



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0073166
(43) 공개일자 2025년05월27일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 405/14 (2006.01) A61K 31/443 (2006.01)
A61K 31/513 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
C07D 405/12 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07D 405/14 (2013.01)
A61K 31/443 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2025-7012107(분할)
- (22) 출원일자(국제) 2019년04월17일
심사청구일자 없음
- (62) 원출원 특허 10-2020-7032832
원출원일자(국제) 2019년04월17일
심사청구일자 2022년03월21일
- (85) 번역문제출일자 2025년04월14일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2019/027932
- (87) 국제공개번호 WO 2019/204490
국제공개일자 2019년10월24일
- (30) 우선권주장
62/659,408 2018년04월18일 미국(US)

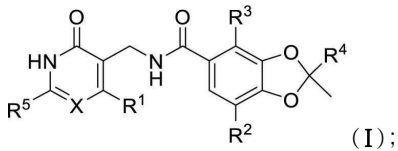
- (71) 출원인
콘스텔레이션 파마슈티칼스, 인크.
미국 02210 매사추세츠 보스턴 애틀란틱 애비뉴
470 스위트 1401
- (72) 발명자
꾸띠, 알렉산드르
미국 메사추세츠 02139, 캠브리지, 브로드웨이 스트리트 399 아파트 11
젤링, 빅터, 에스.
미국 메사추세츠 02144 서머빌 리얼 유닛 웨어 스트리트 10
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
인비전 특허법인

전체 청구항 수 : 총 1 항

(54) 발명의 명칭 메틸 변형 효소 조절제, 이의 조성물 및 용도

(57) 요약

메틸 변형 효소와 관련된 다양한 질환, 장애 또는 상태를 치료하는 데 유용한, 화학식 (I):



의 신규한 화합물 및 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 제공된다. 또한, 화학식 (I)의 신규한 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 약학적 조성물, 및 메틸 변형 효소와 관련된 하나 이상의 질환, 장애 또는 상태의 치료에 이의 사용 방법이 제공된다.

(52) CPC특허분류

A61K 31/513 (2013.01)

A61P 35/00 (2018.01)

C07D 405/12 (2013.01)

(72) 발명자

칸나, 아비나쉬

미국 메사추세츠 02141 캠브리지 허리 스트리트 63
아파트 1엘

므완, 루디빈

미국 메사추세츠 02141 캠브리지 요크 플레이스
15, 4번지

스터키, 제이콥, 아이.

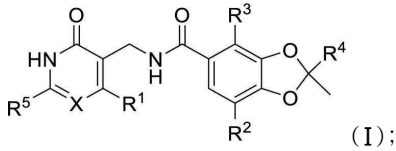
미국 메사추세츠 01701 프레이밍햄 클로데트 서클
2

명세서

청구범위

청구항 1

화학식 I:



의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염으로서,

R¹은 할로, -S(C₁-C₄)알킬, -S(C₃-C₇)사이클로알킬, 또는 -S[할로(C₁-C₄)알킬]이고;

X는 CH 또는 N이고;

R²는 수소, 할로, (C₁-C₄)알킬, 또는 할로(C₁-C₄)알킬이고;

R³은 할로, (C₁-C₄)알킬, 또는 할로(C₁-C₄)알킬이고;

R⁴는 각각이 할로, (C₁-C₄)알킬, 할로(C₁-C₄)알킬, (C₁-C₄)알콕시, 할로(C₁-C₄)알콕시 및 -NR^aR^b로부터 선택되는 1 내지 3개의 기로 선택적으로 치환되는, (C₃-C₇)사이클로알킬 또는 4 내지 7-원 헤테로사이클릴이고;

R^a는 수소, (C₁-C₄)알킬, 또는 할로(C₁-C₄)알킬이고;

R^b는 (C₁-C₄)알킬, 할로(C₁-C₄)알킬, 또는 4 내지 7-원 헤테로사이클릴이며, 상기 헤테로사이클릴은 할로, (C₁-C₄)알킬, 할로(C₁-C₄)알킬, (C₁-C₄)알콕시 및 할로(C₁-C₄)알콕시로부터 선택된 1 내지 3개의 기로 선택적으로 치환되고; 또는

R^a 및 R^b는 이들이 부착되어 있는 질소 원자와 함께 할로, (C₁-C₄)알킬, 할로(C₁-C₄)알킬 및 -OR^c로부터 선택된 1 내지 3개의 기로 선택적으로 치환된 4 내지 7-원 헤테로사이클릴을 형성하고;

R^c는 (C₁-C₄)알킬, 할로(C₁-C₄)알킬, 또는 (C₃-C₇)사이클로알킬이며; 그리고

R⁵는 할로, (C₁-C₄)알킬, 또는 할로(C₁-C₄)알킬인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염.

발명의 설명

기술분야

[0001] 관련 출원

[0002] 본 출원은 2018년 4월 18일자로 출원된 미국 임시 출원 제62/659,408호의 우선권의 이익을 주장하며, 이는 그 전체 내용이 본원에 인용되어 포함된다.

배경기술

[0003] 진핵 크로마틴은 뉴클레오솜이라 불리는 거대분자 복합체로 구성되어 있다. 뉴클레오솜은 각 히스톤 단백질 H2A, H2B, H3 및 H4의 두 서브유닛을 갖는 단백질 옥타머 주위에 감긴 DNA의 147개 염기쌍을 갖는다. 히스톤 단백질은 번역후 변형(post-translational modification)되어 크로마틴 구조 및 유전자 발현에 영향을 준다. 히스톤에서 발견되는 번역후 변형의 일 유형은 리신 및 아르기닌 잔기의 메틸화이다. 히스톤 메틸화는 진핵세포에서

유전자 발현을 조절하는 데 중요한 역할을 한다. 메틸화는 크로마틴 구조에 영향을 주고, 전사의 활성화와 억제에 모두 연관되어 있다(문헌[Zhang and Reinberg, Genes Dev. 15:2343-2360, 2001]). 히스톤에 대한 메틸기의 부착과 제거를 촉매하는 효소는 유전자 침묵, 배아 발생, 세포 증식 및 기타 과정에 연관되어 있다.

[0004] 한 부류의 히스톤 메틸라아제는 약 130개의 아미노산을 포함하는 SET 도메인의 존재를 특징으로 한다. EZH2는 메틸라아제를 포함하는 인간 SET-도메인의 일 예이다. EZH2는 배아 외배엽 발달(EED:Embryonic Ectoderm Development) 및 SUZ12(zeste 12 동족체의 억제자)와 회합하여 리신 27에서 히스톤 H3을 트리메틸화하는 능력을 갖는 폴리콤기 억제 복합체 2(PRC2: Polycomb Group Repressive Complex 2)로 알려진 복합체를 형성한다(문헌[Cao and Zhang, Mol Cell 15: 57-67, 2004]). PRC2 복합체는 또한 RBAP46 및 RBAP48 서브유닛을 포함할 수 있다. 다른 예는 관련된 메틸라아제 EZH1이다.

[0005] EZH2의 발암 활성화는 다양한 상이한 암 유형에 대한 다수의 연구에 의해 입증되었다. 약 15 내지 20% GCB-DLBCL은 EZH2 (Y641 잔기)에서 기능 획득 돌연변이를 가지고 있으며, 이러한 세포는 시험관 내 및 생체 내 양쪽 모두에서 EZH2 억제에 과민 반응한다(문헌[McCabe et al, 2012; Bradley et al, 2014]). 세포주 실험에서 EZH2의 과발현은 세포 침입, 소프트 아가(soft agar)에서의 성장 및 운동성을 유도하는 반면 EZH2의 녹다운(knockdown)은 세포 증식 및 세포 침입을 억제한다(문헌[Kleer et al., 2003, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 100:11606-11611; Varambally et al., (2002), "The polycomb group protein EZH2 is involved in progression of prostate cancer," Nature 419, 624-629]). EZH2가 E-카드헤린, DAB2IP 및 RUNX3를 포함한 여러 종양 억제제의 발현을 억제하는 것으로 나타났다. 이중 이식 모델에서, EZH2 녹다운은 종양 성장과 전이를 억제한다. 쥐 모델에서 EZH2의 하향 조절이 전립선 암 전이를 차단하는 것으로 나타났다(문헌[Min et al., "An oncogene-tumor suppressor cascade drives metastatic prostate cancer by coordinately activating Ras and nuclear factor- κ B," Nat Med. 2010 Mar; 16(3):286-94]). 최근에는 EZH2가 신경 내분비 종양에서 과발현되고 마우스 종양에서 EZH2의 억제가 안드로겐 의존성을 회복한다는 것이 입증되었다(문헌[Ku et al, Science, 355, 2017]). EZH2 과발현은 유방암과 같은 특정 암의 공격성과 관련이 있다(문헌[Kleer et al., Proc. Nat. Acad. Sci. USA 100:11606-11611, 2003]). 최근 연구는 또한 전립선 암 특이적인 발암 융합 유전자 TMPRSS2-ERG가 EZH2의 직접적인 활성화를 통해 억제성 후성 유전 프로그램을 유도한다고 시사한다(문헌[Yu et al., "An Integrated Network of Androgen Receptor, Polycomb, and TMPRSS2-ERG Gene Fusions in Prostate Cancer Progression," Cancer Cell. 2010 May 18;17(5):443-454]).

[0006] 다양한 생물학적 과정의 조절에서 그들의 역할을 감안할 때, 메틸 변형 효소, 특히 EZH2 및 이의 돌연변이체 형태는 조절에 대한 매력적인 표적이다.

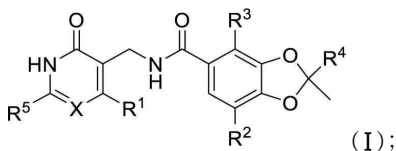
발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명은 메틸 변형 효소 조절제, 이의 조성물 및 용도를 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

[0008] 본원에 기재된 화합물 및 이의 약학적으로 허용 가능한 조성물이 EZH2의 활성을 조절한다는 것을 이제 알게 되었다(예컨대, 표 5 참조). 이러한 화합물은 구조식 I:



[0009] 의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하며, 상기 식에서 R¹, R², R³, R⁴, R⁵ 및 X의 각각은 본원에 정의된다.

[0011] 일 양태에서, 본원에 기재된 특정 화합물이 증가된 체류 시간(예컨대, > 100 시간) 및 향상된 투과도를 갖는 것을 또한 알게 되었다. 체류 시간의 증가(즉, 더 느린 오프 속도) 및/또는 투과도의 증가는 개선된 세포 효능과 관련이 있는 것을 알게 되었다.

[0012] 개시된 화합물, 약학적으로 허용 가능한 염 및 약학적으로 허용 가능한 조성물은 메틸 변형 효소와 관련된 다양

한 상태를 치료하는 데 유용하다. 이러한 상태는 예컨대, 하나 이상의 암을 포함한다.

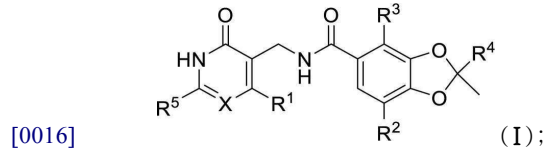
발명의 효과

[0013] 본 발명에 따르면 메틸 변형 효소 조절제, 이의 조성물 및 용도가 제공된다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0014] 1. 화합물의 일반 설명

[0015] 화학식 I:



[0017] 의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염으로서,

[0018] R¹은 할로, -S(C₁-C₄)알킬, -S(C₃-C₇)사이클로알킬, 또는 -S[할로(C₁-C₄)알킬]이고;

[0019] X는 CH 또는 N이고;

[0020] R²는 수소, 할로, (C₁-C₄)알킬, 또는 할로(C₁-C₄)알킬이고;

[0021] R³은 할로, (C₁-C₄)알킬, 또는 할로(C₁-C₄)알킬이고;

[0022] R⁴는 각각이 할로, (C₁-C₄)알킬, 할로(C₁-C₄)알킬, (C₁-C₄)알콕시, 할로(C₁-C₄)알콕시 및 -NR^aR^b로부터 선택되는 1 내지 3개의 기로 선택적으로 치환되는, (C₃-C₇)사이클로알킬 또는 4 내지 7-원 헤테로사이클릴이고;

[0023] R^a는 수소, (C₁-C₄)알킬, 또는 할로(C₁-C₄)알킬이고;

[0024] R^b는 (C₁-C₄)알킬, 할로(C₁-C₄)알킬, 또는 4 내지 7-원 헤테로사이클릴이며, 상기 헤테로사이클릴은 할로, (C₁-C₄)알킬, 할로(C₁-C₄)알킬, (C₁-C₄)알콕시 및 할로(C₁-C₄)알콕시로부터 선택된 1 내지 3개의 기로 선택적으로 치환되고; 또는

[0025] R^a 및 R^b는 이들이 부착되어 있는 질소 원자와 함께 할로, (C₁-C₄)알킬, 할로(C₁-C₄)알킬 및 -OR^c로부터 선택된 1 내지 3개의 기로 선택적으로 치환된 4 내지 7-원 헤테로사이클릴을 형성하고;

[0026] R^c는 (C₁-C₄)알킬, 할로(C₁-C₄)알킬, 또는 (C₃-C₇)사이클로알킬이며; 그리고

[0027] R⁵는 할로, (C₁-C₄)알킬, 또는 할로(C₁-C₄)알킬이다.

[0028] 2. 정의

[0029] 복수개의 부착 지점을 가질 수 있는 화학기를 설명하기 위해 연계하여 사용되는 경우, 하이픈(-)은 해당기가 정의된 변수에 대한 해당기의 부착 지점을 나타낸다. 예를 들어, -S(C₃-C₇)사이클로알킬 및 -S[할로(C₁-C₄)알킬]은 이 기에 대한 부착 지점이 황 원자 상에서 발생한다는 것을 의미한다.

[0030] 본원에 사용된 "할로" 및 "할로겐"이라는 용어는 불소(플루오로, -F), 염소(클로로, -Cl), 브롬(브로모, -Br) 및 요오드(아이오도, -I)로부터 선택된 원자를 지칭한다.

[0031] 본원에 사용된 "알킬"이라는 용어는 달리 명시되지 않는 한 1 내지 10개의 탄소 원자를 갖는 1가의 포화 직쇄 또는 분지쇄 탄화수소 라디칼을 지칭한다. 알킬 라디칼의 예는 메틸, 에틸, n-프로필, 이소프로필, n-부틸, iso-부틸, sec-부틸, sec-펜틸, iso-펜틸, tert-부틸, n-헥실, 네오펜틸, n-헥실, sec-헥실 등을 포함하지만,

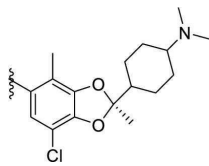
이에 한정되지 않는다.

- [0032] "할로알킬"이라는 용어는 모노, 폴리 및 퍼할로알킬기를 포함하며, 할로젠은 불소, 염소, 브롬 및 요오드로부터 독립적으로 선택된다.
- [0033] "알콕시"는 산소 링커(-O(알킬))을 통해 다른 모이어티에 부착된 알킬기이다. 이의 비한정적인 예는 메톡시, 에톡시, 프로톡시 및 부톡시를 포함한다.
- [0034] "할로알콕시"는 예컨대, -OCHCF₂ 또는 -OCF₃과 같지만 이에 한정되지 않는 산소 원자를 통해 다른 모이어티에 부착된 할로알킬기이다.
- [0035] "사이클로알킬"이라는 용어는 완전 포화된 3-원 내지 12-원(예컨대, 3-원 내지 7-원) 단환식, 이환식(예컨대, 가교된 또는 스피로 이환식 고리) 또는 다환식(예컨대, 삼환식) 탄화수소 고리 시스템을 지칭한다. 단환식 사이클로알킬기는 사이클로프로필, 사이클로부틸, 사이클로펜틸, 사이클로헥실, 사이클로헥틸 및 사이클로옥틸을 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 가교된 이환식 사이클로알킬기는 바이사이클로[3.2.1]옥탄, 바이사이클로[2.2.1]헵탄, 바이사이클로[3.1.0]헥산, 바이사이클로[1.1.1]펜탄 등을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 스피로 바이사이클로 사이클로알킬기는 예컨대, 스피로[3.6]데칸, 스피로[4.5]데칸 등을 포함한다. 융합된 사이클로알킬 고리는 예컨대, 데카하이드로나프탈렌, 옥타하이드로펜탈렌 등을 포함한다. 선택적으로 치환되거나 치환된 것으로 명시되는 경우, 사이클로알킬 상의 치환기(예컨대, 선택적으로 치환된 사이클로알킬의 경우)는 임의의 치환 가능한 위치에 존재할 수 있으며, 예컨대, 사이클로알킬기가 부착된 위치를 포함한다.
- [0036] "헤테로사이클릴"이라는 용어는 N, O 및 S로부터 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 헤테로원자를 함유하는 3 내지 12원(예컨대, 4-, 5-, 6- 및 7-원) 포화되거나 부분적으로 포화된 복소환식 고리를 의미한다. 이는 단환식, 이환식(예컨대, 가교된, 융합된 또는 스피로 이환식 고리) 또는 삼환식일 수 있다. "헤테로사이클", "헤테로사이클릴", "헤테로사이클릴 고리", "헤테로사이클기", "복소환식 모이어티" 및 "복소환식 라디칼"이라는 용어는 본원에서 교환 가능하게 사용된다. 헤테로사이클릴 고리는 안정한 구조를 생성하는 임의의 헤테로원자 또는 탄소 원자에서 펜던트(pendant)기에 부착될 수 있다. 이러한 포화된 또는 부분적으로 포화된 복소환식 라디칼의 예는 테트라하이드로피라닐, 테트라하이드로티에닐, 테트라하이드로피라닐, 피롤리디닐, 피리디노일, 피롤리도닐, 피페리디닐, 옥사졸리디닐, 피페라지닐, 디옥사닐, 디옥소라닐, 모르폴리닐, 디하이드로피라닐, 디하이드로피라닐, 디하이드로피리디닐, 테트라하이드로피리디닐, 디하이드로피리미디닐, 옥세타닐, 아제티디닐 및 테트라하이드로피리미디닐을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 헤테로사이클릴기는 단환식 또는 이환식일 수 있다. "헤테로사이클릴"이라는 용어는 또한 예를 들어, 테트라하이드로나프티리딘, 인돌리논, 디하이드로피롤로트리아졸, 이미다조피리미딘, 퀴놀리논, 디옥사스피로데칸과 같이, 예컨대, 다른 포화된 복소환식 라디칼 또는 아릴 또는 헤테로아릴 고리에 융합된 불포화 복소환식 라디칼을 포함한다. 선택적으로 치환되거나 치환된 것으로 명시되는 경우, 헤테로사이클릴 상의 치환기(예컨대, 선택적으로 치환된 헤테로사이클릴의 경우)는 임의의 치환 가능한 위치에 존재할 수 있으며, 예컨대, 헤테로사이클릴기가 부착된 위치를 포함한다.
- [0037] "스피로"라는 용어는 하나의 고리 원자(예컨대, 탄소)를 공유하는 2개의 고리를 지칭한다.
- [0038] "융합된"이라는 용어는 2개의 인접한 고리 원자들을 서로 공유하는 2개의 고리를 지칭한다.
- [0039] "가교된"이라는 용어는 3개 이상의 고리 원자들을 서로 공유하는 2개의 고리를 지칭한다.
- [0040] 본원에 사용된, "기하 이성질체"는 사이클로알킬 고리, 즉 시스 또는 트랜스 이성질체와 관련하여 치환기 원자의 배향이 상이한 이성질체를 지칭한다. 개시된 화합물이 특정 시스 또는 트랜스 기하 이성질체 형태를 나타내지 않고 구조에 의해 명명되거나 묘사될 경우, 명칭 또는 구조는 다른 기하 이성질체가 없는 하나의 기하 이성질체, 기하 이성질체의 혼합물, 또는 해당 기하 이성질체에 비해 하나의 기하 이성질체가 풍부한 혼합물을 포함하는 것으로 이해되어야 한다.
- [0041] 달리 명시되지 않는 한, 개시된 화합물의 입체화학이 구조에 의해 명명되거나 묘사될 경우, 명명되거나 묘사된 입체 이성질체는 다른 입체 이성질체 모두에 대해 적어도 60 중량%, 70 중량%, 80 중량%, 90 중량%, 99 중량% 또는 99.9 중량% 순수하다. 단일 거울상 이성질체가 구조에 의해 명명되거나 묘사될 경우, 묘사되거나 명명된 거울상 이성질체는 적어도 60 중량%, 70 중량%, 80 중량%, 90 중량%, 99 중량% 또는 99.9 중량% 광학적으로 순수하다. 중량 백분율 광학 순도는 거울상 이성질체의 중량 대 거울상 이성질체의 중량에 더하여 이의 광학 이성질체의 중량의 비율이다. 거울상 이성질체는, 예를 들어 당업자에게 공지된 방법, 예를 들어 결정화에 의해 분리될 수 있는 부분입체 이성질체 염의 형성; 예를 들어 결정화, 초임계 유체 또는 액체 크로마토그래피에 의해

분리될 수 있는 부분입체 이성질체 유도체 또는 복합체의 형성; 하나의 거울상 이성질체와 거울상 이성질체-특이적 시약의 선택적 반응, 예를 들어, 효소 에스테르화; 또는 키랄 환경, 예를 들어 키랄 지지체, 예를 들어 결합된 키랄 리간드를 갖는 실리카 또는 키랄 용매의 존재 하에서 초임계 유체 또는 액체 크로마토그래피에 의해 해소될 수 있다. 특이적인 거울상 이성질체는 또한 광학 활성 시약, 기질, 촉매 또는 용매를 사용하는 비대칭 합성에 의해 또는 비대칭 변환에 의해 하나의 거울상 이성질체를 다른 거울상 이성질체로 전환함으로써 합성될 수 있다.

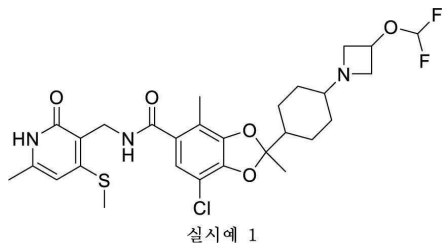
[0042] 달리 명시되지 않는 한, 개시된 화합물이 입체화학을 나타내지 않고 구조에 의해 명명되거나 묘사되고, 화합물이 적어도 하나의 키랄 중심 또는 적어도 하나의 기하 이성질체, 또는 양쪽 모두를 갖는 경우, 명칭 또는 구조는 해당 광학 이성질체 또는 기하 이성질체가 없는 화합물의 하나의 거울상 이성질체 또는 기하 이성질체, 화합물의 라세미 혼합물, 및 해당 광학 이성질체 또는 기하 이성질체에 비해 하나의 거울상 이성질체 또는 기하 이성질체가 풍부한 혼합물을 포함한다.

[0043] 달리 명시되지 않는 한, 개시된 화합물에서 입체화학 중심의 일부만이 구조에 의해 묘사되거나 명명될 경우, 명명되거나 묘사된 배열은, 예를 들어 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 99% 또는 99.9%의 몰 과잉에 의해 나머지 배열에 비해 풍부하다. 예를 들어, 기질:



[0044] 은 키랄 탄소에 대한 배열이 (예컨대, 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 99% 또는 99.9%의 몰 과잉에 의해) R로서 입체화학적으로 풍부하다는 것을 의미하며, 사이클로헥실에 대한 기하구조가 시스 또는 트랜스 또는 이들의 혼합일 수 있음을 의미한다.

[0045] 특정 예에서, 개시된 화합물은 입체화학을 나타내지 않고 구조에 의해 묘사되지만, 입체화학적으로 풍부한 것으로 확인된다(예컨대, 기하 이성질체가 불가능한 경우 "단일 거울상 이성질체; 단일 기하 이성질체" 또는 "단일 거울상 이성질체"). 예를 들어, 달리 명시되지 않는 한,



실시예 1

[0046] (단일 거울상 이성질체, 단일 기하 이성질체) 은 키랄 디옥소라닐에 대한 배열이 (예컨대, 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 99% 또는 99.9%의 몰 과잉에 의해) R로서 입체화학적으로 풍부하거나 (예컨대, 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 99% 또는 99.9%의 몰 과잉에 의해) S로서 입체화학적으로 풍부하다는 것을 의미하며, 사이클로헥실 고리에 대한 기하 배열이 (예컨대, 60%, 70%, 80%, 90%, 99% 또는 99.9%의 몰 과잉에 의해) 시스로서 풍부하거나 (예컨대, 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 99% 또는 99.9%의 몰 과잉에 의해) 트랜스로서 풍부하다는 것을 의미한다.

[0047] 본원에 사용된 "환자"라는 용어는 포유류와 같은 동물 및 인간과 같은 동물을 의미한다. "대상체" 및 "환자"라는 용어는 상호 교환적으로 사용될 수 있다.

