



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0135781
 (43) 공개일자 2018년12월21일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 401/12 (2006.01) *A23L 33/10* (2016.01)
A61K 31/18 (2006.01) *A61K 31/506* (2006.01)

(52) CPC특허분류
C07D 401/12 (2013.01)
A23L 33/10 (2016.08)

(21) 출원번호 10-2017-0146241

(22) 출원일자 2017년11월03일

심사청구일자 2017년11월03일

(30) 우선권주장
 1020170073907 2017년06월13일 대한민국(KR)

(71) 출원인
한국화학연구원
 대전광역시 유성구 가정로 141 (장동)

(72) 발명자
이광호
 대전광역시 유성구 봉산로 39, 204동 1009호
신인지
 대전광역시 서구 둔산로 201 국화아파트 104동 309호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인
이원희

전체 청구항 수 : 총 17 항

(54) 발명의 명칭 **N2,N4-디페닐피리미딘-2,4-디아민 유도체, 이의 제조방법 및 이를 유효성분으로 포함하는 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물**

(57) 요약

본 발명은 N2,N4-디페닐피리미딘-2,4-디아민 유도체, 이의 제조방법 및 이를 유효성분으로 포함하는 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다. 본 발명에 따른 N2,N4-디페닐피리미딘-2,4-디아민 유도체가 야생형 EGFR에 대하여 상대적으로 약한 EGFR 활성억제효과를 나타내면서, EGFR 돌연변이에 대하여 높은 억제능을 나타냄으로써, EGFR 돌연변이가 발현된 암의 치료에도 유용하게 사용될 수 있다.

(52) CPC특허분류

A61K 31/18 (2013.01)
A61K 31/506 (2013.01)
A23V 2002/00 (2013.01)
A23V 2200/308 (2013.01)

(72) 발명자

최길돈

대전광역시 유성구 송강동 와룡로 29번지 3층

채종학

대전광역시 서구 대덕대로 415 105동 1401호

최현정

대전광역시 유성구 신성남로 95번길 18-1 305호

정명은

대전광역시 서구 대덕대로 325 스타게이트 1616

전병욱

충청남도 보령시 지장골길 164, 105동 402호

조병철

서울특별시 용산구 이촌로 310 래미안 쉐리투스
 102동 404호

박채원

서울특별시 서대문구 연희로 11가길 54 우리홈 타
 운 201호

김환

서울특별시 마포구 망원2동 508번지 강림스위트빌
 201호

크리시나바

대전광역시 유성구 가정로 141 한국화학연구원 미
 래관 302호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2016940951

부처명 미래창조과학부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 바이오·의료기술개발사업

연구과제명 (EZ)신약발굴 중개연구를 통한 전임상 후보물질 개발

기 여 율 1/1

주관기관 한국화학연구원

연구기간 2016.11.01 ~ 2017.10.31

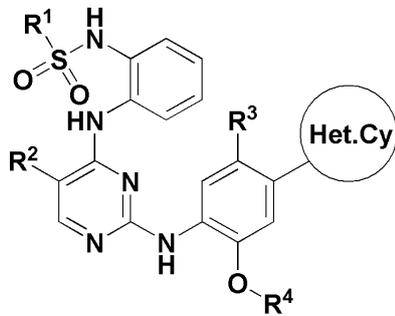
명세서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 광학 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염:

[화학식 1]



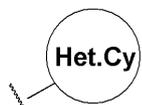
(상기 화학식 1에서,

R¹은 CH₃ 또는 NH₂이고,

R²는 수소, 할로겐, 메톡시 또는 하나 이상의 할로겐이 비치환 또는 치환된 메틸이고;

R³는 수소, 할로겐 또는 직쇄 또는 분지쇄의 C₁₋₆알킬이고;

R⁴는 직쇄 또는 분지쇄의 C₁₋₆알킬이고; 및



는 N, O 및 S로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 헤테로원자를 하나 이상 포함하는 비치환 또는 치환된 5 내지 7원자의 헤테로사이클로알킬이고, 여기서, 상기 치환된 헤테로사이클로알킬은 직쇄 또는 분지쇄의 C₁₋₃알킬, 직쇄 또는 분지쇄의 하이드록시C₁₋₃알킬, 아세틸, 비치환 또는 하나 이상의 직쇄 또는 분지쇄의 C₁₋₃알킬로 치환된 아민 및 비치환 또는 치환된 피페리디닐 또는 피페라지닐로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 치환기로 치환될 수 있고, 상기 치환된 피페리디닐 또는 피페라지닐은 직쇄 또는 분지쇄의 C₁₋₃알킬, 직쇄 또는 분지쇄의 하이드록시C₁₋₃알킬, 아세틸 및 직쇄 또는 분지쇄의 C₁₋₅알콕시카보닐로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 치환기로 치환될 수 있다).

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 R¹은 CH₃인 것을 특징으로 하는 화합물, 이의 광학 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 R¹은 NH₂인 것을 특징으로 하는 화합물, 이의 광학 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 R²는 수소, F, Cl, Br, 메톡시 또는 하나 이상의 플루오로가 비치환 또는 치환된 메틸이고;

R³는 수소, F, Cl 또는 직쇄 또는 분지쇄의 C₁₋₃알킬이고;

R⁴는 직쇄 또는 분지쇄의 C₁₋₃알킬인 것을 특징으로 하는 화합물, 이의 광학 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 R²는 수소, Cl, Br, 메틸, CF₃ 또는 메톡시이고;

R³는 수소 또는 메틸이고;

R⁴는 메틸인 것을 특징으로 하는 화합물, 이의 광학 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

청구항 6

제1항에 있어서,



상기 **Het.Cy**는 N, O 및 S로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 헤테로원자를 하나 이상 포함하는 비치환 또는 치환된 5 또는 6원자의 헤테로사이클로알킬이고, 여기서, 상기 치환된 헤테로사이클로알킬은 메틸, 에틸, 하이드록시메틸, 하이드록시에틸, 아세틸, 비치환 또는 하나 이상의 메틸로 치환된 아민 및 비치환 또는 치환된 피페리디닐 또는 피페라지닐로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 치환기로 치환될 수 있고, 상기 치환된 피페리디닐 또는 피페라지닐은 메틸, 에틸, 하이드록시메틸, 하이드록시에틸, 아세틸 및 tert-부톡시카보닐로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 치환기로 치환될 수 있는 것을 특징으로 하는 화합물, 이의 광학 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

청구항 7

제1항에 있어서,

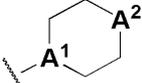


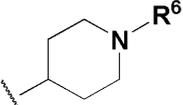
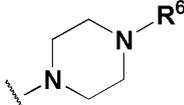
상기 **Het.Cy**는 N 및 O로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 헤테로원자를 하나 이상 포함하는 비치환 또는 치환된 5 또는 6원자의 헤테로사이클로알킬이고, 여기서, 상기 치환된 헤테로사이클로알킬은 메틸, 하이드록시에틸, 아세틸, -NH₂, -N(CH₃)₂ 및 비치환 또는 치환된 피페리디닐 또는 피페라지닐로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 치환기로 치환될 수 있고, 상기 치환된 피페리디닐 또는 피페라지닐은 메틸, 하

이드록시에틸, 아세틸 및 tert-부톡시카보닐로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 치환기로 치환될 수 있는 것을 특징으로 하는 화합물, 이의 광학 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

청구항 8

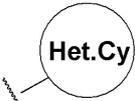
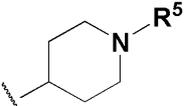
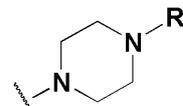
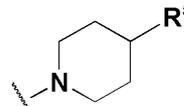
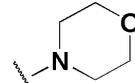
제1항에 있어서,

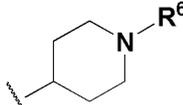
상기  는  이고, 여기서, 상기 A¹은 CH 또는 N이고, A²는 NH, O, CH-R⁵ 또는 N-R⁵이되, A¹이 CH일 때 A²는 CH-R⁵이 아니고, 이때, R⁵는 독립적으로 수소, 메틸, 하이드록시에틸, 아세틸, -NH₂,

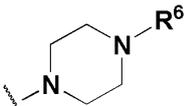
 또는  이고, 상기 R⁶는 독립적으로 수소, 메틸, 하이드록시에틸, 아세틸 또는 tert-부톡시카보닐인 것을 특징으로 하는 화합물, 이의 광학 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

청구항 9

제1항에 있어서,

상기  는 , ,  또는  이고, 여기서,

상기 R⁵는 독립적으로 수소, 메틸, 하이드록시에틸, 아세틸, -NH₂, -N(CH₃)₂,  또는

 이고, 상기 R⁶는 독립적으로 수소, 메틸, 하이드록시에틸, 아세틸 또는 tert-부톡시카보닐인 것을 특징으로 하는 화합물, 이의 광학 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

청구항 10

제1항에 있어서,

상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 하기 화합물 군으로부터 선택되는 어느 하나인 것을 특징으로 하는 화합물, 이의 광학 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염:

<1>

N-(2-((5-클로로-2-((2-메톡시-4-(피페리딘-4-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설폰아마이드;

<2> N-(2-((5-클로로-2-((2-메톡시-5-메틸-4-(피페리딘-4-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설폰아마이드;

<3>

N-(2-((5-브로모-2-((2-메톡시-4-(피페리딘-4-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드;

<4>

N-(2-((5-메톡시-2-((2-메톡시-4-(피페리딘-4-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드;

<5> N-(2-((2-((2-메톡시-4-(피페라진-1-일)페닐)아미노)-5-(트리플루오로메틸)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드;

<6> 4-(4-((5-클로로-4-((2-(설파모일아미노)페닐)아미노)피리미딘-2-일)아미노)-3-메톡시페닐)피페리딘;

<7> 4-(4-((5-브로모-4-((2-(설파모일아미노)페닐)아미노)피리미딘-2-일)아미노)-3-메톡시페닐)피페리딘;

<8> N-(2-((2-((2-메톡시-4-(피페리딘-4-일)페닐)아미노))-5-메틸피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드;

<9> N-(2-((2-((2-메톡시-4-(피페리딘-4-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드;

<10> N-(2-((5-클로로-2-((2-메톡시-4-(4-(4-메틸피페라진-1-일)피페리딘-1-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드;

<11>

N-(2-((5-클로로-2-((4-(4-(디메틸아미노)피페리딘-1-일)-2-메톡시페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드;

<12> N-(2-((5-클로로-2-((2-메톡시-4-(1-메틸피페리딘-4-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드;

<13> N-(2-((5-클로로-2-((4-(1-(2-하이드록시에틸)피페리딘-4-일)-2-메톡시페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드;

<14> N-(2-((5-클로로-2-((4-(1'-(2-하이드록시에틸)-[1,4'-바이피페리딘]-4-일)-2-메톡시페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드;

<15> N-(2-((2-((4-(1-아세틸피페리딘-4-일)-2-메톡시페닐)아미노)-5-클로로피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드;

<16> N-(2-((2-((4-([1,4'-바이피페리딘]-4-일)-2-메톡시페닐)아미노)-5-클로로피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드;

<17> N-(2-((5-클로로-2-((2-메톡시-4-(1'-메틸-[1,4'-바이피페리딘]-4-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드;

<18> N-(2-((2-((4-(1'-아세틸-[1,4'-바이피페리딘]-4-일)-2-메톡시페닐)아미노)-5-클로로피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드;

<19> N-(2-((2-((4-(4-(4-아세틸피페라진-1-일)피페리딘-1-일)-2-메톡시페닐)아미노)-5-클로로피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드;

<20> tert-부틸 4-(1-(4-((5-클로로-4-((2-(메틸설포아미도)페닐)아미노)피리미딘-2-일)아미노)-3-메톡시페닐)피페리딘-4-일)피페라진-1-카복실레이트;

<21> N-(2-((5-클로로-2-((2-메톡시-4-(4-(피페라진-1-일)피페리딘-1-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드;

<22> N-(2-((5-클로로-2-((4-(4-(4-(2-하이드록시에틸)피페라진-1-일)피페리딘-1-일)-2-메톡시페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드;

<23> N-(2-((5-클로로-2-((2-메톡시-4-(피페라진-1-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드;

<24> N-(2-((2-((4-(4-(1-아세틸피페리딘-4-일)피페라진-1-일)-2-메톡시페닐)아미노)-5-클로로피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드;

<25> N-(2-((5-클로로-2-((2-메톡시-4-(4-(1-메틸피페리딘-4-일)피페라진-1-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드;

노)페닐)메탄설폰아마이드;

<26> tert-부틸 4-(4-(4-((5-클로로-4-((2-(메틸설폰아미도)페닐)아미노)피리미딘-2-일)아미노)-3-메톡시페닐)피페라진-1-일)피페리딘-1-카복실레이트;

<27> N-(2-((5-클로로-2-((2-메톡시-4-(4-(피페리딘-4-일)피페라진-1-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설폰아마이드;

<28> N-(2-((5-클로로-2-((2-메톡시-4-(4-메틸피페라진-1-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설폰아마이드; 및

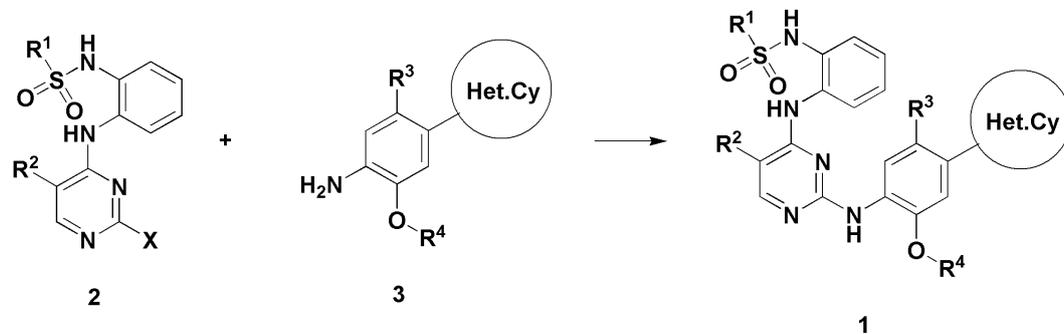
<32> N-(2-((5-클로로-2-((2-메톡시-4-모폴리노페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설폰아마이드.

청구항 11

하기 반응식 1에 나타낸 바와 같이,

화학식 2로 표시되는 화합물과 화학식 3으로 표시되는 화합물을 반응시켜 화학식 1로 표시되는 화합물을 제조하는 단계를 포함하는 제1항의 화학식 1로 표시되는 화합물의 제조방법:

[반응식 1]



(상기 반응식 1에서, R¹, R², R³, R⁴ 및 는 제1항의 화학식 1에서 정의한 바와 같고; 및 X는 할로겐이다).

청구항 12

제1항의 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 광학 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 13

제12항에 있어서,

상기 화합물은 EGFR(epidermal growth factor receptor) 돌연변이를 억제하는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 14

제13항에 있어서,

상기 EGFR 돌연변이는 EGFR del19, EGFR del19/T790M, EGFR del19/T790M/C797S, EGFR L858R, EGFR L858R/T790MS 및 EGFR L858R/T790M/C797S으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상인 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 15

제12항에 있어서,

상기 암은 EGFR, ALK, FAK, FLT3, JAK3, KIT 및 PLK4로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상에 대하여 돌연변이가 발현된 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 16

제12항에 있어서,

상기 암은 가성점액종, 간내 담도암, 간모세포종, 간암, 갑상선암, 결장암, 고환암, 골수이형성증후군, 교모세포종, 구강암, 구순암, 근상식육종, 급성골수성백혈병, 급성림프구성백혈병, 기저세포암, 난소상피암, 난소생식세포암, 남성유방암, 뇌암, 뇌하수체선종, 다발성골수종, 담낭암, 담도암, 대장암, 만성골수성백혈병, 만성림프구백혈병, 망막모세포종, 맥락막흑색종, 바터팡대부암, 방광암, 복막암, 부갑상선암, 부신암, 비부비동암, 비소세포폐암, 설암, 성상세포종, 소세포폐암, 소아뇌암, 소아림프종, 소아백혈병, 소장암, 수막종, 식도암, 신경교종, 신우암, 신장암, 심장암, 십이지장암, 악성 연부조직 암, 악성골암, 악성림프종, 악성종피종, 악성흑색종, 안암, 외음부암, 요관암, 요도암, 원발부위불명암, 위림프종, 위암, 위유암종, 위장관간질암, 윌름스암, 유방암, 육종, 음경암, 인두암, 임신용모질환, 자궁경부암, 자궁내막암, 자궁육종, 전립선암, 전이성 골암, 전이성뇌암, 중격동암, 직장암, 직장유암종, 질암, 척수암, 청신경초종, 췌장암, 침샘암, 카포시 육종, 파제트병, 편도암, 편평상피세포암, 폐선암, 폐암, 폐편평상피세포암, 피부암, 항문암, 황문근육종, 후두암, 흉막암, 및 흉선암으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상인 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 17

제1항의 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 광학 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 암의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 N2,N4-디페닐피리미딘-2,4-디아민 유도체, 이의 제조방법 및 이를 유효성분으로 포함하는 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 암의 발생은 화학물질, 방사선, 바이러스를 포함하는 여러 가지 환경적인 요인과 종양 유전자, 종양 억제 유전자, 세포사멸(apoptosis)과 DNA 복구에 관련된 유전자의 변화 등에 관련되어 있는데, 최근 이러한 암의 분자적 메커니즘을 이해함에 따라 새로운 치료법인 표적 항암치료가 가능하게 되었다.

[0005] 표적 치료제들은 일반적으로 암세포가 특징적으로 가지고 있는 분자를 표적으로 하여 그 효과를 나타낼 수 있도록 만들어지며, 분자적 표적이 되는 것은 암세포의 신호전달경로(signal transduction pathway), 혈관신생(angiogenesis), 세포간질(matrix), 세포주기조절인자(cell cycle regulator), 세포사멸(apoptosis) 등에 관련된 유전자들이다. 현재 치료에서 중요한 표적 치료제로 사용되고 있는 것으로는 티로신 키나아제(tyrosine

kinase) 억제제를 비롯한 '신호전달경로 억제제'와 '신생혈관생성 억제제'들이 있다.

