



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2016년03월02일

(11) 등록번호 10-1599082

(24) 등록일자 2016년02월24일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C07D 401/14 (2006.01) A61K 31/497 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01) C07D 403/12 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2010-7017417

(22) 출원일자(국제) 2009년01월28일

심사청구일자 2014년01월27일

(85) 번역문제출일자 2010년08월04일

(65) 공개번호 10-2010-0116599

(43) 공개일자 2010년11월01일

(86) 국제출원번호 PCT/EP2009/050931

(87) 국제공개번호 WO 2009/095399

국제공개일자 2009년08월06일

(30) 우선권주장

0800250-3 2008년02월01일 스웨덴(SE)

(뒷면에 계속)

(56) 선행기술조사문헌

JP2004528295 A*

JP2007533635 A*

WO2005058876 A1*

WO2006067466 A2*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

어키니언 파마슈티칼스 아베

스웨덴 에스-171 77 스톡홀름 카롤린스카 인스티
튜트 사이언스 파크

(72) 발명자

젠맘 젠슨 아니카

스웨덴 에스-756 45 옉살라 콘셉베겐 37비

레만 프레드릭

스웨덴 에스-193 33 시그투나 스토라 브렌보베겐
48

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

김진희

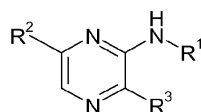
전체 청구항 수 : 총 10 항

심사관 : 박수진

(54) 발명의 명칭 피라진 유도체 및 단백질 키나아제 억제제로서의 이의 용도

(57) 요약

본 발명은 R¹, R² 및 R³가 본 명세서 중에 정의된 바와 같은 화학식 I의 화합물에 관한 것으로서, 이들 화합물은 단백질 키나아제, 특히 Fms-유사 티로신 키나아제 3(FLT3)의 억제제로서 작용할 수 있다. 또한 본 발명은 치료를 위한 화합물의 용도, 상기 화합물을 포함하는 약학 조성물과, 혈액 종양, 예컨대 AML, MLL, T-ALL, B-ALL 및 CML, 골수증식성 질환, 다른 증식성 질환, 예컨대 암, 자가면역 질환 및 피부 질환, 예컨대 건선 및 아토피성 피부염의 예방 및 치료용 의약의 제조를 위한 상기 화합물의 용도에 관한 것이다.



(I)

(72) 발명자

닐슨 보른 엠

스웨덴 에스-112 49 스톡홀름 이겔담스가탄 20

노르들링 에릭

스웨덴 에스-169 72 솔나 구스타프 III:s 블레바드
21

파로우 벤델라

스웨덴 에스-752 63 옉살라 이레스 베그 9

(30) 우선권주장

0801185-0 2008년05월21일 스웨덴(SE)

61/123,039 2008년04월04일 미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

N3-1H-인돌-5-일-5-피리딘-4-일피라진-2,3-디아민 또는 이의 약리학적으로 허용되는 염인 화합물.

청구항 2

혈액 종양, 골수증식성 질환, 암, 자가면역 질환 또는 피부 질환의 치료 또는 예방을 위한, 제1항의 화합물을 포함하는 약학 제제.

청구항 3

제1항에 있어서, 치료에 사용하기 위한 화합물.

청구항 4

혈액 종양, 골수증식성 질환, 암, 자가면역 질환 또는 피부 질환을 치료하기 위한, 제1항의 화합물을 포함하는 의약.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 혈액 종양은 급성 골수성 백혈병(AML); 혼합 직계성 백혈병(MLL); T-세포형 급성 림프구성 백혈병(T-ALL); B-세포형 급성 림프구성 백혈병(B-ALL); 및 만성 골수단구성 백혈병(CMML)으로부터 선택되는 것인 의약.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 혈액 종양은 급성 골수성 백혈병인 의약.

청구항 7

제4항에 있어서, 상기 피부 질환은 건선 및 아토피성 피부염으로부터 선택되는 의약.

청구항 8

제1항의 화합물의 제조 방법으로서,

a) 2-아미노-3,5-디브로모-피라진을 트리에틸아민 및 5-아미노인돌과 반응시켜 5-브로모-N3-1H-인돌-5-일-피라진-2,3-디아민을 형성하는 단계; 및

b) 단계 a)에서 얻은 5-브로모-N3-1H-인돌-5-일-피라진-2,3-디아민을 4-피리딜-보론산과 커플링시키는 단계를 포함하는 제조 방법.

청구항 9

혈액 종양, 골수증식성 질환, 암, 자가면역 질환 또는 피부 질환을 치료하기 위한, 제1항의 화합물과 또 다른 분자 표적치료제의 조합의 유효량을 포함하는 약학 조성물.

청구항 10

혈액 종양, 골수증식성 질환, 암, 자가면역 질환 또는 피부 질환을 치료하기 위해 동시, 별도 또는 순차 사용하기 위한, 제1항의 화합물과 또 다른 분자 표적치료제를 포함하는 의약.

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001]

본 발명은 단백질 키나아제, 특히 Fms 유사 티로신 키나아제 3(FLT3)의 억제제로서 작용하는 파라진 화합물에 관한 것이다. 본 발명은 또한 이들 화합물을 포함하는 약학 조성물, AML, MLL, T-ALL, B-ALL 및 CMML과 같은 혈액 종양, 골수증식성 질환, 암과 같은 다른 증식성 질환, 자가 면역 및, 건선 및 아토피성 피부염과 같은 피부 질환 치료용 의약의 제조를 위한 화합물의 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0002]

단백질 키나아제는 세포 대사, 증식, 분화 및 생존 조절에 관여한다. 단백질 키나아제는 세린/트레오닌 또는 티로신 잔기 상의 단백질을 인산화한다. 한 부류의 키나아제의 활성화는 통상적으로 신호 상호교신(crosstalk)을

통한 하나 이상의 신호 경로의 활성화를 유도한다. 수용체 티로신 키나아제(RTK)는 주요 유형의 세포 표면 수용체이며, 수용체의 세포내 부분은 키나아제 도메인을 가진다. 활성화 리간드는 펩티드/단백질 호르몬, 예컨대 FL 리간드, 혈관 내피 성장 인자(VEGF), 표피 성장 인자(EGF), 섬유아세포 성장 인자(FGF), 신경 성장 인자(NGF) 혈소판 유래 성장 인자(PDGF), 인슐린 등이다. RTK의 세포의 도메인에서의 리간드의 결합으로 인해 수용체 이량체화 및 세포내 도메인에서 키나아제 부위를 활성화시키는 구조적 변화가 유발된다. 키나아제 활성화는 유전자 발현 패턴 및 세포 생리를 조절하는 다른 단백질의 인산화에 의한 신호 변환 다단반응을 유도한다(리뷰를 위해 문헌 [Schlessinger, J. (2000) Cell 103: 211-225; 및 Blume-Jensen P. & Hunter T. (2001) Nature 411: 355-365] 참조). 신호전달 다단반응에서 활성화된 세포내 신호전달 단백질은 전사 및 번역에 관여하는 다른 키나아제 및/또는 단백질일 수 있다. 세포내 키나아제에는 몇 종류의 패밀리가 있다. 티로신 키나아제의 야누스 키나아제(JAK) 패밀리(JAK1, 2, 3, 및 Thy1)는 다른 단백질과의 상호작용을 통해 활성화된다(문헌[O'Shea, J.J. et al. (2002) Cell 109 (Suppl.) 121-131] 및 그 문헌 내의 참조문헌 참고). 이소자임의 단백질 키나아제 C(PKC) 패밀리 및 미토젠 활성화된 키나아제(MAP-키나아제 패밀리)와 같은 세린/트레오닌 키나아제는 또한 세포 생존, 증식 및 분화 조절에 관여한다. PKC-이소자임은 칼슘에 의해 활성화되며, 디아실-글리세롤은 PKC 패밀리의 일부 구성원의 알로스테릭 활성화인자(알파 베타 감마)이다. 세포내 키나아제는 다른 단백질과 상호작용하며, 흔히 활성화시 다른 구획으로 전위된다(문헌[Manning, G. et al. (2002) Science 298: 1912-1934; Martin, P.M. & Hussaini I.M. (2005) Expert Opin. Ther. Targets 9(2) 299-313] 및 이들 문헌 내의 참조문헌 참고). 막 회합은, PKC 이소자임의 경우에서와 같이, 미리스토일화로 조절할 수 있다. 몇몇 상이한 부류의 키나아제에 대한 핵 회합이 개시된 바 있다. MAP 키나아제는 다른 단백질에 의해 활성화되며 핵으로 전위될 수 있으며, 여기서 세포 주기 및 분화의 조절 및 전사에 관련된 단백질은 인산화된다.

[0003]

정상적인 발생 및 분화 과정에서, 키나아제 활성화 및 탈활성화는 모두 긴밀히 조절된다. 구성적으로 활성인 키나아제를 초래하는 암유발 돌연변이는 정상 세포를 암세포로 전환시킬 수 있다. 활성화 돌연변이는, 예를 들어 ABL-티로신 키나아제 도메인이 BCR 단백질에 융합되는 만성 골수성 백혈병에서와 같이, 융합 단백질을 유발하는 염색체 전좌의 결과일 수 있다(리뷰를 위해서 문헌[Ostman, A. (2007) Helix Review Series Oncology 2: 2-9; 및 Deininger, M. et al. (2005) Blood 105: 2640-2653] 참조).

[0004]

정상 조혈 과정에서, FLT3은 골수아세포 단계에서 활성이지만, 이후 성숙 혈액 세포로의 정상 조혈 세포 분화시 FLT3 활성화는 없어진다(Gilliand, D.G. & Griffin, J.D. (2002) Blood 100: 1532-1542; Weisel, K.C. et al. (2007) Ann. N.Y. Acad. Sci. 1106:190-196). 급성 골수성 백혈병(AML)에서 FLT3 발현은 대부분의 환자에서 높다(70-90%)(Carow, C.E. et al. (1996) Blood 87 (3): 1089-1096; and Rosnet, O. et al (1993) Crit. Rev. Oncogenesis 4: 595-613). 또한, FLT3 키나아제 활성화는 막근접 위치에서의 내부 이중 반복배열(FLT3-ITD)로 인해 환자의 1/3에서 상향조절됨으로써, 리간드 독립적인 수용체 이량체화 및 구성적 활성 키나아제를 초래한다. FLT3-ITD은 예후 마커로서, 특히 양쪽 대립유전자가 영향을 받은 경우, 이 돌연변이를 보유하는 환자군에서는 생존이 통계학적으로 유의적으로 감소한다. AML 환자에서 나타나는 FLT3의 활성화 점 돌연변이(FLT3-PM)도 있다. 이들 활성화 돌연변이는 키나아제 도메인의 활성화 루프(AL-돌연변이) 또는 막근접 도메인(JM-돌연변이)에서 발견될 수 있다. 리뷰를 위해서 문헌[Carow, C.E. et al. (1996) Blood 87 (3): 1089-1096; Tickenbrock, L. et al. (2006) Expert Opin. Emerging Drugs 11(1): 153-165; Anjali S. & Advani, A.S. (2005) Current Pharmaceutical Design 11: 3449-3457; Lee B.H. et al. (2007) Cancer Cell 12: 367-380; Stam, R.W. et al. (2005) Blood 106(7): 2484-2490; 및 이들 문헌내의 참조문헌 참고. 또한, FLT3-ITD 또는 FLT3-PM은 다른 림프성 또는 골수성 악성종양, 예컨대 MLL, T-ALL 및 CMMML 환자의 부분집합에서 발견되었으며, 높은 FLT3 활성화는 B-ALL에서 나타났다(리뷰를 위해서 문헌[Lee, B.H. et al. (2007) Cancer Cell 12: 367-380] 참조).

[0005]

그러나, FLT3 활성화는 정상 조혈 과정의 일부이다. 골수 중의 미성숙 아세포의 증식이 FLT3과 같은 키나아제의 과다 자극에 의해 조절에 문제가 생기는 경우, 이는 다른 조혈 세포의 고갈을 초래한다. 그 다음 성숙 분화 세포 대신에 아세포가 혈류로 들어간다. 급성 백혈병 상태는 빈혈 및 호중구감소증을 초래한다. 따라서, 바람직하지 않은 키나아제 활성화의 차단은 아세포의 증식을 감소시키고 백혈병 상태를 완화시킨다. 몇몇 FLT3 키나아제 억제제를 AML 모델과 FLT3이 관련된 임상 적응증에서 시험하였다((Cheng, Y. & Paz, K. (2008) IDrugs 11(1): 46-56; Kiyoi, H. et al. (2007) Clin. Cancer Res. 13(15): 4575-4582; Roboz, G.J. et al. (2006) Leukemia 20: 952-957; Tse, K-F. et al. (2002) Leukemia 16: 2027-2036; Smith, B.D. et al. (2004) Blood 103: 3669-3676; Knapper, S. et al. (2006) Blood 108 (10): 3494-3503; and Furukawa, Y. et al. (2007) Leukemia 21 : 1005-1014). AML 세포주 MV4-11은 FLT3-ITD를 보유한다. 이 세포주는 FLT3 활성화의 억제제에 대한 생존력/증식 분석에 매우 민감하다. 그러나, 생체의 환자 세포에서는 또한 신호전달 경로간의 상호교신이 있으며, FLT3 수용체 하류의 활성화된 분자는 또한 다른 키나아제에 의해 활성화될 수 있다. Knapper 등(2006)은

FLT3 자가인산화가 FLT3 억제제에의 노출 후에 환자 세포에서 하향조절되더라도, 하류 효과기 STAT 및 ERK의 인산화 상태는 감소되지 않는데, 이는 아마도 FLT3-인산화와 별도의 다른 신호전달 경로의 조절장애에 의한 것 같다.

