



(19)대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(51) 。 Int. Cl.

C07D 471/04 (2006.01)

A61K 31/437 (2006.01)

A61K 31/4985 (2006.01)

(11) 공개번호 10-2007-0053236

(43) 공개일자 2007년05월23일

(21) 출원번호 10-2007-7004766

(22) 출원일자 2007년02월27일

심사청구일자 없음

변역문 제출일자 2007년02월27일

(86) 국제출원번호 PCT/US2005/026794

(87) 국제공개번호 WO 2006/015124

국제출원일자 2005년07월27일

국제공개일자 2006년02월09일

(30) 우선권주장 60/591,778 2004년07월27일 미국(US)
60/591,886 2004년07월27일 미국(US)
60/680,091 2005년05월11일 미국(US)

(71) 출원인 에스지엑스 파마슈티컬스, 인코포레이티드
미국 92121 캘리포니아주 샌 디에고 로셀 스트리트 10505

(72) 발명자 아놀드, 윌리엄, 디.
미국 92131 캘리포니아주 샌 디에고 레드 세다 드라이브 11024
고스버그, 안드레아스
미국 92078 캘리포니아주 샌 마르코스 도틀리 웨이 1702
리, 제
미국 92122 캘리포니아주 샌 디에고 #173 쇼어라인 드라이브 7224
스틴스마, 루오, 더블류
미국 92037 캘리포니아주 라 졸라 아베니다 마나나 6509
월슨, 마크, 이.
미국 92065 캘리포니아주 라모나 노쓰 칼버우 스트리트 117

(74) 대리인 장수길
김영

전체 청구항 수 : 총 38 항

(54) 융합 고리 헤테로사이클 키나제 조절제

(57) 요약

본 발명은 신규한 융합 고리 헤테로사이클 키나제 조절제 및 키나제 활성화에 의해 매개되는 질환을 치료하기 위해 상기 신규한 융합 고리 헤테로사이클 키나제 조절제를 사용하는 방법에 관한 것이다.

대표도

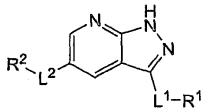
도 1

특허청구의 범위

청구항 1.

하기 화학식 I의 화합물.

<화학식 I>



상기 식에서, L^1 및 L^2 는 독립적으로 결합, $-S(O)_n-$, $-O-$, $-NH-$, 비치환 C_1-C_5 알킬렌, 또는 비치환 2원 내지 5원 헤테로알킬렌이고, 이때 n 은 0 내지 2의 정수이며;

R^1 및 R^2 는 독립적으로 치환 또는 비치환 사이클로알킬, 치환 또는 비치환 헤테로사이클로알킬, 치환 또는 비치환 헤테로아릴, 또는 치환 또는 비치환 아틸이나,

단, R^1 은 치환 또는 비치환 피롤릴이 아니고,

R^1 및 R^2 가 둘다 비치환 페닐인 경우, L^1 은 비치환 2원 내지 5원 헤테로알킬렌이 아니며,

R^2 가 비치환 피페라지닐인 경우, L^1 은 $-S(O)_2-$ 가 아니고,

R^2 가 비치환 피리디닐인 경우, R^1 은 치환 또는 비치환 이속사졸릴이 아니다.

청구항 2.

제1항에 있어서, L^1 및 L^2 가 독립적으로 결합, $-S(O)_n-$, $-O-$, $-NH-$, 또는 비치환 C_1-C_5 알킬렌인 화합물.

청구항 3.

제1항에 있어서, L^1 및 L^2 가 결합인 화합물.

청구항 4.

제1항에 있어서, L^1 또는 L^2 가 결합인 화합물.

청구항 5.

제1항에 있어서, R^1 이 치환 또는 비치환 사이클로알킬, 치환 또는 비치환 헤테로사이클로알킬, 치환 또는 비치환 5원 또는 6원 헤테로아릴, 또는 치환 또는 비치환 아릴인 화합물.

청구항 6.

제1항에 있어서, R^1 이 치환 또는 비치환 6원 헤테로아릴, 또는 치환 또는 비치환 아릴인 화합물.

청구항 7.

제1항에 있어서, R^1 이 (1) 비치환 C_3-C_7 사이클로알킬; (2) 비치환 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬; (3) 비치환 헤테로아릴; (4) 비치환 아릴; (5) 치환 C_3-C_7 사이클로알킬; (6) 치환 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬; (7) 치환 아릴; 또는 (8) 치환 헤테로아릴이고, 이때

상기 (5) 및 (6)은 옥소, $-OH$, $-CF_3$, $-COOH$, 시아노, 할로젠, R^{11} -치환되거나 비치환된 C_1-C_{10} 알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원의 헤테로알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 C_3-C_7 사이클로알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원의 헤테로사이클로알킬, R^{12} -치환되거나 비치환된 아릴, R^{12} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴, $-L^{12}-C(X^1)R^7$, $-L^{12}-OR^8$, $-L^{12}-NR^{91}R^{92}$ 또는 $-L^{12}-S(O)_mR^{10}$ 으로 치환되며,

상기 (7) 및 (8)은 $-OH$, $-CF_3$, $-COOH$, 시아노, 할로젠, R^{11} -치환되거나 비치환된 C_1-C_{10} 알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 헤테로알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 C_3-C_7 사이클로알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, R^{12} -치환되거나 비치환된 아릴, R^{12} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴, $-L^{12}-C(X^1)R^7$, $-L^{12}-OR^8$, $-L^{12}-NR^{91}R^{92}$ 또는 $-L^{12}-S(O)_mR^{10}$ 으로 치환되고, 여기서

(a) X^1 은 $=S$, $=O$ 또는 NR^{15} 이고, 이때 R^{15} 는 H , $-OR^{151}$, R^{11} -치환되거나 비치환된 C_1-C_{10} 알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 헤테로알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 C_3-C_7 사이클로알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, R^{12} -치환되거나 비치환된 아릴, 또는 R^{12} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴이며, R^{151} 은 수소 또는 R^{11} -치환되거나 비치환된 C_1-C_{10} 알킬이고;

(b) m 은 0 내지 2의 정수이고;

(c) R^7 은 수소, R^{11} -치환되거나 비치환된 C_1-C_{10} 알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 헤테로알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 C_3-C_7 사이클로알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, R^{12} -치환되거나 비치환된 아릴, R^{12} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴, $-OR^{71}$, 또는 $-NR^{72}R^{73}$ 이고, 이때

R^{71} , R^{72} 및 R^{73} 은 독립적으로 수소, R^{11} -치환되거나 비치환된 C_1-C_{10} 알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 헤테로알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 C_3-C_7 사이클로알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, R^{12} -치환되거나 비치환된 아릴, 또는 R^{12} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴이며,

R^{72} 및 R^{73} 은 임의로 이들이 결합된 질소와 함께 R^{11} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, 또는 R^{12} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴을 형성하고;

(d) R^8 , R^{91} 및 R^{92} 는 독립적으로 수소, $-CF_3$, R^{11} -치환되거나 비치환된 C_1-C_{10} 알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 헤테로알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 C_3-C_7 사이클로알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, R^{12} -치환되거나 비치환된 아릴, R^{12} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴, $-C(X^2)R^{81}$ 또는 $-S(O)_wR^{81}$ 이고, 이때 R^{91} 및 R^{92} 는 임의로 이들이 결합된 질소와 함께 R^{11} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, 또는 R^{12} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴을 형성하며, 여기서

(i) X^2 는 $=S$, $=O$ 또는 $=NR^{16}$ 이고, 이때 R^{16} 은 R^{11} -치환되거나 비치환된 C_1-C_{10} 알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 헤테로알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 C_3-C_7 사이클로알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, R^{12} -치환되거나 비치환된 아릴, 또는 R^{12} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴이며,

(ii) w 는 0 내지 2의 정수이고;

(iii) R^{81} 은 수소, R^{11} -치환되거나 비치환된 C_1-C_{10} 알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 헤테로알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 C_3-C_7 사이클로알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, R^{12} -치환되거나 비치환된 아릴, R^{12} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴, 또는 $-NR^{811}R^{812}$ 이고, 이때

R^{811} 및 R^{812} 는 독립적으로 수소, R^{11} -치환되거나 비치환된 C_1-C_{10} 알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 헤테로알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 C_3-C_7 사이클로알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, R^{12} -치환되거나 비치환된 아릴, 또는 R^{12} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴이며,

R^{811} 및 R^{812} 는 임의로 이들이 결합된 질소와 함께 R^{11} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, 또는 R^{12} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴을 형성하고;

(e) R^{10} 은 수소, R^{11} -치환되거나 비치환된 C_1-C_{10} 알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 헤테로알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 C_3-C_7 사이클로알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, R^{12} -치환되거나 비치환된 아릴, R^{12} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴, 또는 $-NR^{101}R^{102}$ 이고, 이때

R^{101} 및 R^{102} 는 독립적으로 수소, R^{11} -치환되거나 비치환된 C_1-C_{10} 알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 헤테로알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 C_3-C_7 사이클로알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, R^{12} -치환되거나 비치환된 아릴, 또는 R^{12} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴이며,

R^{101} 및 R^{102} 는 임의로 이들이 결합된 질소와 함께 R^{11} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, 또는 R^{12} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴을 형성하고;

(f) L^{12} 는 결합, 비치환 C_1-C_{10} 알킬렌, 또는 비치환 헤테로알킬렌이고;

(g) R^{11} 은 옥소, $-OH$, $-COOH$, $-CF_3$, $-OCF_3$, $-CN$, 아미노, 할로젠, R^{13} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 알킬, R^{13} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 헤테로알킬, R^{13} -치환되거나 비치환된 C_3-C_7 사이클로알킬, R^{13} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, R^{14} -치환되거나 비치환된 아릴, 또는 R^{14} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴이고;

(h) R^{12} 는 -OH, -COOH, 아미노, 할로젠, $-CF_3$, $-OCF_3$, -CN, R^{13} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 알킬, R^{13} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 헤테로알킬, R^{13} -치환되거나 비치환된 C_3-C_7 사이클로알킬, R^{13} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, R^{14} -치환되거나 비치환된 아릴, 또는 R^{14} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴이고;

(i) R^{13} 은 옥소, -OH, -COOH, 아미노, 할로젠, $-CF_3$, $-OCF_3$, -CN, 비치환 C_1-C_{10} 알킬, 비치환 2원 내지 10원 헤테로알킬, 비치환 C_3-C_7 사이클로알킬, 비치환 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, 비치환 아릴 또는 비치환 헤테로아릴이고;

(j) R^{14} 는 -OH, -COOH, 아미노, 할로젠, $-CF_3$, $-OCF_3$, -CN, 비치환 C_1-C_{10} 알킬, 비치환 2원 내지 10원 헤테로알킬, 비치환 C_3-C_7 사이클로알킬, 비치환 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, 비치환 아릴, 또는 비치환 헤테로아릴인 화합물.

청구항 8.

제7항에 있어서, R^1 이 치환 또는 비치환 6원 헤테로아릴, 또는 치환 또는 비치환 아릴인 화합물.

청구항 9.

제8항에 있어서, L^1 이 결합인 화합물.

청구항 10.

제7항에 있어서, R^1 이 (7) 또는 (8)이고, 이때 상기 (7) 및 (8)이 -OH, $-CF_3$, 할로젠, 비치환 C_1-C_{10} 알킬, 비치환 2원 내지 10원 헤테로알킬, 비치환 C_3-C_7 사이클로알킬, 비치환 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, 비치환 아릴, 비치환 헤테로아릴, 또는 $-L^{12}-OR^8$ 로 치환되며, L^{12} 가 결합인 화합물.

청구항 11.

제10항에 있어서, R^8 이 CF_3 인 화합물.

청구항 12.

제7항에 있어서, R^1 이 (7) 또는 (8)이고, 이때 상기 (7) 및 (8)이 $-OCH_3$, $-OCF_3$, $-CH_3$, $-CF_3$, $-OCH_2CH_3$, 할로젠 또는 사이클로프로필옥시로 치환된 것인 화합물.

청구항 13.

제7항에 있어서, L^1 및 L^2 가 결합인 화합물.

청구항 14.

제1항, 제7항 또는 제13항에 있어서, R^2 가 (1) 비치환 C_3-C_7 사이클로알킬; (2) 비치환 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬; (3) 비치환 헤테로아릴; (4) 비치환 아릴; (5) 치환 C_3-C_7 사이클로알킬; (6) 치환 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬; (7) 치환 아릴; 또는 (8) 치환 헤테로아릴이고, 이때

상기 (5) 및 (6)은 옥소, $-OH$, $-CF_3$, $-COOH$, 시아노, 할로젠, R^{21} -치환되거나 비치환된 C_1-C_{10} 알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 헤테로알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 C_3-C_7 사이클로알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, R^{22} -치환되거나 비치환된 아릴, R^{22} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴, $-L^{22}-C(X^3)R^3$, $-L^{22}-OR^4$, $-L^{22}-NR^{51}R^{52}$ 또는 $-L^{22}-S(O)_qR^6$ 으로 치환되며,

상기 (7) 및 (8)은 $-OH$, $-CF_3$, $-COOH$, 시아노, 할로젠, R^{21} -치환되거나 비치환된 C_1-C_{10} 알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 헤테로알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 C_3-C_7 사이클로알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, R^{22} -치환되거나 비치환된 아릴, R^{22} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴, $-L^{22}-C(X^3)R^3$, $-L^{22}-OR^4$, $-L^{22}-NR^{51}R^{52}$ 또는 $-L^{22}-S(O)_qR^6$ 으로 치환되고, 여기서

(a) X^3 은 $=S$, $=O$ 또는 NR^{17} 이고, 이때 R^{17} 은 H , $-OR^{171}$, R^{21} -치환되거나 비치환된 C_1-C_{10} 알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 헤테로알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 C_3-C_7 사이클로알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, R^{22} -치환되거나 비치환된 아릴, 또는 R^{22} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴이며, R^{171} 은 수소 또는 R^{21} -치환되거나 비치환된 C_1-C_{10} 알킬이고;

(b) q 는 0 내지 2의 정수이고;

(c) R^3 은 수소, R^{21} -치환되거나 비치환된 C_1-C_{10} 알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 헤테로알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 C_3-C_7 사이클로알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, R^{22} -치환되거나 비치환된 아릴, R^{22} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴, $-OR^{31}$, 또는 $-NR^{32}R^{33}$ 이고, 여기서

(i) R^{31} , R^{32} 및 R^{33} 은 독립적으로 수소, R^{21} -치환되거나 비치환된 C_1-C_{10} 알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 헤테로알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 C_3-C_7 사이클로알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, R^{22} -치환되거나 비치환된 아릴, 또는 R^{22} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴이며,

R^{32} 및 R^{33} 은 임의로 이들이 결합된 질소와 함께 R^{21} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, 또는 R^{22} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴을 형성하고;

(d) R^4 , R^{51} 및 R^{52} 는 독립적으로 수소, $-CF_3$, R^{21} -치환되거나 비치환된 C_1-C_{10} 알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 헤테로알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 C_3-C_7 사이클로알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, R^{22} -치환되거나 비치환된 아릴, R^{22} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴, $-C(X^4)R^{41}$ 또는 $-S(O)_vR^{41}$ 이고, 이때 R^{51} 및 R^{52} 는 임의로 이들이 결합된 질소와 함께 R^{21} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, 또는 R^{22} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴을 형성하며, 여기서

(i) X^4 는 $=S$, $=O$ 또는 $=NR^{18}$ 이고, 이때 R^{18} 은 R^{21} -치환되거나 비치환된 C_1-C_{10} 알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 헤테로알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 C_3-C_7 사이클로알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, R^{22} -치환되거나 비치환된 아릴, 또는 R^{22} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴이며,

(ii) v 는 0 내지 2의 정수이고;

(iii) R^{41} 은 수소, R^{21} -치환되거나 비치환된 C_1-C_{10} 알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 헤테로알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 C_3-C_7 사이클로알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, R^{22} -치환되거나 비치환된 아릴, R^{22} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴, 또는 $-NR^{411}R^{412}$ 이고, 이때

R^{411} 및 R^{412} 는 독립적으로 수소, R^{21} -치환되거나 비치환된 C_1-C_{10} 알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 헤테로알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 C_3-C_7 사이클로알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, R^{22} -치환되거나 비치환된 아릴, 및 R^{22} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴로부터 선택되며,

R^{411} 및 R^{412} 는 임의로 이들이 결합된 질소와 함께 R^{21} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, 또는 R^{22} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴을 형성하고;

(e) R^6 은 수소, R^{21} -치환되거나 비치환된 C_1-C_{10} 알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 헤테로알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 C_3-C_7 사이클로알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, R^{22} -치환되거나 비치환된 아릴, R^{22} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴, 또는 $-NR^{61}R^{62}$ 이고, 이때

R^{61} 및 R^{62} 는 독립적으로 수소, R^{21} -치환되거나 비치환된 C_1-C_{10} 알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 헤테로알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 C_3-C_7 사이클로알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, R^{22} -치환되거나 비치환된 아릴, 또는 R^{22} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴이며,

R^{61} 및 R^{62} 는 임의로 이들이 결합된 질소와 함께 R^{21} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, 또는 R^{22} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴을 형성하고;

(f) L^{22} 는 결합, 비치환 C_1-C_{10} 알킬렌, 또는 비치환 헤테로알킬렌이고;

(g) R^{21} 은 옥소, $-OH$, $-COOH$, $-CF_3$, $-OCF_3$, $-CN$, 아미노, 할로젠, R^{23} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 알킬, R^{23} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 헤테로알킬, R^{23} -치환되거나 비치환된 C_3-C_7 사이클로알킬, R^{23} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, R^{24} -치환되거나 비치환된 아릴, 또는 R^{24} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴이고;

(h) R^{22} 는 $-OH$, $-COOH$, 아미노, 할로젠, $-CF_3$, $-OCF_3$, $-CN$, R^{23} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 알킬, R^{23} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 헤테로알킬, R^{23} -치환되거나 비치환된 C_3-C_7 사이클로알킬, R^{23} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, R^{24} -치환되거나 비치환된 아릴, 또는 R^{24} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴이고;

(i) R^{23} 은 옥소, $-OH$, $-COOH$, 아미노, 할로젠, $-CF_3$, $-OCF_3$, $-CN$, 비치환 C_1-C_{10} 알킬, 비치환 2원 내지 10원 헤테로알킬, 비치환 C_3-C_7 사이클로알킬, 비치환 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, 비치환 아릴 또는 비치환 헤테로아릴이고;

(j) R^{24} 는 $-OH$, $-COOH$, 아미노, 할로젠, $-CF_3$, $-OCF_3$, $-CN$, 비치환 C_1-C_{10} 알킬, 비치환 2원 내지 10원 헤테로알킬, 비치환 C_3-C_7 사이클로알킬, 비치환 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, 비치환 아릴, 또는 비치환 헤테로아릴인 화합물.

청구항 15.

제14항에 있어서, L^2 가 결합인 화합물.

청구항 16.

제14항에 있어서, R^2 가 (3), (4), (7) 또는 (8)인 화합물.

청구항 17.

제15항에 있어서, R^2 가 (7) 또는 (8)인 화합물.

청구항 18.

제17항에 있어서, (7) 및 (8)이 $-L^{22}-C(X^3)R^3$, $-L^{22}-OR^4$, $-L^{22}-NR^{51}R^{52}$, $-L^{22}-C(NH)-NR^{32}R^{33}$, 또는 $-L^{22}-S(O)_qR^6$ 으로 치환된 것인 화합물.

청구항 19.

제18항에 있어서, R^3 이 $-NR^{32}R^{33}$ 이고, X^3 이 $=O$ 또는 $=NR^{17}$ 이며, R^6 이 $-NR^{61}R^{62}$ 이고, R^{51} 이 $-C(O)R^{41}$ 또는 $-S(O)_vR^{41}$ 인 화합물.

청구항 20.

제19항에 있어서, R^{41} 이 $-NR^{411}R^{412}$ 인 화합물.

청구항 21.

제15항에 있어서, R^2 가 (7) 또는 (8)이고, 이때 상기 (7) 및 (8)이 $-OH$, $-CF_3$, $-COOH$, 아미노, 할로젠, 비치환 2원 내지 10원 헤테로알킬, 비치환 C_3-C_7 사이클로알킬, 비치환 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, 비치환 아릴, 비치환 헤테로아릴, 또는 $-L^{22}-C(X^3)R^3$ 로 치환되며,

X^3 이 $=O$ 이고,

R^3 이 비치환 C_1-C_{10} 알킬, 비치환 2원 내지 10원 헤테로알킬, 비치환 C_3-C_7 사이클로알킬, 비치환 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, 비치환 아릴, 비치환 헤테로아릴, 또는 $-NR^{32}R^{33}$ 이며,

R^{32} 및 R^{33} 이 독립적으로 수소, R^{21} -치환되거나 비치환된 C_1-C_{10} 알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 헤테로알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 C_3-C_7 사이클로알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, R^{22} -치환되거나 비치환된 아릴, 또는 R^{22} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴이고,

R^{32} 및 R^{33} 이 임의로 이들이 결합된 질소와 함께 R^{21} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, 또는 R^{22} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴을 형성하는 것인 화합물.

청구항 22.

제15항에 있어서, R^2 가 (7) 또는 (8)이고, 이때 상기 (7) 및 (8)이 비치환 2원 내지 10원 헤테로알킬, 또는 $-L^{22}-C(O)R^3$ 으로 치환되며,

L^{22} 가 결합이고,

R^3 이 $-NR^{32}R^{33}$ 이며,

R^{32} 및 R^{33} 이 독립적으로 수소, R^{21} -치환되거나 비치환된 C_1-C_{10} 알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 헤테로알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 C_3-C_7 사이클로알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, R^{22} -치환되거나 비치환된 아릴, 또는 R^{22} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴이고,

R^{32} 및 R^{33} 이 임의로 이들이 결합된 질소와 함께 R^{21} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, 또는 R^{22} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴을 형성하는 것인 화합물.

청구항 23.

제1항에 있어서, R^1 이 치환 또는 비치환 융합 고리 아릴, 또는 치환 또는 비치환 융합 고리 헤테로아릴인 화합물.

청구항 24.

제1항에 있어서, R^2 가 치환 또는 비치환 인돌릴, 치환 또는 비치환 퀴놀리닐, 또는 치환 또는 비치환 벤조디옥솔릴인 화합물.

청구항 25.

제1항에 있어서, R^2 가 치환 또는 비치환 융합 고리 아릴, 또는 치환 또는 비치환 융합 고리 헤테로아릴인 화합물.

청구항 26.

제1항에 있어서, R^1 이 치환 또는 비치환 인돌릴, 치환 또는 비치환 퀴놀리닐, 또는 치환 또는 비치환 벤조디옥솔릴인 화합물.

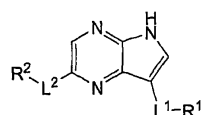
청구항 27.

제14항에 있어서, R^1 및 R^2 가 독립적으로 치환 또는 비치환 하이단토이닐, 치환 또는 비치환 디옥솔라닐, 치환 또는 비치환 디옥사닐, 치환 또는 비치환 트리옥사닐, 치환 또는 비치환 테트라하이드로티에닐, 치환 또는 비치환 테트라하이드로푸라닐, 치환 또는 비치환 테트라하이드로티오펜, 치환 또는 비치환 테트라하이드로피라닐, 치환 또는 비치환 테트라하이드로티오피라닐, 치환 또는 비치환 피롤리디닐, 치환 또는 비치환 모르폴리노, 치환 또는 비치환 피페리디닐, 치환 또는 비치환 피라졸릴, 치환 또는 비치환 푸라닐, 치환 또는 비치환 이미다졸릴, 치환 또는 비치환 이속사졸릴, 치환 또는 비치환 옥사디아졸릴, 치환 또는 비치환 옥사졸릴, 치환 또는 비치환 피리딜, 치환 또는 비치환 피라질, 치환 또는 비치환 피리미딜, 치환 또는 비치환 피리다지닐, 치환 또는 비치환 티아졸릴, 치환 또는 비치환 이소티아졸릴, 치환 또는 비치환 트리아졸릴, 치환 또는 비치환 티에닐, 치환 또는 비치환 트리아지닐, 치환 또는 비치환 티아디아졸릴, 또는 치환 또는 비치환 테트라졸릴인 화합물.

청구항 28.

하기 화학식 II의 화합물.

<화학식 II>



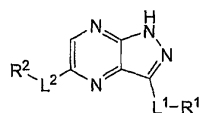
상기 식에서, L^1 및 L^2 는 독립적으로 결합, $-S(O)_n-$, $-O-$, $-NH-$, 비치환 C_1-C_5 알킬렌, 또는 비치환 2원 내지 5원 헤테로알킬렌이고, 이때 n 은 0 내지 2의 정수이며;

R^1 및 R^2 는 독립적으로 치환 또는 비치환 사이클로알킬, 치환 또는 비치환 헤테로사이클로알킬, 치환 또는 비치환 헤테로아릴, 또는 치환 또는 비치환 아릴인 화합물.

청구항 29.

하기 화학식 III의 화합물.

<화학식 III>



상기 식에서, L^1 및 L^2 는 독립적으로 결합, $-S(O)_n-$, $-O-$, $-NH-$, 비치환 C_1-C_5 알킬렌, 또는 비치환 2원 내지 5원 헤테로알킬렌이고, 이때 n 은 0 내지 2의 정수이며;

R^1 및 R^2 는 독립적으로 치환 또는 비치환 사이클로알킬, 치환 또는 비치환 헤테로사이클로알킬, 치환 또는 비치환 헤테로아릴, 또는 치환 또는 비치환 아릴인 화합물.

청구항 30.

단백질 키나제를 제1항, 제28항 및 제29항 중 어느 한 항에 따른 화합물과 접촉시키는 것을 포함하는, 단백질 키나제의 활성을 조절하는 방법.

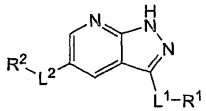
청구항 31.

암, 알레르기, 천식, 염증, 폐쇄성 기도 질환, 자가면역 질환, 대사 질환, 감염, 중추신경계(CNS) 질환, 뇌종양, 비만, 천식, 혈액학적 질환, 퇴행성 신경 질환, 심혈관 질환, 또는 혈관신생(angiogenesis), 신생혈관증식(neovascularization) 또는 혈관생성(vasculogenesis)과 관련된 질환의 치료가 필요한 개체에게, 치료적 유효량의 제1항, 제28항 및 제29항 중 어느 한 항에 따른 화합물을 투여하는 것을 포함하는, 상기 개체에서의 상기 질환의 치료 방법.

청구항 32.

단백질 키나제를 하기 화학식 I의 화합물과 접촉시키는 것을 포함하는, 단백질 키나제의 활성을 조절하는 방법.

<화학식 I>



상기 식에서, L^1 및 L^2 는 독립적으로 결합, $-S(O)_n-$, $-O-$, $-NH-$, 비치환 C_1-C_5 알킬렌, 또는 비치환 2원 내지 5원 헤테로알킬렌이고, 이때 n 은 0 내지 2의 정수이며;

R^1 및 R^2 는 독립적으로 치환 또는 비치환 사이클로알킬, 치환 또는 비치환 헤테로사이클로알킬, 치환 또는 비치환 헤테로아릴, 또는 치환 또는 비치환 아릴이다.

청구항 33.

제32항에 있어서, 단백질 키나제가 아벨손(Abelson) 티로신 키나제, 론(Ron) 수용체 티로신 키나제, 메티오닌(Met) 수용체 티로신 키나제, Fms-유사 티로신 키나제-3, 오로라 키나제, p21-활성화 키나제-4 또는 3-포스포이노시티드-의존성 키나제-1인 방법.

청구항 34.

제32항에 있어서, 단백질 키나제가 M244V, L248V, G250E, G250A, Q252H, Q252R, Y253F, Y253H, E255K, E255V, D276G, F311L, T315I, T315N, T315A, F317V, F317L, M343T, M351T, E355G, F359A, F359V, V379I, F382L, L387M, H396P, H396R, S417Y, E459K 및 F486S로 이루어진 군으로부터 선택된 돌연변이를 갖는 Bcr-Abl 키나제인 방법.

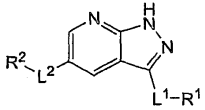
청구항 35.

제34항에 있어서, 단백질 키나제가 T315I 돌연변이를 갖는 것인 방법.

청구항 36.

암, 알레르기, 천식, 염증, 폐쇄성 기도 질환, 자가면역 질환, 대사 질환, 감염, 중추신경계(CNS) 질환, 뇌종양, 비만, 천식, 혈액학적 질환, 퇴행성 신경 질환, 심혈관 질환, 또는 혈관신생, 신생혈관증식 또는 혈관생성과 관련된 질환의 치료가 필요한 개체에게, 치료적 유효량의 하기 화학식 I의 화합물을 투여하는 것을 포함하는, 상기 개체에서의 상기 질환의 치료 방법.

<화학식 I>



상기 식에서, L^1 및 L^2 는 독립적으로 결합, $-S(O)_n-$, $-O-$, $-NH-$, 비치환 C_1-C_5 알킬렌, 또는 비치환 2원 내지 5원 헤테로알킬렌이고, 이때 n 은 0 내지 2의 정수이며;

R^1 및 R^2 는 독립적으로 치환 또는 비치환 사이클로알킬, 치환 또는 비치환 헤테로사이클로알킬, 치환 또는 비치환 헤테로아릴, 또는 치환 또는 비치환 아릴이다.

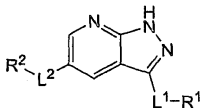
청구항 37.

제36항에 있어서, 암이 백혈병 및 골수증식성 질환으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 38.

제약학상 허용되는 부형제 및 제1항, 제28항 및 제29항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 하기 화학식 I의 화합물을 포함하는 제약 조성물.

<화학식 I>



상기 식에서, L^1 및 L^2 는 독립적으로 결합, $-S(O)_n-$, $-O-$, $-NH-$, 비치환 C_1-C_5 알킬렌, 또는 비치환 2원 내지 5원 헤테로알킬렌이고, 이때 n 은 0 내지 2의 정수이며;

R^1 및 R^2 는 독립적으로 치환 또는 비치환 사이클로알킬, 치환 또는 비치환 헤테로사이클로알킬, 치환 또는 비치환 헤테로아릴, 또는 치환 또는 비치환 아릴이다.

명세서

기술분야

관련 출원의 상호 참조

본 출원은 2004년 7월 27일에 출원된 미국특허 가출원번호 제60/591,778호, 2004년 7월 27일에 출원된 미국특허 가출원번호 제60/591,886호, 및 2005년 5월 11일에 출원된 미국특허 가출원번호 제60/680,091호의 이익을 주장하며, 이들 각각은 모든 목적을 위해 그 전체로서 본원에 참조로 포함되었다.

배경기술

포유류 단백질 키나제는 중요한 세포 기능 조절제이다. 단백질 키나제 활성의 기능 장애가 여러 가지 질병 및 질환과 관련되어 있기 때문에, 단백질 키나제는 약물 개발의 목표가 된다.

티로신 키나제 수용체, FMS-유사 티로신 키나제 3(FLT3)은 급성 골수성 백혈병(AML), 급성 림프모구성 백혈병(ALL) 및 척수이형성증(myelodysplasia) 등의 백혈병을 비롯한 암과 관련되어 있다. 약 1/4 내지 1/3의 AML 환자는 키나제의 항시 활성 및 다운스트림 신호전달 경로(downstream signaling pathway)를 유발하는 FLT3 돌연변이체를 갖는다. 보통의 사람에서 FLT3은 주로 정상 골수 세포 및 림프 전구 세포에 의해 발현되나, AML 및 ALL 환자의 70 내지 80%의 경우 FLT3은 백혈병 세포 내에서 발현된다. FLT3을 목표로 하는 억제제는 돌연변이되고/되거나 항시 활성인 FLT3을 발현하는 백혈병 세포에 치명적인 것으로 보고되어 왔다. 그러므로, 백혈병 등의 질병 및 질환을 치료하는 데 사용될 수 있는 강력한 FLT3 억제제의 개발이 필요하다.

아벨슨 비-수용체 티로신 키나제(c-Abl)은 그의 기질 단백질의 인산화 반응을 통해, 신호 형질 도입과 연관되어 있다. 세포 내에서, c-Abl은 세포질과 핵 사이를 왕복하며, 그의 활성은 일반적으로 다수의 상이한 메커니즘을 통해 강력히 조절된다. Abl은 성장 인자 및 인테그린(integrin)의 조절, 세포 주기, 세포 분화 및 신경 형성, 세포 사멸(apoptosis), 세포 응축, 세포 골격 구조 및 DNA 손상 및 산화적 스트레스에 대한 반응과 관련되어 있다.

c-Abl 단백질은 대략 1150개의 아미노산 잔기를 함유하며, 이는 N-말단 캡 영역, SH3 및 SH2 도메인, 티로신 키나제 도메인, 핵 위치화 서열, DNA-결합 도메인 및 액틴-결합 도메인으로 구성되어 있다.

만성 골수성 백혈병(CML)은 염색체 9 및 22 사이의 필라델피아 염색체 전좌와 관련되어 있다. 이러한 전좌는 bcr 유전자와 c-Abl을 인코딩하는 유전자 사이에 비정상적 융합을 발생시킨다. 생성되는 Bcr-Abl 융합 단백질은 항시 활성인 티로신-키나제 활성을 갖는다. 키나제 활성 증가는 CML의 제1의 원인 인자인 것으로 보고되었으며, 이는 세포 형질 변환, 성장 인자 의존성의 감소 및 세포 증식의 원인이 된다.

2-페닐아미노피리미딘 화합물 이마티닙(STI-571, CGP 57148 또는 글리벡(Gleevec)으로도 지칭됨)은 두 개의 다른 티로신 키나제인 c-Kit 및 혈소판-유도성 성장 인자 수용체와 더불어 Bcr-Abl에 특징적이고 강력한 억제제로 확인되어 왔다. 이마티닙은 이들 단백질의 티로신-키나제 활성을 방해한다. 이마티닙은 모든 단계의 CML의 치료를 위한 효과적인 치료제로 보고되어 왔다. 그러나, CML의 진전 단계 또는 급성기 환자 대다수는 지속되는 이마티닙 요법에도 불구하고, 약물 내성의 내성이 진전되어 재발로 고생하고 있다. 종종, 이러한 내성의 분자적 기초는 Bcr-Abl의 키나제 도메인의 이마티닙-내성 변체의 출현이다. 가장 흔히 관찰되는 우선적인 아미노산 치환은 Glu255Lys, Thr315Ile, Tyr293Phe 및 Met351Thr을 포함한다.

MET는 처음에는 N-메틸-N'-니트로-니트로소구아니딘으로 처리된 인간 골육종 세포주 중의 형질 변환 DNA 재배열(TPR-MET)로 확인되었다(문헌 [Cooper et al. 1984]). MET 수용체 티로신 키나제(간세포 성장 인자 수용체, HGFR, MET 또는 c-Met로도 알려진) 및 그의 리간드 간세포 성장 인자("HGF")는 증식 자극, 생존, 분화 및 형태 형성, 분지 세포관 형성, 세포 운동성 및 침습 성장을 비롯한 수많은 생물학적 활성을 갖는다. 병리학적으로, MET는 신장암, 폐암, 난소암, 간암 및 유방암을 비롯한 많은 상이한 형태의 암의 성장, 침투 및 전이와 관련되어 있다. MET 내의 체강의, 활성화 돌연변이체는 인간 암종 전이, 및 젓꼭지 모양의 신장 세포 암종 등 산발성 암에서 발견되었다. MET가 오랫동안 찾아왔던 전이의 진행을 조절하는 종양 유전자 중 하나라는 것과, 그러므로 매우 흥미로운 목표물이라는 것에 대한 증거가 늘어나고 있다. 암과 더불어, MET의 억제제 리스테리아균 침입, 다발성 골수종과 관련된 골용해, 말라리아 감염, 당뇨병성 망막증, 건선 및 관절염을 포함하는 다양한 징후의 치료에 있어 가치를 가질 수 있다는 증거도 있다.

티로신 키나제 RON은 매크로파지 자극 단백질용 수용체이며, 수용체 티로신 키나제의 MET 계열에 속한다. MET와 마찬가지로, RON은 위암 및 방광암을 비롯한 여러 가지 상이한 형태의 암의 성장, 침투 및 전이와 관련되어 있다.

세린/트레오닌 키나제의 오로라 계열은 유사 분열 진행에 필수적이다. 오로라 키나제의 발현 및 활성은 세포 주기 동안 엄격하게 조절된다. 세포 분할 중 역할을 갖는 다양한 단백질이 오로라 키나제 기질로 확인되었다. 오로라 키나제의 알려진 기능에 근거하여, 그의 활성 억제는 세포 주기를 혼란시키고 증식을 방해하며, 따라서 종양 세포의 생존 능력을 막는 것으로 여겨졌다(문헌 [Harrington et al., Nature Medicine, advanced publication online (2004)]).

3-포스포이노시티드-의존성 키나제 1(PDK 1)은 Akt/PKB, 단백질 키나제 C (PKC), PKC-관련 키나제 (PRK1 및 PRK2), p70 리보솜 S6-키나제 (S6K1), 및 혈청 및 글루코코르티코이드-조절성 키나제 (SGK) 등, AGC 키나제 상과 (super family) 중의 다수의 키나제를 인산화 및 활성화할 수 있는 Ser/Thr 단백질 키나제이다. 처음 확인된 PDK1 기질은 원시 종양 유전자 Akt이다. 많은 연구에서, 높은 비율(30 내지 60%)의 일반적인 종양 유형(흑색종 및 유방암, 폐암, 위암, 전립선암, 혈액암 및 난소암을 비롯한)에서 고농도의 활성화 Akt를 발견하였다. 그러므로, PDK1/Akt 발신 경로는, 암 치료에 유용할 수 있는 소분자 억제제의 개발을 위한 매력적인 목표물을 대표한다(문헌 [Feldman et al., JBC Papers in Press. Published on March 16, 2005 as Manuscript M501367200]).

키나제는 암 등 많은 질병 및 증상과 관련되어 있으므로, 치료를 위해 사용될 수 있는 신규하고 강력한 단백질 키나제 억제제를 개발할 필요가 있다. 본 발명은 이러한 조건 및 당업계의 다른 필요성을 충족시킨다. 본원에 특정 단백질 키나제가 구체적으로 인용되고는 있으나, 본 발명은 이러한 키나제의 억제제에 한정되지 않으며, 또한 관련 단백질 키나제의 억제제 및 동종 단백질의 억제제를 그 범위 내에 포함한다.

발명의 상세한 설명

발명의 개요

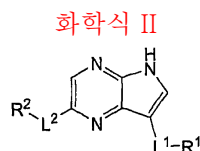
놀랍게도, 본 발명의 융합 고리 헤테로사이클 화합물이 키나제 활성을 조절하고 키나제 활성화에 의해 매개되는 질환을 치료하기 위해 사용될 수 있음이 밝혀졌다. 이러한 신규한 융합 고리 헤테로사이클 키나제 조절제는 이하에서 상세히 기술된다. 또한, 선택된 화합물들의 저해 활성도 본원에 개시된다.

한 태양에서, 본 발명은 하기 화학식 I의 융합 고리 헤테로사이클 키나제 조절제를 제공한다.



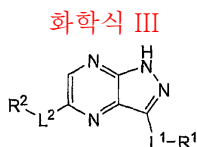
상기 화학식 I에서, L^1 및 L^2 는 독립적으로 결합, $-S(O)_n-$, $-O-$, $-NH-$, 비치환 C_1-C_5 알킬렌, 또는 비치환 2원 내지 5원 헤테로알킬렌이다. 기호 n 은 0 내지 2의 정수이다. R^1 및 R^2 는 독립적으로 치환 또는 비치환 사이클로알킬, 치환 또는 비치환 헤테로사이클로알킬, 치환 또는 비치환 헤테로아릴, 또는 치환 또는 비치환 아릴이다. 일부 실시태양에서, R^1 은 치환 또는 비치환 피롤릴이 아니다. 다른 실시태양에서, R^1 및 R^2 가 둘다 비치환 페닐인 경우, L^1 은 비치환 2원 내지 5원 헤테로알킬렌이 아니다. 다른 실시태양에서, R^2 가 비치환 피페라지닐인 경우, L^1 은 $-S(O)_2-$ 가 아니다.

또다른 양태에서, 본 발명은 하기 화학식 II의 융합 고리 헤테로사이클 키나제 조절제 (또한 본원에서 "본 발명의 화합물"로도 지칭된다)를 제공한다.



상기 화학식 II에서, L^1 , L^2 , R^1 및 R^2 는 상기 화학식 I에 대한 논의 부분에서 정의한 바와 같다.

또다른 양태에서, 본 발명은 하기 화학식 III의 융합 고리 헤테로사이클 키나제 조절제 (또한 본원에서 "본 발명의 화합물"로도 지칭된다)를 제공한다.



상기 화학식 III에서, L^1 , L^2 , R^1 및 R^2 는 상기 화학식 I에 대한 논의 부분에서 정의한 바와 같다.

또다른 양태에서, 본 발명은 본 발명의 융합 고리 헤테로사이클 키나제 조절제를 사용하여 단백질 키나제 활성을 조절하는 방법을 제공한다. 이 방법은 단백질 키나제를 융합 고리 헤테로사이클 키나제 조절제와 접촉시키는 것을 포함한다.

또다른 양태에서, 본 발명은 키나제 활성화에 의해 매개되는 질환의 치료가 필요한 개체 (예를 들어, 인간과 같은 포유동물) 에서 키나제 활성화에 의해 매개되는 질환 (키나제-매개된 질환 또는 질병)의 치료 방법을 제공한다. 이러한 방법은 상기 개체에게 치료학적 유효량의 본 발명의 융합 고리 헤테로사이클 키나제 조절제를 투여하는 것을 포함한다.

또다른 양태에서, 본 발명은 제약학적 허용되는 부형제와의 혼합물로서 융합 고리 헤테로사이클 키나제 조절제를 포함하는 제약 조성물을 제공한다.

발명의 상세한 설명

정의

본원에서 사용하는 약어는 화학 및 생물학 분야에서의 통상의 의미를 갖는다.

치환기가 그들의 통상적인 화학식에 의해 왼쪽에서 오른쪽으로 기재되어 특정되는 경우, 그들은 그 구조를 오른쪽에서 왼쪽으로 기재하여 생성되는 화학적으로 동일한 치환체를 함께 포함하는데, 예를 들면 $-\text{CH}_2\text{O}-$ 는 $-\text{OCH}_2-$ 와 동일한 것이다.

용어 "알킬"은 그 자체로, 또는 다른 치환체의 일부로서, 달리 언급되지 않는다면 직쇄(즉, 분지되지 않은) 또는 분지쇄, 또는 사이클릭 탄화수소 라디칼 또는 그의 조합을 의미하며, 이는 완전히 포화되거나, 단독- 또는 고도 불포화될 수 있고, 2가 및 다가 라디칼을 포함할 수 있고, 정해진 탄소수를 갖는다(즉, C_1-C_{10} 은 탄소수 1 내지 10을 의미함). 포화 탄화수소 라디칼의 예는, 메틸, 에틸, n-프로필, 이소프로필, n-부틸, t-부틸, 이소부틸, sec-부틸, 사이클로헥실, (사이클로헥실)메틸, 사이클로프로필메틸, 동족체 및 예를 들면 n-펜틸, n-헥실, n-헵틸, n-옥틸 등의 동족체 또는 이성질체를 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 불포화 알킬기는 하나 이상의 이중결합 또는 삼중결합을 갖는 것이다. 불포화 알킬기의 예는 비닐, 2-프로페닐, 크로틸, 2-이소펜타디닐, 2-(부타디에닐), 2,4-펜타디에닐, 3-(1,4-펜타디에닐), 에티닐, 1- 및 3-프로피닐, 3-부티닐 및 그의 고급 동족체 및 이성질체를 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 탄화수소기에 한정되는 알킬기는 "호모알킬"로 지칭한다.

용어 "알킬렌"은 그 자체로, 또는 다른 치환체의 일부로서, 알킬로부터 유도되는 2가 라디칼을 의미하며, 그 예로는 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CCH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3)\text{CH}_2-$ 가 있으나 이에 한정되지 않는다. 전형적으로, 알킬(또는 알킬렌) 기는 탄소수 1 내지 24이며, 본 발명에서는 탄소수 10 이하의 상기 기들이 바람직하다. "저급 알킬" 또는 "저급 알킬렌"은 일반적으로 8 이하의 탄소수를 갖는 보다 단쇄의 알킬 또는 알킬렌기이다.

용어 "헤테로알킬"은 그 자체로, 또는 다른 용어와 함께, 달리 언급되지 않는다면 안정된 직쇄 또는 분지쇄, 또는 사이클릭 탄화수소 라디칼 또는 그의 조합을 의미하며, 하나 이상의 탄소 원자 및 O, N, P, Si 및 S로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 헤테로원자로 이루어지며, 질소, 인 및 황 원자는 임의로 산화될 수 있고 질소 헤테로원자는 임의로 사차화(quaternarize)될 수 있다. 헤테로원자 O, N, P 및 S 및 Si는 헤테로알킬기의 임의의 내부 위치 또는 분자의 다른 부분에 알킬기가 부착된 위치에 위치할 수 있다. 이러한 예로는 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}(\text{O})-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}(\text{O})_2-\text{CH}_3$, $-\text{CH}=\text{CH}-\text{O}-\text{CH}_3$, $-\text{Si}(\text{CH}_3)_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{N}-\text{OCH}_3$, $-\text{CH}=\text{CH}-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_3$, $0-\text{CH}_3$, $-0-\text{CH}_2-\text{CH}_3$, 및 $-\text{CN}$ 을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 예를 들면 $-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{OCH}_3$ 및 $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ 와 같이, 최대 2 또는 3개의 헤테로원자가 연속될 수 있다. 이와 유사하게, 용어 "

헤테로알킬렌"은 그 자체로, 또는 다른 치환체의 일부로서, 헤테로알킬로부터 유도된 2가 라디칼을 의미하며, 그 예로는 $-CH_2-CH_2-S-CH_2-CH_2-$ 및 $-CH_2-S-CH_2-CH_2-NH-CH_2-$ 가 있으나 이에 한정되지 않는다. 헤테로알킬렌기에서, 헤테로원자는 쇠 말단의 한쪽 또는 양쪽을 차지할 수도 있다(예를 들면, 알킬렌옥소, 알킬렌디옥소, 알킬렌아미노, 알킬렌디아미노 등). 또한, 알킬렌 및 헤테로알킬렌 연결기에서, 연결기가 기재된 화학식의 방향에 의해 연결기의 배향이 암시되는 것은 아니다. 예를 들면, 화학식 $-C(O)OR'$ 은 $-C(O)OR'$ 및 $-R'OC(O)-$ 모두를 나타낸다. 상기에서 기재하였듯이, 본원에서 사용되는 헤테로알킬기는 $-C(O)R'$, $-C(O)NR'$, $-NR'R''$, $-OR'$, $-SR$ 및/또는 $-SO_2R'$ 등, 헤테로원자를 통해 분자의 다른 부분에 부착하는 기를 포함한다. "헤테로알킬"이 인용되고, 그 뒤 특정 헤테로알킬기, 예컨대 $-NR'R''$ 등이 인용되는 경우, 용어 헤테로알킬과 $-NR'R''$ 은 중복되거나 상호 배타적인 것이 아닌 것으로 이해되어야 한다. 오히려, 특정 헤테로알킬기는 명확성을 위해 첨가되는 것이다. 그러므로, 용어 "헤테로알킬"은 본원에서 특정 헤테로알킬기, 예컨대 $-NR'R''$ 등을 제외하는 것으로 해석되어서는 안된다.

용어 "사이클로알킬" 및 "헤테로사이클로알킬"은 그 자체로, 또는 다른 용어와 함께, 달리 언급되지 않는다면 각각 "알킬" 및 "헤테로알킬"의 사이클릭 형태를 나타낸다. 추가로, 헤테로사이클로알킬에서, 헤테로원자는 헤테로사이클이 분자의 다른 부분에 부착된 위치를 차지할 수 있다. 사이클로알킬의 예는 사이클로펜틸, 사이클로헥실, 1-사이클로헥세닐, 3-사이클로헥세닐, 사이클로헵틸 등을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 헤테로사이클로알킬의 예는 1-(1,2,5,6-테트라하이드로피리디닐), 1-피페리디닐, 2-피페리디닐, 3-피페리디닐, 4-모르폴리닐, 3-모르폴리닐, 테트라하이드로퓨란-2-일, 테트라하이드로퓨란-3-일, 테트라하이드로티오펜-2-일, 테트라하이드로티오펜-3-일, 1-피페라지닐, 2-피페라지닐 등을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 용어 "사이클로알킬렌" 및 "헤테로사이클로알킬렌"은 각각 사이클로알킬 및 헤테로사이클로알킬의 2가 유도체를 지칭한다.

용어 "할로" 또는 "할로젠"은 그 자체로, 또는 다른 치환체의 일부로서, 달리 언급되지 않는다면 불소, 염소, 브롬, 또는 요오드 원자를 의미한다. 추가로, "할로알킬"과 같은 용어는 모노할로알킬과 폴리할로알킬을 포함함을 의미한다. 예를 들면, 용어 "할로(C_1-C_4)알킬"은 트리플루오로메틸, 2,2,2-트리플루오로에틸, 4-클로로부틸, 3-브로모프로필 등을 포함하나 이에 한정되지 않음을 의미한다.

용어 "아릴"은 달리 언급되지 않는다면, 단일 고리, 또는 함께 융합되거나 공유결합되는 다중 고리(바람직하게는 1 내지 3 개의 고리)일 수 있는, 고도 불포화, 방향족, 탄화수소 치환체이다. 용어 "헤테로아릴"은 (다중 고리의 경우 각각의 개별 고리 중에) N, O, 및 S 중에서 선택되는 1 내지 4개의 헤테로원자를 함유하는 아릴기(또는 고리)를 지칭하며, 여기서 질소 및 황 원자는 임의로 산화되므로, 질소 원자는 임의로 사차화된다. 헤테로아릴기는 탄소 또는 헤테로원자를 통해 분자의 다른 부분에 부착될 수 있다. 아릴기 및 헤테로아릴기의 비-제한적인 예는 페닐, 1-나프틸, 2-나프틸, 4-비페닐, 1-피롤릴, 2-피롤릴, 3-피롤릴, 3-피라졸릴, 2-이미다졸릴, 4-이미다졸릴, 피라지닐, 2-옥사졸릴, 4-옥사졸릴, 2-페닐-4-옥사졸릴, 5-옥사졸릴, 3-이속사졸릴, 4-이속사졸릴, 5-이속사졸릴, 2-티아졸릴, 4-티아졸릴, 5-티아졸릴, 2-퓨릴, 3-퓨릴, 2-티에닐, 3-티에닐, 2-피리디닐, 3-피리디닐, 4-피리디닐, 2-피리미디닐, 4-피리미디닐, 5-벤조티아졸릴, 푸리닐, 2-벤조이미다졸릴, 5-인돌릴, 1-이소퀴놀릴, 5-이소퀴놀릴, 2-퀴녹살리닐, 5-퀴녹살리닐, 3-퀴놀릴, 및 6-퀴놀릴을 포함한다. 상기 명시한 아릴 및 헤테로아릴 고리계 각각의 치환체는 하기 기재하는 허용 가능한 치환체 군으로부터 선택된다. 용어 "아릴렌" 및 "헤테로아릴렌"은 각각 아릴 및 헤테로아릴의 2가 라디칼을 지칭한다.

간략화를 위하여, 용어 "아릴"이 다른 용어와 함께 사용되는 경우(예를 들면, 아릴옥소, 아릴티옥소, 아릴알킬), 상기 정의한 아릴 및 헤테로아릴 고리 모두를 포함한다. 즉, 용어 "아릴알킬"은 알킬기에 아릴기가 부착된 라디칼(예를 들면 벤질, 펜에틸, 피리디메틸 등)을 포함하는 의미이며, 이에는 탄소 원자 하나(예를 들면 메틸렌기)가 예를 들면 산소 원자로 대체된 알킬기를 포함한다(예를 들면 페녹시메틸, 2-피리디닐옥시메틸, 3-(1-나프틸옥시)프로필 등). 그러나, 본원에서 사용되는 용어 "할로아릴"은 단지 하나 이상의 할로젠으로 치환된 아릴만을 포괄함을 의미한다.

헤테로알킬, 헤테로사이클로알킬, 또는 헤테로아릴이 특정 구성원 수를 포함하는 경우(예를 들면, "3 내지 7원"), 용어 "원"은 탄소 또는 헤테로원자를 지칭하는 것이다.