- [0007] 단백질 티로신 키나아제(protein tyrosine kinase)는 많은 악성 종양에서 중요한 역할을 하는 것으로 밝혀졌으며, 특히 erbB 패밀리의 수용체 티로신 키나아제(receptor tyrosine kinase)인 상피 성장 인자 수용체(epidermal growth factor receptor, EGFR)는 비소세포폐암종(NSCLC), 유방암, 신경교종, 두경부의 편평 세포암종, 대장암, 곤창자 생암종, 두경부암, 위암 및 전립선암을 포함한 많은 상피세포 종양에서 비정상적으로 활성화되어 있고, 상기 EGFR-티로신 키나아제의 활성화가 지속적인 세포 증식, 주변 조직에 대한 침범, 원격전이, 혈관 형성을 일으키며 세포 생존을 증가시킴이 알려진 바 있다.
- [0009] 구체적으로, 상기 EGFR은 ErbB 티로신키나아제 수용체군(tyrosine kinase receptors family; EGFR, HER-2, ErbB-3, ErbB-4) 중의 하나로, 세포외 리간드결합영역(extracellular ligand-binding domain)과 티로신 키나아제영역(tyrosine kinase domain)을 포함한 세포내 영역(intracellular domain)을 가지고 있는 막경유 티로신키나아제(transmembrane tyrosine kinase)이다. 호모다이머(homodimer) 또는 헤테로다이머(heterodimer)를 이룬 수용체에 리간드가 결합하면 세포내의 티로신키나아제가 활성화되고 이렇게 EGFR에 의해 자극된 신호는 포스포티딜이노시톨 3-키나아제(phosphatidylinositol 3-kinase(PI3K)/AKT/mTOR, RAS/RAF/MAPK, JAK/STAT) 신호전달 경로를 활성화한다(Nat Rev Cancer 2007;7:169-81).
- [0011] EGFR은 특히, 비소세포폐암(non-small cell lung cancer, NSCLC)의 절반이상에서 과발현되어 치료의 표적으로 많은 연구들이 시행되었다. EGFR 티로신키나아제 활성을 억제하는 EGFR TKI(tyrosine kinase inhibitor)가 개발되었으며, 대표적인 약제로는 제피티닙(IRESSA™), 에를로티닙(TARCEVA™), 라파티닙(TYKERB™, TYVERB™)이 있다.
- [0013] 한편, 2004년 EGFR의 활성화 돌연변이가 비소세포 폐암(NSCLC:non-small-cell lung cancer)에서 제피티닙 요법에 대한 반응과 상관관계가 있다는 것이 보고되었다(Science [2004] Vol.304, 1497-500 및 New England Journal of Medicine [2004] Vol. 350, 2129-39).
- [0014] 구체적으로, 상기 EGFR 돌연변이는 크게 민감성(sensitizing) 돌연변이와 내성(resistant) 돌연변이로 구분되는데 엑손 19의 결손(deletion)과 엑손 21의 L858R 점 돌연변이(point mutation)가 가장 중요한 민감성 돌연변이로서 약 85~90%를 차지하고 있고 엑손 19 del 돌연변이가 TKI에 대한 민감성이 더 좋은 것으로 알려져 있다. 반면 엑손 20의 T790M 점 돌연변이는 가장 중요한 내성 돌연변이로서 획득 내성 환자의 50% 이상에서 발견되는 것으로 알려져 있다(Clin Cancer Res 2006;12:6494-6501.).
- [0016] 지금까지 동정된 체세포 돌연변이에는 엑손 19 내 틀내 결손 또는 엑손 20 내 삽입뿐만 아니라, 발현된 단백질 내에서 단일 핵산 잔기가 변형된 점 돌연변이(예컨대, L858R, G719S, G719C, G719A, L861Q)가 포함된다(Fukuoka et al. JCO 2003; Kris et al JAMA 2003 and Shepherd et al NEJM 2004).
- [0017] EGFR 돌연변이를 갖는 NSCLC 환자에게서 제피티닙/에를로티닙의 초기 임상 효과에도 불구하고, 대부분의 환자에게서 결국에는 이들 제제에 대한 요법을 받는 동안 진행성 암이 발병한다. 재발된 표본의 초기연구에서 제피티닙 및 에를로티닙을 EGFR 키나아제 활성의 비효과적인 억제제가 되게 하는 이차 EGFR 돌연변이, T790M가 동정되었다(Kobayashi et al NEJM 2005 and Pao et al PLOS Medicine 2005). EGFR T790M 돌연변이가 제피티닙 또는 에를로티닙에 대해 내성을 획득한 환자 유래 종양의 대략 50%(24/48)에서 발견됨이 후속 연구에서 입증되었다(Kosaka et al CCR 2006; Balak et al CCR 2006 and Engelman et al Science 2007). 이러한 이차 유전적 변형은 키나아제 억제제로 치료된 환자에게서 '게이트키퍼(gatekeeper)' 잔기 및 이것과 연관된 이차 내성 대립 유전자와 유사한 위치에서 야기된다(예를 들어, 이마티닙 내성 CML에서 ABL 내 T315I).
- [0019] EGFR 돌연변이인 EGFR_del19 또는 EGFR_L858R이 비소세포폐암과 두경부암의 주요한 원인이라는 것은 오래 전부터 알려져 왔고, 이들의 치료약물인 이레사, 타세바가 개발되어 현재 임상에서 사용되고 있다. 하지만, 이러한

약물을 환자에 사용하였을 때 약물의 구조에 기반을 두는 EGFR 2차 돌연변이가 생기는 획득내성(acquired resistance)이 관찰되었고, 이것이 실제 약제내성의 주요원인이라는 것도 밝혀졌다. EGFR 1세대 저해제를 평균 10개월 정도 사용하게 되면 EGFR 키나아제의 게이트키퍼(gatekeeper)에 위치한 T790M 돌연변이라는 획득내성이 발생하여 EGFR 1세대 저해제들이 약효를 내지 못하는 것이다. 즉, EGFR_del119_T790M 또는 EGFR_L858R_T790M 이중돌연변이가 발생하여 기존 치료제가 약효를 나타내지 못하게 된다.

[0021] 이러한 사실을 기반으로 약효가 우수하면서 새로운 구조를 가지고 있는 2세대, 3세대 약물 개발에 대한 필요성이 대두되고 있다.

[0023] 최근 5년간 EGFR T790M 이중돌연변이에 효과를 보이는 다양한 3세대 신약후보물질이 발굴되어 임상연구 진행 중에 있고, 그 중 가장 앞선 것이 다국적제약사인 아스트라제네카의 AZD9291이다. 하지만 AZD9291도 대략 10개월 정도면 또 다른 내성이 발생하여 AZD9291의 약효가 상실된다는 것으로 보고된 바 있으며, 특히, C797S를 포함하는 삼중돌연변이가 생기는 내성이 발생됨이 보고된 바 있다(Thress et al, Nature Medicine 2015).

[0025] 이에, 상대적으로 낮은 WT EGFR의 억제력을 보임과 동시에, 특정 활성화 또는 내성 돌연변이체 형태의 EGFR에 대해 더 높은 억제력을 나타내는 억제제의 개발이 요구되고 있다.

[0027] 이에, EGFR 다중돌연변이를 억제하는 암 치료제를 개발하기 위하여 노력하던 중, 본 발명에 따른 N2,N4-디페닐피리미딘-2,4-디아민 유도체가 야생형 EGFR에 대하여 상대적으로 낮은 억제력을 나타내면서, EGFR 돌연변이에 대하여 높은 억제능을 나타냄으로써, 암의 예방 또는 치료에 유용하게 사용될 수 있음을 알아내어 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0029] 본 발명의 목적은 N2,N4-디페닐피리미딘-2,4-디아민 유도체, 이의 광학 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공하는 것이다.

[0031] 본 발명의 다른 목적은 상기 N2,N4-디페닐피리미딘-2,4-디아민 유도체의 제조방법을 제공하는 것이다.

[0033] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 N2,N4-디페닐피리미딘-2,4-디아민 유도체, 이의 광학 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

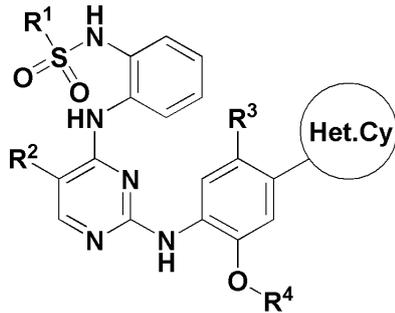
[0035] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 N2,N4-디페닐피리미딘-2,4-디아민 유도체, 이의 광학 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 암의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0037] 상기 목적을 달성하기 위하여,

[0038] 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 광학 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다:

[0039] [화학식 1]



[0040]

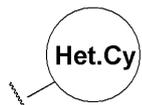
[0041] (상기 화학식 1에서,

[0042] R¹은 CH₃ 또는 NH₂이고,

[0043] R²는 수소, 할로겐, 메톡시 또는 하나 이상의 할로겐이 비치환 또는 치환된 메틸이고;

[0044] R³는 수소, 할로겐 또는 직쇄 또는 분지쇄의 C₁₋₆알킬이고;

[0045] R⁴는 직쇄 또는 분지쇄의 C₁₋₆알킬이고; 및

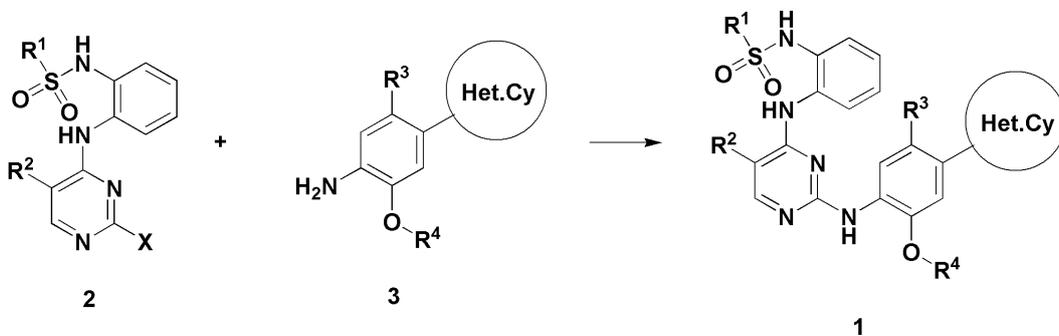


[0046] 는 N, O 및 S로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 헤테로원자를 하나 이상 포함하는 비치환 또는 치환된 5 내지 7원자의 헤테로사이클로알킬이고, 여기서, 상기 치환된 헤테로사이클로알킬은 직쇄 또는 분지쇄의 C₁₋₃알킬, 직쇄 또는 분지쇄의 하이드록시C₁₋₃알킬, 아세틸, 비치환 또는 하나 이상의 직쇄 또는 분지쇄의 C₁₋₃알킬로 치환된 아민 및 비치환 또는 치환된 피페리딘 또는 피페라지닐로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 치환기로 치환될 수 있고, 상기 치환된 피페리딘 또는 피페라지닐은 직쇄 또는 분지쇄의 C₁₋₃알킬, 직쇄 또는 분지쇄의 하이드록시C₁₋₃알킬, 아세틸 및 직쇄 또는 분지쇄의 C₁₋₅알콕시카보닐로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 치환기로 치환될 수 있다).

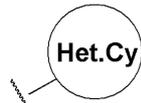
[0048] 또한, 본 발명은 하기 반응식 1에 나타낸 바와 같이,

[0049] 화학식 2로 표시되는 화합물과 화학식 3으로 표시되는 화합물을 반응시켜 화학식 1로 표시되는 화합물을 제조하는 단계를 포함하는 상기 화학식 1로 표시되는 화합물의 제조방법을 제공한다:

[0050] [반응식 1]



[0051]



[0052] (상기 반응식 1에서, R^1 , R^2 , R^3 , R^4 및 X 는 상기 화학식 1에서 정의한 바와 같고; 및

[0053] X 는 할로겐이다).

[0055] 나아가, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 광학 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0057] 또한, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 광학 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 암의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공한다.

[0059] 또한, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 약학적 조성물 또는 건강기능식품 조성물을 필요한 대상에게 투여하는 단계를 포함하는 암의 예방 또는 치료 방법을 제공한다.

[0061] 또한, 본 발명은 암의 예방 또는 치료에 있어서의, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 함유하는 약학적 조성물 또는 건강기능식품 조성물의 용도를 제공한다.

발명의 효과

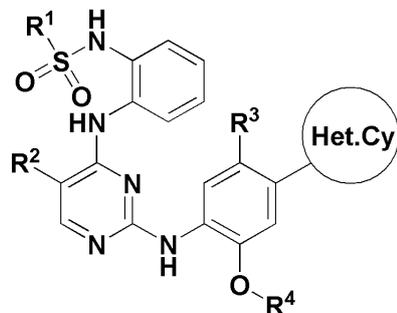
[0063] 본 발명에 따른 N2,N4-디페닐피리미딘-2,4-디아민 유도체가 야생형 EGFR에 대하여 상대적으로 약한 EGFR 활성화 억제효과를 나타내면서, EGFR 돌연변이에 대하여 높은 억제능을 나타냄으로써, EGFR 돌연변이가 발현된 암의 치료에도 유용하게 사용될 수 있다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0065] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

[0067] 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 광학 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

[0068] [화학식 1]



[0069] 상기 화학식 1에서,

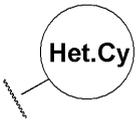
[0070]

[0071] R¹은 CH₃ 또는 NH₂이고,

[0072] R²는 수소, 할로젠, 메톡시 또는 하나 이상의 할로젠이 비치환 또는 치환된 메틸이고;

[0073] R³는 수소, 할로젠 또는 직쇄 또는 분지쇄의 C₁₋₆알킬이고;

[0074] R⁴는 직쇄 또는 분지쇄의 C₁₋₆알킬이고; 및

[0075]  는 N, O 및 S로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 헤테로원자를 하나 이상 포함하는 비치환 또는 치환된 5 내지 7원자의 헤테로사이클로알킬이고, 여기서, 상기 치환된 헤테로사이클로알킬은 직쇄 또는 분지쇄의 C₁₋₃알킬, 직쇄 또는 분지쇄의 하이드록시C₁₋₃알킬, 아세틸, 비치환 또는 하나 이상의 직쇄 또는 분지쇄의 C₁₋₃알킬로 치환된 아민 및 비치환 또는 치환된 피페리딘 또는 피페라지닐로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 치환기로 치환될 수 있고, 상기 치환된 피페리딘 또는 피페라지닐은 직쇄 또는 분지쇄의 C₁₋₃알킬, 직쇄 또는 분지쇄의 하이드록시C₁₋₃알킬, 아세틸 및 직쇄 또는 분지쇄의 C₁₋₅알콕시카보닐로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 치환기로 치환될 수 있다.

[0077] 상기 R¹은 CH₃일 수 있다.

[0078] 상기 R¹은 NH₂일 수 있다.

[0080] 상기 R²는 수소, F, Cl, Br, 메톡시 또는 하나 이상의 플루오로가 비치환 또는 치환된 메틸이고;

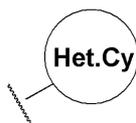
[0081] R³는 수소, F, Cl 또는 직쇄 또는 분지쇄의 C₁₋₃알킬이고;

[0082] R⁴는 직쇄 또는 분지쇄의 C₁₋₃알킬일 수 있다.

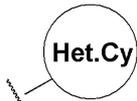
[0084] 상기 R²는 수소, Cl, Br, 메틸, CF₃ 또는 메톡시이고;

[0085] R³는 수소 또는 메틸이고;

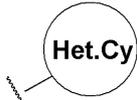
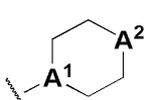
[0086] R⁴는 메틸일 수 있다.

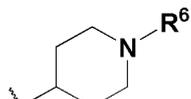
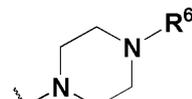
[0088]  상기 는 N, O 및 S로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 헤테로원자를 하나 이상 포함하는 비치환 또는 치환된 5 또는 6원자의 헤테로사이클로알킬이고, 여기서, 상기 치환된 헤테로사이클로알킬은 메틸, 에틸, 하이드록시메틸, 하이드록시에틸, 아세틸, 비치환 또는 하나 이상의 메틸로 치환된 아민 및 비치환 또는 치환된 피페리딘 또는 피페라지닐로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 치환기로 치환될 수 있고, 상기 치환된 피페리딘 또는 피페라지닐은 메틸, 에틸, 하이드록시메틸, 하이드록시에틸, 아세틸 및 tert-부톡시카보닐로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 치환기로 치환될 수 있다.

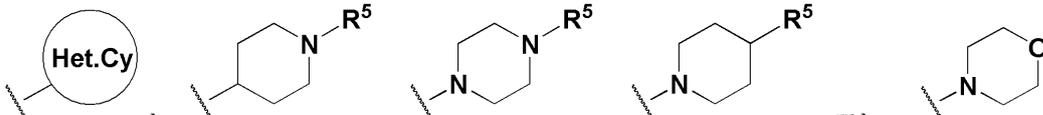


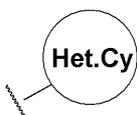
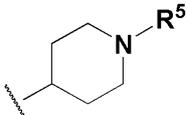
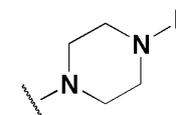
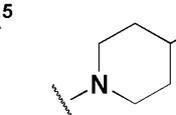
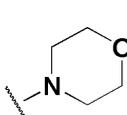
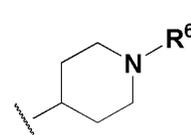
[0090] 상기  는 N 및 O로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 헤테로원자를 하나 이상 포함하는 비치환 또는 치환된 5 또는 6원자의 헤테로사이클로알킬이고, 여기서, 상기 치환된 헤테로사이클로알킬은 메틸, 하이드록시에틸, 아세틸, -NH₂, -N(CH₃)₂ 및 비치환 또는 치환된 피페리딘일 또는 피페라지닐로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 치환기로 치환될 수 있고, 상기 치환된 피페리딘일 또는 피페라지닐은 메틸, 하이드록시에틸, 아세틸 및 tert-부톡시카보닐로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 치환기로 치환될 수 있다.

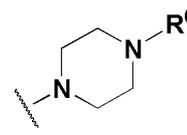


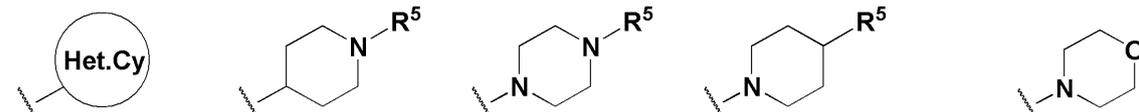
[0092] 상기  는  이고, 여기서, 상기 A¹은 CH 또는 N이고, A²는 NH, O, CH-R⁵ 또는 N-R⁵이되, A¹이 CH일 때 A²는 CH-R⁵이 아니고, 이때, R⁵는 독립적으로 수소, 메틸, 하이드록시에틸, 아세틸, -NH₂,

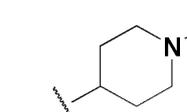
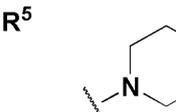
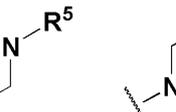
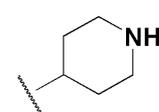
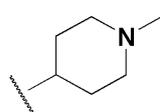
-N(CH₃)₂,  또는  이고, 상기 R⁶는 독립적으로 수소, 메틸, 하이드록시에틸, 아세틸 또는 tert-부톡시카보닐일 수 있다.

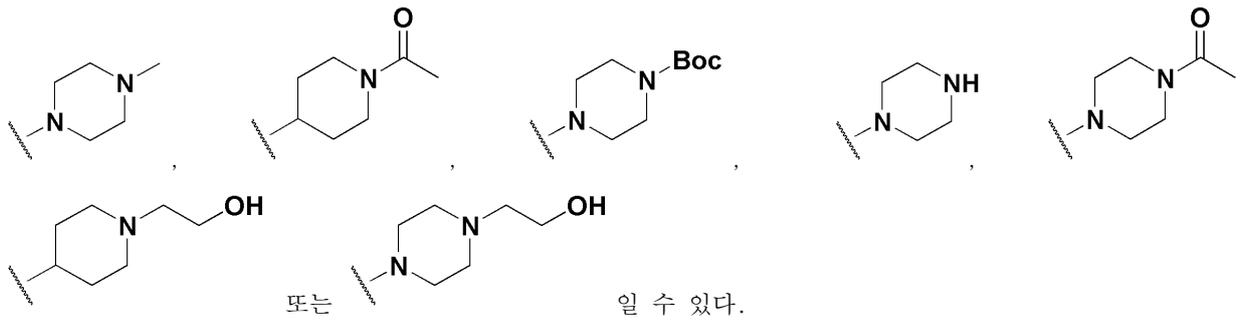


[0094] 상기  는 , ,  또는  이고, 여기서, 상기 R⁵는 독립적으로 수소, 메틸, 하이드록시에틸, 아세틸, -NH₂, -N(CH₃)₂,  또는

 이고, 상기 R⁶는 독립적으로 수소, 메틸, 하이드록시에틸, 아세틸 또는 tert-부톡시카보닐일 수 있다.