[0006] FLT3 및 다른 RTK의 활성화는 자가인산화 및 내면화에 의해 조절되며, 이후 수용체의 자가인산화는 또한 조절을 받는 특정 포스파타제에 의해 제거된다. 포스파타제의 탈인산화 및 내면화 과정의 조절장애는 또한 RTK-활성에 영향을 주며, 따라서 세포의 생존력 및 증식을 변화시킨다. 몇가지 조절 명령이 있기 때문에, 키나아제 억제제는 암 또는 증식성 질환에서 증식 및 생존을 효과적으로 억제하는 작용 방식 및 표적 특이성에 관한 특정 프로파일을 가져야 한다.

발명의 내용

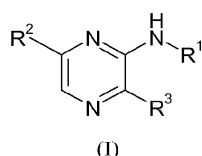
[0007] 본 발명은 일반적으로 수용체 티로신 키나아제 FLT3의 억제제로서 작용할 수 있는 특정 피라진 화합물 및 관련 약학 조성물 및 방법에 관한 것이다.

[0008] 이론에 구애받지 않으면서, 본 명세서에 개시된 화합물은, 예를 들어 혈액 종양, 예컨대 급성 골수성 백혈병(AML); 혼합 직계성 백혈병(MLL); T-세포형 급성 림프구성 백혈병(T-ALL); B-세포형 급성 림프구성 백혈병(B-ALL); 만성 골수단구성 백혈병(CMML); 골수증식성 질환; 다른 증식성 질환, 예컨대 암; 자가면역 질환; 및 피부 질환, 예컨대 건선 및 아토피성 피부염의 치료 또는 예방을 위해 사용될 수 있다고 생각한다.

[0009] 상기 화합물은 또한 분자 표적치료제(molecularly targeted agent), 예컨대 통상의 세포독성제, 또는 화학요법 후, 줄기 세포 지향적(stem-cell-directed) 유지 요법 및 MLL-재배열 소아 급성 림프아구성 백혈병에서 사용되는 화합물과 함께 사용될 수 있다.

[0010] 일 측면에서, 본 발명은 하기 화학식 I의 화합물 및 이의 기하 이성질체, 라세미체, 호변이성질체 및 광학 이성질체뿐 아니라, 이의 약학적으로 허용되는 염, 수화물, N-옥사이드 및 생리적으로 가수분해되고 허용되는 에스테르 및 임의의 프로드러그 형태를 제공한다.

[0011] [화학식 I]



[0012]

[0013] 상기 식에서,

[0014] R¹은

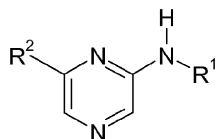
- [0015] (a) 인돌릴에틸,
- [0016] (b) 사이클로헥실,
- [0017] (c) 하이드록시사이클로헥실,
- [0018] (d) 1,3-벤조티아졸릴,
- [0019] (e) C₁₋₃-알킬-1,3-벤조티아졸릴,
- [0020] (f) 벤조티에닐,
- [0021] (g) 인돌릴,
- [0022] (h) 인다졸릴,
- [0023] (i) C₁₋₃-알킬인돌릴,
- [0024] (j) 카르복시인돌릴,
- [0025] (k) C₁₋₃-알콕시카르보닐인돌릴,

- [0026] (l) 카르바모일인돌릴,
- [0027] (m) 4-메틸피페라진-1-일카르보닐인돌릴,
- [0028] (n) 카르복시메틸인돌릴,
- [0029] (o) 아세틸아미노페닐, 및
- [0030] (p) C₁₋₃-알킬벤즈이미다졸릴
- [0031] 로 이루어진 군에서 선택되고;
- [0032] R²는
- [0033] (a) 피리디닐,
- [0034] (b) 플루오로피리디닐,
- [0035] (c) 클로로피리디닐,
- [0036] (d) C₁₋₃-알콕시피리디닐,
- [0037] (e) 티에닐,
- [0038] (f) 푸릴,
- [0039] (g) 페닐,
- [0040] (h) 플루오로페닐,
- [0041] (i) 하이드록시페닐,
- [0042] (j) 시아노페닐,
- [0043] (k) 하이드록시메틸페닐,
- [0044] (l) 아미노페닐,
- [0045] (m) 카르바모일페닐,
- [0046] (n) C₁₋₃-알킬아미노카르보닐페닐,
- [0047] (o) 디메틸아미노카르보닐페닐,
- [0048] (p) (C₁₋₂-알콕시-C₂₋₃-알킬아미노카르보닐)페닐,
- [0049] (q) (시아노-C₂₋₃-알킬아미노카르보닐)페닐,
- [0050] (r) (디메틸아미노-C₂₋₃-알킬아미노카르보닐)페닐,
- [0051] (s) N-메톡시-N-메틸아미노카르보닐페닐,
- [0052] (t) 모르폴린-4-일카르보닐페닐,
- [0053] (u) 피페리딘-1-일카르보닐페닐, 및
- [0054] (v) 퀴놀리닐로 이루어진 군에서 선택되며;
- [0055] R³은 수소 또는 NH₂이며;
- [0056] 단, 상기 화합물은
- [0057] 4-(6-{[2-(1H-인돌-3-일)에틸]아미노}피라진-2-일)벤즈아미드;
- [0058] N'-(1H-인돌-5-일)-5-(퀴놀린-5-일)피라진-2,3-디아민;
- [0059] 5-(3-아미노페닐)-N'-(1H-인돌-5-일)피라진-2,3-디아민;

[0060] 3-[5-아미노-6-(1H-인돌-5-일아미노)피라지닐]페놀;
 [0061] 4-[5-아미노-6-(1H-인돌-5-일아미노)피라지닐]페놀; 또는
 [0062] 1-메틸-N-[6-(2-피리디닐)피라지닐]-1H-벤즈이미다졸-2-아민은 아니다.

[0063] 본 발명의 바람직한 화합물의 군은 R^3 가 H인 화학식 I의 화합물로서, 하기 화학식 Ia의 화합물을 형성한다:

[0064] [화학식 Ia]



(Ia)

[0065]
 [0066] 상기 식에서,
 [0067] R^1 은
 [0068] (a) 하이드록시사이클로헥실,
 [0069] (b) C_{1-3} -알킬-1,3-벤조티아졸-5-일,
 [0070] (c) 1,3-벤조티아졸릴,
 [0071] (d) 벤조티에닐,
 [0072] (e) 인돌릴,
 [0073] (f) C_{1-3} -알킬인돌-5-일,
 [0074] (g) 카르복시인돌릴,
 [0075] (h) C_{1-3} -알콕시카르보닐인돌릴로 이루어진 군에서 선택되고;

[0076] R^2 는
 [0077] (a) 피리디닐,
 [0078] (b) 플루오로-피리디닐, 및
 [0079] (c) 카르바모일페닐로 이루어진 군에서 선택된다.

[0080] 더욱 바람직한 화학식 Ia의 화합물의 군은,

[0081] R^1 은
 [0082] (a) 4-하이드록시사이클로헥실,
 [0083] (b) 2-메틸-1,3-벤조티아졸-5-일,
 [0084] (c) 1,3-벤조티아졸-5-일,
 [0085] (d) 인돌-5-일 및
 [0086] (e) 인돌-6-일로 이루어진 군에서 선택되고;

[0087] R^2 는
 [0088] (a) 4-피리디닐,
 [0089] (b) 2-플루오로-4-피리디닐 및

(c) 4-카르바모일페닐로 이루어진 군에서 선택되는 것들이다.

바람직한 화학식 Ia의 화합물은

N-(6-피리딘-4-일피라진-2-일)-1H-인돌-5-아민,

N-[6-(2-플루오로피리딘-4-일)피라진-2-일]-1H-인돌-5-아민,

N-(6-피리딘-4-일피라진-2-일)-1H-인돌-6-아민,

N-(6-피리딘-4-일피라진-2-일)-1,3-벤조티아졸-5-아민,

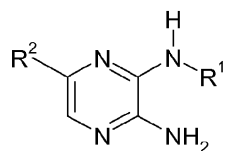
2-메틸-N-(6-피리딘-4-일피라진-2-일)-1,3-벤조티아졸-5-아민,

4-[6-(1H-인돌-5-일아미노)피라진-2-일]벤즈아미드, 및

4-{6-[(4-하이드록시사이클로헥실)아미노]피라진-2-일}벤즈아미드이다.

본 발명의 바람직한 화합물 군은 R₃가 NH₂인 화학식 I의 화합물로서, 하기 화학식 Ib의 화합물을 형성한다:

[화학식 Ib]



(Ib)

상기 식에서,

R¹은

(a) 인돌에틸,

(b) 사이클로헥실,

(c) 하이드록시사이클로헥실,

(d) C₁₋₃-알킬-1,3-벤조티아졸릴,

(e) 벤조티에닐,

(f) 인돌릴,

(g) 인다졸릴,

(h) C₁₋₃-알킬인돌-5-일, 및

(i) 카르바모일인돌릴로 이루어진 군에서 선택되고;

R²는

(a) 피리디닐,

(b) 클로로피리디닐,

(c) 플루오로피리디닐,

(d) C₁₋₃-알콕시피리디닐,

(e) 티에닐,

(f) 푸릴,

(g) 페닐,

- [0121] (h) 플루오로페닐,
- [0122] (i) 하이드록시페닐,
- [0123] (j) 시아노페닐,
- [0124] (k) 하이드록시메틸페닐,
- [0125] (l) 아미노페닐,
- [0126] (m) 카르바모일페닐,
- [0127] (n) C₁₋₃-알킬아미노카르보닐페닐,
- [0128] (o) 디메틸아미노카르보닐페닐,
- [0129] (p) (C₁₋₂-알콕시-C₂₋₃-알킬아미노카르보닐)페닐,
- [0130] (q) 시아노-C₂₋₃-알킬아미노카르보닐)페닐,
- [0131] (r) (디메틸아미노-C₂₋₃-알킬아미노카르보닐)페닐, 및
- [0132] (s) (N-메톡시-N-메틸아미노카르보닐페닐
- [0133] (t) (피페리딘-1-일카르보닐)페닐,
- [0134] (u) (모르폴린-4-일카르보닐)페닐,
- [0135] (v) 퀴놀리닐로 이루어진 군에서 선택된다.
- [0136] 더욱 바람직한 화학식 Ib의 화합물의 군은,
- [0137] R¹이
- [0138] (a) 2-(인돌-3-일)에틸,
- [0139] (b) 4-하이드록시사이클로헥실,
- [0140] (c) 인돌-5-일,
- [0141] (d) 인돌-4-일,
- [0142] (e) 인다졸-5-일, 및
- [0143] (f) 2-메틸인돌-5-일로 이루어진 군에서 선택되고;
- [0144] R²가
- [0145] (a) 3-피리디닐,
- [0146] (b) 4-피리디닐,
- [0147] (c) 2-클로로피리딘-4-일,
- [0148] (d) 3-티에닐,
- [0149] (e) 3-푸릴,
- [0150] (f) 3-플루오로페닐,
- [0151] (g) 3-하이드록시페닐,
- [0152] (h) 4-시아노페닐,
- [0153] (i) 4-아미노페닐,
- [0154] (j) 4-카르바모일페닐,

