(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2022년03월08일
(11) 등록번호 10-2372288
(24) 등록일자 2022년03월03일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 417/14 (2006.01) *A61K 31/506* (2006.01)
A61K 31/5355 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
C07D 417/12 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07D 417/14 (2013.01)
A61K 31/506 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2019-7038421
(22) 출원일자(국제) 2018년06월13일
심사청구일자 2021년05월27일
(85) 번역문제출일자 2019년12월26일
(65) 공개번호 10-2020-0014350
(43) 공개일자 2020년02월10일
(86) 국제출원번호 PCT/US2018/037221
(87) 국제공개번호 WO 2018/231910
국제공개일자 2018년12월20일
(30) 우선권주장
62/518,855 2017년06월13일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
WO2013014170 A1
WO2006106437 A2
WO2007141571 A2
Drug Metabolism and Disposition, 2008, 제36권, 제7호, 페이지 1357-1364

(73) 특허권자
내셔날 헬스 리서치 인스티튜트
대만 35053 먀오리 카운티 쥬난 타운 케얀 로드 넘버 35
(72) 발명자
시 추안
미국, 인디애나 46033, 카르멜, 16032 콜레턴 코트
지앙 위어-토른
타이완, 105, 타이페이 시티, 송샨 디스트릭트, 얀쇼우 스트리트, 레인 330, 앨리 16, 넘버 6, 8에프.-3
차이 후이-젠
타이완, 804, 카오시웅 시티, 구샨 디스트릭트, 메이슈 에스. 2 로드, 넘버 18, 11에프
(74) 대리인
특허법인한얼

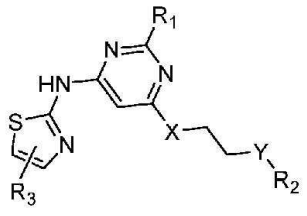
전체 청구항 수 : 총 20 항 심사관 : 이기철

(54) 발명의 명칭 **단백질 키나아제 억제제로서의 아미노티아졸 화합물**

(57) 요 약

하기에 나타낸 화학식 Ⅰ의 아미노티아졸 화합물 및 이러한 화합물 중 하나를 포함하는 약제학적 조성물:

[화학식 Ⅰ]



또한 아미노티아졸 화합물 중 하나를 이용하여 타이로신 키나아제를 억제하고 타이로신 키나아제와 관련된 암을 치료하는 방법이 기재되어 있다.

(52) CPC특허분류
A61K 31/5355 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)
C07D 417/12 (2013.01)

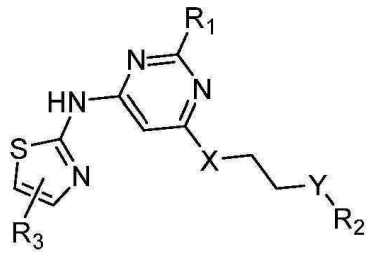
명 세 서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염:

[화학식 I]



상기 식에서,

R_1은 C_{1-6} 알킬 또는 C_{1-6} 티오알킬이고;

X는 O 또는 NR_a이고, 여기서 R_a는 H 또는 C_{1-6} 알킬이고;

Y는 CR_bR_c 또는 NR_d이고, 여기서 R_b 및 R_c는 각각 독립적으로, H, 할로, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 알콕실, 또는 아미노이거나, 또는 R_b는, R_a, R_b에 결합된 탄소 원자, 및 R_a에 결합된 질소 원자와 함께, C_{3-10} 헤테로사이클로알킬이고; R_d는 H 또는 C_{1-6} 알킬이거나, 또는 R_d는, R_a 및, R_d 및 R_a에 결합된 질소 원자와 함께, C_{3-10} 헤테로사이클로알킬이고;

R_2는 $-CH_2CH_2R_e$ 또는 NR_fR_g이고, 여기서 R_e는 H, 할로, C_{1-6} 알킬, 또는 OR_h이고 R_f 및 R_g는 각각 독립적으로, C_{1-6} 알킬 또는 C_{3-8} 사이클로알킬이고, R_h는 H 또는 C_{1-6} 알킬이거나, 또는 R_h는, R_d, R_h에 결합된 산소 원자, 및 R_d에 결합된 질소 원자와 함께, C_{3-10} 헤테로사이클로알킬이며;

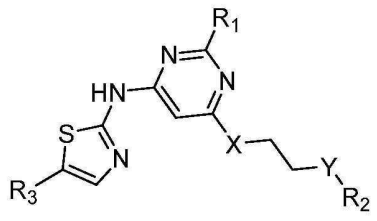
R_3는 독립적으로 하나 이상의 $(CH_2)_nZ$ 모이어티(moiety)(여기서, n은 0 또는 1이고, Z는 H, 할로, CN, OH, CF_3, C_{1-6} 알킬, 또는 C_{1-6} 알콕실이다)로 치환된 6-원 헤테로아릴이거나; 또는 할로, CN, OH, CF_3, C_{1-6} 알킬, 및 C_{1-6} 알콕실로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된 하나 이상의 치환체로 임의 치환된 페닐 고리와 융합된 6-원 헤테로아릴이다.

청구항 2

제1항에 있어서,

화합물이 화학식 II인 화합물 또는 염:

[화학식 II]



상기 식에서,

R_1은 C_{1-6} 알킬이다.

청구항 3

제2항에 있어서,

X는 O이고, Y는 NR_d이고, R_2는 $-CH_2CH_2R_e$이고, 여기서 R_e는 OR_h이고, R_h는, R_d, R_h에 결합된 산소 원자, 및 R_d에 결합된 질소 원자와 함께, C_{3-10} 헤테로사이클로알킬인, 화합물 또는 염.

청구항 4

제2항에 있어서,

X는 NR_a이고 Y는 CR_bR_c 또는 NR_d이고, 여기서 R_a는, R_b, R_a에 결합된 질소 원자, 및 R_b에 결합된 탄소 원자와 함께, C_{3-10} 헤테로사이클로알킬이고; R_c는 H, 할로, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 알콕실, 또는 아미노이고; R_d는, R_a 및, R_a 및 R_d에 결합된 질소 원자와 함께, C_{3-10} 헤테로사이클로알킬인, 화합물 또는 염.

청구항 5

제4항에 있어서,

X는 NR_a이고, Y는 CR_bR_c이고, R_2는 NR_fR_g이고, 여기서 R_a는, R_b, R_a에 결합된 질소 원자, 및 R_b에 결합된 탄소 원자와 함께, C_{3-10} 헤테로사이클로알킬이고; R_c는 H, 할로, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 알콕실, 또는 아미노이고; 각각의 R_f 및 R_g는 C_{1-6} 알킬인, 화합물 또는 염.

청구항 6

제4항에 있어서,

X는 NR_a이고, Y는 NR_d이고, R_2는 $-CH_2CH_2R_e$이고, 여기서 R_a는, R_d 및, R_a 및 R_d에 결합된 질소 원자와 함께 C_{3-10} 헤테로사이클로알킬이고; R_e는 H, 할로, 또는 OR_h이고, R_h는 H 또는 C_{1-6} 알킬인, 화합물 또는 염.

청구항 7

삭제

청구항 8

제1항에 있어서,

R_3가, 독립적으로 하나 이상의 $(CH_2)_nZ$ 모이어티(여기서, n은 0 또는 1이고, Z는 H, 할로, CN, OH, CF_3, C_{1-6} 알킬, 또는 C_{1-6} 알콕실이다)로 치환된 6-원 헤테로아릴인, 화합물 또는 염.

청구항 9

제8항에 있어서,

R_3가 피리딜 또는 피리미딜인, 화합물 또는 염.

청구항 10

삭제

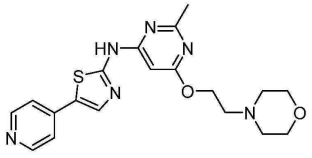
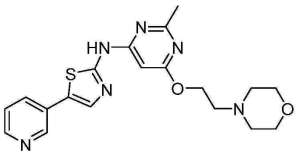
청구항 11

제3항에 있어서,

R_3가 피리딜 또는 피리미딜인, 화합물 또는 염.

청구항 12

제11항에 있어서,

화합물이  또는  인, 화합물 또는 염.

청구항 13

삭제

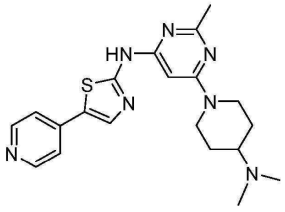
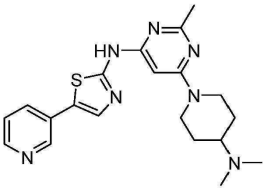
청구항 14

제5항에 있어서,

R_3가 피리딜 또는 피리미딜인, 화합물 또는 염.

청구항 15

제14항에 있어서,

화합물이  또는  인, 화합물 또는 염.

청구항 16

삭제

청구항 17

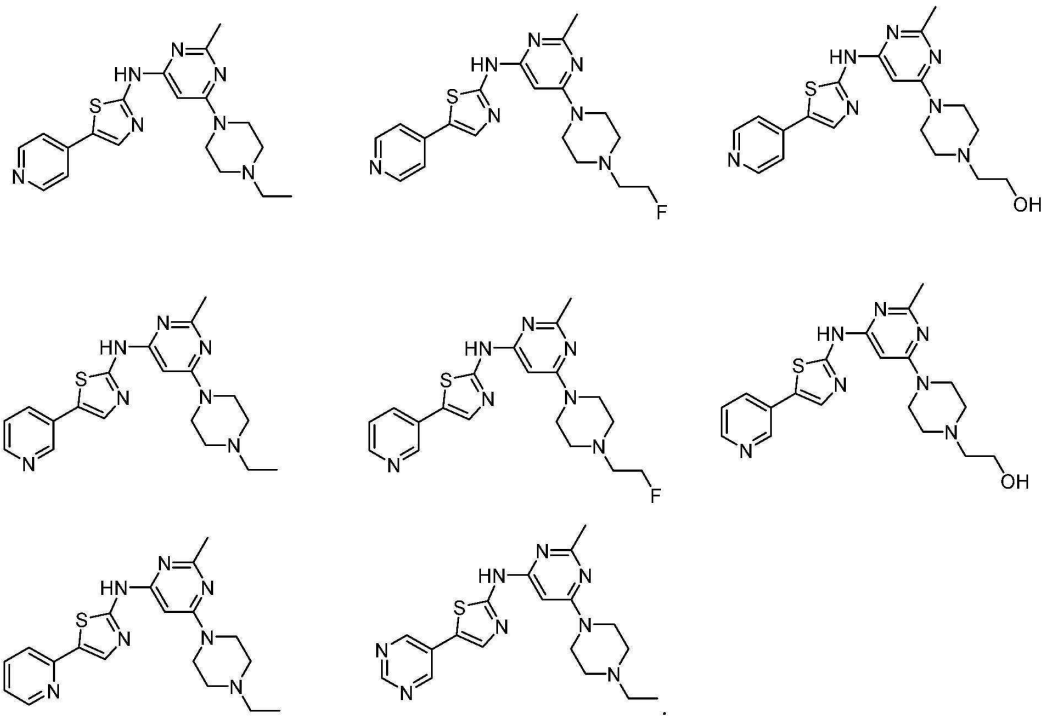
제6항에 있어서,

R_3가 피리딜 또는 피리미딜인, 화합물 또는 염.