[0048] "약학적으로 허용 가능한 담체"라는 용어는 제형화되는 화합물의 약리학적 활성을 파괴하지 않는 비 독성 담체, 보조제 또는 비히클을 지칭한다. 본원에 기재된 조성물에 사용될 수 있는 약학적으로 허용 가능한 담체, 보조제 또는 비히클은 이온 교환체, 알루미늄, 스테아르산 알루미늄, 레시틴, 인간 혈청 알부민과 같은 혈청 단백질, 인산염과 같은 완충 물질, 글리신, 소르브산, 소르브산 칼륨, 포화 식물성 지방산의 부분 글리세라이드 혼합물, 물, 프로타민 설페이트와 같은 염 또는 전해질, 인산 수소 이나트륨, 인산 수소 칼륨, 염화나트륨, 아연 염, 콜로이드 실리카, 마그네슘 트리실리케이트, 폴리 비닐 피롤리돈, 셀룰로오스계 물질, 폴리에틸렌 글리콜, 나트륨 카르복시메틸셀룰로오스, 폴리아크릴레이트, 왁스, 폴리에틸렌-폴리옥시프로필렌-블록 중합체, 폴리에틸렌 글리콜 및 양모 지방을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다.

[0049] 용어 "치료", "치료하다" 및 "치료하는"은 본원에 기재된 바와 같이 질환 또는 장애 또는 이의 하나 이상의 증상의 진행을 역전, 완화 또는 억제하는 것을 지칭한다. 증상이 해소된 후에도, 예를 들어 재발을 지연하기 위해

치료가 또한 계속될 수 있다.

[0050] 질환, 장애 및 상태는 본원에서 상호 교환적으로 사용된다.

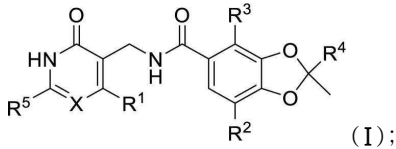
[0051] "유효량" 또는 "치료학적 유효량"이라는 용어는 대상체의 생물학적 또는 의학적 반응을 유도할 본원에 기재된 화합물의 양, 예컨대 0.01 내지 100 mg/kg 체중/일의 투여량을 지칭한다. "대상체" 및 "환자"라는 용어는 상호 교환적으로 사용될 수 있으며 치료가 필요한 동물, 예컨대, 반려 동물(예컨대, 개, 고양이 등), 농장 동물(예컨대, 소, 돼지, 말, 양, 염소 등) 및 실험실 동물(예컨대, 쥐, 마우스, 기니피그 등)을 의미한다. 통상적으로, 대상체는 치료를 필요로 하는 인간이다.

[0052] "억제하다", "억제" 또는 "억제하는"은 생물학적 활성 또는 과정의 기준선 활성의 감소를 포함한다.

[0053] 본원에 기재된 화합물은 약학적으로 허용 가능한 염의 형태로 존재할 수 있다. 의약품에 사용하기 위해, 본원에 기재된 화합물의 염은 비 독성 "약학적으로 허용 가능한 염"을 지칭한다. 약학적으로 허용 가능한 염 형태는 약학적으로 허용 가능한 산성/염이온성 또는 염기성/양이온성 염을 포함한다. 본원에 기재된 화합물의 적합한 약학적으로 허용 가능한 산 부가 염은 예컨대, (염산, 브롬화 수소산, 인산, 질산 및 황산과 같은) 무기산의 염 및 (아세트산, 벤젠 설폰산, 벤조산, 메탄설폰산 및 p-톨루엔설폰산과 같은) 유기산의 염을 포함한다.

[0054] **3. 예시적인 화합물의 설명**

[0055] 제1 실시형태에서, 본 개시내용은 화학식 I:



[0057] 의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 제공하며, 변수는 화학식 I에 대하여 상기와 같다.

[0058] 제2 실시형태에서, 화학식 I의 화합물에서,

[0059] R¹은 할로 또는 -S(C₁-C₄)알킬이고;

[0060] R²는 할로이고;

[0061] R³은 (C₁-C₄)알킬이고;

[0062] R⁴는 각각이 할로(C₁-C₄)알킬 및 -NR^aR^b로부터 선택되는 1 내지 2개의 기로 선택적으로 치환되는, (C₃-C₇)사이클로알킬 또는 (C₄-C₇)헤테로사이클릴이고;

[0063] R^a는 수소 또는 (C₁-C₄)알킬이고;

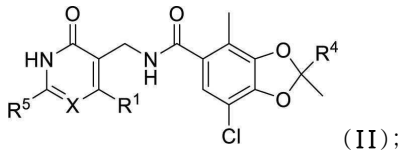
[0064] R^b는 (C₁-C₄)알킬 또는 (C₄-C₇)헤테로사이클릴이며, 상기 헤테로사이클릴은 할로(C₁-C₄)알킬로 선택적으로 치환되고; 또는

[0065] R^a 및 R^b는 이들이 부착되어 있는 질소 원자와 함께 할로 및 -OR^c로부터 선택된 1 내지 3개의 기로 선택적으로 치환된 4 내지 7-원 질소 함유 헤테로사이클릴을 형성하고;

[0066] R^c는 (C₁-C₄)알킬, 할로(C₁-C₄)알킬, 또는 (C₃-C₇)사이클로알킬이며; 그리고

[0067] R⁵는 할로 또는 (C₁-C₄)알킬이다.

[0068] 제3 실시형태에서, 화학식 I의 화합물은 화학식 II:



[0069]

[0070]

의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이며, 나머지 변수는 화학식 I 또는 제2 실시형태에 대하여 상기 기재된 바와 같다.

[0071]

제4 실시형태에서, 화학식 I 또는 화학식 II의 화합물에서 R¹은 클로로이며, 나머지 변수는 화학식 I 또는 제2 실시형태에 대하여 상기 기재된 바와 같다.

[0072]

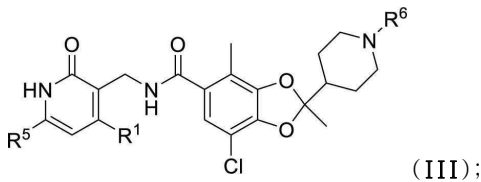
제5 실시형태에서, 화학식 I 또는 화학식 II의 화합물에서 R¹은 -SCH₃이며, 나머지 변수는 화학식 I 또는 제2 실시형태에 대하여 상기 기재된 바와 같다.

[0073]

제6 실시형태에서, 화학식 I 또는 화학식 II의 화합물에서 R⁴는 각각이 할로(C₁-C₄)알킬 및 -NR^aR^b로부터 선택된 1 내지 2개의 기로 선택적으로 선택된, 사이클로헥실 또는 피페리디닐이며, 나머지 변수는 화학식 I 또는 제2, 제4 또는 제5 실시형태에 대하여 상기 기재된 바와 같다.

[0074]

제7 실시형태에서, 화학식 I 또는 화학식 II의 화합물은 화학식 III:



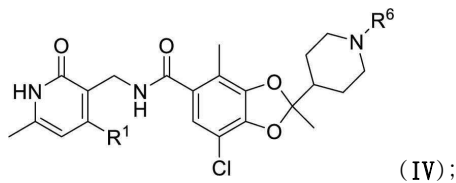
[0075]

[0076]

의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이며, R⁶은 할로(C₁-C₄)알킬이고, 나머지 변수는 화학식 I 또는 제2, 제4 또는 제5 실시형태에 대하여 상기 기재된 바와 같다.

[0077]

제8 실시형태에서, 화학식 I, 화학식 II 또는 화학식 III의 화합물은 화학식 IV:



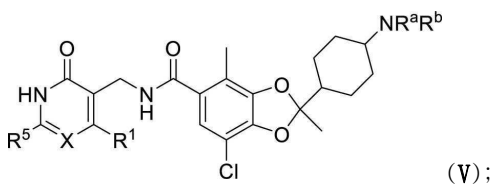
[0078]

[0079]

의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이며, 나머지 변수는 화학식 I 또는 제2, 제4, 제5 또는 제7 실시형태에 대하여 상기 기재된 바와 같다.

[0080]

제9 실시형태에서, 화학식 I 또는 화학식 II의 화합물은 화학식 V:



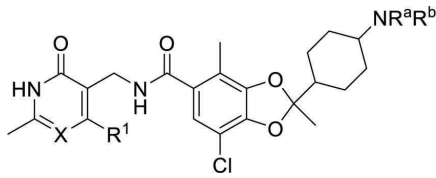
[0081]

[0082]

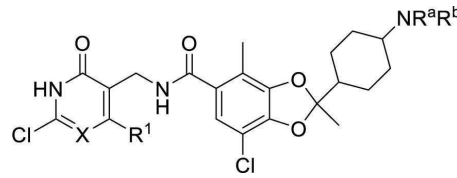
의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이며, 나머지 변수는 화학식 I 또는 제2, 제4 또는 제5 실시형태에 대하여 상기 기재된 바와 같다.

[0083]

제10 실시형태에서, 화학식 I, 화학식 II 또는 화학식 V의 화합물은 화학식 VI 또는 VII:



(VI); 또는



(VII);

[0084]

[0085]

[0086]

[0087]

[0088]

[0089]

[0090]

[0091]

[0092]

[0093]

[0094]

의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이며, 나머지 변수 및 특징은 화학식 I 또는 제2, 제4 또는 제5 실시형태에 대하여 상기 기재된 바와 같다.

제11 실시형태에서, 화학식 I, 화학식 II, 화학식 V, 화학식 VI 및 화학식 VII의 화합물에서 R^b는 (C₁-C₄)알킬 또는 옥세타닐이며, 상기 옥세타닐은 할로(C₁-C₄)알킬로 선택적으로 치환되고; 또는 R^a 및 R^b는 이들이 부착되어 있는 질소 원자와 함께 할로 및 -OR^c로 선택적으로 치환된 아세티디닐을 형성하며, 나머지 변수 및 특징은 화학식 I 또는 제2, 제4 또는 제5 실시형태에 대하여 상기 기재된 바와 같다.

제12 실시형태에서, 화학식 I, 화학식 II, 화학식 V, 화학식 VI 및 화학식 VII의 화합물에서 R^a는 수소 또는 메틸이며, R^b는 메틸 또는 옥세타닐이며, 상기 옥세타닐은 -CH₂F 또는 -CF₃로 선택적으로 치환되며, 나머지 변수 및 특징은 화학식 I 또는 제2, 제4, 제5 또는 제11 실시형태에 대하여 상기 기재된 바와 같다.

제13 실시형태에서, 화학식 I, 화학식 II, 화학식 V, 화학식 VI 및 화학식 VII의 화합물에서 R^a 및 R^b는 이들이 부착되어 있는 질소 원자와 함께 1 내지 2개의 플루오로 또는 -OR^c로 선택적으로 치환된 아세티디닐을 형성하고; 그리고 R^c는 -CH₃, -CHF₂ 또는 사이클로프로필이며, 나머지 변수 및 특징은 화학식 I 또는 제2, 제4, 제5 또는 제11 실시형태에 대하여 상기 기재된 바와 같다.

제14 실시형태에서, 화학식 I, II, V, VI 및 VII 중 어느 하나에서 1,3-디옥소라닐 및 NR^aR^b 기의 배열은 사이클로헥실에 대하여 트랜스로 배향되며, 나머지 특징은 화학식 I 또는 제2, 제4, 제5, 제6, 제11, 제12 또는 제13 실시형태에 대하여 상기 기재된 바와 같다. 대안적으로, 화학식 I, II, V, VI 및 VII 중 어느 하나에서 1,3-디옥소라닐 및 NR^aR^b 기의 배열은 사이클로헥실에 대하여 시스로 배향되며, 나머지 특징은 화학식 I 또는 제2, 제4, 제5, 제6, 제11, 제12 또는 제13 실시형태에 대하여 상기 기재된 바와 같다.

제15 실시형태에서, 화학식 I, II, III, IV, V, VI 및 VII 중 어느 하나에서 1,3-디옥소라닐의 키랄 중심의 입체화학 배열은 R이며, 나머지 특징은 화학식 I 또는 제2, 제4, 제5, 제6, 제11, 제12, 제13 또는 제14 실시형태에 대하여 상기 기재된 바와 같다. 대안적으로, 화학식 I, II, III, IV, V, VI 및 VII 중 어느 하나에서 1,3-디옥소라닐의 키랄 중심의 입체화학 배열은 S이며, 나머지 특징은 화학식 I 또는 제2, 제4, 제5, 제6, 제11, 제12, 제13 또는 제14 실시형태에 대하여 상기 기재된 바와 같다.

화합물의 구체적인 예는 실시예(EXEMPLIFICATION) 섹션에 제공되며 본원에서 제14 실시형태의 일부로 포함된다. 이러한 화합물의 중성 형태뿐만 아니라 약학적으로 허용 가능한 염도 포함된다. 일 양태에서, 본 개시내용은 본원에 기재된 임의의 화합물의 라세믹 형태를 포함한다.

4. 용도, 제형 및 투여

일부 실시형태에서, 본 개시내용은 본원에 기재된 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 유도체 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 조성물을 제공한다. 제공된 조성물 내의 화합물의 양은 생물학적 샘플에서 또는 환자에서 히스톤 메틸 변형 효소 또는 이의 돌연변이체를 측정 가능하게 조절하는 데 효과적인 양이다.

특정 실시형태에서, 본원에 기재된 조성물은 이러한 조성물을 필요로 하는 환자에게 투여를 위해 제형화된다. 본원에 기재된 조성물은 경구, 비경구, 흡입 스프레이에 의해, 국소, 직장, 비강, 협측, 질 또는 이식된 저장소를 통해 투여될 수 있다. 본원에 사용된 "비경구"라는 용어는 피하, 정맥 내, 근육 내, 관절 내, 활액 내, 흉골 내, 척수강 내, 간 내, 병변 내 및 두개 내 주사 또는 주입 기술을 포함한다. 일부 실시형태에서, 조성물은 경구, 복강 내 또는 정맥 내로 투여된다. 본원에 기재된 조성물의 멸균 주사 가능한 형태는 수성 또는 유성 현탁액일 수 있다. 이들 현탁액은 적합한 분산제 또는 습윤제 및 현탁제를 사용하여 당 업계에 공지된 기술에 따라

제형화될 수 있다.

- [0095] 일부 실시형태에서, 조성물은 경구로 투여된다.
- [0096] 특정 환자에 대한 특이적인 용량 및 치료 요법은 사용된 특이적인 화합물의 활성, 연령, 체중, 일반적인 건강 상태, 성별, 식이 요법, 투여 시간, 배설 속도, 약물 조합, 치료 의사의 판단과 치료할 특정 질환의 심각성을 포함한 다양한 요인에 따라 달라질 것이다. 조성물 중 본원에 기재된 화합물의 양은 또한 조성물 중 특정 화합물에 따라 달라질 것이다.
- [0097] 본원에 기술된 화합물 및 조성물은 일반적으로 후성 유전 조절에 관여하는 하나 이상의 효소 및 특히 EZH1 및 EZH2, 더욱 구체적으로 EZH2 및 이의 돌연변이체 형태의 활성을 조절하는 데 유용하다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 화합물은 EZH2의 활성을 하향-조절 또는 억제한다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 화합물은 EZH2 활성의 길항제이다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 화합물은 EZH1의 활성을 하향-조절 또는 억제한다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 화합물은 EZH1 활성의 길항제이다.
- [0098] 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 화합물 및 조성물은 EZH1 또는 EZH2의 과발현 및/또는 EZH2 기질 활성을 변경시키는 돌연변이체 형태와 같은 EZH2의 돌연변이체 형태의 발현과 관련된 질환 및/또는 장애를 치료하는 데 유용하다. EZH2 결실, 미스센스 및 프레임 이동 돌연변이에 대한 연구는 EZH2가 골수형성이상 증후군(MDS) 및 골수성 악성종양과 같은 혈액 장애에서 종양 억제자로 기능함을 시사한다(문헌[Ernst et al., Nat Genet. 2010 Aug; 42(8):722-6; Nikoloski et al., Nat Genet. 2010 Aug; 42(8):665-7]). 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 화합물 및 조성물은 Y641N, Y641C, Y641F, Y641H, Y641S, A677G 또는 A687 돌연변이를 갖는 EZH2의 존재와 관련된 질환 및/또는 장애를 치료하는 데 유용하다. 본 실시형태의 특정 양태에서, EZH2는 Y641N 돌연변이를 갖는다.
- [0099] 일부 실시형태에서, 본 개시내용은 본원에 기재된 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, EZH1 또는 EZH2의 과발현 및/또는 EZH2의 돌연변이 형태와 관련된 질환 및/또는 장애를 앓는 대상체를 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 상기 방법은 대상체가 EZH2를 과발현하거나 EZH2의 돌연변이 형태를 발현하는지의 여부를 결정하는 예비 단계를 추가적으로 포함한다.
- [0100] 일부 실시형태에서, EZH2의 돌연변이체 형태의 존재와 관련된 질환 또는 장애는 인간 B 세포 림프종이다. 일부 실시형태에서, Y641N EZH2의 존재와 관련된 질환 및/또는 장애는 여포성 림프종 또는 미만성 거대-B 세포 림프종이다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 화합물 또는 조성물은 골수형성이상 증후군, 백혈병, 빈혈 및 세포 감소증과 같은 혈액 장애를 치료하는 데 유용하다. 문헌[Sneeringer et al., "Coordinated activities of wild-type plus mutant EZH2 drive tumor-associated hypertrimethylation of lysine 27 on histone H3 (H3K27) in human B-cell lymphomas," Sneeringer et al., Proc. Natl Acad. Sci. 2010 Dec; 109(48):20980-20985].
- [0101] 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 화합물 및 조성물은 세포 증식과 관련된 질환 및/또는 장애를 치료하는 데 유용하다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 화합물 및 조성물은 세포주기 또는 DNA 복구의 오조절과 관련된 질환 및/또는 장애를 치료하는 데 유용하다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 화합물 및 조성물은 암을 치료하는 데 유용하다.
- [0102] 일 양태에서, 본원에 기재된 화합물, 조성물 및 방법에 의해 치료될 수 있는 암은 심장: 육종(혈관육종, 섬유육종, 횡문근육종, 지방육종), 점액종, 횡문근종, 섬유종, 지방종 및 기형종; 폐: 기관지 암종(편평 세포, 미분화 소세포, 미분화 대세포, 선암종), 폐포(기관지) 암종, 기관지 선종, 육종, 림프종, 연골성 파오종, 증피종; 위장: 식도(편평 세포 암종, 선암, 평활근육종, 림프종), 위(암종, 림프종, 평활근육종), 췌장(관선암, 인슐린종, 글루카곤종, 가스트린종, 암양 종양, 비포종), 소장(선암종, 림프종, 유암종, 카포시 육종, 평활근종, 혈관종, 지방종, 신경 섬유종, 섬유종), 대장(선암종, 관상 선종, 용모 선종, 파오종, 평활근종); 비뇨 생식기: 신장(선암종, 율름 종양(신장모세포종), 림프종, 백혈병), 방광 및 요도(편평 세포 암종, 이행세포암종, 선암종), 전립선(선암종, 육종), 고환(고환종, 기형종, 배아암종, 기형암종, 용모막암종, 육종, 간질성 세포암종, 섬유종, 섬유선종, 선종모양 종양, 지방종); 간: 간암종(간세포암종), 담관암종, 간모세포종, 혈관육종, 간세포 선종, 혈관종; 뼈: 골육종(뼈육종), 섬유육종, 악성섬유조직구종, 연골육종, 유잉 육종, 악성 림프종(세망세포육종), 다발성 골수종, 악성 거대 세포 종양 척삭종, 골연골종(골연골성 외골증), 양성 연골종, 연골 모세포종, 유골골종 및 거대 세포 종양; 신경계: 두개골(골종, 혈관종, 육아종, 황색종, 변형 골염), 수막(수막종, 수막 육종, 신경아교종증), 뇌(성상 세포종, 수모세포종, 신경아교종, 뇌실막종, 종자세포종(송과체종), 다형성아교모세포종,

핍지교종, 신경집종, 망막모세포종, 선천성 종양), 척수 신경섬유종, 수막종, 신경아교종, 육종); 부인과: 자궁(자궁 내막 암종), 자궁경부(자궁경부암종, 전-종양 자궁경부 형성 장애), 난소(난소암종(장액낭선암종, 점액성 낭선암종, 미분류 암종), 과립난포막세포종양, 세르톨리-라이디히종양, 난소고환종, 악성기형종), 음문(편평 세포 암종, 상피내암종, 선암종, 섬유육종, 흑색종), 질(투명세포암종, 편평 세포 암종, 포도육종(배아형횡문근육종), 자궁관(암종); 혈액성: 혈액(골수성 백혈병(급성 및 만성) 급성 림프모세포성 백혈병, 만성림프성 백혈병, 골수증식 질환, 다발성 골수종, 골수형성이상증후군), 호지킨 질환, 비-호지킨 림프종(악성 림프종); 피부: 악성 흑색종, 기저세포암종, 편평 세포 암종, 카포시 육종, 사마귀 형성이상 모반, 지방종, 혈관종, 피부섬유종, 켈로이드, 건선; 부신: 신경모세포종을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다.

[0103]

일 양태에서, 본원에 기재된 화합물, 조성물 및 방법에 의해 치료되는 암은 부신암, 선방 세포 암종, 청신경집종, 말단 흑자 흑색종, 선단 한선종, 급성 호산구성 백혈병, 급성 적혈구 백혈병, 급성 림프모구 백혈병, 급성 거핵모구 백혈병, 급성 단핵구 백혈병, 급성 전골수구 백혈병, 선암종, 선낭암종, 선종, 선종모양 치성 종양, 선편평암종, 지방 조직 신생물, 부신피질 암종, 성인 T-세포 백혈병/림프종, 공격성 NK 세포 백혈병, AIDS-관련 림프종, 폐포 횡문근육종, 폐포 연부 섬유종, 폐포 연부 육종, 사기질모세포 섬유종, 역형성 대세포 림프종, 역형성 갑상선암, 혈관면역모구 T-세포 림프종, 혈관근지방종, 혈관육종, 성상 세포종, 비정형 기형 횡문근 종양, B-세포 만성 림프구성 백혈병, B-세포 전림프구성 백혈병, B-세포 림프종, 기저 세포 암종, 담도 암, 방광암, 모세포종, 골암, 브레너 종양, 브라운 종양, 버킷 림프종, 뇌암, 암종, 상피내 암종, 암육종, 연골 종양, 시멘트종, 골수성 육종, 연골종, 척삭종, 융모막암종, 맥락종 유두막, 신장의 투명 세포 육종, 두개인두종, 피부 T-세포 림프종, 자궁 경부암, 결장 직장암, 데고스병(Degos disease), 결합조직형성 소원형세포종양, 미만성 거대 B-세포 림프종, 배아형성장애 신경상피 종양, 미분화배세포종, 배아 암종, 내분비선 신생물, 내배엽종 종양, 장병 연관성 T 세포 림프종, 식도암, 태아 내 태아, 섬유종, 섬유육종, 소포성 림프종, 소포성 갑상선암, 신경절 신경종, 위장암, 생식 세포 종양, 임신유모막암종, 거대 세포 섬유아세포종, 골의 거대 세포 종양, 신경교세포종양, 다형성아교모세포종, 신경아교종, 대뇌신경아교종증, 글루카곤증, 성선모세포종, 과립막 세포 종양, 음양 모세포종, 담낭암, 위암, 유모 세포 백혈병, 혈관모세포종, 두경부암, 혈관주위세포종, 혈액암, 간모세포종, 간 비장 T-세포 림프종, 호지킨 림프종, 비 호지킨 림프종, 침윤성 소엽암종, 장암, 신장암, 후두암, 악성 흑색점, 치사성 중심선 암종, 백혈병, 라이디히 세포 종양, 지방육종, 폐암, 림프관종, 림프관육종, 림프상피종, 림프종, 급성 림프구성 백혈병, 급성 골수성 백혈병, 만성 림프구성 백혈병, 간암, 소세포 폐암, 비 소세포 폐암, MALT 림프종, 악성 섬유성 조직구종, 악성 말초 신경초 종양, 악성 트리톤 종양, 맨틀 세포 림프종, 변연부 B-세포 림프종, 비만 세포 백혈병, 종격 생식 세포 종양, 유방의 수질 암종, 수질 갑상선암, 수모세포종, 흑색종, 수막종, 메르켈 세포암, 증피종, 전이성 요로상피 암종, 혼합 물리관 종양, 점액성 종양, 다발성 골수종, 근육 조직 신생물, 균상 식육종, 점액모양 지방육종, 점액종, 점액육종, 비인두 암종, 신경집종, 신경모세포종, 신경섬유종, 신경종, 결정성 흑색종, 안암, 핍지교성상세포종, 핍지교종, 호산성세포종, 시신경집 수막종, 시신경 종양, 구강암, 골육종, 난소암, 판코스타 종양(Pancoast tumor), 유두상 갑상선암, 부신경절종, 송과체모세포종, 송과체세포종, 뇌하수체세포종, 뇌하수체 선종, 뇌하수체 종양, 형질세포종, 다배아종, 전구체 T 림프모구 림프종, 원발성 중추 신경계 림프종, 원발성 삼출 림프종, 원발성 복막암, 전립선암, 췌장암, 인두암, 가성 점액종, 신장 세포 암종, 신장 수질 암종, 망막모세포종, 횡문근종, 횡문근육종, 릿터 형질전환(Richter's transformation), 직장암, 육종, 신경초종종, 정상피종, 세르톨리 세포 종양, 성근-생식선 간질성 종양, 인환 세포 암종, 피부암, 소 청색 원형세포 종양, 소 세포 암종, 연 조직 육종, 소마토스타틴종, 검댕 사마귀(soot wart), 척추 종양, 비장 변연부 림프종, 편평 세포 암종, 활막 육종, 세자리병, 소장 암, 편평 암종, 위암, T-세포 림프종, 고환암, 난포막종, 갑상선암, 이행 세포 암종, 목암, 요막관 암, 비뇨생식기암, 요로상피 암종, 포도막 흑색종, 자궁암, 우축상 암종, 시각 경로 신경아교종, 외음부암, 질암, 발덴스트롬 마크로글로불린혈증(Waldenstrom's macroglobulinemia), 왈틴씨 종양(Warthin's tumor) 및 윌름스 종양(Wilms' tumor)으로부터 선택된다.

