



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0083412
(43) 공개일자 2018년07월20일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 417/14 (2006.01) A61K 31/501 (2006.01)
A61K 31/53 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07D 417/14 (2013.01)
A61K 31/501 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2018-7017164
- (22) 출원일자(국제) 2016년11월30일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2018년06월18일
- (86) 국제출원번호 PCT/EP2016/079251
- (87) 국제공개번호 WO 2017/093300
국제공개일자 2017년06월08일
- (30) 우선권주장
62/260,787 2015년11월30일 미국(US)

- (71) 출원인
아스트라제네카 아베
스웨덴 에스이-151 85 쇠더탈제
캔서 리서치 테크놀로지 리미티드
영국, 런던 이씨1브이 4에이디, 407 존 스트리트,
엔젤빌딩
- (72) 발명자
핀레이, 모리스, 레이먼드, 버쇼일
영국 씨비4 0더블유지 캄브릿지서 캄브릿지 밀튼
로드 캄브릿지 사이언스 파크 다윈 빌딩 아스트라
제네카 알앤디 캄브릿지
니싱크, 요아네스, 빌헬무스, 마리아
영국 씨비4 0더블유지 캄브릿지서 캄브릿지 밀튼
로드 캄브릿지 사이언스 파크 다윈 빌딩 아스트라
제네카
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
양영준, 김영

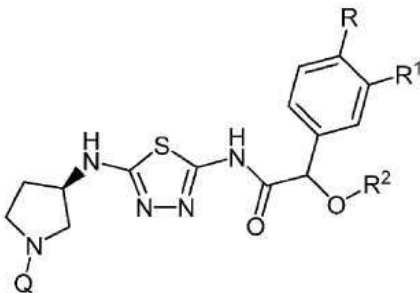
전체 청구항 수 : 총 14 항

(54) 발명의 명칭 1,3,4-티아디아졸 화합물 및 암 치료시 이의 용도

(57) 요약

화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염:

[화학식 I]



상기 화학식 I에서: Q는 5-메틸피리다진-3-일, 5-클로로피리다진-3-일, 6-메틸피리다진-3-일, 또는 6-플루오로피리다진-3-일일 수 있으며; R은 수소, 플루오로, 또는 메톡시일 수 있으며; R¹은 수소, 메톡시, 디플루오로메톡시, 또는 트리플루오로메톡시일 수 있으며; R²는 메틸 또는 에틸일 수 있다. 화학식 I의 화합물은 글루타미나제, 예를 들면, GLS1을 억제할 수 있다.

(52) CPC특허분류

A61K 31/53 (2013.01)

A61P 35/00 (2018.01)

(72) 발명자

찰스, 마크, 데이빗

영국 씨비22 3에이티 캠프릿지셔 캠프릿지 바브라
함 리썬치 캠퍼스 조나스 웹 빌딩 씨알티 디스커버
리 래버러토리스

우드, 제임스, 매튜

영국 에스케이10 2엔엑스 체셔 맥클스필드 차터 웨
이 실크 로드 비즈니스 파크 레데스미어 유지22 아
스트라제네카

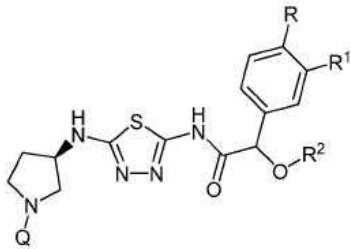
명세서

청구범위

청구항 1

화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염:

[화학식 I]



(상기 화학식 I에서:

Q는 5-메틸피리다진-3-일, 5-클로로피리다진-3-일, 6-메틸피리다진-3-일, 또는 6-플루오로피리다진-3-일이며;

R은 수소, 플루오로, 또는 메톡시이며;

R¹은 수소, 메톡시, 디플루오로메톡시, 또는 트리플루오로메톡시이며;

R²는 메틸 또는 에틸임).

청구항 2

제1항에 있어서, Q는 6-메틸피리다진-3-일, 또는 6-플루오로피리다진-3-일인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염.

청구항 3

제1항에 있어서, R은 수소 또는 플루오로인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염.

청구항 4

제1항에 있어서, R은 수소인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염.

청구항 5

제1항에 있어서, R¹은 메톡시, 디플루오로메톡시, 또는 트리플루오로메톡시인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염.

청구항 6

제1항에 있어서, R²는 메틸인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염.

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 화합물은 하기로 구성된 군으로부터 선택되는, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염:

(2S)-2-메톡시-2-(3-메톡시페닐)-N-[5-[[[(3R)-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드;

(2S)-N-[5-[[[(3R)-1-(6-플루오로피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]-2-메톡시-2-페닐-아세트아미드;

- (2S)-N-[5-[[[(3R)-1-(6-플루오로피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]-2-메톡시-2-(3-메톡시페닐)아세트아미드;
- (2S)-2-에톡시-2-(3-메톡시페닐)-N-[5-[[[(3R)-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드;
- (2S)-2-(4-플루오로페닐)-2-메톡시-N-[5-[[[(3R)-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드;
- (2S)-2-(4-플루오로-3-메톡시-페닐)-2-메톡시-N-[5-[[[(3R)-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드;
- (2S)-2-메톡시-N-[5-[[[(3R)-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]-2-[3-(트리플루오로메톡시)페닐]아세트아미드;
- (2S)-2-(4-플루오로페닐)-2-메톡시-N-[5-[[[(3R)-1-(5-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드;
- N-[5-[[[(3R)-1-(5-클로로피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]-2-메톡시-2-(4-메톡시페닐)아세트아미드;
- (2S)-[3-(디플루오로메톡시)페닐]-2-메톡시-N-[5-[[[(3R)-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드; 및
- (2S)-2-[3-(디플루오로메톡시)페닐]-N-[5-[[[(3R)-1-(6-플루오로피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]-2-메톡시-아세트아미드.

청구항 8

제1항에 있어서, 상기 화합물은 하기로 구성된 군으로부터 선택되는, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염:

- (2S)-2-메톡시-2-(3-메톡시페닐)-N-[5-[[[(3R)-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드;
- (2S)-N-[5-[[[(3R)-1-(6-플루오로피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]-2-메톡시-2-(3-메톡시페닐)아세트아미드;
- (2S)-2-에톡시-2-(3-메톡시페닐)-N-[5-[[[(3R)-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드;
- (2S)-2-(4-플루오로페닐)-2-메톡시-N-[5-[[[(3R)-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드;
- (2S)-2-(4-플루오로-3-메톡시-페닐)-2-메톡시-N-[5-[[[(3R)-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드;
- (2S)-2-메톡시-N-[5-[[[(3R)-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]-2-[3-(트리플루오로메톡시)페닐]아세트아미드;
- (2S)-2-(4-플루오로페닐)-2-메톡시-N-[5-[[[(3R)-1-(5-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드;
- (2S)-[3-(디플루오로메톡시)페닐]-2-메톡시-N-[5-[[[(3R)-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드; 및
- (2S)-2-[3-(디플루오로메톡시)페닐]-N-[5-[[[(3R)-1-(6-플루오로피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]-2-메톡시-아세트아미드.

청구항 9

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 및 적어도 하나의 약제학적으로

로 허용되는 희석제 또는 담체를 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 10

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 치료법에 사용하기 위한, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염.

청구항 11

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 암의 치료에 사용하기 위한, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염.

청구항 12

암 치료용 약제의 제조를 위한, 제1항 내지 제8항 중 어느 한 항의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염의 용도.

청구항 13

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염의 치료적 유효량을 온혈 동물에게 투여하는 것을 포함하는, 암 치료를 필요로 하는 온혈 동물에서 암을 치료하는 방법.

청구항 14

제11항, 제12항 또는 제13항에 있어서, 상기 암은 유방암, 폐암, 췌장암, 신장암, 또는 간세포암인, 화합물, 용도, 또는 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 명세서는 일반적으로 치환된 1,3,4-티아디아졸 화합물 및 이의 약제학적으로 허용되는 염에 관한 것이다. 이러한 화합물은 글루타미나제 1 효소(glutaminase 1; "GLS1")에 작용하므로, 본 명세서는 또한 암을 포함하는 GLS1-매개된 질병을 치료 또는 예방하기 위한 이러한 화합물 및 이의 염의 용도에 관한 것이다. 본 명세서는 추가로, 이러한 화합물 및 염을 포함하는 약제학적 조성물; 이러한 화합물 및 염을 포함하는 키트; 이러한 화합물 및 염의 제조 방법; 이러한 화합물 및 염의 제조시 유용한 중간체; 및 이러한 화합물 및 염을 사용하여 암을 포함하는 GLS1 매개된 질병을 치료하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 글루타민은 가장 풍부한 혈장 아미노산이며, 다수의 성장 촉진 경로에 관여한다. 특히, 글루타민은 TCA 사이클에서의 산화 및 세포 산화환원 평형의 유지에 관여하며, 또한 뉴클레오타이드 및 아미노산 합성을 위한 질소를 제공한다(Curi et al., *Front. Biosci.* **2007**, *12*, 344-57; DeBerardinis and Cheng, *Oncogene* **2010**, 313-324, 각각은 이의 전문이 참조로 포함되어 있음). 많은 암 세포는 당분해 피루베이트가 아세틸 CoA를 생성하는 데 사용되기보다는 락트산으로 전환되는 바르부르크 효과(Warburg effect)를 포함하여, 세포 내 대사 변화의 결과로서의 글루타민 대사에 의존한다(Koppenol et al., *Nature Reviews* **2011**, *11*, 325-337, 이의 전문이 참조로 포함되어 있음). 글루타민 대사에 대한 이러한 의존 결과로, 이러한 암 세포는 외인성 글루타민 수준의 변화에 민감하다. 더욱이, 기존 증거는 글루타민 분해(glutaminolysis)가 특정 암 유형에서 주요한 역할을 하며(Hensley et al., *J. Clin. Invest.* **2013**, *123*, 3678- 3684, 이의 전문이 참조로 포함되어 있음), Myc와 같은 공지된 종양 유발 요인과 관련이 있다(Dang, *Cancer Res.* **2010**, *70*, 859- 863, 이의 전문이 참조로 포함되어 있음)는 것을 시사한다.

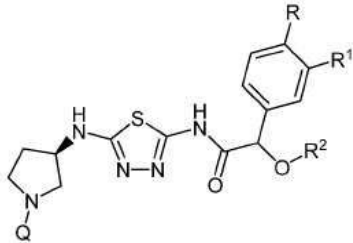
[0003] 글루타메이트로의 글루타민 이화작용의 제1 단계는, 본래 각각 신장 및 간에서 발견되는 것으로 확인된 GLS1 및 GLS2의 2개의 이소형(isoform)으로서 존재하는 글루타미나제에 의해 촉매되는 것이다. 신장 글루타미나제(GLS 1)는 간 글루타미나제(GLS2)보다 더 편재하여 발견되는 것으로 공지되어 있으며, 2개의 스플라이스 변이체(splice variant), KGA 및 더 짧은 GAC 이소형(둘 모두 미토콘드리아에 위치함)을 갖는다(Elgadi et al., *Physiol. Genomics* **1999**, *1*, 51-62; Cassago et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2012**, *109*, 1092-1097, 이들 각각은 그 전문이 참조로 포함되어 있음). GLS1 발현은 종양 성장, 및 수많은 질병 유형 중 악성 종양과 관련이

있다(Wang *et al.*, *Cancer Cell* **2010**, *18*, 207-219; van der Heuval *et al.*, *Cancer Bio. Ther.* **2012**, *13*, 1185-1194, 이들 각각은 그 전문이 참조로 포함되어 있음). 그러므로 GLS1의 억제제는 단일요법으로서 또는 다른 항암제와 함께 암의 치료에 유용한 것으로 예상된다.

발명의 내용

[0004] 일 양태에서, 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염:

[0005] [화학식 I]



[0006]

[0007] 상기 화학식 I에서:

[0008] Q는 5-메틸피리다진-3-일, 5-클로로피리다진-3-일, 6-메틸피리다진-3-일, 또는 6-플루오로피리다진-3-일이며;

[0009] R은 수소, 플루오로, 또는 메톡시이며;

[0010] R¹은 수소, 메톡시, 디플루오로메톡시, 또는 트리플루오로메톡시이며;

[0011] R²는 메틸 또는 에틸이다.

[0012] 또 다른 양태에서, 약제학적 조성물은 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 및 적어도 하나의 약제학적으로 허용되는 희석제 또는 담체를 포함한다.

[0013] 또 다른 양태에서, 치료법에 사용하기 위한, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염.

[0014] 또 다른 양태에서, 암의 치료에 사용하기 위한, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염.

[0015] 또 다른 양태에서, 암 치료용 약제의 제조를 위한, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염의 용도.

[0016] 또 다른 양태에서, 암 치료를 필요로 하는 온혈 동물에서 암을 치료하는 방법은, 치료적 유효량의 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 온혈 동물에게 투여하는 것을 포함한다.

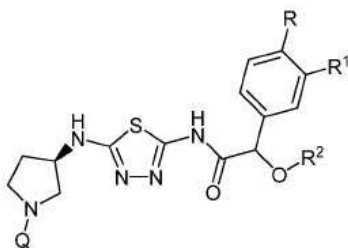
[0017] 다른 양태는 본 명세서 및 청구범위로부터 명백할 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0018] 많은 구현에는 본 명세서 전체에 걸쳐 상세히 설명되어 있으며, 당업자에게 명백할 것이다. 본 발명은 이의 임의의 특정 구현예(들)에 제한되는 것으로 해석되어서는 안된다.

[0019] 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이 제공된다:

[0020] [화학식 I]



[0021]

[0022] 상기 화학식 I에서:

[0023] Q는 5-메틸피리다진-3-일, 5-클로로피리다진-3-일, 6-메틸피리다진-3-일, 또는 6-플루오로피리다진-3-일이며;

[0024] R은 수소, 플루오로, 또는 메톡시이며;

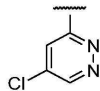
[0025] R¹은 수소, 메톡시, 디플루오로메톡시, 또는 트리플루오로메톡시이며;

[0026] R²는 메틸 또는 에틸이다.

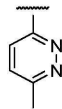
[0027] 5-메틸피리다진-3-일, 5-클로로피리다진-3-일, 6-메틸피리다진-3-일, 또는 6-플루오로피리다진-3-일 환은 하기 구조를 갖는다:



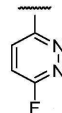
5-메틸피리다진-3-일



5-클로로피리다진-3-일



6-메틸피리다진-3-일

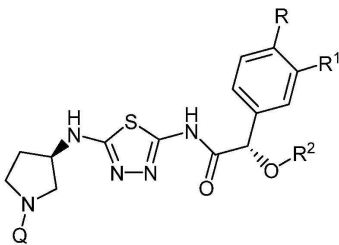


6-플루오로피리다진-3-일

[0028]

[0029] 일부 구현예에서, 화학식 I의 화합물은 하기 화학식 Ia를 갖는다:

[0030] [화학식 Ia]



[0031]

[0032] 상기 화학식 Ia에서, Q, R, R¹, 및 R²는 상기와 같이 정의된다.

[0033] 용어 "약제학적으로 허용되는"은 대상(예를 들면 염, 투여형, 희석제 또는 담체)이 환자에게 사용하기에 적합하다는 것을 명시하는 데 사용된다. 약제학적으로 허용되는 염의 목록의 예는 문헌(*Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use*, P. H. Stahl and C. G. Wermuth, editors, Weinheim/Zürich: Wiley-VCH/VHCA, 2002, 이의 전문이 참조로 포함되어 있음)에서 확인할 수 있다. 화학식 I의 화합물의 적합한 약제학적으로 허용되는 염은, 예를 들면, 산-부가 염이다. 화학식 I의 화합물의 산 부가 염은 숙련자에게 공지된 조건 하에서 화합물을 적합한 무기산 또는 유기산과 접촉시켜 형성될 수 있다. 산 부가 염은, 예를 들면, 염산, 브롬화수소산, 황산 및 인산과 같은 무기산을 사용하여 형성될 수 있다. 산 부가 염은 또한, 예를 들면, 트리플루오로아세트산, 메탄설폰산, 또는 벤젠설폰산과 같은 유기산을 사용하여 형성될 수 있다.

[0034] 그러므로, 일 구현예에서 약제학적으로 허용되는 염이 염산, 브롬화수소산, 황산, 인산, 트리플루오로아세트산, 메탄설폰산 또는 벤젠설폰산 염인, 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이 제공된다.

[0035] 일 구현예에서 약제학적으로 허용되는 염이 염산 또는 브롬화수소산 염인, 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이 제공된다.

[0036] 화학식 I의 화합물의 추가로 적합한 약제학적으로 허용되는 염은 염기-부가 염이다. 화학식 I의 화합물의 염기 부가 염은 숙련자에게 공지된 조건 하에서 화합물을 적합한 무기 염기 또는 유기 염기와 접촉시켜 형성될 수 있다. 염기 부가 염은 예를 들면 알칼리 금속 수산화물(예를 들면 수산화나트륨, 수산화칼륨 또는 수산화리튬) 또는 알칼리 토금속 수산화물(예를 들면 수산화칼슘 또는 수산화마그네슘)과 같은 무기 염기를 사용하여 형성될 수 있다. 염기 부가 염은 또한, 예를 들면, 메틸아민, 디메틸아민, 트리메틸아민, 피페리딘, 모르폴린, 또는 트리스-(2-하이드록시에틸)아민과 같은 유기 염기를 사용하여 형성될 수 있다.