- [0155] (k) 3-카르바모일페닐,
- [0156] (l) 4-디메틸아미노카르보닐페닐,
- [0157] (m) 4-[(2-메톡시에틸)아미노카르보닐]페닐로 이루어진 군에서 선택된 것들이다.
- [0158] 바람직한 화학식 Ib의 화합물은,
- [0159] N3-1H-인돌-5-일-5-피리딘-4-일피라진-2,3-디아민,
- [0160] N3-1H-인돌-5-일-5-피리딘-3-일피라진-2,3-디아민,
- [0161] 5-(2-클로로피리딘-4-일)-N3-1H-인돌-5-일피라진-2,3-디아민,
- [0162] N3-(2-메틸-1H-인돌-5-일)-5-피리딘-4-일피라진-2,3-디아민,
- [0163] N3-(2-메틸-1H-인돌-5-일)-5-피리딘-3-일피라진-2,3-디아민,
- [0164] N3-1H-인돌-4-일-5-피리딘-4-일피라진-2,3-디아민,
- [0165] N3-1H-인돌-5-일-5-(3-티에닐)피라진-2,3-디아민,
- [0166] 5-(3-푸릴)-N3-1H-인돌-5-일피라진-2,3-디아민,
- [0167] N3-1H-인돌-5-일-5-페닐피라진-2,3-디아민,
- [0168] 5-(3-플루오로페닐)-N3-1H-인돌-5-일피라진-2,3-디아민,
- [0169] 3-[5-아미노-6-(1H-인돌-5-일아미노)피라진-2-일]벤즈아미드,
- [0170] 4-[5-아미노-6-(1H-인돌-5-일아미노)피라진-2-일]벤즈아미드,
- [0171] 4-{5-아미노-6-[(2-메틸-1H-인돌-5-일)아미노]피라진-2-일}벤즈아미드,
- [0172] 4-[5-아미노-6-(1H-인돌-5-일아미노)피라진-2-일]-N-(2-메톡시에틸)벤즈아미드,
- [0173] 4-[5-아미노-6-(1H-인돌-5-일아미노)피라진-2-일]-N-(2-시아노에틸)벤즈아미드,
- [0174] 4-[5-아미노-6-(1H-인돌-4-일아미노)피라진-2-일]벤즈아미드,
- [0175] N3-[2-(1H-인돌-3-일)에틸]-5-피리딘-4-일피라진-2,3-디아민,
- [0176] N3-[2-(1H-인돌-3-일)에틸]-5-피리딘-3-일피라진-2,3-디아민,
- [0177] 4-(5-아미노-6-{[2-(1H-인돌-3-일)에틸]아미노}피라진-2-일)벤즈아미드,
- [0178] 4-(5-아미노-6-{[2-(1H-인돌-3-일)에틸]아미노}피라진-2-일)-N,N-디메틸벤즈아미드,
- [0179] 5-(4-아미노페닐)-N3-[2-(1H-인돌-3-일)에틸]피라진-2,3-디아민,
- [0180] 트랜스-4-[(3-아미노-6-피리딘-4-일피라진-2-일)아미노]사이클로헥산을,
- [0181] 3-[5-아미노-6-(1H-인돌-5-일아미노)피라진-2-일]페놀,
- [0182] N3-1H-인다졸-5-일-5-피리딘-4-일피라진-2,3-디아민,
- [0183] 4-[5-아미노-6-(1H-인다졸-5-일아미노)피라진-2-일]-N-(2-메톡시에틸)벤즈아미드, 및
- [0184] 4-[5-아미노-6-(1H-인다졸-5-일아미노)피라진-2-일]벤즈아미드이다.
- [0185] 일 측면에서, 본 발명은 치료법, 특히 FLT3 관련 질환의 치료 또는 예방에 이용하기 위한 화학식 I의 화합물에 관한 것이다. FLT3 관련 질환의 예는 급성 골수성 백혈병(AML); 혼합 직계성 백혈병(MLL); T-세포형 급성 림프구성 백혈병(T-ALL); B-세포형 급성 림프구성 백혈병(B-ALL); 만성 골수단구성 백혈병(CMML)을 포함한다. 본 발명은 또한 조절장애의 키나아제 활성과 관련된 혈액 질환, 예컨대 골수증식성 질환; 다른 증식성 질환, 예컨대 암; 자가면역 질환; 및 피부 질환, 예컨대 건선 및 아토피성 피부염의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 화학식 I의 화합물에 관한 것이다.
- [0186] 또 다른 측면에서, 본 발명은 활성 성분으로서 화학식 I의 화합물을 약학적으로 허용되는 희석제 또는 담체와

함께 포함하고, 특히 FLT2 관련 질환의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 약학 조성물에 관한 것이다.

- [0187] 일 측면에서, 본 발명은 FLT3 관련 질환을 앓고 있는 인간 또는 동물 피험체의 치료 방법에 관한 것이다. 추가 측면에서, 본 발명은 혈액 증양, 예컨대 급성 골수성 백혈병(AML); 혼합 직계성 백혈병(MLL); T-세포형 급성 림프구성 백혈병(T-ALL); B-세포형 급성 림프구성 백혈병(B-ALL); 만성 골수단구성 백혈병(CMML), 및 다른 혈액 질환, 예컨대 골수증식성 질환; 다른 증식성 질환, 예컨대 암; 자가면역 질환; 및 피부 질환, 예컨대 건선 및 아토피성 피부염을 앓고 있는 인간 또는 동물 피험체를 치료하는 방법에 관한 것이다. 상기 방법은 1종 이상의 화학식 I의 화합물, 이의 염 또는 상기 화합물 또는 염을 함유하는 조성물의 유효량을 필요한 피험체(예, 인간 또는 동물, 개, 고양이, 말, 소)에게 투여하는 것을 포함할 수 있다.
- [0188] 본 명세서에 개시된 방법은 피험체가 구체적으로 언급된 치료를 필요로 하는 것으로 확인된 경우를 포함한다. 그러한 치료를 필요로 하는 피험체를 확인하는 것은 피험체 또는 건강 관리 전문가의 판단에 맡길 수 있으며, 주관적(예, 의견) 또는 객관적(예, 시험 또는 진단 방법에 의해 측정가능)일 수 있다.
- [0189] 다른 측면에서, 본 발명은 FLT3 관련 질환 또는 질병을 앓고 있거나 또는 이에 민감한 피험체를 치료하는 방법으로서, 상기 치료가 필요한 피험체에게 화학식 I의 화합물 또는 이의 약학 조성물의 유효량을 투여하여 상기 피험체의 상기 질환 또는 질병이 치료되도록 하는 것을 포함하는 방법을 제공한다.
- [0190] 추가의 측면에서, 본 발명은 본 명세서에 개시된 바와 같은 FLT3 키나아제의 원하지 않는 활성과 관련된 질병, 질환 또는 병태의 치료를 위한 화학식 I의 화합물의 (예컨대 의약으로서의) 용도에 관한 것이다.
- [0191] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본 명세서에 개시된 바와 같은 FLT3 키나아제의 원하지 않는 활성과 관련된 질병, 질환 또는 병태의 치료를 위한 화학식 I의 화합물을 함유하는 의약의 제조에 있어서의 화학식 I의 화합물의 용도에 관한 것이다.
- [0192] 본 발명의 일 측면은 화학식 I에 따른 수용체 티로신 키나아제 FLT3의 억제제와 또 다른 분자 표적치료제, 바람직하게는 통상의 세포독성제, 또는 화학요법후, 줄기 세포 지향적 유지 요법 및 MLL 재배열 소아 급성 림프아구성 백혈병에 사용되는 화합물의 조합의 유효량과; 임의로 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약학 조성물을 제공한다.
- [0193] 본 발명의 또 다른 측면은 혈액 증양, 골수증식성 질환, 다른 증식성 질환, 자가면역 질환 및 피부 질환을 예방 또는 치료하는 방법으로서, 화학식 I에 따른 수용체 티로신 키나아제 FLT3의 억제제를 또 다른 분자 표적치료제, 바람직하게는 통상의 세포독성제, 또는 화학요법후, 줄기 세포 지향적 유지 요법 및 MLL 재배열 소아 급성 림프아구성 백혈병에 사용되는 화합물과 동시에 또는 순차적으로 상기 예방 또는 치료를 필요로 하는 인간 또는 동물 피험체에게 치료 효과를 제공하기에 충분한 양으로 투여하는 것을 포함하는 예방 또는 치료 방법을 제공한다.
- [0194] 본 발명의 또 다른 측면은 화학식 I에 따른 수용체 티로신 키나아제 FLT3의 억제제를 또 다른 분자 표적치료제, 예컨대 통상의 세포독성제, 또는 화학요법후, 줄기 세포 지향적 유지 요법 및 MLL 재배열 소아 급성 림프아구성 백혈병에 사용되는 화합물과 함께, 혈액 증양, 골수증식성 질환, 다른 증식성 질환, 자가면역 질환 및 피부 질환의 치료용 의약의 제조를 위해 사용하는 용도를 제공한다.
- [0195] 본 발명의 또 다른 측면은, 혼합 치료량의 화학식 I에 따른 수용체 티로신 키나아제 FLT3의 억제제와 또 다른 분자 표적치료제, 예컨대 통상의 세포독성제, 또는 화학요법후, 줄기 세포 지향적 유지 요법 및 MLL 재배열 소아 급성 림프아구성 백혈병에 사용되는 화합물을 약학적으로 허용되는 담체와 긴밀하게 혼합한 약학 조성물의 제조 방법을 제공한다.
- [0196] 본 발명의 또 다른 측면은 화학식 I에 따른 수용체 티로신 키나아제 FLT3의 억제제를 함유하고, 또 다른 분자 표적치료제, 예컨대 통상의 세포독성제, 또는 화학요법후, 줄기 세포 지향적 유지 요법 및 MLL 재배열 소아 급성 림프아구성 백혈병에 사용되는 화합물을 추가로 포함하며; 혈액 증양, 골수증식성 질환, 다른 증식성 질환, 자가면역 질환 및 피부 질환의 치료법에서 동시, 별도 또는 순차 사용하기 위한 혼합 제제로서의 제품을 제공한다.
- [0197] 본 발명의 또 다른 측면은 2-아미노-3,5-디브로모-피라진과 적절한 아민을 반응시킨 후 스즈키 커플링시키는 것을 포함하는 본 발명의 화학식 I에 따른 화합물의 제조 방법이다. 더욱 구체적으로, 본 발명의 화학식 I의 화합물을 제조하는 방법은 하나 이상의 하기 단계들을 포함한다: 2-아미노-3,5-디브로모-피라진(3 당량) 및 적절한 아민을 4 mL 물에 용해시키고 생성된 혼합물은 1 시간 동안 195℃로 가열하였다. 물과 에틸 아세테이트를 첨가

하고 상 분리시켰다. 에틸 아세테이트로 수상을 1회 추출하였다. 혼합 유기상을 세척하고(물 및 염수) 농축시켜 생성물과 미반응 아민 또는 알코올의 미정제 혼합물을 얻었다. 이 미정제 혼합물은, 문헌에 공개된 전형적인 스즈키 프로토콜에 따라 실시한 후속 스즈키 반응에서 추가의 특성규명 또는 정제 없이 사용한다.

[0198] 본 명세서에 설명된 합성 경로에 사용된 화학물질은, 예컨대 용매, 시약, 촉매 및 보호기 및 탈보호기 시약을 포함할 수 있다. 또한 상기 개시된 방법은, 본 명세서에 구체적으로 개시된 단계들 이전 또는 이후에, 궁극적으로 화합물을 합성할 수 있도록 적절한 보호기를 부가 또는 제거하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 또한, 각종 합성 단계는 대체 순서 또는 차례로 실시하여 목적하는 화합물을 얻을 수 있다. 적용가능한 화합물의 합성에 유용한 합성 화학 변형법은 당업계에 공지되어 있으며, 예를 들어 문헌[R. Larock, Comprehensive Organic Transformations, VCH Publishers (1989); L. Fieser and M. Fieser, Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis, John Wiley and Sons (1994); and L. Paquette, ed., Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis, John Wiley and Sons (1995) 및 이의 후속판]에 개시된 것들을 포함한다.

[0199] 상기 개시된 반응을 수행하는 방법은 당업계에 잘 알려져 있다. 화학식 I의 화합물을 제조하기 위해 필요한 출발 물질은 알려져 있거나, 또는 기존 화합물의 제조와 유사하게 제조할 수 있다. 화학식 I의 화합물은 하나 이상의 키랄 탄소 원자를 가질 수 있으며, 따라서 광학 이성질체 형태, 예컨대 순수한 에난티오머로서 또는 에난티오머의 혼합물(라세미체)로서 또는 부분입체이성질체를 포함하는 혼합물로서 얻어질 수 있다. 순수한 에난티오머를 얻기 위한 광학 이성질체 혼합물의 분리는 당업계에 공지되어 있으며, 예를 들어 광학적 활성 (키랄) 산을 이용한 염의 분별 결정 또는 키랄 컬럼 상에서의 크로마토그래피 분리로 실시할 수 있다. 열거된 화합물에 대해 가능한 모든 이성질체 형태(순수한 에난티오머, 부분입체이성질체, 호변이성질체, 라세미 혼합물 및 2종의 에난티오머의 불균등 혼합물)는 본 발명의 범위 내이다. 본 명세서에 개시된 화합물이 기하 비대칭의 올레핀계 이중 결합을 포함하는 경우, 트랜스 및 시스(E 및 Z) 기하 이성질체를 모두 포함하고자 하는 것이다.

