(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0024078
(43) 공개일자 2025년02월18일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 413/14 (2006.01) *A61K 31/506* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) *C07D 417/14* (2006.01)
C07D 471/10 (2006.01) *C07D 487/04* (2006.01)
C07D 487/08 (2006.01) *C07D 513/10* (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07D 413/14 (2013.01)
A61K 31/506 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2025-7001490
(22) 출원일자(국제) 2023년06월13일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2025년01월15일
(86) 국제출원번호 PCT/US2023/025191
(87) 국제공개번호 WO 2023/244599
국제공개일자 2023년12월21일
(30) 우선권주장
63/352,490 2022년06월15일 미국(US)

(71) 출원인
미라티 테라퓨틱스, 인크.
미국, 뉴저지 08543, 프린스톤, 루트 206 앤 프로빈스 라인 로드
(72) 발명자
쿨릭, 스비틀라나
미국 92121 캘리포니아 샌디에이고 크레이 코트 3545 미라티 테라퓨틱스, 인크. 내
왕, 샤오룬
미국 92121 캘리포니아 샌디에이고 크레이 코트 3545 미라티 테라퓨틱스, 인크. 내
(74) 대리인
양영준, 이상남

전체 청구항 수 : 총 29 항

(54) 발명의 명칭 **PAN-KRAS 억제제**

(57) 요 약

본 발명은 KRas G12A, KRas G12C, KRas G12D, KRas G12R, KRas G12S, KRas G12V, KRas G13D 및 KRas Q61H 중 적어도 하나를 억제하는 화합물, 화합물을 포함하는 약제학적 조성물 및 이의 사용 방법에 관한 것이다.

(52) CPC특허분류
A61P 35/00 (2018.01)
C07D 417/14 (2013.01)
C07D 471/10 (2013.01)
C07D 487/04 (2022.08)
C07D 487/08 (2013.01)
C07D 513/10 (2013.01)

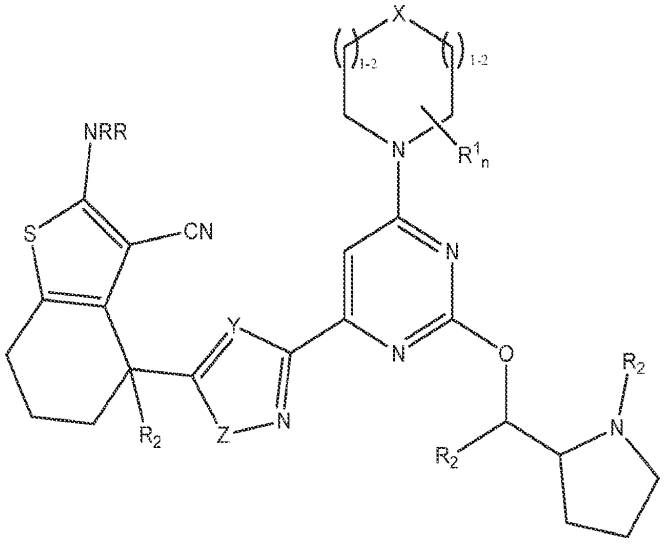
명 세 서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염:

[화학식 I]



[상기 식에서,

X는 CR, O 또는 N이고;

Y는 CR 또는 N이고;

Z는 O 또는 S이고;

n은 1 내지 4의 정수이고;

각각의 R은 독립적으로 H 또는 C1-C3 알킬이고;

R1은 C1-C3 알킬 또는 하이드록시이거나;

n은 적어도 2이고, 2개의 R^1은 선택적으로 결합하여 메틸렌 또는 에틸렌 가교를 형성하거나;

n은 적어도 2이고, 2개의 R^1은 선택적으로 결합하여 스피로 또는 융합 고리를 형성하고, 고리는 헤테로사이클릭 또는 헤테로아릴이고, 고리는 옥소 및 -C(O)N(CH3)(CH3)으로부터 선택된 1 내지 2개의 치환기로 선택적으로 치환되고;

각각의 R^2는 독립적으로 C1-C3 알킬임].

청구항 2

제1항에 있어서, n은 2이고, 2개의 R^1은 S 및 N 원자를 포함하는 포화 헤테로사이클릭 고리를 형성하는, 화합물 또는 염.

청구항 3

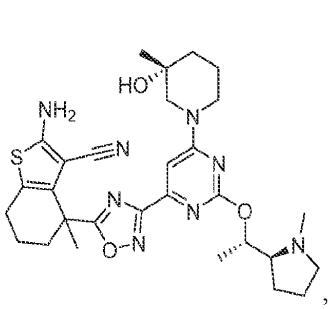
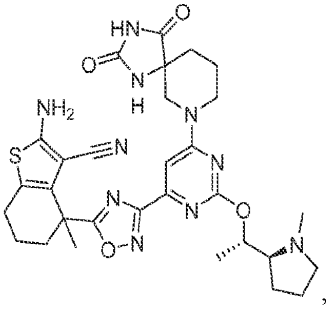
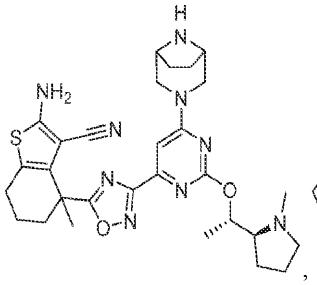
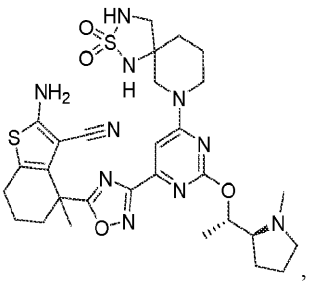
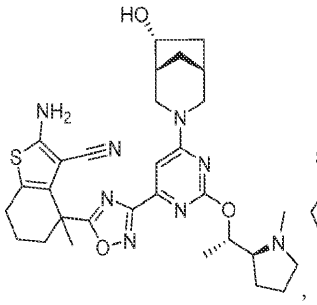
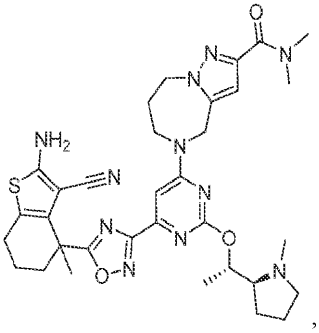
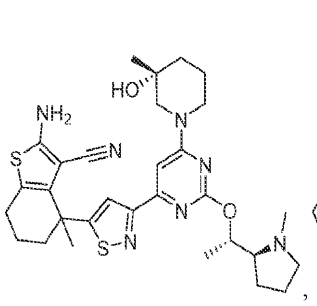
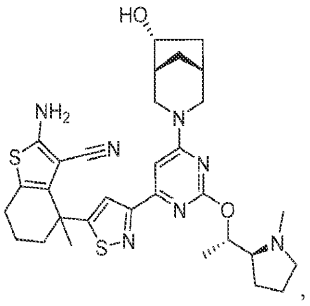
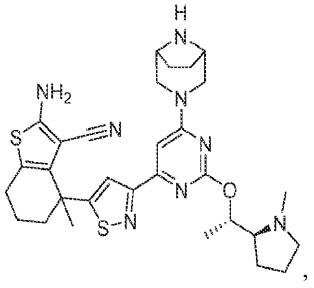
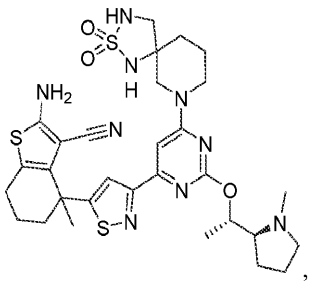
제2항에 있어서, 2개의 R^1에 의해 형성된 포화 헤테로사이클릭 고리는 2개의 옥소로 치환되는, 화합물 또는 염.

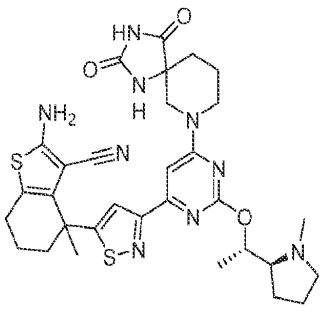
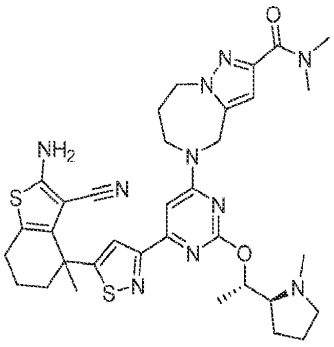
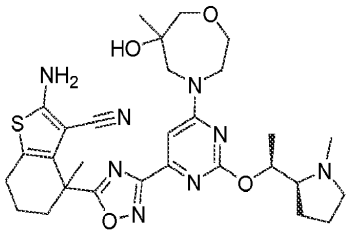
청구항 4

제1항에 있어서, n은 2이고, 하나의 R^1은 OH이고, 나머지 하나의 R^1은 CH_3인, 화합물 또는 염.

청구항 5

다음으로부터 선택되는 화합물:


,

,

,

,

,

,

,

,

,

,


,

,

,

및 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 6

치료적 유효량의 제1항 내지 제5항 중 어느 한 항의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 및 약제학적으로 허용 가능한 부형제를 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 7

KRas 활성의 억제가 요망되는 세포를 유효량의 제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 또는 제6항의 약제학적 조성물과 접촉시키는 단계를 포함하는, 세포에서 야생형 KRas, KRas G12A, KRas G12C, KRas G12D, KRas G12R, KRas G12S, KRas G12V, KRas G13D 또는 KRas Q61H 활성을 억제하는 방법.

청구항 8

암을 갖는 환자에게 치료적 유효량의 제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 또는 제6항의 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 암을 치료하는 방법.

청구항 9

제8항에 있어서, 화합물의 치료적 유효량은 1일당 약 0.01 내지 100 mg/kg인, 방법.

청구항 10

제9항에 있어서, 화합물의 치료적 유효량은 1일당 약 0.1 내지 50 mg/kg인, 방법.

청구항 11

제8항에 있어서, 암은 심장: 육종(혈관육종, 섬유육종, 횡문근육종, 지방육종), 점액종, 횡문근종, 섬유종, 지방종 및 기형종; 폐: 기관지원성 암종(편평 세포, 미분화 소세포, 미분화 큰세포, 선암종), 폐포(세기관지) 암종, 기관지 선종, 육종, 림프종, 연골종성 과오종, 중피종; 위장: 식도(편평 세포 암종, 선암종, 평활근육종, 림프종), 위(암종, 림프종, 평활근육종), 췌장(관 선암종, 인슐린종, 글루카곤종, 가스트린종, 유암종, 비포마), 소장(선암종, 림프종, 유암종, 카포시 육종, 평활근종, 혈관종, 지방종, 신경섬유종, 섬유종), 대장(선암종, 관상 선종, 융모 선종, 과오종, 평활근종); 비뇨생식관: 신장(선암종, 빌름스 종양(신아세포종), 림프종, 백혈병), 방광 및 요도(편평 세포 암종, 이행 세포 암종, 선암종), 전립선(선암종, 육종), 고환(정상피종, 기형종, 배아 암종, 기형암종, 융모막암종, 육종, 간질 세포 암종, 섬유종, 섬유선종, 선종 종양, 지방종); 간: 간암(간세포 암종), 담관 암종, 간아세포종, 혈관육종, 간세포 선종, 혈관종; 담도: 담낭 암종, 팽대부 암종, 담관암종; 뼈: 골원성 육종(골육종), 섬유육종, 악성 섬유성 조직구종, 연골육종, 유잉 육종, 악성 림프종(망상

세포 육종), 다발성 골수종, 악성 거대 세포 종양 척삭종, 골연골종(골연골성 외골증), 양성 연골종, 연골아세포종, 연골점액섬유종, 유골 골종 및 거대 세포 종양; 신경계: 두개골(골종, 혈관종, 육아종, 황색종, 변형성 골염), 수막(수막종, 수막육종, 신경교종증), 뇌(성상세포종, 수아세포종, 신경교종, 상의세포종, 배아종(송과체종), 다형 교아세포종, 희소돌기아교세포종, 신경초종, 망막아세포종, 선천성 종양), 척수 신경섬유종, 수막종, 신경교종, 육종); 부인과: 자궁(자궁내막 암종(장액성 낭선암종, 점액성 낭선암종, 미분류 암종), 과립난포막 세포 종양, 세르톨리-라이디히 세포 종양, 미분화세포종, 악성 기형종), 외음부(편평 세포 암종, 상피내 암종, 선암종, 섬유육종, 흑색종), 질(투명 세포 암종, 편평 세포 암종, 포도상 육종(배아 횡문근육종), 난관(암종); 혈액학: 혈액(골수성 백혈병(급성 및 만성), 급성 림프아구성 백혈병, 만성 림프구성 백혈병, 골수증식성 질환, 다발성 골수종, 골수이형성 증후군), 호지킨병, 비호지킨 림프종(악성 림프종); 피부: 악성 흑색종, 기저세포 암종, 편평 세포 암종, 카포시 육종, 기태 이형성 모반, 지방종, 맥관종, 피부섬유종, 켈로이드, 건선; 및 부신: 신경아세포종으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 12

제11항에 있어서, 암은 KRas G12A 관련 암인, 방법.

청구항 13

제11항에 있어서, 암은 KRas G12C 관련 암인, 방법.

청구항 14

제11항에 있어서, 암은 KRas G12D 관련 암인, 방법.

청구항 15

제11항에 있어서, 암은 KRas G12R 관련 암인, 방법.

청구항 16

제11항에 있어서, 암은 KRas G12S 관련 암인, 방법.

청구항 17

제11항에 있어서, 암은 KRas G12V 관련 암인, 방법.

청구항 18

제11항에 있어서, 암은 KRas G13D 관련 암인, 방법.

청구항 19

제11항에 있어서, 암은 KRas Q61H 관련 암인, 방법.

청구항 20

제11항에 있어서, 암은 KRas G12A 관련 암인, 방법.

청구항 21

제11항에 있어서, 암은 야생형 KRas, KRas G12A, KRas G12C, KRas G12D, KRas G12R, KRas G12S, KRas G12V, KRas G13D 또는 KRas Q61H 중 적어도 하나와 관련되는, 방법.

청구항 22

제7항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 암은 비소세포 폐암, 소세포 폐암, 결장직장암, 직장암 또는 췌장암인, 방법.

청구항 23

암의 치료가 필요한 환자에서 암을 치료하는 방법으로서, (a) 암이 야생형 KRas 또는 KRas G12A, KRas G12C,

KRas G12D, KRas G12R, KRas G12S, KRas G12V, KRas G13D 또는 KRas Q61H 돌연변이와 관련이 있는지를 결정하는 단계; 및 (b) 환자에게 치료적 유효량의 제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 또는 제6항의 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 24

제7항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 투여는 비경구, 복강내, 피내, 심장내, 심실내, 두개내, 뇌척수내, 활막내, 경막내 투여, 근육내 주사, 유리체내 주사, 정맥내 주사, 동맥내 주사, 경구, 협측, 설하, 경피, 국소, 기관내, 직장내, 피하 및 국소 투여로 이루어진 군으로부터 선택된 경로를 통해 수행되는, 방법.

청구항 25

제24항에 있어서, 투여 경로는 경구인, 방법.

청구항 26

제24항에 있어서, 투여는 정맥내 주사인, 방법.

청구항 27

제24항에 있어서, 투여 경로는 근육내 주사인, 방법.

청구항 28

제24항에 있어서, 투여 경로는 전달 디바이스를 활용하는, 방법.

청구항 29

제24항에 있어서, 투여는 입원 환경에서 수행되는, 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 KRas의 다수의 돌연변이된 형태를 억제하는 화합물, 즉 pan-KRas 억제제에 관한 것이다. 특히, 본 발명은 pan-KRas 화합물, 이들 화합물을 포함하는 약제학적 조성물, 및 이의 사용 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 키르스텐 래트 육종 2 바이러스 종양유전자 동족체("KRas")는 작은 GTPase이며, Ras 종양유전자 패밀리의 구성원이다. KRas는 다수의 티로신 키나제로부터 수신된 업스트림 세포 신호를 다운스트림 효과기로 형질도입하여 세포 증식을 포함한 매우 다양한 프로세스를 조절하기 위해 불활성(GDP-결합) 상태와 활성(GTP-결합) 상태 사이를 순환하는 분자 스위치로서 작용한다(예를 들어, 문헌[Alamgeer et al., (2013) Current Opin Pharmcol. 13:394-401] 참조).

[0003] 악성종양에서의 활성화된 KRas의 역할은 30년 이상 전에 관찰되었다(예를 들어, 문헌[Santos et al., (1984) Science 223:661-664] 참조). KRas의 비정상적 발현은, GTP 결합을 안정화시키고 KRas의 구성적 활성화를 초래하는 모든 암 및 발암성 KRas 돌연변이의 최대 20%를 차지한다. 코돈 12, 13, 61 및 KRas 일차 아미노산 서열의 다른 포지션에서의 KRas 돌연변이는 모든 췌장 선암종 환자의 88%, 모든 결장/직장 선암종 환자의 50%, 및 32%의 폐 선암종 환자에 존재한다(예를 들어, 문헌[Prior et all., (2020) Cancer Res 80:2969-74] 참조). 최근의 간행물은 또한 야생형 Kras 억제가 $KRas^{WT}$ 의존성 암을 치료하기 위한 실행 가능한 치료 전략일 수 있음을 시사하였다(예를 들어, 문헌[Bery et al., (2020) Nat. Commun. 11: 3233] 참조).

[0004] 악성종양에서의 KRas의 잘 알려진 역할, 및 다양한 종양 유형에서 KRas에서의 이러한 빈번한 돌연변이의 발견은 KRas를 암 요법에 대한 제약 산업의 매우 매력적인 표적으로 만들었다. 암 치료를 위한 KRas의 억제제를 개발하기 위한 30년의 대규모 발견 노력에도 불구하고, KRas 억제제는 규제 승인을 얻기에 충분한 안전성 및/또는 효능을 아직 입증하지 못했다(예를 들어, 문헌[McCormick (2015) Clin Cancer Res. 21 (8):1797-1801] 참조).

[0005] KRas 활성을 억제하는 화합물은 여전히 매우 바람직하고 연구 중이며, 이는 구아닌 뉴클레오티드 교환 인자와

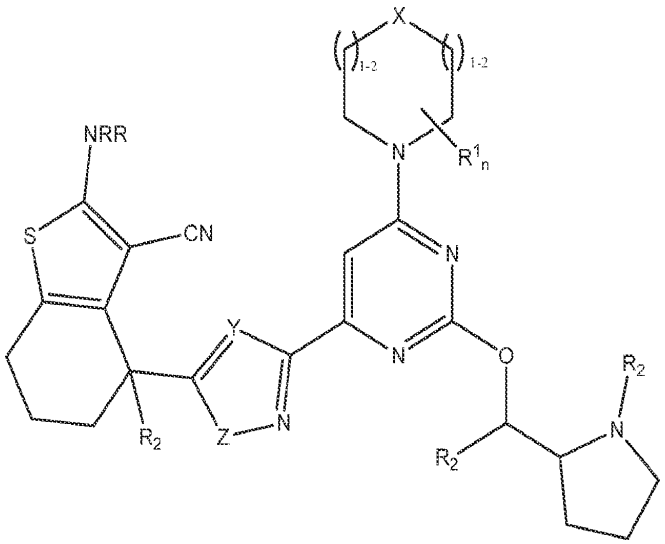
같은 효과기를 방해하는 화합물(예를 들어, 문헌[Sun et al., (2012) Agnew Chem Int Ed Engl. 51(25):6140-6143 doi: 10.1002/anie201201358]), 뿐만 아니라 KRas G12C의 알로스테릭 포켓의 공유 표적화에서의 최신 진전(예를 들어, 문헌[Ostrem et al., (2013) Nature 503:548-551] 및 문헌[Fell et al., (2018) ACS Med. Chem. Lett. 9:1230-1234] 참조)을 포함한다. 명백히, KRas의 억제제, 특히 활성화 KRas 돌연변이의 억제제를 개발하기 위한 지속적인 관심과 노력이 남아 있다.

