptor coactivator 4) 등과 융합하여 암을 유발하는 융합형 티로신 키나아제 RET/PTC가 발현되는 것으로 확인되었다. 또한, 비소세포 폐암의 경우, RET가 세포 내의 미세소관 수송에 관여하는 단백질 복합체의 구성 분자의 하나인 KIF5B 유전자(kinesin family protein 5B)나 CCDC6 유전자와 융합하여 암을 유발하는 융합형 티로신 키나아제 KIF5B-RET 또는 CCDC6-RET 티로신 키나아제 활성화에 의해 비소세포 폐암을 일으키는 것으로 확인되었다.
- [0014] 따라서, RET 티로신 키나아제의 저해작용을 갖는 화합물은 암의 예방 또는 치료에 매우 유용하다. RET 티로신 키나아제 저해 물질로서 소라페닙(Sorafenib), 수니티닙(Sunitinib), XL184, 반데타닙(Vandetanib), 포나티닙(Ponatinib) 등의 멀티 키나아제 인히비터가 KIF5B-RET를 발현하는 세포주에 대해 세포증식 저해작용을 나타내는 것이 보고되어 있다(비특허문헌 1).
- [0016] 나아가, 섬유모세포 성장요인 수용체(Fibroblast growth factor receptor, FGFR) 티로신 키나아제는 약 800여 개의 아미노산으로 구성되어 있고, 3종의 면역글로불린-유사(immunoglobulin (Ig)-like) 도메인 (D1, D2, D3)을 갖는 제5형 수용체 트로신 키나아제로써 크게 4종의 아류형 FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4가 있다.
- [0018] 섬유아세포 성장 요인(FGF) 및 그의 수용체(FGFR)는 배아 발생 및 성인 병리생리학의 다양한 측면을 포함하는 각종 생리 과정에서 주요한 역할을 하는 독특하고 다양한 신호전달 시스템의 일부를 이룬다. FGF는 FGFR와 결합을 통해 이동, 증식, 분화 및 생존을 비롯한 광범위 세포 기능을 자극하는 것으로 알려져 있다.

- [0020] 또한, FGFR의 과발현 또는 FGFR의 돌연변이로부터 암종(예를 들어, 방광, 유방, 자궁경부, 결장직장, 자궁내막, 위, 두경부, 신장, 간, 폐, 난소, 전립선), 조혈 악성종양(예를 들어, 다발성 골수종, 만성 림프구성 림프종, 성인 T 세포 백혈병, 급성 골수성 백혈병, 비호지킨 림프종, 골수증식성 신생물 및 발덴스트롬 마크로글로불린 혈증(Waldenstrom's Macroglobulinemia)), 교모세포종, 흑색종 및 횡문양종양 등이 발생하는 것으로 알려져 있고, FGFR 유전자 융합이 여러 종류의 암에서 발생하며, FGFR 신호 전달을 활성화함으로써 암세포의 증식을 촉진하는 것으로 알려져 있어, 암을 치료하기 위한 목적으로 FGFR을 겨냥한 약물 개발의 노력이 있어왔다.
- [0022] 특히, 중요한 암 표적제로서 FGFR-1 내지 -4를 규명하기 위한 많은 수의 시험관내 및 생체 내 연구가 수행되는 등의 노력이 있었으나, 아직까지 원하는 수준의 유효한 약물 개발이 이루어 지지 않아, 지속적인 노력이 요구되고 있다.
- [0024] 이에, 본 발명자들은 T315I 내성을 극복할 수 있고, Ret 또는 FGFR을 효과적으로 저해할 수 있고, 이로부터 암, 종양 등의 질환을 치료하기 위한 약물 개발을 하기 위해 노력하던 중, 본 발명에 따른 화합물이 T315I 내성을 극복할 수 있음을 K562(wild type Bcr-Abl) 세포주 실험을 통해 확인하고, 또한, Ret 및 FGFR을 효과적으로 저해할 수 있고, 나아가 본 발명 화합물이 이중억제 모델에서도 암세포의 증식을 효과적으로 억제할 수 있음을 확인한 바, 이를 유효성분으로써 함유하는 약학적 조성물로 사용시 암의 예방 또는 치료에 유용하게 사용될 수 있음을 알아내어 본 발명을 완성하였다.
- [0026] 한편, 본 발명자들은 암 외에 본 발명 화합물이 당뇨병성 신증 등의 대사성 질환과 관련된 Src/Fyn 효소에서 또한 우수한 억제 활성이 있음을 확인하였다. Src/Fyn 효소와 관련된 대표적인 질환으로는 당뇨병성 신증(diabetic nephropathy; DN)이 있는데, 망막병증, 신경병증과 더불어 당뇨의 주요 합병증 중 하나이다.
- [0028] 현재, 기존의 당뇨병성 신증과 관련한 연구들은 대부분 사구체 메산지움(mesangium)의 증식 및 비대로 인한 사구체 경화증이나 신세뇨관 간질의 세포외 기질 축적에 의한 섬유화에 초점이 맞추어져 진행되어 왔다.
- [0029] 최근에는 네프린의 세포 외 도메인이 세극막을 형성할 뿐만 아니라 세포 내 도메인의 티로신(tyrosine) 잔기가 src-kinase family인 Fyn에 의해 인산화되어 발세포내의 신호전달에 관여할 수 있다는 가능성이 제시되었다.
- [0030] 현재까지 진행된 연구결과에서는 주로 네프린의 인산화 된 부분을 SH2(Src homology 2) domain을 가지는 Nck(non-catalytic region of tyrosine kinase adaptor protein 1)나 PI3K(Phosphoinositide 3-kinase)가 인식하여 이를 경유한 액틴 세포골격 조절을 통해 발세포 구조 유지에 중요한 역할을 하는 것에 대해 초점이 맞추어져 연구가 진행되어 왔으나 아직까지 네프린 인산화를 경유한 발세포 내 하위 신호전달 및 그 조절자에 대한 연구는 미비한 실정이다.
- [0032] 이러한 상황에서 본 발명 화합물이 실험예에서 보인, Src 및 Fyn 효소 저해활성으로부터, 본 발명 화합물이 당뇨병성 신증의 예방 또는 치료에 유용한 효과가 있음을 알 수 있는 바, 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

비특허문헌

- [0034] (비특허문헌 0001) J Clin Oncol 30, 2012, suppl ; Abstract no : 7510

발명의 내용

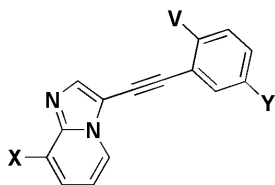
해결하려는 과제

- [0035] 본 발명의 목적은 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물의 유효성분으로 유용한 화합물을 제공하는 것이다.
- [0037] 본 발명의 다른 목적은 상기 화합물의 제조방법을 제공하는 것이다.
- [0039] 본 발명의 다른 목적은 상기 화합물을 유효성분으로 함유하는 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.
- [0041] 본 발명의 다른 목적은 상기 화합물을 유효성분으로 함유하는 암의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공하는 것이다.
- [0043] 본 발명의 또 다른 목적은 당뇨병성 신증의 예방 또는 치료용 약학적 조성물의 유효성분으로 유용한 화합물을 제공하는 것이다.
- [0045] 본 발명의 다른 목적은 상기 화합물을 유효성분으로 함유하는 당뇨병성 신증의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.
- [0047] 본 발명의 또 목적은 상기 화합물을 유효성분으로 함유하는 당뇨병성 신증의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0049] 상기 목적을 달성하기 위하여,
- [0050] 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

[화학식 1]

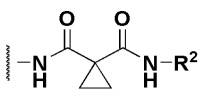


- [0052] 상기 화학식 1에 있어서,
- [0053] V는 수소, 할로젠 또는 치환 또는 비치환된 C_{1-5} 의 직쇄 또는 측쇄의 알킬이되,
- [0054] 여기서, 상기 치환된 알킬은 히드록시기, 할로젠, 니트로기 및 $-CN$ 으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 치환기로 치환될 수 있고;
- [0055] X는 $-NHR^1$ 이되,
- [0056] 상기 R^1 은 비치환 또는 치환된 C_{6-10} 의 아릴 또는 N, O, S로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원

자를 포함하는 5 내지 10각환의 비치환 또는 치환된 헤테로아릴이고,

[0059] 여기서, 상기 치환된 아릴 또는 치환된 헤테로아릴은 할로젠, 메톡시 및 디메틸아미노로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상이 치환되거나 비치환된 C_{1-10} 의 직쇄 또는 측쇄 알킬, 할로젠, 아미노 또는 N, O, S로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 5 내지 10각환의 헤테로 사이클로 알킬로 치환될 수 있고, 또는

[0060] 상기 치환된 아릴 또는 치환된 헤테로아릴은 C_{3-10} 의 고리, 또는 N, O, S로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 5 내지 10각환의 고리와 융합(fused)되어 융합고리를 형성할 수 있고; 및

[0062] Y는 $-(C=O)NHR^2$, $-NH(C=O)R^2$, $-NH(C=O)NHR^2$ 또는  이되,

[0063] 상기 R^2 는 치환된 C_{6-10} 의 아릴 또는 N, O, S로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 5 내지 10각환의 치환된 헤테로아릴이고,

[0064] 여기서, 상기 치환된 아릴 또는 치환된 헤테로아릴은 $-CN$ 으로 치환된 C_{1-10} 의 직쇄 또는 측쇄 알킬, $-CN$ 으로 치환된 C_{1-2} 의 알콕시, $-CN$ 으로 치환된 C_{3-10} 의 사이클로 알킬로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종으로 치환되고,

[0065] 상기 치환된 1종 외에 선택적으로 상기 치환된 아릴 또는 치환된 헤테로아릴은 $-CN$ 으로 치환된 C_{1-10} 의 직쇄 또는 측쇄 알킬, $-CN$ 으로 치환된 C_{1-2} 의 알콕시, $-CN$ 으로 치환된 C_{3-10} 의 사이클로 알킬, 할로젠, $-CH_2-R^3$, N, O, S로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 5 내지 10각환의 치환 또는 비치환된 헤테로 사이클로 알킬 및 N, O, S로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 5 내지 10각환의 비치환 또는 치환된 헤테로 아릴, 치환 또는 비치환된 아미노로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상으로 더 치환될 수 있고,

[0066] 여기서 상기 치환된 헤테로아릴, 치환된 헤테로사이클로알킬, 및 치환된 아미노는 치환 또는 비치환된 C_{1-3} 의 직쇄 또는 측쇄의 알킬로 치환될 수 있고,

[0067] 다시 여기서, 치환된 C_{1-3} 의 직쇄 또는 측쇄의 알킬은 디메틸 아미노기로 치환될 수 있고,

[0068] 상기 R^3 는 N, O, S로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 5 내지 10각환의 헤테로 사이클로 알킬이되,

[0069] 상기 헤테로 사이클로 알킬은 메틸, 에틸, 디메틸아미노 및 할로젠으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 치환기로 치환 또는 비치환될 수 있다.

[0071] 또한, 본 발명은 하기 반응식 1에 나타난 바와 같이,

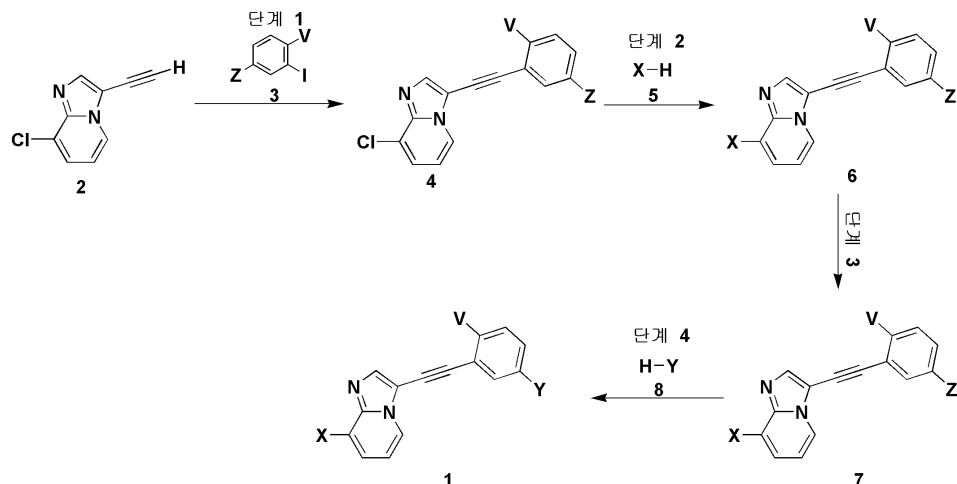
[0072] 화학식 2로 표시되는 화합물과, 화학식 3으로 표시되는 화합물을 반응시켜 화학식 4로 표시되는 화합물을 제조하는 단계(단계 1);

[0073] 상기 단계 1에서 제조한 화학식 4로 표시되는 화합물과, 화학식 5로 표시되는 화합물을 반응시켜 화학식 6으로 표시되는 화합물을 제조하는 단계(단계 2);

[0074] 상기 단계 2에서 제조한 화학식 6으로 표시되는 화합물로부터 화학식 7로 표시되는 화합물을 제조하는 단계(단계 3); 및

[0075] 상기 단계 3에서 제조한 화학식 7로 표시되는 화합물을 화학식 8로 표시되는 화합물과 반응시켜 화학식 1로 표시되는 화합물을 제조하는 단계(단계4);를 포함하는 제1항의 화학식 1로 표시되는 화합물의 제조방법을 제공한다.

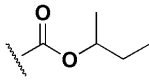
[0076] [반응식 1]



[0077]

[0078] 상기 반응식 1에서,

[0079] 상기 V, X 및 Y는 상기 화학식 1에서 정의한 바와 같고;

[0080] 상기 Z 및 Z'는 Z가 $-\text{NO}_2$ 인 경우, Z'는 $-\text{NH}_2$ 이고, Z가 인 경우, Z'는 이다.

[0082] 나아가, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 함유하는,

[0083] ABL1(E255K)-phosphorylated, ABL1(F317I)-nonphosphorylated, ABL1(F317I)-phosphorylated, ABL1(F317L)-nonphosphorylated, ABL1(F317L)-phosphorylated, ABL1(H396P)-nonphosphorylated, ABL1(H396P)-phosphorylated, ABL1(M351T)-phosphorylated, ABL1(Q252H)-nonphosphorylated, ABL1(Q252H)-phosphorylated, ABL1(T315I)-nonphosphorylated, ABL1(T315I)-phosphorylated, ABL1(Y253F)-phosphorylated, ABL1-nonphosphorylated, ABL1-phosphorylated, ABL2, ALK, AURKB, AXL, BLK, BMX, BRAF, BRAF(V600E), BRK, BTK, CDKL2, CIT, CSF1R, CSK, DDR1, DDR2, DLK, EGR, EGFR, EGFR(E746-A750del), EGFR(G719C), EGFR(G719S), EGFR(L747-E749del, A750P), EGFR(L747-S752del, P753S), EGFR(L747-T751del, Sins), EGFR(L858R), EGFR(L861Q), EGFR(S752-I759del), EPHA1, EPHA2, EPHA3, EPHA4, EPHA5, EPHA6, EPHA7, EPHA8, EPHB1, EPHB2, EPHB3, EPHB4, EPHB6, ERBB4, ERK8, ERN1, FER, FES, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR3(G663Q), FGFR4, FGR, FLT1, FLT3, FLT3(D835H), FLT3(D835Y), FLT3(ITD), FLT3(ITD, F691L), FLT3(K663Q), FLT3(N841I), FLT3(R834Q), FLT4, FRK, FYN, GRK2, GRK3, HCK, HIPK4, HPK1, IKK-alpha, IRAK1, JAK2(JH1domian-catalytic), JAK3(JH1domian-catalytic), JNK1, JNK2, KIT, KIT(A829P), KIT(D816H), KIT(D816V), KIT(L576P), KIT(V559D), KIT(V559D, T670I), KIT(V559D, V654A), LCK, LOK, LYN, MAP3K1, MAP3K15, MAP4K2, MAP4K4, MAP4K5, MEK5, MERTK, MINK, MKNK2, MLK1, MLK3, MUSK, NEK4, NLK, p38-alpha, p38-beta, p38-gamma, PDGFRA, PDGFRB, PFCDPK1(P.falciparum), RAF1, RET, RET(M918T), RET(V804L), RET(V804M), RIPK1, RIPK2, SIK, SIK2, SLK, SRC, SRMS, STK33, STK39, TAK1, TEC, TIE1, TIE2, TNIK, TNK1, TNNI3K, TRKA, TRKB, TRKC, TXK, TYK2(JH1domian-catalytic), VEGFR2, YES, YSK4, 또는 ZAK 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0085] 또한, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 함유하는 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0087] 나아가, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한

염을 유효성분으로 함유하는 암의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

[0089] 또한, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 광학 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 함유하는 당뇨병성 신증의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0091] 나아가, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 광학 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 함유하는 당뇨병성 신증의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0093] 본 발명에 따른 신규한 이미다조피리딘 유도체, 이의 입체 이성질체 및 이의 약학적으로 허용 가능한 염은, 암 세포 관련 효소(kinase)를 효과적으로 저해할 수 있고, 암 세포주에서 암의 세포 증식을 우수하게 억제할 수 있을 뿐 아니라, 암 세포 이종이식 모델에서 또한 암세포 증식 억제(암 세포 사멸) 효과가 있는 바, 이를 유효성분으로 함유하는 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.

[0094] 또한, 본 발명에 따른 신규한 이미다조피리딘 유도체, 이의 입체 이성질체 및 이의 약학적으로 허용 가능한 염은, Src 및 Fyn을 효과적으로 저해할 수 있는 바, 이와 관련된 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물로 유용할 수 있고, 예를 들어 당뇨병성 신증의 예방 또는 치료용 약학적 조성물로 유용한 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

[0096] 도 1은 GIST-T1/816 이종이식 모델에서, 각각의 5군에 약물 또는 비히클 처리 경과에 따른, 종양 크기를 그래프로 도시한 것이다.

도 2는 GIST-T1/816 이종이식 모델에서, 각각의 5군에 약물 또는 비히클 처리 경과에 따른, 마우스 체중 변화를 그래프로 도시한 것이다.

도 3은 GIST-RX1 PDX 이종이식 모델에서, 각각의 5군에 약물 또는 비히클 처리 경과에 따른, 종양 크기를 그래프로 도시한 것이다.

도 4는 GIST-RX1 PDX 이종이식 모델에서, 각각의 5군에 약물 또는 비히클 처리 경과에 따른, 마우스 체중 변화를 그래프로 도시한 것이다.

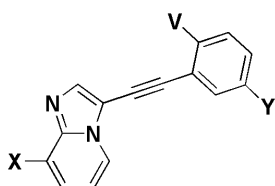
발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0097] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

[0098] 이하 설명은 발명의 이해를 돕기 위해서 제시하는 것이며, 본 발명이 이하 설명의 내용으로 제한되지 않는다.

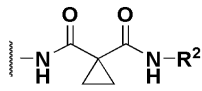
[0100] 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 제공한다.

[0101] [화학식 1]



[0102]

[0103] 상기 화학식 1에 있어서,

- [0104] V는 수소, 할로젠 또는 치환 또는 비치환된 C₁₋₅의 직쇄 또는 측쇄의 알킬이되,
- [0105] 여기서, 상기 치환된 알킬은 히드록시기, 할로젠, 니트로기 및 -CN으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 치환기로 치환될 수 있고;
- [0107] X는 -NHR¹이되,
- [0108] 상기 R¹은 비치환 또는 치환된 C₆₋₁₀의 아릴 또는 N, O, S로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 5 내지 10각환의 비치환 또는 치환된 헤테로아릴이고,
- [0109] 여기서, 상기 치환된 아릴 또는 치환된 헤테로아릴은 할로젠, 메톡시 및 디메틸아미노로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상이 치환되거나 비치환된 C₁₋₁₀의 직쇄 또는 측쇄 알킬, 할로젠, 아미노 또는 N, O, S로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 5 내지 10각환의 헤테로 사이클로 알킬로 치환될 수 있고, 또는
- [0110] 상기 치환된 아릴 또는 치환된 헤테로아릴은 C₃₋₁₀의 고리, 또는 N, O, S로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 5 내지 10각환의 고리와 융합(fused)되어 융합고리를 형성할 수 있고; 및
- [0112] Y는 -(C=O)NHR², -NH(C=O)R², -NH(C=O)NHR² 또는  이되,
- [0113] 상기 R²는 치환된 C₆₋₁₀의 아릴 또는 N, O, S로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 5 내지 10각환의 치환된 헤테로아릴이고,
- [0114] 여기서, 상기 치환된 아릴 또는 치환된 헤테로아릴은 -CN으로 치환된 C₁₋₁₀의 직쇄 또는 측쇄 알킬, -CN으로 치환된 C₁₋₂의 알콕시, -CN으로 치환된 C₃₋₁₀의 사이클로 알킬로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종으로 치환되고,
- [0115] 상기 치환된 1종 외에 선택적으로 상기 치환된 아릴 또는 치환된 헤테로아릴은 -CN으로 치환된 C₁₋₁₀의 직쇄 또는 측쇄 알킬, -CN으로 치환된 C₁₋₂의 알콕시, -CN으로 치환된 C₃₋₁₀의 사이클로 알킬, 할로젠, -CH₂-R³, N, O, S로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 5 내지 10각환의 치환 또는 비치환된 헤테로 사이클로 알킬 및 N, O, S로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 5 내지 10각환의 비치환 또는 치환된 헤테로 아릴, 치환 또는 비치환된 아미노로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상으로 더 치환될 수 있고,
- [0116] 여기서 상기 치환된 헤테로아릴, 치환된 헤테로사이클로알킬, 및 치환된 아미노는 치환 또는 비치환된 C₁₋₃의 직쇄 또는 측쇄의 알킬로 치환될 수 있고,
- [0117] 다시 여기서, 치환된 C₁₋₃의 직쇄 또는 측쇄의 알킬은 디메틸 아미노기로 치환될 수 있고,
- [0118] 상기 R³는 N, O, S로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 5 내지 10각환의 헤테로 사이클로 알킬이되,
- [0119] 상기 헤테로 사이클로 알킬은 메틸, 에틸, 디메틸아미노 및 할로젠으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 치환기로 치환 또는 비치환될 수 있다.