[0200] 화학식 I의 화합물이 그 자체로 사용되거나, 또는 적절한 경우 이의 약리학적으로 허용되는 염(산 또는 염기 부가염)으로서 사용될 수 있다. 상기 언급한 약리학적으로 허용되는 부가염은 화합물이 형성할 수 있는 치료적 활성 비독성 산 및 염기 부가염 형태를 포함하는 것으로 의도된다. 염기성 성질을 가지는 화합물은, 적절한 산으로 염기 형태를 처리하여 약학적으로 허용되는 산부가염으로 전환시킬 수 있다. 예시적인 산은 무기산, 예컨대 염화수소, 브롬화수소, 요오드화수소, 황산, 인산; 및 무기산, 예컨대 포름산, 아세트산, 프로판산, 하이드록시 아세트산, 락트산, 피루브산, 글리콜산, 말레산, 말론산, 옥살산, 벤젠설폰산, 톨루엔설폰산, 메탄설폰산, 트리플루오로아세트산, 푸마르산, 숙신산, 말산, 타르타르산, 시트르산, 살리실산, p-아미노살리실산, 판산, 벤조산, 아스코르브산 등을 포함한다. 예시적인 염기 부가염 형태는 나트륨, 칼륨, 칼슘 염과, 약학적으로 허용되는 아민, 예컨대 암모니아, 알킬아민, 벤자민 및 아미노산, 예컨대 아르기닌 및 리신의 염이다. 또한 본 명세서에 사용된 바와 같은 용어 부가염은, 화합물 및 이의 염이 형성할 수 있는 용매화물, 예컨대 수화물, 알코올레이트 등을 포함한다.

[0201] 임상 용도로, 본 발명의 화합물을 경구, 직장, 비경구 또는 다른 투여 방식용의 약학 제제로 제형화한다. 약학 제제는 일반적으로, 활성 물질 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 통상의 약학적 부형제와 혼합하여 제조한다. 부형제의 예는 물, 젤라틴, 아라비아검, 락토스, 미정질 셀룰로스, 전분, 나트륨 전분 글리콜레이트, 인산수소칼슘, 스테아르산마그네슘, 탈크, 콜로이드성 이산화규소 등이다. 또한 상기 제제는 다른 약학적 활성 제제와 통상의 첨가제, 예컨대 안정화제, 습윤제, 유화제, 착향제, 완충제 등을 포함할 수 있다. 일반적으로, 활성 화합물의 양은 제제의 0.1-95 중량%, 바람직하게는 비경구 사용 제제 중 0.2-20 중량%, 더욱 바람직하게는 경구 투여용 제제 중 1-50 중량%이다.

[0202] 제제는 과립화, 압축, 마이크로캡슐화, 분무 코팅 등과 같은 기존 방법으로 추가로 제조할 수 있다. 제제는 정제, 캡슐, 과립, 산제, 시럽, 현탁제, 좌약 또는 주사제의 제형으로 통상의 방법에 따라 제조할 수 있다. 액상 제제는 물이나 다른 적절한 비히클에 활성 물질을 용해 또는 현탁시켜 제조할 수 있다. 정제 및 과립은 통상의 방법으로 코팅할 수 있다.

[0203] 특정 화합물의 용량 수준 및 투여 빈도는 사용되는 특정 화합물의 효능, 그 화합물의 대사 안정성 및 작용 기간, 환자의 연령, 체중, 일반적인 건강, 성별, 식이, 투여 방식 및 시간, 배출 속도, 약물 조합, 치료하고자 하는 증상의 경중, 및 환자가 진행중인 치료를 포함하는 각종 인자에 따라 달라질 것이다. 1일 용량은, 예를 들어 체중 1 킬로그램 약 0.001 mg 내지 약 100 mg 범위로 1회 또는 다회 투여될 수 있으며, 예를 들어 각각 약 0.01 mg 내지 1000 mg일 수 있다. 일반적으로, 상기 용량은 경구로 제공되지만 비경구 투여를 선택할 수도 있다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0204] 정의
- [0205] 하기 정의는 명세서 및 특허청구범위 전반에 걸쳐 적용된다.
- [0206] 용어 "FLT3 관련 질환" 및 "FLT3의 원하지 않는 활성화와 관련된 질환 또는 병태"는, 질환 또는 증상의 과정 또는 발현에 FLT3이 관여하는 임의의 질환 또는 병태를 나타내기 위해 상호 호환적으로 사용된다. 따라서, FLT3 관련 질환은, 예컨대 혈액 종양, 예컨대 급성 골수성 백혈병(AML); 혼합 직계성 백혈병(MLL); T-세포형 급성 림프구성 백혈병(T-ALL); B-세포형 급성 림프구성 백혈병(B-ALL); 만성 골수단구성 백혈병(CMML)을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0207] 달리 언급되거나 제시된 바 없다면, 용어 " C_{1-6} -알킬"은 탄소 원자가 1 내지 6개인 직쇄 또는 분지쇄 알킬기를 의미한다. 상기 C_{1-6} 알킬의 예는 메틸, 에틸, n-프로필, 이소-프로필, n-부틸, 이소부틸, sec-부틸, t-부틸 및 직쇄 및 분지쇄 펜틸 및 헥실을 포함한다. 범위 " C_{1-6} -알킬"의 부분에 대해서, 이의 모든 서브그룹, 예컨대 C_{1-5} -알킬, C_{1-4} -알킬, C_{1-3} -알킬, C_{1-2} -알킬, C_{2-6} -알킬, C_{2-5} -알킬, C_{2-4} -알킬, C_{2-3} -알킬, C_{3-6} -알킬, C_{4-5} -알킬 등도 고려된다. 유사하게, "아릴- C_{1-6} -알킬"은 아릴기로 치환된 C_{1-6} -알킬기를 의미한다. 예는 벤질, 2-페닐에틸, 1-페닐에틸 및 1-나프틸메틸을 포함한다.
- [0208] 달리 언급되거나 제시된 바 없다면, 용어 " C_{1-3} -알콕시"는 탄소 원자가 1 내지 3개인 직쇄 또는 분지쇄 알콕시기를 의미한다. 상기 C_{1-3} -알콕시의 예는 메톡시, 에톡시, n-프로폭시, 이소프로폭시를 포함한다. 범위 " C_{1-3} -알콕시"의 부분에 대해서, 이의 모든 서브그룹, 예컨대 C_{1-2} -알콕시 및 C_{2-3} -알콕시가 고려된다.
- [0209] 달리 언급되거나 제시된 바 없다면, 용어 " C_{1-3} -알콕시-카르보닐"은 카르보닐기에 연결되고 탄소 원자가 1 내지 3개인 직쇄 또는 분지쇄 알콕시기를 의미한다. 상기 " C_{1-3} -알콕시-카르보닐"의 예는 메톡시카르보닐, 에톡시카르보닐, 이소프로폭시카르보닐을 포함한다. 범위 " C_{1-3} -알콕시-카르보닐"의 부분에 대해서, 이의 모든 서브그룹, 예컨대 C_{1-2} -알콕시-카르보닐 및 C_{2-3} -알콕시카르보닐이 고려된다.
- [0210] "약학적으로 허용되는"은 일반적으로 안전하고, 비독성이며, 생물학적으로도 또는 그 밖에도 바람직한 약학 조성물을 제조하는데 유용하다는 것을 의미하며, 인간 약학 용도뿐 아니라 수의 용도에 유용한 것을 포함한다.
- [0211] 본 명세서에 사용된 바와 같은 "치료"는 지명된 질환 또는 병태의 예방, 또는 일단 확립된 질환의 개선 또는 제거를 포함한다.
- [0212] "유효량"은 처리된 피험체에 치료 효과를 부여하는 화합물의 양을 의미한다. 치료 효과는 객관적(즉, 일부 시험이나 마커에 의해 측정가능) 또는 주관적(즉, 피험체가 효과를 느끼거나 징후를 나타냄)일 수 있다. 용어 "프로드러그 형태"는 약리학적으로 허용되는 유도체, 예컨대 에스테르 또는 아미드를 의미하며, 유도체는 체내에서 생체전환되어 활성 약물을 형성한다. 문헌[Goodman and Gilman's, The Pharmacological basis of Therapeutics, 8th ed., Mc-Graw-Hill, Int. Ed. 1992, "Biotransformation of Drugs", p. 13-15; and "The Organic Chemistry of Drug Design and Drug Action" by Richard B. Silverman. Chapter 8, p 352. (Academic Press, Inc. 1992. ISBN 0-12-643730-0)] 참조.
- [0213] 본 발명에 의해 고려되는 치환기 및 변수의 조합은 오직 안정한 화합물을 형성할 수 있는 것들이다. 본 명세서에 사용된 용어 "안정한"은 제조하기에 충분한 안정성을 보유하며 본 명세서에 상세히 설명된 목적(예컨대 FLT3 관련 질환 또는 질병(본 명세서에 개시된 것들 포함), 예컨대 혈액 종양, 예컨대 급성 골수성 백혈병(AML); 혼합 직계성 백혈병(MLL); T-세포형 급성 림프구성 백혈병(T-ALL); B-세포형 급성 림프구성 백혈병(B-ALL); 만성 골수단구성 백혈병(CMML)의 치료를 위한 피험체에서의 치료적 투여)에 유용하도록 충분한 시간 동안 화합물의 완전성을 유지하는 화합물을 의미한다.
- [0214] 본 명세서에서 임의의 변수 정의 내의 화학적 기의 목록의 설명은 임의의 단일기 또는 목록화한 기의 조합으로서의 그 변수의 정의를 포함한다. 본 명세서에서 변수에 대한 구체예의 설명은 임의의 단일 구체예로서 또는 임의의 다른 구체예들 또는 이의 일부와의 조합으로서의 구체예를 포함한다.

- [0215] 이하, 본 발명은 하기 비제한적인 실시예를 사용하여 추가로 설명될 것이다. 하기 특정 구체예는 단지 예시를 위해 설명되는 것이며, 어떤 방식으로든 본 개시내용의 나머지 부분을 제한하는 것이 아니다. 추가로 상술하지 않아도, 당업자는 본 명세서의 설명을 바탕으로 본 발명을 완전히 이용할 수 있다고 생각된다. 본 명세서 중에 인용된 모든 공개문헌은 그 전문이 참고 인용된다.
- [0216] 본 명세서에 설명된 구조는 특정 -NH-, -NH₂(아미노) 및 -OH(하이드록시) 기를 포함할 수 있으며, 여기서 상응하는 수소 원자(들)는 명시적으로 나타내지 않았지만, 각 경우에 -NH-, -NH₂ 또는 -OH로 읽을 수 있다.
- [0217] 방법
- [0218] ¹H 핵 자기 공명(NMR) 및 ¹³C NMR은 각각 400.1 MHz 및 100.6 MHz에서 Bruker Advance DPX 400 분광기로 기록하였다. 모든 스펙트럼은 잔류 용매 또는 테트라메틸실란(TMS)을 내부 표준물질로서 사용하여 기록하였다.
- [0219] 저해상도 전기분무 이온화 질량 분광분석(LRESIMS)은 Agilent MSD 질량 분광기 또는 Waters ZQ 질량 분광기를 사용하여 얻었다. 고해상도 전기분무 이온화 질량 분광분석(HRESIMS)은 Agilent 1100 LC-시스템에 연결된 Agilent LC/MSD TOF에서 얻었다. 이온원: ESI, 이온 극성: 양성, 데이터: 프로파일 모드, 스캔 범위: 100-1100 Da, MS 파라미터: Fragmentor 215 V, Skimmer 560V och OCT RF(octapole rods) 250 V.; 기준 질량 121.050873 및 922.009798 (Agilent 기준 믹스); LC: A 15 mM 알루미늄 아세테이트; B 100 MeCN; 유량 400 μL/분 등용매. 순간 크로마토그래피는 Merck 실리카 겔 60(230-400 메쉬)에서 실시하였다. 알루미늄 캡과 격벽이 구비된 0.5-2 mL 또는 2-5 mL Smith Process 바이얼을 이용하여 Smith Creator 또는 Optimizer(Personal Chemistry)를 사용하여 극조단과 조사를 실시하였다. ACD/NAME 6.0 (Advanced Chemistry Development, Inc., Toronto, Canada)을 이용하여 화합물을 자동적으로 명명하였다.
- [0220] 분석적 LCMS 데이터는 다음을 이용하여 얻었다:
- [0221] 시스템 A: Agilent MSD 질량 분광기; Agilent 1100 시스템; ACE 3 C8 컬럼(50x3.0 mm); 0.1% TFA 함유 물 및 아세트오니트릴을 유량 1 mL/분에서 이동상으로서 사용하고 구매 시간은 3.0 분(구매 10-97% 아세트오니트릴)으로 함; 또는
- [0222] 시스템 B: Agilent MSD 질량 분광기; Agilent 1100 시스템; YMC ODS-AQ 컬럼(33x3.0 mm); 0.1% TFA 함유 물 및 아세트오니트릴을 유량 1 mL/분에서 이동상으로서 사용하고 구매 시간은 3.0 분(구매 10-97% 아세트오니트릴)으로 함; 또는
- [0223] 시스템 C: Waters ZQ 질량 분광기; Waters 996 PDA 검출기(DAD 215 - 395 nm); ACE C8 (3 μm) 컬럼(30x3.0 mm) (ACT에서 입수); 10 mM 아세트산암모늄을 함유하는 물(pH=7) 및 아세트오니트릴을 유량 1 mL/분에서 이동상으로서 사용하고 구매 시간은 3.2 분(구매 5-100% 아세트오니트릴)으로 하였다.
- [0224] 조제용 HPLC는 하기 시스템을 구비한 Gilson 시스템에서 실시하였다:
- [0225] 시스템 D: ACE C8 5 μm (21.2x50 mm) 컬럼. 0.1% TFA 함유 물 및 아세트오니트릴을 유량 25 mL/분에서 이동상으로서 사용하고 구매 시간은 6 분으로 함; 또는
- [0226] 시스템 E: XTerra Prep MS C18 5 μm (19x50 mm) 컬럼. 50 mM NH₄HCO₃ 함유 물(pH=10) 및 아세트오니트릴을 유량 25 mL/분에서 이동상으로서 사용하고 구매 시간은 6 분으로 함; 또는 XTerra MS C18 5 μm (30x100 mm) 컬럼. 50mM NH₄HCO₃ (pH=10) 함유 물 및 아세트오니트릴을 유량 40 mL/분에서 이동상으로서 사용하고 구매 시간은 8.5 분으로 함; 또는
- [0227] 시스템 F: YMC ODS-AQ 10 μm (30x150 mm) 컬럼. 0.1% TFA 함유 물 및 아세트오니트릴을 유량 45 mL/분에서 이동상으로서 사용하고 구매 시간은 8.5 분으로 함.
- [0228] 하기 약어를 사용하였다:
- [0229] DMSO는 디메틸 설펝시드를 의미하고,
- [0230] HPLC는 고성능 액체 크로마토그래피를 의미하며,
- [0231] TFA는 트리플루오로아세트산을 의미하고,
- [0232] HRMS는 고 해상도 질량 분광분석을 의미한다.

