(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0083426
(43) 공개일자 2018년07월20일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 403/14 (2006.01) *A61K 31/501* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07D 403/14 (2013.01)
A61K 31/501 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2018-7017944
(22) 출원일자(국제) 2016년11월25일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2018년06월25일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2016/078899
(87) 국제공개번호 WO 2017/089587
국제공개일자 2017년06월01일
(30) 우선권주장
1520959.6 2015년11월27일 영국(GB)

(71) 출원인
아스트라제네카 아베
스웨덴 에스이-151 85 쇠더탈제
캔써 리서치 테크놀로지 리미티드
영국, 런던 이씨1브이 4에이디, 407 존 스트리트, 엔젤빌딩
(72) 발명자
핀레이, 모리스, 레이몬드, 버쇼일
영국 씨비4 0에프지 케임브리지 케임브리지샤이어 캐임브리지 사이언스 파크 밀턴 로드 다윈 빌딩 아스트라제네카 알앤디 캐임브리지
(74) 대리인
양영준, 김영

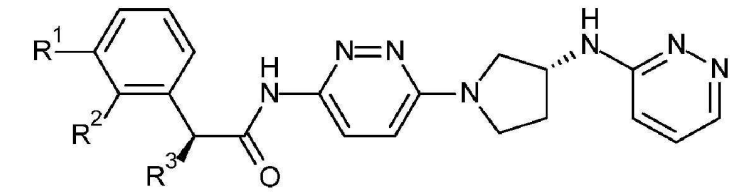
전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 **비스-피리다진 화합물 및 암 치료에서 이의 용도**

(57) 요 약

화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염:

[화학식 I]



식 중, R^1은 하이드로, 메톡시, 디플루오로메톡시 또는 트리플루오로메톡시일 수 있고; R^2는 하이드로, 메톡시, 트리플루오로메톡시 또는 트리플루오로메틸일 수 있고; R^3은 하이드로 또는 메톡시일 수 있다. 화학식 I의 화합물은 글루타미나제, 예컨대, GLS1을 억제할 수 있다.

(52) CPC특허분류
A61P 35/00 (2018.01)

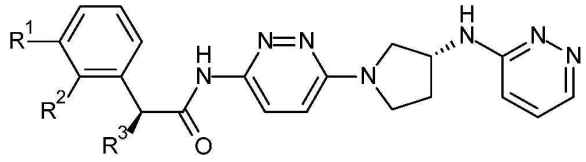
명 세 서

청구범위

청구항 1

화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염:

[화학식 I]



(식 중,

R^1은 하이드로, 메톡시, 디플루오로메톡시 또는 트리플루오로메톡시이며;

R^2는 하이드로, 메톡시, 트리플루오로메톡시 또는 트리플루오로메틸이고;

R^3은 하이드로 또는 메톡시임).

청구항 2

제1항에 있어서, R^1이 메톡시, 디플루오로메톡시 또는 트리플루오로메톡시인 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 3

제2항에 있어서, R^1이 메톡시인 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, R^2가 하이드로인 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 5

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, R^2가 메톡시인 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, R^3이 메톡시인 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 7

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, R^3이 하이드로인 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 8

제1항에 있어서,

R^1이 메톡시, 디플루오로메톡시 또는 트리플루오로메톡시이며;

R^2가 하이드로이고;

R^3이 메톡시인 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 9

제1항에 있어서,

R^1이 하이드로이며;

R^2가 메톡시, 트리플루오로메톡시 또는 트리플루오로메틸이고;

R^3이 하이드로인 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 10

화학식 I의 화합물이 (2*S*)-2-[3-(디플루오로메톡시)페닐]-2-메톡시-*N*-[6-[(3*R*)-3-(피리다진-3-일아미노)피롤리딘-1-일]피리다진-3-일]아세트아미드;

(2*S*)-2-[3-(트리플루오로메톡시)페닐]-2-메톡시-*N*-[6-[(3*R*)-3-(피리다진-3-일아미노)피롤리딘-1-일]피리다진-3-일]아세트아미드;

(2*S*)-2-메톡시-2-(3-메톡시페닐)-*N*-[6-[(3*R*)-3-(피리다진-3-일아미노)피롤리딘-1-일]피리다진-3-일]아세트아미드;

2-(2-메톡시페닐)-*N*-[6-[(3*R*)-3-(피리다진-3-일아미노)피롤리딘-1-일]피리다진-3-일]아세트아미드;

N-[6-[(3*R*)-3-(피리다진-3-일아미노)피롤리딘-1-일]피리다진-3-일]-2-[2-(트리플루오로메틸)페닐]아세트아미드; 및

N-[6-[(3*R*)-3-(피리다진-3-일아미노)피롤리딘-1-일]피리다진-3-일]-2-[2-(트리플루오로메톡시)페닐]아세트아미드로부터 선택되는 화학식 I의 화합물, 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항의 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 및 적어도 하나의 약제학적으로 허용 가능한 희석제 또는 담체를 포함하는 약학 조성물.

청구항 12

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 치료법에 이용하기 위한, 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 13

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 암 치료에 이용하기 위한, 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 14

암 치료용 약제의 제조를 위한, 제1항 내지 제10항 중 어느 한 항의 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 용도.

청구항 15

암 치료를 필요로 하는 온혈 동물에서의 암 치료 방법으로서, 치료 유효량의 제1항 내지 제10항 중 어느 한 항의 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 상기 온혈 동물에 투여하는 단계를 포함하는 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 명세서는 일반적으로 비스-피리다진 화합물 및 이의 약제학적으로 허용 가능한 염에 관한 것이다. 이들 화합물은 글루타미나제 1 효소("GLS1")에 작용하며, 이에 따라 본 명세서는 또한 암을 포함하는 GLS1 매개 질환을 치료하거나 예방하기 위한 이러한 화합물 및 이의 염의 용도에 관한 것이다. 본 명세서는 추가로 *비스*-피리다진 화합물 및 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 약학 조성물; 이러한 화합물 및 염을 포함하는 키트; 이러한 화합물 및 염의 제조 방법; 이러한 화합물 및 염의 제조에 유용한 중간체; 및 이러한 화합물 및 염을 이용하는, 암을 포함하는 GLS1 키나제 매개 질환의 치료 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 글루타민은 가장 풍부한 혈장 아미노산이며, 여러 성장 촉진 경로에 관여된다. 특히, 글루타민은 트리카복실산 사이클에서의 산화 및 세포 산화환원 평형의 유지에 관여되며, 또한 뉴클레오타이드 및 아미노산 합성을 위한 질소를 제공한다(Curi *et al.*, *Front. Biosc.* **2007**, *12*, 344-57; DeBardinis and Cheng, *Oncogene* **2009**, 313-324). 여러 암 세포는 당분해 피루베이트가 아세틸 CoA를 생성하기 위해 이용되기보다 락트산으로 전환되는 바르부르크(Warburg) 효과를 포함하는, 세포 내 대사 변화의 결과로서 글루타민 대사에 의존한다(Koppenol *et al.*, *Nature Reviews* **2011**, *11*, 325-337). 글루타민 대사에 대한 상기 의존의 결과로서, 이러한 암 세포는 외인성 글루타민 수준의 변화에 민감하다. 또한, 글루타민 분해가 소정 암 유형에서 핵심 역할을 담당하며(Hensley *et al.*, *J. Clin. Invest.* **2013**, *123*, 3678-3684), Myc와 같은 공지된 종양형성 유도제와 연관됨을(Dang, *Cancer Res.* **2010**, *70*, 859-863) 제시하는 여러 증거가 존재한다.

[0003] 글루타메이트로의 글루타민 분해대사의 첫 번째 단계는 글루타미나제에 의해 촉매되며, 이는 원래 신장 및 간에서 각각 발현되는 것으로 동정된 2가지 이소형 GLS1 및 GLS2로서 존재한다. 신장 글루타미나제(GLS1)는 간 글루타미나제(GLS2)에 비해 더 도처에서 발현되는 것으로 알려져 있으며, 둘 다 미토콘드리아에 위치하는 2가지 스플라이스 변이체, KGA 및 더 짧은 GAC 이소형을 갖는다(Elgadi *et al.*, *Physiol. Genomics* **1999**, *1*, 51-62; Cassago *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2012**, *109*, 1092-1097). GLS1 발현은 종양 성장 및 여러 질환 유형의 악성물과 연관된다(Wang *et al.*, *Cancer Cell* **2010**, *18*, 207-219; van der Heuval *et al.*, *Cancer Bio. Ther.* **2012**, *13*, 1185-1194). 따라서 GLS1의 억제제는 단일치료법으로서 또는 다른 항암제와 조합되어, 암 치료에 유용할 것으로 예상된다.

발명의 내용

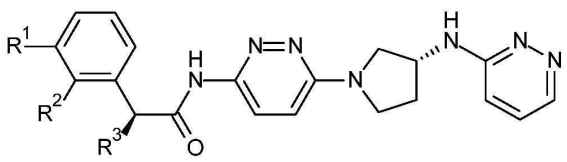
해결하려는 과제

과제의 해결 수단

[0004] 발명의 요약

[0005] 간략하게, 본 명세서는 부분적으로 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 기재한다:

[0006] [화학식 I]

[0007] 

[0008] 식 중,

[0009] R^1은 하이드로, 메톡시, 디플루오로메톡시 또는 트리플루오로메톡시이며;

[0010] R^2는 하이드로, 메톡시, 트리플루오로메톡시 또는 트리플루오로메틸이고;

[0011] R^3은 하이드로 또는 메톡시이다.

[0012] 본 명세서는 또한, 부분적으로, 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 및 적어도 하나의 약제학적으로 허용 가능한 희석제 또는 담체를 포함하는 약학 조성물을 기재한다.

[0013] 본 명세서는 또한, 부분적으로, 치료법에 이용하기 위한, 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 기재한다.

[0014] 본 명세서는 또한, 부분적으로, 암 치료에 이용하기 위한, 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 기재한다.

[0015] 본 명세서는 또한, 부분적으로, 암 치료용 약제의 제조를 위한, 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 용도를 기재한다.

[0016] 본 명세서는 또한, 부분적으로, 암 치료를 필요로 하는 온혈 동물에서의 암 치료 방법으로서, 치료 유효량의 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 상기 온혈 동물에 투여하는 단계를 포함하는 방법을 기재한다.

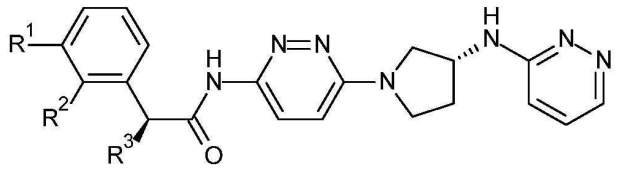
발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0017] 예시적 구현예의 기재

[0018] 여러 구현예가 본 명세서를 통해 상세히 기재되며 당분야에 숙련된 독자에게 자명할 것이다. 본 발명은 이의 임의의 특정 구현예(들)에 제한되는 것으로 해석되지 않아야 한다.

[0019] 제1 구현예에서, 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이 제공된다:

[0020] [화학식 I]

[0021] 

[0022] 식 중,

[0023] R^1은 하이드로, 메톡시, 디플루오로메톡시 또는 트리플루오로메톡시이며;

[0024] R^2는 하이드로, 메톡시, 트리플루오로메톡시 또는 트리플루오로메틸이고;

[0025] R^3은 하이드로 또는 메톡시이다.

[0026] 하이드로기는 단일 수소 원자이다. 예를 들어, R^3이 하이드로인 경우, 화학식 I에서 카보닐기에 인접한 기는 메틸렌기이다. R^1 또는 R^2가 하이드로인 경우, 이들 및 이들이 부착된 탄소 원자는 방향족 CH 기를 형성한다.

[0027] 용어 "약제학적으로 허용 가능한"은 물체(예를 들어 염, 투여량 형태, 희석제 또는 담체)가 환자에 이용하기 적합함을 명시하기 위해 이용된다. 약제학적으로 허용 가능한 염의 하나의 예시 목록은 문헌[*Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use*, P. H. Stahl and C. G. Wermuth, editors, Weinheim/Zuerich: Wiley-VCH/VHCA, 2002]에서 확인될 수 있다. 화학식 I의 화합물의 적합한 약제학적으로 허용 가능한 염은, 예를 들어, 산 부가 염이다. 화학식 I의 화합물의 산 부가 염은 당업자에게 공지된 조건 하에 화합물을 적합한 무기 산 또는 유기 산과 접촉시켜 형성될 수 있다. 산 부가 염은 예를 들어 염화수소산, 브롬화수소산, 황산 및 인산으로부터 선택되는 무기산을 이용하여 형성될 수 있다. 산 부가 염은 또한 예를 들어 트리플루오로아세트산, 메탄설폰산 및 벤젠설폰산으로부터 선택되는 유기산을 이용하여 형성될 수 있다.