[0006] 따라서, KRas-매개 암을 치료하는 데 충분한 효능을 나타내는 새로운 pan-KRas 억제제를 개발할 필요성이 있다.

발명의 내용

[0007] 본 발명의 하나의 양태에서, KRas 활성을 억제하는 화합물이 제공된다. 특정 실시형태에서, 화합물은 하기 화학식 I 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염으로 표시된다:

[0008] [화학식 I]



[0009]

[0010] 상기 식에서,

[0011] X는 CR, O 또는 N이고;

[0012] Y는 CR 또는 N이고;

[0013] Z는 O 또는 S이고;

[0014] n은 1 내지 4의 정수이고;

[0015] 각각의 R은 독립적으로 H 또는 C1-C3 알킬이고;

[0016] R^1은 C1-C3 알킬 또는 하이드록시이거나;

[0017] n은 적어도 2이고, 2개의 R^1은 선택적으로 결합하여 메틸렌 또는 에틸렌 가교를 형성하거나;

[0018] n은 적어도 2이고, 2개의 R^1은 선택적으로 결합하여 스피로 또는 융합 고리를 형성하고, 고리는 헤테로사이클릭 또는 헤테로아릴이고, 고리는 옥소 및 -C(O)N(CH3)(CH3)으로부터 선택된 1 내지 2개의 치환기로 선택적으로 치환되고;

[0019] 각각의 R^2는 독립적으로 C1-C3 알킬이다.

[0020] 본 발명의 또 다른 양태에서, 치료적 유효량의 본 발명의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 및 약제학적으로 허용 가능한 부형제를 포함하는 약제학적 조성물이 제공된다.

[0021] 본 발명의 또 다른 양태에서, 세포를 본원에 정의된 바와 같은 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 또는 이의 약제학적 조성물과 접촉시키는 단계를 포함하는, 야생형 KRas 또는 하나 이상의 KRas 돌연변이, 예를 들어 KRas 돌연변이 G12A, G12C, G12D, G12R, G12S, G12V, G13D 및/또는 Q61H를 함유하는 세포의

활성을 세포에서 억제하는 방법. 하나의 실시형태에서, 접촉은 시험관 내에서 이루어진다. 하나의 실시형태에서, 접촉은 생체 내에서 이루어진다.

[0022] 또한 시험관 내 또는 생체 내 세포 증식을 억제하는 방법이 본원에 제공되고, 방법은 세포를 유효량의 본원에 정의된 바와 같은 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 또는 이의 약제학적 조성물과 접촉시키는 단계를 포함한다.

[0023] 또한 치료적 유효량의 본 발명의 화합물 또는 약제학적 조성물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 암의 치료를 필요로 하는 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 환자에서 암을 치료하는 방법이 제공된다.

[0024] 또한 KRas 야생형, KRas G12A, G12C, G12D, G12R, G12S, G12V, G13D 및/또는 Q61H 관련 질환 또는 장애의 치료가 필요한 환자에서 KRas 야생형, KRas G12A, G12C, G12D, G12R, G12S, G12V, G13D 및/또는 Q61H 관련 질환 또는 장애를 치료하는 방법이 본원에 제공되고, 방법은 치료적 유효량의 본원에 정의된 바와 같은 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 또는 이의 약제학적 조성물을 환자에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0025] 또한 요법에서 사용하기 위한, 본원에 정의된 바와 같은 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 또는 이의 약제학적 조성물이 본원에 제공된다.

[0026] 또한 암의 치료에서 사용하기 위한, 본원에 정의된 바와 같은 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 또는 이의 약제학적 조성물이 본원에 제공된다.

[0027] 또한 KRas 야생형 또는 다수의 유형의 KRas 돌연변이, 예를 들어 KRas G12A, G12C, G12D, G12R, G12S, G12V, G13D 및/또는 Q61H 돌연변이의 억제에서 사용하기 위한 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이 본원에 제공된다.

[0028] 또한 KRas 야생형 관련 질환 또는 장애, 또는 KRas 돌연변이 G12A, G12C, G12D, G12R, G12S, G12V, G13D 및/또는 Q61H 관련 질환 또는 장애의 치료에서 사용하기 위한 본원에 정의된 바와 같은 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 또는 이의 약제학적 조성물이 본원에 제공된다.

[0029] 또한 암의 치료용 약제의 제조에서의 본원에 정의된 바와 같은 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 용도가 본원에 제공된다.

[0030] 또한 KRas의 야생형 형태, 또는 다음 돌연변이를 포함하는 KRas의 돌연변이된 형태의 활성의 억제용 약제의 제조에서의 본원에 정의된 바와 같은 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 용도가 본원에 제공된다: G12A, G12C, G12D, G12R, G12S, G12V, G13D 및/또는 Q61H.

[0031] 또한 KRas 야생형 관련 질환 또는 장애 또는 KRas G12A, G12C, G12D, G12R, G12S, G12V, G13D 및/또는 Q61H 관련 질환 또는 장애의 치료용 약제의 제조에서의 본원에 정의된 바와 같은 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 용도가 본원에 제공된다.

[0032] 또한 암의 치료가 필요한 환자에서 암을 치료하는 방법이 본원에 제공되고, 방법은 (a) 암이 KRas 야생형 또는 KRas G12A, G12C, G12D, G12R, G12S, G12V, G13D 및/또는 Q61H 돌연변이와 관련이 있는지를(즉 KRas G12A, G12C, G12D, G12R, G12S, G12V, G13D 및/또는 Q61H 관련 암) 결정하는 단계; 및 (b) 환자에게 치료적 유효량의 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 또는 이의 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함한다.

[0033] 본원에 기재된 pan-KRas 억제제의 하나의 잠재적인 유용성은 KRas G12C 억제제로 장기간 치료한 후 내성이 발생하는 암의 치료에 대한 것이다. 따라서, 본 발명의 실시형태는 암을 앓고 있는 환자가, G12C 억제제를 사용한 치료가 내성-부여 돌연변이의 출현으로 인해 비효과적이게 되거나 덜 효과적이게 된 후, 본원에 기재된 pan-KRas 억제제로 치료받는 것을 포함한다.

[0034] 공유 KRas G12C 억제제, 예컨대 아다그라십(MRTX849) 또는 소토라십(AMG510)을 사용한 KRas G12C 돌연변이 암의 치료는 아다그라십에 대한 내성을 부여하는 추가 돌연변이의 혼입을 초래할 수 있다. 이들 돌연변이는 수많은 메커니즘을 통해 내성을 부여할 수 있다.

[0035] 코돈 12에서 돌연변이 시스테인을 다른 아미노산으로 변경시키는 돌연변이는 현재의 공유 KRas G12C 억제제를 비효과적으로 만들 수 있는데, 이는 현재의 억제제가 돌연변이 시스테인 아미노산 측쇄와의 공유 결합을 만들기 때문이다. 마찬가지로, KRas G12C-돌연변이 대립유전자 외에 하나의 야생형 KRas 대립유전자를 갖는 환자에서,

야생형 코돈 12 글리신에서 또 다른 코돈으로의 돌연변이는 신규 돌연변이 단백질을 통한 이러한 종양에서 우회 신호전달을 가능하게 할 것이다. 야생형 유전자(글리신 코돈)에서 단일 뉴클레오티드 치환으로 발생할 수 있는 코돈 12 돌연변이의 레퍼토리는 암에서 통상적으로 관찰되는 돌연변이, 예컨대 G12S, G12V, G12R, G12C를 포함한다. 시스테인 코돈 12의 단일 뉴클레오티드 염기 치환으로 발생할 수 있는 코돈 12 돌연변이의 레퍼토리는, G12S 및 G12R 외에, 암에서 빈번하게 관찰되지 않는 돌연변이 G12Y, G12F 및 G12W를 포함한다.

[0036] 제2 부위 돌연변이는 또한 KRas G12C 억제제 치료에 대한 내성을 부여하는 KRas G12C 돌연변이 유전자에서의 또 다른 위치에서 발생할 수 있다. 이들 돌연변이는 상이한 메커니즘을 통해 내성을 부여할 수 있다. RAS 단백질은 일반적으로 활성인 GTP-결합 상태와 불활성인 GDP-결합 상태 사이를 순환하는 작은 GTPase이다. RAS 단백질은 업스트림 수용체 티로신 키나제에 의해 활성화되는 구아닌 뉴클레오티드 교환 인자(GEF; 예를 들어, SOS1)를 통해 GTP로 로딩되어, RAS 의존적 신호전달을 활성화하는 효과기 단백질과의 후속 상호작용을 촉발한다. RAS 단백질은 GTPase 활성화 단백질(GAP)에 의해 극적으로 향상된 이의 고유 GTPase 활성을 통해 GTP를 GDP로 가수분해한다. RAS 단백질 내 코돈 12 및 13에서의 돌연변이는 GAP 자극된 GTP 가수분해를 손상시켜 RAS를 주로 GTP-결합된 활성 상태로 남긴다. 현재 임상 개발에서의 공유 KRas G12C 억제제는 GDP-결합된 KRas G12C 에만 결합한다. G12C 돌연변이와 동일한 대립유전자 상에 발생하지 않거나 발생할 수 있는 돌연변이, 예컨대 Q61 코돈 돌연변이는 KRas의 고유 GTPase 활성을 감소시키고, KRas를 공유 억제에 취약하지 않은 GTP-로딩된 상태로 이동시킴으로써 KRas G12C 억제제 치료에 대한 내성의 메커니즘을 표시할 수 있다. 공동-돌연변이, 예컨대 R68, H95 및 Y96은 KRas G12C 돌연변이와 함께 존재할 수 있고, 스위치 II 결합 포켓에 대한 KRas G12C 억제제의 결합 친화성을 약화시킬 수 있다.

[0037] 본원에 기재된 pan-KRas 억제제는 통상적인 코돈 12 돌연변이뿐만 아니라 통상적이지 않은 코돈 12 돌연변이, 또는 KRas 단백질에 대한 KRas G12C 억제제의 결합을 약화시키는 KRas 단백질에서 발생하는 돌연변이에 대한 활성을 나타낼 수 있다.

[0038] 또한 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 제조하기 위한 프로세스가 본원에 제공된다.

[0039] 또한 본원에 정의된 바와 같은 화합물을 제조하는 프로세스에 의해 수득된 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이 본원에 제공된다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0040] 본 발명은 KRas 야생형 및/또는 KRas의 다수의 돌연변이된 형태, 예를 들어 KRas G12A, G12C, G12D, G12R, G12S, G12V, G13D 및/또는 Q61H 돌연변이의 억제제에 관한 것이다. 특히, 본 발명은 KRas 야생형 및/또는 KRas 돌연변이, 예컨대 G12A, G12C, G12D, G12R, G12S, G12V, G13D 및/또는 Q61H의 활성을 억제하는 화합물, 치료적 유효량의 화합물을 포함하는 약제학적 조성물 및 이의 사용 방법에 관한 것이다.

[0041] 정의

[0042] 달리 정의되지 않는 한, 본원에서 사용되는 모든 기술 및 과학 용어는 본 발명이 속하는 당업자에 의해 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 본원에 언급된 모든 특허, 특허 출원 및 간행물은 참조로 포함된다.

[0043] 본원에 사용되는 바와 같이, "야생형 KRas"는 포유동물 KRas 단백질의 비-돌연변이 형태를 지칭한다. 인간 KRas에 대한 아미노산 코돈 및 잔류물 포지션의 할당은 UniProtKB/Swiss-Prot P01116: Variantp.Gly12Asp에 의해 확인된 아미노산 서열에 기초한다. 본원에 사용되는 바와 같이, "야생형 KRas 억제제"는 본원에 기재된 바와 같은 화학식 I로 표시되는 본 발명의 화합물을 지칭한다. 이들 화합물은 야생형 KRas G12A의 효소 활성의 전부 또는 일부를 음성 조절하거나 억제할 수 있다. 본원에 사용된 "야생형 KRas 관련 질환 또는 장애"는 야생형 KRas와 관련되거나 이에 의해 매개되거나 이를 갖는 질환 또는 장애를 지칭한다. 야생형 KRas 관련 질환 또는 장애의 비제한적 예는 야생형 KRas 관련 암이다.

[0044] 본원에 사용되는 바와 같이, "KRas G12A"는 아미노산 포지션 12에서의 글리신에 대한 알라닌의 아미노산 치환을 포함하는 포유동물 KRas 단백질의 돌연변이 형태를 지칭한다. 인간 KRas에 대한 아미노산 코돈 및 잔류물 포지션의 할당은 UniProtKB/Swiss-Prot P01116: Variantp.Gly12Asp에 의해 확인된 아미노산 서열에 기초한다. 본원에 사용되는 바와 같이, "KRas G12A 억제제"는 본원에 기재된 바와 같은 화학식 I로 표시되는 본 발명의 화합물을 지칭한다. 이들 화합물은 KRas G12A의 효소 활성의 전부 또는 일부를 음성 조절하거나 억제할 수 있다. 본원에 사용된 "KRas G12A 관련 질환 또는 장애"는 KRas G12A 돌연변이와 관련되거나 이에 의해 매개되거나 이를 갖는 질환 또는 장애를 지칭한다. KRas G12A 관련 질환 또는 장애의 비제한적 예는 KRas G12A 관련 암이다.

[0045] 본원에 사용되는 바와 같이, "KRas G12C"는 아미노산 포지션 12에서의 글리신에 대한 시스테인의 아미노산 치환을 포함하는 포유동물 KRas 단백질의 돌연변이 형태를 지칭한다. 인간 KRas에 대한 아미노산 코돈 및 잔류물 포지션의 할당은 UniProtKB/Swiss-Prot P01116: Variantp.Gly12Asp에 의해 확인된 아미노산 서열에 기초한다. 본원에 사용되는 바와 같이, "KRas G12C 억제제"는 본원에 기재된 바와 같은 화학식 I로 표시되는 본 발명의 화합물을 지칭한다. 이들 화합물은 KRas G12C의 효소 활성의 전부 또는 일부를 음성 조절하거나 억제할 수 있다. 본원에 사용된 "KRas G12C 관련 질환 또는 장애"는 KRas G12C 돌연변이와 관련되거나 이에 의해 매개되거나 이를 갖는 질환 또는 장애를 지칭한다. KRas G12C 관련 질환 또는 장애의 비제한적 예는 KRas G12CD 관련 암이다.

[0046] 본원에 사용되는 바와 같이, "KRas G12D"는 아미노산 포지션 12에서의 글리신에 대한 아스파르트산의 아미노산 치환을 포함하는 포유동물 KRas 단백질의 돌연변이 형태를 지칭한다. 인간 KRas에 대한 아미노산 코돈 및 잔류물 포지션의 할당은 UniProtKB/Swiss-Prot P01116: Variantp.Gly12Asp에 의해 확인된 아미노산 서열에 기초한다. 본원에 사용되는 바와 같이, "KRas G12D 억제제"는 본원에 기재된 바와 같은 화학식 I로 표시되는 본 발명의 화합물을 지칭한다. 이들 화합물은 KRas G12D의 효소 활성의 전부 또는 일부를 음성 조절하거나 억제할 수 있다. 본원에 사용된 "KRas G12D 관련 질환 또는 장애"는 KRas G12D 돌연변이와 관련되거나 이에 의해 매개되거나 이를 갖는 질환 또는 장애를 지칭한다. KRas G12D 관련 질환 또는 장애의 비제한적 예는 KRas G12D 관련 암이다.

[0047] 본원에 사용되는 바와 같이, "KRas G12R"은 아미노산 포지션 12에서의 글리신에 대한 아르기닌의 아미노산 치환을 포함하는 포유동물 KRas 단백질의 돌연변이 형태를 지칭한다. 인간 KRas에 대한 아미노산 코돈 및 잔류물 포지션의 할당은 UniProtKB/Swiss-Prot P01116: Variantp.Gly12Asp에 의해 확인된 아미노산 서열에 기초한다. 본원에 사용되는 바와 같이, "KRas G12R 억제제"는 본원에 기재된 바와 같은 화학식 I로 표시되는 본 발명의 화합물을 지칭한다. 이들 화합물은 KRas G12R의 효소 활성의 전부 또는 일부를 음성 조절하거나 억제할 수 있다. 본원에 사용된 "KRas G12R 관련 질환 또는 장애"는 KRas G12R 돌연변이와 관련되거나 이에 의해 매개되거나 이를 갖는 질환 또는 장애를 지칭한다. KRas G12R 관련 질환 또는 장애의 비제한적 예는 KRas G12R 관련 암이다.

[0048] 본원에 사용되는 바와 같이, "KRas G12S"는 아미노산 포지션 12에서의 글리신에 대한 세린의 아미노산 치환을 포함하는 포유동물 KRas 단백질의 돌연변이 형태를 지칭한다. 인간 KRas에 대한 아미노산 코돈 및 잔류물 포지션의 할당은 UniProtKB/Swiss-Prot P01116: Variantp.Gly12Asp에 의해 확인된 아미노산 서열에 기초한다. 본원에 사용되는 바와 같이, "KRas G12S 억제제"는 본원에 기재된 바와 같은 화학식 I로 표시되는 본 발명의 화합물을 지칭한다. 이들 화합물은 KRas G12S의 효소 활성의 전부 또는 일부를 음성 조절하거나 억제할 수 있다. 본원에 사용된 "KRas G12S 관련 질환 또는 장애"는 KRas G12S 돌연변이와 관련되거나 이에 의해 매개되거나 이를 갖는 질환 또는 장애를 지칭한다. KRas G12S 관련 질환 또는 장애의 비제한적 예는 KRas G12S 관련 암이다.

[0049] 본원에 사용되는 바와 같이, "KRas G12V"는 아미노산 포지션 12에서의 글리신에 대한 발린의 아미노산 치환을 포함하는 포유동물 KRas 단백질의 돌연변이 형태를 지칭한다. 인간 KRas에 대한 아미노산 코돈 및 잔류물 포지션의 할당은 UniProtKB/Swiss-Prot P01116: Variantp.Gly12Asp에 의해 확인된 아미노산 서열에 기초한다. 본원에 사용되는 바와 같이, "KRas G12V 억제제"는 본원에 기재된 바와 같은 화학식 I로 표시되는 본 발명의 화합물을 지칭한다. 이들 화합물은 KRas G12V의 효소 활성의 전부 또는 일부를 음성 조절하거나 억제할 수 있다. 본원에 사용된 "KRas G12V 관련 질환 또는 장애"는 KRas G12V 돌연변이와 관련되거나 이에 의해 매개되거나 이를 갖는 질환 또는 장애를 지칭한다. KRas G12V 관련 질환 또는 장애의 비제한적 예는 KRas G12V관련 암이다.