용어 "옥소"는 탄소 원자에 이중결합된 산소를 의미한다.

상기 각 용어(예를 들면 "알킬," "헤테로알킬," "사이클로알킬, 및 "헤테로사이클로알킬," "아릴," "헤테로아릴" 및 그들의 2가 라디칼 유도체)는 상기 명시한 라디칼의 치환 및 비치환 형태 모두를 포함함을 의미한다. 각 라디칼 유형의 바람직한 치환체는 이하에 제공된다.

알킬, 헤테로알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬 1가 및 2가 유도체 라디칼을 위한 치환체(알킬렌, 알케닐, 헤테로알킬렌, 헤테로 알케닐, 알키닐, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 사이클로알케닐, 및 헤테로사이클로알케닐로 종종 지칭되는 기를 비롯한)는 $-OR^1$, $=O$, $=NR^1$, $=N-OR^1$, $-NR^1R^2$, $-SR^1$, -할로젠, $-SiR^1R^2R^3$, $-OC(O)R^1$, $-C(O)R^1$, $-CO_2R^1$, $-C(O)NR^1R^2$, $-OC(O)NR^1R^2$, $-NR^1C(O)R^1$, $-NR^1-C(O)NR^2R^3$, $-NR^1C(O)OR^1$, $-NR-C(NR^1R^2)=NR^3$, $-S(O)R^1$, $-S(O)_2R^1$, $-S(O)_2NR^1R^2$, $-NRSO_2R^1$, $-CN$ 및 $-NO_2$ 로부터, 0 내지 $(2m^1+1)$ 의 수에서 선택되는 하나 이상의 다양한 기일 수 있으나, 이에 한정되지 않으며, 여기서 m^1 은 상기 라디칼 내 총 탄소 원자수이다. R^1 , R^2 , R^3 , R^4 는 바람직하게는 각각 독립적으로 수소, 치환 또는 비치환된 헤테로알킬, 치환 또는 비치환된 사이클로알킬, 치환 또는 비치환된 헤테로사이클로알킬, 치환 또는 비치환된 아릴(예를 들면 1 내지 3개 할로젠으로 치환된 아릴), 치환 또는 비치환된 알킬, 알콕시 또는 티오알콕시기, 또는 아릴알킬기를 지칭한다. 본 발명의 화합물이 예컨대 하나보다 많은 R기를 포함하는 경우, 각 R기는 독립적으로 선택되며, 하나보다 많은 기가 존재하는 경우 각각 R^1 , R^2 , R^3 , R^4 기로 지칭된다. R^1 및 R^2 이 동일한 질소 원자에 부착되는 경우, 그들은 질소 원자와 결합하여 4, 5, 6 또는 7원 고리를 형성할 수 있다. 예를 들면, $-NR^1R^2$ 은 1-피롤리디닐 및 4-모르폴리닐을 포함하나 이에 한정되지 않는 의미이다. 상기 치환체에 관한 논의로부터, 당업자는 용어 "알킬"이 수소가 아닌 기에 연결되는 탄소 원자를 포함하는 기, 예컨대 할로알킬(예를 들면 $-CF_3$ 및 $-CH_2CF_3$) 및 아실(예를 들면 $-C(O)CH_3$, $-C(O)CF_3$, $-C(O)CH_2OCH_3$ 등)을 포함하는 의미임을 이해할 것이다.

상기 알킬 라디칼에서 기재한 치환체와 유사하게, 아릴 및 헤테로아릴기를 위한 예시적 치환체(및 그들의 2가 유도체)는 다양하며, 예를 들면 할로젠, $-OR^1$, $-NR^1R^2$, $-SR^1$, -할로젠, $-SiR^1R^2R^3$, $-OC(O)R^1$, $-C(O)R^1$, $-CO_2R^1$, $-C(O)NR^1R^2$, $-OC(O)NR^1R^2$, $-NR^1C(O)R^1$, $-NR^1-C(O)NR^2R^3$, $-NR^1C(O)OR^1$, $-NR-C(NR^1R^2)=NR^3$, $-NR-C(NR^1R^2)=NR^3$, $-S(O)R^1$, $-S(O)_2R^1$, $-S(O)_2NR^1R^2$, $-NRSO_2R^1$, $-CN$ 및 $-NO_2$, $-R^1$, $-N_3$, $-CH(Ph)_2$, 플루오로(C_1-C_4)알콕소 및 플루오로(C_1-C_4)알킬로부터, 0 내지 방향족 고리계 상의 개방된 원자의 총 수 사이의 수로 선택되고; 여기서 R^1 , R^2 , R^3 및 R^4 는 바람직하게는 독립적으로, 수소, 치환 또는 비치환된 알킬, 치환 또는 비치환된 헤테로알킬, 치환 또는 비치환된 사이클로알킬, 치환 또는 비치환된 헤테로사이클로알킬, 치환 또는 비치환된 아릴 및 치환 또는 비치환된 헤테로아릴로부터 선택된다. 본 발명의 화합물이 예컨대 하나보다 많은 R기를 포함하는 경우, 각 R기는 독립적으로 선택되며, 하나보다 많은 기가 존재하는 경우 각각 R^1 , R^2 , R^3 , R^4 기로 지칭된다.

아릴 또는 헤테로아릴 고리의 인근 원자상의 두 개의 치환체는 임의로 화학식 $-T-C(O)-(CRR^1)_q-U$ 의 고리를 형성할 수 있으며, 여기서 T 및 U는 독립적으로 $-NR^1$, $-O-$, $-CRR^1$ 또는 단일결합이고, q는 0 내지 3의 정수이다. 별법으로, 아릴 또는 헤테로아릴 고리의 인근 원자상의 두 개의 치환체는 임의로 화학식 $-A-(CH_2)_r-B$ 의 치환체로 대체될 수 있으며, 여기서 A 및 B는 독립적으로 $-CRR^1$, $-O-$, $-NR^1$, $-S-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-S(O)_2NR^1$ 또는 단일결합이고, r은 1 내지 4의 정수이다. 이렇게 형성되는 새로운 고리의 단일 결합 중 하나는 임의로 이중 결합으로 대체될 수 있다. 별법으로, 아릴 또는 헤테로아릴 고리의 인근 원자상의 두 개의 치환체는 임의로 화학식 $-(CRR^1)_s-X'-(C^1R^1)_d$ 의 치환체로 대체될 수 있으며, 여기서 s 및 d는 독립적으로 0 내지 3의 정수이고, X' 는 $-O-$, $-NR^1$, $-S-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$ 또는 $-S(O)_2NR^1$ 이다. 치환체 R^1 , R^2 , R^3 및 R^4 는 바람직하게는 독립적으로 수소, 치환 또는 비치환된 알킬, 치환 또는 비치환된 사이클로알킬, 치환 또는 비치환된 헤테로사이클로알킬, 치환 또는 비치환된 아릴, 및 치환 또는 비치환된 헤테로아릴로부터 선택된다.

본원에서 사용되는 용어 "헤테로원자" 또는 "고리 헤테로원자"는 산소 (O), 질소 (N), 황 (S), 인 (P), 및 규소 (Si)를 포함함을 의미한다.

본원에서 사용되는 "아미노알킬"은 알킬렌 연결기에 공유결합되는 아미노기를 지칭한다. 아미노기는 $-NR^1R^2$ 이고, 여기서 R^1 및 R^2 는 전형적으로는 수소, 치환 또는 비치환된 알킬, 치환 또는 비치환된 헤테로알킬, 치환 또는 비치환된 사이클로알킬, 치환 또는 비치환된 헤테로사이클로알킬, 치환 또는 비치환된 아릴, 또는 치환 또는 비치환된 헤테로아릴로부터 선택된다.

본원에서 사용되는 "치환기"은 하기 잔기들로부터 선택되는 기를 의미한다.

(A) $-OH$, $-NH_2$, $-SH$, $-CN$, $-CF_3$, $-NO_2$, 옥소, 할로젠, 비치환된 알킬, 비치환된 헤테로알킬, 비치환된 사이클로알킬, 비치환된 헤테로사이클로알킬, 비치환된 아릴, 비치환된 헤테로아릴, 및

(B) 하기 (i) 및 (ii)로부터 선택된 하나 이상의 치환체로 치환된 알킬, 헤테로알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 및 헤테로아릴.

(i) 옥소, -OH, -NH₂, -SH, -CN, -CF₃, -NO₂, 할로젠, 비치환된 알킬, 비치환된 헤테로알킬, 비치환된 사이클로알킬, 비치환된 헤테로사이클로알킬, 비치환된 아릴, 비치환된 헤테로아릴, 및

(ii) 하기 (a) 및 (b)로부터 선택된 하나 이상의 치환체로 치환된 알킬, 헤테로알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 및 헤테로아릴.

(a) 옥소, -OH, -NH₂, -SH, -CN, -CF₃, -NO₂, 할로젠, 비치환된 알킬, 비치환된 헤테로알킬, 비치환된 사이클로알킬, 비치환된 헤테로사이클로알킬, 비치환된 아릴, 비치환된 헤테로아릴, 및

(b) 옥소, -OH, -NH₂, -SH, -CN, -CF₃, -NO₂, 할로젠, 비치환된 알킬, 비치환된 헤테로알킬, 비치환된 사이클로알킬, 비치환된 헤테로사이클로알킬, 비치환된 아릴, 및 비치환된 헤테로아릴로부터 선택된 하나 이상의 치환체로 치환된 알킬, 헤테로알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 또는 헤테로아릴.

본원에서 사용되는 "크기-제한 치환체" 또는 "크기-제한 치환기"는 "치환기"에서 상기 기재된 모든 치환체로부터 선택되는 기를 의미하며, 여기서 각각의 치환 또는 비치환된 알킬은 치환 또는 비치환된 C₁-C₂₀ 알킬이고, 각각의 치환 또는 비치환된 헤테로알킬은 치환 또는 비치환된 2 내지 20원 헤테로알킬이고, 각각의 치환 또는 비치환된 사이클로알킬은 치환 또는 비치환된 C₄-C₈ 사이클로알킬이고, 각각의 치환 또는 비치환된 헤테로사이클로알킬은 치환 또는 비치환된 4 내지 8원 헤테로사이클로알킬이다.

본원에서 사용되는 "저급 치환체" 또는 "저급 치환기"는 "치환기"에서 상기 기재한 모든 치환체로부터 선택되는 기를 의미하며, 여기서 각각의 치환 또는 비치환된 알킬은 치환 또는 비치환된 C₁-C₈ 알킬이고, 각각의 치환 또는 비치환된 헤테로알킬은 치환 또는 비치환된 2 내지 8원 헤테로알킬이고, 각각의 치환 또는 비치환된 사이클로알킬은 치환 또는 비치환된 C₅-C₇ 사이클로알킬이고, 각각의 치환 또는 비치환된 헤테로사이클로알킬은 치환 또는 비치환된 5 내지 7원 헤테로사이클로알킬이다.

본 발명의 화합물은 염으로서 존재할 수도 있다. 본 발명은 그러한 염을 포함한다. 적용 가능한 염 형태의 예는 하이드로클로라이드, 하이드로브로마이드, 설페이트, 메탄설포네이트, 니트레이트, 말레에이트, 아세테이트, 시트레이트, 푸마레이트, 타르트레이트(예를 들면 (+)-타르트레이트, (-)-타르트레이트 또는 라세미 혼합물을 비롯한 그들의 혼합물), 숙시네이트, 벤조에이트 및 글루탐산 등 아미노산과의 염을 포함한다. 이들 염은 당업자에게 공지된 방법에 의해 제조될 수 있다. 또한, 나트륨, 칼륨, 칼슘, 암모늄, 유기아미노 또는 마그네슘 염 등 염기 첨가염 또는 유사한 염이 포함된다. 본 발명의 화합물이 비교적 염기성인 작용기를 함유하는 경우, 본 화합물의 중성 형태를 충분한 양의 목적하는 산과 무용매 또는 적합한 비활성 용매 중에서 접촉시켜 산 첨가 염을 얻을 수 있다. 허용 가능한 산 첨가 염의 예는 염산, 브롬산, 질산, 카르본산, 모노하이드로젠카르본산, 인산, 모노하이드로젠인산, 디하이드로젠인산, 황산, 모노하이드로젠황산, 요오드산 또는 아인산 등 무기산으로부터 유도된 염, 또는 아세트산, 프로피온산, 이소부티르산, 말레산, 말론산, 벤조산, 숙신산, 수베르산, 푸마르산, 락트산, 만델산, 프탈산, 벤젠설포산, p-톨릴설포산, 시트르산, 타르타르산, 메탄설포산 등 유기산으로부터 유도된 염을 포함한다. 아르긴산 등 아미노산의 염 및 글루쿠론산 또는 갈락투론산 등 유기산의 염 또한 포함된다. 본 발명의 일부 특정 화합물은 염기성 및 산성 작용기를 모두 함유하여, 염기 또는 산 첨가 염으로 전환될 수 있다.

본 화합물의 중성 형태는 바람직하게는 염을 염기 또는 산과 접촉시키고 모체(parent) 화합물을 통상적인 방법으로 단리시켜 재생된다. 본 화합물의 원 형태는 극성 용매 중의 용해도 등 특정 물리적 특성을 지닌 다양한 염 형태와 다르다.

본 발명의 일부 화합물은 수화된 형태를 비롯한 용매화된 형태, 및 비용매화 형태로 존재할 수 있다. 일반적으로, 용매화된 형태는 비용매화 형태와 균등하여, 본 발명의 범위 내에 포함된다. 본 발명의 일부 화합물은 다중 결정형 또는 무정형으로 존재할 수 있다. 일반적으로, 모든 물리적 형태는 본 발명에서 설명되는 용도와 균등하며, 본 발명의 범위 내인 것으로 의도된다.

본 발명의 일부 화합물은 비대칭 탄소 원자(광학 중심 또는 키랄 중심) 또는 이중결합을 가지며, 절대 입체화학에 의해 (R)- 또는 (S)-로, 또는 아미노산의 경우 (D)- 또는 (L)-로 정의될 수 있는, 거울상 이성질체, 라세미체, 부분입체 이성질체,

토토머, 기하 이성질체, 입체 이성질체 형태이며, 각각의 이성질체는 본 발명의 범위 내에 포함된다. 본 발명의 화합물은 합성 및/또는 분리하기에 너무 불안정한 것으로 당업계에 공지된 것들을 포함하지 않는다. 본 발명은 라세미체 및 광학적으로 순수한 형태의 화합물을 포함한다. 광학적으로 활성인 (R)- 또는 (S)-, 또는 (D)- 또는 (L)- 이성질체는 키랄 합성조각(synthon) 및 키랄 시약을 사용하여 제조되거나, 통상적인 기법을 사용하여 분리될 수 있다. 본원에 기재된 화합물이 올레핀 결합 또는 다른 기하 비대칭 중심을 함유하는 경우, 달리 언급되지 않는다면, 그 화합물은 E 및 Z 기하 이성질체를 모두 포함하는 것으로 의도된다.

본원에서 사용되는 용어 "토토머"는 평형 상태로 존재하며 한 이성질체 형태에서 다른 이성질체 형태로 쉽게 전환되는 둘 이상의 구조 이성질체 중 하나를 지칭한다.

본 발명의 일부 화합물은 토토머 형태로 존재할 수 있고, 그러한 모든 토토머 형태는 본 발명의 범위 내라는 것이 당업자에게 자명할 것이다.

달리 언급되지 않는다면, 본원에 묘사된 구조는 구조의 모든 입체화학적 형태, 즉 각 비대칭 중심의 R 및 S 배열을 포함하는 것을 의미한다. 그러므로, 본 발명의 단일 입체화학적 이성질체뿐 아니라, 거울상 이성질체 및 부분입체 이성질체도 본 발명의 범위 내이다.

달리 언급되지 않는다면, 본원에 묘사된 구조는 하나 이상의 동위원소적으로 강화된 원자 존재 하에서만 상이한 화합물도 포함함을 의미한다. 예를 들면, 수소가 중수소 또는 삼중수소로 대체되거나, 탄소가 ^{13}C 또는 ^{14}C 로 강화된 탄소로 대체된 것을 제외하면 본 발명의 구조를 갖는 화합물은, 본 발명의 범위 내이다.

본 발명의 화합물은 그를 구성하는 하나 이상의 원자에 부자연스런 원자 동위체 부위를 함유할 수도 있다. 예를 들면, 본 화합물은 삼중수소(^3H), 요오드-125(^{125}I) 또는 탄소-14(^{14}C) 등 방사성 동위 원소로 방사성 식별될 수 있다. 방사성인 아니든, 본 발명의 화합물의 모든 동위원소적 변화는 본 발명의 범위 내에 포함된다.

용어 "제약학상 허용되는 염"은 본원에 기재된 화합물에서 발견되는 특별한 치환체 잔기에 따라, 비교적 비독성인 산 또는 염기와 함께 제조되는 활성 화합물의 염을 포함함을 의미한다. 본 발명의 화합물이 비교적 산성인 작용기를 함유하는 경우, 본 화합물의 중성 형태를 충분한 양의 목적하는 염기와 무용매 또는 적합한 비활성 용매 중에서 접촉시켜 염기 첨가 염을 얻을 수 있다. 제약학상 허용되는 염기 첨가 염의 예는 나트륨, 칼륨, 칼슘, 암모늄, 유기아미노 또는 마그네슘 염 등 염기 첨가염 또는 유사한 염이 포함된다. 본 발명의 화합물이 비교적 염기성인 작용기를 함유하는 경우, 본 화합물의 중성 형태를 충분한 양의 목적하는 산과 무용매 또는 적합한 비활성 용매 중에서 접촉시켜 산 첨가 염을 얻을 수 있다. 제약학상 허용되는 산 첨가 염의 예는 염산, 브롬산, 질산, 카르본산, 모노하이드로젠카르본산, 인산, 모노하이드로젠인산, 디하이드로젠인산, 황산, 모노하이드로젠황산, 요오드산 또는 아인산 등 무기산으로부터 유도된 염, 또는 아세트산, 프로피온산, 이소부티르산, 말레산, 말론산, 벤조산, 숙신산, 수베르산, 푸마르산, 락트산, 만델산, 프탈산, 벤젠설폰산, p-톨릴설폰산, 시트르산, 타르타르산, 메탄설폰산 등 유기산으로부터 유도된 염을 포함한다. 아르긴산 등 아미노산의 염 및 글루쿠론산 또는 갈락투론산 등 유기산의 염 또한 포함된다(예를 들면, 문헌 [Berge et al, "Pharmaceutical Salts", Journal of Pharmaceutical Science, 1977, 66, 1-19] 참조). 본 발명의 일부 특정 화합물은 염기성 및 산성 작용기를 모두 함유하여, 염기 또는 산 첨가 염으로 전환될 수 있다.

염 형태에 더하여, 본 발명은 전구약물 형태의 화합물을 제공한다. 본원에 기재된 화합물의 전구약물은 생리학적 조건 하에서 쉽게 화학적 변화를 일으켜 본 발명의 화합물을 제공하는 화합물이다. 추가로, 전구약물 생체의 환경에서 화학적 또는 생물학적 방법에 의해 본 발명의 화합물로 전환될 수도 있다. 예를 들면, 전구약물은 적합한 효소 또는 화학적 시약과 함께 경피성 패치 저장소(reservoir)에 두면 본 발명의 화합물로 천천히 전환될 수 있다.

용어 "a," "an," 또는 "a(n)"은 본원에서 치환기에 대해 사용되는 경우 하나 이상을 의미한다. 예를 들면, 화합물이 "an" 알킬 또는 아릴로 치환되는 경우, 그 화합물은 하나 이상의 알킬 및/또는 하나 이상의 아릴로 임의로 치환되는 것이다. 또한, 잔기가 R 치환체로 치환되는 경우, 그 치환기는 "R-치환된"으로 지칭될 수 있다. 잔기가 R-치환된 경우, 잔기는 하나 이상의 R 치환체로 치환되고, 각 R 치환체는 임의로 상이하다.

본 발명의 화합물에 관한 기재내용은 당업자에게 공지된 화학 결합 법칙에 의해 제한된다. 따라서, 한 치환기가 하나 이상의 다수 치환체로 치환되는 경우, 그러한 치환은 화학 결합 법칙에 맞고, 수성, 중성 등 환경 조건 및 여러 가지 공지된 생리

학적 조건 하에서 그 자체로 불안정하지 않고/않거나 불안정한 경향이 없는 것으로 공지된 화합물을 제공하도록 선택된다. 예를 들면, 헤테로사이클로알킬 또는 헤테로아릴은 당업계에 공지된 화학 결합 법칙에 맞도록 분자의 다른 부분에 고리 헤테로원자를 통해 부착되며, 그러므로 그 자체로 불안정한 화합물을 제공하지 않는다.

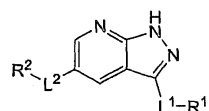
특정 질병에 대해 사용하는 용어 "치료하는" 또는 "치료"는 질병의 예방을 포함한다.

기호 $\sim$ 는 한 잔기가 분자의 다른 부분에 부착되는 지점을 의미한다.

I. 융합 고리 헤테로사이클 키나제 조절제

한 양태에서, 본 발명은 하기 화학식 I의 융합 고리 헤테로사이클 키나제 조절제 (또한 본원에서 "본 발명의 화합물"로도 지칭된다)를 제공한다.

<화학식 I>



상기 화학식 I에서, L^1 및 L^2 는 독립적으로 결합, $-S(O)_n-$, $-O-$, $-NH-$, 치환 또는 비치환 C_1-C_5 알킬렌, 또는 치환 또는 비치환 2원 내지 5원 헤테로알킬렌이다. 일부 실시태양에서, L^1 및 L^2 는 독립적으로 결합, $-S(O)_n-$, $-O-$, $-NH-$, 비치환 C_1-C_5 알킬렌, 또는 비치환 2원 내지 5원 헤테로알킬렌이다. 기호 n 은 0 내지 2의 정수이다. R^1 및 R^2 는 독립적으로 치환 또는 비치환 사이클로알킬, 치환 또는 비치환 헤테로사이클로알킬, 치환 또는 비치환 헤테로아릴, 또는 치환 또는 비치환 아릴이다.

일부 실시태양에서, R^1 은 치환 또는 비치환 피롤릴이 아니다. 다른 실시태양에서, R^1 및 R^2 가 둘다 비치환 페닐인 경우, L^1 은 비치환 2원 내지 5원 헤테로알킬렌이 아니다. 다른 실시태양에서, R^2 가 비치환 피페라지닐인 경우, L^1 은 $-S(O)_2-$ 가 아니다.

일부 실시태양에서, R^1 은 치환 또는 비치환 5원 헤테로아릴이 아니다. 다른 실시태양에서, R^1 은 치환 또는 비치환 6원 헤테로아릴, 치환 또는 비치환 헤테로사이클로알킬, 치환 또는 비치환 아릴, 또는 치환 또는 비치환 헤테로아릴이다. R^1 은 또한 치환 또는 비치환 6원 헤테로아릴 또는 치환 또는 비치환 아릴일 수 있다.

다른 실시태양에서, R^1 및 R^2 가 둘다 비치환 아릴인 경우, L^1 은 비치환 2원 내지 5원 헤테로알킬렌이 아니다. 다른 실시태양에서, R^1 및 R^2 가 둘다 치환 또는 비치환 페닐인 경우, L^1 은 비치환 2원 내지 5원 헤테로알킬렌이 아니다. 다른 실시태양에서, L^1 은 결합, $-S(O)_n-$, $-O-$, $-NH-$ 및 비치환 C_1-C_5 알킬렌으로부터 선택된다. 다른 실시태양에서, n 은 0 또는 1이다. 다른 실시태양에서, L^1 은 결합, $-O-$, $-NH-$, 및 비치환 C_1-C_5 알킬렌으로부터 선택된다.

일부 실시태양에서, R^2 가 치환 또는 비치환 피페라지닐인 경우, L^1 은 $-S(O)_2-$ 가 아니다. 다른 실시태양에서, R^2 가 비치환 헤테로사이클로알킬인 경우, L^1 은 $-S(O)_2-$ 가 아니다. 다른 실시태양에서, R^1 이 치환 또는 비치환 헤테로사이클로알킬인 경우, L^1 은 $-S(O)_2-$ 가 아니다. 다른 실시태양에서, n 은 0 또는 1이다. 다른 실시태양에서, L^2 가 결합인 경우, L^1 은 $-S(O)_2-$ 가 아니다.

일부 실시태양에서, R^2 는 비치환 6원 헤테로사이클로알킬이 아니다. 다른 실시태양에서, R^2 는 치환 또는 비치환 6원 헤테로사이클로알킬이 아니다. 다른 실시태양에서, R^2 는 치환 또는 비치환 헤테로아릴, 치환 또는 비치환 5원 헤테로사이클로알킬, 치환 또는 비치환 아릴, 및 치환 또는 비치환 사이클로알킬로부터 선택된다. R^2 는 또는 치환 또는 비치환 사이클로알킬, 치환 헤테로사이클로알킬, 치환 또는 비치환 헤테로아릴, 또는 치환 또는 비치환 아릴일 수 있다.

일부 실시태양에서, R^2 가 비치환 피리디닐인 경우, R^1 은 치환 또는 비치환 이속사줄릴이 아니다. 다른 실시태양에서, L^1 이 결합 또는 $-CH_2-$ 인 경우, R^1 은 치환 또는 비치환 이속사줄릴이 아니다. 다른 실시태양에서, R^1 은 치환 또는 비치환 이속사줄릴이 아니다. 다른 실시태양에서, R^1 은 4-치환된 이속사줄릴이 아니다. 다른 실시태양에서, R^1 은 5-일-이속사줄릴이 아니다. 다른 실시태양에서, R^1 은 4-치환된-5-일-이속사줄릴이 아니다. 다른 실시태양에서, R^1 은 플루오로-치환된 아릴로 치환된 이속사줄릴이 아니다.

L^1 및 L^2 는 독립적으로 결합, $-S(O)_n-$, $-O-$, $-NH-$ 또는 비치환 C_1-C_5 알킬렌일 수 있다. 일부 실시태양에서, L^1 및 L^2 는 결합이다. 다른 실시태양에서, L^1 또는 L^2 는 결합이다.

R^1 은 치환 또는 비치환 사이클로알킬, 치환 또는 비치환 헤테로사이클로알킬, 치환 또는 비치환 5원 또는 6원 헤테로아릴, 또는 치환 또는 비치환 아릴일 수 있다. R^1 은 또한 치환 또는 비치환 6원 헤테로아릴, 또는 치환 또는 비치환 아릴일 수 있다.

다른 실시태양에서, R^1 은 (1) 비치환 C_3-C_7 사이클로알킬; (2) 비치환 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬; (3) 비치환 헤테로아릴; (4) 비치환 아릴; (5) 치환 C_3-C_7 사이클로알킬; (6) 치환 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬; (7) 치환 아릴; 또는 (8) 치환 헤테로아릴이다. 일부 관련 실시태양에서, 상기 (5) 및 (6)은 옥소, $-OH$, $-CF_3$, $-COOH$, 시아노, 할로젠, R^{11} -치환되거나 비치환된 C_1-C_{10} 알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원의 헤테로알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 C_3-C_7 사이클로알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원의 헤테로사이클로알킬, R^{12} -치환되거나 비치환된 아릴, R^{12} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴, $-L^{12}-C(X^1)R^7$, $-L^{12}-OR^8$, $-L^{12}-NR^{91}R^{92}$ 또는 $-L^{12}-S(O)_mR^{10}$ 으로 치환된다. X^1 은 $=S$, $=O$ 또는 $=NR^{15}$ 이고, 이때 R^{15} 는 H , $-OR^{151}$, R^{11} -치환되거나 비치환된 C_1-C_{10} 알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 헤테로알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 C_3-C_7 사이클로알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, R^{12} -치환되거나 비치환된 아릴, 또는 R^{12} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴이다. R^{151} 은 수소 또는 R^{11} -치환되거나 비치환된 C_1-C_{10} 알킬이다. 기호 m 은 0 내지 2의 정수이다.

다른 관련 실시태양에서, 상기 (7) 및 (8)은 $-OH$, $-CF_3$, $-COOH$, 시아노, 할로젠, R^{11} -치환되거나 비치환된 C_1-C_{10} 알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 헤테로알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 C_3-C_7 사이클로알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, R^{12} -치환되거나 비치환된 아릴, R^{12} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴, $-L^{12}-C(X^1)R^7$, $-L^{12}-OR^8$, $-L^{12}-NR^{91}R^{92}$ 또는 $-L^{12}-S(O)_mR^{10}$ 으로 치환된다. L^{12} 는 결합, 비치환 C_1-C_{10} 알킬렌, 또는 비치환 헤테로알킬렌이다. X^1 및 m 은 상기 정의한 바와 같다.

R^7 은 수소, R^{11} -치환되거나 비치환된 C_1-C_{10} 알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 헤테로알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 C_3-C_7 사이클로알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, R^{12} -치환되거나 비치환된 아릴, R^{12} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴, $-OR^{71}$, 또는 $-NR^{72}R^{73}$ 이다. R^{71} , R^{72} 및 R^{73} 은 독립적으로 수소, R^{11} -치환되거나 비치환된 C_1-C_{10} 알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 헤테로알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 C_3-C_7

사이클로알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, R^{12} -치환되거나 비치환된 아릴, 또는 R^{12} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴이다. R^{72} 및 R^{73} 은 임의로 이들이 결합된 질소와 함께 R^{11} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, 또는 R^{12} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴을 형성한다.

R^8 , R^{91} 및 R^{92} 는 독립적으로 수소, $-\text{CF}_3$, R^{11} -치환되거나 비치환된 C_1 - C_{10} 알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 헤테로알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 C_3 - C_7 사이클로알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, R^{12} -치환되거나 비치환된 아릴, R^{12} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴, $-\text{C}(\text{X}^2)\text{R}^{81}$ 또는 $-\text{S}(\text{O})_w\text{R}^{81}$ 이다. X^2 는 $=\text{S}$, $=\text{O}$ 또는 $=\text{NR}^{16}$ 이다. R^{16} 은 R^{11} -치환되거나 비치환된 C_1 - C_{10} 알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 헤테로알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 C_3 - C_7 사이클로알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, R^{12} -치환되거나 비치환된 아릴, 또는 R^{12} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴이다. 기호 w 는 0 내지 2의 정수이다. R^{91} 및 R^{92} 는 임의로 이들이 결합된 질소와 함께 R^{11} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, 또는 R^{12} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴을 형성한다.

R^{81} 은 수소, R^{11} -치환되거나 비치환된 C_1 - C_{10} 알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 헤테로알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 C_3 - C_7 사이클로알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, R^{12} -치환되거나 비치환된 아릴, R^{12} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴, 또는 $-\text{NR}^{811}\text{R}^{812}$ 이다.

R^{811} 및 R^{812} 는 독립적으로 수소, R^{11} -치환되거나 비치환된 C_1 - C_{10} 알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 헤테로알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 C_3 - C_7 사이클로알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, R^{12} -치환되거나 비치환된 아릴, 또는 R^{12} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴이다. R^{811} 및 R^{812} 는 임의로 이들이 결합된 질소와 함께 R^{11} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, 또는 R^{12} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴을 형성한다.

일부 실시태양에서, R^{81} 및 R^{16} 은 임의로 이들이 결합된 원자와 함께 치환 또는 헤테로사이클로알킬, 또는 치환 또는 비치환 헤테로아릴을 형성한다. 다른 실시태양에서, R^{811} 및 R^{16} 은 임의로 이들이 결합된 원자와 함께 치환 또는 비치환 헤테로사이클로알킬, 또는 치환 또는 비치환 헤테로아릴을 형성한다. 다른 실시태양에서, R^{81} 및 R^{92} 는 임의로 이들이 결합된 원자와 함께 치환 또는 헤테로사이클로알킬, 또는 치환 또는 비치환 헤테로아릴을 형성한다. 다른 실시태양에서, R^{811} 및 R^{92} 는 임의로 이들이 결합된 원자와 함께 치환 또는 헤테로사이클로알킬, 또는 치환 또는 비치환 헤테로아릴을 형성한다.

R^{10} 은 수소, R^{11} -치환되거나 비치환된 C_1 - C_{10} 알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 헤테로알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 C_3 - C_7 사이클로알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, R^{12} -치환되거나 비치환된 아릴, R^{12} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴, 또는 $-\text{NR}^{101}\text{R}^{102}$ 이다. R^{101} 및 R^{102} 는 독립적으로 수소, R^{11} -치환되거나 비치환된 C_1 - C_{10} 알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 헤테로알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 C_3 - C_7 사이클로알킬, R^{11} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, R^{12} -치환되거나 비치환된 아릴, 또는 R^{12} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴이다. R^{101} 및 R^{102} 는 임의로 이들이 결합된 질소와 함께 R^{11} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, 또는 R^{12} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴을 형성한다.

R^{11} 은 옥소, $-\text{OH}$, $-\text{COOH}$, $-\text{CF}_3$, $-\text{OCF}_3$, $-\text{CN}$, 아미노, 할로젠, R^{13} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 알킬, R^{13} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 헤테로알킬, R^{13} -치환되거나 비치환된 C_3 - C_7 사이클로알킬, R^{13} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, R^{14} -치환되거나 비치환된 아릴, 또는 R^{14} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴이다.

R^{12} 는 -OH, -COOH, 아미노, 할로젠, $-\text{CF}_3$, $-\text{OCF}_3$, -CN, R^{13} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 알킬, R^{13} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 헤테로알킬, R^{13} -치환되거나 비치환된 C_3 - C_7 사이클로알킬, R^{13} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, R^{14} -치환되거나 비치환된 아릴, 또는 R^{14} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴이다.

R^{13} 은 옥소, -OH, -COOH, 아미노, 할로젠, $-\text{CF}_3$, $-\text{OCF}_3$, -CN, 비치환 C_1 - C_{10} 알킬, 비치환 2원 내지 10원 헤테로알킬, 비치환 C_3 - C_7 사이클로알킬, 비치환 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, 비치환 아릴 또는 비치환 헤테로아릴이다.

R^{14} 는 -OH, -COOH, 아미노, 할로젠, $-\text{CF}_3$, $-\text{OCF}_3$, -CN, 비치환 C_1 - C_{10} 알킬, 비치환 2원 내지 10원 헤테로알킬, 비치환 C_3 - C_7 사이클로알킬, 비치환 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, 비치환 아릴, 또는 비치환 헤테로아릴이다.

일부 실시태양에서, R^1 은 (1), (2), (4), (5), (6), 또는 (7) (즉, 각각 비치환 C_3 - C_7 사이클로알킬, 비치환 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, 비치환 아릴, 치환 C_3 - C_7 사이클로알킬, 치환 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, 또는 치환 아릴)이다. 일부 실시태양에서, R^1 이 (3) 또는 (8)인 경우, 헤테로아릴은 6원 헤테로아릴이다.

R^1 이 (7) 또는 (8) (즉, 치환 아릴 또는 치환 헤테로아릴)인 경우, 상기 (7) 및 (8)은 -OH, $-\text{CF}_3$, $-\text{OCF}_3$, 할로젠, 비치환 C_1 - C_{10} 알킬, 비치환 2원 내지 10원 헤테로알킬, 비치환 C_3 - C_7 사이클로알킬, 비치환 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, 비치환된 아릴, 비치환 헤테로아릴, 또는 $-\text{L}^{12}-\text{OR}^8$ 로 치환될 수 있다. 관련 실시태양에서, L^{12} 는 결합이다. 다른 관련 실시태양에서, 상기 (7) 및 (8)은 $-\text{OCH}_3$, $-\text{OCF}_3$, $-\text{CH}_3$, $-\text{CF}_3$, $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$, 할로젠 또는 사이클로프로필옥시로 치환될 수 있다.

R^2 는 (1) 비치환 C_3 - C_7 사이클로알킬; (2) 비치환 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬; (3) 비치환 헤테로아릴; (4) 비치환 아릴; (5) 치환 C_3 - C_7 사이클로알킬; (6) 치환 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬; (7) 치환 아릴; 또는 (8) 치환 헤테로아릴일 수 있다. 일부 관련 실시태양에서, 상기 (5) 및 (6)은 옥소, -OH, $-\text{CF}_3$, -COOH, 시아노, 할로젠, R^{21} -치환되거나 비치환된 C_1 - C_{10} 알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 헤테로알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 C_3 - C_7 사이클로알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, R^{22} -치환되거나 비치환된 아릴, R^{22} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴, $-\text{L}^{22}-\text{C}(\text{X}^3)\text{R}^3$, $-\text{L}^{22}-\text{OR}^4$, $-\text{L}^{22}-\text{NR}^{51}\text{R}^{52}$ 또는 $-\text{L}^{22}-\text{S}(\text{O})_q\text{R}^6$ 로 치환된다. X^3 은 =S, =O 또는 =NR¹⁷이고, 이때 R^{17} 은 H, $-\text{OR}^{171}$, R^{21} -치환되거나 비치환된 C_1 - C_{10} 알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 헤테로알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 C_3 - C_7 사이클로알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, R^{22} -치환되거나 비치환된 아릴, 또는 R^{22} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴이다. R^{171} 은 수소 또는 R^{21} -치환되거나 비치환된 C_1 - C_{10} 알킬이다. 기호 q는 0 내지 2의 정수이다.

다른 관련 실시태양에서, 상기 (7) 및 (8)은 -OH, $-\text{CF}_3$, -COOH, 시아노, 할로젠, R^{21} -치환되거나 비치환된 C_1 - C_{10} 알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 헤테로알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 C_3 - C_7 사이클로알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, R^{22} -치환되거나 비치환된 아릴, R^{22} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴, $-\text{L}^{22}-\text{C}(\text{X}^3)\text{R}^3$, $-\text{L}^{22}-\text{OR}^4$, $-\text{L}^{22}-\text{NR}^{51}\text{R}^{52}$ 또는 $-\text{L}^{22}-\text{S}(\text{O})_q\text{R}^6$ 로 치환된다. L^{22} 는 결합, 비치환 C_1 - C_{10} 알킬렌 또는 비치환 헤테로알킬렌이다. X^3 및 q는 상기 정의한 바와 같다.

R^3 은 수소, R^{21} -치환되거나 비치환된 C_1 - C_{10} 알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 헤테로알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 C_3 - C_7 사이클로알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, R^{22} -치환되거나 비치환된

된 아릴, R^{22} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴, $-OR^{31}$, 또는 $-NR^{32}R^{33}$ 이다. R^{32} 및 R^{33} 은 임의로 이들이 결합된 질소와 함께 R^{21} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, 또는 R^{22} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴을 형성한다.

R^{31} , R^{32} 및 R^{33} 은 독립적으로 수소, R^{21} -치환되거나 비치환된 C_1-C_{10} 알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 헤테로알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 C_3-C_7 사이클로알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, R^{22} -치환되거나 비치환된 아릴, 또는 R^{22} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴이다.

R^4 , R^{51} 및 R^{52} 는 독립적으로 수소, $-CF_3$, R^{21} -치환되거나 비치환된 C_1-C_{10} 알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 헤테로알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 C_3-C_7 사이클로알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, R^{22} -치환되거나 비치환된 아릴, R^{22} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴, $-C(X^4)R^{41}$ 또는 $-S(O)_vR^{41}$ 이다. R^{51} 및 R^{52} 는 임의로 이들이 결합된 질소와 함께 R^{21} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, 또는 R^{22} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴을 형성한다.

X^4 는 $=S$, $=O$ 또는 $=NR^{18}$ 이고, 이때 R^{18} 은 R^{21} -치환되거나 비치환된 C_1-C_{10} 알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 헤테로알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 C_3-C_7 사이클로알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, R^{22} -치환되거나 비치환된 아릴, 또는 R^{22} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴이다. 기호 v 는 0 내지 2의 정수이다.

R^{41} 은 수소, R^{21} -치환되거나 비치환된 C_1-C_{10} 알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 헤테로알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 C_3-C_7 사이클로알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, R^{22} -치환되거나 비치환된 아릴, R^{22} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴, 또는 $-NR^{411}R^{412}$ 이다. R^{411} 및 R^{412} 는 독립적으로 수소, R^{21} -치환되거나 비치환된 C_1-C_{10} 알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 헤테로알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 C_3-C_7 사이클로알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, R^{22} -치환되거나 비치환된 아릴, 및 R^{22} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴로부터 선택된다. R^{411} 및 R^{412} 는 임의로 이들이 결합된 질소와 함께 R^{21} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, 또는 R^{22} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴을 형성한다.

일부 실시태양에서, R^{41} 및 R^{18} 는 임의로 이들이 결합된 원자와 함께 치환 또는 비치환 헤테로사이클로알킬, 또는 치환 또는 비치환 헤테로아릴을 형성한다. 다른 실시태양에서, R^{411} 및 R^{18} 는 임의로 이들이 결합된 원자와 함께 치환 또는 비치환 헤테로사이클로알킬, 또는 치환 또는 비치환 헤테로아릴을 형성한다. 다른 실시태양에서, R^{41} 및 R^{52} 는 임의로 이들이 결합된 원자와 함께 치환 또는 비치환 헤테로사이클로알킬, 또는 치환 또는 비치환 헤테로아릴을 형성한다. 다른 실시태양에서, R^{411} 및 R^{52} 는 임의로 이들이 결합된 원자와 함께 치환 또는 비치환 헤테로사이클로알킬, 또는 치환 또는 비치환 헤테로아릴을 형성한다.

R^6 은 수소, R^{21} -치환되거나 비치환된 C_1-C_{10} 알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 헤테로알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 C_3-C_7 사이클로알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, R^{22} -치환되거나 비치환된 아릴, R^{22} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴, 또는 $-NR^{61}R^{62}$ 이다. R^{61} 및 R^{62} 는 수소, R^{21} -치환되거나 비치환된 C_1-C_{10} 알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 헤테로알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 C_3-C_7 사이클로알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, R^{22} -치환되거나 비치환된 아릴, 또는 R^{22} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴이다. R^{61} 및 R^{62} 는 임의로 이들이 결합된 질소와 함께 R^{21} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, 또는 R^{22} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴을 형성한다.

R^{21} 은 옥소, -OH, -COOH, -CF₃, -OCF₃, -CN, 아미노, 할로젠, R^{23} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 알킬, R^{23} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 헤테로알킬, R^{23} -치환되거나 비치환된 C₃-C₇ 사이클로알킬, R^{23} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, R^{24} -치환되거나 비치환된 아릴, 또는 R^{24} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴이다.

R^{22} 는 -OH, -COOH, 아미노, 할로젠, -CF₃, -OCF₃, -CN, R^{23} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 알킬, R^{23} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 헤테로알킬, R^{23} -치환되거나 비치환된 C₃-C₇ 사이클로알킬, R^{23} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, R^{24} -치환되거나 비치환된 아릴, 또는 R^{24} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴이다.

R^{23} 은 옥소, -OH, -COOH, 아미노, 할로젠, -CF₃, -OCF₃, -CN, 비치환 C₁-C₁₀ 알킬, 비치환 2원 내지 10원 헤테로알킬, 비치환 C₃-C₇ 사이클로알킬, 비치환 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, 비치환 아릴 또는 비치환 헤테로아릴이다.

R^{24} 는 -OH, -COOH, 아미노, 할로젠, -CF₃, -OCF₃, -CN, 비치환 C₁-C₁₀ 알킬, 비치환 2원 내지 10원 헤테로알킬, 비치환 C₃-C₇ 사이클로알킬, 비치환 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, 비치환 아릴, 또는 비치환 헤테로아릴이다.

일부 실시태양에서, R^2 는 (1), (3), (4), (5), (6), (7) 또는 (8) (즉, 각각 비치환 C₃-C₇ 사이클로알킬, 비치환 헤테로아릴, 비치환 아릴, 치환 C₃-C₇ 사이클로알킬, 치환 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, 치환 아릴 또는 치환 헤테로아릴)이다. R^2 는 또한 (3), (4), (7) 또는 (8)일 수 있다. 다른 실시태양에서, R^2 는 (7) 또는 (8)이다.

일부 실시태양에서, R^2 가 (7) 및 (8)인 경우, 상기 (7) 및 (8)은 $-L^{22}-C(X^3)R^3$, $-L^{22}-OR^4$, $-L^{22}-NR^{51}R^{52}$, $-L^{22}-C(NH)-NR^{32}R^{33}$, 또는 $-L^{22}-S(O)_qR^6$ 으로 치환된다.

일부 실시태양에서, R^3 은 $-NR^{32}R^{33}$ 이다. X^3 은 =O 또는 =NR¹⁷일 수 있다. R^6 은 $-NR^{61}R^{62}$ 일 수 있다. R^4 은 $-C(O)R^{41}$ 또는 $-S(O)_vR^{41}$ 일 수 있다. R^{41} 은 $-NR^{411}R^{412}$ 일 수 있다.

다른 실시태양에서, R^2 가 (7) 및 (8)인 경우, 상기 (7) 또는 (8)은 -OH, -CF₃, -COOH, 아미노, 할로젠, 비치환 2원 내지 10원 헤테로알킬, 비치환 C₃-C₇ 사이클로알킬, 비치환 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, 비치환 아릴, 비치환 헤테로아릴, 또는 $-L^{22}-C(X^3)R^3$ 로 치환될 수 있다. X^3 은 =O일 수 있다.

R^3 은 비치환 C₁-C₁₀ 알킬, 비치환 2원 내지 10원 헤테로알킬, 비치환 C₃-C₇ 사이클로알킬, 비치환 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, 비치환 아릴, 비치환 헤테로아릴, 또는 $-NR^{32}R^{33}$ 일 수 있다. R^{32} 및 R^{33} 은 독립적으로 수소, R^{21} -치환되거나 비치환된 C₁-C₁₀ 알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 헤테로알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 C₃-C₇ 사이클로알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, R^{22} -치환되거나 비치환된 아릴, 또는 R^{22} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴일 수 있다. R^{32} 및 R^{33} 은 임의로 이들이 결합된 질소와 함께 R^{21} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, 또는 R^{22} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴을 형성한다.

또다른 실시태양에서, R^2 가 (7) 또는 (8)인 경우, 상기 (7) 및 (8)은 비치환 2원 내지 10원 헤테로알킬, 또는 $-L^{22}-C(O)R^3$ 으로 치환될 수 있다. L^{22} 는 결합일 수 있다. R^3 은 $-NR^{32}R^{33}$ 일 수 있다. R^{32} 및 R^{33} 은 독립적으로 수소, R^{21} -치환되거나 비치환된 C₁-C₁₀ 알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 2원 내지 10원 헤테로알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 C₃-C₇ 사이클로

알킬, R^{21} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, R^{22} -치환되거나 비치환된 아릴, 또는 R^{22} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴일 수 있다. R^{32} 및 R^{33} 은 임의로 이들이 결합된 질소와 함께 R^{21} -치환되거나 비치환된 3원 내지 7원 헤테로사이클로알킬, 또는 R^{22} -치환되거나 비치환된 헤테로아릴을 형성한다.

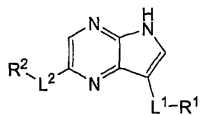
일부 실시태양에서, R^1 은 치환 또는 비치환 융합 고리 아릴, 또는 치환 또는 비치환 융합 고리 헤테로아릴이다. 다른 실시태양에서, R^2 는 치환 또는 비치환 인돌릴, 치환 또는 비치환 퀴놀리닐, 또는 치환 또는 비치환 벤조디옥솔릴이다. R^2 는 치환 또는 비치환 융합 고리 아릴, 또는 치환 또는 비치환 융합 고리 헤테로아릴일 수 있다. R^1 은 치환 또는 비치환 인돌릴, 치환 또는 비치환 퀴놀리닐, 또는 치환 또는 비치환 벤조디옥솔릴일 수 있다.

R^1 및 R^2 는 독립적으로 치환 또는 비치환 하이단토이닐, 치환 또는 비치환 디옥솔라닐, 치환 또는 비치환 디옥사닐, 치환 또는 비치환 트리옥사닐, 치환 또는 비치환 테트라하이드로티에닐, 치환 또는 비치환 테트라하이드로푸라닐, 치환 또는 비치환 테트라하이드로티오페닐, 치환 또는 비치환 테트라하이드로피라닐, 치환 또는 비치환 테트라하이드로티오피라닐, 치환 또는 비치환 피롤리디닐, 치환 또는 비치환 모르폴리노, 치환 또는 비치환 피페리디닐, 치환 또는 비치환 피라졸릴, 치환 또는 비치환 푸라닐, 치환 또는 비치환 이미다졸릴, 치환 또는 비치환 이속사졸릴, 치환 또는 비치환 옥사디아졸릴, 치환 또는 비치환 옥사졸릴, 치환 또는 비치환 피리디닐, 치환 또는 비치환 피라질, 치환 또는 비치환 피리미딜, 치환 또는 비치환 피리다지닐, 치환 또는 비치환 티아졸릴, 치환 또는 비치환 이소티아졸릴, 치환 또는 비치환 트리아졸릴, 치환 또는 비치환 티에닐, 치환 또는 비치환 트리아지닐, 치환 또는 비치환 티아디아졸릴, 또는 치환 또는 비치환 테트라졸릴일 수 있다.

또다른 실시태양에서, 본 발명의 화합물은 하기 실시예 부분에서 하기 표 1 내지 18 또는 20 및/또는 방법들 2 내지 61의 화합물들중 어느 하나이다.

또다른 양태에서, 본 발명은 하기 화학식 II의 융합 고리 헤테로사이클 키나제 조절제 (또한 본원에서 "본 발명의 화합물"로도 지칭한다)를 제공한다.

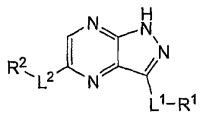
<화학식 II>



상기 화학식 II에서, L^1 , L^2 , R^1 및 R^2 는 상기 화학식 I에 대한 논의 부분에서 정의한 바와 같다.

또다른 양태에서, 본 발명은 하기 화학식 III의 융합 고리 헤테로사이클 키나제 조절제 (또한 본원에서 "본 발명의 화합물"로도 지칭된다)를 제공한다.

<화학식 III>



상기 화학식 III에서, L^1 , L^2 , R^1 및 R^2 는 상기 화학식 I에 대한 논의 부분에서 정의한 바와 같다.

일부 실시태양에서, 상기 기술한 화학식 I 내지 III의 화합물 중의 각 치환기는 하나 이상의 치환기로 치환된다. 보다 구체적으로, 일부 실시태양에서, 상기 기술한 화학식 I 내지 III의 화합물 중, 치환된 알킬, 치환된 헤테로알킬, 치환된 사이클로알킬, 치환된 헤테로사이클로알킬, 치환된 아릴, 치환된 헤테로아릴, 치환된 알킬렌, 및/또는 치환된 헤테로알킬렌 각각은 하나 이상의 치환기로 치환된다. 다른 실시태양에서, 이들 기의 하나 이상 또는 전부는 하나 이상의 크기-제한 치환기로 치환된다. 별법으로, 이들 기의 하나 이상 또는 전부는 하나 이상의 저급 치환기로 치환된다.

화학식 I 내지 III의 화합물의 다른 실시태양에서, 치환 또는 비치환된 알킬 각각은 치환 또는 비치환된 C_1-C_{20} 알킬, 치환 또는 비치환된 헤테로알킬 각각은 치환 또는 비치환된 2 내지 20원 헤테로알킬, 치환 또는 비치환된 사이클로알킬 각각은 치환 또는 비치환된 C_4-C_8 사이클로알킬, 치환 또는 비치환된 헤테로사이클로알킬 각각은 치환 또는 비치환된 4 내지 8원 헤테로사이클로알킬, 치환 또는 비치환된 알킬렌 각각은 치환 또는 비치환된 C_1-C_{20} 알킬렌, 및/또는 치환 또는 비치환된 헤테로알킬렌 각각은 치환 또는 비치환된 2 내지 20원 헤테로알킬렌이다.

별법으로, 치환 또는 비치환된 알킬 각각은 치환 또는 비치환된 C_1-C_8 알킬, 치환 또는 비치환된 헤테로알킬 각각은 치환 또는 비치환된 2 내지 8원 헤테로알킬, 치환 또는 비치환된 사이클로알킬 각각은 치환 또는 비치환된 C_5-C_7 사이클로알킬, 치환 또는 비치환된 헤테로사이클로알킬 각각은 치환 또는 비치환된 5 내지 7원 헤테로사이클로알킬, 치환 또는 비치환된 알킬렌 각각은 치환 또는 비치환된 C_1-C_8 알킬렌, 및/또는 치환 또는 비치환된 헤테로알킬렌 각각은 치환 또는 비치환된 2 내지 8원 헤테로알킬렌이다.

