(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0172217
(43) 공개일자 2024년12월09일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 409/12 (2006.01) *A61K 31/381* (2006.01)
A61K 31/4025 (2006.01) *A61K 31/404* (2006.01)
A61K 31/4365 (2006.01) *A61K 31/496* (2024.01)
A61P 35/00 (2006.01) *C07D 405/12* (2006.01)
C07D 407/12 (2006.01) *C07D 409/14* (2006.01)
C07D 495/04 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07D 409/12 (2013.01)
A61K 31/381 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2024-7036954
(22) 출원일자(국제) 2023년04월05일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2024년11월05일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2023/058978
(87) 국제공개번호 WO 2023/194458
국제공개일자 2023년10월12일
(30) 우선권주장
22166685.2 2022년04월05일
유럽특허청(EPO)(EP)

(71) 출원인
더블유엠티 에이쥐
독일 69123 하이델베르크 발트호퍼 스트릿 104
(72) 발명자
타라세비츠, 아니카
독일 64673 츠빙겐베르크 오베르토르 14
스티넥, 크리스토프
독일 69120 하이델베르크 베버슈트라세 4/2
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인세움

전체 청구항 수 : 총 27 항

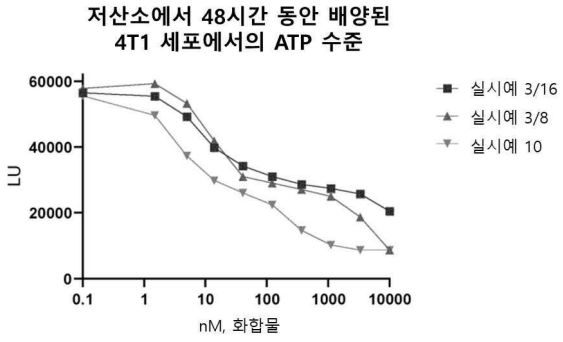
(54) 발명의 명칭 **암 치료를 위한 락테이트/ATP 생성 억제제로서의 N-(3-(벤조[B]티오펜-2-카르복스아미도)-페닐)-2,3-디하이드로벤조[B][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드 유도체 및 관련 화합물**

(57) 요 약

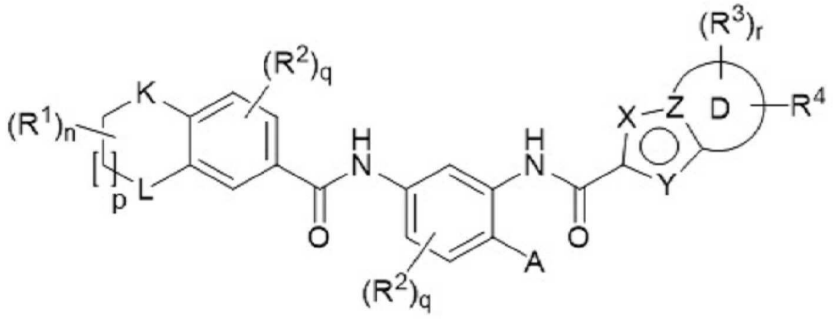
본 발명은 화학식 (I)의 화합물, 또는 이의 거울상이성질체, 부분입체이성질체, N-산화물, 용매화물 또는 약학적

(뒷면에 계속)

대 표 도



으로 허용되는 염에 관한 것이다. 본 발명은 또한 질병 또는 질환, 특히 암을 예방 및/또는 치료하는 방법에 사용하기 위한 화학식 (I)의 화합물에 관한 것이다.



(I)

(52) CPC특허분류
A61K 31/4025 (2013.01)
A61K 31/404 (2013.01)
A61K 31/4365 (2013.01)
A61K 31/496 (2024.01)
A61P 35/00 (2018.01)
C07D 405/12 (2013.01)
C07D 407/12 (2013.01)
C07D 409/14 (2013.01)
C07D 495/04 (2013.01)

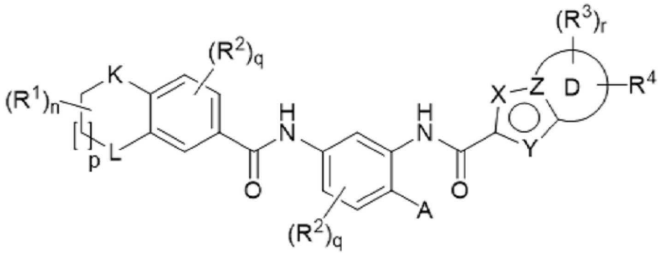
(72) 발명자
레즈친스키, 바르토즈
독일 30167 하노버 크니슈트라세 4
비에이라, 안드레이아
독일 64295 다름슈타트 비르켄베크 16
세치, 스테파노
독일 69226 누스로흐 뮐슈트라세 25
리드, 조지
영국 던디 디디2 아이비엔 윈저 스트리트 20이
차라피차, 이리나
독일 69198 슈리슈하임 파노라마슈트라세 38
파비안, 요하네스
독일 69723 슈베칭겐 자우어브루흐슈트라세 62
크롤, 헬렌
독일 64625 벤스하임 다름슈태터 슈트라세 124
크레모저, 클라우스
독일 69121 하이델베르크 뮐탈슈트라세 121아

명 세 서

청구범위

청구항 1

화학식 (I)의 화합물, 또는 이의 거울상이성질체, 부분입체이성질체, N-산화물, 용매화물 또는 약학적으로 허용되는 염:



(I)

여기서

K는 O, S 또는 $C(R^5)_2$이고;

L은 O, S 또는 $C(R^5)_2$이고;

n은 0, 1, 2, 3 또는 4이고;

p는 1 또는 2이고;

q는 서로 독립적으로 0, 1 또는 2이고;

r은 1 또는 2이고;

A는 C_{1-6}-알킬, 할로겐, CN, 할로-C_{1-6}-알킬, C_{3-6}-사이클로알킬, 할로-C_{3-6}-사이클로알킬, OH, -OC_{1-6}-알킬 또는 O-할로-C_{1-6}-알킬이고;

X는 S, O, NR^6, N 또는 CR^7이고;

Y는 S, O, NR^6, N 또는 CR^7이고;

Z는 C 또는 N이고;

D는 6원 아릴 또는 O, N 및 S로부터 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 헤테로원자를 함유하는 5원 내지 6원 헤테로아릴을 나타내고;

R^1은 F, C_{1-3}-알킬 또는 스피로사이클릭 융합 C_{3-6}-사이클로알킬이고;

R^2는 독립적으로 할로겐 또는 C_{1-6}-알킬이고

R^3은 수소, 할로겐, C_{1-6}-알킬, 할로-C_{1-6}-알킬, C_{3-6}-사이클로알킬, 할로-C_{3-6}-사이클로알킬, -OC_{1-6}-알킬 또는 O-할로-C_{1-6}-알킬이고;

R^4는 수소, 할로겐 또는 V^1-V^2-V^3-V^4-V^5이고,

여기서

V^1은 존재하지 않거나, 결합 또는 C_{1-6}-알킬렌이고;

V^2는 존재하지 않거나, 결합 또는 O, S, $S(O)_x$, $S(O)(=NR^a)$, $S(O)_2NR^a$, NR^a, $NR^aC(O)$ 또는 $C(O)NR^a$이고;

V^3은 존재하지 않거나, 결합 또는 C_{1-6}-알킬렌이고;

여기서 V^1 또는 V^3에서 C_{1-6}-알킬렌은 비치환되거나 OH, C_{1-6}-알킬, C_{1-6}-할로알킬, 할로겐 및 옥소로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 치환기로 치환되거나,

V^1 또는 V^3에서 C_{1-6}-알킬렌에 있는 두 개의 C_{1-6}-알킬 기는 이들이 부착된 탄소 원자와 함께 C_{3-6}-사이클로알킬 기를 형성하고;

V^4는 존재하지 않거나, 결합 또는 O, S, $S(O)_x$, $S(O)(=NR^a)$, $S(O)_2NR^a$, NR^a, $NR^aC(O)$ 또는 $C(O)NR^a$이고;

V^5는 수소, 할로겐, OH, CN, CO_2H, CO_2-C_{1-6}-알킬, $N(R^a)_2$, C_{1-6}-알킬, C_{3-8}-사이클로알킬, O, S 및 N으로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택된 1, 2 또는 3개의 헤테로원자를 함유하는 4원 내지 8원 모노사이클릭 또는 바이사이클릭 헤테로사이클로알킬, 페닐 또는 O, S 및 N으로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택된 1, 2 또는 3개의 헤테로원자를 함유하는 5원 내지 6원 헤테로아릴이고;

여기서 알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 페닐 또는 헤테로아릴은 비치환되거나 CN, CO_2H, CO_2-C_{1-6}-알킬, $N(R^a)_2$, OH, C_{1-6}-알킬, O-C_{1-6}-알킬, C(O)-C_{1-6}-알킬, C_{1-6}-할로알킬, 할로겐, 옥소, 스피로사이클릭 융합 C_{3-6}-사이클로알킬 및 O, S 및 N으로 구성된 군으로부터 선택된 1개의 헤테로원자를 함유하는 스피로사이클릭 융합 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 치환기 R^{V5}로 치환되고;

R^5는 수소, F, C_{1-3}-알킬 또는 스피로사이클릭 융합 C_{3-6}-사이클로알킬이고;

R^6은 수소 또는 C_{1-6}-알킬이고;

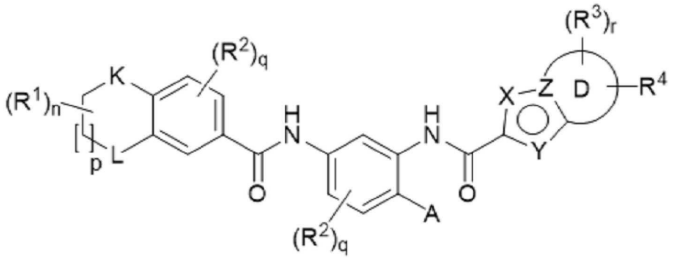
R^7은 수소, 할로겐 또는 C_{1-6}-알킬이고;

R^a는 수소 또는 C_{1-3}-알킬이고;

x는 1 또는 2임.

청구항 2

제1항에 있어서, 화학식 (I)로 표시되는 화합물, 또는 이의 거울상이성질체, 부분입체이성질체, N-산화물, 용매화물 또는 약학적으로 허용되는 염:



(I)

여기서

K는 O, S 또는 $C(R^5)_2$이고;

L은 O, S 또는 $C(R^5)_2$이고;

n은 0, 1, 2, 3 또는 4이고;

p는 1 또는 2이고;

q는 서로 독립적으로 0, 1 또는 2이고;

r은 1 또는 2이고;

A는 C_{1-6}-알킬, 할로겐, CN, 할로-C_{1-6}-알킬, C_{3-6}-사이클로알킬, 할로-C_{3-6}-사이클로알킬, OH, -OC_{1-6}-알킬 또는 O-할로-C_{1-6}-알킬이고;

X는 S, O, NR^6, N 또는 CR^7이고;

Y는 S, O, NR^6, N 또는 CR^7이고;

Z는 C 또는 N이고;

D는 6원 아릴 또는 O, N 및 S로부터 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 헤테로원자를 함유하는 5원 내지 6원 헤테로아릴을 나타내고;

R^1은 F, C_{1-3}-알킬 또는 스피로사이클릭 융합 C_{3-6}-사이클로알킬이고;

R^2는 독립적으로 할로겐 또는 C_{1-6}-알킬이고

R^3은 수소, 할로겐, C_{1-6}-알킬, 할로-C_{1-6}-알킬, C_{3-6}-사이클로알킬, 할로-C_{3-6}-사이클로알킬, -OC_{1-6}-알킬 또는 O-할로-C_{1-6}-알킬이고;

R^4는 수소, 할로겐 또는 V^1-V^2-V^3-V^4-V^5이고,

여기서

V^1은 존재하지 않거나, 결합 또는 C_{1-6}-알킬렌이고;

V^2는 존재하지 않거나, 결합 또는 O, S, $S(O)_x$, $S(O)(=NR^a)$, $S(O)_2NR^a$, NR^a, $NR^aC(O)$ 또는 $C(O)NR^a$이고;

V^3은 존재하지 않거나, 결합 또는 C_{1-6}-알킬렌이고;

여기서 V^1 또는 V^3에서 C_{1-6}-알킬렌은 비치환되거나 C_{1-6}-알킬, C_{1-6}-할로알킬, 할로겐 및 옥소로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 치환기로 치환되거나,

V^1 또는 V^3에서 C_{1-6}-알킬렌에 있는 두 개의 C_{1-6}-알킬 기는 이들이 부착된 탄소 원자와 함께 C_{3-6}-사이클로알킬 기를 형성하고;

V^4는 존재하지 않거나, 결합 또는 O, S, $S(O)_x$, $S(O)(=NR^a)$, $S(O)_2NR^a$, NR^a, $NR^aC(O)$ 또는 $C(O)NR^a$이고;

V^5는 수소, 할로겐, OH, CN, CO_2H, CO_2-C_{1-6}-알킬, $N(R^a)_2$, C_{1-6}-알킬, C_{3-8}-사이클로알킬, O, S 및 N으로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택된 1, 2 또는 3개의 헤테로원자를 함유하는 4원 내지 8원 모노사이클릭 또는 바이사이클릭 헤테로사이클로알킬, 페닐 또는 O, S 및 N으로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택된 1, 2 또는 3개의

헤테로원자를 함유하는 5원 내지 6원 헤테로아릴이고;

여기서 알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 페닐 또는 헤테로아릴은 비치환되거나 CN, CO_2H, CO_2-C_{1-6}-알킬, $N(R^a)_2$, OH, C_{1-6}-알킬, O-C_{1-6}-알킬, C(O)-C_{1-6}-알킬, C_{1-6}-할로알킬, 할로겐, 옥소, 스피로사이클릭 융합 C_{3-6}-사이클로알킬 및 O, S 및 N으로 구성된 군으로부터 선택된 1개의 헤테로원자를 함유하는 스피로사이클릭 융합 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 치환기 R^{V5}로 치환되고;

R^5는 수소, F, C_{1-3}-알킬 또는 스피로사이클릭 융합 C_{3-6}-사이클로알킬이고;

R^6은 수소 또는 C_{1-6}-알킬이고;

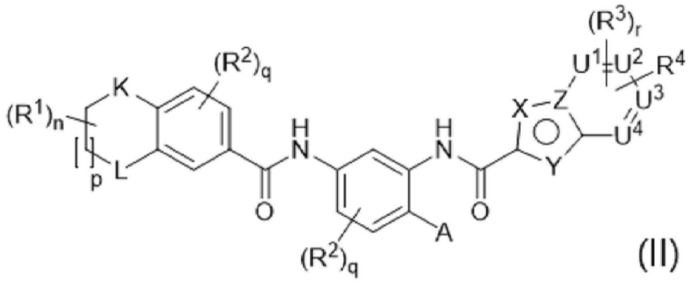
R^7은 수소, 할로겐 또는 C_{1-6}-알킬이고;

R^a는 수소 또는 C_{1-3}-알킬이고;

x는 1 또는 2임.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 화합물은 화학식 (II)로 표시되는 화합물:

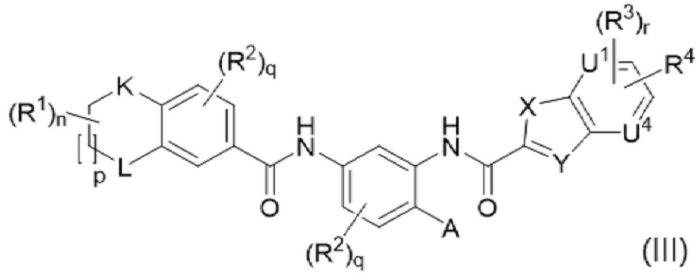


(II)

여기서 U^1, U^2, U^3 및 U^4는 N 및 C로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택됨.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 화합물은 화학식 (III)으로 표시되는 화합물:



(III)

여기서

U^1 및 U^4는 N 및 C로부터 독립적으로 선택되고;

X는 S, O, NR^6 또는 N이고;

Y는 CR^7 또는 N임.

청구항 5

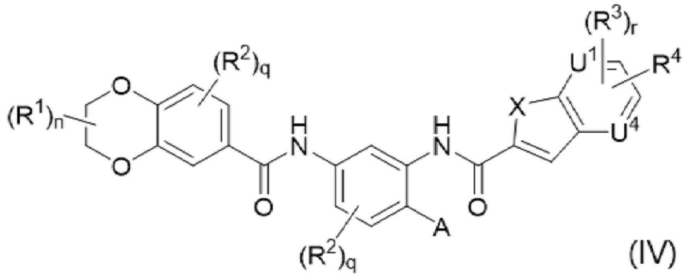
제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, n은 0인 화합물.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, p는 1인 화합물.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 화합물은 화학식 (IV)로 표시되는 화합물:



(IV)

여기서

A는 C_{1-6}-알킬 또는 할로겐이고;

X는 S, O 또는 NH임.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, R^4는 수소, 할로겐 또는 V^1-V^2-V^3-V^4-V^5이고,

여기서 V^1은 존재하지 않거나, 결합 또는 C_{1-4}-알킬렌이고;

V^2는 존재하지 않거나, 결합 또는 O, S, $S(O)_x$, NR^a이고;

V^3은 존재하지 않거나, 결합 또는 C_{1-4}-알킬렌이고;

V^4는 존재하지 않거나, 결합 또는 O, S, $S(O)_x$, NR^a이고;

여기서 V^1 또는 V^3에서 C_{1-4}-알킬렌은 비치환되거나 C_{1-3}-알킬, C_{1-3}-할로알킬, 할로겐 및 옥소로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 치환기로 치환되거나,

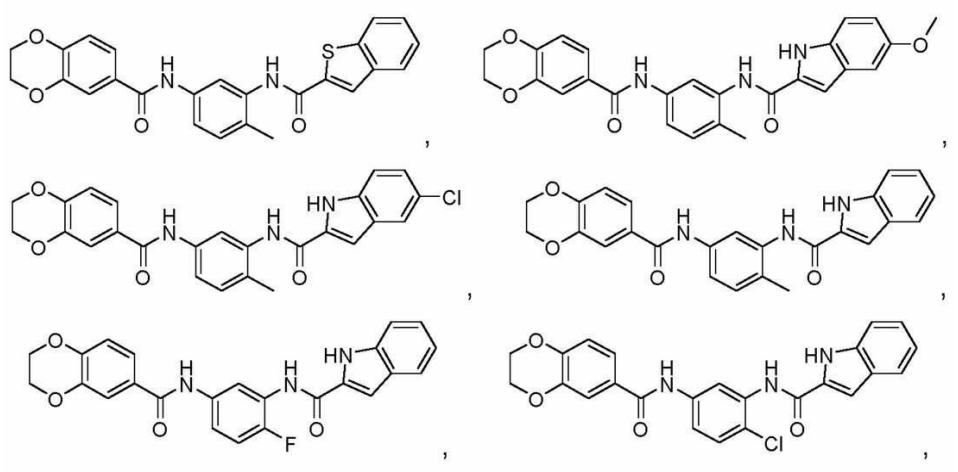
V^1 또는 V^3에서 C_{1-4}-알킬렌에 있는 두 개의 C_{1-6}-알킬 기는 이들이 부착된 탄소 원자와 함께 C_{3-6}-사이클로알킬 기를 형성하고;

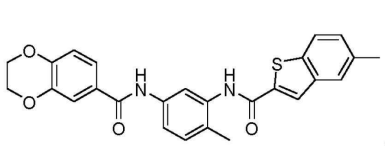
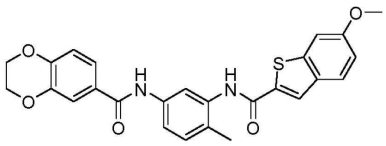
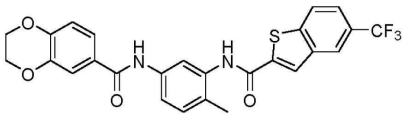
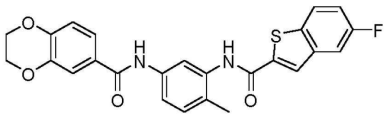
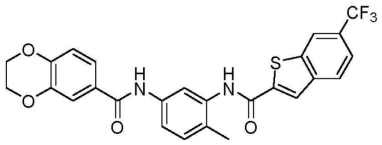
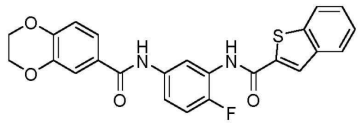
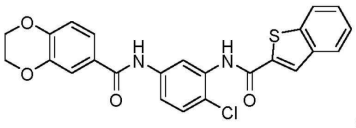
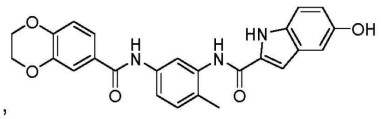
V^5는 수소, 할로겐, OH, CN, C_{1-6}-알킬, C_{3-8}-사이클로알킬, O, S 및 N으로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택된 1, 2 또는 3개의 헤테로원자를 함유하는 4원 내지 8원 모노사이클릭 또는 바이사이클릭 헤테로사이클로알킬, 또는 O, S 및 N으로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택된 1, 2 또는 3개의 헤테로원자를 함유하는 5원 내지 6원 헤테로아릴이고;

여기서 알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 또는 헤테로아릴은 비치환되거나 OH, C_{1-6}-알킬, O-C_{1-6}-알킬, C(O)-C_{1-6}-알킬, C_{1-6}-할로알킬, 할로겐, 옥소, 스피로사이클릭 융합 C_{3-6}-사이클로알킬 및 O, S 및 N으로 구성된 군으로부터 선택된 1개의 헤테로원자를 함유하는 스피로사이클릭 융합 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 치환기 R^{V5}로 치환되는, 화합물.

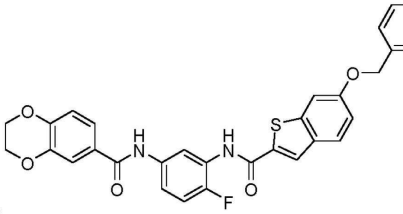
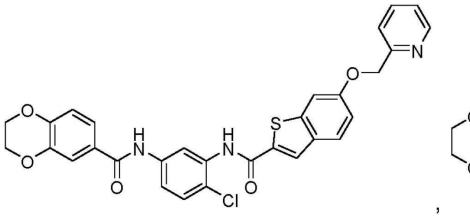
청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 하기 화합물들로 구성된 군으로부터 선택되는 화합물:

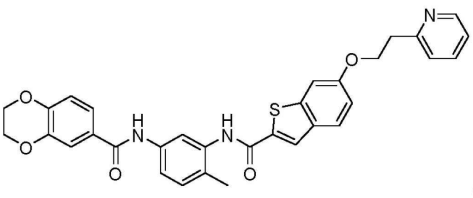
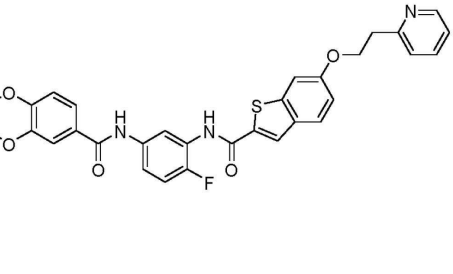



,

,

,

,

,

,

,

,

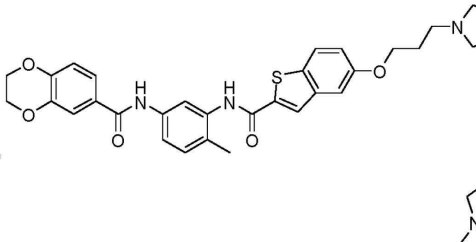
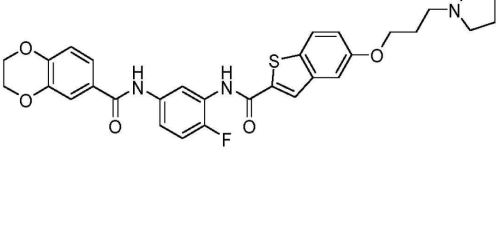
,

,

,

,

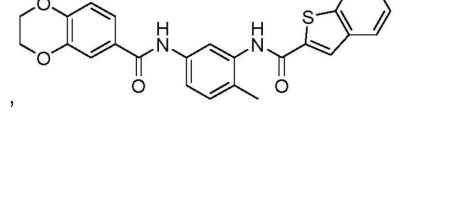
,

,

,

,

,

,

,

,

,

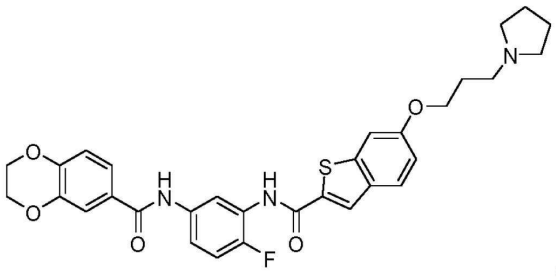
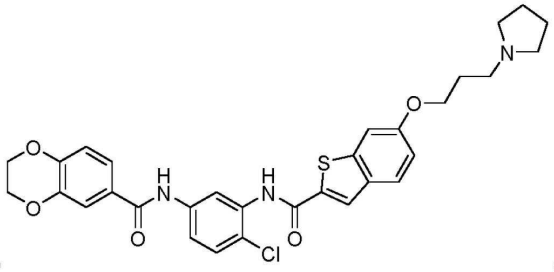
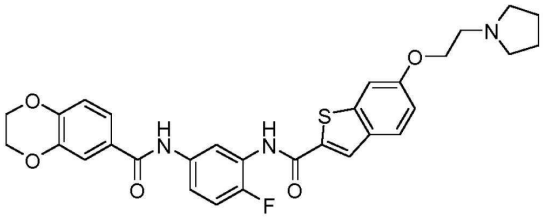
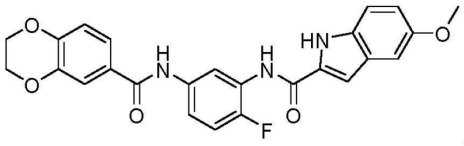
,

,

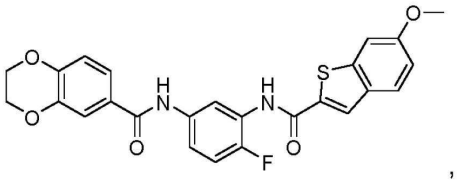
,

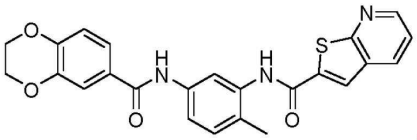
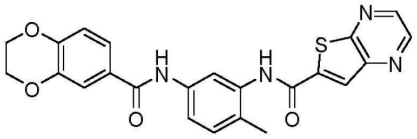
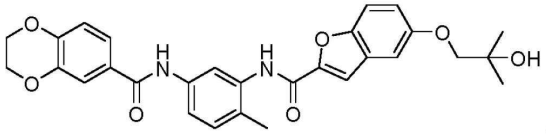
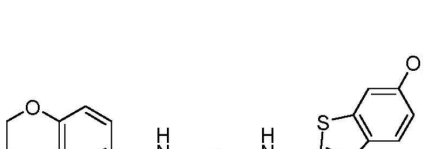
,

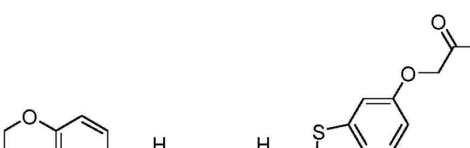
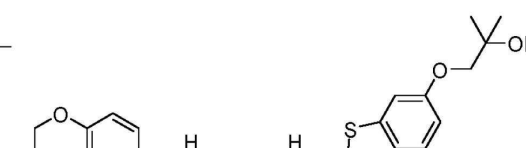
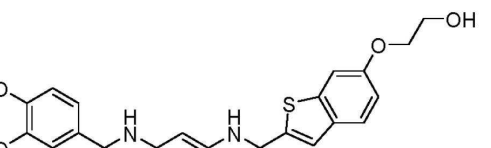
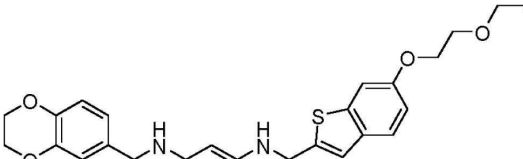
,

,


,

,

,

,

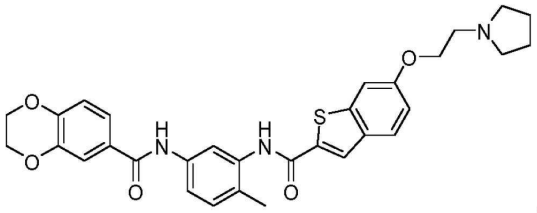
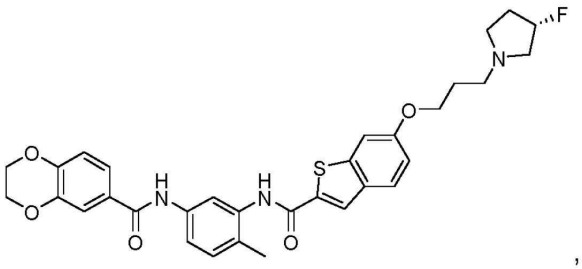
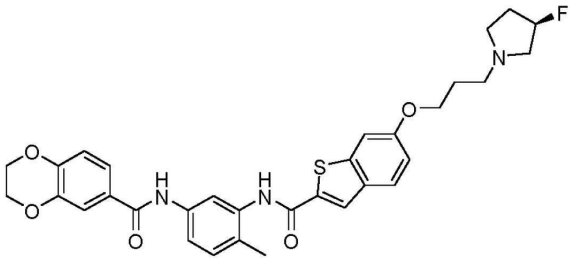
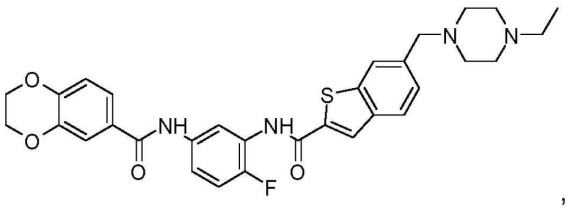
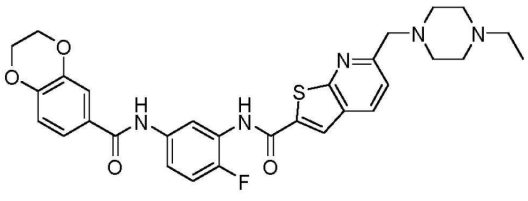
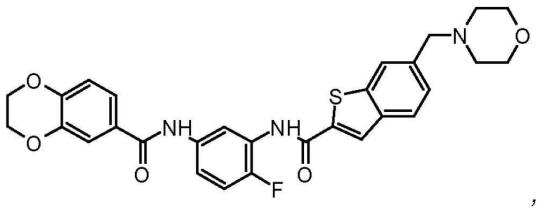
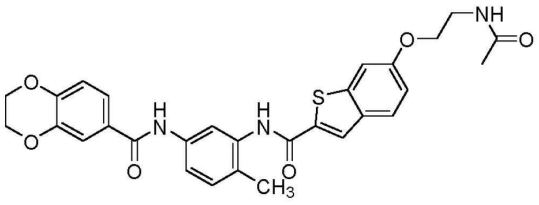
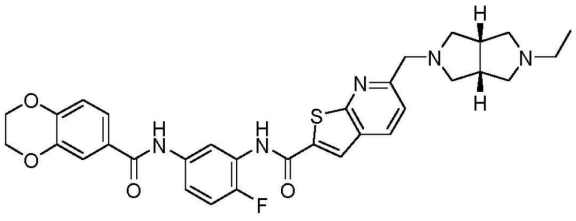
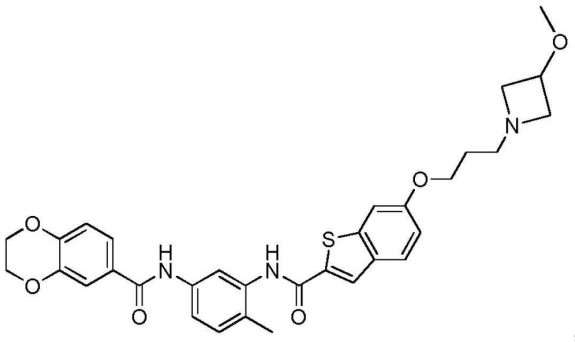
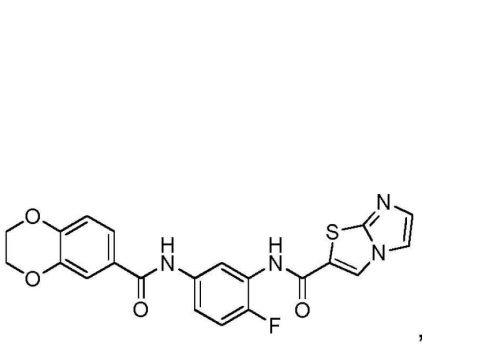
,

,

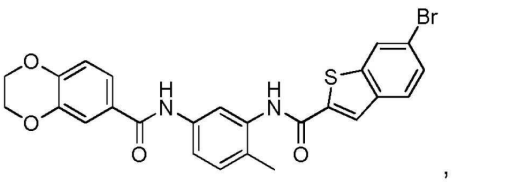
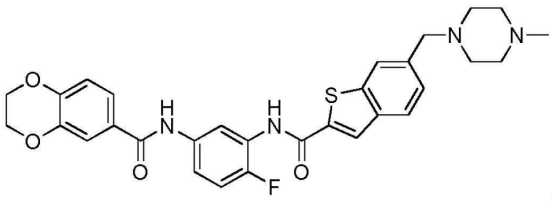
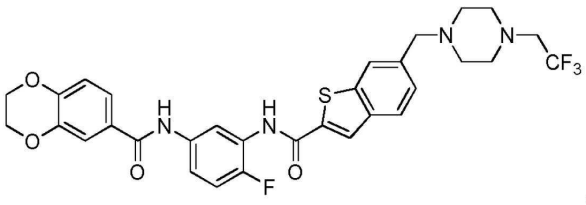
,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

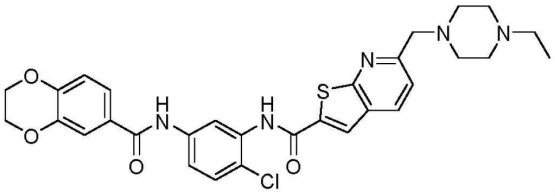
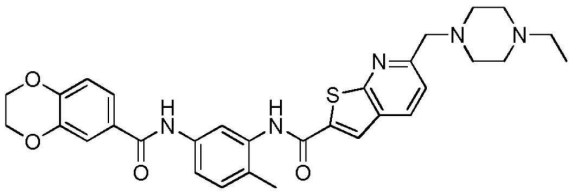
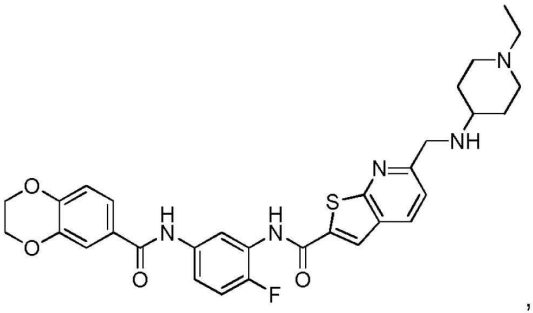
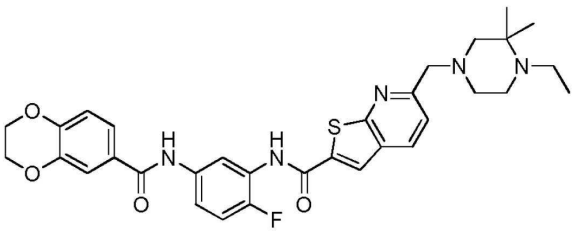
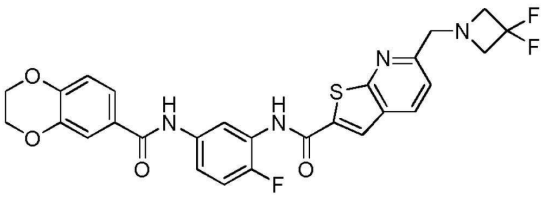
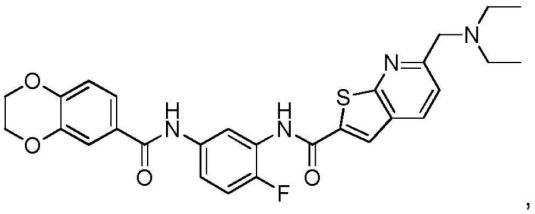
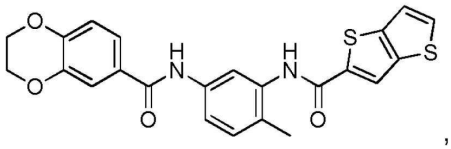
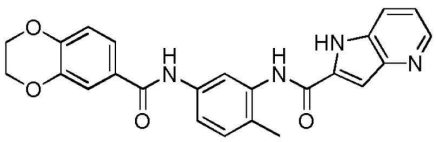
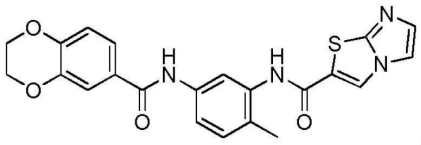
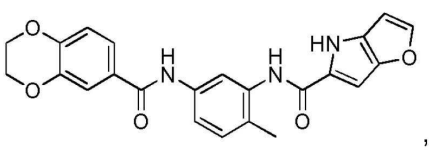
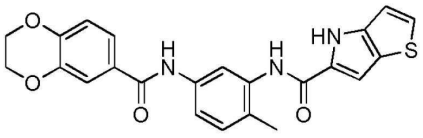
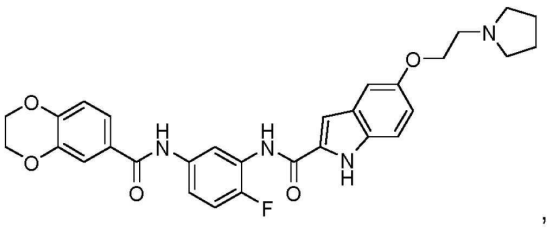
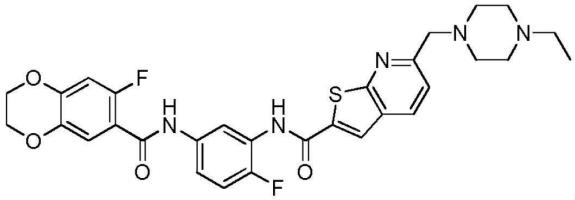
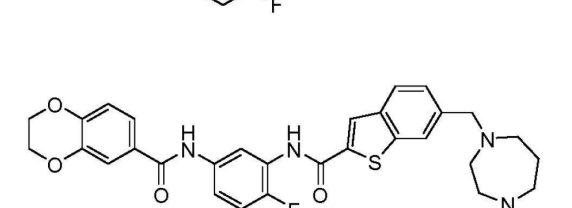
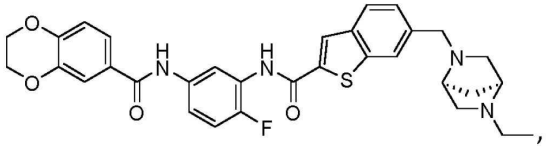
,

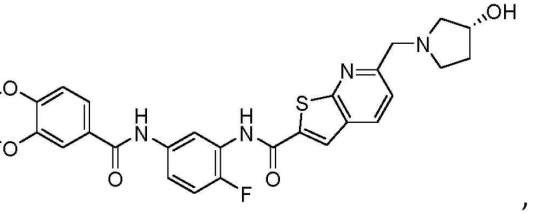

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

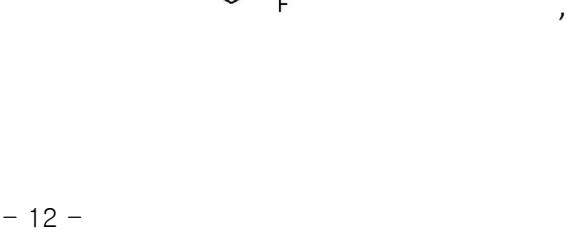
,

,

,

,

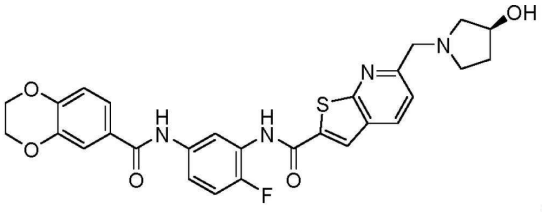
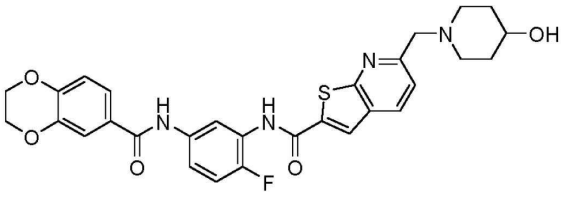
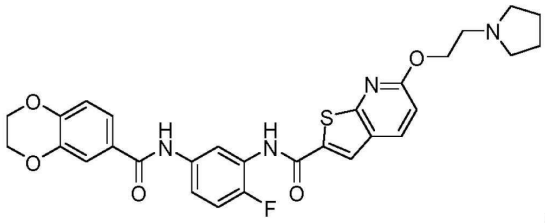
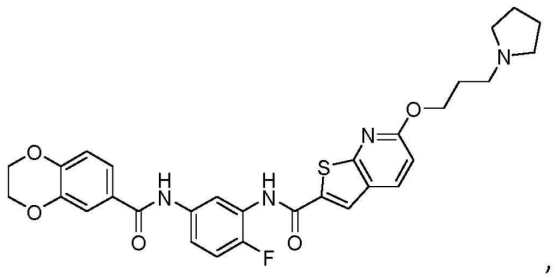
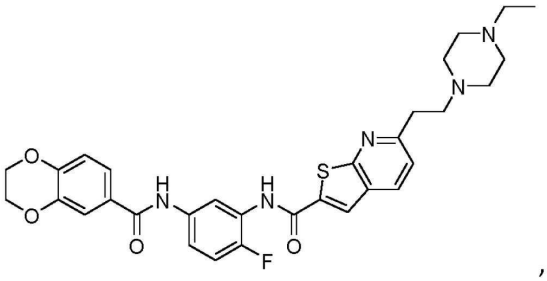
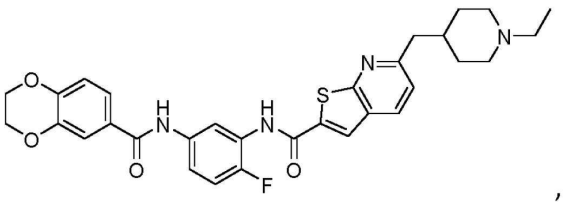
,

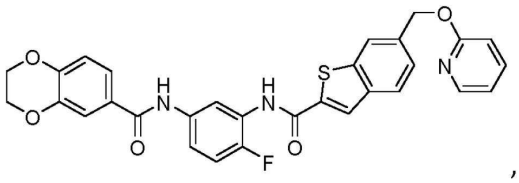
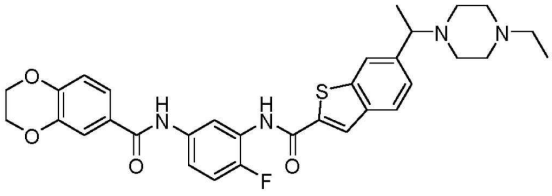
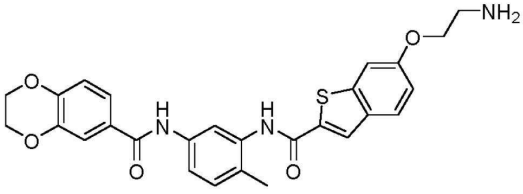
,

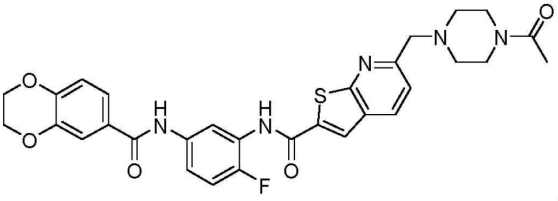
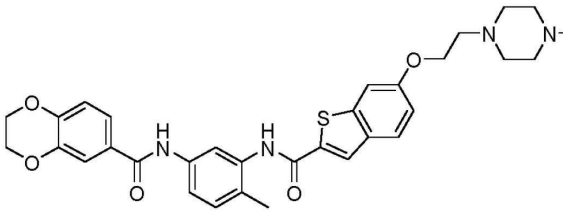
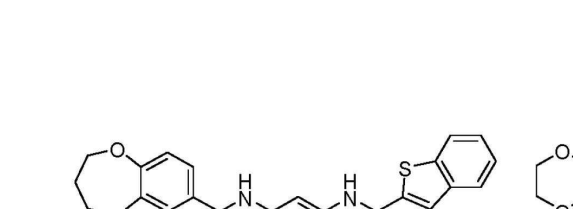
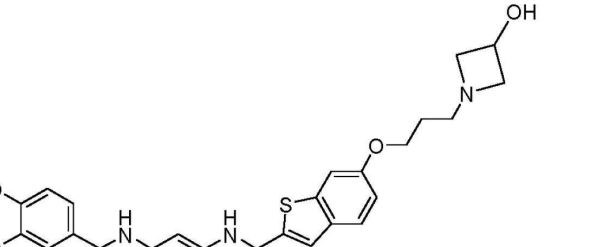

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

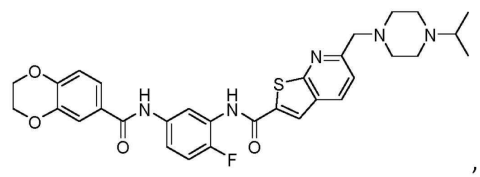
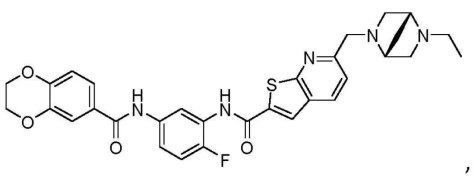
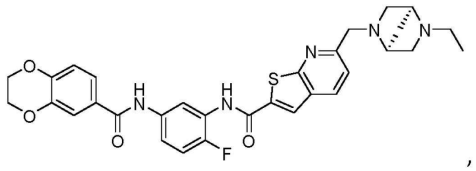
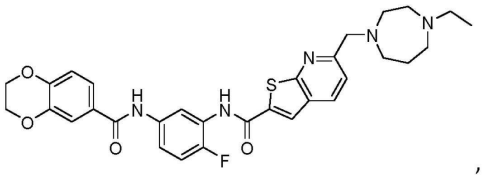
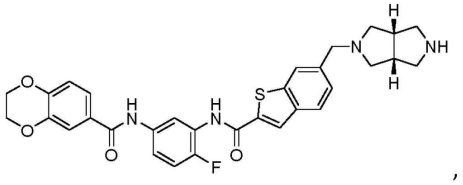
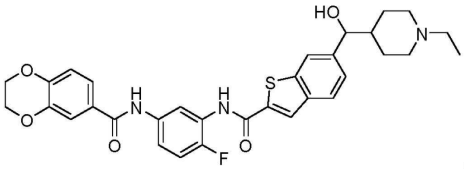
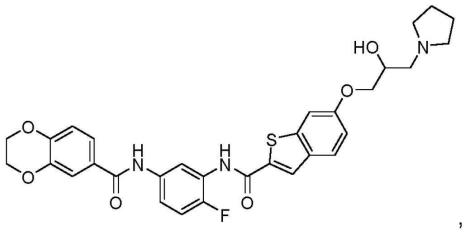
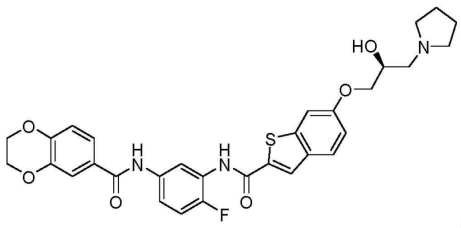
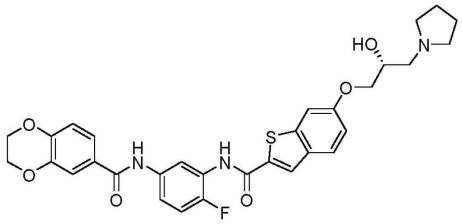

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,


,

,

,

,

,

,

,

,

, 및 이의 N-산화물, 용매화물 또는 약학적으로 허용되는 염.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항의 화합물 및 약학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 약학 조성물.

청구항 11

의약으로 사용하기 위한 제1항 내지 제9항 중 어느 한 항의 화합물.

청구항 12

락테이트/ATP 기전에 의해 매개되는 질병 또는 질환을 예방 및/또는 치료하는 방법에 사용하기 위한 제1항 내지 제9항 중 어느 한 항의 화합물 또는 제10항의 약학 조성물.

청구항 13

제12항에 있어서, 상기 락테이트/ATP 기전에 의해 매개되는 질병 또는 질환은 암인, 화합물 또는 약학 조성물.

청구항 14

제13항에 있어서, 상기 화합물 또는 약학 조성물은,

PD-1 제제, PD-L1 제제, CTLA-4 제제, IDO1 억제제 및 항암 백신으로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 암 치료제와 함께 투여되거나,

사이토카인 요법 또는 알려진 화학요법 또는 약물요법과 함께 또는 방사선 요법 중 투여되는,

화합물 또는 약학 조성물.

청구항 15

질병 또는 질환에 의해 영향을 받은 세포에서 소포체 스트레스를 유도하여 상기 세포에서 세포 내 ATP 및 락테이트 생성을 감소시킴으로써 상기 질병 또는 질환, 바람직하게는 암을 예방 및/또는 치료하는 방법에 사용하기 위한, 제1항 내지 제9항 중 어느 한 항의 화합물 또는 제10항의 약학 조성물.

청구항 16

암, 바람직하게는 암세포 및/또는 암성 종양을 예방 및/또는 치료하는 방법에 사용하기 제1항 내지 제9항 중 어느 한 항의 화합물 또는 제10항의 약학 조성물에 있어서, 상기 화합물 또는 약학 조성물로서, 상기 화합물 또는 상기 약학 조성물은 상기 암의 저산소 영역에서 Hif-1α를 단백질 수준에서 감소시킴으로써 이러한 영역에서 ATP 및 락테이트 생성을 하향조절하고 궁극적으로 저산소 영역 및 상기 암의 성장의 감소, 바람직하게는 효율적인 감소를 가져오는, 화합물 또는 약학 조성물.

청구항 17

소포체 스트레스의 유도에 민감한 질병 또는 질환을 예방 및/또는 치료하는 방법에 사용하기 위한 제1항 내지 제9항 중 어느 한 항의 화합물 또는 제10항의 약학 조성물로서, 상기 질병 또는 질환이 있거나 있는 것으로 의심되는 대상체로의 상기 화합물 또는 상기 약학 조성물의 투여는 Hif-1α의 단백질 수준의 감소를 가져오는, 화합물 또는 약학 조성물.

청구항 18

신경퇴행성 질환, 예컨대 파킨슨병, 알츠하이머병 및 헌팅턴병, 근위축성 측색경화증, 대사 장애, 예컨대 비만 및 제1형 및 제2형 당뇨병, 바이러스 감염 및 특정 잔해 입자의 축적을 유발하는 질환, 예컨대 섬유성 폐질환으로부터 선택된 자가포식 관련 질환을 예방 및/또는 치료하는 방법에 사용하기 위한, 제1항 내지 제9항 중 어느 한 항의 화합물 또는 제10항의 약학 조성물.

청구항 19

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항의 화합물 및 비구아니드를 포함하는 조성물.

청구항 20

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항의 화합물 및 비구아니드를 포함하는 키트.

청구항 21

의약으로 사용하기 위한, 제19항의 조성물 또는 제20항의 키트.

청구항 22

요법에 사용하기 위한, 제1항 내지 제9항 중 어느 한 항의 화합물과 비구아니드의 조합물.

청구항 23

암, 바람직하게는 진행성 암, 바람직하게는 진행성 당분해성 암을 예방 및/또는 치료하는 방법에 사용하기 위한, 제1항 내지 제9항 중 어느 한 항의 화합물과 비구아니드의 조합물, 또는 제20항의 키트.

청구항 24

제23항에 있어서, 상기 암은 LKB-1-결핍 암인, 조합물 또는 키트.

청구항 25

제23항 또는 제24항에 있어서, 상기 암은 ARID1a-결핍 암인, 조합물 또는 키트.

청구항 26

제23항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암은 비소세포 폐암, 육종, 부인과암, 예컨대 자궁경부암, 난소세포암 또는 자궁암, 선양낭성암종, 췌장암, 기타 위장관암, 예컨대 위암 또는 식도암으로 구성된 군으로부터 선택되는, 조합물 또는 키트.

청구항 27

제19항, 제20항, 제21항, 제22항, 또는 제23항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 비구아니드는 메트포르민, 부포르민 및 펜포르민으로 구성된 군으로부터 선택되는, 조성물, 키트 또는 조합물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 신규하고 독창적인 화합물, 특히 암 치료에 유용한 화합물에 관한 것이다. 본 발명은 또한 그러한 화합물을 포함하는 약학 조성물에 관한 것이다. 본 발명은 또한 의약으로서 사용하기 위한 그러한 화합물에 관한 것이다. 본 발명은 또한 질병 또는 질환, 특히 암을 예방 및/또는 치료하는 방법에 사용하기 위한 그러한 화합물 또는 그러한 약학 조성물에 관한 것이다. 본 발명은 또한, 유효량의 그러한 화합물 또는 그러한 약학 조성물이 이를 필요로 하는 대상체에게 투여되는, 락테이트/ATP 기전에 의해 매개되는 질병 또는 질환, 특히 암을 치료하는 방법에 관한 것이다. 본 발명은 또한 락테이트/ATP 기전에 의해 매개되는 질병 또는 질환, 특히 암을 치료하기 위한 의약의 제조에 있어서 그러한 화합물 또는 그러한 약학 조성물의 용도에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 암은 여전히 인류의 주요 사망 원인 2위를 차지하고 있다. 치명적인 암은 너무 늦게 진단된 암, 즉 질병 진행의 매우 말기에 진단된 암이거나, 치료는 했지만 치유할 수 없는 암이다. 반복적인 재발 후 또는 말기, 즉 일반적으로 3B기 또는 그보다 높은 병기에, 많은 고형암은 특히 화학 요법- 및 방사선요법-내성 표현형을 획득하는 경향이 있다. 이러한 진행성 및 치료-내성 암은 종종 원발성 종양 및/또는 전이가 고도의 소위 바르부르크(Warburg) 대사를 사용하는 고도의 전이로 특징지어 진다(문헌[Weber et al., Front Oncol. (2016) 6:257]).

[0003] 이 효과의 이름이 유래된 오토 바르부르크는 약 100년 전에 암세포가 포도당을 락테이트로 전환하기 위해 혐기성 해당과정을 이용한다는 것을 발견했다. 이 대사 표현형은 산화적 인산화, 즉 미토콘드리아 호흡에 비해 낮은 효율로 ATP를 생성한다. 바르부르크는 최초에 호흡으로부터 혐기성 해당과정으로의 이러한 대사 전환을 진행성 암의 중심부에서의 산소의 부족 때문이라고 설명했다(문헌[Warburg et al., Biochem Zeitschr. (1924) 152:309-44]; 및 문헌[Warburg et al., J Gen Physiol (1927) 8(6):519-30]). 그러나 지난 20년 동안의 연구 결과, 혐기성 해당과정의 우세로의 이러한 대사 전환은 효율적인 ATP 생성을 달성하기보다는 악성 세포 증식을 위한 탄소-함유 빌딩 블록(building block)에 대한 막대한 수요를 충족시키기 위해 일어나는 것으로 밝혀졌다. 해당과정 또는 펜토스 인산 경로의 여러 중간체는 세포가 뉴클레오시드, 지질, 다양한 탄수화물 또는 아미노산을 합성하거나 NADPH를 재생하는 데 사용되며, NADPH는 지질 및 콜레스테롤 생합성에 필요하거나 활성 산소종(ROS)에 대해 보호하는 방어 시스템을 재생하는 데 필요하다(문헌[Vander et al., Cell (2017) 168(4):657-669]). ROS는 세포에 위험하며 암세포에서 그 생성 속도가 급격히 증가한다(문헌[Hosios et al., J Biol Chem. (2018) 293(20):7490-7498]). 따라서, ROS 종을 해독하는 글루타티온 또는 티오레독신 시스템과 같은 경로는 빠르게 증식하는 세포에 절대적으로 필요하며, 이는 일반적으로 포도당을 기질로 사용하는 펜토스 인산 경로의 첫 번째 산화 단계에 의해 공급되는 NADPH-환원 당량의 제공을 요구한다(문헌[Wang et al., Theranostics. (2011) 11(10):4839-4857]).

[0004] ROS 스트레스는 또한 손상된 단백질을 생성시킬 수 있으며, 미스폴딩되거나 화학적으로 손상된 단백질은 소위 단백독성 스트레스 또는 언폴딩된 단백질 반응(UPR)을 유도한다. 이 스트레스 상황이 소포체(ER)에서 발생하면, 이는 단백독성 스트레스의 하위 현상인 ER 스트레스로 인식된다(문헌[Radanovic et al., Cells. (2021) 10(11):2965]). 단백독성 스트레스 반응의 일부로서, 특정 전사 인자, 특히 열충격 인자-1(HSF-1)은 단백독성 스트레스를 보상하고 해결하기 위해 발생하는 전사 프로그램의 주요 조절인자로 잘 알려져 있다. HSF-1은 열충격 또는 화학적으로 유도된 단백독성 스트레스 반응 시 유도되는 최초의 단백질들 중 하나로, 이 특정 스트레스 상황에 대응하는 단백질 및 시스템, 예를 들어 특정 샤페론, ROS-해독 시스템, 특정 막 수송체 또는 펌프의 전사 및 그에 따른 생성을 조정한다(문헌[Dai et al., Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. (2018) 373(1738):20160525]).

[0005] 앞서 언급한 모든 요소, 즉 혐기성 해당과정의 증가, 펜토스 인산 경로를 통한 플럭스 증가, ROS 보호 및 단백독성 스트레스 대응에 대한 필요성 증가는 더 넓고 더 현대적인 정의에서 바르부르크 대사의 특징으로 정의될 수 있다.

[0006] 바르부르크 대사의 마지막 주요 결과는 높은 수준의 락테이트 생성으로, 이는 산화적 인산화를 활용하지 않음에 따른 불가피한 결과이다. 락테이트는 혐기성 해당과정의 폐기물로 간주될 수 있으며, 이는 NAD+로의 NADH의 동반 산화에 의해 피루베이트를 락테이트로 환원시키는 락테이트 탈수소효소(LDH)의 작용으로부터 생성된다. 이 NAD+는 GAPDH에 의해 촉매되는 해당과정 중의 중간 변환을 허용하기 위해 재생될 필요가 있다. 따라서, 피루베이트를 락테이트로 전환하는 것은 혐기성 해당과정에서 NAD-재생을 위한 루프를 닫고, 산화적 인산화 대사를 위한 미토콘드리아로의 피루베이트의 유입을 허용하지 않는다. 그러나 중요하게도, 암세포는, 주로 바르부르크 대사를 사용하고 산소가 결핍된 경우에도, 미토콘드리아 대사를 완전히 셧다운하지 않는다는 것이다. 이는 미토콘드리아 대사, 특히 시트르산 회로가 대체 바르부르크 연료, 즉 아스파라긴이나 글루타민과 같은 아미노산의 사용을 가능하게 하여 다른 아미노산과 피루베이트를 생산하도록 이 중심 대사 턴테이블을 사용하기 때문에 필수적이다. 이들은 앞서 언급한 이유로 부분적으로 락테이트로 전환되거나 탄소 빌딩 블록에 대한 수요를 충족하기 위해 "역" 해당과정, 즉 포도당신생성 및 펜토스 인산 경로를 거칠 수 있다(문헌[Baltazar et al., Front Oncol. (2020) 10:231]).

[0007] 따라서, 락테이트는 복잡한 바르부르크 대사 상태의 다양한 측면에서 공통적인 최종 생성물이다. 더욱이, 락테이트는 락테이트를 많이 생성하는 조직 환경 내에서 면역 반응을 억제하는 추가 기능을 가진다. 락테이트의 면역 억제 역할 및 이와 함께 나타나는 국소적 산성 pH의 주요 생리적 결과는 특히 골격근이 신체 운동으로 산소 공급이 부족할 때 많은 양의 락테이트를 생성한다는 것이다. 훈련되지 않은 근육에서, 미세섬유가 파괴되는 경향이 있으며 세포 내 구성 요소가 세포 외 환경에 노출된다. 이는 조직-상주 항원 제시 세포와 기타 골수 세포가 손상된 근육을 면역 시스템의 표적으로 규정하게 하는 전형적인 자극이다. 이를 방지하기 위해, 락테이트와 산성 pH는 모두 그 자체로 면역억제제 역할을 하여 근육에 대한 바람직하지 않고 불필요한 면역 공격을 방지한다.

[0008] 락테이트의 이러한 생리적 면역억제 역할은 미세환경에서 상당한 양의 락테이트를 방출하여 종양의 면역 파괴를 방지하는 고형 종양에 의해 사용된다. 이런 의미에서, 이러한 종양 구획은 "아픈" 근육과 유사하며, 여러 간행물은 기본적으로 모든 관련 면역 세포 하위유형에 대한 면역억제 활성을 입증한다.

[0009] 요약하자면, 첫째 락테이트는 바르부르크 대사의 폐기물이다. 암세포 증식 능력과 관련하여 그 수준을 결정하는 것은 혐기성 및 호기성 조건에서 다양한 공급원으로부터의 탄소 플럭스를 통합하기 때문에 바르부르크 효과의 가장 좋은 지표일 것이다.

[0010] 둘째, 락테이트는 종양 미세환경에서 범-면역억제제로서 핵심적인 역할을 하기 때문에 종양 락테이트 생성을 줄이는 것은 임상 암 치료에서 달성하고자 하는 매력적인 목표이다(문헌[Vaupel et al., J Physiol. (2021) 599(6):1745-1757]; 및 문헌[de la Cruz-Lopez et al., Oncol. (2019) 9:1143]).

[0011] 그러나, 암세포와 일시적으로 활성인 골격근 세포가 인체에서 바르부르크 대사를 사용하는 유일한 세포 유형은 아니라는 점을 고려해야 한다. 특정 유사분열 자극 시에 여러 번의 증식 주기를 거치는 모든 세포 유형이 이 대사 표현형을 사용하는 것은 세포 성장과 분열을 지원하기 위한 진화적으로 미리 정해진 패턴이기 때문이라는 것은 잘 문서화되어 있다. 특히, 항원-프라이밍되고 강력한 증식 신호를 받은 T 세포는 또한 막대한 양의 포도당을 소비하여 이를 락테이트로 전환한다. 그러나, 활성이 면역 항종양 반응에서 매우 중요한 역할을 하는 T 세포는 일반적으로 항원 제시 세포와 밀접하게 접촉하는 구획, 즉, 예를 들어 종양-배출 림프절에서 증식한다는 점을 고려해야 한다. 예를 들어 CD3/CD28 자극 시의 T 세포 증식이 2-데옥시글루코스 등의 해당과정 억제제에 의해 완전히 둔화될 수 있다는 것이 명확히 입증될 수 있지만, 각각의 약학 제제를 종양으로 향하게 하여 림프절이나 혈액 구획을 배제함으로써 종양 세포에 대한 항-해당 효과를 확장 중인 T 세포에 대한 것과 분리하는 것이 가능할 수 있다. 일단 T 세포가 증식하여 CD8-양성 항종양 효과기 세포가 되면, 이는 종양에 들어간 후 암세포를 공격할 수 있다. 이러한 항종양 효과는, 최근 간행물이 설명한 바와 같이(문헌[Renner et al., Cell Rep. (2019) 29(1):135-150.e9]), 종양 내 락테이트를 낮춤으로써 반드시 둔화되는 것은 아니다.

[0012] 현재까지, 일반적으로, 세포독성 활성의 부작용으로서가 아닌, 암 치료와 관련하여 락테이트 생성을 억제하는 승인된 약물은 이용 가능하지 않다. 다양한 서로 다른 화합물을 사용하여 하나 이상의 해당과정 효소를 직접 억제하거나 바르부르크 프로그램의 주요 전사 인자 또는 마스터 조절인자를 하향조절 또는 억제하려는 여러 차례의 시도가 있었다. 후자의 작용 방식 또는 저산소-유도 인자(HIF) 패밀리의 구성원의 두드러진 예는 무엇보다도

Hif-1α 또는 Hif-2α이다. Hif-1α, Hif-2α 또는 Hif-3α는 ARNT(아릴 탄화수소 수용체 핵 전위체)로도 알려져 있는 공통 파트너인 Hif-1β와 이종이합체화된다. Hif-패밀리의 세 가지 구성원 모두 바르부르크 효과를 매개하는 핵심 유전자, 즉 GLUT-1(포도당 수송체), HK2, PK-M, LDH-A, MCT-4를 유도하는 전사 인자로서 작용하는 것으로 잘 설명되어 있으며, MCT-4는 해당과정 효소의 저산소증 및 종양 특이적 아이소폼이거나 락테이트 수송체이다(문헌[Yu et al., J Cancer. (2017) 8(17):3430-3440]).

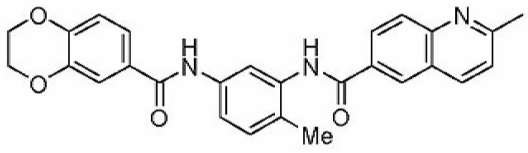
[0013] 이러한 약물들 대부분은 항암 효과 측면에서 효능이 부족하거나 심각하고 견딜 수 없는 부작용을 나타내어 임상 개발 과정에서 실패했다.

[0014] 해당과정 저해에 민감한 주요 미변환된 세포 유형은 적혈구로, 이는 에너지원으로 오로지 해당과정에 의존한다. 결과적으로, 직접적인 해당과정 저해는 적혈구 용해를 일으키며, 이는 임상적으로 용혈성 빈혈로 나타난다. 더욱이, 항암요법을 받는 암 환자는 빈혈을 빈번하게 겪으며, 이는 암 치료와 관련하여 이러한 부작용을 더욱 견디기 어렵게 만든다(문헌[Oshima et al., Cell Rep. (2020) 30(6):1798-1810.e4]).

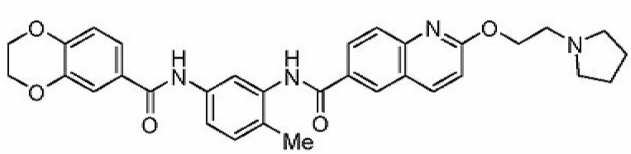
[0015] 암세포 증식을 제한하는 또 다른 접근법은 단백독성 스트레스 반응을 표적화하는 것이다. 이는 보르테조밉이나 카르필조밉과 같은 프로테아좀 억제제를 포함하되 이에 국한되지 않는 다양한 방법으로 달성될 수 있다. 프로테아좀 단백질 분해를 제한하는 것은 미스폴딩된 단백질의 축적을 야기하여 궁극적으로 아폽토시스로 이어진다.

[0016] 단백독성 스트레스 반응의 핵심 조절인자인 HSF-1을 억제하여 단백독성 스트레스의 항증식 효과를 완화하는 세포의 조치를 억제하려는 시도가 있었다. HSF-1을 하향조절하는 것으로 밝혀진 하나의 그러한 화합물은 앞서 언급한 효과에 대한 스크린으로부터 유래된 소분자 화합물인 CCT251236이다. CCT251236은 여러 다른 암 세포주에서 세포 증식을 제한하는 것으로 발표되었다. 이 화합물은 또한 난소암 이종이식 마우스 모델에서 종양 성장을 억제했다. CCT251236 및 이와 밀접한 관련이 있는 PROTAC 유사체인 CCT367766은 피린(Pirin)에 단단히 결합하는 것으로 밝혀졌다. 그러나, 피린이 이러한 비스아미드 화합물의 기능적으로 관련된 표적이라는 것은 아직 입증되지 않았으며, 이는 또한 CCT251236이 아세틸콜린에스테라아제 또는 특정 키나아제와 같은 다른 관련 단백질에 대해서도 마이크로몰 저해제 활성을 나타낸다는 공개된 결과에 근거한다. 그럼에도 불구하고, CCT251236은 경구 전달 시 격일로 30 mg/kg의 용량에서 강력한 항종양 효능을 나타낸다(문헌[Cheeseman et al., J Med Chem. (2017) 60(1):180-201]; 및 문헌[Chessum et al., J Med Chem. (2018) 61(3):918-933]).

[0017] WO 2015/049535 및 WO 2016/156872는, 문헌[Cheeseman et al.; J Med Chem (2017), 60(1) 180-201] 및 문헌[Chessum et al. J Med Chem. (2018);61(3):918-933]에 더 자세히 설명되어 있는 CCT245232 및 CCT251236이라는 명칭의 특정 화합물과 겹치는 일련의 비스아미드를 개시한다. CCT245232는 HSF-1 단백독성 스트레스 경로의 억제제에 대한 스크린에서 확인되었다. 의약 화학적 노력을 통해, CCT245232는 마우스에서 더 나은 용해도와 경구 생체이용률을 나타내는 CCT251236으로 추가로 개발되었다. 이 비스아미드 시리즈의 화합물은 암 세포에 대해 강력한 항증식 활성을 나타냈으며, 이때 참조 세포주로서 SK-OV-3을 사용하여 정확한 성장 IC_{50} 값을 결정했다. CCT251236은 또한 마우스 이종이식 암 모델에서 유의한 항암 효과를 나타낸다.



CCT245232



CCT251236

[0018]

[0019] 이러한 비스아미드 유형의 화합물의 항암 효과는 HSF-1 단백독성 스트레스 경로에 대한 억제 효과에 기인했다.

[0020] 문헌[Chessum et al., J Med Chem. (2018) 61(3):918-933)]은 이러한 화합물이 지금까지 단지 불충분하게 설명된 세포 기능을 갖는 세포질 단백질을 함유하는 비-헴 철인 피린에 매우 강력하게 결합한다는 것을 개시한다. 문헌[Meyers et al. (ACS Med Chem Lett (2018) ;9(12):1199-1204.)]에는 이러한 비스아미드 화합물이 단백질 표적으로서 다양한 키나제에 무차별적으로 결합한다는 것이 입증되어 있다. 따라서, 이러한 비스아미드 화합물이 피린에 결합하는 것만으로 항암 효과를 실제로 발휘하는지 여부는 완전히 명확하지 않다.

[0021] 자가포식은 세포 스트레스, 예를 들어, 기아 동안 세포 구성요소를 분해하여 중간 대사산물을 제공하는 고도로 보존된 이화 메커니즘이다(문헌[J Pathol. (2010) 221: 3-12]). 자가포식은 종양 세포에서 일시적인 영양 결핍을 극복하는 작용을 할 수 있지만, 제어되지 않은 또는 부적절한 자가포식은 철 의존성 지질 과산화에 의해 구

동되는 조절된 세포 사멸의 유형인 페로프토시스를 유도할 수 있다(문헌[Cell Research (2016) 26 1021-1032]). 페로프토시스는, 주로 세포 내 단백질에 결합된 철의 방출을 통해, 생물독성을 가져오는 자가포식에 의존한다.

[0022] 자가포식은 특정 질병, 특히 노화-관련 및 생활방식-관련 질병에서 손상된 핵심 기전으로 간주된다(문헌[Madeo et al., Cell Metab. 5;29(3):592-610 (2019)]). 각 기관과 세포에서 자가포식 능력을 회복하면 일반적으로 알츠하이머병, 파킨슨병, 근위축성 측삭경화증(ALS)의 병인뿐만 아니라 연령-관련 기억력 감퇴에도 관여하는 베타-아밀로이드, 알파-시누클레인 및 다른 단백질의 섬유성 단백질 엉킴의 축적을 극복할 것이라고 믿어지고 있다. 신경퇴행성 질환에서의 적용을 넘어, 자가포식의 활성화는 섬유성 폐 질환, 비만 및 당뇨병에서 유익한 효과를 보일 수 있으며, 심지어 바이러스 감염에서도 자가포식의 유도가 도움이 될 수 있다(문헌[Carmona-Gutierrez et al., Microb Cell, 7(5): 119-128. (2020)]).

[0023] 소분자를 이용한 암 치료는 지금까지 주로 세포독성 약물, 즉, 특히 장 상피나 모낭과 같은 정상적이고 건강한 증식 중인 조직에 대한 심각한 부작용을 감수하면서 암성 증식을 방지하기 위해 중요한 효소, 미세소관과 같은 구조 단백질 또는 DNA를 표적화하는 물질로 제한되어 있다.

[0024] 메트포르민, 부포르민, 펜포르민과 같은 약물로 예시되는 소위 비구아니드(biguanide)는 해당과정의 자극으로 인해 부작용을 유발하는 것으로 알려진 약물의 부류이다. 가장 강력한 펜포르민과 가장 약한 메트포르민을 포함한 이 세 가지 약물은 인슐린 민감성을 개선하고 그에 따라 2형 당뇨병의 주요 특징인 고혈당을 호전시키기 위한 항당뇨제이거나 항당뇨제였다. 모든 비구아니드는 미토콘드리아 호흡 사슬의 복합체 I을 억제하여 미토콘드리아 ATP 생성의 저하를 가져오는 것으로 믿어지며(문헌[Bridges et al., BMC Biol. 14, 65(2016)]), 이는 해당과정의 상향조절을 통해 ATP 생성 증가를 촉진시킨다. 이는 임상적 사용에서 비구아니드의 핵심 문제인 락트산 산증의 잠재적 발생을 설명한다. 약 50%의 치사율을 보이는 락트산 산증의 발생률은 펜포르민으로 치료한 환자 10만 명 중 64건이고, 메트포르민으로 치료한 환자 10만 명 중 3건이다. 펜포르민은 분명히 더 강력한 약물이고 1960년대와 70년대에 항당뇨제로 널리 사용되었지만, 더 약하지만 더 안전한 메트포르민으로 대체되었다. 메트포르민 치료를 받거나 받지 않는 2형 당뇨병 환자에서 다양한 암의 발생률을 조사한 여러 연구에서 메트포르민은 전반적인 사망률을 감소시킬 뿐만 아니라 이러한 환자에서 암 발생률도 감소시키는 것으로 나타났다. 그러나, 임상 시험에서 암 환자의 메트포르민 치료의 약간의 이점이 나타났지만 생존이나 암 반응성에 관하여 추가적인 메트포르민 치료가 동반되거나 동반되지 않은 표준 치료 화학요법을 비교하는 전향적 시험으로부터의 데이터는 없으며, 다만 전임상 데이터와 후향적 연구 데이터는 이를 시사한다(문헌[Top et al., Pharmaceuticals (Basel).15(3):312 (2022)]).

[0025] 기존 화학요법에 대한 보조약으로서의 메트포르민의 사용의 주요 한계는 항당뇨 치료에 사용되는 용량에서 암에 대한 약한 효과이다. 메트포르민의 용량의 추가 증가, 또는 대안적으로 훨씬 더 강력한 펜포르민의 사용이 암 치료를 위해 처방될 수 있지만, 펜포르민의 알려진 락트산 산증의 부작용과 시장에서 철수되었다는 사실이 이를 막고 있다.

[0026] 따라서, 새로운 암 치료법 외에도, 락테이트 생성을 낮추는 병용 치료법에 대한 필요성이 존재하며, 그렇지 않으면 각 환자에게 제공될 수 있는 비구아니드 약물의 용량이 제한된다. 본 발명의 내용은 이러한 두 가지 필요성을 모두 다룬다.

발명의 내용

[0027] 예상치 못하게도, 본 발명의 화합물은 세포 내 ATP와 세포 외 락테이트 생성의 감소, 세포 내 Hif-1α의 감소, 및 소포체 스트레스 유전자, 특히 CHAC와 CHOP의 유도 외에도 이러한 화합물로 처리한 세포에서 자가포식을 활성화시키는 것으로 밝혀졌다.

[0028] 실험 결과에서, 본 발명의 화합물은 또한 시험관 내에서 여러 암 세포주에 대해 광범위한 항증식 활성을 보인다. 본 발명의 화합물은 암성 성장의 특정 마우스 모델에서 종양 성장을 제한하는 데 성공적으로 사용되었다.

[0029] 본 발명의 화합물은 또한 락테이트 생성을 강력하게 낮추는 잠재력을 나타내므로, 생체 내에서 달리 달성할 수 없는 비구아니드 수준을 달성하도록 비구아니드 약물과 함께 적절히 병용 투여될 수 있다. 이런 방식으로, 비구아니드 용량-제한 락트산 산증을 유도할 위험을 줄이거나 제거하면서 종양을 효과적으로 치료할 수 있다.

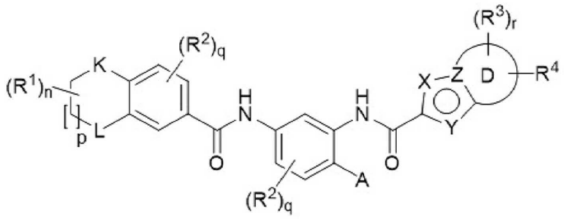
[0030] 본 발명의 화합물은 아직 조사되지 않은 기전인 소포체에서의 단백독성 스트레스 유도를 표적화하며, 이는

Chac1 또는 Chop과 같은 이 반응의 잘 알려진 마커에 의해 예시된다. 결과적으로, 세포는 예를 들어 더 많은 글루타티온을 생산함으로써 단백독성 스트레스를 극복하는 데 도움이 될 수 있는 기능을 가진 유전자의 상향조절에 의해 반응한다. System Xc^-로도 알려진 SLC7A11은 이러한 대응책의 상향조절을 나타내는 시스틴-글루타메이트 역수송체이다.

[0031] 본 발명의 화합물에 의해 발휘되는 자가포식의 유도는 주요 단백독성 스트레스 반응의 하류일 가능성이 높으며, 본 발명의 화합물에 의한 대부분의 대사 경로의 전반적인 셧다운의 반영이다. 이러한 화합물을 사용하여 확립된 사건 순서는 먼저 이러한 화합물이 단백독성 스트레스 반응을 유도하여 전반적인 동면, 즉 대사 활성 측면에서의 세포의 셧다운을 일으킴으로써 락테이트 발생 감소를 가져온다. 이는 일종의 세포 기아를 시뮬레이션하고 세포는 더 많은 대사 연료를 다시 공급하기 위한 대응책으로 자가포식을 유도한다.

[0032] 락테이트 생성의 유의한 감소는 바르부르크 대사의 특징, 즉 높은 해당과정 속도와 높은 락테이트 생산량을 보이는 암세포의 증식을 직접적으로 표적화하는 데 사용될 수 있는 것만이 아니다. 이러한 세포 증식과 대사의 이러한 강렬하지만 세포독성은 아닌 셧다운은 해당과정을 자극하고 확장되어 혈액 내 락테이트 농도를 위험할 정도로 증가시켜 두드러진 부작용인 락트산 산증을 초래할 수 있는 다른 약물의 부작용을 상쇄하는 데에도 이용될 수 있다.

[0033] 첫 번째 양태에서, 본 발명은 화학식 (I)의 화합물, 또는 이의 거울상이성질체, 부분입체이성질체, N-산화물, 용매화물 또는 약학적으로 허용되는 염에 관한 것이다:



(I)

[0034]

[0035] 여기서 A, D, K, L, X, Y, Z, R^1 내지 R^4 및 인덱스 n, p, q 및 r은 하기에 개시된 바와 같이 정의된다.

[0036] 또 다른 양태에서, 본 발명은 화학식 (I)의 화합물 및 약학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 약학 조성물에 관한 것이다.

[0037] 또 다른 양태에서, 본 발명은 의약으로 사용하기 위한 화학식 (I)의 화합물에 관한 것이다.

[0038] 또 다른 양태에서, 본 발명은 락테이트/ATP 기전에 의해 매개되는 질병 또는 질환을 예방 및/또는 치료하는 방법에 사용하기 위한 화학식 (I)의 화합물 또는 화학식 (I)의 화합물을 포함하는 약학 조성물에 관한 것이다.

[0039] 또 다른 양태에서, 본 발명은 락테이트/ATP 기전에 의해 매개되는 질병 또는 질환을 예방 및/또는 치료하는 방법에 관한 것으로, 방법은 이를 필요로 하는 대상체에게 유효량의 화학식 (I)의 화합물 또는 화학식 (I)의 화합물을 포함하는 약학 조성물을 투여하는 단계를 포함한다.

[0040] 또 다른 양태에서, 본 발명은 또한 락테이트/ATP 기전에 의해 매개되는 질병 또는 질환의 예방 및/또는 치료를 위한 의약의 제조에 있어서 화학식 (I)의 화합물의 용도에 관한 것이다.

[0041] 또 다른 양태에서, 본 발명은 질병 또는 질환에 의해 영향을 받은 세포에서 소포체 스트레스를 유도하여 상기 세포에서 세포 내 ATP 및 락테이트 생성을 감소시킴으로써 상기 질병 또는 질환, 바람직하게는 암을 예방 및/또는 치료하는 방법에 사용하기 위한 화학식 (I)의 화합물, 또는 화학식 (I)의 화합물을 포함하는 약학 조성물에 관한 것이다.

[0042] 또 다른 양태에서, 본 발명은 질병 또는 질환, 바람직하게는 암을 예방 및/또는 치료하는 방법에 관한 것으로, 상기 방법은 화학식 (I)의 화합물, 또는 화학식 (I)의 화합물을 포함하는 약학 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하고, 상기 예방 및/또는 치료는 상기 질병 또는 질환에 의해 영향을 받은 세포에서 소포체 스트레스를 유도하여 상기 세포에서 세포 내 ATP 및 락테이트 생성을 감소시킴으로써 달성된다.

[0043] 또 다른 양태에서, 본 발명은 질병 또는 질환, 바람직하게는 암을 예방 및/또는 치료하기 위한 의약의 제조에

있어서 화학식 (I)의 화합물, 또는 화학식 (I)의 화합물을 포함하는 약학 조성물의 용도에 관한 것으로, 이는 상기 질병 또는 질환에 의해 영향을 받은 세포에서 소포체 스트레스를 유도함으로써 상기 세포에서 세포 내 ATP 및 락테이트 생성을 감소시킨다.

[0044] 또 다른 양태에서, 본 발명은 암, 바람직하게는 암세포 및/또는 암성 종양을 예방 및/또는 치료하는 방법에 사용하기 위한 화학식 (I)의 화합물, 또는 화학식 (I)의 화합물을 포함하는 약학 조성물에 관한 것으로, 상기 화합물은 상기 암의 저산소 영역에서 Hif-1α를 단백질 수준에서 감소시킴으로써 이러한 영역에서 ATP 및 락테이트 생성을 하향조절하고 궁극적으로 저산소 영역 및 상기 암의 성장의 감소, 바람직하게는 효율적인 감소를 가져온다.

[0045] 또 다른 양태에서, 본 발명은 암, 바람직하게는 암세포 및/또는 암성 종양을 예방 및/또는 치료하는 방법에 관한 것으로, 상기 방법은 화학식 (I)의 화합물, 또는 화학식 (I)의 화합물을 포함하는 약학 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하고, 상기 예방 및/또는 치료는 상기 암의 저산소 영역에서 Hif-1α를 단백질 수준에서 감소시켜 이러한 영역에서 ATP 및 락테이트 생성을 하향조절하고 궁극적으로 저산소 영역 및 상기 암의 성장의 감소, 바람직하게는 효율적인 감소를 가져옴으로써 달성된다.

[0046] 또 다른 양태에서, 본 발명은 암, 바람직하게는 암세포 및/또는 암성 종양을 예방 및/또는 치료하기 위한 의약의 제조에 있어서 화학식 (I)의 화합물, 또는 화학식 (I)의 화합물을 포함하는 약학 조성물의 용도에 관한 것으로, 이는 상기 암의 저산소 영역에서 Hif-1α를 단백질 수준에서 감소시킴으로써 이러한 영역에서 ATP 및 락테이트 생성을 하향조절하고 궁극적으로 저산소 영역 및 상기 암의 성장의 감소, 바람직하게는 효율적인 감소를 가져온다.

[0047] 또 다른 양태에서, 본 발명은 소포체 스트레스의 유도에 민감한 질병 또는 질환을 예방 및/또는 치료하는 방법에 사용하기 위한 화학식 (I)의 화합물, 또는 화학식 (I)의 화합물을 포함하는 약학 조성물에 관한 것으로, 상기 질병 또는 질환이 있거나 있는 것으로 의심되는 대상체로의 상기 화합물 또는 상기 약학 조성물의 투여는 Hif-1α의 단백질 수준의 감소를 가져온다.