[0037] 그러므로, 일 구현예에서 약제학적으로 허용되는 염이 수산화나트륨, 수산화칼륨, 수산화리튬, 수산화칼슘, 수산화마그네슘, 메틸아민, 디메틸아민, 트리메틸아민, 피페리딘, 모르폴린, 또는 트리스-(2-하이드록시에틸)아민 염인, 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이 제공된다.

[0038] 일 구현예에서 약제학적으로 허용되는 염이 염산, 브롬화수소산, 황산, 인산, 트리플루오로아세트산, 메탄설폰

산, 벤젠설폰산, 수산화나트륨, 수산화칼륨, 수산화리튬, 수산화칼슘, 수산화마그네슘, 메틸아민, 디메틸아민, 트리메틸아민, 피페리딘, 모르폴린, 또는 트리스-(2-하이드록시에틸)아민 염인, 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이 제공된다.

- [0039] 추가의 구현예는 본원에 정의된 구현예 중 임의의 것(예를 들면 제1항의 구현예)을 제공하며, 단 실시예 1(a), 1(b), 2, 3, 4(a), 4(b), 5(a), 5(b), 6(a), 6(b), 7(a), 7(b), 8(a), 8(b), 9(a), 9(b), 10(a), 10(b), 11(a), 11(b), 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33(a), 및 33(b)으로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 특정 실시예(예를 들면 1개, 2개 또는 3개의 특정 실시예, 또는 대안적으로 1개의 특정 실시예)는 개별적으로 청구되지 않는다.
- [0040] 화학식 I의 가변 그룹의 일부 값은 다음과 같다. 이러한 값은 추가의 구현예를 제공하기 위해 정의, 청구범위(예를 들면 제1항), 또는 본원에 정의된 임의의 구현예와 조합하여 사용될 수 있다.
- [0041] Q는 6-메틸피리다진-3-일 또는 6-플루오로피리다진-3-일일 수 있다.
- [0042] Q는 5-메틸피리다진-3-일 또는 5-클로로피리다진-3-일일 수 있다.
- [0043] Q는 5-메틸피리다진-3-일일 수 있다.
- [0044] Q는 5-클로로피리다진-3-일일 수 있다.
- [0045] Q는 6-메틸피리다진-3-일일 수 있다.
- [0046] Q는 또는 6-플루오로피리다진-3-일일 수 있다.
- [0047] R은 수소 또는 플루오로일 수 있다.
- [0048] R은 수소일 수 있다.
- [0049] R¹은 메톡시, 디플루오로메톡시, 또는 트리플루오로메톡시일 수 있다.
- [0050] R²는 메틸일 수 있다.
- [0051] 일 구현예에서 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이 제공되며, 여기서:
- [0052] Q는 6-메틸피리다진-3-일 또는 6-플루오로피리다진-3-일이고;
- [0053] R¹은 메톡시 또는 트리플루오로메톡시이다.
- [0054] 일 구현예에서 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이 제공되며, 여기서:
- [0055] Q는 6-메틸피리다진-3-일 또는 6-플루오로피리다진-3-일이고;
- [0056] R은 수소이고;
- [0057] R¹은 메톡시 또는 트리플루오로메톡시이다.
- [0058] 일 구현예에서 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이 제공되며, 여기서:
- [0059] Q는 6-메틸피리다진-3-일 또는 6-플루오로피리다진-3-일이고;
- [0060] R은 수소이고;
- [0061] R¹은 메톡시 또는 트리플루오로메톡시이고;
- [0062] R²는 메틸이다.
- [0063] 일 구현예에서 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이 제공되며, 여기서:
- [0064] Q는 6-메틸피리다진-3-일 또는 6-플루오로피리다진-3-일이고;
- [0065] R은 플루오로이다.
- [0066] 일 구현예에서 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이 제공되며, 여기서 화합물은 하기로 구성된 군으로부터 선택된다:

- [0067] (2S)-2-메톡시-2-(3-메톡시페닐)-N-[5-[[[(3R)-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드;
- [0068] (2S)-N-[5-[[[(3R)-1-(6-플루오로피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]-2-메톡시-2-페닐]아세트아미드;
- [0069] (2S)-N-[5-[[[(3R)-1-(6-플루오로피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]-2-메톡시-2-(3-메톡시페닐)아세트아미드;
- [0070] (2S)-2-에톡시-2-(3-메톡시페닐)-N-[5-[[[(3R)-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드;
- [0071] (2S)-2-(4-플루오로페닐)-2-메톡시-N-[5-[[[(3R)-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드;
- [0072] (2S)-2-(4-플루오로-3-메톡시-페닐)-2-메톡시-N-[5-[[[(3R)-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드;
- [0073] (2S)-2-메톡시-N-[5-[[[(3R)-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]-2-[3-(트리플루오로메톡시)페닐]아세트아미드;
- [0074] (2S)-2-(4-플루오로페닐)-2-메톡시-N-[5-[[[(3R)-1-(5-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드;
- [0075] N-[5-[[[(3R)-1-(5-클로로피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]-2-메톡시-2-(4-메톡시페닐)아세트아미드;
- [0076] (2S)-[3-(디플루오로메톡시)페닐]-2-메톡시-N-[5-[[[(3R)-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드; 및
- [0077] (2S)-2-[3-(디플루오로메톡시)페닐]-N-[5-[[[(3R)-1-(6-플루오로피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]-2-메톡시-아세트아미드.
- [0078] 일 구현예에서 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이 제공되며, 여기서 화합물은 하기로 구성된 군으로부터 선택된다:
- [0079] (2S)-2-메톡시-2-(3-메톡시페닐)-N-[5-[[[(3R)-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드;
- [0080] (2S)-N-[5-[[[(3R)-1-(6-플루오로피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]-2-메톡시-2-(3-메톡시페닐)아세트아미드;
- [0081] (2S)-2-에톡시-2-(3-메톡시페닐)-N-[5-[[[(3R)-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드;
- [0082] (2S)-2-(4-플루오로페닐)-2-메톡시-N-[5-[[[(3R)-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드;
- [0083] (2S)-2-(4-플루오로-3-메톡시-페닐)-2-메톡시-N-[5-[[[(3R)-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드;
- [0084] (2S)-2-메톡시-N-[5-[[[(3R)-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]-2-[3-(트리플루오로메톡시)페닐]아세트아미드;
- [0085] (2S)-2-(4-플루오로페닐)-2-메톡시-N-[5-[[[(3R)-1-(5-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드;
- [0086] (2S)-[3-(디플루오로메톡시)페닐]-2-메톡시-N-[5-[[[(3R)-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드; 및
- [0087] (2S)-2-[3-(디플루오로메톡시)페닐]-N-[5-[[[(3R)-1-(6-플루오로피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]-2-메톡시-아세트아미드.

- [0088] 본 명세서에 기재된 화합물 및 염은 용매화된 형태 및 비용매화된 형태로 존재할 수 있다. 예를 들면, 용매화된 형태는 반수화물, 일수화물, 이수화물, 삼수화물 또는 이의 대안적인 양과 같이 수화된 형태일 수 있다. 본 발명은 화학식 I의 화합물의 이러한 모든 용매화된 형태 및 비용매화된 형태를 포함한다.
- [0089] 본 명세서에 기재된 화합물 및 염의 원자는 상이한 동위 원소 형태로 존재할 수 있다. 본 발명은 ^{11}C 또는 ^{13}C 탄소 및 ^1H , ^2H (중수소) 또는 ^3H (삼중수소) 수소를 포함하는 화학식 I의 화합물의 모든 동위 원소 형태를 포함한다.
- [0090] 본 명세서에 기재된 화합물 및 염은 토우토머의 혼합물로 존재할 수 있다. "토우토머"는 수소 원자의 이동으로부터 초래되는 평형에 존재하는 구조 이성질체이다. 본 발명은 화학식 I의 화합물의 모든 토우토머를 포함한다.
- [0091] 화학식 I의 화합물은 상이한 부분입체이성질체 형태로 제조될 수 있다. 본 발명은 화학식 I의 화합물의 모든 부분입체이성질체 형태를 포함한다.
- [0092] 일 구현예에서 부분입체이성질체 과량(%de)이 95% 이상, 98% 이상 또는 99% 이상인 단일 부분입체이성질체인 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이 제공된다. 일 구현예에서, 단일 부분입체이성질체는 99% 이상의 부분입체이성질체 과량(%de)으로 존재한다.
- [0093] GLS1을 억제하는 것으로 여겨지는 화합물, 즉, 화학식 I의 화합물, 및 이의 약제학적으로 허용되는 염은 치료법, 예를 들면, 암을 포함하여, GLS1에 의해 적어도 부분적으로 매개된 질병 또는 의학적 질환의 치료에 유용할 것으로 예상된다.
- [0094] "암"이 언급될 때, 이것은 암의 치료가 원발성 종양 및 또한 종양 전이 둘 모두의 치료를 포함하도록 비-전이암 및 또한 전이암 둘 모두를 포함한다.
- [0095] 일 구현예에서 암은 전이암이다.
- [0096] 일 구현예에서 암은 비-전이암이다.
- [0097] "GLS1 억제 활성"은 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염의 부재 하의 GLS1의 활성에 비해, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염의 존재에 대한 직접적인 또는 간접적인 반응으로서의 GLS1의 활성의 감소를 나타낸다. 이러한 활성 감소는 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염과 GLS1의 직접적인 상호작용, 또는 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염과 결과적으로 GLS1 활성에 영향을 주는 하나 이상의 다른 요인의 상호작용에 기인할 수 있다. 예를 들면, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염은 GLS1에 직접 결합함으로써; GLS1 활성을 감소시키는 또 다른 요인(직접적으로 또는 간접적으로) 유발시킴으로써; 또는 세포 또는 유기체에 존재하는 GLS1의 양을(직접적으로 또는 간접적으로) 감소시킴으로써 GLS1을 감소시킬 수 있다.
- [0098] 용어 "치료법"은 질병을 치료하거나 근본적인 병리를 교정하거나 보상하는 이의 통상적인 의미를 갖는 것으로 한다. 용어 "치료법"은 반대로 구체적으로 지시되지 않는 한 "예방"도 포함한다. 용어 "치료적" 및 "치료학적으로"는 상응하는 방식으로 해석될 것이다.
- [0099] 용어 "치료적 유효량"은 대상체에게 치료법을 제공하는 데 효과적인, 본원의 임의의 구현예에 기재된 화학식 I의 화합물의 양을 나타낸다. 암의 경우에, 치료적 유효량은 상기 "치료법", "치료" 및 "예방"의 정의에 기재된 바와 같이 대상체에서 관찰 가능한 또는 측정 가능한 임의의 변화를 야기할 수 있다. 예를 들면, 유효량은 암 또는 종양 세포의 수를 감소시키거나; 전체 종양 크기를 감소시키거나; 예를 들면, 연조직 및 뼈를 포함하는 말초 기관 내로 종양 세포 침윤을 억제 또는 중지시키거나; 종양 전이를 억제 및 중지시키거나; 종양 성장을 억제 및 중지시키거나; 암과 관련된 증상 중 하나 이상을 어느 정도 완화시키거나; 이환율 및 사망률을 감소시키거나; 삶의 질을 개선시키거나; 또는 이러한 효과를 조합하여 일으킬 수 있다. 유효량은 GLS1 활성의 억제에 반응하는 질병의 증상을 감소시키기에 충분한 양일 수 있다. 암 치료법의 경우, *생체내* 효능은, 예를 들면, 생존 기간, 질병 진행까지의 시간(time to disease progression; TTP), 반응률(response rate; RR), 반응 지속기간 및/또는 삶의 질을 평가함으로써 측정될 수 있다. 당업자에 의해 인식되는 바와 같이, 유효량은 투여 경로, 부형제 사용, 및 다른 제제와의 동시-사용에 따라 달라질 수 있다. 예를 들면, 병용 요법이 사용되는 경우, 본 명세서에 기재된 화학식 I의 화합물 또는 약제학적으로 허용되는 염의 양 및 다른 약제학적 활성제(들)의 양은, 조합될 때, 동물 환자에서 표적된 장애를 치료하는 데 공동으로 효과적이다. 이러한 맥락에서, 조합된 양은, 이들이, 조합될 때, 상기 기재된 GLS1 활성의 억제에 반응하는 질병의 증상을 감소시키기에 충분하다면

"치료적 유효량"이다. 전형적으로, 이러한 양은, 예를 들면, 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염에 대해 본 명세서에 기재된 투여 범위 및 다른 약제학적 활성 화합물(들)의 승인된 또는 달리 발표된 투여 범위(들)로 출발하여 당업자에 의해 결정될 수 있다.

- [0100] 용어 "예방"은 이의 통상적인 의미를 갖는 것으로 하며, 질병의 발생을 예방하기 위한 1차 예방, 및 질병이 이미 발생하였고 환자를 질병의 증악(exacerbation) 또는 악화(worsening)에 대해 일시적으로 또는 영구적으로 보호하는 2차 예방을 포함한다.
- [0101] 용어 "치료"는 "치료법"과 동의어로 사용된다. 유사하게 용어 "치료하다"는 치료법을 적용하는 것으로 간주될 수 있으며, 여기서 "치료법"은 본원에 정의된 바와 같다.
- [0102] 일 구현예에서 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 및 적어도 하나의 약제학적으로 허용되는 희석제 또는 담체를 포함하는 약제학적 조성물이 제공된다. 일 구현예에서, 약제학적 조성물은 화학식 I의 화합물을 유리 염기로 포함한다. 또 다른 구현예에서, 약제학적 조성물은 화학식 I의 화합물의 약제학적으로 허용되는 염을 포함한다.
- [0103] 일 구현예에서 치료법에 사용하기 위한, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이 제공된다.
- [0104] 일 구현예에서 암의 치료에 사용하기 위한, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이 제공된다.
- [0105] 일 구현예에서 암 치료용 약제의 제조를 위한, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염의 용도가 제공된다.
- [0106] 일 구현예에서 GLS1에 의해 매개된 질병의 치료에 사용하기 위한, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이 제공된다. 일 구현예에서, GLS1에 의해 매개된 질병은 암이다. 일부 구현예에서, 암은 유방암(예를 들면 삼중 음성 유방암), 폐암(예를 들면 비-소세포 폐암), 췌장암, 신장암, 또는 간세포암일 수 있다.
- [0107] "삼중 음성 유방암"은 에스트로겐 수용체, 프로게스테론 수용체 및 Her2/neu에 대한 유전자를 발현시키지 않거나 과소 발현(underexpress)시키는 암의 유방암이다.
- [0108] 일 구현예에서 GLS1에 의해 매개된 질병 치료용 약제의 제조를 위한, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염의 용도가 제공된다. 일 구현예에서, GLS1에 의해 매개된 질병은 암이다. 일부 구현예에서, 암은 유방암(예를 들면 삼중 음성 유방암), 폐암(예를 들면 비-소세포 폐암), 췌장암, 신장암, 또는 간세포암일 수 있다.
- [0109] 일 구현예에서 암 치료용 약제의 제조를 위한, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염의 용도가 제공된다.
- [0110] 일 구현예에서 화학식 I의 화합물을 투여하는 것을 포함하는 GLS1의 억제 방법이 제공된다.
- [0111] 일 구현예에서 치료적 유효량의 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 온혈 동물에게 투여하는 것을 포함하는, GLS1의 억제가 이러한 치료를 필요로 하는 온혈 동물에게 유익한 질병을 치료하는 방법이 제공된다.
- [0112] "온혈 동물"은, 예를 들면, 인간을 포함한다.
- [0113] 일 구현예에서 치료적 유효량의 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 온혈 동물에게 투여하는 것을 포함하는, 암 치료를 필요로 하는 온혈 동물에서 암을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 구현예에서, 암은 유방암(예를 들면 삼중 음성 유방암), 폐암(예를 들면 비-소세포 폐암), 췌장암, 신장암, 또는 간세포암일 수 있다.
- [0114] 본 명세서에 기재된 암을 위한 치료는 단독 요법으로 적용될 수 있거나, 또는 화학식 I의 화합물의 투여 이외에, 통상적인 수술, 방사선요법, 또는 화학요법; 또는 이러한 추가 치료법의 조합을 포함할 수 있다. 이러한 통상적인 수술, 방사선요법, 또는 화학요법은 화학식 I의 화합물의 치료와 동시에, 순차적으로 또는 별도로 수행될 수 있다.
- [0115] 그러므로, 일 구현예에서 암의 치료에 사용하기 위한, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 및 적어도 하나의 추가 항-종양 물질이 제공된다.
- [0116] 일 구현예에서 암의 동시, 개별적 또는 순차적인 치료에 사용하기 위한 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약제학적

으로 허용되는 염, 및 적어도 하나의 추가 항-종양 물질이 제공된다.

