



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년08월26일  
(11) 등록번호 10-2698366  
(24) 등록일자 2024년08월20일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
C07D 403/04 (2006.01) A61K 31/506 (2006.01)  
A61P 35/00 (2006.01) C07D 405/14 (2006.01)  
C07D 413/14 (2006.01)
- (52) CPC특허분류  
C07D 403/04 (2013.01)  
A61K 31/506 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2018-7006128  
(22) 출원일자(국제) 2016년08월04일  
심사청구일자 2021년08월02일
- (85) 번역문제출일자 2018년03월02일  
(65) 공개번호 10-2018-0043794  
(43) 공개일자 2018년04월30일  
(86) 국제출원번호 PCT/IL2016/050852  
(87) 국제공개번호 WO 2017/021969  
국제공개일자 2017년02월09일
- (30) 우선권주장  
62/200,846 2015년08월04일 미국(US)  
62/268,750 2015년12월17일 미국(US)
- (56) 선행기술조사문헌  
W02015058140 A1  
US20150202205 A1  
US20150094305 A1
- (73) 특허권자  
이섬 리서치 디벨로프먼트 컴파니 오브 더 히브루  
유니버시티 오브 예루살렘 엘티디.  
이스라엘 9139002 예루살렘 포스트 오피스 박스  
39135
- (72) 발명자  
벤 네리아, 이논  
이스라엘 메바세레트 지온 9071923 피오비 1691  
메보 듀브데반 스트리트 5  
브라치야, 가이  
이스라엘 예루살렘 9254242 하' 팔마치 스트리트  
32에이/6  
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인  
특허법인 광장리앤코

전체 청구항 수 : 총 41 항

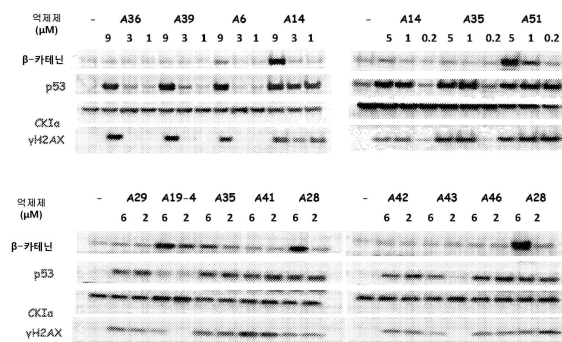
심사관 : 정승두

(54) 발명의 명칭 피라졸 피리미딘 유도체 및 이의 용도

(57) 요약

본 발명은 피라졸 피리미딘 유도체 및 이의 제조 방법, 이를 포함하는 조성물 및 악성 질환 및 장애를 치료하는 방법 및 염증성 질환 및 장애를 치료하는 방법에서 이의 용도를 제시한다.

대표도



(52) CPC특허분류

**A61P 35/00** (2018.01)

**C07D 405/14** (2013.01)

**C07D 413/14** (2013.01)

(72) 발명자

**버스테인, 이도**

이스라엘 모샤브 스테-야코브 3658600

**민젤, 웰리드**

이스라엘 카프-카난 1693000 피.오.박스 1957

**스니어-알카레이, 이리트**

이스라엘 메바세리트 지온 9076901 하보셈 스트리트 63/6

**보카, 조셉**

미국 펜실베이니아주 18969 텔포드 인디언 크릭 로드 733

**리, 단수**

미국 펜실베이니아주 18976 워링턴 폰 레인 2690

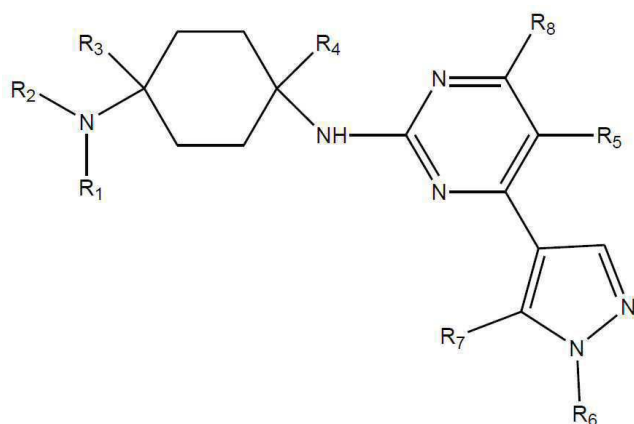
## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

하기 화학식 (I)의 화합물 또는 이의 입체이성질체 또는 약제학적으로 허용 가능한 염:

[화학식 I]



식 중,

R<sub>1</sub> 및 R<sub>2</sub>는 각각 독립적으로 (i) H; 또는 (ii) 각각 할라이드, 히드록실, 에스테르, 에테르, C<sub>5</sub> - C<sub>15</sub> 아릴, C<sub>3</sub> - C<sub>7</sub> 헤테로아릴 및 아마이드 중 적어도 하나로 임의로 치환된, 직쇄 또는 분지쇄 C<sub>1</sub> - C<sub>8</sub> 알킬, 직쇄 또는 분지쇄 C<sub>1</sub> - C<sub>5</sub> 알콕시, 직쇄 또는 분지쇄 C<sub>1</sub> - C<sub>5</sub> 아실, C<sub>5</sub> - C<sub>15</sub> 아릴, 또는 C<sub>3</sub> - C<sub>7</sub> 헤테로아릴이거나; 또는

R<sub>1</sub> 및 R<sub>2</sub>는 이들이 연결된 질소 원자와 함께, N, O, NH, C=N, C=O 및 SO<sub>2</sub> 중 적어도 하나를 임의로 포함하고, 직쇄 또는 분지쇄 C<sub>1</sub> - C<sub>5</sub> 알킬, C<sub>5</sub> - C<sub>15</sub> 아릴, C<sub>3</sub> - C<sub>7</sub> 헤테로아릴, 히드록실, 할라이드 및 시아노 중 적어도 하나로 임의로 치환된 4 - 7원(membered) 포화, 불포화, 또는 방향족 고리를 형성하고;

R<sub>3</sub> 및 R<sub>4</sub>는 각각 독립적으로 H; 또는 각각 할라이드, 히드록실, C<sub>1</sub> - C<sub>5</sub> 알콕시, C<sub>5</sub> - C<sub>15</sub> 아릴, C<sub>3</sub> - C<sub>7</sub> 헤테로아릴, 에스테르 및 아마이드 중 적어도 하나로 임의로 치환된, 직쇄 또는 분지쇄 C<sub>1</sub> - C<sub>8</sub> 알킬이거나; 또는

R<sub>1</sub> 또는 R<sub>2</sub>는, R<sub>3</sub> 및 이들이 각각 연결된 탄소 및 질소 원자와 함께, N, NH, O, C=N, C=O 및 SO<sub>2</sub> 중 적어도 하나를 임의로 포함하고, 직쇄 또는 분지쇄 C<sub>1</sub> - C<sub>5</sub> 알킬, C<sub>5</sub> - C<sub>15</sub> 아릴, C<sub>3</sub> - C<sub>7</sub> 헤테로아릴, 히드록실 및 할라이드 중 적어도 하나로 임의로 치환된 4 - 7원 포화 또는 불포화 고리를 형성하고;

R<sub>5</sub> 및 R<sub>8</sub>은 각각 독립적으로 H 또는 할라이드; 또는 각각 적어도 하나의 할라이드로 임의로 치환된, 직쇄 또는 분지쇄 C<sub>1</sub> - C<sub>8</sub> 알킬, 직쇄 또는 분지쇄 C<sub>2</sub> - C<sub>8</sub> 알케닐, 또는 직쇄 또는 분지쇄 C<sub>2</sub> - C<sub>8</sub> 알키닐이고;

R<sub>6</sub>은, 각각 직쇄 또는 분지쇄 C<sub>1</sub> - C<sub>8</sub> 알킬, C<sub>3</sub> - C<sub>7</sub> 시클로알킬, 4 - 6원 헤테로시클릴, C<sub>5</sub> - C<sub>15</sub> 아릴, C<sub>3</sub> - C<sub>7</sub> 헤테로아릴, 할라이드, 히드록실 및 C<sub>1</sub> - C<sub>5</sub> 할로알킬 중 적어도 하나로 임의로 치환된, 직쇄 또는 분지쇄 C<sub>1</sub> - C<sub>8</sub> 알킬, 직쇄 또는 분지쇄 C<sub>2</sub> - C<sub>8</sub> 알케닐, 직쇄 또는 분지쇄 C<sub>2</sub> - C<sub>8</sub> 알키닐, C<sub>5</sub> - C<sub>10</sub> 시클로알킬, 또는 포화 또는 불포화 4 - 6원 헤테로시클릴이고;

R<sub>7</sub>은, 각각 C<sub>3</sub> - C<sub>7</sub> 시클로알킬, 4 - 6원 헤테로시클릴, C<sub>5</sub> - C<sub>15</sub> 아릴, C<sub>3</sub> - C<sub>7</sub> 헤테로아릴, 할라이드, 히드록실 및 C<sub>1</sub> - C<sub>5</sub> 할로알킬 중 적어도 하나로 치환된, 직쇄 또는 분지쇄 C<sub>1</sub> - C<sub>8</sub> 알킬, 직쇄 또는 분지쇄 C<sub>2</sub> - C<sub>8</sub> 알케닐, 또는 직쇄 또는 분지쇄 C<sub>2</sub> - C<sub>8</sub> 알키닐이다.

## 청구항 2

제1항에 있어서,

$R_1$  및  $R_2$ 가 각각 독립적으로 H; 또는 각각 할라이드,  $C_5 - C_{15}$  아릴,  $C_3 - C_7$  헤테로아릴, 히드록실, 에스테르, 에테르 및 아미드 중 적어도 하나로 임의로 치환된 직쇄 또는 분지쇄  $C_1 - C_8$  알킬인 화합물 또는 이의 입체이성질체 또는 약제학적으로 허용 가능한 염.

## 청구항 3

제1항에 있어서,

$R_1$  및  $R_2$ 가 각각 독립적으로 H; 또는 각각 할라이드, 히드록실, 에스테르 및 아미드 중 적어도 하나로 임의로 치환된 직쇄 또는 분지쇄  $C_1 - C_5$  알콕시인 화합물 또는 이의 입체이성질체 또는 약제학적으로 허용 가능한 염.

## 청구항 4

제1항에 있어서,

$R_1$  및  $R_2$ 가 각각 독립적으로 H; 또는 할라이드, 히드록실, 에스테르, 에테르 및 아미드 중 적어도 하나로 임의로 치환된  $C_1 - C_5$  아실인 화합물 또는 이의 입체이성질체 또는 약제학적으로 허용 가능한 염.

## 청구항 5

제1항에 있어서,

$R_1$  및  $R_2$ 가 각각 독립적으로 H; 또는 할라이드, 히드록실, 에스테르, 에테르 및 아미드 중 적어도 하나로 임의로 치환된  $C_5 - C_{15}$  아릴인 화합물 또는 이의 입체이성질체 또는 약제학적으로 허용 가능한 염.

## 청구항 6

제1항에 있어서,

$R_1$ 가 H인 화합물 또는 이의 입체이성질체 또는 약제학적으로 허용 가능한 염.

## 청구항 7

제1항에 있어서,

$R_3$  및  $R_4$ 가 각각 H인 화합물 또는 이의 입체이성질체 또는 약제학적으로 허용 가능한 염.

## 청구항 8

제1항에 있어서,

$R_5$ 가 H, Cl, 또는 직쇄 또는 분지쇄  $C_1 - C_4$  알킬인 화합물 또는 이의 입체이성질체 또는 약제학적으로 허용 가능한 염.

## 청구항 9

제1항에 있어서,

$R_5$ 가 Cl인 화합물 또는 이의 입체이성질체 또는 약제학적으로 허용 가능한 염.

## 청구항 10

제1항에 있어서,

$R_5$ 이 H, Cl, 또는 직쇄 또는 분지쇄  $C_1 - C_4$  알킬인 화합물 또는 이의 입체이성질체 또는 약제학적으로 허용 가



능한 염.

#### 청구항 11

제1항에 있어서,

$R_8$ 이 H인 화합물 또는 이의 입체이성질체 또는 약제학적으로 허용 가능한 염.

#### 청구항 12

제1항에 있어서,

$R_5$  또는  $R_8$ 이 H인 화합물 또는 이의 입체이성질체 또는 약제학적으로 허용 가능한 염.

#### 청구항 13

제1항에 있어서,

$R_1$  및  $R_2$  중 적어도 하나가 H인 화합물 또는 이의 입체이성질체 또는 약제학적으로 허용 가능한 염.

#### 청구항 14

제1항에 있어서,

$R_6$ 이 직쇄 또는 분지쇄  $C_1 - C_8$  알킬,  $C_5 - C_{10}$  시클로알킬, 또는 포화 또는 불포화 4 - 6원 헤테로시클릴이고;  $R_7$ 이, 각각  $C_3 - C_7$  시클로알킬, 4 - 6원 헤테로시클릴,  $C_5 - C_{15}$  아릴,  $C_3 - C_7$  헤테로아릴, 할라이드, 히드록실 및  $C_1 - C_5$  할로알킬 중 적어도 하나로 치환된 직쇄 또는 분지쇄  $C_1 - C_8$  알킬인 화합물 또는 이의 입체이성질체 또는 약제학적으로 허용 가능한 염.

#### 청구항 15

제1항에 있어서,

$R_6$ 이 직쇄 또는 분지쇄  $C_1 - C_8$  알킬,  $C_5 - C_{10}$  시클로알킬 또는 4 - 6원 포화 헤테로시클릴인 화합물 또는 이의 입체이성질체 또는 약제학적으로 허용 가능한 염.

#### 청구항 16

제1항에 있어서,

$R_6$ 이  $C_1 - C_8$  알킬인 화합물 또는 이의 입체이성질체 또는 약제학적으로 허용 가능한 염.

#### 청구항 17

제1항에 있어서,

$R_7$ 이  $C_3 - C_7$  시클로알킬 및 히드록실 중 적어도 하나로 치환되는 직쇄 또는 분지쇄  $C_1 - C_8$  알킬인 화합물 또는 이의 입체이성질체 또는 약제학적으로 허용 가능한 염.

#### 청구항 18

제1항에 있어서,

$R_6$ 이, 각각 직쇄 또는 분지쇄  $C_1 - C_8$  알킬,  $C_3 - C_7$  시클로알킬, 할라이드, 히드록실 및  $CF_3$  중 적어도 하나로 임의로 치환된, 직쇄 또는 분지쇄  $C_1 - C_8$  알킬, 또는 포화 또는 불포화 4 - 6원 헤테로시클릴인 화합물 또는 이의 입체이성질체 또는 약제학적으로 허용 가능한 염.

#### 청구항 19

제1항에 있어서,

$R_7$ 이 적어도 하나의  $C_3 - C_7$  시클로알킬로 치환되는 직쇄 또는 분지쇄  $C_1 - C_8$  알킬인 화합물 또는 이의 입체이성질체 또는 약제학적으로 허용 가능한 염.

#### 청구항 20

제1항에 있어서,

$R_7$ 이  $C_3 - C_7$  시클로알킬로 치환되는 직쇄  $C_1 - C_8$  알킬인 화합물 또는 이의 입체이성질체 또는 약제학적으로 허용 가능한 염.

#### 청구항 21

제1항에 있어서,

$R_1$  및  $R_2$ 는 이들이 연결된 질소 원자와 함께 N, O, NH, C=N, C=O 및  $SO_2$  중 적어도 하나를 임의로 포함하고, 직쇄 또는 분지쇄  $C_1 - C_5$  알킬, 히드록실, 할라이드 및 시아노 중 적어도 하나로 임의로 치환된 4 - 7원 포화 고리를 형성하는 화합물 또는 이의 입체이성질체 또는 약제학적으로 허용 가능한 염.

#### 청구항 22

제1항에 있어서,

$R_1$  및  $R_2$ 는 이들이 연결된 질소 원자와 함께 4 - 7원 포화 고리를 형성하는 화합물 또는 이의 입체이성질체 또는 약제학적으로 허용 가능한 염.

#### 청구항 23

제1항에 있어서,

$R_1$  및  $R_2$ 는 이들이 연결된 질소 원자와 함께 N 및 O 중 적어도 하나를 포함하는 4 - 7원 포화 고리를 형성하는 화합물 또는 이의 입체이성질체 또는 약제학적으로 허용 가능한 염.

#### 청구항 24

제1항에 있어서,

$R_1$  및  $R_2$ 는 이들이 연결된 질소 원자와 함께 N 및 O 중 적어도 하나를 임의로 포함하는 4 - 7원 방향족 고리를 형성하는 화합물 또는 이의 입체이성질체 또는 약제학적으로 허용 가능한 염.

#### 청구항 25

제1항에 있어서,

$R_1$  또는  $R_2$ 는,  $R_3$  및 이들이 연결된 탄소 및 질소 원자와 함께, N, NH, O, C=O 및  $SO_2$  중 적어도 하나를 임의로 포함하고, 직쇄 또는 분지쇄  $C_1 - C_5$  알킬, 히드록실 및 할라이드 중 적어도 하나로 임의로 치환된 4 - 7원 포화 고리를 형성하는 화합물 또는 이의 입체이성질체 또는 약제학적으로 허용 가능한 염.

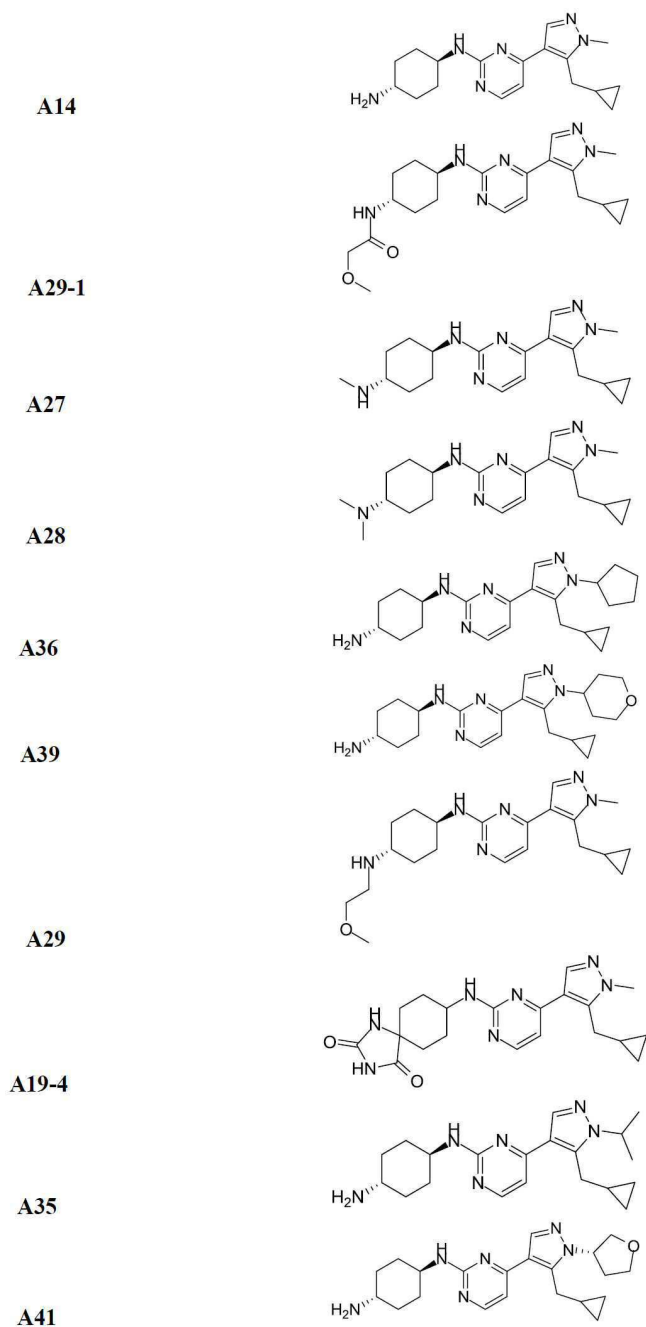
#### 청구항 26

제1항에 있어서,

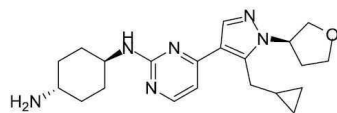
$R_1$  또는  $R_2$ 는,  $R_3$  및 이들이 연결된 탄소 및 질소 원자와 함께, NH, O 및 C=O 중 적어도 하나를 포함하는 4 - 7원 포화 고리를 형성하는 화합물 또는 이의 입체이성질체 또는 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 27

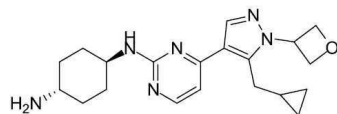
하기 화합물로부터 선택되는 화합물 및 이의 약제학적으로 허용 가능한 염:



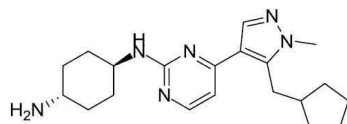
A42



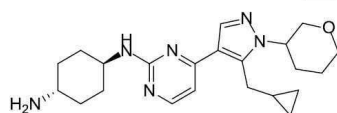
A43



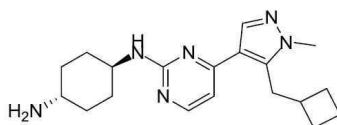
A46



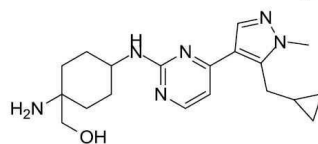
A38



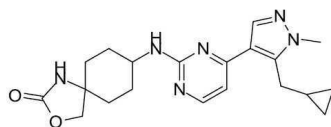
A45



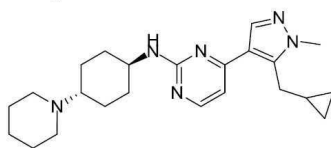
A19



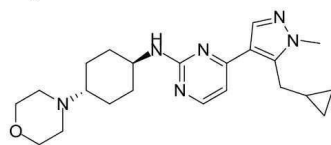
A26



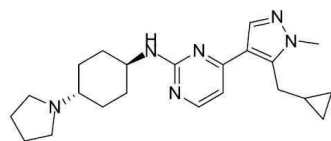
A47



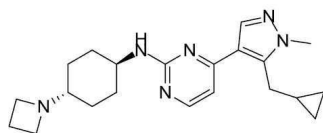
A48



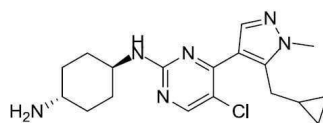
A49



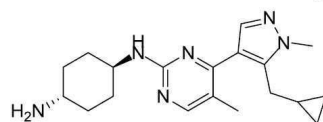
A50



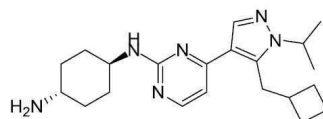
A51



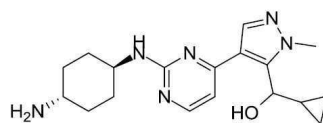
A52



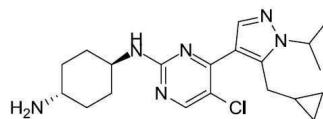
A53



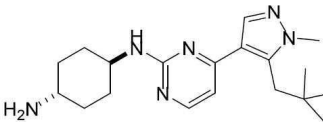
A58



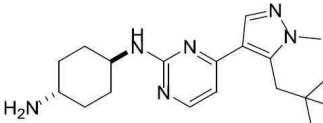
A59



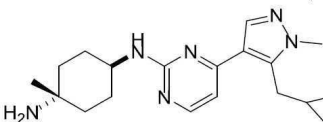
A56



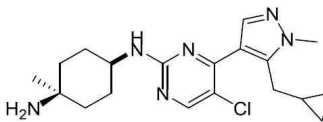
A57



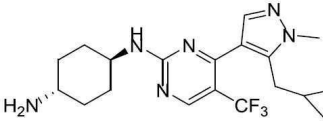
A30-1



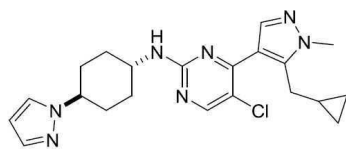
A30-2



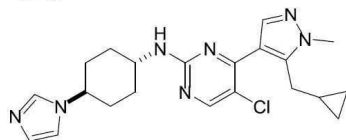
A60



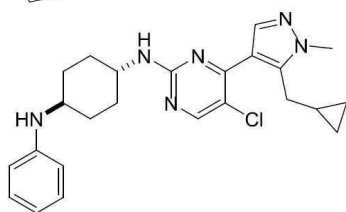
A64



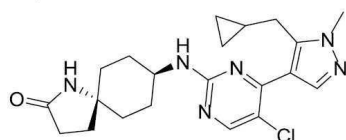
A65



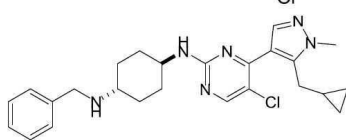
A68



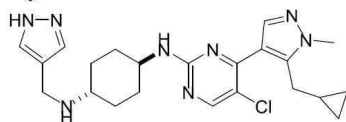
A71



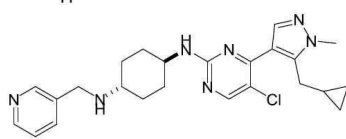
A74



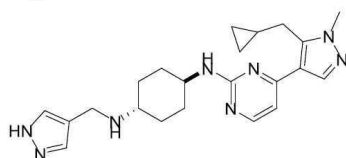
A75



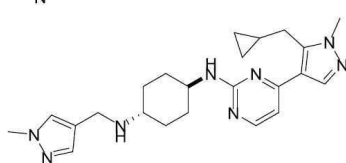
A76



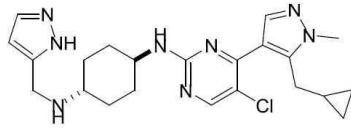
A80



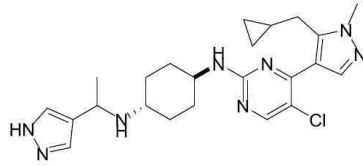
A81



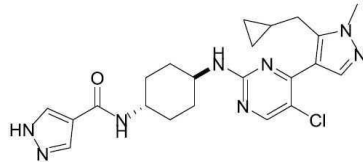
A82



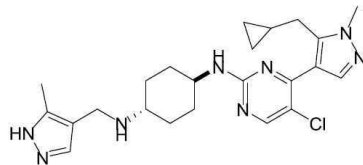
A83



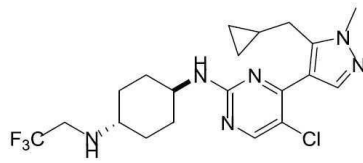
A87



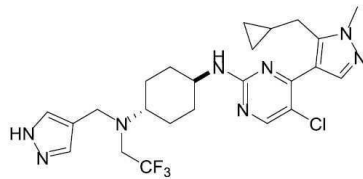
A91



A94



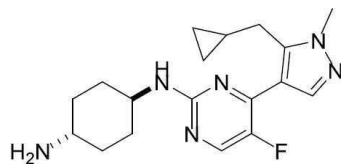
A95



A96

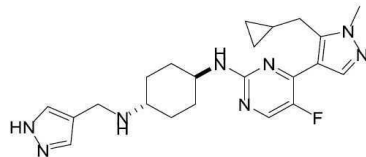


A86

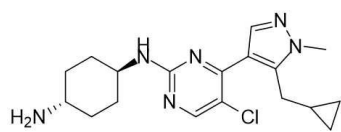


및

A85



청구항 28



의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 29

삭제

#### 청구항 30

제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 이의 입체이성질체 또는 염을 포함하는, 카제인 키나아제 I(casein kinase I)(CKI) 또는 인터류킨-1 수용체-관련 키나아제 1(interleukin-1 receptor-associated kinase 1)(IRAK1)의 억제제를 통해 암을 치료하기 위한 억제학적 조성물.

#### 청구항 31

제30항에 있어서,

카제인 키나아제 I(CKI)의 억제제를 위해 사용되는 억제학적 조성물.

#### 청구항 32

제30항에 있어서,

인터류킨-1 수용체-관련 키나아제 1(IRAK1)의 억제제를 위해 사용되는 억제학적 조성물.

#### 청구항 33

제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 이의 입체이성질체 또는 염을 포함하는, 항종양 반응 유도를 위한 억제학적 조성물.

#### 청구항 34

제33항에 있어서,

상기 항종양 반응이 암 면역요법 반응을 포함하는 억제학적 조성물.

#### 청구항 35

제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 이의 입체이성질체 또는 염을 포함하는, 악성 병태의 치료를 위한 억제학적 조성물.

#### 청구항 36

제35항에 있어서,

악성 병태가 암인 억제학적 조성물.

#### 청구항 37

제35항에 있어서,

악성 병태가 혈액학적 악성종양, 다발성 골수종, 골수이형성 증후군(myelodysplastic Syndrome)(MDS), 급성 골수성 백혈병(acute Myeloid Leukemia)(AML), 흑색종, ER-음성 유방암, 광범위큰B세포림프종(diffuse Large B cell lymphoma)(DLBCL), 만성 골수성 백혈병(chronic Myelogenous Leukemia)(CML), 만성 림프성 백혈병(chronic lymphocytic leukemia)(CLL) 및 두경부암으로부터 선택되는 억제학적 조성물.

#### 청구항 38

제36항에 있어서,

암이 WT p53을 갖는 억제학적 조성물.

#### 청구항 39

제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 이의 입체이성질체 또는 염을 포함하는, WT p53을 갖는 암 치료를 위한 억제학적 조성물로서, WT p53이 화합물 효능에 대한 바이오마커(biomarker)인 억제학적 조성물.

#### 청구항 40



제36항에 있어서,

암이 다발성 골수종, 백혈병, 악성 흑색종, 유방암, 전립선암 또는 대장암으로부터 선택되는 억제학적 조성물.

#### 청구항 41

제35항에 있어서,

암 면역요법 반응을 유도하기 위한 것인 억제학적 조성물.

#### 청구항 42

제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 이의 입체이성질체 또는 염을 포함하는, 염증성 및 면역 관련 장애, 또는 이와 연관된 병태, 증상 또는 질환의 치료를 위한 억제학적 조성물.

#### 청구항 43

삭제

#### 청구항 44

삭제

#### 청구항 45

삭제

#### 청구항 46

삭제

#### 청구항 47

삭제

#### 청구항 48

삭제

#### 청구항 49

삭제

#### 청구항 50

삭제

#### 청구항 51

삭제

#### 청구항 52

삭제

#### 청구항 53

삭제

### 발명의 설명

### 기술 분야

[0001] 본 발명은 피라졸 피리미딘 유도체 및 악성 질환 및 장애를 치료하는 방법 및 염증성 질환 및 장애를 치료하는

방법에서 이의 용도를 제시한다.

## 배경 기술

- [0002] 카제인 키나아제 1(casein kinase 1) 패밀리(CK1, 또는 CKI)는 인간에서 6개의 멤버(이소형):  $\alpha$ ,  $\gamma 1$ ,  $\gamma 2$ ,  $\gamma 3$ ,  $\delta$  및  $\epsilon$  이 있는 세린/트레오닌 키나아제이다. 이들은 N-말단(9-76개 아미노산) 및 특히 C-말단(24-200개 아미노산) 비-촉매 도메인(domain)의 길이 및 서열에서 상이하다(Schittek and Sinnberg, *Molecular Cancer* 2014, 13:231).
- [0003] CK1 $\delta$ 와 CK1 $\epsilon$ 은 이들의 키나아제 도메인에서 98% 동일하고, 이들의 C-말단 조절 도메인에서 53% 동일하다(Fish KJ et al. *J Biol Chem* 1995, 270:14875-14883). CK1 기질 인산화에 관하여 일부 중복이 있으나, 대부분의 CK1 이소형은 별개의 생물학적 역할을 갖는다. 광범위한 CK1 기질은 CK1 패밀리 멤버가 막 수송의 조절로부터, 세포 질분열, 소포 수송, 리보솜 생합성(biogenesis), DNA 복구(repair), 신호 전달(signal transduction) 경로, 세포사멸(apoptosis) 및 생체 시계(circadian rhythm)에서의 다수의 세포 과정에 관여하는 것으로 나타난다(Knippschild U et al. *Cell Signal* 2005, 17:675-689; Cheong JK and Virshup DM. *Int J Biochem Cell Biol* 2011, 43:465-469; Zemp I, et al. *J Cell Sci* 2014, 127:1242-1253).
- [0004] CK1 $\alpha$ 는 세포 분열 동안의 유사분열방추(mitotic spindle) 형성 및 DNA 복구 메커니즘에서 역할을 수행하며, RNA 대사에 참여한다(Knippschild U et al. *Cell Signal* 2005, 17:675-689). 그것은 내생 mTOR 억제제 DEPTOR의 지속된 분해를 통해 mTOR의 활성화에 기여한다(Duan S et al. *Mol Cell* 2011, 44:317-324).
- [0005] CK1 $\alpha$ 는 Wnt/ $\beta$ -카테닌 시그널링(signaling) 경로의 조절에 주요한 역할을 갖는다. 본 출원의 발명자들은 CK1 $\alpha$ 가  $\beta$ -카테닌 파괴 복합체의 핵심 성분임을 보여주었다. Wnt 수용체가 결합되지 않았을 때, CK1 $\alpha$ 는 세린 잔기 S45에서  $\beta$ -카테닌을 인산화하며, 이는 다른 키나아제, GSK3의 인산화를 프라이밍(priming)하는데 필요하다(Amit et al. *Genes Dev.* 2002 16: 1066-1076).
- [0006] 잔기 T41, S37 및 S33에서 GSK3에 의한  $\beta$ -카테닌 인산화는 유비퀴틴화(ubiquitination) 데그론(degron)을 생성하고, E3 SCF- $\beta$ -TrCP를 모집하여,  $\beta$ -카테닌의 유비퀴틴화 및 분해를 야기한다(Clevers H and Nusse R *Cell* 2012, 149: 1192-1205). 본 발명자들은 마우스 장 상피(gut epithelium)에서 CK1 $\alpha$ 의 유도성 절제가 대량 상피 Wnt 반응을 촉발시키며, 이는 놀랍게도 장 항상성을 변경시키지 않으며, 적은 증식 향상만을 갖고, 종양형성도 없음을 보여주었다(Elyada et al. *Nature* 2011, 470: 409-413). 이것은 항상성 손실 및 종양형성을 야기하는 APC와 같은  $\beta$ -카테닌 파괴 복합체의 다른 성분의 급성 절제의 결과와 상이하다(O.J. Sansom, O.J. et al. *Genes Dev.* 2004, 18:1385-1390).
- [0007] 본 출원의 발명자들은 CK1 $\alpha$  절제 이후의 항상성 유지 이유가, Wnt 활성화와 병행하여, CK1 $\alpha$  절제가 DNA 손상 반응(DNA damage response)(DDR), 세포 노화 및 p53 경로 활성화와 같은 몇몇의 종양-억제인자 경로를 유도하기 때문임을 밝혀내었다(Elyada E et al. *Nature* 2011, 470: 409-413, Pribluda A et al. *Cancer Cell* 2013, 24: 1-5).
- [0008] 이들 항-종양 경로의 활성화를 기초로 하는 분자 메커니즘은 아직 파악되어 있지 않지만, 본 발명자들은 CK1 $\alpha$  절제가 ATM 활성화의 징후 없이, 불균형적으로 작은 DNA 손상을 유도한다는 것을 발견하였으며, 이는 CK1 $\alpha$ -유도 DDR 및 p53 활성화가 드문 분자 메커니즘을 수반할 수 있음을 나타낸다(Burstain I et al, 출간되지 않음). 또한, 본 발명자들은 CK1 $\alpha$  절제가 파라인플라메이션(parainflammation)으로 표시되는 새로운 유형의 염증 반응의 유도를 야기하며, 이는 염증 반응의 일반적 징후(염증성 세포 침윤, 열, 발적(rubor), 종양 및 통증) 없이 상피에 국한된다(Pribluda A et al. *Cancer Cell* 2013, 24: 1-5, Lasry A and Ben-Neriah Y 2015, *Trends in Immunology*, Vol. 36: 217-228). 파라인플라메이션(parainflammation)은 종양 형성 억제시에는 WT p53 활성화와 협력하지만, 기능성 p53의 부재시 종양 촉진 메커니즘으로 전환된다(Pribluda A et al. *Cancer Cell* 2013, 24: 1-5, Aran et al., *Genome Biol.* 2016 Jul8;17(1):145).
- [0009] CK1 $\alpha$ 는 p53의 주요 조절인자라는 것이 이미 확립되어 있으나, 본 발명자들은 장 상피에서 CK1 $\delta$  및 CK1 $\epsilon$ 의 조합 절제 또한 p53 활성화를 유도하고, 이는 CK1 $\alpha$ -유도 p53 활성화와 상승작용을 일으킬 수 있다는 것 또한 발견하였다.
- [0010] IRAK1은 MDS, AML 및 삼중음성(triple negative) 유방암의 특정 서브세트(subset)에 대한 치료 표적으로서 확인되었다(Garrett W. Rhyasen et al, 2013, *Cancer Cell* 24, 90-104, Rhyasen GW, Bolanos L, Starczynowski DT, 2013, *Exp Hematol.* 41:1005-7, Zhen Ning Wee et al, 2015, *NATURE COMMUNICATIONS*, 6:8746). IRAK1

mRNA는 ~20-30%의 MDS 환자에서 과잉 발현되며, IRAK1 단백질은 대부분의 시험된 MDS 골수(bone marrow) 샘플에서 현저하게 과잉 발현되고 과활성화된다. IRAK1은 Toll-유사 수용체(Toll-like receptor)(TLR) 및 인터류킨-1 수용체(Interleukin-1 Receptor)(IL1R)로부터 유도된 신호를 중개하는 세린/트레오닌 키나아제이다. 수용체 활성화에 이어서, IRAK1은 인산화되고, 이는 TRAF6의 모집으로 이어져, NF- $\kappa$ B 및 JNK 경로의 TRAF6 활성화를 야기한다. MDS(또는 AML)에서 IRAK1 과잉발현 및/또는 과활성화의 분자 공급원은 확실하지 않다. MDS 클론(clone)에서 TLR 또는 필수 보조인자의 과잉 발현은 감염의 부재시에도 만성 IRAK1 활성화를 야기할 수 있는 것으로 생각된다. IRAK1을 표적화하는 소분자 억제제(IRAK1/4 억제제, 암젠 인코포레이티드(Amgen Inc.))는 본래 자가면역 및 염증성 질환용으로 개발되었다. IRAK1이 MDS에서는 과활성화(즉, 인산화)되지만, 정상 골수 세포에서는 그렇지 않다는 것을 고려하여, 스타크지노스키(Starczynowski) 및 동료들은 IRAK-억제제 치료(IRAK1/4, 암젠) 및 IRAK1의 녹다운이 MDS 세포 증식, 전구체 기능, 시험관내(in vitro) 및 생체내(in vivo) 생존력의 극적인 손상을 야기함을 보여주었다. 유(Yu) 및 동료들은 IRAK1 과잉발현이 NF- $\kappa$ B-관련 사이토카인 분비를 통해 삼중음성 유방암 세포(TNBC) 성장 이점을 제공하고, 전이성 TNBC 세포가 IRAK1 의존성의 이득을 나타내어, IRAK1의 유전적 및 약리학적 억제에 대한 높은 감수성을 야기함을 보여주었다. TNBC 세포의 파클리탁셀 치료는 강력한 IRAK1 인산화, 염증성 사이토카인 발현의 증가, 암 줄기 세포의 풍부화 및 파클리탁셀 치료에 대한 획득 내성을 유도한다. IRAK1의 약리학적 억제는 대량 세포사멸을 촉발시킴으로써 파클리탁셀 내성을 반전시킬 수 있었다. IRAK1은 또한 DEK 전사 표적인 것으로 밝혀졌고, 두경부암 세포 생존을 위해(Adams AK et al. *Oncotarget*. 2015, 22; 6(41): 43395 - 43407), 및 염증성- 및 면역-관련 장애의 치료에서 잠재적 표적으로서 필수적이다(Bahia MS et al. *Cell Signal*. 2015 Jun;27(6):1039-55).

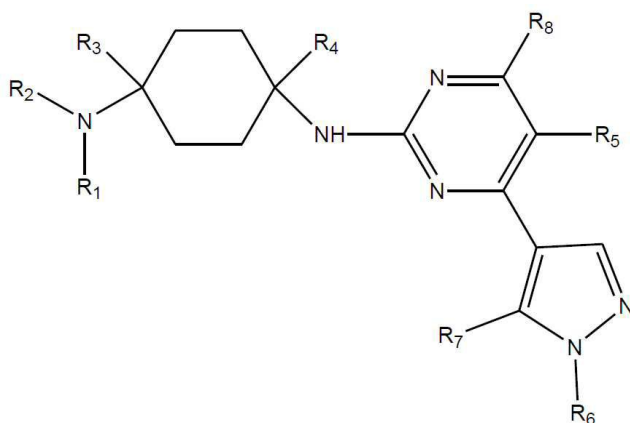
[0011] 따라서, 본 발명자들은 본 발명의 화합물이 혈액학적 악성종양에서 중요한 역할을 하는 NF- $\kappa$ B 경로의 중요한 상향 조절인자인 IRAK1를 억제할 수 있음을 발견하였다.

## 발명의 내용

[0012] **일반적 설명**

[0013] 본 발명은 하기 화학식 (I)의 화합물(이의 임의의 입체이성질체 또는 염 포함)을 제시한다:

[0014] [화학식 I]



[0015]

[0016] 식 중,

[0017] R<sub>1</sub> 및 R<sub>2</sub>는 각각 독립적으로 H; 각각 할라이드, 히드록실, 에스테르, 에테르, C<sub>5</sub> - C<sub>15</sub> 아릴, C<sub>3</sub> - C<sub>7</sub> 헤테로아릴, 및 아마이드 중 적어도 하나로 임의로 치환된, 직쇄 또는 분지쇄 C<sub>1</sub> - C<sub>8</sub> 알킬, 직쇄 또는 분지쇄 C<sub>1</sub> - C<sub>5</sub> 알콕시, 직쇄 또는 분지쇄 C<sub>1</sub> - C<sub>5</sub> 아실, C<sub>5</sub> - C<sub>15</sub> 아릴, C<sub>3</sub> - C<sub>7</sub> 헤테로아릴로부터 선택되거나; 또는

[0018] R<sub>1</sub> 및 R<sub>2</sub>는 이들이 연결된 질소 원자와 함께, N, O, NH, C=N, C=O 또는 SO<sub>2</sub> 중 적어도 하나를 임의로 포함할 수 있고 직쇄 또는 분지쇄 C<sub>1</sub> - C<sub>5</sub> 알킬, C<sub>5</sub> - C<sub>15</sub> 아릴, C<sub>3</sub> - C<sub>7</sub> 헤테로아릴, 히드록실, 할라이드 및 시아노 중 적어도 하나로 임의로 치환될 수 있는 4 - 7원(membered) 포화, 불포화 또는 방향족 고리를 형성하고;

[0019] R<sub>3</sub> 및 R<sub>4</sub>는 각각 독립적으로 H; 할라이드, 히드록실, 알콕시, C<sub>5</sub> - C<sub>15</sub> 아릴, C<sub>3</sub> - C<sub>7</sub> 헤테로아릴, 에스테르 및

아미드 중 적어도 하나로 임의로 치환된, 직쇄 또는 분지쇄  $C_1 - C_8$  알킬로부터 선택되거나; 또는

- [0020]  $R_1$  또는  $R_2$ 는,  $R_3$  및 이들이 각각 연결된 탄소 및 질소 원자와 함께, N, NH, O, C=N, C=O,  $SO_2$  중 적어도 하나를 임의로 포함할 수 있고 직쇄 또는 분지쇄  $C_1 - C_5$  알킬,  $C_5 - C_{15}$  아릴,  $C_3 - C_7$  헤테로아릴, 히드록실, 카르보닐, 및 할라이드 중 적어도 하나로 임의로 치환될 수 있는 4 - 7원 포화, 불포화 또는 방향족 고리를 형성하고;
- [0021]  $R_5$  및  $R_8$ 은 각각 독립적으로 H; 할라이드; 적어도 하나의 할라이드에 의해 임의로 치환된, 직쇄 또는 분지쇄  $C_1 - C_8$  알킬, 직쇄 또는 분지쇄  $C_2 - C_8$  알케닐, 직쇄 또는 분지쇄  $C_2 - C_8$  알키닐로부터 선택되고;
- [0022]  $R_6$ 은 직쇄 또는 분지쇄  $C_1 - C_8$  알킬,  $C_3 - C_7$  시클로알킬, 4 - 6원 헤테로시클릴,  $C_5 - C_{15}$  아릴,  $C_3 - C_7$  헤테로아릴, 할라이드, 히드록실,  $C_1 - C_5$  알킬 할라이드 중 적어도 하나로 임의로 치환된, 직쇄 또는 분지쇄  $C_1 - C_8$  알킬, 직쇄 또는 분지쇄  $C_2 - C_8$  알케닐, 직쇄 또는 분지쇄  $C_2 - C_8$  알키닐,  $C_5 - C_{10}$  시클로알킬, 포화 또는 불포화 4 - 6원 헤테로시클릴로부터 선택되고;
- [0023]  $R_7$ 은  $C_3 - C_7$  시클로알킬, 4 - 6원 헤테로시클릴,  $C_5 - C_{15}$  아릴,  $C_3 - C_7$  헤테로아릴, 할라이드, 히드록실,  $C_1 - C_5$  알킬 할라이드 중 적어도 하나로 치환된 직쇄 또는 분지쇄  $C_1 - C_8$  알킬, 직쇄 또는 분지쇄  $C_2 - C_8$  알케닐, 직쇄 또는 분지쇄  $C_2 - C_8$  알키닐로부터 선택됨.
- [0024] 본 발명은 상기 화학식 (I)의 화합물(이의 임의의 입체이성질체 또는 염 포함)을 제시하며, 식 중:
- [0025]  $R_1$  및  $R_2$ 는 각각 독립적으로 H; 각각 할라이드, 히드록실, 에스테르, 에테르,  $C_5 - C_{15}$  아릴,  $C_3 - C_7$  헤테로아릴 및 아미드 중 적어도 하나로 임의로 치환된, 직쇄 또는 분지쇄  $C_1 - C_8$  알킬, 직쇄 또는 분지쇄  $C_2 - C_8$  알케닐, 직쇄 또는 분지쇄  $C_2 - C_8$  알키닐, 직쇄 또는 분지쇄  $C_1 - C_5$  알콕시, 직쇄 또는 분지쇄  $C_1 - C_5$  아실,  $C_5 - C_{15}$  아릴,  $C_3 - C_7$  헤테로아릴로부터 선택되거나; 또는
- [0026]  $R_1$  및  $R_2$ 는 이들이 연결된 질소 원자와 함께, N, O, NH, C=N, C=O 또는  $SO_2$  중 적어도 하나를 임의로 포함할 수 있고 직쇄 또는 분지쇄  $C_1 - C_5$  알킬, 직쇄 또는 분지쇄  $C_2 - C_5$  알케닐, 직쇄 또는 분지쇄  $C_2 - C_5$  알키닐,  $C_5 - C_{15}$  아릴,  $C_3 - C_7$  헤테로아릴, 히드록실, 할라이드 및 시아노 중 적어도 하나로 임의로 치환될 수 있는 4 - 7원 포화, 불포화 또는 방향족 고리를 형성하고;
- [0027]  $R_3$  및  $R_4$ 는 각각 독립적으로 H; 할라이드, 히드록실, 알콕시, 에스테르,  $C_5 - C_{15}$  아릴,  $C_3 - C_7$  헤테로아릴 및 아미드 중 적어도 하나로 임의로 치환된, 직쇄 또는 분지쇄  $C_1 - C_8$  알킬, 직쇄 또는 분지쇄  $C_2 - C_8$  알케닐, 직쇄 또는 분지쇄  $C_2 - C_8$  알키닐로부터 선택되거나; 또는
- [0028]  $R_1$  또는  $R_2$ 는,  $R_3$  및 이들이 연결된 탄소 및 질소 원자와 함께, N, NH, O, C=N, C=O,  $SO_2$  중 적어도 하나를 임의로 포함할 수 있고 직쇄 또는 분지쇄  $C_1 - C_5$  알킬, 직쇄 또는 분지쇄  $C_2 - C_5$  알케닐, 직쇄 또는 분지쇄  $C_2 - C_5$  알키닐,  $C_5 - C_{15}$  아릴,  $C_3 - C_7$  헤테로아릴, 히드록실, 카르보닐, 및 할라이드 중 적어도 하나로 임의로 치환될 수 있는 4 - 7원 포화, 불포화 또는 방향족 고리를 형성하고;
- [0029]  $R_5$  및  $R_8$ 은 각각 독립적으로 H; 할라이드; 적어도 하나의 할라이드(일부 실시양태에서,  $CF_3$ )에 의해 임의로 치환된, 직쇄 또는 분지쇄  $C_1 - C_8$  알킬, 직쇄 또는 분지쇄  $C_2 - C_8$  알케닐, 직쇄 또는 분지쇄  $C_2 - C_8$  알키닐로부터 선택되고;
- [0030]  $R_6$ 은 직쇄 또는 분지쇄  $C_1 - C_8$  알킬,  $C_3 - C_7$  시클로알킬, 4 - 6원 헤테로시클릴,  $C_5 - C_{15}$  아릴,  $C_3 - C_7$  헤테로아릴, 할라이드, 히드록실,  $C_1 - C_5$  알킬 할라이드 중 적어도 하나로 임의로 치환된 직쇄 또는 분지쇄  $C_1 - C_8$  알킬, 직쇄 또는 분지쇄  $C_2 - C_8$  알케닐, 직쇄 또는 분지쇄  $C_2 - C_8$  알키닐,  $C_5 - C_{10}$  시클로알킬, 포화 또는 불포화 4 - 6원 헤테로시클릴로부터 선택되고;
- [0031]  $R_7$ 은  $C_3 - C_7$  시클로알킬, 4 - 6원 헤테로시클릴,  $C_5 - C_{15}$  아릴,  $C_3 - C_7$  헤테로아릴, 할라이드, 히드록실,  $C_1 -$

C<sub>5</sub> 알킬 할라이드 중 적어도 하나로 치환된 직쇄 또는 분지쇄 C<sub>1</sub> - C<sub>8</sub> 알킬, 직쇄 또는 분지쇄 C<sub>2</sub> - C<sub>8</sub> 알케닐, 직쇄 또는 분지쇄 C<sub>2</sub> - C<sub>8</sub> 알키닐로부터 선택된다.