[0048] 또 다른 양태에서, 본 발명은 소포체 스트레스의 유도에 민감한 질병 또는 질환을 예방 및/또는 치료하는 방법에 관한 것으로, 상기 방법은 화학식 (I)의 화합물, 또는 화학식 (I)의 화합물을 포함하는 약학 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하며, 상기 질병 또는 질환이 있거나 있는 것으로 의심되는 대상체로의 상기 화합물의 투여는 Hif-1α의 단백질 수준의 감소를 가져온다.

[0049] 또 다른 양태에서, 본 발명은 소포체 스트레스의 유도에 민감한 질병 또는 질환을 예방 및/또는 치료하기 위한 의약의 제조에 있어서 화학식 (I)의 화합물, 또는 화학식 (I)의 화합물을 포함하는 약학 조성물의 용도에 관한 것으로, 이는 Hif-1α의 단백질 수준을 감소시킨다.

[0050] 또 다른 양태에서, 본 발명은 신경퇴행성 질환, 예컨대 파킨슨병, 알츠하이머병 및 헌팅턴병, 근위축성 측색경화증, 대사 장애, 예컨대 비만 및 제1형 및 제2형 당뇨병, 바이러스 감염 및 특정 잔해 입자의 축적을 유발하는 질환, 예컨대 섬유성 폐질환으로부터 선택된 자가포식 관련 질환을 예방 및/또는 치료하는 방법에 사용하기 위한, 화학식 (I)의 화합물 또는 화학식 (I)의 화합물을 포함하는 약학 조성물에 관한 것이다.

[0051] 또 다른 양태에서, 본 발명은 신경퇴행성 질환, 예컨대 파킨슨병, 알츠하이머병 및 헌팅턴병, 근위축성 측색경화증, 대사 장애, 예컨대 비만 및 제1형 및 제2형 당뇨병, 바이러스 감염 및 특정 잔해 입자의 축적을 유발하는 질환, 예컨대 섬유성 폐질환으로부터 선택된 자가포식 관련 질환을 예방 및/또는 치료하는 방법에 관한 것으로, 상기 방법은 화학식 (I)의 화합물 또는 화학식 (I)의 화합물을 포함하는 약학 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0052] 또 다른 양태에서, 본 발명은 신경퇴행성 질환, 예컨대 파킨슨병, 알츠하이머병 및 헌팅턴병, 근위축성 측색경화증, 대사 장애, 예컨대 비만 및 제1형 및 제2형 당뇨병, 바이러스 감염 및 특정 잔해 입자의 축적을 유발하는 질환, 예컨대 섬유성 폐질환으로부터 선택된 자가포식 관련 질환을 예방 및/또는 치료하는 의약의 제조에 있어서, 화학식(I)의 화합물, 또는 화학식(I)의 화합물을 포함하는 약학 조성물의 용도에 관한 것이며, 상기 방법은 화학식(I)의 화합물 또는 화학식(I)의 화합물을 포함하는 약학 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0053] 또 다른 양태에서, 본 발명은 암의 예방 및/또는 치료를 위한 의약의 제조에 있어서 화학식 (I)의 화합물의 용도에 관한 것이다.

[0054] 또 다른 양태에서, 본 발명은 조성물, 바람직하게는 화학식 (I)의 화합물 및 비구아니드를 포함하는 약학 조성

물뿐만 아니라 의약으로 사용하기 위한 이러한 조성물에 관한 것이다.

[0055] 또 다른 양태에서, 본 발명은 요법에 사용하기 위한 화학식 (I)의 화합물과 비구아니드의 조합물에 관한 것이다.

[0056] 또 다른 양태에서, 본 발명은 질병을 예방 및/또는 치료하는 방법에 관한 것으로, 상기 방법은 화학식 (I)의 화합물, 또는 화학식 (I)의 화합물을 포함하는 약학 조성물과 비구아니드 조합물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0057] 또 다른 양태에서, 본 발명은 암을 예방 및/또는 치료하는 방법에 사용하기 위한 화학식 (I)의 화합물, 또는 화학식 (I)의 화합물을 포함하는 약학 조성물과 비구아니드의 조합물에 관한 것이다.

[0058] 또 다른 양태에서, 본 발명은 암을 예방 및/또는 치료하는 방법에 관한 것으로, 상기 방법은 화학식 (I)의 화합물, 또는 화학식 (I)의 화합물을 포함하는 약학 조성물과 비구아니드의 조합물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0059] 또 다른 양태에서, 본 발명은 암을 예방 및/또는 치료하기 위한 의약의 제조에 있어서, 화학식 (I)의 화합물, 또는 화학식 (I)의 화합물을 포함하는 약학 조성물과 비구아니드의 조합물의 용도에 관한 것이다.

[0060] 본 명세서에서, 화학식 (I)의 화합물 또는 화학식 (I)의 화합물을 포함하는 약학 조성물을 대상체로 투여하는 것은 상기 대상체에게 유효량의 상기 화합물 또는 상기 약학 조성물을 투여하는 것으로 이해되어야 한다.

[0061] 상술한 치료 및 용도의 추가적인 양태에서, 화학식 (I)의 화합물은 약학적으로 허용되는 부형제와 함께 약학 조성물에 포함된다.

도면의 간단한 설명

[0062] **도 1**은 실시예 3/16, 3/8 및 10의 화합물로 48시간 처리 후 HeLa, 4T1, LLC1, A549, MDA-MB-231 및 MiaPaCa2 세포 배양물에서 하향조절되는 ATP 수준을 나타낸다.

도 2는 실시예 3/16, 3/8 및 10의 화합물로 48시간 처리 후 HeLa, 4T1, LLC1, A549, MDA-MB-231 및 MiaPaCa2 세포 배양물에서 하향조절되는 세포 외 락테이트 수준을 나타낸다.

도 3은 실시예 3/16, 3/8 및 10의 화합물 10 nM를 사용한 4시간 기간의 처리에 걸쳐 HeLa 세포에서 유도된 ER 스트레스 유전자를 나타낸다.

도 4는 정상 산소와 저산소 상태에서 24시간 처리 후 HeLa 세포에서 Hif-1α 단백질 수준을 하향조절하는 실시예 3/8 및 10의 화합물을 나타낸다.

도 5는 실시예 3/16, 3/8 및 10의 화합물이 HeLa 세포에서 자가포식을 활성화함을 나타내며, 또한 자가포식은 바필로마이신 A의 적용에 의해 방지된다. 마찬가지로, 실시예 3/16, 3/8 및 10은 HeLa 세포에서 및 바필로마이신 A로 동시에 처리된 세포에서 p70-S6K(Thr389)의 인산화를 유도한다.

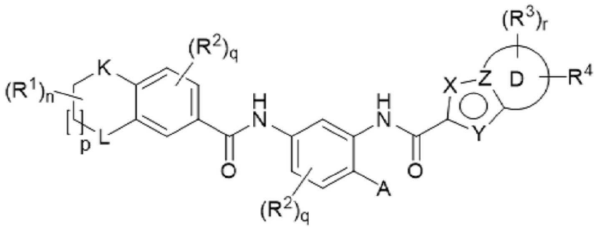
도 6은 실시예 3/16, 3/8 및 10의 화합물이 eGFP-LC3를 발현하는 HeLa 리포터 세포주에서 자가포식을 직접 유도함을 나타낸다(ns, 유의하지 않음; ****, $p < 0.0001$).

도 7은 실시예 3/16, 3/8 및 10의 화합물이 펜포르민을 처리했을 때 HeLa 세포에서 생성되는 락테이트의 형성을 용량 의존적으로 감소시킴을 나타낸다.

도 8은 Panc02 및 SKOV3 세포에서 ATP의 하향조절(도 8a 및 도 8b), 세포 외 락테이트 수준(도 8c 및 도 8d) 및 ER 스트레스 유전자의 유도(도 8e 내지 도 8ab)에 있어서의 실시예 3/16, 3/8, 10, 3/19, 30 및 30/2 화합물의 활성을 비교한 결과를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0063] 본 발명은 화학식 (I)의 화합물, 또는 이의 거울상이성질체, 부분입체이성질체, N-산화물, 용매화물 또는 약학적으로 허용되는 염에 관한 것이다:



(I)

[0064]

[0065] 여기서

[0066] K는 O, S 또는 $C(R^5)_2$이고;

[0067] L은 O, S 또는 $C(R^5)_2$이고;

[0068] n은 0, 1, 2, 3 또는 4이고;

[0069] p는 1 또는 2이고;

[0070] q는 서로 독립적으로 0, 1 또는 2이고;

[0071] r은 1 또는 2이고;

[0072] A는 C_{1-6}-알킬, 할로겐, CN, 할로-C_{1-6}-알킬, C_{3-6}-사이클로알킬, 할로-C_{3-6}-사이클로알킬, OH, -OC_{1-6}-알킬 또는 O-할로-C_{1-6}-알킬이고;

[0073] X는 S, O, NR^6, N 또는 CR^7이고;

[0074] Y는 S, O, NR^6, N 또는 CR^7이고;

[0075] Z는 C 또는 N이고;

[0076] D는 6원 아릴 또는 O, N 및 S로부터 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 헤테로원자를 함유하는 5원 내지 6원 헤테로아릴을 나타내고;

[0077] R^1은 F, C_{1-3}-알킬 또는 스피로사이클릭 융합 C_{3-6}-사이클로알킬이고;

[0078] R^2는 독립적으로 할로겐 또는 C_{1-6}-알킬이고

[0079] R^3은 수소, 할로겐, C_{1-6}-알킬, 할로-C_{1-6}-알킬, C_{3-6}-사이클로알킬, 할로-C_{3-6}-사이클로알킬, -OC_{1-6}-알킬 또는 O-할로-C_{1-6}-알킬이고;

[0080] R^4는 수소, 할로겐 또는 V^1-V^2-V^3-V^4-V^5이고

[0081] 여기서

[0082] V^1은 존재하지 않거나, 결합 또는 C_{1-6}-알킬렌이고;

[0083] V^2는 존재하지 않거나, 결합 또는 O, S, $S(O)_x$, $S(O)(=NR^a)$, $S(O)_2NR^a$, NR^a, $NR^aC(O)$ 또는 $C(O)NR^a$이고;

[0084] V^3은 존재하지 않거나, 결합 또는 C_{1-6}-알킬렌이고;

[0085] 여기서 V^1 또는 V^3에서 C_{1-6}-알킬렌은 비치환되거나 OH, C_{1-6}-알킬, C_{1-6}-할로알킬, 할로겐 및 옥소로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 치환기로 치환되거나,

[0086] V^1 또는 V^3에서 C_{1-6}-알킬렌에 있는 두 개의 C_{1-6}-알킬 기는 이들이 부착된 탄소 원자와 함께 C_{3-6}-사이클로알킬 기를 형성하고;

[0087] V^4는 존재하지 않거나, 결합 또는 O, S, $S(O)_x$, $S(O)(=NR^a)$, $S(O)_2NR^a$, NR^a, $NR^aC(O)$ 또는 $C(O)NR^a$이고;

[0088] V^5는 수소, 할로겐, OH, CN, CO_2H, CO_2-C_{1-6}-알킬, $N(R^a)_2$, C_{1-6}-알킬, C_{3-8}-사이클로알킬, O, S 및 N으로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택된 1, 2 또는 3개의 헤테로원자를 함유하는 4원 내지 8원 모노사이클릭 또는 바이사이클릭 헤테로사이클로알킬, 페닐 또는 O, S 및 N으로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택된 1, 2 또는 3개의 헤테로원자를 함유하는 5원 내지 6원 헤테로아릴이고;

[0089] 여기서 알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 페닐 또는 헤테로아릴은 비치환되거나 CN, CO_2H, CO_2-C_{1-6}-알킬, $N(R^a)_2$, OH, C_{1-6}-알킬, O-C_{1-6}-알킬, C(O)-C_{1-6}-알킬, C_{1-6}-할로알킬, 할로겐, 옥소, 스피로사이클릭 융합 C_{3-6}-사이클로알킬 및 O, S 및 N으로 구성된 군으로부터 선택된 1개의 헤테로원자를 함유하는 스피로사이클릭 융합 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 치환기 R^{V5}로 치환되고;

[0090] R^5는 수소, F, C_{1-3}-알킬 또는 스피로사이클릭 융합 C_{3-6}-사이클로알킬이고;

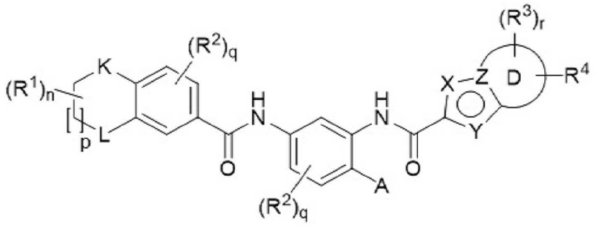
[0091] R^6은 수소 또는 C_{1-6}-알킬이고;

[0092] R^7은 수소, 할로겐 또는 C_{1-6}-알킬이고;

[0093] R^a는 수소 또는 C_{1-3}-알킬이고;

[0094] x는 1 또는 2이다.

[0095] 상기 또는 하기 구현예 중 어느 하나와 조합된 일 구현예에서, 화합물은 화학식(I), 또는 이의 거울상이성질체, 부분입체이성질체, N-산화물, 용매화물 또는 약학적으로 허용되는 염으로 표시된다:



(I)

[0096]

[0097] 여기서

[0098] K는 O, S 또는 $C(R^5)_2$이고;

[0099] L은 O, S 또는 $C(R^5)_2$이고;

[0100] n은 0, 1, 2, 3 또는 4이고;

[0101] p는 1 또는 2이고;

[0102] q는 서로 독립적으로 0, 1 또는 2이고;

[0103] r은 1 또는 2이고;

[0104] A는 C_{1-6}-알킬, 할로겐, CN, 할로-C_{1-6}-알킬, C_{3-6}-사이클로알킬, 할로-C_{3-6}-사이클로알킬, OH, -OC_{1-6}-알킬 또는 O-

할로-C_{1-6}-알킬이고;

[0105] X는 S, O, NR^6, N 또는 CR^7이고;

[0106] Y는 S, O, NR^6, N 또는 CR^7이고;

[0107] Z는 C 또는 N이고;

[0108] D는 6원 아릴 또는 O, N 및 S로부터 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 헤테로원자를 함유하는 5원 내지 6원 헤테로아릴을 나타내고;

[0109] R^1은 F, C_{1-3}-알킬 또는 스피로사이클릭 융합 C_{3-6}-사이클로알킬이고;

[0110] R^2는 독립적으로 할로겐 또는 C_{1-6}-알킬이고

[0111] R^3은 수소, 할로겐, C_{1-6}-알킬, 할로-C_{1-6}-알킬, C_{3-6}-사이클로알킬, 할로-C_{3-6}-사이클로알킬, -OC_{1-6}-알킬 또는 O-할로-C_{1-6}-알킬이고;

[0112] R^4는 수소, 할로겐 또는 V^1-V^2-V^3-V^4-V^5이고,

[0113] 여기서

[0114] V^1은 존재하지 않거나, 결합 또는 C_{1-6}-알킬렌이고;

[0115] V^2는 존재하지 않거나, 결합 또는 O, S, $S(O)_x$, $S(O)(=NR^a)$, $S(O)_2NR^a$, NR^a, $NR^aC(O)$ 또는 $C(O)NR^a$이고;

[0116] V^3은 존재하지 않거나, 결합 또는 C_{1-6}-알킬렌이고;

[0117] 여기서 V^1 또는 V^3에서 C_{1-6}-알킬렌은 비치환되거나 C_{1-6}-알킬, C_{1-6}-할로알킬, 할로겐 및 옥소로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 치환기로 치환되거나,

[0118] V^1 또는 V^3에서 C_{1-6}-알킬렌에 있는 두 개의 C_{1-6}-알킬 기는 이들이 부착된 탄소 원자와 함께 C_{3-6}-사이클로알킬 기를 형성하고;

[0119] V^4는 존재하지 않거나, 결합 또는 O, S, $S(O)_x$, $S(O)(=NR^a)$, $S(O)_2NR^a$, NR^a, $NR^aC(O)$ 또는 $C(O)NR^a$이고;

[0120] V^5는 수소, 할로겐, OH, CN, CO_2H, CO_2-C_{1-6}-알킬, $N(R^a)_2$, C_{1-6}-알킬, C_{3-8}-사이클로알킬, O, S 및 N으로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택된 1, 2 또는 3개의 헤테로원자를 함유하는 4원 내지 8원 모노사이클릭 또는 바이사이클릭 헤테로사이클로알킬, 페닐 또는 O, S 및 N으로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택된 1, 2 또는 3개의 헤테로원자를 함유하는 5원 내지 6원 헤테로아릴이고;

[0121] 여기서 알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 페닐 또는 헤테로아릴은 비치환되거나 CN, CO_2H, CO_2-C_{1-6}-알킬, $N(R^a)_2$, OH, C_{1-6}-알킬, O-C_{1-6}-알킬, C(O)-C_{1-6}-알킬, C_{1-6}-할로알킬, 할로겐, 옥소, 스피로사이클릭 융합 C_{3-6}-사이클로알킬 및 O, S 및 N으로 구성된 군으로부터 선택된 1개의 헤테로원자를 함유하는 스피로사이클릭 융합 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 치환기 R^{V5}로 치환되고;

[0122] R^5는 수소, F, C_{1-3}-알킬 또는 스피로사이클릭 융합 C_{3-6}-사이클로알킬이고;

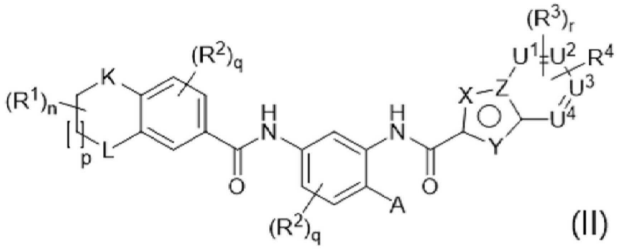
[0123] R^6은 수소 또는 C_{1-6}-알킬이고;

[0124] R^7은 수소, 할로겐 또는 C_{1-6}-알킬이고;

[0125] R^a는 수소 또는 C_{1-3}-알킬이고;

[0126] x는 1 또는 2이다.

[0127] 상기 또는 하기 구현예 중 어느 하나와 조합된 일 구현예에서, 화합물은 화학식(II)로 표시된다:

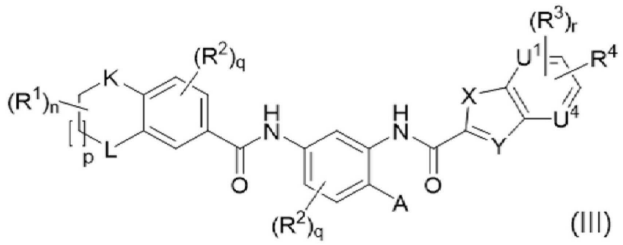


(II)

[0128]

[0129] 여기서 U^1, U^2, U^3 및 U^4는 N 및 C로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택된다.

[0130] 상기 또는 하기 구현예 중 어느 하나와 조합된 일 구현예에서, 화합물은 화학식 (III)으로 표시되는 화합물이다:



(III)

[0131]

[0132] 여기서

[0133] U^1 및 U^4는 N 및 C로부터 독립적으로 선택되고;

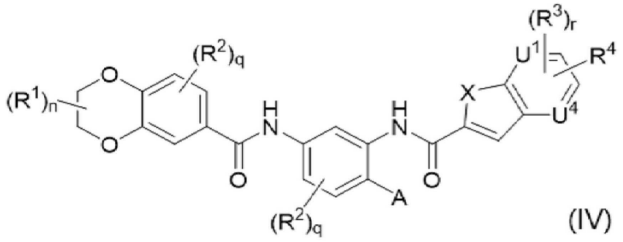
[0134] X는 S, O, NR^6 또는 N이고;

[0135] Y는 CR^7 또는 N이다.

[0136] 상기 또는 하기 구현예 중 어느 하나와 조합된 일 구현예에서, 인덱스 n은 0이다.

[0137] 상기 또는 하기 구현예 중 어느 하나와 조합된 일 구현예에서, 인덱스 p는 1이다.

[0138] 상기 또는 하기 구현예 중 어느 하나와 조합된 일 구현예에서, 화합물은 화학식 (IV)로 표시된다:



(IV)

[0139]

[0140] 여기서

[0141] A는 C_{1-6}-알킬 또는 할로겐이고;

[0142] X는 S 또는 NH이다.

[0143] 상기 또는 하기 구현예 중 어느 하나와 조합된 일 구현예에서, R^4는 수소, 할로겐 또는 V^1-V^2-V^3-V^4-V^5이고,

[0144] 여기서 V^1은 존재하지 않거나, 결합 또는 C_{1-4}-알킬렌이고;

[0145] V^2는 존재하지 않거나, 결합 또는 O, S, $S(O)_x$, NR^a이고;

[0146] V^3은 존재하지 않거나, 결합 또는 C_{1-4}-알킬렌이고;

[0147] V^4는 존재하지 않거나, 결합 또는 O, S, $S(O)_x$, NR^a이고;

[0148] 여기서 V^1 또는 V^3에서 C_{1-4}-알킬렌은 비치환되거나 C_{1-3}-알킬, C_{1-3}-할로알킬, 할로겐 및 옥소로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 치환기로 치환되거나,

[0149] V^1 또는 V^3에서 C_{1-4}-알킬렌에 있는 두 개의 C_{1-6}-알킬 기는 이들이 부착된 탄소 원자와 함께 C_{3-6}-사이클로알킬 기를 형성하고;

[0150] V^5는 수소, 할로겐, OH, CN, C_{1-6}-알킬, C_{3-8}-사이클로알킬, O, S 및 N으로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택된 1, 2 또는 3개의 헤테로원자를 함유하는 4원 내지 8원 모노사이클릭 또는 바이사이클릭 헤테로사이클로알킬, 또는 O, S 및 N으로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택된 1, 2 또는 3개의 헤테로원자를 함유하는 5원 내지 6원 헤테로아릴이고;

[0151] 여기서 알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 또는 헤테로아릴은 비치환되거나 OH, C_{1-6}-알킬, O-C_{1-6}-알킬, C(O)-C_{1-6}-알킬, C_{1-6}-할로알킬, 할로겐, 옥소, 스피로사이클릭 융합 C_{3-6}-사이클로알킬 및 O, S 및 N으로 구성된 군으로부터 선택된 1개의 헤테로원자를 함유하는 스피로사이클릭 융합 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 치환기 R^{V5}로 치환된다.

[0152] 상기 또는 하기 구현예 중 어느 하나와 조합된 일 구현예에서, R^4는 수소, 할로겐 또는 V^2-V^3-V^5이고,

[0153] 여기서 V^2는 존재하지 않거나, 결합 또는 O이고,

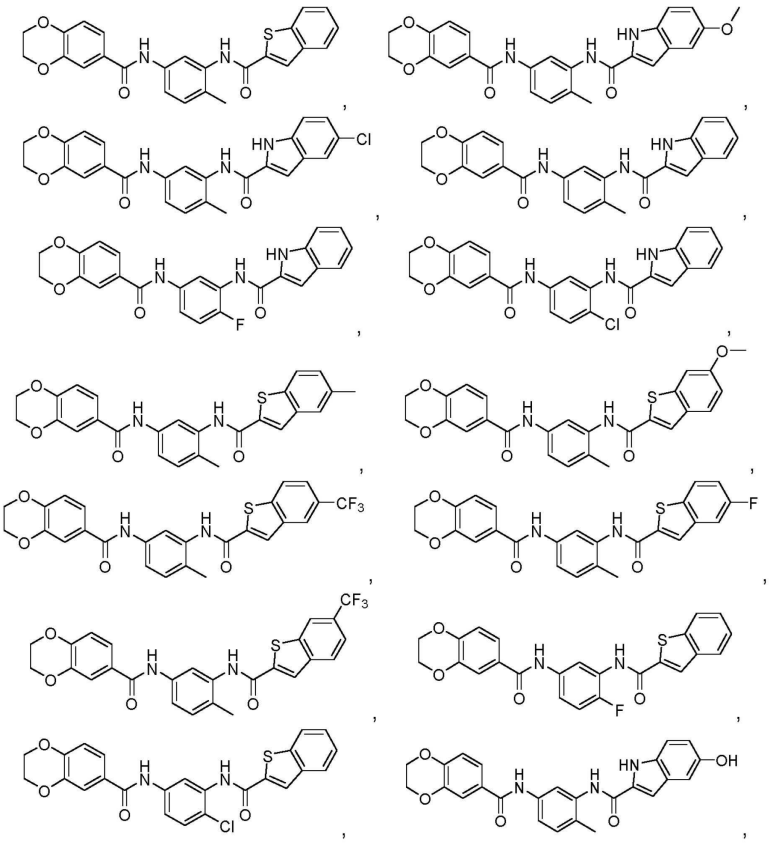
[0154] V^3은 존재하지 않거나, 결합 또는 C_{1-4}-알킬렌이고,

[0155] 여기서 V^3에서 C_{1-4}-알킬렌은 비치환되거나 C_{1-3}-알킬로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 치환기로 치환되고,

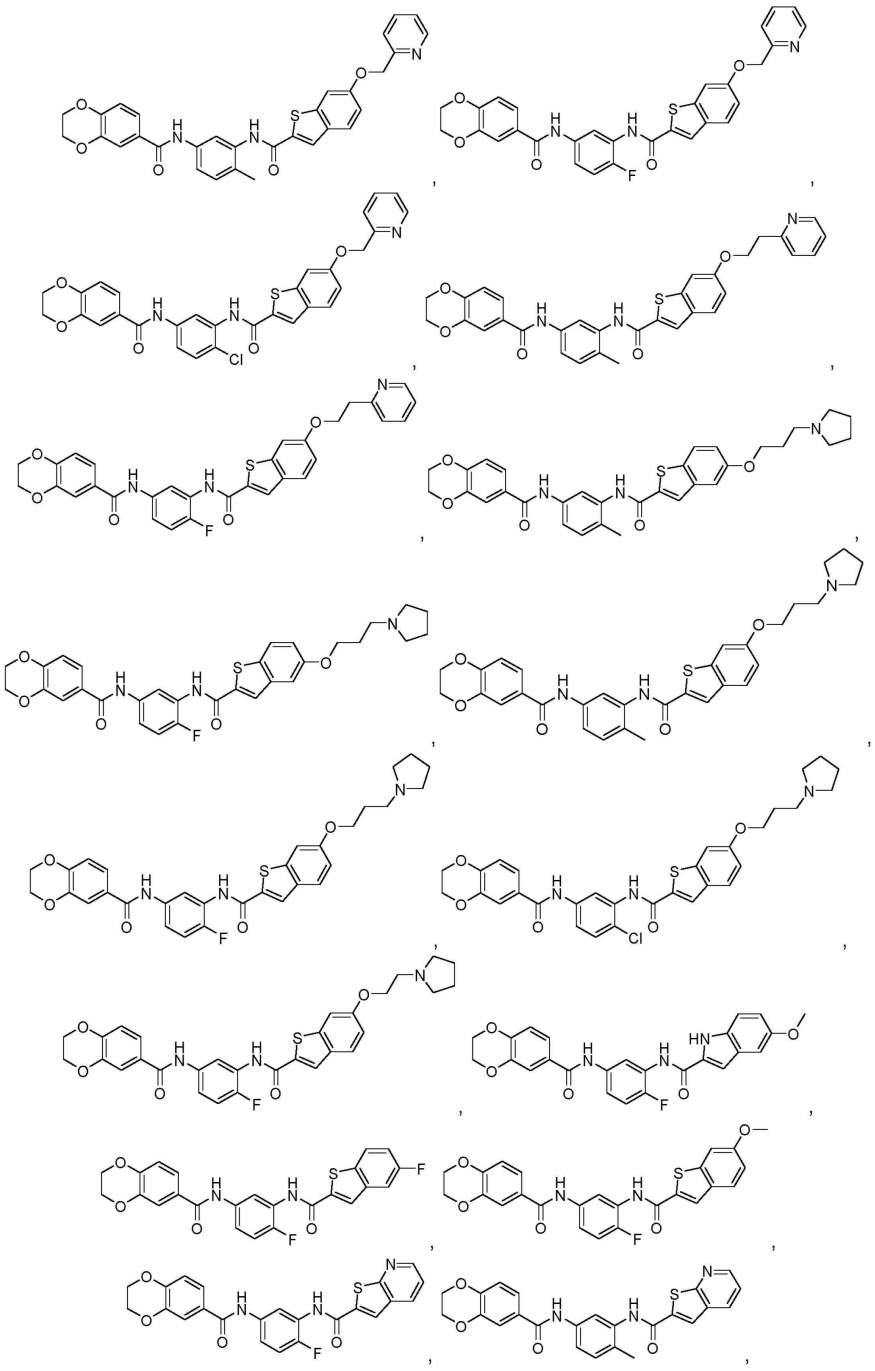
[0156] V^5는 수소, 할로겐, OH, CN, C_{1-6}-알킬, O, S 및 N으로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택된 1, 2 또는 3개의 헤테로원자를 함유하는 4원 내지 8원 모노사이클릭 또는 바이사이클릭 헤테로사이클로알킬, 또는 O, S 및 N으로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택된 1, 2 또는 3개의 헤테로원자를 함유하는 5원 내지 6원 헤테로아릴이고;

[0157] 여기서 알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 또는 헤테로아릴은 비치환되거나 OH, C_{1-6}-알킬, O-C_{1-6}-알킬, C_{1-6}-할로알킬, 할로겐 및 옥소로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 치환기 R^{V5}로 치환된다.

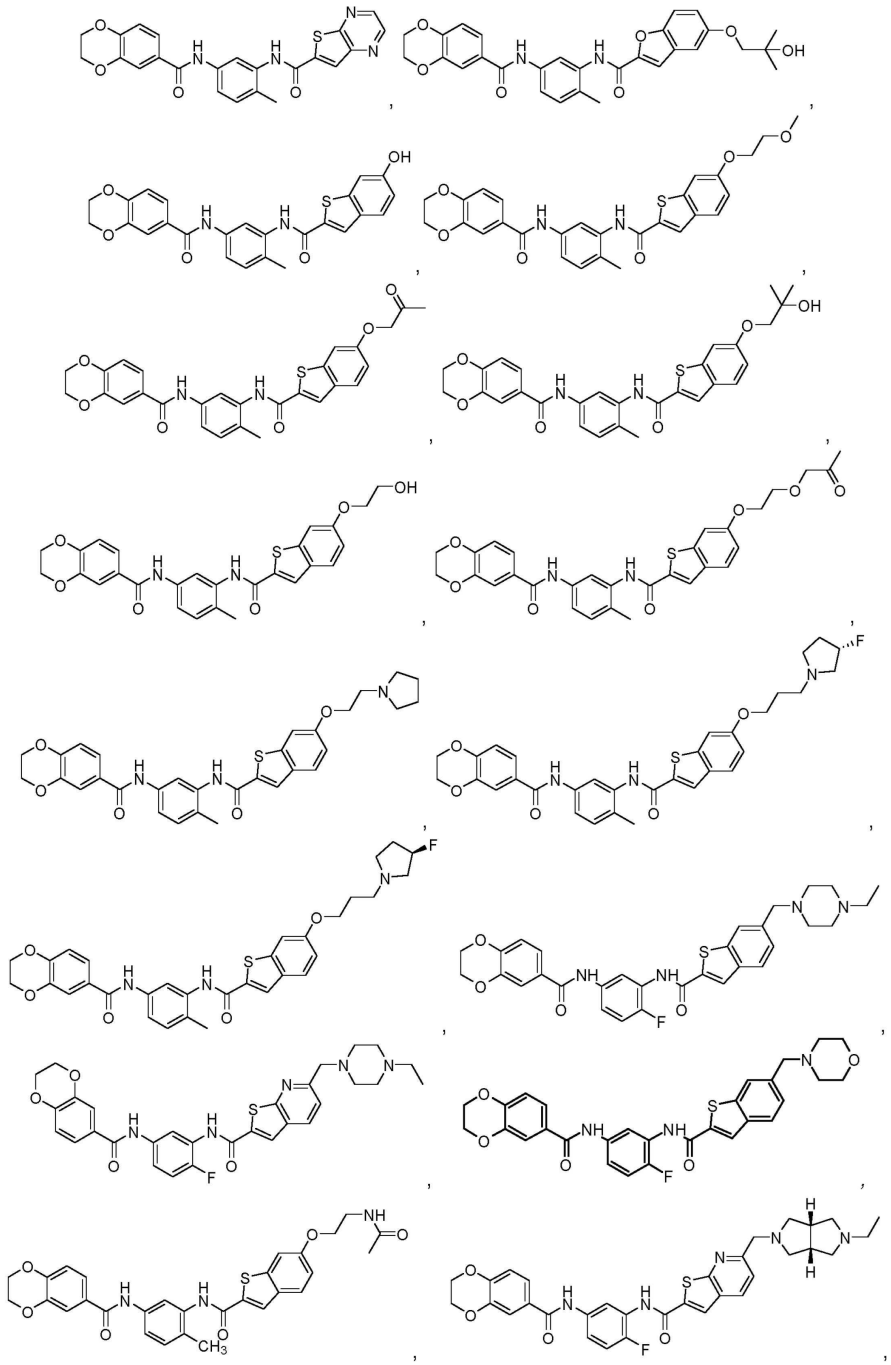
[0158] 상기 또는 하기 구현예 중 어느 하나와 조합된 일 구현예에서, 화합물은 하기 화합물들로 구성된 군으로부터 선택된다:



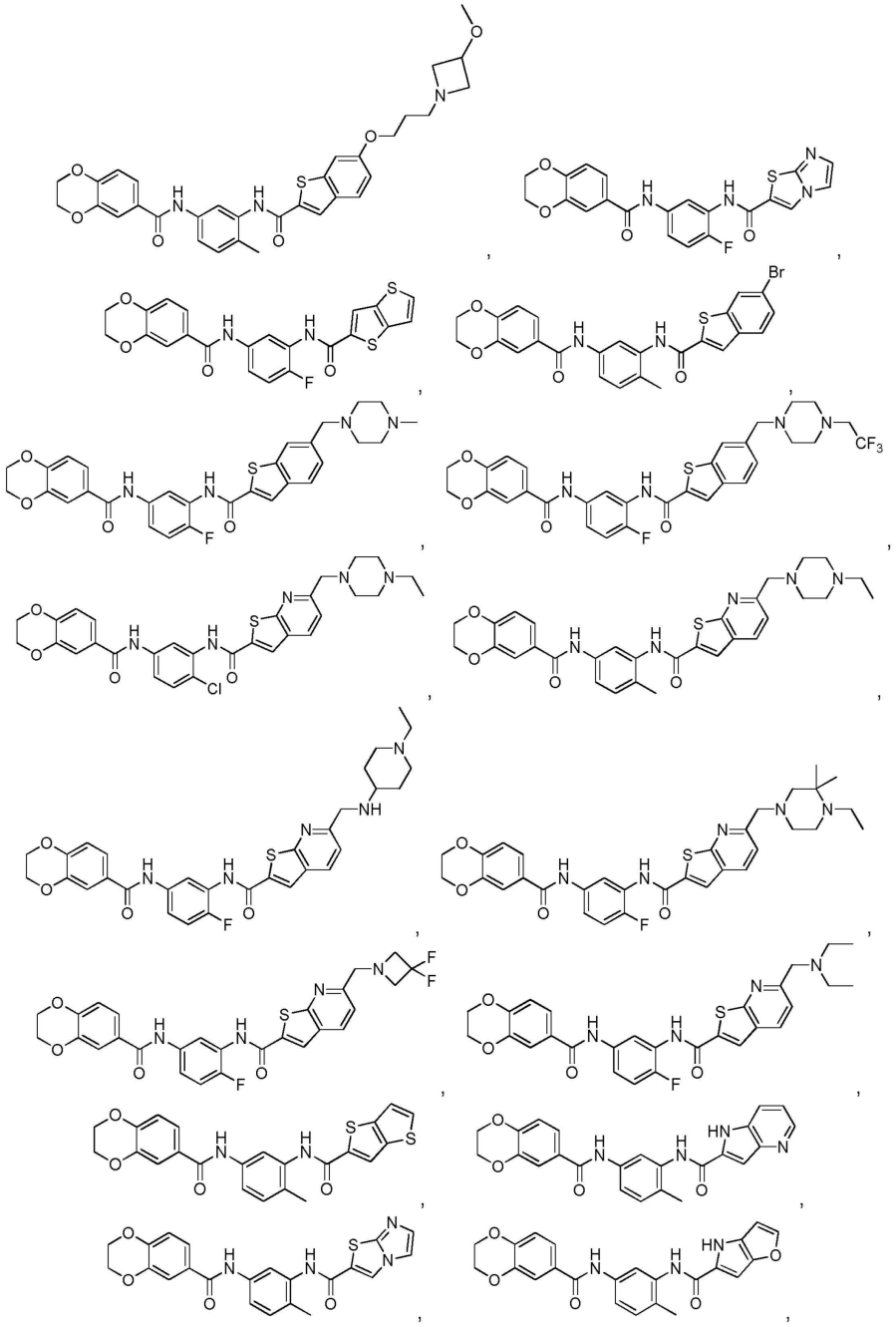
[0159]



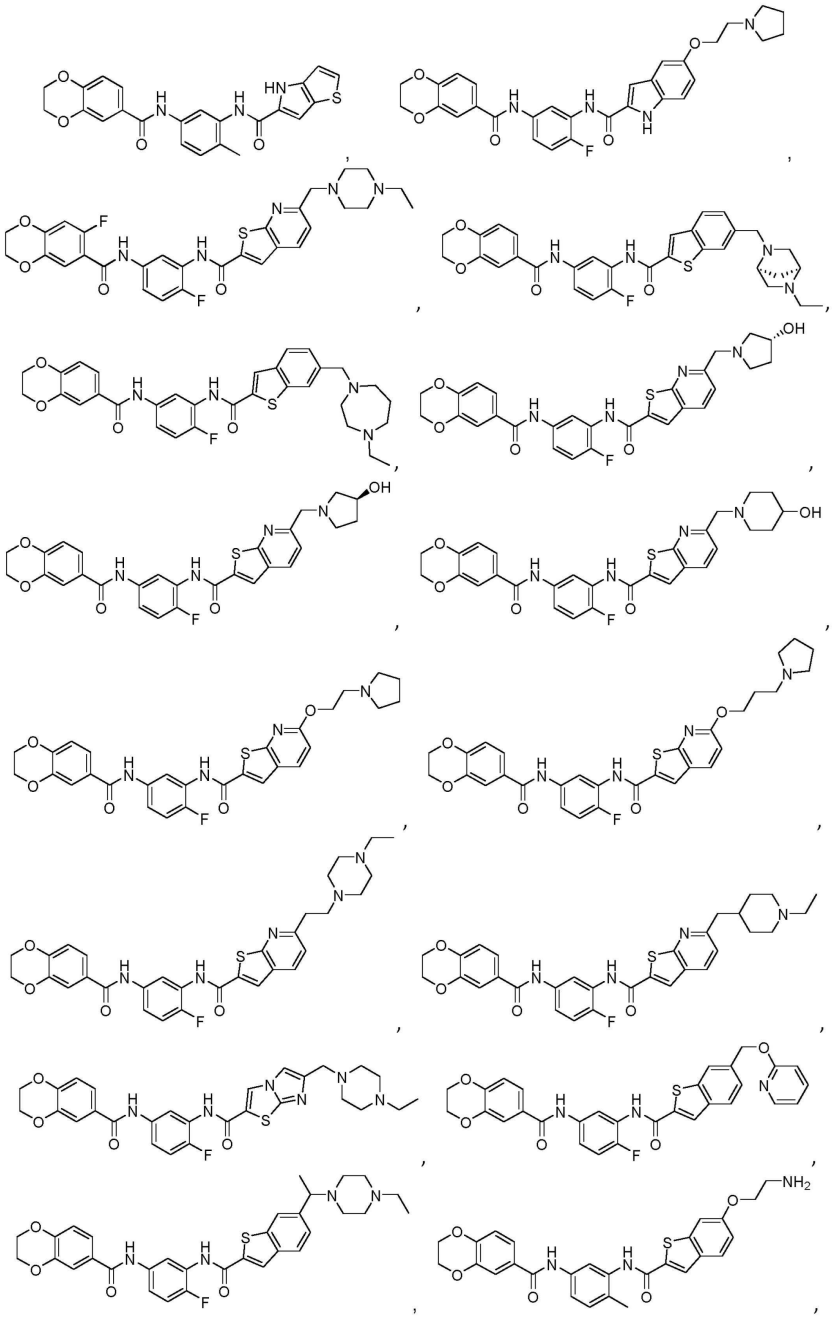
[0160]



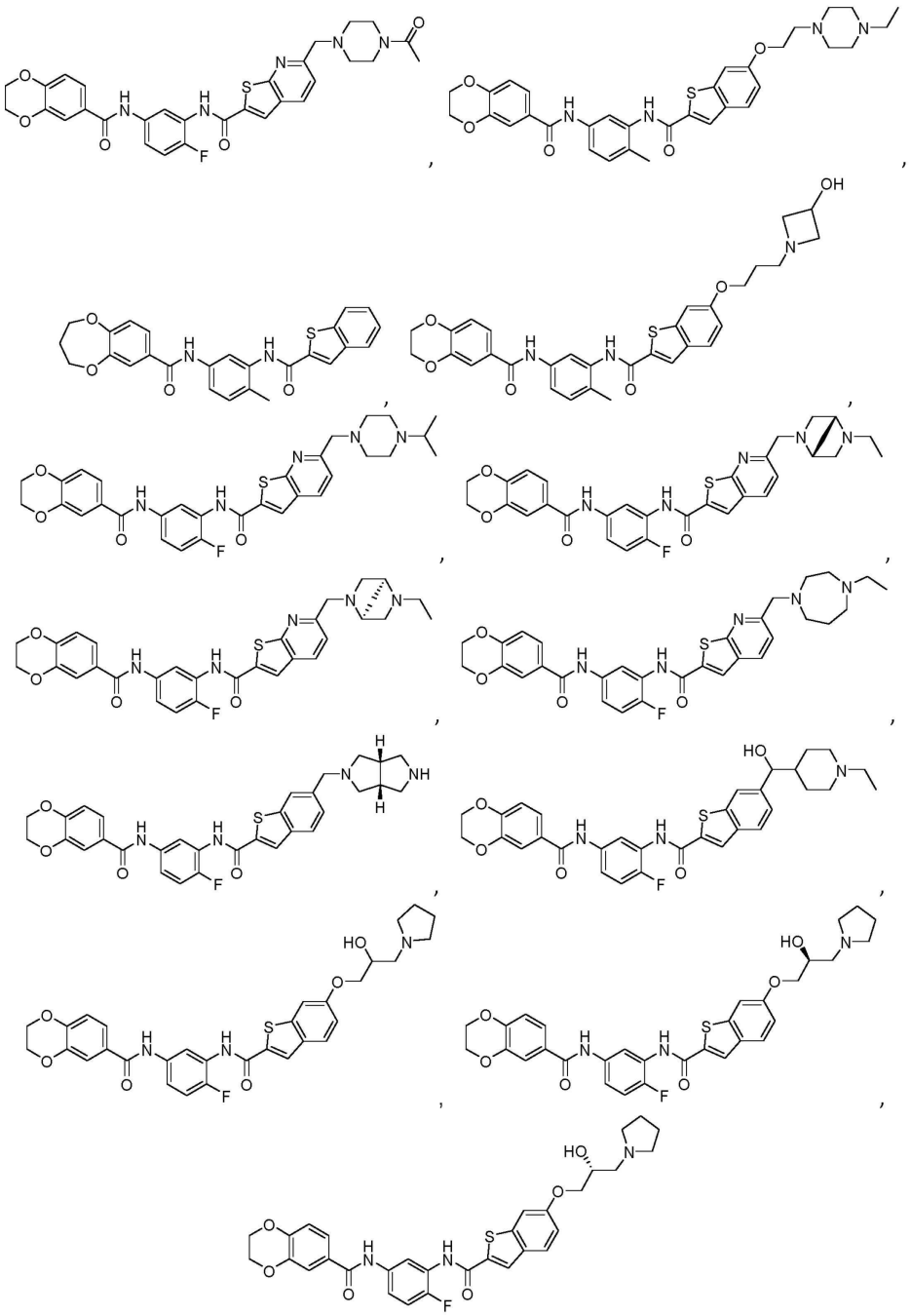
[0161]



[0162]



[0163]



[0164]

[0165] 및 이의 N-산화물, 용매화물 또는 약학적으로 허용되는 염.

[0166] 화학식 (I)에서, 변수 K 및 L은 독립적으로 O, S 또는 $C(R^5)_2$를 나타낸다. 상기 또는 하기 구현예 중 어느 하나와 조합된 바람직한 구현예에서, 변수 K 및 L 중 하나는 O를 나타내고 다른 하나는 S를 나타내거나, 두 변수 모두 O를 나타내거나, 두 변수 모두 S를 나타내고, 더 바람직하게는 K 및 L 모두 O를 나타낸다. 상기 또는 하기 구현예 중 어느 하나와 조합된 추가의 바람직한 구현예에서, K 및 L 중 하나는 O를 나타내고 다른 하나는 $C(R^5)$를 나타낸다.

[0167] 화학식 (I)에서, 변수 A는 C_{1-6}-알킬, 할로겐, CN, 할로-C_{1-6}-알킬, C_{3-6}-사이클로알킬, 할로-C_{3-6}-사이클로알킬, OH, -OC_{1-6}-알킬 또는 O-할로-C_{1-6}-알킬이다. 상기 또는 하기 구현예 중 어느 하나와 조합된 일 구현예에서, 변수 A는 C_{1-6}-알킬, 할로겐, 할로-C_{1-6}-알킬, C_{3-6}-사이클로알킬, 할로-C_{3-6}-사이클로알킬, OH, -OC_{1-6}-알킬 또는 O-할로-C_{1-6}-알킬이다. 상기 또는 하기 구현예 중 어느 하나와 조합된 일 구현예에서, 변수 A는 C_{1-6}-알킬, 할로겐, 할

로-C_{1-6}-알킬, OH, -OC_{1-6}-알킬 또는 O-할로-C_{1-6}-알킬이다. 상기 또는 하기 구현예 중 어느 하나와 조합된 바람직한 구현예에서, 변수 A는 C_{1-6}-알킬 또는 할로겐이다.

[0168] 상기 또는 하기 구현예 중 어느 하나와 조합된 더 바람직한 구현예에서, 변수 A는 CH_3, F 또는 Cl이다. 상기 또는 하기 구현예 중 어느 하나와 조합된 가장 바람직한 구현예에서, 변수 A는 F이다.

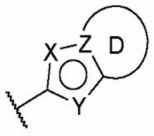
[0169] 화학식 (I)에서, 인덱스 q는 0, 1 및 2 중에서 독립적으로 선택된다. 상기 또는 하기 구현예 중 어느 하나와 조합된 바람직한 구현예에서, 인덱스 q는 0 또는 1 중에서 독립적으로 선택된다. 상기 또는 하기 구현예 중 어느 하나와 조합된 더욱 바람직한 구현예에서, 인덱스 q는 0이다.

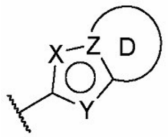
[0170] 화학식 (I)에서, 인덱스 p는 1 또는 2이다. 상기 또는 하기 구현예 중 어느 하나와 조합된 바람직한 구현예에서, 인덱스 p는 1이다.

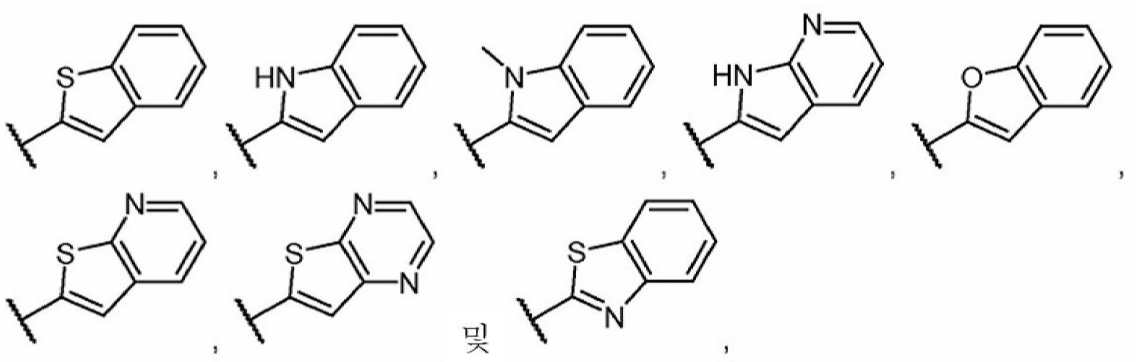
[0171] 화학식 (I)에서, 인덱스 n은 0, 1, 2, 3 또는 4이다. 상기 또는 하기 구현예 중 어느 하나와 조합된 바람직한 구현예에서, 인덱스 n은 0, 1 또는 2이다. 상기 또는 하기 구현예 중 어느 하나와 조합된 더욱 바람직한 구현예에서, 인덱스 n은 0 또는 1이다. 상기 또는 하기 구현예 중 어느 하나와 조합된 가장 바람직한 구현예에서, 인덱스 n은 0이다.

[0172] 상기 또는 하기 구현예 중 어느 하나와 조합된 일 구현예에서, 변수 A는 F이고 인덱스 q는 0이다.

[0173] 상기 또는 하기 구현예 중 어느 하나와 조합된 일 구현예에서, 변수 K 및 L은 모두 O를 나타내고, n은 0이고, p는 1이고, q는 0이다.

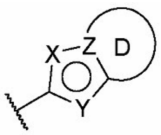
[0174] 화학식 (I)에서, 구조적 모이어티  에서 고리 D는 6원 아릴 또는 O, N 및 S로부터 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 헤테로원자를 함유하는 5원 내지 6원 헤테로아릴을 나타낸다.

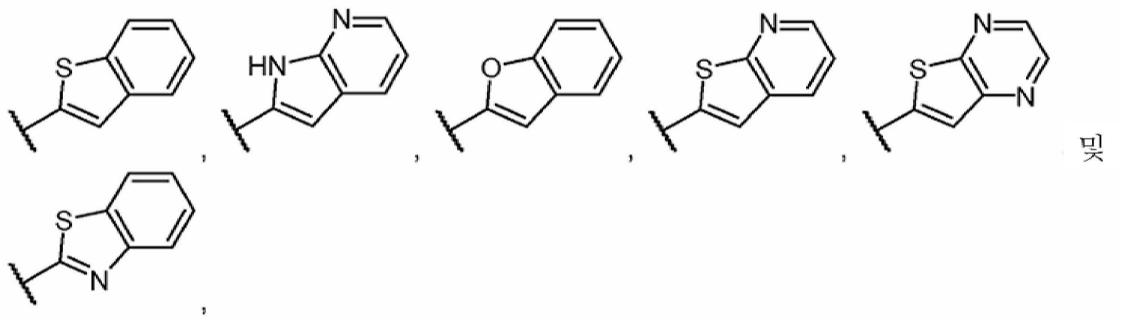
[0175] 상기 또는 하기 구현예 중 어느 하나와 조합된 바람직한 구현예에서, 구조적 단위  는 하기로 구성된 군으로부터 선택되며:



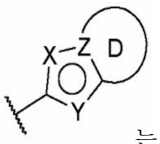
[0176] 및

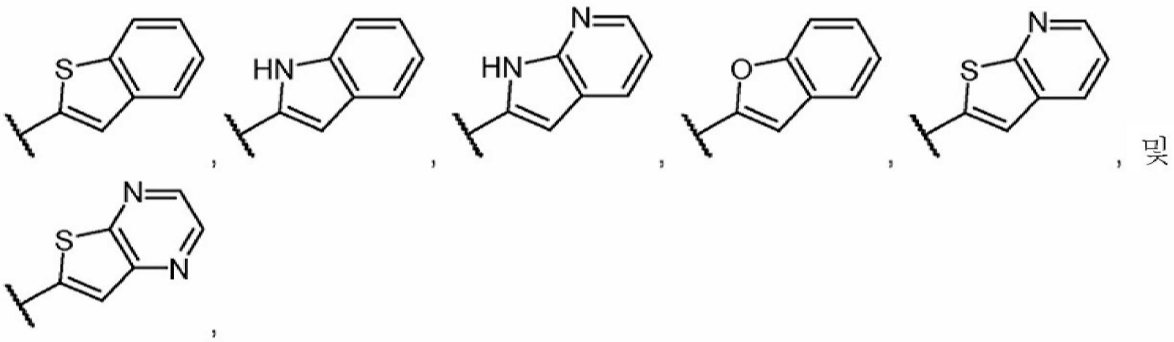
[0177] 여기서 고리 D를 나타내는 상기 각 기는 R^4 및 1 또는 2개의 R^3로 치환된다.

[0178] 상기 또는 하기 구현예 중 어느 하나와 조합된 바람직한 구현예에서, 구조적 단위  는 하기로 구성된 군으로부터 선택되며:

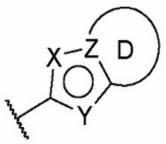
[0179] 

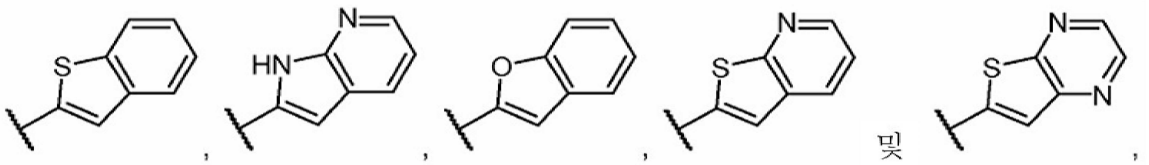
[0180] 여기서 고리 D를 나타내는 상기 각 기는 R^4 및 1 또는 2개의 R^3로 치환된다.

[0181] 상기 또는 하기 구현예 중 어느 하나와 조합된 추가의 구현예에서, 구조적 단위  는 하기로 구성된 군으로부터 선택되며:

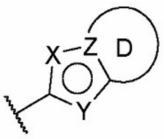
[0182] 

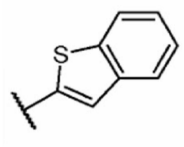
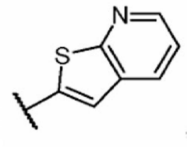
[0183] 여기서 고리 D를 나타내는 상기 각 기는 R^4 및 1 또는 2개의 R^3로 치환된다.

[0184] 상기 또는 하기 구현예 중 어느 하나와 조합된 일 구현예에서, 구조적 단위  는 하기로 구성된 군으로부터 선택되며:

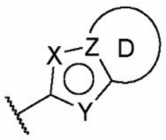
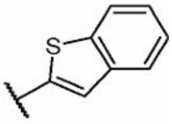
[0185] 

[0186] 여기서 고리 D를 나타내는 상기 각 기는 R^4 및 1 또는 2개의 R^3로 치환된다.

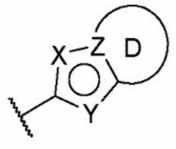
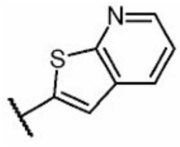
[0187] 상기 또는 하기 구현예 중 어느 하나와 조합된 바람직한 구현예에서, 구조적 단위  는 하기로 구성된 군으로부터 선택되며:

[0188]  및 

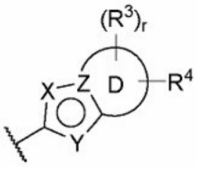
[0189] 여기서 고리 D를 나타내는 상기 각 기는 R^4 및 1 또는 2개의 R^3로 치환된다.

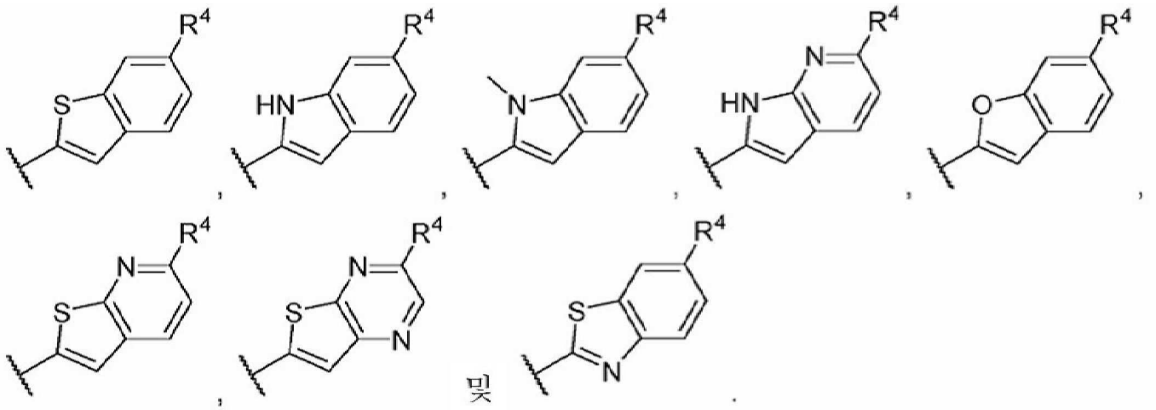
[0190] 상기 또는 하기 구현예 중 어느 하나와 조합된 더욱 바람직한 구현예에서, 구조적 단위  는  이고,

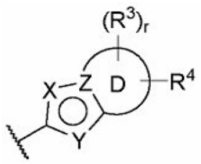
[0191] 여기서 고리 D를 나타내는 페닐 고리는 R^4 및 1 또는 2개의 R^3로 치환된다.

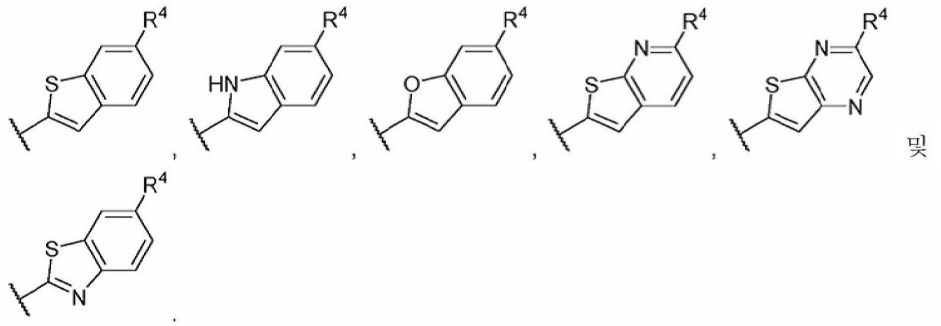
[0192] 상기 또는 하기 구현예 중 어느 하나와 조합된 동등하게 더욱 바람직한 구현예에서, 구조적 단위  는  이고,

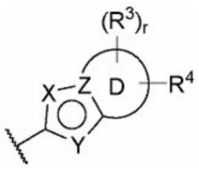
[0193] 여기서 고리 D를 나타내는 피리딘 고리는 R^4 및 1 또는 2개의 R^3로 치환된다.

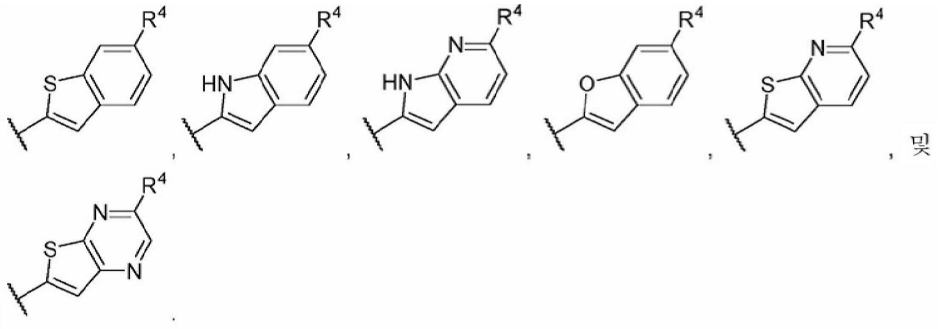
[0194] 상기 또는 하기 구현예 중 어느 하나와 조합된 일 구현예에서, 구조적 단위  는 하기로 구성된 군으로부터 선택된다:

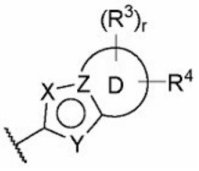
[0195] 

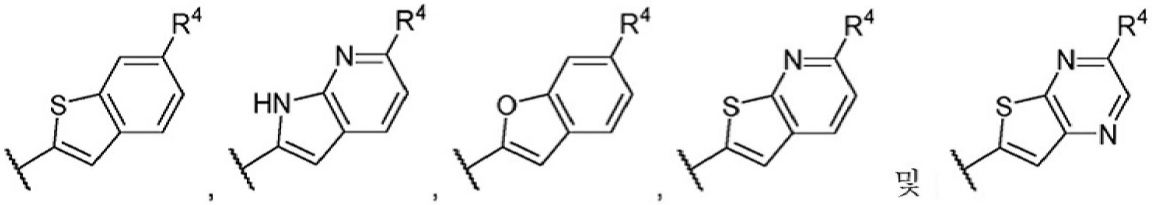
[0196] 상기 또는 하기 구현예 중 어느 하나와 조합된 바람직한 구현예에서, 구조적 단위  는 하기로 구성된 군으로부터 선택된다:

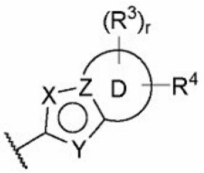
[0197] 

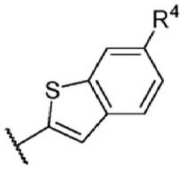
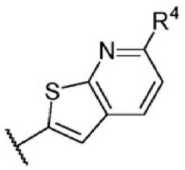
[0198] 상기 또는 하기 구현예 중 어느 하나와 조합된 추가의 구현예에서, 구조적 단위  는 하기로 구성된 군으로부터 선택된다:

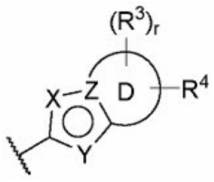
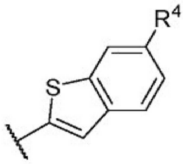
[0199] 

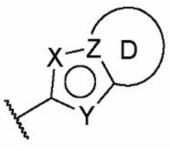
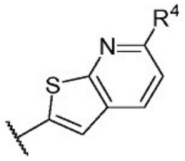
[0200] 상기 또는 하기 구현예 중 어느 하나와 조합된 일 구현예에서, 구조적 단위  는 하기로 구성된 군으로부터 선택된다:

[0201]  .

[0202] 상기 또는 하기 구현예 중 어느 하나와 조합된 바람직한 구현예에서, 구조적 단위  는 하기로 구성된 군으로부터 선택된다:

[0203]  및  .

[0204] 상기 또는 하기 구현예 중 어느 하나와 조합된 더욱 바람직한 구현예에서, 구조적 단위  는  이다.

[0205] 상기 또는 하기 구현예 중 어느 하나와 조합된 동등하게 더욱 바람직한 구현예에서, 구조적 단위  는  이다.

[0206] 화학식 (I)에서, R^1은 F, C_{1-3}-알킬 또는 스피로사이클릭 융합 C_{3-6}-사이클로알킬이다.

[0207] 상기 또는 하기 구현예 중 어느 하나와 조합된 바람직한 구현예에서, R^1은 F 또는 C_{1-3}-알킬이다.

[0208] 화학식 (I)에서, R^2는 할로겐 또는 C_{1-6}-알킬이다.

[0209] 상기 또는 하기 구현예 중 어느 하나와 조합된 바람직한 구현예에서, R^2는 F, Cl 또는 C_{1-3}-알킬이다.

[0210] 화학식 (I)에서, R^3은 수소, 할로겐, C_{1-6}-알킬, 할로-C_{1-6}-알킬, C_{3-6}-사이클로알킬, 할로-C_{3-6}-사이클로알킬, -OC_{1-6}-알킬 또는 O-할로-C_{1-6}-알킬이다.

[0211] 상기 또는 하기 구현예 중 어느 하나와 조합된 바람직한 구현예에서, R^3은 수소, F, Cl, Br, C_{1-6}-알킬, 할로-C_{1-6}-알킬, C_{3-6}-사이클로알킬 또는 -OC_{1-6}-알킬이고, 더욱 바람직하게는 R^3은 F, Cl 또는 C_{1-6}-알킬이다.

[0212] 화학식 (I)에서, R^4는 수소, 할로겐 또는 V^1-V^2-V^3-V^4-V^5이고, 여기서

[0213] V^1은 존재하지 않거나, 결합 또는 C_{1-6}-알킬렌이고;

[0214] V^2는 존재하지 않거나, 결합 또는 O, S, $S(O)_x$, $S(O)(=NR^a)$, $S(O)_2NR^a$, NR^a, $NR^aC(O)$ 또는 $C(O)NR^a$이고;

[0215] V^3은 존재하지 않거나, 결합 또는 C_{1-6}-알킬렌이고;

[0216] 여기서 V^1 또는 V^3에서 C_{1-6}-알킬렌은 비치환되거나 OH, C_{1-6}-알킬, C_{1-6}-할로알킬, 할로겐 및 옥소로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 치환기로 치환되거나,

[0217] V^1 또는 V^3에서 C_{1-6}-알킬렌에 있는 두 개의 C_{1-6}-알킬 기는 이들이 부착된 탄소 원자와 함께 C_{3-6}-사이클로알킬 기를 형성하고;

[0218] V^4는 존재하지 않거나, 결합 또는 O, S, $S(O)_x$, $S(O)(=NR^a)$, $S(O)_2NR^a$, NR^a, $NR^aC(O)$ 또는 $C(O)NR^a$이고;

[0219] V^5는 수소, 할로겐, OH, CN, CO_2H, CO_2-C_{1-6}-알킬, $N(R^a)_2$, C_{1-6}-알킬, C_{3-8}-사이클로알킬, O, S 및 N으로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택된 1, 2 또는 3개의 헤테로원자를 함유하는 4원 내지 8원 모노사이클릭 또는 바이사이클릭 헤테로사이클로알킬, 페닐 또는 O, S 및 N으로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택된 1, 2 또는 3개의 헤테로원자를 함유하는 5원 내지 6원 헤테로아릴이고;

[0220] 여기서 알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 페닐 또는 헤테로아릴은 비치환되거나 CN, CO_2H, CO_2-C_{1-6}-알킬, $N(R^a)_2$, OH, C_{1-6}-알킬, O-C_{1-6}-알킬, C(O)-C_{1-6}-알킬, C_{1-6}-할로알킬, 할로겐, 옥소, 스피로사이클릭 융합 C_{3-6}-사이클로알킬 및 O, S 및 N으로 구성된 군으로부터 선택된 1개의 헤테로원자를 함유하는 스피로사이클릭 융합 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 치환기 R^{V5}로 치환됨.

[0221] 상기 또는 하기 구현예 중 어느 하나와 조합된 바람직한 구현예에서, R^4는 수소, 할로겐 또는 V^1-V^2-V^3-V^4-V^5이고, 여기서

[0222] V^1은 존재하지 않거나, 결합 또는 C_{1-4}-알킬렌이고;

[0223] V^2는 존재하지 않거나, 결합 또는 O, S, $S(O)_x$ 또는 NR^a이고;

[0224] V^3은 존재하지 않거나, 결합 또는 C_{1-4}-알킬렌이고;

[0225] V^4는 존재하지 않거나, 결합 또는 O, S, $S(O)_x$ 또는 NR^a이고;

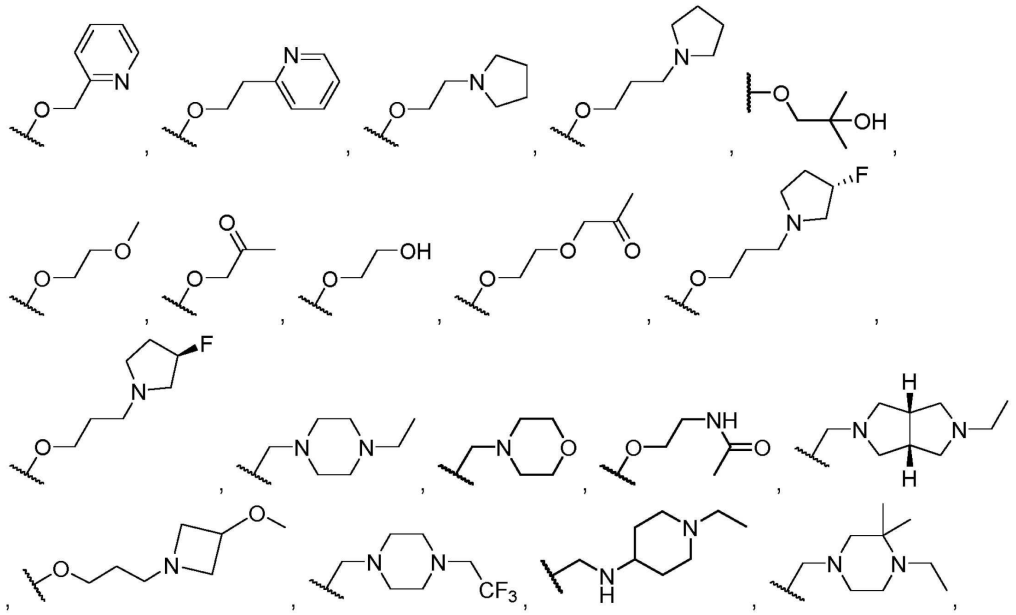
[0226] 여기서 V^1 또는 V^3에서 C_{1-4}-알킬렌은 비치환되거나 OH, C_{1-3}-알킬, C_{1-3}-할로알킬, 할로겐 및 옥소로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 치환기로 치환되거나,

[0227] V^1 또는 V^3에서 C_{1-4}-알킬렌에 있는 두 개의 C_{1-6}-알킬 기는 이들이 부착된 탄소 원자와 함께 C_{3-6}-사이클로알킬 기를 형성하고;

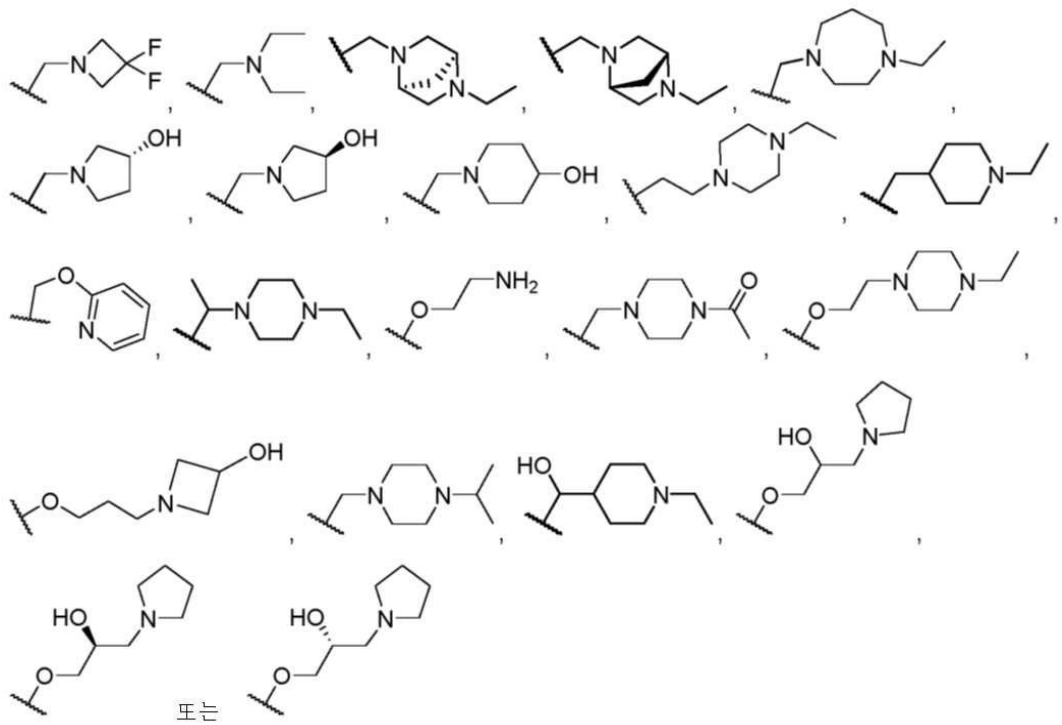
[0228] V^5는 수소, 할로겐, OH, CN, C_{1-6}-알킬, C_{3-6}-사이클로알킬, O, S 및 N으로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택된 1, 2 또는 3개의 헤테로원자를 함유하는 4원 내지 8원 모노사이클릭 또는 바이사이클릭 헤테로사이클로알킬 또는 O, S 및 N으로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택된 1, 2 또는 3개의 헤테로원자를 함유하는 5원 내지 6원 헤테로아릴이고;

[0229] 여기서 알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬 또는 헤테로아릴은 비치환되거나 OH, C_{1-6}-알킬, O-C_{1-6}-알킬, C(O)-C_{1-6}-알킬, C_{1-6}-할로알킬, 할로겐, 옥소, 스피로사이클릭 융합 C_{3-6}-사이클로알킬 및 O, S 및 N으로 구성된 군으로부터 선택된 1개의 헤테로원자를 함유하는 스피로사이클릭 융합 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 치환기 R^{V5}로 치환됨.

[0230] 상기 또는 하기 구현예 중 어느 하나와 조합된 바람직한 구현예에서, R^4는 H, $-CH_3$, $-CF_3$, $-OCH_3$, F, Cl, Br,



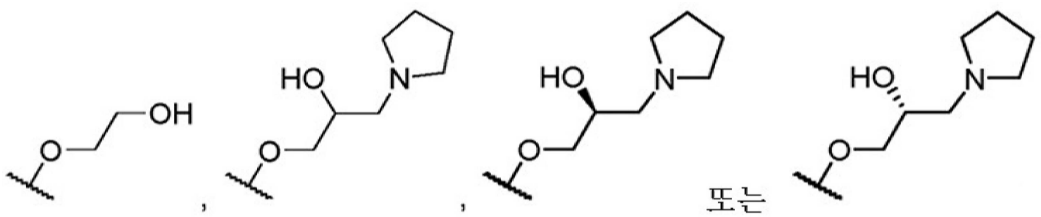
[0231]



또는

[0232] 이다.

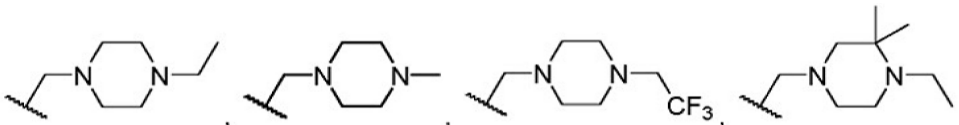
[0233] 상기 또는 하기 구현예 중 어느 하나와 조합된 더욱 바람직한 구현예에서, R^4는

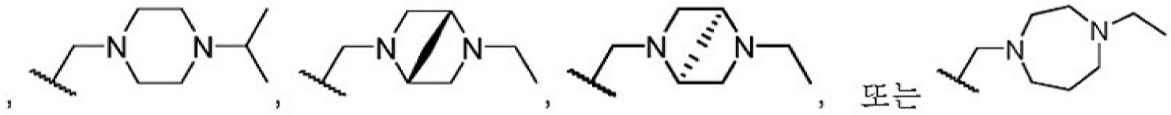


또는

이다.

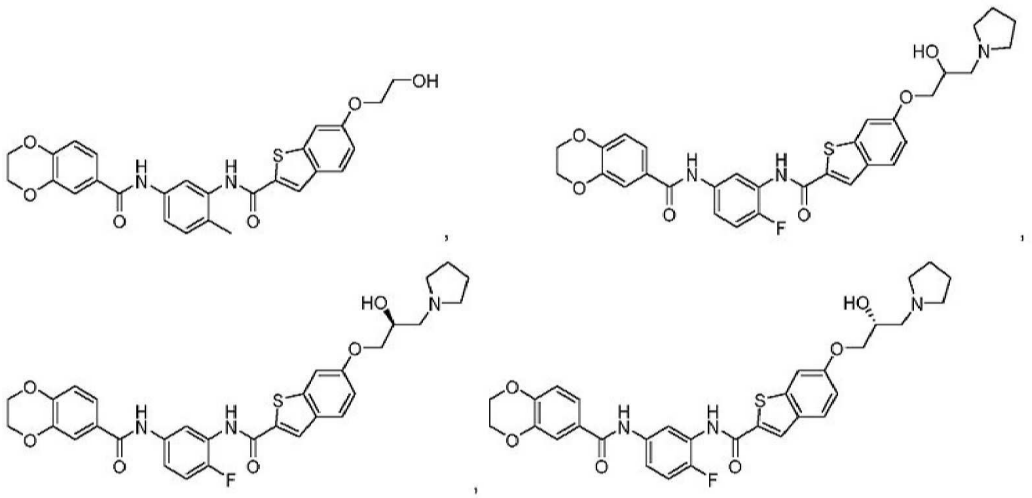
[0234] 상기 또는 하기 구현예 중 어느 하나와 조합된 동등하게 더욱 바람직한 구현예에서, R^4는





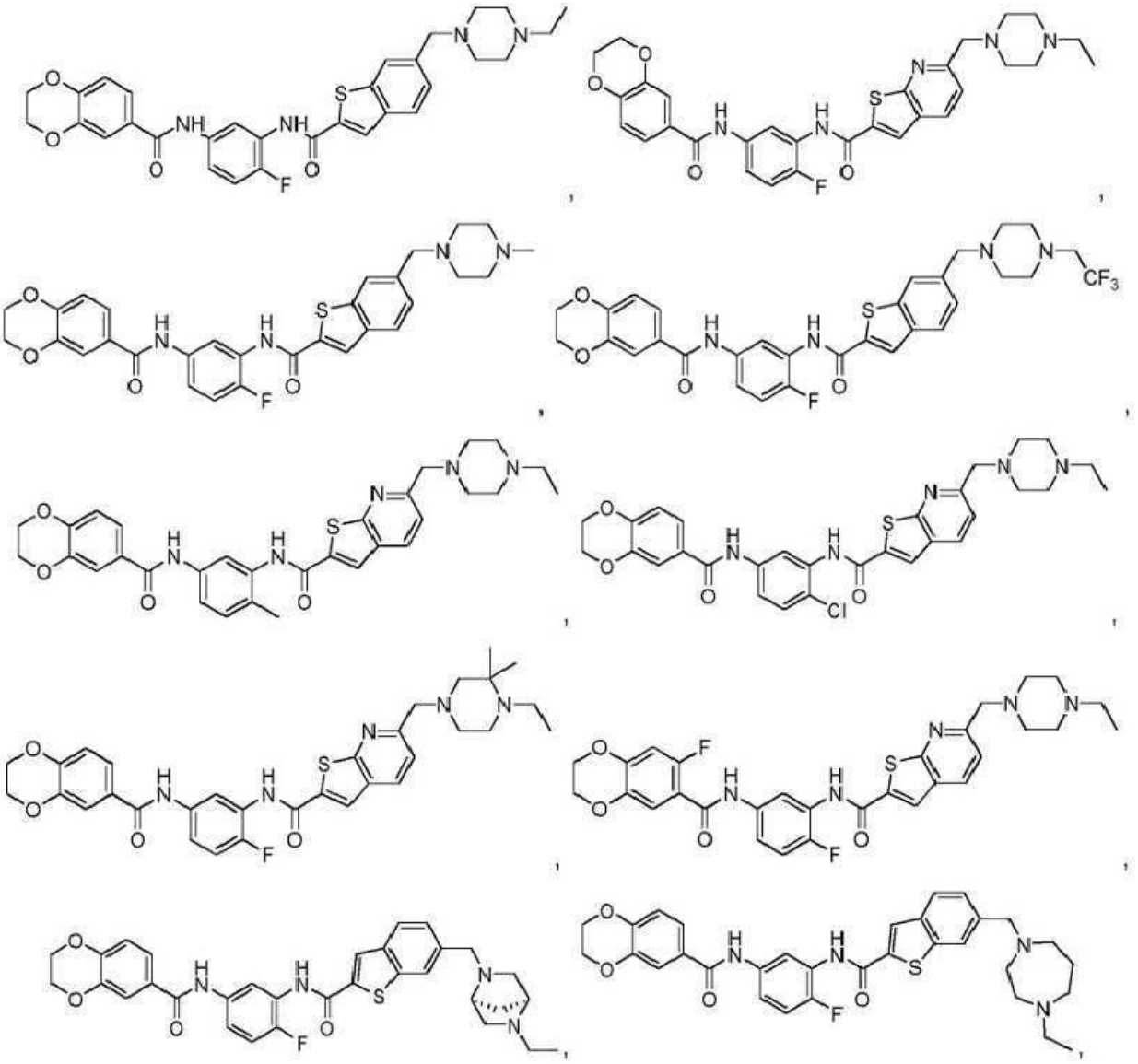
[0235] 이다.

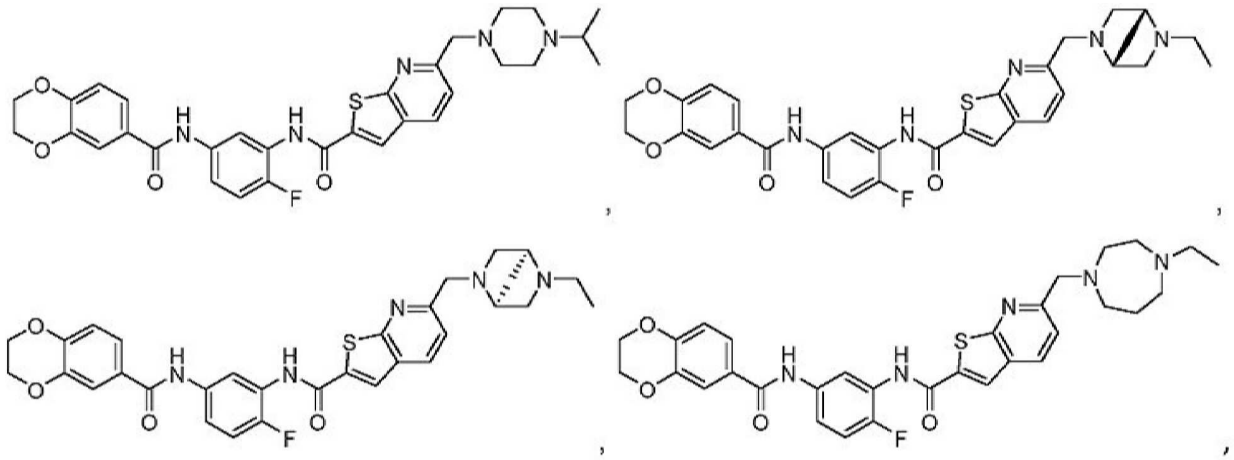
[0236] 상기 또는 하기 구현예 중 어느 하나와 조합된 바람직한 구현예에서, 화합물은 하기의 군으로부터 선택된다:



[0237] 및 이의 N-산화물, 용매화물 또는 약학적으로 허용되는 염.

[0238] 상기 또는 하기 구현예 중 어느 하나와 조합된 동등하게 더욱 바람직한 구현예에서, 화합물은 하기의 군으로부터 선택된다:

[0239] 

[0240] 

[0241] 및 이의 N-산화물, 용매화물 또는 약학적으로 허용되는 염.

[0242] 본 발명의 화학식 (I)의 화합물은 놀라운 생물학적 활성을 나타낸다.

[0243] 락테이트는 종양 대사와 말기 암 미세 환경 사이의 교차점에 존재하며, 신체의 자연적 면역 반응에 저항한다. 구체적으로, 락테이트는 암 세포에서 널리 나타나는 대사인 소위 바르부르크 대사의 최종 생성물로, 산화 경로보다 발효 경로를 선호한다. 바르부르크 대사는 포도당을 락테이트로 전환하며, 이는 탄소 플럭스를 에너지로

전환하여 끊임없이 분열하는 암 세포의 성장을 지원한다. 동시에, 락테이트와 종양 환경에서의 관련 산성 pH는 또한 면역억제 효과를 발휘하며, 이는 면역 세포가 신생 또는 기존 암 세포와 싸우는 능력을 감소시킨다. 이 "락트산 면역 방패(lactic acid immune shield)"는 자체적으로 바르부르크 대사를 사용하고 종양에 대해 수동적인 면역 세포만을 허용한다. 이러한 소위 골수-유래 억제제 세포(MDSC)는 종양을 멀리 하도록 다른 활성 면역 세포에게 신호를 보내 성장 중인 종양이 면역 공격을 회피하도록 도움을 주어 이를 보호함으로써 암을 지원한다. 이어서, 종합하면, 종양 미세환경에서 락테이트와 그의 관련 산도의 증가는 직접적으로는 종양 성장 자체를 추동하고 간접적으로는 이에 대응하는 신체의 능력을 억제함으로써 종양 발달을 촉진한다.