- [0233] 실시예
- [0234] 절차 A:
- [0235] 2-아미노-3,5-디브로모-피라진에서의 S_NAr을 위한 일반적인 절차

[0236] 2-아미노-3,5-디브로모-피라진, 트리에틸아민(3 당량) 및 적절한 아민 또는 알코올(3 당량)을 4 mL 물에 용해시키고 생성된 혼합물은 1 시간 동안 195℃로 가열하였다. 물과 에틸 아세테이트를 첨가하고 상 분리시켰다. 에틸 아세테이트로 수상을 1회 더 추출하였다. 혼합 유기상을 세척하고(물 및 염수) 농축시켜 생성물과 미반응 아민 또는 알코올의 미정제 혼합물을 얻었다. 후속 스즈키 반응에서 추가 정제 또는 특성규명 없이 상기 미정제 혼합물을 사용하였다.

- [0237] 절차 B:
- [0238] 스즈키 커플링의 일반적인 절차

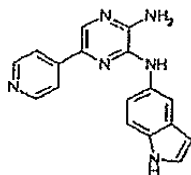
[0239] 4 mL 디옥산/물(4:1) 중의 절차 A로부터 얻은 피라지닐 브로마이드(1 당량), 적절한 보론산(1 당량), K₂CO₃(3 당량) 및 Pd(dppf)Cl₂·CH₂Cl₂(0.1 당량)의 혼합물을 15분 동안 150℃로 가열하였다. 상기 혼합물을 실리카로 된 미세 플러그로 여과시키고 농축시켰다. 미정제 생성물은 조제용 HPLC(ACE C8 컬럼; 이동상: 0.1% TFA - CH₃CN)로 정제하여 상응하는 트리플루오로아세테이트 염의 형태로 백색 고체로서 표제 화합물을 얻었다.

[0240] 중간체 1

[0241] **5-브로모-N3-1H-인돌-5-일-피라진-2,3-디아민**

[0242] 절차 A 이용: 2-아미노-3,5-디브로모-피라진(100 mg) 및 5-아미노인돌(200 mg)로 5-아미노인돌과 목적하는 생성물 MS m/z 303 [M + H]⁺의 1:1 혼합물 150 mg을 얻었으며, 이는 추가의 정제 또는 특성규명없이 사용되었다.

[0243] 실시예 1

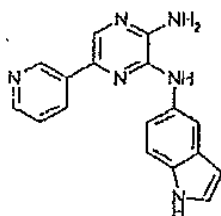


[0244]

[0245] **N3-1H-인돌-5-일-5-피리딘-4-일피라진-2,3-디아민, 트리플루오로아세테이트**

[0246] 절차 B 이용: 5-브로모-N3-1H-인돌-5-일-피라진-2,3-디아민(20 mg) 및 4-피리딜-보론산(12 mg)으로 표제 화합물 1.7 mg을 얻었다. MS m/z 303 [M + H]⁺. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ ppm 6.48 (d, J=3.01 Hz, 1H) 7.26 - 7.33 (m, 1H) 7.33 - 7.50 (m, 2H) 7.92 (d, J=1.25 Hz, 1H) 8.37 (s, 1H) 8.45 (d, J=7.03Hz, 2H) 8.64 (d, J=7.03 Hz, 2H).

[0247] 실시예 2



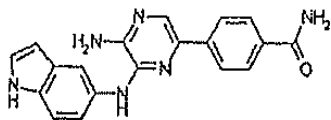
[0248]

[0249] **N3-1H-인돌-5-일-5-피리딘-3-일피라진-2,3-디아민, 트리플루오로아세테이트**

[0250] 절차 B 이용: 5-브로모-N3-1H-인돌-5-일-피라진-2,3-디아민(20 mg) 및 3-피리딜-보론산(12 mg)으로 표제 화합물 1.3 mg을 얻었다. C₁₇H₁₄N₆에 대한 HRMS 계산치: 302.1280, 실측치: 302.1279. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): 6.49

(d, 1H, J = 4 Hz), 7.29 - 7.46 (m, 3H), 7.88 - 7.94 (m, 2H), 8.02 (s, 1H), 8.64 (d, 1H, J = 8 Hz), 8.84 (d, 1H, J = 8 Hz), 9.19 (s, 1H).

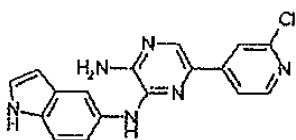
실시예 3



4-[5-아미노-6-(1H-인돌-5-일아미노)피라진-2-일]벤즈아미드, 트리플루오로아세테이트

절차 B 이용: 5-브로모-N3-1H-인돌-5-일-피라진-2,3-디아민(20 mg) 및 4-벤즈아미드 보론산(16 mg)으로 표제 화합물 0.9 mg을 얻었다. $C_{19}H_{16}N_6O$ 에 대한 HRMS 계산치: 344.1386, 실측치: 344.1381. 1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 6.49 (d, 1H, J = 4 Hz), 7.30 (d, 1H, J = 4 Hz), 7.42 - 7.47 (m, 2H), 7.81 (s, 1H), 7.94 (d, 2H, J = 8 Hz), 8.01 - 8.06 (m, 3H).

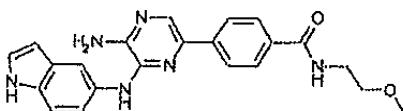
실시예 4



5-(2-클로로피리딘-4-일)-N3-1H-인돌-5-일피라진-2,3-디아민, 트리플루오로아세테이트

절차 B 이용: 5-브로모-N3-1H-인돌-5-일-피라진-2,3-디아민(20 mg) 및 2-클로로피리딘-4일 보론산(20 mg)으로 표제 화합물 4.0 mg을 얻었다.

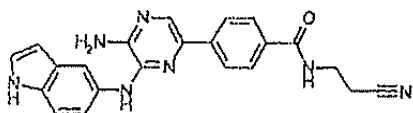
실시예 5



4-[5-아미노-6-(1H-인돌-5-일아미노)피라진-2-일]-N-(2-메톡시에틸)벤즈아미드, 트리플루오로아세테이트

절차 B 이용: 5-브로모-N3-1H-인돌-5-일-피라진-2,3-디아민(25 mg) 및 [4-[(2-메톡시에틸)아미노]카르보닐]페닐]보론산(27 mg)으로 표제 화합물 4.2 mg을 얻었다. MS m/z 403 $[M + H]^+$.

실시예 6



4-[5-아미노-6-(1H-인돌-5-일아미노)피라진-2-일]-N-(2-시아노에틸)벤즈아미드, 트리플루오로아세테이트

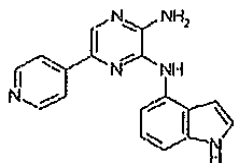
절차 B 이용: 5-브로모-N3-1H-인돌-5-일-피라진-2,3-디아민(25 mg) 및 [4-(2-시아노에틸아미노)카르보닐]페닐]보론산(27 mg)으로 표제 화합물 3.2 mg을 얻었다. MS m/z 398 $[M + H]^+$. 1H NMR (500 MHz, $DMSO-d_6$) δ ppm 2.78 (t, J=6.70 Hz, 2H) 3.51 (q, J=6.09 Hz, 2H) 6.42 (s, 1H) 7.27 - 7.47 (m, 3H) 7.76 - 8.18 (m, 6 H) 8.38 (s, 1H) 8.63 - 9.11 (m, 1H) 10.98 (s, 1H).

중간체 2

[0268] 5-브로모-N3-1H-인돌-4-일-피라진-2,3-디아민

[0269] 절차 A 이용: 2-아미노-3,5-디브로모-피라진(300 mg) 및 4-아미노인돌(470 mg)로 4-아미노인돌과 목적하는 생성물 MS m/z 303 $[M + H]^+$ 의 1:1 혼합물 700 mg을 얻었으며, 이는 추가의 정제 또는 특성규명없이 사용되었다.

[0270] 실시예 7

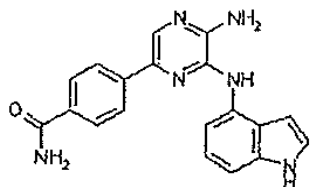


[0271]

[0272] N3-1H-인돌-4-일-5-피리딘-4-일피라진-2,3-디아민, 트리플루오로아세트레이트

[0273] 절차 B 이용: 5-브로모-N3-1H-인돌-4-일-피라진-2,3-디아민(25 mg) 및 4-피리딘일 보론산(15 mg)으로 표제 화합물 1.2 mg을 얻었다. $C_{17}H_{14}N_6$ 에 대한 HRMS 계산치: 302.1280, 실측치: 302.1278. 1H NMR (400 MHz, CD_3OD) ppm 6.41 (d, J= 3Hz, 1H) 7.19 (d, J= 7 Hz, 1H) 7.21 - 7.32 (m, 2H) 7.38 (d, J= 7 Hz, 1H) 8.33 (d, J= 6 Hz, 2H) 8.44 (s, 1H) 8.57 (d, J= 6 Hz, 2H).

[0274] 실시예 8



[0275]

[0276] 4-[5-아미노-6-(1H-인돌-4-일아미노)피라진-2-일]벤즈아미드, 트리플루오로아세트레이트

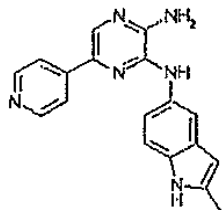
[0277] 절차 B 이용: 5-브로모-N3-1H-인돌-4-일-피라진-2,3-디아민(25 mg) 및 4-벤즈아미드 보론산(20 mg)으로 표제 화합물 1.1 mg을 얻었다. $C_{19}H_{16}N_6O$ 에 대한 HRMS 계산치: 344.1386, 실측치: 344.1384. 1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 6.50 (d, J= 2Hz, 1H) 7.20 (t, J= 7 Hz, 1H) 7.28 (d, J= 3Hz, 1H) 7.33 (d, J= 8 Hz, 1H) 7.49 (d, J= 7 Hz, 1H) 7.82 - 7.96 (m, 5 H).

[0278] 중간체 3

[0279] 5-브로모-N3-(2-메틸-1H-인돌-5-일)-피라진-2,3-디아민

[0280] 절차 A 이용: 2-아미노-3,5-디브로모-피라진(300 mg) 및 5-아미노-2-메틸인돌(520 mg)로 5-아미노-2-메틸-인돌과 목적하는 생성물 MS m/z 319 $[M + H]^+$ 의 1:1 혼합물 400 mg을 얻었으며, 이는 추가의 정제 또는 특성규명없이 사용되었다.