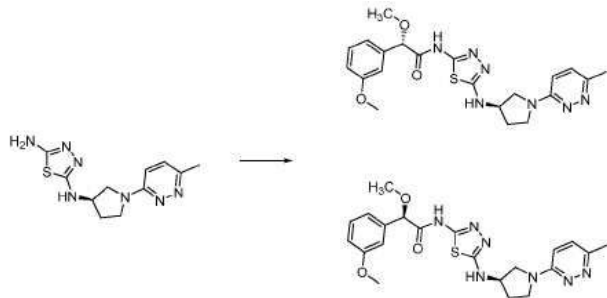
- [0117] 일 구현예에서 암의 치료에 사용하기 위한, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이 제공되며, 여기서 화학식 I의 화합물은 적어도 하나의 추가 항-종양 물질과 동시에, 별도로, 또는 순차적으로 투여된다
- [0118] 일 구현예에서 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 및 적어도 하나의 추가 항-종양 물질을 온혈 동물에게 투여하는 것을 포함하는, 암 치료를 필요로 하는 온혈 동물에서 암을 치료하는 방법이 제공되며, 여기서 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 및 추가 항-종양 물질의 양은 공동으로 항암 효과를 발생시키는 데 효과적이다.
- [0119] 일 구현예에서 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 온혈 동물에게 투여하고, 적어도 하나의 추가 항-종양 물질을 온혈 동물에게 동시에, 별도로 또는 순차적으로 투여하는 것을 포함하는, 암 치료를 필요로 하는 온혈 동물에서 암을 치료하는 방법이 제공되며, 여기서 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 및 추가 항-종양 물질의 양은 공동으로 항암 효과를 발생시키는 데 효과적이다.
- [0120] 임의의 구현예에서 추가 항-종양 물질은 타산이다. 일 구현예에서 타산은 파클리탁셀이다. 일 구현예에서 타산은 도세탁셀이다.
- [0121] 임의의 구현예에서 추가 항-종양 물질은 백금 요법이다. 일 구현예에서 백금 요법은 시스플라틴, 옥살리플라틴, 또는 카보플라틴이다.
- [0122] 추가의 구현예에 따르면, 하기를 포함하는 키트가 제공된다:
- [0123] a) 제1 단위 투여형의 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염;
- [0124] b) 제2 단위 투여형의 제2 항-종양 물질;
- [0125] c) 제1 단위 투여형 및 제2 단위 투여형을 담기 위한 용기; 및, 선택적으로,
- [0126] d) 사용 설명서.
- [0127] 화학식 I의 화합물, 및 이의 약제학적으로 허용되는 염은, 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 희석제 또는 담체를 포함하는 약제학적 조성물로서 투여될 수 있다. 따라서, 일 구현예에서 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 및 적어도 하나의 약제학적으로 허용되는 희석제 또는 담체를 포함하는 약제학적 조성물이 제공된다.
- [0128] 조성물은 경구용(예를 들면 정제, 로젠지, 경질 또는 연질 캡슐, 수성 또는 유성 현탁액, 에멀전, 분산성 분말 또는 과립, 시럽 또는 엘릭시르로서), 국소용(예를 들면 크림, 연고, 겔, 또는 수성 또는 유성 용액 또는 현탁액으로서), 흡입에 의한 투여용(예를 들면 미분된 분말 또는 액체 에어로졸로서), 통기법(insufflation)에 의한 투여용(예를 들면 미분된 분말로서) 또는 비경구 투여용(예를 들면 정맥내, 피하, 근육내 투여를 위한 멸균 수성 또는 유성 용액으로서), 또는 좌제로서 적합한 형태일 수 있다. 조성물은 통상적인 약제학적 부형제를 사용하여 통상적인 절차에 의해 얻어질 수 있다. 따라서, 경구용 조성물은, 예를 들면, 하나 이상의 착색제, 감미제, 풍미제 및/또는 보존제를 함유할 수 있다.
- [0129] 일 구현예에서 치료법에 사용하기 위한, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 및 적어도 하나의 약제학적으로 허용되는 희석제 또는 담체를 포함하는 약제학적 조성물이 제공된다.
- [0130] 일 구현예에서 암의 치료에 사용하기 위한, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 및 적어도 하나의 약제학적으로 허용되는 희석제 또는 담체를 포함하는 약제학적 조성물이 제공된다. 일부 구현예에서 암은 유방암(예를 들면 삼중 음성 유방암), 폐암(예를 들면 비-소세포 폐암), 췌장암, 신장암, 또는 간세포암일 수 있다.
- [0131] 화학식 I의 화합물은 통상적으로 동물의 체면적 1 m^2 당 5 mg 내지 5000 mg 범위 이내, 즉, 대략 0.1 mg/kg 내지 100 mg/kg의 단위 용량으로 온혈 동물에게 투여될 것이며, 이것은 통상적으로 치료적-유효 용량을 제공한다. 정제 또는 캡슐과 같은 단위 용량 형태는 통상적으로, 예를 들면 1 mg 내지 250 mg의 활성 성분을 함유할 것이다. 1일 용량은 치료되는 숙주, 특정 투여 경로, 공-투여되는 요법, 및 치료되는 병의 중증도에 따라 필연적으로 달라질 것이다. 따라서 임의의 특정 환자를 치료하는 의사는 최적 투여량을 결정할 수 있다.

- [0132] 실시예
- [0133] 다양한 구현에는 하기 실시예에 의해 설명된다. 본 발명은 실시예로 제한되는 것으로 해석되어서는 안된다.
- [0134] 실시예의 제조 동안, 일반적으로:
- [0135] a) 작동은 달리 언급되지 않는 한 주위 온도, 즉, 약 17°C 내지 30°C 범위의 온도에서 질소와 같은 불활성 기체 분위기 하에서 수행되었다;
- [0136] b) 증발은 회전 증발에 의해 또는 진공내 제네백(Genevac) 장비를 이용하여 수행되었고, 후처리 절차는 잔류 고체를 여과로 제거한 후 수행되었다;
- [0137] c) 플래시 크로마토그래피 정제는 그레이스 리졸브(Grace Resolve) 사전패킹된 실리카 컬럼을 사용한 자동화된 이스코 콤비플래시 컴패니언(automated Isco Combiflash Companion), 및 레디셉 골드(RediSep Gold) C18 컬럼을 사용한 (역상 플래시) 이스코 콤비플래시 알에프(Isco Combiflash Rf)에서 수행되었다;
- [0138] d) 수율은, 존재하는 경우, 반드시 달성할 수 있는 최대값은 아니다;
- [0139] e) 화학식 I의 최종-생성물의 구조는 핵자기 공명(nuclear magnetic resonance; NMR) 분광학에 의해 확인되었으며, NMR 화학적 이동 값은 델타 스케일로 측정되었다. 양성자 자기 공명 스펙트럼은 브루커 어벤스(Bruker Avance) 700(700 MHz), 브루커 어벤스 500(500 MHz), 브루커 400(400 MHz) 또는 브루커 300(300 MHz) 계측기를 사용하여 결정되었고; ¹⁹F NMR은 282 MHz 또는 376 MHz에서 결정되었고; ¹³C NMR은 75 MHz 또는 100 MHz에서 결정되었고; 측정은 달리 명시되지 않는 한 대략 20°C 내지 30°C에서 수행되었고; 하기 약어를 사용하였다: s, 단일선; d, 이중선; t, 삼중선; q, 사중선; m, 다중선; dd, 이중선의 이중선; ddd, 이중선의 이중선의 이중선; dt, 삼중선의 이중선; bs, 광폭 신호;
- [0140] f) 화학식 I의 최종-생성물은 또한 2996 PDA 및 2000 amu ZQ 단일 사중극자 질량 분석계를 갖춘 워터스(Waters) 2790/95 LC 시스템을 기반으로 한 HPLC 시스템을 사용하여, 액체 크로마토그래피 후 질량 분석법(mass spectroscopy following liquid chromatography; LCMS)으로 특성화되었다. 사용된 용매는 다음과 같았다: A= 물, B= 아세토니트릴, C= 50:50 아세토니트릴:물 0.1% 포름산 및 D= 50:50 아세토니트릴:물 0.1% 수산화암모늄. 1.1 mL/분의 유속에서 5 µL의 샘플을 50 x 2.1 5 µm 페노메닉스 제미니(Phenomenex Gemini) NX 컬럼 상에 주입하였다. 구배는 C(산 분석용, D는 염기 분석용으로 사용됨)의 일정한 5% 주입과 함께 4.0분 동안 95% A에서 95% B로 진행되었다. 출발 조건으로 돌아가기 전에 유동은 95% B에서 0.5분 동안 유지되었다. 질량 분석계에서는 포지티브 및 네가티브 모드 둘 모두에서 150 amu부터 850 amu까지, 및 PDA에서는 220 nm부터 320 nm까지 데이터를 수집하였다. LCMS는 또한 샘플 매니저를 갖춘 워터스 액유티 2원 펌프(Waters Acquity Binary pump), 액유티 PDA 및 SQD 질량 분석계를 이용하여 UPLC 시스템에서 수행되었다. 사용된 용매는 다음과 같았다: A1= 0.1% 포름산(aq), B1 아세토니트릴 중 0.1% 포름산, A2 = 0.1% 수산화암모늄(aq) 및 B2 아세토니트릴 중 0.1% 수산화암모늄. 1 mL/분의 유속에서 1 µL의 샘플을 50 x 2.1 1.7µm 워터스 BEH 컬럼(40°C에서) 상에 주입하였다. 구배를 1.30분에 걸쳐 97% A1에서 97% B1로 진행한 후 0.2분 동안 유지시키고, 출발 조건으로 되돌아갔다(염기 분석의 경우 A1 및 B1을 A2 및 B2로 대체). 질량 분석계에서는 포지티브 및 네가티브 이온 모드에서 150 amu부터 1000 amu까지, 및 PDA에서는 245 amu부터 320 amu까지 데이터를 수집하였다;
- [0141] g) 중간체는 일반적으로 완전히 특성화되지 않았으며, 순도는 박막 크로마토그래피, 질량 스펙트럼, HPLC 및/또는 NMR 분석에 의해 평가되었다;
- [0142] h) 하기 약어를 사용하였다: h = 시간; r.t. = 실온(약 17°C 내지 30°C); conc. = 농축됨; FCC = 실리카를 사용한 플래시 컬럼 크로마토그래피; AIBN = 아조비스(이소부티로니트릴); DCM = 디클로로메탄; DIPEA = *N,N*-디이소프로필 에틸아민; DMA = *N,N*-디메틸아세트아미드; DMF = *N,N*-디메틸포름아미드; DMSO = 디메틸설폭사이드; EDC = 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카보다이미드; Et₂O = 디에틸 에테르; EtOAc = 에틸 아세테이트; EtOH = 에탄올; HATU = 1-[*N*-(디메틸아미노)메틸렌]-1H-1,2,3-트리아졸로[4,5-*b*]피리디늄 3-옥시드 헥사플루오로포스페이트; HOBT = 하이드록시벤조트리아졸; K₂CO₃ = 탄산칼륨; MeOH = 메탄올; MeCN = 아세토니트릴; MgSO₄ = 무수 황산마그네슘; Na₂SO₄ = 무수 황산나트륨; NBS = *N*-브로모 석신이미드; TFA = 트리플루오로아세트산; THF = 테트라하이드로푸란; sat. = 포화 수용액.
- [0143] 하기 다수의 실시예에서는, 화합물의 부분입체이성질체 쌍을 기재하고 있다. 예를 들면, 실시예 1(a) 및 실시예 1(b)의 화합물은 단일 반응의 생성물에서 혼합물로 형성되고 차후에 분리되는, 화합물의 부분입체이성질체 쌍을

나타낸다. 이러한 예에서, 입체화학의 임의의 지정은 절대적이지 않다. 예로써, 실시예 1(a) 및 실시예 1(b)은 명명된 화합물의 (2*S*,3*R*) 및 (2*R*,3*R*) 부분입체이성질체에 관한 것이지만; 실시예 1(a)이 (2*S*,3*R*) 부분입체이성질체, 실시예 1(b)이 (2*R*,3*R*) 부분입체이성질체로 명확하게 지정되어 있다는 것을 전달하려는 것은 아니다.

[0144] 실시예 1(a) 및 1(b)

[0145] (2*S*)-2-메톡시-2-(3-메톡시페닐)-*N*-[5-[[*(3R)*]-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드 및
(2*R*)-2-메톡시-2-(3-메톡시페닐)-*N*-[5-[[*(3R)*]-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드



[0146]

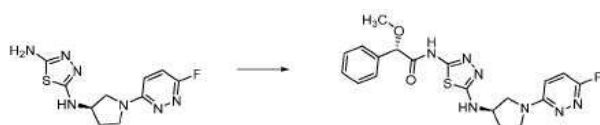
[0147] HATU(329 mg, 0.87 mmol)를 질소 하에 21°C에서 DMF(6 mL) 중의 2-메톡시-2-(3-메톡시페닐)아세트산(중간체 14, 141 mg, 0.72 mmol), *N*2-[[*(3R)*]-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]-1,3,4-티아디아졸-2,5-디아민(중간체 1, 200 mg, 0.72 mmol) 및 DIPEA(0.25 mL, 1.44 mmol)에 첨가하였다. 생성된 용액을 21°C에서 2시간 동안 교반시켰다. 조 혼합물을 SCX 컬럼을 사용하여 이온 교환 크로마토그래피로 정제하였다. 목적하는 생성물을 MeOH 중 1 M NH₃을 사용하여 컬럼으로부터 용출시키고, 순수한 분획을 증발 건조시켜 조 생성물을 제공하였고, 이를 FCC(SiO₂, DCM 중 0% 내지 12% MeOH)로 추가로 정제하였다. 순수한 분획을 증발 건조시켜 부분입체이성질체의 혼합물을 담황색 검(gum)으로서 제공하였다(95 mg). 부분입체이성질체를 제조용 HPLC(룩스(Lux) C2 컬럼, 20 μm, 50 mm x 250 mm, 200 mL/분에서 100% MeOH)로 분리하여 하기를 얻었다:

[0148] 제1 용출된 이성질체 실시예 1(a) 2-메톡시-2-(3-메톡시페닐)-*N*-[5-[[*(3R)*]-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드(58 mg, 18%). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, 30°C) δ 2.05 (1H, td), 2.21 - 2.35 (1H, m), 2.41 (3H, s), 3.40 - 3.47 (1H, m), 3.55 (2H, ddd), 3.69 - 3.75 (4H, m), 4.31 - 4.46 (1H, m), 4.93 (1H, s), 6.82 (1H, d), 6.87 - 6.94 (1H, m), 6.99 - 7.07 (2H, m), 7.22 (1H, d), 7.29 (1H, t), 7.61 (1H, d), 12.13 (1H, s). *m/z*: ES⁺ [M+H]⁺ 456.

[0149] 제2 용출된 이성질체 실시예 1(b) 2-메톡시-2-(3-메톡시페닐)-*N*-[5-[[*(3R)*]-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드(55 mg, 17%). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, 30°C) δ 2.05 (1H, td), 2.21 - 2.35 (1H, m), 2.41 (3H, s), 3.4 - 3.47 (1H, m), 3.55 (2H, ddd), 3.69 - 3.75 (4H, m), 4.31 - 4.46 (1H, m), 4.93 (1H, s), 6.82 (1H, d), 6.87 - 6.94 (1H, m), 6.99 - 7.07 (2H, m), 7.22 (1H, d), 7.29 (1H, t), 7.61 (1H, d), 12.13 (1H, s). *m/z*: ES⁺ [M+H]⁺ 456.

[0150] 실시예 2

[0151] (2*S*)-*N*-[5-[[*(3R)*]-1-(6-플루오로피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]-2-메톡시-2-페닐-아세트아미드



[0152]

[0153] HOBT(120 mg, 0.78 mmol)를 25°C에서 DMF(3 mL) 중의 *N*2-[[*(3R)*]-1-(6-플루오로피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]-1,3,4-티아디아졸-2,5-디아민(중간체 4, 220 mg, 0.78 mmol), (2*S*)-2-메톡시-2-페닐-아세트산(130 mg, 0.78 mmol) 및 EDC(300 mg, 1.56 mmol)에 첨가하였다. 생성된 혼합물을 25°C에서 3시간 동안 교반시켰다. 조 생성물

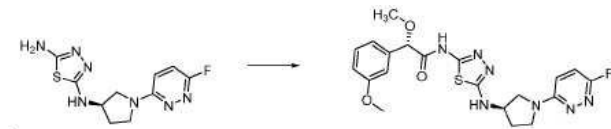
을 제조용 HPLC(엑스브릿지(XBridge) C18 OBD 컬럼, 5 μ m, 50 mm x 150 mm)로 정제하였다. 물(0.05% 포름산 함유) 및 MeCN의 감소하는 극성 혼합물을 이동상으로 사용하였다. 목적하는 화합물을 함유하는 분획을 증발 건조시켜 실시예 2 (2S)-N-[5-[[[(3R)-1-(6-플루오로피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]-2-메톡시-2-페닐-아세트아미드(95 mg, 27.8%)를 백색 고체로서 제공하였다. ¹H NMR (400 MHz, MeOD, 22 $^{\circ}$ C) δ 2.16 - 2.23 (m, 1H), 2.36-2.44 (m, 1H), 3.44 (s, 3H), 3.55 - 3.69 (m, 3H), 3.82 - 3.86 (m, 1H), 4.46 - 4.51 (m, 1H), 4.93 (s, 1H), 7.15 - 7.19 (m, 1H), 7.24 -7.27 (m, 1H), 7.35 - 7.43 (m, 3H), 7.47 - 7.49 (m, 2H). *m/z*: ES⁺ [M+H]⁺ 430.