[0032] 일부 실시양태에서, R<sub>1</sub> 및 R<sub>2</sub>는 각각 독립적으로 H; 할라이드, 히드록실, 에스테르 및 아미드 중 적어도 하나로 임의로 치환된 직쇄 또는 분지쇄 C<sub>1</sub> - C<sub>8</sub> 알킬로부터 선택된다.

[0033] 일부 실시양태에서, R<sub>1</sub> 및 R<sub>2</sub>는 각각 독립적으로 H; 할라이드, 히드록실, 에스테르 및 아미드 중 적어도 하나로 임의로 치환된 직쇄 또는 분지쇄 C<sub>1</sub> - C<sub>5</sub> 알콕시로부터 선택된다.

[0034] 일부 실시양태에서, R<sub>1</sub> 및 R<sub>2</sub>는 각각 독립적으로 H; 할라이드, 히드록실, 에스테르, 에테르 및 아미드 중 적어도 하나로 임의로 치환된 C<sub>1</sub> - C<sub>5</sub> 아실로부터 선택된다.

[0035] 다른 실시양태에서, R<sub>1</sub> 및 R<sub>2</sub>는 각각 독립적으로 H; 할라이드, 히드록실, 에스테르, 에테르 및 아미드 중 적어도 하나로 임의로 치환된 C<sub>5</sub> - C<sub>15</sub> 아릴로부터 선택된다.

[0036] 일부 실시양태에서, R<sub>1</sub> 및 R<sub>2</sub> 중 적어도 하나는 H이다.

[0037] 일부 실시양태에서, R<sub>4</sub>는 H이다. 일부 실시양태에서, R<sub>3</sub> 및 R<sub>4</sub>는 H이다.

[0038] 일부 실시양태에서, R<sub>5</sub>는 H, Cl 및 직쇄 또는 분지쇄 C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub> 알킬로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, R<sub>5</sub>는 H이다. 일부 실시양태에서, R<sub>8</sub>은 H, Cl 및 직쇄 또는 분지쇄 C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub> 알킬로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, R<sub>8</sub>은 H이다. 일부 추가 실시양태에서, R<sub>5</sub> 또는 R<sub>8</sub> 중 하나는 H이다(즉, R<sub>5</sub> 또는 R<sub>8</sub> 중 하나만이, 다시 말해, R<sub>5</sub> 또는 R<sub>8</sub> 중 하나가 H와 상이하다).

[0039] 일부 실시양태에서, R<sub>6</sub>은 직쇄 또는 분지쇄 C<sub>1</sub> - C<sub>8</sub> 알킬, C<sub>5</sub> - C<sub>10</sub> 시클로알킬, 포화 또는 불포화 4 - 6원 헤테로시클릴로부터 선택되고; R<sub>7</sub>은 적어도 하나의 C<sub>3</sub> - C<sub>7</sub> 시클로알킬, 4 - 6원 헤테로시클릴, C<sub>5</sub> - C<sub>15</sub> 아릴, C<sub>3</sub> - C<sub>7</sub> 헤테로아릴, 할라이드, 히드록실, C<sub>1</sub> - C<sub>5</sub> 알킬 할라이드에 의해 치환된 직쇄 또는 분지쇄 C<sub>1</sub> - C<sub>8</sub> 알킬로부터 선택된다.

[0040] 일부 실시양태에서, R<sub>6</sub>은 직쇄 또는 분지쇄 C<sub>1</sub> - C<sub>8</sub> 알킬, C<sub>5</sub> - C<sub>10</sub> 시클로알킬, 4 - 6원 포화 헤테로시클릴로부터 선택된다.

[0041] 일부 실시양태에서, R<sub>7</sub>은 C<sub>3</sub> - C<sub>7</sub> 시클로알킬 및 히드록실 중 적어도 하나로 치환된 직쇄 또는 분지쇄 C<sub>1</sub> - C<sub>8</sub> 알킬이다.

[0042] 일부 실시양태에서, R<sub>6</sub>은, 각각 직쇄 또는 분지쇄 C<sub>1</sub> - C<sub>8</sub> 알킬, C<sub>3</sub> - C<sub>7</sub> 시클로알킬, 할라이드, 히드록실, CF<sub>3</sub> 중 적어도 하나로 임의로 치환된, 직쇄 또는 분지쇄 C<sub>1</sub> - C<sub>8</sub> 알킬, 포화 또는 불포화 4 - 6원 헤테로시클릴로부터 선택된다.

[0043] 일부 실시양태에서, R<sub>7</sub>은 적어도 하나의 C<sub>3</sub> - C<sub>7</sub> 시클로알킬에 의해 치환된 직쇄 또는 분지쇄 C<sub>1</sub> - C<sub>8</sub> 알킬이다.

[0044] 일부 실시양태에서, R<sub>1</sub> 및 R<sub>2</sub>는 이들이 연결된 질소 원자와 함께, N 또는 O, NH, C=N, C=O 또는 SO<sub>2</sub> 중 적어도 하나를 임의로 포함하고(즉, N 원자 이외에 R<sub>1</sub> 및 R<sub>2</sub>가 연결됨) 직쇄 또는 분지쇄 C<sub>1</sub> - C<sub>5</sub> 알킬, 히드록실, 할라이드 및 시아노 중 적어도 하나로 임의로 치환될 수 있는 4 - 7원 포화 고리를 형성한다.

[0045] 일부 실시양태에서, R<sub>1</sub> 및 R<sub>2</sub>는 이들이 연결된 질소 원자와 함께 4 - 7원 포화 고리를 형성한다.

[0046] 일부 실시양태에서, R<sub>1</sub> 및 R<sub>2</sub>는 이들이 연결된 질소 원자와 함께, N 또는 O 중 적어도 하나를 포함하는(N 원자 이외에 R<sub>1</sub> 및 R<sub>2</sub>가 연결됨) 4 - 7원 포화 고리를 형성한다.

[0047] 추가 실시양태에서, R<sub>1</sub> 및 R<sub>2</sub>는 이들이 연결된 질소 원자와 함께, N 또는 O 중 적어도 하나를 임의로 포함하는(N

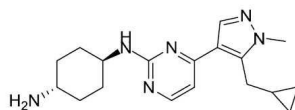
원자 이외에  $R_1$  및  $R_2$ 가 연결됨) 4 - 7원 방향족 고리를 형성한다.

[0048] 일부 실시양태에서,  $R_1$  또는  $R_2$ 는,  $R_3$  및 이들이 연결된 탄소 및 질소 원자와 함께, N, NH, O, C=O,  $SO_2$  중 적어도 하나를 임의로 포함하고 직쇄 또는 분지쇄  $C_1 - C_5$  알킬, 히드록실, 카르보닐, 및 할라이드 중 적어도 하나로 임의로 치환될 수 있는 4 - 7원 포화 고리를 형성한다.

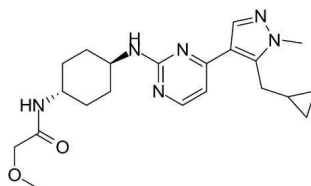
[0049] 일부 실시양태에서,  $R_1$  또는  $R_2$ 는,  $R_3$  및 이들이 연결된 탄소 및 질소 원자와 함께 NH, O, C=O 중 적어도 하나를 포함하는 4 - 7원 포화 고리를 형성한다.

[0050] 일부 실시양태에서, 본 발명의 화합물은 하기 화합물로부터 선택된다:

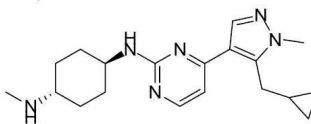
A14



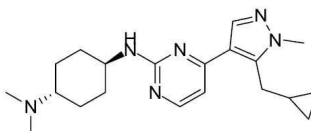
A29-1



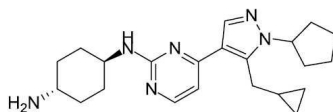
A27



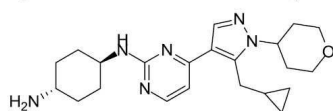
A28



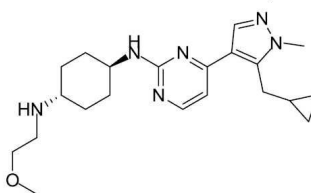
A36



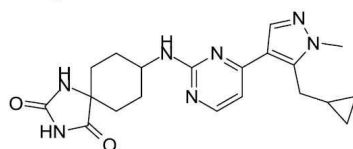
A39



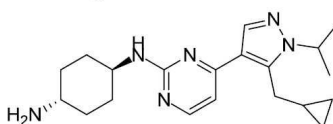
A29



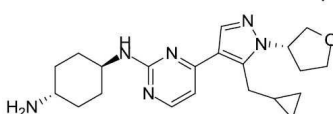
A19-4



A35

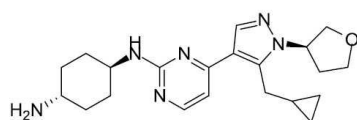


A41

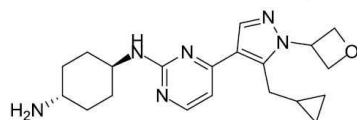


[0051]

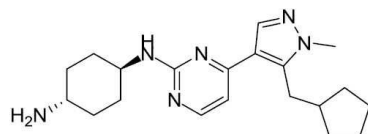
A42



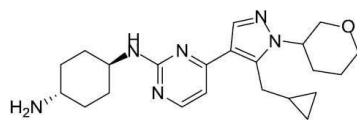
A43



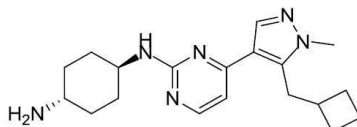
A46



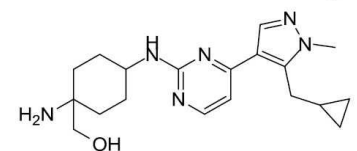
A38



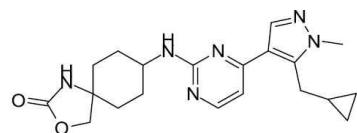
A45



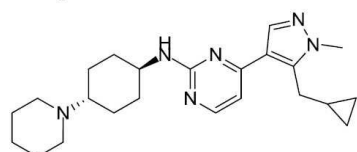
A19



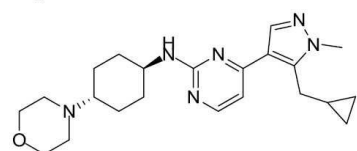
A26



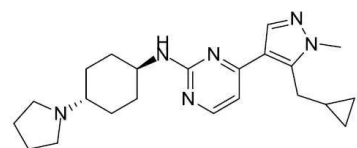
A47



A48



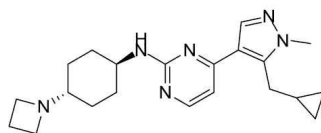
A49



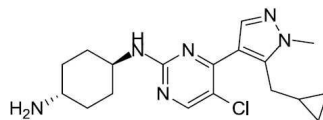
[0052]



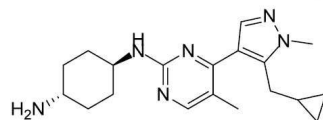
A50



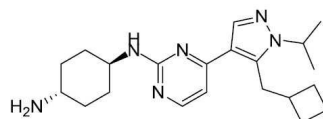
A51



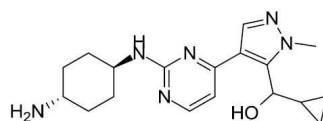
A52



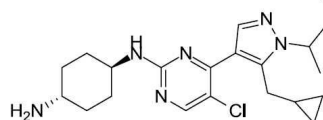
A53



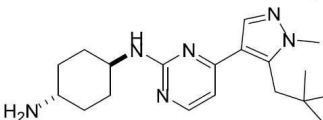
A58



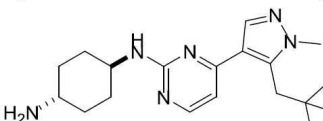
A59



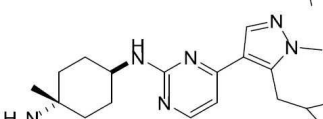
A56



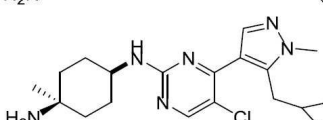
A57



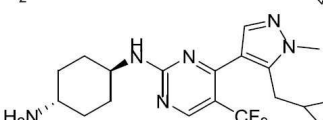
A30-1



A30-2



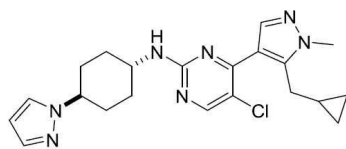
A60



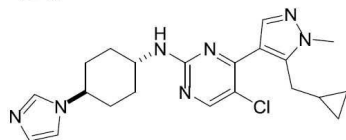
[0053]



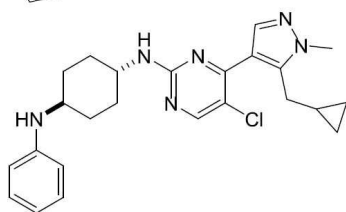
A64



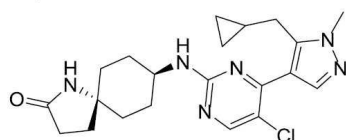
A65



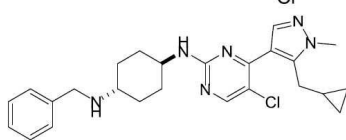
A68



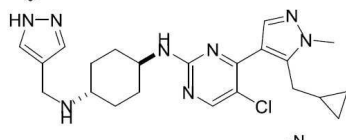
A71



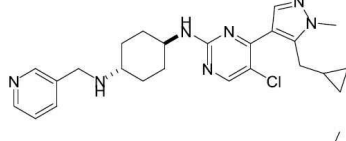
A74



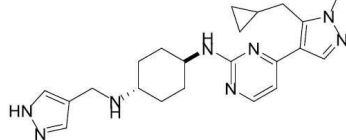
A75



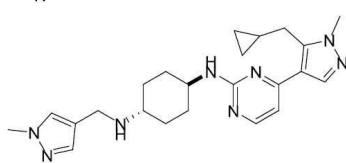
A76



A80

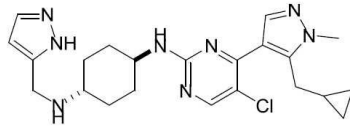


A81

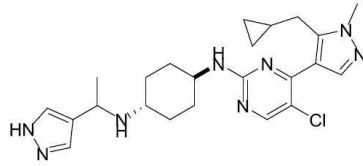


[0054]

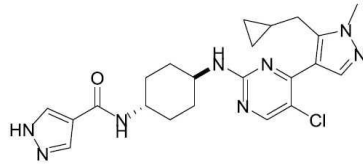
A82



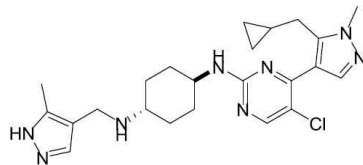
A83



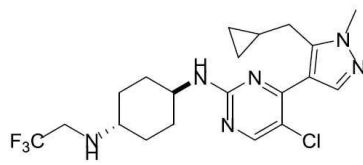
A87



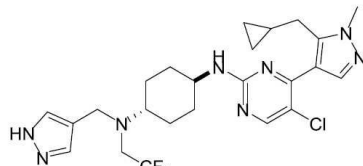
A91



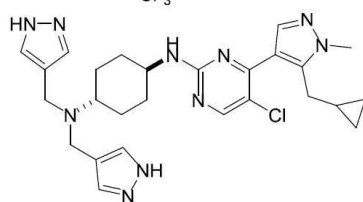
A94



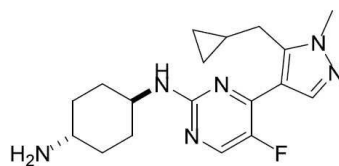
A95



A96

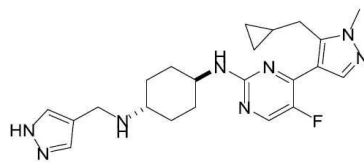


A86



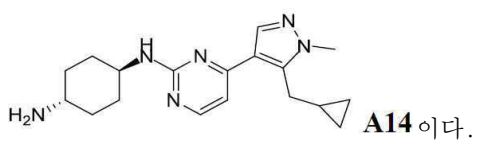
[0055] 및

A85



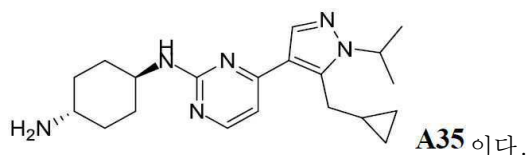
[0056]

[0057] 일부 실시양태에서, 본 발명의 화합물은

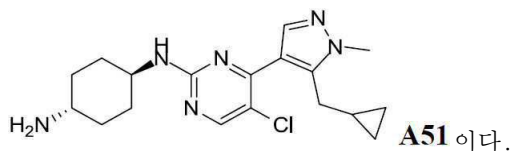


[0058] A14 이다.

[0059] 일부 실시양태에서, 본 발명의 화합물은



다른 실시양태에서, 본 발명의 화합물은



용어 "직쇄 또는 분지쇄  $C_1 - C_8$  알킬"은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8개 탄소 원자를 포함하는, 직쇄이거나 분지쇄일 수 있는 탄화수소 포화 사슬을 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

용어 "직쇄 또는 분지쇄  $C_2 - C_8$  알케닐" 또는 "직쇄 또는 분지쇄  $C_2 - C_5$  알케닐"은 각각 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8개 탄소 원자 또는 2, 3, 4, 5개 탄소 원자를 포함하는, 직쇄이거나 분지쇄일 수 있는, 사슬 중의 임의의 2개의 탄소 사이에 적어도 하나의 이중 결합을 갖는 탄화수소 사슬을 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

용어 "직쇄 또는 분지쇄  $C_2 - C_8$  알키닐"은 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8개 탄소 원자를 포함하는, 사슬 중의 임의의 2개의 탄소 사이에 적어도 하나의 삼중 결합을 갖는 탄화수소 사슬을 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

용어 "직쇄 또는 분지쇄  $C_1 - C_5$  알콕시"는  $-OR_9$  모이어티를 포함하는 것으로 이해되어야 하며, 여기서  $R_9$ 는 직쇄 또는 분지쇄  $C_1 - C_5$  알킬이다.

용어 "할라이드"는  $-F$ ,  $-Br$ ,  $-Cl$ ,  $-I$ 로부터 선택되는 임의의 할로젠 라디칼을 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

용어 " $C_1 - C_5$  알킬 할라이드"는 직쇄 또는 분지쇄의 임의의 일 지점에서  $-F$ ,  $-Br$ ,  $-Cl$ ,  $-I$ 로부터 선택되는 적어도 하나의 할로젠 라디칼에 의해 치환되는 1개 내지 5개 탄소 원자를 갖는 임의의 직쇄 또는 분지쇄 알킬을 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 일부 실시양태에서, 알킬 할라이드는 하나의 할로젠을 포함한다; 다른 실시양태에서, 알킬 할라이드는 2개의 할로젠 원자(동일하거나 상이함)를 포함한다; 다른 실시양태에서, 알킬 할라이드는 3개의 할로젠 원자(동일하거나 상이함) 등을 포함한다.

용어 "히드록실"은  $-OH$ 를 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

용어 "에스테르"는  $-C(=O)OR_{10}$  또는  $-OC(=O)R_{10}$  중 임의의 것을 포함하는 것으로 이해되어야 하며, 여기서  $R_{10}$ 은 직쇄 또는 분지쇄  $C_1 - C_8$  알킬이다.

용어 "아미드"는  $-C(=O)NR_{11}R_{12}'$ ,  $-NR_{11}C(=O)R_{12}'$  중 임의의 것을 포함하는 것으로 이해되어야 하며, 여기서  $R_{11}$  및  $R_{12}'$ 는 각각 독립적으로 H 또는 직쇄 또는 분지쇄  $C_1 - C_8$  알킬이다.

용어 "에테르"는  $-R_{13}OR_{14}'$  또는  $-OR_{15}'$  중 임의의 것을 포함하는 것으로 이해되어야 하며, 여기서  $R_{13}$ 은 직쇄 또는 분지쇄  $C_1 - C_8$  알킬렌으로부터 선택되고,  $R_{14}'$  및  $R_{15}'$ 는 각각 독립적으로 직쇄 또는 분지쇄  $C_1 - C_8$  알킬로부터 선택된다.

용어 "직쇄 또는 분지쇄  $C_1 - C_5$  아실"은 임의의  $-C(=O)R_{16}$ 을 포함하는 것으로 이해되어야 하며, 여기서  $R_{16}$ 은  $C_1 - C_5$  직쇄 또는 분지쇄 알킬이다.

용어 " $C_5 - C_{15}$  아릴"은 5개 내지 7개 탄소 원자를 포함하는 임의의 단일 또는 융합 방향족 고리계를 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 예들은 페닐, 펜탈레닐, 나프탈레닐(naphatalenyl), 안트라세닐(anthracenyl), 및 이들의 임의의 조합을 포함하나, 이에 제한되는 것은 아니다.

용어 " $C_3 - C_7$  헤테로아릴"은 5개 내지 7개 탄소 원자 및 N, O 및 S로부터 선택되는 적어도 하나의 헤테로원자를 포함하는 임의의 단일 또는 융합 방향족 고리계를 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 예들은 푸라닐, 벤조푸라

닐, 이소벤조푸라닐, 피롤리닐, 인돌리닐, 이소인돌리닐, 티오펜닐, 반조티오펜닐(banzothiophenyl), 반조[c]티오펜닐, 이미다졸릴, 벤즈이미다졸릴, 푸리닐(purinyl), 피라졸릴, 인다졸릴, 옥사졸릴, 벤조옥사졸릴, 이소옥사졸릴, 벤즈이소옥사졸릴(benzisoxazolyl), 티아솔릴(thiasolyl), 벤조티아졸릴(benzothiazolyl), 피리디닐, 아우이놀리닐(auinoliny), 이소퀴놀리닐(isoquinoliny), 피로모디닐(pyromodiny), 퀴놀리닐(quinzoliny), 피리다지닐(pyridaziny), 시놀리닐(cinnoliny) 및 이들의 임의의 조합을 포함하나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0076]  $R_1$  및  $R_2$ 가 이들이 연결된 질소 원자와 함께 4 - 7원 포화, 불포화 또는 방향족 고리를 형성하는 실시양태를 지칭할 때에는, 상기 질소 원자를 포함한 4, 5, 6, 또는 7개 멤버를 갖도록 형성될 수 있는 임의의 고리에 관한 것으로 이해되어야 한다. 상기 고리는 포화되거나, 즉 모두 시그마 결합(sigma bond)을 갖거나, 불포화되거나, 즉 적어도 하나의 이중 결합 또는 적어도 하나의 삼중 결합 또는 이들의 임의의 조합을 갖거나, 방향족, 즉 가상적으로 편재화된(localized) 구조의 것(예를 들어, 케쿨레(Kekulé) 구조)에 비해 현저하게 큰 안정성(비편재화(delocalization)에 의함)을 갖는 방향족 특징, 시클릭적으로 공유게이트된 분자 고리계를 포함하는 고리계일 수 있다.

[0077] 예를 들어, 상기 고리는 피페리디닐, 피롤리디닐, 아제티디닐(azetidiny) 등으로부터 선택될 수 있다.

[0078] 일부 실시양태에서, 상기 고리는 N, O, NH, C=N, C=O 또는 SO<sub>2</sub> 중 적어도 하나를 (고리 멤버 내에) 임의로 포함할 수 있다. 일부 추가 실시양태에서, 상기 고리는 직쇄 또는 분지쇄 C<sub>1</sub> - C<sub>5</sub> 알킬, 히드록실, 할라이드 및 시아노(CN) 중 적어도 하나로 임의로 치환(상기 고리에 대한 -H 원자의 치환에 의한 고리계 상에서)될 수 있다.

[0079]  $R_1$  또는  $R_2$ 가  $R_3$  및 이들이 연결된 탄소 및 질소 원자와 함께 4 - 7원 포화, 불포화 또는 방향족 고리를 형성하는 실시양태를 지칭할 때에는, 상기 질소 원자를 포함한 4, 5, 6, 또는 7개 멤버를 갖도록 형성될 수 있는 임의의 고리에 관한 것으로 이해되어야 한다. 이 고리는 화학식 I의 화합물의 주쇄(backbone)에서 시클로헥실 고리와 나선형 이중-고리계(spiro bi-ring system)를 형성한다. 상기 고리는 포화되거나, 즉 모두 시그마 결합을 갖거나, 불포화되거나, 즉 적어도 하나의 이중 결합 또는 적어도 하나의 삼중 결합 또는 이들의 임의의 조합을 가질 수 있다. 일부 실시양태에서, 고리는 방향족 고리이다.

[0080] 일부 실시양태에서, 상기 고리는 고리 형태 내에 N, NH, O, C=N, C=O, SO<sub>2</sub> 중 적어도 하나를 임의로 포함할 수 있다. 일부 추가 실시양태에서, 상기 고리는 직쇄 또는 분지쇄 C<sub>1</sub> - C<sub>5</sub> 알킬, 히드록실, 카르보닐 (-C(=O)R, 여기서 R은 H 또는 C<sub>1</sub> - C<sub>5</sub> 직쇄 또는 분지쇄 알킬이다), 및 할라이드 중 적어도 하나로 임의로 치환(상기 고리에 대한 -H 원자의 치환에 의한 고리계 상에서)된다.

[0081] 용어 "C<sub>5</sub> - C<sub>10</sub> 시클로알킬" 또는 "C<sub>3</sub> - C<sub>7</sub> 시클로알킬"은 각각 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10개 탄소 원자 또는 3, 4, 5, 6, 또는 7개 탄소 원자를 포함하는 포화 탄화수소 고리(즉, 그것들의 멤버 사이에 시그마 결합만을 함유하는 고리)를 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

[0082] 용어 "포화, 불포화 또는 방향족 4 - 6원 헤테로시클릴"은 적어도 하나가 N, O, S, P로부터 선택되는 헤테로원자인 4, 5, 또는 6개 멤버를 함유하는 포화(즉, 그것들의 멤버 사이에 시그마 결합만을 함유하는 고리), 불포화 또는 방향족(즉, 적어도 하나의 이중 결합 또는 적어도 하나의 삼중 결합 또는 이들의 임의의 조합을 함유하는 고리) 고리를 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

[0083] 본원에 사용된 바에 있어서, 용어 "임의로 치환"은 문제의 기가 불포화되거나 하나 이상의 지시된 치환기로 치환되는 것을 의미한다. 문제의 그룹이 하나 이상의 치환기로 치환될 때, 상기 치환기는 동일하거나 상이할 수 있다.

[0084] 본원에 개시된 특정 화합물은 하나 이상의 키랄 중심(chiral center)을 함유할 수 있거나, 다르게는 2개의 거울상 이성질체 또는 몇몇의 부분입체이성질체로서 존재할 수 있다. 따라서, 본 발명의 화합물은 거울상 이성질체의 혼합물뿐 아니라 정제된 거울상 이성질체 또는 거울상 이성질체로 농축된(enantiomerically enriched) 혼합물을 또한 포함한다. 본 발명의 화합물은 또한 부분입체이성질체의 혼합물뿐 아니라, 정제된 부분입체이성질체 또는 부분입체이성질체로 농축된 혼합물을 포함한다.

[0085] 본 발명은 또한 임의의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함한 화학식 (I)의 화합물의 임의의 염을 포함하며, 여기서 본 발명의 화합물은 순 전하(net charge)(양성 또는 음성)를 갖고, 적어도 하나의 대이온(counter ion)

(반대 음성 또는 양성 전하를 가짐)이 이에 첨가되어 상기 염을 형성한다. 본원에 사용된 바에 있어서, 어구 "약제학적으로 허용 가능한 염(들)"은 포유동물에서 약제학적으로 사용하기에 안전하고 효과적이며, 소망하는 생물학적 활성을 보유한 본 발명의 화합물의 염을 의미한다. 약제학적으로 허용 가능한 염은 본 발명의 화합물에 존재하는 산성 또는 염기성 기의 염을 포함한다. 약제학적으로 허용 가능한 산 첨가 염은 히드로클로라이드, 히드로브로마이드, 히드로요오다이드, 나이트레이트, 설페이트, 바이설페이트, 포스페이트, 산성 포스페이트, 이소니코티네이트(isonicotinate), 아세테이트, 락테이트, 살리실레이트, 시트레이트, 타르트레이트, 판토텐네이트(pantothenate), 바이타르트레이트, 아스코르베이트, 숙시네이트, 말레에이트(maleate), 겐티시네이트(gentisinate), 푸마레이트, 글루코네이트, 글루카로네이트(glucaronate), 사카레이트, 포르메이트, 벤조에이트, 글루타메이트, 메탄설포네이트, 에탄설포네이트, 벤젠설포네이트, p-톨루엔설포네이트 및 파모에이트(즉, 1,1'-메틸렌-비스-(2-히드록시-3-나프토에이트)) 염을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 특정 화합물은 다양한 아미노산과 함께 약제학적으로 허용 가능한 염을 형성할 수 있다. 적합한 염기 염은 알루미늄, 칼슘, 리튬, 마그네슘, 칼륨, 나트륨, 아연, 및 디에탄올아민 염을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 약제학적으로 허용 가능한 염에 대한 검토를 위해, 본원에 참고로 포함되는 *BERGE ET AL.*, 66 *J. PHARM. SCI.* 1-19 (1977)을 참조하라.

- [0086] 본 발명은 또한 (화학식 1에 따라) 상기 및 하기에서 본원에 정의된 바와 같은 적어도 하나의 화합물을 포함하는 조성물을 제시한다.
- [0087] 본 발명은 또한 약제학적으로 허용 가능한 보조제, 및 임의의 다른 치료제와 혼합된 본 발명의 화합물을 포함하는 약제학적 조성물에 관한 것이다. 보조제는 조성물의 다른 성분과 혼화 가능하고, 이의 수용체에 대해 유해하지 않다는 의미에서 "허용 가능"해야 한다.
- [0088] 약제학적 조성물은 경구, 직장, 코, 국소(경피, 구강 및 설하를 포함함), 질 또는 비경구(피하, 근육내, 정맥내 및 피내(intradermal)를 포함함) 투여 또는 주입을 통한 투여에 적합한 것들을 포함한다. 조성물은 제약 업계에 잘 알려진 임의의 방법에 의해 제조될 수 있다.
- [0089] 상기 방법은 본 발명의 화합물 또는 이의 조합을 임의의 보조제와 혼합하는 단계를 포함한다. 부성분(accessory ingredient)(들)으로도 명명되는 보조제(들)는 당업계에서 종래의 것들, 예컨대 담체, 필러(filler), 결합제, 희석제, 붕해제, 윤활제, 착색제, 향미제, 향산화제, 및 습윤제를 포함한다.
- [0090] 경구 투여에 적합한 약제학적 조성물은 개별 투여량 단위, 예컨대 알약, 정제, 당제(*dragée*) 또는 캡슐로서, 또는 분말 또는 과립으로서, 또는 용액 또는 현탁액으로서 존재할 수 있다. 활성 성분은 또한 볼루스(bolus) 또는 페이스트(paste)로서 존재할 수 있다. 조성물은 또한 직장 투여용 좌약 또는 관장제로 처리될 수 있다.
- [0091] 본 발명은 또한 앞서 본원에 개시된 바와 같은 용도로 조성물을 사용하기 위한 설명서를 포함하는 포장 재료와 조합된 앞서 본원에 개시된 약제학적 조성물을 포함한다.
- [0092] 비경구 투여를 위해, 적합한 조성물은 수성 및 비-수성 멸균 주사를 포함한다. 상기 조성물은 단위-용량 또는 다중-용량 용기, 예를 들어 밀봉된 바이알(vial) 및 앰플(ampoule) 내에 존재할 수 있으며, 사용에 앞서 멸균 액상 담체, 예를 들어 물의 첨가만이 필요한 냉동-건조된(동결건조) 상태로 저장될 수 있다. 경피 투여를 위해, 예를 들어 겔, 패치 또는 스프레이가 고려될 수 있다. 예를 들어, 코 흡입에 의한 폐 투여에 적합한 조성물 또는 제형은 계량 용량 가압 에어로졸, 네블라이저(nebulizer) 또는 흡입기(insufflator)의 수단에 의해 생성될 수 있다는 미세 가루 또는 미스트(mist)를 포함한다.
- [0093] 조성물 투여의 정확한 용량 및 요법은 달성될 치료 또는 영양상 효과에 필수적으로 의존적일 것이며, 특정 제형, 투여의 경로, 및 조성물이 투여될 개별 대상체의 연령 및 병태에 따라 달라질 수 있다.
- [0094] 본 발명은 치료에 사용하기 위해 (화학식 1에 따라) 상기 및 하기에서 본원에 정의된 바와 같은 화합물을 더 제시한다.
- [0095] 본원에 사용된 바에 있어서, 용어 "치료(*treatment*)" 또는 "요법(*therapy*)"은 질환, 장애 또는 병태를 방지하는 목적을 위한 환자의 관리 및 보호를 의미한다. 상기 용어는 질환, 장애 또는 병태의 진행 지연, 증상 및 합병증의 완화 또는 경감, 및/또는 질환, 장애 또는 병태의 치유 또는 제거를 포함하는 것으로 의도된다. 치료될 환자는 바람직하게는 포유동물, 특히 인간이다.
- [0096] 상기 개시된 투여량 범위는 예시적인 것일 뿐이며, 본 발명의 범위를 제한하려는 것이 아님을 이해해야 한다. 각각의 활성 화합물에 대한 치료적 유효량은, 당업자에게 명백한 바와 같이, 사용되는 화합물의 활성, 환자의



신체에서 활성 화합물의 안정성, 완화된 병태의 중증도, 치료되는 환자의 총 체중, 투여의 경로, 흡수의 용이성, 신체에 의한 활성 화합물의 분배, 및 배설, 치료될 환자의 연령 및 민감도 등을 포함하나 이에 제한되지 않는 인자에 따라 달라질 수 있다. 투여의 양은 시간 경과 동안 다양한 인자가 변화함에 따라 조정될 수 있다.

[0097] 경구 전달을 위해, 활성 화합물은 약제학적으로 허용 가능한 담체, 예컨대 결합제(예를 들어, 젤라틴, 셀룰로오스, 검 트라가칸트), 부형제(예를 들어, 전분, 락토오스), 윤활제(예를 들어, 마그네슘 스테아레이트, 이산화규소), 봉해제(예를 들어, 알지네이트, 프리모겔(Primogel), 및 옥수수 전분), 및 감미제 또는 향미제(예를 들어, 글루코스, 수크로오스, 사카린, 메틸 살리실레이트, 및 페퍼민트)를 포함하는 제형 내에 혼입될 수 있다. 제형은 봉입된(enclosed) 젤라틴 캡슐 또는 압축 정제의 형태로 경구적으로 전달될 수 있다. 캡슐 및 정제는 임의의 종래 기법으로 제조될 수 있다. 캡슐 및 정제는 또한 당업계에 알려진 다양한 코팅으로 피복되어, 캡슐 및 정제의 향, 맛, 색, 및 모양을 변형시킬 수 있다. 또한, 지방유와 같은 액상 담체가 캡슐에 포함될 수도 있다.

[0098] 적합한 경구 제형은 또한 현탁액, 시럽, 츄잉검(chewing gum), 웨이퍼(wafer), 엘릭시르제(elixir) 등의 형태로 존재할 수 있다. 소망하는 경우, 특별한 형태의 향, 맛, 색, 및 모양을 변형시키기 위한 종래의 약제가 또한 포함될 수 있다. 또한, 삼킬 수 없는 환자에서 장 공급 관에 의한 편리한 투여를 위해, 활성 화합물은 허용 가능한 친유성 식물유 비히클(vehicle), 예컨대 올리브유, 옥수수유 및 홍화유(safflower oil)에 용해될 수 있다.

[0099] 활성 화합물은 또한 용액 또는 현탁액의 형태로, 또는 사용 전에 용액 또는 현탁액 형태로 전환될 수 있는 동결 건조 형태로 비경구적으로 투여될 수 있다. 상기 제형에서, 희석제 또는 약제학적으로 허용 가능한 담체, 예컨대 멸균수 및 생리 식염수 버퍼(physiological saline buffer)가 사용될 수 있다. 다른 종래의 용매, pH 버퍼, 안정제, 향균제, 계면활성제, 및 항산화제가 모두 포함될 수 있다. 예를 들어, 유용한 성분은 염화나트륨, 아세트레이트, 시트레이트 또는 포스페이트 버퍼, 글리세린, 텍스트로오스, 고정유, 메틸 파라벤, 폴리에틸렌 글리콜, 프로필렌 글리콜, 이황산 나트륨, 벤질 알코올, 아스코르브산 등을 포함한다. 비경구 제형은 임의의 종래 용기, 예컨대 바이알 및 앰플에 저장될 수 있다.

[0100] 국소 투여의 경로는 코, 구강, 점막, 직장, 또는 질 도포를 포함한다. 국소 투여를 위해, 활성 화합물은 로션, 크림, 연고, 겔, 분말, 페이스트, 스프레이, 현탁액, 점적제(drop) 및 에어로졸로 제형화될 수 있다. 따라서, 하나 이상의 증점제(thickening agent), 보습제, 및 안정화제가 제형에 포함될 수 있다. 상기 약제의 예는 폴리에틸렌 글리콜, 소르비톨, 잔탄검, 페트롤라툼(petrolatum), 밀랍, 또는 미네랄 오일, 라놀린, 스쿠알렌 등을 포함하나, 이에 제한되는 것은 아니다. 국소 투여의 특별한 형태는 경피 패치에 의한 전달이다. 경피 패치를 제조하는 방법은, 예를 들어 Brown, *et al.* (1988) *Ann. Rev. Med.* 39:221-229에 개시되어 있으며, 이는 본원에 참고로 포함된다.

[0101] 활성 화합물의 서방(sustained release)을 위한 피하 주입이 또한 적합한 투여 경로일 수 있다. 이것은 피하 공간, 예를 들어 전방 복벽(anterior abdominal wall) 아래에 활성 화합물을 임의의 적합한 제형으로 주입하기 위한 수술 절차를 수반한다. 예를 들어, Wilson *et al.* (1984) *J. Clin. Psych.* 45:242-247을 참조하라. 히드로겔이 활성 화합물의 서방용 담체로서 사용될 수 있다. 히드로겔은 일반적으로 당업계에 알려져 있다. 이들은 고분자량 생체적합 중합체를, 물에서 부풀어 겔 유사 물질을 형성하는 망(network)으로 가교시킴으로써 전형적으로 제조된다. 일부 사례에서, 히드로겔은 생분해성이거나 생체흡수성이다. 본 발명의 목적을 위해, 폴리에틸렌 글리콜, 콜라겐, 또는 폴리(글리콜-코-L-락트산)으로 이루어진 히드로겔이 유용할 수 있다. 예를 들어, Phillips *et al.* (1984) *J. Pharmaceut. Sci.*, 73: 1718-1720을 참조하라.

[0102] 본 발명은 또한 카제인 키나아제 I(Casein kinase I)(CKI) 및 인터류킨-1 수용체-관련 키나아제 1(Interleukin-1 receptor-associated kinase 1)(IRAK1) 중 적어도 하나의 억제에 사용하기 위한, (화학식 1에 따라) 상기 및 하기에서 본원에 정의된 바와 같은 화합물을 제시한다. 일부 실시양태에서, (화학식 1에 따라) 상기 및 하기에서 본원에 정의된 바와 같은 화합물은 CKI 및 IRAK1의 억제에 사용된다. 상기 실시양태 하에서, (화학식 1에 따라) 상기 및 하기에서 본원에 정의된 바와 같은 본 발명의 화합물의 사용은 CKI 및 IRAK1 중 적어도 하나(또는 일부 실시양태에서, CKI 및 IRAK1 둘 다)와 연관된 질환, 장애, 증상 및 병태를 치료할 수 있다. 상기 양태 하에서, 본 발명은 CKI 및 IRAK1 중 적어도 하나(또는 일부 실시양태에서, CKI 및 IRAK1 둘 다)와 연관된 질환, 장애, 증상 및 병태의 치료를 제시한다.

[0103] 다른 일 양태에서, 본 발명은 인터류킨-1 수용체-관련 키나아제 1(IRAK1)의 억제에 사용하기 위한, (화학식 1에 따라) 상기 및 하기에서 본원에 정의된 바와 같은 화합물을 제시한다.

- [0104] 본 발명은 또한 카제인 키나아제 I(CKI)의 억제에 사용하기 위한, (화학식 1에 따라) 상기 및 하기에서 본원에 정의된 바와 같은 화합물을 제시한다.
- [0105] 용어 "*카제인 키나아제 I*"은 대부분의 진핵 세포 유형에서 신호 전달 경로의 조절인자로서 작용하는 세린/트레오닌-선택적 효소인 단백질 키나아제 패밀리를 포함하는 것으로 이해되어야 한다. CK1 이소형은 Wnt 시그널링, 생체 시계, 전사 인자의 핵세포질 셔틀링(nucleo-cytoplasmic shuttling), DNA 복구, p53 활성화 및 DNA 전사에 관여한다.
- [0106] 용어 "*인터류킨-1 수용체-관련 키나아제 I*"은 혈액학적 악성종양, 예컨대 다발성 골수종, MDS, 백혈병 및 림프종, 유방암, 두경부암, 염증성 및 면역 관련 장애 등의 질환 경로에 관여하는 NF- $\kappa$ B 경로의 중요한 상향 조절인자이므로 밝혀진 *IRAK1* 유전자에 의해 코딩되는 효소를 포함하는 것으로 이해되어야 한다.
- [0107] 상기 효소의 "*억제*"를 지칭할 때에는, 상기 효소에 대한 본 발명의 적어도 하나의 화합물의 직접 또는 간접 결합으로 인한 상기 효소의 활성에서의 임의의 질적 또는 양적 감소를 포함하는 것으로 이해되어야 한다.
- [0108] 본 발명은 또한 악성 병태와 연관된 병태, 증상 또는 질환의 치료에 사용하기 위한, (화학식 1에 따라) 상기 및 하기에서 본원에 정의된 바와 같은 화합물을 제시한다.
- [0109] 일부 실시양태에서, 상기 악성 병태는 암이다. 다른 실시양태에서, 상기 암은 WT, 또는 돌연변이 p53(암 병태의 전형적인 p53을 비활성화시키는 돌연변이)을 갖는다. 추가 실시양태에서, 상기 암은 백혈병, 악성 흑색종, 유방암, 전립선암 및 대장암으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 상기 암은 WT p53을 갖는다.
- [0110] 본 발명은 또한 WT p53을 갖는 암 치료에 사용하기 위한, 상기 및 하기에서 본원에 정의된 바와 같은 화합물을 제시하며, 여기서 상기 WT p53은 상기 화합물 효능에 대한 바이오마커이다. 따라서, 이 양태 하에서, WT p53은 상기 화합물 또는 본 발명의 화합물을 포함하는 조성물의 암 치료 효능에 대한 측정 가능한 지표로서 제공된다. 본 발명은 또한 필요한 대상체에서 WT p53을 갖는 암을 치료하는 방법을 제시하며, 여기서 상기 WT p53은 상기 화합물 효능에 대한 바이오마커이다.
- [0111] 일부 실시양태에서, 상기 사용은 암 면역요법 반응의 유도를 포함한다. 따라서, 본 발명의 일부 실시양태에서, 본 발명의 화합물 또는 본 발명의 화합물을 포함하는 조성물은 암 치료(항-종양, 항-악성 종양 활성) 및 암 면역요법 반응 둘 다를 제공한다.
- [0112] 일부 실시양태에서, 상기 악성 병태는 혈액학적 악성종양(다발성 골수종, 골수이형성 증후군(Myelodysplastic Syndrome)(MDS), 급성 골수성 백혈병(Acute Myeloid Leukemia)(AML), 흑색종 및 ER-음성 유방암, 광범위 B형 대세포 림프종(Diffuse Large B cell lymphoma)(DLBCL), 만성 골수성 백혈병(Chronic Myelogenous Leukemia)(CML), 만성 림프성 백혈병(Chronic lymphocytic leukemia)(CLL), 두경부암, 및 이들의 임의의 조합)으로부터 선택된다.
- [0113] 다른 일 양태에서, 본 발명은 항-종양 반응 유도에 사용하기 위한, 상기 및 하기에서 본원에 정의된 바와 같은 화합물을 제시한다. 일부 실시양태에서, 상기 항-종양 반응은 암 면역요법 반응을 포함한다.
- [0114] 용어 "*유도된 항-종양 반응*"은 암 종양의 임의의 질적 또는 양적 화학요법을 포함하는 것으로 이해되어야 한다.
- [0115] 용어 "*암 면역요법 반응*"은 암 세포와 다투기 위한 대상체 자신의 면역계의 임의의 질적 또는 양적 암 면역요법 유도를 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 전형적으로, 면역요법은 능동형, 수동형 또는 하이브리드(능동형 및 수동형)와 같이 분류될 수 있으며, 암 세포가 보통 종양-관련 항원(tumour-associated antigen)(TAA)으로 알려진, 대상체의 면역계에 의해 검출될 수 있는 표면 상의 분자를 갖는다는 사실을 활용하도록 설계되고; 이들은 보통 단백질 또는 다른 거대분자(예를 들어, 탄수화물)이다. 능동형 면역요법은 면역계가 TAA를 표적화함으로써 종양 세포를 공격하도록 한다. 수동형 면역요법은 기존의 항-종양 반응을 향상시킨다.
- [0116] 일부 실시양태에서, 상기 암 면역요법 반응은 종양 세포, 항원 제시 세포, T 세포 또는 자연 킬러(Natural Killer)(NK) 세포에 대한 면역 체크포인트(checkpoint) 분자의 발현에서의 변화와 관련된다.
- [0117] 일부 실시양태에서, 상기 암 면역요법 반응은 T 세포의 항-종양 활성의 억제를 유도하는 종양 세포에 대한 면역 체크포인트 분자의 발현에서의 감소와 관련된다.
- [0118] 일부 실시양태에서, 상기 암 면역요법 반응은 체크포인트 단백질 PD-L1의 발현에서의 감소와 관련된다. 일부 다른 실시양태에서, 상기 면역요법 반응은 PD-L1의 억제와 관련된다. 일부 추가 양태에서, 본 발명의 화합물은

PD-L1을 억제하는 방법에서 사용된다.