합성에

본 발명의 화합물은 일반적으로 잘 공지된 합성 방법의 적절한 조합에 의해 합성되었다. 본 발명의 화합물 합성에 유용한 기법은 관련 기술 분야의 당업자에게 명백하고 쉽게 수득할 수 있는 것이다. 이하의 논의는, 원칙적으로 본 발명 하에서 청구하는 화합물을 수득하는 방법을 도시하고, 본 발명의 화합물의 수득에 사용되는 허용 가능한 다양한 방법의 세부 사항을 제공하기 위한 것이다. 그러나, 이 논의는 본 발명의 화합물 제조에 유용한 반응의 범위 또는 반응 순서를 한정하거나 제한하고자 하는 것은 아니다. 본 발명의 화합물은 하기 실시예 단락에 개시된 절차 및 기법, 및 공지된 유기 합성법에 의해 제조될 수 있다. 반응식 1, 2 및 3에서, L^1 , R^1 , R^2 및 L^2 는 상기 정의된 바와 같다.

3,5-이치환 1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘 유도체를 합성하기 위한 중요한 중간체는 5-브로모-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘 및 5-브로모-3-요오도-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘이다. 이들 구성 블록들에 존재하는 sp^2 -혼성화된 방향족 탄소 원자상의 요오드 및/또는 브롬 치환기는 양 위치를 작용화시키기 위한 수많은 합성 가능성들을 제공한다. 이러한 합성 방법들은 매우 다양하고, 이들 절차는 일반적으로 당업자에게 잘 공지되어 있고 친숙하며, 비제한적인 예로는 전이금속 촉매화 방법, 가장 명백하게는 팔라듐, 철, 니켈 또는 구리 촉매들을 사용하는 방법들, 및 금속-할로젠 교환 반응들, 가장 명백하게는 리튬 또는 마그네슘을 도입시킨 후, 일시적이거나 단리된 유기금속 유도체를 직접 또는 금속교환반응을 통해 적합한 반응성의 친전자체와 반응시켜 유기금속 화합종의 반응성을 미세하게 조율하는 절차들을 포함한다.



상기 방법들을 사용하여, 5-브로모-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘으로부터 출발하여 5번 위치에서 선택된 치환기를 도입시킨 후, 1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘 코어의 3번 위치에서 할로젠화, 특히 요오드화시키며, 상기 위치에서 선택된 또다른 치환기를 도입시키기 위해 상기 방법들을 사용할 수 있음으로써, 1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘 코어의 3번 및 5번 위치상에 다른 치환기들을 도입시킬 수 있다. 별법으로, 상기 방법들 중 일부를 사용하여, 브로모 치환기에 비해 요오도 치환기를 선택적으로 반응시킴으로써 3번 위치에서 5-브로모-3-요오도-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘을 선택적으로 작용화시킬 수 있다. 방향족 브로모 치환기에 비해 방향족 요오도 치환기에서 반응 속도가 더 빠른 다양한 팔라듐 촉매가 알려져 있고 용이하게 구입가능하거나 사용할 수 있으며, 이러한 촉매를 적절한 조건하에 사용하여 선택적으로 요오드를 치환시킬 수 있다는 점은 일반적으로 당업자에게 잘 알려져 있고 친숙한 사실이다.

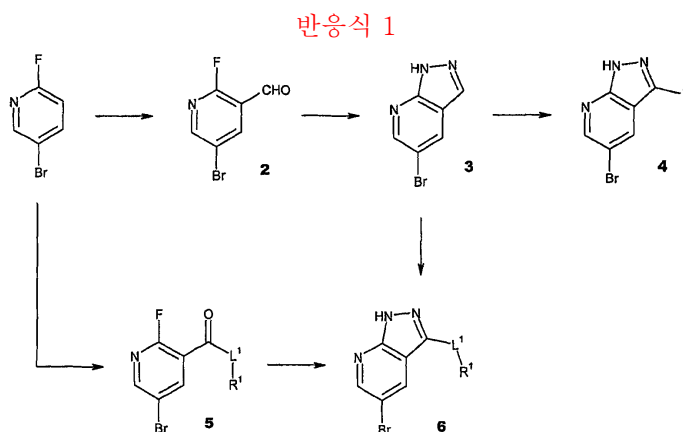
5-브로모-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘 또는 적절한 보호기를 함유하는 유도체를 또한 당업자에게 일반적으로 잘 알려져 있고 친숙한 다양한 친전자성 방향족 치환 반응, 예를 들어 프리델-크래프트스(FRIEDEL-CRAFTS)-아실화를 통해 3번 위치에서 작용화시킬 수 있다.

상기 방식으로 양 위치에 도입된 치환기들은 완전히 정교한 화합물들, 예를 들어 본 발명에서 청구되는 것들을 나타내거나, 또는 비제한적인 예로서 유리 상태 또는 적합한 보호기를 갖는, 아민, 카르복실산 또는 에스테르, 니트릴, 올레핀 또는 할로젠과 같은 작용기를 함유할 수 있으며, 이는 이어서 일반적으로 잘 알려져 있는 합성 변형 반응에서 출발물질로서 사용되어 본 발명에서 청구하는 화합물들을 합성할 수 있다.

본 발명의 화합물을 합성하는데 유용한 적합하게 작용화된 피라졸로[3,4-*b*]피리딘 유도체, 특히 5-브로모-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘 및 5-브로모-3-요오도-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘은 시판중인 5-브로모-2-플루오로피리딘으로부터 하기 반응식 1에 개시된 바와 같이 제조할 수 있다. 5-브로모-2-플루오로피리딘은 문헌[Schlosser, M., *Organometallics in Synthesis*, 2nd. ed., Wiley- VCH5 2002; Clayden, J., *Organolithiums: Selectivity for Synthesis*, Pergamon, 2002; and Mongin et al., *Tetrahedron* (2001) **57**, 4059-4090]에 기재된 일반적인 방법과 유사한 방식으로 2-플루오로피리딘의 일반적으로 잘 알려져 있는 선택적인 금속화에 의해 3번 위치에서 선택적으로 작용화될 수 있다. 따라서, 금속화는 비양성자성 용매 (예를 들어, THF, 헥산, 에테르 또는 이들의 혼합물) 중에서 저온, 전형적으로 -78 °C 이하에서 적합한 비-친핵성 강염기 (예를 들어, 리튬 디-*이*-소-프로필아미드 또는 리튬 2,2,6,6-테트라메틸피페리딘)로 처리하여 수행할 수 있다.

비정제된 금속화 중간체는 포르밀화제, 예를 들어 DMF, *N*-포르밀-*N*-메틸아닐린, *N*-포르밀모르폴린, *N*-포르밀피페리딘 또는 에틸 포르메이트로 처리하여 상응하는 카르브알데히드 2로 전환될 수 있다. 상기 카르브알데히드를 하이드라진 또는 적합한 하이드라진 유도체 (예를 들어, 하이드라진-*tert*-부틸카르바제이트 또는 하이드라진 하이드로클로라이드와 같은 하이드라진으로부터 유래한 적합한 유기 또는 무기 염)와 직접 또는 적합한 보호기 (예를 들어, 아세탈)를 사용하여 알데하이드를 보호한 상태로 반응시키면 5-브로모-1*H*-피라졸로[3,4-5]피리딘이 수득될 것이다. 추가의 가공을 위해 3번 위치에 적합한 기를 도입시키는 것은 당분야에 일반적으로 널리 공지되어 있는 방법, 예를 들어 친전자성 방향족 치환 방법 (예를 들어, 브롬화 또는 요오드화)을 통해 수행할 수 있다. 따라서, 요오드화물 4는 3으로부터 적절한 시약들, 예를 들어 *N*-요오도숙신이미드, 요오드 모노클로라이드 또는 요오드로 상기 변형을 촉진시키는 조건하에서 처리하여 수득할 수 있다. 친전자성 방향족 치환 방법을 통한 작용화의 다른 예는 비제한적으로 디클로로메탄 중의 삼염화알루미늄의 존재 하에 주위 온도 이하에서 작용화된 아실 할라이드, 예를 들어 브로모아세틸 클로라이드, 아크틸로일 클로라이드 또는 트리클로로아세틸 클로라이드를 사용하는 프리델-크래프츠-아실화이다. 당업자에게 자명한 바와 같이, 이러한 반응의 생성물은 특정 헤테로사이클릭 화합물을 합성하기 위해 출발물질로 사용될 수 있다.

별법으로, 5-브로모-2-플루오로피리딘의 탈양성자화(deprotonation)로부터 유래한 금속화된 중간체는 적합한 조건하에 금속교환반응하여 유기쿠프레이트(organocuprate) 시약을 형성할 수 있다 (Lipshutz, B., *Organometallics in Synthesis*, 2nd. ed., Wiley- VCH, 2002 참조). 이러한 방식으로 생성된 쿠프레이트를 아실 할라이드와 반응시켜 일반식 5의 케톤을 수득할 수 있으며, 이는 하이드라진 또는 하이드라진으로부터 유래한 가용성 유기 또는 무기 염 (예를 들어, 하이드라진 하이드로클로라이드)과의 반응에 의해 환화되어 상응하는 일반식 6의 3-치환된 5-브로모-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘을 수득할 수 있다.



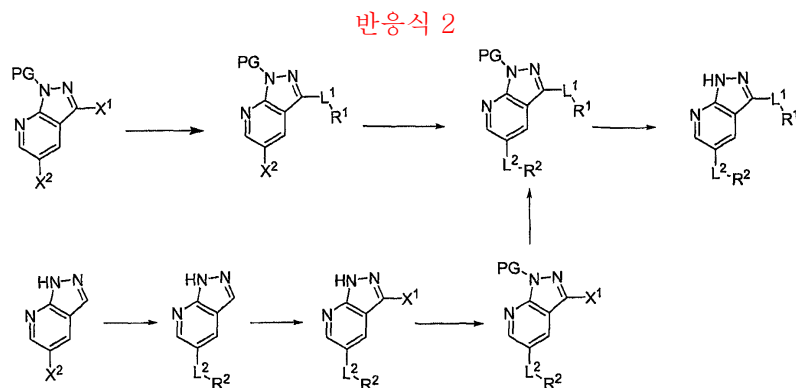
할라이드 3, 4 또는 6의 가공은 하기 반응식 2에 개시되어 있는 바와 같이, 일반적으로 잘 공지된 방법에 의해 쉽게 수행될 수 있다. 예를 들면, 금속 촉매 교차 커플링 반응은 다양한 공지된 전이 금속 화합물(예를 들면, 팔라듐, 철 또는 니켈로부터 유도된 화합물)을 사용하여 수행될 수 있다. 이러한 변형의 예는 문헌 ([Diederich, F., Stang, P.J. - *Metal-catalyzed Cross-coupling Reactions*, Wiley- VCH, 1998]; [Beller, M., *Transition Metals for Organic Synthesis*, Wiley- VCH, 1998]; [Tsuji, J., *Palladium Reagents and Catalysts*, Wiley- VCH, 1st. & 2nd ed.s, 1995, 2004];

[Fuerstner, A., et al., J.Am.Chem.Soc. (2002) 124, 13856]; 및 [Bolm, C, et al., Chem.Rev. (2004) 104, 6217])에 기재되어 있다. 다른 유용한 방법은 일반적으로 잘 공지된 방법(예를 들면, 금속 할로젠 교환, 및 적절하거나 필요하다면, 가용성 및 반응성인 보론, 마그네슘, 아연, 주석, 규소 또는 구리 화합물을 사용한 후속적인 금속 교환 반응; 이러한 방법의 대표적인 예는 문헌 [Schlosser, M., Organometallics in Synthesis, 2nd. ed., Wiley-VCH, 2002]에 기재됨)을 사용한, 브롬 또는 요오드 치환체의 금속 또는 반금속 치환체(예를 들면, 유기보론, 유기리튬, 유기주석, 유기규소, 유기아연, 유기 구리 또는 유기마그네슘 화합물)로의 전환과 관련되어 있다. 이러한 방식으로 수득된 유기금속 유도체는 그 자체로 방향족 또는 올레핀성 할라이드 또는 트리플레이트와의 전이 금속 촉매 커플링 반응에 사용되거나, 충분히 반응성이 높다면 예컨대 특정 유기 할라이드, 마이클-받개, 옥시란, 아지리딘, 알데히드, 아실 할라이드, 또는 니트릴 등 적합한 친전자체와 직접 반응할 수도 있다.

제3 또는 5 위치에서의 선택적 작용화는 각 위치에 작용기를 도입하기 위해 사용되는 변형의 성질, 특히 각 위치에서의 작용화 순서에 따라 상이한 전략을 요구할 수도 있다. 그러므로, 일부 경우에는 3 위치에서의 작용화를 5 위치에서의 작용화 이전에 수행하는 것이 유리하거나 필요할 수 있으나, 다른 경우에는 반대의 접근법이 요구될 수도 있는데, 이는 도입될 특정기의 성질, 그러한 변형을 수행하는 데 필요한 방법, 또는 사용되는 방법의 고유한 선택성에 의존된다. 예를 들면, 몇몇 반응물, 예컨대 전자 결핍성(즉, 하나 이상의 전자 끄는(withdrawing) 기를 함유하거나 특정 헤테로사이클릭계의 유도체를 대표하는) 및/또는 하나 이상의 치환체를 보론-탄소 결합의 오르토 위치에 함유하는 몇몇 보론산 또는 그의 에스테르는 매우 활성인 팔라듐 촉매의 사용(예를 들면, 문헌 [Vilar, R., Christman, U. Angew. Chem. (2005) 117, 370]; [Littke, A.F., Fu, G. Angew. Chem. (2002) 114, 4350])의 기재내용 참조) 및 보다 강력한 조건, 예컨대 보다 높은 온도 및/또는 보다 긴 반응 시간을 요구할 수도 있다. 이러한 조건은 5-브로모-3-요오도-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘의 반응에서의 적절한 선택성을 달성하는 데 도움이 되지 않을 수도 있다. 그러므로, 이러한 경우, 이미 상술한 방법을 이용하여, 순차적으로 5-브로모-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘에서의 브롬의 치환, 3 위치에서의 요오드화, 및 후속되는 제2 치환체의 3 위치로의 도입에 의해, 선택성의 문제를 함께 방지하는 것이 유리할 것이다. 일반적으로, 각 위치에서 할로젠 원자를 치환시키는 경우, 5-브로모-3-요오도-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘에 존재하는 두 할로젠 원자 사이의 선택성을 일반적으로 높은 수준으로 보장하지 않는 매우 반응성인 촉매 또는 시약을 수반하는 조건을 요구할 수 있어, 이러한 순차적 접근법에 의지하는 것이 유리할 수 있다.

L^1 , L^2 , R^1 및/또는 R^2 , 및 피라졸로[3,4-b]피리딘 스캐폴드(예를 들면, 1 위치의 양성자) 내의 반응기의 적합한 보호기를 사용한 보호가 유리하거나 요구될 수 있음이 또한 이해될 것이다. 예를 들면, 일부 교차-커플링 반응에서 1H-피라졸로[3,4-b]피리딘 스캐폴드의 1 위치의 질소를 그 위치에서의 (2-트리메틸실릴에톡시)-메틸 또는 (2-메톡시-에톡시)메틸기의 도입을 통해 보호하는 것이 유리함을 알게 되었다. 이들 보호기의 도입 및 제거는 화학 문헌에 잘 공지된 방법에 의해 편리하게 수행될 수 있다. 상기 언급된 방법 중 어떠한 것에 의해 수득된 화합물도 유리 또는 보호된 작용기를 함유할 수 있으며, 이는 일반적으로 잘 공지된 방법에 의해 추가 사용될 수 있다.

본 발명에서 청구하는 화합물의 합성에 있어 교차-커플링 반응 합성법의 사용에 관한 보다 상세한 기술은 하기 반응식 3에 도시되어 있다. 하기 식에서, X^1 및 X^2 는 할로젠, 보론산 또는 에스테르, 트리플루오로보레이트 염, 유기마그네슘, 유기아연, 또는 유기주석으로부터 선택되나, 이에 한정되지 않는다. L^1R^1 또는 L^2R^2 잔기의 개별 도입과 관련하여, 이러한 변형은 상기 개괄하였듯이 표준 할로젠 교차-커플링 방법을 통해 수행될 수 있다.



(구입하거나 화학 문헌에 잘 공지된 프로토콜을 통해 수득한) 보론산 및 보로네이트, 유기보론, 유기스타난, 유기아연 화합물, 유기마그네슘 화합물, 올레핀 또는 말단 알킨 등 적합한 시약과 상응하는 브로마이드 또는 요오다이드(X^1 , X^2 = Br, I)와의 커플링은 적합한 전이 금속 촉매(예를 들면, 팔라듐 화합물) 존재 하에서 수행될 수 있다. 커플링은 임의로 포스핀, 디

포스핀, 아르두엔고(ARDUENGO)-유형 헤테로사이클릭 카르벤 또는 아르신과 같은 리간드의 존재하에서 수행될 수 있다. 유기 또는 무기 염기(예를 들면, 3급 또는 2급 아민, 알칼리 카르보네이트, 바이카르보네이트, 또는 포스페이트) 및/또는 다른 공지된 첨가제(예를 들면, 염화리튬, 구리 할라이드 또는 은 염)이 이러한 변형을 달성하고 돕거나 촉진하기 위해 사용될 수 있다.

이러한 교차 커플링 반응은 THF, 디옥산, 디메톡시에탄, 디글림, 디클로로메탄, 디클로로에탄, 아세토니트릴, DMF, N-메틸피롤리돈, 물, 또는 그의 혼합물 등 적합한 용매 중, 및 25 내지 200℃의 온도에서 수행될 수 있다. 온도는 임의로 가열, 통상적인 가열 또는 마이크로파 조사에 의해 유지될 수 있다. 3-요오도-5-브로모-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘의 경우, 예컨대 적합한 전이 금속 촉매를 사용하는 보다 낮은 온도 또는 보다 짧은 반응 시간 등 일반적으로 덜 강한 조건 하에서, 브로모 치환체보다 요오도 치환체에 대한 선택적 또는 우선적 치환이 가능하다. 전이금속 촉매에 의한 변환을 통한 디- 또는 올리고할로젠 화합물의 선택적 작용화 반응은 화학 문헌에 잘 선행되어 있다(예를 들면 문헌 [Ji, J., et al. - Org.Lett (2003) 5, 4611]; [Bach, T. et al. - J.Org.Chem (2002) 67, 5789], [Adamczyk, M. et.al. - Tetrahedron(2003) 59, 8129] 참조).

이 방법은 알콜, 티올 또는 아민의 적합한 보호기를 임의로 함유하는 비-탄소계 친핵체(예를 들면, 알콜, 티올, 1급 또는 2급 아민)의 혼합으로 확장될 수 있다. 이러한 기의 예는 문헌 [Greene, T., et al., Protective Groups in Organic Synthesis, 3rd ed., John Wiley & Sons, 1999]에 개시되어 있다. 예시적인 보호 방법은 문헌 ([Ley, S., et al., Angew.Chem. (2003) 115, 5558]; [Wolfe, J., et al., Ace. Chem.Res. (1998) 31, 805]; [Hartwig, Acc.Chem.Res. (1998) 31, 852]; [Navarro, O., et al. J.Org.Chem. (2004) 69, 3173], [Ji, J., et al., Org.Lett (2003) 5, 4611])에 기재되어 있다. 이러한 방법에 의해 수득되는 화합물은 본 발명의 다른 화합물을 수득하기 위한 잘 공지된 방법에 의해 추가로 사용될 수 있다.

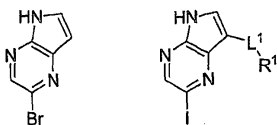
일부 경우에서, 먼저 각 할로젠 유도체를 상응하는 유기금속 유도체(예를 들면, 보론산 또는 에스테르, 트리플루오로보레이트 염, 유기마그네슘, 유기아연 또는 유기주석 화합물)로 전환시켜, 탄소 또는 비-탄소 원자의 교차-커플링을 수행하는 것이 유리할 수 있다. 이러한 화합물은 할라이드 잔기를 적절한 금속 또는 반금속으로 치환하여 수득할 수 있다. 존재하는 임의의 작용기(예를 들면, 피라졸로[3,4-b]피리딘의 1 위치에 있는 고리 질소)는 적합한 보호기("PG")에 의해 보호될 필요가 있을 수 있다. 그린(Greene) 등의 문헌[1999] 참조.

이러한 금속 또는 반금속의 도입은 일반적으로 잘 공지된 방법, 예컨대 금속 또는 금속-할로젠 교환 반응을 사용한 금속화 반응에 의해 수행될 수 있다. 금속화 반응을 위한 용유한 금속은 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 또는 이들 금속의 활성화된 형태를 포함한다. 금속-할로젠 교환 반응에 사용되는 적합한 시약은 유기리튬 또는 유기마그네슘 화합물(예를 들면, n-부틸리튬, tert-부틸리튬 또는 이소-프로필마그네슘 클로라이드 또는 브로마이드)을 포함한다. 유기금속 중간체의 후속되는 금속 교환 반응은, 필요하다면 마그네슘 클로라이드, 마그네슘 브로마이드, 트리-n-부틸주석 클로라이드, 트리메틸주석 클로라이드, 트리메틸 보레이트, 트리에틸 보레이트, 트리-이소-프로필 보레이트, 아연 트리플레이트 또는 아연 클로라이드 등의 적합한 가용성 및 반응성 금속 화합물과 함께 수행될 수 있다. 보론산 피나콜 에스테르의 도입은 DMSO, DMF, DMA 또는 N-메틸피롤리돈 등의 용매 중, 및 80 내지 160℃의 온도에서, 디클로로[1,1'-비스(디페닐포스피노)페로센]팔라듐(II) 및 적합한 염기(예를 들면, 아세트산칼륨 또는 아세트산나트륨) 존재 하에서 할로젠 유도체를 비스(피나콜라토)디보론과 직접 반응시켜 편리하게 수행될 수 있다. 통상적인 가열 또는 마이크로파 조사가 적절한 온도를 유지하는데 사용될 수 있다(유사한 변형의 선행 문헌으로서 문헌 [Ishiyama, T. et al. - J. Org. Chem. (1995) 60, 7508] 참조).

이 방법에 의해 수득한 보론산 피나콜 에스테르를 다른 보론산 유도체, 예컨대 보론산, 보로네이트, 또는 트리플루오로보레이트 염으로 전환하는 방법은 일반적으로 잘 공지되어 있다. 당업자에게 자명하듯이, 이러한 유기금속 유도체는 피라졸로[3,4-b]피리딘의 유도체를 함유하는 할로겐의 경우에서 상기 기술한 것과 유사한 교차-커플링 반응에 사용될 수 있다. 이러한 커플링은 상기 기술한 방법과 동일 또는 명백히 유사하고/하거나 관련된 조건 하에서, 방향족, 헤테로 방향족 할라이드 또는 올레핀 시약 등 적합한 커플링 상대자와 함께 수행될 수 있다.

다른 방법으로, 상기 기술한 임의의 방법에 의한 피라졸로[3,4-b]피리딘의 유도체를 함유하는 할로겐으로부터 생성된 유기금속 유도체의 활성을 사용할 수 있다. 예를 들면, 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속(예를 들면, 유기리튬, 유기마그네슘 또는 유기아연 화합물)을 함유하는 유도체는 예컨대 활성화된 올레핀(마이크로-반개), 알데히드, 니트릴, 방향족 니트로 화합물, 카르복실산 유도체, 옥시란, 아지리딘, 유기 디설피드 또는 유기 할라이드 등 일정 범위의 다른 친전자성 커플링 상대자와 직접 커플링하는 데 사용될 수 있다. 이러한 변환은 일반적으로 당업계에 잘 공지되어 있다(방향족 니트로 화합물과의 반응에 관하여는, 예를 들면 문헌 [Sapountzis, L, et al., J. Am. Chem. Soc. (2002) 124, 9390]을 참조).

3,5-이치환된 1*H*-피롤로[2,3-*b*]피라진 유도체를 수득하기 위해 이용되는 합성 전략은, 1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘 유도체에 대해 전술한 전략과 밀접하게 관련되어 있으며, 주요 차이점은 1*H*-피롤로[2,3-*b*]피라진 스캐폴드(scaffold) 자체의 합성과 관련되어 있다. 사용되는 중요한 중간체는 3-치환된 5-요오도-1*H*-피롤로[2,3-*b*]피라진 유도체 및 5-브로모-1*H*-피롤로[2,3-*b*]피라진 자체이다.



상기 5-브로모-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘으로부터 3,5-이치환된 1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘 유도체를 수득하는 일반적인 합성 전략은 또한 5-브로모-1*H*-피롤로[2,3-*b*]피라진 및 3-치환된 5-요오도-1*H*-피롤로[2,3-*b*]피라진 유도체로부터 3,5-이치환된 1*H*-피롤로[2,3-*b*]피라진 유도체를 수득하는 것에 관한 것일 것이다. 그러나, 그밖의 유사하거나 동일한 변형 반응에 대한 정확한 조건은 1*H*-피롤로[2,3-*b*]피라진 유도체에 대해 매우 다양할 것이며 사용되는 스캐폴드에 따라 다양한 최적화 방법이 요구될 수 있다.

5-브로모-1*H*-피롤로[2,3-*b*]피라진은 3-아미노-2,6-디브로모-피라진을 트리메틸실릴아세틸렌과의 위치선택적 소노가시라(SONOGASHIRA)-커플링 반응 (Adamczyk, M., et al. - *Tetrahedron* (2003) **59**, 8129 참조), *N*-아실화, 및 후속적으로 *n*-부틸암모늄 플루오라이드를 사용하는 환화 (이 반응의 선행 문헌으로는 WO 2004/032874A2를 참조한다)를 통해 수득가능하다. 5-브로모-3-트리메틸실라닐에틸닐-피라진-2-일아민은, 시판중인 3-아미노-2,6-디브로모-피라진으로부터 출발하여, 팔라듐 촉매, 예를 들어 테트라키스(트리페닐포스피노)팔라듐(0) 및 촉매량의 구리 보조촉매, 예를 들어 요오드화구리(I)의 존재하에 승온에서 DMF 및 염기성 3급 유기 아민, 예를 들어 트리에틸아민의 혼합물 중에서 트리메틸실릴아세틸렌과 반응시켜 수득할 수 있다. 20 내지 60 °C에서 피리딘 중에서 아세틸 클로라이드로 아세틸화시켜 *N*-(5-브로모-3-트리메틸실라닐에틸닐-피라진-2-일)-아세트아미드를 수득하고, 이후 환류하에 THF 중에서 테트라-*n*-부틸암모늄 플루오라이드로 환화시켜 5-브로모-1*H*-피롤로[2,3-*b*]피라진을 수득한다.

추가 가공을 위해 3번 위치에 적합한 기를 도입시키는 것은 당분야에 일반적으로 널리 공지되어 있는 방법, 예를 들어 친전자성 방향족 치환 방법 (예를 들어, 브롬화 또는 요오드화)을 통해 수행할 수 있다. 따라서, 5-브로모-3-요오도-1*H*-피롤로[2,3-*b*]피라진은 5-브로모-1*H*-피롤로[2,3-*b*]피라진으로부터 적절한 시약들, 예를 들어 *N*-요오도숙신이미드, 요오드 모노클로라이드 또는 요오드로 상기 변형을 촉진시키는 조건하에서 처리하여 수득할 수 있다.

친전자성 방향족 치환 방법을 통한 작용화의 다른 예는 비제한적으로 디클로로메탄 중의 삼염화알루미늄의 존재하에 주위 온도 이하에서 작용화된 아실 할라이드, 예를 들어 브로모아세틸 클로라이드, 아크릴로일 클로라이드 또는 트리클로로아세틸 클로라이드를 사용하는 프리델-크래프츠-아실화이다. 당업자에게 자명한 바와 같이, 이러한 반응의 생성물은 본 발명에서 청구하는 화합물을 나타내거나 그러한 화합물, 가장 명백하게는 특정 헤테로사이클릭 화합물을 합성하기 위한 출발물질로 사용될 수 있다.

5-브로모-3-요오도-1*H*-피롤로[2,3-*b*]피라진에서 할라이드 D ($X^2 = Br, I$)를 추가로 가공하고 양 할로젠 치환기를 선택적으로 순차적으로 치환시키는 것은 일반적으로 널리 공지되어 있는 방법들에 의해 용이하게 수행될 수 있으며, 예를 들어 다양한 공지된 전이금속 화합물 (예를 들어, 팔라듐, 철 또는 니켈로부터 유래한 화합물들)을 사용하는 순차적인 금속 촉매화된 교차 커플링 반응을 사용할 수 있다. 이러한 변형 반응의 예는 하기 참고문헌들에서 찾아볼 수 있다: [Diederich, F., Stang, P.J. - *Metal-catalyzed Cross-coupling Reactions*, Wiley-VCH, 1998; Beller, M., *Transition Metals for Organic Synthesis*, Wiley-VCH, 1998; Tsuji, J., *Palladium Reagents and Catalysts*, Wiley-VCH, 1st. & 2nd eds., 1995, 2004; Fuerstner, A., et al., *J. Am. Chem. Soc.* (2002) **124**, 13856; and Bolm, C., et al., *Chem. Rev.* (2004) **104**, 6217]. 화학 문헌에 공지되어 있고 당업자에게 친숙한 일반 방법들은 본질적으로 1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘 유도체를 사용하는 유사하거나 동일한 변형 반응에 대해 전술한 바와 같은 동일한 방법들이다.

1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘에 대해 논의한 바와 같이, 당업자라면 3번 또는 5번 위치에서 선택적으로 작용화시키는 경우, 양 위치에 작용기들을 도입시키기 위해 사용되는 변형 반응의 성질에 따라, 특히 양 위치에서 작용화 순서에 따라 상이한 전략이 요구될 수 있음을 이해할 것이다. 따라서, 도입되는 특정 기의 성질, 상기 변형 반응을 수행하기 위해 필요한 방법들, 또는 사용되는 방법의 고유한 선택성에 따라, 일부 경우 5번 위치에서 작용화시키기 전에 3번 위치에서 작용화를 수행하는 것이 유리하거나 필요할 수 있는 반면, 다른 경우에는 그 반대의 접근 방식이 필요할 수 있다.

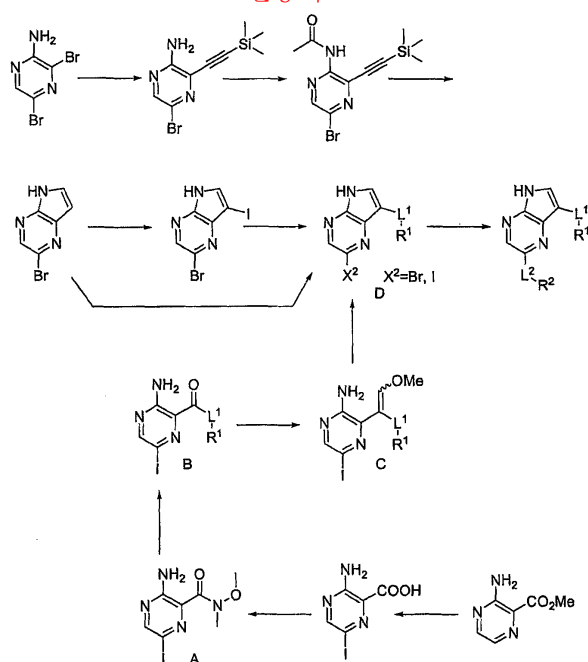
3-요오도-5-브로모-1*H*-피롤로[2,3-*b*]피라진의 경우, 브로모 치환기에 비해 요오도 치환기를 선택적으로 또는 선택적으로 치환시키는 것은 일반적으로 덜 강압적인 조건, 예를 들어 저온, 및 적합한 전이금속 촉매를 사용하는 더 짧은 반응 시간하에서 이루어질 수 있다. 전이금속 촉매화된 변형 반응을 사용하여 디- 또는 올리고할로젠 화합물을 선택적으로 작용화시키는 것은 화학 선행 문헌에 잘 개시되어 있다: 예를 들어, 문헌[Ji, J., et al. *Org.Lett* (2003) **5**, 4611; Bach, T., et al., *J.Org.Chem* (2002) **67**, 5789, Adamczyk, M. et.al., *Tetrahedron* (2003) **59**, 8129]을 참조한다.

할라이드 D ($X^2 = \text{Br}, \text{I}$)의 경우, 다른 유용한 방법들은 일반적으로 널리 공지되어 있는 방법들 (예를 들어, 금속 할로젠 교환, 및 경우에 따라 또는 필요한 경우, 붕소, 마그네슘, 아연, 주석, 규소 또는 구리의 가용성 및 반응성 화합물을 사용하는 후속적인 금속교환반응; 이러한 방법의 대표적인 예에 대해서는 문헌[Schlosser, M., *Organometallics in Synthesis*, 2nd. ed., Wiley-VCH, 2002]을 참조한다)을 사용하여 브롬 또는 요오드 치환기를 금속 또는 반금속 치환기 (예를 들어, 유기붕소, 유기리튬, 유기주석, 유기규소, 유기아연, 유기구리 또는 유기마그네슘 화합물)로 전환시키는 것을 포함할 수 있다. 상기 방법으로 수득되는 유기금속 유도체는 그 자체로 방향족 또는 올레핀계 할라이드 또는 트리C 레이트와의 전이금속 촉매화된 커플링 반응에 사용하거나, 또는 충분히 반응성인 경우, 적합한 친전자체, 예를 들어 특정 유기 할라이드, 마이클(MICHAEL)-수용체, 옥시란, 아지리딘, 알데히드, 아실 할라이드, 또는 니트릴과 직접 반응할 수 있다. 또한, 화학 문헌에 공지된 일반적인 방법은 본질적으로 1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘 유도체를 사용하는 유사하거나 동일한 변형 반응에 대해 전술한 바와 같은 동일한 방법들이다.

일부 상기 변형 반응에서는, 산성 양성자, 예를 들어 필요에 따라 질소 또는 산소에 결합된 수소 원자, 및 특히 1*H*-피롤로[2,3-*b*]피라진 스캐폴드의 1번 위치에서의 수소 원자를 일시적으로 치환시키기 위해 화학 문헌에 널리 공지된 방법들에 의해 하나 이상의 적합한 보호기를 도입시키는 것이 유리하거나 필요할 수 있다 (T.W.Greene, P. G.M.Wuts - *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3rd ed., John Wiley & Sons, 1999 참조).

전술한 교차-커플링 방법을, 임의로 알코올, 티올 또는 아민의 적합한 보호기를 함유할 수 있는 비-탄소 기재 친핵체 (예를 들어, 알코올, 티올, 1급 또는 2급 아민)를 혼입시키는 것으로 확장할 수 있다. 이러한 기의 예는 문헌[Greene, T., et al., *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3rd ed., John Wiley & Sons, 1999]에서 찾아볼 수 있다. 예시적인 보호 방법은 문헌[Ley, S., et al., *Angew.Chem.* (2003) **115**, 5558; Wolfe, J., et al., *Ace. Chem.Res.* (1998) **31**, 805; Hartwig, *Acc.Chem.Res.* (1998) **31**, 852; Navarro, O., et al., *J.Org.Chem.* (2004) **69**, 3173, Ji, J., et al., *Org.Lett* (2003) **5**, 4611]에 기재되어 있다. 상기 방법에 의해 수득된 화합물들은 잘 알려져 있는 방법들에 의해 추가로 가공되어 본 발명의 다른 화합물을 제공할 수 있다. 일부 경우, 1*H*-피롤로[2,3-*b*]피라진에서 5-요오도 또는 5-브로모 치환기를 아민, 알코올 또는 티올로 직접 치환시키는 것은 약산, 예를 들어 아세트산, 또는 강한 비친핵성 염기, 예를 들어 수소화나트륨의 존재하에 각각 무수 아민, 알코올 또는 티올 중에서 또는 DMF, NMP, DMSO 또는 아세토니트릴과 같은 적합한 비양성자성 용매 중에서 주위 온도 또는 승온에서 성공적으로 달성할 수 있다.

반응식 3



3,5-이치환된 1*H*-피롤로[2,3-*b*]피라진 유도체를 합성하기 위한 방법이 개발되었으며, 메틸 2-아미노-3-피라진카르복실레이트로부터 출발하여, 5번 위치에서 요오드 원자를 도입시켜 2-아미노-5-요오도-3-피라진카르복실레이트를 수득하는 것은 다양한 공지된 방법들, 예를 들어 환류하에 에탄올 중에서 N-요오도숙신이미드와 반응시키는 방법에 의해 달성할 수 있다. 이러한 방법으로 수득된 할로겐화 에스테르는 이어서 표준 방법에 의해 가수분해될 수 있다. 예를 들어, 주위 온도에서 THF-물 혼합물 중의 수산화리튬으로 처리하여 상응하는 산을 수득한다.

케톤 중간체 B의 합성은 상응하는 바인렙(WEINREB)-아미드 A (3-아미노-6-요오도-피라진-2-카르복실산 메톡시-메틸-아미드) 또는 그의 하이드로클로라이드 염을 적합한 유기금속 화합물, 예를 들어 유기마그네슘 또는 유기리튬 화합물 (예를 들어, 케톤 합성에서 N-메톡시-N-메틸아미드 (바인렙 아미드)의 사용, 문헌[S.Nam, S.M.Weinreb - *Tetrahedron Lett.* 1981, **22**, 3815] 참조)을 사용하여 처리함으로써 달성할 수 있다. 3-아미노-6-요오도-피라진-2-카르복실산 메톡시-메틸-아미드 (A)는 모 산을 아미드-형성에 대한 표준 방법을 사용하여, 산의 활성화 전에 또는 동일 반응계내에서 또는 직접 축합시킴으로써 N,O-디메틸하이드록실아민과 축합시켜 수득할 수 있다. 양 변형 반응에 대한 방법들 및 시약들은, 예를 들어 PyBOP, HBTU 또는 HATU와 같으나 이들로 제한되지 않는 적합한 커플링 시약들을 사용하는 직접 방법들의 경우에서와 같이, 화학 문헌에 기재되어 있으며 당업자에게 잘 알려져 있다.

B에서 케톤 잔기 L^1R^1 의 도입에 필요한 유기금속 시약은 상업적으로 구입하거나 또는 유기 클로라이드, 브로마이드 또는 요오다이드와 마그네슘의 그리냐드(GRIGNARD)-반응 (J. March - *Advanced Organic Chemistry*, 3rd ed., John Wiley & Sons, 1992 참조), 예를 들어 *n*-부틸리튬, *tert*-부틸리튬 또는 *i*/소-프로필마그네슘 클로라이드 또는 브로마이드와 같으나 이들로 제한되지 않는 적합한 유기리튬 또는 유기마그네슘 화합물을 사용하는 유기 브로마이드 또는 요오다이드의 금속-할로겐 교환 반응 (J.Clayden - *Organolithiums: Selectivity for Synthesis*, Pergamon, 2002; A.Boudier, L.O.Bromm, M.Lotz, P.Knochel - *Angew. Chem. Int. Ed.* (2000) 39, 4414 참조) 또는 적합한 염기, 예를 들어 리튬 N,N-디이소프로필아미드 또는 리튬 2,2,6,6-테트라메틸피페리디드를 사용하는 충분히 산성인 화합물, 예를 들어 피리미딘, 피라진, 2-클로로- 또는 2-플루오로피리딘의 탈양성자화 (J.Clayden - *Organolithiums: Selectivity for Synthesis*, Pergamon, 2002; A.Turck, N.Ple, F.Mongin, G. Queguiner - *Tetrahedron* (2001) **57**, 4489; F.Mongin, G. Queguiner - *Tetrahedron* (2001) **57**, 4059 참조)와 같으나, 이들로 제한되지 않는 문헌에 기재된 다양한 방법들에 의해 합성될 수 있다. 일부 상기 변형 반응에서는, 필요에 따라 산성 양성자 (예를 들어, 질소 또는 산소에 결합된 수소 원자)를 일시적으로 치환시키기 위해 화학 문헌에 널리 공지된 방법들에 의해 하나 이상의 적합한 보호기를 도입시키는 것이 유리하거나 필요할 수 있다 (T.W.Greene, P. G.M.Wuts - *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3rd ed., John Wiley & Sons, 1999 참조).

케톤 중간체 B를 메톡시비닐 유도체 C로 전환시키는 것은 몇몇 공지된 방법들에 의해 수행될 수 있지만, 가장 편리하게는 시판중인 메톡시메틸트리페닐포스핀 클로라이드 및 적합한 염기, 예를 들어 비제한적인 유기금속 염기, 예를 들어 비제한적인 비-친핵성 아미드, 예를 들어 비스(트리메틸실릴)아민의 리튬, 나트륨 또는 칼륨 염으로부터 생성된 일리드를 사용하는 비티그(WITTIG)-반응 (B.E.Maryanoff, A.B.Reitz - *Chem. Rev.* (1989) **89**, 863 참조)을 통해 수행된다.

E- 또는 *Z*-형태 또는 이들 양 형태의 혼합물로 사용될 수 있는 생성된 올레핀 C의 후속적인 환화는 3-치환된 1*H*-5-요오도-피롤로[2,3-*b*]피라진을 수득하기 위한 일반적인 산 촉매 조건하에서 수행될 수 있다. 이러한 방법은 0 °C 내지 160 °C 범위의 온도에서 적합한 용매 (예를 들어, THF, 디옥산, 디에틸 에테르, 디메톡시에탄, 디글림, 디클로로메탄, 디클로로에탄 또는 클로로포름, 물, 메탄올 또는 에탄올, 또는 이들의 혼합물) 중에서 무기 또는 유기 강산, 예를 들어 황산, 과염소산, 염산, 트리플루오로메탄설폰산 또는 트리플루오로아세트산을 사용할 수 있다. 유사한 환화 반응은 문헌 [Sakamoto et al, *Heterocycles* (1992), **34**(12), 2379-84]에 기재되어 있다. 여기에서, 저자들은 2-니트로-3-(2-에톡시비닐)피리딘을 모 피롤로[2,3-*b*]피리딘으로 전환시키는 것을 기술하고 있다. 비닐 기의 형성 방법은 3-브로모 유사체를 트리부틸-2-에톡시비닐스탄네이트와 함께 스틸(STILLE)-커플링시킴으로써 달성되는 것으로 보고되어 있다.

본 발명에서 청구하는 화합물들을 합성하는데 있어서 3-치환된 1*H*-5-요오도-피롤로[2,3-*b*]피라진의 용도는 전술한 방법들에 기초하여 당업자에게 자명할 것이다. 당업자는 하기 실시예 부분을 포함하여 본원에 기재된 합성 방법들을 사용하고/하거나 가공하여 화학식 I, II 및/또는 III의 화합물들을 수득할 수 있음을 즉시 이해할 것이다.

A. 보호기

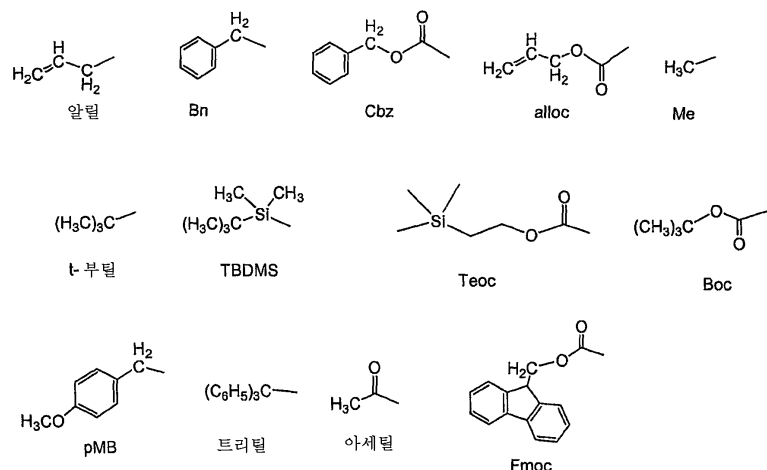
용어 "보호기"는, 보호기가 제거될 때까지 화합물의 일부 또는 전부의 반응성 잔기를 보호하고 그 잔기가 화학 반응에 참여하는 것을 막는 화학 잔기를 지칭한다. 예를 들면, 이러한 잔기는 문헌 [T.W.Greene, P.G.M.Wuts - *Protective Groups*

in Organic Synthesis, 3rd ed., John Wiley & Sons, 1999]에 수록 및 기재되어 있다. 상이한 보호기가 사용되는 경우, 각(상이한) 보호기가 상이한 수단에 의해 제거될 수 있도록 하는 것이 유리하다. 본질적으로 전혀 상이한 반응 조건 하에서 분리되는 보호기는 그 보호기의 차별적 제거를 가능하게 한다. 예를 들면, 보호기는 산, 염기 및 수소 첨가 분해에 의해 제거될 수 있다. 트리틸, 디메톡시트리틸, 아세탈 및 tert-부틸디메틸실릴 등의 기는 산에 불안정하여, 수소 첨가 분해에 의해 제거될 수 있는 Cbz 기로 보호된 아미노기 및 염기에 불안정한 Fmoc 기의 존재 하에서 카르복시 및 하이드록시 반응성 잔기를 보호하는 데 사용할 수 있다. 카르복실산 및 하이드록시 반응성 잔기는, tert-부틸 카르바메이트 등 산에 불안정한 기 또는 산 및 염기 모두에 안정하나 가수분해로 제거 가능한 카르바메이트로 봉쇄된 아민 존재 하에서, 메틸, 에틸, 및 아세탈 등(한정되지 않음) 염기에 불안정한 기에 의해 보호될 수 있다.

카르복실산 및 하이드록시 반응성 잔기는 벤질기 등 가수분해로 제거 가능한 보호기로 봉쇄될 수도 있으며, 산과 수소 결합할 수 있는 아민기는 Fmoc 등 염기에 불안정한 기로 봉쇄될 수 있다. 카르복실산 반응성 잔기는 2,4-디메톡시벤질 등 산화적으로 제거 가능한 보호기로 봉쇄될 수 있으며, 이때 공존하는 아미노기는 플루오라이드에 불안정한 실릴 카르바메이트로 봉쇄될 수 있다.

알릴 차단기는 산 및 염기 보호기 존재 하에서 유용한데, 이는 그것이 안정하고 금속 또는 파이-산 촉매에 의해 후속적으로 제거될 수 있기 때문이다. 예를 들면, 알릴-봉쇄된 카르복실산은 산에 불안정한 t-부틸 카르바메이트 또는 염기에 불안정한 아세테이트 아민 보호기 존재 하에서, 팔라듐(O)-촉매 반응에 의해 탈보호화될 수 있다. 또 다른 형태의 보호기는 화합물 또는 중간체가 부착될 수 있는 수지이다. 잔기가 수지에 부착되는 한, 그 작용기는 봉쇄되어 반응할 수 없다. 수지로 부터 분리된 작용기는 반응할 수 있게 된다.

전형적인 봉쇄/보호기는 다음의 잔기를 포함하나 이에 한정되지 않는다.



II. 키나제 억제 방법

또 다른 측면에서, 본 발명은 본 발명의 융합 고리 헤테로사이클 키나제 조절제를 사용하여 단백질 키나제 활성을 조절하는 방법을 제공한다. 본원에서 사용되는 용어 "키나제 활성을 조절하는"은 본 발명의 융합 고리 헤테로사이클 키나제 조절제에 접촉되는 경우 단백질 키나제의 활성이 융합 고리 헤테로사이클 키나제 조절제 부재시의 활성에 비해 증가 또는 감소되는 것을 의미한다. 그러므로, 본 발명은 단백질 키나제에 본 발명의 융합 고리 헤테로사이클 키나제 조절제(예를 들면 화학식 I 내지 III 중 어느 하나의 화합물)를 접촉시켜 단백질 키나제 활성을 조절하는 방법을 제공하는 것이다.

예시적인 실시태양에서, 융합 고리 헤테로사이클 키나제 조절제는 키나제 활성을 억제한다. 키나제 활성과 관련하여 본원에서 사용되는 용어 "억제한다"는, 융합 고리 헤테로사이클 키나제 조절제에 접촉되는 경우 키나제 활성이 융합 고리 헤테로사이클 키나제 조절제의 부재시 활성에 비해 감소함을 의미한다. 그러므로, 본 발명은 추가로, 단백질 키나제를 본 발명의 융합 고리 헤테로사이클 키나제 조절제에 접촉시켜 단백질 키나제 활성을 억제하는 방법을 제공하는 것이다.

특정 실시태양에서, 단백질 키나제는 단백질 티로신 키나제이다. 본원에서 사용되는 단백질 티로신 키나제는, 포스페이트 공여자(예를 들면, ATP 등 뉴클레오타이드 포스페이트 공여자)를 수반하는 단백질의 티로신 잔기의 인산화를 촉매하는 효소를 지칭한다. 단백질 티로신 키나제는 예를 들면 아벨슨 티로신 키나제("Abl")(예를 들면, c-Abl 및 v-Abl), 론(Ron) 수용체 티로신 키나제 ("RON"), Met 수용체 티로신 키나제 ("MET"), Fms-유사 티로신 키나제 ("FLT")(예를 들면, FLT3),

src-분류 티로신 키나제 (예를 들면, lyn, CSK), 및 p21-활성화된 키나제-4 ("PAK"), FLT3, 오로라 키나제, B-림프구형 티로신 키나제 ("Blk"), 사이클린-의존성 키나제 ("CDK") (예를 들면, CDK1 및 CDK5), src-분류 관련 단백질 티로신 키나제 (예를 들면, Fyn 키나제), 글리코겐 신타아제 키나제 ("GSK") (예를 들면, GSK3 α 및 GSK3 β), 림프구 단백질 티로신 키나제 ("Lck"), 리보솜 S6 키나제 (예를 들면, Rsk1, Rsk2, 및 Rsk3), 정액 티로신 키나제 (예를 들면, Yes), 및 티로신 키나제 활성을 보이는 그의 아형 및 동족체를 포함한다. 특정 실시태양에서, 단백질 티로신 키나제는 Abl, RON, MET, PAK, 또는 FLT3이다. 다른 실시태양에서, 단백질 티로신 키나제는 FLT3 또는 Abl 계열 구성원(family member)이다.

일부 실시태양에서, 키나제는 아벨슨 티로신 키나제, 론 티로신 키나제, Met 수용체 티로신 키나제, Fms-유사 티로신 키나제-3, 오로라 키나제, p21-활성화 키나제-4 및 3-포스포이노시티드-의존성 키나제-1로부터 선택된다.

또 다른 실시태양에서, 키나제는 돌연변이 키나제, 예컨대 돌연변이 Bcr-Abl 키나제, FLT3 키나제 또는 오로라 키나제이다. 유용한 돌연변이 Bcr-Abl 키나제는 임상적으로 단리된 돌연변이체 M244V, L248V, G250E, G250A, Q252H, Q252R, Y253F, Y253H, E255K, E255V, D276G, F311L, T315L T315N, T315A, F317V, F317L, M343T, M351T, E355G, F359A, F359V, V379I, F382L, L387M, H396P, H396R, S417Y, E459K 및 F486S 중 하나 이상을 갖는 것들이다. 일부 실시태양에서, 돌연변이 Abl 키나제는 T315I 돌연변이체를 갖는다. 상기 아미노산 돌연변이체의 위치를 나타내는 번호 시스템은 잘 공지된 ABL 엑손 Ia에 따른 야생형 ABL이다. 문헌 [Deininger, M., et al., *Blood* **105**(7), 2640 (2005)]을 참조한다. 이 번호 시스템은 도 1에 재현되어 있다. 일부 실시태양에서, 돌연변이 Bcr-Abl 키나제는 상기 수록된 돌연변이체 중 하나 이상을 포함하며, 도 1의 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 서열 동일성을 갖는다. 일부 실시태양에서, 돌연변이 Bcr-Abl 키나제는 상기 수록된 돌연변이체 중 하나 이상을 포함하며, 적어도 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1000, 1050, 또는 1100 개의 아미노산을 포함한다.