[0154] 실시예 3

[0155] (2S)-N-[5-[[[(3R)-1-(6-플루오로피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]-2-메톡시-2-(3-메톡시페닐)아세트아미드

[0156]

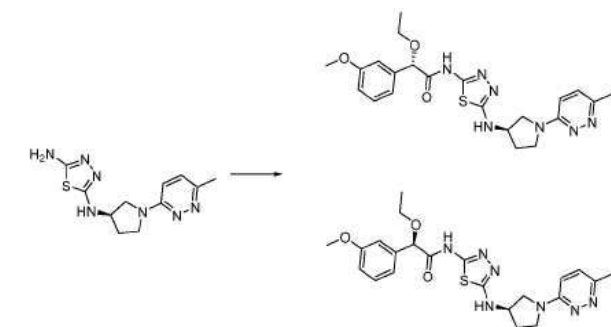
[0157]



HATU(405 mg, 1.07 mmol)를 N₂ 하에 21 $^{\circ}$ C에서 DMF(8 mL) 중의 (2S)-2-메톡시-2-(3-메톡시페닐)아세트산(중간체 12, 174 mg, 0.89 mmol), N2-[[[(3R)-1-(6-플루오로피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]-1,3,4-티아디아졸-2,5-디아민(중간체 4, 250 mg, 0.89 mmol) 및 DIPEA(0.155 mL, 0.89 mmol)에 첨가하였다. 생성된 용액을 0 $^{\circ}$ C에서 45분 동안 교반시켰다. 조 생성물을 SCX 컬럼을 사용하여 이온 교환 크로마토그래피로 정제하였다. 목적하는 생성물을 MeOH 중 1 M NH₃을 사용하여 컬럼으로부터 용출시키고, 순수한 분획을 증발 건조시켜 검을 제공하였다. 조 생성물을 FCC(SiO₂, DCM 중 0% 내지 9% MeOH)로 정제하였다. 순수한 분획을 증발 건조시키고, 에테르/DCM으로 분쇄하고, 여과하여 실시예 3 (2S)-N-[5-[[[(3R)-1-(6-플루오로피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]-2-메톡시-2-(3-메톡시페닐)아세트아미드(185 mg, 45%)를 크림색 고체로서 제공하였다. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, 30 $^{\circ}$ C) δ 2.12 (1H, td), 2.3 - 2.46 (1H, m), 3.37 (3H, s), 3.52 (1H, dd), 3.59 - 3.67 (2H, m), 3.81 (4H, m), 4.34 - 4.56 (1H, m), 5.00 (1H, s), 6.97 (1H, ddd), 7.03 - 7.14 (2H, m), 7.22 (1H, dd), 7.32 - 7.51 (2H, m), 7.73 (1H, d), 12.20 (1H, s). *m/z*: ES⁺ [M+H]⁺ 486.

[0158] 실시예 4(a) 및 4(b)

[0159] (2S)-2-에톡시-2-(3-메톡시페닐)-N-[5-[[[(3R)-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드 및 (2R)-2-에톡시-2-(3-메톡시페닐)-N-[5-[[[(3R)-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드



[0160]

[0161]

2-에톡시-2-(3-메톡시페닐)아세트산(중간체 15, 0.11 g, 0.54 mmol) 및 N2-[[[(3R)-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]-1,3,4-티아디아졸-2,5-디아민(중간체 1, 0.15 g, 0.54 mmol)을 환저 플라스크 내로 칭량하여 넣은 다음 DIPEA(0.1 mL, 0.54 mmol) 및 DMF(5 mL)를 칭량하여 넣었다. 이후 생성된 용액을 HATU(0.21 g, 0.54 mmol)로 처리하고, N₂ 하에 실온에서 24시간 동안 교반되도록 하였다. 용매를 감압 하에서 제거하고 잔류 검을 DCM에 용해시키고, 실리카 상에 흡착시키고, FCC(SiO₂ DCM 중 0% 내지 10% MeOH)로 정제하였다. 감압 하에서 순수한 분획을 증발시켜 표제 화합물을 밝은 황색 발포체(foam)로서 수득하였다. 발포체를 메탄올에 용해시키고,

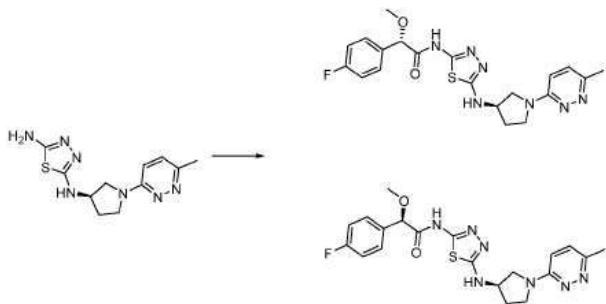
SCX 이온 교환 컬럼에 첨가하고, 이를 DCM으로 세척한 후 메탄올로 세척하고, 그 다음 MeOH 중 2 M NH₃으로 용출시켰다. 용매를 감압 하에서 제거하고, 제조용 HPLC(선파이어(SunFire) C18 컬럼, 5 μm, 50 mm x 19 mm, 유속 25 mL/분)로 추가로 정제하였다. 감소하는 극성 비의, 0.1% 포름산을 함유하는 물 및 MeCN을 이동상으로 사용하였다. 순수한 분획을 증발 건조시켜 생성물을 부분입체이성질체의 혼합물로서 백색 고체로서 제공하였다(67 mg). 부분입체이성질체를 제조용 HPLC(페노메넥스 룩스 C4 컬럼, 20 μm, 50 mm x 250 mm, 120 mL/분에서 MeOH)로 분리하여 하기를 얻었다:

[0162] 제1 용출된 이성질체 실시예 4(a) 2-에톡시-2-(3-메톡시페닐)-N-[5-[[[(3R)-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드(25 mg, 37%). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, 30°C) δ 1.17 (3H, t), 1.99 - 2.09 (1H, m), 2.22 - 2.32 (1H, m), 2.40 (3H, s), 3.40 - 3.56 (5H, m), 3.69 - 3.73 (1H, m), 3.74 (3H, s), 4.32 - 4.40 (1H, m), 5.04 (1H, s), 6.83 (1H, d), 6.89 (1H, dd), 7.00 - 7.05 (2H, m), 7.22 (1H, d), 7.28 (1H, t), 7.65 (1H, d), 12.10 (1H, s). m/z: ES⁺ [M+H]⁺ 470.

[0163] 제2 용출된 이성질체 실시예 4(b) 2-에톡시-2-(3-메톡시페닐)-N-[5-[[[(3R)-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드(25 mg, 37%). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, 30°C) δ 1.17 (3H, t), 1.97 - 2.09 (1H, m), 2.21 - 2.31 (1H, m), 2.40 (3H, s), 3.39 - 3.56 (5H, m), 3.70 - 3.73 (1H, m), 3.74 (3H, s), 4.33 - 4.40 (1H, m), 5.04 (1H, s), 6.84 (1H, d), 6.87 - 6.92 (1H, m), 7.01 - 7.05 (2H, m), 7.23 (1H, d), 7.28 (1H, t), 7.65 (1H, d), 12.11 (1H, s). m/z: ES⁺ [M+H]⁺ 470.

[0164] 실시예 5(a) 및 5(b)

[0165] (2S)-2-(4-플루오로페닐)-2-메톡시-N-[5-[[[(3R)-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드 및 (2R)-2-(4-플루오로페닐)-2-메톡시-N-[5-[[[(3R)-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드



[0166]

[0167] N2-[(3R)-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]-1,3,4-티아디아졸-2,5-디아민(중간체 1, 0.15 g, 0.541 mmol) 및 2-(4-플루오로페닐)-2-메톡시아세트산(중간체 16, 0.1 g, 0.541 mmol)을 N₂ 하에 실온에서 DMF(2 mL)에 용해시켰다. 혼합물은 5분 동안 교반시킨 후 DIPEA(0.34 mL, 1.943 mmol) 및 HATU(0.21 g, 0.541 mmol)를 첨가하고, 이어서 실온에서 2시간 동안 교반시켰다. 이후 조 혼합물을 5 g SCX 컬럼을 통과시키고, MeOH로 세척한 후 MeOH 중 2 N NH₃으로 용출시켰다. 염기성 분획을 감압 하에서 증발시켜 오렌지색 검을 얻었고, 이를 제조용 HPLC(선파이어 C18 컬럼, 5 μm, 50 mm x 19 mm, 유속 25 mL/분)로 정제하였다. 감소하는 극성 비의, 0.1% 포름산을 함유하는 물 및 MeCN을 이동상으로 사용하였다. 순수한 분획을 합하고, 감압 하에서 증발시키고, 2 g SCX 컬럼을 통과시키고, MeOH로 세척한 후 MeOH 중 2 N NH₃으로 용출시켰다. 염기성 분획을 증발 건조시켜 부분입체이성질체의 혼합물을 황백색 발포체로서 제공하였다. 부분입체이성질체를 제조용 HPLC(아미(Amy)-C 컬럼, 5 μm, 20 mm x 250 mm, 21 mL/분에서 0.1% v/v NH₃ 조절제를 함유하는 2:3 헵탄:EtOH)로 분리하여 하기를 얻었다:

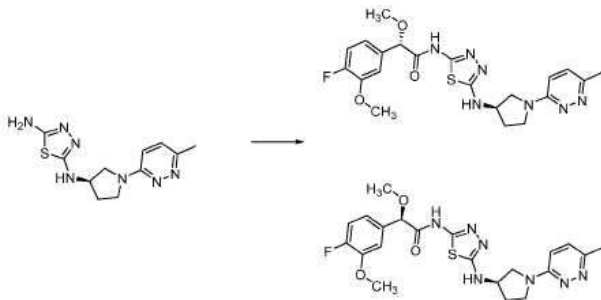
[0168] 제1 용출된 이성질체 실시예 5(a) 2-(4-플루오로페닐)-2-메톡시-N-[5-[[[(3R)-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드(55.3 mg, 23.0%). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, 21°C) δ 2.04 (1H, dq), 2.26 (1H, dt), 2.41 (3H, s), 3.30 (3H, s), 3.57 - 3.41 (3H, m), 3.72 (1H, dd), 4.36 (1H, q), 4.98 (1H, s), 6.83 (1H, d), 7.22 (3H, ddd), 7.55 - 7.44 (2H, m), 7.66 (1H, d), 12.28 (s, 1H).

m/z : $ES^+ [M+H]^+$ 444.

[0169] 제2 용출된 이성질체 실시예 5(b) 2-(4-플루오로페닐)-2-메톡시-*N*-[5-[[*(3R)*-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드(59.2 mg, 24.7%). 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6 , 21°C) δ 2.04 (1H, dq), 2.31 - 2.23 (1H, m), 2.41 (3H, s), 3.30 (3H, s), 3.44 (1H, dd), 3.59 - 3.49 (2H, m), 3.71 (1H, dd), 4.36 (1H, q), 4.97 (1H, s), 6.82 (1H, d), 7.22 (3H, ddd), 7.53 - 7.46 (2H, m), 7.64 (1H, d), 12.28 (1H, s). m/z : $ES^+ [M+H]^+$ 444.

[0170] 실시예 6(a) 및 6(b)

[0171] (2*S*)-2-(4-플루오로-3-메톡시-페닐)-2-메톡시-*N*-[5-[[*(3R)*-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드 및 (2*R*)-2-(4-플루오로-3-메톡시-페닐)-2-메톡시-*N*-[5-[[*(3R)*-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드



[0172]

[0173] *N*2-[[*(3R)*-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]-1,3,4-티아디아졸-2,5-디아민(중간체 1, 200 mg, 0.72 mmol) 및 2-(4-플루오로-3-메톡시-페닐)-2-메톡시-아세트산(중간체 18, 150 mg, 0.72 mmol)을 질소 하에 실온에서 DMF(2 mL)에 용해시켰다. 혼합물을 5분 동안 교반시킨 후 DIPEA(0.34 mL, 1.94 mmol) 및 HATU(0.27 g, 0.72 mmol)를 첨가하고, 이어서 밤새 실온에서 교반시켰다. 조 혼합물을 5 g SCX 컬럼을 통과시키고, MeOH로 세척한 후 MeOH 중 2 M NH_3 으로 용출시켰다. 염기성 분획을 증발시켜 조 생성물을 오렌지색 검으로서 얻었고, 이를 제조용 HPLC(선파이어 C18 컬럼, 5 μ m, 50 mm x 19 mm, 유속 25 mL/분)로 정제하였다. 감소하는 극성 비의, 0.1% 포름산을 함유하는 물 및 MeCN을 이동상으로 사용하였다. 순수한 분획을 합하고, 증발시키고, 2 g SCX 컬럼을 통과시키고, MeOH로 세척한 후 MeOH 중 2 M NH_3 으로 용출시켰다. 염기성 분획을 증발시켜 부분입체이성질체의 혼합물을 황백색 고체로서 얻었다. 이후 부분입체이성질체를 SFC(룩스 C3 컬럼, 5 μ m, 21.2 mm x 250 mm, NH_3 조절제를 함유하는 MeOH/ CO_2 35%, 50 mL/분)로 분리하여 하기를 얻었다:

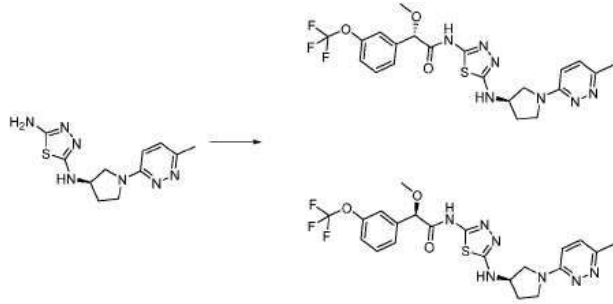
[0174] 제1 용출된 이성질체 실시예 6(a)
2-(4-플루오로-3-메톡시-페닐)-2-메톡시-*N*-[5-[[*(3R)*-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드(34 mg, 10%). 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6 , 21°C) δ 1.98 - 2.12 (1H, m), 2.21 - 2.33 (1H, m), 2.41 (3H, s), 3.32 (3H, s), 3.40 - 3.58 (3H, m), 3.69 - 3.79 (1H, m), 3.84 (3H, s), 4.32 - 4.41 (1H, m), 4.95 (s, 1H), 6.83 (1H, d), 6.98 - 7.05 (1H, m), 7.19 - 7.28 (3H, m), 7.68 (1H, d). m/z : $ES^+ [M+H]^+$ 474.

[0175] 제2 용출된 이성질체 실시예 6(b)
2-(4-플루오로-3-메톡시-페닐)-2-메톡시-*N*-[5-[[*(3R)*-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드(44 mg, 13%). 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6 , 21°C) δ 1.99 - 2.10 (1H, m), 2.23 - 2.34 (1H, m), 2.41 (3H, s), 3.31 (3H, s), 3.41 - 3.48 (1H, m), 3.50 - 3.56 (2H, m), 3.67 - 3.78 (1H, m), 3.84 (3H, s), 4.32 - 4.39 (1H, m), 4.94 (1H, s), 6.82 (1H, d), 6.98 - 7.04 (1H, m), 7.17 - 7.30 (3H, m), 7.65 (1H, d). m/z : $ES^+ [M+H]^+$ 474.

[0176] 실시예 7(a) 및 7(b)

[0177] (2*S*)-2-메톡시-*N*-[5-[[*(3R)*-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]-2-[3-(트리플루오로메톡시)페닐]아세트아미드 및 (2*R*)-2-메톡시-*N*-[5-[[*(3R)*-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아

미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]-2-[3-(트리플루오로메톡시)페닐]아세트아미드



[0178]

[0179]

DIPEA(0.14 mL, 0.81 mmol), HATU(247 mg, 0.65 mmol) 및 2-메톡시-2-[3-(트리플루오로메톡시)페닐]아세트산 (중간체 19, 160 mg, 0.65 mmol)을 DMF(4 mL) 중의 N2-[(3R)-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]-1,3,4-티아디아졸-2,5-디아민(중간체 1, 150 mg, 0.54 mmol)의 용액에 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 18시간 동안 교반시켰다. 이후 이것을 물(5 mL)로 희석한 후 DCM(10 mL)으로 추출하고, 증발시키고, 제조용 HPLC(엑스브릿지 OBD C18 컬럼, 5 μm, 50 mm x 19 mm, 유속은 25 mL/분이었음)로 정제하였다. 감소하는 극성 비의, 0.3 mL/L NH₄OH를 함유하는 물 및 MeCN을 이동상으로 사용하였다. 이후 순수한 분획을 증발시켜 부분입체이성질체의 혼합물을 얻었다. 부분입체이성질체를 제조용 HPLC(아미-C 컬럼, 5 μm, 4.6 mm x 250 mm, NH₃ 조절제를 함유하는 헵탄/EtOH 7/3, 21 mL/분)로 분리하여 하기를 얻었다:

[0180]

제1 용출된 이성질체 실시예 7(a) 2-메톡시-N-[5-[[[(3R)-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]-2-[3-(트리플루오로메톡시)페닐]아세트아미드(50 mg, 18%). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, 21°C) δ 1.96 - 2.11 (1H, m), 2.20 - 2.37 (1H, m), 2.41 (3H, s), 3.34 (3H, s), 3.42 - 3.60 (3H, m), 3.66 - 3.78 (1H, m), 4.37 (1H, q), 5.07 (1H, s), 6.84 (1H, d), 7.23 (1H, d), 7.37 (1H, d), 7.41 - 7.58 (3H, m), 7.72 (1H, d), 12.37 (1H, s). m/z: ES⁺[M+H]⁺ 510.