[0121] 바람직하게,

[0122] 상기 R²는 치환된 C₆₋₁₀의 아릴 또는 N, O, S로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하

는 5 내지 10각환의 치환된 헤테로아릴이고,

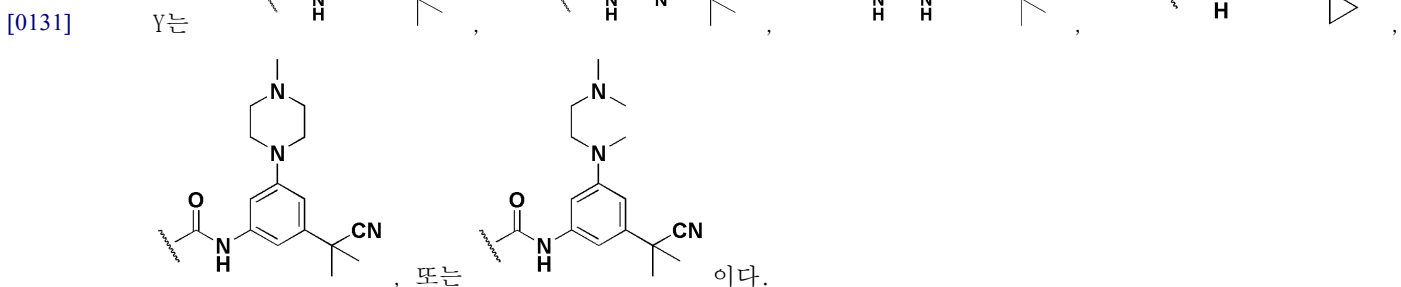
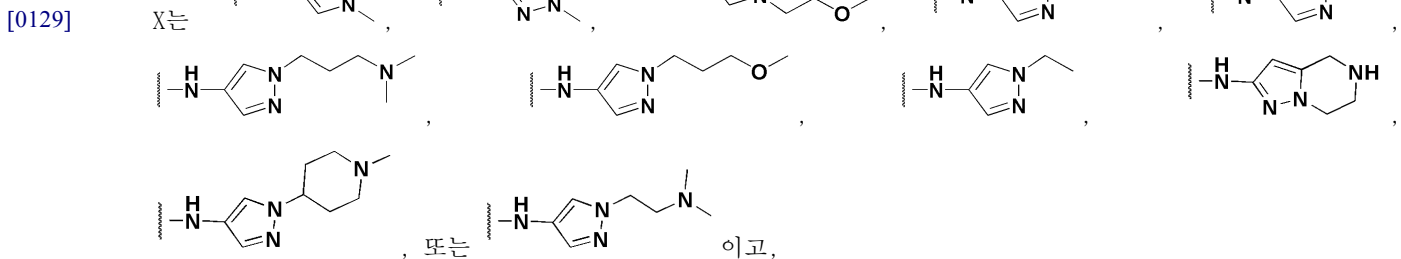
[0123] 여기서, 상기 치환된 아릴 또는 치환된 헤테로아릴은 -CN으로 치환된 C₁₋₁₀의 직쇄 또는 측쇄 알킬, -CN으로 치환된 C₁₋₂의 알콕시, -CN으로 치환된 C₃₋₁₀의 사이클로 알킬로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종으로 치환되고,

[0124] 상기 치환된 1종 외에 선택적으로 상기 치환된 아릴 또는 치환된 헤테로아릴은 -CN으로 치환된 C₁₋₁₀의 직쇄 또는 측쇄 알킬, -CN으로 치환된 C₁₋₂의 알콕시, -CN으로 치환된 C₃₋₁₀의 사이클로 알킬, 할로젠, -CH₂-R³, N, O, S로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 5 내지 10각환의 치환 또는 비치환된 헤테로 사이클로 알킬 및 N, O, S로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 5 내지 10각환의 비치환 또는 치환된 헤테로 아릴, 치환 또는 비치환된 아미노로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상으로 더 치환될 수 있고,

[0125] 여기서 치환된 헤테로사이클로알킬, 및 치환된 아미노는 치환 또는 비치환된 C₁₋₃의 직쇄 또는 측쇄의 알킬로 치환될 수 있고,

[0126] 다시 여기서, 치환된 C₁₋₃의 직쇄 또는 측쇄의 알킬은 디메틸 아미노기로 치환될 수 있다.

[0128] 보다 바람직하게,



[0133] 가장 바람직하게,

[0134] 본 발명에 따른 상기 화학식 1로 표시되는 화합물의 바람직한 예로는 하기의 화합물들을 들 수 있다.

[0135] (1) N-(3-(2-시아노프로판-2-일)페닐)-3-((8-((1-이소프로필-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에틸닐)-4-메틸벤즈아마이드;

[0136] (2) N-(3-(2-시아노프로판-2-일)페닐)-4-메틸-3-((8-((1-메틸-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에틸닐)벤즈아마이드;

- [0137] (3) N-(6-(2-시아노프로판-2-일)피리딘-2-일)-3-((8-((1-이소프로필-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)-4-메틸벤즈아마이드;
- [0138] (4) N-(6-(2-시아노프로판-2-일)피리딘-2-일)-4-메틸-3-((8-((1-메틸-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)벤즈아마이드;
- [0139] (5) N-(3-(2-시아노프로판-2-일)페닐)-3-((8-((1-(2-메톡시에틸)-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)-4-메틸벤즈아마이드;
- [0140] (6) N-(3-(2-시아노프로판-2-일)페닐)-3-((8-((1-(3-메톡시프로필)-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)-4-메틸벤즈아마이드;
- [0141] (7) N-(6-(2-시아노프로판-2-일)피리딘-2-일)-3-((8-((1-(2-메톡시에틸)-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)-4-메틸벤즈아마이드;
- [0142] (8) N-(6-(2-시아노프로판-2-일)피리딘-2-일)-3-((8-((1-(3-메톡시프로필)-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)-4-메틸벤즈아마이드;
- [0143] (9) 1-(3-(2-시아노프로판-2-일)페닐)-3-(4-메틸-3-((8-((1-메틸-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)페닐)우레아;
- [0144] (10) N-(3-(2-시아노프로판-2-일)페닐)-4-메틸-3-((8-((4,5,6,7-테트라하이드로피라졸로[1,5-a]과라진-2-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)벤즈아마이드;
- [0145] (11) N-(3-(2-시아노프로판-2-일)페닐)-4-메틸-3-((8-((1-(1-메틸피페리딘-4-일)-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)벤즈아마이드;
- [0146] (12) N-(3-(2-시아노프로판-2-일)페닐)-3-((8-((1-(2-(디메틸아미노)에틸)-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)-4-메틸벤즈아마이드;
- [0147] (13) N-(3-(2-시아노프로판-2-일)페닐)-3-((8-((1-(2-(디메틸아미노)프로필)-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)-4-메틸벤즈아마이드;
- [0148] (14) N-(3-(2-시아노프로판-2-일)페닐)-4-메틸-3-((8-((1-(피페리딘-4-일)-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)벤즈아마이드;
- [0149] (15) N-(3-(1-시아노사이클로프로필)페닐)-4-메틸-3-((8-((1-메틸-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)벤즈아마이드;
- [0150] (16) N-(3-(1-시아노사이클로프로필)페닐)-3-((8-((1-이소프로필-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)-4-메틸벤즈아마이드;
- [0151] (17) N-(3-(1-시아노사이클로프로필)페닐)-3-((8-((1-(2-메톡시에틸)-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)-4-메틸벤즈아마이드;
- [0152] (18) N-(3-(1-시아노사이클로프로필)페닐)-3-((8-((1-(3-메톡시프로필)-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)-4-메틸벤즈아마이드;
- [0153] (19) N-(3-(1-시아노사이클로프로필)페닐)-3-((8-((1-(2-(디메틸아미노)에틸)-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)-4-메틸벤즈아마이드;
- [0154] (20) N-(3-(1-시아노사이클로프로필)페닐)-4-메틸-3-((8-((1-(피페리딘-4-일)-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)벤즈아마이드;
- [0155] (21) N-(3-(2-시아노프로판-2-일)-5-(4-메틸피페라진-1-일)페닐)-4-메틸-3-((8-((1-메틸-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)벤즈아마이드;
- [0156] (22)
N-(3-(2-시아노프로판-2-일)-5-(4-메틸피페라진-1-일)페닐)-3-((8-((1-이소프로필-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)-4-메틸벤즈아마이드;
- [0157] (23) N-(3-(2-시아노프로판-2-일)-5-(4-메틸피페라진-1-일)페닐)-3-((8-((1-(2-메톡시에틸)-1H-피라졸-4-일)아

미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)-4-메틸벤즈아마이드;

- [0158] (24) N-(3-(2-시아노프로판-2-일)-5-(4-메틸피페라진-1-일)페닐)-3-((8-((1-(3-메톡시프로필)-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)-4-메틸벤즈아마이드;
- [0159] (25) N-(3-(2-시아노프로판-2-일)-5-(4-메틸피페라진-1-일)페닐)-3-((8-((1-(2-(디메틸아미노)에틸)-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)-4-메틸벤즈아마이드;
- [0160] (26) N-(3-(2-시아노프로판-2-일)-5-(4-메틸피페라진-1-일)페닐)-4-메틸-3-((8-((1-(피페리딘-4-일)-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)벤즈아마이드;
- [0161] (27) N-(3-(2-시아노프로판-2-일)-5-((2-(디메틸아미노)에틸)(메틸)아미노)페닐)-4-메틸-3-((8-((1-(메틸-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)벤즈아마이드;
- [0162] (28) N-(3-(2-시아노프로판-2-일)-5-((2-(디메틸아미노)에틸)(메틸)아미노)페닐)-3-((8-((1-이소프로필-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)-4-메틸벤즈아마이드;
- [0163] (29) N-(3-(2-시아노프로판-2-일)-5-((2-(디메틸아미노)에틸)(메틸)아미노)페닐)-3-((8-((1-(2-메톡시에틸)-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)-4-메틸벤즈아마이드;
- [0164] (30) N-(3-(2-시아노프로판-2-일)-5-((2-(디메틸아미노)에틸)(메틸)아미노)페닐)-3-((8-((1-(3-메톡시프로필)-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)-4-메틸벤즈아마이드;
- [0165] (31) N-(3-(2-시아노프로판-2-일)-5-((2-(디메틸아미노)에틸)(메틸)아미노)페닐)-3-((8-((1-(2-(디메틸아미노)에틸)-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)-4-메틸벤즈아마이드; 및
- [0166] (32) N-(3-(2-시아노프로판-2-일)-5-((2-(디메틸아미노)에틸)(메틸)아미노)페닐)-4-메틸-3-((8-((1-(피페리딘-4-일)-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)벤즈아마이드.

[0168] 본 발명의 화학식 1로 표시되는 화합물은 약학적으로 허용가능한 염의 형태로 사용할 수 있으며, 염으로는 약학적으로 허용가능한 유리산(free acid)에 의해 형성된 산 부가염이 유용하다. 산 부가염은 염산, 질산, 인산, 황산, 브롬화수소산, 요드화수소산, 아질산, 아인산 등과 같은 무기산류, 지방족 모노 및 디카르복실레이트, 페닐-치환된 알카노에이트, 하이드록시 알카노에이트 및 알칸디오에이트, 방향족 산류, 지방족 및 방향족 설포산류 등과 같은 무독성 유기산, F, Cl, Br 및 I로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 할로젠이 치환되거나 비치환된 아세트산, 안식향산, 구연산, 젖산, 말레인산, 글루콘산, 메탄설포산, 4-톨루엔설포산, 주석산, 푸마르산등과 같은 유기산으로부터 얻는다. 이러한 약학적으로 무독한 염의 종류로는 설페이트, 피로설페이트, 바이설페이트, 설페이트, 바이설페이트, 니트레이트, 포스페이트, 모노하이드로젠 포스페이트, 다이하이드로젠 포스페이트, 메타포스페이트, 피로포스페이트 클로라이드, 브로마이드, 아이오다이드, 플루오라이드, 아세테이트, 프로피오네이트, 데카노에이트, 카프릴레이트, 아크릴레이트, 포메이트, 이소부티레이트, 카프레이트, 헵타노에이트, 프로피올레이트, 옥살레이트, 말로네이트, 석시네이트, 수베레이트, 세바케이트, 푸마레이트, 말리에이트, 부틴-1,4-디오에이트, 헥산-1,6-디오에이트, 벤조에이트, 클로로벤조에이트, 메틸벤조에이트, 디니트로 벤조에이트, 하이드록시벤조에이트, 메톡시벤조에이트, 프탈레이트, 테레프탈레이트, 벤젠설포네이트, 톨루엔설포네이트, 클로로벤젠설포네이트, 크실렌설포네이트, 페닐아세테이트, 페닐프로피오네이트, 페닐부티레이트, 시트레이트, 락테이트, β -하이드록시부티레이트, 글리콜레이트, 말레이트, 타트레이트, 메탄설포네이트, 프로판설포네이트, 나프탈렌-1-설포네이트, 나프탈렌-2-설포네이트, 만텔레이트 등을 포함한다.

[0169] 본 발명에 따른 산 부가염은 통상의 방법으로 제조할 수 있으며, 예를 들면 화학식 1의 유도체를 메탄올, 에탄올, 아세톤, 메틸렌클로라이드, 아세트니트릴 등과 같은 유기용매에 녹이고 유기산 또는 무기산을 가하여 생성된 침전물을 여과, 건조시켜 제조하거나, 용매와 과량의 산을 감압 증류한 후 건조시켜 유기용매 하에서 결정화시켜서 제조할 수 있다.

[0170] 또한, 염기를 사용하여 약학적으로 허용가능한 금속염을 만들 수 있다. 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염은 예를 들면 화합물을 과량의 알칼리 금속 수산화물 또는 알칼리 토금속 수산화물 용액 중에 용해하고, 비용해 화합물 염을 여과하고, 여액을 증발, 건조시켜 얻는다. 이때, 금속염으로는 나트륨, 칼륨 또는 칼슘염을 제조하는 것이 제약상 적합하다. 또한, 이에 대응하는 염은 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염을 적당한 음염(예, 질산은)과 반응시켜 얻는다.

[0172] 나아가, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 및 이의 약학적으로 허용가능한 염뿐만 아니라, 이로부터 제조될 수 있는 용매화물, 입체 이성질체, 수화물 등을 모두 포함한다.

[0174] 또한, 본 발명은 하기 반응식 1에 나타난 바와 같이,

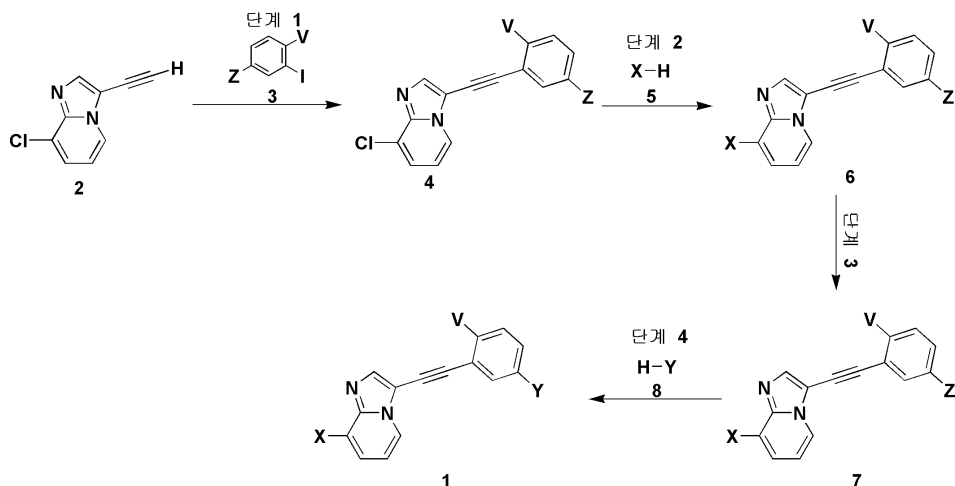
[0175] 화학식 2로 표시되는 화합물과, 화학식 3으로 표시되는 화합물을 반응시켜 화학식 4로 표시되는 화합물을 제조하는 단계(단계 1);

[0176] 상기 단계 1에서 제조한 화학식 4로 표시되는 화합물과, 화학식 5로 표시되는 화합물을 반응시켜 화학식 6으로 표시되는 화합물을 제조하는 단계(단계 2);

[0177] 상기 단계 2에서 제조한 화학식 6으로 표시되는 화합물로부터 화학식 7로 표시되는 화합물을 제조하는 단계(단계 3); 및

[0178] 상기 단계 3에서 제조한 화학식 7로 표시되는 화합물을 화학식 8로 표시되는 화합물과 반응시켜 화학식 1로 표시되는 화합물을 제조하는 단계(단계4);를 포함하는 제1항의 화학식 1로 표시되는 화합물의 제조방법을 제공한다.

[0179] [반응식 1]



[0180]

[0181] 상기 반응식 1에서,

[0182] 상기 V, X 및 Y는 상기 화학식 1에서 정의한 바와 같고;

[0183] 상기 Z 및 Z'는 Z가 $-\text{NO}_2$ 인 경우, Z'는 $-\text{NH}_2$ 이고, Z가 $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{O}-$ 인 경우, Z'는 $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{OH}$ 이다.

[0185] 이하, 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물의 제조방법을 단계별로 상세히 설명한다.

[0187] 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물의 제조방법에 있어서, 상기 단계 1은 화학식 2로 표시되는 화합물과, 화학식 3으로 표시되는 화합물을 반응시켜 화학식 4로 표시되는 화합물을 제조하는 단계이다.

[0188] 이때, 상기 단계에서 사용 가능한 용매로는 디메틸포름아미드(DMF), 물, 메탄올, 에탄올, 테트라하이드로퓨란(THF), 메틸렌클로라이드, 톨루엔, 아세토니트릴 등을 사용할 수 있고, 바람직하게는 디메틸포름아미드(DMF)를 사용할 수 있다.

[0189] 또한, 상기 단계에서 반응온도는 80 내지 120℃에서 수행하는 것이 바람직하고, 반응시간은 특별한 제약은 없으

나, 0.5-30시간 동안 반응하는 것이 바람직하다.

- [0191] 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물의 제조방법에 있어서, 상기 단계 2는 상기 단계 1에서 제조한 화학식 4로 표시되는 화합물과, 화학식 5로 표시되는 화합물을 반응시켜 화학식 6으로 표시되는 화합물을 제조하는 단계이다.
- [0192] 이때, 상기 단계에서 사용 가능한 용매로는 디메틸포름아미드(DMF), H₂O, 메탄올, 에탄올, 테트라하이드로퓨란(THF), 메틸렌클로라이드, 톨루엔, 아세토니트릴 등을 사용할 수 있고, 바람직하게는 t-부탄올(t-BuOH)을 사용할 수 있다.
- [0193] 또한, 상기 단계에서 반응온도는 80 내지 120℃에서 수행하는 것이 바람직하고, 반응시간은 특별한 제약은 없으나, 0.5-30시간 동안 반응하는 것이 바람직하다.
- [0195] 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물의 제조방법에 있어서, 상기 단계 3은 상기 단계 2에서 제조한 화학식 6으로 표시되는 화합물로부터 화학식 7로 표시되는 화합물을 제조하는 단계이다.
- [0196] 이때, 상기 단계에서 사용 가능한 용매로는 디메틸포름아미드(DMF), 물, 메탄올, 에탄올, 테트라하이드로퓨란(THF), 메틸렌클로라이드, 톨루엔, 아세토니트릴 등을 사용할 수 있고, 바람직하게는 테트라하이드로퓨란, 메탄올, 및 물의 혼합액을 사용할 수 있다.
- [0197] 또한, 상기 단계에서 반응온도는 40 내지 80℃에서 수행하는 것이 바람직하고, 반응시간은 특별한 제약은 없으나, 0.5-10시간 동안 반응하는 것이 바람직하다.
- [0199] 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물의 제조방법에 있어서, 상기 단계 4는 상기 단계 3에서 제조한 화학식 7로 표시되는 화합물을 화학식 8로 표시되는 화합물과 반응시켜 화학식 1로 표시되는 화합물을 제조하는 단계이다.
- [0200] 이때, 상기 단계에서 사용 가능한 용매로는 디메틸포름아미드(DMF), 물, 메탄올, 에탄올, 테트라하이드로퓨란(THF), 메틸렌클로라이드, 톨루엔, 아세토니트릴 등을 사용할 수 있고, 바람직하게는 디메틸포름아미드(DMF)를 사용할 수 있다.
- [0201] 또한, 상기 단계에서 반응온도는 40 내지 80℃에서 수행하는 것이 바람직하고, 반응시간은 특별한 제약은 없으나, 0.5-20시간 동안 반응하는 것이 바람직하다.
- [0203] 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물의 제조방법에 있어서, 상기 전술된 각 단계는 바람직하게 하기 본 발명의 실시예 화합물의 제조방법으로 수행될 수 있다. 또한, 상기 제조방법은 해당 분야의 당업자라면 가능한 실험 방법 또는 조건의 변경을 포함한다.
- [0205] 나아가, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 함유하는,
- [0206] ABL1(E255K)-phosphorylated, ABL1(F317I)-nonphosphorylated, ABL1(F317I)-phosphorylated, ABL1(F317L)-nonphosphorylated, ABL1(F317L)-phosphorylated, ABL1(H396P)-nonphosphorylated, ABL1(H396P)-phosphorylated, ABL1(M351T)-phosphorylated, ABL1(Q252H)-nonphosphorylated, ABL1(Q252H)-phosphorylated, ABL1(T315I)-nonphosphorylated, ABL1(T315I)-phosphorylated, ABL1(Y253F)-phosphorylated, ABL1-nonphosphorylated, ABL1-phosphorylated, ABL2, ALK, AURKB, AXL, BLK, BMX, BRAF, BRAF(V600E), BRK, BTK, CDKL2, CIT, CSF1R, CSK, DDR1, DDR2, DLK, EGR, EGFR, EGFR(E746-A750del), EGFR(G719C), EGFR(G719S), EGFR(L747-E749del, A750P), EGFR(L747-S752del, P753S), EGFR(L747-T751del, Sins), EGFR(L858R), EGFR(L861Q), EGFR(S752-I759del), EPHA1, EPHA2, EPHA3, EPHA4, EPHA5, EPHA6, EPHA7, EPHA8, EPHB1, EPHB2, EPHB3, EPHB4, EPHB6, ERBB4, ERK8, ERN1, FER, FES, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR3(G697C), FGFR4, FGR, FLT1,

FLT3, FLT3(D835H), FLT3(D835Y), FLT3(ITD), FLT3(ITD, F691L), FLT3(K663Q), FLT3(N841I), FLT3(R834Q), FLT4, FRK, FYN, GRK2, GRK3, HCK, HIPK4, HPK1, IKK-alpha, IRAK1, JAK2(JH1domian-catalytic), JAK3(JH1domian-catalytic), JNK1, JNK2, KIT, KIT(A829P), KIT(D816H), KIT(D816V), KIT(L576P), KIT(V559D), KIT(V559D, T670I), KIT(V559D, V654A), LCK, LOK, LYN, MAP3K1, MAP3K15, MAP4K2, MAP4K4, MAP4K5, MEK5, MERTK, MINK, MKNK2, MLK1, MLK3, MUSK, NEK4, NLK, p38-alpha, p38-beta, p38-gamma, PDGFRA, PDGFRB, PFCDPK1(P.falciparum), RAF1, RET, RET(M918T), RET(V804L), RET(V804M), RIPK1, RIPK2, SIK, SIK2, SLK, SRC, SRMS, STK33, STK39, TAK1, TEC, TIE1, TIE2, TNK1, TNKI3K, TRKA, TRKB, TRKC, TXK, TYK2(JH1domian-catalytic), VEGFR2, YES, YSK4, 또는 ZAK 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0208] 여기서, ABL1(E255K)-nonphosphorylated, ABL1(F317I)-nonphosphorylated, ABL1(F317L)-nonphosphorylated, ABL1(F317L)-phosphorylated, ABL1(H396P)-nonphosphorylated, ABL1(H396P)-phosphorylated, ABL1(M351T)-phosphorylated, ABL1(Q252H)-nonphosphorylated, ABL1(Q252H)-phosphorylated, ABL1(T315I)-nonphosphorylated, ABL1(T315I)-phosphorylated, ABL1(Y253F)-phosphorylated, ABL1-nonphosphorylated, ABL1-phosphorylated, ABL2, ALK, AURKB, AXL, BLK, BMX, BRAF, BRAF(V600E), BRK, BTK, CDKL2, CIT, CSF1R, CSK, DDR1, DDR2, DLK, EGR, EGFR, EGFR(E746-A750del), EGFR(G719C), EGFR(G719S), EGFR(L747-E749del, A750P), EGFR(L747-S752del, P753S), EGFR(L747-T751del, Sins), EGFR(L858R), EGFR(L861Q), EGFR(S752-I759del), EPHA1, EPHA2, EPHA3, EPHA4, EPHA5, EPHA6, EPHA7, EPHA8, EPHB1, EPHB2, EPHB3, EPHB4, EPHB6, ERBB4, ERK8, ERN1, FER, FES, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR3(G697C), FGFR4, FGR, FLT1, FLT3, FLT3(D835H), FLT3(D835Y), FLT3(ITD), FLT3(ITD, F691L), FLT3(K663Q), FLT3(N841I), FLT3(R834Q), FLT4, FRK, FYN, GRK2, GRK3, HCK, HIPK4, HPK1, IKK-alpha, IRAK1, JAK2(JH1domian-catalytic), JAK3(JH1domian-catalytic), JNK1, JNK2, KIT, KIT(A829P), KIT(D816H), KIT(D816V), KIT(L576P), KIT(V559D), KIT(V559D, T670I), KIT(V559D, V654A), LCK, LOK, LYN, MAP3K1, MAP3K15, MAP4K2, MAP4K4, MAP4K5, MEK5, MERTK, MINK, MNK2, MLK1, MLK3, MUSK, NEK4, NLK, p38-alpha, p38-beta, p38-gamma, PDGFRA, PDGFRB, PFCDPK1(P.falciparum), RAF1, RET, RET(M918T), RET(V804L), RET(V804M), RIPK1, RIPK2, SIK, SIK2, SLK, SRC, SRMS, STK33, STK39, TAK1, TEC, TIE1, TIE2, TNIK, TNK1, TNNI3K, TRKA, TRKB, TRKC, TXK, TYK2(JH1domian-catalytic), VEGFR2, YES, YSK4, 또는 ZAK 관련 질환은 하기에 제한되지 않으나, 상기 효소의 이상, 변형, 과발현 등과 같은 정상적인 활성이 아닌 현상으로부터 발현될 수 있는 모든 질병을 말한다. 특히, 상기 열거된 효소 관련 질환의 예로 암을 들 수 있는데, 암 세포의 세포증식과 관련되어 Ret 또는 FGFR의 이상 활성으로부터 기인한 경우, 본 발명의 화합물, 이의 광학이성질체 및 이로부터 허용 가능한 염은 상기 열거된 효소의 활성을 나노몰의 단위로 효과적으로 억제할 수 있어, 상기 열거된 효소 관련 질환의 예방 또는 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

[0209] 또한, 상기 효소 중 Src 및 Fyn과 관련된 질환으로 당뇨병성 신경증이 있을 수 있으나, 이에 특별히 제한되지 않고, 특히 현재의 당해 기술분야에서 Src 및 Fyn을 억제하여 달성될 수 있는 효과가 있는 질환이라면, 본 발명의 범주에 포함된다.

