



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0117067
(43) 공개일자 2020년10월13일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 471/04 (2006.01) A61K 31/437 (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01) C07D 239/42 (2006.01)
C07D 239/84 (2006.01)

(52) CPC특허분류
C07D 471/04 (2013.01)
A61K 31/437 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2020-7028352(분할)

(22) 출원일자(국제) 2013년07월11일
심사청구일자 없음

(62) 원출원 특허 10-2015-7003581
원출원일자(국제) 2013년07월11일
심사청구일자 2018년07월05일

(85) 번역문제출일자 2020년09월29일

(86) 국제출원번호 PCT/US2013/050106

(87) 국제공개번호 WO 2014/011900
국제공개일자 2014년01월16일

(30) 우선권주장
61/746,666 2012년12월28일 미국(US)
61/670,379 2012년07월11일 미국(US)

(71) 출원인
블루프린트 메디신즈 코퍼레이션
미국, 02139 메사추세츠, 캠프릿지, 시드니 스트리트 45

(72) 발명자
비폴코, 닐, 주니어.
미국, 메사추세츠 01776, 서드베리 릴리안 애비뉴 15.
브루즈만스, 나타스자
미국, 메사추세츠 02118, 보스톤, 에이피티 2, 콩코드 스퀘어 43.
(뒷면에 계속)

(74) 대리인
이원희

전체 청구항 수 : 총 19 항

(54) 발명의 명칭 **섬유아세포 성장인자 수용체의 저해제**

(57) 요약

FGFR의 저해제, 이러한 화합물을 포함하는 억제학적 조성물 및 티로신 키나제의 활성을 저해하는 이러한 화합물 및 조성물의 사용방법이 본 명세서에 기재된다.

(52) CPC특허분류

A61K 31/519 (2013.01)

C07D 239/42 (2013.01)

C07D 239/84 (2013.01)

(72) 발명자

허더스, 브라이언, 엘.

미국, 메사추세츠 02139, 캠프릿지, 체스트넛 스트리트250.

김, 요셉, 엘.

미국, 메사추세츠 01778, 웨일랜드, 그린 웨이 20.

미두투루, 찬드라세카르, 브이.

미국, 메사추세츠 02138, 캠프릿지, 에이퍼터 2, 하버드 스트리트 348.

웬그로스키, 스티븐 마크

미국, 메사추세츠 02139, 캠프릿지, 에이퍼터 6, 하버드 스트리트 266.

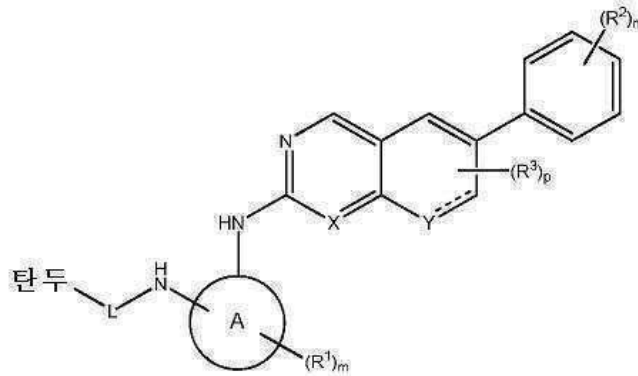
명세서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염:

[화학식 I]



상기 화학식 I에서,

고리 A는 3 내지 8원 아릴, 헤테로아릴, 헤테로사이클릭, 또는 지환족기이고;

X는 CH 또는 N이고;

Y는 CH이고;

L은 $-[C(R^5)(R^6)]_q-$ 이되, 각각의 R^5 및 R^6 은 독립적으로 H 또는 C_{1-6} 알킬이고, q는 0 내지 4이며;

각각의 R^1 및 R^2 는 독립적으로 할로, 사이아노, 선택적으로 치환된 C_{1-6} 알콕시, 하이드록시, 옥소, 아미노, 아미도, 알킬 유레아, 선택적으로 치환된 C_{1-6} 알킬, 또는 선택적으로 치환된 C_{3-6} 헤테로사이클릴이고;

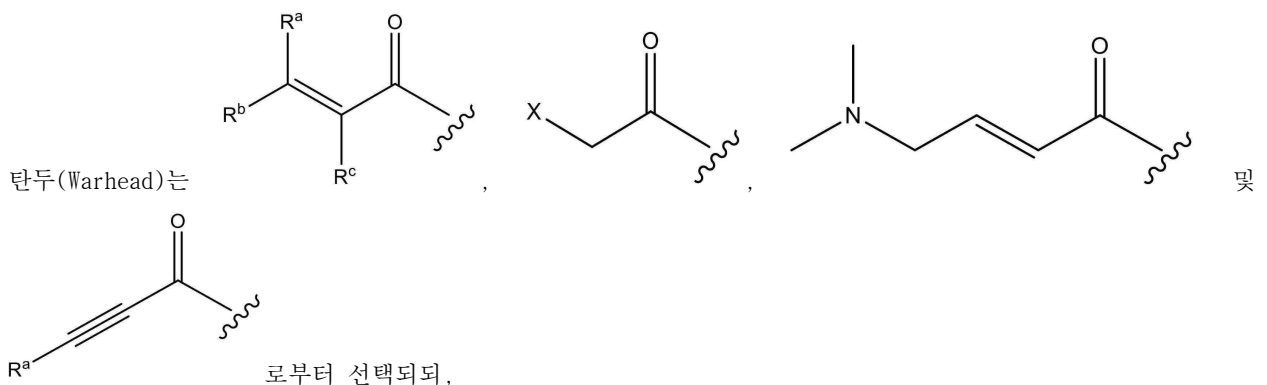
각각의 R^3 는 독립적으로 할로, 사이아노, 선택적으로 치환된 C_{1-6} 알콕시, 아미노, 아미도, 알킬 유레아, 선택적으로 치환된 C_{1-6} 알킬, 또는 선택적으로 치환된 C_{3-6} 헤테로사이클릴이고;

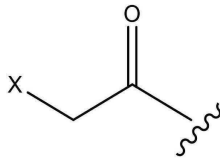
m은 0 내지 3이고;

n은 4이고;

p는 0 내지 2이고;

점선 및 실선으로 나타나 있으며 Y에 인접한 결합은 이중결합이고; 및





상기 X 는 할로 또는 트라이플레이트 이탈기이고; 및

각각의 R^a , R^b , 및 R^c 는 독립적으로 H, 치환 또는 비치환된 C_{1-4} 알킬, 또는 치환 또는 비치환된 C_{3-4} 사이클로알킬이다.

청구항 2

제1항에 있어서,

X 는 N이고, Y 는 CH인 것을 특징으로 하는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서,

고리 A는 3 내지 8원 아릴 또는 헤테로아릴 기인 것을 특징으로 하는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 4

제3항에 있어서,

고리 A는 페닐, 피롤릴, 퓨라닐, 티오펜일, 이미다졸릴, 옥사졸릴, 티아졸릴, 트리아졸릴, 피라졸릴, 피리디닐, 피라지닐, 피리다지닐, 또는 피리미디닐 기인 것을 특징으로 하는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 5

제1항 또는 제2항에 있어서,

고리 A는 3 내지 8원 헤테로사이클릭 기인 것을 특징으로 하는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 6

제5항에 있어서,

고리 A는 피페리딘, 피페리딘, 피페라진, 또는 모폴린인 것을 특징으로 하는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 7

제1항 또는 제2항에 있어서,

고리 A는 3 내지 8원 지환족기인 것을 특징으로 하는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 8

제1항에 있어서,

각각의 R^2 는 독립적으로 할로 또는 메톡시인 것을 특징으로 하는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 9

제1항에 있어서,

2개의 R^2 는 클로로이고, 2개의 R^3 는 메톡시인 것을 특징으로 하는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 10

제1항에 있어서,

R^1 은 메틸인 것을 특징으로 하는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

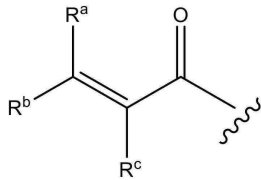
청구항 11

제1항에 있어서,

q는 0인 것을 특징으로 하는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 12

제1항에 있어서,

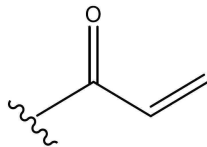


탄두(Warhead)는

인 것을 특징으로 하는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 13

제1항에 있어서,

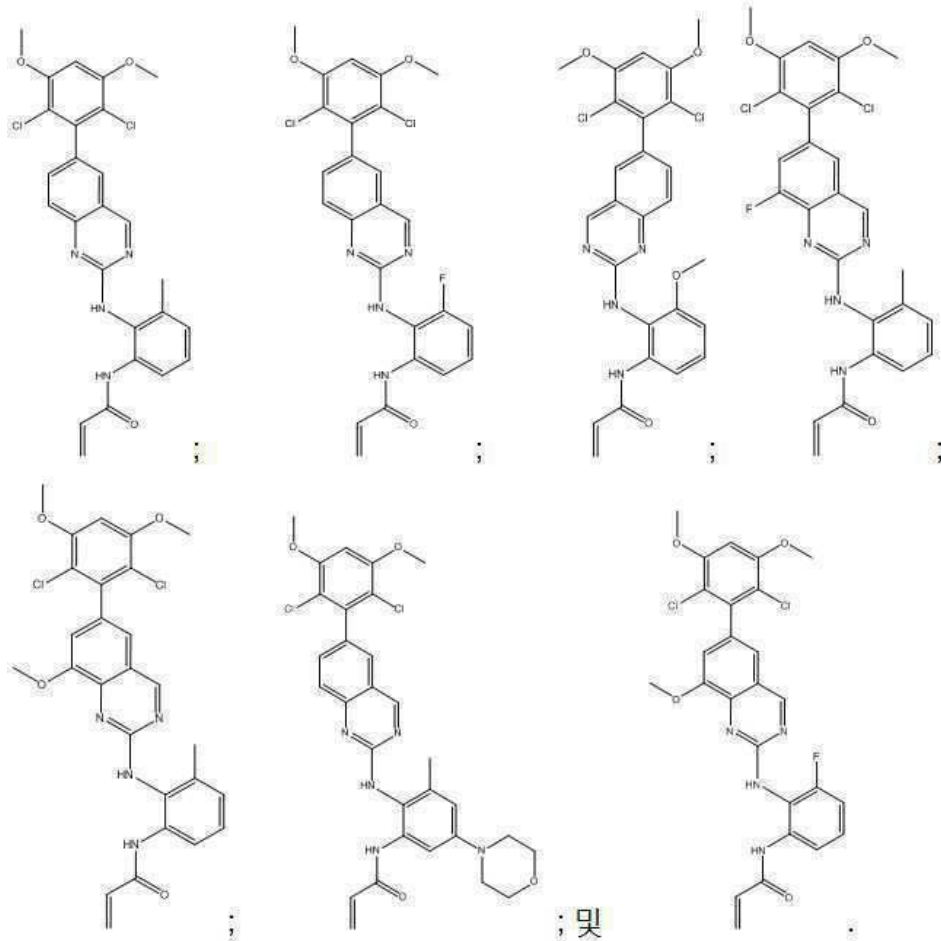


탄두(Warhead)는

인 것을 특징으로 하는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 14

하기로부터 선택되는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염:



청구항 15

제1항 또는 제14항의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 치료적 유효량으로 포함하는, FGFR-4에 의해 매개된 병태 치료용 약학적 조성물.

청구항 16

제1항 또는 제14항의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 치료적 유효량으로 포함하는, FGF19의 과발현을 특징으로 하는 병태 치료용 약학적 조성물.

청구항 17

제1항 또는 제14항의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 치료적 유효량으로 포함하는, 증폭된 FGF19를 특징으로 하는 병태 치료용 약학적 조성물.

청구항 18

제1항 또는 제14항의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 치료적 유효량으로 포함하는, FGF19의 과발현 또는 증폭을 특징으로 하는 간세포 암종 치료용 약학적 조성물.

청구항 19

제1항 또는 제14항의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 치료적 유효량으로 포함하는, 유방암, 난소암, 폐암, 육종, 간암 및 고지혈증으로부터 선택되는 병태 치료용 약학적 조성물이되, 상기 병태는 FGF19의 과발현 또는 증폭을 특징으로 하는 약학적 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 우선권의 주장

[0002] 본 특허 출원은 2012년 7월 11일 출원된 미국 특허 출원 제61/670,379호 및 2012년 12월 28일 출원된 미국 특허 출원 제61/746,666호로부터의 우선권을 주장하며, 이들 기초출원의 각각은 그들의 전문이 참조로서 포함된다.

[0003] 본 발명의 기술분야

[0004] 티로신 키나제의 활성을 저해하기 위한 화합물, 이러한 화합물의 제조방법, 약제학적 조성물 및 이러한 화합물 및 조성물의 사용방법이 본 명세서에 기재되어 있다.

배경 기술

[0005] 섬유아세포 성장인자 수용체 4(FGFR-4)는 인간에서 FGFR-4 유전자에 의해 암호화된 단백질이다. 이 단백질은 아미노산 서열이 진화 내내 구성원 간에 고도로 보존된 섬유아세포 성장인자 수용체 패밀리의 구성원이다. FGFR 패밀리의 구성원 1 내지 4는 그들의 리간드 친화도 및 조직 분포가 서로 상이하다. 전장의 대표적인 단백질은 3개의 면역글로불린-유사 도메인, 단일 소수성 막-확장 세그먼트 및 세포질 티로신 키나제 도메인으로 구성된 세포막 영역으로 이루어진다. 단백질의 세포막 부분은 섬유아세포 성장인자와 상호작용하며, 움직이고 있는 하류 신호의 캐스케이드를 설정하고, 궁극적으로는 체세포분열의 유도 및 분화에 영향을 미친다. FGFR-4 유전자의 게놈 조직화는 18개의 엑손을 포함한다. 대안의 스플라이싱이 관찰되었지만, 이 단백질의 IgIII 도메인의 C-말단 절반이 도 1 내지 도 3에 나타낸 바와 같은 3가지 대안의 형태 사이에서 변한다는 증거는 없다.

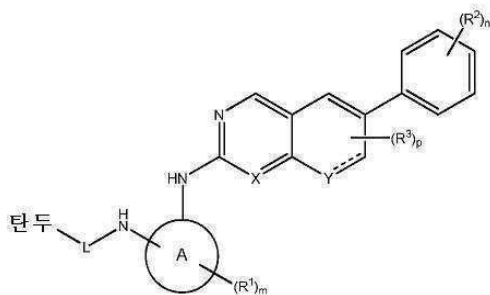
[0006] 연부 조직에서 부적절한 칼슘-인 침착을 특징으로 하는 이소성(ectopic) 무기화작용이 FGFR-1 저해제로 처리된 래트에서 관찰되었다(Brown, AP et al. (2005), Toxicol. Pathol., p. 449-455). 이는 FGFR-1을 포함하는 FGFR의 다른 동형(isoform)의 저해 없이 FGFR-4의 선택적 저해가 특정 독성을 회피하는데 바람직할 수 있다는 것을 시사한다. FGFR-4는 섬유아세포 성장인자 19(FGF19)에 우선적으로 결합하며, 최근에 특정 육종, 신세포암, 유방암 및 간암의 진행과 관련되었다.

발명의 내용

[0007] FGFR-4의 저해제가 본 명세서에 기재된다. 추가로 FGFR-4의 저해제를 포함하는 약제학적 제형이 본 명세서에 기재된다.

[0008] 일 양태에서, 본 발명은 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 특징으로 한다:

[0009] [화학식 1]

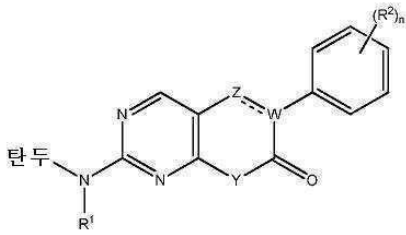


[0010] 식 중, 탄두(Warhead)는 친핵체와 공유 결합을 형성할 수 있는 모이어티이고; 고리 A는 3 내지 8원 아릴, 헤테

로아릴, 헤테로사이클릭 또는 지환족기이며; X는 CH 또는 N이고; Y는 CH 또는 N-R⁴이며, 여기서 R⁴는 H 또는 C₁₋₆ 알킬이고; L은 -[C(R⁵)(R⁶)]_q-이며, 여기서 각각의 R⁵ 및 R⁶은 독립적으로 H 또는 C₁₋₆ 알킬이고; q는 0 내지 4이며; 각각의 R¹ 내지 R³은 독립적으로 할로, 사이아노, 선택적으로 치환된 C₁₋₆ 알콕시, 하이드록시, 옥소, 아미노, 아미도, 알킬 유레아, 선택적으로 치환된 C₁₋₆ 알킬, 선택적으로 치환된 C₁₋₆ 헤테로사이클릴이며; m은 0 내지 3이고; n은 0 내지 4이며; p는 0 내지 2이다. 일부 실시형태에서, 고리 A는 페닐, 예를 들어, 1,2-이치환된 페닐이고; R²는 할로 또는 메톡시이며; n은 2 또는 4이고; X는 N이며; R¹은 메틸이고/이거나 m은 1이다.

[0012] 다른 양태에서, 본 발명은 하기 화학식 II의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 특징으로 한다:

[0013] [화학식 II]

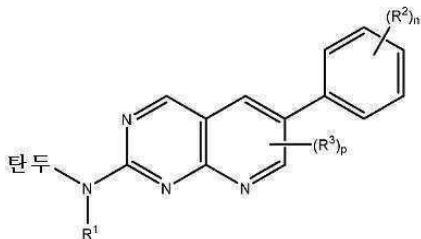


[0014]

[0015] 식 중, 탄두는 친핵체와 공유 결합을 형성할 수 있는 모이어티이고; W는 C 또는 N이며; Z는 CH 또는 N이고; Y는 CH 또는 N-R⁴이며, 여기서, R⁴는 H 또는 C₁₋₆ 알킬이고; R¹은 H 또는 C₁₋₆ 알킬이며; 각각의 R² 및 R³은 독립적으로 할로, 사이아노, 선택적으로 치환된 C₁₋₆ 알콕시, 하이드록시, 아미노, 아미도, 선택적으로 치환된 알킬 유레아, 선택적으로 치환된 C₁₋₆ 알킬, 선택적으로 치환된 C₁₋₆ 헤테로사이클릴이고; n은 0 내지 4이며; p는 0 내지 2이다. 일부 실시형태에서, R²는 할로 또는 메톡시이며; n은 2 또는 4이고; Y는 N-R⁴이며, 여기서 R⁴는 메틸이고/이거나 R¹은 메틸이다.

[0016] 다른 양태에서, 본 발명은 하기 화학식 III의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 특징으로 한다:

[0017] [화학식 III]

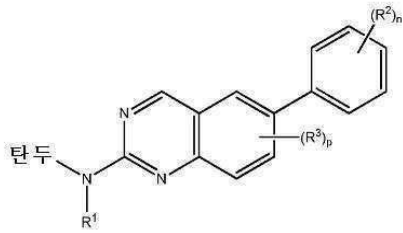


[0018]

[0019] 식 중, 탄두는 친핵체와 공유 결합을 형성할 수 있는 모이어티이고; R¹은 H, 또는 다이알킬아미노알킬을 포함하는 선택적으로 치환된 C₁₋₆ 알킬이며; 각각의 R² 및 R³은 독립적으로 할로, 사이아노, 선택적으로 치환된 C₁₋₆ 알콕시, 하이드록시, 아미노, 아미도, 선택적으로 치환된 알킬 유레아, 선택적으로 치환된 C₁₋₆ 알킬, 선택적으로 치환된 C₁₋₆ 헤테로사이클릴이고; n은 0 내지 4이며; p는 0 내지 2이다. 일부 실시형태에서, R²는 할로 또는 메톡시이고; n은 2 또는 4이다. 일부 실시형태에서; R¹은 메틸이고; 다른 실시형태에서, R¹은 다이에틸아미노부틸이다.

[0020] 다른 양태에서, 본 발명은 하기 화학식 IV의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 특징으로 한다:

[0021] [화학식 IV]

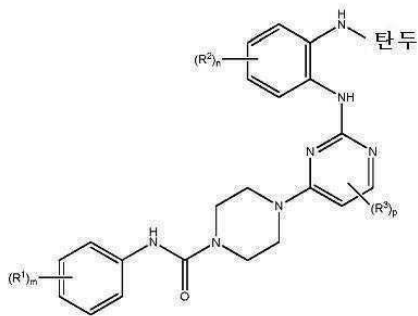


[0022]

[0023] 식 중, 탄두는 친핵체와 공유 결합을 형성할 수 있는 모이어티이고; R¹은 H 또는 선택적으로 치환된 C₁₋₆ 알킬이며; 각각의 R² 및 R³은 독립적으로 할로, 사이아노, 선택적으로 치환된 C₁₋₆ 알콕시, 하이드록시, 아미노, 아미도, 선택적으로 치환된 알킬 유레아, 선택적으로 치환된 C₁₋₆ 알킬, 선택적으로 치환된 C₁₋₆ 헤테로사이클릴이고; n은 0 내지 4이며; p는 0 내지 2이다. 일부 실시형태에서, R²는 할로 또는 메톡시이며; n은 2 또는 4이고 /이거나 R¹은 메틸이다.

[0024] 다른 양태에서, 본 발명은 하기 화학식 V의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 특징으로 한다:

[0025] [화학식 V]

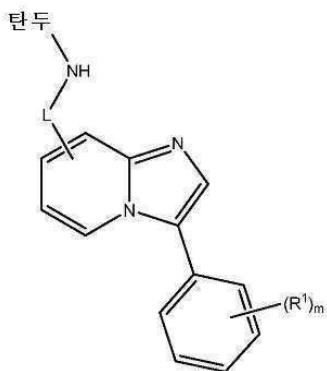


[0026]

[0027] 식 중, 탄두는 친핵체와 공유 결합을 형성할 수 있는 모이어티이고; 각각의 R¹ 내지 R³은 독립적으로 할로, 사이아노, 선택적으로 치환된 C₁₋₆ 알콕시, 하이드록시, 아미노, 아미도, 선택적으로 치환된 알킬 유레아, 선택적으로 치환된 C₁₋₆ 알킬, 선택적으로 치환된 C₁₋₆ 헤테로사이클릴; 선택적으로 치환된 C₁₋₆ 헤테로사이클릴아미도이며; m은 0 내지 3이고; n은 0 내지 4이며; p는 0 내지 2이다.

[0028] 다른 양태에서, 본 발명은 하기 화학식 VI의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 특징으로 한다:

[0029] [화학식 VI]



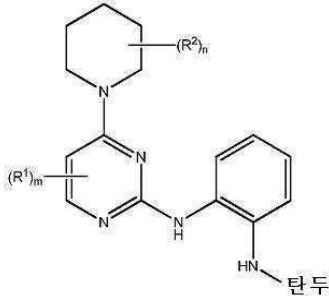
[0030]

[0031] 식 중, 탄두는 친핵체와 공유 결합을 형성할 수 있는 모이어티이고; L은 아릴, 헤테로아릴 또는 $-[C(R^5)(R^6)]_q-$ 이며, 여기서 각각의 R⁵ 및 R⁶은 독립적으로 H 또는 C₁₋₆ 알킬이고; q는 0 내지 4이며; 각각의 R¹은 독립적으로

할로, 사이아노, 선택적으로 치환된 C₁₋₆ 알콕시, 하이드록시, 옥소, 아미노, 아마이드, 선택적으로 치환된 알킬 유레아, 선택적으로 치환된 C₁₋₆ 알킬, 선택적으로 치환된 C₁₋₆ 헤테로사이클릴이고; m은 0 내지 3이다. 일부 실시형태에서, L은 알킬렌이고; 다른 실시형태에서, L은 페닐이다. 일부 실시형태에서, R¹은 트라이플루오로에틸유레아이다.

[0032] 다른 양태에서, 본 발명은 하기 화학식 VII의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 특징으로 한다:

[0033] [화학식 VII]

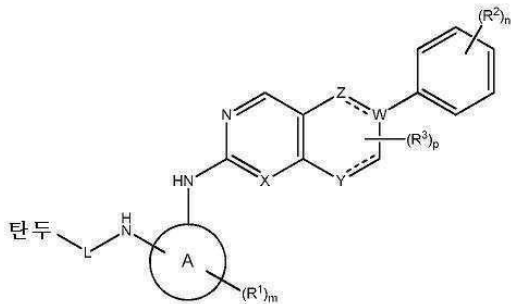


[0034]

[0035] 여기서, 탄두는 친핵체와 공유 결합을 형성할 수 있는 모이어티이고; 각각의 R¹ 및 R²는 독립적으로 할로, 사이아노, 선택적으로 치환된 C₁₋₆ 알콕시, 하이드록시, 옥소, 아미노, 아마이드, 선택적으로 치환된 알킬설포아미도, 선택적으로 치환된 알킬 유레아, 선택적으로 치환된 C₁₋₆ 알킬, 선택적으로 치환된 C₁₋₆ 헤테로사이클릴이고; m은 0 내지 3이며; n은 0 내지 4이다.

[0036] 다른 양태에서, 본 발명은 하기 화학식 VIII의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 특징으로 한다:

[0037] [화학식 VIII]

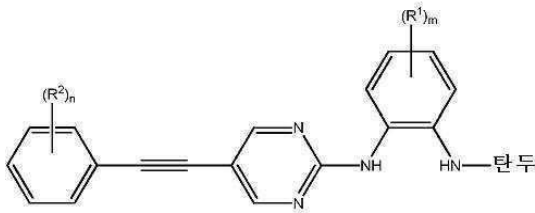


[0038]

[0039] 식 중, 탄두는 친핵체와 공유 결합을 형성할 수 있는 모이어티이며; 고리 A는 3 내지 8원 아릴, 헤테로아릴, 헤테로사이클릭 또는 지환족기이고; W는 C 또는 N이며, 각각의 X 및 Z는 독립적으로 CH 또는 N이고; Y는 CH 또는 N-R⁴이며, 여기서 R⁴는 H 또는 C₁₋₆ 알킬이고; L은 -[C(R⁵)(R⁶)]_q-이며, 여기서 각각의 R⁵ 및 R⁶은 독립적으로 H 또는 C₁₋₆ 알킬이고; q는 0 내지 4이며; 각각의 R¹ 내지 R³은 독립적으로 할로, 사이아노, 선택적으로 치환된 C₁₋₆ 알콕시, 하이드록시, 옥소, 아미노, 아마이드, 알킬 유레아, 선택적으로 치환된 C₁₋₆ 알킬, 선택적으로 치환된 C₁₋₆ 헤테로사이클릴이며; m은 0 내지 3이고; n은 0 내지 4이며; p는 0 내지 2이다. 일부 실시형태에서, 고리 A는 페닐이고; R²는 할로 또는 메톡시이며; n은 2 또는 4이고; X는 N이며; R¹은 메틸이고/이거나 m은 1이다.

[0040] 다른 양태에서, 화합물은 하기 화학식 IX의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염이다:

[0041] [화학식 IX]

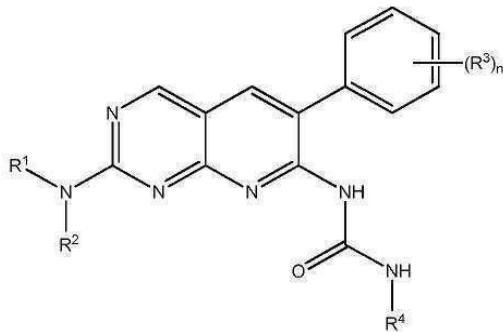


[0042]

[0043] 식 중, 탄두는 친핵체와 공유 결합을 형성할 수 있는 모이어티이고; 각각의 R¹ 및 R²는 독립적으로 할로, 사이아노, 선택적으로 치환된 C₁₋₆ 알콕시, 하이드록시, 옥소, 아미노, 아미도, 선택적으로 치환된 알킬 유레아, 선택적으로 치환된 C₁₋₆ 알킬, 선택적으로 치환된 헤테로사이클릴이며; m은 0 내지 3이고; n은 0 내지 4이다.

[0044] 다른 양태에서, 본 발명은 하기 화학식 X의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 특징으로 한다:

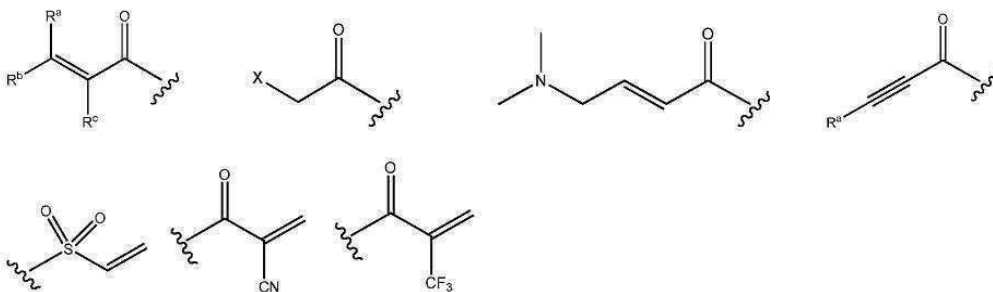
[0045] [화학식 X]



[0046]

[0047] 식 중, R¹은 탄두 모이어티이고; R²는 할로, 아미노, 하이드록시 또는 사이아노로 선택적으로 치환된 C₁₋₆ 알킬이며; 각각의 R³은 독립적으로 할로, 아미노, 사이아노, C₁₋₆ 알킬 또는 C₁₋₆ 알콕시이고, n은 2 내지 5이며; R⁴는 선택적으로 치환된 C₁₋₆ 알킬이다.

[0048] 본 명세서에 개시된 화합물에서, 탄두는 친핵체와 반응성인, 예를 들어 친핵체와 공유 결합을 형성할 수 있는 모이어티이다. 탄두의 예는, 알킬 할라이드, 알킬 설포네이트, 헤테로아릴 할라이드, 에폭사이드, 할로아세트아마이드, 말레이미드, 설포네이트 에스터, 알파-베타 불포화 케톤, 알파-베타 불포화 에스터, 비닐 설폰, 프로파길 아마이드, 아크릴아마이드를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 일부의 이들 예에서, 예를 들어, 아크릴아마이드 및 프로파길 아마이드, 탄두의 N은 상기 나타낸 화학식에서 인접한 N이다. 예시적인 탄두의 구조는 이하에 나타낸다:

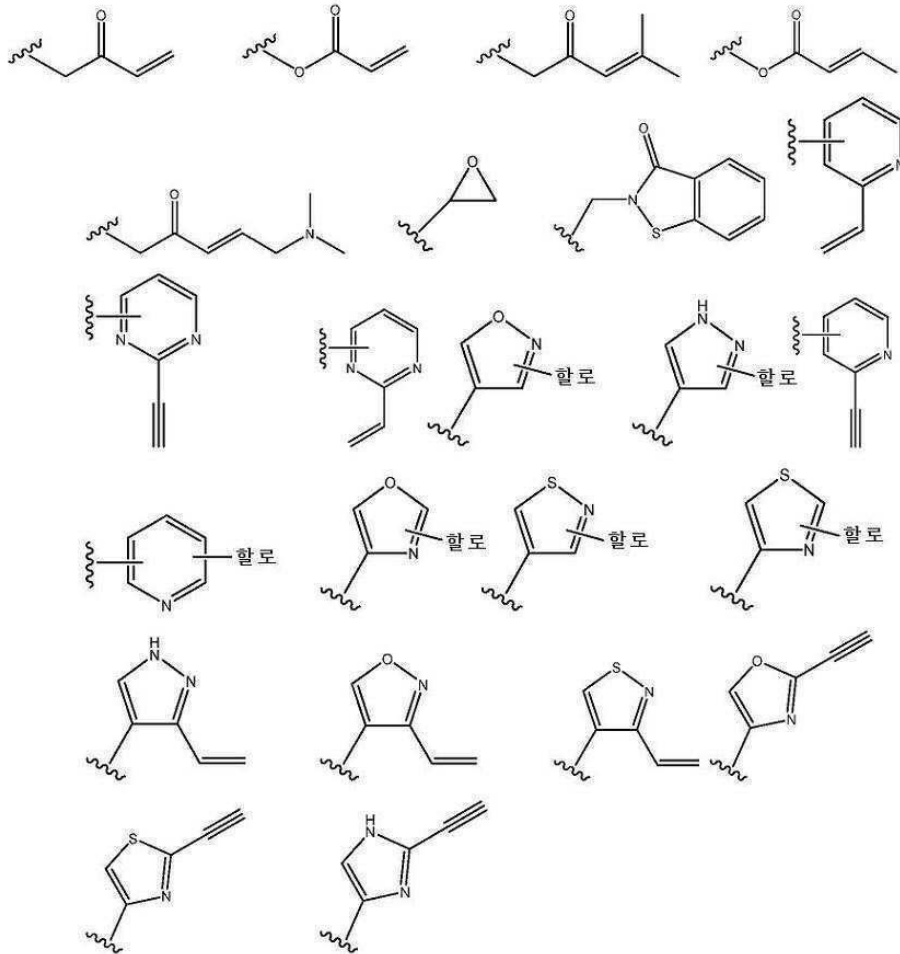


[0049]

[0050] 식 중, X는 이탈기, 예컨대 할로, 또는 활성화된 하이드록실 모이어티(예를 들어, 트라이플레이트)이고; 각각의 R^a, R^b 및 R^c는 독립적으로 H, 치환된 또는 비치환된 C₁₋₄ 알킬, 치환된 또는 비치환된 C₁₋₄ 사이클로알킬 또는 사이아노이다.

[0051] 상기 나타낸 화학식에서, 탄두는 전형적으로 저해제 상의 N 원자에 부착된다. 다른 실시형태에서, 탄두는 대안

적으로 N 이외의 원자에 부착될 수 있다. 예시적인 탄두의 예는 하기를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다,



[0052]

[0053]

[0054]

[0055]

[0056]

[0057]

[0058]

[0059]

탄두의 다른 예는, 예를 들어 WO 2010/028236 및 WO 2011/034907에서 발견될 수 있다.

특정 실시형태에서, 본 발명의 FGFR-4 저해제는 그들이 FGFR-1 활성을 저해하는 것보다 더 강력하게 FGFR-4 활성을 저해한다. 예를 들어, 본 발명의 FGFR-4 저해제는 그들이 FGFR-1 활성을 저해하는 것보다 FGFR-4 활성을 적어도 10배, 적어도 50배, 적어도 100배, 적어도 200배, 또는 적어도 500배 더 강력하게 저해할 수 있다.

일 양태에서, 선택성은 동일 유형의 분석에서 본 발명의 화합물에 의해 야기되는 FGFR-1의 저해와 FGFR-4의 저해를 비교함으로써 측정된다. 일 실시형태에서, FGFR-1 및 FGFR-4의 저해를 측정하기 위해 사용되는 분석은 본 명세서에 기재된 임의의 분석이다. 전형적으로, 저해는 IC_{50} (효소 활성의 50%가 저해되는 저해제의 농도)로서 표현되며, 따라서 배수-선택성은 다음의 식에 의해 측정된다: $(IC_{50} \text{ FGFR-1}) / (IC_{50} \text{ FGFR-4})$. FGFR-2 및 FGFR-3에 대한 선택성을 측정하기 위해서도 동일한 측정 및 계산이 사용될 수 있다.

본 발명의 화합물에 의해 FGFR-1 및 FGFR-4의 상대적 저해를 결정하기 위해 FGFR 활성의 임의의 다른 분석은, 이러한 분석이 당업자가 FGFR 활성을 측정함에 있어 동일 파라미터가 되는 것으로 여기는 것을 이용한다면, 이용될 수 있다.

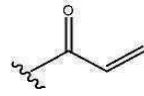
다른 양태에서, 본 발명은 약제학적으로 허용가능한 담체 및 본 명세서에 개시된 화합물을 포함하는 약제학적 조성물을 특징으로 한다.

다른 양태에서, 본 발명은 FGFR-4의 공유적 저해제(covalent inhibitor)를 특징으로 한다. 일부 실시형태에서, FGFR-4의 공유적 저해제는, 생화학적 분석(biochemical assay)에서 측정된 경우, 그것이 FGFR-1 활성을 저해하는 것보다 더 강력하게 FGFR-4 활성을 저해한다. 저해제는 탄두를 함유할 수 있다.

다른 양태에서, 본 발명은, 생화학적 분석에서 측정된 경우, FGFR-1 활성을 저해하는 것보다 더 강력하게 FGFR-4 활성을 저해하되, 화합물은 분자량이 1500 달톤 미만이다. 예를 들어, 화합물은, 생화학적 분석에서 측정된 경우, 그것이 FGFR-1 활성을 저해하는 것보다 적어도 10, 50, 100, 200 또는 500배 더 강력하게 FGFR-4 활성을

저해할 수 있다. 일부 예에서, 이 화합물은 FGFR-4에 대한, 예를 들어, FGFR-4의 Cys 522와의 공유 결합을 형성할 수 있다.

[0060] 다른 양태에서, 본 발명은 FGFR-4의 시스테인 잔기에 대해 공유 결합을 갖는 저해제를 포함하는 저해된 FGFR-4 단백질을 특징으로 한다. 공유 결합은 저해제 상의 탄두 모이어티의 일부와 FGFR-4의 시스테인 잔기의 일부, 예



를 들어 단백질의 시스테인 잔기 552 간에 형성될 수 있다. 탄두는 일 수 있다.

[0061] 다른 양태에서, 본 발명은 FGFR-4에 의해 매개된 병태, FGFR-4의 과발현을 특징으로 하는 병태, FGFR4의 증폭을 특징으로 하는 병태, FGF19에 의해 매개된 병태, 증폭된 FGF-19를 특징으로 하는 병태, 또는 FGF19의 과발현을 특징으로 하는 병태를 치료하는 방법, 본 명세서에 개시된 화합물의 치료적 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 임의의 이들 방법을 특징으로 한다.

[0062] 다른 양태에서, 본 발명은 본 명세서에 개시된 화합물의 치료적 유효량을 대상체에 투여함으로써 다음 중 임의의 병태를 치료하는 방법을 특징으로 한다: 간세포 암종, 유방암, 난소암, 폐암, 간암, 육종 또는 고지혈증.

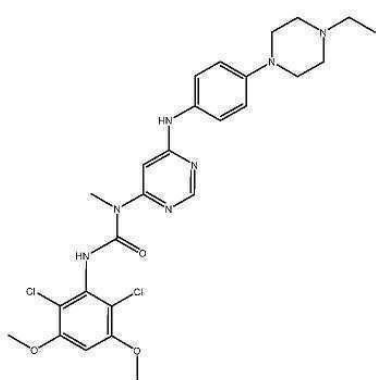
[0063] 본 발명은 상기 기재한 실시형태의 모든 가능한 조합을 포함한다.

도면의 간단한 설명

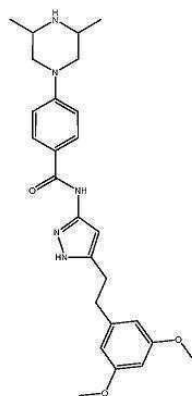
- [0064] 도 1은 결합된 저해제가 없는, 및 결합된 저해제가 있는 FGFR4 단백질에 대한 질량을 나타낸 스펙트럼도;
- 도 2는 결합된 저해제가 없는, 및 결합된 저해제가 있는 FGFR4 단백질에 대한 질량을 나타낸 스펙트럼도;
- 도 3은 화합물 25의 카스파제 활성을 나타낸 그래프;
- 도 4는 FGFR4 단백질에 결합된 화합물 52의 결정 구조를 도시한 도면;
- 도 5는 FGFR4 단백질에 결합된 화합물 25의 결정 구조를 도시한 도면;
- 도 6은 화합물 25의 항종양 효과를 도시한 선 그래프;
- 도 7은 Hep3B-보유 누드 마우스의 종양 중량을 도시한 막대 그래프;
- 도 8은 Hep3B-보유 누드 마우스의 체중 변화(%)를 도시한 선 그래프.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0065] Pan-FGFR 저해제, 예컨대 BGJ398 및 AZD4547은 공지되어 있다.



BGJ398



AZD4547

[0066] 이들 화합물(즉, pan-FGFR 저해제)은 FGFR의 다른 동형, 즉, FGFR1, FGFR2 및 FGFR3에 대해서보다 FGFR4에 대해 더 강력하게 되는 것은 보고된 적이 없다. 사실, AZD 4547은 다른 3가지 동형에 대해서보다 FGFR4에 대해 더 강력하다.

[0068] BGJ398 및 AZD4547과 달리, 이하에 개시되는 화합물은 FGFR4 단백질과 공유 결합을 형성할 수 있고; 예를 들어, 화합물은 FGFR4의 시스테인 잔기, 예를 들어 잔기 552에서의 시스테인과 공유 결합을 형성할 수 있다. FGFR 1

내지 3은 이 시스템을 함유하지 않는다. 화합물과 FGFR4 간의 공유 결합을 형성하는 능력은 따라서 FGFR4에 대해 본 명세서에 개시된 화합물의 선택성에서 중요한 인자이다.

- [0069] 다음의 설명에서 제시되거나 또는 도면에서 예시되는 구성 및 성분의 배열의 상세한 설명은 제한하는 것을 의미하지 않는다. 본 발명을 실행하기 위한 다른 실시형태 및 상이한 방법은 명확하게 포함된다. 또한, 본 명세서에 사용되는 어구 및 용어는 설명의 목적을 위한 것이며, 제한하는 것으로 간주되어서는 안 된다. 본 명세서에서 "포함하는", "포함하다", "포함하다", "포함하는" 또는 "갖는", "함유하는", "수반하는" 및 이들의 변형의 사용은 이후에 열거되는 항목 및 이의 동등물뿐만 아니라 추가 항목을 포함하는 것을 의미한다.
- [0070] 정의
- [0071] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 "지방족기"는 직쇄, 분지쇄 또는 사이클릭 탄화수소기를 지칭하며, 포화 및 불포화기, 예컨대 알킬기, 알케닐기 및 알키닐기를 포함한다.
- [0072] 본 명세서에 사용된 바와 같은 "알케닐"은 적어도 하나의 이중 결합을 함유하는 지방족기를 지칭한다.
- [0073] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 "알콕실" 또는 "알콕시"는 산소 라디칼이 부착된 알킬기를 지칭한다. 대표적인 알콕실기는 메톡시, 에톡시, 프로필옥시, tert-뷰톡시 등을 포함한다.
- [0074] 본 명세서에 사용된 바와 같은 "알킬"은 직쇄 알킬기, 분지쇄 알킬기, 사이클로알킬(지환족)기, 알킬-치환된 사이클로알킬기 및 사이클로알킬-치환된 알킬기를 포함하는 포화 지방족기의 라디칼을 지칭한다. "알킬렌"은 이중 라디칼, 즉, 2개 말단 상에서 치환된 지방족기를 지칭한다. 일부 실시형태에서, 직쇄 또는 분지쇄 알킬은 그의 백본(예를 들어, 직쇄에 대해 C1-C30, 분지쇄에 대해 C3-C30)에서 30개 이하의 탄소 원자를 가지고, 다른 실시형태에서 20개 이하 또는 10개 이하를 가질 수 있다. 마찬가지로, 특정 사이클로알킬은 그들의 고리 구조에서 3개 내지 10개 탄소 원자를 가질 수 있으며, 일부 실시형태에서 고리 구조에서 5, 6 또는 7개 탄소를 가질 수 있다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "알케닐"은 적어도 하나의 이중 결합을 함유하는 지방족기를 지칭하며; 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "알키닐"은 적어도 하나의 삼중 결합을 함유하는 지방족기를 지칭한다.
- [0075] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 "알킬티오"는 황 라디칼이 부착된 탄화수소기를 지칭한다. 일부 실시형태에서, "알킬티오" 모이어티는 -S-알킬, -S-알케닐 또는 -S-알키닐 중 하나에 의해 표시된다. 대표적인 알킬티오기는 메틸티오, 에틸티오 등을 포함한다.
- [0076] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 "아미도"는 $-C(=O)-N(R^1)(R^2)$ 또는 $-N(R^1)-C(=O)-R^2$ 를 지칭하며, 여기서 각각의 R^1 및 R^2 는 H 또는 알킬이다.
- [0077] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 "아미노"는 $-NH_2$, $-NH$ (알킬) 또는 $-N$ (알킬)(알킬)을 지칭한다.
- [0078] 본 명세서에 사용된 바와 같은 "증폭된"은 유전자 또는 염색체 세그먼트의 추가적인 복제물이 성장 또는 생존의 이점을 부여할 수 있는 암세포에서 생성된다는 것을 의미한다.
- [0079] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 "아르알킬"은 아릴기(예를 들어, 방향족 또는 헤테로방향족기)로 치환된 알킬기를 지칭한다.
- [0080] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 "아릴"은 0 내지 4개의 헤테로원자, 예를 들어, 페닐, 피롤릴, 퓨라닐, 티오펜, 이미다졸릴, 옥사졸릴, 티아졸릴, 트리아졸릴, 피라졸릴, 피리디닐, 피라지닐, 피리다지닐 및 피리미딘일 등을 포함할 수 있는 5-, 6- 및 7-원 단일-고리 방향족기를 지칭한다. 고리 구조에서 헤테로원자를 갖는 해당 아릴기는 또한 "아릴 헤테로사이클" 또는 "헤테로방향족"으로서 지칭될 수 있다. 방향족 고리는 상기 기재한 바와 같은 이러한 치환체, 예를 들어, 할로겐, 아자이드, 알킬, 아르알킬, 알케닐, 알키닐, 사이클로알킬, 폴리사이클릴, 하이드록실, 알콕실, 아미노, 나이트로, 설프하이드릴, 이미노, 아미도, 포스페이트, 포스포네이트, 포스피네이트, 카보닐, 카복실, 실릴, 에터, 알킬티오, 설폰, 설폰아미도, 케톤, 알데하이드, 에스터, 헤테로사이클릴, 방향족 또는 헤테로방향족 모이어티, $-CF_3$, $-CN$ 등으로 하나 이상의 고리 위치에서 치환될 수 있다. 용어 "아릴"은 또한 2 이상의 사이클릭 고리를 갖는 폴리사이클릭 고리 시스템을 포함하며, 이때 2 이상의 탄소는 2개의 인접한 고리에 대해 공통이되(고리는 "융합 고리"임), 고리 중 적어도 하나는 방향족이고, 예를 들어, 다른 사이클릭 고리는 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 사이클로알키닐, 아릴 및/또는 헤테로사이클릴일 수 있다. 각 고리는, 예를 들어 5 내지 7원을 함유할 수 있다.