[0181]

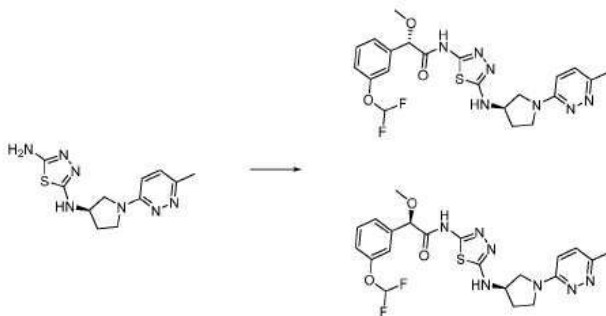
제2 용출된 이성질체 실시예 7(b) 2-메톡시-N-[5-[[[(3R)-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]-2-[3-(트리플루오로메톡시)페닐]아세트아미드(34 mg, 12%). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, 21°C) δ 1.97 - 2.13 (1H, m), 2.20 - 2.34 (1H, m), 2.41 (3H, s), 3.34 (3H, s), 3.39 - 3.60 (3H, m), 3.66-3.77 (1H, m), 4.36 (1H, d), 5.07 (1H, s), 6.83 (1H, d), 7.23 (1H, d), 7.37 (1H, d), 7.43 - 7.60 (3H, m), 7.72 (1H, d), 12.36 (1H, s). m/z: ES⁺[M+H]⁺ 510.

[0182]

실시예 8(a) 및 8(b)

[0183]

(2S)-[3-(디플루오로메톡시)페닐]-2-메톡시-N-[5-[[[(3R)-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드 및 (2R)-[3-(디플루오로메톡시)페닐]-2-메톡시-N-[5-[[[(3R)-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드



[0184]

[0185]

2-[3-(디플루오로메톡시)페닐]-2-메톡시-아세트산(중간체 20, 0.11 g, 0.469 mmol) 및 N2-[(3R)-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]-1,3,4-티아디아졸-2,5-디아민(중간체 1, 0.13 g, 0.469 mmol)을 환저 플라스크 내로 칭량하여 넣었다. DMF(3 mL) 및 DIPEA(0.15 g, 1.172 mmol)를 첨가한 다음 HATU(0.18 g, 0.469 mmol)를 첨가하고, 생성된 용액을 질소 하에 실온에서 15시간 동안 교반되도록 하였다. 용매를 감압 하에서 제거하고, 잔류 검

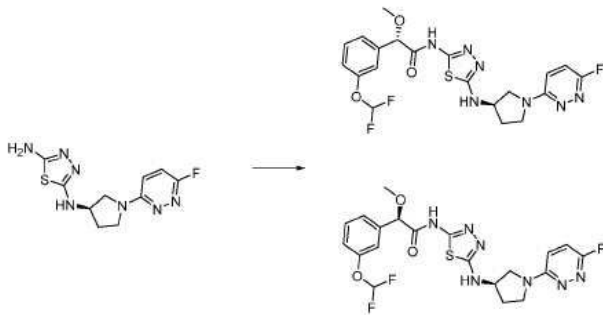
을 DCM에 용해시키고, 실리카 상에 흡수시키고, FCC(SiO₂, DCM 중 0.1% NH₃을 함유하는 1% 내지 10% MeOH)로 정제하였다. 감압 하에서 순수한 분획을 증발시켜 담황색 검을 얻었고, 이를 제조용 키랄 SFC(룩스 C3 컬럼, 5 μm, 21.2 mm x 250 mm, 유속 50 mL/분, 210 nm의 파장에서 용리액으로서 40:60 MeOH:CO₂ + 0.1% NH₃을 사용함)로 분리하여 하기를 얻었다:

[0186] 제1 용출된 이성질체 실시예 8(a) [3-(디플루오로메톡시)페닐]-2-메톡시-N-[5-[[[(3R)-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드(48 mg, 20%). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, 30°C) δ 2.07 - 2.00 (1H, m), 2.31 - 2.22 (1H, m), 2.40 (3H, s), 3.34 (3H, s), 3.58 - 3.41 (3H, m), 3.71 (1H, dd), 4.38 - 4.34 (1H, m), 5.01 (1H, s), 6.83 (1H, d), 7.49 - 7.04 (6H, m), 7.71 (1H, d), 12.31 (1H, s). *m/z*: ES⁺ [M+H]⁺ 492.

[0187] 제2 용출된 이성질체 실시예 8(b) [3-(디플루오로메톡시)페닐]-2-메톡시-N-[5-[[[(3R)-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드(45 mg, 19%). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, 30°C) δ 2.08 - 2.00 (1H, m), 2.34 - 2.21 (1H, m), 2.40 (3H, s), 3.32 (3H, s), 3.57 - 3.42 (3H, m), 3.71 (1H, dd), 4.36 (1H, m), 5.01 (1H, s), 6.82 (1H, d), 7.49 - 7.04 (6H, m), 7.69 (1H, d), 12.26 (1H, s). *m/z*: ES⁺ [M+H]⁺ 492.

[0188] 실시예 9(a) 및 9(b)

[0189] (2S)-2-[3-(디플루오로메톡시)페닐]-N-[5-[[[(3R)-1-(6-플루오로피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]-2-메톡시-아세트아미드 및 (2R)-2-[3-(디플루오로메톡시)페닐]-N-[5-[[[(3R)-1-(6-플루오로피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]-2-메톡시-아세트아미드



[0190] .

[0191] HATU(811 mg, 2.13 mmol)를 N₂ 하에 21°C에서 DMF(12 mL) 중의 2-[3-(디플루오로메톡시)페닐]-2-메톡시-아세트산(중간체 20, 454 mg, 1.96 mmol), N2-[(3R)-1-(6-플루오로피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]-1,3,4-티아디아졸-2,5-디아민(중간체 4, 500 mg, 1.78 mmol) 및 DIPEA(0.31 mL, 1.78 mmol)에 첨가하였다. 생성된 용액을 21°C에서 45분 동안 교반시켰다. 조 생성물을 SCX 컬럼을 사용하여 이온 교환 크로마토그래피로 정제하였다. 목적하는 생성물을 MeOH 중 1 M NH₃을 사용하여 컬럼으로부터 용출시키고, 분획을 검이 될 때까지 증발시켰다. 조 생성물을 FCC(SiO₂, DCM 중 0% 내지 8% MeOH)로 정제하였다. 분획을 증발 건조시켜 고무성(gummy) 고체를 얻었다. 조 생성물을 FCC(SiO₂, EtOAc 중 0% 내지 9% MeOH)로 추가로 정제하였다. 순수한 분획을 증발 건조시키고, DCM/에테르로 분쇄하고, 여과하여 부분입체이성질체의 혼합물을 황색 고체로서 제공하였다(210 mg). 부분입체이성질체를 제조용 HPLC(페노메닉스 룩스 C2 컬럼, 20 μm, 50 mm x 250 mm, 120 mL/분에서 용리액으로서 EtOH를 사용함)로 분리하여 하기를 얻었다:

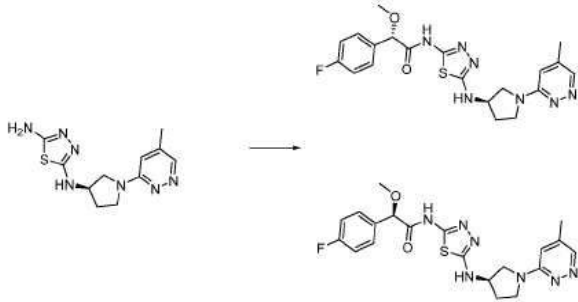
[0192] 제1 용출된 이성질체 실시예 9(a)
(2S)-2-[3-(디플루오로메톡시)페닐]-N-[5-[[[(3R)-1-(6-플루오로피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]-2-메톡시-아세트아미드(72 mg, 8%). ¹H NMR (400 MHz, DMSO, 30°C) δ 2.02 (1H, dd), 2.25 (1H, dq), 3.29 (3H, s), 3.39 - 3.57 (3H, m), 3.70 (1H, dd), 4.34 (1H, d), 4.98 (1H, s), 6.97 - 7.25 (3H, m), 7.27 - 7.35 (2H, m), 7.38 - 7.48 (1H, m), 7.64 (1H, d), 12.19 (1H, s). *m/z*: ES⁻ [M-H]⁻ 494.

[0193] 제2 용출된 이성질체 실시예 9(b)
(2R)-2-[3-(디플루오로메톡시)페닐]-N-[5-[[[(3R)-1-(6-플루오로피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-

티아디아졸-2-일]-2-메톡시-아세트아미드(95 mg, 11%). ¹H NMR (400 MHz, DMSO, 30°C) δ 2.02 (1H, dd), 2.25 (1H, dq), 3.29 (3H, s), 3.39 - 3.57 (3H, m), 3.70 (1H, dd), 4.34 (1H, d), 4.98 (1H, s), 6.97 - 7.25 (3H, m), 7.27 - 7.35 (2H, m), 7.38 - 7.48 (1H, m), 7.64 (1H, d), 12.19 (1H, s). *m/z*: ES⁻ [M-H]⁻ 494.

[0194] 실시예 10(a) 및 10(b)

[0195] (2*S*)-2-(4-플루오로페닐)-2-메톡시-*N*-[5-[[*(3R)*-1-(5-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드 및 (2*R*)-2-(4-플루오로페닐)-2-메톡시-*N*-[5-[[*(3R)*-1-(5-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드



[0196]

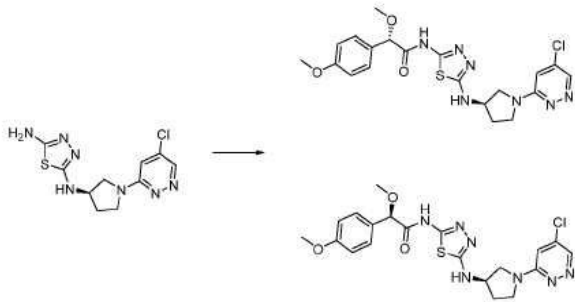
[0197] *N*2-[[*(3R)*-1-(5-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]-1,3,4-티아디아졸-2,5-디아민(중간체 7, 100 mg, 0.36 mmol) 및 2-(4-플루오로페닐)-2-메톡시아세트산(중간체 16, 66 mg, 0.36 mmol)을 N₂ 하에 실온에서 DMF(2.0 mL)에 용해시켰다. 혼합물을 5분 동안 교반시킨 후 DIPEA(0.09 mL, 0.54 mmol) 및 HATU(165 mg, 0.43 mmol)를 첨가하고, 이어서 실온에서 밤새 교반시켰다. 조 혼합물을 5 g SCX 컬럼을 통과시키고, MeOH로 세척한 후 MeOH 중 2 M NH₃으로 용출시켰다. 염기성 분획을 증발시켜 오렌지색 겔을 얻었다. 조 생성물을 제조용 HPLC(선파이어 C18 컬럼, 5 μm, 50 mm x 19 mm, 25 mL/분에서)로 정제하였다. 감소하는 극성 비의, 0.1% 포름산을 함유하는 물 및 MeCN을 이동상으로 사용하였다. 목적하는 질량을 함유하는 분획을 합하고, 증발시키고, 5 g SCX 컬럼을 통과시키고, MeOH로 세척한 후 MeOH 중 2 M NH₃으로 용출시켰다. 염기성 분획을 증발시켜 부분입체이성질체의 혼합물을 황백색 고체로서 얻었다(70 mg). 부분입체이성질체를 제조용 HPLC(룩스 C4 컬럼, 20 μm, 50 mm x 250 mm, 120 mL/분에서 100% MeOH)로 분리하여 하기를 얻었다:

[0198] 제1 용출된 이성질체 실시예 10(a) 2-(4-플루오로페닐)-2-메톡시-*N*-[5-[[*(3R)*-1-(5-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드(25 mg, 16%). ¹H NMR (400 MHz, DMSO, 30°C) 2.01 - 2.11 (1H, m), 2.20 (3H, s), 2.28 (1H, dt), 3.31 (3H, s), 3.48 (1H, dd), 3.52 - 3.61 (2H, m), 3.74 (1H, dd), 4.33 - 4.41 (1H, m), 4.98 (1H, s), 6.69 (1H, s), 7.21 (2H, t), 7.47 - 7.53 (2H, m), 7.63 (1H, d), 8.36 (1H, s), 12.20 (1H, s). *m/z*: ES⁺ [M+H]⁺ 444.

[0199] 제2 용출된 이성질체 실시예 10(b) 2-(4-플루오로페닐)-2-메톡시-*N*-[5-[[*(3R)*-1-(5-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드(26 mg, 17%). ¹H NMR (400 MHz, DMSO, 30°C) 2.00 - 2.1 (1H, m), 2.21 (3H, s), 2.27 (1H, dt), 3.31 (3H, s), 3.45 - 3.60 (3H, m), 3.74 (1H, dd), 4.32 - 4.40 (1H, m), 4.97 (1H, s), 6.69 (1H, d), 7.17 - 7.25 (2H, m), 7.47 - 7.53 (2H, m), 7.59 (1H, d), 8.36 (1H, d). *m/z*: ES⁺ [M+H]⁺ 444.

[0200] 실시예 11(a) 및 11(b)

[0201] (2*S*)-*N*-[5-[[*(3R)*-1-(5-클로로피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]-2-메톡시-2-(4-메톡시페닐)아세트아미드 및 (2*R*)-*N*-[5-[[*(3R)*-1-(5-클로로피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]-2-메톡시-2-(4-메톡시페닐)아세트아미드



[0202]

[0203]

*N*2-[(3*R*)-1-(5-클로로피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]-1,3,4-티아디아졸-2,5-디아민(중간체 9, 100 mg, 0.34 mmol) 및 2-메톡시-2-(4-메톡시페닐)아세트산(중간체 21, 70 mg, 0.34 mmol)을 DMF(2.0 mL)에 용해시키고, DIPEA(0.15 mL, 0.84 mmol) 및 HATU(190 mg, 0.50 mmol)로 처리한 후 실온에서 밤새 교반시켰다. 조 혼합물을 물(10 mL)로 희석하고, DCM(10 mL)으로 추출하였다. 이후 DCM을 증발시키고, 조 생성물을 제조용 HPLC(선파이어 C18 컬럼, 5 μm, 50 mm x 19 mm, 25 mL/분에서)로 정제하였다. 감소하는 극성 비의, 0.1% 포름산을 함유하는 물 및 MeCN을 이동상으로 사용하였다. 목적하는 질량을 함유하는 분획을 합하고, 증발시키고, SCX 컬럼을 통과시키고, MeOH로 세척한 후 MeOH 중 2 M NH₃으로 용출시켰다. 염기성 분획을 증발시켜 부분임체이성질체의 혼합물을 황백색 고체로서 얻었다(35 mg). 부분임체이성질체를 제조용 HPLC(룩스 C4 컬럼, 20 μm, 50 mm x 250 mm, 120 mL/분에서 100% MeOH)로 분리하여 하기를 얻었다:

[0204]

제1 용출된 이성질체 실시예 11(a) *N*-[5-[(3*R*)-1-(5-클로로피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]-2-메톡시-2-(4-메톡시페닐)아세트아미드(12 mg, 7.5%) ¹H NMR (400 MHz, DMSO, 30°C) 2.03 - 2.13 (1H, m), 2.23 - 2.33 (1H, m), 3.49 - 3.63 (3H, m), 3.75 (3H, s), 3.76 - 3.80 (1H, m), 4.33 - 4.42 (1H, m), 4.89 (1H, s), 6.90 - 6.96 (2H, m), 7.10 (1H, d), 7.34 - 7.41 (2H, m), 7.60 (1H, d), 8.55 (1H, d), 12.10 (1H, s); *m/z*: ES⁺ [M+H]⁺ 476. + 3.3 ppm에서 물 피크에 의해 가려진 3H

[0205]

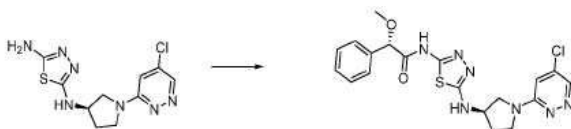
제2 용출된 이성질체 실시예 11(b) *N*-[5-[(3*R*)-1-(5-클로로피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]-2-메톡시-2-(4-메톡시페닐)아세트아미드(15 mg, 9.4%). ¹H NMR (400 MHz, DMSO, 30°C) 2.01 - 2.12 (1H, m), 2.22 - 2.31 (1H, m), 3.27 (3H, s), 3.47 - 3.62 (3H, m), 3.75 (3H, s), 3.76 - 3.79 (1H, m), 4.33 - 4.42 (1H, m), 4.86 (1H, s), 6.89 - 6.96 (2H, m), 7.10 (1H, d), 7.34 - 7.41 (2H, m), 7.51 (1H, d), 8.55 (1H, d). *m/z*: ES⁺ [M+H]⁺ 476.