[0096] 상기  는 , ,  또는  이고, 여기서, 상기 R⁵는 수소, 메틸, 하이드록시에틸, 아세틸, -NH₂, -N(CH₃)₂, , ,



- [0098] 본 발명에 따른 상기 화학식 1로 표시되는 화합물의 예로는 하기의 화합물들을 들 수 있다:
- [0099] <1> N-(2-((5-클로로-2-((2-메톡시-4-(피페리딘-4-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드;
- [0100] <2> N-(2-((5-클로로-2-((2-메톡시-5-메틸-4-(피페리딘-4-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드;
- [0101] <3> N-(2-((5-브로모-2-((2-메톡시-4-(피페리딘-4-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드;
- [0102] <4> N-(2-((5-메톡시-2-((2-메톡시-4-(피페리딘-4-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드;
- [0103] <5> N-(2-((2-((2-메톡시-4-(피페라진-1-일)페닐)아미노)-5-(트리플루오로메틸)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드;
- [0104] <6> 4-(4-((5-클로로-4-((2-(설파모일아미노)페닐)아미노)피리미딘-2-일)아미노)-3-메톡시페닐)피페리딘;
- [0105] <7> 4-(4-((5-브로모-4-((2-(설파모일아미노)페닐)아미노)피리미딘-2-일)아미노)-3-메톡시페닐)피페리딘;
- [0106] <8> N-(2-((2-((2-메톡시-4-(피페리딘-4-일)페닐)아미노))-5-메틸피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드;
- [0107] <9> N-(2-((2-((2-메톡시-4-(피페리딘-4-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드;
- [0108] <10> N-(2-((5-클로로-2-((2-메톡시-4-(4-(4-메틸피페라진-1-일)피페리딘-1-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드;
- [0109] <11> N-(2-((5-클로로-2-((4-(4-(디메틸아미노)피페리딘-1-일)-2-메톡시페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드;
- [0110] <12> N-(2-((5-클로로-2-((2-메톡시-4-(1-메틸피페리딘-4-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드;
- [0111] <13> N-(2-((5-클로로-2-((4-(1-(2-하이드록시에틸)피페리딘-4-일)-2-메톡시페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드;
- [0112] <14> N-(2-((5-클로로-2-((4-(1'-(2-하이드록시에틸)-[1,4'-바이피페리딘]-4-일)-2-메톡시페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드;
- [0113] <15> N-(2-((2-((4-(1-아세틸피페리딘-4-일)-2-메톡시페닐)아미노)-5-클로로피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드;
- [0114] <16> N-(2-((2-((4-([1,4'-바이피페리딘]-4-일)-2-메톡시페닐)아미노)-5-클로로피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드;
- [0115] <17> N-(2-((5-클로로-2-((2-메톡시-4-(1'-메틸-[1,4'-바이피페리딘]-4-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드;
- [0116] <18> N-(2-((2-((4-(1'-아세틸-[1,4'-바이피페리딘]-4-일)-2-메톡시페닐)아미노)-5-클로로피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드;

노)페닐)메탄설폰아마이드;

- [0117] <19> N-(2-((2-((4-(4-(4-아세틸피페라진-1-일)피페리딘-1-일)-2-메톡시페닐)아미노)-5-클로로피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설폰아마이드;
- [0118] <20> tert-부틸 4-(1-(4-((5-클로로-4-((2-(메틸설폰아미도)페닐)아미노)피리미딘-2-일)아미노)-3-메톡시페닐)피페리딘-4-일)피페라진-1-카복실레이트;
- [0119] <21>N-(2-((5-클로로-2-((2-메톡시-4-(4-(피페라진-1-일)피페리딘-1-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설폰아마이드;
- [0120] <22> N-(2-((5-클로로-2-((4-(4-(4-(2-하이드록시에틸)피페라진-1-일)피페리딘-1-일)-2-메톡시페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설폰아마이드;
- [0121] <23> N-(2-((5-클로로-2-((2-메톡시-4-(피페라진-1-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설폰아마이드;
- [0122] <24> N-(2-((2-((4-(4-(1-아세틸피페리딘-4-일)피페라진-1-일)-2-메톡시페닐)아미노)-5-클로로피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설폰아마이드;
- [0123] <25> N-(2-((5-클로로-2-((2-메톡시-4-(4-(1-메틸피페리딘-4-일)피페라진-1-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설폰아마이드;
- [0124] <26> tert-부틸 4-(4-(4-((5-클로로-4-((2-(메틸설폰아미도)페닐)아미노)피리미딘-2-일)아미노)-3-메톡시페닐)피페라진-1-일)피페리딘-1-카복실레이트;
- [0125] <27> N-(2-((5-클로로-2-((2-메톡시-4-(4-(피페리딘-4-일)피페라진-1-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설폰아마이드;
- [0126] <28> N-(2-((5-클로로-2-((2-메톡시-4-(4-메틸피페라진-1-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설폰아마이드;
- [0127] <32> N-(2-((5-클로로-2-((2-메톡시-4-모폴리노페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설폰아마이드.

[0129] 본 발명의 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 약학적으로 허용가능한 염의 형태로 사용할 수 있으며, 염으로는 약학적으로 허용가능한 유리산(free acid)에 의해 형성된 산 부가염이 유용하다. 산 부가염은 염산, 질산, 인산, 황산, 브롬화수소산, 요드화수소산, 아질산, 아인산 등과 같은 무기산류, 지방족 모노 및 디카르복실레이트, 페닐-치환된 알카노에이트, 하이드록시 알카노에이트 및 알칸디오에이트, 방향족 산류, 지방족 및 방향족 설폰산류 등과 같은 무독성 유기산, 아세테이트, 안식향산, 구연산, 젯산, 말레인산, 글루콘산, 메탄설폰산, 4-톨루엔설폰산, 주석산, 푸마르산 등과 같은 유기산으로부터 얻는다. 이러한 약학적으로 무독한 염의 종류로는 설페이트, 피로설페이트, 바이설페이트, 설파이트, 바이설파이트, 니트레이트, 포스페이트, 모노하이드로젠 포스페이트, 디하이드로젠 포스페이트, 메타포스페이트, 피로포스페이트, 클로라이드, 브로마이드, 아이오다이드, 플루오라이드, 아세테이트, 프로피오네이트, 데카노에이트, 카프릴레이트, 아크릴레이트, 포메이트, 이소부티레이트, 카프레이트, 헵타노에이트, 프로피올레이트, 옥살레이트, 말로네이트, 석시네이트, 수베레이트, 세바케이트, 푸마레이트, 말리에이트, 부틴-1,4-디오에이트, 핵산-1,6-디오에이트, 벤조에이트, 클로로벤조에이트, 메틸벤조에이트, 디니트로 벤조에이트, 하이드록시벤조에이트, 메톡시벤조에이트, 프탈레이트, 테레프탈레이트, 벤젠설포네이트, 톨루엔설포네이트, 클로로벤젠설포네이트, 크실렌설포네이트, 페닐아세테이트, 페닐프로피오네이트, 페닐부티레이트, 시트레이트, 락테이트, β-하이드록시부티레이트, 글리콜레이트, 말레이트, 타트레이트, 메탄설포네이트, 프로판설포네이트, 나프탈렌-1-설포네이트, 나프탈렌-2-설포네이트, 만델레이트 등을 포함한다.

[0130] 본 발명에 따른 산 부가염은 통상의 방법으로 제조할 수 있으며, 예를 들면 화학식 1의 유도체를 메탄올, 에탄올, 아세톤, 메틸클로로라이드, 아세트니트릴 등과 같은 유기용매에 녹이고 유기산 또는 무기산을 가하여 생성된 침전물을 여과, 건조시켜 제조하거나, 용매와 과량의 산을 감압 증류한 후 건조시켜 유기용매 하에서 결정화시켜서 제조할 수 있다.

[0131] 또한, 염기를 사용하여 약학적으로 허용가능한 금속염을 만들 수 있다. 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염은

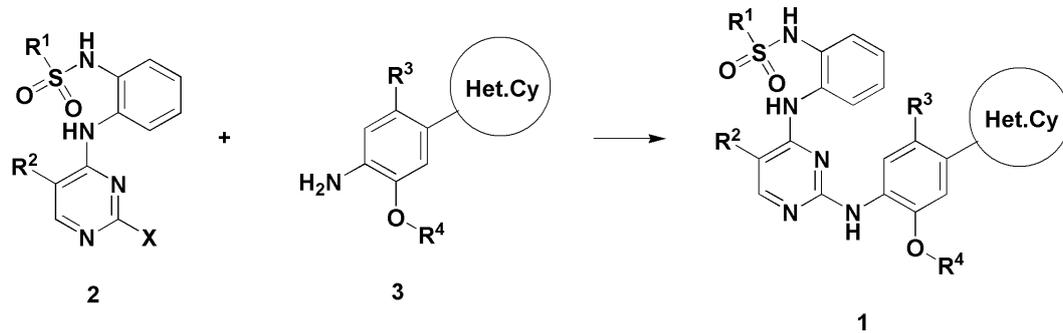
예를 들면 화합물을 과량의 알칼리 금속 수산화물 또는 알칼리 토금속 수산화물 용액 중에 용해하고, 비용해 화합물 염을 여과하고, 여액을 증발, 건조시켜 얻는다. 이때, 금속염으로는 나트륨, 칼륨 또는 칼슘염을 제조하는 것이 제약상 적합하다. 또한, 이에 대응하는 염은 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염을 적당한 용매(예, 질산은)과 반응시켜 얻는다.

[0132] 나아가, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 및 이의 약학적으로 허용가능한 염뿐만 아니라, 이로부터 제조될 수 있는 용매화물, 광학 이성질체, 수화물 등을 모두 포함한다.

[0134] 또한, 본 발명은 하기 반응식 1에 나타난 바와 같이,

[0135] 화학식 2로 표시되는 화합물과 화학식 3으로 표시되는 화합물을 반응시켜 화학식 1로 표시되는 화합물을 제조하는 단계를 포함하는 상기 화학식 1로 표시되는 화합물의 제조방법을 제공한다.

[0136] [반응식 1]



[0137]



[0138] (상기 반응식 1에서, R¹, R², R³, R⁴ 및 Het.Cy는 제1항의 화학식 1에서 정의한 바와 같고; 및

[0139] X는 할로젠이다).

[0141] 이하, 상기 반응식 1로 표시되는 제조방법에 대하여 상세히 설명한다.

[0143] 본 발명에 따른 상기 반응식 1로 표시되는 화합물의 제조방법에 있어서, 상기 단계 1은 화학식 2로 표시되는 화합물과 화학식 3으로 표시되는 화합물을 반응시켜, 화학식 1로 표시되는 화합물을 제조하는 단계이다. 구체적으로, 화학식 2로 표시되는 화합물의 할로젠과 화학식 3으로 표시되는 화합물의 1차 아민이 반응하여 화학식 1로 표시되는 화합물이 형성되는 단계이다.

[0144] 상기 반응식 1의 반응은 할로젠과 아민을 결합시켜 아민본드를 형성할 수 있는 조건이라면 특히 한정되지 않는다.

[0145] 본 발명에서는 산 조건을 사용하였으며, 상기 산으로는 염산을 사용하였으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0146] 또한, 하기 반응식 2의 제조방법과 같이 반응식 1의 할로젠과 아민 결합반응 수행 전에, 설펜아마이드를 도입하거나, 설펜아마이드를 도입하지 않고 할로젠과 아민 결합을 수행한 후, 설펜아마이드를 도입할 수도 있다.

[0147] 상기 반응식 1에서 사용가능한 용매는 특히 한정되는 것은 아니나, 아이소프로판올, 메탄올, 에탄올, 프로판올 및 부탄올을 포함하는 저급 알코올; 테트라하이드로퓨란(THF); 디옥산; 에틸에테르, 1,2-다이메톡시에탄 등을 포함하는 에테르용매; 디메틸포름아미드(DMF), 디메틸설폭사이드(DMSO), 메틸렌클로라이드, 디클로로에탄, 물, 아세트나젠설포네이트, 톨루엔설포네이트, 클로로벤젠설포네이트, 크실렌설포네이트, 에틸아세테이트, 페닐아세테이트, 페닐프로피오네이트, 페닐부티레이트, 시크레이트, 락테이트, 하이드록시부티레이트, 글리콜레이트, 말레이트, 타트레이트, 메탄설포네이트, 프로판설포네이트, 나프탈렌-1-설포네이트, 나프탈렌-2-설포네이트, 만델레이트, 아세트나이트릴 등이 있으며, 이를 단독 또는 혼합하여 사용할 수 있다. 본 발명에서는 저급 알코올 용

매를 사용하였으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0149] 또한, 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물에서, R¹이 NH₂일 때 하기 반응식 2에 나타난 바와 같이,

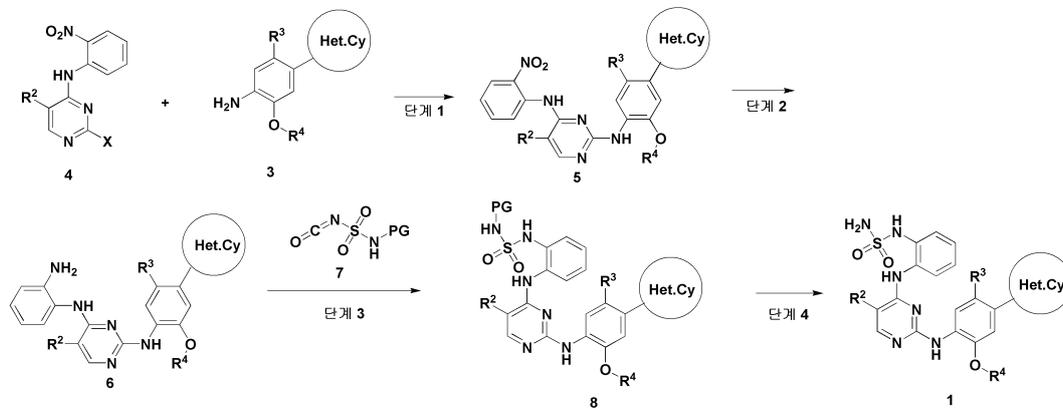
[0150] 화학식 4로 표시되는 화합물과 화학식 3으로 표시되는 화합물로 표시되는 화합물을 반응시켜 화학식 5로 표시되는 화합물을 제조하는 단계(단계 1);

[0151] 상기 단계 1에서 얻은 화학식 5로 표시되는 화합물을 환원반응을 통하여 화학식 6으로 표시되는 화합물을 제조하는 단계(단계 2);

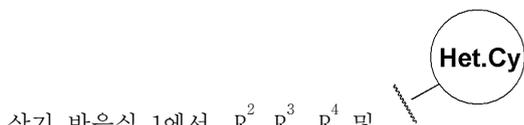
[0152] 상기 단계 2에서 얻은 화학식 6으로 표시되는 화합물을 화학식 7로 표시되는 화합물과 반응시켜 화학식 8로 표시되는 화합물을 제조하는 단계(단계 3); 및

[0153] 상기 단계 3에서 얻은 화학식 8로 표시되는 화합물을 반응시켜 화학식 1로 표시되는 화합물을 제조하는 단계(단계 4);를 포함하는 제조방법을 통하여 제조할 수 있다.

[0154] [반응식 2]



[0155]



[0156] 상기 반응식 1에서, R², R³, R⁴ 및 는 상기 화학식 1에서 정의한 바와 같이;

[0157] X는 할로젠이고; 및

[0158] PG는 t-부틸옥시카보닐(Boc), 카보벤질옥시(Cbz), 9-플루오레닐메틸옥시카보닐(Fmoc), 아세틸(Ac), 벤조일(Bz), 벤질(Bn), p-메톡시벤질(PMB), 3,4-다이메톡시벤질(DMPM), p-메톡시페닐(PMP), 토실(Ts), 2,2,2-트리클로로에톡시카보닐(Troc), 2-트리메틸실릴에톡시카보닐(Teoc) 및 아릴옥시카보닐(Alloc)로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종의 아민보호기이다.

[0160] 이하, 상기 반응식 2로 표시되는 제조방법에 대하여 상세히 설명한다.

[0162] 본 발명에 따른 상기 반응식 2로 표시되는 제조방법에 있어서, 상기 단계 1은 화학식 4로 표시되는 화합물과 화학식 3으로 표시되는 화합물을 반응시켜, 화학식 5로 표시되는 화합물을 제조하는 단계이다. 구체적으로, 화학식 2로 표시되는 화합물의 할로젠과 화학식 3으로 표시되는 화합물의 1차 아민이 반응하여 화학식 5로 표시되는 화합물이 형성되는 단계이다.

[0163] 상기 단계 1의 반응은 할로젠과 아민을 결합시켜 아민본드를 형성할 수 있는 조건이라면 특히 한정되지 않는다.

[0164] 본 발명에서는 산 조건을 사용하였으며, 상기 산으로는 염산을 사용하였으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0165] 상기 단계 1에서 사용가능한 용매는 특히 한정되는 것은 아니나, 아이소프로판올, 메탄올, 에탄올, 프로판올 및

부탄올을 포함하는 저급 알코올; 테트라하이드로퓨란(THF); 디옥산; 에틸에테르, 1,2-다이메톡시에탄 등을 포함하는 에테르용매; 디메틸포름아미드(DMF), 디메틸설폭사이드(DMSO), 메틸렌클로라이드, 디클로로에탄, 물, 아세토나젠설포네이트, 톨루엔설포네이트, 클로로벤젠설포네이트, 크실렌설포네이트, 에틸아세테이트, 페닐아세테이트, 페닐프로피오네이트, 페닐부티레이트, 시크레이트, 락테이트, 하이드록시부티레이트, 글리콜레이트, 말레이트, 타트레이트, 메탄설포네이트, 프로판설포네이트, 나프탈렌-1-설포네이트, 나프탈렌-2-설포네이트, 만델레이트, 아세토나이트릴 등이 있으며, 이를 단독 또는 혼합하여 사용할 수 있다. 본 발명에서는 저급 알코올 용매를 사용하였으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0167] 본 발명에 따른 상기 반응식 2로 표시되는 제조방법에 있어서, 상기 단계 2는 상기 단계 1에서 얻은 화학식 5로 표시되는 화합물을 환원반응을 통하여 화학식 6으로 표시되는 화합물을 제조하는 단계이다. 구체적으로, 화학식 5로 표시되는 화합물의 니트로가 환원반응을 통하여 1차 아민으로 환원됨으로써, 화학식 6으로 표시되는 화합물이 형성되는 단계이다.

[0168] 상기 환원반응은 공지된 방법으로 진행할 수 있다.

[0170] 본 발명에 따른 상기 반응식 2로 표시되는 제조방법에 있어서, 상기 단계 3은 상기 단계 2에서 얻은 화학식 6으로 표시되는 화합물을 화학식 7로 표시되는 화합물과 반응시켜 화학식 8로 표시되는 화합물을 제조하는 단계이다. 구체적으로, 화학식 6으로 표시되는 화합물의 1차 아민과 화학식 7로 표시되는 tert-부틸 클로로설포닐카바메이트의 클로로가 반응하여 설포닐기가 도입된 화학식 8로 표시되는 화합물이 형성되는 단계이다.

[0171] 이때, 상기 화학식 7로 표시되는 화합물은 상업적으로 판매되는 제품을 구매하여 사용하거나 공지된 방법으로 제조하여 사용할 수 있다.

[0172] 본 발명에서는 클로로설포닐 이소시아네이트 및 t-부탄올을 사용하여 제조하였으며, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0173] 상기 단계 3에서 사용가능한 용매는 특히 한정되는 것은 아니나, 아이소프로판올, 메탄올, 에탄올, 프로판올 및 부탄올을 포함하는 저급 알코올; 테트라하이드로퓨란(THF); 디옥산; 에틸에테르, 1,2-다이메톡시에탄 등을 포함하는 에테르용매; 디메틸포름아미드(DMF), 디메틸설폭사이드(DMSO), 메틸렌클로라이드, 디클로로에탄, 물, 아세토나젠설포네이트, 톨루엔설포네이트, 클로로벤젠설포네이트, 크실렌설포네이트, 에틸아세테이트, 페닐아세테이트, 페닐프로피오네이트, 페닐부티레이트, 시크레이트, 락테이트, 하이드록시부티레이트, 글리콜레이트, 말레이트, 타트레이트, 메탄설포네이트, 프로판설포네이트, 나프탈렌-1-설포네이트, 나프탈렌-2-설포네이트, 만델레이트, 아세토나이트릴 등이 있으며, 이를 단독 또는 혼합하여 사용할 수 있다.

[0175] 본 발명에 따른 상기 반응식 2로 표시되는 제조방법에 있어서, 상기 단계 4는 상기 단계 3에서 얻은 화학식 8로 표시되는 화합물을 반응시켜 화학식 1로 표시되는 화합물을 제조하는 단계이다. 구체적으로, 화학식 8로 표시되는 화합물에서, 설포닐의 아민에 결합된 아민보호기를 탈보호화 하여 화학식 1로 표시되는 화합물을 얻는 단계이다.