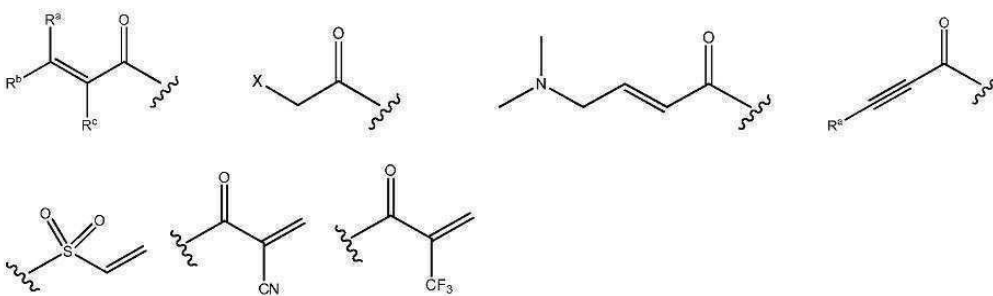
- [0081] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "카보사이클" 또는 "사이클로알킬"은 방향족 또는 비방향족 고리를 지칭하며, 이때 고리의 각 원자는 탄소이다.
- [0082] 본 명세서에 사용된 바와 같은 "공유적 저해제"는 단백질과 공유 결합을 형성할 수 있는 저해제를 의미한다.
- [0083] 조성물의 "거울상 초과량" 또는 "거울상 초과량%"은 이하에 나타난 식을 사용하여 계산될 수 있다. 이하에 나타난 예에서, 조성물은 하나의 거울상체, 예를 들어, S-거울상체 90% 및 다른 거울상체, 즉, R-거울상체 10%를 함유한다.
- [0084] $ee = (90-10)/100 = 80\%$.
- [0085] 따라서, 하나의 거울상체 90% 및 다른 거울상체 10%를 함유하는 조성물은 거울상 초과량이 80%인 것으로 언급된다. 본 명세서에 기재된 조성물의 일부는 화합물 1(S-거울상체)의 적어도 50%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99%의 거울상 초과량을 함유한다. 다시 말해서, 조성물은 R-거울상체 이상으로 S-거울상체의 거울상 초과량을 함유한다.
- [0086] "FGFR-4" 또는 "FGFR-4 단백질"은 야생형 및 모든 변이체 형태를 포함하는 FGFR-4 단백질의 임의의 형태를 지칭한다(돌연변이체 형태 및 스플라이스 변이체를 포함하지만, 이들로 제한되지 않음). FGFR-4 단백질은 FGFR-4 유전자의 생성물이며, 따라서, FGFR-4 단백질은 모든 이상, 예를 들어 점 돌연변이, 삽입결실, 전좌 융합, 및 초점 증폭을 포함하는, FGFR-4 유전자의 임의의 형태에 의해 암호화된 임의의 단백질을 포함한다.
- [0087] "헤테로아릴알킬"은 헤테로아릴기로 치환된 알킬기를 지칭한다.
- [0088] "헤테로사이클릴" 또는 "헤테로사이클릭"은 고리 구조, 예컨대 3- 내지 7-원 고리 구조를 지칭하며, 이의 고리(들)는 하나 이상의 헤테로원자를 포함한다. 헤테로사이클은 또한 폴리사이클릴 수 있으며, 각각의 기는, 예를 들어 3 내지 7개의 고리 구성원을 가진다. 용어 "헤테로사이클릴" 또는 "헤테로사이클릭"은 "헤테로아릴" 및 "포화 또는 부분적으로 포화된 헤테로사이클릴" 구조를 포함한다. "헤테로아릴"은 0, N 또는 S로부터 선택된 하나 이상의 헤테로원자를 갖는 방향족 5 내지 8원 모노사이클릭, 8 내지 12원 바이사이클릭 또는 11 내지 14원 트라이사이클릭 고리 시스템을 지칭한다. 임의의 고리 원자는 치환될 수 있다(예를 들어, 하나 이상의 치환체에 의해). 용어 "포화 또는 부분적으로 포화된 헤테로사이클릴"은 적어도 하나의 헤테로원자를 포함하는 비방향족 사이클릭 구조를 지칭한다. 헤테로사이클릭기는, 예를 들어, 티오펜일, 티안트레닐, 퓨라닐, 피라닐, 아이소벤조퓨라닐, 크로메닐, 잔테닐, 페녹사티닐, 피롤릴, 이미다졸릴, 피라졸릴, 아이소티아졸릴, 아이속사졸릴, 피리디닐, 피라지닐, 피리미디닐, 피리다지닐, 인돌리지닐, 아이소인돌릴, 인돌릴, 인다졸릴, 퓨리닐, 퀴놀리지닐, 아이소퀴놀리닐, 퀴놀리닐, 프탈라지닐, 나프티리디닐, 퀴놀살리닐, 퀴나졸리닐, 신놀리닐, 프테리디닐, 카바졸릴, 카볼린, 페난트리딘, 아크리딘, 피리미딘, 페난트롤린, 페나진, 페나사진, 페노티아진, 퓨라잔, 페녹사진, 피롤리딘, 옥솔란, 티올란, 옥사졸, 피페리딘, 피페라진, 모폴린, 락톤, 락탐, 예컨대 아제티딘논 및 피롤리디논, 설탐, 설톤 등을 포함한다. 헤테로사이클릭 고리는 상기 기재된 바와 같은 그러한 치환체로, 예를 들어, 할로겐, 알킬, 아르알킬, 알케닐, 알키닐, 사이클로알킬, 하이드록실, 아미노, 나이트로, 설프하이드릴, 이미노, 아미도, 포스페이트, 포스포네이트, 포스피네이트, 카보닐, 카복실, 실릴, 에터, 알킬티오, 설프닐, 케톤, 알데하이드, 에스터, 헤테로사이클릴, 방향족 또는 헤테로방향족 모이어티, -CF₃, -CN 등으로서 하나 이상의 위치에서 치환될 수 있다.
- [0089] "헤테로사이클릴알킬"은 헤테로사이클기로 치환된 알킬기를 지칭한다.
- [0090] "저해제"는, 예를 들어 생화학적 분석에서 효소 활성에서 감소가 관찰될 수 있도록 효소를 저해하는 화합물을 지칭한다. 특정 실시형태에서, 저해제는 IC₅₀이 약 1 μM 미만, 약 500nM 미만, 약 250nM 미만, 약 100nM 미만, 약 50nM 미만, 또는 약 10nM 미만이다. FGFR-4의 저해제는 FGFR-4를 저해하는 화합물을 지칭한다.
- [0091] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 "과발현된"은 대조군 샘플(예를 들어, 정상 조직)의 집단에서 관찰되는 것보다 실질적으로 더 높은 샘플 내 유전자 산물의 생성이 있다는 것을 의미한다.
- [0092] "선택적인"은, 예를 들어 다른 단백질의 활성을 저해하는 것보다 더 강력하게 표적 단백질의 활성을 저해하는 화합물, FGFR-4를 지칭한다. 이 예에서, 동형 FGFR-1, FGFR-2, FGFR-3 및 FGFR-4는 모든 고려되는 별개의 단백질이다. 일부 실시형태에서, 화합물은 비표적 단백질의 활성을 저해하는 것보다, 적어도 1.5, 적어도 2, 적어도 5, 적어도 10, 적어도 20, 적어도 30, 적어도 40, 적어도 50, 적어도 60, 적어도 70, 적어도 80, 적어도 90, 적어도 100, 적어도 200, 적어도 500 또는 적어도 1000배 이상 강력하게 표적 단백질, 예를 들어 FGFR-4의 활성

을 저해할 수 있다.

[0093] "치환된"은 백본의 하나 이상의 탄소 상에서 수소를 대체하는 치환체를 갖는 모이어티를 지칭한다. "치환" 또는 "로 치환된"은 이러한 치환이 치환된 원자 및 치환체의 허용되는 원자가에 따르며, 치환이, 예를 들어 재배열, 고리화, 제거 등에 의하는 것과 같은 전환을 자발적으로 겪지 않는 안정한 화합물을 초래한다는 은연중의 조건을 포함하는 것으로 이해될 것이다. 본 명세서에 기재된 바와 같은 용어 "치환된"은 유기 화합물의 모든 허용가능한 치환체를 포함하는 것으로 고려된다. 넓은 양태에서, 허용가능한 치환체는 유기 화합물의 비고리식 및 고리식, 분지 및 비분지, 카보사이클릭 및 헤테로사이클릭, 방향족 및 비방향족 치환체를 포함한다. 허용가능한 치환체는 적절한 유기 화합물에 대해 하나 이상이고 동일 또는 상이할 수 있다. 본 발명의 목적을 위해, 질소와 같은 헤테로원자는 헤테로원자의 원자를 만족시키는 본 명세서에 기재된 유기 화합물의 수소 치환체 및/또는 임의의 허용가능한 치환체일 수 있다. 치환체는 본 명세서에 기재된 임의의 치환체, 예를 들어, 할로겐, 하이드록실, 카보닐(예컨대 카복실, 알콕시카보닐, 포밀 또는 아실), 티오카보닐(예컨대 티오에스터, 티오아세테이트, 또는 티오포메이트), 알콕실, 포스포릴, 포스페이트, 포스포네이트, 포스피네이트, 아미노, 아미도, 아미딘, 이민, 사이아노, 나이트로, 아지도, 설프하이드릴, 알킬티오, 설페이트, 설포네이트, 설파모일, 설포아미도, 설포닐, 헤테로사이클릴, 아르알킬, 또는 방향족 또는 헤테로방향족 모이어티를 포함할 수 있다. 탄화수소쇄 상에서 치환된 모이어티는 적절하다면 그 자체가 치환될 수 있다는 것이 당업자에 의해 이해될 것이다. 예를 들어, 치환된 알킬의 치환체는 아미노, 아지도, 이미노, 아미도, 포스포릴(포스포네이트 및 포스피네이트를 포함), 설포닐(설페이트, 설포아미도, 설파모일 및 설포네이트를 포함), 및 실릴기뿐만 아니라 에터, 알킬티오, 카보닐(케톤, 알데하이드, 카복실레이트 및 에스터를 포함), $-CF_3$, $-CN$ 등의 치환 및 비치환 형태를 포함할 수 있다. 예시적인 치환된 알킬은 이하에 기재된다. 사이클로알킬은 알킬, 알케닐, 알콕시, 알킬티오, 아미노알킬, 카보닐-치환된 알킬, $-CF_3$, $-CN$ 등으로 추가로 치환될 수 있다. 유사한 치환이 알케닐 및 알키닐기로 만들어져서, 예를 들어 아미노알케닐, 아미노알키닐, 아미도알케닐, 아미도알키닐, 이미노알케닐, 이미노알키닐, 티오알케닐, 티오알키닐, 카보닐-치환된 알케닐 또는 알키닐을 생성할 수 있다.

[0094] 본 명세서에 기재한 바와 같은 각 표현의 정의, 예를 들어, 알킬, m, n 등은, 그것이 임의의 구조에서 1회 이상 나올 때, 동일 구조에서 어디에서나 그의 정의와 독립적이 되는 것으로 의도된다.

[0095] "탄두 모이어티" 또는 "탄두"는 가역적으로 또는 비가역적으로 공여체, 예를 들어 단백질의 기질과의 반응에 참여하는 저해제의 모이어티를 지칭한다. 탄두는, 예를 들어 단백질과 공유결합을 형성할 수 있거나, 또는 안정한 전이 상태를 만들 수 있거나, 또는 가역적 또는 비가역적 알킬화제일 수 있다. 예를 들어, 탄두 모이어티는 결합-형성 반응에 참여할 수 있는 저해제에 대한 작용기일 수 있되, 새로운 공유 결합은 탄두의 일부와 공여체, 예를 들어 단백질의 아미노산 잔기 간에 형성된다. 실시형태에서, 탄두는 친전자체이고, "공여체"는 시스테인 잔기의 측쇄와 같은 친핵체이다. 적합한 탄두의 예는 이하에 나타낸 기를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다:



[0096] 식 중, X는 이탈기, 예컨대 할로, 또는 활성화된 하이드록실 모이어티(예를 들어, 트라이플레이트)이고; 각각의 R^a , R^b 및 R^c 는 독립적으로 H, 치환된 또는 비치환된 C_{1-4} 알킬, 치환된 또는 비치환된 C_{1-4} 사이클로알킬 또는 사이아노이다.

[0097] 식 중, X는 이탈기, 예컨대 할로, 또는 활성화된 하이드록실 모이어티(예를 들어, 트라이플레이트)이고; 각각의 R^a , R^b 및 R^c 는 독립적으로 H, 치환된 또는 비치환된 C_{1-4} 알킬, 치환된 또는 비치환된 C_{1-4} 사이클로알킬 또는 사이아노이다.

[0098] 본 명세서에 기재된 화합물은 이러한 화합물을 구성하는 원자 중 하나 이상에서 원자의 동위원소의 비천연 비율을 함유할 수 있다. 예를 들어, 화합물은, 예를 들어 삼중수소(3H) 또는 탄소-14(^{14}C)와 같은 방사성 동위원소로 방사성 표지될 수 있다. 본 명세서에 개시된 화합물의 모든 동위원소의 변형은, 방사성이든 아니든, 본 발명의 범주 내에 포함되는 것으로 의도된다. 예를 들어, 중수소 화합물 또는 ^{13}C 를 함유하는 화합물은 본 발명의 범주 내에 포함되는 것으로 의도된다.

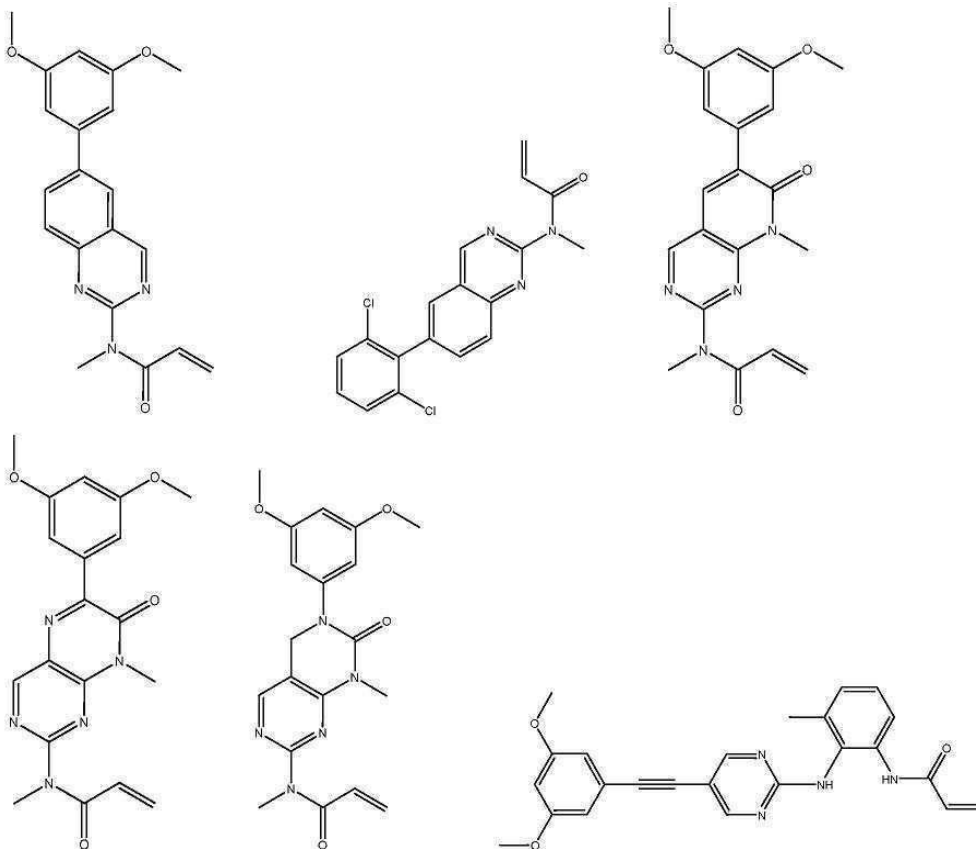
[0099] 특정 화합물은 상이한 호변체 형태로 존재할 수 있고, 본 명세서에 기재된 모든 화합물의 모든 가능한 호변체 형태는 본 발명의 범주 내에 포함되는 것으로 의도된다.

[0100] 달리 언급되지 않는다면, 본 명세서에 도시된 구조는 또한 모든 이성질체(예를 들어 거울상체, 부분입체이성질체 및 기하학적(또는 입체배좌의)) 구조 형태; 예를 들어 각 비대칭 중심에 대한 R 및 S 입체배치, Z 및 E 이중결합 이성질체, 및 Z 및 E 입체배좌 이성질체를 포함하는 것으로 의도된다. 따라서, 본 화합물의 단일 입체화학적 이성질체뿐만 아니라 거울상체, 부분입체이성질체 및 기하학적(또는 입체배좌의) 혼합물은 본 발명의 범주 내이다. 달리 언급되지 않는다면, 본 발명의 화합물의 모든 호변체 형태는 본 발명의 범주 내에 있다.

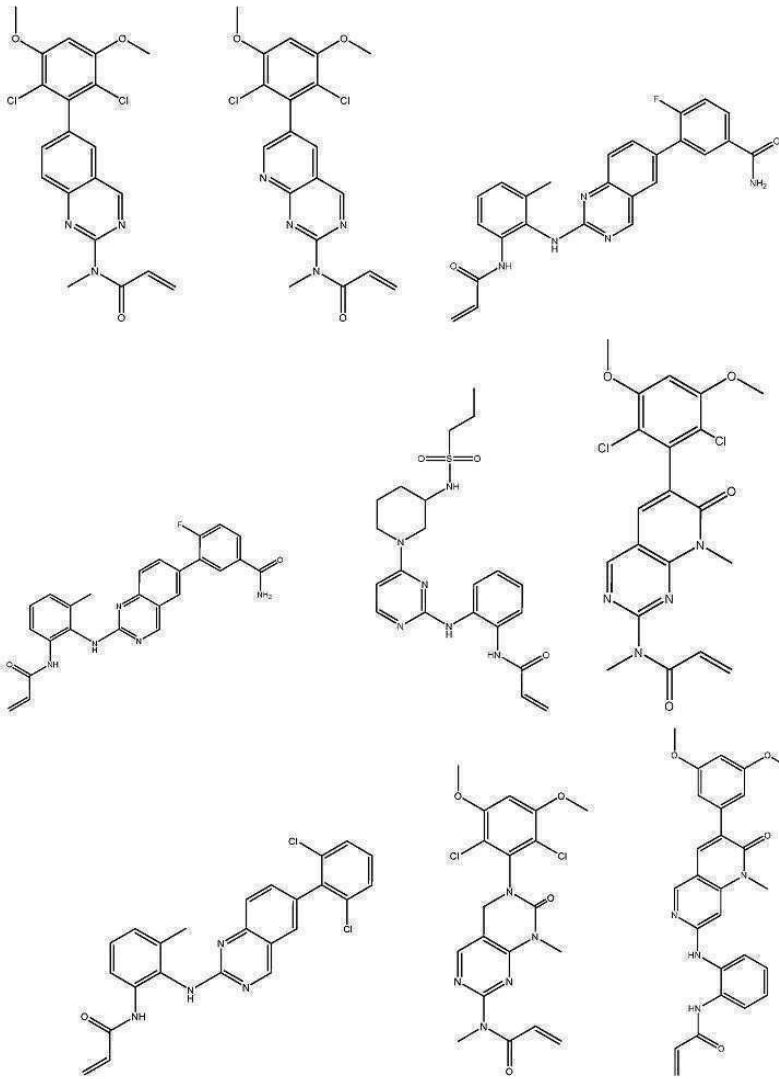
[0101] 본 명세서에 기재된 화합물은 유리 염기로서 또는 염으로서 유용할 수 있다. 대표적인 염은 브롬화수소, 염산, 황산염, 중황산염, 포스페이트, 나이트레이트, 아세테이트, 발레레이트, 올레이트, 팔미테이트, 스테아레이트, 라우레이트, 벤조에이트, 락테이트, 포스페이트, 토실레이트, 시트레이트, 말레이트, 푸마레이트, 숙시네이트, 타르트레이트, 나프틸레이트, 메실레이트, 글루코헵토네이트, 락토비오네이트 및 라우릴설포네이트 염 등을 포함한다. (예를 들어, 문헌[Berge et al. (1977) "Pharmaceutical Salts", J. Pharm. Sci. 66:1-19.] 참조)

[0102] 본 명세서에 개시된 특정 화합물은 수화된 형태를 포함하는 용매화된 형태뿐만 아니라 비용매화된 형태로 존재할 수 있다. 일반적으로, 용매화된 형태는 비용매화된 형태와 등가이며, 본 발명의 범주 내에 포함된다. 본 명세서에 개시된 특정 화합물은 다수의 결정질 또는 비정질 형태로 존재할 수 있다. 일반적으로, 모든 물리적 형태는 본 발명에 의해 고려되는 용도에 대한 등가물이며, 본 발명의 범주 내인 것으로 의도된다.

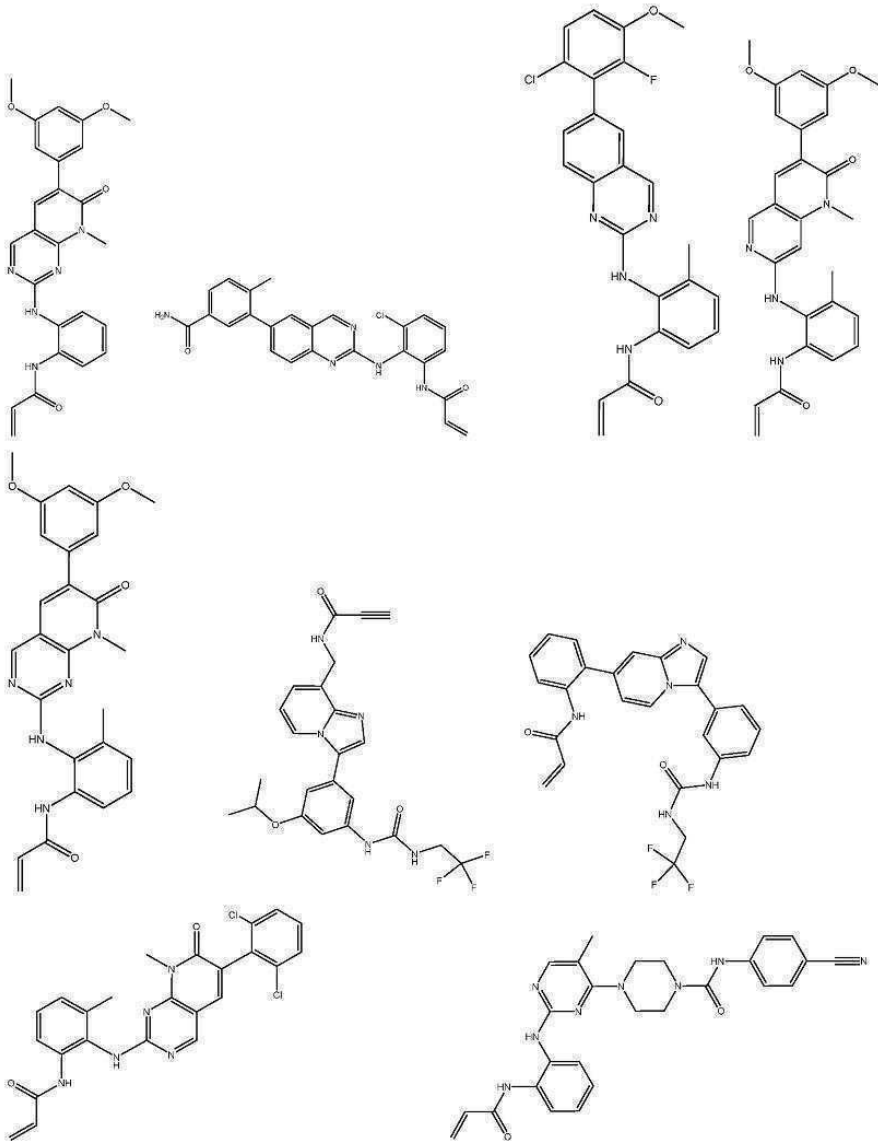
[0103] 예시적인 화합물은 다음을 포함한다:



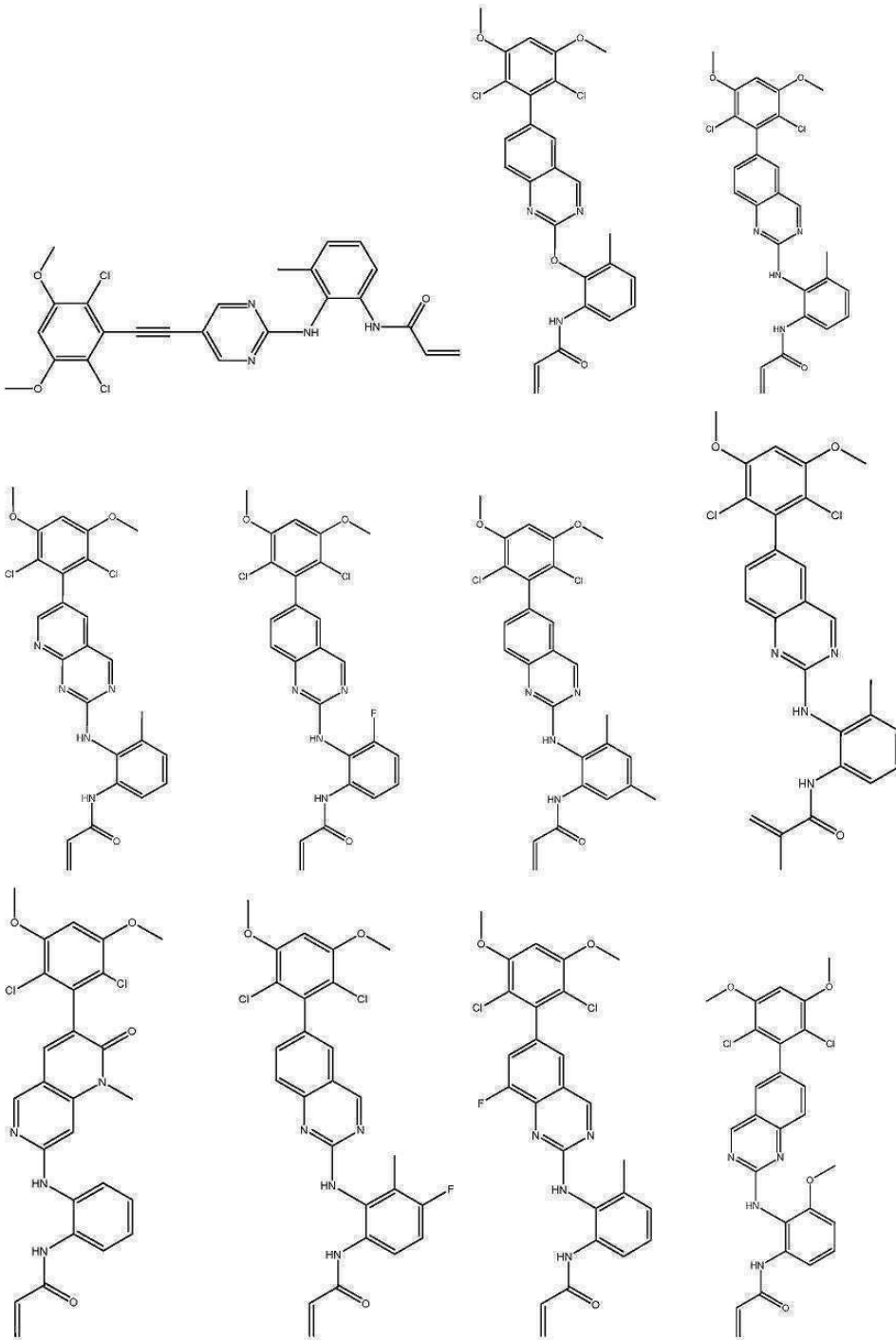
[0104]



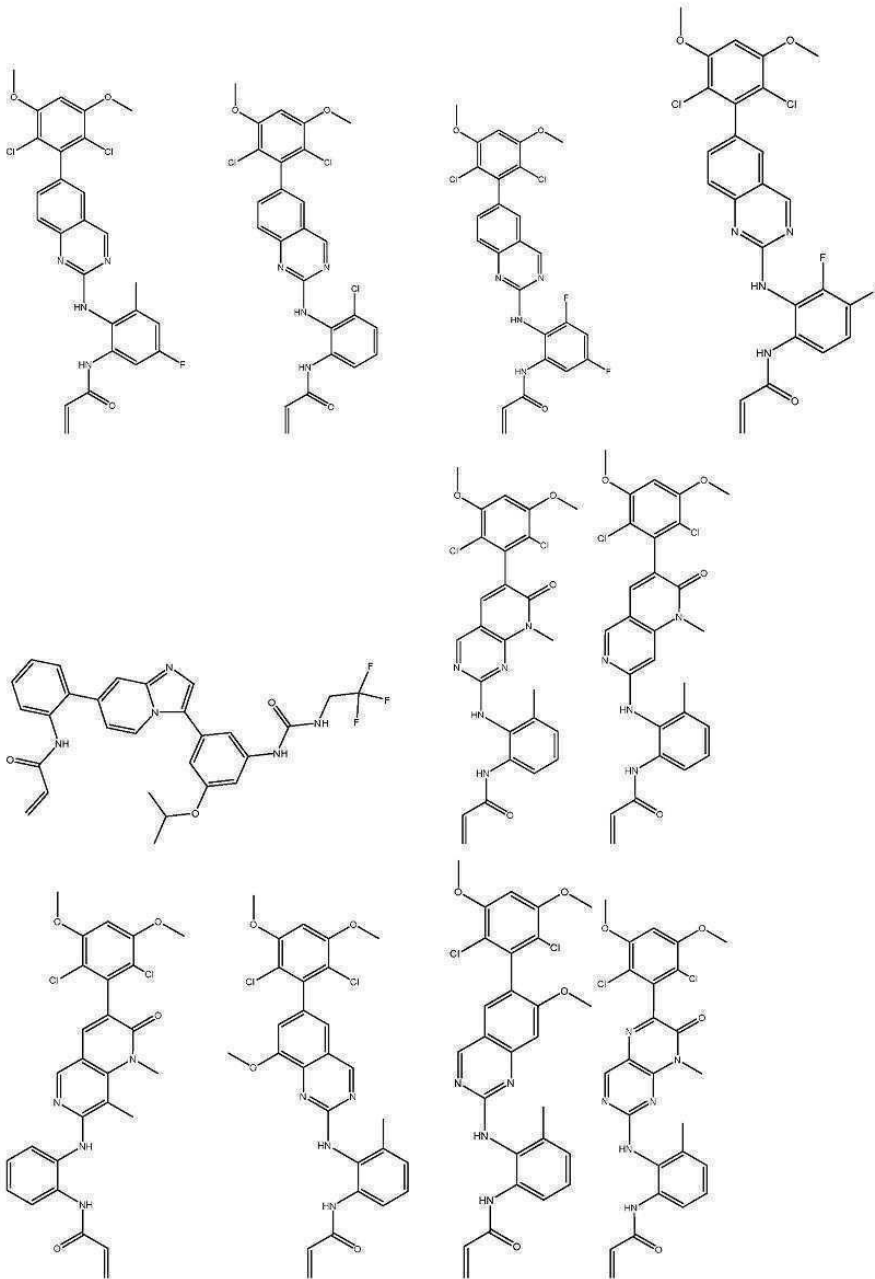
[0105]



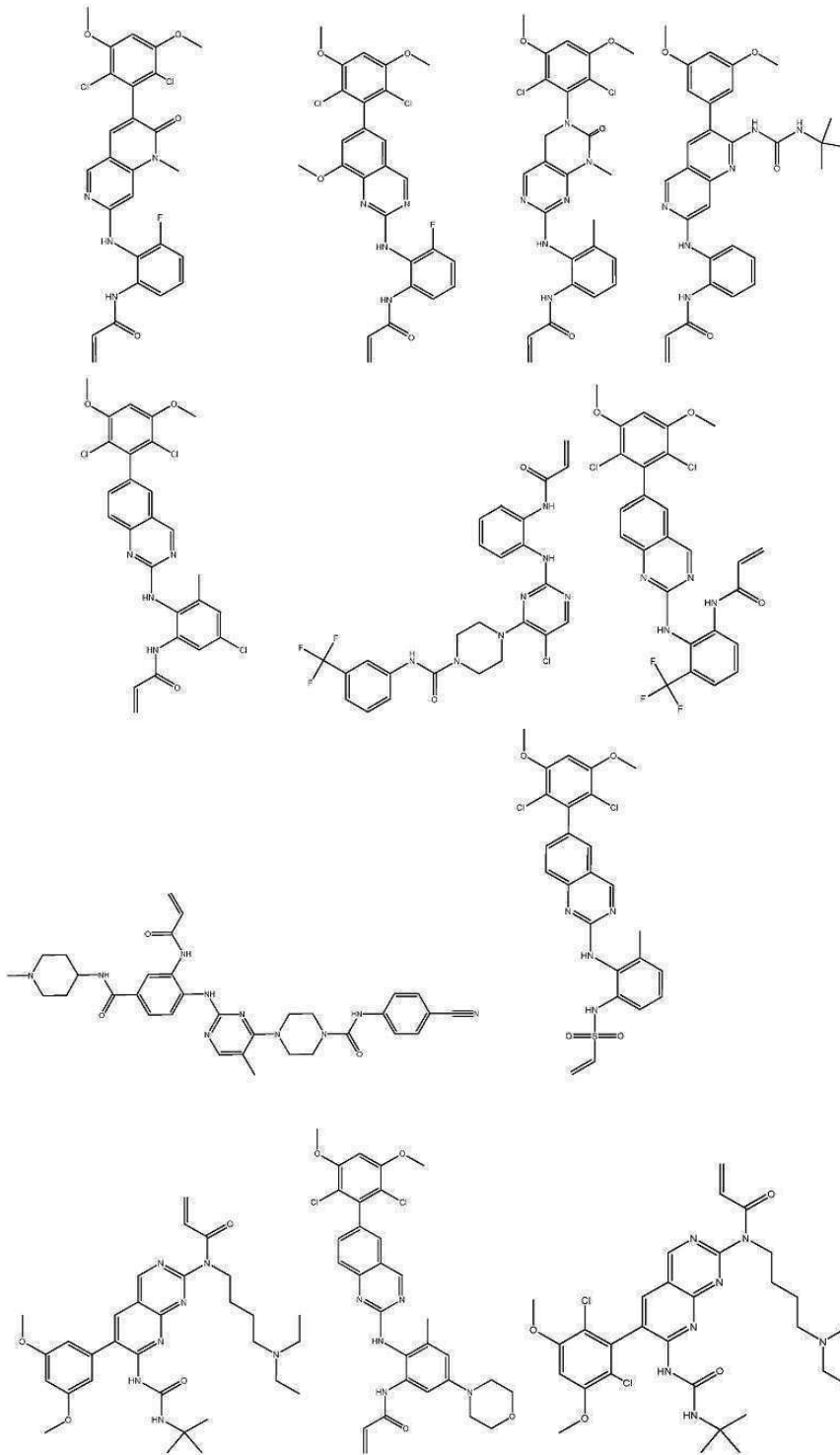
[0106]



[0107]



[0108]



[0109]

[0110]

[0111]

[0112]

[0113]

약제학적 조성물

본 명세서에 개시된 화합물은 단독으로 투여될 수 있지만, 화합물이 하나 이상의 약제학적으로 허용가능한 부형제 또는 담체와 조합되는 경우, 약제학적 제형으로서 화합물을 투여하는 것이 바람직하다. 본 명세서에 개시된 화합물은 인간 또는 수의학에서 사용을 위한 임의의 편리한 방법으로 투여를 위해 제형화될 수 있다. 특정 실시 형태에서, 약제학적 제제에 포함되는 화합물은 그 자체가 활성일 수 있거나, 또는 예를 들어 생리적 환경에서 활성 화합물로 전환될 수 있는 프로드러그일 수 있다. 특정 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 화합물은 그들의 수화물을 포함한다.

여기 "약제학적으로 허용가능한"은 타당한 의학적 판단의 범주 내에서, 과도한 독성, 자극, 알레르기 반응 또는 다른 문제 또는 합병증 없이 인간 및 동물의 조직과 접촉 시 사용에 적합하면서, 합리적인 유해/유익비에 비해

하는 해당 화합물, 물질, 조성물 및/또는 투약 형태를 지칭하기 위해 본 명세서에서 사용된다.

[0114] 본 명세서에 기재된 화합물의 약제학적으로 허용가능한 염의 예는 약제학적으로 허용가능한 무기 및 유기산 및 염기로부터 유래된 것을 포함한다. 적합한 산염의 예는 아세테이트, 아디페이트, 벤조에이트, 벤젠설포네이트, 뷰티레이트, 시트레이트, 디글루코네이트, 도데실설페이트, 포베이트, 푸마레이트, 글라이콜레이트, 헤미설페이트, 헵타노에이트, 헥사노에이트, 염산염, 브롬화수소염, 요오드화수소산염, 락테이트, 말레이트, 말로네이트, 메탄설포네이트, 2-나프탈렌설포네이트, 니코티네이트, 나이트레이트, 팔모에이트, 포스페이트, 피크레이트, 피발레이트, 프로피오네이트, 살리실레이트, 숙시네이트, 설페이트, 타르트레이트, 토실레이트 및 운데카노에이트를 포함한다. 적절한 염기로부터 유래된 염은 알칼리 금속(예를 들어, 나트륨), 알칼리토금속(예를 들어, 마그네슘), 암모늄 및 N-(알킬)₄⁺ 염을 포함한다. 본 발명은 또한 본 명세서에 기재된 화합물의 임의의 염 기성 질소 함유기의 4차화를 생각한다. 수용성 또는 지용성 또는 분산성 생성물은 이러한 4차화에 의해 얻어질 수 있다.

[0115] 약제학적으로 허용가능한 담체의 예는: (1) 당, 예컨대 락토스, 글루코스 및 수크로스; (2) 전분, 예컨대 옥수수 전분 및 감자 전분; (3) 셀룰로스, 및 그의 유도체, 예컨대 나트륨 카복시메틸 셀룰로스, 에틸 셀룰로스 및 셀룰로스 아세테이트; (4) 분말 트래거캔스; (5) 맥아; (6) 젤라틴; (7) 탭크; (8) 부형제, 예컨대 코코아 버터 및 좌약 왁스; (9) 오일, 예컨대 낙화생 오일, 면실 오일, 홍화 오일, 참깨 오일, 올리브 오일, 옥수수 오일 및 대두 오일; (10) 글라이콜, 예컨대 프로필렌 글라이콜; (11) 폴리올, 예컨대 글라이세린, 솔비톨, 만니톨 및 폴리에틸렌 글라이콜; (12) 에스터, 예컨대 에틸 올레이트 및 에틸 라우레이트; (13) 한천; (14) 완충제, 예컨대 수산화마그네슘 및 수산화알루미늄; (15) 알긴산; (16) 발열성물질 제거수; (17) 등장성 식염수; (18) 링거 용액; (19) 에틸 알코올; (20) 포스페이트 완충 용액; (21) 사이클로덱스트린, 예컨대 캡티솔(Captisol)(등록상표); 애큐린(Accurins)(상표명)과 같은 나노입자에 부착된 표적 리간드; 및 (22) 약제학적 제형에서 사용되는 다른 비독성의 호환성 물질, 예컨대 중합체계 조성물을 포함한다.

[0116] 약제학적으로 허용가능한 향산화제의 예는: (1) 수용성 향산화제, 예컨대 아스코브산, 시스테인 염산염, 중황산 나트륨, 메타중아황산나트륨, 아황산나트륨 등; (2) 지용성 향산화제, 예컨대 아스코빌 팔미테이트, 뷰틸화된 하이드록시아니솔(BHA), 뷰틸화된 하이드록시톨루엔(BHT), 레시틴, 프로필 갈레이트, 알파-토코페롤 등; 및 (3) 금속 킬레이트제, 예컨대 시트르산, 에틸렌다이아민 테트라아세트산(EDTA), 솔비톨, 타르타르산, 인산 등을 포함한다. 고체 투약 형태(예를 들어, 캡슐, 정제, 알약, 드라제, 분말, 과립 등)는 하나 이상의 약제학적으로 허용가능한 담체, 예컨대 시트르산나트륨 또는 제2인산칼슘, 및/또는 다음 중 어떤 것: (1) 충전제 또는 증량제, 예컨대 녹말, 락토스, 수크로스, 글루코스, 만니톨, 및/또는 규산; (2) 결합제, 예를 들어, 카복시메틸셀룰로스, 알기네이트, 젤라틴, 폴리비닐 피롤리돈, 수크로스 및/또는 아카시아; (3) 습윤제, 예컨대 글라이세롤; (4) 붕해제, 예컨대 한천-한천, 탄산칼슘, 감자 또는 타피오카 전분, 알긴산, 특정 규산염, 및 탄산나트륨; (5) 용액 완연제, 예컨대 파라핀; (6) 흡수 가속화제, 예컨대 4차 암모늄 화합물; (7) 습윤제, 예를 들어, 세틸 알코올 및 글라이세롤 모노스테아레이트; (8) 흡수제, 예컨대 카울린 및 벤토나이트 점토; (9) 윤활제, 예컨대 탭크, 스테아르산칼슘, 스테아르산마그네슘, 고체 폴리에틸렌 글라이콜, 라우릴황산나트륨 및 이들의 혼합물; 및 (10) 착색제를 포함할 수 있다. 액체 투약 형태는 약제학적으로 허용가능한 에멀전, 마이크로에멀전, 용액, 현탁액, 시럽 및 엘릭시르를 포함할 수 있다. 활성 성분에 추가로, 액체 투약 형태는, 예를 들어, 물 또는 다른 용매, 가용화제 및 유화제, 예컨대 에틸 알코올, 아이소프로필 알코올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌 글라이콜, 1,3-부틸렌 글라이콜, 오일(특히, 면실, 땅콩, 옥수수, 배아, 올리브, 피마자 및 참깨 오일), 글라이세롤, 테트라하이드로퓨릴 알코올, 폴리에틸렌 글라이콜 및 솔비탄의 지방산 에스터, 및 이들의 혼합물과 같은 당업계에서 흔히 사용되는 비활성 희석제를 함유할 수 있다.

[0117] 활성 화합물에 추가로 현탁액은, 예를 들어, 예복실화된 아이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 솔비톨 및 솔비탄 에스터, 미정질 셀룰로스, 메타수산화나트륨, 벤토나이트, 한천-한천 및 트래거캔스, 및 이들의 혼합물로써 현탁제를 함유할 수 있다.

[0118] 연고, 페이스트, 크림 및 겔은 활성 화합물에 추가로 부형제, 예컨대 동물 및 식물성 지방, 오일, 왁스, 파라핀, 전분, 트래거캔스, 셀룰로스 유도체, 폴리에틸렌 글라이콜, 실리콘, 벤토나이트, 규산, 탭크 및 산화아연 또는 이들의 혼합물을 함유할 수 있다.

[0119] 분말 및 스프레이는 활성 화합물에 추가로 부형제, 예컨대, 락토스, 탭크, 규산, 수산화알루미늄, 규산칼슘 및 폴리알마이드 분말 또는 이들 물질의 혼합물을 함유할 수 있다. 스프레이는 관례적인 추진제, 예컨대 클로로플

루오로탄화수소 및 휘발성 비치환 탄화수소, 예컨대 부탄 및 프로판을 함유할 수 있다.

- [0120] 제형은 단위 투약 형태로 편리하게 제공될 수 있고, 약학 분야에서 잘 공지된 임의의 방법에 의해 제조될 수 있다. 단일 투약 형태를 생성하기 위해 담체 물질과 조합될 수 있는 활성 성분의 양은 치료되는 숙주, 특정 투약 방식에 따라서 다를 것이다. 단일 투약 형태를 생성하기 위해 담체 물질과 조합될 수 있는 활성 성분의 양은 일반적으로 치료적 효과를 생성하는 화합물의 해당 양일 것이다.
- [0121] 본 발명의 화합물의 국소 또는 경피 투여를 위한 투약 형태는 분말, 스프레이, 연고, 페이스트, 크림, 로션, 겔, 용액, 패치 및 흡입제를 포함한다. 활성 화합물은 멸균 조건 하에서 약제학적으로 허용가능한 담체와 그리고 필요하다면 임의의 보존제, 완충제 또는 추진제와 혼합될 수 있다.
- [0122] 본 명세서에 개시된 화합물들이 인간 및 동물에게 약제로서 투여될 때, 그들은 그 자체로 부여되거나 또는 약제학적으로 허용가능한 담체와 조합하여 활성 성분의, 예를 들어, 0.1 내지 99.5%(더 바람직하게는, 0.5 내지 90%)를 함유하는 약제학적 조성물로서 부여될 수 있다.
- [0123] 제형은 국소적으로, 경구로, 경피로, 직장으로, 질로, 비경구로, 비강내로, 폐내로, 안구내로, 정맥내로, 근육내로, 동맥내로, 지주막하내로, 관절내로, 진피내로, 복강내로, 피하로, 표피 밑으로 또는 흡입에 의해 투여될 수 있다.
- [0124] 적응증
- [0125] FGFR-4는 간세포 암종(HCC) 진행 동안 증식, 생존, 및 알파-태아단백질 분비를 조절하고; 따라서 FGFR-4의 저해제는 이런 충족되지 않은 의료적 필요에 대한 촉망되는 잠재적 치료제이다(Ho et al., Journal of Hepatology, 2009, 50:118-27). HCC는 매년 전세계적으로 550,000명을 초과하는 사람들을 괴롭히며, 임의의 암유형 중 최악의 1년 생존율을 가진다.
- [0126] FGFR-4와 HCC 사이를 연결하는 추가적인 증거는 글루코스, 지질 및 에너지 항상성을 조절하는 호르몬으로 이루어진 섬유아세포 성장인자(FGF) 패밀리의 구성원인 FGF19의 연루를 통해 나타난다. 증가된 간세포 증식 및 간종양 형성이 FGF19 유전자이식 마우스에서 관찰되었다. FGF19는 간에서의 그의 우세한 수용체인 FGFR-4를 활성화하며, FGFR-4의 활성화는 FGF19가 간세포 증식을 증가시키고 간세포 암종 형성을 유발할 수 있는 메커니즘인 것으로 믿어진다(Wu et al., J Biol Chem (2010) 285(8):5165-5170). FGF19는 다른 사람에 의해서도 HCC에서 구동 유전자로서 동정되었다(Sawey et al., Cancer Cell (2011) 19: 347-358). 따라서, FGFR-4의 강력하고 선택적인 저해제인 본 명세서에 개시된 화합물은 HCC 및 다른 간암을 치료하기 위해 사용될 수 있는 것으로 믿어진다.
- [0127] 종양 계능 선별은 인간 유방암 세포주 MDA-MB-453에서 활성화 섬유아세포 성장인자 수용체 4(FGFR-4) Y367C 돌연변이를 동정하였다. 이 돌연변이는 구성적 인산화를 유발하는 것으로 나타났는데, 이는 미토겐-활성화 단백질 키나제 캐스케이드의 활성화를 야기한다. 따라서, FGFR-4는 유방암에서 종양 성장의 구동자일 수 있다는 것을 시사하였다(Roidl et al., Oncogene (2010) 29(10):1543-1552). 따라서 FGFR-4의 강력하고 선택적인 저해제인 본 명세서에 개시된 화합물은 FGFR-4 조절 유방암을 치료하기 위해 사용될 수 있는 것으로 믿어진다.
- [0128] FGFR-4의 유전자 상류에서 분자 변화(예를 들어, 전좌)는 FGFR-4의 활성화/과발현을 야기할 수 있다. 예를 들어, PAX3-FKHR 전좌/유전자 융합은 FGFR-4 과발현을 야기할 수 있다. 이 메커니즘에 기인하는 FGFR-4의 과발현은 횡문근육종(rhabdomyosarcoma: RMS)과 관련되었다(Cao et al., Cancer Res (2010) 70(16): 6497-6508). FGFR-4 그 자체에서의 돌연변이(예를 들어, 키나제 도메인 돌연변이)는 단백질의 과활성화를 야기할 수 있고; 이 메커니즘은 RMS의 하위집단과 관련되었다(Taylor et al., J Clin Invest (2009) 119: 3395-3407). 따라서, FGFR-4의 강력하고 선택적인 저해제인 본 명세서에 개시된 화합물은 FGFR-4 조절된 RMS 및 다른 육종을 치료하기 위해 사용될 수 있다.
- [0129] 다른 질병은 FGFR-4의 유전자 상류에서의 변화와 또는 FGFR-4 그 자체에서의 돌연변이와 관련되었다. 예를 들어, FGFR-4의 키나제 도메인에서의 돌연변이는 과활성화를 야기하는데, 이는 폐 선암종과 관련되었다(Ding et al., Nature (2008) 455(7216): 1069-1075). FGFR-4의 증폭은 신세포 암종과 같은 병태와 관련되었다(TCGA 입시 데이터). 추가로, 침묵 FGFR4 및 저해 리간드-수용체 결합은 난소 종양 성장을 상당히 감소시키는데, 이는 FGFR4의 저해제는 난소암의 치료에서 유용할 수 있었다. (Zaid et al., Clin. Cancer Res. (2013) 809).
- [0130] 담즙산 수준의 병적인 상승은 FGF19 수준에서의 변형과 관련되었다(Vergnes et al., Cell Metabolism (2013) 17, 916-28). 따라서 FGF19의 수준에서의 감소는 담즙산의 합성을 촉진함에 있어, 그리고 그에 따라 고지혈증의

치료에서 이점을 가질 수 있다.