[0281] 실시예 9

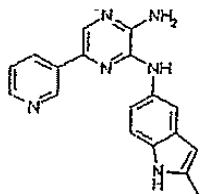


[0282]

[0283] N3-(2-메틸-1H-인돌-5-일)-5-피리딘-4-일피라진-2,3-디아민, 트리플루오로아세트레이트

[0284] 절차 B 이용: 5-브로모-N3-(2-메틸-1H-인돌-5-일)-피라진-2,3-디아민(26 mg) 및 4-피리디닐 보론산(14 mg)으로 표제 화합물 3.0 mg을 얻었다. $C_{18}H_{16}N_6$ 에 대한 HRMS 계산치: 316.1436, 실측치: 316.1437. 1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ ppm 2.45 (s, 3H) 7.16 - 7.47 (m, 3H) 7.76 (s, 1H) 8.35 (s, 1H) 8.45 (d, J= 6 Hz, 2H) 8.65 (d, J= 6 Hz, 2H).

[0285] 실시예 10

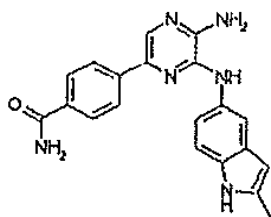


[0286]

[0287] N3-(2-메틸-1H-인돌-5-일)-5-피리딘-3-일피라진-2,3-디아민, 트리플루오로아세테이트

[0288] 절차 B 이용: 5-브로모-N3-(2-메틸-1H-인돌-5-일)-피라진-2,3-디아민(26 mg) 및 3-피리디닐 보론산(14 mg)으로 표제 화합물 3.4 mg을 얻었다. $C_{18}H_{16}N_6$ 에 대한 HRMS 계산치: 316.1436, 실측치: 316.1434.

[0289] 실시예 11



[0290]

[0291] 4-{5-아미노-6-[(2-메틸-1H-인돌-5-일)아미노]피라진-2-일}벤즈아미드, 트리플루오로아세테이트

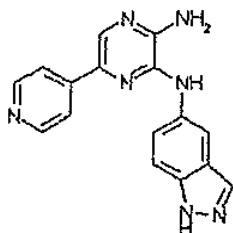
[0292] 절차 B 이용: 5-브로모-N3-(2-메틸-1H-인돌-5-일)-피라진-2,3-디아민(26 mg) 및 4-벤즈아미드 보론산(19 mg)으로 표제 화합물 2.2 mg을 얻었다. $C_{20}H_{18}N_5O$ 에 대한 HRMS 계산치: 358.1542, 실측치: 358.1542. 1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 2.46 (s, 3H) 7.15 - 7.48 (m, 3H) 7.77 (s, 1H) 7.90 (s, 1H) 7.91 - 7.96 (m, 2H) 8.00 - 8.12 (m, 2H).

[0293] 중간체 4

[0294] 5-브로모-N3-(1H-인다졸-5-일)-피라진-2,3-디아민

[0295] 절차 A 이용: 2-아미노-3,5-디브로모-피라진(300 mg) 및 5-아미노-인다졸(470 mg)로 5-아미노-인다졸과 목적하는 생성물 MS m/z 306 $[M + H]^+$ 의 1:3 혼합물 320 mg을 얻었으며, 이는 추가의 정제 또는 특성규명없이 사용되었다.

[0296] 실시예 12



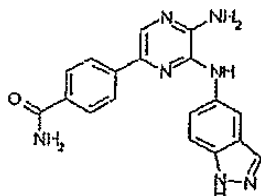
[0297]

[0298] N3-1H-인다졸-5-일-5-피리딘-4-일피라진-2,3-디아민, 트리플루오로아세테이트

[0299] 절차 B 이용: 5-브로모-N3-(1H-인다졸-5-일)-피라진-2,3-디아민(15 mg) 및 4-피리딜 보론산(9 mg)으로 표제 화합물 1.3 mg을 얻었다. $C_{16}H_{13}N_7$ 에 대한 HRMS 계산치: 303.1232, 실측치: 303.1231.

[0300] 실시예 13

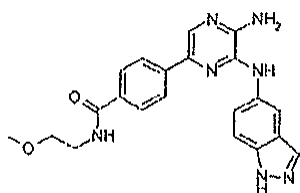
[0301] 4-[5-아미노-6-(1H-인다졸-5-일아미노)피라진-2-일]벤즈아미드, 트리플루오로아세테이트



[0302]

[0303] 절차 B 이용: 5-브로모-N3-(1H-인다졸-5-일)-피라진-2,3-디아민(15 mg) 및 4-벤즈아미드 보론산(12 mg)으로 표제 화합물 1.5 mg을 얻었다. $C_{18}H_{15}N_7O$ 에 대한 HRMS 계산치: 345.1338, 실측치: 345.1335.

[0304] 실시예 14



[0305]

[0306] 4-[5-아미노-6-(1H-인다졸-5-일아미노)피라진-2-일]-N-(2-메톡시에틸)벤즈아미드, 트리플루오로아세테이트

[0307] 절차 B 이용: 5-브로모-N3-(1H-인다졸-5-일)-피라진-2,3-디아민(15 mg) 및 [4-[(2-메톡시에틸)아미노]카르보닐]페닐]보론산(16 mg)으로 표제 화합물 2.5 mg을 얻었다. $C_{21}H_{21}N_7O_2$ 에 대한 HRMS 계산치: 403.1757, 실측치: 403.1751.

[0308] 중간체 5

[0309] 5-브로모-N3-[2-(1H-인돌-3-일)에틸]-피라진-2,3-디아민

[0310] 절차 A 이용: 2-아미노-3,5-디브로모-피라진(300 mg) 및 트립타민(570 mg)으로 트립타민과 목적하는 생성물 MS m/z 333 $[M + H]^+$ 의 1:1 혼합물 600 mg을 얻었으며, 이는 추가의 정제 또는 특성규명없이 사용되었다.

[0311] 삭제

[0312] 삭제

[0313] 삭제

[0314] 삭제

[0315] 삭제

[0316]	삭제
[0317]	삭제
[0318]	삭제
[0319]	삭제
[0320]	삭제
[0321]	삭제
[0322]	삭제
[0323]	삭제
[0324]	삭제
[0325]	삭제
[0326]	삭제
[0327]	삭제
[0328]	삭제
[0329]	삭제
[0330]	삭제
[0331]	삭제
[0332]	삭제
[0333]	삭제

[0334] 삭제

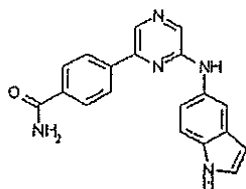
[0335] 삭제

[0336] 삭제

[0337] 삭제

[0338] 삭제

[0339] 실시예 15

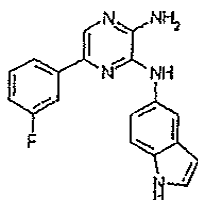


[0340]

[0341] 4-[6-(1H-인돌-5-일아미노)피라진-2-일]벤즈아미드, 트리플루오로아세테이트

[0342] 5-아미노인돌(100 mg), 2,6-디클로로피라진(100 mg) 및 트리에틸아민(135 mg)을 4 mL 아세토니트릴 중에서 혼합하고 1 시간 동안 150℃로 가열하였다. 수성의 포화된 NaHCO_3 및 디클로로메탄을 반응 혼합물에 첨가하고 상 분리시켰다. 디클로로메탄으로 수성상을 추출하였다. 혼합 유기상을 염수로 세척하고 농축하였다. 미정제 중간체인 6-클로로-N-(1H-인돌-5-일)피라진-2-아민, (4-아미노카르보닐페닐)보론산(121 mg), K_2CO_3 (275 mg) 및 Pd(테트라키스(트리페닐포스핀))(38 mg)을 4 mL 디옥산 및 1 mL H_2O 에 용해시키고 반응 혼합물을 밤새 100℃로 가열하였다. 1M NaOH(수성) 및 디클로로메탄을 반응 혼합물에 첨가하고 상 분리시켰다. 디클로로메탄으로 수성상을 추출하였다. 혼합 유기상을 염수로 세척하고 농축하였다. 미정제 생성물은 조제용 HPLC(ACE C8 컬럼; 이동상: 0.1% TFA - CH_3CN)로 정제하여 상응하는 트리플루오로아세테이트 염의 형태로 백색 고체로서 표제 화합물(85 mg)을 얻었다. $\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{O}$ 에 대한 HRMS 계산치: 329.1277, 실측치: 329.1279. ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7.27 (d, $J=3.01$ Hz, 1H) 7.31 - 7.37 (m, 1H) 7.40 - 7.43 (m, 1H) 7.47 - 7.51 (m, 1H) 7.85 - 7.93 (m, 1H) 7.95 - 8.08 (m, 3H) 8.19 - 8.26 (m, 2H) 8.38 (s, 1H).

[0343] 실시예 16

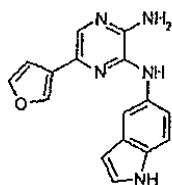


[0344]

[0345] 5-(3-플루오로페닐)-N-(3-인돌-5-일)피라진-2,3-디아민.

[0346] Bio-Focus DPI로부터 입수하였다: $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{FN}_5$ 에 대한 HRMS 계산치: 319.123324, 실측 질량: 319.123684. MS m/z 320 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

[0347] 실시예 17

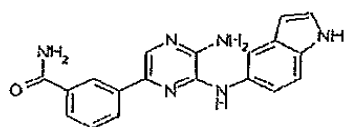


[0348]

[0349] 5-(3-푸릴)-N-3-(1H-인돌-5-일)피라진-2,3-디아민.

[0350] Bio-Focus DPI로부터 입수하였다: $C_{16}H_{13}N_5O$ 에 대한 HRMS 계산치: 291.112010, 실측 질량: 291.112130. MS m/z 292 $[M + H]^+$.

[0351] 실시예 18

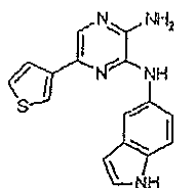


[0352]

[0353] 3-[5-아미노-6-(1H-인돌-5-일아미노)피라진-2-일]벤즈아미드

[0354] BioFocus DPI로부터 입수하였다: $C_{19}H_{16}N_6O$ 에 대한 HRMS 계산치: 344.138559, 실측 질량: 344.138509. MS m/z 345 $[M + H]^+$.

[0355] 실시예 19



[0356]

[0357] N-3-1H-인돌-5-일-5-(3-티에닐)피라진-2,3-디아민

[0358] BioFocus DPI로부터 입수하였다: $C_{16}H_{13}N_5S$ 에 대한 HRMS 계산치: 307.089166, 실측 질량: 307.089106. MS m/z 308 $[M + H]^+$.

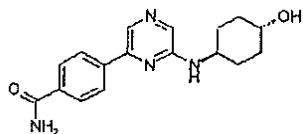
[0359] 삭제

[0360] 삭제

[0361] 삭제

[0362] 삭제

[0363] 실시예 20



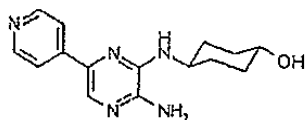
[0364]

[0365] 4-{6-[(트랜스-4-하이드록시사이클로헥실)아미노]피라진-2-일}벤즈아미드, 트리플루오로아세테이트

[0366]

2,6-디클로로피라진(500 mg), 트랜스-4-아미노-사이클로헥산올(380 mg) 및 트리에틸아민(500 mg)을 4 mL 아세트 니트릴/1 mL 물에 용해시키고, 반응 혼합물을 15분 동안 150℃로 가열하였다. 물 및 디클로로메탄을 반응 혼합 물에 첨가하고 상 분리시켰다. 디클로로메탄으로 1회 더 수성상을 추출하였다. 혼합 유기상을 세척하고(물 및 염수) 증발시켜 중간체인 6-클로로-N-(트랜스-4-하이드록시사이클로헥실)피라진-2-아민 750 mg을 85% 순도로 얻 었다. 이 재료의 일부(30 mg), 탄산칼륨(55 mg), 4-벤즈아미드 보론산(26 mg) 및 Pd(테트라키스(트리페닐포스핀))(5 mg)을 4 mL 디옥산 및 1 mL H₂O에 용해시키고 반응 혼합물을 밤새 100℃로 가열하였다. 1M NaOH(수정) 및 디클로로메탄을 반응 혼합물에 첨가하고 상 분리시켰다. 디클로로메탄으로 수성상 을 추출하였다. 혼합 유기상을 염수로 세척하고 농축하였다. 미정제 생성물은 조제용 HPLC(ACE C8 컬럼; 이동상: 0.1% TFA - CH₃CN)로 정제하여 상응하는 트리플루오로아세테이트 염의 형태로 백색 고체로서 표제 화합 물(5.0 mg)을 얻었다. C₁₇H₂₀N₄O₂에 대한 HRMS 계산치: 312.1586, 실측치: 312.1585.