[0104]

일 양태에서, 본원에 기재된 화합물, 조성물 및 방법에 의해 치료되는 암은 선암종, 성인 T-세포 백혈병/림프종, 방광암, 모세포종, 골암, 유방암, 뇌암, 암종, 골수성 육종, 자궁경부암, 대장암, 식도암, 위장암, 다형성아교모세포종, 신경아교종, 담낭암, 위암, 두경부암, 호지킨 림프종, 비 호지킨 림프종, 장암, 신장암, 후두암, 백혈병, 폐암, 림프종, 간암, 소세포 폐암, 비 소세포 폐암, 증피종, 다발성 골수종, 급성 골수성 백혈병(AML), 미만성 거대 B-세포 림프종(DLBCL), 안암, 시신경 종양, 구강암, 난소암, 뇌하수체 종양, 원발성 중추 신경계 림프종, 전립선암, 췌장암, 인두암, 신장 세포 암종, 직장암, 육종, 피부암, 척추 종양, 소장암, 위암, T-세포 림프종, 고환암, 갑상선암, 목암, 비뇨생식기암, 요로상피 암종, 자궁암, 질암 및 윌름스 종양으로부터 선택된다.

[0105] 일 실시형태에서, 본원에 기재된 화합물, 조성물 및 방법에 의해 치료되는 암은 유방암, 전립선암, 결장암, 신장 세포 암종, 다형성아교모세포종암, 방광암, 흑색종, 기관지암, 림프종 및 간암으로부터 선택된다.

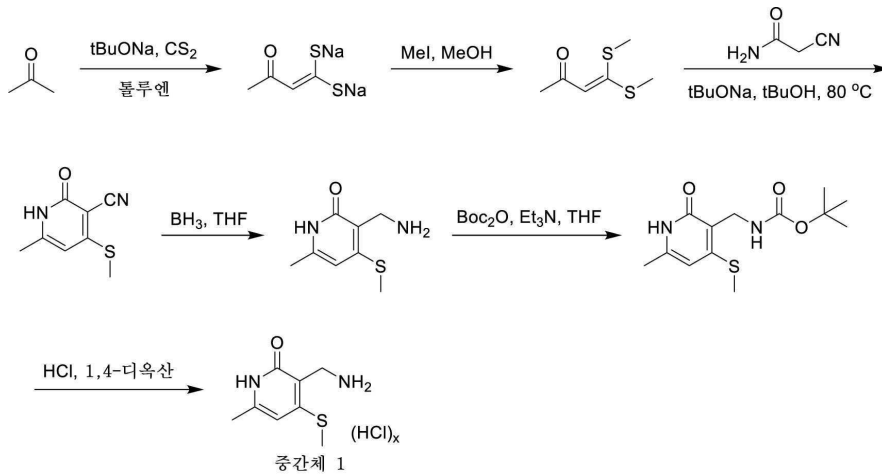
[0106] 또한, 본원에 기재된 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 또는 개시된 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 조성물의 본원에 기재된 상태를 치료하기 위한 약제의 제조를 위한 용도가 제공된다. 또한, 본원에 기재된 질환을 치료하는데 사용하기 위한 본원에 기재된 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 또는 개시된 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 조성물이 제공된다.

[0107] 실시예

[0108] 다음의 대표적인 실시예는 본 발명을 설명하는 데 도움을 주기 위한 의도이며, 본 발명의 범위를 제한하려는 의도도 아니고 해석되어서도 안 된다.

[0109] 중간체의 제조

[0110] 중간체 1: 3-(아미노메틸)-6-메틸-4-(메틸티오)피리딘-2(1H)-온 (염산염)



[0111]

[0112] 단계 1: 나트륨 3-옥소부트-1-엔-1,1-비스(티올레이트)의 합성

[0113] 톨루엔(30 mL) 중의 나트륨 tert-부톡사이드(16.6 g, 172 mmol)의 혼합물을 진공 하에서 탈기하고 질소로 퍼징 하였다(3 사이클). 이후, 아세톤(5.0 g, 6.4 mL, 86 mmol)을 0°C 에서 첨가한 다음 이황화 탄소(6.6 g, 5.24 mL, 86 mmol)를 천천히 첨가하였다. 생성된 혼합물을 0°C 에서 4시간 동안 교반한 다음 여과하였다. 필터 케이크를 진공 하에 건조시켜 표제 화합물(15.4 g, 미정제)을 황색 고체로서 수득하고, 이를 추가 정제없이 다음 단계에 사용하였다.

[0114] 단계 2: 4,4-비스(메틸티오)부트-3-엔-2-온의 합성

[0115] 메탄올(90 mL) 중의 나트륨 3-옥소부트-1-엔-1,1-비스(티올레이트) (15.4 g, 86.4 mmol) 용액에 요오도메탄 (24.5 g, 10.7 mL, 173 mmol)을 천천히 첨가하였다. 혼합물을 70°C 에서 1시간 동안 교반한 다음 농축 건조시켰다. 물(30 mL)을 첨가하고 원하는 생성물을 에틸 아세테이트(60 mL \times 3)로 추출하였다. 조합된 유기층을 황산 나트륨 상에서 건조시키고 감압 하에서 농축하여 표제 화합물(6.8 g, 42% 수율)을 갈색 오일로서 수득하고, 이를 추가 정제없이 다음 단계에 사용하였다. LCMS $[\text{M}+\text{H}]^+$ m/z: 계산치 163.0; 실측치 163.0. ^1H NMR (400 MHz, 클로로포름- d) δ 6.02 (s, 1H), 2.45 (s, 3H), 2.43 (s, 3H), 2.15 (s, 3H).

[0116] 단계 3: 6-메틸-4-(메틸티오)-2-옥소-1,2-디하이드로피리딘-3-카르보닐의 합성

[0117] tert-부탄올(50 mL) 중의 4,4-비스(메틸티오)부트-3-엔-2-온(2.9 g, 18 mmol) 및 2-시아노아세트아미드(1.5 g, 18 mmol)의 용액에 나트륨 tert-부톡사이드(1.9 g, 20 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 80°C 에서 12시간 동안 교반하였다(이 단계에서 반응의 두 배치를 수행하고 조합하였다). 물(20 mL)을 첨가하고 10% 염산으로 pH를 5 내지 6으로 조절하였다. 생성된 혼합물을 여과하고, 필터 케이크를 석유 에테르(20 mL \times 2)로 세척한 다음 케이크를 진공 하에 건조시켜 표제 화합물(4.8 g, 74% 수율)을 미색 고체로서 수득하였으며, 이를 추가 정제없이 다음 단계에서 사용하였다. LCMS $[\text{M}+\text{H}]^+$ m/z: 계산치 181.0; 실측치 181.0. ^1H NMR (400 MHz, 디메틸설폭사이드- d_6) δ 6.27 (s, 1H), 2.56 (s, 3H), 2.25 (s, 3H).

[0118] **단계 4: 3-(아미노메틸)-6-메틸-4-(메틸티오)피리딘-2(1H)-온의 합성**

[0119] 테트라하이드로(50 mL) 중의 6-메틸-4-(메틸티오)-2-옥소-1,2-디하이드로피리딘-3-카르보닐(3.6 g, 20 mmol)의 혼합물을 진공 하에서 탈기하고 질소로 퍼징하였다(3 사이클). 보란 디메틸설파이드 복합체(10 M, 8.0 mL, 80 mmol)를 0°C에서 천천히 첨가한 다음 반응 혼합물을 70°C로 가온하고 2시간 동안 교반하였다. 메탄올(15 mL)을 0°C에서 천천히 첨가하여 반응을 퀸칭한 후 혼합물을 감압 하에서 농축하여 표제 화합물(3.8 g, 미정제)을 밝은 노란색 고체로서 수득하였으며, 이를 추가 정제 없이 다음 단계에서 사용하였다. LCMS [M+H]⁺ m/z: 계산치 185.1; 실측치 185.0.

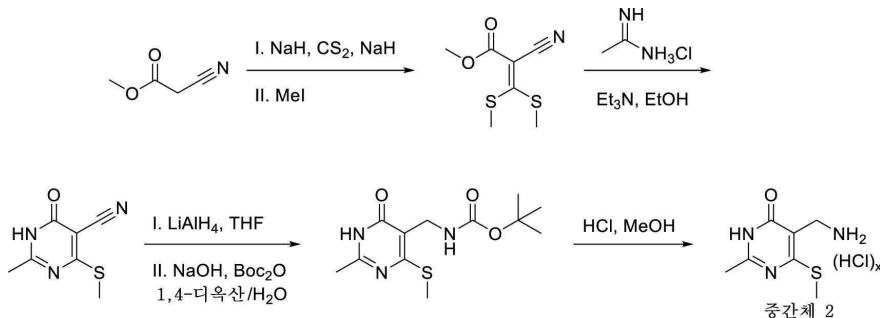
[0120] **단계 5: tert-부틸((6-메틸-4-(메틸티오)-2-옥소-1,2-디하이드로피리딘-3-일)메틸)카르바메이트의 합성**

[0121] 테트라하이드로푸란(80 mL) 중의 3-(아미노메틸)-6-메틸-4-(메틸티오)피리딘-2(1H)-온(3.6 g, 20 mmol)의 용액에 트리ethyl아민(5.9 g, 8.1 mL, 59 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 30분 동안 교반한 이후 di-tert-부틸 디카르보네이트(6.4 g, 29 mmol)을 첨가하였고 반응을 25°C에서 12시간 동안 교반하였다. 이후, 반응 혼합물을 감압 하에서 농축 건조시킨 후, 물(35 mL)을 첨가하고 원하는 생성물을 석유 에테르/에틸 아세테이트(30 mL × 3)의 5:1 혼합물로 추출하였다. 조합된 유기층을 황산 나트륨 상에서 건조시키고 농축하여 표제 화합물(5.8 g, 미정제)을 백색 고체로서 수득하고, 이를 추가 정제 없이 다음 단계에 사용하였다. LCMS [M+H]⁺ m/z: 계산치 285.12; 실측치 284.9. ¹H NMR (400 MHz, 디메틸설폭사이드-d₆) δ 6.05 (s, 1H), 4.03 - 4.00 (m, 2H), 2.42 (s, 3H), 2.15 (s, 3H), 1.39 (s, 9H).

[0122] **단계 6: 3-(아미노메틸)-6-메틸-4-(메틸티오)피리딘-2(1H)-온(염산염)의 합성**

[0123] 25°C에서 1,4-디옥산(4 M, 100 mL, 400 mmol) 중의 염화 수소의 용액에 tert-부틸((6-메틸-4-(메틸티오)-2-옥소-1,2-디하이드로피리딘-3-일)메틸)카르바메이트(5.0 g, 17.6 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 25°C에서 2시간 동안 교반한 다음 감압 하에서 농축 건조시켰다. 잔기를 디클로로메탄(30 mL × 2) 및 에틸 아세테이트(30 mL)로 세척하여 표제 화합물(4.5 g, 미정제, HCl 염)을 황색 고체로서 수득하고, 이를 추가 정제 없이 다음 단계에 사용하였다. LCMS [M+H]⁺ m/z: 계산치 185.1; 실측치 185.0. ¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 6.31 (s, 1H), 4.03 (s, 2H), 2.41 (s, 3H), 2.18 (s, 3H).

[0124] **중간체 2: 5-(아미노메틸)-2-메틸-6-(메틸티오)피리미딘-4(3H)-온 (염산염)**



[0125] **단계 1: 메틸 2-시아노-3,3-비스(메틸티오)아크릴레이트의 합성**

[0127] 테트라하이드로푸란(400 mL) 중의 나트륨 하이드라이드(광유 중의 60% 분산액) (4.23 g, 106 mmol)의 현탁액을 0°C로 냉각한 후 메틸 시아노아세테이트(8.90 mL, 101 mmol)를 적가하였다. 반응 혼합물을 15분 동안 격렬하게 교반한 후 반응 온도를 20°C 미만으로 유지하면서 이황화 탄소(6.1 mL, 101 mmol)를 적가하였다(백색 반고체가 황색으로 변하였음). 다음으로, 요오도메탄(15.7 mL, 252 mmol)을 적가하였고 반응 혼합물을 실온에서 15분 동안 교반하였다. 이후, 반응을 감압 하에서 농축하고 잔기를 얼음물에 부었다. 생성된 침전물을 여과하고 진공 하에 건조시켜 표제 화합물(11.9 g, 58% 수율)을 황색/갈색 고체로서 수득하고, 이를 추가 정제 없이 다음 단계에 사용하였다. ¹H NMR (400 MHz, 클로로포름-d) δ 3.83 (s, 3H), 2.76 (s, 3H), 2.61 (s, 3H).

[0128] **단계 2: 2-메틸-4-(메틸티오)-6-옥소-1,6-디하이드로피리미딘-5-카르보닐의 합성**

[0129] 메틸 2-시아노-3,3-비스(메틸티오)아크릴레이트(11.9 g, 58.5 mmol)를 에탄올(1000 mL)에 용해하였다. 아세트아미딘 하이드로클로라이드(5.53 g, 58.5 mmol) 및 트리ethyl아민(36.7 mL, 263 mmol)을 혼합물에 첨가하고 밤새

환류 교반하였다. 이후, 반응을 감압 하에서 농축하고 잔기를 10% 염산으로 세척하였다. 침전물을 여과하고 필터 케이크를 물과 디에틸 에테르로 세척한 후 진공 하에서 건조하여 표제 화합물(5 g, 47% 수율)을 고체 형태로 수득하였으며, 이를 추가 정제없이 다음 단계에서 사용하였다. LCMS $[M+H]^+$ m/z: 계산치 182.03; 실측치 182.10. 1H NMR (400 MHz, 디메틸설폭사이드- d_6) δ 2.57 (s, 3H), 2.37 (s, 3H).

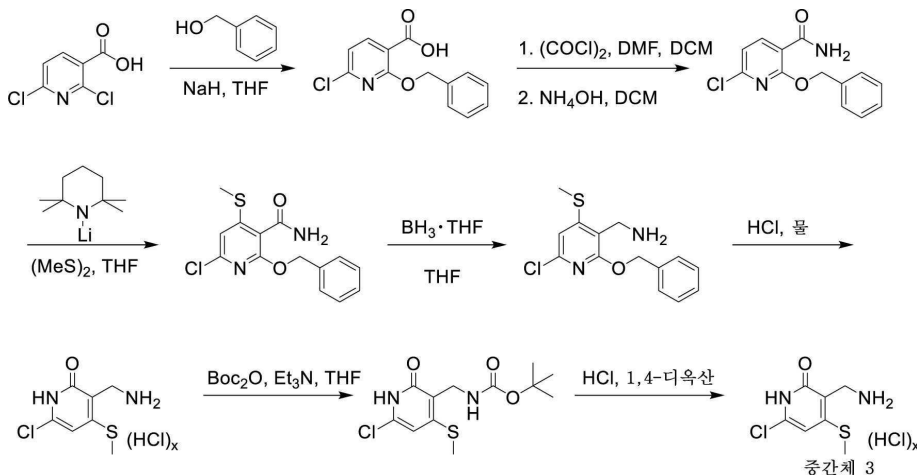
[0130] 단계 3: tert-부틸 ((2-메틸-4-(메틸티오)-6-옥소-1,6-디하이드로피리미딘-5-일)메틸)카르바메이트의 합성

[0131] 0°C에서 테트라하이드로퓨란(50 mL) 중의 2-메틸-4-(메틸티오)-6-옥소-1,6-디하이드로피리미딘-5-카르보니트릴(1.5 g, 8.27 mmol)의 현탁액에 테트라하이드로퓨란(2 M, 6.2 mL, 12.4 mmol) 중의 리튬 알루미늄 하이드라이드의 용액을 첨가하였다. 반응을 천천히 실온으로 가온하고 완료되면 수산화 나트륨 수용액(1M, 33 mL, 33.1 mmol)으로 켄칭하였다. 이 혼합물에 1,4-디옥산(50 mL) 및 디-tert-부틸디카르보네이트(3.61 g, 16.6 mmol)를 순차적으로 첨가하였다. 아민이 완전히 보호될 때까지 2상 혼합물을 격렬하게 교반하였다. 2상 혼합물을 아세트산으로 중성 pH로 산성화하고 분리하였으며, 수성층을 디클로로메탄으로 추출하였다. 조합된 유기층을 황산 마그네슘 상에서 건조시키고, 여과하며 감압 하에서 농축 건조시켰다. 잔기를 디클로로메탄으로 분쇄하고 여액(원하는 생성물 함유)을 감압 하에서 농축 건조시켰다. 생성된 고체를 역상 플래쉬 크로마토그래피(C18 칼럼, 0.1% 트리플루오로 아세트산으로 완충된 물 중의 5% 내지 95% 아세토니트릴 구배)로 정제한 이후에 정상 플래쉬 크로마토그래피(실리카 겔, 디클로로 메탄 중의 30% 내지 90% 에틸 아세테이트 구배)로 정제하여 표제 화합물(2.57 g, 26% 수율, > 99% 순도)을 백색 고체로서 수득하였다. LCMS $[M-(C_4H_8)+H]^+$ m/z: 계산치 230.1; 실측치 230.0. 1H NMR (400 MHz, 클로로포름- d) δ 13.20 (s, 1H), 5.37 (t, J = 5.5 Hz, 1H), 4.26 (d, J = 5.6 Hz, 2H), 2.51 (s, 3H), 2.44 (s, 3H), 1.44 (s, 9H).

[0132] 단계 4: 5-(아미노메틸)-2-메틸-6-(메틸티오)피리미딘-4(3H)-온 (염산염)의 합성

[0133] 23°C에서 1,4-디옥산(7.2 mL) 중의 tert-부틸 ((2-메틸-4-(메틸티오)-6-옥소-1,6-디하이드로피리미딘-5-일)메틸)카르바메이트(300 mg, 1.05 mmol)의 현탁액에 1,4-디옥산(4 M, 2.10 mL, 8.40 mmol) 중의 염화 수소의 용액을 첨가하였다. 23°C에서 3시간 동안 반응을 교반한 이후 1,4-디옥산(4 M, 2.10 mL, 8.40 mmol) 중의 염화 수소의 용액을 더 첨가하였다. 14시간 후, 반응을 감압 하에서 농축하여 표제 화합물(254 mg, 94% 수율)을 백색 고체로서 수득하고, 이를 추가 정제없이 다음 단계에 사용하였다. LCMS $[M+Na]^+$ (유리 염기) m/z: 계산치 208.1; 실측치 208.1.

[0134] 중간체 3: 3-(아미노메틸)-6-클로로-4-(메틸티오)피리딘-2(1H)-온 (염산염)



[0135]

[0136] 단계 1: 2-(벤질옥시)-6-클로로니코틴산의 합성

[0137] 테트라하이드로퓨란(500 mL) 중의 나트륨 하이드라이드(광유 중의 60% 분산액) (11.5 g, 286 mmol)의 현탁액에 0°C에서 벤질 알코올(14 mL, 143 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 20분 동안 교반한 다음 테트라하이드로퓨란(500 mL) 중의 2,6-디클로로피리딘-3-카르복실산(25 g, 130 mmol)의 용액을 첨가하고 반응 혼합물을 23°C에서 4시간 동안 교반하였다. 이후, 반응을 10% 염산(300 mL)으로 켄칭하고, 약 pH 8까지 고체 NaHCO₃로 처리하고, 아세트산(물 중 50%)으로 산성화하고, 최종적으로 에틸 아세테이트(200 mL × 3)로 추출하였다. 조합된 유기층

을 염수(200 mL)로 세척하고, 황산 마그네슘 상에서 건조시키고, 여과하며, 농축 건조시켰다. 잔기를 플래쉬 크로마토그래피(실리카 겔, 디클로로메탄 중의 5% 내지 50% 에틸 아세테이트 구배)로 정제하여 표제 화합물(33.68 g, 98% 수율)을 수득하였다.

[0138] **단계 2: 2-(벤질옥시)-6-클로로니코틴아미드의 합성**

[0139] 0°C에서 디클로로메탄(500 mL) 중의 2-(벤질옥시)-6-클로로니코틴산(33.68 g, 128.2 mmol)의 용액에 N,N-디메틸포름아미드(1 mL)를 첨가한 다음 옥살릴 클로라이드(11.9 mL, 141 mmol)을 첨가하였다. 반응을 23°C에서 2시간 동안 교반한 다음 농축 건조시켰다. 잔기를 디클로로메탄(200 mL)에 용해시키고 0°C에서 수산화 암모늄(50 mL)의 농축 용액에 천천히 첨가하였다. 1시간 후, 유기층을 수집하고 수상을 디클로로메탄(50 mL × 3)으로 추출하였다. 조합된 유기층을 황산 마그네슘 상에서 건조시키고, 여과하며 감압 하에서 농축 건조시켰다. 잔기를 플래쉬 크로마토그래피(실리카 겔, 디클로로메탄 중의 0% 내지 50% 에틸 아세테이트 구배)로 정제하여 표제 화합물을 고체(정량적 수율)로서 수득하였다.

[0140] **단계 3: 2-(벤질옥시)-6-클로로-4-(메틸티오)니코틴아미드의 합성**

[0141] -78°C에서 테트라하이드로퓨란(300 mL) 중의 2,2,6,6-테트라메틸피페리딘(29.45 mL, 175.1 mmol)의 현탁액에 헥산(2.5 M, 70 mL, 175.1 mmol) 중의 n-부틸리튬의 용액을 첨가하였다. 반응 혼합물을 30분 동안 0°C로 가온한 다음 다시 -78°C로 냉각시켰다. 이후, 내부 온도를 -60°C 미만으로 유지하면서 테트라하이드로퓨란(100 mL) 중의 2-(벤질옥시)-6-클로로니코틴아미드(11.5 g, 43.8 mmol)의 용액을 첨가하였다. 반응 혼합물을 -78°C에서 1시간 동안 교반한 이후 디메틸설파이드(15.77 mL, 175.1 mmol)을 첨가하였다. 반응을 추가로 2시간 동안 -78°C에서 교반한 다음, 물 중 아세트산 용액(50% v/v)으로 -78°C에서 켄칭하였다. 원하는 생성물을 에틸 아세테이트(100 mL × 3)로 추출하고 조합된 유기층을 물(20 mL), 포화 수성 중탄산 나트륨 용액(20 mL), 염수(20 mL)로 세척하고 황산 마그네슘 상에 건조시키고, 여과하며 감압 하에서 농축 건조시켰다. 잔기를 플래쉬 크로마토그래피(실리카 겔, 디클로로메탄 중의 0% 내지 20% 에틸 아세테이트 구배)로 정제하여 표제 화합물(4.86 g, 36% 수율)을 수득하였다.

[0142] **단계 4: (2-(벤질옥시)-6-클로로-4-(메틸티오)피리딘-3-일)메탄아민의 합성**

[0143] 23°C에서 테트라하이드로퓨란(100 mL) 중의 2-(벤질옥시)-6-클로로-4-(메틸티오)니코틴아미드(4.86 g, 15.7 mmol)의 용액에 테트라하이드로퓨란(1 M, 63 mL, 63 mmol) 중의 보란의 용액을 첨가하였다. 반응 혼합물을 15시간 동안 환류에서 교반한 다음 실온에서 메탄올을 천천히 첨가하여 켄칭하였다. 반응 혼합물을 감압 하에서 농축 건조시키고 잔기를 플래쉬 크로마토그래피(실리카 겔, 디클로로메탄 중 0% 내지 30% 메탄올 구배)로 정제하여 표제 화합물(710 mg, 15% 수율)을 백색 고체로서 수득하였다.

[0144] **단계 5: 3-(아미노메틸)-6-클로로-4-(메틸티오)피리딘-2(1H)-온 (염산염)의 합성**

[0145] (2-(벤질옥시)-6-클로로-4-(메틸티오) 피리딘-3-일)메탄아민(710 mg, 2.41 mmol)을 함유하는 플라스크에 진한 염산(12 M, 5.0 mL, 60 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 23°C에서 2시간 동안 교반한 다음 감압 하에서 농축 건조시켰다. 잔기를 메탄올과 디에틸 에테르의 혼합물로 재결정하여 표제 화합물(400 mg, 69% 수율)을 백색 고체로 수득하였다.