[0028] 따라서, 하나의 구현예에서 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이 제공되며, 여기서 약제학적으로 허용 가능한 염은 염화수소산, 브롬화수소산, 황산, 인산, 트리플루오로아세트산, 메탄설폰산 또는 벤젠설폰산 염이다.

[0029] 하나의 구현예에서 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이 제공되며, 여기서 약제학적으로 허용 가능한 염은 염화수소산 또는 브롬화수소산 염이다.

[0030] 적절한 PKa를 갖는 다른 적합한 산의 다른 약제학적으로 허용 가능한 염을 형성할 수 있음이 이해되며, 이들은 "약제학적으로 허용 가능한 염"의 정의에 포함된다.

[0031] 화학식 I의 화합물의 추가적인 적합한 약제학적으로 허용 가능한 염은 염기 부가 염이다. 화학식 I의 화합물의 염기 부가 염은 당업자에게 공지된 조건 하에 화합물을 적합한 무기 염기 또는 유기 염기와 접촉시켜 형성될 수 있다. 염기 부가 염은 예를 들어 알칼리 금속 하이드록시드(예컨대 수산화나트륨, 수산화칼륨 또는 수산화리튬) 또는 알칼리 토금속 하이드록시드(예컨대 수산화칼슘 또는 수산화마그네슘)로부터 선택되는 무기 염기를 이용하여 형성될 수 있다. 염기 부가 염은 또한 메틸아민, 디메틸아민, 트리메틸아민, 피페리딘, 모르폴린 및 *트리스*-(2-하이드록시에틸)아민으로부터 선택되는 유기 염기를 이용하여 형성될 수 있다.

[0032] 따라서, 하나의 구현예에서 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이 제공되며, 여기서 약제학적으로 허용 가능한 염은 수산화나트륨, 수산화칼륨, 수산화리튬, 수산화칼슘, 수산화마그네슘, 메틸아민, 디메틸아민, 트리메틸아민, 피페리딘, 모르폴린 또는 트리스-(2-하이드록시에틸)아민 염이다.

[0033] 하나의 구현예에서 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이 제공되며, 여기서 약제학적으로 허용 가능한 염은 염화수소산, 브롬화수소산, 황산, 인산, 트리플루오로아세트산, 메탄설폰산, 벤젠설폰산, 수산화나트륨, 수산화칼륨, 수산화리튬, 수산화칼슘, 수산화마그네슘, 메틸아민, 디메틸아민, 트리메틸아민, 피페리딘, 모르폴린 또는 *트리스*-(2-하이드록시에틸)아민 염이다.

[0034] 다른 적합한 염기와 다른 약제학적으로 허용 가능한 염기를 형성할 수 있음이 이해되며, 이들은 "약제학적으로 허용 가능한 염"의 정의에 포함된다.

[0035] 추가적인 구현예는 실시예 1, 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 하나 이상의 특정 실시예(예를 들어 1개, 2개 또는 3개의 특정 실시예 또는 대안적으로 하나의 특정 실시예)가 개별적으로 포기되는 한, 본원에 정의된 임의의 구현예(예를 들어 청구항 1의 구현예)를 제공한다.

[0036] 화학식 I의 가변 기의 일부 값은 다음과 같다. 이러한 값은 임의의 정의, 청구항(예를 들어 청구항 1) 또는 본원에 정의되는 구현예와 조합되어 이용되어 추가 구현예를 제공할 수 있다.

[0037] a) R^1은 메톡시, 디플루오로메톡시 또는 트리플루오로메톡시이다.

[0038] b) R^1은 메톡시 또는 디플루오로메톡시이다.

[0039] c) R^1은 메톡시 또는 트리플루오로메톡시이다.

[0040] d) R^1은 디플루오로메톡시 또는 트리플루오로메톡시이다.

[0041] e) R^1은 하이드로이다.

[0042] f) R^1은 메톡시이다.

[0043] g) R^1은 디플루오로메톡시이다.

[0044] h) R^1은 트리플루오로메톡시이다.

[0045] i) R^2는 메톡시, 트리플루오로메톡시 또는 트리플루오로메틸이다.

[0046] j) R^2는 하이드로이다.

[0047] k) R^2는 메톡시이다.

[0048] l) R^2는 트리플루오로메톡시이다.

[0049] m) R^2는 트리플루오로메틸이다.

[0050] n) R^3은 하이드로이다.

[0051] o) R^3은 메톡시이다.

[0052] 하나의 구현예에서, 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이 제공되며, 식 중,

[0053] R^1은 하이드로, 메톡시, 디플루오로메톡시 또는 트리플루오로메톡시이며;

[0054] R^2는 하이드로이고;

[0055] R^3은 메톡시이다.

[0056] 하나의 구현예에서, 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이 제공되며, 식 중,

[0057] R^1은 메톡시, 디플루오로메톡시 또는 트리플루오로메톡시이며;

[0058] R^2는 하이드로이고;

[0059] R^3은 메톡시이다.

[0060] 하나의 구현예에서, 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이 제공되며, 식 중,

[0061] R^1은 하이드로이며;

[0062] R^2는 메톡시, 트리플루오로메톡시 또는 트리플루오로메틸이고;

[0063] R^3은 하이드로이다.

[0064] 하나의 구현예에서 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이 제공되며, 여기서 화학식 I의 화합물은 다음으로부터 선택된다:

[0065] (2*S*)-2-[3-(디플루오로메톡시)페닐]-2-메톡시-*N*-[6-[(3*R*)-3-(피리다진-3-일아미노)피롤리딘-1-일]피리다진-3-일]아세트아미드;

[0066] (2*S*)-2-[3-(트리플루오로메톡시)페닐]-2-메톡시-*N*-[6-[(3*R*)-3-(피리다진-3-일아미노)피롤리딘-1-일]피리다진-3-일]아세트아미드;

[0067] (2*S*)-2-메톡시-2-(3-메톡시페닐)-*N*-[6-[(3*R*)-3-(피리다진-3-일아미노)피롤리딘-1-일]피리다진-3-일]아세트아미드;

[0068] 2-(2-메톡시페닐)-*N*-[6-[(3*R*)-3-(피리다진-3-일아미노)피롤리딘-1-일]피리다진-3-일]아세트아미드;

[0069] *N*-[6-[(3*R*)-3-(피리다진-3-일아미노)피롤리딘-1-일]피리다진-3-일]-2-[2-(트리플루오로메틸)페닐]아세트아미드; 및

[0070] *N*-[6-[(3*R*)-3-(피리다진-3-일아미노)피롤리딘-1-일]피리다진-3-일]-2-[2-(트리플루오로메톡시)페닐]아세트아미드.

[0071] 하나의 구현예에서 (2*S*)-2-[3-(디플루오로메톡시)페닐]-2-메톡시-*N*-[6-[(3*R*)-3-(피리다진-3-일아미노)피롤리딘-1-일]피리다진-3-일]아세트아미드 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이 제공된다.

[0072] 하나의 구현예에서 (2*S*)-2-[3-(디플루오로메톡시)페닐]-2-메톡시-*N*-[6-[(3*R*)-3-(피리다진-3-일아미노)피롤리딘-1-일]피리다진-3-일]아세트아미드가 제공된다.

[0073] 하나의 구현예에서 (2*S*)-2-[3-(디플루오로메톡시)페닐]-2-메톡시-*N*-[6-[(3*R*)-3-(피리다진-3-일아미노)피롤리딘-1-일]피리다진-3-일]아세트아미드의 약제학적으로 허용 가능한 염이 제공된다.

[0074] 하나의 구현예에서 (2*S*)-2-[3-(트리플루오로메톡시)페닐]-2-메톡시-*N*-[6-[(3*R*)-3-(피리다진-3-일아미노)피롤리딘-1-일]피리다진-3-일]아세트아미드 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이 제공된다.

[0075] 하나의 구현예에서 (2*S*)-2-[3-(트리플루오로메톡시)페닐]-2-메톡시-*N*-[6-[(3*R*)-3-(피리다진-3-일아미노)피롤리

딘-1-일]피리다진-3-일]아세트아미드가 제공된다.

[0076] 하나의 구현예에서 (2*S*)-2-[3-(트리플루오로메톡시)페닐]-2-메톡시-*N*-[6-[(3*R*)-3-(피리다진-3-일아미노)피롤리딘-1-일]피리다진-3-일]아세트아미드의 약제학적으로 허용 가능한 염이 제공된다.

[0077] 하나의 구현예에서 (2*S*)-2-메톡시-2-(3-메톡시페닐)-*N*-[6-[(3*R*)-3-(피리다진-3-일아미노)피롤리딘-1-일]피리다진-3-일]아세트아미드 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이 제공된다.

[0078] 하나의 구현예에서 (2*S*)-2-메톡시-2-(3-메톡시페닐)-*N*-[6-[(3*R*)-3-(피리다진-3-일아미노)피롤리딘-1-일]피리다진-3-일]아세트아미드가 제공된다.

[0079] 하나의 구현예에서 (2*S*)-2-메톡시-2-(3-메톡시페닐)-*N*-[6-[(3*R*)-3-(피리다진-3-일아미노)피롤리딘-1-일]피리다진-3-일]아세트아미드의 약제학적으로 허용 가능한 염이 제공된다.

[0080] 하나의 구현예에서 2-(2-메톡시페닐)-*N*-[6-[(3*R*)-3-(피리다진-3-일아미노)피롤리딘-1-일]피리다진-3-일]아세트아미드 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이 제공된다.

[0081] 하나의 구현예에서 2-(2-메톡시페닐)-*N*-[6-[(3*R*)-3-(피리다진-3-일아미노)피롤리딘-1-일]피리다진-3-일]아세트아미드가 제공된다.

[0082] 하나의 구현예에서 2-(2-메톡시페닐)-*N*-[6-[(3*R*)-3-(피리다진-3-일아미노)피롤리딘-1-일]피리다진-3-일]아세트아미드의 약제학적으로 허용 가능한 염이 제공된다.

[0083] 본 명세서에 기재된 화합물 및 염은 용매화된 형태 및 용매화되지 않은 형태로 존재할 수 있다. 예를 들어, 용매화된 형태는 수화된 형태, 예컨대 반-수화물, 1-수화물, 2-수화물, 3-수화물 또는 이의 대안적 양일 수 있다. 본 발명은 화학식 I의 모든 이러한 용매화된 형태 및 용매화되지 않은 형태를 포괄한다.

[0084] 본 명세서에 기재된 화합물 및 염의 원자는 이의 이성질체로서 존재할 수 있다. 본 발명은 화학식 I의 모든 화합물을 포괄하며, 여기서 원자는 하나 이상의 그 이성질체(예를 들어 하나 이상의 탄소 원자가 ^{11}C 또는 ^{13}C 탄소 이성질체이거나, 하나 이상의 수소 원자가 ^{2}H(중수소) 또는 ^{3}H(삼중수소) 이성질체인 화학식 I의 화합물)에 의해 대체된다.

[0085] 본 명세서에 기재된 화합물 및 염은 호변이체의 혼합물로서 존재할 수 있다. "호변이체"는 수소 원자의 이동으로 생성되는 평형에 존재하는 구조 이성질체이다. 본 발명에는 화학식 I의 화합물의 모든 호변이체가 포함된다.

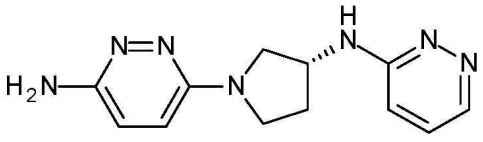
[0086] 화학식 I의 화합물은 이의 비대칭 탄소 원자로 인해 광학 활성 형태로 존재한다.

[0087] 화학식 I의 소정 화합물(예를 들어 R^3이 수소인 것들)은 단일 거울상이성질체로서 존재한다. 따라서, 하나의 구현예에서 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이 제공되며, 단일 거울상이성질체는 95% 이상, 98% 이상 또는 99% 이상의 거울상이성질체 과량(ee%)으로 존재한다. 하나의 구현예에서, 단일 거울상이성질체는 99% 이상의 거울상이성질체 과량(ee%)으로 존재한다.

[0088] 화학식 I의 소정 화합물(예를 들어 R^3이 메톡시인 것들)은 단일 부분이성질체로서 존재한다. 따라서, 하나의 구현예에서 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이 제공되며, 단일 부분이성질체는 95% 이상, 98% 이상 또는 99% 이상의 부분이성질체 과량(ee%)으로 존재한다. 하나의 구현예에서, 단일 부분이성질체는 99% 이상의 부분이성질체 과량(ee%)으로 존재한다.