[0131] 용량 수준

[0132] 본 발명의 약제학적 조성물에서 활성 성분의 실제 투약 수준은 환자에 대해 독성으로 되는 일 없이 특정 환자, 조성물 및 투여 방식에 대해 원하는 치료적 반응을 달성하는데 효과적인 활성 성분의 양을 얻도록 달리할 수 있다.

[0133] 선택된 투약 수준은 사용된 본 명세서에 개시된 특정 화합물 또는 이의 에스터, 염 또는 아마이드의 활성, 투여 경로, 투여 시간, 사용 중인 특정 화합물의 배설 속도, 치료의 지속시간, 사용되는 특정 화합물과 조합되어 사용되는 다른 약물, 화합물 및/또는 물질, 치료 중인 환자의 연령, 성별, 체중, 병태, 일반적 건강상태 및 이전의 의학적 이력, 및 의학 분야에서 잘 공지된 유사한 인자를 포함하는, 다수의 인자에 의존할 것이다.

[0134] 당업계에서 보통의 기술을 갖는 의사 또는 수의사는 필요한 약제학적 조성물의 유효량을 용이하게 결정하고 처방할 수 있다. 예를 들어, 의사 또는 수의사는 원하는 치료적 효과를 달성하기 위해 필요한 것보다 더 낮은 수준에서의 약제학적 조성물에서 사용되는 본 발명의 화합물의 투약을 시작하고, 원하는 효과가 달성될 때까지 투약량을 점진적으로 증가시킬 수 있었다.

[0135] 일반적으로, 본 발명의 화합물의 적합한 1일 용량은 치료적 효과를 생성하는데 효과적인 가장 낮은 용량인 화합물의 해당 양일 수 있다. 이러한 유효량은 일반적으로 상기 기재한 인자에 의존할 것이다. 일반적으로, 환자에 대한 본 발명의 화합물의 용량은 약 0.0001 내지 약 100mg/킬로그램/체중/일의 범위에 있을 것이다. 예를 들어, 용량은 0.1 내지 10g/일; 0.5 내지 5g/일; 또는 1 내지 2g/일일 수 있었다. 원한다면, 활성 화합물의 유효한 1일 용량은 단위 투약 형태에서 하루에 걸쳐 적절한 간격으로 별개로 투여되는 1, 2, 3, 4, 5, 6회 이상의 하위 간격으로서 투여될 수 있다.

[0136] 병용 및 표적 요법

[0137] 본 명세서에 개시된 FGFR-4 저해제의 투여는 다른 암 치료와 조합될 수 있다. 예를 들어, 저해제는 수술적 치료, 방사선치료 또는 다른 치료제, 예컨대 항체, 다른 선택적 키나제 저해제 또는 화학치료제와 병용하여 투여될 수 있다. 저해제는 또한 RNAi 요법 또는 안티센스 요법과 병용하여 투여될 수 있다. 본 명세서에 기재된 FGFR-4 저해제는 1, 2가지 이상의 다른 치료제와 병용될 수 있다. 이하에 약술하는 실시예에서, "제2 치료제"는 또한 FGFR-4 저해제 이외의 1종 이상의 치료제를 포함하는 것으로 이해된다. 본 명세서에 기재된 FGFR-4 저해제는 1, 2가지 이상의 다른 치료제와 함께 투여될 수 있다.

[0138] 본 명세서에 기재된 FGFR-4 저해제 및 제2 치료제는 동일한 약제학적 조성물로 투여되지 말아야 하며, 상이한 물리적 및 화학적 특징 때문에 상이한 경로에 의해 투여될 수 있다. 예를 들어, FGFR-4 저해제는 경구로 투여될 수 있는 반면, 제2 치료제는 정맥내로 투여된다. 가능하다면 동일 약제학적 조성물에서 투여 방식 및 투여의 타당함의 결정은 당업자의 지식 내에 있다. 초기 투여는 당업계에 공지된 확립된 프로토콜에 따라 만들어질 수 있고, 이어서, 관찰된 효과에 기반하여, 투여방식 및 투여 시간은 당업자에 의해 변형될 수 있다.

[0139] FGFR-4 저해제 및 제2 치료제는 증식성 질병, 환자 상태 및 투여되는 제2 치료제의 실제 선택에 따라서 동시에 (예를 들어, 일제히, 본질적으로 일제히 또는 동일한 치료 프로토콜 내에서) 또는 순차적으로(즉, 하나 다음에 다른 것, 그 사이의 선택적 시간 간격으로) 투여될 수 있다.

[0140] 추가로, 본 명세서에 개시된 FGFR-4 저해제는, FGFR-4 저해제가 컨쥬게이트의 "페이로드(payload)"의 일부인 경우 항체-약물 컨쥬게이트의 부분으로서 투여될 수 있다.

[0141] 화합물 특성규명을 위한 분석 기기 및 방법:

[0142] LCMS: 달리 표시되지 않는다면, 모든 액체 크로마토그래피-질량 스펙트럼(LCMS) 데이터(순도 및 동일성에 대해 분석한 샘플)를 22.4도씨에서 애질런트 포로셸 120(Agilent Poroshel 120)(EC-C18, 2.7 μ m 입자 크기, 3.0 x 50 mm 치수) 역상 칼럼에 적합한 ES-API를 이용하여 애질런트 모델 6120 질량 분석기를 사용하는 애질런트 모델-1260 LC 시스템에 의해 얻었다. 이동상은 수중의 용매 0.1% 폼산과 아세트나이트릴 중의 0.1% 폼산의 혼합물로 이루어졌다. 4분의 과정에 걸쳐 95% 수성/5% 유기상으로부터 5% 수성/95% 유기 이동상까지의 일정한 구배를 이용하였다. 유속은 1ml/분에서 일정하였다.

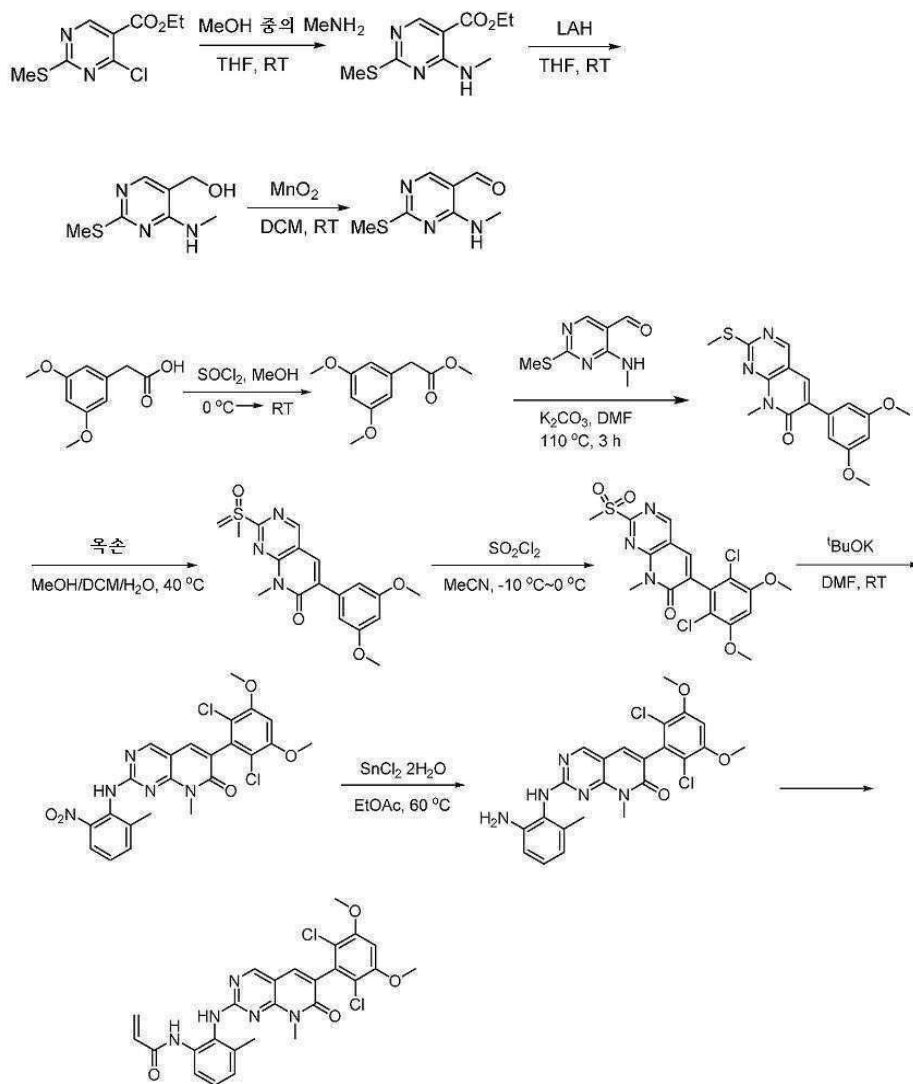
[0143] 양성자 NMR: 달리 표시되지 않는다면, 배리언(Varian) 400MHz 유니티 이노바(Unity Inova) 400 MHz NMR 기기(1 초 지연에 의한 획득 시간 = 3.5초; 16 내지 64 스캔)에 의해 모든 ¹H NMR 스펙트럼을 얻었다. 특성규명하면,

모든 양성자는 잔여 DMSO(2.50ppm)에 대한 백만분율(ppm)로서 DMSO-d⁶ 용매 중에서 보고되었다. 화합물의 정제를 위한 분취 기기: 실리카겔 크로마토그래피를 텔레다인 아이스코 콤비플래쉬(Teledyne Isco CombiFlash)(등록상표) Rf 유닛 또는 바이오티지(Biotage)(등록상표) 아이소라 포(Isolera Four) 유닛 상에서 수행하였다.

[0144] 분취 LCMS: 22.4도씨에서 루나(Luna) 5u C18(2) 100A, AXIA 패키징, 250 x 21.2mm 역상 칼럼에 적합한 시마주 디스커버리 브이피(Shimadzu Discovery VP)(등록상표) 분취 시스템 상에서 분취 HPLC를 수행하였다. 이동상은 수중의 용매 0.1% 폼산 및 아세트나이트릴 중의 0.1% 폼산의 혼합물로 이루어졌다. 25분의 과정에 걸쳐 95% 수성/5% 유기상으로부터 5% 수성/95% 유기 이동상까지의 일정한 구배를 이용하였다. 유속은 20ml/분에서 일정하였다. 마이크로웨이브에서 수행한 반응을 바이오티지 이니시에이터(Biotage Initiator) 마이크로웨이브 유닛에서 행하였다.

[0145] 실시예 1: N-(2-((6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-8-메틸-7-옥소-7,8-다이하이드로피리도[2,3-d]피리미딘-2-일)아미노)-3-메틸페닐)아크릴아마이드 화합물 43의 합성

[0146]

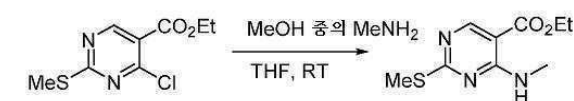


[0147]

[0148] 단계 1: 에틸 4-(메틸아미노)-2-(메틸티오)피리미딘-5-카복실레이트의 합성

[0149]

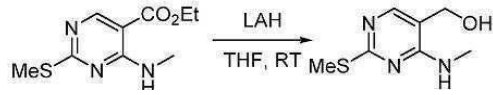
[0150]



테트라하이드로퓨란(THF)(100ml) 중의 에틸 4-클로로-2-(메틸티오)피리미딘-5-카복실레이트(5.0g, 21.5mmol) 및 29% 메틸아민(5.75g, 53.72mmol, 메탄올(MeOH) 용액)의 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반시켰다. 이어서, 반응 혼합물을 농축시키고 나서, 중탄산나트륨(NaHCO₃)(수성, 20ml)을 첨가하고, 얻어진 용액을 에틸 아세테이트

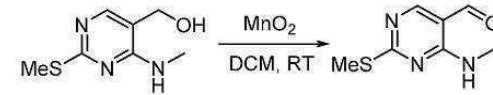
(EtOAc)(3 × 50ml)로 추출하였다. 합한 유기층을 물 및 염수로 세척하고, 황산나트륨으로 건조시키고 나서, 여과 후 농축시켜서 에틸 4-(메틸아미노)-2-(메틸티오)피리미딘-5-카복실레이트(4.68g, 96%)를 노르스름한 고체로서 얻었다. MS (ES+) C₉H₁₃N₃O₂S의 이론치: 227, 계산치: 228 [M + H]⁺.

[0151] 단계 2: (4-(메틸아미노)-2-(메틸티오)피리미딘-5-일)메탄올의 합성



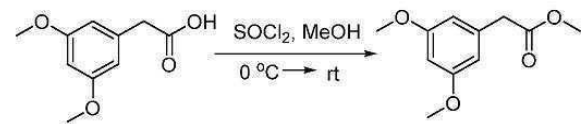
[0153] THF(100ml) 중의 수소화알루미늄리튬(LiAlH₄)(1.140g, 30mmol) 현탁액에 에틸 4-(메틸아미노)-2-(메틸티오)피리미딘-5-카복실레이트(4.536g, 20mmol)를 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반시켰다. 용액을 H₂O(2ml), 수산화나트륨(NaOH)(수성, 15%, 2ml) 및 추가 H₂O(7ml)로 조심해서 퀀칭시키고 나서, 1시간 동안 교반시켰다. 혼합물을 EtOAc로 추출하고(2 × 100ml), 합한 유기층을 물 및 염수로 세척하고 나서, 황산나트륨으로 건조시키고, 농축시켜 (4-(메틸아미노)-2-(메틸티오)피리미딘-5-일)메탄올(3.2g, 85%)을 노르스름한 고체로서 제공하였다. MS (ES+) C₇H₁₁N₃O의 이론치: 185, 계산치: 186 [M + H]⁺.

[0154] 단계 3: 4-(메틸아미노)-2-(메틸티오)피리미딘-5-카보알데하이드의 합성



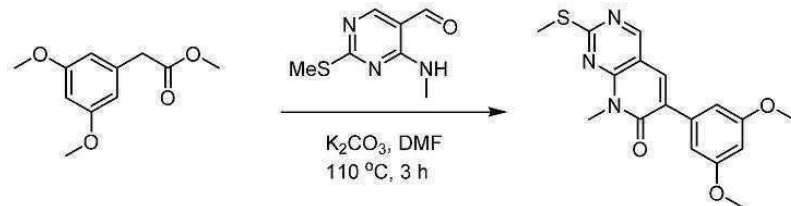
[0156] DCM(40ml) 중의 (4-(메틸아미노)-2-(메틸티오)피리미딘-5-일)메탄올(3.1g, 16.73mmol) 및 이산화망간(7.27g, 83.67mmol)의 현탁액을 실온에서 12시간 동안 교반시켰다. 얻어진 침전물을 여과시키고 나서, 여과액을 농축시켜 4-(메틸아미노)-2-(메틸티오)피리미딘-5-카보알데하이드(2.8g, 91%)를 노르스름한 고체로서 제공하였다. MS (ES+) C₇H₉N₃O의 이론치: 183, 계산치: 184 [M + H]⁺.

[0157] 단계 4: 메틸 2-(3,5-다이메톡시페닐)아세테이트의 합성



[0159] MeOH(30ml) 중의 2-(3,5-다이메톡시페닐)아세트산 (5)(600mg, 3.06mmol)의 용액에 0°C에서 염화티오닐(3ml)을 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반시켰다. 반응을 액체 크로마토그래피-질량분석법(LCMS)에 의해 모니터링하였다. 혼합물을 포화 중탄산나트륨(수성, 20ml)으로 희석시키고 나서, EtOAc로 추출하였다(3 × 20ml). 합한 유기층을 물 및 염수로 세척하고, 황산나트륨으로 건조시키고 나서, 여과 후, 농축시켜 메틸 2-(3,5-다이메톡시페닐)아세테이트(조질, 700mg)를 황색 오일로서 제공하였다. MS (ES+) C₁₁H₁₄O₄의 이론치: 210, 계산치: 211 [M + H]⁺.

[0160] 단계 5: 6-(3,5-다이메톡시페닐)-8-메틸-2-(메틸티오)피리도[2,3-d]피리미딘-7(8H)-온의 합성



[0162] DMF(30ml) 중의 2-(3,5-다이메톡시페닐)아세테이트(6)(440mg, 2.40mmol), 4-아미노-2-(메틸티오)피리미딘-5-카보알데하이드(4)(605mg, 2.88mmol) 및 탄산칼륨(662mg, 4.8mmol) 용액을 110°C에서 3시간 동안 교반시켰다. 반응을 LCMS에 의해 모니터링하였다. 반응 혼합물을 H₂O(30ml)로 희석시키고 나서, EtOAc로 추출하였다(3 × 40ml). 합

한 유기층을 물 및 염수로 세척하고, 황산나트륨으로 건조시키고 나서, 여과 후, 농축시켰다. 잔사를 칼럼 크로마토그래피(실리카겔, 석유에터/EtOAc = 2:1)에 의해 정제하여 6-(3,5-다이메톡시페닐)-8-메틸-2-(메틸티오)피리도[2,3-d]피리미딘-7(8H)-온(7)(683mg, 83%)을 백색 고체로서 얻었다. MS (ES+) C₁₇H₁₇N₃O₃S 이론치: 343, 계산치: 344 [M + H]⁺.

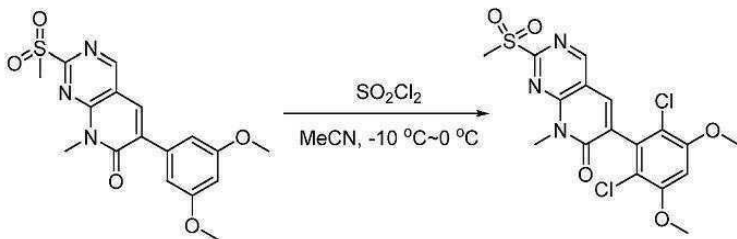
[0163] 단계 6: 6-(3,5-다이메톡시페닐)-8-메틸-2-(메틸설포닐)피리도[2,3-d]피리미딘-7(8H)-온의 합성



[0164]

[0165] 메탄올/다이클로로메탄(MeOH/DCM)(20ml/20ml) 중의 6-(3,5-다이메톡시페닐)-8-메틸-2-(메틸티오)피리도[2,3-d]피리미딘-7(8H)-온(1.05g, 3.1mmol)의 용액에 H₂O(20ml) 중의 옥손(Oxone)(등록상표)(과산화일황산칼륨)(11.3g, 18.4mmol)의 용액을 실온에서 첨가하고, 반응 혼합물을 40°C에서 18시간 동안 교반시켰다. 반응을 LCMS에 의해 모니터링하였다. 반응 혼합물을 H₂O/DCM(150ml/100ml)으로 희석시키고, 수성상을 DCM(100ml)으로 추출하였다. 합한 유기층을 물(200ml) 및 염수(200ml)로 세척시키고, 황산나트륨으로 건조시키고 나서, 여과 후, 농축시켰다. 조질의 생성물을 EtOAc로 재결정화시켜 6-(3,5-다이메톡시페닐)-8-메틸-2-(메틸설포닐)피리도[2,3-d]피리미딘-7(8H)-온(8)(910mg, 수율 78%)을 황색 고체로서 얻었다. MS (ES+) C₁₇H₁₇N₃O₃S, 이론치: 375, 계산치: 376 [M + H]⁺.

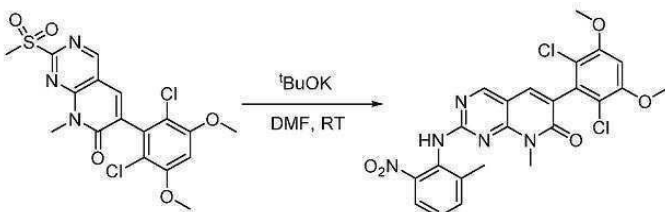
[0166] 단계 7: 6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-8-메틸-2-(메틸설포닐)피리도[2,3-d]피리미딘-7(8H)-온의 합성



[0167]

[0168] 아세트나이트릴(50ml) 중의 6-(3,5-다이메톡시페닐)-8-메틸-2-(메틸설포닐)피리도[2,3-d]피리미딘-7(8H)-온(8)(938mg, 2.5mmol)의 용액에 -10°C 내지 0°C 범위의 온도에서 0.5시간에 걸쳐 아세트나이트릴(25ml) 중의 염화설포릴(1.34g, 10.0mmol) 용액을 서서히 첨가하였다. 반응을 박층 크로마토그래피(TLC)에 의해 모니터링하였다. 반응 혼합물을 H₂O(10ml)를 첨가함으로써 퀀칭시켰다. 얻어진 반응 용액을 감압 하에 농축시키고 나서, 잔사를 EtOAc/석유에터 = 1:2로 재결정화시켜 6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-8-메틸-2-(메틸설포닐)피리도[2,3-d]피리미딘-7(8H)-온(9)(760mg, 수율 69%)을 황색 고체로서 제공하였다. MS (ES+) C₁₇H₁₅Cl₂N₃O₃S 이론치: 443, 445, 계산치: 444, 446 [M + H]⁺.

[0169] 단계 8: 6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-8-메틸-2-(2-메틸-6-니트로페닐아미노)피리도[2,3-d]피리미딘-7(8H)-온의 합성

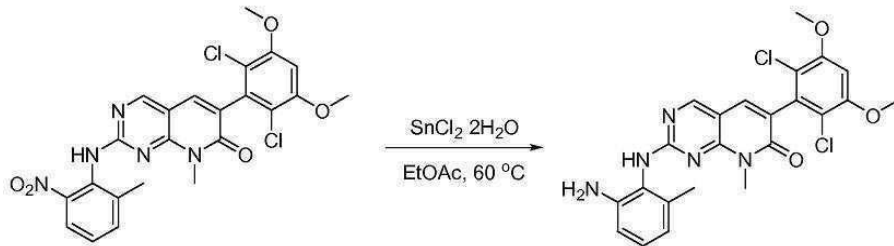


[0170]

[0171] DMF(20ml) 중의 6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-8-메틸-2-(메틸설포닐)피리도[2,3-d]피리미딘-7(8H)-온

(9)(1.0g, 2.26mmol) 및 2-메틸-6-나이트로벤젠아민(684mg, 4.5mmol)의 혼합물에 칼륨 tert-부톡사이드(756mg, 6.75mmol)를 ~10℃에서 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에서 5분 동안 교반시켰다. 반응 혼합물을 EtOAc(150ml)로 희석시키고, 유기상을 분리시켜, 물(2 x 150ml)로 세척하고 나서 염수(150ml)로 세척하고, 황산나트륨으로 건조시키고 나서, 여과 후, 농축시켰다. 잔사를 EtOAc로 재결정화시켜 2-(2-아미노-6-메틸페닐아미노)-6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-8-메틸피리도[2,3-d]피리미딘-7(8H)-온(10)(810mg, 수율 70%)을 황색 고체로서 제공하였다. MS (ES+) C₂₃H₁₉Cl₂N₅O₅ 이론치: 515, 517, 계산치: 516, 518 [M + H]⁺.

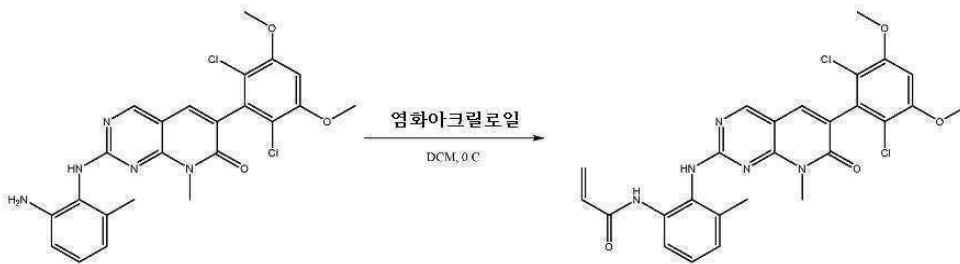
[0172] 단계 9: 2-(2-아미노-6-메틸페닐아미노)-6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-8-메틸피리도[2,3-d]피리미딘-7(8H)-온의 합성



[0173]

[0174] EtOAc(50ml) 중의 2-(2-나이트로-6-메틸페닐아미노)-6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-8-메틸피리도[2,3-d]피리미딘-7(8H)-온(10)(810mg, 1.57mmol) 및 염화주석(II) 수화물(1.77g, 7.86mmol)의 혼합물을 60℃에서 2시간 동안 교반시켰다. 반응을 LCMS에 의해 모니터링하였다. 반응 혼합물을 포화 수성 중탄산나트륨을 이용하여 pH = 8-9로 염기화하고, H₂O(100ml)로 희석시키고 나서, EtOAc로 추출하였다(3 x 100ml). 합한 유기층을 염수(150ml)로 세척하고, 황산나트륨으로 건조시키고 나서, 여과 후, 농축시켰다. 잔사를 다이클로로메탄/에틸 아세테이트/석유에터 (DCM/EtOAc/PE) = 1/1/2에 의해 재결정화하여 2-(2-아미노-6-메틸페닐아미노)-6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-8-메틸피리도[2,3-d]피리미딘-7(8H)-온(11)(640mg, 수율 83%)을 회색 고체로서 제공하였다. (MS (ES+) C₂₃H₂₁Cl₂N₅O₃ 이론치: 485, 487, 계산치: 486, 488 [M + H]⁺; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ ppm 8.54 (s, 1H), 7.45 (s, 1H), 7.08 (t, J = 7.5 Hz, 1H), 6.71 (dd, J = 3.5, 7.5 Hz, 2H), 6.65 (br s, 1H), 6.62 (s, 1H), 3.94 (s, 6H), 3.88 (br s, 2H), 3.62 (br s, 3H), 2.24 (s, 3H).

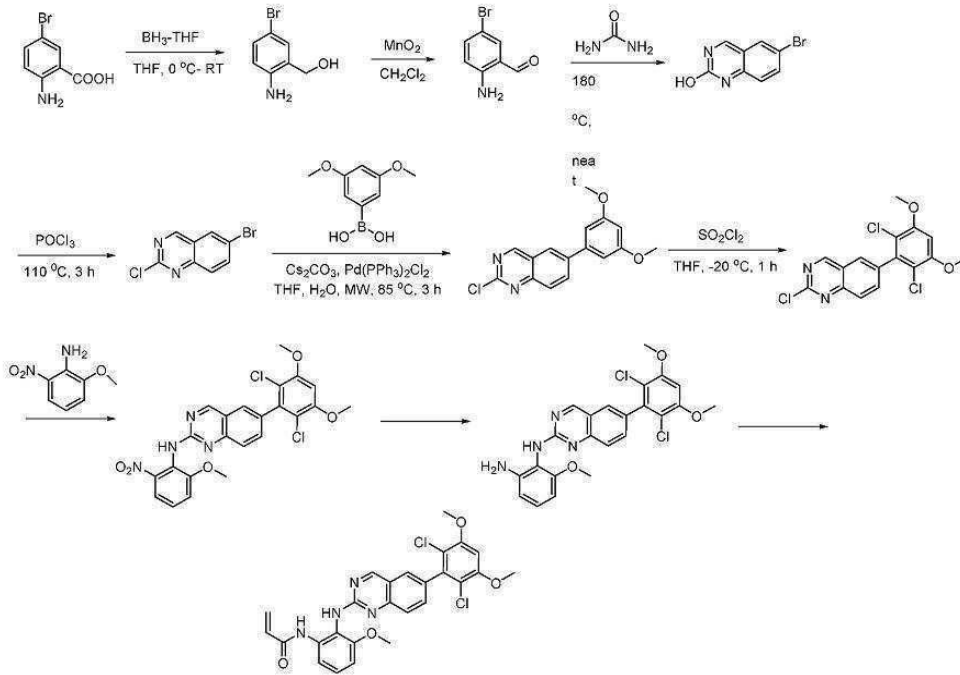
[0175] 단계 10: N-(2-((6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-8-메틸-7-옥소-7,8-다이하이드로피리도[2,3-d]피리미딘-2-일)아미노)-3-메틸페닐)아크릴아마이드 화합물 43의 합성



[0176]

[0177] 2-(2-아미노-6-메틸페닐아미노)-6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-8-메틸피리도[2,3-d]피리미딘-7(8H)-온(11)을 DCM(2ml) 중에서 취하고, 0℃로 냉각시키고 나서, 염화아크릴로일(0.010ml, 0.13mmol)을 첨가하였다. 반응물을 실온으로 가온시키고, 밤새 교반시켰다. 혼합물을 실리카겔 상에 직접 장입하고, 0 내지 100% EtOAc/헥산 구배를 사용하는 플래쉬 크로마토그래피에 의해 정제하여 생성물인 N-(2-((6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-8-메틸-7-옥소-7,8-다이하이드로피리도[2,3-d]피리미딘-2-일)아미노)-3-메틸페닐)아크릴아마이드(화합물 E)를 제공하였다. 생성물을 회백색 고체로서 얻었다(10mg; 수율 19%). MS (ES+) C₂₆H₂₃Cl₂N₅O₄, 540 [M + H]⁺.

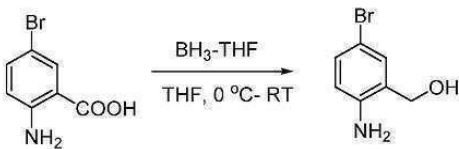
[0178] 실시예 2: N-(2-((6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)퀴나졸린-2-일)아미노)-3-메톡시페닐)아크릴아마이드 화합물 30의 합성



[0179]

[0180]

단계 1: (2-아미노-5-브로모페닐)메탄올의 합성



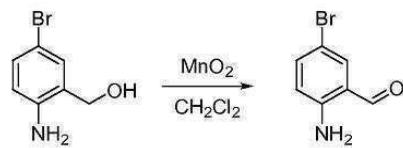
[0181]

[0182]

THF(150ml) 중의 2-아미노-5-브로모벤조산(10.0g, 46.3mmol)의 용액에 BH₃-THF(1M, 231ml)를 실온에서 첨가하고, 반응 혼합물을 밤새 교반시켰다. 반응 혼합물의 알리퀴트를 LCMS에 의해 분석하고, 이는 반응이 완료로 진행되었음을 나타내었다. 반응을 물(150ml)을 이용하여 퀀칭시키고 나서, EtOAc로 추출하였다(3 × 500ml). 유기층을 분리시키고, 합쳐서, 물(200ml) 및 염수(200ml)로 세척하고, 황산나트륨으로 건조시키고 나서, 여과 후, 농축시켜서 표제 화합물(10g, 조질)을 얻었으며, 이것은 추가의 정제 없이 다음 단계에서 직접 사용하였다. MS (ES+) C₇H₆BrNO 이론치: 201, 계산치: 202, 204 [M + H]⁺.

[0183]

단계 2: 2-아미노-5-브로모벤즈알데하이드의 합성

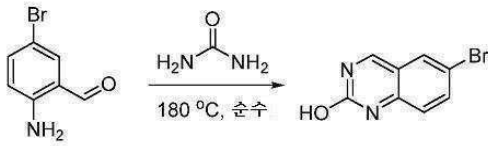


[0184]

[0185]

CH₂Cl₂(400ml) 중의 (2-아미노-5-브로모페닐)메탄올(10g, 49.5mmol) 및 MnO₂(25.8g, 296.6mmol)의 혼합물을 실온에서 밤새 교반시켰다. LCMS는 반응이 완료되었다는 것을 나타내었다. 고체를 여과시키고, 여과액을 농축시켜 밝은 황색 고체로서 표제 화합물을 제공하였으며(8g, 81%), 이것은 이를 추가의 정제 없이 다음 단계에서 직접 사용하였다. MS (ES+) C₇H₆BrNO 이론치: 199, 계산치: 200, 202 [M + H]⁺.

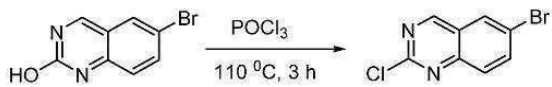
[0186] 단계 3: 6-브로모퀴나졸린-2-올의 합성



[0187]

[0188] 2-아미노-5-브로모벤즈알데하이드(29)(6g, 30.0mmol) 및 유레아(30)(27g, 450.0mmol)의 혼합물을 180°C로 가열하고, 5시간 동안 교반시켰다. LCMS는 반응이 완료되었다는 것을 나타내었다. 반응 혼합물을 실온으로 냉각 후, 얻어진 침전물을 H₂O로 세척하고(3 x 500ml), 톨루엔을 이용하여 3회 공증발시켜서 갖혀 있는 수분을 완전히 제거하였다. 6-브로모퀴나졸린-2-올(31)(6g, 89%)을 황색 고체로서 얻었다. MS (ES+) C₈H₅BrN₂O 이론치: 224, 계산치: 225, 227 [M + H]⁺.

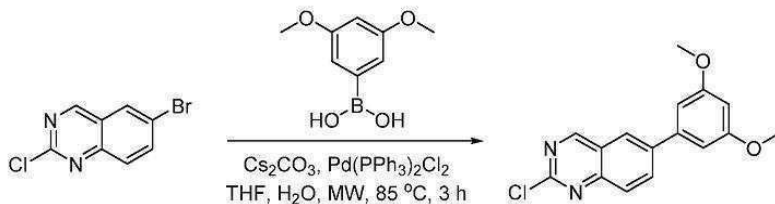
[0189] 단계 4: 6-브로모-2-클로로퀴나졸린의 합성



[0190]

[0191] POCl₃ (80ml) 중의 6-브로모퀴나졸린-2-올(31)(6.0g, 26.7mmol)의 용액을 110°C에서 5시간 동안 환류시켰다. 반응 혼합물의 알리쿼트를 LCMS에 의해 분석하고, 반응이 완료로 진행하였음을 나타내었다. 대부분의 POCl₃을 감압 하에 제거하였고, 잔사를 얼음물(500ml)에 적가하였다. 얻어진 침전물을 황색 고체(3.5g, 54%)로서 여과를 통해 수집하였다. MS (ES+) C₈H₄BrClN₂ 이론치: 242, 계산치: 243, 245 [M + H]⁺.

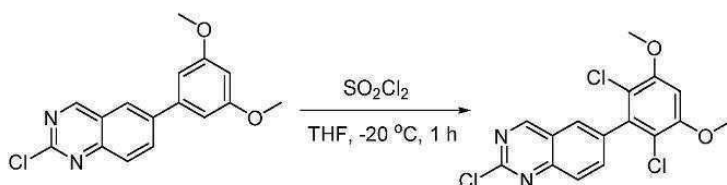
[0192] 단계 5: 2-클로로-6-(3,5-다이메톡시페닐)퀴나졸린의 합성



[0193]

[0194] THF(50ml) 중의 6-브로모-2-클로로퀴나졸린(32)(5.0g, 20.5mmol), 3,5-다이메톡시페닐보론산(33)(3.7g, 20.5mmol), Cs₂CO₃(20.0g, 61.5mmol) 및 Pd(PPh₃)₂Cl₂(1.4g, 2.1mmol), 다이옥산(50ml) 및 물(10ml)의 혼합물을 N₂로 3회 탈기하고, 80°C에서 3 시간동안 교반시켰다. 반응 혼합물의 알리쿼트를 TLC와 LCMS 둘 다에 의해 분석하고, 이는 반응이 완료로 진행되었다는 것을 나타내었다. 혼합물을 실온으로 냉각시키고, EtOAc로 추출하였다(3 x 200ml). 합한 유기층을 물 및 염수로 세척하고, 황산나트륨으로 건조시키고 나서, 여과 후, 농축시켰다. 잔사를 실리카겔 크로마토그래피(석유에터/EtOAc = 8:1)에 의해 정제하여 2-클로로-6-(3,5-다이메톡시페닐)퀴나졸린(34)을 밝은 황색 고체(2.4g, 38%)로서 얻었다. MS (ES+) C₁₆H₁₃ClN₂O₂ 이론치: 300, 계산치: 301, 303 [M + H]⁺.

[0195] 단계 6: 2-클로로-6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)퀴나졸린의 합성

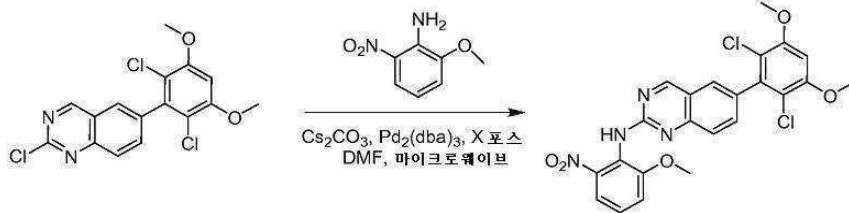


[0196]

[0197] 건조 THF(80ml) 중의 2-클로로-6-(3,5-다이메톡시페닐)퀴나졸린(34)(2.7g, 8.9mmol)의 용액에 -20°C에서 SO₂Cl₂(3.0g, 22.3mmol)를 첨가하고, 반응 혼합물을 추가 한시간 동안 교반시켰다. 반응 혼합물의 알리쿼트를 TLC와 LCMS에 의해 분석하였는데, 이는 반응이 완료까지 진행하였음을 나타내었다. 반응 혼합물을 물(1ml)로 퀀칭

하고, 용매를 감압 하에 제거하였다. 침전물을 CH₃CN으로 세척하고, 건조시켜 2-클로로-6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)퀴나졸린(35)(2.6g, 79%)을 백색 고체로서 얻었다. (MS (ES+) C₁₆H₁₁Cl₃N₂O₂ 이론치: 368, 계산치: 369, 371 [M + H]⁺; ¹H-NMR (500 MHz, DMSO) δ ppm 9.67 (s, 1H), 8.168 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 8.10 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.56 (dd, J = 2.0, 8.5 Hz, 1H), 7.07 (s, 1H), 4.00 (s, 6H).

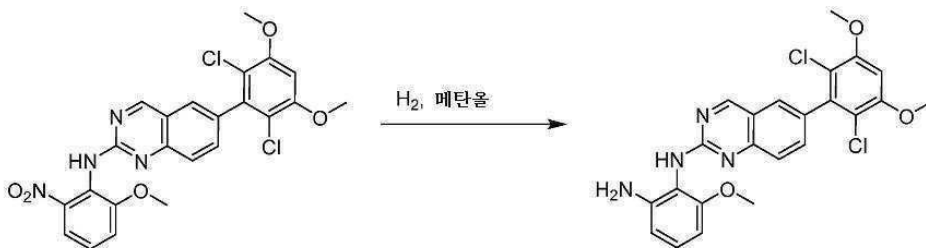
[0198] 단계 7: 6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-N-(2-메톡시-6-나이트로페닐)퀴나졸린-2-아민의 합성



[0199]

[0200] 2-클로로-6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)퀴나졸린(35)(100mg, 0.27mmol), 2-메톡시-6-나이트로아닐린(36)(57mg, 0.40mmol), Cs₂CO₃(176mg, 0.54mmol), Pd₂(dba)₃(25mg, 0.027mmol) 및 2-다이사이클로헥실포스피노-2',4',6'-트리아이소프로필바이페닐(X포스(Xphos))(26mg, 0.054mmol)을 마이크로웨이브 바이알에서 DMF(3ml) 중에서 취하고, N₂로 5분 동안 퍼지하였다. 바이알을 캡핑하고, 마이크로웨이브에서 30분 동안 115°C로 가열하였다. 실온으로 냉각시킨 후에, 반응 혼합물을 DCM으로 희석시키고 나서, 염수로 3회 세척하였다. 유기 혼합물을 황산나트륨으로 건조시키고 나서, 실리카겔 상에 직접 장입하여, 0 내지 100% EtOAc/헥산 구배를 사용하여 정제하였다. 6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-N-(2-메톡시-6-나이트로페닐)퀴나졸린-2-아민(37)을 황색 고체(100mg, 수율 73%)로서 회수하였다. MS (ES+) C₂₃H₁₈Cl₂N₄O₅, 501 [M + H]⁺.

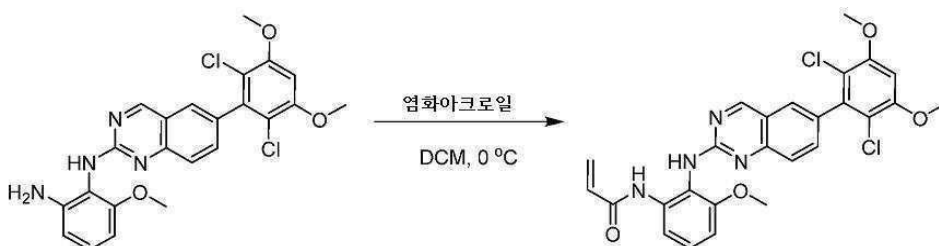
[0201] 단계 8: N¹-(6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)퀴나졸린-2-일)-6-메톡시벤젠-1,2-다이아민의 합성



[0202]

[0203] 6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-N-(2-메톡시-6-나이트로페닐)퀴나졸린-2-아민(38)(100mg, 0.14mmol)을 메탄올(10ml) 중에서 취하고, 10% Pd/C(15mg)을 첨가하였다. 혼합물을 H₂ 별론 하에서 4시간 동안 교반시켰다. 반응 혼합물을 셀라이트를 통해 여과시키고, 용매를 제거하여 N¹-(6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)퀴나졸린-2-일)-6-메톡시벤젠-1,2-다이아민(38)을 정량적 수율로 제공하였다. 화합물 38을 추가의 정제 없이 다음 단계에서 수행하였다. MS (ES+) C₂₃H₂₀Cl₂N₄O₃, 471 [M + H]⁺

[0204] 단계 9: N-(2-((6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)퀴나졸린-2-일)아미노)-3-메톡시페닐)아크릴아마이드의 합성

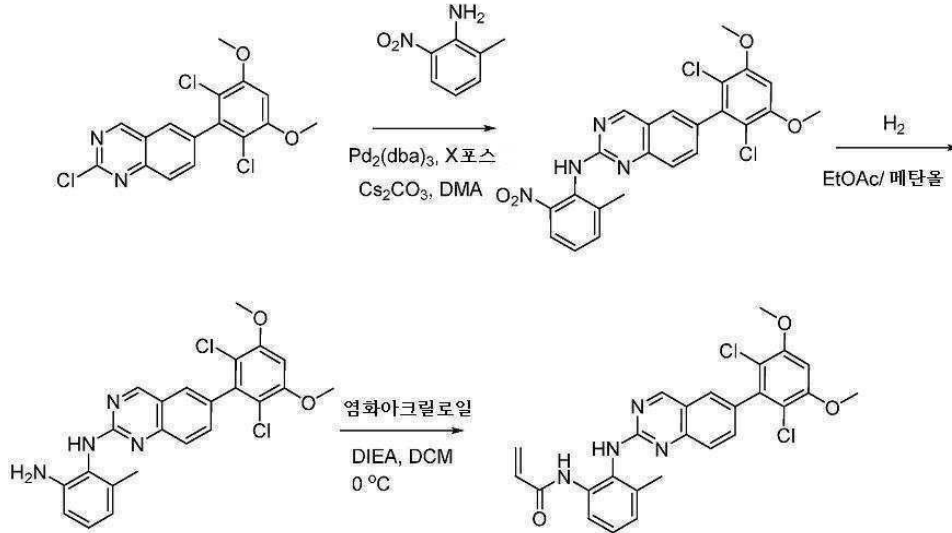


[0205]

[0206] N¹-(6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)퀴나졸린-2-일)-6-메톡시벤젠-1,2-다이아민(38)(96mg, 0.20mmol)을 DCM(2ml) 중에서 취하고, 0°C로 냉각시키고 나서, 염화아크릴로일(0.018ml, 0.24mmol)을 첨가하고, 0°C에서 2시

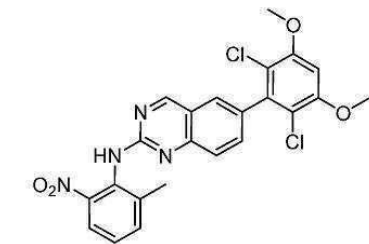
간 동안 교반시켰다. 혼합물을 실리카겔 상에 직접 장입하고, 0 내지 100% EtOAc/헥산 구배를 사용하는 플래시 크로마토그래피에 의해 정제하였다. N-(2-((6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)퀴나졸린-2-일)아미노)-3-메톡시페닐)아크릴아마이드(39)를 회백색 고체(30mg, 수율 28%)로서 회수하였다. MS (ES+) $C_{26}H_{22}Cl_2N_4O_4$, 525 [M + H]⁺.

[0207] 실시예 3: 화합물 25의 합성



[0208]

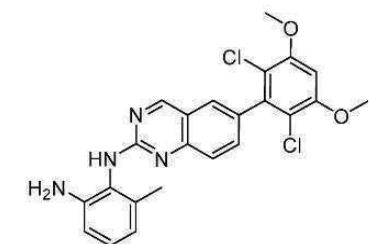
[0209] 6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-N-(2-메틸-6-나이트로페닐)퀴나졸린-2-아민의 합성



[0210]

[0211] 2-클로로-6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)퀴나졸린(35)(5g, 13.5mmol), 2-메틸-6-나이트로아닐린(3.09g, 20.3mmol), Cs₂CO₃(13.2g, 40.6mmol), Pd₂(dba)₃(1.24g, 1.35mmol) 및 2-다이사이클로헥실포스피노-2',4',6'-트라이아이소프로필바이페닐(XPhos)(1.29g, 2.71mmol)을 DMA(100ml) 중에서 취하고 나서, N₂로 5분 동안 퍼지하였다. 반응 혼합물을 110°C로 3시간 동안 가열하였다. 실온으로 냉각시킨 후에, 반응 혼합물을 DCM(500ml)으로 희석시키고, 10% HCl로 3회 세척하고 나서(3 x 300ml), 염수로 3회 세척하였다. 유기 혼합물을 황산나트륨으로 건조시키고 나서, 실리카겔 상에 직접 장입하여, 0 내지 100% EtOAc/헥산 구배를 사용하여 정제하였다. 6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-N-(2-메틸-6-나이트로페닐)퀴나졸린-2-아민을 황색 고체(5.5g, 수율 81%)로서 회수하였다. MS (ES+) $C_{23}H_{18}Cl_2N_4O_4$, 485 [M + H]⁺.