[0244] 본 발명의 화합물은 락테이트 생성을 억제하는 것으로 밝혀졌다. 이 활성은 상술한 종양-촉진 과정을 역전시킨다. 구체적으로, 이론에 얽매이지 않고, 에너지원으로 락테이트에 의존하는 암세포에서 락테이트 농도를 감소시키는 것은 암세포가 성장을 위해 필요로 하는 에너지를 고갈시키는 효과가 있으며, 이를 통해 암 성장을 늦추거나 심지어 중단시킨다. 동시에, 종양 미세환경에서 락테이트 농도의 감소는 그렇지 않으면 정상적으로 암세포를 보호하는 "락트산 면역 방패"를 약화시키고, 그에 따라 기존 암세포를 신체의 자체 면역 시스템의 세포에 의한 공격에 유리하게 노출시킨다. 이런 방식으로, 종양은 새로운 세포를 생성하는 능력이 방해받고 면역 공격과 파괴에 더 취약해진다.

[0245] 구체적으로, 철저한 조사에서 본 발명의 화합물은 암성 증식을 억제할 뿐만 아니라, 이러한 억제는 암세포 배양에서 ATP와 락테이트의 전례 없는 감소에 의해 매개된다는 것이 밝혀졌다(도 1, 도 2). 이 ATP-감소 기전의 고유한 특징은 두 시기적(biphasic) 효과로 나타난다는 것이다. 본 발명의 실제 화합물에 따라 한 자릿수 나노몰 농도에서 낮은 한 자릿수 마이크로몰 농도에 이르는 첫 번째 시기에서, 본 발명의 헤테로아릴 비스아미드 화합물은 ATP와 락테이트를 낮추고 세포 증식을 억제하지만 세포 사멸, 즉 아폽토시스나 괴사를 유도하지 않는다. 따라서 첫 번째 시기는 "세포증식억제(cytostatic)"라고 할 수 있다. 추가 분석에서 본 발명의 화합물은 세포증식억제 효과를 나타내는 동일한 농도 범위에서 CHAC-1, Chop, XBP-1 또는 SLC7A11과 같은 소포체 스트레스 마커를 유도하는 것으로 밝혀졌다(도 3, 문헌[H. Ren et al, Front. Aging Neurosci. (2021), 13: 691881]). 정량적 실시간 PCR로 결정되는 바와 같은 이러한 ER 스트레스 마커의 유도는 동일한 암세포로부터 결정되는 바와 같은 Hif1-α 단백질 수준의 농도-의존적 감소에 선행했다(도 4). Hif1-α는 종양에서 저산소 조건하에 바르부르크 효과-관련 유전자의 전사 제어의 마스터 조절인자로서 주요 역할을 하기 때문에, 이 효과는 본 발명의 화합물에 대해 관찰되는 강력한 항증식 효과에 대한 하나의 기전일 가능성이 높다.

[0246] 따라서, 본 출원인은 본 명세서에서 다양한 암 세포주에 대해 전례 없는 활성을 보이고 예측된 유전독성 가능성이 없는 새로운 헤테로아릴-코어 함유 비스아미드 화합물을 제공할 뿐만 아니라, 이러한 화합물이 그러한 암 세포에서 항증식 효과를 발휘하는 새로운 생물학적 기전을 규명한다.

[0247] 본 발명의 추가의 양태는 상기 언급된 구체예 중 어느 하나에 따른 화합물과 약학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 약학 조성물에 관한 것이다. 바람직한 구현예에서, 약학 조성물은 약 5중량% 내지 약 98중량%의 본 발명의 하나 이상의 화합물, 바람직하게는 약 0.5 mg 내지 약 0.5 g, 더욱 바람직하게는 약 1 mg 내지 약 100 mg의 활성 화합물을 포함할 수 있다. 특정 바람직한 구현예에서, 약학 조성물은 장관으로(예를 들어, 경구, 설하 및/또는 협측), 비경구로(예를 들어, 정맥 내, 근육 내, 피하), 비강 내로, 국소로, 직장으로, 질로 및/또는 흡입에 의해 대상체로의 투여가 가능하도록 제형화된다.

[0248] 본 발명의 추가의 양태는 의약으로 사용하기 위한, 상기 언급된 구현예 중 어느 하나의 화합물(즉, 화학식 (I)의 화합물 및/또는 이를 포함하는 약학 조성물)에 관한 것이다.

[0249] 본 발명의 추가의 양태는 락테이트/ATP 기전에 의해 매개되는 질병 또는 질환, 특히 암을 예방 및/또는 치료하는 방법에 사용하기 위한, 상기 언급된 구현예 중 어느 하나의 화합물 또는 상기 언급된 구현예 중 어느 하나의 화합물을 포함하는 약학 조성물에 관한 것이다. 특정 바람직한 구현예에서, 방법은 화합물 또는 약학 조성물을 대상체에게 장관으로(예를 들어, 경구, 설하 및/또는 협측), 비경구로(예를 들어, 정맥 내, 근육 내, 피하), 비강 내로, 국소로, 직장으로, 질로 및/또는 흡입에 의해 투여하는 단계를 포함한다.

[0250] 본 발명의 추가의 양태는 락테이트/ATP 기전에 의해 매개되는 질병 또는 질환, 특히 암을 치료하는 방법에 관한 것으로, 여기서 유효량의 본 발명의 화합물 또는 본 발명의 약학 조성물이 이를 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 특정 바람직한 구현예에서, 방법은 화합물 또는 약학 조성물을 대상체에게 장관으로(예를 들어, 경구, 설하 및/또는 협측), 비경구로(예를 들어, 정맥 내, 근육 내, 피하), 비강 내로, 국소로, 직장으로, 질로 및/또는 흡입에 의해 투여하는 단계를 포함한다.

[0251] 본 발명은 또한 락테이트/ATP 기전에 의해 매개되는 질병 또는 질환, 특히 암을 치료하기 위한 의약의 제조에 있어서, 본 발명의 화합물 또는 본 발명의 약학 조성물의 용도에 관한 것이다. 특정 바람직한 구현예에서, 의약은 장관으로(예를 들어, 경구, 설하 및/또는 협측), 비경구로(예를 들어, 정맥 내, 근육 내, 피하), 비강 내로, 국소로, 직장으로, 질로 및/또는 흡입에 의해 화합물 또는 약학 조성물의 대상체로의 투여가 가능하도록 제형화된다.

[0252] 상기 또는 하기 구현예 중 어느 하나와 조합된 바람직한 구현예에서, 락테이트/ATP 기전에 의해 매개되는 질병 또는 질환은 암이다.

[0253] 상기 또는 하기 실시예와 조합한 바람직한 구현예에서, 암은 두경부, 눈, 피부, 입, 인후, 식도, 흉부, 뼈, 폐, 결장, 시그모이드, 직장, 위, 전립선, 자궁, 유방, 난소, 신장, 간, 췌장, 뇌, 장, 심장 또는 부신의 암을 포함하도록 구성된 군으로부터 선택된다. 보다 구체적으로, 암에는 고형 종양, 육종, 암종, 섬유육종, 점액육종, 지방육종, 연골육종, 골형성 육종, 척색종, 혈관육종, 내피육종, 림프관육종, 림프관내피육종, 활막종, 중피종, 유잉 종양, 평활근육종, 횡문근육종, 대장 암종, 췌장암, 유방암, 난소암, 자궁 암종, 선양 낭성 암종, 전립선암, 편평세포 암종, 기저세포 암종, 선암종, 땀샘 암종, 피지선 암종, 유두 암종, 유두 선암종, 낭선암종, 수질암종, 기관지 암종, 신세포 암종, 간암, 담관 암종, 융모암종, 정상피종, 배아 암종, 윌름스 종양, 자궁경부암, 고환 종양, 폐 암종, 소세포 폐 암종, 비소세포 폐 암종, 방광 암종, 상피 암종, 신경교종, 성상세포종, 수질모세포종, 두개인두종, 상피세포종, 카포시 육종, 송과체종, 혈관모세포종, 청신경종, 핍지교종, 뇌수막종, 흑색종, 신경모세포종, 망막모세포종, 혈액매개 종양, 급성 림프모구 백혈병, 급성 림프모구 B세포 백혈병, 급성 림프모구 T세포 백혈병, 급성 골수모구 백혈병, 급성 전골수성 백혈병, 급성 단모구성 백혈병, 급성 적모세포백혈병성 백혈병, 급성 거핵구성 백혈병, 급성 골수단구성 백혈병, 급성 비림프구성 백혈병, 급성 미분화성 백혈병, 만성 골수성 백혈병, 만성 림프구성 백혈병, 모발상 세포 백혈병 또는 다발성 골수종을 포함한다(예를 들어, 문헌[Encyclopedia of Cancer, 3rd Edition (2018) Editors Paolo Boffetta, Pierre Hainaut] 참조). 상기 또는 하기 구현예 중 어느 하나와 조합된 바람직한 구현예에서, 상기 암은 고형 종양이다. 바람직한 구현예에 따르면, 암은 백혈병, 흑색종, 간암, 췌장암, 폐암, 대장암, 뇌암, 난소암, 유방암, 전립선암 및 신장암으로부터 선택된다. 다른 구현예에서, 암은 간암, 췌장암, 비소세포 폐암, 유방암 또는 신장암이다. 상기 또는 하기 구현예 중 어느 하나와 조합된 바람직한 구현예에서, 암은, 바람직하게는 본 발명의 화합물 또는 본 발명의 약학 조성물이 비구아니드와 조합하여 투여되는 경우에, 비소세포 폐암, 육종, 부인과암, 예컨대 자궁경부암, 난소세포암 또는 자궁암, 선양 낭성 암종, 췌장암 및 기타 위장관암, 예컨대 위암 또는 식도암으로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0254] 암의 유형은 특별히 제한되지 않지만, 같은 유형의 정상 조직에 비해 저산소성 및/또는 고도의 당분해성으로 특징지어질 수 있다. 본원에서 사용되는 바와 같은 "저산소" 세포 또는 조직 영역은 정상 또는 건강한 것으로 간주되는 조직 내 세포에서 일반적인 산소분압(pO_2)보다 낮은 pO_2에 일시적으로 또는 영구적으로 노출된 하나 이상의 세포와 관련이 있다. 저산소 세포 또는 조직 영역에는 예를 들어 고형 종양에서와 같은 혈관에 대한 접근이 감소하거나 전혀 없는 세포 또는 조직 영역이 포함될 수 있다.

[0255] 본 발명의 화합물은 낮은 농도에서 세포증식억제 효과를 유도하고 세포증식억제 농도보다 일반적으로 100 내지 1000배 높은 농도에서 세포독성 또는 세포 사멸 효과를 유도하는 새로운 기전을 통해 항암 및 항증식 효과를 발휘한다. 본 발명의 화합물은 암세포 배양에서 ATP 및 락테이트 저하의 시작과 일치하는 첫 번째 세포증식억제 시기에서 소포체 스트레스를 유도한다. 본 발명의 화합물이 보여주는 이 독특한 기전은 특정 치료 윈도우, 즉 동일한 환자에서 세포독성 부작용을 일으키지 않으며 암성 성장을 멈추는 데 사용될 수 있는 유효량의 그러한 화합물을 가능하게 한다.

[0256] 상기 또는 하기 구현예 중 어느 하나와 조합된 바람직한 구현예에서, 화합물 또는 약학 조성물은,

[0257] PD-1 제제, PD-L1 제제, CTLA-4 제제, IDO1 억제제 및 항암 백신으로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 암 치료제와 함께 투여되거나,

[0258] 사이토카인 요법 또는 알려진 화학요법 또는 약물요법과 함께 또는 방사선 요법 중에 투여된다.

[0259] 이러한 구현예에 따른 바람직한 제제, 억제제, 백신 및 요법은 하기에 제시된 바와 같다.

[0260] 본 발명의 추가의 양태는 자가포식-관련 질병을 예방 및/또는 치료하는 방법에 사용하기 위한 상기 언급된 구현예 중 어느 하나의 화합물(즉, 화학식 (I)의 화합물) 또는 상기 언급된 구현예 중 어느 하나의 화합물(즉, 화학

식 (I)의 화합물)을 포함하는 약학 조성물에 관한 것이다.

[0261] 본 발명의 추가의 양태는 자가포식-관련 질병을 예방 및/또는 치료하는 방법에 관한 것으로, 방법은 유효량의 상기 언급된 구현예 중 어느 하나의 화합물(즉, 화학식 (I)의 화합물) 또는 상기 언급된 구현예 중 어느 하나의 화합물(즉, 화학식 (I)의 화합물)을 포함하는 약학 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0262] 본 발명은 또한 자가포식-관련 질병을 예방 및/또는 치료하기 위한 의약의 제조에 있어서, 상기 언급된 구현예 중 어느 하나의 화합물(즉, 화학식 (I)의 화합물) 또는 상기 언급된 구현예 중 어느 하나의 화합물(즉, 화학식 (I)의 화합물)을 포함하는 약학 조성물의 용도에 관한 것이다.

[0263] 상기 또는 하기 구현예 중 어느 하나와 조합된 일 구현예에서, 상기 자가포식-관련 질병은 신경퇴행성 질환, 예컨대 파킨슨병, 알츠하이머병 및 헌팅턴병; 근위축성 측색경화증; 대사 장애, 예컨대 비만 및 제1형 및 제2형 당뇨병; 바이러스 감염 및 특정 잔해 입자의 축적을 유발하는 질환, 예컨대 섬유성 폐질환으로 구성된 군으로부터 바람직하게 선택된다.

[0264] 본 발명의 화합물과 비구아니드의 조합물

[0265] 본원에 제시된 바와 같이, 화학식(I)의 화합물은 특정 질병, 특히 암의 치료에 유리한 유용성을 나타낸다. 또한, 놀랍게도 화학식(I)의 화합물은 특정 질병, 특히 암의 치료에서 비구아니드 화합물과의 조합으로 예상치 못하게 유리한 유용성을 또한 나타내는 것으로 밝혀졌다.

[0266] 본원에 설명된 바와 같이, 메트포르민, 펜포르민 및 부포르민과 같은 비구아니드 화합물은 당뇨병뿐만 아니라 암을 치료하는 데 있어서의 활성에 대해 알려져 있지만, 이러한 화합물 중 일부(특히, 부포르민 및 강력한 펜포르민)는 고용량에서 독성 락트산 산증을 유발하며, 이는 비구아니드가 투여될 수 있는 용량을 치료 효능 특히, 암을 치료하는 데 있어서의 치료 효능에 필요한 용량 미만으로 실질적으로 제한한다.

[0267] 동시에, 상기 설명한 바와 같이, 본 발명의 화학식(I)의 화합물 자체는 항암 활성을 나타내며, 이는 이론에 얽매임이 없이 적어도 부분적으로 락테이트 수준을 감소시키는 이러한 화합물의 능력과 관련이 있는 것으로 보인다.

[0268] 비구아니드 화합물과 함께 본 발명의 화학식 (I)의 화합물의 투여를 수반하는 조합 요법은 놀랍게도 이러한 각 화합물의 치료 잠재력을 활용하는 동시에 과거에 질병 치료, 특히 암 치료를 위해 일반적으로 관심 있는 고용량에서 비구아니드의 적용을 제한했던 락트산 산증의 불리한 부작용을 약화시키거나 제거할 수 있음이 밝혀졌다. 따라서, 본 발명의(즉, 화학식 (I)의) 화합물과 비구아니드 화합물의 이러한 조합은 비구아니드 화합물의 안전한 투여를 위한 치료 윈도우를 넓혀서, 질병의 예방 및/또는 치료에서, 특히 암의 예방 및/또는 치료 동안 이러한 각 화합물의 활성을 상승적으로 활용한다.

[0269] 따라서, 본 발명의 추가의 양태는 화학식 (I)의 화합물과 비구아니드를 포함하는 조성물에 관한 것이다. 비구아니드는 바람직하게는 메트포르민, 펜포르민 및/또는 부포르민일 수 있다. 조성물은 바람직하게는 본 발명의 화학식 (I)의 화합물과 비구아니드 외에도 본원에 명시된 바와 같은 약학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 약학 조성물일 수 있다. 조성물은 임의의 형태일 수 있지만, 바람직한 형태는 본원의 다른 부분에 명시된 바와 같이 예방 및/또는 치료 동안 경구 투여에 적합한 형태이다.

[0270] 본 발명의 추가의 양태는 화학식 (I)의 화합물과 비구아니드를 포함하는 키트에 관한 것이다. 키트는 화학식 (I)의 화합물과 비구아니드를 별도의 용기에 포함할 수 있다. 별도의 용기인 경우, 이러한 용기는 물질의 의도된 전달 경로에 가장 적합한 동일하거나 다른 유형일 수 있다. 키트에 포함된 화학식 (I)의 화합물과 비구아니드는 동일하거나 다른 전달 형태일 수 있으며, 즉 키트에 동일하거나 다른 제형으로 존재할 수 있다. 예를 들어, 키트에 포함된 화학식 (I)의 화합물은 본원에 제시된 바와 같이 정맥 내 전달에 적합한 제형(예를 들어, 격막-장착된 리셉터클 내의 용액)일 수 있는 한편, 동일한 키트에 포함된 비구아니드는 본원에 제시된 바와 같이 경구 전달에 적합한 제형(예를 들어, 블리스터 패키지 내에 포함된 예컨대, 정제 또는 캡슐)일 수 있다.

[0271] 본 발명의 추가의 양태는 의약으로 사용하기 위한, 화학식 (I)의 화합물과 비구아니드를 포함하는 조성물, 또는 화학식 (I)의 화합물과 비구아니드를 포함하는 키트에 관한 것이다. 본 발명의 관련 양태는 질병을 예방 및/또는 치료하는 방법에 관한 것으로, 상기 방법은 화학식 (I)의 화합물 또는 화학식 (I)의 화합물을 포함하는 약학 조성물과 비구아니드의 조합물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 본 발명의 추가의 관련 양태는 요법에 사용하기 위한, 화학식 (I)의 화합물과 비구아니드의 조합물에 관한 것이다. 질병의 예방 및/또는 치료 동안 이

러한 물질들의 조합물은 본원에 명시된 이점과 관련된다.

[0272] 본원에서 추가로 설명되는 바와 같이, 화학식 (I)의 화합물과 비구아니드의 조합 요법은 암 치료에 특히 적합하지만, 이러한 조합 요법은 또한 다른 질병을 예방 및/또는 치료하는 데에도 유사한 유용성을 가질 수 있다. 예를 들어, 이러한 조합 요법은 제2형 당뇨병(T2DM); 신경퇴행성 질환, 예컨대 치매, 특히 알츠하이머 치매, 파킨슨병, 헌팅턴병 및 근위축성 측색 경화증(ALS)과 같은 질병의 예방 및/또는 치료에 또한 적용될 수 있다. 질병의 예방 및/또는 치료 동안 이러한 물질들의 조합물은 본원에 명시된 이점과 관련이 있다. 암 치료에 있어서 이러한 조합 요법의 치료적 잠재력으로 인해, 암에 대한 적용은 하기에서 더 상세히 논의된다.

[0273] 따라서, 본 발명의 추가의 양태는 암을 예방 및/또는 치료하는 방법에 사용하기 위한, 화학식 (I)의 화합물과 비구아니드의 조합물, 또는 화학식 (I)의 화합물과 비구아니드를 포함하는 키트에 관한 것이다. 암을 예방 및/또는 치료하는 동안 이러한 물질들, 즉 화학식 (I)의 화합물과 비구아니드의 조합물은 본원에 명시된 이점과 관련된다. 바람직하게는, 예방되고/되거나 치료되는 암은 진행성 암, 특히 진행성 당분해성 암이다. 이러한 조합 요법에서 본 발명의 화학식 (I)의 화합물의 적합한 용량은 본원의 다른 곳에 명시된 바와 같다. 본 발명의 화학식 (I)의 화합물과 비구아니드로서 메트포르민을 함께 사용하는 조합 요법의 경우, 메트포르민은 유리하게는 약 500 mg 내지 약 2000 mg의 용량으로 하루에 두 번, 세 번 또는 네 번 제공된다. 이러한 경우, 메트포르민의 투여는 바람직하게는 경구 경로를 통한 것이다. 본 발명의 화학식 (I)의 화합물과 비구아니드로서 펜포르민을 함께 사용하는 조합 요법의 경우, 펜포르민은 유리하게는 약 25 mg 내지 약 100 mg의 용량으로 하루에 두 번 또는 세 번 제공된다. 이러한 경우, 펜포르민의 투여는 바람직하게는 경구 경로를 통한 것이다. 본 발명의 화학식 (I)의 화합물과 비구아니드로서 부포르민을 함께 사용하는 조합 요법의 경우, 부포르민은 유리하게는 약 50 mg 내지 약 1000 mg의 용량으로 하루에 두 번 또는 세 번 제공된다. 이러한 경우, 부포르민의 투여는 바람직하게는 경구 경로를 통한 것이다.

[0274] 추가의 양태에서, 본 발명은 암을 예방 및/또는 치료하는 방법에 관한 것으로, 방법은 화학식 (I)의 화합물, 또는 화학식 (I)의 화합물을 포함하는 약학 조성물과 비구아니드의 조합물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 암을 예방 및/또는 치료하는 동안 이러한 물질들, 즉 화학식 (I)의 화합물과 비구아니드의 조합물은 본원에 명시된 이점과 관련된다. 바람직하게는, 예방되고/되거나 치료되는 상기 암은 진행성 암, 특히 진행성 당분해성 암이다. 이러한 조합 요법에서 본 발명의 화학식 (I)의 화합물의 적합한 용량은 본원의 다른 곳에 명시된 바와 같다. 본 발명의 화학식 (I)의 화합물과 비구아니드로서 메트포르민을 함께 사용하는 조합 요법의 경우, 메트포르민은 유리하게는 약 500 mg 내지 약 2000 mg의 용량으로 하루에 두 번, 세 번 또는 네 번 제공된다. 이러한 경우, 메트포르민의 투여는 바람직하게는 경구 경로를 통한 것이다. 본 발명의 화학식 (I)의 화합물과 비구아니드로서 펜포르민을 함께 사용하는 조합 요법의 경우, 펜포르민은 유리하게는 약 25 mg 내지 약 100 mg의 용량으로 하루에 두 번 또는 세 번 제공된다. 이러한 경우, 펜포르민의 투여는 바람직하게는 경구 경로를 통한 것이다. 본 발명의 화학식 (I)의 화합물과 비구아니드로서 부포르민을 함께 사용하는 조합 요법의 경우, 부포르민은 유리하게는 약 50 mg 내지 약 1000 mg의 용량으로 하루에 두 번 또는 세 번 제공된다. 이러한 경우, 부포르민의 투여는 바람직하게는 경구 경로를 통한 것이다.

[0275] 추가의 양태에서, 본 발명은 암을 예방 및/또는 치료하는 의약의 제조에 있어서, 화학식 (I)의 화합물, 또는 화학식 (I)의 화합물을 포함하는 약학 조성물과 비구아니드의 조합물의 용도에 관한 것이다. 암을 예방 및/또는 치료하는 동안 이러한 물질들, 즉 화학식 (I)의 화합물과 비구아니드의 조합물은 본원에 명시된 이점과 관련된다. 바람직하게는, 예방되고/되거나 치료되는 상기 암은 진행성 암, 특히 진행성 당분해성 암이다. 이러한 조합 요법에서 본 발명의 화학식 (I)의 화합물의 적합한 용량은 본원의 다른 곳에 명시된 바와 같다. 본 발명의 화학식 (I)의 화합물과 비구아니드로서 메트포르민을 함께 사용하는 조합 요법의 경우, 메트포르민은 유리하게는 약 500 mg 내지 약 2000 mg의 용량으로 하루에 두 번, 세 번 또는 네 번 제공된다. 이러한 경우, 메트포르민의 투여는 바람직하게는 경구 경로를 통한 것이다. 본 발명의 화학식 (I)의 화합물과 비구아니드로서 펜포르민을 함께 사용하는 조합 요법의 경우, 펜포르민은 유리하게는 약 25 mg 내지 약 100 mg의 용량으로 하루에 두 번 또는 세 번 제공된다. 이러한 경우, 펜포르민의 투여는 바람직하게는 경구 경로를 통한 것이다. 본 발명의 화학식 (I)의 화합물과 비구아니드로서 부포르민을 함께 사용하는 조합 요법의 경우, 부포르민은 유리하게는 약 50 mg 내지 약 1000 mg의 용량으로 하루에 두 번 또는 세 번 제공된다. 이러한 경우, 부포르민의 투여는 바람직하게는 경구 경로를 통한 것이다.

[0276] 본 발명의 화학식 (I)의 화합물과 비구아니드를 함께 수반하는 상기 조합 예방 및/또는 요법의 바람직한 구현예에서, 예방되고/되거나 치료되는 질병이 암인 경우, 암은 바람직하게 LKB-1 결핍 암일 수 있다. 여기서, LKB-1 결핍 암은 LKB-1(간 키나제 B1(**l**iver **k**inase **B1**), 예를 들어 UNIPROT 접근 번호 Q15831, 및/또는 NCBI 접근 번

호 NP_000446 참조)을 암호화하는 skt11 유전자의 돌연변이, 결실 또는 전좌를 보유하는 인간 암으로 이해되며, 이는 그 발현을 약화시키거나 제거한다. 바람직한 일 구현예에서, LKB-1 결핍 암은 skt11/LKB-1 돌연변이된 비소세포 폐암(NSCLC, 문헌[Facchinetti et al, Lung Cancer.112:62-68. (2017)] 참조)의 하나 이상의 하위형태(subform)일 수 있다. LKB-1 기능의 돌연변이, 결실 또는 전좌를 자주 나타내는 다른 암 유형으로는 육종, 담관암종, 선양 낭성 암종 또는 특정 부인과암, 예컨대 자궁경부, 난소 또는 자궁 암종이 있다(문헌[Li et al., Biomed Pharmacother. 132:110872. (2020)] 참조).

[0277] 본 발명의 화학식 (I)의 화합물과 비구아니드를 함께 수반하는 상기 조합 예방 및/또는 요법의 추가의 바람직한 구현예에서, 예방되고/되거나 치료되는 질병이 암인 경우, 암은 바람직하게 Arid1a를 암호화하는 arid1a 유전자의 돌연변이, 결실 또는 전좌를 보유하는 암일 수 있다. ARID1a는 인간에서 AT-풍부 상호작용 도메인-함유 단백질 1A(**A**T-**r**ich **i**nteractive **d**omain-containing protein 1A)를 암호화하는 유전자이다(예를 들어, UNIPROT 접근 번호 O14497 및/또는 NCBI 접근 번호 NP_006006 및 NP_624361 참조). 추가로 증가된 단백독성 스트레스 반응을 가져오는 약리학적 처리와 함께 Arid1a의 유전적 손상을 통한 단백독성 스트레스 증가는 일반적으로 바람직한 약리학적 치료에 대한 우수한 전제 조건으로 판명된 일종의 "합성 치사량(synthetic lethality)" 상황을 제공한다(문헌[Huang et al., Nat Rev Drug Discov 19(1):23-38 (2020)]).

[0278] 본 발명의 화학식 (I)의 화합물과 비구아니드를 함께 수반하는 상기 조합 예방 및/또는 요법의 특히 바람직한 구현예에서, 예방되고/되거나 치료되는 질병이 암인 경우, 암은 바람직하게는 동시에 LKB-1 결핍 및 ARID1a 돌연변이된 암일 수 있다. 이론에 얽매이지 않고, 이러한 이중 결핍/돌연변이된 암은 본 발명의 화학식 (I)의 화합물과 비구아니드를 함께 사용하는 조합 요법에 의한 치료에 특히 적합한데, 이는 이미 LKB-1이 결핍된 암에서 ARID1a의 추가적인 돌연변이는 상기 LKB-1 결핍 암을 단백독성 스트레스에 더욱 취약하게 만들기 때문이다. 특히 바람직한 구현예에서, LKB-1 및 ARID1a 모두에서의 돌연변이를 보유하는 하나의 이러한 암은 비소세포 폐암이다.

[0279] 정의

[0280] 이후에 사용되는 모든 기술 및 과학 용어는 달리 정의되지 않는 한 일반적으로 이해되는 단어의 의미를 가진다.

[0281] 본 출원 전체에서 사용되는 섹션 제목은 단순히 구성의 목적을 위한 것이며, 섹션 제목에 언급된 발명의 양태와 관련된 개시에 배타적인 성격을 부여하는 것이 아님이 이해되어야 한다. 따라서 섹션 제목은 한 섹션 제목 내의 개시가 다른 섹션 제목 하에 제공된 상응하거나 유사한 문맥과의 조합을 배제하지 않는다. 그러한 섹션 내의 개시는 본 출원의 개시에 명시적으로 포함된다.

[0282] 본원에서 사용되는 바와 같이, 각 용어 "포함하는", "갖는" 및 "함유하는"은, 이들의 문법적 변형을 포함하고, 비포괄적 의미에서 "포함하는"을 의미하지만 반드시 "이루어지는"을 의미하는 것은 아니며, 존재하는 것으로 명시적으로 언급된 것 외의 요소를 배제하지 않는다. 따라서, 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "포함하는", "갖는" 및 "함유하는"과 이들의 문법적 변형은 명시적으로 언급된 것들 외의 구성 요소(들)가 존재할 수 있지만 반드시 존재할 필요는 없음을 나타낸다. 따라서 이러한 용어는 언급된 것 외의 다른 요소(들)가 존재하지 않는 제한적인 구현예들, 예를 들어, 일반적으로 통용되는 의미의 "구성되는"을 포함한다.

[0283] 본원에서 사용되는 바와 같이, 문구 "구성되는" 및 이의 문법적으로 관련된 변형은 언급된 것들에 다른 요소(들)가 존재하지 않는다는 것을 의미한다. 따라서, "포함하는"(및 문법적으로 및 의미적으로 관련된 용어(들))의 상기 정의와 관련하여, 용어 "구성되는"은 "포함하는"의 의미 내에서 제한적인 시나리오를 나타낸다.

[0284] 달리 정의되지 않는 한, 본 발명의 임의의 양태 또는 구현예 내의 임의의 특징은 본 발명의 다른 양태 또는 구현예 내의 임의의 특징과 조합될 수 있으며, 당업자는 이러한 조합이 본 출원의 최초 개시에 포함되는 것으로 이해한다. 이는 특히 이들 조성물의 다른 양태, 예를 들어 방법 및 용도와 관련하여 화합물 자체에 관한 섹션 내에 기재된 모든 구현예(들)에 적용된다. 이는 특히 본 명세서에 개시된 범위의 종점에도 적용되지만, 이에 국한되지 않는다. 예를 들어, 특정 물질이 약 X 내지 Y% 또는 약 A 내지 B%의 농도 범위의 조성물에 존재하는 것으로 개시된 경우, 본 출원은 약 X-Y% 및 약 A-B%의 범위뿐만 아니라 약 X-B%, 약 A-Y% 및 수치적으로 가능한 한 약 Y-A% 및 약 B-X%의 범위도 명시적으로 개시하는 것으로 이해되어야 한다. 각각의 이러한 범위, 및 범위의 조합은 고려되며, 본 출원에서 직접적이고 명확하게 개시되는 것으로 이해되어야 한다.

[0285] 달리 명시되지 않는 한, 본 출원에서 하이픈("-")을 사용하여 두 개의 괄호 값 X와 Y 또는 두 개의 괄호 비율을 구분하는 범위의 지정은 종점 값 X와 Y가 모두 포함되는 지정된 범위를 의미하고 개시하는 것으로 이해되어야 한다. 이는 "약 X 내지 약 Y"로 표시되는 범위에도 동일하게 적용된다. 따라서, 범위의 표현인 "X-Y", "X에서 Y

까지", "X 내지 Y", "X-Y의" 및 "X-Y로부터의"는 최종 값 X, X와 Y 사이의 모든 값, 최종 값 Y를 포괄하는 범위를 의미하고 개시하는 것과 동등하게 이해되어야 한다. 해당 범위가 정수 값만 기술적으로 의미가 있는 엔티티(entity)의 원자 수, 예를 들어 용어 "C_1-C_6 알킬" 또는, 균등하게, "C_{1-6} 알킬"과 같은 화학 치환기를 지정하는 경우, 지정된 범위는 해당 범위 내의 각 정수 값을 의미하고 개시하는 것으로 이해된다. 예를 들어, "C_1-C_6 알킬"(또는 균등하게 "C_{1-6} 알킬")의 예에서, 이 용어는 각각의 별도의 정수 선택지인 "C_1 알킬", "C_2 알킬", "C_3 알킬", "C_4 알킬", "C_5 알킬" 및 "C_6 알킬"을 의미하고 직접적이고 명확하게 개시하는 것으로 이해되어야 한다.

[0286] 본 출원에서 두 개의 괄호 값 X와 Y, 또는 두 개의 괄호 비율 앞에 단어 "사이"를 사용한 범위의 지정은 종점 값 X와 Y가 모두 제외되지만, 지정된 종점 값 X와 Y 사이의 모든 값이 포함되는 지정된 범위를 의미하고 개시하는 것으로 이해되어야 한다. 본원에서 사용되는 용어 “약”은, 특정 값, 예를 들어 종점 또는 범위의 종점(들)을 지칭할 때 구체적으로 언급된 값 자체 외에도 구체적으로 언급된 값 주변의 특정 변동을 포함하고 개시한다. 그러한 변동은 예를 들어, 정상적인 측정 변동성, 예를 들어 당업자에게 알려진 방법에 의한 다양한 물질의 칭량 또는 분배에서의 측정 변동성으로부터 발생할 수 있다. 용어 "약"은 다음과 같이 표시된 지정된 값의 위와 아래의 변동성의 범위를 포괄하고 개시하는 것으로 이해되어야 하고, 상기 백분율 값은 지정된 언급된 값 자체에 대한 상대적인 값이다. 용어 "약"은 ± 5.0%의 변동성을 나타낼 수 있다. 용어 "약"은 ± 4.9%의 변동성을 나타낼 수 있다. 용어 "약"은 ± 4.8%의 변동성을 나타낼 수 있다. 용어 "약"은 ± 4.7%의 변동성을 나타낼 수 있다. 용어 "약"은 ± 4.6%의 변동성을 나타낼 수 있다. 용어 "약"은 ± 4.5%의 변동성을 나타낼 수 있다. 용어 "약"은 ± 4.4%의 변동성을 나타낼 수 있다. 용어 "약"은 ± 4.3%의 변동성을 나타낼 수 있다. 용어 "약"은 ± 4.2%의 변동성을 나타낼 수 있다. 용어 "약"은 ± 4.1%의 변동성을 나타낼 수 있다. 용어 "약"은 ± 4.0%의 변동성을 나타낼 수 있다. 용어 "약"은 ± 3.9%의 변동성을 나타낼 수 있다. 용어 "약"은 ± 3.8%의 변동성을 나타낼 수 있다. 용어 "약"은 ± 3.7%의 변동성을 나타낼 수 있다. 용어 "약"은 ± 3.6%의 변동성을 나타낼 수 있다. 용어 "약"은 ± 3.5%의 변동성을 나타낼 수 있다. 용어 "약"은 ± 3.4%의 변동성을 나타낼 수 있다. 용어 "약"은 ± 3.3%의 변동성을 나타낼 수 있다. 용어 "약"은 ± 3.2%의 변동성을 나타낼 수 있다. 용어 "약"은 ± 3.1%의 변동성을 나타낼 수 있다. 용어 "약"은 ± 3.0%의 변동성을 나타낼 수 있다. 용어 "약"은 ± 2.9%의 변동성을 나타낼 수 있다. 용어 "약"은 ± 2.8%의 변동성을 나타낼 수 있다. 용어 "약"은 ± 2.7%의 변동성을 나타낼 수 있다. 용어 "약"은 ± 2.6%의 변동성을 나타낼 수 있다. 용어 "약"은 ± 2.5%의 변동성을 나타낼 수 있다. 용어 "약"은 ± 2.4%의 변동성을 나타낼 수 있다. 용어 "약"은 ± 2.3%의 변동성을 나타낼 수 있다. 용어 "약"은 ± 2.2%의 변동성을 나타낼 수 있다. 용어 "약"은 ± 2.1%의 변동성을 나타낼 수 있다. 용어 "약"은 ± 2.0%의 변동성을 나타낼 수 있다. 용어 "약"은 ± 1.9%의 변동성을 나타낼 수 있다. 용어 "약"은 ± 1.8%의 변동성을 나타낼 수 있다. 용어 "약"은 ± 1.7%의 변동성을 나타낼 수 있다. 용어 "약"은 ± 1.6%의 변동성을 나타낼 수 있다. 용어 "약"은 ± 1.5%의 변동성을 나타낼 수 있다. 용어 "약"은 ± 1.4%의 변동성을 나타낼 수 있다. 용어 "약"은 ± 1.3%의 변동성을 나타낼 수 있다. 용어 "약"은 ± 1.2%의 변동성을 나타낼 수 있다. 용어 "약"은 ± 1.1%의 변동성을 나타낼 수 있다. 용어 "약"은 ± 1.0%의 변동성을 나타낼 수 있다. 용어 "약"은 ± 0.9%의 변동성을 나타낼 수 있다. 용어 "약"은 ± 0.8%의 변동성을 나타낼 수 있다. 용어 "약"은 ± 0.7%의 변동성을 나타낼 수 있다. 용어 "약"은 ± 0.6%의 변동성을 나타낼 수 있다. 용어 "약"은 ± 0.5%의 변동성을 나타낼 수 있다. 용어 "약"은 ± 0.4%의 변동성을 나타낼 수 있다. 용어 "약"은 ± 0.3%의 변동성을 나타낼 수 있다. 용어 "약"은 ± 0.2%의 변동성을 나타낼 수 있다. 용어 "약"은 0.1%의 변동성을 나타낼 수 있다. 용어 "약"은, 특정 언급된 값과 관련하여, 정확한 특정 값이 포함된다는 명시적인 언급과 무관하게 정확한 특정 값 자체를 의미할 수 있으며; 용어 "약"이 특정 정확한 언급된 값을 포함한다는 명시적인 표시가 없더라도 이 정확한 특정 값은 여전히 용어 "약"에 의해 생성된 변동의 범위에 포함되고, 따라서 개시된다. 달리 명시되지 않는 한, 용어 "약"이 수치 범위의 첫 번째 종점 앞에 언급되는 경우, 이 용어는 범위의 첫 번째 종점과 범위의 두 번째 종점을 모두 의미한다. 예를 들어, "약 X 내지 Y"의 언급된 범위는 "약 X 내지 약 Y"로 읽어야 한다.

[0287] 본원에서 사용되는 바와 같이, "C_{1-6}-알킬"은 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 탄소 원자를 갖는 포화 알킬 사슬을 의미하며, 이는 직쇄 또는 분지형일 수 있다. 본 발명의 맥락에서, 용어 "C_{1-6}-알킬" 내에 속하는 임의의 하위 그룹에는, 예를 들어, C_{1-3}-알킬, C_{2-5}-알킬 또는 C_{3-6}-알킬 기가 또한 포함된다. C_{1-6}-알킬 기의 예는 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, *n*-부틸, 이소부틸, *tert*-부틸, *n*-펜틸, 이소펜틸, 네오펜틸 및 헥실을 포함한다.

[0288] "C_{1-6}-알킬렌"은 각각의 기가 2가이고 부착된 잔기를 분자의 나머지 부분과 연결하는 것을 의미한다. 또한, 본 발명의 맥락에서, C_1-알킬렌은 메틸렌 링커를 의미하고, C_2-알킬렌은 에틸렌 링커 또는 메틸-치환된 메틸렌 링커

등을 의미한다. 본 발명의 맥락에서, C_{1-6}-알킬렌은 바람직하게는 메틸렌 또는 에틸렌 기를 나타낸다.

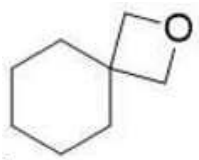
[0289] 용어 "OC_{1-6}-알킬"은 알킬 사슬이 산소 원자를 통해 분자의 나머지와 연결되는 것을 의미한다.

[0290] 용어 "할로-C_{1-6}-알킬"은 알킬 사슬 내의 하나 이상의 수소 원자가 할로겐으로 대체되는 것을 의미한다. 이의 바람직한 예는 CF_3이다. O-할로-C_{1-6}-알킬은 하나 이상의 수소 원자가 할로겐으로 대체되는 알콕시 기를 의미한다.

[0291] C_{3-6}-사이클로알킬 기는 3개, 4개, 5개 또는 6개의 탄소 원자를 포함하는 포화된 또는 부분적으로 불포화된 모노사이클릭 또는 바이사이클릭 고리 시스템을 의미한다. 예에는 사이클로프로필, 사이클로부틸, 사이클로펜틸, 사이클로헥실 및 사이클로헥세닐이 포함된다.

[0292] 4원 내지 8원의 모노사이클릭 또는 바이사이클릭 헤테로사이클로알킬 기는 포화된 또는 부분적으로 불포화된 4원 내지 8원의 모노사이클릭 또는 바이사이클릭 탄소 고리를 의미하며, 여기서 최대 4개의 탄소 원자가 최대 4개의 헤테로원자로 대체될 수 있고, 여기서 헤테로원자는 독립적으로 N, O, S, SO 및 SO_2로부터 선택된다. 이의 예에는 에폭시딜, 옥세타닐, 피롤리디닐, 테트라하이드로푸라닐, 피페리디닐, 피페라지닐, 테트라하이드로피라닐, 1,4-다이옥사닐, 모르폴리닐, 4-퀴누클리디닐, 1,4-디히드로피리디닐 및 6-아자바이사이클로[3.2.1]옥타닐이 포함된다. 헤테로사이클로알킬 기는 탄소, 질소(예를 들어, 모르폴린 또는 피페리딘 내의) 또는 황 원자를 통해 분자의 나머지 부분과 연결될 수 있다.

[0293] 사이클로알킬 또는 헤테로사이클로알킬 치환기는 분자의 나머지 부분에 스피로사이클릭으로 융합될 수 있다. 본 발명의 맥락에서, "스피로사이클릭 융합"은 사이클로알킬 또는 헤테로사이클로알킬 기가 분자의 나머지 부분과 하나의 공통 원자를 통해 연결되는 것을 의미하며, 즉 고리는 다른 모이어티와 공통 원자를 공유한다. 스피로 연결의 예는 아래에 표시된다:

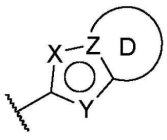
[0294] 

[0295] 최대 4개의 헤테로원자를 함유하는 5원 또는 6원의 헤테로방향족 고리 시스템(본원에서 헤테로아릴이라고도 함)은 모노사이클릭 헤테로방향족 고리, 예를 들어 피롤릴, 이미다졸릴, 푸라닐, 티오페닐, 피리디닐, 피리미디닐, 피라지닐, 피라졸릴, 옥사졸릴, 이소사졸릴, 트리아졸릴, 옥사디아졸릴 및 티아디아졸릴을 의미한다.

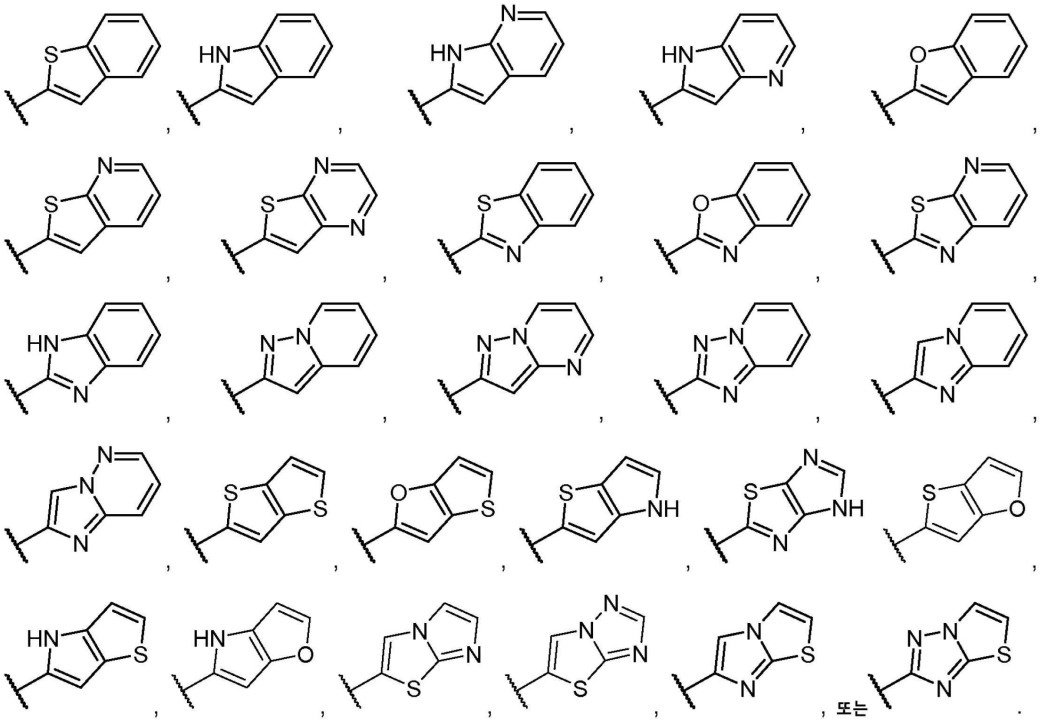
[0296] 헤테로아릴 시스템의 질소 원자는 또한 선택적으로 상응하는 N-산화물로 산화될 수 있다. 또한, 헤테로아릴 시스템의 질소 원자는 또한 선택적으로 4차화될 수 있다. 달리 명시되지 않은 한, 헤테로아릴 시스템은 탄소 또는 질소 원자를 통해 연결될 수 있다.

[0297] 또한, 명시적으로 정의되지 않은 경우, 용어 "헤테로아릴"은 N, O 및 S로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 헤테로원자를 포함한다.

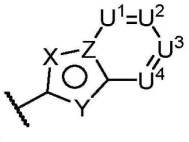
[0298] 6원 방향족 고리 시스템(본 출원에서 아릴이라고도 지칭됨)은 페닐과 같은 방향족 탄소 사이클을 의미한다.

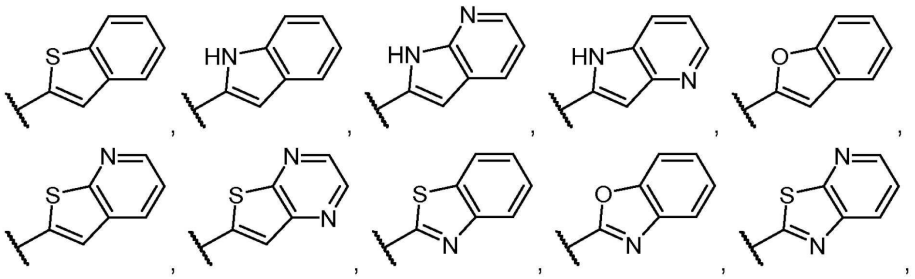
[0299] 구조적 모이어티 

는 다음에 예시된 8원 또는 9원 바이사이클릭 헤테로아릴 고리를 나타내는 것으로 이해되어야 하지만, 이에 국한되지 않는다:

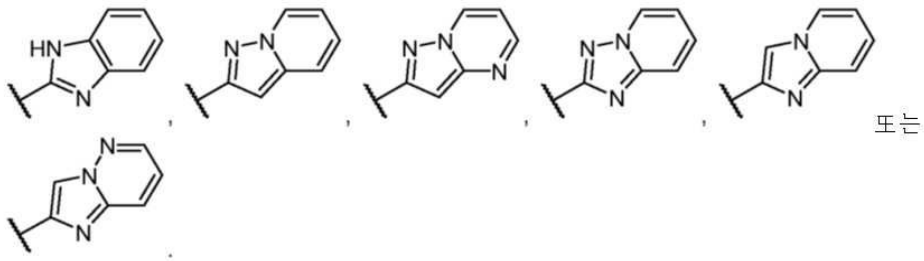


[0300]

[0301] 화학식 (II)의 구조적 모이어티  는 다음에 예시된 9원의 바이사이클릭 헤테로아릴 고리를 나타내는 것으로 이해되어야 하지만, 이에 국한되지 않는다:



[0302]



[0303]

[0304] 용어 "할로겐"은 특정 할로겐 원자인 불소, 브롬, 염소 및 요오드를 포함한다.

[0305] 대체 치환기의 목록에 원자가 요건이나 다른 이유로 특정 기를 치환하는 데 사용될 수 없는 구성원이 포함된 경우, 목록이 원자가 규칙을 위반하지 않고 특정 기를 치환하는 데 적합한 목록의 구성원만 포함하도록 당업자의 지식을 갖고 읽도록 의도된 것임을 당업자는 인식할 것이다.

[0306] 본원에 제시된 모든 화학식 또는 구조는 본 화합물의 표지되지 않은 화합물의 형태뿐만 아니라 동위원소로 표지된 형태를 나타내는 것으로 의도된다. 동위원소로 표지된 화합물은 하나 이상의 원자가 선택된 원자량 또는 질량수를 갖는 원자로 대체되는 것을 제외하고는 본원에 제시된 화학식에 의해 묘사되는 구조를 갖는다. 본 개시

의 화합물에 통합될 수 있는 동위원소의 예에는 수소, 탄소, 질소, 산소, 불소 및 염소, 예를 들어 ^{2}H(중수소, D), ^{3}H(트리튬), ^{11}C, ^{13}C, ^{14}C, ^{15}N, ^{18}F, ^{35}S, ^{36}Cl 및 ^{125}I가 포함되지만 이에 국한되지 않는다. 따라서 본 발명은 또한 그러한 동위원소로 표지된 화합물, 예를 들어 ^{3}H, ^{13}C 및 ^{14}C와 같은 방사성 동위원소를 포함하는 화합물을 포괄한다. 그러한 동위원소로 표지된 화합물은 대사 연구, 반응 속도 연구, 검출 또는 영상화 기법, 예를 들어 약물 또는 기질 조직 분포 분석을 포함하는 양전자 방출 단층촬영(PET) 또는 단일-광자 방출 컴퓨터 단층촬영(SPECT), 또는 환자의 방사성 치료에서 유용할 수 있다. 본 발명의 동위원소로 표지된 화합물은 비동위원소로 표지된 시약을 쉽게 이용 가능한 동위원소로 표지된 시약으로 대체함으로써 반응식 또는 실시예에 개시된 절차 및 아래에 설명된 제조법을 수행하여 일반적으로 제조될 수 있다.

[0307] 본 발명은 또한 화학식 (I)의 화합물의 "중수소화 유사체"를 포함하며, 여기서 탄소 원자에 부착된 1개 내지 n개의 수소가 중수소로 대체되며, 여기서 n은 분자 내의 수소의 개수이다. 그러한 화합물은 대사에 대한 내성이 증가하여 포유류, 예를 들어 인간에게 투여할 때 화학식 (I)의 임의의 화합물의 반감기를 늘리는 데 유용할 수 있다. 예를 들어, 문헌[Foster in Trends Pharmacol. Sci. 1984:5;524]을 참조한다. 그러한 화합물은 당업자에게 잘 알려진 수단에 의해, 예를 들어 하나 이상의 수소가 중수소로 대체되거나 해당 위치(들)에서 중수소 함량이 풍부한 출발 물질을 사용함으로써 합성된다.

[0308] 본 발명의 중수소로 표지되거나 치환된 치료 화합물은 분포, 대사 및 배출(ADME)과 관련하여 DMPK(약물 대사 및 약동학) 특성을 개선할 수 있다. 중수소와 같은 더욱 무거운 동위원소로의 치환은 대사 안정성의 향상, 예를 들어 생체 내 반감기의 증가, 투여 요구량의 감소 및/또는 치료 지수의 개선으로 인한 특정 치료상의 이점을 제공할 수 있다. ^{18}F로 표지된 화합물은 PET 또는 SPECT 연구에 유용할 수 있다.

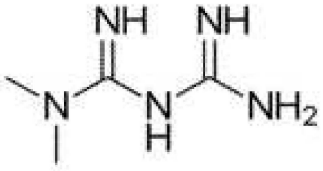
[0309] 그러한 무거운 동위원소, 특히 중수소의 농도는 동위원소 농축 인자에 의해 정의될 수 있다. 본 발명의 화합물에서, 특정 동위원소로 특별히 지정되지 않은 임의의 원자는 그 원자의 임의의 안정한 동위원소를 나타내는 것으로 간주된다. 달리 명시되지 않는 한, 위치가 "H" 또는 "수소"로 구체적으로 지정된 경우, 위치는 자연적 풍부도 동위원소 조성으로 수소를 갖는 것으로 이해된다.

[0310] 본 발명의 화합물의 대사산물이 또한 본 발명의 범위 내에 있다.

[0311] 본 발명의 화합물의 호변이성질화, 예를 들어 케토-에놀 호변이성질화가 발생할 수 있는 경우, 개별 형태, 예를 들어 케토 및 에놀 형태는 각각 본 발명의 범위 내에 속하며, 임의의 비율의 이들의 혼합물도 본 발명의 범위 내에 속한다. 동일한 사항이 입체이성질체, 예를 들어 거울상이성질체, 시스/트랜스 이성질체, 형태이성질체 등에 적용된다.

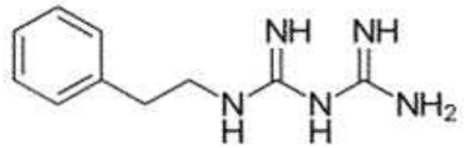
[0312] 요망되는 경우, 이성질체는 당업계에 잘 알려진 방법, 예를 들어 액체 크로마토그래피에 의해 분리될 수 있다. 동일한 사항이, 예를 들어, 키랄 고정상을 사용하여 거울상이성질체에 적용된다. 또한, 거울상이성질체는 부분 입체이성질체로의 전환 즉, 거울상이성질적으로 순수한 보조 화합물과의 커플링, 생성된 부분입체이성질체의 후속 분리 및 보조 잔기의 절단에 의해 분리될 수 있다. 대안적으로, 본 발명의 화합물의 임의의 거울상이성질체는 광학적으로 순수한 출발 물질을 사용하여 입체선택적 합성을 통해 얻을 수 있다. 라세미 혼합물로부터 순수한 거울상이성질체를 얻는 또 다른 방법은 당업계에 공지된 방법에 의해 키랄 반대 이온을 이용한 거울상이성질 선택적 결정화를 사용하는 것이다.

[0313] 본원에서 사용되는 바와 같이, "메트포르민"은 다음 화학 구조를 갖는 화합물을 의미한다:

[0314] 

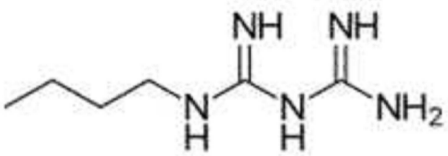
.

[0315] 본원에서 사용되는 바와 같이, "펜포르민"은 다음 화학 구조를 갖는 화합물을 의미한다:



[0316] .

[0317] 본원에서 사용되는 바와 같이, "부포르민"은 다음 화학 구조를 갖는 화합물을 의미한다:



[0318] .

[0319] 본원에서 사용되는 바와 같이, 본 발명의 하나 이상의 화합물을 다른 물질 또는 물질들 또는 요법 유형과 "함께" 또는 "조합하여" 투여하는 것은 투여의 동시성을 의미할 필요는 없다. 오히려, 본원에서 사용되는 2개 이상의 화합물의 "조합"은 예를 들어, 한 화합물을 다른 것 또는 다른 것들 또는 요법 유형과 "함께" 또는 "조합한" 투여와 같이 각 물질 및/또는 요법의 투여 경로 및 시기와 관련된 여러 가능성을 포괄하고 개시한다. 이러한 의미에서 포괄되고 개시되는 것은 예를 들어 두 물질의 동일한 경로에 의한 동시 투여, 상이한 경로에 의한 동시 투여, 동일한 경로에 의한 시간적 차등 투여, 또는 상이한 경로에 의한 시간적 차등 투여이다. 본원에 기재된 임의의 투여 경로는 임의의 방식으로 조합될 수 있다. 또한, 투여의 순서는 중요하지 않다. 예를 들어, 두 물질 A와 B의 일반적인 예를 적용하면, 물질 A와 물질 B을 "함께" 또는 서로 "조합한" 또는 "조합물"로서 시간적으로 차등를 둔 투여는 물질 A의 선행 투여와 물질 B의 후속 투여, 또는 물질 B의 선행 투여와 물질 A의 후속 투여를 포괄할 수 있다. 예를 들어, 물질 A와 물질 B의 동일한 경로에 의한 차등 투여는 물질 A의 초기 경구 투여에 이은 물질 B의 경구 투여의 형태를 취할 수 있고; 이러한 방식의 물질 A와 물질 B의 투여는 두 물질을 "함께" 또는 서로 "조합한" 투여의 의미에 속하고, 이에 의해 개시된다. 유사하게, 물질 A와 물질 B의 상이한 경로에 의한 차등 투여는 물질 A의 초기 경구 투여에 이은 물질 B의 정맥내 투여의 형태를 취할 수 있고; 이러한 방식의 물질 A와 물질 B의 투여는 두 물질을 "함께" 또는 서로 "조합한" 투여의 의미에 속하고, 이에 의해 개시된다. 물질 A와 물질 B의 하나의 동일한 제형의 투여는 본 발명에 의해 또한 구상된다. 일부 구현예에서, 특히 본 발명의 화학식 (I)의 화합물 및 비구아니드의 조합물과 관련하여, 투여 경로는 바람직하게는 경구 투여이며, 조합물의 투여 시기는 바람직하게는 동시이다. 다른 구현예에서, 특히 본 발명의 화학식 (I)의 화합물 및 비구아니드의 조합물과 관련하여, 투여 경로는 바람직하게는 화학식 (I)의 화합물의 정맥내 투여와 비구아니드의 경구 투여이다. 이 경우, 조합된 물질 각각의 투여는 동시에 또는 시간적으로 차등을 두고 일어나도록 시간 조정될 수 있다.

[0320] 해당되는 두 물질이 해당 질병 또는 질환과 관련된 동일한 전반적인 예방적 및/또는 치료적 요법의 일부로 투여되는 한, 본원에서 의도된 바와 같이, 두 물질을 "함께" 또는 서로 "조합한" 투여 사이의 기간에 대해서는 특별한 제한이 없다.

[0321] 마찬가지로, 본원에서 사용되는 바와 같이, 특정 유형의 요법 "중" 하나의 물질의 투여는 시간적 동시성을 필요로 하는 것으로 이해해서는 안 된다. 오히려, 요법 "중" 물질 또는 물질들의 투여는 광범위한 예방적 및/또는 치료적 요법의 일부로서 임의의 투여 시기와 경로를 포괄하고 포함한다. 예를 들어, 대상체의 방사선 요법 "중" 본 발명의 하나 이상의 화합물의 투여는 대상체에게 방사선이 적용되는 동시에 대상체에게 그러한 화합물(들)이 투여될 것을 요구하지는 않지만, 그 가능성을 포함한다. 예를 들어, 방사선 요법 "중" 투여는 방사선의 그러한 적용 전 또는 후, 또는 방사선의 그러한 적용 전 및 후, 또는 방사선의 그러한 적용 전, 동시에 및 적용 후에 본 발명의 하나 이상의 화합물의 투여를 포함할 수 있다.

[0322] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "진행성 암"은 TMN 병기 체계에 따라 3기 또는 그보다 높은 병기의의 암으로 분류되는 암을 의미하는 것으로 이해되어야 한다(https://www.cancer.net/navigating-cancer-care/diagnosing-cancer/stages-cancer에서 접근 가능한 미국임상종양학회(ASCO)의 정의 참조).

[0323] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "당분해성 암"은 즉, 양전자 방출 단층촬영에서 ^{19}F-디옥시글루코스 흡수에 의해 입증되는 평균 이상의 포도당 소비 및 ^{1}H-NMR 또는 효소 분석에 의한 혈액 내 락테이트 수준을 결정함으

로써 입증되는 바와 같은 평균 이상의 락테이트 생성을 나타내는 암을 의미하는 것으로 이해되어야 한다.

[0324] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "소포체 스트레스"는 특정 마커, 예를 들어 전사 수준에서 Chac 및 Chop의 상향조절을 특징으로 하는 소포체로부터 오는 반응을 의미하는 것으로 이해되어야 한다. 이는 용어 언폴딩된 단백질 반응과 동일한 의미를 갖는 것으로 이해될 수 있다(문헌[Thangaraj et al. International Review of Cell and Molecular Biology. Vol 350, 285-325 (2020)] 참조).

[0325] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "저산소 영역의 감소" 및 "저산소 영역의 유의한 감소"는 면역형광 염색 및 후속 형태학적 분석에서 입증된 바와 같이 조직학적 섹션에서 피모니다졸 양성 염색된 영역의 감소를 의미하는 것으로 이해되어야 한다. 유의한 감소는 적어도 10개의 개별 섹션 및 염색에 대한 정량적 이미지 분석 결과가 적절한 통계적 방법에 의해 분석된 각 대조군에 비해 피모니다졸-양성 염색에서 통계적으로 유의한 감소를 보이는 경우 나타난다(문헌[Jaidi et al., Front Bioeng Biotechnol. 5;7:397.(2019)] 참조).

[0326] 본 발명의 화합물은 약학적으로 허용되는 염의 형태일 수 있다. 용어 "약학적으로 허용되는 염"은 무기 염기 또는 산과 유기 염기 또는 산을 포함하는 약학적으로 허용되는 비독성 염기 또는 산으로부터 제조된 염을 지칭한다. 본 발명의 화합물이 하나 이상의 산성 또는 염기성 기를 함유하는 경우, 본 발명은 또한 그들의 상응하는 약학적으로 또는 독성학적으로 허용되는 염, 특히 약학적으로 이용 가능한 염을 포함한다. 따라서, 산성 기를 함유하는 본 발명의 화합물은 이러한 기 상에 존재할 수 있으며, 본 발명에 따라, 예를 들어, 알칼리 금속염, 알칼리 토금속염 또는 암모늄염으로 사용될 수 있다. 그러한 염의 보다 구체적인 예에는 나트륨 염, 칼륨 염, 칼슘 염, 마그네슘 염 또는 암모니아나 유기 아민(예를 들어 에틸아민, 에탄올아민, 트리에탄올아민 또는 아미노산)을 포함하는 염이 포함된다. 본 발명의 화합물은 하나 이상의 염기성 기, 즉 양성자화될 수 있는 기를 함유하며, 본 발명에 따라 무기산이나 유기산과의 부가 염의 형태로 사용될 수 있다. 적합한 산의 예에는 염화수소, 브롬화수소, 인산, 황산, 질산, 메탄술폰산, p-톨루엔술폰산, 나프탈렌다이술폰산, 옥살산, 아세트산, 타르타르산, 락트산, 살리실산, 벤조산, 포름산, 프로피온산, 피발산, 디에틸아세트산, 말론산, 숙신산, 피멜산, 푸마르산, 말레산, 말산, 술파민산, 페닐프로피온산, 글루콘산, 아스코르브산, 이소니코틴산, 시트르산, 아디프산 및 당업자에게 알려진 기타 산이 포함된다. 본 발명의 화합물이 분자 내에 산성 및 염기성 기를 동시에 포함하는 경우, 본 발명은 또한 언급된 염 형태 외에 내부 염 또는 베타인(쯔비터 이온)을 포함한다. 각각의 염은 당업자에게 알려진 관습적인 방법, 예를 들어 용매 또는 분산제에서 유기 또는 무기산 또는 염기와 접촉하거나 다른 염과의 음이온 교환 또는 양이온 교환에 의해 얻을 수 있다. 본 발명은 또한 본 발명의 화합물의 모든 염을 포함하며, 이는 낮은 생리적 양립 가능성으로 인해 의약품에 사용하기에 직접적으로 적합하지는 않지만, 예를 들어 화학 반응의 중간체 또는 약학적으로 허용되는 염의 제조에 사용될 수 있다.

[0327] 또한, 본 발명의 화합물은 용매화물의 형태, 예를 들어 용매화물로서 물을 포함하는 것들, 또는 약학적으로 허용되는 용매화물, 예를 들어 알코올, 특히 에탄올이 포함된다.

[0328] 다음은 화학식 (I)의 화합물을 대상체에게 투여하기 위해 제형화될 수 있는 예시적이고 비제한적인 방법을 설명한다. 이하 전반에 걸쳐, 잠재적인 제형화가 본 발명의 화합물, 즉 화학식 (I)의 화합물 단독의 제형화 또는 다른 물질, 예를 들어 본원의 다른 곳에 기재된 비구아니드와 조합한 제형화에 적용되도록 의도되는 것으로 이해되어야 하며, 그러한 다른 물질의 존재가 언급되지 않은 경우에도 마찬가지이다.

[0329] 또한, 본 발명의 하기 "화합물들"(복수)을 언급할 때, 이는 본 발명의 (단일) 화합물, 즉 본원의 화학식 (I)의 화합물을 특정하는 제한적인 경우를 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 마찬가지로, "활성 화합물" 또는 "활성 화합물들"에 대한 언급은 또한 본 발명의 화합물, 즉 본원의 화학식 (I)의 화합물을 지칭한다. 마찬가지로, "본 발명의 화합물" 또는 "본 발명의 화합물들"에 대한 언급은 또한 본 발명의 화합물, 즉 본원의 화학식 (I)의 화합물을 지칭한다.

[0330] 또한, 본 발명은 적어도 하나의 본 발명의 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매를 약학적으로 허용되는 담체와 함께 활성 성분으로 포함하는 약학 조성물을 제공한다. 이는 적어도 하나의 본 발명의 화학식 (I)의 화합물이 다른 화합물, 예를 들어 바람직하게는, 비구아니드와 조합하여 투여되는 경우에 동일하게 적용된다.

[0331] "약학 조성물"은 본 발명의 하나 이상의 화합물 및 담체를 구성하는 하나 이상의 불활성 성분뿐만 아니라, 임의의 둘 이상의 성분의 조합, 복합체화 또는 응집, 또는 하나 이상의 성분의 해리 또는 하나 이상의 성분의 다른 유형의 반응 또는 상호작용으로부터 직접 또는 간접적으로 생성되는 임의의 생성물을 의미한다. 따라서, 본 발명의 조성물 및 약학 조성물은 적어도 하나의 본 발명의 화합물과 약학적으로 허용되는 담체를 혼합하여 제조된

임의의 조성물을 포괄한다.

[0332] 실제 사용에서, 본 발명의 화합물은 종래의 약학 배합 기법에 따라 약학적 담체와의 긴밀한 혼합으로 활성 성분으로 배합될 수 있다. 담체는 투여를 위해 요망되는 제조물의 형태, 예를 들어 경구 또는 비경구(정맥내 포함)에 따라 다양한 형태를 취할 수 있다. 경구 투여 형태를 위한 조성물을 제조함에 있어서, 임의의 통상적인 약학 매체, 예를 들어 경구용 액체 제조물, 예를 들어 현탁액, 엘릭서 및 용액의 경우에는 물, 글리콜, 오일, 알코올, 향미제, 방부제, 착색제 등; 경구용 고체 제조물, 예를 들어 분말, 경질 및 연질 캡슐, 정제의 경우에는 담체, 예를 들어 전분, 설탕, 미정질 셀룰로스, 희석제, 과립화제, 윤활제, 결합제, 붕해제 등이 사용될 수 있으며, 고체 경구용 제조물이 액체 제조물보다 바람직하다.

[0333] 정제와 캡슐은 투여가 용이하기 때문에 가장 유리한 경구 투여 단위 형태이며, 이 경우 고형 약학 담체가 자명하게 사용된다. 요망되는 경우, 정제는 표준 수성 또는 비-수성 기법으로 코팅될 수 있다. 그러한 조성물 및 제조물은 적어도 약 0.1%의 활성 화합물을 함유해야 한다. 물론 이러한 조성물에서의 활성 화합물의 비율은 다양할 수 있으며, 편리하게는 단위 중량의 약 5% 내지 약 98%, 더욱 바람직하게는 단위 중량의 약 10% 내지 약 90% 사이일 수 있다. 이러한 치료적으로 유용한 조성물에서의 활성 화합물의 양은 효과적인 투여량이 얻어지게 하는 정도이다. 활성 화합물은 또한 비강으로, 예를 들어 액체 방울 또는 스프레이로 투여될 수 있다. 정제, 알약, 캡슐 등은 또한 결합제, 예를 들어 트라가칸트 검, 아카시아, 옥수수 전분 또는 젤라틴; 부형제, 예를 들어 다이칼슘 포스페이트; 붕해제, 예를 들어 옥수수 전분, 감자 전분, 알긴산; 윤활제, 예를 들어 마그네슘 스테아레이트; 감미제, 예를 들어 수크로스, 락토오스 또는 사카린을 함유할 수 있다. 투여 단위 형태가 캡슐인 경우, 상기 유형의 물질 외에 지방 오일과 같은 액체 담체를 함유할 수 있다.

[0334] 다양한 다른 물질이 코팅으로 존재하거나 투여 단위의 물리적 형태를 변형하기 위해 존재할 수 있다. 예를 들어, 정제는 셸락, 설탕 또는 둘 다로 코팅될 수 있다. 시럽이나 엘릭서는 활성 성분 외에 감미제로 자당, 방부제로 메틸과 프로필파라벤, 염료, 체리 또는 오렌지 향과 같은 향미제를 함유할 수 있다.

[0335] 본 발명에 사용되는 화합물은 또한 비경구 투여될 수 있다. 이러한 활성 화합물의 용액 또는 현탁액은 계면활성제, 예를 들어 하이드록시-프로필셀룰로오스와 적절히 혼합된 물에서 제조될 수 있다. 분산액은 또한 오일 중의 글리세롤, 액체 폴리에틸렌 글리콜 및 이들의 혼합물에서 제조할 수 있다. 보관 및 사용의 일반적인 조건에서 이러한 제조물은 미생물의 성장을 방지하는 방부제를 함유한다.

[0336] 주사용으로 적합한 약학적 형태는 멸균 수성 용액 또는 분산액과 멸균 주사용 용액 또는 분산액의 즉석 제조를 위한 멸균 분말을 포함한다. 모든 경우에, 투여 형태는 멸균 상태여야 하며 쉽게 주사할 수 있을 정도로 유동적이어야 한다. 제조 및 보관의 조건에서 안정적이어야 하고 미생물, 예를 들어 박테리아 및 곰팡이의 오염 작용에 대해 보존되어야 한다. 담체는 예를 들어 물, 에탄올, 폴리올(예를 들어, 글리세롤, 프로필렌 글리콜 및 액체 폴리에틸렌 글리콜), 이들의 적합한 혼합물 및 식물성 오일을 함유하는 용매 또는 분산 매체일 수 있다.

[0337] 상기와 관련된 추가의 구체적인 내용 및 추가의 제형화 방식이 아래에 나와 있다.

[0338] 경구 투여에 적합한 본 발명의 화합물의 제형: 경구 투여에 적합한 본 발명의 화합물은 샤셰(sachet)(예를 들어, 샤셰 내의 분말), 정제, 경질 또는 연질 캡슐, 카세제(cachet), 트로키 또는 로젠지를 포함하는 개별 고체 투여 단위의 형태로 제조, 포장 또는 판매될 수 있고, 각각은 본 발명의 화합물(들)의 미리 정해진 양을 함유한다. 경구 투여에 적합한 다른 제형은 분말 또는 과립 제형, 수성 또는 유성 현탁액, 수성 또는 유성 용액 또는 유화제를 포함한다. 본원에서 사용되는 바와 같이, "유성" 액체는 물보다 극성이 낮은 탄소-함유 액체 분자를 포함한다.

[0339] 본 발명의 화합물을 포함하는 정제는, 예를 들어, 본 발명의 화합물을 타정 또는 성형하여 제조될 수 있으며, 선택적으로 하나 이상의 추가적인 성분을 포함한다. 타정된 정제는 적절한 장치에서 자유 흐름 형태, 예를 들어 분말 또는 과립 제조물의 본 발명의 화합물을 타정하여 제조될 수 있으며, 선택적으로 결합제, 윤활제, 부형제, 표면 활성제 및 분산제 중 하나 이상과 혼합된다. 성형된 정제는, 예를 들어 적절한 장치에서 본 발명의 화합물, 약학적으로 허용되는 담체, 및 적어도 혼합물을 적시기에 충분한 액체를 성형하여 만들어질 수 있다.

[0340] 정제의 제조에 사용되는 약학적으로 허용되는 부형제에는 불활성 희석제, 과립제 및 붕해제, 결합제, 및 윤활제가 포함되지만 이에 국한되지 않는다. 알려진 분산제에는 감자 전분 및 나트륨 전분 글리콜레이트가 포함되지만 이에 국한되지 않는다. 알려진 표면 활성제에는 소듐 라우릴 설페이트가 포함되지만 이에 국한되지 않는다. 알려진 희석제에는 탄산칼슘, 탄산나트륨, 락토오스, 미정질 셀룰로오스, 인산칼슘, 인산수소칼슘 및 인산나트륨이 포함되지만 이에 국한되지 않는다. 알려진 과립화제 및 붕해제에는 옥수수 전분 및 알긴산이 포함되지만 이

에 국한되지 않는다. 알려진 결합제에는 젤라틴, 아카시아, 미리 젤라틴화된 옥수수 전분, 폴리비닐피롤리돈 및 하이드록시프로필 메틸셀룰로오스가 포함되지만 이에 국한되지 않는다. 알려진 윤활제에는 마그네슘 스테아레이트, 스테아르산, 실리카 및 탈크가 포함되지만 이에 국한되지 않는다.

[0341] 정제는 코팅되지 않거나 대상체의 위장관에서 지연된 분해를 달성하도록 알려진 방법을 사용하여 코팅될 수 있고, 이를 통해 본 발명의 화합물의 지속적인 방출 및 흡수를 제공한다. 예를 들어, 글리세릴 모노스테아레이트 또는 글리세릴 다이스테아레이트와 같은 물질이 정제를 코팅하는 데 사용될 수 있다. 정제는 약학적으로 매력적이고 기호에 맞는 제조물을 제공하기 위해 감미제, 향미제, 착색제, 방부제 또는 이들의 일부 조합을 추가로 포함할 수 있다.

[0342] 본 발명의 화합물을 포함하는 경질 캡슐은 생리적으로 분해가능한 조성물, 예를 들어 젤라틴 또는 셀룰로오스 유도체를 사용하여 제조될 수 있다. 그러한 경질 캡슐은 본 발명의 화합물을 포함하고, 예를 들어 불활성 고체 희석제, 예를 들어 탄산칼슘, 인산칼슘 또는 카올린을 포함하는 추가적인 성분을 추가로 포함할 수 있다.

[0343] 본 발명의 화합물을 포함하는 연질 젤라틴 캡슐은 연질 젤라틴 껍질의 기본 구성 요소로 생리적으로 분해 가능한 조성물, 예를 들어 가소제(즉, 글리세롤)와 결합된 젤라틴을 사용하여 제조될 수 있다. 연질 젤라틴 캡슐은 액체 또는 반고체 용액, 현탁액 또는 마이크로에멀젼 예비농축액을 함유할 수 있다. 연질 캡슐 충전물은 본 발명의 화합물을 포함하고, 이는 물 또는 오일 매체, 예를 들어 땅콩 오일, 액상 파라핀, 올리브 오일, 대두 오일, 해바라기 오일, 레시틴, 예를 들어 대두 레시틴 또는 해바라기 레시틴, 중쇄 트리글리세리드, 폴리글리세롤 올레에이트, 밀랍, 지방산의 모노글리세리드 및 다이글리세리드, 또는 상기 중 임의의 조합과 혼합될 수 있다.

[0344] 경구 투여에 특히 적합한 본 발명의 화합물의 액체 제형은 액체 형태 또는 섭취 전 물 또는 기타 적절한 비히클로 재구성되도록 의도된 건조 제품의 형태로 제조되고, 포장되고, 판매될 수 있다.

[0345] 액체 현탁액은 수성 또는 유성 비히클 중의 활성 성분의 현탁액을 달성하기 위해 기존의 방법을 사용하여 제조될 수 있다. 수성 비히클은, 예를 들어, 물 및 등장성 식염수를 포함한다. 유성 비히클은 예를 들어, 아몬드 오일, 유성 에스테르, 에틸 알코올, 식물성 오일, 예를 들어 아라키스, 올리브, 참깨 또는 코코넛 오일, 분획 식물성 오일, 및 미네랄 오일, 예를 들어 액체 파라핀을 포함한다. 액체 현탁액은 하나 이상의 추가적인 성분을 추가로 포함할 수 있으며, 이에는 현탁제, 분산제 또는 습윤제, 유화제, 완화제, 방부제, 완충제, 염, 향미제, 착색제 및 감미제가 포함되지만, 이에 국한되지 않는다. 유성 현탁액은 증점제를 추가로 포함할 수 있다. 알려진 현탁제에는 소르비톨 시럽, 수소화 식용 지방, 알긴산 나트륨, 폴리비닐피롤리돈, 트라가칸트 검, 아카시아 검, 및 셀룰로오스 유도체, 예를 들어 카르복시메틸셀룰로오스 나트륨, 메틸셀룰로오스, 하이드록시프로필메틸셀룰로오스가 포함되지만 이에 국한되지 않는다. 알려진 분산제 또는 습윤제에는 자연 발생적 포스파티드, 예를 들어 레시틴, 지방산, 장쇄 지방족 알코올, 지방산 및 헥시톨로부터 유래된 부분 에스테르, 또는 지방산 및 헥시톨 무수물로부터 유래된 부분 에스테르와 알킬렌 옥사이드의 축합 생성물(예를 들어, 각각 폴리옥시에틸렌 스테아레이트, 헵타데카에틸렌옥시세탄올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 모노올레이트 및 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노올레이트)이 포함되지만 이에 국한되지 않는다. 알려진 유화제에는 레시틴과 아카시아가 포함되지만 이에 국한되지 않는다. 알려진 방부제에는 메틸, 에틸 또는 n-프로필 파라하이드록시벤조에이트, 아스코르브산 및 소르빈산이 포함되지만 이에 국한되지 않는다. 알려진 감미제에는, 예를 들어, 글리세롤, 프로필렌글리콜, 소르비톨, 수크로오스, 및 사카린이 포함된다. 알려진 유성 현탁액의 증점제에는 예를 들어, 밀랍, 경질 파라핀 및 세틸 알코올이 포함된다.

[0346] 본 발명의 화합물, 예를 들어 본 발명의 약학 조성물의 분말 및 과립 제형은 공지된 방법을 사용하여 제조될 수 있다. 그러한 제형은 대상체에게 직접 투여될 수 있고, 예를 들어, 샤셰 또는 정제를 형성하거나, 캡슐을 충전하거나, 수성 또는 유성 비히클을 첨가하여 수성 또는 유성 현탁액 또는 용액을 제조하는 데 사용될 수 있다. 각각의 이러한 제형은 분산제 또는 습윤제, 현탁제 및 방부제 중 하나 이상을 추가로 포함할 수 있다. 추가적인 부형제, 예를 들어 충전제 및 감미제, 향미제 또는 착색제가 또한 이러한 제형에 포함될 수 있다.

[0347] 본 발명의 화합물은 또한 수중유 에멀젼 또는 유중수 에멀젼의 형태로 제조되거나, 포장되거나 판매될 수 있다. 유성 상은 식물성 오일, 예를 들어 올리브 또는 아라키스 오일, 미네랄 오일, 예를 들어 액체 파라핀, 또는 이들의 조합일 수 있다. 그러한 조성물은 하나 이상의 유화제, 예를 들어 자연 발생적 검, 예를 들어 아카시아 검 또는 트라가칸트 검, 자연 발생적 포스파티드, 예를 들어 대두 또는 레시틴 포스파티드, 지방산 및 헥시톨 무수물의 조합으로부터 유래된 에스테르 또는 부분 에스테르, 예를 들어 소르비탄 모노올리에이트, 에틸렌 옥사이드와 그러한 부분 에스테르의 축합 생성물, 예를 들어 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노올리에이트를 추가로 포함할

수 있다. 이러한 유화제는 또한, 예를 들어, 감미제 또는 향미제를 포함하는 추가적인 성분을 함유할 수 있다.

[0348] 물질을 화학 조성물로 함침하거나 코팅하는 방법은 당업자에게 공지되어 있으며, 화학 조성물을 표면에 증착하거나 결합하는 방법, 화학 조성물을 물질(예를 들어, 생리적으로 분해 가능한 물질과 같은)의 합성 중에 물질의 구조에 통합하는 방법, 및 후속 건조 유무에 관계없이 수성 또는 유성 용액 또는 현탁액을 흡수성 물질에 흡수시키는 방법을 포함하나 이에 국한되지 않는다.

[0349] 비경구 투여에 적합한 본 발명의 화합물의 제형: 비경구 투여의 경우, 본 발명의 화합물은 주사용 또는 주입용, 예를 들어 정맥내, 근육내 또는 피하 주사용 또는 주입용, 또는 볼루스 투여 및/또는 연속 주입에 의한 투여용으로 제형화될 수 있다. 유성 또는 수성 비히클 중의 현탁액, 용액, 또는 유화제가 사용될 수 있으며, 선택적으로 다른 제제, 예를 들어, 현탁제, 안정화제 및/또는 분산제, 예를 들어, 상기 언급된 것들을 함유한다.

[0350] 본 발명의 화합물은 약학적으로 허용되는 담체, 예를 들어 멸균수 또는 멸균 등장성 식염수와 함께 제형화하여 비경구 투여에 특히 적합하게 만들 수 있다. 그러한 제형은 볼러스 투여 또는 연속 투여에 적합한 형태로 제조되거나 포장되거나 판매될 수 있다. 주사용 제형은 단위 투여 형태, 예를 들어, 앰플, 분쇄형 등, 또는 방부제를 포함하는 다회 용기로 준비되거나 포장되거나 판매될 수 있다. 비경구 투여에 특히 적합한 조성물에는 현탁액, 용액, 유성 또는 수성 비히클 중의 유화제, 페이스트, 및 이식용 지속-방출 또는 생분해성 제형이 포함되지만 이에 국한되지 않는다. 그러한 조성물은 현탁제, 안정화제 또는 분산제를 포함하는 하나 이상의 추가적인 성분을 추가로 포함할 수 있으나 이에 국한되지 않는다. 비경구 투여에 특히 적합한 본 발명의 조성물의 일 구현예에서, 상기 활성 성분은 재구성된 조성물의 비경구 투여 전에 적합한 비히클(예를 들어, 발열원 미함유 멸균수)과의 재구성을 위해 건조(예를 들어, 분말 또는 과립) 형태로 제공된다.

[0351] 본 발명의 화합물은 멸균 주사용 수성 또는 유성 현탁액 또는 용액의 형태로 제조될 수 있다. 이 현탁액 또는 용액은 공지된 기술에 따라 제형화될 수 있으며, 활성 성분 이외에 추가적인 성분, 예를 들어 본원에 기재된 분산제, 습윤제 또는 현탁제를 포함할 수 있다. 이러한 멸균 주사용 조성물은 비독성의, 비경구적으로 허용되는 희석제 또는 용매, 예를 들어 물 또는 1,3-부탄디올을 사용하여 제조될 수 있다. 기타 허용되는 희석제 및 용매에는 링거 용액, 등장성 염화나트륨 용액, 고정 오일, 예를 들어 합성 모노글리세리드 또는 다이글리세리드가 포함되지만 이에 국한되지 않는다. 다른 일반적인 비경구 투여용 제형에는 미세결정 형태, 리포솜 제조물 또는 생분해성 폴리머 시스템의 구성 요소로 활성 성분을 포함하는 것들을 포함한다. 지속 방출 또는 이식용 조성물은 약학적으로 허용되는 고분자 또는 소수성 물질, 예를 들어 유화제, 이온 교환 수지, 난용성 폴리머 또는 난용성 염을 포함할 수 있다.

[0352] 경점막 투여에 적합한 본 발명의 화합물의 제형: 본 발명의 화합물은 경점막 투여에 적합하도록 제형화될 수 있다. 제형은 점막 조직에 적용하기에 적합한 임의의 물질 또는 투여 단위를 포함할 수 있다. 예를 들어, 선택된 활성제는 접착성 정제 또는 패치로 협측 점막에 투여되거나, 혀 아래에 고체 투여 형태를 배치하여 설하 투여되거나, 혀에 고체 투여 형태를 배치하여 혀로 투여되거나, 물방울이나 비강 스프레이, 비-에어로졸 액체 제형 또는 건조 분말로 비강 투여되거나, 직장 내부 또는 근처에 배치되거나("경직장" 제형), 좌약, 연고 등으로 요도에 투여될 수 있다.