일부 실시태양에서, 키나제는 공지된 키나제와 상동이다(본원에서 "상동 키나제"로도 지칭함). 상동 키나제의 생물학적 활성을 억제하는 데 유용한 화합물 및 조성물은 예컨대 결합 분석법으로 초기에 선별된다. 상동 효소는 공지된 키나제 전장의 아미노산과 50% 이상, 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상 또는 90% 이상 동일하거나, 공지된 키나제 활성 도메인과 70%, 80% 또는 90% 상동인 동일 길이의 아미노산 서열을 포함한다. 상동은 예를 들면 문헌 [Altschul, et al., *Nuc. Acids Res.* **25**:3389-3402 (1997)]에 기재된 PSI BLAST 검색 등을 사용하여 측정될 수 있다. 특정 실시태양에서, 적어도 50%, 또는 적어도 70%의 서열이 이 분석에서 정렬된다. 정렬을 수행하기 위한 다른 도구는, 예를 들면 정렬의 포스트스크립트(PostScript) 버전을 생성하는 데 사용되는 DbClustal 및 EsPrit를 포함한다. 문헌 ([Thompson et al., *Nucleic Acids Research*, **28**:2919-26, 2000]; [Gouet, et al., *Bioinformatics*, **15**:305-08 (1999)])을 참조한다. 상동체는 예를 들면 FLT3, Abl 또는 다른 공지된 키나제, 또는 FLT3, Abl 또는 다른 공지된 키나제의 임의의 기능성 도메인을 수반하는 100 개 이상의 아미노산(문헌 [Altschul et al., *Nucleic Acids Res.*, **25**:3389-402 (1997)])에 대해 BLAST E-값 1×10^6 을 가진다.

상동성은 효소의 활성자리 결합 포켓과 공지된 키나제의 활성자리 결합 포켓을 비교하여 측정될 수도 있다. 예를 들면, 상동성 효소에서, 분자 또는 상동체의 아미노산의 적어도 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 또는 90% 이상, 최대 약 1.5 Å, 약 1.25 Å, 약 1 Å, 약 0.75 Å, 약 0.5 Å, 및 또는 약 0.25 Å의 알파 탄소 원자의 제곱 평균 편차를 갖는 키나제 도메인의 크기와 비교할 만한 도메인의 아미노산 구조 배위를 갖는다.

본 발명의 화합물 및 조성물은 키나제 활성을 억제하고 ATP에 결합하는 다른 효소를 억제하는 데 유용하다. 그러므로, 그들은 이러한 ATP-결합 효소 활성을 억제하면 완화된 질병 및 질환의 치료에 유용하다. 기호(signature), 서열 패턴, 동기(motif), 또는 단백질 분류 또는 도메인의 프로파일을 함유하는 효소를 식별할 수 있는 데이터베이스 PROSITE를 사용함으로써, 이러한 ATP 결합 효소의 측정 방법은 당업계에 공지된 것, 상동 효소의 선택과 관련하여 본원에서 논의된 것을 포함한다.

본 발명의 화합물 및 그의 유도체는 키나제-결합 제제로 사용될 수도 있다. 결합 제제로서, 이러한 화합물 및 유도체는 친화성 크로마토그래피 적용을 위한 속박(tethered) 기질로서의 안정적인 수지에 결합될 수 있다. 본 발명의 화합물 및 그의 유도체는 또한 효소 또는 펩티드 특성화, 구조 및/또는 기능의 관찰을 위해 사용되도록 개조(예를 들면, 방사성 식별 또는 친화성 식별 등)될 수 있다.

예시적인 실시태양에서, 본 발명의 융합 고리 헤테로사이클 키나제 조절제는 키나제 억제제이다. 일부 실시태양에서, 키나제 억제제는 1 마이크로몰 미만의 IC₅₀ 또는 억제 상수(K_i)를 갖는다. 또 다른 실시태양에서, 키나제 억제제는 500 마이크로몰 미만의 IC₅₀ 또는 억제 상수(K_i)를 갖는다. 또 다른 실시태양에서, 키나제 억제제는 10 마이크로몰 미만의 IC₅₀ 또는

억제 상수(K_i)를 갖는다. 또 다른 실시태양에서, 키나제 억제제는 1 마이크로몰 미만의 IC_{50} 또는 억제 상수(K_i)를 갖는다. 또 다른 실시태양에서, 키나제 억제제는 500 나노몰 미만의 IC_{50} 또는 억제 상수(K_i)를 갖는다. 또 다른 실시태양에서, 키나제 억제제는 10 나노몰 미만의 IC_{50} 또는 억제 상수(K_i)를 갖는다. 또 다른 실시태양에서, 키나제 억제제는 1 나노몰 미만의 IC_{50} 또는 억제 상수(K_i)를 갖는다.

III. 치료 방법

또 다른 실시태양에서, 본 발명은 개체(예를 들면, 인간 등 포유동물)의 키나제 활성화에 의해 매개되는 질병(키나제-매개 질병 또는 질환)의 치료 방법을 제공한다. "키나제-매개" 또는 "키나제-관련" 질환이란 그 질병 또는 징후가 키나제 활성을 억제하면 완화될 수 있는 질병(예를 들면, 키나제가 질병 과정의 발신, 매개, 조절 또는 조정에 관련된 것)을 의미한다. "질병"이란, 질병 또는 질병 징후를 의미한다. 본 방법은 본 발명의 융합 고리 헤테로사이클 키나제 조절제(예를 들면 화합식 I 내지 III 중 어느 하나의 화합물)의 유효량을 개체에게 투여하는 단계를 포함한다.

키나제 관련 질병의 예는 암(예를 들면, 백혈병, 종양 및 전이), 알레르기, 천식, 비만, 염증(예를 들면, 염증성 기도 질환 등의 염증성 질환), 혈액학적 질환, 폐쇄성 기도 질환, 천식, 자가면역 질병, 신진대사성 질병, 감염(예를 들면, 박테리아성, 바이러스성, 이스트, 진균류), CNS 질병, 뇌종양, 퇴행성 신경 질병, 심혈관계 질병, 및 혈관신생, 신생혈관증식(neovascularization) 및 혈관생성(vasculogenesis)과 관련된 질병을 포함한다. 예시적인 실시태양에서, 본 화합물은 백혈병을 비롯한 암, 및 척수 증식성 질환 등의 비정상적 세포 증식을 수반하는 다른 질병 또는 질환의 치료에 유용하다.

본 발명의 화합물로 치료되는 암의 보다 구체적인 예는, 유방암, 폐암, 흑색종, 직장암, 방광암, 난소암, 전립선암, 신장암, 편평상피세포암, 교아세포종, 췌장암, 카포지 육종, 다발성 골수종 및 백혈병(예를 들면, 골수성, 만성 골수성, 급성 림프모구성, 만성 림프모구성, 호지킨성 및 다른 백혈병 및 혈액학적 암)을 포함한다.

본 발명의 화합물 또는 조성물에 의한 치료가 치료 또는 예방에 유용한 다른 특정 질병 또는 질환의 예는, 이식 거부(예를 들면, 신장, 간, 심장, 폐, 섬세포, 췌장, 골수, 각막, 소장, 피부 동종 이식 또는 이종 이식 및 다른 이식), 이식편 대 숙주 질병, 골관절염, 류마티스성 관절염, 다발성 경화증, 당뇨병, 당뇨병성 망막증, 염증성 장 질병(예를 들면, 크론병, 궤양성 대장염 및 다른 장 질병), 신장 질병, 악액질, 부패성 쇼크, 루푸스, 중증 근무력증, 건선, 피부염, 습진, 지루, 알츠하이머병, 파킨슨병, 화학치료 중 줄기세포 보호, 자가조직 또는 동종이계 골수 이식을 위한 생체의 선택 또는 생체의 정화, 눈병, 망막증(예를 들면 시력감퇴, 당뇨병성 망막증 및 다른 망막증), 각막병, 녹내장, 감염(예를 들면 박테리아성, 바이러스성 또는 진균성), 및 재협착을 포함하나 이에 한정되지 않는 심장병을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

IV. 분석법

본 발명의 화합물은 그의 단백질 키나제 조절, 단백질 키나제 결합 및/또는 세포 성장 및 증식의 방지 능력을 측정하기 위해 용이하게 분석될 수 있다. 유용한 분석법의 몇몇 예를 이하에 제시한다.

A. 키나제 억제 및 결합 분석법

다양한 키나제의 억제는 본원에서 제시한 다양한 방법 및 문헌 [Upstate KinaseProfiler Assay Protocols June 2003 publication]에서 논의된 방법 등, 당업계에 공지된 방법에 의해 측정하였다.

예를 들면, 시험관내 분석법을 수행하는 경우, 키나제는 전형적으로는 적절한 농도로 희석하여 키나제 용액을 형성하였다. 키나제 기질 및 포스페이트 공여자, 예컨대 ATP를 키나제 용액에 첨가하였다. 키나제 기질에 포스페이트를 전달하여 인산화 기질을 형성하도록 하였다. 인산화 기질의 형성은 방사성(예를 들면, $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}\text{-ATP}]$), 또는 검출 가능한 2차 항체(예를 들면, ELISA) 등 적절한 수단에 의해 직접 검출할 수 있다. 별법으로, 인산화 기질의 형성은 ATP 농도의 검출(예를 들면, Kinase-Glo[®] 분석 시스템(프로메가(Promega))) 등 임의의 적절한 기법을 사용하여 검출할 수도 있다. 키나제 억제제는 시험 화합물의 존재 및 부재 하에서 인산화 기질의 형성을 검출하여 식별하였다(하기 실시예 단락 참조).

세포 내 키나제를 억제하는 화합물의 능력은 당업계에 공지된 방법으로 분석될 수도 있다. 예를 들면, 키나제를 함유하는 세포를 키나제를 활성화하는 활성 제제(성장 인자 등)에 접촉시킬 수도 있다. 시험 화합물의 부재 및 존재시의 세포내 인산

화 기질의 양은 세포를 용리하고 적절한 방법(예를 들면, ELISA)에 의해 존재하는 인산화 기질을 검출하여 측정할 수 있다. 시험 화합물의 존재시의 인산화 기질의 양이 시험 화합물의 부재시에 생성되는 양에 비해 감소한다면, 키나제 억제제가 관측된 것이다. 보다 자세한 세포상 키나제 분석법은 하기 실시예 단락에 논의되었다.

화합물의 키나제로의 결합을 측정하기 위하여, 당업계에 공지된 임의의 방법을 사용할 수 있다. 예를 들면, 미국 캘리포니아주 프레몬트의 디스커버스(Discoverx)사 제조 시험 키트, ED-스타우로스포린(Staurosporine) NSIPTM 효소 결합 분석 키트(미국특허번호 제5,643,734호 참조)가 사용될 수 있다. 키나제 활성은 2003년 6월 8일 공개된 미국특허번호 제 6,589,950호와 같이 분석할 수도 있다.

적합한 키나제 억제제는, 예를 들면 본원에 그 전체로서 모든 목적을 위해 포함된 문헌 [Antonyssamy, et al., PCT 국제특허공보 WO03087816A1]에 개시된 것과 같은 단백질 결정학적 선별을 통해 본 발명의 화합물로부터 선택할 수 있다.

본 발명의 화합물은 그의 다양한 키나제에의 결합 및/또는 억제 능력을 분석 및 가시화하기 위해 컴퓨터로 선별될 수도 있다. 본 발명의 화합물 다수의 구조는 다양한 위치에서 키나제에 결합하는 능력을 측정하기 위해, 컴퓨터로 선별될 수 있다. 이러한 화합물은 의학 화학에서의 노력에 있어 잠재적이고 약제학적으로 중요한 억제제를 식별하기 위해 목표물 또는 실마리로서 사용될 수 있다(Travis, Science, 262:1374, 1993). 이러한 화합물의 3차원 구조는 키나제 또는 그의 활성자리 또는 결합 포켓의 3차원 화성 위에 포개져, 화합물이 화상, 즉 단백질 내에 공간적으로 적합한지 여부를 평가할 수 있다. 이러한 선별에 있어, 이들 본체, 또는 화합물의 결합 포켓에 대한 적합성의 수준은 형상 상보성 또는 상호작용 에너지 측정에 의해 판단할 수 있다(문헌 [Meng, et al., *J. Comp. Chem.* **13**:505-24, 1992]).

본 발명에 따라 키나제에 결합하고/하거나 그를 조절하는(예를 들면, 키나제를 억제 또는 활성화하는) 본 발명의 화합물의 선별을 위해서는 일반적으로 두 가지 요인을 고려하게 된다. 먼저, 화합물이 물리적 및 구조적으로, 공유결합적 또는 비-공유결합적으로 키나제와 연결될 수 있어야 한다. 예를 들면, 공유결합적 상호작용은 단백질의 비가역적 또는 자살 억제제의 설계에 중요할 수 있다. 키나제와 본 화합물의 연결에 있어 중요한 비-공유결합적 분자 상호작용은 수소결합, 이온성 상호작용, 반데르 발스 및 소수성 상호작용을 포함한다. 둘째, 화합물은 키나제와의 연결을 가능하게 하는 결합 포켓에 대하여 배좌 및 배향하는 것으로 가정될 수 있어야 한다. 화합물의 특정 부위가 키나제와의 이러한 연결에 직접 참여하지는 않을 것이나, 이들 부위도 분자의 전체 배좌에 영향을 줄 수 있고, 현저한 영향을 미칠 수 있다. 배좌에 관한 요구는 결합 포켓의 일부 또는 전부에 대한 화학 기 또는 화합물의 전체 3차원 구조 및 배향, 또는 키나제와 직접 상호작용하는 다수의 화학 기를 포함하는 화합물의 작용기 사이의 간격을 포함한다.

예를 들면 DOCK 또는 GOLD 등 본원에 기술한 도킹(docking) 프로그램은 활성 자리 및/또는 결합 포켓에 결합하는 화합물을 식별하는 데 사용된다. 화합물은 단백질의 상이한 분자 동역학적 배좌를 고려하여, 단백질 구조의 하나 이상의 결합 포켓, 또는 동일 단백질의 한 조를 넘는 좌표에 대해 선별될 수 있다. 그 뒤, 일치 점수를 사용하여 단백질에 화합물이 가장 적합한지 식별할 수 있다(문헌 [Charifson, P.S. et al, *J. Med. Chem.* **42**: 5100-9 (1999)]). 하나를 넘는 단백질 분자 구조로부터 수득된 데이터는 2002년 5월 3일 출원된 문헌 [Klingler et al., U.S. Utility Application, "Computer Systems and Methods for Virtual Screening of Compounds."]에 기재된 방법에 따라 그 점수를 계산할 수 있다. 그 후, 가장 적합한 화합물은 화학 라이브러리의 생성자로부터 수득하거나, 또는 합성하여, 결합 분석법 및 생물학적 분석법에 사용할 수 있다.

화합물의 키나제에 대한 잠재적 조절 또는 결합 효과를 평가하기 위해 컴퓨터 모델링 기법이 사용될 수 있다. 컴퓨터 모델링이 강한 상호 작용을 표시한다면, 그 분자를 합성하여 그의 키나제 결합 및 활성에의 영향(억제 또는 활성화) 능력을 시험할 수 있다.

키나제의 조절 여부 또는 다른 결합 화합물은, 화학적 기 또는 단편들을 스크리닝하고 키나제의 개개의 결합 포켓 또는 다른 영역과 결합하는 이들의 능력에 대해 선택하는 일련의 단계들에 의해 연산적으로 평가될 수 있다. 이러한 방법은, 예를 들어 키나제들 좌표에 기초하여 컴퓨터 스크린상의 활성 부위를 육안으로 조사함으로써 개시될 수 있다. 그다음 선택된 단편들 또는 화학적 기들은 다양한 배향으로 배치되거나 키나제들의 개개의 결합 포켓내에 도킹될 수 있다(Blaney, J.M. and Dixon, J.S., *Perspectives in Drug Discovery and Design*, **1**:301, 1993). 수동적 도킹은 인사이트(Insight) II (미국 캘리포니아주 샌 디에고 소재의 액셀리스(Accelrys)), MOE (캐나다 퀘벡주 몬트리올 소재의 케미칼 컴퓨팅 그룹, 인크.(Chemical Computing Group, Inc.)); 및 SYBYL (미국 미주리주 세인트 루이스 소재의 트리포스, 인크.(Tripos, Inc.)), 1992) 및 그 후 CHARMM (Brooks, et al, *J. Comp. Chem.* **4**:187-217, 1983), AMBER (Weiner, et al, *J. Am. Chem. Soc.* **106**: 765-84, 1984) 및 C²MMFF (머크 몰레큘라 포스 필드(Merck Molecular Force Field); 미국 캘리포니아주 샌 디에고 소재의 액셀리스)와 같은 표준 분자 기계력 장을 갖는 에너지 최소화 및/또는 분자 동역학과 같은 소프트웨어를 사

용하여 수행할 수 있다. 더욱 자동화된 도킹은 DOCK (Kuntz et al, *J. Mol. Biol.* **161**:269-88, 1982; DOCK는 미국 캘리포니아주 샌 프란시스코 소재의 캘리포니아 대학으로부터 이용가능하다); AUTODOCK (Goodsell & Olsen, *Proteins: Structure, Function, and Genetics* **8**:195-202, 1990; AUTODOCK은 미국 캘리포니아주 라 줄라 소재의 스크립스 리서치 인스티튜트(Scripps Research Institute)로부터 이용가능하다); GOLD (캠브리지 크리스탈로그래픽 데이터 센터 (Cambridge Crystallographic Data Centre (CCDC)); Jones et al., *J. Mol. Biol.* **245**:43-53, 1995); 및 FLEXX (미국 미주리주 세인트 루이스 소재의 트리포스, 인크.; Rarey, M., et al., *J. Mol. Biol.* **261**:470-89, 1996)와 같은 프로그램을 사용하여 수행될 수 있다. 다른 적절한 프로그램들은, 예를 들어 할페린(Halperin) 등의 문헌에 기재되어 있다.

상기 방법들에 의해 화합물들을 선택하는 도중에, 상기 화합물이 키나제에 결합할 수 있는 효율을 시험하고 연산적 평가에 의해 최적화할 수 있다. 예를 들어, 키나제 저해제로서 기능하도록 고안되거나 선택된 화합물은 천연 기질이 결합된 경우 활성 부위 잔기들이 차지한 부피와 중복되지 않는 부피를 차지할 수 있지만, 당업자라면 일부 유동적인 상황이 존재하여 주쇄 및 측쇄가 재배열될 수 있음을 이해할 것이다. 또한, 당업자는 결합시 단백질 재배열을 활용하여, 예를 들어 유도된 정합을 제공할 수 있는 화합물을 고안할 수 있다. 효과적인 키나제 저해제는 그의 결합된 상태와 유리된 상태 사이에서 비교적 작은 에너지 차이를 나타낼 수 있다 (즉, 결합 변형 에너지가 작고/작거나 결합시 구조적 변형률이 낮을 수 있다). 따라서, 가장 효율적인 키나제 저해제는, 예를 들어 10 kcal/mol 이하, 7 kcal/mol 이하, 5 kcal/mol 이하, 또는 2 kcal/mol 이하의 결합 변형 에너지를 갖도록 고안되어야 한다. 키나제 저해제는 전체 결합 에너지와 유사한 1종 이상의 구조에서 단백질과 상호작용할 수 있다. 이러한 경우, 결합 변형 에너지는 유리 화합물의 에너지와 저해제가 효소에 결합시 관찰되는 구조들의 평균 에너지 사이의 차이로 정해진다.

화합물의 변형 에너지 및 정전기적 상호작용을 평가하기 위해 이용가능한 구체적인 컴퓨터 소프트웨어들이 당분야에 존재한다. 이러한 용도로 고안된 프로그램들의 예에는, 가우시안(Gaussian) 94, 개정 C (미국 펜실바니아주 피츠버그 소재의 프리스치, 가우시안, 인크.(Frisch, Gaussian, Inc.), ©1995); AMBER, 버전(version) 7. (Kollman, 샌 프란시스코의 캘리포니아 대학, ©2002); QUANTA/CHARMM (미국 캘리포니아주 샌 디에고 소재의 악셀리스, 인크., ©1995); 인사이트 II/디스커버(Discover) (미국 캘리포니아주 샌 디에고 소재의 악셀리스, 인크., ©1995); DelPhi (미국 캘리포니아주 샌 디에고 소재의 악셀리스, 인크., ©1995); 및 AMSOL (미네소타 대학) (퀀텀 케미스트리 프로그램 익스체인지(Quantum Chemistry Program Exchange), 인디애나 대학)이 포함된다. 이들 프로그램은, 예를 들어 당분야에 잘 알려져 있는 바와 같은 컴퓨터 워크스테이션, 예를 들어 LINUX, SGI 또는 Sun 워크스테이션을 사용하여 수행될 수 있다. 다른 하드웨어 시스템 및 소프트웨어 패키지들은 당업자에게 공지되어 있을 것이다.

당업자는 당분야에 공지된 방법 및 본원에 개시된 방법들을 사용하여 키나제 단백질을 발현시킬 수 있다. 본원에 개시된 천연 및 돌연변이된 키나제 폴리펩티드들은 당분야에 잘 알려져 있는 기술들을 사용하여 전체적으로 또는 부분적으로 화학 합성될 수 있다(예를 들어, 문헌[Creighton, *Proteins: Structures and Molecular Principles*, W.H. Freeman & Co., NY, 1983] 참조).

유전자 발현 시스템을 천연 및 돌연변이된 폴리펩티드의 합성을 위해 사용할 수 있다. 당업자에게 알려져 있는, 천연 또는 돌연변이된 폴리펩티드 코딩 서열 및 적절한 전사/해독 제어 신호를 함유하는 발현 벡터들을 구성할 수 있다. 이러한 방법들은 시험관내 재조합 DNA 기술, 합성 기술 및 생체내 재조합/유전자 재조합을 포함한다. 예를 들어 문헌[Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, NY, 2001, and Ausubel et al., *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing Associates and Wiley Interscience, NY, 1989]에 기재된 기술들을 참조한다.

숙주-발현 벡터 시스템을 사용하여 키나제를 발현시킬 수 있다. 이들은 코딩 서열을 함유하는 재조합 박테리오파지 DNA, 플라스미드 DNA 또는 코스미드 DNA 발현 벡터들로 형질전환된 박테리아; 코딩 서열을 함유하는 재조합 효모 발현 벡터들로 형질전환된 효모; 코딩 서열을 함유하는 재조합 바이러스 발현 벡터들(예를 들어, 마쿨로바이러스)로 감염된 곤충 세포 시스템; 코딩 서열을 함유하는 재조합 바이러스 발현 벡터들(예를 들어, 꽃양배추 모자이크 바이러스, CaMV; 담배 모자이크 바이러스, TMV)로 감염되거나 또는 코딩 서열을 함유하는 재조합 플라스미드 발현 벡터들(예를 들어, Ti 플라스미드)로 형질전환된 식물 세포 시스템; 또는 동물 세포 시스템을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 상기 단백질은 또한 예를 들어 단백질을 대상내에서 단백질의 양을 증대시키거나 유전자 조작된 치료 단백질을 발현시키기 위해 발현시키는 것을 포함하여, 인간 유전자 치료 시스템에서 발현될 수도 있다. 이들 시스템의 발현 요소들은 다양한 강도 및 특이성을 갖는다.

구체적으로 고안된 벡터들은 박테리아-효모 또는 박테리아-동물 세포들과 같이 숙주들 사이에서 DNA의 셔틀링(shutting)을 허용할 수 있다. 적절히 구성된 발현 벡터는 숙주 세포에서 자가 복제를 위한 복제 기원, 하나 이상의 선별 마

커(marker), 제한된 수의 유용한 제한효소 부위, 고 복제수 가능성, 및 활성 프로모터를 함유할 수 있다. 프로모터는 RNA 폴리머라제가 DNA에 결합하여 RNA 합성을 개시하도록 유도하는 DNA 서열 정의된다. 강한 프로모터는 mRNA를 고 빈도수로 개시시키는 것이다.

발현 벡터는 또한 예를 들어 구성적 및 유도성 프로모터를 비롯하여 전사 및 해독에 영향을 미치는 다양한 요소들을 포함할 수 있다. 이러한 요소들은 종종 숙주 및/또는 벡터에 의존적이다. 예를 들어, 박테리아 시스템에서 클로닝하는 경우, T7 프로모터, 박테리오파지 λ 의 pL, plac, ptrp, ptac (ptrp-lac 하이브리드 프로모터) 등과 같은 유도성 프로모터들을 사용할 수 있고; 곤충 세포 시스템에서 클로닝하는 경우, 바칼로바이러스 폴리헤드린 프로모터와 같은 프로모터들을 사용할 수 있으며; 식물 세포 시스템에서 클로닝하는 경우, 식물 세포의 게놈으로부터 유래한 프로모터 (예를 들어, 열 쇼크(shock) 프로모터; RUBISCO의 작은 서브유닛에 대한 프로모터; 클로로필 a/b 결합 단백질에 대한 프로모터) 또는 식물 바이러스로부터 유래한 프로모터 (예를 들어, CaMV의 35S RNA 프로모터; TMV의 외피(coat) 단백질 프로모터)를 사용할 수 있고; 포유동물 세포 시스템에서 클로닝하는 경우, 포유동물 프로모터 (예를 들어, 메탈로티오네인 프로모터) 또는 포유동물 바이러스 프로모터 (예를 들어, 아데노바이러스 후기 프로모터; 백시나 바이러스 7.5K 프로모터; SV40 프로모터; 소 유두종 바이러스 프로모터; 및 엡스타인-바(Epstein-Barr) 바이러스 프로모터)를 사용할 수 있다.

다양한 방법, 예를 들어 형질전환, 형질감염, 감염, 원형질체 융합 및 전기천공법을 사용하여 벡터를 숙주 세포에 도입시킬 수 있다. 발현 벡터-함유 세포를 클론상으로 전파시키고 개별적으로 분석하여 이들이 적절한 폴리펩티드를 생산하는지 여부를 결정한다. 다양한 선별 방법, 예를 들어 항생제 내성을 사용하여 형질전환된 숙주 세포를 확인할 수 있다. 폴리펩티드를 발현하는 숙주 세포 클론은 항-키나제 항체와의 면역 반응성 및 숙주 세포-관련 활성의 존재를 포함하지만 이들로 제한되지 않는 몇몇 수단들에 의해 확인할 수 있다.

cDNA의 발현은 또한 시험관내에서 제조된 합성 mRNA를 사용하여 수행할 수도 있다. 합성 mRNA는 맥아 추출물 및 세망 세포 추출물을 포함하지만 이로 제한되지 않는 다양한 무세포 시스템에서 효율적으로 해독될 뿐만 아니라, 개구리 난모세포로의 미세주입을 포함하지만 이로 제한되지 않는 세포-기재 시스템에서 효율적으로 해독될 수 있다.

최적 수준의 활성 및/또는 단백질을 나타내는 cDNA 서열(들)을 결정하기 위해, 변형된 cDNA 분자를 구성한다. 변형된 cDNA의 비제한적인 예는 cDNA에서의 코돈 사용빈도(codon usage)를 cDNA가 발현할 숙주 세포에 대해서 최적화시키는 것이다. 숙주 세포는 상기 cDNA 분자로 형질전환되며 키나제 RNA 및/또는 단백질의 수준을 측정한다.

숙주 세포에서의 키나제 단백질의 수준은 면역친화성 및/또는 리간드 친화성 기술, 키나제-특이적 친화성 비드(bead)와 같은 다양한 방법에 의해 정량화되거나, 또는 특이적 항체를 사용하여 ^{35}S -메티오닌 표지되거나 비표지된 단백질을 분리한다. 표지되거나 비표지된 단백질은 SDS-PAGE에 의해 분석된다. 비표지된 단백질은 특이적 항체를 이용하는 웨스턴 블롯팅(Western blotting), ELISA 또는 RIA에 의해 검출된다.

재조합 숙주 세포에서의 키나제 발현에 이어서, 폴리펩티드를 회수하여 활성 형태의 단백질을 제공한다. 몇몇 정제 절차를 이용할 수 있으며 사용하기에 적합하다. 재조합 키나제는 세포 용해물 또는 컨디셔닝된(conditioned) 배양 배지로부터 당 분야에 알려진 분획법 또는 크로마토그래피 단계들의 다양한 조합 또는 개별 적용에 의해 정제될 수 있다.

또한, 재조합 키나제는 전장(full length) 신생 단백질 또는 그의 폴리펩티드 단편들에 대해 특이적인 모노클로날 또는 폴리클로날 항체로 제작된 면역친화성 칼럼을 사용하여 다른 세포내 단백질들로부터 분리될 수 있다. 당분야에 알려져 있는 다른 친화성 기재 정제 기술도 사용할 수 있다.

별법으로는, 상기 폴리펩티드는 폴딩되지 않은(unfolded), 불활성 형태로 숙주 세포로부터, 예를 들어 박테리아의 봉입체(inclusion body)로부터 회수될 수 있다. 이러한 형태로 회수된 단백질은 변성제, 예를 들어 구아니디늄 하이드로클로라이드를 사용하여 가용화된 후, 당업자에게 알려진 방법들, 예를 들어 투석법을 사용하여 활성 형태로 재폴딩될 수 있다.

B. 세포 성장 분석법

다양한 세포 성장 분석법이 당분야에 공지되어 있으며 세포 성장 및/또는 증식을 저해(예를 들어, 감소)할 수 있는 용합 고리 헤테로사이클 화합물(즉 "시험 화합물")을 확인하는데 유용하다.

예를 들어, 성장 및/또는 증식을 위해 특정한 키나제를 요구하는 다양한 세포가 공지되어 있다. 이러한 세포가 시험 화합물의 존재하에 성장하는 능력을 평가하고 시험 화합물의 부재하에서의 성장과 비교함으로써 시험 화합물의 항-증식성 활성

을 확인할 수 있다. 이러한 유형의 한 가지 통상적인 방법은 표지, 예를 들어 삼중수소화된 티미딘의 분열 세포의 DNA로의 혼입 정도를 측정하는 것이다. 별법으로, 세포 증식의 저해는 세포 수와 상관되는 대용(surrogate) 마커를 갖는 세포의 총 대사 활성을 측정함으로써 평가할 수 있다. 세포를 시험 화합물의 존재 및 부재하에 대사 지시자로 처리할 수 있다. 생존 세포는 대사 지시자를 대사하며, 따라서 검출성 대사 산물을 형성한다. 검출성 대사 산물 수준이 시험 화합물의 부재의 경우에 비해 시험 화합물이 존재하는 경우에 감소한 경우, 세포 성장 및/또는 증식의 저해가 나타난 것이다. 예시적인 대사 지시자는, 예를 들어 테트라졸륨 염 및 알라모르블루(AlamarBlue)[®]를 포함한다 (하기 실시예 부분을 참조한다).

V. 제약 조성물 및 투여

또다른 태양에서, 본 발명은 제약학상 허용되는 부형제와 혼합된 용합 고리 헤테로사이클 키나제 조절제를 포함하는 제약 조성물을 제공한다. 당업자라면 상기 제약 조성물이 진술한 용합 고리 헤테로사이클 키나제 조절제의 제약학상 허용되는 염을 포함함을 이해할 것이다.

치료적 및/또는 진단적 적용에서, 본 발명의 화합물은 전신 및 국소 또는 국부 투여를 비롯한 다양한 투여 방식에 대해 제형화될 수 있다. 기술 및 제형화법은 일반적으로 문헌[Remington: The Science and Practice of Pharmacy (20th ed.) Lippincott, Williams & Wilkins (2000)]에서 찾아볼 수 있다.

본 발명에 따른 화합물은 광범위한 투여량 범위에 걸쳐 효과적이다. 예를 들어, 성인을 치료하는 경우, 1일당 0.01 내지 1000 mg, 0.5 내지 100 mg, 1 내지 50 mg 및 1일당 5 내지 40 mg이 사용할 수 있는 투여량의 예이다. 가장 바람직한 투여량은 1일당 10 내지 30 mg이다. 정확한 투여량은 투여 경로, 화합물이 투여되는 형태, 치료할 개체, 치료할 개체의 체중, 및 진찰의 선호도 및 경험에 따라 다를 것이다.

제약학상 허용되는 염은 일반적으로 당업자에게 잘 알려져 있으며, 비제한적인 예로서 아세테이트, 벤젠설포네이트, 베실레이트, 벤조에이트, 바이카르보네이트, 바이타르트레이트, 브로마이드, 에디트산칼슘, 카르실레이트, 카르보네이트, 시트레이트, 에디테이트, 에디실레이트, 에스톨레이트, 에실레이트, 푸마레이트, 글루세이트, 글루코네이트, 글루타메이트, 글리콜릴아르사닐레이트, 헥실레조르시네이트, 하이드라민, 하이드로브로마이드, 하이드로클로라이드, 하이드록시나프토에이트, 요오다이드, 이세티오네이트, 락테이트, 락토비오네이트, 말레이트, 말리에이트, 만델레이트, 메실레이트, 무케이트, 납실레이트, 니트레이트, 파모에이트(엠보네이트), 판토테네이트, 포스페이트/디포스페이트, 폴리갈락투로네이트, 살리실레이트, 스테아레이트, 서브아세테이트, 숙시네이트, 설페이트, 탄네이트, 또는 테오클레이트를 포함할 수 있다. 다른 제약학상 허용되는 염은, 예를 들어 문헌[Remington: The Science and Practice of Pharmacy (20th ed.) Lippincott, Williams & Wilkins (2000)]에서 찾아볼 수 있다. 바람직한 제약학상 허용되는 염은, 예를 들어 아세테이트, 벤조에이트, 브로마이드, 카르보네이트, 시트레이트, 글루코네이트, 하이드로브로마이드, 하이드로클로라이드, 말리레이트, 메실레이트, 납실레이트, 파모에이트(엠보네이트), 포스페이트, 살리실레이트, 숙시네이트, 설페이트, 또는 타르트레이트를 포함한다.

치료할 특정 증상에 따라, 상기 제제들은 액체 또는 고체 투여형으로 제형화되고 전신적 또는 국소적으로 투여될 수 있다. 상기 제제는, 예를 들어 당업자에게 공지된 바와 같은 지효성(timed-low release) 또는 서방성(sustained-low release) 소량 방출 형태로 전달될 수 있다. 제형화 및 투여에 대한 기술들은 문헌[Remington: The Science and Practice of Pharmacy (20th ed.) Lippincott, Williams & Wilkins (2000)]에서 찾아볼 수 있다. 적합한 경로는 경구, 협측, 흡입식 분무, 설하, 직장, 경피, 질, 경점막, 비측 또는 장내 투여; 근육내, 피하, 골수내 주사 및 경막내, 직접 심실내(intraventricular), 정맥내, 관절내, 흉골내, 윤활막내, 간내, 병변내, 두개골내, 복강내, 비강내 또는 안구내 주사를 비롯한 비경구 전달, 또는 다른 전달 방식을 포함할 수 있다.

주사의 경우, 본 발명의 제제는 수용액, 예를 들어 생리학상 적합한 완충액(예를 들어, 헝크액(Hank's solution), 링거액(Ringer's solution)) 또는 생리학상 식염수 완충액에서 제형화되고 희석될 수 있다. 상기 경점막 투여의 경우, 침투할 장벽에 적합한 침투제가 제형에 사용된다. 이러한 침투제는 일반적으로 당분야에 공지되어 있다.

전신 투여에 적합한 투여량으로 본 발명을 실시하는데 있어서 본원에 개시된 화합물들 제형화하기 위해 제약학상 허용되는 불활성 담체를 사용하는 것은 본 발명의 범위내에 있다. 담체 및 적합한 제조 실시법을 적절히 선택함으로써, 본 발명의 조성물, 특히 용액으로 제형화된 조성물은 정맥내 주사와 같은 비경구적으로 투여할 수 있다. 상기 화합물은 당분야에 잘 알려진 제약학상 허용되는 담체를 사용하여 경구 투여에 적합한 투여량으로 용이하게 제형화될 수 있다. 이러한 담체를 사용함으로써 본 발명의 화합물은 치료받을 환자가 경구 섭취할 수 있도록 정제, 환약, 캡슐, 액체, 젤, 시럽, 슬러리, 현탁액 등으로 제형화될 수 있다.

비측 또는 흡입 전달의 경우, 본 발명의 제제는 또한 당업자에게 공지된 방법에 의해 제형화될 수 있으며, 예를 들어 가용화, 희석화 또는 분산화 물질들 (예를 들어, 식염수), 보존제 (예를 들어, 벤질 알코올), 흡수 촉진제 및 불화탄소를 포함할 수 있지만, 이들로 제한되지 않는다.

본 발명에서 사용하기에 적합한 제약 조성물은 활성 성분이 그의 의도된 목적들 달성하기에 유효한 양으로 함유된 조성물을 포함한다. 유효량은 당업자의 능력 범위내에서 잘 결정될 수 있으며, 특히 본원에 제공된 상세한 기재내용에 비추어 용이하게 결정될 수 있다.

활성 성분들에 더하여, 이들 제약 조성물은 부형제, 및 활성 화합물들을 제약학적으로 사용될 수 있는 제조물로 가공하는 과정을 촉진시키는 보조제를 포함하는 적합한 제약학상 허용되는 담체를 함유할 수 있다. 경구 투여용으로 제형화된 제조물은 정제, 당의정, 캡슐 또는 용액의 형태일 수 있다.

경구 용도의 제약 제조물은 활성 화합물을 고체 부형제와 배합하고, 임의로 생성된 혼합물을 분쇄하고, 경우에 따라 적합한 보조제를 첨가한 후에, 과립 혼합물로 가공하여 정제 또는 당의정 코어를 수득함으로써 수득될 수 있다. 적합한 부형제는, 특히 충전제, 예를 들어 락토오스, 수크로오스, 만니톨 또는 소르비톨과 같은 당류; 셀룰로오스 제조물, 예를 들어 옥수수 전분, 밀 전분, 쌀 전분, 감자 전분, 젤라틴, 트라가칸트검, 메틸 셀룰로오스, 하이드록시프로필메틸-셀룰로오스, 나트륨 카르복시메틸-셀룰로오스(CMC), 및/또는 폴리비닐피롤리돈(PVP: 포비돈)이다. 경우에 따라, 붕해제, 예를 들어 가교결합된 폴리비닐피롤리돈, 한천, 또는 알긴산 또는 그의 염 (예를 들어, 알긴산나트륨)을 사용할 수 있다.

당의정 코어에는 적합한 피복물을 제공할 수 있다. 이를 위해, 농축된 당 용액을 사용할 수 있는데, 여기에는 임의로 아라비아검, 활석, 폴리비닐피롤리돈, 카르보폴 겔, 폴리에틸렌 글리콜(PEG), 및/또는 이산화티탄, 래커액(lacquer solutions), 및 적합한 유기 용매 또는 용매 혼합물이 함유될 수 있다. 식별용으로 또는 활성 화합물의 투여량의 상이한 조합들을 특징화하기 위해 염료 물질 또는 안료를 상기 정제 또는 당의정 피복물에 첨가할 수 있다.

경구로 사용될 수 있는 제약 제조물은 젤라틴으로 제조된 압입식(push-fit) 캡슐, 및 젤라틴 및 가소제 (예를 들어, 글리세롤 또는 소르비톨)로 제조된 연질 밀봉 캡슐을 포함한다. 상기 압입식 캡슐은 충전제 (예를 들어, 락토오스), 결합제 (예를 들어, 전분), 및/또는 윤활제 (예를 들어, 활석 또는 스테아르산마그네슘), 및 임의로 안정화제와의 혼합물로서 활성 성분을 함유할 수 있다. 연질 캡슐에서, 활성 화합물은 적합한 액체, 예를 들어 지방 오일, 액체 과라핀, 또는 액체 폴리에틸렌 글리콜(PEG)에 용해되거나 현탁될 수 있다. 또한, 안정화제를 첨가할 수도 있다.

치료 또는 예방할 특정 증상 또는 질환 상태에 따라, 상기 증상을 치료하거나 예방하기 위해 통상 투여되는 추가의 치료제를 본 발명의 저해제와 함께 투여할 수 있다. 예를 들어, 화학요법제 또는 다른 항-증식제를 증식성 질환 또는 암을 치료하기 위해 본 발명의 저해제와 배합할 수 있다. 공지된 화학요법제의 예에는, 아드리아마이신, 텍사메타손, 빈크리스틴, 사이클로포스파미드, 플루오로우라실, 토포테칸, 탁솔, 인터페론 및 백금 유도체가 포함되나, 이들로 제한되지 않는다.

본 발명의 저해제와 또한 배합될 수 있는 다른 제제들의 예로는, 제한없이, 소염제, 예를 들어 코르티코스테로이드, TNF (종양괴사인자) 차단제, IL-1(인터류킨-1) RA, 아자티오프린, 사이클로포스파미드 및 설파살라진; 면역조절 및 면역억제제, 예를 들어 사이클로스포린, 타크롤리무스, 라파마이신, 마이코페놀레이트 모페틸, 인터페론, 코르티코스테로이드, 시클로포스파미드, 아자티오프린 및 설파살라진; 항신경 인자, 예를 들어 아세틸콜린에스터라제 저해제, MAO(모노아민 산화효소) 저해제, 인터페론, 항경련제, 이온 채널 차단제, 탈루졸, 및 항-파킨슨병약; 심혈관 질환을 치료하기 위한 제제, 예를 들어 베타-차단제, ACE(안지오텐신 전환효소) 저해제, 이뇨제, 질산염, 칼슘 채널 차단제, 및 스타틴; 간 질환을 치료하기 위한 제제, 예를 들어 코르티코스테로이드, 콜레스티라민, 인터페론, 및 항바이러스제; 혈액 질환을 치료하기 위한 제제, 예를 들어 코르티코스테로이드, 항백혈병제, 및 성장 인자; 당뇨병을 치료하기 위한 제제, 예를 들어 인슐린, 인슐린 유사체, 알파 글루코시다제 저해제, 바이구아니드 및 인슐린 민감제; 및 면역결핍 질환을 치료하기 위한 제제, 예를 들어 감마 글로불린을 포함한다.

이들 추가의 제제들은 본 발명의 저해제-함유 조성물과 별도로, 다중 투여 요법의 일부로 투여될 수 있다. 별법으로, 이들 제제는 단일 조성물 중의 본 발명의 저해제와 혼합된, 단일 투여형의 일부일 수 있다.

본 발명은 본 발명의 단일 양태들을 설명하기 위해 제공된, 예시된 실시태양들에 의해 그 범위가 제한되지 않는다. 사실, 본원에 개시된 실시태양들에 더하여 본 발명의 다양한 변형양태들이 상기 기재내용으로부터 당업자에게 자명할 것이다. 이러한 변형양태들은 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 이해된다. 더구나, 본 발명의 임의의 실시태양의 임의의 하나 이상의 특징들은, 본 발명의 범위를 벗어나지 않는 한, 본 발명의 임의의 다른 실시태양의 임의의 하나 이상의 다른 특징들과

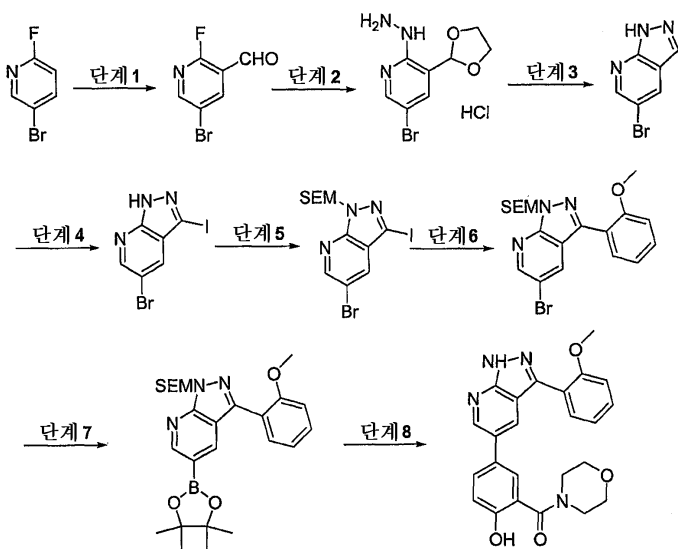
조합될 수 있다. 예를 들어, 융합 고리 헤테로사이클 키나제 조절제 부분에 기재된 융합 고리 헤테로사이클 키나제 조절제는 본원에 기재된 치료 방법 및 키나제 저해 방법에 동등하게 적용될 수 있다. 본원 전체에 걸쳐 인용된 참고문헌들은 당분야 기술수준의 예들이며, 앞에서 구체적으로 인용되었는지 여부에 관계없이 모든 목적을 위해서 그 전체가 본원에 참고로 인용된다.

실시예

하기 실시예는 청구된 본 발명을 설명하기 위해 제공된 것이지만, 이를 제한하기 위함이 아니다. 본 발명의 실시태양들의 제조 방법이 하기 실시예 기재되어 있다. 당업자라면 이하에 제공된 화학 반응 및 합성 방법들을 변형하여 본 발명의 많은 다른 화합물들을 제조할 수 있음을 이해할 것이다. 본 발명의 화합물이 예시되어 있지 않은 경우, 당업자는 이러한 화합물들을 본원에 제시된 합성 방법들을 변형시키고 당분야에 공지된 합성 방법들을 사용함으로써 제조할 수 있음을 인지할 것이다.

화합물의 합성:

방법 1:



단계 1: 5-브로모-2-플루오로-피리딘-3-카르보알데히드의 합성

무수 THF (40 mL) 중의 리튬 디-*o*-소-프로필아민 (5 mL, 35 mmol)의 용액을 질소하에 -78°C 로 냉각시키고 *n*-부틸 리튬 (헥산 중 2.5 M, 12 mL, 30 mmol)을 첨가하였다. 그다음 혼합물을 15분간 -78°C 에서 교반한 후, 5-브로모-2-플루오로-피리딘 (5 g, 28 mmol)을 첨가하였다. 그다음 생성된 혼합물을 90분간 -78°C 에서 교반하였다. *N*-포르밀피페리딘 (4 mL, 36 mmol)을 상기 현탁액에 -78°C 에서 매우 급속히 첨가하고, 혼합물을 60초간 격렬히 교반하였다. 10 % (중량/부피(w/v)) 시트르산 수용액을 첨가하여 반응을 즉시 퀸칭시켰다. 혼합물을 실온으로 가온시키고 물과 디클로로메탄 사이에 분배시켰다. 수상을 디클로로메탄으로 3회 추출하고, 유기상을 합쳤으며, 황산나트륨상에서 건조시키고 여과시키고 농축시켰다. 조질 생성물을 사이클로헥산으로부터 결정화시켜 얻은 베이지색 조각 결정으로서 5-브로모-2-플루오로-피리딘-3-카르보알데히드 (2.993 g, 52 % 수율)를 수득하였다.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, d_6 -DMSO) δ 10.07 (s, 1H),

8.70 (dd, 1H), 8.55 (dd, 1H). MS: m/z 236, 238 [MNa^+], 204, 206 [MH^+], 176, 178 [MH-CO^+].

단계 2 및 3: 5-브로모-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘의 합성

5-브로모-2-플루오로-피리딘-3-카르보알데히드 (13.66 g, 66.96 mmol), 피나콜 (8.75 g, 74.0 mmol) 및 *para*-톨루엔 설폰산 일수화물 (1.50 g, 7.89 mmol)을 딘-스타크(DEAN-STARK)-응축기가 장착된 플라스크에 넣고 무수 벤젠 (400 mL)에 용해시켰다. 혼합물을 환류 가열하고 증류액이 투명하게 잔존할 때까지 용매를 유거시켰으며 잔존 부피는 대략

200 ml이었다. 혼합물을 에틸 아세테이트 (300 mL)로 희석하고 중탄산나트륨 포화 수용액 및 염수로 세척한 후, 황산나트륨상에서 건조시키고 여과시키고 농축시켰다. 생성된 잔류물을 에탄올 (400 mL) 및 디-*o*/소-프로필-에틸-아민 (25 mL)의 혼합물에 용해시켰다. 무수 하이드라진 (15 ml, 0.48 mol)을 이어서 첨가하고 생성된 혼합물을 4시간 동안 환류 조건하에서 교반하였다. 그다음 혼합물을 건조 상태로 농축시키고 생성된 잔류물을 물 및 톨루엔 사이에 분배시켰다. 유기상을 염수로 2회 세척하고, 황산나트륨상에서 건조시키고, 여과시키고 농축시켰다. 잔류물을 무수 에테르 (700 mL)에 용해시키고 무수 에테르 중의 염화수소 (2M, 70 mL)를 격렬히 교반된 용액에 천천히 첨가하였다. 침전물을 여거하고 에테르 및 헥산으로 세척한 후, 진공하에 건조시켰다.

¹H-NMR (500 MHz, *d*₆-DMSO) δ

10.31 (s, br, 1H), 8.86 (s, 1H), 8.37 (d, 1H), 7.88 (d, 1H), 6.08 (s, 1H), 3.56 (s, br), 1.27 (s, 6H), 1.19 (s, 6H). MS: *m/z* 198, 200 [MH⁺].

상기 고체를 물 (500 mL), 에탄올 (200 mL) 및 진한 수성 염산 (50 mL)의 혼합물에 50 내지 65 °C에서 용해시켰다. 그다음 혼합물을 실온에서 16시간 동안 교반한 후, 중탄산나트륨으로 pH = 8로 중화시켰다. 생성된 침전물을 여거하고 수상을 에틸 아세테이트로 3회 추출하였다. 합친 유기상을 염수로 세척하고, 황산나트륨상에서 건조시키고 여과시키고 농축시켰다. 생성된 잔류물 및 수득된 침전물을 에탄올로부터 결정화시켜 결정질 베이지색 내지 옅은 올리브색 고체로서 5-브로모-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘 (6.615 g, 50 % 수율)을 수득하였다.

¹H-NMR (500 MHz, *d*₆-DMSO) δ

13.91 (s, 1H), 8.60 (d, 1H), 8.54 (d, 1H), 8.16 (s, br, 1H). MS: *m/z* 198, 200 [MH⁺].

단계 4: 5-브로모-3-요오도-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘의 합성

5-브로모-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘 (3.00 g, 15.2 mmol) 및 N-요오도숙신이미드 (3.60 g, 16.0 mmol)를 무수 디클로로에탄 (100 mL)에 용해시켰다. 생성된 혼합물을 6시간 동안 환류 조건하에 교반하고, 실온으로 냉각시켰으며, THF (300 mL)로 희석하였다. 생성된 용액을 중탄산나트륨 포화 수용액 (100 mL) 및 염수로 세척한 후, 황산마그네슘상에서 건조시키고, 여과시키고 농축시켰다. 잔류물을 디클로로메탄 및 에테르의 1:1 혼합물 및 이어서 에테르로 부순 후, 진공하에 건조시켜 베이지-갈색 고체로서 5-브로모-3-요오도-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘 (3.795 g, 77 % 수율)을 수득하였다.

¹H-NMR (500 MHz, *d*₆-DMSO) δ

14.31 (s, 1H), 8.65 (d, 1H), 8.20 (d, 1H). MS: *m/z* 323, 325 [MH⁺].

단계 5: 5-브로모-3-요오도-1-(2-트리메틸실라닐-에톡시메틸)-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘의 합성

질소하에 5-브로모-3-요오도-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘 (2.68 g, 8.27 mmol)을 무수 DMF (40 mL)에 용해시켰다. 이 용액을 0-5 °C로 냉각시키고 추가로 첨가하여도 수소가 발생하지 않을 때까지 과량의 무수 수소화나트륨을 첨가하였다. 생성된 현탁액에 0 내지 5 °C에서 2-트리메틸실라닐-에톡시메틸클로라이드 (2.5 ml, 14 mmol)를 적가하였다. 생성된 혼합물을 1시간 동안 0 °C에서 교반한 후, 메탄올 및 이어서 염화암모늄 포화 수용액을 첨가하여 킨칭시켰다. 그다음 혼합물을 감압하에 50 °C에서 건조 상태로 농축시켰다. 생성된 잔류물을 물, 염수 및 디클로로메탄 사이에 분배시켰다. 그다음 수상을 디클로로메탄으로 추출하고 합친 유기상을 황산나트륨상에서 건조시켰으며 여과시키고 농축시켰다. 조질 생성물을 헥산 중의 에틸 아세테이트 구배를 사용하여 플래쉬 실리카겔 크로마토그래피에 의해 정제하여 베이지색 내지 갈색 고체로서 5-브로모-3-요오도-1-(2-트리메틸실라닐-에톡시메틸)-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘 (2.929 g, 78 % 수율)을 수득하였다.

¹H-NMR (500

MHz, *d*₆-DMSO) δ 8.85 (d, 1H), 8.40 (d, 1H), 5.85 (s, 2H), 3.69 (t, 2H), 0.92 (t, 2H), 0.11 (s, 9H).