[0146] **단계 6: tert-부틸 ((6-클로로-4-(메틸티오)-2-옥소-1,2-디하이드로피리딘-3-일)메틸)카르바메이트의 합성**

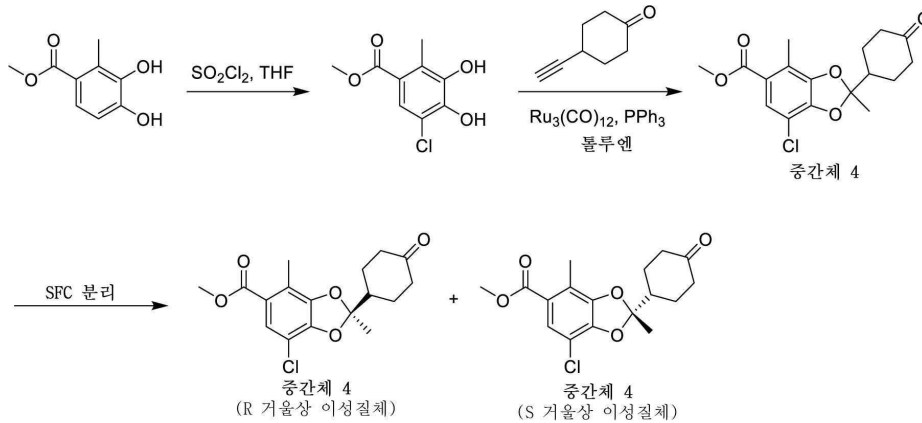
[0147] 디클로로메탄(50 mL) 중의 3-(아미노메틸)-6-클로로-4-(메틸티오)피리딘-2(1H)-온 염산염(1.575 g, 6.53 mmol)의 현탁액에 실온에서 디-tert-부틸디카르보네이트(2.85 g, 13.1 mmol)를 첨가한 이후 N,N-디이소프로필에틸아민(3.4 mL, 19.6 mmol)을 첨가하였다. 반응을 실온에서 3시간 동안(모든 것이 용해될 때까지) 교반한 다음 물로 켄칭시켰다. 유기층을 분리하고, 황산 마그네슘 상에서 건조시키고, 여과하며 감압 하에서 농축 건조시켰다. 잔기를 플래쉬 크로마토그래피(실리카 겔, 디클로로메탄 중 0% 내지 10% 메탄올 구배)로 정제하여 표제 화합물을 백색 고체(1.5 g, 75% 수율)로서 수득하였다. LCMS [M+H]⁺ m/z: 계산치 305.1; 실측치 305.1.

[0148] **단계 7: 3-(아미노메틸)-6-클로로-4-(메틸티오)피리딘-2(1H)-온 (염산염)의 합성**

[0149] 1,4-디옥산(4.9 mL) 중의 tert-부틸 ((6-클로로-4-(메틸티오)-2-옥소-1,2-디하이드로피리딘-3-일)메틸)카르바메이트(300 mg, 984 μmol)의 현탁액에 실온에서 1,4-디옥산(4 M, 1.96 mL, 7.87 mmol) 중의 염화 수소의 용액을 첨가하였다. 실온에서 3시간 동안 반응을 교반한 이후 1,4-디옥산(4 M, 1.96 mL, 7.87 mmol) 중의 염화 수소의 용액을 더 첨가하였다. 14시간 후, 반응을 감압 하에서 농축 건조시켜 표제 화합물(253 mg, 정량적 수율)을 백

색 고체로서 수득하고, 이를 추가 정제없이 다음 단계에 사용하였다. LCMS [M+Na]⁺ (유리 염기) m/z: 계산치 227.0; 실측치 227.0.

[0150] **중간체 4: 메틸 7-클로로-2,4-디메틸-2-(4-옥소사이클로헥실)벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복실레이트**



[0151]

[0152] **단계 1: 메틸 5-클로로-3,4-디하이드록시-2-메틸벤조에이트의 합성**

[0153] -20°C에서 테트라하이드로퓨란(199 mL) 중의 메틸 3,4-디하이드록시-2-메틸벤조에이트(5.11 g, 27.9 mmol)의 용액에 염화 설퍼릴(2.45 mL, 30.6 mmol)을 적가하였다. 반응 혼합물을 -20°C에서 3시간 동안 교반한 다음 염화 암모늄(50 mL)의 포화 수용액으로 킨칭시켰다. 원하는 생성물을 에틸 아세테이트(25 mL × 3)로 추출하였다. 조합된 유기층을 염수(25 mL)로 세척하고, 황산 마그네슘 상에서 건조시키고, 여과하며, 감압 하에서 농축 건조시켰다. 잔기를 플래쉬 크로마토그래피(실리카 겔, 헵탄 중 0% 내지 60% 에틸 아세테이트 구배)로 정제하여 표제 화합물(4.117 g, 68% 수율)을 베이지색 고체로서 수득하였다. LCMS [M+H]⁺ m/z: 계산치 217.0; 실측치 217.1(C1 동위 원소 패턴).

[0154] **단계 2: 메틸 7-클로로-2,4-디메틸-2-(4-옥소사이클로헥실)-2H-1,3-벤조디옥솔-5-카르복실레이트의 합성**

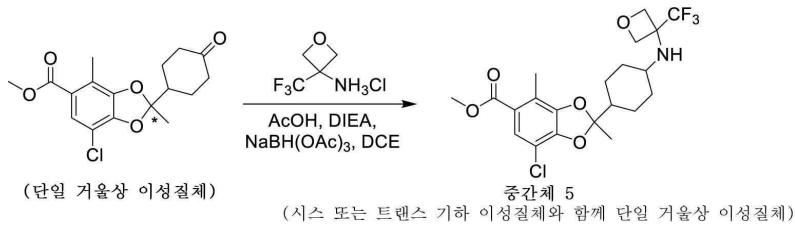
[0155] 메틸 5-클로로-3,4-디하이드록시-2-메틸벤조에이트(1.2 g, 5.53 mmol), 트리루테늄 도데카카르보닐(176 mg, 276 μmol) 및 트리페닐포스핀(145 mg, 553 μmol)의 혼합물을 진공 하에서 탈기하고 질소로 피징하였다(3 사이클). 톨루엔(8.1 mL)을 첨가하고 반응 혼합물을 30분 동안 가열 환류시켰다. 이후, 톨루엔(17 mL) 중의 4-에티닐사이클로헥산-1-온(1.34 g, 11.0 mmol)의 용액을 적가하고 반응을 23시간 동안 환류 교반하였다. 최종적으로, 반응 혼합물을 실온으로 냉각하고 감압 하에서 농축 건조시켰다. 잔기를 플래쉬 크로마토그래피(실리카 겔, 헵탄 중 0 내지 60% 에틸 아세테이트 구배)로 정제하여 표제 화합물(1.327 g, 70% 수율)을 황색 오일로서 수득하였다. LCMS [M+Na]⁺ m/z: 계산치 361.1; 실측치 361.1(C1 동위 원소 패턴).

[0156] **단계 3: 메틸 (R)-7-클로로-2,4-디메틸-2-(4-옥소사이클로헥실)벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복실레이트 및 메틸 (S)-7-클로로-2,4-디메틸-2-(4-옥소사이클로헥실)벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복실레이트의 분리**

[0157] 메틸-7-클로로-2,4-디메틸-2-(4-옥소사이클로헥실)벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복실레이트(4.4 g, 13 mmol)의 라세미 혼합물을 분취(preparative) SFC[칼럼: Daicel chemical industries의 ChiralPak AY(250 mm x 50 mm I.D., 10 μm). 이동상 A: CO₂ / 이동상 B: 메탄올 중의 0.1% NH₄OH. 등용매(85% 이동상 A 및 15% 이동상 B). 유량: 80 mL/분. 칼럼 온도: 40°C]에 의해 분해하였다. 중간체 4(피크 1)(원치 않는 거울상 이성질체/디스토머 (distomer)): 체류 시간 = 6.2분. 회복률 = 1.4 g, 4.05 mmol, 31% 수율, 90% ee, 98% 순도(황색 고체). ¹H NMR (400 MHz, 클로로포름-d) δ 7.48 (s, 1H), 3.78 (s, 3H), 2.44 - 2.36 (m, 2H), 2.35 - 2.25 (m, 6H), 2.19 (tdd, J = 2.8, 5.6, 13.1 Hz, 2H), 1.70 - 1.57 (m, 5H). 중간체 4(피크 2)(원치 않는 거울상 이성질체/유토머(eutomer)): 체류 시간 = 7.0분. 회복률 = 1.1 g, 3.08 mmol, 23.75% 수율, 99% ee, 95% 순도(황색 고체). ¹H NMR (400 MHz, 클로로포름-d) δ 7.49 (s, 1H), 3.78 (s, 3H), 2.44 - 2.36 (m, 2H), 2.36 - 2.25 (m, 6H), 2.20 (tdd, J = 2.8, 5.6, 13.1 Hz, 2H), 1.72 - 1.59 (m, 5H). SFC 분석 방법: [칼럼: ChiralPak AY-3(150×4.6 mm I.D., 3 μm). 이동상 A: CO₂ / 이동상 B: iPrOH 중의 0.05% Et₂NH. 구배: 5 내지 40%의 이동상 B(5.5분에 걸침). 유량: 2.5 mL/분. 칼럼 온도: 40°C]. 중간체 4(피크 1 - 원치 않는 거울상 이성질체/디스

토머): 체류 시간 = 2.853분. 중간체 4(피크 2 - 원치 않는 거울상 이성질체/유토머): 체류 시간 = 2.979분.

[0158] **중간체 5: 메틸 7-클로로-2,4-디메틸-2-(트랜스-4-((3-(트리플루오로메틸)옥세탄-3-일)아미노)사이클로헥실)벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복실레이트**



[0159]

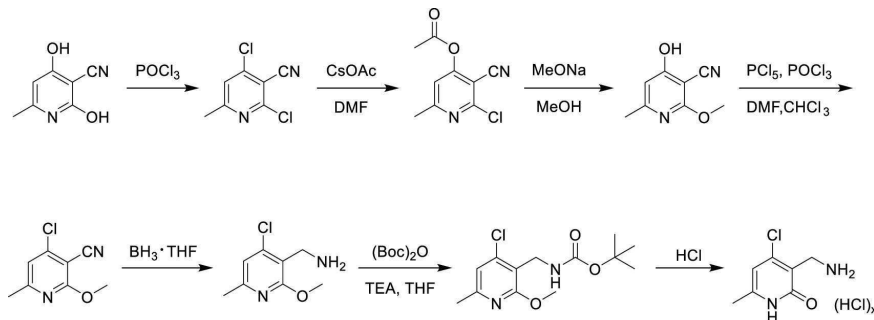
[0160] 디클로로에탄(9.54 mL) 중의 1-클로로-N-[3-(트리플루오로메틸)옥세탄-3-일]수소아민(678 mg, 3.82 mmol)과 N,N-디이소프로필에틸아민(698 μL, 4.01 mmol)의 혼합물을 실온에서 30분 동안 교반한 후에 아세트산(218 μL, 3.82 mmol)에 이어 메틸-7-클로로-2,4-디메틸-2-(4-옥소사이클로헥실)벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복실레이트(650 mg, 1.91 mmol)를 이 반응 혼합물에 첨가하였다. 실온에서 5분 후 혼합물이 투명해졌고(황색/갈색) 나트륨 트리 아세톡시보로하이드라이드(404 mg, 1.91 mmol)를 첨가하였다. 반응을 실온에서 3시간 동안 교반한 다음 중탄산 나트륨(30 mL)의 포화 수용액으로 켄칭시켰다. 원하는 생성물을 디클로로메탄(30 mL × 3)으로 추출하고 조합된 유기층을 황산 마그네슘 상에서 건조시키고, 여과하며, 감압 하에서 농축 건조시켰다. 잔기를 역상 플래쉬 크로마토그래피(C18 칼럼, 0.1% 트리플루오로아세트산와 아세토니트릴/물 1:1)로 정제하여 2개의 기하 이성질체(시스 및 트랜스)를 수득하였다. 제1 용리 피크는 기하 이성질체 1에 해당한다.

[0161] **분석 LCMS 방법(기하 이성질체용)**

[0162] [칼럼: Zobax SB-C8(75 × 4.6 mm I.D., 3.5 μm). 이동상 A: 아세토니트릴 중의 0.1% 트리플루오로아세트산 / 이동상 B: 물 중의 트리플루오로아세트산. 구배: 5 내지 100%의 이동상 B(3.0분에 걸침) 이후 100%의 이동상 B(4.5분). 유량: 1.5 mL/분. 칼럼 온도: 20°C.] 기하 이성질체 1(원함): 체류 시간 = 4.073분(278 mg, 31%). 기하 이성질체 2(원하지 않음): 체류 시간 = 4.277분(253 mg 29%).

[0163] 기하 이성질체 1의 거울상 이성질체(LCMS 방법에 기초하여 원함)를 분취 SFC[칼럼: Chiralcel OX-H(250 × 21mm I.D.). 이동상 A: CO₂ / 이동상 B: 1:1 이소프로판올/헥산 혼합물 중의 0.25% 이소프로필아민. 등용매(85% 이동상 A 및 15% 이동상 B). 유량: 80 g/분. 칼럼 온도: 25°C]으로 분리하였다. 중간체 5(피크 1): 체류 시간 = 1.84분. LCMS [M+H]⁺ m/z: 계산치 464.15; 실측치 464. 중간체 5(피크 2): 체류 시간 = 2.1분. LCMS [M+H]⁺ m/z: 계산치 464.15; 실측치 464.2.

[0164] **중간체 6: 3-(아미노메틸)-4-클로로-6-메틸피리딘-2(1H)-온**



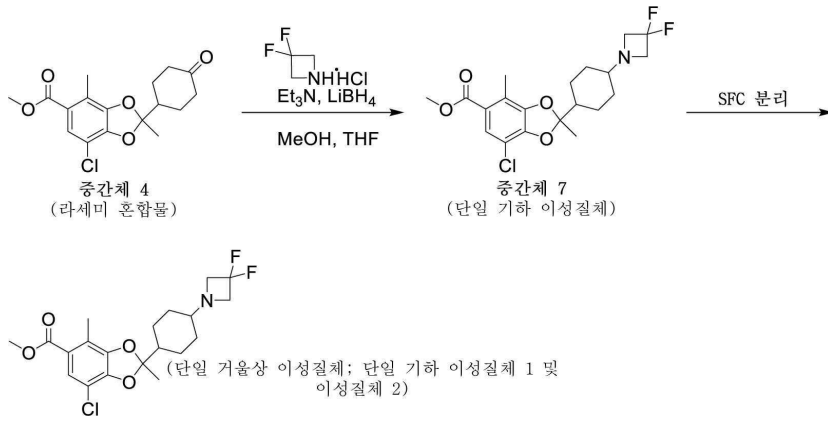
[0165]

[0166] **단계 1: 2,4-디클로로-6-메틸니코티노니트릴의 합성**

[0167] 옥시염화 인(150 mL) 중의 2,4-디하이드록시-6-메틸니코티노니트릴(80 g, 533.3 mmol)의 용액을 120°C에서 2시간 동안 교반한 다음 포화 중탄산 나트륨 수용액으로 켄칭시켰다(pH = 8까지). 물(2000 mL)과 에틸 아세테이트(1000 mL) 사이에 분배하고, 유기층을 황산 나트륨 상에서 건조시키고 감압 하에서 농축 건조시켜 표제 화합물(85 g, 86% 수율)을 갈색 고체로서 수득하고, 이를 추가 정제없이 다음 단계에 사용하였다. LCMS [M+H]⁺ m/z: 계산치 186.98; 실측치 186.6.

[0168] **단계 2: 2-클로로-4-하이드록시-6-메틸니코티노니트릴의 합성**

- [0169] N,N-디메틸포름아미드(50 mL) 중의 2,4-디클로로-6-메틸니코티노니트릴(10 g, 53 mmol)의 용액에 세슘 아세테이트(30.8 g, 160 mmol)를 실온에서 첨가하였다. 반응을 80°C에서 밤새 교반한 다음 물(800 mL)로 켄칭시켰다. 원하는 생성물을 에틸 아세테이트(800 mL)로 추출하고 유기층을 황산 마그네슘 상에서 건조시키고, 여과하며, 감압 하에서 농축 건조시켰다. 표제 화합물(8.8 g, 98% 수율)을 갈색 고체로서 수득하고 추가 정제없이 다음 단계에 사용하였다. LCMS [M+H]⁺ m/z: 계산치 169.01; 실측치 168.8.
- [0170] **단계 3: 4-하이드록시-2-메톡시-6-메틸니코티노니트릴의 합성**
- [0171] 메탄올(50 mL) 중의 2-클로로-4-하이드록시-6-메틸니코티노니트릴(8.8 g, 52.2 mmol)과 나트륨 메톡사이드(14.1 g, 261 mmol)의 혼합물을 60°C에서 밤새 교반하였다. 혼합물을 pH = 5까지 1 M 염산 용액으로 켄칭하였다. 물(500 mL)과 에틸 아세테이트(500 mL) 사이에 분배하고, 유기층을 황산 나트륨 상에서 건조시키고 농축시켜 표제 화합물(8.0 g, 93% 수율)을 갈색 고체로서 수득하고, 이를 추가 정제없이 다음 단계에 사용하였다. LCMS [M+H]⁺ m/z: 계산치 165.1; 실측치 164.8.
- [0172] **단계 4: 4-클로로-2-메톡시-6-메틸니코티노니트릴**
- [0173] 클로로포름(100 mL) 중의 4-하이드록시-2-메톡시-6-메틸니코티노니트릴(8.0 g, 48.7 mmol), 오염화 인(20.3 g, 97.5 mmol), 옥시염화 인(14.9 g, 9.09 mL, 97.5 mmol) 및 N,N-디메틸포름아미드(5 mL)의 혼합물을 60°C에서 30분 동안 교반하였다. 반응을 포화 수성 중탄산 나트륨 용액으로 켄칭시켰다(pH = 8까지). 물(1000 mL)과 에틸 아세테이트(1000 mL) 사이에 분배하고, 유기층을 황산 나트륨 상에서 건조시키고 농축 건조시켜 표제 화합물(8.0 g, 90% 수율)을 갈색 고체로서 수득하고, 이를 추가 정제없이 다음 단계에 사용하였다. LCMS [M+H]⁺ m/z: 계산치 183.0; 실측치 182.8.
- [0174] **단계 5: (4-클로로-2-메톡시-6-메틸피리딘-3-일)메탄아민의 합성**
- [0175] 테트라하이드로퓨란(50 mL) 중의 4-클로로-2-메톡시-6-메틸니코티노니트릴(8.0 g, 43.8 mmol)의 용액에 보란 디메틸설파이드 복합체(10 M, 5.3 mL, 53 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 60°C에서 2시간 동안 교반한 다음 0°C에서 메탄올(10 mL)로 켄칭하였다. 혼합물을 감압 하에서 농축 건조시켜 표제 화합물(7.0 g, 93% 수율)을 갈색 고체로서 수득하고, 이를 추가 정제없이 다음 단계에 사용하였다. LCMS [M+H]⁺ m/z: 계산치 187.1; 실측치 187.1.
- [0176] **단계 6: tert-부틸 ((4-클로로-2-메톡시-6-메틸피리딘-3-일)메틸)카르바메이트**
- [0177] 테트라하이드로퓨란(50 mL) 중의 (4-클로로-2-메톡시-6-메틸피리딘-3-일)메탄아민(7.0 g, 37.5 mmol), 디-tert-부틸 디카르보네이트(15.2 g, 75.0 mmol) 및 트리에틸아민(11.4 g, 15.7 mL, 113 mmol)의 혼합물을 20°C에서 16시간 동안 교반한 후 물(500 mL)로 켄칭하였다. 원하는 생성물을 에틸 아세테이트(500 mL)로 추출하고 유기층을 황산 마그네슘 상에서 건조시키고, 여과하며, 감압 하에서 농축 건조시켰다. 잔기를 플래쉬 칼럼(실리카 겔 칼럼, 석유 에테르: 에틸 아세테이트 40:1)으로 정제하여 표제 화합물(3.0 g, 28% 수율)을 무색 오일로서 수득하였다. LCMS [M+H]⁺ m/z: 계산치 287.1; 실측치 286.9.
- [0178] **단계 7: 3-(아미노메틸)-4-클로로-6-메틸피리딘-2(1H)-온**
- [0179] 실온에서 물(4 M, 10 mL, 10 mmol) 중의 염화 수소의 용액에 tert-부틸 ((4-클로로-2-메톡시-6-메틸피리딘-3-일)메틸)카르바메이트(3.0 g, 10.5 mmol)를 첨가하였다. 반응을 100°C에서 2시간 동안 가열한 이후, 감압 하에서 농축 건조시켜 표제 화합물(1.7 g, 94% 수율)을 황색 고체로서 수득하였다. LCMS [M+H]⁺ m/z: 계산치 173.04; 실측치 173.1. ¹H NMR (400 MHz, 메탄올-d₄): δ 6.38 (s, 1H), 4.15 (s, 2H), 2.32 (s, 3H).
- [0180] **중간체 7: 메틸 7-클로로-2-(4-(3,3-디플루오로아제티딘-1-일)사이클로헥실)-2,4-디메틸벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복실레이트**



[0181]

[0182]

단계 1: 메틸 7-클로로-2-(4-(3,3-디플루오로아제티딘-1-일)사이클로헥실)-2,4-디메틸벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복실레이트의 합성

[0183]

메탄올(5 mL) 및 테트라하이드로퓨란(5 mL) 중의 메틸 7-클로로-2,4-디메틸-2-(4-옥소사이클로헥실)벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복실레이트(중간체 4 - 라세미 혼합물) 550 mg, 1.62 mmol), 3,3-디플루오로아제티딘 염산염(839 mg, 6.48 mmol)과 트리에틸아민(895 μL , 6.64 mmol)의 용액을 실온에서 밤새 교반하였다. 다음날, 반응을 -78°C 로 냉각시키고 리튬 보로하이드라이드 용액(테트라하이드로퓨란 중의 2 M, 1.21 mL, 2.43 mmol)을 첨가하였다. 진한 황색 혼합물을 점차적으로 실온으로 가온한 다음 0°C 에서 탄산나트륨의 포화 수용액으로 킨칭시켰다. 원하는 생성물을 디클로로메탄(3회)으로 추출하고 조합된 유기층을 황산 나트륨 상에서 건조시키고, 여과하며 감압 하에서 농축 건조시켰다. 잔기를 플래쉬 크로마토그래피(실리카 겔 KP-NH 칼럼, 헥산 중 0 내지 20% 에틸 아세테이트 구배)로 2회 정제하여 표제 화합물(354 mg, 53% 수율)을 단일 기하 이성질체(시스 또는 트랜스)의 라세미 혼합물로서 수득하였다. LCMS $[\text{M}+\text{H}]^+$ m/z: 계산치 416.9; 실측치 416.2.

[0184]

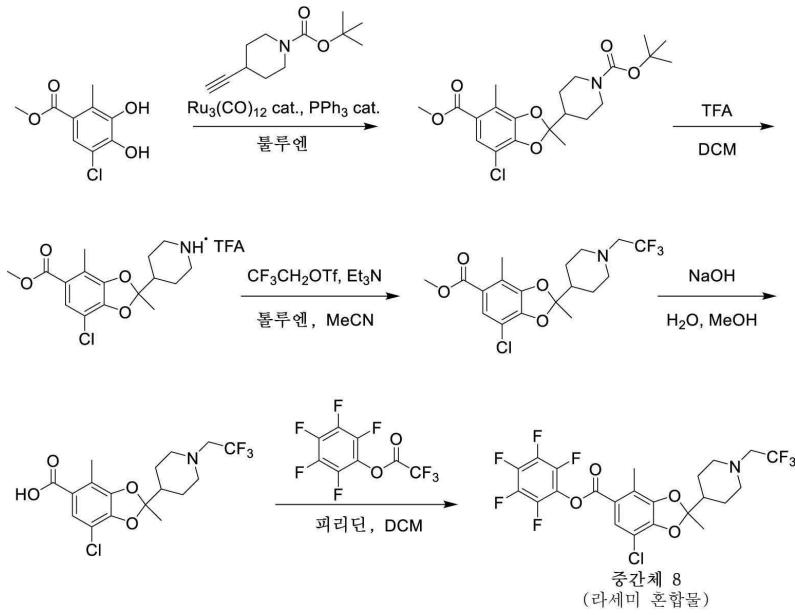
단계 2: 메틸 (2R)-7-클로로-2-(4-(3,3-디플루오로아제티딘-1-일)사이클로헥실)-2,4-디메틸벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복실레이트 및 메틸 (2S)-7-클로로-2-(4-(3,3-디플루오로아제티딘-1-일)사이클로헥실)-2,4-디메틸벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복실레이트의 분리

[0185]

메틸 7-클로로-2-(4-(3,3-디플루오로아제티딘-1-일)사이클로헥실)-2,4-디메틸벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복실레이트(560 mg)의 라세미 혼합물을 분취 SFC[칼럼: Daicel chemical industries의 Chiralpak AD-H. 이동상 A: CO_2 /이동상 B: 헥산과 에탄올(1:1)의 혼합물 중의 0.25% 이소프로필아민. 등용매(90% 이동상 A 및 10% 이동상 B). 유량: 80 g/분. 칼럼 온도: 25°C]로 분해하였다. SFC 분석 방법: 칼럼: Daicel chemical industries의 Chiralpak AD-H(100 mm \times 4.6 mm. 이동상 A: CO_2 /이동상 B: 헥산과 에탄올(3:1)의 혼합물 중의 0.1% 이소프로필아민. 등용매(85% 이동상 A 및 15% 이동상 B). 유량: 4 mL/분. 칼럼 온도: 40°C . 중간체 7(피크 1): 체류 시간 = 1.02분(SFC 분석 방법). 회복률 = 173 mg, 15% 수율, 96% ee. ^1H NMR (400 MHz, 클로로포름-d) δ 7.48 (s, 1H), 3.78 (s, 3H), 2.44 - 2.36 (m, 2H), 2.35 - 2.25 (m, 6H), 2.19 (tdd, J = 2.8, 5.6, 13.1 Hz, 2H), 1.70 - 1.57 (m, 5H). 중간체 7(피크 2): 체류 시간 = 1.16분(SFC 분석 방법). 회복률 = 150 mg, 13% 수율, 97% ee. LCMS $[\text{M}+\text{H}]^+$ m/z: 계산치 416.86; 실측치 416.2.