- [0119] 본 발명은 또한 염증성 및 면역 관련 장애, 이와 연관된 병태, 증상 또는 질환을 포함한 장애의 치료에 사용하기 위한, (화학식 1에 따라) 상기 및 하기에서 본원에 정의된 바와 같은 화합물을 제시한다.
- [0120] "염증성 및 면역 관련 장애"를 지칭할 때에는, 인터류킨-1 수용체 관련 키나아제 억제제를 이용하여 치료 가능한 임의의 유형의 장애(이와 연관된 병태, 증상 및 질환을 포함함)에 관한 것으로 이해되어야 한다. 예를 들어, IRAK1은 사이토카인의 비정상 수준을 조절할 수 있어, 예를 들어 류마티스 관절염, 염증성 장 질환, 건선, 통풍, 천식 및 암과 같은 면역- 및 염증-관련 장애를 관리하기 위해 이용될 수 있는 IL-R 및 TLR 경로의 필수적인 요소인 것으로 밝혀졌다(Bahia MS et al. *Cell Signal*. 2015 Jun;27(6):1039-55).
- [0121] 본 발명은 또한 필요한 대상체에서 악성 병태와 연관된 병태, 증상 또는 질환을 치료하는 방법을 제시하며, 상기 방법은 (화학식 1에 따라) 상기 및 하기에서 본원에 정의된 바와 같은 적어도 하나의 화합물을 상기 대상체에 투여하는 단계를 포함한다.
- [0122] 본 발명은 또한 필요한 대상체에서 카제인 키나아제 I(CKI) 및 인터류킨-1 수용체-관련 키나아제 1(IRAK1) 중 적어도 하나를 억제하는 방법으로서, (화학식 1에 따라) 상기 및 하기에서 본원에 정의된 바와 같은 적어도 하나의 화합물을 상기 대상체에 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제시한다.
- [0123] 다른 일 양태에서, 본 발명은 필요한 대상체에서 인터류킨-1 수용체-관련 키나아제 1(IRAK1)을 억제하는 방법으로서, (화학식 1에 따라) 상기 및 하기에서 본원에 정의된 바와 같은 적어도 하나의 화합물을 상기 대상체에 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제시한다.
- [0124] 일부 실시양태에서, 본 발명의 방법은 상기 대상체에서 암 면역요법 반응을 유도하는 단계를 더 포함한다.
- [0125] 다른 일 양태에서, 본 발명은 필요한 대상체에서 암 면역요법 반응을 유도하는 방법을 제시하며, 상기 방법은 상기 및 하기에서 본원에 정의된 바와 같은 적어도 하나의 화합물을 상기 대상체에 투여하는 단계를 포함한다.
- [0126] 본 발명은 또한 염증성 및 면역 관련 장애, 이와 연관된 병태, 증상 또는 질환을 포함한 장애를 치료하는 방법을 제시하며; 상기 방법은 (화학식 1에 따라) 상기 및 하기에서 본원에 정의된 바와 같은 화합물을 필요한 대상체에 투여하는 단계를 포함한다.
- [0127] 본 발명은 또한 필요한 대상체에서 카제인 키나아제 I을 억제하는 방법으로서, (화학식 1에 따라) 상기 및 하기에서 본원에 정의된 바와 같은 적어도 하나의 화합물을 상기 대상체에 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제시한다.

## 도면의 간단한 설명

### [0128] 도면의 간단한 설명

본원에 개시된 주제를 더욱 이해하고, 그것이 실제로 어떻게 수행될 수 있는지 예시하기 위해, 비제한적 예시로, 실시가 첨부된 도면을 참조하여 개시될 것이다:

**도 1a 및 1b**는 RKO 결장 세포주에서 스크리닝된 본 발명의 지시된 화합물(도 1a 화합물 A36, A39, A6, A14, A35, A51, A29, A19-4, A41, A28, A42, A43, A46; 도 1b 화합물 A30-1, A30-2, A51, A60, A64, A65)의 용량 반응을 도시한다. RKO 세포를 지시된 농도의 화합물과 함께 37°C에서 16시간 동안 배양하고, 웨스턴 블롯(Western Blot)에 의해 분석하였다. CKI  $\alpha$  키나아제 억제를 나타내는, DNA 손상의 마커인  $\beta$ -카테닌 및 p53 안정화 및 H2AX( $\gamma$ H2AX)의 인산화가 도시되어 있다.  $\beta$ -카테닌 및 p53 안정화, 및 H2AX 인산화는 대부분의 화합물의 일반적 효과인 반면에, 일부 화합물은  $\beta$ -카테닌을 안정화시키지 않지만, 근사한 유사체(예를 들어, A19-4)는  $\beta$ -카테닌만을 안정화시킨다는 것에 유의해야 한다. CKI  $\alpha$  단백질 수준은 로딩(loading) 대조군으로서 제공된다.

**도 2a-2d**는 CKI  $\alpha$  억제제 A14가 CML 아세포 급증(blast crisis) 마우스로부터 단리된 골수 세포의 세포사멸을 용량 의존 방식(생체외(ex vivo))으로 유도하는 것을 도시한다. 도 2a는 실험 절차; 8시간 동안의 A14 또는 DMSO를 이용한 배양의 도식적 표현이다. 도 2b는 A14 치료 이후 백혈병 세포 수의 극적인 감소 - 용량 반응 곡선을 도시한다. 도 2c는 사멸 세포(아넥신(Annexin)5+/7AAD-)의 증가 퍼센트(percentage)를 용량 의존 방식으로 도시한다. 도 2d는 총 사멸 세포(7AAD+)의 증가 퍼센트를 용량 의존 방식으로 도시한다.

**도 3a-3c**는 A14가 CML 아세포 급증 마우스에서의 생체내 말초 혈액(peripheral blood) 및 골수에서 백혈병 세포



부담을 현저하게 감소시킨다는 것을 나타낸 것이다. 도 3a는 CML 아세포 급증 마우스로부터의 BM 세포(GFP+ 세포)를 정상 C57Bl/6 마우스에 접종하고, A14를 사용하거나 또는 비히클 단독으로 매일 치료(경구 투여)하는 실험 절차의 도식적 표현이다. 도 3b는 치료 이후 9일차에 말초 혈액에서 GFP+ 백혈병 세포의 퍼센트를 도식한다; A14(N=6)를 비히클 치료된 마우스(N=6)와 비교하였다. 도 3c는 치료 이후 9일차에 골수에서 GFP+ 백혈병 세포의 퍼센트를 도식한다; A14(N=6)를 비히클 치료된 마우스(N=6)와 비교하였다.

도 4a-4f는 CML 아세포 급증 마우스의 A14 치료 이후 9일차에 전혈구 계산(complete blood count)을 도식한다: 도 4a는 말초 혈액에서 백혈구(White blood cell)(WBC)의 절대수( $10^9/L$ )(N=5)를 도식한다. 도 4b는 말초 혈액에서 림프구(Lymphocyte)(Lymph)의 절대수( $10^9/L$ )(N=5)를 도식한다. 도 4c는 말초 혈액에서 단핵구(Monocyte)(Mono)의 절대수( $10^9/L$ )(N=5)를 도식한다. 도 4d는 말초 혈액에서 과립구(Granulocyte)(Gran)의 절대수( $10^9/L$ )를 도식한다. 도 4e는 적혈구 계산(red blood count)(RBC,  $10^{12}/L$ )을 도식한다. 도 4f는 헤모글로빈 수준(hemoglobin level)(HGB, g/L)을 도식한다.

도 5는 BM 이식 후 9일차에 비히클-치료된 CML 아세포 급증 마우스와 비교하여 A14 치료된 것으로부터의 혈액 도말의 대표 사진을 도식한다.

도 6은 AML 마우스 모델 제작의 개략도를 도식한다.

도 7a-7d는 AML의 진행에 대한 A14의 억제 효과를 도식한다. 도 7a는 실험 절차의 개략도를 도식한다. 도 7b는 비히클 치료된 마우스와 비교하여 A14 치료된 것의 말초 혈액(PB)에서 GFP<sup>+</sup> 백혈구의 퍼센트를 나타낸다. 도 7c 및 7d는 A14 치료 하루 전(도 7c) 및 3일 이후(도 7d) PB에서 GFP<sup>+</sup> 백혈구의 대표적 유세포계수 분석 플롯(plot)을 도식한다.

도 8a-8g는 본 발명의 A14를 이용한 AML 마우스의 치료 이후 9일차에 전혈구 계산을 도식한다. 도 8a는 말초 혈액에서 백혈구(WBC)의 절대수( $10^9/L$ )를 도식한다. 도 8b는 말초 혈액에서 림프구(Lymph)의 절대수( $10^9/L$ )를 도식한다. 도 8c는 말초 혈액에서 단핵구(Mono)의 절대수( $10^9/L$ )를 도식한다. 도 8d는 말초 혈액에서 과립구(Gran)의 절대수( $10^9/L$ )를 도식한다. 도 8e는 적혈구 계산(RBC,  $10^{12}/L$ )을 도식한다. 도 8f는 헤모글로빈(g/L)을 도식한다. 도 8g는 말초 혈액에서 혈소판(platelet)(PLT)( $10^9/L$ )을 도식한다.

도 9는 1차 A14 치료 이후 9일차에 비히클-치료된 AML 마우스와 비교하여 A14로부터의 혈액 도말의 대표 사진을 도식한다.

도 10은 본 발명의 억제제 화합물인 A51 및 A14에 의한 IRAK1 억제를 도식한다. 세포를 수집하고, 웨스턴 블롯에 의해 분석하였다. 블롯을 다음 항체와 함께 배양하였다: 포스포(Phospho)-IRAK1 (Thr209), (A1074, 에세이바 이오테크놀로지(AssayBiothechnology); 1/1,000), 포스포-IKK  $\alpha/\beta$  (Ser176/180) (16A6, 셀 시그널링(Cell Signaling); 1/1,000), IKK  $\alpha$  (2682, 셀 시그널링; 1/1,1000), IKK  $\beta$  (2370, 셀 시그널링; 1/1,1000), 포스포-c-Jun(Ser 63)(9261, 셀 시그널링; 1/1,1000), p53(DO-1&1801 하이브리도마 믹스(hybridoma mix); 각각으로부터의 상청액의 1:20의 희석액), CKI  $\alpha$  (C-19; 1/1,000; 산타 크루즈 바이오테크놀로지(Santa Cruz Biotechnology)) 및 포스포-히스톤(histone)H2AX (S139; 1/1,000; 밀리포어(Millipore)). 2차 항체는 HRP-연결 염소(goat) 항-마우스, 염소 항-토끼 및 토끼 항-염소 항체(모두 1/10,000; 잭슨(Jackson))였다. 포스포-IRAK1, 포스포-IKK  $\alpha/\beta$  및 포스포-c-Jun의 억제는 IRAK1 억제를 나타낸다. DNA 손상의 마커인 p53 안정화 및 H2AX( $\gamma$  H2AX)의 인산화는 CKI  $\alpha$  키나아제 억제를 나타낸다. CKI  $\alpha$  단백질 수준은 로딩 대조군으로서 제공된다.

도 11a-11e는 AML 마우스에서 CKI 억제제 A51의 단일-용량 치료로부터 달성된 실험 결과에 관한 것이다. 도 11a는 AML 마우스의 제작 및 질환의 도입(백혈병 접종)으로부터 30일차에 A51(20mg/Kg)을 이용한 그것들의 치료를 개략적으로 도식한다. 도 11b - 11e는 혈액에서 총 백혈병 세포의 감소에 있어서 치료로부터 16시간 이후의 A51의 효과(비히클 단독을 이용한 치료와 비교)를 도식한다: 도 11b는 말초 혈액(PB)에서 WBC의 감소를 도식하며, 도 11c는 백혈병 비장의 축소를 도식하고, 도 11d 및 11e는 각각 말초 혈액(PB) 및 골수(BM)에서 백혈병 아세포(GFP+ 세포) 비율의 감소를 도식한다.

도 12a 및 12b는 치료된 AML 마우스로부터의 비장 및 뼈의 사진을 도식한다. 상기 개시된 바에 있어서, A51을 이용한 치료 이후 비장 크기(비장종대(splenomegaly))에서 실제 감소가 있었으며(도 12a), 단일 용량 치료 이후

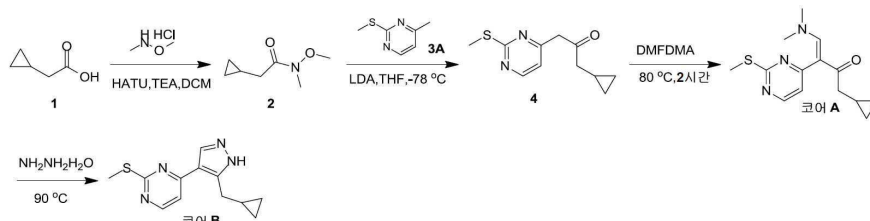
불투명한 뼈가 정상 색으로 변하였다(도 12b).

도 13a~13e는 백혈병 마우스의 골수로부터 단리된 AML 세포에 대한 CKI 억제제의 시험관내 치료 효과의 결과를 도시한다. 사멸 세포(7AAD+)의 퍼센트 및 백혈병 세포에서 주요 면역 체크포인트 단백질 PD-L1의 발현에 대한 억제제의 효과가 도시되어 있으며; 몇몇의 시점 동안(5시간, - 도 13a, 6시간, - 도 13b 및 13c, 및 9시간 - 도 13d 및 13e) 10 또는 100nM에서 억제제 치료가 있었다.

## 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

### [0129] 실시양태의 상세한 설명

[0130] (E)-1-시클로프로필-4-(디메틸아미노)-3-(2-(메틸티오)피리미딘-4-일)부트-3-엔-2-온 (코어(Core) A) 및 4-(5-(시클로프로필메틸)-1H-피라졸-4-일)-2-(메틸티오)피리미딘 (코어 B)의 제조



[0131] **단계 1:** N, O-디메틸히드록실아민 히드로클로라이드 (25.14 g, 257.69 mmol, 1.72 eq), HATU (56.97 g, 149.82 mmol, 1.00 eq) 및 TEA (45.48 g, 449.46 mmol, 3.00 eq)를 0 °C의 DCM (500 mL) 중의 2-시클로프로필아세트산 (15.00 g, 149.82 mmol, 1.00 eq) 용액에 첨가하였으며, 이어서 상기 혼합물을 30 °C에서 3시간 동안 교반하였다(stirred). 결과적으로 얻은 혼합물을 물 (500 mL)에 부었다. 수성 세척 상(phase)을 DCM (3\*250 mL)으로 추출하였다. 조합된 유기층을 무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과 및 농축시켰다. 잔류물을 칼럼 크로마토그래피 (SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르(petroleum ether)(PE):에틸 아세테이트(ethyl acetate)(EA) = 50:1 내지 10:1)에 의해 정제하여 무색 액체로서 소망하는 화합물 **2** (13.20 g, 82.97 mmol, 55.4% 수율)를 수득하였다.

[0132] <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 3.65 (s, 3H), 3.17 (s, 3H), 2.33 (d, J = 6.8 Hz, 2H), 1.09-1.06 (m, 1H), 0.54-0.50 (m, 2H), 0.16-0.14 (m, 2H).

[0133] **단계 2:** THF (500 mL) 중의 4-메틸-2-메틸설파닐-피리미딘 (9.00 g, 64.19 mmol, 1.00 eq) 용액에 -78°C의 LDA (2 M, 48.46 mL, 1.51 eq)를 첨가하였다. 1시간 동안 교반한 후에, THF (500 mL) 중의 화합물 **2** (13.79 g, 96.29 mmol, 1.50 eq) 용액을 -78°C에서 적가하여 첨가하였으며, 이어서 상기 반응 혼합물을 -78°C에서 4시간 동안 교반하였다. 포화 aq. NH<sub>4</sub>Cl (100 mL)로 키텅시켰으며 quenched), 수성 상을 에틸 아세테이트 (3 x 50 mL)로 추출하였다. 조합된 유기층을 염수로 세척하였으며, 무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과 및 농축시켰다. 잔류물을 석유 에테르/에틸 아세테이트로부터 결정화시켜 황색 고체로서 소망하는 화합물 **4** (13.60 g, 55.06 mmol, 85.8% 수율)를 수득하였다.

[0134] LCMS: RT = 0.629 min, m/z 223.0 [M+H]<sup>+</sup>.

[0135] **단계 3:** DMF-DMA (51.42 g, 2.45 mol, 40 eq) 중의 화합물 **4** (13.60 g, 61.18 mmol, 1.00 eq) 용액을 90°C에서 2시간 동안 교반하였다. 용매를 진공에서 제거하였다. 잔류물을 실리카 겔 상의 칼럼 크로마토그래피에 의해 정제하여 황색 고체로서 **코어 A** (10.60 g, 36.30 mmol, 59.3% 수율)를 수득하였다.

[0136] LCMS: RT = 0.634 min, m/z 278.2 [M+H]<sup>+</sup>.

[0137] <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 8.38 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 7.62 (s, 1H), 6.96 (s, 1H), 2.96-2.87 (m, 6H), 2.56 (s, 3H), 2.38 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 1.04-1.02 (m, 1H), 0.52-0.46 (m, 2H), 0.09-0.04 (m, 2H).

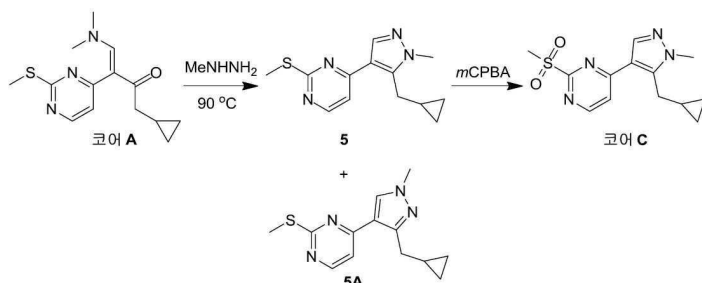
[0138] **단계 4:** 에탄올 (200 mL) 중의 **코어 A** (10.60 g, 38.21 mmol, 1.00 eq) 및 히드라진 하이드레이트 (6.75 g, 114.63 mmol, 3.00 eq) 용액을 90°C에서 3시간 동안 교반하였다. 용매를 진공에서 제거하였다. 잔류물을 실리카 겔 상의 칼럼 크로마토그래피에 의해 정제하여 **코어 B** (9.00 g, 35.81 mmol, 93.7% 수율)를 연황색 고체로서 수

특하였다.

[0140] LCMS: RT = 2.018 min,  $m/z$  247.1  $[M+H]^+$

[0141]  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , 400 MHz)  $\delta$  8.43 (d,  $J$  = 5.2 Hz, 1H), 8.04 (s, 1H), 7.10 (d,  $J$  = 5.2 Hz, 1H), 3.12 (d,  $J$  = 7.2 Hz, 2H), 2.60 (s, 3H), 1.19-1.14 (m, 1H), 0.66 (q,  $J$  = 5.2 Hz, 2H), 0.32 (q,  $J$  = 5.2 Hz, 2H).

[0142] 4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)-2-(메틸설포닐)피리미딘 (코어 C)의 제조



[0143]

[0144] **단계 1:** 에탄올 (100 mL) 중의 코어 A (6.20 g, 22.35 mmol, 1.00 eq) 및 메틸히드라진 (8.00 g, 69.46 mmol, 3.11 eq) 용액을 90℃에서 16시간 동안 교반하였다. 용매를 진공에서 제거하였다. 잔류물을 pre-HPLC (기본 조건)에 의해 정제하여 황색 고체로서 화합물 5 (1.80 g, 6.84 mmol, 30.6% 수율) 및 황색 오일로서 이성질체 5A (2.00 g, 7.30 mmol, 32.6% 수율)를 수득하였다.

[0145] 화합물 5:

[0146] LCMS: RT = 2.551 min,  $m/z$  261.1  $[M+H]^+$

[0147]  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , 400 MHz)  $\delta$  8.38 (d,  $J$  = 5.2 Hz, 1H), 7.90 (s, 1H), 7.11 (d,  $J$  = 5.2 Hz, 1H), 3.93 (s, 3H), 3.24 (d,  $J$  = 6.4 Hz, 2H), 2.62 (s, 3H), 1.12 - 1.09 (m, 1H), 0.54 - 0.49 (m, 2H), 0.32-0.28 (m, 2H).

[0148] 레지오이성질체(regioisomer) 5A:

[0149] LCMS: RT = 2.486 min,  $m/z$  261.1  $[M+H]^+$

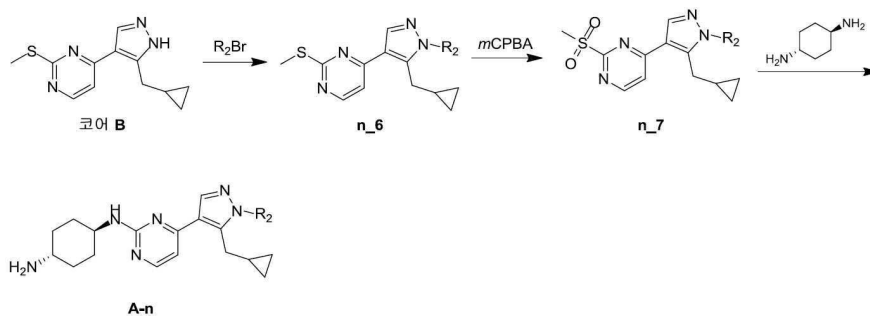
[0150]  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , 400 MHz)  $\delta$  8.41 (d,  $J$  = 5.2 Hz, 1H), 7.90 (s, 1H), 7.04 (d,  $J$  = 5.2 Hz, 1H), 3.92 (s, 3H), 2.96 (d,  $J$  = 6.4 Hz, 2H), 2.61 (s, 3H), 1.20 - 1.17 (m, 1H), 0.50 - 0.45 (m, 2H), 0.26 - 0.22 (m, 2H).

[0151] **단계 2:** DCM (20 mL) 중의 화합물 1 (1.50 g, 5.76 mmol, 1.00 eq) 용액에 0℃의 *m*-CPBA (2.98 g, 17.28 mmol, 3.00 eq)를 첨가하고, 30℃에서 2시간 동안 교반하였다. 상기 결과적으로 얻은 혼합물을 NaHSO<sub>3</sub> (2 x 100 mL), 포화 aq. NaHCO<sub>3</sub> (100 mL) 및 염수로 세척하였으며, 무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과 및 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 상의 칼럼 크로마토그래피 (석유 에테르: 에틸 아세테이트 = 10:1 내지 1:1)에 의해 정제하여 화합물 코어 C (1.50 g, 5.08 mmol, 88.2% 수율)를 황색 고체로서 수득하였다.

[0152] LCMS: RT = 1.891 min,  $m/z$  293.0  $[M+H]^+$

[0153]  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , 400 MHz)  $\delta$  8.74 (d,  $J$  = 5.6 Hz, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.58 (d,  $J$  = 5.6 Hz, 1H), 3.94 (s, 3H), 3.37 (s, 3H), 3.25 (d,  $J$  = 6.8 Hz, 2H), 1.14 - 1.11 (m, 1H), 0.52 - 0.49 (m, 2H), 0.37 - 0.35 (m, 2H).

[0154] A-n의 제조를 위한 일반 절차:



[0155]

[0156] **방법 A: 화합물 n\_6의 제조**

[0157] DMF (50 mL) 중의 **코어 B** (25 mmol, 1.00 eq) 용액을 0℃로 냉각하고, NaH (1.50 eq)를 첨가하였다. 0℃에서 1 시간 동안 교반한 후에, RBr (1.60 eq)을 첨가하였으며, 상기 반응 혼합물을 20℃에서 15시간 동안 교반하였다. 물 (10.00 mL)을 첨가하고 에틸 아세테이트 (3\*10 mL)로 추출하였다. 조합된 유기층을 물 (10 mL) 및 염수 (10 mL)로 세척하였으며, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과 및 농축시켜 조생성물(crude product)을 제공하였으며, 이를 정제하여 화합물 **n\_6**를 수득하였다.

[0158] **방법 B: 화합물 n\_7의 제조**

[0159] 디클로로메탄 (30 mL) 중의 화합물 **n\_6** (10 mmol, 1.00 eq) 용액에 0℃의 *m*-CPBA (3.00 eq)를 첨가하였으며, 상기 반응 혼합물을 20-30℃에서 5시간 동안 교반하였다. 결과적으로 얻은 혼합물을 NaHSO<sub>3</sub> (2 x 50.00 mL), 포화 aq. NaHCO<sub>3</sub> (50 mL) 및 염수 (10 mL)로 세척하였으며, 무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 건조 및 농축시켜 화합물 **n\_7**를 수득하였다.

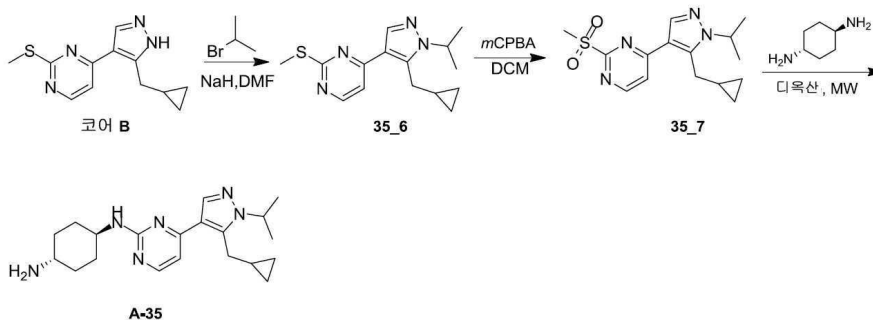
[0160] **방법 C: 화합물 A-n의 제조**

[0161] DMSO (80 mL) 중의 화합물 **n\_7** (10 mmol, 1.0 eq), DIEA (10.00 eq) 및 *트랜스*-4-아미노-시클로헥산을 (1.0~3.0 eq)의 혼합물을 160℃에서 3시간 동안 가열하였다. 상기 반응 혼합물을 주위 온도까지 냉각시키고 물 (100 mL)에 부은 다음, 디클로로메탄 (3x50 mL)으로 추출하였다. 조합된 층을 염수로 세척하였으며, 무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과 및 농축시켰다. 잔류물을 pre-HPLC (기본 조건)에 의해 정제하여 화합물 **A-n**을 수득하였다.

[0162] **방법 D: 화합물 A-n의 제조**

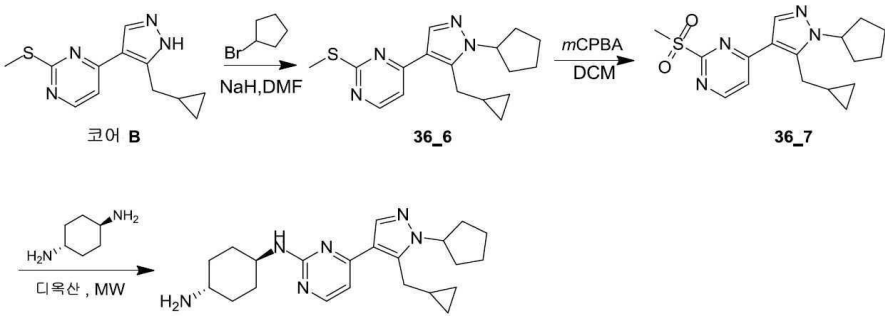
[0163] 디옥산 (40 mL) 중의 화합물 **n\_7** (10 mmol, 1.00 eq) 및 *트랜스*-시클로헥산-1,4-디아민 (2.0~4.0 eq) 용액을 마이크로웨이브와 함께 130℃에서 2시간 동안 교반하였다. 상기 혼합물을 여과하였으며, 여과물을 pre-HPLC (기본 조건)에 의해 정제하여 **A-n**을 수득하였다.

[0164] (1*r*, 4*r*)-N<sup>1</sup>-(4-(5-(시클로프로필메틸)-1-이소프로필-1*H*-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)시클로헥산-1,4-디아민 (A-35)의 제조



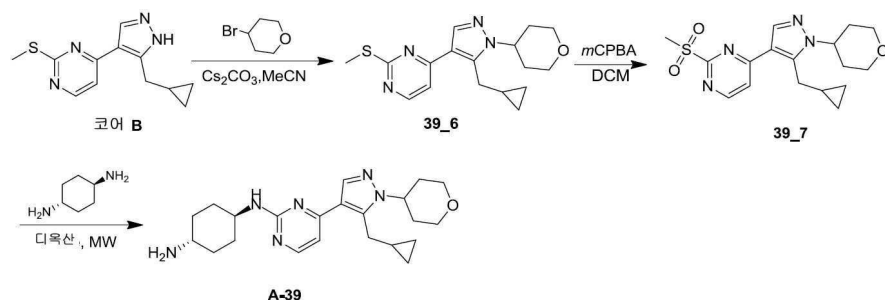
[0165]

[0166] **단계 1:** 화합물 **35\_6**을 **방법 A**에 개시된 절차에 따라 합성하고, HPLC (TFA 조건) 정제 후에 황색 고체로서 얻었다. 수율: 17.1%;

- [0167] LCMS: RT = 1.959 min,  $m/z$  289.1  $[M+H]^+$
- [0168]  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , 400 MHz)  $\delta$  8.49-8.47 (d,  $J$  = 2.8 Hz, 1H), 8.06 (s, 1H), 7.21-7.20 (d,  $J$  = 5.6 Hz, 1H), 4.63-4.60 (t,  $J$  = 6.6 Hz, 1H), 3.26-3.24 (d,  $J$  = 6.4 Hz, 2H), 2.65 (s, 3H), 1.56 (s, 3H), 1.55 (s, 3H), 1.07-1.04 (m, 1H), 0.54-0.51 (m, 2H), 0.30-0.28 (m, 2H).
- [0169] **단계 2:** 화합물 **35\_7**을 **방법 B**에 개시된 절차에 따라 합성하고, TLC를 통한 정제 후에 황색 고체로서 얻었다. 수율: 57.8%;
- [0170] LCMS: RT = 0.711 min,  $m/z$  321.1  $[M+H]^+$
- [0171] **단계 3:** 화합물 **A-35**를 **방법 D**에 개시된 절차에 따라 *트랜스*-시클로헥산-1, 4-디아민 (4.0 eq)을 이용하여 합성하고, 백색 고체로서 얻었다. 수율: 19.7%
- [0172] LCMS: RT = 1.223 min,  $m/z$  355.3  $[M+H]^+$
- [0173]  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , 400 MHz)  $\delta$  8.17-8.16 (d,  $J$  = 5.2 Hz, 1H), 7.89 (s, 1H), 6.72-6.71 (d,  $J$  = 5.2 Hz, 1H), 4.85-4.83 (d,  $J$  = 8.8 Hz, 1H), 4.60-4.53 (m, 1H), 3.23-3.22 (d,  $J$  = 6.4 Hz, 2H), 2.20-2.18 (d,  $J$  = 10 Hz, 2H), 2.02-1.99 (m, 2 H), 1.54 (s, 3H), 1.52 (s, 3H), 1.40-1.27 (m, 4H), 1.08-1.06 (m, 1H), 0.52-0.48 (m, 2H), 0.28-0.26 (m, 2H).
- [0174] (1*R*, 4*R*)-*N*<sup>1</sup>-(4-(1-시클로펜틸-5-(시클로프로필메틸)-1*H*-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)시클로헥산-1,4-디아민 (A-36)의 제조
- 
- [0175] **A-36**
- [0176] **단계 1:** 화합물 **36\_6**을 **방법 A**에 개시된 절차에 따라 합성하고, prep\_HPLC (TFA 조건)에 의한 정제 후에 황색 오일로서 얻었다. 수율: 14.7%;
- [0177] LCMS: RT = 2.228 min,  $m/z$  315.2  $[M+H]^+$
- [0178]  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , 400 MHz)  $\delta$  8.31-8.30 (d,  $J$  = 5.6 Hz, 1H), 7.84 (s, 1H), 7.03-7.01 (d,  $J$  = 5.2 Hz, 1H), 4.67-4.63 (m, 1H), 3.20-3.18 (d,  $J$  = 6.4 Hz, 2H), 2.52 (s, 3H), 2.05-2.02 (m, 7H), 1.65-1.62 (m, 2H), 0.98 (m, 1H), 0.43-0.39 (m, 2H), 0.23-0.20 (m, 2H).
- [0179] **단계 2:** 화합물 **36\_7**을 **방법 B**에 개시된 절차에 따라 제조하고, 칼럼 크로마토그래피를 통한 정제 후에 황색 고체로서 얻었다. 수율: 66.6%
- [0180] LCMS: RT = 0.707 min,  $m/z$  347.2  $[M+H]^+$
- [0181] **단계 3:** 화합물 **A-36**을 **방법 D**에 개시된 절차에 따라 *트랜스*-시클로헥산-1, 4-디아민 (2.0 eq)을 이용하여 제조하고, prep\_HPLC (TFA 조건)에 의한 정제 후에 백색 고체로서 얻었다. 수율: 41.35%
- [0182] LCMS: RT = 0.591 min,  $m/z$  381.4  $[M+H]^+$
- [0183]  $^1H$  NMR ( $CD_3OD$ , 400 MHz)  $\delta$  8.26 (s, 1H), 8.08-8.06 (d,  $J$  = 6.4 Hz, 1H), 7.27-7.25 (d,  $J$  = 6.8 Hz, 1H),

4.15 (s, 1H), 3.33 (s, 3H), 3.20 (s, 1H), 2.25-1.99 (m, 11H), 1.75 (m, 2H), 1.64-1.58 (m, 4H), 1.16 (m, 1H), 0.57-0.55 (m, 2H), 0.36-0.35 (m, 1H).

[0184] (1R, 4R)-N<sup>1</sup>-(4-(5-(시클로프로필메틸)-1-(테트라히드로-2H-피란-4-일)-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)시클로헥산-1,4-디아민 (A-39)의 제조



[0185]

[0186] **단계 1:** MeCN (14 mL) 중의 코어 B (700.00 mg, 2.84 mmol, 1.00 eq) 용액에 0℃의 CS<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1.85 g, 5.68 mmol, 2.00 eq)를 첨가하였다. 30분 후에, 4-브로모테트라히드로피란 (703.03 mg, 4.26 mmol, 1.50 eq)을 첨가하였다. 상기 혼합물을 밀봉된 튜브에서 100℃로 16시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하였으며, 여과물을 농축시켰다. 조생성물을 prep-HPLC (TFA)에 의해 정제하여 황색 고체로서 화합물 39\_6 (45.0 mg, 136.18 μmol, 4.8% 수율)을 얻었다.

[0187] LCMS: RT = 0.702 min, *m/z* 331.1 [M+H]<sup>+</sup>

[0188] <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 8.42-8.40 (d, *J* = 5.6 Hz, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.11-7.10 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 4.37-4.33 (m, 1H), 4.19-4.15 (m, 1H), 3.59-3.54 (m, 2H), 3.28-3.26 (d, *J* = 6.4 Hz, 2H), 2.6 (s, 3H), 2.44-2.40 (m, 2H), 1.87-1.84 (m, 2H), 1.05-1.02 (m, 1H), 0.55-0.50 (m, 2H), 0.33-0.30 (m, 2H).

[0189] **단계 2:** 화합물 39\_7을 방법 B에 개시된 절차에 따라 제조하고, prep TLC 정제 후에 황색 고체로서 얻었다. 수율: 72.6%

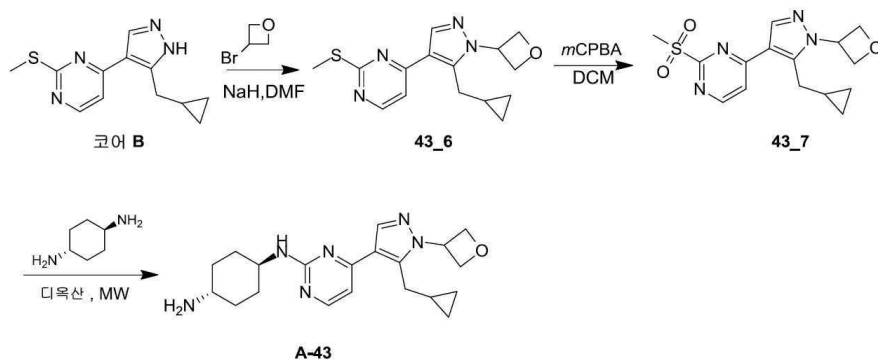
[0190] LCMS: RT = 0.607 min, *m/z* 363.1 [M+H]<sup>+</sup>

[0191] **단계 3:** 화합물 A-39를 방법 C에 개시된 절차에 따라 트랜스-시클로헥산-1, 4-디아민 (3.0 eq)을 이용하여 DIEA 없이 제조하고, prep-HPLC (기본 조건)를 통한 정제 후에 황색 고체로서 얻었다. 수율: 40.2%

[0192] LCMS: RT = 1.104 min, *m/z* 397.4 [M+H]<sup>+</sup>

[0193] <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 8.17-8.16 (d, *J* = 4.4 Hz, 1H), 7.89 (s, 1H), 6.72-6.70 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 5.12-5.07 (m, 1H), 4.37-4.34 (m, 1H), 4.18-4.15 (m, 2H), 3.84 (s, 1H), 3.59-3.53 (m, 2H), 3.26-3.25 (d, *J* = 6.4 Hz, 2H), 2.77 (s, 1H), 2.44-2.40 (m, 2H), 2.16 (s, 2H), 1.93 (s, 2H), 1.87-1.83 (m, 2H), 1.32-1.27 (m, 4H), 1.05 (s, 1H), 0.54-0.49 (m, 2H), 0.29-0.27 (m, 2H).

[0194] (1R, 4R)-N<sup>1</sup>-(4-(5-(시클로프로필메틸)-1-(옥세탄-3-일)-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)시클로헥산-1,4-디아민 (A-43)의 제조



[0195]

[0196] 단계 1: 화합물 43\_6을 방법 A에 개시된 절차에 따라 합성하고, prep-HPLC (TFA 조건)에 의한 정제 후에 황색 고체로서 얻었다. 수율: 17.9%

[0197] LCMS: RT = 0.664 min,  $m/z$  303.1  $[M+H]^+$

[0198]  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , 400 MHz)  $\delta$  8.44-8.42 (d,  $J$  = 5.2 Hz, 1H), 8.04 (s, 1H), 7.13-7.12 (d,  $J$  = 5.6 Hz, 1H), 5.89-5.34 (m, 1H), 5.28-5.25 (t,  $J$  = 6.6 Hz, 2H), 5.03-5.00 (t,  $J$  = 7.0 Hz, 2H), 3.21-3.20 (d,  $J$  = 6.4 Hz, 2H), 2.6 (s, 3H), 0.97-0.94 (m, 1H), 0.51-0.46 (m, 2H), 0.25-0.22 (m, 2H).

[0199] 단계 2: 화합물 43\_7을 방법 B에 개시된 절차에 따라 합성하고, prep TLC 정제 후에 황색 고체로서 얻었다. 수율: 79.6%

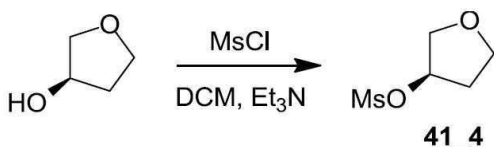
[0200] LCMS: RT = 0.566 min,  $m/z$  335.1  $[M+H]^+$

[0201] 단계 3: 화합물 A-43을 방법 D에 개시된 절차에 따라 트랜스-시클로헥산-1, 4-디아민 (3.0 eq)을 이용하여 합성하고, prep-HPLC (TFA 조건)에 의한 정제 후에 백색 검으로서 얻었다. 수율: 24.7%;

[0202] LCMS: RT = 0.987 min,  $m/z$  369.3  $[M+H]^+$

[0203]  $^1H$  NMR ( $CD_3OD$ , 400 MHz)  $\delta$  8.40 (s, 1H), 8.13-8.11 (d,  $J$  = 6.8 Hz, 1H), 7.31-7.29 (d,  $J$  = 7.2 Hz, 1H), 5.83-5.80 (t,  $J$  = 7.0 Hz, 1H), 5.15-5.12 (t,  $J$  = 6.2 Hz, 2H), 5.06-5.03 (t,  $J$  = 7.0 Hz, 2H), 4.12 (s, 1H), 3.28-3.26 (d,  $J$  = 6.4 Hz, 2H), 3.19 (s, 1H), 2.23-2.17 (m, 4H), 1.62-1.60 (m, 4H), 1.06 (s, 1H), 0.53-0.52 (m, 2H), 0.28-0.27 (m, 2H).

[0204] (R)-테트라히드로푸란-3-일 메탄설포네이트 (41\_4)의 제조



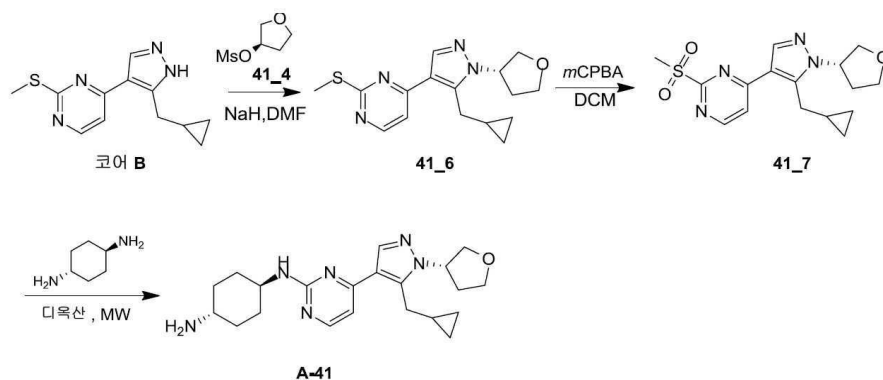
[0205]

[0206] DCM (5 mL) 중의 (R)-테트라히드로푸란-3-올 (500.00 mg, 5.68 mmol, 1.00 eq) 용액에 0°C의 TEA (1.15 g, 11.36 mmol, 2.00 eq) 및 메탄설포닐 클로라이드 (650.11 mg, 5.68 mmol, 1.00 eq)를 첨가하였다. 상기 혼합물을 20°C에서 1시간 동안 교반하였다. 상기 혼합물을 물 (20 mL)로 희석하고 DCM (10 mL\*2)으로 추출하였다. 조합된 유기층을 농축시켜 무색 액체로서 41\_4 (900.00 mg, 5.42 mmol, 95.3% 수율)를 얻었다.

[0207]  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , 400 MHz)  $\delta$  5.33-5.30 (m, 1H), 4.06-3.90 (m, 4H), 3.05 (s, 3H), 2.28-2.23 (m, 2H).

[0208] (1R, 4S)-N<sup>1</sup>-(4-(5-(시클로프로필메틸)-1-((S)-테트라히드로푸란-3-일)-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)시클로헥산-1,4-디아민 (A-41)의 제조





[0209]

[0210]

**단계 1:** 화합물 41\_6을 방법 A에 개시된 절차에 따라 합성하고, prep-HPLC (TFA 조건)에 의한 정제 후에 황색 고체로서 얻었다. 수율: 13.1%

[0211]

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  8.42-8.40 (d,  $J$  = 4.4 Hz, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.11-7.10 (d,  $J$  = 7.2 Hz, 1H), 5.04-5.00 (m, 1H), 4.27-4.03 (m, 4H), 3.29-3.27 (d,  $J$  = 8.4 Hz, 2H), 2.6 (s, 3H), 2.48-2.42 (m, 2H), 1.07-1.02 (m, 1H), 0.53-0.49 (m, 1H), 0.30-0.28 (m, 2H).

[0212]

**단계 2:** 화합물 41\_7을 방법 B에 개시된 절차에 따라 합성하고, prep TLC 정제 후에 황색 고체로서 얻었다. 수율: 57.5%

[0213]

LCMS: RT = 0.585 min,  $m/z$  349.2  $[\text{M}+\text{H}]^+$

[0214]

**단계 3:** 화합물 A-41을 방법 D에 개시된 절차에 따라 트랜스-시클로헥산-1, 4-디아민 (4.0 eq)을 이용하여 합성하고, prep HPLC (TFA 조건)에 의한 정제 후에 백색의 끈끈한(gummy) 고체로서 얻었다. 수율: 17.2%

[0215]

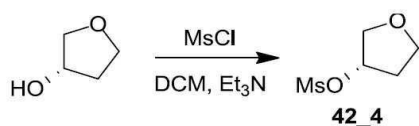
LCMS: RT = 0.969 min,  $m/z$  383.3  $[\text{M}+\text{H}]^+$

[0216]

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz)  $\delta$  8.26 (s, 1H), 8.10-8.09 (d,  $J$  = 6.8 Hz, 1H), 7.25-7.23 (d,  $J$  = 6.8 Hz, 1H), 5.28-5.23 (m, 1H), 4.22-4.12 (m, 3H), 3.99-3.95 (m, 2H), 3.35-3.33 (d,  $J$  = 6.8 Hz, 2H), 3.19 (s, 1H), 2.47-2.44 (m, 2H), 2.35-2.17 (m, 4H), 1.62-1.57 (m, 4H), 1.14 (s, 1H), 0.58-0.56 (m, 2H), 0.36 (m, 2H).

[0217]

(S)-테트라하이드로푸란-3-일 메탄설포네이트 (42\_4)의 제조



[0218]

[0219]

(S)-테트라하이드로푸란-3-올로부터 41\_4와 동일한 방식으로 화합물 42\_4를 제조하였으며, 그것은 무색 액체였다. 수율: 90.0%

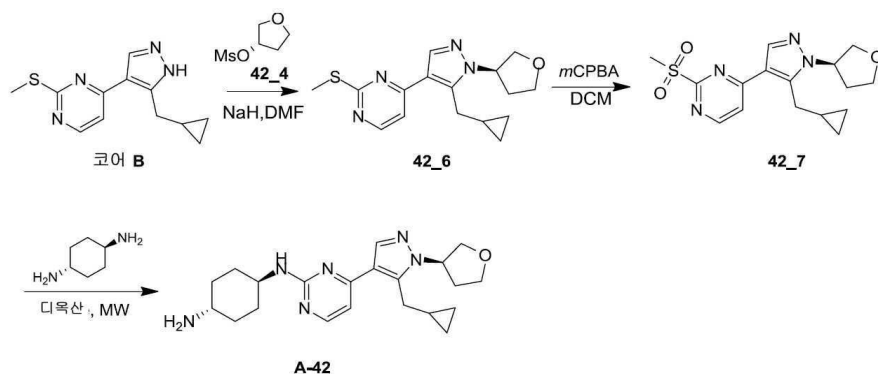
[0220]

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  5.33-5.30 (m, 1H), 4.04-3.86 (m, 4H), 3.05 (s, 3H), 2.27-2.22 (m, 2H).

[0221]

(1R, 4R)-N-(4-(5-(시클로프로필메틸)-1-((R)-테트라하이드로푸란-3-일)-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)시클로헥산-1,4-디아민 (A-42)의 제조





[0222]

[0223]

**단계 1:** 화합물 42\_6을 방법 A에 개시된 절차에 따라 합성하고 prep HPLC (TFA 조건)에 의한 정제 후에 황색 고체로서 얻었다. 수율: 21.4%

[0224]

LCMS: RT = 0.692 min,  $m/z$  317.1 [M+H]<sup>+</sup>

[0225]

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$  8.42-8.40 (d,  $J$  = 4.4 Hz, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.12-7.10 (d,  $J$  = 7.2 Hz, 1H), 5.04-5.00 (m, 1H), 4.27-4.03 (m, 4H), 3.29-3.27 (d,  $J$  = 8.4 Hz, 2H), 2.6 (s, 3H), 2.47-2.42 (m, 2H), 1.06-1.03 (m, 1H), 0.55-0.50 (m, 1H), 0.31-0.29 (m, 2H).