[0050] 본원에 사용되는 바와 같이, "KRas G13D"는 아미노산 포지션 13에서의 글리신에 대한 아스파르트산의 아미노산 치환을 포함하는 포유동물 KRas 단백질의 돌연변이 형태를 지칭한다. 인간 KRas에 대한 아미노산 코돈 및 잔류물 포지션의 할당은 UniProtKB/Swiss-Prot P01116: Variantp.Gly12Asp에 의해 확인된 아미노산 서열에 기초한다. 본원에 사용되는 바와 같이, "KRas G13D 억제제"는 본원에 기재된 바와 같은 화학식 I로 표시되는 본 발명의 화합물을 지칭한다. 이들 화합물은 KRas G13D의 효소 활성의 전부 또는 일부를 음성 조절하거나 억제할 수 있다. 본원에 사용된 "KRas G13D 관련 질환 또는 장애"는 KRas G13D 돌연변이와 관련되거나 이에 의해 매개되거나 이를 갖는 질환 또는 장애를 지칭한다. KRas G13D 관련 질환 또는 장애의 비제한적 예는 KRas G13D 관련 암이다.

[0051] 본원에 사용되는 바와 같이, "KRas Q61H"는 아미노산 포지션 61에서의 글루타민에 대한 히스티딘의 아미노산 치환을 포함하는 포유동물 KRas 단백질의 돌연변이 형태를 지칭한다. 인간 KRas에 대한 아미노산 코돈 및 잔류물 포지션의 할당은 UniProtKB/Swiss-Prot P01116: Variantp.Gly12Asp에 의해 확인된 아미노산 서열에 기초한다. 본원에 사용되는 바와 같이, "KRas Q61H 억제제"는 본원에 기재된 바와 같은 화학식 I로 표시되는 본 발명의 화

합물을 지칭한다. 이들 화합물은 KRas Q61H의 효소 활성의 전부 또는 일부를 음성 조절하거나 억제할 수 있다. 본원에 사용된 "KRas Q61H 관련 질환 또는 장애"는 KRas Q61H 돌연변이와 관련되거나 이에 의해 매개되거나 이를 갖는 질환 또는 장애를 지칭한다. KRas Q61H 관련 질환 또는 장애의 비제한적 예는 KRas Q61H 관련 암이다.

[0052] 본원에 사용되는 바와 같이, 상호교환가능하게 사용되는 용어 "대상체", "개체" 또는 "환자"는 포유류, 예컨대 마우스, 래트, 기타 설치류, 토끼, 개, 고양이, 돼지, 소, 양, 말, 영장류 및 인간을 포함하는 임의의 동물을 지칭한다. 일부 실시형태에서, 환자는 인간이다. 일부 실시형태에서, 대상체는 치료 및/또는 예방될 질환 또는 장애의 적어도 하나의 증상을 경험했고/했거나 나타냈다. 일부 실시형태에서, 대상체는 야생형 KRas 또는 KRas G12A, G12C, G12D, G12R, G12S, G12V, G13D 및/또는 Q61H 돌연변이를 갖는 암을 갖는 것으로 확인되거나 진단되었다(예를 들어, 규제 기관-승인된, 예를 들어 FDA-승인된 검정 또는 키트를 사용하여 결정된 바와 같음). 일부 실시형태에서, 대상체는 야생형 KRas 또는 KRas G12A, G12C, G12D, G12R, G12S, G12V, G13D 및/또는 Q61H 돌연변이에 대해 양성인 종양을 갖는다(예를 들어, 규제 기관-승인된 검정 또는 키트를 사용하여 결정된 바와 같음). 대상체는 야생형 KRas 또는 KRas G12A, G12C, G12D, G12R, G12S, G12V, G13D 및/또는 Q61H 돌연변이에 대해 양성인 종양(들)을 갖는 대상체일 수 있다(예를 들어, 규제 기관-승인된, 예를 들어 FDA-승인된 검정 또는 키트를 사용하여 양성인 것으로 확임됨). 대상체는 종양이 야생형 KRas 또는 KRas G12A, G12C, G12D, G12R, G12S, G12V, G13D 및/또는 Q61H 돌연변이를 갖는 대상체일 수 있다(예를 들어, 종양이 규제 기관-승인된, 예를 들어 FDA-승인된 키트 또는 검정을 사용하여 이와 같이 확인된 경우). 일부 실시형태에서, 대상체는 야생형 KRas 또는 KRas G12A, KRas G12C, KRas G12D, KRas G12R, KRas G12S, KRas G12V, KRas G13D 또는 KRas Q61H 유전자 관련 암을 갖는 것으로 의심된다. 일부 실시형태에서, 대상체는, 대상체가 야생형 KRas 또는 KRas G12A, G12C, G12D, G12R, G12S, G12V, G13D 및/또는 Q61H 돌연변이를 갖는 종양을 갖는 것을 나타내는 임상 기록을 갖는다(그리고 선택적으로, 임상 기록은 대상체가 본원에 제공된 조성물 중 임의의 것으로 치료받아야 함을 나타낸다).

[0053] 본원에 기재된 임의의 방법 또는 용도의 일부 실시형태에서, 검정은 환자(예를 들어, 야생형 KRas 관련 또는 KRas G12A, G12C, G12D, G12R, G12S, G12V, G13D 및/또는 Q61H 관련 암을 갖는 것으로 의심되는 환자, 야생형 KRas 관련 또는 KRas G12A, G12C, G12D, G12R, G12S, G12V, G13D 및/또는 Q61H 관련 암의 하나 이상의 증상을 갖는 환자, 및/또는 야생형 KRas 관련 또는 KRas G12A, G12C, G12D, G12R, G12S, G12V, G13D 및/또는 Q61H 관련 암 발생 위험이 증가된 환자)로부터의 샘플(예를 들어, 생물학적 샘플 또는 생검 샘플(예를 들어, 파라핀 포매된 생검 샘플)을 사용하여 환자가 야생형 KRas 또는 KRas G12A, G12C, G12D, G12R, G12S, G12V, G13D 및/또는 Q61H 돌연변이를 갖는지를 결정하는 데 사용되고, 이는 예를 들어, 차세대 서열분석, 면역조직화학, 형광 현미경, 분리된 FISH 분석, 서던 블롯팅(Southern blotting), 웨스턴 블롯팅(Western blotting), FACS 분석, 노던 블롯팅(Northern blotting) 및 PCR 기반 증폭(예를 들어, RT-PCR 및 정량적 실시간 RT-PCR)을 포함할 수 있다. 당업계에 잘 알려진 바와 같이, 검정은 전형적으로, 예를 들어, 적어도 하나의 표지된 핵산 프로브 또는 적어도 하나의 표지된 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 사용하여 수행된다.

[0054] 용어 "규제 기관"은 해당 국가의 약제학적 제제의 의료 사용의 승인을 위한 국가 기관이다. 예를 들어, 규제 기관의 비제한적인 예는 미국 식품의약국(FDA)이다.

[0055] 용어 "아실"은 $-C(O)CH_3$을 지칭한다.

[0056] 본원에 사용된 용어 "C1-C6 알킬", "C1-C4 알킬" 및 "C1-C3 알킬"은 각각 1 내지 6개의 탄소 원자, 또는 1 내지 4개의 탄소 원자, 또는 1 내지 3개의 탄소 원자를 갖는 직쇄 및 분지쇄 지방족 기를 지칭한다. 알킬 기의 예는 비제한적으로 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 부틸, 이소부틸, sec-부틸, tert-부틸, 펜틸 및 헥실을 포함한다.

[0057] 용어 "C1-C3 할로알킬" 및 "C1-C4 할로알킬"은 하나 이상의 수소가 할로겐에 의해 대체된, 각각 본원에 정의된 바와 같은 C1-C3 알킬 쇄 또는 C1-C4 알킬 쇄를 지칭한다. 예는 트리플루오로메틸, 디플루오로메틸 및 플루오로메틸을 포함한다.

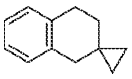
[0058] "C1-C4 알킬렌" 기는, 2개의 다른 화학 기 사이에 포지셔닝되며 2개의 다른 화학 기를 연결하는 역할을 하는, 상기에 정의된 바와 같은 C1-C4 알킬 기이다. 예시적인 알킬렌 기는 비제한적으로 메틸렌, 에틸렌, 프로필렌 및 부틸렌을 포함한다.

[0059] 용어 "C1-C3 알콕시" 및 "C1-C4 알콕시"는 각각 -OC1-C3 알킬 및 -OC1-C4 알킬을 지칭하고, 여기서 알킬 부분은 본원의 상기에 정의된 바와 같다.

[0060] 본원에 사용된 용어 "사이클로알킬"은 3 내지 12개의 탄소, 예를 들어 3 내지 8개의 탄소, 및 추가 예로서 3 내지 6개의 탄소를 갖는 포화된 및 부분적으로 불포화된 환형 탄화수소 기를 포함하고, 여기서 사이클로알킬 기는 추가적으로 본원에 정의된 바와 같은 하나 이상의 R^8 또는 R^9로 선택적으로 치환된다. 사이클로알킬 기의 예는 비제한적으로 사이클로프로필, 사이클로부틸, 사이클로펜틸, 사이클로펜테닐, 사이클로헥실, 사이클로헥세닐, 사이클로헵틸 및 사이클로옥틸을 포함한다. 용어 "사이클로알킬"은 또한 가교된 사이클로알킬, 예컨대 비사이클로 [1.1.1] 펜타닐을 포함한다.

[0061] 본원에 사용되는 바와 같이, 용어 "C1-C3 하이드록시알킬" 및 "C1-C4 하이드록시알킬"은 각각 -C1-C3 알킬렌-OH 및 -C1-C4 알킬렌-OH를 지칭한다.

[0062] 본원에 사용되는 바와 같이, 용어 "C2-C4 하이드록시알키닐"은 -C2-C4 알키닐렌-OH를 지칭한다.

[0063] "아릴" 기는 1 내지 3개의 방향족 고리를 포함하는 C_6-C_{14} 방향족 모이어티이고, 이는 본원에 정의된 바와 같은 하나 이상의 R^8 또는 R^9 기로 선택적으로 치환된다. 하나의 실시형태로서, 아릴 기는 C_6-C_{10} 아릴 기이다. 아릴 기의 예는 비제한적으로 페닐, 나프틸, 안트라세닐, 플루오레닐 및 디하이드로벤조푸라닐을 포함한다. "아릴"은 또한 비사이클릭 또는 트리사이클릭 고리 시스템을 지칭하고, 여기서 상기 아릴 고리 시스템의 각각 1개 또는 2개의 고리는 포화되거나 부분적으로 포화될 수 있고, 상기 고리 시스템이 2개의 포화된 고리를 포함하는 경우, 상기 포화된 고리는 융합되거나 스피로사이클릭일 수 있다. 고리가 스피로사이클릭인, 2개의 포화된 고리를 포함하는 아릴 고리 시스템의 예는 다음 고리 시스템을 포함한다: .

[0064] "아라C1-C6 알킬" 또는 "아릴알킬" 기는 알킬 기에 공유적으로 연결된 아릴 기를 포함하고, 이들 중 어느 하나는 독립적으로, 선택적으로 치환되거나 비치환될 수 있다. 아르알킬 기의 예는, 비제한적으로 벤질, 페네틸, 및 나프틸메틸을 포함하는, (C_6-C_{10})아릴(C_1-C_6)알킬-이다. 치환된 아라C1-C6 알킬의 예는 알킬 기가 하이드록시알킬로 치환된 것이다.

[0065] "헤테로사이클릴" 또는 "헤테로사이클릭" 기는 3 내지 12개의 원자, 예를 들어 4 내지 8개의 원자를 갖는 고리 구조이고, 여기서 하나 이상의 원자는 N, O 및 S로 이루어진 군으로부터 선택되고, 여기서 고리 N 원자는 N-O로 산화될 수 있고, 고리 S 원자는 SO 또는 SO_2로 산화될 수 있고, 고리 원자의 나머지는 탄소이다. 헤테로사이클릴은 모노사이클릭, 비사이클릭, 스피로사이클릭 또는 가교된 고리 시스템일 수 있다. 헤테로사이클릭 기는 하나 이상의 위치에서 고리 탄소 또는 고리 질소 상에서 하나 이상의 R^8 또는 R^9 기로 선택적으로 치환되고, 여기서 R^6은 화학식 I에 대해 정의된 바와 같다. 헤테로사이클릭 기는 또한 독립적으로 고리 질소 원자 상에서 알킬, 아르알킬, 알킬카보닐로, 또는 황 상에서 저급 알킬로 선택적으로 치환된다. 헤테로사이클릭 기의 예는 비제한적으로 에폭시, 아제티디닐, 아지리디닐, 테트라하이드로푸라닐, 테트라하이드로피라닐, 피롤리디닐, 피롤리디노닐, 피페리디닐, 피페라지닐, 이미다졸리디닐, 이미다조피리디닐, 티아졸리디닐, 디티아닐, 트리티아닐, 디옥솔라닐, 옥사졸리디닐, 옥사졸리디노닐, 데카하이드로퀴놀리닐, 피페리도닐, 4-피페리디노닐, 퀴누클리디닐, 티오모폴리닐, 티오모폴리닐 1,1 디옥사이드, 모폴리닐, 아제파닐, 옥사제파닐, 아자비사이클로헥사닐, 아자비사이클로헵타닐, 아자비사이클로옥타닐, 아자비사이클로노나닐(예를 들어, 옥타하이드로인돌리지닐), 아자스피로헵타닐, 디하이드로-1H,3H,5H-옥사졸로[3,4-c]옥사졸릴, 테트라하이드로-1'H,3'H-스피로[사이클로프로판-1,2'-피롤리진], 헥사하이드로-1H-피롤리지닐, 헥사하이드로-1H-피롤로[2,1-c][1,4]옥사지닐, 옥타하이드로인돌리지닐, 옥사아자스피로노나닐, 옥사아자스피로옥타닐, 디아자스피로노나닐, 옥사아자비오사이클로헵타닐, 헥사하이드로피롤리지닐 4(1H)-옥사이드, 테트라하이드로-2H-티오피라닐 1-옥사이드 및 테트라하이드로-2H-티오피라닐 1,1-디옥사이드를 포함한다. 인접한 환형 O 및/또는 S 원자를 갖는 화합물은 이 용어의 범주로부터 특별히 제외된다.

[0066] 본원에 사용되는 바와 같이, 용어 "헤테로아릴"은, 5 내지 14개의 고리 원자, 바람직하게는 5, 6, 9 또는 10개의 고리 원자를 갖고; 사이클릭 어레이에 공유되는 6, 10 또는 14개의 π 전자를 갖고; 탄소 원자 외에, N, O 및 S로 이루어진 군으로부터 선택되는, 고리당 1 내지 3개의 헤테로원자, 또는 적어도 하나의 고리에 1 내지 3개의 헤테로원자를 갖는, 기를 지칭한다. 헤테로아릴 기의 예는 아크리디닐, 아조시닐, 벤즈이미다졸릴, 벤조푸라닐, 벤조티오푸라닐, 벤조티오페닐, 벤족사졸릴, 벤즈티아졸릴, 벤즈트리아졸릴, 벤즈테트라졸릴, 벤즈이속사졸릴, 벤즈이소티아졸릴, 벤즈이미다졸리닐, 카바졸릴, 4aH-카바졸릴, 카볼리닐, 크로마닐, 크로메닐,

신놀리닐, 6,7-디하이드로-5H-피롤로[1,2-a]이미다졸, 푸라닐, 푸라자닐, 이미다졸리닐, 이미다졸릴, 1H-인다졸릴, 인돌레닐, 인돌리닐, 인돌리지닐, 인돌릴, 3H-인돌릴, 이소벤조푸라닐, 이소크로마닐, 이소인다졸릴, 이소인돌리닐, 이소인돌릴, 이소퀴놀리닐, 이소티아졸릴, 이속사졸릴, 메틸렌디옥시페닐, 나프티리디닐, 옥타하이드로이소퀴놀리닐, 옥사디아졸릴, 1,2,3-옥사디아졸릴, 1,2,4-옥사디아졸릴, 1,2,5-옥사디아졸릴, 1,3,4-옥사디아졸릴, 옥사졸리디닐, 옥사졸릴, 옥사졸리디닐, 피리미디닐, 페난트리디닐, 페난트롤리닐, 페나지닐, 페노티아지닐, 페녹사티이닐, 페녹사지닐, 프탈아지닐, 피페로닐, 프테리디닐, 푸리닐, 피라닐, 피라지닐, 피라졸리디닐, 피라졸리닐, 피라졸릴, 피리다지닐, 피리도옥사졸, 피리도이미다졸, 피리도티아졸, 피리디닐, 피리딜, 피리미디닐, 피롤리닐, 2H-피롤릴, 피롤릴, 퀴나졸리닐, 퀴놀리닐, 4H-퀴놀리지닐, 퀴녹살리닐, 퀴누클리디닐, 테트라하이드로이소퀴놀리닐, 테트라하이드로퀴놀리닐, 테트라졸릴, 6H-1,2,5-티아디아지닐, 1,2,3-티아디아졸릴, 1,2,4-티아디아졸릴, 1,2,5-티아디아졸릴, 1,3,4-티아디아졸릴, 티안트레닐, 티아졸릴, 티에닐, 티에노티아졸릴, 티에노옥사졸릴, 티에노이미다졸릴, 티오페닐, 트리아지닐, 1,2,3-트리아졸릴, 1,2,4-트리아졸릴, 1,2,5-트리아졸릴, 1,3,4-트리아졸릴 및 잔테닐을 포함한다. "헤테로아릴"은 또한 탄소 원자 외에 N, O 및 S로 이루어진 군으로부터 선택되는 헤테로원자를 고리당 1 내지 3개 갖는 비사이클릭 고리 시스템을 지칭하고, 여기서 하나의 고리 시스템은 포화되거나 부분적으로 포화될 수 있다.

[0067] 본원에서 사용되는 바와 같이, 화합물의 "유효량"은 야생형 KRas, KRas G12A, KRas G12C, KRas G12D, KRas G12R, KRas G12S, KRas G12V, KRas G13D 또는 KRas Q61H 중 하나 이상의 활성을 음성 조절하거나 억제하기에 충분한 양이다. 이러한 양은 단회 투여량으로서 투여될 수 있거나 양생법에 따라 투여될 수 있으며, 이에 따라 효과적이다.

[0068] 본원에 사용되는 바와 같이, 화합물의 "치료적 유효량"은, 질병의 증상을 호전시키거나, 어떠한 식으로든 감소시키거나, 진행을 중단하거나 반전시키거나, 야생형 KRas, KRas G12A, KRas G12C, KRas G12D, KRas G12R, KRas G12S, KRas G12V, KRas G13D 또는 KRas Q61H 중 하나 이상의 활성을 음성 조절하거나 억제하기에 충분한 양이다. 이러한 양은 단회 투여량으로서 투여될 수 있거나 양생법에 따라 투여될 수 있으며, 이에 따라 효과적이다.

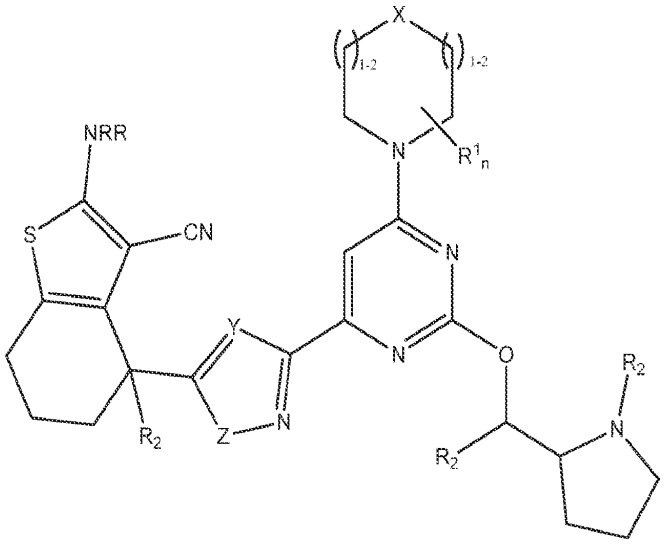
[0069] 본원에 사용되는 바와 같이, 치료는 질병, 장애 또는 질환의 증상 또는 병리가 호전되거나 그렇지 않으면 유리하게 변경되는 임의의 방식을 의미한다. 치료는 또한 본원의 조성물의 임의의 약제학적 사용을 포괄한다.