[0212] N¹-(6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)퀴나졸린-2-일)-6-메틸벤젠-1,2-다이아민의 합성

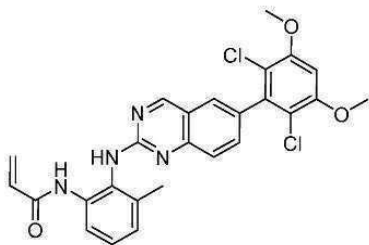


[0213]

[0214] 6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-N-(2-메틸-6-나이트로페닐)퀴나졸린-2-아민(5.5g, 11.33mmol)을 메탄올

(200ml) 및 에틸 아세테이트(100ml) 중에서 취하고, 10% Pd/C(650mg)을 첨가하였다. 혼합물을 H₂ 벌룬 하에서 밤새 교반시켰다. 반응 혼합물을 셀라이트를 통해 여과시키고, 용매를 제거하여 N¹-(6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)퀴나졸린-2-일)-6-메틸벤젠-1,2-디아민을 정량적 수율로 제공하였다. 이를 추가의 정제 없이 다음 단계에 대해 수행하였다. MS (ES+) C₂₃H₂₀Cl₂N₄O₂, 455 [M + H]⁺

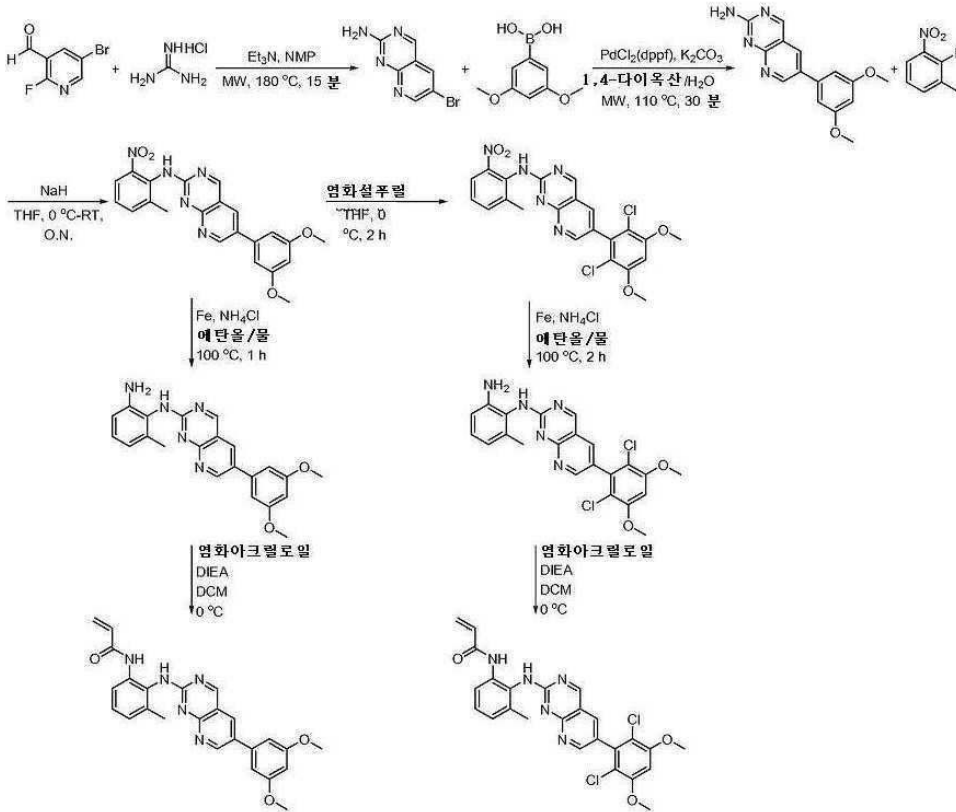
[0215] N-(2-((6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)퀴나졸린-2-일)아미노)-3-메틸페닐)아크릴아마이드의 합성



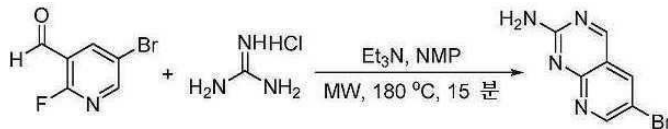
[0216]

[0217] N¹-(6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)퀴나졸린-2-일)-6-메틸벤젠-1,2-디아민(5.16g, 11.33mmol)을 DCM(100ml) 중에서 취하고, 0℃로 냉각시킨 다음, DIEA(1.781ml, 10.20mmol) 및 염화아크릴로일(1.013ml, 12.47mmol)을 첨가하고, 0℃에서 2시간 동안 교반시켰다. 혼합물을 실리카겔 상에 직접 장입하고 나서, 0 내지 100% EtOAc/헥산 구배를 사용하여 플래시 크로마토그래피에 의해 정제하였다. N-(2-((6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)퀴나졸린-2-일)아미노)-3-메틸페닐)아크릴아마이드를 희백색 고체(3.5g, 수율 61%)로서 회수하였다. MS (ES+) C₂₆H₂₂Cl₂N₄O₃, 509 [M + H]⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.53 (s, 1H), 9.23 (s, 1H), 8.68 (s, 1H), 7.82 - 7.65 (m, 2H), 7.51 (s, 2H), 7.21 (m, 1H), 7.12 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 7.01 (s, 1H), 6.49 (dd, *J* = 17.0, 10.2 Hz, 1H), 6.28 - 6.15 (m, 1H), 5.68 (dd, *J* = 10.2, 2.0 Hz, 1H), 3.97 (s, 6H), 2.19 (s, 3H).

[0218] 실시예 4: 화합물 26 및 화합물 10의 합성



6-브로모피리도 [2,3-d]피리미딘-2-아민의 합성



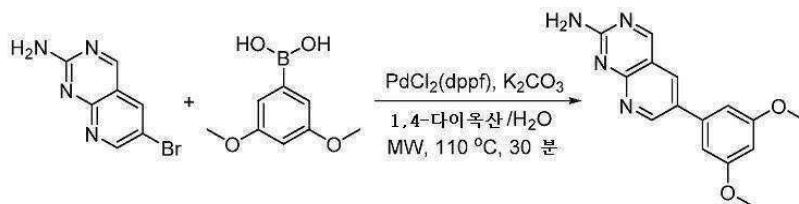
[0219]

[0220]

5-브로모-2-플루오로니코틴알데하이드(3.0g, 14.78mmol), 구아니딘 하이드로클로라이드(1.69g, 17.74mmol) 및 트라이에틸아민(4.48g, 44.35mmol)을 1-메틸-2-피롤리돈(15ml) 중에서 용해시키고, 반응 혼합물을 마이크로웨이브 하에 180°C에서 15분 동안 교반시켰다. 혼합물을 실온으로 냉각시키고 나서, 물(200ml)로 퀀칭시키고, 에틸아세테이트로 추출하였다(2 × 300ml). 유기층을 합쳐, 물(3 × 50ml) 및 염수(3 × 50ml)로 세척하고 나서, 황산나트륨으로 건조시키고, 여과 후, 농축시켜서 조질의 생성물을 얻었고, 이를 실리카겔 칼럼 크로마토그래피(에틸아세테이트:석유에터 = 3:1)에 의해 정제하여 6-브로모피리도[2,3-d]피리미딘-2-아민(2.0g, 60%)을 황색 고체로서 얻었다. MS (ES+) C₇H₅BrN₄ 이론치: 224, 226, 계산치: 225, 227 [M+H]⁺.

[0221]

6-(3,5-다이메톡시페닐)피리도[2,3-d]피리미딘-2-아민의 합성



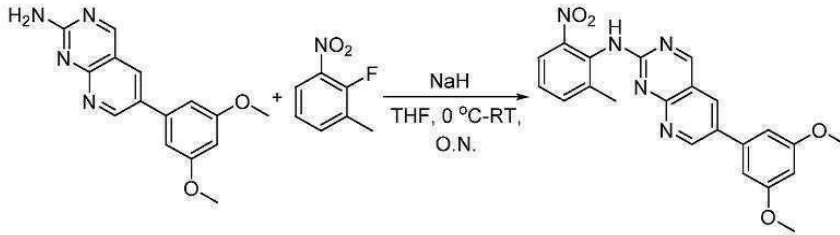
[0222]

[0223]

1,4-다이옥산/물(4ml/1ml) 중의 6-브로모피리도[2,3-d]피리미딘-2-아민(1.0g, 4.46mmol), 3,5-다이메톡시페닐보론산(1.2g, 6.70mmol), PdCl₂(dppf)(364mg, 0.446mmol) 및 탄산칼륨(1.8g, 13.39mmol)의 혼합물을 질소로 5분 동안 탈기시키고, 110°C에서 30분 동안 마이크로웨이브 하에서 교반시켰다. 반응 혼합물 실온으로 냉각시키고 나서, 농축시켜 조질의 생성물을 얻었고, 이를 실리카겔 칼럼 크로마토그래피(에틸아세테이트:석유에터 = 4:1)에

의해 정제하여 6-(3,5-다이메톡시페닐)피리도[2,3-d]피리미딘-2-아민을 황색 고체(400mg, 31%)로서 얻었다. MS (ES+) C₁₅H₁₄N₄O₂ 이론치: 282, 계산치: 283 [M+H]⁺.

[0224] 6-(3,5-다이메톡시페닐)-N-(2-메틸-6-나이트로페닐)피리도[2,3-d]피리미딘-2-아민의 합성



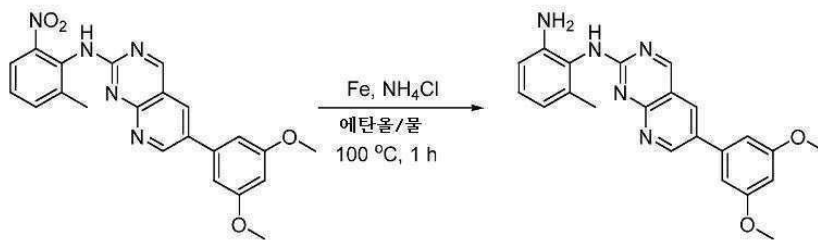
[0225]

[0226]

0 °C에서 THF(20ml) 중의 6-(3,5-다이메톡시페닐)피리도[2,3-d]피리미딘-2-아민(400mg, 1.42mmol)의 용액에 수산화나트륨(102mg, 4.25mmol)을 첨가하였다. 용액을 20분 동안 교반시키고 나서, 2-플루오로-1-메틸-3-나이트로벤젠(440mg, 2.84mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반시키고 나서, 물(20ml)로 퀀칭시키고, 에틸 아세테이트(3 × 30ml)로 추출하였다. 유기층을 합쳐서, 염수(50ml)로 세척하고 나서, 황산나트륨으로 건조시키고, 여과 후, 농축시켜서 조질의 생성물을 얻었고, 이를 실리카겔 칼럼 크로마토그래피(에틸 아세테이트:석유에터 = 4:1)에 의해 정제하여 6-(3,5-다이메톡시페닐)-N-(2-메틸-6-나이트로페닐)피리도[2,3-d]피리미딘-2-아민(310mg, 51%)을 갈색 고체로서 얻었다. MS (ES+) C₂₂H₁₉N₅O₄ 이론치: 417, 계산치: 418 [M+H]⁺.

[0227]

N¹-(6-(3,5-다이메톡시페닐)피리도[2,3-d]피리미딘-2-일)-6-메틸벤젠-1,2-다이아민의 합성



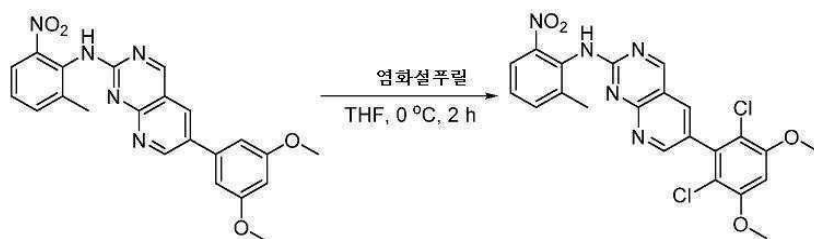
[0228]

[0229]

에탄올(5ml) 및 물(5ml) 중의 6-(3,5-다이메톡시페닐)-N-(2-메틸-6-나이트로페닐)피리도[2,3-d]피리미딘-2-아민(100mg, 0.24mmol)의 용액에 철 분말(110mg, 1.92mmol) 및 염화암모늄(100mg, 1.920mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 100 °C에서 1시간 동안 교반시키고, 실온으로 냉각시키고 나서, 여과 후, 농축시켰다. 잔사를 분취 HPLC에 의해 정제하여 N¹-(6-(3,5-다이메톡시페닐)피리도[2,3-d]피리미딘-2-일)-6-메틸벤젠-1,2-다이아민(29.5mg, 32%)을 황색 고체로서 얻었다. MS (ES+) C₂₂H₂₁N₅O₂ 이론치: 387, 계산치: 388 [M+H]⁺; ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 9.30, 9.21 (br, br, 2H), 8.95 (s, 1H), 8.60 (d, 1H, J = 3.0 Hz), 6.96-6.92 (m, 3H), 6.63 (d, 1H, J = 5.5 Hz), 6.55 (t, 1H, J = 2.0 Hz), 6.50-6.48 (m, 1H), 4.79 (s, 2H), 3.84 (s, 6H), 2.08 (s, 3H).

[0230]

6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-N-(2-메틸-6-나이트로페닐)피리도[2,3-d]피리미딘-2-아민의 합성



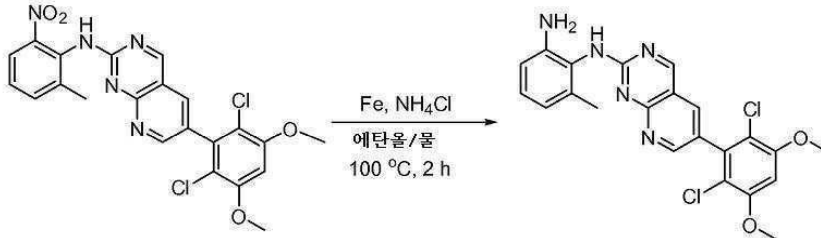
[0231]

[0232]

0 °C에서 THF(10ml) 중의 6-(3,5-다이메톡시페닐)-N-(2-메틸-6-나이트로페닐)피리도[2,3-d]피리미딘-2-아민(100 mg, 0.24mmol)의 교반 용액에 THF(2ml) 중의 염화설포닐(0.06ml, 0.72mmol) 용액을 적가하였다. 0 °C에서 2시간 동안 교반시킨 후에, 반응을 물(10ml)로 퀀칭시키고, 에틸 아세테이트로 추출하였다(3 × 20ml). 유기층을 합쳐서, 염수(20ml)로 세척한 후, 황산나트륨으로 건조시키고 나서, 여과 후, 농축시켰다. 잔사를 실리카겔 칼

럼 크로마토그래피(에틸 아세테이트:석유에터 = 3:1)에 의해 정제하여 6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-N-(2-메틸-6-나이트로페닐)피리도[2,3-d]피리미딘-2-아민(110mg, 95%)을 황색 고체로서 얻었다. MS (ES+) $C_{22}H_{17}Cl_2N_5O_4$ 이론치: 485, 487 계산치: 486, 488 $[M+H]^+$.

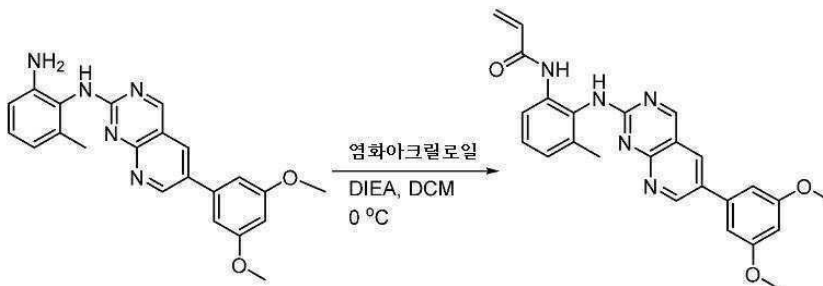
[0233] N^1 -(6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)피리도[2,3-d]피리미딘-2-일)-6-메틸벤젠-1,2-다이아민의 합성



[0234]

[0235] 에탄올(4ml) 및 물(4ml) 중의 6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-N-(2-메틸-6-나이트로페닐)피리도[2,3-d]피리미딘-2-아민(80mg, 0.168mmol)의 용액에 철 분말(75mg, 1.344mmol) 및 염화암모늄(74mg, 1.344mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 100 °C에서 2시간 동안 교반시키고, 실온으로 냉각시키고 나서, 여과 후, 농축시켰다. 잔사를 실리카겔 칼럼 크로마토그래피(에틸 아세테이트:석유에터 = 4:1)에 의해 정제하여 N^1 -(6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)피리도[2,3-d]피리미딘-2-일)-6-메틸벤젠-1,2-다이아민(40mg, 53%)을 황색 고체로서 얻었다. MS (ES+) $C_{22}H_{19}Cl_2N_5O_2$ 이론치: 455, 457, 계산치: 456, 458 $[M+H]^+$. 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 9.33 (br. s., 1H), 9.01 (s, 1H), 9.65 (br. s., 1H), 8.23 (s, 1H), 7.05 (s, 1H), 6.93 (br. s., 1H), 6.64-6.63 (m, 1H), 6.50-6.49 (m, 1H), 4.80 (s, 2H), 3.99 (s, 6H), 2.09 (s, 3H).

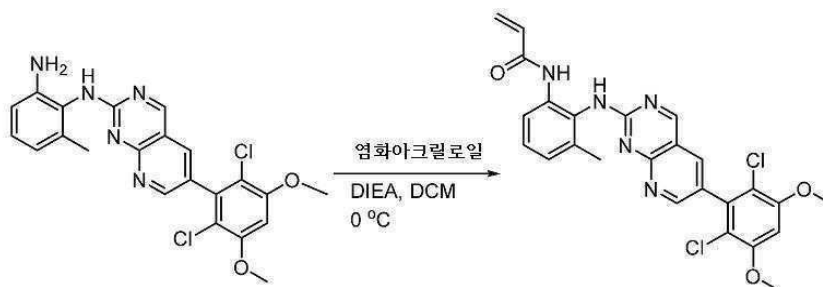
[0236] N-(2-((6-(3,5-다이메톡시페닐)피리도[2,3-d]피리미딘-2-일)아미노)-3-메틸페닐)아크릴아마이드의 합성



[0237]

[0238] N-(2-((6-(3,5-다이메톡시페닐)피리도[2,3-d]피리미딘-2-일)아미노)-3-메틸페닐)아크릴아마이드를 화합물 30과 유사한 절차를 사용하여 준비하였다. 생성물을 0 내지 50% EtOAc/DCM 구배를 사용하여 플래시 크로마토그래피에 의해 정제하여 표제 화합물을 제공하였다. MS (ES+) $C_{25}H_{23}N_5O_3$ 이론치: 441, 계산치: 442

[0239] N-(2-((6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)피리도[2,3-d]피리미딘-2-일)아미노)-3-메틸페닐)아크릴아마이드의 합성

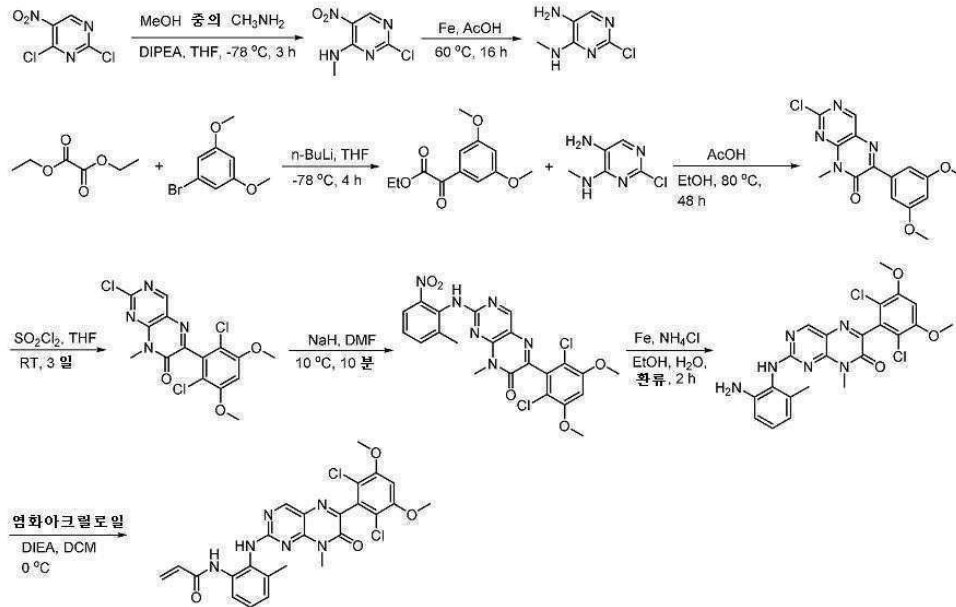


[0240]

[0241] N-(2-((6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)피리도[2,3-d]피리미딘-2-일)아미노)-3-메틸페닐)아크릴아마이드를 화합물 30과 유사한 절차를 사용하여 준비하였다. 생성물을 0 내지 10% MeOH/DCM 구배를 사용하여 플래시

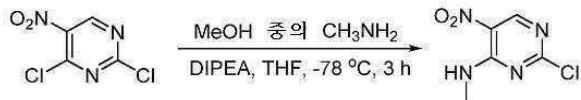
크로마토그래피에 의해 정제하여 표제 화합물을 제공하였다. MS (ES+) $C_{25}H_{21}Cl_2N_5O_3$ 이론치: 510, 계산치: 511 [M+H]⁺. ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9.53 (s, 1H), 9.35 (s, 1H), 9.06 (s, 1H), 8.70 (s, 1H), 8.27 (d, J = 2.6 Hz, 1H), 7.78 (s, 1H), 7.23 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 7.15 (s, 1H), 7.06 (s, 1H), 6.52 (dd, J = 17.0, 10.1 Hz, 1H), 6.22 (dd, J = 17.0, 2.0 Hz, 1H), 5.69 (d, J = 10.6 Hz, 1H), 3.98 (s, 6H), 2.20 (s, 3H).

[0242] 실시예 4: 화합물 45의 합성



[0243]

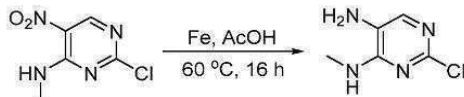
[0244] 2-클로로-N-메틸-5-나이트로피리미딘-4-아민의 합성



[0245]

[0246] THF(50ml) 중의 2,4-다이클로로-5-나이트로피리미딘(5g, 26mmol)의 용액에 다이아이소프로필에틸아민(3.36g, 26mmol)을 -78°C에서 첨가하고 나서, 메틸아민(13ml, 메탄올 중의 2mmol/l, 26mmol)을 적가하였다. 첨가 후에, 혼합물을 실온으로 가온시키고, 3시간 동안 교반시켰다. 이어서, 반응 혼합물을 에틸 아세테이트로 희석시키고 나서, 염수로 세척하였다(50ml * 3). 유기층을 황산나트륨으로 건조시키고, 여과하고 나서 농축시켜 표제 화합물(4.4g, 100%)을 황색 고체로서 제공하였다. MS (ES+) $C_5H_5ClN_4O_2$ 이론치: 188, 190, 계산치: 189, 191 [M + H]⁺.

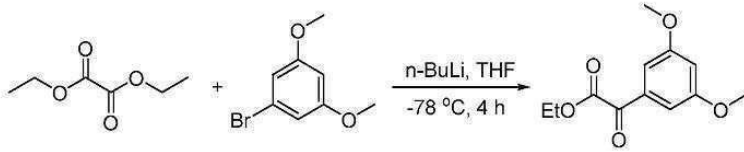
[0247] 2-클로로-N⁴-메틸피리미딘-4,5-다이아민의 합성



[0248]

[0249] 아세트산(30ml) 중의 2-클로로-N-메틸-5-나이트로피리미딘-4-아민(1.9g, 10mmol)의 교반 용액에 철 분말(4g, 71mmol)을 첨가하였고, 현탁 혼합물을 60°C로 16시간 동안 가열하였다. 용매를 감압 하에 제거하고 나서, 잔사를 염수 및 에틸 아세테이트에 의해 희석시켰다. 고체를 여과시키고, 여과액을 에틸 아세테이트(50ml * 12)로 추출하였다. 유기층을 분리시켜, 합쳐서, 황산나트륨으로 건조시키고 나서, 여과 후, 농축시켜 표제 화합물(1.1g, 69%)을 제공하였다. MS (ES+) $C_5H_7ClN_4$ 이론치: 159, 161, 계산치: 160, 162 [M + H]⁺.

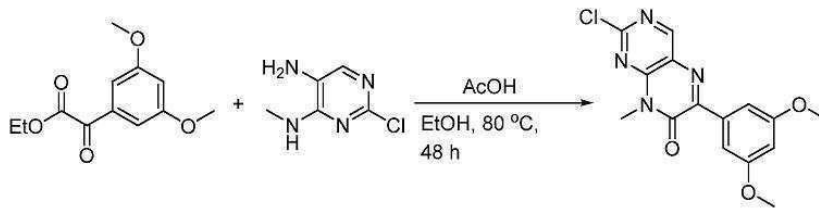
[0250] 에틸 2-(3,5-다이메톡시페닐)-2-옥소아세테이트의 합성



[0251]

[0252] THF(15ml) 중의 1-브로모-3,5-다이메톡시벤젠(2.17g, 10mmol)의 용액에 n-부틸 리튬(8ml, 헥산 중의 2.5mmol/l, 20mmol)을 -78°C에서 적가하였다. 50분 동안 -78°C에서 교반시킨 후에, THF(10ml) 중의 다이에틸 옥살레이트(4g, 27mmol) 용액을 첨가하였다. 혼합물을 -78°C에서 다른 4시간 동안 교반시킨 다음, 포화 염화암모늄으로 퀀칭시키고, 에틸 아세테이트(50ml * 3)로 추출하였다. 유기층을 합쳐서, 염수에 의해 세척하고 나서, 황산나트륨으로 건조시키고, 여과 후, 농축시켰다. 잔사를 실리카겔 상의 크로마토그래피에 의해 정제하여 표제 화합물(1.7g, 71%)을 제공하였다. MS (ES+) C₁₂H₁₄O₅ 이론치: 238, 계산치: 239 [M + H]⁺.

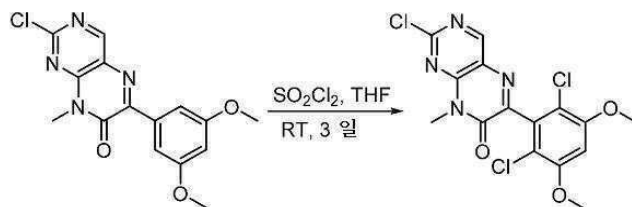
[0253] 2-클로로-6-(3,5-다이메톡시페닐)-8-메틸프테리딘-7(8H)-온의 합성



[0254]

[0255] 에탄올(100ml) 중의 에틸 2-(3,5-다이메톡시페닐)-2-옥소아세테이트(1g, 4.2mmol) 및 2-클로로-N⁴-메틸피리미딘-4,5-다이아민(600mg, 3.8mmol)과 아세트산(2.5ml)의 혼합물을 80°C에서 48시간 동안 교반시키고, 실온으로(5°C) 냉각시켰다. 혼합물을 다이클로로메탄으로 희석시키고 나서, 염수로 세척하였다. 유기층을 직접 농축시키고 나서, 실리카겔 상의 크로마토그래피에 의해 직접 농축시키고 정제하여 표제 화합물(700mg, 50%)을 제공하였다. MS (ES+) C₁₅H₁₃ClN₄O₃ 이론치: 332, 334, 계산치: 333, 335 [M + H]⁺.

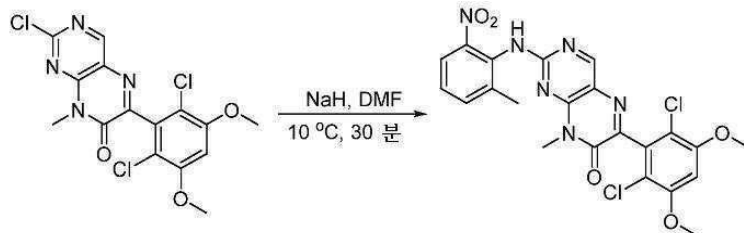
[0256] 2-클로로-6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-8-메틸프테리딘-7(8H)-온의 합성



[0257]

[0258] THF(5ml) 중의 2-클로로-6-(3,5-다이메톡시페닐)-8-메틸프테리딘-7(8H)-온(300mg, 0.9mmol)의 용액에 염화설푸릴(300mg)을 적가하고, 혼합물을 실온에서 4시간 동안 교반시켰다. 추가적인 염화설푸릴(300mg)을 첨가하고, 실온에서 3일 동안 교반시켰다. 반응을 5방울의 물로 퀀칭시키고 나서, 5분 동안 교반시켰다. 침전물을 여과를 통해 수집하고 건조시켜 표제 화합물(240mg, 67%)을 황색 고체로서 제공하였다. MS (ES+) C₁₅H₁₁Cl₃N₄O₃ 이론치: 400, 402, 계산치: 400, 403 [M + H]⁺.

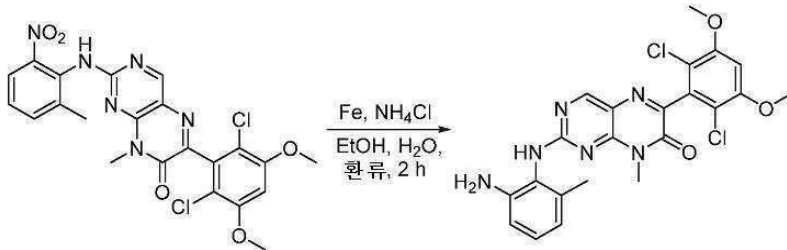
[0259] 6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-8-메틸-2-(2-메틸-6-나이트로페닐아미노)프테리딘-7(8H)-온의 합성



[0260]

[0261] N,N-다이메틸폼아마이드(5ml) 중의 2-메틸-6-나이트로벤젠아민(100mg, 1mmol)의 용액에 수산화나트륨(53mg, 1.3mmol)을 첨가하고, 혼합물을 실온(10℃)에서 10분 동안 교반시키고 나서, 2-클로로-6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-8-메틸프테리딘-7(8H)-온(322mg, 1mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 실온에서(10℃) 다른 30분 동안 교반시킨 후, 물로 킁치시켰다. 침전물을 여과를 통해 수집하고 나서, 냉수로 세척하고, 건조시켜 표제 화합물(180mg, 75%)을 황색 분말로서 건조시켰다. MS (ES+) C₂₂H₁₈Cl₂N₆O₅ 이론치: 516, 518, 계산치: 517, 519 [M + H]⁺.

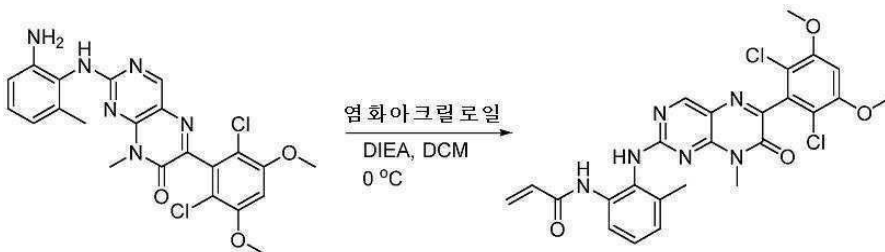
[0262] 2-(2-아미노-6-메틸페닐아미노)-6-(3,5-다이메톡시페닐)-8-메틸프테리딘-7(8H)-온의 합성



[0263]

[0264] 에탄올(50ml) 및 물(2ml) 중의 6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-8-메틸-2-(2-메틸-6-나이트로페닐아미노)프테리딘-7(8H)-온(200mg, 0.38mmol) 용액에 철 분말(210mg, 3.8mmol) 및 염화암모늄(450mg, 8mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 2시간 동안 환류시켰다. 용매를 증발시키고 나서, 잔사를 염수 및 다이클로로메탄으로 희석시켰다. 고체를 여과시키고, 여과액을 다이클로로메탄으로 추출하였다(50ml * 6). 유기층을 합쳐서, 황산나트륨으로 건조시키고 나서, 여과 후, 농축시켜 표제 화합물(70mg, 38%)을 제공하였다. MS (ES+) C₂₂H₂₀Cl₂N₆O₃ 이론치: 486, 488, 계산치: 487, 489 [M + H]⁺. ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ ppm 8.83 (s, 1H), 7.09 (t, 1H, J = 8.0 Hz), 6.74-6.71 (m, 2H), 6.65 (s, 1H), 3.94 (s, 6H), 3.85 (br. s., 2H), 3.63-3.59 (br, 3H), 2.25 (s, 3H).

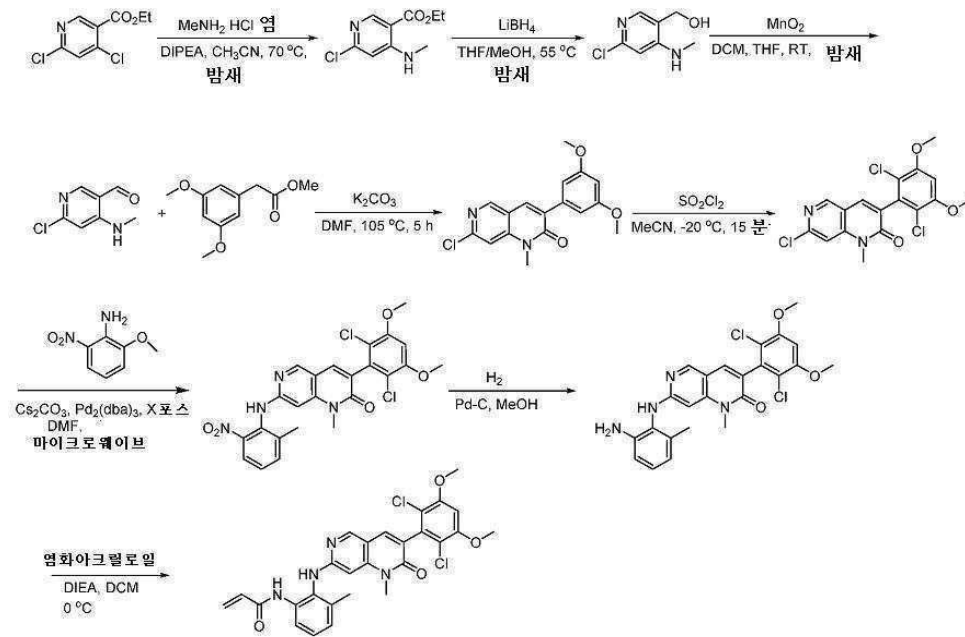
[0265] N-(2-((6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-8-메틸-7-옥소-7,8-다이하이드로프테리딘-2-일)아미노)-3-메틸페닐)아크릴아마이드의 합성



[0266]

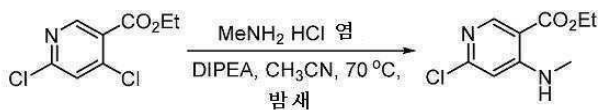
[0267] 화합물 30과 유사한 절차를 사용하여 N-(2-((6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-8-메틸-7-옥소-7,8-다이하이드로프테리딘-2-일)아미노)-3-메틸페닐)아크릴아마이드를 준비하였다. 생성물을 0 내지 10% MeOH/DCM 구배를 사용하여 플래시 크로마토그래피에 의해 정제하여 표제 화합물을 제공하였다. MS (ES+) C₂₅H₂₂Cl₂N₆O₄ 이론치: 540, 계산치: 541 [M + H]⁺.

[0268] 실시예 5: 화합물 39의 합성



[0269]

[0270] 에틸 6-클로로-4-(메틸아미노)니코티네이트의 합성



[0271]

[0272] 아세트나이트릴(50ml) 중의 에틸 4,6-다이클로로니코티네이트(5.0g, 22.7mmol)의 용액에 메틸아민 염산염(1.84g, 27.2mmol) 및 다이아이소프로필에틸아민(14.6g, 113.6mmol)을 첨가하고, 반응 혼합물을 70°C에서 밤새 가열하였다. LCMS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 반응물을 실온으로 냉각시키고 나서, 물(50ml)로 퀴칭시키고, 에틸 아세테이트로 추출하였다(3 × 100ml). 유기층을 분리시켜, 합쳐서, 물(50ml) 및 염수(100ml)로 세척하고 나서, 황산나트륨으로 건조시키고, 여과 후, 농축시켜서 표제 화합물(4.7g, 조질)을 얻었고, 이를 추가의 정제 없이 다음 단계에서 직접 사용하였다. MS (ES+) C₉H₁₁ClN₂O₂ 이론치: 214, 216, 계산치: 215, 217 [M + H]⁺.

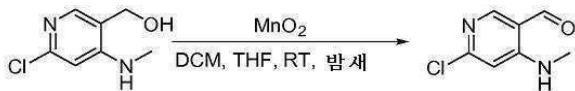
[0273] (6-클로로-4-(메틸아미노)피리딘-3-일)메탄올의 합성



[0274]

[0275] THF(30ml) 및 메탄올(30ml) 중의 에틸 6-클로로-4-(메틸아미노)니코티네이트(4.7g, 21.9mmol)의 용액에 수소화붕소리튬(2.4g, 109.8mmol)을 첨가하고, 반응 혼합물을 55°C에서 밤새 가열하였다. LCMS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 반응물을 실온으로 냉각시키고, 물(1ml)로 퀴칭시키고 나서, 여과시켰다. 여과액을 농축시켜 표제 화합물(4.2g, 조질)을 백색 고체로서 얻었고, 이를 추가의 정제 없이 다음 단계에서 직접 사용하였다. MS (ES+) C₇H₉ClN₂O 이론치: 172, 174, 계산치: 173, 175 [M + H]⁺.

[0276] 6-클로로-4-(메틸아미노)니코틴알데하이드의 합성

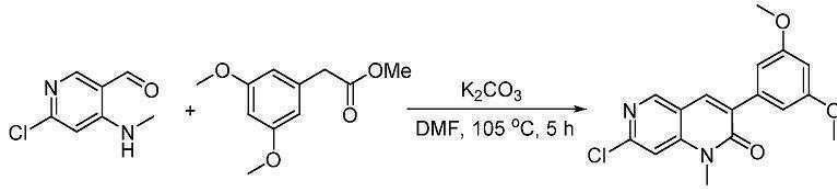


[0277]

[0278] 다이클로로메탄(50ml) 및 THF(50ml) 중의 (6-클로로-4-(메틸아미노)피리딘-3-일)메탄올(4.2g, 24.7mmol) 및 산화

망간(IV)(활성, 25.8g, 296.6mmol)의 혼합물을 실온에서 밤새 교반시켰다. LCMS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 고체를 여과시키고, 여과액을 농축시켜 표제 화합물(3.7g, 조질)을 밝은 황색 고체로서 얻었고, 이를 추가의 정제 없이 다음 단계에서 직접 사용하였다. MS (ES+) C₇H₇ClN₂O 이론치: 170, 172, 계산치: 171, 173 [M + H]⁺.

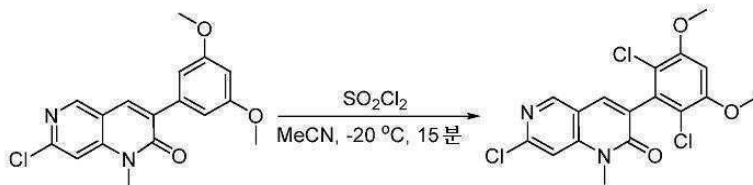
[0279] 7-클로로-3-(3,5-다이메톡시페닐)-1-메틸-1,6-나프티리딘-2(1H)-온의 합성



[0280]

[0281] N,N-다이메틸폼아마이드(30ml) 중의 6-클로로-4-(메틸아미노)니코틴알데하이드(3.7g, 21.7mmol), 메틸 2-(3,5-다이메톡시페닐)아세테이트(4.5g, 21.7mmol) 및 탄산칼륨(9.0g, 65.1mmol)의 혼합물을 105°C에서 5시간 동안 가열하였다. LCMS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 반응물을 실온으로 냉각시키고 나서, 물(200ml)로 퀴칭하고, 여과시켰다. 여과 케이크를 석유에터(50ml) 및 에틸 아세테이트(50ml)에 의해 세척하여 표제 화합물(5.8g, 77%)을 황색 고체로서 얻었다. MS (ES+) C₁₈H₁₉ClN₂O₃ 이론치: 346, 348, 계산치: 347, 349 [M + H]⁺.

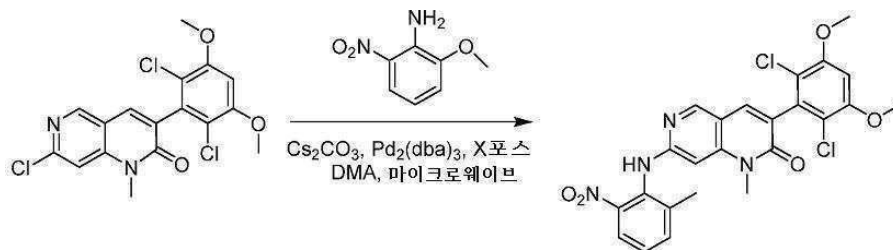
[0282] 7-클로로-3-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-1-메틸-1,6-나프티리딘-2(1H)-온의 합성



[0283]

[0284] 아세트나이트릴(30ml) 중의 7-클로로-3-(3,5-다이메톡시페닐)-1-메틸-1,6-나프티리딘-2(1H)-온(5.6g, 16.9mmol)의 용액에 염화설푸릴(3.36ml, 42.2mmol)을 -20°C에서 적가하고 나서, 혼합물을 다른 15분 동안 교반시켰다. LCMS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 반응물을 물(1ml)로 퀴칭시키고, 용매를 감압 하에 제거하였다. 침전물을 아세트나이트릴로 세척하고 나서, 건조시켜 표제 화합물(5.01g, 75%)을 백색 고체로서 얻었다. MS (ES+) C₁₇H₁₃Cl₃N₂O₃ 이론치: 399, 401, 계산치: 400, 402 [M + H]⁺; ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 8.82 (s, 1H), 8.01 (s, 1H), 7.71 (s, 1H), 7.04 (s, 1H), 3.98 (s, 6H), 3.66 (s, 3H).

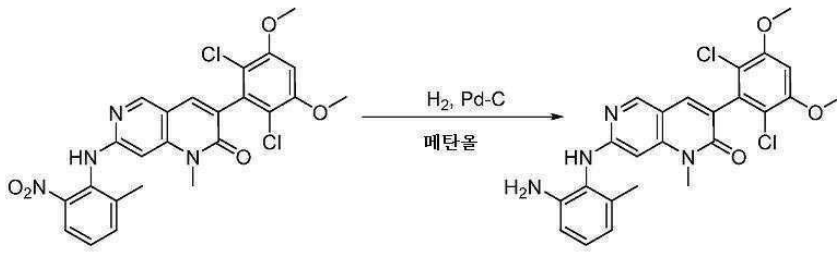
[0285] 3-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-1-메틸-7-((2-메틸-6-나이트로페닐)아미노)-1,6-나프티리딘-2(1H)-온의 합성



[0286]

[0287] 3-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-1-메틸-7-((2-메틸-6-나이트로페닐)아미노)-1,6-나프티리딘-2(1H)-온을 화합물 30과 유사한 절차를 사용하여 준비하였다.

[0288] 7-((2-아미노-6-메틸페닐)아미노)-3-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-1-메틸-1,6-나프티리딘-2(1H)-온의 합성



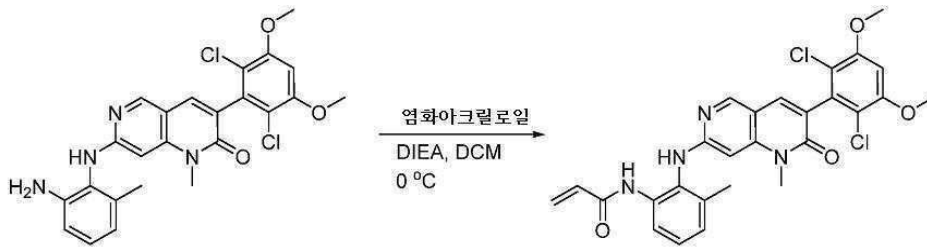
[0289]

[0290]

7-((2-아미노-6-메틸페닐)아미노)-3-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-1-메틸-1,6-나프티리딘-2(1H)-온을 화합물 30과 유사한 절차를 사용하여 준비하였다.

[0291]

7-((2-아미노-6-메틸페닐)아미노)-3-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-1-메틸-1,6-나프티리딘-2(1H)-온의 합성

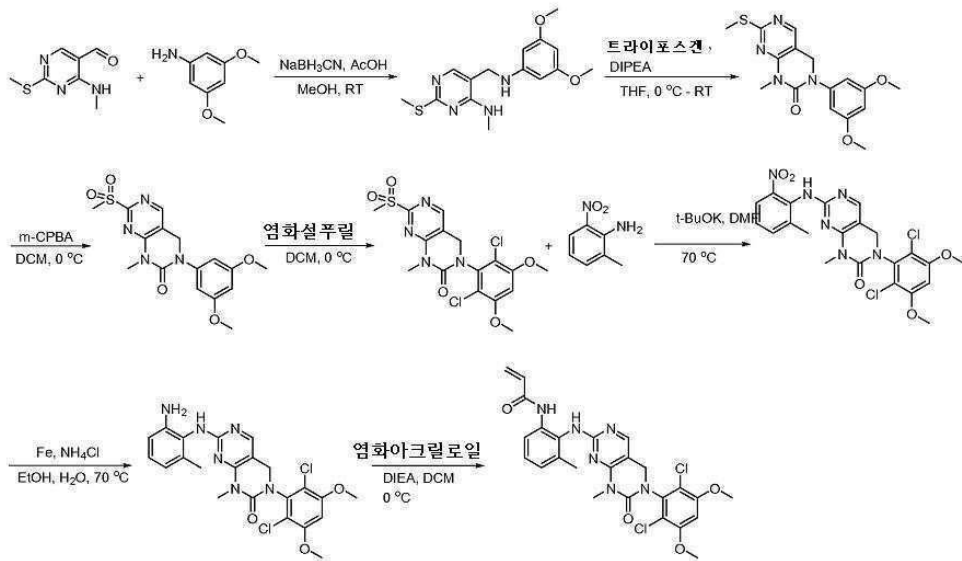


[0292]

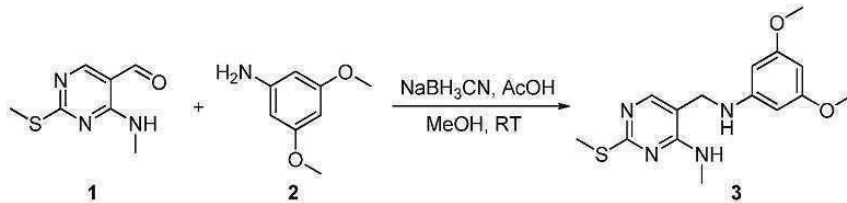
[0293]

7-((2-아미노-6-메틸페닐)아미노)-3-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-1-메틸-1,6-나프티리딘-2(1H)-온을 화합물 30과 유사한 절차를 사용하여 준비하였다. 생성물을 0 내지 100% EtOAc/DCM 구배를 사용하는 플래시 크로마토그래피에 의해 정제하여 표제 화합물을 제공하였다. MS (ES+) C₂₇H₂₄Cl₂N₄O₄ 이론치: 538, 계산치: 539 [M + H]⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9.47 (s, 1H), 8.43 (d, J = 10.0 Hz, 2H), 7.70 (d, J = 12.6 Hz, 2H), 7.22 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 7.14 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 6.97 (s, 1H), 6.46 (dd, J = 17.0, 10.2 Hz, 1H), 6.18 (dd, J = 17.0, 2.1 Hz, 1H), 6.09 (s, 1H), 5.65 (dd, J = 10.2, 2.1 Hz, 1H), 3.95 (s, 6H), 3.39 (s, 3H), 2.20 (s, 3H).