[0206]

실시예 12

[0207]

(2*S*)-*N*-[5-[(3*R*)-1-(5-클로로피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]-2-메톡시-2-페닐-아세트아미드



[0208]

[0209]

DIPEA(0.04 mL, 0.20 mmol), *N*2-[(3*R*)-1-(5-클로로피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]-1,3,4-티아디아졸-2,5-디아민(중간체 9, 40 mg, 0.13 mmol) 및 (2*S*)-2-메톡시-2-페닐아세트산(20 mg, 0.13 mmol)을 DMF(2 mL) 중의 HATU(61 mg, 0.16 mmol)의 용액에 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 18시간 동안 교반시켰다. 이후 이것을 물(5 mL)로 희석한 후 DCM(10 mL)으로 추출하고, 감압 하에서 증발시켰다. 조 생성물을 제조용 HPLC(선파이어 C18 컬럼, 5 μm, 50 mm x 19 mm, 25 mL/분에서)로 정제하였다. 감소하는 극성 비의, 0.1% 포름산을 함유하는 물 및 MeCN을 이동상으로 사용하였다. 이후 적절한 분획을 증발시키고, 염기성 제조용 크로마토그래피로 다시 정제하였다. 엑스브릿지 컬럼(5 마이크로, C18, 50 mm x 19 mm)을 사용하였다. 감소하는 극성 비의, 0.1% 수산화암모늄을 함유하는 물 및 아세트오닐트릴을 이동상으로 사용하였다. 이후 순수한 분획을 증발시키고, 진공 오븐에서 건조시켜 하기를 제공하였다:

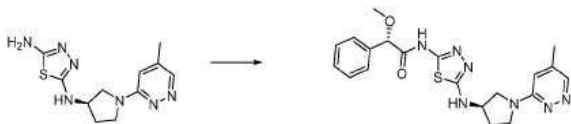
[0210]

백색 고체로서 (2*S*)-*N*-[5-[(3*R*)-1-(5-클로로피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]-2-메톡시-2-페닐-아세트아미드(15 mg, 25%). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, 25°C) δ 1.98 - 2.14 (1H, m), 2.17 -

2.36 (1H, m), 3.30 (3H, s), 3.44 - 3.64 (3H, m), 3.69 - 3.81 (1H, m), 4.28 - 4.42 (1H, m), 4.96 (1H, s), 7.11 (1H, d), 7.30 - 7.47 (5H, m), 7.69 (1H, d), 8.55 (1H, d), 12.24 (1H, s). m/z : ES^+ $[M+H]^+$ 446, 448.

[0211] 실시예 13

[0212] (2S)-2-메톡시-N-[5-[[[(3R)-1-(5-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]-2-페닐-아세트아미드



[0213]

[0214] DIPEA(0.09 mL, 0.54 mmol), HATU(164 mg, 0.43 mmol) 및 (2S)-2-메톡시-2-페닐아세트산(60 mg, 0.36 mmol)을 DMF(2 mL) 중의 N2-[(3R)-1-(5-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]-1,3,4-티아디아졸-2,5-디아민(중간체 7, 100 mg, 0.36 mmol)의 용액에 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반시켰다. 이후 이것을 물(5 mL)로 희석하고, DCM(10 mL)으로 추출하고, 감압 하에서 증발시켰다. 조 생성물을 제조용 HPLC(선파이어 C18 컬럼, 5 μ m, 50 mm x 19 mm, 25 mL/분에서)로 정제하였다. 감소하는 극성 비의, 0.1% 포름산을 함유하는 물 및 MeCN을 이동상으로 사용하였다. 이후 수집된 분획을 메탄올로 세척하면서 SCX 카트리지를 통과시킨 후 메탄올 중 2 M 암모니아로 용출시켰다. 메탄올 중 암모니아를 증발시키고, 잔류물을 진공 오븐에서 건조시켜 하기를 제공하였다:

[0215] 백색 고체로서 (2S)-2-메톡시-N-[5-[[[(3R)-1-(5-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]-2-페닐-아세트아미드(28 mg, 18%). 1H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, 25°C) δ 2.01 - 2.10 (1H, m), 2.19 (3H, s), 2.22 - 2.34 (1H, m), 3.31 (3H, s), 3.42 - 3.60 (3H, m), 3.70 - 3.74 (1H, m), 4.30 - 4.42 (1H, m), 4.98 (1H, s), 6.70 (1H, s), 7.30 - 7.42 (3H, m), 7.43 - 7.49 (2H, m), 7.70 (1H, d), 8.35 (1H, s), 12.26 (1H, s). m/z : ES^+ $[M+H]^+$ 426

[0216] 추가의 실시예

[0217] 하기 실시예의 화합물은 상기 실시예와 유사한 방식으로 제조되었다.

실시예 번호	명칭	MS 데이터
14	(2S)-2-메톡시-N-[5-[[[(3R)-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]-2-페닐-아세트아미드	m/z: ES+ [M+H] ⁺ 425
15	2-에톡시-2-(4-메톡시페닐)-N-[5-[[[(3R)-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드	m/z: ES+ [M+H] ⁺ 470
16	2-에톡시-2-(4-메톡시페닐)-N-[5-[[[(3R)-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드	m/z: ES+ [M+H] ⁺ 470
17	N-[5-[[[(3R)-1-(6-플루오로피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]-2-메톡시-2-[3-(트리플루오로메톡시)페닐]아세트아미드	m/z (ES+), [M+H] ⁺ = 514
18	N-[5-[[[(3R)-1-(6-플루오로피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]-2-메톡시-2-[3-(트리플루오로메톡시)페닐]아세트아미드	m/z (ES+), [M+H] ⁺ = 514
19	2-(4-플루오로페닐)-N-[5-[[[(3R)-1-(6-플루오로피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]-2-메톡시-아세트아미드	m/z (ES+), [M+H] ⁺ = 448;
20	2-(4-플루오로페닐)-N-[5-[[[(3R)-1-(6-플루오로피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]-2-메톡시-아세트아미드	m/z (ES+), [M+H] ⁺ = 448
21	N-[5-[[[(3R)-1-(6-플루오로피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]-2-메톡시-2-(4-메톡시페닐)아세트아미드	m/z (ES-), [M- H] ⁻ = 458
22	N-[5-[[[(3R)-1-(6-플루오로피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]-2-메톡시-2-(4-메톡시페닐)아세트아미드	m/z (ES-), [M- H] ⁻ = 458
23	2-(4-플루오로-3-메톡시-페닐)-N-[5-[[[(3R)-1-(6-플루오로피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]-2-메톡시-아세트아미드	m/z (ES+), [M+H] ⁺ = 478

[0218]

24	2-(4-플루오로-3-메톡시-페닐)- <i>N</i> -[5-[[[(3 <i>R</i>)-1-(6-플루오로피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]-2-메톡시-아세트아미드	<i>m/z</i> (ES+), [M+H] ⁺ = 478
25	2-에톡시-2-(4-플루오로페닐)- <i>N</i> -[5-[[[(3 <i>R</i>)-1-(6-플루오로피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드	<i>m/z</i> (ES+), [M+H] ⁺ = 462
26	2-에톡시-2-(4-플루오로페닐)- <i>N</i> -[5-[[[(3 <i>R</i>)-1-(6-플루오로피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드	<i>m/z</i> (ES+), [M+H] ⁺ = 462
27	2-에톡시-2-(4-플루오로페닐)- <i>N</i> -[5-[[[(3 <i>R</i>)-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드	<i>m/z</i> (ES+), [M+H] ⁺ = 458
28	2-에톡시-2-(4-플루오로페닐)- <i>N</i> -[5-[[[(3 <i>R</i>)-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드	<i>m/z</i> (ES+), [M+H] ⁺ = 458
29	2-메톡시-2-(4-메톡시페닐)- <i>N</i> -[5-[[[(3 <i>R</i>)-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드	<i>m/z</i> (ES+), [M+H] ⁺ = 456
30	2-메톡시-2-(4-메톡시페닐)- <i>N</i> -[5-[[[(3 <i>R</i>)-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드	<i>m/z</i> (ES+), [M+H] ⁺ = 456
31	(2 <i>S</i>)-2-메톡시- <i>N</i> -[5-[[[(3 <i>R</i>)-1-(5-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]-2-페닐-아세트아미드	<i>m/z</i> (ES+), [M+H] ⁺ = 426
32	(2 <i>S</i>)- <i>N</i> -[5-[[[(3 <i>R</i>)-1-(5-클로로피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]-2-메톡시-2-페닐-아세트아미드	<i>m/z</i> (ES+), [M+H] ⁺ = 446

[0219]

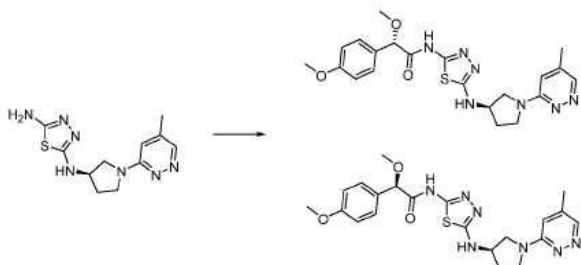
[0220]

[0221]

실시예 33(a) 및 33(b)

(2*R*)-2-메톡시-2-(4-메톡시페닐)-*N*-[5-[[[(3*R*)-1-(5-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드

(2*S*)-2-메톡시-2-(4-메톡시페닐)-*N*-[5-[[[(3*R*)-1-(5-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]아미노]-1,3,4-티아디아졸-2-일]아세트아미드



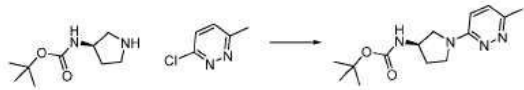
[0222]

[0223]

*N*2-[(3*R*)-1-(5-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]-1,3,4-티아디아졸-2,5-디아민(중간체 7, 0.05 g, 0.173 mmol) 및 *N*-[(디메틸아미노)(3*H*-[1,2,3]트리아졸로[4,5-*b*]피리딘-3-일옥시)메틸렌]-*N*-메틸메틸아미늄 헥사플루오로포스페이트, HATU(0.08 g, 0.208 mmol)를 N₂ 하에 실온에서 DMF(2 mL)에 용해시켰다. 혼합물을 5분 동안 교반시킨 후 2-메톡시-2-(4-메톡시페닐)아세트산(중간체 21, 0.04 g, 0.173 mmol) 및 DIPEA(0.05 mL, 0.26 mmol)를 첨가하였다. 반응물을 N₂ 하에 실온에서 밤새 교반시켰다. 조 혼합물을 5 g SCX 컬럼을 통과시키고, MeOH로 세척한 후 MeOH 중 2 M NH₃으로 용출시켰다. 염기성 분획을 감압 하에서 증발시켜 순수하지 않은 생성물

[0235] *tert*-부틸 *N*-[(3*R*)-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]카바메이트

[0236]



[0237]

DIPEA(8.49 mL, 48.62 mmol), *tert*-부틸 *N*-[(3*R*)-피롤리딘-3-일]카바메이트(3.62 g, 19.45 mmol), 3-클로로-6-메틸피리다진(2.5 g, 19.45 mmol) 및 *n*-부탄올(30 mL)의 혼합물을 130°C에서 12시간 동안 교반시킨 후 주말 동안 냉각되도록 두었다. 반응 혼합물을 증발시키고, 조 생성물을 FCC(SiO₂, EtOAc 중 0% 내지 10% MeOH 중 1 M NH₃)로 정제하였다. 순수한 분획을 증발 건조시켜 *tert*-부틸 *N*-[(3*R*)-1-(6-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]카바메이트(2.1 g, 38.8%)를 황색 고체로서 제공하였다. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, 27°C) δ 1.39 (9H, s), 1.88 (1H, m), 2.14 (1H, m), 2.40 (3H, s), 3.23 (1H, m), 3.37 - 3.45 (1H, m), 3.47 - 3.58 (1H, m), 3.61 (1H, m), 3.99 - 4.2 (1H, m), 6.77 (1H, d), 7.20 (2H, m); *m/z*: ES⁺ [M+H]⁺ 279.

[0238]

중간체 4

[0239]

*N*2-[(3*R*)-1-(6-플루오로피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]-1,3,4-티아디아졸-2,5-디아민

[0240]



[0241]

DIPEA(3.48 mL, 19.96 mmol)를 실온에서 무수 DMF(40 mL) 중의 5-브로모-1,3,4-티아디아졸-2-아민(1.797 g, 9.98 mmol) 및 (3*R*)-1-(6-플루오로피리다진-3-일)피롤리딘-3-아민(중간체 5, 2 g, 10.98 mmol)에 첨가하였다. 생성된 용액을 80°C에서 4시간 동안 교반시켰다. 조 생성물을 SCX 컬럼을 사용하여 이온 교환 크로마토그래피로 정제하였다. 목적하는 생성물을 MeOH 중 1 M NH₃을 사용하여 컬럼으로부터 용출시키고, 순수한 분획을 증발 건조시켜 *N*2-[(3*R*)-1-(6-플루오로피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]-1,3,4-티아디아졸-2,5-디아민(2.9 g, 103%)을 갈색 고체로서 제공하였다. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, 30°C) δ 1.90 - 2.12 (1H, m), 2.23 (1H, dtd), 3.42 (1H, dd), 3.47 - 3.61 (2H, m), 3.69 (1H, dd), 4.25 (1H, dq), 6.25 (2H, s), 7.04 (1H, d), 7.14 (1H, dd), 7.33 (1H, dd). *m/z*: ES⁺ [M+H]⁺ 282.

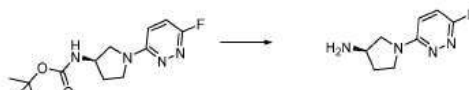
[0242]

중간체 5

[0243]

(3*R*)-1-(6-플루오로피리다진-3-일)피롤리딘-3-아민

[0244]



[0245]

tert-부틸 *N*-[(3*R*)-1-(6-플루오로피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]카바메이트(중간체 6, 6 g, 21.25 mmol)를 25°C에서 DCM(70 mL) 및 TFA(14.00 mL)에 첨가하였다. 생성된 용액을 25°C에서 4시간 동안 교반시켰다. 조 생성물을 SCX 컬럼을 사용하여 이온 교환 크로마토그래피로 정제하였다. 목적하는 생성물을 MeOH 중 1 M NH₃을 사용하여 컬럼으로부터 용출시키고, 순수한 분획을 증발 건조시켜 (3*R*)-1-(6-플루오로피리다진-3-일)피롤리딘-3-아민(2.0 g, 52%)을 담황색 고무성 고체로서 제공하였다. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, 30°C) δ 1.55 - 1.83 (1H, m), 1.98 - 2.13 (1H, m), 2.89 - 3.14 (1H, m), 3.29 - 3.43 (1H, m), 3.54 (3H, ddt), 7.06 (1H, dd), 7.30 (1H, dd). *m/z*: ES⁺ [M+H]⁺ 183.

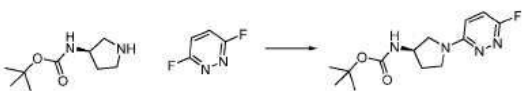
[0246]

중간체 6

[0247]

tert-부틸 *N*-[(3*R*)-1-(6-플루오로피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]카바메이트

[0248]



[0249] 3,6-디플루오로피리다진(6.06 g, 52.21 mmol) *tert*-부틸 *N*-[(3*R*)-피롤리딘-3-일]카바메이트(9.72 g, 52.21 mmol), DIPEA(22.80 mL, 130.53 mmol) 및 *n*-부탄올(140 mL)의 혼합물을 130°C에서 10시간 동안 교반시켰다. 반응 혼합물을 EtOAc(750 mL)로 희석하고, 물(150 mL)로 2회 세척하였다. 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 증발시켜 조 생성물을 제공하였다. 이후 이것을 DCM에 용해시키고, 조 생성물을 FCC(SiO₂, 헵탄 중 30% 내지 65% EtOAc)로 정제하였다. 순수한 분획을 증발 건조시켜 *tert*-부틸 *N*-[(3*R*)-1-(6-플루오로피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]카바메이트(15 g, 102%)를 크림색 고체로서 제공하였다. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 30°C) δ 1.46 (9H, s), 1.91 - 2.13 (1H, m), 2.32 (1H, dq), 3.40 (1H, dd), 3.56 - 3.72 (2H, m), 3.78 (1H, dd), 4.37 (1H, s), 4.70 (1H, s), 6.78 (1H, dd), 6.98 (1H, dd). *m/z*: ES⁺ [M+H]⁺ 283.

[0250] 중간체 7

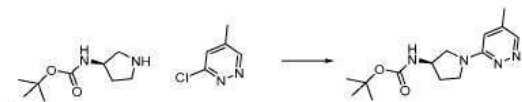
[0251] *N*2-[(3*R*)-1-(5-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]-1,3,4-티아디아졸-2,5-디아민



[0253] *tert*-부틸 (3*R*)-3-[(5-메틸피리다진-3-일)아미노]피롤리딘-1-카복실레이트(중간체 8, 200 mg, 0.72 mmol)를 DCM(5 mL)에 용해시키고, TFA(5 mL)로 처리하였다. 이를 실온에서 2시간 동안 교반되도록 둔 후 증발 건조시켜 황색 오일을 얻었다. 이후 이것을 아세트니트릴(5 mL)에 용해시키고, DIPEA(0.38 mL, 2.15 mmol)로 처리한 다음 5-브로모-1,3,4-티아디아졸-2-일아민(130 mg, 0.72 mmol)으로 처리한 후 3시간 동안 80°C까지 가열하였다. 반응 혼합물을 증발시키고, FCC(SiO₂, DCM 중 0% 내지 10% MeOH 중 2 M NH₃)로 정제하였다. 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 증발시켜 *N*2-[(3*R*)-1-(5-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]-1,3,4-티아디아졸-2,5-디아민(100 mg, 50%)을 얻었다. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, 25°C) δ 1.99 - 2.05 (1H, m), 2.18 - 2.31 (4H, m), 3.38 - 3.58 (3H, m), 3.67 - 3.71 (1H, m), 4.19 - 4.30 (1H, m), 6.31 (2H, s), 6.70 (1H, s), 7.09 (1H, d), 8.36 (1H, s). *m/z*: ES⁺ [M+H]⁺ 278.