청구항 18

제17항에 있어서,

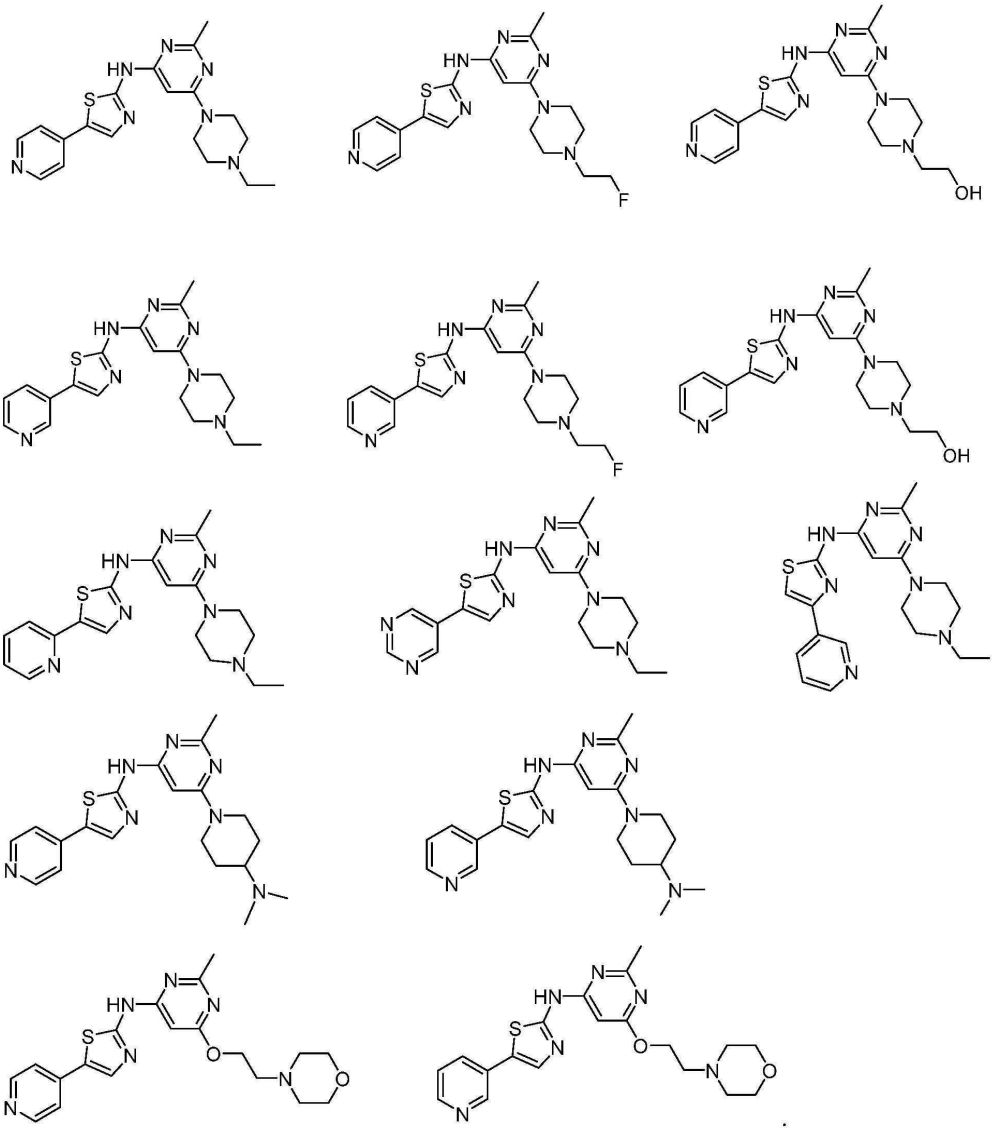
화합물이 하기의 화합물 중 하나인, 화합물 또는 염:



청구항 19

제1항에 있어서,

화합물이 하기의 화합물 중 하나인, 화합물 또는 염:

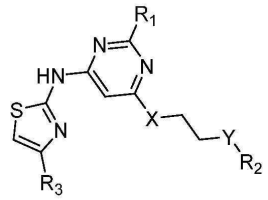


청구항 20

제1항에 있어서,

화합물이 화학식 III인, 화합물 또는 염:

[화학식 III]



상기 식에서,

R_1은 C_{1-6} 알킬이다.

청구항 21

약제학적으로 허용가능한 담체 및 제1항에 따르는 화합물 또는 염을 포함하는, 타이로신 키나아제와 관련된 암을 치료하기 위한 약제학적 조성물.

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

제21항에 있어서, 타이로신 키나아제가 FMS-유사 타이로신 키나아제 3 (FLT3), FMS-유사 타이로신 키나아제 4, 혈관 내피 성장 인자 수용체 (VEGFR), 콜로니 자극 인자 1 수용체 (CSF1R), 혈소판-유래 성장 인자 수용체 (PDGFR) A, PDGFR B, 타이로신-단백질 키나아제 키트 (c-KIT), c-Src (SRC), 타이로신-단백질 키나아제 Lyn (LYN) A, LYN B, 형질감염 중 재배열된 타이로신 키나아제 (RET), 림프구-특이 단백질 타이로신 키나아제, 가드너-래쉬드 고양이 육종 바이러스성 종양유전자 동족체(Gardner-Rasheed feline sarcoma viral oncogene homolog), 디스코이딘(discoidin) 도메인 수용체 1, 키나아제 삽입 도메인 수용체, B 림프구 키나아제, 타이로신-단백질 키나아제 Yes, 아벨슨 쥐 백혈병 바이러스성 종양유전자 동족체 1 (Abelson murine leukemia viral oncogene homolog 1, ABL1), 타이로신 수용체 키나아제 TRKA, TRKB, TRKC, ZAK/MLTK, IRAK4, RET V804L, RET Y791F, FLT3 D835Y, PDGFR A V561D, 또는 ABL1 T315I인, 약제학적 조성물.

청구항 25

제21항에 있어서, 타이로신 키나아제가 FLT3, VEGFR, 또는 c-KIT인, 약제학적 조성물.

청구항 26

제21항에 있어서, 암이 급성 골수성 백혈병, 녹색종(chloroma), 만성 골수성 백혈병, 급성 림프모구(lymphoblastic) 백혈병, 만성 림프구성 백혈병, 호지킨 병(Hodgkin's disease), 비-호지킨 림프종, B-세포 림프종, 다발성 골수종, 발덴스트롬 거대글로불린혈증(Waldenstrom's macroglobulinemia), 골수형성이상 증후군(myelodysplastic syndrome), 췌장암, 방광암, 결장암, 유방암, 남성 생식기 암, 신장암, 간세포암, 폐암, 난소암, 자궁 경부암, 자궁암, 임신 영양막 질환, 위암, 담관암, 담낭암, 소장암, 식도암, 구인두암, 하인두암, 눈암(eye cancer), 신경암, 두경부암, 흑색종, 형질 세포종, 내분비샘 신생물, 신경내분비암, 뇌종양, 골암, 또는 육종인, 약제학적 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

배 경 기 술

[0001] 단백질 키나아제는 분화, 증식, 이동, 및 세포자멸사(apoptosis)를 포함한 다양한 세포 기능을 조절하는 세포 신호 경로에 중요하다. 단백질 키나아제의 탈조절(deregulation)은 암 및 다른 많은 질환과 관련된다.

[0002] 단백질 키나아제의 서브클래스인 타이로신 키나아제는, ATP로부터 표적 단백질 타이로신의 하이드록실기로의 포스페이트의 전이를 통해 표적 단백질 기능을 조절한다. FMS-유사 타이로신 키나아제 3 ("FLT3"), 혈관 내피 성장 인자 수용체 ("VEGFR"), 및 타이로신-단백질 키나아제 키트 ("c-Kit")는 암 치료에서 매력적인 치료적 표적으로 연구되어온 세 개의 타이로신 키나아제이다.

[0003] 수용체 타이로신 키나아제인, FLT3의 돌연변이는 암, 예를 들어, 급성 골수성 백혈병의 발달로 이어질 수 있다. 문헌[Pratz et al., *Current Drug Targets*, 2010, 11(7), 781-9] 참조.

[0004] 신호 단백질인 혈관 내피 성장 인자는 VEGFR에 결합하고 인산전이반응을 통해 이를 활성화시킴으로써, 새로운 혈관의 성장을 자극한다. VEGFR은 종양 혈관신생의 주요한 조절 인자로 확인되었다. 문헌[Hicklin et al., *J*

Clin Oncol., 2005, 23, 1011-1027] 참조.

[0005] 또한 수용체 타이로신 키나아제인 c-Kit는 세포 내 신호전달에 관련된다. c-Kit의 돌연변이 형은 일부 암의 발생에 중요한 역할을 한다. c-Kit의 억제는 위장관 기질 종양, 급성 골수성 백혈병, 및 흑색종을 치료하는데 효과적이라고 입증되었다. 문헌[Babaei et al., *Drug Des Devel Ther.*, 2016 10, 2443-2459] 참조.

[0006] 강력한 타이로신 키나아제 억제제로서 광범위하게 탐구된 아미노티아졸 화합물은, 약물 후보제로서 몇 가지 과제를 제시한다. 아미노티아졸 화합물은 불량한 키나아제 선택성을 가지고 있으며, 종종 독성 연구에서 동물 사멸을 야기하며, 일반적으로 전-임상 또는 임상 연구에서 바람직한 효능을 발휘하기에 충분한 생체내 노출이 부족하다.

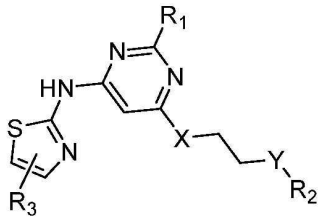
[0007] 특정 타이로신 키나아제를 특이적으로 억제하고, 바람직한 안전 프로파일(safety profile)을 입증하며, 표적 암을 치료하는데 충분한 생체내 효능을 발휘하는 새로운 아미노티아졸 화합물을 개발할 필요가 있다.

발명의 내용

[0008] 본 발명은 특정 아미노티아졸 화합물이 다수의 타이로신 키나아제, 예를 들어, FLT3, VEGFR, 및 c-Kit를 효과적으로 억제한다는 예기치 않은 발견을 기반으로 한다.

[0009] 한 가지 양태에서, 본 발명은 화학식 I의 아미노티아졸 화합물에 관한 것이다:

[0010] [화학식 I]

[0011] 

[0012] 상기 식에서,

[0013] R_1은 C_{1-6} 알킬 또는 C_{1-6} 티오알킬이고; X는 O 또는 NR_a이고, 여기서 R_a는 H 또는 C_{1-6} 알킬이고; Y는 CR_bR_c 또는 NR_d이고, 여기서 R_b 및 R_c는 각각 독립적으로, H, 할로, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 알콕실, 또는 아미노이거나, 또는 R_b는, R_a, R_b에 결합된 탄소원자, 및 R_a에 결합된 질소 원자와 함께, C_{3-10} 헤테로사이클로알킬이고; R_d는 H 또는 C_{1-6} 알킬이거나, 또는 R_d는, R_a 및, R_d 및 R_a에 결합된 질소 원자와 함께, C_{3-10} 헤테로사이클로알킬이고; R_2는 $-CH_2CH_2R_e$ 또는 NR_fR_g이고, 여기서 R_e는 H, 할로, C_{1-6} 알킬, 또는 OR_h이고 R_f 및 R_g는 각각 독립적으로, C_{1-6} 알킬 또는 C_{3-8} 사이클로알킬이고, R_h는 H 또는 C_{1-6} 알킬이거나, 또는 R_h는, R_d, R_h에 결합된 산소 원자, 및 R_d에 결합된 질소 원자와 함께, C_{3-10} 헤테로사이클로알킬이며; R_3는 헤테로아릴이다.