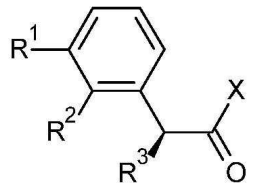
[0089] 화학식 I의 화합물은 예를 들어 화학식 II의 화합물:

[0090] [화학식 II]

[0091] 

[0092] 과 화학식 III의 화합물:

[0093] [화학식 III]



[0094]

[0095] 의 반응에 의해 제조될 수 있으며, 식 중, R^1, R^2 및 R^3은 본원에서 임의의 구현예에 정의된 바와 같고 X는 이탈기, 예컨대 할로겐 원자(예를 들어 염소 원자) 또는 하이드록시기이다. 반응은 적합한 온도에서(예를 들어 20℃ 내지 30℃ 근처의 상온에서 또는 승온, 예컨대 80℃ 내지 120℃에서 또는 대안적으로 100℃ 근처에서) 적합한 용매(예를 들어 DMF 또는 DMA) 중에 그리고 염기(예를 들어 DIPEA)의 존재 하에 편리하게 수행된다. X가 하이드록시기인 경우, 아미드 결합을 형성하기 위해 적합한 커플링제(예를 들어 HATU)가 이용된다.

[0096] 따라서 화학식 II의 화합물 및 이의 염은 화학식 I의 화합물의 제조에서 중간체로서 유용하며 추가 구현예를 제공한다.

[0097] 하나의 구현예에서 6-[(3*R*)-3-(피리다진-3-일아미노)피롤리딘-1-일]피리다진-3-아민 또는 이의 염이 제공된다.

[0098] 하나의 구현예에서 6-[(3*R*)-3-(피리다진-3-일아미노)피롤리딘-1-일]피리다진-3-아민이 제공된다.

[0099] 화학식 III의 화합물 및 이의 염은 화학식 I의 화합물의 제조에서 중간체로서 유사하게 유용하며 추가 구현예를 제공한다.

[0100] 하나의 구현예에서 화학식 III의 화합물 또는 이의 염이 제공되며, 식 중,

[0101] R^1은 디플루오로메톡시 또는 트리플루오로메톡시이며;

[0102] R^2는 하이드로이고;

[0103] R^3은 메톡시이고;

[0104] X는 이탈기이다. 하나의 구현예에서 X는 하이드록시 또는 클로로이다. 하나의 구현예에서 X는 하이드록시이다.

[0105] 하나의 구현예에서 2-[3-(디플루오로메톡시)페닐]-2-메톡시아세트산 또는 이의 염이 제공된다.

[0106] 하나의 구현예에서 2-메톡시-2-[3-(트리플루오로메톡시)페닐]아세트산 또는 이의 염이 제공된다.

[0107] 하나의 구현예에서 2-[3-(디플루오로메톡시)페닐]-2-메톡시아세트산이 제공된다.

[0108] 하나의 구현예에서 2-메톡시-2-[3-(트리플루오로메톡시)페닐]아세트산이 제공된다.

[0109] 화학식 II 및 화학식 III의 화합물은 실시예 섹션에 나타낸 것들과 유사한 방법에 의해 제조될 수 있다.

[0110] 화학식 II의 화합물의 적합한 염은, 예를 들어, 산 부가 염이다. 화학식 II의 화합물의 산 부가 염은 당업자에게 공지된 조건 하에 화합물을 적합한 무기 산 또는 유기 산과 접촉시켜 형성될 수 있다. 화학식 II의 화합물과 페어링되는 경우, 이러한 산이 약제학적으로 허용 가능한 염을 생성해야 하는 것은 아니다. 산 부가 염은 예를 들어 염화수소산, 브롬화수소산, 황산 및 인산으로부터 선택되는 무기 산을 이용하여 형성될 수 있다. 산 부가 염은 또한 예를 들어 트리플루오로아세트산, 메탄설폰산 및 벤젠설폰산으로부터 선택되는 유기 산을 이용하여 형성될 수 있다.

[0111] 따라서, 하나의 구현예에서 화학식 II의 화합물 또는 이의 염이 제공되며, 여기서 염은 염화수소산, 브롬화수소산, 황산, 인산, 트리플루오로아세트산, 메탄설폰산 또는 벤젠설폰산 염이다.

[0112] 화학식 III의 화합물의 적합한 염은 염기 부가 염이다. 화학식 III의 화합물의 염기 부가 염은 당업자에게 공지된 조건 하에 화합물을 적합한 무기 염기 또는 유기 염기와 접촉시켜 형성될 수 있다. 화학식 III의 화합물과 페어링되는 경우, 이러한 염기가 약제학적으로 허용 가능한 염을 생성해야 하는 것은 아니다. 염기 부가 염은 예를 들어 알칼리 금속 하이드록시드(예컨대 수산화나트륨, 수산화칼륨 또는 수산화리튬) 또는 알칼리 토금속 하이드록시드(예컨대 수산화칼슘 또는 수산화마그네슘)로부터 선택되는 무기 염기를 이용해서 형성될 수 있다.

염기 부가 염은 또한 메틸아민, 디메틸아민, 트리메틸아민, 피페리딘, 모르폴린 및 트리스-(2-하이드록시에틸)아민으로부터 선택되는 유기 염기를 이용하여 형성될 수 있다.

[0113] 따라서, 하나의 구현예에서 화학식 III의 화합물 또는 이의 염이 제공되며, 여기서 염은 수산화나트륨, 수산화칼륨, 수산화리튬, 수산화칼슘, 수산화마그네슘, 메틸아민, 디메틸아민, 트리메틸아민, 피페리딘, 모르폴린 또는 *트리스*-(2-하이드록시에틸)아민 염이다.

[0114] 이의 GLS1 억제 활성의 결과로서, 화학식 I의 화합물 및 이의 약제학적으로 허용 가능한 염은 치료법에서, 예를 들어 암을 포함하는, 적어도 부분적으로 GLS1에 의해 매개되는 질환 또는 의학적 병태의 치료에서 유용할 것으로 예상된다.

[0115] "암"이 언급되는 경우, 비-전이성 암 및 또한 전이성 암이 둘 다 포함되어, 암 치료에 일차 종양 및 또한 종양 전이 둘 다의 치료가 관여되게 된다.

[0116] 하나의 구현예에서 암은 전이성 암이다.

[0117] 하나의 구현예에서 암은 비-전이성 암이다.

[0118] "GLS1 억제 활성"은 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 부재 하의 GLS1의 활성 대비, 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 존재에 대한 직접적 또는 간접적 반응으로서의 GLS1의 활성 감소를 나타낸다. 이러한 활성 감소는 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염과 GLS1의 직접적 상호작용에 기인하거나, 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염과 GLS1 활성에 다시 영향을 미치는 하나 이상의 다른 인자의 상호작용에 기인할 수 있다. 예를 들어, 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염은 GLS1에 직접 결합함으로써, 또 다른 인자가 GLS1 활성을 감소시키도록 유도함으로써(직접적으로 또는 간접적으로) 또는 세포 또는 유기체에 존재하는 GLS1의 양을 감소시킴으로써(직접적으로 또는 간접적으로) GLS1을 감소시킬 수 있다.

[0119] 용어 "치료법"은 그 증상 중 하나, 일부 또는 전부를 전체적으로 또는 부분적으로 경감시키기 위해 또는 내재된 병리에 대해 교정하거나 보상하기 위해, 질환에 대처하는 그 일반 의미를 갖는 것으로 의도된다. 용어 "치료법"에는 또한 반대로의 구체적 표시가 존재하지 않는 한, "예방"이 포함된다. 용어 "치료적" 및 "치료적으로"는 상응하는 방식으로 해석되어야 한다.

[0120] 용어 "예방"은 그 일반 의미를 갖는 것으로 의도되며 질환의 발생을 예방하기 위한 일차 예방 및 질환이 이미 발생했고 환자가 질환의 격화 또는 악화 또는 질환과 연관된 새로운 증상의 발생에 대해 일시적으로 또는 영구적으로 보호되는 이차 예방이 포함된다.

[0121] 용어 "치료"는 "치료법"과 동의어로 이용된다. 유사하게, 용어 "치료하다"는 "치료법"이 본원에서 정의된 바와 같은 치료법의 적용으로서 간주될 수 있다.

[0122] 하나의 구현예에서 치료법에 이용하기 위한, 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이 제공된다.

[0123] 하나의 구현예에서 약제의 제조를 위한, 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 용도가 제공된다.

[0124] 임의의 구현예에서 화학식 I의 화합물은 실시예로부터 선택된다. 임의의 구현예에서 화학식 I의 화합물은 실시예 1, 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택된다.

[0125] 하나의 구현예에서 GLS1에 의해 매개되는 질환의 치료에 이용하기 위한, 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이 제공된다. 하나의 구현예에서, GLS1에 의해 매개되는 상기 질환은 암이다. 하나의 구현예에서, 상기 암은 유방암(예를 들어 삼중 음성 유방암), 폐암(예를 들어 비-소세포 폐암), 췌장암 및 간세포암으로부터 선택된다.

[0126] "삼중 음성 유방암"은 에스트로겐 수용체, 프로게스테론 수용체 및 Her2/neu에 대한 유전자를 발현하지 않는 임의의 유방암이다.

[0127] 하나의 구현예에서 암 치료에 이용하기 위한, 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이 제공된다.

[0128] 하나의 구현예에서 GLS1에 의해 매개되는 질환 치료용 약제의 제조를 위한, 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제

학적으로 허용 가능한 염의 용도가 제공된다. 하나의 구현예에서, GLS1에 의해 매개되는 상기 질환은 암이다. 하나의 구현예에서, 상기 암은 유방암(예를 들어 삼중 음성 유방암), 폐암(예를 들어 비-소세포 폐암), 췌장암 및 간세포암으로부터 선택된다.

[0129] 하나의 구현예에서 암 치료용 약제의 제조를 위한, 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 용도가 제공된다.

[0130] 임의의 구현예에서 화학식 I의 화합물은 실시예로부터 선택된다. 임의의 구현예에서 화학식 I의 화합물은 실시예 1, 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택된다.

[0131] 하나의 구현예에서 GLS1의 억제가 유익한 질환의 치료를 필요로 하는 온혈 동물에서 유익한 질환의 치료 방법으로서, 치료 유효량의 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 상기 온혈 동물에 투여하는 단계를 포함하는 방법이 제공된다.

[0132] 용어 "치료 유효량"은 대상체에서 "치료법"을 제공하기 위해 또는 대상체에서 질환 또는 장애를 "치료하기 위해" 유효한 본원의 임의의 구현예에 기재된 바와 같은 화학식 I의 화합물의 양을 나타낸다. 암의 경우, 치료 유효량은 상기 "치료법", "치료" 및 "예방"의 정의에 기재된 바와 같이 대상체에서 관찰 가능하거나 측정 가능한 임의의 변화를 유도할 수 있다. 예를 들어, 유효량은 암 또는 종양 세포의 수를 감소시키거나; 전체 종양 크기를 감소시키거나; 예를 들어, 연조직 및 뼈를 포함하는 말초 기관으로의 종양 세포 침윤을 억제하거나 중지시키거나; 종양 전이를 억제하고 중지시키거나; 종양 성장을 억제하고 중지시키거나; 암과 연관된 하나 이상의 증상을 어느 정도 경감시키거나; 유병률 및 사망률을 감소시키거나; 삶의 질을 개선하거나; 또는 이러한 효과의 조합일 수 있다. 유효량은 GLS1 활성의 억제에 반응성인 질환의 증상을 감소시키기 위해 충분한 양일 수 있다. 암 치료법에 있어서, 생체내 유효성은, 예를 들어, 생존 기간, 질환 진행까지의 시간(TTP), 반응률(RR), 반응 기간, 및/또는 삶의 질을 평가함으로써 측정될 수 있다. 당업자에 의해 인식될 바와 같이, 유효량은 투여 경로, 부형제 이용 및 다른 제제와의 공동-이용에 따라 변할 수 있다. 예를 들어, 조합 치료법이 이용되는 경우, 본 명세서에 기재된 화학식 I의 화합물 또는 약제학적으로 허용 가능한 염의 양 및 다른 약학적으로 활성인 제제(들)의 양은, 조합되는 경우, 함께 동물 환자에서 표적화된 장애를 치료하는 데 유효하다. 상기 맥락에서, 조합된 양은 이들이 조합되었을 때, 상술된 바와 같은 GLS1 활성의 억제에 반응성인 질환의 증상을 감소시키기 위해 충분한 경우, "치료 유효량"이다. 전형적으로, 이러한 양은, 예를 들어 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염에 대해 본 명세서에 기재된 투여량 범위 및 다른 약학적으로 활성인 화합물(들)의 승인되거나 달리 공개된 투여량 범위(들)로 시작하여, 당업자에 의해 결정될 수 있다.

[0133] "온혈 동물"에는, 예를 들어, 인간이 포함된다.