[0210] 특히 본 발명 화합물은 암과 당뇨병성 신증에 유효한 화합물임을 실험적으로 입증한 바, 상기 효소로 열거된 바와 관계된 질환에 유용한 효과를 나타내고, 이의 약물로 사용될 수 있음을 당해 기술자라면 용이하게 이해할 수 있는 바, 본 발명에 포함된다.

[0212] 또한, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 함유하는 약의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0214] 여기서, 상기 화합물은 상기 열거된 효소를 억제하여 암을 예방 또는 치료하는 것을 특징으로 할 수 있고, 상기 암은 상기 암은 가성점액종, 간내 담도암, 간모세포종, 간암, 갑상선암, 결장암, 고환암, 골수이형성증후군, 교모세포종, 구강암, 구순암, 균상식육종, 급성골수성백혈병, 급성림프구성백혈병, 기저세포암, 난소상피암, 난소생식세포암, 남성유방암, 뇌암, 뇌하수체선종, 다발성골수종, 담낭암, 담도암, 대장암, 만성골수성백혈병, 만성림프구백혈병, 망막모세포종, 맥락막흑색종, 미만성거대B세포림프종, 바터팩대부암, 방광암, 복막암, 부갑상선

암, 부신암, 비부비동암, 비소세포폐암, 비호지킨림프종, 설암, 성상세포종, 소세포폐암, 소아뇌암, 소아림프종, 소아백혈병, 소장암, 수막종, 식도암, 신경교종, 신경모세포종, 신우암, 신장암, 심장암, 십이지장암, 악성 연부조직 암, 악성골암, 악성림프종, 악성종피종, 악성흑색종, 안암, 외음부암, 요관암, 요도암, 원발부위불명암, 위림프종, 위암, 위유암종, 위장관간질암, 윌름스암, 유방암, 육종, 음경암, 인두암, 임신용모질환, 자궁경부암, 자궁내막암, 자궁육종, 전립선암, 전이성 골암, 전이성뇌암, 종격동암, 직장암, 직장유암종, 질암, 척수암, 청신경초종, 췌장암, 침샘암, 카포시 육종, 파제트병, 편도암, 편평상피세포암, 폐선암, 폐암, 폐편평상피세포암, 피부암, 항문암, 횡문근육종, 후두암, 흉막암, 및 흉선암으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상일 수 있다.

[0216] 나아가, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 함유하는 암의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

[0218] 여기서, 상기 화합물은 ABL1(E255K)-phosphorylated, ABL1(F317I)-nonphosphorylated, ABL1(F317I)-phosphorylated, ABL1(F317L)-nonphosphorylated, ABL1(F317L)-phosphorylated, ABL1(H396P)-nonphosphorylated, ABL1(H396P)-phosphorylated, ABL1(M351T)-phosphorylated, ABL1(Q252H)-nonphosphorylated, ABL1(Q252H)-phosphorylated, ABL1(T315I)-nonphosphorylated, ABL1(T315I)-phosphorylated, ABL1(Y253F)-phosphorylated, ABL1-nonphosphorylated, ABL1-phosphorylated, ABL2, ALK, AURKB, AXL, BLK, BMX, BRAF, BRAF(V600E), BRK, BTK, CDKL2, CIT, CSF1R, CSK, DDR1, DDR2, DLK, EGR, EGFR, EGFR(E746-A750del), EGFR(G719C), EGFR(G719S), EGFR(L747-E749del, A750P), EGFR(L747-S752del, P753S), EGFR(L747-T751del, Sins), EGFR(L858R), EGFR(L861Q), EGFR(S752-I759del), EPHA1, EPHA2, EPHA3, EPHA4, EPHA5, EPHA6, EPHA7, EPHA8, EPHB1, EPHB2, EPHB3, EPHB4, EPHB6, ERBB4, ERK8, ERN1, FER, FES, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR3(G697C), FGFR4, FGR, FLT1, FLT3, FLT3(D835H), FLT3(D835Y), FLT3(ITD), FLT3(ITD, F691L), FLT3(K663Q), FLT3(N841I), FLT3(R834Q), FLT4, FRK, FYN, GRK2, GRK3, HCK, HIPK4, HPK1, IKK-alpha, IRAK1, JAK2(JH1domian-catalytic), JAK3(JH1domian-catalytic), JNK1, JNK2, KIT, KIT(A829P), KIT(D816H), KIT(D816V), KIT(L576P), KIT(V559D), KIT(V559D, T670I), KIT(V559D, V654A), LCK, LOK, LYN, MAP3K1, MAP3K15, MAP4K2, MAP4K4, MAP4K5, MEK5, MERTK, MINK, MKNK2, MLK1, MLK3, MUSK, NEK4, NLK, p38-alpha, p38-beta, p38-gamma, PDGFRA, PDGFRB, PFCDPK1(P.falciparum), RAF1, RET, RET(M918T), RET(V804L), RET(V804M), RIPK1, RIPK2, SIK, SIK2, SLK, SRC, SRMS, STK33, STK39, TAK1, TEC, TIE1, TIE2, TNIK, TNK1, TNKI3K, TRKA, TRKB, TRKC, TXK, TYK2(JH1domian-catalytic), VEGFR2, YES, YSK4, 또는 ZAK을 억제하여 암을 예방 또는 개선하는 것을 특징으로 할 수 있고, 상기 암은 대장암, 간암, 위암, 유방암, 결장암, 골암, 췌장암, 두부 또는 경부암, 자궁암, 난소암, 직장암, 식도암, 소장암, 항문부근암, 결장암, 나팔관암종, 자궁내막암종, 자궁경부암종, 질암종, 음문암종, 호지킨병, 전립선암, 방광암, 신장암, 수뇨관암, 신장세포암종, 신장골반암종, 중추신경계 종양 및 백혈병으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 또는 둘 이상의 것이 될 수 있다.

[0220] 또한, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 광학 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 함유하는 당뇨병성 신증의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0221] 여기서, 당뇨병성 신증은, 당뇨병으로부터 유발되는 신증으로 이해되며, 통상적인 질환으로 의미된다. 본 발명에서는 특별하게 Src 및 Fyn 효소 억제 활성으로부터 본 발명 화합물이, Src 및 Fyn 효소 관련 질환에 약물로 사용될 수 있음을 확인하였고, 특히, 당뇨병성 신증을 동물 모델 실험을 수행하여 확인한 바, 본 발명 화합물을 당뇨병성 신증 약물의 유효성분으로 제공한다.

[0222] 상기 화합물은 당뇨병성 신증 초기 미세 알부민뇨 단계에서 알부민뇨를 감소시키며, 알부민-크레아티닌 비를 감소시키는 것을 특징으로 하는 당뇨병성 미세알부민뇨증의 예방 또는 치료용 약학적 조성물로 사용될 수 있고, 이에 제한되지 않고, 본 발명이 보이는 효소 억제 활성 동물 모델 실험으로부터 확인될 수 있는 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물로 제공된다.

[0224] 나아가, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 광학 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한

염을 유효성분으로 함유하는 당뇨병성 신증의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

- [0226] 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물은 임상 투여시에 경구 및 비경구의 여러 가지 제형으로 투여될 수 있으며, 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 제조된다.
- [0227] 경구투여를 위한 고형 제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제, 트로키제 등이 포함되며, 이러한 고형 제제는 하나 이상의 본 발명의 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose) 또는 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한, 단순한 부형제 외에 마그네슘 스테arate 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구 투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용 액제, 유제 또는 시럽제 등이 해당되는데, 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다.
- [0228] 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁용제, 유제, 동결건조제, 좌제 등이 포함된다. 비수성용제, 현탁 용제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위템솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세롤, 젤라틴 등이 사용될 수 있다.
- [0229] 또한, 본 발명의 화합물의 인체에 대한 효과적인 투여량은 환자의 나이, 몸무게, 성별, 투여형태, 건강상태 및 질환 정도에 따라 달라질 수 있으며, 일반적으로 약 0.001-100 mg/kg/일이며, 바람직하게는 0.01-35 mg/kg/일이다. 몸무게가 70 kg인 성인 환자를 기준으로 할 때, 일반적으로 0.07-7000 mg/일이며, 바람직하게는 0.7-2500 mg/일이며, 의사 또는 약사의 판단에 따라 일정시간 간격으로 1일 1회 내지 수회로 분할 투여할 수도 있다.
- [0231] 나아가, 본 발명은 상기 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 치료학적으로 유효한 양으로 대상(subject)에게 투여하는 단계를 포함하는 암의 치료 방법을 제공한다.
- [0233] 이때, 상기 암은 상술된 바와 같은 암을 모두 포함한다.
- [0234] 상기 치료학적 유효량은 투여 방법에 따라, 체내로 투여시 대상(subject)의 증상 또는 상태를 개선시킬 수 있을 정도의 양을 말한다. 또한 상기 양은 투여하는 대상의 체중, 나이, 성별, 상태, 가족력에 따라 상이할 수 있고, 본 발명에서 상기 치료 방법은 이처럼 대상별로 상이한 조건에 따라 다른 양의 투여량을 정할 수 있다.
- [0235] 상기 "유효한 양"은 증식성, 염증성, 감염성, 신경적 또는 심혈관 장애를 치료하는데 유용한 양, 또는 암을 치료하는데 유효한 양이다. 다른 구체예에서, 화합물의 "유효한 양"은 암의 증식을 억제할 수 있는 최소한의 양 이상을 말한다.
- [0237] 또한, 본 발명은 상기 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 치료학적으로 유효한 양으로 대상(subject)에게 투여하는 단계를 포함하는 당뇨병성 신증의 치료 방법을 제공한다.
- [0239] 상기 치료학적 유효량은 투여 방법에 따라, 체내로 투여시 대상(subject)의 증상 또는 상태를 개선시킬 수 있을 정도의 양을 말한다. 또한 상기 양은 투여하는 대상의 체중, 나이, 성별, 상태, 가족력에 따라 상이할 수 있고, 본 발명에서 상기 치료 방법은 이처럼 대상별로 상이한 조건에 따라 다른 양의 투여량을 정할 수 있다.
- [0240] 상기 "유효한 양"은 증식성, 염증성, 감염성, 신경적 또는 심혈관 장애를 치료하는데 유용한 양, 또는 당뇨병성 신증을 치료하는데 유효한 양이다. 다른 구체예에서, 화합물의 "유효한 양"은 암의 증식을 억제할 수 있는 최소한의 양 이상을 말한다.
- [0242] 본 발명의 방법에 따른 화합물 및 조성물은 질환을 치료하는데 유효한 임의의 양 및 임의의 투여 경로를 사용하여 투여될 수 있다. 필요한 정확한 양은 대상체의 종, 연령, 및 일반적인 병태, 감염의 중증도, 특정한 제제,

그것의 투여 방식, 등에 따라 대상별로 변할 것이다. 본 발명의 화합물은 복용량의 투여 용이성 및 균일성에 대해 투약량 단위 형태로 빈번하게 제형화된다. 표현 "투약량 단위 형태"는, 본 명세서에서 사용된 바와 같이 치료될 대상에 적절한 제제의 물리적으로 별개의 단위를 의미한다. 그러나, 본 발명의 화합물 및 조성물의 총 일일 사용량이 건전한 의료 판단의 범위 내에 주치의에 의해 결정될 것으로 이해될 것이다. 임의의 특정한 대상 또는 유기체에 대한 특정 유효한 투여 수준은 하기를 포함하는 다양한 요인에 의존할 것이다.

[0244] 용어 "대상"은, 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 동물, 예를 들면 포유동물, 예컨대 인간을 의미한다.

[0245] 본 발명의 약학적 조성물은 치료될 감염의 중증도에 따라 인간 및 다른 동물에게 경구로, 직장으로, 비경구로, 낭내로, 질내로, 복강내로, 국소로 (분말, 연고, 로션, 고약, 또는 드롭스에 의해서), 구강으로, 경구 또는 비강 스프레이로서, 등으로 투여될 수 있다. 특정 구체예에서, 본 발명의 화합물은 원하는 치료 효과를 얻기 위해 약 0.01 mg/kg 내지 약 50 mg/kg, 예를 들면 약 1 mg/kg 내지 약 25 mg/대상체 체중 kg / 1일, 1회 이상 /1일의 복용량 수준으로 경구로 또는 비경구로 투여될 수 있다.

[0246] 경구 투여용 액체 투약 형태는, 비제한적으로, 약제학적으로 허용 가능한 에멀전, 마이크로에멀전, 용액, 현탁액, 시럽 및 엘릭시르를 포함한다. 활성 화합물에 추가하여, 액체 투약 형태는 당해기술에서 통상적으로 사용된 하기 예의 불활성 희석제를 함유할 수 있다: 물 또는 다른 용매, 가용화제, 및 유화제 예컨대 에틸 알코올, 이소프로필 알코올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸렌 글리콜, 디메틸포름아미드, 오일 (예를 들면, 목화씨, 땅콩, 옥수수, 세균, 올리브, 캐스터, 및 참깨 오일), 글리세롤, 테트라하이드로푸르푸릴 알코올, 폴리에틸렌 글리콜 및 소르비탄의 지방산 에스테르, 및 이들의 혼합물. 불활성 희석제 외에, 경구 조성물은 아췌반트 예컨대 습윤제, 유화 및 현탁화 제제, 감미제, 풍미제, 및 방향제를 또한 포함할 수 있다.

[0247] 주사가능 제제, 예를 들면, 멸균된 주사가능 수성 또는 지질생산성 현탁액은 적합한 분산제 또는 습윤제 및 현탁화제를 사용하여 공지된 기술에 따라 제형화될 수 있다. 멸균된 주사가능 제제는 또한 비독성 비경구로 허용 가능한 희석제 또는 용매 중 멸균된 주사가능 용액, 현탁액 또는 에멀전일 수 있고, 예를 들면 1,3-부탄디올 중 용액이다. 이용될 수 있는 허용 가능한 비히클 및 용매 중에서, 물, 링거액, U.S.P. 및 등장의 염화나트륨 용액이 있다. 또한, 멸균된, 고정유는 용매 또는 분산매로서 종래에 이용된다. 이러한 목적을 위해 임의의 브랜드 고정유가 이용될 수 있고, 합성 모노- 또는 디글리세라이드를 포함한다. 또한, 지방산 예컨대 올레산은 주사제의 제조에 사용된다.

[0248] 주사가능 제형은, 예를 들면, 박테리아-고정 필터를 통한 여과, 또는 사용 전에 멸균수 또는 다른 멸균된 주사가능 매질에서 용해 또는 분산될 있는 멸균된 고형 조성물의 형태로 산궐제를 편입시켜 멸균될 수 있다.

[0249] 본 발명의 화합물의 효과를 지속하기 위해서, 피하 또는 근육내 주사로부터 화합물의 느린 흡수가 종종 요망된다. 이것은 좋지 못한 수용해도를 갖는 결정성 또는 비정질 물질의 액체 현탁액의 사용에 의해 달성될 수 있다. 화합물의 흡수율은 결정 크기 및 결정 형태에 의존할 수 있는 그것의 용해 속도에 따라 달라질 수 있다 의존한다. 대안적으로, 비경구로 투여된 화합물 형태의 지연된 흡수는 화합물을 오일 비히클에서 용해 또는 현탁시켜 달성된다. 주사가능 데포 형태는 생분해성 폴리머 예컨대 폴리락타이드-폴리글라이콜라이드에서 화합물의 마이크로엔캡슐 매트릭스를 형성하여 만들어진다. 화합물 대 폴리머의 비 및 이용된 특정 폴리머의 본성에 따라, 화합물 방출 속도는 제어될 수 있다. 다른 생분해성 폴리머의 예는 폴리(오르토에스테르) 및 폴리(무수물)를 포함한다. 데포 주사가능 제형은 신체 조직과 양립가능한 리포솜 또는 마이크로에멀전에서 화합물을 포획하여 또한 제조된다.

[0250] 직장 또는 질 투여용 조성물은, 예를 들면, 본 발명의 화합물을 적합한 무-자극 부형제 또는 담체 예컨대 코코아 버터, 폴리에틸렌 글리콜 또는 좌약 왁스와 혼합하여 제조될 수 있는 있는 좌약이고, 이 좌약은 고체 주위 온도에서 고체이지만 체온에서 액체이고 따라서 직장 또는 질강에서 용융되어 활성 화합물을 방출한다.

[0251] 경구 투여용 고체 투약 형태는 캡슐, 정제, 알약, 분말, 및 과립을 포함한다. 그와 같은 고체 투약 형태에서, 활성 화합물은 하기와 혼합된다: 적어도 1종의 불활성, 약제학적으로 허용 가능한 부형제 또는 담체 예컨대 나트륨 시트레이트 또는 디칼슘 포스페이트 및/또는 a) 충전제 또는 증량제 예컨대 전분, 락토오스, 수크로오스, 글루코오스, 만니톨, 및 규산, b) 결합제 예컨대, 예를 들면, 카복시메틸셀룰로오스, 알기네이트, 젤라틴, 폴리비닐피롤리디논, 수크로오스, 및 아카시아, c) 휴펙턴트 예컨대 글리세롤, d) 봉해제 예컨대 한천-한천, 탈산 칼슘, 감자 또는 타피오카 전분, 알긴산, 어떤 실리케이이트, 및 탄산나트륨, e) 용액 지연제 예컨대 과라판, f)

흡수 가속제 예컨대 4차 암모늄 화합물, g) 습윤제 예컨대, 예를 들면, 세틸 알코올 및 글리세롤 모노스테아레이트, h) 흡수제 예컨대 카올린 및 벤토나이트 점토, 및 i) 윤활제 예컨대 탈크, 칼슘 스테아레이트, 마그네슘 스테아레이트, 고체 폴리에틸렌 글리콜, 나트륨 라우릴 설페이트, 및 이들의 혼합물. 캡슐, 정제 및 알약의 경우에, 복용 형태는 완충제를 또한 포함할 수 있다.

[0252] 유사한 유형의 고형 조성물은 락토오스 또는 유당뿐만 아니라 고분자량 폴리에틸렌 글리콜 등과 같은 부형제를 사용하여 연질 및 경질-충전된 젤라틴 캡슐 내의 충전제로서 또한 이용될 있다. 고체 투약 형태의 정제, 당의정, 캡슐, 알약, 및 과립은 코팅물 및 셸 예컨대 장용 코팅물 및 약제학적 제형 기술에서 잘 알려진 다른 코팅물과 제조될 수 있다. 불투명화제를 임의로 함유할 수 있고, 또한 활성 성분(들)만을, 예를 들면, 장관의 특정 일부에서, 임의로, 지연 방식으로 방출하는 조성물일 수 있다. 사용될 수 있는 포매 조성물의 예는 폴리머성 서브스틴스 및 왁스를 포함한다. 유사한 유형의 고형 조성물은 락토오스 또는 유당 뿐만 아니라 고분자량 폴리에틸렌 글리콜 등과 같은 부형제를 사용하여 연질 및 경질-충전된 젤라틴 캡슐 내의 충전제로서 또한 이용될 수 있다.

[0253] 활성 화합물은 또한 1종 이상의 부형제 전술한 바와 같은 1종 이상의 부형제와의 마이크로-캡슐화된 형태일 수 있다. 고체 투약 형태의 정제, 당의정, 캡슐, 알약, 및 과립은 코팅물 및 셸 예컨대 장용 코팅물, 방출 조절 코팅물 및 약제학적 제형 기술에서 잘 알려진 다른 코팅물로 제조될 수 있다. 그와 같은 고체 투약 형태에서 활성 화합물은 적어도 1종의 불활성 희석제 예컨대 수크로오스, 락토오스 또는 전분과 혼합될 수 있다. 그와 같은 복용 형태는, 정상 실시에서와 같이, 불활성 희석제 이외의 추가 물질, 예를 들면, 정제화 윤활제 및 다른 정제화 조제 예컨대 마그네슘 스테아레이트 및 미세결정성 셀룰로오스를 또한 포함할 수 있다. 캡슐, 정제 및 알약의 경우에, 복용 형태는 완충제를 또한 포함할 수 있다. 불투명화제를 임의로 함유할 수 있고 또한 활성 성분(들)만을, 예를 들면, 장관의 특정 일부에서, 임의로, 지연 방식으로 방출하는 조성물일 수 있다. 사용될 수 있는 포매 조성물의 예는 폴리머성 서브스틴스 및 왁스를 포함한다.

[0254] 본 발명의 화합물의 국소 또는 경피 투여용 복용 형태는 연고, 페이스트, 크림, 로션, 젤, 분말, 용액, 스프레이, 흡입제 또는 패치를 포함한다. 활성 성분은 요구되는 대로, 멸균 조건 하에서 약제학적으로 허용 가능한 담체 및 임의의 필요한 보존제 또는 버퍼와 혼합된다. 안과 제형, 귀물약, 및 안약은 본 발명의 범위 내에 있는 것으로 또한 고려된다. 추가로, 본 발명은 화합물의 신체에의 제어된 전달을 제공하는 부가된 이점을 갖는 경피 패치의 사용을 고려한다. 그와 같은 복용 형태는 화합물을 적절한 매질에서 용해 또는 분산시켜 만들어질 수 있다. 흡수 촉진제는 피부를 가로질러 화합물의 유동을 증가시키기 위해 또한 사용될 수 있다. 속도는 속도 조절 막을 제공하거나 또는 폴리머 매트릭스 또는 겔에서 화합물을 분산시켜 제어될 수 있다.

[0255] 일부 구체예에서, 본 발명의 화합물 또는 그것의 약제학적 조성물은 항암제와 함께 투여된다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 용어 "항암제"는 암을 치료하기 위해 암이 있는 대상체에게 투여된 임의의 제제를 의미한다. 병용 요법은 동반하여 또는 순차적으로 치료제를 투여하는 것을 포함한다. 대안적으로, 치료제는 대상에게 투여되는 1종의 조성물에 조합될 수 있다.

[0256] 일 구체예에서, 본 발명의 화합물은 다른 치료제와 함께 사용된다. 또한 본 발명의 화합물은 세포독성 약물, 방사선요법, 및 면역요법으로 구성된 군으로부터 선택된 치료제와 함께 투여될 수 있다.

[0258] 추가 제제들은 다중 투약량 요법의 일부로서 제공된 병용 요법으로부터 별도로 투여될 수 있다. 대안적으로, 제제들은 본 발명의 화합물과 함께 혼합된 단일 복용 형태의 일부이리 수 있다. 병용 요법의 일부로서 투여된다면, 2종의 치료제는 동시에, 순차적으로, 또는 간헐적으로 제공될 수 있다. 병용 요법은 본 명세서에서 기재된 치료적 징후 중 임의의 것을 위해 사용될 수 있다. 일부 구체예에서, 병용 요법은 대상에서 증식성 장애 (예를 들면, 암)를 치료하기 위한 것이다.