[0014] 본원에서 용어 "알킬"은 포화된, 선형 또는 분지형 탄화수소 모이어티(moiety), 예를 들어 $-CH_3$ 또는 분지형 $-C_3H_7$를 지칭한다. 용어 "사이클로알킬"은 비-방향족, 모노사이클릭, 비사이클릭, 트리사이클릭, 또는 테트라사이클릭 탄화수소 모이어티, 예를 들어 사이클로헥실, 사이클로헥센-3-일, 또는 아다만틸을 지칭한다. 용어 "알콕실"은 -O-알킬 라디칼을 지칭한다. 알콕실의 예는 메톡시, 에톡시, n-프로폭시, 이소프로폭시, n-부톡시, 이소-부톡시, sec-부톡시, 및 tert-부톡시를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 용어 "티오알킬"은 -S-알킬 라디칼을 지칭한다. 티오알킬의 예는 메틸티올, 에틸티올, 및 벤질티올을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 용어 "헤테로사이클로알킬"은 하나 이상의 고리 헤테로원자 (예를 들어, N, O, 또는 S)를 갖는 비-방향족, 모노사이클릭, 비사이클릭, 트리사이클릭, 또는 테트라사이클릭 모이어티를 지칭한다. 헤테로사이클로알킬의 예는 4-모르폴리닐, 1-피페라지닐, 4-테트라하이드로피라닐, 및 4-피라닐을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 용어 "헤테로아릴"은 적어도 하나의 헤테로원자 (예를 들어, N, O, 또는 S)를 함유하는 하나 이상의 방향족 고리를 갖는 모이어티를 지칭한다. 헤테로아릴 모이어티의 예는 푸릴, 푸릴렌, 플루오레닐, 피롤릴, 티에닐, 옥사졸릴, 이미다졸릴, 티아졸릴, 피리딜, 피리미디닐, 퀴나졸리닐, 퀴놀릴, 이소퀴놀릴, 및 인돌릴을 포함한다.

[0015] 본원에 언급된 알킬, 티오알킬, 알콕실, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 및 헤테로아릴은 달리 명시되지 않

는 한, 치환된 및 비치환된 모이어티 둘 다를 포함한다. 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 및 헤테로아릴에 가능한 치환체는 C_{1-10} 알킬, C_{2-10} 알케닐, C_{2-10} 알키닐, C_{3-20} 사이클로알킬, C_{3-20} 사이클로알케닐, C_{1-20} 헤테로사이클로알킬, C_{1-20} 헤테로사이클로알케닐, C_{1-10} 알콕시, 아릴, 아릴옥시, 헤테로아릴, 헤테로아릴옥시, 아미노, C_{1-10} 알킬아미노, C_{1-20} 디알킬아미노, 아릴아미노, 디아릴아미노, 하이드록실, 할로겐, 티오, C_{1-10} 알킬티오, 아릴티오, C_{1-10} 알킬설포닐, 아릴설포닐, 아실아미노, 아미노아실, 아미노티오아실, 아미디노, 구아니딘, 우레이도, 시아노, 니트로, 아실, 티오아실, 아실옥시, 카복실, 및 카복실릭 에스테르를 포함한다. 반면에, 알킬에 가능한 치환체는 C_{1-10} 알킬, C_{2-10} 알케닐, 및 C_{2-10} 알키닐을 제외한 상기 나열된 모든 치환체를 포함한다. 또한 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 및 헤테로아릴은 서로 융합될 수 있다.

[0016] 상기에 기술된 아미노티아졸 화합물은 화합물 그 자체 뿐만 아니라, 적용가능한 경우, 그의 염, 전구약물(prodrug), 및 용매화물을 포함한다. 예를 들어, 염은 음이온과 아미노티아졸 화합물 상의 양으로 하전된 기(positively charged group) (예를 들어, 아미노) 사이에 형성될 수 있다. 적합한 음이온은 클로라이드, 브로마이드, 요오다이드, 설페이트, 니트레이트, 포스페이트, 시트레이트, 메탄설포네이트, 트리플루오로아세테이트, 아세테이트, 말레이트, 토실레이트, 타르트레이트, 푸마레이트, 글루타메이트, 글루쿠로네이트, 락테이트, 글루타레이트, 및 말레에이트를 포함한다. 마찬가지로, 염은 또한 양이온과 아미노티아졸 화합물 상의 음으로 하전된 기 (예를 들어, 카복실레이트) 사이에 형성될 수 있다. 적합한 양이온은 나트륨 이온, 칼륨 이온, 마그네슘 이온, 칼슘 이온, 및 암모늄 이온, 예를 들어 테트라메틸암모늄 이온을 포함한다. 또한 아미노티아졸 화합물은 4급 질소 원자를 함유하는 이들 염을 포함한다. 전구약물의 예는 에스테르 및 대상체에게 투여시, 활성 아미노티아졸 화합물을 제공할 수 있는 다른 약제학적으로 허용가능한 유도체를 포함한다. 용매화물은 활성 아미노티아졸 화합물과 약제학적으로 허용가능한 용매 사이에 형성된 복합체(complex)를 지칭한다. 약제학적으로 허용가능한 용매의 예는 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 아세테이트, 아세트산, 및 에탄올아민을 포함한다.

[0017] 다른 양태에서, 본 발명은 타이로신 키나아제, 예를 들어 FLT3, VEGFR, 및 c-Kit를 억제하는 방법에 관한 것이다. 상기 방법은 타이로신 키나아제를 상기 기재된 하나 이상의 아미노티아졸 화합물의 유효량과 접촉시키는 단계를 포함한다.

[0018] 타이로신 키나아제와 관련된 암을 치료하는 방법이 또한 본 발명의 범위 내에 있다. 상기 방법은 이를 필요로 하는 대상체에게 상기 기재된 하나 이상의 화학식 I의 아미노티아졸 화합물의 유효량을 투여하는 단계를 포함한다.

[0019] 암과 관련된 타이로신 키나아제는 야생형 또는 돌연변이일 수 있다. 타이로신 키나아제의 예는 FLT3, FLT4, VEGFR, 혈소판-유래 성장 인자 수용체 (PDGFR) A, PDGFR B, c-Kit, c-Src (SRC), 타이로신-단백질 키나아제 Lyn (LYN) A, LYN B, 형질감염 중 재배열된 타이로신 키나아제 (RET), 림프구-특이 단백질 타이로신 키나아제, 가드너-래쉬드 고양이 육종 바이러스성 종양유전자 동족체(Gardner-Rasheed feline sarcoma viral oncogene homolog), 디스코이딘(discoidin) 도메인 수용체 1, 키나아제 삽입 도메인 수용체, B 림프구 키나아제, 타이로신-단백질 키나아제 Yes, 아벨슨 쥐 백혈병 바이러스성 종양유전자 동족체 1 (Abelson murine leukemia viral oncogene homolog 1, ABL1), 타이로신-단백질 키나아제 Tek, RET V804L, RET Y791F, FLT3 D835Y, PDGFR A V561D, 또는 ABL1 T315I를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0020] 예시적인 방법에서, 화학식 I의 아미노티아졸 화합물은 FLT3, VEGFR, 또는 c-Kit와 관련된 암을 치료하는데 사용된다.

[0021] 암의 예는 급성 골수성 백혈병, 녹색종(chloroma), 만성 골수성 백혈병, 급성 림프모구(lymphoblastic) 백혈병, 만성 림프구성 백혈병, 호지킨 병(Hodgkin's disease), 비-호지킨 림프종, B-세포 림프종, 다발성 골수종, 발덴스트롬 거대글로불린혈증(Waldenstrom 's macroglobulinemia), 골수형성이상 증후군(myelodysplastic syndrome), 췌장암, 방광암, 결장암, 유방암, 남성 생식기 암, 신장암, 간세포암, 폐암, 난소암, 자궁 경부암, 자궁암, 임신 영양막 질환, 위암, 담관암, 담낭암, 소장암, 식도암, 구인두암, 하인두암, 눈암(eye cancer), 신경암, 두경부암, 흑색종, 형질 세포종, 내분비샘 신생물, 신경내분비암, 뇌종양, 골암, 및 육종 (예를 들어, 위장관 기질 종양 또는 GIST)를 포함한다.

[0022] 하나 이상의 상기 기재된 화학식 I의 아미노티아졸 화합물을 함유하는 약학 조성물이 추가로 본 발명의 범위 내에 있다. 약학 조성물은 암을 치료하기 위해 사용될 수 있다.

[0023] 또한 본 발명은 암을 치료하기 위한 의약의 제조를 위한 하나 이상의 상기 기재된 화학식 I의 아미노티아졸 화

합물의 용도를 포함한다.

[0024] 용어 "치료하는" 또는 "치료"는 상기 기재된 질환, 즉, 암, 그러한 질환의 증상, 또는 그러한 질환에 대한 소인을 갖는 대상체에게, 예를 들어, 상기 기재된 질환, 질환의 증상, 또는 그러한 질환에 대한 소인을 치료하거나, 완화하거나, 변화시키거나, 영향을 주거나, 경감시키거나, 또는 예방하는 치료적 효과를 부여하려는 목적으로, 하나 이상의 아미노티아졸 화합물을 투여하는 것을 지칭한다. "유효량"은 치료적 효과를 부여하기 위해 필요로 하는 활성 화합물의 양을 지칭한다. 유효 용량은 당업계에 알려진 바와 같이, 치료되는 질환의 유형, 투여 방식, 부형제의 사용, 및 다른 치료적 처리와 공동-사용의 가능성에 따라 다양할 것이다.

[0025] 본 발명의 방법을 실행하기 위해, 하나 이상의 상기 기재된 아미노티아졸 화합물을 갖는 조성물은 비경구, 경구, 비강, 직장, 국소 또는 협측으로 투여될 수 있다. 본원에서 사용된 용어 "비경구"는 피하, 피내, 정맥내, 복강내, 근육내, 관절내, 동맥내, 활액내, 흉골내, 척수강내, 병변내, 또는 두개내 주사 뿐만 아니라 임의의 적합한 주입 기술도 지칭한다.

[0026] 주사가능한 멸균 조성물은 비-독성의 비경구적으로 허용가능한 희석액 또는 용매의 용액 또는 현탁액, 예를 들어, 1,3-부탄디올의 용액일 수 있다. 허용가능한 비히클(vehicle) 및 용매 중에서 만니톨, 물, 링거액(Ringer's solution), 및 등장성 염화나트륨 용액이 사용될 수 있다. 추가로, 통상적으로 고정유(fixed oil)가 용매 또는 현탁 매질(예를 들어, 합성 모노- 또는 디-글리세라이드)로서 사용된다. 지방산, 예를 들어 올레산 및 이의 글리세라이드 유도체는 특히 폴리옥실레이트화된 버전에서, 약제학적으로 허용되는 천연 오일, 예를 들어 올리브유 및 피마자유처럼, 주사제의 제조에 유용하다. 또한 상기 오일 용액 또는 현탄액은 장쇄 알코올 희석제 또는 분산제, 카복시메틸 셀룰로스, 또는 유사한 분산제를 함유할 수 있다. 다른 일반적으로 사용되는 계면활성제, 예를 들어 트윈(Tween) 및 스판(Span) 또는 다른 유사한 유화제 또는 약제학적으로 허용가능한 고체, 액체, 또는 다른 투여형의 제조에 일반적으로 사용되는 생체이용률 향상제가 제제의 목적을 위해 또한 사용될 수 있다.