[0186]

중간체 8: 퍼플루오로페닐 7-클로로-2,4-디메틸-2-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)피페리딘-4-일)벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복실레이트



[0187]

[0188] **단계 1: tert-부틸 4-(7-클로로-5-(메톡시카르보닐)-2,4-디메틸벤조[d][1,3]디옥솔-2-일)피페리딘-1-카르복실레이트의 합성**

[0189] 콘텐서가 장착된 100 mL 피어(pear) 플라스크에 메틸 5-클로로-3,4-디하이드록시-2-메틸벤조에이트(1.219 g, 5.58 mmol), 트리페닐포스핀(146 mg, 0.558 mmol) 및 트리루테늄 도데카카르보닐(178 mg, 0.279 mmol)의 혼합물을 질소/진공 사이클(4 사이클)로 퍼징한 다음 톨루엔(12 mL)을 첨가하고 질소/진공 사이클로 퍼징한 다음 120°C에서 30분 동안 교반하였다. 톨루엔(10mL) 중의 tert-부틸 4-에틸피페리딘-1-카르복실레이트(2.32 g, 11.1 mmol)의 혼합물을 짙은색(dark) 혼합물에 첨가하였다. 생성된 주황색 용액을 120°C에서 추가로 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에서 농축한 이후 플래쉬 크로마토그래피(실리카 겔, 헥산 중 0 내지 100% 에틸 아세테이트 구배)로 정제하여 표제 화합물(2.33 g, 98%)을 황색 오일로서 수득하였다. LCMS [M+Na]⁺ m/z: 계산치 448.2; 실측치 448.2.

[0190] **단계 2: 메틸 7-클로로-2,4-디메틸-2-(피페리딘-4-일)벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복실레이트(트리플루오로아세트산염)의 합성**

[0191] 디클로로메탄(2 mL) 중의 tert-부틸 4-[7-클로로-5-(메톡시카르보닐)-2,4-디메틸-2H-1,3-벤조디옥솔-2-일]피페리딘-1-카르복실레이트(2.33 g, 5.47 mmol)의 황색 용액에 TFA(1 mL)를 첨가하였다. 30분 후, 반응 혼합물을 감압 하에서 농축시켜 표제 화합물(2.40 g, 정량적)을 검(gum)으로서 수득하고, 이를 추가 정제없이 다음 단계에 사용하였다. LCMS [M+H]⁺ m/z: 계산치 326.79; 실측치 326.2.

[0192] **단계 3: 메틸 7-클로로-2,4-디메틸-2-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)피페리딘-4-일)벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복실레이트의 합성**

[0193] 톨루엔(20 mL) 및 아세트니트릴(10 mL) 중의 메틸 7-클로로-2,4-디메틸-2-(피페리딘-4-일)-2H-1,3-벤조디옥솔-5-카르복실레이트, 트리플루오로아세트산염(2.40 g, 5.45 mmol)의 용액에 트리에틸아민(8 mL, 57.6 mmol) 및 2,2,2-트리플루오로에틸 트리플루오로메탄설포네이트(3.0 g, 12.9 mmol)를 첨가하였다. 3시간 후, 반응 혼합물을 감압 하에서 농축시켰다. 물(50 mL)을 첨가하며 혼합물을 EtOAc(30 mL x 3)으로 추출하였다. 조합된 유기층을 염수(50 mL x 2)로 세척하고, 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고 감압 하에서 농축한 이후 플래쉬 크로마토그래피(실리카 겔, 헥산 중 0 내지 50% 에틸 아세테이트 구배)로 정제하여 표제 화합물(2.04 g, 92%)을 황색을 띠는 오일로서 수득하였다. LCMS [M+H]⁺ m/z: 계산치 408.81; 실측치 408.2.

[0194] **단계 4: 7-클로로-2,4-디메틸-2-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)피페리딘-4-일)벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복실산의 합성**

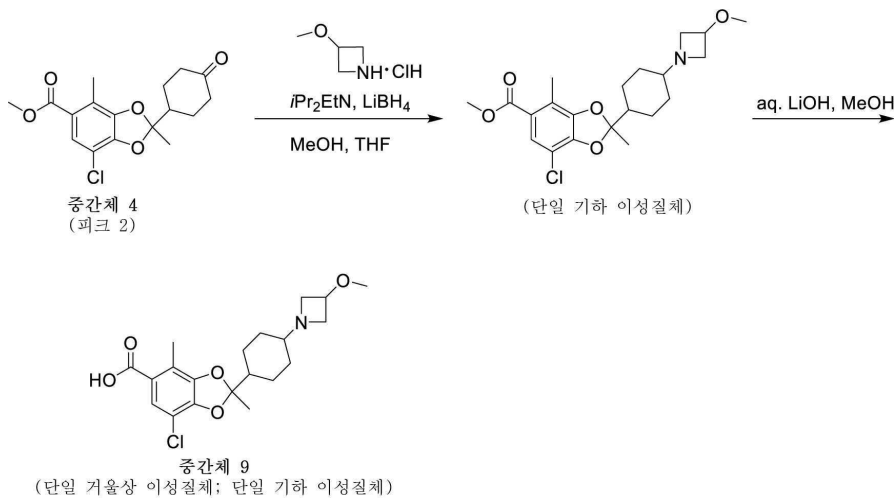
[0195] 메탄올(3 mL) 중의 메틸 7-클로로-2,4-디메틸-2-[1-(2,2,2-트리플루오로에틸)피페리딘-4-일]-2H-1,3-벤조디옥솔-5-카르복실레이트(691 mg, 1.69 mmol)의 용액에 물 중의 6 M 수산화 나트륨(1 mL, 6.00 mmol)을 첨가하고 60°C에서 가열하였다. 25분 후, 반응 혼합물을 감압 하에서 농축시켜 대부분의 메탄올을 제거하였다. 이후, 혼합

물을 물로 희석하고, 0°C로 냉각한 이후, 1 M 염산으로 pH = 7로 중화하였다. 혼합물을 디클로로메탄(3회)으로 추출하고 조합된 유기층을 황산 나트륨 상에서 건조시키고, 여과하며 감압 하에서 농축하여 표제 화합물을 백색 고체로서 수득하고, 이를 추가 정제없이 다음 단계에 사용하였다. LCMS [M+H]⁺ m/z: 계산치 394.79; 실측치 394.2.

[0196] **단계 5: 퍼플루오로페닐 7-클로로-2,4-디메틸-2-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)피페리딘-4-일)벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복실레이트의 합성**

[0197] 디클로로메탄(5 mL) 중의 7-클로로-2,4-디메틸-2-[1-(2,2,2-트리플루오로에틸)피페리딘-4-일]-2H-1,3-벤조디옥솔-5-카르복실산(665 mg, 1.68 mmol)의 교반된 용액에 피페리딘(1 mL, 12.4 mmol)을 첨가한 후 2,3,4,5,6-펜타플루오로페닐 2,2,2-트리플루오로아세테이트(500 μL, 2.90 mmol)를 첨가하였다. 20분 후, 반응 혼합물을 감압 하에서 농축시켜 표제 화합물을 수득하고, 이를 추가 정제없이 다음 단계에 사용하였다. LCMS [M+H]⁺ m/z: 계산치 560.84; 실측치 560.2.

[0198] **중간체 9: 7-클로로-2-(4-(3-메톡시아제티딘-1-일)사이클로헥실)-2,4-디메틸벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복실산**



[0199]

[0200] **단계 1: 메틸 7-클로로-2-(4-(3-메톡시아제티딘-1-일)사이클로헥실)-2,4-디메틸벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복실레이트의 합성**

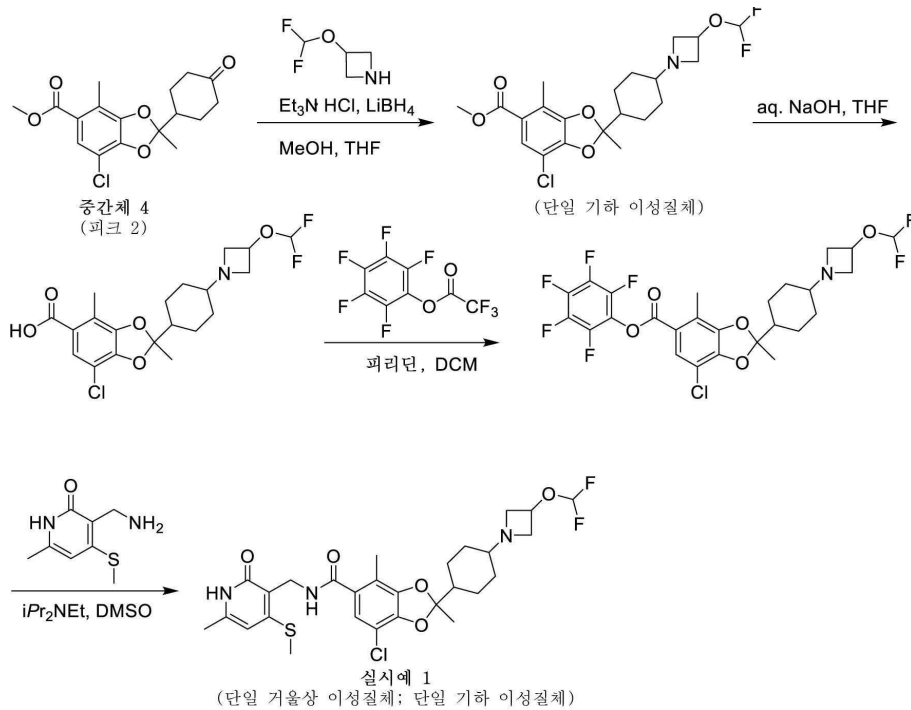
[0201] 메탄올(30 mL) 중의 3-메톡시아제티딘 염산염(8 g, 64.75 mmol) 및 N,N-디이소프로필에틸아민(12 mL, 68.9 mmol)의 용액을 실온에서 30분 동안 교반한 후 테트라하이드로퓨란(30 mL) 중의 메틸 7-클로로-2,4-디메틸-2-(4-옥소사이클로헥실)-1,3-벤조디옥솔-5-카르복실레이트(중간체 4 — 피크 2)(4.1 g, 12.10 mmol)의 또 다른 용액의 용액을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반한 다음 -70°C로 냉각시켰다. 리튬 보로하이드라이드(500 mg, 22.96 mmol)를 첨가하고 반응을 -70°C에서 30분 동안 [또는 TLC, 에틸 아세테이트/메탄올 5:1에 의해 출발 물질의 완전한 소모가 관찰될 때까지] 교반하였다. 다음으로, 반응의 2개 배치(batch)를 조합하고 0°C에서 염화 암모늄(120 mL)의 포화 수용액으로 켄칭하고 원하는 생성물을 디클로로메탄(200 mL × 3)으로 추출하였다. 조합된 유기층을 황산 나트륨 상에서 건조시키고, 여과하며 감압 하에서 농축 건조시켰다. 잔기를 플래쉬 크로마토그래피(실리카 겔, 디클로로메탄 중 0% 내지 14% 메탄올 구배)로 정제하여 표제 화합물(8.05 g, 67% 수율, 83% 순도)을 담황색 오일로서 수득하였다. 샘플(50 mg)을 분취 박층 크로마토그래피(실리카 겔, 에틸 아세테이트:메탄올 15:1)에 의해 더 정제하였다. LCMS [M+H]⁺ m/z: 계산치 410.2; 실측치 410.1. ¹H NMR (400 MHz, 메탄올-d₄) δ 7.39 (s, 1H), 3.95 - 3.91 (m, 1H), 3.73 (s, 3H), 3.59 - 3.51 (m, 2H), 3.16 (s, 3H), 2.97 (br dd, J = 6.4, 8.0 Hz, 2H), 2.26 (s, 3H), 2.11 - 2.02 (m, 1H), 1.91 - 1.73 (m, 5H), 1.54 (s, 3H), 1.22 - 1.12 (m, 2H), 0.98 - 0.86 (m, 2H).

[0202] **단계 2: 7-클로로-2-(4-(3-메톡시아제티딘-1-일)사이클로헥실)-2,4-디메틸벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복실산의 합성**

[0203] 메탄올(48 mL) 중의 메틸 7-클로로-2-(4-(3-메톡시아제티딘-1-일)사이클로헥실)-2,4-디메틸벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복실레이트(4 g, 9.75 mmol)의 용액에 물(12 mL) 중의 수산화 리튬 수화물(4.03 g, 96.06 mmol)의 용액을 첨가하였다. 반응을 70°C에서 2시간 동안 교반한 다음 2개 배치를 조합하며 감압 하에서 농축시켰다. 물(50

mL)을 첨가하고 0°C에서 포화 시트르산 수용액으로 pH를 6으로 조절하였다. 원하는 생성물을 디클로로메탄과 이소프로판올의 3:1 혼합물(300 mL × 5)로 추출하였다. 조합된 유기층을 황산 나트륨 상에서 건조시키고, 여과하며 감압 하에서 농축 건조시켜 표제 화합물(6.1 g, 미정제)을 미색 고체로서 수득하고, 이를 추가 정제없이 다음 단계에 사용하였다. LCMS [M+H]⁺ m/z: 계산치 396.2; 실측치 396.1. ¹H NMR (400 MHz, 메탄올-d₄) δ 7.07 (s, 1H), 4.05 - 4.10 (m, 2H), 3.76 - 3.88 (m, 1H), 3.67 (br dd, J = 10, 3.6 Hz, 2H), 3.22 (s, 3H), 2.71 - 2.81 (m, 1H), 2.19 (s, 3H), 1.91 - 1.99 (m, 4H), 1.75 - 1.85 (m, 1H), 1.52 (s, 3H), 1.18 - 1.28 (m, 2H), 1.06 - 1.14 (m, 2H).

[0204] 실시예 #1: 7-클로로-2-(4-(3-(디플루오로메톡시)아제티딘-1-일)사이클로헥실)-2,4-디메틸-N-((6-메틸-4-(메틸티오)-2-옥소-1,2-디하이드로피리딘-3-일)메틸)벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복사미드



[0205]

[0206] 단계 1: 메틸 7-클로로-2-(4-(3-(디플루오로메톡시)아제티딘-1-일)사이클로헥실)-2,4-디메틸벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복실레이트의 합성

[0207]

메탄올(2 mL)과 테트라하이드로퓨란(2 mL)의 혼합물 중의 메틸 7-클로로-2,4-디메틸-2-(4-옥소사이클로헥실)벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복실레이트(중간체 4 — 피크 2)(224 mg, 0.661 mmol), 3-(디플루오로메톡시)아제티딘(336 mg, 2.72 mmol) 및 트리에틸아민 염산염(373 mg, 2.71 mmol)의 용액을 실온에서 1.5시간 동안 교반한 후, -78°C로 냉각하였다. 테트라하이드로퓨란(2 M, 500 μL, 1 mmol) 중의 리튬 보로하이드라이드 용액을 -78°C에서 적가한 후 반응을 15분 동안 실온으로 가온시켰다. 다음으로, 혼합물을 0°C로 냉각한 후 중탄산 나트륨의 포화 수용액으로 케칭하고, 디클로로메탄으로 희석하며 실온으로 가온하였다. 원하는 생성물을 디클로로메탄(3회)으로 수성층으로부터 추출하고 조합된 유기층을 소수성 필터를 사용하여 건조시키고 감압 하에서 농축 건조시켰다. 잔기를 플래쉬 크로마토그래피(실리카 겔, 헵탄 중 10 내지 100% 에틸 아세테이트 구배, 이후 에틸 아세테이트 중 0 내지 100% 에탄올)로 정제하여 표제 화합물(205 mg, 70% 수율)의 단일 기하 이성질체(시스 또는 트랜스)를 수득하였다. LCMS [M+H]⁺ m/z: 계산치 445.9; 실측치 446.2.

[0208]

단계 2: 7-클로로-2-(4-(3-(디플루오로메톡시)아제티딘-1-일)사이클로헥실)-2,4-디메틸벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복실산의 합성

[0209]

메탄올(3 mL) 중의 메틸 7-클로로-2-(4-(3-(디플루오로메톡시)아제티딘-1-일)사이클로헥실)-2,4-디메틸벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복실레이트(205 mg, 0.460 mmol)의 용액에 물 중의 수산화 나트륨(6 M, 1 mL, 6.00 mmol)의 용액을 첨가하였다. 반응을 60°C에서 20분 동안 가열한 다음 물로 희석하고 0°C로 냉각하고 1 M 염산으로 pH = 2로 산성화한 다음 1 M 수산화 나트륨 수용액으로 pH = 7로 중화시켰다. 원하는 생성물을 디클로로메탄(3회)으로 추출하고, 소수성 필터를 사용하여 건조시키고 감압 하에서 농축 건조하여 표제 화합물(176 mg, 89%

수율)을 백색 고체로서 수득하고, 이를 추가 정제없이 다음 단계에서 사용하였다. LCMS [M+H]⁺ m/z: 계산치 431.9; 실측치 432.2.

[0210] 단계 3: 퍼플루오로페닐 7-클로로-2-((1r,4R)-4-(3-(디플루오로메톡시)아제티딘-1-일)사이클로헥실)-2,4-디메틸벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복실레이트의 합성

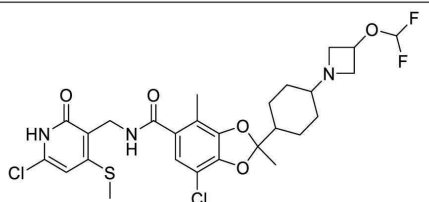
[0211] 디클로로메탄(0.5 mL) 중의 7-클로로-2-(4-(3-(디플루오로메톡시)아제티딘-1-일)사이클로헥실)-2,4-디메틸벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복실산(176 mg, 0.408 mmol)의 용액에 피리딘(1.0 mL, 12.4 mmol)을 첨가한 다음 실온에서 2,3,4,5,6-펜타플루오로페닐 2,2,2-트리플루오로아세테이트(150 μL, 0.871 mmol)를 첨가하였다. 20분 후, 반응 혼합물을 감압 하에서 농축 건조시켜 표제 화합물(100% 이론 수율 = 243 mg)과 부산물의 혼합물을 수득하였다. 미정제 혼합물을 추가 정제없이 다음 단계에 사용하였다. LCMS [M+H]⁺ m/z: 계산치 597.91; 실측치 598.2.

[0212] 단계 4: 7-클로로-2-(4-(3-(디플루오로메톡시)아제티딘-1-일)사이클로헥실)-2,4-디메틸-N-((6-메틸-4-(메틸티오)-2-옥소-1,2-디하이드로피리딘-3-일)메틸)벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복사미드의 합성

[0213] 디메틸설폭사이드(1 mL) 중의 퍼플루오로페닐 7-클로로-2-(4-(3-(디플루오로메톡시)아제티딘-1-일)사이클로헥실)-2,4-디메틸벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복실레이트(≤243 mg, ≤0.406 mmol)의 용액에 3-(아미노메틸)-6-메틸-4-(메틸티오)피리딘-2(1H)-온 (염산염)(중간체 1)(222 mg, 1.20 mmol) 및 N,N-디이소프로필에틸아민(0.30 mL, 1.71 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 60 °C에서 1시간 동안 교반한 다음 밤새 강한 질소 흐름하에 농축 건조시켰다. 잔기를 역상 플래쉬 크로마토그래피(C18 칼럼, 0.1%의 트리플루오로 아세트산과 함께 물 중의 0 내지 100% 아세토니트릴 구배)로 2회 정제하였다. 잔기를 디클로로메탄 및 중탄산 나트륨 포화 용액으로 희석하였다. 수층을 디클로로메탄으로 세척하였다. 조합된 유기층을 황산 나트륨 상에서 건조시키고 감압 하에서 농축하여 단일 기하 이성질체(시스 또는 트랜스)로서 표제 화합물(166 mg, 2 단계에 걸쳐 68% 수율)을 수득하였다. LCMS [M+H]⁺ m/z: 계산치 598.1; 실측치 598.3. ¹H NMR (400 MHz, 메탄올-d₄) δ 6.88 (s, 1 H), 6.26 (s, 1 H), 6.38 (t, J = 74.3 Hz, 2 H), 4.71 (quin, J = 6.0 Hz, 1 H), 4.48 (s, 2 H), 3.69 - 3.60 (m, 2 H), 3.18 - 3.11 (m, 2 H), 2.52 (s, 3 H), 2.29 (s, 3 H), 2.18 (s, 3 H), 2.10 (tt, J = 3.5, 11.2 Hz, 1 H), 1.98 - 1.86 (m, 4 H), 1.85 - 1.78 (m, 1 H), 1.60 (s, 3 H), 1.32 - 1.21 (m, 2 H), 1.06 - 0.92 (m, 2 H).

표 1

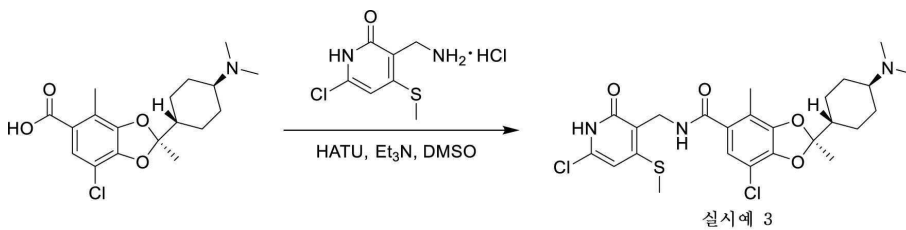
표 1. 적절한 출발 물질을 사용하여 실시예 1 과 유사한 방식으로 하기 화합물을 제조하였다.

실시예	구조	분석 데이터
2	 <p>(단일 거울상 이성질체; 단일 기하 이성질체) 중간체 3 및 중간체 4 로부터 제조됨(피크 2)</p>	LCMS [M+H] ⁺ m/z: 계산치 618.1; 실측치 618.1. ¹ H NMR (400 MHz, 클로로포름- <i>d</i>) δ 6.91 - 6.88 (m, 1H), 6.58 (t, <i>J</i> = 5.4 Hz, 1H), 6.53 (s, 1H), 6.39 - 5.97 (m, 2H), 3.80 (d, <i>J</i> = 7.3 Hz, 2H), 3.14 (d, <i>J</i> = 6.4 Hz, 2H), 2.53 - 2.49 (m, 3H), 2.26 (s, 3H), 2.13 (br. s., 1H), 1.99 - 1.78 (m, 5H), 1.60 (s, 3H), 1.45 (d, <i>J</i> = 3.4 Hz, 1H), 1.28 - 1.18 (m, 2H), 1.15 - 1.01 (m, 2H).