[0294] 실시예 6: 화합물 48의 합성



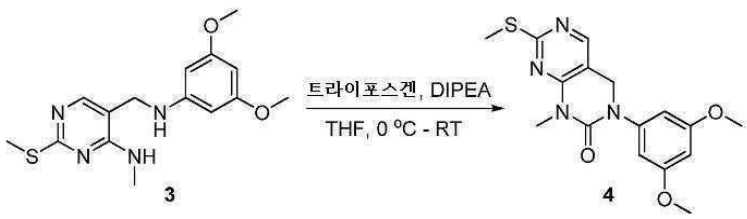
5-((3,5-다이메톡시페닐아미노)메틸)-N-메틸-2-(메틸티오)피리미딘-4-아민의 합성



[0295]

[0296] 메탄올(60ml) 중의 4-(메틸아미노)-2-(메틸티오)피리미딘-5-카르보알데하이드(1.0g, 5.46mmol) 및 3,5-다이메톡시아닐린(840mg, 5.46mmol)의 혼합물을 실온에서 3시간 동안 교반시킨 후, 나트륨 사이아노보로하이드라이드(520mg, 8.20mmol) 및 1ml의 아세트산을 첨가하였다. 이어서, 반응 혼합물을 실온에서 다른 4시간 동안 교반시켰다. LCMS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 반응을 30ml의 1N HCl에 의해 퀀칭시킨 후, 0.5시간 동안 교반시키고 나서, 에틸 아세테이트로 추출하였다(3 × 50ml). 유기층을 분리시켜, 합쳐서, 중탄산나트륨의 포화 수용액 및 염수로 세척하고 나서, 황산나트륨으로 건조시키고, 여과 후, 농축시켜 표제 화합물(조질 1.2g, 69%)을 백색 고체로서 얻었고, 이를 추가의 정제 없이 다음 단계에서 직접 사용하였다. MS (ES+) C₁₅H₂₀N₄O₂S 이론치: 320, 계산치: 321 [M + H]⁺.

[0297] 3-(3,5-다이메톡시페닐)-1-메틸-7-(메틸티오)-3,4-다이하이드로피리미도[4,5-d]피리미딘-2(1H)-온의 합성

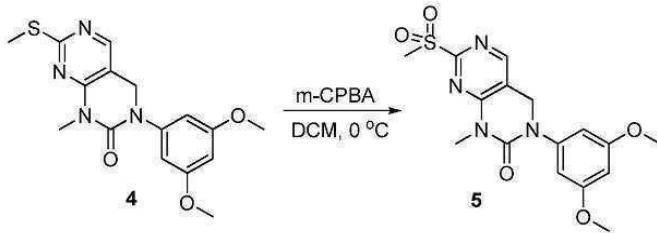


[0298]

[0299] 10ml의 THF 중의 5-((3,5-다이메톡시페닐아미노)메틸)-N-메틸-2-(메틸티오)피리미딘-4-아민(1.1g, 3.43mmol) 및 N-에틸-N-아이소프로필프로판-2-아민(1.33g, 10.30mmol)의 혼합물에 0°C에서 5ml의 THF 중의 triphosgene(357mg, 1.20mmol) 용액을 첨가하고 나서, 1시간 동안 교반시켰다. 이어서, 반응 혼합물을 실온으로 가온시키고, 다른 5시간 동안 교반시켰다. LCMS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 반응 혼합물을 물로 퀀칭시키고 나서, 에틸 아세테이트로 추출하였다(3 × 15ml). 유기층을 분리시켜, 합쳐서, 중탄산나트륨의 포화 수용액 및 염수로 세척하고 나서, 황산나트륨으로 건조시키고, 여과 후, 농축시켜 표제 화합물(조질 1.1g, 92%)을 백색 고체로서 얻었고, 이를 추가의 정제 없이 다음 단계에서 직접 사용하였다. MS (ES+) C₁₆H₁₈N₄O₃S 이론치:

346, 계산치: 347 [M + H]⁺.

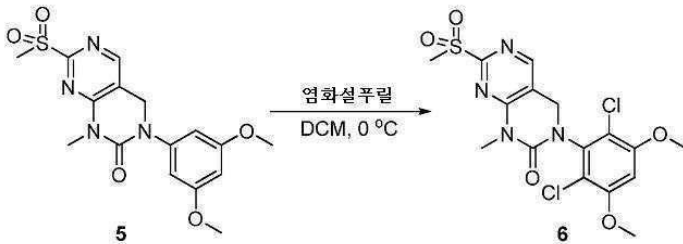
[0300] 3-(3,5-다이메톡시페닐)-1-메틸-7-(메틸설포닐)-3,4-다이하이드로피리미도[4,5-d]피리미딘-2(1H)-온의 합성



[0301]

[0302] 20ml의 다이클로로메탄 중의 3-(3,5-다이메톡시페닐)-1-메틸-7-(메틸티오)-3,4-다이하이드로피리미도[4,5-d]피리미딘-2(1H)-온(1.0g, 2.89mmol) 용액에 3-클로로벤조퍼옥소산(1.50g, 8.66mmol)을 0°C에서 첨가하고, 용액을 0.5시간 동안 0°C에서 교반시켰다. 혼합물을 실온으로 가온시키고, 밤새 교반시켰다. LCMS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 반응 혼합물을 30ml의 다이클로로메탄으로 희석시키고, 중탄산나트륨의 포화 수용액 및 염수로 세척하고 나서, 황산나트륨으로 건조시키고, 여과 후, 농축시켜 표제 화합물(800mg, 73%)을 황색 고체로서 얻었고, 이를 추가의 정제 없이 다음 단계에서 직접 사용하였다. MS (ES⁺) C₁₆H₁₈N₄O₅S 이론치: 378, 계산치: 379 [M + H]⁺.

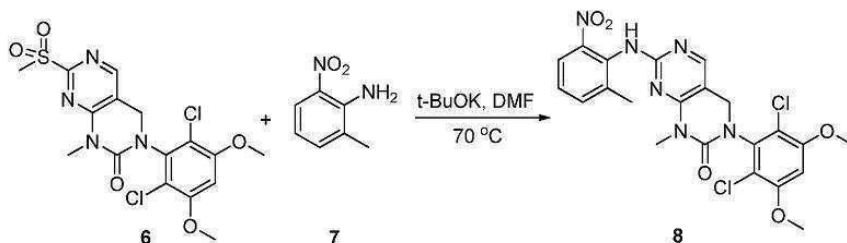
[0303] 3-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-1-메틸-7-(메틸설포닐)-3,4-다이하이드로피리미도[4,5-d]피리미딘-2(1H)-온의 합성



[0304]

[0305] 15ml의 다이클로로메탄 중의 3-(3,5-다이메톡시페닐)-1-메틸-7-(메틸설포닐)-3,4-다이하이드로피리미도[4,5-d]피리미딘-2(1H)-온(400mg, 1.06mmol)의 용액에 염화설푸릴(285mg, 2.12mmol)을 0°C에서 첨가하고 나서, 0°C에서 3시간 동안 교반시켰다. LCMS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 반응 혼합물을 20ml의 다이클로로메탄으로 희석시키고, 물 및 염수로 세척하고 나서, 황산나트륨으로 건조시키고, 여과 후, 농축시켜 표제 화합물(450mg, 96%)을 황색 고체로서 얻었고, 이를 추가의 정제 없이 다음 단계에서 직접 사용하였다. MS (ES⁺) C₁₆H₁₆Cl₂N₄O₅S 이론치: 446, 448, 계산치: 447, 449 [M + H]⁺.

[0306] 3-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-1-메틸-7-(2-메틸-6-나이트로페닐아미노)-3,4-다이하이드로피리미도[4,5-d]피리미딘-2(1H)-온의 합성

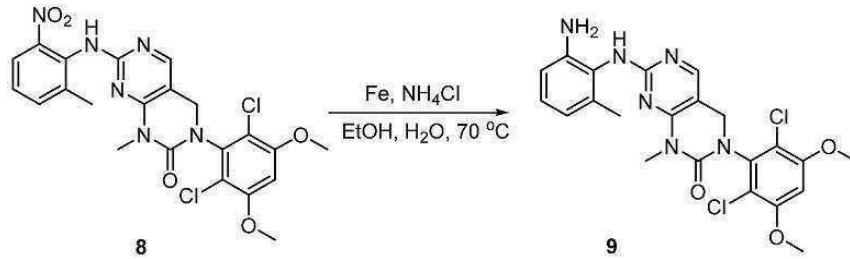


[0307]

[0308] 5ml의 N,N-다이메틸폼아마이드 중의 3-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-1-메틸-7-(메틸설포닐)-3,4-다이하이드로피리미도[4,5-d]피리미딘-2(1H)-온(450mg, 1.01mmol) 및 2-메틸-6-나이트로아닐린(230mg, 1.51mmol)의 혼합물에 칼륨 tert-부탄올레이트(339mg, 3.02mmol)를 실온에서 첨가하고, 0.5시간 동안 교반시켰다. LCMS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 혼합물을 80ml의 물로 퀀칭시키고, 침전물을 여과를 통해 수집하여, 건조시켜 표제 화합물(290mg, 56%)을 황색 고체로서 제공하고, 이를 추가의 정제 없이 다음 단계에서 직접 사용하였다. MS

(ES+) C₂₂H₂OC₁₂N₆O₅ 이론치: 518, 520, 계산치: 519, 521 [M + H]⁺.

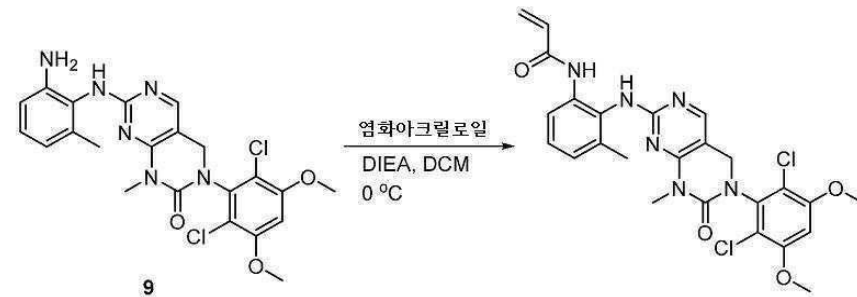
[0309] (7-(2-아미노-6-메틸페닐아미노)-3-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-1-메틸-3,4-다이하이드로피리미도[4,5-d]피리미딘-2(1H)-온의 합성



[0310]

[0311] 에탄올(10ml) 및 물(2ml) 중의 3-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-1-메틸-7-(2-메틸-6-나이트로페닐아미노)-3,4-다이하이드로피리미도[4,5-d]피리미딘-2(1H)-온(290mg, 0.56mmol)의 혼합물을 70°C에서 20분 동안 교반시킨 후에, 철 분말(320mg, 5.60mmol) 및 염화암모늄(250mg, 2.79mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 70°C에서 다른 6시간 동안 교반시켰다. LCMS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 고체를 여과시키고, 여과액을 농축시켰다. 잔사를 에틸 아세테이트(30ml)에 의해 용해시키고, 물 및 염수로 세척하고 나서, 황산나트륨으로 건조시키고, 여과 후, 농축시켰다. 잔사를 분취-HPLC에 의해 정제하여 표제 화합물(27mg, 10%)을 백색 고체로서 제공하였다. MS (ES+) C₂₂H₂₂Cl₂N₆O₃ 이론치: 488, 490, 계산치: 489, 491 [M + H]⁺. ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ ppm 7.89 (s, 1H), 7.04 (t, 1H, J = 8.0 Hz), 6.69 (d, 2H, J = 7.5 Hz), 6.60 (s, 1H), 4.53 (s, 2H), 3.94 (s, 6H), 3.34 (s, 3H), 2.24 (s, 3H).

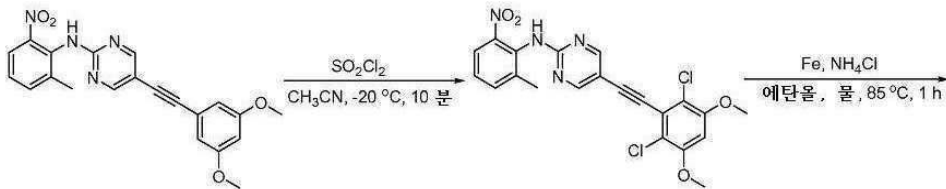
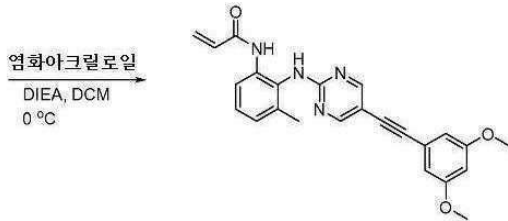
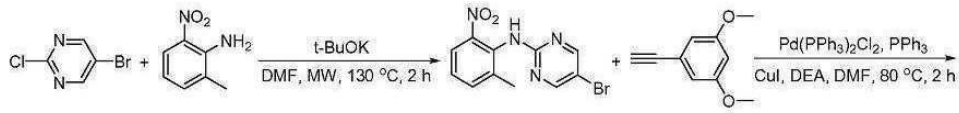
[0312] N-(2-((6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-8-메틸-7-옥소-5,6,7,8-테트라하이드로피리미도[4,5-d]피리미딘-2-일)아미노)-3-메틸페닐)아크릴아마이드의 합성



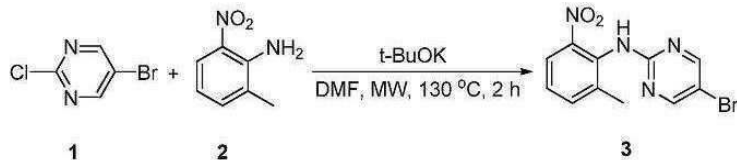
[0313]

[0314] N-(2-((6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-8-메틸-7-옥소-5,6,7,8-테트라하이드로피리미도[4,5-d]피리미딘-2-일)아미노)-3-메틸페닐)아크릴아마이드를 화합물 30과 유사한 절차를 사용하여 준비하였다. 생성물을 0 내지 10% MeOH/DCM 구배를 사용하는 플래시 크로마토그래피에 의해 정제하여 표제 화합물을 제공하였다. MS (ES+) C₂₅H₂₄Cl₂N₆O₄ 이론치: 542, 계산치: 543 [M + H]⁺. ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9.48 (s, 1H), 8.35 (s, 1H), 7.99 (s, 1H), 7.66 (s, 1H), 7.16 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 7.10 - 7.06 (m, 1H), 6.99 (s, 1H), 6.53 (dd, J = 17.0, 10.2 Hz, 1H), 6.22 (dd, J = 16.9, 2.1 Hz, 1H), 5.71 (dd, J = 10.2, 2.0 Hz, 1H), 4.48 (s, 2H), 3.96 (s, 6H), 3.44 (s, 3H), 2.17 (s, 3H).

[0315] 실시예 7: 화합물 24 및 화합물 6의 합성



5-브로모-N-(2-메틸-6-니트로페닐)피리미딘-2-아민의 합성



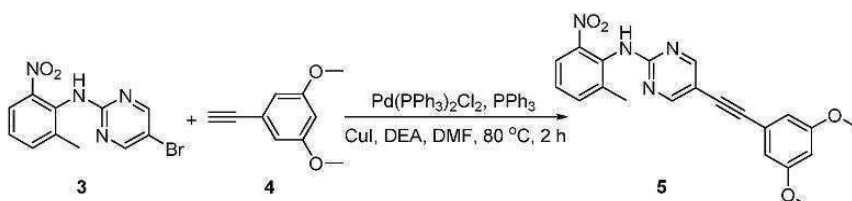
[0316]

[0317]

밀봉관에서 N,N-다이메틸폼아마이드(10ml) 중의 5-브로모-2-클로로피리미딘(1.5g, 7.89mmol) 및 2-메틸-6-니트로아닐린(800mg, 5.26mmol)의 용액에 칼륨 tert-부톡사이드(1.76g, 15.78mmol)를 첨가하고, 혼합물을 마이크로웨이브 하에서 130°C에서 2시간 동안 가열하였다. LCMS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 반응물을 실온으로 냉각시키고, 물(20ml)로 퀀칭시키고 나서, 에틸 아세테이트로 추출하였다(3 × 100ml). 유기층을 분리시켜, 합쳐서, 물(50ml) 및 염수(100ml)로 세척하고 나서, 황산나트륨으로 건조시키고, 여과 후, 농축시켰다. 잔사를 실리카겔 크로마토그래피(석유에터:에틸 아세테이트 = 10:1)에 의해 정제하여 표제 화합물을 황색 고체(500mg, 31%)로서 얻었다. MS (ES+) C₁₁H₉BrN₄O₂ 이론치: 309, 311, 계산치: 310, 312 [M + H]⁺.

[0318]

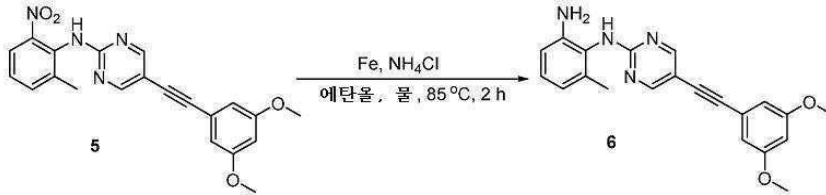
5-((3,5-다이메톡시페닐)에틸닐)-N-(2-메틸-6-니트로페닐)피리미딘-2-아민의 합성



[0319]

[0320] N,N-다이메틸폼아마이드(10ml) 중의 5-브로모-N-(2-메틸-6-니트로페닐)피리미딘-2-아민(573mg, 3.0mmol), 1-에티닐-3,5-다이메톡시벤젠(483mg, 3.0mmol), 트라이페닐포스핀(157mg, 0.60mmol), 비스(트라이페닐포스핀)팔라듐(II) 클로라이드(210mg, 0.30mmol), 요오드화구리(I)(57mg, 0.30mmol) 및 다이에틸아민(1.50ml, 15.0mmol)의 혼합물을 질소 3회 탈기시키고 나서, 80°C에서 2시간 동안 교반시켰다. LCMS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 물(20ml)로 퀴칭시키고 나서, 에틸 아세테이트로 추출하였다(3 x 80ml). 합한 유기층을 분리시키고, 물 및 염수로 세척하고 나서, 황산나트륨으로 건조시키고, 여과 후, 농축시켰다. 잔사를 실리카겔 크로마토그래피(석유에터:에틸 아세테이트 = 4:1)에 의해 정제하여 표제 화합물을 황색 고체(460mg, 39%)로서 얻었다. MS (ES+) C₂₁H₁₈N₄O₄ 이론치: 390, 계산치: 391 [M + H]⁺.

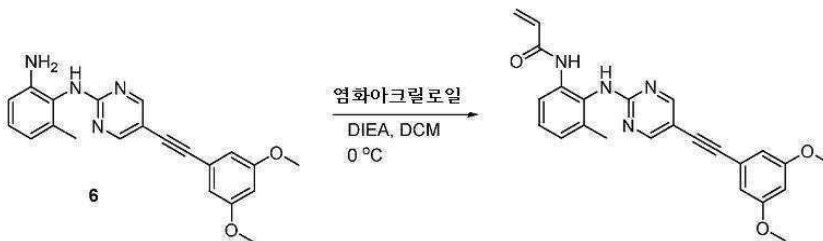
[0321] N¹-(5-((3,5-다이메톡시페닐)에티닐)피리미딘-2-일)-6-메틸벤젠-1,2-다이아민의 합성



[0322]

[0323] 에탄올(20ml) 및 물(2ml) 중의 5-((3,5-다이메톡시페닐)에티닐)-N-(2-메틸-6-니트로페닐)피리미딘-2-아민(150mg, 0.38mmol), 철(171mg, 3.04mmol) 및 염화암모늄(246mg, 4.56mmol)의 혼합물을 85°C에서 1시간 동안 교반시켰다. LCMS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 반응물을 실온으로 냉각시키고, 고체를 여과시켰다. 여과액을 농축시키고, 잔사를 분취-HPLC에 의해 정제하여 표제 화합물을 백색 고체(55mg, 44%)로서 얻었다. MS (ES+) C₂₁H₂₀N₄O₂ 이론치: 360, 계산치: 361 [M + H]⁺. ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 8.76 (s, 1H), 8.50-8.46 (br, 2H), 6.88 (t, 1H, J = 7.0 Hz), 6.66 (s, 2H), 6.57 (d, 1H, J = 7.5 Hz), 6.54 (s, 1H), 6.44 (d, 1H, J = 6.5 Hz), 4.74 (s, 2H), 3.76 (s, 6H), 2.01 (s, 3H).

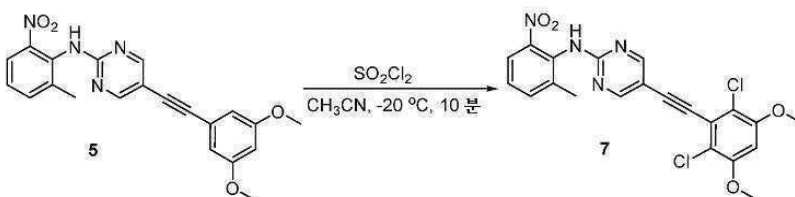
[0324] N-(2-((5-((3,5-다이메톡시페닐)에티닐)피리미딘-2-일)아미노)-3-메틸페닐)아크릴아마이드의 합성



[0325]

[0326] N¹-(5-((3,5-다이메톡시페닐)에티닐)피리미딘-2-일)-6-메틸벤젠-1,2-다이아민을 화합물 30과 유사한 절차를 사용하여 준비하였다. 생성물을 0 내지 100% EtOAc/헥산 구배를 사용하여 플래시 크로마토그래피에 의해 정제하여 표제 화합물을 제공하였다. MS (ES+) C₂₄H₂₂N₄O₃ 이론치: 414, 계산치: 415 [M+H]⁺. ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 9.60 - 9.38 (m, 1H), 8.79 (s, 1H), 8.51 (s, 2H), 7.69 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.19 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 7.15 - 7.06 (m, 1H), 6.67 (d, J = 2.3 Hz, 2H), 6.60 - 6.45 (m, 2H), 6.22 (dd, J = 17.0, 2.1 Hz, 1H), 5.71 (dd, J = 10.2, 2.1 Hz, 1H), 3.76 (s, 6H), 2.12 (s, 3H).

[0327] 5-((2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)에티닐)-N-(2-메틸-6-니트로페닐)피리미딘-2-아민의 합성

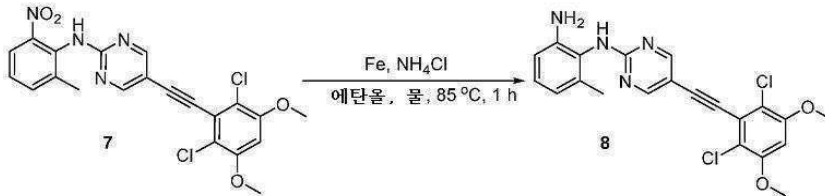


[0328]

[0329] 아세트나이트릴(5ml) 중의 5-((3,5-다이메톡시페닐)에티닐)-N-(2-메틸-6-니트로페닐)피리미딘-2-아민(50mg,

0.13mmol)의 용액에 염화철푸릴(44mg, 0.33mmol)을 -20℃에서 적가하고 나서, 혼합물을 다른 10분 동안 교반시켰다. LCMS는 반응이 완료되었음을 나타내고, 반응을 물(0.5ml)로 퀴칭시켰다. 용매를 증발시키고 나서, 잔사를 분취-HPLC에 의해 정제하여 표제 화합물을 황색 고체(30mg, 50%)로서 얻었다. (MS (ES+) C₂₁H₁₆Cl₂N₄O₄ 이론치: 459, 461, 계산치: 460, 462 [M + H]⁺);.

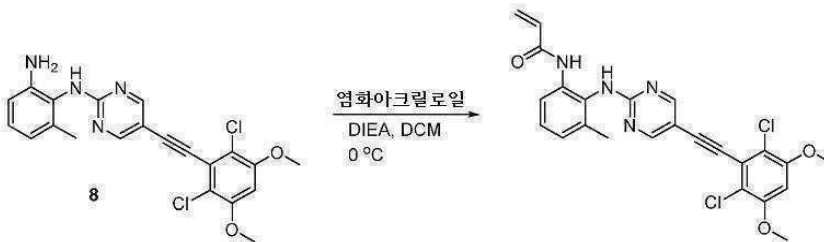
[0330] N¹-(5-((2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)에틸닐)피리미딘-2-일)-6-메틸벤젠-1,2-디아민의 합성



[0331]

[0332] 에탄올(20ml) 및 물(2ml) 중의 5-((2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)에틸닐)-N-(2-메틸-6-나이트로페닐)피리미딘-2-아민(150mg, 0.33mmol), 철(147mg, 2.64mmol) 및 염화암모늄(214mg, 3.96mmol)의 혼합물을 85℃에서 1시간 동안 교반시켰다. LCMS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 반응물을 실온으로 냉각시키고, 고체를 여과시켰다. 여과액을 농축시키고 나서, 잔사를 분취-HPLC에 의해 정제하여 표제 화합물을 백색 고체(58mg, 35%)로서 얻었다. MS (ES+) C₂₁H₁₈Cl₂N₄O₂ 이론치: 429, 431, 계산치: 430, 432 [M + H]⁺. ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 8.90 (s, 1H), 8.55-8.44 (br, 2H), 6.97 (s, 1H), 6.89-6.86 (m, 1H), 6.57 (d, 1H, J = 7.6 Hz), 6.44 (d, 1H, J = 7.6 Hz), 4.75 (s, 2H), 3.94 (s, 6H), 2.01 (s, 3H).

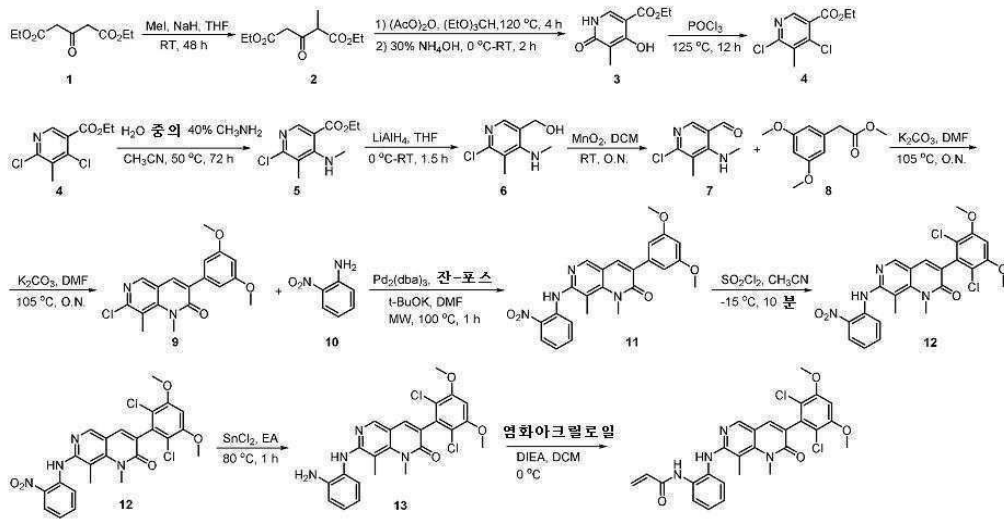
[0333] N-(2-((5-((2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)에틸닐)피리미딘-2-일)아미노)-3-메틸페닐)아크릴아마이드의 합성



[0334]

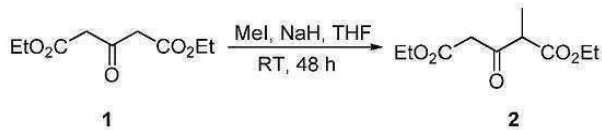
[0335] N-(2-((5-((2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)에틸닐)피리미딘-2-일)아미노)-3-메틸페닐)아크릴아마이드를 화합물 30과 유사한 절차를 사용하여 준비하였다. 생성물을 0 내지 100% EtOAc/헥산 구배를 사용하는 플래시 크로마토그래피에 의해 정제하여 표제 화합물을 제공하였다. MS (ES+) C₂₄H₂₀Cl₂N₄O₃ 이론치: 482, 계산치: 483 [M + H]⁺. ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 9.47 (s, 1H), 8.93 (s, 1H), 8.54 (s, 2H), 7.71 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.19 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 7.09 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 6.98 (s, 1H), 6.53 (dd, J = 17.0, 10.2 Hz, 1H), 6.22 (dd, J = 17.0, 2.1 Hz, 1H), 5.70 (dd, J = 10.2, 2.1 Hz, 1H), 3.94 (s, 6H), 2.13 (s, 3H).

[0336] 실시예 8: 화합물 40의 합성



[0337]

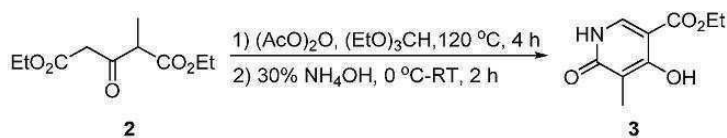
[0338] 다이에틸 2-메틸-3-옥소펜타다이오에이트의 합성



[0339]

[0340] 테트라하이드로푸란(100ml) 중의 다이에틸 3-옥소펜타다이오에이트(23.2g, 114.8mmol)의 용액에 수산화나트륨(60%, 4.8g, 120.5mmol)을 0°C에서 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에서 30분 동안 교반시킨 후, 요오도메탄(7.15 ml, 114.8mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 48시간 동안 교반시키고 나서, 물(500ml)로 퀀칭시키고, 에틸 아세테이트로 추출하였다(500ml × 3). 유기층을 분리시켜, 합쳐서, 물(200ml) 및 염수(200ml)로 세척하고 나서, 황산나트륨으로 건조시키고, 여과 후, 농축시켰다. 잔사를 실리카겔 칼럼(석유에터:에틸 아세테이트 = 20:1)에 의해 정제하여 표제 화합물을 무색 오일로서 얻었다(9g, 36%). MS (ES+) C₁₀H₁₆O₅ 이론치: 216, 계산치: 217 [M + H]⁺.

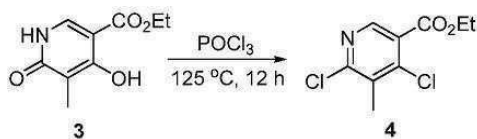
[0341] 에틸 4-하이드록시-5-메틸-6-옥소-1,6-다이하이드로피리딘-3-카복실레이트의 합성



[0342]

[0343] 1,1'-트라이옥시디알다이프록판-1-온(400ml) 중의 다이에틸 2-메틸-3-옥소펜타다이오에이트(10g, 46.25mmol)의 용액에 트라이에톡시메탄(38ml, 231.25mmol)을 첨가하고, 혼합물을 120°C에서 4시간 동안 가열하고 나서, 30% 암모니아(600ml)를 0°C에서 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 다른 2시간 동안 교반시켰다. LCMS로 반응이 완료되는 것을 모니터링하였다. 침전물을 여과를 통해 수집하였고, 다이클로로메탄(400ml) 중에서 용해시켰다. 고체를 여과 후, 여과액을 농축시켜 표제 화합물(5.5g, 조질) 황색 고체로서 얻었다. MS (ES+) C₉H₁₁NO₄ 이론치: 197, 계산치: 198 [M + H]⁺.

[0344] 에틸 4,6-다이클로로-5-메틸니코티네이트의 합성

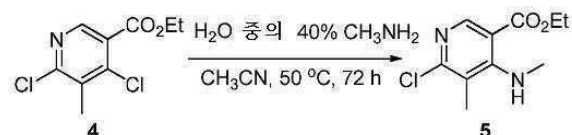


[0345]

[0346] 포스포릴 트리클로라이드(100ml) 중의 에틸 4-하이드록시-5-메틸-6-옥소-1,6-다이하이드로피리딘-3-카복실레

이트(5.0g, 21.4mmol) 용액을 125℃에서 12시간 동안 환류시켰다. LCMS로 반응이 완료되었음을 모니터링하였다. 대부분의 포스포릴 트라이클로라이드를 증발시키고, 잔사를 얼음물(100ml)에 적가하였다. 얻어진 혼합물을 수성 탄산나트륨(50ml)으로 중화시키고 나서, 에틸 아세테이트(200ml)로 추출하였다. 유기층을 분리시켜, 합쳐서, 물 및 염수로 세척하고 나서, 황산나트륨으로 건조시키고, 여과 후, 농축시켰다. 잔사를 실리카겔 칼럼(석유에터: 에틸 아세테이트 =15:1)에 의해 정제하여 표제 화합물(1.6g, 32%)을 황색 오일로서 얻었다. MS (ES+) C₉H₉Cl₂N₂O₂ 이론치: 232, 234, 계산치: 233, 235 [M + H]⁺.

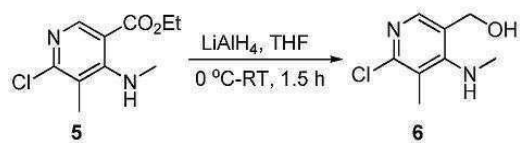
[0347] 에틸 6-클로로-5-메틸-4-(메틸아미노)니코티네이트의 합성



[0348]

[0349] 아세트나이트릴(60ml) 중의 에틸 4,6-다이클로로-5-메틸니코티네이트(2.6g, 11.1mmol)의 용액에 물(689mg, 22.2mmol, 60ml) 중의 40% 메틸아민을 적가하고, 혼합물을 50℃에서 72시간 동안 교반시켰다. LCMS로 반응이 완료된 것을 모니터링하였다. 반응 혼합물을 농축시키고, 에틸 아세테이트(100ml)로 추출하였다. 유기층을 분리시켜, 합쳐서, 물 및 염수로 세척하고 나서, 황산나트륨으로 건조시키고, 여과 후, 농축시켰다. 잔사를 실리카겔 칼럼(석유에터:에틸 아세테이트 = 2:1)에 의해 정제하여 표제 화합물(2.05g, 81%)을 무색 오일로서 얻었다. MS (ES+) C₁₀H₁₃ClN₂O₂ 이론치: 228, 230, 계산치: 229, 231 [M + H]⁺.

[0350] (6-클로로-5-메틸-4-(메틸아미노)피리딘-3-일)메탄올의 합성



[0351]

[0352] 테트라하이드로퓨란(60ml) 중의 에틸 6-클로로-5-메틸-4-(메틸아미노)니코티네이트(2.0g, 8.8mmol)의 용액에 수소화알루미늄클로라이드를 0℃에서 첨가하고, 혼합물을 실온에서 1.5시간 동안 교반시켰다. LCMS로 반응이 완료된 것을 모니터링하였다. 반응을 황산나트륨 10수화물(1.5g)에 의해 킨칭시키고, 여과시켰다. 여과액을 농축시켜 표제 화합물(1.4g, 조질)을 백색 고체로서 얻었다. MS (ES+) C₈H₁₁ClN₂O 이론치: 186, 188, 계산치: 187, 189 [M + H]⁺.

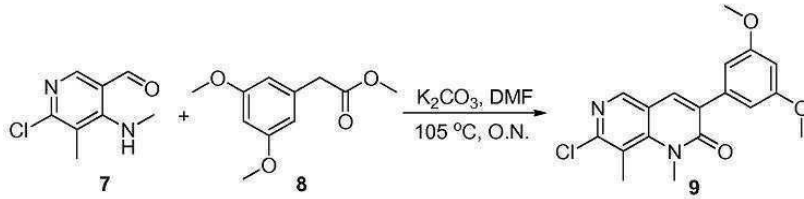
[0353] 6-클로로-5-메틸-4-(메틸아미노)니코틴알데하이드의 합성



[0354]

[0355] 다이클로로메탄(100ml) 중의 (6-클로로-5-메틸-4-(메틸아미노)피리딘-3-일)메탄올(1.4g, 8.0mmol) 및 산화망간(2.8g, 32mmol)의 혼합물을 실온에서 4시간 동안 교반시켰다. LCMS로 반응이 완료되었음을 모니터링하였다. 고체를 여과시키고 나서, 여과액을 농축시켜 표제 화합물(1.2g, 조질)을 황색 오일로서 얻었다. MS (ES+) C₈H₉ClN₂O 이론치: 184, 186, 계산치: 185, 187 [M + H]⁺.

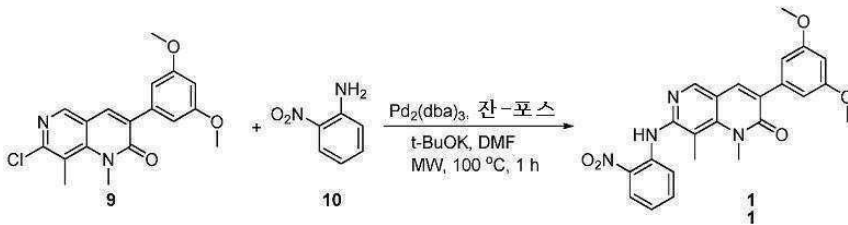
[0356] 7-클로로-3-(3,5-다이메톡시페닐)-1,8-다이메틸-1,6-나프티리딘-2(1H)-온의 합성



[0357]

[0358] N,N-다이메틸폼아마이드(100ml) 중의 6-클로로-5-메틸-4-(메틸아미노)니코틴알데하이드(3.11g, 16.8mmol), 메틸 2-(3,5-다이메톡시페닐)아세테이트(4.25g, 20.2mmol) 및 탄산칼륨 (2.8g, 20.3mmol)의 혼합물을 105°C에서 밤새 교반시켰다. LCMS로 반응이 완료되었음을 모니터링하였다. 반응 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 물로 퀀칭시켰다. 침전물을 여과시키고, 건조시켜 표제 화합물(5.5g, 조질)을 황색 고체로서 얻었다. MS (ES+) C₁₈H₁₇ClN₂O₃ 이론치: 344, 346, 계산치: 345, 347 [M + H]⁺.

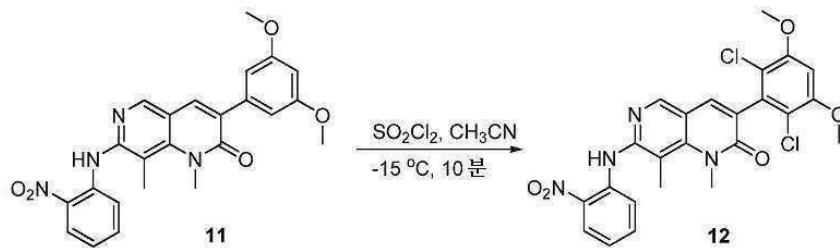
[0359] 3-(3,5-다이메톡시페닐)-1,8-다이메틸-7-(2-나이트로페닐아미노)-1,6-나프티리딘-2(1H)-온의 합성



[0360]

[0361] N,N-다이메틸폼아마이드(10ml) 중의 7-클로로-3-(3,5-다이메톡시페닐)-1,8-다이메틸-1,6-나프티리딘-2(1H)-온(800mg, 2.32mmol), 2-나이트로벤젠아민(320mg, 2.32mmol), Pd₂(dba)₃(100mg), 잔-포스(100mg) 및 칼륨 tert-부탄올레이트(480mg, 4.64mmol)의 혼합물을 밀봉관에서 마이크로웨이브 하에 100°C에서 1시간 동안 가열하였다. LCMS로 반응이 완료되었음을 모니터링하였다. 혼합물을 농축시키고, 분취-HPLC에 의해 정제하여 표제 화합물(150mg, 15%)을 갈색 고체로서 얻었다. MS (ES+) C₂₄H₂₂N₄O₅ 이론치: 446, 계산치: 447 [M + H]⁺.

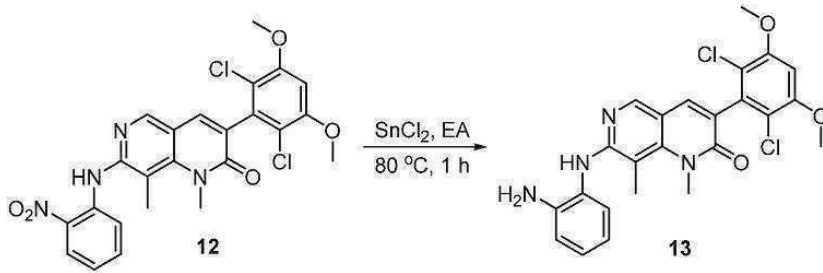
[0362] 3-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-1,8-다이메틸-7-(2-나이트로페닐아미노)-1,6-나프티리딘-2(1H)-온의 합성



[0363]

[0364] 아세트나이트릴(120ml) 중의 3-(3,5-다이메톡시페닐)-1,8-다이메틸-7-(2-나이트로페닐아미노)-1,6-나프티리딘-2(1H)-온(120mg, 0.27mmol)의 용액에 염화철푸릴(185mg, 1.35mmol)을 -15°C에서 첨가하고, 혼합물을 -15°C에서 10분 동안 교반시켰다. LCMS로 반응이 완료되었음을 모니터링하였다. 반응 혼합물을 물(1ml)로 퀀칭시키고 나서, 농축시켰다. 침전물을 여과를 통해 수집하고, 아세톤/석유에터(1:5)에 의해 세척하고, 건조시켜 표제 화합물(100mg, 72%)을 백색 고체로서 제공하였다. MS (ES+) C₂₄H₂₀Cl₂N₄O₅ 이론치: 514, 516, 계산치: 515, 517 [M + H]⁺.

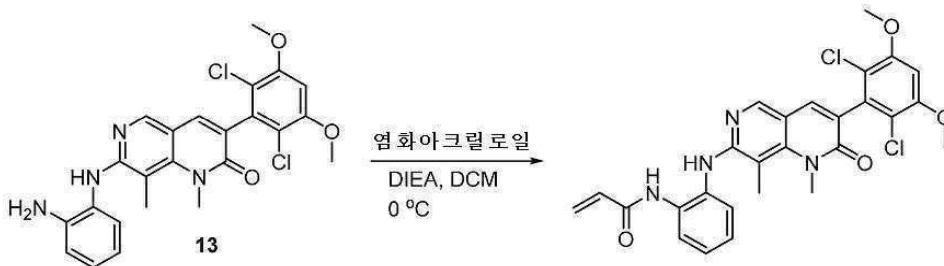
[0365] 7-(2-아미노페닐아미노)-3-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-1,8-다이메틸-1,6-나프티리딘-2(1H)-온의 합성



[0366]

[0367] 에틸 아세테이트(20ml) 중의 3-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-1,8-다이메틸-7-(2-나이트로페닐아미노)-1,6-나프티리딘-2(1H)-온(100mg, 0.2mmol)의 용액에 염화제일주석(150mg, 0.8mmol)을 첨가하고, 혼합물을 80℃에서 1시간 동안 교반시켰다. LCMS로 반응이 완료되었음을 모니터링하였다. 고체를 여과시키고, 여과액을 농축시켰다. 잔사를 분취-HPLC에 의해 정제하여 표제 화합물(38.6mg, 41%) 황색 고체로서 얻었다. MS (ES+) $C_{24}H_{22}Cl_2N_4O_3$ 이론치: 484, 486, 계산치: 485, 487 $[M+H]^+$; 1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 8.24 (s, 1H), 7.76 (s, 1H), 7.67 (s, 1H), 7.03 (d, 1H, J = 7.5 Hz), 6.97 (s, 1H), 6.92-6.89 (m, 1H), 6.75-6.73 (m, 1H), 6.57-6.54 (m, 1H), 4.77 (s, 2H), 3.95 (s, 6H), 3.66 (s, 3H), 2.43 (s, 3H).

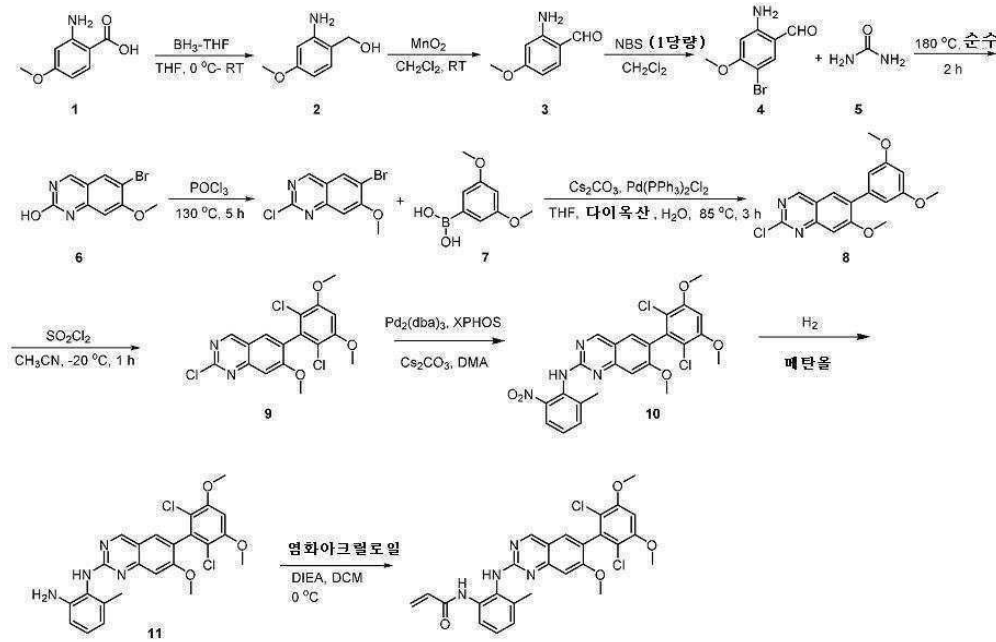
[0368] N-(2-((3-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-1,8-다이메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로-1,6-나프티리딘-7-일)아미노)페닐)아크릴아마이드의 합성



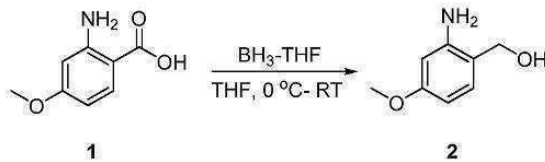
[0369]

[0370] N-(2-((3-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-1,8-다이메틸-2-옥소-1,2-다이하이드로-1,6-나프티리딘-7-일)아미노)페닐)아크릴아마이드를 화합물 30과 유사한 절차를 사용하여 준비하였다. 생성물을 0 내지 5% MeOH/DCM 구배를 사용하는 분취 박막 크로마토그래피에 의해 정제하여 표제 화합물을 제공하였다. MS (ES+) $C_{27}H_{24}Cl_2N_4O_4$ 이론치: 538, 계산치: 539 $[M + H]^+$.

[0371] 실시예 9: 화합물 42의 합성



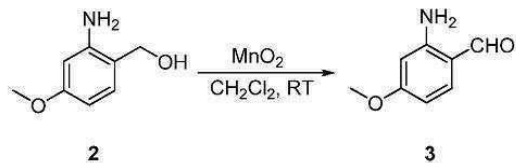
(2-아미노-4-메톡시페닐)메탄올의 합성



[0372]

[0373] THF(300ml) 중의 2-아미노-4-메톡시벤조산(15.0g, 89.8mmol)의 용액에 THF(450ml, 450mmol) 중의 수소화붕소를 0 °C에서 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반시켰다. LCMS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 반응을 물(150ml)로 퀀칭시키고, 에틸 아세테이트로 추출하였다(500ml ×3). 유기층을 분리시켜, 합쳐서, 물(200ml) 및 염수(200ml)로 세척하고 나서, 황산나트륨으로 건조시키고, 여과 후, 농축시켜 표제 화합물을 얻었다. MS (ES+) C₈H₁₁NO₂ 이론치: 153, 계산치: 154 [M + H]⁺.

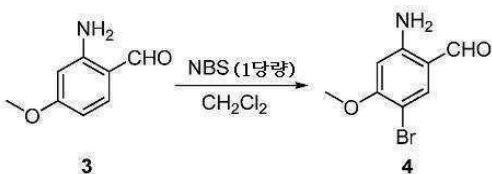
[0374] 2-아미노-4-메톡시벤즈알데하이드의 합성



[0375]

[0376] 다이클로로메탄(300ml) 중의 (2-아미노-4-메톡시페닐)메탄올(20g, 131.0mmol) 및 산화망간(68g, 786.0mmol)의 혼합물을 실온에서 밤새 교반시켰다. LCMS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 고체를 여과시키고, 여과액을 농축시켰다. 잔사를 실리카겔 크로마토그래피(석유에터:에틸 아세테이트 = 6:1)에 의해 정제하여 표제 화합물(7g, 35%)을 황색 고체로서 제공하였다. MS (ES+) C₈H₉NO₂ 이론치: 151, 계산치: 152 [M + H]⁺.