[0027] 경구 투여용 조성물은 캡슐, 정제, 유화액 및 수성 현탁액, 분산액 및 용액을 포함하는, 임의의 경구적으로 허용가능한 투여형일 수 있다. 정제의 경우, 일반적으로 사용되는 담체는 락토스 및 옥수수 전분을 포함한다. 윤활제, 예를 들어 마그네슘 스테아레이트가 또한 전형적으로 첨가된다. 캡슐 형으로 경구 투여하는 경우, 유용한 희석제는 락토스 및 건조된 옥수수 전분을 포함한다. 수성 현탁액 또는 유화액이 경구적으로 투여되는 경우, 활성 성분은 유화제 또는 현탁제로 조합된 오일 상(oil phase)에 현탁되거나 용해될 수 있다. 원하는 경우, 특정 감미제, 향미제, 또는 착색제가 첨가될 수 있다.

[0028] 비강 에어로졸 또는 흡입 조성물은 제약 제형 분야에 공지된 기술을 따라 제조될 수 있다. 예를 들어, 그러한 조성물은 벤질 알코올 또는 다른 적합한 보존제, 생체이용률을 향상시키기 위한 흡수 촉진제, 플루오로카본, 및/또는 당업계에 공지되있는 다른 가용화제 또는 분산제를 사용하여, 식염수의 용액으로 제조될 수 있다.

[0029] 하나 이상의 상기 기재된 아미노티아졸 화합물을 갖는 조성물은 직장 투여를 위한 좌제형으로 투여될 수 있다.

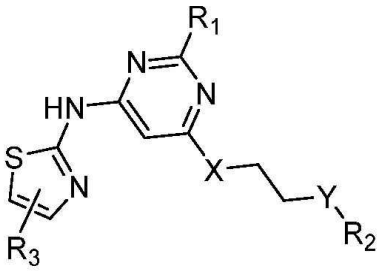
[0030] 약학 조성물 내의 담체는 조성물의 활성 성분과 호환성이 있다(및 바람직하게는, 활성 성분을 안정화시킬 수 있다)는 의미에서 "허용가능"해야만 하고 치료될 대상체에게 해롭지 않아야만 한다. 하나 이상의 가용화제는 활성 1,5-디페닐-펜타-1,4-디엔-3-온 화합물의 전달을 위한 약학 부형제로 사용될 수 있다. 다른 담체의 예는 콜로이드성 실리콘 옥사이드, 마그네슘 스테아레이트, 셀룰로스, 나트륨 라우릴 설페이트, 및 D&C Yellow # 10을 포함한다.

[0031] 본 발명의 하나 이상의 실시양태의 세부 사항은 하기 설명에서 제시된다. 본 발명의 다른 특징, 목적, 및 이점은 설명 및 청구 범위로부터 명백할 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0032] 화학식 I의 아미노티아졸 화합물이 상세하게 개시되어있다.

[0033] [화학식 I]



[0034]

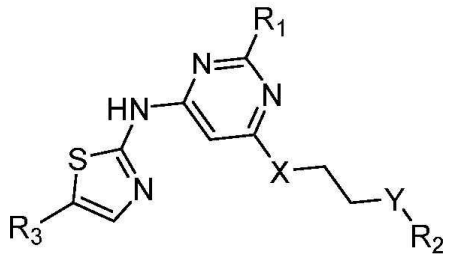
[0035] 상기 식에서,

[0036] 변수 R_1, R_2, R_3, X, 및 Y는 상기 요약 부분에서 정의된다.

[0037] 전형적으로, 화학식 I의 화합물은 R_3가, 독립적으로 하나 이상의 $(CH_2)_nZ$ 모이어티(여기서, n은 0 또는 1이고 Z는 H, 할로, CN, OH, CF_3, C_{1-6} 알킬, 또는 C_{1-6} 알콕실이다)로 치환된 5- 또는 6-원 헤테로아릴이거나; 또는 R_3가, H, 할로, CN, OH, CF_3, C_{1-6} 알킬, 및 C_{1-6} 알콕실로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된 하나 이상의 치환체로 치환된 페닐 고리와 융합된 5- 또는 6-원 헤테로아릴이다. 예시적인 화합물은 R_3가, 독립적으로 하나 이상의 $(CH_2)_nZ$ 모이어티(여기서, n은 0 또는 1이고 Z는 H, 할로, CN, OH, CF_3, C_{1-6} 알킬, 또는 C_{1-6} 알콕실이다)로 치환된 6-원 헤테로아릴이다. R_3의 2개의 예는 피리딜 및 피리미딜이다.

[0038] 상기 기재된 신규한 아미노티아졸 화합물의 군은 화학식 II의 화합물이다:

[0039] [화학식 II]

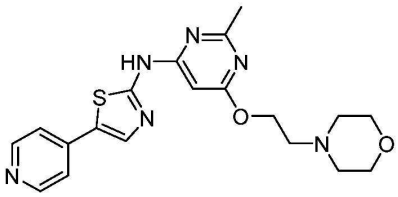
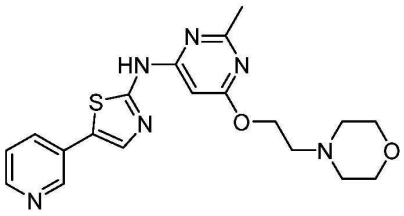


[0040]

[0041] 상기 식에서,

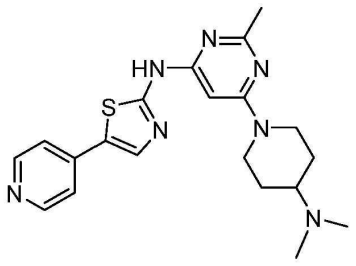
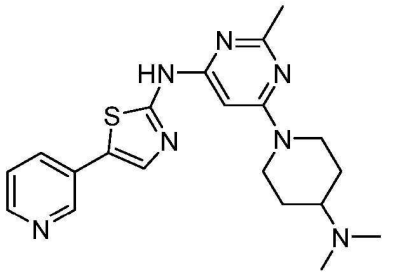
[0042] R_1은 C_{1-6} 알킬이다.

[0043] 한 서브세트에서, 화학식 II의 화합물은 X가 O이고, Y가 NR_d이고, R_2는 $-CH_2CH_2R_e$이고, 여기서 R_e는 OR_h이고, R_h는, R_d, R_h에 결합된 산소 원자, 및 R_d에 결합된 질소 원자와 함께, C_{3-10} 헤테로사이클로알킬이다. 상기 서브세트의 화합물은 R_3가, 독립적으로 하나 이상의 $(CH_2)_nZ$ 모이어티(여기서, n은 0 또는 1이고 Z는 H, 할로, CN, OH, CF_3, C_{1-6} 알킬, 또는 C_{1-6} 알콕실이다)로 치환된 5- 또는 6-원 헤테로아릴일 수 있거나; 또는 R_3가, H, 할로, CN, OH, CF_3, C_{1-6} 알킬, 및 C_{1-6} 알콕실로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된 하나 이상의 치환체로 치환된 페닐 고리와 융합된 5- 또는 6-원 헤테로아릴이다. 예를 들어, R_3는 피리딜 또는 피리미딜일 수 있다. 예시적인 화합물은 하기의 화합물을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다:

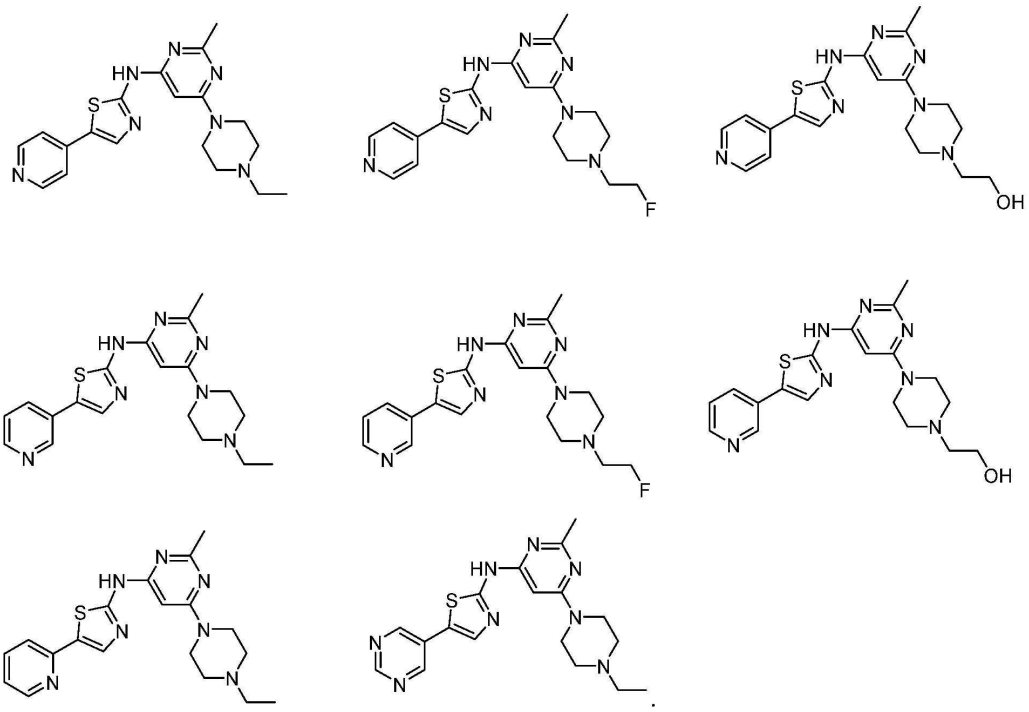
[0044]  및  .

[0045] 다른 서브세트에서, 화학식 II의 화합물은 X가 NR_a 이고 Y가 CR_bR_c 또는 NR_d 이고, 여기서 R_a는, R_b, R_a에 결합된 질소 원자, 및 R_b에 결합된 탄소 원자와 함께, C_{3-10} 헤테로사이클로알킬이고; R_c는 H, 할로, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 알콕실, 또는 아미노이고; R_d는, R_a 및, R_a 및 R_d에 결합된 질소 원자와 함께, C_{3-10} 헤테로사이클로알킬이다.

[0046] 특히, 상기 화합물은 X가 NR_a이고, Y가 CR_bR_c이고, R_2가 NR_fR_g일 수 있고, 여기서 R_a는, R_b, R_a에 결합된 질소 원자, 및 R_b에 결합된 탄소 원자와 함께, C_{3-10} 헤테로사이클로알킬이고; R_c는 H, 할로, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 알콕실, 또는 아미노이고; 각각의 R_f 및 R_g는 C_{1-6} 알킬이다. 이들은 전형적으로 R_3가, 독립적으로 하나 이상의 $(CH_2)_nZ$ 모이어티(여기서, n은 0 또는 1이고 Z는 H, 할로, CN, OH, CF_3, C_{1-6} 알킬, 또는 C_{1-6} 알콕실이다)로 치환된 5- 또는 6-원 헤테로아릴이거나; 또는 H, 할로, CN, OH, CF_3, C_{1-6} 알킬, 및 C_{1-6} 알콕실로부터 독립적으로 선택된 하나 이상의 치환체로 치환된 페닐 고리와 융합된 5- 또는 6-원 헤테로아릴이다. R_3는 피리딜 또는 피리미딜일 수 있다. 예시적인 화합물은 하기의 화합물을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다:

[0047]  및  .