[0226]

**단계 2:** 화합물 42\_7을 방법 B에 개시된 절차에 따라 합성하고 prep TLC 정제 후에 황색 고체로서 얻었다. 수율: 83.2%

[0227]

LCMS: RT = 0.587 min,  $m/z$  349.1 [M+H]<sup>+</sup>

[0228]

**단계 3:** 화합물 A-42를 방법 D에 개시된 절차에 따라 합성하고 prep HPLC (TFA 조건)에 의한 정제 후에 백색의 끈끈한 고체로서 얻었다. 수율: 51.5%

[0229]

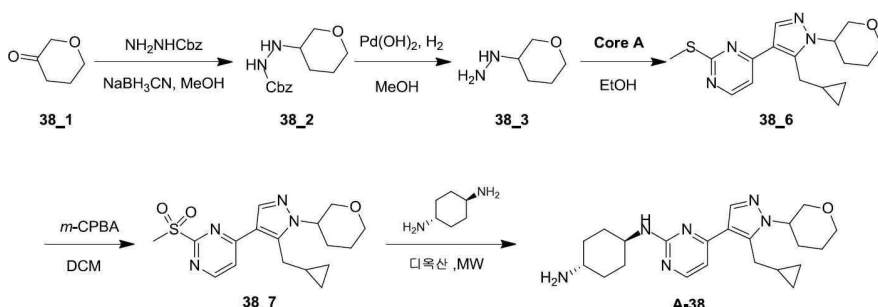
LCMS: RT = 1.078 min,  $m/z$  383.3 [M+H]<sup>+</sup>

[0230]

<sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz)  $\delta$  8.26 (s, 1H), 8.10-8.08 (d,  $J$  = 6.8 Hz, 1H), 7.28-7.26 (d,  $J$  = 6.8 Hz, 1H), 5.27-5.24 (m, 1H), 4.22-4.13 (m, 3H), 3.99-3.96 (m, 2H), 3.35-3.31 (t,  $J$  = 6.8 Hz, 2H), 3.19 (s, 1H), 2.46-2.44 (m, 2H), 2.36-2.17 (m, 4H), 1.63-1.58 (m, 4H), 1.15 (s, 1H), 0.58-0.56 (m, 2H), 0.36 (m, 2H).

[0231]

(1R, 4R)-N<sup>1</sup>-(4-(5-(시클로프로필메틸)-1-(테트라히드로-2H-피란-3-일)-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)시클로헥산-1,4-디아민 (A-38)의 제조



[0232]

[0233]

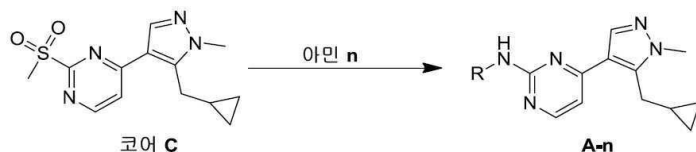
**단계 1:** MeOH (15 mL) 중의 38\_1 (1.20 g, 11.99 mmol, 1.40 eq) 및 벤질 N-아미노카바메이트 (1.42 g, 8.56 mmol, 1.00 eq)의 혼합물을 30℃에서 2시간 동안 교반하였다. NaBH<sub>3</sub>CN (2.69 g, 42.82 mmol, 5.00 eq)을 첨가 하였다. 결과적으로 얻은 혼합물을 30℃에서 16시간 동안 교반하였다. 혼합물을 농축하고 물 (50 mL)과 EA (50 mL)로 희석하였다. 유기층을 농축시키고 칼럼 크로마토그래피 (PE:EA=10:1~2:1)에 의해 정제하여 무색 오일로서 38\_2 (1.50 g, 5.99 mmol, 70% 수율)를 수득하였다.

- [0234] LCMS: RT = 0.568 min,  $m/z$  273.2  $[M+H]^+$
- [0235]  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  7.40–7.35 (m, 5H), 6.25 (s, 1H), 5.26–5.14 (m, 2H), 3.86–3.73 (m, 3H), 3.48–3.30 (m, 2H), 1.91–1.85 (m, 2H), 1.59–1.46(m, 2H).
- [0236] **단계 2:** MeOH (15 mL) 중의 **38\_2** (1.60 g, 6.39 mmol, 1.00 eq) 용액에  $\text{Pd}(\text{OH})_2$  (179.54 mg, 1.28 mmol, 0.20 eq)를 첨가하였다. 혼합물을  $\text{H}_2$  (15psi) 하의 20℃에서 16시간 동안 교반하였다. 혼합물을 여과하였으며, 여과물을 농축하여 정제 없이 다음 단계에 즉시 사용되는 무색 오일로서 **38\_3** (450 mg, 조(crude))을 수득하였다.
- [0237] **단계 3:** **코어 B**의 합성에 대해 개시된 바와 동일한 절차에 따라 **코어 A** 및 화합물 **38\_4**로부터 화합물 **38\_6**을 제조하고, prep-HPLC (TFA 조건)에 의한 정제 후에 황색 오일로서 얻었다. 수율: 40.3%
- [0238] LCMS: RT = 0.851 min,  $m/z$  331.1  $[M+H]^+$
- [0239]  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  8.41–8.40 (d,  $J$  = 5.2 Hz, 1H), 7.92 (s, 1H), 7.10–7.09 (d,  $J$  = 5.2 Hz, 1H), 4.34–4.33 (m, 1H), 4.03–4.00 (m, 2H), 3.87–3.81 (t,  $J$  = 10.8 Hz, 1H), 3.51–3.50 (m, 1H), 3.29–3.19 (m, 2H), 2.60 (s, 3H), 2.35 (m, 1H), 2.13 (m, 1H), 1.89–1.85 (m, 2H), 1.06–1.03 (m, 1H), 0.53–0.51 (m, 2H), 0.31 (m, 2H).
- [0240] **단계 4:** 화합물 **38\_7**을 **방법 B**에 개시된 절차에 따라 합성하고, prep TLC 정제 후에 황색 고체로서 얻었다. 수율: 56.1%

- [0241] LCMS: RT = 0.739 min,  $m/z$  363.1  $[M+H]^+$
- [0242] **단계 5:** 화합물 **A-38**을 **방법 D**에 개시된 절차에 따라 *트랜스*-시클로헥산-1, 4-디아민 (4.0 eq)을 이용하여 합성하고, prep HPLC (기본 조건)에 의한 정제 후에 황색 고체로서 얻었다. 수율: 40%

- [0243] LCMS: RT = 1.154 min,  $m/z$  397.3  $[M+H]^+$
- [0244]  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  8.18–8.17 (d,  $J$  = 5.2 Hz, 1H), 7.86 (s, 1H), 6.70–6.69 (d,  $J$  = 5.2 Hz, 1H), 4.88–4.86 (m, 1H), 4.32–4.29 (m, 1H), 4.02–4.00 (t,  $J$  = 5.6 Hz, 2H), 3.86–3.81 (m, 2H), 3.51–3.49 (t,  $J$  = 3.00 Hz, 1H), 3.27–3.19 (m, 2H), 2.81 (s, 1H), 2.34–2.31 (m, 1H), 2.19–2.16 (m, 3H), 2.00–1.97 (m, 4H), 1.38–1.27 (m, 4H), 1.06 (s, 1H), 0.52–0.50 (m, 2H), 0.28 (m, 2H)

- [0245] A-n의 합성을 위한 일반 절차

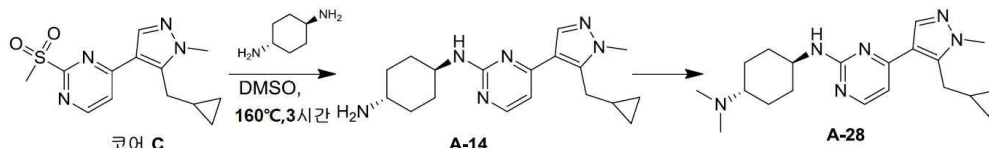


- [0246]
- [0247] **방법 E**
- [0248] DMSO (8 mL) 중의 **코어 C** (1.00 eq) 및 **아민 n** (4.00 eq)의 반응 혼합물을 160℃에서 3시간 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 rt(실온)까지 냉각하고 얼음- $\text{H}_2\text{O}$  (20 mL)에 부었다. 수성층을 EA (50 mL\*3)로 추출하였다. 조합된 유기층을 염수 (50 mL\*3)로 세척하였으며,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조하고 여과 및 농축시켰다. 잔류물을 칼럼 크로마토그래피에 의해 정제하여 **A-n**을 수득하였다.
- [0249] **방법 F**
- [0250] DMSO (10 mL) 중의 **코어 C** (1.00 eq), TBAF (2.00 eq),  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (4.00 eq) 및 **아민 n** (4.00 eq)의 반응 혼합물을 160℃에서 3시간 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 15℃까지 냉각하고  $\text{H}_2\text{O}$  (20 mL)에 부었다. 수성층을 EA (20 mL\*3)로 추출하였다. 조합된 유기층을 염수 (20 mL\*3)로 세척하였으며,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조하고 여과 및 농축시켰다. 잔류물을 pre-HPLC (HCl 조건)에 의해 정제하여 **A-n**을 수득하였다.

[0251] **방법 G**

[0252] 디옥산 (3 mL) 중의 **아민 n** (1.20 eq) 및 **코어 C** (1.00 eq)의 반응 혼합물을 마이크로웨이브 하의 130℃에서 1.5시간 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 H<sub>2</sub>O (20 mL)에 부었다. 수성층을 EA (20 mL\*3)로 추출하였다. 조합된 유기층을 염수 (20 mL\*3)로 세척하였으며, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조하고 여과 및 농축시켰다. 잔류물을 Pre-HPLC (기본 조건)에 의해 정제하여 **A-n**을 수득하였다.

[0253] (1R, 4R)-N<sup>1</sup>-(4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)시클로헥산-1,4-디아민 (A-14) 및 (1r, 4r)-N<sup>1</sup>-(4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)-N4,N4-디메틸시클로헥산-1,4-디아민 (A-28)의 제조



[0254]

[0255] **단계 1:** 화합물 **A-14**를 **방법 G**에 개시된 절차에 따라 제조하고 황색 고체로서 얻었다. 수율: 38.4%

[0256] LCMS: RT = 2.043 min,  $m/z$  327.2 [M+H]<sup>+</sup>.

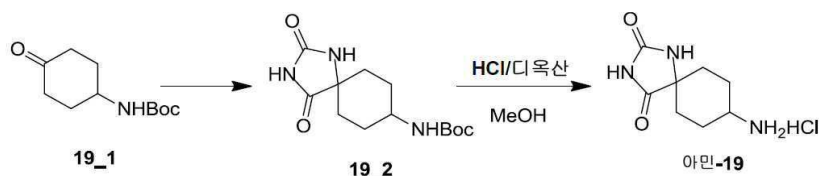
[0257] <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$  8.17 (d,  $J$  = 5.3 Hz, 1H), 7.83 (s, 1H), 6.70 (d,  $J$  = 5.3 Hz, 1H), 4.91 (s, 1H), 3.93 - 3.85 (m, 4H), 3.21 (d,  $J$  = 6.3 Hz, 2H), 2.74 (s, 1H), 2.16 (d,  $J$  = 4.0 Hz, 2H), 1.94 (d,  $J$  = 6.7 Hz, 2H), 1.30 - 1.25 (m, 4H), 1.11 - 1.10 (m, 1H), 0.50 - 0.46 (m, 1H), 0.27 - 0.24 (m, 1H)

[0258] **단계 2:** EtOH (500  $\mu$ L) 중의 **A-14** (18.52 mg, 122.53  $\mu$ mol, 1.00 eq)의 혼합물에 2,3-디히드로벤조트리아졸-1-일메탄올 (18.52 mg, 122.53  $\mu$ mol, 1.00 eq)을 한번에 0℃에서 첨가하였다. 상기 혼합물을 15℃에서 1시간 동안 교반하고 NaBH<sub>4</sub> (9.27 mg, 245.06  $\mu$ mol, 2.00 eq)를 첨가하였다. 결과적으로 얻은 혼합물을 15℃에서 1시간 동안 교반하고 H<sub>2</sub>O (10 mL)에 부었다. 수성층을 DCM (20 mL\*3)으로 추출하였다. 조합된 유기층을 염수로 세척하였으며, NaSO<sub>4</sub> 상에서 건조하고 농축시켰다. 잔류물을 prep HPLC (기본 조건)에 의해 정제하여 백색 고체로서 **A-28** (5.00 mg, 14.10  $\mu$ mol, 11.5% 수율, 100% 순도)을 수득하였다.

[0259] LCMS: RT = 2.535 min,  $m/z$  355.2 [M+H]<sup>+</sup>

[0260] <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$  8.10 (d,  $J$  = 5.2 Hz, 1H), 7.76 (s, 1H), 6.63 (d,  $J$  = 5.2 Hz, 1H), 4.78 (d,  $J$  = 3.6 Hz, 1H), 3.81 (s, 3H), 3.77 - 3.71 (m, 1H), 3.13 (d,  $J$  = 6.4 Hz, 2H), 2.27 (s, 6H), 2.17 (d,  $J$  = 12.4 Hz, 2H), 1.93 (d,  $J$  = 11.6 Hz, 2H), 1.36-1.31 (m, 2H), 1.23 - 1.17 (m, 2H), 1.04-1.02 (m, 1H), 0.44 - 0.39 (m, 2H), 0.20-0.18 (m, 2H).

[0261] 8-아미노-1,3-디아자스피로[4.5]데칸-2,4-디온 히드로클로라이드 (아민-19)의 제조



[0262]

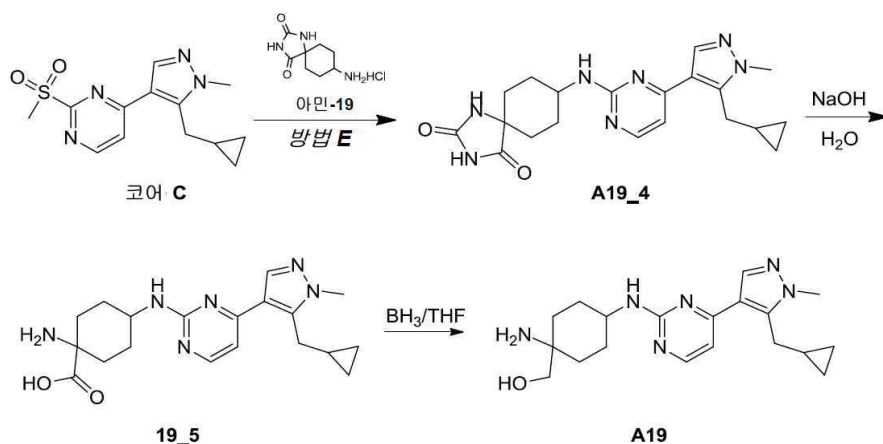
[0263] **단계 1:** H<sub>2</sub>O (10 mL) 중의 NaCN (2.75 g, 56.02 mmol, 2.39 eq) 용액을 EtOH (25 mL)와 H<sub>2</sub>O (25 mL) 중의 화합물 **19\_1** (5.00 g, 23.44 mmol, 1.00 eq) 및 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (4.96 g, 51.57 mmol, 2.20 eq)의 혼합물에 첨가하였다. 상기 반응 혼합물을 10℃에서 16시간 동안 및 이어서 70℃에서 다른 24시간 동안 교반하였다. TLC (PE:EA=3:1)는 반응물(Rf=0.55)이 소모되었으며 주요 스팟(spot)(Rf=0.25)이 형성되었음을 나타내었다. 반응 혼합물을 냉각 및 여과하였다. 필터 케이크(filter cake)를 H<sub>2</sub>O (100 mL)로 세척하고 건조시켰다. 화합물 **19\_2** (4.00 g, 14.12 mmol, 60.2% 수율)를 백색 고체로서 얻었다.

[0264]  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$  10.51 (s, 1H), 8.48 (s, 1H), 6.70-6.72 (d,  $J$  = 8.0 Hz, 1H), 3.16 (s, 1H), 1.79-1.76 (m, 2H), 1.65-1.64 (d,  $J$  = 4.0 Hz, 2H), 1.62-1.52 (m, 2H), 1.60-1.59 (m, 1H), 1.37 (s, 11H).

[0265] **단계 2:** MeOH (10 mL) 중의 화합물 **19\_2** (1.00 g, 3.53 mmol, 1.00 eq)의 혼합물에 0°C의 HCl/디옥산 (4 M, 10 mL, 11.33 eq)을 첨가하였으며, 상기 반응 혼합물을 10°C에서 16시간 동안 교반하였다. LCMS는 반응물의 소모를 나타내었다. 상기 반응 혼합물을 농축시켜 백색 고체로서 **아민-19** (700.00 mg, 3.19 mmol, 90.3% 수율, HCl)를 수득하였다.

[0266]  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$  8.52 (s, 1H), 8.21 (s, 3H), 3.06 (s, 1H), 1.96-1.89 (m, 1H), 1.76-1.59 (m, 6H).

[0267] 8-((4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)아미노)-1,3-디아자스피로[4.5]데칸-2,4-디온 (A19\_4) 및 (1-아미노-4-((4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)아미노)시클로헥실)메탄올 (A-19)의 제조



[0268]

[0269] **단계 1:** 화합물 **A19\_4**를 방법 E에 개시된 절차에 따라 **아민-19** (4 eq) 및 DIEA (4 eq)를 이용하여 제조하였으며, 그것은 prep HPLC (기본 조건)에 의한 정제 후에 백색 고체였다. 수율: 72.2%

[0270] LCMS: RT = 0.573 min,  $m/z$  397.2  $[\text{M}+\text{H}]^+$

[0271]  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz)  $\delta$  8.22 (s, 1H), 8.14-8.09 (m, 1H), 7.24 (d,  $J$  = 5.2 Hz, 1H), 5.19 (d,  $J$  = 6.8 Hz, 1H), 4.21 (s, 1H), 3.94 (s, 3H), 3.30 (d,  $J$  = 6.8 Hz, 2H), 2.20 (d,  $J$  = 6.0 Hz, 2H), 2.09-2.05 (t, 2H), 1.86 (d,  $J$  = 14.8 Hz, 2H), 1.69-1.65 (m, 2H), 1.25-1.21 (m, 1H), 0.60 (d,  $J$  = 7.6 Hz, 2H), 0.39-0.35 (m, 2H),

[0272] **단계 2:** 화합물 **A19\_4** (95.00 mg, 240.23  $\mu\text{mol}$ , 1.00 eq)를 NaOH/H<sub>2</sub>O (3 M, 640.60  $\mu\text{L}$ , 8.00 eq)에 첨가하였으며, 상기 반응 혼합물을 120°C에서 16시간 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 15°C까지 냉각하고 H<sub>2</sub>O (20 mL)에 부었다. 수성층을 2N HCl 용액으로 pH=7까지 조정하였다. 혼합물을 농축시켰다. 조생성물을 MeOH (50 mL\*3)로 분쇄하였다(triturate). 상기 여과물을 농축시켜 백색 고체로서 **19\_5** (300.00 mg, 미정제)를 수득하였다.

[0273] LCMS: RT = 1.148 min,  $m/z$  371.2  $[\text{M}+\text{H}]^+$

[0274]  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz)  $\delta$  8.15 (d,  $J$  = 5.2 Hz, 1H), 7.95-7.93 (m, 1H), 6.89-6.85 (m, 1H), 4.03 (s, 1H), 3.91 (s, 3H), 3.28 (s, 2H), 2.32-2.25 (m, 2H), 2.16-2.13 (d,  $J$  = 9.6 Hz, 2H), 1.99-1.95 (d,  $J$  = 9.6 Hz, 2H), 1.57-1.54 (d,  $J$  = 14Hz, 2H), 1.37 (s, 1H), 0.51-0.48 (m, 2H), 0.31-0.27 (m, 2H),

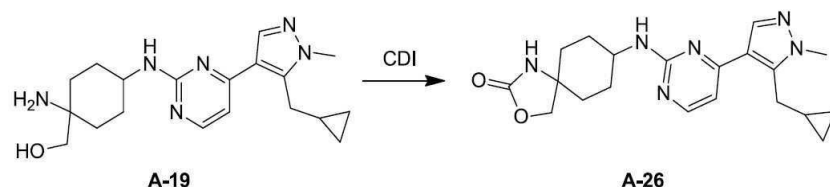
[0275] **단계 3:** THF (500  $\mu\text{L}$ ) 중의 **19\_5** (330.00 mg, 890.81  $\mu\text{mol}$ , 1.00 eq)의 혼합물에 BH<sub>3</sub> (1M, 7.13 mL, 8.00 eq)을 첨가하였으며, 상기 반응 혼합물을 100°C 16시간 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 15°C까지 냉각하고 MeOH (20 mL)에 부었다. 상기 혼합물을 농축시켰다. 조생성물을 Pre-HPLC (기본 조건)에 의해 정제하여 백색

고체로서 **A-19** (23.00 mg, 64.52  $\mu$ mol, 7.2% 수율, 100% 순도)를 수득하였다.

[0276] LCMS: RT =1.060 min,  $m/z$  357.2  $[M+H]^+$

[0277]  $^1H$  NMR ( $CD_3OD$ , 400 MHz)  $\delta$  8.12 (d,  $J$  = 5.6 Hz, 1H), 7.93 (s, 1H), 6.85-6.82 (m, 1H), 3.88-3.80 (m, 4H), 3.28 (s, 2H), 3.39 (s, 2H), 3.27 (d,  $J$  = 6.4 Hz, 2H), 2.03-1.94 (m, 3H), 1.68-1.58 (m, 6H), 1.13 (d,  $J$  = 5.2 Hz, 1H), 0.50-0.47 (m, 2H), 0.30-0.28 (m, 2H).

[0278] 8-((4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)아미노)-3-옥사-1-아자스피로[4.5]데칸-2-온 (A-26)의 제조



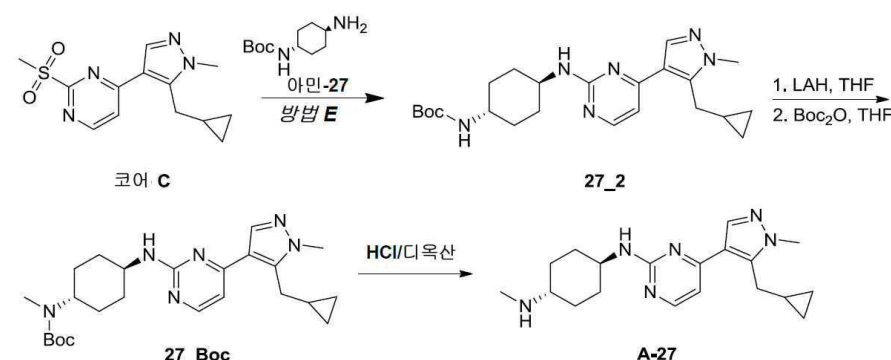
[0279]

[0280] THF (500  $\mu$ L) 중의 **A-19** (20.00 mg, 56.11  $\mu$ mol, 1.00 eq)의 혼합물에 CDI (9.1 mg, 56.11  $\mu$ mol, 1.00 eq)를 첨가하였으며, 상기 반응 혼합물을 25°C에서 16시간 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 농축시켰다. 조 생성물을 prep HPLC (기본 조건)에 의해 정제하여 백색 고체로서 **A-26** (4.00 mg, 10.46  $\mu$ mol, 18.6% 수율, 100% 순도)를 수득하였다.

[0281] LCMS: RT =2.210 min,  $m/z$  383.2  $[M+H]^+$

[0282]  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , 400 MHz)  $\delta$  8.19 (s, 1H), 7.84 (s, 1H), 6.74 (s, 1H), 5.97 (s, 1H), 5.02 (s, 1H), 4.15 (s, 1H), 3.89 (s, 4H), 3.17 (s, 2H), 2.16-2.13 (d,  $J$  = 12.4 Hz, 2H), 1.98-1.95 (d,  $J$  = 13.2 Hz, 2H), 1.72-1.68 (d,  $J$  = 12.8 Hz, 2H), 1.48-1.45 (d,  $J$  = 10.08Hz, 2H), 1.10 (s, 1H), 0.49 (s, 2H), 0.24 (s, 2H).

[0283] (1R, 4R)-N'-((4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)-N4-메틸시클로헥산-1,4-디아민 (A-27)의 제조



[0284]

[0285] **단계 1:** 화합물 **27\_2**를 **방법 E**에 개시된 절차에 따라 **아민-27** (1.0 eq) 및 DIEA (10 eq)를 이용하여 160°C에서 6시간 동안 제조하고, prep HPLC (TFA)에 의한 정제 후에 황색 고체로서 얻었다. 수율: 41.1%

[0286]  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , 400 MHz)  $\delta$  8.18 (d,  $J$  = 5.2 Hz, 1H), 7.83 (s, 1H), 6.71 (d,  $J$  = 5.6 Hz, 1H), 4.87 (s, 1H), 4.41 (s, 1H), 3.89 - 3.82 (m, 4H), 3.49 (s, 1H), 3.19 (d,  $J$  = 6.3 Hz, 2H), 2.19 - 2.05 (m, 4H), 1.46 (s, 9H), 1.35 - 1.29 (m, 7H), 1.26 (m, 2H), 1.23 (m, 2H), 0.50 - 0.46 (m, 2H), 0.26 - 0.24 (m, 2H)

[0287] **단계 2:** THF (4.00 mL) 중의 **27\_2** (100.00 mg, 234.44  $\mu$ mol, 1.00 eq) 용액에 0°C의  $LiAlH_4$  (26.69 mg, 703.32  $\mu$ mol, 3.00 eq)를 첨가하였다. 상기 혼합물을 70°C에서 3시간 동안 교반하였다. 상기 혼합물을 0°C까지 냉각시키고, 이어서 aq. $NH_4Cl$  (3 방울)로 킨칭시켰다. 결과적으로 얻은 용액을  $Na_2SO_4$  상에서 건조시키고 농축시

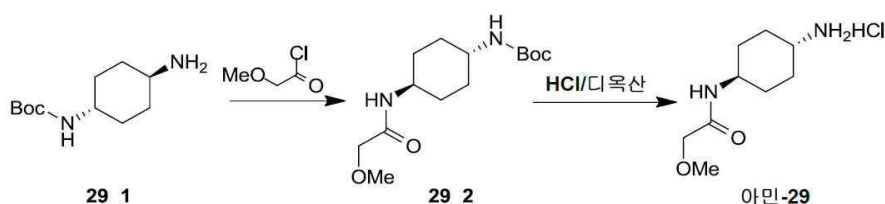
켰다. 잔류물은 prep-HPLC에 의해 정제되지 못하였다. 따라서, **A-27** (70 mg, 미정제)을 Boc 기로 보호한 후 정제할 것이다. THF (1 mL) 중의 **A-27** (미정제) 용액에 (Boc)<sub>2</sub> (200 mg, 2 eq)를 첨가하였다. 20℃에서 1시간 동안 교반한 후에, 반응 혼합물을 prep-TLC (EA)에 의해 정제하여 다음 단계를 위해 즉시 사용되는 **27\_Boc** (30 mg, 29.13% 총 수율)를 얻었다.

[0288] 단계 3: DCM (100  $\mu$ L) 중의 **27\_Boc** (30.00 mg, 68.09  $\mu$ mol, 1.00 eq) 용액에 HCl/디옥산 (4 M, 85  $\mu$ L, 5.00 eq)을 한번에 0°C에서 첨가하였으며, 상기 혼합물을 15°C에서 5시간 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 농축시켜 역상핵 고체로서 **A-27** (12.00 mg, 30.88  $\mu$ mol, 45.35 수율, 97% 순도, HCl)을 얻었다. 수율: 45.4%

[0289] LCMS: RT =2.558 min,  $m/z$  341.2  $[M+H]^+$

[0290] <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400MHz) δ 8.26 (s, 1H), 8.14 (d, *J* = 6.4 Hz, 1H), 7.31 (d, *J* = 6.4Hz, 1H), 4.19 - 4.12 (m, 1H), 3.95 (s, 3H), 3.71 (s, 2H), 3.17 (s, 1H), 2.76 (s, 3H), 2.31-2.20 (m, 4H), 1.65 (m, 4H), 1.21 (s, 1H), 0.51 (s, 2H), 0.37 (d, *J* = 3.2 Hz, 2H).

[0291] *N*-((1*R*, 4*R*)-4-아미노시클로헥실)-2-메톡시아세트아미드 히드로클로라이드 (아민-29)의 제조



[0292]

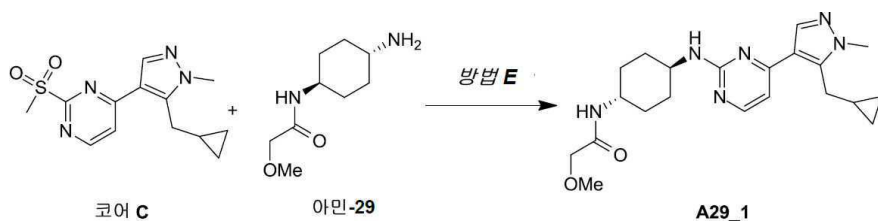
[0293] 단계 1: DCM (5 mL) 중의 **29\_1** (658.25 mg, 3.07 mmol, 1.0 eq) 및 2-메톡시아세틸 클로라이드 (500 mg, 4.61 mmol, 1.5 eq)의 혼합물을 0℃의 DIEA (310.82 mg, 3.07 mmol, 1.00 eq)에 첨가하였다. 그 후에, 상기 반응 혼합물을 15℃에서 2시간 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 진공 하에서 농축시켰다. 잔류물을 칼럼 크로마토 그래피에 의해 정제하여 백색 고체로서 **29\_2** (490.00 mg, 1.71 mmol, 55.7% 수율)를 수득하였다.

[0294] <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 3.80 (s, 1H), 3.74-3.67 (m, 1H), 3.40 (s, 1H), 3.33 (s, 3H), 1.97-1.87 (m, 4H), 1.37 (s, 9H), 1.22-1.12 (m, 3H)

[0295] 단계 2: A27 합성의 단계 3에서 나타난 바와 유사한 방식으로 화합물 29-2를 탈보호시키고(deprotect), 아민-29를 백색 고체로서 얻었다. 수율: 91.9%

[0296] <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400MHz) 4.05 (s, 1H), 3.74 (s, 2H), 3.70 - 3.69 (m, 1H), 3.36 (s, 3H), 3.28-3.27 (m, 1H), 3.09-3.07 (m, 1H), 2.07 - 2.04 (m, 2H), 1.94 - 1.92 (m, 2H), 1.56 - 1.40 (m, 4H)

[0297] N-((1R, 4R)-4-((4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)페리미딘-2-일)아미노)시클로헥실)-2-메톡시  
아세트아미드 (A29-1)의 제조



[0298]

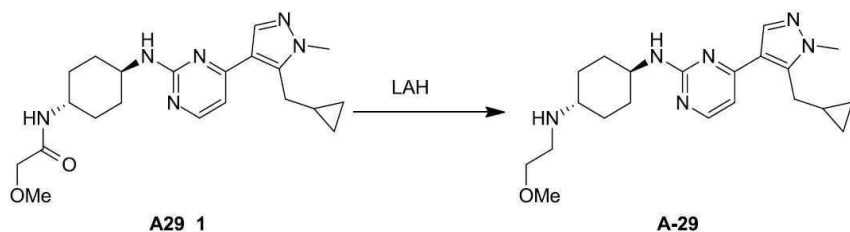
[0299] 화합물 A29\_1을 방법 E에 개시된 절차에 따라 아민-29 (1.0 eq) 및 DIEA (4 eq)를 이용하여 제조하고, prep HPLC (기본 조건)에 의한 정제 후에 연황색 고체로서 얻었다. 수율: 27.4%

[0300] LCMS: RT = 2.535 min,  $m/z$  355.2  $[M+H]^+$

[0301] <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$  8.20 (d,  $J$  = 5.2 Hz, 1H), 7.85 (s, 1H), 6.73 (d,  $J$  = 5.2 Hz, 1H), 6.40 (d,  $J$  = 8.0 Hz, 1H), 4.92 (s, 1H), 3.91 (m, 7H), 3.45 (m, 3H), 3.27– 3.20 (m, 2H), 2.21 (s, 2H), 2.10 (s, 2H), 1.45 – 1.36 (m, 4H), 1.13–1.12 (m, 1H), 0.53 – 0.48 (m, 2H), 0.28–0.26 (q,  $J$  = 4.9 Hz, 2H)



[0302] (1R, 4R)-N<sup>1</sup>-(4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)-N4-(2-메톡시에틸)시클로헥산-1,4-디아민 (A-29)의 제조



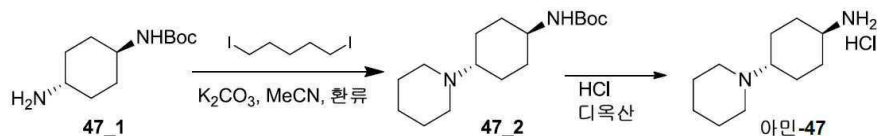
[0303]

[0304] THF (4 mL) 중의 LAH (40.00 mg, 1.05 mmol, 10.50 eq)의 혼합물에 15℃의 THF (1 mL) 중의 **A29<sub>1</sub>** (40.00 mg, 100.38 μmol, 1.00 eq) 용액을 첨가하였다. 상기 혼합물을 70℃에서 36시간 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 냉각하고 H<sub>2</sub>O (0.1 mL)에 부었다. 1N NaOH (0.1 mL)를 첨가하고 여과하였다. 여과물을 농축시켰다. 조생성물을 Pre-HPLC (기본 조건)에 의해 정제하여 황색 고체로서 **A-29** (4.00 mg, 9.88 μmol, 9.8% 수율, 95.0 % 순도)를 수득하였다.

[0305] LCMS: RT = 2.535 min, *m/z* 355.2 [M+H]<sup>+</sup>

[0306] <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) δ 8.17 (d, *J* = 6.8 Hz, 1 H), 7.82 (s, 1 H), 6.76 – 6.69 (m, 1 H), 4.88 (d, *J* = 10.4 Hz, 1 H), 3.89 (s, 4 H), 3.54–3.50 (m, 2 H), 3.38 (s, 3 H), 3.22 (d, *J* = 8.40 Hz, 2 H) 2.84–2.81 (m, 2H), 2.49 (s, 1H) 2.19 (s, 2H), 2.01 (s, 1H) 1.38 (s, 4H), 1.07(s, 1H) 0.49–0.43 (m, 2H) ,0.25 – 0.20 (m, 2 H)

[0307] (1R, 4R)-4-(피페리딘-1-일)시클로헥산아민 히드로클로라이드 (아민-47)의 제조



[0308]

[0309] **단계 1:** MeCN (10 mL) 중의 **47<sub>1</sub>** (200.00 mg, 933.27 μmol, 1.00 eq), 1, 5-디요오도펜탄 (302.32 mg, 933.27 μmol, 1.00 eq) 및 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (515.95 mg, 3.73 mmol, 4.00 eq)의 혼합물을 90℃에서 16시간 동안 교반하였다. 상기 혼합물을 여과하고, 여과물을 농축시켜 백색 고체로서 **47<sub>2</sub>** (300 mg, 미정제)를 수득하였으며, 그것을 다음 단계에서 즉시 사용하였다.

[0310] **단계 2:** **A27** 합성의 단계 3에 나타난 바와 유사한 방식으로 미정제물(crude) **47<sub>2</sub>**를 탈보호시키고, **아민-47**을 백색 고체로서 얻었다.

[0311] <sup>1</sup>H NMR (D<sub>2</sub>O, 400 MHz) δ 3.55–3.10 (m, 6H), 2.16–2.08 (m, 4H), 1.59–1.41 (m, 10H).

[0312] 4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)-N-((1R,4R)-4-(피페리딘-1-일)시클로헥실)피리미딘-2-아민 (A-47)의 제조



[0313]

[0314] 화합물 **A-47**을 **방법 F**에 개시된 절차에 따라 **아민-47**을 이용하여 제조하고, prep HPLC (HCl 조건)에 의한 정제 후에 백색 고체로서 얻었다. 수율: 49.3%

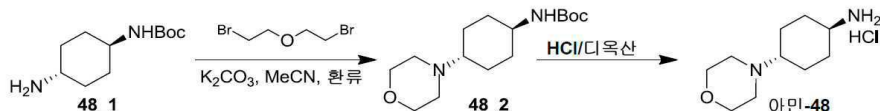
[0315] LCMS: RT = 1.530 min, *m/z* 395.2 [M+H]<sup>+</sup>

[0316] <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz) δ 8.21 (s, 1H), 8.06 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 7.24–7.21 (m, 1H), 4.10 (s, 1H),

3.88 (s, 3H), 3.49 (d,  $J = 11.2$  Hz, 2H), 3.23 (s, 2H), 3.06-3.00 (m, 4H), 2.26 (d,  $J = 10$  Hz, 4H), 1.96-1.57 (m, 10H), 1.15 (s, 1H), 0.50 (s, 2H), 0.31-0.30 (m, 2H)

[0317] (1R, 4R)-4-모르폴리노시클로헥산아민 히드로클로라이드 (아민-48)의 제조

[0318]



[0319] 아민-47의 합성에 대해 개시된 바와 유사한 방식으로 미정제물 아민-48을 합성하고, 황색 고체로서 얻었다.

[0320]  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{D}_2\text{O}$ , 400 MHz)  $\delta$  3.87 (s, 4H), 3.24-3.11 (m, 6H), 2.20-2.12 (m, 4H), 1.59-1.39 (m, 5H).

[0321] 4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)-N-((1R, 4R)-4-모르폴리노시클로헥실)피리미딘-2-아민 (A-48)의 제조

[0322]



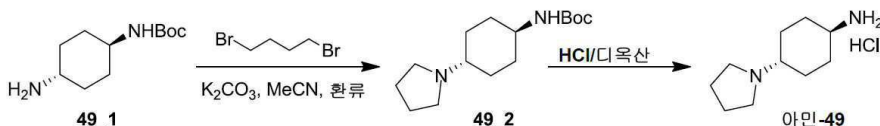
[0323] 화합물 A-48을 방법 F에 개시된 절차에 따라 아민-48과 TBAF (1.0 eq)를 이용하여 제조하고, prep HPLC (HCl 조건)에 의한 정제 후에 백색 고체로서 얻었다. 수율: 51.2%

[0324] LCMS: RT = 2.095 min,  $m/z$  397.3  $[\text{M}+\text{H}]^+$

[0325]  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz)  $\delta$  8.16 (s, 1H), 8.01 (s, 1H), 7.19 (s, 1H), 4.06-3.97 (m, 3H), 3.83-3.78 (m, 5H), 3.51-3.42 (m, 2H), 3.24 (s, 1H), 3.14-3.12 (m, 1H), 2.29-2.19 (m, 4H), 1.69-1.63 (m, 2H), 1.54-1.48 (m, 2H), 1.02 (s, 1H), 0.45 (s, 2H), 0.25 (s, 2H).

[0326] (1R, 4R)-4-(피롤리딘-1-일)시클로헥산아민 히드로클로라이드 (아민-49)의 제조

[0327]

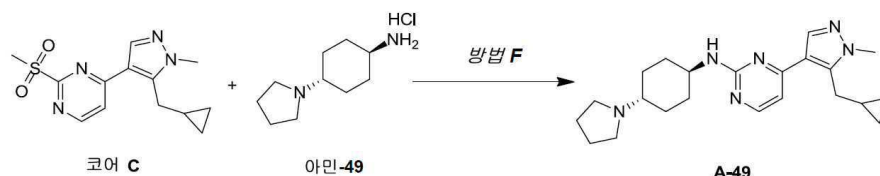


[0328] 아민-47의 합성에 대해 개시된 바와 유사한 방식으로 미정제물 아민-49를 합성하고, 백색 고체로서 얻었다.

[0329]  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{D}_2\text{O}$ , 400 MHz)  $\delta$  3.55-3.53 (m, 3H), 3.13-2.99 (m, 4H), 2.21-2.09 (m, 2H), 2.06-1.99 (m, 7H), 1.49-1.40 (m, 4H).

[0330] 4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)-N-((1R, 4R)-4-(피롤리딘-1-일)시클로헥실)피리미딘-2-아민 (A-49)의 제조

[0331]



[0332] 화합물 A-49를 방법 F에 개시된 절차에 따라 아민-49를 이용하여 제조하고, prep HPLC (HCl 조건)에 의한 정제 후에 백색 고체로서 얻었다. 수율: 89.3%

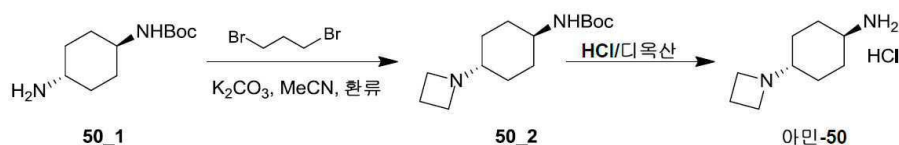
[0333] LCMS: RT = 2.607 min,  $m/z$  381.3  $[\text{M}+\text{H}]^+$

[0334]  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  8.16 (s, 1H), 8.01 (s, 1H), 7.19 (s, 1H), 4.06 (s, 1H), 3.83 (s, 3H), 3.08



(s, 2H), 2.26-1.48 (m, 13H), 1.09 (s, 1H), 0.45 (s, 2H), 0.25 (s, 2H).

[0335] (1R, 4R)-4-(아제티딘-1-일)시클로헥산아민 히드로클로라이드 (아민-50)의 제조

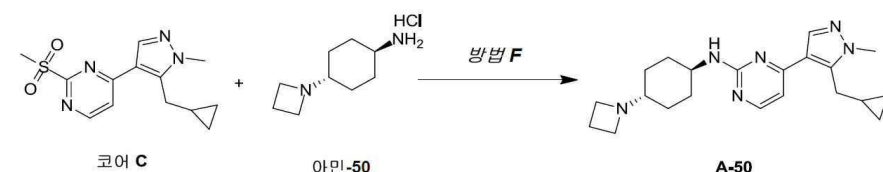


[0336]

[0337] 아민-47의 합성에 대해 개시된 바와 유사한 방식으로 조 아민-50을 합성하고, 백색 고체로서 얻었다.

[0338]  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  4.15-4.08 (m, 2H), 3.65-3.12 (m, 1H), 2.28-2.03 (m, 6H), 1.50-1.42 (m, 4H), 1.26-1.20 (m, 1H).

[0339] N-((1R, 4R)-4-(아제티딘-1-일)시클로헥실)-4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-아민 (A-50)의 제조



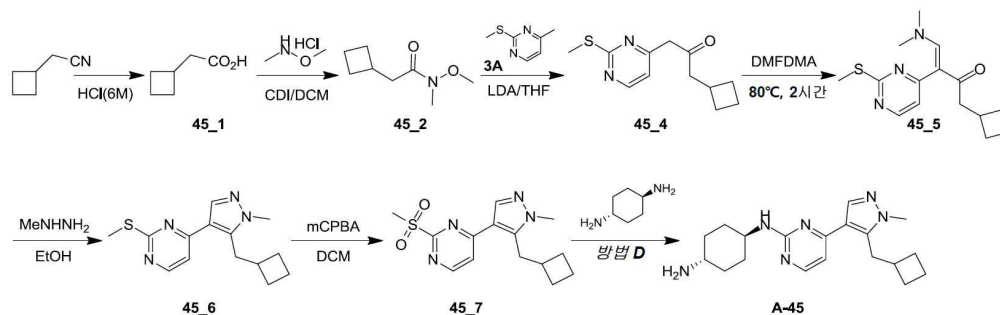
[0340]

[0341] 화합물 A-50을 방법 F에 개시된 절차에 따라 아민-50을 이용하여 제조하고, prep HPLC (기본 조건)에 의한 정제 후에 백색 고체로서 얻었다. 수율: 16%

[0342] LCMS: RT = 2.494 min,  $m/z$  367.3  $[\text{M}+\text{H}]^+$

[0343]  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  8.17 (d,  $J$  = 6.8 Hz, 1H), 7.88 (s, 1H), 6.70 (d,  $J$  = 6.8 Hz, 1H), 4.86 (d,  $J$  = 11.6 Hz, 1H), 3.91 (m, 4H), 3.25-3.20 (m, 5H), 2.31-2.07 (m, 6H), 2.05-2.02 (m, 2H), 1.24-1.10 (m, 5H), 0.47-0.43 (m, 2H), 0.25-0.22 (s, 2H).

[0344] (1R, 4R)-N'-((4-(5-(시클로부틸메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)시클로헥산-1,4-디아민 (A-45)의 제조



[0345]

[0346] 단계 1: HCl (6 M, 10.00 mL, 5.71 eq) 중의 2-시클로부틸아세트니트릴 (1.00 g, 10.51 mmol, 1.00 eq) 용액을 120°C에서 16시간 동안 교반하였다. 혼합물을 물 (50 mL)로 희석하고 EA (20 mL\*2)로 추출하였다. 조합된 유기층을 물(40 mL)로 세척하였으며, 건조하고 농축시켜 무색 액체로서 45\_1 (750 mg, 6.57 mmol, 62.5% 수율)을 수득하였다.

[0347]  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  2.72-2.68 (m, 1H), 2.47-2.45 (d,  $J$  = 8.0 Hz, 2H), 2.17-2.15 (m, 2H), 1.90-1.88 (m, 2H), 1.75-1.70 (m, 2H).

[0348] 단계 2-4: 반응식 1.1에서 코어 A의 합성에 대해 개시된 바와 유사한 방식으로 화합물 45\_5를 합성하였다.

[0349] 화합물 45\_2를 무색 액체로서 얻었다.

[0350]  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  3.68 (s, 3H), 3.16 (s, 3H), 3.75-3.71 (m, 1H), 2.55-2.53 (m, 2H), 2.16-2.13 (m, 3H), 1.89-1.87 (m, 2H), 1.73-1.68 (m, 2H).

[0351] 화합물 **45\_4**를 황색 오일로서 얻었다.

[0352] LCMS: RT = 0.795 min,  $m/z$  237.1  $[\text{M}+\text{H}]^+$

[0353] 화합물 **45\_5**를 짙은 갈색 고체로서 얻었다:

[0354]  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  8.39-8.38 (d,  $J$  = 4.8 Hz, 1H), 8.02 (s, 1H), 7.59 (s, 1H), 6.96-6.92(m, 1H), 2.96 (s, 3H), 2.89 (m, 5H), 2.72-2.68 (m, 1H), 2.57 (s, 3H), 2.10-2.05 (m, 2H), 1.87-1.82(m, 4H).

[0355] **단계 5-6:** 반응식 1.2에서 **코어 C**의 합성에 대해 개시된 바와 유사한 방식으로 화합물 **45\_7**을 합성하였다.

[0356] prep HPLC (TFA 조건)에 의한 정제 후에 황색 오일로서 화합물 **45\_6**을 얻었다. 수율: 21.2%;

[0357]  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  8.41-8.39 (d,  $J$  = 7.2 Hz, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.09-7.07 (d,  $J$  = 6.8 Hz, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.35-3.33 (d,  $J$  = 9.6 Hz, 2H), 2.72-2.67 (m, 1H), 2.6 (s, 3H), 2.02-1.98 (m, 2H), 1.84-1.76 (m, 4H).