[0260] 본 발명의 또 다른 측면은 생물학적 샘플 또는 대상에서 암을 억제하는 것에 관한 것이고, 상기 방법은 화학식 1로 표시되는 화합물, 또는 상기 화합물을 포함하는 조성물을 투여하거나, 이것에 상기 생물학적 샘플을 접촉시키는 것을 포함한다. 용어 "생물학적 샘플"은, 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 일반적으로 생체내, 시험관내, 및 생체의 물질을 포함하고, 또한, 비제한적으로, 세포 배양물 또는 그것의 추출물; 포유동물로부터 수득된 생체검사된 물질 또는 그것의 추출물; 그리고 혈액, 타액, 소변, 대변, 정액, 눈물, 또는 다른 체액 또는 그것의 추출물을 포함한다.

- [0262] 본 발명자들은 본 발명에 따른 화합물, 이의 입체 이성질체, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염은, 본 발명에서 암의 예방 또는 치료에 유용한 효과가 있음을 실험을 통해 확인하였다.
- [0264] 먼저, 본 발명에 따른 화합물의 효소에 대한 저해활성을 평가하기 위해 하기 실험예 1과 같은 실험을 수행한 결과, 본 발명의 실시예 화합물은 ABL1(E255K)-phosphorylated, ABL1(F317I)-nonphosphorylated, ABL1(F317I)-phosphorylated, ABL1(F317L)-nonphosphorylated, ABL1(F317L)-phosphorylated, ABL1(H396P)-nonphosphorylated, ABL1(H396P)-phosphorylated, ABL1(M351T)-phosphorylated, ABL1(Q252H)-nonphosphorylated, ABL1(Q252H)-phosphorylated, ABL1(T315I)-nonphosphorylated, ABL1(T315I)-phosphorylated, ABL1(Y253F)-phosphorylated, ABL1-nonphosphorylated, ABL1-phosphorylated, ABL2, ALK, AURKB, AXL, BLK, BMX, BRAF, BRAF(V600E), BRK, BTK, CDKL2, CIT, CSF1R, CSK, DDR1, DDR2, DLK, EGR, EGFR, EGFR(E746-A750del), EGFR(G719C), EGFR(G719S), EGFR(L747-E749del, A750P), EGFR(L747-S752del, P753S), EGFR(L747-T751del, Sins), EGFR(L858R), EGFR(L861Q), EGFR(S752-I759del), EPHA1, EPHA2, EPHA3, EPHA4, EPHA5, EPHA6, EPHA7, EPHA8, EPHB1, EPHB2, EPHB3, EPHB4, EPHB6, ERBB4, ERK8, ERN1, FER, FES, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR3(G697C), FGFR4, FGR, FLT1, FLT3, FLT3(D835H), FLT3(D835Y), FLT3(ITD), FLT3(ITD, F691L), FLT3(K663Q), FLT3(N841I), FLT3(R834Q), FLT4, FRK, FYN, GRK2, GRK3, HCK, HIPK4, HPK1, IKK-alpha, IRAK1, JAK2(JH1domian-catalytic), JAK3(JH1domian-catalytic), JNK1, JNK2, KIT, KIT(A829P), KIT(D816H), KIT(D816V), KIT(L576P), KIT(V559D), KIT(V559D, T670I), KIT(V559D, V654A), LCK, LOK, LYN, MAP3K1, MAP3K15, MAP4K2, MAP4K4, MAP4K5, MEK5, MERTK, MINK, MKNK2, MLK1, MLK3, MUSK, NEK4, NLK, p38-alpha, p38-beta, p38-gamma, PDGFRA, PDGFRB, PFCDPK1(P.falciparum), RAF1, RET, RET(M918T), RET(V804L), RET(V804M), RIPK1, RIPK2, SIK, SIK2, SLK, SRC, SRMS, STK33, STK39, TAK1, TEC, TIE1, TIE2, TNIK, TNK1, TNNI3K, TRKA, TRKB, TRKC, TXK, TYK2(JH1domian-catalytic), VEGFR2, YES, YSK4, 또는 ZAK에 대한 저해활성이 있는 것으로 확인되며, 나노몰 단위의 우수한 저해활성을 갖는 것으로 나타내는 것을 확인할 수 있어 본 발명에 따른 화합물은 상기 열거된 효소 관련 질환뿐 아니라, 이로부터 유도되는 암, 예를 들어 대장암, 간암, 위암, 유방암, 결장암, 골암, 췌장암, 두부 또는 경부암, 자궁암, 난소암, 직장암, 식도암, 소장암, 항문부근암, 결장암, 나팔관암종, 자궁내막암종, 자궁경부암종, 질암종, 음문암종, 호지킨병, 전립선암, 방광암, 신장암, 수뇨관암, 신장세포암종, 신장골반암종 중추신경계 종양 및 백혈병 또는 고형 종양의 원위 전위인 암의 예방 또는 치료의 용도로 유용하게 사용될 수 있음을 확인하였다(실험예 1 참조).
- [0266] 또한, 본 발명에 따른 화합물에 대하여, 하기 실험예 2와 같이 다양한 암세포주를 대상으로 암세포 증식 억제 활성을 평가한 결과, 놀랍게도 우수한 활성을 확인하였을 뿐 아니라, 하기 실험예 3에서와 같이, 암세포 이중 이식 마우스 모델에서도 우수하게 암세포 증식을 억제(암세포 사멸)하는 것으로 확인한 바, 본 발명 화합물이 암의 예방 또는 치료에 유용함을 알 수 있었다.
- [0268] 나아가, 본 발명에 따른 화합물에 대하여, Src 및 Fyn에 대한 우수한 저해 활성을 확인한 바, 본 발명 화합물의 당뇨병성 신증의 예방 또는 치료용 약물로서 제공한다.
- [0270] 이하, 본 발명을 실시예 및 실험예에 의하여 상세히 설명한다.
- [0271] 단, 하기 실시예 및 실험예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0273] 하기 실시예 화합물에 있어서,
- [0274] 제조된 화합물의 구조분석을 위한 HPLC 조건은 다음과 같다.
- [0275] 조건 A
- [0276] 기기명: Shimadzu

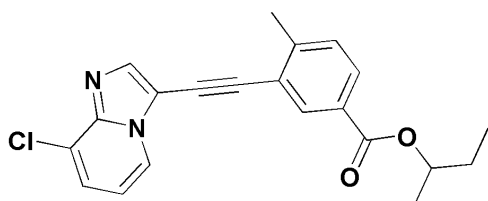
[0277] 컬럼: YMC-pack pro C18, 150x4.6mm I.D., 5um, 40℃
 [0278] 이동상: 5% →100% 아세토니트릴/H₂O + 0.1% TFA,
 [0279] 분석시간 : 9분, 유속 : 1ml/min
 [0280] UV detector: 254nm

[0282] 조건 B
 [0283] 기기명: Shimadzu
 [0284] 컬럼: YMC-pack pro C18, 150x4.6mm I.D., 5um, 40℃
 [0285] 이동상: 30% →100% 아세토니트릴/H₂O + 0.1% TFA,
 [0286] 분석시간 : 9분, 유속 : 1ml/min
 [0287] UV detector: 254nm

[0289] 조건 C
 [0290] 기기명 : Thermo Scientific
 [0291] 컬럼 : YMC Triart C18, 100x2mm I.D., 1.9um, 40℃
 [0292] 이동상 5% →100% 아세토니트릴/H₂O + 0.1% TFA,
 [0293] 분석시간 : 4.5분, 유속 : 0.5ml/min
 [0294] UV detector: 254nm

[0296] 이하, 본 발명의 실시예 화합물의 제조방법을 상세히 설명한다.

[0298] <제조예 1>sec-부틸 3-((8-클로로이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에틸닐)-4-메틸벤조에이트의 제조



[0299]
 [0300] 단계 1. 8-클로로이미다조[1,2-a]피리딘의 제조

[0301] 3-클로로피리딘-2-아민(1.5g, 11.7mmol)을 에탄올(1.5ml)에 녹인 뒤, p-톨루엔설폰산(11.1g, 58.3mmol), 클로로아세트알데히드 디메틸 아세탈(1.5ml, 13.2mmol)을 첨가한 후, 마이크로웨이브 반응기를 이용하여 150℃에서 1시간 동안 반응시켰다. 반응 혼합물을 식힌 다음, 증류수로 씻어주어 갈색 고체의 목적화합물(1.5g, 84% 수율)을 제조하였다.

[0302] MS m/z : 153[M+H]

[0304] 단계 2. 8-클로로-3-아이오도이미다조[1,2-a]피리딘의 제조

[0305] 상기 단계 1에서 제조한 화합물(40g, 262mmol)을 DMF(150ml)에 녹인 뒤, N-아이오도-숙신이미드(70.8g, 315mmol)를 첨가한 후 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 물로 씻어주어 갈색 고체의 목적화합물, 8-클로로

-3-아이오도이미다조[1,2-a]피리딘(71.5g, 98%)을 제조하였다.

MS m/z : 279[M+H]

단계 3. 8-클로로-3-((트리메틸실릴)에티닐)이미다조[1,2-a]피리딘의 제조

상기 단계 2에서 제조한 화합물(71.5g, 257mmol)의 MeCN(150ml) 혼합용액에 에틸트리메틸실레인(23.7ml, 171mmol), Pd(PPh₃)₄(9.89g, 8.56mmol), CuI(3.26g, 17.1mmol) 및 DIPEA(50.7ml, 291mmol)을 첨가한 후, 80℃에서 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 실온으로 식힌 뒤, 에틸아세테이트로 묶힌 다음 물로 씻어주었다. 유기층을 MgSO₄로 건조, 여과하고 농축한 다음, 얻어진 잔사를 실리카겔 크로마토그래피법(0-100% 헥세인:디클로로메탄(3:1)/디클로로메탄)으로 정제하여 갈색 고체의 목적화합물(25g, 59% 수율)을 제조하였다.

MS m/z : 249[M+H]

단계 4. 8-클로로-3-에티닐이미다조[1,2-a]피리딘의 제조

상기 단계 3에서 제조한 화합물(25g, 100mmol)을 THF(200ml)에 녹인 뒤, K₂CO₃(69.4g, 502mmol)를 첨가한다. 반응 혼합물에 메탄올(200ml)을 첨가하여 상온에서 10분 동안 교반한 뒤, 셀라이트에서 여과 후 농축하였다. 얻어진 잔사를 물로 씻어주어 갈색 고체의 목적화합물(17g, 96% 수율)을 제조하였다.

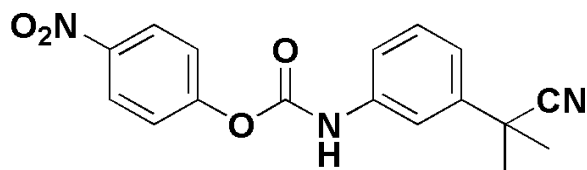
MS m/z : 177[M+H]

단계 5. sec-부틸 3-((8-클로로이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)-4-메틸벤조에이트의 제조

상기 단계 4에서 제조한 화합물(2g, 11.3mmol)의 DMF(40ml) 혼합용액에 sec-부틸 3-아이오도-4-메틸벤조에이트(3.6g, 11.3mmol), DIPEA(3.35 ml, 19.3 mmol), CuI(0.216 g, 1.13 mmol) 및 Pd(PPh₃)₄(0.65g, 0.566mmol)을 첨가한 후, 100℃에서 15시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 실온으로 식힌 뒤, 셀라이트에서 여과 후 농축하였다. 얻어진 잔사를 에틸아세테이트로 묶힌 다음 물과 소금물로 씻어주었다. 유기층을 MgSO₄로 건조, 여과하고 농축한 다음, 얻어진 잔사를 실리카겔 크로마토그래피법으로 정제하여 노란색 고체의 목적화합물(3g, 72% 수율)을 제조하였다.

MS m/z : 367[M+H]

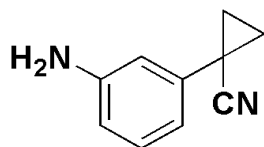
<제조예 2> 4-니트로페닐 (3-(2-시아노프로판-2-일)페닐)카바메이트의 제조



2-(3-아미노페닐)-2-메틸프로판니트릴(90mg, 0.562mmol)과 CH₂Cl₂(5ml)의 혼합용액에 피리딘(50ul, 0.618mmol)과 4-니트로페닐 클로로포메이트(Combi-Blocks, Cat# OT-0341, CAS[7693-46-1])(113mg, 0.562mmol)을 넣고 상온에서 3시간 동안 교반하였다. 반응혼합물을 농축하여 얻어진 잔사에 디에틸 에테르를 사용하여 갈색의 고체인 목적 화합물, 4-니트로페닐 (3-(2-시아노프로판-2-일)페닐)카바메이트(114mg, 62% 수율)를 얻었다.

MS m/z : 326[M+H]

[0325] <제조예 3> 1-(3-아미노페닐)사이클로프로판-1-카보나이트릴의 제조



[0326]

[0327] 단계 1: 1-(3-나이트로페닐)사이클로프로판-1-카보나이트릴의 제조

[0328] 2-(3-나이트로페닐)아세트나이트릴(0.7g, 4.32mmol)과 1-브로모-2-클로로에테인(0.37ml, 4.32mmol)을 DMSO:디에틸 에테르(1:1) 20ml의 혼합액에 녹인후, 0℃ 에서 NaH(0.35g, 8.6mmol)이 녹아있는 DMSO 용액에 천천히 넣어준다. 반응 화합물을 실온으로 온도를 높여주고 12시간 동안 교반하였다. 반응화합물을 암모늄클로라이드 포화용액, 물, 소금물로 씻어주었다. 유기층을 MgSO₄로 건조한 뒤 여과하고 농축한 다음, 얻어진 잔사를 실리카겔 크로마토그래피법(0-25% 에틸아세테이트/헥산)으로 정제하여 1-(3-나이트로페닐)사이클로프로판-1-카보나이트릴(0.51g, 63% 수율)을 얻었다.

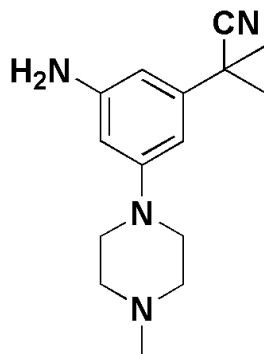
[0329] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.17 (d, 1H), 8.05 (s, 1H), 7.76 (d, 1H), 7.73 (t, 1H), 1.89 (m, 2H), 1.54 (m, 2H)

[0331] 단계 2: 1-(3-아미노페닐)사이클로프로판-1-카보나이트릴의 제조

[0332] 상기 단계 1에서 제조한 1-(3-나이트로페닐)사이클로프로판-1-카보나이트릴(200mg, 1.06mmol)을 메탄올에 녹인 후 PD/C (27mg, 0.25mmol)을 넣고 수소기류 하에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 셀라이트에서 여과 후 농축하여 목적화합물, 1-(3-아미노페닐)사이클로프로판-1-카보나이트릴(148mg, 88% 수율)을 얻었다.

[0333] MS *m/z* : 159[M+H]

[0335] <제조예 4> 2-(3-아미노-5-(4-메틸피페라진-1-일)페닐)-2-메틸프로판나이트릴의 제조



[0336]

[0337] 단계 1: 1-브로모-3-(브로모메틸)-5-나이트로벤젠의 제조

[0338] (3-브로모-5-나이트로페닐)메탄올(3g, 12.9mmol)을 디클로로메테인 40ml에 녹인 후 트리브로모포스핀(4.2g, 15.5mmol)을 0℃ 에서 천천히 넣어준다. 반응 화합물을 실온으로 온도를 높여주고 12시간 동안 교반하였다. 반응화합물을 소듐바이카보네이트 포화용액, 소금물로 씻어주었다. 유기층을 MgSO₄로 건조한 뒤 여과하고 농축한 다음, 얻어진 잔사를 실리카겔 크로마토그래피법(0-20% 헥산/에틸아세테이트)으로 정제하여 1-브로모-3-(브로모메틸)-5-나이트로벤젠(2g, 60% 수율)을 얻었다.

[0339] MS *m/z* : 295[M+H]

[0341] 단계 2: 2-(3-브로모-5-나이트로페닐)아세트나이트릴의 제조

[0342] 1-브로모-3-(브로모메틸)-5-나이트로벤젠(2g, 6.8mmol)을 에탄올에 녹인 용액에 포타슘시아나이드(530mg,

8.2mmol)를 물에 녹인 용액을 천천히 첨가한다. 반응 혼합물을 90℃에서 12시간동안 교반한 후 감압하에 농축하였다. 얻어진 잔사에 물 200ml을 넣고 DCM으로 3번 추출하여 얻은 유기용액을 MgSO₄로 건조한 뒤 여과하고 농축하여 2-(3-브로모-5-나이트로페닐)아세트나이트릴(1.5g, 85% 수율)을 얻었다.

[0343] MS m/z : 242[M+H]

[0345] 단계 3: 2-(3-브로모-5-나이트로페닐)-2-메틸프로판나이트릴의 제조

[0346] 2-(3-브로모-5-나이트로페닐)아세트나이트릴(1.5g, 6.2mmol)을 THF 25ml에 녹인 후, 0℃에서 NaH(370mg, 15.5mmol)이 녹아있는 THF 용액에 천천히 넣어준다. 반응 혼합물을 0℃에서 30분 교반 후, 아이오도메탄(1.9ml, 31.1mmol)이 녹아있는 THF 용액을 0℃에서 넣어주었다. 반응 혼합물을 실온으로 온도를 높여주고 12시간동안 교반하였다. 반응 혼합물에 물을 넣고 EA로 3번 추출하여 얻은 유기용액을 소금물로 씻어주고 MgSO₄로 건조한 뒤 여과하고 농축하였다. 얻어진 잔사를 실리카겔 크로마토그래피법(0-20% 에틸아세테이트/헥산)으로 정제하여 2-(3-브로모-5-나이트로페닐)-2-메틸프로판나이트릴(1g, 59% 수율)을 얻었다.

[0347] MS m/z : 270[M+H]

[0349] 단계 4: 2-메틸-2-(3-(4-메틸피페라진-1-일)-5-나이트로페닐)프로판나이트릴의 제조

[0350] 2-(3-브로모-5-나이트로페닐)-2-메틸프로판나이트릴 (500mg, 1.8mmol), 1-메틸피페라진(0.3ml, 2.8mmol), 소듐-tert-부톡시드(350mg, 3.7mmol), JohnPhos(83mg, 0.3mmol), Pd₂(dba)₃(85mg, 0.1mmol)을 5ml 1,4-dioxane에 녹이고 45℃에서 3시간 교반하였다. 반응 혼합물을 셀라이트에서 여과후 농축하여 얻어진 잔사를 실리카겔 크로마토그래피법(0-20% 메탄올/디클로로메테인)으로 정제하여 2-메틸-2-(3-(4-메틸피페라진-1-일)-5-나이트로페닐)프로판나이트릴(400mg, 75% 수율)을 얻었다.

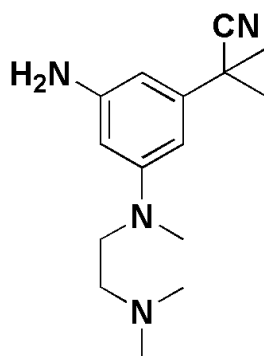
[0351] MS m/z : 289[M+H]

[0353] 단계5: 2-(3-아미노-5-(4-메틸피페라진-1-일)페닐)-2-메틸프로판나이트릴의 제조

[0354] 12-메틸-2-(3-(4-메틸피페라진-1-일)-5-나이트로페닐)프로판나이트릴(300mg, mmol)을 메탄올에 녹인 후 PD/C (27mg, 0.25mmol)을 넣고 수소기류 하에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 셀라이트에서 여과 후 농축하여 목적화합물, 2-(3-아미노-5-(4-메틸피페라진-1-일)페닐)-2-메틸프로판나이트릴(230mg, 86% 수율)을 얻었다.

[0355] MS m/z : 259[M+H]

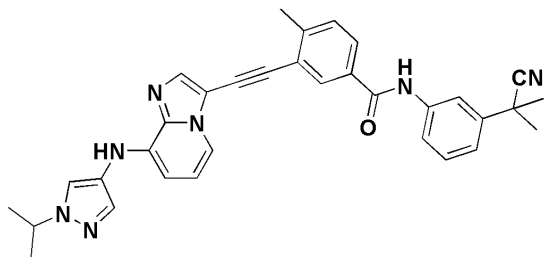
[0357] <제조예 5> 2-(3-아미노-5-((2-디메틸아미노)에틸)(메틸)아미노)페닐)-2-메틸프로판나이트릴의 제조



[0358]

[0359] 제조예 4의 단계 4에서 1-메틸피페라진 대신에, N¹,N¹,N²-트라이메틸에탄-1,2-디아민을 사용한 것을 제외하고는 제조예 4의 단계 1~5의 절차를 반복하여 목적화합물을 얻었다.

[0364] <실시예 1> N-(3-(2-시아노프로판-2-일)페닐)-3-((8-((1-이소프로필-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에틸닐)-4-메틸벤즈아마이드의 제조



[0367] sec-부틸 3-((8-클로로이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에틸닐)-4-메틸벤조에이트(제조예 1)(300mg, 0.82mmol)의 t-부탄올(4.5ml) 혼합용액에 1-이소프로필-1H-피라졸-4-아민(102mg, 0.82mmol), Cs₂CO₃(799mg, 2.45mmol), XPhos Pd G2(64.3mg, 0.08mmol)를 첨가한 후, 마이크로웨이브 반응기를 이용하여 160℃ 에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물이 따뜻한 상태로 셀라이트에서 여과 후 농축하였다. 얻어진 잔사를 실리카겔 크로마토그래피법(0-20% 메탄올/디클로로메테인)으로 정제하여 목적화합물, sec-부틸3-((8-((1-이소프로필-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에틸닐)-4-메틸벤조에이트 (120mg, 32% 수율)를 얻었다.

[0368] MS m/z : 456[M+H]

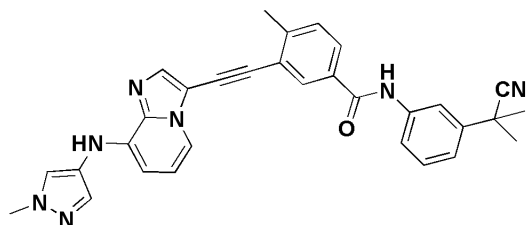
[0371] 상기 단계 1에서 제조한 sec-부틸-3-((8-((1-이소프로필-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에틸닐)-4-메틸벤조에이트(67mg, 0.15mmol)를 테트라하이드로퓨란:메탄올:물(2:1:1, v/v/v) 2ml의 혼합액에 녹인 후 LiOH·H₂O(30.9mg, 0.74mmol)를 첨가한 후 60℃에서 3시간 교반하였다. 실온으로 식힌 반응 혼합물에 1N HCl 용액을 천천히 적가하여 pH 3을 맞추었다. 생성된 고체를 여과하고 진공건조 하여 목적 화합물, 3-((8-((1-이소프로필-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에틸닐)-4-메틸벤조산(51mg, 87% 수율)을 얻었다.

[0372] MS m/z : 400[M+H]

[0375] 상기 단계 2에서 제조한 3-((8-((1-이소프로필-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에틸닐)-4-메틸벤조산 (18mg, 0.05 mmol)을 DMF(1ml)에 녹인 후 2-(3-아미노페닐)-2-메틸프로판니트릴(10.8mg, 0.07mmol)과 EDCI(17.3mg, 0.09mmol)와 DMAP(11.0mg, 0.09mmol)를 넣고 60℃에서 15시간 교반하였다. 반응 혼합물을 실온으로 식힌 후 에틸아세테이트로 묶힌 뒤 탄산수소나트륨 포화용액, 물, 소금물로 씻어주었다. 유기층을 MgSO₄로 건조한 뒤 여과하고 농축한 다음, 얻어진 잔사를 분취용 HPLC(0.1% TFA in water/acetonitrile)로 정제하여 목적 화합물, N-(3-(2-시아노프로판-2-일)페닐)-3-((8-((1-이소프로필-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에틸닐)-4-메틸벤조아마이드(10mg, 41% 수율)을 얻었다.