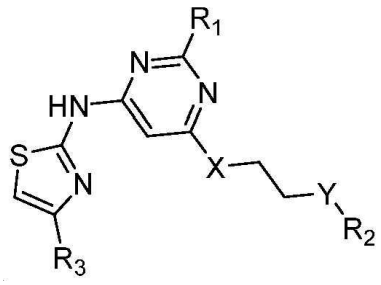
[0048] 반면에, 상기 서브세트에 있는 화합물은 X가 NR_a이고, Y가 NR_d이고, R_2가 $-CH_2CH_2R_e$일 수 있으며, 여기서 R_a는, R_d 및, R_a 및 R_d에 결합된 질소 원자와 함께, C_{3-10} 헤테로사이클로알킬이고; R_e는 H, 할로, 또는 OR_h이고, R_h는 H 또는 C_{1-6} 알킬이다. 일반적으로, 상기 화합물은 R_3가, 독립적으로 하나 이상의 $(CH_2)_nZ$ 모이어티(여기서, n은 0 또는 1이고 Z는 H, 할로, CN, OH, CF_3, C_{1-6} 알킬, 또는 C_{1-6} 알콕실이다)로 치환된 5- 또는 6-원 헤테로아릴이거나; 또는 H, 할로, CN, OH, CF_3, C_{1-6} 알킬, 및 C_{1-6} 알콕실로부터 독립적으로 선택된 하나 이상의 치환체로 치환된 페닐 고리와 융합된 5- 또는 6-원 헤테로아릴이다. 예를 들어, R_3는 피리딜 또는 피리미딜일 수 있다. 예시적인 화합물은 하기의 화합물을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다:



[0049]

[0050] 상기 제시된 신규한 아미노티아졸 화합물의 다른 군이 화학식 III의 화합물이다:

[0051] [화학식 III]

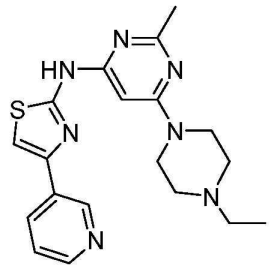


[0052]

[0053] 상기 식에서,

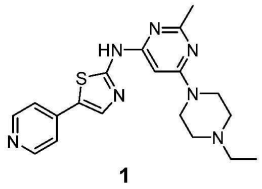
[0054] R_1은 C_{1-6} 알킬이다.

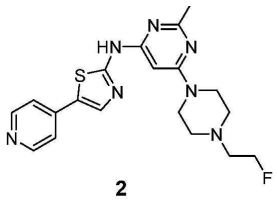
[0055] 화학식 III의 예시적인 화합물은

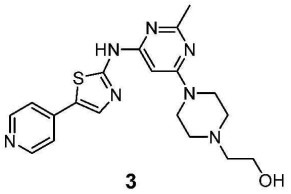


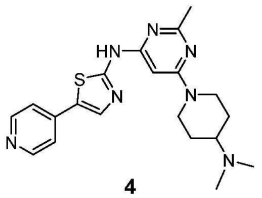
[0056] 이다.

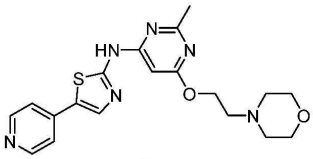
[0057] 각각 화합물 번호가 매겨진, 본 발명의 예시적인 화합물이 하기에 나열되어있다.

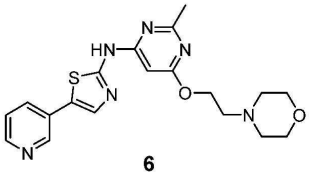

1

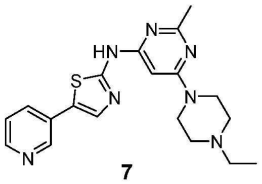

2

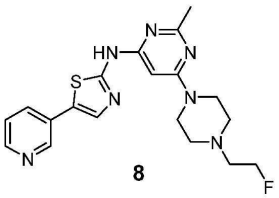

3

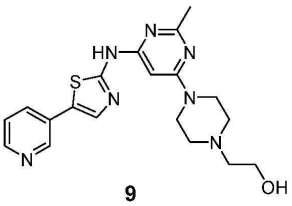

4


5

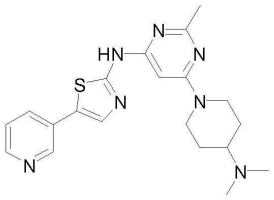

6

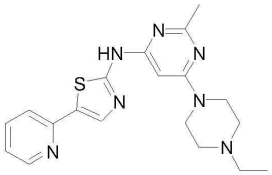

7

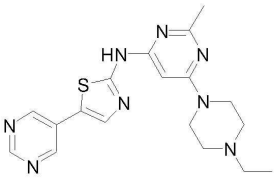

8

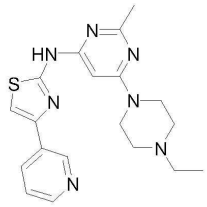

9

[0058]


10


11


12


13

[0059]

[0060] 또한 암을 치료하기 위한 하나 이상의 화학식 I의 아미노티아졸 화합물을 함유하는 약학 조성물이 본 발명 내에 있다.

[0061] 암을 치료하기 위한 방법으로서, 이를 필요로 하는 대상체에게 화학식 I의 화합물의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본 발명에 의해 포함된다.

[0062] 화학식 I의 화합물을 합성하기 위해 사용되는 합성 화학 변환 및 보호기 방법론(보호 및 탈보호)은 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌 [R. Larock, Comprehensive Organic Transformations (2^{nd} Ed., VCH Publishers 1999); P. G. M. Wuts and T. W. Greene, Greene's Protective Groups in Organic Synthesis (4^{th} Ed., John Wiley and Sons 2007); L. Fieser and M. Fieser, Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis (John Wiley and Sons 1994); L. Paquette, ed., Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis (2^{nd} ed., John Wiley and Sons 2009); and G. J. Yu *et al.*, *J. Med. Chem.* 2008, *51*, 6044-6054] 참조.

[0063] 그렇게 제조된 화학식 I의 화합물은 타이로신 키나아제를 억제함에 있어서 또는 특정 타이로신 키나아제를 발현하는 암 세포의 성장의 억제함에 있어서의 이의 잠재성에 대해 생화학 검정, 예를 들어, 하기 실시예 2 내지 4

에 기재된 키나아제 검정, 또는 세포 검정, 예를 들어, 하기 실시예 5에 기재된 생체외 항암 활성 검정을 사용하여 처음에 스크리닝될 수 있다. 이들은 포유류에서 종양 성장을 억제하는 이의 활성에 대해 생체내 검정, 예를 들어 이종이식 동물 모델 검정을 사용하여 후속적으로 평가될 수 있다. 선택된 화합물은 암 치료에 있어 이의 효능을 검증하기 위해 추가로 시험될 수 있다. 예를 들어, 화합물은 암을 갖는 동물(예:마우스)에게 투여되어 이의 치료적 효능을 이후에 평가할 수 있다. 결과를 기반으로, 적절한 투여량 범위 및 투여 경로를 조사하고 결정할 수 있다.

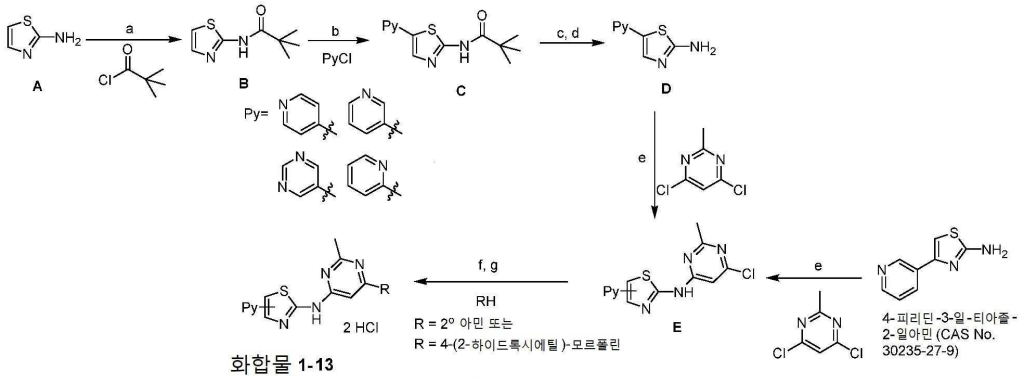
[0064] 추가의 정교화 없이, 상기 설명을 기반으로 하여, 당업자는 본 발명을 최대한 활용할 수 있다고 생각된다. 따라서, 하기의 구체적인 실시예는 단지 예시적인 것으로서, 그리고 어떤 식으로든 본 개시 내용의 나머지를 제한하지 않는 것으로서 해석되어야 한다. 본원에 인용된 모든 간행물은 그 전문이 참고로 포함된다.

[0065] 화학식 I의 13개의 예시적인 화합물의 합성 및 특징을 하기 실시예 1에 나타낸다. 그렇게 제조된 화합물에 대한 분석 데이터는 또한 실시예 1에 제시되어 있고 이러한 화합물을 시험하는 과정이 하기 실시예 2 내지 5에 기재되어 있다.

[0066] 모든 화학 물질 및 용매는 상업용 공급 업체로부터 구입하였고 수령한 대로 사용하였다. 모든 반응은 무수 질소 대기 하에서 수행하였다. Merck 60 F254 실리카 겔 유리 지지 플레이트(glass backed plate) (5×10 cm)를 사용하여 TLC에 의해 반응을 모니터링하였고; 자외선 조사 (254 nm) 또는 포스포몰리브덴 산 시약 (Aldrich)을 분무한 후 80℃에서 가열함으로써 영역을 가시적으로 검출하였다. 모든 플래시 컬럼 크로마토그래피를 고정 상으로 Merck Kieselgel 60, No. 9385, 230-400 메쉬 ASTM 실리카 겔을 사용하여 수행하였다. Varian Mercury-300 또는 Varian Mercury-400 분광기에서 양성자 (^{1}H) 핵 자기 공명 스펙트럼을 측정하였다. 화학적 이동은 용매 피크의 공명에 대한 델타 (δ) 규모로 백만 분율(ppm)로 기록되었다. 결합을 설명하기 위해 하기 약어가 사용되었다: s = 단일항; d = 이중항; t = 삼중항; q = 사중항; quin = 오중항; br = 광폭; 및 m = 다중항. LCMS 데이터는 Agilent MSD-1100 ESI-MS/MS, Agilent 1200 시리즈 LC/MSD VL, 및 Waters Acquity UPLC-ESI-MS/MS 시스템에서 측정하였다.

[0067] 실시예 1:화합물 **1-13**의 합성

[0068] 화합물 **1-13**은 하기 반응식 1에 나타낸 합성 경로에 따라 제조하였다. 나열된 시약 중에서, TEA는 트리에틸아민이고, KOAc는 칼륨 아세테이트이고, $Pd(PPh_3)_4$는 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐(0)이고, DMAc는 *N,N*-디메틸아세트아미드이고, CsF는 세슘 플루오라이드이고, HCl은 염산이고, $NaHCO_3$는 중탄산나트륨이고, NaH는 수소화나트륨이고, NMP는 1-메틸-2-피롤리디논이고, KOH는 수산화칼륨이며, DMSO는 디메틸 설폭사이드이다.