[0254] 중간체 8

[0255] *tert*-부틸 (3*R*)-3-[(6-클로로피리다진-3-일)아미노]피롤리딘-1-카복실레이트



[0257] *tert*-부틸 *N*-[(3*R*)-피롤리딘-3-일]카바메이트(250 mg, 1.34 mmol)를 1-부탄올(2 mL)에 용해시키고, 3-클로로-5-메틸피리다진(DCM 중 0.25 M, 2.68 mL, 1.34 mmol)으로 처리한 다음 DIPEA(0.48 mL, 2.68 mmol)로 처리하였다. 혼합물을 2시간 동안 140°C까지 가열하였다. 반응 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 물(10 mL)로 희석하고, DCM(10 mL)으로 추출하였다. 용매를 증발시키고, 잔류물을 FCC(SiO₂, DCM 중 0% 내지 10% 메탄올)로 정제하였다. 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 증발시켜 *tert*-부틸 *N*-[(3*R*)-1-(5-메틸피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]카바메이트(200 mg, 53%)를 얻었다. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, 25°C) δ 1.40 (9H, s), 1.85-1.93 (1H, m), 2.07 - 2.18 (1H, m), 2.20 (3H, s), 3.24 - 3.28 (1H, m), 3.38 - 3.48 (1H, m), 3.48 - 3.59 (1H, m), 3.60 - 3.65 (1H, m), 4.10 - 4.15 (1H, m), 6.67 (1H, s), 7.24 (1H, d), 8.35 (1H, d). *m/z*: ES⁺ [M+H]⁺ 279.

[0258] 중간체 9

[0259] *N*2-[(3*R*)-1-(5-클로로피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]-1,3,4-티아디아졸-2,5-디아민

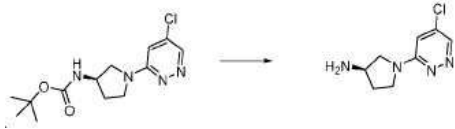


[0260]

[0261] (3R)-1-(5-클로로피리다진-3-일)피롤리딘-3-아민(중간체 10, 50 mg, 0.25 mmol)을 아세트니트릴(5 mL)에 용해시키고, DIPEA(0.07 mL, 0.38 mmol)로 처리한 다음 5-브로모-1,3,4-티아디아졸-2-일아민(50 mg, 0.25 mmol)으로 처리하고, 3시간 동안 80°C까지 가열하였다. 이후 반응 혼합물을 증발시키고, FCC(SiO₂, DCM 중 0% 내지 10% MeOH 중 2 M NH₃)로 정제하였다. 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 증발시켜 N₂-[(3R)-1-(5-클로로피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]-1,3,4-티아디아졸-2,5-디아민을 얻었고, 이를 다음 단계에서 바로 사용하였다(50 mg, 66%). *m/z*: ES⁺ [M+H]⁺ 298, 300.

[0262] 중간체 10

[0263] (3R)-1-(5-클로로피리다진-3-일)피롤리딘-3-아민

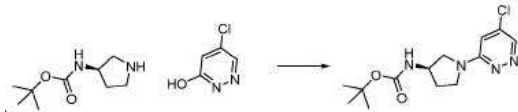


[0264]

[0265] *tert*-부틸 N-[(3R)-1-(5-클로로피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]카바메이트(중간체 11, 77 mg, 0.25 mmol)를 DCM(1 mL)에 용해시키고, TFA(1 mL)로 처리하고, 실온에서 2시간 동안 교반되도록 두었다. 이후 이를 증발 건조시키고, SCX 카트리지를 통과시키고, 메탄올로 세척하고, 2 M 메탄올성 암모니아로 용출시켰다. 염기성 분획을 증발시켜 (3R)-1-(5-클로로피리다진-3-일)피롤리딘-3-아민을 얻었고, 이를 다음 단계에서 바로 사용하였다(50 mg, 99%). *m/z*: ES⁺ [M+H]⁺ 199, 201.

[0266] 중간체 11

[0267] *tert*-부틸 N-[(3R)-1-(5-클로로피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]카바메이트

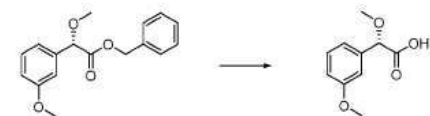


[0268]

[0269] 5-클로로피리다진-3-올(0.2 g, 1.53 mmol)을 DCM(2 mL) 및 트리에틸아민(0.47 mL, 3.37 mmol)에 용해시키고, -20°C까지 냉각시켰다. 이후 이것을 트리플루오로메탄설폰산 무수물(DCM 중 1 M, 3.22 mL, 3.22 mmol)로 적가 처리하였다. 이후 반응 혼합물을 실온까지 서서히 되돌아오도록 하였다. 물(10 mL)을 첨가하여 이것을 쉐이크시키고, DCM(10 mL)으로 추출하였다. 유기 층을 1 M HCl(10 mL)로 세척하고, 건조시키고(MgSO₄), 여과하고, 증발시켜 (5-클로로피리다진-3-일) 트리플루오로메탄설포네이트를 얻었다. 이후 이것을 DMF(2 mL)에 용해시키고, 0°C까지 냉각시킨 후 트리에틸아민(0.21 mL, 1.53 mmol) 및 *tert*-부틸 N-[(3R)-피롤리딘-3-일]카바메이트(290 mg, 1.53 mmol)로 처리하였다. 이후 이것을 실온까지 되돌아오도록 하고, 물(20 mL)로 희석하고, DCM(20 mL)으로 추출하였다. 유기 층을 증발시키고, FCC(SiO₂, DCM 중 0% 내지 10% MeOH)로 정제하였다. 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 증발시켜 *tert*-부틸 N-[(3R)-1-(5-클로로피리다진-3-일)피롤리딘-3-일]카바메이트(77 mg, 17%)를 얻었다. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, 25°C) δ 1.40 (9H, s), 1.84 - 1.99 (1H, m), 2.05 - 2.20 (1H, m), 3.32 - 3.34 (1H, m), 3.42 - 3.60 (2H, m), 3.60 - 3.73 (1H, m), 4.00 - 4.28 (1H, m), 7.08 (1H, d), 7.26 (1H, d), 8.55 (1H, d). *m/z*: ES⁺ [M+H]⁺ 299, 301.

[0270] 중간체 12

[0271] (2S)-2-메톡시-2-(3-메톡시페닐)아세트산



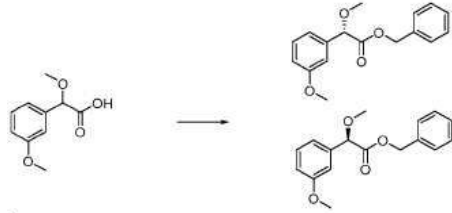
[0272]

[0273] 에탄올(250 mL) 중의 벤질 (2S)-2-메톡시-2-(3-메톡시페닐)아세테이트(중간체 13(a), 7.85 g, 27.42 mmol) 및 C상 10% Pd(1 g, 27.42 mmol)를 수소 분위기 하에 주위 온도에서 4시간 동안 교반시켰다. 반응 혼합물을 셀라이트를 통해 여과하고, 이를 MeOH로 세척하였다. 이후 유기 층을 증발시켜 (2S)-2-메톡시-2-(3-메톡시페닐)아세트

산을 투명한 오일로서 얻었다(6.0 g, 112%, 일부 MeOH를 함유함). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, 30°C) δ 3.29 (3H, s), 3.74 (3H, s), 4.72 (1H, s), 6.77 - 7.06 (3H, m), 7.28 (1H, t), 12.77 (1H, s).

[0274] 중간체 13(a)

[0275] **벤질 (2S)-2-메톡시-2-(3-메톡시페닐)아세테이트**



[0276]

[0277] 벤질 브로마이드(7.81 mL, 65.75 mmol)를 질소 하에 21°C에서 DMF(200 mL) 중의 2-메톡시-2-(3-메톡시페닐)아세트산(중간체 14, 10.75 g, 54.79 mmol), 탄산칼륨(11.36 g, 82.19 mmol)에 적가하였다. 생성된 혼합물을 85°C에서 4시간 동안 교반시킨 후 주말 동안 주위 온도에서 교반시키면서 두었다. 반응 혼합물을 EtOAc(600 mL)로 희석하고, 물(200 mL)로 2회 세척하였다. 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 증발시켜 조 생성물을 제공하였고, 이를 FCC(SiO₂ 헵탄 중 10% 내지 25% EtOAc)로 정제하였다. 순수한 분획을 증발 건조시켜 무색 오일을 제공하였다. (10.5 g).

[0278] 벤질 브로마이드(5.59 mL, 47.09 mmol)를 질소 하에 21°C에서 DMF(150 mL) 중의 2-메톡시-2-(3-메톡시페닐)아세트산(중간체 14, 7.7 g, 39.25 mmol), 탄산칼륨(8.14 g, 58.87 mmol)에 적가하였다. 생성된 혼합물을 85°C에서 4시간 동안 교반시킨 후 주말 동안 주위 온도에서 교반시키면서 두었다.

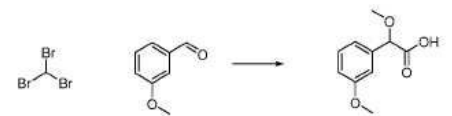
[0279] 이후 반응물을 추가 4시간 동안 85°C에서 가열한 후 실온까지 냉각시켰다. 반응 혼합물을 EtOAc(500 mL)로 희석하고, 물(200 mL)로 2회 세척하였다. 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 증발시켜 조 생성물을 제공하였다. 조 생성물을 FCC(SiO₂ 헵탄 중 10% 내지 25% EtOAc)로 정제하였다. 순수한 분획을 증발 건조시켜 담황색 오일을 제공하였다(6 g). 2개의 반응물로부터의 생성물을 합하고, 에난티오머를 키랄 HPLC로 분리하였다. (키랄팩(Chiralpak) OD 컬럼, 20 μm, 100 mm x 250 mm, 250 mL/분에서 용리액으로서 헵탄:EtOH의 95/5 혼합물을 사용함). 목적하는 화합물을 함유하는 분획을 증발 건조시켜 하기를 제공하였다:

[0280] 제1 용출된 이성질체 **중간체 13(a)** 벤질 (2S)-2-메톡시-2-(3-메톡시페닐)아세테이트(7.86 g, 39%). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, 27°C) δ 3.37 (3H, s), 3.78 (3H, s), 5.02 (1H, s), 5.20 (2H, s), 6.75 - 7.10 (3H, m), 7.20 - 7.52 (6H, m).

[0281] 제2 용출된 이성질체 **중간체 13(b)** 벤질 (2R)-2-메톡시-2-(3-메톡시페닐)아세테이트(7.9 g, 39%). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, 27°C) δ 3.37 (3H, s), 3.78 (3H, s), 5.02 (1H, s), 5.20 (2H, s), 6.75 - 7.10 (3H, m), 7.20 - 7.52 (6H, m).

[0282] 중간체 14

[0283] **2-메톡시-2-(3-메톡시페닐)아세트산**



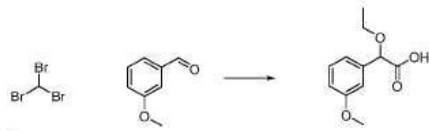
[0284]

[0285] MeOH(10 mL) 중의 수산화칼륨(2.267 g, 40.40 mmol) 용액을 0°C에서 MeOH(5.00 mL) 중의 3-메톡시벤즈알데히드(1 g, 7.34 mmol) 및 브로모포름(0.771 mL, 8.81 mmol)의 교반 혼합물에 소 분획으로 2시간 동안 첨가하였다. 이후 혼합물을 실온까지 가온되도록 하고, 밤새 교반되도록 두었다. 고형물을 감압 하에서 여과하면서, 고형물을 MeOH(15 mL)로 세정하였다. 여액을 진한 백색 페이스트가 될 때까지 증발시킨 후 물(50 mL)에 재-용해시켰다. 이후 이것을 Et₂O(50 mL)로 세척한 후 수성 부분을 pH 2까지 산성화시켰다(약 5 mL 2 M HCl 용액). 이후 수성 상을 EtOAc(3 x 50 mL)로 추출하였다. 합한 유기 상을 MgSO₄ 상에서 건조시키고, 여과한 후 용

매를 감압 하에서 증발시켜 2-메톡시-2-(3-메톡시페닐)아세트산을 황색 오일로서 얻었다(1.4 g, 97%). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, 30°C) δ 3.18 (3H, s), 3.75 (3H, s), 4.74 (1H, s), 6.82-7.05 (3H, m), 7.29 (1H, m), 12.78 (1H, s).

[0286] 중간체 15

[0287] 2-에톡시-2-(3-메톡시페닐)아세트산



[0288]

[0289] 0°C에서 에탄올(40 mL) 중의 3-메톡시벤즈알데히드(5.0 g, 36.72 mmol) 및 브로모포름(3.85 mL, 44.06 mmol)의 교반 혼합물에 에탄올(60 mL) 중의 수산화칼륨(11.33 g, 201.98 mmol) 용액을 1시간에 걸쳐 적가하였다. 첨가를 완료한 후 혼합물을 실온에서 밤새 교반되도록 두었다. 침전물이 형성되었고, 이를 여과하여 제거하고, 여액을 증발시켜 페이스트를 얻었고, 이를 물(100 mL)에 용해시키고, EtOAc(2 x 100 mL)로 추출하였다. 이후 수성 상을 2 M HCl로 pH = 2까지 산성화시키고, EtOAc(2 x 100 mL)로 추출하였다. 합한 유기 층을 건조시키고(MgSO₄), 여과하고, 증발시켜 담갈색 오일을 얻었다. 이것을 실리카 상에 흡수시키고, FCC(SiO₂, DCM 중 5% MeOH)로 정제하여 2-에톡시-2-(3-메톡시페닐)아세트산(3.1 g, 40%)을 담갈색 오일로서 얻었다. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 21°C) δ 1.28 (3H, t), 2.09 (1H, s), 3.64 - 3.52 (2H, m), 3.81 (3H, s) 4.86 (1H, s), 6.89 (1H, ddd), 6.99 (1H, m), 7.03 (1H, m), 7.29 (1H, t). *m/z*: ES⁻ [M-H]⁻ 209.

[0290] 중간체 16

[0291] 2-(4-플루오로페닐)-2-메톡시-아세트산



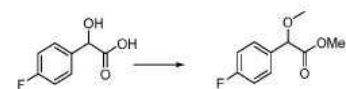
[0292]

[0293] 메틸 2-(4-플루오로페닐)-2-메톡시-아세테이트(중간체 17, 1.32 g, 6.66 mmol)를 메탄올(24 mL)에 용해시키고, 실온에서 교반시켰다. 메탄올(12 mL) 중의 수산화칼륨(0.45 g, 7.992 mmol) 용액을 첨가하고, 혼합물을 실온에서 5시간 동안 교반시켰다.

[0294] 혼합물을 증발 건조시키고, 물과 EtOAc(각각 70 mL) 사이에 분배시켰다. 수성 층을 EtOAc(70 mL)로 세척한 후 2 N 염산으로 pH 2까지 산성화시켰다. 이후 이것을 EtOAc(2 x 100 mL)로 추출하였다. 유기 층을 건조시키고(MgSO₄), 증발시켜 2-(4-플루오로페닐)-2-메톡시-아세트산을 투명한 검으로서 얻었다(1.16 g, 94%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) 3.42 (3H, s) 4.77 (1H, s), 7.10-7.04 (2H, m), 7.44-7.40 (2H, m).

[0295] 중간체 17

[0296] 메틸 2-(4-플루오로페닐)-2-메톡시아세테이트



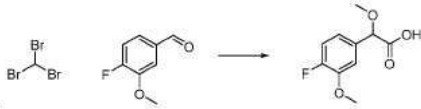
[0297]

[0298] 탄산세슘(7.64 g, 23.45 mmol)을 실온에서 DMF(20 mL)에 용해시키고, 요오도메탄(2.4 mL, 38.55 mmol)을 첨가한 다음, 2-(4-플루오로페닐)-2-하이드록시아세트산(2.0 g, 11.75 mmol)을 첨가하고, 혼합물을 실온에서 48시간 동안 교반시켰다. DMF를 감압 하에서 증발시키고, 잔류물을 EtOAc과 물(각각 75 mL) 사이에 분배시켰다. 유기 층을 물(75 mL)로 세척하고, 건조시키고(MgSO₄), 감압 하에서 증발시키고, FCC(SiO₂, 3:1 사이클로헥산:EtOAc)로 정제하였다. 순수한 분획을 증발 건조시켜 메틸 2-(4-플루오로페닐)-2-메톡시아세테이트(1.68 g, 72%)를 무색 오일로서 제공하였다. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 20°C) δ 3.40 (3H, s), 3.72 (3H, s), 4.76 (1H, s), 7.09

- 7.03 (2H, m), 7.44 - 7.40 (2H, m).