[0376] ^1H NMR (400 MHz, Methanol- d_4) δ 8.36 (s, 1H), 8.28 - 8.19 (m, 2H), 7.98 - 7.94 (m, 2H), 7.86 (s, 1H), 7.72 - 7.69 (m, 1H), 7.58 (s, 1H), 7.55 - 7.46 (m, 1H), 7.44 - 7.37 (m, 2H), 7.34 - 7.30 (m, 1H), 7.13 (d, 1H), 4.59 - 4.53 (m, 1H), 2.69 - 2.61 (m, 3H), 1.79 - 1.72 (m, 6H), 1.53 (dd, 6H); MS m/z : 542[M+H]; HPLC t_R 6.67min (method A)

[0378] <실시예 2> N-(3-(2-시아노프로판-2-일)페닐)-4-메틸-3-((8-((1-메틸-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에틸닐)벤즈아마이드의 제조

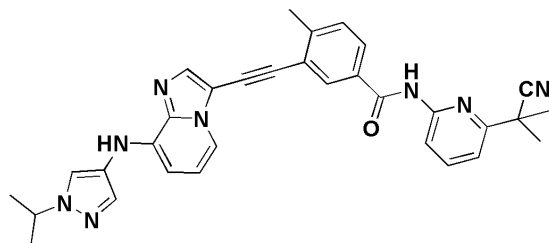


[0379]

[0380] 상기 실시예 1의 단계 1에서 사용한, 1-이소프로필-1H-피라졸-4-아민을 대신하여, 1-메틸-1H-피라졸-4-아민을 사용한 것을 제외하고, 상기 실시예 1과 동일하게 수행하여 목적 화합물을 제조하였다.

[0381] ^1H NMR (400 MHz, MeOH- d_4) δ 8.38 - 8.35 (m, 1H), 8.28 - 8.17 (m, 2H), 7.96 (s, 2H), 7.79 - 7.78 (m, 1H), 7.69 (d, 1H), 7.55 (s, 1H), 7.53 - 7.45 (m, 1H), 7.41 (dt, 2H), 7.31 (d, 1H), 7.15 (d, 1H), 3.93 (s, 3H), 2.64 (s, 3H), 1.75 (s, 6H); 514[M+H] $^+$; HPLC t_R 6.32min (method A)

[0383] <실시예 3> N-(6-(2-시아노프로판-2-일)피리딘-2-일)-3-((8-((1-이소프로필-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에틸닐)-4-메틸벤즈아마이드의 제조

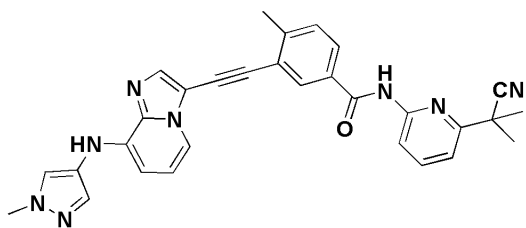


[0384]

[0385] 상기 실시예 1의 단계 3에서 사용한, 2-(3-아미노페닐)-2-메틸프로판니트릴을 대신하여, 2-(6-아미노피리딘-2-일)-2-메틸프로판니트릴을 사용한 것을 제외하고, 상기 실시예 1과 동일하게 수행하여 목적 화합물을 제조하였다.

[0386] ^1H NMR (400 MHz, MeOH- d_4) δ 8.34 (s, 1H), 8.30 (d, 1H), 8.27 (d, 1H), 8.26 (d, 1H), 8.01 (dd, 1H), 7.92 - 7.87 (m, 1H), 7.86 (s, 1H), 7.58 (s, 1H), 7.54 (d, 1H), 7.39 - 7.35 (m, 2H), 7.11 (d, 1H), 4.56 (dt, 1H), 2.67 (s, 3H), 1.54 (d, 6H); 543[M+H] $^+$; HPLC t_R 6.85min (method A)

[0388] <실시예 4> N-(6-(2-시아노프로판-2-일)피리딘-2-일)-4-메틸-3-((8-((1-메틸-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에틸닐)벤즈아마이드의 제조



[0389]

[0390]

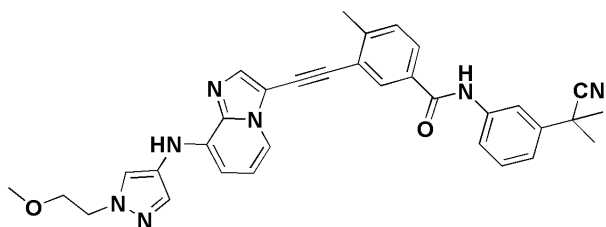
상기 실시예 1의 단계 1에서 사용한, 1-이소프로필-1H-피라졸-4-아민을 대신하여, 1-메틸-1H-피라졸-4-아민을 사용하고, 단계 3에서 사용한, 2-(3-아미노페닐)-2-메틸프로판니트릴을 대신하여, 2-(6-아미노피리딘-2-일)-2-메틸프로판니트릴을 사용한 것을 제외하고, 상기 실시예 1과 동일하게 수행하여 목적 화합물을 제조하였다.

[0391]

^1H NMR (400 MHz, MeOH- d_4) δ 8.39 (s, 1H), 8.30 - 8.29 (m, 2H), 8.26 (d, 1H), 8.01 (dd, 1H), 7.89 (t, 1H), 7.80 (s, 1H), 7.56 (d, 1H), 7.53 (s, 1H), 7.44 - 7.34 (m, 2H), 7.17 (d, 1H), 3.94 (s, 3H), 2.67 (s, 3H), 1.78 (s, 6H); 515[M+H] $^+$; HPLC tR 6.41min (method A)

[0393]

<실시예 5> N-(3-(2-시아노프로판-2-일)페닐)-3-((8-((1-(2-메톡시에틸)-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에틸닐)-4-메틸벤즈아마이드의 제조



[0394]

[0395]

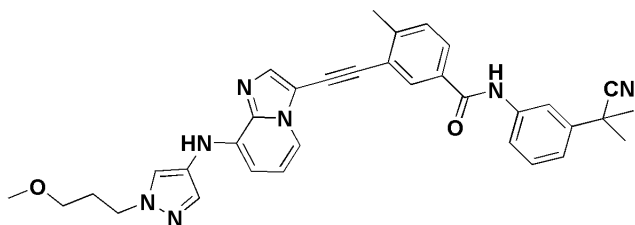
상기 실시예 1의 단계 1에서 사용한, 1-이소프로필-1H-피라졸-4-아민을 대신하여, 1-(2-메톡시에틸)-1H-피라졸-4-아민을 사용한 것을 제외하고, 상기 실시예 1과 동일하게 수행하여 목적 화합물을 제조하였다.

[0396]

^1H NMR (400 MHz, Methanol- d_4) δ 8.29 (s, 1H), 8.27 - 8.14 (m, 2H), 8.02 - 7.90 (m, 2H), 7.83 (d, 1H), 7.72 (ddd, 1H), 7.60 (d, 1H), 7.52 (d, 1H), 7.44 (t, 1H), 7.39 - 7.28 (m, 2H), 7.08 (d, 1H), 4.35 (t, 2H), 3.79 (t, 2H), 3.37 (s, 3H), 2.67 (s, 3H), 1.77 (s, 6H); 558[M+H] $^+$; HPLC tR 2.83min (method C)

[0398]

<실시예 6> N-(3-(2-시아노프로판-2-일)페닐)-3-((8-((1-(3-메톡시프로필)-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에틸닐)-4-메틸벤즈아마이드의 제조



[0399]

[0400]

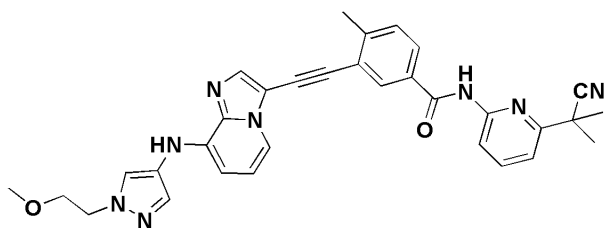
상기 실시예 1의 단계 1에서 사용한, 1-이소프로필-1H-피라졸-4-아민을 대신하여, 1-(3-메톡시프로필)-1H-피라졸-4-아민을 사용한 것을 제외하고, 상기 실시예 1과 동일하게 수행하여 목적 화합물을 제조하였다.

[0401]

^1H NMR (400 MHz, Methanol- d_4) δ 8.26 - 8.20 (m, 2H), 8.20 - 8.13 (m, 1H), 8.00 - 7.95 (m, 1H), 7.95 - 7.91 (m, 1H), 7.85 - 7.78 (m, 1H), 7.72 (d, 1H), 7.63 - 7.57 (m, 1H), 7.56 - 7.47 (m, 1H), 7.47 - 7.40 (m, 1H), 7.37 - 7.31 (m, 1H), 7.31 - 7.26 (m, 1H), 7.02 (d, 1H), 4.33 - 4.22 (m, 2H), 3.46 - 3.38 (m, 2H), 3.36 (s, 3H), 2.70 - 2.60 (m, 3H), 2.19 - 2.07 (m, 2H), 1.77 (s, 6H); 572[M+H] $^+$; HPLC tR 2.86min

(method C)

[0403] <실시예 7> N-(6-(2-시아노프로판-2-일)피리딘-2-일)-3-((8-((1-(2-메톡시에틸)-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)-4-메틸벤즈아마이드의 제조

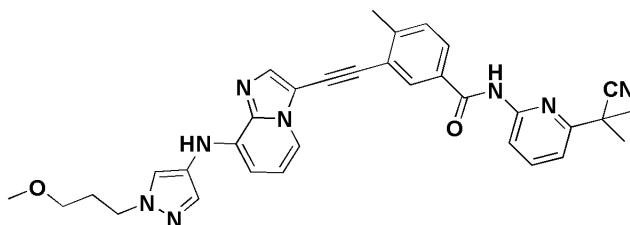


[0404]

[0405] 상기 실시예 1의 단계 1에서 사용한, 1-이소프로필-1H-피라졸-4-아민을 대신하여, 1-(2-메톡시에틸)-1H-피라졸-4-아민을 사용하고, 단계 3에서 사용한, 2-(3-아미노페닐)-2-메틸프로판니트릴을 대신하여, 2-(6-아미노피리딘-2일)-2-메틸프로판니트릴을 사용한 것을 제외하고, 상기 실시예 1과 동일하게 수행하여 목적 화합물을 제조하였다.

[0406] ^1H NMR (400 MHz, Methanol- d_4) δ 8.30 - 8.23 (m, 3H), 8.20 (dd, 1H), 7.99 (dd, 1H), 7.89 (t, 1H), 7.85 - 7.79 (m, 1H), 7.62 - 7.57 (m, 1H), 7.52 (d, 1H), 7.37 (dd, 1H), 7.35 - 7.27 (m, 1H), 7.04 (d, 1H), 4.34 (t, 2H), 3.80 (t, 2H), 3.37 (s, 3H), 2.66 (s, 3H), 1.79 (s, 6H); 559[M+H] $^+$; HPLC tR 2.83min (method C)

[0408] <실시예 8> N-(6-(2-시아노프로판-2-일)피리딘-2-일)-3-((8-((1-(3-메톡시프로필)-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)-4-메틸벤즈아마이드의 제조

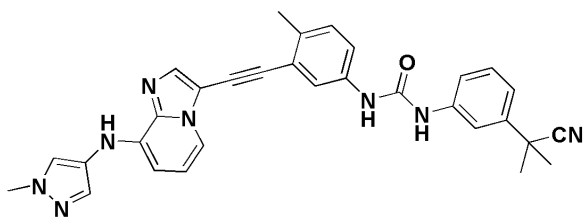


[0409]

[0410] 상기 실시예 1의 단계 1에서 사용한, 1-이소프로필-1H-피라졸-4-아민을 대신하여, 1-(3-메톡시프로필)-1H-피라졸-4-아민을 사용하고, 단계 3에서 사용한, 2-(3-아미노페닐)-2-메틸프로판니트릴을 대신하여, 2-(6-아미노피리딘-2일)-2-메틸프로판니트릴을 사용한 것을 제외하고, 상기 실시예 1과 동일하게 수행하여 목적 화합물을 제조하였다.

[0411] ^1H NMR (400 MHz, Methanol- d_4) δ 8.32 - 8.23 (m, 2H), 8.21 - 8.12 (m, 2H), 7.99 (d, 1H), 7.90 (t, 1H), 7.84 - 7.76 (m, 1H), 7.62 - 7.57 (m, 1H), 7.52 (d, 1H), 7.42 - 7.34 (m, 1H), 7.25 (t, 1H), 6.96 (d, 1H), 4.27 (t, 2H), 3.41 (t, 2H), 3.36 (s, 3H), 2.67 (s, 3H), 2.14 (quint, 2H), 1.79 (s, 6H); 573[M+H] $^+$; HPLC tR 2.86min (method C)

[0413] <실시예 9> 1-(3-(2-시아노프로판-2-일)페닐)-3-(4-메틸-3-((8-((1-메틸-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)페닐)우레아의 제조



[0414]

[0415]

단계 1: 8-클로로-3-((2-메틸-5-나이트로페닐)에티닐)이미다조[1,2-a]피리딘의 제조

[0416]

제조예 1의 단계 4에서 얻은 8-클로로-3-에티닐이미다조[1,2-a]피리딘(500mg, 2.83mmol) 과 2-아이오도-1-메틸-4-니트로벤젠(745mg, 2.83mmol) (TCI사, Cat # I0706, CAS [7745-92-8])과 Pd(PPh₃)₄(164mg, 0.142mmol)과 DIPEA(0.84ml, 4.81mmol)와 CuI(53.9mg, 0.283mmol)를 DMF(10ml)에 녹인 후 100℃에서 15시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 식히지 않은 상태로 셀라이트에서 여과 후 농축하였다. 얻어진 잔사를 에틸아세테이트로 재결정하여 목적화합물, 8-클로로-3-((2-메틸-5-나이트로페닐)에티닐)이미다조[1,2-a]피리딘(710mg, 80% 수율)을 얻었다.

[0417]

¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 8.40 (d, 1H), 8.31 (dd, 1H), 8.13 (dd, 1H), 8.03 (s, 1H), 7.48 - 7.40 (m, 2H), 6.98 (t, 1H), 2.66 (s, 3H); MS *m/z* : 312[M+H]

[0419]

단계 2: N-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3-((2-메틸-5-나이트로페닐)에티닐)이미다조[1,2-a]피리딘-8-아민의 제조

[0420]

상기 단계 1에서 제조한 8-클로로-3-((2-메틸-5-나이트로페닐)에티닐)이미다조[1,2-a]피리딘(400mg, 1.283mmol)과 1-메틸-1H-피라졸-4-아민(249mg, 2.57mmol)과 Cs₂CO₃(1254mg, 3.85mmol)와 t-BuOH(9ml)의 혼합용액을 질소 풍선을 이용하여 탈기 후 XPhos Pd G2(101mg, 0.128mmol)을 첨가한 다음 마이크로웨이브 반응기에 장착하여 반응기의 온도를 160℃로 승온한 후 1시간 유지하였다. 반응 혼합물을 셀라이트에서 여과 후 농축하였다. 얻어진 잔사를 실리카겔 크로마토그래피법(0~60% 에틸아세테이트/헥세인)으로 정제하여 목적화합물, N-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3-((2-메틸-5-나이트로페닐)에티닐)이미다조[1,2-a]피리딘-8-아민(182mg, 38% 수율)을 얻었다.

[0421]

MS *m/z* : 373[M+H]

[0423]

단계 3: 3-((5-아미노-2-메틸페닐)에티닐)-N-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)이미다조[1,2-a]피리딘-8-아민의 제조

[0424]

상기 단계 2에서 제조한 N-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3-((2-메틸-5-나이트로페닐)에티닐)이미다조[1,2-a]피리딘-8-아민(182mg, 0.489mmol)을 메탄올(2.5ml)과 THF(2.5ml)에 녹인 후 0℃에서 Zn(320mg, 4.89mmol)와 NH₄Cl(261mg, 4.89mmol)을 넣었다. 반응 혼합물을 실온에서 1시간 교반한 후 셀라이트에서 여과 후 농축하였다. 얻어진 잔사를 아민실리카겔 크로마토그래피법(0~5% 메탄올/디클로로메테인)으로 정제하여 목적화합물, 3-((5-아미노-2-메틸페닐)에티닐)-N-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)이미다조[1,2-a]피리딘-8-아민 (60mg, 36% 수율)을 얻었다.

[0425]

MS *m/z* : 342[M+H]

[0427]

단계 4: 1-(3-(2-시아노프로판-2-일)페닐)-3-(4-메틸-3-((8-((1-메틸-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)페닐)우레아의 제조

[0428]

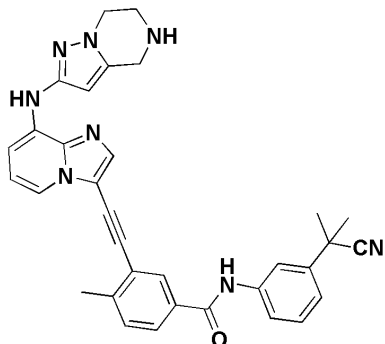
상기 단계 3에서 제조한 3-((5-아미노-2-메틸페닐)에티닐)-N-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)이미다조[1,2-a]피리딘-8-아민(15mg, 0.044mmol)과 제조예 2에서 얻은 4-니트로페닐 (3-(2-시아노프로판-2-일)페닐)카바메이트(21.38mg, 0.066mmol)을 피리딘(1ml)에 녹인 후 60℃에서 15시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 농축하여 얻어진 잔사를 분취용 HPLC(0.1% TFA in water/acetonitrile)로 정제하여 목적 화합물, 1-(3-(2-시아노프로판-2-일)페닐)-3-(4-메틸-3-((8-((1-메틸-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)페닐)우레아(4mg, 14.0% 수율)를 얻었다.

[0429]

¹H NMR (400 MHz, Methanol-*d*₄) δ 8.05 - 7.98 (m, 2H), 7.77 (d, 1H), 7.69 (s, 1H), 7.63 (t, 1H), 7.50 -

7.42 (m, 1H), 7.33 - 7.28 (m, 2H), 7.28 - 7.26 (m, 1H), 7.19 (t, 1H), 7.15 - 7.08 (m, 2H), 6.84 (dd, 1H), 3.85 (s, 3H), 2.44 (s, 3H), 1.66 (s, 6H); 529[M+H]⁺; HPLC tR 6.97min (method A)

[0431] <실시예 10> N-(3-(2-시아노프로판-2-일)페닐)-4-메틸-3-((8-((4,5,6,7-테트라하이드로피라졸로[1,5-a]파라진-2-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에틸닐)벤즈아마이드의 제조

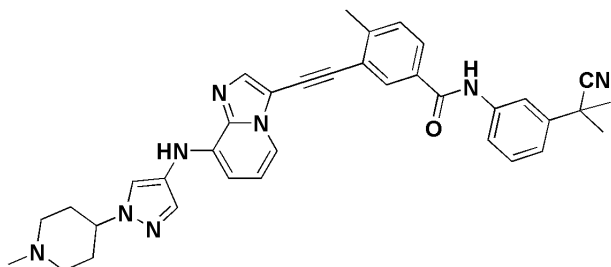


[0432]

[0433] 상기 실시예 1의 단계 1에서 사용한, 1-이소프로필-1H-피라졸-4-아민을 대신하여, 4,5,6,7-테트라하이드로피라졸로[1,5-a]파라진-2-아민을 사용한 것을 제외하고, 상기 실시예 1과 동일하게 수행하여 목적 화합물을 제조하였다.

[0434] ¹H NMR (400 MHz, Methanol-d₄) δ 8.37 - 8.17 (m, 4H), 7.97 (s, 1H), 7.94 (d, 1H), 7.71 (d, 1H), 7.51 (d, 1H), 7.42 (t, 1H), 7.39 - 7.35 (m, 1H), 7.32 (d, 1H), 6.14 (br s, 1H), 4.53 (s, 2H), 4.38 (br s, 2H), 3.82 (s, 2H), 2.65 (s, 3H), 1.76 (s, 6H); 555[M+H]⁺; HPLC tR 2.45min (method C)

[0436] <실시예 11> N-(3-(2-시아노프로판-2-일)페닐)-4-메틸-3-((8-((1-(1-메틸피페리딘-4-일)-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에틸닐)벤즈아마이드의 제조

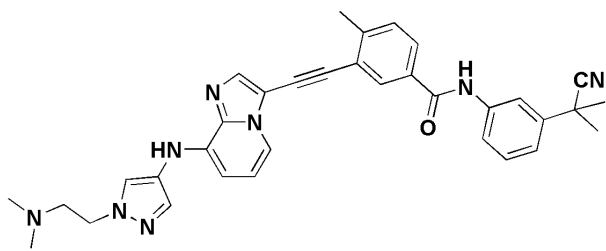


[0437]

[0438] 상기 실시예 1의 단계 1에서 사용한, 1-이소프로필-1H-피라졸-4-아민을 대신하여, 1-(1-메틸피페리딘-4-일)-1H-피라졸-4-아민을 사용한 것을 제외하고, 상기 실시예 1과 동일하게 수행하여 목적 화합물을 제조하였다.

[0439] ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10.44 (s, 1H), 9.70 - 5.48 (m, 1H), 8.36 - 8.28 (m, 1H), 8.24 (d, 1H), 8.08 - 7.89 (m, 3H), 7.87 - 7.83 (m, 1H), 7.65 - 7.60 (m, 1H), 7.55 (d, 1H), 7.43 (t, 1H), 7.30 - 7.22 (m, 1H), 6.99 (t, 1H), 6.72 - 6.61 (m, 1H), 4.51 - 4.38 (m, 1H), 3.61 - 3.55 (m, 2H), 3.22 - 3.10 (m, 2H), 2.87 - 2.82 (m, 3H), 2.61 (s, 3H), 2.54 (s, 6H), 2.33 - 2.24 (m, 2H), 2.22 - 2.10 (m, 2H); 597[M+H]⁺; HPLC tR 2.79min (method C)

[0441] <실시예 12> N-(3-(2-시아노프로판-2-일)페닐)-3-((8-((1-(2-(디메틸아미노)에틸)-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에틸닐)-4-메틸벤즈아마이드의 제조



[0442]

[0443]

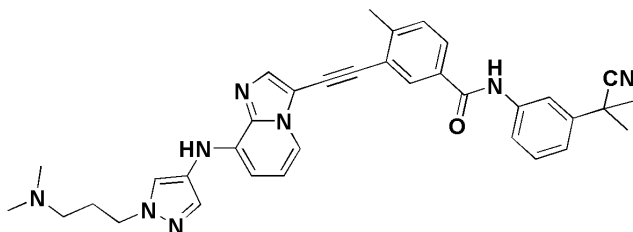
상기 실시예 1의 단계 1에서 사용한, 1-이소프로필-1H-피라졸-4-아민을 대신하여, 1-(2-(디메틸아미노)에틸)-1H-피라졸-4-아민을 사용한 것을 제외하고, 상기 실시예 1과 동일하게 수행하여 목적 화합물을 제조하였다.

[0444]

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.44 (s, 1H), 9.52 - 9.45 (m, 1H), 8.44 (s, 1H), 8.24 (s, 1H), 8.03 - 7.98 (m, 3H), 7.94 (dd, 1H), 7.85 (d, 1H), 7.68 (s, 1H), 7.55 (d, 1H), 7.43 (t, 1H), 7.26 (d, 1H), 7.02 (t, 1H), 6.69 (dd, 1H), 4.51 (t, 2H), 3.62 - 3.58 (m, 2H), 2.83 (s, 6H), 2.61 (s, 3H), 1.70 (s, 6H); $571[\text{M}+\text{H}]^+$; HPLC tR 2.27min (method C)

[0446]

<실시예 13> N-(3-(2-시아노프로판-2-일)페닐)-3-((8-((1-(2-(디메틸아미노)프로필)-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에틸닐)-4-메틸벤즈아마이드의 제조



[0447]

[0448]

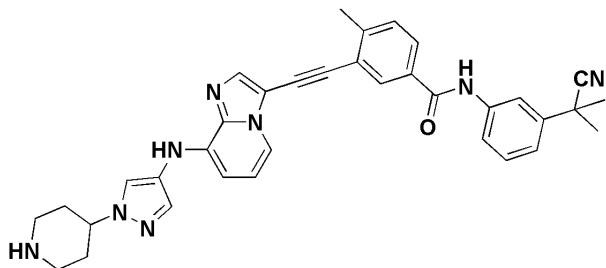
상기 실시예 1의 단계 1에서 사용한, 1-이소프로필-1H-피라졸-4-아민을 대신하여, 1-(3-(디메틸아미노)프로필)-1H-피라졸-4-아민을 사용한 것을 제외하고, 상기 실시예 1과 동일하게 수행하여 목적 화합물을 제조하였다.