반응식 1. 시약 및 조건 : (a) TEA, CH_2Cl_2, 0 °C 내지 rt; (b) KOAc, $Pd(PPh_3)_4$, DMAc, 150 °C (KOAc 는 Py= 피리딘-2-일의 경우 CsF 로 대체 된다); (c) 12N HCl, H_2O, 환류; (d) $NaHCO_3$, H_2O, rt; (e) NaH, NMP, 0 °C; (f) DMSO, RH, 100 °C 또는 디글림, KOH, RH = 4-(2-하이드록시에틸)-모르폴린의 경우 160 °C; 및 (g) 6N HCl, 0 °C.

[0069]

[0070] *단계 I. 2,2-디메틸-N-티아졸-2-일-프로피온아미드 B의 합성*

[0071] 0℃에서 무수 CH_2Cl_2 (250 mL) 중 2-아미노티아졸 **A** (300 mmol) 및 트리에틸아민 (330 mmol)의 혼합물에 트리메틸아세틸 클로라이드 (310 mmol)를 첨가하고 혼합물을 아르곤 대기 하에서 1시간 동안 실온에서 교반하였다. 혼

합물을 6 N HCl (60 mL)로 세척하고 유기 층을 분리하고, 마그네슘 설페이트($MgSO_4$) 위에서 건조하고, 감압 하에서 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 상에서 크로마토그래피(20% EtOAc/헥산)로 정제하여 표제 생성물 **B**를 회백색 고체(72%)로서 수득하였다. ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-*d6*): δ 11.75 (s, 1H), 7.46 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 7.17 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 1.22 (s, 9H); $C_8H_{12}N_2OS$에 대한 MS (ES^+) m/z 계산치: 184.07; 실측치: 185.1 ($M+H^+$).

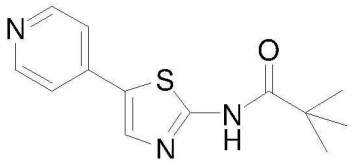
[0072] *단계 II. 화합물 **C**(Py= 피리딘-3-일, 피리딘-4-일, 및 피리미딘-5-일)의 합성*

[0073] *N*,*N*-디메틸아세트아미드 (60 mL) 중 2,2-디메틸-*N*-티아졸-2-일-프로피온아미드 **B** (30 mmol), 클로로피리딘 (30 mmol), 칼륨 아세테이트 (120 mmol) 및 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐(0)(1.5 mmol)의 혼합물을 아르곤 대기 하에서 24 시간 동안 150℃에서 가열하였다. 증류 (120℃/160 mm Hg)에 의해 대부분의 용매를 제거하고 잔류물을 물 (250 mL)로 세척하였다. 침전물을 여과에 의해 수집하고, 10% CH_3OH/CH_2Cl_2 (200 mL)에 재용해시키고 셀라이트(Celite)의 패드를 통해 여과시켰다. 여과액을 감압 하에 농축하고 실리카 겔 상에서 크로마토그래피(1% $MeOH/CH_2Cl_2$)로 정제하여목적하는 생성물을 회백색 고체 (40-85%)로서 수득하였다.

[0074] *단계 II. 화합물 C (Py= 피리딘-2-일)의 합성*

[0075] 디메틸 설폭사이드 (20 mL) 중 2,2-디메틸-*N*-티아졸-2-일-프로피온아미드 B (10 mmol), 클로로피리딘 (10 mmol), 세슘 플루오라이드 (20 mmol) 및 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐(0) (0.5 mmol)의 혼합물을 아르곤 대기 하에서 160℃에서 16 시간 동안 가열하였다. 생성된 혼합물을 0.5N HCl (150 mL) 및 CH_2Cl_2 (150 mL)로 분배하였다. 유기 층을 분리하고, $MgSO_4$ 위에서 건조시키고, 감압 하에서 농축시키고 실리카 겔상에서 크로마토그래피(3% 아세톤 /CH_2Cl_2)로 정제하여 목적하는 생성물을 담갈색 고체 (20%)로서 수득하였다.

[0076] NMR 스펙트럼 및 질량을 나타내기 위해 **C** 중 하나만이 선택되었다.

[0077] 

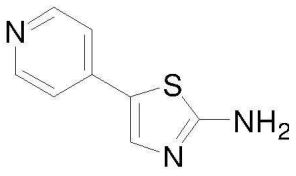
[0078] **2,2-디메틸-*N*-(5-피리딘-4-일-티아졸-2-일)-프로피온아미드.** ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 9.28 (bs, 1H), 8.61 (dd, *J* = 4.8, 1.6 Hz, 2H), 7.84 (s, 1H), 7.42 (dd, *J* = 4.8, 1.6 Hz, 2H), 1.38 (s, 9H); $C_{13}H_{15}N_3OS$에 대한 MS (ES^+) m/z 계산치: 261.09; 실측치: 262.1 ($M+H^+$).

[0079] *단계 III. 화합물 **D**의 합성*

[0080] 물 (5 mL) 중 **C** (5 mmol) 및 12 N HCl (5 mL)의 혼합물을 2 시간 동안 가열하여 환류시켰다. 대부분의 용매를 감압 하에서 제거하고 잔류물을 CH_3OH (15 mL)로 희석하였다. 대부분의 용매를 증류에 의해 제거하고 잔류물을 진공에서 건조시켜 **D** 하이드로클로라이드를 담갈색 고체로서 수득하였다.

[0081] 실온에서 물 (30 mL) 중 상기 고체의 교반된 현탁액에 중탄산나트륨을 사용하여 pH = 7로 조정하고 혼합물을 50℃에서 2 시간 동안 교반하였다. 침전물을 여과에 의해 수집하고 진공에서 건조시켜 목적하는 생성물 **D**를 담갈색 고체 (85-90%)로서 수득하였다.

[0082] **D** 중 하나만을 선택하여 이의 NMR 스펙트럼 및 질량을 나타내었다.

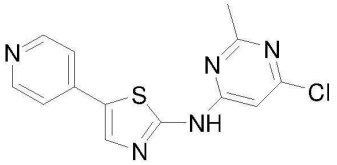
[0083] 

[0084] **5-피리딘-4-일-티아졸-2-일아민.** ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-*d6*): δ 8.41 (dd, *J* = 4.8, 1.5 Hz, 2H), 7.73 (s, 1H), 7.48 (s, 2H), 7.35 (dd, *J* = 4.8, 1.5 Hz, 2H); $C_8H_7N_3S$에 대한 MS (ES^+) m/z 계산치: 177.04; 실측치: 178.1 ($M+H^+$).

[0085] *단계 IV. 화합물 **E**의 합성*

[0086] 0℃에서 1-메틸-2-피롤리디논 (20 mL) 중 **D** 또는 시판되는 4-피리딘-3-일-티아졸-2-일아민 (4 mmol) 및 4,6-디클로로-2-메틸피리미딘 (8 mmol)의 혼합물에 수소화 나트륨 (오일 중 60%, 10mmol)을 첨가하고 혼합물을 0℃에서 아르곤 대기 하에서 1 시간 동안 교반하였다. 반응물을 0℃에서 물 (100 mL)로 퀀칭(quenching)하고 6N HCl을 사용하여 pH = 2로 조정하였다. 슬러리를 중탄산나트륨을 사용하여 pH = 7로 조정하고 침전물을 여과에 의해 수집하고, 물 (50 mL)로 세척하고 진공에서 건조시켰다. 잔류물을 실리카 겔 상에서 크로마토그래피(20% EtOAc/CH_2Cl_2 에 이어서 5% 내지 10% MeOH/CH_2Cl_2 구배)로 정제하여 목적하는 생성물 **E**를 갈색 고체 (45-60%)로서 수득하였다.

[0087] **E** 중 하나만을 선택하여 이의 NMR 스펙트럼 및 질량을 나타내었다.

[0088] 

[0089] **(6-클로로-2-메틸-피리미딘-4-일)-(5-피리딘-4-일-티아졸-2-일)-아민..** ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-*d6*): δ 12.15 (s, 1H), 8.53 (dd, *J* = 4.5, 1.5 Hz, 2H), 8.18 (s, 1H), 7.59 (dd, *J* = 4.5, 1.5 Hz, 2H), 6.90 (s, 1H), 2.59 (s, 3H); $C_{13}H_{10}ClN_5S$에 대한 MS (ES^+) m/z 계산치: 303.03; 실측치: 304.1 ($M+H^+$).

[0090] *단계 V.화합물 **1-4** 및 **7-13** 의 합성*

[0091] 디메틸 설폭 사이드 (2 mL) 중 화합물 **E** (2 mmol) 및 1-에틸피페라진 (8 mmol)의 혼합물을 100℃에서 1 시간 동안 가열하였다. 실온으로 냉각한 후, 혼합물을 물 (50 mL)로 희석하였다. 침전물을 여과에 의해 수집하고, 물 (10 mL)로 세척하고 진공에서 건조시켰다. 잔류물을 산화알루미늄 상에서 크로마토그래피(0.5% 내지 1.5% MeOH / CH_2Cl_2 구배)로 정제하여 회백색 고체로서 각각의 화합물 **1-4** 및 **7-13**의 유리 염기(freebase)를 수득하였다.

[0092] 교반된 6N HCl (10 mL)에 0℃에서 상기 고체를 첨가하고 용액을 0.45㎛ PVDF 막을 통해 여과시켰다. 교반된 여과액에 아세톤 (40 mL)을 1 시간에 걸쳐 적가하고 0℃에서 추가로 1 시간 동안 교반하였다. 침전물을 여과에 의해 수집하고, 아세톤 (15 mL)으로 세척하고 진공에서 건조시켜 각 화합물 **1-4** 및 **7-13**의 HCl 염을 황색 고체 (90-95%)로서 수득하였다.

[0093] **[6-(4-에틸-피페라진-1-일)-2-메틸-피리미딘-4-일]-(5-피리딘-4-일-티아졸-2-일)-아민 하이드로클로라이드 염 (화합물 1).** ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-*d6*): δ 11.55 (bs, 1H), 8.72 (d, *J* = 5.6 Hz, 2H), 8.61 (s, 1H), 8.14 (d, *J* = 5.2 Hz, 2H), 6.27 (s, 1H), 4.35 (d, *J* = 13.2 Hz, 2H), 3.55 (d, *J* = 12.0 Hz, 2H), 3.45 (t, *J* = 13.0 Hz, 2H), 3.13 (t, *J* = 5.8 Hz, 2H), 3.02 (q, *J* = 10.0 Hz, 2H), 2.50 (s, 3H), 1.28 (t, *J* = 6.8 Hz, 3H); $C_{19}H_{23}N_7S$에 대한 MS (ES^+) m/z 계산치: 381.17; 실측치: 382.2 ($M+H^+$).

[0094] **{6-[4-(2-플루오로-에틸)-피페라진-1-일]-2-메틸-피리미딘-4-일}-(5-피리딘-4-일-티아졸-2-일)-아민 하이드로클로라이드 염 (화합물 2).** ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-*d6*): δ 11.89 (bs, 1H), 8.73 (d, *J* = 6.3 Hz, 2H), 8.62 (s, 1H), 8.15 (d, *J* = 5.7 Hz, 2H), 6.26 (s, 1H), 4.95 (d, *J* = 47.4 Hz, 2H), 4.38 (s, 2H, 물 피크와 중첩), 3.70-3.35 (m, 6H), 3.18 (bs, 2H), 2.50 (s, 3H); $C_{19}H_{22}FN_7S$에 대한 MS (ES^+) m/z 계산치: 399.16; 실측치: 400.1 ($M+H^+$).