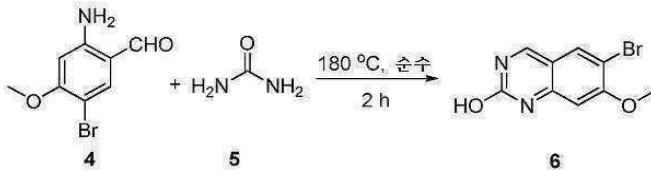
[0377] 2-아미노-5-브로모-4-메톡시벤즈알데하이드의 합성



[0378]

[0379] 다이클로로메탄(100ml) 중의 2-아미노-4-메톡시벤즈알데하이드(6g, 39.7mmol)의 교반 용액에 N-브로모숙신이미드(7g, 39.7mmol)를 첨가하였다. 출발 물질이 완전히 소모될 때까지 LCMS로 반응을 모니터링하였다. 반응 혼합물을 다이클로로메탄 및 물로 희석시켰다. 분리시킨 유기층을 황산나트륨으로 건조시키고, 여과 후, 농축시켜 표제 화합물(5g, 56%)을 황색 고체로서 제공하였다. MS (ES+) C₈H₈BrNO₂ 이론치: 229, 231, 계산치: 230, 232 [M + H]⁺.

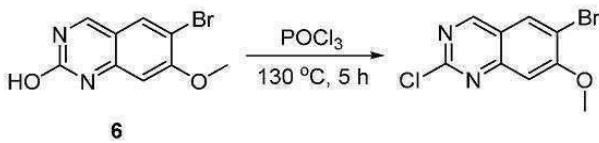
[0380] 6-브로모-7-메톡시퀴나졸린-2-올의 합성



[0381]

[0382] 2-아미노-5-브로모-4-메톡시벤즈알데하이드(3g, 13.1mmol) 및 우레아(12g, 196.5mmol)의 혼합물을 180°C에서 2시간 동안 교반시켰다. LCMS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 반응 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 물로 세척하였다(3 x 100ml). 침전물을 수집하고, 건조시켜 표제 화합물(3g, 조질)을 황색 고체로서 제공하였다. MS (ES+) C₈H₇BrN₂O₂ 이론치: 254, 256, 계산치: 255, 257 [M + H]⁺.

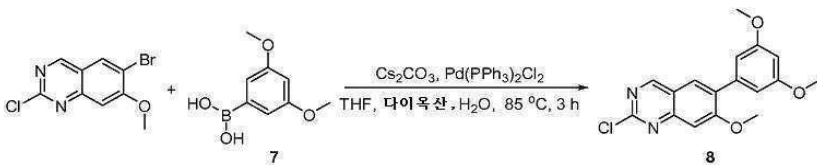
[0383] 6-브로모-2-클로로-7-메톡시퀴나졸린의 합성



[0384]

[0385] 포스포릴 트리클로라이드(30ml) 중의 6-브로모-7-메톡시퀴나졸린-2-올(3.0g, 11.8mmol)의 용액을 130°C에서 5시간 동안 환류시켰다. LCMS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 반응물을 실온으로 냉각시키고, 대부분의 포스포릴 트리클로라이드를 증발시켰다. 잔사를 얼음물(100ml)에 적가하고 나서, 얻어진 침전물을 여과를 통해 수집하여 표제 화합물을 황색 고체(2.4g, 75%)로서 제공하였다. MS (ES+) C₉H₈BrClN₂O 이론치: 272, 274, 계산치: 273, 275 [M + H]⁺.

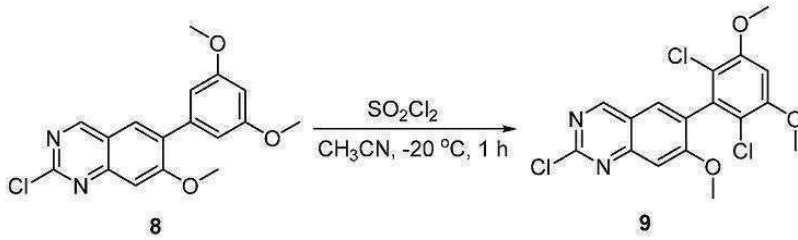
[0386] 2-클로로-6-(3,5-다이메톡시페닐)-7-메톡시퀴나졸린의 합성



[0387]

[0388] THF(10ml), 다이옥산(10ml) 및 물(2ml) 중의 6-브로모-2-클로로-7-메톡시퀴나졸린(2.4g, 8.82mmol), 3,5-다이메톡시페닐보론산(1.6g, 8.82mmol), 탄산세륨(8.6g, 26.46mmol) 및 Pd(PPh₃)₂Cl₂(1.4g, 2.1mmol)의 혼합물을 질소로 3회 탈기시키고, 85°C에서 3시간 동안 교반시켰다. LCMS로 반응이 완료되었음을 모니터링하였다. 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 다이클로로메탄으로 추출하였다(3 x 50ml). 유기층을 분리시켜, 합쳐서, 물 및 염수로 세척하고 나서, 황산나트륨으로 건조시키고, 여과 후, 농축시켰다. 잔사를 실리카겔 크로마토그래피(석유에터:에틸 아세테이트 = 1:4)에 의해 정제하여 표제 화합물(1.1g, 38%)을 백색 고체로서 제공하였다. MS (ES+) C₁₇H₁₅ClN₂O₃ 이론치: 330, 332, 계산치: 331, 333 [M + H]⁺.

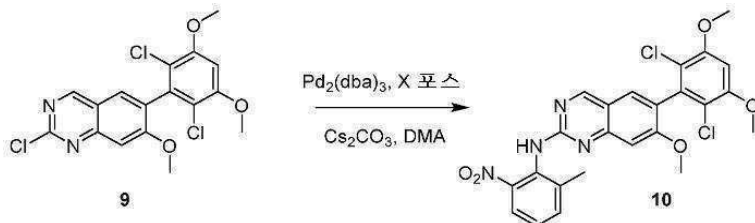
[0389] 2-클로로-6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-7-메톡시퀴나졸린의 합성



[0390]

[0391] 아세트나이트릴(5ml) 중의 2-클로로-6-(3,5-다이메톡시페닐)-7-메톡시퀴나졸린(200mg, 0.61mmol)의 용액에 염화설푸릴(205mg, 1.52mmol)을 첨가하고, 혼합물을 -20°C에서 1시간 동안 교반시켰다. 반응을 물(1ml)로 퀴칭시키고, 감압 하에 농축시켰다. 침전물을 아세트나이트릴에 의해 세척하고, 건조시켜 표제 화합물을 백색 고체(120mg, 50%)로서 제공하였다. MS (ES+) C₁₇H₁₃Cl₃N₂O₃ 이론치: 398, 계산치: 399, 401 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 9.43 (s, 1H), 8.02 (s, 1H), 7.55 (s, 1H), 7.03 (s, 1H), 3.98 (s, 6H), 3.93 (s, 3H).

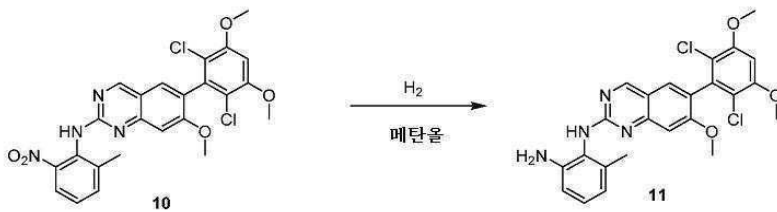
[0392] 6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-7-메톡시-N-(2-메틸-6-나이트로페닐)퀴나졸린-2-아민의 합성



[0393]

[0394] 6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-7-메톡시-N-(2-메틸-6-나이트로페닐)퀴나졸린-2-아민을 화합물 30과 유사한 절차를 사용하여 준비하였다. 생성물을 0 내지 100% EtOAc/헥산 구배를 사용하여 플래시 크로마토그래피에 의해 정제하여 표제 화합물을 제공하였다. MS (ES+) C₂₄H₂₀Cl₂N₄O₅ 이론치: 514, 계산치: 515 [M + H]⁺.

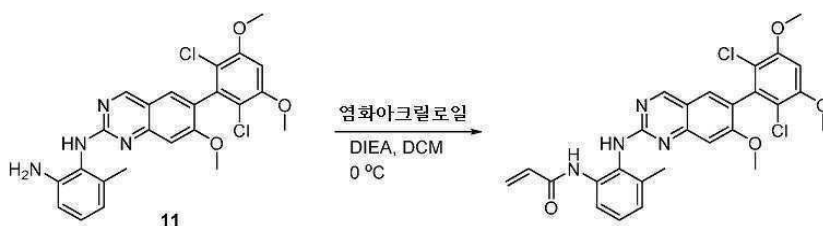
[0395] N1-(6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-7-메톡시퀴나졸린-2-일)-6-메틸벤젠-1,2-다이아민의 합성



[0396]

[0397] N1-(6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-7-메톡시퀴나졸린-2-일)-6-메틸벤젠-1,2-다이아민을 화합물 30과 유사한 절차를 사용하여 준비하였다. 반응물을 셀라이트를 통해 여과시켜 조질의 생성물을 제공하였다. MS (ES+) C₂₄H₂₂Cl₂N₄O₃ 이론치: 484, 계산치: 485 [M + H]⁺.

[0398] N-(2-((6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-7-메톡시퀴나졸린-2-일)아미노)-3-메틸페닐)아크릴아마이드의 합성

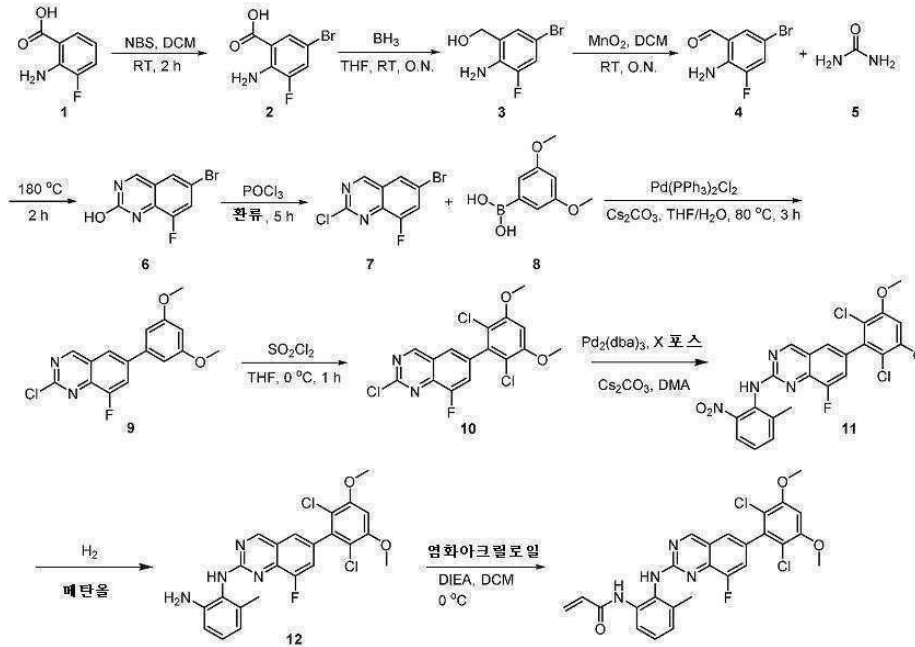


[0399]

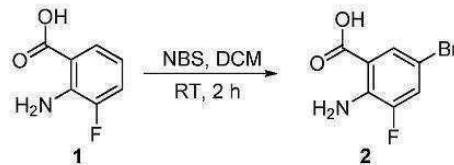
[0400] N-(2-((6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-7-메톡시퀴나졸린-2-일)아미노)-3-메틸페닐)아크릴아마이드를

화합물 30과 유사한 절차를 사용하여 준비하였다. 생성물을 0 내지 10% MeOH/DCM 구배를 사용하여 플래시 크로마토그래피에 의해 정제하여 표제 화합물을 제공하였다. MS (ES+) C₂₇H₂₄Cl₂N₄O₄ 이론치: 538, 계산치: 539 [M+H]⁺.

[0401] 실시예 10: 화합물 34의 합성



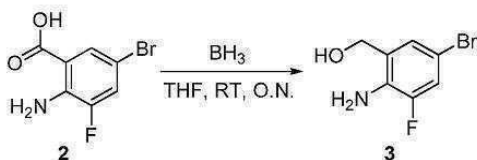
2-아미노-5-브로모-3-플루오로벤조산의 합성



[0402]

[0403] 다이클로로메탄(175ml) 중의 2-아미노-3-플루오로벤조산(10.85g, 70mmol)의 용액에 N-브로모숙신이미드(12.46g, 70mmol)를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반시켰다. LCMS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 침전물을 여과시키고, 다이클로로메탄으로 세척하여(100ml*3) 표제 화합물(12.7g, 78%)을 회색 고체로서 제공하고, 이를 추가의 정제 없이 다음 단계에서 직접 사용하였다. MS (ES+) C₇H₅BrFNO₂ 이론치: 233, 235, 계산치: 232, 234 [M - H]⁻.

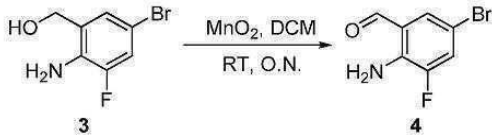
[0404] (2-아미노-5-브로모-3-플루오로페닐)메탄올의 합성



[0405]

[0406] THF(150ml) 중의 2-아미노-5-브로모-3-플루오로벤조산(14.5g, 62.2mmol)의 용액에 0 °C에서 THF(1M, 310ml) 중의 수소화붕소를 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반시켰다. LCMS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 반응을 메탄올(150ml)로 퀀칭시키고, 진공에서 농축시키고 나서, 수성 중탄산나트륨(400ml)으로 희석시키고, 에틸 아세테이트(200ml*3)로 추출하였다. 유기층을 분리시켜, 합쳐서, 물(200ml) 및 염수(200ml)로 세척하고 나서, 황산나트륨으로 건조시키고, 여과 후, 농축시켜 표제 화합물(13.0g, 조질)을 얻었고, 이를 추가의 정제 없이 다음 단계에서 직접 사용하였다. MS (ES+) C₇H₇BrFNO 이론치: 219, 221, 계산치: 220, 222 [M + H]⁺.

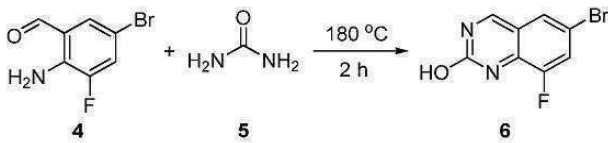
[0407] 2-아미노-5-브로모-3-플루오로벤즈알데하이드의 합성



[0408]

[0409] 다이클로로메탄(400ml) 중의 (2-아미노-5-브로모-3-플루오로페닐)메탄올(13g, 59.4mmol) 및 산화망간(31g, 356.4mmol)의 혼합물을 실온에서 밤새 교반시켰다. TLC는 출발 물질이 완전히 소모되었음을 나타내었다. 고체를 여과시키고, 여과액을 농축시켜 표제 화합물(11g, 85%)을 밝은 황색 고체로서 제공하고, 이를 추가의 정제 없이 다음 단계에서 직접 사용하였다.

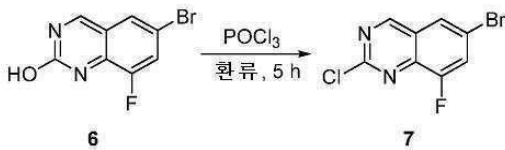
[0410] 6-브로모-8-플루오로퀴나졸린-2-올의 합성



[0411]

[0412] 2-아미노-5-브로모-3-플루오로벤즈알데하이드(2.17g, 10mmol) 및 유레아(9g, 150mmol)의 교반 혼합물을 $180^\circ C$ 에서 2시간 동안 가열하였다. LCMS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 반응 혼합물 실온으로 냉각시키고, 얻어진 침전물을 여과시키고 나서, 물로 세척하였다(500ml *3). 갇혀있는 수분을 3회 톨루엔과 함께 공증발에 의해 완전히 제거하였다. 표제 화합물(2g, 83%)을 황색 고체로서 얻었다. MS (ES+) $C_8H_4BrFN_2O$ 이론치: 242, 244, 계산치: 243, 245 $[M + H]^+$.

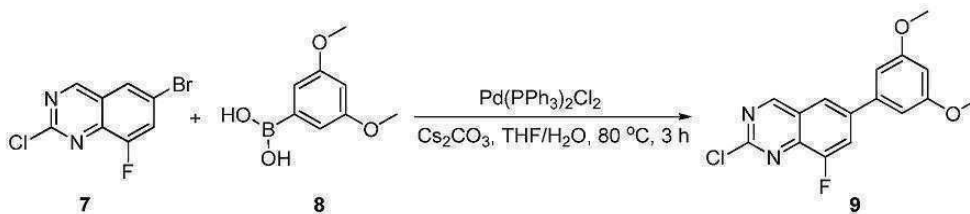
[0413] 6-브로모-2-클로로퀴나졸린의 합성



[0414]

[0415] 옥시염화인(100ml) 중의 6-브로모퀴나졸린-2-올(9.72g, 40mmol)의 용액을 5시간 동안 환류시켰다. LCMS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 반응물을 실온으로 냉각시키고, 대부분의 옥시염화인을 감압 하에 제거하였다. 잔사를 얼음물(500ml)에 적가하고, 얻어진 침전물을 여과에 의해 수집하여 표제 화합물(9g, 87%)을 황색 고체로서 제공하였다. MS (ES+) $C_8H_3BrClFN_2$ 이론치: 260, 262, 계산치: 261, 263 $[M + H]^+$.

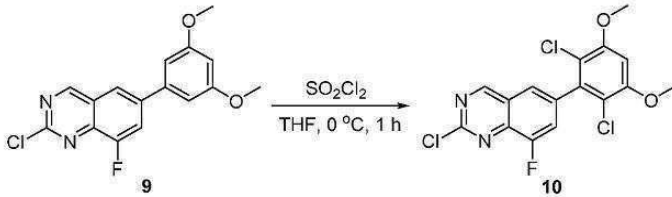
[0416] 2-클로로-6-(3,5-다이메톡시페닐)-8-플루오로퀴나졸린의 합성



[0417]

[0418] THF(200ml) 및 물(10ml) 중의 6-브로모-2-클로로-8-플루오로퀴나졸린(4.0g, 15.4mmol), 3,5-다이메톡시페닐보론산(4.47g, 16.9mmol), 탄산세슘(10.0g, 30.8mmol) 및 $Pd(PPh_3)_2Cl_2$ (236mg, 0.77mmol)의 혼합물을 질소로 3회 탈기하고, $80^\circ C$ 에서 3시간 동안 교반시켰다. TLC와 LCMS는 둘 다 반응이 완료되었음을 나타내었다. 반응 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 직접 농축시켰다. 잔사를 실리카겔 크로마토그래피(석유에터:다이클로로메탄 = 2:1 내지 1:1)에 의해 정제하여 표제 화합물(2.5g, 51%)을 황색 고체로서 얻었다. MS (ES+) $C_{16}H_{12}ClFN_2O_2$ 이론치: 318/320, 계산치: 319/321 $[M + H]^+$.

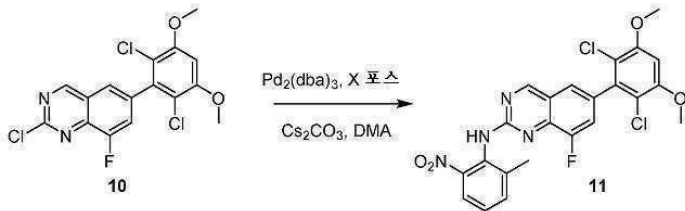
[0419] 2-클로로-6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-8-플루오로퀴나졸린의 합성



[0420]

[0421] 건조 THF(40ml) 중의 2-클로로-6-(3,5-다이메톡시페닐)-8-플루오로퀴나졸린(1.5g, 4.7mmol)의 용액에 염화실푸릴(1.59g, 1.75mmol)을 0°C에서 적가하고, 혼합물을 1시간 동안 교반시켰다. TLC와 LCMS는 둘 다 반응이 완료되었음을 나타내었다. 반응을 물(1ml)로 퀴칭시키고 나서, 용매를 감압 하에 제거하였다. 잔사를 아세토나이트릴로 세척하고, 건조시켜 표제 화합물(700mg, 38%)을 백색 고체로서 제공하였다. (MS (ES+) C₁₆H₁₀Cl₃FN₂O₂ 이론치: 386, 388, 계산치: 387, 389 [M + H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 9.74 (d, 1H J = 1.0 Hz), 8.03-7.99 (m, 2H), 7.08 (s, 1H), 4.00 (s, 6H).

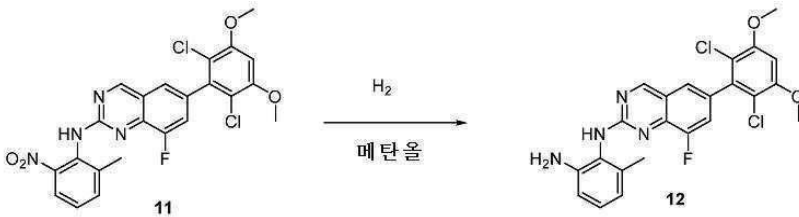
[0422] 6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-8-플루오로-N-(2-메틸-6-나이트로페닐)퀴나졸린-2-아민의 합성



[0423]

[0424] 6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-8-플루오로-N-(2-메틸-6-나이트로페닐)퀴나졸린-2-아민을 화합물 30과 유사한 절차를 사용하여 준비하였다. 0 내지 100% EtOAc/헥산 구배를 사용하여 플래시 크로마토그래피에 의해 생성물을 정제하여 표제 화합물을 제공하였다. MS (ES+) C₂₃H₁₇Cl₂FN₄O₄ 이론치: 502, 계산치: 503 [M + H]⁺.

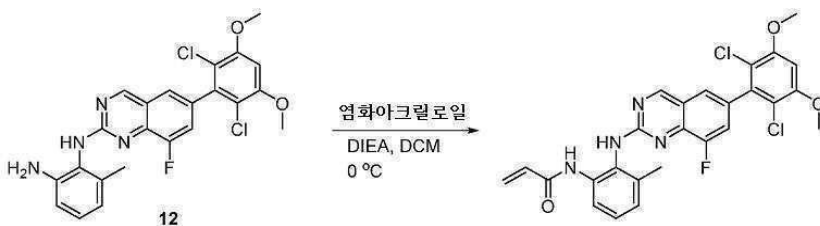
[0425] N1-(6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-8-플루오로퀴나졸린-2-일)-6-메틸벤젠-1,2-디아민의 합성



[0426]

[0427] N1-(6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-8-플루오로퀴나졸린-2-일)-6-메틸벤젠-1,2-디아민을 화합물 30과 유사한 절차를 사용하여 준비하였다. 반응물을 셀라이트를 통해 여과시켜 조질의 생성물을 제공하였다. MS (ES+) C₂₃H₁₉Cl₂FN₄O₂ 이론치: 472, 계산치: 473 [M + H]⁺.

[0428] N-(2-((6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-8-플루오로퀴나졸린-2-일)아미노)-3-메틸페닐)아크릴아마이드의 합성

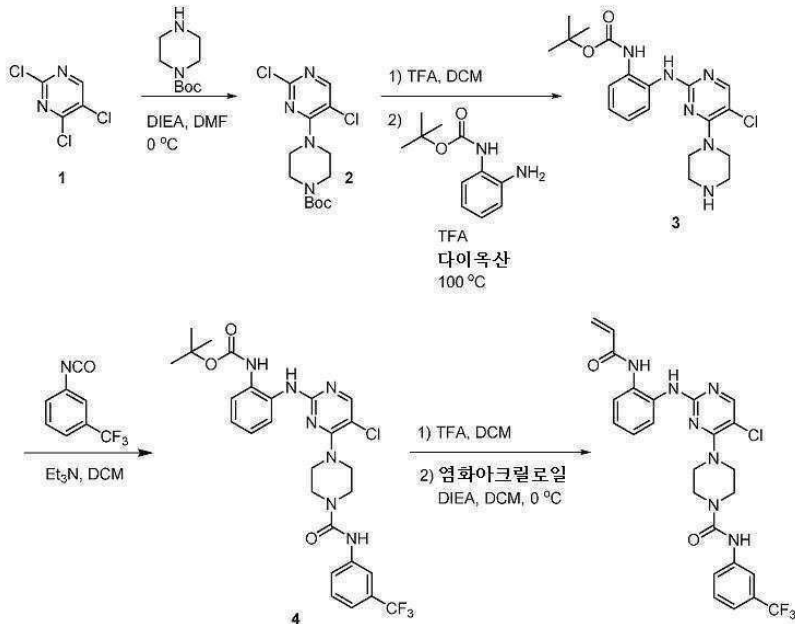


[0429]

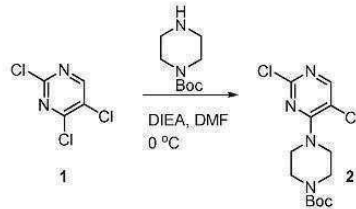
[0430] N-(2-((6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-8-플루오로퀴나졸린-2-일)아미노)-3-메틸페닐)아크릴아마이드를 화합물 30과 유사한 절차를 사용하여 준비하였다. 생성물을 0 내지 10% MeOH/DCM 구배를 사용하여 플래시 크로

마토그래피에 의해 정제하여 표제 화합물을 제공하였다. MS (ES+) $C_{26}H_{21}Cl_2FN_4O_3$ 이론치: 526, 계산치: 527 [M + H]⁺. ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9.53 (d, J = 27.9 Hz, 1H), 9.28 (s, 1H), 8.96 (s, 1H), 7.75 (d, J = 29.9 Hz, 1H), 7.59 (d, J = 1.7 Hz, 1H), 7.49 (d, J = 10.8 Hz, 1H), 7.02 (s, 1H), 6.50 (s, 1H), 6.21 (dd, J = 16.9, 2.1 Hz, 1H), 5.75 (s, 1H), 5.68 (dd, J = 10.2, 2.0 Hz, 1H), 3.98 (d, J = 4.6 Hz, 6H), 2.19 (s, 3H).

[0431] 실시예 10: 화합물 50의 합성



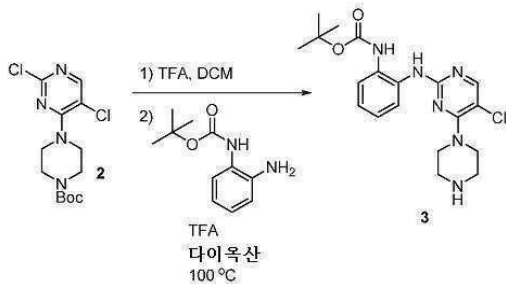
tert-부틸 4-(2,5-다이클로로피리미딘-4-일)피페라진-1-카복실레이트의 합성



[0432]

[0433] 건조 DMF(8.5ml) 중의 2,4,5-트라이클로로피리미딘(0.475g, 2.6mmol)의 용액에 tert-부틸 피페라진-1-카복실레이트(0.51g, 2.7mmol)를 첨가하고 나서 DIEA(0.51ml, 3.1mmol)를 0°C에서 첨가하고, 혼합물을 1시간 동안 교반시켰다. LCMS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 반응물을 물(100ml)로 희석시키고, 백색 고체를 여과시켰다. 잔사를 물로 세척하고, 건조시켜 표제 화합물(445mg, 51%)을 백색 고체로서 제공하였다. MS (ES+) $C_{13}H_{18}Cl_2N_4O_2$ 이론치: 332, 계산치: 333 [M + H]⁺

[0434] tert-부틸 (2-((5-클로로-4-(피페라진-1-일)피리미딘-2-일)아미노)페닐)카바메이트의 합성



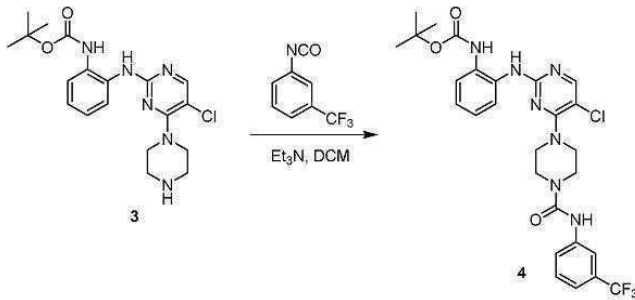
[0435]

[0436] DCM(1.0ml) 중의 tert-부틸 4-(2,5-다이클로로피리미딘-4-일)피페라진-1-카복실레이트(0.1g, 0.3mmol)의 용액에 TFA(1.0ml)를 첨가하고, 혼합물을 1시간 동안 교반시켰다. 반응 혼합물의 알리쿼트를 LCMS에 의해 분석하고, 이

는 반응이 완료로 진행되었음을 나타내었다. 용매를 제거하고, 잔사를 고진공 상에서 건조시켰다. 조질의 생성물을 추가의 정제 없이 다음 단계를 위해 사용하였다.

[0437] 다이옥산(4.0ml) 중의 2,5-다이클로로-4-(피페라진-1-일)피리미딘(0.3mmol)의 용액에 TFA(0.060ml, 0.75mmol) 및 tert-부틸 (2-아미노페닐)카바메이트(0.094g, 0.45mmol)를 첨가하고, 혼합물을 100℃에서 24시간 동안 교반시켰다. 반응. 반응물을 실온으로 냉각시킨 후에, 반응 혼합물을 EtOAc로 희석시키고, 수성 포화 중탄산나트륨 용액으로 세척하였다. 유기 혼합물을 황산나트륨으로 건조시키고 나서, 실리카겔 상에 장입하여, 10% NH₄OH를 함유하는 0 내지 10% MeOH/DCM 구배를 사용하여 정제하여 표제 화합물(28mg, 23%)을 백색 고체로서 제공하였다. MS (ES+) C₁₉H₂₅C₁N₆O₂ 이론치: 404, 계산치: 405 [M + H]⁺

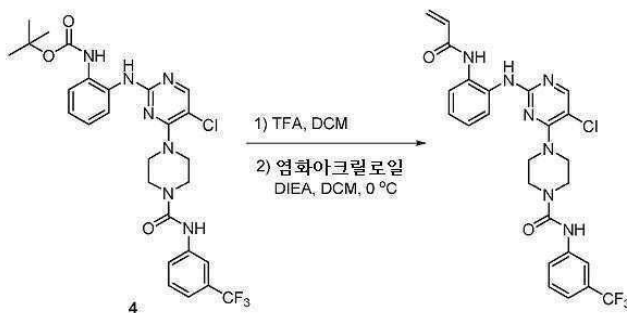
[0438] tert-부틸 (2-((5-클로로-4-(4-((3-(트라이플루오로메틸)페닐)카바모일)피페라진-1-일)피리미딘-2-일)아미노)페닐)카바메이트의 합성



[0439]

[0440] DCM(0.7ml) 중의 tert-부틸 (2-((5-클로로-4-(피페라진-1-일)피리미딘-2-일)아미노)페닐)카바메이트(28mg, 0.068mmol)의 용액에 1-아이소시아나이트-3-(트라이플루오로메틸)벤젠(0.011ml, 0.082mmol) 및 트리에틸아민(0.015ml, 0.1mmol)을 첨가하고, 혼합물을 23℃에서 16시간 동안 교반시켰다. 반응. 조질의 반응 혼합물을 실리카겔 상에 장입하고 나서, 0 내지 50% EtOAc/헥산 구배를 사용하여 표제 화합물(25mg, 62%)을 제공하였다. MS (ES+) C₂₇H₂₉ClF₃N₇O₃ 이론치: 591, 계산치: 592 [M + H]⁺

[0441] 4-(2-((2-아크릴아미도)페닐)아미노)-5-클로로피리미딘-4-일)-N-(3-(트라이플루오로메틸)페닐)피페라진-1-카복사마이드의 합성

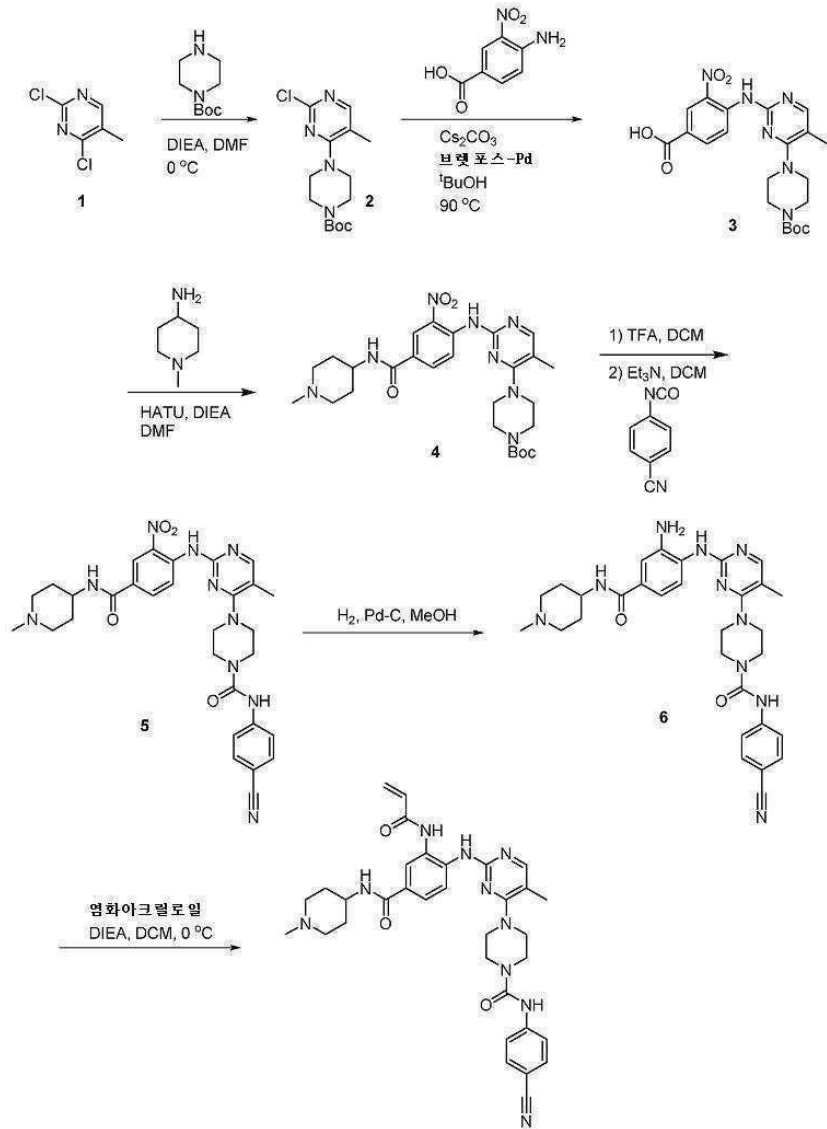


[0442]

[0443] DCM(1.0ml) 중의 tert-부틸 (2-((5-클로로-4-(4-((3-(트라이플루오로메틸)페닐)카바모일)피페라진-1-일)피리미딘-2-일)아미노)페닐)카바메이트(0.025g, 0.043mmol)의 용액에 TFA(1.0ml)를 첨가하고 혼합물을 1시간 동안 교반시켰다. 반응 혼합물의 알리퀴트를 LCMS에 의해 분석하고, 이는 반응이 완료로 진행되었음을 나타내었다. 용매를 제거하고, 잔사를 고진공에서 건조시켰다. 조질의 생성물을 추가의 정제 없이 다음 단계에서 사용하였다.

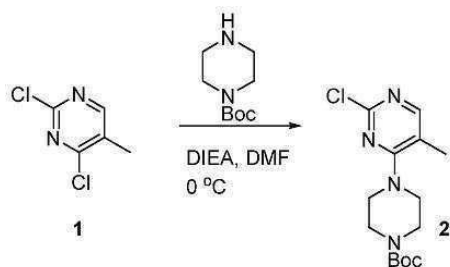
[0444] DCM(0.5ml) 중의 4-(2-((2-아미노)페닐)아미노)-5-클로로피리미딘-4-일)-N-(3-(트라이플루오로메틸)페닐)피페라진-1-카복사마이드(0.043mmol)의 용액에 염화아크릴로일(0.004ml, 0.052mmol) 및 DIEA(0.018ml, 0.11mmol)을 첨가하고 나서, 혼합물을 0℃에서 1시간 동안 교반시켰다. 조질의 반응 혼합물을 실리카겔 상에 장입하고, 0 내지 7% MeOH/DCM 구배를 사용하여 정제하여 표제 화합물(10mg, 43%)을 제공하였다. MS (ES+) C₂₅H₂₃ClF₃N₇O₂ 이론치: 545, 계산치: 546 [M + H]⁺

[0445] 실시예 11: 화합물 54의 합성



[0446]

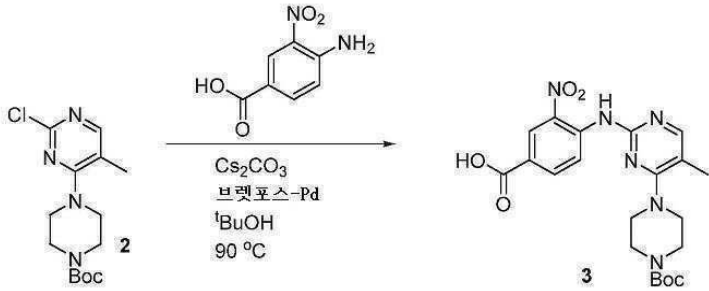
[0447] tert-부틸 4-(2-클로로-5-메틸피리미딘-4-일)피페라진-1-카복실레이트의 합성



[0448]

[0449] 건조 DMF(15.5ml) 중의 2,4-다이클로로-5-메틸피리미딘(0.75g, 4.6mmol)의 용액에 0°C에서 tert-부틸 피페라진-1-카복실레이트(0.9g, 4.85mmol)를 첨가하고 나서, DIEA(0.91ml, 5.5mmol)를 첨가하고, 혼합물을 실온으로 밤새 교반시켰다. LCMS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 반응물을 물(120ml)로 희석시키고, 고체를 여과시켰다. 잔사를 물로 세척하고, 건조시켜 표제 화합물(1.386g, 96%)을 백색 고체로서 제공하였다. MS (ES+) C₁₄H₂₁ClN₄O₂ 이론치: 312, 계산치: 313 [M + H]⁺

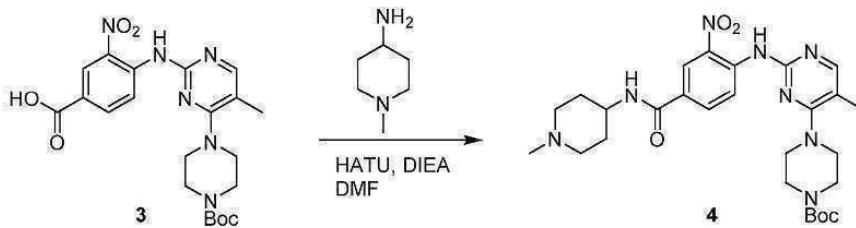
[0450] 4-((4-(4-(tert-부톡시카보닐)피페라진-1-일)-5-메틸피리미딘-2-일)아미노)-3-나이트로벤조산의 합성



[0451]

[0452] ^tBuOH(2.4ml) 중의 tert-부틸 4-(2-클로로-5-메틸피리미딘-4-일)피페라진-1-카복실레이트(0.15g, 0.48mmol), 4-아미노-3-나이트로벤조산(97mg, 0.53mmol), BrettPhos-Pd 혼합물(20mg, 0.015mmol) 및 탄산세슘(470mg, 1.44mmol)의 혼합물을 밀봉관 내에서 100 °C에서 밤새 가열하였다. 혼합물을 EtOAc로 희석시키고, 셀라이트 플러그를 통해 여과 후, 실리카겔 상에 장입하고 0 내지 10% MeOH/DCM 구배를 사용하여 표제 화합물(75mg, 34%)을 제공하였다. MS (ES+) C₂₁H₂₆N₆O₆ 이론치: 458, 계산치: 459 [M + H]⁺

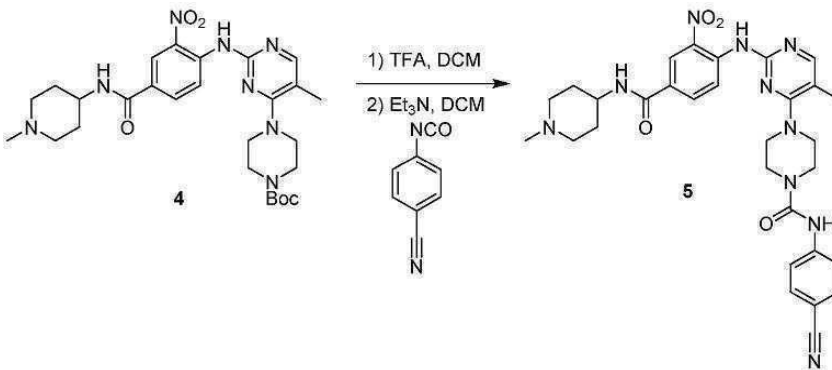
[0454] *tert-부틸 4-(5-메틸-2-((4-((1-메틸피페리딘-4-일)카바모일)-2-나이트로페닐)아미노)피리미딘-4-일)피페라진-1-카복실레이트의 합성



[0455]

[0456] DMF(3.0ml) 중의 4-((4-(4-(tert-부톡시카보닐)피페라진-1-일)-5-메틸피리미딘-2-일)아미노)-3-나이트로벤조산(0.075g, 0.164mmol), 1-메틸피페리딘-4-아민(37mg, 0.33mmol), HATU(140mg, 0.37mmol) 및 DIEA(0.1ml, 0.6mmol)의 혼합물을 실온에서 밤새 교반시켰다. 반응 혼합물을 EtOAc로 희석시키고, 수성 포화 중탄산나트륨 용액 및 포화 염수 용액으로 세척하였다. 조질의 혼합물을 실리카겔 상에 장입하고, 10% NH₄OH를 함유하는 0 내지 10% MeOH/DCM 구배를 사용하여 정제하여 표제 화합물(73mg, 80%)을 제공하였다. MS (ES+) C₂₇H₃₈N₈O₅ 이론치: 554, 계산치: 555 [M + H]⁺

[0457] N-(4-시아노페닐)-4-(5-메틸-2-((4-((1-메틸피페리딘-4-일)카바모일)-2-나이트로페닐)아미노)피리미딘-4-일)피페라진-1-카복사마이드의 합성



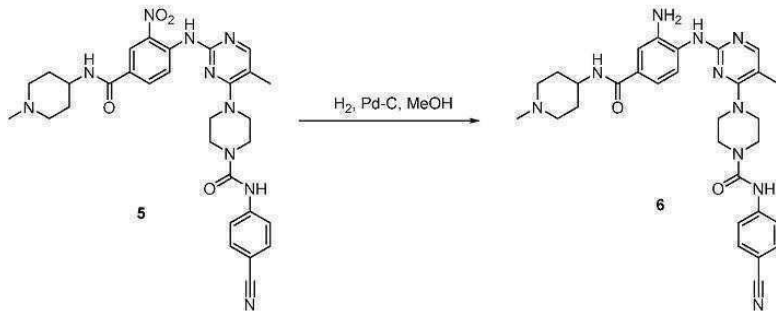
[0458]

[0459] DCM(1.0ml) 중의 tert-부틸 4-(5-메틸-2-((4-((1-메틸피페리딘-4-일)카바모일)-2-나이트로페닐)아미노)피리미딘-4-일)피페라진-1-카복실레이트(0.073g, 0.13mmol)의 용액에 TFA(1.0ml)를 첨가하고, 혼합물을 1시간 동안 교반

시켰다. 반응 혼합물의 알리퀴트를 LCMS에 의해 분석하고, 이는 반응이 완료로 진행되었으므로 나타내었다. 용매를 제거하고, 잔사를 진공 상에서 건조시켰다. 조질의 생성물을 추가의 정제 없이 다음 단계를 위해 사용하였다.

[0460] DCM(1.5ml) 중의 4-((5-메틸-4-(피페라진-1-일)피리미딘-2-일)아미노)-N-(1-메틸피페리딘-4-일)-3-나이트로벤즈아마이드(0.073mmol)의 용액에 4-아이소시아나토벤조나이트릴(23mg, 0.16mmol) 및 트라이에틸아민(0.055ml, 0.39mmol)을 첨가하고, 혼합물을 23°C에서 16시간 동안 교반시켰다. 반응. 조질의 반응 혼합물을 여과시키고, 최소 용적의 DCM 및 헥산으로 세척하고 나서 표제 화합물(97mg, 100%)을 제공하였다. MS (ES+) C₃₀H₃₄N₁₀O₄ 이론치: 598, 계산치: 599 [M + H]⁺

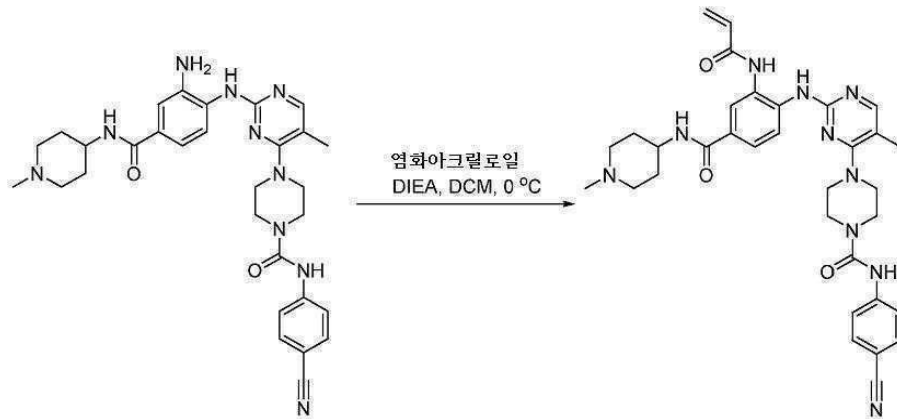
[0461] 4-(2-((2-아미노-4-((1-메틸피페리딘-4-일)카바모일)페닐)아미노)-5-메틸피리미딘-4-일)-N-(4-사이아노페닐)피페라진-1-카복사마이드의 합성



[0462]

[0463] 4-(2-((2-아미노-4-((1-메틸피페리딘-4-일)카바모일)페닐)아미노)-5-메틸피리미딘-4-일)-N-(4-사이아노페닐)피페라진-1-카복사마이드를 화합물 30과 유사한 절차를 사용하여 준비하였다. 반응물을 셀라이트를 통해 여과시켜 조질의 생성물을 제공하였다. MS (ES+) C₃₀H₃₆N₁₀O₂ 이론치: 568, 계산치: 569 [M + H]⁺

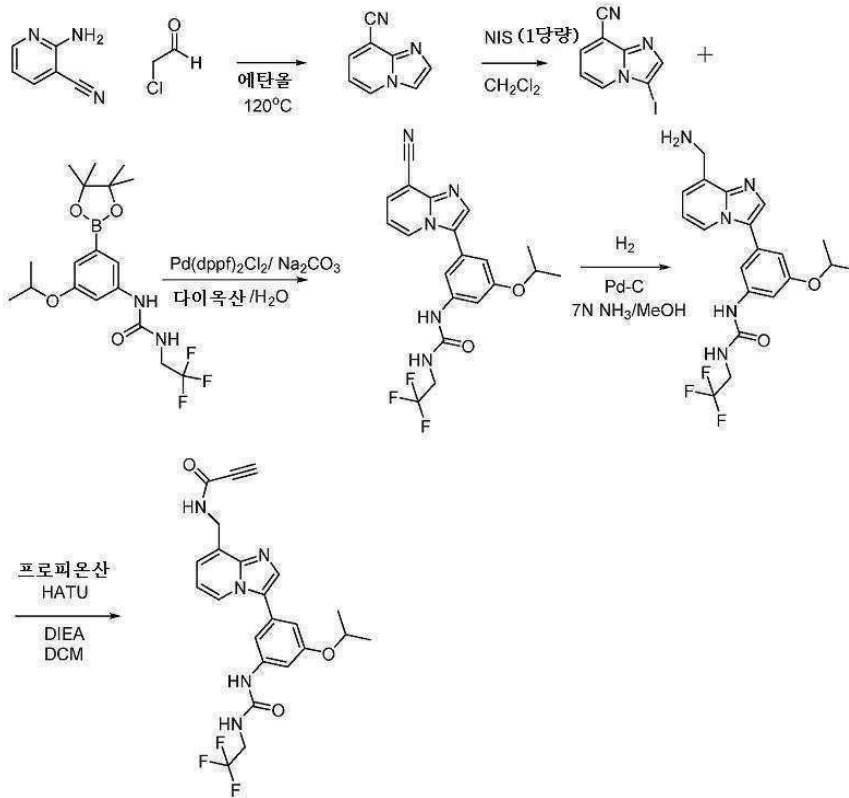
[0464] 4-(2-((2-아크릴아미도-4-((1-메틸피페리딘-4-일)카바모일)페닐)아미노)-5-메틸피리미딘-4-일)-N-(4-사이아노페닐)피페라진-1-카복사마이드의 합성



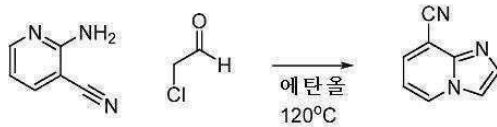
[0465]

[0466] 4-(2-((2-아크릴아미도-4-((1-메틸피페리딘-4-일)카바모일)페닐)아미노)-5-메틸피리미딘-4-일)-N-(4-사이아노페닐)피페라진-1-카복사마이드를 화합물 30과 유사한 절차를 사용하여 준비하였다. 반응 혼합물을 분취 박막 크로마토그래피를 통해 정제하여 표제 생성물을 제공하였다. MS (ES+) C₃₃H₃₈N₁₀O₃ 이론치: 622, 계산치: 623 [M + H]⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9.98 (s, 1H), 9.08 (s, 1H), 8.30 (s, 1H), 8.21 - 8.07 (m, 3H), 7.93 (d, J = 10.7 Hz, 2H), 7.67 (m, 4H), 6.50 (dd, J = 16.9, 10.2 Hz, 1H), 6.33 - 6.25 (m, 1H), 5.83 - 5.76 (m, 1H), 3.78 (m, 2H), 3.59 (m, 4H), 3.43 (m, 4H), 2.92 (d, J = 11.4 Hz, 2H), 2.30 (s, 3H), 2.23 (s, 2H), 2.14 (s, 3H), 1.79 (m, 2H), 1.69 - 1.54 (m, 2H).