[0358] pre-TLC에 의한 정제 후에 황색 오일로서 화합물 **45\_7**을 얻었다. 수율: 86.6%;

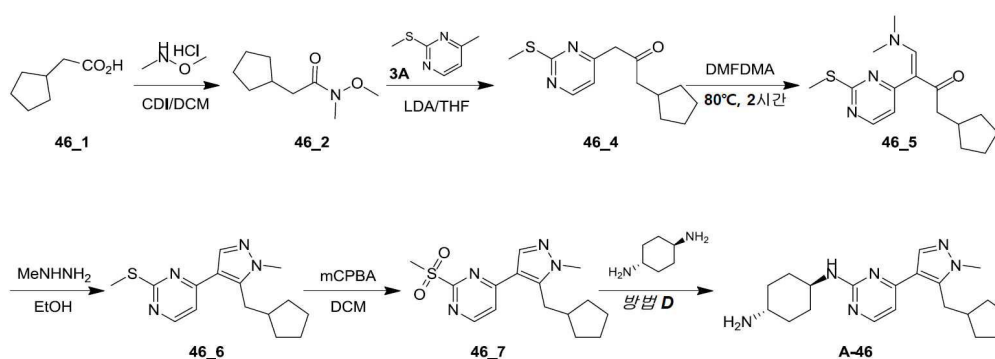
[0359] LCMS: RT = 0.706 min,  $m/z$  307.2  $[\text{M}+\text{H}]^+$

[0360] **단계 7:** 화합물 **A-45**를 **방법 D**에 개시된 절차에 따라 *트랜스*-시클로헥산-1, 4-디아민 (4.0 eq)을 이용하여 제조하고, prep HPLC (기본 조건)에 의한 정제 후에 황색 고체로서 얻었다. 수율: 21.9%;

[0361] LCMS: RT = 0.539 min,  $m/z$  341.3  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ;

[0362]  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  8.18-8.17 (d,  $J$  = 5.2 Hz, 1H), 7.82 (s, 1H), 6.69-6.68 (d,  $J$  = 5.2 Hz, 1H), 4.85-4.83 (d,  $J$  = 8.0 Hz, 1H), 3.91-3.84 (m, 4H), 3.33-3.31 (d,  $J$  = 7.6 Hz, 2H), 2.75-2.68 (m, 2H), 2.18-2.17 (m, 2H), 2.00-1.93 (m, 4H), 1.80-1.77 (m, 4H), 1.31-1.26 (m, 4H).

[0363] (1*R*, 4*R*)-*N*<sup>1</sup>-(4-(5-(시클로헥틸메틸)-1-메틸-1*H*-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)시클로헥산-1,4-디아민 (A-46)의 제조



[0364]

[0365] 화합물 **A-45**의 합성에 대해 개시된 바와 유사한 방식으로 화합물 **A-46**을 합성하였다.

[0366] 화합물 **46\_2**를 무색 오일로서 얻었다.

[0367]  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  3.64 (s, 3H), 3.14 (s, 3H), 2.41-2.40 (t,  $J$  = 7.2 Hz, 2H), 2.26-2.25 (m, 1H), 1.82-1.80 (m, 2H), 1.59-1.51 (m, 4H), 1.15 - 1.13 (m, 2H).

[0368] 화합물 **46\_5**를 황색 오일로서 얻었다.

[0369] LCMS: RT = 1.294 min,  $m/z$  306.2  $[\text{M}+\text{H}]^+$

[0370] prep TLC에 의한 정제 후에 황색 오일로서 화합물 **46\_6**을 얻었다. 수율: 26.5%

[0371] LCMS: RT = 0.866 min,  $m/z$  289.1  $[M+H]^+$

[0372]  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , 400 MHz)  $\delta$  8.42-8.41 (d,  $J$  = 5.2 Hz, 1H), 7.90 (s, 1H), 7.10-7.09 (d,  $J$  = 5.2 Hz, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.26-3.24 (d,  $J$  = 7.6 Hz, 2H), 2.61 - 2.60 (d,  $J$  = 4.8 Hz, 3H), 2.21 (m, 1H), 1.72 - 1.67 (m, 4H), 1.27 - 1.26 (m, 2H), 1.25 (m, 3H).

[0373] prep TLC에 의한 정제 후에 백색 고체로서 화합물 **46\_7**을 얻었다. 수율: 44.0%

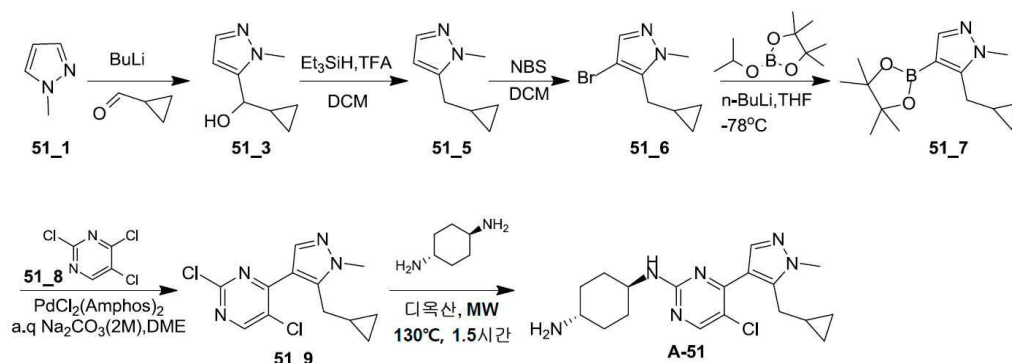
[0374] LCMS: RT = 1.219 min,  $m/z$  321.2  $[M+H]^+$

[0375] prep HPLC (기본 조건)에 의한 정제 후에 황색 고체로서 화합물 **A-46**을 얻었다. 수율: 52.7%

[0376] LCMS: RT = 2.381 min,  $m/z$  355.2  $[M+H]^+$

[0377]  $^1H$  NMR ( $CD_3OD$ , 400 MHz)  $\delta$  8.16 (s, 1H), 8.07-8.03 (t,  $J$  = 8.0 Hz, 1H), 7.20-7.18 (d,  $J$  = 6.8 Hz, 1H), 4.06-4.02 (m, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.31-3.30 (m, 2H), 3.16 (s, 1H), 2.17-2.15 (m, 5H), 1.67 (m, 4H), 1.56 (m, 6H), 1.30-1.25 (m, 2H)

[0378] (1R, 4R)-N<sup>1</sup>-(5-클로로-4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)시클로헥산-1,4-디아민 (A-51)의 제조



[0379]

[0380] **단계 1:** THF (160 mL) 중의 화합물 N-메틸피라졸 (**51\_1**, 8.00 g, 97.44 mmol, 1.00 eq) 용액에 -78°C의 n-BuLi (2.5 M, 46.77 mL, 1.20 eq)를 적가하였다. 결과적으로 얻은 혼합물을 상기 온도에서 1시간 동안 교반한 후에, THF (80 mL) 중의 시클로프로판카르보알데히드 (8.20 g, 116.93 mmol, 1.20 eq) 용액을 적가하였다. 그 후에, 상기 반응 혼합물을 20°C에서 16시간 동안 교반하였다. TLC (PE:EA = 2:1)는 반응물 1( $R_f$  = 0.3)이 소모되었으며 생성물( $R_f$  = 0.05)이 형성되었음을 나타내었다. 상기 혼합물을 수성  $NH_4Cl$  (300 mL)에 붓고 10분 동안 교반하였다. 수성 상을 에틸 아세테이트 (100 mL\*2)로 추출하였다. 조합된 유기 상을 염수 (100 mL)로 세척하고, 무수  $Na_2SO_4$  상에서 건조시켰으며, 진공에서 여과 및 농축시켰다. 잔류물을 칼럼 크로마토그래피( $SiO_2$ , PE:EA = 8:1~0:1)에 의해 정제하여 무색 오일로서 화합물 **51\_3** (12.00 g, 78.85 mmol, 80.9% 수율, 100% 순도)을 얻었다.

[0381] LCMS: RT = 0.118 min,  $m/z$  153.1  $[M+H]^+$

[0382] **단계 2:** DCM (900 mL) 중의 화합물 **51\_3** (9.00 g, 59.14 mmol, 1.00 eq), TFA (40.46 g, 354.84 mmol, 26.27 mL, 6.00 eq) 및  $Et_3SiH$  (41.26 g, 354.84 mmol, 56.52 mL, 6.00 eq)의 반응 혼합물을 40°C에서 36시간 동안 교반하였다. 상기 혼합물을 수성  $NaHCO_3$ 로 pH = 8까지 조정하고 분리하였다. 유기층을 농축시키고 prep HPLC (기본 조건)에 의해 정제하여 짙은 갈색 오일로서 화합물 **51\_5** (2.10 g, 15.42 mmol, 26.1% 수율)를 얻었다.

[0383] LCMS: RT = 0.565 min,  $m/z$  137.1  $[M+H]^+$

[0384] **단계 3:** DCM (21 mL) 중의 화합물 **51\_5** (2.10 g, 15.42 mmol, 1.00 eq) 용액에 0°C의 NBS (3.02 g, 16.96

mmol, 1.10 eq)를 첨가하였다. 혼합물을 20℃에서 2시간 동안 교반하였다. 상기 혼합물을 농축시켰으며, 칼럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, PE:EA = 20:1)에 의해 정제하여 황색 오일로서 화합물 **51\_6** (3.00 g, 13.95 mmol, 90.5% 수율)을 얻었다.

[0385] LCMS: RT = 0.784 min,  $m/z$  217.1 [M+H]<sup>+</sup>

[0386] <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$  7.39 (s, 1 H), 3.87 (s, 3 H), 2.65-2.63 (d,  $J$  = 8.8 Hz, 2 H), 0.98-0.94 (m, 1H), 0.55-0.51 (m, 2H), 0.29-0.25 (m, 2H).

[0387] **단계 4:** THF (60 mL) 중의 화합물 **51\_6** (3.00 g, 13.95 mmol, 1.00 eq) 용액에 -78℃의 n-BuLi (2 M, 10.46 mL, 1.50 eq)를 적가하였다. 상기 온도에서 0.5시간 동안 교반한 후에, THF (6 mL) 중의 2-이소프로폭시-4,4,5,5-테트라메틸-1,3,2-디옥사보롤란(dioxaborolane) (5.19 g, 27.90 mmol, 2.00 eq) 용액을 첨가하였다. 결과적으로 얻은 혼합물을 20℃까지 승온시키고 0.5시간 동안 교반하였다. TLC (PE:EA = 5:1)는 반응물(R<sub>f</sub> = 0.6)이 소모되었으며 생성물(R<sub>f</sub> = 0.5)이 형성되었음을 나타내었다. 상기 혼합물을 포화 NH<sub>4</sub>Cl (50 mL)로 켄칭시키고 EA (100 mL)로 추출하였다. 유기층을 농축시켰으며, 칼럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, PE:EA = 20:1~10:1)에 의해 정제하여 무색 오일로서 화합물 **51\_7** (3.30 g, 11.40 mmol, 81.7% 수율, 90.5% 순도)을 수득하였다.

[0388] LCMS: RT = 0.801 min,  $m/z$  263.2 [M+H]<sup>+</sup>

[0389] <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$  7.67 (s, 1 H), 3.85 (s, 3 H), 2.82-2.81 (d,  $J$  = 6.8 Hz, 2 H), 1.30 (s, 12H), 0.92-0.90 (m, 1H), 0.45-0.42 (m, 2H), 0.29-0.27 (m, 2H).

[0390] **단계 5:** DME (10 mL) 중의 화합물 **51\_7** (500.00 mg, 1.91 mmol, 1.00 eq) 용액에 2, 4, 5-트리클로로피리미딘 (**51\_8**, 420.40 mg, 2.29 mmol, 1.20 eq), Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2 M, 2.10 mL, 2.20 eq) 및 촉매 PdCl<sub>2</sub>(Amphos)<sub>2</sub> (67.62 mg, 95.50  $\mu$ mol, 0.05 eq)를 질소 하에서 첨가하였다. 결과적으로 얻은 혼합물을 질소 하의 85℃에서 2시간 동안 교반하였다. TLC (PE:EA = 5:1)는 반응물(R<sub>f</sub> = 0.4)이 소모되었으며 생성물(R<sub>f</sub> = 0.5)이 형성되었음을 나타내었다. 상기 혼합물을 물 (50 mL)로 희석하고 EA (50mL)로 추출하였다. 유기층을 농축시켰으며, 실리카 겔 칼럼 (PE:EA = 5:1)에 의해 정제하여 황색 오일로서 화합물 **51\_9** (350.0 mg, 1.05 mmol, 55% 수율, 85% 순도)를 수득하였다.

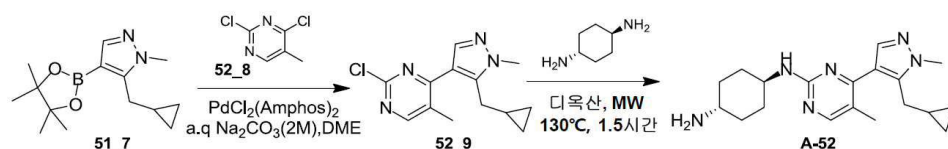
[0391] LCMS: RT = 0.819 min,  $m/z$  283.1 [M+H]<sup>+</sup>

[0392] **단계 6:** 디옥산 (4.5 mL) 중의 화합물 **51\_9** (300.00 mg, 1.06 mmol, 1.00 eq) 및 트랜스-시클로헥산-1, 4-디아민 (484.17 mg, 4.24 mmol, 4.00 eq)의 반응 혼합물을 마이크로웨이브 하의 130℃에서 2시간 동안 교반하였다. 상기 혼합물을 여과 및 농축시켰다. 미정제물을 prep-HPLC (HCl 조건)에 의해 정제하여 황색 고체로서 **A-51** (80.00 mg, 200.04  $\mu$ mol, 18.9% 수율, 99.3% 순도, HCl)을 수득하였다.

[0393] LCMS: RT = 2.817 min,  $m/z$  361.1 [M+H]<sup>+</sup>

[0394] <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz)  $\delta$  8.37 (s, 1 H), 8.29 (s, 3 H), 8.08 (s, 1 H), 3.86 (s, 3 H), 3.70-3.68 (m, 2 H), 3.06-3.05 (d,  $J$  = 6.4 Hz, 2H), 2.96 (s, 1H), 2.03-1.95 (m, 4H), 1.49-1.32 (m, 4H), 0.98 (s, 1H), 0.42-0.40 (m, 2H), 0.16 (m, 2H).

[0395] (1R, 4R)-N'-(4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)-5-메틸피리미딘-2-일)시클로헥산-1,4-디아민 (A-52)의 제조



[0396]

[0397] **단계 1:** DME (10 mL) 중의 화합물 **51\_7** (500.00 mg, 1.91 mmol, 1.00 eq) 용액에 질소 하에서 화합물 **52\_8** (373.60 mg, 2.29 mmol, 1.20 eq), Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (a.q) (2 M, 2.1 mL, 2.20 eq) 및 촉매 PdCl<sub>2</sub>(Amphos)<sub>2</sub> (67.62 mg,

95.50  $\mu\text{mol}$ , 0.05 eq)를 질소 하에서 첨가하였다. 결과적으로 얻은 혼합물을 질소 하의 85℃에서 2시간 동안 교반하였다. TLC (PE:EA = 5:1)는 반응물(Rf = 0.4)이 소모되었으며 생성물(Rf = 0.25)이 형성되었음을 나타내었다. 상기 혼합물을 물 (50 mL)로 희석하고 EA (50 mL)로 추출하였다. 유기층을 농축시켰으며, 칼럼 크로마토 그래피(SiO<sub>2</sub>, PE:EA = 20:1~5:1)에 의해 정제하여 황색 오일로서 화합물 **52\_9** (350.00 mg, 1.15 mmol, 60.3% 수율, 86.5% 순도)를 수득하였다.

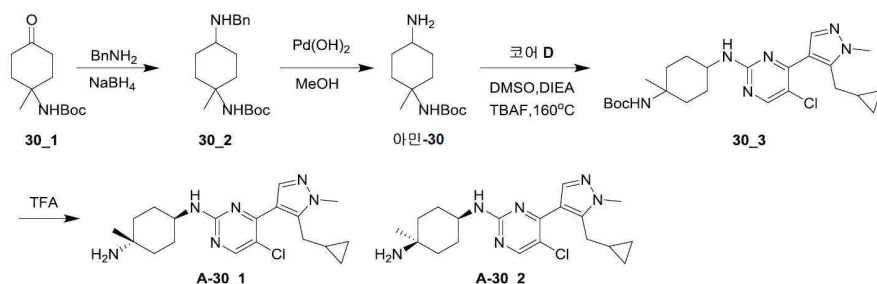
[0398] LCMS: RT = 0.761 min,  $m/z$  263.2 [M+H]<sup>+</sup>

[0399] **단계 2:** 디옥산 (5 mL) 중의 화합물 **52\_9** (350.00 mg, 1.33 mmol, 1.00 eq) 및 트랜스-시클로헥산-1,4-디아민 (607.49 mg, 5.32 mmol, 4.00 eq)의 반응 혼합물을 마이크로웨이브 하의 130℃에서 2시간 동안 교반하였다. TLC (PE:EA = 1:1)는 반응물(Rf = 0.6)이 소모되었으며 생성물(Rf = 0.05)이 형성되었음을 나타내었다. 상기 혼합물을 여과 및 농축시켰다. 미정제물을 prep-HPLC (HCl 조건) 및 이어서 prep-HPLC (기본 조건)에 의해 정제하여 황색 고체로서 **A-52** (30.0 mg, 88.00  $\mu\text{mol}$ , 6.6% 수율, 99.8% 순도)를 수득하였다.

[0400] LCMS: RT = 2.429 min,  $m/z$  341.2 [M+H]<sup>+</sup>

[0401] <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) 8.09 (s, 1H), 7.67 (s, 1H), 4.72-4.70 (d,  $J$  = 8.4Hz, 1H), 3.91(s, 3H), 3.82-3.80 (m, 1H), 3.02-3.00 (d,  $J$  = 6.4Hz, 2H), 2.79-2.76 (m, 1H), 2.22 (s, 3H), 2.14-1.93 (m, 4H), 1.32-1.23 (m, 4H), 0.97 (m, 1H), 0.45-0.42 (m, 2H), 0.12-0.10 (m, 2H).

[0402] (1R,4R)-N'-(5-클로로-4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)-4-메틸시클로헥산-1,4-디아민 (A-30\_1) 및 (1S,4S)-N1-(5-클로로-4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)-4-메틸시클로헥산-1,4-디아민 (A-30\_2)의 제조



[0403]

[0404] **단계 1:** DCM (18.00 mL) 중의 화합물 **30\_1** (900.00 mg, 3.96 mmol, 1.00 eq) 및 BnNH<sub>2</sub> (424.26 mg, 3.96 mmol, 432.92  $\mu\text{L}$ , 1.00 eq)의 혼합물에 AcOH (237.77 mg, 3.96 mmol, 226.45  $\mu\text{L}$ , 1.00 eq) 및 NaBH(OAc)<sub>3</sub> (1.68 g, 7.92 mmol, 2.00 eq)를 첨가하였다. 결과적으로 얻은 혼합물을 20℃에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 H<sub>2</sub>O (50 mL)로 켄칭시키고 분리하였다. 유기층을 농축시켰다. 잔류물을 Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (DCM:MeOH=20:1) 상의 칼럼 크로마토 그래피에 의해 정제하여 적색 오일로서 화합물 **30\_2** (650.00 mg, 2.03 mmol, 51.3% 수율, 99.6% 순도)를 수득하였다.

[0405] LCMS: RT = 1.520 min,  $m/z$  319.2 [M+H]<sup>+</sup>

[0406] <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$  7.33-7.31 (m, 5 H), 4.43-4.35 (m, 1 H), 3.81 (d,  $J$ =10.8 Hz, 2 H), 2.62-2.50 (m, 1H), 2.12-2.09 (m, 1H), 1.82-1.79 (m, 4H), 1.43(s, 9H), 1.38-1.27 (m, 7H).

[0407] **단계 2:** MeOH (3.5 mL) 중의 화합물 **30\_2** (350.00 mg, 1.10 mmol, 1.00 eq) 용액에 Pd(OH)<sub>2</sub> (35.00 mg)를 첨가하였다. 상기 혼합물을 H<sub>2</sub> (16 psi) 하의 20℃에서 16시간 동안 교반하였다. TLC (DCM:MeOH=10:1)는 반응물(Rf=0.6)이 소모되었으며 생성물(Rf=0.3)이 형성되었음을 나타내었다. 상기 혼합물을 여과하였으며, 모(mother) 액체를 농축시켜 적색 오일로서 **아민-30** (220.00 mg, 963.5  $\mu\text{mol}$ , 87.6% 수율)을 수득하였다.

[0408] MS:  $m/z$  229.2 [M+H]<sup>+</sup>

[0409] <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$  4.43-4.33 (m, 1 H), 3.82-2.66 (m, 1 H), 2.08 (s, 1H), 1.79-1.66 (m, 4H),

1.43 (s, 9H), 1.33-1.27 (m, 7H).

[0410] **단계 3:** DMSO (4 mL) 중의 **아민-30** (300.00 mg, 917.99  $\mu\text{mol}$ , 1.00 eq) 및 **코어 D** (230.57 mg, 1.01 mmol, 1.10 eq) 용액에 DIEA (480.97  $\mu\text{L}$ , 2.75 mmol, 3.00 eq) 및 TBAF (48.00 mg, 2.75 mmol, 0.20 eq)를 첨가하였다. 상기 혼합물을 160°C에서 3시간 동안 교반하였다. 상기 혼합물을 EA (50 mL) 및 H<sub>2</sub>O (50 mL) 사이에서 분리하였다. 유기층을 농축시켜 적색 오일로서 **30\_3** (400.00 mg, 미정제)을 수득하였다.

[0411] LCMS: RT = 1.081 min,  $m/z$  475.2 [M+H]<sup>+</sup>

[0412] **단계 4:** DCM (4 mL) 중의 **30\_3** (400.00 mg, 842.05  $\mu\text{mol}$ , 1.00 eq) 용액에 0°C의 TFA (800  $\mu\text{L}$ )를 첨가하였다. 결과적으로 얻은 혼합물을 20°C에서 1시간 동안 교반하였다. TLC (PE:EA=2:1)는 반응물(Rf=0.6)이 소모되었으며 생성물(Rf=0.05)이 형성되었음을 나타내었다. 상기 혼합물을 농축시켰다. 잔류물을 prep-HPLC (HCl 조건)에 의해 정제하여 황색 고체로서 **A-30\_1** (55.00 mg, 127.60  $\mu\text{mol}$ , 15.1% 수율, 95.4% 순도, HCl) 및 **A-30\_2** (40.00 mg, 95.31  $\mu\text{mol}$ , 11.3% 수율, 98.0% 순도, HCl)를 수득하였다.

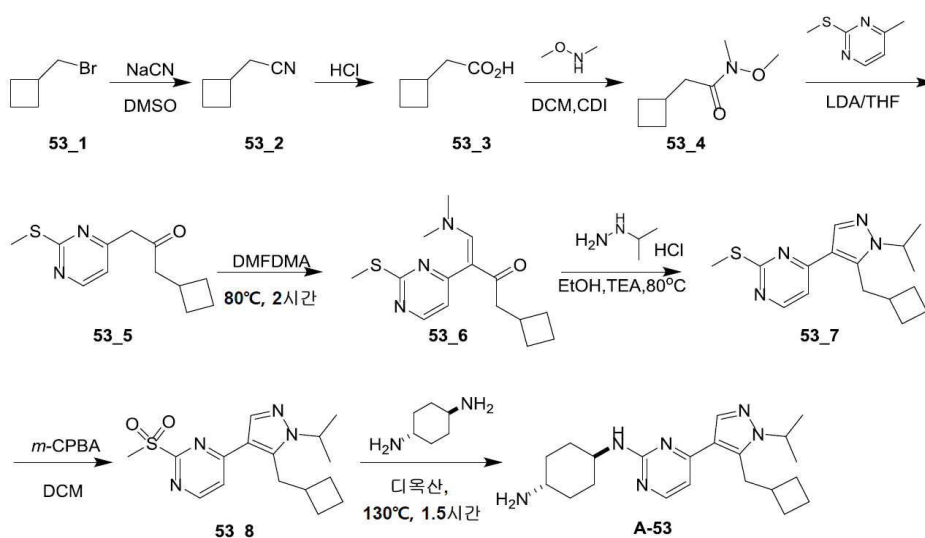
[0413] LCMS(A-30\_1): RT = 2.495 min,  $m/z$  375.2 [M+H]<sup>+</sup>

[0414] <sup>1</sup>H NMR\_피크-1 (MeOD, 400 MHz)  $\delta$  8.49 (s, 1 H), 8.45 (s, 1 H), 4.10 (s, 1 H), 3.96 (s, 3H), 3.23 (d,  $J=6.4$  Hz, 2H), 2.11-2.10 (m, 2H), 2.07-1.94 (m, 2H), 1.84-1.74 (m, 4H), 1.47 (s, 3H), 1.09-1.08(m, 1H), 0.55-0.51 (m, 2H), 0.28-0.27 (m, 2H).

[0415] LCMS(A-30\_2): RT = 2.527 min,  $m/z$  375.2 [M+H]<sup>+</sup>

[0416] <sup>1</sup>H NMR\_피크-2 (MeOD, 400 MHz)  $\delta$  8.47 (s, 2 H), 4.19 (s, 1 H), 3.96 (s, 3H), 3.19 (d,  $J=6.4$  Hz, 2H), 2.05-2.1.99 (m, 2H), 1.87-1.78 (m, 2H), 1.42 (s, H), 1.08-1.07 (m, 1H), 0.54-0.52 (m, 2H), 0.30-0.28 (m, 2H).

[0417] (1R,4R)-N<sup>1</sup>-(4-(5-(시클로부틸메틸)-1-이소프로필-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)시클로헥산-1,4-디아민 (A53)의 제조



[0418]

[0419] **단계 1:** DMSO (240 mL) 중의 NaCN (13.81 g, 281.82 mmol, 1.40 eq)의 혼합물에 **53\_1** (30.00 g, 201.30 mmol, 22.56 mL, 1.00 eq)을 60°C에서 첨가하였다. 혼합물을 75°C에서 16시간 동안 유지하였다. 상기 혼합물을 냉각시키고 물 (500 mL)로 희석하였다. 상기 용액을 EtOAc (200 mL\*3)로 추출하였다. 조합된 유기층을 염수 (100 mL\*3)로 세척하고 건조시켰다. 유기층을 농축시켜 연황색 액체로서 **53\_2** (15.00 g, 157.66 mmol, 78.3% 수율)를 수득하였다.

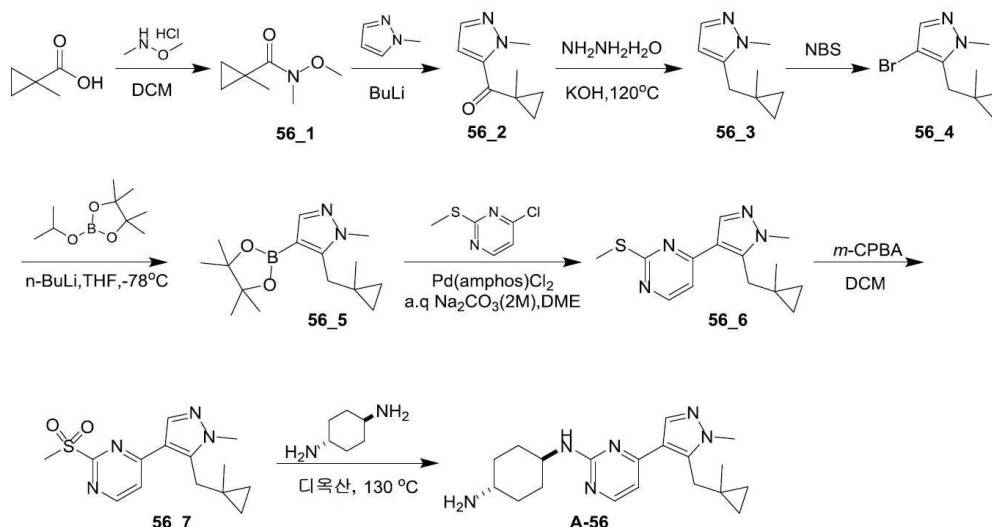
[0420] <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$  2.64-2.63 (m, 1 H), 2.42-2.41 (d,  $J=6.4$  Hz, 2 H), 2.20-2.17 (m, 2 H), 1.90-1.83 (m, 4H).



- [0421] **단계 2:** HCl (6 M, 150 mL, 5.71 eq) 중의 **53\_2** (15.00 g, 157.66 mmol, 1.00 eq) 용액을 120℃에서 16시간 동안 교반하였다. 상기 혼합물을 물 (500 mL)로 희석하고 EtOAc (200mL\*2)로 추출하였다. 조합된 유기층을 물 (400 mL)로 세척하였다. 유기층을 건조시켰으며, 농축시켜 무색 액체로서 **53\_3** (16.00 g, 140.18 mmol, 88.9% 수율)을 수득하였다.
- [0422]  $^1\text{H}$  NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$  2.69-2.68 (m, 1 H), 2.47-2.45 (m, 2 H), 2.17-2.15 (m, 2H), 1.89-1.87 (m, 2H), 1.75-1.70 (m, 2H).
- [0423] **단계 3:** DCM (160 mL) 중의 **53\_3** (16.00 g, 140.18 mmol, 1.00 eq) 및 N-메톡시메탄아민 (20.51 g, 210.27 mmol, 1.50 eq, HCl) 용액에 부분적으로 0℃의 CDI (45.46 g, 280.36 mmol, 2.00 eq)를 첨가하였다. 상기 혼합물을 20℃에서 16시간 동안 교반하였다. 혼합물을 물 (50 mL)로 희석하고 DCM(30 mL\*3)으로 추출하였다. 조합된 유기층을 건조시켰으며, 농축시켜 조생성물을 수득하였다. 조생성물을 실리카 겔 칼럼 (PE:EA=50:1~10:1)에 의해 정제하여 무색 액체로서 **53\_4** (12.00 g, 76.33 mmol, 54.4% 수율)를 수득하였다.
- [0424]  $^1\text{H}$  NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$  3.68-3.67 (d,  $J=2.4$  Hz, 3 H), 3.16 (s, 3 H), 2.77-2.73 (m, 1H), 2.54-2.53 (m, 2H), 2.16-2.13 (m, 2H), 1.88-1.86 (m, 2H), 1.73-1.72 (m, 2H), 1.70-1.68 (m, 2H).
- [0425] **단계 4:** THF (225 mL) 중의 **53\_4** (4.50 g, 32.09 mmol, 1.00 eq) 용액에 -78℃의 LDA (2 M, 24.07 mL, 1.50 eq)를 첨가하였다. 1시간 동안 교반한 후에, THF (120 mL) 중의 2-시클로부틸-N-메톡시-N-메틸-아세트아미드 (6.05 g, 38.51 mmol, 1.20 eq) 용액을 -78℃의 그것에 첨가하였다. 결과적으로 얻은 혼합물을 -78℃에서 4시간 동안 교반하고, 포화 NH<sub>4</sub>Cl (200 mL)로 키텅시켰으며, 수성 상을 에틸 아세테이트 (200 mL\*3)로 추출하였다. 조합된 층을 염수 (200 mL)로 세척하고, 무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과 및 농축시켜 황색 오일로서 **53\_5** (10.00 g, 미정제)를 수득하였다.
- [0426] LCMS: RT = 0.788 min,  $m/z$  237.1 [M+H]<sup>+</sup>
- [0427] **단계 5:** DMF-DMA(201.68 g, 1.69 mol, 224.09 mL, 40.00 eq) 중의 **53\_5** (10.00 g, 42.31 mmol, 1.00 eq) 용액을 90℃에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 농축시켜 조생성물을 수득하였다. 조생성물을 실리카 겔 칼럼 (DCM:MeOH=1:0~10:1)에 의해 정제하여 짙은 갈색 고체로서 **53\_6** (8.80 g, 미정제)을 수득하였다.
- [0428] **단계 6:** EtOH (12 mL) 중의 **53\_6** (800.00 mg, 2.75 mmol, 1.00 eq) 용액에 이소프로필히드라진 (364.95 mg, 3.30 mmol, 1.20 eq, HCl) 및 TEA (333.93 mg, 3.30 mmol, 457.43  $\mu$ L, 1.20 eq)를 첨가하였다. 상기 혼합물을 90℃에서 1시간 동안 교반하였다. 상기 혼합물을 농축시켰다. 조를 pre-HPLC(TFA)에 의해 정제하여 황색 오일로서 **53\_7** (600.00 mg, 1.88 mmol, 68.5% 수율, 95% 순도)을 수득하였다.
- [0429] LCMS: RT = 0.901 min,  $m/z$  303.2 [M+H]<sup>+</sup>
- [0430] **단계 7:** DCM (9 mL) 중의 **53\_7** (600.00 mg, 1.98 mmol, 1.00 eq) 용액에 0℃의 m-CPBA (1.01 g, 4.96 mmol, 85% 순도, 2.50 eq)를 첨가하였다. 혼합물을 20℃에서 3시간 동안 교반하였다. 상기 반응물을 포화 수성 Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (50 mL)로 키텅시키고 DCM (20 mL\*2)로 추출하였다. 조합된 유기층을 수성 NaHCO<sub>3</sub> (40 mL)로 세척하였다. 유기층을 건조 및 농축시켰다. 조를 prep-TLC (DCM: MeOH=10:1)(R<sub>f</sub>=0.6)에 의해 정제하여 황색 오일로서 **53\_8** (500.00 mg, 1.50 mmol, 75.5% 수율)을 수득하였다.
- [0431] LCMS: RT = 0.803 min,  $m/z$  335.1 [M+H]<sup>+</sup>
- [0432] **단계 8:** 디옥산 (7.5 mL) 중의 **53\_8** (500.00 mg, 1.50 mmol, 1.00 eq) 용액에 트랜스-시클로헥산-1,4-디아민 (685.14 mg, 6.00 mmol, 4.00 eq)을 첨가하였다. 상기 혼합물을 마이크로웨이브 내의 130℃에서 2시간 동안 교반하였다. 상기 혼합물을 여과 및 농축시켰다. 미정제물을 prep HPLC(기본) 및 prep HPLC(HCl)에 의해 정제하여 황색 고체로서 **A-53** (250.00 mg, 615.9 mol, 41% 수율, 99.8% 순도, HCl)을 수득하였다.
- [0433] LCMS: RT = 2.57 min,  $m/z$  369.2 [M+H]<sup>+</sup>
- [0434]  $^1\text{H}$  NMR (DMSO, 400 MHz)  $\delta$  8.88-8.87 (m, 1 H), 8.38-8.25 (m, 5 H), 7.30-7.28 (m, 1H), 4.78-4.76 (m, 1H), 3.36-3.34 (m, 2H), 3.05 (s, 1H), 2.61 (s, 1H), 2.05(m, 4H), 1.92-1.91 (m, 2H), 1.78 (m, 4H), 1.47-

1.39 (m, 10H).

[0435] (1R,4R)-N<sup>1</sup>-(4-(1-메틸-5-((1-메틸시클로프로필)메틸)-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)시클로hexan-1,4-디아민 (A56)의 제조



[0436]

[0437] **단계 1:** DCM (40 mL) 중의 1-메틸시클로프로판-1-카르복시산 (4.00 g, 39.95 mmol, 1.00 eq) 및 CDI (7.13 g, 43.95 mmol, 1.10 eq) 용액에 부분적으로 0°C의 N-메톡시메탄아민 (4.68 g, 47.94 mmol, 1.20 eq, HCl)을 첨가하였다. 혼합물을 20°C에서 16시간 동안 교반하였다. 상기 혼합물을 물 (50 mL)로 희석하고 DCM (20 mL\*3)으로 추출하였다. 조합된 유기층을 건조 및 농축시켜 조생성물을 수득하였다. 조생성물을 실리카 겔 칼럼 (PE:EA=30:1~10:1)에 의해 정제하여 무색 액체로서 56\_1 (3.30 g, 23.05 mmol, 57.7% 수율)을 수득하였다.

[0438] <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 3.73 (s, 3 H), 3.23 (s, 3 H), 1.37 (s, 3H), 1.05-1.03 (m, 2H), 0.58-0.55 (m, 2H).

[0439] **단계 2:** THF (35.00 mL) 중의 1-메틸피라졸 (1.70 g, 20.71 mmol, 1.72 mL, 1.00 eq) 용액에 -78°C의 n-BuLi (2.5 M, 9.94 mL, 1.20 eq)를 첨가하였다. 1시간 동안 교반하였다. 여기에 THF (35 mL) 중의 화합물 56\_1 (3.26 g, 22.78 mmol, 1.10 eq)을 -78°C에서 첨가하였다. 결과적으로 얻은 혼합물을 20°C에서 1시간 동안 교반하였다. 상기 혼합물을 포화 NH<sub>4</sub>Cl (20 mL)로 퀀칭시키고 EtOAc (20 mL\*2)로 추출하였다. 유기층을 농축시켰으며, 실리카 겔 칼럼 (PE:EA=1:0~20:1)에 의해 정제하여 황색 오일로서 56\_2 (2.50 g, 13.41 mmol, 64.8% 수율, 88.1% 순도)를 수득하였다.

[0440] LCMS: RT = 0.609 min, m/z 165.1 [M+H]<sup>+</sup>

[0441] **단계 3:** NH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>.H<sub>2</sub>O (2.57 g, 48.72 mmol, 2.49 mL, 95% 순도, 4.00 eq) 및 디글리콜 (40 mL) 중의 56\_2 (2.00 g, 12.18 mmol, 1.00 eq) 및 KOH (2.73 g, 48.72 mmol, 4.00 eq)의 반응 혼합물을 110°C까지 1.5시간 동안, 이어서 200°C에서 다른 1시간 동안 딘-스타크(Dean-Stark)를 이용하여 가열하였다. 상기 혼합물을 물 (50 mL)로 희석하고 MTBE (50 mL\*2)로 추출하였다. 조합된 유기층을 농축시켜 무색 오일로서 56\_3 (1.10 g, 미정제)을 수득하였다.

[0442] LCMS: RT = 0.639 min, m/z 151.1 [M+H]<sup>+</sup>

[0443] **단계 4:** DCM (11 mL) 중의 56\_3 (1.10 g, 7.32 mmol, 1.00 eq) 용액에 0°C의 NBS (1.30 g, 7.32 mmol, 1.00 eq)를 첨가하였다. 상기 혼합물을 20°C에서 1시간 동안 교반하였다. 상기 혼합물을 농축시켰다. 미정제물을 실리카 겔 칼럼 (PE:EA=1:0~50:1)에 의해 정제하여 무색 오일로서 56\_4 (1.45 g, 5.65 mmol, 77.1% 수율, 89.2% 순도)를 수득하였다.

[0444] LCMS: RT = 0.835 min, m/z 229.0 [M+H]<sup>+</sup>

[0445] <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 7.39 (s, 1 H), 3.85 (s, 3 H), 2.73 (s, 2H), 1.05 (s, 3H), 0.44-0.31 (m,



4H).

[0446] **단계 5:** THF (29 mL) 중의 **56\_4** (1.45 g, 6.33 mmol, 1.00 eq) 용액에 -78℃의 n-BuLi (2 M, 4.75 mL, 1.50 eq)를 첨가하였다. 30분 후에, 여기에 THF (2.5 mL) 중의 2-이소프로кси-4,4,5,5-테트라메틸-1,3,2-디옥사보롤란 (2.36 g, 12.66 mmol, 2.59 mL, 2.00 eq)을 첨가하였다. 결과적으로 얻은 혼합물을 20℃까지 승온시키고 0.5시간 동안 교반하였다. 상기 혼합물을 포화 NH<sub>4</sub>Cl (50 mL)로 키텅시키고 EtOAc (100 mL)로 추출하였다. 유기층을 농축시켰으며, 실리카 겔 칼럼(PE:EA=20:1~10:1)에 의해 정제하여 무색 오일로서 **56\_5** (1.25 g, 4.11 mmol, 64.9% 수율, 90.7% 순도)를 수득하였다.

[0447] LCMS: RT = 0.928 min,  $m/z$  277.1 [M+H]<sup>+</sup>

[0448] **단계 6:** DME (10 mL) 중의 **56\_5** (500.00 mg, 1.81 mmol, 1.00 eq) 용액에 4-클로로-2-메틸설파닐-피리미딘 (290.79 mg, 1.81 mmol, 210.72  $\mu$ L, 1.00 eq), Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2 M, 1.99 mL, 2.20 eq) 및 4-디-tert-부틸포스포닐-N,N-디메틸-아닐린;디클로로팔라듐 (64.09 mg, 90.50  $\mu$ mol, 64.09  $\mu$ L, 0.05 eq)을 질소 하에서 첨가하였다. 결과적으로 얻은 혼합물을 질소 하의 85℃에서 2시간 동안 교반하였다. 상기 혼합물을 물 (50 mL)로 희석하고 EtOAc (50 mL)로 추출하였다. 유기층을 농축시켰으며, 실리카 겔 칼럼(PE:EA=5:1)에 의해 정제하여 황색 오일로서 **56\_6** (350.00 mg, 1.14 mmol, 63% 수율, 89% 순도)을 수득하였다.

[0449] LCMS: RT = 0.829 min,  $m/z$  275.1 [M+H]<sup>+</sup>

[0450] **단계 7:** DCM (5.5 mL) 중의 **56\_6** (350.00 mg, 1.28 mmol, 1.00 eq) 용액에 0℃의 MCPBA (690.28 mg, 3.20 mmol, 80% 순도, 2.50 eq)를 첨가하였다. 상기 혼합물을 20℃에서 2시간 동안 교반하였다. 상기 혼합물을 수성 Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (100 mL)로 키텅시키고 DCM (50 mL\*2)으로 추출하였다. 조합된 유기층을 농축시켰으며, 실리카 겔 칼럼(PE:EA=1:1)에 의해 정제하여 황색 고체로서 **56\_7** (200.00 mg, 617.72  $\mu$ mol, 48.6% 수율, 94.6% 순도)을 수득하였다.

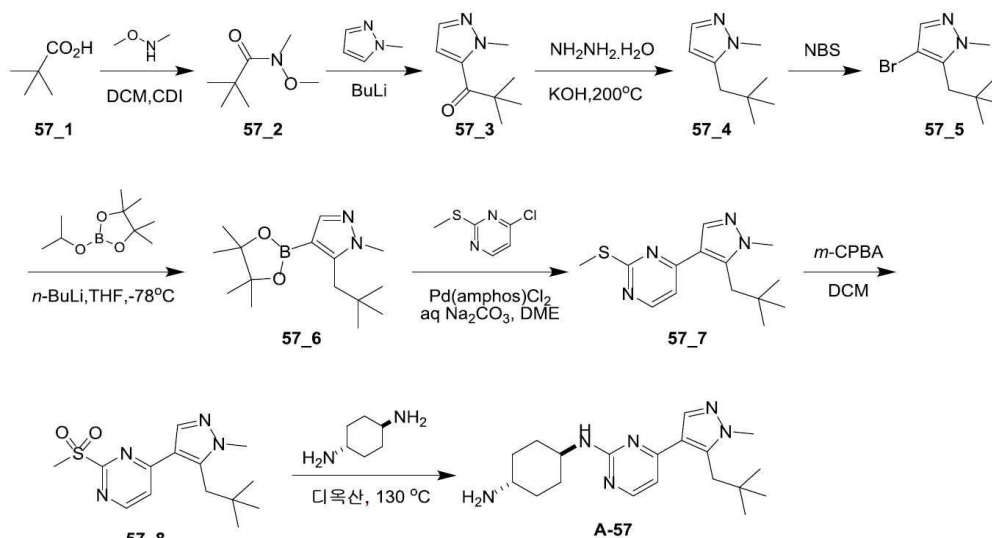
[0451] LCMS: RT = 0.653 min,  $m/z$  307.1 [M+H]<sup>+</sup>

[0452] **단계 8:** 디옥산 (3 mL) 중의 **56\_7** (200.00 mg, 652.78  $\mu$ mol, 1.00 eq) 및 트랜스-시클로헥산-1,4-디아민 (298.17 mg, 2.61 mmol, 4.00 eq)의 혼합물을 마이크로웨이브 내의 130℃에서 2시간 동안 교반하였다. 상기 혼합물을 여과 및 농축시켰다. 미정제물을 prep-HPLC(기본)에 의해 정제하여 황색 고체로서 **A-56** (50.00 mg, 144.85  $\mu$ mol, 22.2% 수율, 98.6 % 순도)을 수득하였다.

[0453] LCMS: RT = 1.999 min,  $m/z$  341.2 [M+H]<sup>+</sup>

[0454] <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$  8.18-8.17 (d,  $J$ =5.2 Hz, 1 H), 7.82 (s, 1 H), 6.69-6.67 (d,  $J$ =5.2 Hz, 1H), 4.87-4.85 (d,  $J$ =5.6 Hz, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.84 (s, 1H), 3.38 (s, 2H), 2.75-2.73 (m, 1H), 2.17-2.16 (m, 2H), 1.94-1.92 (m, 2H), 1.31-1.27 (m, 4H), 1.08 (s, 3 H), 0.31-0.25 (m, 4H).

[0455] (1R, 4R)-N<sup>1</sup>-(4-(1-메틸-5-네오펜틸-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)시클로헥산-1,4-디아민 (A57)의 제조



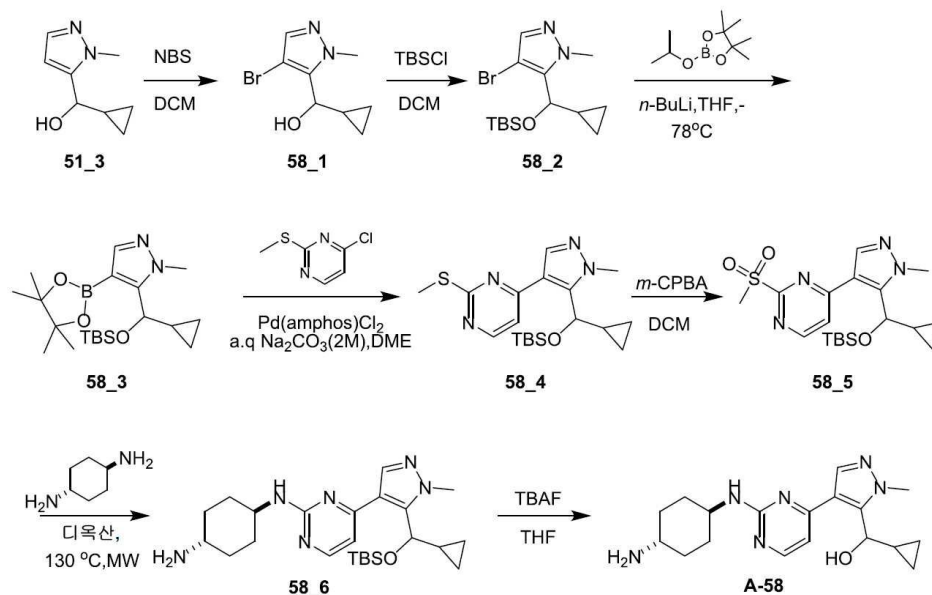
[0456]

[0457] 화합물 A-56의 합성에 대해 개시된 바와 유사한 방식으로 화합물 A-57을 합성하였다.

[0458] LCMS: RT = 1.558 min,  $m/z$  343.2  $[M+H]^+$

[0459]  $^1H$  NMR (MeOD, 400 MHz)  $\delta$  8.20-8.13 (m, 2 H), 7.29-7.27 (d,  $J=5.2$  Hz, 1H), 4.12-4.09 (m, 1H), 3.92 (s, 3H), 3.34 (s, 1H), 3.21 (s, 1H), 2.20 (m, 4H), 1.63 (m, 4H), 0.98 (s, 9 H).

[0460] (4-(2-(((1R, 4R)-4-아미노시클로헥실)아미노)피리미딘-4-일)-1-메틸-1H-피라졸-5-일)(시클로프로필)메탄올 (A58)의 제조



[0461]

[0462] 단계 1 내지 단계 6: A-56의 합성에 대해 개시된 바와 유사한 방식으로 화합물 51\_3으로부터 중간체 58\_6을 합성하였다.