[0214]

[0216]

실시예 #3: (R)-7-클로로-N-((6-클로로-4-(메틸티오)-2-옥소-1,2-디하이드로피리딘-3-일)메틸)-2-(트랜스-4-(디메틸아미노)사이클로헥실)-2,4-디메틸벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복사미드



[0217]

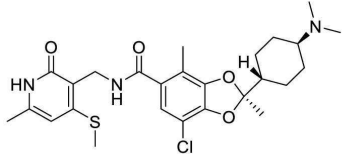
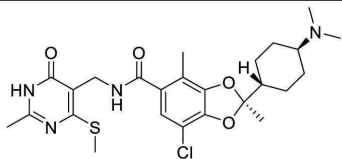
[0218]

디메틸설폭사이드(0.5 mL) 중의 (R)-7-클로로-2-(트랜스-4-(디메틸아미노)사이클로헥실)-2,4-디메틸벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복실산(특허 출원 미국 특허 US2017/0073335 A1호에 기재된 절차에 따라 제조됨)(48 mg, 0.1356 mmol)의 용액에 실온에서 트리에틸아민(56.6 μL, 0.407 mmol) 및 O-(7-아자벤조트리아졸-1-일)-N,N,N',N'-테트라메틸우로늄 헥사플루오로포스페이트(41.2 mg, 0.108 mmol)을 첨가하였다. 활성화된 에스테르의 형성이 5분 후 LCMS([M+H]⁺ m/z: 368.2)에 의해 불완전했기 때문에 디메틸설폭사이드(1 mL) 중의 추가의 O-(7-아자벤조트리아졸-1-일)-N,N,N',N'-테트라메틸우로늄 헥사플루오로포스페이트(16 mg, 0.042 mmol)를 2회 첨가하였다. 산의 활성화 완료 후, 디메틸설폭사이드(0.5 mL) 중의 3-(아미노메틸)-6-클로로-4-(메틸설파닐)-1,2-디하이드로피리딘-2-온 염산염(65.3 mg, 0.271 mmol)과 트리에틸아민(56.6 μL, 0.407 mmol)의 현탁액을 실온에서 첨가하였다. 반응 혼합물을 60°C에서 45분 동안 가열한 다음 디클로로메탄 및 물로 희석하였다. 유기층을 소수성 필터를 사용하여 건조시켰고 감압 하에서 농축 건조시켰다. 잔기를 플래쉬 크로마토그래피[실리카 겔 KP-NH 칼럼, 헥산 중 0 내지 100% 에틸 아세테이트 구배, 이후 디클로로메탄 중 0 내지 100% 에탄올, 이후 에틸 아세테이트 중 (20% 수산화 암모늄을 갖는) 0 내지 100% 메탄올]로 정제하여 표제 화합물(30 mg, 41% 수율)을 백색 고체로서 수득하였다. LCMS [M+H]⁺ m/z: 계산치 540.5; 실측치 540.2. ¹H NMR (400 MHz, 메탄올-*d*₄) δ

6.89 (s, 1H), 6.68 (s, 1H), 4.50 (s, 2H), 3.20 (tt, $J = 3.2, 11.9$ Hz, 1H), 2.83 (s, 6H), 2.53 (s, 3H), 2.18 (s, 3H), 2.16 - 2.08 (m, 4H), 2.02 - 1.94 (m, 1H), 1.62 (s, 3H), 1.54 (dq, $J = 3.4, 12.4$ Hz, 2H), 1.47 - 1.37 (m, 2H).

표 2

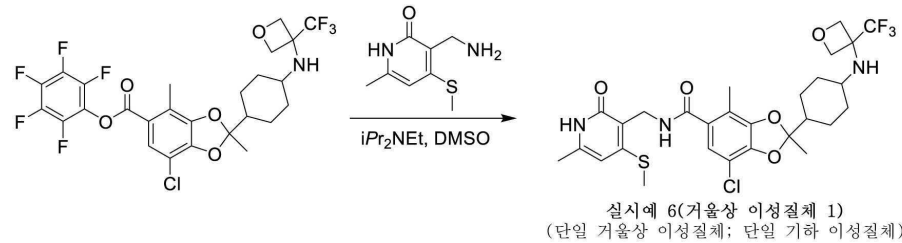
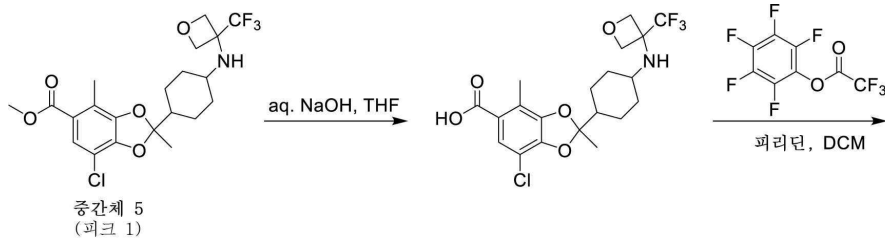
표 2. 적절한 출발 물질을 사용하여 실시예 3 과 유사한 방식으로 하기 화합물을 제조하였다.

실시예	구조	분석 데이터
4	 <p>(R 거울상 이성질체; 트랜스 기하 이성질체) 중간체 1로부터 제조됨</p>	<p>LCMS [M+H]⁺ m/z: 계산치 520.2; 실측치 520.3. ¹H NMR (400 MHz, 디메틸설폭사이드-<i>d</i>₆) δ 11.52 (br. s., 1H), 8.00 (t, $J = 4.4$ Hz, 1H), 6.85 (s, 1H), 6.08 (s, 1H), 4.27 (d, $J = 4.4$ Hz, 2H), 3.57 (s, 1H), 2.45 (s, 3H), 2.17 (s, 3H), 2.14 (s, 9H), 1.92 - 1.77 (m, 5H), 1.60 (s, 3H), 1.15 (t, $J = 9.0$ Hz, 4H)</p>
5	 <p>(R 거울상 이성질체; 트랜스 기하 이성질체) 중간체 2로부터 제조됨</p>	<p>LCMS [M+H]⁺ m/z: 계산치 521.2; 실측치 521.2. NMR (400 MHz, 디메틸설폭사이드-<i>d</i>₆) δ 12.60 - 12.19 (m, 2H), 8.05 (t, $J = 4.4$ Hz, 1H), 6.87 (s, 1H), 4.21 (d, $J = 4.4$ Hz, 2H), 2.47 (s, 3H), 2.29 (s, 2H), 2.19 - 2.12 (m, 9H), 2.09 (br.s., 1H), 1.94 - 1.76 (m, 5H), 1.60 (s, 3H), 1.15 (t, $J = 9.5$ Hz, 4H)</p>

[0219]

[0221]

실시예 #6(거울상 이성질체 1): 7-클로로-N-((6-클로로-4-(메틸티오)-2-옥소-1,2-디하이드로피리딘-3-일)메틸)-2-(4-(디메틸아미노)사이클로헥실)-2,4-디메틸벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복사미드



[0222]

[0223] **단계 1: 7-클로로-2,4-디메틸-2-(4-((3-(트리플루오로메틸)옥세탄-3-일)아미노)사이클로헥실)벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복실산의 합성**

[0224] 메탄올(1 mL) 중의 메틸 7-클로로-2,4-디메틸-2-[4-{{3-(트리플루오로메틸)옥세탄-3-일}아미노}사이클로헥실]-2H-1,3-벤조디옥솔-5-카르복실레이트(중간체 5 — 피크 1)(81 mg, 0.174 mmol)의 용액에 수산화 나트륨(72 mg, 1.79 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 60°C에서 20분 동안 가열하고, 0°C로 냉각한 다음 1 M 염산으로 pH = 2로 산성화하였다. 이후, 원하는 생성물을 디클로로메탄(3회)으로 추출하고 조합된 유기층을 소수성 필터를 사용하여 건조시켰다. 여액을 감압 하에서 농축 건조시켜 표제 화합물(70 mg, 89% 수율)을 백색 고체로 수득하고, 이를 추가 정제없이 다음 단계에 사용하였다. LCMS [M+H]⁺ m/z: 계산치 450.1; 실측치 450.2.

[0225] **단계 2: 퍼플루오로페닐 7-클로로-2,4-디메틸-2-(4-((3-(트리플루오로메틸)옥세탄-3-일)아미노)사이클로헥실)벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복실레이트의 합성**

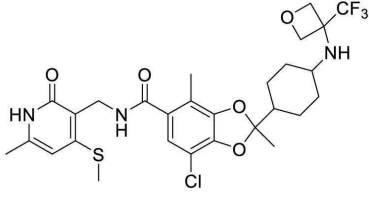
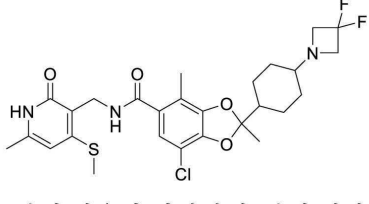
[0226] 디클로로메탄(0.5 mL) 중의 퍼플루오로페닐 7-클로로-2,4-디메틸-2-(4-((3-(트리플루오로메틸)옥세탄-3-일)아미노)사이클로헥실)벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복실산(70 mg, 155 μmol)의 용액에 실온에서 피리딘(24.9 μL, 310 μmol) 및 2,3,4,5,6-펜타플루오로페닐 2,2,2-트리플루오로아세트레이트(39.8 μL, 232 μmol)를 첨가하였다. 15분 후, 반응을 감압 하에서 농축 건조시켜 표제 화합물과 부산물(68 mg, 미정제)의 혼합물을 수득하였다. 미정제 혼합물을 추가 정제없이 다음 단계에 사용하였다. LCMS [M+H]⁺ m/z: 계산치 616.1; 실측치 616.2.

[0227] **단계 3: 7-클로로-2,4-디메틸-N-((6-메틸-4-(메틸티오)-2-옥소-1,2-디하이드로피리딘-3-일)메틸)-2-(4-((3-(트리플루오로메틸)옥세탄-3-일)아미노)사이클로헥실)벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복사미드의 합성**

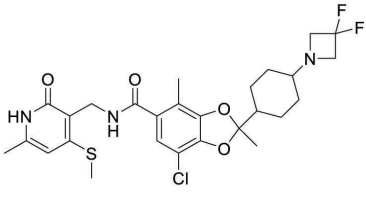
[0228] N,N-디메틸포름아미드(1 mL) 중의 2,3,4,5,6-펜타플루오로페닐 7-클로로-2,4-디메틸-2-[4-{{3-(트리플루오로메틸)옥세탄-3-일}아미노}사이클로헥실]-2H-1,3-벤조디옥솔-5-카르복실레이트(≤68 mg, ≤110 μmol)의 용액에 실온에서 3-(아미노메틸)-6-메틸-4-(메틸티오)-1,2-디하이드로피리딘-2-온 (유리 염기)(30.4 mg, 0.165 mmol) 및 N,N-디이소프로필에틸아민(0.1 mL, 574 μmol)을 첨가하였다. 반응물을 50°C에서 30분 동안 교반한 다음, 역상 플래쉬 크로마토그래피(C18 칼럼, 0.1% 트리플루오로아세트산과 함께 물 중 5 내지 50% 아세토니트릴 구배)로 정제하기 위해 C18 칼럼에 직접 첨가하여 표제 화합물의 트리플루오로아세트산 염을 수득하였다. 염을 디클로로메탄에 용해시키고 유기층을 중탄산 나트륨의 포화 수용액으로 세척하였다. 최종적으로, 유기층을 감압 하에서 농축 건조시켜 표제 화합물(유리 염기)(42 mg, 62% 수율)을 백색 고체로 수득하였다. LCMS [M+H]⁺ m/z: 계산치 616.19; 실측치 616.3. ¹H NMR (400 MHz, 클로로포름-d) δ 12.62 - 12.44 (m, 1H), 7.16 (t, J = 5.1 Hz, 1H), 6.91 (s, 1H), 6.04 (s, 1H), 4.76 (s, 3H), 4.62 - 4.46 (m, 4H), 2.72 - 2.63 (m, 1H), 2.49 (s, 3H), 2.32 (s, 3H), 2.27 (s, 3H), 1.92 (d, J = 5.9 Hz, 4H), 1.80 (br. s., 1H), 1.60 (s, 3H), 1.36 - 1.10 (m, 6H).

표 3

표 3. 적절한 출발 물질을 사용하여 실시예 6 과 유사한 방식으로 하기 화합물을 제조하였다.

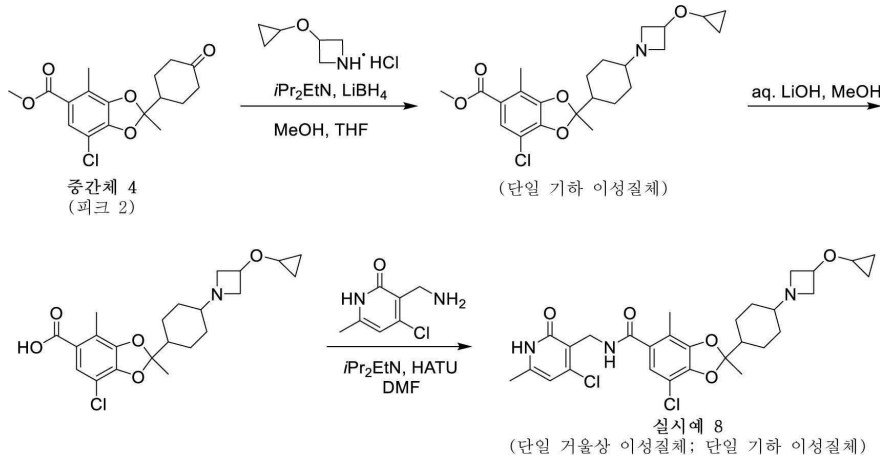
실시예	구조	분석 데이터
6 (거울상 이성질체 2)	 <p>(단일 거울상 이성질체; 단일 기하 이성질체) 중간체 1 및 중간체 5 로부터 제조됨(피크 2)</p>	<p>LCMS [M+H]⁺ m/z: 계산치 616.19; 실측치 616.3. ¹H NMR (400 MHz, 클로로포름-<i>d</i>) δ 12.45 - 12.30 (m, 1H), 7.14 (t, <i>J</i> = 5.4 Hz, 1H), 6.91 (s, 1H), 6.04 (s, 1H), 4.75 (d, <i>J</i> = 7.3 Hz, 2H), 4.61 (s, 2H), 4.55 - 4.51 (m, 2H), 2.68 (t, <i>J</i> = 9.5 Hz, 1H), 2.49 (s, 3H), 2.32 (s, 3H), 2.27 (s, 3H), 1.92 (d, <i>J</i> = 6.4 Hz, 4H), 1.83 (t, <i>J</i> = 11.7 Hz, 1H), 1.61 (s, 3H), 1.35 - 1.12 (m, 6H).</p>
7 (거울상 이성질체 1)	 <p>(단일 거울상 이성질체; 단일 기하 이성질체) 중간체 1 및 중간체 7 로부터 제조됨(피크 1)</p>	<p>LCMS [M+H]⁺ m/z: 계산치 568.2; 실측치 568.3. ¹H NMR (400 MHz, 메탄올-<i>d</i>₄) δ 6.93 - 6.84 (m, 1H), 6.27 (s, 1H), 4.48 (s, 2H), 3.67 (br t, <i>J</i> = 12.0 Hz, 4H), 2.52 (s, 3H), 2.29 (s, 3H), 2.26 - 2.19 (m, 1H), 2.18 (s, 3H), 2.02 - 1.81 (m, 5H), 1.61 (s, 3H), 1.34 - 1.21 (m, 2H), 1.13 - 1.00 (m, 2H).</p>

[0229]

7 (거울상 이성질체 2)	 <p>(단일 거울상 이성질체; 단일 기하 이성질체) 주: 중간체 1 및 중간체 7 로부터 제조됨(피크 2)</p>	<p>LCMS [M+H]⁺ m/z: 계산치 568.2; 실측치 568.3. ¹H NMR (400 MHz, 메탄올-<i>d</i>₄) δ 6.89 (s, 1H), 6.27 (s, 1H), 4.49 (s, 2H), 3.61 (t, <i>J</i> = 12.0 Hz, 4H), 2.53 (s, 3H), 2.29 (s, 3H), 2.23 - 2.08 (m, 4H), 2.03 - 1.78 (m, 5H), 1.61 (s, 3H), 1.35 - 1.22 (m, 2H), 1.12 - 0.99 (m, 2H).</p>
-------------------	---	--

[0230]

[0232] 실시예 8: 7-클로로-N-((4-클로로-6-메틸-2-옥소-1,2-디하이드로피리딘-3-일)메틸)-2-(4-(3-사이클로프로폭시아제티딘-1-일)사이클로헥실)-2,4-디메틸벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복사미드



[0233]

[0234] 단계 1: 메틸 7-클로로-2-(4-(3-사이클로프로폭시아제티딘-1-일)사이클로헥실)-2,4-디메틸벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복실레이트의 합성

[0235] 메탄올(10 mL) 중의 3-(사이클로프로폭시아제티딘 염산염(1.9 g, 12.7 mmol)과 N,N-디이소프로필에틸아민(2.7 mL, 15.5 mmol)의 용액을 실온에서 1시간 동안 교반한 후 테트라하이드로퓨란(30 mL) 중의 메틸 7-클로로-2,4-디메틸-2-(4-옥소사이클로헥실)-1,3-벤조디옥솔-5-카르복실레이트(중간체 4 — 피크 2)(860 g, 2.54 mmol)의 또 다른 용액의 용액을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 1.5시간 동안 교반한 다음 -70°C로 냉각시켰다. 리튬 보로하이드라이드(120 mg, 5.51 mmol)를 첨가하고 반응을 -70°C에서 30분 동안 [또는 TLC, 에틸 아세테이트/메탄올 5:1에 의해 출발 물질의 완전한 소모가 관찰될 때까지] 교반하였다. 다음으로, 반응을 염화 암모늄(100 mL)의 포화 수용액으로 킨칭하고 원하는 생성물을 에틸 아세테이트(50 mL × 2)로 추출하였다. 조합된 유기층을 염수(30 mL)로 세척하고, 황산 마그네슘 상에서 건조시키고, 여과하며, 감압 하에서 농축 건조시켰다. 잔기를 플래쉬 크로마토그래피(실리카 겔, 석유 에테르 중 50 내지 100% 에틸 아세테이트 구매)로 정제하여 표제 화합물(760 mg, 65% 수율, 95% 순도)을 황색 오일로서 수득하였다. LCMS [M+H]⁺ m/z: 계산치 436.1; 실측치 436.0.

[0236] 단계 2: 7-클로로-2-(4-(3-사이클로프로폭시아제티딘-1-일)사이클로헥실)-2,4-디메틸벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복실산의 합성

[0237] 메탄올(15 mL) 및 물(3 mL) 중의 메틸 7-클로로-2-(4-(3-사이클로프로폭시아제티딘-1-일)사이클로헥실)-2,4-디메틸벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복실레이트(760 mg, 1.74 mmol)의 용액에 수산화 리튬 수화물(962 mg, 22.93 mmol)을 첨가하였다. 반응을 70°C에서 15시간 동안 교반한 다음 감압 하에서 농축시켰다. 물(15 mL)을 첨가하고 0°C에서 포화 시트르산 수용액으로 pH를 6으로 조절하였다. 원하는 생성물을 디클로로메탄과 이소프로판올의 10:1 혼합물(30 mL × 3)로 추출하였다. 조합된 유기층을 염수(150 mL × 2)로 세척하고, 황산 나트륨 상에서 건조시키고, 여과하며 감압 하에서 농축 건조시켜 표제 화합물(720 mg, 미정제)을 황색 고체로서 수득하고, 이를 추가 정제없이 다음 단계에 사용하였다. LCMS [M+H]⁺ m/z: 계산치 422.1; 실측치 422.0.

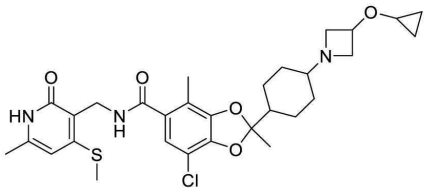
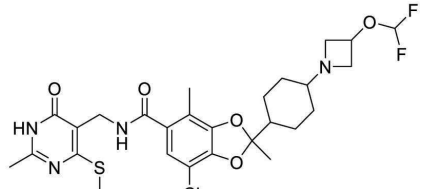
[0238] 단계 3: 7-클로로-N-((4-클로로-6-메틸-2-옥소-1,2-디하이드로피리딘-3-일)메틸)-2-(4-(3-사이클로프로폭시아제티딘-1-일)사이클로헥실)-2,4-디메틸벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복사미드의 합성

[0239] N,N-디메틸포름아미드(4 mL) 중의 7-클로로-2-[4-[3-(사이클로프로폭시아제티딘-1-일)사이클로헥실]-2,4-디메틸-1,3-벤조디옥솔-5-카르복실산(360 mg, 0.853 mmol)의 용액에 0-(7-아자벤조트리아졸-1-일)-N,N,N',N'-테트라메틸우로늄 헥사플루오로포스페이트(500 mg, 1.31 mmol) 및 N,N-디이소프로필에틸아민(1 mL, 5.74 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 15°C에서 30분 동안 교반한 이후 3-(아미노메틸)-4-클로로-6-메틸-1H-피리딘-2-온 염산염(중간체 6)(250 mg, 1.2 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 15°C에서 추가로 4시간 동안 교반한 다음 여과하였다. 여액을 분취 HPLC[칼럼: Waters Xbridge(150mm × 25 mm, 5 μm). 이동상 A: 물(0.05% 수산화 암모늄 v/v / 이동상 B: 아세토니트릴. 구매(65 내지 55% 이동상 A / 35 내지 65% 이동상 B, 9.5분에 걸침). 칼럼 온도:

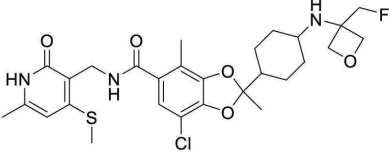
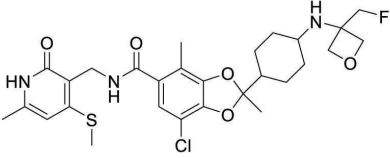
30℃]로 정제하여 표제 화합물(209 mg, 42% 수율)을 백색 고체로서 수득하였다. LCMS [M+H]⁺ m/z: 계산치 576.2; 실측치 576.2. ¹H NMR (400 MHz, 메탄올-d₄) δ 6.90 (s, 1H), 6.30 (s, 1H), 4.52 (s, 2H), 4.22 (quin, J = 6.0 Hz, 1H), 3.61 (dd, J = 6.4, 8.6 Hz, 2H), 3.31 - 3.25 (m, 1H), 2.99 (dd, J = 6.3, 8.4 Hz, 2H), 2.28 (s, 3H), 2.20 (s, 3H), 2.12 - 2.04 (m, 1H), 1.99 - 1.85 (m, 5H), 1.62 (s, 3H), 1.33 - 1.24 (m, 2H), 1.06 - 0.95 (m, 2H), 0.56 - 0.51 (m, 2H), 0.51 - 0.44 (m, 2H).

표 4

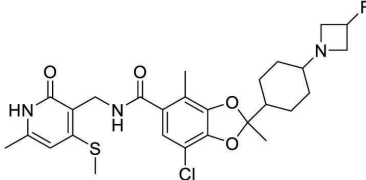
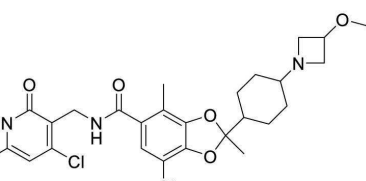
표 4. 적절한 출발 물질을 사용하여 실시예 8 과 유사한 방식으로 하기 화합물을 제조하였다.