[0353] 경요도 투여에 적합한 본 발명의 화합물의 제형: 본 발명의 화합물은 경요도 투여에 적합하도록 또한 제형화될 수 있다. 이 경우, 본 발명의 조성물은 활성제와 하나 이상의 선택된 담체 또는 부형제, 예를 들어 물, 실리콘, 왁스, 석유 젤리, 폴리에틸렌 글리콜("PEG"), 프로필렌 글리콜("PG"), 리포좀, 당, 예를 들어 만니톨 및 락토오스, 및/또는 다양한 기타 물질을 함유하는 요도 투여 형태를 포함할 수 있다. 경요도 투과 증강제는 투여 형태에 포함될 수 있다. 적합한 투과 증강제의 예에는 다이메틸설폭사이드("DMSO"), 다이메틸포름아미드("DMF"), N,N-다이메틸아세트아미드("DMA"), 데실메틸설폭사이드("C10 MSO"), 폴리에틸렌글리콜 모노라우레이트("PEGML"), 글리세롤 모노라우레이트, 레시틴, 1-치환된 아자사이클로헵탄-2-온, 특히 1-n-도데실-사이클아자사이클로헵탄-2-온, 예를 들어 TWEEN-80™을 포함하는 상기 논의된 바와 같은 계면활성제, 및 저급 알칸올, 예를 들어 에탄올이 포함된다.

[0354] 경직장 투여에 적합한 본 발명의 화합물의 제형: 본 발명의 화합물은 또한 경직장 투여에 적합하도록 또한 제형화될 수 있다. 경직장 투여 형태는 직장 좌약, 크림, 연고 및 액체 제형(관장제)을 포함할 수 있다. 경직장 전달을 위한 좌약, 크림, 연고 또는 액체 제형은 본 발명의 화합물 및 경직장 약물 투여에 적합한 하나 이상의 기존 무독성 담체를 포함한다. 본 발명의 조성물의 경직장 투여 형태는 통상적인 공정을 사용하여 제조될 수 있다. 경직장 투여 단위는 빠르게 또는 수 시간 동안에 걸쳐 분해되도록 제조될 수 있다. 완전한 분해를 위한 시간은 약 10분 내지 약 6시간의 범위, 예를 들어 약 3시간 미만일 수 있다.

[0355] 질 또는 질 주위 투여에 적합한 본 발명의 화합물의 제형: 본 발명의 화합물은 또한 질 또는 질 주위 투여에 적합하도록 제형화될 수 있다. 이를 위한 적합한 투여 형태는 질 좌약, 크림, 연고, 액체 제형, 페서리(pessarie), 탐폰, 젤, 페이스트, 폼 또는 스프레이를 포함할 수 있다. 질 또는 질 주위 전달을 위한 좌약, 크림, 연고, 액체 제형, 페서리, 탐폰, 젤, 페이스트, 폼 또는 스프레이는 치료적 유효량의 선택된 활성제 및 질 또는 질 주위 약물 투여에 적합한 하나 이상의 기존의 무독성 담체를 포함한다. 본 발명의 질 또는 질 주위 투여 형태는 예를 들어 문헌[Remington: The Science and Practice of Pharmacy, supra]에 개시된 예시와 같은 통상적인 공정을 사용하여 제조될 수 있다. 질 또는 질 주위 투여 단위는 빠르게 또는 수 시간 동안에 걸쳐 분해되도록 제조될 수 있다. 완전한 분해를 위한 시간은 약 10분 내지 약 6시간의 범위, 예를 들어 약 3시간 미만일 수 있다.

[0356] 국소 제형에 적합한 본 발명의 화합물의 제형: 본 발명의 화합물은 또한 국소 투여에 적합하도록 제형화될 수 있다. 이를 위한 적합한 투여 형태는 신체 표면에 적용하기에 적합한 임의의 형태를 포함할 수 있으며, 예를 들어 연고, 크림, 젤, 로션, 용액, 페이스트 등을 포함할 수 있고/있거나 리포좀, 미셀(micelle) 및/또는 마이크로스피어(microsphere)를 함유하도록 제조될 수 있다. 특정 구현예에서, 본원의 국소 제형은 연고, 크림 및 젤이다.

[0357] 경피 투여에 적합한 본 발명의 화합물의 제형: 본 발명의 화합물은 또한 경피 투여에 특히 적합하도록 제형화될 수 있다. 당업자에게 알려진 바와 같이, 경피 투여는 환자의 전신 순환계로 상기 화합물의 경피적 통과를 통해 약학 조성물을 전달하는 것을 포함한다. 이는 예를 들어, 경피 패치 또는 이온토포레시스(iontophoresis) 장치에 의해 달성될 수 있다. 본 발명의 화합물 외에 다른 성분도 경피 패치에 포함될 수 있다. 예를 들어, 조성물 및/또는 경피 패치는 메틸 하이드록시벤조에이트, 프로필 하이드록시벤조에이트, 클로로크레졸, 벤잘코늄 클로라이드 등을 포함하는 하나 이상의 방부제 또는 정균제로 제형화될 수 있으나, 이에 국한되지 않는다. 본 발명의 화합물의 투여 형태는 크림, 스프레이, 로션, 젤, 연고, 점안액, 점비액, 점이액 등을 포함할 수 있다. 그러한 투여 형태에서, 본 발명의 조성물의 성분들은 백색의 매끄럽고 균질하고 불투명한 크림 또는 로션을 형성하도록 예를 들어, 방부제로서 벤질 알코올 1% 또는 2%(wt/wt), 유화 왁스, 글리세린, 이소프로필 팔미테이트, 락트산, 정제수 및 소르비톨 용액과 혼합될 수 있다. 또한, 조성물은 폴리에틸렌 글리콜 400을 함유할 수 있다. 이들 성분은 연고를 형성하도록 예를 들어, 방부제로서 벤질 알코올 약 2%(wt/wt), 백색 바셀린, 유화 왁스 및 테녹스 II(부틸화 하이드록시아니솔, 프로필 갈레이트, 시트르산, 프로필렌 글리콜)와 혼합될 수 있다. 직물 패드 또는 붕대 재료의 롤, 예를 들어, 거즈는 용액, 로션, 크림, 연고 또는 이와 유사한 형태로 조성물로 함침될 수 있고 국소 적용에 또한 사용될 수 있다. 조성물은 또한 경피 시스템, 예를 들어 수지 가교제가 조성물로 함침되고 불투과성 백킹에 라미네이팅된 아크릴-기반 폴리머 접착제 중 하나를 사용하여 국소적으로 적용될 수 있다.

[0358] 적합한 피부 접촉 접착 물질의 예에는 폴리에틸렌, 폴리실록산, 폴리이소부틸렌, 폴리아크릴레이트, 폴리우레탄 등이 포함되지만 이에 국한되지 않는다. 대안적으로, 약물-함유 저장소 및 피부 접촉 접착제는 별개의 구별되는 층이며, 이 경우 저장소의 기저에 있는 접착제는 상기 기재된 바와 같은 고분자 매트릭스이거나, 액체 또는 하이드로겔 저장소이거나, 다른 형태를 취할 수 있다. 임의의 적절한 투여 경로는 포유류, 특히 인간에게 유효량의 본 발명의 화합물을 제공하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 경구, 직장, 국소, 비경구(정맥내, 근육내 및 피하 포함), 안구(안과용), 폐(비강 또는 협측 흡입), 비강 등이 사용될 수 있다. 상기 설명한 바와 같이, 투여 형태는 정제, 트로키, 분산액, 현탁액, 용액, 캡슐, 크림, 연고, 에어로졸 등을 포함한다. 바람직하게는, 본 발명의 화합물은 경구 또는 정맥 내 투여된다.

[0359] 사용되는 활성 성분의 유효량은 사용되는 특정 화합물, 투여 방식, 치료되는 상태 및 치료되는 상태의 중증도에 따라 달라질 수 있다. 그러한 투여량은 당업자에 의해 쉽게 확인될 수 있다.

[0360] 화학식 (I)의 화합물이 처방되는 락테이트/ATP 매개 질병을 치료하거나 예방할 때, 일반적으로 만족스러운 결과는 화합물이 포유류 체중 kg당 약 0.1 mg 내지 약 100 mg의 일일 투여량으로 투여될 때, 바람직하게는 1일 1회 용량 또는 1일 2회 내지 6회의 분할 용량으로 또는 지속 방출 형태로 주어질 때 얻어진다. 대부분의 대형 포유류의 경우, 일일 총 투여량은 약 1 mg 내지 약 1000 mg, 바람직하게는 약 1 mg 내지 약 50 mg이다. 성인 70 kg의 경우, 일일 총 투여량은 일반적으로 약 7 mg 내지 약 350 mg일 것이다. 이러한 투여 요법은 최적의 치료 반응을 제공하도록 조정될 수 있다.

[0361] 본 발명의 화합물은 암을 치료하는 데 효과적이다. 이론에 얽매이지 않고, 이는 락테이트 생성 경로를 조절하는 화합물의 능력에 기인한다.

[0362] 본 발명의 화합물은 PD-1 제제, PD-L1 제제, CTLA-4 제제, IDO1 억제제 및 항암 백신으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 암 치료제와 함께 투여될 수 있다. 대안적으로, 화합물은 사이토카인 요법, 알려진 화학요법 또는 약물요법과 함께 또는 방사선 요법 중에 투여될 수 있다. 그러한 병용 요법은 상기 논의된 비구아니드를 포함하는 조합 요법을 대체하거나 보완할 수 있다.

[0363] PD-1 제제의 예에는 펨브롤리주맙 및 니볼루맙이 포함되지만 이에 국한되지 않는다.

[0364] PD-L1 제제의 예에는 아테졸리주맙, 아벨루맙 및 더발루맙이 포함되지만 이에 국한되지 않는다.

[0365] CTLA-4 제제의 예에는 이필리무맙이 포함되지만 이에 국한되지 않는다.

[0366] IDO1 억제제의 예에는 에파카도스타트, 나복시모드 및 BMS-986205가 포함되지만 이에 국한되지 않는다.

[0367] 항암 백신의 예에는 Hepa-VAC-101 및 Sipuleucel-T가 포함되지만 이에 국한되지 않는다.

[0368] 사이토카인 요법의 예에는 IL-2, GM-CSF, IL-12 및/또는 IL-10의 투여를 수반하는 요법이 포함되지만 이에 국한되지 않는다.

[0369] 본원의 화학 또는 약물요법에 사용될 수 있는 약물의 예에는 다음이 포함된다: 백금 화합물(예를 들어, 시스플라틴, 카보플라틴, 옥살리플라틴), 알킬화제(예를 들어, 사이클로포스파마이드, 이포스파마이드, 클로람부실, 질소 머스터드, 티오테파, 멜팔란, 부설판, 프로카르바진, 스트렙토조신, 테모졸로마이드, 다카바진, 벤다무스틴), 항종양 항생제(예를 들어, 다우노루비신, 독소루비신,이다루비신, 에피루비신, 미톡산트론, 블레오마이신, 마이토마이신 C, 플리카마이신, 닥티노마이신), 택산(예를 들어, 파클리탁셀, 카바지탁셀 및 도세탁셀), 항대사물질(예를 들어, 5-플루오로우라실, 사이타라빈, 페메트렉시드, 티오구아닌, 플록스유리딘, 카페시타빈, 젬시타빈, 6-메르캅토퓨린 및 메토트렉세이트), 뉴클레오사이드 유사체(예를 들어, 플루다라빈, 클로파라빈, 클라드리빈, 펜토스타틴, 넬라라빈), 토포이소머라제 억제제(예를 들어, 토포테칸 및 이리노테칸), 저메틸화제(예를 들어, 아자시티딘 및 데시타빈), 프로테오좀 억제제(예를 들어, 보르테조밉), 에피포도필로톡신(예를 들어, 에토포시드 및 테니포시드), DNA 합성 억제제(예를 들어, 하이드록시우레아), 빈카 알칼로이드(예를 들어, 비크리스틴, 빈데신, 비노렐빈 및 빈블라스틴), 티로신 키나제 억제제(예를 들어, 이마티닙, 다사티닙, 닐로티닙, 소라페닙, 수니티닙, 보수티닙, 포나티닙, 엘로티닙, 게피티닙, 아파티닙, 오시머티닙, 라파티닙, 크리조티닙, 세리티닙, 엑시티닙, 카보잔티닙 및 렌바티닙), 단일클론 항체(예를 들어, 퍼투주맙, 리툭시맙, 세툭시맙, 파네투무맙, 토시투모맙, 트라스투주맙, 알렘투주맙, 젬투주맙, 오조가미신, 베바시주맙, 니볼루맙, 펨브롤리주맙 또는 기타 면역 체크포인트 억제제 단일클론 항체), 니트로소유레아(예를 들어, 카르무스틴, 포테무스틴 및 로무스틴), 효소(예를 들어, L-아스파라기나제), 생물학적 제제(예를 들어, 인터페론 및 인터루킨), 헥사메틸멜라민, 미토탄, 혈관신생 억제제(예를 들어, 탈리도마이드, 레날리도마이드), 스테로이드(예를 들어, 프레드니손, 덱사메타손 및 프레드니솔론), 호르몬제(예를 들어, 타목시펜, 랄록시펜, 류프롤리드, 비칼루타마이드, 그라니세트론, 플루타마이드), 아로마타제 억제제(예를 들어, 레트로졸, 엑세메스탄 및 아나스트로졸), 삼산화비소, 트레티노인, 비선택적 사이클로옥시게나제 억제제(예를 들어, 비스테로이드성 항염증제, 살리실레이트, 아스피린, 피록시캄, 이부프로펜, 인도메타신, 나프록센(naprosyn), 디클로페낙, 톨메틴, 케토프로펜, 나부메톤, 옥사프로진), 선택적 사이클로옥시게나제-2(COX-2) 억제제 또는 이들의 임의의 조합.

[0370] **약어**

[0371] 본원과 본 출원 전체에서 다음과 같은 약어가 사용된다.

[0372] Ac 아세틸

[0373] 9-BBN 9-보라바이사이클로[3.3.1]노난

[0374] $CDCl_3$ 중수소화 클로로포름

[0375] d 이중선

[0376] dba 다이벤질리덴아세톤

[0377] dd 이중선의 이중선

[0378] DCE 1,2-다이클로로에탄

[0379] DIBAL 다이이소부틸알루미늄하이드리드

[0380] DCM 다이클로로메탄

[0381] DIAD 다이이소프로필 아조다이카복실레이트

[0382] DIPEA *N*,*N*-다이이소프로필에틸아민

[0383] DMAP 4-(다이메틸아미노)피리딘

[0384] DMF *N*,*N*-다이메틸포름아마이드

[0385] DMP 데스-마틴 페리오디난

[0386] DMSO 다이메틸 설폭사이드

[0387] DMSO-d_6 중수소화 다이메틸 설폭사이드

[0388] dppf 1,1'-비스(다이페닐포스피노)페로센

[0389] Et 에틸

[0390] EtOAc 에틸 아세테이트

[0391] EtOH 에탄올

[0392] ESI 전기분무 이온화

[0393] HATU *O*-(7-아자벤조트리아졸-1-일)-*N*,*N*,*N*′,*N*′-테트라메틸유로늄 헥사플루오로포스페이트

[0394] HPLC 고성능 액체 크로마토그래피

[0395] m 다중선

[0396] m/z 질량 대 전하 비율

[0397] M 질량 또는 몰

[0398] Me 메틸

[0399] MeCN 아세토니트릴

[0400] MeOH 메탄올

[0401] MeOD-d_3 중수소화 메탄올

[0402] MS 질량 분석법

[0403] NBS *N*-브로모숙신이미드

[0404] NMI *N*-메틸이미다졸

[0405] NMR 핵자기공명

[0406] PyBroP 브로모트리피롤리디노포스포늄 헥사플루오로포스페이트

[0407] PE 석유 에테르

[0408] *p*-TsCl *p* 톨루엔설포닐 클로라이드

[0409] rt 실온

[0410] s 단일선

[0411] t 삼중선

[0412] TEA 트리에틸아민

[0413] TCFH 클로로-*N*,*N*,*N*′,*N*′-테트라메틸포름아미디늄 헥사플루오로포스페이트

[0414] TFA 트리플루오로아세트산

[0415] TFAA 트리플루오로아세트산 무수물

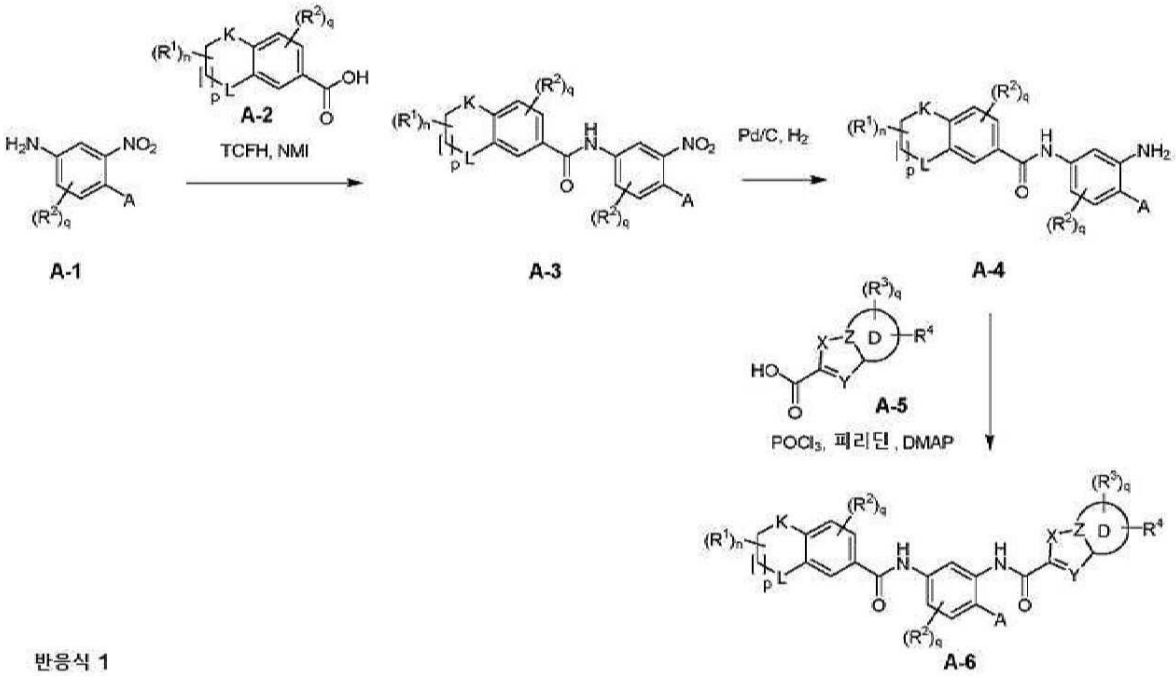
[0416] THF 테트라하이드로푸란

[0417] Ts 토실

[0418] XPhos 2-다이사이클로헥실포스피노-2',4',6'-트리이소프로필바이페닐

[0419] **일반적인 반응식**

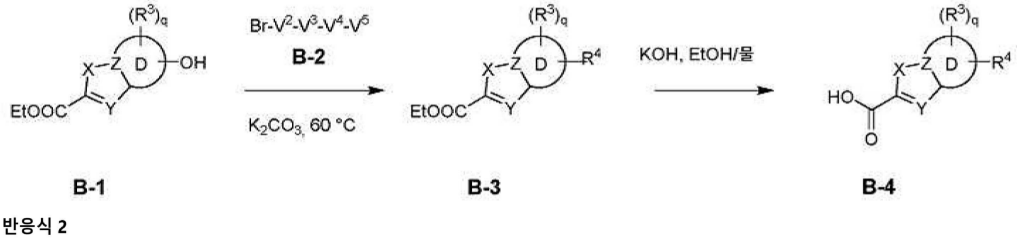
[0420] 본 발명의 화합물은 하기 반응식 1 및 2에 설명된 절차를 포함하여 당업계에 공지된 방법의 조합에 의해 제조될 수 있다. 다음 반응식은 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐, 이를 제한하고자 하는 것이 아니다.



반응식 1

[0421]

[0422] 반응식 1은 본 발명의 화합물을 제조하는 한 가지 경로를 설명한다. 치환된 니트로아닐린 출발 물질(A-1)과 적절한 카르복실산 A-2의, 예를 들어, TFCH/NMI를 커플링 시약으로 사용한 아마이드 커플링은 구조 A-3의 모노아마이드 중간체를 생성한다. 예를 들어 수소와 Pd 촉매작용을 사용한 A-3 중의 니트로 기의 환원은 구조 A-4의 아미노 중간체를 생성한다. 적절한 카르복실산 A-5를 사용한 반응 순서에서의 이차 아마이드 커플링은 A-4를 구조 A-6의 화합물로 전환시킨다.

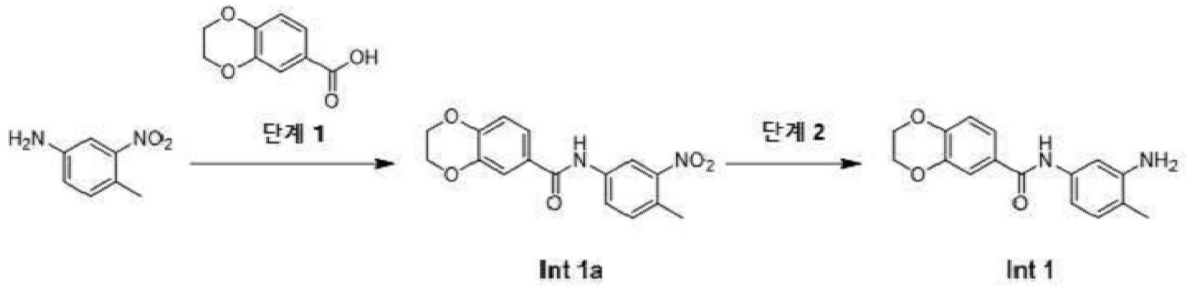


반응식 2

[0423]

[0424] 반응식 2는 특정 R^4 기를 지닌 카르복실산 중간체 A-5의 일부에 대한 제조를 설명한다. 하이드록시 치환된 바이사이클릭 헤테로아릴 출발 물질(B-1)을 적절한 브롬화물 B-2 및 예를 들어, 승온에서의 K_2CO_3를 사용한 알킬화를 통해 B-3으로 전환시킨다. 에스테르 비누화는 상응하는 카르복실산 중간체 B-4를 생성한다.

[0425] **중간체 1**: *N*-(3-아미노-4-메틸페닐)-2,3-디하이드로벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**Int 1**)



[0426]

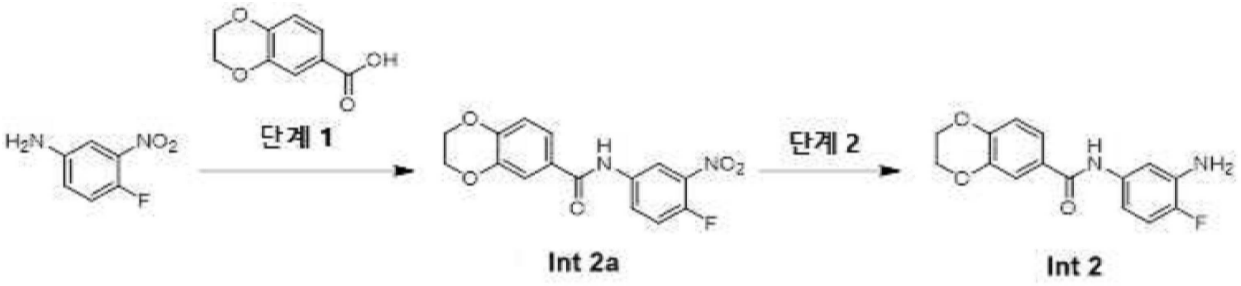
[0427] **단계 1**: *N*-(4-메틸-3-니트로페닐)-2,3-디하이드로벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**Int 1a**)

[0428] MeCN(120 mL) 중의 2,3-디하이드로벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복실산(7.04 g, 39.1 mmol)의 용액에 4-메틸-3-니트로아닐린(6.00 g, 39.4 mmol), NMI(11.2 g, 137 mmol) 및 TCFH(19.8 g, 70.4 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 16시간 동안 교반하였다. 이어서, 물(120 mL)을 혼합물에 첨가하였다. 혼합물을 여과하고, 여과 케이크를 MeCN/물(1:1)로 분쇄하여 표제 화합물을 황색 고체로 얻었다.

[0429] **단계 2**: *N*-(3-아미노-4-메틸페닐)-2,3-디하이드로벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**Int 1**)

[0430] MeOH(260 mL) 중의 N-(4-메틸-3-니트로페닐)-2,3-디하이드로벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**Int 1a**)(11.3 g, 36.0 mmol)의 용액에 Pd/C(1.20 g, 11.3 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 H_2 분위기 하에 실온에서 밤새 교반하였다. 이어서, 혼합물을 여과하고, 여과액을 농축하여 건조시켰다. 잔류물을 MeOH로 분쇄하여 표제 화합물을 백색 고체로 얻었다.

[0431] **중간체 2**: N-(3-아미노-4-플루오로페닐)-2,3-디하이드로벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**Int 2**)



[0432]

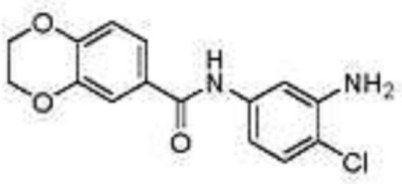
[0433] **단계 1**: *N*-(4-플루오로-3-니트로페닐)-2,3-디하이드로벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**Int 2a**)

[0434] MeCN(150 mL) 중의 2,3-디하이드로벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복실산(6.35 g, 35.3 mmol)과 NMI(10.1 g, 123 mmol)의 용액에 TCFH(17.8 g, 63.5 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 이어서, 4-플루오로-3-니트로아닐린(5.50 g, 35.3 mmol)을 빙수조로 냉각시킨 후 조심스럽게 첨가하고, 혼합물을 3시간 동안 교반하였다. 혼합물을 농축하여 건조시키고 잔류물을 MeCN/물(1:1)로 분쇄하여 표제 화합물을 옅은 황색 고체로 얻었다.

[0435] **단계 2**: *N*-(3-아미노-4-플루오로페닐)-2,3-디하이드로벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**Int 2**)

[0436] EtOH(120 mL)와 물(40.0 mL) 중의 N-(3-아미노-4-플루오로페닐)-2,3-디하이드로벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**Int 2a**)(7.80 g, 24.5 mmol)와 NH_4Cl(7.92 g, 147 mmol)의 혼합물에 철 분말(8.22 g, 147 mmol)을 N_2 분위기 하에 첨가하고, 혼합물을 80℃에서 1시간 동안 교반하였다. 이어서, 혼합물을 실온으로 냉각시키고 여과하였다. 여과액을 농축하여 건조시키고 잔류물을 MeCN/물(1:1)로 분쇄하여 표제 화합물을 황색 고체로 얻었다.

[0437] **중간체 2/1**: *N*-(3-아미노-4-클로로페닐)-2,3-디하이드로벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**Int 2/1**)

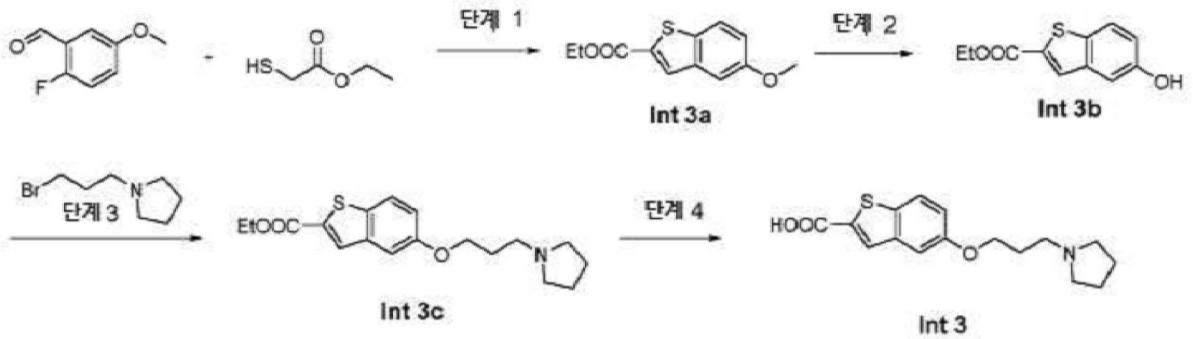


Int 2/1

[0438]

[0439] 표제 화합물은 **Int 2**에 대해 설명한 바와 유사하게 제조하였으며, 단계 1에서 4-플루오로-3-니트로아닐린 대신 4-클로로-3-니트로아닐린을 사용하였다.

[0440] **중간체 3**: 5-(3-(피롤리딘-1-일)프로폭시)벤조[*b*]티오펜-2-카르복실산(**Int 3**)



[0441]

[0442] **단계 1**: 에틸 5-메톡시벤조[*b*]티오펜-2-카르복실레이트(**Int 3a**)

[0443] DMSO(20.0 mL) 중의 에틸 2-머캅토아세테이트(4.30 mL, 38.9 mmol)의 용액에 K_2CO_3(9.00 g, 64.9 mmol)를 0℃에서 첨가하고, 혼합물을 0℃에서 20분 동안 교반하였다. DMSO(10.0 mL) 중의 2-플루오로-5-메톡시벤즈알데하이드(5.00 g, 32.4 mmol)의 용액을 첨가하고, 혼합물을 70℃에서 9시간 동안 교반하였다. 혼합물을 실온으로 냉각시키고 물(100 mL)에 부었다. 생성된 혼합물을 DCM(3 x 100 mL)으로 추출하였다. 합한 유기층을 염수로 세척하고, Na_2SO_4로 건조시키고, 여과하고, 농축하여 건조시켰다. 잔류물을 실리카겔에서의 컬럼 크로마토그래피(DCM/PE = 2:3)로 정제하여 표제 화합물을 녹색 고체로 얻었다.

[0444] **단계 2**: 에틸 5-하이드록시벤조[*b*]티오펜-2-카르복실레이트(**Int 3b**)

[0445] DCM(20.0 mL) 중의 에틸 5-메톡시벤조[*b*]티오펜-2-카르복실레이트(**Int 3a**)(1.00 g, 4.40 mmol)의 용액에 BBr_3(DCM 중의 1 M, 22.0 mL, 21.9 mmol)를 -20℃에서 적가하였다. 첨가 후, 혼합물을 천천히 실온으로 가온시키고 2시간 동안 교반하였다. 물(20 mL)을 혼합물에 첨가하였다. 생성된 혼합물을 DCM(3 x 50 mL)으로 추출하였다. 합한 유기층을 염수로 세척하고, Na_2SO_4로 건조시키고, 여과하고, 농축하여 건조시켰다. 잔류물을 실리카겔에서의 컬럼 크로마토그래피(EtOAc/PE = 1:2)로 정제하여 표제 화합물을 옅은 황색 고체로 얻었다.

[0446] **단계 3**: 에틸 5-(3-(피롤리딘-1-일)프로폭시)벤조[*b*]티오펜-2-카르복실레이트(**Int 3c**)

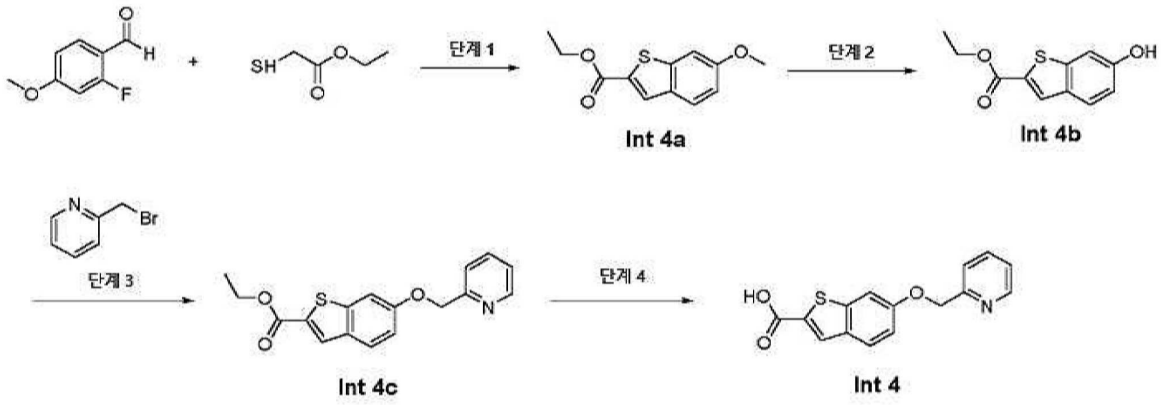
[0447] DMSO(10.0 mL) 중의 에틸 5-하이드록시벤조[*b*]티오펜-2-카르복실레이트(**Int 3b**)(640 mg, 2.90 mmol)와 1-(3-브로모프로필)피롤리딘 하이드로브로마이드 염(500 mg, 1.80 mmol)의 용액에 K_2CO_3(460 mg, 3.40 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 60℃에서 밤새 교반하였다. 이어서, 혼합물을 물(20 mL)로 퀜칭하였다. 생성된 혼합물을 DCM(3 x 10 mL)으로 추출하였다. 합한 유기층을 염수로 세척하고, Na_2SO_4로 건조시키고, 여과하고, 농축하여 건조시켰다. 잔류물을 실리카겔에서의 컬럼 크로마토그래피(MeOH/DCM = 1:10)로 정제하여 표제 화합물을 옅은 황색 고체로 얻었다.

[0448] **단계 4**: 5-(3-(피롤리딘-1-일)프로폭시)벤조[*b*]티오펜-2-카르복실산(**Int 3**)

[0449] EtOH(15.0 mL)와 물(7.50 mL) 중의 에틸 5-(3-(피롤리딘-1-일)프로폭시)벤조[*b*]티오펜-2-카르복실레이트(**Int**

3c)(790 mg, 2.40 mmol)의 혼합물에 KOH(324 mg, 5.60 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 1시간 동안 환류시켰다. 이어서, 혼합물을 실온으로 냉각시키고 1 M HCl로 pH를 5 내지 6으로 조정하였다. 생성된 혼합물을 여과하고, 여과 케이크를 MeCN으로 분쇄하여 표제 화합물을 오프 화이트(off white) 고체로 얻었다.

[0450] **중간체 4**: 6-(피리딘-2-일메톡시)벤조[*b*]티오펜-2-카르복실산(**Int 4**)



[0451]

[0452] **단계 1**: 에틸 6-메톡시벤조[*b*]티오펜-2-카르복실레이트(**Int 4a**)

[0453] DMF(50.0 mL)중의 2-플루오로-4-메톡시벤즈알데하이드(10.0 g, 64.9 mmol)와 에틸-2-머르캅토아세테이트(9.36 g, 77.9 mmol)의 혼합물에 K_2CO_3(22.4 g, 162 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 밤새 교반하였다. 이어서, 혼합물을 물(150 mL)로 희석하고 EtOAc(3 x 100 mL)로 추출하였다. 합한 유기층을 염수로 세척하고 Na_2SO_4로 건조시키고, 여과하고, 농축하여 건조시켰다. 잔류물을 실리카겔에서의 컬럼 크로마토그래피(EtOAc/PE = 1:10)로 정제하여 표제 화합물을 백색 고체로 얻었다.

[0454] **단계 2**: 에틸 6-하이드록시벤조[*b*]티오펜-2-카르복실레이트(**Int 4b**)

[0455] 무수 DCM(200 mL) 중의 에틸 6-메톡시벤조[*b*]티오펜-2-카르복실레이트(**Int 4b**)(10.0 g, 42.4 mmol)의 용액에 BBr_3(DCM 중의 1.00 M, 106 mL, 106 mmol)를 N_2 분위기 하에 -75℃에서 적가하였다. 첨가 후, 혼합물을 -75℃에서 2시간 동안 교반하고 실온에서 16시간 더 교반하였다. EtOH(30 mL) 및 포화수용액 $NaHCO_3$(30 mL)를 혼합물에 첨가하였다. 생성된 혼합물을 DCM(3 x 100 mL)으로 추출하였고, 합한 유기층을 염수로 세척하고, Na_2SO_4로 건조시키고, 여과하고, 농축하여 건조시켰다. 잔류물을 실리카겔에서의 컬럼 크로마토그래피(EtOAc/PE = 1:6)로 정제하여 표제 화합물을 옅은 황색 고체로 얻었다.

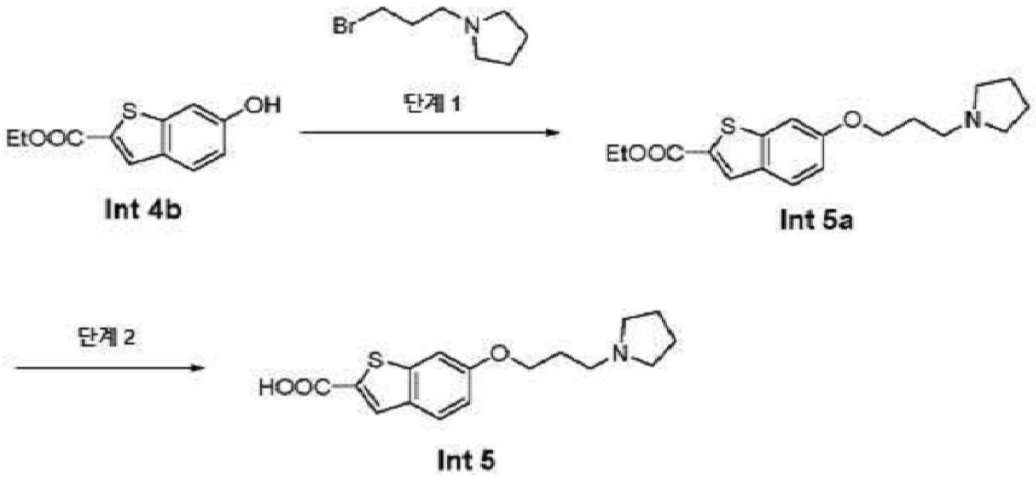
[0456] **단계 3**: 에틸 6-(피리딘-2-일메톡시)벤조[*b*]티오펜-2-카르복실레이트(**Int 4c**)

[0457] MeCN(10.0 mL) 중의 에틸 6-하이드록시벤조[*b*]티오펜-2-카르복실레이트(**Int 4b**)(1.20 g, 5.40 mmol)와 K_2CO_3(2.23 g, 16.2 mmol)의 혼합물에 2-(브로모메틸)피리딘(1.11 g, 6.50 mmol)을 첨가하고, 혼합물을 85℃에서 밤새 교반하였다. 혼합물을 실온으로 냉각시키고 여과하였다. 여과액을 농축하여 건조시키고, 잔류물을 실리카겔에서의 컬럼 크로마토그래피(EtOAc/PE = 1:6)로 정제하여 표제 화합물을 연황색 고체로 얻었다.

[0458] **단계 4**: 6-(피리딘-2-일메톡시)벤조[*b*]티오펜-2-카르복실산(**Int 4**)

[0459] EtOH(10.0 mL)와 물(2.00 mL) 중의 에틸 6-(피리딘-2-일메톡시)벤조[*b*]티오펜-2-카르복실레이트(**Int 4c**)(1.20 g, 3.80 mmol)의 용액에 LiOH(275 mg, 11.5 mmol)을 첨가하고, 혼합물을 실온에서 6시간 동안 교반하였다. 혼합물을 물(10.0 mL)로 희석하고 수성층을 DCM(3 x 30 mL)으로 추출하였다. 수층을 1 M HCl로 pH를 5로 조정하고 고체를 침전시켰다. 생성된 혼합물을 여과하고, 여과 케이크를 MeCN으로 분쇄하여 표제 화합물을 연황색 고체로 얻었다.

[0460] **중간체 5**: 6-(3-(피롤리딘-1-일)프로폭시)벤조[*b*]티오펜-2-카르복실산(**Int 5**)



[0461]

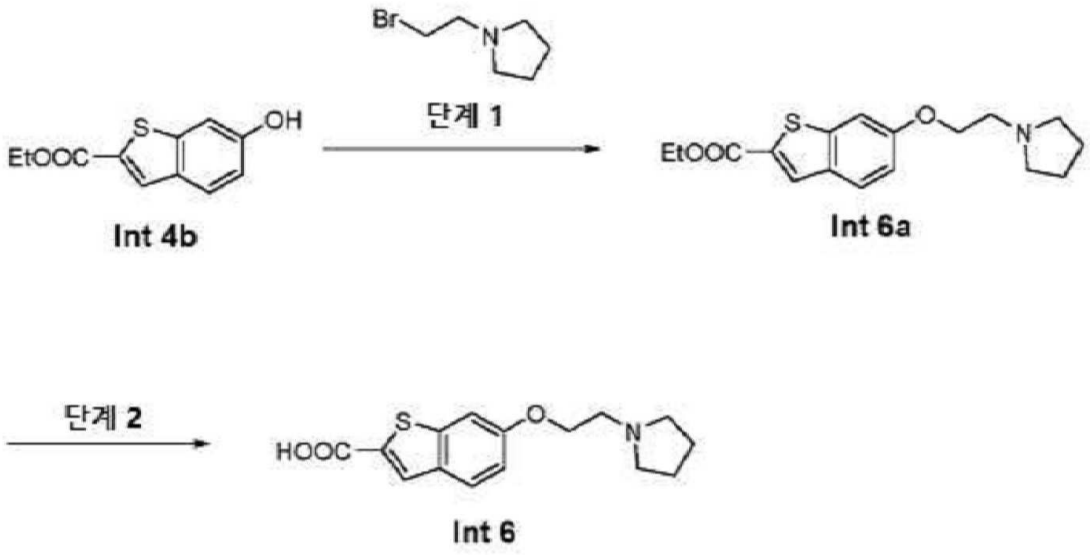
[0462] **단계 1**: 에틸 6-(3-(피롤리딘-1-일)프로폭시)벤조[*b*]티오펜-2-카르복실레이트(**Int 5a**)

[0463] DMF(10.0 mL) 중의 에틸 6-하이드록시벤조[*b*]티오펜-2-카르복실레이트(**Int 4b**)(700 mg, 3.20 mmol)와 1-(3-브로모프로필)피롤리딘 하이드로브로마이드 염(1.03 g, 3.80 mmol)의 혼합물에 K_2CO_3(1.31 g, 9.50 mmol)을 첨가하고, 혼합물을 75℃에서 밤새 교반하였다. 이어서, 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 물(20 mL)로 희석하고 DCM(3 x 10 mL)으로 추출하였다. 합한 유기층을 물과 염수로 세척하고, Na_2SO_4로 건조시키고, 여과하고, 농축하여 건조시켰다. 잔류물을 실리카겔에서의 컬럼 크로마토그래피(MeOH/DCM = 1:10)로 정제하여 표제 화합물을 옅은 황색 고체로 얻었다.

[0464] **단계 2**: 6-(3-(피롤리딘-1-일)프로폭시)벤조[*b*]티오펜-2-카르복실산(**Int 5**)

[0465] EtOH(15.0 mL)와 물(7.50 mL) 중의 에틸 6-(3-(피롤리딘-1-일)프로폭시)벤조[*b*]티오펜-2-카르복실레이트(**Int 5a**)(880 mg, 2.64 mmol)의 혼합물에 LiOH(254 mg, 10.6 mmol)을 첨가하고, 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 이어서, 혼합물을 1 M HCl로 pH를 5 내지 6으로 조정하였다. 생성된 혼합물을 여과하고 여과 케이크를 MeCN으로 분쇄하여 표제 화합물을 연황색 고체로 얻었다.

[0466] **중간체 6**: 6-(2-(피롤리딘-1-일)에톡시)벤조[*b*]티오펜-2-카르복실산(**Int 6**)



[0467]

[0468] **단계 1**: 에틸 6-(2-(피롤리딘-1-일)에톡시)벤조[*b*]티오펜-2-카르복실레이트(**Int 6a**)

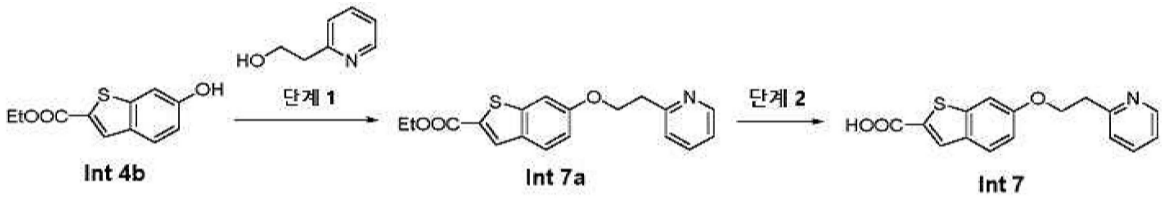
[0469] DMF(25.0 mL) 중의 에틸 6-하이드록시벤조[*b*]티오펜-2-카르복실레이트(**Int 4b**)(2.50 g, 11.3 mmol)와 1-(2-클

로로에틸)피롤리딘(1.80 g, 13.1 mmol)의 혼합물에 K_2CO_3(4.65 g, 33.8 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 75 ℃에서 밤새 교반하였다. 이어서, 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 물(100 mL)로 희석하고, DCM(3 x 50 mL)으로 추출하였다. 합한 유기층을 물과 염수로 세척하고, 무수 Na_2SO_4로 건조시키고, 여과하고, 농축하여 건조시켰다. 잔류물을 실리카겔에서의 컬럼 크로마토그래피(MeOH/DCM = 1:10)로 정제하여 표제 화합물을 옅은 황색 고체로 얻었다.

[0470] **단계 2**: 6-(2-(피롤리딘-1-일)에톡시)벤조[*b*]티오펜-2-카르복실산(**Int 6**)

[0471] EtOH(25.0 mL)와 물(5.00 mL) 중의 에틸 6-(2-(피롤리딘-1-일)에톡시)벤조[*b*]티오펜-2-카르복실레이트(**Int 6a**)(1.40 g, 4.40 mmol)의 혼합물에 LiOH(315 mg, 3.10 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 이어서, EtOH를 감압 하에 제거하였다. 혼합물을 1 M HCl로 pH를 5 내지 6으로 조정하였다. 생성된 혼합물을 여과하고, 여과 케이크를 MeCN으로 분쇄하여 표제 화합물을 옅은 황색 고체로 얻었다.

[0472] **중간체 7**: 6-(2-(피리딘-2-일)에톡시)벤조[*b*]티오펜-2-카르복실산(**Int 7**)



[0473]

[0474] **단계 1**: 에틸 6-(2-(피리딘-2-일)에톡시)벤조[*b*]티오펜-2-카르복실레이트(**Int 7a**)

[0475] THF(40.0 mL) 중의 에틸 6-하이드록시벤조[*b*]티오펜-2-카르복실레이트(**Int 4b**)(2.00 g, 9.00 mmol)와 2-(피리딘-2-일)에탄-1-올(1.66 g, 13.5 mmol)의 혼합물에 PPh_3(7.08 g, 27.0 mmol)과 DIAD(5.46 g, 27.0 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 50℃에서 밤새 교반하였다. 혼합물을 농축하여 건조시키고 잔류물을 실리카겔에서의 컬럼 크로마토그래피(EtOAc/PE = 1:5)로 정제하여 표제 화합물을 연황색 고체로 얻었다.

[0476] **단계 2**: 6-(2-(피리딘-1-일)에톡시)벤조[*b*]티오펜-2-카르복실산(**Int 7**)

[0477] EtOH(10.0 mL)와 물(2.00 mL) 중의 에틸 6-(2-(피리딘-2-일)에톡시)벤조[*b*]티오펜-2-카르복실레이트(**Int 7a**)(1.10 g, 3.40 mmol)의 용액에 LiOH(241 mg, 10.1 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 6시간 동안 교반하였다. 혼합물을 물(10.0 mL)로 희석하고 수성층을 DCM(3 x 30 mL)으로 추출하였다. 수층을 1 M HCl로 pH를 5로 조정하고 고체를 침전시켰다. 생성된 혼합물을 여과하고, 여과 케이크를 MeCN으로 분쇄하여 표제 화합물을 연황색 고체로 얻었다.

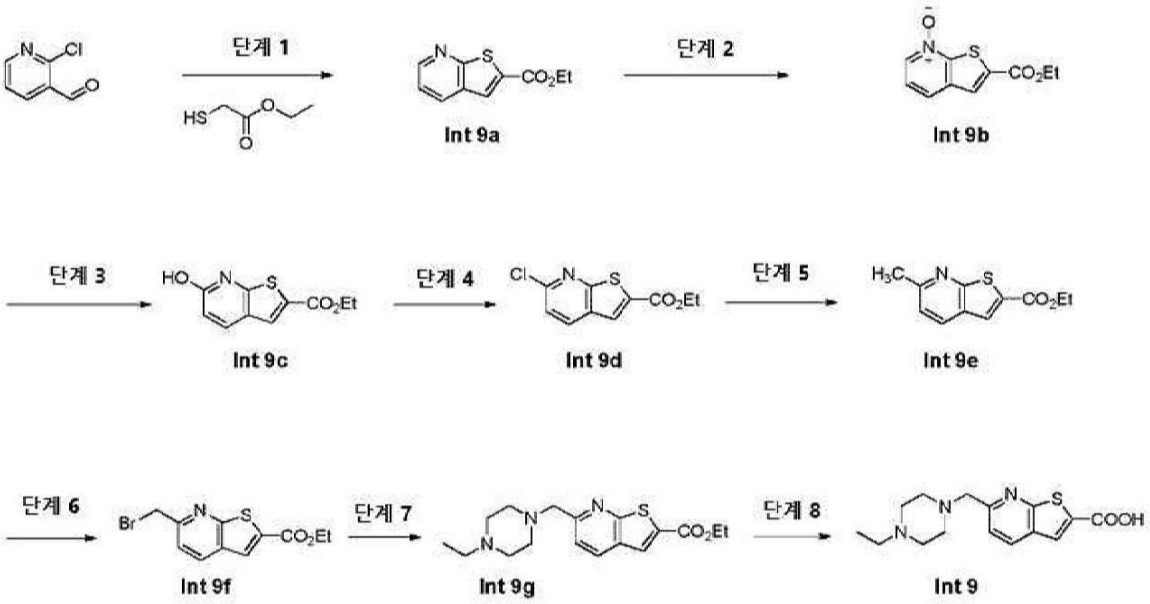
[0478] **중간체 8**: 6-메톡시벤조[*d*]티아졸-2-카르복실산(**Int 8**)



[0479]

[0480] THF(1.60 mL) 중의 6-메톡시벤조[*d*]티아졸-2-카르보니트릴(30.0 mg, 0.158 mmol)의 용액에 2 M NaOH(0.118 mL, 0.237 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 48시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 EtOAc(20 mL)와 물(10 mL)로 희석하였다. 유기층을 분리하였다. 수성층을 1 M HCl로 pH를 약 1로 산성화하고, 이어서 EtOAc(2 x 15 mL)로 추출하였다. 유기층을 $MgSO_4$로 건조시키고, 여과하고, 농축하여 표제 화합물을 황색 고체로 얻었다.

[0481] **중간체 9**: 6-((4-에틸피페라진-1-일)메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실산(**Int 9**)



[0482]

[0483] **단계 1**: 에틸 티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실레이트(**Int 9a**)

[0484] DMF(400 mL) 중의 2-클로로니코틴알데하이드(50.0 g, 354 mmol)의 용액에 TEA(74.1 g, 732 mmol)와 에틸 2-머캅토아세테이트(42.5 g, 354 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 질소 분위기 하에 100℃에서 4시간 동안 교반하였다. 혼합물을 물(1.5 L)로 희석하고 EtOAc(3 x 1000 mL)로 추출하였다. 합한 유기층을 물과 염수로 세척하고, 무수 Na_2SO_4로 건조시키고, 여과하고, 농축하여 건조시켰다. 잔류물을 실리카에서의 플래시 크로마토그래피(PE/EtOAc = 8:1)로 정제하여 표제 화합물을 얻었다.

[0485] **단계 2**: 2-(에톡시카르보닐)티에노[2,3-b]피리딘 7-옥사이드(**Int 9b**)

[0486] 아세트산(400 mL) 중의 에틸 티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실레이트(**Int 9a**)(52.8 g, 255.0 mmol)의 용액에 H_2O_2(100 mL, 물 중 30%)를 일부분씩 첨가하였다. 생성된 혼합물을 60℃에서 밤새 교반하였다. 혼합물을 0℃에서 1시간 동안 교반하였다. 침전물이 반응 중에 형성되었다. 고체를 여과에 의해 수집하고 건조하여 표제 화합물을 얻었다.

[0487] **단계 3**: 에틸 6-하이드록시티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실레이트(**Int 9c**)

[0488] DMF(150 mL) 중의 2-(에톡시카르보닐)티에노[2,3-b]피리딘 7-옥사이드(**Int 9b**)(15.0 g, 67.2 mmol)의 용액에 TFAA(28.0 g, 134 mmol)를 0℃에서 적가하였다. 혼합물을 0℃에서 3시간 동안 교반하였다. 혼합물을 물(300 mL)에 붓고 5분 동안 교반하였다. 침전물이 형성되었다. 고체를 여과에 의해 수집하고 건조하여 표제 화합물을 황색 고체로 얻었으며, 이를 추가 정제 없이 다음 단계에서 사용하였다.

[0489] **단계 4**: 에틸 6-클로로티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실레이트(**Int 9d**)

[0490] DMF(150 mL) 중의 에틸 6-하이드록시티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실레이트(**Int 9c**)(14.8 g, 66.3 mmol)의 용액에 $POCl_3$(50.7 g, 332 mmol)을 첨가하고, 혼합물을 100℃에서 밤새 교반하였다. 혼합물을 실온으로 냉각시키고 용매를 감압 하에 제거하였다. 잔류물을 물(200 mL)로 희석하고 포화 수성 $NaHCO_3$로 pH를 8로 조정하였다. 혼합물을 EtOAc(3 x 200 mL)로 추출하였다. 합한 유기층을 염수(200 mL)로 세척하고, 무수 Na_2SO_4로 건조시키고, 여과하고, 농축하여 건조시켰다. 미정제 생성물을 컬럼 크로마토그래피(PE/EtOAc = 8:1)로 정제하여 표제 화합물을 얻었다.

[0491] **단계 5**: 에틸 6-메틸티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실레이트(**Int 9e**)

[0492] 다이옥산(100 mL) 중의 에틸 6-클로로티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실레이트(**Int 9d**)(5.0 g, 20.7 mmol),

2,4,6-트리메틸-1,3,5,2,4,6-트리옥사트리보리난(25 g , 200 mmol), $Pd(PPh_3)_4$(2.3 g , 2.0 mmol), K_2CO_3(8.4 g, 62.1 mmol)의 용액을 N_2 분위기 하에 100℃에서 14시간 동안 교반하였다. 혼합물을 실온으로 냉각시키고 여과하였다. 여과액을 농축하여 건조시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(PE/EtOAc = 8:1)로 정제하여 표제 화합물을 얻었다.

[0493] **단계 6**: 에틸 6-(브로모메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실레이트(**Int 9f**)

[0494] CCl_4(50 mL) 중의 에틸 6-메틸티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실레이트(**Int 9e**)(3.8 g, 17.2 mmol), AIBN(281 mg, 1.72 mmol) 및 NBS(3.04 g, 17.2 mmol)의 용액을 80℃에서 14시간 동안 교반하였다. 혼합물을 실온으로 냉각시키고 농축하여 건조시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(PE/EtOAc = 6:1)로 정제하여 표제 화합물을 얻었다.

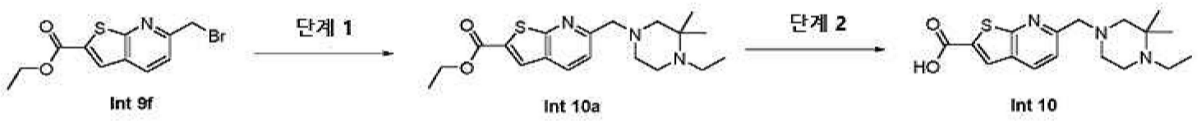
[0495] **단계 7**: 에틸 6-((4-에틸피페라진-1-일)메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실레이트(**Int 9g**)

[0496] 아세토니트릴(100 mL) 중의 에틸 6-(브로모메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실레이트(**Int 9f**)(4.6 g, 15.3 mmol)의 용액에 1-에틸피페라진(2.6 g, 23 mmol)과 K_2CO_3(6.3 g, 45.9 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 70℃에서 밤새 교반하였다. 혼합물을 물(500 mL)로 희석하고 EtOAc(3 x 200 mL)로 추출하였다. 합한 유기층을 염수(200 mL)로 세척하고, 무수 Na_2SO_4로 건조시키고, 여과하고, 농축하여 건조시켜 표제 화합물을 얻었으며, 이를 추가 정제 없이 다음 단계에서 사용하였다.

[0497] **단계 8:** 6-((4-에틸피페라진-1-일)메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실산(**Int 9**)

[0498] MeOH/H_2O(5:1, 50 mL) 중의 에틸 6-((4-에틸피페라진-1-일)메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실레이트(**Int 9g**)(4.1 g, 12.3 mmol)의 용액에 NaOH(984 mg, 24.6 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 혼합물을 물로 희석하고 1M HCl을 사용하여 pH를 5로 조정하였다. 혼합물을 EtOAc(3 x 200mL)로 추출하였다. 수성 상을 농축하여 건조시키고 잔류물을 역상 컬럼 크로마토그래피(구배 아세토니트릴/H_2O = 5% - 80%)로 정제하여 표제 화합물을 얻었다.

[0499] **중간체 10**: 6-((4-에틸-3,3-다이메틸피페라진-1-일)메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실산(**Int 10**)

[0500] 

Int 9f Int 10a Int 10

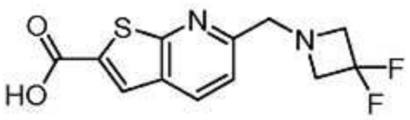
[0501] **단계 1**: 에틸 6-((4-에틸-3,3-다이메틸피페라진-1-일)메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실레이트(**Int 10a**)

[0502] 무수 THF(2 mL) 중의 에틸 6-(브로모메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실레이트(**Int 9f**)(50.0 mg, 0.167 mmol)와 세슘 카르보네이트(162.8 mg, 0.500 mmol)의 혼합물에 1-에틸-2,2-다이메틸피페라진(23.7 mg, 0.167 mmol)을 첨가하고, 혼합물을 50℃에서 밤새 교반하였다. 혼합물을 농축하여 건조시켜 표제 화합물을 얻었으며, 이를 추가 정제 없이 다음 단계에서 사용하였다.

[0503] **단계 2**: 6-((4-에틸-3,3-다이메틸피페라진-1-일)메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실산(**Int 10**)

[0504] MeOH와 H_2O(3:1, 4mL)의 혼합물에 용해된 에틸 6-((4-에틸-3,3-다이메틸피페라진-1-일)메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실레이트(**Int 10a**)(55.1 mg, 0.152 mmol)에 소듐 하이드록사이드(2M 수용액)(1 mL)를 첨가하고, 혼합물을 50℃에서 1시간 동안 교반하였다. 혼합물을 농축하여 건조시키고, 잔류물을 제조용 HPLC로 정제하여 표제 화합물을 백색 분말로 얻었다.

[0505] **중간체 10/1**: 6-((3,3-다이플루오로아제티딘 -1-일)메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실산(**Int 10/1**)

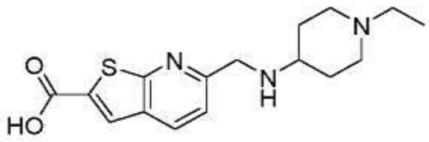


Int 10/1

[0506]

[0507] 표제 화합물은 **Int 10**에 대해 설명한 바와 유사하게 제조하였으며, 단계 1에서 1-에틸-2,2-다이메틸피페라진 대신 3,3-다이플루오로아제티딘 하이드로클로라이드를 사용하였다.

[0508] **중간체 10/2**: 6-((1-에틸피페리딘-4-일)아미노)메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실산(**Int 10/2**)

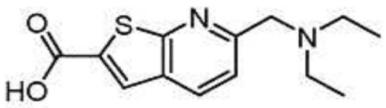


Int 10/2

[0509]

[0510] 표제 화합물은 **Int 10**에 대해 설명한 바와 유사하게 제조하였으며, 단계 1에서 1-에틸-2,2-다이메틸피페라진 대신 1-에틸피페리딘-4-아민을 사용하였다.

[0511] **중간체 10/3**: 6-(다이에틸아미노)메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실산(**Int 10/3**)

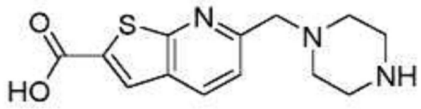


Int 10/3

[0512]

[0513] 표제 화합물은 **Int 10**에 대해 설명한 바와 유사하게 제조하였으며, 단계 1에서 1-에틸-2,2-다이메틸피페라진 대신 다이에틸아민을 사용하였다.

[0514] **중간체 10/4**: 6-(피페라진-1-일메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실산(**Int 10/4**)

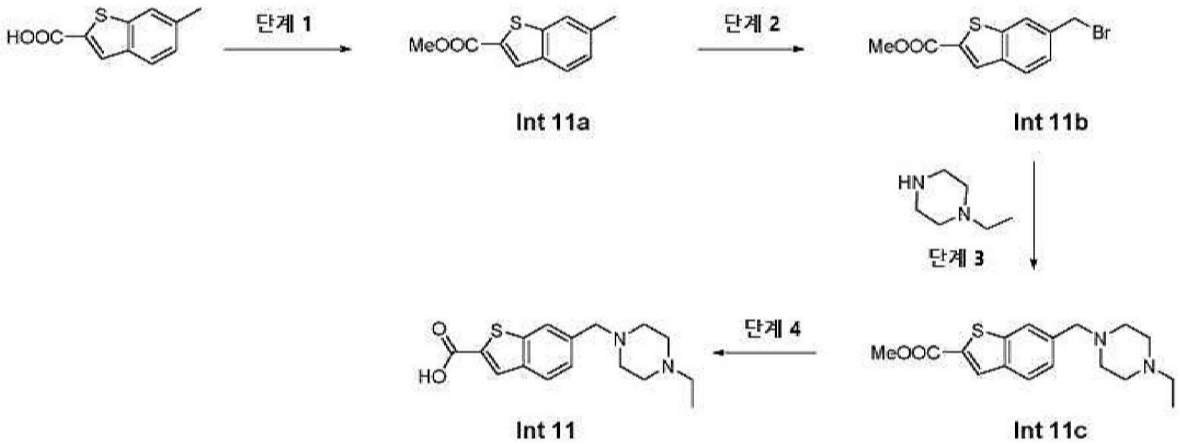


Int 10/4

[0515]

[0516] 표제 화합물은 **중간체 10**에 대해 설명한 바와 유사하게 제조하였으며, 단계 1에서 1-에틸-2,2-다이메틸피페라진 대신 1-(피페라진-1-일)에탄-1-온을 사용하였다.

[0517] **중간체 11:** 6-((4-에틸피페라진-1-일)메틸)벤조[b]티오펜-2-카르복실산(**Int 11**)



[0518]

[0519] **단계 1**: 메틸 6-메틸벤조[b]티오펜-2-카르복실레이트(**Int 11a**)

[0520] 무수 MeOH(20.0 mL) 중의 6-메틸벤조[b]티오펜-2-카르복실산(600.0 mg, 3.121 mmol)의 용액에 $SOCl_2$(0.250 mL, 3.433 mmol)를 0℃에서 적가하였다. 혼합물을 실온으로 가온하고, 이어서 18시간 동안 환류시켰다. 혼합물을 농축하여 건조시키고 미정제 생성물을 추가 정제 없이 다음 단계에서 사용하였다.

[0521] **단계 2**: 메틸 6-(브로모메틸)벤조[b]티오펜-2-카르복실레이트(**Int 11b**)

[0522] 무수 MeCN(15.6 mL) 중의 메틸 6-메틸벤조[b]티오펜-2-카르복실레이트(**Int 11a**)(644 mg, 3.121 mmol)의 용액에 NBS(611 mg, 3.433 mmol)와 벤조일 퍼옥사이드(151 mg, 0.468 mmol)를 실온에서 첨가하였다. 혼합물을 18시간 동안 환류시켰다. 혼합물을 실온으로 냉각시키고 EtOAc(50 mL)로 희석하였다. 유기층을 $NaHCO_3$(20 mL), 물(20 mL) 및 염수(20 mL)로 세척하였다. 유기층을 $MgSO_4$로 건조시키고, 여과하고, 농축하여 건조시켰다. 잔류물을 사이클로헥산 중의 0 내지 4% EtOAc 구배를 사용한 실리카겔에서의 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 표제 화합물을 얻었다.

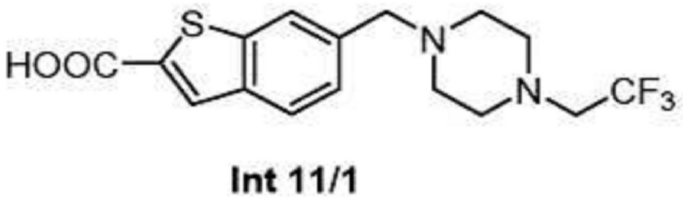
[0523] **단계 3**: 메틸 6-((4-에틸피페라진-1-일)메틸)벤조[b]티오펜-2-카르복실레이트(**Int 11c**)

[0524] 무수 THF(4.6 mL) 중의 메틸 6-(브로모메틸)벤조[b]티오펜-2-카르복실레이트(**Int 11b**)(522 mg, 0.915 mmol)의 용액에 Cs_2CO_3(328 mg, 1.007 mmol) 및 1-에틸피페라진(0.116 mL, 0.915 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 60℃에서 3시간 동안 교반하였다. 혼합물을 다음 단계에서 바로 사용하였다.

[0525] **단계 4**: 6-((4-에틸피페라진-1-일)메틸)벤조[b]티오펜-2-카르복실산(**Int 11**)

[0526] 메틸 6-((4-에틸피페라진-1-일)메틸)벤조[b]티오펜-2-카르복실레이트(**Int 11c**)(단계 3의 혼합물)의 용액에 물(1 mL)과 $LiOH \cdot H_2O$(115 mg, 2.746 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 18시간 동안 교반하였다. 혼합물을 농축하여 건조시키고 잔류물을 제조용 HPLC로 정제하여 표제 화합물을 백색 고체로 얻었다.

[0527] **중간체 11/1:** 6-((4-(2,2,2-트리플루오로에틸)피페라진-1-일)메틸)벤조[*b*]티오펜-2-카르복실산(**Int 11/1**)

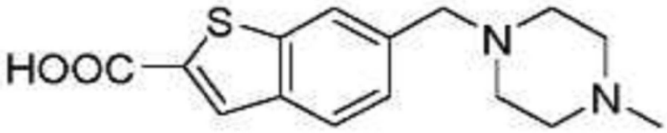


Int 11/1

[0528]

[0529] 표제 화합물은 중간체 **11**에 대해 설명한 바와 유사하게 제조하였으며, 단계 3에서 1-에틸피페라진 대신 1-(2,2,2-트리플루오로에틸)피페라진을 사용하였다.

[0530] **중간체 11/2:** 6-((4-메틸피페라진-1-일)메틸)벤조[*b*]티오펜-2-카르복실산(**Int 11/2**)

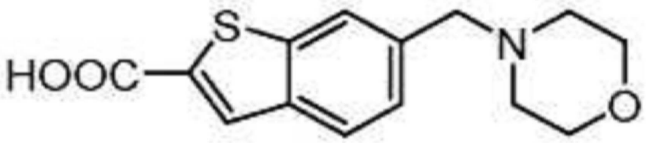


Int 11/2

[0531]

[0532] 표제 화합물은 중간체 **11**에 대해 설명한 바와 유사하게 제조하였으며, 단계 3에서 1-에틸피페라진 대신 1-메틸피페라진을 사용하였다.

[0533] **중간체 11/3**: 6-(모르폴리노메틸)벤조[*b*]티오펜-2-카르복실산(**Int 11/3**)

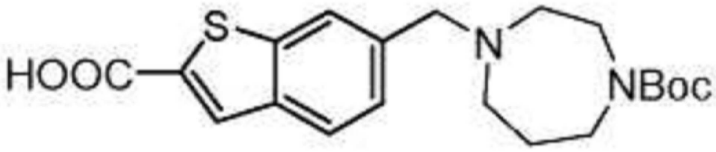


Int 11/3

[0534]

[0535] 표제 화합물은 중간체 **11**에 대해 설명한 바와 유사하게 제조하였으며, 단계 3에서 1-에틸피페라진 대신 모르폴린을 사용하였다.

[0536] **중간체 11/4**: 6-((4-(*tert*-부톡시카르보닐)-1,4-디아제판-1-일)메틸)벤조[*b*]티오펜-2-카르복실산(**Int 11/4**)

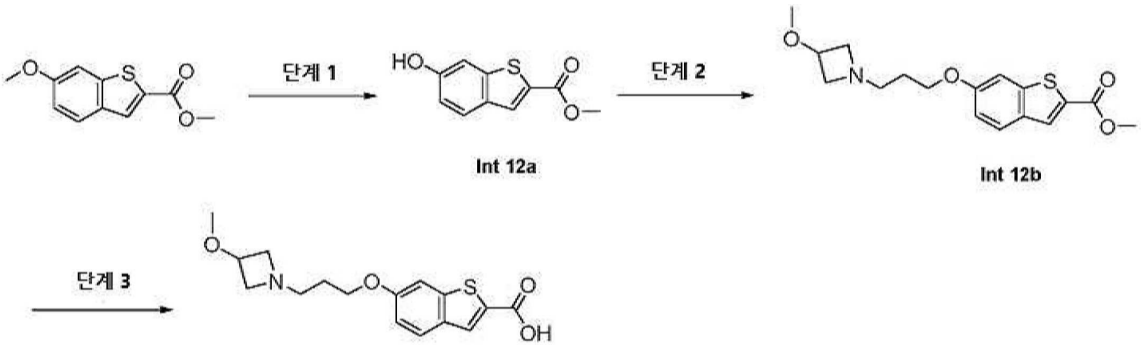


Int 11/4

[0537]

[0538] 표제 화합물은 중간체 **11**에 대해 설명한 바와 유사하게 제조하였으며, 단계 3에서 1-에틸피페라진 대신 *tert*-부틸 1,4-디아제판-1-카르복실레이트를 사용하였다.

[0539] **중간체 12:** 6-(3-(3-메톡시아제티딘-1-일)프로폭시)벤조[*b*]티오펜-2-카르복실산(**Int 12**)



[0540]

[0541] **단계 1**: 메틸 6-하이드록시벤조[*b*]티오펜-2-카르복실레이트(**Int 12a**)

[0542] 무수 DCM(5 mL) 중의 메틸 6-메톡시벤조[*b*]티오펜-2-카르복실레이트(200 mg, 0.90 mmol)의 혼합물에 보론 트리

브로마이드(DCM 중의 1.00 M, 1.8 mL, 1.80 mmol)를 N_2 분위기 하에 -75° C에서 적가하였다. 첨가 후, 혼합물을 -75° C에서 2시간 동안 교반하고, 실온에서 16시간 동안 더 교반하였다. 혼합물에 EtOH(20 mL)와 포화 수성 $NaHCO_3$(20 mL)를 첨가하였다. 혼합물을 DCM(3 x 50 mL)으로 추출하였고, 합한 유기층을 염수로 세척하고, Na_2SO_4로 건조시키고, 여과하고, 농축하여 건조시켰다. 잔류물을 실리카겔에서의 컬럼 크로마토그래피(EtOAc/PE = 1:6)로 정제하여 표제 화합물을 연황색 고체로 얻었다.

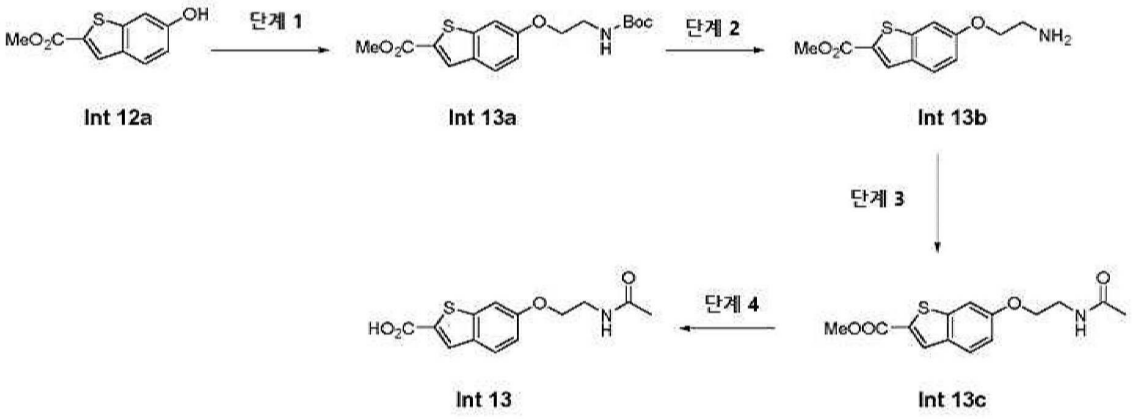
[0543] **단계 2**: 메틸 6-(3-(3-메톡시아제티딘-1-일)프로폭시)벤조[*b*]티오펜-2-카르복실레이트(**Int 12b**)

[0544] 메틸 6-하이드록시벤조[*b*]티오펜-2-카르복실레이트(**Int 12a**)(50 mg, 0.24 mmol), 1-브로모-3-클로로프로판(28 μL, 0.29 mmol) 및 세슘 카르보네이트(172 mg, 0.53 mmol)를 무수 DMF(2 mL)에 용해시키고 혼합물을 50℃에서 밤새 교반하였다. 3-메톡시아제티딘 하이드로클로라이드(35.6 mg, 0.29 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 50℃에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 농축하여 건조시켜 표제 화합물을 얻었으며, 이를 추가 정제 없이 다음 단계에서 사용하였다.

[0545] **단계 3**: 6-(3-(3-메톡시아제티딘-1-일)프로폭시)벤조[*b*]티오펜-2-카르복실산(**Int 12**)

[0546] THF/H_2O(3:1) 중의 메틸 6-(3-(3-메톡시아제티딘-1-일)프로폭시)벤조[*b*]티오펜-2-카르복실레이트(**Int 12b**)(80 mg, 0.24 mmol)의 혼합물에 리튬 하이드록사이드 모노하이드레이트(50 mg, 1.20 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 혼합물을 농축하여 건조시키고 잔류물을 제조용 HPLC로 정제하여 표제 화합물을 백색 분말로 얻었다.

[0547] **중간체 13**: 6-(2-아세트아미도에톡시)벤조[*b*]티오펜-2-카르복실산(**Int 13**)



[0548]

[0549] **단계 1**: 메틸 6-(2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)에톡시)벤조[*b*]티오펜-2-카르복실레이트(**Int 13a**)

[0550] DMF(2.4 mL) 중의 메틸 6-하이드록시벤조[*b*]티오펜-2-카르복실레이트(**Int 12a**)(50.0 mg, 0.240 mmol) 및 Cs_2CO_3(93.9 mg, 0.288 mmol)의 용액에 *tert*-부틸(2-브로모에틸)카르바메이트(83.9 mg, 0.288 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 60℃에서 밤새 교반하였다. 물(10 mL)을 첨가하고, 혼합물을 EtOAc(3 x 10 mL)로 추출하였다. 합한 유기층을 $MgSO_4$로 건조시키고, 여과하고, 농축하여 건조시켜 표제 화합물을 황색 오일로 얻었으며, 이를 추가 정제 없이 다음 단계에서 사용하였다.

[0551] **단계 2**: 메틸 6-(2-아미노에톡시)벤조[*b*]티오펜-2-카르복실레이트(**Int 13b**)

[0552] DCM(2.8 mL) 중의 메틸 6-(2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)에톡시)벤조[*b*]티오펜-2-카르복실레이트(**Int 13a**)(100 mg, 0.285 mmol)의 용액에 TFA(1.4 mL)를 0℃에서 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 포화 수성 $NaHCO_3$(2 mL)를 첨가하고, 혼합물을 EtOAc(3 x 10 mL)로 추출하였다. 합한 유기층을 $MgSO_4$로 건조시키고, 여과하고, 농축하여 건조시켜 표제 화합물을 얻었으며, 이를 추가 정제 없이 다음 단계에서 사용하였다.

[0553] **단계 3**: 메틸 6-(2-아세트아미도에톡시)벤조[b]티오펜-2-카르복실레이트(**Int 13c**)

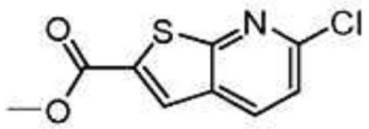
[0554] 메틸 6-(2-아미노에톡시)벤조[b]티오펜-2-카르복실레이트(**Int 13b**)(20.0 mg, 0.080 mmol)를 THF(1.7 mL)에 용해시켰다. 트리에틸아민(0.022 mL, 0.159 mmol)을 첨가한 다음, 아세틸클로라이드(0.006 mL, 0.088 mmol)를 적가하였다. 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 물(5 mL)을 첨가하고, 혼합물을 EtOAc(3 x 10 mL)로

추출하였다. 합한 유기층을 $MgSO_4$로 건조시키고, 여과하고, 농축하여 건조시켜 표제 화합물을 얻었으며, 이를 추가 정제 없이 다음 단계에서 사용하였다.

[0555] **단계 4**: 6-(2-아세트아미도에톡시)벤조[b]티오펜-2-카르복실산(**Int 13**)

[0556] THF(0.8 mL)와 물(0.8 mL) 중의 메틸 6-(2-아세트아미도에톡시)벤조[b]티오펜-2-카르복실레이트(**Int 13c**)(24.0 mg, 0.082 mmol)의 용액에 $LiOH \cdot H_2O$(17.5 mg, 0.417 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 밤새 실온에서 교반하였다. 1 M HCl을 첨가하여 pH를 5로 조정하였다. 혼합물을 EtOAc(3 x 10 mL)로 추출하였다. 합한 유기층을 $MgSO_4$로 건조시키고, 여과하고, 농축하여 표제 화합물을 얻었으며 이를 추가 정제 없이 다음 단계에서 사용하였다.

[0557] **중간체 14**: 메틸 6-클로로티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실레이트(**Int 14**)

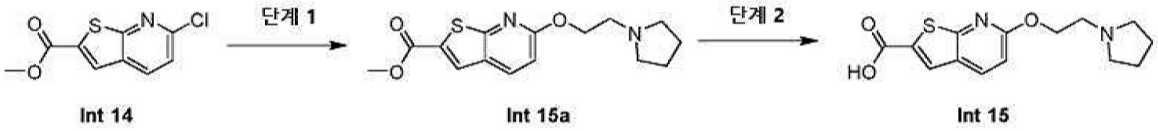


Int 14

[0558]

[0559] 표제 화합물은 중간체 **9d** 단계 1 내지 4에 대해 설명한 바와 유사하게 제조하였으며, 단계 1에서 에틸 2-머캅토아세테이트 대신 메틸 2-머캅토아세테이트를 사용하였다.

[0560] **중간체 15**: 6-(2-(피롤리딘-1-일)에톡시)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실산(**Int 15**)



Int 14 **Int 15a** **Int 15**

[0561]

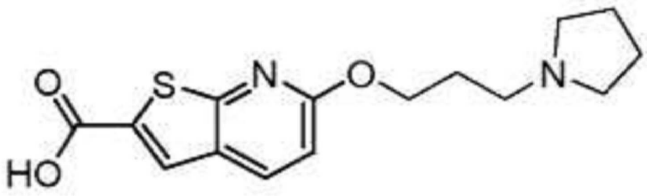
[0562] **단계 1**: 메틸 6-(2-(피롤리딘-1-일)에톡시)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실레이트(**Int 15a**)

[0563] THF(50 mL) 중의 2-(피롤리딘-1-일)에탄-1-올(0.54 g, 4.68 mmol)의 용액에 NaH(미네랄 오일에 분산된 60%, 0.374 g, 15.6 mmol)를 0℃에서 일부분씩 첨가하였다. 혼합물을 0℃에서 5분 동안 교반하고, 이어서 실온으로 가온하고, 해당 온도에서 1시간 동안 교반하였다. 혼합물에 메틸 6-클로로티에노[2,3-b] 피리딘-2-카르복실레이트(**Int 14**)(1.0 g, 4.4 mmol)를 첨가하고, 75℃에서 20분 동안 교반하였다. 혼합물을 0℃로 냉각시키고, H_2O(20 mL)로 퀜칭하고, EtOAc(3 x 30 mL)로 추출하였다. 합한 유기층을 물과 염수로 세척하고, 무수 Na_2SO_4로 건조시키고, 여과하고, 농축하여 건조시켰다. 잔류물을 실리카에서의 플래시 크로마토그래피(DCM/MeOH = 20:1)로 정제하여 표제 화합물을 얻었다.

[0564] **단계 2**: 6-(2-(피롤리딘-1-일)에톡시)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실산(**Int 15**)

[0565] EtOH(15 mL) 중의 메틸 6-(2-(피롤리딘-1-일)에톡시)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실레이트(**Int 15a**)(850 mg, 2.77 mmol)의 용액에 NaOH(5 mL 물 중의 359 mg, 5.97 mmol)의 용액을 첨가하였다. 혼합물을 70℃에서 1시간 동안 교반하였다. 혼합물을 물로 희석하고, 1 M HCl을 사용하여 pH를 6으로 조정하였다. 혼합물을 여과하고, 여과액을 농축하여 건조시켰다. 잔류물을 역상 컬럼 크로마토그래피(용매 A: H_2O, 용매 B: MeCN)로 정제하여 표제 화합물을 얻었다.

[0566] **중간체 15/1**: 6-(3-(피롤리딘-1-일)프로폭시)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실산(**Int 15/1**)

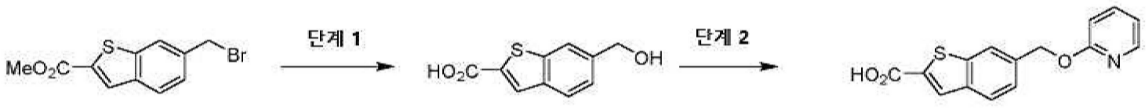


Int 15/1

[0567]

[0568] 표제 화합물은 중간체 **15**에 대해 설명한 바와 유사하게 제조하였으며 단계 1에서 2-(피롤리딘-1-일)에탄-1-올 대신 3-(피롤리딘-1-일)프로판-1-올을 사용하였다.

[0569] **중간체 16**: 6-((피리딘-2-일옥시)메틸)벤조[b]티오펜-2-카르복실산(**Int 16**)



Int 11b **Int 16a** **Int 16**

[0570]

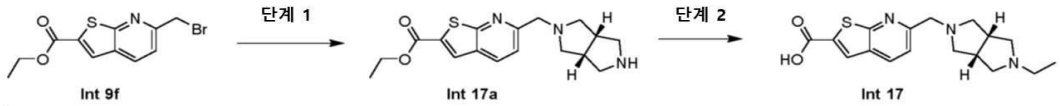
[0571] **단계 1**: 6-(하이드록시메틸)벤조[b]티오펜-2-카르복실산(**Int 16a**)

[0572] 다이옥산(100 mL) 중의 메틸 6-(브로모메틸)벤조[b]티오펜-2-카르복실레이트(**Int 11b**)(3.0 g, 10.5 mmol)의 혼합물에 H_2O(100 mL) 중의 K_2CO_3(5.8 g, 42 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 100℃에서 1시간 동안 교반하였다. 수성 HCl을 혼합물에 첨가하여 pH를 2로 조정하였다. 수성층을 에틸 아세테이트(3 x 100 mL)로 추출하였다. 합한 유기층을 염수(100 mL)로 세척하고, Na_2SO_4로 건조시키고, 여과하고, 농축하여 건조시켜 표제 화합물을 황색 고체로 얻었다.

[0573] **단계 2**: 6-((피리딘-2-일옥시)메틸)벤조[b]티오펜-2-카르복실산(**Int 16**)

[0574] 톨루엔(150 mL) 중의 6-(하이드록시메틸)벤조[b]티오펜-2-카르복실산(**Int 16a**)(2.2g, 10.56 mmol), 2-클로로피리딘(3.56 g, 31.68 mmol) 및 18-크라운-6(0.44 g, 1.66 mmol)의 혼합물에 t-BuOK(11.86 g, 105.6 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 120℃에서 6시간 동안 교반하였다. 혼합물을 H_2O(3 x 100 mL)로 세척하였다. 수성층을 수성 HCl로 pH를 2로 조정하고, EtOAc(3 x 100 mL)로 추출하였다. 합한 유기층을 Na_2SO_4로 건조시키고, 여과하고, 농축하여 건조시켜 표제 화합물을 백색 고체로 얻었으며, 이를 추가 정제 없이 다음 단계에서 사용하였다.