[0095] **2-{4-[2-메틸-6-(5-피리딘-4-일-티아졸-2-일아미노)-피리미딘-4-일]-피페라진-1-일}-에탄올 하이드로클로라이드 염 (화합물 3).** ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-*d6*): δ 11.03 (s, 1H), 8.73 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H), 8.63 (s, 1H),

8.15 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 6.26 (s, 1H), 4.34 (d, J = 12.4 Hz, 2H), 3.82 (t, J = 5.2 Hz, 2H), 3.62 (d, J = 12.0 Hz, 2H), 3.43 (t, J = 12.4 Hz, 2H), 3.30-3.09 (m, 4H), 2.49 (s, 3H); $C_{19}H_{23}N_7OS$에 대한 MS (ES^+) m/z 계산치: 397.17; 실측치: 398.1 ($M+H^+$).

[0096] **[6-(4-디메틸아미노-피페리딘-1-일)-2-메틸-피리미딘-4-일]-(5-피리딘-4-일-티아졸-2-일)-아민 하이드로클로라이드 염 (화합물 4)**. ^1H NMR (300 MHz, DMSO-*d6*): δ 11.07 (s, 1H), 8.73 (d, J = 6.9 Hz, 2H), 8.62 (s, 1H), 8.15 (d, J = 6.9 Hz, 2H), 6.25 (s, 1H), 4.43 (d, J = 12.9 Hz, 2H), 3.44 (quin, J = 5.2 Hz, 1H), 2.94 (t, J = 12.5 Hz, 2H), 2.69 (d, J = 4.5 Hz, 6H), 2.49 (s, 3H), 2.15 (d, J = 10.5 Hz, 2H), 1.60 (q, J = 11.0 Hz, 2H); $C_{20}H_{25}N_7S$에 대한 MS (ES^+) m/z 계산치: 395.19; 실측치: 396.1 ($M+H^+$).

[0097] **[6-(4-에틸-피페라진-1-일)-2-메틸-피리미딘-4-일]-(5-피리딘-3-일-티아졸-2-일)-아민 하이드로클로라이드 염 (화합물 7)**. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d6*): δ 11.23 (bs, 1H), 9.15 (s, 1H), 8.68 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 8.60 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 8.19 (s, 1H), 7.93 (t, J = 6.2 Hz, 1H), 6.21 (s, 1H), 4.35 (d, J = 14.4 Hz, 2H), 3.55 (d, J = 11.6 Hz, 2H), 3.40 (t, J = 13.2 Hz, 2H), 3.13 (t, J = 5.8 Hz, 2H), 3.01 (q, J = 6.9 Hz, 2H), 2.50 (s, 3H), 1.28 (t, J = 6.6 Hz, 3H); $C_{19}H_{23}N_7S$에 대한 MS (ES^+) m/z 계산치: 381.17; 실측치: 382.2 ($M+H^+$).

[0098] **{6-[4-(2-플루오로-에틸)-피페라진-1-일]-2-메틸-피리미딘-4-일}-(5-피리딘-3-일-티아졸-2-일)-아민 하이드로클로라이드 염 (화합물 8)**. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d6*): δ 11.80 (bs, 1H), 9.16 (s, 1H), 8.68 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 8.62 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 8.20 (s, 1H), 7.95 (t, J = 6.8 Hz, 1H), 6.22 (s, 1H), 4.98 (d, J = 46.8 Hz, 2H), 4.34 (bs, 2H), 3.70-3.35 (m, 6H), 3.16 (bs, 2H), 2.49 (s, 3H); $C_{19}H_{22}FN_7S$에 대한 MS (ES^+) m/z 계산치: 399.16; 실측치: 400.1 ($M+H^+$).

[0099] **2-{4-[2-메틸-6-(5-피리딘-3-일-티아졸-2-일아미노)-피리미딘-4-일]-피페라진-1-일}-에탄올 하이드로클로라이드 염 (화합물 9)**. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d6*): δ 11.02 (bs, 1H), 9.18 (s, 1H), 8.69 (s, 1H), 8.64 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 8.22 (s, 1H), 7.96 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 6.25 (s, 1H), 4.33 (d, J = 11.2 Hz, 2H), 3.80 (s, 1H), 3.60 (d, J = 11.6 Hz, 2H), 3.19 (s, 2H), 3.13 (s, 2H), 2.48 (s, 3H); $C_{19}H_{23}N_7OS$에 대한 MS (ES^+) m/z 계산치: 397.17; 실측치: 398.1 ($M+H^+$).

[0100] **[6-(4-디메틸아미노-피페리딘-1-일)-2-메틸-피리미딘-4-일]-(5-피리딘-3-일-티아졸-2-일)-아민 하이드로클로라이드 염 (화합물 10)**. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d6*): δ 11.27 (bs, 1H), 9.18 (s, 1H), 8.69 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 8.64 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 8.23 (s, 1H), 7.97 (t, J = 6.8 Hz, 1H), 6.36 (bs, 1H), 4.42 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 3.43 (bs, 1H), 2.99 (t, J = 12.4 Hz, 2H), 2.68 (s, 3H), 2.67 (s, 3H), 2.55 (s, 3H), 2.17 (d, J = 10.8 Hz, 2H), 1.64 (q, J = 9.2 Hz, 2H); $C_{20}H_{25}N_7S$에 대한 MS (ES^+) m/z 계산치: 395.19; 실측치: 396.2 ($M+H^+$).

[0101] **[6-(4-에틸-피페라진-1-일)-2-메틸-피리미딘-4-일]-(5-피리딘-2-일-티아졸-2-일)-아민 하이드로클로라이드 염 (화합물 11)**. ^1H NMR (300 MHz, DMSO-*d6*): δ 11.34 (s, 1H), 8.54 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 8.32 (s, 1H), 8.01-7.96 (m, 2H), 7.40-7.34 (m, 1H), 6.31 (s, 1H), 4.37 (d, J = 13.2 Hz, 2H), 3.62-3.38 (m, 4H), 3.20-2.90 (m, 4H), 2.47 (s, 3H), 1.26 (t, J = 7.4 Hz, 3H); $C_{19}H_{23}N_7S$에 대한 MS (ES^+) m/z 계산치: 381.17; 실측치: 382.2 ($M+H^+$).

[0102] **[6-(4-에틸-피페라진-1-일)-2-메틸-피리미딘-4-일]-(5-피리미딘-5-일-티아졸-2-일)-아민 하이드로클로라이드 염 (화합물 12)**. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d6*): δ 11.35 (bs, 1H), 9.20-9.03 (m, 3H), 8.09 (s, 1H), 6.28 (s, 1H), 4.40 (s, 2H), 3.56 (d, J = 12.4 Hz, 2H), 3.44 (d, J = 7.4 Hz, 2H), 3.13 (bs, 2H), 3.02 (d, J =

8.0 Hz, 2H), 1.28 (bs, 3H); $C_{18}H_{22}N_8S$에 대한 MS (ES^+) m/z 계산치: 382.17; 실측치: 383.3 ($M+H^+$).

[0103] **[6-(4-에틸-피페라진-1-일)-2-메틸-피리미딘-4-일]-(4-피리딘-3-일-티아졸-2-일)-아민 하이드로클로라이드 염 (화합물 13).** ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d6*): δ 11.80 (bs, 1H), 11.54 (bs, 1H), 9.28 (s, 1H), 8.94 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 8.84 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 8.15-8.07 (m, 2H), 6.31 (bs, 2H), 4.35 (d, *J* = 14.0 Hz, 2H), 3.55 (d, *J* = 12.0 Hz, 2H), 3.45 (t, *J* = 13.0 Hz, 2H), 3.15-3.07 (m, 2H), 3.00 (q, *J* = 10.0 Hz, 2H), 2.49 (s, 3H), 1.27 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H); $C_{19}H_{23}N_7S$ 에 대한 MS (ES^+) m/z 계산치: 381.17; 실측치: 382.1 ($M+H^+$).

[0104] *단계 V. 화합물 5 및 6의 합성*

[0105] 100℃에서 디글림 (1 mL) 중 화합물 **E** (1 mmol) 및 4-(2-하이드록시에틸)-모르폴린 (4 mmol)의 혼합물에 수산화칼륨 (10 mmol)를 첨가하고 혼합물을 160℃에서 10 분 동안 아르곤 대기 하에서 교반하였다. 반응물을 0℃에서 물 (20 mL)로 퀀칭하고 6 N HCl를 사용하여 pH = 2로 조정하였다. 슬러리를 중탄산나트륨을 사용하여 pH = 7로 조정하고 침전물을 여과에 의해 수집하고, 물 (10 mL)로 세척하고 진공에서 건조시켰다. 잔류물을 산화 알루미늄 상에서 크로마토그래피(0.5% 내지 1.5% MeOH/CH_2Cl_2 구배)로 정제하여 화합물 **6**의 유리 염기를 회백색 고체로서 수득하였다.

[0106] 0℃에서 MeOH (10 mL) 중 상기 고체의 현탁액에 6N HCl (1 mL)을 교반하면서 첨가하였다. 대부분의 용매를 감압하에서 제거하고 잔류물을 EtOH (10 mL)로 처리하였다. 침전물을 여과에 의해 수집하고, 아세톤 (10 mL)으로 세척하고 진공에서 건조시켜 각 화합물 **5-6**의 HCl 염을 황색 고체 (45-50%)로서 수득하였다.

[0107] **[2-메틸-6-(2-모르폴린-4-일-에톡시)-피리미딘-4-일]-(5-피리딘-4-일-티아졸-2-일)-아민 하이드로클로라이드 염 (화합물 5).** ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d6*): δ 11.61 (s, 1H), 8.74 (d, *J* = 5.2 Hz, 2H), 8.64 (s, 1H), 8.17 (d, *J* = 5.2 Hz, 2H), 6.37 (s, 1H), 4.72 (s, 2H), 4.00-3.80 (m, 4H), 3.64-3.42 (m, 4H), 3.16 (bs, 2H), 2.59 (s, 3H); $C_{19}H_{22}N_6O_2S$에 대한 MS (ES^+) m/z 계산치: 398.15; 실측치: 399.2 ($M+H^+$).

[0108] **[2-메틸-6-(2-모르폴린-4-일-에톡시)-피리미딘-4-일]-(5-피리딘-3-일-티아졸-2-일)-아민 하이드로클로라이드 염 (화합물 6).** ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d6*): δ 11.51 (bs, 1H), 9.20 (s, 1H), 8.71 (d, *J* = 5.6 Hz, 1H), 8.66 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 8.24 (s, 1H), 7.98 (dd, *J* = 8.0, 5.6 Hz, 1H), 6.35 (s, 1H), 4.72 (t, *J* = 4.8 Hz, 2H), 3.96 (d, *J* = 10.8 Hz, 2H), 3.85 (t, *J* = 12.0 Hz, 2H), 3.55 (bs, 2H), 3.47 (d, *J* = 12.4 Hz, 2H), 3.19 (bs, 2H), 2.59 (s, 3H); $C_{19}H_{22}N_6O_2S$에 대한 MS (ES^+) m/z 계산치: 398.15; 실측치: 399.1 ($M+H^+$).

[0109] 실시예 2: FLT3 활성 억제

[0110] FLT3 활성을 억제함에 있어서 실시예 1에 따라 제조된 특정 화합물을 시험하기 위해 하기와 같이 연구를 수행하였다.