[0134] 하나의 구현예에서 암 치료를 필요로 하는 온혈 동물에서의 암 치료 방법으로서, 치료 유효량의 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 상기 온혈 동물에 투여하는 단계를 포함하는 방법이 제공된다. 하나의 구현예에서, 상기 암은 유방암(예를 들어 삼중 음성 유방암), 폐암(예를 들어 비-소세포 폐암), 췌장암 및 간세포암으로부터 선택된다.

[0135] 임의의 구현예에서 화학식 I의 화합물은 실시예로부터 선택된다. 임의의 구현예에서 화학식 I의 화합물은 실시예 1, 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택된다.

[0136] 본 명세서에 기재된 항암 치료는 단독 치료법으로서 적용될 수 있거나, 화학식 I의 화합물의 투여에 부가하여, 통상적 수술, 방사선치료법 또는 화학치료법; 또는 이러한 추가적인 치료법의 조합이 관여될 수 있다. 이러한 통상적 수술, 방사선치료법 또는 화학치료법은 화학식 I의 화합물을 이용한 치료와 동시에, 순차적으로 또는 별도로 투여될 수 있다.

[0137] 따라서, 하나의 구현예에서 암 치료에 이용하기 위한, 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 및 적어도 하나의 추가적인 항-종양 물질이 제공된다.

[0138] 하나의 구현예에서 암의 동시, 별도 또는 순차 치료에 이용하기 위한, 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 및 적어도 하나의 추가적인 항종양 물질이 제공된다.

[0139] 하나의 구현예에서 암 치료에 이용하기 위한, 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이 제공되며, 여기서 화학식 I의 화합물은 적어도 하나의 추가적인 항종양 물질과 동시에, 별도로 또는 순차적으로 투여된다.

[0140] 하나의 구현예에서 암 치료를 필요로 하는 온혈 동물에서의 암 치료 방법으로서, 화학식 I의 화합물 또는 이의

약제학적으로 허용 가능한 염 및 적어도 하나의 추가적인 항종양 물질을 상기 온혈 동물에 투여하는 단계를 포함하며, 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 및 추가적인 항종양 물질의 양이 함께 항암 효과를 생성하는 데 유효한 방법이 제공된다.

[0141] 하나의 구현예에서 암 치료를 필요로 하는 온혈 동물에서의 암 치료 방법으로서, 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 상기 온혈 동물에 투여하는 단계 및 적어도 하나의 추가적인 항종양 물질을 상기 온혈 동물에 동시에, 별도로 또는 순차적으로 투여하는 단계를 포함하며, 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 및 추가적인 항종양 물질의 양이 함께 항암 효과를 생성하는 데 유효한 방법이 제공된다.

[0142] 임의의 구현예에서 추가적인 항종양 물질은 탁산이다. 하나의 구현예에서 탁산은 파클리탁셀이다. 하나의 구현예에서 탁산은 도세탁셀이다.

[0143] 임의의 구현예에서 추가적인 항종양 물질은 백금 치료법이다. 하나의 구현예에서 백금 치료법은 *시스*-플라틴, 옥살리플라틴 또는 카보플라틴이다.

[0144] 하나의 구현예에서 화학식 I의 화합물 및 적어도 하나의 추가적인 항종양 물질을 포함하는 약학 조성물이 제공된다. 하나의 구현예에서 약학 조성물은 또한 적어도 하나의 약제학적으로 허용 가능한 희석제 또는 담체를 포함한다.

[0145] 하나의 구현예에서 암 치료에 이용하기 위한, 화학식 I의 화합물 및 적어도 하나의 추가적인 항종양 물질을 포함하는 약학 조성물이 제공된다. 하나의 구현예에서 약학 조성물은 또한 적어도 하나의 약제학적으로 허용 가능한 희석제 또는 담체를 포함한다.

[0146] 하나의 구현예에서 추가적인 항종양 물질은 탁산이다. 하나의 구현예에서 탁산은 파클리탁셀이다. 하나의 구현예에서 탁산은 도세탁셀이다.

[0147] 하나의 구현예에서 추가적인 항종양 물질은 백금 치료법이다. 하나의 구현예에서 백금 치료법은 *시스*-플라틴, 옥살리플라틴 또는 카보플라틴이다.

[0148] 임의의 구현예에서 화학식 I의 화합물은 실시예로부터 선택된다. 임의의 구현예에서 화학식 I의 화합물은 실시예 1, 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택된다.

[0149] 추가 구현예에 따르면 다음을 포함하는 키트가 제공된다:

[0150] a) 제1 단위 투여량 형태에, 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염;

[0151] b) 추가의 부가적인 단위 투여량 형태에 추가적인 항종양 물질;

[0152] c) 상기 제1 및 추가 단위 투여량 형태를 함유하기 위한 용기 수단; 및 선택적으로

[0153] d) 이용 지침.

[0154] 하나의 구현예에서 추가적인 항종양 물질은 탁산이다. 하나의 구현예에서 탁산은 파클리탁셀이다. 하나의 구현예에서 탁산은 도세탁셀이다.

[0155] 하나의 구현예에서 추가적인 항종양 물질은 백금 치료법이다. 하나의 구현예에서 백금 치료법은 *시스*-플라틴, 옥살리플라틴 또는 카보플라틴이다.

[0156] 하나의 구현예에서 화학식 I의 화합물은 실시예로부터 선택된다. 하나의 구현예에서 화학식 I의 화합물은 실시예 1, 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택된다.

[0157] 화학식 I의 화합물 및 이의 약제학적으로 허용 가능한 염은 하나 이상의 약제학적으로 허용 가능한 희석제 또는 담체를 포함하는 약학 조성물로서 투여될 수 있다.

[0158] 따라서, 하나의 구현예에서 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 및 적어도 하나의 약제학적으로 허용 가능한 희석제 또는 담체를 포함하는 약학 조성물이 제공된다.

[0159] 하나의 구현예에서 화학식 I의 화합물은 실시예로부터 선택된다. 하나의 구현예에서 화학식 I의 화합물은 실시예 1, 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택된다.

[0160] 본 발명의 조성물은 경구 이용에 적합한 형태(예를 들어 정제, 로젠지, 경질 또는 연질 캡슐, 수성 또는 유성

현탁액, 에멀젼, 분산성 분말 또는 과립, 시럽 또는 엘릭서로서), 국소 이용에 적합한 형태(예를 들어 크림, 연고, 겔 또는 수성 또는 유성 용액 또는 현탁액으로서), 흡입에 의한 투여에 적합한 형태(예를 들어 미분된 분말 또는 액체 에어로졸로서), 통기에 의한 투여에 적합한 형태(예를 들어 미분된 분말로서) 또는 비경구 투여에 적합한 형태(예를 들어 정맥내, 피하, 근육내 또는 근육내 투여를 위한 멸균 수성 또는 유성 용액으로서) 또는 직장 투여를 위한 좌약으로서일 수 있다. 본 발명의 조성물은 당분야에 널리 공지된 통상적인 약제학적 부형제를 이용하여 통상적 절차에 의해 수득될 수 있다. 따라서, 경구 이용을 위한 조성물은, 예를 들어, 하나 이상의 착색제, 감미제, 풍미제 및/또는 보존제를 함유할 수 있다.

[0161] 하나의 구현예에서 치료법에 이용하기 위한, 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 및 적어도 하나의 약제학적으로 허용 가능한 희석제 또는 담체를 포함하는 약학 조성물이 제공된다.

[0162] 하나의 구현예에서 암 치료에 이용하기 위한, 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 및 적어도 하나의 약제학적으로 허용 가능한 희석제 또는 담체를 포함하는 약학 조성물이 제공된다. 하나의 구현예에서 상기 암은 유방암(예를 들어 삼중 음성 유방암), 폐암(예를 들어 비-소세포 폐암), 췌장암 및 간세포암으로부터 선택된다.

[0163] 임의의 구현예에서 화학식 I의 화합물은 실시예로부터 선택된다. 임의의 구현예에서 화학식 I의 화합물은 실시예 1, 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택된다.

[0164] 화학식 I의 화합물은 보통 동물의 5 mg/체표면적m^2 내지 5000 mg/체표면적m^2 범위 내에서 단위 용량으로 또는 예를 들어 대략 0.1 mg/kg 내지 100 mg/kg으로 온혈 동물에 투여될 것이며, 이는 보통 치료 유효 용량을 제공한다. 단위 용량 형태, 예컨대 정제 또는 캡슐은 보통 예를 들어 1 mg 내지 250 mg의 활성 성분을 함유할 것이다. 일일 용량은 반드시 치료받는 숙주, 특정 투여 경로, 공동-투여되고 있는 임의의 치료법 및 치료받고 있는 질병의 중증도에 따라 변화될 것이다. 이에 따라 임의의 특정 환자를 치료 중인 실시자는 최적 투여량을 결정할 수 있다.

[0165] 실시예

[0166] 다양한 구현예가 다음 실시예에 의해 예시된다. 본 발명이 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석되어서는 안 된다. 실시예의 준비 동안, 일반적으로

[0167] i. 공정은 달리 언급되지 않는 한 상온, 즉 약 17℃ 내지 30℃ 범위에서 그리고 불활성 기체, 예컨대 질소 분위기 하에 수행하였다;

[0168] ii. 증발은 회전 증발에 의해 또는 진공 중 Genevac 설비를 이용하여 수행하였고 워크업 절차는 여과에 의한 잔여 고체의 제거 후 수행하였다;

[0169] iii. 플래시 크로마토그래피 정제는 Grace Resolve 사전충전된 실리카 컬럼을 이용해서 자동화 Isco Combiflash Companion 및 Redisep Gold C18 컬럼을 이용해서 (역상 플래시) Isco Combiflash Rf 상에서 수행하였다;

[0170] iv. 수율은, 존재하는 경우, 획득 가능한 최대치여야 하는 것은 아니다;

[0171] v. 화학식 I의 최종 산물의 구조는 델타 스케일 상에서 측정되는 NMR 화학적 이동값으로 핵 자기 공명(NMR) 분광측정에 의해 확인하였다. 양성자 자기 공명 스펙트럼은 Bruker advance 700(700 MHz), Bruker Avance 500(500 MHz), Bruker 400(400 MHz) 또는 Bruker 300(300 MHz) 기기를 이용해서 결정하였다; 19F NMR은 282 MHz 또는 376 MHz에서 결정하였다; 13C NMR은 75 MHz 또는 100 MHz에서 결정하였다; 측정은 달리 명시되지 않는 한 20℃ 내지 30℃ 주위에서 수행하였다; 다음 약어를 이용하였다: s, 단일선; d, 이중선; t, 삼중선; q, 사중선; m, 다중선; dd, 이중선의 이중선; ddd, 이중선의 이중선의 이중선; dt, 삼중선의 이중선; bs, 넓은 신호;

[0172] vi. 화학식 I의 최종 산물을 또한 2996 PDA 및 2000 amu ZQ 단일 사극자 질량 분광측정계를 갖춘 Waters 2790/95 LC 시스템에 기반한 HPLC 시스템을 이용하여 질량 분광측정에 이어 액체 크로마토그래피(LCMS)에 의해 특성규명하였다. 이용한 용매는 A = 물, B = 아세토니트릴, C = 50:50 아세토니트릴:물 0.1% 포름산 및 D = 50:50 아세토니트릴:물 0.1% 수산화암모늄이었다. 1.1 mL/분의 유속으로 5 ㎕의 샘플을 50×2.1 5 ㎛ Phenomenex Gemini NX 컬럼 상에 주사하였다. 구배를 C의 일정한 5% 주입(산 분석을 위해, D는 염기 분석을 위해 이용함)과 함께 4.0분 동안 95% A부터 95% B로 작동시켰다. 유동물을 0.5분 동안 95% B에서 유지한 후 시작 조건으로 복귀시켰다. 질량 분광측정계 상에서 양성 및 음성 모드 둘 다로 150 amu 내지 850 amu에서 및 PDA 상에서 220 nm 내지 320 nm에서 데이터를 획득하였다. LCMS를 또한 샘플 매니저, Aquity PDA 및 SQD 질량 분광측

정계를 갖춘 Waters Aquity Binary 펌프를 이용해서 UPLC 시스템 상에서 수행하였다. 이용한 용매는 A1 = 0.1% 포름산(aq), B1 아세토니트릴 중 0.1% 포름산, A2 = 0.1% 수산화암모늄(aq) 및 B2 아세토니트릴 중 0.1% 수산화암모늄이었다. 1 mL/분의 유속으로 1 ㎕의 샘플을 50×2.1 1.7 ㎛ Waters BEH 컬럼(40℃에서) 상에 주사하였다. 구배를 1.30분에 걸쳐 97% A1부터 97% B1로 작동시킨 후 0.2분 동안 유지하고 시작 조건으로 복귀시켰다(염기 분석을 위해 A1 및 B1로 A2 및 B2를 대체함). 질량 분광측정계 상에서 양성 및 음성 이온 모드로 150 amu 내지 1000 amu에서 및 PDA 상에서 245 amu 내지 320 amu에서 데이터를 획득하였다;