[0575] **중간체 17**: 6-(((3aR,6aS)-5-에틸헥사하이드로피롤로 [3,4-c]피롤-2(1*H*)-일)메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실산(**Int 17**)



Int 9f **Int 17a** **Int 17**

[0576]

[0577] **단계 1**: 에틸 6-(((3aR,6aS)-헥사하이드로피롤로[3,4-c]피롤-2(1*H*)-일)메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실레이트(**Int 17a**)

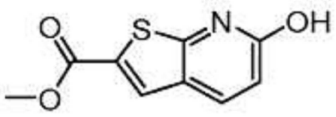
[0578] DCM(0.5 mL) 중의 에틸 6-(브로모메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실레이트(**Int 9f**)(30 mg, 0.10 mmol), 트리에틸아민(11.1 mg, 0.11 mmol) 및 *tert*-부틸(3aR,6aS)-3a,6a-다이메틸헥사하이드로피롤[3,4-c]피롤-2(1*H*)-카르복실레이트(22.3 mg, 0.11 mmol)의 혼합물을 밤새 실온에서 교반하였다. TFA(0.25 mL)를 첨가하고, 혼합물을 밤새 실온에서 교반하였다. 혼합물을 농축하여 건조시켜 표제 화합물을 얻었으며, 이를 추가 정제 없이 다음 단계에서 사용하였다.

[0579] **단계 2**: 6-(((3aR,6aS)-5-에틸헥사하이드로피롤로[3,4-c]피롤-2(1*H*)-일)메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실

산(**Int 17**)

[0580] 무수 THF 중의 에틸 6-((3aR,6aS)-3a,6a-다이메틸헥사하이드로피롤로[3,4-c]피롤-2(1H)-일)메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실레이트(**Int 17a**)(25 mg, 0.075 mmol)의 용액에 Cs_2CO_3(24 mg, 0.075 mmol)와 요오도에탄(12 mg, 0.075 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 수성 NaOH(2 M, 200 μL)를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 농축하여 건조시키고 잔류물을 제조용 HPLC로 정제하여 표제 화합물을 얻었다.

[0581] **중간체 18:** 메틸 6-하이드록시티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실레이트(**Int 18**)

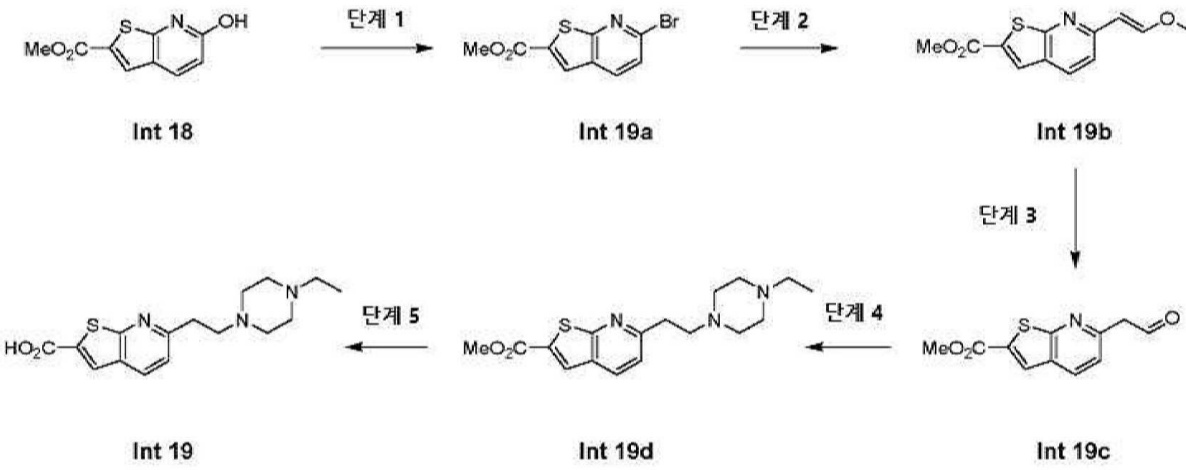


Int 18

[0582]

[0583] 표제 화합물은 중간체 **9c** 단계 1 내지 3에 대해 설명한 바와 유사하게 제조하였으며, 단계 1에서 에틸 2-머캅토아세테이트 대신 메틸 2-머캅토아세테이트를 사용하였다.

[0584] **중간체 19**: 6-(2-(4-에틸피페라진-1-일)에틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실산(**Int 19**)



[0585]

[0586] **단계 1**: 메틸 6-브로모티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실레이트(**Int 19a**)

[0587] DMF(150 mL) 중의 메틸 6-하이드록시티에노[2,3-b] 피리딘-2-카르복실레이트(**Int 18**)(15.7 g, 75 mmol)와 $POBr_3$(96.2 mL, 0.96 Mol)의 혼합물을 120℃에서 16시간 동안 교반하였다. 혼합물을 농축하고, DCM(300 mL)으로 희석하였다. 유기층을 포화 수성 $NaHCO_3$(2 x 80 mL) 및 염수(2 x 100 mL)로 세척하고, 무수 Na_2SO_4로 건조시키고, 여과하고, 농축하여 건조시켰다. 잔류물을 실리카겔에서의 컬럼 크로마토그래피(DCM/MeOH = 20:1)로 정제하여 표제 화합물을 얻었다.

[0588] **단계 2**: 메틸(*E*)-6-(2-에톡시비닐)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실레이트(**Int 19b**)

[0589] 1,4-다이옥산(40 mL)과 물(8 mL) 중의 메틸 6-브로모티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실레이트(**Int 19a**)(2.1 g, 7.7 mmol)와 KF(893 mg, 15.37 mmol)의 혼합물에 트리사이클로헥실포스핀(418 mg, 1.49 mmol), (*E*)-2-(2-에톡시비닐)-4,4,5,5-테트라메틸-1,3,2-다이옥사보롤란(1.75 g, 8.8 mmol) 및 $Pd_2(dba)_3$(673 mg, 0.74 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 질소 분위기 하에 100℃에서 16시간 동안 교반하였다. 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 물로 희석하고, EtOAc(3 x 100 mL)로 추출하였다. 합한 유기층을 물과 염수로 세척하고, 무수 황산나트륨으로 건조시키고, 여과하고, 농축하여 건조시켰다. 잔류물을 실리카겔에서의 크로마토그래피(PE/EtOAc = 1:1)로 정제하여 표제 화합물을 얻었다.

[0590] **단계 3**: 메틸 6-(2-옥소에틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실레이트(**Int 19c**)

[0591] DCM(10 mL) 중의 메틸(*E*)-6-(2-에톡시비닐) 티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실레이트(**Int 19b**)(0.6 g, 2.28 mmol)의 용액에 농축된 HCl(6 mL)을 첨가하고, 혼합물을 실온에서 16시간 동안 교반하였다. 혼합물을 농축하여 건조시켜 표제 화합물을 얻었으며, 이를 추가 정제 없이 다음 단계에서 사용하였다.

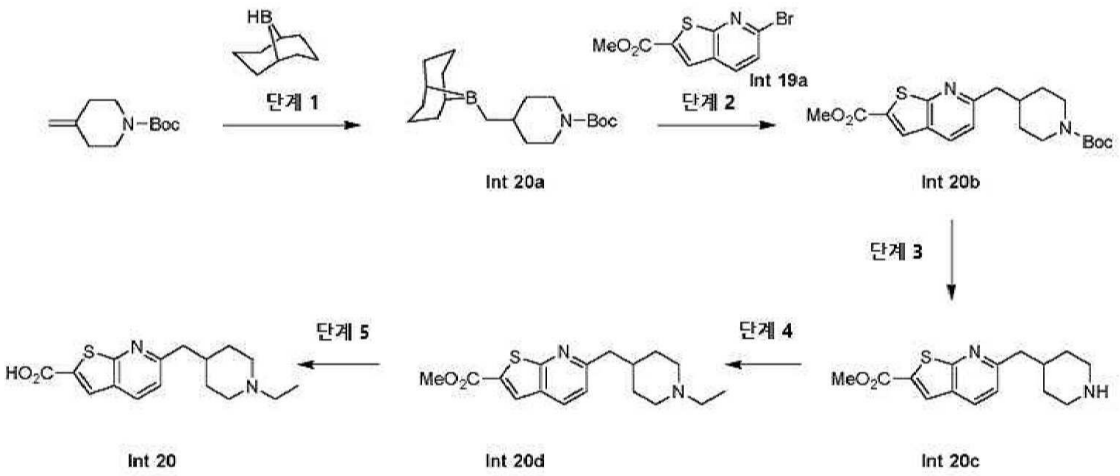
[0592] **단계 4**: 메틸 6-(2-(4-에틸피페라진-1-일)에틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실레이트(**Int 19d**)

[0593] DCE(50 mL) 중의 메틸 6-(2-옥소에틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실레이트(**Int 19c**)(400 mg, 1.7 mmol), 1-에틸피페라진(213.5 mg, 1.86 mmol) 및 소듐 트리아세톡시보로하이드라이드(1.08 g, 5.1 mmol)의 용액에 AcOH(0.2 mL)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 16시간 동안 교반하였다. 혼합물을 물(80 mL)로 희석하고, DCM(3 x 100 mL)으로 추출하였다. 합한 유기층을 물과 염수로 세척하고, 무수 황산나트륨으로 건조시키고, 여과하고, 농축하여 건조시켰다. 잔류물을 실리카겔에서의 크로마토그래피(EtOAc/PE = 1:5)로 정제하여 표제 화합물을 얻었다.

[0594] **단계 5**: 6-(2-(4-에틸피페라진-1-일)에틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실산(**Int 19**)

[0595] MeOH(10 mL)와 물(2 mL) 중의 메틸 6-(2-(4-에틸피페라진-1-일) 에틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실레이트(**Int 19d**)(350 mg, 1.05 mmol)의 용액에 LiOH(66 mg, 2.76 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 60℃에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 1 M HCl을 사용하여 pH를 5로 조정하고, EtOAc(2 x 20 mL)로 추출하였다. 합한 유기층을 염수로 세척하고, 무수 황산나트륨으로 건조시키고, 여과하고, 농축하여 건조시켜 표제 화합물을 얻었으며, 이를 추가 정제 없이 다음 단계에서 사용하였다.

[0596] **중간체 20**: 6-((1-에틸피페리딘-4-일)메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실산(**Int 20**)



[0597]

[0598] **단계 1**: *tert*-부틸 4-(((1s,5s)-9-보라바이사이클로[3.3.1]노난-9-일)메틸)피페리딘-1-카르복실레이트(**Int 20a**)

[0599] THF(60 mL) 중의 *tert*-부틸 4-메틸렌피페리딘-1-카르복실레이트(4.0 g, 0.020 mol)의 용액에 9-BBN(4.9g, 40 mmol)을 첨가하고, 혼합물을 1시간 동안 환류시켰다. 혼합물을 실온으로 냉각시키고 농축하여 건조시켜 표제 화합물을 얻었으며, 이를 추가 정제 없이 다음 단계에서 사용하였다.

[0600] **단계 2**: 메틸 6-((1-(*tert*-부톡시카르보닐)피페리딘-4-일)메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실레이트(**Int 20b**)

[0601] DMF(40 mL)와 H_2O(4 mL) 중의 *tert*-부틸 4-(((1s,5s))-9-보라바이사이클로[3.3.1]노난-9-일)메틸)피페리딘-1-카르복실레이트(**Int 20a**)(5.0 g 미정제)의 용액에 $Pd(dppf)Cl_2$(1.6 g, 2.0 mmol), 메틸 6-브로모티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실레이트(**Int 19a**)(6.7 g, 0.025 몰) 및 K_2CO_3(4.0 g, 0.029 mol)을 첨가하였다. 혼합물을 질소 분위기 하에 60℃에서 16시간 동안 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축하고, EtOAc로 희석하고, H_2O 및 염수로 세척하고, 무수 Na_2SO_4로 건조시키고, 여과하고, 농축하여 건조시켰다. 잔류물을 실리카겔에서의 크로마토그래피(PE/EtOAc = 1:1)로 정제하여 표제 화합물을 얻었다.

[0602] **단계 3**: 메틸 6-(피페리딘-4-일메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실레이트(**Int 20c**)

[0603] DCM(20 mL) 중의 메틸 6-(1-(tert-부톡시카르보닐)피페리딘-4-일)메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실레이트(**Int 20b**)(2.6 g, 6.7 mmol)의 용액에 TFA(10 mL)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 혼합물을 농축하여 건조시켜 표제 화합물을 얻었으며, 이를 추가 정제 없이 다음 단계에서 사용하였다.

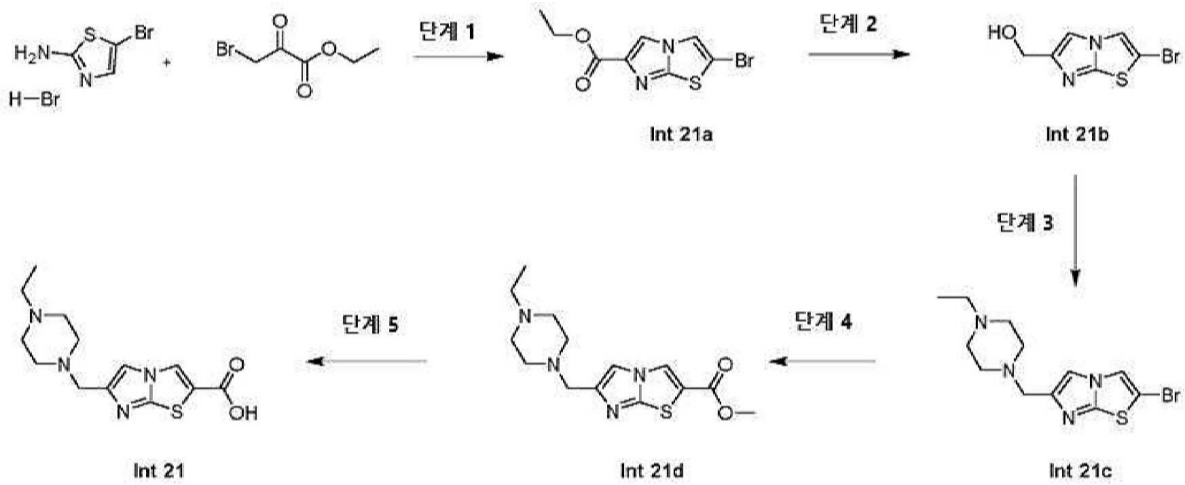
[0604] **단계 4**: 메틸 6-((1-에틸피페리딘-4-일)메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실레이트(**Int 20d**)

[0605] DCE(50 mL) 중의 메틸 6-(피페리딘-4-일메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실레이트(**Int 20c**)(3 g 미정제)의 용액에 아세트알데하이드(792 mg, 18 mmol), TEA(2.4 g, 24 mmol)를 첨가하였다. 소듐 트리아세톡시보로하이드라이드(5.0 g, 24 mmol)을 첨가하고, 혼합물을 실온에서 16시간 동안 교반하였다. 물(50 mL)을 첨가하고, 혼합물을 DCM(2 x 200 mL)으로 추출하였다. 합한 유기층을 염수로 세척하고, 무수 황산나트륨으로 건조시키고, 여과하고, 농축하여 건조시켰다. 잔류물을 실리카겔에서의 크로마토그래피(DCM/MeOH = 20:1)로 정제하여 표제 화합물을 얻었다.

[0606] **단계 5**: 6-((1-에틸피페리딘-4-일)메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실산(**Int 20**)

[0607] MeOH(16 mL)와 물(4 mL) 중의 메틸 6-((1-에틸피페리딘-4-일)메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실레이트(**Int 20d**)(400 mg, 1.25 mmol)의 용액에 LiOH(52 mg, 2.2 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 60℃에서 1시간 동안 교반하였다. 1 M HCl을 사용하여 pH를 5로 조정하고, 혼합물을 EtOAc(2 x 20 mL)로 추출하였다. 합한 유기층을 염수로 세척하고, 무수 황산나트륨으로 건조시키고, 여과하고, 농축하여 건조시켜 표제 화합물을 얻었으며, 이를 추가 정제 없이 다음 단계에서 사용하였다.

[0608] **중간체 21**: 6-((4-에틸피페라진-1-일)메틸)이미다조[2,1-b]티아졸-2-카르복실산(**Int 21**)



[0609]

[0610] **단계 1**: 에틸 2-브로모이미다조[2,1-b]티아졸-6-카르복실레이트(**Int 21a**)

[0611] 에탄올(300 mL) 중의 2-아미노-5-브로모티아졸 모노하이드로브로마이드(20 g, 77 mmol)의 용액에 에틸 브로모피루베이트(19 mL, 154 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 밤새 환류시켜 교반하였다. 혼합물을 농축하였다. 잔류물에 물(300 mL)을 첨가하고, 수성층을 EtOAc(300 mL)로 추출하였다. 유기층을 염수(200 mL)로 세척하고, Na_2SO_4로 건조시키고, 여과하고, 농축하여 건조시켰다. 잔류물을 실리카겔에서의 플래시 컬럼 크로마토그래피(PE/EtOAc = 1:1)로 정제하여 표제 화합물을 갈색 고체로 얻었다.

[0612] **단계 2**: (2-브로모이미다졸[2,1-b]티아졸-6-일)메탄올(**Int 21b**)

[0613] 에틸 2-브로모이미다조[2,1-b]티아졸-6-카르복실레이트(**Int 21a**)(11.5 g, 42.0 mmol)의 용액에 DIBAL-H(42 mL, 헥산 중의 1 M)를 아르곤 하에 0℃에서 0.5시간 동안 적가하였다. 혼합물을 실온으로 가온시키고 3시간 동안 교반하였다. 황산나트륨 데카하이드레이트(27 g, 83.8 mmol)를 배치(batch)로 빙수조 냉각 하에 첨가하였다. 현탁액을 Celite®을 통해 여과하고 MeOH를 사용하여 Celite® 패드를 세척하였다. 여과액을 농축하여 건조시키고 잔류물을 실리카겔에서의 컬럼 크로마토그래피(DCM/MeOH =10:1)로 정제하여 표제 화합물을 옅은 황색 고체로 얻었다.

[0614] **단계 3**: 2-브로모-6-((4-에틸피페라진-1-일)메틸)이미다조[2,1-b]티아졸(**Int 21c**)

[0615] 무수 DCM(20 mL) 중의 (2-브로모이미다조[2,1-b]티아졸-6-일)메탄올(**Int 21b**)(1.6 g, 6.9 mmol)과 트리에틸아민(1.9 mL, 13.6 mmol)의 교반 용액에 메탄설포닐 클로라이드(0.8 mL, 10.3 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 0.5시간 동안 교반하였다. 혼합물을 농축하고 무수 DCM(20 mL)에 재용해시켰다. 트리에틸아민(1.9 mL, 13.6 mmol)을 첨가한 다음, 1-에틸피페라진(0.96 mL, 7.6 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 물(40 mL)과 염수(40 mL)로 세척하였다. 유기층을 Na_2SO_4로 건조시키고, 여과하고, 농축하여 건조시켰다. 잔류물을 플래시 크로마토그래피(DCM/MeOH = 10:1)로 정제하여 표제 화합물을 옅은 황색 고체로 얻었다.

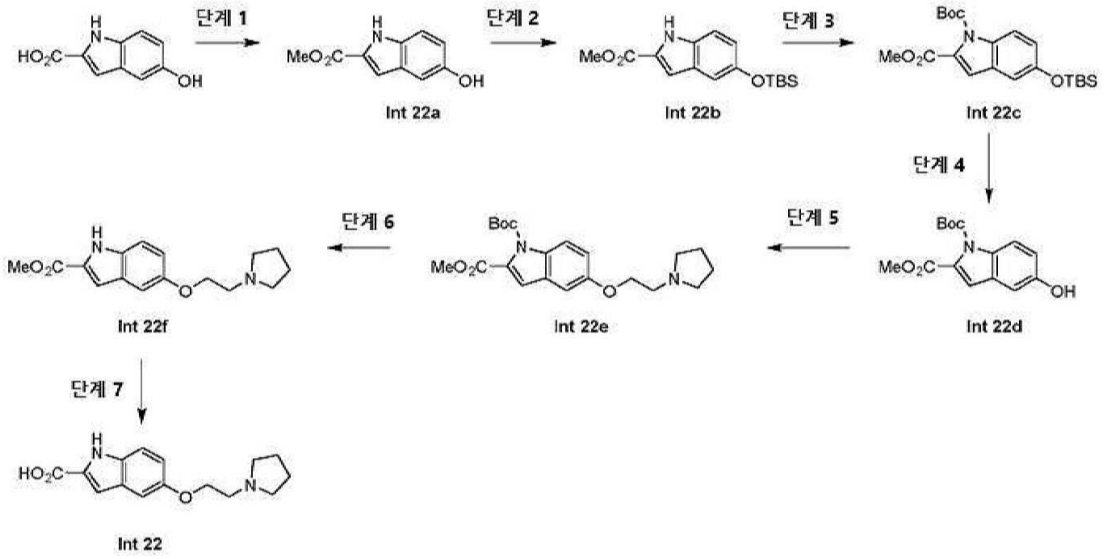
[0616] **단계 4**: 메틸 6-((4-에틸피페라진-1-일)메틸)이미다졸[2,1-b]티아졸-2-카르복실레이트(**Int 21d**)

[0617] MeOH(20 mL) 중의 2-브로모-6-((4-에틸피페라진-1-일)메틸)이미다조[2,1-b]티아졸(**Int 21c**)(1.1g, 3.3 mmol)과 트리에틸아민(1.9 mL, 13.6 mmol)의 용액에 $Pd(OAc)_2$(226 mg, 1.0 mmol) 및 XPhos(481 mg, 1.0 mmol)를 아르곤 보호 하에 첨가하였다. 혼합물을 CO 가스로 포화시키고 60℃에서 밤새 교반하였다. 혼합물을 Celite® 패드를 통해 여과하였다. 여과액을 농축하여 건조시켜 표제 화합물을 오렌지색 고체로 얻었다.

[0618] **단계 5**: 6-((4-에틸피페라진-1-일)메틸)이미다조[2,1-b]티아졸-2-카르복실산(**Int 21**)

[0619] 무수 THF(10 mL) 중의 메틸 6-((4-에틸피페라진-1-일)메틸)이미다조[2,1-b]티아졸-2-카르복실레이트(**Int 21d**)(1.0 g, 3.2 mmol)의 용액에 수성 LiOH(6.4 mL, 1 M)를 첨가하였다. 혼합물을 3시간 동안 환류시켜 교반하였다. 혼합물을 농축하고 수성 HCl(1 M)을 pH가 2가 될 때까지 교반하면서 첨가하였다. 혼합물을 농축하여 건조시켰다. DCM을 잔류물에 첨가하고, 현탁액을 1시간 동안 교반하였다. 혼합물을 여과하고 여과액을 농축하여 건조시켜 표제 화합물을 오렌지색 고체로 얻었다.

[0620] **중간체 22**: 5-(2-(피롤리딘-1-일)에톡시)-1*H*-인돌-2-카르복실산(**Int 22**)



[0621]

[0622] **단계 1**: 메틸 5-하이드록시-1*H*-인돌-2-카르복실레이트(**Int 22a**)

[0623] 메탄올(28 mL) 중의 5-하이드록시-1*H*-인돌-2-카르복실산(500 mg, 2.82 mmol)의 혼합물을 0℃로 냉각시키고 티오닐 클로라이드(369 mg, 3.11 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 50℃에서 밤새 교반하였다. 혼합물을 농축하여 건조시켜 표제 화합물을 얻었으며, 이를 추가 정제 없이 다음 단계에서 사용하였다.

[0624] **단계2**: 메틸 5-((*tert*-부틸다이메틸실릴)옥시)-1*H*-인돌-2-카르복실레이트(**Int 22b**)

[0625] DMF(28 mL) 중의 메틸 5-하이드록시-1*H*-인돌-2-카르복실레이트(**Int 22a**)(540 mg, 2.82 mmol)와 이미다졸(385 mg, 5.65 mmol)의 혼합물에 DMF 중의 *tert*-부틸클로로다이메틸실란(511 mg, 3.39 mmol)의 용액을 적가하였다. 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 이미다졸(192 mg, 2.82 mmol)과 *tert*-부틸클로로다이메틸실란(255 mg, 1.69 mmol)을 첨가하고, 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 혼합물을 농축하여 건조시켰다. 잔류물을 실리카겔에서의 컬럼 크로마토그래피(구배 EtOAc/사이클로헥산)로 정제하여 표제 화합물을 얻었다.

[0626] **단계 3**: 1-(*tert*-부틸) 2-메틸 5-((tert-부틸다이메틸실릴)옥시)-1*H*-인돌-1,2-다이카르복실레이트(**Int 22c**)

[0627] DMF(18 mL) 중의 메틸 5-((tert-부틸다이메틸실릴)옥시)-1*H*-인돌-2-카르복실레이트(**Int 22b**)(561 mg, 1.837 mmol)와 NaH(132 mg, 24 mmol)의 혼합물을 실온에서 30분 동안 교반하였다. 다이-*tert*-부틸 다이카르보네이트(521 mg, 2.39 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 혼합물을 농축하여 건조시키고 잔류물을 실리카겔에서의 컬럼 크로마토그래피(구배 EtOAc/사이클로헥산)로 정제하여 표제 화합물을 얻었다.

[0628] **단계 4**: 1-(*tert*-부틸) 2-메틸 5-하이드록시-1*H*-인돌-1,2-다이카르복실레이트(**Int 22d**)

[0629] 무수 THF(10L) 중의 1-(*tert*-부틸) 2-메틸 5-((tert-부틸다이메틸실릴)옥시)-1*H*-인돌-1,2-다이카르복실레이트(**Int 22c**)(376 mg, 0.927 mmol)의 혼합물에 THF(1 M, 0.927 mL, 0.927 mmol) 중의 TBAF의 용액을 0℃에서 적가하였다. 혼합물을 실온에서 20분 동안 교반하였다. 혼합물을 농축하여 건조시키고 잔류물을 실리카겔에서의 컬럼 크로마토그래피(구배 EtOAc/사이클로헥산)로 정제하여 표제 화합물을 얻었다.

[0630] **단계 5**: 1-(*tert*-부틸) 2-메틸 5-(2-(피롤리딘-1-일)에톡시)-1*H*-인돌-1,2-다이카르복실레이트(**Int 22e**)

[0631] 1-(*tert*-부틸) 2-메틸 5-하이드록시-1*H*-인돌-1,2-다이카르복실레이트(**Int 22d**)(50 mg, 0.172 mmol)를 무수 DMF에 용해시켰다. NaH를 0℃에서 첨가하고, 혼합물을 실온에서 20분 동안 교반하였다. 무수 DMF(0.7mL) 중의 1-(2-클로로에틸)피롤리딘 하이드로클로라이드(29.2 mg, 0.172 mmol)의 용액을 적가하고 혼합물을 50℃에서 밤새 교반하였다. 혼합물을 농축하고, 잔류물(10 mL)에 물을 첨가하였다. 현탁액을 EtOAc(3 x 10mL)로 추출하였다. 합한 유기층을 무수 $MgSO_4$로 건조시키고, 여과하고, 농축하여 건조시켜 표제 화합물을 얻었으며, 이를 추가 정제 없이 다음 단계에서 사용하였다.

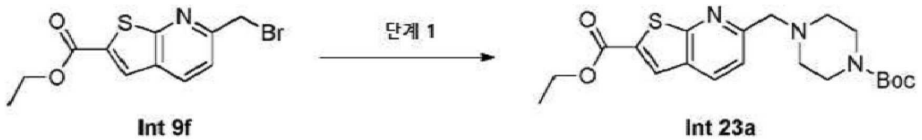
[0632] **단계 6**: 메틸 5-(2-(피롤리딘-1-일)에톡시)-1*H*-인돌-2-카복실레이트(**Int 22f**)

[0633] DCM(1.2 mL) 중의 1-(*tert*-부틸) 2-메틸 5-(2-(피롤리딘-1-일)에톡시)-1*H*-인돌-1,2-다이카르복실레이트(**In 22e**)(47.0 mg, 0.121 mmol)의 용액에 TFA(600 μL)를 0℃에서 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 물을 첨가하고, 혼합물을 DCM으로 추출하였다. 합한 유기층을 $MgSO_4$로 건조시키고, 여과하고, 농축하여 건조시켜 표제 화합물을 얻었으며, 이를 추가 정제 없이 다음 단계에서 사용하였다.

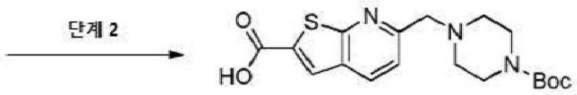
[0634] **단계 7**: 5-(2-(피롤리딘-1-일)에톡시)-1*H*-인돌-2-카르복실산(**Int 22**)

[0635] 물과 THF의 혼합물(1:1, 0.8 mL) 중의 메틸 5-(2-(피롤리딘-1-일)에톡시)-1*H*-인돌-2-카르복실레이트(**Int 22f**)(11.0 mg, 0.038 mmol)의 혼합물에 $LiOH \cdot H_2O$(11.0 mg, 0.253 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 혼합물을 1M HCl로 중화시키고 농축하여 건조시켜 표제 화합물을 얻었으며, 이를 추가 정제 없이 다음 단계에서 사용하였다.

[0636] **중간체 23**: 6-((4-(*tert*-부톡시카르보닐)피페라진-1-일)메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실산(**Int 23**)



Int 9f　　Int 23a



Int 23

[0637]

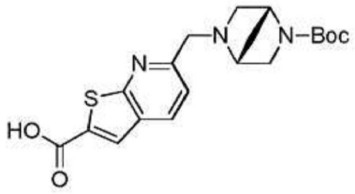
[0638] **단계 1**: 에틸 6-((4-(tert-부톡시카르보닐)피페라진-1-일)메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실레이트(**Int 23a**)

[0639] 무수 THF(2 mL) 중의 에틸 6-(브로모메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실레이트(**Int 9f**)(50.0 mg, 0.167 mmol)와 세슘 카르보네이트(162.8 mg, 0.500 mmol)의 혼합물에 1-*tert*-부틸 피페라진-1-카르복실레이트(31.0 mg, 0.167 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 50℃에서 밤새 교반하였다. 혼합물을 농축하여 건조시켜 표제 화합물을 얻었으며, 이를 추가 정제 없이 다음 단계에서 사용하였다.

[0640] **단계 2**: 6-((4-(*tert*-부톡시카르보닐)피페라진-1-일)메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실산(**Int 23**)

[0641] THF와 H_2O(3:1, 4 mL) 중의 에틸 6-(4-(*tert*-부톡시카르보닐)피페라진-1-일)메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실레이트(**Int 23a**)(60 mg, 0.148 mmol)의 혼합물에 리튬 하이드록사이드 모노하이드레이트(10.5 mg, 0.222 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 혼합물을 농축하여 건조시키고 잔류물을 제조용 HPLC로 정제하여 표제 화합물을 백색 분말로 얻었다.

[0642] **중간체 23/1**: 6-(((1R,4R)-5-(*tert*-부톡시카르보닐)-2,5-다이아자바이사이클로[2.2.1]헵탄-2-일)메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실산(**Int 23/1**)

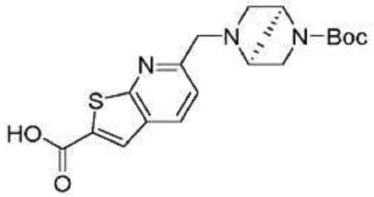


Int 23/1

[0643]

[0644] 표제 화합물은 **Int 23**에 대해 설명한 바와 유사하게 제조하였으며, 단계 1에서 1-*tert*-부틸 피페라진-1-카르복실레이트 대신 (1R,4R)-*tert*-부틸 2,5-다이아자바이사이클로[2.2.1]헵탄-2-카르복실레이트를 사용하였다.

[0645] **중간체 23/2**: 6-(((1S,4S)-5-(*tert*-부톡시카르보닐)-2,5-다이아자바이사이클로[2.2.1]헵탄-2-일)메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실산(**Int 23/2**)

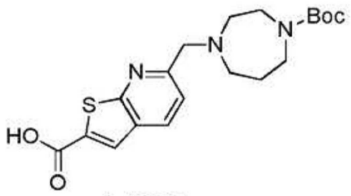


Int 23/2

[0646]

[0647] 표제 화합물은 **Int 23**에 대해 설명한 바와 유사하게 제조하였으며, 단계 1에서 1-*tert*-부틸 피페라진-1-카르복실레이트 대신 (1S,4S)-*tert*-부틸 2,5-다이아자바이사이클로[2.2.1]헵탄-2-카르복실레이트를 사용하였다.

[0648] **중간체 23/3**: 6-((4-(*tert*-부톡시카르보닐)-1,4-디아제판-1-일)메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실산(**Int 23/3**)

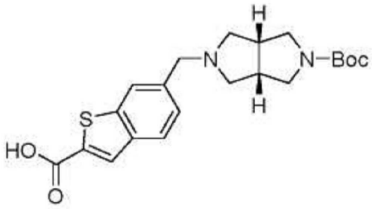


Int 23/3

[0649]

[0650] 표제 화합물은 **Int 23**에 대해 설명한 바와 유사하게 제조하였으며, 단계 1에서 1-*tert*-부틸 피페라진-1-카르복실레이트 대신 *tert*-부틸 1,4-디아제판-1-카르복실레이트를 사용하였다.

[0651] **중간체 23/4**: 6-(((3aR,6aS)-5-(*tert*-부톡시카르보닐)헥사하이드로피롤로[3,4-c]피롤-2(1H)-일)메틸)벤조[b]티오펜-2-카르복실산(**Int 23/4**)

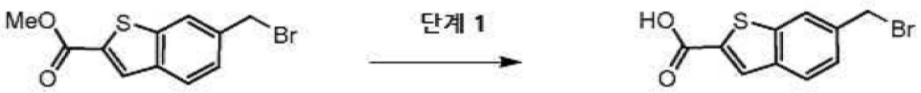


Int 23/4

[0652]

[0653] 표제 화합물은 **Int 23**에 대해 설명한 바와 유사하게 제조하였으며, 단계 1에서 에틸 6-(브로모메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실레이트 대신 메틸 6-(브로모메틸)벤조[b]티오펜-2-카르복실레이트(**Int 11b**)를 사용하고, 1-tert-부틸 피페라진-1-카르복실레이트 대신 *tert*- 부틸(3aR,6aS)-헥사하이드로피롤로[3,4-c]피롤-2(1*H*)-카르복실레이트를 사용하였다.

[0654] **중간체 24:** 6-(브로모메틸)벤조[b]티오펜-2-카르복실산(**Int 24**)



Int 11b　　Int 24

[0655]

[0656] THF와 물의 혼합물(4:1, 100 mL) 중의 메틸 6-(브로모메틸)벤조[b]티오펜-2-카르복실레이트(**Int 11b**)(5.13 g, 14 mmol)의 혼합물에 $LiOH \cdot H_2O$(623 mg, 15 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 4.5시간 동안 4.5시간 동안 교반하였다. EtOAc(100 mL)를 첨가하고, 유기층을 0.1 M NaOH(30 mL)로 추출하였다. 합한 수성층을 1 M HCl을 사용하여 pH를 4로 조정하고, EtOAc(3 x 50 mL)로 추출하였다. 합한 유기층을 무수 $MgSO_4$로 건조시키고, 여과하고, 농축하여 건조시켰다. 잔류물을 실리카겔에서의 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 표제 화합물을 얻었다.

[0657] **중간체 24/1:** 6-(브로모메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실산(**Int 24/1**)



Int 9f　　Int 24/1

[0658]

[0659] 표제 화합물은 Int 24에 대해 설명한 바와 유사하게 제조하였으며, 메틸 6-(브로모메틸)벤조[b]티오펜-2-카르복실레이트 대신 에틸 6-(브로모메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실레이트(**Int 9f**)를 사용하였다.

[0660] **중간체 25:** 7-플루오로-2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복실산(**Int 25**)

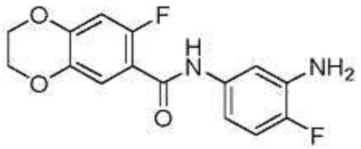


Int 25

[0661]

[0662] 7-플루오로-2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르보니트릴(30 mg, 0.167 mmol)을 MeOH(1 mL)에 용해시켰다. 혼합물에 2 M NaOH(1.6 mL, 3.2 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 75℃에서 밤새 교반하였다. 혼합물을 농축하여 건조시키고 잔류물을 제조용 HPLC로 정제하였다.

[0663] **중간체 26:** 7-플루오로-2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복실산(**Int 26**)



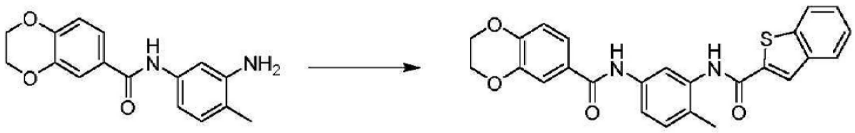
Int 26

[0664]

[0665] 표제 화합물은 **Int 2**에 대해 설명한 바와 유사하게 제조하였으며, 단계 1에서 2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복실산(**Int 25**) 대신 7-플루오로-2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복실산을 사용하였다.

[0666] 이하에서 본 발명의 화합물은 이의 실시예 번호로 명명된다.

[0667] **실시예 1:** *N*-(3-(벤조[*b*]티오펜-2-카르복스아미도)-4-메틸페닐)-2,3-디하이드로벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**실시예 1**)



Int 1 **실시예 1**

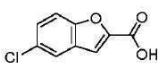
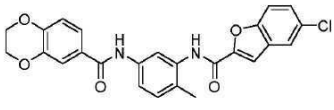
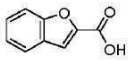
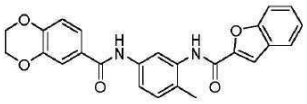
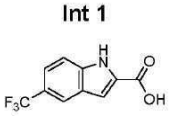
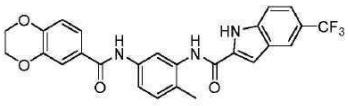
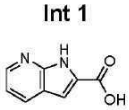
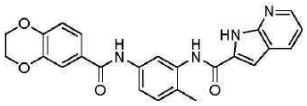
[0668]

[0669] 피리딘(0.980 mL) 중의 *N*-(3-아미노-4-메틸페닐)-2,3-디하이드로-1,4-벤조다이옥신-6-카르복스아미드(**Int 1**)(100 mg, 0.352 mmol), 벤조[*b*]티오펜-2-카르복실산(62.7 mg, 0.352 mmol), DIPEA(0.123, 0.703 mmol) 및 DMAP(6.40 mg, 0.053 mmol)의 용액에 $POCl_3$(0.035 mL, 0.387 mmol)을 0℃에서 첨가하였다. 혼합물을 0℃에서 15분간 교반하였다. 이어서, 혼합물을 실온으로 가온한 후 EtOAc(15 mL)로 희석하였다. 유기층을 0.2 M HCl(3 x 15 mL)으로 세척한 다음, 포화 $NaHCO_3$(3 x 15 mL)로 세척하였다. 유기층을 $MgSO_4$로 건조하고, 여과하고, 농축하여 건조시켰다. 잔류물을 제조용 HPLC로 정제하여 표제 화합물을 백색 고체로 얻었다.

[0670] ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: δ 10.19 (s, 1H), 10.06 (s, 1H), 8.33 (s, 1H), 8.07 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 8.01 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.87 (s, 1H), 7.61 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.57 - 7.45 (m, 4H), 7.25 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.99 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 4.41 - 4.22 (m, 4H), 2.24 (s, 3H). MS (ESI): m/z 445.4 $[M+H]^+$.

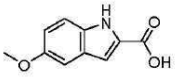
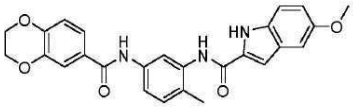
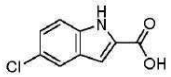
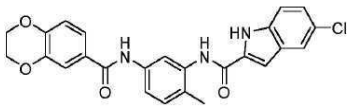
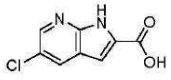
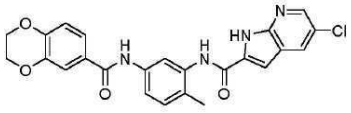
[0671] 실시예 1/1 내지 1/18

[0672] 다음 실시예들은 적절한 빌딩 블록을 사용하여 **실시예 1**에 대해 설명한 것과 유사하게 제조하였다.

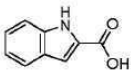
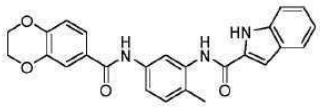
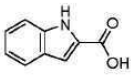
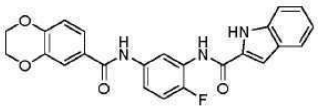
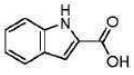
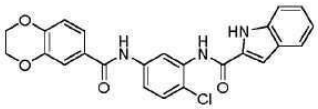
#	빌딩 블록	구조	분석 데이터
1/1	Int 1 		^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: δ 10.28 (s, 1H), 10.09 (s, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.84 (s, 1H), 7.77 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.60 (d, J = 8.5 Hz, 1 H), 7.56 – 7.46 (m, 3H), 7.25 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.99 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 4.38 – 4.25 (m, 4H), 2.22 (s, 3H). MS (ESI): m/z 463.3 $[M+H]^+$.
1/2	Int 1 		^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: δ 10.20 (s, 1H), 10.09 (s, 1H), 7.89 – 7.79 (m, 2H), 7.77 – 7.70 (m, 2H), 7.60 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.56 – 7.46 (m, 3H), 7.38 (t, J = 7.5 Hz, 1H), 7.24 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.99 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 4.38 – 4.24 (m, 4H), 2.23 (s, 3H). MS (ESI): m/z 429.4 $[M+H]^+$.
1/3	Int 1 		^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: 12.20 (s, 1H), 10.14 (s, 1H), 10.09 (s, 1H), 8.14 (s, 1H), 7.85 (s, 1H), 7.63 (t, J = 9.9 Hz, 2H), 7.58 – 7.43 (m, 4H), 7.26 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.99 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 4.41 – 4.21 (m, 4H), 2.23 (s, 3H). MS (ESI): m/z 496.4 $[M+H]^+$.
1/4	Int 1 		^{1}H NMR (300 MHz, MeOD-d_3) δ ppm: δ 8.37 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 8.16 (d, J = 7.9 Hz,

[0673]

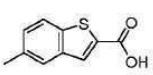
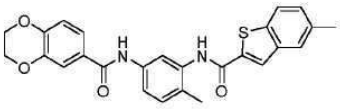
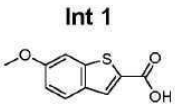
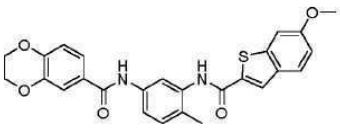
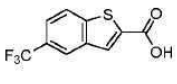
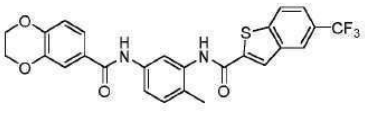
1H), 7.79 (s, 1H), 7.54 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.50 – 7.43 (m, 2H), 7.34 – 7.26 (m, 2H), 7.22 (dd, *J* = 8.0, 4.8 Hz, 1H), 6.96 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 4.36 – 4.26 (m, 4H), 2.31 (s, 3H). MS (ESI): m/z 429.4 $[M+H]^+$.

1/5	Int 1 		^{1}H NMR (300 MHz, MeOD-d_3) δ ppm: δ 7.76 (s, 1H), 7.54 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.50 – 7.42 (m, 2H), 7.36 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 7.27 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.21 (s, 1H), 7.12 (s, 1H), 6.99 – 6.88 (m, 2H), 4.37 – 4.25 (m, 4H), 3.83 (s, 3H), 2.31 (s, 3H). MS (ESI): m/z 456.2 $[M-H]^-$.
1/6	Int 1 		^{1}H NMR (300 MHz, MeOD-d_3) δ ppm: δ 7.78 (s, 1H), 7.65 (s, 1H), 7.53 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.49 – 7.41 (m, 3H), 7.31 – 7.18 (m, 3H), 6.93 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 4.34 – 4.25 (m, 4H), 2.30 (s, 3H). MS (ESI): m/z 460.2 $[M-H]^-$.
1/7	Int 1 		^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: δ 12.52 (s, 1H), 10.05 (s, 1H), 10.03 (s, 1H), 8.36 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 8.29 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.59 (d, 8.1 Hz, 1H), 7.56 – 7.47 (m, 2H), 7.35 (s, 1H), 7.25 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 6.99

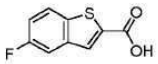
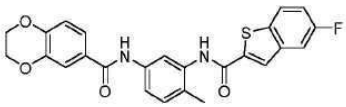
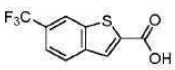
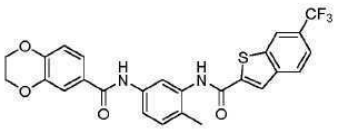
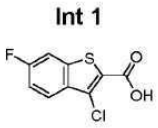
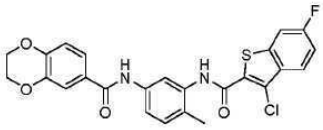
[0674]

			(d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 4.37 – 4.26 (m, 4H), 2.24 (s, 3H). MS (ESI): m/z 461.2 $[M-H]^-$.
1/8	Int 1 		^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: δ 11.69 (s, 1H), 10.06 (s, 1H), 9.89 (s, 1H), 7.85 (s, 1H), 7.67 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H) , 7.60 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H) 7.57 – 7.43 (m, 3H), 7.37 (s, 1H), 7.28 – 7.18 (m, 2H), 7.08 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 6.99 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 4.35 – 4.28 (m, 4H), 2.24 (s, 3H). MS (ESI): m/z 426.2 $[M-H]^-$.
1/9	Int 2 		^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: δ 11.74 (s, 1H), 10.16 (s, 1H), 10.11 (s, 1H), 8.11 (d, *J* = 6.7 Hz, 1H), 7.71 – 7.61 (m, 2H), 7.58 – 7.44 (m, 3H), 7.41 (s, 1H), 7.34 – 7.19 (m, 2H), 7.08 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.00 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 4.38 – 4.26 (m, 4H). MS (ESI): m/z 432.5 $[M+H]^+$.
1/10	Int 2/1 		^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: δ 11.76 (s, 1H), 10.25 (s, 1H), 10.02 (s, 1H), 8.13 (s, 1H), 7.75 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.69 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.58 – 7.53 (m, 2H), 7.53 – 7.45 (m, 2H), 7.40 (s, 1H) 7.24 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.09 (t, *J* = 7.4 Hz,

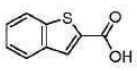
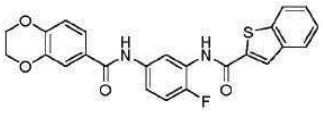
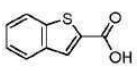
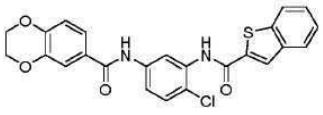
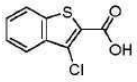
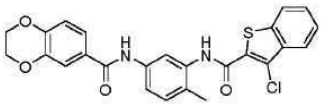
[0675]

			1H), 7.00 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 4.38 – 4.26 (m, 4H). MS (ESI): m/z 448.3 $[M+H]^+$.
1/11	Int 1 		^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: δ 10.17 (s, 1H), 10.05 (s, 1H), 8.24 (s, 1H), 7.93 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.85 (s, 1H), 7.79 (s, 1H), 7.60 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.56 – 7.46 (m, 2H), 7.34 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.24 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 6.98 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 4.37 – 4.26 (m, 4H), 2.46 (s, 3H), 2.24 (s, 3H). MS (ESI): m/z 459.3 $[M+H]^+$.
1/12	Int 1 		^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: δ 10.07 (s, 1H), 10.05 (s, 1H), 8.23 (s, 1H), 7.93 – 7.82 (m, 2H), 7.63 (s, 1H), 7.59 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.56 – 7.48 (m, 2H), 7.24 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.09 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 6.98 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 4.38 – 4.26 (m, 4H), 3.87 (s, 3H), 2.23 (s, 3H). MS (ESI): m/z 475.3 $[M+H]^+$.
1/13	Int 1 		^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: δ 10.38 (s, 1H), 10.06 (s, 1H), 8.54 – 8.43 (m, 2H), 8.34 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.87 (s, 1H), 7.80 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.61 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H) 7.57 – 7.47 (m, 2H), 7.26 (d, J = 8.4 Hz,

[0676]

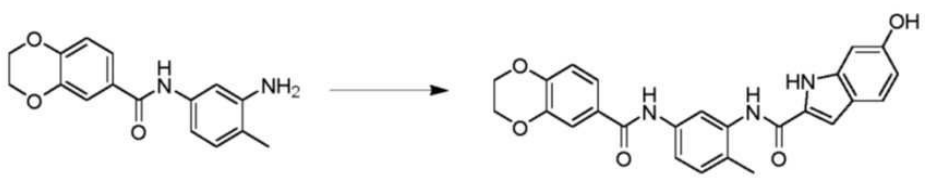
			1H), 6.99 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 4.36 – 4.26 (m, 4H), 2.24 (s, 3H). MS (ESI): m/z 511.1 [M-H]-.
1/14	Int 1 		^{1}H NMR (300 MHz, MeOD-d_3) δ ppm: δ 8.13 (s, 1H), 7.98 (dd, *J* = 8.9, 4.8 Hz, 1H), 7.79 (s, 1H), 7.68 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 7.56 (d, *J* = 8.3, 1H), 7.52 – 7.43 (m, 2H), 7.36 – 7.26 (m, 2H), 6.95 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 4.37 – 4.28 (m, 4H), 2.33 (s, 3H). MS (ESI): m/z 463.4 [M+H]$^+$.
1/15	Int 1 		^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: δ 10.35 (s, 1H), 10.07 (s, 1H), 8.61 (s, 1H), 8.43 (s, 1H), 8.27 – 8.17 (m, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.77 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.61 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.57 – 7.47 (m, 2H), 7.26 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 6.99 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 4.26 – 4.39 (m, 4H), 2.25 (s, 3H). MS (ESI): m/z 511.2 [M-H]$^-$.
1/16	Int 1 		^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: δ 10.08 (s, 1H), 9.94 (s, 1H), 8.13 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 8.05 (s, 1H), 8.00 (dd, *J* = 9.1, 4.6 Hz, 1H), 7.63 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.58 – 7.46 (m, 3H), 7.26 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 6.99 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 4.37 – 4.27 (m, 4H), 2.30 (s, 3H).

[0677]

1/17	Int 2 		MS (ESI): m/z 497.3 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: δ 10.45 (s, 1H), 10.16 (s, 1H), 8.37 (s, 1H), 8.16 – 7.98 (m, 3H), 7.71 - 7.63 (m, 1H), 7.57 – 7.45 (m, 4H), 7.30 (t, *J* = 9.2 Hz, 1H), 7.00 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 4.37 – 4.27 (m, 4H).
1/18	Int 2/1 		MS (ESI): m/z 449.4 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: δ 10.37 (s, 1H), 10.24 (s, 1H), 8.37 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 8.08 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 8.03 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.76 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.58 – 7.43 (m, 5H), 7.00 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 4.36 – 4.28 (m, 4H). MS (ESI): m/z 465.3 $[M+H]^+$.
1/19	Int 1 		^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ ppm : δ 10.08 (s, 1H), 9.96 (s, 1H), 8.21 – 8.12 (m, 1H), 8.04 (s, 1H), 8.00 – 7.89 (m, 1H), 7.68 – 7.59 (m, 3H), 7.59 – 7.50 (m, 2H), 7.26 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.99 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 4.38 – 3.25 (m, 4H), 2.31 (s, 3H). MS (ESI) : m/z 479.4 $[M+H]^+$.

[0678]

[0679] **실시예 2:** *N*-(5-(2,3-디하이드로벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미도)-2-메틸페닐)-6-하이드록시-1*H*-인돌-2-카르복스아미드(**실시예 2**)



Int 1 실시예 2

[0680]

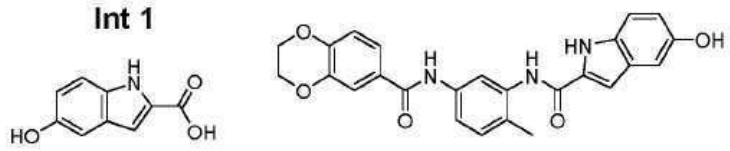
[0681] DMF(0.500 mL) 중의 *N*-(3-아미노-4-메틸페닐)-2,3-디하이드로벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**Int 1**)(30.0 mg, 0.106 mmol)와 6-하이드록시인돌-2-카르복실산(18.7 mg, 0.106 mmol)의 용액에 NMI(0.025 mL, 0.317 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 10분간 교반하였다. PyBroP(54.1 mg, 0.116 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 75℃에서 18시간 동안 가열하였다. 혼합물을 농축하여 건조시키고, 잔류물을 EtOAc(30 mL)에 용해시켰

다. 유기층을 0.1 M HCl(3 x 15 mL) 및 포화 수성 $NaHCO_3$(3 x 15 mL)로 세척하였다. 유기층을 $MgSO_4$로 건조하고, 여과하고, 농축하여 건조시켰다. 잔류물을 제조용 HPLC로 정제하여 표제 화합물을 백색 고체로 얻었다.

[0682] ^{1}H NMR (300 MHz, MeOD-d_3) δ ppm: δ 7.77 (s, 1H), 7.53 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.50 - 7.43 (m, 3H), 7.27 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.21 (s, 1H), 6.94 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.86 (s, 1H), 6.70 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 4.36 - 4.25 (m, 4H), 2.31 (s, 3H). MS (ESI): m/z 442.2 $[M-H]^-$.

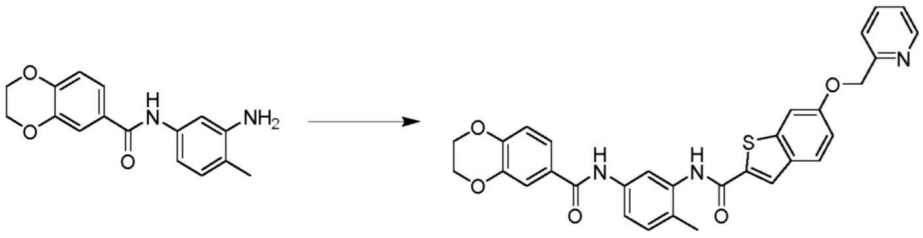
[0683] **실시예 2/1**

[0684] 다음 실시예는 적절한 빌딩 블록을 사용하여 **실시예 2**에 대해 설명한 것과 유사하게 제조하였다.

#	빌딩 블록	구조	분석 데이터
2/1	Int 1		^{1}H NMR (300 MHz, MeOD-d_3) δ ppm: δ 7.78 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 7.54 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.51 – 7.44 (m, 2H), 7.32 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 7.28 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.13 (s, 1H), 7.01 (s, 1H), 6.94 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 6.86 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 4.37 – 4.24 (m, 4H), 2.32 (s, 3H). MS (ESI): m/z 444.4 $[M+H]^+$.

[0685]

[0686] **실시예 3:** *N*-(4-메틸-3-(6-(피리딘-2-일메톡시)벤조[*b*]티오펜-2-카르복스아미도)페닐)-2,3-디하이드로벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**실시예 3**)



Int 1 실시예 3

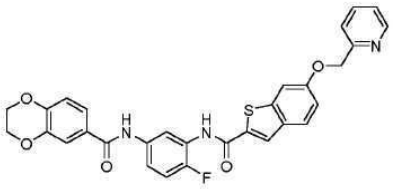
[0687]

[0688] DMF(530 μL) 중의 *N*-(3-아미노-4-메틸페닐)-2,3-디하이드로벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**Int 1**)(15.0 mg, 0.053 mmol), 6-(피리딘-2-일메톡시)벤조[*b*]티오펜-2-카르복실산(**Int 4**)(15.1 mg, 0.053 mmol)의 혼합물에 NMI(13.0 μL, 0.158 mmol)를 첨가하였다, 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 이어서, 잔류물을 농축하여 건조시키고 제조용 HPLC로 정제하여 표제 화합물을 백색 고체로 얻었다.

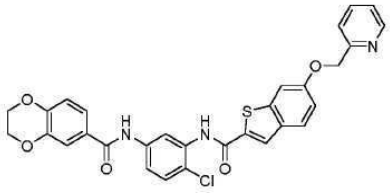
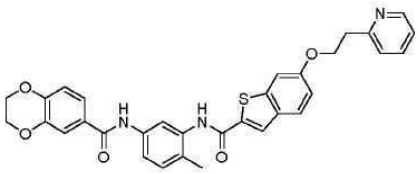
[0689] ^{1}H NMR (300 MHz, MeOD-d_3) δ ppm: δ 8.58 (s, 1H), 8.56 (s, 1H), 8.06 (s, 1H), 7.95 - 7.80 (m, 2H), 7.74 (s, 1H), 7.65 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 7.57 (s, 1H), 7.53 (d, J = 8.4 Hz, 1 H), 7.57 (s, 1H), 7.49 - 7.43 (m, 2H), 7.39 (t, J = 6.2 Hz, 1H), 7.27 (d, J = 8.3 Hz, 1 H), 7.19 (d, J = 8.8, 1H), 6.93 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 5.28 (s, 2H), 4.36 - 4.24 (m, 4H), 2.30 (s, 3H). MS (ESI): m/z 552.4 $[M+H]^+$.

[0690] 실시예 3/1 내지 3/16

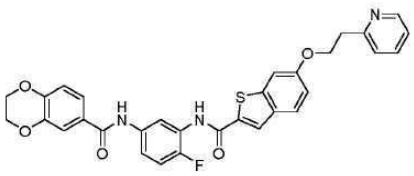
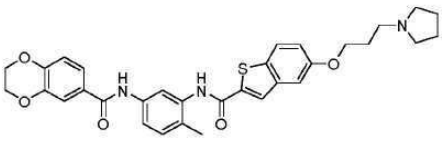
[0691] 다음 실시예들은 적절한 빌딩 블록을 사용하여 **실시예 3**에 대해 설명한 것과 유사하게 제조하였다.

#	빌딩 블록	구조	분석 데이터
3/1	Int 2, Int 4		^{1}H NMR (300 MHz, MeOD-d_3) δ ppm: δ 8.11 (s, 1H), 7.97 – 7.83 (m, 2H), 7.67 (d, J = 7.6 Hz, 1H) 7.63 – 7.54 (m, 2H), 7.53 – 7.45 (m, 2H), 7.41 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 7.26 – 7.17 (m, 2H), 6.96 (d, J = 8.3

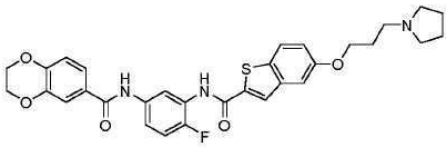
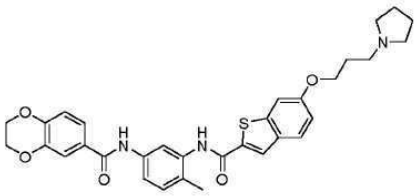
[0692]

			Hz, 1H), 5.31 (s, 2H), 4.36 – 4.28 (m, 4H), 3.33 (s, 2H). MS (ESI): m/z 556.4 $[M+H]^+$.
3/2	Int 2/1, Int 4		^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: δ 10.24 (s, 1H), 10.22 (s, 1H), 8.60 (d, J = 4.7 Hz, 1H), 8.27 (s, 1H), 8.10 (s, 1H), 7.92 (d, J = 8.7, 1H), 7.86 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 7.78 – 7.70 (m, 2H), 7.58 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.55 – 7.48 (m, 2H), 7.37 (d, J = 12.6 Hz, 1H), 7.20 (d, J = 8.8, 1H), 6.99 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 5.29 (s, 2H), 4.36 – 4.28 (m, 4H). MS (ESI): m/z 572.4 $[M+H]^+$.
3/3	Int 1, Int 7		^{1}H NMR (300 MHz, MeOD-d_3) δ ppm: δ 8.51 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 8.04 (s, 1H), 7.89 – 7.70 (m, 3H), 7.55 – 7.41 (m, 5H), 7.33 (t, J = 6.2 Hz, 1H), 7.27 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.03 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 6.93 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 4.46 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 4.36 – 4.26 (m, 4H),

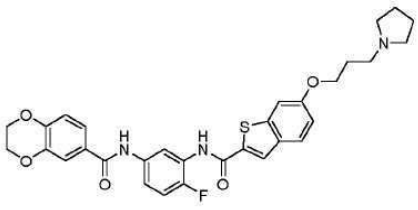
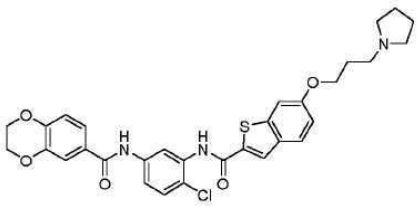
[0693]

			3.37 – 3.32 (m, 2H) 2.30 (s, 3H). MS (ESI): m/z 566.5 $[M+H]^+$.
3/4	Int 2, Int 7		^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: δ 10.31 (s, 1H), 10.15 (s, 1H), 8.53 (s, 1H), 8.26 (s, 1H), 8.10 (d, J = 6.6 Hz, 1H), 7.87 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.75 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 7.69 – 7.59 (m, 2H), 7.57 – 7.48 (m, 2H), 7.40 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 7.34 – 7.21 (m, 2H), 7.07 – 6.98 (m, 2H), 4.48 (t, J = 6.7 Hz, 2H), 4.39 – 4.23 (m, 4H), 3.26 – 3.18 (m, 2H). MS (ESI): 570.4 m/z $[M+H]^+$.
3/5	Int 1, Int 3		^{1}H NMR (300 MHz, MeOD-d_3) δ ppm: δ 8.03 (s, 1H), 7.87 – 7.74 (m, 2H), 7.60 – 7.35 (m, 4H), 7.29 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.16 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 6.94 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 4.36 – 4.25 (m, 4H), 4.20 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 3.51 – 3.39 (m, 6H), 2.31 (s, 3H), 2.30 – 2.19 (m, 2H), 2.17 – 2.07

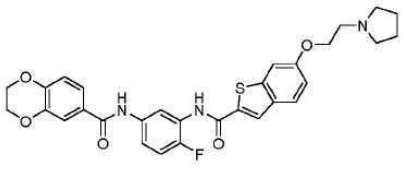
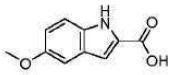
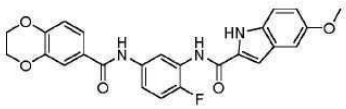
[0694]

3/6	Int 2, Int 3		(m, 4H). MS (ESI): 572.5 m/z [M+H]$^+$. ^{1}H NMR (300 MHz, MeOD-d_3) δ ppm: δ 8.16 (dd, J = 7.0, 2.6 Hz, 1H), 8.08 (s, 1H), 7.85 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 7.62 – 7.52 (m, 1H), 7.57 – 7.43 (m, 3H), 7.29 – 7.13 (m, 2H), 6.96 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 4.38 – 4.27 (m, 4H), 4.22 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 3.56 – 3.38 (m, 6H), 2.37 – 2.22 (m, 2H), 2.19 – 2.06 (m, 4H). MS (ESI): 576.5 m/z [M+H]$^+$. ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: δ 10.06 (s, 1H), 10.05 (s, 1H), 8.22 (s, 1H), 7.90 – 7.82 (m, 2H), 7.64 – 7.56 (m, 2H), 7.55 – 7.47 (m, 2H), 7.23 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.07 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 6.98 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 4.36 – 4.27 (m, 4H), 4.11 (t, J = 7.3 Hz, 2H), 2.60 – 2.55 (m, 2H), 2.48 – 2.40 (m, 4H), 2.23 (s, 3H), 1.99 – 1.86 (m, 2H), 1.77 – 1.65 (m, 4H). MS
3/7	Int 1, Int 5		

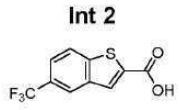
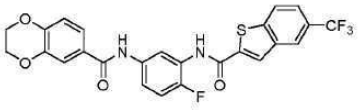
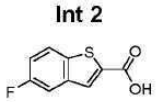
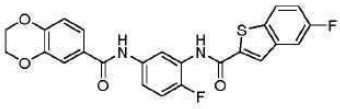
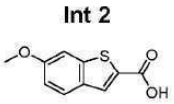
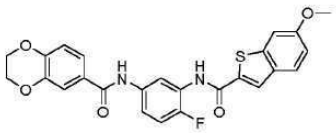
[0695]

			(ESI): 572.5 m/z [M+H]$^+$.
3/8	Int 2, Int 5		^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: δ 10.31 (s, 1H), 10.15 (s, 1H), 8.27 (s, 1H), 8.10 (d, J = Hz, 1H), 7.88 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 7.70 – 7.59 (m, 2H), 7.57 – 7.49 (m, 2H), 7.28 (t, J = 9.6 Hz, 1H), 7.08 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 7.00 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 4.37 – 4.27 (m, 4H), 4.13 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 2.60 – 2.55 (m, 2H), 2.48 – 2.42 (m, 4H), 2.06 – 1.88 (m, 2H), 1.74 – 1.65 (m, 4H). MS (ESI): 576.5 m/z [M+H]$^+$.
3/9	Int 2/1, Int 5		^{1}H NMR (300 MHz, MeOD-d_3) δ ppm: δ 8.20 (s, 1H), 8.10 (s, 1H), 7.86 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.62 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.55 – 7.42 (m, 4H), 7.11 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 6.95 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 4.36 – 4.26 (m, 4H), 4.22 (t, J = 5.6 Hz, 2H) 3.48 – 3.36 (m, 6H), 2.35 – 2.21 (m, 2H), 2.18 – 2.05

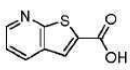
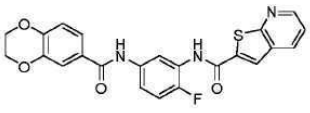
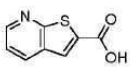
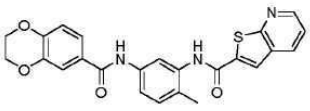
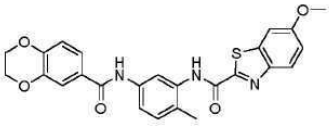
[0696]

			(m, 4H). MS (ESI): m/z 592.5 $[M+H]^+$. ^1H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: δ 10.31 (s, 1H), 10.15 (s, 1H), 8.27 (s, 1H), 8.10 (d, J = 7.0 Hz, 1H), 7.88 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.67 – 7.61 (m, 2H), 7.56 – 7.48 (m, 2H), 7.28 (t, J = 9.6 Hz, 1H), 7.09 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 6.99 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 4.37 – 4.27 (m, 4H), 4.18 (t, J = 5.9 Hz, 2H), 2.85 (t, J = 5.8 Hz, 2H), 2.54 – 2.64 (m, 4H), 1.71 (d, J = 5.8 Hz, 4H). MS (ESI): m/z 562.5 $[M+H]^+$.
3/10	Int 2, Int 6		
3/11	Int 2 		^1H NMR (300 MHz, MeOD-d_3) δ ppm: δ 8.20 – 8.14 (m, 1H), 7.60 – 7.52 (m, 1H), 7.51 – 7.44 (m, 2H) 7.37 (d, J = 9.1 Hz, 1H), 7.25 – 7.15 (m, 2H), 7.13 (s, 1H) 6.98 – 6.89 (m, 2H), 4.36 – 4.25 (m, 4H), 3.84 (s, 3H). MS (ESI): m/z 462.4 $[M+H]^+$.

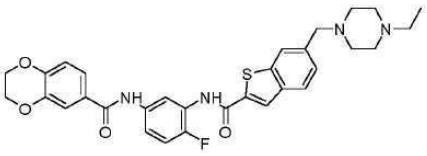
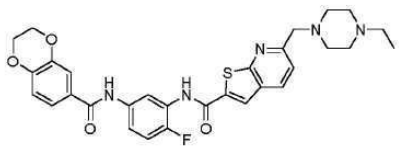
[0697]

3/12	Int 2 		^{1}H NMR (300 MHz, MeOD-d_3) δ ppm: δ 8.30 (d, J = 5.1 Hz, 2H), 8.21 – 8.09 (m, 2H), 7.72 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.63 – 7.54 (m, 1H), 7.51 – 7.43 (m, 2H), 7.23 (t, J = 9.5 Hz, 1H), 6.94 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 4.36 – 4.25 (m, 4H). MS (ESI): m/z 515.2 [M-H]$^-$.
3/13	Int 2 		^{1}H NMR (300 MHz, MeOD-d_3) δ ppm: δ 8.17 – 8.07 (m, 2H), 7.96 (dd, J = 8.6, 3.9 Hz, 1H), 7.67 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.63 – 7.53 (m, 1H), 7.52 - 7.42 (m, 2H), 7.29 (t, J = 8.5, 1H), 7.21 (t, J = 9.5 Hz, 1H), 6.94 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 4.30 (m, 4H). MS (ESI): m/z 467.3 [M+H]$^+$.
3/14	Int 2 		^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: δ 10.32 (s, 1H), 10.15 (s, 1H), 8.28 (s, 1H), 8.11 (d, J = 7.1 Hz, 1H), 7.89 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.70 – 7.60 (m, 2H), 7.58 – 7.47 (m, 2H), 7.29 (t, J = 9.6 Hz, 1H), 7.09

[0698]

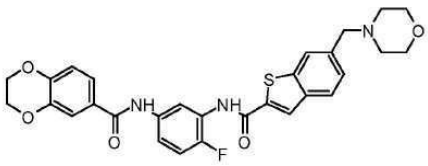
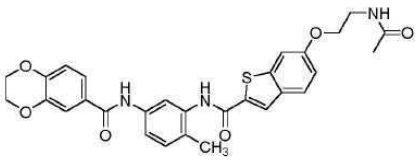
			(d, J = 8.7, 1H), 7.00 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 4.37 – 4.26 (m, 4H), 3.87 (s, 3H). MS (ESI): m/z 479.4 $[M+H]^+$.
3/15	Int 2 		^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: δ 10.56 (s, 1H), 10.17 (s, 1H), 8.71 (s, 1H), 8.46 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 8.36 (s, 1H), 8.12 (d, J = 7.0 Hz, 1H), 7.76 – 7.61 (m, 1H), 7.60 – 7.43 (m, 3H), 7.31 (t, J = 9.7 Hz, 1H), 7.00 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 4.42 – 4.22 (m, 4H). MS (ESI): m/z 450.4 $[M+H]^+$.
3/16	Int 1 		^{1}H NMR (300 MHz, MeOD-d_3) δ ppm: δ 8.65 (d, J = 4.7 Hz, 1H), 8.37 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 8.14 (s, 1H), 7.78 (s, 1H), 7.58 – 7.42 (m, 4H), 7.30 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 6.94 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 4.32 - 4.26 (m, 4H), 2.32 (s, 3H). MS (ESI): m/z 446.4 $[M+H]^+$.
3/17	Int 1, Int 8		^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ ppm : δ 10.43 (s, 1H), 10.07

[0699]

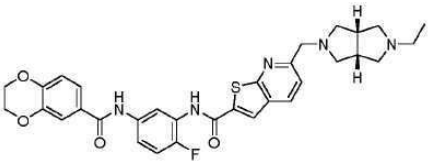
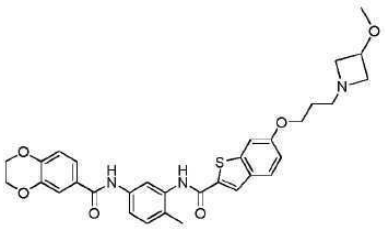
			(s, 1H), 8.09 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 7.98 (s, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.61 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.55 – 7.47 (m, 2H), 7.29 – 7.20 (m, 2H), 6.99 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 4.35 – 4.26 (m, 4H), 3.90 (s, 3H), 2.26 (s, 3H). MS (ESI): m/z 476.4 $[M+H]^+$.
3/18	**Int 2, Int 11**		^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ ppm 8.39 (d, *J* = 6 Hz, 1H), 8.05 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 7.91 – 7.78 (m, 5H), 7.46 – 7.32 (m, 3H), 7.16 (t, *J* = 9.8 Hz, 1H), 6.95 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 4.36 - 4.28 (m, 4H), 3.68 (s, 2H), 2.66-2.54 (m, 10H), 1.17 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H). MS (ESI): m/z 575.6 $[M+H]^+$.
3/19	**Int 2, Int 9**		^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ ppm 10.52 (s, 1H), 10.16 (s, 1H), 8.39 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 8.32 (s, 1H), 8.10 (d *J* = 7,2 Hz, 1H), 7.70 – 7.62 (m, 1H), 7.59 (d, *J* = 8,4Hz, 1H) 7.56 – 7.48 (m, 2H), 7.30

[0700]

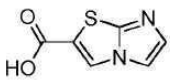
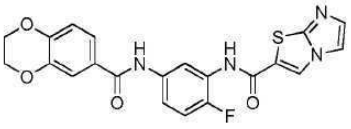
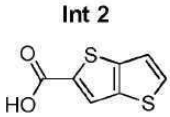
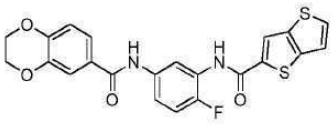
(t, J = 9.6 Hz, 1H), 7.00 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 4.36-4.28 (m, 4H), 3.73 (s, 2H), 2.48 – 2.25 (m, 10H), 0.99 (t, J = 7.1 Hz, 3H). MS (ESI): m/z 576.5 $[M+H]^+$.

3/20	Int 2, Int 11/3		^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD): δ ppm 8.22 (s, 1H) 8.16 (d, J = 6,3 Hz, 1H), 8.10 – 7.99 (m, 2H), 7.62 – 7.45 (m, 4H), 7.24 (t, J = 9.6 Hz, 1H), 6.96 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 4.36 - 4.28 (m, 4H), 4.14 (s, 2H), 3.89 - 3.77 (m, 4H), 3.05 - 2.84 (m, 4H). MS (ESI): m/z 548.5 $[M+H]^+$.
3/21	Int 1, Int 13		^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ ppm 10.06 - 10.05 (m, 2H), 8.22 (s, 1H), 8.12 - 8.08 (m, 1H), 7.89 - 7.87 (m, 1H), 7.85 (s, 1H), 7.63 (s, 1H), 7.58 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.52 - 7.49 (m, 2H), 7.23 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.08 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 6.97 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 4.36 -

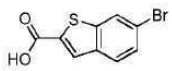
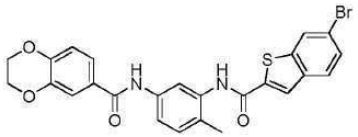
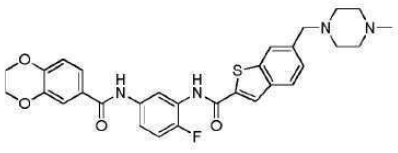
[0701]

			4.28 (m, 4H), 4.10 - 4.07 (m, 2H), 3.47 - 3.42 (m, 2H), 2.22 (s, 3H), 1.83 (s, 3H). MS (ESI): m/z 546.5 $[M+H]^+$.
3/22	Int 2, Int 17		^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ ppm 10.52 (s, 1H), 10.17 (s, 1H), 8.41 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 8.34 (s, 1H), 8.16 - 8.10 (m, 1H), 7.68 - 7.61 (m, 2H), 7.54 (s, 1H), 7.50 (s, 1H), 7.31 (t, *J* = 9.6 Hz, 1H), 6.99 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 4.36-4.38 (m, 4H), 3.87 (s, 2H), 3.12 - 2.54 (m, 12H), 1.12 (t, *J* = 6.8 Hz, 3H). MS (ESI): m/z 602.6 $[M+H]^+$.
3/23	Int 1, Int 12		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10.08 (s, 1H), 10.06 (s, 1H), 8.22 (s, 1H), 7.87 - 7.85 (m, 2H), 7.60 - 7.58 (m, 2H), 7.54 - 7.50 (m, 2H), 7.24 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.06 (dd, *J* = 8.8, 2.4 Hz, 1H), 6.97 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 4.32 - 4.29 (m, 4H), 4.07 (t, *J* = 6.4

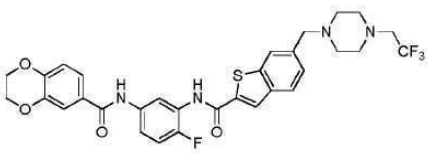
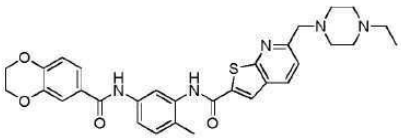
[0702]

			Hz, 2H), 3.95 - 3.93 (m, 1H), 3.55 - 3.52 (m, 2H), 3.15 (s, 3H), 2.84 - 2.80 (m, 2H), 2.59 - 2.56 (m, 2H), 2.22 (s, 3H), 1.78 - 1.75 (m, 2H). MS (ESI): m/z 588.3 $[M+H]^+$.
3/24	Int 2 		^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ ppm 10.45 (s, 1H), 10.14 (s, 1H), 8.82 (s, 1H), 8.10 (d, *J* = 6.7 Hz, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.67 - 7.60 (m, 1H), 7.53 (s, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.36 (s, 1H), 7.28 (t, *J* = 9.7 Hz, 1H), 6.99 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 4.35-4.37 (m, 4H). MS (ESI): m/z 439.4 $[M+H]^+$.
3/25	Int 2 		^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ ppm 10.32 (s, 1H), 10.13 (s, 1H), 8.33 (s, 1H), 8.07 (d, *J* = 5.8 Hz, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.65 - 7.48 (m, 4H), 7.24 (t, *J* = 9.4 Hz, 1H), 6.98 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 4.37-4.24 (s, 4H). MS (ESI): m/z 455.4 $[M+H]^+$.

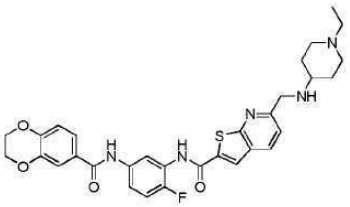
[0703]

3/26	Int 1 		^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ ppm 10.24 (s, 1H), 10.06 (s, 1H), 8.39 (s, 1H), 8.31 (s, 1H), 7.96 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.86 (s, 1H), 7.62 (t, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.54 (s, 1H), 7.50 (s, 1H), 7.25 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 6.98 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 4.35 - 4.27 (m, 4H), 2.23 (s, 3H). MS (ESI): m/z 523.1 $[M+H]^+$.
3/27	Int 2, Int 11/2		^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ ppm 10.42 (s, 1H), 10.16 (s, 1H), 8.34 (s, 1H), 8.13 (m, 1H), 7.97 (m, 2H), 7.67 - 7.61 (m, 1H), 7.54 (s, 1H), 7.50 (s, 1H), 7.43 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.29 (t, *J* = 9.7 Hz, 1H), 6.99 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 4.35 - 4.27 (m, 4H), 3.64 (s, 2H), 2.75 - 2.54 (m, 5H), 2.45 - 2.22 (m, 6H). MS (ESI): m/z 561.6 $[M+H]^+$.