단계 6: 5-브로모-3-(2-메톡시-페닐)-1-(2-트리메틸실라닐-에톡시메틸)-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘의 합성

아세트니트릴 (8 mL) 및 탄산나트륨 수용액 (2M, 8 mL) 중의 5-브로모-3-요오도-1-(2-트리메틸실라닐-에톡시메틸)-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘 (1.606 g, 3.537 mmol), 2-메톡시-페닐-보론산 (575 mg, 3.78 mmol) 및 1,1'-비스(디페닐포스포노)페로센팔라듐(II)-디클로라이드 디클로로메탄 부가물 (145 mg, 0.178 mmol)의 혼합물을 밀폐된 바이얼

(vial)에서 100분간 85 °C에서 교반하였다. 생성된 혼합물을 그다음 중탄산나트륨 포화 수용액 및 디클로로메탄 사이에 분배시키고 수상을 디클로로메탄으로 3회 추출하였다. 합친 유기상을 황산나트륨상에서 건조시키고 여과시키고 농축시켰다. 조질 생성물을 헥산 중의 에틸 아세테이트 구배를 사용하여 플래쉬 실리카겔 크로마토그래피에 의해 정제하여 회백색 오일로서 5-브로모-3-(2-메톡시-페닐)-1-(2-트리메틸실라닐-에톡시메틸)-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘 (1.002 g, 65 % 수율)을 수득하였다.

¹H-NMR (500 MHz, *d*₆-DMSO) δ 8.70 (d, 1H), 8.40 (d, 1H), 7.61 (d, 1H), 7.50 (ddd, 1H), 7.23 (dd, 1H), 7.10 (ddd, 1H), 5.81 (s, 2H), 3.85 (s, 3H), 3.66 (t, 2H), 0.84 (t, 2H), -0.10 (s, 9H). MS: *m/z* 456, 458 [MNa⁺].

단계 7: 3-(2-메톡시-페닐)-5-(4,4,5,5-테트라메틸-[1,3,2]디옥사보롤란-2-일)-1-(2-트리메틸실라닐-에톡시메틸)-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘의 합성

비스(피나콜라토)디보론 (1.20 g, 4.73 mmol), 1,1'-비스(디페닐포스포노)페로센팔라듐(II)-디클로라이드 디클로로메탄 부가물 (100 mg, 0.122 mmol) 및 무수 아세트산나트륨 (625 mg, 7.62 mmol)을 질소 플러싱된(flushed) 바이얼에 넣었다. 여기에 무수 DMF (15 mL) 중의 5-브로모-3-(2-메톡시-페닐)-1-(2-트리메틸실라닐-에톡시메틸)-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘 (1.002 g, 2.307 mmol)의 용액을 첨가하였다. 생성된 혼합물을 130 °C에서 60분간 퍼스널 케미스트리 옵티마이저(Personal Chemistry Optimizer)에서 조사한 후, 감압하에 50 °C에서 농축시켰다. 생성된 잔류물을 에테르 및 염수 사이에 분배시키고 수상을 에테르로 추출하였다. 유기상을 합치고, 황산나트륨상에서 건조시키고 여과시키고 농축시켰다. 조질 생성물을 이어서 헥산 중의 에틸 아세테이트 구배를 사용하여 플래쉬 실리카겔 크로마토그래피에 의해 정제하여 엷은 올리브-녹색 고체로서 3-(2-메톡시-페닐)-5-(4,4,5,5-테트라메틸-[1,3,2]디옥사보롤란-2-일)-1-(2-트리메틸실라닐-에톡시메틸)-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘 (1.370 g, 123 % 수율)을 수득하였다.

¹H-NMR (500 MHz, *d*₆-DMSO) δ 8.76 (d, 1H), 8.40 (d, 1H), 7.59 (dd, 1H), 7.51 (ddd, 1H), 7.25 (m, 1H), 7.12 (ddd, 1H), 5.84 (s, 2H), 3.82 (s, 3H), 3.67 (t, 2H), 1.33 (s, 12H), 0.84 (t, 2H), -0.10 (s, 9H).

단계 8: {2-하이드록시-5-[3-(2-메톡시-페닐)-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘-5-일]-페닐}-모르폴린-4-일-메타노에이트의 합성

아세트ونی트릴 (2 mL) 및 탄산나트륨 수용액 (2 M, 2 mL) 중의 3-(2-메톡시-페닐)-5-(4,4,5,5-테트라메틸-[1,3,2]디옥사보롤란-2-일)-1-(2-트리메틸실라닐-에톡시메틸)-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘 (100 mg, 0.21 mmol), (5-브로모-2-하이드록시-페닐)-모르폴린-4-일-메타노에이트 (66 mg, 0.23 mmol) 및 1,1'-비스(디페닐포스포노)페로센팔라듐(II)-디클로라이드 디클로로메탄 부가물 (9 mg, 11 μmol)의 혼합물을 130 °C에서 20분간 퍼스널 케미스트리 옵티마이저에서 조사하였다. 조질 반응 혼합물을 디클로로메탄 및 중탄산나트륨 포화 수용액 사이에 분배시켰다. 수상을 그다음 디클로로메탄으로 추출하고 합친 유기상을 황산나트륨상에서 건조시키고 여과시키고 농축시켰다. 조질 생성물을 이어서 헥산 중의 에틸 아세테이트의 구배를 사용하여 플래쉬 실리카겔 크로마토그래피에 의해 정제하여 무색 고체로서 {2-하이드록시-5-[3-(2-메톡시-페닐)-1-(2-트리메틸실라닐-에톡시메틸)-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘-5-일]-페닐}-모르폴린-4-일-메타논 (35 mg, 30 % 수율)을 수득하였다.

¹H-NMR (500 MHz, *d*₆-DMSO) δ 8.86 (d, 1H), 8.27 (d, 1H), 7.64 (dd, 1H), 7.62 (dd, 1H), 7.54 (d, 1H), 7.49 (ddd, 1H), 7.24 (d, br, 1H), 7.11 (ddd, 1H), 7.00 (d, 1H), 5.84 (s, 2H), 3.84 (s, 3H), 3.69 (t, 2H), 3.7-3.2 (m, 8H), 0.86 (t, 2H), -0.08 (s, 9H). MS: *m/z* 583 [MNa⁺], 561 [MH⁺], 443 [MH⁺-(Me₃Si(CH₂)₂O)]

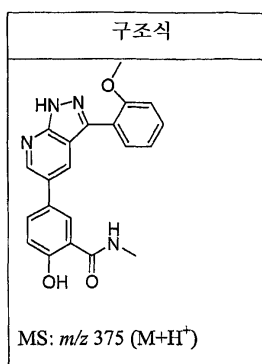
디클로로메탄 (15 mL) 중의 {2-하이드록시-5-[3-(2-메톡시-페닐)-1-(2-트리메틸실라닐-에톡시메틸)-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘-5-일]-페닐}-모르폴린-4-일-메타논 (34 mg, 61 μmol)의 용액을 0-5 °C로 냉각시키고 보론 트리플루오라이드 디에틸 에테레이트 (100 μl, 0.8 mmol)를 첨가하였다. 그다음 혼합물을 40분간 0-5 °C에서 교반한 후, 10 mL의 10 % (w/v) 수산화칼륨 용액을 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 1시간 동안 추가로 교반하였다. 그다음 pH를 시트르산을 첨가하여 대략 3-4로 조정하고 수상을 황산나트륨으로 포화시켰다. 생성된 혼합물을 디클로로메탄 (3x)으로 추출하였다.

유기상을 합치고, 중탄산나트륨 포화 수용액으로 세척하였으며, 황산나트륨상에서 건조시키고 증발시켜 무색 고체로서 {2-하이드록시-5-[3-(2-메톡시-페닐)-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘-5-일]-페닐}-모르폴린-4-일-메타논 (11.5 mg, 44 % 수율)을 수득하였다.

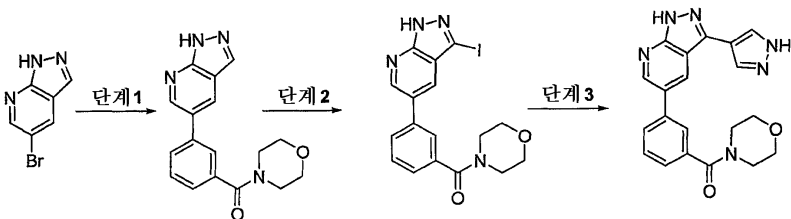
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, d_6 -DMSO) δ 13.76 (s, 1H), 10.06 (s, 1H), 8.78 (d, 1H), 8.23 (d, 1H), 7.64 (dd, 1H), 7.62 (dd, 1H), 7.51 (d, 1H), 7.46 (ddd, 1H), 7.22 (d, 1H), 7.10 (t, 1H), 6.99 (d, 1H), 3.84 (s, 3H), 3.7-3.2 (m, 8H). MS: m/z 431 [MH^+].

방법 1에 의해 제조된 다른 화합물들:

[표 1]



방법 2:



단계 1: 모르폴린-4-일-[3-(1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘-5-일)-페닐]-메타논의 합성

디메톡시에탄 (8 mL) 및 중탄산나트륨 포화 수용액 (8 mL) 중의 5-브로모-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘 (1.50 g, 7.57 mmol), 3-(모르폴린-4-카르보닐)페닐보론산 (2.136 g, 9.09 mmol) 및 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐(0) (435 mL, 0.376 mmol)의 혼합물을 175 °C에서 60분간 퍼스널 케미스트리 옵티마이저에서 조사하였다. 조질 반응 혼합물을 디클로로메탄 및 중탄산나트륨 포화 수용액 사이에 분배시켰다. 수상을 이어서 디클로로메탄, 및 그다음 에틸 아세테이트로 추출하고, 합친 유기상을 황산나트륨상에서 건조시키고 여과시키고 농축시켜 80 % 모르폴린-4-일-[3-(1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘-5-일)-페닐]-메타논 (2.30 g, 80 % 수율) 및 20 % 트리페닐포스핀 옥사이드를 함유하는 담록색 발포체를 수득하였다.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, d_6 -DMSO) δ 13.75 (s, 1H), 8.87 (d, 1H), 8.54 (d, 1H), 8.21 (d, 1H), 7.85 (m, 1H), 7.77 (m, 1H), 7.58 (t, 1H), 7.41 (m, 1H).

단계 2: [3-(3-요오도-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘-5-일)-페닐]-모르폴린-4-일-메타논의 합성

모르폴린-4-일-[3-(1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘-5-일)-페닐]-메타논 (2.30 g, 80 % 순수, 약 6 mmol) 및 N-요오도숙신이미드 (2.50 g, 11.1 mmol)를 디클로로에탄 (180 mL)에 용해시켰다. 혼합물을 5시간 동안 환류 조건하에 교반한 후, 실온으로 냉각시키고 디클로로메탄으로 희석하였다. 상기 용액을 티오황산나트륨 포화 수용액 (1x)으로 세척한 후, 브롬화나트륨 포화 수용액 (2x)으로 세척하고, 황산나트륨상에서 건조시키고 여과시키고 농축시켰다. 생성된 잔류물을 에테르 (80 mL)로 세척하고 건조시켜 베이시색 분말로서 [3-(3-요오도-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘-5-일)-페닐]-모르폴린-4-일-메타논 (2단계에 걸쳐 2.881 g, 88% 수율)을 수득하였다.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, d_6 -DMSO) δ 14.19 (s, 1H), 8.92 (d, 1H), 8.14 (d, 1H), 7.91 (m, 1H), 7.83 (m, 1H), 7.59 (ddd, 1H), 7.44 (dt, 1H), 3.75-3.35 (m, 8H).

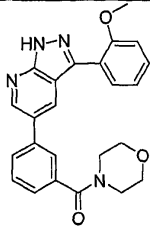
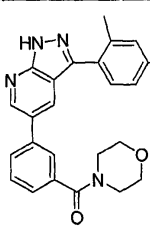
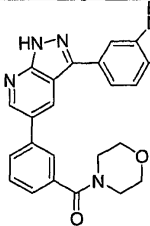
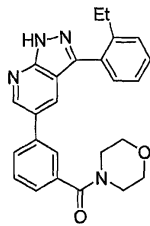
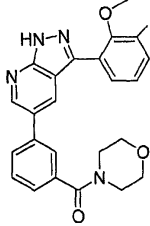
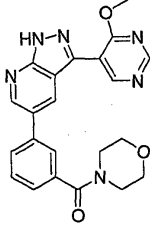
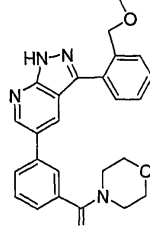
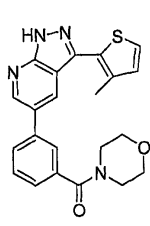
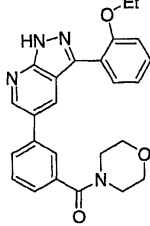
단계 3: 모르폴린-4-일-{3-[3-(1H-피라졸-4-일)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일]-페닐}-메탄의 합성

아세트니트릴 (2 mL) 및 2 M 탄산나트륨 용액 (1 mL) 중의 [3-(3-요오도-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일)-페닐]-모르폴린-4-일-메탄 (25 mg, 58 μmol), 1,1'-비스(디페닐포스포노)페로센팔라듐(II)-디클로라이드 디클로로메탄 부가물 (5 mg, 6 μmol) 및 1H-피라졸-4-일보론산 (11 mg, 98 μmol)의 혼합물을 175 $^{\circ}\text{C}$ 에서 30 분간 퍼스널 케미스트리 업티마이저에서 조사하였다. 조질 반응 혼합물을 물 (1 mL) 및 에틸 아세테이트 (3 mL)로 희석하고, 유기상을 분리하고 여과시키고 농축시켰다. 생성된 조질 혼합물을 그다음 0.1 % 포름산을 함유하는 수중 아세트니트릴의 구배를 사용하여 질량-촉발성 역상 HPLC에 의해 정제하여 무색 분말로서 모르폴린-4-일-{3-[3-(1H-피라졸-4-일)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일]-페닐}-메탄 (6.2 mg, 29% 수율)을 수득하였다.

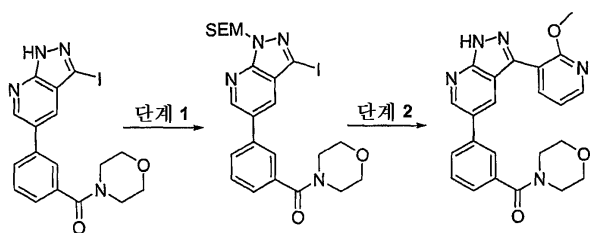
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, d_6 -DMSO) δ 13.59 (s, 1H), 13.17 (s, 1H), 8.87 (d, 1H), 8.73 (d, 1H), 8.60 (s, br, 1H), 8.17 (s, br, 1H), 7.95 (ddd, 1H), 7.89 (t, 1H), (t, 1H), 7.59 (t, 1H), 7.43 (ddd, 1H), 3.80-3.35 (m, 8H). MS: m/z 397 [MNa^+], 375 [MH^+].

방법 2에 의해 제조된 다른 화합물들:

[표 2]

구조식	구조식	구조식
 MS: m/z 415 ($\text{M}+\text{H}^+$)	 MS: m/z 417 ($\text{M}+\text{H}^+$)	 MS: m/z 424 ($\text{M}+\text{H}^+$)
 MS: m/z 413 ($\text{M}+\text{H}^+$)	 MS: m/z 433 ($\text{M}+\text{H}^+$)	 MS: m/z 447 ($\text{M}+\text{H}^+$)
 MS: m/z 429 ($\text{M}+\text{H}^+$)	 MS: m/z 405 ($\text{M}+\text{H}^+$)	 MS: m/z 429 ($\text{M}+\text{H}^+$)

방법 3:



단계 1: {3-[3-요오도-1-(2-트리메틸실라닐-에톡시메틸)-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘-5-일]-페닐}-모르폴린-4-일-메타논의 합성

무수 DMF (30 mL) 중의 [3-(3-요오도-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘-5-일)-페닐]-모르폴린-4-일-메타논 (2.12 g, 4.88 mmol)의 용액에 0-5 °C에서 수소화나트륨 (광유 중의 60 %, 750 mg, 30 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 수분간 교반한 후, 트리메틸실릴에톡시메틸 클로라이드 (2.0 ml, 11 mmol)를 동일 온도에서 적가하였다. 혼합물을 0 °C 내지 실온에서 4시간 동안 교반한 후, 0-5 °C로 냉각시키고, 메탄올을 첨가하여 켄칭시켰다. 생성된 현탁액을 이어서 물, 염화암모늄 포화 수용액 및 에테르 사이에 분배시켰다. 수상을 에테르로 3회 추출하고 합친 유기상을 황산나트륨상에서 건조시키고 여과시키고 농축시켰다. 조질 생성물을 이어서 핵산 중의 에틸 아세테이트의 구배를 사용하여 실리카겔 크로마토그래피에 의해 정제하여 베이지-갈색 발포체로서 {3-[3-요오도-1-(2-트리메틸실라닐-에톡시메틸)-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘-5-일]-페닐}-모르폴린-4-일-메타논을 수득하였다 (1.806 g, ¹H-NMR에 의해 측정시 66 %, 부산물은 모르폴린-4-일-{3-[2-(2-트리메틸실라닐-에톡시메틸)-2*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘-5-일]-페닐}-메타논)으로 확인되었다).

¹H-

NMR (500 MHz, *d*₆-DMSO) δ 9.08 (d, 1H), 8.29 (d, 1H), 8.01 (m, 1H), 7.95 (t, br, 1H), 7.69 (t, 1H), 7.55 (d, br, 1H), 5.88 (s, 2H), 3.71 (t, 2H), 3.85-3.45 (m, 8H), 0.94 (t, 2H), -0.2 (s, 9H). MS: *m/z* 565 [MNa⁺], 537 [MH⁺], 447 [MH⁺-(Me₃Si(CH₂)₂O)].

단계 2: {3-[3-(2-메톡시-피리딘-3-일)-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘-5-일]-페닐}-모르폴린-4-일-메타논의 합성

아세트니트릴 (2 mL) 및 2 M 탄산나트륨 용액 (1 mL) 중의 {3-[3-요오도-1-(2-트리메틸실라닐-에톡시메틸)-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘-5-일]-페닐}-모르폴린-4-일-메타논 (33 mg, 66 % 순수, 38 μmol), 1,1'-비스(디페닐포스포노)페로센팔라듐(II)-디클로라이드 디클로로메탄 부가물 (5 mg, 6 μmol) 및 3-트리플루오로메틸페닐보론산 (14 mg, 92 μmol)의 혼합물을 175 °C에서 20분간 퍼스널 케미스트리 옵티마이저에서 조사하였다. 조질 반응 혼합물을 브롬화나트륨 포화 수용액 (1 mL) 및 에틸 아세테이트 (4 mL)로 희석하고 유기상을 포화시켰으며, 실리카상에 흡착시키고 핵산 중의 에틸 아세테이트 구배를 사용하여 플래쉬 실리카겔 크로마토그래피에 의해 정제하여 회백색 잔류물로서 {3-[3-(2-메톡시-피리딘-3-일)-1-(2-트리메틸실라닐-에톡시메틸)-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘-5-일]-페닐}-모르폴린-4-일-메타논 (24 mg, 116 % 수율)을 수득하였다.

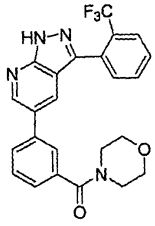
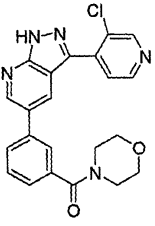
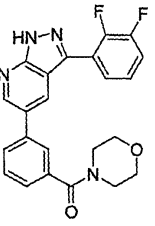
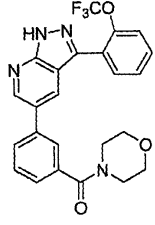
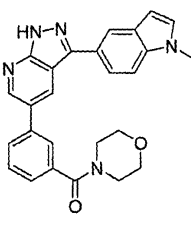
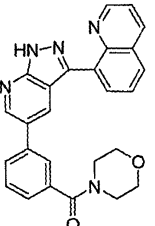
MS: *m/z* 568 [MNa⁺], 546 [MH⁺], 428 [MH⁺-(Me₃Si(CH₂)₂O)]

이 잔류물을 THF (2 ml)에 용해시키고 활성화된 4 Å 분자체를 상기 혼합물에 첨가하였다. THF 중의 테트라-*n*-부틸암모늄 플루오라이드 (1 M 용액, 0.5 ml, 0.5 mmol)를 첨가하고 혼합물을 70 °C에서 26시간 동안 교반하였다. 혼합물을 실온으로 냉각시키고 1 ml의 양이온 교환 수지 (앰버리스트, Na⁺-형태)를 첨가하였으며 혼합물을 40분간 진탕시켰다. 그다음 상기 수지 및 체를 디클로로메탄 및 메탄올로 세척하면서 여거하고 수득된 여액을 농축시켰다. 잔류물을 에틸 아세테이트에 용해시키고 에틸 아세테이트 중의 15 % (v/v) 메탄올을 함유하는 에틸 아세테이트의 구배를 사용하여 실리카겔상에서 플래쉬 크로마토그래피에 의해 정제하였다. 생성물 분획을 합치고 농축시키고 0.1 % 포름산을 함유하는 수중 아세트니트릴 구배를 사용하여 질량-촉발성 역상 HPLC에 의해 정제하여 무색 고체로서 {3-[3-(2-메톡시-피리딘-3-일)-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘-5-일]-페닐}-모르폴린-4-일-메타논 (3.2 mg, 20 % 수율)을 수득하였다.

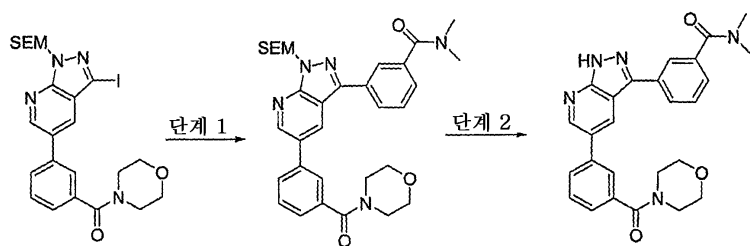
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, d_6 -DMSO) δ 14.01 (s, 1H), 8.91 (d, 1H), 8.51 (d, 1H), 8.31 (dd, 1H), 8.11 (dd, 1H), 7.87 (ddd, 1H), 7.80 (t, 1H), 7.59 (t, 1H), 7.43 (dt, 1H), 7.18 (dd, 1H), 3.97 (s, 3H), 3.70-3.35 (m, 8H). MS: m/z 416 [MH^+].

방법 3에 의해 제조된 다른 화합물들:

[표 3]

구조식	구조식	구조식
 MS: m/z 453 ($\text{M}+\text{H}^+$)	 MS: m/z 420 ($\text{M}+\text{H}^+$)	 MS: m/z 421 ($\text{M}+\text{H}^+$)
 MS: m/z 469 ($\text{M}+\text{H}^+$)	 MS: m/z 438 ($\text{M}+\text{H}^+$)	 MS: m/z 436 ($\text{M}+\text{H}^+$)

방법 4:



단계 1: N,N-디메틸-3-(5-(3-(모르폴린-4-카르보닐)페닐)-1-((2-(트리메틸실릴)에톡시)메틸)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-3-일)벤즈아미드의 합성

아세트ونی트릴 (1 mL) 중의 (3-(3-요오도-1-((2-(트리메틸실릴)에톡시)메틸)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일)페닐) (모르폴리노)메탄올 (50 mg, 0.089 mmol), 3- (디메틸카르바모일)페닐보론산 (34 mg, 0.177 mmol), 디클로로메탄과의 [1,1'-비스(디페닐포스피노)페로센]디클로로팔라듐(II) 착체 (3.6 mg, 0.0045 mmol) 및 탄산나트륨 (2 M 수용액, 0.134 mL, 0.267 mmol)의 혼합물을 퍼스널 마이크로웨이브(Personal microwave)에서 90 °C에서 30분간 가열하였다. 생성된 혼합물을 물로 희석하고 에틸 아세테이트로 추출하였다. 유기층을 합치고, 황산나트륨상에서 건조시키고 여과시키고 건조 상태로 농축시켰다. 조질 생성물을 실리카겔 크로마토그래피 정제하여 투명 오일로서 N,N-디메틸-3-(5-(3-(모르폴린-4-카르보닐)페닐)-1-((2-(트리메틸실릴)에톡시)메틸)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-3-일)벤즈아미드를 수득하였다.

MS: m/z 586.2 [$\text{M}+\text{H}^+$].

단계 2: N,N-디메틸-3-(5-(3-(모르폴린-4-카르보닐)페닐)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-3-일)벤즈아미드의 합성

에틸 아세테이트 (1 mL) 중의 5 % 과염소산 중의 N,N-디메틸-3-(5-(3-(모르폴린-4-카르보닐)페닐)-1-((2-(트리메틸실릴)에톡시)메틸)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-3-일)벤즈아미드의 용액을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 그다음 중탄산나트륨 포화 용액을 상기 용액에 pH가 약 8이 될 때까지 첨가하고 혼합물을 실온에서 24시간 동안 교반하였다. 그다음 에틸 아세테이트를 추출에 사용하고 유기층을 합쳤으며, 황산나트륨상에서 건조시키고 여과시키고 건조 상태로 농축시켰다. 질량 촉발성 역상 HPLC 정제하여 밝은 황색 고체로서 N,N-디메틸-3-(5-(3-(모르폴린-4-카르보닐)페닐)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-3-일)벤즈아미드 (2단계에 걸쳐 7.4 mg, 18 % 수율)를 수득하였다.

¹H NMR (500

MHz, CDCl₃) δ 2.99 (s, 3H), 3.10 (s, 3H), 3.46 (br, 2H), 3.61 (br, 2H), 3.76 (br, 4H), 7.40

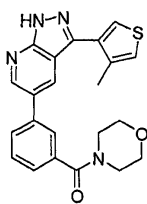
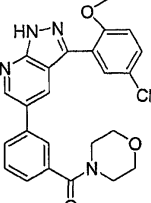
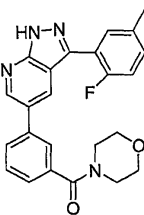
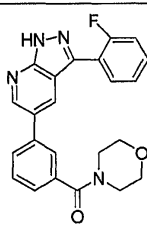
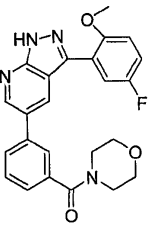
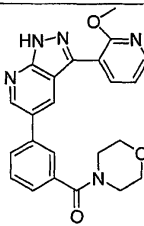
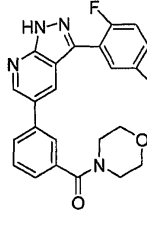
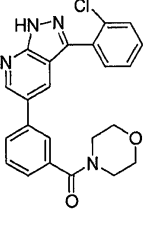
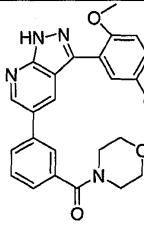
(d, J = 7.0 Hz, 1H), 7.47 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.52 (m, 2H), 7.64 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 7.68 (s,

1H), 7.98 (m, 2H), 8.62 (s, 1H), 8.85 (br, 1H). MS: m/z 456.1 (M+H⁺).

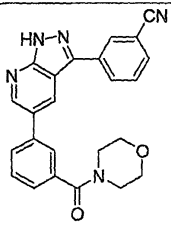
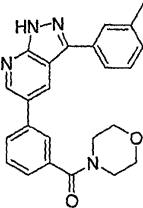
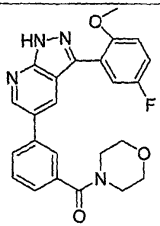
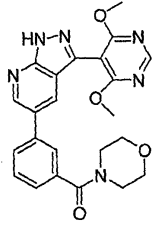
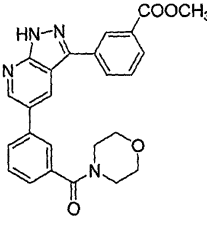
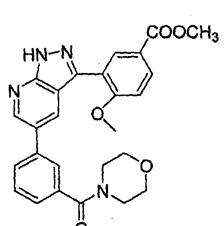
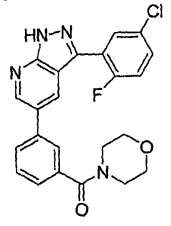
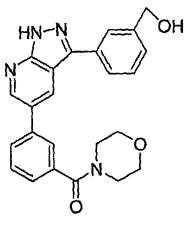
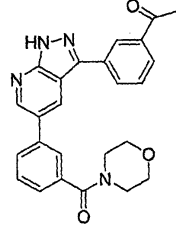
방법 4에 의해 제조된 다른 화합물들:

단계 2의 조건은 하기 표에서 화합물들에 따라 다양할 수 있다. 때때로 중탄산나트륨 대신 탄산나트륨이 필요할 수 있으며, 반응 시간이 30분 내지 24시간으로 다양하다.

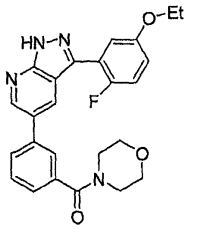
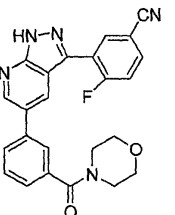
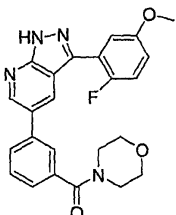
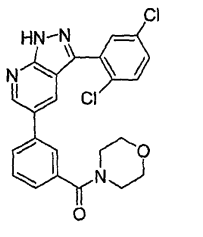
[표 4a]

구조식	구조식	구조식
 MS: m/z 405.1 (M+H⁺)	 MS: m/z 449.0 (M+H⁺)	 MS: m/z 417.1 (M+H⁺)
 MS: m/z 403.1 (M+H⁺)	 MS: m/z 433.1 (M+H⁺)	 MS: m/z 416 (M+H⁺)
 MS: m/z 421.1 (M+H⁺)	 MS: m/z 419.1 (M+H⁺)	 MS: m/z 449 (M+H⁺)

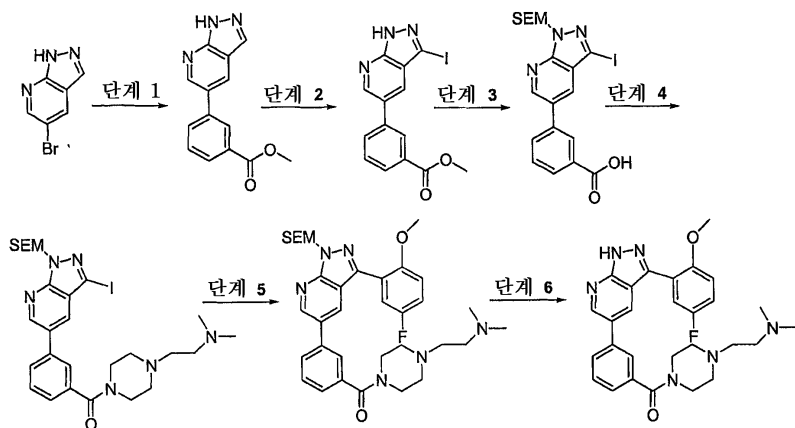
[표 4b]

구조식	구조식	구조식
 MS: m/z 410.1 ($M+H^+$)	 MS: m/z 399.1 ($M+H^+$)	 MS: m/z 433($M+H^+$)
 MS: m/z 447.1 ($M+H^+$)	 MS: m/z 443.1 ($M+H^+$)	 MS: m/z 473.1 ($M+H^+$)
 MS: m/z 437.0 ($M+H^+$)	 MS: m/z 415.1 ($M+H^+$)	 MS: m/z 427.1 ($M+H^+$)

[표 4c]

구조식	구조식	구조식
 MS: m/z 447.1 ($M+H^+$)	 MS: m/z 428.0 ($M+H^+$)	 MS: m/z 433.1 ($M+H^+$).
 MS: m/z 453.0 ($M+H^+$)		

방법 5:



단계 1: 메틸 3-(1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘-5-일)벤조에이트의 합성

디옥산/물 (40 mL/10 mL) 중의 5-브로모-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘 (2.00 g, 10.10 mmol), 3-(메톡시카르보닐)페닐 보론산 (2.20 g, 12.12 mmol), 중탄산나트륨 (2.2 g, 6.00 mmol), 및 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐(0) (0.250 g, 0.202 mmol)의 혼합물을 110 °C에서 15시간 동안 교반하였다. 그다음 혼합물을 빙수에 붓고 에틸 아세테이트 (3X)로 추출하였다. 유기층을 합치고 황산나트륨상에서 건조시키고 여과시키고 건조 상태로 농축시켰다. 조질 생성물을 실리카겔 크로마토그래피하여 황색 고체로서 메틸 3-(1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘-5-일)벤조에이트 (8) (1.65 g, 65 % 수율)를 수득하였다. MS: m/z 254.0 ($M+H^+$).

단계 2: 메틸 3-(3-요오도-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘-5-일)벤조에이트의 합성

디클로로에탄 (40 mL) 중의 메틸 3-(1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘-5-일)벤조에이트 (1.65 g, 6.52 mmol)의 용액에 NIS (1.81 g, 8.04 mmol)를 첨가하고 혼합물을 70 °C에서 6시간 동안 교반하였다. 용매를 감압하에 제거하고 조질 생성물을 실리카겔 크로마토그래피에 의해 정제하여 메틸 3-(3-요오도-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘-5-일)벤조에이트 (9) (988 mg, 40 % 수율)를 수득하였다. MS: m/z 379.9 ($M+H^+$).

단계 3: 3-(3-요오도-1-((2-(트리메틸실릴)에톡시)메틸)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일)벤조산의 합성

DMF 중의 메틸 3-(3-요오도-1H-피라졸로[354-b]피리딘-5-일)벤조에이트 (988 mg, 2.61 mmol)의 용액에 -40 °C에서 수산화나트륨 (광유 중 60 %, 525 mg, 13.03 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 60분간 교반한 후, SEMCl (920 µl, 5.22 mmol)을 첨가하였다. 반응물을 실온으로 가온하고 메탄올 및 물로 켄칭시켰다. 그다음 아세트산을 사용하여 pH를 4-5로 조정하였다. 혼합물을 이어서 에틸 아세테이트로 추출하고 (3x) 유기층을 합쳤으며, 황산나트륨상에서 건조시키고 여과시키고 건조 상태로 농축시켰다. 생성된 조질 생성물을 실리카겔 크로마토그래피 정제하여 고체로서 3-(3-요오도-1-((2-(트리메틸실릴)에톡시)메틸)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일)벤조산 (200 mg, 15 % 수율)을 수득하였다. MS: m/z 517.9 ($M+Na^+$).

단계 4: (4-(2-(디메틸아미노)에틸)피페라진-1-일)(3-(3-요오도-1-((2-(트리메틸실릴)에톡시)메틸)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일)페닐)메타논의 합성

DMF (2 ml) 중의 조질 3-(3-요오도-1-((2-(트리메틸실릴)에톡시)메틸)-1H- 피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일)벤조산 (200 mg, 0.404 mmol), N,N-디메틸-2-(피페라진-1-일)에탄아민 (76 mg, 0.485 mmol), O-(7-아자벤조트리아졸-1-일)-N,N,N',N'-테트라메틸우로늄 헥사플루오로포스페이트 (185 mg, 0.485 mmol) 및 트리에틸 아민 (0.700 ml, 0.485 mmol)의 혼합물을 퍼스널 마이크로웨이브에서 90 °C에서 1시간 동안 교반하였다. 그다음 물을 상기 혼합물에 첨가하고 에틸 아세테이트 (3x)로 추출하였다. 유기층을 합치고, 황산나트륨상에서 건조시키고 여과시키고 건조 상태로 농축시켰다. 조질 생성물을 실리카겔 크로마토그래피하여 희백색 고체로서 (4-(2-(디메틸아미노)에틸)피페라진-1-일)(3-(3-요오도-1-((2-(트리메틸실릴)에톡시)메틸)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일)페닐)메타논 (110 mg, 43 % 수율)을 수득하였다. MS: m/z 635.1 ($M+H^+$).

단계 5: (4-(2-(디메틸아미노)에틸)피페라진-1-일)(3-(3-(5-플루오로-2-메톡시페닐)-1-((2-(트리메틸실릴)에톡시)메틸)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일)페닐)메타논의 합성

아세토니트릴 (1 mL) 중의 (4-(2-(디메틸아미노)에틸)피페라진-1-일)(3-(3-요오도-1-((2-(트리메틸실릴)에톡시)메틸)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일)페닐)메타논 (50 mg, 0.079 mmol), 5-플루오로-2-메톡시페닐보론산 (20 mg, 0.118 mmol), 디클로로메탄과의 [1,1'-비스(디페닐포스피노)페로센]디클로로팔라듐(II) 착체 (7.9 mg, 0.10 mmol) 및 탄산나트륨 (2 M 수용액, 0.119 mL, 0.237 mmol)의 혼합물을 퍼스널 마이크로웨이브에서 90 °C에서 30분간 가열하였다. 생성된 혼합물을 물로 희석하고 에틸 아세테이트로 추출하였다. 유기층을 합치고, 황산나트륨상에서 건조시키고 여과시키고 건조 상태로 농축시켰다. 조질 생성물을 실리카겔 크로마토그래피 정제하여 밝은 황색 오일로서 (4-(2-(디메틸아미노)에틸)피페라진-1-일)(3-(3-(5-플루오로-2-메톡시페닐)-1-((2-(트리메틸실릴)에톡시)메틸)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일)페닐)메타논을 수득하였다. MS: m/z 633.3 ($M+H^+$).

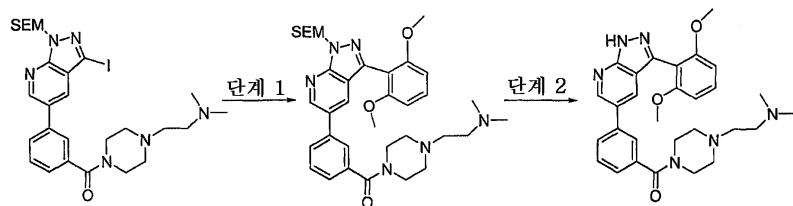
단계 6: (4-(2-(디메틸아미노)에틸)피페라진-1-일)(3-(3-(5-플루오로-2-메톡시페닐)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일)페닐)메타논의 합성

메탄올 (1 mL) 중의 5 % 과염소산 중의 단계 5로부터의 (4-(2-(디메틸아미노)에틸)피페라진-1-일)(3-(3-(5-플루오로-2-메톡시페닐)-1-((2-(트리메틸실릴)에톡시)메틸)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일)페닐)메타논을 실온에서 45분간 교반하였다. 그다음 수산화나트륨 용액 (2 M)을 상기 용액에 pH가 약 8이 될 때까지 천천히 첨가하였다. 그다음 에틸 아세테이트를 추출에 사용하고 유기층을 합쳤으며, 건조 상태로 농축시킨 후, 이를 메탄올 (1 mL) 및 탄산나트륨 (2 M, 1 mL)에 재용해시켰다. 혼합물을 실온에서 15시간 동안 교반한 후, 물로 희석하고 에틸 아세테이트 (3x)로 추출하였다. 유기층을 합치고, 황산나트륨상에서 건조시키고 여과시키고 건조 상태로 농축시켰다. 질량 측정 역상 HPLC 정제하여 백색 고체로서 (4-(2-(디메틸아미노)에틸)피페라진-1-일)(3-(3-(5-플루오로-2-메톡시페닐)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일)페닐)메타논 (12로부터 25.6 mg, 64 % 수율)을 수득하였다.

¹H NMR

(500 MHz, CD₃OD) δ 2.42 (s, 6H), 2.49 (br, 2H), 2.59 (m, 4H), 2.69 (m, 2H), 3.54 (br, 2H), 3.81 (br, 2H), 3.85 (s, 3H), 7.17 (m, 2H), 7.40 (dd, J = 3.0, 9.5 Hz, 1H), 7.44 (d, br, J = 7.5 Hz, 1H), 7.59 (t, J = 7.5 Hz, 1H), 7.72 (br, 1H), 7.77 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 8.39 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 8.80 (d, J = 2.5 Hz, 1H). MS: m/z 503.2 ($M+H^+$).

방법 6:



단계 1: (3-(3-(2,6-디메톡시페닐)-1-((2-(트리메틸실릴)에톡시)메틸)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일)페닐)(4-(2-(디메틸아미노)에틸)피페라진-1-일)메타논의 합성

아세트니트릴 (1 mL) 중의 (4-(2-(디메틸아미노)에틸)피페라진-1-일)(3-(3-요오도-1-((2-(트리메틸실릴)에톡시)메틸)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일)페닐)메타논 (50 mg, 0.079 mmol), 2,6-디메톡시페닐보론산 (22 mg, 0.118 mmol), 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐(0) (9.1 mg, 0.10 mmol) 및 탄산나트륨 (2 M 수용액, 0.119 mL, 0.237 mmol)의 혼합물을 퍼스널 마이크로웨이브에서 120 °C에서 30분간 가열하였다. 생성된 혼합물을 물로 희석하고 에틸 아세테이트로 추출하였다. 유기층을 합치고 황산나트륨상에서 건조시키고 여과시키고 건조 상태로 농축시켰다. 조질 생성물을 실리카겔 크로마토그래피 정제하여 투명 오일로서 (3-(3-(2,6-디메톡시페닐)-1-((2-(트리메틸실릴)에톡시)메틸)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일)페닐)(4-(2-(디메틸아미노)에틸)피페라진-1-일)메타논을 수득하였다. MS: m/z 645.3 ($M+H^+$).

단계 2: (3-(3-(2,6-디메톡시페닐)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일)페닐)(4-(2-(디메틸아미노)에틸)피페라진-1-일)메타논의 합성

아세트산 (1 mL) 중의 5 % 과염소산 중의 (3-(3-(2,6-디메톡시페닐)-1-((2-(트리메틸실릴)에톡시)메틸)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일)페닐)(4-(2-(디메틸아미노)에틸)피페라진-1-일)메타논의 용액을 실온에서 45분간 교반하였다. 수산화나트륨 용액 (2 M)을 이어서 상기 용액에 pH가 약 8일 될 때까지 천천히 첨가하였다. 그다음 에틸 아세테이트를 추출에 사용하고 유기층을 합치고 건조 상태로 농축시킨후, 이를 이어서 메탄올 (1 mL) 및 탄산나트륨 (2 M, 1 mL)에 재용해시켰다. 혼합물을 실온에서 15시간 동안 교반한 후, 물로 희석하고 에틸 아세테이트 (3x)로 추출하였다. 유기층을 합치고, 황산나트륨상에서 건조시키고 여과시키고 건조 상태로 농축시켰다. 질량 촉발성 역상 HPLC 정제하여 백색 고체로서 (3-(3-(2,6-디메톡시페닐)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일)페닐)(4-(2-(디메틸아미노)에틸)피페라진-1-일)메타논 (2 단계 동안 22.70 mg, 56% 수율)을 수득하였다.

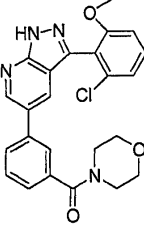
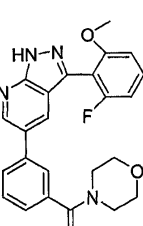
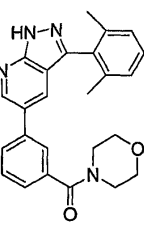
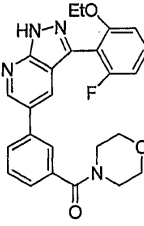
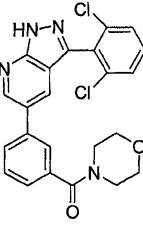
1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 2.48

(br, 2H), 2.52 (s, 6H), 2.60 (m, 4H), 2.69 (m, 2H), 3.51 (br, 2H), 3.74 (s, 6H), 3.80 (br, 2H), 6.80 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.43 (m, 2H), 7.56 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.69 (s, 1H), 7.75 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 8.09 (d, $J = 2$ Hz, 1H), 8.81 (d, $J = 2$ Hz, 1H). MS: m/z 515.2 ($M+H^+$).

방법 6에 의해 제조된 다른 화합물들:

단계 2의 조건은 하기 표에서 화합물들에 따라 다양할 수 있다. 때때로 중탄산나트륨 대신 탄산나트륨이 필요할 수 있으며, 반응 시간이 30분 내지 24시간으로 다양하다.

[표 5]

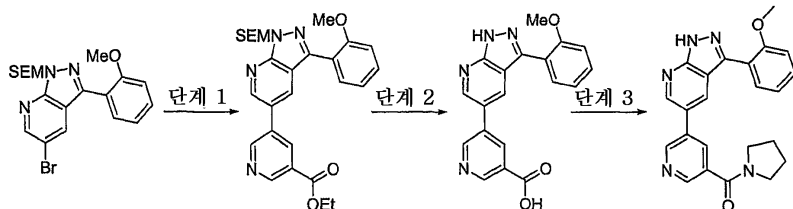
구조식	구조식	구조식
 MS: m/z 449.1 ($M+H^+$)	 MS: m/z 433.1 ($M+H^+$)	 MS: m/z 413.1 ($M+H^+$)
 MS: m/z 447.1 ($M+H^+$)	 MS: m/z 453.0 ($M+H^+$)	

* 단계 1 스즈키 커플링 조건: 150 °C, 1h, μ w.

** 단계 1 스즈키 커플링 조건: 120 °C, 1h, μ w.

*** 단계 1 스즈키 커플링 조건: $Pd_2(dba)_3$, K_3PO_4 , 및 디사이클로헥실페닐포스핀, CH_3CN , 150 °C, 4h, μ w.

방법 7:



단계 1: 5-[3-(2-메톡시-페닐)-1-(2-트리메틸실라닐-에톡시메틸)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일]-니코틴산 에틸 에스테르의 합성

아세트니트릴 (5 mL) 및 2 M 탄산나트륨 수용액 (5 mL) 중의 3-에톡시카르보닐-5-피리딜보론산 (529 mg, 1.91 mmol), 1,1'-비스(디페닐포스피노)페로센팔라듐(II)-디클로라이드 디클로로메탄 부가물 (66 mg, 0.09 mmol) 및 5-브로모-3-요오도-1-(2-트리메틸실라닐-에톡시메틸)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘 (780 mg, 1.80 mmol)의 혼합물을 첨가하고 이 혼합물을 90 °C에서 30분간 퍼스널 케미스트리 옵티마이저에서 조사하였다. 조질 반응 혼합물을 에틸 아세테이트 및 물 사이에 분배시켰다. 수상을 에틸 아세테이트로 3회 추출하고 합친 유기상을 황산나트륨상에서 건조시키고 여과시키고 농축시켰다. 조질 생성물을 헥산 중의 에틸 아세테이트의 구배를 사용하여 플래쉬 실리카겔 크로마토그래피에 의해 정제하여 황색 오일로서 5-[3-(2-메톡시-페닐)-1-(2-트리메틸실라닐-에톡시메틸)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일]-니코틴산 에틸 에스테르 (552 mg, 61 % 수율)를 수득하였다.

1H -NMR (500 MHz, d_6 -DMSO) δ 9.24 (d, 1H), 9.12 (d, 1H), 9.03 (d, 1H), 8.60 (t, 1H), 8.56 (d, 1H), 7.66 (dd, 1H), 7.51 (ddd, 1H), 7.25 (dd, 1H), 7.12 (dt, 1H), 5.88 (s, 2H), 4.40 (q, 2H), 3.87 (s, 3H), 3.71 (t, 2H), 1.37 (t, 3H), 0.87 (t, 2H), -0.073 (t, 9H). MS: m/z 505 [MH^+].

단계 2: 5-[3-(2-메톡시-페닐)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일]-니코틴산의 합성

THF (20 mL) 중의 5-[3-(2-메톡시-페닐)-1-(2-트리메틸실라닐-에톡시메틸)-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘-5-일]-니코틴산 에틸 에스테르 (494 mg, 0.98 mmol)의 용액에 THF 중의 테트라-*n*-부틸암모늄 플루오라이드 (1 M, 10 ml, 10 mmol) 및 활성화된 4 Å 분자체를 첨가하였다. 생성된 혼합물을 70 °C에서 7시간 동안 교반하였다. 분자체를 에틸 아세테이트로 세척하면서 여거하고 생성된 여액을 농축시켰다. 잔류물을 디클로로메탄 및 물 사이에 분배시켰다. 수상을 디클로로메탄으로 3회 추출하고 유기상을 합쳤으며, 황산나트륨상에서 건조시키고 여과시키고 농축시켜 갈색 고체로서 5-[3-(2-메톡시-페닐)-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘-5-일]-니코틴산 (654 mg, 62 % 순도, 405 mg, 119 % 수율)을 수득하였다.

¹H-NMR (500 MHz, *d*₆-DMSO) δ 13.98 (s, 1H), 8.99 (d, 1H), 8.95 (s, 1H), 8.88 (d, 1H), 8.43 (t, 1H), 8.40 (d, 1H), 7.67 (dd, 1H), 7.47 (ddd, 1H), 7.23 (d, 1H), 7.10 (dt, 1H), 3.86 (s, 3H). MS: *m/z* 345 (96%) [M-H].

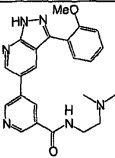
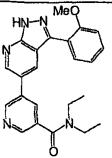
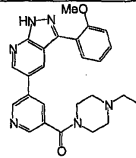
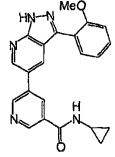
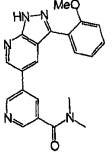
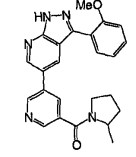
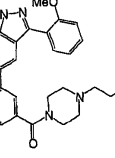
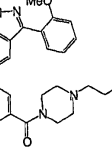
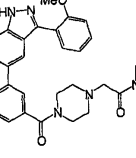
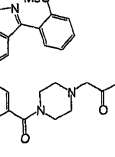
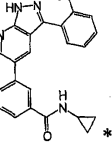
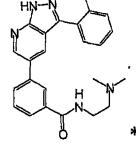
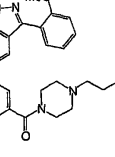
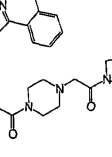
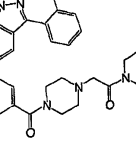
단계 3: {5-[3-(2-메톡시-페닐)-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘-5-일]-피리딘-3-일}-피롤리딘-1-일-메타논의 합성

(5-[3-(2-메톡시-페닐)-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘-5-일]-니코틴산 (350 mg, 62 % 순수, 0.63 mmol)을 무수 DMF (20 mL)에 50-60 °C에서 용해시키고 이 용액을 실온으로 냉각시켰으며, 이때 PS-HOBt 수지 (아그로노트 테크놀로지스 (Agronaut Technologies)) (0.9 mmol·g⁻¹ 로딩, 2.20 g, 1.98 mmol), DMAP (32 mg, 0.26 mmol) 및 EDCI (375 mg, 1.95 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 16시간 동안 진탕시켰다. 수지를 DMF로 6회 및 이어서 에테르로 3회 세척하면서 여거하고 건조시켰다. 수지 및 (5-[3-(2-메톡시-페닐)-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘-5-일]-니코티네이트) (460 mg, 이론적 로딩 105 μmol)를 피롤리딘 (110 μl, 1.3 mmol)을 함유하는 무수 DMF (3 mL)에 현탁시키고 22시간 동안 진탕시켰다. 수지를 디클로로메탄, 에테르 및 DMF로 세척하면서 여거하였다. 여액 및 세척액을 합치고 농축시켰다. 생성된 잔류물을 0.1 % 포름산을 함유하는 수중 아세토니트릴의 구배를 사용하여 질량-촉발성 역상 HPLC에 의해 정제하여 밝은 갈색 고체로서 {5-[3-(2-메톡시-페닐)-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘-5-일]-피리딘-3-일}-피롤리딘-1-일-메타논 (2.4 mg, 6 μmol, 6 % 수율)을 수득하였다.

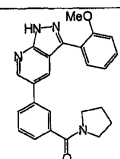
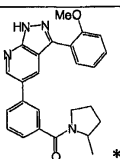
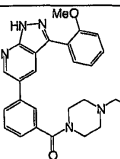
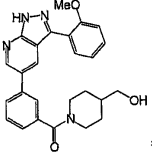
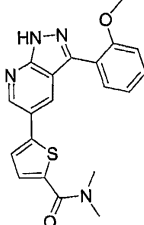
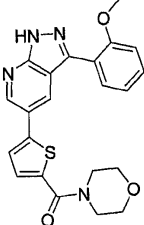
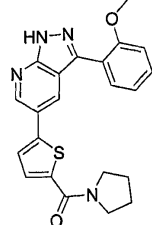
¹H-NMR (500 MHz, *d*₆-MeOH) δ 8.98 (d, 1H), 8.87 (d, 1H), 8.74 (d, 1H), 8.50 (d, 1H), 8.31 (t, 1H), 7.67 (dd, 1H), 7.48 (ddd, 1H), 7.21 (d, 1H), 7.11 (dt, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.65 (t, 2H), 3.58 (t, 2H), 2.02 (m, 2H), 1.96 (m, 2H). MS: *m/z* 400 [MH⁺].