실시예	구조	분석 데이터
9	 <p>(단일 거울상 이성질체; 단일 기하 이성질체) 중간체 1 및 중간체 4로부터 제조됨(피크 2)</p>	<p>LCMS [M+H]⁺ m/z: 계산치 588.2; 실측치 588.2. ¹H NMR (400 MHz, 메탄올-d₄) δ 6.91 (s, 1H), 6.29 (s, 1H), 4.53 (s, 2H), 4.26 - 4.17 (m, 1H), 3.69 - 3.59 (m, 2H), 3.30 - 3.24 (m, 1H), 3.06 - 2.94 (m, 2H), 2.54 (s, 3H), 2.31 (s, 3H), 2.21 (s, 3H), 2.10 - 2.02 (m, 1H), 1.99 - 1.80 (m, 5H), 1.62 (s, 3H), 1.35 - 1.18 (m, 2H), 1.08 - 0.93 (m, 2H), 0.58 - 0.50 (m, 2H), 0.50 - 0.42 (m, 2H).</p>
10	 <p>(단일 거울상 이성질체; 단일 기하 이성질체) 중간체 2 및 중간체 4로부터 제조됨(피크 2)</p>	<p>LCMS [M+H]⁺ m/z: 계산치 599.2; 실측치 599.1. ¹H NMR (400 MHz, 메탄올-d₄) δ 6.92 (s, 1H), 6.40 (t, J = 76 Hz, 1H), 4.73 (t, J = 8 Hz, 1H), 4.43 (s, 2H), 3.68 - 3.64 (m, 2H), 3.18 - 3.14 (m, 2H), 2.57 (s, 3H), 2.40 (s, 3H), 2.21 (s, 3H), 2.14 - 2.09 (m, 1H), 1.97 - 1.83 (m, 5H), 1.62 (s, 3H), 1.32 - 1.23 (m, 2H), 1.05 - 0.95 (m, 2H).</p>

[0240]

<p>11</p>	 <p>(기하 이성질체 1) 중간체 1 및 중간체 4로부터 제조됨(피크 2)</p>	<p>LCMS [M+H]⁺ m/z: 계산치 580.2; 실측치 580.2. ¹H NMR (400 MHz, 메탄올-<i>d</i>₄) δ 6.91 (s, 1H), 6.29 (s, 1H), 4.82 - 4.79 (m, 1H), 4.68 (s, 1H), 4.55 (dd, <i>J</i> = 4.0, 6.4 Hz, 1H), 4.52 - 4.46 (m, 4H), 2.63 (br t, <i>J</i> = 10.8 Hz, 1H), 2.55 (s, 3H), 2.31 (s, 3H), 2.21 (s, 3H), 1.94 (br d, <i>J</i> = 13.2 Hz, 2H), 1.89 - 1.80 (m, 3H), 1.62 (s, 3H), 1.31 (q, <i>J</i> = 12.0 Hz, 2H), 1.25 - 1.15 (m, 2H).</p>
<p>11</p>	 <p>(기하 이성질체 2) 중간체 1 및 중간체 4로부터 제조됨(피크 2)</p>	<p>LCMS [M+H]⁺ m/z: 계산치 580.2; 실측치 580.1. ¹H NMR (400 MHz, 메탄올-<i>d</i>₄) δ 6.91 (s, 1H), 6.30 (s, 1H), 4.75 (s, 1H), 4.63 (s, 1H), 4.62 - 4.59 (m, 2H), 4.52 - 4.47 (m, 4H), 3.06 (br s, 1H), 2.55 (s, 3H), 2.31 (s, 3H), 2.22 (s, 3H), 1.91 (br d, <i>J</i> = 10.4 Hz, 1H), 1.68 (br d, <i>J</i> = 8.4 Hz, 4H), 1.65 (s, 5H), 1.61 (br s, 1H), 1.57 (br s, 1H).</p>

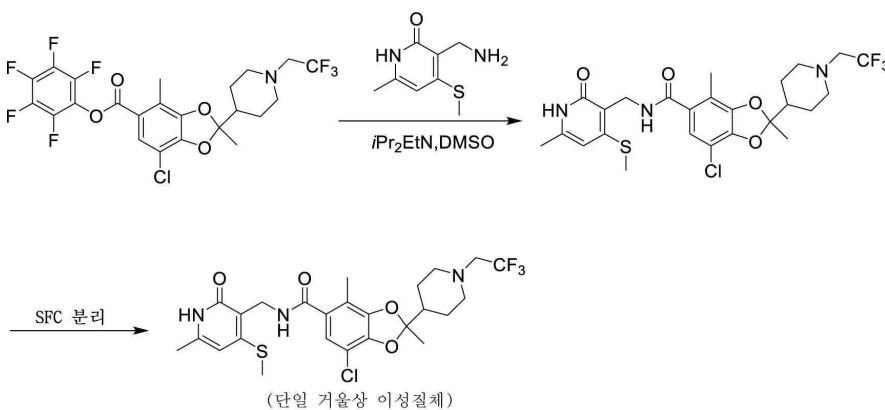
[0241]

<p>12</p>	 <p>(단일 거울상 이성질체; 단일 기하 이성질체) 중간체 1 및 중간체 4로부터 제조됨(피크 2)</p>	<p>LCMS [M+H]⁺ m/z: 계산치 572.2; 실측치 571.9. ¹H NMR (400 MHz, 메탄올-<i>d</i>₄) δ 6.89 (s, 1H), 6.27 (s, 1H), 4.96 - 5.23 (m, 1H), 4.48 (s, 2H), 3.54 - 3.69 (m, 2H), 3.18 - 3.30 (m, 2H), 2.52 (s, 3H), 2.29 (s, 3H), 2.19 (s, 3H), 2.06 - 2.15 (m, 1H), 1.80 - 1.98 (m, 5H), 1.61 (s, 3H), 1.19 - 1.32 (m, 2H), 0.93 - 1.05 (m, 2H).</p>
<p>13</p>	 <p>(단일 거울상 이성질체; 단일 기하 이성질체) 중간체 6 및 중간체 4로부터 제조됨(피크 2)</p>	<p>LCMS [M+H]⁺ m/z: 계산치 586.2; 실측치 586.1. ¹H NMR (400MHz, 메탄올-<i>d</i>₄) δ 6.90 (s, 1H), 6.40 (t, <i>J</i> = 76 Hz, 1H), 6.30 (s, 1H), 4.73 (t, <i>J</i> = 8 Hz, 1H), 4.53 (s, 2H), 3.68 - 3.64 (m, 2H), 3.18 - 3.14 (m, 2H), 2.28 (s, 3H), 2.20 (s, 3H), 2.15 - 2.08 (m, 1H), 1.97 - 1.83 (m, 5H), 1.63 (s, 3H), 1.35 - 1.23 (m, 2H), 1.05 - 0.90 (m, 2H).</p>

[0242]

[0244]

실시예 14: (R)-7-클로로-2,4-디메틸-N-((6-메틸-4-(메틸티오)-2-옥소-1,2-디하이드로피리딘-3-일)메틸)-2-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)피페리딘-4-일)벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복사미드 및 (S)-7-클로로-2,4-디메틸-N-((6-메틸-4-(메틸티오)-2-옥소-1,2-디하이드로피리딘-3-일)메틸)-2-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)피페리딘-4-일)벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복사미드



[0245]

[0246]

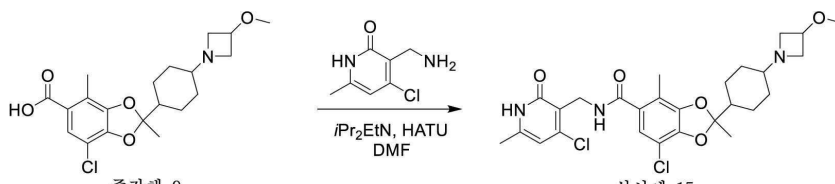
단계 1: 7-클로로-2,4-디메틸-N-((6-메틸-4-(메틸티오)-2-옥소-1,2-디하이드로피리딘-3-일)메틸)-2-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)피페리딘-4-일)벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복사미드의 합성

[0247] 디메틸설폭사이드(4 mL) 중의 2,3,4,5,6-펜타플루오로페닐 7-클로로-2,4-디메틸-2-[1-(2,2,2-트리플루오로에틸)피페리딘-4-일]-2H-1,3-벤조디옥솔-5-카르복실레이트(중간체 8)(752 mg, 1.34 mmol)의 용액에 3-(아미노메틸)-6-메틸-4-(메틸설포닐)-1,2-디하이드로피리딘-2-온(중간체 1)(740 mg, 4.02 mmol) 및 N,N-디이소프로필에틸아민(932 μ L, 5.36 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 60°C에서 가열하고 1시간 후 정제를 위해 C18 칼럼에 첨가하였다. 원하는 생성물을 역상 플래쉬 크로마토그래피(C18 칼럼, 0.1%의 트리플루오로 아세트산과 함께 물 중 0 내지 100% 아세토니트릴 구배)로 2회 정제하여 표제 화합물(289 mg, 38% 수율)을 검으로서 라세미 혼합물로서 수득하였다.

[0248] 단계 2: (R)-7-클로로-2,4-디메틸-N-((6-메틸-4-(메틸티오)-2-옥소-1,2-디하이드로피리딘-3-일)메틸)-2-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)피페리딘-4-일)벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복사미드 및 (S)-7-클로로-2,4-디메틸-N-((6-메틸-4-(메틸티오)-2-옥소-1,2-디하이드로피리딘-3-일)메틸)-2-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)피페리딘-4-일)벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복사미드의 분리

[0249] 7-클로로-2,4-디메틸-N-((6-메틸-4-(메틸티오)-2-옥소-1,2-디하이드로피리딘-3-일)메틸)-2-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)피페리딘-4-일)벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복사미드(289 mg)의 라세미 혼합물을 분취 SFC[칼럼: ES Industries의 ChromegaChiral CC4(250 mm \times 20 mm I.D.). 이동상 A: CO₂ / 이동상 B: 메탄올 중 0.25% 이소프로필아민. 등용매(55% 이동상 A 및 45% 이동상 B). 유량: 80 g/분. 칼럼 온도: 25°C]로 분해하였다. SFC 분석 방법: 칼럼: Chiral Technologies의 Chiralcel OX-H(100 mm x 4.6 mm I.D.). 이동상 A: CO₂ / 이동상 B: 메탄올 중의 0.1% 이소프로필아민. 등용매(75% 이동상 A 및 25% 이동상 B). 유량: 4 mL/분. 칼럼 온도: 40°C. 실시예 16(거울상 이성질체 1)(원하는 거울상 이성질체/유토머): 체류 시간 = 3.74분(SFC 분석 방법). 회복률 = 90 mg, 12% 수율, 99% ee(황색 고체). LCMS [M+H]⁺ m/z: 계산치 560.2; 실측치 560.2. ¹H NMR (400 MHz, 메탄올-d₄) δ 6.89 (s, 1H), 6.27 (s, 1H), 4.49 (s, 2H), 3.08 - 2.98 (m, 4H), 2.52 (s, 3H), 2.34 (br t, J = 11.0 Hz, 2H), 2.29 (s, 3H), 2.20 (s, 3H), 1.93 - 1.84 (m, 1H), 1.83 - 1.76 (m, 2H), 1.62 (s, 3H), 1.60 - 1.47 (m, 2H). 실시예 16(거울상 이성질체 2)(원치 않는 거울상 이성질체/디스토머): 체류 시간 = 4.25분(SFC 분석 방법). 회복률 = 101 mg, 13% 수율, 98% ee, (황색 고체). LCMS [M+H]⁺ m/z: 계산치 560.2; 실측치 560.2. ¹H NMR (400 MHz, 메탄올-d₄) δ 6.89 (s, 1H), 6.27 (s, 1H), 4.49 (s, 2H), 3.08 - 2.98 (m, 4H), 2.52 (s, 3H), 2.34 (br t, J = 11.0 Hz, 2H), 2.29 (s, 3H), 2.20 (s, 3H), 1.93 - 1.84 (m, 1H), 1.83 - 1.76 (m, 2H), 1.62 (s, 3H), 1.60 - 1.47 (m, 2H).

[0250] 실시예 15: 7-클로로-N-((4-클로로-6-메틸-2-옥소-1,2-디하이드로피리딘-3-일)메틸)-2-(4-(3-메톡시아세티딘-1-일)사이클로헥실)-2,4-디메틸벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복사미드



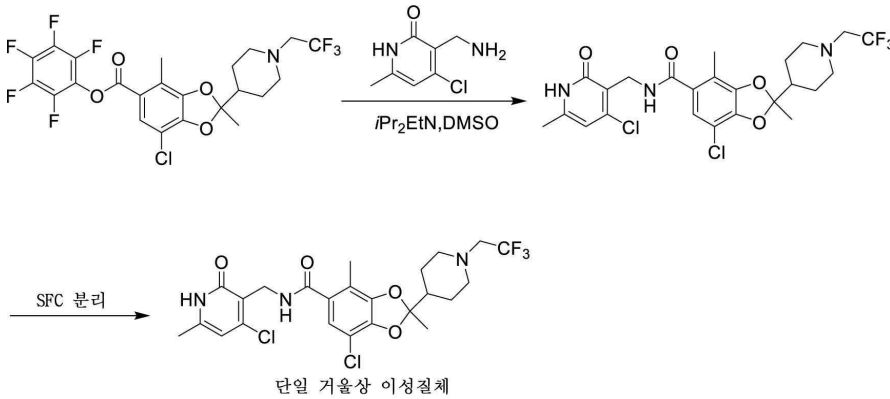
[0251] (단일 거울상 이성질체; 단일 기하 이성질체)

(단일 거울상 이성질체; 단일 기하 이성질체)

[0252] N,N-디메틸포름아미드(5 mL) 중의 7-클로로-2-(4-(3-메톡시아세티딘-1-일)사이클로헥실)-2,4-디메틸벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복실산(900 mg, 2.27 mmol)의 용액에 O-(7-아자벤조트리아졸-1-일)-N,N',N'-테트라메틸우로늄 헥사플루오로포스페이트(1.04 g, 2.73 mmol) 및 N,N-디이소프로필에틸아민(2.38 mL, 13.6 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 30분 동안 교반한 이후 3-(아미노메틸)-4-클로로-6-메틸-1H-피리딘-2-온 염산염(중간체 6)(710 mg, 3.4 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 추가로 1.5시간 동안 교반한 다음 여과하였다. 여액을 분취 HPLC[칼럼: YMC-Actus Triart C18 (100 mm \times 30mm, 5 μ m). 이동상 A: 물(0.05% 염산) / 이동상 B: 아세토니트릴. 구배(85 내지 55% 이동상 A / 15 내지 45% 이동상 B, 10분에 걸침). 칼럼 온도: 30°C 및 칼럼: Xtimate C18 (150 mm \times 25 mm, 5 μ m). 이동상 A: 물(0.05% 수산화 암모늄 v/v) / 이동상 B: 아세토니트릴. 구배(69 내지 39% 이동상 A / 31 내지 61% 이동상 B, 7분에 걸침). 칼럼 온도: 30°C]으로 2회 정제하여 표제 화합물(533 mg, 43% 수율, >99% 순도)을 백색 고체로서 수득하였다. LCMS [M+H]⁺ m/z: 계산치 550.2; 실측치 550.1. ¹H NMR (400 MHz, 클로로포름-d) δ 11.97 (br, 1H), 7.06 - 7.03 (m, 1H), 6.88 (s, 1H), 6.19 (s, 1H), 4.65 (d, J = 6.0Hz, 2H), 4.05 - 4.01 (m, 1H), 3.66 - 3.62 (m, 2H), 3.25 (s, 3H), 2.93 - 2.90

(m, 2H), 2.28 (s, 3H), 2.25 (s, 3H), 1.93 - 1.81 (m, 6H), 1.60 (s, 3H), 1.25 - 1.02 (m, 4H).

[0253] 실시예 16: (R)-7-클로로-N-((4-클로로-6-메틸-2-옥소-1,2-디하이드로피리딘-3-일)메틸)-2,4-디메틸-2-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)피페리딘-4-일)벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복사미드 및 (S)-7-클로로-N-((4-클로로-6-메틸-2-옥소-1,2-디하이드로피리딘-3-일)메틸)-2,4-디메틸-2-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)피페리딘-4-일)벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복사미드



[0254]

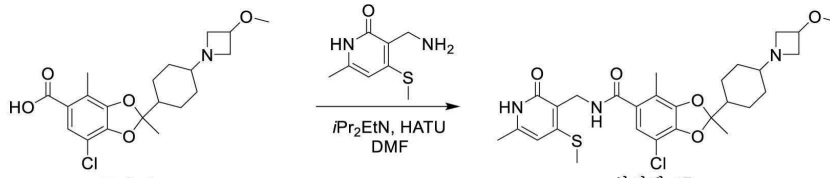
[0255] 단계 1: 7-클로로-N-((4-클로로-6-메틸-2-옥소-1,2-디하이드로피리딘-3-일)메틸)-2,4-디메틸-2-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)피페리딘-4-일)벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복사미드의 합성

[0256] 디메틸설폭사이드(1 mL) 중의 2,3,4,5,6-펜타플루오로페닐 7-클로로-2,4-디메틸-2-[1-(2,2,2-트리플루오로에틸)피페리딘-4-일]-2H-1,3-벤조디옥솔-5-카르복실레이트(중간체 8)(188 mg, 0.3358 mmol)의 용액에 3-(아미노메틸)-4-클로로-6-메틸-1,2-디하이드로피리딘-2-온 염산염(중간체 6)(70.2 mg, 0.336 mmol) 및 N,N-디이소프로필에틸아민(233 μ L, 1.34 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 60°C에서 가열하고 1시간 후 정제를 위해 C18 칼럼에 첨가하였다. 원하는 생성물을 역상 플래쉬 크로마토그래피(C18 칼럼, 0.1%의 트리플루오로 아세트산과 함께 물 중 0 내지 100% 아세토니트릴 구배)로 2회 정제하여 표제 화합물(180 mg, 98% 수율)을 검으로 라세미 혼합물로서 수득하였다.

[0257] 단계 2: (R)-7-클로로-N-((4-클로로-6-메틸-2-옥소-1,2-디하이드로피리딘-3-일)메틸)-2,4-디메틸-2-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)피페리딘-4-일)벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복사미드 및 (S)-7-클로로-N-((4-클로로-6-메틸-2-옥소-1,2-디하이드로피리딘-3-일)메틸)-2,4-디메틸-2-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)피페리딘-4-일)벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복사미드의 분리

[0258] 7-클로로-N-((4-클로로-6-메틸-2-옥소-1,2-디하이드로피리딘-3-일)메틸)-2,4-디메틸-2-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)피페리딘-4-일)벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복사미드(180 mg)의 라세미 혼합물을 분취 SFC[칼럼: ES Industries의 ChromegaChiral CC4(250 mm \times 20 mm I.D.). 이동상 A: CO₂ / 이동상 B: 메탄올 중 0.25% 이소프로필아민. 등용매(65% 이동상 A 및 35% 이동상 B). 유량: 80 g/분. 칼럼 온도: 25°C]로 분해하였다. SFC 분석 방법: 칼럼: Chiral Technologies의 Chiralcel OZ-H(100 mm \times 4.6 mm I.D., xx μ m). 이동상 A: CO₂ / 이동상 B: 메탄올 중의 0.1% 이소프로필아민. 등용매(65% 이동상 A 및 35% 이동상 B). 유량: 4 mL/분. 칼럼 온도: 40°C. 실시예 17(거울상 이성질체 1)(원하는 거울상 이성질체/유토머): 체류 시간 = 0.73분(SFC 분석 방법). 회복률 = 61 mg, 33% 수율, 100% ee(황색 고체). 실시예 17(거울상 이성질체 2)(원치 않는 거울상 이성질체/디스토머): 체류 시간 = 0.98분(SFC 분석 방법). 회복률 = 63 mg, 34% 수율, 97 ee, (황색 고체). LCMS [M+H]⁺ m/z: 계산치 548.1; 실측치 548.2. ¹H NMR (400 MHz, 메탄올-d₄) δ 6.89 (s, 1H), 6.29 (s, 1H), 4.52 (s, 2H), 3.04 (q, J = 9.8 Hz, 4H), 2.35 (br t, J = 11.0 Hz, H), 2.27 (s, 3H), 2.19 (s, 3H), 1.95 - 1.85 (m, 1H), 1.85 - 1.75 (m, 2H), 1.63 (s, 3H), 1.62 - 1.50 (m, 2H).

[0259] 실시예 17: 7-클로로-2-(4-(3-메톡시아제티딘-1-일)사이클로헥실)-2,4-디메틸-N-((6-메틸-4-(메틸티오)-2-옥소-1,2-디하이드로피리딘-3-일)메틸)벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복사미드



중간체 9
(단일 거울상 이성질체; 단일 기하 이성질체)

실시예 17
(단일 거울상 이성질체; 단일 기하 이성질체)

[0260]

[0261]

N,N-디메틸포름아미드(50 mL) 중의 7-클로로-2-(4-(3-메톡시아제티딘-1-일)사이클로헥실)-2,4-디메틸벤조[d][1,3]디옥솔-5-카르복실산(중간체 9 - 단일 거울상 이성질체 및 기하 이성질체)(5 g, 12.63 mmol)의 용액에 0-(7-아자벤조트리아졸-1-일)-N,N,N',N'-테트라메틸우로늄 헥사플루오로포스페이트(5.7 g, 14.99 mmol) 및 N,N-디이소프로필에틸아민(11 mL, 63.15 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 20°C에서 30분 동안 교반한 이후 3-(아미노메틸)-6-메틸-4-(메틸티오)피리딘-2(1H)-온 염산염(중간체 1)(4.2 g, 19.03 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 추가로 1.5시간 동안 교반한 다음 여과하였다. 여액을 분취 HPLC[칼럼: Phenomenex Gemini C18(250mm × 50 mm, 10 μm). 이동상 A: 물(0.04% 수산화 암모늄 v/v 및 10 mM 중탄산 암모늄 / 이동상 B: 아세트니트릴. 구배(75 내지 44% 이동상 A / 25 내지 56% 이동상 B, 23분에 걸침). 칼럼 온도: 30°C]로 정제하여 표제 화합물(4.4 g, 60% 수율, 96% 순도)을 백색 고체로서 수득하였다. LCMS [M+H]⁺ m/z: 계산치 562.2; 실측치 562.2. ¹H NMR (400 MHz, 메탄올-d₄) δ 6.91 (s, 1H), 6.29 (s, 1H), 4.50 (s, 2H), 4.01 (quin, J = 6 Hz, 1H), 3.58 (dd, J = 8.8, 6.4 Hz, 2H), 3.26 (s, 3H), 2.92 - 3.02 (m, 2H), 2.54 (s, 3H), 2.31 (s, 3H), 2.21 (s, 3H), 2.01 - 2.11 (m, 1H), 1.79 - 2.00 (m, 5H), 1.62 (s, 3H), 1.19 - 1.34 (m, 2H), 0.91 - 1.08 (m, 2H).

[0262]

EZH2 분석

[0263]

EZH2를 사용한 억제제에 대한 IC₅₀ 측정

[0264]

EZH2 생화학적 분석(IC₅₀): ³H-SAM을 비오틴화된 H3 펩타이드에 통합하여 화합물 효능을 평가하였다. 구체적으로, wt EZH2(인-하우스(in-house)로 제조된 오량체 복합체)를 함유하는 30 pM PRC2를 12.5 μl의 총 부피에 50 mM Tris(pH 8.5), 1 mM DTT, 0.07 mM Brij-35, 0.1% BSA 및 0.8% DMSO에서 3 내지 5시간 동안 450 nM SAM, 450 nM ³H-SAM, 2 μM H3K27me3 활성화 펩타이드(H₂N-RKQLATKAAR(Kme3)SAPATGGVKKP-amide) 및 (DMSO에서 10 점 중복 용량 반응 적정, 최종 분석 0.8% DMSO(v/v)으로서) 화합물로 예비 인큐베이션하였다. 반응을 12.5 μl의 완충액에서 2 μM 스톡(stock)으로 비오틴화된 H3 기질 펩타이드(H₂N-RKQLATKAAR(Kme1)SAPATGGVKKP-NTPEGBiot)로 시작하였고 실온에서 18 내지 22시간 동안 반응하도록 방치하였다. 20 μl의 STOP 용액(50 mM Tris(pH 8.5), 200 mM EDTA, 2 mM SAH)을 첨가하여 켄칭을 수행하였다. 35 μl의 켄칭된 용액을 스트랩타비딘 코팅된 플래쉬플레이트(FlashPlates)(PerkinElmer)로 옮기고, 1 내지 2시간 동안 인큐베이션하고, 세척하고, TopCount Reader(PerkinElmer)에서 판독하였다. IC₅₀을 비선형 최소 제곱 4개 매개변수 맞춤(fit)을 사용하여 Genedata Screener에서 계산하였으며, 여기서 4개 매개변수는 IC₅₀, 언덕(Hill) 경사, 예비 전환 기준(0% INH) 및 전환 후 기준(100% INH)이었다.

[0265]

HeLa 세포 분석에서 억제제에 대한 EC₅₀ 측정

[0266]

H3K27me3 알파 헬라 분석(Alpha HeLa Assay)(AlphaLISA). 10개의 상이한 용량의 각 시험 화합물(일련의 3배 희석)을 이중 384-웰 조직 배양 처리 플레이트(카탈로그(Catalog) # 6007680; Perkin Elmer, 매사추세츠 주 월섬 소재)에 플레이팅 하였다. 배양물에서 성장한 헬라 세포를 트립신처리하고 Countess® 세포 계수기(카탈로그 # C10281; Life Technologies, 뉴욕 주 그랜드 아일랜드(Grand Island) 소재)를 사용하여 계수하였다. 세포를 10% DMEM(카탈로그 # 10569-010 Life Technologies, 뉴욕 주 그랜드 아일랜드 소재)에서 mL 당 67,000개 세포로 희석하고 15 μL(1,000개 세포)을 384-웰 플레이트의 Biotek MicroFlo™ Select Dispenser(BioTek Instruments, Inc. 미국 버몬트 주 소재,)를 사용하여 각각의 웰에 플레이팅 하였다. 플레이트를 37°C/5% CO₂에서 72시간 동안 인큐베이션하였다. 중복 플레이트 중 하나를 HeLa 분석을 위해 처리하였고 다른 하나를 생존력을 위해 처리하였다. AlphaLISA를 위해 처리된 플레이트에 웰 당 5 μL의 세포-히스톤 용해 완충액(1X)(카탈로그 번호 AL009F1 Perkin Elmer; 매사추세츠 주 월섬 소재)를 첨가하고 플레이트를 저속으로 플레이트 셰이커

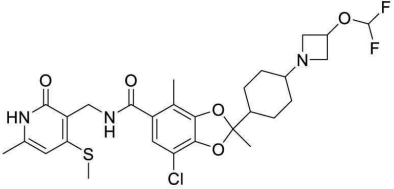
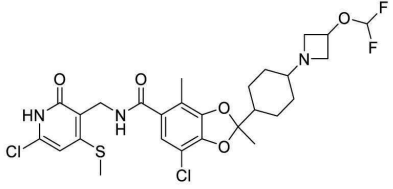
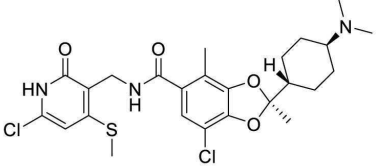
(모델# 4625-Q Thermo Scientific; 매사추세츠 주 월섬 소재)에서 30분 동안 실온에서 인큐베이션하였다. 이후, 웰 당 10 μ L의 히스톤 추출 완충액(카탈로그 # AL009F2; Perkin Elmer; 매사추세츠 주 월섬 소재)을 첨가하고 플레이트를 저속으로 플레이트 셰이커에서 20분 동안 실온에서 추가로 인큐베이션하였다. 다음으로, 10 μ L의 항-K27me3 수용체 비드와 바이오티닐화된 항-히스톤 H3(C-ter) 항체(최종 3 nM으로 희석)(카탈로그 # AL118 Perkin Elmer; 매사추세츠 주 월섬 소재)의 5X 혼합물을 각 웰에 첨가하였다. 수용체 비드 및 항-히스톤 H3의 희석을 제공된 10X 스톱을 희석하여 생성된 1X 히스톤 검출 완충액(카탈로그 # AL009F3 Perkin Elmer; 매사추세츠 주 월섬 소재)에서 수행하였다. 플레이트를 알루미늄 플레이트 실러(sealer)로 밀봉하고 23°C에서 60분 동안 인큐베이션하였다. 다음으로, 스트렙타비딘 도너(Donor) 비드의 10 μ L 5X 용액을 첨가하였다(카탈로그 #6760002 Perkin Elmer; 매사추세츠 주 월섬 소재)(1X 히스톤 검출 완충액 중 20 μ g/mL 최종), = 플레이트를 알루미늄 플레이트 실러로 밀봉하고 23°C에서 30분 동안 인큐베이션하였다. 이후, EnVision- Alpha Reader(모델 # 2104 Perkin Elmer; 매사추세츠 주 월섬 소재)를 사용하여 플레이트를 판독하였다. 세포 생존력을 15 μ L의 Cell Titer Glo((카탈로그 #G9241 Promega Madison, 위스콘신 주 소재)를 배지에 세포가 있는 각 웰에 첨가하여 분석하였다. 플레이트를 저속으로 플레이트 셰이커에서 15 내지 20분 동안 실온에서 인큐베이션하였다. 이후, EnVision- Alpha Reader(모델 # 2104 Perkin Elmer; 매사추세츠 주 월섬 소재)를 사용하여 플레이트를 판독하였다.