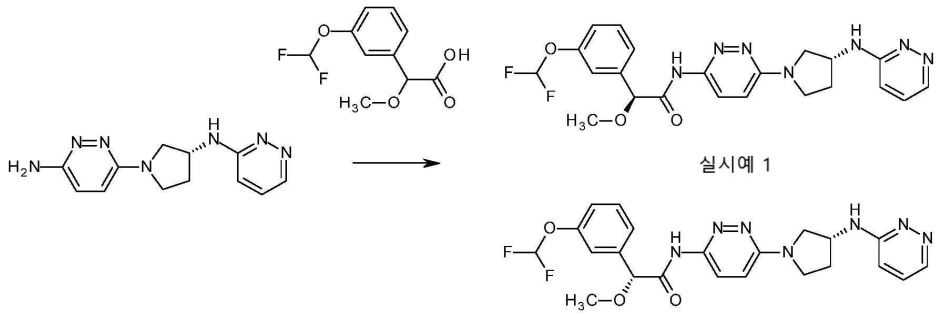
[0173] vii. 중간체는 일반적으로 완전 특성규명하지 않았고 순도는 박층 크로마토그래피, 질량 분광측정, HPLC 및/또는 NMR 분석에 의해 평가하였다;

[0174] viii. 다음 약어를 이용하였다: h = 시간(들); r.t. = 실온(약 17℃ 내지 30℃); conc. = 농축된; FCC = 실리카를 이용한 플래시 컬럼 크로마토그래피; DCM = 디클로로메탄; DIPEA = *디*-디이소프로필 에틸아민; DMA = *N,N*-디메틸아세트아미드; DMF = *N,N*-디메틸포름아미드; DMSO = 디메틸설폭시드; Et_2O = 디에틸 에테르; EtOAc = 에틸 아세테이트; EtOH = 에탄올; HATU = 1-[*비*스(디메틸아미노)메틸렌]-1H-1,2,3-트리아졸로[4,5-b]피리디늄 3-옥시드 헥사플루오로포스페이트; K_2CO_3 = 탄산칼륨; MeOH = 메탄올; MeCN = 아세토니트릴; $MgSO_4$ = 무수 황산마그네슘; Na_2SO_4 = 무수 황산나트륨; TFA = 트리플루오로아세트산; THF = 테트라하이드로푸란; sat. = 포화 수용액; 및

[0175] ix. IUPAC 명칭은 OpenEye Lexichem 툴키트에 관해 구축된 전용 프로그램인 'SmiToSd'를 이용해서 생성하였다(http://www.eyesopen.com/lexichem-tk).

[0176] 실시예 1

[0177] **(2*S*)-2-[3-(디플루오로메톡시)페닐]-2-메톡시-*N*-[6-[(3*R*)-3-(피리다진-3-일아미노)피롤리딘-1-일]피리다진-3-일]아세트아미드**



[0178]

[0179] HATU(931 mg, 2.45 mmol)를 DMF(12 mL) 중 6-[(3*R*)-3-(피리다진-3-일아미노)피롤리딘-1-일]피리다진-3-아민(**중간체 1**, 525 mg, 2.04 mmol), 2-(3-(디플루오로메톡시)페닐)-2-메톡시아세트산(**중간체 6**, 521 mg, 2.24 mmol) 및 DIPEA(1.066 mL, 6.12 mmol)에 첨가하였다. 생성 용액을 5분 동안 0℃에서, 이어서 3 h 동안 r.t.에서 교반하였다. 상기 용액을 MeOH(7 mL)로 희석하고 MeOH로 플러싱하며 20 g SCX-2 카트리지를 통과시켜 불순물을 제거한 뒤 MeOH 중 1 N 암모니아 용액으로 플러싱하여 산물을 얻었다. 용매를 감압 하에 증발시켜 미정제 산물을 산출하였다. 잔류물을 DCM 중 0% 내지 6% MeOH 용출 구배로 FCC에 의해 정제하였다. 산물 함유 분획을 증발 건조하여 2-(3-(디플루오로메톡시)페닐)-2-메톡시-*N*-(6-((*R*)-3-(피리다진-3-일아미노)피롤리딘-1-일)피리다진-3-일)아세트아미드(490 mg, 50%)를 고체로 얻었다. 미정제 산물을 150 mL/분으로 MeOH 100%로 용출하며, 분취용 HPLC(Chiralpak IF 컬럼, 20 ㎛ 실리카, 50 mm 지름, 250 mm 길이)에 의해 정제하였다. 원하는 화합물을 함유하는 분획을 증발 건조하여 다음 화합물을 얻었다:

[0180] 첫 번째 용출된 이성질체(169 mg, 18%)로서 (2*S*)-2-[3-(디플루오로메톡시)페닐]-2-메톡시-*N*-[6-[(3*R*)-3-(피리다진-3-일아미노)피롤리딘-1-일]피리다진-3-일]아세트아미드(실시예 1).

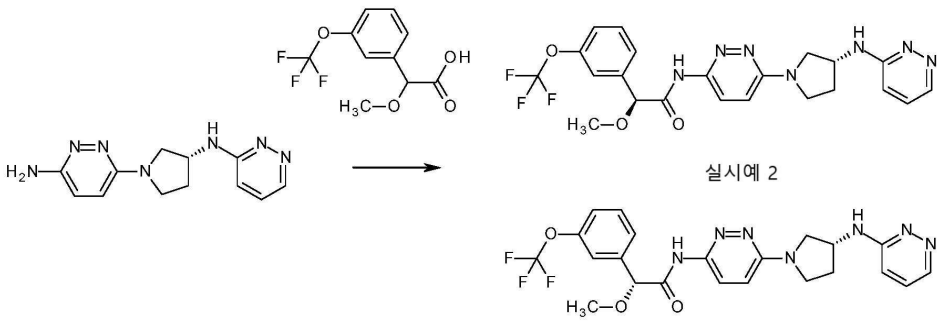
[0181] ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO, 30℃) δ 2.0 - 2.1 (1H, m), 2.29 - 2.39 (1H, m), 3.37 (3H, s), 3.39 - 3.45 (1H, m), 3.51 - 3.66 (2H, m), 3.83 (1H, dd), 4.58 - 4.67 (1H, m), 5.02 (1H, s), 6.81 (1H, dd), 6.98 (1H, d), 7.04 - 7.48 (7H, m), 7.91 (1H, d), 8.46 (1H, dd), 10.58 (1H, s); *m/z*: ES$^+$ [M+H]$^+$ 472.

[0182] 두 번째 용출된 이성질체(178 mg, 19%)로서 (2*R*)-2-[3-(디플루오로메톡시)페닐]-2-메톡시-*N*-[6-[(3*R*)-3-(피리다진-3-일아미노)피롤리딘-1-일]피리다진-3-일]아세트아미드(부산물 1).

[0183] ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO, 30℃) δ 2.04 - 2.15 (1H, m), 2.32 - 2.44 (1H, m), 3.41 (3H, s), 3.46 (1H, dd), 3.55 - 3.71 (2H, m), 3.87 (1H, dd), 4.62 - 4.72 (1H, m), 5.07 (1H, s), 6.86 (1H, d), 7.02 (1H, d), 7.09 - 7.53 (7H, m), 7.95 (1H, d), 8.50 (1H, d), 10.65 (1H, s); *m/z*: ES$^+$ [M+H]$^+$ 472.

[0184] 실시예 2

[0185] **(2*S*)-2-[3-(트리플루오로메톡시)페닐]-2-메톡시-*N*-[6-[(3*R*)-3-(피리다진-3-일아미노)피롤리딘-1-일]피리다진-3-일]아세트아미드**



부산물 2

[0186]

[0187] HATU(355 mg, 0.93 mmol)를 21℃에서 DMF(4 mL) 중 2-메톡시-2-(3-(트리플루오로메톡시)페닐)아세트산(**중간체 7**, 214 mg, 0.86 mmol), 6-[(3*R*)-3-(피리다진-3-일아미노)피롤리딘-1-일]피리다진-3-아민(**중간체 1**, 200 mg, 0.78 mmol) 및 DIPEA(0.406 mL, 2.33 mmol)에 첨가하였다. 이어서 생성 용액을 1 h 동안 상온에서 교반하였다. 미정제 산물을 SCX 컬럼을 이용하여 이온 교환 크로마토그래피에 의해 정제하였다. 미정제 산물을 1 M 암모니아/MeOH를 이용하여 컬럼으로부터 용출하여 실리카 상에 흡착시켰다. 미정제 산물을 DCM 중 0% 내지 7% MeOH(7 M 암모니아/MeOH 함유) 용출 구배로 FCC에 의해 정제하였다. 순수한 분획을 증발 건조하여 부분입체이성질체의 혼합물을 고무로서 얻었다(150 mg). 이어서 혼합물을 용출액으로 MeOH를 이용하여 분취용 키랄 HPLC(20 μm 실리카, 50 mm 지름, 250 mm 길이)를 이용해서 분리하였다. 원하는 화합물을 함유하는 분획을 증발 건조하여 다음 화합물을 얻었다:

[0188] 첫 번째 용출된 이성질체(47.0 mg, 12%)로서 (2*R*)-2-[3-(트리플루오로메톡시)페닐]-2-메톡시-*N*-[6-[(3*R*)-3-(피리다진-3-일아미노)피롤리딘-1-일]피리다진-3-일]아세트아미드(부산물 2).

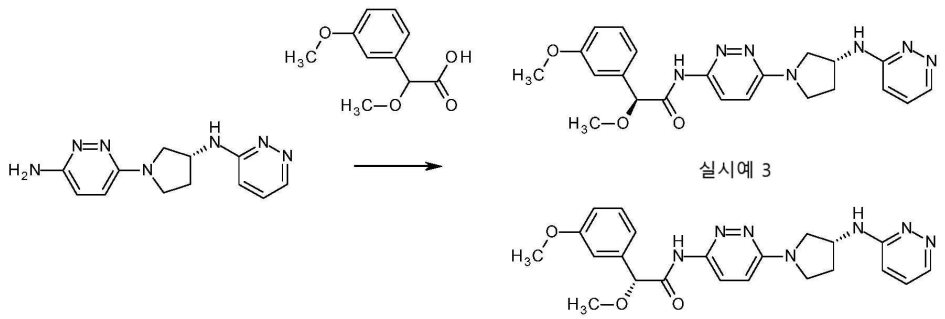
[0189] ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO, 30℃) δ 2 - 2.14 (1H, m), 2.26 - 2.43 (1H, m), 3.38 (3H, s), 3.42 (1H, m), 3.51 - 3.66 (2H, m), 3.83 (1H, m), 4.53 - 4.71 (1H, m), 5.07 (1H, s), 6.81 (1H, dd), 6.97 (1H, d), 7.08 (1H, d), 7.24 (1H, dd), 7.3 - 7.4 (1H, m), 7.48 (1H, s), 7.52 - 7.59 (2H, m), 7.90 (1H, d), 8.45 (1H, dd), 10.63 (1H, s); *m/z*: ES$^+$ [M+H]$^+$ 490.

[0190] 두 번째 용출된 이성질체(178 mg, 19%)로서 (2*S*)-2-[3-(트리플루오로메톡시)페닐]-2-메톡시-*N*-[6-[(3*R*)-3-(피리다진-3-일아미노)피롤리딘-1-일]피리다진-3-일]아세트아미드(실시예 2).

[0191] ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO, 30℃) δ 2 - 2.14 (1H, m), 2.26 - 2.43 (1H, m), 3.38 (3H, s), 3.42 (1H, m), 3.51 - 3.66 (2H, m), 3.83 (1H, m), 4.53 - 4.71 (1H, m), 5.07 (1H, s), 6.81 (1H, dd), 6.97 (1H, d), 7.08 (1H, d), 7.24 (1H, dd), 7.3 - 7.4 (1H, m), 7.48 (1H, s), 7.52 - 7.59 (2H, m), 7.90 (1H, d), 8.45 (1H, dd), 10.63 (1H, s); *m/z*: ES$^+$ [M+H]$^+$ 490.