[0467] 실시예 12: 화합물 20의 합성



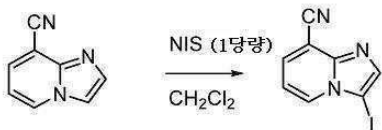
이미다조 [1,2-a]피리딘-8-카보나이트릴의 합성



[0468]

[0469] 20ml 밀봉 바이알에서 EtOH(10ml) 중의 2-아미노니코티노나이트릴(1.0g, 8.39mmol)의 용액에 2-클로로아세트알데하이드(1.611ml, 9.23mmol)를 첨가하고, 이어서, 바이알을 밀봉시키고, 120°C로 밤새 가열하였다. 반응물을 실온으로 냉각시키고, 2N Na2CO3로 퀀칭시키고 나서, 진공에서 EtOH를 제거하고, DCMx3로 추출하였다. 합한 유기물을 물로 세척하고, 염수로 x2 세척하였다. 황산나트륨으로 건조시키고, 용매를 제거하여 표제 화합물을 황갈색 고체로서 제공하고(1.2g, 8.38mmol, 수율 100%) MS (ES+)에 의해 확인하였다 C₈H₅N₃ 이론치: 143 계산치: 144 [M + H]⁺

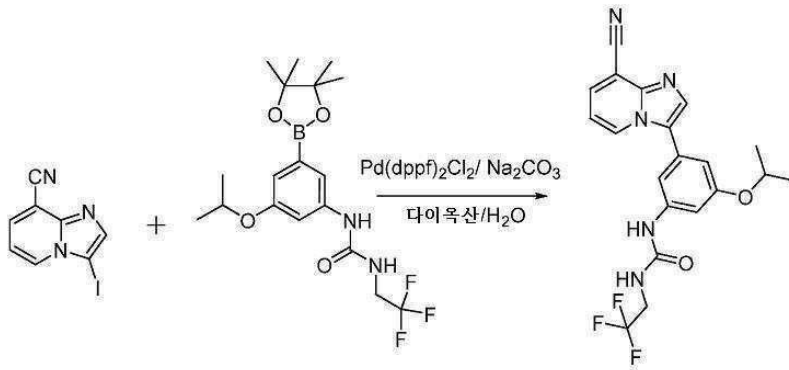
[0470] 3-요오도이미다조[1,2-a]피리딘-8-카보나이트릴의 합성



[0471]

[0472] 다이클로로메탄(10ml) 중의 이미다조[1,2-a]피리딘-8-카보나이트릴(1.2g, 8.38mmol)의 교반 용액에 N-요오도숙신이미드(1.89g, 8.38mmol)를 첨가하였다. LCMS로 출발 물질이 완전히 소모될 때까지 반응을 모니터링하였다. 반응 혼합물을 다이클로로메탄 및 물로 희석시켰다. 분리된 유기층을 황산나트륨으로 건조시키고, 여과 후, 농축시켜 3-요오도이미다조[1,2-a]피리딘-8-카보나이트릴(1.8g, 6.69mmol, 수율 80%)을 갈색 고체로서 제공하였다. MS (ES+) C₈H₅IN₃ 이론치: 269, 계산치: 270 [M + H]⁺.

[0473] 1-(3-(8-사이아노이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)-5-아이소프로폭시페닐)-3-(2,2,2-트라이플루오로에틸)우레아의 합성



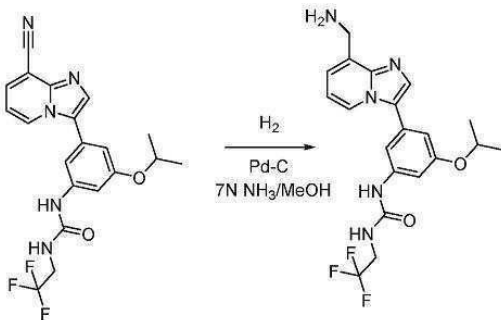
[0474]

[0475]

다이옥산(3ml) 중의 3-요오도이미다조[1,2-a]피리딘-8-카보나이트릴(100mg, 373 μmol), 1-(3-아이소프로폭시-5-(4,4,5,5-테트라메틸-1,3,2-다이옥사보롤란-2-일)페닐)-3-(2,2,2-트라이플루오로에틸)우레아(90mg, 224 μmol), PdCl2(dppf)-CH2Cl2 부가물(30.5mg, 37.3 μmol)의 혼합물에 2M Na2CO3(0.559ml, 1119 μmol)을 첨가하였다. 마이알을 5분 동안 탈기하고 나서 캡핑하고, 110°C로 30분 동안 마이크로웨이브에서 가열하였다. 주위 온도로 냉각시킨 후에, 반응물을 EtOAc와 염수로 나누고, 분리시키고 나서, 유기물을 염수로 2회 세척하였다. 합한 유기물을 실리카 상에서 직접 건조시키고, 플래시 크로마토그래피(0 내지 100% 헥산/EtOAc; 12g 칼럼)를 통해 정제하였다. 표제 화합물(30mg, 71.9 μmol, 수율 32.1%)을 갈색 고체로서 회수하였다. MS (ES+) C₂₀H₁₈F₃N₅O₂ 이론치: 417, 계산치: 418 [M + H]⁺.

[0476]

1-(3-(8-(아미노메틸)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)-5-아이소프로폭시페닐)-3-(2,2,2-트라이플루오로에틸)우레아의 합성



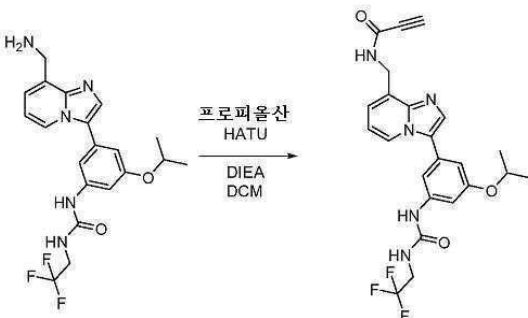
[0477]

[0478]

1-(3-(8-시아노이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)-5-아이소프로폭시페닐)-3-(2,2,2-트라이플루오로에틸)우레아(0.030g, 0.072mmol)를 메탄올(20ml, 140mmol) 중의 7N 암모니아에서 취하고, Pd-C(10mg, 0.094mmol)를 첨가하였다. 반응을 H₂ 별론 하에 1시간 동안 교반시켰다. 이어서, 혼합물을 셀라이트를 통해 여과시키고, 용매를 제거하였다. 잔기를 고진공 하에 밤새 건조시켜 표제 화합물을 황색 고체로서 제공하였다(0.026g, 0.062mmol, 수율 86%). MS (ES+) C₂₀H₂₂F₃N₅O₂ 이론치: 421, 계산치: 422 [M + H]⁺.

[0479]

N-((3-(3-아이소프로폭시-5-(3-(2,2,2-트라이플루오로에틸)우레아이드)페닐)이미다조[1,2-a]피리딘-8-일)메틸)프로피올아마이드의 합성



[0480]

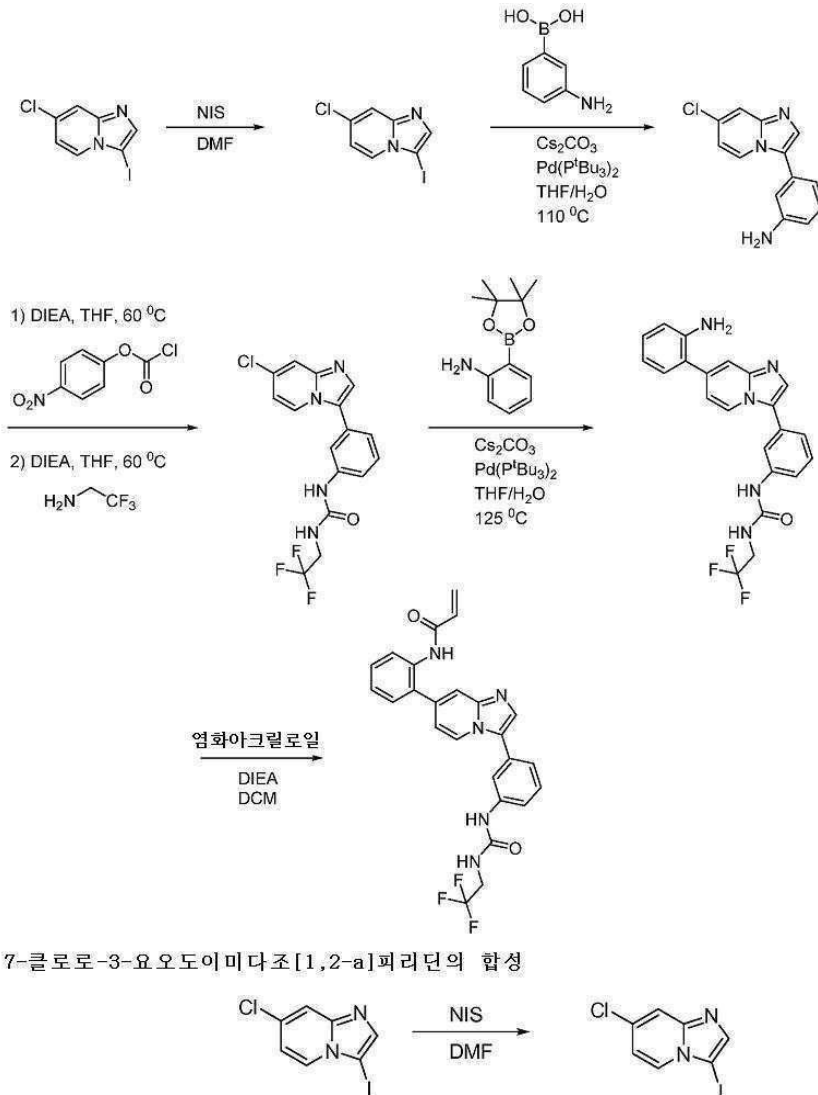
[0481]

DCM(3ml) 중의 1-(3-(8-(아미노메틸)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)-5-아이소프로폭시페닐)-3-(2,2,2-트라이플루

오로에틸)유레아(26mg, 0.062mmol)의 용액에 DIEA(0.075ml, 0.432mmol) 및 HATU(35.2mg, 0.093mmol)를 첨가하고, 최종적으로 프로피올산(4.95 μ l, 0.080mmol)을 첨가하였다. 반응을 30분 동안 실온에서 교반시켰다. 반응을 실리카 칼럼 상에 직접 장입하고, 플래시 크로마토그래피(0 내지 10% CH₂Cl₂/MeOH)에 의해 정제하여 표제 화합물(19 mg, 0.040mmol, 수율 65.0%)을 희백색 고체로서 제공하였다. MS (ES+) C₂₃H₂₂F₃N₃O₃ 이론치: 473, 계산치: 474 [M + H]⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9.34 (s, 1H), 8.92 (s, 1H), 8.47 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.17 (d, J = 1.9 Hz, 2H), 7.10 (s, 1H), 6.98 (s, 1H), 6.82 (s, 1H), 6.74 (s, 1H), 4.69 - 4.58 (m, 2H), 3.93 (dd, J = 9.7, 6.4 Hz, 2H), 2.72 - 2.64 (m, 1H), 1.30 - 1.19 (m, 6H).

[0482]

실시예 13: 화합물 21의 합성

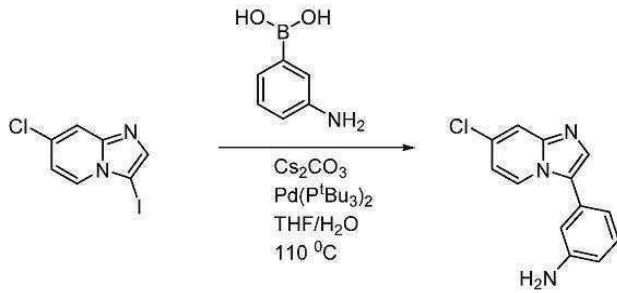


[0483]

[0484]

7-클로로-3-요오도이미다조[1,2-a]피리딘을 W02008078091호에 기재된 절차를 사용하여 준비하였다. MS (ES+) C₇H₄ClIN₂ 이론치: 278, 계산치: 279 [M + H]⁺.

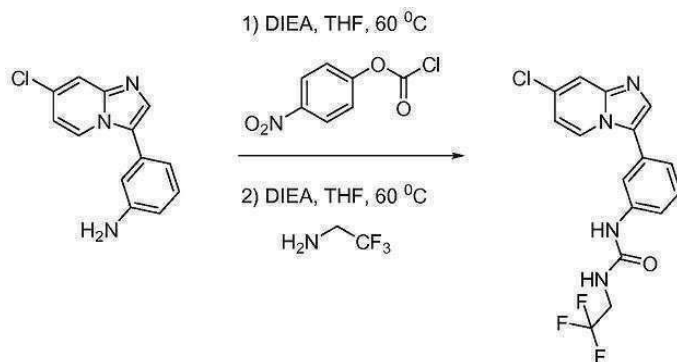
[0485] 3-(7-클로로이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)아닐린의 합성



[0486]

[0487] 3-(7-클로로이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)아닐린을 W02008078091호에 기재된 절차를 사용하여 준비하였다. MS (ES+) C₁₃H₁₀ClN₃ 이론치: 243, 계산치: 244 [M + H]⁺.

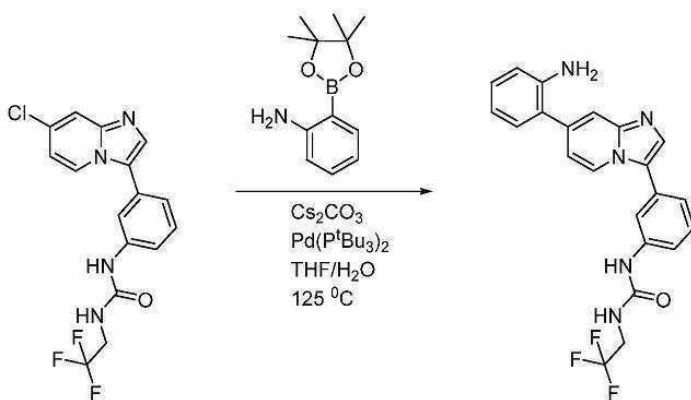
[0488] 1-(3-(7-클로로이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)페닐)-3-(2,2,2-트라이플루오로에틸)우레아의 합성



[0489]

[0490] THF(1.5ml) 중의 3-(7-클로로이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)아닐린(0.15mmol)의 용액에 4-나이트로페닐 카보노클로리데이트(30mg, 0.15mmol) 및 DIEA(0.036ml, 0.225mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 60°C에서 6시간 동안 가열하였다. 조질의 카바메이트에 DIEA(0.036ml, 0.225mmol) 및 2,2,2-트라이플루오로에탄-1-아민(0.014ml, 0.18mmol)을 첨가하고 나서, 용액을 60°C에서 밤새 가열하였다. 반응 혼합물을 EtOAc 및 물로 희석시켰다. 분리된 유기층을 황산나트륨으로 건조시키고, 여과 후, 농축시켰다. 조질의 혼합물을 플래시 크로마토그래피(0 내지 6% MeOH/DCM)에 의해 정제하여 표제 화합물(38mg, 수율 69%)을 제공하였다. MS (ES+) C₁₆H₁₂ClF₃N₄O 이론치: 368, 계산치: 369 [M + H]⁺.

[0491] 1-(3-(7-(2-아미노페닐)이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)페닐)-3-(2,2,2-트라이플루오로에틸)우레아의 합성

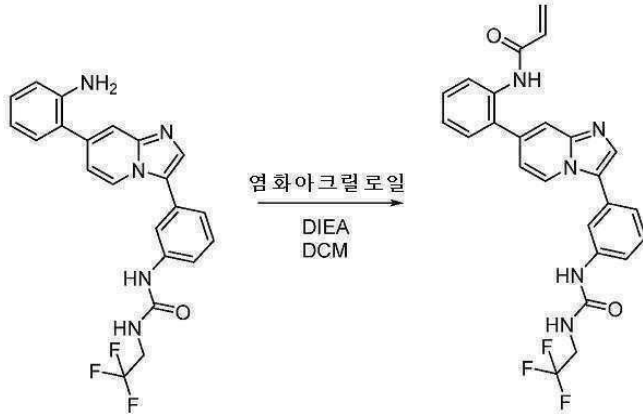


[0492]

[0493] THF/H₂O 혼합물(2/1, 0.75ml) 중의 1-(3-(7-클로로이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)페닐)-3-(2,2,2-트라이플루오로에틸)우레아(20mg, 0.052mmol), 2-(4,4,5,5-테트라메틸-1,3,2-다이옥사보롤란-2-일)아닐린(15mg, 0.066mmol) 및 탄산세슘(51mg, 0.156mmol)의 혼합물에 Pd(P^tBu₃)₂(3mg, 0.005mmol)를 첨가하였다. 바이알을 5분 동안 탈기하고 나서, 캡핑하고, 마이크로웨이브에서 125°C로 20분 동안 가열하였다. 주위 온도로 냉각시킨 후에, 반응 혼합물을

셀라이트를 통해 여과 후, 플래시 크로마토그래피를 통해 정제하여(10% NH₄OH를 함유하는 0 내지 10% MeOH/DCM 구배) 표제 화합물(20mg, 수율 90%)을 수득하였다. MS (ES+) C₂₂H₁₈F₃N₅O 이론치: 425, 계산치: 426 [M + H]⁺.

[0494] N-(2-(3-(3-(3-(2,2,2-트라이플루오로에틸)유레이도)페닐)이미다조[1,2-a]피리딘-7-일)페닐)아크릴아마이드의 합성

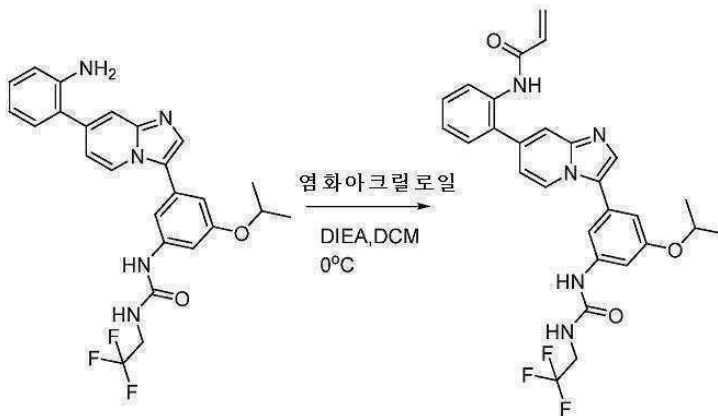


[0495]

[0496] N-(2-(3-(3-(3-(2,2,2-트라이플루오로에틸)유레이도)페닐)이미다조[1,2-a]피리딘-7-일)페닐)아크릴아마이드를 화합물 30과 유사한 절차를 사용하여 준비하였다. 생성물을 0 내지 10% MeOH/DCM 구배를 사용하는 분취 박막 크로마토그래피에 의해 정제하여 표제 화합물을 제공하였다. MS (ES+) C₂₅H₂₀F₃N₅O₂ 이론치: 479, 계산치: 480 [M + H]⁺.

[0497] 실시예 14: 화합물 38의 합성

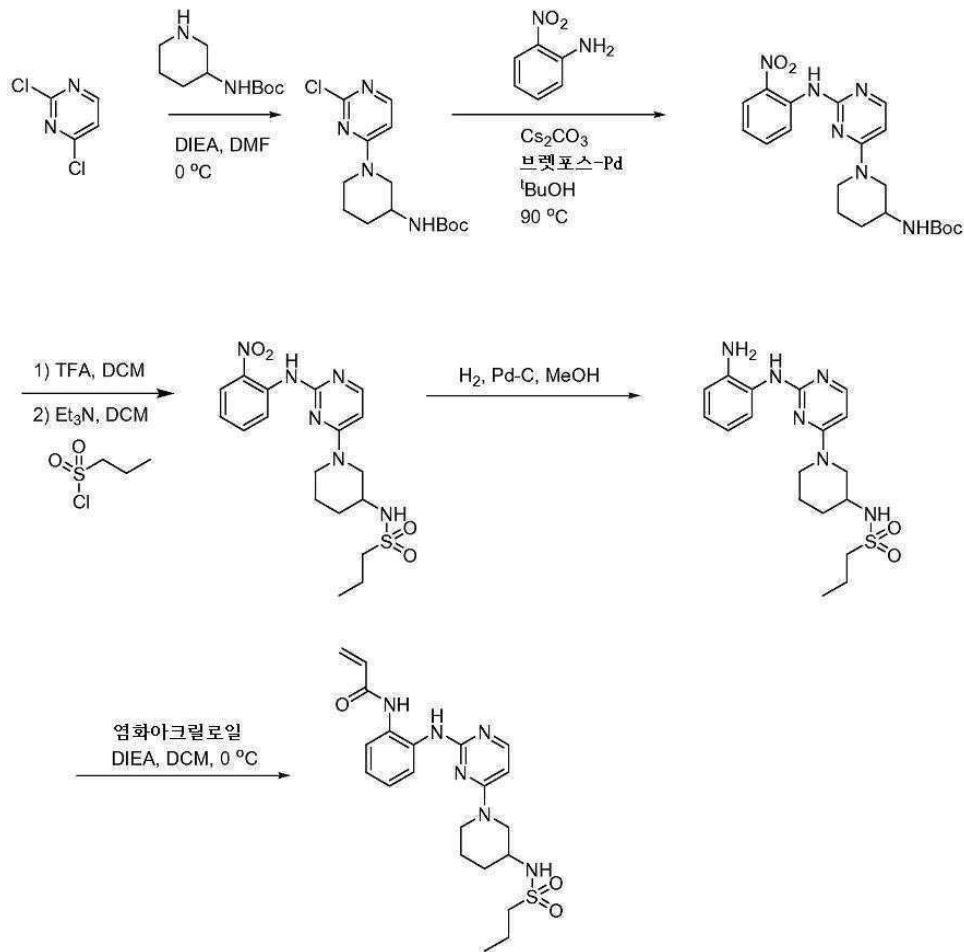
[0498] N-(2-(3-(3-아이소프로폭시-5-(3-(2,2,2-트라이플루오로에틸)유레이도)페닐)이미다조[1,2-a]피리딘-7-일)페닐)아크릴아마이드의 합성



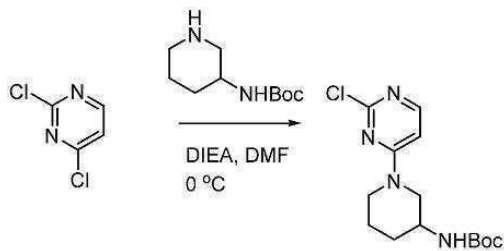
[0499]

[0500] N-(2-(3-(3-아이소프로폭시-5-(3-(2,2,2-트라이플루오로에틸)유레이도)페닐)이미다조[1,2-a]피리딘-7-일)페닐)아크릴아마이드를 화합물 30과 유사한 절차를 사용하여 준비하였다. 생성물을 5 내지 70% 아세트나이트릴/물 + 0.1% 폼산 구배를 사용하는 HPLC에 의해 정제하여 표제 화합물을 폼산염으로서 제공하였다. MS (ES+) C₂₈H₂₆F₃N₅O₃ 이론치: 537, 계산치: 538 [M + H]⁺.

[0501] 실시예 15: 화합물 11의 합성

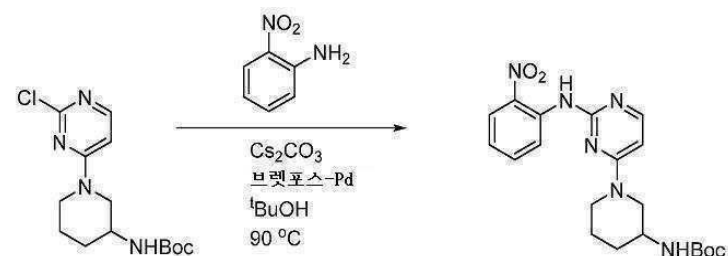


[0502] tert-부틸 (1-(2-클로로피리미딘-4-일)피페리딘-3-일)카바메이트의 합성



[0504] tert-부틸 (1-(2-클로로피리미딘-4-일)피페리딘-3-일)카바메이트를 2,4-다이클로로피리미딘 및 tert-부틸 피페리딘-3-일카바메이트를 사용하여 화합물 54와 유사한 절차를 사용하여 준비하였다. MS (ES+) C₁₄H₂₁ClN₄O₂ 이론치: 312, 계산치: 313 [M + H]⁺

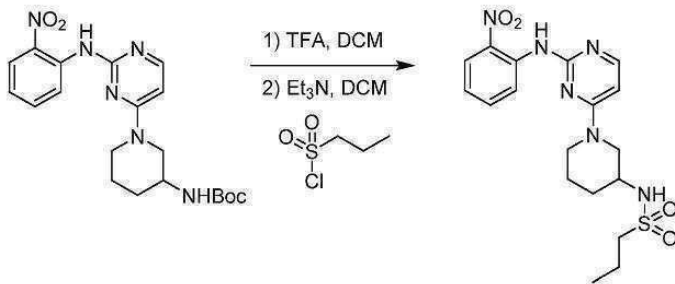
[0505] tert-부틸 (1-(2-((2-나이트로페닐)아미노)피리미딘-4-일)피페리딘-3-일)카바메이트의 합성



[0506]

[0508] tert-부틸 (1-(2-((2-나이트로페닐)아미노)피리미딘-4-일)피페리딘-3-일)카바메이트를 2-나이트로아닐린을 사용하여 화합물 54와 유사한 절차를 사용하여 준비하였다. MS (ES+) C₂₀H₂₆N₆O₄ 이론치: 414, 계산치: 415 [M + H]⁺

[0509] N-(1-(2-((2-나이트로페닐)아미노)피리미딘-4-일)피페리딘-3-일)프로판-1-설폰아마이드의 합성

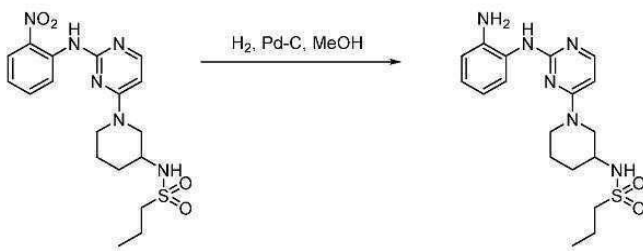


[0510]

[0511] DCM(2.0ml) 중의 tert-부틸 (1-(2-((2-나이트로페닐)아미노)피리미딘-4-일)피페리딘-3-일)카바메이트(0.14g, 0.34mmol) 용액에 TFA(1.0ml)를 첨가하고, 혼합물을 1시간 동안 교반시켰다. 반응 혼합물의 알리퀴트를 LCMS에 의해 분석하고, 이는 반응이 완료로 진행되었음을 나타내었다. 용매를 제거하고, 잔사를 고진공 상에서 건조시켰다. 조질의 생성물을 추가의 정제 없이 다음 단계를 위해 사용하였다.

[0512] 0°C에서 DCM(3.5ml) 중의 4-(3-아미노피페리딘-1-일)-N-(2-나이트로페닐)피리미딘-2-아민(0.34mmol)의 용액에 프로판-1-설폰일 클로라이드(0.045ml, 0.4mmol) 및 트라이에틸아민(0.12ml, 0.85mmol)을 첨가하고, 실온으로 밤새 가운시켰다. 조질의 반응 혼합물 농축시키고, 플래시 크로마토그래피(0 내지 7.5% MeOH/DCM)에 의해 정제하여 표제 화합물(36mg, 수율 24%)을 제공하였다. MS (ES+) C₁₈H₂₄N₆O₄S 이론치: 420, 계산치: 421 [M + H]⁺.

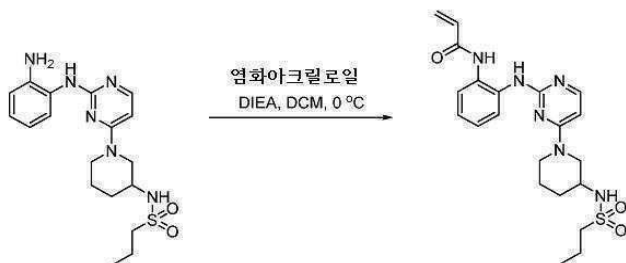
[0513] N-(1-(2-((2-아미노페닐)아미노)피리미딘-4-일)피페리딘-3-일)프로판-1-설폰아마이드의 합성



[0514]

[0515] N-(1-(2-((2-아미노페닐)아미노)피리미딘-4-일)피페리딘-3-일)프로판-1-설폰아마이드를 화합물 30과 유사한 절차를 사용하여 준비하였다. 반응물을 셀라이트를 통해 여과시켜 조질의 생성물을 제공하였다. MS (ES+) C₁₈H₂₆N₆O₂S 이론치: 390, 계산치: 391 [M + H]⁺.

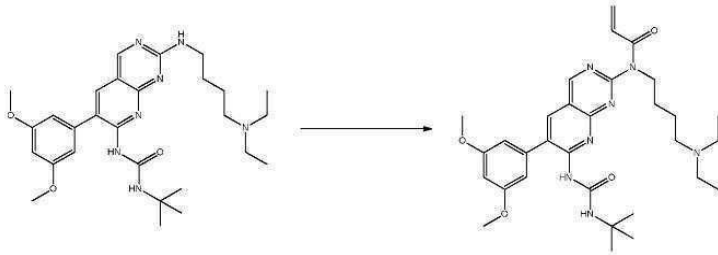
[0516] N-(2-((4-(3-(프로필설폰아미도)피페리딘-1-일)피리미딘-2-일)아미노)페닐)아크릴아마이드의 합성



[0517]

[0518] N-(2-((4-(3-(프로필설폰아미도)피페리딘-1-일)피리미딘-2-일)아미노)페닐)아크릴아마이드를 화합물 30과 유사한 절차를 사용하여 준비하였다. 생성물을 0 내지 6% MeOH/DCM 구배를 사용하는 분취 박막 크로마토그래피에 의해 정제하여 표제 화합물을 제공하였다. MS (ES+) C₂₁H₂₈N₆O₃S 이론치: 444, 계산치: 445 [M + H]⁺.

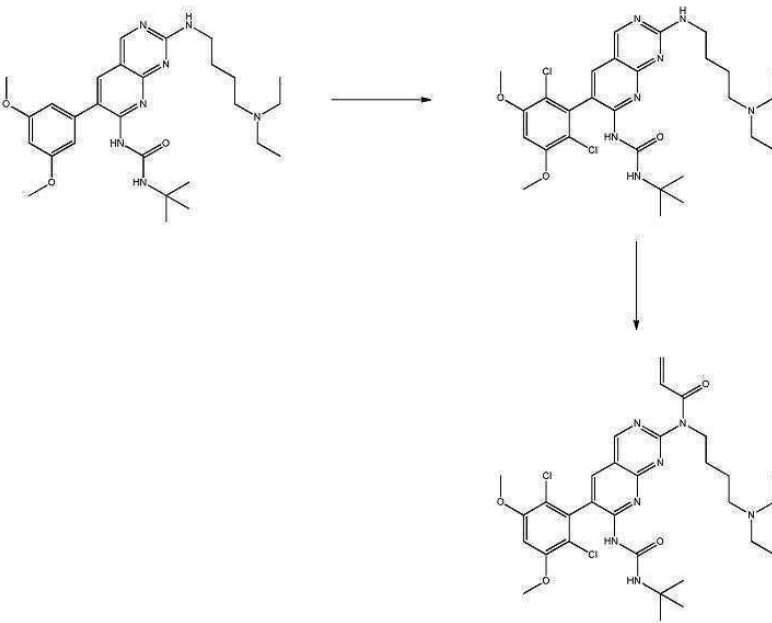
[0519] 실시예 16: 화합물 52의 합성



[0520]

[0521] 출발 물질 1-(tert-부틸)-3-(2-((4-(다이에틸아미노)부틸)아미노)-6-(3,5-다이메톡시페닐)피리도[2,3-d]피리미딘-7-일)유레아(PD173074)를, 예를 들어 SelleckChem.com으로부터 구입할 수 있다. 건조시킨 용기에서, 염화아크릴로일(2 당량) 및 다이아이소프로필에틸아민(4.3 당량)을 0°C에서 무수 다이클로로메탄 중의 1-(tert-부틸)-3-(2-((4-(다이에틸아미노)부틸)아미노)-6-(3,5-다이메톡시페닐)피리도[2,3-d]피리미딘-7-일)유레아(1 당량) 용액에 첨가한다. 실온에서 2시간 동안 교반시킨 후에, 반응 혼합물을 농축시키고, DMSO로 희석시켜서, 역상 HPLC(5 내지 95% 물/아세트나이트릴)에 의해 정제하였다. 농축시킨 후에, 분획인 생성물 N-(7-(3-(tert-부틸)유레이도)-6-(3,5-다이메톡시페닐)피리도[2,3-d]피리미딘-2-일)-N-(4-(다이에틸아미노)부틸)아크릴아마이드를 얻은 황색 거품으로서 얻는다. LCMS (M+1) = 578.2.

[0522] 실시예 17: 화합물 55의 합성



[0523]

[0524] 건조시킨 용기에서, 염화설푸릴(2 당량)을 0°C에서 무수 아세트나이트릴 중의 1-(tert-부틸)-3-(2-((4-(다이에틸아미노)부틸)아미노)-6-(3,5-다이메톡시페닐)피리도[2,3-d]피리미딘-7-일)유레아(1 당량)의 용액에 첨가한다. 2시간 동안 교반시킨 후에, 반응 혼합물을 다이클로로메탄으로 희석시키고, 수성 포화 중탄산나트륨 용액으로 세척하였다.

조질의

생성물인

1-(tert-부틸)-3-(6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)-2-((4-(다이에틸아미노)부틸)아미노)피리도[2,3-d]피리미딘-7-일)유레아를 추가의 정제 없이 다음 단계에서 사용한다.

[0525] 건조시킨 용기에서, 염화아크릴로일(2 당량) 및 다이아이소프로필에틸아민(4.3 당량)을 0°C에서 무수 다이클로로메탄 중에서 위에서 얻어진 생성물(1 당량)의 용액에 첨가한다. 실온에서 2시간 동안 교반시킨 후에, 반응 혼합물을 농축시키고, DMSO로 희석시키고 나서, 역상 HPLC(5-95% 물/아세트나이트릴)에 의해 정제하였다. 고진공 상에서 건조시킨 후에, 생성물 N-(7-(3-(tert-부틸)유레이도)-6-(2,6-다이클로로-3,5-다이메톡시페닐)피리도[2,3-d]피리미딘-2-일)-N-(4-(다이에틸아미노)부틸)아크릴아마이드를 황색 거품으로서 얻는다. LCMS (M+1) = 646.3.

[0526] 상기의 것과 유사한 절차를 사용하여 본 명세서에 개시된 다른 화합물을 준비할 수 있다.

[0527] 화합물 1 내지 화합물 55에 대한 ¹H NMR 및 LCMS 데이터를 이하에 요약한다.

화합물 Id	NMR	MS
화합물 1	¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 9.60 (s, 1H), 8.48 (s, 1H), 8.355 (m, 1H), 7.93 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.97 (br s, 2H), 6.76 (dd, J = 16.0, 8.0 Hz, 1H), 6.58 (br s, 1H), 6.23 (d, J = 16.0 Hz, 1H), 5.655 (d, J = 12.0 Hz, 1H), 3.84 (s, 6H), 3.53 (s, 3H).	350
화합물 2		358
화합물 3		381
화합물 4		382
화합물 5		384
화합물 6	¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 9.60 – 9.38 (m, 1H), 8.79 (s, 1H), 8.51 (s, 2H), 7.69 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.19 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 7.15 – 7.06 (m, 1H), 6.67 (d, J = 2.3 Hz, 2H), 6.60 – 6.45 (m, 2H), 6.22 (dd, J = 17.0, 2.1 Hz, 1H), 5.71 (dd, J = 10.2, 2.1 Hz, 1H), 3.76 (s, 6H), 2.12 (s, 3H).	415
화합물 7	¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 9.61 (s, 1H), 8.05 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 7.96 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.82 (dd, J = 8.0, 4.0 Hz, 1H), 7.05 (s, 1H), 6.79 (dd, J = 16.0, 12.0 Hz, 1H), 6.22 (dd, J = 16.0, 4.0 Hz, 1H), 5.65 (dd, J = 12.0, 4.0 Hz, 1H), 3.98 (s, 6H), 3.53 (s, 3H).	418

[0528]

화합물 8		420
화합물 9	¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 9.56 (s, 1H), 9.30 (s, 1H), 8.71 (s, 1H), 8.22 – 8.04 (m, 3H), 8.03 – 7.87 (m, 2H), 7.64 (m, 2H), 7.52 – 7.38 (m, 2H), 7.29 – 7.08 (m, 2H), 6.48 (dd, J = 17.0, 10.2 Hz, 1H), 6.21 (dd, J = 17.0, 2.1 Hz, 1H), 5.67 (dd, J = 10.2, 2.1 Hz, 1H), 2.18 (s, 3H).	442
화합물 10	¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 9.57 (s, 1H), 9.30 (br s, 2H), 8.98 (s, 1H), 8.64 (d, J = 2.7 Hz, 1H), 7.76 (s, 1H), 7.24 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 7.14 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 6.96 (d, J = 2.2 Hz, 2H), 6.56 (t, J = 2.2 Hz, 1H), 6.51 (dd, J = 17.0, 10.2 Hz, 1H), 6.22 (dd, J = 17.0, 2.0 Hz, 1H), 5.68 (dd, J = 10.2, 2.0 Hz, 1H), 3.84 (s, 6H), 2.18 (s, 3H).	442
화합물 11		445
화합물 12		449
화합물 13		449
화합물 14		452
화합물 15		457

[0529]

화합물 16		457
화합물 17	¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 9.66 (s, 1H), 9.27 (s, 1H), 8.86 (s, 1H), 8.03 – 7.96 (m, 1H), 7.91 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.82 (s, 1H), 7.81 – 7.76 (m, 1H), 7.53 (dd, J = 19.0, 6.9 Hz, 1H), 7.41 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.37 – 7.30 (m, 2H), 6.56 (dd, J = 17.0, 10.2 Hz, 1H), 6.24 (dd, J = 17.0, 1.9 Hz, 1H), 6.20 – 6.14 (m, 1H), 6.06 (dd, J = 17.2, 2.3 Hz, 1H), 5.71 (dd, J = 10.2, 2.0 Hz, 1H), 5.59 (dd, J = 10.0, 2.3 Hz, 1H), 2.32 (s, 3H).	457
화합물 17A	¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 9.53 (d, J = 9.6 Hz, 1H), 9.25 (s, 1H), 8.71 (s, 1H), 7.89 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.78 – 7.61 (m, 2H), 7.53 (s, 1H), 7.42 (dd, J = 9.0, 1.8 Hz, 1H), 7.31 – 7.18 (m, 2H), 7.13 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 6.49 (dd, J = 17.0, 10.2 Hz, 1H), 6.21 (dd, J = 17.0, 2.1 Hz, 1H), 5.67 (dd, J = 10.2, 2.0 Hz, 1H), 3.90 (s, 3H), 2.19 (s, 3H).	463
화합물 18		471
화합물 19		472
화합물 20	¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 9.34 (s, 1H), 8.92 (s, 1H), 8.47 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.17 (d, J = 1.9 Hz, 2H), 7.10 (s, 1H), 6.98 (s, 1H), 6.82 (s, 1H), 6.74 (s, 1H), 4.69 – 4.58 (m, 2H), 3.93 (dd, J = 9.7, 6.4 Hz, 2H), 2.72 – 2.64 (m, 1H), 1.30 – 1.19 (m, 6H).	474
화합물 21		480
화합물 22	¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 9.46 (s, 1H), 9.09 (s, 1H), 8.77 (s, 1H), 8.85 (s, 1H), 7.57 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 7.45 (dd, J = 8.8, 7.4 Hz, 1H), 7.27 – 7.04 (m, 3H), 6.51 (s, 1H), 6.21 (d, J = 17.7 Hz, 1H), 5.68 (d, J = 10.2 Hz, 1H), 3.26 (s, 3H), 2.21 (s, 3H).	481

[0530]

화합물 23		483
화합물 24	¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 9.47 (s, 1H), 8.93 (s, 1H), 8.54 (s, 2H), 7.71 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.19 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 7.09 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 6.98 (s, 1H), 6.53 (dd, J = 17.0, 10.2 Hz, 1H), 6.22 (dd, J = 17.0, 2.1 Hz, 1H), 5.70 (dd, J = 10.2, 2.1 Hz, 1H), 3.94 (s, 6H), 2.13 (s, 3H).	483
화합물 25	¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 9.53 (s, 1H), 9.23 (s, 1H), 8.68 (s, 1H), 7.82 – 7.65 (m, 2H), 7.51 (s, 2H), 7.21 (m, 1H), 7.12 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 7.01 (s, 1H), 6.49 (dd, J = 17.0, 10.2 Hz, 1H), 6.28 – 6.15 (m, 1H), 5.68 (dd, J = 10.2, 2.0 Hz, 1H), 3.97 (s, 6H), 2.19 (s, 3H).	509
화합물 26	¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 9.53 (s, 1H), 9.35 (s, 1H), 9.06 (s, 1H), 8.70 (s, 1H), 8.27 (d, J = 2.6 Hz, 1H), 7.78 (s, 1H), 7.23 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 7.15 (s, 1H), 7.06 (s, 1H), 6.52 (dd, J = 17.0, 10.1 Hz, 1H), 6.22 (dd, J = 17.0, 2.0 Hz, 1H), 5.69 (d, J = 10.6 Hz, 1H), 3.98 (s, 6H), 2.20 (s, 3H).	511
화합물 27		513
화합물 28		523
화합물 29	¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 9.28 (s, 1H), 9.20 (s, 1H), 8.87 (s, 1H), 7.80 – 7.70 (m, 1H), 7.63 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 7.54 (s, 2H), 7.22 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 7.14 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.01 (s, 1H), 5.63 (s, 1H), 5.37 (s, 1H), 3.97 (s, 6H), 2.24 (s, 3H), 1.80 (s, 3H).	523
화합물 30	¹ H-NMR (400 MHz, DMSO) δ ppm 9.59 (s, 1H), 9.29 (s, 1H), 7.80 (s, 1H), 7.59 (br. s., 4H), 7.28 (t, 1H, J = 28 Hz), 7.01 (s, 1H), 6.94 (d, 1H, J = 8 Hz), 6.53-6.47 (m, 1H), 6.22 (d, 1H, J = 16 Hz), 5.69 (d, 1H, J = 8 Hz), 3.97 (s, 6H), 3.72 (s, 3H).	525
화합물 31	¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 9.75 (s, 1H), 8.72 (s, 1H), 8.51 (s, 1H), 7.76 (s, 1H), 7.73 – 7.59 (m, 2H), 7.19 (dtd, J = 23.6, 7.5, 1.6 Hz, 2H), 6.98 (s, 1H), 6.53 (s, 1H), 6.48 (dd, J = 17.1, 10.1 Hz, 1H), 6.25 (dd, J = 17.0, 2.0 Hz, 1H), 5.76 – 5.69 (m, 1H), 3.96 (s, 6H), 3.47 (s, 3H).	525

[0531]

화합물 32		527
화합물 33	¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 9.52 (s, 1H), 9.20 (s, 1H), 8.79 (s, 1H), 7.75 – 7.68 (m, 1H), 7.63 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 7.48 (s, 2H), 7.10 (t, J = 9.0 Hz, 1H), 6.96 (s, 1H), 6.41 (dd, J = 17.0, 10.2 Hz, 1H), 6.15 (dd, J = 17.0, 2.1 Hz, 1H), 5.63 (dd, J = 10.2, 2.1 Hz, 1H), 3.92 (s, 6H), 2.03 (m, 3H).	527
화합물 34	¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 9.53 (d, J = 27.9 Hz, 1H), 9.28 (s, 1H), 8.96 (s, 1H), 7.75 (d, J = 29.9 Hz, 1H), 7.59 (d, J = 1.7 Hz, 1H), 7.49 (d, J = 10.8 Hz, 1H), 7.02 (s, 1H), 6.50 (s, 1H), 6.21 (dd, J = 16.9, 2.1 Hz, 1H), 5.75 (s, 1H), 5.68 (dd, J = 10.2, 2.0 Hz, 1H), 3.98 (d, J = 4.6 Hz, 6H), 2.19 (s, 3H).	527
화합물 35	¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 9.63 (s, 1H), 9.25 (s, 1H), 8.90 (s, 1H), 8.01 (dd, J = 7.4, 2.3 Hz, 1H), 7.76 (t, J = 1.3 Hz, 1H), 7.54 (br.s, 2H), 7.41 – 7.28 (m, 2H), 7.01 (s, 1H), 6.56 (dd, J = 17.0, 10.2 Hz, 1H), 6.24 (dd, J = 17.0, 2.0 Hz, 1H), 5.71 (dd, J = 10.2, 2.0 Hz, 1H), 3.97 (s, 6H).	529
화합물 36	¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 11.11 (s, 1H), 10.27 (s, 1H), 9.79 (s, 1H), 8.91 (s, 1H), 7.93 (d, J = 11.0, 1H), 7.28 (m, 1H), 7.20 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.11 (m, 2H), 6.97 (s, 1H), 6.70 (dd, J = 17.0, 10.1 Hz, 1H), 6.33 (dd, J = 16.9, 1.8 Hz, 1H), 5.85 (dd, J = 10.3, 1.8 Hz, 1H), 4.54 (s, 2H), 3.94 (s, 6H).	531
화합물 37	¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 9.76 (s, 1H), 9.31 (s, 1H), 9.00 (s, 1H), 7.80 (s, 1H), 7.68 – 7.57 (m, 1H), 7.53 – 7.42 (m, 1H), 7.02 (s, 1H), 6.93 (s, 2H), 6.51 (dd, J = 17.0, 10.2 Hz, 1H), 6.31 – 6.21 (m, 1H), 5.74 (d, J = 10.2 Hz, 1H), 3.97 (s, 6H).	531
화합물 38		538
화합물 39	¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 9.47 (s, 1H), 8.43 (d, J = 10.0 Hz, 2H), 7.70 (d, J = 12.6 Hz, 2H), 7.22 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 7.14 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 6.97 (s, 1H), 6.46 (dd, J = 17.0, 10.2 Hz, 1H), 6.18 (dd, J = 17.0, 2.1 Hz, 1H), 6.09 (s, 1H), 5.65 (dd, J = 10.2, 2.1 Hz, 1H), 3.95 (s, 6H), 3.39 (s, 3H), 2.20 (s, 3H).	539