[0449]

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.44 (s, 1H), 9.46 (s, 1H), 8.34 (s, 1H), 8.24 (d, 1H), 8.03 - 7.92 (m, 4H), 7.85 (d, 1H), 7.61 (s, 1H), 7.55 (d, 1H), 7.43 (t, 1H), 7.26 (d, 1H), 7.01 (t, 1H), 6.66 (d, 1H), 4.18 (t, 2H), 3.11 - 3.03 (m, 2H), 2.79 (d, 6H), 2.61 (s, 3H), 2.22 - 2.12 (m, 2H), 1.70 (s, 6H); $585[\text{M}+\text{H}]^+$; HPLC tR 2.20min (method C)

[0451]

<실시예 14> N-(3-(2-시아노프로판-2-일)페닐)-4-메틸-3-((8-((1-(피페리딘-4-일)-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에틸닐) 벤즈아마이드의 제조



[0452]

[0453]

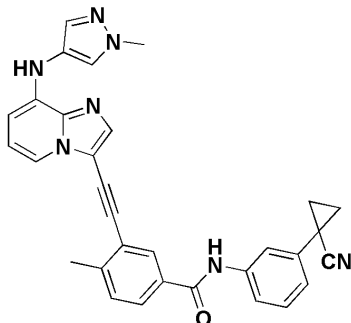
상기 실시예 1의 단계 1에서 사용한, 1-이소프로필-1H-피라졸-4-아민을 대신하여, 1-(피페리딘-4-일)-1H-피라졸-4-아민을 사용한 것을 제외하고, 상기 실시예 1과 동일하게 수행하여 목적 화합물을 제조하였다.

[0454]

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.42 (s, 1H), 8.75 - 8.63 (m, 1H), 8.47 - 8.35 (m, 1H), 8.31 - 8.23 (m, 2H), 8.01 - 7.83 (m, 4H), 7.63 (s, 1H), 7.54 (d, 1H), 7.43 (t, 1H), 7.26 (d, 1H), 7.01 (t, 1H), 6.66

(d, 1H), 4.53 - 4.41 (m, 1H), 3.43 (d, 2H), 3.14 - 3.02 (m, 2H), 2.61 (s, 3H), 2.25 - 2.07 (m, 4H), 1.70 (s, 6H); 583[M+H]⁺; HPLC tR 2.19min (method C)

[0456] <실시예 15> N-(3-(1-시아노사이클로프로필)페닐)-4-메틸-3-((8-((1-메틸-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)벤즈아마이드의 제조

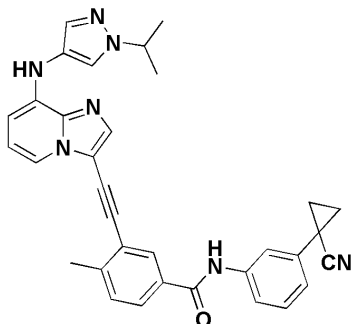


[0457]

[0458] 상기 실시예 1의 단계 1에서 사용한, 1-이소프로필-1H-피라졸-4-아민을 대신하여, 1-메틸-1H-피라졸-4-아민을 사용하고, 단계 3에서 사용한, 2-(3-아미노페닐)-2-메틸프로판니트릴을 대신하여, 상기 제조예 3에서 제조한, 1-(3-아미노페닐)사이클로프로판-1-카보나이트릴을 사용한 것을 제외하고, 상기 실시예 1과 동일하게 수행하여 목적 화합물을 제조하였다.

[0459] 512[M+H]⁺

[0461] <실시예 16> N-(3-(1-시아노사이클로프로필)페닐)-3-((8-((1-이소프로필-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)-4-메틸벤즈아마이드의 제조

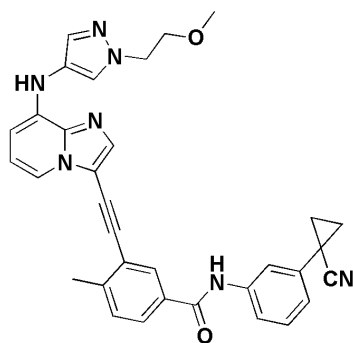


[0462]

[0463] 상기 실시예 1의 단계 3에서 사용한, 2-(3-아미노페닐)-2-메틸프로판니트릴을 대신하여, 상기 제조예 3에서 제조한, 1-(3-아미노페닐)사이클로프로판-1-카보나이트릴을 사용한 것을 제외하고, 상기 실시예 1과 동일하게 수행하여 목적 화합물을 제조하였다.

[0464] 540[M+H]⁺

[0466] <실시예 17> N-(3-(1-시아노사이클로프로필)페닐)-3-((8-((1-(2-메톡시에틸)-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)-4-메틸벤즈아마이드의 제조

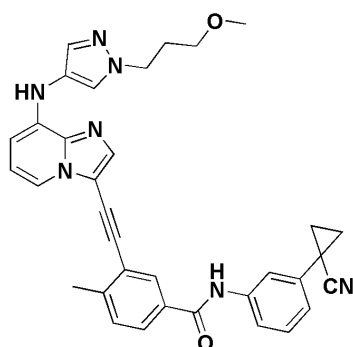


[0467]

[0468] 상기 실시예 1의 단계 1에서 사용한, 1-이소프로필-1H-피라졸-4-아민을 대신하여, 1-(2-메톡시에틸)-1H-피라졸-4-아민을 사용하고, 단계 3에서 사용한, 2-(3-아미노페닐)-2-메틸프로판니트릴을 대신하여, 상기 제조예 3에서 제조한, 1-(3-아미노페닐)사이클로프로판-1-카보나이트릴을 사용한 것을 제외하고, 상기 실시예 1과 동일하게 수행하여 목적 화합물을 제조하였다.

[0469] 556[M+H]⁺

[0471] <실시예 18> N-(3-(1-시아노사이클로프로필)페닐)-3-((8-((1-(3-메톡시프로필)-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에틸닐)-4-메틸벤즈아마이드의 제조

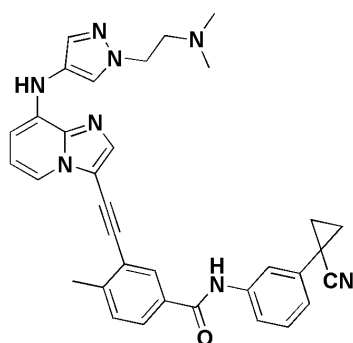


[0472]

[0473] 상기 실시예 1의 단계 1에서 사용한, 1-이소프로필-1H-피라졸-4-아민을 대신하여, 1-(3-메톡시프로필)-1H-피라졸-4-아민을 사용하고, 단계 3에서 사용한, 2-(3-아미노페닐)-2-메틸프로판니트릴을 대신하여, 상기 제조예 3에서 제조한, 1-(3-아미노페닐)사이클로프로판-1-카보나이트릴을 사용한 것을 제외하고, 상기 실시예 1과 동일하게 수행하여 목적 화합물을 제조하였다.

[0474] 570[M+H]⁺

[0476] <실시예 19> N-(3-(1-시아노사이클로프로필)페닐)-3-((8-((1-(2-(디메틸아미노)에틸)-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에틸닐)-4-메틸벤즈아마이드의 제조



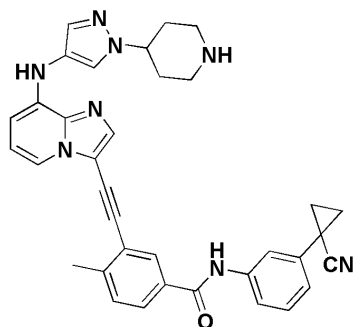
[0477]

[0478] 상기 실시예 1의 단계 1에서 사용한, 1-이소프로필-1H-피라졸-4-아민을 대신하여, 1-(2-(디메틸아미노)에틸)-

1H-피라졸-4-아민을 사용하고, 단계 3에서 사용한, 2-(3-아미노페닐)-2-메틸프로판나이트릴을 대신하여, 상기 제조예 3에서 제조한, 1-(3-아미노페닐)사이클로프로판-1-카보나이트릴을 사용한 것을 제외하고, 상기 실시예 1과 동일하게 수행하여 목적 화합물을 제조하였다.

[0479] 569[M+H]⁺

[0481] <실시예 20> N-(3-(1-시아노사이클로프로필)페닐)-4-메틸-3-((8-((1-(피페리딘-4-일)-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에틸닐)벤즈아마이드의 제조

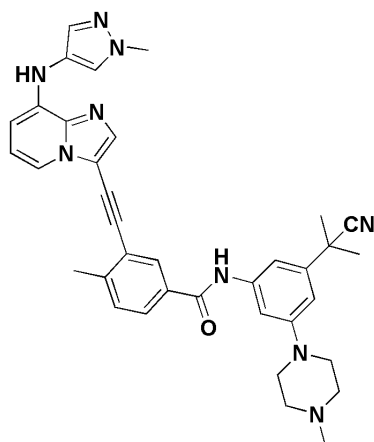


[0482]

[0483] 상기 실시예 1의 단계 1에서 사용한, 1-이소프로필-1H-피라졸-4-아민을 대신하여, 1-(피페리딘-4-일)-1H-피라졸-4-아민을 사용하고, 단계 3에서 사용한, 2-(3-아미노페닐)-2-메틸프로판나이트릴을 대신하여, 상기 제조예 3에서 제조한, 1-(3-아미노페닐)사이클로프로판-1-카보나이트릴을 사용한 것을 제외하고, 상기 실시예 1과 동일하게 수행하여 목적 화합물을 제조하였다.

[0484] 581[M+H]⁺

[0486] <실시예 21> N-(3-(2-시아노프로판-2-일)-5-(4-메틸피페라진-1-일)페닐)-4-메틸-3-((8-((1-메틸-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에틸닐)벤즈아마이드의 제조

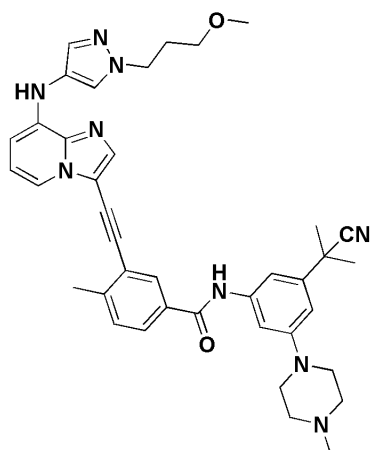


[0487]

[0488] 상기 실시예 1의 단계 1에서 사용한, 1-이소프로필-1H-피라졸-4-아민을 대신하여, 1-메틸-1H-피라졸-4-아민을 사용하고, 단계 3에서 사용한, 2-(3-아미노페닐)-2-메틸프로판나이트릴을 대신하여, 상기 제조예 4에서 제조한, 2-(3-아미노-5-(4-메틸피페라진-1-일)페닐)-2-메틸프로판나이트릴을 사용한 것을 제외하고, 상기 실시예 1과 동일하게 수행하여 목적 화합물을 제조하였다.

[0489] 612[M+H]⁺

[0491] <실시예 22> N-(3-(2-시아노프로판-2-일)-5-(4-메틸피페라진-1-일)페닐)-3-((8-((1-이소프로필-1H-피라졸-4-일)아미노)이미

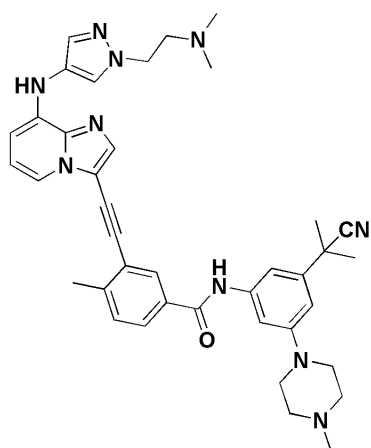


[0502]

[0503] 상기 실시예 1의 단계 1에서 사용한, 1-이소프로필-1H-피라졸-4-아민을 대신하여, 1-(3-메톡시프로필)-1H-피라졸-4-아민을 사용하고, 단계 3에서 사용한, 2-(3-아미노페닐)-2-메틸프로판나이트릴을 대신하여, 상기 제조에 4에서 제조한, 2-(3-아미노-5-(4-메틸피페라진-1-일)페닐)-2-메틸프로판나이트릴을 사용한 것을 제외하고, 상기 실시예 1과 동일하게 수행하여 목적 화합물을 제조하였다.

[0504] 670[M+H]⁺

[0506] <실시예 25> N-(3-(2-시아노프로판-2-일)-5-(4-메틸피페라진-1-일)페닐)-3-((8-((1-(2-(디메틸아미노)에틸)-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에틸)-4-메틸벤즈아마이드의 제조

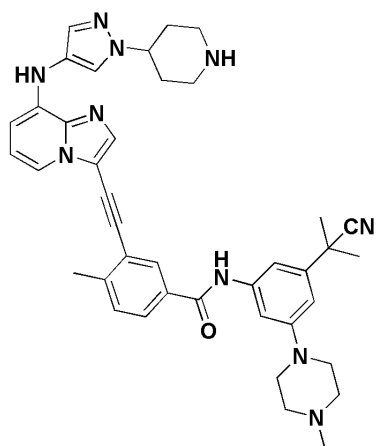


[0507]

[0508] 상기 실시예 1의 단계 1에서 사용한, 1-이소프로필-1H-피라졸-4-아민을 대신하여, 1-(2-(디메틸아미노)에틸)-1H-피라졸-4-아민을 사용하고, 단계 3에서 사용한, 2-(3-아미노페닐)-2-메틸프로판니트릴을 대신하여, 상기 제 2조제 4에서 제조한, 2-(3-아미노-5-(4-메틸피페라진-1-일)페닐)-2-메틸프로판나이트릴을 사용한 것을 제외하고, 상기 실시예 1과 동일하게 수행하여 목적 화합물을 제조하였다.

[0509] 669[M+H]⁺

[0511] <실시예 26> N-(3-(2-시아노프로판-2-일)-5-(4-메틸피페라진-1-일)페닐)-4-메틸-3-((8-((1-(피페리딘-4-일)-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에틸닐)벤즈아마이드의 제조



[0512]

[0513]

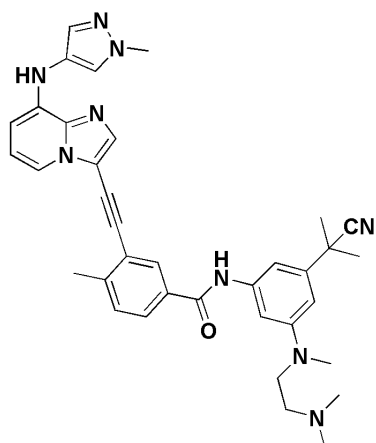
상기 실시예 1의 단계 1에서 사용한, 1-이소프로필-1H-피라졸-4-아민을 대신하여, 1-(피페리딘-4-일)-1H-피라졸-4-아민을 사용하고, 단계 3에서 사용한, 2-(3-아미노페닐)-2-메틸프로판나이트릴을 대신하여, 상기 제조예 4에서 제조한, 2-(3-아미노-5-(4-메틸피페라진-1-일)페닐)-2-메틸프로판나이트릴을 사용한 것을 제외하고, 상기 실시예 1과 동일하게 수행하여 목적 화합물을 제조하였다.

[0514]

681[M+H]⁺

[0516]

<실시예 27> N-(3-(2-시아노프로판-2-일)-5-((2-(디메틸아미노)에틸)(메틸)아미노)페닐)-4-메틸-3-((8-((1-메틸-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)벤즈아마이드의 제조



[0517]

[0518]

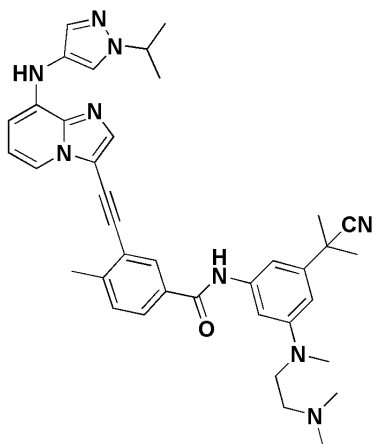
상기 실시예 1의 단계 1에서 사용한, 1-이소프로필-1H-피라졸-4-아민을 대신하여, 1-메틸-1H-피라졸-4-아민을 사용하고, 단계 3에서 사용한, 2-(3-아미노페닐)-2-메틸프로판나이트릴을 대신하여, 상기 제조예 5에서 제조한, 2-(3-아미노-5-((2-디메틸아미노)에틸)(메틸)아미노)페닐)-2-메틸프로판나이트릴을 사용한 것을 제외하고, 상기 실시예 1과 동일하게 수행하여 목적 화합물을 제조하였다.

[0519]

614[M+H]⁺

[0521]

<실시예 28> N-(3-(2-시아노프로판-2-일)-5-((2-(디메틸아미노)에틸)(메틸)아미노)페닐)-3-((8-((1-이소프로필-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)-4-메틸벤즈아마이드의 제조



[0522]

[0523]

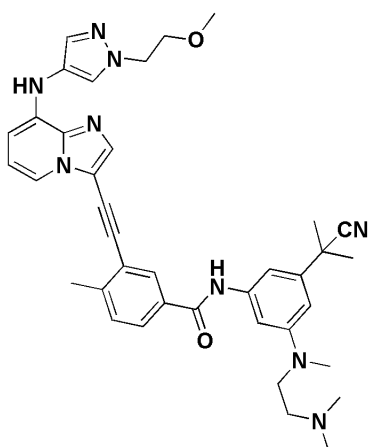
상기 실시예 1의 단계 3에서 사용한, 2-(3-아미노페닐)-2-메틸프로판나이트릴을 대신하여, 상기 제조예 5에서 제조한, 2-(3-아미노-5-((2-(디메틸아미노)에틸)(메틸)아미노)페닐)-2-메틸프로판나이트릴을 사용한 것을 제외하고, 상기 실시예 1과 동일하게 수행하여 목적 화합물을 제조하였다.

[0524]

642[M+H]⁺

[0526]

<실시예 29> N-(3-(2-시아노프로판-2-일)-5-((2-(디메틸아미노)에틸)(메틸)아미노)페닐)-3-((8-((1-(2-메톡시에틸)-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에틸닐)-4-메틸벤즈아마이드의 제조



[0527]

[0528]

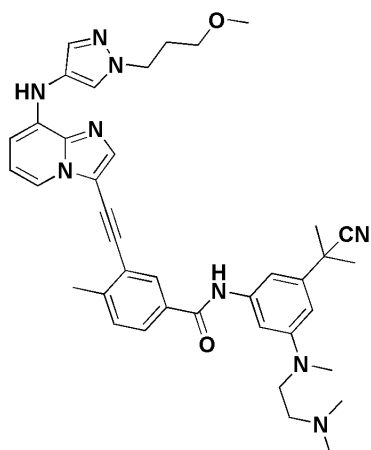
상기 실시예 1의 단계 1에서 사용한, 1-이소프로필-1H-피라졸-4-아민을 대신하여, 1-(2-메톡시에틸)-1H-피라졸-4-아민을 사용하고, 단계 3에서 사용한, 2-(3-아미노페닐)-2-메틸프로판나이트릴을 대신하여, 상기 제조예 5에서 제조한, 2-(3-아미노-5-((2-(디메틸아미노)에틸)(메틸)아미노)페닐)-2-메틸프로판나이트릴을 사용한 것을 제외하고, 상기 실시예 1과 동일하게 수행하여 목적 화합물을 제조하였다.

[0529]

642[M+H]⁺

[0531]

<실시예 30> N-(3-(2-시아노프로판-2-일)-5-((2-(디메틸아미노)에틸)(메틸)아미노)페닐)-3-((8-((1-(3-메톡시프로필)-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에틸닐)-4-메틸벤즈아마이드의 제조

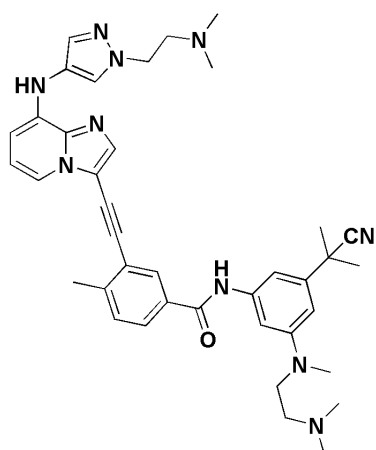


[0532]

[0533] 상기 실시예 1의 단계 1에서 사용한, 1-이소프로필-1H-피라졸-4-아민을 대신하여, 1-(3-메톡시프로필)-1H-피라졸-4-아민을 사용하고, 단계 3에서 사용한, 2-(3-아미노페닐)-2-메틸프로판나이트릴을 대신하여, 상기 제조예 5에서 제조한, 2-(3-아미노-5-((2-디메틸아미노)에틸)(메틸)아미노)페닐-2-메틸프로판나이트릴을 사용한 것을 제외하고, 상기 실시예 1과 동일하게 수행하여 목적 화합물을 제조하였다.

[0534] $672[M+H]^+$

[0536] <실시예 31> N-(3-(2-시아노프로판-2-일)-5-((2-(디메틸아미노)에틸)(메틸)아미노)페닐)-3-((8-((1-(2-(디메틸아미노)에틸)-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)-4-메틸벤즈아마이드의 제조

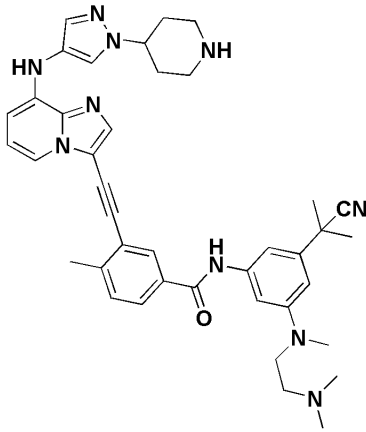


[0537]

[0538] 상기 실시예 1의 단계 1에서 사용한, 1-이소프로필-1H-피라졸-4-아민을 대신하여, 1-(2-(디메틸아미노)에틸)-1H-피라졸-4-아민을 사용하고, 단계 3에서 사용한, 2-(3-아미노페닐)-2-메틸프로판나이트릴을 대신하여, 상기 제조예 5에서 제조한, 2-(3-아미노-5-((2-디메틸아미노)에틸)(메틸)아미노)페닐-2-메틸프로판나이트릴을 사용한 것을 제외하고, 상기 실시예 1과 동일하게 수행하여 목적 화합물을 제조하였다.

[0539] $671[M+H]^+$

[0541] <실시예 32> N-(3-(2-시아노프로판-2-일)-5-((2-(디메틸아미노)에틸)(메틸)아미노)페닐)-4-메틸-3-((8-((1-(피페리딘-4-일)-1H-피라졸-4-일)아미노)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에티닐)벤즈아마이드의 제조



[0542]

[0543] 상기 실시예 1의 단계 1에서 사용한, 1-이소프로필-1H-피라졸-4-아민을 대신하여, 1-(피페리딘-4-일)-1H-피라졸-4-아민을 사용하고, 단계 3에서 사용한, 2-(3-아미노페닐)-2-메틸프로판나이트릴을 대신하여, 상기 제조예 5에서 제조한, 2-(3-아미노-5-((2-디메틸아미노)에틸)(메틸)아미노)페닐-2-메틸프로판나이트릴을 사용한 것을 제외하고, 상기 실시예 1과 동일하게 수행하여 목적 화합물을 제조하였다.