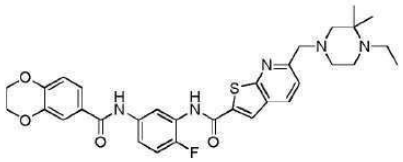
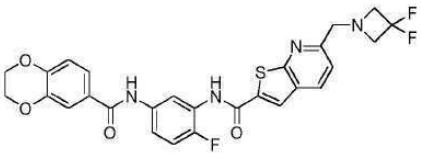
[0704]

3/28	Int 2, Int 11/1		^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ ppm 10.41 (s, 1H), 10.16 (s, 1H), 8.34 (s, 1H), 8.09 (d, *J* = 6.7 Hz, 1H), 7.94 (s, 2H), 7.68-7.61 (m, 1H), 7.52 (s, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.41 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.28 (t, *J* = 9.5 Hz, 1H), 6.98 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 4.35 - 4.27 (m, 4H), 3.61 (s, 2H), 3.19 - 3.09 (m, 2H), 2.68 - 2.58 (m, 4H), 2.46 - 2.36 (m, 4H). MS (ESI): m/z 629.7 $[M+H]^+$
3/29	Int 1, Int 9		^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ ppm 10.28 (s, 1H), 10.06 (s, 1H), 8.38 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 8.29 (s, 1H), 7.86 (s, 1H), 7.62 - 7.57 (m, 2H), 7.54 (s, 1H), 7.46 (s, 1H), 7.25 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 6.98 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 4.35-4.27 (m, 4H), 3.73 (s, 2H), 2.48-2.29 (m, 10H), 2.23 (s, 3H), 0.99 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H). MS (ESI): m/z 572.5 $[M+H]^+$

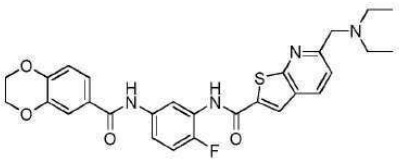
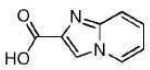
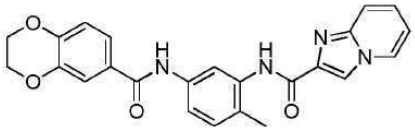
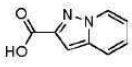
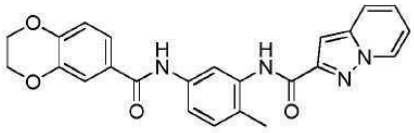
[0705]

3/30	Int 2/1, Int 9		^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ ppm 10.48 (s, 1H), 10.25 (s, 1H), 8.44 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 8.34 (s, 1H), 8.13 (s, 1H), 7.73 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.60 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.56-7.53 (m, 2H), 7.50 (s, 1H), 7.00 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 4.36-4.28 (m, 4H), 3.84 (s, 2H), 3.14 - 2.56 (m, 10H), 1.14 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H). MS (ESI): m/z 592.5 $[M+H]^+$
3/31	Int 2, Int 10/2		^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ ppm 10.61 (s, 1H), 10.19 (s, 1H), 8.49 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 8.39 (s, 1H), 8.14 (s, 1H), 7.67-7.62 (m, 2H), 7.54 (s, 1H), 7.51 (s, 1H), 7.31 (t, *J* = 9.5 Hz, 1H), 6.99 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H),), 4.36 - 4.27 (m, 6H), 3.14 - 2.60 (m, 5H), 2.28 - 1.64 (m, 6H), 1.25 (s, 1H), 1.19 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H). MS (ESI): m/z 590.6 $[M+H]^+$

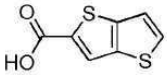
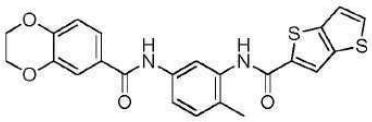
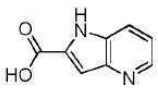
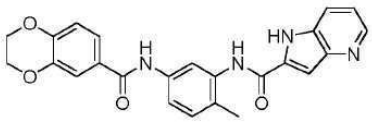
[0706]

3/32	Int 2, Int 10		^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ ppm 10.52 (s, 1H), 10.17 (s, 1H), 8.41 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 8.33 (s, 1H), 8.15-8.11 (m, 1H), 7.69 - 7.64 (m, 1H), 7.61 (s, 1H), 7.54 (s, 1H), 7.50 (s, 1H), 7.30 (t, *J* = 9.5 Hz, 1H), 6.99 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 4.35- 4.28 (m, 4H), 3.71 (s, 2H), 2.66 (s, 2H), 2.49 - 2.40 (m, 4H), 2.23 (s, 2H), 1.09-0.96 (m, 9H). MS (ESI): m/z 604.6 $[M+H]^+$
3/33	Int 2, Int 10/1		^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ ppm 10.54 (s, 1H), 10.17 (s, 1H), 8.42 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 8.34 (s, 1H), 8.11 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.70 - 7.64 (m, 1H), 7.57 - 7.49 (m, 3H), 7.31 (t, *J* = 9.5 Hz, 1H), 6.99 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 4.35 - 4.28 (m, 4H), 4.07 (s, 2H), 3.82 (t, *J* = 11.6 Hz, 4H). MS (ESI): m/z 555.3 $[M+H]^+$

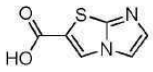
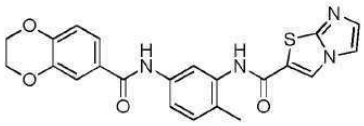
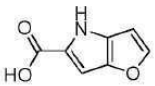
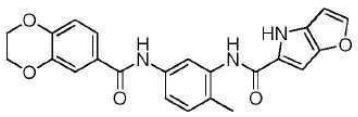
[0707]

3/34	Int 2, Int 10/3		^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ ppm 10.63 (s, 1H), 10.18 (s, 1H), 8.58 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 8.42 (s, 1H), 8.15 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H), 7.70-7.61 (m, 2H), 7.54 (s, 1H), 7.50 (s, 1H), 7.32 (t, *J* = 9.5 Hz, 1H), 7.00 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 4.63 (s, 2H), 4.35 - 4.28 (m, 4H), 3.27 - 3.09 (m, 4H), 1.26 (t, *J* = 6.9 Hz, 6H). MS (ESI): m/z 535.4 $[M+H]^+$
3/35	Int 1 		^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD): δ ppm 8.49 (d, *J* = 6.9 Hz, 1H), 8.40 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.64 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 7.53 - 7.38 (m, 4H), 7.26 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 6.99 (t, *J* = 6.9 Hz, 1H), 6.93 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 4.35-4.28 (m, 4H), 2.37 (s, 3H). MS (ESI): m/z 429.4 $[M+H]^+$
3/36	Int 1 		^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ ppm 10.05 (s, 1H), 9.77 (s, 1H), 8.76 (d, *J* =

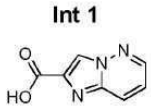
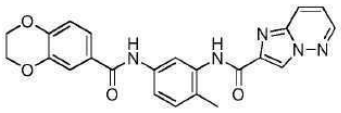
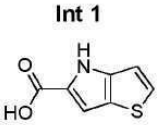
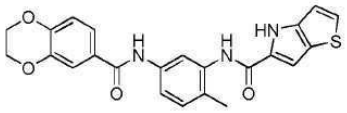
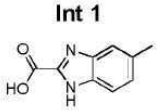
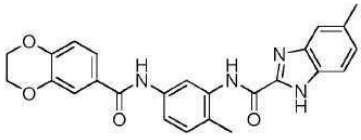
[0708]

			7.2 Hz, 1H), 8.04 (s, 1H), 7.82 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 7.59 (s, 1H), 7.57 - 7.50 (m, 2H), 7.34 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.22 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.13 (s, 1H), 7.08 (t, *J* = 6.8 Hz, 1H), 6.98 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 44.34 - 4.27 (m, 4H), 2.26 (s, 3H). MS (ESI): m/z 429.4 $[M+H]^+$
3/37	Int 1 		^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ ppm 10.04 (s, 1H), 10.03 (s, 1H), 8.32 (s, 1H), 7.89 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 7.48 (s, 1H), 7.59 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.55-7.48 (m, 3H), 7.23 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 6.98 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 4.34 - 4.27 (m, 4H), 2.22 (s, 3H). MS (ESI): m/z 451.6 $[M+H]^+$
3/38	Int 1 		^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ ppm 13.02 (s, 1H), 10.44 (s, 1H), 10.08 (s, 1H), 8.74 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 8.40 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.89 (s, 1H), 7.70 -

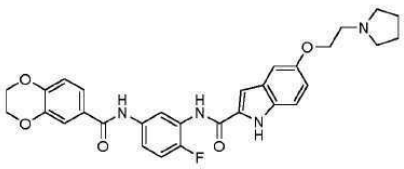
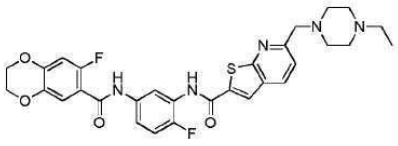
[0709]

			7.63 (m, 2H), 7.58 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.52 (s, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.29 - 7.23 (m,1H), 7.06 - 6.89 (m, 1H), 4.34 - 4.26 (m, 4H), 2.23 (s, 3H). MS (ESI): m/z 429.5 $[M+H]^+$
3/39	Int 1 		^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ ppm 10.19 (s, 1H), 10.06 (s, 1H), 8.79 (s, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.84 (s, 1H), 7.59 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.54 - 7.49 (m, 1H), 7.36 (s, 1H), 7.24 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 6.98 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 4.34 - 4.27 (m, 4H), 2.21 (s, 3H). MS (ESI): m/z 435.4 $[M+H]^+$
3/40	Int 1 		^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD): δ ppm 7.71 (s, 1H), 7.57 (s, 1H), 7.52-7.44 (m, 3H), 7.25 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 6.94 (s, 1H), 6.91 (s, 1H), 6.54 (s, 1H), 4.34 - 4.26 (m, 4H), 2.28 (s, 3H). MS (ESI): m/z 418.4 $[M+H]^+$

[0710]

3/41	Int 1 		^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ ppm 10.06 (s, 1H), 9.79 (s, 1H), 8.80 (s, 1H), 8.66 (s, 1H), 8.25 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 8.15 (s, 1H), 7.59 - 7.50 (m, 3H), 7.40 - 7.35 (m, 1H), 7.22 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 6.97 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 4.34 - 28 (m, 4H), 2.27 (s, 3H). MS (ESI): m/z 430.5 $[M+H]^+$
3/42	Int 1 		^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ ppm 11.82 (s, 1H), 10.04 (s, 1H), 9.62 (s, 1H), 7.82 (s, 1H), 7.59-7.49 (m, 3H), 7.43 (d, *J* = 5.0 Hz, 1H), 7.33 (s, 1H), 7.22 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.00 - 6.97 (m, 2H), 4.35 - 4.27 (m, 4H), 2.21 (s, 3H). MS (ESI): m/z 434.4 $[M+H]^+$
3/43	Int 1 		1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ ppm 9.29 (s, 1H), 8.26 (s, 1H), 7.78 - 7.63 (m, 3H), 7.45 - 7.34 (m, 3H), 7.18 (s, 1H), 6.93 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 4.34 - 4.26 (m, 4H),

[0711]

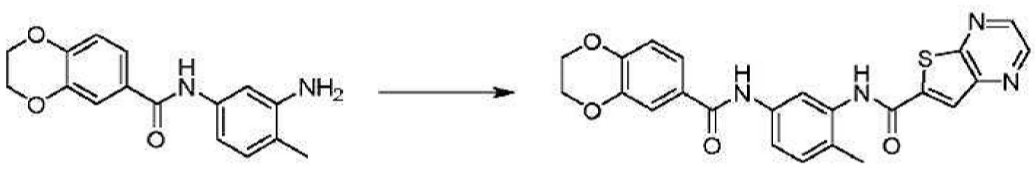
			2.50 (s, 3H), 2.43 (s, 3H). MS (ESI): m/z 443.5 $[M+H]^+$
3/44	Int 2, Int 22		^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ ppm 11.67 (s, 1H), 10.15 (s, 1H), 10.07 (s, 1H), 8.11 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 7.65-7.58 (m ,1H), 7.53-7.49 (m, 2H), 7.41 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 7.34 - 7.31 (m, 1H), 7.29 (s, 1H), 7.25 (s, 1H), 7.00 - 6.95 (m, 2H), 4.35 - 4.26 (m, 4H), 3.65 - 3.52 (m, 2H), 3.23 - 3.00 (m, 4H), 2.09 - 1.83 (m, 4H). MS (ESI): m/z 545.5 $[M+H]^+$
3/45	Int 2, Int 26		^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ ppm 10.53 (s, 1H), 10.29 (s, 1H), 8.39 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 8.32 (s, 1H), 8.05 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.61-7.57 (m, 2H), 7.31 (t, *J* = 9.3 Hz, 1H), 7.18 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 6.93 (d, *J* = 10.8 Hz, 1H), 4.32 (s, 2H), 4.29 (s, 1H), 3.73 (s, 2H), 2.47-2.27 (m, 10H), 0.99 (t, *J* = 6.9 Hz, 3H).

[0712]

MS (ESI): m/z 594.6 $[M+H]^+$.

[0713]

[0714] **실시예 4:** *N*-(5-(2,3-디하이드로벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미도)-2-메틸페닐)티에노[2,3-*b*]피라진-6-카르복스아미드(**실시예 4**)



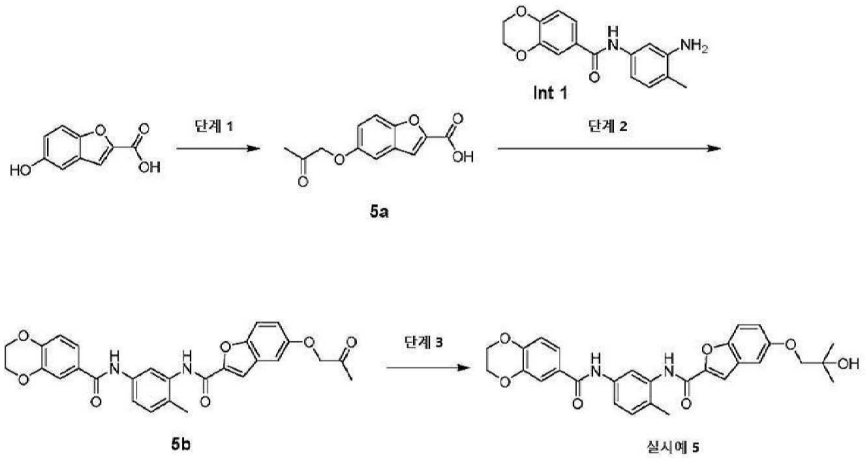
Int 1 **실시예 4**

[0715]

[0716] 티에노[2,3-*b*]피라진-6-카르복실산(15.2 mg, 0.059 mmol)에 티오닐 클로라이드(5.00 mL)를 첨가하였다. 혼합물을 50℃에서 1시간 동안 교반하였다. 혼합물이 완성된 후, 혼합물을 농축하여 건조시켰다. 농축된 혼합물에 톨루엔(2 mL)을 첨가하고 이를 농축하여 건조시켰다. 공-증발(co-evaporation)을 두 번 더 반복한 다음 잔류물을 THF(2 mL)에 용해시켰다. THF(2.00 mL) 중의 *N*-(3-아미노-4-메틸페닐)-2,3-디하이드로벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**Int 1**)(20.0 mg, 0.070 mmol)와 DIPEA(74.0 μL, 0.352 mmol)의 용액을 제조하여 0℃로 만들었다. 이어서, THF 중의 티에노[2,3-*b*]피라진-6-카르복실산 혼합물을 냉각된 **Int 1** 혼합물에 첨가하였다. 이것을 실온으로 만들어 18시간 동안 교반하였다. 이어서, 혼합물을 농축하여 건조시킨 다음 EtOAc(20 mL)에 재용해시켰다. 생성된 혼합물을 2 M HCl(15.0 mL)로 세척하였다. 합한 유기층을 $MgSO_4$로 건조하고, 여과하고, 농축하여 건조시켜 미정제 생성물을 얻었다. 잔류물을 제조용 HPLC로 정제하여 표제 화합물을 백색 고체로 얻었다.

[0717] ^{1}H NMR (300 MHz, MeOD-d_3) δ ppm: δ 8.81 (s, 1H), 8.69 (s, 1H), 8.33 (s, 1H), 7.82 (s, 1H), 7.56 (d, *J* = 8.4, 1H), 7.52 - 7.43 (m, 2H), 7.32 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.96 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 4.37 - 4.28 (m, 4H), 2.34 (s, 3H). MS (ESI): m/z 447.2 $[M+H]^+$.

[0718] **실시예 5:** *N*-(3-(5-(2-(2-하이드록시-2-메틸프로폭시)벤조푸란-2-카르복스아미도)-4-메틸페닐)-2,3-디하이드로벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**실시예 5**)



[0719]

[0720] **단계 1:** 5-(2-옥소프로폭시)벤조푸란-2-카르복실산(**5a**)

[0721] 아세톤(2.00 mL) 중의 5-하이드록시벤조푸란-2-카르복실산(25.0 mg, 0.140 mmol)의 용액에 K_2CO_3 (120 mg, 0.870 mmol)를 첨가하였다. 30분 후, 1-클로로프로판-2-온(69.0 μL, 0.870 mmol)과 NaI(25.2 mg, 0.170 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 65℃에서 72시간 동안 교반하였다. K_2CO_3(41.9 mg, 0.300 mmol)와 물(0.500 mL)을 혼합물에 첨가하였다. 혼합물을 45℃에서 4.5시간 동안 교반하였다. 이어서, 혼합물을 실온으로 냉각하고 1 M HCl(10 mL)을 첨가하였다. 생성된 혼합물을 EtOAc(3 x 15 mL)로 추출하였다. 합한 유기층을 $MgSO_4$로 건조하고, 여과하고, 농축하여 건조시켜 미정제 표제 화합물을 얻었다.

[0722] **단계 2:** *N*-(4-메틸-3-(5-(2-옥소프로폭시)벤조푸란-2-카르복스아미도)페닐)-2,3-디하이드로벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**5b**)

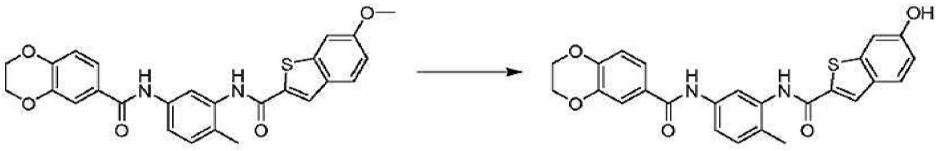
[0723] 티오닐 클로라이드(2 mL)를 5-(2-옥소프로폭시)벤조푸란-2-카르복실산(**5a**)(28.0 mg, 0.120 mmol)에 첨가하였다. 혼합물을 53℃에서 1시간 동안 교반하였다. 혼합물이 완성된 후, 혼합물을 농축하여 건조시켰다. 농축된 혼합물에 톨루엔(2 mL)을 첨가하고 이를 농축하여 건조시켰다. 공-증발을 두 번 더 반복한 다음 미정제물을 THF(2 mL)에 용해시켰다. THF(2 mL) 중의 *N*-(3-아미노-4-메틸페닐)-2,3-디하이드로벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**Int 1**)(34.0 mg, 0.120 mmol)와 DIPEA(42.0 μL, 0.240 mmol)의 용액을 제조하고 0℃로 만들었다. THF 중의 미정제 **5a** 혼합물을 냉각된 **Int 1** 혼합물에 첨가하였다. 혼합물을 실온으로 만들어 18시간 동안 교반하였다. 이어서, 혼합물을 진공 상태에서 농축하여 건조시킨 다음 EtOAc(20 mL)에 재용해하였다. 생성된 혼합물을 2 M HCl(15 mL)으로 세척하였다. 합한 유기층을 $MgSO_4$로 건조하고, 여과하고, 농축하여 건조시켜 표제 화합물을 얻었다.

[0724] **단계 3:** *N*-(3-(5-(2-하이드록시-2-메틸프로폭시)벤조푸란-2-카르복스아미도)-4-메틸페닐)-2,3-디하이드로벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**실시예 5**)

[0725] THF(1.00 mL) 중의 *N*-(4-메틸-3-(5-(2-옥소프로폭시)벤조푸란-2-카르복스아미도)페닐)-2,3-디하이드로벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**5b**)(65.0 mg, 0.112 mmol)의 용액에 메틸마그네슘 브로마이드(THF 중의 1.0 M, 0.503 mL, 0.503 mmol)을 0℃에서 첨가하였다. 이어서, 물(2 mL)을 첨가하였다. 생성된 혼합물을 EtOAc(3 x 4 mL)로 추출하였다. 합한 유기층을 $MgSO_4$로 건조하고, 여과하고, 농축하여 건조시켰다. 잔류물을 제조용 HPLC로 정제하여 표제 화합물을 백색 고체로 얻었다.

[0726] ^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ ppm: δ 8.26 (s, 1H), 8.17 (s, 1H), 7.84 (s, 1H), 7.77 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.52 (s, 1H), 7.48 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.44 (s, 1H), 7.37 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.22 (s, 1H), 7.13 - 7.10 (m, 2H), 6.93 (d, *J* = 8.4, 1H), 4.34 - 4.26 (m, 4H), 3.85 (s, 2H), 2.39 (s, 3H), 1.38 (s, 6H). MS (ESI): m/z 517.5 $[M+H]^+$.

[0727] **실시예 6:** *N*-(3-(6-하이드록시벤조[*b*]티오펜-2-카르복스아미도)-4-메틸페닐)-2,3-디하이드록시벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**실시예 6**)



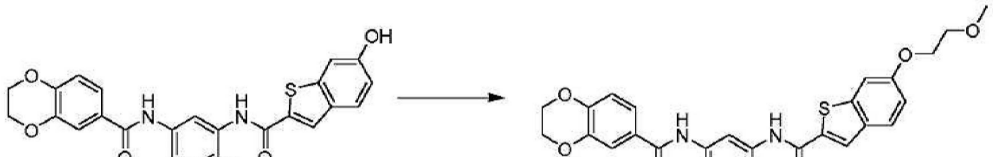
실시예 1/12 실시예 6

[0728]

[0729] DCM(15.8 mL) 중의 **실시예 1/12**(0.750 mg, 0.200 mmol)의 용액에 BBr_3(DCM 중의 1.0 M 용액, 7.9 mL, 0.800 mmol)를 -78℃에서 적가하였다. 혼합물을 -78℃에서 1시간 동안 교반한 다음, 천천히 실온으로 18시간 동안 가온하였다. EtOH(1.00 mL)를 0℃에서 적가하고, 혼합물을 실온으로 만들었다. 이것을 1 M HCl(3 x 30 mL), 포화 수성 $NaHCO_3$(3 x 30 mL), 및 염수(30 mL)로 세척하였다. 유기층을 $MgSO_4$로 건조하고, 농축시켜 건조하였다. 이어서, 혼합물을 제조용 HPLC로 정제하여 표제 화합물을 백색 고체로 얻었다.

[0730] ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: δ 10.04 (s, 1H), 10.0 (s, 1H), 9.94 (s, 1H), 8.17 (s, 1H), 7.84 (s, 1H), 7.79 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.59 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.55 - 7.47 (m, 2H), 7.32 (s, 1H), 7.23 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.02 - 6.93 (m, 2H), 4.37 - 4.27 (m, 4H), 2.23 (s, 3H). MS (ESI): m/z 461.4 $[M+H]^+$.

[0731] **실시예 7:** *N*-(3-(6-(2-메톡시에톡시)벤조[*b*]티오펜-2-카르복스아미도)-4-메틸페닐)-2,3-디하이드로벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**실시예 7**)



실시예 6 실시예 7

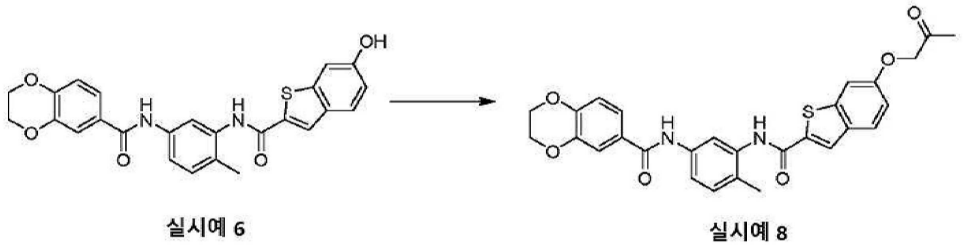
[0732]

[0733] DMF(0.380 mL) 중의 *N*-(3-(6-하이드록시벤조[*b*]티오펜-2-카르복스아미도)-4-메틸페닐)-2,3-디하이드록시벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**실시예 6**)(17.5 mg, 0.038 mmol) 및 K_2CO_3 (10.5 mg, 0.076 mmol)의 용액에 2-브로모에틸 메틸 에테르(5.80 mg, 0.042 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 120℃에서 1시간 동안 교반하였다. 혼합물을 제조용 HPLC로 정제하여 표제 화합물을 백색 고체로 얻었다.

[0734] ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: δ 10.06 (s, 1H), 10.05 (s, 1H), 8.23 (s, 1H), 7.92 - 7.82 (m, 2H), 7. 63 (s, 1H), 7.59 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.55 - 7.48 (m, 2H), 7.24 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.10 (d, *J*

= 8.8, 1H), 6.98 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 4.37 - 4.27 (m, 4H), 4.25 - 4.16 (m, 2H), 3.71 (t, J = 4.4 Hz, 2H), 3.34 (s, 3H), 2.23 (s, 3H). MS (ESI): m/z 519.5 $[M+H]^+$.

[0735] **실시예 8:** *N*-(4-메틸-3-(6-(2-옥소프로폭시)벤조[*b*]티오펜-2-카르복스아미도)페닐)-2,3-디하이드로벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**실시예 8**)



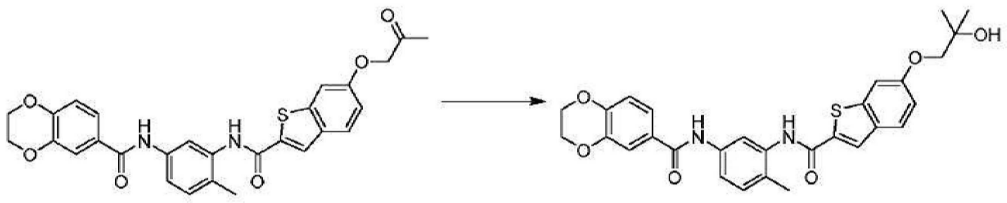
실시예 6 실시예 8

[0736]

[0737] DMF(0.326 mL) 중의 *N*-(3-(6-하이드록시벤조[*b*]티오펜-2-카르복스아미도)-4-메틸페닐)-2,3-디하이드록시벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**실시예 6**)(15.0 mg, 0.033 mmol) 및 K_2CO_3(3.00 μL, 0.039 mmol)의 용액에 클로로아세톤(3.00 μL, 0.039 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 100℃에서 1시간 동안 교반하였다. 혼합물을 제조용 HPLC로 정제하여 표제 화합물을 백색 고체로 얻었다.

[0738] ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: δ 10.08 (s, 1H), 10.04 (s, 1H), 8.23 (s, 1H), 7.93 - 7.82 (m, 2H), 7.66 - 7.48 (m, 4H), 7.24 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.11 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 6.98 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 4.94 (s, 2H), 4.38 - 4.26 (m, 4H), 2.23 (s, 3H), 2.20 (s, 3H). MS (ESI): m/z 515.2 $[M-H]^+$.

[0739] **실시예 9:** *N*-(3-(6-(2-하이드록시-2-메틸프로폭시)벤조[*b*]티오펜-2-카르복스아미도)-4-메틸페닐)-2,3-디하이드로벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**실시예 9**)



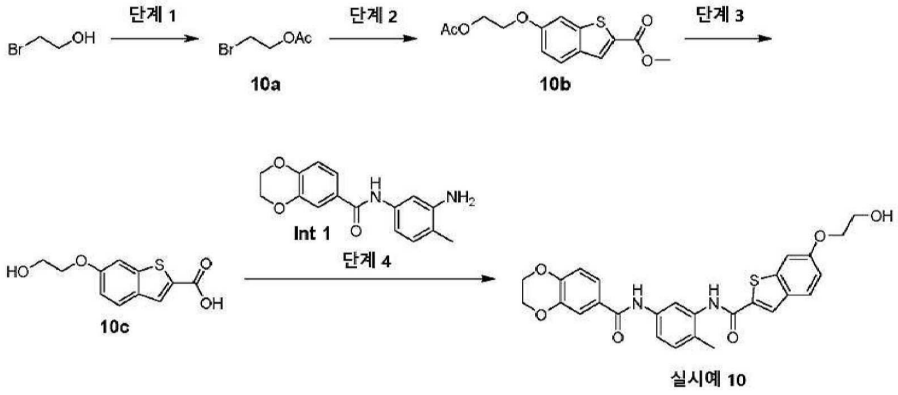
실시예 8 실시예 9

[0740]

[0741] THF(0.190 mL) 중의 *N*-(4-메틸-3-(6-(2-옥소프로폭시)벤조[*b*]티오펜-2-카르복스아미도)페닐)-2,3-디하이드로벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**실시예 8**)(10.0 mg, 0.019 mmol)의 용액에 MeMgBr(2 M, 0.015 mL, 0.031 mmol)을 0℃에서 첨가한 후, 실온으로 가온하였다. 1시간 후, 포화 수성 NH_4Cl(1 mL)을 혼합물에 첨가하였다. 이것을 제조용 HPLC로 정제하여 표제 화합물을 백색 고체로 얻었다.

[0742] ^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ ppm: δ 8.03 (s, 1H), 7.86 (s, 1H), 7.80 (s, 1H), 7.77 - 7.62 (m, 3H), 7.42 (s, 1H), 7.40 - 7.29 (m, 2H), 7.19 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.08 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 6.92 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 4.35 - 4.24 (m, 4H), 3.89 (s, 2H), 2.32 (s, 3H), 1.39 (s, 6H). MS (ESI): m/z 533.4 $[M+H]^+$.

[0743] **실시예 10:** *N*-(3-(6-(2-하이드록시에톡시)벤조[*b*]티오펜-2-카르복스아미도)-4-메틸페닐)-2,3-디하이드로벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**실시예 10**)



[0744]

[0745] **단계 1:** 2-브로모에틸 아세테이트(**10a**)

[0746] DCM(16.0 mL) 중의 2-브로모에탄올의 용액에 아세틸 클로라이드(0.683 mL, 9.67 mmol)를 첨가하고 TEA(0.728 mL, 10.6 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 72시간 동안 교반하였다. 혼합물을 DCM(50 mL)으로 희석하고 포화 수성 NH_4Cl(20mL)로 세척한 다음, 포화 수성 $NaHCO_3$(20 mL)로 세척하였다. 유기층을 $MgSO_4$로 건조하고, 여과하고, 농축하여 건조시켜 미정제 표제 화합물을 황색 액체로 얻었다.

[0747] **단계 2:** 메틸 6-(2-아세톡시에톡시)벤조[*b*]티오펜-2-카르복실레이트(**10b**)

[0748] DCM(3.20 mL) 중의 6-메톡시벤조[*b*]티오펜-2-카르복실레이트(**Int 4b**)(200 mg, 0.960 mmol) 및 Cs_2CO_3(250 mg, 1.15 mmol)의 용액에 미정제 2-브로모에틸 아세테이트(**10a**)(250 mg, 1.15 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 60℃에서 1시간 동안 교반하였다. 용매를 감압하에 제거하여 미정제 표제 화합물을 얻었다.

[0749] **단계 3:** 6-(2-하이드록시에톡시)벤조[*b*]티오펜-2-카르복실산(**10c**)

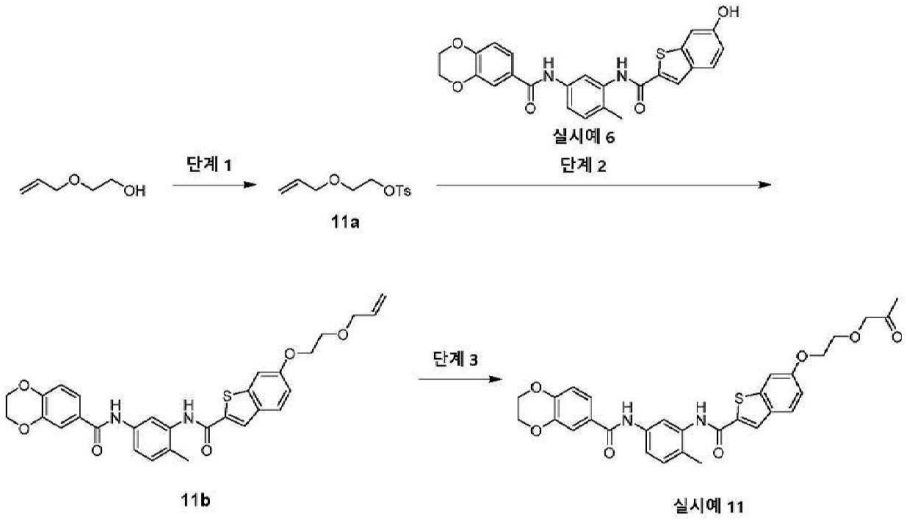
[0750] MeOH(4.00 mL) 중의 메틸 6-(2-아세톡시에톡시)벤조[*b*]티오펜-2-카르복실레이트(**10b**)(283 mg, 0.960 mmol)의 용액에 2 M 수성 NaOH(1.00 mL)를 첨가하였다. 이것을 환류시키고 1시간 동안 교반하였다. 혼합물을 실온으로 냉각시키고 pH를 1 M HCl로 약 pH 2로 조정하였다. 이어서, 혼합물을 EtOAc(3 x 30 mL)로 추출하였다. 유기층을 혼합하고, 염수로 세척하고, $MgSO_4$로 건조하고, 여과하고, 농축하여 건조시켜 표제 화합물을 연갈색 고체로 얻었다.

[0751] **단계 4:** *N*-(3-(6-(2-하이드록시에톡시)벤조[*b*]티오펜-2-카르복스아미도)-4-메틸페닐)-2,3-디하이드로벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**실시예 10**)

[0752] DMF(4.20 mL) 중의 *N*-(3-아미노-4-메틸페닐)-2,3-디하이드로벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**Int 1**)(298 mg, 1.05 mmol), 6-(2-하이드록시에톡시)벤조[*b*]티오펜-2-카르복실산(**10c**)(100 mg, 0.420 mmol)의 혼합물에 NMI(0.117 mL, 1.47 mmol)를 첨가하였다. 5분 후, TCFH(130 mg, 1.47 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 15분 동안 교반하였다. 이어서, 잔류물을 EtOAc(200 mL)로 희석하고 1 M HCl(3 x 30 mL)과 포화 수성 $NaHCO_3$(30 mL)으로 세척하였다. 유기층을 농축하여 건조시키고 실리카겔에서의 컬럼 크로마토그래피(아세톤/사이클로헥산 = 1:10)로 정제하였다. 생성된 고체를 MeCN(2 x 10mL)과 펜탄(7 x 5mL)으로 분쇄하였다. 이어서, 이것을 MeCN/물(1:1)에 현탁시키고 동결시킨 다음, 동결 건조기에 놓아서 표제 화합물을 백색 고체로 얻었다.

[0753] ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: 10.06 (s, 1H), 10.04 (s, 1H), 8.22 (s, 1H), 7.90 - 7.81 (m, 2H), 7.64 - 7.56 (m, 2H), 7.55 - 7.49 (m, 2H), 7.23 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.09 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 6.98 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 4.89 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H), 4.35 - 4.27 (m, 4H), 4.10 (t, *J* = 4.8 Hz, 2H), 3.80 - 3.72 (m, 2H), 2.23 (s, 3H). MS (ESI): m/z 503.2 $[M-H]^-$.

[0754] **실시예 11:** *N*-(4-메틸-3-(6-(2-(2-옥소프로폭시)에톡시)벤조[*b*]티오펜-2-카르복스아미도)페닐)-2,3-디하이드로벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**실시예 11**)



[0755]

[0756] **단계 1:** 2-(알릴옥시)에틸 4-메틸벤젠설포네이트(**11a**)

[0757] DCM(20.0 mL) 중의 2-알릴옥시에탄올(200 mg, 1.96 mmol)의 혼합물에 수산화나트륨(411 mg, 2.15 mmol) 및 4-톨루엔 설포닐 클로라이드(313 mg, 7.84 mmol)를 0℃에서 첨가한 후, 용액을 0.5시간 동안 교반하였다. 용액을 25℃에서 4시간 동안 교반하였다. 혼합물을 물(3 x 20 mL)로 세척하였다. 유기층을 Na_2SO_4로 건조하고, 여과하고, 농축하여 건조시켜 미정제 표제 화합물을 얻었다.

[0758] **단계 2:** *N*-(3-(6-(2-(알릴옥시)에톡시)벤조[*b*]티오펜-2-카르복스아미도)-4-메틸페닐)-2,3-디하이드로벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**11b**)

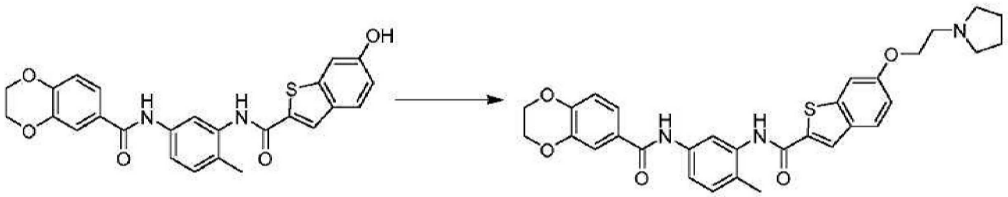
[0759] DMF(0.977 mL) 중의 *N*-(3-(6-하이드록시벤조[*b*]티오펜-2-카르복스아미도)-4-메틸페닐)-2,3-디하이드록시벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**실시예 6**)(45.0 mg, 0.097 mmol) 및 K_2CO_3(27.0 mg, 0.195 mmol)의 용액에 2-(알릴옥시)에틸 4-메틸벤젠설포네이트(**11a**)(27.6 mg, 0.107 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 120℃에서 18시간 동안 교반하였다. 용매를 감압하에 제거하여 미정제 표제 화합물을 얻었다.

[0760] **단계 3:** *N*-(4-메틸-3-(6-(2-(2-옥소프로폭시)에톡시)벤조[*b*]티오펜-2-카르복스아미도)페닐)-2,3-디하이드로벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**실시예 11**)

[0761] MeCN(1.00 mL) 및 물(0.150 mL) 중의 *N*-(3-(6-(2-(알릴옥시)에톡시)벤조[b]티오펜-2-카르복스아미도)-4-메틸페닐)-2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**11b**)(30.0 mg, 0.055 mmol)의 교반된 용액에 $Pd(OAc)_2$(0.600 mg, 0.003 mmol) 및 DMP(28.0 mg, 0.066 mmol)를 실온에서 첨가하였다. 혼합물을 50℃로 가온하고 18시간 동안 교반하였다. 이것을 제조용 HPLC로 정제하여 표제 화합물을 백색 고체로 얻었다.

[0762] ^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ ppm: δ 8.09 (s, 1H), 7.84 - 7.69 (m, 4H), 7.64 (s, 1H), 7.43 (s, 1H), 7.40 - 7.31 (m, 2H), 7.22 (s, 1H), 7.09 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 6.94 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 4.37 - 4.24 (m, 6H), 4.21 (s, 2H), 3.95 (t, *J* = 4.8 Hz, 2H), 2.35 (s, 3H), 2.19 (s, 3H). MS (ESI): m/z 561.5 $[M+H]^+$.

[0763] **실시예 12:** *N*-(4-메틸-3-(6-(2-(피롤리딘-1-일)에톡시)벤조[*b*]티오펜-2-카르복스아미도)페닐)-2,3-디하이드로벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**실시예 12**)



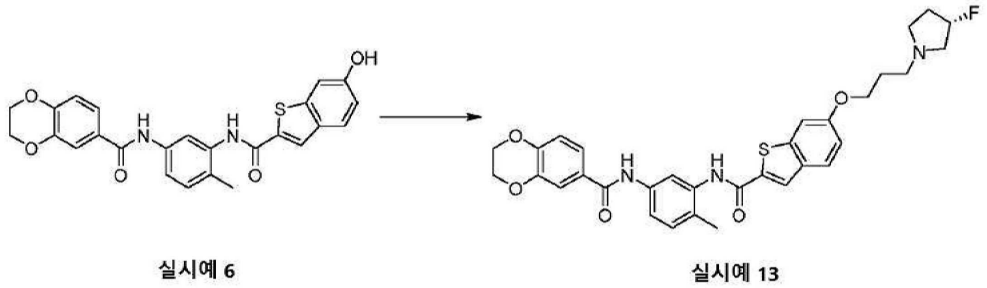
실시예 6 실시예 12

[0764]

[0765] DMF(0.391 mL) 중의 *N*-(3-(6-하이드록시벤조[*b*]티오펜-2-카르복스아미도)-4-메틸페닐)-2,3-디하이드록시벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**실시예 6**)(20.0 mg, 0.043 mmol) 및 NaH(1.90 mg, 0.086 mmol)의 용액에 1-(2-클로로에틸)피롤리딘 하이드로클로라이드(7.3 mg, 0.047 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 50℃에서 18시간 동안 교반하였다. 이것을 제조용 HPLC로 정제하여 표제 화합물을 백색 고체로 얻었다.

[0766] ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: δ 10.06 (s, 1H), 10.05 (s, 1H), 8.22 (s, 1H), 7.92 - 7.81 (m, 2H), 7.63 (s, 1H), 7.59 (d, *J* = 8.0, 1H), 7.56 - 7.47 (m, 2H), 7.24 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.09 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 6.98 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 4.36 - 4.27 (m, 4H), 4.18 (t, *J* = 5.8 Hz, 2H), 2.84 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H), 2.23 (s, 3H), 1.77 - 1.65 (m, 4H). MS (ESI): m/z 558.6 $[M+H]^+$.

[0767] **실시예 13:** (*S*)-*N*-(3-(6-(3-(3-플루오로피롤리딘-1-일)프로폭시)벤조[*b*]티오펜-2-카르복스아미도)-4-메틸페닐)-2,3-디하이드로벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**실시예 13**)



실시예 6 실시예 13

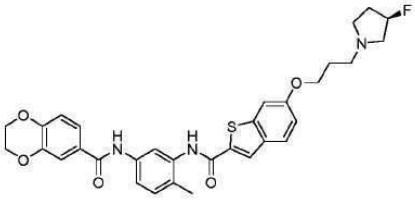
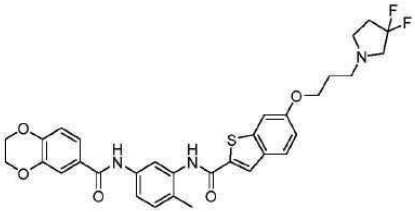
[0768]

[0769] DMF(1.10 mL) 중의 *N*-(3-(6-하이드록시벤조[*b*]티오펜-2-카르복스아미도)-4-메틸페닐)-2,3-디하이드록시벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**실시예 6**)(50.0 mg, 0.108 mmol)의 용액에 K_2CO_3 (33.0 mg, 0.238 mmol) 및 1-브로모-3-클로로프로판(0.013 mL, 0.130 mmol)를 첨가하였다. 이것을 65℃로 만들어 18시간 동안 교반하였다. 그 후, (*S*)-3-플루오로피롤리딘 하이드로클로라이드(16.4 mg, 0.130 mmol) 및 K_2CO_3(11.5 mg, 0.116 mmol)를 첨가하고 65℃에서 24시간 동안 교반하였다. 이것을 제조용 HPLC로 정제하여 표제 화합물을 백색 고체로 얻었다.

[0770] ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: δ 10.06 (s, 1H), 10.05 (s, 1H), 8.22 (s, 1H), 7.92 - 7.81 (m, 2H), 7.65 - 7.47 (m, 4H), 7.24 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.08 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 6.98 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 5.20 (dt, *J* = 13.5, 5.4 Hz, 1H), 4.38 - 4.25 (m, 4H), 4.13 (t, *J* = 6.3 Hz, 2H), 2.92 - 2.74 (m, 2H), 2.73 - 2.74 (m, 1H), 2.63 - 2.54 (m, 2H), 2.39 - 2.28 (m, 1H), 2.23 (s, 3H), 2.20 - 2.01 (m, 1H), 1.99 - 1.89 (m, 2H), 1.88 - 1.74 (m, 1H). MS (ESI): m/z 590.6 $[M+H]^+$.

[0771] 실시예 13/1 내지 13/3

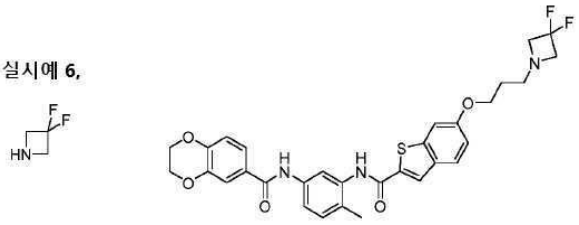
[0772] 다음 실시예들은 적절한 빌딩 블록을 사용하여 **실시예 13**에 대해 설명한 것과 유사하게 제조하였다.

#	빌딩 블록	구조	분석 데이터
13/1	실시예 6, 		^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: δ 10.06 (s, 1H), 10.05 (s, 1H), 8.24 – 8.20 (m, 1H), 7.91 – 7.83 (m, 2H), 7.65 – 7.56 (m, 2H), 7.55 – 7.48 (m, 2H), 7.24 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.08 (d, *J* = 8.9, 1H), 6.98 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 5.20 (dt, *J* = 13.2, 5.4 Hz, 1H), 4.37 – 4.25 (m, 4H), 4.13 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H), 2.92 – 2.74 (m, 2H), 2.73 – 2.64 (m, 1H), 2.63 – 2.52 (m, 2H), 2.39 – 2.28 (m, 1H), 2.23 (s, 3H), 2.21 – 2.01 (m, 1H), 1.99 – 1.89 (m, 2H), 1.89 – 1.76 (m, 1H). MS (ESI): m/z 590.6 $[M+H]^+$.
13/2	실시예 6, 		^{1}H NMR (300 MHz, MeOD-d_3) δ ppm: δ 8.07 (s, 1H), 7.83 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 7.76 (s, 1H), 7.55 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.51 – 7.42 (m, 3H), 7.29

[0773]

(d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.09 (s, J = 8.6 Hz, 1H), 6.95 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 4.37 – 4.27 (m, 4H), 4.17 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 3.04 – 2.91 (m, 2H), 2.83 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H), 2.73 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H), 2.41 – 2.20 (m, 5H), 2.10 – 1.98 (m, 2H). MS (ESI): m/z 608.6 $[M+H]^+$.

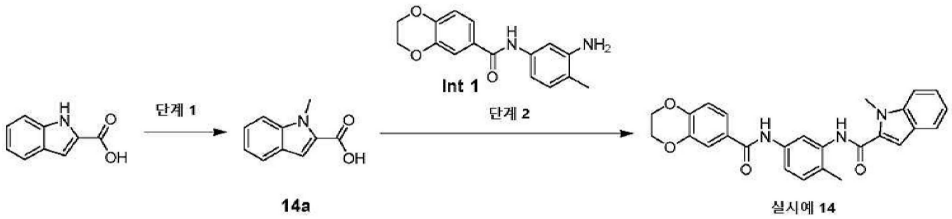
실시예 6, 13/3



^{1}H NMR (300 MHz, MeOD-d_3) δ ppm: 8.05 (s, 1H), 7.81 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.53 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.49 – 7.43 (m, 3H), 7.28 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.07 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 6.93 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 4.34 – 4.26 (m, 4H), 4.13 (t, *J* = 5.9 Hz, 2H), 3.65 (t, *J* = 12.1 Hz, 4H), 2.82 (t, J = 6.9 Hz, 2H), 2.31 (s, 3H), 1.92 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H). MS (ESI): m/z 594.5 $[M+H]^+$.

[0774]

[0775] **실시예 14:** *N*-(5-(2,3-디하이드로벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미도)-2-메틸페닐)-1-메틸-1*H*-인돌-2-카르복스아미드(**실시예 14**)



[0776]

[0777] **단계 1:** 1-메틸-1*H*-인돌-2-카르복실산(**14a**)

[0778] 무수 DMF(0.621 mL) 중의 1*H*-인돌-2-카르복실산(10.0 mg, 0.062 mmol)의 혼합물에 NaH(4.80 mg, 0.200 mmol)를 0℃에서 첨가하였다. 혼합물을 0℃에서 15분 동안 교반하고, MeI(12.0 μL, 0.200 mol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온으로 만들어 18시간 동안 교반하였다. 이어서, 진공 상태에서 용매를 제거하였다. 잔류물에 물(10 mL)을 첨가하고 pH를 pH 3으로 조정하였다. 생성된 혼합물을 EtOAc(10 mL x 3)로 추출하였다. 합한 유기층을 $MgSO_4$로 건

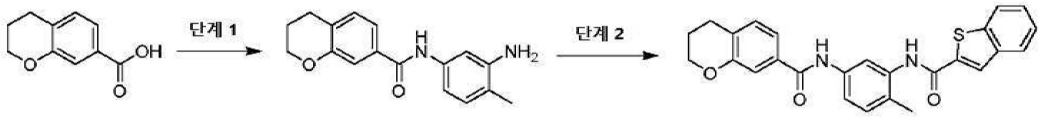
조하고, 여과하고, 농축하여 건조시켜 미정제 1-메틸-1*H*-인돌-2-카르복실산을 얻었다.

[0779] **단계 2:** *N*-(5-(2,3-디하이드로벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미도)-2-메틸페닐)-1-메틸-1*H*-인돌-2-카르복스아미드(**실시예 14**)

[0780] DMF(0.350 mL) 중의 *N*-(3-아미노-4-메틸페닐)-2,3-디하이드로벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**Int 1**)(10.0 mg, 0.035 mmol), 1-메틸-1*H*-인돌-2-카르복실산(**14a**)(7.40 mg, 0.042 mmol)의 혼합물에 NMI(8.00 μL, 0.106 mmol)를 첨가하였다. 5분 후, TCFH(10.9 mg, 0.039 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 이어서, 잔류물을 농축하여 건조시키고, 제조용 HPLC로 정제하여 표제 화합물을 백색 고체로 얻었다.

[0781] ^{1}H NMR (300 MHz, MeOD-d_3) δ ppm: δ 7.80 (s, 1H), 7.67 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.56 - 7.43 (m, 4H), 7.37 - 7.24 (m, 3H), 7.14 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 6.94 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 4.36 - 4.24 (m, 4H), 4.05 (s, 3H), 2.33 (s, 3H). MS (ESI): m/z 442.4 $[M+H]^+$.

[0782] **실시예 15:** *N*-(3-(벤조[*b*]티오펜-2-카르복스아미도)-4-메틸페닐)크로만-7-카르복스아미드(**실시예 15**)



15a **실시예 15**

[0783]

[0784] **단계 1:** *N*-(3-아미노-4-메틸페닐)크로만-7-카르복스아미드(**15a**)

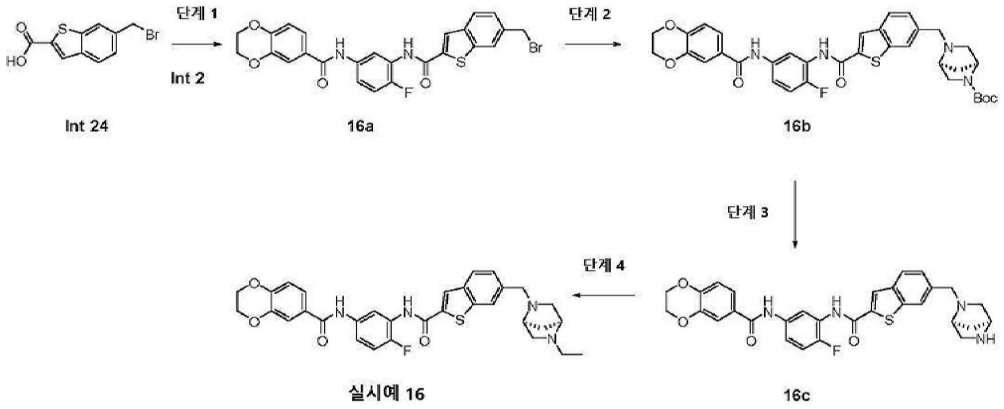
[0785] DMF(0.949 mL) 중의 크로만-7-카르복실산(50.0 mg, 0.409 mmol), 2,4- 다이아미노톨루엔(72.9 mg, 0.409 mmol)의 혼합물에 NMI(98.0 μL, 1.23 mmol)를 첨가하였다. 5분 후, TCFH(149 mg, 0.532 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 반응물을 1 M HCl(40 mL)로 희석하고 EtOAc(3 x 30 mL)로 세척하였다. 수성층을 pH 3으로 조정하고, EtOAc(3 x 50 mL)로 추출하고, $MgSO_4$로 건조하여, 여과하고, 농축하여 건조시켜 표제 화합물을 얻었다.

[0786] **단계 2:** *N*-(3-(벤조[*b*]티오펜-2-카르복스아미도)-4-메틸페닐)크로만-7-카르복스아미드(**실시예 15**)

[0787] DMF(1.50 mL) 중의 *N*-(3-아미노-4-메틸페닐)크로만-7-카르복스아미드(**15a**)(104 mg, 0.368 mmol), 1-벤조티오펜-2-카르복실산(65.6 mg, 0.368 mmol)의 혼합물에 NMI(88.0 μL, 1.105 mmol)를 첨가하였다. 5분 후, TCFH(134 mg, 0.479 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 이어서, MeCN/물(5 mL)을 혼합물에 첨가하고 침전된 고체를 MeCN/물(1:1)로 분쇄하여 표제 화합물을 백색 고체로 얻었다.

[0788] ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: δ 10.20 (s, 1H), 10.02 (s, 1H), 8.33 (s, 1H), 8.07 (d, *J* = 7.6, 1H), 9.01 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H) 7.86 (s, 1H), 7.78 - 7.67 (m, 2H), 7.61 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.54 - 7.42 (m, 2H), 7.25 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.84 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 4.21 (t, *J* = 5.1 Hz, 2H), 2.83 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 2.24 (s, 3H), 2.01 - 1.91 (m, 2H). MS (ESI): m/z 443.4 $[M+H]^+$.

[0789] **실시예 16:** *N*-(3-(6-(((1S,4S)-5-에틸-2,5-디아자비사이클로[2.2.1]헵탄-2-일)메틸)벤조[b]티오펜-2-카르복스아미도)-4-플루오로페닐)-2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**실시예 16**)



[0790]

[0791] **단계 1:** *N*-(3-(6-(브로모메틸)벤조[b]티오펜-2-카르복스아미도)-4-플루오로페닐)-2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**16a**)

[0792] 표제 화합물은 실시예 3에 대해 설명한 것과 유사하게, 6-(피리딘-2-일메톡시)벤조[b]티오펜-2-카르복실산 대신에 6-(브로모메틸)벤조[b]티오펜-2-카르복실산(**Int 24**)을 사용하고 N-(3-아미노-4-메틸페닐)-2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드 대신에 N-(3-아미노-4-플루오로페닐)-2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**Int 2**)를 사용하여 제조하였다.

[0793] **단계 2:** *tert*-부틸 (1S,4S)-5-((2-((5-(2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미도)-2-플루오로페닐)카바모일)벤조[b]티오펜-6-일)메틸)-2,5-디아자비사이클로[2.2.1]헵탄-2-카르복실레이트(**16b**)

[0794] 무수 DMF(0.300 mL) 중의 *N*-(3-(6-(브로모메틸)벤조[b]티오펜-2-카르복스아미도)-4-플루오로페닐)-2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**16a**)(17.0 mg, 0.031 mmol)의 용액에 (1S,4S)-*tert*-부틸 2,5-디아자비사이클로[2.2.1]헵탄-2-카르복실레이트(6.2 mg, 0.031 mmol) 및 Cs_2CO_3 (11.3 mg, 0.035 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 60℃에서 3시간 동안 교반하였다. 혼합물을 EtOAc(20 mL)로 희석하고 1 M HCl(10 mL)와 물(10 mL)로 세척하였다. 유기층을 $MgSO_4$로 건조하고, 여과하고, 농축하여 건조시켜 표제 화합물을 얻었으며, 이를 추가 정제 없이 다음 단계에서 사용하였다.

[0795] **단계 3:** *N*-(3-(6-(((1S,4S)-2,5-디아자비사이클로[2.2.1]헵탄-2-일)메틸)벤조[b]티오펜-2-카르복스아미도)-4-플루오로페닐)-2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**16c**)

[0796] 무수 DCM(0.300 mL) 중의 *tert*-부틸 (1S,4S)-5-((2-((5-(2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미도)-2-플루오로페닐)카바모일)벤조[b]티오펜-6-일)메틸)-2,5-디아자비사이클로[2.2.1]헵탄-2-카르복실레이트(**16b**)(20 mg, 0.030 mmol)의 용액에 TFA(0.100 mL)를 0℃에서 적가하였다. 혼합물을 실온으로 가온하고 2시간 동안 교반하였다. 포화 $NaHCO_3$를 첨가하고 수성층을 DCM(3 x 15 mL)으로 추출하였다. 합한 유기층을 $MgSO_4$로 건조하고, 여과하고, 농축하여 건조시켜 표제 화합물을 얻었으며, 이를 추가 정제 없이 다음 단계에서 사용하였다.

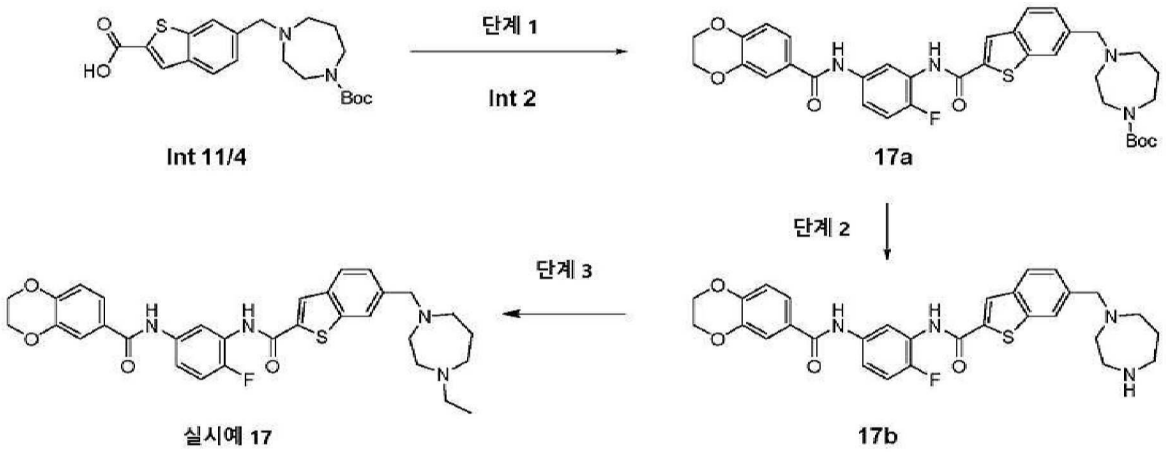
[0797] **단계 4:** *N*-(3-(6-(((1S,4S)-5-에틸-2,5-디아자비사이클로[2.2.1]헵탄-2-일)메틸)벤조[b]티오펜-2-카르복스아미도)-4-플루오로페닐)-2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**실시예 16**)

[0798] 무수 DMF(0.143 mL) 중의 *N*-(3-(6-(((1S,4S)-2,5-디아자비사이클로[2.2.1]헵탄-2-일)메틸벤조[b]티오펜-2-카르복스아미도)-4-플루오로페닐)-2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**16c**)(8.0 mg, 0.014 mmol)의 용액에 $NaBH_3CN$(0.9 mg, 0.014 mmol)를 첨가하고 혼합물을 0℃로 냉각하였다. 0.5 mL DMF 중의 용액으로 아세트알데하이드(0.001 mL, 0.014 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 5시간 동안 교반하였다. 포화 $NaHCO_3$(10 mL)를 첨가하고 수성층을 EtOAc(3 x 15 mL)로 추출하였다. 합한 유기층을 $MgSO_4$로 건조하고, 여과하고, 농축하여 건조시켰다. 잔류물을 제조용 HPLC로 정제하여 표제 화합물을 백색 고체로 얻었다.

[0799] ^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD): δ ppm 8.19 - 8.12 (m, 2H), 7.98 (s, 1H), 7.94 (d, *J* = 9 Hz, 1H), 7.62 - 7.54 (m, 1H), 7.54 - 7.46 (m, 3H), 7.23 (t, *J* = 9.6 Hz, 1H), 6.96 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 4.36-4.29 (m, 4H), 4.03 - 3.80 (m, 3H), 3.55 (s, 2H), 3.12 - 2.76 (m, 5H), 2.82 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H), 2.11 - 1.89

(m, 2H), 1.24 (t, J = 7.1 Hz, 3H). MS (ESI): m/z 587.6 $[M+H]^+$.

[0800] **실시예 17:** *N*-(3-(6-((4-에틸-1,4-디아제판-1-일)메틸)벤조[b]티오펜-2-카르복스아미도)-4-플루오로페닐)-2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**실시예 17**)



[0801]

[0802] **단계 1:** *tert*-부틸 4-((2-((5-(2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미도)-2-플루오로페닐)카바모일)벤조[b]티오펜-6-일)메틸)-1,4-디아제판-1-카르복실레이트(**17a**)

[0803] 표제 화합물은 실시예 3에 대해 설명한 것과 유사하게, 6-((피리딘-2-일옥시)메틸)벤조[b]티오펜-2-카르복실산 대신에 6-((4-(*tert*-부톡시카르보닐)-1,4-디아제판-1-일)메틸)벤조[b]티오펜-2-카르복실산(**Int 11/4**)을 사용하고 *N*-(3-아미노-4-메틸페닐)-2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드 대신에 *N*-(3- 아미노-4-플루오로페닐)-2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**Int 2**)를 사용하여 제조하였다.

[0804] **단계 2:** *N*-(3-(6-((1,4-디아제판-1-일)메틸)벤조[b]티오펜-2-카르복스아미도)-4-플루오로페닐)-2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**17b**)

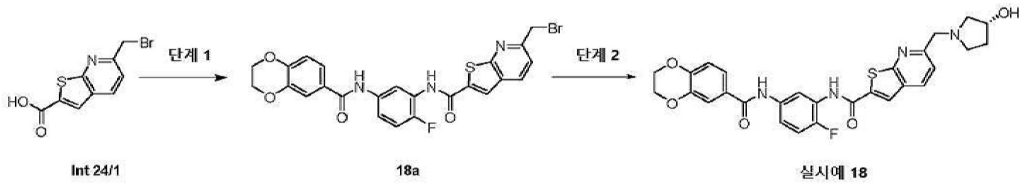
[0805] DCM(0.690 mL) 중의 *tert*-부틸 4-((2-((5-(2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미도)-2-플루오로페닐)카바모일)벤조[b]티오펜-6-일)메틸)-1,4-디아제판-1-카르복실레이트(**17a**)(45.6 mg, 0.069 mmol)의 용액에 TFA(0.200 mL)를 0℃에서 적가하였다. 혼합물을 실온으로 가온하였다. 2시간 후 반응물을 포화 $NaHCO_3$로 퀜칭하였다. 수성층을 DCM(3 x 20 mL)으로 추출하였다. 합한 유기층을 무수 $MgSO_4$로 건조하고, 여과하고, 농축하여 건조시켜 표제 화합물을 얻었다.

[0806] **단계 3:** *N*-(3-(6-((4-에틸-1,4-디아제판-1-일)메틸)벤조[b]티오펜-2-카르복스아미도)-4-플루오로페닐)-2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**실시예 17**)

[0807] 무수 DMF(0.214 mL) 중의 *N*-(3-(6-((1,4-디아제판-1-일)메틸)벤조[b]티오펜-2-카르복스아미도)-4-플루오로페닐)-2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**17b**)(24.0 mg, 0.043 mmol)의 용액에 Cs_2CO_3(13.9 mg, 0.043 mmol)를 첨가하고, 요오도에탄(0.003 mL, 0.043 mmol)을 실온에서 첨가하였다. 혼합물을 18시간 동안 교반하였다. 혼합물을 농축하여 건조시키고 잔류물을 제조용 HPLC로 정제하여 표제 화합물을 백색 고체로 얻었다.

[0808] ^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD): δ ppm 11.22 (s, 1H), 10.98 (s, 1H), 9.15 (s, 1H), 8.92 (d, J = 9 Hz, 1H), 8.80 - 8.72 (m, 2H), 8.50 - 8.42 (m, 1H), 8.38 - 8.22 (m, 3H), 8.10 (t, J = 9.3 Hz, 1H), 7.80 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 5.13 (m, 4H), 4.56 (s, 2H), 4.05 - 3.90 (m, 4H), 3.55 - 3.40 (m, 6H) 2.60 - 2.50 (m, 2H), 1.80 (t, J = 6.9 Hz, 3H) MS (ESI): m/z 589.6 $[M+H]^+$.

[0809] **실시예 18:** (*R*)-*N*-(5-(2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미도)-2-플루오로페닐)-6-((3-하이드록시피롤리딘-1-일)메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복스아미드(**실시예 18**)

[0810] 

[0811] **단계 1:** 6-(브로모메틸)-*N*-(5-(2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미도)-2-플루오로페닐)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복스아미드(**18a**)

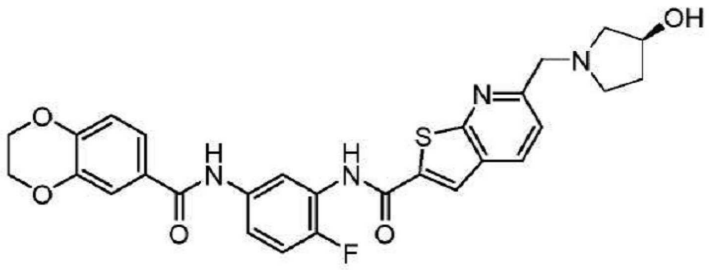
[0812] 표제 화합물은 실시예 3에 대해 설명한 것과 유사하게, 6-((피리딘-2-일옥시)메틸)벤조[b]티오펜-2-카르복실산 대신에 6-(브로모메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실산(**Int 24/1**)을 사용하고 N-(3-아미노-4-메틸페닐)-2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드 대신에 N-(3-아미노-4-플루오로페닐)-2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**Int 2**)를 사용하여 제조하였다.

[0813] **단계 2:** (*R*)-*N*-(5-(2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미도)-2-플루오로페닐)-6-((3-하이드록시피롤리딘-1-일)메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복스아미드(**실시예 18**)

[0814] 무수 DMF(0.184 mL) 중의 6-(브로모메틸)-*N*-(5-(2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미도)-2-플루오로페닐)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복스아미드(**18a**)(10.0 mg, 0.018 mmol)의 용액에 Et_3N(0.003 mL, 0.020 mmol) 및 (*R*)-피롤리딘-3-올(1.7 mg, 0.019 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 60℃에서 18시간 동안 교반하였다. 혼합물을 농축하여 건조시키고 잔류물을 제조용 HPLC로 정제하여 표제 화합물을 백색 고체로 얻었다.

[0815] ^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD): δ ppm 8.35 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 8.18 - 8.10 (m, 2H), 7.61 - 7.51 (m, 2H), 7.49 - 7.41 (m, 2H), 7.21 (t, *J* = 9.5 Hz, 1H), 6.93 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 4.48 (s, 1H), 4.35 (s, 2H), 4.32 - 4.25 (m, 4H), 3.32 - 3.17 (m, 2H), 3.16 - 2.96 (m, 2H), 2.32 - 2.11 (m, 1H), 1.99 - 1.86 (m, 1H). MS (ESI): m/z 549.5 $[M+H]^+$.

[0816] **실시예 18/1:** (*S*)-*N*-(5-(2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미도)-2-플루오로페닐)-6-((3-하이드록시피롤리딘-1-일)메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복스아미드(**실시예 18/1**)



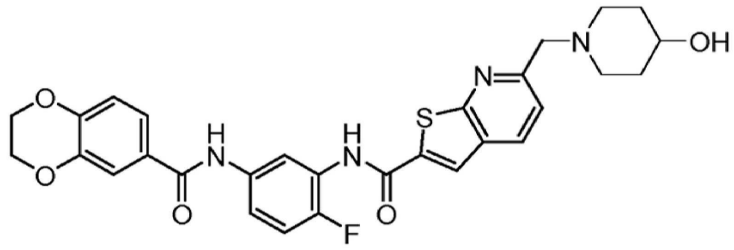
실시예 18/1

[0817]

[0818] 표제 화합물은 **실시예 18**에 대해 설명한 것과 유사하게, 단계 2에서 (*R*)-피롤리딘-3-올 대신에 (*S*)-피롤리딘-3-올을 사용하여 제조하였다.

[0819] ^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD): δ ppm: 8.38 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 8.20 - 8.10 (m, 2H), 7.62 - 7.52 (m, 2H), 7.50 - 7.43 (m, 2H), 7.22 (t, *J* = 9.5 Hz, 1H), 6.94 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 4.52 (s, 1H), 4.45 (s, 2H), 4.34 - 4.27 (m, 4H), 3.48 - 3.34 (m, 2H), 3.30 - 3.08 (m, 2H), 2.34 - 2.18 (s, 1H), 2.02 - 1.93 (m, 1H). MS (ESI): m/z 549.5 $[M+H]^+$.

[0820] **실시예 18/2:** *N*-(5-(2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미도)-2-플루오로페닐)-6-((4-하이드록시피페리딘-1-일)메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복스아미드(**실시예 18/2**)



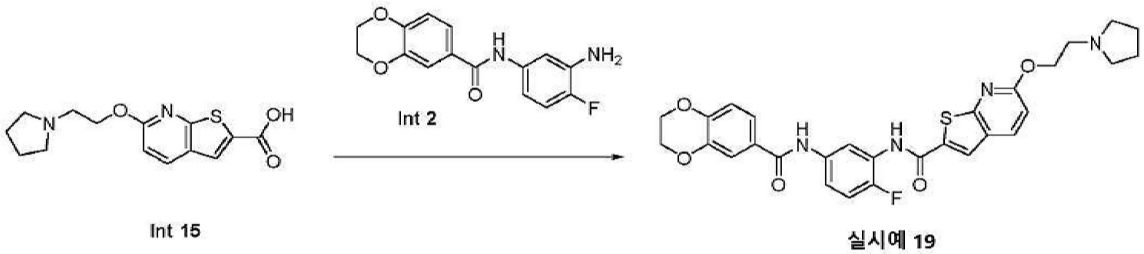
실시예 18/2

[0821]

[0822] 표제 화합물은 **실시예 18**에 대해 설명한 것과 유사하게, 단계 2에서 (3*R*)-3-피롤리디놀 대신에 피페리딘-4-올을 사용하여 제조하였다.

[0823] ^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD): δ ppm 8.37 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 8.19 - 8.10 (m, 2H), 7.63 - 7.51 (m, 2H), 7.50 - 7.43 (m, 2H), 7.21 (t, *J* = 9.6 Hz, 1H), 6.94 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 4.34 - 4.25 (m, 4H), 4.21 (s, 2H), 3.88 - 3.77 (m, 1H), 3.26 - 3.15 (m, 2H), 2.88 - 2.76 (m, 2H), 2.06 - 1.93 (m, 2H), 1.83 - 1.67 (m, 2H). MS (ESI): m/z 563.5 $[M+H]^+$.

[0824] **실시예 19:** *N*-(5-(2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미도)-2-플루오로페닐)-6-(2-(피롤리딘-1-일)에톡시)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복스아미드(**실시예 19**)

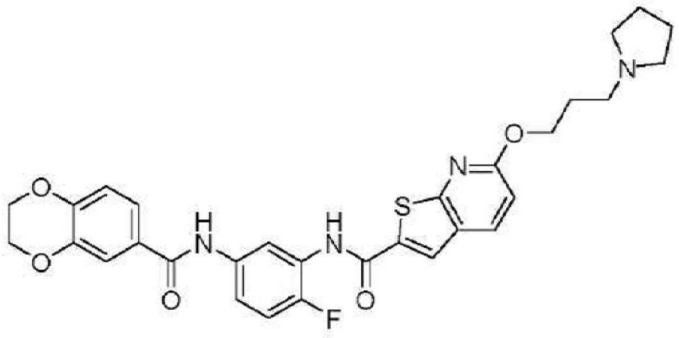


[0825]

[0826] 아세토니트릴(10 mL) 중의 6-(2-(피롤리딘-1-일)에톡시)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실산(**Int 15**)(260 mg, 0.89 mmol) 및 *N*-(3-아미노-4-플루오로페닐)-2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**Int 2**)(257 mg, 0.89 mmol)의 용액에 NMI(255 mg, 3.11 mmol) 및 TCFH(448 mg, 1.6 mmol)를 첨가한 후, 혼합물을 25℃에서 3시간 동안 교반하였다. 혼합물을 물에 부었다. 혼합물을 EtOAc(3 x 10 mL)로 추출하였다. 합한 유기층을 염수로 세척하고, 무수 Na_2SO_4로 건조하고, 여과하고, 농축하여 건조시켰다. 잔류물을 역상 컬럼 크로마토그래피(용매 A: H_2O, 용매 B: MeCN)로 정제하여 표제 화합물을 얻었다.

[0827] ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ ppm 8.23 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 8.14 (dd, *J* = 6.8, 2.4 Hz, 1H), 8.08 (s, 1H), 7.56 - 7.52 (m, 1H), 7.49 - 7.45 (m, 2H), 7.25 - 7.17 (m, 1H), 7.00 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 6.94 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 4.78 - 4.71 (m, 2H), 4.35 - 4.27 (m, 4H), 3.63 - 3.56 (m, 2H), 3.38 - 3.34 (m, 4H), 2.10 - 2.06 (m, 4H). MS (ESI): m/z 563.7 $[M+H]^+$.

[0828] **실시예 19/1:** *N*-(5-(2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미도)-2-플루오로페닐)-6-(3-(피롤리딘-1-일)프로폭시)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복스아미드(**실시예 19/1**)



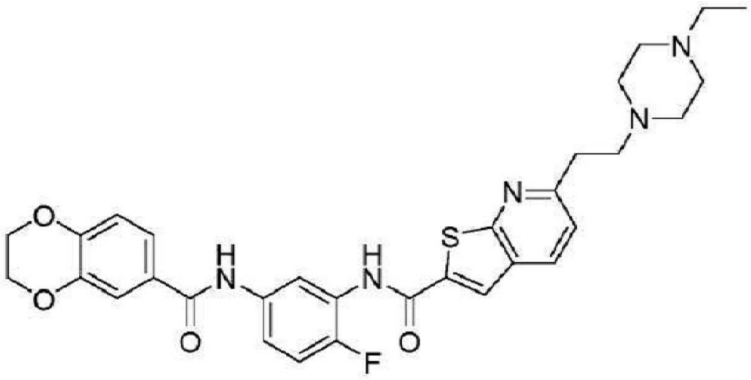
실시예 19/1

[0829]

[0830] 표제 화합물은 **실시예 19**에 대해 설명한 것과 유사하게, 6-(2-(피롤리딘-1-일)에톡시)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실산(**Int 15**) 대신에 6-(3-(피롤리딘-1-일)프로폭시)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실산(**Int 15/1**)을 사용하여 제조하였다.

[0831] ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ ppm 10.45 (s, 1H), 10.18 (s, 1H), 8.35 - 8.29 (m, 2H), 8.13-8.11 (m, 1H), 7.63 - 7.50 (m, 3H), 7.32 - 7.28 (m, 1H), 7.01 - 6.97 (m, 2H), 4.46 (t, J = 4.0 Hz, 2H), 4.33 -4.30 (m, 4H), 3.70 - 3.40 (m, 2H), 3.33-3.30 (m, 2H), 3.20 - 2.98 (m, 2H), 2.20 - 2.15 (m, 2 H), 2.08 - 2.95 (m, 4H). MS (ESI): m/z 577.6 $[M+H]^+$.

[0832] **실시예 19/2**: *N*-(5-(2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미도)-2-플루오로페닐)-6-(2-(4-에틸피페라진-1-일)에틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복스아미드(**실시예 19/2**)



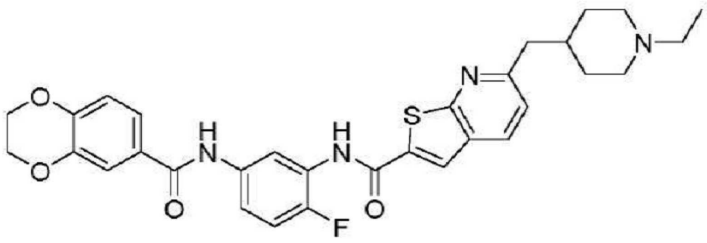
실시예 19/2

[0833]

[0834] 표제 화합물은 **실시예 19**에 대해 설명한 것과 유사하게, 6-(2-(피롤리딘-1-일)에톡시)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실산(**Int 15**) 대신에 6-(2-(4-에틸피페라진-1-일)에틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실산(**Int 19**)을 사용하여 제조하였다.

[0835] ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ ppm 10.52 (s, 1H), 10.18 (s, 1H), 8.34 - 8.31 (m, 2H), 8.11-8.09 (m, 1H), 7.54 -7.53 (m, 1H), 7.47 - 7.45 (m, 3H), 7.30 (t, J = 8 Hz, 1H), 7.01 (d, J = 8 Hz, 1H), 4.32 - 4.31 (m, 4H), 3.06 - 3.02 (m, 2H), 2.73-2.70 (m, 2H), 2.34 - 2.26 (m, 10H), 0.98 (t, J = 8 Hz, 3H). MS (ESI): m/z 590.1 $[M+H]^+$.

[0836] **실시예 19/3**: *N*-(5-(2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미도)-2-플루오로페닐)-6-((1-에틸피페리딘-4-일)메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복스아미드(**실시예 19/3**)



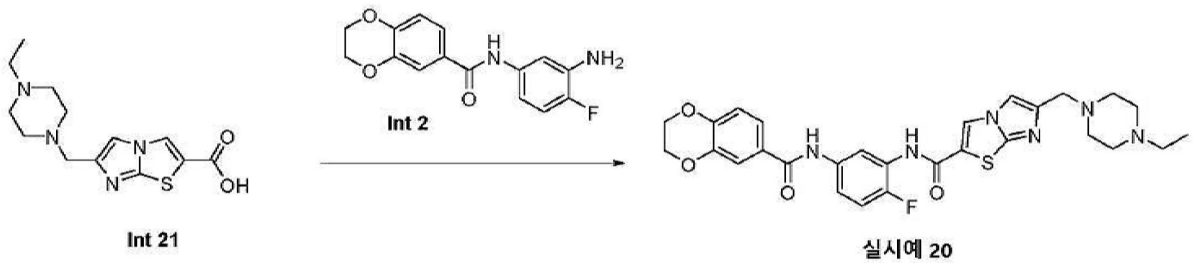
실시예 19/3

[0837]

[0838] 표제 화합물은 **실시예 19**에 대해 설명한 것과 유사하게, 6-(2-(피롤리딘-1-일)에톡시)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실산(**Int 15**) 대신에 6-((1-에틸피페리딘-4-일)메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실산(**Int 20**)을 사용하여 제조하였다.

[0839] ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ ppm 10.52 (s, 1H), 10.19 (s, 1H), 8.33 - 8.31 (m, 2H), 8.12-8.11 (m, 1H), 7.69 - 7.67 (m, 1H), 7.66 - 7.53 (m, 2H), 7.51-7.31 (m, 2H), 7.28 - 6.99 (m, 1H), 4.33 - 4.30 (m, 4H), 2.83 - 2.79 (m, 4H), 2.27 - 2.24 (m, 2H), 1.82 - 1.76 (m, 3H), 1.57 - 1.54 (m, 2H), 1.29 - 1.24 (m, 2H), 0.96 (t, J = 8 Hz, 3H). MS (ESI): m/z 575.2 $[M+H]^+$.

[0840] **실시예 20:** *N*-(5-(2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미도)-2-플루오로페닐)-6-((4-에틸피페라진-1-일)메틸)이미다조[2,1-b]티아졸-2-카르복스아미드(**실시예 20**)



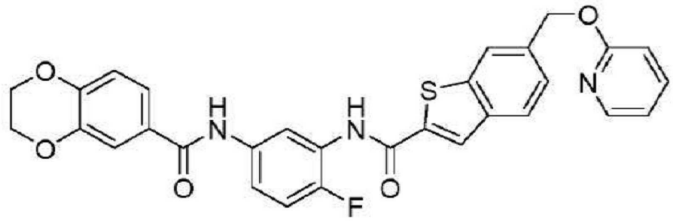
Int 21 Int 2 실시예 20

[0841]

[0842] DMF(10 mL) 중의 6-((4-에틸피페라진-1-일)메틸)이미다조[2,1-b]티아졸-2-카르복실산(**Int 21**)(0.7 g, 2.4 mmol) 및 *N*-(3-아미노-4-플루오로페닐)-2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**Int 2**)(490 mg, 1.7 mmol)의 용액에 트리에틸아민(0.3 mL, 2.1 mmol) 및 HATU(323 mg, 0.85 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 50 ℃에서 6시간 동안 교반하였다. 혼합물을 농축하여 건조시키고 잔류물을 역상 컬럼 크로마토그래피(H_2O/MeOH = 40:60)로 정제하여 미정제 생성물을 얻었으며, 이를 제조용 HPLC로 추가 정제하여 표제 화합물을 백색 고체로 얻었다.

[0843] ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ ppm 8.57 (s, 1H), 8.11 (dd, J = 6.9, 2.6 Hz, 1H), 7.72 (s, 1H), 7.60 - 7.45 (m, 3H), 7.24 - 7.17 (m, 1H), 6.94 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 4.36 - 4.24 (m, 4H), 3.64 (s, 2H), 2.80 - 2.43 (m, 10H), 1.10 (t, J = 7.2 Hz, 3H). MS (ESI): m/z 565.2 $[M+H]^+$.

[0844] **실시예 20/1:** *N*-(4-플루오로-3-(6-((피리딘-2-일옥시)메틸)벤조[비]티오펜-2-카르복스아미도)페닐)-2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**실시예 20/1**)



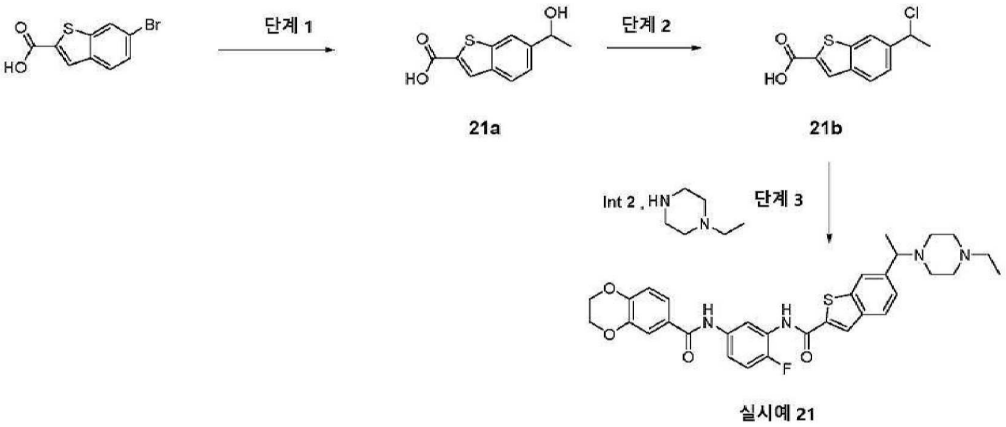
실시예 20/1

[0845]

[0846] 표제 화합물은 **실시예 20**에 대해 설명한 것과 유사하게, 6-((4-에틸피페라진-1-일)메틸)이미다조[2,1-b]티아졸-2-카르복실산(**Int 21**) 대신에 6-((피리딘-2-일옥시)메틸)벤조[b]티오펜-2-카르복실산(**Int 16**)을 사용하여 제조하였다.

[0847] ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ ppm 10.47 (s, 1H), 10.17 (s, 1H), 8.36 (s, 1H), 8.20 (dd, *J* = 5.0, 1.3 Hz, 1H), 8.14 (s, 1H), 8.11 - 8.08 (m, 1H), 8.02 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.78 - 7.72 (m, 1H), 7.69 - 7.63 (m, 1H), 7.57 - 7.50 (m, 3H), 7.35 - 7.27 (m, 1H), 7.04 - 6.98 (m, 2H), 6.93 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 5.50 (s, 2H), 4.33 - 4.30 (m, 4H). MS (ESI): m/z 556.2 $[M+H]^+$.

[0848] **실시예 21:** *N*-(3-(6-(1-(4-에틸피페라진-1-일)에틸)벤조[b]티오펜-2-카르복스아미도)-4-플루오로페닐)-2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**실시예 21**)



실시예 21

[0849]

[0850] **단계 1:** 6-(1-하이드록시에틸)벤조[b]티오펜-2-카르복실산(**21a**)

[0851] 무수 THF 중의 6-브로모벤조[b]티오펜-2-카르복실산(50.0 mg, 0.194 mmol)의 용액에 헥산(0.163 mL, 0.408 mmol) 중의 n-BuLi 2.5 M을 -78℃에서 첨가하였다. 혼합물을 해당 온도에서 30분 동안 교반하였다. 0.214 Ml의 무수 THF 중의 아세트알데하이드(0.009 mL, 0.214 mmol)를 용액으로 적가하였다. 혼합물을 얼음 욕조에서 0℃로 천천히 가온한 다음 1시간 동안 교반하였다. 포화 수성 NH_4Cl(1 mL)을 혼합물에 첨가하였다. 혼합물을 H_2O(10 mL)로 희석하고 1 M HCl로 pH를 약 2로 조정하였다. 수성층을 EtOAc(2 x 20 mL)로 추출하였다. 합한 유기층을 염수로 세척하고, $MgSO_4$로 건조하고, 여과하고, 농축하여 건조시켰다. 잔류물을 제조용 HPLC로 정제하여 표제 화합물을 백색 고체로 얻었다.

[0852] **단계 2:** 6-(1-클로로에틸)벤조[b]티오펜-2-카르복실산(**21b**)

[0853] 무수 DCM(0.20 mL) 중의 6-(1-하이드록시에틸)벤조[b]티오펜-2-카르복실산(**21a**)(4.5 mg, 0.020 mmol)의 용액에 $SOCl_2$(3 μL, 0.040 mmol)를 첨가하고 혼합물을 4시간 동안 환류시켰다. 혼합물을 농축하여 건조시키고, 잔류물을 추가 정제 없이 다음 단계에서 사용하였다.

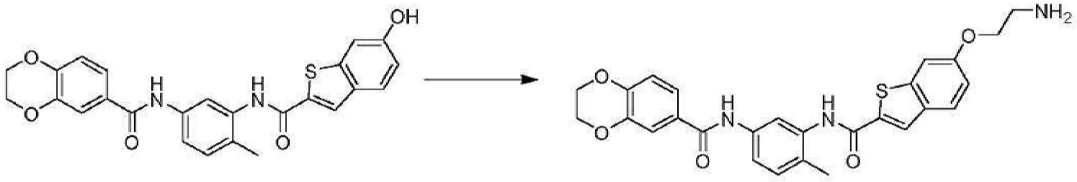
[0854] **단계 3:** *N*-(3-(6-(1-(4-에틸피페라진-1-일)에틸)벤조[b]티오펜-2-카르복스아미도)-4-플루오로페닐)-2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**실시예 21**)

[0855] 무수 DMF(0.1 mL) 중의 6-(1-클로로에틸)벤조[b]티오펜-2-카르복실산(**21b**)(4.8 mg, 0.020 mmol) 및 *N*-(3-아미

노-4-플루오로페닐)-2,3-디하이드로벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**Int 2**)(5.8 mg, 0.020 mmol)의 용액에 TCFH(5.6 mg, 0.020 mmol)와 NMI(0.006 mL, 0.070 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 30분 동안 교반하였다. 혼합물에 1-에틸피페라진(0.005 mL, 0.040 mmol)을 첨가하고 혼합물을 60℃에서 18시간 동안 교반하였다. 혼합물을 농축하여 건조시키고 잔류물을 제조용 HPLC로 정제하여 표제 화합물을 백색 고체로 얻었다.

[0856] ^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD): δ ppm: 8.18 - 8.07 (m, 2H), 7.95 - 7.89 (m, 2H), 7.60 - 7.53 (m, 1H) , 7.51 - 7.42 (m, 3H), 7.21 (t, *J* = 9.5 Hz, 1H), 6.94 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 4.34-4.26 (m, 4H), 3.61 (q, *J* = 6.6 Hz, 1H), 2.84 - 2.47 (m, 10H), 2.17 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 1.47 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H),1.14 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H). MS (ESI): m/z 589.6 $[M+H]^+$.

[0857] **실시예 22:** *N*-(3-(6-(2-아미노에톡시)벤조[b]티오펜-2-카르복스아미도)-4-메틸페닐)-2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**실시예 22**)



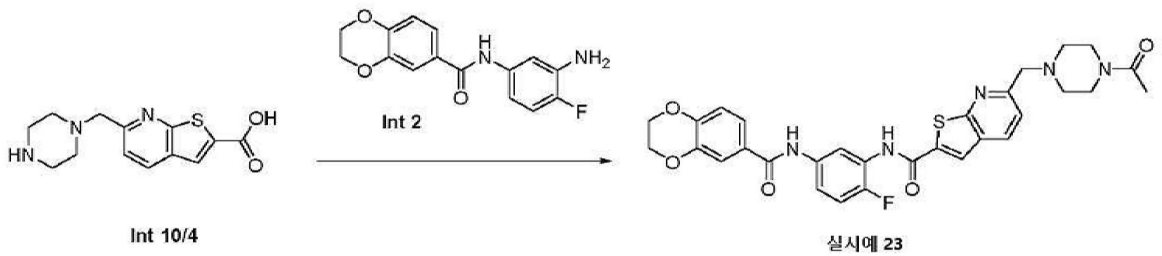
실시예 6 실시예 22

[0858]

[0859] 무수 DMF(0.217 mL) 중의 *N*-(3-(6-하이드록시벤조[*b*]티오펜-2-카르복스아미도)-4-메틸페닐)-2,3-디하이드록시벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**실시예 6**)(10.0 mg, 0.022 mmol) 및 K_2CO_3(8.5 mg, 0.026 mmol)의 용액에 2-(Boc-아미노)에틸 브로마이드(5.4 mg, 0.024 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 60℃에서 18시간 동안 교반하였다. 혼합물을 진공에서 농축하여 건조시키고 잔류물을 EtOAc(20 mL)에 재용해시켰다. 생성된 혼합물을 포화 NH_4Cl(15 mL)로 세척하였다. 합한 유기층을 $MgSO_4$로 건조하고, 여과하고, 농축하여 건조시켰다. 잔류물을 무수 DCM(0.083 mL)에 용해시키고 TFA(0.038 mL, 0.497 mmol)를 0℃에서 적가하였다. 혼합물을 실온으로 만들어 3시간 동안 교반하였다. 혼합물을 제조용 HPLC로 정제하여 표제 화합물을 백색 고체로 얻었다.