방법 7에 의해 제조된 다른 화합물들:

[표 6a]

구조식	구조식	구조식
 MS: m/z 417 $[MH^+]$	 MS: m/z 402 $[MH^+]$	 MS: m/z 443 $[MH^+]$
 MS: m/z 386 $[MH^+]$	 MS: m/z 374 $[MH^+]$	 MS: m/z 414 $[MH^+]$
 MS: m/z 486 $[MH^+]$	 MS: m/z 473 $[MH^+]$	 MS: m/z 526 $[MH^+]$
 MS: m/z 542 $[MH^+]$	 MS: m/z 385 $[MH^+]$	 MS: m/z 416 $[MH^+]$
 MS: m/z 472 $[MH^+]$	 MS: m/z 525 $[MH^+]$	 MS: m/z 541 $[MH^+]$

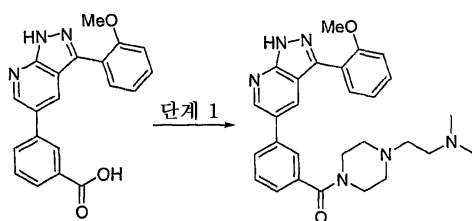
[표 6b]

구조식	구조식	구조식
 MS: m/z 399 $[MH^+]$	 MS: m/z 413 $[MH^+]$	 MS: m/z 442 $[MH^+]$
 MS: m/z 443 $[MH^+]$	 MS: m/z 379 $[MH^+]$	 MS: m/z 421 $[MH^+]$
 MS: m/z 405 $[MH^+]$		

* 3-[3-(2-메톡시-페닐)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일]-벤조산으로부터 출발하여 합성하였고, 헥산 중의 에틸 아세테이트 중의 20 % (v/v(부피/부피)) 메탄올의 구배를 사용하여 실리카겔상에서 플래쉬 크로마토그래피에 의해 정제하였다.

** 3-[3-(2-메톡시-페닐)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일]-벤조산으로부터 출발하여 합성하였다.

방법 8:



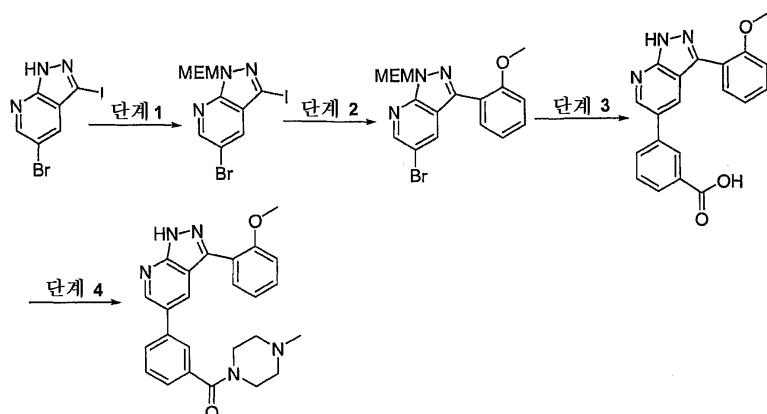
단계 1: [4-(2-디메틸아미노-에틸)-피페라진-1-일]-{3-[3-(2-메톡시-페닐)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일]-페닐}-메탄올의 합성

3-[3-(2-메톡시-페닐)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일]-벤조산 (338 mg, 0.79 mmol) 및 O-(7-아자벤조트리아졸-1-일)-N,N,N',N'-테트라메틸우로늄 헥사플루오로포스페이트 (300 mg, 0.79 mmol)를 20 ml의 아세트니트릴 및 10 ml의 메탄올의 혼합물에 용해시켰다. 131 mg (0.83 mmol)의 1-(2-디메틸아미노에틸)-피페라진을 첨가하고 혼합물을 주위 온도에서 6시간 동안 교반하였다. 생성된 혼합물을 디클로로메탄 및 2 M 탄산나트륨 수용액 사이에 분배시켰다. 상들을 분리하고 수층을 디클로로메탄으로 3회 추출하였다. 합친 유기층을 합치고 브롬화나트륨 포화 수용액으로 세척하였으며, 황산나트륨상에서 건조시키고 증발시켰다. 조질 물질을 에틸 아세테이트, 및 수증 35 중량% 암모니아의 2 % (v/v)를

함유하는, 에틸 아세테이트, 디클로로메탄 및 메탄올의 4:4:1 용매 혼합물의 단계적 구배를 사용하여 실리카겔상에서 플래쉬 크로마토그래피에 의해 정제하여 오일로서 [4-(2-디메틸아미노-에틸)-피페라진-1-일]-{3-[3-(2-메톡시-페닐)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일]-페닐}-메탄올 (160 mg, 42 %)을 수득하였다.

$^1\text{H-NMR}$ (d_6 - CDCl_3) δ 8.87 (d) [1H], 8.36 (d) [1H], 7.75 (dd) [1H], 7.68 (t) [1H], 7.67 (m) [1H], 7.53 (m) [1H], 7.46 (mt) [1H], 7.42 (md) [1H], 7.13 (dt) [1H], 7.10 (d) [1H], 3.89 (s) [3H], 3.81-3.86 (m) [2H], 3.48-3.55 (m) [2H], 2.58-2.64 (m) [2H], 2.56 (m) [2H], 2.50 (m) [2H], 2.44-2.52 (m) [2H]. MS: m/z 485 ($\text{M}+\text{H}^+$).

방법 9:



단계 1: 5-브로모-3-요오도-1-(2-메톡시-에톡시메틸)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘의 합성

DMF (10 mL) 중의 5-브로모-3-요오도-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘 (470 mg, 1.45 mmol), 광유 중의 60 % 수소화나트륨 (104 mg, 4.35 mmol) 및 테트라-n-부틸암모늄 요오다이드 (134 mg, 0.36 mmol)의 용액에 실온에서 메톡시에톡시메틸 클로라이드 (248 μL , 2.18 mmol)를 첨가하고 혼합물을 동일 온도에서 4시간 동안 교반한 후, 메탄올을 첨가하여 퀀칭시켰다. 그다음 혼합물을 에테르 및 염수 사이에 분배시키고 유기층을 황산나트륨상에서 건조시키고 여과시키고 농축시켰다. 조질 생성물을 헥산 중의 에틸 아세테이트의 구배를 사용하여 플래쉬 실리카겔 크로마토그래피에 의해 정제하여 무색 고체로서 5-브로모-3-요오도-1-(2-메톡시-에톡시메틸)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘 (254 mg, 0.69 mmol, 74 % 수율)을 수득하였다 (위치이성질체인 5-브로모-3-요오도-2-(2-메톡시-에톡시메틸)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘과의 1:1 혼합물).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, d_6 -DMSO)

이성질체 A (50%) δ 8.75 (d, 1H), 8.29 (d, 1H), 5.78 (s, 1H), 3.61-3.63 (m, 2H), 3.37-3.39 (m, 2H), 3.17 (s, 3H); 이성질체 B (50%) δ 8.74 (d, 1H), 8.28 (d, 1H), 5.77 (s, 1H), 3.61-3.63 (m, 2H), 3.37-3.39 (m, 2H), 3.16 (s, 3H).

단계 2: 5-브로모-1-(2-메톡시-에톡시메틸)-3-(2-메톡시-페닐)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘의 합성

밀봉된 바이얼에서 아세트니트릴 (3 mL) 및 2 M 탄산나트륨 수용액 (3 mL) 중의 5-브로모-3-요오도-1-(2-메톡시-에톡시메틸)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘 (180 mg, 0.44 mmol), 1,1'-비스(디페닐포스포노)페로센팔라듐(II)-디클로라이드 디클로로메탄 부가물 (18 mg, 25 μmol) 및 2-메톡시페닐보론산 (82 mg, 0.51 mmol)의 혼합물을 60 $^{\circ}\text{C}$ 에서 2시간 동안 교반하였다. 조질 혼합물을 에틸 아세테이트 및 염수 사이에 분배시켰다. 수상을 에틸 아세테이트 (3x)로 추출하고 합친 유기상을 황산나트륨상에서 건조시키고 여과시키고 농축시켰다. 조질물을 이어서 헥산 중의 에틸 아세테이트의 구배를 사용하여 플래쉬 실리카겔 크로마토그래피에 의해 정제하여 황색 오일로서 5-브로모-1-(2-메톡시-에톡시메틸)-3-(2-메톡시-페닐)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘 (80 mg, 0.2 mmol, 46 % 수율)을 수득하였다.

$^1\text{H-NMR}$ (500

MHz, d_6 -DMSO) δ 8.70 (d, 1H), 8.40 (d, 1H), 7.62 (dd, 1H), 7.49 (ddd, 1H), 7.22 (d, 1H), 7.09 (dt, 1H), 5.85 (s, 2H), 3.85 (s, 3H), 3.68-3.70 (m, 2H), 3.39-3.41 (m, 2H), 3.18 (s, 3H). MS: m/z 316, 318 [MH^+].

단계 3: 3-[3-(2-메톡시-페닐)-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘-5-일]-벤조산의 합성

아세트니트릴 (4 mL) 및 2 M 탄산나트륨 수용액 (2 mL) 중의 5-브로모-3-요오도-1/2-(2-메톡시-에톡시메틸)-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘 (560 mg, 1.36 mmol, 위치이성질체들의 혼합물), 2-메톡시페닐보론산 (217 mg, 1.4 mmol) 및 1,1'-비스(디페닐포스포노)페로센팔라듐(II)-디클로라이드 디클로로메탄 부가물 (50 mg, 68 μ mol)의 혼합물을 밀봉된 바이얼 중에서 70 °C에서 105분간 교반하였다. 그다음 조질 생성물을 에틸 아세테이트 및 물 사이에 분배시켰다. 수상을 에틸 아세테이트 (3x)로 추출하고 합친 유기상을 염수로 세척하였으며, 황산나트륨상에서 건조시키고 여과시키고 농축시켜 어두운 조질 오일로서 5-브로모-1-(2-메톡시-에톡시메틸)-3-(2-메톡시-페닐)-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘 (780 mg, 75 % 순수, 1.12 mmol, 82 % 수율)을 수득하였다.

¹H-NMR (500 MHz, *d*₆-DMSO) δ 8.70 (d, 1H),

8.40 (d, 1H), 7.62 (dd, 1H), 7.49 (ddd, 1H), 7.22 (d, 1H), 7.09 (dt, 1H), 5.85 (s, 2H), 3.85 (s,

3H), 3.68-3.70 (m, 2H), 3.39-3.41 (m, 2H), 3.18 (s, 3H). MS: *m/z* 316, 318 [MH⁺].

아세트니트릴 (5 mL) 및 2 M 탄산나트륨 수용액 (5 mL) 중의 상기 조질 오일 (1.12 mmol), 3-카르복시페닐보론산 (259 mg, 1.56 mmol) 및 1,1'-비스(디페닐포스포노)페로센팔라듐(II)-디클로라이드 디클로로메탄 부가물 (54 mg, 75 μ mol)의 혼합물을 165 °C에서 20분간 퍼스널 옵티마이저에서 조사하였다. 조질 생성물을 아세트니트릴로 희석하고 유기상을 분리하고 농축시켰다. 잔류물을 수중 수산화칼륨 (10 % w/v, 15 mL)에 용해시키고, 에틸 아세테이트 (3x)로 세척하였으며, 셀라이트(celite)를 통해 여과시켰다. 여액을 그다음 진한 수성 염산을 첨가하여 pH 3-4로 산성화시키고 침전물을 수거하였다. 그다음 디클로로메탄을 상기 침전물에 첨가하고, 불용성 물질을 여거하였으며, 여액을 농축시켜 어두운 고체로서 3-[1-(2-메톡시-에톡시메틸)-3-(2-메톡시-페닐)-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘-5-일]-벤조산 (369 mg, 0.85 mmol, 57 % 수율)을 수득하였다.

¹H-NMR (500 MHz, *d*₆-DMSO) δ 8.95 (d, 1H), 8.42 (d, 1H),

8.26 (t, 1H), 8.02 (dt, 1H), 7.98 (dt, 1H), 7.68 (dd, 1H), 7.64 (t, 1H), 7.51 (ddd, 1H), 7.25

(d, 1H), 7.12 (dt, 1H), 5.91 (s, 2H), 3.87 (s, 3H), 3.73-3.75 (m, 2H), 3.43-3.45 (m, 2H), 3.21

(s, 3H). MS: *m/z* 432 [M-H⁻].

생성된 고체를 디클로로메탄 및 PS-티오페놀 (아르고노트 테크놀로지스) (1.4 mmol·g⁻¹, 1.2 g, 1.7 mmol)에 용해시키고 트리플루오로아세트산 (6 ml)을 첨가하였다. 생성된 혼합물을 50 °C에서 8.5시간 동안 완만하게 교반하였다. 수지를 여거하고 디클로로메탄 및 에테르로 세척하였다. 합친 여액을 농축시키고 중탄산나트륨 포화 용액 및 디클로로메탄 사이에 분배시켰다. 수상을 디클로로메탄으로 3회 세척한 후, 진한 염산을 첨가하여 pH 3-4로 산성화시켰다. 생성된 수상을 에틸 아세테이트로 3회 추출하였다. 합친 에틸 아세테이트 상을 염수로 세척하고, 황산나트륨상에서 건조시키고 여과시키고 농축시켜 황색 고체로서 3-[3-(2-메톡시-페닐)-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘-5-일]-벤조산 (117 mg, 0.34 mmol, 40 % 수율, 3단계에 걸쳐 25 %)을 수득하였다.

¹H-NMR (500 MHz, *d*₆-

DMSO) δ 8.87 (d, 1H), 8.37 (d, 1H), 8.24 (t, 1H), 8.02 (dt, 1H), 7.98 (dt, 1H), 7.68 (dd,

1H), 7.64 (t, 1H), 7.47 (ddd, 1H), 7.23 (d, 1H), 7.11 (dt, 1H), 3.86 (s, 3H). MS: *m/z* 346

[MH⁺].

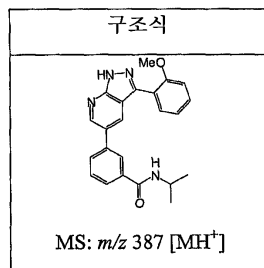
단계 4: {3-[3-(2-메톡시-페닐)-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘-5-일]-페닐}-(4-메틸-피페라진-1-일)-메탄의 합성

무수 DMF (1.5 mL) 중의 3-[3-(2-메톡시-페닐)-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘-5-일]-벤조산 (25 mg, 72 μ mol)의 용액에 PS-DCC 수지 (아그로노트 테크놀로지스) (180 mg, 0.22 mmol, 1.21 mmol·g⁻¹) 및 N-메틸피페라진 (9.6 μ l, 86 μ mol)을 첨가하였다. 생성된 혼합물을 60 °C에서 16시간 동안 교반하였다. 수지를 디클로로메탄 및 에테르로 세척하면서 여거하고, 여액을 농축시켰다. 잔류물을 디클로로메탄에 용해시키고 PS-트리스아민 수지 (아그로노트 테크놀로지스) (20 mg)로 처리하였다. 상기 수지를 다시 여과시켜 제거하고 디클로로메탄 및 에테르로 세척하였다. 여액을 농축시키고 생성된 조질 생성물을 0.1 % 포름산을 함유하는 수중 아세트니트릴의 구배를 사용하여 역상 질량-촉발성 HPLC에 의해 정제하여 {3-[3-(2-메톡시-페닐)-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘-5-일]-페닐}-(4-메틸-피페라진-1-일)-메탄 (1.7 mg, 4.0 μ mol, 6 % 수율)을 수득하였다.

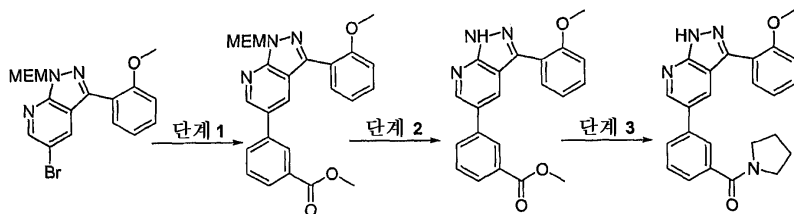
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, d_6 -DMSO) δ 8.87 (d, 1H), 8.37 (d, 1H), 8.24 (t, 1H), 8.02 (dt, 1H), 7.98 (dt, 1H), 7.68 (dd, 1H), 7.64 (t, 1H), 7.47 (ddd, 1H), 7.23 (d, 1H), 7.11 (dt, 1H), 3.86 (s, 3H). MS: m/z 346 [MH^+].

방법 9에 의해 제조된 다른 화합물들:

[표 7]



방법 10:



단계 1: 3-[1-(2-메톡시-에톡시메틸)-3-(2-메톡시-페닐)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일]-벤조산 메틸 에스테르의 합성

아세트니트릴 (7 mL) 및 2 M 탄산나트륨 수용액 (7 mL) 중의 5-브로모-1-(2-메톡시-에톡시메틸)-3-(2-메톡시-페닐)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘 (535 mg, 1.36 mmol), 3-메톡시카르보닐페닐보론산 (258 mg, 1.43 mmol) 및 1,1'-비스(디페닐포스피노)페로센팔라듐(II)-디클로라이드 디클로로메탄 부가물 (50 mg, 68 μmol)의 혼합물을 90 $^{\circ}\text{C}$ 에서 10분간 퍼셔널 케미스트리 옵티마이저에서 조사하였다. 생성된 혼합물을 에틸 아세테이트 및 물 사이에 분배시켰다. 수상을 에틸 아세테이트로 2회 추출하고 합친 유기상을 염수로 세척하였으며, 황산나트륨상에서 건조시키고 여과시키고 농축시켰다. 조질물을 에틸 아세테이트 및 헥산의 구배를 사용하여 플래쉬 실리카겔 크로마토그래피에 의해 정제하여 황색 오일로서 3-[1-(2-메톡시-에톡시메틸)-3-(2-메톡시-페닐)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일]-벤조산 메틸 에스테르 (612 mg, 1.36 mmol, 100 % 수율)를 수득하였다.

$^1\text{H-NMR}$

(500 MHz, d_6 -DMSO) δ 8.96 (d, 1H), 8.43 (d, 1H), 8.28 (t, 1H), 8.07 (td, 1H), 7.99 (td, 1H), 7.67-7.69 (m, 2H), 7.51 (ddd, 1H), 7.25 (d, 1H), 7.12 (dt, 1H), 5.92 (s, 2H), 3.90 (s, 3H), 3.87 (s, 3H), 3.73-3.75 (m, 2H), 3.43-3.45 (m, 2H), 3.21 (s, 3H). MS: m/z 372 [MH^+].

단계 2: 3-[3-(2-메톡시-페닐)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일]-벤조산 메틸 에스테르의 합성

디클로로메탄 (25 mL) 중의 3-[1-(2-메톡시-에톡시메틸)-3-(2-메톡시-페닐)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일]-벤조산 메틸 에스테르 (573 mg, 1.28 mmol)의 용액을 0-5 $^{\circ}\text{C}$ 로 냉각시키고 붕소 트리플루오라이드 에테레이트 (0.8 mL, 6.4 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온으로 천천히 가온시키고 16시간 동안 교반하였다. 형성된 황색 침전물을 여과하여 3-[3-(2-메톡시-페닐)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일]-벤조산 메틸 에스테르 (110 mg, 0.29 mmol; 23 % 수율)를 수득하였다.

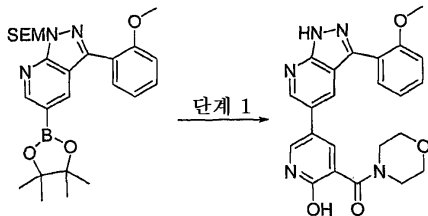
¹H-NMR (500 MHz, *d*₆-DMSO) δ 8.88 (d, 1H), 8.39 (d, 1H), 8.27 (t, 1H), 8.06 (td, 1H), 7.99 (td, 1H), 7.65-7.68 (m, 2H), 7.48 (ddd, 1H), 7.23 (d, 1H), 7.11 (dt, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.87 (s, 3H). MS: *m/z* 360 [MH⁺].

단계 3: {3-[3-(2-메톡시-페닐)-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘-5-일]-페닐}-피롤리딘-1-일-메타논의 합성

3-[3-(2-메톡시-페닐)-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘-5-일]-벤조산 메틸 에스테르 (30 mg, 83 μmol)를 피롤리딘 (0.35 ml, 4.15 mmol)에 용해시키고 혼합물을 90 °C에서 16시간 동안 교반하였다. 그다음 혼합물을 농축시키고 조질 생성물에 에틸 아세테이트 중의 10 % v/v 메탄올의 구배를 사용하여 플래쉬 실리카겔 크로마토그래피에 의해 정제하여 황색 고체로서 {3-[3-(2-메톡시-페닐)-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘-5-일]-페닐}-피롤리딘-1-일-메타논 (22 mg, 55 μmol, 67 % 수율)을 수득하였다.

¹H-NMR (500 MHz, *d*₆-MeOH) δ 8.82 (d, 1H), 8.39 (d, 1H), 7.83 (t, 1H), 7.79 (td, 1H), 7.66 (dd, 1H), 7.55-7.59 (m, 2H), 7.48 (ddd, 1H), 7.20 (d, 1H), 7.11 (dt, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.63 (t, 2H), 3.52 (t, 2H), 2.02 (m, 2H), 1.92 (m, 2H). MS: *m/z* 399 [MH⁺].

방법 11:



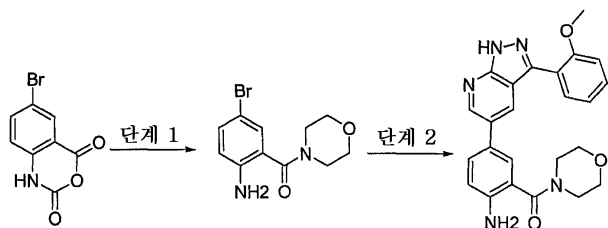
단계 1: {2-하이드록시-5-[3-(2-메톡시-페닐)-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘-5-일]-피리딘-3-일}-모르폴린-4-일-메타논의 합성

122 mg (0.25 mmol)의 3-(2-메톡시-페닐)-5-(4,4,5,5-테트라메틸-[1,3,2]디옥사보롤란-2-일)-1-(2-트리메틸실라닐-에톡시메틸)-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘, 150 mg (0.52 mmol)의 (5-브로모-2-플루오로-피리딘-3-일)-모르폴린-4-일-메타논, 및 15 mg (18 μmol)의 1,1'-비스(디페닐포스포노)페로센팔라듐(II)-디클로라이드 디클로로메탄 부가물을 스미스(Smith) 바이얼에 넣었다. 2 mL의 아세트니트릴, 1 mL의 물 및 1 mL의 중탄산나트륨 포화 수용액을 첨가하고 생성된 혼합물을 100 °C에서 30분간 퍼스널 케미스트리 옵티마이저에서 조사하였다. 생성된 잔류물을 디클로로메탄 및 중탄산나트륨 포화 수용액 사이에 분배시켰다. 상들을 분리하고 수상을 디클로로메탄으로 2회 추출하였다. 유기상을 합치고, 황산나트륨상에서 건조시키고 여과시키고 농축시켰다. 조질 생성물을 그다음 15 % v/v 메탄올을 함유하는 에틸 아세테이트 및 헥산의 구배를 사용하여 플래쉬 실리카겔 크로마토그래피에 의해 정제하여 137 mg의 베이지색 오일을 수득하였다.

상기 오일을 디메톡시에탄 및 진한 수성 염산의 1:1 혼합물 24 mL에 용해시켰다. 혼합물을 1시간 동안 55 °C로 가열한 후, 중탄산나트륨을 첨가하여 중화시켰다. 생성된 혼합물을 에틸 아세테이트 및 물 사이에 분배시키고 수상을 에틸 아세테이트로 3회 추출하였다. 합친 유기상을 염수로 세척하고, 황산나트륨상에서 건조시키고 증발시켰다. 조질 물질을 0.1 % 포름산을 함유하는 수중 아세트니트릴의 구배를 사용하여 역상 질량-촉발성 HPLC에 의해 정제하여 동결건조시 회백색 고체로 되는 12.3 mg (28 μmol, 11 % 수율)의 {2-하이드록시-5-[3-(2-메톡시-페닐)-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘-5-일]-피리딘-3-일}-모르폴린-4-일-메타논을 수득하였다.

¹H-NMR (500 MHz, *d*₆-DMSO) δ 13.79 (s, 1H), 12.25 (s, 1H), 8.77 (d, 1H), 8.26 (d, 1H), 8.00 (d, 1H), 7.94 (d, 1H), 7.62 (dd, 1H), 7.46 (ddd, 1H), 7.22 (d, 1H), 7.09 (ddd, 1H), 3.83 (s, 3H), 3.7-3.2 (m, 8H). MS: *m/z* 432 [MH⁺].

방법 12:



단계 1: (2-아미노-5-브로모-페닐)-모르폴린-4-일-메타논의 합성

8 mL 스크류 캡(screw cap) 바이얼에 5-브로모이소타산 무수물 (0.200 g, 0.826 mmol), 무수 THF (5 mL), 및 모르폴린 (101 mg, 1.16 mmol)을 첨가하였다. 바이얼을 밀봉하고 열 블록에 60 °C에서 1.5시간 동안 놓아둔 후, 이를 진공하에 농축시켰다. 조질 생성물을 Et₂O/헥산으로 부수어 황갈색 고체로서 111 mg (94 %)의 (2-아미노-5-브로모-페닐)-모르폴린-4-일-메타논을 수득하였다. *m/z* 285/287 [MH⁺].

단계 2: {2-아미노-5-[3-(2-메톡시-페닐)-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘-5-일]-페닐}-모르폴린-4-일-메타논의 합성

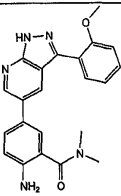
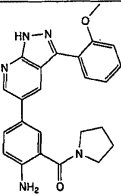
5 mL 퍼스널 케미스트리 마이크로웨이브 반응 바이얼에, 3-(2-메톡시-페닐)-5-(4,4,5,5-테트라메틸-[1,3,2]디옥사보롤란-2-일)-1-(2-트리메틸실라닐-에톡시메틸)-1*H*-피롤로[2,3-*b*]피리딘 (0.0498 g, 0.103 mmol), (2-아미노-5-브로모-페닐)-모르폴린-4-일-메타논 (0.0378 g, 0.132 mmol), 1,1'-비스(디페닐포스피노)페로센팔라듐(II)-디클로라이드 디클로로메탄 부가물 (13.4 mg, 0.017 mmol), 아세토니트릴 (1 mL) 및 포화 수성 NaHCO₃ (1 mL)를 첨가하였다. 바이얼을 밀봉하고 N₂로 퍼징(purging)하였으며, 90 °C에서 5분간 퍼스널 케미스트리 옵티마이저에서 조사하였다. 층들을 분리하고 수상을 EtOAc로 3회 추출하였다. 합친 유기상을 염수로 처리하고, 건조시켰으며(Na₂SO₄), 여과시키고 농축시켰다. 조질 생성물을 1부의 HClO₄ (70 %, ACS) 및 20부의 빙초산으로 이루어진 용액 5 mL에 용해시키고, 이 용액을 실온에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고 포화 NaHCO₃ 및 이어서 고체 NaHCO₃로 pH 7로 중화시켰다. 켄칭된 반응 혼합물을 EtOAc 및 물 사이에 분배시키고, 층들을 분리하였으며, 수상을 EtOAc로 2회 추출하였다. 합친 유기상을 염수로 처리하고, 건조시켰으며(Na₂SO₄), 여과시키고 농축시켰다. 5-95 % 구배의 아세토니트릴 (0.01 % 포름산 함유) 및 물 (0.1 % 포름산 함유)로 20 mL/분으로 용리시키면서, C-18 역상 칼럼(톰슨 인스트루먼트 캄파니 (Thomson Instrument Co.) ODS-A 100A, 5 μ, 50 x 21.3 mm)을 통해 질량-측발성 LC (양성 방식, ESI)에 의해 정제하여, 동결건조시 갈색 점성 오일로 나타나는 표제 화합물을 수득하였다 (12.9 mg, 29 %).

¹H-NMR (500 MHz, *d*₆-DMSO) δ 13.71

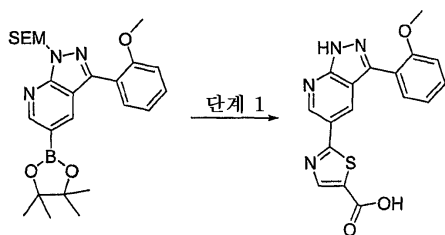
(br. s, 1H), 8.74 (d, *J*=2.0 Hz, 1H), 8.16(d, *J*=2.0 Hz, 1H), 7.62(d, *J*=7.5 Hz, 1H), 7.49(dd, *J*=2.5, 8.0 Hz, 1H), 7.45(m, 1H), 7.37(d, *J*=2.0 Hz, 1H), 7.20 (d, *J*= 8.0 Hz, 1H), 7.08(t, *J*=8.5 Hz, 1H), 6.81(d, *J*=8.0 Hz, 1H), 5.37(s, 2H), 3.83 (s, 3H), 3.60 (m, 4 H), 3.49(m, 4 H); MS: *m/z* 430.1 [MH⁺].

방법 12에 의해 제조된 다른 실시예들:

[표 8]

구조식	구조식
	
MS: m/z 388 [MH ⁺]	MS: m/z 414 [MH ⁺]

방법 13:



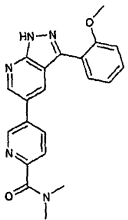
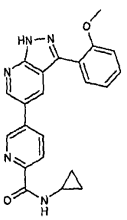
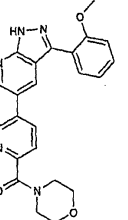
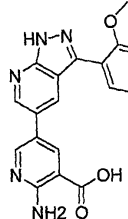
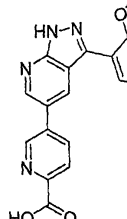
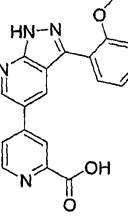
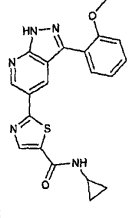
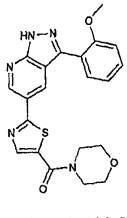
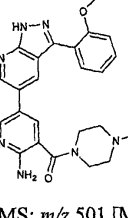
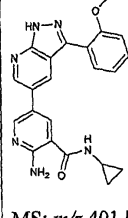
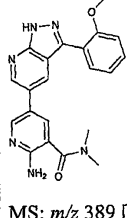
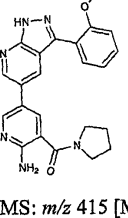
단계 1: 2-[3-(2-메톡시-페닐)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일]-티아졸-5-카르복실산의 합성

20 mL 퍼스널 케미스트리 마이크로웨이브 반응 바이얼에, 3-(2-메톡시-페닐)-5-(4,4,5,5-테트라메틸-[1,3,2]디옥사보롤란-2-일)-1-(2-트리메틸실라닐-에톡시메틸)-1H-피롤로[2,3-b]피리딘 (0.4992 g, 1.038 mmol), 2-브로모-티아졸-5-카르복실산 메틸 에스테르 (0.2592 g, 1.167 mmol), 1,1'-비스(디페닐포스피노)페로센팔라듐(II)-디클로라이드 디클로로메탄 부가물 (95.4 mg, 0.117 mmol), 아세트니트릴 (5 mL) 및 2 M 수성 Na₂CO₃ (5 mL)를 첨가하였다. 상기 바이얼을 밀봉하고 N₂로 퍼징하였으며, 130 °C에서 30분간 퍼스널 케미스트리 옵티마이저에서 조사하였다. 반응 혼합물을 EtOAc로 희석시키고 아세트산으로 pH 5로 산성화시켰다. 층들을 분리하고 수상을 EtOAc로 5회 추출하였다. 합친 유기상을 염수로 세척하고, 건조시켰으며(Na₂SO₄), 여과시키고 농축시켰다. 조질 생성물을 1부의 HClO₄ (70 %, ACS) 및 20부의 빙초산으로 이루어진 용액 10 mL에 용해시키고, 이 용액을 실온에서 4시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고 포화 NaHCO₃ 및 이어서 고체 NaHCO₃로 pH 7로 중화시켰다. 켄칭된 반응 혼합물을 EtOAc 및 물 사이에 분배시키고, 층들을 분리하였으며, 수상을 EtOAc로 2회 추출하였다. 그다음 수상을 아세트산으로 pH 4로 산성화시키고 EtOAc로 5회 추출하였다. 합친 유기 추출물을 염수로 처리하고, 건조시켰으며(Na₂SO₄), 여과시키고 농축시켰다. Et₂O로 부수어 녹색을 띠는 갈색 분말로서 표제 화합물 (0.296 g, 81 % 수율)을 수득하였다.

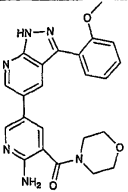
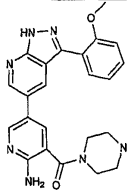
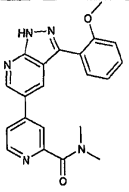
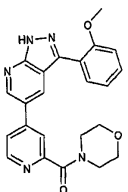
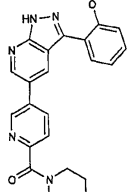
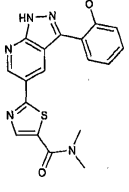
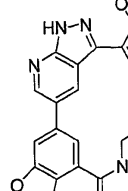
¹H-NMR (500 MHz, *d*₆-DMSO) δ 13.73 (br. s, 1H), 9.16 (s, 1H), 8.71(s, 1H), 8.40(s, 1H), 7.68(d, *J*=8.0 Hz, 1H), 7.48(t, *J*=8.0 Hz, 2H), 7.24(d, *J*=8.0 Hz, 1H), 7.10 (t, *J*=7.5 Hz 1H), 3.87(s, 3H); MS: m/z 353.1 [MH⁺].

방법 13에 의해 제조된 다른 실시예들:

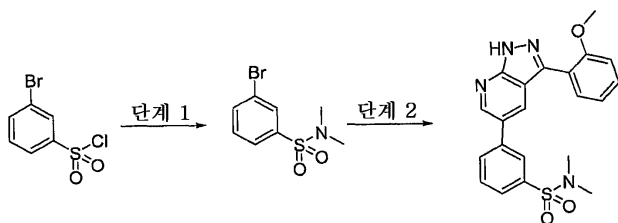
[표 9a]

구조식	구조식	구조식
 MS: m/z 374[MH^+]	 MS: m/z 386[MH^+]	 MS: m/z 416[MH^+]
 MS: m/z 362.1 [MH^+].	 MS: m/z 347.1 ($M + H^+$).	 MS: m/z 347 [MH^+]
 MS: m/z 392 [MH^+]	 MS: m/z 422 [MH^+]	 MS: m/z 501 [MH^+]
 MS: m/z 401 [MH^+]	 MS: m/z 389 [MH^+]	 MS: m/z 415 [MH^+]

[표 9b]

구조식	구조식	구조식
 MS: m/z 431 $[MH^+]$	 MS: m/z 444 $[MH^+]$	 MS: m/z 374 $[MH^+]$
 MS: m/z 416 $[MH^+]$	 MS: m/z 429 $[MH^+]$	 MS: m/z 380 $[MH^+]$
 MS: m/z 529.2 $(M+H^+)$		

방법 14:



단계 1: 3-브로모-N,N-디메틸-벤젠설포나미드의 합성

20 mL의 설파이드 바이얼에, 3-브로모벤젠설포닐 클로라이드 (0.301 g, 1.179 mmol) 및 무수 피리딘 (5 mL)을 첨가하였다. THF 중의 디메틸아민 2 M 용액 (1.0 mL, 2.0 mmol)을 적가하고, 반응 혼합물을 실온에서 질소하에 5시간 동안 교반한 후, 이를 진공하에 농축시켰다. 조질 잔류물을 EtOAc 및 1 M 시트르산 사이에 분배시켰다. 층들을 분리하고, 유기상을 1 M 시트르산으로 세척한 후, 염수로 처리하고, 건조시켰으며(Na_2SO_4), 여과시키고 농축시켰다. Et₂O로 부수어 백색 분말로서 3-브로모-N,N-디메틸-벤젠설포나미드를 수득하였다 (0.297 g, 96 %). MS: m/z 263.9/265.9 $[MH^+]$.

단계 2: 3-[3-(2-메톡시-페닐)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일]-N,N-디메틸-벤젠설포나미드의 합성

5 mL 퍼스널 케미스트리 마이크로웨이브 반응 바이얼에, 3-(2-메톡시-페닐)-5-(4,4,5,5-테트라메틸-[1,3,2]디옥사보롤란-2-일)-1-(2-트리메틸실라닐-에톡시메틸)-1H-피롤로[2,3-b]피리딘 (0.0496 g, 0.103 mmol), 3-브로모-N,N-디메틸-벤젠설포나미드 (0.0417 g, 0.143 mmol), 1,1'-비스(디페닐포스포노)페로센팔라듐(II)-디클로라이드 디클로로메탄 부가물 (13.9 mg, 0.017 mmol), 아세트니트릴 (1 mL) 및 포화 수성 $NaHCO_3$ (1 mL)를 첨가하였다. 상기 바이얼을 밀봉하고 N_2 로 퍼징하였으며, 90 °C에서 15분간 퍼스널 케미스트리 옵티마이저에서 조사하였다. 층들을 분리하고 수상을

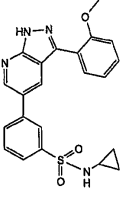
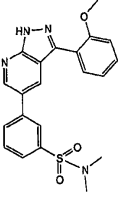
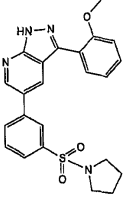
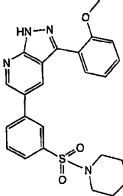
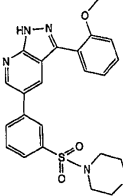
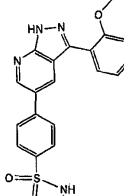
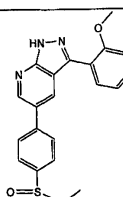
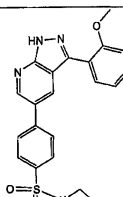
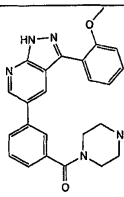
EtOAc로 3회 추출하였다. 합친 유기상을 염수로 세척하고, 건조시켰으며(Na_2SO_4), 여과시키고 농축시켰다. 조질 생성물을 1부의 HClO_4 (70 %, ACS) 및 20부의 빙초산으로 이루어진 용액 5 mL에 용해시키고, 이 용액을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고 포화 NaHCO_3 및 이어서 고체 NaHCO_3 로 pH 7로 중화시켰다. 켄칭된 반응 혼합물을 EtOAc 및 물 사이에 분배시키고, 층들을 분리하였으며, 수상을 EtOAc로 2회 추출하였다. 합친 유기상을 염수로 처리하고, 건조시켰으며(Na_2SO_4), 여과시키고 농축시켰다. 5-95 % 구배의 아세토니트릴 (0.01 % 포름산 함유) 및 물 (0.1 % 포름산 함유)로 20 mL/분으로 용리시키면서, C-18 역상 칼럼(툼슨 인스트루먼트 캄파니 ODS-A 100A, 5 μ , 50 x 21.3 mm)을 통해 질량-촉발성 LC (양성 방식, ESI)에 의해 정제하여, 동결건조시 밝은 황색 분말로 나타나는 표제 화합물을 수득하였다 (10.4 mg, 25 %).

$^1\text{H-NMR}$ (500

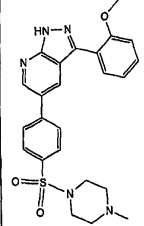
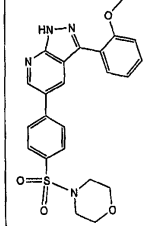
MHz, d_6 -DMSO) δ = 13.91 (br. s, 1H), 8.92 (d, J =2.0 Hz, 1H), 8.44(d, J =2.0 Hz, 1H), 8.12(m, 1H), 8.01(br.s, 1H), 7.76(m, 2H), 7.67(dd, J =2.0, 7.5 Hz, 1H), 7.45 (m, 1H), 7.22(d, J =8.0 Hz, 1H), 7.09(t, J =8.0 Hz, 1H), 3.85(s, 3H), 2.66 (s, 6H); MS: m/z 409.1 [MH^+].

방법 14에 의해 제조된 다른 화합물들:

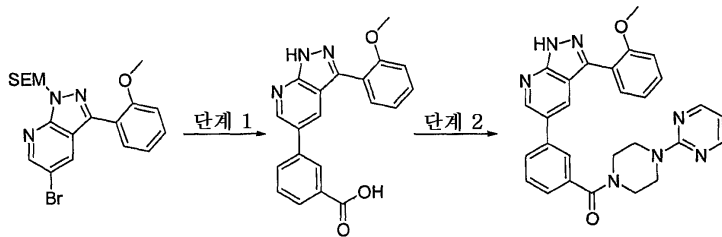
[표 10a]

구조식	구조식	구조식
 MS: m/z 421 [MH^+]	 MS: m/z 409 [MH^+]	 MS: m/z 435 [MH^+]
 MS: m/z 451 [MH^+]	 MS: m/z 464 [MH^+]	 MS: m/z 421 [MH^+]
 MS: m/z 409 [MH^+]	 MS: m/z 435 [MH^+]	 MS: m/z 485 [MH^+]

[표 10b]

구조식	구조식	구조식
		
MS: m/z 464 $[MH^+]$	MS: m/z 451 $[MH^+]$	

방법 15:



단계 1: 3-[3-(2-메톡시-페닐)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일]-벤조산의 합성

마이크로웨이브 바이얼에서 아세토니트릴 (15 mL) 및 포화 수성 NaHCO_3 (10 mL) 중의 5-브로모-3-(2-메톡시-페닐)-1-(2-트리메틸실라닐-에톡시메틸)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘 (997 mg, 2.30 mmol)의 용액에 3-카르복시페닐보론산, 피나콜 에스테르 (625 mg, 2.52 mmol) 및 디클로로메탄과의 [1,1'-비스(디페닐포스포노)페로센]디클로로팔라듐 (II) 착체 (1:1) (94 mg, 0.12 mmol)를 첨가하였다. 상기 바이얼을 캡핑시키고, N_2 로 플라싱하였으며, 진공하에 증발시키고 마이크로웨이브에서 90 °C에서 1500초간 가열하였다. 아세토니트릴을 회전 증발을 통해 제거하였다. 에틸 아세테이트를 첨가한 후, 수층으로부터 분리하였다. 유기층은 어두운 갈색이었고, LC/MS 결과 생성물이 이 층에 잔존하는 것이 확인되었다. 어두운 갈색 오일을 농축시키고 아세트산 용액 중의 5 % 과염소산 (10 mL)에 재용해시켰다. 반응 용액을 주위 온도에서 4.5시간 교반하였다. 과염소산을 회전 증발을 통해 제거한 후, 에틸 아세테이트 및 H_2O 를 첨가하였다. 중탄산나트륨 분말을 pH = 3일 때까지 첨가하였다. 유기층을 분리하고, Na_2SO_4 상에서 건조시켰으며, 진공하에 농축시켜 갈색 분말을 수득하였다 (580 mg, 62% 수율).

^1H NMR (500 MHz, d_6 -DMSO) δ 13.81 (br s, 1H), 8.81 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 8.31 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 8.18 (s, 1H), 7.95 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 7.90 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 7.59 (m, 2H), 7.41 (t, J = 7.0 Hz, 1H), 7.17 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.04 (t, J = 7.5 Hz, 1H), 3.80 (s, 3H). MS: m/e 346.1 ($M + H^+$).

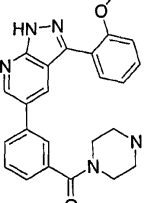
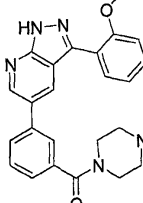
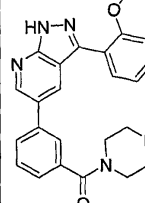
단계 2: {3-[3-(2-메톡시-페닐)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일]-페닐}-(4-피리미딘-2-일-피페라진-1-일)-메탄올의 합성

DMF (1 mL) 중의 3-[3-(2-메톡시-페닐)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일]-벤조산 (18 mg, 0.05 mmol)의 용액에 HATU (20 mg, 0.05 mmol) 및 1-(2-피리미딜)피페라진 (11 μL , 0.08 mmol)을 첨가하였다. 반응 용액을 주위 온도에서 16시간 동안 교반하였다. 조질 생성물을 에틸 아세테이트로 추출하고 H_2O 로 세척하였다. 유기층을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과시켰으며, 실리카겔상에 흡착시켰다. 에틸 아세테이트 (10 % MeOH 함유) 및 헥산의 구배로 플래쉬 크로마토그래피에 의해 정제하여 백색 분말로서 표제 화합물을 수득하였다 (7.2 mg, 28% 수율).

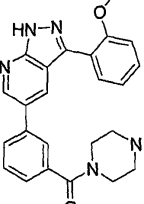
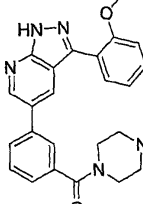
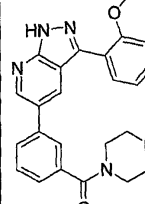
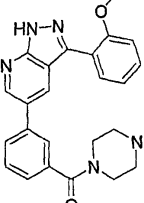
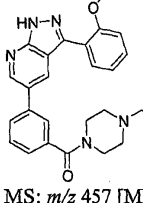
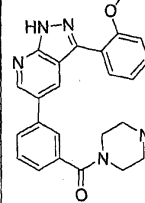
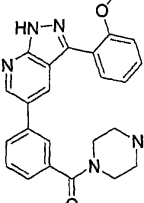
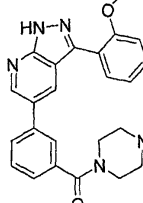
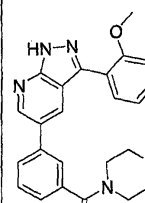
^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 8.85 (d, $J = 2$ Hz, 1H), 8.42 (d, $J = 2$ Hz, 1H), 8.35 (d, $J = 4.5$ Hz, 2H), 7.83 (d, $J = 8$ Hz, 1H), 7.79 (s, 1H), 7.64 (m, 2H), 7.50 (m, 2H), 7.20 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.11 (t, $J = 8$ Hz, 1H), 6.64 (t, $J = 4.5$ Hz, 1H), 3.96 (br s, 2H), 3.89 (s, 3H), 3.86 (br s, 4H), 3.60 (br s, 2H). MS: m/z 492.1 ($\text{M} + \text{H}^+$).

방법 15에 의해 제조된 다른 화합물들:

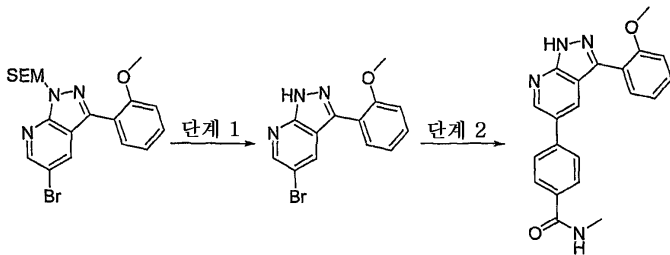
[표 11a]

구조식	구조식	구조식
 MS: m/z 499 [MH^+].	 MS: m/z 513 [MH^+].	 MS: m/z 458 [MH^+].

[표 11b]

구조식	구조식	구조식
 MS: m/z 527 [MH^+].	 MS: m/z 505 [MH^+].	 MS: m/z 491 [MH^+].
 MS: m/z 470 [MH^+].	 MS: m/z 457 [$\text{MH}^+ - 100$], 557 [MH^+].	 MS: m/z 486 [MH^+].
 MS: m/z 457 [MH^+].	 MS: m/z 499 [MH^+].	 MS: m/z 527 [MH^+].

방법 16:

단계 1: 5-브로모-3-(2-메톡시-페닐)-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘의 합성

THF (3 mL) 중의 5-브로모-3-(2-메톡시-페닐)-1-(2-트리메틸실라닐-에톡시메틸)-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘 (260 mg, 0.60 mmol)의 용액에 테트라부틸암모늄 플루오라이드 (THF 용액 중 1 M 6 mL, 6.00 mmol) 및 분자체를 첨가하였다. 이 용액을 교반하지 않고 4시간 동안 환류 (70 °C)하에 가열하였다. 용액을 주위 온도로 냉각시키고 MeOH 중의 아세트산의 묽은 용액을 적가하여 pH = 5로 산성화시켰다. 상기 용액을 여과시키고 여액을 회전 증발을 통해 농축시켰다. 물질을 EtOAc로 추출하고 H₂O로 3회 세척하였다. 유기층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고 농축시켜 주황색 고체로서 5-브로모-3-(2-메톡시-페닐)-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘을 수득하였다 (177 mg, 97% 수율). MS: *m/z* 303.9, 305.9 [M+H⁺]. 이 물질을 추가로 정제하지 않고 단계 2에서 직접 사용하였다.

단계 2: 4-[3-(2-메톡시-페닐)-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘-5-일]-*N*-메틸-벤즈아미드의 합성

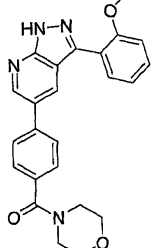
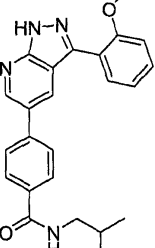
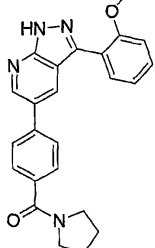
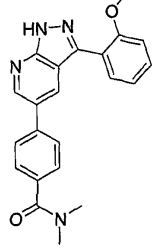
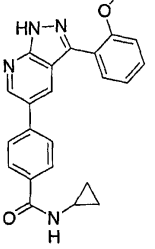
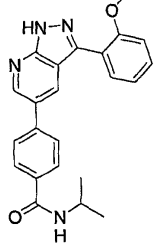
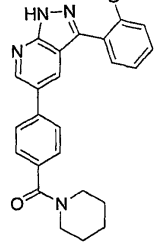
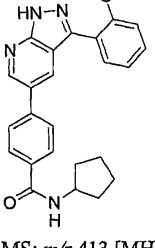
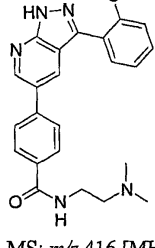
마이크로웨이브 바이얼에서 아세트니트릴 (1 mL) 및 포화 수성 NaHCO₃ (1 mL) 중의 5-브로모-3-(2-메톡시-페닐)-1*H*-피라졸로[3,4-*b*]피리딘 (26 mg, 0.085 mmol)의 용액에 4-(*N*-메틸아미노카르보닐)페닐보론산 (17 mg, 0.094 mmol) 및 디클로로메탄과의 [1,1'-비스(디페닐포스피노)페로센]디클로로팔라듐 (II) 착체 (1:1) (3.5 mg, 0.004 mmol)를 첨가하였다. 상기 바이얼을 캡핑시키고, N₂로 플러싱하였으며, 진공하에 증발시키고 마이크로웨이브에서 130 °C에서 1800초간 가열하였다. 물질을 EtOAc로 추출하고 유기층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시켰다. 물질을 SiO₂상에 흡착시키고 EtOAc (10 % MeOH 함유) 및 헥산 구배에서 플래쉬 크로마토그래피에 의해 정제하였다. 깨끗한 분획을 회전 증발을 통해 농축시켜 백색 분말로서 표제 화합물을 수득하였다 (5.9 mg, 20 % 수율).

¹H

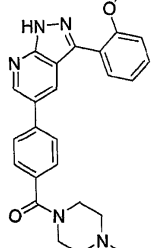
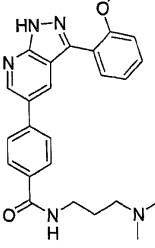
NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 8.85 (s, 1H), 8.41 (s, 1H), 7.94 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.78 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.67 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.48 (t, 7.0 Hz, 1H), 7.21 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.11 (t, *J* = 7.0 Hz, 1H), 3.89 (s, 3H), 2.95 (s, 3H). MS: *m/z* 359.1 [M+H⁺].