[0267] Karpas-422 생존력 분석에서 억제제에 대한 GI₅₀ 측정

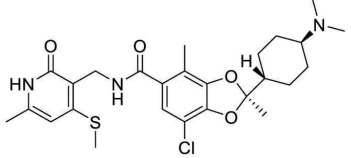
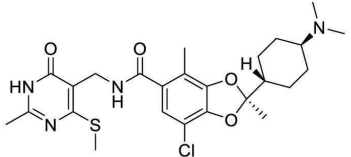
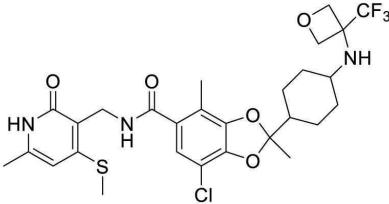
[0268] Karpas-422 세포주를 DSMZ(Braunschweig, 독일 소재)에서 수득하였으며 RPMI-1640 배지에서 성장하였다. 모든 배지는 10% 소 태아 혈청(FBS)과 1% 페니실린/스트렙토마이신(Invitrogen)을 함유하였다. 웰 당 20K 세포를 96 웰 화학물 코팅된 플레이트에 플레이팅 하였다. 세포를 4일마다 원래 플레이팅 밀도(DMSO 웰 계수 기준)로 분할하고 새로운 EZH2 억제제를 함유하는 플레이트에 접종(seed)하였다. 상대 세포 수를 8일째에 Cell Titer-Glo 발광 세포 생존력 분석 (Promega)에 의해 평가하였다. GraphPad Prism 5를 커브 피팅에 사용하였으며 GI₅₀ 값을 보고하였다. 데이터는 표 5에 나타나 있다.

표 5

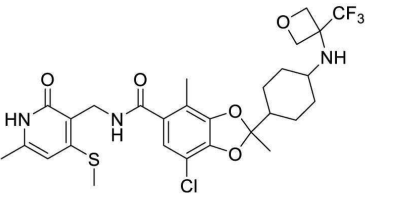
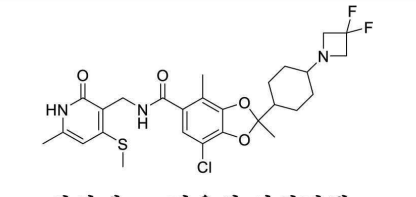
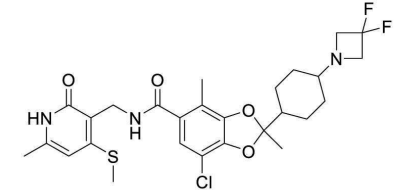
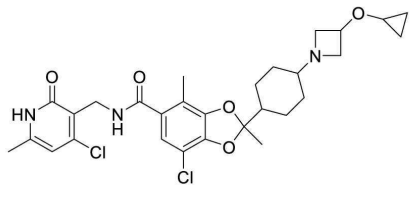
표 5.

실시예	EZH2 IC ₅₀ (pM)	HeLa EC ₅₀ (nM)	Karpas- 422 GI ₅₀ (nM)
 <p>실시예 1 (단일 거울상 이성질체, 단일 기하 이성질체)</p>	91	0.52	3.9
 <p>실시예 2 (단일 거울상 이성질체; 단일 기하 이성질체)</p>	1,500	15	250
 <p>실시예 3</p>	370	2.4	29

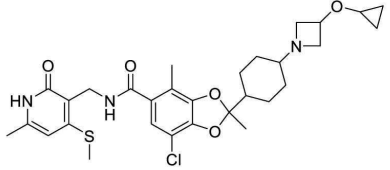
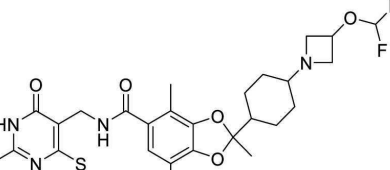
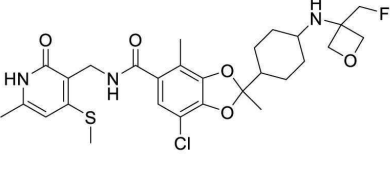
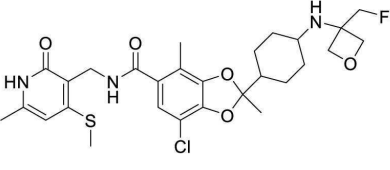
[0269]

 <p>실시예 4 (R 거울상 이성질체; 트랜스 기하 이성질체)</p>	38	0.51	4.0
 <p>실시예 5 (R 거울상 이성질체; 트랜스 기하 이성질체)</p>	54	3.6	22
 <p>실시예 6 - 거울상 이성질체 1 (단일 거울상 이성질체; 단일 기하 이성질체)</p>	1,800	39	720

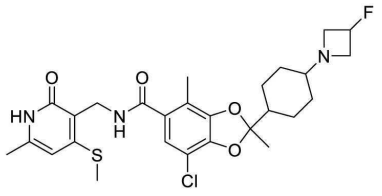
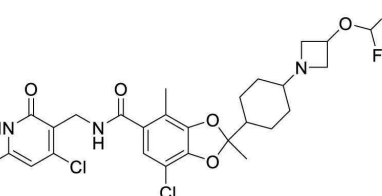
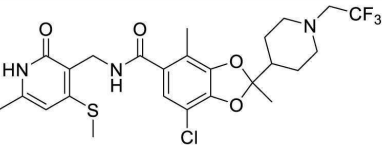
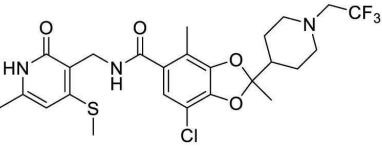
[0270]

 <p>실시예 6 - 거울상 이성질체 2 (단일 거울상 이성질체; 단일 기하 이성질체)</p>	140	4.2	53
 <p>실시예 7 - 거울상 이성질체 1 (단일 거울상 이성질체; 단일 기하 이성질체)</p>	8,600		
 <p>실시예 7 - 거울상 이성질체 2 (단일 거울상 이성질체; 단일 기하 이성질체)</p>	120		12
 <p>실시예 8 (단일 거울상 이성질체; 단일 기하 이성질체)</p>	39	0.52	5.0

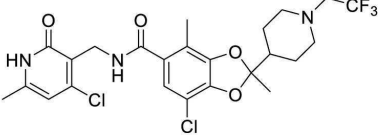
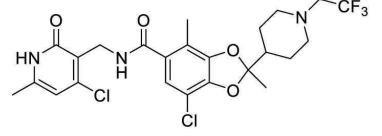
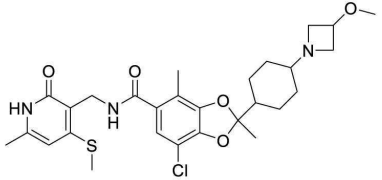
[0271]

 <p>실시예 9 (단일 거울상 이성질체; 단일 기하 이성질체)</p>	54	0.61	3.7
 <p>실시예 10 (단일 거울상 이성질체; 단일 기하 이성질체)</p>	202	1.9	20
 <p>실시예 11 (단일 거울상 이성질체; 기하 이성질체 1)</p>	140	1.3	8.6
 <p>실시예 11 (단일 거울상 이성질체; 기하 이성질체 2)</p>	180	1.7	

[0272]

 <p>실시예 12 (단일 거울상 이성질체; 단일 기하 이성질체)</p>	92	0.59	4.4
 <p>실시예 13 (단일 거울상 이성질체; 단일 기하 이성질체)</p>	84	0.81	9.7
 <p>실시예 14 - 거울상 이성질체 1 (단일 거울상 이성질체; 단일 기하 이성질체)</p>	37	1.4	
 <p>실시예 14 - 거울상 이성질체 2 (단일 거울상 이성질체)</p>	7,000	210	

[0273]

 <p>실시예 16-거울상 이성질체 1 (단일 거울상 이성질체)</p>	310	22	
 <p>실시예 16-거울상 이성질체 2 (단일 거울상 이성질체)</p>	>10,000	>300	
 <p>실시예 17 (단일 거울상 이성질체; 단일 기하 이성질체)</p>	43	0.33	3.5

[0274]

[0275]

[0276]

체류 시간 측정

EZH2 체류 시간 분석: 화합물 체류 시간을 미리 형성된 효소-억제제 복합체(희석 반응)의 100배 희석 후 효소 활성의 회복을 모니터링하고 이를 모든 시약의 동일한 최종 농도로 희석되지 않은 대조군의 활성 (대조군 반응)과 비교하여 평가하였다. 효소 활성을 ³H-SAM을 비오틴화된 H3 펩타이드에 통합하여 측정하였다. 희석 반응의 경우, wt EZH2(인-하우스로 제조된 오랑체 복합체)를 함유하는 20 nM PRC2를 40 μl의 완충액(50 mM Tris pH 8.5, 4 mM DTT, 1 mM MgCl₂, 0.07 mM Brij-35 및 0.1 mg/mL BSA)에서 2시간 동안 이의 K_i의 600배로 1 μM 활성화 펩타이드(H₂N-RKQLATKAAR(Kme3)SAPATGGVKKP-amide) 및 화합물로 예비 인큐베이션한 이후 100배로 희석하며, 반응을 1.4 μL 내지 138.6 μL 부피의 1 μM 활성화 펩타이드, 5.05 μM 기질 펩타이드(H₂N-RKQLATKAARKSAPATGGVKKP-NTPEGbiot), 1.01 μM SAM 및 1.01 μM ³H-SAM를 함유하는 완충액을 전달하여 시작하였다. 대조군 반응의 경우, 0.202 nM PRC2를 138.6 μL의 완충액에 K_i의 6.06배로 1 μM 활성화 펩타이드, 1.01 μM SAM, 1.01 μM ³H-SAM 및 화합물로 2시간 동안 예비 인큐베이션한 이후 반응을 1.4 μL 500 μM 기질 펩타이드를 물에 첨가하여 개시하였다. 반응 용기에서 웰 당 8 μL의 STOP 용액(50mM Tris pH 8.5, 200 mM EDTA, 2mM SAH)을 함유하는 플레이트로 8 μL 분취액을 옮김으로써 최대 10시간에 걸친 다양한 시점에서 반응을 쉼시켰다. 최종 시점 후, 12 μl의 쉼된 용액을 웰 당 40 μL의 STOP 용액을 함유하는 스트랩타비딘 코팅된 플래쉬플레이트(PerkinElmer)로 옮기고, 1 내지 8시간 동안 인큐베이션하고, 세척하고, TopCount 플레이트 판독기(PerkinElmer)에서 판독하였다.

[0277]

대조군 반응 진행 데이터를 직선 및 희석 반응 진행 데이터에 피팅하기 위해 사용자 지정(custom) 스크립트를 사용하였다:

[0278]

$$y = v_s t + \frac{v_i - v_s}{k_{obs}} (1 - e^{-k_{obs} t}) + \text{배경}$$

[0279]

여기서, *y*는 생성된 생성물이고, *t*는 반응 시간이고, *v_i*는 초기 속도이고, *v_s*는 정상 상태 속도이며, *k_{obs}*는 곡선의 초기 속도 단계에서 곡선의 정상 상태 속도 단계로의 전이에 대한 속도 상수이다. 희석 반응 진행 데이

터를 피팅 시, v_s 를 대조군 반응 진행 데이터에 피팅된 직선의 기울기로 제한하였다. 이후, k_{obs} 의 피팅 수치를 체류 시간으로 변환하였다:

$$\tau = \frac{[EI] - \frac{1}{K_i}[E][I]}{k_{obs}[EI]}$$

[0280]

여기서, τ 는 체류 시간이고, K_i 는 억제 상수이고, $[EI]$ 는 효소-억제제 복합체의 계산된 평형 농도이고, $[E]$ 는 유리 효소의 계산된 평형 농도이며 $[I]$ 는 유리 억제제의 계산된 평형 농도이다.

[0281]

[0282] MDCK 분석에서 억제제에 대한 세포 투과성 측정

[0283]

세포 배양: MDCK II 세포(네덜란드 암 연구소(Netherlands Cancer Institute)의 Piet Borst로부터 입수)를 96-웰 BD 삽입 시스템에서 폴리에틸렌 막(PET)에 2.5×10^5 세포/mL로 융합(confluent) 세포 단층 형성을 위해 4 내지 7일까지 접종하였다.

[0284]

실험 절차: 테스트 및 기준 화합물(나돌롤(nadolol), 메토프롤롤(metoprolol) 및 디곡신(digoxin))을 스타크 용액 으로부터 운반 완충액(10 mM HEPES로 HBSS, pH7.4)으로 $2 \mu\text{M}$ (<1% DMSO)의 농도로 희석하고, 세포 단층의 정단 (A) 또는 기저측면 (B) 측에 도포하였다. A에서 B 방향 또는 B에서 A 방향으로의 테스트 화합물의 침투는 P-gp 억제제(GF120918, $10 \mu\text{M}$)로 2별로 결정하였다. 디곡신을 P-gp 억제제(GF120918, $10 \mu\text{M}$) 유무에 관계없이 A에서 B 방향 또는 B에서 A 방향으로 $10 \mu\text{M}$ 에서 테스트하였으며, 나돌롤과 메토프롤롤을 P-gp 억제제(GF120918, $10 \mu\text{M}$)없이 A에서 B 방향으로 $2 \mu\text{M}$ 에서 2별로 테스트하였다. 플레이트를 진탕 없이 포화 습도에서 5% CO₂와 함께 $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 의 CO₂ 인큐베이터에서 2.5시간 동안 인큐베이션하였다. 또한, 각 화합물의 유출비(efflux ratio)도 결정하였다. 테스트 및 기준 화합물을 분석물/IS의 피크 면적 비율을 기반으로 LC/MS/MS 분석으로 정량화하였다. 수송 분석(transport assay) 후, 루시퍼 옐로우 거부 분석(Lucifer yellow rejection assay)을 적용하여 세포 단층 무결성을 결정한다. 완충액을 정단 및 기저측면 챔버 양쪽 모두에서 제거한 다음, 수송 완충액에 75 μL 의 $100 \mu\text{M}$ 루시퍼 옐로우를 정단 및 기저측면 챔버에 250 μL 수송 완충액을 각각 추가한다. 플레이트를 진탕 없이 5% CO₂ 및 95% 상대 습도로 37°C에서 30분 동안 인큐베이션한다. 30분 인큐베이션 후, 정단 측에서 20 μL 의 루시퍼 옐로우 샘플을 채취한 다음 60 μL 의 수송 버퍼를 추가한다. 이후, 기저측면 측으로부터 80 μL 의 루시퍼 옐로우 샘플을 채취한다. 루시퍼 옐로우의 상대 형광 단위(RFU)를 Molecular Device M2e 플레이트 판독기로 425/528 nm(여기/방출)에서 측정한다.

[0285]

데이터 분석: 겔보기 투과도 계수 P_{app} (cm/s)를 하기 방정식을 사용하여 계산하였다:

[0286]

$$P_{app} = (dC_r/dt) \times V_r / (A \times C_0)$$

[0287]

여기서, dC_r/dt 는 시간 함수($\mu\text{M/s}$)로서 리시버 챔버(receiver chamber) 내의 화합물의 누적 농도이고; V_r 는 리시버 챔버 내의 용액 부피(정단 측 상 0.075 mL, 기저측면 측 상 0.25 mL)이고; A는 수송에 대한 표면적, 즉 단층 면적에 대해 0.0804 cm^2 이고; C_0 은 도너 챔버 내의 최초 농도(μM)이다.

[0288]

유출비를 하기 방정식을 사용하여 계산하였다:

[0289]

$$\text{유출비} = P_{app}(\text{BA}) / P_{app}(\text{AB})$$

[0290]

회복률(percent recovery)을 하기 방정식을 사용하여 계산하였다:

[0291]

$$\% \text{회복률} = 100 \times [(V_r \times C_r) + (V_d \times C_d)] / (V_d \times C_0)$$

[0292]

여기서, V_d 는 도너 챔버 내의 부피(정단 측 상 0.075 mL, 기저측면 측 상 0.25 mL)이고; C_d 및 C_r 은 각각 도너 챔버 및 리시버 챔버 내의 수송 화합물의 최종 농도이다.

[0293]

기저측면 웰에 있는 루시퍼 옐로우의 백분율을 하기 방정식을 사용하여 계산한다:

[0294]

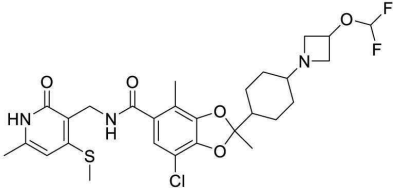
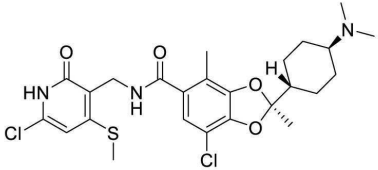
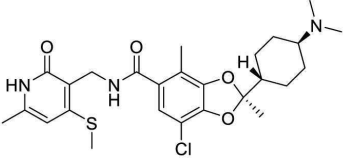
$$\% \text{루시퍼 옐로우} = \frac{V_{\text{Basolateral}} \times RFU_{\text{Basolateral}}}{V_{\text{Apical}} \times RFU_{\text{Apical}} + V_{\text{Basolateral}} \times RFU_{\text{Basolateral}}} \times 100$$

[0295]

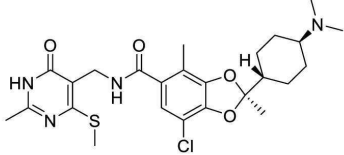
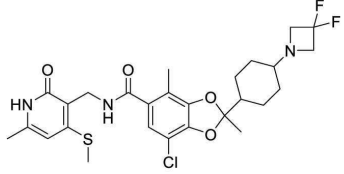
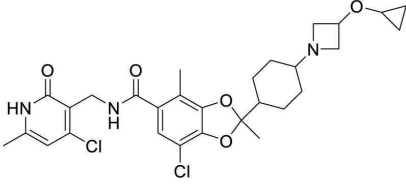
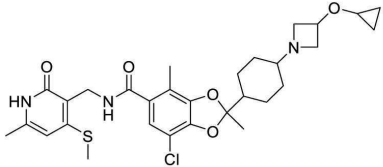
여기서, RFU_{Apical} 및 $RFU_{Basolateral}$ 은 각각 정단 웰 및 기저측면 웰 내의 루시퍼 엘로우의 상대 형광 단위값이고; V_{Apical} 및 $V_{Basolateral}$ 은 각각 정단 웰 및 기저측면 웰의 부피(0.075 mL 및 0.25 mL)이다. 루시퍼 엘로우 백분율은 2 미만이어야 한다. 데이터는 표 6에 나타나 있다.

표 6

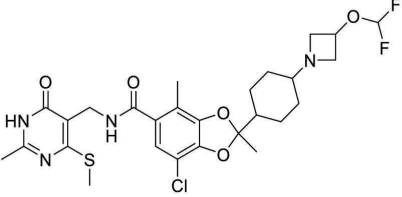
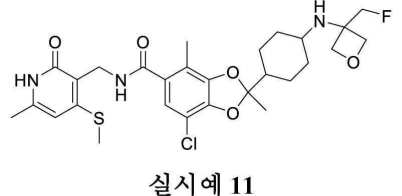
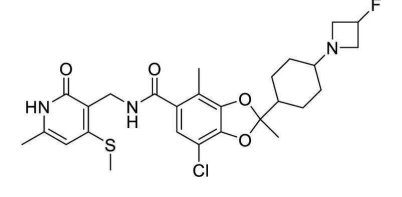
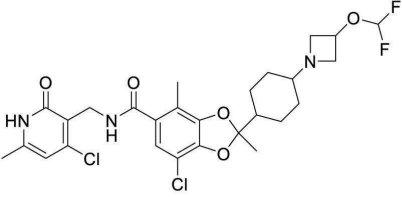
표 6

실시예	EZH2 체류시간(시 간)	세포 투과도 (10^{-6} cm/s)/유출비
 <p>실시예 1 (단일 거울상 이성질체, 단일 기하 이성질체)</p>	>100	5.6/0.79
 <p>실시예 3</p>		3.7/1.2
 <p>실시예 4 (R 거울상 이성질체; 트랜스 기하 이성질체)</p>		0.62/2.3

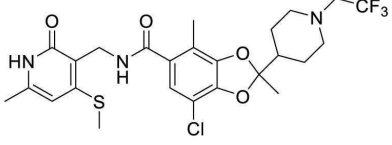
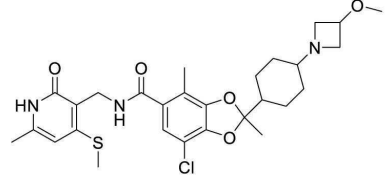
[0296]

 <p>실시예 5 (R 거울상 이성질체; 트랜스 기하 이성질체)</p>		1.1/3.6
 <p>실시예 7 - 거울상 이성질체 2 (단일 거울상 이성질체; 단일 기하 이성질체)</p>	33	12/0.71
 <p>실시예 8 (단일 거울상 이성질체; 단일 기하 이성질체)</p>	>100	6.1/0.9
 <p>실시예 9 (단일 거울상 이성질체; 단일 기하 이성질체)</p>	>100	3.8/1.4

[0297]

 <p>실시예 10 (단일 거울상 이성질체; 단일 기하 이성질체)</p>	37	6.5/0.69
 <p>실시예 11 (단일 거울상 이성질체; 기하 이성질체 1)</p>		5.3/1.3
 <p>실시예 12 (단일 거울상 이성질체; 단일 기하 이성질체)</p>	>100	6.3/1.2
 <p>실시예 13 (단일 거울상 이성질체; 단일 기하 이성질체)</p>	48	8.9/0.64

[0298]

 <p>실시예 14 - 거울상 이성질체 2 (단일 거울상 이성질체)</p>		13/0.56
 <p>실시예 17 (단일 거울상 이성질체; 단일 기하 이성질체)</p>	>100	2.5/1.8

[0299]

서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> CONSTELLATION PHARMACEUTICALS, INC.

<120> MODULATORS OF METHYL MODIFYING ENZYMES, COMPOSITIONS AND USES THEREOF

<130> 124033-02020

<140> PCT/US2019/027932

<141> 2019-04-17

<150> 62/659,408

<151> 2018-04-18

<160> 3

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<220><221> MOD_RES

<222> (11)..(11)

<223> LysMe3

<400> 1

Arg Lys Gln Leu Ala Thr Lys Ala Ala Arg Xaa Ser Ala Pro Ala Thr

1 5 10 15

Gly Gly Val Lys Lys Pro

20

<210> 2

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<220><221> MOD_RES

<222> (11)..(11)

<223> LysMe1

<400> 2

Arg Lys Gln Leu Ala Thr Lys Ala Ala Arg Xaa Ser Ala Pro Ala Thr

1 5 10 15

Gly Gly Val Lys Lys Pro

20

<210> 3

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 3

Arg Lys Gln Leu Ala Thr Lys Ala Ala Arg Lys Ser Ala Pro Ala Thr

1 5 10 15

Gly Gly Val Lys Lys Pro