[0070] 본원에 사용되는 바와 같이, 특정 약제학적 조성물의 투여에 의한 특정 장애의 증상의 호전은, 조성물의 투여에 기인하거나 이와 관련될 수 있는, 영구적이든 일시적이든, 지속적이든 순간적이든, 임의의 경감을 지칭한다.

[0071] 화합물

[0072] 본 발명의 하나의 양태에서, 하기 화학식 I 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염으로 표시되는 화합물이 제공된다:

[0073] [화학식 I]



[0074]

[0075] 상기 식에서,

[0076] X는 CR, O 또는 N이고;

[0077] Y는 CR 또는 N이고;

[0078] Z는 O 또는 S이고;

[0079] n은 1 내지 4의 정수이고;

[0080] 각각의 R은 독립적으로 H 또는 C1-C3 알킬이고;

[0081] R^1은 C1-C3 알킬 또는 하이드록시이거나;

[0082] n은 적어도 2이고, 2개의 R^1은 선택적으로 결합하여 메틸렌 또는 에틸렌 가교를 형성하거나;

[0083] n은 적어도 2이고, 2개의 R^1은 선택적으로 결합하여 스피로 또는 융합 고리를 형성하고, 고리는 헤테로사이클릭 또는 헤테로아릴이고, 고리는 옥소 및 -C(O)N(CH3)(CH3)으로부터 선택된 1 내지 2개의 치환기로 선택적으로 치환되고;

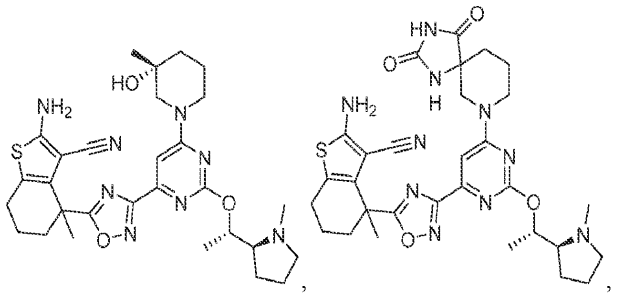
[0084] 각각의 R^2는 독립적으로 C1-C3 알킬이다.

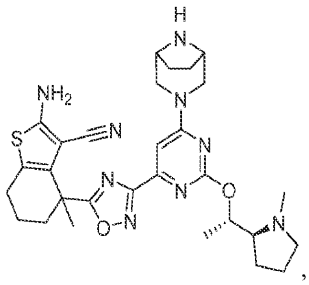
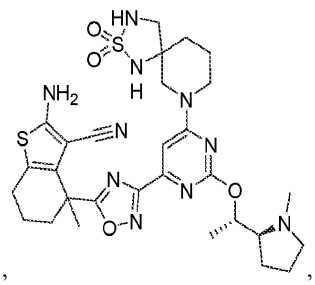
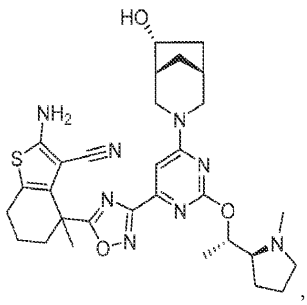
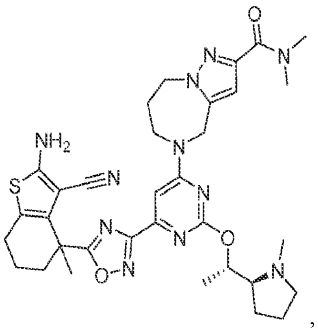
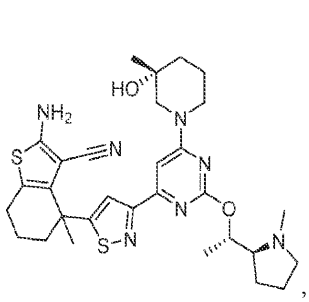
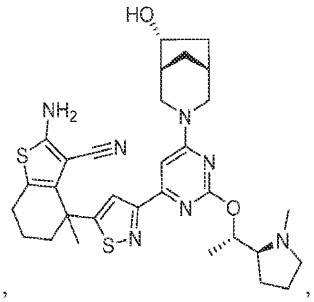
[0085] 본 발명의 특정 실시형태에서, n은 2이고, 2개의 R^1은 S 및 N 원자를 포함하는 포화 헤테로사이클릭 고리를 형성한다.

[0086] 본 발명의 특정 실시형태에서, 2개의 R^1에 의해 형성된 포화 헤테로사이클릭 고리는 2개의 옥소로 치환된다.

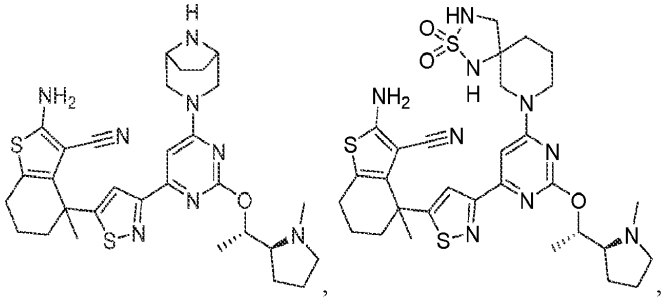
[0087] 본 발명의 특정 실시형태에서, n은 2이고; 하나의 R^1은 OH이고, 나머지 하나의 R^1은 CH_3이다.

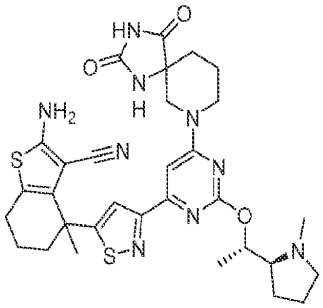
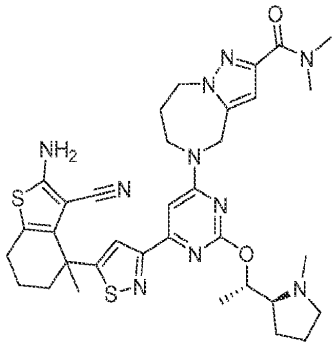
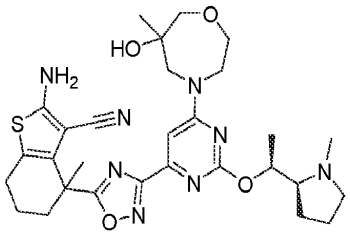
[0088] 화학식 I의 화합물의 비제한적인 예는 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된다:


,

,

,

,

,

,

,

,

[0089]


,

,

,

,

,

[0090] 및 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염.

[0091] 하나의 실시형태에서, 화학식 I의 화합물은 상기 화합물의 비스-하이드로클로라이드, 트리스-하이드로클로라이드, 트리플루오로아세트산, 비스-트리플루오로아세트산 및 트리스-트리플루오르아세트산 염을 포함한다. 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염은 약제학적 조성물로 제형화될 수 있다.

[0092] 약제학적 조성물

[0093] 또 다른 양태에서, 본 발명은 본 발명에 따른 야생형 KRas, KRas G12A, KRas G12C, KRas G12D, KRas G12R, KRas G12S, KRas G12V, KRas G13D 및/또는 KRas Q61H 억제제, 및 약제학적으로 허용 가능한 담체, 부형제 또는 희석제를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다. 본 발명의 화합물은 당업계에 잘 알려진 임의의 방법에 의해 제형화될 수 있고, 비제한적으로, 비경구, 복강내, 피내, 심장내, 심실내, 두개내, 뇌척수내, 활막내, 경막내 투여, 근육내 주사, 유리체내 주사, 정맥내 주사, 동맥내 주사, 경구, 협측, 설하, 경피, 국소, 비강내, 기관내, 직장내, 피하 및 국소 투여를 포함하는 임의의 경로에 의한 투여를 위해 제조될 수 있다. 특정 실시형태에서, 본 발명의 화합물은 병원 환경에서 정맥내로 투여된다. 하나의 실시형태에서, 투여는 경구 경로에 의해 이루어질 수 있다. 일부 실시형태에서, 제공된 약제학적 조성물은 전신 주사에 의해, 예컨대 정맥내 주사에 의해; 또는 관련 부위로의 주사 또는 적용에 의해, 예컨대 주사기를 통한 직접 주사에 의해, 또는 부위가 수술에 노출되는 경우 부위로의 직접 적용에 의해; 또는 국소 투여에 의해 치료를 필요로 하는 대상체에게 투여될 수 있다.

[0094] 비경구 투여는 볼루스 주사 또는 연속 주입에 의해 이루어질 수 있다. 주사용 약제학적 조성물은 첨가된 보존제와 함께 단위 투여형, 예를 들어 앰플 또는 다회 용량 컨테이너로 제공될 수 있다.

[0095] 제공된 약제학적 조성물은 또한 데포 조제물로서 제형화될 수 있다. 이러한 장기 작용 제형은 이식에 의해(예를 들어, 피하로 또는 근육내로) 또는 근육내 주사에 의해 투여될 수 있다. 따라서, 예를 들어, 제형은 적합한 중합체 또는 소수성 물질(예를 들어 허용 가능한 오일 중의 에멀젼으로서) 또는 이온 교환 수지를 사용하여, 또는 난용성 유도체로, 예를 들어, 난용성 염으로 개질될 수 있다.

[0096] 약제학적 조성물은, 요망되는 경우, 바이알, 팩 또는 의료 디바이스로 제공될 수 있고, 이는 활성 성분을 포함

하는 하나 이상의 단위 투여형을 포함할 수 있는 디스펜서 디바이스를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 하나의 실시형태에서, 디스펜서 디바이스는 주사용으로 준비가 된 단회 용량의 액체 제형을 갖는 주사기를 포함할 수 있다. 투여를 위한 지침이 주사기에 수반될 수 있다.

[0097] 담체의 특성은 투여 경로에 따라 달라질 것이다. 본원에 사용되는 바와 같이, 용어 "약제학적으로 허용 가능한"은, 생물학적 시스템, 예컨대 세포, 세포 배양물, 조직 또는 유기체와 양립 가능하고, 활성 성분(들)의 생물학적 활성의 효과를 방해하지 않는 비독성 물질을 의미한다. 따라서, 본 발명에 따른 조성물은 억제제 이외에, 희석제, 충전제, 염, 완충제, 안정화제, 가용화제 및 당업계에 잘 알려진 다른 물질을 함유할 수 있다. 약제학적으로 허용 가능한 제형의 제조는 예를 들어 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Edition, ed. A. Gennaro, Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1990.]에 기재되어 있다.

[0098] 본원에 사용되는 바와 같이, 용어 약제학적으로 허용 가능한 염은, 상기 확인된 화합물의 요망되는 생물학적 활성을 보유하고 요망되지 않는 독성 효과를 최소로 나타내거나 나타내지 않는 염을 지칭한다. 이러한 염의 예는 무기 산(예를 들어, 염산, 브롬화수소산, 황산, 인산, 질산 등)을 사용하여 형성된 산 부가염, 및 유기 산, 예컨대 아세트산, 옥살산, 타르타르산, 석신산, 말산, 아스코르브산, 벤조산, 탄닌산, 파모산, 알긴산, 폴리글루탐산, 나프탈렌설폰산, 나프탈렌디설폰산 및 폴리갈락투론산을 사용하여 형성된 염을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 화합물은 또한 구체적으로 화학식 -NR+Z-의 4차 암모늄 염을 포함하는, 당업자에게 알려진 약제학적으로 허용 가능한 4차 염으로서 투여될 수 있고, 여기서 R은 수소, 알킬 또는 벤질이고, Z는 클로라이드, 브로마이드, 요오다이드, -O-알킬, 톨루엔설포네이트, 메틸설포네이트, 설포네이트, 포스페이트 또는 카복실레이트(예컨대 벤조에이트, 석시네이트, 아세테이트, 글리콜레이트, 말레에이트, 말레이트, 시트레이트, 타르트레이트, 아스코르베이트, 벤조에이트, 신나모에이트, 만델로에이트, 벤질로에이트 및 디페닐아세테이트)를 포함하는 반대 이온이다.

[0099] 활성 화합물은 치료받는 환자에서 심각한 독성 효과를 야기하지 않으면서 치료적 유효량을 환자에게 전달하기에 충분한 양으로 약제학적으로 허용 가능한 담체 또는 희석제 중에 포함된다. 하나의 실시형태에서, 상기 언급된 모든 질병에 대한 활성 화합물의 용량은 1일당 약 0.01 내지 300 mg/kg, 예를 들어 0.1 내지 100 mg/kg, 및 추가 예로서 1일당 수용자 체중 1 kg당 0.5 내지 약 25 mg의 범위이다. 전형적인 국소 투여량은 적합한 담체 중 0.01 내지 3% wt/wt 범위일 것이다. 약제학적으로 허용 가능한 유도체의 유효 투여량 범위는 전달되는 모 화합물의 중량을 기준으로 계산될 수 있다. 유도체가 그 자체로 활성을 나타내는 경우, 유효 투여량은 유도체의 중량을 사용하여 위와 같이, 또는 당업자에게 알려진 다른 수단에 의해 추정될 수 있다.

[0100] 본 발명의 화합물을 포함하는 약제학적 조성물은 본원에 기재된 사용 방법에 사용될 수 있다.

[0101] 사용 방법

[0102] 또 다른 양태에서, 본 발명은 야생형 KRas, KRas G12A, KRas G12C, KRas G12D, KRas G12R, KRas G12S, KRas G12V 및/또는 Q61H 활성의 억제가 요망되는 세포를, 유효량의 화학식 I의 화합물, 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 또는 상기 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 함유하는 약제학적 조성물과 접촉시키는 단계를 포함하는, 세포에서 야생형 KRas, KRas G12A, KRas G12C, KRas G12D, KRas G12R, KRas G12S, KRas G12V 및/또는 KRas Q61H 활성을 억제하는 방법을 제공한다. 하나의 실시형태에서, 접촉은 시험관 내에서 이루어진다. 하나의 실시형태에서, 접촉은 생체 내에서 이루어진다.

[0103] 본원에 사용되는 바와 같이, 용어 "접촉하는"은 시험관 내 시스템 또는 생체 내 시스템에서 표시된 모이어티를 합치는 것을 지칭한다. 예를 들어, 야생형 KRas, KRas G12A, KRas G12C, KRas G12D, KRas G12R, KRas G12S, KRas G12V, KRas G13D 및/또는 KRas Q61H를 본원에 제공된 화합물과 "접촉시키는(contacting)" 것은, 야생형 KRas 또는 KRas G12A, KRas G12C, KRas G12D, KRas G12R, KRas G12S, KRas G12V, KRas G13D 및/또는 KRas Q61H 돌연변이를 갖는 개체 또는 환자, 예컨대 인간에게 본원에 제공된 화합물을 투여하는 것, 뿐만 아니라, 예를 들어, 본원에 제공된 화합물을 야생형 KRas 또는 KRas G12A, KRas G12C, KRas G12D, KRas G12R, KRas G12S, KRas G12V, KRas G13D 또는 KRas Q61H 돌연변이를 함유하는 세포 조제물 또는 정제된 조제물을 함유하는 샘플로 도입하는 것을 포함한다.

[0104] 하나의 실시형태에서, 야생형 KRas 또는 KRas G12A, KRas G12C, KRas G12D, KRas G12R, KRas G12S, KRas G12V, KRas G13D 및/또는 KRas Q61H 활성의 억제가 요망되는 세포는 유효량의 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염과 접촉되어 야생형 KRas 또는 KRas G12A, KRas G12C, KRas G12D, KRas G12R, KRas G12S, KRas G12V, KRas G13D 및 KRas Q61H 중 하나 이상의 활성을 음성 조절한다.

[0105] 야생형 KRas 또는 KRas G12A, KRas G12C, KRas G12D, KRas G12R, KRas G12S, KRas G12V, KRas G13D 및 KRas Q61H 중 하나 이상의 활성을 음성 조절함으로써, 본원에 기재된 방법은, 세포 내에서 향상된 야생형 KRas 또는 KRas G12A, KRas G12C, KRas G12D, KRas G12R, KRas G12S, KRas G12V, KRas G13D 및/또는 KRas Q61H 활성으로부터 초래된 요망되지 않는 세포 증식을 억제하도록 설계된다. 세포는 야생형 KRas 또는 KRas G12A, KRas G12C, KRas G12D, KRas G12R, KRas G12S, KRas G12V, KRas G13D 및/또는 KRas Q61H의 요망되는 음성 조절에 영향을 미치도록, 특정 치료 양생법에 따라 단회 용량 또는 다회 용량으로 접촉될 수 있다. 야생형 KRas 또는 KRas G12A, KRas G12C, KRas G12D, KRas G12R, KRas G12S, KRas G12V, KRas G13D 및 KRas Q61H 중 하나 이상에 결합하는 화합물의 능력은 하기 실시예 A 및 B에 기재된 것을 포함하는 잘 알려진 방법을 사용하여 시험관 내 모니터링될 수 있다. 또한, 세포에서의 예시적인 화합물의 억제 활성은, 예를 들어 하기 실시예 C에 기재된 방법을 사용하여, 인산화된 ERK의 양의 야생형 KRas 또는 KRas G12A, KRas G12C, KRas G12D, KRas G12R, KRas G12S, KRas G12V, KRas G13D 및/또는 KRas Q61H 활성 중 하나 이상의 억제를 측정함으로써 모니터링될 수 있다.

[0106] 또 다른 양태에서, 암의 치료가 필요한 환자에서 암을 치료하는 방법으로서, 치료적 유효량의 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 또는 상기 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 약제학적 조성물을 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 제공된다.

[0107] 본원에 제공된 조성물 및 방법은 야생형 KRas 관련 또는 KRas G12A, KRas G12C, KRas G12D, KRas G12R, KRas G12S, KRas G12V, KRas G13D 및/또는 KRas Q61H 관련 암의 치료가 필요한 환자에서 야생형 KRas 관련 또는 KRas G12A, KRas G12C, KRas G12D, KRas G12R, KRas G12S, KRas G12V, KRas G13D 및/또는 KRas Q61H 관련 암의 치료에 사용될 수 있고, 이는 치료적 유효량의 화학식 I의 화합물 또는 이의, 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 또는 상기 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 약제학적 조성물을 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함한다. 하나의 실시형태에서, 야생형 KRas 관련 또는 KRas G12A, KRas G12C, KRas G12D, KRas G12R, KRas G12S, KRas G12V, KRas G13D 및/또는 KRas Q61H 관련 암은 폐암이다.