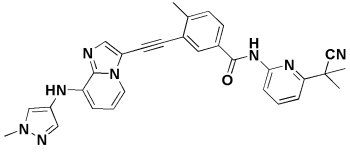
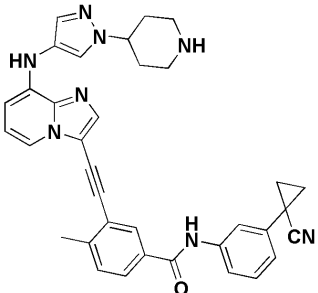
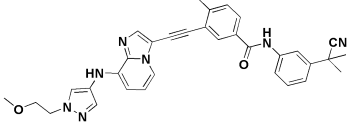
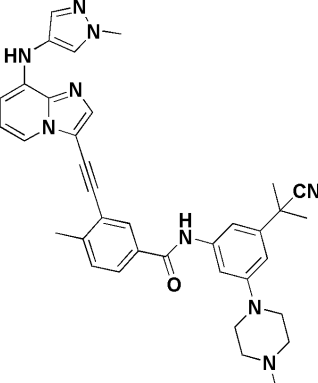
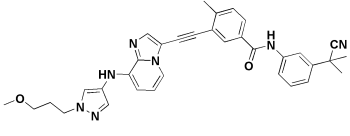
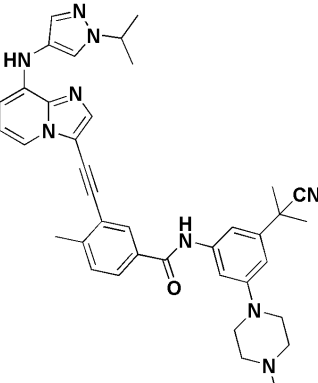
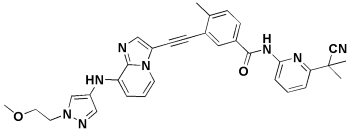
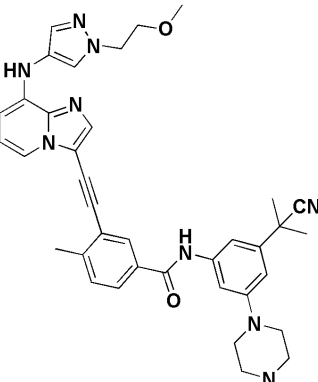
[0544] 683[M+H]⁺

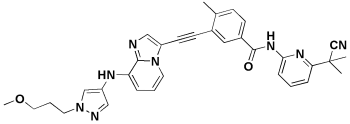
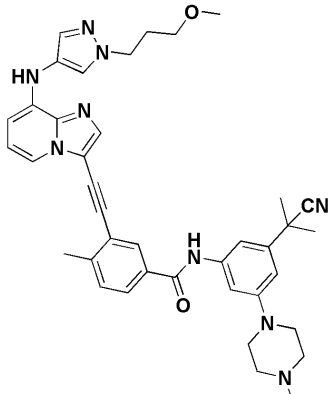
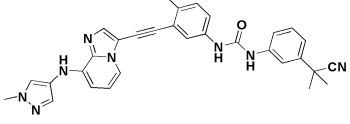
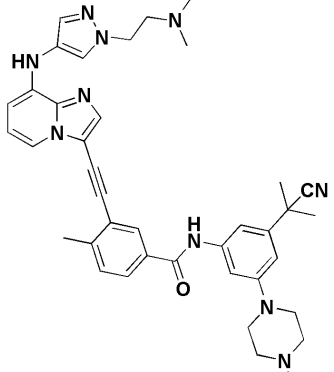
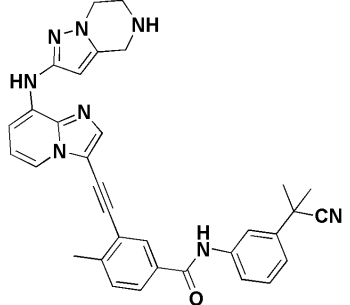
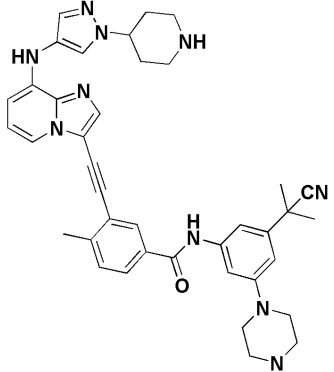
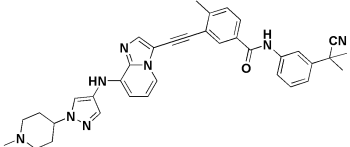
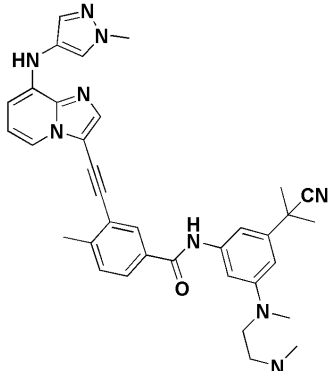
[0546] 상기 실시예 1-32에서 제조한 화합물의 화학구조를 하기 표 1에 나타냈다.

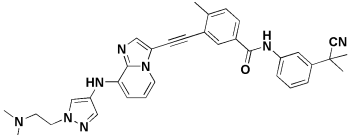
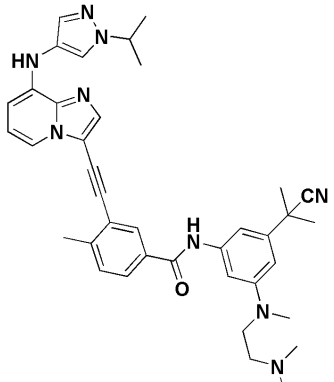
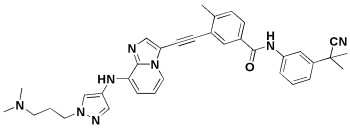
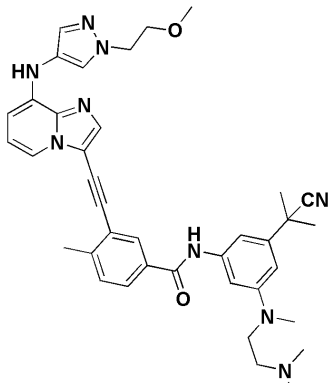
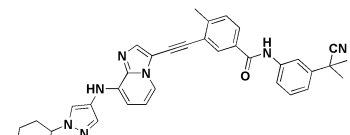
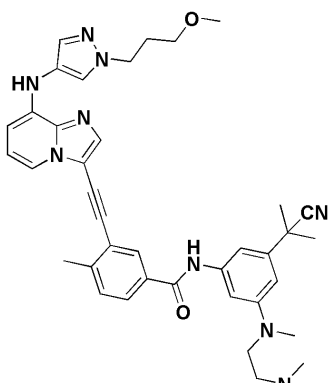
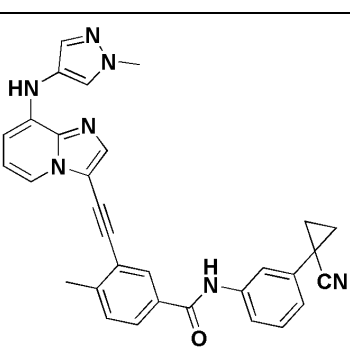
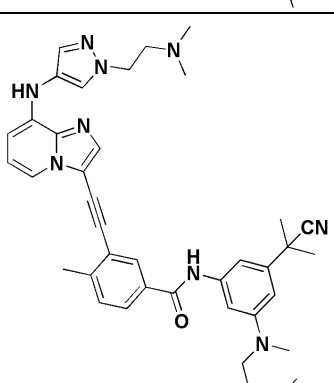
표 1

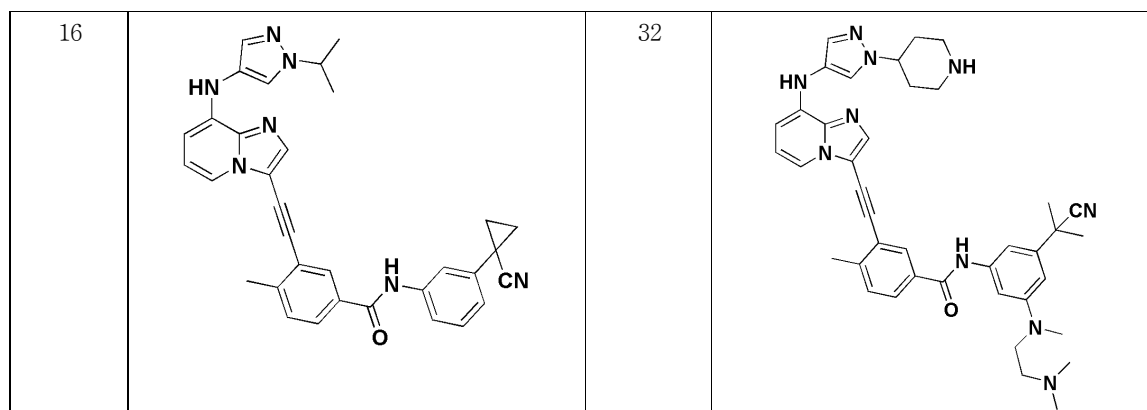
[0547]

실시예	구조식	실시예	구조식
1		17	
2		18	
3		19	

4		20	
5		21	
6		22	
7		23	

8		24	
9		25	
10		26	
11		27	

12		28	
13		29	
14		30	
15		31	



[0549] <실험예 1> 효소 단위의 저해활성 평가

[0550] 본 발명에 따른 화합물의 다양한 효소에 대한 저해활성을 평가하기 위해 하기와 같은 실험을 수행하였다.

[0552] 구체적으로, 본 발명의 실시예 화합물 중, 선별된 실시예 5에 대하여, DiscoverX 사에 의뢰하여 효소(kinase) 선택성을 측정하기로 하고, scanMAX™ Kinase 분석용 패널을 사용하여 실험을 진행하였다.

[0553] 이때, 효소에 처리되는 약물의 농도는 DMSO에 1 μ M로 하였고, 다음 식 1과 같은 방법으로 조절 백분율(% control)을 정하였고, 그 결과를 하기 표 2에 나타내었다.

[0555] [식 1]

[0556] [실시예 화합물 - 양성 대조군 / 음성 대조군 - 양성대조군] $\times$ 100

[0558] 여기서, 상기 양성 대조군은 0%의 조절 백분율을 나타내는 화합물을 말하며, 음성 대조군은 DMSO로 100%의 조절 백분율을 나타낸다. 또한, 본 발명의 효소 선택성은 각각의 효소에 대하여 조절 백분율이 < 35%(즉, 35% 미만)이면 해당 효소에 대하여 활성을 갖는 것으로 판단하였다.

표 2

[0560]

	실시예 5
AAK1	94
ABL1(E255K)-phosphorylated	0.55
ABL1(F317I)-nonphosphorylated	0
ABL1(F317I)-phosphorylated	4.3
ABL1(F317L)-nonphosphorylated	0.5
ABL1(F317L)-phosphorylated	0
ABL1(H396P)-nonphosphorylated	0.15
ABL1(H396P)-phosphorylated	0.8
ABL1(M351T)-phosphorylated	0.15
ABL1(Q252H)-nonphosphorylated	0.75
ABL1(Q252H)-phosphorylated	0.95
ABL1(T315I)-nonphosphorylated	1.1
ABL1(T315I)-phosphorylated	0.4
ABL1(Y253F)-phosphorylated	0.8
ABL1-nonphosphorylated	0.75
ABL1-phosphorylated	1.3
ABL2	0.25

ACVR1	100
ACVR1B	98
ACVR2A	100
ACVR2B	95
ACVRL1	98
ADCK3	100
ADCK4	94
AKT1	100
AKT2	94
AKT3	100
ALK	28
ALK(C1156Y)	82
ALK(L1196M)	81
AMPK-alpha1	72
AMPK-alpha2	96
ANKK1	92
ARK5	100
ASK1	100
ASK2	62
AURKA	97
AURKB	17
AURKC	46
AXL	19
BIKE	95
BLK	0.35
BMPR1A	99
BMPR1B	58
BMPR2	51
BMX	2.7
BRAF	7.3
BRAF(V600E)	1.9
BRK	11
BRSK1	87
BRSK2	100
BTk	16
BUB1	77
CAMK1	76
CAMK1B	54
CAMK1D	95
CAMK1G	99
CAMK2A	100
CAMK2B	100
CAMK2D	100
CAMK2G	98
CAMK4	100
CAMKK1	79
CAMKK2	43
CASK	82
CDC2L1	84
CDC2L2	92
CDC2L5	77
CDK11	76
CDK2	77
CDK3	97
CDK4	50
CDK4-cyclinD1	83
CDK4-cyclinD3	91
CDK5	100

CDK7	59
CDK8	70
CDK9	96
CDKL1	81
CDKL2	0
CDKL3	94
CDKL5	68
CHEK1	91
CHEK2	83
CIT	5.4
CLK1	85
CLK2	87
CLK3	59
CLK4	96
CSF1R	0
CSF1R-autoinhibited	55
CSK	1.5
CSNK1A1	100
CSNK1A1L	92
CSNK1D	80
CSNK1E	95
CSNK1G1	85
CSNK1G2	98
CSNK1G3	88
CSNK2A1	67
CSNK2A2	100
CTK	66
DAPK1	100
DAPK2	87
DAPK3	91
DCAMKL1	55
DCAMKL2	80
DCAMKL3	100
DDR1	0
DDR2	1
DLK	16
DMPK	100
DMPK2	100
DRAK1	100
DRAK2	94
DYRK1A	68
DYRK1B	75
DYRK2	76
EGFR	22
EGFR(E746-A750del)	6.7
EGFR(G719C)	4.3
EGFR(G719S)	13
EGFR(L747-E749del, A750P)	1.2
EGFR(L747-S752del, P753S)	4.3
EGFR(L747-T751del,Sins)	1.1
EGFR(L858R)	11
EGFR(L858R,T790M)	76
EGFR(L861Q)	9.4
EGFR(S752-I759del)	4.3
EGFR(T790M)	81
EIF2AK1	99
EPHA1	0.85
EPHA2	1.9

EPHA3	30
EPHA4	0.45
EPHA5	1.4
EPHA6	0.8
EPHA7	5.1
EPHA8	0.1
EPHB1	0.25
EPHB2	2.9
EPHB3	12
EPHB4	0.65
EPHB6	1.9
ERBB2	48
ERBB3	77
ERBB4	33
ERK1	100
ERK2	100
ERK3	100
ERK4	100
ERK5	93
ERK8	20
ERN1	13
FAK	64
FER	22
FES	1.3
FGFR1	7.6
FGFR2	9.7
FGFR3	28
FGFR3(G697C)	26
FGFR4	26
FGR	0.1
FLT1	1.3
FLT3	6.9
FLT3(D835H)	2.5
FLT3(D835V)	45
FLT3(D835Y)	15
FLT3(ITD)	0.7
FLT3(ITD,D835V)	82
FLT3(ITD,F691L)	4.3
FLT3(K663Q)	2.1
FLT3(N841I)	3.4
FLT3(R834Q)	18
FLT3-autoinhibited	43
FLT4	0.1
FRK	1.2
FYN	1.4
GAK	42
GCN2(Kin.Dom.2,S808G)	49
GRK1	61
GRK2	13
GRK3	13
GRK4	99
GRK7	100
GSK3A	100
GSK3B	66
HASPIN	86
HCK	0.5
HIPK1	93
HIPK2	100

HIPK3	60
HIPK4	9.3
HPK1	4.2
HUNK	35
ICK	47
IGF1R	100
IKK-alpha	26
IKK-beta	42
IKK-epsilon	53
INSR	89
INSRR	100
IRAK1	22
IRAK3	90
IRAK4	63
ITK	76
JAK1(JH1domain-catalytic)	69
JAK1(JH2domain-pseudokinase)	53
JAK2(JH1domain-catalytic)	26
JAK3(JH1domain-catalytic)	8.1
JNK1	33
JNK2	0.75
JNK3	40
KIT	0.15
KIT(A829P)	0
KIT(D816H)	6.3
KIT(D816V)	1.8
KIT(L576P)	3.6
KIT(V559D)	0
KIT(V559D,T670I)	0
KIT(V559D,V654A)	2.7
KIT-autoinhibited	64
LATS1	89
LATS2	83
LCK	0.25
LIMK1	67
LIMK2	83
LKB1	93
LOK	0.1
LRRK2	47
LRRK2(G2019S)	100
LTK	63
LYN	0.45
LZK	39
MAK	90
MAP3K1	31
MAP3K15	34
MAP3K2	56
MAP3K3	43
MAP3K4	90
MAP4K2	16
MAP4K3	51
MAP4K4	2.3
MAP4K5	10
MAPKAPK2	73
MAPKAPK5	53
MARK1	98
MARK2	84
MARK3	98

MARK4	95
MAST1	95
MEK1	67
MEK2	68
MEK3	56
MEK4	82
MEK5	0.1
MEK6	99
MELK	100
MERTK	24
MET	44
MET(M1250T)	36
MET(Y1235D)	55
MINK	2.5
MKK7	85
MKNK1	59
MKNK2	17
MLCK	95
MLK1	7.3
MLK2	64
MLK3	4.5
MRCKA	100
MRCKB	100
MST1	96
MST1R	94
MST2	100
MST3	76
MST4	74
MTOR	77
MUSK	1.6
MYLK	77
MYLK2	91
MYLK4	100
MYO3A	90
MYO3B	74
NDR1	66
NDR2	100
NEK1	100
NEK10	68
NEK11	61
NEK2	83
NEK3	53
NEK4	20
NEK5	64
NEK6	100
NEK7	94
NEK9	87
NIK	78
NIM1	68
NLK	27
OSR1	59
p38-alpha	0.1
p38-beta	0.35
p38-delta	82
p38-gamma	33
PAK1	100
PAK2	98
PAK3	94

PAK4	93
PAK6	96
PAK7	98
PCTK1	61
PCTK2	81
PCTK3	85
PDGFRA	0.2
PDGFRB	0.3
PDPK1	100
PFCDPK1(P.falciparum)	19
PFPK5(P.falciparum)	83
PFTAIRE2	50
PFTK1	90
PHKG1	88
PHKG2	88
PIK3C2B	100
PIK3C2G	100
PIK3CA	100
PIK3CA(C420R)	100
PIK3CA(E542K)	52
PIK3CA(E545A)	100
PIK3CA(E545K)	61
PIK3CA(H1047L)	91
PIK3CA(H1047Y)	100
PIK3CA(I800L)	44
PIK3CA(M1043I)	73
PIK3CA(Q546K)	56
PIK3CB	97
PIK3CD	98
PIK3CG	99
PIK4CB	50
PIKFYVE	58
PIM1	92
PIM2	100
PIM3	99
PIP5K1A	93
PIP5K1C	100
PIP5K2B	100
PIP5K2C	77
PKAC-alpha	100
PKAC-beta	99
PKMYT1	100
PKN1	79
PKN2	97
PKNB(M.tuberculosis)	90
PLK1	58
PLK2	61
PLK3	63
PLK4	98
PRKCD	91
PRKCE	76
PRKCH	100
PRKCI	88
PRKCQ	78
PRKD1	99
PRKD2	100
PRKD3	90
PRKG1	100

PRKG2	96
PRKR	77
PRKX	92
PRP4	100
PYK2	79
QSK	66
RAF1	2.8
RET	0
RET(M918T)	0
RET(V804L)	0.1
RET(V804M)	0.05
RIOK1	100
RIOK2	73
RIOK3	96
RIPK1	0
RIPK2	11
RIPK4	64
RIPK5	63
ROCK1	96
ROCK2	76
ROS1	98
RPS6KA4(Kin.Dom.1-N-terminal)	100
RPS6KA4(Kin.Dom.2-C-terminal)	50
RPS6KA5(Kin.Dom.1-N-terminal)	100
RPS6KA5(Kin.Dom.2-C-terminal)	100
RSK1(Kin.Dom.1-N-terminal)	81
RSK1(Kin.Dom.2-C-terminal)	100
RSK2(Kin.Dom.1-N-terminal)	68
RSK2(Kin.Dom.2-C-terminal)	100
RSK3(Kin.Dom.1-N-terminal)	72
RSK3(Kin.Dom.2-C-terminal)	75
RSK4(Kin.Dom.1-N-terminal)	77
RSK4(Kin.Dom.2-C-terminal)	45
S6K1	66
SBK1	65
SGK	71
SgK110	97
SGK2	81
SGK3	85
SIK	0.5
SIK2	31
SLK	0.6
SNARK	57
SNRK	98
SRC	0.1
SRMS	6.6
SRPK1	96
SRPK2	96
SRPK3	82
STK16	100
STK33	34
STK35	72
STK36	89
STK39	34
SYK	53
TAK1	20
TAOK1	72
TAOK2	87

TAOK3	67
TBK1	84
TEC	1.9
TESK1	92
TGFBR1	100
TGFBR2	99
TIE1	0
TIE2	0.3
TLK1	100
TLK2	100
TNIK	6.7
TNK1	24
TNK2	85
TNNI3K	3
TRKA	0
TRKB	0.1
TRKC	0.2
TRPM6	37
TSSK1B	97
TSSK3	93
TTK	79
TXK	0.8
TYK2(JH1domain-catalytic)	18
TYK2(JH2domain-pseudokinase)	67
TYRO3	53
ULK1	71
ULK2	60
ULK3	61
VEGFR2	3.9
VPS34	90
VRK2	65
WEE1	100
WEE2	94
WNK1	87
WNK2	100
WNK3	84
WNK4	70
YANK1	92
YANK2	100
YANK3	96
YES	0.65
YSK1	93
YSK4	0.25
ZAK	1.2
ZAP70	100

[0562] 상기 표 2를 살펴보면, 본 발명에 따른 화합물은

[0563] ABL1(E255K)-phosphorylated, ABL1(F317I)-nonphosphorylated, ABL1(F317I)-phosphorylated, ABL1(F317L)-nonphosphorylated, ABL1(F317L)-phosphorylated, ABL1(H396P)-nonphosphorylated, ABL1(H396P)-phosphorylated, ABL1(M351T)-phosphorylated, ABL1(Q252H)-nonphosphorylated, ABL1(Q252H)-phosphorylated, ABL1(T315I)-nonphosphorylated, ABL1(T315I)-phosphorylated, ABL1(Y253F)-phosphorylated, ABL1-nonphosphorylated, ABL1-phosphorylated, ABL2, ALK, AURKB, AXL, BLK, BMX, BRAF, BRAF(V600E), BRK, BTK, CDKL2, CIT, CSF1R, CSK, DDR1, DDR2, DLK, EGR, EGFR, EGFR(E746-A750del), EGFR(G719C), EGFR(G719S), EGFR(L747-E749del, A750P), EGFR(L747-S752del, P753S), EGFR(L747-T751del, Sins), EGFR(L858R),

EGFR(L861Q), EGFR(S752-I759del), EPHA1, EPHA2, EPHA3, EPHA4, EPHA5, EPHA6, EPHA7, EPHA8, EPHB1, EPHB2, EPHB3, EPHB4, EPHB6, ERBB4, ERK8, ERN1, FER, FES, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR3(G697C), FGFR4, FGR, FLT1, FLT3, FLT3(D835H), FLT3(D835Y), FLT3(ITD), FLT3(ITD, F691L), FLT3(K663Q), FLT3(N841I), FLT3(R834Q), FLT4, FRK, FYN, GRK2, GRK3, HCK, HIPK4, HPK1, IKK-alpha, IRAK1, JAK2(JH1domian-catalytic), JAK3(JH1domian-catalytic), JNK1, JNK2, KIT, KIT(A829P), KIT(D816H), KIT(D816V), KIT(L576P), KIT(V559D), KIT(V559D, T670I), KIT(V559D, V654A), LCK, LOK, LYN, MAP3K1, MAP3K15, MAP4K2, MAP4K4, MAP4K5, MEK5, MERTK, MINK, MKNK2, MLK1, MLK3, MUSK, NEK4, NLK, p38-alpha, p38-beta, p38-gamma, PDGFRA, PDGFRB, PFCDPK1(P.falciparum), RAF1, RET, RET(M918T), RET(V804L), RET(V804M), RIPK1, RIPK2, SIK, SIK2, SLK, SRC, SRMS, STK33, STK39, TAK1, TEC, TIE1, TIE2, TNIK, TNK1, TNNI3K, TRKA, TRKB, TRKC, TXK, TYK2(JH1domian-catalytic), VEGFR2, YES, YSK4, 또는 ZAK 등의 키나아제에 대하여 조절 백분율 35% 보다 작은 값을 가지는 것을 알 수 있다. 이는 본 발명의 실시예 화합물이 상기 나열된 효소에 대하여 억제 활성을 갖고 있음을 나타내는 것이며, 이로부터 상기 나열된 효소와 관련된 질환에 사용시 유용한 효과가 있음을 암시하는 것이다.