[0860] ^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ ppm 8.08 (s, 1H), 7.84 - 7.60 (m, 5H), 7.43 (s, 1H), 7.40 - 7.30 (m, 2H), 7.07 (d, *J* = 9.2 Hz, 1), 6.94 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 4.37 -4.24 (m, 4H), 4.13 - 4.02 (m, 2H), 3.15 (m, 2H), 2.35 (s, 3H). MS (ESI): m/z 504.5 $[M+H]^+$.

[0861] **실시예 23:** 6-((4-아세틸피페라진-1-일)메틸)-*N*-(5-(2,3-디하이드로벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미도)-2-플루오로페닐)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복스아미드(**실시예 23**)



Int 10/4 실시예 23

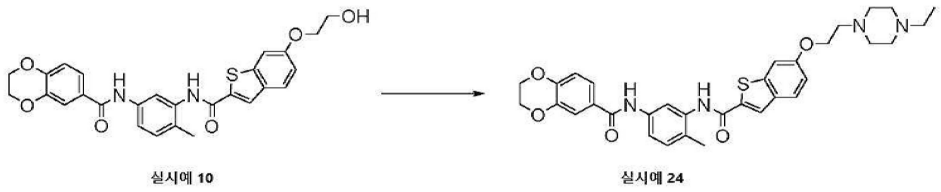
[0862]

[0863] 무수 DMF(2 mL) 중의 6-(피페라진-1-일메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2- 카르복실산(**Int 10/4**)(30.0 mg, 0.108 mmol)의 혼합물에 TEA(15 μL, 0.108 mmol)와 아세틸 클로라이드(8 μL, 0.108 mmol)를 첨가하고 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. *N*-(3-아미노-4-플루오로페닐)-2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**Int 2**)(31.2 mg, 0.108 mmol) 및 NMI(26 μL, 0.325 mmol)를 첨가하고 혼합물을 실온에서 5분간 교반하였다. TCFH(30.4 mg, 0.108 mmol)를 일부분씩 첨가하고 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 혼합물을 농축하여 건조시키고 잔류물을 제조용 HPLC로 정제하여 표제 화합물을 얻었다.

[0864] ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ ppm 10.55 (s, 1H), 10.17 (s, 1H), 8.48 - 8.31 (m, 2H), 8.15 - 8.10 (m,

1H), 7.68 - 7.61 (m, 2H), 7.55-7.50 (m, 2H), 7.30 (t, *J* = 9.7 Hz, 1H), 6.99 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 4.35-4.27 (m, 4H), 3.86 - 3.70 (m, 2H), 3.46 (s, 2H), 3.25 - 3.02 (m, 2H), 2.47 - 2.28 (m, 4H), 2.00 (s, 3H). MS (ESI): m/z 590.5 $[M+H]^+$.

[0865] **실시예 24:** *N*-(3-(6-(2-(4-에틸피페라진-1-일)에톡시)벤조[*b*]티오펜-2-카르복스아미도)-4-메틸페닐)-2,3-디하이드로벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**실시예 24**)

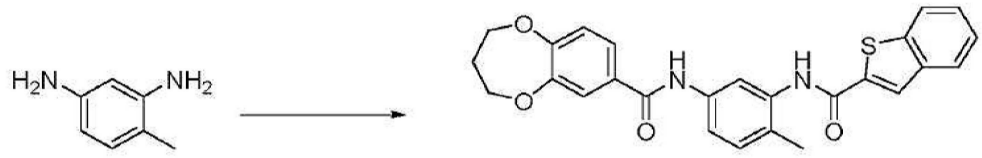


[0866]

[0867] 무수 DMF(2 mL) 중의 *N*-(3-(6-(2-하이드록시에톡시)벤조[*b*]티오펜-2-카르복스아미도)-4-메틸페닐)-2,3-디하이드로벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(30 mg, 0.059 mmol)(**실시예 10**)의 혼합물에 수산화나트륨(2.9 mg, 0.071 mmol)(미네랄 오일 중의 60% 현탁액)을 첨가하고 혼합물을 실온에서 30분 동안 교반하였다. 이어서, *p*-TsCl(12.5 mg, 0.065 mmol)을 첨가하고 혼합물을 실온에서 30분 동안 교반하였다. 1-에틸피페라진(8 μL, 0.060 mmol)을 첨가하고 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 혼합물을 농축하여 건조시키고 잔류물을 제조용 HPLC(물 중의 40-65% MeCN의 구배)로 정제하여 표제 화합물을 백색 고체로 얻었다.

[0868] ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ ppm 10.06 (s, 1H), 10.03 (s, 1H), 8.22 (s, 1H), 7.86 (s, 1H), 7.63 (s, 1H), 7.55 -7.51 (m, 1H), 7.48 - 7.45 (m, 2H), 7.23 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.11 - 7.08 (m, 2H), 6.97 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 4.34 - 4.27 (m, 4H), 4.23-4.17 (m, 2H), 3.18 - 2.76 (m, 8H), 2.74 - 2.70 (m, 2H), 2.29 - 2.27 (m, 2H), 2.21 (s, 3H), 1.21 - 1.10 (m, 3H). MS (ESI): m/z 601.7 $[M+H]^+$.

[0869] **실시예 25:** *N*-(3-(벤조[*b*]티오펜-2-카르복스아미도)-4-메틸페닐)-3,4-디하이드로-2H-벤조[*b*][1,4]다이옥세핀-7-카르복스아미드(**실시예 25**)



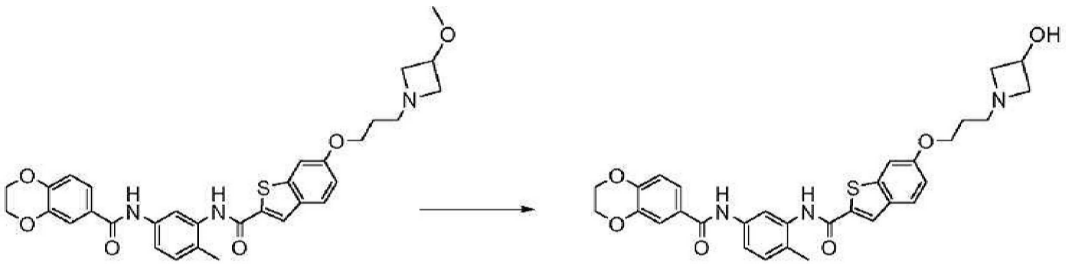
실시예 25

[0870]

[0871] 4-메틸벤젠-1,3-다이아민(30 mg, 0.246 mmol), 3,4- 디하이드로-2*H*-벤조[*b*][1,4]다이옥세핀-7-카르복실산(47.7 mg, 0.246 mmol) 및 NMI(59 μL, 0.737 mmol)를 무수 DMF(2 mL)에 용해시켰다. TCFH(82.7 mg, 0.295 mmol)를 일부분씩 첨가하고 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 벤조[*b*]티오펜-2-카르복실산(43.8 mg, 0.246 mmol)을 더 많은 TCHF(82.7 mg, 0.295 mmol) 및 NMI(82.7 mg, 0. 295 mmol)와 함께 첨가하고 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 농축하여 건조시키고 잔류물을 플래시 컬럼 크로마토그래피(구배 사이클로헥산/EtOAc 3:1)로 정제하여 표제 화합물을 백색 분말로 얻었다.

[0872] ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ ppm 10.20 (s, 1H), 10.11 (s, 1H), 8.32 (s, 1H), 8.07 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 8.01 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.87 (s, 1H), 7.62 (d, *J* = 6.6 Hz, 2H), 7.58 (s, 1H), 7.50 -7.48 (m, 2H), 7.25 (d, *J* = 8.2, 1H), 7.07 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 4.24 - 4.19 (m, 4H), 2.24 (s, 3H), 2.20 - 2.15 (m, 2H). MS (ESI): m/z 459.5 $[M+H]^+$.

[0873] **실시예 26:** *N*-(3-(6-(3-(3-하이드록시아제티딘-1-일)프로폭시)벤조[*b*]티오펜-2-카르복스아미도)-4-메틸페닐)-2,3-디하이드로벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**실시예 26**)

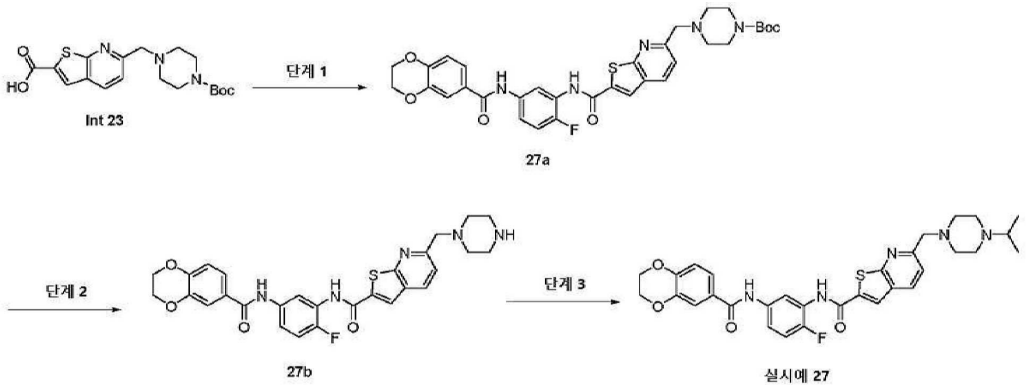


[0874]

[0875] *N*-(3-(6-(3-(3-메톡시아제티딘-1-일)프로폭시)벤조[*b*]티오펜-2-카르복스아미도)-4-메틸페닐)-2,3-디하이드로벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**실시예 3/23**)(30.0 mg, 0.05 mmol)를 무수 DCM(2 mL)에 용해시키고 혼합물을 -78℃에서 교반하였다. 보론 트리브로마이드(204 μL, 0.20mmol)를 적가하였다. 드라이아이스/아세톤 욕조를 제거하고 혼합물을 실온에서 3시간 동안 교반하였다. 반응은 물로 퀜칭하였다. 혼합물을 EtOAc(3 x 25 mL)로 추출하였다. 혼합된 유기층을 농축하여 건조시키고 잔류물을 제조용 HPLC(물 중의 20-40% MeCN)로 정제하여 표제 화합물을 얻었다.

[0876] ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ ppm 10.04 (s, 2H), 8.21 (s, 1H), 7.86 (s, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.59 (s, 1H), 7.56 (s, 1H), 7.52 (s, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.22 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.05 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 6.97 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 4.34-4.27 (m, 4H), 4.20 - 4.12 (m, 1H), 4.07 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H), 3.54 (t, *J* = 6.3 Hz, 2H), 2.71 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H), 2.57 - 2.53 (m, 2H), 2.22 (s, 3H), 1.80 - 1.71 (m, 2H). MS (ESI): m/z 574.7 $[M+H]^+$.

[0877] **실시예 27:** *N*-(5-(2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미도)-2-플루오로페닐)-6-((4-아이소프로필피페라진-1-일)메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복스아미드(**실시예 27**)



[0878]

[0879] **단계 1:** *tert*-부틸-4-((2-((5-(2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미도)-2-플루오로페닐)카바모일)티에노[2,3-b]피리딘-6-일)메틸)피페라진-1-카르복실레이트(**27a**)

[0880] 6-((4-(*tert*-부톡시카르보닐)피페라진-1-일)메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실산(**Int 23**)(21 mg, 0.056 mmol), *N*-(3-아미노-4-플루오로페닐)-2,3-디하이드로벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**Int 2**)(16 mg, 0.056 mmol) 및 NMI(13 μL, 0.167 mmol)를 무수 DMF(2 mL)에 용해시켰다. TCFH(18.7 mg, 0.067 mmol)를 일부분씩 첨가하고, 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 혼합물을 농축하여 건조시키고 잔류물을 제조용 HPLC로 정제하여 표제 화합물을 얻었다.

[0881] **단계 2:** *N*-(5-(2,3-디하이드로벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미도)-2-플루오로페닐)-6-(피페라진-1-일메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복스아미드(**27b**)

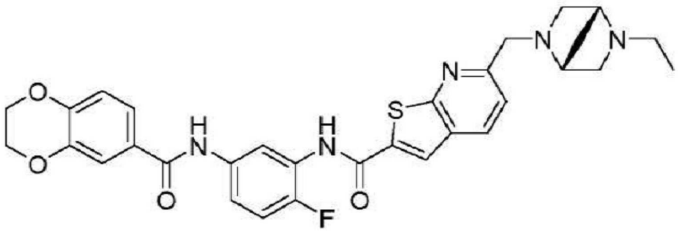
[0882] *tert*-부틸-4-((2-((5-(2,3-디하이드로벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미도)-2-플루오로페닐)카바모일)티에노[2,3-b]피리딘-6-일)메틸)피페라진-1-카르복실레이트(**27a**)(36 mg, 0.056 mmol)를 무수 DCM(2 mL)에 용해시키고 0℃에서 교반하였다. 비율이 DCM/TFA = 2:1이 될 때까지 TFA를 혼합물에 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 농축하여 건조시켜 표제 화합물을 얻었다.

[0883] **단계 3:** *N*-(5-(2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미도)-2-플루오로페닐)-6-((4-아이소프로필피페라진-1-일)메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복스아미드(**실시예 27**)

[0884] *N*-(5-(2,3-디하이드로벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미도)-2-플루오로페닐)-6-(피페라진-1-일메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복스아미드(**27b**)(30 mg, 0.055 mmol), 탄산세슘(35.7 mg, 0.110 mmol) 및 2-브로모프로판(6 μL, 0.06 mmol)을 무수 DMF(2 mL)에 용해시키고 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 혼합물을 농축하여 건조시키고 잔류물을 제조용 HPLC로 정제하여 표제 화합물을 얻었다.

[0885] ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ ppm 10.51 (s, 1H), 10.16 (s, 1H), 8.38 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 8.32 (s, 1H), 8.10 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H), 7.68 - 7.63 (m, 1H), 7.59 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.53 (s, 1H), 7.50 (s, 1H), 7.31 (t, *J* = 9.2 Hz, 1H), 6.99 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 4.34 - 4.28 (m, 4H), 3.71 (s, 2H), 2.66 - 2.56 (m, 1H), 2.46 (s, 8H), 0.96 (d, *J* = 6.5 Hz, 6H). MS (ESI): m/z 590.6 $[M+H]^+$.

[0886] **실시예 27/1:** *N*-(5-(2,3-디하이드로벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미도)-2-플루오로페닐)-6-(((1R,4R)-5-에틸-2,5-디아자비사이클로[2.2.1]헵탄-2-일)메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복스아미드(**실시예 27/1**)



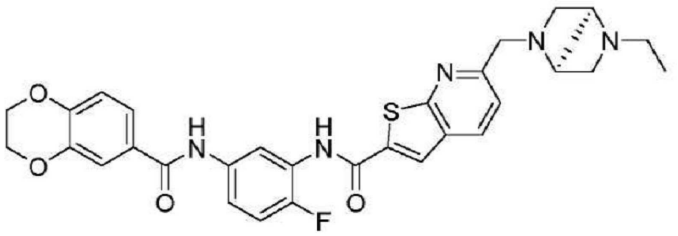
실시예 27/1

[0887]

[0888] 표제 화합물은 **실시예 27**에 대해 설명한 것과 유사하게, 단계 1에서 6-((4-(*tert*-부톡시카르보닐)피페라진-1-일)메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실산(**Int 23**) 대신에 6-(((1R,4R)-5-(*tert*-부톡시카르보닐)-2,5-다이아자바이사이클로[2.2.1]헵탄-2-일)메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실산(**Int 23/1**)을 사용하고, 단계 3에서 2-브로모프로판 대신에 요오드화에틸을 사용하여 제조하였다.

[0889] ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ ppm 10.51 (s, 1H), 10.16 (s, 1H), 8.38 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 8.32 (s, 1H), 8.21 (s, 1H), 8.10 (d, *J* = 6.2 Hz, 1H), 7.68-7.61 (m, 2H), 7.53 (s, 1H), 7.50 (s, 1H), 7.29 (t, *J* = 9.4 Hz, 1H), 6.99 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 4.34 - 4.28 (m, 4H), 3.99 -3.83 (m, 2H), 3.42 (s, 1H), 2.81 - 2.61 (m, 6H), 1.74 - 1.64 (m, 2H) 1.01 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H). MS (ESI): m/z 588.6 $[M+H]^+$.

[0890] **실시예 27/2:** *N*-(5-(2,3-디하이드로벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미도)-2-플루오로페닐)-6-(((1S,4S)-5-에틸-2,5-디아자비사이클로[2.2.1]헵탄-2-일)메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복스아미드(**실시예 27/2**)



실시예 27/2

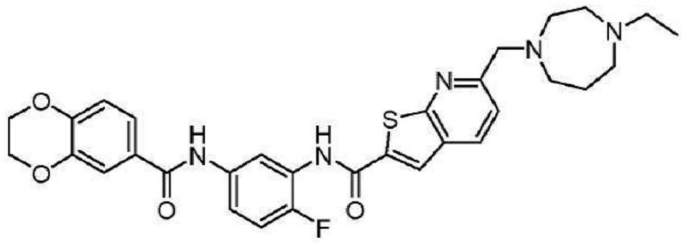
[0891]

[0892] 표제 화합물은 **실시예 27**에 대해 설명한 것과 유사하게, 단계 1에서 **Int 23** 대신에 6-(((1S,4S)-5-(*tert*-부톡시카르보닐)-2,5-다이아자바이사이클로[2.2.1]헵탄-2-일)메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실산(**Int 23/2**)을 사용하고, 단계 3에서 2-브로모프로판 대신에 요오드화에틸을 사용하여 제조하였다.

[0893] ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ ppm 10.51 (s, 1H), 10.16 (s, 1H), 8.38 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 8.32 (s,

1H), 8.21 (s, 1H), 8.10 (d, *J* = 6.2 Hz, 1H), 7.68 - 7.61 (m, 1H), 7.53 (s, 1H), 7.50 (s, 1H), 7.29 (t, *J* = 9.4 Hz, 1H), 6.99 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 4.34 -4.27 (m, 4H), 3.99-3.83 (m, 2H), 3.42 (s, 1H), 2.81-2.61 (m, 6H), 1.74 - 1.64 (m, 2H), 1.01 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H). MS (ESI): m/z 588.5 $[M+H]^+$.

[0894] **실시예 27/3:** *N*-(5-(2,3-디하이드로벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미도)-2-플루오로페닐)-6-((4-에틸-1,4-디아제판-1-일)메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복스아미드(**실시예 27/3**)



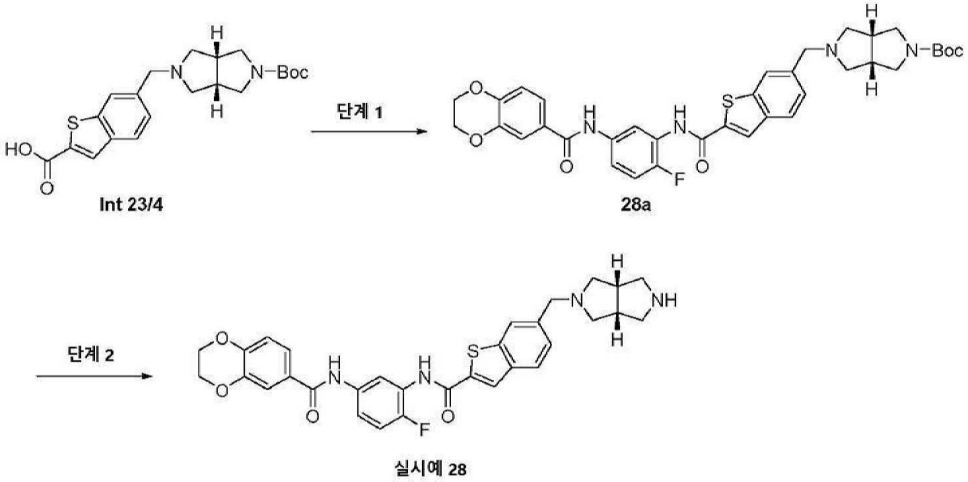
실시예 27/3

[0895]

[0896] 표제 화합물은 **실시예 27**에 대해 설명한 것과 유사하게, 단계 1에서 **Int 23** 대신에 6-((4-(*tert*-부톡시카르보닐)-1,4-디아제판-1-일)메틸)티에노[2,3-b]피리딘-2-카르복실산(**Int 23/3**)을 사용하고, 단계 3에서 2-브로모프로판 대신에 요오드화에틸을 사용하여 제조하였다.

[0897] ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ ppm 10.51 (s, 1H), 10.16 (s, 1H), 8.39 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 8.32 (s, 1H), 8.17 (s, 1H), 8.11 (d, *J* = 6.5 Hz, 1H), 7.68 - 7.60 (m, 1H),), 7.53 (s, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.29 (t, *J* = 9.6 Hz, 1H), 6.99 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 4.35 - 4.27 (m, 4H), 3.89 (s, 2H), 2.83-2.60 (m, 10 H), 1.83 -1.76 (m, 2H), 1.03 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H). MS (ESI): m/z 590.6 $[M+H]^+$.

[0898] **실시예 28:** *N*-(4-플루오로-3-(6-(((3aR,6aS)-헥사하이드로피롤로[3,4-c]피롤-2(1H)-일)메틸)벤조[b]티오펜-2-카르복스아미도)페닐)-2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**실시예 28**)



[0899]

[0900] **단계 1:** (3aR,6aS)-*tert*-부틸 5-((2-((5-(2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미도)-2-플루오로페닐)카바모일)벤조[b]티오펜-6-일)메틸)헥사하이드로피롤로[3,4-c]피롤-2(1H)-카르복실레이트(**28a**)

[0901] 6-(((3aR,6aS)-5-(*tert*-부톡시카르보닐)헥사하이드로피롤로[3,4-c]피롤-2(1*H*)-일)메틸)벤조[b]티오펜-2-카르복실산(**Int 23/4**)(22.5 mg, 0.056 mmol), *N*-(3-아미노-4-플루오로페닐)-2,3-디하이드로벤조[*b*][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**Int 2**)(16.1 mg, 0.056 mmol) 및 NMI(13 μL, 0.168 mmol)를 무수 DMF(2 mL)에 용해시켰다. TCFH(18.7 mg, 0.067 mmol)를 일부분씩 첨가하고, 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 혼합물을 농축하여 건조시키고 잔류물을 제조용 HPLC로 정제하여 표제 화합물을 얻었다.

[0902] **단계 2:** *N*-(4-플루오로-3-(6-(((3aR,6aS)-헥사하이드로피롤로[3,4-c]피롤-2(1H)-일)메틸)벤조[b]티오펜-2-카르

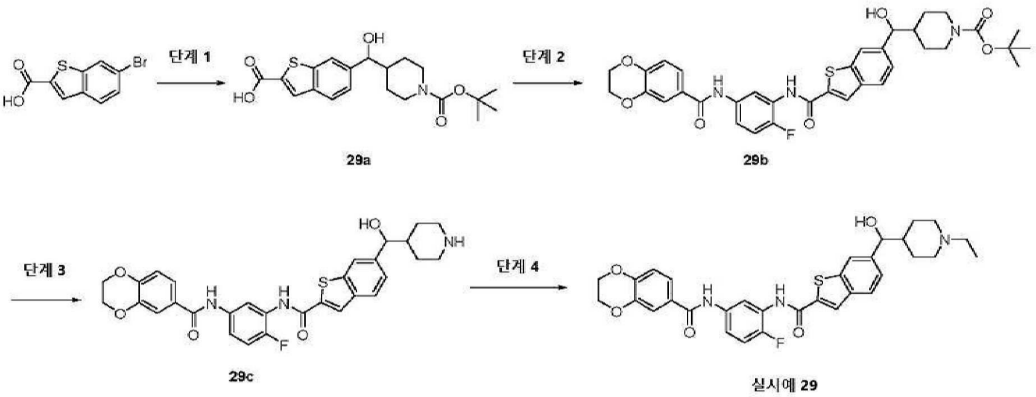
복스아미도)페닐)-2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**실시예 28**)

[0903] (3aR,6aS)-*tert*-부틸5-((2-((5-(2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미도)-2-플루오로페닐)카바모일)벤조[b]티오펜-6-일)메틸)헥사하이드로피롤로[3,4-c]피롤-2(1H)-카르복실레이트(**28a**)(37.5 mg, 0.056 mmol)를 DCM에 용해시키고 0℃에서 교반하였다. 혼합물에 TFA를 DCM:TFA = 2:1의 비율이 될 때까지 첨가하였다. 이어서, 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 농축하여 건조시키고 잔류물을 제조용 HPLC로 정제하여 표제 화합물을 얻었다.

[0904] ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ ppm 10.39 (s, 1H), 10.15 (s, 1H), 8.33 (s, 1H), 8.10 (d, *J* = 7.1 Hz, 1H), 7.94 (s ,1H), 7.92 (s, 1H), 7.69 - 7.62 (m, 1H), 7.53 (s, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.42 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.29 (t, *J* = 9.5 Hz, 1H), 6.98 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 4.35 - 4.27 (m, 4H), 3.64 (s, 2H), 2.80 - 2.71 (m, 2H), 2.60 - 2.51 (m, 6H), 2.32 - 2.21 (m, 2H). MS (ESI): m/z 573.5 $[M+H]^+$.

[0905] **실시예 29:**

N-(3-(6-((1-에틸피페리딘-4-일)(하이드록시)메틸)벤조[b]티오펜-2-카르복스아미도)-4-플루오로페닐)-2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**실시예 29**)



[0906]

[0907] **단계 1:** 6-((1-(*tert*-부톡시카보닐)피페리딘-4-일)(하이드록시)메틸)벤조[b]티오펜-2-카르복실산(**29a**)

[0908] 무수 THF(2 mL) 중의 6-브로모벤조[b]티오펜-2-카르복실산(100 mg, 0.389 mmol)의 혼합물에 메틸마그네슘 브로마이드(Et_2O 중의 3 M 용액, 0.130 mL, 0.39 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 30분 동안 교반한 다음 -78℃로 냉각하였다. 혼합물에 n-BuLi(헥산(0.31mL, 0.78mmol) 중의 2.5M 용액)을 첨가하고 혼합물을 -78℃에서 1시간 동안 교반하였다. 이어서, *tert*-부틸 4-포밀피페리딘-1-카르복실레이트(91.3 mg, 0.428 mmol)를 첨가하고 혼합물을 0℃에서 밤새 교반하였다. 혼합물을 농축하여 건조시키고 잔류물을 제조용 HPLC로 정제하여 표제 화합물을 얻었다.

[0909] **단계 2:** *tert*-부틸 4-((2-((5-(2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미도)-2-플루오로페닐)카바모일)벤조[b]티오펜-6-일)(하이드록시)메틸)피페리딘-1-카르복실레이트(**29b**)

[0910] **Int 2**(14.7 mg, 0.051 mmol), 6-((1-(*tert*-부톡시카보닐)피페리딘-4-일)(하이드록시)메틸)벤조[b]티오펜-2-카르복실산(**29a**)(20.0 mg, 0.051 mmol) 및 NMI(14 μL, 0.179 mmol)를 무수 DMF(2 mL)에 용해시켰다. 이어서, TCFH(14.3 mg, 0.051 mmol)를 일부분씩 첨가하고, 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 혼합물을 농축하여 건조시키고 잔류물을 제조용 HPLC로 정제하여 표제 화합물을 백색 분말로 얻었다.

[0911] **단계 3:** *N*-(4-플루오로-3-(6-(하이드록시(피페리딘-4-일)메틸)벤조[b]티오펜-2-카르복스아미도)페닐)-2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**29c**)

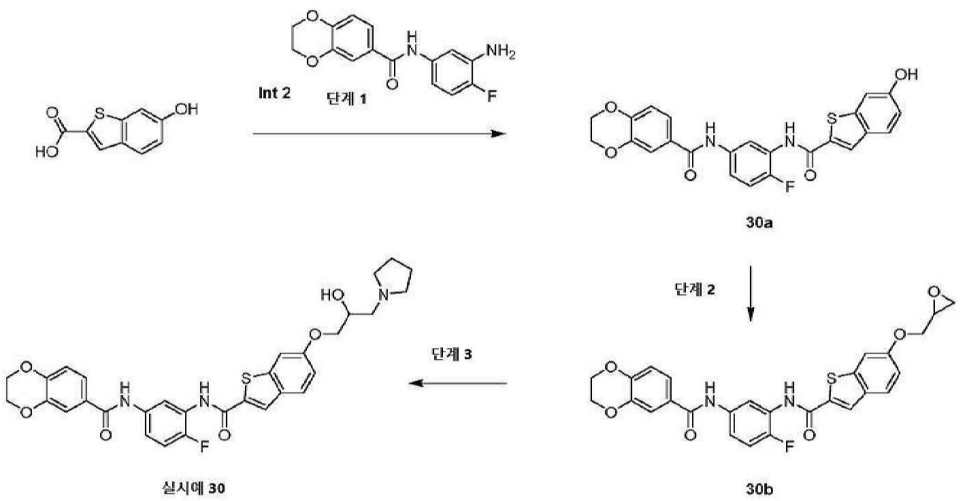
[0912] 무수 DCM(510 μL) 중의 *tert*-부틸 4-((2-((5-(2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미도)-2-플루오로페닐)카바모일)벤조[b]티오펜-6-일)(하이드록시)메틸)피페리딘-1-카르복실레이트(**29b**)(33.7 mg, 0.051 mmol)의 혼합물에 TFA(100 μL)를 0° C에서 적가하였다. 혼합물을 실온으로 가온하였다. 포화 $NaHCO_3$(10 mL)를 혼합물에 첨가하였다. 수성층을 DCM(3 x 15 mL)으로 추출하였다. 합한 유기층을 $MgSO_4$로 건조하고, 여과하고, 농축하여 건조시켜 표제 화합물을 얻었다.

[0913] **단계 4:** *N*-(3-(6-((1-에틸피페리딘-4-일)(하이드록시)메틸)벤조[b]티오펜-2-카르복스아미도)-4-플루오로페닐)-2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**실시예 29**)

[0914] 무수 DMF(1 mL) 중의 *N*-(4-플루오로-3-(6-(하이드록시(피페리딘-4-일)메틸)벤조[b]티오펜-2-카르복스아미도)페닐)-2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**29c**)(10.0 mg, 0.018 mmol)의 혼합물에 소듐 시아노보로하이드라이드(1.1 mg, 0.018 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 0℃로 냉각하였다. 아세트알데하이드(1 μL, 0.018 mmol)를 첨가하고 혼합물을 0℃에서 15분 동안 교반하였다. $NaHCO_3$(2 mL)를 첨가하고 혼합물을 EtOAc(10 mL)로 추출하였다. 유기층을 농축하여 건조시키고 잔류물을 제조용 HPLC로 정제하여 표제 화합물을 얻었다.

[0915] ^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD): δ ppm 8.17 -8.13 (m, 2H), 7.97 - 7.94 (m, 2H), 7.61-7.55 (m, 1H), 7.50 - 7.45 (m, 3H), 7.23 (t, *J* = 9.6 Hz, 1H), 6.96 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 4.58 - 4.54 (m, 2H), 4.36 - 3.29 (m, 4H), 3.22-3.14 (m, 1H), 2.76 - 2.66 (m, 2H), 2.41 - 2.25 (m, 2H), 2.11 - 2.06 (m, 1H), 1.91 - 1.79 (m, 1H), 1.62 - 1.44 (m, 3H), 1.19 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H). MS (ESI): m/z 590.6 $[M+H]^+$

[0916] **실시예 30:** *N*-(4-플루오로-3-(6-(2-하이드록시-3-(피롤리딘-1-일)프로폭시)벤조[b]티오펜-2-카르복스아미도)페닐)-2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(라세미체)(**실시예 30**)

[0917] 

[0918] **단계 1:** *N*-(4-플루오로-3-(6-하이드록시벤조[b]티오펜-2-카르복스아미도)페닐)-2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**30a**)

[0919] DMF(50 mL) 중의 6-하이드록시벤조[b]티오펜-2-카르복실산(2.0 g, 10.3 mmol), *N*-(3-아미노-4-플루오로페닐)-2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**Int 2**)(800 mg, 2.8 mmol) 및 TEA(28 mg, 0.28 mmol)의 혼합물에 HATU(3.0 g, 7.9 mmol)를 첨가하고 혼합물을 50℃에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물에 수용액으로 KOH(313 mg, 5.6 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 에틸 아세테이트(3 x 100 mL)로 추출하였다. 합한 유기층을 염수(3 x 100 mL)로 세척하고 Na_2SO_4로 건조하고, 여과하고, 농축하여 건조시켰다. 잔류물을 실리카겔에서의 컬럼 크로마토그래피(PE/EtOAc = 10:1)로 정제하여 표제 화합물을 갈색 고체로 얻었다.

[0920] **단계 2:** *N*-(4-플루오로-3-(6-(옥시란-2-일메톡시)벤조[b]티오펜-2-카르복스아미도)페닐)-2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**30b**)

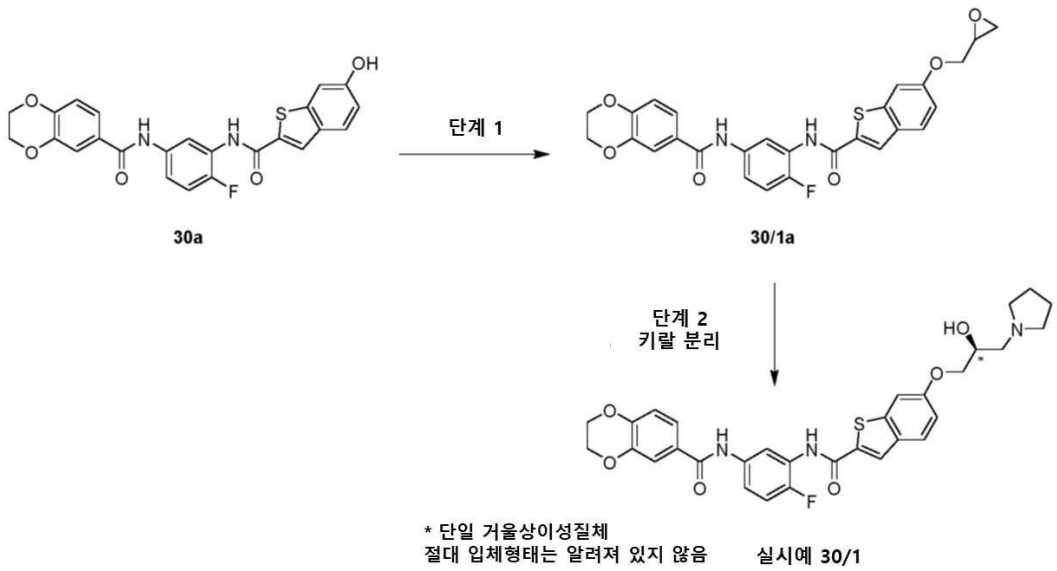
[0921] DMF 10 mL) 중의 *N*-(4-플루오로-3-(6-하이드록시벤조[b]티오펜-2-카르복스아미도)페닐)-2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**30a**)(210 mg, 0.45 mmol)의 혼합물을 0℃로 냉각하였다. NaH(22 mg, 0.91 mmol)를 첨가하고 혼합물을 0℃에서 0.5시간 동안 교반하였다. 2-(클로로메틸)옥시란(54 mg, 0.58 mmol)을 첨가하고 혼합물을 60℃에서 4시간 동안 교반하였다. 물을 첨가하고(100 mL) 혼합물을 에틸 아세테이트(3 x 100 mL)로 추출하였다. 합한 유기층을 염수(3 x 100 mL)로 세척하고, Na_2SO_4로 건조하고, 여과하고, 농축하여 건조시켜 표제 화합물을 얻었으며, 이를 추가 정제 없이 다음 단계에서 사용하였다.

[0922] **단계 3:** *N*-(4-플루오로-3-(6-(2-하이드록시-3-(피롤리딘-1-일)프로폭시)벤조[b]티오펜-2-카르복스아미도)페닐)-2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(라세미체)(**실시예 30**)

[0923] 에탄올(5 mL) 중의 *N*-(4-플루오로-3-(6-(옥시란-2-일메톡시)벤조[b]티오펜-2-카르복스아미도)페닐)-2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**30b**)(210 mg, 0.40 mmol), TEA(40 mg, 40 mmol)의 혼합물에 피롤리딘(142 mg, 2.00 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 80℃에서 2시간 동안 마이크로파 조사 하에 교반하였다. 혼합물을 농축하여 건조시키고 잔류물을 실리카겔에서의 컬럼 크로마토그래피(DCM/MeOH = 15:1)로 정제하여 미정제 생성물을 백색 고체로 얻었다. 미정제 생성물을 제조용 HPLC로 정제하여 표제 화합물을 백색 고체로 얻었다.

[0924] ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ ppm 10.34 (s, 1H), 10.17 (s, 1H), 8.27 (s, 1H), 8.10 - 8.08 (m, 1H), 7.88 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 7.68 - 7.61 (m, 2H), 7.55 - 7.48 (m, 2H), 7.31 - 7.26 (m, 1H), 7.11 - 7.08 (m, 1H), 6.99 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 4.95 (broad s, 1H), 4.34 - 4.29 (m, 4H), 4.11 - 4.07 (m, 1H), 4.00 - 3.94 (m, 2H), 2.70-2.63 (m, 1H), 2.53 - 2.46 (m, 5H), 1.70 - 1.67 (m, 4H). MS (ESI): m/z 592.2 $[M+H]^+$.

[0925] **실시예 30/1:** *N*-(4-플루오로-3-(6-(2-하이드록시-3-(피롤리딘-1-일)프로폭시)벤조[b]티오펜-2-카르복스아미도)페닐)-2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(단일 거울상이성질체)(**실시예 30/1**)



[0926]

[0927] **단계 1:** *N*-(4-플루오로-3-(6-(옥시란-2-일메톡시)벤조[b]티오펜-2-카르복스아미도)페닐)-2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**30/1a**)

[0928] DMF(10 mL) 중의 *N*-(4-플루오로-3-(6-하이드록시벤조[b]티오펜-2-카르복스아미도)페닐)-2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**30a**)(1.0 g, 2.16 mmol)의 용액에 0℃의 질소 분위기 하에서 NaH(172 mg, 미네랄 오일 중 60% 분산액, 4.3 mmol)를 첨가하였다. 혼합물에 (S)-2-(클로로메틸)옥시란(297 mg, 3.21 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 60℃에서 1.5시간 동안 교반하였다. 물(100 mL)을 혼합물에 첨가하고 DCM(2 x 100 mL)으로 혼합물을 추출하였다. 합한 유기층을 Na_2SO_4로 건조하고, 여과하고, 농축하여 건조시켜 표제 화합물을 얻었으며, 이를 추가 정제 없이 다음 단계에서 사용하였다.

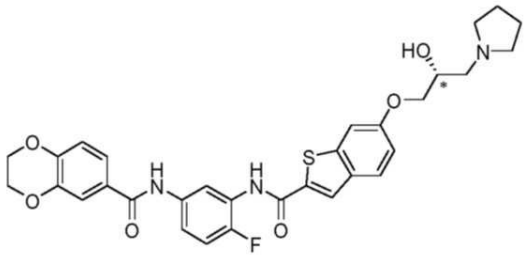
[0929] **단계 2:** *N*-(4-플루오로-3-(6-(2-하이드록시-3-(피롤리딘-1-일)프로폭시)벤조[b]티오펜-2-카르복스아미도)페닐)-2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(단일 거울상이성질체)(**30/1**)

[0930] EtOH(10 mL) 중의 *N*-(4-플루오로-3-(6-(옥시란-2-일메톡시)벤조[b]티오펜-2-카르복스아미도)페닐)-2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(**30/1a**)(400 mg, 0.77 mmol) 및 피롤리딘(56 mg, 0.79 mmol)의 용액을 70℃에서 밤새 교반하였다. 혼합물을 농축하여 건조시키고 잔류물을 실리카겔에서의 크로마토그래피(DCM/MeOH = 20:1)로 정제하여 미정제 생성물을 얻었고, 이를 역상 컬럼(CH_3CN/H_2O = 5%-95%)으로 추가 정제한 다음 키랄 SFC(컬럼: CHIRALCEL OD-3, 4.6*100 mm, 공용매: MeOH/아세토니트릴(0.2% 7 M NH_3))로 정제하여 표제 화합물을 오프 화이트 고체로 얻었다(두 번째 용출 거울상이성질체, 체류 시간 = 1.9분).

[0931] ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ ppm 10.36 (s, 1H), 10.18 (s, 1H), 8.27 (s, 1H), 8.11-8.09 (m, 1H), 7.88

(d, J = 8 Hz, 1H), 7.67-7.63 (m, 2H), 7.54 - 7.50 (m, 2H), 7.31 - 7.27(m, 1H), 7.11 - 7.08 (m, 1H), 7.00 (d, J = 8 Hz, 1H), 4.96 - 4.95 (m, 1H), 4.33 - 4.30 (m, 4H), 4.11 - 4.08 (m, 1H), 3.99 - 3.95 (m, 2H), 2.66 -2.62 (m, 1H), 2.50 - 2.43 (m, 5H), 1.71 - 1.65 (m, 4H). MS (ESI): m/z 592.3 $[M+H]^+$.

[0932] **실시예 30/2:** N-(4-플루오로-3-(6-(2-하이드록시-3-(피롤리딘-1-일)프로폭시)벤조[b]티오펜-2-카르복스아미도)페닐)-2,3-디하이드로벤조[b][1,4]다이옥신-6-카르복스아미드(단일 거울상이성질체)(**실시예 30/2**)



*** 단일 거울상이성질체**
절대 입체형태는 알려져 있지 않음 **실시예 30/2**

[0933]

[0934] 표제 화합물은 **실시예 30/1**에 대해 설명한 것과 유사하게, 단계 1에서 (S)-2-(클로로메틸)옥시란 대신에 (R)-2-(클로로메틸)옥시란을 사용하여 제조하였다. 키랄 SFC(컬럼: CHIRALCEL OD-3(4.6*100 mm), 공용매: MeOH/아세토니트릴(0.2% 7 M NH_3))에 의한 최종 정제로 표제 화합물을 오프 화이트 고체로 얻었다(첫 번째 용출 거울상이성질체, 체류 시간 = 1.5분).

[0935] ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ ppm 10.35 (s, 1H), 10.18 (s, 1H), 8.27 (s, 1H), 8.11 - 8.09 (m, 1H), 7.88 (d, J = 8 Hz, 1H), 7.67 - 7.63 (m, 2H), 7.54 - 7.50 (m, 2H), 7.31 - 7.26 (m, 1H), 7.11 - 7.08 (m, 1H), 7.00 (d, J = 8 Hz, 1H), 4.95 - 4.94 (m, 1H), 4.33 - 4.30 (m, 4H), 4.12 - 4.08 (m, 1H), 3.99 - 3.95 (m, 2H), 2.67 - 2.62 (m, 1H), 2.48 - 2.43 (m, 5H), 1.71 - 1.64 (m, 4H). MS (ESI): m/z 592.3 $[M+H]^+$.

[0936] **생물학적 분석**

[0937] **ATP 생성 억제 분석**

[0938] 이 분석은 배양 중인 세포에서 ATP의 양을 결정한다.

[0939] 세포를 10% FBS(PAN), 2 mM 글루타민-알라닌(PAN), 2 mM 피루베이트(Sigma) 및 10 mL/L의 페니실린-스트렙토마이신이 보충된 고농도 포도당 DMEM(PAN)의 배지에서 96-웰 플레이트에 웰당 4,000개로 플레이팅하고, 37℃에서 0.5% O_2, 5% CO_2 및 75% 습도로 성장시켰다. 저산소의 경우, 세포를 37℃에서 0.5% O_2, 5% CO_2 및 75% 습도로 휘틀리 H35 하이폭시스테이션(Don Whitley Scientific)에서 성장시키고 처리하였다. 다음 날, 세포는 시험 화합물(도 1: 10000, 3333, 1111, 370, 123, 41, 14, 5 및 1.5 nM의 실시예 3/16, 3/8, 10의 화합물; 도 8a 및 도 8b: 10000, 3333, 1111, 370, 123, 41, 14, 5 및 1.5 nM의 실시예 3/19, 30 및 30/2의 화합물)뿐만 아니라 비히클(DMSO) 단독으로 48시간 동안 유도시켰다. 그 후, 세포에서 배지를 제거하고 Promega CellTiter-Glo 2.0 분석 프로토콜(Promega, G9241)을 사용하여 세포 내 ATP 수준을 결정하였다. 화합물이 ATP 생성에 미치는 영향을 추정하기 위해, 샘플 값을 DMSO 단독 값과 비교하였다. IC_{50} 값은 화합물 농도에 대해 루시퍼라제 카운트를 플로팅하여 생성하였다.

[0940] 도 1은 48시간 처리 후 HeLa, 4T1, LLC1, A549, MDA-MB-231 및 MiaPaCa2 세포에서 실시예 3/16, 3/8 및 10의 화합물의 억제 활성을 보여주는 여러 그래프를 포괄한다. 모든 경우에서, ATP 생성 수준의 용량 의존적 감소가 관찰된다.

[0941] 도 8a 및 도 8b는 48시간 처리 후 Panc02 및 SKOV3 세포에서 실시예 3/16, 3/8, 10, 3/19, 30 및 30/2의 화합물의 억제 활성을 보여준다. 모든 경우에서, ATP 생성 수준의 용량 의존적 감소가 관찰된다.

[0942] 수치 결과는 아래 표 1에 나타나 있으며, 화합물 활성은 다음 IC_{50} 범위에 따라 그룹화되어 있다:

[0943] + 1 μM - 10 μM,

[0944] ++ 100 nM - < 1 μM

[0945] +++ < 100 nM

[0946] **락테이트 생성 억제 분석**

[0947] 재조합 락테이트 탈수소효소 A(LDHA)를 사용하여 NAD^+의 NADH로의 동반 환원과 함께 조직 배양 상층액 내의 락테이트를 피루베이트로 전환시켰다. 이어서, 전자 수용체 1-메톡시페나진 메토설페이트(MPMS)가 생성된 NADH에 의해 환원되어 NAD^+를 재생하였다. 환원된 1-메톡시페나진 메토설페이트가 차례로 사용되어 수용성 테트라졸륨 8(WST8)을 오렌지 WST8 포마잔 생성물로 환원시킨다. 분석은 문헌[Chamchoy et al., BMC Biochemistry(2019) 20(1):4]에 기재된 간행물 "Application of WST-8 based colorimetric NAD(P)H detection for quantitative dehydrogenase assays"로부터 조정된 것이다.

[0948] 세포를 10% FBS(PAN), 2 mM 글루타민-알라닌(PAN), 2 mM 피루베이트(Sigma) 및 10 mL/L의 페니실린-스트렙토마이신이 보충된 고농도 포도당 DMEM의 배지에서 96-웰 플레이트에 웰당 4,000개로 플레이팅하고, 37℃에서 0.5% O_2, 5% CO_2 및 75% 습도로 성장시켰다. 저산소의 경우, 세포를 37℃에서 0.5% O_2, 5% CO_2 및 75% 습도로 휘틀리 H35 하이폭시스테이션(Don Whitley Scientific)에서 성장시키고 처리하였다. 다음 날, 세포를 시험 화합물(도 2: 10000, 3333, 1111, 370, 123, 41, 14, 5 및 1.5 nM의 실시예 3/16, 3/8, 10의 화합물; 도 7: 41, 14, 4.6 nM의 실시예 3/16, 3/8, 10의 화합물 및 100, 50, 25, 12.5, 6.25 μM의 펜포르민; 도 8c 및 도 8d: 10000, 3333, 1111, 370, 123, 41, 14, 5 및 1.5 nM의 실시예 3/16, 3/8, 10, 3/19, 30 및 30/2의 화합물)뿐만 아니라 비히클(DMSO) 단독으로 48시간 동안 유도시켰다. 그 후, 세포에서 배지를 제거하여 세포 외 락테이트를 측정하였다. 세포 외 락테이트를 검출하기 위해, 96-웰 플레이트에 10 μl 세포 상층액 + 40 μl 완충액을 첨가함으로써 세포 상층액을 분석 완충액(0.2 M Tris, pH 8.2) 중에서 1:5로 희석하였다. 분석 기질 믹스를 NAD+(3.75 mM), WST-8(0.9 mM), MPMS(10 mM)를 첨가하여 제조하였고, E. coli에서 N-말단 헥사히스티딘 태깅된 융합 단백질로 발현된 재조합 LDHA를 분석 완충액에 0.8 μg/ml의 최종 농도로 첨가하였다. 그 후, 80 μl의 기질 믹스를 96-웰 평저 플레이트 중의 20 μl의 희석된 세포 상층액에 첨가하고 30분에 걸쳐 1분 간격으로 460 nm에서 흡광도를 결정하였다. 각 분석 플레이트에 대해 10, 8, 6, 4, 1, 0.5 및 0.25 mM의 알려진 락테이트 농도에 대한 표준 곡선을 구축하였다.

[0949] 도 2는 실시예 3/16, 3/8, 10의 화합물을 사용한 48시간 처리 후 HeLa, 4T1, LLC1, A549, MDA-MB-231 및 MiaPaCa2 세포에서의 락테이트 수준의 하향조절을 보여준다. 모든 경우에서, 락테이트 생성 수준의 용량 의존적 감소가 관찰된다.

[0950] 도 7은 펜포르민과 실시예 3/16, 3/8, 10의 화합물의 48시간 공동 처리 후 HeLa 세포에서의 락테이트 수준의 하향조절을 보여준다.

[0951] 도 8c 및 도 8d는 실시예 3/16, 3/8, 10, 3/19, 30 및 30/2의 화합물을 사용한 48시간 처리 후 Panc02 및 SKOV3 세포에서의 락테이트 수준의 용량 의존적 하향조절을 보여준다.

[0952] 수치 결과는 아래 표 1에 나타나 있으며, 화합물 활성은 다음 IC_{50} 범위에 따라 그룹화되어 있다:

[0953] + 1 μM - 10 μM,

[0954] ++ 100 nM - < 1000 μM

[0955] +++ < 100 nM

표 1

[0956]

시험된 화합물이 설명된 상기의 실시예	락테이트 생성 억제를 측정하는 분석에서 측정된 IC_{50}	세포 내 ATP 억제를 측정하는 분석에서 측정된 IC_{50}
1	+++	+++
1/1	++	++
1/2	+	+
1/3	++	++
1/4	++	++
1/5	+++	+++
1/6	+++	+++

[0957]

시험된 화합물이 설명된 상기의 실시예	락테이트 생성 억제를 측정하는 분석에서 측정된 IC_{50}	세포 내 ATP 억제를 측정하는 분석에서 측정된 IC_{50}
1/7	++	++
1/8	+++	+++
1/9	+++	+++
1/10	+++	+++
1/11	+++	+++
1/12	+++	+++
1/13	+++	+++
1/14	+++	+++
1/15	+++	+++
1/16	+	+
1/17	+++	+++
1/18	+++	+++
1/19	+	+
2	++	++
2/1	++	+++
3	+++	+++
3/1	+++	+++
3/2	+++	+++
3/3	+++	++
3/4	+++	+++
3/5	+++	+++
3/6	+++	+++
3/7	+++	+++
3/8	+++	+++
3/9	+++	+++
3/10	+++	+++
3/11	+++	+++
3/12	++	++
3/13	+++	+++
3/14	+++	+++
3/15	+++	+++
3/16	+++	+++
3/17	++	++
3/18	+++	+++
3/19	+++	+++
3/20	+++	+++
3/21	+++	+++
3/22	+++	+++
3/23	+++	+++
3/24	+++	+++
3/25	+++	+++
3/26	+++	+++
3/27	+++	+++
3/28	++	+++
3/29	+++	+++
3/30	+++	+++

[0958]

시험된 화합물이 설명된 상기의 실시예	락테이트 생성 억제를 측정하는 분석에서 측정된 IC_{50}	세포 내 ATP 억제를 측정하는 분석에서 측정된 IC_{50}
3/31	+++	+++
3/32	+++	+++
3/33	+++	+++
3/34	++	++
3/37	+++	+++
3/38	+++	+++
3/39	+++	+++
3/40	++	++
3/42	+++	+++
3/44	++	++
3/45	+++	+++
4	++	+++
5	+++	+++
6	+++	+++
7	+++	+++
8	+++	+++
9	+++	+++
10	+++	+++
11	+++	+++
12	+++	+++
13	+++	+++
13/1	+++	+++
13/2	++	++
13/3	+	++
14	++	++
15	+	++
16	+++	+++
17	+++	+++
18	++	+++
18/1	++	++
18/2	++	+++
19	+++	+++
19/1	+++	+++
19/2	+++	+++
19/3	+++	+++
20	+	++
20/1	+++	+++
21	+++	+++
22	+++	+++
23	+++	+++
24	+++	+++
25	++	+++
26	+++	+++
27	+++	+++
27/1	+++	+++
27/2	+++	+++

[0959]

시험된 화합물이 설명된 상기의 실시예	락테이트 생성 억제를 측정하는 분석에서 측정된 IC_{50}	세포 내 ATP 억제를 측정하는 분석에서 측정된 IC_{50}
27/3	+++	+++
28	++	++
29	+++	+++
30	+++	+++
30/1	+++	+++
30/2	+++	+++

[0960] 상기 표에서 볼 수 있듯이, 모든 시험된 본 발명의 화합물은 ATP 및/또는 락테이트 생성을 억제함에 있어서 활성을 보였다. 특히, 본 발명의 실시예 10, 3/8, 3/16, 3/19, 30 및 30/2의 화합물은 ATP와 락테이트 중 하나

또는 둘 모두의 생성을 억제함에 있어서 높은 활성을 나타냈다.

[0961] **qPCR에 의한 유전자 발현 분석**

[0962] 세포를 10% FBS(PAN), 2 mM 글루타민-알라닌(PAN), 2 mM 피루베이트(Sigma) 및 10 mL/L의 페니실린-스트렙토마이신이 보충된 고농도 포도당 DMEM(PAN)의 배지에서 ml당 40,000개 세포로 플레이팅하고, 37℃에서 0.5% O_2, 5% CO_2 및 75% 습도로 성장시켰다. 다음 날, 세포를 시험 화합물(도 3: 10 nM의 실시예 3/16, 3/8, 10의 화합물; 도 8e 내지 도 8ab: 10 nM의 실시예 3/16, 3/8, 10, 3/19, 30 및 30/2의 화합물)뿐만 아니라 비히클(DMSO) 단독으로 0.5, 1, 2 및 4시간 동안 유도시켰다. 그 후, 세포를 프로토콜(Promega, SV 96 Total RNA Isolation System, #Z3505)에 따라 용해시켰다. 용해물을 96-웰-RNA 결합 플레이트로 옮긴 후, RNA를 분리하여 약 1 μg으로 LunaScript RT SuperMix Kit(NEB, #E3010)을 사용하는 cDNA 합성을 수행하였다. 생성된 cDNA를 1:5로 희석하여 qPCR 분석(Taqman)에 사용하였다. Luna Universal Probe qPCR Master Mix(NEB, #M3004)를 희석된 cDNA가 첨가되는 2x 반응 믹스로 사용하였다. qPCR 분석은 QuantStudio™ 6 Flex 실시간 PCR 시스템(Thermo Fisher Scientific)을 사용하여 수행하였다.

[0963] 관심 유전자 각각에 대한 프라이머와 프로브 세트는 IDT(Integrated DNA Technologies)에서 구입하였다. 해당 서열은 표 2에 요약되어 있다:

표 2

[0964]

유전자	프라이머 1	프라이머 2	프로브
CHOP (인간)	TGACCAGGGAAGTAGAGGC (서열번호 1)	AGTGAGAGGGTAGTCAGTAGC (서열번호 2)	TGGGAAAGGTGGGTAGTGTGGC (서열번호 3)
CHAC1 (인간)	GGAGACACCTTCCATCGG (서열번호 4)	TGCCTCTCGCACATTCAG (서열번호 5)	CCTTGCTTACCTGCTCCCCTTGC (서열번호 6)

유전자	프라이머 1	프라이머 2	프로브
XBP1 (인간)	CTGGAACAGCAAGTGGTAGA (서열번호 7)	CGCTGTCTTAACTCCTGGTTC (서열번호 8)	AGCTTTTACGAGAGAAAACTCATGGCCT (서열번호 9)
SLC7A11 (인간)	TCATTGGAGCAGGAATCTTCATC (서열번호 10)	GTTCCCAATTCAGCATAAGACAA (서열번호 11)	TGTTCTGGAGCACGCCCTTAGG (서열번호 12)
PPIA (인간)	CCGAGGAAAACCGTGTACTATTAG (서열번호 13)	TGCTGTCTTTGGGACCTTG (서열번호 14)	CGCGTCTCCTTTGAGCTGTTTGC (서열번호 15)
TBP (인간)	GAGAGTTCTGGGATTGTACCG (서열번호 16)	ATCCTCATGATTACCGCAGC (서열번호 17)	TGGGATTATATTCGGCGTTTCGGGC (서열번호 18)
TBP (마우스)	AAGAAAGGGAGAATCATGGACC (서열번호 19)	GAGTAAGTCCTGTGCCGTAAG (서열번호 20)	CCTGAGCATAAGGTGGAAGGCTGTT (서열번호 21)
CHOP (마우스)	TGTTGAAGATGAGCGGGTG (서열번호 22)	AGGTTCTGCTTTCAGGTGTG (서열번호 23)	AGCGACAGAGCCAGAATAACAGCC (서열번호 24)
CHAC1 (마우스)	ACAAGATGAGCACCTGGAAG (서열번호 25)	GTACTGCATACTGATGTCCACC (서열번호 26)	ACCCTGCTACCCTGCTCTTACCT (서열번호 27)
SLC7A11 (마우스)	CAGGTTATTCTACGTCGCATCT (서열번호 28)	GAGCATCACCATCGTCAGA (서열번호 29)	TCATGTCCACAAGCACACTCCTCTG (서열번호 30)
XBP1 (마우스)	AGTGGTGGATTTGGAAGAAGAG (서열번호 31)	TCTGGAACCTCGTCAGGAT (서열번호 32)	AGGAGTTAAGAACACGCTTGGGAATGG (서열번호 33)

[0965]

[0966] 도 3은 실시예 3/16, 3/8 및 10의 화합물로 유도된 HeLa, 4T1, LLC1, A549, MDA-MB-231 및 MiaPaCa2 세포에서의 ER 스트레스 마커인 CHAC, CHOP/DDIT3, XBP1 및 SLC7A11의 시간 의존적 상향 조절을 보여준다.

[0967] 도 8e 내지 도 8ab는 실시예 3/16, 3/8, 10, 3/19, 30 및 30/2의 화합물로 유도된 Panc02 및 SKOV3 세포에서의 ER 스트레스 마커인 CHAC 및 CHOP/DDIT3의 시간 의존적 상향 조절을 보여준다.

[0968] **웨스턴 블롯 분석**

[0969] 웨스턴 블롯 분석을 사용하여 다르게 처리된 세포에서 특정 단백질의 양을 검출하였다. 단백질은 크기에 의해 분리되고, 니트로셀룰로오스 막으로 옮겨져 단백질 특이적 항체와 함께 인큐베이션된다. 관찰된 밴드의 밀도는 세포 내부의 특정 단백질의 양에 비례한다.

[0970] 세포를 10% FBS(PAN), 2 mM 글루타민-알라닌(PAN), 2 mM 피루베이트(Sigma) 및 10 mL/L의 페니실린-스트렙토마이신이 보충된 고농도 포도당 DMEM의 배지에서 10 cm^2 플레이트당 $4x10^6$개(저산소의 경우) 또는 $3x10^6$개(정상산소의 경우) 세포로 플레이팅하고, 37℃에서 0.5% O_2, 5% CO_2 및 75% 습도로 성장시켰다. 저산소의 경우, 세포를 37℃에서 0.5% O_2, 5% CO_2 및 75% 습도로 휘트니 H35 하이폭시스테이션(Don Whitley Scientific)에서 성장시키고 처리하였다. 다음 날, 세포를 시험 화합물(도 4: 0.1, 0.3 및 1 μM 농도의 실시예 3/8 및 10의 화합물, 20 nM의 바필로마이신 A; 도 5: 10, 30 및 100 nM 농도의 실시예 3/16, 3/8의 화합물, 20 nM의 바필로마이신 A)뿐만 아니라 비히클(DMSO) 단독으로 24시간 동안 처리하였다. 24시간 후, 세포를 PBS로 세척하고 긁어내어 수집하였다. 용해물을 4℃에서 3분 동안 2,000 rpm으로 원심분리하였다. 세포 펠릿을 250 μl 용해 완충액(20 mM Tris pH 7.8, 150 mM NaCl, 0.05% Tween20, 2 mM $MgCl_2$, 프로테아제 억제제(Roche), 1 mM NaF, 1 mM Na_3VO_4)에 재현

탁시키고 50%에서 20초 동안 초음파 처리하였다. 샘플을 4℃에서 4분 동안 14,000 rpm으로 원심분리하였다. 샘플의 단백질 농도는 DC 단백질 분석 키트(Biorad, 5000112)를 사용하여 측정하였고, 웰당 22 μg의 단백질 추출물을 프리캐스트(precast) SDS 페이지 겔(Biorad, 1704273)에 로딩하였다. 이어서, 단백질을 Biorad Trans-Blot Turbo Transfer System을 사용하여 PVDF-막(Biorad, 10026933)으로 옮겼다. 이어서, 막을 블로킹 완충액(5% 분유, 0.1% TWEEN20, Tris 완충 식염수 완충액)에서 45분간 인큐베이션한 다음, 블로킹 완충액에서 HIF1a에 대한 1차 항체(#36169, Cell Signaling)의 1:1000 희석물, 빈쿨린(7F9)(#sc-73614, Santa Cruz Biotechnology)의 1:10000 희석물, SQSTM1/p62(D-3)(#sc-28359, Santa Cruz Biotechnology)의 1:1000 희석물, p70 S6 키나아제(#9202, Cell Signaling)의 1:2000 희석물, 인산화-p70 S6 키나아제(Thr389)(#9205, Cell Signaling)의 1:1000 희석물과 함께 밤새 인큐베이션하였다. 다음 날, 막을 TBS 완충액 중의 0.1% Tween20으로 10분간 3회 세척하고, 블로킹 완충액에서 2차 항체인 항-토끼 IgG HRP(#sc-2004, Santa Cruz Biotechnology) 또는 항-마우스 IgG HRP(#sc-2005, Santa Cruz Biotechnology)와 함께 45분간 인큐베이션하였다. 이어서, 막을 10분 동안 3회 세척하였다. 화학발광은 화학발광 기질(#34580, Thermo Scientific)을 사용하여 측정하였다.

[0971] 도 4는 정상 산소 및 저산소 조건하에 실시예 3/8 및 10의 화합물로 24시간 동안 처리된 HeLa 세포에서의 p62 및 HIF1α 단백질 수준의 용량 의존적 감소를 보여준다.

[0972] 도 5는 정상 산소 및 저산소 조건하에 실시예 3/16, 3/8 및 10의 화합물로 24시간 동안 처리된 HeLa 세포, 또한 바필로마이신 A로 동반 처리된 세포에서의 p62의 용량 의존적 감소를 보여준다.

[0973] 도 5는 또한 정상 산소 조건하에 실시예 3/16, 3/8 및 10의 화합물로 24시간 동안 처리된 HeLa 세포, 또한 바필로마이신 A로 동반 처리된 세포에서의 p70-S6K 인산화(Thr389)의 용량 의존적 유도를 보여준다.

[0974] **자가포식 플럭스(autophagic flux) 측정**

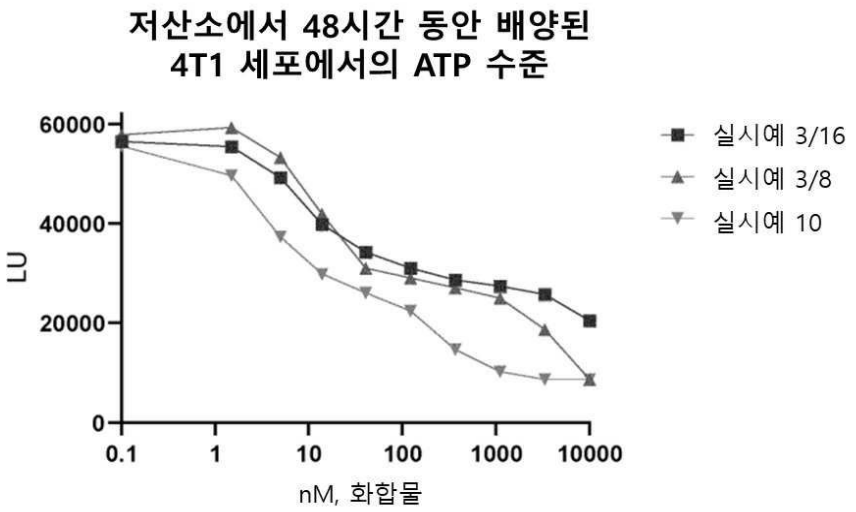
[0975] C-말단 글리신 잔기를 결여한 인간 LC3(LC3DG)로의 N-말단 융합체인 적색 형광 단백질(RFP) 앞에 배치된 인간 전장 LC3 단백질로의 N-말단 융합체인 녹색 형광 단백질(GFP)로 구성된 인공 단백질 작제물을 안정적으로 발현하는 HeLa 세포주를 사용하여 자가포식 플럭스를 결정하였다(문헌[Kaizuka et al., Mol. Cell (2016) 17 835-849]). 이 작제물은 전장 LC3 단백질의 C-말단의 ATG4에 의해 세포에서 절단되고, 이때 GFP-LC3 단편이 포스파티딜 에탄올아민에 접합된다. RFP-LC3DG는 지질화될 수 없으며, 자가포식 플럭스를 보고하는 비율계량(ratiometric) 값을 생성하기 위한 내부 참조로 사용될 수 있다. 지질화된 GFP-LC3 단백질은 자가포식체의 막에 통합되고, 리소좀과의 융합 시에 분해된다. 결과적으로, 자가포식 플럭스가 높은 세포는 GFP-LC3가 적은 반면, 낮은 자가포식 플럭스는 비교적 많은 GFP-LC3의 세포 내 양을 가져온다.

[0976] 리포터 세포를 서브-컨플루언트(sub-confluent) 배양물로 성장시키고, 시험 화합물을 다양한 농도로 적용하였다. 자가포식의 알려진 유도제인 타프시가르긴(Thapsigargin)을 양성 대조군으로 사용하였다. 24시간 처리 후, 단일 세포 현탁액을 트립신 처리에 의해 제조하고, 유세포 분석법으로 GFP 형광을 결정하였다. 각 조건에 대해 최소 10,000개의 단일 세포를 평가하였다.

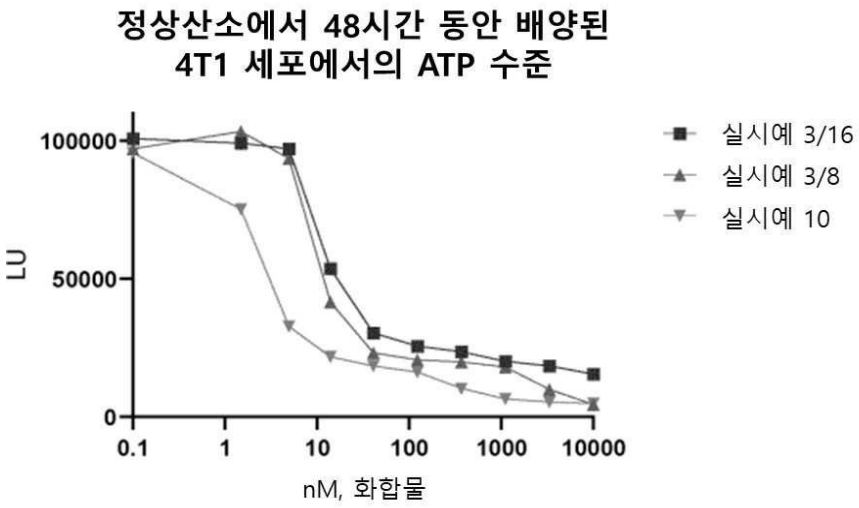
[0977] 도 6은 실시예 3/8, 3/16 및 10의 시험 화합물이 GFP-LC3로 구성된 인공 단백질 작제물을 발현하는 HeLa 세포주에서 자가포식 플럭스를 유의하게 증가시킨다는 것을 보여준다.

도면

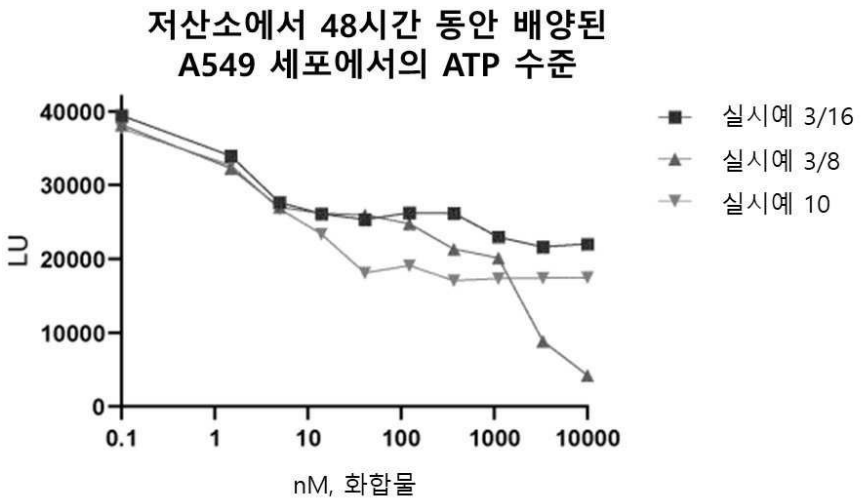
도면1a


저산소에서 48시간 동안 배양된
4T1 세포에서의 ATP 수준
60000
40000
20000
0
LU
0.1
1
10
100
1000
10000
nM, 화합물
실시예 3/16
실시예 3/8
실시예 10

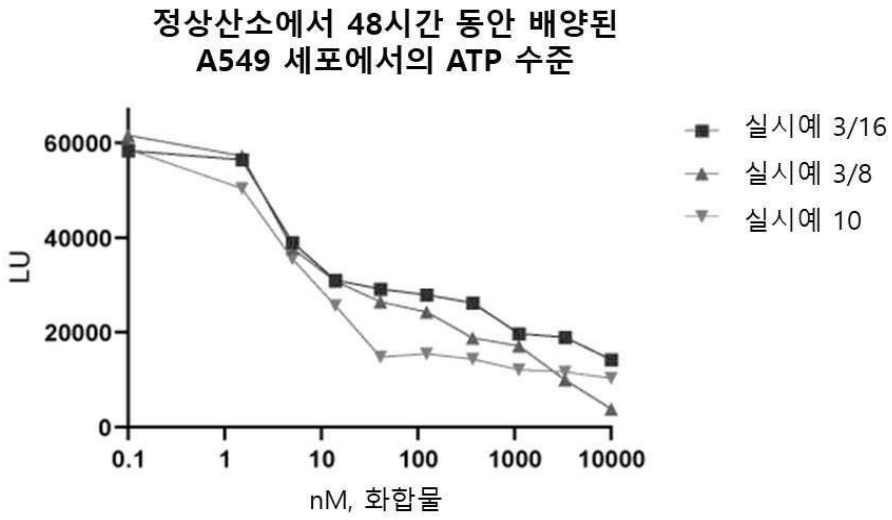
도면1b


정상산소에서 48시간 동안 배양된
4T1 세포에서의 ATP 수준
100000
50000
0
LU
0.1
1
10
100
1000
10000
nM, 화합물
실시예 3/16
실시예 3/8
실시예 10

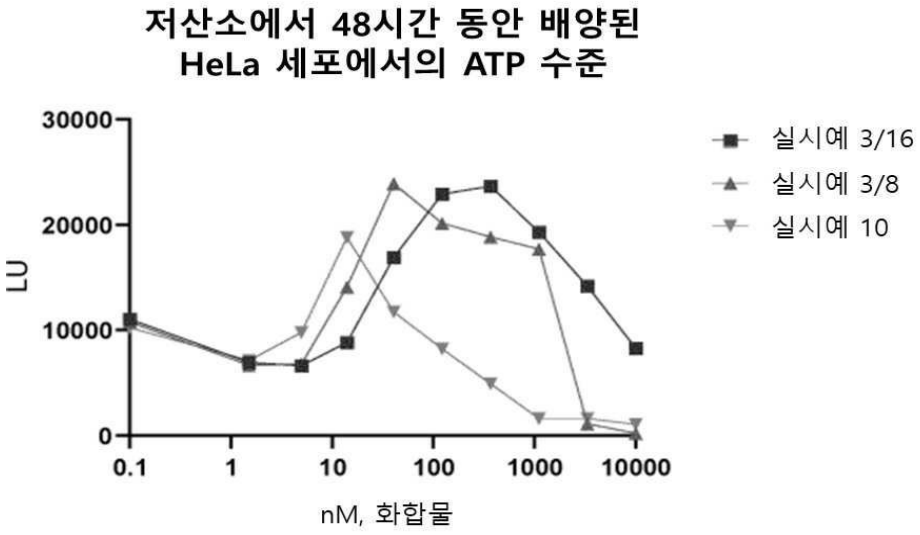
도면1c


저산소에서 48시간 동안 배양된
A549 세포에서의 ATP 수준
LU
40000
30000
20000
10000
0
0.1
1
10
100
1000
10000
nM, 화합물
실시예 3/16
실시예 3/8
실시예 10

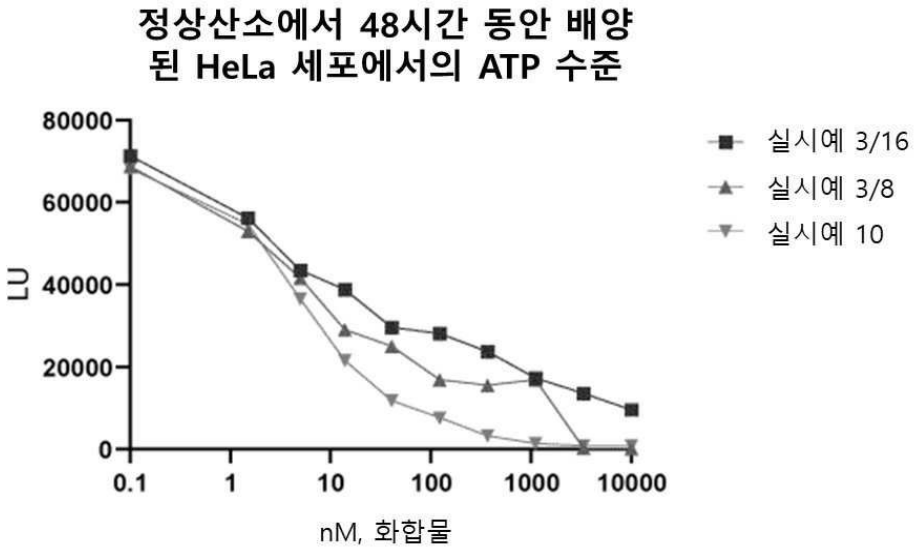
도면1d


정상산소에서 48시간 동안 배양된
A549 세포에서의 ATP 수준
LU
60000
40000
20000
0
0.1
1
10
100
1000
10000
nM, 화합물
실시예 3/16
실시예 3/8
실시예 10

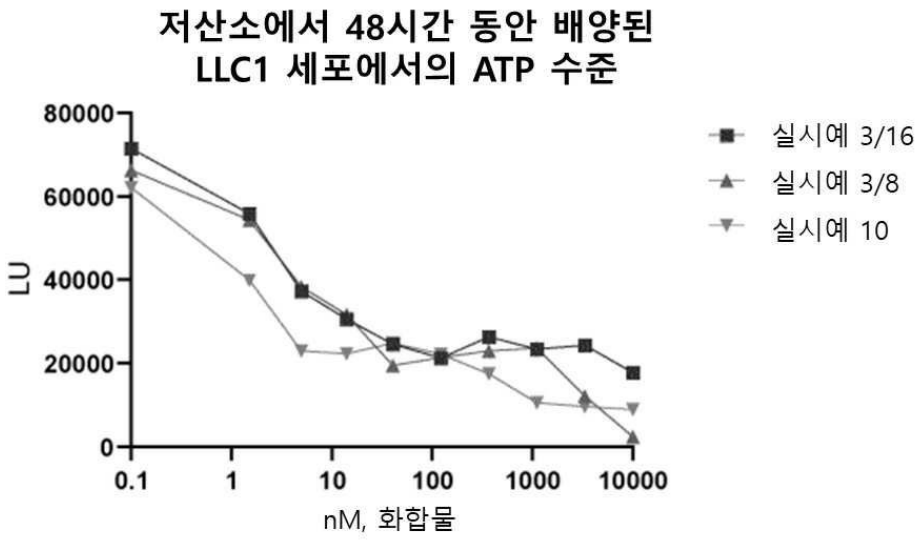
도면1e


저산소에서 48시간 동안 배양된
HeLa 세포에서의 ATP 수준
30000
20000
10000
0
LU
0.1
1
10
100
1000
10000
nM, 화합물
실시예 3/16
실시예 3/8
실시예 10

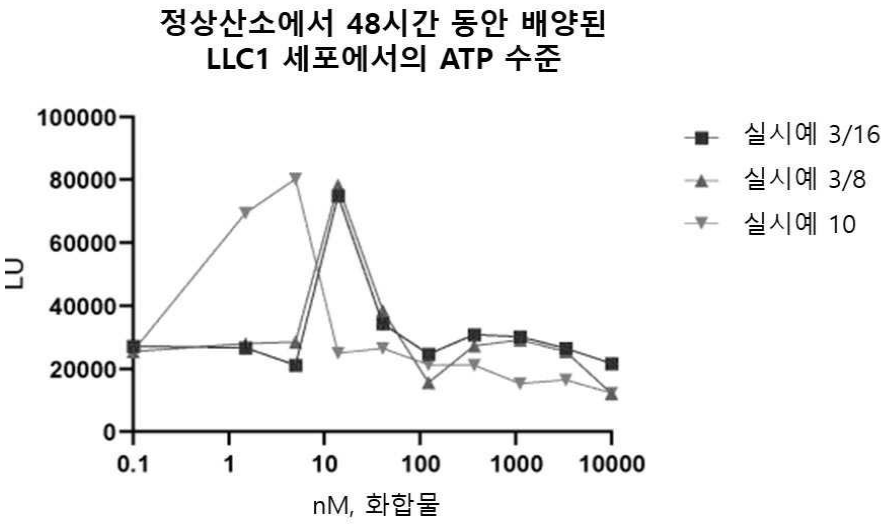
도면1f


정상산소에서 48시간 동안 배양
된 HeLa 세포에서의 ATP 수준
80000
60000
40000
20000
0
LU
0.1
1
10
100
1000
10000
nM, 화합물
실시예 3/16
실시예 3/8
실시예 10

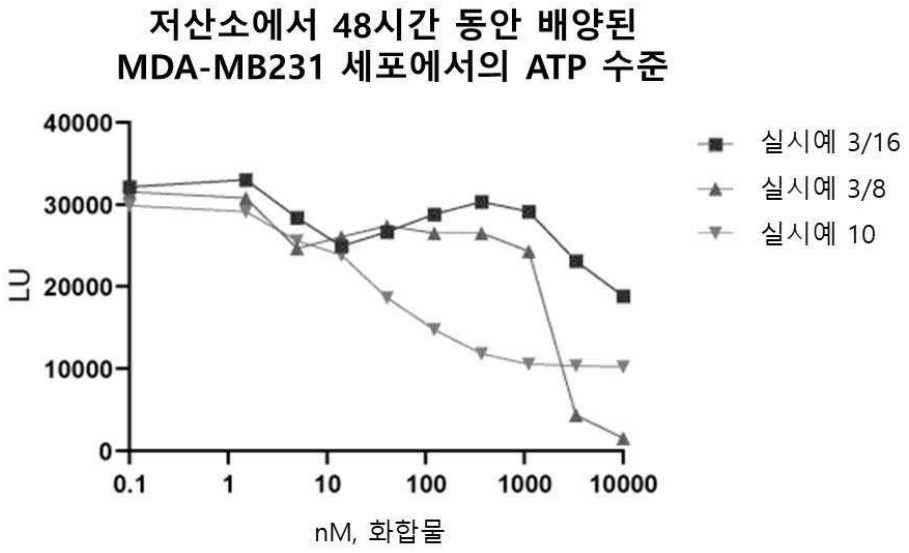
도면1g


저산소에서 48시간 동안 배양된
LLC1 세포에서의 ATP 수준
80000
60000
40000
20000
0
LU
0.1
1
10
100
1000
10000
nM, 화합물
실시예 3/16
실시예 3/8
실시예 10

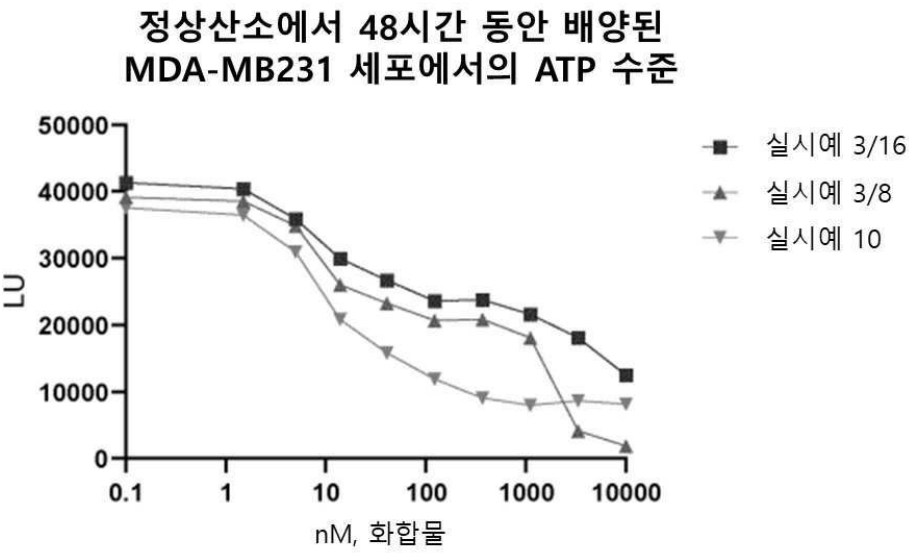
도면1h


정상산소에서 48시간 동안 배양된
LLC1 세포에서의 ATP 수준
100000
80000
60000
40000
20000
0
LU
0.1
1
10
100
1000
10000
nM, 화합물
실시예 3/16
실시예 3/8
실시예 10

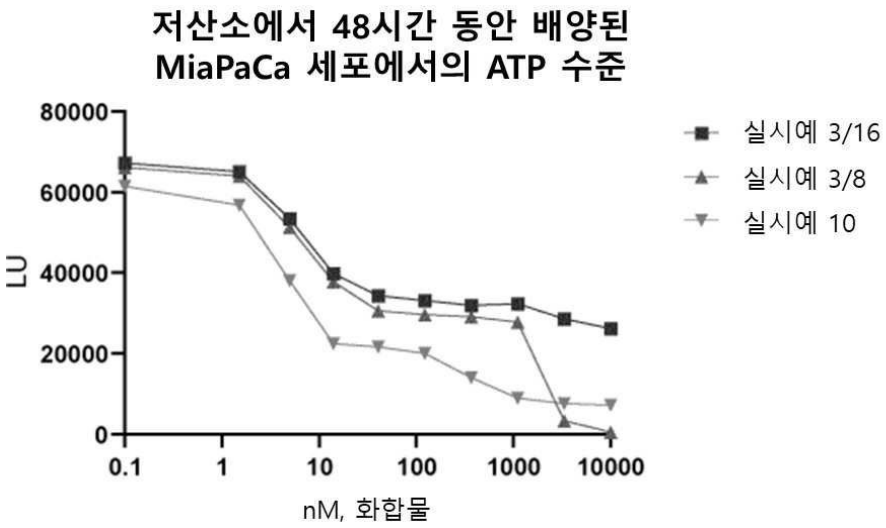
도면1i


저산소에서 48시간 동안 배양된
MDA-MB231 세포에서의 ATP 수준
LU
40000
30000
20000
10000
0
0.1
1
10
100
1000
10000
nM, 화합물
실시예 3/16
실시예 3/8
실시예 10