[0108] 본원에 제공된 조성물 및 방법은 종양, 예컨대 폐, 전립선, 유방, 뇌, 피부, 자궁경부 암종, 고환 암종 등을 포함하는 매우 다양한 암의 치료에 사용될 수 있다. 보다 구체적으로, 본 발명의 조성물 및 방법에 의해 치료될 수 있는 암은 성상세포성, 유방, 자궁경부, 결장직장, 자궁내막, 식도, 위, 두경부, 간세포, 후두, 폐, 구강, 난소, 전립선 및 갑상선 암종 및 육종과 같은 종양 유형을 포함하지만 이에 제한되지는 않는다. 보다 구체적으로, 이들 화합물은 다음을 치료하는 데 사용될 수 있다: 심장: 육종(혈관육종, 섬유육종, 횡문근육종, 지방육종), 점액종, 횡문근종, 섬유종, 지방종 및 기형종; 폐: 기관지원성 암종(편평 세포, 미분화 소세포, 미분화 큰세포, 선암종), 폐포(세기관지) 암종, 기관지 선종, 육종, 림프종, 연골종성 과오종, 중피종; 위장: 식도(편평 세포 암종, 선암종, 평활근육종, 림프종), 위(암종, 림프종, 평활근육종), 췌장(관 선암종, 인슐린종, 글루카곤종, 가스트린종, 유암종, 비포마), 소장(선암종, 림프종, 유암종, 카포시 육종, 평활근종, 혈관종, 지방종, 신경섬유종, 섬유종), 대장(선암종, 관상 선종, 융모 선종, 과오종, 평활근종); 비뇨생식관: 신장(선암종, 빌름스 종양(신아세포종), 림프종, 백혈병), 방광 및 요도(편평 세포 암종, 이행 세포 암종, 선암종), 전립선(선암종, 육종), 고환(정상피종, 기형종, 배아 암종, 기형암종, 융모막암종, 육종, 간질 세포 암종, 섬유종, 섬유선종, 선종 종양, 지방종); 간: 간암(간세포 암종), 담관 암종, 간아세포종, 혈관육종, 간세포 선종, 혈관종; 담도: 담낭 암종, 팽대부 암종, 담관암종; 뼈: 골원성 육종(골육종), 섬유육종, 악성 섬유성 조직구종, 연골육종, 유잉 육종, 악성 림프종(망상 세포 육종), 다발성 골수종, 악성 거대 세포 종양 척삭종, 골연골종(골연골성 외골증), 양성 연골종, 연골아세포종, 연골점액섬유종, 유골 골종 및 거대 세포 종양; 신경계: 두개골(골종, 혈관종, 육아종, 황색종, 변형성 골염), 수막(수막종, 수막육종, 신경교종증), 뇌(성상세포종, 수아세포종, 신경교종, 상의세포종, 배아종(송과체종), 다형 교아세포종, 희소돌기아교세포종, 신경초종, 망막아세포종, 선천성 종양), 척수 신경섬유종, 수막종, 신경교종, 육종); 부인과: 자궁(자궁내막 암종), 자궁경관(자궁경부 암종, 자궁경부 전암성 이형성증), 난소(난소 암종(장액성 낭선암종, 점액성 낭선암종, 미분류 암종), 과립난포막 세포 종양, 세르톨리-라이디히 세포 종양, 미분화세포종, 악성 기형종), 외음부(편평 세포 암종, 상피내 암종, 선암종, 섬유육종, 흑색종), 질(투명 세포 암종, 편평 세포 암종, 포도상 육종(배아 횡문근육종), 난관(암종); 혈액학: 혈액(골수성 백혈병(급성 및 만성), 급성 림프아구성 백혈병, 만성 림프구성 백혈병, 골수증식성 질환, 다발성 골수종, 골수이형성 증후군), 호지킨병, 비호지킨 림프종(악성 림프종); 피부: 악성 흑색종, 기저 세포 암종, 편평 세포 암종, 카포시 육종, 기태 이형성 모반, 지방종, 맥관종, 피부섬유종, 켈로이드, 건선; 및 부신: 신경아세포종. 특정 실시형태에서, 암은 비소세포 폐암, 소세포 폐암, 결장직장암, 직장암 또는 췌장암이다. 특정 실시형태에서, 암은 비-소세포 폐암이다.

[0109] 환자에 대한 투여 농도 및 경로는 치료할 암에 따라 달라질 것이다. 화합물, 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 및 이러한 화합물 및 염을 포함하는 약제학적 조성물은 또한 다른 항신생물 화합물, 예를 들어, 화학요법과 공동-투여될 수 있거나, 수술 전에 또는 수술 후에 아쥬반트로서 다른 치료, 예컨대 방사선 또는 외과 개입과의 조합으로 사용될 수 있다.

[0110] 또한 요법에서 사용하기 위한, 본원에 정의된 바와 같은 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 또는 이의 약제학적 조성물이 본원에 제공된다.

[0111] 또한 암의 치료에서 사용하기 위한, 본원에 정의된 바와 같은 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 또는 이의 약제학적 조성물이 본원에 제공된다.

[0112] 또한 야생형 KRas 또는 KRas G12A, KRas G12C, KRas G12D, KRas G12R, KRas G12S, KRas G12V, KRas G13D 및/또는 KRas Q61H의 억제에서 사용하기 위한 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 또는 이의 약제학적 조성물이 본원에 제공된다.

[0113] 또한 야생형 KRas 관련 또는 KRas G12A, KRas G12C, KRas G12D, KRas G12R, KRas G12S, KRas G12V, KRas G13D 및/또는 KRas Q61H 관련 질환 또는 장애의 치료에서 사용하기 위한, 본원에 정의된 바와 같은 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 또는 이의 약제학적 조성물이 본원에 제공된다.

[0114] 또한 암의 치료용 약제의 제조에서의 본원에 정의된 바와 같은 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 용도가 본원에 제공된다.

[0115] 또한 야생형 KRas 또는 KRas G12A, KRas G12C, KRas G12D, KRas G12R, KRas G12S, KRas G12V, KRas G13D 및/또는 KRas Q61H의 활성의 억제용 약제의 제조에서의 본원에 정의된 바와 같은 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 용도가 본원에 제공된다.

[0116] 또한 야생형 KRas 관련 또는 KRas G12A, KRas G12C, KRas G12D, KRas G12R, KRas G12S, KRas G12V, KRas G13D 및/또는 KRas Q61H 관련 질환 또는 장애의 치료용 약제의 제조에서의 본원에 정의된 바와 같은 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 용도가 본원에 제공된다.

[0117] 또한 암의 치료가 필요한 환자에서 암을 치료하는 방법이 본원에 제공되고, 방법은 (a) 암이 야생형 KRas 또는 KRas G12A, KRas G12C, KRas G12D, KRas G12R, KRas G12S, KRas G12V, KRas G13D 및/또는 KRas Q61H 돌연변이와 관련이 있는지를 결정하는 단계(예를 들어 규제 기관-승인된, 예를 들어 FDA-승인된 검정 또는 키트를 사용하여 결정된 바와 같음); 및 (b) 환자에게 치료적 유효량의 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 또는 이의 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함한다.

[0118] 당업자는 적합하고, 알려져 있고 일반적으로 허용되는 세포 및/또는 동물 모델을 사용하는 생체 내 및 시험관 내 시험 둘 모두가, 소정의 장애를 치료하거나 예방하는 시험 화합물의 능력을 예측함을 인식할 것이다.

[0119] 당업자는 건강한 환자 및/또는 소정의 장애를 앓고 있는 환자에서의 처음 인체를 대상으로 하는(first-in-human), 용량 범위 및 효능 시험을 포함하는 인간 임상 시험이 임상 및 의료 분야에 잘 알려진 방법에 따라 완료될 수 있음을 추가로 인식할 것이다.

[0120] 반응식 및 실시예

[0121] 본 발명의 화합물은, 본원에 기재된 합성 방법 및 반응식을 사용하거나, 당업자에게 잘 알려진 다른 시약 및 통상적인 방법을 사용하여 상업적으로 입수 가능한 시약으로부터 제조될 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 화합물은 하기에 약술된 반응식 및 실시예에 따라 제조될 수 있다.

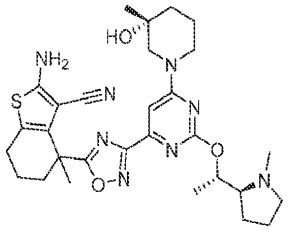
[0122] 본 발명의 화합물은 하나 이상의 키랄 중심을 가질 수 있고, 공간 내 원자의 배열이 상이한 동일한 구성의 이성질체인 입체 이성질체 혼합물로서 합성될 수 있다. 화합물은 혼합물로서 사용될 수 있거나, 개별 구성요소/이성질체는 상업적으로 입수 가능한 시약, 및 당업자에게 잘 알려진 입체 이성질체 및 거울상 이성질체의 통상적인 단리 방법을 사용하여, 예를 들어, 제조업체의 지침에 따라 CHIRALPAK®(Sigma-Aldrich) 또는 CHIRALCEL®(Diacel Corp) 키랄 크로마토그래피 HPLC 컬럼을 사용하여 분리될 수 있다. 대안적으로, 본 발명의 화합물은 개별적인 이성질체 또는 거울상 이성질체를 제조하기 위해 광학적으로 순수한 키랄 시약 및 중간체를 사용하여 합성될 수 있다. 달리 지시되지 않는 한, 모든 키랄(거울상 이성질체 및 부분입체 이성질체) 및 라세미 형태는 본 발명의 범주 내에 있다. 달리 지시되지 않는 한, 청구범위를 포함하는 명세서가 본 발명의 화합물을 지칭할 때마다, 용어 "화합물"은 모든 키랄(거울상 이성질체 및 부분입체 이성질체) 및 라세미 형태를 포괄하는 것으로

이해되어야 한다.

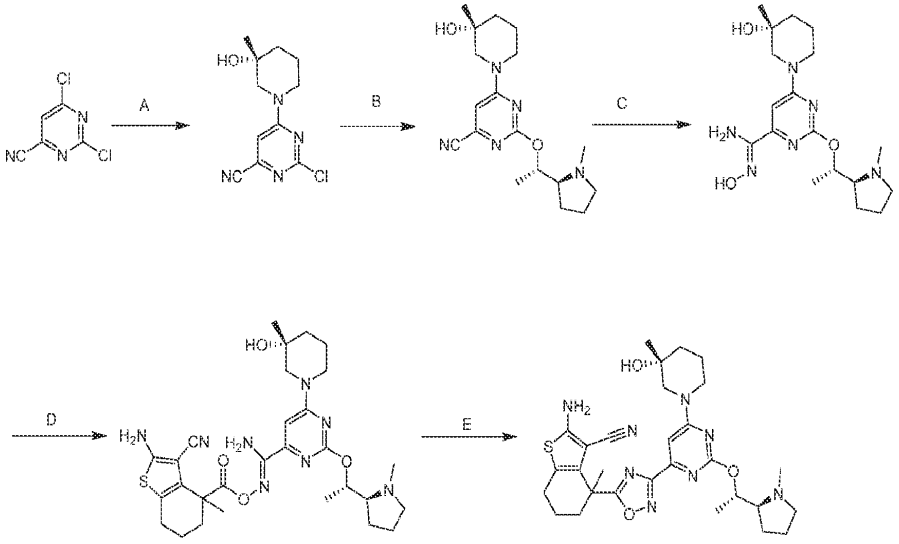
[0123] 본 발명의 화합물은 무수 형태, 용매화된 형태 또는 수화된 형태일 수 있고, 이러한 모든 형태는 본 발명의 범주 내에 포함된다.

[0124] 하기 중간체는 본 발명의 추가의 특정 실시형태를 예시하고자 하는 것이며, 본 발명의 범주를 제한하고자 하는 것이 아니다.

[0125] 실시예 1

[0126] 

[0127] 2-아미노-4-(3-(6-((R)-3-하이드록시-3-메틸피페리딘-1-일)-2-((S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-일)에톡시)피리미딘-4-일)-1,2,4-옥사디아졸-5-일)-4-메틸-4,5,6,7-테트라하이드로벤조[b]티오펜-3-카보니트릴

[0128] 

[0129] 단계 A. (R)-2-클로로-6-(3-하이드록시-3-메틸피페리딘-1-일)피리미딘-4-카보니트릴: DCM(20.0 mL) 중의 2,6-디클로로피리미딘-4-카보니트릴(2.00 g, 11.5 mmol, 1.00 eq)의 용액에 0℃에서 DIEA(2.97 g, 23.0 mmol, 4.00 mL, 2.00 eq)를 적가하였다. 그 다음, (3R)-3-메틸피페리딘-3-올(1.74 g, 11.5 mmol, 1.00 eq, HCl)을 0℃에서 혼합물에 첨가하였다. 생성된 혼합물을 0℃에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물은 0℃에서 H_2O(10.0 mL)를 갖고, 그 다음, DCM 15.0 mL(10.0 mL × 3)로 추출하였다. 합한 유기 층을 염수(20.0 mL)로 세척하고 Na_2SO_4 위에서 건조시키고 여과하고 감압 하에 농축하여 잔류물을 제공하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO_2, 석유 에테르/에틸 아세테이트 20:1 내지 1:1)에 의해 정제하여 표제 화합물(1.70 g, 6.66 mmol, 57.9% 수율, 99.0% 순도)을 황색 고체로서 제공하였다. ^{1}HNMR: (400 MHz, $CDCl_3$) δ 6.83 (s, 1H), 4.60 - 3.50 (m, 2H), 3.20 - 3.12 (m, 2H), 2.00 - 1.65 (m, 2H), 1.64 - 1.51 (m, 2H), 1.33 (s, 3H).

[0130] 단계 B. 6-((R)-3-하이드록시-3-메틸피페리딘-1-일)-2-((S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-일)에톡시)피리미딘-4-카보니트릴: ACN(5.00 mL) 중의 (R)-2-클로로-6-(3-하이드록시-3-메틸피페리딘-1-일)피리미딘-4-카보니트릴(500 mg, 1.98 mmol, 1.00 eq)의 용액에 DIPEA(767 mg, 5.94 mmol, 1.03 mL, 3.00 eq) 및 (S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-일)에탄-1-올(383 mg, 2.97 mmol, 1.50 eq)을 첨가하였다. 반응물을 80℃에서 14시간 동안 교반하였다. 또 다른 배치(batch)의 (S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-일)에탄-1-올(256 mg, 1.98 mmol, 1.00 eq)을 반응물에 첨가하였다. 생성된 혼합물을 80℃에서 16시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 물(10.0 mL)로 켄칭하고 DCM(5.00 mL × 3)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 염수(10.0 mL)로 세척하고 Na_2SO_4 위에서 건조시키고 여과하고 감압 하에 농축하여 잔류물을 제공하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO_2, 석유 에테르/에틸 아세테이

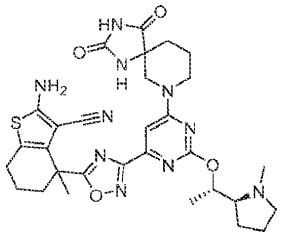
트 = 10:1 내지 DCM/MeOH 50:1)에 의해 정제하여 표제 화합물(400 mg, 1.07 mmol, 53.8% 수율, 92.0% 순도)을 황색 오일로서 제공하였다. ^{1}H NMR: (400 MHz, CDCl3) δ 6.59 (s, 1H), 5.30 - 5.19 (m, 1H), 3.80 - 3.70 (m, 1H), 3.50 - 3.30 (m, 1H), 3.25 - 3.05 (m, 3H), 2.74 - 2.60 (m, 1H), 2.48 (s, 3H), 2.30 - 2.25 (m, 1H), 2.10 - 1.75 (m, 8H), 1.60 - 1.50 (m, 3H), 1.30 - 1.25 (m, 6H).

[0131] 단계 C. (Z)-N'-하이드록시-6-((R)-3-하이드록시-3-메틸피페리딘-1-일)-2-((S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-일)에톡시)피리미딘-4-카복스이미드아미드: EtOH(5.00 mL) 중의 6-((R)-3-하이드록시-3-메틸피페리딘-1-일)-2-((S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-일)에톡시)피리미딘-4-카보니트릴(500 mg, 1.45 mmol, 1.00 eq)의 용액에 Na_2CO_3(199 mg, 1.88 mmol, 1.30 eq)및 $NH_2OH \cdot HCl$(262 mg, 3.76 mmol, 2.60 eq)을 첨가하였다. 생성된 용액을 80℃에서 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하고, 여과액을 감압 하에 농축하여 표제 화합물(540 mg, 미정제)을 황색 고체로서 제공하였다. LCMS(ESI): m/z = 379.3 $(M+1)^+$;

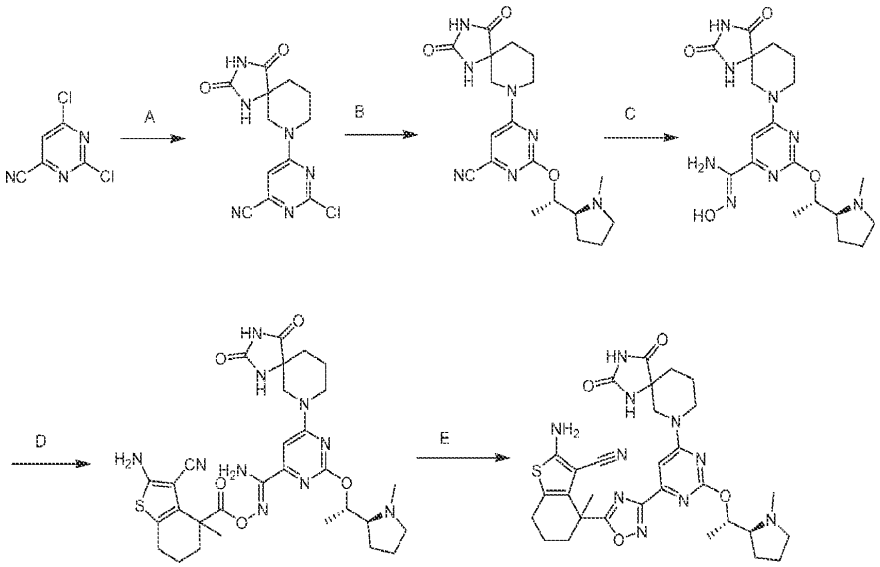
[0132] 단계 D. (Z)-N'-((2-아미노-3-시아노-4-메틸-4,5,6,7-테트라하이드로벤조[b]티오펜-4-카보닐)옥시)-6-((R)-3-하이드록시-3-메틸피페리딘-1-일)-2-((S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-일)에톡시)피리미딘-4-카복스이미드아미드: DMF(1.00 mL) 중의 (Z)-N'-하이드록시-6-((R)-3-하이드록시-3-메틸피페리딘-1-일)-2-((S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-일)에톡시)피리미딘-4-카복스이미드아미드(120 mg, 317 μmol, 1.00 eq) 및 2-아미노-3-시아노-4-메틸-4,5,6,7-테트라하이드로벤조[b]티오펜-4-카복실산(82.4 mg, 349 μmol, 1.10 eq)의 용액에 0℃에서 DIEA(123 mg, 951 μmol, 165.68 μL, 3.00 eq) 및 PyBOP(248 mg, 476 μmol, 1.50 eq)를 첨가하였다. 생성된 용액을 0℃ 내지 rt에서 1시간 동안 교반하였다. 반응물을 농축하고 pre-HPLC(컬럼: Waters Xbridge 150*25 mm* 5 um; 이동상: [물(NH_4HCO_3)-ACN];B%: 38% 내지 68%, 8분)에 의해 정제하여 표제 화합물(100 mg, 153 μmol, 48.2% 수율, 91.2% 순도)을 황색 고체로서 제공하였다. LCMS(ESI): m/z = 597.3 $(M+1)^+$.