[0192] 실시예 3

[0193] **(2*S*)-2-메톡시-2-(3-메톡시페닐)-*N*-[6-[(3*R*)-3-(피리다진-3-일아미노)피롤리딘-1-일]피리다진-3-일]아세트아미드**



실시예 3

부산물 3

[0194]

[0195] HATU(355 mg, 0.93 mmol)를 21℃에서 DMF(4 mL) 중 2-메톡시-2-(3-메톡시페닐)아세트산(**중간체 8**, 168 mg, 0.86 mmol), 6-[(3*R*)-3-(피리다진-3-일아미노)피롤리딘-1-일]피리다진-3-아민(**중간체 1**, 200 mg, 0.78 mmol) 및 DIPEA(0.406 mL, 2.33 mmol)에 첨가하였다. 이어서 생성 용액을 1 h 동안 상온에서 교반하였다. 미정제 산물을 SCX 컬럼을 이용하여 이온 교환 크로마토그래피에 의해 정제하였다. 원하는 산물을 1 M 암모니아/MeOH를 이용하여 컬럼으로부터 용출하고 순수한 분획을 실리카 상에 흡착시켰다. 미정제 산물을 DCM 중 0% 내지 7% MeOH(7 M 암모니아/MeOH 함유) 용출 구배로 FCC에 의해 정제하였다. 순수한 분획을 증발 건조하여 부분입체이성질체의 혼합물을 고체로서 얻었다. 미정제 산물을 100 mL/분으로 키랄 분취용 HPLC(Phenomonex Lux C2 컬럼, 20 μm 실리카, 50 mm 지름, 250 mm 길이), EtOH/MeOH 50/50에 의해 정제하였다. 원하는 화합물을 함유하는 분획을 증발 건조하여 다음 화합물을 얻었다:

[0196] 첫 번째 용출된 이성질체(80 mg, 24%)로서 (2*S*)-2-메톡시-2-(3-메톡시페닐)-*N*-[6-[(3*R*)-3-(피리다진-3-일아미노)피롤리딘-1-일]피리다진-3-일]아세트아미드(실시예 3).

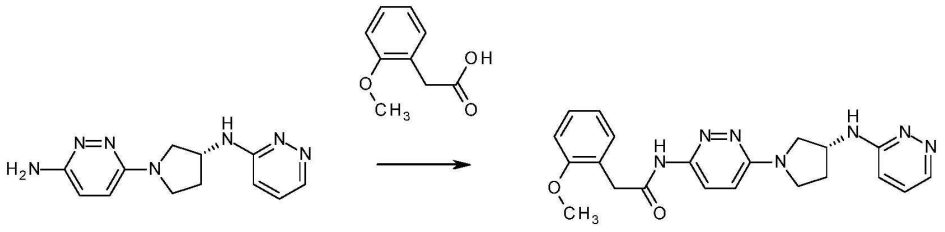
[0197] ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO, 30℃) δ 1.95 - 2.16 (1H, m), 2.21 - 2.42 (1H, m), 3.35 (3H, s), 3.42 (1H, m), 3.52 - 3.68 (2H, m), 3.76 (3H, s), 3.82 (1H, m), 4.55 - 4.7 (1H, m), 4.95 (1H, s), 6.82 (1H, d), 6.86 - 6.93 (1H, d), 6.98 (1H, d), 7.04 - 7.15 (3H, m), 7.25 (1H, dd), 7.28 - 7.32 (1H, dd), 7.91 (1H, d), 8.46 (1H, dd), 10.47 (1H, s); *m/z*: ES$^+$ [M+H]$^+$ 436.

[0198] 두 번째 용출된 이성질체(75 mg, 22%)로서 (2*R*)-2-메톡시-2-(3-메톡시페닐)-*N*-[6-[(3*R*)-3-(피리다진-3-일아미노)피롤리딘-1-일]피리다진-3-일]아세트아미드(부산물 3).

[0199] ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO, 30℃) δ 1.95 - 2.16 (1H, m), 2.21 - 2.42 (1H, m), 3.35 (3H, s), 3.42 (1H, m), 3.52 - 3.68 (2H, m), 3.76 (3H, s), 3.82 (1H, m), 4.55 - 4.7 (1H, m), 4.95 (1H, s), 6.82 (1H, d), 6.86 - 6.93 (1H, d), 6.98 (1H, d), 7.04 - 7.15 (3H, m), 7.25 (1H, dd), 7.28 - 7.32 (1H, dd), 7.91 (1H, d), 8.46 (1H, dd), 10.47 (1H, s); *m/z*: ES$^+$ [M+H]$^+$ 436.

[0200] 실시예 4

[0201] **2-(2-메톡시페닐)-*N*-[6-[(3*R*)-3-(피리다진-3-일아미노)피롤리딘-1-일]피리다진-3-일]아세트아미드**



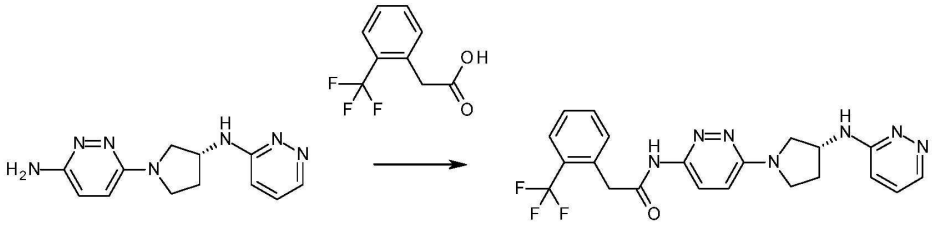
[0202]

[0203] 6-[(3*R*)-3-(피리다진-3-일아미노)피롤리딘-1-일]피리다진-3-아민(**중간체 1**, 0.03 g, 0.117 mmol) 및 (2-메톡시페닐)아세트산(0.02 g, 0.117 mmol)을 DMF(1 mL) 중에 용해시켰다. 이후, HATU(0.04 g, 0.117 mmol)를 첨가하고 반응을 5분 동안 교반하였다. 이어서 DIPEA(0.04 g, 0.291 mmol)를 한 번에 첨가하고 혼합물을 15 h 동안 r.t.에서 교반하며 두었다. 용매를 감압 하에 제거하고 미정제 산물을 실리카 상에 흡착시키고 100% DCM부터 10% MeOH 90% DCM으로의 용매 구배로 FCC에 의해 정제하였다. 분획을 조합하고 감압 하에 농축하여 무색 고무를

얻었다(30 mg). 상기 물질의 LCMS는 이것이 순수하지 않음을 나타내었으므로, 고체를 DMSO 중에 용해시키고 용출액으로 물(0.1% 포름산 함유) 및 아세토니트릴(0.1% 포름산 함유) 혼합물의 극성을 감소시키며 이용해서 분취용 HPLC(Waters C18 SunFire 컬럼, 5 ㎛ 포어 크기, 4.60 mm 지름, 50 mm 길이)에 의해 정제하였다. 원하는 화합물을 함유하는 분획을 증발 건조하고, MeOH 중에 용해시켜, MeOH로 플러싱하며 SCX 컬럼을 통과시킨 후, 산물을 MeOH 중 2 M 암모니아로 용출하였다. 용매를 감압 하에 증발시켜 2-(2-메톡시페닐)-*N*-[6-[(3*R*)-3-(피리다진-3-일아미노)피롤리딘-1-일]피리다진-3-일]아세트아미드(17 mg, 47%)를 크림색 고체로 얻었다. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO, 21.8℃) δ 2.04 - 2.12 (1H, m), 2.32 - 2.41 (1H, m), 3.44 - 3.47 (m, 1H), 3.56 - 3.68 (m, 2H), 3.73 (s, 2H), 3.79 (s, 3H), 3.85 (dd, 1H), 4.62 - 4.69 (m, 1H), 6.85 (dd, 1H), 6.93 (td, 1H), 7.01 (d, 2H), 7.17 (d, 1H), 7.23 - 7.30 (m, 3H), 8.01 (d, 1H), 8.49 (dd, 1H), 10.65 (s, 1H); *m/z*: ES$^+$ [M+H]$^+$ 406.3.

[0204] 실시예 5

[0205] ***N*-[6-[(3*R*)-3-(피리다진-3-일아미노)피롤리딘-1-일]피리다진-3-일]-2-[2-(트리플루오로메틸)페닐]아세트아미드**

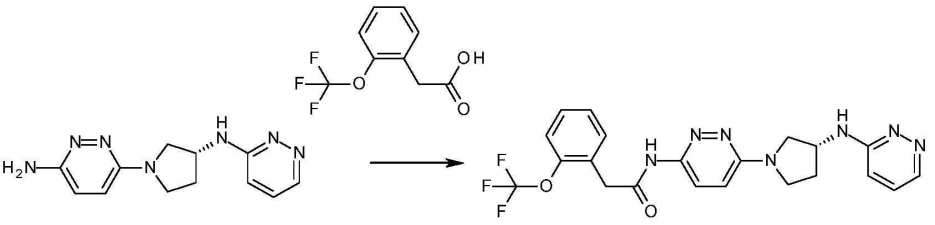
[0206] 

[0207] 건조 DMF(1 mL) 중 6-[(3*R*)-3-(피리다진-3-일아미노)피롤리딘-1-일]피리다진-3-아민(**중간체 1**, 0.041 g, 0.159 mmol), 2-[2-(트리플루오로메틸)페닐]아세트산(0.032 g, 0.159 mmol) 및 HATU(0.061 g, 0.159 mmol)의 교반 혼합물에 DIPEA(0.052 g, 0.398 mmol)를 첨가하고 혼합물을 15 h 동안 질소 분위기 하에 교반하며 방치하였다. 용매를 감압 하에 증발에 의해 제거하여 갈색 고무를 얻어 DMSO 중에 용해시키고 물(0.1% 포름산 함유) 및 아세토니트릴(0.1% 포름산 함유) 혼합물의 극성을 감소시키며 이용해서 분취용 HPLC(Waters C18 SunFire 컬럼, 5 ㎛ 포어 크기, 4.60 mm 지름, 50 mm 길이)에 의해 정제하였다. 원하는 화합물을 함유하는 분획을 증발 건조하여 *N*-[6-[(3*R*)-3-(피리다진-3-일아미노)피롤리딘-1-일]피리다진-3-일]-2-[2-(트리플루오로메틸)페닐]아세트아미드를 무색 분말로 얻었다(0.065 g, 41%).

[0208] ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO, 21.8℃) δ 2.07 - 2.12 (1H, m), 2.30 - 2.38 (1H, m), 3.48 - 3.51 (m, 1H), 3.55 - 3.66 (m, 2H), 3.83 (dd, 1H), 4.00 (s, 2H), 4.59 - 4.61 (m, 1H), 7.01 (d, 1H), 7.11 (d, 1H), 7.43 (br s, 1H), 7.47- 7.53 (m, 2H), 7.63 - 7.66 (m, 1H), 7.70 - 7.73 (m, 2H) 8.00 (d, 1H), 8.53 (br s, 1H), 10.95 (s, 1H); *m/z*: ES$^+$ [M+H]$^+$ 444.

[0209] 실시예 6

[0210] ***N*-[6-[(3*R*)-3-(피리다진-3-일아미노)피롤리딘-1-일]피리다진-3-일]-2-[2-(트리플루오로메톡시)페닐]아세트아미드**

[0211] 

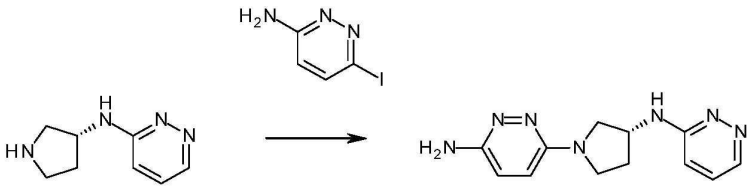
[0212] 2-[2-(트리플루오로메톡시)페닐]아세트산(0.04 g, 0.159 mmol) 및 6-[(3*R*)-3-(피리다진-3-일아미노)피롤리딘-1-일]피리다진-3-아민(**중간체 1**, 0.04 g, 0.159 mmol)를 둥근 바닥 플라스크 내로 칭량하였다. DMF(1 mL) 및 HATU(0.06 g, 0.159 mmol)을 첨가하고 5분 동안 교반하여 용해를 시행하였다. 이어서 DIPEA(0.05 g, 0.398 mmol)를 한 번에 첨가하고 혼합물을 15시간 동안 실온에서 교반하며 두었다. 용매를 감압 하에 제거하고 실리카 상에 흡착시키고 100% DCM 최대 10% 메탄올계 암모니아:90% DCM으로 용출하는 플래시 컬럼 크로마토그래피 구배

에 의해 정제하여 표제 화합물을 담황색 고체로 용출하였다(50 mg). LCMS 분석은 하이드록시 벤조트리아졸(HOBt)의 5% 불순물이 존재함을 나타내었다. 고체를 DMSO(1 mL) 중에 용해시키고 질량 유도 LCMS(Waters C18 SunFire 컬럼, 5 μm 포어 크기, 4.60 mm 지름, 50 mm 길이)에 의해 정제하였다. 유속은 25 mL/분이었고 물 및 아세토니트릴의 이동상은 0.1% 포름산을 함유하였다. 95% 물:5% 아세토니트릴에서 용출을 시작하여 1.5분 동안 유지한 후 10분에 걸쳐 5% 물:95% 아세토니트릴까지 높였다. 이어서 이를 30초 동안 유지하여, 전체 수행 길이가 12분이 되었다. 적절한 분획을 SCX 카트리지에 첨가하고 메탄올로 세척한 후, 표제 화합물을 메탄올 중 2 M 암모니아로 용출하였다. 용매를 감압 하에 증발시켜 *N*-[6-[(3*R*)-3-(피리다진-3-일아미노)피롤리딘-1-일]피리다진-3-일]-2-[2-(트리플루오로메톡시)페닐]아세트아미드를 흰색 고체로 제공하였다(0.038 g, 51%).