방법 16에 의해 제조된 다른 화합물들:

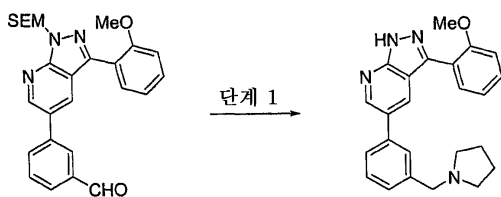
[표 12a]

구조식	구조식	구조식
 MS: m/z 415 $[MH^+]$.	 MS: m/z 401 $[MH^+]$.	 MS: m/z 399 $[MH^+]$.
 MS: m/z 373 $[MH^+]$.	 MS: m/z 385 $[MH^+]$.	 MS: m/z 387 $[MH^+]$.
 MS: m/z 413 $[MH^+]$.	 MS: m/z 413 $[MH^+]$.	 MS: m/z 416 $[MH^+]$.

[표 12b]

구조식	구조식	구조식
 MS: m/z 428 $[MH^+]$.	 MS: m/z 430 $[MH^+]$.	

방법 17:



단계 1: 3-(2-메톡시-페닐)-5-(3-피롤리딘-1-일메틸-페닐)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘의 합성

1.5 ml 디클로로에탄 중의 3-[3-(2-메톡시-페닐)-1-(2-트리메틸실라닐-에톡시메틸)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일]-벤즈알데히드 (23 mg, 0.050 mmol) 및 피롤리딘 (5 μ l, 0.082 mmol)의 용액에 3 μ l의 AcOH를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 30분간 교반한 후, 이 혼합물에 나트륨 트리옥시아세틸보로하이드라이드 (22 mg, 0.10 mmol)를 한번에 첨가하였다. 반응을 실온에서 추가로 2시간 동안 계속 수행한 후, 혼합물을 농축시켜 SEM 생성물을 수득하였으며, 이를 실온에서 1시간 동안 아세트산 중의 5 % 과염소산염 (2 mL)으로 처리하였다. 용매를 증발시키고, 잔류물을 중탄산나트륨 분말로 중화시킨 후, 에틸 아세테이트 및 이어서 EtOAc/DCM/MeOH/NH₄OH (4/4/1/0.05)의 혼합물을 사용하여 플래쉬 실리카겔 크로마토그래피에 의해 정제하여 백색 고체로서 3-(2-메톡시-페닐)-5-(3-피롤리딘-1-일메틸-페닐)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘 (8.50 mg, 44 % 수율)을 수득하였다.

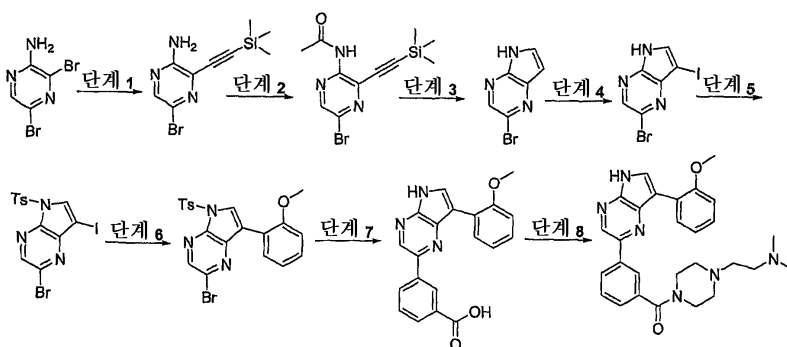
¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 1.89 (d, J = 3 Hz, 4H), 2.76 (d, J = 1.5 Hz, 4H), 3.89 (s, 2H), 3.9 (s, 2H), 7.11 (t, J = 1 Hz, 1H), 7.22 (d, J = 8 Hz, 1H), 7.42 (t, J = 7 Hz, 1H), 7.47 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 7.48 (d, J = 2 Hz, 1H), 7.51 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 7.65 (t, J = 6.75 Hz, 1H), 7.72 (s, 1H), 8.39 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 8.83 (d, J = 2 Hz, 1H). MS: m/z 385 [MH⁺].

방법 17에 의해 제조된 다른 화합물들:

[표 13]

구조식	구조식	구조식

방법 18:



단계 1: 5-브로모-3-트리메틸실라닐에티닐-피라진-2-일아민의 합성

DMF (35 ml) 중의 3,5-디브로모-피라진-2-일아민 (3.00 g, 11.86 mmol)의 용액에 트리에틸아민 (16 ml), 이어서 테트라키스트리페닐 팔라듐 (0) (685 mg, 0.59 mmol) 및 요오드화구리 (I) (271 mg, 1.42 mmol)를 순차적으로 첨가하였다. 마지막으로 트리메틸실릴아세틸렌 (2.0 ml, 14.3 mmol)을 적가하였다. 반응 혼합물을 120 °C에서 30분간 교반한 후, 실리카겔상에 직접 흡착시켰다. 에틸 아세테이트/헥산의 구배로 실리카겔상에서 플래쉬 크로마토그래피에 의해 정제하여 황색 오일로서 표제 화합물을 수득하였다 (2.30 g, 71 % 수율). MS: m/z 270.0/272.0 [MH^+].

단계 2: N-(5-브로모-3-트리메틸실라닐에티닐-피라진-2-일)-아세트아미드의 합성

무수 THF (35 ml) 및 피리딘 (1.62 ml, 20.0 mmol) 중의 5-브로모-3-트리메틸실라닐에티닐-피라진-2-일아민 (2.30 g, 8 mmol)의 용액에 아세틸 클로라이드 (682 μ l, 9.6 mmol)를 첨가하였다. 이 혼합물을 실온에서 하룻밤 동안 교반한 후, 60 °C에서 5시간 동안 교반하였다. 용매를 진공하에 제거하고 생성된 갈색 잔류물을 에틸 아세테이트/헥산의 구배로 실리카겔 크로마토그래피에 의해 정제하여 밝은 황색 내지 회백색 고체로서 표제 화합물 (474 mg, 1.52 mmol)을 수득하였다. MS: m/z 311.9/313.9 [MH^+].

단계 3: 2-브로모-5H-피롤로[2,3-b]피라진의 합성

THF (4 ml) 중의 N-(5-브로모-3-트리메틸실라닐에티닐-피라진-2-일)-아세트아미드 (474 mg, 1.52 mmol)의 용액에 THF 중의 테트라-n-부틸 암모늄플루오라이드 1 M 용액 (3.3 ml, 3.3 mmol)을 적가하였다. 15시간 동안 환류하에 교반한 후에, 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고 물을 첨가하였다. 수층을 디클로로메탄으로 3회 추출하고 합친 추출물을 실리카겔상에서 직접 흡착시켰다. 에틸 아세테이트/헥산의 구배로 실리카겔 크로마토그래피에 의해 정제하여 황색 고체로서 표제 화합물을 수득하였다 (130 mg, 43 % 수율).

1H -

NMR (500 MHz, d_6 -DMSO) δ 12.38 (s br, 1H), 8.38 (s, 1H), 7.95 (d, 3.5Hz, 1H), 6.61 (d, 3.5Hz, 1H). MS: m/z 197.9/199.9 [MH^+].

단계 4: 2-브로모-7-요오도-5H-피롤로[2,3-b]피라진의 합성

아세톤 (5 ml) 중의 2-브로모-5H-피롤로[2,3-b]피라진 (258 mg, 1.3 mmol)의 용액에 N-요오도숙신이미드 (324 mg, 1.44 mmol)를 한번에 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 45분간 교반하였다. 생성된 침전물을 여거하고 최소량의 아세톤으로 세척하였으며, 진공하에 건조시켜 밝은 갈색 고체로서 표제 화합물을 수득하였다.

1H -NMR (500 MHz, d_6 -DMSO) δ 12.81 (s br, 1H),

8.40 (s, 1H), 8.19 (d, 3.0Hz, 1H). MS: m/z 323.8/325.8 [MH^+].

단계 5: 2-브로모-7-요오도-5-(톨루엔-4-설폰닐)-5H-피롤로[2,3-b]피라진의 합성

THF (5 ml) 중의 2-브로모-7-요오도-5H-피롤로[2,3-b]피라진 (290 mg, 0.895 mmol)의 현탁액에 NaH (60 %, 43 mg, 1.08 mmol)를 한번에 0 °C에서 첨가하였다. 생성된 혼합물을 20분간 교반한 후, THF (2 mL) 중의 파라-톨루엔설폰닐 클로라이드 (188 mg, 0.98 mmol)의 용액을 첨가하였다. 반응 혼합물을 이어서 실온에서 3시간 동안 교반하였다. 용매를 제거하고 생성된 어두운 갈색의 잔류물을 수성 KOH 및 물로 세척하고 건조시켜 밝은 갈색 고체로서 표제 화합물을 수득하였다 (423 mg, 99 % 수율)

1H -NMR (500 MHz, d_6 -DMSO) δ 8.60 (d,

11.5Hz, 1H), 7.99 (d, 11.5Hz, 2H), 7.44 (d, 7.5Hz, 2H), 2.34 (s, 3H). MS: m/z 477.8/479.8 [MH^+].

단계 6: 2-브로모-7-(2-메톡시-페닐)-5-(톨루엔-4-설폰닐)-5H-피롤로[2,3-b]피라진의 합성

50-ml 환저 플라스크에 2-브로모-7-요오도-5-(톨루엔-4-설폰닐)-5H-피롤로[2,3-b]피라진 (423 mg, 0.885 mmol), 2-메톡시페닐보론산 (148 mg, 0.973 mmol) 및 디클로로비스(트리페닐포스포노)팔라듐(II) (31 mg, 0.04 mmol)을 충전시켰다. 이 혼합물에 아세토니트릴 (10 mL) 및 2 M 중탄산나트륨 수용액 (5 mL)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 40 °C에서

1시간 동안 교반한 후, 55 °C에서 추가로 1시간 동안 교반하였다. 조질 반응 혼합물을 에틸 아세테이트 및 중탄산나트륨 포화 수용액 사이에 분배시켰다. 수상을 이어서 에틸 아세테이트로 추출하고, 합친 유기상을 황산나트륨상에서 건조시키고 여과시키고 농축시켰다. 조질 생성물을 이어서 헥산 중의 에틸 아세테이트의 구배를 사용하여 플래쉬 실리카겔 크로마토그래피에 의해 정제하여 밝은 황색 고체로서 2-브로모-7-(2-메톡시-페닐)-5-(톨루엔-4-설폰닐)-5H-피콜로[2,3-b]피라진 (139 mg, 34 % 수율)을 수득하였다. 비스-부가 생성물인 2,7-비스-(2-메톡시-페닐)-5-(톨루엔-4-설폰닐)-5H-피콜로[2,3-b]피라진도 수득되었다 (213 mg, 50 % 수율). MS: m/z 457.9/460.0 [MH⁺]; MS: m/z 486.1 [MH⁺] (비스-부가 생성물).

단계 7: 3-[7-(2-메톡시-페닐)-5H-피콜로[2,3-b]피라진-2-일]-벤조산의 합성

아세트니트릴 (2 mL) 및 탄산나트륨 수용액 (2 M, 2 mL) 중의 2-브로모-7-(2-메톡시-페닐)-5-(톨루엔-4-설폰닐)-5H-피콜로[2,3-b]피라진 (70 mg, 0.15 mmol), 3-(4,4,5,5-테트라메틸-[1,3,2]디옥사보롤란-2-일)-벤조산 (57 mg, 0.23 mmol) 및 디클로로비스(트리페닐포스피노)팔라듐(II) (5.4 mg, 0.008 mmol)의 혼합물을 95 °C에서 20분간 퍼스널 케미스트리 옵티마이저에서 조사하였다. 조질 반응 혼합물을 디클로로메탄 및 중탄산나트륨 포화 수용액 사이에 분배시켰다. 수상을 이어서 디클로로메탄으로 추출하고 합친 유기상을 황산나트륨상에서 건조시키고 여과시키고 농축시켰다.

조질 갈색 잔류물을 이어서 MeOH (2 mL)에 용해시키고 5 N KOH (150 µL)를 첨가하였다. 그다음 혼합물을 40 °C에서 2시간 동안 교반한 후, 용매를 제거하였다. 생성된 황색 잔류물을 묽은 HCl (2 ml) 및 물로 세척한 후, 건조시켜 조질 산인 3-[7-(2-메톡시-페닐)-5H-피콜로[2,3-b]피라진-2-일]-벤조산을 수득하였으며, 이를 단계 8에 직접 사용하였다.

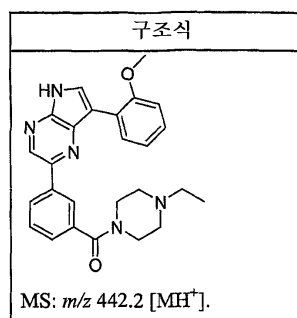
MS: m/z 346.0 [MH⁺].

단계 8: [4-(2-디메틸아미노-에틸)-피페라진-1-일]-{3-[7-(2-메톡시-페닐)-5H-피콜로[2,3-b]피라진-2-일]-페닐}-메탄올의 합성

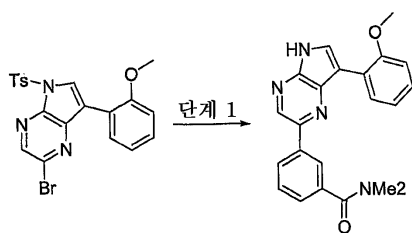
DMF (1 mL) 중의 3-[7-(2-메톡시-페닐)-5H-피콜로[2,3-b]피라진-2-일]-벤조산 (35 mg, 0.1 mmol), EDCI (77 mg, 0.40 mmol), HBTU (3.8 mg, 0.01 mmol) 및 디이소프로필에틸아민 (175 µl, 1.0 mmol)의 혼합물에 2-(디메틸아미노)에틸피페라진 (55 µl, 0.3 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 70 °C에서 5시간 동안 교반한 후, 용매를 제거하였다. 생성된 황색 오일을 물로 세척하고, DMSO에 용해시켰으며, 역상 HPLC상에서 정제하여 황색 고체로서 표제 화합물을 수득하였다 (2단계에 걸쳐 8.6 mg, 12 %). MS: m/z 485.2 [MH⁺].

방법 18에 의해 제조된 다른 화합물들:

[표 14]



방법 19:



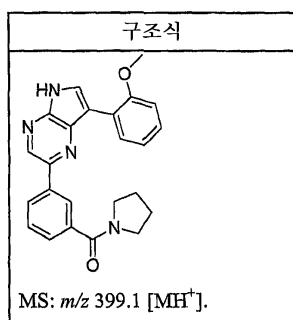
단계 1: 3-[7-(2-메톡시-페닐)-5H-피롤로[2,3-b]피라진-2-일]-N,N-디메틸-벤즈아미드의 합성

아세트니트릴 (1 mL) 및 중탄산나트륨 수용액 (2 M, 1 mL) 중의 2-브로모-7-(2-메톡시-페닐)-5-(톨루엔-4-설폰닐)-5H-피롤로[2,3-b]피라진 (30 mg, 0.065 mmol), 3-디메틸아미노카르보닐페닐 보론산 (25.3 mg, 0.130 mmol) 및 디클로로비스(트리페닐포스피노)팔라듐(II) (2.5 mg, 0.003 mmol)의 혼합물을 90 °C에서 15분간 퍼스널 케미스트리 옵티마 이저에서 조사하였다. 조질 반응 혼합물을 디클로로메탄 및 중탄산나트륨 포화 수용액 사이에 분배시켰다. 수상을 이어서 디클로로메탄으로 추출하고 합친 유기상을 황산나트륨상에서 건조시키고 여과시키고 농축시켰다. 조질 갈색 잔류물 이어서 MeOH (5 mL) 및 5 N KOH (50 µL)에 용해시키고 혼합물을 실온에서 75분간 교반하였다. 용매를 제거하여 황색 잔류물을 수득한 후, 헥산 중의 에틸 아세테이트 및 이어서 EtOAc 중의 10 % MeOH의 구배를 사용하여 플래쉬 실리카겔 크로마토그래피에 의해 정제하여 담황색 고체로서 3-[7-(2-메톡시-페닐)-5H-피롤로[2,3-b]피라진-2-일]-N,N-디메틸-벤즈아미드 (13.0 mg, 54 % 수율)를 수득하였다.

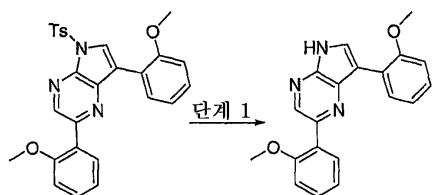
¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 8.89 (m, 1H), 8.80 (m, 1H), 8.40 (m, 1H), 8.25 (m, 2H), 7.62 (m, 1H), 7.50 (m, 1H), 7.25 (m, 1H), 7.10 (m, 2H), 3.97 (m, 3H), 3.17 (m, 3H), 3.10 (m, 3H). MS: *m/z* 373.1 [MH⁺].

방법 19에 의해 제조된 다른 화합물들:

[표 15]



방법 20:



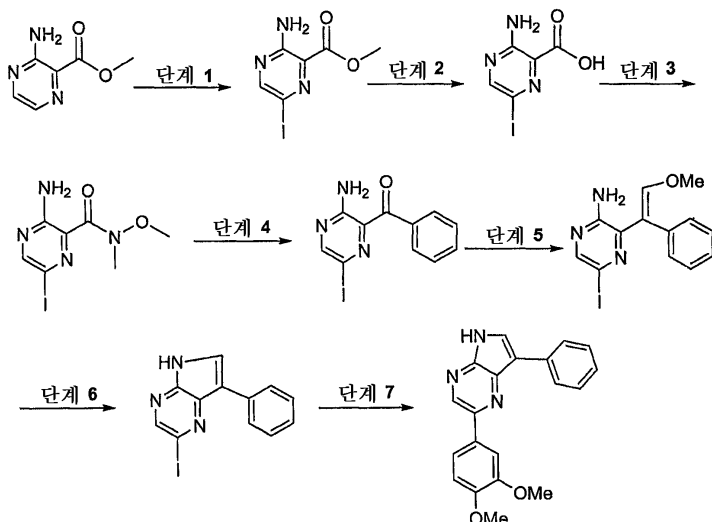
단계 1: 2,7-비스-(2-메톡시-페닐)-5H-피롤로[2,3-b]피라진의 합성

MeOH (5 mL) 중의 2,7-비스-(2-메톡시-페닐)-5-(톨루엔-4-설폰닐)-5H-피롤로[2,3-b]피라진 (200 mg, 0.412 mmol)의 용액에 물 (200 µL) 중의 NaOH (66 mg, 1.65 mmol)의 용액을 첨가하였다. 이 혼합물을 실온에서 3.5시간 동안

교반한 후, 용매를 제거하였다. 생성된 황색 잔류물을 이어서 헥산 중의 에틸 아세테이트의 구배를 사용하여 플래쉬 실리카겔 크로마토그래피에 의해 정제하여 담황색 고체로서 2,7-비스-(2-메톡시-페닐)-5H-피롤로[2,3-b]피라진 (43 mg, 32 % 수율)을 수득하였다.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD) δ 12.21 (s br, 1H), 8.80 (dd, 6.0Hz, 1.75Hz, 1H), 8.69 (s, 1H), 7.76(dd, 6.0Hz, 1.75Hz, 1H), 7.43 (dt, 7.5Hz, 1.75Hz, 1H), 7.20 (m, 2H), 7.13 (m, 2H), 7.04(t, 7.3Hz, 1H), 3.92 (s, 3H), 3.85(s, 3H). MS: m/z 332.1 [MH^+].

방법 21:



단계 1: 3-아미노-6-요오도-피라진-1-카르복실산 메틸 에스테르의 합성

메틸 3-아미노-2-피라진카르복실레이트 (10 g, 65.3 mmol) 및 N-요오도숙신이미드 (24 g, 106.7 mmol)를 무수 DMF (150 mL)에 용해시키고 혼합물을 질소 분위기하에 70 °C에서 15시간 동안 교반하였다. 그다음 혼합물을 실온으로 냉각시키고 티오황산나트륨 포화 수용액 (400 mL)을 첨가하였다. 현탁액을 15분간 음파처리하고 진공하에 농축시켰으며 물에 분산시켰다. 조질 생성물을 여거하고 찬 에탄올로 세척하였다. 잔류물을 에탄올로부터 결정화시키고 탈색성 charcoal (charcoal)을 사용하여 오렌지색 니들(needle)로서 3-아미노-6-요오도-피라진-2-카르복실산 메틸 에스테르 (11.2 g, 61 % 수율)를 수득하였다.

$^1\text{H-NMR}$ ($\text{d}_6\text{-DMSO}$) δ 8.57 [1H] s, 7.59 [2H] s,br, 3.93 [3H] s. MS: m/z 280 [MH^+].

단계 2: 3-아미노-6-요오도-피라진-2-카르복실산의 합성

3-아미노-6-요오도-피라진-2-카르복실산 메틸 에스테르 (45 g, 161 mmol)를 750 ml의 THF에 용해시켰다. 90 ml의 물 및 40 ml의 4 M 수산화리튬 수용액을 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 2시간 동안 또는 TLC 분석시 기저 물질만이 나타날 때까지 교반하였다. 10 % 시트르산 수용액을 첨가하여 pH를 약 3-4로 조정하였다. 혼합물을 디클로로메탄으로 희석시키고 유기상을 분리하였다. 수층을 디클로로메탄으로 3회 추출하고 합친 유기상을 황산나트륨상에서 건조시키고 증발시켰다. 잔류물을 진공하에 건조시켜 황색 분말로서 37.0 g (140 mmol; 87 % 수율)의 3-아미노-6-요오도-피라진-2-카르복실산을 수득하였다.

$^1\text{H-NMR}$ ($\text{d}_6\text{-DMSO}$) δ 11.70 s, 약함, 8.44 [1H] s, 7.50 [2H] s,br. MS: m/z 266 [MH^+].

단계 3: 3-아미노-6-요오도-피라진-2-카르복실산 메톡시-메틸-아미드의 합성

27.50 g (0.104 mol)의 3-아미노-6-요오도-피라진-2-카르복실산, 63.0 g (0.125 mol)의 PyBOP (1-벤조트리아졸릴옥시-트리스(피롤리디노)포스포늄 헥사플루오로포스페이트) 및 18.70 g (0.193 mol)의 N,O-디메틸하이드록실아민 하이드로클로라이드를 질소 플러싱된 플라스크에 넣은 후, 100 ml의 무수 DMF 및 27 ml의 N,N-디-이소프로필에틸아민의 혼합물에 용해시켰다. 혼합물을 16시간 동안 80 °C로 가열하였다. 용매를 감압하에 50-60 °C에서 증발시켜 어두운 오일을

수득하였다. 오일을 300 ml의 톨루엔으로 3회 내지 4회 추출하였다. 톨루엔 상을 합치고 증발시켰다. 생성된 오일을 헥산 중의 에틸 아세테이트의 구배를 사용하여 실리카겔상의 크로마토그래피를 통해 정제하여 황색 고체로서 18.40 g (59.72 mmol; 58 %)의 3-아미노-6-요오도-피라진-2-카르복실산 메톡시-메틸-아미드를 수득하였다.

¹H-NMR (d6-

DMSO) δ: 8.28 [1H] s, 6.78 [2H] s, 3.66 [3H] s, 3.25 [3H] s. MS: *m/z* 309 [MH⁺].

단계 4: (3-아미노-6-요오도-피라진-2-일)-페닐-메타논의 합성

8.00 g (25.97 mmol)의 3-아미노-6-요오도-피라진-2-카르복실산 메톡시-메틸-아미드를 질소하에 100 ml의 무수 THF에 용해시켰다. 용액을 55 °C로 냉각시키고 에테르 중의 페닐마그네슘 브로마이드의 3 M 용액 27 ml를 첨가하였다. 혼합물을 10 °C로 가온시키고 10 % 시트르산 수용액을 첨가하였다. 혼합물을 디클로로메탄으로 희석하고 상들을 분리하였다. 수상을 디클로로메탄으로 3회 추출하고 합친 유기상을 황산나트륨상에서 건조시키고 증발시켰다. 생성된 고체를 에탄올로부터 결정화시켜 황색-오렌지색 결정으로서 5.74 g (17.66 mmol; 68 %)의 (3-아미노-6-요오도-피라진-2-일)-페닐-메타논을 수득하였다.

¹H-NMR (d6-DMSO) δ:

8.52 [1H] s, 7.94 [2H] s,br, 7.85 [2H] d, 7.62 [1H] t, 7.52 [2H] t. MS: *m/z* 326 [MH⁺].

단계 5: 5-요오도-3-(2-메톡시-1-페닐-비닐)-피라진-2-일아민의 합성

2.52 g (12.6 mmol)의 칼륨 비스(트리메틸실릴)아미드를 질소하에 150 ml의 무수 THF에 용해시켰다. 3.80 g (11.1 mmol)의 메톡시메틸트리페닐포스포늄 클로라이드를 첨가하고 이 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 생성된 혼합물에 2.50 g (7.69 mmol)의 (3-아미노-6-요오도-피라진-2-일)-페닐-메타논을 첨가하고 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 생성된 반응 혼합물을 20시간 동안 가열하여 환류시켰다. 냉각시킨 후에, 혼합물을 디클로로메탄으로 희석시키고 수중 염화암모늄 포화 수용액으로 세척하고 황산나트륨상에서 건조시켰다. 용매를 증발시키고 잔류물을 헥산 중의 에틸 아세테이트의 구배를 사용하여 실리카겔상에서 크로마토그래피에 의해 정제하여 담황색 고체로서 1.942 g (5.50 mmol; 72 %)의 부분적으로 분할된 E- 및 Z-5-요오도-3-(2-메톡시-1-페닐-비닐)-피라진-2-일아민을 수득하였다.

¹H-NMR (d6-DMSO) δ: 이성질체 A 8.12 [1H] s, 7.33-7.26 [4H] m, 7.20 [1H] m, 6.66

[1H] s, 6.00 [2H] s,br, 3.81 [3H] s; 이성질체 B 8.09 [1H] s, 7.27 [2H] t, 7.17 [1H] t, 7.11 [2H]

d, 6.98 [1H] s, 6.24 [2H] s,br, 3.76 [3H] s. MS: *m/z* 354 [MH⁺].

단계 6: 5-요오도-3-페닐-1H-피롤로[2,3-b]피라진의 합성

780 mg의 5-요오도-3-(2-메톡시-1-페닐-비닐)-피라진-2-일아민 (E-, Z-형태 또는 혼합물)을 수중 묽은 염산 (대략 1 내지 2 N) 및 에탄올의 1:1 혼합물 40 ml에 분산시켰다. 혼합물을 2시간 동안 가열하여 환류시켰다. 얼음을 생성된 현탁액에 첨가하고 침전물을 여거하여 담황색 분말로서 480 mg의 5-요오도-3-페닐-1H-피롤로[2,3-b]피라진을 수득하였다. 여액을 중탄산나트륨을 첨가하여 염기성으로 만들고 디클로로메탄으로 3회 추출하였다. 합친 추출물을 황산나트륨상에서 건조시키고 증발시켰다. 잔류물을 에탄올로부터 결정화시켜 녹색-갈색 결정질 니들로서 556 mg (78 %)의 합친 수율에 대해 76 mg의 5-요오도-3-페닐-1H-피롤로[2,3-b]피라진을 수득하였다.

¹H-NMR (d6-

DMSO) δ: 12.56 [1H] s,br, 8.53 [1H] s, 8.46 [1H] d, 8.14 [2H] d, 7.45 [2H] dd, 7.25 [1H]

dd. MS: *m/z* 322 [MH⁺].

단계 7: 5-(3,4-디메톡시-페닐)-3-페닐-1H-피롤로[2,3-b]피라진의 합성

50 mg (0.16 mmol)의 5-요오도-3-페닐-1H-피롤로[2,3-b]피라진, 38 mg (0.20 mmol)의 3,4-디메톡시페닐보론산 및 6 mg (5 mol %)의 디클로로비스(트리페닐포스포노)팔라듐(II)을 바이얼에 넣고 1 ml의 아세토니트릴 및 1 ml의 2 M 탄산나트륨 수용액을 첨가하였으며, 이 혼합물을 165 °C에서 1200초간 퍼스널 케미스트리® 마이크로웨이브 반응기에서 조사하였다. 생성된 혼합물을 15 ml의 중탄산나트륨 포화 수용액 및 75 ml의 디클로로메탄 사이에 분배시켰다. 유기상을

황산나트륨상에서 건조시키고 증발시켰다. 조질물을 디클로로메탄 중의 메탄올의 구배를 사용하여 실리카겔상의 플래쉬 크로마토그래피를 통해 정제하였다. 단리된 생성물을 고온 에탄올로부터 결정화시켜 오렌지색 분말로서 14 mg (43 μ mol, 27 % 수율)의 5-(3,4-디메톡시-페닐)-3-페닐-1H-피롤로[2,3-b]피라진을 수득하였다.

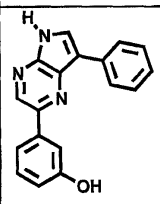
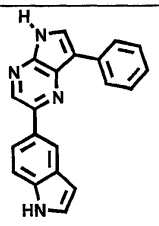
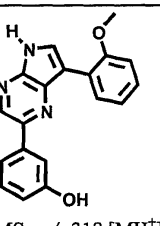
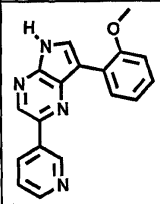
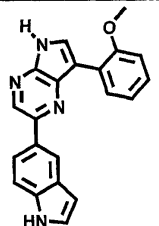
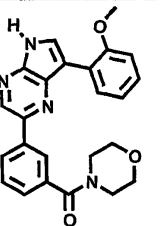
$^1\text{H-NMR}$ ($\text{d}_6\text{-DMSO}$) δ : 12.30 [1H] s, 8.92

[1H] s, 8.43 [1H] s, 8.35 [2H] d, 7.80 [1H] (m), 7.79 [1H] d(m), 7.46 [2H] dd, 7.25 [1H]

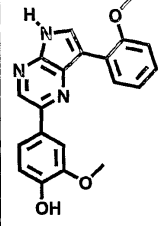
dd(d), 7.13 [1H] d, 3.92 [3H] s, 3.84 [3H] s. MS: m/z 332 [MH^+].

방법 21에 의해 제조된 다른 화합물들:

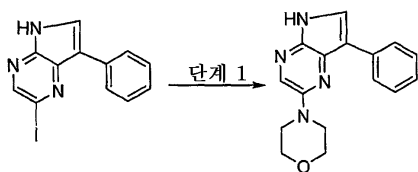
[표 16a]

구조식	구조식	구조식
 MS: m/z 288 [MH^+].	 MS: m/z 311 [MH^+].	 MS: m/z 318 [MH^+].
 MS: m/z 303 [MH^+].	 MS: m/z 341 [MH^+].	 MS: m/z 415 [MH^+].

[표 16b]

 MS: m/z 318 [MH^+].		
---	--	--

방법 22:



단계 1: 5-(모르폴린-4-일)-3-페닐-1H-피롤로[2,3-b]피라진의 합성

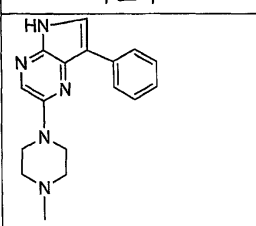
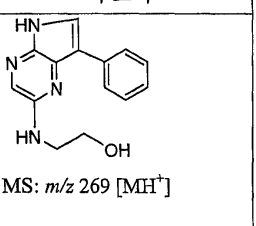
25 mg (80 μ mol)의 5-요오도-3-페닐-1H-피롤로[2,3-b]피라진을 1 ml의 모르폴린에 용해시켰다. 200 μ l의 빙초산을 첨가하고 혼합물을 250 $^{\circ}$ C에서 2400-4800초간 퍼스널 케미스트리[®] 마이크로웨이브 반응기에서 가열하였다. 조질물을 사전 후처리 없이 헥산 중의 에틸 아세테이트의 구배를 사용하여 실리카겔상에서 플래쉬 크로마토그래피에 의해 정제하여 베이지색 고체로서 13 mg (46 μ mol, 58 % 수율)의 2-모르폴린-4-일-7-페닐-1H-피롤로[2,3-b]피라진을 수득하였다.

¹H-NMR (d6-DMSO) δ 11.89 [1H] s,

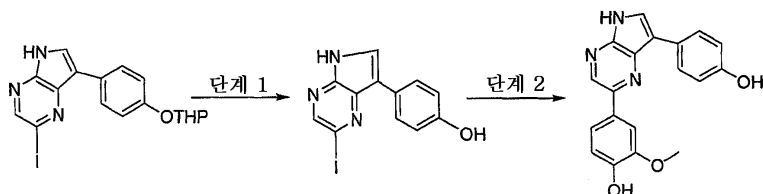
8.19 [1H] s, 8.18 [2H] d, 7.39 [2H] dd, 7.17 [1H] dd, 3.80 [4H] t, 3.52 [4H] t. MS, m/z : 281

[MH⁺].

[표 17]

구조식	구조식
	
MS: m/z 294 [MH ⁺]	MS: m/z 269 [MH ⁺]

방법 23:



단계 1: 4-(5-요오도-1H-피롤로[2,3-b]피라진-3-일)-페놀의 합성

680 mg의 5-요오도-3-(2-메톡시-1-[4-(테트라하이드로-피란-2-일옥시)-페닐]-비닐)-피라진-2-일아민을 70 ml의 묽은 (1-2 N) 수성 염산에 분산시켰다. 메탄올을 첨가하여 출발 물질 (10-20 % v/v)을 용해시켜 투명 용액을 수득하였다. 0.5 ml의 진한 염산을 첨가하고 혼합물을 7시간 동안 가열하여 환류시켰다. 혼합물을 실온으로 냉각시키고 16시간 동안 교반하였다. 혼합물을 중탄산나트륨을 첨가하여 중화시키고 용액중에서 염을 유지하기 위해 필요한 경우 물을 첨가하였다. 생성된 혼합물을 디클로로메탄으로 4회 추출하고 합친 유기상을 황산나트륨상에서 건조시키고 증발시켜 충분한 순도 (> 85 %)의 오렌지색 고체로서 428 mg (1.27 mmol, 85 % 수율)의 4-(5-요오도-1H-피롤로[2,3-b]피라진-3-일)-페놀을 수득하였으며, 이를 디클로로메탄-에틸 아세테이트로부터 재결정화시켜 황색-오렌지색 결정으로서 195 mg (578 μ mol, 39 % 수율)의 순수한 4-(5-요오도-1H-피롤로[2,3-b]피라진-3-일)-페놀을 수득하였다.

¹H-

NMR (d6-DMSO) δ 12.37 [1H] (d), 9.43 [1H] s, 8.49 [1H] s, 8.26 [1H] d, 7.92 [2H] d,

8.85 [2H] d. MS: m/z 338 [MH⁺].

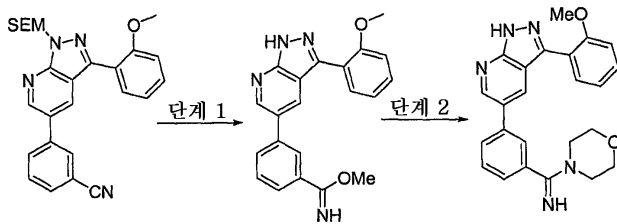
단계 2: 4-{5-[3-메톡시-4-하이드록시페닐]-1H-피롤로[2,3-b]피라진-3-일}-페놀의 합성

84 mg (0.25 mmol)의 4-(5-요오도-1H-피롤로[2,3-b]피라진-3-일)-페놀, 120 mg (0.33 mmol)의 2-[3-메톡시-4-(4-메톡시-벤질옥시)-페닐]-4,4,5,5-테트라메틸- [1,3,2]디옥사보롤란 및 15 mg (8 mol %)의 디클로로비스(트리페닐포스피노)팔라듐(II)을 바이얼에 넣고 1.5 ml의 아세토니트릴 및 1.5 ml의 2 M 탄산나트륨 수용액을 첨가하였다. 상기 혼합물을 1200초간 퍼스널 케미스트리[®] 마이크로웨이브 반응기에서 165 $^{\circ}$ C로 조사하였다. 생성된 혼합물을 디클로로메탄 및 중탄산나트륨 포화 수용액 사이에 분배시켰다. 수층을 디클로로메탄으로 2회 추출하고 합친 유기상을 황산나트륨상에서 건조시키고 증발시켰다. 조질물을 헥산 중의 에틸 아세테이트의 구배를 사용하여 실리카겔상에서 플래쉬 크로마토그래피

피에 의해 정제하였다. 생성된 중간체를 120 ml의 디클로로메탄에 용해시키고 1.5 g (2.12 mmol)의 PS-티오펜올 (아그로노트 테크놀로지스)을 첨가하였다. 여기에 2 ml의 트리플루오로아세트산을 첨가하고 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 수지를 여거하고 디클로로메탄으로 세척하였다. 여액을 중탄산나트륨 포화 수용액으로 세척하였다. 상들을 분리하고 수층을 에틸 아세테이트로 2회 추출하였다. 모든 유기상을 합치고 황산나트륨상에서 건조시키고 증발시켰다. 잔류물을 아세토니트릴과 함께 가열하고 실온으로 냉각시켰으며 상청액을 제거하였다. 잔류물을 진공하에 건조시켜 15 mg (45 μ mol, 18 % 수율)의 4-{5-[3-메톡시-4-하이드록시페닐]-1H-피롤로[2,3-b]피라진-3-일}-페놀을 베이지색 분말로 수득하였다.

$^1\text{H-NMR}$ (d₆-DMSO) δ 12.06 [1H] d, 9.35 [1H] s, 9.30 [1H] s, 8.83 [1H] s, 8.20 [1H] d, 8.12 [2H] d(m), 7.75 [1H] d, 7.65 [1H] dd, 6.93 [1H] d, 6.85 [2H] d(m), 3.91 [3H] s. MS, m/z : 334 [MH^+].

방법 24



단계 1: 메틸 3-(3-(2-메톡시페닐)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일)벤즈이미데이트의 합성

HCl 기체를 2.5 ml의 무수 MeOH 중의 3-[3-(2-메톡시페닐)-1-(2-트리메틸실라닐-에톡시메틸)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일]-벤조니트릴 (40 mg, 0.088 mmol)의 현탁액에 3분간 0 °C에서 폭기시켰다. 실온에서 23시간 동안 교반한 후에, 에테르 (10 mL)를 첨가하였고 침전이 발생하였다. 고체를 여과시켜 수거하고 건조시켜 황색 고체로서 메틸 3-(3-(2-메톡시페닐)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일)벤즈이미데이트를 수득하였다.

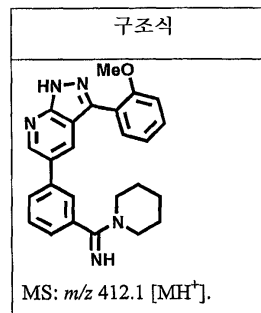
단계 2: C-{3-[3-(2-메톡시페닐)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일]-페닐}-C-모르폴린-4-일-메틸렌아민의 합성

MeOH (1.0 mL) 중의 단계로부터의 메틸 3-(3-(2-메톡시페닐)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일)벤즈이미데이트의 용액을 모르폴린 (15.3 mg, 0.176 mmol) 및 트리에틸아민 (90 mg, 0.88 mmol)에 첨가하고, 이 혼합물을 실온에서 3일간 교반하였다. 그다음 용매를 제거하고 조질 생성물을 역상 HPLC에 의해 정제하여 백색 고체로서 C-{3-[3-(2-메톡시페닐)-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일]-페닐}-C-모르폴린-4-일-메틸렌아민 (3.7 mg, 10% 수율 2단계)을 수득하였다.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD₃OD) δ 8.86 (d, 2Hz, 1H), 8.45 (d, 2Hz, 1H), 8.37 (br s, 1H), 8.02 (m, 1H), 7.96 (t, 1.8Hz, 1H), 7.76 (t, 7.8Hz, 1H), 7.66 (dd, 1.8Hz, 7.8Hz, 1H), 7.63 (m, 1H), 7.49 (m, 1H), 7.21 (d, 8Hz, 1H), 7.12 (dt, 1Hz, 7.8Hz, 1H), 3.95 (m, 2H), 3.88 (s, 3H), 3.82 (m, 2H), 3.78 (m, 2H), 3.59 (m, 2H). MS: m/z 414.1 [MH^+].

방법 24에 의해 제조된 다른 화합물들:

[표 18]

**생물학적 분석법:**

당업자에게 공지된 키나제 분석법을 사용하여 본 발명의 화합물 및 조성물의 저해 활성을 분석할 수 있다. 키나제 분석법은 하기 실시예들을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

이들 실시예의 첫번째는 Abl T315I 돌연변이 형태의 키나제 도메인 ("Abl T315I KD")을 사용하지만, 키나제 분석법은, 예를 들어 전체 단백질, 키나제 단백질 또는 이들의 일부분 (예를 들어, Abl Y393F)을 비롯하여 다양한 형태의 돌연변이 및 야생형 효소를 사용할 수 있다. 상기 분석법에 사용되는 키나제는 또한 인산화 상태가 다양할 수 있다. c-Abl 실시예에서, 영(0) 인산화 상태의 돌연변이 키나제를 사용할 수 있다.

c-Abl 피루베이트 키나제/락테이트 데하이드로게나제 커플링된(coupled) 효소 분석법

c-Abl 피루베이트 키나제 (PK)/락테이트 데하이드로게나제 (LDH) 커플링된 분석법에서는, 기질 펩티드의 단백질 키나제의 의존성 인산화를 NADH의 산화와 커플링시켰다. NADH의 NAD^+ 로의 산화는 340 nm에서의 흡광도 감소를 관측함으로써 측정하였다.

재료: Abl 기질 펩티드 = EAIYAAPFAKKK-OH (미국 캘리포니아주 샌 디에고 소재의 바이오펩티드(Biopeptide)); β NADH (시그마(Sigma) Cat#N-8129, FW=709.4); 2 M $MgCl_2$; 1 M HEPES 완충액, pH 7.5; 포스포에놀피루베이트 (PEP) (시그마 Cat#P-7002, FW=234); 락테이트 데하이드로게나제 (LDH) (워팅톤 바이오케미칼(Worthington Biochemical) Cat#2756); 피루베이트 키나제 (PK) (시그마 Cat#P-9136); ATP (시그마 Cat#A-3377, FW=551); 그라이너(Greiner) 384-웰(well) UV 스타 플레이트(star plate); 및 정제된 비인산화 T315I Abl 키나제 도메인.

모액: 매일 새로 제조되는 10 mM NADH (miliQH₂O 중의 7.09 mg/ml); -20 °C에서 보관된 10 mM Abl 기질 펩티드 (miliQH₂O 중의 13.4 mg/ml); 100 mM HEPES 완충액, pH 7.5 (5 ml 1 M 모액 + 45 ml miliQH₂O); 100 mM $MgCl_2$ (5 ml 2 M $MgCl_2$ + 95 ml dH₂O); -20 °C에서 보관된 100 mM PEP (dH₂O 중의 23.4 mg/ml); -20 °C에서 보관된 10 mM ATP (dH₂O 중의 5.51 mg/ml) (매일 총 10 ml miliQH₂O에 희석된 50 μ l = 50 μ M ATP 작용 모액); 액체 질소하에서 플래쉬-동결되고 -80 °C에서 보관된 1000 U/ml PK (U/mg은 로트(lot)에 따라 다르다); 및 액체 질소하에서 플래쉬-동결되고 -80 °C에서 보관된 1000 U/ml LDH (U/mg은 로트에 따라 다르다).

384-웰 포맷에 대한 표준 분석법 셋업(setup) (50 μ l 반응액): 300 μ M NADH; 10 mM $MgCl_2$; 2 mM PEP; 45 U/ml PK; 60 U/ml LDH; 200 μ M Abl 기질 펩티드; 2.5 μ l 시험 화합물 (DMSO 중); 2 μ g/ml Abl 키나제 도메인; 10 μ M ATP; 100 mM HEPES 완충액. 양성 대조군은 시험 화합물 없이 DMSO를 함유하였다. 음성 대조군은 5 μ l의 0.5 M EDTA (분석법 중에서 50 mM)를 함유하였다. c-Abl T315I 돌연변이주의 탈인산화 형태를 생화학적 스크리닝 분석법에 사용하였다. 키나제 반응은 ATP를 첨가하여 t = 0 시간에 개시하였다.

활성은 340 nm에서의 흡광도 분광법에 의해 NADH의 시간-의존성 손실에 따라 측정하였다. 그다음 생성된 진행 곡선의 선형 부분을 선형 회귀로 분석하여 최상 정합 직선의 기울기로서 보고되는, 흡광도 단위/시간으로 활성을 획득하였다 (몰/단위 시간은 340 nm에서 NADH에 대한 몰 흡광 계수, 6250 M⁻¹cm⁻¹을 사용하여 계산할 수 있다).

테이타는 하기 방정식을 사용하여 평가하였다 (Zhang, et al., 1999 *J Biomol Screening* 4(2) 67-73):

$$Z' = 1 - [3 * (\sigma_+ + \sigma_-) / |\mu_+ - \mu_-|]$$

상기 식에서, μ 는 평균을 나타내고, σ 는 표준 편차를 나타낸다. 아래첨자는 양성 대조군 또는 음성 대조군을 지칭한다. 적절히 수행된 스크리닝 분석법에서의 Z' 점수는 0.50 이상이어야 한다. 전형적인 역치 = $\mu_+ - 3 * \sigma_+$. 상기 역치 미만으로 떨어지는 수치는 모두 "성공(hit)"으로 표기하였다.

투여량 반응은 하기 방정식을 사용하여 분석하였다:

$$y = \min + \{(\max - \min) / (1 + 10^{[\text{화합물}] - \log IC_{50}})\}$$

상기 식에서, y 는 관찰된 초기 기율기이고, $\max$ 는 저해제의 부재하의 기율기이며, $\min$ 은 다량의 저해제에서의 기율기이고, IC_{50} 은 관찰된 전체 진폭(진폭 = $\max - \min$)의 절반에 상응하는 [화합물]이다.

Abl KD의 조절, 활성화 또는 저해를 측정하기 위해, 시험 화합물을 다양한 범위의 농도로 상기 분석법에 첨가하였다. 저해제는 마이크로몰 범위, 나노몰 범위, 또는 예를 들어 나노몰 미만 범위의 IC_{50} 으로 Abl KD 활성을 저해할 수 있다.

추가 키나제 분석법

c-Abl PK/LDH 커플링된 분석법 (상기) 이외에, 균질 발광-기재 저해제 스크리닝 분석법을 (다른 것들 중에서) c-Abl, MET, AurA, 및 PDK1 키나제에 맞게 변형시켰다. 이들 분석법 각각은 키나제 활성을 정량하기 위해 ATP 고갈 분석법 (Kinase-Glo™, 미국 위스콘신주 매디슨 소재의 프로메가 코포레이션(Promega Corporation)을 사용하였다. 상기 Kinase-Glo™ 포맷은 내열성 루시페라제를 사용하여 키나제 반응 이후에 용액중에 남아있는 ATP로부터의 발광 신호를 생성시킨다. 상기 발광 신호는 키나제 활성의 양과 반비례적으로 관련되어 있다.

cAbl 발광-기재 효소 분석법

재료: Abl 기질 펩티드 = EAIYAAPFAKKK-OH (미국 캘리포니아주 샌 디에고 소재의 바이오펩티드), ATP (시그마 Cat# A-3377, FW=551), HEPES 완충액, pH 7.5, 소 혈청 알부민 (BSA) (로슈(Roche) 92423420), $MgCl_2$, 스타우로스포르린 (Staurosporine) (스트렙토마이세스(*Streptomyces*) 종, 시그마 Cat#85660-1MG), 백색 코스타(코스타) 384-웰 평저 플레이트 (VWR Cat#29444-088), Abl 키나제 (이하 참조), Kinase-Glo™ (프로메가 Cat#V6712).

모액: -20 °C에 보관된 10 mM Abl 기질 펩티드 (miliQH₂O 중의 13.4 mg/ml); 100 mM HEPES 완충액, pH 7.5 (5 ml 1 M 모액 + 45 ml miliQH₂O); -20°C에 보관된 10 mM ATP (dH₂O 중의 5.51 mg/ml) (매일 총 10 ml miliQH₂O에 희석된 50 μ l = 50 μ M ATP 작용 모액); 1% BSA (100 ml 0.1 M HEPES 중의 1 g BSA, pH 7.5, -20 °C에서 보관), 100 mM $MgCl_2$; 200 μ M 스타우로스포르린, 2X Kinase-Glo™ 시약 (새로 제조되거나 -20 °C에서 보관됨).

384-웰 포맷에 대한 표준 분석법 셋업 (20 μ l 키나제 반응액, 40 μ l 검출 반응액): 10 mM $MgCl_2$; 100 μ M Abl 기질 펩티드; 0.1 % BSA; 1 μ l 시험 화합물 (DMSO 중); 0.4 μ g/ml Abl 키나제 도메인; 10 μ M ATP; 100 mM HEPES 완충액. 양성 대조군은 시험 화합물 없이 DMSO를 함유하였다. 음성 대조군은 10 μ M의 스타우로스포르린을 함유하였다. 키나제 반응은 ATP를 첨가하여 t = 0 시간에 개시하였다. 키나제 반응물은 21 °C에서 30분간 항온처리한 후, 20 μ l의 Kinase-Glo™ 시약을 각 웰에 첨가하여 키나제 반응을 켜칭(quenching)시키고 발광 반응을 개시하였다. 21 °C에서 20분 항온처리 후에, 발광을 플레이트-판독 발광분석기에서 측정하였다.

MET 발광-기재 효소 분석법

재료: Poly Glu-Tyr (4:1) 기질 (시그마 Cat# P-0275), ATP (시그마 Cat#A-3377, FW=551), HEPES 완충액, pH 7.5, 소 혈청 알부민 (BSA) (로슈 92423420), $MgCl_2$, 스타우로스포린 (스트렙토마이세스 중, 시그마 Cat#85660-1MG), 백색 코스타 384-웰 평저 플레이트 (VWR Cat#29444-088). MET 키나제 (이하 참조), Kinase-Glo™ (프로메가 Cat#V6712).

모액: -20 °C에서 보관된 수중 10 mg/ml poly Glu-Tyr; 100 mM HEPES 완충액, pH 7.5 (5 ml 1 M 모액 + 45 ml $miliQH_2O$); -20 °C에서 보관된 10 mM ATP (dH_2O 중의 5.51 mg/ml) (매일 총 10 ml $miliQH_2O$ 에 희석된 50 μ l = 50 μ M ATP 작용 모액); 1 % BSA (100 ml 0.1 M HEPES 중의 1 g BSA, pH 7.5, -20 °C에서 보관), 100 mM $MgCl_2$; 200 μ M 스타우로스포린, 2X Kinase-Glo™ 시약 (새로 제조되거나 -20 °C에서 보관됨).

384-웰 포맷에 대한 표준 분석법 셋업 (20 μ l 키나제 반응액, 40 μ l 검출 반응액): 10 mM $MgCl_2$; 0.3 mg/ml poly Glu-Tyr; 0.1 % BSA; 1 μ l 시험 화합물 (DMSO 중); 0.4 μ g/ml MET 키나제; 10 μ M ATP; 100 mM HEPES 완충액. 양성 대조군은 시험 화합물 없이 DMSO를 함유하였다. 음성 대조군은 10 μ M의 스타우로스포린을 함유하였다. 키나제 반응은 ATP를 첨가하여 t = 0 시간에 개시하였다. 키나제 반응물은 21 °C에서 60분간 항온처리한 후, 20 μ l의 Kinase-Glo™ 시약을 각 웰에 첨가하여 키나제 반응을 켜칭(quenching)시키고 발광 반응을 개시하였다. 21 °C에서 20분 항온처리 후에, 발광을 플레이트-판독 발광분석기에서 측정하였다.

AurA 발광-기재 효소 분석법

재료: 켐프티드(Kemptide) 펩티드 기질 = LRRASLG (미국 캘리포니아주 샌 디에고 소재의 바이오펩티드(Biopeptide)), ATP (시그마 Cat#A-3377, FW=551), HEPES 완충액, pH 7.5, 10 % Brij 35 (칼비오켄(Calbiochem) Cat#203728), $MgCl_2$, 스타우로스포린 (스트렙토마이세스 중, 시그마 Cat#85660-1MG), 백색 코스타 384-웰 평저 플레이트 (VWR Cat#29444-088), 자가인산화된 AurA 키나제 (이하 참조), Kinase-Glo™ (프로메가 Cat#V6712).