[0133] 단계 E. 2-아미노-4-(3-(6-((R)-3-하이드록시-3-메틸피페리딘-1-일)-2-((S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-일)에톡시)피리미딘-4-일)-1,2,4-옥사디아졸-5-일)-4-메틸-4,5,6,7-테트라하이드로벤조[b]티오펜-3-카보니트릴: THF(1.00 mL) 중의 (Z)-N'-((2-아미노-3-시아노-4-메틸-4,5,6,7-테트라하이드로벤조[b]티오펜-4-카보닐)옥시)-6-((R)-3-하이드록시-3-메틸피페리딘-1-일)-2-((S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-일)에톡시)피리미딘-4-카복스이미드아미드(100 mg, 153 μmol, 91.2% 순도, 1.00 eq)의 용액에 0℃에서 Triton B(56.2 mg, 134 μmol, 61.1 μL, 40.0% 순도, 0.9 eq)를 첨가하였다. 생성된 용액을 0℃에서 1시간 동안 교반하였다. 반응물을 감압 하에 농축하였다. 잔류물을 pre-HPLC(컬럼: Waters Xbridge 150*25 mm* 5 um; 이동상: [물(NH_4HCO_3)-ACN]; B%: 45% 내지 75%, 8분)에 의해 정제하고 동결건조시켜 표제 화합물(5.20 mg, 9.60 μmol, 6.28% 수율, 92.6% 순도)을 황색 고체로서 제공하였다. LCMS(ESI): m/z = 579.3 $(M+1)^+$; ^{1}H NMR (400 MHz, MeOD) δ 7.13 (s, 1H), 5.27 - 5.10 (m, 1H), 4.73 - 4.51 (m, 5H), 3.91 - 3.68 (m, 1H), 3.13 (s, 1H), 2.90 - 2.72 (m, 1H), 2.64 - 2.55 (m, 4H), 2.50 - 2.45 (m, 1H), 2.25 - 2.18 (m, 1H), 2.10 - 2.00 (m, 2H), 1.98 - 1.92 (m, 2H), 1.90 - 1.68 (m, 9H), 1.65 - 1.56 (m, 1H), 1.38 - 1.32 (m, 3H), 1.25 (s, 3H).

[0134] 실시예 2

[0135] 

[0136] 2-아미노-4-(3-(6-(2,4-디옥소-1,3,7-트리아자스피로[4.5]데칸-7-일)-2-((S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-일)에톡시)피리미딘-4-일)-1,2,4-옥사디아졸-5-일)-4-메틸-4,5,6,7-테트라하이드로벤조[b]티오펜-3-카보니트릴

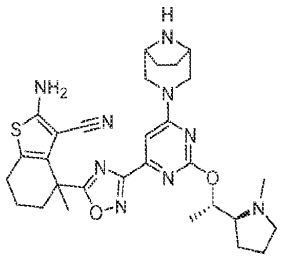


[0137]

[0138] 단계 A 내지 D를 실시예 1 단계 A 내지 D와 같이 수행하였다.

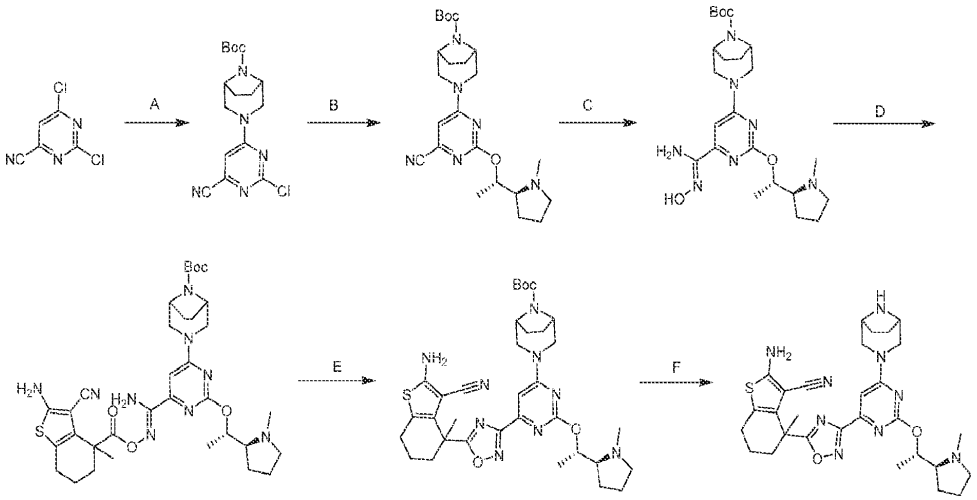
[0139] 단계 E. 2-아미노-4-(3-(6-(2,4-디옥소-1,3,7-트리아자스피로[4.5]데칸-7-일)-2-((S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-일)에톡시)피리미딘-4-일)-1,2,4-옥사디아졸-5-일)-4-메틸-4,5,6,7-테트라하이드로벤조[b]티오펜-3-카보니트릴: DMF(1.00 mL) 중의 (Z)-N'-((2-아미노-3-시아노-4-메틸-4,5,6,7-테트라하이드로벤조[b]티오펜-4-카보닐)옥시)-6-(2,4-디옥소-1,3,7-트리아자스피로[4.5]데칸-7-일)-2-((S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-일)에톡시)피리미딘-4-카복스이미드아미드(110 mg, 149 μmol, 88.0% 순도, 1.00 eq)의 용액에 K_2CO_3(41.12 mg, 297.50 μmol, 2.00 eq)을 첨가하였다. 혼합물을 60 내지 100℃에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 여과한 다음에, 유기 층을 감압 하에 농축하여 잔류물을 제공하였다. 미정제 생성물을 역상 HPLC(컬럼: Waters Xbridge 150*25 mm* 5 um; 이동상: [물(NH_4HCO_3)-ACN]; B%: 29% 내지 59%, 8분)에 의해 정제하여 표제 화합물(15.0 mg, 22.2 μmol, 14.9% 수율, 93.5% 순도)을 황색 고체로서 수득하였다. LCMS(ESI): m/z = 633.3 $(M+1)^+$; ^1H NMR (400 MHz, MeOD) δ 7.17 (s, 1H), 3.18 - 3.15 (m, 8H), 3.14 (s, 1H), 2.60 (s, 1H), 2.61 (m, 1H), 2.52 (m, 2H), 2.39 - 2.35 (m, 1H), 2.24 - 2.12 (m, 2H), 1.98 - 1.93 (m, 3H), 1.88 - 1.69 (m, 14H), 1.32 (d, J = 6 Hz, 3H).

[0140] 실시예 3



[0141]

[0142] 4-(3-(6-((1R,5S)-3,8-디아자비사이클로[3.2.1]옥탄-3-일)-2-((S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-일)에톡시)피리미딘-4-일)-1,2,4-옥사디아졸-5-일)-2-아미노-4-메틸-4,5,6,7-테트라하이드로벤조[b]티오펜-3-카보니트릴

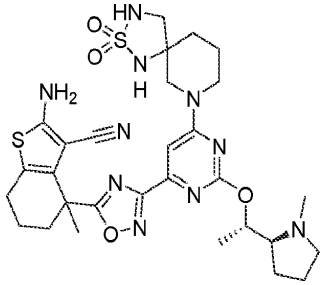


[0143]

[0144] 단계 A 내지 E를 실시예 1 단계 A 내지 E와 같이 수행하였다.

[0145] 단계 F. 4-(3-(6-((1R,5S)-3,8-디아자비사이클로[3.2.1]옥탄-3-일)-2-((S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-일)에톡시)피리미딘-4-일)-1,2,4-옥사디아졸-5-일)-2-아미노-4-메틸-4,5,6,7-테트라하이드로벤조[b]티오펜-3-카보니트릴: 디옥산(1.00 mL) 중의 tert-부틸 (1R,5S)-3-(6-(5-(2-아미노-3-시아노-4-메틸-4,5,6,7-테트라하이드로벤조[b]티오펜-4-일)-1,2,4-옥사디아졸-3-일)-2-((S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-일)에톡시)피리미딘-4-일)-3,8-디아자비사이클로[3.2.1]옥탄-8-카복실레이트(20.0 mg, 28.7 μmol, 97.0% 순도, 1.00 eq)의 용액에 HCl/디옥산(4.0 M, 0.50 mL, 92.9 eq)을 첨가하였다. 혼합물을 25℃에서 4시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축하였다. 잔류물을 물(4.00 mL)로 희석하고 DCM(4.00 mL × 3)으로 추출하였다. 수성 상의 pH를 고체 $NaHCO_3$을 사용하여 8로 조정하고 DCM(4.00 mL × 4)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 염수(4.00 mL× 2)로 세척하고 Na_2SO_4 위에서 건조시키고 여과하고 농축하여 잔류물을 제공하였다. ACN/H2O(1/5, 20V)를 첨가하고 25℃에서 1시간 동안 분쇄한 다음에, 냉동-건조시켜 표제 화합물(10.0 mg, 15.8 μmol, 54.9% 수율)을 황색 고체로서 제공하였다. LCMS(ESI): m/z = 576.3 $(M+1)^+$; ^{1}H NMR (400 MHz, MeOD) δ 7.08 (s, 1H), 5.27 - 5.21 (m, 1H), 3.68 - 3.66 (m, 2H), 3.31 - 3.30 (m, 1H), 3.29 - 3.28 (m, 1H), 3.06 (m, 1H). 2.69 - 2.62 (m, 3H), 2.61 (m, 2H), 2.22 - 2.19 (m, 2H), 2.00 - 1.79 (m, 11H), 1.76 (m, 2H), 1.40 - 1.37 (m, 3H), 1.33 - 1.29 (m, 4H).

[0146] 실시예 4

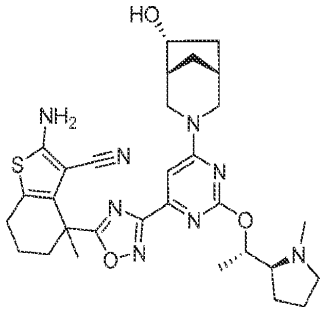


[0147]

[0148] 2-아미노-4-(3-(6-(2,2-디옥시도-2-티아-1,3,7-트리아자스피로[4.5]데칸-7-일)-2-((S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-일)에톡시)피리미딘-4-일)-1,2,4-옥사디아졸-5-일)-4-메틸-4,5,6,7-테트라하이드로벤조[b]티오펜-3-카보니트릴

[0149] 실시예 2에 따라 합성하였다. 표제 화합물을 황색 고체로서 수득하였다. LCMS: M/Z = 655.4 $[M+1]^+$. ^{1}H NMR: 400 MHz MeOD-d^4, δ 8.52 (s, 1H), 7.28 - 7.26 (m, 1H), 5.34 - 5.33 (m, 1H), 4.05 - 3.99 (m, 1H), 3.71 - 3.59 (m, 3H), 3.50 - 3.34 (m, 3H), 3.21 - 3.13 (m, 2H), 3.03 - 2.99 (m, 3H), 2.63 (t, J = 6.00 Hz 2H), 2.37 - 2.34 (m, 1H), 2.26 - 2.09 (m, 3H), 2.04 - 1.92 (m, 6H), 1.90 (s, 3H), 1.84 - 1.78 (m, 2H), 1.48 - 1.47 (d, J = 6.00 Hz 3H).

[0150] 실시예 5

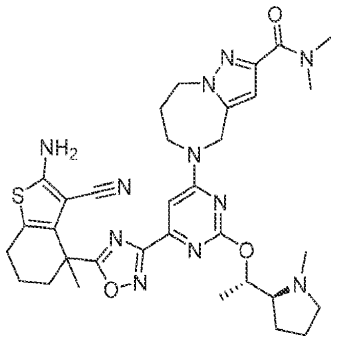


[0151]

[0152] 2-아미노-4-(3-(6-((1R,5R,6R)-6-하이드록시-3-아자비사이클로[3.2.1]옥탄-3-일)-2-((S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-일)에톡시)피리미딘-4-일)-1,2,4-옥사디아졸-5-일)-4-메틸-4,5,6,7-테트라하이드로벤조[b]티오펜-3-카보니트릴

[0153] 실시예 2에 따라 합성하였다. 표제 화합물을 황색 고체(500 mg, 0.804 mmol, 30.5% 수율, 94.3% 순도, 포름산염)로서 수득하였다. LCMS (ESI): m/z = 591.3 $[M+1]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz MeOD-d^4) δ 8.53 (s, 1H), 7.17 - 7.15 (m, 1H), 5.27 (s, 1H), 4.76 - 4.47 (m, 2H), 4.33 - 4.30 (m, 1H), 4.20 - 4.18 (m, 1H), 3.69 - 3.60 (m, 2H), 3.16 - 3.08 (m, 3H), 3.07 - 3.05 (m, 3H), 2.81 - 2.61 (m, 2H), 2.27 - 2.22 (m, 2H), 2.19 - 2.08 (m, 4H), 2.06 - 1.98 (m, 5H), 1.90 (s, 2H), 1.85 - 1.75 (m, 2H), 1.49 - 1.44 (m, 3H), 1.24 - 1.21 (m, 1H).

[0154] 실시예 6

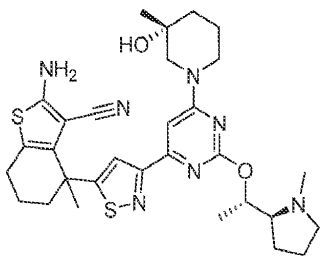


[0155]

[0156] 5-(6-(5-(2-아미노-3-시아노-4-메틸-4,5,6,7-테트라하이드로벤조[b]티오펜-4-일)-1,2,4-옥사디아졸-3-일)-2-((S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-일)에톡시)피리미딘-4-일)-N,N-디메틸-5,6,7,8-테트라하이드로-4H-피라졸로[1,5-a][1,4]디아제핀-2-카복스아미드

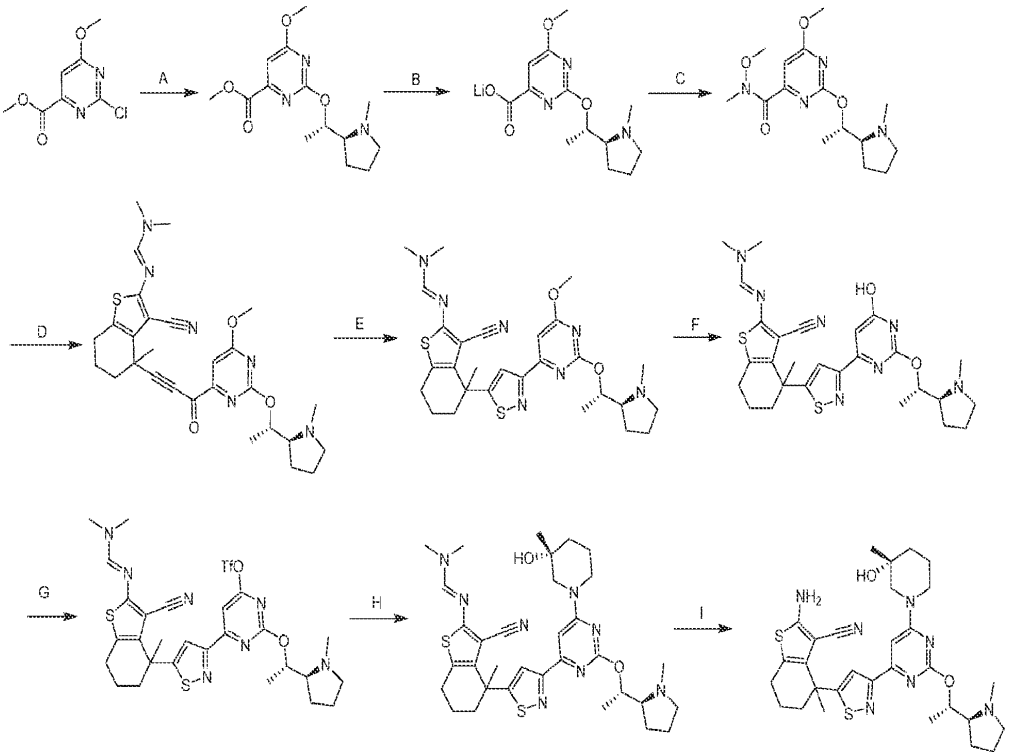
[0157] 실시예 2에 따라 합성하였다. 표제 화합물을 백색 고체(15.4 mg, 21.6 μmol, 14.9% 수율, 94.5% 순도, 포름산염)로서 수득하였다. LCMS(ESI): m/z = 672.3 [M+1]+. ^{1}H NMR (400 MHz MeOD-d^4) δ 8.53 (s, 1H), 7.23 (s, 1H), 6.68 (s, 1H), 5.24 (s, 1H), 4.78 (m, 8H), 4.10 (m, 1H), 3.31 - 3.30 (m, 2H), 3.05 (s, 3H), 2.85 (m, 4H), 2.61 (t, J = 4.00 Hz, 2H), 2.23 (m, 2H), 2.09-1.85 (m, 11H), 1.44 (s, 3H).

[0158] 실시예 7



[0159]

[0160] 2-아미노-4-(3-(6-((R)-3-하이드록시-3-메틸피페리딘-1-일)-2-((S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-일)에톡시)피리미딘-4-일)이소티아졸-5-일)-4-메틸-4,5,6,7-테트라하이드로벤조[b]티오펜-3-카보니트릴



[0161]

[0162] 단계 A: 메틸 6-메톡시-2-((S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-일)에톡시)피리미딘-4-카복실레이트. ACN(200 mL) 중의 메틸 2-클로로-6-메톡시피리미딘-4-카복실레이트(20.0 g, 98.7 mmol) 및 (S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-일)에탄-1-올(15.3 g, 118 mmol)의 혼합물에 20℃에서 N_2 하에 DIPEA(25.5 g, 197 mmol, 34.3 mL)를 한 번에 첨가하였다. 반응물을 80℃까지 가열하고 40시간 동안 교반하였다. 잔류물을 물(200 mL)에 부었다. 수성 혼합물을 디클로로메탄(100 mL × 2)으로 추출하였다. 합한 유기 상을 염수(100 mL)로 세척하고 무수 Na_2SO_4로 건조시키고 여과하고 농축하고 컬럼 크로마토그래피(SiO_2, 석유 에테르:에틸 아세테이트 = 10:1 내지 1:0)에 의해 정제하여 표제 화합물을 황색 고체(18.0 g, 48.7 mmol, 49.4% 수율, 80.0% 순도)로서 제공하였다. LCMS: m/z = 296.2 $(M+1)^+$.

[0163] 단계 B: 리튬 6-메톡시-2-((S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-일)에톡시)피리미딘-4-카복실레이트. MeOH(180 mL) 및 H_2O(90.0 mL) 중의 메틸 6-메톡시-2-((S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-일)에톡시)피리미딘-4-카복실레이트(18.0 g, 48.7 mmol)의 용액에 $LiOH.H_2O$(2.92 g, 121 mmol)를 첨가하였다. 반응물을 20℃에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 물(200 mL)로 희석하고 MTBE(300 mL x 2)로 세척하였다. 수성 혼합물을 동결건조시켜 표제 화합물(14.0 g, 41.3 mmol, 84.9% 수율, 83.1% 순도)을 황색 고체로서 제공하였다.

[0164] 단계 C: N,6-디메톡시-N-메틸-2-((S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-일)에톡시)피리미딘-4-카복스아미드. DMF(100 mL) 중의 리튬 6-메톡시-2-((S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-일)에톡시)피리미딘-4-카복실레이트(14.0 g, 49.7 mmol) 및 N,O-디메틸하이드록실아민 하이드로클로라이드(9.71 g, 99.5 mmol)의 용액에 DIEA(32.1 g, 248 mmol) 및 HATU(22.7 g, 59.7 mmol)를 첨가하였다. 반응물을 25℃에서 1시간 동안 교반하였다. 혼합물을 물(500 mL)로 희석하고 디클로로메탄(100 mL × 2)으로 추출하였다. 합한 유기 상을 염수(500 mL)로 세척하고 무수 Na_2SO_4로 건조시키고 여과하고 농축하고 역상 HPLC(0.1% FA 조건)로 정제하여 표제 화합물(8.70 g, 26.8 mmol, 53.9% 수율)을 황색 오일로서 제공하였다.