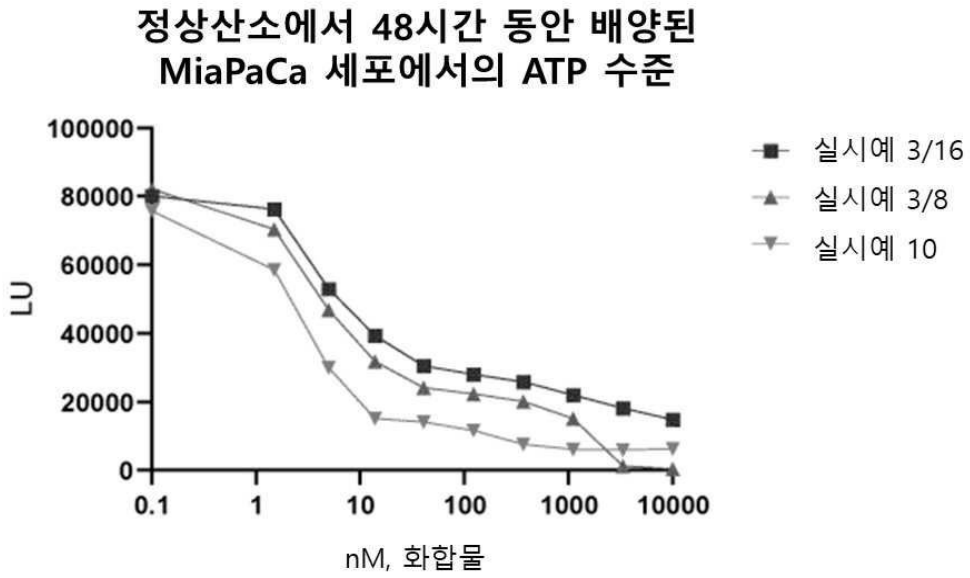
도면1j


정상산소에서 48시간 동안 배양된
MDA-MB231 세포에서의 ATP 수준
LU
50000
40000
30000
20000
10000
0
0.1
1
10
100
1000
10000
nM, 화합물
실시예 3/16
실시예 3/8
실시예 10

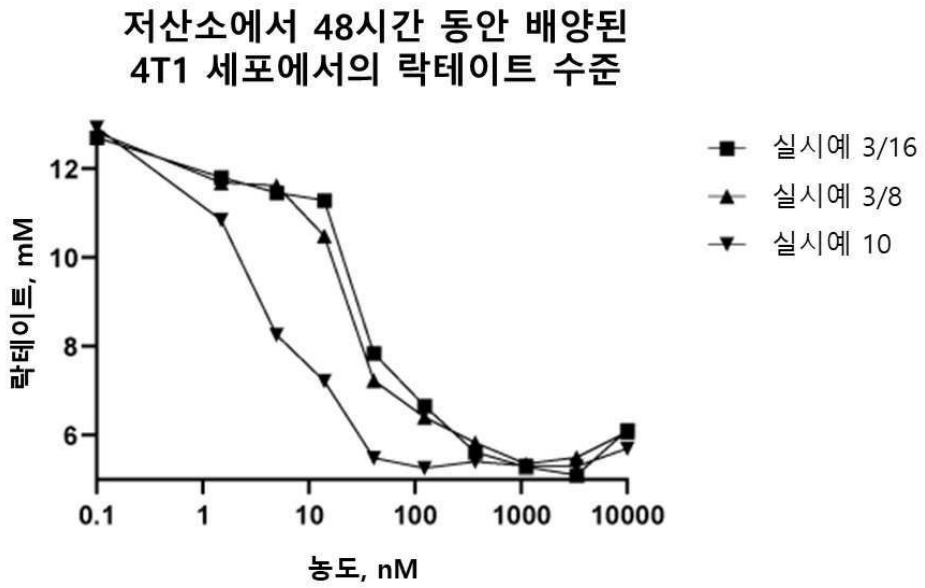
도면1k


저산소에서 48시간 동안 배양된
MiaPaCa 세포에서의 ATP 수준
LU
80000
60000
40000
20000
0
0.1
1
10
100
1000
10000
nM, 화합물
실시예 3/16
실시예 3/8
실시예 10

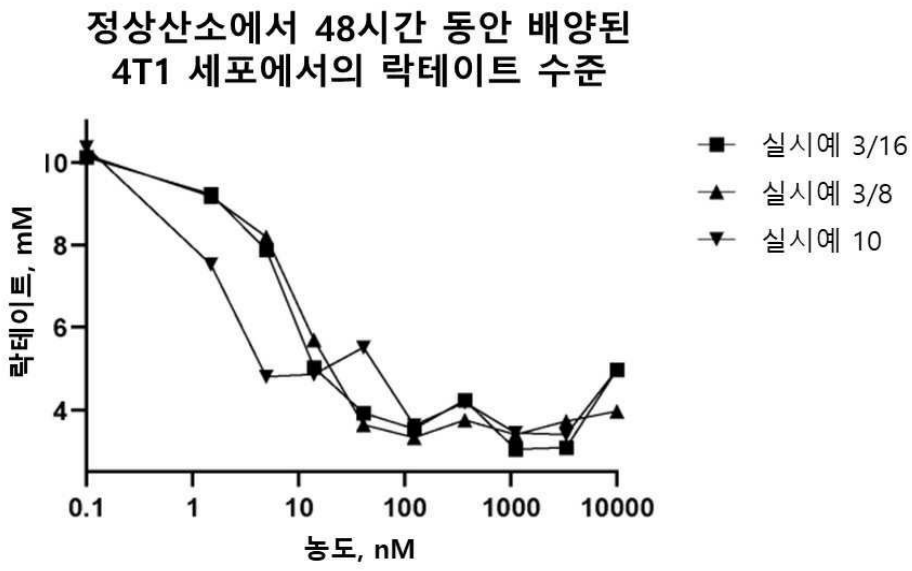
도면1l


정상산소에서 48시간 동안 배양된
MiaPaCa 세포에서의 ATP 수준
LU
100000
80000
60000
40000
20000
0
0.1
1
10
100
1000
10000
nM, 화합물
실시예 3/16
실시예 3/8
실시예 10

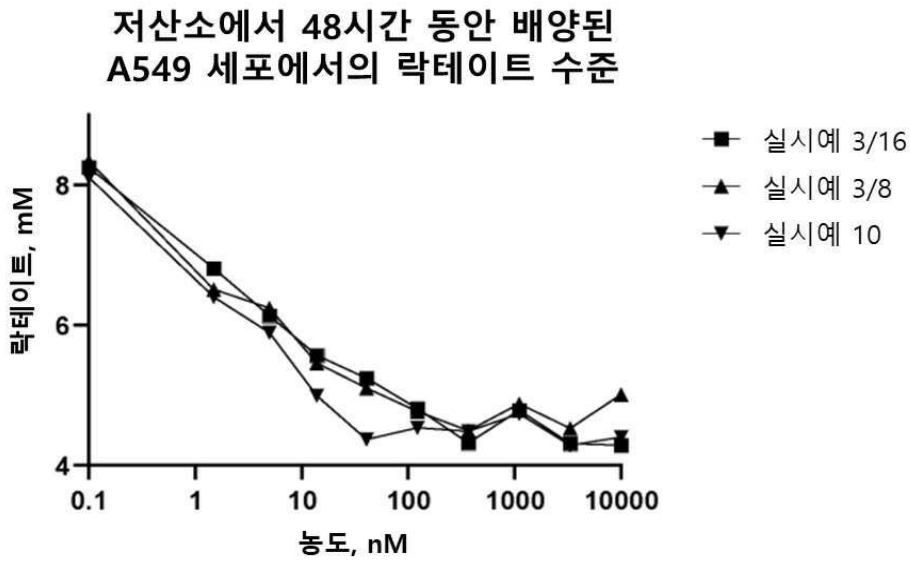
도면2a


저산소에서 48시간 동안 배양된
4T1 세포에서의 락테이트 수준
락테이트, mM
12
10
8
6
0.1
1
10
100
1000
10000
농도, nM
실시예 3/16
실시예 3/8
실시예 10

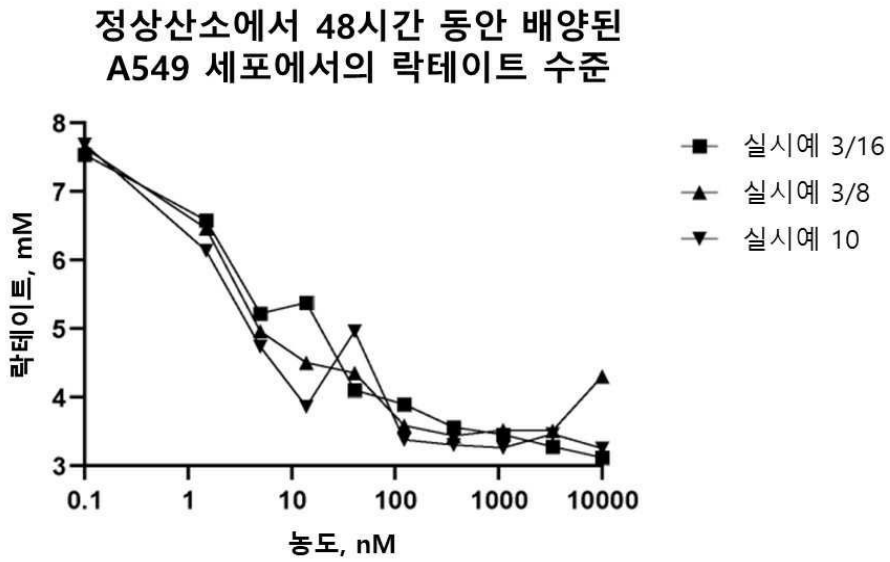
도면2b


정상산소에서 48시간 동안 배양된
4T1 세포에서의 락테이트 수준
락테이트, mM
10
8
6
4
0.1
1
10
100
1000
10000
농도, nM
실시예 3/16
실시예 3/8
실시예 10

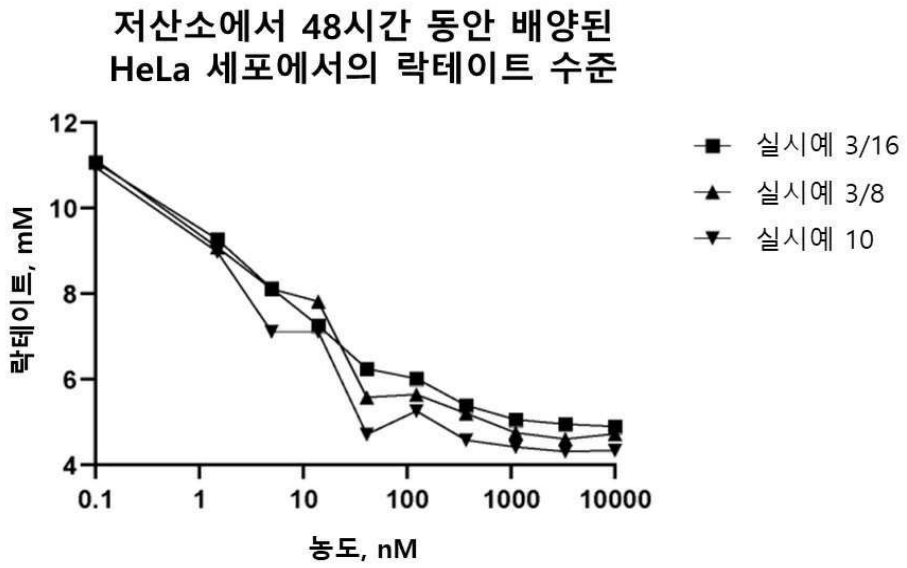
도면2c


저산소에서 48시간 동안 배양된
A549 세포에서의 락테이트 수준
락테이트, mM
8
6
4
0.1
1
10
100
1000
10000
농도, nM
실시예 3/16
실시예 3/8
실시예 10

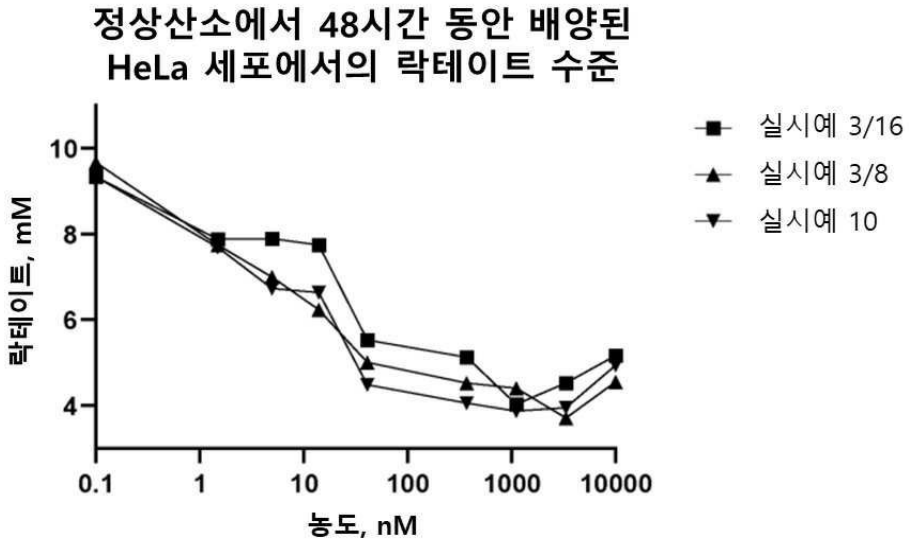
도면2d


정상산소에서 48시간 동안 배양된
A549 세포에서의 락테이트 수준
락테이트, mM
8
7
6
5
4
3
0.1
1
10
100
1000
10000
농도, nM
실시예 3/16
실시예 3/8
실시예 10

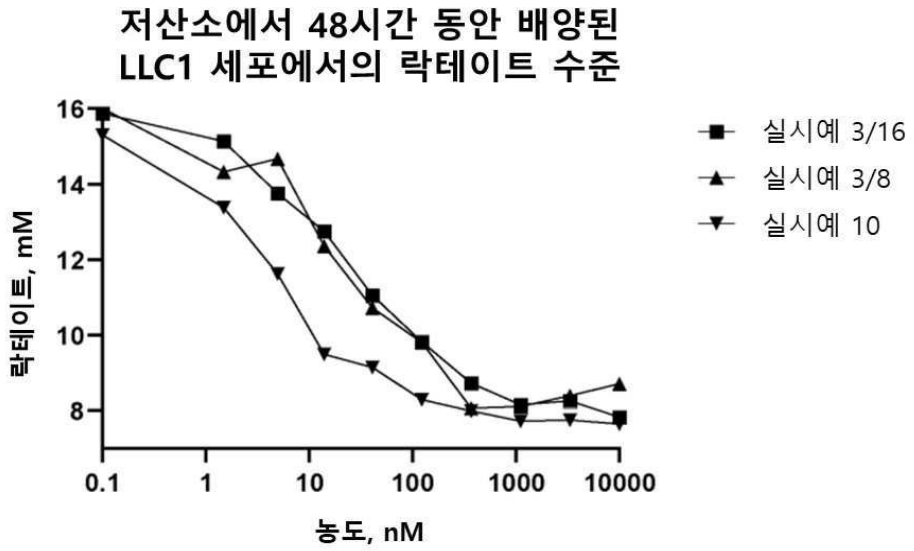
도면2e


저산소에서 48시간 동안 배양된
HeLa 세포에서의 락테이트 수준
락테이트, mM
12
10
8
6
4
0.1
1
10
100
1000
10000
농도, nM
실시예 3/16
실시예 3/8
실시예 10

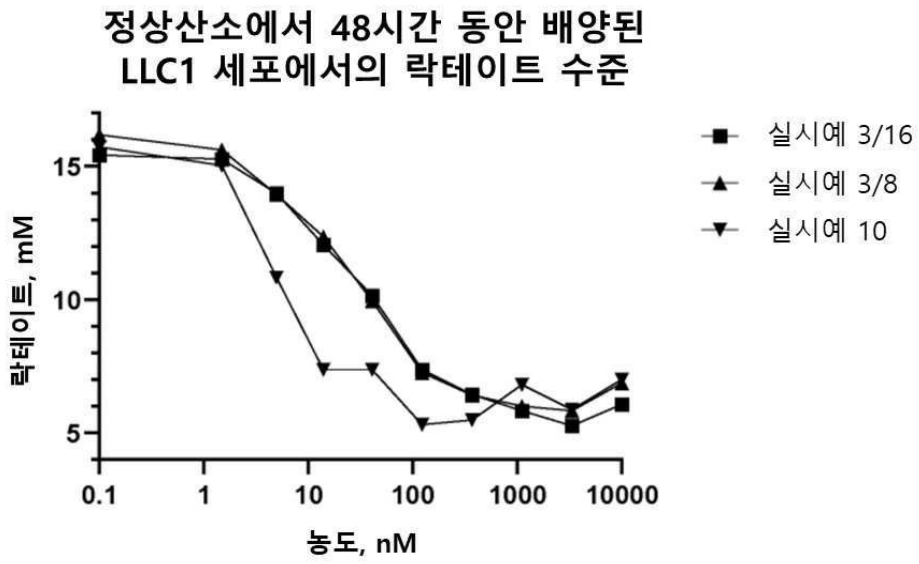
도면2f


정상산소에서 48시간 동안 배양된
HeLa 세포에서의 락테이트 수준
락테이트, mM
10
8
6
4
0.1
1
10
100
1000
10000
농도, nM
실시예 3/16
실시예 3/8
실시예 10

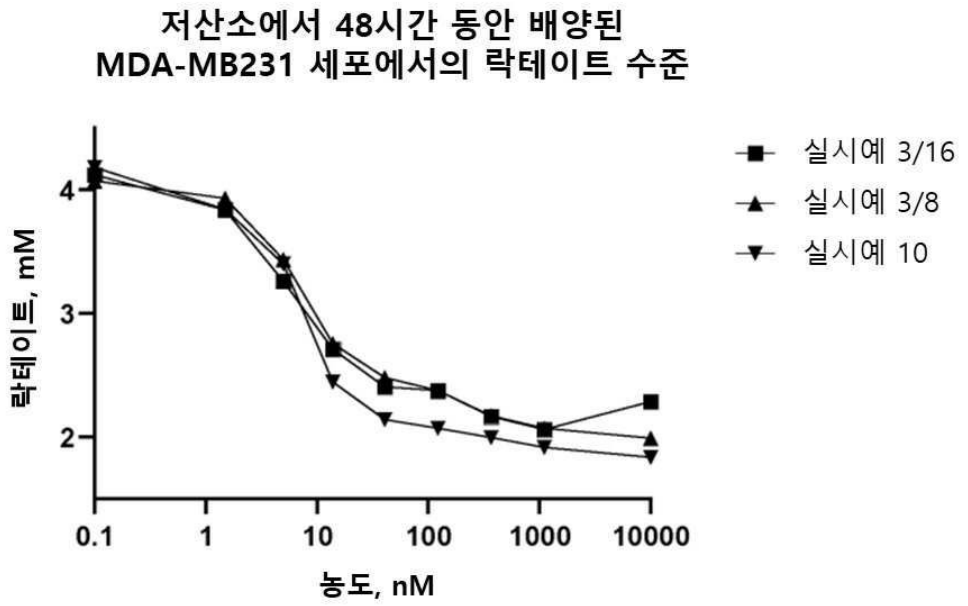
도면2g


저산소에서 48시간 동안 배양된
LLC1 세포에서의 락테이트 수준
락테이트, mM
16
14
12
10
8
0.1
1
10
100
1000
10000
농도, nM
실시예 3/16
실시예 3/8
실시예 10

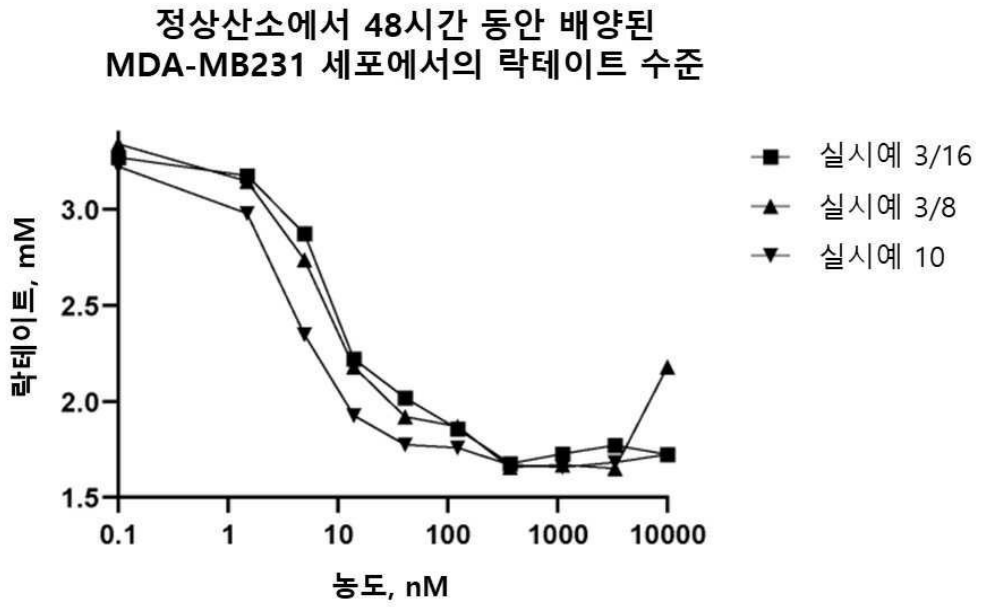
도면2h


정상산소에서 48시간 동안 배양된
LLC1 세포에서의 락테이트 수준
락테이트, mM
15
10
5
0.1
1
10
100
1000
10000
농도, nM
실시예 3/16
실시예 3/8
실시예 10

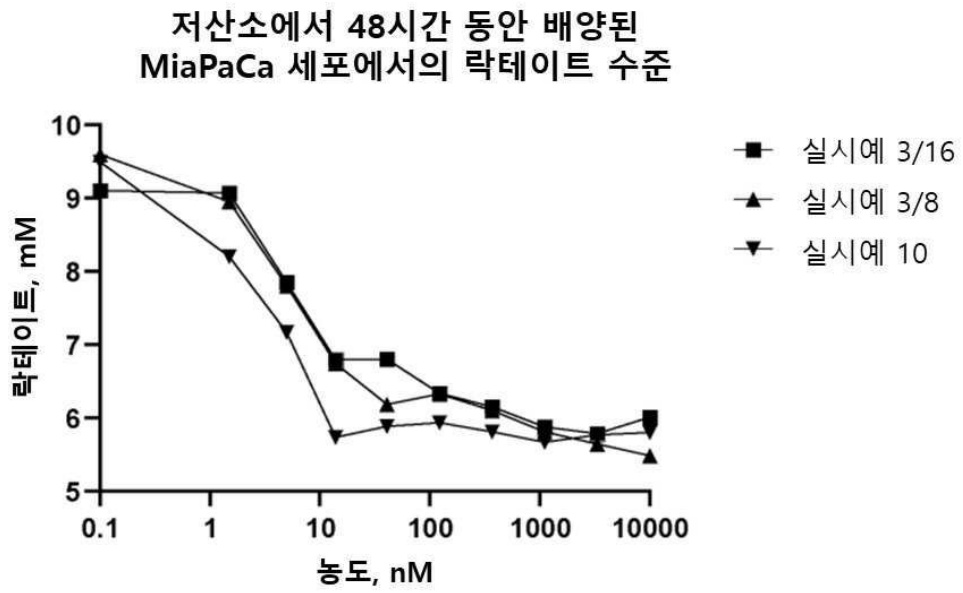
도면2i


저산소에서 48시간 동안 배양된
MDA-MB231 세포에서의 락테이트 수준
락테이트, mM
4
3
2
0.1
1
10
100
1000
10000
농도, nM
실시예 3/16
실시예 3/8
실시예 10

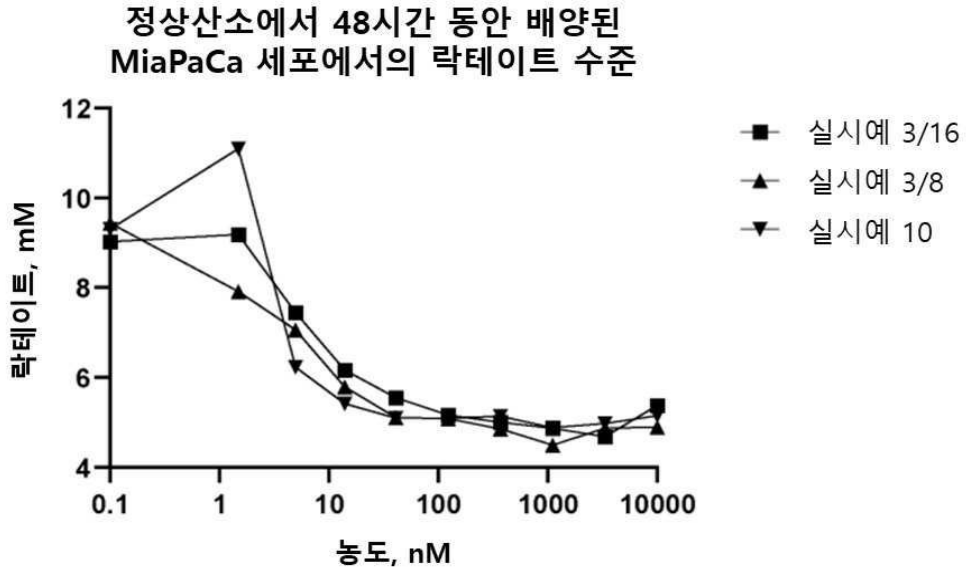
도면2j


정상산소에서 48시간 동안 배양된
MDA-MB231 세포에서의 락테이트 수준
락테이트, mM
3.0
2.5
2.0
1.5
0.1
1
10
100
1000
10000
농도, nM
실시예 3/16
실시예 3/8
실시예 10

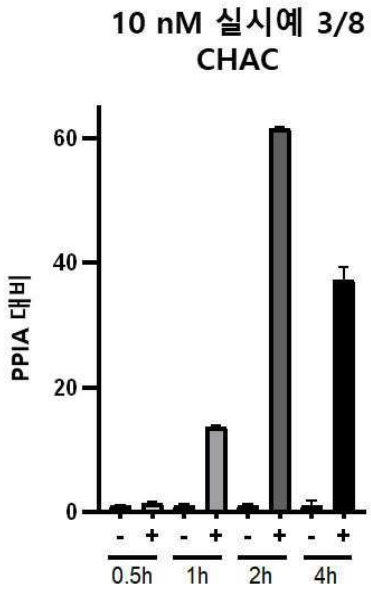
도면2k


저산소에서 48시간 동안 배양된
MiaPaCa 세포에서의 락테이트 수준
락테이트, mM
농도, nM
실시예 3/16
실시예 3/8
실시예 10

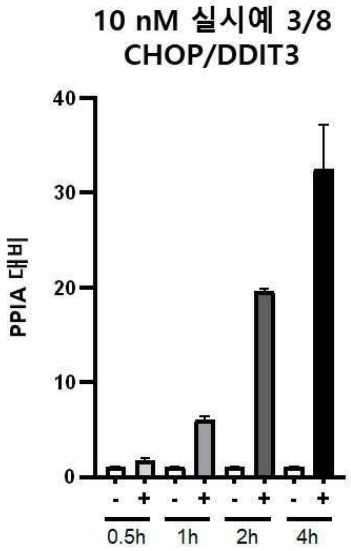
도면21


정상산소에서 48시간 동안 배양된
MiaPaCa 세포에서의 락테이트 수준
락테이트, mM
농도, nM
실시예 3/16
실시예 3/8
실시예 10

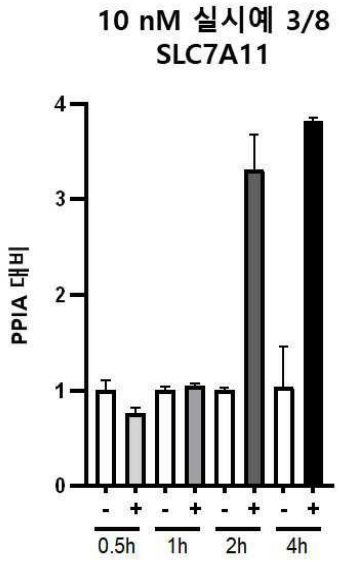
도면3a


10 nM 실시예 3/8
CHAC
PPIA 대비
60
40
20
0
- + - + - + - +
0.5h 1h 2h 4h

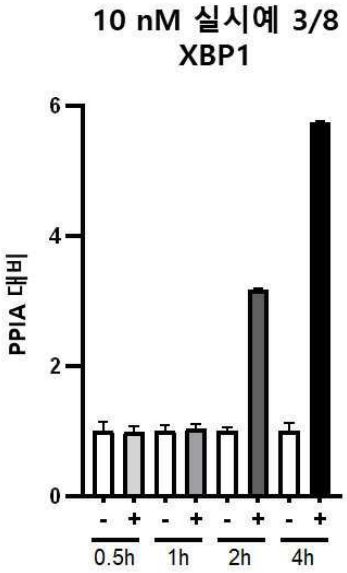
도면3b


10 nM 실시예 3/8
CHOP/DDIT3
PPIA 대비
40
30
20
10
0
- + - + - + - +
0.5h 1h 2h 4h

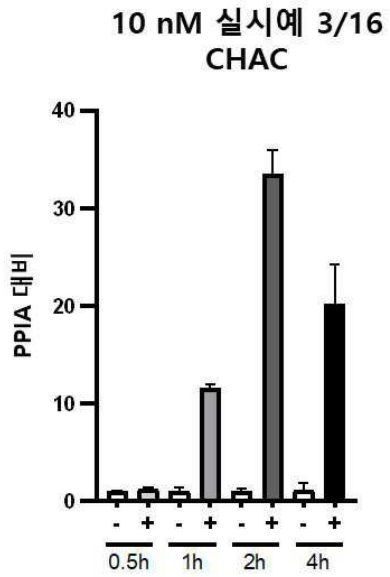
도면3c


10 nM 실시예 3/8
SLC7A11
PPIA 대비
0
1
2
3
4
- + - + - + - +
0.5h
1h
2h
4h

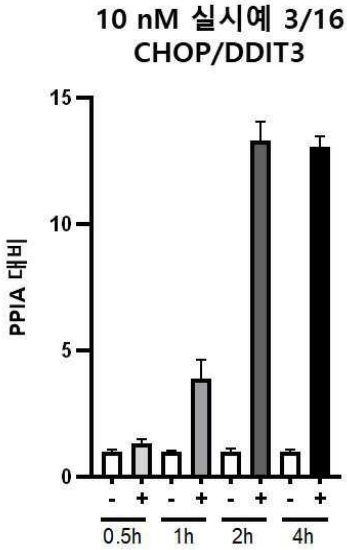
도면3d


10 nM 실시예 3/8
XBP1
PPIA 대비
0
2
4
6
- + - + - + - +
0.5h
1h
2h
4h

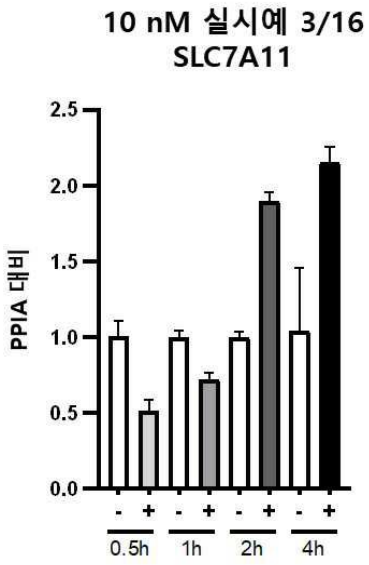
도면3e


10 nM 실시예 3/16
CHAC
PPIA 대비
40
30
20
10
0
- + - + - + - +
0.5h
1h
2h
4h

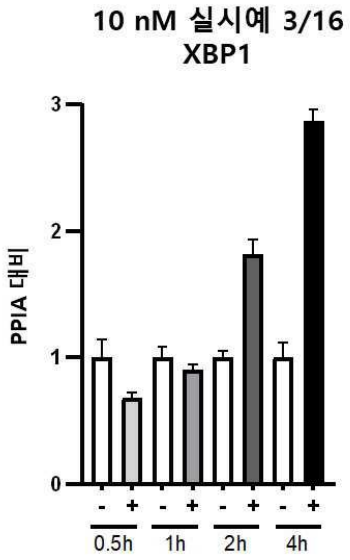
도면3f


10 nM 실시예 3/16
CHOP/DDIT3
PPIA 대비
15
10
5
0
- + - + - + - +
0.5h
1h
2h
4h

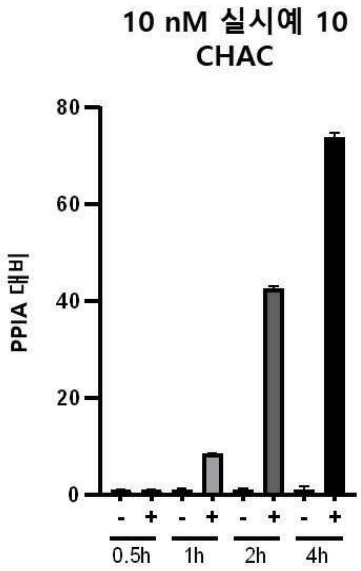
도면3g


10 nM 실시예 3/16
SLC7A11
PPIA 대비
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
- + - + - + - +
0.5h 1h 2h 4h

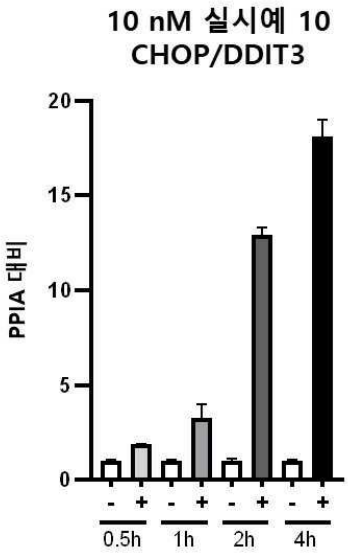
도면3h


10 nM 실시예 3/16
XBP1
PPIA 대비
3
2
1
0
- + - + - + - +
0.5h 1h 2h 4h

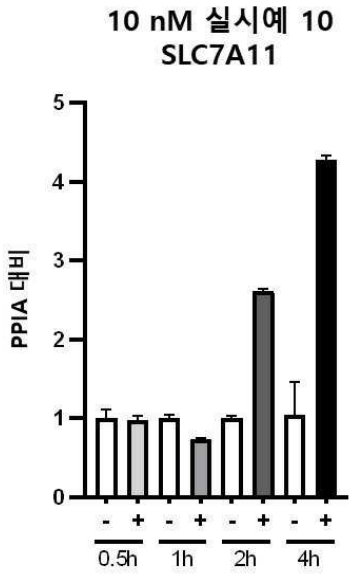
도면3i


10 nM 실시예 10
CHAC
PPIA 대비
80
60
40
20
0
- + - + - + - +
0.5h
1h
2h
4h

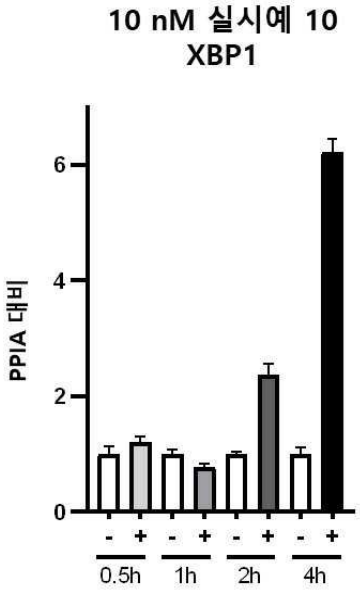
도면3j


10 nM 실시예 10
CHOP/DDIT3
PPIA 대비
20
15
10
5
0
- + - + - + - +
0.5h
1h
2h
4h

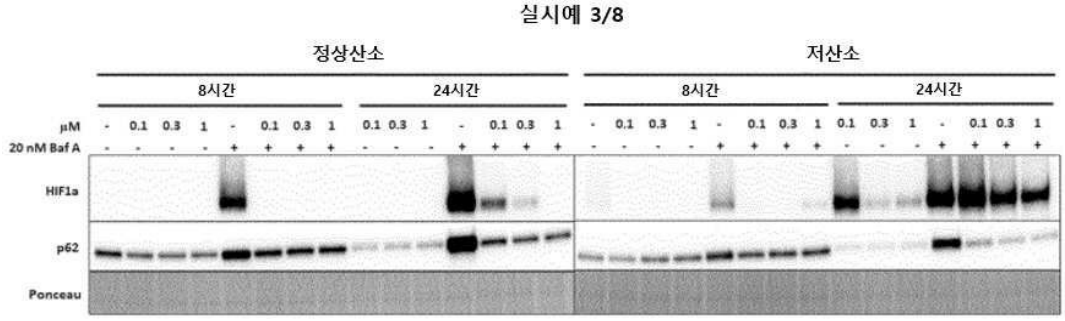
도면3k



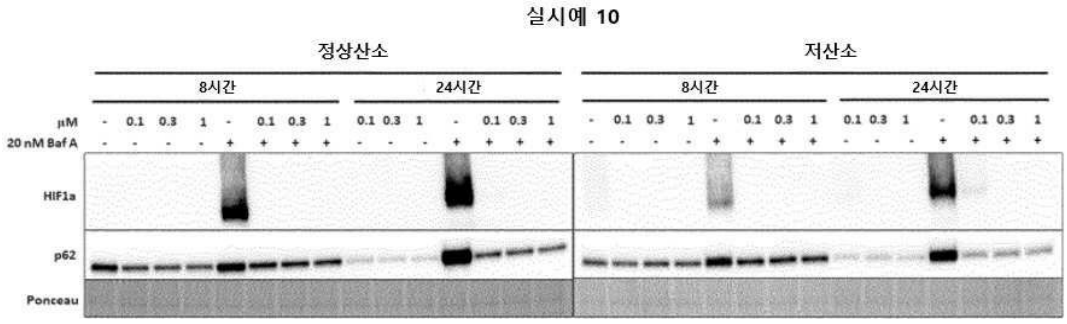
도면31



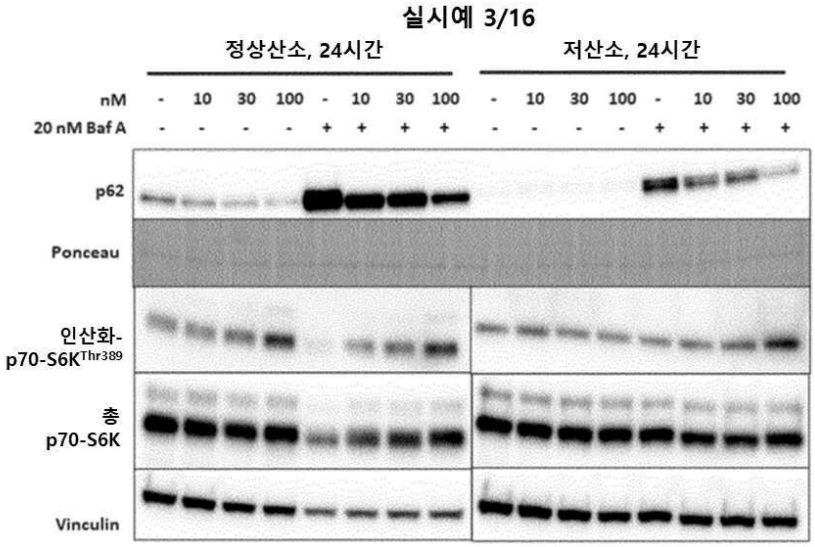
도면4a



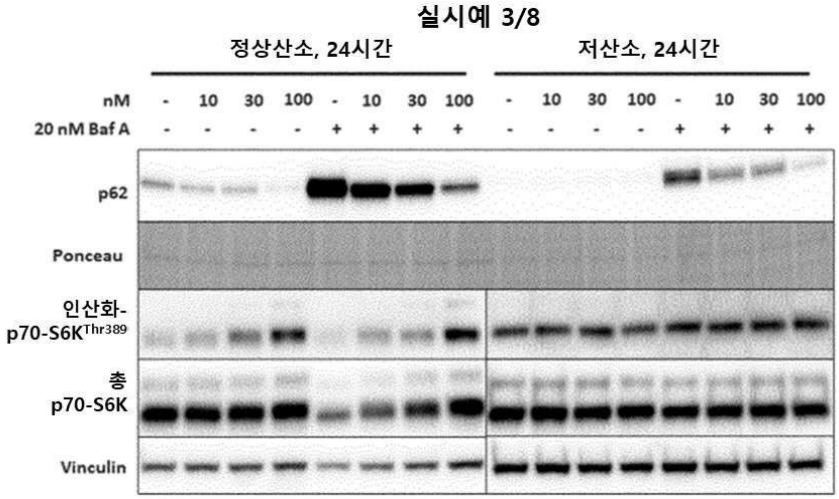
도면4b



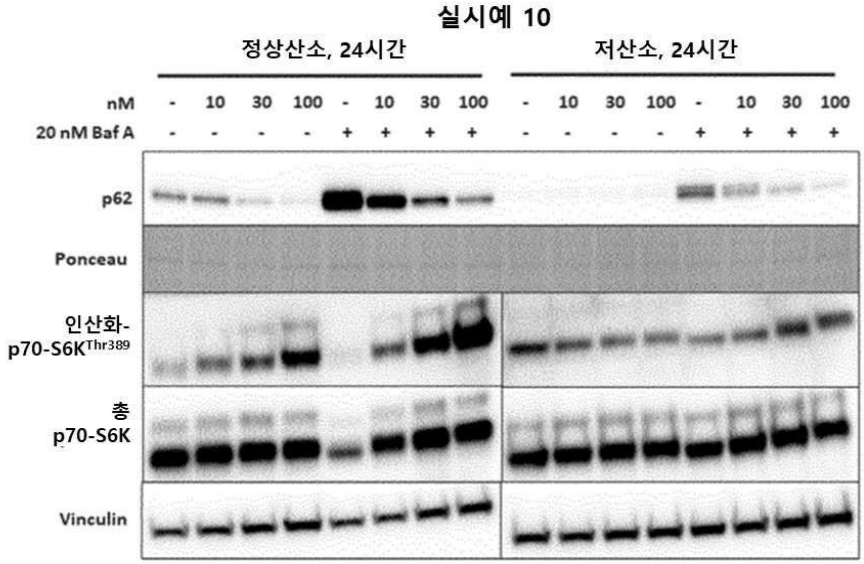
도면5a



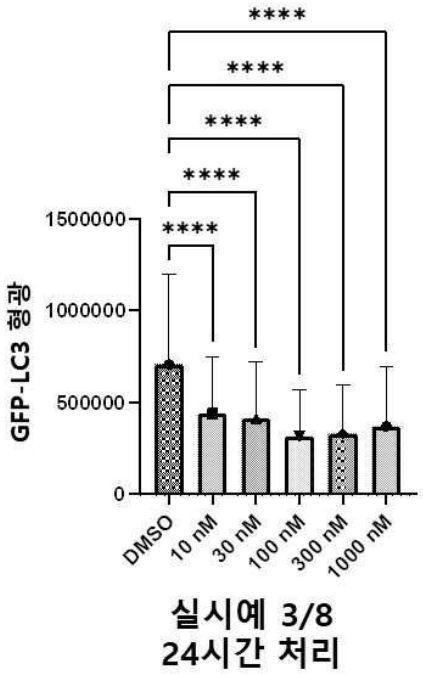
도면5b



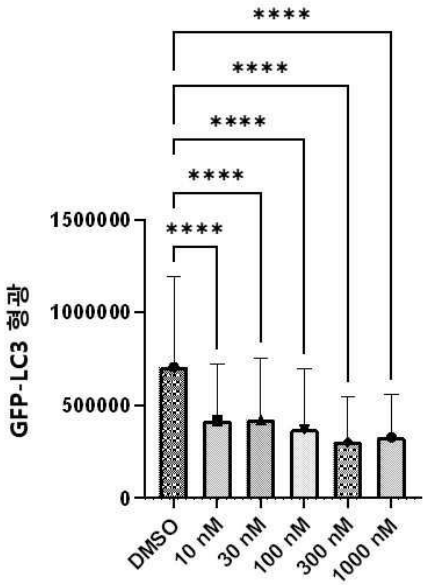
도면5c


실시예 10
정상산소, 24시간
저산소, 24시간
nM - 10 30 100 - 10 30 100 - 10 30 100 - 10 30 100
20 nM Baf A - - - - + + + + - - - - + + + +
p62
Ponceau
인산화-p70-S6K Thr389
총 p70-S6K
Vinculin

도면6a

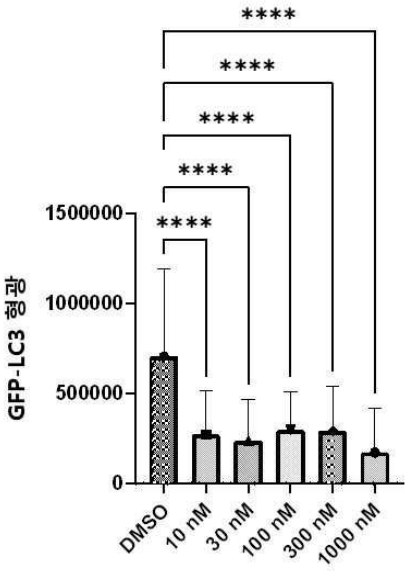

****
****
****
****
****
1500000
1000000
500000
0
GFP-LC3 형광
DMSO
10 nM
30 nM
100 nM
300 nM
1000 nM
실시예 3/8
24시간 처리

도면6b



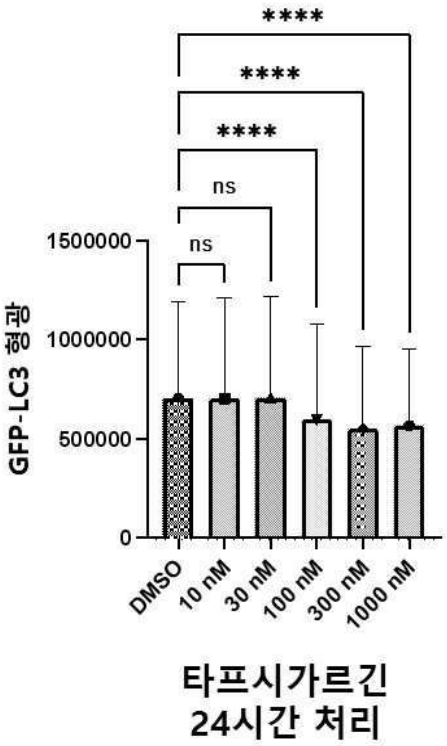
실시예 10
24시간 처리

도면6c

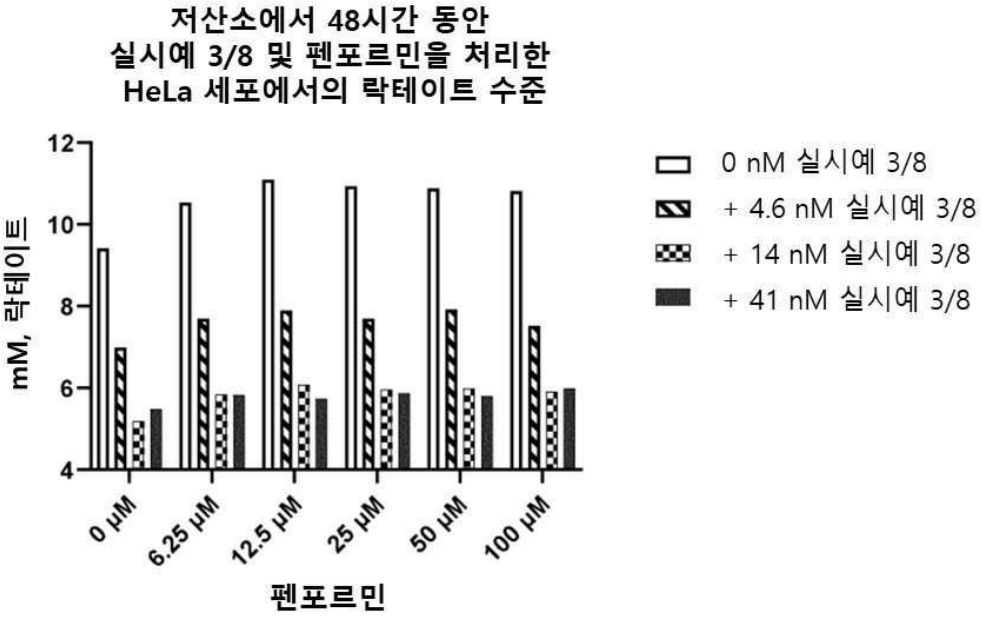


실시예 3/16
24시간 처리

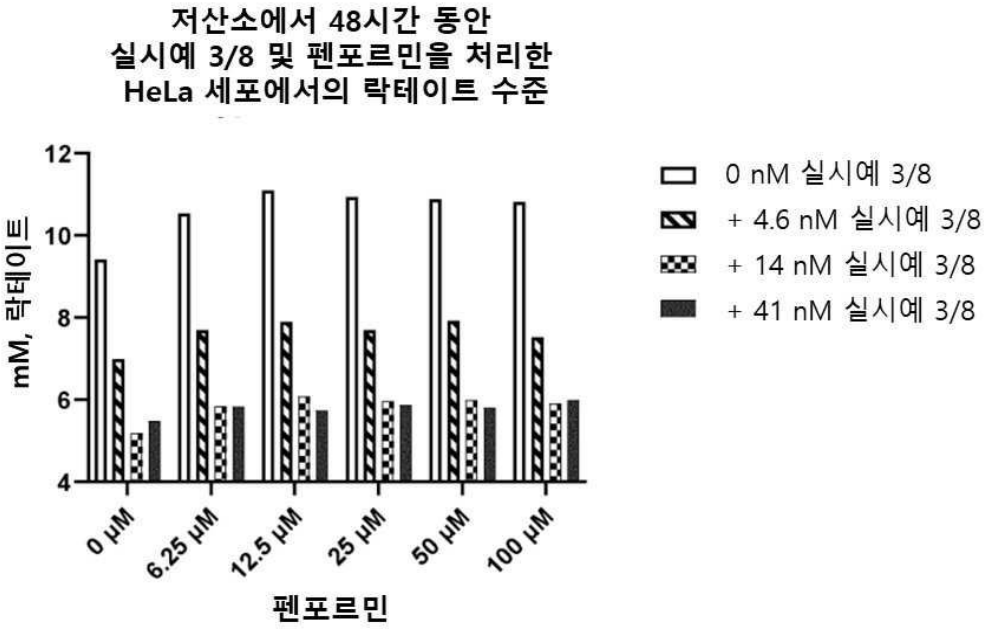
도면6d


****
****
****
ns
ns
1500000
1000000
500000
0
GFP-LC3 형광
DMSO
10 nM
30 nM
100 nM
300 nM
1000 nM
타프시가르긴
24시간 처리

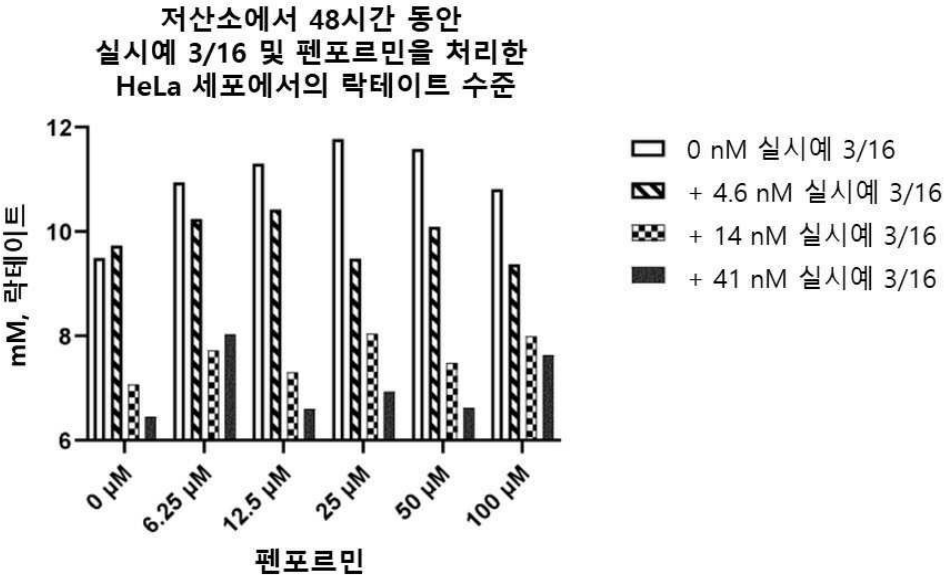
도면7a


저산소에서 48시간 동안
실시예 3/8 및 펜포르민을 처리한
HeLa 세포에서의 락테이트 수준
12
10
8
6
4
mM, 락테이트
0 μM
6.25 μM
12.5 μM
25 μM
50 μM
100 μM
펜포르민
0 nM 실시예 3/8
+ 4.6 nM 실시예 3/8
+ 14 nM 실시예 3/8
+ 41 nM 실시예 3/8

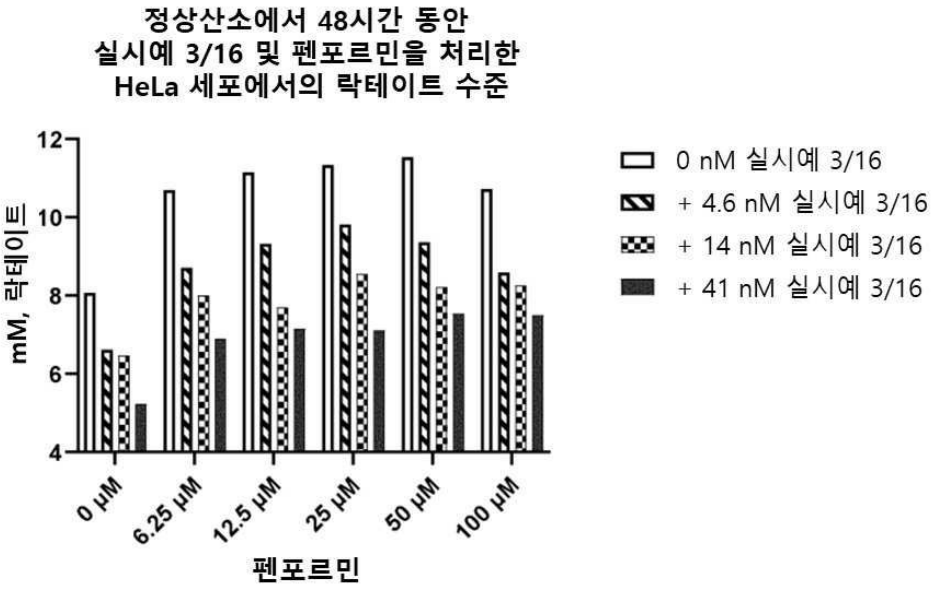
도면7b


저산소에서 48시간 동안
실시예 3/8 및 펜포르민을 처리한
HeLa 세포에서의 락테이트 수준
mM, 락테이트
12
10
8
6
4
0 μM
6.25 μM
12.5 μM
25 μM
50 μM
100 μM
펜포르민
0 nM 실시예 3/8
+ 4.6 nM 실시예 3/8
+ 14 nM 실시예 3/8
+ 41 nM 실시예 3/8

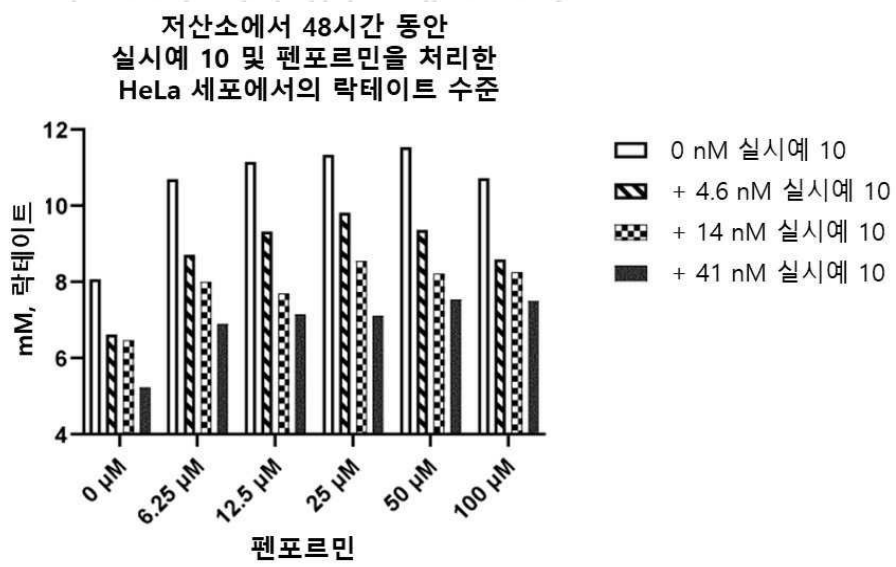
도면7c


저산소에서 48시간 동안
실시예 3/16 및 펜포르민을 처리한
HeLa 세포에서의 락테이트 수준
mM, 락테이트
12
10
8
6
0 μM
6.25 μM
12.5 μM
25 μM
50 μM
100 μM
펜포르민
0 nM 실시예 3/16
+ 4.6 nM 실시예 3/16
+ 14 nM 실시예 3/16
+ 41 nM 실시예 3/16

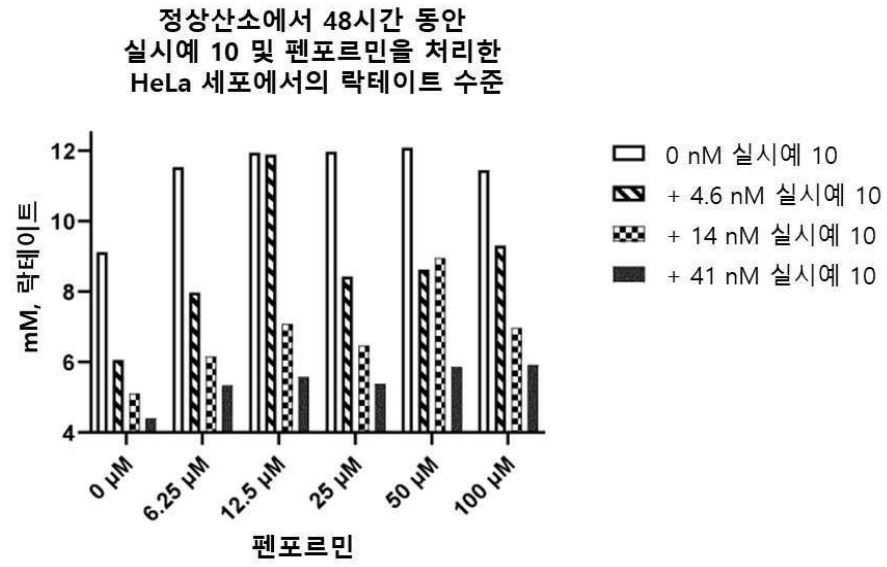
도면7d


정상산소에서 48시간 동안
실시예 3/16 및 펜포르민을 처리한
HeLa 세포에서의 락테이트 수준
mM, 락테이트
12
10
8
6
4
0 μM
6.25 μM
12.5 μM
25 μM
50 μM
100 μM
펜포르민
0 nM 실시예 3/16
+ 4.6 nM 실시예 3/16
+ 14 nM 실시예 3/16
+ 41 nM 실시예 3/16

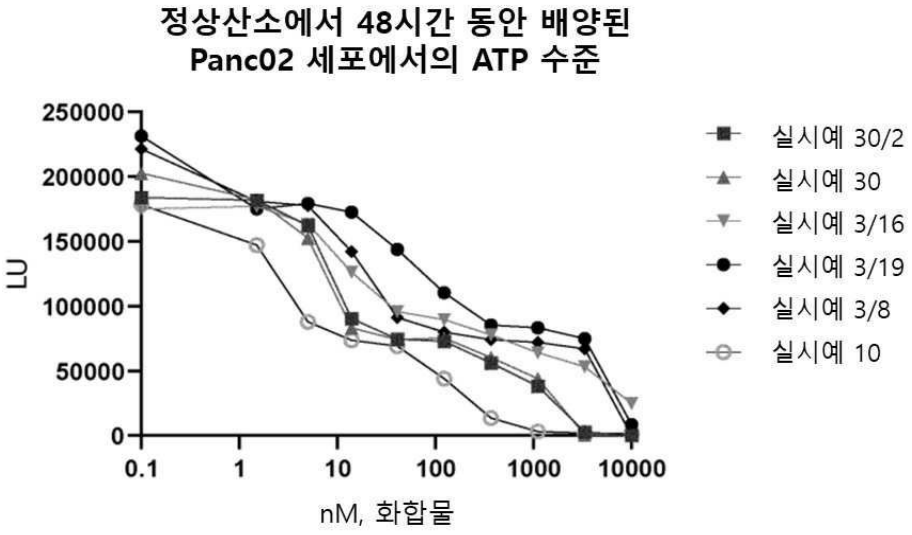
도면7e


저산소에서 48시간 동안
실시예 10 및 펜포르민을 처리한
HeLa 세포에서의 락테이트 수준
mM, 락테이트
12
10
8
6
4
0 μM
6.25 μM
12.5 μM
25 μM
50 μM
100 μM
펜포르민
0 nM 실시예 10
+ 4.6 nM 실시예 10
+ 14 nM 실시예 10
+ 41 nM 실시예 10

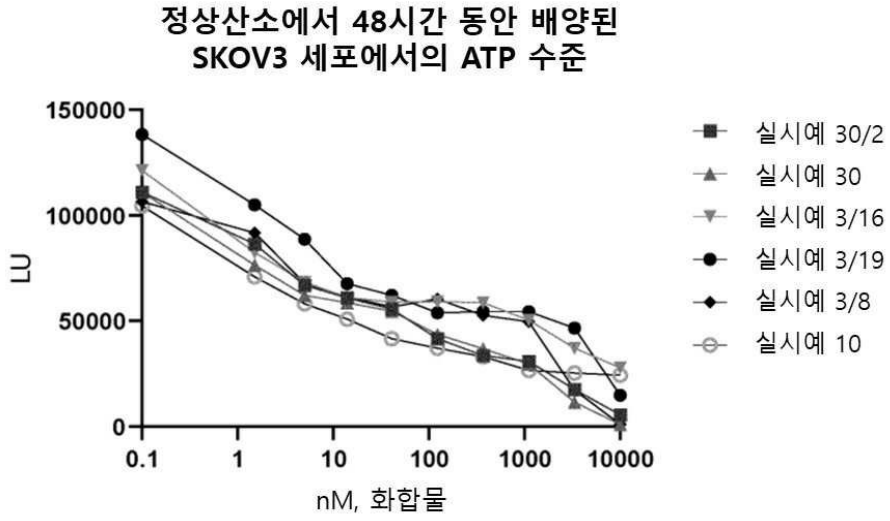
도면7f


정상산소에서 48시간 동안
실시예 10 및 펜포르민을 처리한
HeLa 세포에서의 락테이트 수준
mM, 락테이트
12
10
8
6
4
0 μM
6.25 μM
12.5 μM
25 μM
50 μM
100 μM
펜포르민
0 nM 실시예 10
+ 4.6 nM 실시예 10
+ 14 nM 실시예 10
+ 41 nM 실시예 10

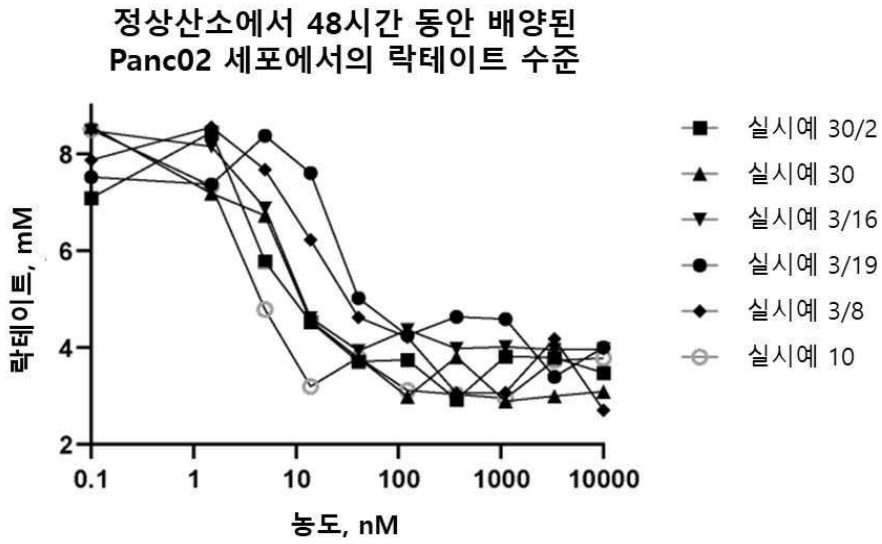
도면8a


정상산소에서 48시간 동안 배양된
Panc02 세포에서의 ATP 수준
LU
250000
200000
150000
100000
50000
0
0.1
1
10
100
1000
10000
nM, 화합물
실시예 30/2
실시예 30
실시예 3/16
실시예 3/19
실시예 3/8
실시예 10

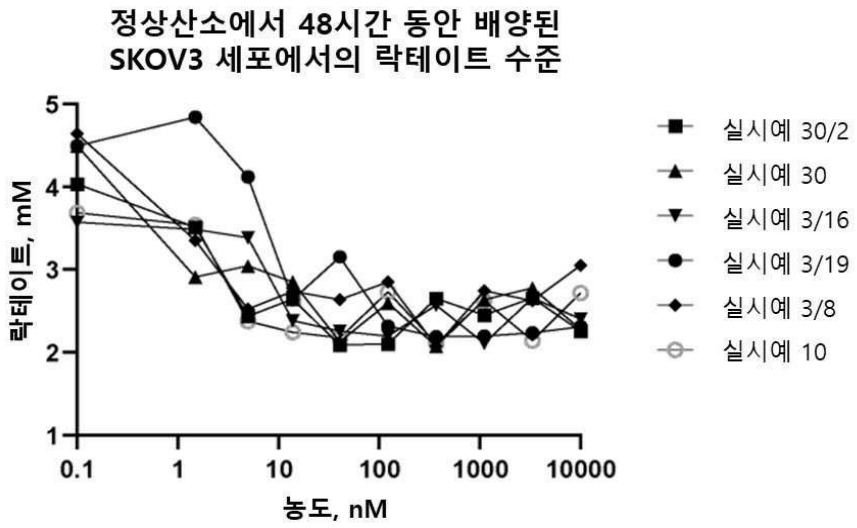
도면8b


정상산소에서 48시간 동안 배양된
SKOV3 세포에서의 ATP 수준
150000
100000
50000
0
LU
0.1
1
10
100
1000
10000
nM, 화합물
실시예 30/2
실시예 30
실시예 3/16
실시예 3/19
실시예 3/8
실시예 10

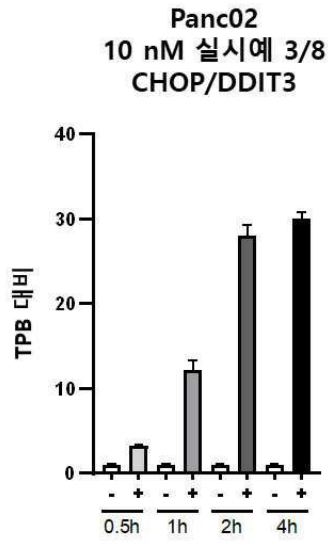
도면8c


정상산소에서 48시간 동안 배양된
Panc02 세포에서의 락테이트 수준
8
6
4
2
락테이트, mM
0.1
1
10
100
1000
10000
농도, nM
실시예 30/2
실시예 30
실시예 3/16
실시예 3/19
실시예 3/8
실시예 10

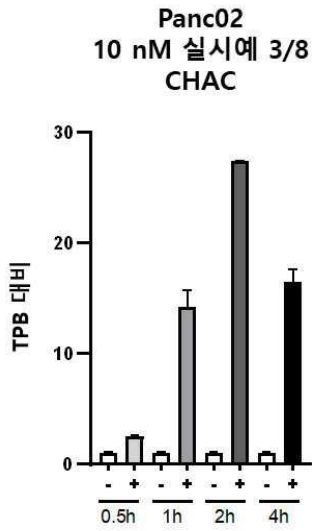
도면8d


정상산소에서 48시간 동안 배양된
SKOV3 세포에서의 락테이트 수준
락테이트, mM
농도, nM
0.1
1
10
100
1000
10000
1
2
3
4
5
실시예 30/2
실시예 30
실시예 3/16
실시예 3/19
실시예 3/8
실시예 10

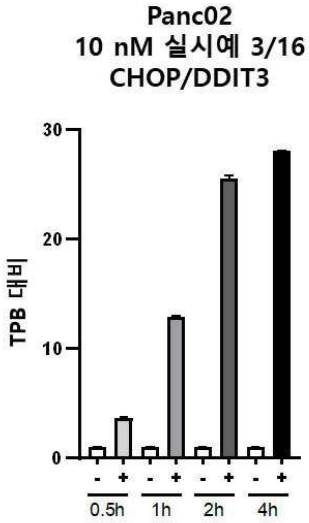
도면8e


Panc02
10 nM 실시예 3/8
CHOP/DDIT3
TPB 대비
0
10
20
30
40
- + - + - + - +
0.5h
1h
2h
4h

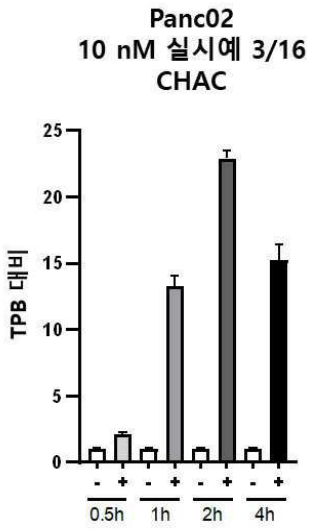
도면8f


Panc02
10 nM 실시예 3/8
CHAC
TPB 대비
30
20
10
0
- + - + - + - +
0.5h 1h 2h 4h

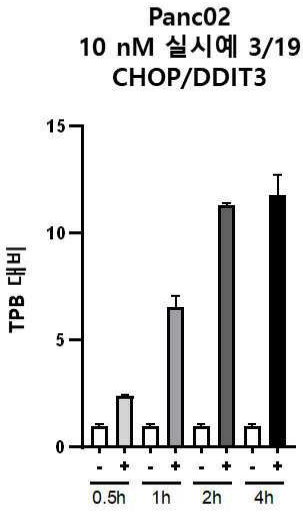
도면8g


Panc02
10 nM 실시예 3/16
CHOP/DDIT3
TPB 대비
30
20
10
0
- + - + - + - +
0.5h 1h 2h 4h

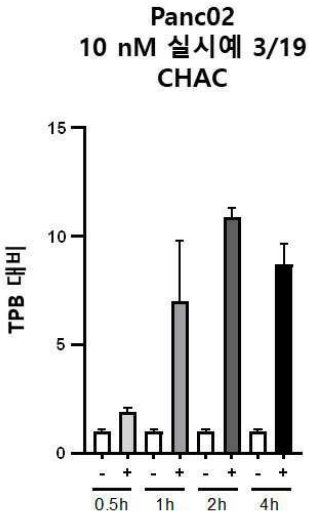
도면8h


Panc02
10 nM 실시예 3/16
CHAC
TPB 대비
25
20
15
10
5
0
- + - + - + - +
0.5h
1h
2h
4h

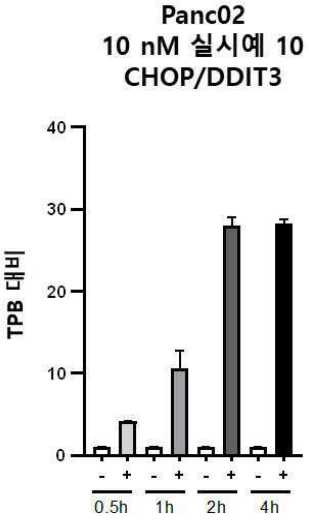
도면8i


Panc02
10 nM 실시예 3/19
CHOP/DDIT3
TPB 대비
15
10
5
0
- + - + - + - +
0.5h
1h
2h
4h

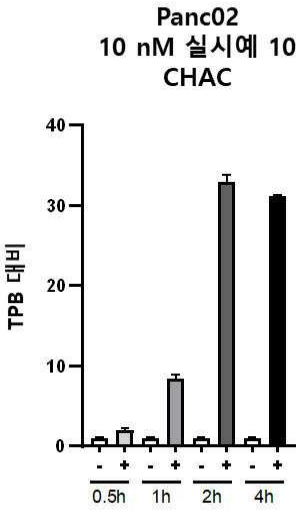
도면8j


Panc02
10 nM 실시예 3/19
CHAC
TPB 대비
15
10
5
0
- + - + - + - +
0.5h 1h 2h 4h

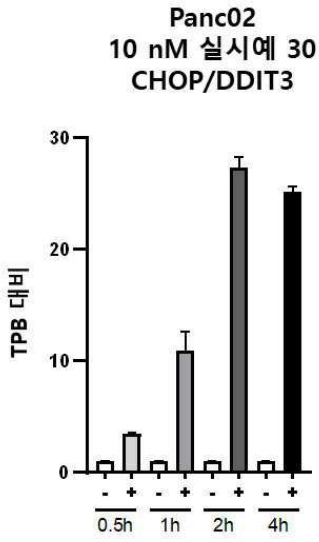
도면8k


Panc02
10 nM 실시예 10
CHOP/DDIT3
TPB 대비
40
30
20
10
0
- + - + - + - +
0.5h 1h 2h 4h

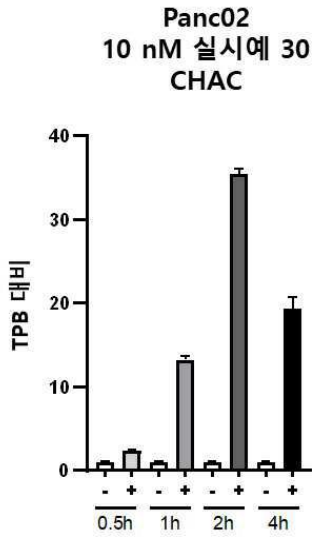
도면81


Panc02
10 nM 실시예 10
CHAC
TPB 대비
40
30
20
10
0
- + - + - + - +
0.5h
1h
2h
4h

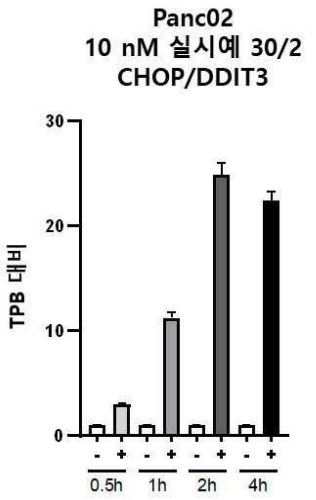
도면8m


Panc02
10 nM 실시예 30
CHOP/DDIT3
TPB 대비
30
20
10
0
- + - + - + - +
0.5h
1h
2h
4h

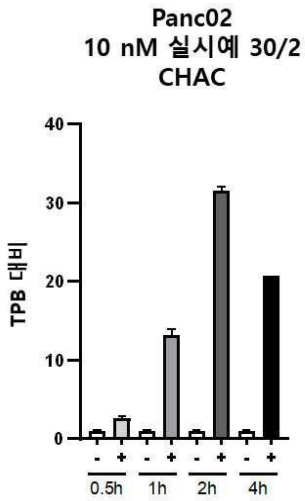
도면8n


Panc02
10 nM 실시예 30
CHAC
TPB 대비
40
30
20
10
0
- + - + - + - +
0.5h
1h
2h
4h

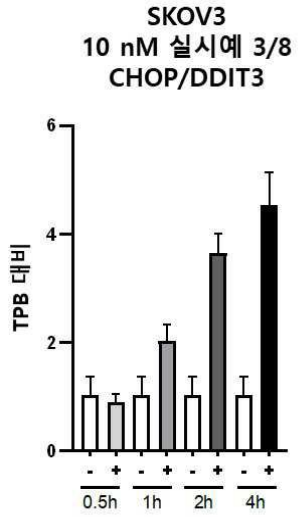
도면8o


Panc02
10 nM 실시예 30/2
CHOP/DDIT3
TPB 대비
30
20
10
0
- + - + - + - +
0.5h
1h
2h
4h

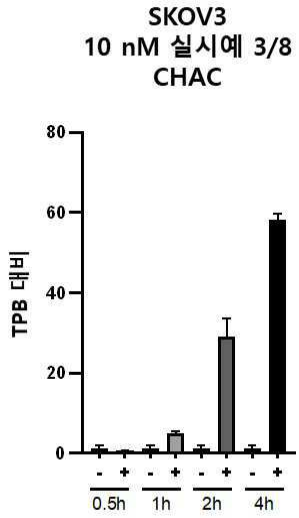
도면8p


Panc02
10 nM 실시예 30/2
CHAC
TPB 대비
40
30
20
10
0
- + - + - + - +
0.5h
1h
2h
4h

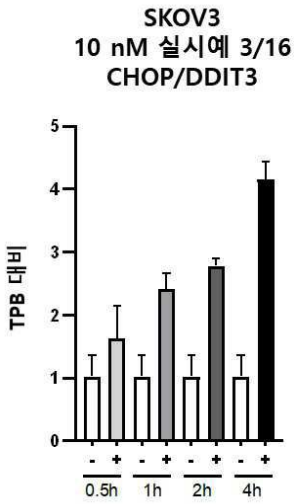
도면8q


SKOV3
10 nM 실시예 3/8
CHOP/DDIT3
TPB 대비
6
4
2
0
- + - + - + - +
0.5h
1h
2h
4h

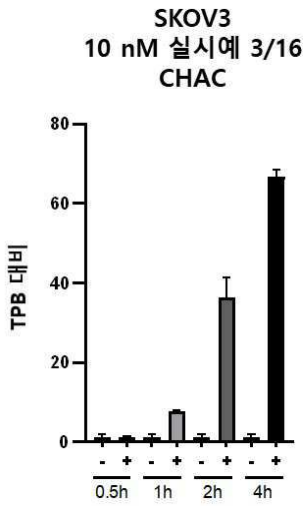
도면8r


SKOV3
10 nM 실시예 3/8
CHAC
TPB 대비
80
60
40
20
0
- + - + - + - +
0.5h 1h 2h 4h

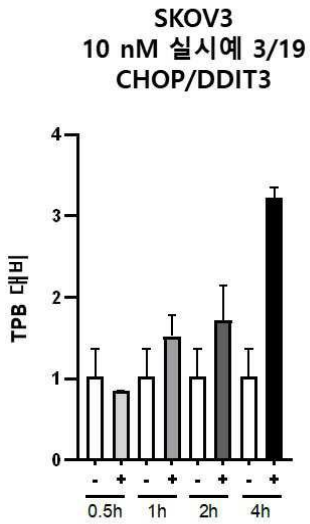
도면8s


SKOV3
10 nM 실시예 3/16
CHOP/DDIT3
TPB 대비
5
4
3
2
1
0
- + - + - + - +
0.5h 1h 2h 4h

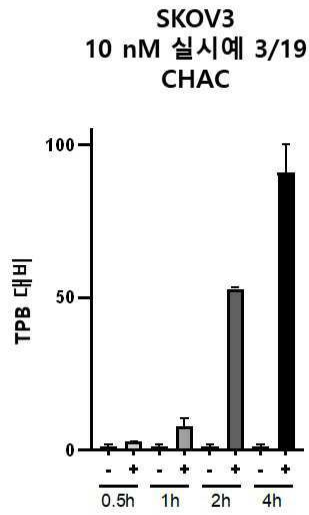
도면8t


SKOV3
10 nM 실시예 3/16
CHAC
TPB 대비
80
60
40
20
0
- + - + - + - +
0.5h 1h 2h 4h

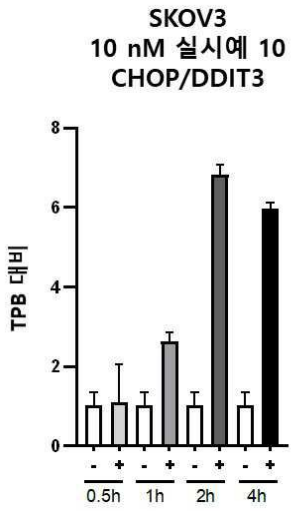
도면8u


SKOV3
10 nM 실시예 3/19
CHOP/DDIT3
TPB 대비
4
3
2
1
0
- + - + - + - +
0.5h 1h 2h 4h

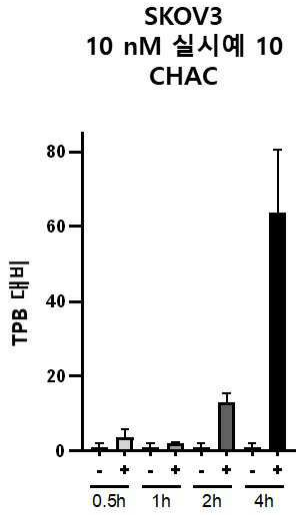
도면8v


SKOV3
10 nM 실시예 3/19
CHAC
TPB 대비
100
50
0
- + - + - + - +
0.5h
1h
2h
4h

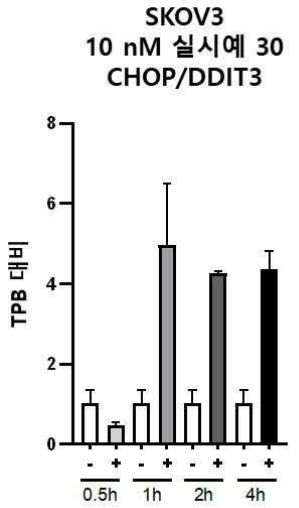
도면8w


SKOV3
10 nM 실시예 10
CHOP/DDIT3
TPB 대비
8
6
4
2
0
- + - + - + - +
0.5h
1h
2h
4h

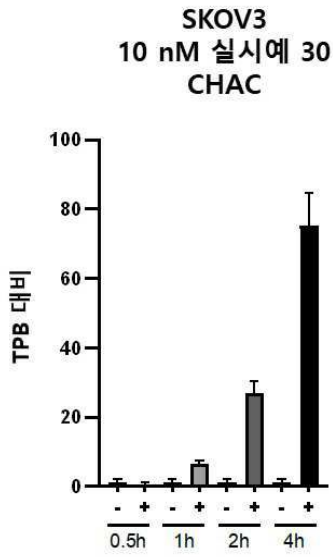
도면8x


SKOV3
10 nM 실시예 10
CHAC
TPB 대비
80
60
40
20
0
- + - + - + - +
0.5h
1h
2h
4h

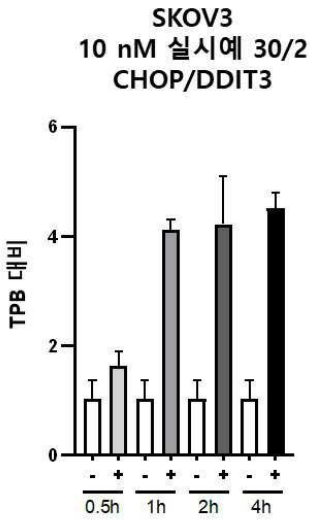
도면8y


SKOV3
10 nM 실시예 30
CHOP/DDIT3
TPB 대비
8
6
4
2
0
- + - + - + - +
0.5h
1h
2h
4h

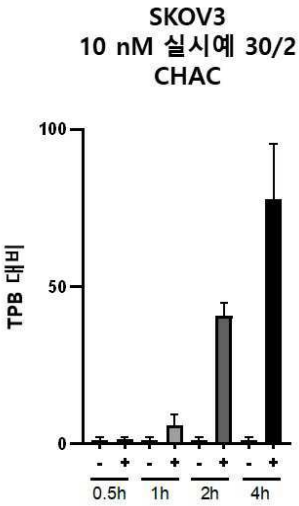
도면8z


SKOV3
10 nM 실시예 30
CHAC
TPB 대비
100
80
60
40
20
0
- + - + - + - +
0.5h 1h 2h 4h

도면8aa


SKOV3
10 nM 실시예 30/2
CHOP/DDIT3
TPB 대비
6
4
2
0
- + - + - + - +
0.5h 1h 2h 4h

도면8ab



서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

본 공보 PDF는 첨부파일을 가지고 있습니다. Acrobat Reader PDF뷰어를 제공하지 않는 브라우저(크롬, 파이어폭스, 사파리 등)의 경우 첨부파일 열기가 제한되어 있으므로 Acrobat Reader PDF뷰어 설치 후 공보 PDF를 다운로드 받아 해당 뷰어에서 조회해주시기 바랍니다.