[0176] 상기 탈보호 반응의 반응조건은 통상적인 탈보호 반응 조건을 사용하여 수행할 수 있다.

[0177] 본 발명에서는 산 조건을 사용하였으며, 상기 산으로는 염산, 황산, 메탄설포산, 트리플루오로아세트산 등을 사용할 수 있다.

[0178] 또한, 상기 반응에서 사용 가능한 용매로는 테트라하이드로퓨란, 다이옥산, 디클로로메탄, 1,2-다이메톡시에탄 등의 에테르계 용매; 벤젠, 톨루엔, 자일렌 등의 아로마틱 하이드로카본용매; 메탄올, 에탄올 등의 알코올계 용매; 디메틸포름아미드(DMF), 디메틸설폭사이드, 아세토나이트릴, 물 등이 있으며, 이를 단독 또는 혼합하여 사용할 수 있다.

[0180] 나아가, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 광학 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

- [0181] 이때, 상기 암은 가성점액종, 간내 담도암, 간모세포종, 간암, 갑상선암, 결장암, 고환암, 골수이형성증후군, 교모세포종, 구강암, 구순암, 균상식육종, 급성골수성백혈병, 급성림프구성백혈병, 기저세포암, 난소상피암, 난소생식세포암, 남성유방암, 뇌암, 뇌하수체선종, 다발성골수종, 담낭암, 담도암, 대장암, 만성골수성백혈병, 만성림프구성백혈병, 망막모세포종, 맥락막흑색종, 바터팡대부암, 방광암, 복막암, 부갑상선암, 부신암, 비부비동암, 비소세포폐암, 설암, 성상세포종, 소세포폐암, 소아뇌암, 소아림프종, 소아백혈병, 소장암, 수막종, 식도암, 신경교종, 신우암, 신장암, 심장암, 십이지장암, 악성 연부조직 암, 악성골암, 악성림프종, 악성종피종, 악성흑색종, 안암, 외음부암, 요관암, 요도암, 원발부위불명암, 위림프종, 위암, 위유암종, 위장관간질암, 윌름스암, 유방암, 육종, 음경암, 인두암, 임신용모질환, 자궁경부암, 자궁내막암, 자궁육종, 전립선암, 전이성골암, 전이성뇌암, 종격동암, 직장암, 직장유암종, 질암, 척수암, 청신경초종, 췌장암, 침샘암, 카포시 육종, 파제트병, 편도암, 편평상피세포암, 폐선암, 폐암, 폐편평상피세포암, 피부암, 항문암, 횡문근육종, 후두암, 흉막암, 및 흉선암으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상이며, 상기 암은 상기 암은 EGFR, ALK, FAK, FLT3, JAK3, KIT 및 PLK4로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상에 대하여 돌연변이가 발현된 암 일 수 있다.
- [0183] 이때, 상기 EGFR 돌연변이는 EGFR del19, EGFR del19/T790M, EGFR del19/T790M/C797S, EGFR L858R, EGFR L858R/T790MS 및 EGFR L858R/T790M/C797S으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상일 수 있다.
- [0185] 본 발명의 화학식 1로 표시되는 화합물은 야생형 EGFR에 대하여 상대적으로 약한 EGFR 활성화억제효과를 나타내면서, EGFR 돌연변이에 대하여 선택적으로 높은 억제능을 나타내고, 특히, 삼중 돌연변이인 EGFR del19/T790M/C797S 또는 EGFR L858R/T790M/C797S에 대하여 높은 억제능을 나타낸다(실험예 1 및 표 4 참조).
- [0187] 본 발명의 화학식 1로 표시되는 화합물은 Ba/F3세포주에서 EGFR 돌연변이에 대하여 선택적으로 높은 억제능을 나타내고, 특히, 단일 돌연변이인 EGFR del19에 대하여 높은 억제능을 나타낸다(실험예 2 및 표 5 참조).
- [0189] 따라서, 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물은, EGFR 돌연변이에 대하여 높은 억제능을 나타내므로, EGFR del19, EGFR del19/T790M, EGFR del19/T790M/C797S, EGFR L858R, EGFR L858R/T790MS, EGFR L858R/T790M/C797S등의 EGFR 돌연변이가 발현된 암의 치료에 유용하게 사용될 수 있고, 특히, 삼중 돌연변이인 EGFR del19/T790M/C797S 또는 EGFR L858R/T790M/C797S에 대한 억제능이 현저히 우수한 바, EGFR del19/T790M/C797S 또는 EGFR L858R/T790M/C797S가 발현된 암의 치료에도 유용하게 사용될 수 있다.
- [0191] 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 임상 투여시에 경구 및 비경구의 여러 가지 제형으로 투여될 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제에는 하나 이상의 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로오스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 스테아린산 마그네슘, 탈크 등과 같은 윤활제들도 사용된다. 경구투여를 위한 액상제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수용용제, 현탁제, 유제가 포함된다. 비수용용제, 현탁용제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테로 등이 사용될 수 있다.
- [0193] 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효 성분으로 하는 약학적 조성물은 비경구 투여할 수 있으며, 비경구 투여는 피하주사, 정맥주사, 근육 내 주사 또는 흉부 내 주사를 주입하는 방법에 의한다.
- [0194] 이때, 비경구 투여용 제형으로 제제화하기 위하여 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용

가능한 염을 안정제 또는 완충제와 함께 물에 혼합하여 용액 또는 현탁액으로 제조하고, 이를 앰플 또는 바이알 단위 투여형으로 제조할 수 있다. 상기 조성물은 멸균되고/되거나 방부제, 안정화제, 수화제 또는 유화 촉진제, 삼투압 조절을 위한 염 및/또는 완충제 등의 보조제, 및 기타 치료적으로 유용한 물질을 함유할 수 있으며, 통상적인 방법인 혼합, 과립화 또는 코팅 방법에 따라 제제화할 수 있다.

[0196] 경구 투여용 제형으로는 예를 들면 정제, 환제, 경/연질 캡셀제, 액제, 현탁제, 유화제, 시럽제, 과립제, 엘릭시르제, 트로키제 등이 있는데, 이들 제형은 유효성분 이외에 희석제(예: 락토즈, 텍스트로즈, 수크로즈, 만니톨, 솔비톨, 셀룰로즈 및/또는 글리신), 활택제(예: 실리카, 탈크, 스테아르산 및 그의 마그네슘 또는 칼슘염 및/또는 폴리에틸렌 글리콜)를 함유하고 있다. 정제는 마그네슘 알루미늄 실리케이트, 전분 페이스트, 젤라틴, 메틸셀룰로즈, 나트륨 카복시메틸셀룰로즈 및/또는 폴리비닐피롤리딘 등과 같은 결합제를 함유할 수 있으며, 경우에 따라 전분, 한천, 알긴산 또는 그의 나트륨 염 등과 같은 붕해제 또는 비등 혼합물 및/또는 흡수제, 착색제, 향미제, 및 감미제를 함유할 수 있다.

[0198] 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 광학 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물은 개별 치료제로 투여하거나, 다른 사용중인 항암제와 병용투여하여 사용할 수 있다.

[0200] 또한, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 광학 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 암의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공한다.

[0201] 상기 암은 가성점액종, 간내 담도암, 간모세포종, 간암, 갑상선암, 결장암, 고환암, 골수이형성증후군, 교모세포종, 구강암, 구순암, 균상식육종, 급성골수성백혈병, 급성림프구성백혈병, 기저세포암, 난소상피암, 난소생식세포암, 남성유방암, 뇌암, 뇌하수체선종, 다발성골수종, 담낭암, 담도암, 대장암, 만성골수성백혈병, 만성림프구성백혈병, 망막모세포종, 맥락막흑색종, 바터팬대부암, 방광암, 복막암, 부갑상선암, 부신암, 비부비동암, 비소세포폐암, 설암, 정상세포종, 소세포폐암, 소아뇌암, 소아림프종, 소아백혈병, 소장암, 수막종, 식도암, 신경교종, 신우암, 신장암, 심장암, 십이지장암, 악성 연부조직 암, 악성골암, 악성림프종, 악성종피종, 악성흑색종, 안암, 외음부암, 요관암, 요도암, 원발부위불명암, 위림프종, 위암, 위유암종, 위장관간질암, 율름스암, 유방암, 육종, 음경암, 인두암, 임신용모질환, 자궁경부암, 자궁내막암, 자궁육종, 전립선암, 전이성 골암, 전이성뇌암, 종격동암, 직장암, 직장유암종, 질암, 척수암, 청신경초종, 췌장암, 침샘암, 카포시 육종, 파제트병, 편도암, 편평상피세포암, 폐선암, 폐암, 폐편평상피세포암, 피부암, 항문암, 횡문근육종, 후두암, 흉막암, 및 흉선암으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상이며, 보다 바람직하게 상기 암은 EGFR, ALK, FAK, FLT3, JAK3, KIT 및 PLK4로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상에 대하여 돌연변이가 발현된 암 일 수 있다.

[0203] 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물은, EGFR 돌연변이에 대하여 높은 억제능을 나타냄으로써, 암 특히, EGFR 돌연변이가 발현된 암의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물로 식품, 음료 등의 건강기능보조 식품에 첨가할 수 있다.

[0205] 본 발명에 따른 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 식품에 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효성분의 혼합량은 그의 사용 목적(예방 또는 개선용)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 건강식품 중의 상기 화합물의 양은 전체 식품 중량의 0.1 내지 90 중량부로 가할 수 있다. 그러나 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 양은 상기 범위 이하일 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.

[0207] 또한, 본 발명의 건강 기능성 음료 조성물은 지시된 비율로 필수 성분으로서 상기 화합물을 함유하는 외에는 다른 성분에는 특별한 제한이 없으며 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으

로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 텍스트린, 시클로텍스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상술한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제(타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진등) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100 g당 일반적으로 약 1 내지 20 g, 바람직하게는 약 5 내지 12 g이다.

[0209] 나아가, 상기 외에 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 화합은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 증진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 본 발명의 화학식 1로 표시되는 화합물은 천연 과일 주스 및 과일 주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다.

[0211] 또한, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 약학적 조성물 또는 건강기능식품 조성물을 필요한 대상에게 투여하는 단계를 포함하는 암의 예방 또는 치료 방법을 제공한다.

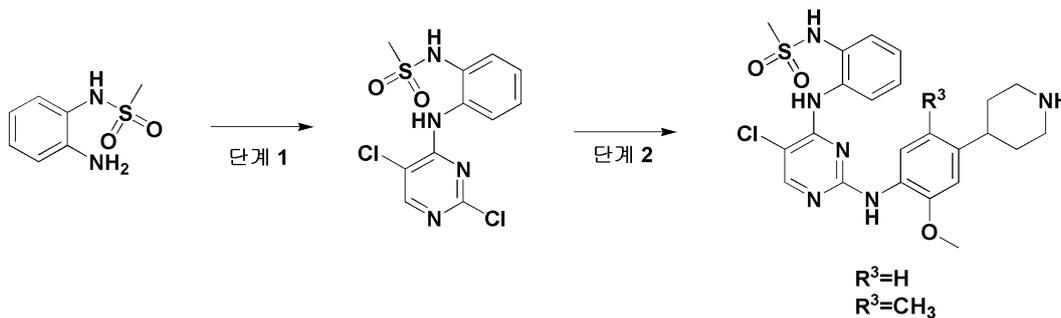
[0213] 또한, 본 발명은 암의 예방 또는 치료에 있어서의, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 함유하는 약학적 조성물 또는 건강기능식품 조성물의 용도를 제공한다.

[0215] 이하, 본 발명을 실시예 및 실험예에 의해 상세히 설명한다.

[0216] 단, 하기 실시예 및 실험예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예 및 실험예에 한정되는 것은 아니다.

[0218] 하기 반응예 1에 따라 실시예 1 및 2의 화합물을 제조하였다.

[0219] [반응예 1]



[0220]

[0221] 상기 반응예 1에서, $R^3=H$ 는 실시예 1의 화합물이고, $R^3=CH_3$ 는 실시예 2의 화합물이다.

[0222] <실시예 1> N-(2-((5-클로로-2-((2-메톡시-4-(피페리딘-4-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설폰아마이드의 제조

[0223] 단계 1: N-(2-((2, 5-디클로로피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설폰아마이드의 제조

[0224] N-(2-아미노페닐)메탄설폰아마이드(18.6 mg, 0.1 mmol), 2,4,5-트리클로로피리미딘(14 μ L, 0.12 mmol) 및 DIPEA(diisopropyl ethyl amine, 38 μ L, 0.22 mmol)을 이소프로필 알코올(1 mL)에 혼합시켰다. 상기 반응혼합물을 60 $^{\circ}$ C에서 밤샘교반시켰다. 상기 혼합물을 감압농축하였다. 잔여물을 실리카겔 플래시 컬럼 크로마토그래피

(CH₂Cl₂/EtOAc, 5:1)로 정제하여 N-(2-((2,5-디클로로피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드(15 mg, 흰색 고체)를 42% 수율로 얻었다.

[0225] ¹H NMR(300 MHz, CDCl₃) δ 8.38(br s, 1 H), 8.24(s, 1 H), 8.05(d, J = 7.5 Hz, 1 H), 7.46-7.37(m, 2 H), 7.31-7.29(m, 1 H), 6.56(s, 1 H), 3.08(s, 3 H); LC-MS calcd for C₁₁H₁₀Cl₂N₄O₂S 332.0, found 333.0 (M + H⁺)

[0227] 단계 2: N-(2-((5-클로로-2-((2-메톡시-4-(피페리딘-4-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드의 제조

[0228] N-(2-((2,5-디클로로피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드(5.0 mg, 0.015 mmol) 및 tert-부틸 4-(4-아미노-3-메톡시페닐)피페리딘-1-카복실레이트(5.0 mg, 0.016 mmol)의 n-부탄올(1 mL)에 0.08 N HCl의 다이옥산 용액(0.15 mL, 0.012 mmol)을 첨가하였다. 상기 반응 혼합물을 95 °C하에 밤샘교반하였다. 상기 혼합물을 감압 농축하고 잔여물을 prep-HPLC로 정제하여 N-(2-((5-클로로-2-((2-메톡시-4-(피페리딘-4-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드(2.2 mg, 흰색 고체)를 30% 수율로 얻었다.

[0229] ¹H NMR(500 MHz, CD₃OD) δ 8.12(s, 1 H), 7.81(d, J = 8.8 Hz, 1 H), 7.63-7.60(m, 1 H), 7.54-7.52(m, 1 H), 7.41-7.36(m, 2 H), 6.93(s, 1 H), 6.70(d, J = 7.5 Hz, 1 H), 3.90(s, 3 H), 3.53(d, J = 12.6 Hz, 2 H), 3.18-3.13(m, 2 H), 2.96(s, 3 H), 2.93-2.88(m, 1 H), 2.11-2.08(m, 2 H), 1.95-1.88 (m, 2 H); LC-MS calcd for C₂₃H₂₇ClN₆O₃S 502.2, found 503.2 (M + H⁺)

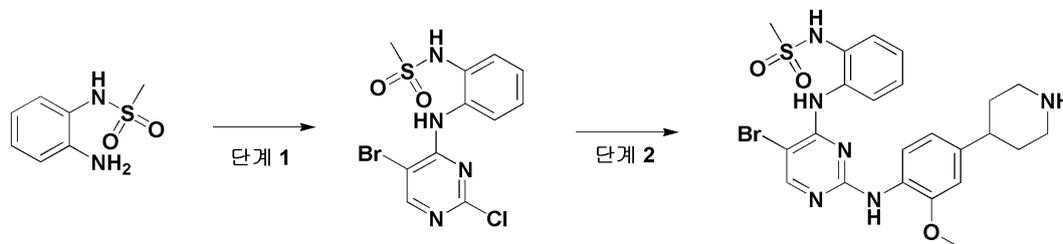
[0231] <실시예 2> N-(2-((5-클로로-2-((2-메톡시-5-메틸-4-(피페리딘-4-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드의 제조

[0232] 상기 실시예 1과 동일한 방법을 수행하여 N-(2-((5-클로로-2-((2-메톡시-5-메틸-4-(피페리딘-4-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드(28 mg, 30%)를 얻었다.

[0233] ¹H NMR(300 MHz, CD₃OD) δ 8.16(s, 1 H), 7.74(d, J = 7.8 Hz, 1 H), 7.57(dd, J = 7.8, 1.5 Hz, 1 H), 7.43(td, J = 7.8, 1.5 Hz, 1 H), 7.36(td, J = 7.8, 1.5 Hz, 1 H), 7.32(s, 1 H), 6.91(s, 1 H), 3.89(s, 3 H), 3.55(d, J = 12.6 Hz, 2 H), 3.27-3.14(m, 3 H), 2.97(s, 3 H), 2.16(s, 3 H), 2.00-1.97(m, 4 H); LC-MS calcd for C₂₄H₂₉ClN₆O₃S 516.2, found 516.8 (M + H⁺)

[0235] 하기 반응예 2에 따라 실시예 3의 화합물을 제조하였다.

[0236] [반응예 2]



[0237]

[0238] <실시예 3> N-(2-((5-브로모-2-((2-메톡시-4-(피페리딘-4-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드의 제조

[0239] 단계 1: N-(2-((5-브로모-2-클로로피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드의 제조

[0240] 상기 실시예 1의 단계 1과 동일한 방법을 수행하여 N-(2-((5-브로모-2-클로로피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드

폰아마이드(25 mg, 30%)를 얻었다.

[0241] $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 8.35(s, 1 H), 8.03(dd, $J = 8.3, 1.0$ Hz, 1 H), 7.46-7.38(m, 2 H), 7.31-7.26(m, 1 H), 6.57(s, 1 H), 3.08(s, 3 H); LC-MS calcd for $\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{BrClN}_4\text{O}_2\text{S}$ 375.9, found 376.9 ($\text{M} + \text{H}^+$)

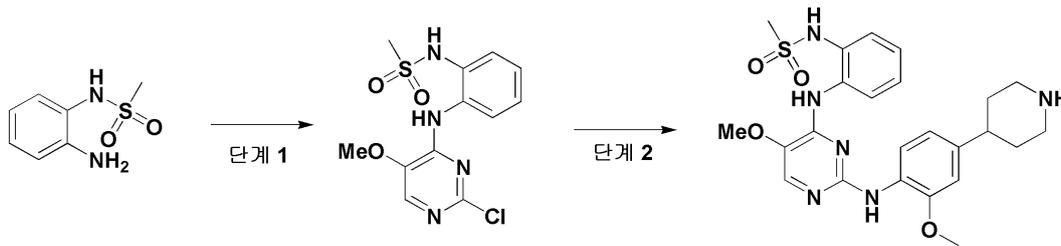
[0243] 단계 2: N-(2-((5-브로모-2-((2-메톡시-4-(피페리딘-4-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설폰아마이드의 제조

[0244] 상기 실시예 1의 단계 2와 동일한 방법을 수행하여 N-(2-((5-브로모-2-((2-메톡시-4-(피페리딘-4-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설폰아마이드(13 mg, 37%)를 얻었다.

[0245] $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CD_3OD) δ 8.11(s, 1 H), 7.65(d, $J = 7.5$ Hz, 1 H), 7.42(dd, $J = 7.8, 1.3$ Hz, 1 H), 7.33-7.21(m, 3 H), 6.85(s, 1 H), 6.61(d, $J = 7.9$ Hz, 1 H), 3.77(s, 3 H), 3.43(d, $J = 12.7$ Hz, 2 H), 3.08-3.01(m, 2 H), 2.86(s, 3 H), 2.83-2.77(m, 1 H), 1.99-1.80(m, 4 H); LC-MS calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{27}\text{BrN}_6\text{O}_3\text{S}$ 546.1, found 546.7 ($\text{M} + \text{H}^+$)

[0247] 하기 반응예 3에 따라 실시예 4의 화합물을 제조하였다.

[0248] [반응예 3]



[0249]

[0250] <실시예 4> N-(2-((5-메톡시-2-((2-메톡시-4-(피페리딘-4-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설폰아마이드의 제조

[0251] 단계 1: N-(2-((2-클로로-5-메톡시피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설폰아마이드의 제조

[0252] 상기 실시예 1의 단계 1과 동일한 방법을 수행하여 N-(2-((2-클로로-5-메톡시피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설폰아마이드(6 mg, 8%)를 얻었다.