[0165] 단계 D: (E)-N'-(3-시아노-4-(3-(6-메톡시-2-((S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-일)에톡시)피리미딘-4-일)-3-옥소프로프-1-인-1-일)-4-메틸-4,5,6,7-테트라하이드로벤조[b]티오펜-2-일)-N,N-디메틸포름이미드아미드. -78℃에서 THF(50.0 mL) 중의 (E)-N'-(3-시아노-4-에티닐-4-메틸-4,5,6,7-테트라하이드로벤조[b]티오펜-2-일)-N,N-디메틸포름이미드아미드(8.01 g, 29.50 mmol)의 용액에 LiHMDS(1 M, 67.0 mL)를 적가하였다. 혼합물을 -78℃에서 0.5시간 동안 교반하였다. THF(50.0 mL) 중의 N,6-디메톡시-N-메틸-2-((S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-일)에톡시)피리미딘-4-카복스아미드(8.70 g, 26.8 mmol)의 용액을 -78℃에서 첨가하였다. 반응물을 -78℃에서 2시간 동안 교반하였다. 잔류물을 NH_4Cl(aq)(50.0 mL)에 붓고 교반하고, 혼합물을 에틸 아세테이트(50.0 mL × 2)로 추출하였

다. 합한 유기 상을 염수(50.0 mL)로 세척하고 무수 Na_2SO_4로 건조시키고 여과하고 컬럼 크로마토그래피(SiO_2, 석유 에테르/에틸 아세테이트: 10:1 내지 0:1)로 정제하여 표제 화합물(11.0 g, 18.1 mmol, 67.5% 수율, 84.2% 순도)을 황색 고체로서 제공하였다. LCMS: m/z = 535.3 $(M+1)^+$.

[0166] 단계 E: (E)-N'-(3-시아노-4-(3-(6-메톡시-2-((S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-일)에톡시)피리미딘-4-일)이소티아졸-5-일)-4-메틸-4,5,6,7-테트라하이드로벤조[b]티오펜-2-일)-N,N-디메틸포름이미드아미드. MeOH(10.0 mL) 중의 (E)-N'-(3-시아노-4-(3-(6-메톡시-2-((S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-일)에톡시)피리미딘-4-일)-3-옥소프로프-1-인-1-일)-4-메틸-4,5,6,7-테트라하이드로벤조[b]티오펜-2-일)-N,N-디메틸포름이미드아미드(1.00 g, 1.87 mmol)의 용액에 NH_2OSO_3H(232 mg, 2.06 mmol)를 조금씩 첨가하였다. 반응물을 25℃에서 4시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물에 NaHS(262 mg, 4.68 mmol) 및 $NaHCO_3$(172 mg, 2.06 mmol)을 첨가하였다. 반응물을 50℃에서 1시간 동안 교반하였다. 잔류물을 물(20.0 mL)로 희석하고 디클로로메탄(20.0 mL × 2)으로 추출하였다. 합한 유기 상을 염수(20.0 mL)로 세척하고 무수 Na_2SO_4로 건조시키고 여과하고 농축하고 역상 HPLC(컬럼: Phenomenex Luna C18 150*25 mm*10 um; 이동상: [물(FA)-ACN]; B%: 23%-53%, 10분)에 의해 정제하여 표제 화합물을 황색 고체(200 mg, 0.33 mmol, 17.8% 수율, 85.0% 순도)로서 제공하였다. ^1H NMR: (400 MHz MeOD-d^4) δ 7.90 (s, 1H), 7.75 (d, J = 10.8 Hz 1H), 7.17 (d, J = 2.00 Hz 1H), 5.35 - 5.31 (m, 1H), 4.02 (s, 3H), 3.14 (s, 3H), 3.07 (s, 3H), 2.78 - 2.70 (m, 3H), 2.58 - 2.53 (m, 3H), 2.39 - 2.38 (m, 1H), 2.09 - 2.03 (m, 2H), 2.02 - 2.00 (m, 1H), 1.95 (s, 3H), 1.92 - 1.86 (m, 2H), 1.83 - 1.77 (m, 4H), 1.39 - 1.37 (m, 3H)

[0167] 단계 F: (E)-N'-(3-시아노-4-(3-(6-하이드록시-2-((S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-일)에톡시)피리미딘-4-일)이소티아졸-5-일)-4-메틸-4,5,6,7-테트라하이드로벤조[b]티오펜-2-일)-N,N-디메틸포름이미드아미드. (E)-N'-(3-시아노-4-(3-(6-메톡시-2-((S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-일)에톡시)피리미딘-4-일)이소티아졸-5-일)-4-메틸-4,5,6,7-테트라하이드로벤조[b]티오펜-2-일)-N,N-디메틸포름이미드아미드(2.00 g, 3.54 mmol) 및 ACN(4.00 mL)의 혼합물에 20℃에서 N_2 하에 TMSCl(1.92 g, 17.68 mmol, 2.24 mL) 및 NaI(2.65 g, 17.6 mmol)를 한 번에 첨가하였다. 반응물을 60℃에서 2시간 동안 가열하였다. 반응물을 얼음물(20.0 mL)에 붓고, 혼합물을 디클로로메탄(10.0 mL × 2)으로 추출하였다. 합한 유기 상을 염수(10.0 mL)로 세척하고 무수 Na_2SO_4로 건조시키고 여과하고 농축하고 컬럼 크로마토그래피에 의해 정제하여 표제 화합물(600 mg, 1.02 mmol, 28.9% 수율, 94.7% 순도)을 황색 고체로서 제공하였다. LCMS: m/z = 552.2 $(M+1)^+$.

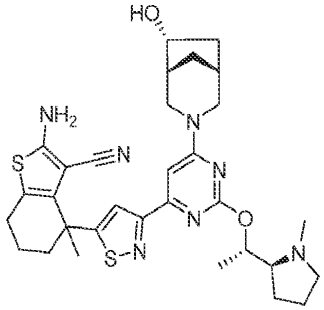
[0168] 단계 G: 6-(5-(3-시아노-2-(((E)-(디메틸아미노)메틸렌)아미노)-4-메틸-4,5,6,7-테트라하이드로벤조[b]티오펜-4-일)이소티아졸-3-일)-2-((S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-일)에톡시)피리미딘-4-일 트리플루오로메탄설포네이트. (E)-N'-(3-시아노-4-(3-(6-하이드록시-2-((S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-일)에톡시)피리미딘-4-일)이소티아졸-5-일)-4-메틸-4,5,6,7-테트라하이드로벤조[b]티오펜-2-일)-N,N-디메틸포름이미드아미드(400 mg, 725 μmol) 및 DCM(4.00 mL)의 혼합물에 20℃에서 N_2 하에 DIEA(18.7 mg, 145 μmol) 및 Tf_2O(40.9 mg, 145 μmol, 23.92 uL)를 한 번에 첨가하였다. 반응물을 4시간 동안 교반하였다. 혼합물을 얼음물(10.0 mL)에 붓고, 수성 혼합물을 디클로로메탄(10.0 mL × 2)으로 추출하였다. 합한 유기 상을 염수(10.0 mL)로 세척하고 무수 Na_2SO_4로 건조시키고 여과하고 농축하여 표제 화합물(400 mg, 584 μmol, 80.6% 수율)을 황색 고체로서 제공하였다.

[0169] 단계 H. (E)-N'-(3-시아노-4-(3-(6-((R)-3-하이드록시-3-메틸피페리딘-1-일)-2-((S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-일)에톡시)피리미딘-4-일)이소티아졸-5-일)-4-메틸-4,5,6,7-테트라하이드로벤조[b]티오펜-2-일)-N,N-디메틸포름이미드아미드. THF(2.00 mL) 중의 화합물 (R)-3-메틸피페리딘-3-올(25.9 mg, 171 μmol, HCl) 및 6-(5-(3-시아노-2-(((E)-(디메틸아미노)메틸렌)아미노)-4-메틸-4,5,6,7-테트라하이드로벤조[b]티오펜-4-일)이소티아졸-3-일)-2-((S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-일)에톡시)피리미딘-4-일 트리플루오로메탄설포네이트(65.0 mg, 95.0 μmol)의 혼합물에 25℃에서 N_2 하에 DIEA(36.8 mg, 285 μmol, 49.6 uL)를 한 번에 첨가하였다. 반응물을 25℃에서 2시간 동안 교반하고 물(2.00 mL)에 부었다. 수성 혼합물을 에틸 아세테이트(2.00 mL × 3)로 추출하였다. 합한 유기 상을 염수(2.00 mL)로 세척하고 무수 Na_2SO_4로 건조시키고 여과하고 농축하여 표제 화합물을 황색 고체로서 제공하였다. LCMS: m/z = 649.4 $(M+1)^+$

[0170] 단계 I: 2-아미노-4-(3-(6-((R)-3-하이드록시-3-메틸피페리딘-1-일)-2-((S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-일)에톡시)피리미딘-4-일)이소티아졸-5-일)-4-메틸-4,5,6,7-테트라하이드로벤조[b]티오펜-3-카보니트릴. MeOH(2.00 mL) 중의 (E)-N'-(3-시아노-4-(3-(6-((R)-3-하이드록시-3-메틸피페리딘-1-일)-2-((S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-

일)에톡시)피리미딘-4-일)이소티아졸-5-일)-4-메틸-4,5,6,7-테트라하이드로벤조[b]티오펜-2-일)-N,N-디메틸포름이미드아미드(50.0 mg, 미정제)의 용액에 20℃에서 N_2 하에 HCl(12 M, 1.00 mL)을 한 번에 첨가하였다. 반응물을 100℃에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 농축하고 역상 HPLC(컬럼: Phenomenex Luna C18 150*25 mm*10 um; 이동상: [물(FA)-ACN]; B%: 15% 내지 45%, 9분)로 정제하여 표제 화합물을 회백색 고체(12.0 mg, 16.5 μmol, 17.3% 수율, 98.8% 순도, FA 염)로서 제공하였다. LCMS: m/z = 594.3 $(M+1)^+$ ^{1}H NMR: 400 MHz MeOD-d^4: δ7.73 (d, J = 6.40 Hz, 1H), 7.17 (s, 1H), 5.30 - 5.27 (m, 1H), 3.83 (d, J = 13.2 Hz, 1H), 3.47 - 3.41 (m, 2H), 3.25 (s, 1H), 3.02 (s, 1H), 2.69 (s, 3H), 2.62 - 2.59 (m, 3H), 2.05 - 2.02 (m, 4H), 1.91 (s, 3H), 1.88 - 1.75 (m, 7H), 1.65 - 1.62 (m, 2H), 1.40 (d, J = 2.00 Hz, 1H), 1.26 (s, 3H).

[0171] 실시예 8

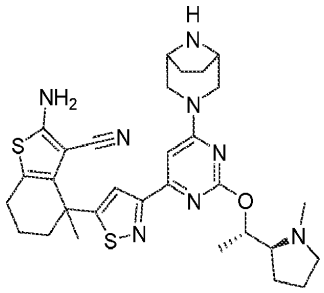


[0172]

[0173] 2-아미노-4-(3-(6-((1R,5R,6R)-6-하이드록시-3-아자비사이클로[3.2.1]옥탄-3-일)-2-((S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-일)에톡시)피리미딘-4-일)이소티아졸-5-일)-4-메틸-4,5,6,7-테트라하이드로벤조[b]티오펜-3-카보니트릴

[0174] 실시예 7에 따라 합성하였다. 표제 화합물을 회백색 고체(포름산 염)로서 수득하였다. ^{1}H NMR: 400 MHz MeOD-d^4: δ7.73 (d, J = 6.40 Hz, 1H), 7.12 (s, 1H), 5.32 - 5.28 (m, 1H), 4.32 - 4.29 (s, 1H), 3.48 - 3.36 (m, 2H), 3.17 - 3.08 (m, 3H), 2.77 (s, 3H), 2.74 - 2.62 (m, 1H), 2.61 - 2.58 (m, 2H), 2.36 (s, 1H), 2.28 - 2.19 (m, 3H), 2.05 - 2.03 (m, 2H), 1.99 - 1.95 (m, 2H), 1.90 (s, 3H), 1.87 - 1.76 (m, 5H), 1.42 (d, J = 6.00 Hz, 3H), 1.28 - 1.24 (m, 2H). LCMS: m/z = 606.3 $(M+1)^+$.

[0175] 실시예 9

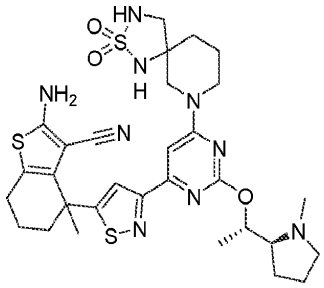


[0176]

[0177] 4-(3-(6-((1R,5S)-3,8-디아자비사이클로[3.2.1]옥탄-3-일)-2-((S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-일)에톡시)피리미딘-4-일)이소티아졸-5-일)-2-아미노-4-메틸-4,5,6,7-테트라하이드로벤조[b]티오펜-3-카보니트릴

[0178] 실시예 7에 따라 합성하였다. 표제 화합물을 회백색 고체(포름산 염)로서 수득하였다. ^{1}H NMR: 400 MHz MeOD-d^4: δ 8.55 (s, 1H), 7.75 (d, J = 7.20 Hz, 1H), 7.15 (s, 1H), 5.30 - 5.27 (m, 1H), 3.79 (s, 2H), 3.41 - 3.39 (m, 3H), 3.25 - 3.24 (m, 2H), 2.85 (s, 4H), 2.61 (t, J = 6.40 Hz 2H), 2.26 (s, 1H), 2.06 - 2.04 (m, 3H), 1.98 - 1.93 (m, 3H), 1.91 - 1.88 (m, 5H), 1.82 - 1.80 (m, 4H), 1.44 (d, J = 6.00 Hz, 3H). LCMS: m/z = 591.3 $(M+1)^+$.

[0179] 실시예 10

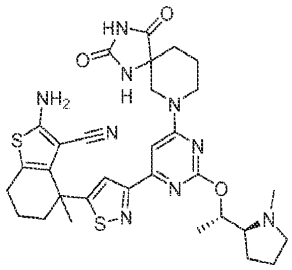


[0180]

[0181] 2-아미노-4-(3-(6-(2,2-디옥시도-2-티아-1,3,7-트리아자스피로[4.5]데칸-7-일)-2-((S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-일)에톡시)피리미딘-4-일)이소티아졸-5-일)-4-메틸-4,5,6,7-테트라하이드로벤조[b]티오펜-3-카보니트릴

[0182] 실시예 7에 따라 합성하였다. 표제 화합물을 회백색 고체(포름산 염)로서 수득하였다. 1H NMR: 400 MHz MeOD-d^4: δ7.76 - 7.74 (m, 1H), 7.23 - 7.22 (m, 1H), 5.37 - 5.34 (m, 1H), 3.72 (s, 1H), 3.39 - 3.35 (m, 4H), 3.19 - 3.16 (m, 2H), 2.74 - 2.61 (m, 4H), 2.61 (s, 2H), 2.31 - 2.15 (m, 1H), 2.03 - 1.96 (m, 6H), 1.91 (s, 3H), 1.86 - 1.81 (m, 6H), 1.44 - 1.39 (m, 3H). LCMS: m/z = 670.2 $(M+1)^+$.

[0183] 실시예 11

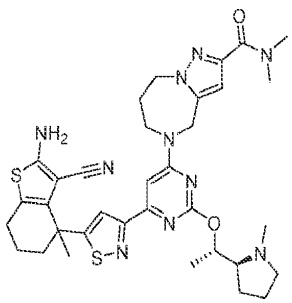


[0184]

[0185] 2-아미노-4-(3-(6-(2,4-디옥소-1,3,7-트리아자스피로[4.5]데칸-7-일)-2-((S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-일)에톡시)피리미딘-4-일)이소티아졸-5-일)-4-메틸-4,5,6,7-테트라하이드로벤조[b]티오펜-3-카보니트릴

[0186] 실시예 7에 따라 합성하였다. 표제 화합물을 회백색 고체(포름산 염)로서 수득하였다. 1H NMR: 400 MHz MeOD-d^4: δ7.76 - 7.74 (m, 1H), 7.24 (s, 1H), 5.25 - 5.22 (m, 1H), 3.55 - 3.46 (m, 2H), 2.92 - 2.88 (m, 1H), 2.82 (s, 3H), 2.63 - 2.59 (m, 3H), 2.23 - 2.17 (m, 3H), 2.05 - 1.98 (m, 6H), 1.91 (s, 3H), 1.87 - 1.80 (m, 4H), 1.42 (d, J = 6.00 Hz, 3H), 1.35 - 1.30 (m, 2H). LCMS: m/z = 648.3 $(M+1)^+$.

[0187] 실시예 12



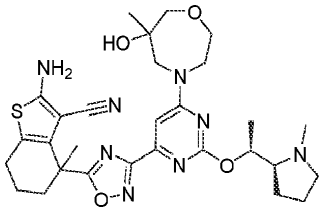
[0188]

[0189] 5-(6-(5-(2-아미노-3-시아노-4-메틸-4,5,6,7-테트라하이드로벤조[b]티오펜-4-일)이소티아졸-3-일)-2-((S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-일)에톡시)피리미딘-4-일)-N,N-디메틸-5,6,7,8-테트라하이드로-4H-피라졸로[1,5-a][1,4]디아제핀-2-카복스아미드

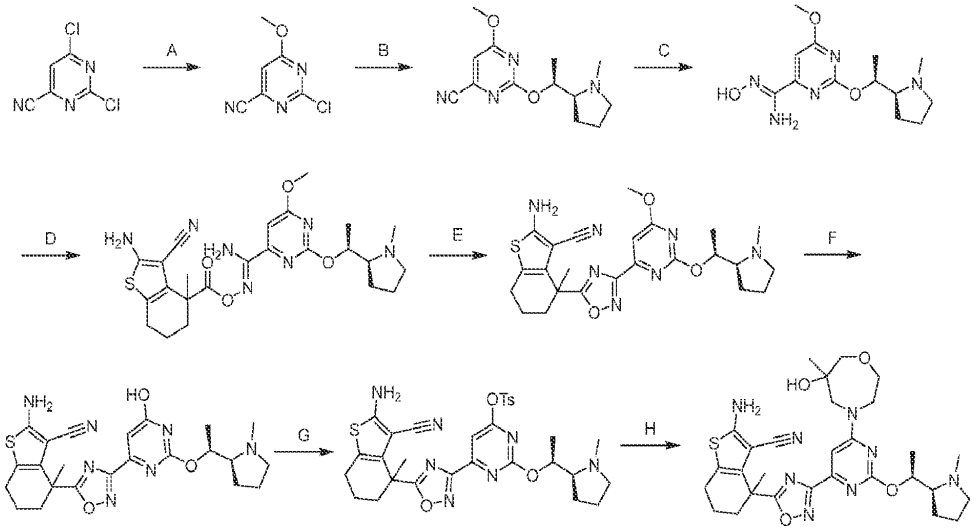
[0190] 실시예 7에 따라 합성하였다. 표제 화합물을 회백색 고체(포름산 염)로서 수득하였다. 1H NMR: 400 MHz MeOD-d^4: δ 7.62 (d, J = 6.40 Hz, 1H), 7.13 (s, 1H), 6.61 (s, 1H), 5.18 (s, 1H), 4.05 (s, 2H), 3.34 - 3.22 (m, 2H), 3.17 (s, 3H), 2.95 (s, 3H), 2.74 (s, 4H), 2.50 - 2.41 (m, 3H), 2.05 - 2.02 (m, 2H), 1.94 -

1.90 (m, 7H), 1.78 (s, 3H), 1.71 - 1.66 (m, 2H), 1.34 - 1.33 (m, 3H), 1.31 - 1.19 (m, 2H). LCMS: m/z = 687.3 $(M+1)^-$.