[0367] 실시예 21



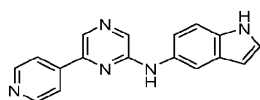
[0368]

[0369] 트랜스-4-[(3-아미노-6-피리딘-4-일피라진-2-일)아미노]사이클로헥산올

[0370]

H₂O(10.0 mL) 중 2,6-디브로모-3-아미노피라진(6.44 g, 0.0255 mol), K₂CO₃(6.9 g, 0.05 mol) 및 트랜스-4-아미 노-사이클로헥산올(HCl 염)(7.55 g, 0.05 mol)의 현탁액을 환류 하에 72 시간 동안 가열하였다(균질액이 신속하 게 형성되었으며, 약 30 시간 후에 고체가 서서히 침전하였다.) 혼합물을 냉각시키고 불용성 고체를 모으고 물 로 세척하여 중간체인 트랜스-4-[(3-아미노-6-브로모피라진-2-일)아미노]사이클로헥산올 4.336 g(59 %)을 얻었 다. PhMe (200 mL) 중 미정제 물질(4.336 g, 0.0151 mol), 4-피리딜보론산(1.84 g, 0.0151 mol), 테트라키스 (트리페닐포스핀)팔라듐(O)(870 mg, 0.7 mmol; 5 mol%)의 용액에 수정 2M 탄산나트륨(40 ml) 및 에탄올(40 mL)을 첨가하였다. 혼합물을 환류 하에 밤새도록 가열하였다. 혼합물을 증발로 농축하고 불용성의 어두운 색상의 고체를 여과로 수집하였다. 이어서, 이 재료를 MeOH에 용해시키고 실리카 EtOAc-MeOH (9:1) 상에서의 순간 크로 마토그래피로 연황색 고체(2.2 g)를 얻었다. 또한, EtOAc-MeOH (7:1)에 의한 용출로 추가의 연황색 고체(930 mg)를 얻었으며, 이는 실리카로 매우 심하게 오염되어 있었다. 양쪽 고체 산물을 혼합하고 조제용 HPLC (ACE C8 컬럼; 이동상: 0.1% TFA - CH₃CN)로 정제하여 표제 화합물 2.2 g을 얻었다. HPLC 순도 100%; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.33 - 1.40 (m, 4H), 1.89 - 1.92 (m, 2H), 2.01 - 2.04 (m, 2H), 3.47 - 3.49 (m, 1H), 3.93 - 3.97 (m, 1H), 8.29 (s, 1H), 8.41 (d, 2H, J= 5.0 Hz), 8.80 (d, 2H, J= 5.0 Hz); MS (API-ES/포지티브); m/z: 286 (M+H)⁺.

[0371] 실시예 22



[0372]

[0373] N-(6-피리딘-4-일피라진-2-일)-1H-인돌-5-아민

[0374]

톨루엔(25 mL) 중의 2,6-디클로로피라진(0.845 g, 5.67 mmol), 5-아미노인돌(0.5 g, 3.78 mmol), BINAP(0.051 g, 0.0831 mmol), 나트륨 t-부톡사이드(0.51 g, 5.29 mmol) 및 아세트산팔라듐(0.0186 g, 0.0831 mmol)의 혼합물을 질소 하에서 22 시간 동안 85℃에서 가열하였다. CH₂Cl₂를 첨가하고, 반응 혼합물을 셀라이트에 통과시켜 여과하고, 용매를 증발시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(용리제로서 CH₂Cl₂ 중 5% 메탄올)로 정제하여 중간체인 N-(6-클로로-피라진-2-일)-1H-인돌-5-아민 0.180 g (13 %)을 얻었다. ¹H NMR (CD₃OD) δ 7.97 (s, 1H), 7.84 (s, 1H), 7.77 (s, 1H), 7.42-7.39 (d, J= 8.63Hz, 1H), 7.28-7.20 (m, 2H), 6.47-6.46 (d, J=2.83Hz, 1H); MS (API-ES/포지티브); m/z: 245 (M+H)⁺.

[0375]

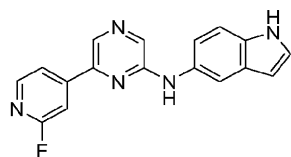
DME:물(3:2, 5 mL) 중의 N-(6-클로로-피라진-2-일)-1H-인돌-5-아민(0.030 g, 0.123 mmol), 피리딘-4-보론산(0.018 g, 0.147 mmol), 탄산나트륨(0.067 g, 0.615 mmol) 및 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐(0)(0.007 g, 0.006 mmol)의 혼합물을 20 시간 동안 환류에서 가열하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시키고 얻어진 잔류물을 디클로로메탄으로 추출하였다. 유기층을 물, 염수로 세척하고, 황산나트륨 상에서 건조시켰으며, 농축시켰다. 미정제 생성물을 순간 크로마토그래피(용리제로서 CH₂Cl₂ 중 5% 메탄올)로 정제하여 N-(6-피리딘-4-일피라진-2-일)-1H-인돌-5-아민(0.011 g, 31%)을 황색 고체로서 얻었다.

[0376]

¹H NMR (CD₃OD) δ 8.70-8.68 (d, J= 6.17 Hz, 2H), 8.47 (s, 1H), 8.15 (s, 1H), 8.14 (d, J= 1.50 Hz, 2H), 7.96 (d, J= 1.70 Hz, 1H), 7.45-7.43 (d, J= 8.64 Hz, 1H), 7.37- 7.35 (dd, J=10.46, 1.83Hz, 1H), 7.29-7.28 (d, J= 3.06 Hz, 1H), 6.49-6.48 (d, J = 3.02Hz, 1H); MS (API-ES/포지티브); m/z: 288 (M+H)⁺.

[0377]

실시예 23



[0378]

[0379]

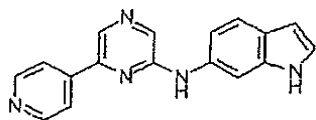
N-[6-(2-플루오로피리딘-4-일)피라진-2-일]-1H-인돌-5-아민

[0380]

DME:물(3:2, 5 mL) 중의 N-(6-클로로-피라진-2-일)-1H-인돌-5-아민(0.05 g, 0.205 mmol), 2-플루오로피리딘-4-보론산(0.057 g, 0.4 mmol), 탄산나트륨(0.112 g, 1.025 mmol) 및 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐(0)(0.012 g, 0.01 mmol)의 혼합물을 20 시간 동안 환류에서 가열하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시키고 얻어진 잔류물을 디클로로메탄으로 추출하였다. 유기층을 물, 염수로 세척하고, 황산나트륨 상에서 건조시켰으며, 농축시켰다. 미정제 생성물을 컬럼 크로마토그래피(용리제로서 CH₂Cl₂ 중 5% 메탄올)로 정제하여 표제 화합물(0.015 g, 24%)을 황색 고체로서 얻었다. ¹H NMR (CD₃OD) δ 8.47 (s, 1H), 8.35-8.33 (d, J= 5.29 Hz, 1H), 8.16 (s, 1H), 8.01-8.00 (d, J= 5.13Hz, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.78 (s, 1H), 7.45-7.43 (d, J= 8.64 Hz, 1H), 7.35-7.33 (dd, J= 10.33, 1.72Hz, 1H), 7.29 (d, J= 2.95 Hz, 1H), 6.48-6.47 (d, J= 2.58 Hz, 1H).; MS (API- ES/포지티브); m/z: 306 (M+H)⁺.

[0381]

실시예 24



[0382]

[0383]

N-(6-피리딘-4-일피라진-2-일)-1H-인돌-6-아민

[0384]

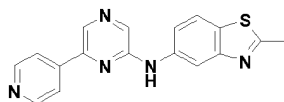
톨루엔(8 mL) 중의 2,6-디클로로피라진(0.150 g, 1.006 mmol), 6-아미노인돌(0.200 g, 1.51 mmol), BINAP(0.0137 g, 0.02215 mmol), 나트륨 t-부톡사이드(0.136 g, 1.409 mmol) 및 아세트산팔라듐(0.005 g, 0.02215 mmol)의 혼합물을 질소 하에서 16 시간 동안 85℃에서 가열하였다. CH₂Cl₂를 첨가하고, 반응 혼합물을

셀라이트에 통과시켜 여과하고, 용매를 증발시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(용리제로서 CH_2Cl_2 중 5% 메탄올)로 정제하여 중간체인 (6-클로로-피라진-2-일)-(1H-인돌-6-일)아민 0.070 g (33%)을 얻었다. ^1H NMR (CDCl_3) δ 8.36 (brs, 1H, NH), 8.08 (s, 1H), 7.92 (s, 1H), 7.64-7.59 (m, 2H), 7.23 (s, 1H), 7.01-6.98 (d, J= 8.37 Hz, 1H), 6.87 (s, 1H, NH), 6.56 (s, 1H); MS (API-ES/ 포지티브); m/z: 245 ($\text{M}+\text{H}$)⁺.

[0385] DME:물(3:2, 5 mL) 중의 (6-클로로-피라진-2-일)-(1H-인돌-6-일)아민(0.070 g, 0.2868 mmol), 피리딘-4-보론산(0.042 g, 0.344 mmol), 탄산나트륨(0.150 g, 1.43 mmol) 및 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐(0)(0.0165 g, 0.0143 mmol)의 혼합물을 20 시간 동안 환류에서 가열하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시키고 얻어진 잔류물을 디클로로메탄으로 추출하였다. 유기층을 물, 염수로 세척하고, 황산나트륨 상에서 건조시켰으며, 농축시켰다.

[0386] 미정제 생성물을 순간 크로마토그래피(용리제로서 CH_2Cl_2 중 5% 메탄올)로 정제하여 N-(6-피리딘-4-일피라진-2-일)-1H-인돌-6-아민(0.030 g, 36.5%)을 황색 고체로서 얻었다. ^1H NMR (CD_3OD) δ 8.73- 8.72 (d, J= 5.68 Hz, 2H), 8.51 (s, 1H), 8.23-8.20 (m, 4 H), 7.56-7.54 (d, J= 8.46 Hz, 1H), 7.22 (d, J= 2.99 Hz, 1H), 7.14 (dd, J= 10.18, 1.74 Hz, 1H), 6.45 (d, J= 2.75 Hz, 1H); MS (API-ES/포지티브); m/z: 288 ($\text{M}+\text{H}$)⁺.

[0387] 실시예 25

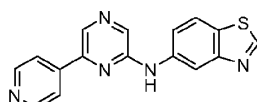


[0388]
[0389] **2-메틸-N-(6-피리딘-4-일피라진-2-일)-1,3-벤조티아졸-5-아민**

[0390] 톨루엔(8 mL) 중의 2,6-디클로로피라진(0.150 g, 1.006 mmol), 5-아미노-2-메틸벤조티아졸(0.250 g, 1.51 mmol), BINAP(0.0137 g, 0.02215 mmol), 나트륨 t-부톡사이드(0.136 g, 1.409 mmol) 및 아세트산팔라듐(0.005 g, 0.02215 mmol)의 혼합물을 질소 하에서 16 시간 동안 85°C에서 가열하였다. CH_2Cl_2 를 첨가하고, 반응 혼합물을 셀라이트에 통과시켜 여과하고, 용매를 증발시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(용리제로서 CH_2Cl_2 중 5% 메탄올)로 정제하여 중간체인 (6-클로로-피라진-2-일)-(2-메틸-벤조티아졸-2-일)아민 0.180 g (65%)을 얻었다. ^1H NMR (CDCl_3) δ 7.59-7.54 (d, J= 15.6 Hz, 2H), 7.38 (s, 1H), 7.19-7.16 (d, J= 8.65 Hz, 1H), 6.98-6.95 (d, J= 8.41 Hz, 1H), 6.71 (brs, 1H, NH), 2.31 (s, 3H, CH_3); MS (API- ES/ 포지티브); m/z: 277 ($\text{M}+\text{H}$)⁺.