[0253] $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 7.98-7.95(m, 2 H), 7.79(s, 1 H), 7.45(dd, $J = 7.9, 0.8$ Hz, 1 H), 7.38(td, $J = 7.4, 1.0$ Hz, 1 H), 6.67(s, 1 H), 4.02(s, 3 H), 3.08(s, 3 H); LC-MS calcd for $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{ClN}_4\text{O}_3\text{S}$ 328.0, found 328.9 ($\text{M} + \text{H}^+$)

[0255] 단계 2: N-(2-((5-메톡시-2-((2-메톡시-4-(피페리딘-4-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설폰아마이드의 제조

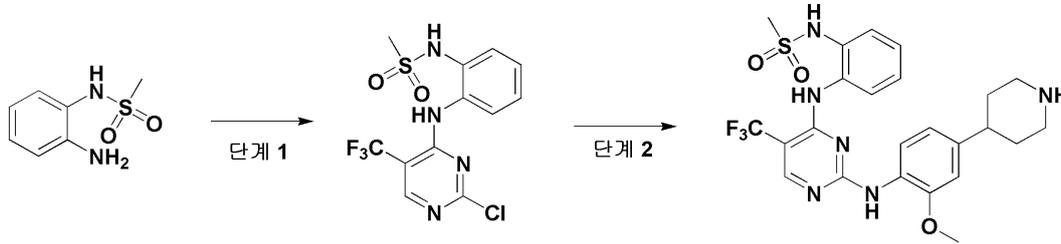
[0256] 상기 실시예 1의 단계 2와 동일한 방법을 수행하여 N-(2-((5-메톡시-2-((2-메톡시-4-(피페리딘-4-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설폰아마이드(5.5 mg, 58%)를 얻었다.

[0257] $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CD_3OD) δ 7.87-7.84(m, 1 H), 7.53(s, 1 H), 7.51-7.45(m, 2 H), 7.39-7.34(m, 2 H), 6.98(d, $J = 1.5$ Hz, 1 H), 6.78(dd, $J = 8.3, 1.5$ Hz, 1 H), 3.99(s, 3 H), 3.89(s, 3 H), 3.55-3.51(m, 2 H), 3.20-3.11(m, 2 H), 2.97(s, 3 H), 2.94-2.90(m, 1 H), 2.21-1.90(m, 4 H); LC-MS calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{N}_6\text{O}_4\text{S}$

498.2, found 498.8 (M + H⁺)

[0259] 하기 반응예 4에 따라 실시예 5의 화합물을 제조하였다.

[0260] [반응예 4]



[0261]

[0262] <실시예 5> N-(2-((2-((2-메톡시-4-(피페리딘-1-일)페닐)아미노)-5-(트리플루오로메틸)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드의 제조

[0263] 단계 1: N-(2-((2-클로로-5-(트리플루오로메틸)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드의 제조

[0264] 상기 실시예 1의 단계 1과 동일한 방법을 수행하여 N-(2-((2-클로로-5-(트리플루오로메틸)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드(199 mg, 18%)를 얻었다.

[0265] ¹H NMR(300 MHz, CDCl₃) δ 8.47(s, 1 H), 8.23(br s, 1 H), 7.92(d, J = 7.8 Hz, 1 H), 7.46-7.28(m, 3 H), 6.27(br s, 1 H), 3.05(s, 3 H); LC-MS calcd for C₁₂H₁₀ClF₃N₄O₂S 366.0, found 366.8 (M + H⁺)

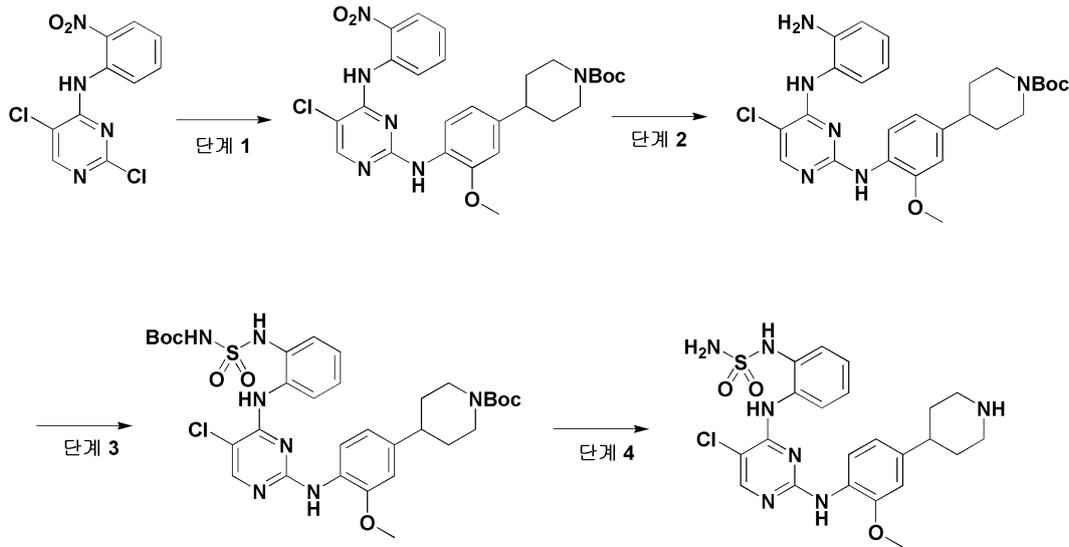
[0267] 단계 2: N-(2-((2-((2-메톡시-4-(피페리딘-4-일)페닐)아미노)-5-(트리플루오로메틸)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드의 제조

[0268] 상기 실시예 1의 단계 2와 동일한 방법을 수행하여 N-(2-((2-((2-메톡시-4-(피페리딘-4-일)페닐)아미노)-5-(트리플루오로메틸)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드(15 mg, 31%)를 얻었다.

[0269] ¹H NMR(300 MHz, CD₃OD) δ 8.38(s, 1 H), 7.60(d, J = 7.8 Hz, 1 H), 7.48(dd, J = 7.8, 1.8 Hz, 1 H), 7.42-7.29(m, 3 H), 6.89(s, 1 H), 6.60(br s, 1 H), 3.83(s, 3 H), 3.49(dd, J = 10.2, 3.3 Hz, 2 H), 3.11(td, J = 12.9, 3.3 Hz, 2 H), 2.89-2.85(m, 4 H), 2.04-1.81(m, 4 H); LC-MS calcd for C₂₄H₂₇F₃N₆O₃S 536.2, found 536.8 (M + H⁺)

[0271] 하기 반응예 5에 따라 실시예 6의 화합물을 제조하였다.

[0272] [반응예 5]



[0273]

[0274] <실시예 6> 4-(4-((5-클로로-4-((2-(설파모일아미노)페닐)아미노)피리미딘-2-일)아미노)-3-메톡시페닐)피페리딘-1-카복실레이트의 제조

[0275] 단계 1: tert-부틸 4-(4-((5-클로로-4-((2-니트로페닐)아미노)피리미딘-2-일)아미노)-3-메톡시페닐)피페리딘-1-카복실레이트의 제조

[0276] 2,5-디클로로-N-(2-니트로페닐)피리미딘-4-아민(1.0 g, 3.5 mmol) 및 tert-부틸 4-(4-아미노-3-메톡시페닐)피페리딘-1-카복실레이트(1.1 g, 3.5 mmol)의 n-부탄올(10 mL)에 4 N HCl 의 1,4-다이옥산 용액(0.7 mL, 2.8 mmol)을 첨가하였다. 상기 반응 혼합물을 95 °C에서 밤샘 교반하였다. 상기 반응물을 감압농축하였다. 감압농축한 잔여 용액에 CH₂Cl₂(10 mL) 를 첨가하고, 디-tert-부틸 디카보네이트(1.2 g, 5.3 mmol) 및 Et₃N(0.98 mL, 7.0 mmol)를 0 °C하에 첨가하여 상온에서 밤샘교반하였다. 상기 혼합물을 메틸렌클로라이드(200 mL)에 희석하고, 포화 NaHCO₃ 수용액(100 mL)으로 세척한 후, 물(100 mL)로 세척하였다. 상기 유기층을 무수 MgSO₄로 건조하고 진공하에 농축하여 tert-부틸 4-(4-((5-클로로-4-((2-니트로페닐)아미노)피리미딘-2-일)아미노)-3-메톡시페닐)피페리딘-1-카복실레이트(1.0 g)를 57 % 수율로 얻었다.

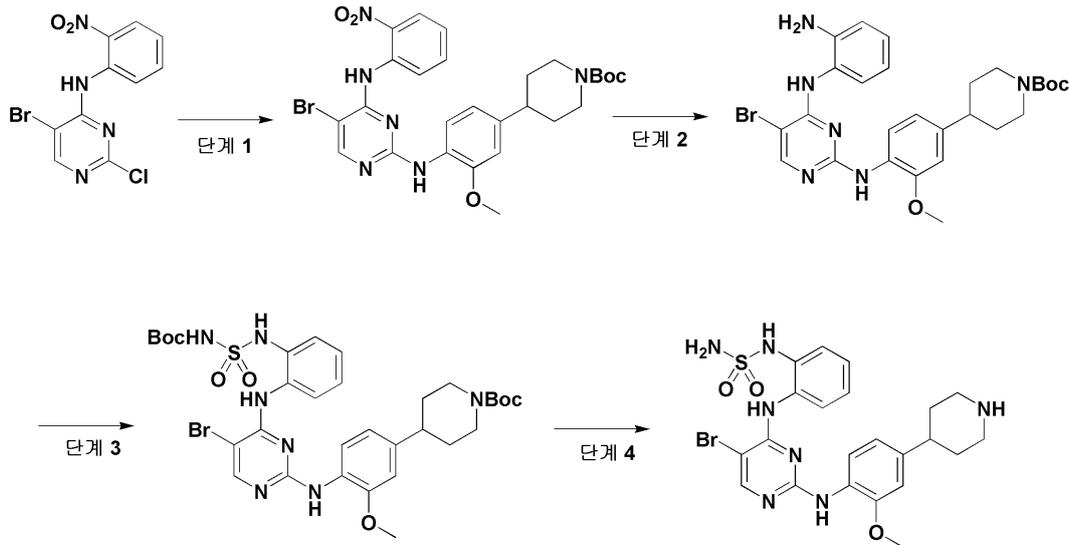
[0277] ¹H NMR(300 MHz, CDCl₃) δ 10.61(s, 1 H), 8.95(d, J = 8.5 Hz, 1 H), 8.29(dd, J = 8.4, 1.4 Hz, 1 H), 8.23(s, 1 H), 8.15(d, J = 8.1 Hz, 1 H), 7.67-7.61(m, 1 H), 7.50(s, 1 H), 7.22-7.17(m, 1 H), 6.81-6.77(m, 2 H), 4.31-4.25(m, 2 H), 3.92(s, 3 H), 2.83(t, J = 12.2 Hz, 2 H), 2.65(dt, J = 12.1, 3.4 Hz, 1 H), 1.88-1.84(m, 2 H), 1.72-7.62(m, 2 H), 1.51(s, 9 H); LC-MS calcd for C₂₇H₃₁ClN₆O₅ 554.2, found 555.0 (M + H⁺)

[0279] 단계 2: tert-부틸 4-(4-((4-((2-아미노페닐)아미노)-5-클로로피리미딘-2-일)아미노)-3-메톡시페닐)피페리딘-1-카복실레이트의 제조

[0280] 상기 단계 1에서 얻은 tert-부틸 4-(4-((5-클로로-4-((2-니트로페닐)아미노)피리미딘-2-일)아미노)-3-메톡시페닐)피페리딘-1-카복실레이트(1.4 g, 2.4 mmol), 철 파우더(iron powder, 0.68 g, 12 mmol) 및 NH₄Cl(0.65g, 12 mmol)를 THF/H₂O(1:1, 24 mL)에 첨가하였다. 상기 반응 혼합물을 60 °C에서 1 시간 교반시켰다. 반응종결 후, 상기 반응 혼합물을 셀라이트 필터하고, 진공하에 농축하였다. 상기 잔여물을 물 세척으로 필터하여 별도 정제 없이 tert-부틸 4-(4-((4-((2-아미노페닐)아미노)-5-클로로피리미딘-2-일)아미노)-3-메톡시페닐)피페리딘-1-카복실레이트(0.50 g)를 53% 수율로 얻었다.

- [0281] LC-MS calcd for $C_{27}H_{33}ClN_6O_3$ 524.2, found 525.0 ($M + H^+$)
- [0283] 단계 3: tert-부틸 4-(4-((4-((2-((N-(tert-부톡시카보닐)설펜아미노)페닐)아미노)-5-클로로피리미딘-2-일)아미노)-3-메톡시페닐)피페리딘-1-카복실레이트의 제조
- [0284] 클로로설포닐 이소시아네이트(8.7 μ L, 0.1 mmol)의 무수 메틸렌클로라이드(1 mL) 용액에 0 °C하에서 t-부탄올(9.5 μ L, 0.1 mmol)의 무수 메틸렌클로라이드(1 mL) 를 적하첨가하였다. 상기 혼합물을 0 °C에서 30분간 교반시키고, Et₃N(16 μ L, 0.11 mmol)를 첨가하여 0 °C에서 30분간 교반시켰다. 상기 반응용액을 상기 단계 2에서 얻은 tert-부틸 4-(4-((4-((2-아미노페닐)아미노)-5-클로로피리미딘-2-일)아미노)-3-메톡시페닐)피페리딘-1-카복실레이트(26 mg, 0.05 mmol)의 메틸렌클로라이드(1 mL)용액에 0 °C에서 천천히 첨가하였다. 상기 혼합물을 상온에서 3시간 교반시켰다. 상기 반응 혼합물을 메틸렌클로라이드(20 mL)에 회석하고, 물(10 mL)로 세척하였다. 상기 유기층을 무수 MgSO₄로 건조하고, 진공하에 농축하였다. 잔여물을 실리카겔 플래시 컬럼 크로마토그래피(CH₂Cl₂/EtOAc, 5:1)로 정제하여 tert-부틸 4-(4-((4-((2-((N-(tert-부톡시카보닐)설펜아미노)페닐)아미노)-5-클로로피리미딘-2-일)아미노)-3-메톡시페닐)피페리딘-1-카복실레이트(17 mg, 흰색 고체)를 49% 수율로 얻었다.
- [0285] ¹H NMR(300 MHz, (CD₃)₂SO) δ 8.13(s, 1 H), 7.97-7.92(m, 1 H), 7.89-7.85(m, 1 H), 7.71(d, J = 7.8 Hz, 1 H), 7.26-7.13(m, 3 H), 6.88(s, 1 H), 6.67(d, J = 8.3 Hz, 1 H), 4.08(d, J = 12.3 Hz, 2 H), 3.80(s, 3 H), 2.86-2.72(m, 2 H), 2.68-2.58(m, 1 H), 1.74(d, J = 12.3 Hz, 2 H), 1.57-1.46(m, 2 H), 1.42(s, 9 H), 1.39(s, 9 H); LC-MS calcd for $C_{32}H_{42}ClN_7O_7S$ 703.3, found 704.8 ($M + H^+$)
- [0287] 단계 4: 4-(4-((5-클로로-4-((2-(설펜아미노)페닐)아미노)피리미딘-2-일)아미노)-3-메톡시페닐)피페리딘의 제조
- [0288] 상기 단계 3에서 얻은 tert-부틸 4-(4-((4-((2-((N-(tert-부톡시카보닐)설펜아미노)페닐)아미노)-5-클로로피리미딘-2-일)아미노)-3-메톡시페닐)피페리딘-1-카복실레이트(4 mg, 0.006 mmol)의 CH₂Cl₂/트리플루오로아세트익애시드(1:1, 1 mL)를 상온에서 2시간 교반시켰다. 상기 반응 혼합물에 4 N HCl의 1,4-다이옥산(10 μ L)를 첨가하였다. 상기 반응 혼합물을 진공하에 농축하여 4-(4-((5-클로로-4-((2-(설펜아미노)페닐)아미노)피리미딘-2-일)아미노)-3-메톡시페닐)피페리딘(4.2 mg, 흰색 고체)를 정량적 수율로 얻었다.
- [0289] ¹H NMR(300 MHz, CD₃OD) δ 8.13(s, 1 H), 7.83(d, J = 7.6 Hz, 1 H), 7.53(d, J = 8.3 Hz, 2 H), 7.39-7.27(m, 2 H), 6.98(s, 1 H), 6.78(d, J = 8.0 Hz, 1 H), 3.89(s, 3 H), 3.53(d, J = 12.3 Hz, 2 H), 3.16(t, J = 12.0 Hz, 2 H), 2.94(m, 1 H), 2.12(m, 2 H), 2.02-1.91(m, 2 H); LC-MS calcd for $C_{22}H_{26}ClN_7O_3S$ 503.2, found 503.8 ($M + H^+$)

[0291] 하기 반응예 6에 따라 실시예 7의 화합물을 제조하였다.



[0292]

[0294] <실시예 7> 4-(4-((5-브로모-4-((2-(설펜아미노)페닐)아미노)피리미딘-2-일)아미노)-3-메톡시페닐)피페리딘의 제조

[0295] 단계 1: tert-부틸 4-(4-((5-브로모-4-((2-니트로페닐)아미노)피리미딘-2-일)아미노)-3-메톡시페닐)피페리딘-1-카복실레이트의 제조

[0296] 상기 실시예 6의 단계 1과 동일한 방법을 수행하여 tert-부틸 4-(4-((5-브로모-4-((2-니트로페닐)아미노)피리미딘-2-일)아미노)-3-메톡시페닐)피페리딘-1-카복실레이트(68 mg, 58%)를 얻었다.

[0297] $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 10.52(s, 1 H), 8.90(d, J = 8.7 Hz, 1 H), 8.29(s, 1 H), 8.26(dd, J = 8.4, 1.0 Hz, 1 H), 8.12(d, J = 8.6 Hz, 1 H), 7.62(t, J = 7.5 Hz, 1 H), 7.52(s, 1 H), 7.18(t, J = 7.5 Hz, 1 H), 6.78-6.76(m, 2 H), 4.27(d, J = 11.2 Hz, 2 H), 3.91(s, 3 H), 2.82(t, J = 12.3 Hz, 2 H), 2.68-2.60(m, 1 H), 1.85(d, J = 12.3 Hz, 2 H), 1.71-1.57(m, 2 H), 1.50(s, 9 H); LC-MS calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{31}\text{BrN}_6\text{O}_5$ 598.2, found 599.7 ($\text{M} + \text{H}^+$)

[0299] 단계 2: tert-부틸 4-(4-((4-((2-아미노페닐)아미노)-5-브로모피리미딘-2-일)아미노)-3-메톡시페닐)피페리딘-1-카복실레이트의 제조

[0300] 상기 실시예 6의 단계 2와 동일한 방법을 수행하여 tert-부틸 4-(4-((4-((2-아미노페닐)아미노)-5-브로모피리미딘-2-일)아미노)-3-메톡시페닐)피페리딘-1-카복실레이트(60 mg, 94%)를 얻었다.

[0301] LC-MS calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{33}\text{BrN}_6\text{O}_3$ 568.2, found 569.8 ($\text{M} + \text{H}^+$)

[0303] 단계 3: tert-부틸 4-(4-((5-브로모-4-((2-((N-(tert-부톡시카보닐)설펜아미노)페닐)아미노)피리미딘-2-일)아미노)-3-메톡시페닐)피페리딘-1-카복실레이트의 제조

[0304] 상기 실시예 6의 단계 3과 동일한 방법을 수행하여 tert-부틸 4-(4-((5-브로모-4-((2-((N-(tert-부톡시카보닐)설펜아미노)페닐)아미노)피리미딘-2-일)아미노)-3-메톡시페닐)피페리딘-1-카복실레이트(30 mg, 70%)를 얻었다.