[0532]

화합물 41	¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 9.57 (s, 1H), 9.15 (s, 1H), 8.74 (s, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.28 (d, J = 1.7 Hz, 1H), 7.20 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 7.11 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 7.01 (s, 2H), 6.48 (dd, J = 17.0, 10.2 Hz, 1H), 6.21 (dd, J = 16.9, 2.0 Hz, 1H), 5.75 – 5.61 (m, 1H), 3.97 (s, 6H), 3.83 (s, 3H), 2.18 (s, 3H).	539
화합물 43	¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 9.44 (s, 1H), 9.05 (s, 1H), 8.74 (s, 1H), 7.74 (br.s, 2H), 7.20 (m, 1H), 7.11 (s, 1H), 6.97 (s, 1H), 6.50 (m, 2H), 6.26 – 6.12 (m, 1H), 5.67 (d, J = 10.2 Hz, 1H), 3.94 (s, 6H), 2.19 (s, 3H), N-메틸기는 물 피크에 의해 묻힌다.	540
화합물 45		541
화합물 46		543
화합물 47	¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 9.78 (s, 1H), 9.20 (s, 1H), 8.88 (s, 1H), 7.80 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.36 – 7.23 (m, 2H), 7.15 – 6.95 (m, 3H), 6.54 (dd, J = 17.0, 10.2 Hz, 1H), 6.26 (dd, J = 17.0, 2.0 Hz, 1H), 5.75 (dd, J = 10.1, 2.1 Hz, 1H), 3.97 (s, 6H), 3.85 (s, 3H).	543
화합물 48	¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 9.48 (s, 1H), 8.35 (s, 1H), 7.99 (s, 1H), 7.66 (s, 1H), 7.16 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 7.10 – 7.06 (m, 1H), 6.99 (s, 1H), 6.53 (dd, J = 17.0, 10.2 Hz, 1H), 6.22 (dd, J = 16.9, 2.1 Hz, 1H), 5.71 (dd, J = 10.2, 2.0 Hz, 1H), 4.48 (s, 2H), 3.96 (s, 6H), 3.44 (s, 3H), 2.17 (s, 3H).	544
화합물 49	¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 9.53 (s, 1H), 9.25 (s, 1H), 8.77 (s, 1H), 7.99 (s, 1H), 7.75 (s, 1H), 7.52 (br.s, 2H), 7.20 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 7.01 (s, 1H), 6.53 (dd, J = 17.0, 10.2 Hz, 1H), 6.22 (dd, J = 17.0, 2.0 Hz, 1H), 5.69 (dd, J = 10.2, 2.0 Hz, 1H), 3.97 (s, 6H).	543
화합물 50		546

[0533]

화합물 51	¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 9.50 (s, 1H), 9.22 (s, 1H), 8.76 (s, 1H), 8.31 (d, J = 7.6, 1H), 7.75 (d, J = 1.4 Hz, 1H), 7.65 – 7.47 (m, 3H), 7.01 (s, 1H), 6.53 (dd, J = 17.0, 10.2 Hz, 1H), 6.19 (dd, J = 16.9, 2.0 Hz, 1H), 5.66 (dd, J = 10.2, 2.0 Hz, 1H), 3.97 (s, 6H).	563
화합물 52	¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 9.33 (s, 1H), 8.30 (s, 1H), 8.22 (s, 1H), 6.81 (dd, J = 16.0, 12.0 Hz, 1H), 6.68 (m, 3H), 6.19 (dd, J = 16.0, 4.0 Hz, 1H), 5.62 (dd, J = 12.0, 4.0 Hz, 1H), 4.12 (t, J = 8.0 Hz, 2H), 3.80 (s, 6H), 2.44 (m, 6H), 1.63 (m, 2H), 1.37-1.327 (m, 11H), 0.92 (t, J = 8.0 Hz, 6H).	578
화합물 54	¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 9.98 (s, 1H), 9.08 (s, 1H), 8.30 (s, 1H), 8.21 – 8.07 (m, 3H), 7.93 (d, J = 10.7 Hz, 2H), 7.67 (m, 4H), 6.50 (dd, J = 16.9, 10.2 Hz, 1H), 6.33 – 6.25 (m, 1H), 5.83 – 5.76 (m, 1H), 3.78 (m, 2H), 3.59 (m, 4H), 3.43 (m, 4H), 2.92 (d, J = 11.4 Hz, 2H), 2.30 (s, 3H), 2.23 (s, 2H), 2.14 (s, 3H), 1.79 (m, 2H), 1.69 – 1.54 (m, 2H).	623
화합물 55	¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 9.32 (s, 1H), 8.24 (m, 3H), 7.07 (s, 1H), 6.86 (dd, J = 16.0, 12.0 Hz, 1H), 6.18 (dd, J = 16.0, 4.0 Hz, 1H), 5.62 (dd, J = 12.0, 4.0 Hz, 1H), 4.14 (t, J = 8.0 Hz, 2H), 3.98 (s, 6H), 2.43 (m, 6H), 1.63 (m, 2H), 1.40-1.30 (m, 11H), 0.90 (t, J = 8.0 Hz, 6H).	646

[0534]

[0535]

화합물 선택성

[0536]

선택성 스코어는 화합물 간의 정량적 비교 및 상호작용 패턴의 상세한 차이 및 분석을 가능하게 하는 편향되지 않은 측정이다. 선택성의 한 가지 측정은 키나제 분석의 패널로부터의 대조군 값%를 사용하여 계산한다. 주요 선별로부터의 스코어(단일 농도에서 수행함)를 DMSO 대조군의 백분율(Percent of DMSO Control: POC)로서 보고

하고, 다음의 방식으로 계산한다:

$$\frac{\text{시험 화합물 신호-양성 대조군 신호}}{\text{음성 대조군 신호-양성 대조군 신호}} \times 100$$

[0537]

[0538]

여기서, 음성 대조군은 DMSO와 같은 용매(100% 대조군)이고, 양성 대조군은 고친화도로 결합하는 것으로 알려진 대조군 화합물(0% 대조군)이다.

[0539]

특정 농도, 예를 들어, 1 μM, 3 μM, 5 μM 또는 10 μM에서 선별할 때, 선택한 값, 예를 들어, 10, 20 또는 35보다 더 적은 POC를 지니는 키나제의 수를 시험한 별개의 키나제(돌연변이 변이체를 제외함)의 전체수로 나눔으로써 선별한 각 화합물에 대한 선택성 스코어(S)를 계산할 수 있다. 예를 들어, 3 μM에서 선별할 때 10 미만의 POC를 지니는 키나제의 수를 시험한 별개의 키나제(돌연변이 변이체를 제외함)의 전체 수로 나눔으로써 선택성 스코어(S)를 계산할 수 있고; 이러한 스코어는 [3 μM에서 S(10)]로서 나타낼 것이다. 화합물 9; 화합물 9; 화합물 11; 화합물 15; 화합물 16; 화합물 20; 화합물 21; 화합물 23; 화합물 24; 화합물 25; 화합물 26; 화합물 27; 화합물 30; 화합물 32; 화합물 35; 화합물 60; 화합물 38; 화합물 39; 화합물 41; 화합물 45; 화합물 48; 화합물 50; 화합물 52; 화합물 54; 화합물 55의 선택성을 결정하였고; 모두 0.030 이하의 선택성 스코어 [3 μM에서 S(10)]를 가졌다.

[0540]

화합물 9; 화합물 11; 화합물 15; 화합물 16; 화합물 20; 화합물 21; 화합물 23; 화합물 24; 화합물 25; 화합물 26; 화합물 32; 화합물 35; 화합물 60; 화합물 38; 화합물 39; 화합물 45; 화합물 48; 화합물 50; 화합물 52는 모두 0.010 이하의 선택성 스코어[3 μM에서 S(10)]를 가졌다.

[0541]

생화학적 활성 평가

[0542]

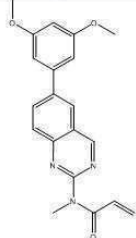
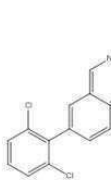
관심 대상의 적절한 키나제에 대해 화학적 화합물의 활성을 평가하기 위해, 캘리퍼 라이프사이언스(Caliper LifeSciences) 전기영동이동도 이동 기술 플랫폼을 이용한다. 형광으로 표지한 기질 펩타이드를 투약 수준의 화합물, 키나제의 및 ATP의 설정 농도의 존재에서 인큐베이션시키고, 따라서 펩타이드의 반응 부분은 인산화된다. 반응의 마지막에, 인산화된(생성물) 및 비인산화된(기질) 펩타이드의 혼합물을 인가전위 차이하에서 캘리퍼 랩칩(Caliper LabChip)(등록상표) EZ 리더(Reader) II를 통과시킨다. 생성물 펩타이드 상의 포스페이트기의 존재는 생성물 펩타이드와 기질 펩타이드 간의 질량 및 하전의 차이를 제공하는데, 이는 샘플에서 기질 및 생성물 풀의 분리를 야기한다. 풀이 기기 내에서 LEDS를 통과함에 따라, 이들 풀은 검출되고 별개의 피크로서 분해된다. 따라서 이들 피크 간의 비는 해당 조건 하에서 해당 웰 내의 해당 농도에서 화학적 물질의 활성을 반영한다.

[0543]

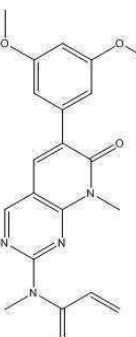
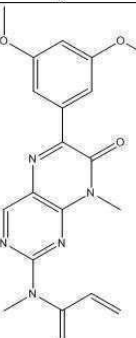
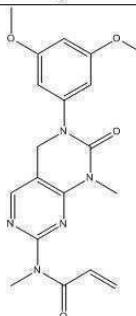
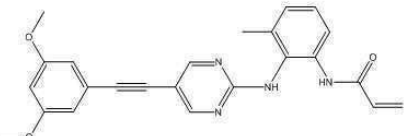
Km에서 FGFR-1 야생형 분석: 384-웰 플레이트의 각 웰에서, 0.1ng/μl의 야생형 FGFR-1(카르나 바이오사이언스 인코포레이티드(Carna Biosciences, Inc.))을 25C에서 90분 동안 화합물의 용량 농도 시리즈(1% DMSO 최종 농도)의 존재 또는 부재에서 1 μM CSK타이드(5-FAM-KKKKEEYFFFG-NH₂) 및 400 μM ATP와 함께 전체 12.5 μl의 완충제(100mM HEPES pH 7.5, 0.015% Brij 35, 10mM MgCl₂, 1mM DTT) 중에서 인큐베이션시켰다. 70 μl의 중단 완충제(100mM HEPES pH 7.5, 0.015% Brij 35, 35mM EDTA 및 0.2%의 코팅 시약 3(캘리퍼 라이프사이언스))의 첨가에 의해 반응을 중단시켰다. 이어서, 플레이트를 캘리퍼 이지리더 2(Caliper EZReader 2)(프로토콜 세팅: -1.9 psi, 상류 전압 -700, 하류 전압 -3000, 소량의 샘플 후 35s).

[0544]

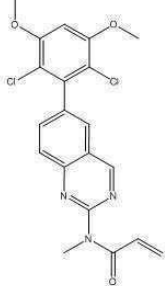
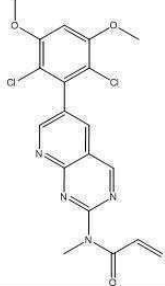
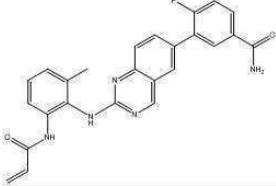
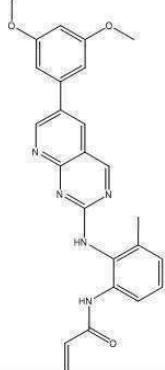
Km에서 FGFR-4 야생형 분석: 384-웰 플레이트의 각 웰에서, 0.5ng/μl의 야생형 FGFR-4(카르나 바이오사이언스 인코포레이티드)를 25C에서 90분 동안 화합물의 용량 농도 시리즈(1% DMSO 최종 농도)의 존재 또는 부재에서 1 μM CSK타이드(5-FAM-KKKKEEYFFFG-NH₂) 및 400 μM ATP와 함께 전체 12.5 μl의 완충제(100mM HEPES pH 7.5, 0.015% Brij 35, 10mM MgCl₂, 1mM DTT) 중에서 인큐베이션시켰다. 70 μl의 중단 완충제(100mM HEPES pH 7.5, 0.015% Brij 35, 35mM EDTA 및 0.2%의 코팅 시약 3(캘리퍼 라이프사이언스))의 첨가에 의해 반응을 중단시켰다. 이어서, 플레이트를 캘리퍼 랩칩(Caliper LabChip)(등록상표) EZ 리더 II(프로토콜 세팅: -1.9 psi, 상류 전압 -700, 하류 전압 -3000, 소량의 샘플 후 35s) 상에서 판독하였다.

화합물 Id	구조	FGFR4 IC50	FGFR1 IC50	비 FGFR1/FGFR4
화합물 1		C	D	C
화합물 2		C	D	D

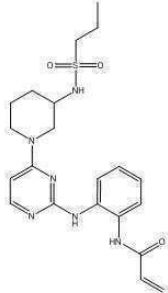
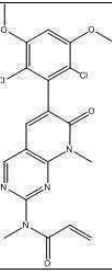
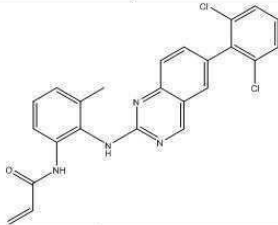
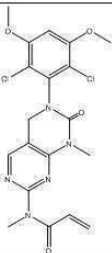
[0545]

화합물 3		B	D	A
화합물 4		C	D	B
화합물 5		B	D	A
화합물 6		C	D	A

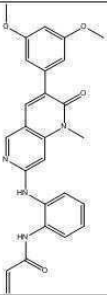
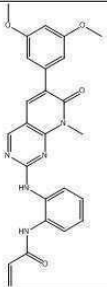
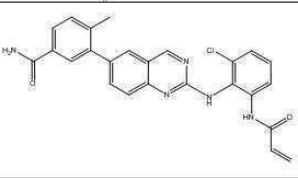
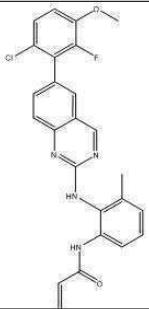
[0546]

<p>화합물 7</p>		<p>A</p>	<p>D</p>	<p>A</p>
<p>화합물 8</p>		<p>A</p>	<p>C</p>	<p>E</p>
<p>화합물 9</p>		<p>C</p>	<p>D</p>	<p>D</p>
<p>화합물 10</p>		<p>D</p>	<p>D</p>	<p>E</p>

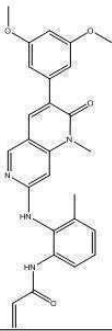
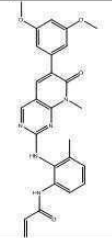
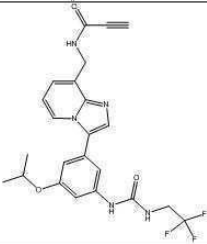
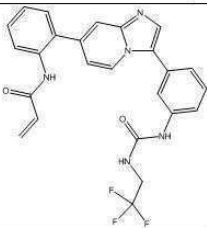
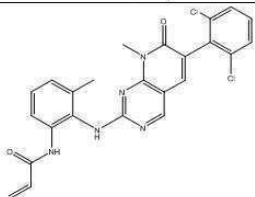
[0547]

<p>화합물 11</p>		<p>C</p>	<p>D</p>	<p>B</p>
<p>화합물 12</p>		<p>A</p>	<p>B</p>	<p>D</p>
<p>화합물 13</p>		<p>B</p>	<p>D</p>	<p>D</p>
<p>화합물 14</p>		<p>B</p>	<p>C</p>	<p>F</p>

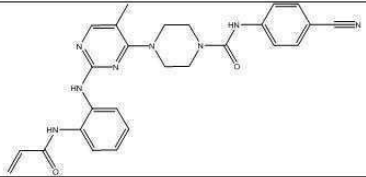
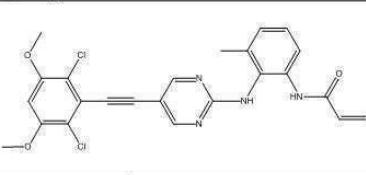
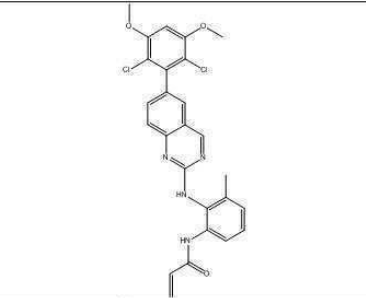
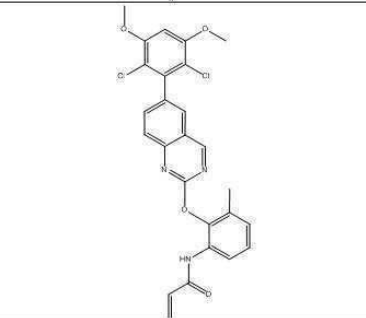
[0548]

<p>화합물 15</p>		<p>B</p>	<p>D</p>	<p>B</p>
<p>화합물 16</p>		<p>C</p>	<p>D</p>	<p>D</p>
<p>화합물 17</p>		<p>B</p>	<p>D</p>	<p>B</p>
<p>화합물 17A</p>		<p>B</p>	<p>D</p>	<p>E</p>

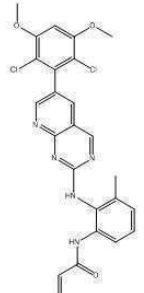
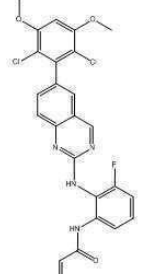
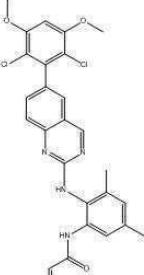
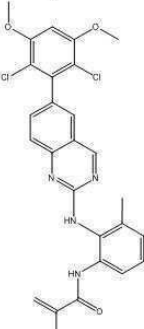
[0549]

<p>화합물 18</p>		<p>B</p>	<p>D</p>	<p>B</p>
<p>화합물 19</p>		<p>B</p>	<p>D</p>	<p>B</p>
<p>화합물 20</p>		<p>B</p>	<p>D</p>	<p>E</p>
<p>화합물 21</p>		<p>C</p>	<p>D</p>	<p>B</p>
<p>화합물 22</p>		<p>B</p>	<p>D</p>	<p>B</p>


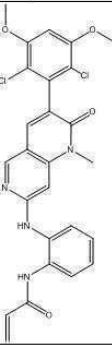
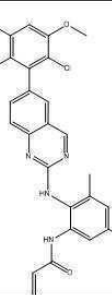
[0550]

<p>화합물 23</p>		<p>C</p>	<p>D</p>	<p>A</p>
<p>화합물 24</p>		<p>B</p>	<p>D</p>	<p>B</p>
<p>화합물 25</p>		<p>A</p>	<p>C</p>	<p>E</p>
<p>화합물 25A</p>		<p>C</p>	<p>D</p>	<p>D</p>

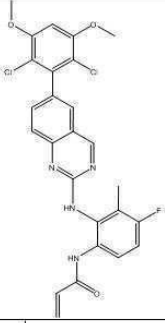
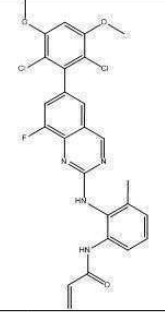
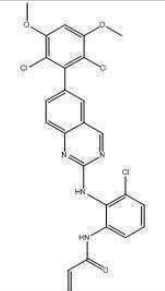
[0551]

<p>화합물 26</p>		<p>A</p>	<p>C</p>	<p>A</p>
<p>화합물 27</p>		<p>A</p>	<p>B</p>	<p>C</p>
<p>화합물 28</p>		<p>B</p>	<p>D</p>	<p>B</p>
<p>화합물 29</p>		<p>C</p>	<p>C</p>	<p>D</p>

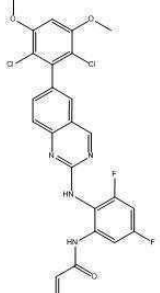
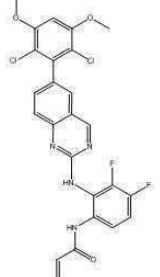
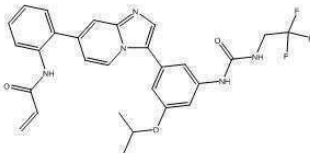
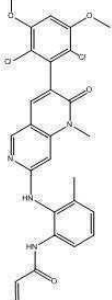
[0552]

<p>화합물 30</p>		<p>A</p>	<p>C</p>	<p>E</p>
<p>화합물 31</p>		<p>A</p>	<p>B</p>	<p>B</p>
<p>화합물 32</p>		<p>A</p>	<p>D</p>	<p>C</p>

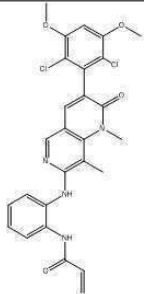
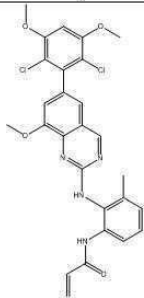
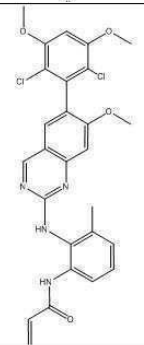
[0553]

<p>화합물 33</p>		<p>B</p>	<p>D</p>	<p>F</p>
<p>화합물 34</p>		<p>A</p>	<p>C</p>	<p>D</p>
<p>화합물 35</p>		<p>A</p>	<p>C</p>	<p>D</p>

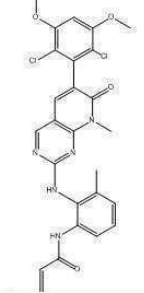
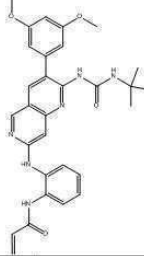
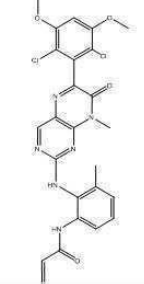
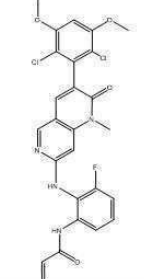
[0554]

<p>화합물 36</p>		<p>C</p>	<p>D</p>	<p>B</p>
<p>화합물 37</p>		<p>A</p>	<p>C</p>	<p>C</p>
<p>화합물 38</p>		<p>C</p>	<p>D</p>	<p>E</p>
<p>화합물 39</p>		<p>A</p>	<p>D</p>	<p>E</p>

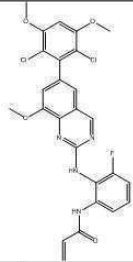
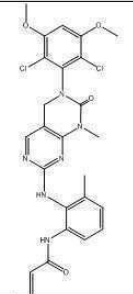
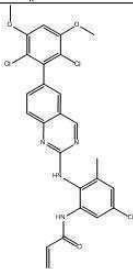
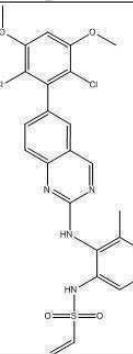
[0555]

<p>화합물 40</p>		<p>C</p>	<p>D</p>	<p>A</p>
<p>화합물 41</p>		<p>A</p>	<p>C</p>	<p>A</p>
<p>화합물 42</p>		<p>A</p>	<p>B</p>	<p>F</p>

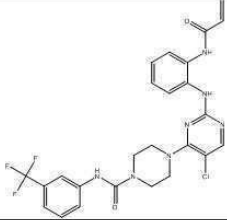
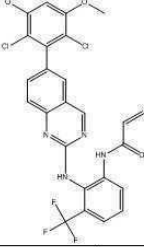
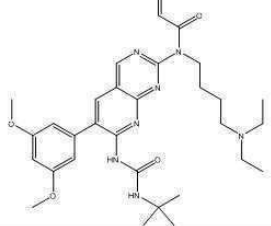
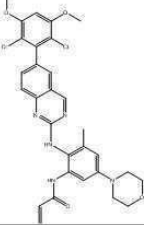
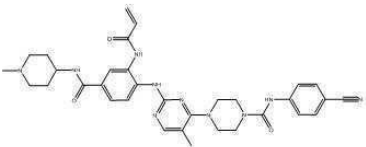
[0556]

<p>화합물 43</p>		<p>A</p>	<p>C</p>	<p>A</p>
<p>화합물 44</p>		<p>C</p>	<p>D</p>	<p>E</p>
<p>화합물 45</p>		<p>A</p>	<p>D</p>	<p>E</p>
<p>화합물 46</p>		<p>A</p>	<p>C</p>	<p>E</p>

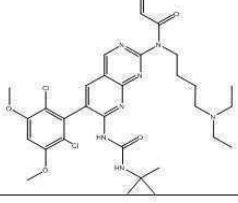
[0557]

<p>화합물 47</p>		<p>A</p>	<p>B</p>	<p>B</p>
<p>화합물 48</p>		<p>A</p>	<p>C</p>	<p>E</p>
<p>화합물 49</p>		<p>B</p>	<p>D</p>	<p>A</p>
<p>화합물 49A</p>		<p>B</p>	<p>C</p>	<p>E</p>

[0558]

화합물 50		C	D	B
화합물 51		B	D	F
화합물 52		A	B	C
화합물 53		A	C	C
화합물 54		B	D	B

[0559]

화합물 55		A	B	A
-----------	---	---	---	---

[0560]

[0561] 상기 표에서, FGFR1 및 FGFR4에 대해: "A"는 IC₅₀이 10nM 미만임을 의미하고; "B"는 IC₅₀이 10 이상이며 100nM 미만임을 의미하고; "C"는 IC₅₀이 100 이상이며 1000nM 미만임을 의미하고; "D"는 IC₅₀이 1000nM 초과임을 의미한다.

[0562] 비에 대해: "F"는 [FGFR1에 대해 IC₅₀]/[FGFR4에 대해 IC₅₀]의 비는 10 미만임을 의미하고; "E"는 비가 10 이상 50 미만임을 의미하며; "D"는 50 이상 100 미만임을 의미하고; "C"는 100 이상 200 미만임을 의미하며; "B"는 200 이상 500 미만임을 의미하고; "A"는 500 초과임을 의미한다. FGFR4 대 FGFR1에 대한 비가 높을수록, 화합물은 선택성이 더 높다.

[0563] 세포 효능

[0564] 활성화 FGFR4 돌연변이를 보유하는 MDA-MB-453 세포에서의 용량 반응을 다음과 같이 측정하였다. 간략하게는, MDA-MB-453 세포를 2.5 x 10⁶ 세포/6 웰에서 파종하고, 밤새 영양 공급을 차단하였다. 화합물을 농도를 달리하여(3000, 1000, 300, 100 및 30nM) 1시간 동안 첨가하였다. 샘플을 수집하고 면역블롯 분석을 위해 용해시켰다.

Erk의 인산화를 측정하고, 3개 복제물의 평균 pErk 값을 프리즘 그래프패드(Prism GraphPad) 소프트웨어를 사용하여 3가지 파라미터 용량-반응(저해) 곡선을 이용하여 플롯팅하였고, 이를 사용하여 IC₅₀ 값을 결정하였다. 데이터를 이하의 표에 나타낸다.

화합물 Id	효능
화합물 18	C
화합물 20	D
화합물 25	B
화합물 26	B
화합물 27	B
화합물 31	A
화합물 33	B
화합물 34	B
화합물 60	B
화합물 61	B
화합물 38	C
화합물 39	A
화합물 41	B
화합물 43	A
화합물 45	A
화합물 46	A
화합물 53	B

[0565]

[0566] 표에서, "A"는 IC₅₀이 1nM 미만임을 의미하고; "B"는 IC₅₀이 1 이상 10nM 미만임을 의미하며; "C"는 IC₅₀이 10 이상 100nM 미만임을 의미하고; "D"는 IC₅₀이 100nM 이상임을 의미한다.

[0567] 이들 데이터는 이들 화합물에 의한 FGFR-4 저해가 하류의 종양형성 신호처리의 차단을 야기한다는 것을 나타낸다.

[0568] FGFR4의 저해제에 의한 세포자멸사(apoptosis)의 유발

[0569] Hep3B 세포를 200 μ l의 DMEM/5% FBS 중에서 밤새 96-웰 백색 플레이트에서 20k/웰로 파종하였다. 다음날 화합물을 0.1%의 최종 DMSO 농도에서 첨가하고, 6시간 동안 인큐베이션시켰다. 제조업자 설명서(카스파제-Glo3/7 분석(프로메가(Promega)))에 따라 카스파제 활성을 측정하였다. 간략하게는, 100 μ l의 카스파제-Glo3/7 시약을 각 웰에 첨가하고, 1시간 동안 암실에서 인큐베이션시켰다. 엔비전(EnVision)을 사용하여 발광을 측정하였다. 2개 복제물의 평균 카스파제 활성을 프리즘 그래프패드 소프트웨어를 사용하여 3 파라미터 용량-반응(저해)을 이용하여 플롯팅하고, 이를 사용하여 IC₅₀ 값을 결정하였다. 도 3에서 나타낸 바와 같이, 6시간 동안 화합물 25를 이용한 Hep3B 세포 처리에서 세포자멸사의 강력한 유발을 야기한다. BGJ398, pan-FGFR 저해제는 또한 더 높은 농도에도 불구하고 세포자멸사의 유발을 야기한다.

[0570] 공유 원자가

- [0571] 화합물 52가 FGFR-4에 공유적으로 결합한다는 증거를 도 1에 나타난 질량분석법에 의해 나타낸다. 60 μ l의 완충제에서, 300 μ M 화합물 1을 50 μ g(75 μ M)의 GST-태그 재조합체 야생형 FGFR-4(카르나 바이오사이언스)와 함께 3시간 동안 실온에서 인큐베이션시키고, 후속적으로 4 $^{\circ}$ C에서 13시간 동안 인큐베이션시켰다. 이어서, 단백질-저해제 복합체를 피어스(Pierce) 세정제 제거 칼럼(써모 피어스(Thermo Pierce))을 사용하여 탈염시켰다. 미변형 단백질 및 단백질-저해제 복합체를 전자분무 질량분석법에 의해 분석하여 그들의 각 분자량을 결정하였다. 도 1a는 미변형 단백질의 질량을 나타낸다. 나타난 바와 같이, 대부분의 적절한 피크는 65468.371 달톤의 질량을 가진다. 도 1b는 단백질-저해제 복합체의 질량을 나타낸다. 이 도면에 나타난 바와 같이, 대부분의 적절한 피크는 66043.5123 달톤의 질량을 가진다. 이들 질량 간의 차이는 575.1252인데, 이는 화합물 1의 질량인 577.34 달톤의 기계적 정확도 내에 있다.
- [0572] FGFR-4 및 화합물 화합물 11, 화합물 20 및 화합물 54의 단백질-저해제 복합체의 질량을 도 2에 나타낸다. CR9는 FGFR4 단백질에 대한 피크이다. 피크 CR3에 의해 나타난 바와 같이, 화합물(화합물 11)의 MW가 444.6(기기 정확도 내에서)일 때, 복합체는 +441 da 이동을 나타내었다. 다른 예에서, 화합물(화합물 20)의 MW가 473.4일 때, 복합체는 +470 da 이동(피크 CR2)을 나타내었다. 또 다른 예에서, 화합물(화합물 54)이 622.7일 때, 복합체는 +631da 이동(피크 CR1)을 나타내었다.
- [0573] 이는 매우 다양한 스캐폴드로부터의 화합물이 FGFR4와 공유 복합체를 모두 형성할 수 있다는 것을 입증한다.
- [0574] Cys552에 대한 결합
- [0575] FGFR-4에 결합된 화합물 52의 결정 구조를 도 4에 나타낸다. 이 도면에 나타난 바와 같이, 화합물 52는 FGFR-4의 잔기 552에서 시스테인에 결합한다.
- [0576] FGFR-4에 결합된 화합물 25의 결정 구조를 도 5에 나타낸다. 이 도면에 나타난 바와 같이, 화합물 25는 또한 FGFR-4의 잔기 552에서 시스테인에 결합한다.
- [0577] 생체내 효능 데이터
- [0578] 상이한 투약량을 지니는 Hep3B 간암 세포 피하 이종이식 모델에서 종양 성장 저해에 대한 화합물 25, BGJ398(pan-FGFR 저해제) 및 소라페닙의 효과를 연구하였다.
- [0579] 6주령 내지 8주령의 6마리 암컷 누드 마우스(생쥐)를 사용하였다. 종양 세포 배양 및 접종: Hep3B 세포를 10% FBS(호주에 소재한 깁코(Gibco))로 보충한 EMEM 배지(미국에 소재한 인비트로젠(Invitrogen))를 이용하여 배양시켰다. 세포를 90% 융합(confluence)에서 채취하고, 생존도는 90% 이상이었다. 마우스에 연구의 시작 시 오른쪽 옆구리에 50% 매트릭셀(Matrigel) 중의 200 μ l의 10×10^6 Hep3B 세포로 피하로 이식하였다.
- [0580] 동물 그룹화 및 투약 스케줄: 세포 이식 후 10일에, 종양이 평균 용적 199mm³에 도달되었을 때, 45마리 마우스를 종양 용적에 기반하여 선택하고, 5개의 처리군(n=9)에 무작위로 배정하였다. 무작위한 날을 D₀으로 정하고, 그 이후에 처리를 시작하였다.
- [0582] *종양 용적 및 체중 측정: 캘리퍼를 사용하여 2차원으로 주 당 2회 종양 크기를 측정하고, 용적을 다음의 식을 사용하여 mm³로 표현하였다: $V = 0.5a \times b^2$, 여기서, a 및 b는 각각 종양의 긴 직경과 짧은 직경이다. 체중을 1주에 적어도 2회 측정하였다.
- [0583] 생체내 부분의 마지막: 혈액, 종양 및 간을 최종 투약 후 4, 12 및 24시간에 각 처리군에서 3마리 마우스로부터 수집하였다. 간의 좌엽을 약력학적(pharmacodynamic: PD) 연구에 대해 수집하고, 간의 나머지를 조직에 대해 포말린 중에 저장하였다. 약동학적 연구에서 사용을 위해 작은 종양을 우선적으로 처리하였다. 임의의 남아있는 종양을 우선 조직학적 분석을 위해 고정하고 나서, PD 연구를 위해 순간 냉동시켰다.
- [0584] Hep3B-보유 누드 마우스의 종양 용적: 도 5는 누드 마우스에서 Hep3B 이종이식 종양에 대해 화합물 25-처리군(100mg/kg PO BID), 화합물 25-처리군(300mg/kg PO BID), BGJ398-처리군(20mg/kg PO QD) 및 소라페닙-처리군(30mg/kg PO QD)의 성장 저해를 도시하는 선 그래프이다. 종양 용적의 통계적으로 유의한 감소를 비히클 군과 비교하여 화합물 25(100mg/kg PO BID), 화합물 25(300mg/kg PO BID) 및 소라페닙(30mg/kg PO QD) 효능 군에서 관찰하였으며, 모두 화합물의 처음 투여 후에 제4일로부터 시작해서 마지막까지(제19일) 지속하였다. 그러나, BGJ398(20mg/kg PO QD)과 비히클 군 간의 종양 용적의 유의한 차이는 전체 연구 동안 관찰되지 않았다. 100mg/

kg으로부터 300mg/kg까지 화합물 25 투약량의 증가는 종양 저해 효율성을 향상시켰다. 화합물 25-처리군(100mg/kg PO BID)과 화합물 25-처리군(300mg/kg PO BID) 둘 다에서 종양은 퇴행하였고, 화합물 25-처리군(300mg/kg PO BID)에서의 종양은 거의 사라지지 않았다. 본 연구에서, 화합물 25-처리군(100mg/kg PO BID)과 화합물 25-처리군(300mg/kg PO BID)은 종양 성장 저해에서 우수성을 나타내었다.

[0585] Hep3B-보유 누드 마우스의 체중 변화(%): 도 7은 전체 연구 기간 동안 체중 변화(%)를 도시하는 선 그래프이다. 화합물 25-처리군에서의 마우스를 제외한 모든 마우스는 체중의 상당한 손실을 나타내었다. 비히클군에서 마우스의 체중은 제10일까지 대략 10%만큼 종양 부담을 감소시켰다. 이 결과는 화합물 25가 현재 투약량에서 및 누드 마우스에서의 투약 스케줄에서 잘 용인된다는 것과, 화합물 25가 종양 성장을 저해함으로써 체중 손실을 완화할 수 있다는 것을 나타내었다.

[0586] 화합물 25(100mg/kg PO BID), 화합물 25(300mg/kg PO BID) 및 소라페닙(30mg/kg PO QD)으로 처리한 마우스는 전체 연구 동안 비히클군과 비교하여 종양 용적의 상당한 감소를 나타내었다. 100mg/kg 내지 300mg/kg의 화합물 25의 투약량 증가는 종양 저해 효율을 향상시켰다. 화합물 25-처리군(100mg/kg PO BID)과 화합물 25-처리군(300mg/kg PO BID) 둘 다에서 마우스의 종양은 퇴행하였고, 화합물 25-처리군(300mg/kg PO BID)에서 종양은 거의 사라졌다. 화합물 25-처리군에서의 마우스를 제외한 모든 마우스는 상당한 양의 체중이 손실되었다. 비히클군에서 마우스의 체중은 제10일까지 대략 10%만큼 종양 부담을 감소시켰다. 이 결과는 화합물 25가 현재 투약량에서 및 누드 마우스에서의 투약 스케줄에서 잘 용인되었다는 것과, 화합물 25가 종양 성장을 저해함으로써 체중 손실을 완화시킬 수 있다는 것을 나타내었다.

[0587] 참고문헌에 의한 포함

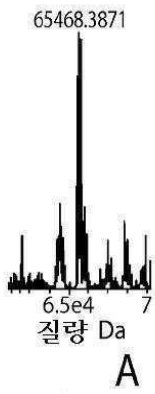
[0588] 본 명세서에 언급된 모든 간행물 및 특허는, 마치 각각의 개개 간행물 또는 특허가 구체적이고 개별적으로 참조로서 포함되는 것으로 나타낸 것처럼 그들 전문이 본 명세서에 참조로서 포함된다.

[0589] 균등물

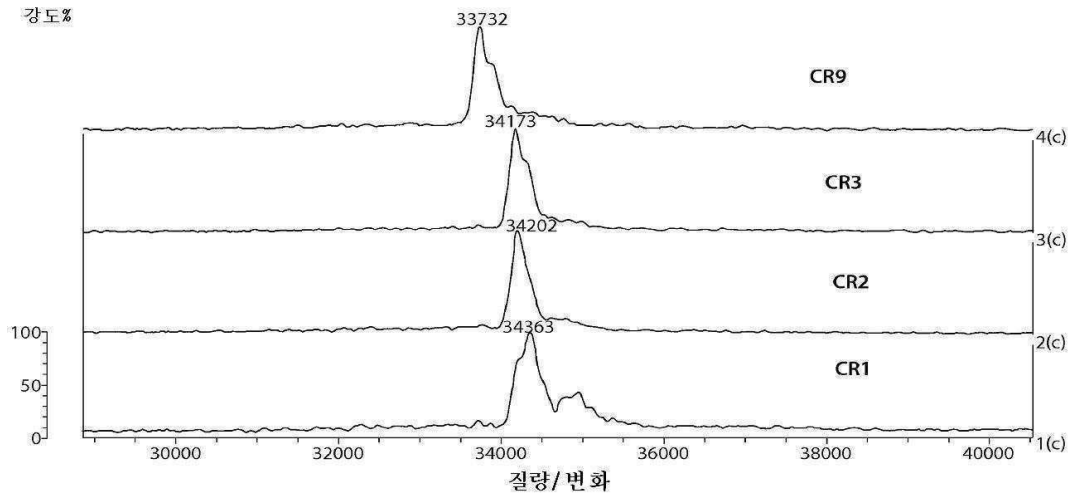
[0590] 당업자는 일상적인 뿐인 실험을 사용하여 본 명세서에 기재된 본 발명의 구체적 실시형태에 대한 다수의 균등물을 인식하거나 또는 확인할 것이다. 이러한 균등물은 다음의 특허청구범위에 의해 포함되는 것으로 의도된다.

도면

도면1

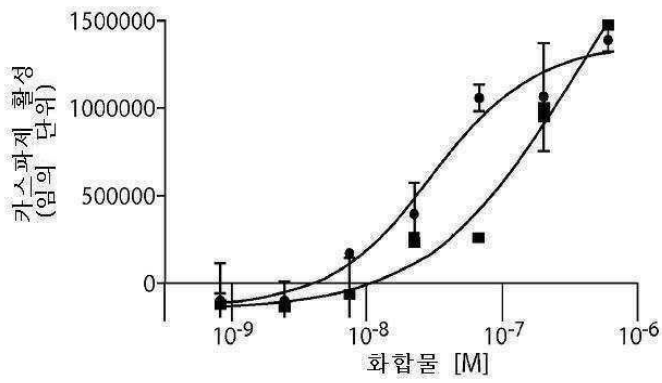


도면2



도면3

화합물 처리 Hep3B 세포에서의 카스파제 3/7 활성

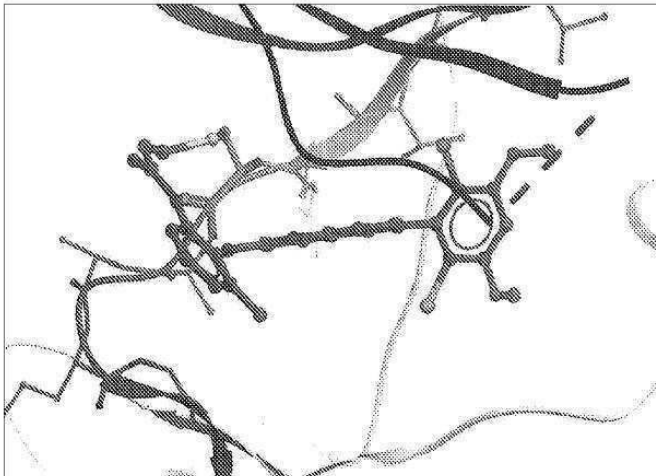


	화합물 25	BGJ398
IC50 [nM]	3.055e-008	3.234e-007

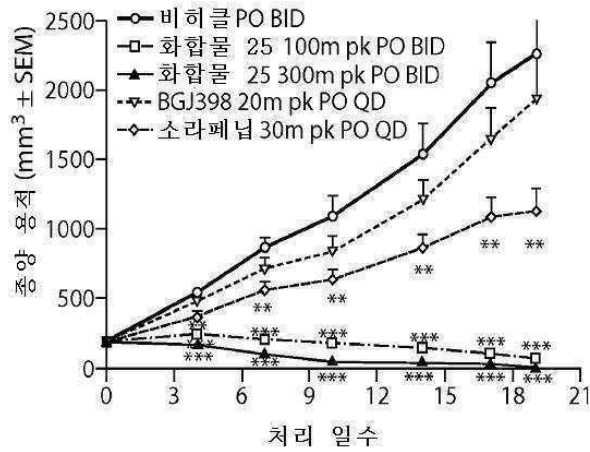
도면4



도면5

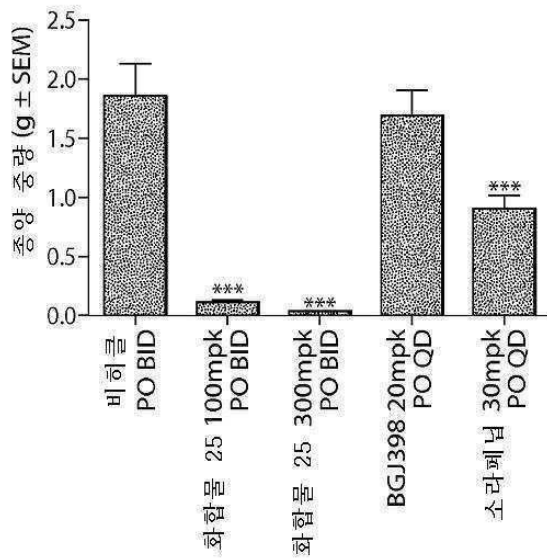


도면6



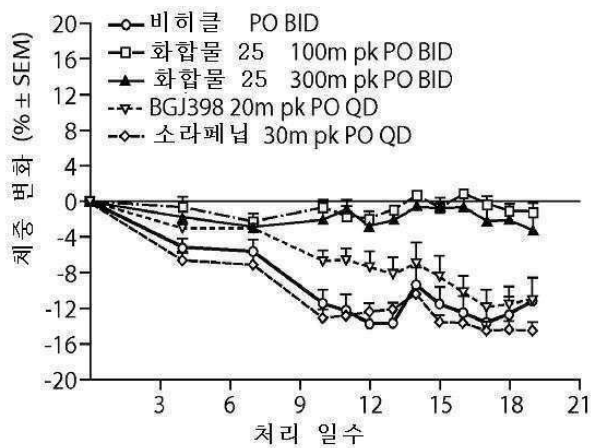
누드 마우스에서 Hep3b 이종이식 종양에 대한 화합물 25 (100 mg/kg PO BID) (□), 화합물 25 (300 mg/kg PO BID) (▲), BGJ398 (20 mg/kg PO QD) (▽), 및 소라페닙 (30 mg/kg PO QD) (◇) 그룹의 항종양 효과를 도시하는 선 그래프. 데이터는 평균 ± SEM로서 나타낸다, n=9. 통계적으로 유의한 차이 (일원 ANOVA).

도면7



Hep3B-보유 누드 마우스의 종양 중량을 도시하는 막대그래프. 데이터는 평균 ± SEM를 나타내었다, n=9. 통계적으로 유의한 차이 (일원 ANOVA), 화합물 25 (100 mg/kg PO BID), 화합물 25 (300 mg/kg PO BID), BGJ398 (20 mg/kg PO QD), 및 소라페닙 (30 mg/kg PO QD) 그룹 대 비히클.

도면8



비히클 및 화합물 25 (100 mg/kg PO BID) (□), 화합물 25 (300 mg/kg PO BID) (▲), BGJ398 (20 mg/kg PO QD) (▽), 및 소라페닙 (30 mg/kg PO QD) (◇) 그룹의 투여 후에 Hep3B-보유 누드 마우스의 체중 변화 (%)를 도시하는 선 그래프. 데이터를 평균 ± SEM로서 나타내었다, n=9.