[0565] 따라서, 본 발명에 따른 화합물은 암세포 관련 키나제 ABL1(E255K)-phosphorylated, ABL1(F317I)-nonphosphorylated, ABL1(F317I)-phosphorylated, ABL1(F317L)-nonphosphorylated, ABL1(F317L)-phosphorylated, ABL1(H396P)-nonphosphorylated, ABL1(H396P)-phosphorylated, ABL1(M351T)-phosphorylated, ABL1(Q252H)-nonphosphorylated, ABL1(Q252H)-phosphorylated, ABL1(T315I)-nonphosphorylated, ABL1(T315I)-phosphorylated, ABL1(Y253F)-phosphorylated, ABL1-nonphosphorylated, ABL1-phosphorylated, ABL2, ALK, AURKB, AXL, BLK, BMX, BRAF, BRAF(V600E), BRK, BTK, CDKL2, CIT, CSF1R, CSK, DDR1, DDR2, DLK, EGR, EGFR, EGFR(E746-A750del), EGFR(G719C), EGFR(G719S), EGFR(L747-E749del, A750P), EGFR(L747-S752del, P753S), EGFR(L747-T751del, Sins), EGFR(L858R), EGFR(L861Q), EGFR(S752-I759del), EPHA1, EPHA2, EPHA3, EPHA4, EPHA5, EPHA6, EPHA7, EPHA8, EPHB1, EPHB2, EPHB3, EPHB4, EPHB6, ERBB4, ERK8, ERN1, FER, FES, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR3(G697C), FGFR4, FGR, FLT1, FLT3, FLT3(D835H), FLT3(D835Y), FLT3(ITD), FLT3(ITD, F691L), FLT3(K663Q), FLT3(N841I), FLT3(R834Q), FLT4, FRK, FYN, GRK2, GRK3, HCK, HIPK4, HPK1, IKK-alpha, IRAK1, JAK2(JH1domian-catalytic), JAK3(JH1domian-catalytic), JNK1, JNK2, KIT, KIT(A829P), KIT(D816H), KIT(D816V), KIT(L576P), KIT(V559D), KIT(V559D, T670I), KIT(V559D, V654A), LCK, LOK, LYN, MAP3K1, MAP3K15, MAP4K2, MAP4K4, MAP4K5, MEK5, MERTK, MINK, MKNK2, MLK1, MLK3, MUSK, NEK4, NLK, p38-alpha, p38-beta, p38-gamma, PDGFRA, PDGFRB, PFCDPK1(P.falciparum), RAF1, RET, RET(M918T), RET(V804L), RET(V804M), RIPK1, RIPK2, SIK, SIK2, SLK, SRC, SRMS, STK33, STK39, TAK1, TEC, TIE1, TIE2, TNIK, TNK1, TNNI3K, TRKA, TRKB, TRKC, TXK, TYK2(JH1domian-catalytic), VEGFR2, YES, YSK4, 및 ZAK에 대하여 선택성을 보임과 동시에 유의미한 억제 활성을 갖는 것으로 확인되어, 이로부터 상기 효소관련 질환 나아가, 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물의 유효성분으로서 효과가 있음을 알 수 있다.

[0567] 한편, 상기 효소 중, Src 및 Fyn에 대한 우수한 저해활성은, 이와 관련된 질환, 바람직하게 당뇨병성 신증에 유용한 효과가 있음을 암시하는 바, 본 발명 화합물을 당뇨병성 신증 예방 또는 치료용 약학적 조성물의 유효성분으로 사용할 수 있음을 알 수 있다.

[0569] <실험예 2> 암세포 증식 억제활성(암세포 사멸 효과)의 평가

[0570] 본 발명에 따른 화합물의 암세포 증식에 대한 억제활성을 평가하기 위해 하기와 같은 실험을 수행하였다.

[0572] 본 발명에 따른 실시예 화합물의 암세포 증식 억제(암세포 사멸) 효과를 평가하기 위하여 MTS 분석을 수행하였다. 구체적으로, 암 세포주인 GIST-T1, GIST-T1/816, GIST-430, GIST-430/654, GIST-R1, GIST-R3, M-NFS-60, RET(LC2/ad-CDC6), FYN(MCP-1), MDA-MB-231, Huh7, K562, T315I(Ba/F3), 및 A375 세포주를 대상으로 분석을 수행하였고, 각 세포에 적합한 배지를 이용하여 세포배양을 하였다.

- [0574] 보다 상세하게, GIST-T1 (imatinib-sensitive, p.V560_Y578del (exon 11)), GIST-T1/816 (imatinib-resistant, p.V560_Y578del (exon 11), p.D816E (exon 17)), GIST-430 (imatinib-sensitive, p.V560_L576del (exon 11)), GIST-430/654 (imatinib-resistant, p.V560_L576del (exon 11), p.V654A (exon 13)) 세포주들은 96-웰 평저 플레이트 (SPL Life Sciences)의 각 웰에, 반면 GIST 환자유래 세포주들인 GIST-R1 (imatinib-resistant, p.W557_K558del (exon 11))과 GIST-R3 (imatinib/sunitinib-resistant, p.558_560KVV>1 (exon 11), p.Y823D (exon 17))는 96-웰 화이트 플레이트 (Corning)의 각 웰에, 각각 $2 \times 10^4/100 \mu\text{L}$ 로 플레이트팅하였다. 다음날에 각 실시예 화합물을 8가지 농도로 처리하였다. 72시간 후, 세포 생존율은 EZ-cytox cell viability kit(DAEIL Lab, Seoul, Korea)이나 CellTiter-Glo Luminescent cell viability assay(promega)를 이용하여 각 제조업체의 지침에 따라 측정하였다. 이중으로 2번의 독립적인 실험을 하였다. 데이터는 비히클 기준 처리된 세포에 비례하여 백분율로 나타내었고 GraphPad Prism 5.0(GraphPad software Inc., San Diego)을 이용하여 IC_{50} 값을 산출하였다.
- [0576] 한편 M-NFS-60 세포의 경우, RPMI 배지에 10% FBS, 0.05mM 2-메르캅토에탄올, 62ng/인간 M-CSF 조성으로 완전 증식 배지(complete growth media)를 만들어, M-NFS-60 세포주를 배양한다. T-75 플라스크에서 80% 밀집(confluence)이 되면 주입(seeding)을 위해, 세포를 50ml 튜브에 모아 800rpm으로 5분간 원심분리를 진행한다. 10mL의 증식 배지로 현탁한 후, 세포계(hemocytometer)를 이용하여 세포 수를 측정하여 주입에 필요한 세포 수 및 배지 양을 계산한다. 96 웰 플레이트에 $200 \mu\text{L}/\text{well}$, 20000 세포/웰 로 주입한 후, 화합물(실시예 화합물)이 준비되는 동안 37°C CO_2 인큐베이터에서 세포를 안정화 시킨다. 새로운 v-바닥 96 웰 플레이트에, 화합물의 최고 농도를 1968nM로 설정하여, DMSO를 이용해 1/3 계열희석하여 DMSO 대조군(control)을 포함 총 11개 농도로 준비한다. 인큐베이터에 넣어두었던 세포를 꺼내어, 화합물을 $2 \mu\text{L}$ 씩 첨가한 후, 화합물을 처리한 플레이트를 37°C CO_2 인큐베이터에서 72 시간 동안 배양한다. 72시간 후, 화합물을 처리한 플레이트를 꺼내어, CCK-8 용액을 $20 \mu\text{L}/\text{well}$ 처리 후, 잘 섞어 준다. 37°C CO_2 인큐베이터에서 2시간 동안 배양하여, 마이크로플레이트 판독기로 450nm에서의 흡광도를 측정한다. 이때, 정확한 결과를 위해, 거품이 있는 웰들을 확인하여, 이를 제거한 상태에서 결과 측정을 진행한다.
- [0578] 한편 MDA-MB-231 및 A375 세포의 경우, 96-웰 플레이트에 $2 \times 10^3/100 \mu\text{L}/\text{well}$ 이 되도록 심은 뒤, 하루 동안 부착시켰다. 배양액을 제거한 뒤, 3배수로 연속 희석된 9가지 농도($0.0015 - 10 \mu\text{M}$)의 화합물 및 DMSO 대조군이 포함된 배양액으로 교체시킨 다음 37°C CO_2 배양기에서 72시간 동안 배양하였고, 반면 K-562와 Ba/F3-T315I 세포는 96-웰 플레이트에 $1 \times 10^4/90 \mu\text{L}/\text{well}$ 이 되도록 심은 뒤, K-562 세포는 3배수로 연속 희석된 9가지 농도($0.015 - 100 \mu\text{M}$)의 화합물 및 DMSO 대조군이 포함된 배양액을 $10 \mu\text{L}/\text{well}$ 씩 첨가하고, Ba/F3-T315I 세포는 5배수로 연속 희석된 9가지 농도($0.000256 - 100 \mu\text{M}$)의 화합물 및 DMSO 대조군이 포함된 배양액을 $10 \mu\text{L}/\text{well}$ 씩 첨가하여 최종농도가 $0 - 10 \mu\text{M}$ 이 되도록 한 뒤 37°C CO_2 배양기에서 72시간 동안 배양하였다.
- [0579] MDA-MB-231 세포의 경우, 72시간 동안의 실시간 세포증식 정도를 IncuCyte ZOOM® analyzer 소프트웨어로 측정 한 뒤 GraphPad Prism 6 소프트웨어를 사용하여 IC_{50} 를 계산하였다.
- [0580] A375, K-562, Ba/F3-T315I 세포는 CCK-8 용액을 $10 \mu\text{L}/\text{well}$ 첨가하고 30초 동안 오비탈 셰이킹(orbital shaking)한 다음, 37°C CO_2 배양기에서 2시간 배양한 뒤, 마이크로플레이트 판독기로 450 nm의 흡광도를 측정한다. 측정된 흡광도 결과값에 배양액과 CCK-8 용액만 첨가한 웰의 흡광도 결과값을 차감한 후, GraphPad Prism 6 소프트웨어를 사용하여 IC_{50} 를 계산하였다.
- [0581] 그 외에 세포에 있어서는, 시험 수행시 세포주에 맞는 배지가 들어있는 96-웰 플레이트에 각각 3,000 세포/웰의 농도로 분주한 후, 5% CO_2 및 37°C 조건에서 24시간 동안 배양하였다. 그 후, 각 웰에 상기 실시예 화합물들을 각각 $50 \mu\text{M}$ 고농도로 하여 순차 희석하여 처리하였고, 용매 대조군으로는 디메틸설폭사이드(DMSO)를 화합물 처리시 사용한 것과 동일한 0.05 %(v/v)의 농도로 처리하였다. 그 후, 각 세포를 72시간 동안 배양하였다. 세포의 생존 정도를 확인하기 위하여, 상기 각 배양된 세포의 배지에 CellTiter 96® Aqueous Non-Radioactive Cell Proliferation Assay Kit(Promega)에서 제공되는 MTS와 PMS (phenazine methosulfate)의 혼합물을 첨가하고,

37℃ 조건에서 2시간 동안 추가로 배양하였다. 그 후, 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. 화합물을 처리하지 않은 용매대조군 세포의 흡광도를 기준으로 각 화합물들의 처리 농도에 따른 세포 증식 저해 정도를 산출하였으며, 이때 암세포의 증식을 50% 억제하는 각 화합물의 농도를 IC₅₀(μ M) 값으로 결정하였다. 각 화합물의 IC₅₀는 3개씩의 데이터 세트에 의해 결정하였고 프리즘(버전 6.01, 그래프패드) 소프트웨어를 이용하여 구하였다.

[0582]

전술한 실험의 결과를 하기 표 3 및 표 4에 나타내었다.

표 3

[0584]

실시예	GIST-T1 (nM)	GIST-T1/816 (nM)	GIST430 (nM)	GIST430/654 (nM)	GIST-R1 (nM)	GIST-R3 (nM)	M-NFS-60 (nM)
1	40.4	95.0	62.2	83.0	7344	6.7	-
2	0.3	7.2	5.7	63.9			19.44
3	45.0	891.3	64.7	409.2	4676	837.6	-
4	40.1	498.3	43.4	245.2	11141	526.6	31.99
5	0.5	11.5	13.8	90.2			18.21
6	45.2	218.1	78.5	137.7	4115	16.2	27.21
7	36.2	256.8	24.6	158.3	31509	116.7	-
8	-	-	-	-	4422	232.8	-
9	39.6	388.4	47.9	196.5	3065	150.8	58.85
10	46.0	75.5	76.9	188.3	5544	49.9	14.43
11	40.0	512.5	80.9	158.8	1654	163.9	28.26
12	46.0	92.2	74.5	88.8	1763	99.4	24.69
13	42.1	133.0	77.3	147.8	1814	71.9	-
14	-	-	-	-			16.91

표 4

[0586]

실시예	FYN(MCP-1) (μ M)	RET LC2/ad-CCDC6 (μ M)	MDA-MB-231 (μ M)	Huh7 (μ M)	K562 (μ M)	T315I(Ba/F3) (nM)	A375 (μ M)
1	1.97		0.428	0.066	<0.001	25.6	1.056
2	0.35		0.1419	0.065	<0.001	17.2	0.721
3	-		3.46	2.032	0.0182	950	2.856
4	2.97		3.85	4.044	0.0178	1013	3.1
5	0.23	>0.01	0.44	0.320	<0.001	25.6	0.551
6	0.16	>0.01	0.76	0.589	<0.001	26.5	0.884
7	1.58	>0.01	1.27	0.979	0.0059	558	1052
8	-	>0.01	2.37	1.387	0.0153	541	1.095
9	0.38	>0.01	3.102	-	0.003	365	2.904
10	-		0.419	0.038	<0.001	22	-
11	-		-	-	-	-	-
12	-		-	-	-	-	-
13	-		-	-	-	-	-
14	-		-	-	-	-	-

[0588]

표 3, 및 표 4를 살펴보면, 본 발명에 따른 실시예 화합물이 암 세포주인 GIST-T1, GIST-T1/816, GIST-430, GIST-

430/654, GIST-R1, GIST-R3, M-NFS-60, RET(LC2/ad-CDC6), FYN(MCP-1), MDA-MB-231, Huh7, K562, T315I(Ba/F3), 및 A375 세포주에 대하여 마이크로몰 또는 나노몰 단위의 농도로 우수한 암세포 증식 억제 효과(암세포 사멸 효과)를 나타내는 것을 확인할 수 있다.

[0590] 따라서, 본 발명에 따른 화합물은 암세포의 증식 억제(암세포 사멸)의 효과를 마이크로몰 또는 나노몰 단위의 농도로 나타내는 바, 본 발명의 화합물을 유효성분으로 함유하는 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물로서 유용하게 사용될 수 있다.

[0592] <실험예 3> 종양 유도 마우스에서의 암 세포 사멸 평가

[0593] 본 발명에 따른 화합물의 종양 유도 마우스에서의 암 세포 사멸 효과를 평가하기 위하여 다음과 같이 실험하였다.

[0595] 5주령의 흉선 제거 누드 마우스(athymic nude (nu/nu))를 일본 SLC Inc. (일본, 시즈오카)에서 구입하였다. GIST-T1/816 세포주를 마우스의 오른쪽 옆구리 피하조직에 5×10^6 세포로 주입하여 종양을 형성하였다. 형성된 종양크기가 약 100 mm³에 도달할 때 (day 0), 이종이식 동물은 다음의 5 군으로 무작위로 5마리씩 할당하였다.

[0596] 5군 분류: 대조군 (비히클, DMSO/Tween80/DW), DCC-2618 (30 mg/kg), 포나티닙(Ponatinib, 30 mg/kg), 실시예 5 (30 mg/kg), 실시예 5 (50 mg/kg).

[0597] 각각의 약물과 비히클을 매일 2주간 구강 투여하였다. 종양은 캘리퍼스를 이용하여 일주일에 두 번 측정하여, (길이 X 넓이²)/2= 체적 (mm³)으로 계산하였고, 몸무게도 또한 모니터링하였다.

[0598] GIST 환자 유래 동물모델(PDX)인 GIST-RX1(imatinib/sunitinib/sorafenib-resistant, p.Y570_L576del (exon 11), p.D816E (exon 17))는 8주령의 흉선 제거 누드 마우스(athymic nude (nu/nu))의 오른쪽 옆구리 피하에 2-3 mm 크기의 약 4 조각을 이식하여 종양을 형성하였다. 형성된 종양크기가 약 200 mm³에 도달할 때 (day 0), 앞서와 같이, 5 군으로 분류하여 실험하였다.

[0599] 상기 두 실험으로부터 도출된 실험 결과를 도 1, 도2(GIST-T1/816) 및 도 3 및 도4(GIST-RX1 PDX)에 나타내었다.

[0601] 도 1은 GIST-T1/816 이종이식 모델에서, 각각의 5군에 약물 또는 비히클 처리 경과에 따른, 종양 크기를 그래프로 도시한 것이다.

[0602] 도 2는 GIST-T1/816 이종이식 모델에서, 각각의 5군에 약물 또는 비히클 처리 경과에 따른, 마우스 체중 변화를 그래프로 도시한 것이다.

[0603] 도 3은 GIST-RX1 PDX 이종이식 모델에서, 각각의 5군에 약물 또는 비히클 처리 경과에 따른, 종양 크기를 그래프로 도시한 것이다.

[0604] 도 4는 GIST-RX1 PDX 이종이식 모델에서, 각각의 5군에 약물 또는 비히클 처리 경과에 따른, 마우스 체중 변화를 그래프로 도시한 것이다.

[0606] 도 1 내지 도 4에서 확인되는 바와 같이, 모든 군에서 마우스의 체중 변화가 크게 변화하지 않는 반면, 본 발명에 따른 실시예 화합물을 처리한 실험군에서는 모두 눈에 띄는 종양 증식 억제 효과(암세포 사멸 효과)가 나타나는 것을 확인할 수 있었다.

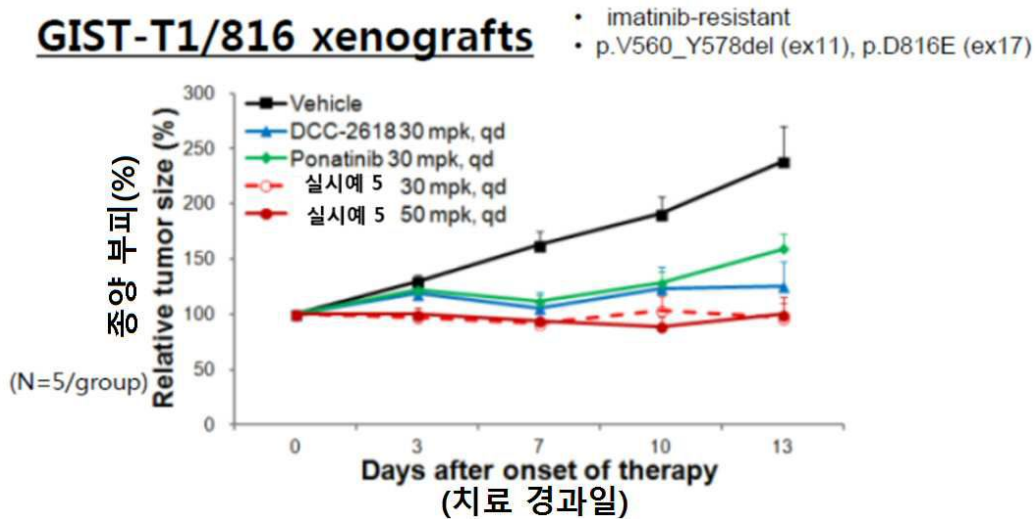
[0607] 특히, 대조군 포나티닙(Ponatinib) 및 DCC-2618과 비교하여 유사 이상의 우수한 효과가 확인되는 바, 본 발명 화합물의 종양 증식 억제 효과가 약물로서 유용함을 확인할 수 있었다.

[0609]

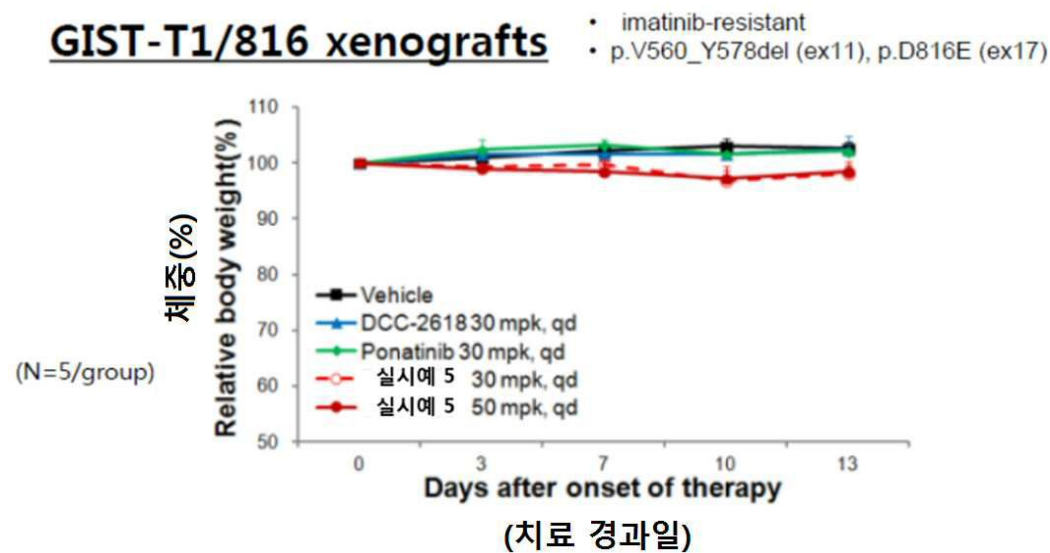
따라서, 본 발명에 따른 화합물은 이중이식 모델에서 암세포 증식을 우수하게 저해할 수 있고, 암세포를 유의미하게 사멸하는 효과가 있는 바, 본 발명 화합물을 유효성분으로 포함하는 약학적 조성물로써, 바람직하게 암의 예방 또는 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

도면

도면1



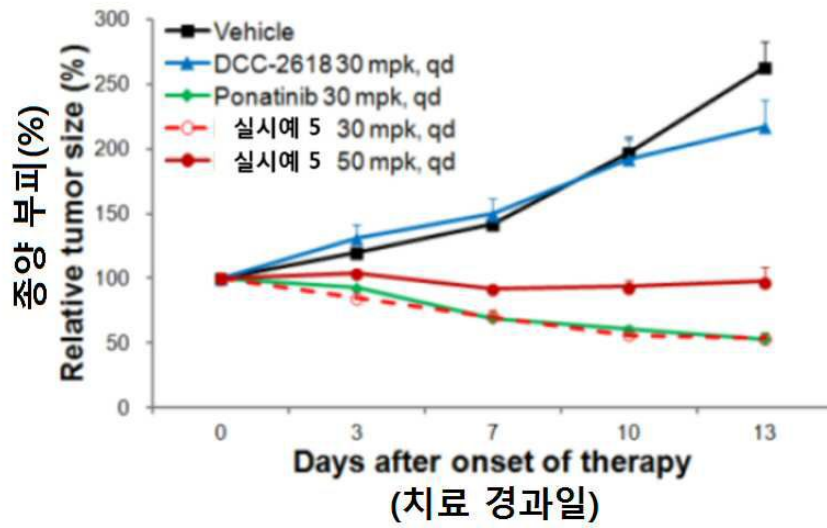
도면2



도면3

GIST-RX1 PDX

- Imatinib/Sunitinib/Sorafenib-resistant
- p.Y570_L576del (ex11), p.D816E (ex17)



도면4

GIST-RX1 PDX

- Imatinib/Sunitinib/Sorafenib-resistant
- p.Y570_L576del (ex11), p.D816E (ex17)