[0305] $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CD_3OD) δ 8.12(s, 1 H), 7.93(d, J = 8.0 Hz, 1 H), 7.80(d, J = 8.1 Hz, 1 H), 7.42(d, J

= 8.0 Hz, 1 H), 7.34(t, J = 7.2 Hz, 1 H), 7.27(t, J = 8.1 Hz, 1 H), 6.83(s, 1 H), 6.61(d, J = 8.0 Hz, 1 H), 4.22(d, J = 13.0 Hz, 2 H), 3.87(s, 3 H), 2.89-2.86(m, 2 H), 2.70-2.65(m, 1 H), 1.81(d, J = 12.3 Hz, 2 H), 1.63-1.57(m, 2 H), 1.50(s, 9 H), 1.49(s, 9 H); LC-MS calcd for C₃₂H₄₂BrN₇O₇S 747.2, found 749.6 (M + H⁺)

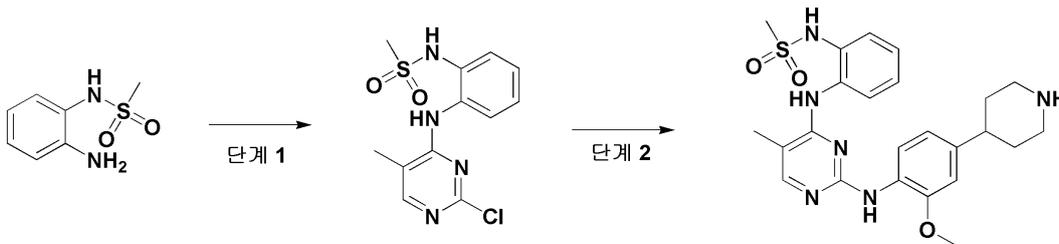
[0307] 단계 4: 4-(4-((5-브로모-4-((2-(설파모일아미노)페닐)아미노)피리미딘-2-일)아미노)-3-메톡시페닐)피페리딘의 제조

[0308] 상기 실시예 6의 단계 4와 동일한 방법을 수행하여 4-(4-((5-브로모-4-((2-(설파모일아미노)페닐)아미노)피리미딘-2-일)아미노)-3-메톡시페닐)피페리딘(24 mg, 정량적 수율)을 얻었다.

[0309] ¹H NMR(300 MHz, CD₃OD) δ 8.21(s, 1 H), 7.85-7.83(m, 1 H), 7.53-7.27(m, 5 H), 6.99(s, 1 H), 6.80-6.78(m, 1 H), 3.89(s, 3 H), 3.54(d, J = 12.3 Hz, 2 H), 3.21-3.12(m, 2 H), 2.99-2.90(m, 1 H), 2.10(d, J = 13.4 Hz, 2 H), 2.02-1.87(m, 2 H); LC-MS calcd for C₂₂H₂₆BrN₇O₃S 547.1, found 547.7 (M + H⁺)

[0311] 하기 반응예 7에 따라 실시예 8의 화합물을 제조하였다.

[0312] [반응예 7]



[0313]

[0314] <실시예 8> N-(2-((2-((2-메톡시-4-(피페리딘-4-일)페닐)아미노))-5-메틸피리미딘-4-일아미노)페닐)메탄설포나마이드의 제조

[0315] 단계 1: N-(2-((2-클로로-5-메틸피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포나마이드의 제조

[0316] 상기 실시예 1의 단계 1과 동일한 방법을 수행하여 N-(2-((2-클로로-5-메틸피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포나마이드를 26% 수율로 얻었다.

[0317] ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 9.37 (s, 1 H), 8.62 (s, 1 H), 8.21 (sd, J = 0.9 Hz, 1 H), 7.64-7.60 (m, 1 H), 7.49- 7.45 (m, 1 H), 7.32-7.24 (m, 2 H), 2.97 (s, 3 H), 2.17 (sd, J = 0.9 Hz, 1 H); LC-MS calcd for C₁₂H₁₃ClN₄O₂S 312.0, found 312.9 (M + H⁺)

[0319] 단계 2: N-(2-((2-((2-메톡시-4-(피페리딘-4-일)페닐)아미노))-5-메틸피리미딘-4-일아미노)페닐)메탄설포나마이드의 제조

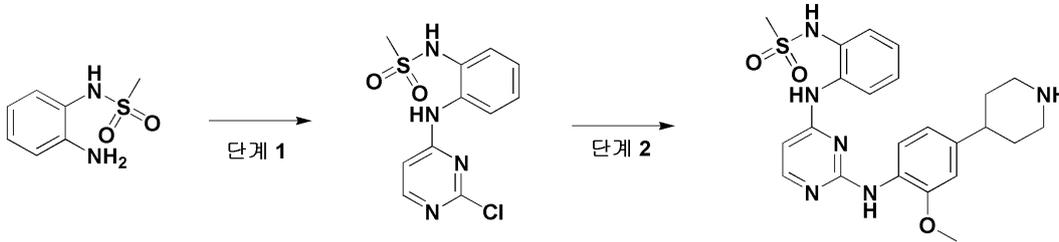
[0320] 상기 실시예 1의 단계 2과 동일한 방법을 수행하여 N-(2-((2-((2-메톡시-4-(피페리딘-4-일)페닐)아미노))-5-메틸피리미딘-4-일아미노)페닐)메탄설포나마이드를 65% 수율로 얻었다.

[0321] ¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 9.54 (br s, 1 H), 9.49 (br s, 1 H), 9.26 (sd, J = 3.6 Hz, 1 H), 8.75 (br s, 1 H), 8.58 (br s, 1 H), 7.89 (s, 1 H), 7.54 (dd, J = 8.4, 3.3 Hz, 1 H), 7.45 (dd, J = 8.4, 3.0 Hz, 1 H), 7.41-7.35 (m, 1 H), 7.32-7.23 (m, 2 H), 6.88 (s, 1 H), 6.52 (sd, J = 5.7 Hz, 1 H), 3.80 (s, 3 H), 3.38 (d, J = 12.6 Hz, 2 H), 3.05-2.76 (m, 6 H), 2.18 (s, 3 H), 1.92-1.75 (m, 4 H); LC-MS calcd for

C₂₄H₃₀N₆O₃S 482.2, found 483.0 (M + H⁺)

[0323] 하기 반응예 8에 따라 실시예 9의 화합물을 제조하였다.

[0324] [반응예 8]



[0325]

[0326] <실시예 9> N-(2-((2-((2-메톡시-4-(피페리딘-4-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설폰아마이드의 제조

[0327] 단계 1: N-(2-((2-클로로피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설폰아마이드의 제조

[0328] 상기 실시예 1의 단계 1과 동일한 방법을 수행하여 N-(2-((2-클로로피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설폰아마이드 (흰색 고체)를 47% 수율로 얻었다.

[0329] ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 9.28 (s, 1 H), 9.13 (s, 1 H), 8.12 (d, J = 6.0 Hz, 1 H), 7.56-7.44 (m, 2 H), 7.29-7.23 (m, 2 H), 6.67 (d, J = 5.7 Hz, 1 H), 2.97 (s, 3 H); LC-MS calcd for C₁₁H₁₁ClN₄O₂S 298.0, found 298.9 (M + H⁺)

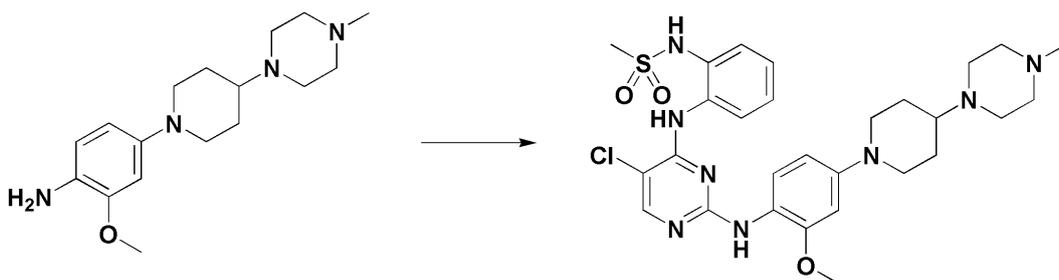
[0331] 단계 2: N-(2-((2-((2-메톡시-4-(피페리딘-4-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설폰아마이드의 제조

[0332] 상기 실시예 1의 단계 2과 동일한 방법을 수행하여 N-(2-((2-((2-메톡시-4-(피페리딘-4-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설폰아마이드를 65% 수율로 얻었다.

[0333] ¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 10.27 (s, 1 H), 9.74 (s, 1 H), 9.26 (s, 1 H), 8.78 (d, J = 10.8 Hz, 1 H), 8.59 (d, J = 10.8 Hz, 1 H), 7.96 (d, J = 7.2 Hz, 1 H), 7.54-7.46 (m, 3 H), 7.36-7.21 (m, 2 H), 6.93 (s, 1 H), 6.66 (d, J = 8.1 Hz, 1 H), 6.47 (br s, 1 H), 3.82 (s, 3 H), 3.39 (d, J = 12.6 Hz, 2 H), 3.06-2.95 (m, 5 H), 2.87-2.79 (m, 1 H), 1.95-1.78 (m, 4 H); LC-MS calcd for C₂₃H₂₈N₆O₃S 468.2, found 469.0 (M + H⁺)

[0335] 하기 반응예 9에 따라 실시예 10의 화합물을 제조하였다.

[0336] [반응예 9]



[0337]

[0338] <실시예 10> N-(2-((2-((2-메톡시-4-(4-(4-메틸피페라진-1-일)피페리딘-1-일)페닐)아미노)피리미딘-4-

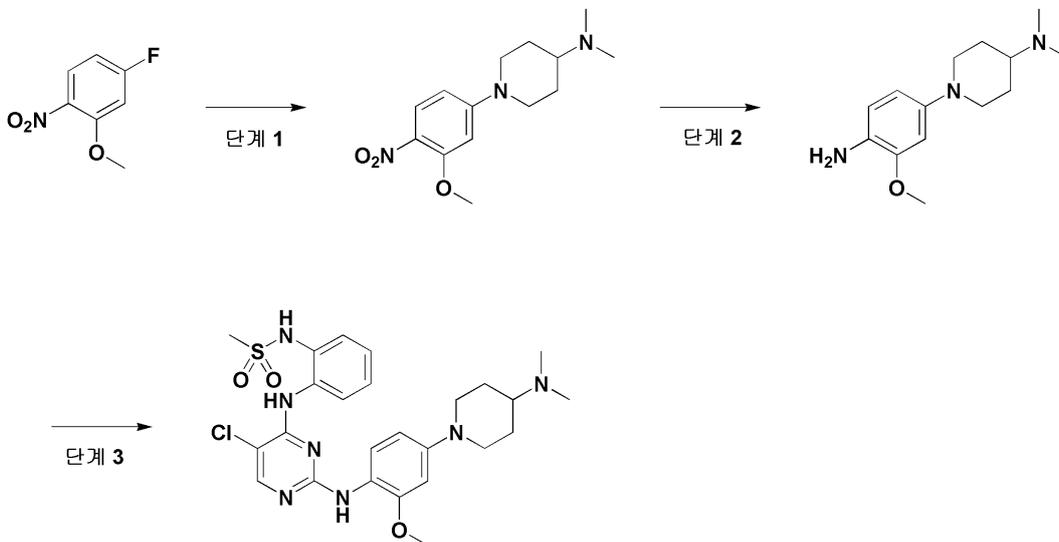
일)아미노)페닐)메탄설폰아마이드의 제조

[0339] 상기 실시예 1의 단계 2과 동일한 방법을 수행하여 N-(2-((5-클로로-2-((2-메톡시-4-(4-(4-메틸피페라진-1-일)피페리딘-1-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설폰아마이드(51.3 mg, 57%)를 얻었다.

[0340] ^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 8.10 (s, 1 H), 7.74 (dd, $J = 7.4, 2.2$ Hz, 1 H), 7.53 (dd, $J = 7.4, 2.1$ Hz, 1 H), 7.48 (d, $J = 8.7$ Hz, 1 H), 7.43 (td, $J = 7.4, 1.9$ Hz, 1 H), 7.36 (td, $J = 7.5, 1.9$ Hz, 1 H), 6.92 (sd, $J = 2.5$ Hz, 1 H), 6.67 (dd, $J = 8.9, 2.5$ Hz, 1 H), 3.88 (s, 3 H), 3.82 (d, $J = 12.4$ Hz, 2 H), 3.43 (br s, 4 H), 3.24-3.04 (m, 7 H), 2.96 (s, 3 H), 2.92 (s, 3 H), 2.19 (d, $J = 12.7, 2$ H), 1.99-1.86 (m, 2 H); LC-MS calcd $\text{C}_{28}\text{H}_{37}\text{ClN}_8\text{O}_3\text{S}$ 600.2, found 601.0 ($\text{M} + \text{H}^+$)

[0342] 하기 반응예 10에 따라 실시예 11의 화합물을 제조하였다.

[0343] [반응예 10]



[0344]

[0346] <실시예 11> N-(2-((5-클로로-2-((4-(4-(디메틸아미노)피페리딘-1-일)-2-메톡시페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설폰아마이드의 제조

[0347] 단계 1: 1-(3-메톡시-4-니트로페닐)-N,N-디메틸피페리딘-4-아민의 제조

[0348] 4-플루오로-2-메톡시-1-니트로벤젠 (5.00 g, 29.22 mmol), N,N-디메틸피페리딘-4-아민 (6.53 g, 35.06 mmol) 및 K_2CO_3 (6.06 g, 43.83 mmol) 혼합물의 DMF (30 mL)를 담은 반응 튜브를 Teflon-lined cap으로 봉하고, 상기 반응 혼합물을 90 °C에서 2시간 교반시켰다. 상기 혼합물을 감압농축하였다. 상기 반응 혼합물을 에틸아세테이트 (300 mL)에 희석하고, 물(100 mL)로 세척한 후, 소금물(100 mL)로 세척하였다. 잔여물을 실리카겔 플래시 컬럼 크로마토그래피($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 9:1)로 정제하여 1-(3-메톡시-4-니트로페닐)-N,N-디메틸피페리딘-4-아민 (9.73 g, 희미한 노란색 고체) 를 99% 수율로 얻었다.

[0349] ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.99 (d, $J = 9.4$ Hz, 1 H), 6.42 (dd, $J = 9.4, 2.6$ Hz, 1 H), 6.31 (sd, $J = 2.5$ Hz, 1 H), 3.94 (s, 3 H), 3.92 (d, $J = 13.0$ Hz, 2 H), 2.97 (td, $J = 12.3, 2.8$ Hz, 2 H), 2.43-2.33 9 (m, 1 H), 2.30 (s, 6 H), 1.95 (d, $J = 13.0$ Hz, 2 H), 1.58 (qd, $J = 11.9, 4.0$ Hz, 2 H); LC-MS calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_3$ 279.2, found 280.0 ($\text{M} + \text{H}^+$)

[0351] 단계 2: 1-(4-아미노-3-메톡시페닐)-N,N-디메틸피페리딘-4-아민의 제조

[0352] 상기 실시예 6의 단계 2와 동일한 방법을 수행하여 1-(4-아미노-3-메톡시페닐)-*N,N*-디메틸피페리딘-4-아민 (8.50 mg, 96%)을 얻었다.

[0353] LC-MS calcd for C₁₄H₂₄N₃O 249.2, found 250.0 (M + H⁺)

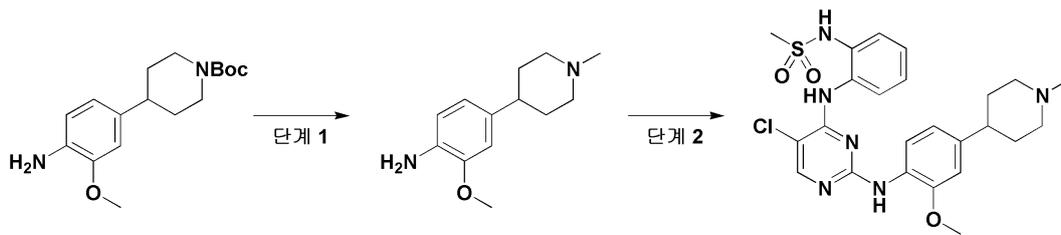
[0355] 단계 3: *N*-(2-((5-클로로-2-((4-(4-(디메틸아미노)피페리딘-1-일)-2-메톡시페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포나마이드의 제조

[0356] 상기 실시예 1의 단계 2와 동일한 방법을 수행하여 *N*-(2-((5-클로로-2-((4-(4-(디메틸아미노)피페리딘-1-일)-2-메톡시페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포나마이드 (46.7 mg, 57%)를 얻었다.

[0357] ¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 8.04 (s, 1 H), 7.77 (d, *J* = 7.5 Hz, 1 H), 7.52 (dd, *J* = 7.5, 2.0 Hz, 1 H), 7.42-7.32 (m, 2 H), 7.25 (d, *J* = 8.7, 1 H), 6.70 (sd, , *J* = 2.5 Hz 1 H), 6.50 (d, , *J* = 8.7 Hz , 1 H), 3.90 (d, *J* = 12.8 Hz, 2 H), 3.84 (s, 3 H), 3.44-3.34 (m, 1 H), 2.97 (s, 3 H), 2.92-2.82 (m, 8 H), 2.25 (d, *J* = 12.1 Hz , 1 H), 1.93-1.79 (m, 2 H); LC-MS calcd for C₂₅H₃₂ClN₇O₃S 545.2, found 546.0 (M + H⁺)

[0359] 하기 반응예 11에 따라 실시예 12의 화합물을 제조하였다.

[0360] [반응예 11]



[0361]

[0363] <실시예 12> *N*-(2-((5-클로로-2-((2-메톡시-4-(1-메틸피페리딘-4-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포나마이드의 제조

[0364] 단계 1: 2-메톡시-4-(1-메틸피페리딘-4-일)아닐린의 제조

[0365] 리튬 테트라하이드로알루미늄에이트 (619.3 mg, 16.3 mmol)의 테트라하이드로퓨란 (18 mL)현탁액에 0 °C하에 *tert*-부틸 4-(4-아미노-3-메톡시페닐)피페리딘-1-카복실레이트 (500 mg, 1.63 mmol)의 테트라하이드로퓨란 (18 mL)를 첨가하였다. 상기 반응 튜브를 Teflon-lined cap으로 봉하고, 상기 반응 혼합물을 90 °C에서 6시간 교반시켰다. 상기 반응 혼합물을 냉각시키고, Na₂SO₄·10H₂O (3 g) 를 천천히 첨가하여 상온에서 30분간 교반시켰다. 상기 혼합물을 필터하고, 디클로로메탄으로 세척하였다. 상기 유기층을 무수 MgSO₄로 건조하고 진공하에 농축하여 2-메톡시-4-(1-메틸피페리딘-4-일)아닐린 (319.4 mg, 갈색고체)를 89% 수율로 얻었다.

[0366] ¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 6.68-6.64 (m, 3 H), 3.82 (s, 3 H), 2.98-2.92 (m, 2 H), 2.43-2.34 (m, 1 H), 2.31 (s, 3 H), 2.07-1.98 (m, 2 H), 1.82-1.77 (m, 4 H); LC-MS calcd for C₁₃H₂₀N₂O 220.2, found 221.1 (M + H⁺)

[0368] 단계 2: *N*-(2-((5-클로로-2-((2-메톡시-4-(1-메틸피페리딘-4-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포나마이드의 제조

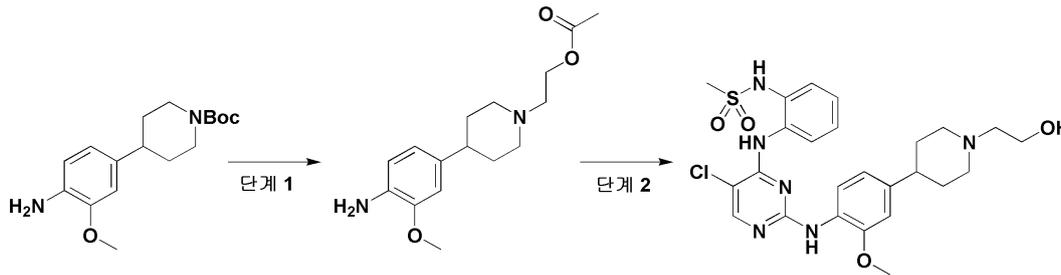
[0369] 상기 실시예 1의 단계 2와 동일한 방법을 수행하여

N-(2-((5-클로로-2-((2-메톡시-4-(1-메틸피페리딘-4-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포나마이드 (55.1 mg, 71%) 를 얻었다.