[0299] 중간체 18

[0300] 2-(4-플루오로-3-메톡시-페닐)-2-메톡시-아세트산

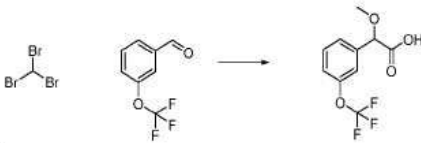


[0301]

[0302] 0°C에서 MeOH(10 mL) 중의 4-플루오로-3-메톡시-벤즈알데히드(1.0 g, 6.48 mmol) 및 브로모포름(0.68 mL, 7.785 mmol)의 교반 혼합물에 MeOH(20 mL) 중의 수산화칼륨(2.0 g, 35.682 mmol) 용액을 1시간 동안 적가하였다. 첨가 후 혼합물을 교반시키고, 밤새 실온까지 가온시켰다. 생성된 침전물을 여과하여 제거하였다. 여액을 증발시켜 페이스트를 얻었고, 이를 물(100 mL)에 용해시키고, EtOAc(2 x 100 mL)로 추출하였다. 이후 수성 상을 2 N HCl로 pH = 2까지 산성화시켰다. 이것을 EtOAc(2 x 100 mL)로 추출하였다. 합한 유기 층을 건조시키고(MgSO₄), 여과하고, 감압 하에서 증발시켜 조 생성물을 제공하였다. 조 생성물을 FCC(SiO₂, DCM 중 0% 내지 5% MeOH)로 추가로 정제하여 2-(4-플루오로-3-메톡시-페닐)-2-메톡시-아세트산(0.66 g, 47%)을 무색 오일로서 얻었다. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 30°C) δ 3.43 (3H, s), 3.90 (3H, s), 4.75 (1H, s), 6.95 - 7.00 (1H, m), 7.10 - 7.04 (2H, m). *m/z*: ES⁻ [M-H]⁻ 213.

[0303] 중간체 19

[0304] 2-메톡시-2-[3-(트리플루오로메톡시)페닐]아세트산

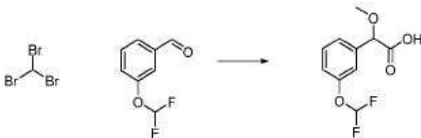


[0305]

[0306] MeOH(10 mL) 중의 수산화칼륨(1.851 g, 33.00 mmol) 용액을 0°C에서 MeOH(5.00 mL) 중의 3-(트리플루오로메톡시)벤즈알데히드(1.141 g, 6 mmol) 및 브로모포름(0.630 mL, 7.20 mmol)의 교반 혼합물에 소 분획으로 2시간 동안 첨가하였다. 이후 혼합물을 실온까지 가온되도록 하였고, 밤새 교반되도록 두었다. 반응 혼합물에 백색 침전물이 형성되었다. 고형물을 감압 하에서 여과하면서 필터 케이크를 MeOH(15 mL)로 세척하였다. 여액을 진한 백색 페이스트가 될 때까지 증발시킨 후 물(50 mL)에 재-용해시켰다. 이후 이것을 Et₂O(50 mL)로 세척하였다. 수성 상을 pH = 2까지 산성화(약 5 mL 2 M HCl 용액)시킨 후 EtOAc(3 x 50 mL)로 추출하였다. 합한 유기 상을 건조시키고(MgSO₄), 여과하고, 감압 하에서 증발시켜 투명한 오일을 얻었다. 조 생성물을 FCC(SiO₂, 헵탄 중 10% 내지 50% EtOAc)로 정제하였다. 순수한 분획을 증발 건조시켜 2-메톡시-2-[3-(트리플루오로메톡시)페닐]아세트산(0.832 g, 55%)을 무색 오일로서 제공하였다. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 30°C) δ 3.47 (3H, s), 4.81 (1H, s), 7.20 - 7.24 (1H, m), 7.33 (1H, s), 7.37 - 7.46 (2H, m). *m/z*: ES⁻ [M-H]⁻ 249.4.

[0307] 중간체 20

[0308] 2-[3-(디플루오로메톡시)페닐]-2-메톡시-아세트산



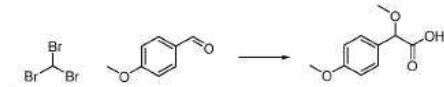
[0309]

[0310] 0°C에서 MeOH(40 mL) 중의 3-(디플루오로메톡시)벤즈알데히드(2.0 g, 11.61 mmol) 및 브로모포름(1.22 mL, 13.94 mmol)의 교반 혼합물에 MeOH(60 mL) 중의 수산화칼륨(3.59 g, 63.90 mmol) 용액을 1시간 동안 적가하였다. 첨가 후 혼합물을 밤새 실온까지 가온하면서 교반되도록 두었다. 침전물을 여과하여 제거하고, 여액을 증발시켜 페이스트를 얻었고, 이를 물(100 mL)에 용해시키고, EtOAc(2 x 75 mL)로 추출하였다. 이후 수성 상을 2 M HCl로 pH = 1까지 산성화시키고, EtOAc(2 x 75 mL)로 추출하였다. 합한 유기 상을 건조시키고(MgSO₄),

여과하고, 증발시켜 담갈색 오일을 얻었다. 이것을 FCC(SiO₂, 95:5 사이클로헥산:EtOAc +0.1% 포름산에서 8:2 EtOAc:사이클로헥산 +0.1% 포름산으로 증가)로 정제하였다. 적절한 분획을 감압 하에서 증발시켜 2-[3-(디플루오로메톡시)페닐]-2-메톡시-아세트산을 무색 오일로서 제공하였다(1.3 g 48%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 21°C) δ 3.46 (3H, s), 4.80 (1H, s), 6.53 (1H, t), 7.10 - 7.15 (1H, m), 7.22 - 7.23 (1H, m), 7.29 - 7.32 (1H, m), 7.39 (1H, t). *m/z*: ES⁻ [M-H]⁻ 231.

[0311] 중간체 21

[0312] 2-메톡시-2-(4-메톡시페닐)아세트산



[0313]

[0314] 0°C에서 MeOH(30 mL) 중의 p-아니스알데히드(3.58 g, 26.29 mmol) 및 브로모포름(2.76 mL, 31.55 mmol)의 교반 혼합물에 MeOH(60 mL) 중의 수산화칼륨(8.12 g, 144.65 mmol) 용액을 30분 동안 적가하였다. 첨가 후 혼합물을 밤새 실온까지 가온하면서 교반되도록 두었다. 다음날 아침 침전물을 여과하여 제거하였다. 여액을 증발시켜 페이스트를 얻었고, 이를 물(100 mL)에 용해시키고, EtOAc(2 x 100 mL)로 추출하여 임의의 남아있는 미반응 출발 알데하이드를 제거하였다. 이후 수성 상을 2 N HCl로 pH = 2까지 산성화시켰다. 이것을 EtOAc(2 x 100 mL)로 추출하였다. 합한 유기 상을 건조시키고(MgSO₄), 여과하고, 증발시켜 2-메톡시-2-(4-메톡시페닐)아세트산을 오렌지색 검으로서 얻었다(3.1 g, 60%). ¹H NMR (400MHz, DMSO, 30°C) 3.27 (3H, s), 3.75 (3H, s), 4.69 (1H, s), 6.93 (2H, d), 7.30 (2H, d), 12.45 (1H, brs). *m/z*: ES⁻ [M-H]⁻ 195.

[0315] 생물학적 검정

[0316] 본원에 기재된 화합물의 효과를 측정하기 위해 하기 검정을 사용하였다: a) GLS 효소 역가 검정(Enzyme Potency Assay); b) GLS 세포 효능 검정(Cell Potency Assay); c) GLS 세포 증식 검정. 검정에 대한 설명 동안, 일반적으로:

[0317] i. 하기 약어를 사용하였다: CO₂ = 이산화탄소; DMEM = 돌베코의 변형된 이글 배지(Dulbecco's Modified Eagle Medium); DMSO = 디메틸 설펝사이드; EDTA = 에틸렌디아민테트라아세트산; EGTA = 에틸렌 글리콜 테트라아세트산; FCS = 태아 상태 송아지 혈청(Foetal calf serum); h = 시간; NBS = 비-결합 표면; SDS = 도데실황산나트륨; TRIS = 트리스(하이드록시메틸)아미노메탄.

[0318] ii. IC₅₀ 값은 Genedata의 스마트 피팅 모델(smart fitting model)을 사용하여 계산하였다. IC₅₀ 값은 생물학적 활성의 50%를 억제하는 시험 화합물의 농도였다.

[0319] 검정 a): GLS 효소 역가 검정

[0320] 시험관내에서 GLS1에 결합하고 이의 활성을 억제하는 화합물의 능력을 측정하기 위해 글루타메이트 옥시다제/엠펙스레드(AmplerRed) 커플링된 검정을 사용하였다. 이. 콜라이(E. Coli)에서 발현된 6His 태깅된(tagged) GLS 단백질(아미노산 63 내지 669)을 정제하고, -80°C에서 분취량으로 저장하였다. GLS1을 2 x 작업 농도로 희석하고, 실온에서 인큐베이션하여 사량체/이량체 형태가 정상 상태에 도달하도록 하였다. 검정 측정은 50 mM 트리스 pH 7.8, 100 mM NaPO₄, pH 7.8, 0.001% v/v 트윈20을 포함하는 완충액에서 수행되었다. 정제된 제조합 GLS1 단백질을 12 nM까지 검정 완충액에서 희석하고, 실온에서 30분 동안 사전-인큐베이션하였다. 시험 화합물은 12 포인트 농도 반응을 위한 정확한 용량 범위를 제공하기 위해 100% DMSO에 희석하여 제조되고, 적절한 용적(2.5 nL 내지 60 nL)을 랩사이트 에코 555 어쿠스틱 디스펜서(Labcyte Echo 555 acoustic dispenser)를 사용하여 384 웰 미량 검정 플레이트(그레이너(Greiner) 제품 코드 784900) 내로 분배하였다. DMSO 농도는 DMSO 용액으로 역 충전하여 2%로 유지되었다. 이후 3 μL의 희석된 GLS1 단백질(12 nM)을 바이오랩티알(BioRaptr) 자동 디스펜서(베크먼-코울터(Beckman-Coulter))를 사용하여 각각의 웰 내로 분배하고, 실온에서 15분 동안 인큐베이션하였다. 이후 검정 완충액으로 희석된 100 mM 글루타민 3 μL를 첨가하고, 반응물을 실온에서 60분 동안 인큐베이션하였다. 이후 100 mM 트리스 pH 7.5 중의 45 μM 6-(2-브로모에티닐)-2,3-디메틸-퀴나졸린-4-온, 75 μM 엠펙스 레드, 0.375 유닛/mL 호스래디쉬 퍼옥시다제(Horseradish Peroxidase), 0.12 유닛/mL 글루타메이트

옥시다제를 첨가하여 반응을 중지시켰다. 어두운 곳에서 실온에서 30분 후, 플레이트를 535/590 nm 광학 필터를 사용하여 퍼킨 엘머 엔비전(Perkin Elmer EnVision)에서 판독하고, 제네데이터를 사용하여 원자료(raw data)를 분석하여 IC₅₀ 값을 얻었다. 검정 성분에 대한 비 특이적 효과를 배제하기 위해 6His 태깅된 GLS 단백질 및 글루타민이 검정 완충액으로 대체된 검정의 인공물 버전을 또한 사용하였다.

[0321] 검정 b): GLS 세포 효능 검정

[0322] 화합물을, 세포 글루타메이트 고갈을 측정하는 PC3 커플링된 검정을 사용하여 세포 GLS 활성을 억제하는 이의 잠재력에 대해 평가하였다. 시험 화합물은, 12 포인트 농도 반응을 위한 정확한 용량 범위를 제공하기 위해 100% DMSO에 희석하여 제조되고, 적절한 용적(5 nL 내지 120 nL)을 랩사이트 에코 555 어쿠스틱 디스펜서를 사용하여 384 웰 미량검정 플레이트(코닝(Corning) 제품 코드 3712) 내로 분배하였다. DMSO 농도는 DMSO 용액으로 역 충전하여 0.3%로 유지되었다. PC3 세포를 페놀이 없는 DMEM, 10% 투석된 FCS, 2 mM 글루타민에서 성장시키고, 트립신처리에 의한 분산 후 분배된 화합물을 함유하는 384 웰 검정 플레이트 내로 40 µL의 성장 배지에서 웰당 5.6×10^3 세포로 직접 플레이트팅하였다. 37°C에서 6시간 동안 인큐베이션 후, 5% CO₂ 성장 배지를 흡인하고, 세포를 10 mM 트리스 pH 7.4, 100 mM NaCl, 1 mM EDTA, 1 mM EGTA, 1 mM NaF, 20 mM Na₄P₂O₇, 2 mM Na₃VO₄, 1% 트리톤 X-100, 10% 글리세롤, 0.1% SDS 및 0.5% 데옥시콜레이트를 함유하는 완충액 15 µL에 용해시켰다. 이후 4 µL의 세포 용해물을 384 웰 NBS 플레이트(코닝 제품 코드 3575)에 옮기고, 35 µL의 27.5 µM 엠플렉스 레드, 0.1375 U/mL 호스래디쉬 퍼옥시다제, 0.044 U/mL 글루타메이트 옥시다제, 100 mM 트리스 pH 7.5를 첨가하였다. 어두운 곳에서 실온에서 30분 후, 플레이트를 535/590 nm 광학 필터를 사용하여 퍼킨 엘머 엔비전에서 판독하고, 전매(proprietary) 소프트웨어를 사용하여 원자료를 분석하여 IC₅₀ 값을 얻었다.

[0323] 검정 c): GLS 세포 증식 검정

[0324] 384 웰 플레이트 NCI-H1703 세포 증식 검정을 사용하여 세포 성장을 억제하는 화합물의 능력을 측정하였다. NCI-H1703 세포를 페놀 레드가 없는 RPMI1640, 10% FCS 및 2 mM 글루타민에서 성장시키고, 투명-바닥 384 웰 검정 플레이트(코닝 제품 코드 3712) 내로 40 µL의 성장 배지에서 웰당 750 세포의 밀도로 시딩하고, 37°C, 5% CO₂에서 24시간 동안 인큐베이션하였다. 시험 화합물은, 12 포인트 농도 반응을 위한 정확한 용량 범위를 제공하기 위해 100% DMSO에 희석하여 제조되고, 적절한 용적(5 nL 내지 120 nL)을 플레이트팅된 세포를 함유하는 검정 플레이트 내로 직접 분배하였다. DMSO 농도는 DMSO 용액으로 역 충전하여 0.3%로 유지되었다. 플레이트를 37°C, 5% CO₂에서 5일 동안 인큐베이션하고, 사이토스 그린(Sytox Green) 및 사포닌을 각각 2 µM 및 0.25%의 최종 농도까지 첨가하고, 분석 전 6시간 동안 인큐베이션하였다. 플레이트를 488 nm 여기, 및 방출용 FITC 필터 세트(500 nm 내지 530 nm)를 사용하여 애큐먼(Acumen) eX3(TTP 랩테크(TTP Labtech))에서 판독하였다. 제네데이터 소프트웨어 분석을 사용하여 1일 제로 성장의 최대 억제에 대해 곡선 피팅하여 IC₅₀ 값을 계산하였다.

[0325] 검정 a) 내지 c)의 결과를 표 1에 나타내었다.

[0326] 표 1. 검정 데이터

실시예	검정 a) 효소 IC ₅₀ μM	검정 b) GLS 세포 MOA 평균 IC ₅₀ μM	검정 c) 중식 평균 IC ₅₀ μM
1(a)	0.0554	0.000566	0.00459
1(b)	0.406	0.137	0.454
2	0.0303	0.000965	0.0167
3	0.0388	0.000384	0.00362
4(a)	0.0792	0.000457	0.00664
4(b)	0.29	0.0431	0.389
5(a)	0.155	0.00278	0.0441
5(b)	0.975	-	1.02
6(a)	0.0827	-	0.0209
6(b)	2.53	0.0736	0.926
7(a)	0.0952	0.000556	0.00308
7(b)	0.334	0.0127	0.0256
8(a)	0.0994	0.0013	0.00548
8(b)	0.643	0.0221	0.117
9(a)	0.0227	0.00056	0.00309
9(b)	0.0989	0.0185	0.469
10(a)	0.0311	0.00105	1.21
10(b)	0.241	0.0179	0.204
11(a)	0.0159	-	0.0544
11(b)	0.0848	0.0105	0.129
12	0.0353	0.000451	0.00307

[0327]

실시예	검정 a) 효소 IC ₅₀ μM	검정 b) GLS 세포 MOA 평균 IC ₅₀ μM	검정 c) 중식 평균 IC ₅₀ μM
13	0.0592	0.000658	0.00848
14	0.0443	0.00104	0.0227
15	0.277	0.0348	0.567
16	0.0809	0.00274	0.055
17	0.0243	0.000251	0.00174
18	0.0653	0.00491	0.0168
19	0.0557	0.0047	0.0719
20	0.323	0.0795	1.27
21	0.223	0.0537	0.93
22	0.0189	0.00245	0.0369
23	0.265	0.197	0.106
24	0.0713	0.00101	0.0116
25	1.09	0.0632	0.686
26	0.0948	0.00212	0.0219
27	2.38	0.0722	1.22
28	0.096	0.00357	0.0732
29	1.28	-	0.586
30	0.119	0.00529	0.0437
31	0.0592	0.000658	0.00848
32	0.0353	0.000451	0.00307
33(a)	0.148	0.0192	0.0189
33(b)	0.0799	0.00235	0.0379

[0328]