[0463] LCMS: RT = 0.676 min,  $m/z$  457.4  $[M+H]^+$

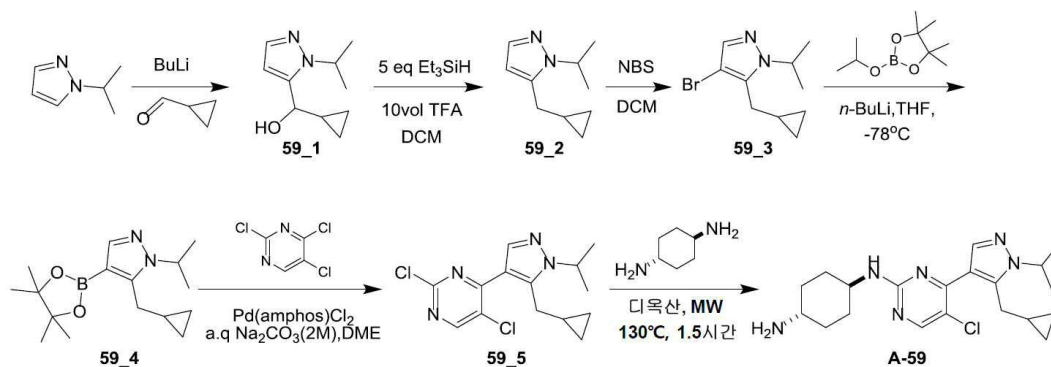
[0464] 단계 7: THF (300  $\mu$ L) 중의 58\_6 (300.00 mg, 656.89  $\mu$ mol, 1.00 eq) 용액에 20°C의 TBAF.3H<sub>2</sub>O (414.51 mg, 1.31 mmol, 2.00 eq)를 첨가하였다. 상기 혼합물을 30분 동안 교반하였다. 상기 혼합물을 여과 및 농축시켰다. 조생성물을 prep-HPLC(기본)에 의해 정제하여 황색 고체로서 A-58 (27.00 mg, 76.89  $\mu$ mol, 11.7% 수율, 97.5%

순도)을 수득하였다.

[0465] LCMS: RT = 2.29 min,  $m/z$  343.2  $[M+H]^+$

[0466]  $^1H$  NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$  8.23-8.22 (d,  $J=5.2$  Hz, 1 H), 7.86 (s, 1 H), 6.81-6.80 (d,  $J=5.2$  Hz, 1H), 5.09 (s, 1H), 4.32-4.30 (m, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.81-3.79 (m, 1H), 2.93-2.88 (m, 1H), 2.20-2.06 (m, 4H), 1.52-1.31 (m, 5H), 0.59-0.28 (m, 4H).

[0467] (1R,4R)-N<sup>1</sup>-(5-클로로-4-(5-(시클로프로필메틸)-1-이소프로필-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)시클로헥산-1,4-디아민 (A59)의 제조



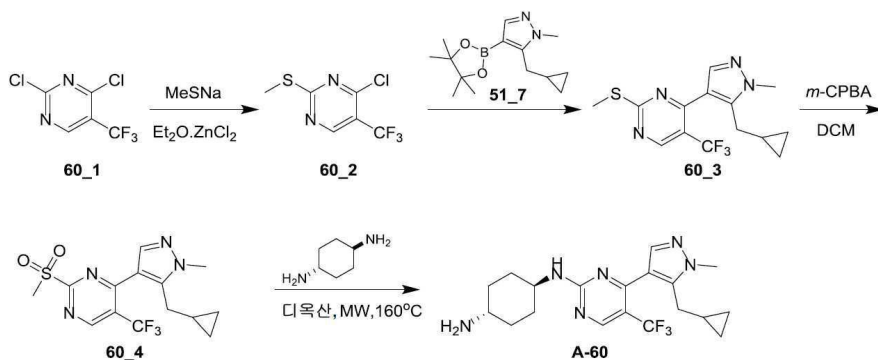
[0468]

[0469] 화합물 A-51의 합성에 대해 개시된 바와 유사한 방식으로 화합물 A-59를 합성하였다.

[0470] LCMS: RT = 2.478 min,  $m/z$  389.2  $[M+H]^+$

[0471]  $^1H$  NMR (MeOD, 400 MHz)  $\delta$  8.42-8.36 (m, 2 H), 4.82-4.75 (m, 1H), 4.00 (s, 1H), 3.21-3.20 (s, 3H), 2.20-2.15 (m, 4H), 1.60-1.56 (m, 4H), 1.51 (s, 6H), 1.05 (s, 1H), 0.55-0.53 (m, 2H), 0.28 (m, 2H).

[0472] (1R,4R)-N<sup>1</sup>-(4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)-5-(트리플루오로메틸)피리미딘-2-일)시클로헥산-1,4-디아민(A60)의 제조



[0473]

[0474] 단계 1: THF (40 mL) 중의 60\_1 (2.00 g, 9.22 mmol, 1.00 eq) 용액에 0°C의 ZnCl<sub>2</sub>-Et<sub>2</sub>O (1 M, 11.06 mL, 1.20 eq)를 질소 보호 하에서 첨가하였다. 혼합물을 2시간 동안 0°C에서 교반하였다. 메틸설파닐소듐 (646.23 mg, 9.22 mmol, 587.48  $\mu$ L, 1.00 eq)을 첨가하였다. 결과적으로 얻은 혼합물을 20°C에서 16시간 동안 교반하였다. TLC (순수 PE)는 반응물 1 ( $R_f=0.5$ )이 소모되었으며 생성물 ( $R_f=0.3$ )이 형성되었음을 나타내었다. 상기 혼합물을 1M HCl (20 mL)로 퀀칭시키고 농축시켰다. 수성층을 DCM (20 mL\*3)으로 추출하였다. 조합된 유기층을 농축시켰으며, 실리카 겔 칼럼 (PE: EA=1:0~50:1)에 의해 정제하여 무색 오일로서 60\_2 (1.00 g, 1.97 mmol, 21.4% 수율, 45.1% 순도)를 수득하였다.

[0475] LCMS: RT = 0.794 min,  $m/z$  228.9  $[M+H]^+$

[0476]  $^1H$  NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$  8.67 (s, 1H), 2.62 (s, 3H).

[0477] **단계 2:** THF (10 mL) 중의 **51\_7** (574.11 mg, 2.19 mmol, 1.00 eq) 용액에 **60\_2** (500.00 mg, 2.19 mmol, 1.00 eq), K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (1 M, 4.38 mL, 2.00 eq) 및 Ad<sub>2</sub>nBuP.바이페닐 (50.00 mg)을 질소 하에서 첨가하였다. 결과적으로 얻은 혼합물을 질소 하의 85℃에서 2시간 동안 교반하였다. TLC (PE:EA=1:1)는 반응물 (R<sub>f</sub>=0.6)이 소모되었으며 생성물 (R<sub>f</sub>=0.5)이 형성되었음을 나타내었다. 상기 혼합물을 농축시켰으며, H<sub>2</sub>O (50 mL)로 희석하였다. 수성층을 EA (20 mL\*2)로 추출하였다. 유기층을 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 (PE:EA=20:1~5:1)에 의해 정제하여 황색 고체로서 **60\_3** (300.00 mg, 611.96 μmol, 27.9% 수율, 66.9% 순도)을 수득하였다.

[0478] LCMS: RT = 0.927 min, *m/z* 329.0 [M+H]<sup>+</sup>

[0479] <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 8.75 (s, 1H), 7.75 (s, 1H), 3.94 (s, 3H), 2.95 (d, *J*=6.8Hz, 2H), 2.57 (s, 3H), 0.98-0.94 (m, 1H), 0.48-0.44 (m, 2H), 0.17-0.13 (m, 2H).

[0480] **단계 3:** DCM (7 mL) 중의 **60\_3** (400.00 mg, 1.22 mmol, 1.00 eq) 용액에 0℃의 *m*-CPBA (657.92 mg, 3.05 mmol, 80% 순도, 2.50 eq)를 첨가하였다. 상기 혼합물을 20℃에서 1시간 동안 교반하였다. TLC (DCM:MeOH=20:1)는 반응물 (R<sub>f</sub>=0.6)이 소모되었으며 생성물 (R<sub>f</sub>=0.5)이 형성되었음을 나타내었다. 상기 혼합물을 수성 Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (100 mL)로 켄칭시켰으며 DCM (50 mL\*2)으로 추출하였다. 유기층을 농축시켰으며, 실리카 겔 칼럼 (PE:EA=1:1)에 의해 정제하여 황색 고체로서 **60\_4** (300.00 mg, 738.23 μmol, 60.5% 수율, 88.7% 순도)를 수득하였다.

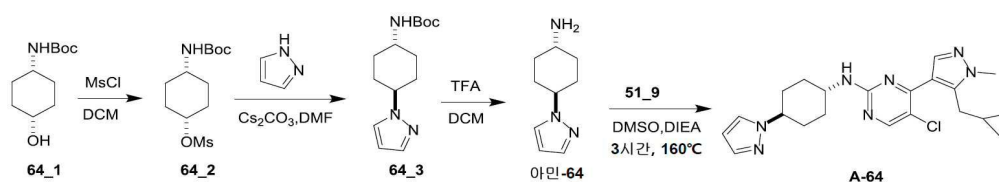
[0481] LCMS: RT = 0.72 min, *m/z* 361.0 [M+H]<sup>+</sup>

[0482] **단계 4:** 디옥산 (3 mL) 중의 **60\_4** (200.00 mg, 555.02 μmol, 1.00 eq) 및 트랜스-시클로헥산-1, 4-디아민 (253.51 mg, 2.22 mmol, 4.00 eq)의 혼합물을 마이크로웨이브 하의 130℃에서 2시간 동안 교반하였다. 상기 혼합물을 여과하고, 여과물을 농축시켰다. 잔류물을 prep-HPLC (HCl 조건)에 의해 정제하여 황색 고체로서 **A-60** (80.00 mg, 185.66 μmol, 33.5% 수율, 100% 순도, HCl)을 수득하였다.

[0483] LCMS: RT = 2.417 min, *m/z* 395.2 [M+H]<sup>+</sup>

[0484] <sup>1</sup>H NMR (MeOH, 400 MHz) δ 8.66 (s, 1H), 7.90 (s, 1H), 4.15 (s, 1H), 3.97 (s, 3H), 3.20 (s, 1H), 3.10 (s, 2H), 2.18 (s, 4H), 1.62 (s, 4H), 1.05 (s, 1H), 0.53 (s, 2H), 0.25 (s, 2H).

[0485] *N*-((1*R*,4*R*)-4-(1*H*-피라졸-1-일)시클로헥실)-5-클로로-4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1*H*-피라졸-4-일)피리미딘-2-아민 (A64)의 제조



[0486]

[0487] **단계 1:** DCM (20 mL) 중의 **64\_1** (2.00 g, 9.29 mmol, 1.00 eq) 용액에 0℃의 TEA (1.88 g, 18.58 mmol, 2.58 mL, 2.00 eq) 및 메탄설폰일 클로라이드 (1.06 g, 9.29 mmol, 719.03 μL, 1.00 eq)를 첨가하였다. 상기 혼합물을 20℃에서 2시간 동안 교반하였다. 상기 혼합물을 H<sub>2</sub>O (30 mL)로 희석하고 DCM (20 mL\*2)으로 추출하였다. 조합된 유기층을 건조하고 농축시켜 백색 고체로서 **64\_2** (2.50 g, 8.52 mmol, 91.7% 수율)를 수득하였다.

[0488] <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 4.88 (s, 1 H), 4.48 (s, 1 H), 3.52 (s, 1 H), 3.01 (s, 3H), 2.07-2.03 (m, 2H), 1.83-1.82 (m, 2H), 1.73-1.70(m, 2H), 1.61-1.55 (m, 7H), 1.448 (s, 9H).

[0489] **단계 2:** MeCN (7.00 mL) 중의 1*H*-피라졸 (195.25 mg, 2.87 mmol, 1.20 eq) 용액에 Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1.56 g, 4.78 mmol, 2.00 eq) 및 **64\_2** (700.00 mg, 2.39 mmol, 1.00 eq)를 첨가하였다. 상기 혼합물을 100℃에서 2시간 동안 교반하였다. 상기 혼합물을 H<sub>2</sub>O (20 mL)로 희석하고 EtOAc (10 mL\*3)로 추출하였다. 조합된 유기층을 염수 (20 mL)로 세척하고 농축시켰다. 잔류물을 pre-HPLC (기본 조건)에 의해 정제하여 황색 고체로서 **64\_3** (200.00 mg, 732.25 μmol, 30.6% 수율, 97.1% 순도)을 수득하였다.

[0490] MS:  $m/z$  RT = 0.888 min, 266.0 [M+H]<sup>+</sup>

[0491] **단계 3:** DCM (2 mL) 중의 **64\_3** (180.00 mg, 678.35  $\mu$ mol, 1.00 eq) 용액에 0℃의 TFA (400.00  $\mu$ L)를 첨가하였다. 상기 혼합물을 20℃에서 1시간 동안 교반하였다. 상기 혼합물을 H<sub>2</sub>O (30 mL)로 희석하고 DCM (10 mL\*2)으로 추출하였다. 수성층을 동결건조하여 무색 오일로서 **아민-64** (180.00 mg, 633.91  $\mu$ mol, 93.5% 수율, 98.3% 순도, TFA)를 수득하였다.

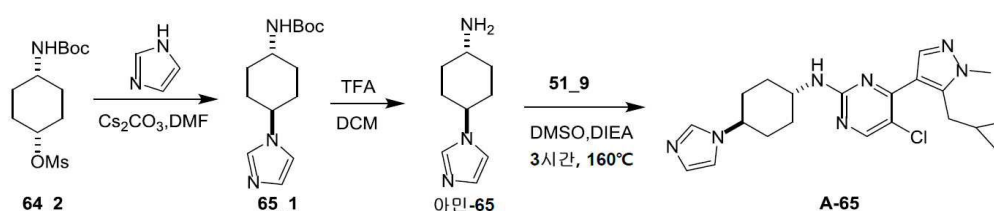
[0492] LCMS: RT = 0.272 min,  $m/z$  166.2 [M+H]<sup>+</sup>

[0493] **단계 4:** DMSO (1.5 mL) 중의 **51\_9** (100.00 mg, 353.16  $\mu$ mol, 1.00 eq) 용액에 **아민-64** (95.48 mg, 529.74  $\mu$ mol, 1.50 eq) 및 DIEA (182.57 mg, 1.41 mmol, 246.71  $\mu$ L, 4.00 eq)를 첨가하였다. 결과적으로 얻은 혼합물을 160℃에서 3시간 동안 교반하고, 여과하였으며 모 액체를 농축시켰다. 잔류물을 pre-HPLC (기본 조건) 및 이어서 prep-HPLC (HCl 조건)에 의해 정제하여 황색 고체로서 **A-64** (10.00 mg, 23.42  $\mu$ mol, 6.6% 수율, 100% 순도)를 수득하였다.

[0494] LCMS: RT = 1.981  $m/z$  412.2[M+H]<sup>+</sup>

[0495] <sup>1</sup>H NMR (MeOD, 400 MHz)  $\delta$  8.41-8.37 (m, 2 H), 7.83 (s, 1 H), 7.67 (s, 1 H), 6.39 (s, 1H), 4.36 (s, 1H), 4.12-4.08 (m, 1H), 3.95 (s, 3H), 3.25-3.23 (d,  $J$ =6.4Hz, 2H), 2.26-2.23 (m, 4H), 2.05-2.02(m, 2H), 1.99-1.96 (m, 2H), 1.73-1.67(m, 2H), 1.09 (s, 1H), 0.55-0.50 (m, 2H), 0.27-0.26 (m, 2H).

[0496] *N*-((1*R*,4*R*)-4-(1*H*-이미다졸-1-일)시클로헥실)-5-클로로-4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1*H*-피라졸-4-일)피리미딘-2-아민 (A-65)의 제조



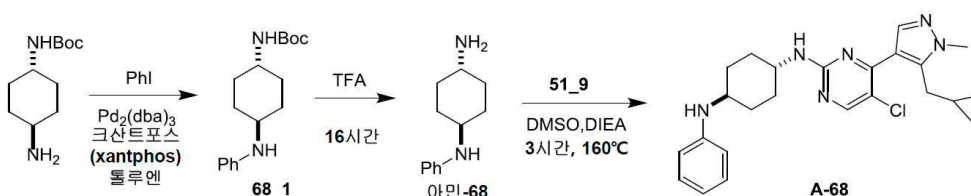
[0497]

[0498] 화합물 **A-64**의 합성에 대해 개시된 바와 유사한 방식으로 황색 고체로서 화합물 **A-65**를 합성하였다.

[0499] LCMS: RT = 1.461 min,  $m/z$  412.2 [M+H]<sup>+</sup>

[0500] <sup>1</sup>H NMR (MeOD, 400 MHz)  $\delta$  9.10 (s, 1 H), 8.42 (s, 1 H), 7.81 (s, 1 H), 7.62 (s, 1 H), 4.55-4.49 (m, 1H), 4.13 (s, 1H), 3.96 (s, 3H), 3.25-3.24 (d,  $J$ =6.4Hz, 2H), 2.36-2.28 (m, 4H), 2.08-1.98 (m, 2H), 1.80-1.74 (m, 2H), 1.09 (s, 1H), 0.53-0.51 (m, 2H), 0.27-0.26 (m, 2H).

[0501] *(1R,4R)*-*N*<sup>1</sup>-(5-클로로-4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1*H*-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)-*N*<sup>4</sup>-페닐시클로헥산-1,4-디아민 (A-68)의 제조



[0502]

[0503] **단계 1:** THF (15 mL) 중의 tert-부틸 ((1*R*,4*R*)-4-아미노시클로헥실)카바메이트 (500.00 mg, 2.33 mmol, 1.00 eq) 및 요오도벤젠 (713.01 mg, 3.49 mmol, 389.63  $\mu$ L, 1.50 eq) 용액에 *t*-BuOK (784.35 mg, 6.99 mmol, 3.00 eq) 및 루포스 인돌린(RuPhos Indoline) (100.00 mg)을 첨가하였다. 결과적으로 얻은 혼합물을 질소 하의 80℃에서 12시간 동안 교반하였다. 상기 혼합물을 여과하였으며, 모 액체를 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 (PE:EA=10:1~4:1)에 의해 정제하여 백색 고체로서 **68\_1** (300.00 mg, 869.39  $\mu$ mol, 37.3% 수율, 84.1% 순도)를 수득하였다.

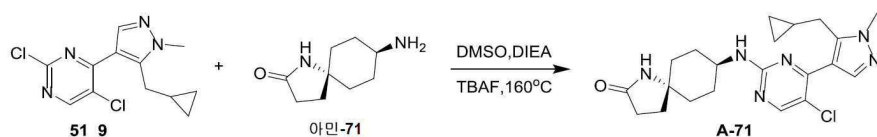
[0504] LCMS: RT = 1.024 min,  $m/z$  291.0  $[M+H]^+$

[0505] 단계 2 및 단계 3: 화합물 A-64의 합성에 대해 개시된 바와 유사한 방식으로 화합물 A-68을 황색 고체로서 합성하였다.

[0506] LCMS: RT = 1.194 min,  $m/z$  437.2  $[M+H]^+$

[0507]  $^1H$  NMR (MeOD, 400 MHz)  $\delta$  8.29 (s, 1 H), 8.03 (s, 1 H), 7.75-7.34 (m, 5 H), 3.86 (s, 3H), 3.05 (d,  $J=6.4$ Hz, 2H), 2.00-1.97 (m, 4H), 1.55 (s, 2H), 1.37-1.29 (m, 2H), 0.97 (s, 1H), 0.39 (s, 2H), 0.14 (s, 2H).

[0508] (5R,8R)-8-((5-클로로-4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)아미노)-1-아자스피로[4.5]데칸-2-온 (A-71)의 제조



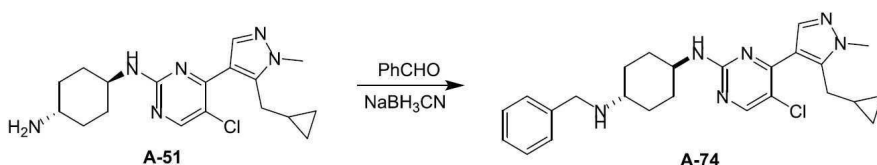
[0509]

[0510] DMSO (2.7 mL) 중의 아민-71 (180.00 mg, 879.34  $\mu$ mol, 1.00 eq, HCl) 및 51\_9 (248.99 mg, 879.34  $\mu$ mol, 1.00 eq) 용액에 DIEA (614.30  $\mu$ L, 3.52 mmol, 4.00 eq) 및 TBAF (1 M, 175.87  $\mu$ L, 0.20 eq)를 첨가하였다. 상기 혼합물을 160°C에서 3시간 동안 교반하였다. 상기 혼합물을 냉각 및 여과하였다. 고체를 실온의 MeOH (10 mL) 및 이어서 50°C의 EtOAc (3 mL)로 세척하여 백색 고체로서 A-71 (40.00 mg, 90.39  $\mu$ mol, 11.4% 수율, 93.7% 순도)을 수득하였다.

[0511] LCMS: RT = 2.836 min,  $m/z$  415.2  $[M+H]^+$

[0512]  $^1H$  NMR (DMSO, 400 MHz)  $\delta$  8.26 (s, 1 H), 8.00 (s, 1 H), 7.72 (s, 1 H), 7.20 (s, 1 H), 3.85 (s, 3H), 3.70-3.68 (m, 1H), 3.06 (d,  $J=6.4$ Hz, 2H), 2.19-2.15 (m, 2H), 1.86-1.80 (m, 5H), 1.64-1.60 (m, 3H), 1.49-1.41 (m, 5H), 0.97 (s, 1H), 0.40 (s, 2H), 0.13 (s, 2H).

[0513] (1R,4R)-N<sup>1</sup>-벤질-N<sup>4</sup>-(5-클로로-4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)시클로헥산-1,4-디아민 (A-74)의 제조



[0514]

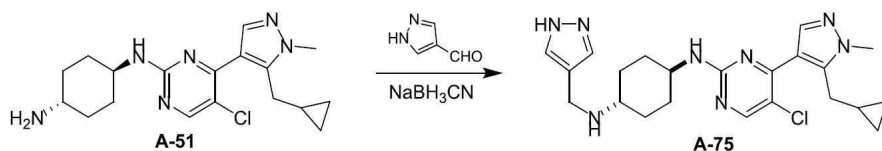
[0515] A-51 (200.00 mg, 554.20  $\mu$ mol, 1.00 eq) 및 벤즈알데하이드 (58.81 mg, 554.20  $\mu$ mol, 56.01  $\mu$ L, 1.00 eq) 용액에 AcOH (33.28 mg, 554.20  $\mu$ mol, 31.70  $\mu$ L, 1.00 eq) 및 NaBH<sub>3</sub>CN (69.65 mg, 1.11 mmol, 2.00 eq)을 첨가하였다. 상기 혼합물을 15°C에서 16시간 동안 교반하였다. 상기 혼합물을 수성 NaHCO<sub>3</sub> (1 mL)로 퀀칭시키고 농축시켰다. 잔류물을 prep-HPLC (칼럼: 페노메닉스 제미니(Phenomenex Gemini) 150\*25mm\*10 $\mu$ m; 유동상: [물 (0.05% 수산화 암모니아 v/v)-ACN];B%: 55%-85%,12분)에 의해 정제하여 분홍색 고체로서 A-74 (100.00 mg, 217.80  $\mu$ mol, 39.3% 수율, 98.2% 순도)를 수득하였다.

[0516] LCMS: RT = 2.74 min,  $m/z$  451.2  $[M+H]^+$

[0517]  $^1H$  NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$  8.20-8.13 (m, 2 H), 7.34-7.33 (m, 5 H), 4.87 (d,  $J=8.4$ Hz, 1H), 3.91 (s, 3H), 3.84 (s, 3H), 3.07-3.06 (m, 2H), 2.58-2.52 (m, 1H), 2.16-2.02 (m, 4H), 1.32-1.22 (m, 4H), 1.01-0.99 (m, 1H), 0.49-0.45 (m, 2H), 0.18-0.16 (m, 2H).

[0518] (1R,4R)-N<sup>1</sup>-((1H-피라졸-4-일)메틸)-N<sup>4</sup>-(5-클로로-4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)시클로헥산-1,4-디아민 (A-75)의 제조





[0519]

[0520]

**A-51** (200.00 mg, 554.20  $\mu\text{mol}$ , 1.00 eq) 및 1H-피라졸-4- 카르보알데히드 (53.25 mg, 554.20  $\mu\text{mol}$ , 1.00 eq) 용액에 AcOH (34.86  $\mu\text{L}$ , 609.62  $\mu\text{mol}$ , 1.10 eq) 및 NaBH<sub>3</sub>CN (69.65 mg, 1.11 mmol, 2.00 eq)을 첨가하였다. 상기 혼합물을 15℃에서 16시간 동안 교반하였다. 상기 혼합물을 수성 NaHCO<sub>3</sub> (1 mL)로 켄칭시키고 농축시켰다. 잔류물을 prep-HPLC (칼럼: 페노메닉스 제미니 150\*25mm\*10um; 유동상: [물 (0.05% 수산화 암모니아 v/v)-ACN]; B%: 39%-39%,12분)에 의해 정제하여 황색 고체로서 **A-75** (4.00 mg, 9.04  $\mu\text{mol}$ , 1.6% 수율, 99.7% 순도)를 수득하였다.

[0521]

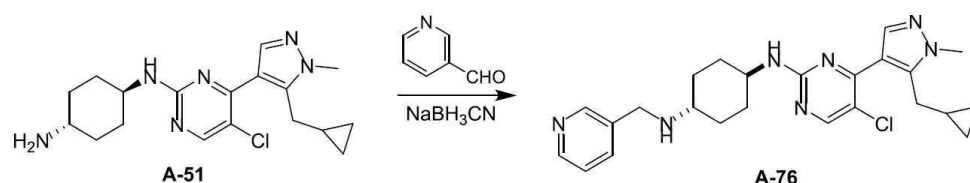
LCMS: RT = 2.95 min,  $m/z$  441.2 [M+H]<sup>+</sup>

[0522]

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$  8.21-8.12 (m, 2 H), 7.61 (s, 2 H), 4.90 (d,  $J$ =8.4Hz, 1H), 3.91 (s, 3H), 3.85-3.80 (m, 3H), 3.06-3.05 (m, 2H), 2.70 (m, 1H), 2.19-2.07 (m, 4H), 1.42-1.23 (m, 4H), 1.09 (m, 1H), 0.50-0.45 (m, 2H), 0.18-0.14 (m, 2H).

[0523]

(1R,4R)-N<sup>1</sup>-(5-클로로-4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일) 피리미딘-2-일)-N<sup>4</sup>-(피리딘-3-일메틸) 시클로헥산-1,4-디아민 (A-76)의 제조



[0524]

[0525]

**A-51** (200.00 mg, 554.20  $\mu\text{mol}$ , 1.00 eq) 및 피리딘-3-카르보알데히드 (59.36 mg, 554.20  $\mu\text{mol}$ , 52.07  $\mu\text{L}$ , 1.00 eq) 용액에 AcOH (33.28 mg, 554.20  $\mu\text{mol}$ , 31.70  $\mu\text{L}$ , 1.00 eq) 및 NaBH<sub>3</sub>CN (69.65 mg, 1.11 mmol, 2.00 eq)을 첨가하였다. 상기 혼합물을 15℃에서 16시간 동안 교반하였다. 상기 혼합물을 수성 NaHCO<sub>3</sub> (1 mL)로 켄칭시키고 농축시켰다. 잔류물을 prep-HPLC (칼럼: 페노메닉스 제미니 150\*25mm\*10um;유동상: [물 (0.05% 수산화 암모니아 v/v)-ACN];B%: 40%-58%,12분)에 의해 정제하여 황색 고체로서 **A-76**(100.00 mg, 219.09  $\mu\text{mol}$ , 39.5% 수율, 98.8% 순도)을 수득하였다.

[0526]

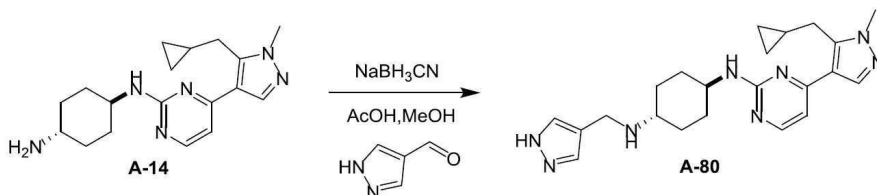
LCMS: RT = 2.381 min,  $m/z$  452.2 [M+H]<sup>+</sup>

[0527]

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$  8.58-8.51 (m, 2 H), 7.69 (d,  $J$ =8.0Hz, 1H), 7.27 (s, 1 H), 4.87 (d,  $J$ =8.0Hz, 1H), 3.91 (s, 3H), 3.85-3.81 (m, 3H), 3.07-3.06 (m, 2H), 2.56-2.51 (m, 1H), 2.16-2.01 (m, 4H), 1.30-1.22 (m, 4H), 1.09 (m, 1H), 0.50-0.46 (m, 2H), 0.19-0.16 (m, 2H).

[0528]

(1R, 4R)-N<sup>1</sup>-((1H-피라졸-4-일)메틸)-N<sup>4</sup>-(4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)시클로헥산-1,4-디아민 (A80)의 제조



[0529]

[0530]

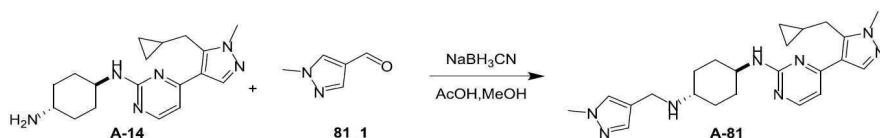
**A-14** (200.00 mg, 612.67  $\mu\text{mol}$ , 1.00 eq) 및 1H-피라졸-4-카르보알데히드 (58.87 mg, 612.67  $\mu\text{mol}$ , 1.00 eq) 용액에 AcOH (36.79 mg, 612.67  $\mu\text{mol}$ , 35.04  $\mu\text{L}$ , 1.00 eq) 및 NaBH<sub>3</sub>CN (77.00 mg, 1.23 mmol, 2.00 eq)을 첨가하였다. 상기 혼합물을 15℃에서 16시간 동안 교반하였다. 상기 혼합물을 수성 NaHCO<sub>3</sub> (1 mL)로 켄칭시키고

농축시켰다. 잔류물을 prep-HPLC (기본 조건)에 의해 정제하여 황색 고체로서 **A-80** (20.00 mg, 48.90  $\mu$ mol, 8% 수율, 99.4% 순도)을 수득하였다.

[0531] LCMS: RT = 2.418 min,  $m/z$  407.2  $[M+H]^+$

[0532]  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , 400 MHz)  $\delta$  8.17 (d,  $J=5.2$ Hz, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.58 (s, 1H), 6.71 (d,  $J=6.2$ Hz, 1H), 4.88 (d,  $J=7.6$ Hz, 1H), 3.89 (s, 4H), 3.81 (s, 2H), 3.21 (d,  $J=6.0$ Hz, 2H), 2.61 (s, 1H), 2.21-2.03 (m, 4H), 1.36-1.25 (m, 4H), 1.09 (s, 1H), 0.48-0.46 (m, 2H), 0.25-0.24 (m, 2H).

[0533] (1R,4R)-N<sup>1</sup>-(4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)-N<sup>4</sup>-((1-메틸-1H-피라졸-4-일)메틸)시클로헥산-1,4-디아민 (A81)의 제조



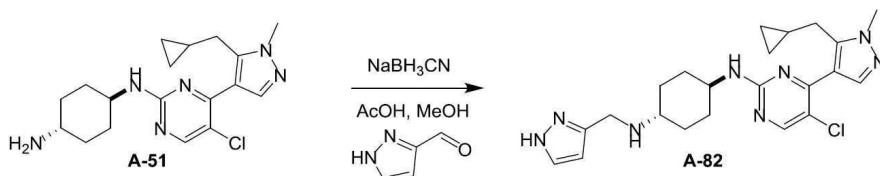
[0534]

[0535] **A-14** (200.00 mg, 612.67  $\mu$ mol, 1.00 eq) 및 화합물 **81\_1** (67.46 mg, 612.67  $\mu$ mol, 1.00 eq) 용액에 AcOH (36.79 mg, 612.67  $\mu$ mol, 35.04  $\mu$ L, 1.00 eq) 및  $NaBH_3CN$  (77.00 mg, 1.23 mmol, 2.00 eq)을 첨가하였다. 상기 혼합물을 15°C에서 16시간 동안 교반하였다. 상기 혼합물을 수성  $NaHCO_3$  (1 mL)로 퀀칭시키고 농축시켰다. 잔류물을 prep-HPLC (기본 조건)에 의해 정제하여 황색 고체로서 **A-81** (40.00 mg, 87.81  $\mu$ mol, 14.3% 수율, 92% 순도)을 수득하였다.

[0536] LCMS: RT = 2.469 min,  $m/z$  421.2  $[M+H]^+$

[0537]  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , 400 MHz)  $\delta$  8.17 (d,  $J=5.2$ Hz, 1H), 7.82 (s, 1H), 7.57 (s, 1H), 7.51 (s, 1H), 6.7 (d,  $J=6.2$ Hz, 1H), 4.84 (d,  $J=7.6$ Hz, 1H), 3.89-3.85 (m, 8H), 3.19 (d,  $J=6.0$ Hz, 2H), 2.73 (s, 1H), 2.25-2.12 (m, 4H), 1.54 (m, 1H), 1.29-1.23 (m, 2H), 1.07 (s, 1H), 0.50-0.46 (m, 2H), 0.26-0.24 (m, 2H).

[0538] (1R,4R)-N<sup>1</sup>-((1H-피라졸-3-일)메틸)-N<sup>4</sup>-(5-클로로-4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)시클로헥산-1,4-디아민 (A-82)의 제조



[0539]

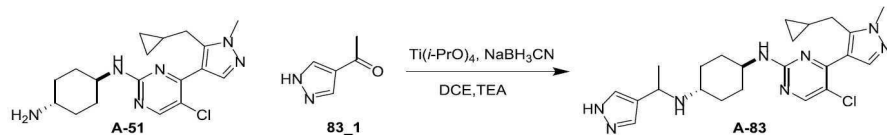
[0540] **A-51** (200.00 mg, 554.20  $\mu$ mol, 1.00 eq) 및 1H-피라졸-3-카르발데히드 (53.25 mg, 554.20  $\mu$ mol, 1.00 eq) 용액에 AcOH (31.7  $\mu$ L, 554.20  $\mu$ mol, 1.00 eq) 및  $NaBH_3CN$  (69.65 mg, 1.11 mmol, 2.00 eq)을 첨가하였다. 상기 혼합물을 15°C에서 16시간 동안 교반하였다. 상기 혼합물을 수성  $NaHCO_3$  (1 mL)로 퀀칭시키고 농축시켰다. 잔류물을 prep-HPLC (기본 조건)에 의해 정제하여 황색 고체로서 **A-82** (35.00 mg, 79.28  $\mu$ mol, 14.3% 수율, 99.9% 순도)를 수득하였다.

[0541] LCMS: RT = 2.867 min,  $m/z$  441.2  $[M+H]^+$

[0542]  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , 400 MHz)  $\delta$  8.20 (s, 1H), 8.13 (s, 1H), 7.53 (s, 1H), 6.22 (s, 1H), 4.91 (d,  $J=7.6$ Hz, 1H), 3.93 (s, 2H), 3.91 (s, 3H), 3.81 (s, 1H), 3.49 (s, 1H), 3.07 (d,  $J=5.6$ Hz, 2H), 2.56-2.53 (m, 1H), 2.16-2.02 (m, 4H), 1.33-1.32 (m, 4H), 1.05 (s, 1H), 0.48-0.45 (m, 2H), 0.18-0.16 (m, 2H).

[0543] (1R,4R)-N<sup>1</sup>-(1-(1H-피라졸-4-일)에틸)-N<sup>4</sup>-(5-클로로-4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)시클로헥산-1,4-디아민 (A83)의 제조





[0544]

[0545]

**A-51** (100.00 mg, 251.67  $\mu\text{mol}$ , 1.00 eq, HCl), 화합물 **83\_1** (27.71 mg, 251.67  $\mu\text{mol}$ , 1.00 eq) 용액에 TEA (503.34  $\mu\text{mol}$ , 69.77  $\mu\text{L}$ , 2.00 eq) 및  $\text{Ti}(\text{i-PrO})_4$  (149  $\mu\text{L}$ , 503.34  $\mu\text{mol}$ , 2.00 eq)를 첨가하였다. 상기 혼합물을 80°C에서 12시간 동안 교반하였다. 그 후에,  $\text{NaBH}_3\text{CN}$  (39.54 mg, 629.18  $\mu\text{mol}$ , 2.50 eq)을 첨가하였다. 결과적으로 얻은 혼합물을 15°C에서 4시간 동안 교반하였다. 상기 혼합물을 수성  $\text{NaHCO}_3$  (50 mL)로 퀀칭시키고 DCM (50 mL\*2)으로 추출하였다. 유기층을 농축시켰으며, prep-HPLC (기본 조건)에 의해 정제하여 황색 고체로서 **A-83** (20.00 mg, 43.96  $\mu\text{mol}$ , 17.5% 수율)을 수득하였다.

[0546]

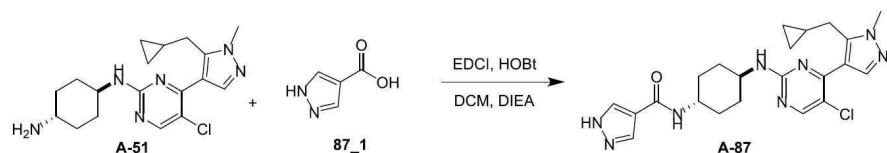
LCMS: RT = 1.897 m/z 455.2[M+H]<sup>+</sup>

[0547]

<sup>1</sup>H NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  8.19 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.52 (s, 2H), 4.90 (d,  $J=7.6\text{Hz}$ , 1H), 4.05-4.00 (m, 1H), 3.91 (s, 3H), 3.78-3.76 (m, 1H), 3.06 (d,  $J=5.6\text{Hz}$ , 2H), 2.49-2.46 (m, 1H), 2.11-2.08 (m, 4H), 1.40-1.38 (m, 3H), 1.25-1.19(m, 4H), 1.05 (s, 1H), 0.47-0.44 (m, 2H), 0.16-0.15 (m, 2H).

[0548]

*N-((1R,4R)-4-((5-클로로-4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)아미노)시클로헥실)-1H-피라졸-4-카복사미드 (A87)의 제조*



[0549]

[0550]

DCM (4 mL) 중의 화합물 **87\_1** (46.59 mg, 415.65  $\mu\text{mol}$ , 1.00 eq) 용액에 0°C의 DIEA (181.5  $\mu\text{L}$ , 1.04 mmol, 2.50 eq), EDCI (95.62 mg, 498.78  $\mu\text{mol}$ , 1.20 eq) 및 HOBt (11.23 mg, 83.13  $\mu\text{mol}$ , 0.20 eq)를 첨가하였다. 상기 반응 혼합물을 0°C에서 0.5시간 동안 교반하였다. DCM (4.5 mL) 중의 **A-51** (150.00 mg, 415.65  $\mu\text{mol}$ , 1.00 eq) 용액을 첨가하였다. 결과적으로 얻은 혼합물을 20°C에서 16시간 동안 교반하였다. 상기 혼합물을  $\text{H}_2\text{O}$  (50 mL)로 희석하고 DCM (40 mL\*3)으로 추출하였다. 유기층을 농축시켰으며, prep-HPLC (HCl 조건)에 의해 정제하여 황색 고체로서 **A-87** (80.00 mg, 160.61  $\mu\text{mol}$ , 38.6% 수율, 98.6% 순도, HCl)을 수득하였다.

[0551]

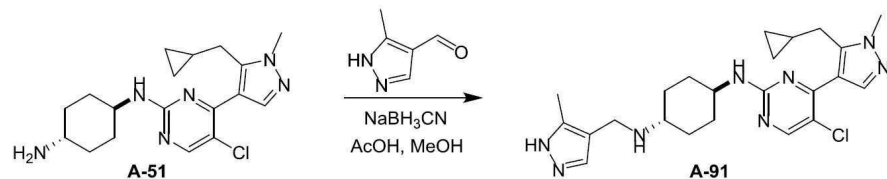
LCMS: RT = 2.391 m/z 455.2[M+H]<sup>+</sup>

[0552]

<sup>1</sup>H NMR (MeOD, 400 MHz)  $\delta$  8.48 (s, 1H), 8.39 (s, 1H), 8.16 (s, 2H), 4.04 (s, 1H), 3.96 (s, 3H), 3.93-3.90 (m, 1H), 3.24 (d,  $J=6.4\text{Hz}$ , 2H), 2.18-2.04 (m, 4H), 1.67-1.53(m, 4H), 1.18 (s, 1H), 0.57-0.55 (m, 2H), 0.30-0.29 (m, 2H).

[0553]

*(1R,4R)-N<sup>1</sup>-(5-클로로-4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)-N<sup>4</sup>-(5-메틸-1H-피라졸-4-일)메틸)시클로헥산-1,4-디아민 (A-91)의 제조*



[0554]

[0555]

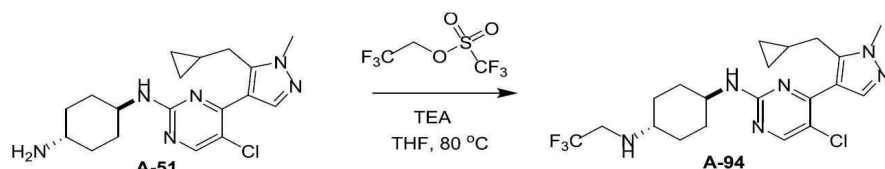
MeOH (1.5 mL) 중의 **A-51** (150.00 mg, 415.65  $\mu\text{mol}$ , 1.00 eq) 및 5-메틸-1H-피라졸-4-카르보알데히드 (54.92 mg, 498.78  $\mu\text{mol}$ , 1.20 eq) 용액에 AcOH (23.77  $\mu\text{L}$ , 415.65  $\mu\text{mol}$ , 1.00 eq) 및  $\text{NaBH}_3\text{CN}$  (78.36 mg, 1.25 mmol, 3.00 eq)을 첨가하였다. 상기 혼합물을 15°C에서 16시간 동안 교반하였다. 상기 혼합물을 수성  $\text{NaHCO}_3$

(10 mL)로 켄칭시키고 EA (20 mL\*2)로 추출하였다. 조합된 유기층을 농축시켰으며, prep-HPLC (HCl 조건)로 정제하여 백색 고체로서 **A-91** (20.00 mg, 36.22  $\mu$ mol, 8.7% 수율, 89% 순도, HCl)을 수득하였다.

[0556] LCMS: RT = 2.425  $m/z$  455.2[M+H]<sup>+</sup>

[0557] <sup>1</sup>H NMR (MeOD, 400 MHz)  $\delta$  8.44-8.41 (m, 2H), 8.23 (s, 1H), 4.26 (s, 2H), 4.13-4.06 (m, 1H), 3.95 (s, 3H), 3.24 (d,  $J=6.4$ Hz, 2H), 2.51 (s, 3H), 2.40-2.24 (m, 4H), 1.76-1.61 (m, 4H), 1.09 (s, 1H), 0.54-0.53 (m, 2H), 0.28-0.27 (m, 2H).

[0558] (1R,4R)-N<sup>1</sup>-(5-클로로-4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)-N<sup>4</sup>-(2,2,2-트리플루오로에틸)시클로헥산-1,4-디아민 (A94)의 제조



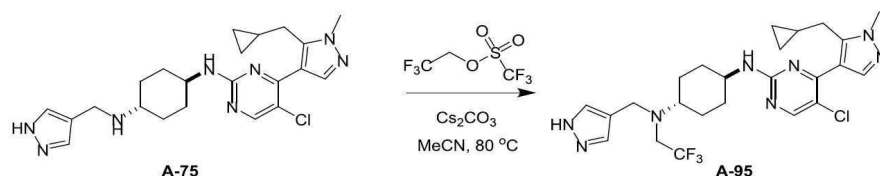
[0559]

[0560] THF (4.5 mL) 중의 A-51 (150.00 mg, 415.65  $\mu$ mol, 1.00 eq) 용액에 TEA (144.04  $\mu$ L, 1.04 mmol, 2.50 eq) 및 2,2,2-트리플루오로에틸 트리플루오로메탄설포네이트 (115.77 mg, 498.78  $\mu$ mol, 1.20 eq)를 첨가하였다. 상기 혼합물을 50°C에서 16시간 동안 교반하였다. 상기 혼합물을 농축시켰으며, HPLC (HCl 조건)에 의해 정제하여 황색 고체로서 **A-94** (80.00 mg, 163.38  $\mu$ mol, 39.3% 수율, 97.9% 순도, HCl)를 수득하였다.

[0561] LCMS: RT = 2.137 min,  $m/z$  443.2 [M+H]<sup>+</sup>

[0562] <sup>1</sup>H NMR (MeOD, 400 MHz)  $\delta$  8.45 (m, 2H), 4.15-4.09 (m, 2H), 4.09 (s, 1H), 3.95 (s, 3H), 3.39-3.36 (m, 1H), 3.22-3.21 (m, 2H), 2.33-2.25 (m, 4H), 1.71-1.56 (m, 4H), 1.09 (s, 1H), 0.54-0.52 (m, 2H), 0.28-0.27 (m, 2H).

[0563] (1R,4R)-N1-((1H-피라졸-4-일)메틸)-N4-(5-클로로-4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)-N1-(2,2,2-트리플루오로에틸)시클로헥산-1,4-디아민 (A-95)의 제조



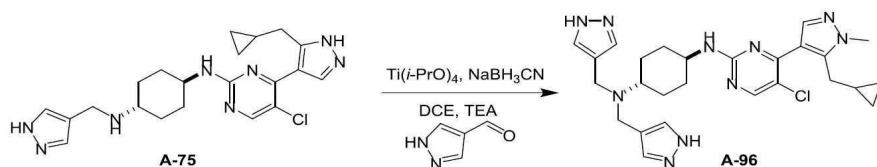
[0564]

[0565] MeCN (4.5 mL) 중의 **A-75** (150.00 mg, 340.16  $\mu$ mol, 1.00 eq) 용액에 Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (221.66 mg, 680.32  $\mu$ mol, 2.00 eq) 및 2,2,2-트리플루오로에틸 트리플루오로메탄설포네이트 (118.43 mg, 510.24  $\mu$ mol, 1.50 eq)를 첨가하였다. 상기 혼합물을 70°C에서 16시간 동안 교반하였다. 상기 혼합물을 여과하고; 여과물을 농축시켰으며, prep-HPLC (HCl 조건)에 의해 정제하여 백색 고체로서 **A-95** (20.00 mg, 35.7  $\mu$ mol, 10.5% 수율, 100% 순도, HCl)를 수득하였다.

[0566] LCMS: RT = 2.285  $m/z$  523.2[M+H]<sup>+</sup>

[0567] <sup>1</sup>H NMR (MeOD, 400 MHz)  $\delta$  8.41-8.39 (m, 2H), 8.02 (s, 1H), 7.76 (s, 1H), 5.03-4.97 (m, 2H), 4.23 (s, 2H), 4.12-4.04 (m, 1H), 3.95 (s, 3H), 3.21 (d,  $J=6.4$ Hz, 3H), 2.34-2.23 (m, 4H), 1.65-1.53 (m, 4H), 1.09 (s, 1H), 0.54-0.52 (m, 2H), 0.27-0.26 (m, 2H).

[0568] (1R,4R)-N<sup>1</sup>,N<sup>1</sup>-비스((1H-피라졸-4-일)메틸)-N<sup>4</sup>-(5-클로로-4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)시클로헥산-1,4-디아민 (A-96)의 제조



[0569]

[0570]

**A-75** (50.00 mg, 113.4  $\mu\text{mol}$ , 1.00 eq) 및 화합물 1H-피라졸-4-카르보알데히드 (32.69 mg, 340.17  $\mu\text{mol}$ , 3.00 eq) 용액에 TEA (31.44  $\mu\text{L}$ , 226.78  $\mu\text{mol}$ , 2.00 eq) 및  $\text{Ti}(\text{O}i\text{-Pr})_4$  (67.1  $\mu\text{L}$ , 226.78  $\mu\text{mol}$ , 2.00 eq)를 첨가하였다. 상기 혼합물을 80℃에서 12시간 동안 교반하였다.  $\text{NaBH}_3\text{CN}$  (21.38 mg, 340.17  $\mu\text{mol}$ , 3.00 eq)을 첨가하였으며, 결과적으로 얻은 혼합물을 15℃에서 4시간 동안 교반하였다. 상기 반응물을 수성  $\text{NaHCO}_3$  (1 mL)로 켄칭시키고 여과하였다. 여과물을 prep-HPLC (TFA 및 이어서 기본 조건)에 의해 정제하여 백색 고체로서 **A-96** (7.00 mg, 13.10  $\mu\text{mol}$ , 11.6% 수율, 97.5% 순도)을 수득하였다.