[0370] ^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 8.12 (s, 1 H), 7.75 (dd, $J = 7.4, 2.2$ Hz, 1 H), 7.52 (d, $J = 8.6$ Hz, 2 H), 7.41-7.31 (m, 2 H), 6.92 (sd, $J = 1.8$ Hz, 1 H), 6.69 (d, $J = 8.6$ Hz, 1 H), 3.87 (s, 3 H), 3.63 (d, $J = 12.2$ Hz, 1 H), 3.15 (td, $J = 12.1, 3.1$ Hz, 2 H), 2.94 (s, 3 H), 2.93 (s, 3 H), 2.89-2.82 (m, 1 H), 2.11 (d, $J = 14.2$ Hz, 2 H), 2.03-1.89 (m, 2 H); LC-MS calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{29}\text{ClN}_6\text{O}_3\text{S}$ 516.2, found 516.9 ($\text{M} + \text{H}^+$)

[0372] 하기 반응에 12에 따라 실시예 13의 화합물을 제조하였다.

[0373] [반응예 12]



[0374]

[0375] <실시예 13> *N*-(2-((5-클로로-2-((4-(1-(2-하이드록시에틸)피페리딘-4-일)-2-메톡시페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포나마이드의 제조

[0376] 단계 1: 2-(4-(4-아미노-3-메톡시페닐)피페리딘-1-일)에틸 아세테이트의 제조

[0377] tert-부틸 4-(4-아미노-3-메톡시페닐)피페리딘-1-카복실레이트 30 (300 mg, 0.98 mmol)의 CH_2Cl_2 /트리플루오로아세트릭 애시드 (1:1, 1 mL)를 상온에서 2시간 교반시켰다. 상기 반응물을 감압농축하였다. 상기 잔여물의 아세트니트릴 (10 mL) 용액에 2-브로모에틸 아세테이트 (140 μL , 1.22 mmol) 및 포타슘 카보네이트 (1.00 g, 7.83 mmol)를 95 $^\circ\text{C}$ 에서 4시간에 걸쳐 첨가하였다. 상기 혼합물을 감압농축하였다. 상기 반응 혼합물을 에틸아세테이트(100 mL)에 희석하고, 물(50 mL)로 세척하였다. 잔여물을 실리카겔 플래시 컬럼 크로마토그래피($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 9:1)로 정제하여 2-(4-(4-아미노-3-메톡시페닐)피페리딘-1-일)에틸 아세테이트 (125.8 mg, 희미한 노란색 오일)을 44 % 수율로 얻었다.

[0378] ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 6.66 (m, 3 H), 4.23 (t, $J = 6.1$ Hz, 2 H), 3.83 (s, 3 H), 3.68 (br s, 2 H), 3.04 (dt, $J = 11.3, 2.8$ Hz, 2 H), 2.67 (t, $J = 6.0$ Hz, 2 H), 2.40 (tt, $J = 10.3, 5.1$ Hz, 1 H), 2.20-2.10 (m, 2 H), 2.08 (s, 3 H), 1.84-1.75 (m, 4 H); LC-MS calcd $\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_3$ 292.2, found 293.0 ($\text{M} + \text{H}^+$)

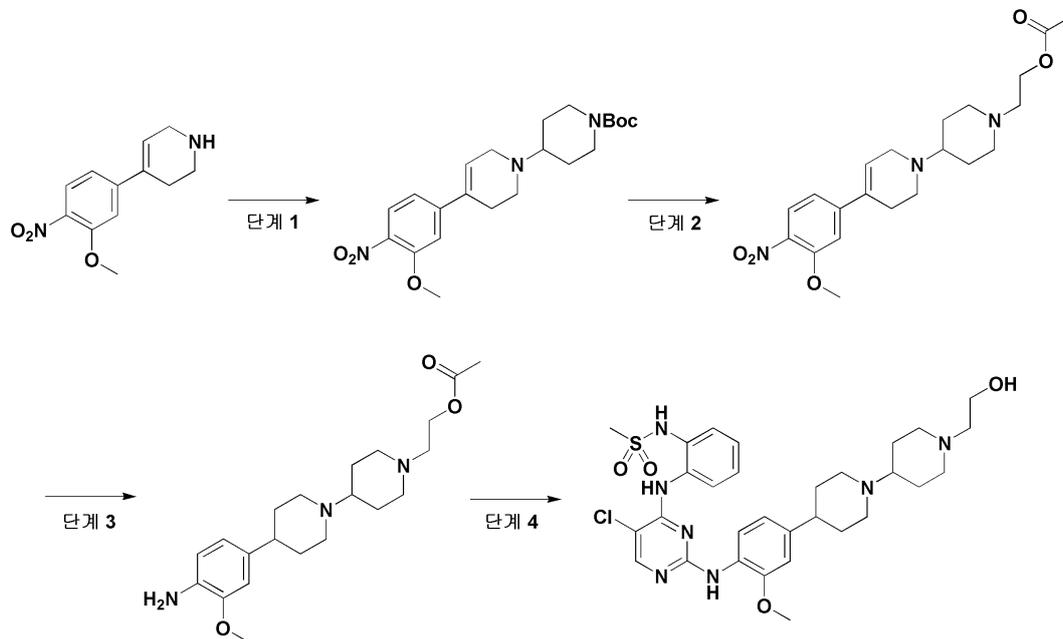
[0380] 단계 2: *N*-(2-((5-클로로-2-((4-(1-(2-하이드록시에틸)피페리딘-4-일)-2-메톡시페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포나마이드의 제조

[0381] 상기 실시예 1의 단계 2과 동일한 방법을 수행하여 *N*-(2-((5-클로로-2-((4-(1-(2-하이드록시에틸)피페리딘-4-일)-2-메톡시페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포나마이드 (74 mg, 61%)를 얻었다.

[0382] ^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 8.12 (s, 1 H), 7.74 (dd, $J = 7.5, 2.0$ Hz, 1 H), 7.54-7.49 (m, 2 H), 7.42-7.31 (m, 2 H), 6.93 (sd, $J = 1.8$ Hz, 1 H), 6.70 (d, $J = 8.3$ Hz, 1 H), 3.94-3.91 (m, 2 H), 3.87 (s, 3 H), 3.74 (d, $J = 12.5$ Hz, 2 H), 3.30-3.28 (m, 2 H), 3.16 (td, $J = 12.6, 3.6$ Hz, 2 H), 2.94 (s, 3 H), 2.92-2.86 (m, 1 H), 2.14-1.97 (m, 4 H); LC-MS calcd $\text{C}_{25}\text{H}_{31}\text{ClN}_6\text{O}_4\text{S}$ 546.2, found 547.4 ($\text{M} + \text{H}^+$)

[0384] 하기 반응예 13에 따라 실시예 14의 화합물을 제조하였다.

[0385] [반응예 13]



[0386]

[0387] <실시예 14> *N*-(2-((5-클로로-2-((4-(1'-(2-하이드록시에틸)-[1,4'-바이피페리딘]-4-일)-2-메톡시페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포나마이드의 제조

[0388] 단계 1: *tert*-부틸 4-(4-(3-메톡시-4-니트로페닐)-3,6-디하이드로피리딘-1(2*H*)-일)피페리딘-1-카복실레이트의 제조

[0389] 4-(3-메톡시-4-니트로페닐)-1,2,3,6-테트라하이드로피리딘 (1.29 g, 5.51 mmol), 1-boc-4-피페리돈(2.19 g, 11.01 mmol), 아세트릭 애시드의 디클로로메탄 1 M solution (170 μ L, 17.62 mmol) 및 트리에틸아민 (730 μ L, 5.23 mmol)의 1,2-디클로로에탄 (20 mL) 을 상온에서 1시간 교반시킨 후, 소듐 트리야세톡시보로하이드라이드 (1.75 g, 8.26 mmol)를 첨가하였다. 상기 반응 혼합물을 상온에서 밤샘교반시켰다. 상기 혼합물을 메틸렌 클로라이드 (200 mL)로 희석하고, 포화 NaHCO₃수용액(100 mL)으로 세척한 후, 물(100 mL)로 세척하였다. 상기 유기 층을 무수 MgSO₄로 건조하고 진공하에 농축하여 잔여물을 실리카겔 플래시 컬럼 크로마토그래피(CH₂Cl₂/MeOH, 9:1)로 정제하여 *tert*-부틸 4-(4-(3-메톡시-4-니트로페닐)-3,6-디하이드로피리딘-1(2*H*)-일)피페리딘-1-카복실레이트 (1.11 g, 회미한 갈색 고체)를 50 % 수율로 얻었다.

[0390] LC-MS calcd C₂₂H₃₁N₃O₅ 417.2, found 418.0 (M + H⁺)

[0392] 단계 2: 2-(4-(4-(4-아미노-3-메톡시페닐)-3,6-디하이드로피리딘-1(2*H*)-일)피페리딘-1-일)에틸 아세테이트의 제조

[0393] 상기 실시예 13의 단계 2와 동일한 방법을 수행하여 2-(4-(4-(4-아미노-3-메톡시페닐)-3,6-디하이드로피리딘-1(2*H*)-일)피페리딘-1-일)에틸 아세테이트 (536.6 mg, 50%)를 얻었다.

[0394] LC-MS calcd C₂₁H₂₉N₃O₅, 403.2, found 404.1 (M + H⁺)

[0395] 단계 3: 2-(4-(4-아미노-3-메톡시페닐)-[1,4'-바이피페리딘]-1'-일)에틸 아세테이트의 제조

[0396] 2-(4-(4-(4-아미노-3-메톡시페닐)-3,6-디하이드로피리딘-1(2*H*)-일)피페리딘-1-일)에틸 아세테이트 (536.6 mg, 1.33 mmol)의 메탄올(10 mL)에 10% Pd/C (Palladium on activated charcoal, 141.5 mg, 1.33 mmol)를 첨가하였다. 상기 반응 혼합물을 소수 분위기 하에 밤샘 교반시켰다. 셀라이트 필터한 여액을 감압농축하여 별도의 정

제 없이 2-(4-(4-아미노-3-메톡시페닐)-[1,4'-바이피페리딘]-1'-일)에틸 아세테이트 (399.9 mg, brown gum)를 80% 수율로 얻었다.

[0397] LC-MS calcd C₂₁H₃₃N₃O₃ 375.3, found 376.2 (M + H⁺)

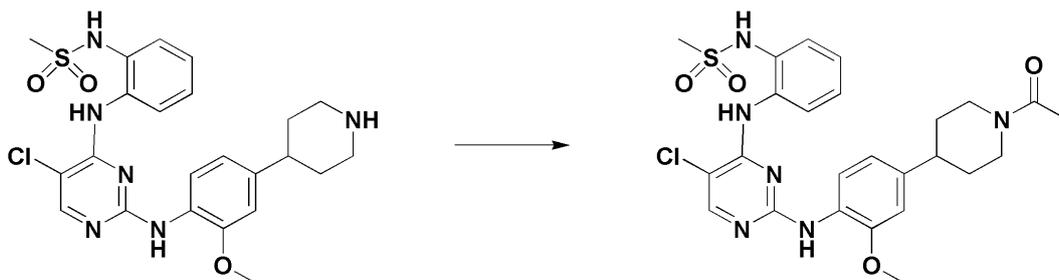
[0399] 단계 4: *N*-(2-((5-클로로-2-((4-(1'-(2-하이드록시에틸)-[1,4'-바이피페리딘]-4-일)-2-메톡시페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드의 제조

[0400] 상기 실시예 1의 단계 2와 동일한 방법을 수행하여 *N*-(2-((5-클로로-2-((4-(1'-(2-하이드록시에틸)-[1,4'-바이피페리딘]-4-일)-2-메톡시페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드 (3.4 mg, 4%)를 얻었다.

[0401] ¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 8.13 (s, 1 H), 7.38 (d, *J* = 7.8 Hz, 1 H), 7.53 (dd, *J* = 7.8, 1.7 Hz, 1 H), 7.47 (d, *J* = 8.2 Hz, 1 H), 7.43-7.32 (m, 2 H), 6.94 (s, 1 H), 6.70 (d, *J* = 8.4 Hz, 1 H), 3.93-3.84 (m, 7 H), 3.72 (d, *J* = 11.7 Hz, 2 H), 3.62-3.54 (m, 1 H), 3.24-3.13 (m, 4 H), 2.94-2.86 (m, 4 H), 2.48 (d, *J* = 13.0 Hz, 2 H), 2.22-2.06 (m, 7 H); LC-MS calcd C₃₀H₄₀ClN₇O₄S 629.3, found 630.0 (M + H⁺)

[0403] 하기 반응예 14에 따라 실시예 15의 화합물을 제조하였다.

[0404] [반응예 14]



[0405]

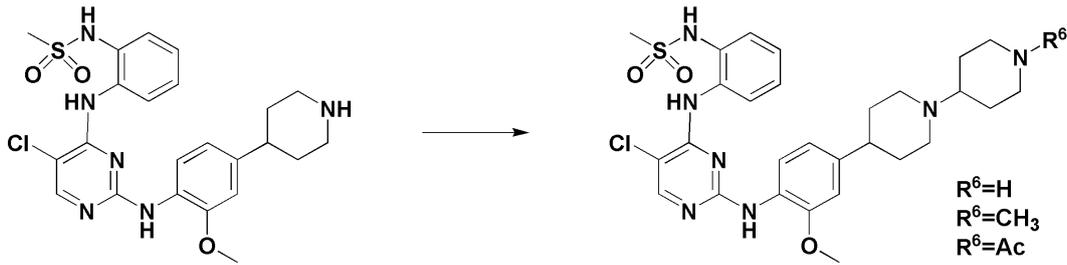
[0406] <실시예 15> *N*-(2-((2-((4-(1-아세틸피페리딘-4-일)-2-메톡시페닐)아미노)-5-클로로피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드의 제조

[0407] *N*-(2-((5-클로로-2-((2-메톡시-4-(피페리딘-4-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드 (40 mg, 0.07 mmol)의 디클로로메탄 (2 mL) 용액에 0 °C에서 트리에틸아민 (20 μL, 0.14 mmol) 및 아세트산 언하이드라이드(10 μL, 0.07 mmol)를 첨가하였다. 상기 반응 혼합물을 상온에서 2시간 교반시켰다. 상기 혼합물을 감압농축하고 잔여물을 prep-HPLC로 정제하여 *N*-(2-((2-((4-(1-아세틸피페리딘-4-일)-2-메톡시페닐)아미노)-5-클로로피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드 (12.7 mg, 흰색고체)를 34% 수율로 얻었다.

[0408] ¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 8.09 (s, 1 H), 7.76 (d, *J* = 7.6 Hz, 1 H), 7.51 (dd, *J* = 7.7, 1.9 Hz, 1 H), 7.43-7.32 (m, 3 H), 6.94 (s, 1 H), 6.70 (d, *J* = 8.2 Hz, 1 H), 4.68 (d, *J* = 13.2 Hz, 1 H), 4.05 (d, *J* = 13.6 Hz, 1 H), 3.86 (s, 3 H), 3.24 (t, *J* = 12.1 Hz, 1 H), 2.95 (s, 3 H), 2.87-2.66 (m, 2 H), 2.15 (s, 3 H), 1.88 (t, *J* = 13.7 Hz, 2 H), 1.76-1.51 (m, 2 H); LC-MS calcd for C₂₅H₂₉ClN₆O₄S 544.2, found 545.0 (M + H⁺)

[0410] 하기 반응예 15에 따라 실시예 16 내지 18의 화합물을 제조하였다.

[0411] [반응예 15]



[0412]

[0413] 상기 반응예 15에서, $R^6=H$ 는 실시예 16의 화합물이고, $R^6=CH_3$ 는 실시예 17의 화합물이고, $R^6=Ac$ 는 실시예 18의 화합물이다.

[0414] <실시예 16> *N*-(2-((2-((4-([1,4'-바이피페리딘]-4-일)-2-메톡시페닐)아미노)-5-클로로피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포나마이드의 제조

[0415] *N*-(2-((5-클로로-2-((2-메톡시-4-(피페리딘-4-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포나마이드 (24.4 mg, 0.04 mmol), 1-boc-4-피페리돈(16.9 mg, 0.08 mmol), 아세트릭 애시드의 디클로로메탄 1 M solution (120 μ L, 0.12 mmol) 및 트리에틸아민 (10 μ L, 0.04 mmol)의 1,2-디클로로에탄 (1 mL)을 상온에서 1시간 교반시킨 후, 소듐 트리아세톡시보로하이드라이드 (12.7 mg, 0.06 mmol)를 첨가하였다. 상기 반응 혼합물을 상온에서 밤샘교반시켰다. 상기 혼합물을 감압 농축하고, CH_2Cl_2 /트리플루오로아세트릭 애시드 (1:1, 1 mL)를 첨가하여 상온에서 2시간 교반시켰다. 상기 반응 혼합물을 진공하에 농축하여 잔여물을 prep-HPLC로 정제하여 *N*-(2-((2-((4-([1,4'-바이피페리딘]-4-일)-2-메톡시페닐)아미노)-5-클로로피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포나마이드 (9.4 mg, 빨간색 고체)를 51% 수율로 얻었다.

[0416] 1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 8.10 (s, 1 H), 7.78-7.74 (m, 1 H), 7.53-7.47 (m, 1 H), 7.42-7.36 (m, 2 H), 7.32 (d, $J = 8.1$ Hz, 1 H), 7.12 (sd, $J = 1.6$ Hz, 1 H), 6.99 (dd, $J = 8.2, 1.6$ Hz, 1 H), 4.39 (d, $J = 13.4$ Hz, 1 H), 3.98 (s, 3 H), 3.89-3.78 (m, 1 H), 3.74-3.58 (m, 1 H), 3.52 (d, $J = 13.0$ Hz, 2 H), 3.21 (t, $J = 13.0$ Hz, 2 H), 3.10 (t, $J = 13.6$ Hz, 1 H), 3.03 (s, 3 H), 2.23 (d, $J = 13.5$ Hz, 2 H), 2.08-1.97 (m, 4 H), 1.84-1.71 (m, 2 H); LC-MS calcd $C_{28}H_{36}ClN_7O_3S$ 585.2, found 586.0 ($M + H^+$)

[0418] <실시예 17> *N*-(2-((5-클로로-2-((2-메톡시-4-(1'-메틸-[1,4'-바이피페리딘]-4-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포나마이드의 제조

[0419] 상기 실시예 16의 단계 1과 동일한 방법을 수행하여 *N*-(2-((5-클로로-2-((2-메톡시-4-(1'-메틸-[1,4'-바이피페리딘]-4-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포나마이드 (73.3 mg, 88%)를 얻었다.