모액: -20°C에 보관된 10 mM 켐프티드 펩티드 (수중 7.72 mg/ml); 100 mM HEPES 완충액 + 0.015 % Brij 35, pH 7.5 (5 ml 1 M HEPES 모액 + 75 μ l 10 % Brij 35 + 45 ml $miliQH_2O$); -20 °C에 보관된 10 mM ATP (dH_2O 중의 5.51 mg/ml) (매일 총 10 ml $miliQH_2O$ 에 희석된 50 μ l = 50 μ M ATP 작용 모액); 100 mM $MgCl_2$; 200 μ M 스타우로스포린, 2X Kinase-Glo™ 시약 (새로 제조되거나 -20 °C에서 보관됨).

AurA 자가인산화 반응: ATP 및 $MgCl_2$ 를 각각 10 mM 및 100 mM의 최종 농도로 1 내지 5 mg/ml의 AurA에 첨가하였다. 자가인산화 반응을 2 내지 3시간 동안 21°C에서 항온처리하였다. 상기 반응을 50 mM 최종 농도로 EDTA를 첨가하여 중단시키고, 시료를 액체 질소로 플래쉬 동결시킨 후, -80°C에서 보관하였다.

384-웰 포맷에 대한 표준 분석법 셋업 (20 μ l 키나제 반응액, 40 μ l 검출 반응액): 10 mM $MgCl_2$; 0.2 mM 켐프티드 펩티드; 1 μ l 시험 화합물 (DMSO 중); 0.3 μ g/ml 자가인산화된 AurA 키나제; 10 μ M ATP; 100 mM HEPES + 0.015 % Brij 완충액. 양성 대조군은 시험 화합물 없이 DMSO를 함유하였다. 음성 대조군은 5 μ M의 스타우로스포린을 함유하였다. 키나제 반응은 ATP를 첨가하여 t = 0 시간에 개시하였다. 키나제 반응물은 21 °C에서 45분간 항온처리한 후, 20 μ l의 Kinase-Glo™ 시약을 각 웰에 첨가하여 키나제 반응을 켜칭시키고 발광 반응을 개시하였다. 21 °C에서 20분 항온처리 후에, 발광을 플레이트-판독 발광분석기에서 측정하였다.

PDK1 발광-기재 효소 분석법

재료: PDKtide 펩티드 기질 = KTFCGTPEYLAPEVRREPRILSEEEQEMFRDFDYIADWC (업스테이트(Upstate) Cat# 12-401), ATP (시그마 Cat#A-3377, FW=551), HEPES 완충액, pH 7.5, 10% Brij 35 (칼비오켄 Cat#203728), $MgCl_2$, 스타우로스포린 (스트렙토마이세스 중, 시그마 Cat#85660-1MG), 백색 코스타 384-웰 평저 플레이트 (VWR Cat# 29444-088), PDK1 키나제 (이하 참조), Kinase-Glo™ (프로메가 Cat#V6712).

모액: -20 °C에서 보관된 1 mM PDKtide 기질 (200 µl 중 1 mg, 업스테이트에 의해 제공됨); 100 mM HEPES 완충액, pH 7.5 (5 ml 1 M HEPES 모액 + 45 ml miliQH₂O); -20 °C에서 보관된 10 mM ATP (dH₂O 중의 5.51 mg/ml) (매일 총 10 ml miliQH₂O에 희석된 25 µl = 25 µM ATP 작용 모액); 100 mM MgCl₂; 2 내지 8 °C에서 보관된 10 % Brij 35; 200 µM 스타우로스포린, 2X Kinase-Glo™ 시약 (새로 제조되거나 -20 °C에서 보관됨).

384-웰 포맷에 대한 표준 분석법 셋업 (20 µl 키나제 반응액, 40 µl 검출 반응액): 10 mM MgCl₂; 0.01 mM PDKtide; 1 µl 시험 화합물 (DMSO 중); 0.1 µg/ml PDK1 키나제; 5 µM ATP; 10 mM MgCl₂; 100 mM HEPES + 0.01 % Brij 완충액. 양성 대조군은 시험 화합물 없이 DMSO를 함유하였다. 음성 대조군은 10 µM의 스타우로스포린을 함유하였다. 키나제 반응은 ATP를 첨가하여 t = 0 시간에 개시하였다. 키나제 반응물은 21 °C에서 40분간 항온처리한 후, 20 µl의 Kinase-Glo™ 시약을 각 웰에 첨가하여 키나제 반응을 켜고 발광 반응을 개시하였다. 21 °C에서 20분 항온처리 후에, 발광을 플레이트-판독 발광분석기에서 측정하였다.

공동-발현 플라스미드의 제조

람다 포스파타제 공동-발현 플라스미드를 다음과 같이 구성하였다.

오로라 키나제의 개방-판독틀을 하기 프라이머들을 사용하여 폴리머라제 연쇄 반응 (PCR)에 의해 호모 사피엔스(*Homo sapiens*) (인간) HepG2 cDNA 라이브러리 (ATCC HB-8065)로부터 증폭시켰다.

전방향 프라이머: TCAAAAAGAGGCAGTGGGCTTTG

역방향 프라이머: CTGAATTTGCTGTGATCCAGG.

PCR 산물 (예상된 795 염기쌍)을 하기와 같이 겔 정제하였다. PCR 산물을 TAE 완충액 중의 1 % 아가로스 겔상에서 전기영동시켜 정제하고 적절한 크기의 밴드(band)를 겔로부터 절제하여 표준 겔 추출 키트를 사용하여 용리시켰다. 용리된 DNA를 실온에서 토포이소머라제로 5분간 pSB2-TOPO에 연결시켰다. 벡터 pSB2-TOPO는 서열 CATAATGGGCCATCATCATCATCACGGT GGTTCATATGTCCTT 이 NdeI 부위에 삽입되어 있고 서열 AAGGGGGATCCTAAACTGCAGAGATCC 가 BamHI 부위에 삽입되어 있는, pET26b의 토포이소머라제-활성화된, 변형 버전물 (미국 위스콘신주 매디슨 소재의 노바젠(Novagen))이다. 샤인-델가노(Shine-Dalgarno) 서열로부터 "원래" NdeI 부위, 중단 부위 및 "원래" BamHI 부위에 이르는 생성된 플라스미드의 서열은 다음과 같다:

AAGGAGGAGATATACATAATGGGCCATCATCATCATCACGGTGGTCATATG
TCCCTT [ORF] AAGGGGGATCCTAAACTGCAGAGATCC.

상기 벡터를 사용하여 발현된 오로라 키나제는 N-말단에 첨가된 14개의 아미노산 (MetGlyHisHisHisHisHisHisGlyGlyHisMetSerLeu) 및 C-말단에 첨가된 4개의 아미노산 (GluGlyGlySer)을 갖는다.

그다음 람다 박테리오파지로부터의 포스파타제 유전자를 상기 플라스미드에 삽입하여 포스파타제 공동-발현 플라스미드를 생성시켰다 (Matsui T, et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2001, **284**:798-807). 포스파타제 유전자를 하기 올리고뉴클레오타이드 프라이머를 사용하여 주형 람다 박테리오파지 DNA (HinDIII 분해, 뉴 잉글랜드 바이오랩스(New England Biolabs))로부터 PCR을 사용하여 증폭시켰다:

전방향 프라이머 (PPfor): GCAGAGATCCGAATTCGAGCTC
CGTCGACGGATGGAGTGAAGAGATGCGC

역방향 프라이머 (PPrev): GGTGGTGGTCTCGAGTGGCGCCGAA
GCTTTCATCATGCGCCTTCTCCCTGTAC.

PCR 산물 (예상된 744 염기쌍)을 겔 정제하였다. 정제된 DNA 및 비-공동-발현 플라스미드 DNA를 그다음 SacI 및 XhoI 제한효소로 분해하였다. 분해된 플라스미드 및 PCR 산물 둘다를 그다음 겔 정제하고, T4 DNA 리가제로 16 °C에서 8시간 동안 함께 연결시켰으며, 표준 절차를 사용하여 Top 10 세포를 형질전환시켰다. 상기 공동-발현 플라스미드 중의 포스파타제 유전자의 존재를 서열분석하여 확인하였다. 여기서 수행한 표준 분자생물학 프로토콜에 대해서는, 예를 들어 문헌

배양물을 사용하여 카나마이신 및 클로람페니콜이 포함된 500 ml LB를 함유하는 2 L 플라스크에 접종하고, 이를 37℃에서 중간-로그 기까지 키웠으며 IPTG를 0.5 mM 최종 농도가 되도록 첨가하여 유도하였다. 유도 후, 플라스크를 21 ℃에서 18시간 동안 진탕하에 항온배양하였다.

c-Abl T315I KD (키나제 도메인)를 다음과 같이 정제하였다. 세포를 원심분리하여 수거하고, 물은 크랙킹(cracking) 완충액 (50 mM Tris HCl, pH 7.5, 500 mM KCl, 0.1 % 트윈(Tween) 20, 20 mM 이미다졸)에서 음파처리하여 용해시켰으며, 원심분리하여 세포 파편들을 제거하였다. 가용성 분획물을 니켈이 충전된 IMAC 칼럼 (스웨덴 옅살라 소재의 파마시아(Pharmacia))상에서 정제하고, 50 mM Tris, pH 7.8, 500 mM NaCl, 10 mM 메티오닌, 10 % 글리세롤 중의 20 mM 내지 500 mM 이미다졸의 구배로 천연 조건하에서 용리시켰다. 그다음 단백질을 GF5 완충액 (10 mM HEPES, pH 7.5, 10 mM 메티오닌, 500 mM NaCl, 5 mM DTT, 및 10 % 글리세롤)중에서 평형된 수퍼덱스(Superdex) 75 분취용 등급 칼럼을 사용하여 겔 여과에 의해 정제하였다. 정제된 c-Abl T315I KD 키나제 도메인을 함유하는 분획물을 모았다. 수득된 단백질은 SDS 폴리아크릴아마이드 겔상의 전기영동으로 평가시 98% 순수하였다. 정제된 단백질을 질량 분광학적으로 분석한 결과, 상기 단백질이 우세하게 단일 인산화되어 있음을 확인하였다. 그다음 상기 단백질을 하기 조건하에 새우 알칼리성 포스포타제 (캐나다 벌링톤 소재의 MBI 퍼멘타스(MBI Fermentas))로 탈인산화시켰다: 100 U 새우 알칼리성 포스포타제/c-Abl T315I KD의 mg, 100 mM MgCl₂, 및 250 mM 추가의 NaCl. 반응을 23 ℃에서 하룻밤 동안 수행하였다. 상기 단백질은 질량 분광학적으로 분석시 비인산화된 것으로 결정되었다. 임의의 침전물을 회전시켜 제거하고 가용성 분획물을 GF4 완충액 (10 mM HEPES, pH 7.5, 10 mM 메티오닌, 150 mM NaCl, 5 mM DTT, 및 10 % 글리세롤)으로 평형된 수퍼덱스(Superdex) 75 분취용 등급 칼럼을 사용하여 겔 여과에 의해 반응물로부터 분리시켰다. .

Met의 정제:

인간 Met의 키나제 도메인을 발현하는 12 L Sf9 곤충 세포 배양물의 절반으로부터 생산된 세포 펠렛(pellet)을 원 배양물 1 L 당 대략 40 ml 부피로, 50 mM Tris-HCl pH 7.7 및 250 mM NaCl을 함유하는 완충액에 재현탁시켰다. 로슈 컴플리트(Complete), 무-EDTA 프로테아제 저해제 콕테일(cocktail) (Cat# 1873580)의 한 정제를 원 배양물 1 L당 첨가하였다. 이 현탁액을 1시간 동안 4 ℃에서 교반하였다. 4 ℃에서 30분간 39,800 x g에서 원심분리하여 침전물을 제거하였다. 상청액을 500 ml 비이커에 따르고, 50 mM Tris-HCl pH 7.8, 50 mM NaCl, 10 % 글리세롤, 10 mM 이미다졸, 및 10 mM 메티오닌에서 미리-평형된 쿼아젠 Ni-NTA 아가로스 (Cat# 30250)의 50 % 슬러리 10 ml를 첨가하였으며, 4 ℃에서 30분간 교반하였다. 시료를 그다음 4 ℃에서 적하(drip) 칼럼에 붓고 50 mM Tris-HCl pH 7.8, 500 mM NaCl, 10 % 글리세롤, 10 mM 이미다졸, 및 10 mM 메티오닌의 10 칼럼 부피들로 세척하였다. 단백질을 각각 50 mM, 200 mM, 및 500 mM 이미다졸을 함유하는 동일한 완충액의 2 칼럼 부피들에 의해 단계적 구배를 사용하여 순차적으로 용리시켰다. 6x 히스티딘 태그(tag)를 4 ℃에서 50 mM Tris-HCl pH 7.8, 500 mM NaCl, 10 % 글리세롤, 10 mM 이미다졸, 및 10 mM 메티오닌 중에서 투석하면서 단백질 1 mg당 40 유닛의 TEV 프로테아제 (인비트로진 Cat# 10127017)를 사용하여 하룻밤 동안 절단시켰다. 시료를 니켈로 충전되고 50 mM Tris-HCl pH 7.8, 500 mM NaCl, 10 % 글리세롤, 10 mM 이미다졸, 및 10 mM 메티오닌 중에서 평형화된 파마시아 5 ml IMAC 칼럼 (Cat# 17-0409-01)을 통과시켜 6x 히스티딘 태그를 제거하였다. 절단된 단백질을 저 친화도로 니켈 칼럼에 결합시키고 단계적 구배로 용리시켰다. 단계적 구배는 15 % 및 그다음 80 %의 B-면 (A-면 = 50 mM Tris-HCl pH 7.8, 500 mM NaCl, 10 % 글리세롤, 10 mM 이미다졸, 및 10 mM 메티오닌; B-면 = 50 mM Tris-HCl pH 7.8, 500 mM NaCl, 10 % 글리세롤, 500 mM 이미다졸, 및 10 mM 메티오닌)으로 각각 4 칼럼 부피로 수행하였다. Met 단백질은 제1 단계 (15 %)에서 용리되었지만, 비-절단된 Met 및 절단된 히스티딘 태그는 80 % 분획에서 용리되었다. SDS-PAGE 겔 분석법으로 절단된 Met의 존재를 확인한 후에, 15 % 분획을 수거하였고; 50 mM Tris-HCl pH 8.5, 150 mM NaCl, 10 % 글리세롤 및 5 mM DTT에서 평형된 아머섬 바이오사이언시스 하이로드(Amersham Biosciences HiLoad) 16/60 수퍼덱스(Superdex) 200 프렙 등급((prep grade) (Cat# 17-1069-01)상에서 겔 여과 크로마토그래피에 의해 추가로 정제하였다. 가장 깨끗한 분획을 합치고 아미콘(Amicon) 울트라-15 10,000 Da MWCO 원심분리 필터 장치 (Cat# UFC901024)에서 원심분리하여 약 10.4 mg/ml로 농축시켰다.

AurA의 정제:

인간 오로라-2를 발현하는 배양 세포 6 L로부터 생산된 Sf9 곤충 세포 펠렛 (약 18 g)을 50 mM 인산나트륨 pH 8.0, 500 mM NaCl, 10 % 글리세롤, 0.2 % n-옥틸-β-D-글루코피라노시드 (BOG) 및 3 mM β-머캅토에탄올 (BME)에 재현탁시켰다. 로슈 컴플리트, 무-EDTA 프로테아제 저해제 콕테일 (Cat# 1873580)의 한 정제 및 85 유닛의 벤조나제 (노바젠 Cat#70746-3)를 원 배양물 1 L당 첨가하였다. 펠렛을 원 배양물 1 L당 약 50 ml에서 재현탁시킨 후, 얼음상에서 2회 30 내지 45초 버스트(burst) (100 % 가동 사이클(duty cycle))로 음파처리하였다. 원심분리하여 침전물을 제거하고 상청액을 0.8 μm 주사기 필터에 통과시킨 후, 5 ml Ni²⁺ 하이트랩(HiTrap) 칼럼 (파마시아)상에 로딩시켰다. 칼럼을 50 mM 인산나트륨 pH 8.0, 500 mM NaCl, 10 % 글리세롤, 3 mM BME의 6 칼럼 부피들로 세척하였다. 단백질을 500 mM 이미

다줄을 함유하는 동일한 완충액의 선형 구배를 사용하여 용리시켰다. 용리액 (24 ml)을 50 mM 인산나트륨 pH 8.0, 500 mM NaCl, 10 % 글리세롤, 3 mM BME 및 10,000 유닛의 TEV (인비트로진 Cat# 10127-017)를 함유하는 완충액 중에서 4 °C에서 하룻밤 동안 절단시켰다. 단백질을 전술한 제2 니켈 친화성 칼럼을 통과시키고; 관통액을 수거하였다. 절단된 단백질 분획을 합치고 회전 농축기를 사용하여 농축시켰다. 50 mM 인산나트륨 (pH 8.0), 250 mM NaCl, 1 mM EDTA, 0.1 mM AMP-PNP 또는 ATP 완충액, 및 5 mM DTT 중에서 S75 사이징(sizing) 칼럼상에서 겔 여과 크로마토그래피에 의해 추가로 정제하였다. 가장 깨끗한 분획을 합치고 대략 8-11 mg/ml로 농축시켰으며, 120 µl 액적으로 액체 질소상에서 플래쉬 동결시키고 -80 °C에서 보관하거나, 4 °C에서 보관하였다.

PDK1의 정제:

인간 PDK1을 발현하는 Sf9 곤충 세포 6 L로부터 생산된 세포 펠렛을 원 배양물 1 L 당 대략 40 mL 부피로 50 mM Tris-HCl pH 7.7 및 250 mM NaCl을 함유하는 완충액중에 재현탁시켰다. 로슈 컴플리트, 무-EDTA 프로테아제 저해제 콕테일 (Cat# 1873580)의 한 정제 및 85 유닛의 벤조나제 (노바젠 Cat#70746-3)를 원 배양물 1 L당 첨가하였다. 현탁액을 4 °C에서 1시간 동안 교반하였다. 4 °C에서 30분간 39,000 x g에서 원심분리하여 침전물을 제거하였다. 상청액을 500 mL 비이커에 따르고 50 mM Tris-HCl pH 7.8, 500 mM NaCl, 10 % 글리세롤, 10 mM 이미다졸, 및 10 mM 메티오닌으로 미리-평형된 퀴아젠 Ni-NTA 아가로스 (Cat# 30250)의 50 % 슬러리 10 ml를 첨가하였으며, 4 °C에서 30분간 교반하였다. 시료를 그다음 4 °C에서 적하 칼럼에 붓고 50 mM Tris-HCl pH 7.8, 500 mM NaCl, 10 % 글리세롤, 10 mM 이미다졸, 및 10 mM 메티오닌의 10 칼럼 부피들로 세척하였다. 단백질을 각각 50 mM 및 500 mM 이미다졸을 함유하는 동일한 완충액의 2 칼럼 부피들에 의해 단계적 구배를 사용하여 순차적으로 용리시켰다. 6x 히스티딘 태그를 4 °C에서 50 mM Tris-HCl pH 7.8, 500 mM NaCl, 10 % 글리세롤, 10 mM 이미다졸, 및 10 mM 메티오닌 중에서 투석하면서 단백질 1 mg당 40 유닛의 TEV 프로테아제 (인비트로진 Cat# 10127017)를 사용하여 하룻밤 동안 절단시켰다. 시료를 니켈로 충전되고 50 mM Tris-HCl pH 7.8, 500 mM NaCl, 10 % 글리세롤, 10 mM 이미다졸, 및 10 mM 메티오닌 중에서 평형화된 파마시아 5 ml IMAC 칼럼 (Cat# 17-0409-01)을 통과시켜 6x 히스티딘 태그를 제거하였다. 절단된 단백질은 관통액에서 용리되었지만, 비-절단된 단백질 및 His-tag는 Ni-칼럼에 결합된 채로 잔존하였다. 절단된 단백질 분획을 합치고 회전 농축기를 사용하여 농축시켰다. 25 mM Tris-HCl pH 7.5, 150 mM NaCl, 및 5 mM DTT에서 평형된 아머삼 바이오사이언시스 하이로드 16/60 슈퍼텍스 200 프랩 등급 (Cat# 17-1069-01)상에서 겔 여과 크로마토그래피에 의해 추가로 정제하였다. 가장 깨끗한 분획을 합치고 아미콘 울트라-15 10,000 Da MWCO 원심분리 필터 장치 (Cat# UFC901024)에서 원심분리하여 약 15 mg/ml로 농축시켰다.

세포 분석법:

MV4-11 및 THP 세포를 10 % 소 태아 혈청 (FBS) 및 페니실린/스트렙토마이신이 보충된 이스코베(Iscove) 변형된 둘베코(Dulbecco) 배지에서 유지하였고, Ba/F3 세포는 10 % FBS, 페니실린/스트렙토마이신 및 5 ng/ml의 재조합 마우스 IL-3이 보충된 RPMI 1640에서 유지하였다.

세포 생존 시험:

화합물들을 하기 분석법에서 이중으로 시험하였다.

96-웰 XTT 분석법: 세포들을 96-웰 플레이트상의 다양한 농도의 화합물(이중)을 함유하는 성장 배지에서 37 °C에서 72 시간 동안 성장시켰다. 출발 세포수는 웰당 5000-8000 세포이었고, 부피는 120 µl이었다. 72시간의 항온배양 후에, 40 µl의 XTT 표지 혼합물 (나트륨 3'-[1-(페닐아미노카르보닐)-3,4-테트라졸륨]-비스-(4-메톡시-6-니트로)벤젠 설푼산 수화물 및 전자-커플링제:PMS (N-메틸 디벤조피라진 메틸 설페이트)의 50:1 용액)을 플레이트의 각 웰에 첨가하였다. 37 °C에서 추가로 2 내지 6시간 항온배양한 후에, 650 nm에서 보정된 배경으로 405 nm에서 관독하는 흡광도를 분광광도계로 측정하였다.

384-웰 알라마블루(AlamarBlue) 분석법: 90 µl의 세포 현탁액을 DMSO 중의 0.5 µl의 화합물 또는 DMSO 단독으로 미리 코팅된 384-웰 플레이트의 각 웰에서 평판배양하였다. 출발 세포수는 웰당 4000 세포이었다. 72-시간 항온배양 후에, 10 µl의 알라마블루 용액 (PBS 중의 440 µM 리사주린(resazurin))을 플레이트의 각 웰에 첨가하였다. 37 °C에서 추가로 2-시간 항온배양한 후에, TECAN 플레이트 관독 형광측정기(fluorometer)를 사용하여 535 nm에서 여기하고 591 nm에서 발광하는 형광을 측정하였다.

BCR-ABL 포스포-ELISA 분석법

하기 표는 BCR-ABL 포스포-ELISA ("P-ELISA") 분석법에서 전형적으로 사용되었던 시약들을 나타낸 것이다.

[표 19]

BCR-ABC 포스포-ELISA(pELISA) 전형적 시약 목록		
상세 내역	공급처	카탈로그 번호
RPMI 1640	인비트로진	11875-135
10 % 소 태아 혈청, 특징화됨, 열 불활성화	VWR	16777-014
인간 혈장, 항응고제 = EDTA	바이오레클라메이션 인크.(Bioreclamation Inc.)	HMPLEDTA
c-Abl (Ab-3) 모노클로날 항체	VWR	80001-286
재조합 마우스 인터류킨-3	케미콘(Chemicon)	IL015
접착성 플레이트 밀봉제		
뚜껑 TC를 갖는 96웰 PP 325 μ l 환저 플레이트	통슨 인스트루먼트 캄파니(Thompson Instrument Co.)	932465
96웰 닝크 맥시소브(Nunc Maxisorb) 플레이트 (색채 계 분석법의 경우)	피셔 사이언티픽(Fisher Scientific)	12-565-136
96웰 백색 평저 플레이트 (발광 분석법의 경우)	매트릭스(Matrix)	4923
용해 완충액 성분들		
Tris-Cl pH 7.4 (20 mM)		
NP-40 (1 %)		
ETDA (5 mM)		
인산나트륨 (NaPP; 5 mM)		
NaF (5 mM)		
NaCl (150 mM)		
프로테아제 저해제 카테일	시그마	P2714
PMSF (1 mM)		
바나드산나트륨 (NaVO ₄ ; 2 mM)		
PBS, 빙냉		
항-포스포티로신 (4G10 TM), HRP 컨쥬게이트 (conjugate) 또는 비컨쥬게이트	업스테이트	16-105 또는 05-321
염소 항-마우스 IgG, HRP 컨쥬게이트 (비컨쥬게이트 4G10을 사용하는 경우)	업스테이트	12-349
BD OptEIA 시약 세트 B	BD 바이오사이언시즈(BD Biosciences)	550534
코팅 완충액 (0.1 M 탄산나트륨, pH 9.5)		
분석용 희석제		
세척용 완충액 (0.05 % 트윈/PBS)		
중단용 용액 (2 N 황산)		
기질 시약 A&B		
수퍼시그널 ELISA 피코(Supersignal ELISA Pico) 화학발광 기질 (기질 시약 A&B 대신 사용될 수 있음)	피어스(Pierce)	37070

세포 (WT BCR-ABL, 다른 키나제, 또는 BCR-ABL의 T3151, Y253F, 또는 다른 돌연변이형으로 형질감염된 Ba/F₃ 세포)를 분석하기 전 1/2주 이상 동안 IL-2의 부재하에서 성장시켰다. 분석하기 전날에, 세포의 분석 시간에 세포가 로그 기에 있도록 세포에 새 배지를 공급하였다. 1/2주 이상 동안 IL-3의 부재하에 성장된 Ba/F₃ 세포는 96-웰 플레이트의 각 웰이 대략 200,000 세포를 함유하도록 RPMI 1640에 재현탁시켰다. 세포를 일련의 희석 농도의 시험 화합물을 함유하는 96-웰 플레이트에 분배시켰다. 세포를 전형적으로 5 % CO₂, 37 °C에서 60 내지 120분간 시험 화합물의 존재 또는 부재하

에 항온배양하였다. 항온배양은 10 % FCS 또는 50 % 인간 혈장과 같은 다른 첨가제의 존재 또는 부재하에 수행하였다. 화합물을 항온처리한 후에, 용해 완충액을 첨가하고 10 내지 15분간 항온처리하였으며, 용해물을 원심분리하여 제거하였다.

ELISA 플레이트를 제조하기 위해, 시판중인 항-ABL 항체 (예를 들어, Ab-3, 칼바이오펜 OP20)를 코팅 완충액 (0.1 M 탄산나트륨, pH 9.5) 중의 0.125 µg/ml의 농도로 제조하고, 플레이트당 10 ml (12.5 µl 100 µg/ml Ab/10 ml)에서 평판배양하였다. 고 결합 다중-웰 플레이트에서, 코팅 완충액 중의 100 µl Ab를 각 웰에 첨가하고, 각 플레이트를 플레이트 밀봉제로 덮었으며, 4 °C에서 하룻밤 동안 항온처리하였다.

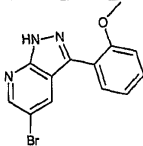
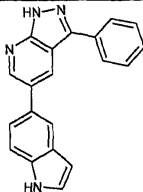
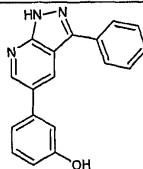
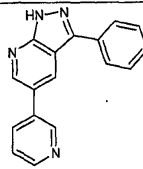
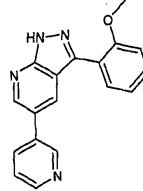
과량의 항체를 제거하고, ELISA 플레이트를 200 µl의 세척용 완충액 (PBS 중의 0.05 % 트윈, pH 7.4)으로 3-4회 세척하였다. 150 µl의 용해물 (상기 참조)을 ELISA 플레이트로 옮겼다. 플레이트를 밀봉시키고 실온에서 2시간 동안 항온처리하였다. 검출 항체 (예를 들어, HRP 컨쥬게이트된 항-pTyr 또는 비컨쥬게이트된 α-p-Y 4G10, 업스테이트)를 분석용 희석제에서 제조하였다. 항체를 분석용 희석제에서 1:1000 (모액 = 2 µg/µl, 100 µl 중의 200 µg; f.c. = 2 µg/ml)으로 희석하고 플레이트당 10 ml의 희석된 항체를 첨가하였다. 용해물을 ELISA 플레이트로부터 제거하고, 웰을 웰당 200 µl의 세척용 완충액으로 4회 세척하였다. 100 µl의 검출 항체를 각 웰에 첨가하고; 플레이트를 덮고, 1시간 동안 실온 (21 °C)에서 항온처리하였다. 과량의 검출 항체를 ELISA 플레이트로부터 제거하고, 웰을 웰당 200 µl의 세척용 완충액으로 4회 세척하였다.

필요에 따라, (즉, 비컨쥬게이트된 항-pTyr 항체의 경우) 제2 항체 (염소 항-토끼 HRP)를 분석용 완충액 중에서 1:3000으로 희석하고 (10 ml 희석제당 3.33 µl), 플레이트당 10 ml의 희석 항체로 첨가하였다. 과량의 제2 항체를 ELISA 플레이트로부터 제거하고, 플레이트를 웰당 200 µl의 세척용 완충액으로 4회 세척하였다.

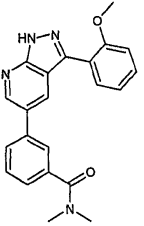
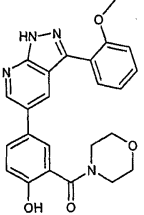
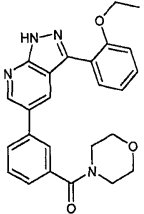
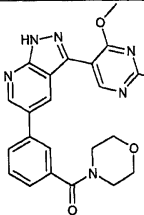
기질 시약 A 및 기질 시약 B (피어스 Cat#37070 수퍼시그널 ELISA 피코 화학발광 기질)를 사용하기 직전에 첨가하였다 (플레이트당 10 ml 생성액). 100 µl 기질을 웰당 첨가하고, 1분간 혼합하였으며, 화학발광 신호를 발광분석기로 측정하였다.

[표 20a]

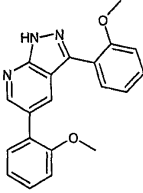
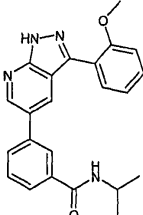
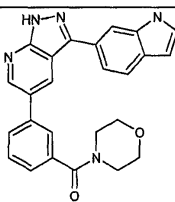
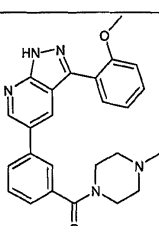
선택된 분석 결과

화합물	Abl_T315I_0P IC50	Abl_Y393F IC50	P_ELISA [T315I 세포] 또는 Ba/F3 T315I 증식 (XTT)	AurA IC50	MET IC50	PKD1 IC50
	C	C	B			
	C	C	B			
	C	C	C			
	C	C	A			
	C	C	B			

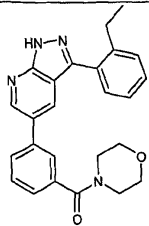
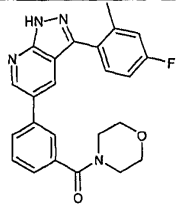
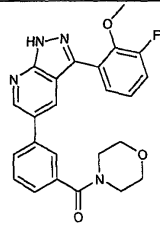
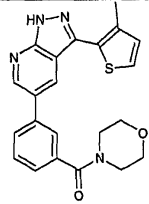
[표 20b]

화합물	Abl_T315I_0P IC50	Abl_Y393F IC50	P_ELISA_[T315I_세포] 또는 Ba/F3 T315I 증식 (XTT)	AurA IC50	MET IC50	PDGFR IC50
	C	C	C			
	C	C	C			
	C	C	B			
	C	C	B			

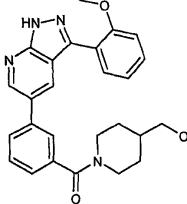
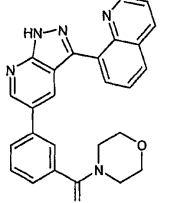
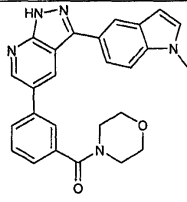
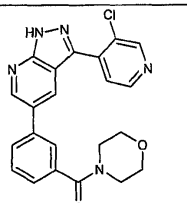
[표 20c]

화합물	Abl_T315L_0P IC50	Abl_Y393F IC50	P_ELISA [T315L 세포] 또는 Ba/F3 T315L 증식 (XTT)	AurA IC50	MET IC50	PKC1 IC50
	C	C	B			
	C	C	B			
	C	C	B			
	C	C	C			

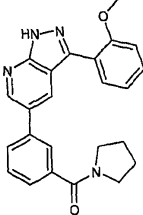
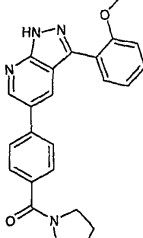
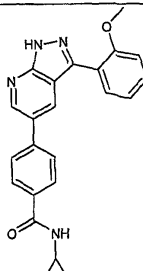
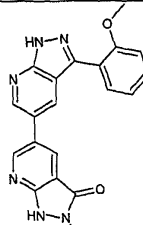
[표 20d]

화합물	Abl_T315I_0P IC50	Abl_Y393F IC50	P_ELISA_[T315I 세포] 또는 Ba/F3 T315I 증식 (XTT)	AurA IC50	MET IC50	PDK1 IC50
	C	C	C			
	C	C	B			
	C	C	C			
	C	C	C			

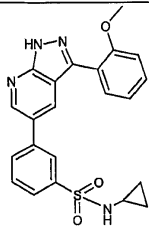
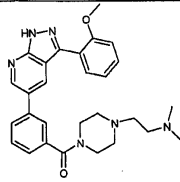
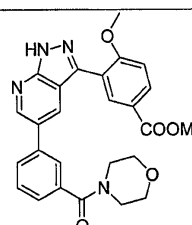
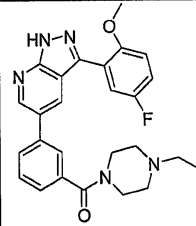
[표 20e]

화합물	Abl_T315I_0P IC50	Abl_Y393F IC50	P_ELISA [T315I 세포] 또는 Ba/F3 T315I 증식 (XTT)	AurA IC50	MET IC50	PDK1 IC50
	C	C	C			
	C	C	C			
	C	C	B			
	C	C	B			

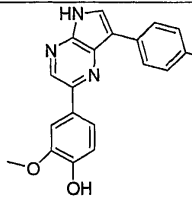
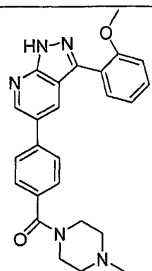
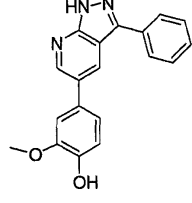
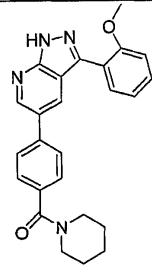
[표 20f]

화합물	Abl_T315I_0P IC50	Abl_Y393F IC50	P_ELISA [T315I 세포] 또는 Ba/F3 T315I 증식 (XTT)	AurA IC50	MET IC50	PKC1 IC50
	C	C	C			
	C	C	B			B
	C	C	C			
	C	C	B			

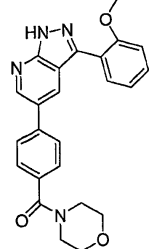
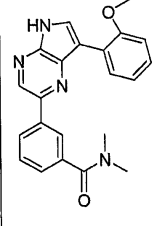
[표 20g]

화합물	Abl_T315I_0P IC50	Abl_Y393F IC50	P_ELISA [T315I 세포] 또는 Ba/F3 T315I 증식 (XTT)	AurA IC50	MET IC50	PDK1 IC50
	C	C	C			
	C	C	C			
	C	C	A	C		
	C	C	C		B	

[표 20h]

화합물	Abl_T315I_0P IC50	Abl_Y393F IC50	P_ELISA_[T315I 세포] 또는 Ba/F3 T315I 증식 (XTT)	AurA IC50	MET IC50	PKC1 IC50
	C	C	C			B
	C	C	C			B
	C	C	B			B
	C	B				B

[표 20i]

화합물	Abl_T315I_0P IC50	Abl_Y393F IC50	P_ELISA_[T315I 세포] 또는 Ba/F3 T315I 증식 (XTT)	AurA IC50	MET IC50	PDK1 IC50
	C	C	B			B
	C	C	A			

상기 표 20a 내지 20i에서, 활성 기호는 다음과 같은 IC50을 나타낸다 : A>10 μ M; B=1-10 μ M; C<1 μ M.

도면의 간단한 설명

도 1은 ABL 엑손 1a에 따른 야생형 ABL 넘버링(numbering)을 도시한다.

도면

도면1

```

MLEICLKLVGCKSKKGLSSSSSCYLEEALQRPVASFEPQGLSEAARWNS
1 50
KENLLAGPSENDPNLFVALYDFVASGDNTLSITKGEKLRVLGYNHNGEWC
51 100
EAQTKNGQGWWPSNYITPVNSLEKHSWYHGPVSRNAABEYLLSSGINGSFL
101 150
VRESESPGQRSISLRYEGRVYHYRINTASDGKLYVSSESFRNTLAELVH
151 200
HHSTVADGLITTLHYPAKRNKPTVYGVSPNYDKWEMERTDITMKHKLGG
201 250
GQYGEVYEGVWKKYSLTVAVKTLKEDTMEVEEFLKEAAVMKEIKHPNLVQ
251 300
LLGVCTREPPFYITEFMTYGNLLDYLRECNREQVNNAVLLYMATQISSA
301 350
MEYLEKKNFHRDLAARNCLVGENHLVKVADFGLSRLMTGDTYTAHAGAK
351 400
FPIKWTAPESLAYNKFSIKSDVWAFGVLLWEIATYGMSPYPGIDLSQVYE
401 450
LLEKDYRMERPEGCEKPYELMRACWQWNPSPDRPSFAEIHQAFETMFQES
451 500
SISDEVEKELGKQGVRAVSTLLQAPELPTKTRTSRRAAEHRDSTDVPEM
501 550
PHSKGQGESDPLDHEPAVSPLLPRKERGPPEGGLNEDERLLPKDKKTNLF
551 600
SALIKKKKKTAPTPKRSSSFREMDGQPERRGAGEEEGRDISNGALAFTP
601 650
LDTADPAKSPKPSNGAGVPNGALRESGGSGFRSPHLWKKSSLTSSRLAT
651 700
GEEEGGSSSKRFLRSCSASCVPHGAKDTEWRSVTLPRDLQSTGRQFDSS
701 750
TFGGHKSEKPALPRKRAGENRSDQVTRGTVTPPPRLVKKNEEADEVFKD
751 800
IMESSPGSSPPNLTpkPLRRQVTVAPASGLPHKEEAEGSALGTPAAAEF
801 850
VTPTSKAGSGAPGGTSKGPABESRVRHKKHSSESPGRDKGKLSRLKPAPP
851 900
PPPAASAGKAGGKPSQSPSQEAAGEAVLGAKTKATSLVDAVNSDAAKPSQ
901 950
PGEGLKKPVLPAATPKPQSAKPSGTPISPAPVPSTLPSASSALAGDQPSST
951 1000
AFIPLISTRVSLRKTRQPPERIASGAITKGVVLDSTEALCLAISRNSEQM
1001 1050
ASHSAVLEAGKNLYTFCVSYVDSIQQMRNKFAPREAINKLENNLRELQIC
1051 1100
PATAGSGPAATQDFSKLLSSVKEISDIVQR
1101 1130

```

서열목록

SEQUENCE LISTING

<110> SGX Pharmaceuticals

Arnold, William D.

Gosberg, Andreas

Li, Zhe

Steensma, Ruo W.

Wilson, Mark E.

<120> Fused Ring Heterocycle Kinase Modulators

<130> 022132-004410PC

<140> PCT/US2005/026794

<141> 2005-07-27

<150> US 60/591,778

<151> 2004-07-27

<150> US 60/591/886

<151> 2004-07-27

<150> US 60/680,091

<151> 2005-05-11

<160> 23

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct - ABl substrate peptide

<400> 1

Glu Ala Ile Tyr Ala Ala Pro Phe Ala Lys Lys Lys
1 5 10

<210> 2

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct - Kemptide peptide substrate

<400> 2

Leu Arg Arg Ala Ser Leu Gly
1 5

<210> 3

<211> 39

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct - PDKtide peptide substrate

<400> 3

Lys Thr Phe Cys Gly Thr Pro Glu Tyr Leu Ala Pro Glu Val Arg Arg
1 5 10 15

Glu Pro Arg Ile Leu Ser Glu Glu Glu Gln Glu Met Phe Arg Asp Phe
20 25 30

Asp Tyr Ile Ala Asp Trp Cys
35

<210> 4

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Forward primer

<400> 4

tcaaaaaaga ggcagtgggc ttg

24

<210> 5

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Reverse primer

<400> 5

ctgaatttgc tgtgatccag g

21

<210> 6

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct - sequence inserted into NdeI site of vector
pSB2-TOPO

<400> 6
cataatgggc catcatcatc atcatcacgg tggtcatatg tccctt 46

<210> 7

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct - sequence inserted into BamHI site of vector
pSB2-TOPO

<400> 7
aaggggggatc ctaaactgca gagatcc 27

<210> 8

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct - portion of resulting plasmid sequence upstr
eam of ORF

<400> 8
aaggaggaga tatacataat gggccatcat catcatcatc acggtggtca tatgtccctt 60

<210> 9

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct - portion of resulting plasmid sequence downstream of ORF

<400> 9

aaggggggatc ctaaactgca gagatcc

27

<210> 10

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct - amino acids added to N-terminus of expressed Aurora kinase

<400> 10

Met Gly His His His His His His Gly Gly His Met Ser Leu

1

5

10

<210> 11

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct - amino acids added to C-terminus of expressed Aurora kinase

<400> 11

Glu Gly Gly Ser
1

<210> 12

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Forward primer - PPfor

<400> 12
gcagagatcc gaattcgagc tccgtcgacg gatggagtga aagagatgcg c 51

<210> 13

<211> 55

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Reverse primer - PPrev

<400> 13
ggtggtggtg ctcgagtgcg gccgcaagct ttcattcatgc gccttctccc tgtac 55

<210> 14

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Forward primer

<400> 14

gacaagtggg aaatggagc

19

<210> 15

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Reverse primer

<400> 15

cgcctcgttt ccccagctc

19

<210> 16

<211> 12

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct - sequence inserted into NdeI site of vector
pSGX3-TOPO

<400> 16

catatgtccc tt

12

<210> 17

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct - sequence inserted into the BamHI site of vector pSGX3-TOPO

<400> 17

aagggcatca tcaccatcac cactgatcc 29

<210> 18

<211> 26

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct - portion of resulting plasmid sequence upstream of ORF

<400> 18

aaggaggaga tatacatatg tccctt 26

<210> 19

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct - portion of resulting plasmid sequence downstream of ORF

<400> 19

aagggcatca tcaccatcac cactgatcc 29

<210> 20

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct - amino acids added to C-terminus of expressed c-ABL

<400> 20

Glu Gly His His His His His His
1 5

<210> 21

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct - Mm05582dS4 oligonucleotide used to modify ABL plasmid

<400> 21

ccaccattct acataatcat tgagttcatg acctatggg 39

<210> 22

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct - Mm05582dA4 oligonucleotide used to modify ABL plasmid

<400> 22

cccatagggtc atgaactcaa tgattatgta gaatgggtg 39

<210> 23

<211> 1130

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 23

Met Leu Glu Ile Cys Leu Lys Leu Val Gly Cys Lys Ser Lys Lys Gly
1 5 10 15

Leu Ser Ser Ser Ser Ser Cys Tyr Leu Glu Glu Ala Leu Gln Arg Pro
20 25 30

Val Ala Ser Asp Phe Glu Pro Gln Gly Leu Ser Glu Ala Ala Arg Trp
35 40 45

Asn Ser Lys Glu Asn Leu Leu Ala Gly Pro Ser Glu Asn Asp Pro Asn
50 55 60

Leu Phe Val Ala Leu Tyr Asp Phe Val Ala Ser Gly Asp Asn Thr Leu
65 70 75 80

Ser Ile Thr Lys Gly Glu Lys Leu Arg Val Leu Gly Tyr Asn His Asn
85 90 95

Gly Glu Trp Cys Glu Ala Gln Thr Lys Asn Gly Gln Gly Trp Val Pro
100 105 110

Ser Asn Tyr Ile Thr Pro Val Asn Ser Leu Glu Lys His Ser Trp Tyr
115 120 125

His Gly Pro Val Ser Arg Asn Ala Ala Glu Tyr Leu Leu Ser Ser Gly
130 135 140

Ile Asn Gly Ser Phe Leu Val Arg Glu Ser Glu Ser Ser Pro Gly Gln
145 150 155 160

Arg Ser Ile Ser Leu Arg Tyr Glu Gly Arg Val Tyr His Tyr Arg Ile
165 170 175

Asn Thr Ala Ser Asp Gly Lys Leu Tyr Val Ser Ser Glu Ser Arg Phe
180 185 190

Asn Thr Leu Ala Glu Leu Val His His His Ser Thr Val Ala Asp Gly
195 200 205

Leu Ile Thr Thr Leu His Tyr Pro Ala Pro Lys Arg Asn Lys Pro Thr
210 215 220

Val Tyr Gly Val Ser Pro Asn Tyr Asp Lys Trp Glu Met Glu Arg Thr
225 230 235 240

Asp Ile Thr Met Lys His Lys Leu Gly Gly Gly Gln Tyr Gly Glu Val
245 250 255

Tyr Glu Gly Val Trp Lys Lys Tyr Ser Leu Thr Val Ala Val Lys Thr
260 265 270

Leu Lys Glu Asp Thr Met Glu Val Glu Glu Phe Leu Lys Glu Ala Ala
275 280 285

Val Met Lys Glu Ile Lys His Pro Asn Leu Val Gln Leu Leu Gly Val
290 295 300

Cys Thr Arg Glu Pro Pro Phe Tyr Ile Ile Thr Glu Phe Met Thr Tyr
305 310 315 320

Gly Asn Leu Leu Asp Tyr Leu Arg Glu Cys Asn Arg Gln Glu Val Asn
325 330 335

Ala Val Val Leu Leu Tyr Met Ala Thr Gln Ile Ser Ser Ala Met Glu
340 345 350

Tyr Leu Glu Lys Lys Asn Phe Ile His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn
355 360 365

Cys Leu Val Gly Glu Asn His Leu Val Lys Val Ala Asp Phe Gly Leu
370 375 380

Ser Arg Leu Met Thr Gly Asp Thr Tyr Thr Ala His Ala Gly Ala Lys
385 390 395 400

Phe Pro Ile Lys Trp Thr Ala Pro Glu Ser Leu Ala Tyr Asn Lys Phe
405 410 415

Ser Ile Lys Ser Asp Val Trp Ala Phe Gly Val Leu Leu Trp Glu Ile
420 425 430

Ala Thr Tyr Gly Met Ser Pro Tyr Pro Gly Ile Asp Leu Ser Gln Val
435 440 445

Tyr Glu Leu Leu Glu Lys Asp Tyr Arg Met Glu Arg Pro Glu Gly Cys
450 455 460

Pro Glu Lys Val Tyr Glu Leu Met Arg Ala Cys Trp Gln Trp Asn Pro
465 470 475 480

Ser Asp Arg Pro Ser Phe Ala Glu Ile His Gln Ala Phe Glu Thr Met
485 490 495

Phe Gln Glu Ser Ser Ile Ser Asp Glu Val Glu Lys Glu Leu Gly Lys
500 505 510

Gln Gly Val Arg Gly Ala Val Ser Thr Leu Leu Gln Ala Pro Glu Leu
515 520 525

Pro Thr Lys Thr Arg Thr Ser Arg Arg Ala Ala Glu His Arg Asp Thr
530 535 540

Thr Asp Val Pro Glu Met Pro His Ser Lys Gly Gln Gly Glu Ser Asp
545 550 555 560

Pro Leu Asp His Glu Pro Ala Val Ser Pro Leu Leu Pro Arg Lys Glu
565 570 575

Arg Gly Pro Pro Glu Gly Gly Leu Asn Glu Asp Glu Arg Leu Leu Pro
580 585 590

Lys Asp Lys Lys Thr Asn Leu Phe Ser Ala Leu Ile Lys Lys Lys Lys
595 600 605

Lys Thr Ala Pro Thr Pro Pro Lys Arg Ser Ser Ser Phe Arg Glu Met
610 615 620

Asp Gly Gln Pro Glu Arg Arg Gly Ala Gly Glu Glu Glu Gly Arg Asp
625 630 635 640

Ile Ser Asn Gly Ala Leu Ala Phe Thr Pro Leu Asp Thr Ala Asp Pro
645 650 655

Ala Lys Ser Pro Lys Pro Ser Asn Gly Ala Gly Val Pro Asn Gly Ala
660 665 670

Leu Arg Glu Ser Gly Gly Ser Gly Phe Arg Ser Pro His Leu Trp Lys
675 680 685

Lys Ser Ser Thr Leu Thr Ser Ser Arg Leu Ala Thr Gly Glu Glu Glu
690 695 700

Gly Gly Gly Ser Ser Ser Lys Arg Phe Leu Arg Ser Cys Ser Ala Ser
705 710 715 720

Cys Val Pro His Gly Ala Lys Asp Thr Glu Trp Arg Ser Val Thr Leu
725 730 735

Pro Arg Asp Leu Gln Ser Thr Gly Arg Gln Phe Asp Ser Ser Thr Phe
740 745 750

Gly Gly His Lys Ser Glu Lys Pro Ala Leu Pro Arg Lys Arg Ala Gly
755 760 765

Glu Asn Arg Ser Asp Gln Val Thr Arg Gly Thr Val Thr Pro Pro Pro
770 775 780

Arg Leu Val Lys Lys Asn Glu Glu Ala Ala Asp Glu Val Phe Lys Asp
785 790 795 800

Ile Met Glu Ser Ser Pro Gly Ser Ser Pro Pro Asn Leu Thr Pro Lys
805 810 815

Pro Leu Arg Arg Gln Val Thr Val Ala Pro Ala Ser Gly Leu Pro His
820 825 830

Lys Glu Glu Ala Glu Lys Gly Ser Ala Leu Gly Thr Pro Ala Ala Ala
835 840 845

Glu Pro Val Thr Pro Thr Ser Lys Ala Gly Ser Gly Ala Pro Gly Gly
850 855 860

Thr Ser Lys Gly Pro Ala Glu Glu Ser Arg Val Arg Arg His Lys His
865 870 875 880

Ser Ser Glu Ser Pro Gly Arg Asp Lys Gly Lys Leu Ser Arg Leu Lys
885 890 895

Pro Ala Pro Pro Pro Pro Pro Ala Ala Ser Ala Gly Lys Ala Gly Gly
900 905 910

Lys Pro Ser Gln Ser Pro Ser Gln Glu Ala Ala Gly Glu Ala Val Leu
915 920 925

Gly Ala Lys Thr Lys Ala Thr Ser Leu Val Asp Ala Val Asn Ser Asp
930 935 940

Ala Ala Lys Pro Ser Gln Pro Gly Glu Gly Leu Lys Lys Pro Val Leu
945 950 955 960

Pro Ala Thr Pro Lys Pro Gln Ser Ala Lys Pro Ser Gly Thr Pro Ile
965 970 975

Ser Pro Ala Pro Val Pro Ser Thr Leu Pro Ser Ala Ser Ser Ala Leu
980 985 990

Ala Gly Asp Gln Pro Ser Ser Thr Ala Phe Ile Pro Leu Ile Ser Thr
995 1000 1005

Arg Val Ser Leu Arg Lys Thr Arg Gln Pro Pro Glu Arg Ile Ala
1010 1015 1020

Ser Gly Ala Ile Thr Lys Gly Val Val Leu Asp Ser Thr Glu Ala
1025 1030 1035

Leu Cys Leu Ala Ile Ser Arg Asn Ser Glu Gln Met Ala Ser His
1040 1045 1050

Ser Ala Val Leu Glu Ala Gly Lys Asn Leu Tyr Thr Phe Cys Val
1055 1060 1065

Ser Tyr Val Asp Ser Ile Gln Gln Met Arg Asn Lys Phe Ala Phe
1070 1075 1080

Arg Glu Ala Ile Asn Lys Leu Glu Asn Asn Leu Arg Glu Leu Gln
1085 1090 1095

Ile Cys Pro Ala Thr Ala Gly Ser Gly Pro Ala Ala Thr Gln Asp
1100 1105 1110

Phe Ser Lys Leu Leu Ser Ser Val Lys Glu Ile Ser Asp Ile Val
1115 1120 1125

Gln Arg
1130