[0571]

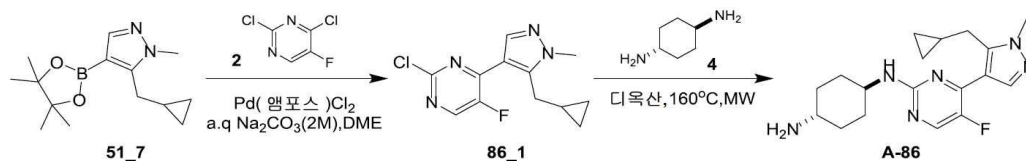
LCMS: RT = 2.382 m/z 521.3[M+H]<sup>+</sup>

[0572]

<sup>1</sup>H NMR (MeOD, 400 MHz)  $\delta$  8.23 (m, 2H), 8.03 (s, 1H), 7.78 (s, 4H), 4.47-4.29 (m, 4H), 3.91-3.87 (m, 4H), 3.12 (d,  $J=6.4\text{Hz}$ , 2H), 2.27-2.22 (m, 4H), 1.94-1.85 (m, 2H), 1.46-1.36 (m, 2H), 1.01-1.00 (m, 1H), 0.45-0.44 (m, 2H), 0.14-0.13 (m, 2H).

[0573]

(1R,4R)-N<sup>1</sup>-(4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)-5-플루오로피리미딘-2-일)시클로헥산-1,4-디아민 (A-86)의 제조



[0574]

[0575]

**단계 1:** DME (16 mL) 중의 화합물 **51\_7** (800 mg, 3.05 mmol, 1.00 eq) 용액에 화합물 **2** (509.54 mg, 3.05 mmol, 1.00 eq),  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (2 M, 4.6 mL, 3.00 eq) 및 4-tert-부틸포스파닐-N,N-디메틸-아닐린;디클로로팔라듐 (108.04 mg, 152.50  $\mu\text{mol}$ , 108  $\mu\text{L}$ , 0.05 eq)을 질소하에서 첨가하였다. 결과적으로 얻은 혼합물을 질소 하의 85℃에서 2시간 동안 교반하였다. 상기 혼합물을  $\text{H}_2\text{O}$  (50 mL)로 희석하고 EA (50 mL)로 추출하였다. 유기층을 농축시켜 황색 오일로서 화합물 **86\_1** (1.20 g, 미정제)을 수득하였다.

[0576]

LCMS: RT = 1.819 min, m/z 267.1 [M+H]<sup>+</sup>

[0577]

**단계 2:** 디옥산 (16 mL) 중의 화합물 **86\_1** (1.10 g, 4.12 mmol, 1.00 eq) 및 화합물 **4** (1.88 g, 16.48 mmol, 4.00 eq)의 혼합물을 마이크로웨이브 하의 130℃에서 8시간 동안 교반하였다. 상기 혼합물을 여과 및 농축시켰다. 잔류물을 pre-HPLC (HCl 조건)에 의해 정제하여 황색 고체로서 **A-86** (1.30 g, 미정제)을 수득하였다. **A-86** (300 mg)을 prep-HPLC (HCl 조건)에 의해 다시 정제하여 황색 고체로서 **A-86** (20.00 mg, 52.51  $\mu\text{mol}$ , 12.1% 수율, 100% 순도, HCl)을 수득하였다.

[0578]

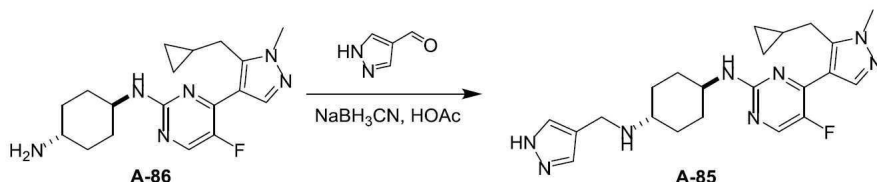
LCMS: RT = 2.321 min, m/z 345.2 [M+H]<sup>+</sup>

[0579]

<sup>1</sup>H NMR (MeOD, 400 MHz)  $\delta$  8.37-8.36 (m, 1 H), 8.23-8.22 (m, 1 H), 4.07-4.03 (m, 1H), 3.96 (s, 3H), 3.21 (d,  $J=6.4\text{Hz}$ , 2H), 2.24-2.18 (m, 4H), 1.68-1.57 (m, 2H), 1.19 (s, 1H), 0.57-0.55 (m, 2H), 0.38-0.34 (m, 2H).

[0580]

(1R,4R)-N<sup>1</sup>-((1H-피라졸-4-일)메틸)-N<sup>4</sup>-(4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)-5-플루오로피리미딘-2-일)시클로헥산-1,4-디아민 (A-85)의 제조



[0581]

[0582]

MeOH (3 mL) 중의 **A-86** (300.00 mg, 783.90  $\mu$ mol, 1.00 eq) 및 1H-피라졸-4-카르보알데히드 (82.86 mg, 862.29  $\mu$ mol, 1.10 eq) 용액에 AcOH (49.31  $\mu$ L, 862.29  $\mu$ mol, 1.10 eq) 및 NaBH<sub>3</sub>CN (98.52 mg, 1.57 mmol, 2.00 eq)을 첨가하였다. 상기 혼합물을 15℃에서 16시간 동안 교반하였다. 상기 혼합물을 수성 NaHCO<sub>3</sub> (1 mL)로 켄칭시키고 농축시켰다. 잔류 생성물을 prep-HPLC (기본 조건)에 의해 정제하여 황색 고체로서 **A-85** (50.00 mg, 111.53  $\mu$ mol, 14.2% 수율, 94.7% 순도)를 수득하였다.

[0583]

LCMS: RT = 2.472 min,  $m/z$  425.3 [M+H]<sup>+</sup>

[0584]

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$  8.10-8.09 (m, 1 H), 8.02-8.01 (m, 1 H), 7.60 (s, 1H), 4.80 (d,  $J$ =8.4Hz, 1H), 3.91 (s, 3H), 3.84 (m, 3H), 3.22-3.21 (m, 2H), 2.68 (s, 1H), 2.21-2.06 (m, 4H), 1.41-1.35 (m, 2H), 1.30-1.24 (m, 3H), 1.10-1.09 (m, 1H), 0.49-0.45 (m, 2H), 0.24-0.22 (m, 2H).

[0585]

생물학적 실험 절차

[0586]

**전형적 CKI  $\alpha$  억제 활성을 갖는 화합물에 대한 RKO 세포 중의 1차 스크리닝**( $\beta$ -카테닌 및 p53 안정화 및 히스톤 H2AX 인산화; Elyada et al, Nature 2011 Feb 17; 470(7334):409-13; Pribluda et al, Cancer Cell 2013 Aug12; 24(2):242-56 참조). RKO 결장 세포를 10  $\mu$ M의 각각의 화합물과 함께 16시간 동안 37℃에서 배양하였다. 세포를 PBS로 세척하고 세포 펠릿(pellet)을 프로테아제 억제제 콕테일(cocktail) (1/200; 칼바이 오켄(Calbiochem)) 및 포스파타아제 억제제(20mM p-니트로페닐 포스페이트(nitrophenyl phosphate) (PNPP), 20mM  $\beta$ -글리세로포스페이트 및 300nM 오카다산)를 함유한 빙냉(ice cold) 단백질 용균 버퍼와 함께 배양하였다. 표준 기법의 수단에 의해 웨스턴 블롯 분석을 수행하였다. 블롯을  $\beta$ -카테닌(1/2,500; BD 트랜스덕 셴(Transduction)), p53 (DO-1&1801 하이브리도마 믹스; 각각으로부터의 상청액의 1:20의 희석액), CKI  $\alpha$  (C-19; 1/1,000; 산타 크루즈 바이오테크놀로지) 및 포스포-히스톤H2AX (S139; 1/1,000; 밀리포어)를 검출하는 항체와 함께 배양하였다. 2차 항체는 HRP-연결 염소 항-마우스, 염소 항-토끼 및 토끼 항-염소 항체(모두 1/10,000; 잭슨)였다. 블롯은 ECL (GE 헬스케어(Healthcare))을 사용하여 전개시켰다.

[0587]

**최고 활성 화합물의 용량 반응 에세이(assay)**. 활성 화합물을 용량-반응 실험으로 더 분석하였다(도 1a 및 1b). 1차 스크리닝과 유사하게, RKO 세포를 하향하는 농도의 각각의 활성 화합물과 함께 16시간 동안 37℃에서 배양하였다. 세포 추출 단리 및 웨스턴 블롯 분석은 1차 스크리닝과 유사하였다.

[0588]

**CML 아세포 급증 마우스 모델의 생성 및 이 모델에서의 억제제 연구**. BCR-ABL-유도성 만성 골수성 백혈병(CML) 모델을 생성하기 위해, 10주령 야생형 마우스로부터 골수(BM) 세포를 추출하였으며, cKit 발현 세포(이지셉(EasySep) #18757)에 대해 농축시키고, 15% FCS, L-글루타민, Pen/Strep (바이올로지컬 인더스트리, 이스라엘(Biological Industries, Israel)) 및 줄기 세포 인자(stem cell factor)(SCF), IL-3, IL-6 및 TPO (페프로테 크(Peprotech))가 보충된 RPMI 성장 배지 중 37℃에서 밤새 배양하였다. 그 후에, 배양액을 p210BCR-ABL-IRES-GFP 레트로바이러스 작제물(construct) 함유 상청액 배지로 4시간 동안 감염시켰으며, 이어서 성장 배지를 첨가하고 감염된 세포를 37℃에서 추가 24시간 동안 배양하였다. 그 후에, 배양액을 준치사량으로 조사된(sublethally irradiated)(500 rad) 마우스에 I.V.로 주사하였다. 접종된 마우스의 말초 혈액에서 GFP-발현 세포의 빠르고 꾸준한 증가(FACS에 의한) 및 백혈구와 미성숙 세포 수 증가(라이트-김사(Wright-Giemsa) 염색 혈액도말표본에 의해 검출됨)가 관찰되면, 마우스를 희생시키고 이들의 BM 세포를 새로운 준치사량으로 조사된 WT 숙주로 전달시켰다; 각각의 상기 전달을 질환 생성으로 지칭하였다. 4차 전달까지, 숙주는 더 이상 질환 전달 전에 준치사량으로 조사되지 않았다. 아세포 급증 생성은 말초 혈액(PB)에서 백혈구(WBC)의 30%를 초과하는 아 세포의 높은 비정상적 수, 및 상기 전달 사이의 짧은 시간 간격에 의해 용이하게 검출 가능하였다. CKI 억제제 연구는, 숙주 조사 없이, 짧은 생성 기간(최대 12일)으로 PB 아세포가 용이하게 검출 가능한 후기 발생 질환에 대해 수행하였다. 마우스를 약액질(cachexia), 체중 감소, 무기력, 및 러프 코트(ruff coat)에 대해 매일 모니터링하였으며, 빈사 상태의 마우스를 빈사 상태에서 희생시켰다.

- [0589] CML에 대한 CKI  $\alpha$  억제 효과를 평가하기 위해, 선택적 CKI  $\alpha$  억제제(A14)를 BM 이식(transplantation)(BMT) 24 시간 이후로부터 시작하여 10 mg/kg의 용량으로 1일 1회 경구 위관영양(gavage)에 의해 투여하였다(도 3a). 억제제를 0.1% 트윈(Tween) 80 및 0.2% 폴리에틸렌 글리콜(비히클)과 함께 1% 메틸 셀룰로오스에 용해시켰다. 대조군 마우스를 비히클만으로 처리하였다.
- [0590] **생체의 억제제 효과(도 2a 및 13a-e).** AML (13a-e) 또는 CML 아세포 급증 (2a) 보유 마우스로부터 갓 단리된 BM을 15% FCS, L-글루타민, Pen/Strep, 헤페스(Hepes), 피루브산 나트륨 및 비-필수 아미노산 (바이올로지컬 인더스트리, 이스라엘)이 보충된 RPMI에서 성장시켰다. CKI 억제제(A14, A51, A75 또는 A86)를 DMSO에 용해시키고, 지시된 농도로 조직 배양 배지에 첨가하였다; 대조군 배양액을 DMSO만으로 처리하였다. 처리 몇 시간 후에(각각의 실험에서 지시된 바와 같음), 세포를 수집하고, 카메라 및 표준 도립 광학 현미경을 사용하여 수작업으로 계수하였다. 사멸된 세포는 트리판 블루(Trypan Blue)(시그마(Sigma))를 사용하여 제외시켰다. 아넥신 V-PE (MBL), 7AAD (톤보(Tonbo)) 및 PD-L1 (바이올레전트(BioLegend)) 염색을 제조사의 권고에 따라 FACS에 의해 평가하였다.
- [0591] **급성 골수성 백혈병(AML)의 마우스 모델 생성 (도 6) 및 CKI  $\alpha$  억제제 A14 (도 7, 8 및 9) 또는 A51 (도 11 및 12)을 이용한 처리.** MLL-AF9 급성 골수성 백혈병(AML) 모델을 생성하기 위해, 10주령 야생형 마우스로부터 골수(BM) 세포를 추출하였으며, cKit 발현 세포(이지셉(EasySep) #18757)에 대해 농축시키고, 15% FCS, L-글루타민, Pen/Strep (바이올로지컬 인더스트리, 이스라엘) 및 줄기 세포 인자(SCF), IL-3, IL-6 및 TPO (페프로테크)가 보충된 RPMI에서 밤새 배양하였다. 배양액을 MSCV-MLL-AF9-IRES-GFP 레트로바이러스 작제물 함유 상청액 배지로 4시간 동안 감염시켰으며, 이어서 성장 배지를 첨가하고 감염된 세포를 37°C에서 추가 24시간 동안 배양하였다. 그 후에, 배양액을 준치사량으로 조사된(500 rad) 마우스에 I.V.로 주사하였다. 마우스 말초 혈액에서 GFP 발현 세포의 검출 가능하고 꾸준한 증가(FACS 분석에 의해 점검됨) 및 백혈구 수와 미성숙 세포에서의 증가(라이트-검사 염색 혈액도말표본에 의해 검출됨)가 관찰되면, 마우스를 희생시키고 이들의 BM을 준치사량으로 조사된 WT 숙주로 전달시켰다(1차 BMT). AML 질환 발생시, 마우스를 희생시켰으며, 50,000개의 BM 세포를 WT 숙주 마우스로 이식하였다(2차 BMT). GFP 발현 세포를 말초 혈액에서 모니터링하였으며, PB에서  $>10\%$  GFP<sup>+</sup> 검출시(BMT 이후 11일차), 마우스를 A14 억제제로 처리하였다(도 7a). A14를 3일 동안 20mg/kg의 용량에 이어, 6일 동안의 10mg/kg/일 만큼으로 1일 1회 경구 위관영양에 의해 투여하였다. 억제제를 0.1% 트윈(Tween) 80 및 0.2% 폴리에틸렌 글리콜(비히클)과 함께 1% 메틸 셀룰로오스에 용해시켰다. 대조군 마우스를 비히클만으로 처리하였다. 마우스를 약액질, 무기력, 및 러프 코트에 대해 매일 모니터링하였으며, 빈사 상태의 마우스를 희생시켰다. 단일 용량 실험(도 11a) 동안, A51을 20mg/kg의 단일 용량으로 경구 위관영양에 의해 투여하였으며, 마우스를 처리 16시간 후에 희생시켰다.
- [0592] **FACS 분석.** 모든 에세이를 BD의 장비: FACS 칼리버(caliber), FACS ARIA 분류기 또는 LSR II 기계 상에서 수행하였다. 면역염색을 위해, 세포를 5  $\mu$ M EDTA와 함께 1% BSA/PBS에 현탁하였다. 그 후에, 세포를 아넥신 V PE 세포사멸 검출 키트 (이바이오사이언스(eBioscience)), 7-AAD (톤보 바이오사이언스) 및 PE 항-마우스 CD274 (B7-H1, PD-L1) 항체 (클론 10F.9G2, 바이올레전트)를 사용함으로써 분석하였으며; 에세이는 제조사의 지시에 따라 수행하였다. 염색 전에 Fc 수용체의 차단을 위해 CD16 및 CD32 (밀테니 바이오텍(Miltenyi Biotec))에 특이적인 단일클론성 항체를 사용하였다.
- [0593] **전혈구 계산.** 말초 정맥 혈액은 표준 기법을 사용하여 마우스 안면 정맥으로부터 얻고 제조사의 지시에 따라 자동 혈액 분석기 BC-2800 (민드레이(Mindray))를 사용하여 분석하였다.
- [0594] **표 1은 Wnt 경로 활성화의 지표로서 p53의 활성화 및 DNA 손상 반응(DDR) 및  $\beta$ -카테닌 안정화에서 본 발명의 화합물에 대한 양적 정보를 제시한다.** p53 활성화는 몇몇의 웨스턴 블롯 에세이(웨스턴 블롯 실시예는 도 1a 및 1b에 도시되어 있다)에서 단백질 안정화의 정도에 따라 결정되었다. 예를 들어, A43은 2  $\mu$ M에서 활성 없이 6  $\mu$ M에서 비-처리 대조군에 비해 유의미하게 p53을 안정화시켰으며(도 1a, 하부 우측 패널), 이에 따라 p53 안정화에 대해 +의 평균 값을 받았다. 이와 반대로, A35는 0.2  $\mu$ M에서 p53을 안정화시키기 시작하여, 1  $\mu$ M에서 최대 안정화시켰고(도 1a, 상부 우측 패널), 이에 따라 p53 안정화에 대해 +++의 평균 값을 받았다. A19-4는 p53을 안정화시키지 않았을뿐 아니라  $\gamma$ H2AX(DNA 손상 반응 [DDR] 지표)를 유도하지 않았으나, 최고  $\beta$ -카테닌 안정화 화합물과 유사하게 2  $\mu$ M에서  $\beta$ -카테닌을 안정화시켰으며(도 1a, 하부 좌측 패널), 이에 따라  $\beta$ -카테닌/Wnt 활성화에 대해 +++의 값을 받았다.



표 1

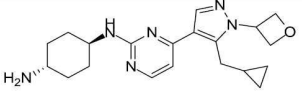
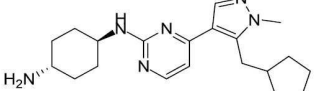
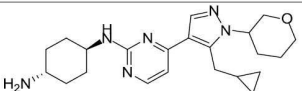
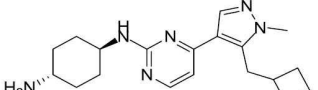
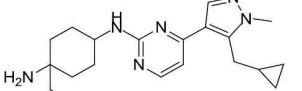
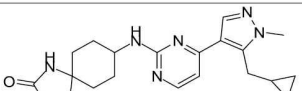
표 1: 본 발명의 화합물의 p53, DNA 손상 반응 및 Wnt/ $\beta$ -카테닌 활성화

화합물	구조	명칭	질량 (M+H <sup>+</sup> )	DDR & p53 활성	$\beta$ -카테닌 활성
A14		(1R,4R)-N <sup>1</sup> -(4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)시클로헥산-1,4-디아민	C <sub>18</sub> H <sub>27</sub> N <sub>6</sub> 에 대한 계산치: 327.2; 실측치: 327.2	+++	++
A29-1		N-((1R,4R)-4-(4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)아미노)시클로헥실-2-메톡시아세트아미드	C <sub>21</sub> H <sub>31</sub> N <sub>6</sub> O <sub>2</sub> 에 대한 계산치: 399.2; 실측치: 399.2	++	없음
A27		(1R,4R)-N <sup>1</sup> -(4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)-N <sup>4</sup> -메틸시클로헥산-1,4-디아민	C <sub>19</sub> H <sub>29</sub> N <sub>6</sub> 에 대한 계산치: 341.2; 실측치: 341.2	++	++
A28		(1R,4R)-N <sup>1</sup> -(4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)-N <sup>4</sup> ,N <sup>4</sup> -디메틸시클로헥산-1,4-디아민	C <sub>20</sub> H <sub>31</sub> N <sub>6</sub> 에 대한 계산치: 355.3; 실측치: 355.2	++	+++
A36		(1R,4R)-N <sup>1</sup> -(4-(1-시클로펜틸-5-(시클로프로필메틸)-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)시클로헥산-1,4-디아민	C <sub>22</sub> H <sub>33</sub> N <sub>6</sub> 에 대한 계산치: 381.3; 실측치: 381.4	++	없음

[0595]

A39		(1R,4R)-N <sup>1</sup> -(4-(5-(시클로프로필메틸)-1-(테트라히드로-2H-피란-4-일)-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)시클로헥산-1,4-디아민	C <sub>22</sub> H <sub>33</sub> N <sub>6</sub> O에 대한 계산치: 397.3; 실측치: 397.4	++	없음
A29		(1R,4R)-N <sup>1</sup> -(4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)-N <sup>4</sup> -(2-메톡시시클로헥산-1,4-디아민	C <sub>21</sub> H <sub>33</sub> N <sub>6</sub> O에 대한 계산치: 385.3; 실측치: 385.2	++	없음
A19-4		8-((4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)아미노)-1,3-디아자스피로[4.5]데칸-2,4-디온	C <sub>20</sub> H <sub>26</sub> N <sub>7</sub> O <sub>2</sub> 에 대한 계산치: 396.2; 실측치: 396.2	없음	+++
A35		(1R,4R)-N1-(4-(5-(시클로프로필메틸)-1-이소프로필-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)시클로헥산-1,4-디아민	C <sub>20</sub> H <sub>31</sub> N <sub>6</sub> 에 대한 계산치: 355.3; 실측치: 355.3	+++	++
A41		(1r,4S)-N1-(4-(5-(시클로프로필메틸)-1-((S)-테트라히드로푸란-3-일)-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)시클로헥산-1,4-디아민	C <sub>21</sub> H <sub>31</sub> N <sub>6</sub> O에 대한 계산치: 383.3; 실측치: 383.3	++	없음
A42		(1R,4R)-N1-(4-(5-(시클로프로필메틸)-1-(R)-테트라히드로	C <sub>21</sub> H <sub>31</sub> N <sub>6</sub> O에 대한 계산치: 383.3; 실측치:	++	없음

[0596]

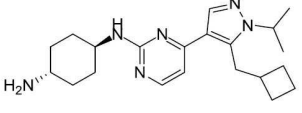
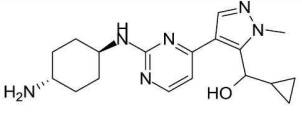
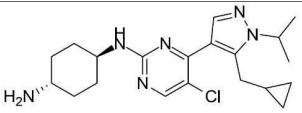
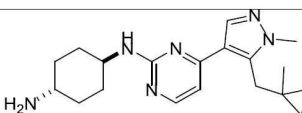
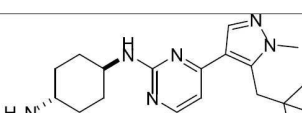
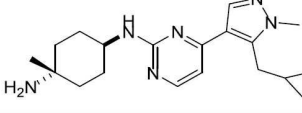
		푸란-3-일)-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)시클로헥산-1,4-디아민	383.2		
A43		(1R,4R)-N1-(4-(5-(시클로프로필메틸)-1-(옥세탄-3-일)-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)시클로헥산-1,4-디아민	C <sub>20</sub> H <sub>29</sub> N <sub>6</sub> O에 대한 계산치: 369.2; 실측치: 369.3	+	없음
A46		(1R,4R)-N1-(4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)시클로헥산-1,4-디아민	C <sub>20</sub> H <sub>31</sub> N <sub>6</sub> 에 대한 계산치: 355.3; 실측치: 355.2	++	없음
A38		(1R,4R)-N1-(4-(5-(시클로프로필메틸)-1-(테트라하드로-2H-피란-3-일)-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)시클로헥산-1,4-디아민	에 대한 계산치 C <sub>22</sub> H <sub>33</sub> N <sub>6</sub> O: 397.3; 실측치: 397.3	+	+
A45		(1R,4R)-N1-(4-(5-(시클로부틸메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)시클로헥산-1,4-디아민	C <sub>19</sub> H <sub>29</sub> N <sub>6</sub> 에 대한 계산치: 341.2; 실측치: 341.3	++	+
A19		(1-아미노-4-((4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)아미노)시클로헥실)메탄올	C <sub>19</sub> H <sub>29</sub> N <sub>6</sub> O에 대한 계산치: 357.2; 실측치: 357.2	+	+
A26		8-((4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-	C <sub>20</sub> H <sub>27</sub> N <sub>6</sub> O <sub>2</sub> 에 대한 계산치: 383.2;	+	+

[0597]

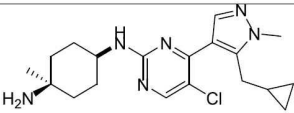
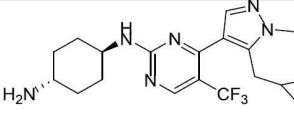
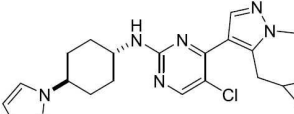
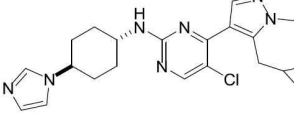
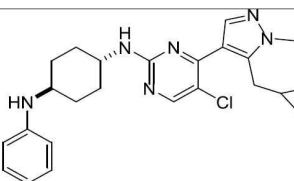


		일)(아미노)-3-옥사-1-아자스피로[4.5]데칸-2-온	실측치: 383.2		
A47		4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)-N-((1R,4R)-4-(피페리딘-1-일)시클로헥실)피리미딘-2-아민	C <sub>23</sub> H <sub>35</sub> N <sub>6</sub> 에 대한 계산치: 395.3; 실측치: 395.2	++	+
A48		4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)-N-((1R,4R)-4-모르폴리노시클로헥실)피리미딘-2-아민	C <sub>22</sub> H <sub>33</sub> N <sub>6</sub> O 에 대한 계산치: 397.3; 실측치: 397.3	+	+
A49		4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)-N-((1R,4R)-4-(피롤리딘-1-일)시클로헥실)피리미딘-2-아민	C <sub>22</sub> H <sub>33</sub> N <sub>6</sub> 에 대한 계산치: 381.3; 실측치: 381.3	+	없음
A50		N-((1R,4R)-4-(아제티딘-1-일)시클로헥실)-4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-아민	C <sub>21</sub> H <sub>31</sub> N <sub>6</sub> 에 대한 계산치: 367.3; 실측치: 367.3	+++	++
A51		(1R,4R)-N1-(5-클로로-4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)시클로헥산-1,4-디아민	C <sub>18</sub> H <sub>26</sub> ClN <sub>6</sub> 에 대한 계산치: 361.2; 실측치: 361.1	++++	++++
A52		(1R,4R)-N1-(4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)시클로헥산-1,4-디아민	C <sub>19</sub> H <sub>29</sub> N <sub>6</sub> 에 대한 계산치: 341.2; 실측치:	++	없음

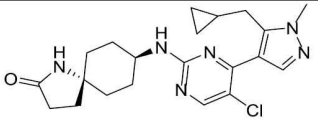
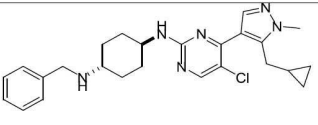
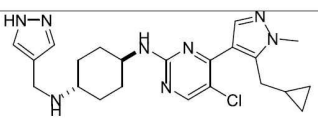
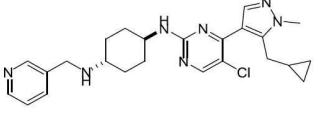
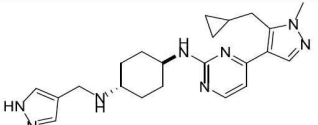
[0598]

		일)-5- 메틸피리미딘- 2- 일)시클로헥산- 1,4-디아민	341.2		
A53		(1R,4R)-N1-(4-(5-(1-(cyclopropylmethyl)-1H-pyrazol-4-yl)pyrimidin-2-yl)cyclohexyl)amine	C <sub>21</sub> H <sub>33</sub> N <sub>6</sub> 에 대한 계산치: 369.3; 실측치: 369.2	+	+
A58		(4-(2-(((1R,4R)-4-아미노시클로헥실)아미노)피리미딘-4-일)-1-메틸-1H-피라졸-5-일)(시클로프로필)메탄올	C <sub>18</sub> H <sub>27</sub> N <sub>6</sub> O 에 대한 계산치: 343.2; 실측치: 343.2	+	없음
A59		(1R,4R)-N1-(5-클로로-4-(5-(1-(cyclopropylmethyl)-1H-pyrazol-4-yl)pyrimidin-2-yl)cyclohexyl)amine	C <sub>20</sub> H <sub>30</sub> ClN <sub>6</sub> 에 대한 계산치: 389.2; 실측치: 389.2	+++	++
A56		(1R,4R)-N1-(4-(1-메틸-5-((1-메틸시클로프로필)메틸)-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)시클로헥산-1,4-디아민	C <sub>19</sub> H <sub>29</sub> N <sub>6</sub> 에 대한 계산치: 341.2; 실측치: 341.2	++	없음
A57		(1R,4R)-N1-(4-(1-메틸-5-네오펜틸-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)시클로헥산-1,4-디아민	에 대한 계산치 C <sub>19</sub> H <sub>31</sub> N <sub>6</sub> : 343.3; 실측치: 343.2	없음	없음
A30-1		(1R,4R)-N1-(5-클로로-4-(5-(1-(cyclopropylmethyl)-1-methyl-1H-pyrazol-4-yl)pyrimidin-2-yl)cyclohexyl)amine	C <sub>19</sub> H <sub>28</sub> ClN <sub>6</sub> 에 대한 계산치: 375.2;	++++	++

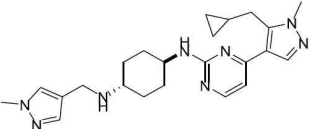
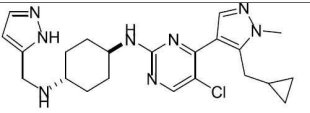
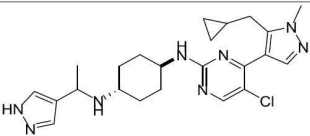
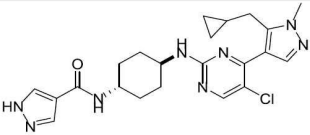
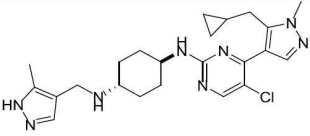
[0599]

		일) 피리미딘-2-일)-4-메틸시클로헥산-1,4-디아민	실측치: 375.2		
A30-2		(1S,4S)-N1-(5-클로로-4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)-4-메틸시클로헥산-1,4-디아민	C <sub>19</sub> H <sub>28</sub> Cl N <sub>6</sub> 에 대한 계산치: 375.2; 실측치: 375.2	++	++
A60		(1R,4R)-N <sup>1</sup> -(4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)-5-(트리플루오로메틸)피리미딘-2-일)시클로헥산-1,4-디아민	C <sub>19</sub> H <sub>26</sub> F <sub>3</sub> N <sub>6</sub> 에 대한 계산치: 395.2; 실측치: 395.2	++	+/-
A64		N-((1R,4R)-4-(1H-피라졸-1-일)시클로헥실)-5-클로로-4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-아민	C <sub>21</sub> H <sub>27</sub> Cl N <sub>7</sub> 에 대한 계산치: 412.2; 실측치: 412.2	+	++
A65		N-((1R,4R)-4-(1H-이미다졸-1-일)시클로헥실)-5-클로로-4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-아민	C <sub>21</sub> H <sub>27</sub> Cl N <sub>7</sub> 에 대한 계산치: 412.2; 실측치: 412.2	++	++
A68		(1R,4R)-N <sup>1</sup> -(5-클로로-4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)-N <sup>4</sup> -페닐시클로헥산-1,4-디아민	에 대한 계산치 C <sub>24</sub> H <sub>30</sub> Cl N <sub>6</sub> : 437.2; 실측치: 437.2	+	+

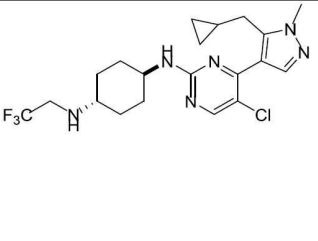
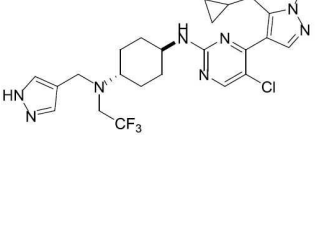
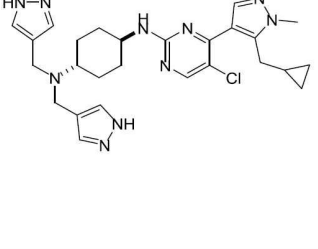
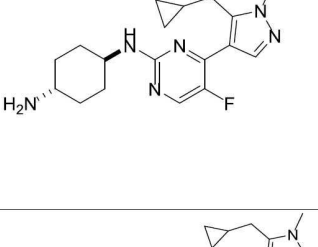
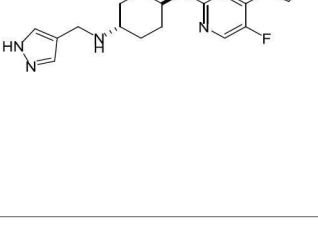
[0600]

A71		(5r,8r)-8-((5-클로로-4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)아미노)-1-아자스피로[4.5]데칸-2-온	C <sub>21</sub> H <sub>28</sub> Cl N <sub>6</sub> O 에 대한 계산치: 415.2; 실측치: 415.2	없음	++
A74		(1R,4R)-N¹-벤질-N¹-(5-클로로-4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)시클로hexan-1,4-디아민	C <sub>25</sub> H <sub>32</sub> Cl N <sub>6</sub> 에 대한 계산치: 451.2; 실측치: 451.2	+++	++
A75		(1R,4R)-N¹-(((1H-피라졸-4-일)메틸)-N¹-(5-클로로-4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)시클로hexan-1,4-디아민	C <sub>22</sub> H <sub>30</sub> Cl N <sub>8</sub> 에 대한 계산치: 441.2; 실측치: 441.2	+++++	+++
A76		(1R,4R)-N¹-(5-클로로-4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)-N¹-(피리딘-3-일메틸)시클로hexan-1,4-디아민	C <sub>24</sub> H <sub>31</sub> Cl N <sub>7</sub> 에 대한 계산치: 452.2; 실측치: 452.2	+++	++
A80		(1r, 4r)-N¹-(((1H-피라졸-4-일)메틸)-N¹-(4-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)시클로hexan-1,4-디아민	C <sub>22</sub> H <sub>31</sub> N <sub>8</sub> 에 대한 계산치: 407.3; 실측치: 407.2	++	없음

[0601]

A81		(1R,4R)-N¹-(1H-피라졸-3-일)메틸)-N⁴-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)시클로헥산-1,4-디아민	C <sub>23</sub> H <sub>33</sub> N <sub>8</sub> 에 대한 계산치: 421.3; 실측치: 421.2	++	없음
A82		(1R,4R)-N¹-(1H-피라졸-3-일)메틸)-N⁴-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)시클로헥산-1,4-디아민	C <sub>22</sub> H <sub>30</sub> ClN <sub>8</sub> 에 대한 계산치: 441.2; 실측치: 441.2	+++	++
A83		(1R,4R)-N¹-(1-((1H-피라졸-4-일)에틸)-N⁴-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)시클로헥산-1,4-디아민	C <sub>23</sub> H <sub>32</sub> ClN <sub>8</sub> 에 대한 계산치: 455.2; 실측치: 455.2	++	++
A87		N-((1R,4R)-4-((5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)아미노)시클로헥실)-1H-피라졸-4-카르복사미드	C <sub>22</sub> H <sub>28</sub> ClN <sub>8</sub> O 에 대한 계산치: 455.2; 실측치: 455.2	+	+++
A91		(1R,4R)-N¹-(5-(시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)-N⁴-(5-메틸-1H-피라졸-4-일)메틸)시클로헥산-1,4-디아민	C <sub>23</sub> H <sub>32</sub> ClN <sub>8</sub> 에 대한 계산치: 455.2; 실측치: 455.2	+++	++

[0602]

A94		(1R,4R)-N¹-(5-클로로-4-(5-((시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)-N¹-(2,2,2-트리플루오로에틸)시클로헥산-1,4-디아민	C <sub>20</sub> H <sub>27</sub> ClF <sub>3</sub> N <sub>6</sub> 에 대한 계산치: 443.2; 실측치: 443.2	+	++
A95		(1R,4R)-N¹-(((1H-피라졸-4-일)메틸)-N¹-(5-클로로-4-(5-((시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)-N¹-(2,2,2-트리플루오로에틸)시클로헥산-1,4-디아민	C <sub>24</sub> H <sub>31</sub> ClF <sub>3</sub> N <sub>6</sub> 에 대한 계산치: 523.2; 실측치: 523.2	+++	++
A96		(1R,4R)-N¹,N¹-비스(((1H-피라졸-4-일)메틸)-N¹-(5-클로로-4-(5-((시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)피리미딘-2-일)시클로헥산-1,4-디아민	C <sub>26</sub> H <sub>34</sub> ClN <sub>10</sub> 에 대한 계산치: 521.3; 실측치: 521.3	없음	없음
A86		(1R,4R)-N¹-(4-(5-((시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)-5-플루오로피리미딘-2-일)시클로헥산-1,4-디아민	C <sub>18</sub> H <sub>26</sub> FN <sub>6</sub> 에 대한 계산치: 345.2; 실측치: 345.2	+++++	+++
A85		(1R,4R)-N¹-(((1H-피라졸-4-일)메틸)-N¹-(4-(5-((시클로프로필메틸)-1-메틸-1H-피라졸-4-일)-5-플루오로피리미딘-2-일)시클로헥산-1,4-디아민	C <sub>22</sub> H <sub>30</sub> FN <sub>6</sub> 에 대한 계산치: 425.3; 실측치: 425.3	+++	+++

[0603]

[0604]

+는 6  $\mu$ M의 화합물 농도에서 낮지만 유의미한 활성을 나타낸다; +++는 >2  $\mu$ M에서 최대  $\beta$ -카테닌 또는 p53 안정화를 나타낸다; ++++는 >0.5  $\mu$ M에서 p53 및 DDR의 최대 안정화를 나타내고, +++++는 >0.1  $\mu$ M에서 p53 및 DDR의 최대 안정화를 나타낸다.

[0605]

**본 발명의 화합물을 이용한 IRAK1 억제.** RKO 세포를 지시된 농도의 본 발명의 화합물 A51 (1  $\mu$ M) 및 A14 (2  $\mu$ M)와 함께 16시간 동안 37°C에서 배양하였다(도 10). 지시된 시점에, RKO 세포를 TNF  $\alpha$  (100 units/ml)로 처리하였다. 세포를 수집하고 웨스턴 블롯에 의해 분석하였다. 블롯을 다음 항체와 함께 배양하였다: 포스포-IRAK1 (Thr209), (A1074, 에세이바이오테크놀로지; 1/1,000), 포스포-IKK  $\alpha/\beta$  (Ser176/180) (16A6, 셀 시그널링; 1/1,000), IKK  $\alpha$  (2682, 셀 시그널링; 1/1,1000), IKK  $\beta$  (2370, 셀 시그널링; 1/1,1000), 포스포-c-Jun (Ser 63) (9261, 셀 시그널링; 1/1,1000), p53 (DO-1&1801 하이브리도마 믹스; 각각으로부터의 상청액의 1:20의 희석액), CKI  $\alpha$  (C-19; 1/1,000; 산타 크루즈 바이오테크놀로지) 및 포스포-히스톤H2AX (S139; 1/1,000; 밀리포어). 2차 항체는 HRP-연결 염소 항-마우스, 염소 항-토끼 및 토끼 항-염소 항체(모두 1/10,000; 잭슨)였다. 블롯은 ECL (GE 헬스케어)을 사용하여 전개되었다. 도 10은 IRAK1 키나아제 억제를 나타내는 IRAK1 및 포스포-IKK  $\alpha/\beta$  및 포스포-c-Jun의 인산화 억제를 도시한다. 또한, CKI  $\alpha$  키나아제 억제를 나타내는 DNA 손상의 마커인 p53 안정화 및 H2AX( $\gamma$  H2AX)의 인산화가 도시되어 있다. CKI  $\alpha$  단백질 수준은 로딩 대조군으로서 제공된다.

[0606]

A51(WXL5846, 하기 표 2 참조)에 대한 키노메(Kinome) 친화도 스캔은 A51의 핵심 표적이 전체 CKI 패밀리 멤버 및 IRAK1과 소수의 대조군 키나아제를 포함함을 나타낸다. KINOMEScan<sup>TM</sup>은 고정된 활성-부위 지향 리간드와 경쟁하는 화합물의 능력을 정량적으로 측정하는 경쟁 결합 에세이를 기초로 한다. 상기 에세이는 3개의 요소: DNA-태그된(tagged) 키나아제; 고정된 리간드; 및 검사 화합물을 조합함으로써 수행된다. 고정된 리간드와 경쟁하는 검사 화합물의 능력은 DNA 태그의 정량적 PCR을 통해 측정된다; % Ctrl=0 (영)은 1 $\mu$ M 농도의 억제제에 의해 검사된 키나아제의 완벽한 억제를 나타낸다(Fabian, M.A. et al. A small molecule-kinase interaction map for clinical kinase inhibitors. Nat. Biotechnol. 23, 329-336 (2005) 및 Karaman, M.W. et al. A quantitative analysis of kinase inhibitor selectivity. Nat. Biotechnol. 26, 127-132 (2008)).

**표 2**

**표 2: A51(WXL5846)에 대한 키노메 친화도 스캔**

표적	WXL05846
	A51
유전자 기호	%Ctrl 1000nM
ERK1	94
ERK2	71
FAK	91
FGFR2	94
FGFR3	100
FLT3	89
FLT3(ITD)	57
GSK3A	3.3
GSK3B	5
IGF1R	100
IKK-알파	87
IKK-베타	77
INSR	93
IRAK1	0
IRAK4	67
CSNK1A1	1.9
CSNK1A1L	0.5
CSNK1D	2.8
CSNK1E	0.1
CSK1G2	0.7
CSNK2A1	22

[0607]



[0608] 표 3은 A14 (WXL-4085) 및 A51 (WXL-5846)과 IRAK1의 상호작용에 대한 Kd 측정치를 나타낸다.

**표 3**

**표 3: A14 (WXL-4085) 및 A51 (WXL-5846)과 IRAK1의 Kd**

표적	WXL-4085-02N A14	WXL-5846 A51
유전자 기호	Kd (nM)	Kd (nM)
IRAK1	11	2.9

[0609]

[0610] **결론.** 키노메 스캔에서의 우수한 표적으로서 IRAK1은 억제제의 존재시 표적에 대한 IRAK1의 결합이 없음을 나타낸다. 본 발명의 피라졸 피리미딘 화합물 A51 및 A14는 IRAK1에 대한 우수한 결합 Kd를 나타내었다. 화합물은 또한 IRAK1 활성화의 억제 및 RKO 세포에서 IRAK1 표적 IKK (Ikappa B kinase)의 활성화 억제를 나타내었다(웨스턴 블롯 분석). 화합물 A51은 RKO 세포주 중 1  $\mu$ M의 농도에서 포스포- (활성) IRAK1의 완벽한(100%) 억제를 나타내었음을 주목해야 한다. 비교로서, 가렛 더블유. 라센 일행(Garrett W. Rhyasen et al.)은 MDS 및 유방암의 치료에 사용된 암젠의 IRAK1-4 억제제가 10  $\mu$ M에서 세포주 중 IRAK1/4의 70%만을 억제하였음을 나타내었다(Garrett W. Rhyasen et al, 2013, Cancer Cell 24, 90-104, 특히 이의 도 2 참조). 따라서, A51과 같은 본 발명의 화합물은 혈액학적 악성종양(특히 다발성 골수종, MDS, 백혈병 및 림프종, 두경부암 및 유방암을 포함함)에서 중요한 역할을 하는 NF- $\kappa$ B 경로의 중요한 상향 조절인자인 IRAK1의 우수한 억제제인 것으로 밝혀졌다.

[0611]

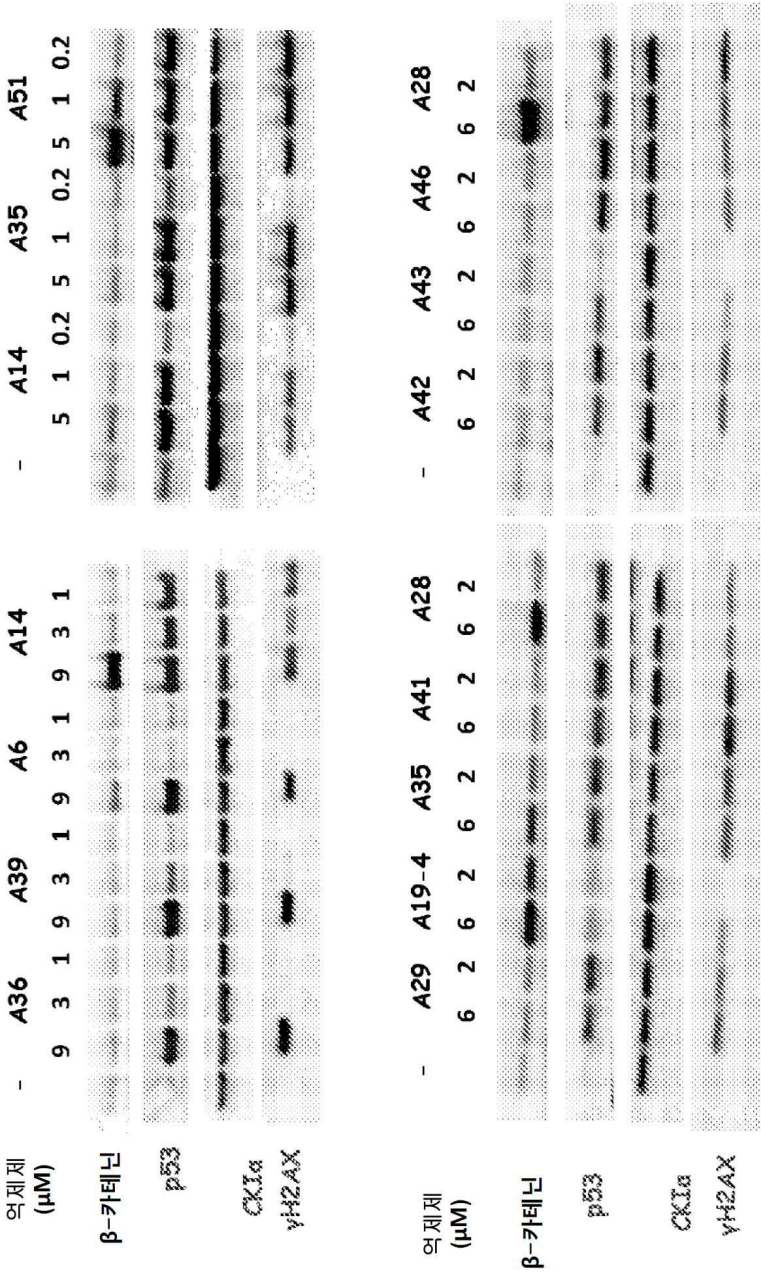
**AML 마우스 및 PD-L1 발현에서 CKI 억제제의 단일-용량 치료 효과.** C57/BL6 마우스에 MLL-AF9 암유전자-형질도입 골수 세포를 접종함으로써 AML 마우스를 준비하였다. MLL-AF9 융합은 좋지 않은 예후 중 하나인 염색체 전좌에 의해 유도되는 인간 AML을 나타낸다. 백혈병 접종 30일 이후에, 수용자 마우스는 높은 백혈구(WBC) 수치(정상 마우스에 비해 10배 높음), 골수에서 >95%의 백혈병 아세포를 보유하며, 이들 마우스에서 말초 WBC의 50%가 AML 아세포이다. 이들 마우스는 비장종대를 가지며, 이들의 뼈는 급성 백혈병으로 인해 약해서 부서지기 쉽다(도 12). 16시간 동안 A51 (20mg/Kg)을 이용한 경구 치료는 혈액에서 총 백혈병 세포의 대량 감소(도 11b), 백혈병 비장의 축소(도 11c 및 도 12a), 골수 및 혈액에서 백혈병 아세포(GFP+ 세포) 비율의 50% 및 >90% 감소(도 11d 및 도 11e)를 각각 야기한다. 불투명한 뼈는 단일 용량 치료 이후 정상 색으로 변화하였다(도 12b).