DME:물(3:2, 5 mL) 중의 (6-클로로-피라진-2-일)-(2-메틸-벤조티아졸-5-일)-아민(0.075 g, 0.271 mmol), 피리딘-4-보론산(0.040 g, 0.326 mmol), 탄산나트륨(0.143 g, 1.35 mmol) 및 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐(0)(0.0156 g, 0.0135 mmol)의 혼합물을 20 시간 동안 환류에서 가열하였다. 반응 혼합물을 물, 염수로 세척하고, 황산나트륨 상에서 건조시켰으며, 농축시켰다. 미정제 생성물을 순간 크로마토그래피(용리제로서 CH_2Cl_2 중 5% 메탄올)로 정제하여 2-메틸-N-(6-피리딘-4-일피라진-2-일)-1,3-벤조티아졸-5-아민(0.075 g, 86.5%)을 황색 고체로서 얻었다. ^1H NMR (CD_3OD) δ 8.82 (m, 3H), 8.72 (s, 1H), 8.45-8.44 (m, 2H), 8.35 (s, 1H), 7.92-7.90 (d, J= 8.67 Hz, 1H), 7.61-7.59 (dd, J= 10.63, 1.94 Hz, 1H), 2.89 (s, 3H, CH_3); MS (API-ES/포지티브); m/z: 320 ($\text{M}+\text{H}$)⁺.

[0391] 실시예 26



[0392]
[0393] **N-(6-피리딘-4-일피라진-2-일)-1,3-벤조티아졸-5-아민**

[0394] 톨루엔(8 mL) 중의 2,6-디클로로피라진(0.150 g, 1.006 mmol), 5-아미노-벤조티아졸(0.151 g, 1.006 mmol),

BINAP(0.0137 g, 0.02215 mmol), 나트륨 t-부톡사이드(0.136 g, 1.409 mmol) 및 아세트산팔라듐(0.005 g, 0.02215 mmol)의 혼합물을 질소 하에서 16 시간 동안 85℃에서 가열하였다. CH_2Cl_2 를 첨가하고, 반응 혼합물을 셀라이트에 통과시켜 여과하고, 용매를 증발시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(용리제로서 CH_2Cl_2 중 5% 메탄올)로 정제하여 중간체인 벤조티아졸-5-일-(6-클로로-피라진-2-일)-아민 0.140 g (53%)을 얻었다. ^1H NMR (CDCl_3) δ 10.12 (s, 1H), 9.38 (s, 1H), 8.59 (s, 1H), 8.22 (s, 1H), 8.11-8.08 (d, J= 8.67 Hz, 1H), 8.02 (s, 1H), 7.6-7.57 (d, J= 8.67 Hz, 1H); MS (API-ES/포지티브); m/z: 263 (M+H)⁺.

[0395] DME:물(3:2, 5 mL) 중의 벤조티아졸-5-일-(6-클로로-피라진-2-일)-아민(0.06 g, 0.228 mmol), 피리딘-4-보론산(0.043 g, 0.342 mmol), 탄산나트륨(0.124 g, 1.14 mmol) 및 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐(0)(0.013 g, 0.0114 mmol)의 혼합물을 22 시간 동안 환류에서 가열하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시키고 얻어진 잔류물을 디클로로메탄으로 추출하였다. 유기층을 물, 염수로 세척하고, 황산나트륨 상에서 건조시켰으며, 농축시켰다. 미정제 생성물을 순간 크로마토그래피(용리제로서 CH_2Cl_2 중 5% 메탄올)로 정제하여 N-(6-피리딘-4-일피라진-2-일)-1,3-벤조티아졸-5-아민(0.035 g, 50%)을 황색 고체로서 얻었다. ^1H NMR (CD_3OD) δ 9.31 (s, 1H), 8.98 (d, J= 2.02Hz, 1H), 8.75-8.74 (d, J = 5.31 Hz, 2H), 8.64 (s, 1H), 8.31 (s, 1H), 8.24-8.22 (d, J= 5.99 Hz, 2H), 8.06-8.04 (d, J= 8.77 Hz, 1H), 7.74-7.71 (dd, J= 10.73, 2.01 Hz, 1H); MS (API-ES/포지티브); m/z: 306 (M+H)⁺.

[0396] 생물학적 방법

[0397] 본 발명의 화합물의 FLT3 억제력은 당업계에 공지된 시험관내 및 생체내 분석을 이용하여 측정하였다. 클로닝된 키나아제 도메인을 사용하고 기질 펩티드의 인산화를 측정하는 FLT3 억제에 대한 몇몇 시험관내 키나아제 분석이 문헌에 개시되어 있다. 또한, FLT3 발현 세포주를 사용하여 세포 분석에서 생존력 및 증식에 대한 효과를 측정하였다.

[0398] 효소 억제 분석

[0399] 본 발명에 따른 화합물은 하기 방법으로 FLT3의 억제에 대해 평가하였다:

[0400] 시험관내 FLT3 키나아제 분석

[0401] 형광 편광 기법인 Molecular Devices로부터 입수한 고정화된 금속 이온 친화도 기반의 형광 편광(IMAP)을 사용하여 FLT3의 티로신 키나아제 도메인에 대한 효소 억제 분석을 확립하였다.

[0402] 간단히 설명하면 다음과 같다: 형광 펩티드 기질을 키나아제 도메인과 함께 항온처리하여 키나아제 활성을 측정한다. 키나아제 반응의 완료 후에, 결합 완충액을 첨가한다. 기질의 인산화시 형광 펩티드는 금속 코팅 나노입자에의 결합력을 얻는다. 기질이 나노입자에 결합하면, 펩티드의 회전 속도가 감소하고, 따라서 형광 편광(fp)이 높아진다. 효소의 키나아제 활성을 억제하는 화합물은 인산화도가 낮은 기질과 낮은 fp-신호를 나타낼 것이다.

[0403] 시약

[0404] Progressive Binding System을 가지는 IMAP 완충액 키트(Molecular Devices, #R8124):

[0405] 반응 완충액: 10 mM Tris-HCL pH 7.2와 10 mM MgCl_2 , 0.05% NaN_3 및 0.01% Tween 20. 사용 전에 DTT를 1 mM DTT 최종 농도로 첨가하였다(완전 반응 완충액).

[0406] 제조자의 권장에 따라서 완충액 키트로부터 결합액을 제조하였다. 결합 시약은 40% 결합 완충액 A 및 60% 결합 완충액 B 중에서 1:1500으로 희석하였다.

[0407] 사용된 FLT3 효소는 Upstate (#14-500)로부터 입수 가능하고, 7.2 U/ml, N-말단 GST 태그되고, 아미노산 564-말단의 재조합 인간 FLT3이었다.

[0408] 사용된 기질 펩티드: Molecular Devices (#R7269)에서 입수가능한 FAM-CSKtide, 20 μM , 5FAM- KKKKEEIIYFFFG-NH₂.

[0409] ATP 스톱액 10 mM

- [0410] DTT 스탁액 100 mM
- [0411] 화학물 희석액: 반응 완충액 중 0.01% Tween20 + 1% DMSO. 시약은 완전 반응 완충액에서 작업용 용액으로 희석하였다.
- [0412] 분석 조건
- [0413] 최종 농도:
- [0414] Flt3: 0.0125 U/ml (배치 의존적)
- [0415] FAM-CSKtide: 100 nM
- [0416] ATP: 100 μ M
- [0417] 화합물 용량 반응: 11 단계 희석물 1:3, 화합물의 효능에 따라서 각각 농도 범위 25000 - 0.42 nM, 5000 - 0.085 nM, 500 - 0.0085 nM
- [0418] 프로토콜
- [0419] I. 1 시간 동안 20 μ l 부피에서의 키나아제 반응 설정
- [0420] 96웰 블랙 1/2 면적 플레이트로 피펫팅:
- [0421] 5 μ l 화합물 희석액 또는 비히클
- [0422] 5 μ l 기질 펩티드(400 nM)
- [0423] 비특이적 배경(NSB)에 대한 5 μ l 효소(0.05 U/ml) 또는 완전 반응 완충액
- [0424] 5 μ l ATP (400 μ M)
- [0425] 플레이트를 덮고 살짝 교반하면서 실온에서 항온처리
- [0426] II. 2시간 동안(최소 시간) 결합 항온처리:
- [0427] 60 μ l 결합 용액 첨가.
- [0428] 플레이트를 덮고 살짝 교반하면서 실온에서 항온처리
- [0429] III. 형광 편광 분석:
- [0430] 플레이트 리더(Analyst AD) 여기 파장 길이 485 및 방출 파장 길이 530을 이용하고, 적분 시간 0.1초로 관독하여 플루오레세인을 측정하였다. (대안적으로 Victor² V Wallac 485/535 nm)
- [0431] 시험 화합물의 스탁 농축액은 100% DMSO중의 10 mM로 제조하였다. 분석에서, 10 및 1 μ M의 단일 지점에서 화합물을 시험하고, 상기한 바와 같이 반응 완충액 중에서 희석하였다. 1 μ M에서 60% 억제 이상의 억제 활성을 나타내는 화합물은, 1:3 희석 단계의 11 지점 희석 범위를 이용하여 IC₅₀ 측정에 대한 용량 반응으로 후속 시험하였다(통상적으로 25000 nM 내지 0.42 nM, 더욱 효능이 높은 화합물은 500 nM 내지 0.0085 nM에서 분석하였다). IC₅₀ 값은 수학적 $A + ((B-A)/(1 + ((C/x)^D)))$ 으로 얻었으며, 여기서 A는 최소값, B는 최대값, C는 IC₅₀이고, D는 경사면 기울기이다.
- [0432] 본 발명에 따른 화합물은 1 nM 내지 2 μ M(예컨대, 1 nM 내지 1 μ M, 1 nM 내지 500 nM, 1 nM 내지 100 nM, 1 nM 내지 25 nM, 1 nM 내지 10 nM)의 IC₅₀ 값을 나타낼 수 있다.
- [0433] 세포 분석
- [0434] AML 세포주 MV4-11은 FLT3-내부 이중 반복배열을 보유한다. 생존력 및 증식에 대한 FLT3-키나아제 억제제의 영향을 평가하기 위해서 상기 세포주가 널리 사용되고 있다.
- [0435] 간단히 설명하면, 세포를 저 밀도로 96웰 플레이트에 접종한다. 화합물의 연속 희석액을 첨가하고 세포를 72 시간 동안 항온처리한다. 생존가능한 세포의 총수는 처리 말미에 유세포분석법으로 측정하고, 화합물의 효과는 비히클 처리된 세포와 비교하여 억제율(%)로서 계산한다.

[0436] 세포 및 배양 조건

[0437] 모든 세포는 표준 세포 배양 조건, 90% 습도중 5% CO₂의 대기 하에 37℃에서 배양하였다.

[0438] AML 세포주 MV4-11은 인비트로젠에서 입수가 가능한 10% 태아 소 혈청(FBS)으로 보충된 DMEM Glutamax 고 글루코스 (4500g/l 글루코스)에서 배양하였다. 세포를 1주 2회 계대배양하여, 계대배양 이전에 1 ml당 약 2백만 세포 밀도로 증식시켰다.

[0439] 생존력 및 증식 분석

[0440] 생존력 측정을 위해서, 96웰 플레이트에서 50 μ l 배양 배지 중에 3000-5000 세포를 접종하였다. 10 mM DMSO 스톱으로부터의 화합물 1:3 연속 희석액을 페니실린과 스트렙토마이신이 보충된 무혈청 배양 배지에서 제조하였다. 연속 희석액 50 μ l를 세포-현탁액에 첨가하였다. 최종 화합물 농도는 각각 5 μ M 내지 0.8 nM, 또는 500 nM 내지 0.08 nM이었다. DMSO 농도는 0.05%에서 일정하게 유지하였다.

[0441] 처리 말미에, 100 μ l 생존력 시약(Guava ViaCount)을 각 웰에 첨가하고, 세포수 및 생존력을 유세포분석법(Guava 96-well ViaCount assay)으로 측정하였다. 통상적으로, 비히클 처리된(0.05 % DMSO) 세포주의 세포는 실험 기간 동안 3회 배가되었다.

[0442] 실험 말미에 비히클 처리된 세포와 비교하여 생존율(%)을 계산하였다.

[0443] EC₅₀ 값은 수학적 $A + ((B - A) / (1 + ((C / x)^D)))$ 을 이용하여 얻었으며, 여기서 A는 최소값, B는 최대값, C는 EC₅₀ 이고, D는 경사면 기울기이다.

[0444] 결과

[0445] 표 1: FLT3 키나아제 분석에서 측정된 통상적인 평균 IC₅₀ 값(n = 4-8)

실시예	IC ₅₀ (nM)
15	60
28	159
32	560

[0446]

[0447] 표 2: AML-세포주에서 측정된 EC₅₀ 값

실시예	세포 데이터 MV4-11 (nM)
15	184
28	178
32	373

[0448]

[0449] FLT3-억제제 및 화학요법의 조합에 대한 시험관내 분석

[0450] AML을 치료하는데 사용되는 표준 화학요법제와 화학식 I의 화합물의 순서 의존적인 상승 작용을, 문헌[Brown et al. (2006) Leukemia 20: 1368-1376]에 개시된 바와 같이 수행되었으며, 그 결과는 문헌[Chou and Talalay (1981) Eur J Biochem]의 원리에 따라 Calcsyn Software를 사용하여 분석하였다.