[0213] ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO, 21.8℃) δ 2.01 - 2.08 (1H, m), 2.28 - 2.37 (1H, m), 3.42 (dd, 1H), 3.52 - 3.64 (m, 2H), 3.81 (dd, 1H), 3.85 (s, 2H), 4.60 - 4.63 (m, 1H), 6.81 (dd, 1H), 6.98 (d, 1H), 7.13 (d, 1H), 7.24 (dd, 1H), 7.32 - 7.43 (m, 3H), 7.47 - 7.49 (m, 1H) 7.95 (d, 1H), 8.45 (dd, 1H), 10.90 (s, 1H); *m/z*: ES$^+$ [M+H]$^+$ 460.

[0214] 중간체 1

[0215] **6-[(3*R*)-3-(피리다진-3-일아미노)피롤리딘-1-일]피리다진-3-아민**



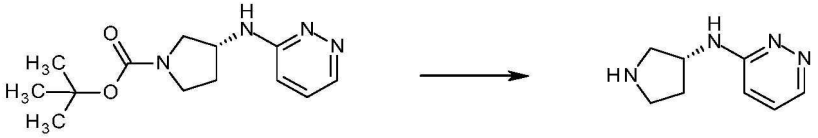
[0216]

[0217] (2*S*,4*R*)-4-하이드록시피롤리딘-2-카복실산(0.240 g, 1.83 mmol)을 건조 DMSO(12 mL) 중 (*R*)-*N*-(피롤리딘-3-일)피리다진-3-아민(**중간체 2**, 1.5 g, 9.13 mmol)의 용액에 첨가하였다. 이어서, 다음으로 요오드화구리(I)(0.174 g, 0.91 mmol)에 이어 6-요오도피리다진-3-아민(**중간체 3**, 2.62 g, 11.88 mmol), 다음으로 인산칼륨(5.82 g, 27.40 mmol)을 첨가하였다. 그 뒤, 반응 혼합물을 24 h 동안 질소 하에 r.t.에서 교반하였다. 혼합물을 MeOH(12 mL) 및 물(12 mL)로 희석하였다. 혼합물을 아세트산으로 중화하여, 고체가 침전하도록 유도하고 수집하였다. 액체 층을 SCX 단계에서 이용하기 위해 경사분리하고 고체를 MeOH(2×5 mL)로 세척하고, 세척 층을 이전 단계로부터의 액체 층과 조합하고, 20 g SCX 카트리지를 통과시켜 MeOH로 플러싱하여 불순물을 제거한 뒤 MeOH 중 1 N 암모니아 용액으로 플러싱하여 산물을 얻었다. 용매를 감압 하에 증발시키고 잔류물을 DCM 중 0% 내지 10%(MeOH 중 7 N 암모니아) 용출 구배로 FCC에 의해 정제하였다. 순수한 분획을 증발 건조하여 6-[(3*R*)-3-(피리다진-3-일아미노)피롤리딘-1-일]피리다진-3-아민(1.220 g, 52%)을 고무로 얻었다.

[0218] ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO, 30℃) δ 1.99 (1H, m), 2.22 - 2.37 (1H, m), 3.44 (1H, m), 3.53 (1H, m), 3.73 (1H, m), 4.05 (1H, m), 4.55 - 4.66 (1H, m), 5.43 (2H, s), 6.75 (1H, d), 6.79 - 6.88 (2H, m), 7.04 (1H, d), 7.23 (1H, dd), 8.44 (1H, dd); *m/z*: ES+ [M+H]+ 258.

[0219] 중간체 2

[0220] ***N*-[(3*R*)-피롤리딘-3-일]피리다진-3-아민**



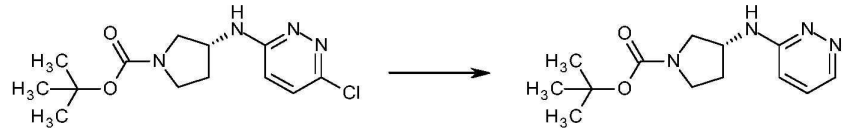
[0221]

[0222] TFA(12.00 mL)를 DCM(80 mL) 중 *tert*-부틸 (3*R*)-3-(피리다진-3-일아미노)피롤리딘-1-카복실레이트(**중간체 3**, 2.2 g, 8.32 mmol)에 첨가하고 노란색 용액을 1 h 동안 상온에서 교반하며 방치하였다. 미정제 산물을 SCX 컬럼을 이용해서 이온 교환 크로마토그래피에 의해 정제하였다. 원하는 산물을 7 M 암모니아/MeOH를 이용해서 컬럼으로부터 용출하고 순수한 분획을 증발 건조하여 *N*-[(3*R*)-피롤리딘-3-일]피리다진-3-아민(1.39 g, 102%)을 노란색 고무로 얻었다.

[0223] ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO, 30℃) δ 1.57 (1H, m), 1.91 - 2.1 (1H, m), 2.61 (1H, m), 2.78 (1H, m), 2.89 (1H, m), 3.04 (1H, m), 4.14 - 4.38 (1H, m), 6.76 (2H, m), 7.20 (1H, d), 8.40 (1H, d); *m/z*: ES$^+$ [M+H]$^+$ 165.

[0224] 중간체 3

[0225] ***tert*-부틸 (3*R*)-3-(피리다진-3-일아미노)피롤리딘-1-카복실레이트**



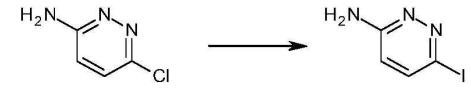
[0226]

[0227] 탄소 상 팔라듐 10%(0.810 g, 7.61 mmol)를 질소 하에 21℃에서 에탄올(200 mL) 중 *tert*-부틸 (3*R*)-3-[(6-클로로피리다진-3-일)아미노]피롤리딘-1-카복실레이트(**중간체 5**, 7 g, 15.23 mmol) 및 포름산암모늄(14.40 g, 228.44 mmol)에 첨가하였다. 생성 혼합물을 3 h 동안 환류하며 교반하였다. 반응 혼합물을 셀라이트를 통해 여과하고 MeOH/DCM으로 철저히 세척하였다. 미정제 산물을 DCM 중 0% 내지 15% MeOH 용출 구배로 FCC에 의해 정제하였다. 순수한 분획을 증발 건조하여 *tert*-부틸 (3*R*)-3-(피리다진-3-일아미노)피롤리딘-1-카복실레이트(2.230 g, 55%)를 노란색 고체로 얻었다.

[0228] ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO, 30℃) δ 1.40 (9H, s), 1.86 (1H, m), 2.16 (1H, m), 3.29 - 3.46 (3H, m), 3.60 (1H, m), 4.43 (1H, m), 6.81 (1H, dd), 7.00 (1H, d), 7.24 (1H, dd), 8.45 (1H, dd); *m/z*: ES$^+$ [M+H]$^+$ 265.

[0229] 중간체 4

[0230] **6-요오도피리다진-3-아민.**



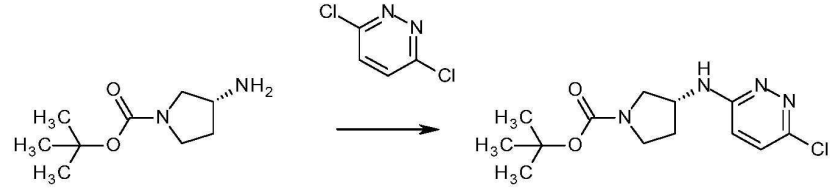
[0231]

[0232] 6-클로로피리다진-3-아민(3.7 g, 28.56 mmol)을 환류 응축기 및 자기 교반-막대가 장착된 100-mL 둥근 바닥 플라스크에 충전하였다. 이어서 여기에 요오드화수소(수중 57 wt% 용액, 20 mL, 265.96 mmol)를 첨가하고, 생성된 진갈색 용액을 가열하여 온화하게 환류하고 6 h 동안 교반하며 방치하였다. 혼합물을 r.t.까지 냉각하고 미정제 고체를 여과 제거하여 필터 케이크 상의 반응 용기를 추가 부피의 빙냉수(2×약 30 mL)로 헹구었다. 생성 고체를 에틸 아세테이트 및 2 N aq. 수산화나트륨 간에 분획화하고, 유기 층을 aq. 염수로 세척하고, 건조하고, 여과하고, 감압 하에 증발시켜 6-요오도피리다진-3-아민(4.10 g, 65%)을 고체로 산출하였다.

[0233] ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO, 27℃) δ 6.52 (2H, s), 6.55 (1H, d), 7.54 (1H, d).

[0234] 중간체 5

[0235] ***tert*-부틸 (3*R*)-3-[(6-클로로피리다진-3-일)아미노]피롤리딘-1-카복실레이트**



[0236]

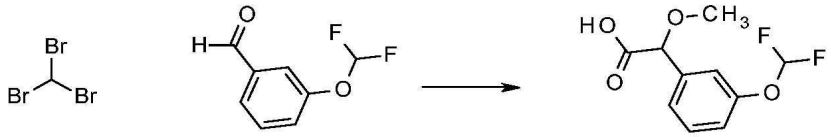
[0237] DIPEA(22.44 mL, 128.86 mmol)를 질소 하에 21℃에서 NMP(150 mL) 중 3,6-디클로로피리다진(6.40 g, 42.95 mmol), *tert*-부틸 (3*R*)-3-아미노피롤리딘-1-카복실레이트(8 g, 42.95 mmol)에 첨가하였다. 혼합물을 24 h 동안 150℃에서 교반하였다. 반응 혼합물을 EtOAc(400 mL)로 희석하고, 물(200 mL)로 2회 세척하였다. 유기층을 Na_2SO_4 상에서 건조하고, 여과하고, 실리카 상에 흡착시켰다. 미정제 산물을 헵탄 중 20% 내지 70% EtOAc의 용출 구배로 FCC에 의해 정제하였다. 순수한 분획을 증발 건조하여 *tert*-부틸 (3*R*)-3-[(6-클로로피리다진-3-일)아미

노]피롤리딘-1-카복실레이트(7.10 g, 55%)을 분홍색/빨간색 고체로 얻었다.

[0238] ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO, 30℃) δ 1.40 (9H, s), 1.86 (1H, m), 2.15 (1H, m), 3.16 (1H, m), 3.33 - 3.49 (2H, m), 3.59 (1H, m), 4.38 (1H, m), 6.91 (1H, d), 7.31 (1H, d), 7.38 (1H, d); *m/z*: ES$^-$ [M-H]$^-$ 297.

[0239] 중간체 6

[0240] **2-[3-(디플루오로메톡시)페닐]-2-메톡시아세트산**



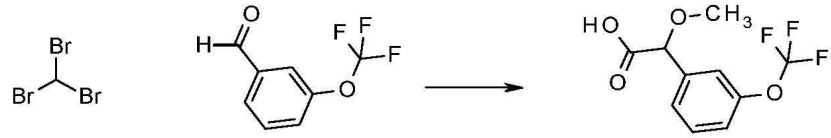
[0241]

[0242] 고체 수산화칼륨(5.38 g, 95.86 mmol)을 0℃에서 3-(디플루오로메톡시)벤즈알데하이드(3 g, 17.43 mmol), 브로모포름(1.829 mL, 20.91 mmol) 및 무수 MeOH(25 mL)의 교반 용액에 1 h에 걸쳐 조금씩 첨가하였다. 냉각조를 제거하고, 반응을 상온에서 교반하였다(강한 발열 반응이 시작됨). 반응을 하룻밤 동안 교반하며 방치하였다. 무기 고체를 여과 제거하고 MeOH로 세척하였다. 여액을 작은 부피까지 진공 중에 농축하고, 물(100 mL)로 희석하고, Et_2O로 2회 세척하고(2×50 mL) 37% HCl을 천천히 첨가하여 pH 2까지 산성화하였다. 혼합물을 에틸 아세테이트로 추출하였다(3×50 mL). 유기층을 Na_2SO_4 상에서 건조하고, 여과하고, 증발시켜 미정제 산물을 얻었다. 미정제 산물을 0.5% 포름산 함유 헵탄 중 0% 내지 60% 에틸 아세테이트의 용출 구배로 FCC에 의해 정제하였다. 순수한 분획을 증발 건조하여 2-[3-(디플루오로메톡시)페닐]-2-메톡시아세트산(1.710 g, 42%)을 고무로 얻었다.