[0191] 실시예 13

[0192] 

[0193] 2-아미노-4-(3-(6-(6-하이드록시-6-메틸-1,4-옥사제판-4-일)-2-((S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-일)에톡시)피리미딘-4-일)-1,2,4-옥사디아졸-5-일)-4-메틸-4,5,6,7-테트라하이드로벤조[b]티오펜-3-카보니트릴

[0194] 

[0195] 단계 A. 2-클로로-6-메톡시피리미딘-4-카보니트릴: MeOH(200 mL) 중의 2,6-디클로로피리미딘-4-카보니트릴(18.6 g, 1.0 당량)의 용액에 CH_3ONa(19.3 g, 30% 순도, 1.0 당량)를 첨가하였다. 반응물을 -40℃에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 물(500 mL)로 희석하고 에틸 아세테이트(2 × 500 mL)로 추출하였다. 합한 유기 층을 염수(500 mL)로 세척하고 무수 나트륨 설페이트 위에서 건조시키고 농축하고 컬럼 크로마토그래피[SiO_2, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 20/1 내지 5/1]로 정제하여 표제 화합물(15.8 g, 87% 수율)을 황색 고체로서 수득하였다; ^1H NMR (400 MHz, 클로로포름-d) δ = 7.04 (s, 1H), 4.10 (s, 3H).

[0196] 단계 B. 6-메톡시-2-((S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-일)에톡시)피리미딘-4-카보니트릴: 아세토니트릴(200 mL) 중의 2-클로로-6-메톡시피리미딘-4-카보니트릴(15.8 g, 1.0 당량) 및 (1S)-1-[(2S)-1-메틸피롤리딘-2-일]에탄올(12.0 g, 1.0 당량)의 용액에 DIEA(36.1 g, 3.0 당량)를 첨가하였다. 반응물을 70℃에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 물(500 mL)로 희석하고 에틸 아세테이트(2 × 500 mL)로 추출하였다. 합한 유기 층을 염수(500 mL)로 세척하고 무수 나트륨 설페이트 위에서 건조시키고 농축하고 컬럼 크로마토그래피[SiO_2, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 20/1 내지 0/1]로 정제하여 표제 화합물(17.8 g, 73% 수율)을 황색 오일로서 수득하였다; LCMS (ESI, M+1): m/z = 263.3.

[0197] 단계 C. (Z)-N'-하이드록시-6-메톡시-2-((S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-일)에톡시)피리미딘-4-카복스이미드아미드: 에탄올(300 mL) 중의 6-메톡시-2-((S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-일)에톡시)피리미딘-4-카보니트릴(12.5 g, 1.0 당량)의 용액에 0℃에서 $NH_2OH \cdot HCl$(4.30 g, 1.3 당량) 및 Na_2CO_3(13.1 g, 2.6 당량)을 첨가하였다. 반응물을 25℃에서 3시간 동안 교반하였다. 혼합물을 농축하고 물(50 mL)로 희석하고 에틸 아세테이트(2 × 50 mL)로 추출하였다. 합한 유기 층을 염수(50 mL)로 세척하고 무수 나트륨 설페이트 위에서 건조시키고 농축하여 표제 화합물(13.8 g, 미정제)을 황색 고체로서 수득하였다; LCMS (ESI, M+1): m/z = 296.2.

[0198] 단계 D. (Z)-N'-((2-아미노-3-시아노-4-메틸-4,5,6,7-테트라하이드로벤조[b]티오펜-4-카보닐)옥시)-6-메톡시-2-((S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-일)에톡시)피리미딘-4-카복스이미드아미드: DMF(150 mL) 중의 2-아미노-3-시아노

-4-메틸-6,7-디하이드로-5H-벤조티오펜-4-카복실산(9.94 g, 0.9 당량)의 용액에 TEA(14.2 g, 3.0 당량), HOBt(9.47 g, 1.5 당량) 및 EDCI(11.2 g, 1.3 당량)를 첨가하였다. 반응물을 25℃에서 0.5시간 동안 교반하였다. 그 다음, DMF(150 mL) 중의 (Z)-N'-하이드록시-6-메톡시-2-((S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-일)에톡시)피리미딘-4-카복스이미드아미드(13.8 g, 1.0 당량)의 용액을 혼합물에 첨가하였다. 반응물을 45℃에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 물(1 L)로 희석하고 에틸 아세테이트(2 × 1 L)로 추출하였다. 합한 유기 층을 염수(1 L)로 세척하고 무수 나트륨 설페이트 위에서 건조시키고 농축하고 컬럼 크로마토그래피[SiO_2, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1 내지 0/1]로 정제하여 표제 화합물(20.0 g, 71% 수율)을 황색 고체로서 수득하였다; LCMS (ESI, M+1): m/z = 514.2.

[0199] 단계 E. 2-아미노-4-(3-(6-메톡시-2-((S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-일)에톡시)피리미딘-4-일)-1,2,4-옥사디아졸-5-일)-4-메틸-4,5,6,7-테트라하이드로벤조[b]티오펜-3-카보니트릴: THF(200 mL) 중의 (Z)-N'-((2-아미노-3-시아노-4-메틸-4,5,6,7-테트라하이드로벤조[b]티오펜-4-카보닐)옥시)-6-메톡시-2-((S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-일)에톡시)피리미딘-4-카복스이미드아미드(20.0 g, 1.0 당량)의 용액에 Cs_2CO_3(21.6 g, 2.0 당량)을 첨가하였다. 반응물을 70℃에서 1시간 동안 교반하였다. 혼합물을 물(200 mL)로 희석하고 에틸 아세테이트(2 × 200 mL)로 추출하였다. 합한 유기 층을 염수(200 mL)로 세척하고 무수 나트륨 설페이트 위에서 건조시키고 농축하고 컬럼 크로마토그래피[SiO_2, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1 내지 0/1]로 정제하여 표제 화합물(15.0 g, 74% 수율)을 황색 고체로서 수득하였다; LCMS (ESI, M+1): m/z = 496.4.

[0200] 단계 F. 2-아미노-4-(3-(6-하이드록시-2-((S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-일)에톡시)피리미딘-4-일)-1,2,4-옥사디아졸-5-일)-4-메틸-4,5,6,7-테트라하이드로벤조[b]티오펜-3-카보니트릴: DMAc(80 mL) 중의 2-아미노-4-(3-(6-메톡시-2-((S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-일)에톡시)피리미딘-4-일)-1,2,4-옥사디아졸-5-일)-4-메틸-4,5,6,7-테트라하이드로벤조[b]티오펜-3-카보니트릴(8.00 g, 1.0 당량)의 용액에 NaSEt(5.47 g, 5.0 당량)를 첨가하였다. 반응물을 60℃에서 1시간 동안 교반하였다. 혼합물을 물(250 mL)로 희석하고 에틸 아세테이트(2 × 250 mL)로 세척하였다. 수성 상을 농축하고 prep-HPLC[컬럼: Phenomenex luna C18 (250 × 70 mm, 10 μm); 이동상: 물(FA)-ACN; B%: 7% 내지 37% 20분]로 정제하여 표제 화합물(3.80 g, 61% 수율)을 황색 고체로서 수득하였다; LCMS (ESI, M+1): m/z = 482.3.

[0201] 단계 G. 6-(5-(2-아미노-3-시아노-4-메틸-4,5,6,7-테트라하이드로벤조[b]티오펜-4-일)-1,2,4-옥사디아졸-3-일)-2-((S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-일)에톡시)피리미딘-4-일 4-메틸벤젠설포네이트: DCM(40 mL) 중의 2-아미노-4-(3-(6-하이드록시-2-((S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-일)에톡시)피리미딘-4-일)-1,2,4-옥사디아졸-5-일)-4-메틸-4,5,6,7-테트라하이드로벤조[b]티오펜-3-카보니트릴(3.80 g, 1.0 당량) 및 TEA(2.40 g, 3.0 당량)의 용액에 0℃에서 4-메틸벤젠설포닐 클로라이드(2.26 g, 1.5 당량)를 적가하였다. 반응물을 20℃에서 1시간 동안 교반하였다. 혼합물을 물(200 mL)로 희석하고 DCM(2 × 200 mL)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 염수(200 mL)로 세척하고 무수 나트륨 설페이트 위에서 건조시키고 농축하고 컬럼 크로마토그래피[Al_2O_3, 에틸 아세테이트]로 정제하여 표제 화합물(4.00 g, 80% 수율)을 황색 고체로서 수득하였다; LCMS (ESI, M+1): m/z = 636.2.

[0202] 단계 H. 2-아미노-4-(3-(6-(6-하이드록시-6-메틸-1,4-옥사제판-4-일)-2-((S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-일)에톡시)피리미딘-4-일)-1,2,4-옥사디아졸-5-일)-4-메틸-4,5,6,7-테트라하이드로벤조[b]티오펜-3-카보니트릴: DMF(1 mL) 중의 6-(5-(2-아미노-3-시아노-4-메틸-4,5,6,7-테트라하이드로벤조[b]티오펜-4-일)-1,2,4-옥사디아졸-3-일)-2-((S)-1-((S)-1-메틸피롤리딘-2-일)에톡시)피리미딘-4-일 4-메틸벤젠설포네이트(100 mg, 1.0 당량) 및 4Å 분자체(100 mg)의 용액에 6-메틸-1,4-옥사제판-6-올(39.5, 1.5 당량, HCl) 및 DIEA(102 mg, 5.0 당량)를 첨가하였다. 반응물을 80℃에서 1시간 동안 교반하였다. 혼합물을 여과하였다. 여과액을 물(5 mL)로 희석하고 에틸 아세테이트(3 × 8 mL)로 추출하였다. 합한 유기 층을 염수(10 mL)로 세척하고 무수 나트륨 설페이트 위에서 건조시키고 농축하고 prep-HPLC[컬럼: Waters Xbridge 150 × 25 mm × 5 um; 이동상: 물(NH_4HCO_3)-ACN; 구배: 9분에 걸쳐 30% 내지 60% B]로 정제하여 표제 화합물(5.50 mg, 5.8% 수율)을 회백색 고체로서 수득하였다; ^{1}H NMR (400 MHz, 메탄올-d_4) δ = 7.36-7.04 (m, 1H), 5.29-5.19 (m, 1H), 4.05-3.82 (m, 4H), 3.75-3.50 (m, 4H), 3.10-3.05 (m, 1H), 2.75-2.67 (m, 1H), 2.63 (br t, J = 6.0 Hz, 2H), 2.54 (s, 3H), 2.37 (q, J = 8.4 Hz, 1H), 2.28-2.20 (m, 1H), 2.05-1.95 (m, 4H), 1.90 (s, 3H), 1.83-1.74 (m, 3H), 1.37-1.33 (m, 3H), 1.26 (s, 3H); LCMS (ESI, M+1): m/z = 595.4.

[0203] 실시예 A

[0204] KRas 결합 검정

[0205] 본 실시예는 본 발명의 예시적인 화합물이 KRas에 결합하고 KRas 결합 부위를 점유하는 표지된 트레이서 리간드를 대체할 수 있음을 보여준다. $KRas^{WT}$, $KRas^{G12A}$, $KRas^{G12C}$, $KRas^{G12D}$, $KRas^{G12R}$, $KRas^{G12S}$, $KRas^{G12V}$, $KRas^{G13D}$ 또는 $KRas^{Q61H}$를 검정에 사용하였다.

[0206] 화합물이 KRas에 결합하는 능력을 TR-FRET 치환 검정을 사용하여 측정하였다. 비오틴화된 KRas(Accelegan Inc.에서 생산된 아미노산 1 내지 169에 해당)를 완충제(50 mM HEPES, pH 7.5, 5 mM $MgCl_2$, 0.005% Tween-20 및 1 mM DTT) 중에서 맞춤 제작한 Cy5 표지된 트레이서, 테르븀 스트렙타비딘(Cisbio Inc.) 및 화합물(최종 1% DMSO)과 함께 인큐베이션하였다. 실온에서 60-분의 인큐베이션 후에, TR-FRET를 통해 BMG LABTECH CLARIO star Plus를 사용하여 반응을 측정하였다. 100 대조군 퍼센트 (POC, percent of control)는 DMSO 대조군을 사용하여 결정하고, KRas에 대한 트레이서의 결합을 완전하게 억제하는 대조군 화합물의 농도를 사용하여 0 POC를 결정하였다. POC 값을 4-파라미터 IC_{50} 수학식에 피팅하고, IC_{50} 값을 보고하였다.

[0207] [표 1]

[0208] 예시적인 화학식 I의 화합물에 의한 KRas에 대한 결합(IC_{50} nM)

실시예 번호	G12D	G12V	G12R	WT	G13D	Q61H	G12A	G12C	G12S
1	42	43	28	22	74	117	82	106	90
2	18	6	4	14	37	36	49	54	41
3	18	767	728	195	315	656	879	1057	912
4	6	5	4	10	24	26	29	26	23
5	413	62	38	69	269	233	250	313	265
6	1835	746	669	474	1078	1110	1587	1107	1516
7	127	46	23	129	128	170	132	174	158
8	505	96	59	160	167	224	204	275	296
9	36	1042	1340	566	1322	2285	3076	3493	3423
10	3	4	<2	31	24	9	35	15	25
11	93	76	34	326	190	263	240	262	188
12	623	163	156	417	584	533	551	457	596
13	11	6	4						

[0209]

[0210] 실시예 B

[0211] 예시적인 화학식 I의 화합물에 의한 ERK의 KRas 인산화의 억제(HTRF)

[0212] Cisbio HTRF Advanced pERK 검정 카탈로그 #64AERPEH

[0213]  세포: MKN1, PSN1

[0214] 절차:

[0215] · 제1 일: 384-웰 백색 고체 바닥 플레이트에 25 μl/웰씩 6,000 세포/웰을 시딩한다; RPM1_10% FBS. 37℃/5% CO2에서 하룻밤 인큐베이션한다.

[0216] · 제2 일: 1:3으로 10 포인트 희석한 10 mM 화합물 중 25 nl를 에코 전달하고(Cf=10 uM) 37℃/5% CO2에서 3시간 동안 인큐베이션한다.

[0217] · 8.5 μl/웰의 4X 용해 완충제/25X 차단 시약을 첨가하고(배지를 버리지 않음) 진탕기에서 실온에서 30분 동안 인큐베이션한다.

[0218] · 검출 완충제에 희석한 4.25 ul/웰의 1X-pERK-D2 및 1X-pERK-K의 접합체 혼합물을 총 8.5 μl/웰에 첨가한다.

[0219] · 실온에서 4시간 동안 덮은 상태로 인큐베이션한다.

[0220] · ClarioStar를 사용하여 판독한다.

[0221]  세포: ASPC1, H727, A549, H460, HCT116, H358

[0222] 배양/검정 배지: RPMI-1640 + 10% FBS

[0223] 절차:

[0224] 세포 시딩

[0225] 1. 0.05% 트립신/EDTA 용액을 사용하여 플라스크로부터 세포를 채취하는 것. 트립신화를 정지시키기 위해 10 mL의 배지를 첨가한다. 세포를 원뿔형 바닥 50 mL 원심분리관 내에 피펫팅하고 5분 동안 x 1000 rpm으로 원심분리한다.

[0226] 2. 세포 펠릿을 배지에 재현탁하고 세포 수를 센 다음, 신선한 배지를 사용하여 세포 밀도를 조정한다.

[0227] 3. 50 μL 배지를 갖는 세포 배양 플레이트 내에 6,000개의 세포를 시딩한다.

[0228] 4. 세포 플레이트를 37℃, 5% CO2 인큐베이터에서 하룻밤 인큐베이션한다.

[0229] 화합물 적정

[0230] 1. Tecan을 사용하여 화합물 첨가를 완료한다. 화합물은 최고 10 uM, 3-배 희석, 10가지 용량으로부터 시작한다. 최종 DMSO 농도는 0.8%이다. 최소 대조군으로서 0.2 uM Trametinib을 분배한다.

[0231] 2. 세포 플레이트를 인큐베이터에서 3시간 동안 인큐베이션한다.

[0232] cisbio pERK HTRF 키트로 검출

[0233] 1. 1부피의 4x 용해 완충제를 3 부피의 탈이온수로 희석한다. 그 다음, 100X 차단 시약을 첨가한다. 용해 완충제를 얼음 위에 둔다.

[0234] 2. 화합물 처리의 종결 시, 배지를 제거한다.

[0235] 3. Multidrop Combi를 사용하여 웰당 35 μL의 용해 완충제를 첨가한다. 그 다음, 플레이트 교반기 위에 두어 4℃에서 300 rpm으로 40분 동안 진탕한다.

[0236] 4. HTRF 항체 완충제를 구성한다. 각각의 검정 플레이트에 대해 50 μL의 d2-접합체 항체를 950 μL의 검출 완충제와 혼합한다. 유사하게, 50 μL의 Cryptate 항체를 950 μL의 검출 완충제와 혼합한다. 그 다음, 희석된 두 항체를 함께 혼합한다.

[0237] 5. 빈 검정 플레이트의 웰에 항체 완충제 3.4 μL를 분배한다. 플레이트를 밀봉하고 플레이트를 30초 동안 x 1000 rpm으로 원심분리한다.

[0238] 6. 4℃ 용해의 종결 시, 용해물 플레이트를 3분 동안 x 1500 rpm으로 원심분리한다.

[0239] 7. Bravo를 사용하여 세포 배양 플레이트로부터 검정 플레이트로 13.6 μL의 용해물을 옮긴다. 그 다음, 검정 플레이트를 실온에서 2시간 동안 인큐베이션한다.

[0240] 8. 인큐베이션의 종결 시, 플레이트를 30초 동안 x 1000 rpm으로 원심분리한 후에 Envision 상에서 플레이트를 판독한다.

[0241] [표 2]

[0242] 예시적인 화학식 I의 화합물에 의한 ERK의 KRas-매개 인산화의 억제(HTRF IC_{50} nM)

실시예 번호	AsPC-1	H727	MKN1	HCT116	A549	H460	H358	H2009	PSN1
1	3738	6445	593						>10000
3	5945	>10000	>10000						>10000
6	7724	>10000							
7	5835	4474							
8	7401	3376							
9	3011	10000							
10	898	3895	10	962	727	288	216		9303
13	507	469	44	899	689	394	43		>10000

[0243]

[0244] 본 발명은 특정 실시형태와 관련하여 설명되었으나, 추가적인 수정이 가능하며, 본 출원은, 일반적으로 본 발명의 원칙을 따르며, 본 발명이 속하는 기술 분야에서 알려지거나 관례적인 관행에 속하는 바와 같은, 및 상기에 제시된 본질적인 특징에 적용될 수 있는 바와 같은, 그리고 첨부된 청구범위의 범주에 따르는 바와 같은 본 개시내용으로부터의 이러한 벗어남을 포함하는 본 발명의 임의의 변형, 사용 또는 개조를 포함하는 것으로 의도된다는 것이 이해될 것이다.