[0111] FLT3 키나아제 촉매 도메인 (잔류물 Y567-S993)을 함유하는 GST-FLT3-KD^{WT}를 pBac-PAK8-GST-FLT3-KD 플라스미드를 함유하는 배큘로바이러스가 형질감염된 Sf9 곤충 세포에서 발현시켰다. $FLT3^{WT}$ 키나아제-글로(Kinase-Glo) 검정을 30℃에서 96-웰 플레이트에서 4 시간 동안 수행하여 하기 성분을 포함하는 화합물을 50 ㎕의 최종 용적으로 시험하였다: 75 ng GST-$FLT3\text{-}KD^{WT}$ 단백질, 25 mM HEPES, pH 7.4, 4 mM $MnCl_2$, 10 mM $MgCl_2$, 2 mM DTT, 0.02% 트리톤(Triton) X-100, 0.1 mg/ml 소 혈청 알부민, 25 μM Her2 펩티드 기질, 0.5 mM Na_3VO_4, 및 1 μM ATP. 배양(incubation) 후, 50 ㎕의 키나아제-글로 플러스 시약(Plus Reagent) (Promega, 미국 위스콘신주 메디슨 소재)을 각 웰(well)에 첨가하고 혼합물을 25℃에서 20 분 동안 배양하였다. 각 반응 혼합물의 70-㎕ 분취액(aliquot)을 검은색 미량정량 플레이트(microtiter plate)로 옮기고 월락 벡터(Wallac Vector) 1420 멀티라벨 카운터 (PerkinElmer, 미국 코네티컷주 셸턴 소재)에서 발광을 측정하였다.

[0112] 다수의 화합물을 시험하였다. 예상 외로, 화합물 **1-11**은 100 nM 미만의 IC_{50} (반응이 절반으로 감소된 억제제의 농도) 값을 나타냈다.

[0113] 실시예 3: VEGFR2 활성의 억제

[0114] VEGFR2 활성을 억제함에 있어서 실시예 1에 따라 제조된 특정 화합물을 시험하기 위해 하기와 같이 연구를 수행하였다. VEGFR2는 VEGFR의 세 가지 주요 하위 유형(subtype) 중 하나임을 주목한다.

[0115] 키나아제 도메인을 함유하는 재조합 GST-VEGFR2 (잔류물 V789-V1356)를 Sf9 곤충 세포에서 발현시켰다. 키나아제 검정은 하기 성분과 함께 30℃에서 120 분 동안 50 μl의 최종 용적으로 시험된 화합물로 96-웰 플레이트에서 수행하였다 : 25 mM HEPES pH 7.4, 10 mM $MgCl_2$, 4 mM $MnCl_2$, 0.5 mM Na3VO4, 2 mM DTT, 0.02% 트리톤 X100, 0.01% BSA, 1 μM ATP, 2 μM 폴리Glu4:Tyr 펩티드, 50~100 ng 재조합 VEGFR2. 배양 후, 50 ㎕의 키나제-글로 플러스 시약 (Promega, 미국 위스콘신주 메디슨 소재)을 각 웰에 첨가하고 혼합물을 25℃에서 20 분 동안 배양하였다. 각 반응 혼합물의 70-μL 분취액을 검은색 미량정량 플레이트로 옮기고 월락 벡터 1420 멀티라벨 카운터 (PerkinElmer, 미국 코네티컷주 셸턴 소재)에서 발광을 측정하였다.

[0116] 다수의 화합물을 VEGFR2 검정에서 시험하였다. 예상 외로, 화합물 **1**, **9** 및 **10**은 30 nM 미만의 IC_{50} 값을 나타냈다.

[0117] 실시예 4: c-Kit 활성의 억제

[0118] c-Kit 활성을 억제함에 있어서 실시예 1에 따라 제조된 특정 화합물을 시험하기 위해 하기와 같이 연구를 수행하였다.

[0119] Sf9 배큘로바이러스-곤충 세포 발현 시스템에서 발현된 N-말단 His-태그된 인간 c-KIT (잔류물 T544-V976) 재조합 단백질을, c-KIT ADP 키나아제-글로 검정을 위해 정제하였다. c-Kit-ADP 키나아제-글로 검정은 40 mM Tris pH 7.4, 20 mM $MgCl_2$, 2 mM MnCl2, 2 mM DTT, 0.01% BSA, 20 μM ATP, 20 μM 폴리 (Glu, Tyr) 4:1 펩티드, 0.1 mM Na_3VO_4, 250 ng의 재조합 c-Kit 단백질, 및 지시된 농도에서 시험된 화합물을 포함하여, 10 μl의 최종 용적으로 30℃에서 150 분 동안 96-웰 플레이트에서 수행하였다. 40분 간 배양하면서 25℃에서 5 ㎕의 ADP-Glo™ 시약 (Promega, 미국 위스콘신주 메디슨 소재)을 첨가한 후, 추가 30 분 동안 10 ㎕의 키나아제 검출 시약을 첨가하여 반응을 중단시켰다. 최종적으로, 각 반응 혼합물의 30 ㎕ 분취액을 검은색 미세정량 플레이트로 옮기고 월락 벡터 1420 멀티라벨 카운터 (Perkin-Elmer, 미국 코네티컷주 셸턴 소재)에서 발광을 측정하였다.

[0120] 다수의 화합물을 시험하였다. 예상 외로, 화합물 **1-7** 및 **11-12**는 100 nM 미만의 IC_{50} 값을 나타냈다.

[0121] 실시예 5: *생체외* 항암 활성

[0122] 세포주 및 MTS 세포 생존능 검정(MTS는 3-(4,5-디메틸티아졸-2-일)-5-(3-카복시메톡시페닐)-2-(4-설포페닐)-2H-테트라졸륨을 나타냄)을 사용하여 실시예 1에 따라 제조된 특정 화합물의 생체외 항암 활성을 평가하기 위해 하기와 같이 연구를 수행하였다 .

[0123] 백혈병 세포주 MOLM-13, MV4:11 및 Kasumin-1은 아메리칸 타입 컬쳐 콜렉션(American Type Culture Collection; ATCC, 미국 버지니아주 마나사스)에서 구입하였다. 인간 위장관 기질 종양 GIST-T1 세포주는 Cosmo Bio Co., LTD (일본 도쿄 소재)에서 구입하였다. 모든 백혈병 세포주를 37℃ 및 5% CO_2 에서 10% 소 태아 혈청 (FBS), 10 U/ml 페니실린, 및 10 g/ml 스트렙토마이신이 보충된 RPMI 1640 배지에서 유지시켰다. 세포주 GIST-T1을 10% FBS, 0.01% 비필수 아미노산, 10 U/ml 페니실린, 및 10 g/ml 스트렙토마이신이 보충된 DMEM 배지에서 배양하였다.

[0124] GIST882, GIST48 및 GIST430 세포는 모두 37℃ 및 5% CO_2로 유지되는 인큐베이터에서 배양하였다. GIST882를 20% 소 태아 혈청 (FBS)이 보충된 RPMI-1640에서 배양하였다. GIST48은 20% FBS, 0.5% Mito, 혈청 익스텐더 (serum extender) (BD Bioscience, 355006) 및 1% 뇌하수체 추출물 소 (BD Bioscience 354123)가 보충된 F10으로 배양하였다. GIST430을 20% FBS가 보충된 IMDM에서 배양하였다. GIST882, GIST430 및 GIST48 세포는 Jonathan A. Fletcher 박사 (하버드 의과 대학, 미국 소재)가 제공하였다.

[0125] *MOLM-13, MV4:11, 및 Kasumin-1 MTS 검정*

[0126] 세포를 96-웰 배양 플레이트에 1×10^4개 세포/100 ㎕/웰의 밀도로 3회 반복하여 접종(seeding)하고 1 nM 내지 10 μM 범위의 지시된 농도의 시험 화합물로 72 시간 동안 처리하였다. 비색(Colorimetric) CellTiter 96® 수성 단일 용액 세포 증식 검정 (Aqueous One Solution Cell Proliferation assay) (MTS 검정; Promega, 미국 위

스콘신주 메디슨)을 사용하여 세포 독성을 측정하였다. 492 nm에서의 광학 밀도는 마이크로플레이트 광도계 (Victor2; Perkin-Elmer, 미국 매사추세츠주 월섬 소재)를 사용하여 측정하였다. IC_{50} 값은 세포를 72 시간 동안 시험 화합물로 처리했을 때 MTS 검정에 의해 측정하였고 GraphPad Prism 6로 계산하였다. 각 실험은 3회 반복되었다.

[0127] *GIST-T1 MTS 검정*

[0128] GIST-T1 세포를 96-웰 배양 플레이트에 8000개 세포/100 ㎕/웰의 밀도로 3회 반복하여 접종하고 1 nM 내지 10 μM 범위의 지시된 농도의 화합물로 72 시간 동안 처리하였다. 비색 CellTiter 96® 수성 단일 용액 세포 증식 검정 (MTS 검정; Promega, 미국 위스콘신주 메디슨 소재)을 사용하여 세포 독성을 측정하였다. 492 nm에서의 광학 밀도는 마이크로플레이트 광도계 (Victor2; Perkin-Elmer, 미국 매사추세츠주 월섬 소재)를 사용하여 측정하였다. IC_{50} 값은 세포를 72 시간 동안 시험 화합물로 처리했을 때 MTS 검정에 의해 측정하였고 GraphPad Prism 6으로 계산하였다. 각 실험은 3 회 반복되었다.

[0129] *GIST882, GIST48, 및 GIST430 MTS 검정*

[0130] GIST 세포 (4×10^4)를 상이한 투여량의 화합물로 처리하였다. 처리된 GIST882 세포를 144 시간 동안 배양하고, GIST48 및 GIST430 세포를 5% CO_2에서 37℃로 120 시간 동안 배양하였다. 세포 증식은 1 시간 동안 세포를 메틸렌 블루 (Clontech, 미국 캘리포니아주 소재)로 배양함으로써 측정하였다. SpectraMax M5 마이크로플레이트 리더 (Molecular Devices, 미국 소재)를 사용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0131] 화학식 I의 특정 화합물의 GI_{50} (세포 증식의 최대 억제의 50% 농도) 값을 하기 표에 나타낸다 :

화합물	GI_{50} (nM)						
	MOLM-13	MV4:11	Kasumi-1	GIST-T1	GIST430	GIST48	GIST882
1	10	13	11	11	3.8	19	5.0
7	62	34	266	53	60	820	20
12	211	132	349	119	ND	ND	ND

[0132] ND, 측정되지 않음.

[0133] **기타 실시양태**

[0134] 본 명세서에 개시된 모든 특징들은 임의의 조합으로 조합될 수 있다. 본 명세서에 개시된 각각의 특징은 동일한, 동등한, 또는 유사한 목적을 제공하는 대안적인 특징으로 대체될 수 있다. 따라서, 달리 명시되지 않는 한, 개시된 각각의 특징은 동등한 또는 유사한 특징의 포괄적인 시리즈의 예일 뿐이다.

[0135] 상기 설명으로부터, 당업자는 본 발명의 본질적인 특징을 용이하게 확인할 수 있고, 본 발명의 사상 및 범위를 벗어나지 않으면서, 본 발명의 다양한 변경 및 수정을 행하여 다양한 용도 및 조건에 적응시킬 수 있다. 따라서, 다른 실시양태도 다음의 청구 범위의 범위 내에 있다.