[0243] ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d6, 30℃) δ 3.33 (3H, s), 4.82 (1H, s), 7.16 (2H, dd), 7.28 (1H, d), 7.23 (1H, t), 7.42 - 7.47 (1H, m), 12.93 (1H, s); *m/z*: ES$^-$ [M-H]$^-$ 231.25.

[0244] 중간체 7

[0245] **2-메톡시-2-[3-(트리플루오로메톡시)페닐]아세트산**



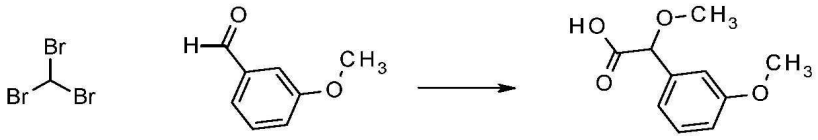
[0246]

[0247] MeOH(10 mL) 중 수산화칼륨(1.851 g, 33.00 mmol) 용액을 0℃에서 MeOH(5.00 mL) 중 3-(트리플루오로메톡시)벤즈알데하이드(1.141 g, 6 mmol) 및 브로모포름(0.630 mL, 7.20 mmol)의 교반 혼합물에 일부씩 2 h에 걸쳐 첨가하였다. 이어서 혼합물이 r.t.까지 가온되도록 두고 하룻밤 동안 교반하며 방치하였다. 흰색 침전이 반응 혼합물에 형성되었다. 반응을 하룻밤 동안 방치하였다. 고체를 감압 하에 여과하고 MeOH(15 mL)로 헹구었다. 여액 용액을 짙은 흰색 페이스트로 증발시킨 후 수중(50 mL) 재용해하였다. 이어서 이를 Et_2O(50 mL)로 세척한 후 수성상을 pH 2까지 산성화하여(약 5 mL 2 M HCl 용액) 혼탁 수성층을 얻었다. 수성상을 에틸 아세테이트로 추출하였다(3×50 mL). 조합한 유기물을 무수 황산마그네슘 상에서 건조하고 여과한 후 용매를 감압 하에 증발시켜 투명 오일을 얻었다. 미정제 산물을 헵탄 중 10% 내지 50% 에틸 아세테이트의 용출 구배로 FCC에 의해 정제하였다. 순수한 분획을 증발 건조하여 2-메톡시-2-[3-(트리플루오로메톡시)페닐]아세트산(0.832 g, 55%)을 무색 오일로 얻었다.

[0248] ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$, 30℃) δ 3.47 (3H, s), 4.81 (1H, s), 7.2 - 7.24 (1H, m), 7.33 (1H, s), 7.37 - 7.46 (2H, m); *m/z*: ES$^-$ [M-H]$^-$ 249.4.

[0249] 중간체 8

[0250] **2-메톡시-2-(3-메톡시페닐)아세트산**

[0251] 

[0252] MeOH(10 mL) 중 수산화칼륨(2.267 g, 40.40 mmol) 용액을 0℃에서 MeOH(5.00 mL) 중 3-메톡시벤즈알데하이드(1 g, 7.34 mmol) 및 브로모포름(0.771 mL, 8.81 mmol)의 교반 혼합물에 조금씩 2 h에 걸쳐 첨가하였다. 이어서 혼합물을 r.t.까지 가온되도록 두고 하룻밤 동안 교반하며 방치하였다. 고체를 감압 하에 여과하고, 고체를 MeOH(15 mL)로 헹구었다. 여액을 짙은 흰색 페이스트로 증발시킨 후 수중(50 mL) 재용해하였다. 이어서 이를 Et_2O(50 mL)로 세척한 후 수성 부분을 pH = 2까지 산성화하였다(약 5 mL 2 M HCl 용액). 그 뒤 수성상을 에틸 아세테이트로 추출하였다(3×, 50 mL). 조합한 유기물을 무수 황산마그네슘 상에서 건조하고 여과한 후 용매를 감압 하에 증발시켜 2-메톡시-2-(3-메톡시페닐)아세트산을 노란색 오일로 얻고(1.4 g, 97%) 추가 정제 없이 이용하였다.

[0253] ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d6, 30℃) δ 3.18 (3H, s), 3.75 (3H, s), 4.74 (1H, s), 6.82 - 7.05 (3H, m), 7.29 (1H, m), 12.78 (1H, s).

[0254] 생물학적 검정

[0255] 다음 검정을 이용해서 본 발명의 화합물의 효과를 측정하였다: a) GLS 효소 역가 검정; b) GLS 세포 역가 검정; c) GLS 세포 증식 검정. 검정의 기재 동안, 일반적으로,

[0256] i. 다음 약어를 이용하였다: CO_2 = 이산화탄소; DMEM = 둘베코 변형 이글 배지(Dulbecco's Modified Eagle Medium); DMSO = 디메틸 설폭시드; EDTA = 에틸렌디아민테트라아세트산; EGTA = 에틸렌 글리콜 테트라아세트산; FCS = 우태 혈청; h = 시간(들); NBS = 비-결합 표면; SDS = 나트륨 도데실 설페이트; TRIS = 트리스(하이드록시메틸)아미노메탄.

[0257] ii. IC_{50} 값은 Genedata에서 스마트 피팅 모델을 이용하여 계산하였다. IC_{50} 값은 생물학적 활성의 50%를 억제한 평가 화합물의 농도였다.

[0258] 검정 a): GLS 효소 역가 검정

[0259] 글루타메이트 옥시다제/AmplexRed 커플링된 검정을 이용하여 화합물이 시험관내 GLS1에 결합하고 그 활성을 억제하는 능력을 측정하였다. 대장균에서 발현된 6His 태그화된 GLS 단백질(아미노산 63~669)을 정제하고, 분취물을 -80℃에 보관하였다. GLS1을 2×작업 농도까지 희석하고 r.t.에서 인큐베이션하여 사량체/이량체 형태가 정상 상태에 도달하도록 두었다. 검정 측정을 50 mM TRIS pH 7.8, 100 mM $NaPO_4$, pH 7.8, 0.001% v/v Tween20을 포함하는 완충액 중에 수행하였다. 정제된 재조합 GLS1 단백질을 검정 완충액 중에 12 nM까지 희석하고 30분 동안 r.t.에서 사전-인큐베이션하였다. 평가 화합물을 100% DMSO 중 희석에 의해 제조하여 12 지점 농도 반응에 대한 정확한 용량 범위를 얻고 적절한 부피(2.5 nl 내지 60 nl)를 Labcyte Echo 555 어쿠스틱 분배장치를 이용해서 384 웰 마이크로 검정 플레이트(Greiner 제품 코드 784900) 내로 분배하였다. DMSO 농도는 DMSO 용액으로 역충전하여 2%로 유지하였다. 이어서 3 ㎕의 희석된 GLS1 단백질(12 nM)을 BioRaptr 자동화 분배장치(Beckman-Coulter)를 이용하여 각 웰 내로 분배하고 r.t.에서 15분 동안 인큐베이션하였다. 이어서 검정 완충액 중에 희석된 3 ㎕의 100 mM 글루타민을 첨가하고, 반응을 60분 동안 r.t.에서 인큐베이션하였다. 그 뒤 반응을 100 mM TRIS pH 7.5 중 45 μM 6-(2-브로모에티닐)-2,3-디메틸-퀴나졸린-4-온, 75 μM Amplex Red, 0.375 단위/mL 홀스래디쉬 퍼옥시다제, 0.12 단위/mL 글루타메이트 옥시다제의 첨가에 의해 중지시켰다. 암소 내 실온에서 30분 후, 플레이트를 535/590 nm 광학 필터를 이용해서 Perkin Elmer EnVision 상에서 판독하고 미가공 데이터를 Genedata를 이용해서 분석하여 IC_{50} 값을 생성하였다. 검정 성분에 대한 비특이적 효과를 배제하기 위해 6His 태그화된 GLS 단백질 및 글루타민이 검정 완충액으로 대체된 검정의 인공물 버전을 또한 이용하였다.

[0260] 검정 b): GLS 세포 역가 검정

[0261] 화합물을 세포 글루타메이트 고갈을 측정하는 PC3 커플링된 검정을 이용하여 세포 GLS 활성을 억제하는 이의 능

력에 대해 평가하였다. 평가 화합물을 100% DMSO 중 희석에 의해 제조하여 12 지점 농도 반응에 대한 정확한 용량 범위를 얻고 적절한 부피(5 nl 내지 120 nl)를 Labcyte Echo 555 어쿠스틱 분배장치를 이용해서 384웰 마이크로 검정 플레이트(Corning 제품 코드 3712) 내로 분배하였다. DMSO 농도를 DMSO 용액으로 역충전하여 0.3%로 유지하였다. PC3 세포를 페놀 비함유 DMEM, 10% 투석 FCS, 2 mM 글루타민 중에 성장시킨 후 트립신 처리에 의한 분산물을 분배된 화합물을 함유하는 384웰 검정 플레이트 내로 직접 40 ㎕의 성장 배지 중 웰 당 5.6 x10^3개 세포로 플레이트 접종하였다. 37℃에서 6 h 동안 인큐베이션 후, 5% CO_2 성장 배지를 흡입하고, 세포를 10 mM TRIS pH 7.4, 100 mM NaCl, 1 mM EDTA, 1 mM EGTA, 1 mM NaF, 20 mM $Na_4P_2O_7$, 2 mM Na_3VO_4, 1% Triton X-100, 10% 글리세롤, 0.1% SDS 및 0.5% 데옥시콜레이트를 함유하는 15 ㎕의 완충액 중에 용해시켰다. 이어서 4 ㎕의 세포 용해물을 384웰 NBS 플레이트(Corning 제품 코드 3575)로 옮기고 35 ㎕의 27.5 μM Amplex Red, 0.1375 U/mL 홀스래디쉬 퍼옥시다제, 0.044 U/mL 글루타메이트 옥시다제, 100 mM TRIS pH 7.5를 첨가하였다. 암소 내 실온에서 30분 후, 플레이트를 535/590 nm 광학 필터를 이용해서 Perkin Elmer EnVision 상에서 판독하고 미가공 데이터를 전용 소프트웨어를 이용해서 분석하여 IC_{50} 값을 생성하였다.

[0262] 검정 c): GLS 세포 증식 검정

[0263] 화합물이 세포 성장을 억제하는 능력을 384웰 플레이트 NCI-H1703 세포 증식 검정을 이용하여 측정하였다. NCI-H1703 세포를 페놀 레드 비함유 RPMI1640, 10% FCS 및 2 mM 글루타민 중에 성장시키고 투명 바닥 384웰 검정 플레이트(Corning 제품 코드 3712) 내로 40 ㎕의 성장 배지 중 웰 당 750개 세포의 밀도로 씨드 접종하고 37℃, 5% CO_2에서 24 h 동안 인큐베이션하였다. 평가 화합물을 100% DMSO 중 희석에 의해 제조하여 12 지점 농도 반응에 대한 정확한 용량 범위를 얻고 적절한 부피(5 nl 내지 120 nl)를 플레이트 접종된 세포를 함유하는 검정 플레이트 내로 직접 분배하였다. DMSO 농도를 DMSO 용액으로 역충전하여 0.3%로 유지하였다. 플레이트를 37℃, 5% CO_2에서 5일 동안 인큐베이션하고, Sytox Green 및 사포닌(Saponin)을 각각 2 μM 및 0.25%의 최종 농도까지 첨가하고 6 h 동안 인큐베이션한 후 분석하였다. 플레이트를 488 nm 여기 및 방출에 대한 FITC 필터 설정(500 nm 내지 530 nm)을 이용해서 Acumen eX3(TTP Labtech) 상에서 판독하였다. IC_{50} 값을 GeneData 소프트웨어 분석을 이용해서 0일 성장의 최대 억제에 대한 곡선 피팅에 의해 계산하였다.

[0264] 검정 a) 내지 c)에서 본 발명의 실시예의 역가를 표 1에 나타낸다. 결과는 다회 평가의 평균일 수 있고, 상이한 실시예는 상이한 수의 평가로 평가했을 수 있다. 결과를 소정 소수점 자리까지 반올림한다.

표 1

[0265] 검정 a) 내지 c)에서 실시예 1 내지 4에 대한 역가 데이터

실시예	검정 a) GLS 효소 역가 검정 IC_{50}(μM)	검정 b) GLS 세포 역가 검정 IC_{50}(μM)	검정 c) GLS 세포 증식 검정 (μM)
1	0.0247	0.001	0.009
2	0.0957	0.001	0.011
3	0.0298	0.001	0.003
4	0.0309	0.007	0.043
5	0.0306	0.001	0.003
6	0.0252	0.001	0.012