[0612]

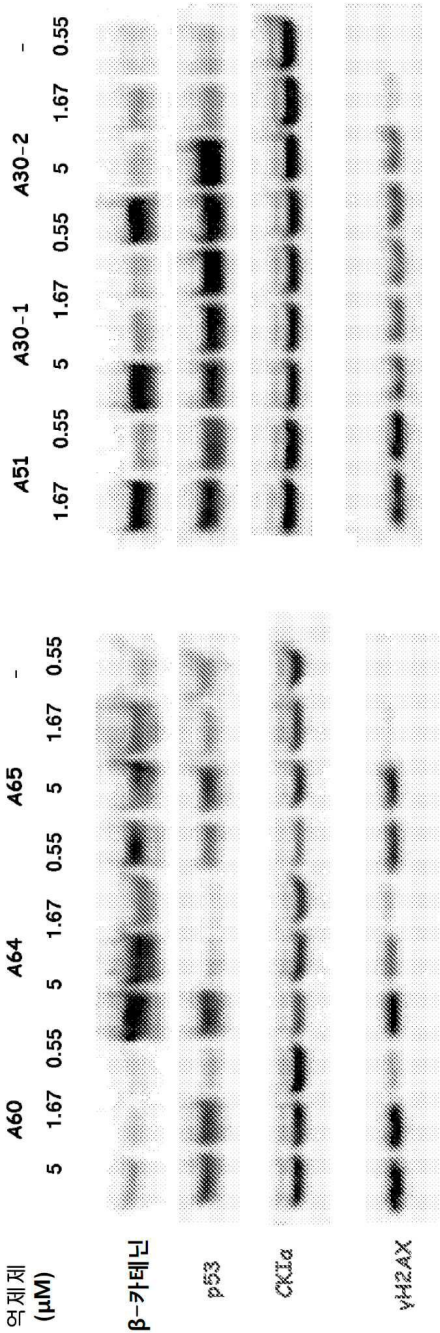
**백혈병 마우스의 골수로부터 단리된 AML 세포에 대한 CKI 억제제의 시험관내 치료 효과.** 10 또는 100nM 억제제-치료 이후 6 및 9시간 후에 사멸된 세포(7AAD+)의 퍼센트를 도하였다(도 13b 및 13d). DMSO 치료는 9시간에서 <10%의 사멸 세포를 야기하였다. 또한, 주요한 면역 체크포인트 단백질 PD-L1의 백혈병 발현에 대한 억제제의 효과를 유세포계수 분석에 의해 도하였다: 5시간에서 평균 형광 강도(mean fluorescence intensity)(MFI)의 감소, 및 6 및 9시간에 DMSO-치료된 세포와 비교하여 억제제 치료 이후 PD-L1-양성 백혈병 세포의 단편에서의 감소(DMSO 대조군의 %에 의해 표현된 감소)(도 13a, 13c 및 13e).

도면

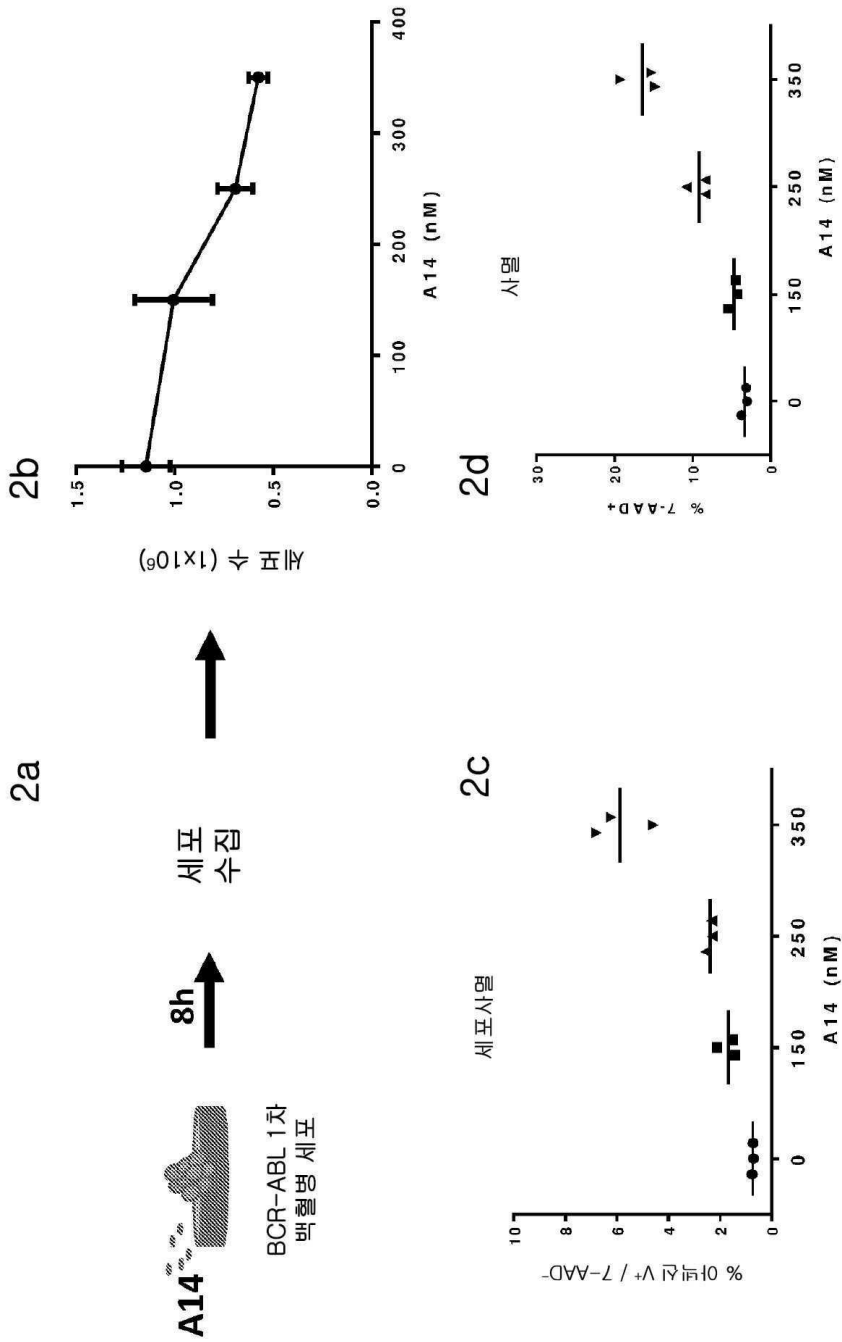
도면1a



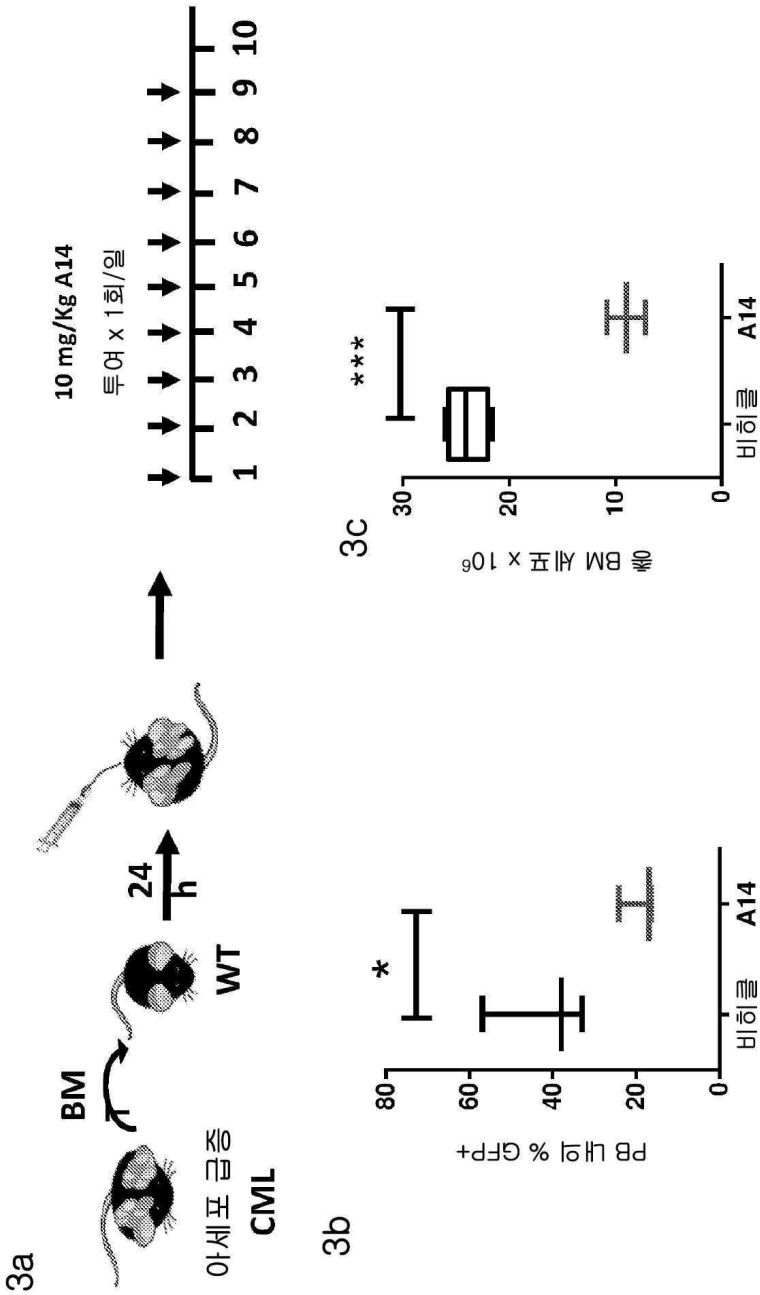
도면1b



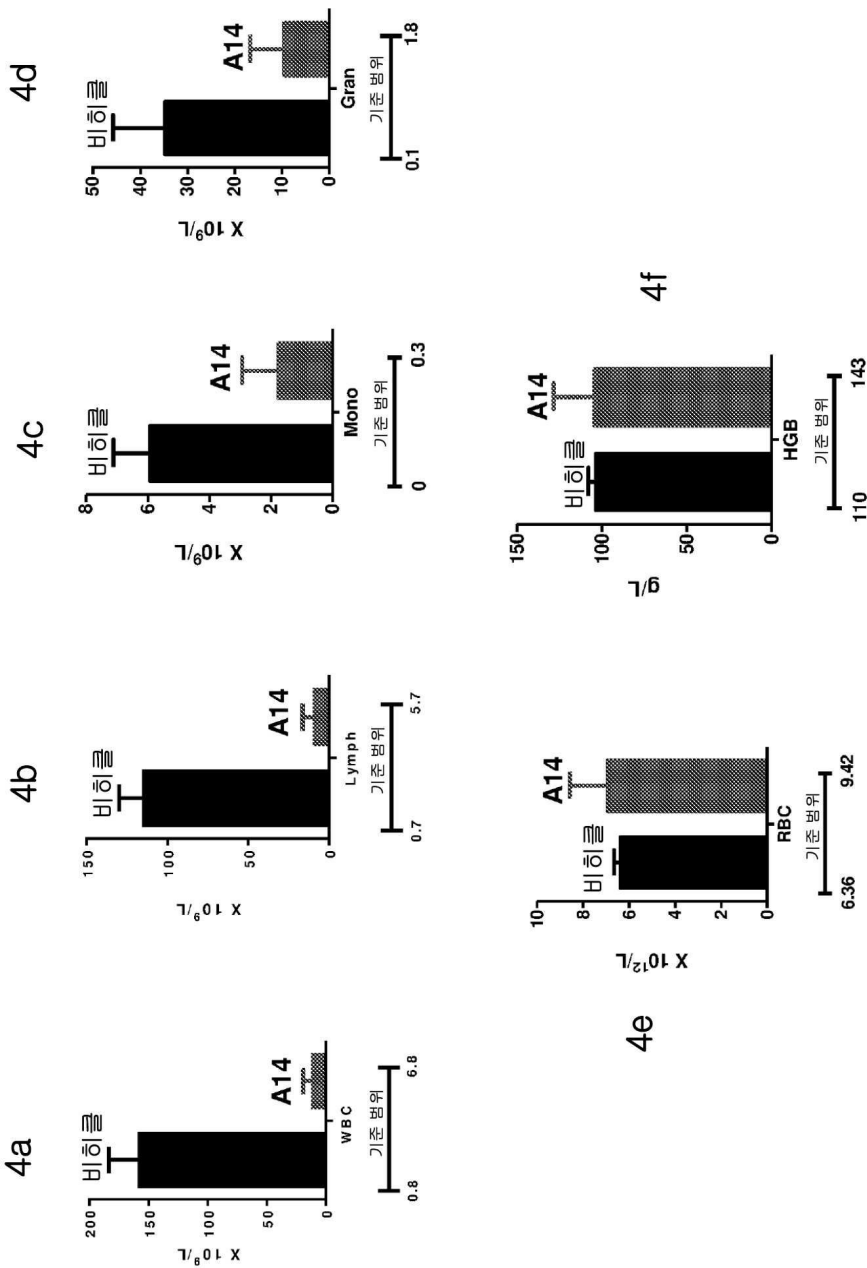
도면2



도면3

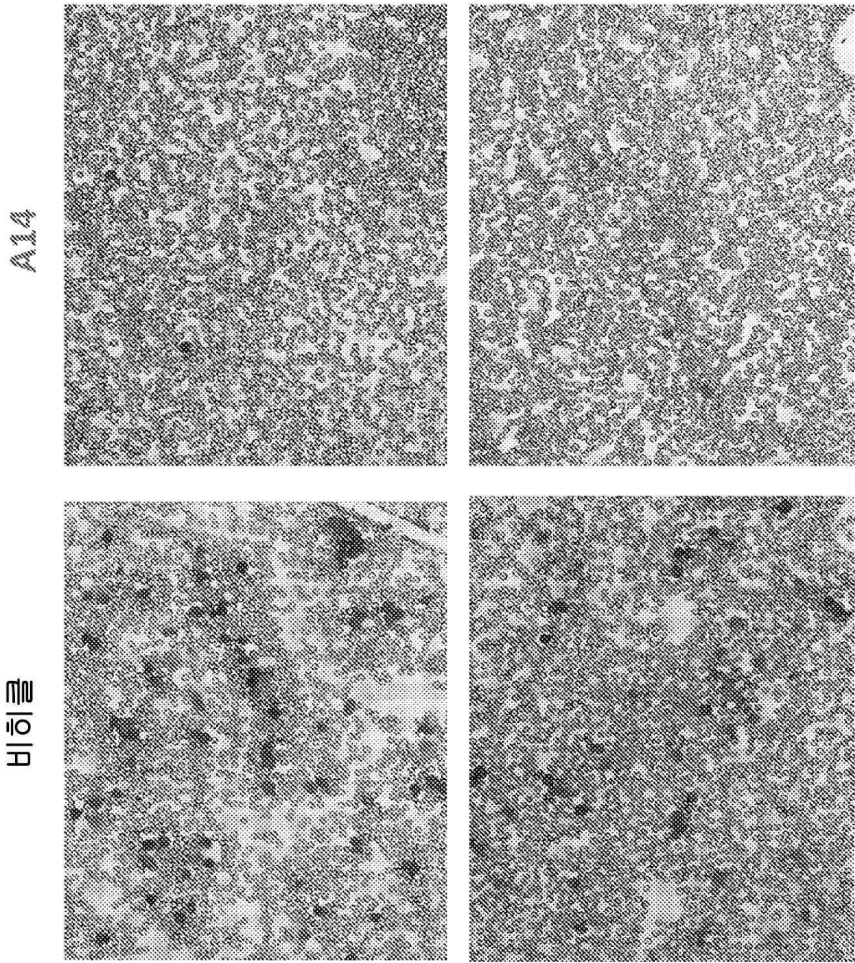


도면4



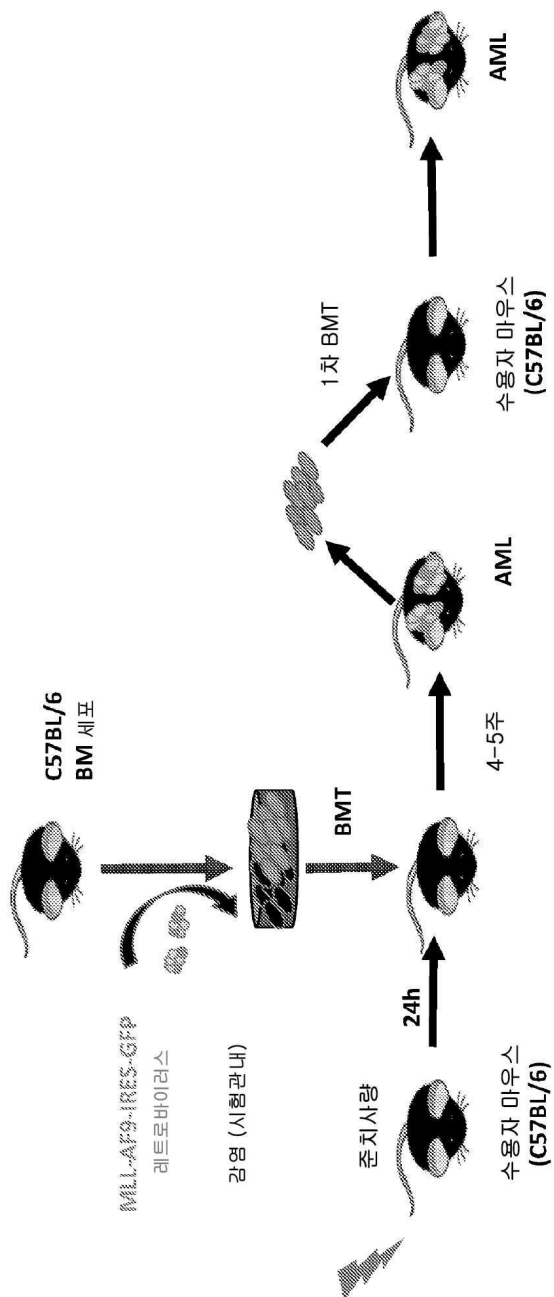


도면5

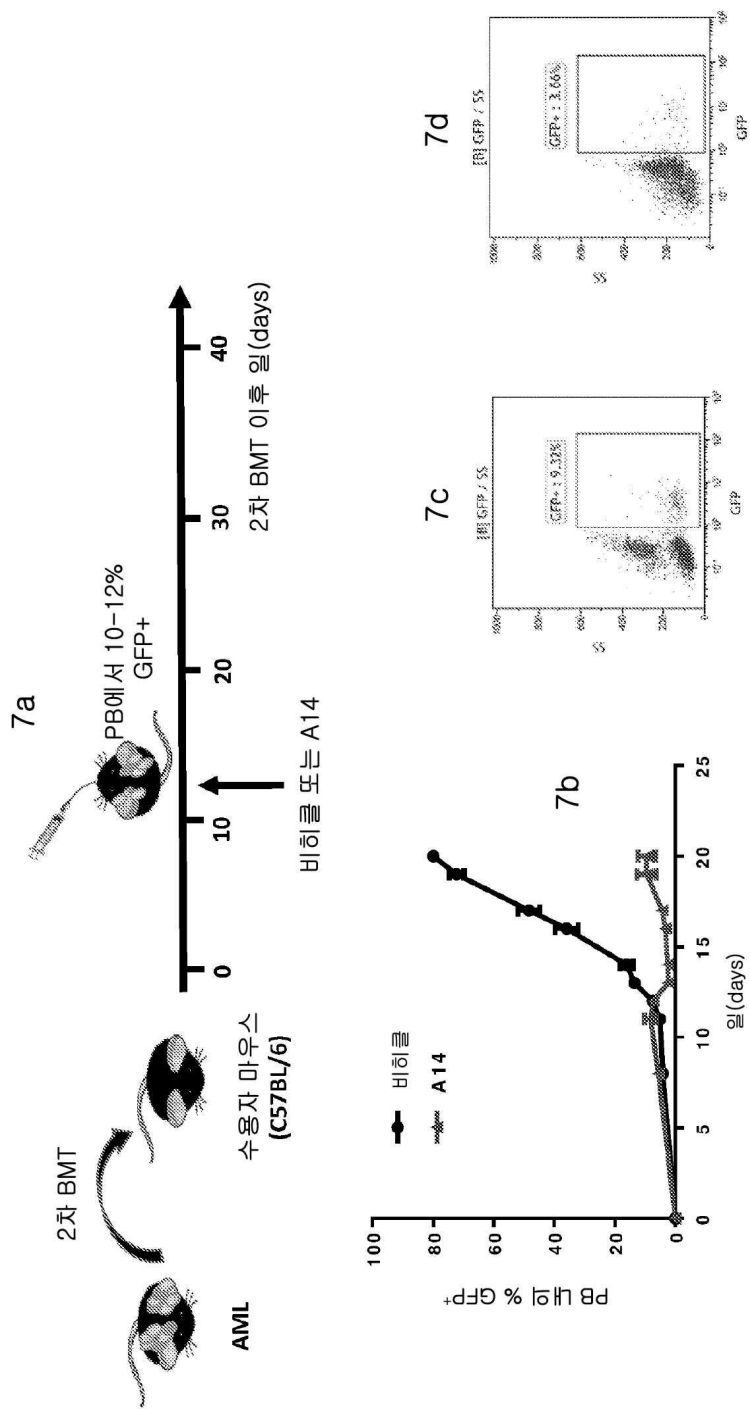




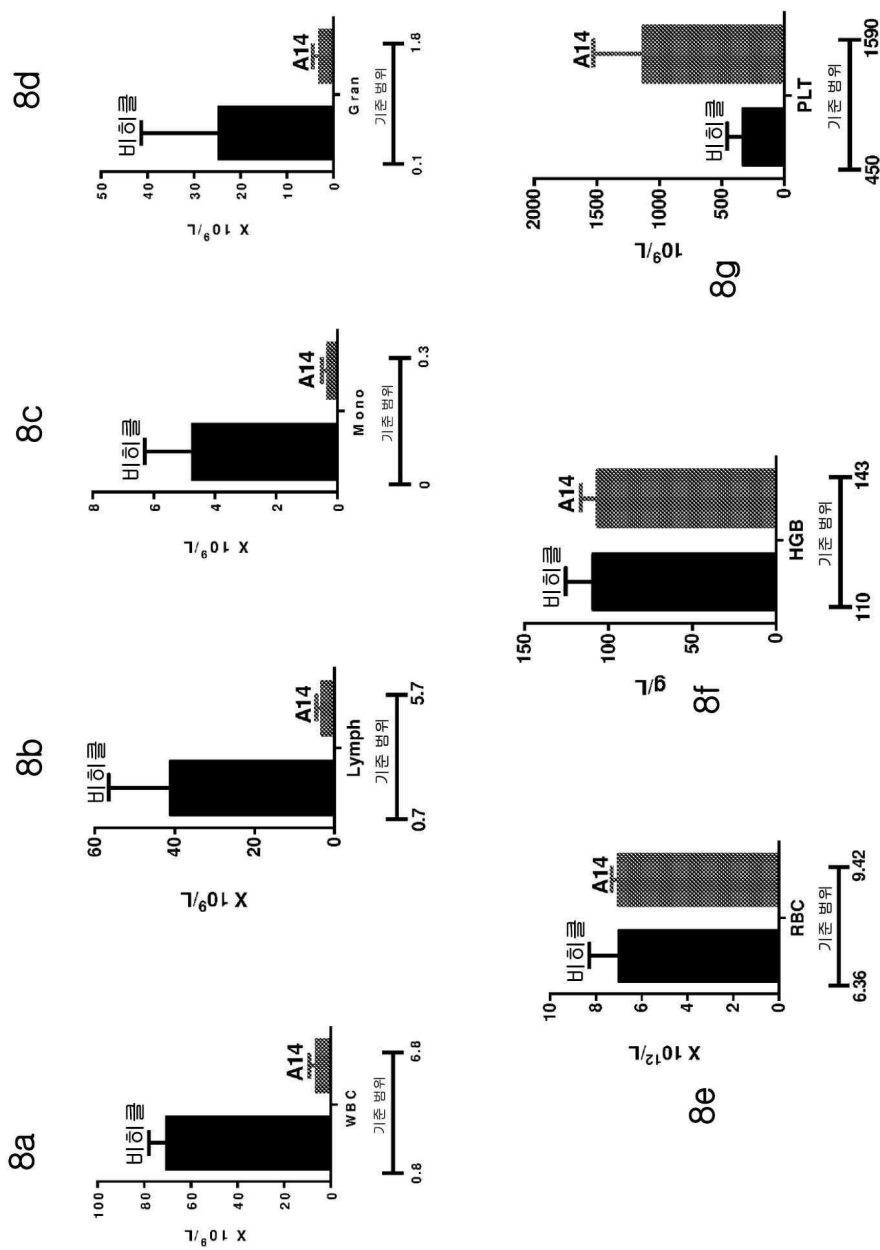
도면6



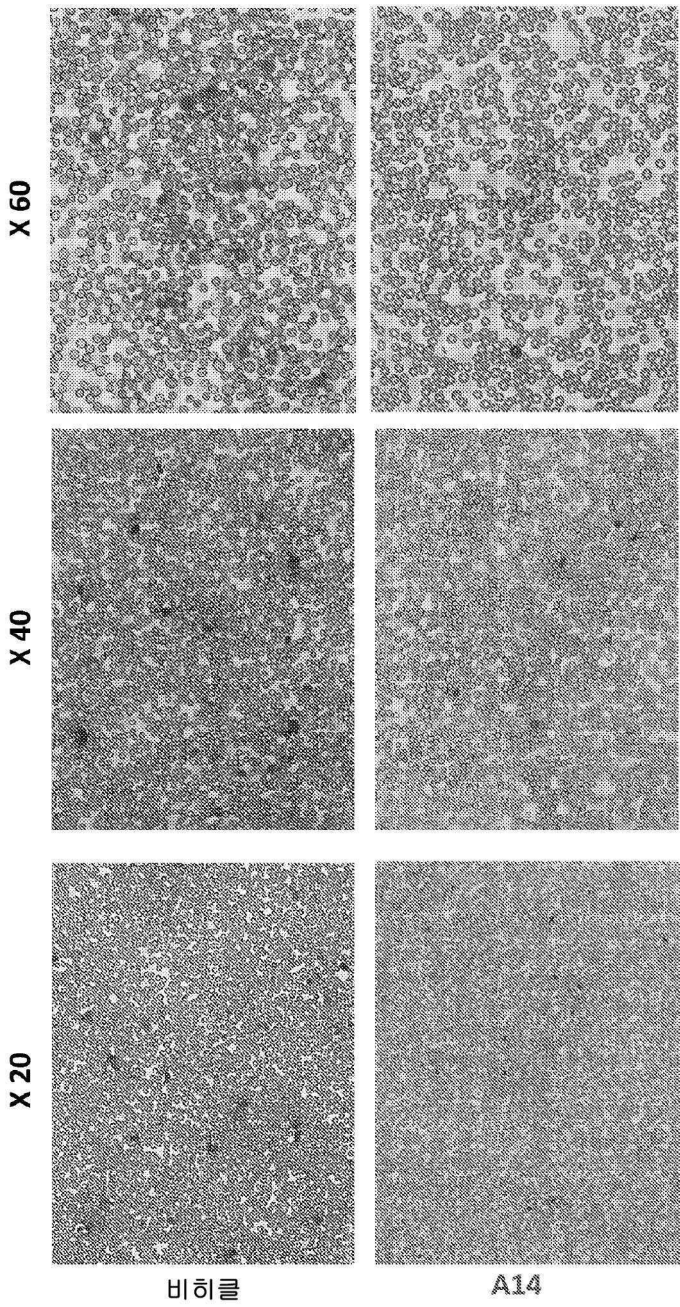
도면7



도면8

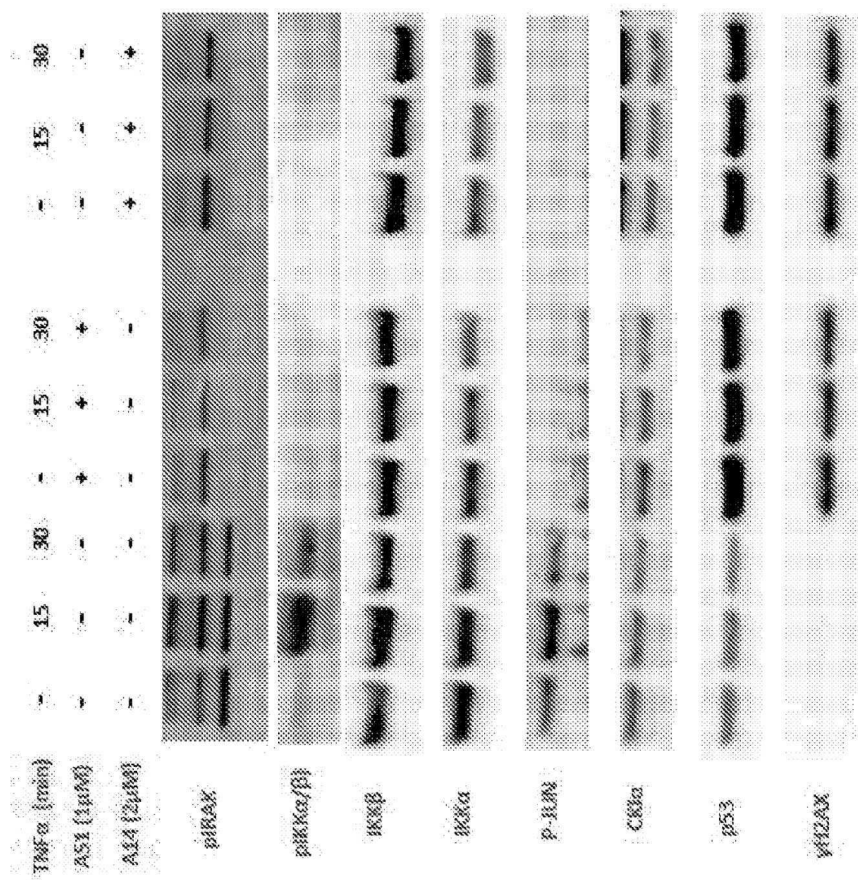


도면9

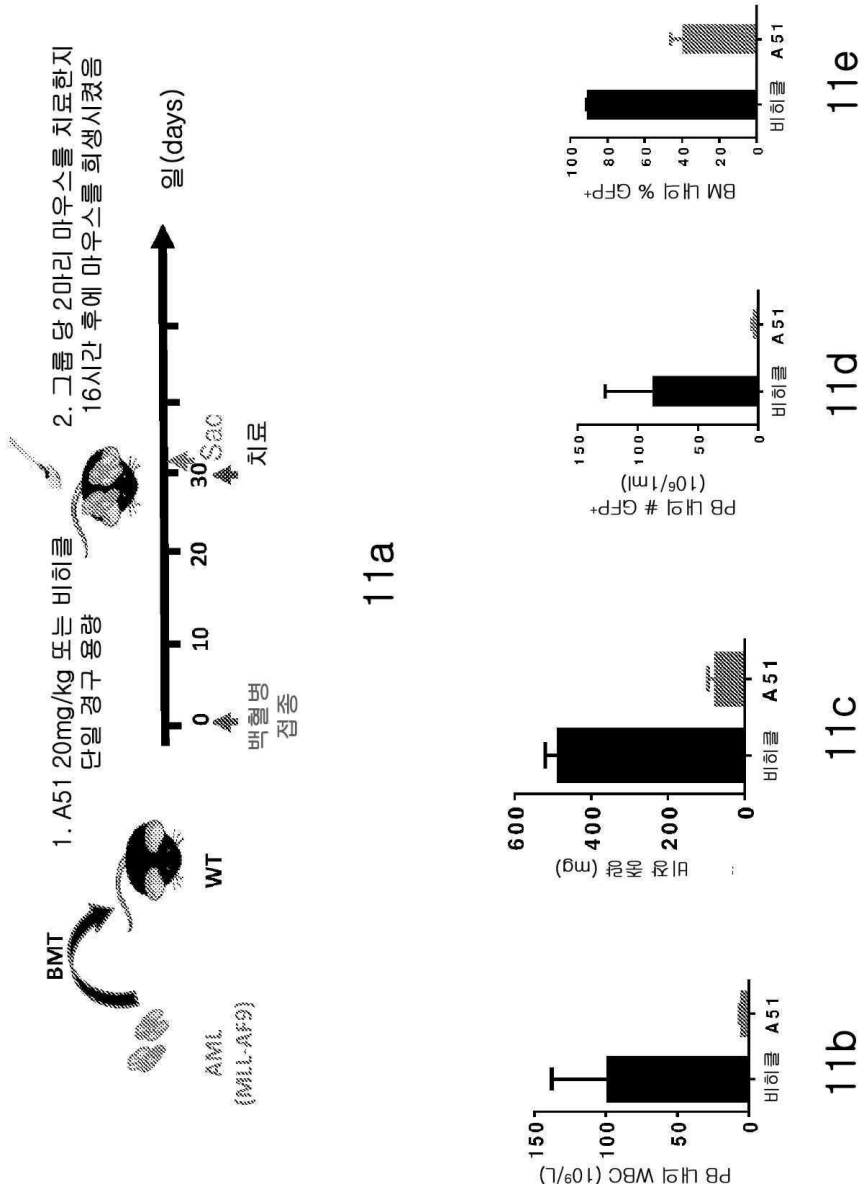




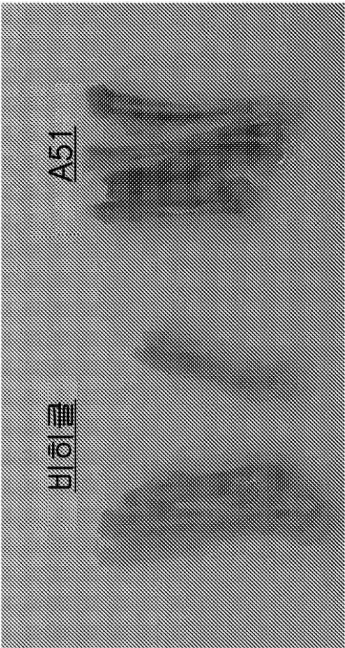
도면10



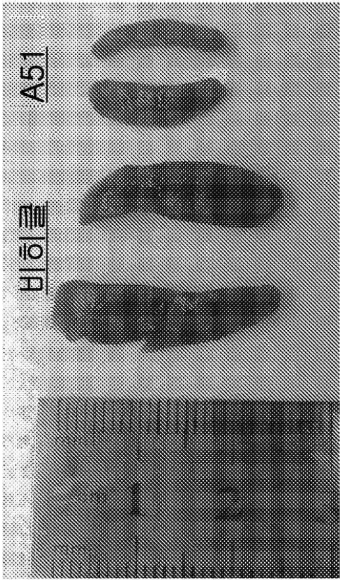
도면11



도면12



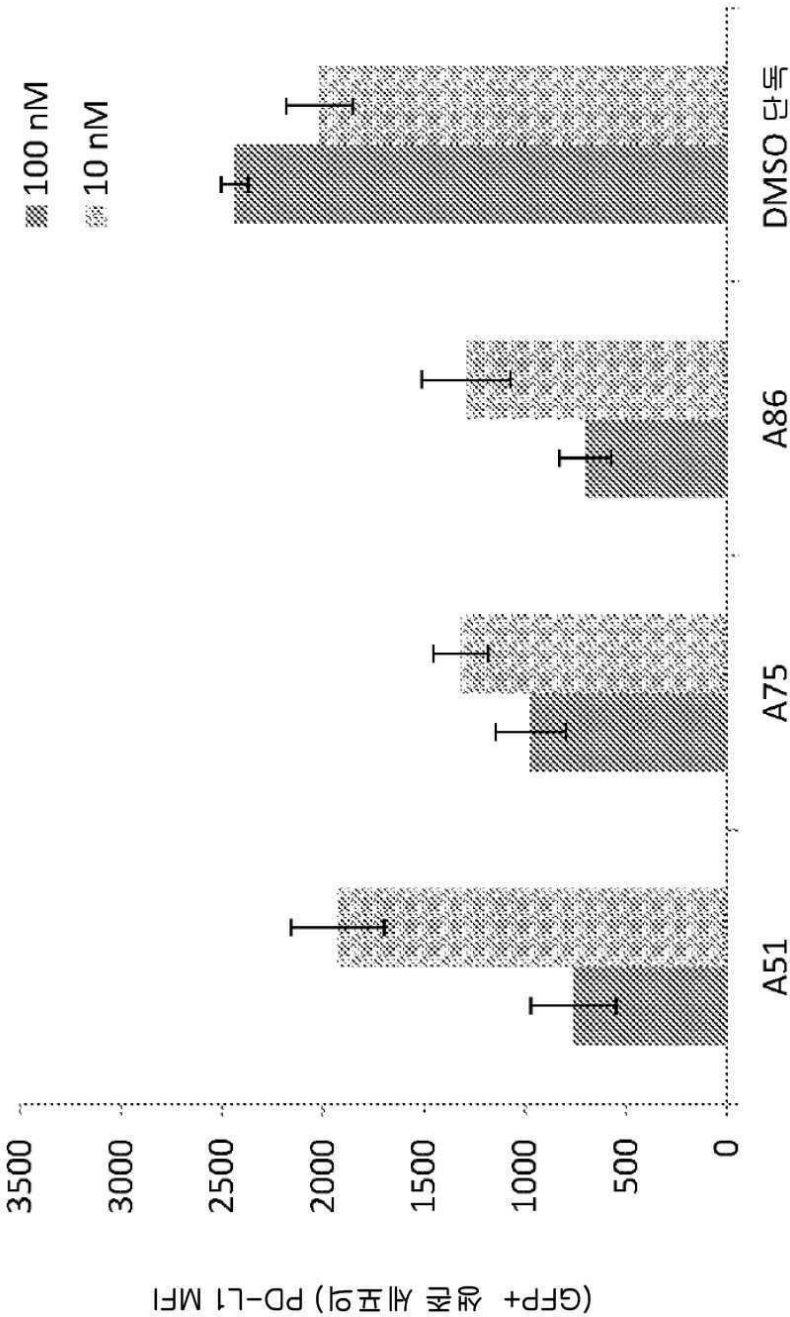
12b



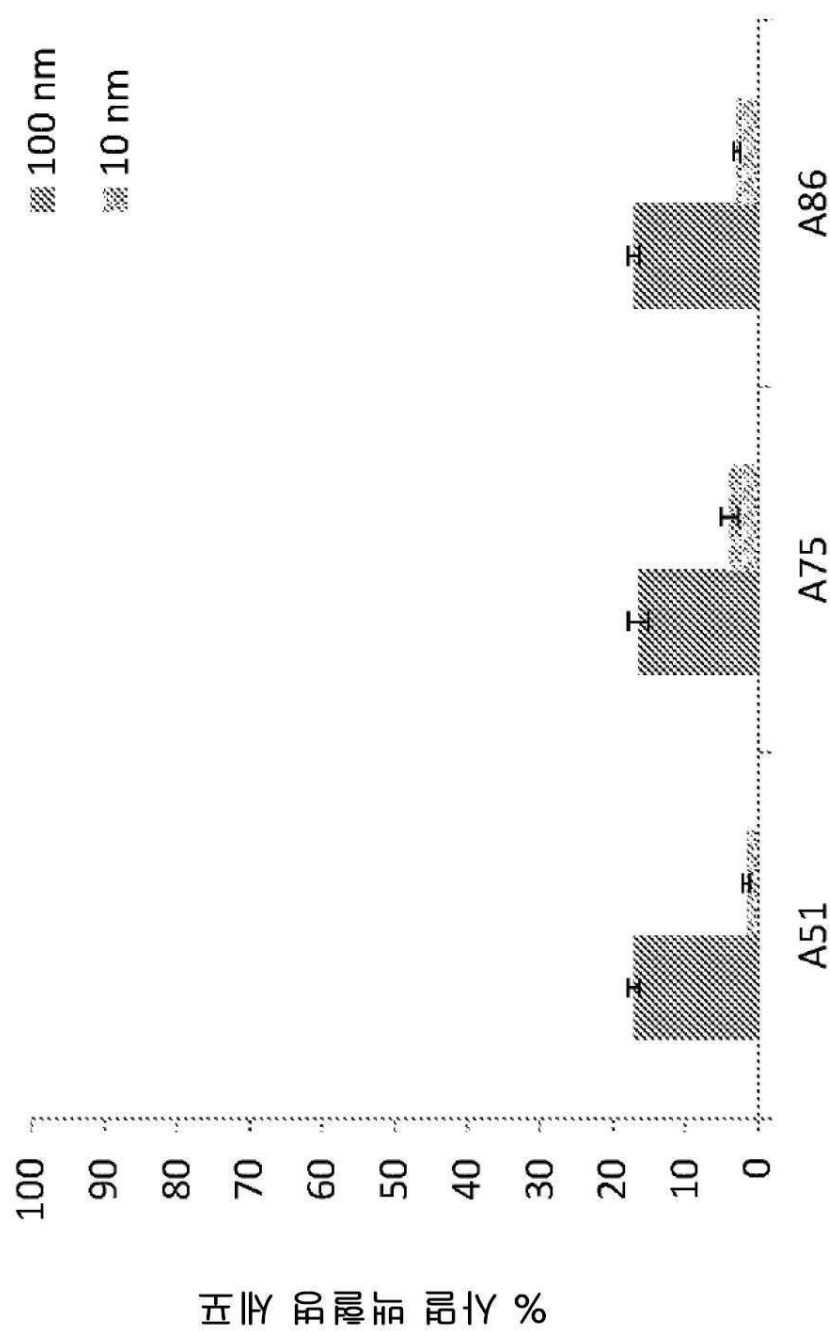
12a



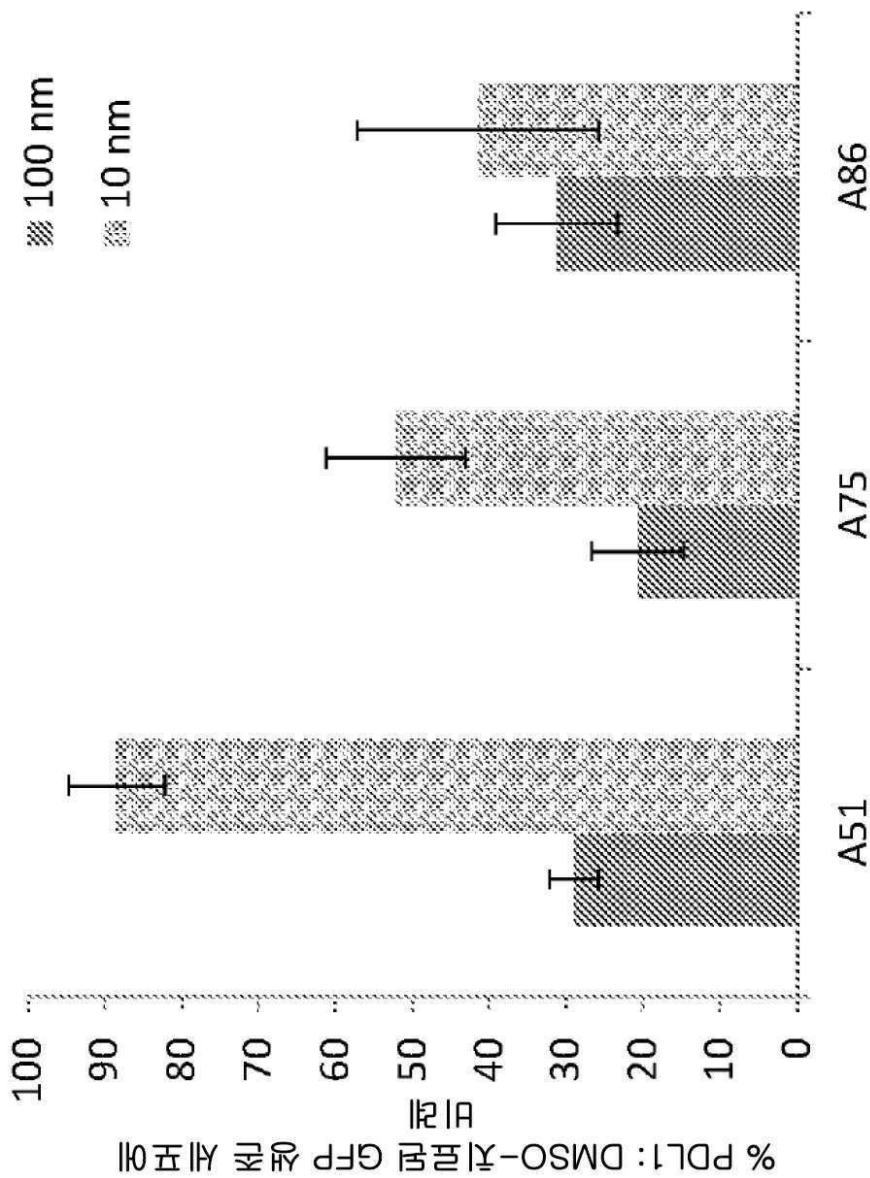
도면13a



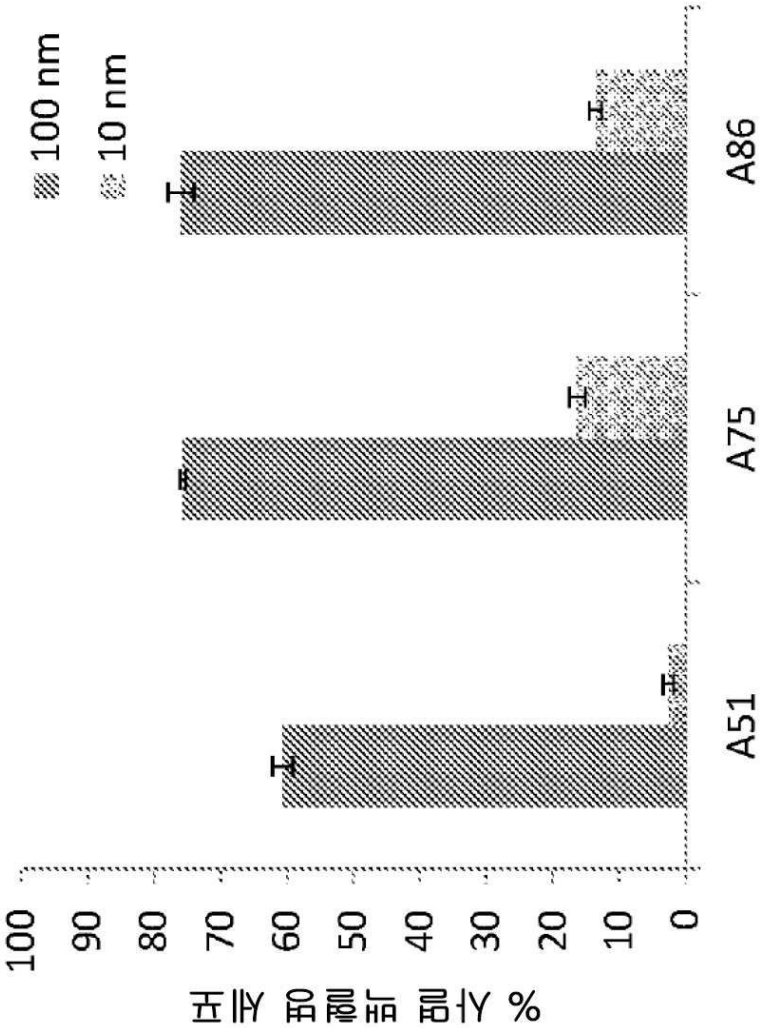
도면13b



도면13c



도면13d



도면13e