[0420] 1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 8.13 (s, 1 H), 7.72 (dd, $J = 7.8, 1.7$ Hz, 1 H), 7.52 (dd, $J = 7.8, 1.7$ Hz, 1 H), 7.45 (d, $J = 8.2$ Hz, 1 H), 7.40 (td, $J = 7.6, 1.8$ Hz, 1 H), 7.34 (td, $J = 7.7, 1.7$ Hz, 1 H), 6.94 (sd, $J = 1.8$ Hz, 1 H), 6.69 (d, $J = 8.2$ Hz, 1 H), 3.87 (s, 3 H), 3.72 (d, $J = 11.9$ Hz, 4 H), 3.66-3.53 (m, 1 H), 3.27-3.09 (m, 4 H), 2.94 (s, 3 H), 2.92 (s, 3 H), 2.91-2.84 (m, 1 H), 2.47 (d, $J = 13.4$ Hz, 2 H), 2.24-2.06 (m, 6 H); LC-MS calcd $C_{29}H_{38}ClN_7O_3S$ 599.2, found 600.0 ($M + H^+$)

[0422] <실시예 18> *N*-(2-((2-((4-(1'-아세틸-[1,4'-바이피페리딘]-4-일)-2-메톡시페닐)아미노)-5-클로로피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포나마이드의 제조

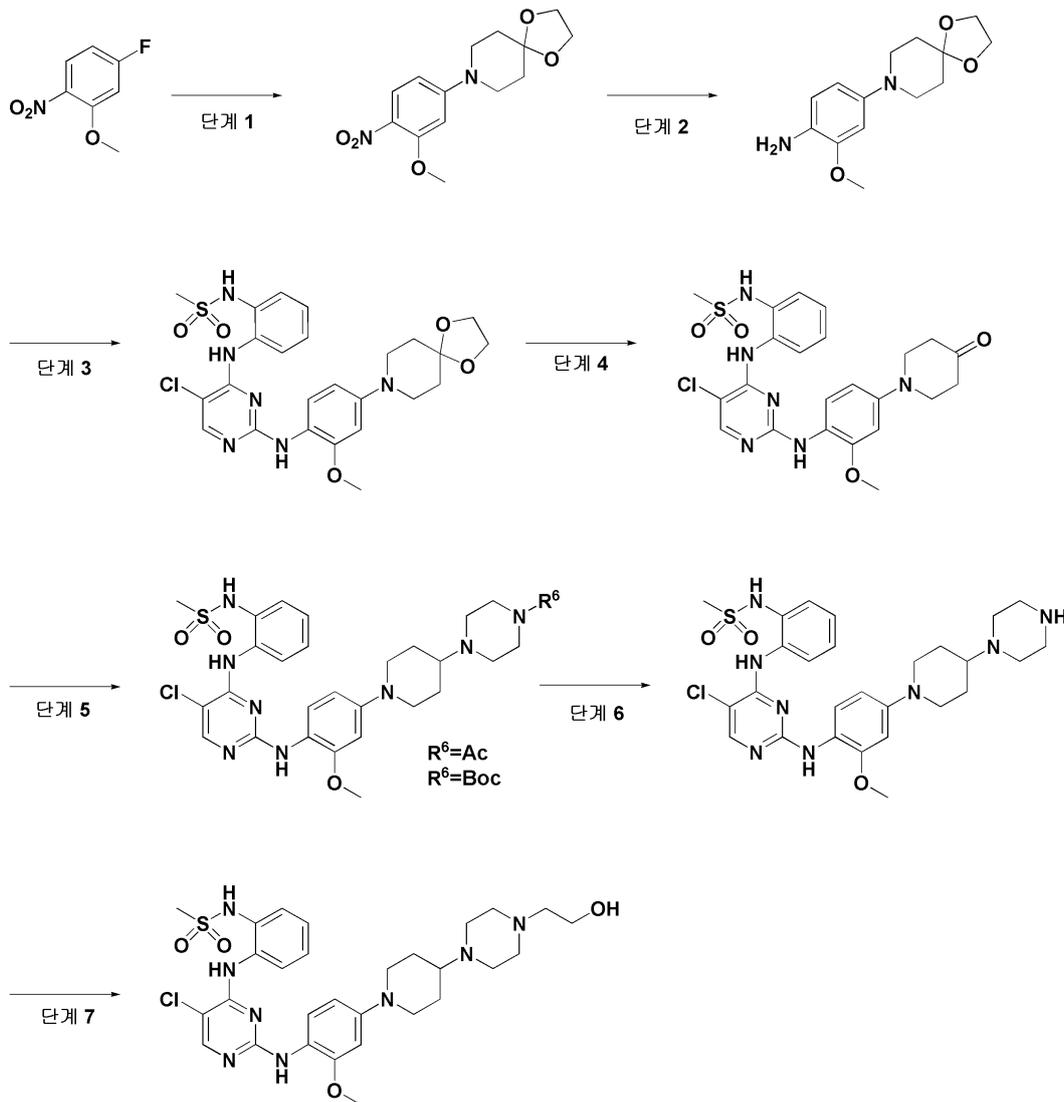
[0423] 상기 실시예 16의 단계 1과 동일한 방법을 수행하여 *N*-(2-((2-((4-(1'-아세틸-[1,4'-바이피페리딘]-4-일)-2-메톡시페닐)아미노)-5-클로로피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포나마이드 (40.2 mg, 46%)를 얻었다.

[0424] 1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 8.11 (s, 1 H), 7.75 (dd, $J = 7.2, 2.3$ Hz, 1 H), 7.55-7.50 (m, 2 H), 7.41-

7.32 (m, 2 H), 6.91 (s, 1 H), 6.68 (d, $J = 9.5$ Hz, 1 H), 4.74 (d, $J = 13.6$ Hz, 1 H), 4.13 (d, $J = 13.9$ Hz, 1 H), 3.87 (s, 3 H), 3.67 (d, $J = 12.1$ Hz, 2 H), 3.57-3.49 (m, 1 H), 3.21 (t, $J = 12.9$ Hz, 3 H), 2.94 (s, 3 H), 2.92-2.85 (m, 1 H), 2.68 (t, $J = 12.7$ Hz, 1 H), 2.24-2.17 (m, 7 H), 2.08-1.92 (m, 2 H), 1.85-1.61 (m, 2 H); LC-MS calcd $C_{30}H_{38}ClN_7O_4S$ 627.2, found 628.0 ($M + H^+$)

[0426] 하기 반응예 16에 따라 실시예 19 내지 22의 화합물을 제조하였다.

[0427] [반응예 16]



[0428]

[0429] 상기 반응예 16에서, 단계 5 수행 후 생성되는 화합물에서, R⁶=Ac는 실시예 19의 화합물이고, R⁶=Boc는 실시예 20의 화합물이고, 단계 6 수행 후 생성되는 화합물은 실시예 21의 화합물이고, 단계 7 수행 후 생성되는 화합물은 실시예 22의 화합물이다.

[0430] <실시예 19> N-(2-((2-((4-(4-(4-아세틸피페라진-1-일)피페리딘-1-일)-2-메톡시페닐)아미노)-5-클로로피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설폰아마이드의 제조

[0431] 단계 1: 8-(3-메톡시-4-니트로페닐)-1,4-디옥사-8-아자스피로[4.5]데칸의 제조

[0432] 4-플루오로-2-메톡시-1-니트로벤젠 (5 g, 29.21 mmol)의 DMF (75 mL)를 상온에서 교반하면서 1,4-디옥사-8-아자스피로[4.5]데칸 (5.0 g, 35.0 mmol) 및 포타슘 카보네이트 (8.0 g, 58.0 mmol)를 첨가하였다. 상기 반응 혼합물을 상온에서 밤샘 교반시켰다. 상기 반응 혼합물을 차가운 물로 퀴칭하고, 15분간 교반시켰다. 침전된 고체를 여과하고, 건조하여 8-(3-메톡시-4-니트로페닐)-1,4-디옥사-8-아자스피로[4.5]데칸 (8.0 g, 94%)을 노란색

고체로 얻었다.

[0433] ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8.01 (d, $J = 9.3$ Hz, 1 H), 6.45 (dd, $J = 9.4, 2.6$ Hz, 1 H), 6.35 (d, $J = 2.5$ Hz, 1 H), 4.02 (s, 4 H), 3.96 (s, 3 H), 3.72-3.46 (m, 4 H), 2.24-1.72 (m, 4 H).

[0435] 단계 2: 2-메톡시-4-(1,4-디옥사-8-아자스피로[4.5]데칸-8-일)아닐린의 제조

[0436] 8-(3-메톡시-4-니트로페닐)-1,4-디옥사-8-아자스피로[4.5]데칸 (1.0 g, 3.39 mmol)의 메탄올(15 mL)교반 용액에 10% Pd/C (Palladium on activated charcoal, 36 mg, 0.33 mmol)를 아르곤 분위기하에 첨가하였다. 상기 반응 혼합물을 1atm 수소가스 압력 하에 상온에서 3시간 교반시켰다. 상기 반응 혼합물을 셀라이트 필터하고, 감압농축하여 2-메톡시-4-(1,4-디옥사-8-아자스피로[4.5]데칸-8-일)아닐린 (800 mg, 90%)을 갈색 고체로 얻었다.

[0437] ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 6.67-6.50 (m, 3 H), 4.02 (s, 4 H), 3.87 (br s, 3 H), 3.22 (br s, 4 H), 1.95 (br s, 4 H)

[0439] 단계 3:
N-(2-((5-클로로-2-((2-메톡시-4-(1,4-디옥사-8-아자스피로[4.5]데칸-8-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포나마이드의 제조

[0440] *N*-(2-((2,5-디클로로피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포나마이드 (200 mg, 0.60 mmol) 및 2-메톡시-4-(1,4-디옥사-8-아자스피로[4.5]데칸-8-일)아닐린 (158 mg, 0.60 mmol)의 *n*-부탄올 (5 mL)혼합물에 0.08 N HCl 또는 TFA(trifluoroacetic acid)의 *n*-부탄올 solution (3.75 mL, 0.30 mmol)을 첨가하였다. 상기 반응 튜브를 Teflon-lined cap으로 봉하고, 반응 혼합물을 95 °C에서 밤샘교반시켰다. 상기 혼합물을 감압농축하고, 잔여물을 prep-HPLC로 정제하여 *N*-(2-((5-클로로-2-((2-메톡시-4-(1,4-디옥사-8-아자스피로[4.5]데칸-8-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포나마이드 (150 mg, 40%) 를 흰색 고체로 얻었다.

[0442] 단계 4: *N*-(2-((5-클로로-2-((2-메톡시-4-(4-옥소피페리딘-1-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포나마이드의 제조

[0443] *N*-(2-((5-클로로-2-((2-메톡시-4-(1,4-디옥사-8-아자스피로[4.5]데칸-8-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포나마이드 (150 mg, 0.267 mmol)의 메탄올(2 ml)을 교반시키면서 상온에서 6 N HCl (2 ml)를 첨가하였다. 상기 반응 혼합물을 3시간동안 60 ° C에서 가열하였다. 상기 반응 혼합물을 상온에서 냉각시키고, 휘발물질을 감압하에 제거하였다. 얻어진 미정제물을 물로 희석하고, 5 N NaOH 수용액으로 염기화(pH-8)한 후, 디클로로메탄으로 추출하였다. 상기 유기층을 분리하고, 물, 소금물로 세척한 후, Na_2SO_4 로 건조시키고, 감압증발하여 *N*-(2-((5-클로로-2-((2-메톡시-4-(4-옥소피페리딘-1-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포나마이드 (100 mg, 72%)을 흰색 고체로 얻었다.

[0444] ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8.06 (s, 1 H), 7.88-7.65 (m, 3 H), 7.64-7.45 (m, 1 H), 7.43-7.31 (m, 2 H), 6.56 (d, $J = 2.6$ Hz, 1 H), 6.39 (dd, $J = 8.8, 2.5$ Hz, 1 H), 3.86 (s, 3 H), 3.54 (t, $J = 6.2$ Hz, 4 H), 2.96 (s, 3 H), 2.61 (t, $J = 6.0$ Hz, 4 H)

[0446] 단계 5:
N-(2-((2-((4-(4-아세틸피페라진-1-일)피페리딘-1-일)-2-메톡시페닐)아미노)-5-클로로피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포나마이드의 제조

[0447] *N*-(2-((2-((4-(4-아세틸피페라진-1-일)피페리딘-1-일)-2-메톡시페닐)아미노)-5-클로로피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포나마이드 (60 mg, 0.11 mmol), 1-아세틸피페라진 (28 mg, 0.17 mmol), 아세트 에시드의 디클로로메탄의 1 M solution (220 μL , 0.17 mmol) 및 트리에틸아민 (50 μL , 0.34 mmol)의 1,2-디클로로에탄 (1 mL) 을 상온에서 1시간 교반시킨 후, 소듐 트리아세톡시보로하이드라이드 (49 mg, 0.23 mmol)를 첨가하였다. 상

기 반응 혼합물을 상온에서 밤샘교반시켰다. 상기 혼합물을 감압농축하였다. 잔여물을 prep-HPLC로 정제하여 N-(2-((2-((4-(4-(4-아세틸피페라진-1-일)피페리딘-1-일)-2-메톡시페닐)아미노)-5-클로로피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드 (35 mg, 흰색 고체)를 48% 수율로 얻었다.

[0448] ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8.10 (s, 1 H), 7.79-7.75 (m, 1 H), 7.72 (dd, $J = 7.2, 2.3$ Hz, 1 H), 7.56-7.52 (m, 2 H), 7.38-7.32 (m, 3 H), 6.51 (br s, 1 H), 6.33 (d, $J = 8.9$ Hz, 1 H), 3.85 (s, 3 H), 3.69-3.61 (m, 4 H), 2.93 (s, 3 H), 2.71 (t, $J = 11.7$ Hz, 4 H), 2.13 (br s, 3 H), 2.03 (s, 4 H), 1.80 (bs, 4 H); LC-MS calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{37}\text{ClN}_8\text{O}_4\text{S}$ 628.23, found 627.0 (M - H⁺)

[0450] <실시예 20> tert-부틸 4-(1-(4-((5-클로로-4-((2-(메틸설포아미도)페닐)아미노)피리미딘-2-일)아미노)-3-메톡시페닐)피페리딘-4-일)피페라진-1-카복실레이트의 제조

[0451] 상기 실시예 19의 단계 5와 동일한 방법을 수행하여 tert-부틸 4-(1-(4-((5-클로로-4-((2-(메틸설포아미도)페닐)아미노)피리미딘-2-일)아미노)-3-메톡시페닐)피페리딘-4-일)피페라진-1-카복실레이트 (52 mg, 63%)를 얻었다.

[0452] ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8.09 (s, 1 H), 7.76 (d, $J = 9.0$ Hz, 1 H), 7.72-7.66 (m, 1 H), 7.57-7.52 (m, 1 H), 7.48 (s, 1 H), 7.38-7.31 (m, 2 H), 7.26 (s, 1 H), 6.50 (br s, 1 H), 6.33 (d, $J = 8.4$ Hz, 1 H), 3.84 (s, 3 H), 3.69-3.54 (m, 6 H), 2.92 (s, 3 H), 2.77-2.62 (m, 6 H), 2.07-1.99 (m, 3 H), 1.83-1.74 (m, 2 H), 1.49 (s, 9H); LC-MS calcd for $\text{C}_{32}\text{H}_{43}\text{ClN}_8\text{O}_5\text{S}$ 686.28, found 685.0 (M - H⁺)

[0454] <실시예 21> N-(2-((5-클로로-2-((2-메톡시-4-(4-(피페라진-1-일)피페리딘-1-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드의 제조

[0455] tert-부틸 4-(1-(4-((5-클로로-4-((2-(메틸설포아미도)페닐)아미노)피리미딘-2-일)아미노)-3-메톡시페닐)피페리딘-4-일)피페라진-1-카복실레이트(20 mg, 0.03 mmol)의 디클로로메탄 (1 ml) 혼합물에 4 N HCl의 디옥산 (0.014 ml, 0.06 mmol)을 0° C에서 첨가하였다. 상기 반응 혼합물을 상온까지 승온시키고, 2시간 교반시켰다. 상기 반응 혼합물을 감압농축하여 N-(2-((5-클로로-2-((2-메톡시-4-(4-(피페라진-1-일)피페리딘-1-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드 (20 mg, 흰색 고체)를 88% 수율로 얻었다.

[0456] ^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 8.19 (s, 1 H), 7.70 (d, $J = 7.9$ Hz, 1 H), 7.60-7.56 (m, 1 H), 7.52-7.44 (m, 2 H), 7.45-7.40 (m, 1 H), 7.16 (br s, 1 H), 6.85 (br s, 1 H), 3.94-3.88 (m, 5 H), 3.70-3.66 (m, 8 H), 3.50-3.38 (m, 2 H), 3.00 (s, 3 H), 2.51-2.40 (m, 2 H), 2.34-2.18 (m, 2 H); LC-MS calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{35}\text{ClN}_8\text{O}_3\text{S}$ 586.22, found 585.1 (M - H⁺)

[0458] <실시예 22> N-(2-((5-클로로-2-((4-(4-(4-(2-하이드록시에틸)피페라진-1-일)피페리딘-1-일)-2-메톡시페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드의 제조

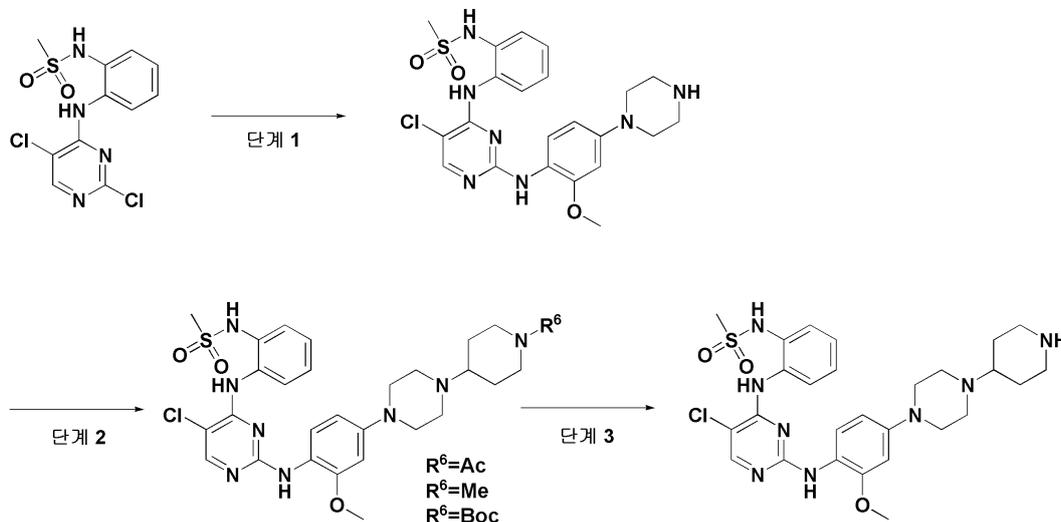
[0459] N-(2-((5-클로로-2-((2-메톡시-4-(4-(피페라진-1-일)피페리딘-1-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드 (30 mg, 0.05 mmol)의 DMF (1 mL)를 교반시키면서, DIPEA(diisopropylethylamine) (0.017 mL, 0.1 mmol) alc 2-아이오도에탄올(10.9 mg 0.06 mmol)을 상온에서 첨가하였다. 상기 반응 혼합물을 MW(microwave)에서 80 ° C 하에 30분간 가열하였다. 상기 반응 혼합물을 농축하고, HPLC로 정제하여 N-(2-((5-클로로-2-((4-(4-(4-(2-하이드록시에틸)피페라진-1-일)피페리딘-1-일)-2-메톡시페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드 (20.1 mg, 70%)를 흰색 고체로 얻었다.

[0460] ^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 8.11 (s, 1 H), 7.76 (dd, $J = 7.4, 2.1$ Hz, 1 H), 7.58-7.53 (m, 1 H), 7.49-7.37 (m, 3 H), 6.91 (d, $J = 2.6$ Hz, 1 H), 6.66 (dd, $J = 8.8, 2.5$ Hz, 1 H), 3.92-3.80 (m, 7 H), 3.50 (br s, 4 H), 3.31-3.25 (m, 4 H), 3.12-3.16 (m, 4 H), 2.99 (s, 3 H), 2.23 (d, $J = 12.4$ Hz, 2 H), 1.99-1.87 (m,

2 H); LC-MS calcd for C₂₉H₃₉ClN₈O₄S 630.25, found 629.1 (M - H⁺)

[0462] 하기 반응예 17에 따라 실시예 23 및 27의 화합물을 제조하였다.

[0463] [반응예 17]



[0464]

[0465] 상기 반응예 17에서, 단계 1 수행 후 생성되는 화합물은 실시예 23의 화합물이고, 단계 2 수행 후 생성되는 화합물 중 R⁶=Ac는 실시예 24의 화합물이고, R⁶=Me는 실시예 25의 화합물이고, R⁶=Boc는 실시예 26의 화합물이고, 단계 3 수행 후 생성되는 화합물은 실시예 27의 화합물이다.

[0466] <실시예 23> N-(2-((5-클로로-2-((2-메톡시-4-(피페라진-1-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설폰아마이드의 제조

[0467] N-(2-((2,5-디클로로피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설폰아마이드 2 (100 mg, 0.30 mmol) 및 tert-부틸 4-(4-아미노-3-메톡시페닐)피페라진-1-카복실레이트 (92.2 mg, 0.30 mmol)의 n-부탄올 (1 mL)혼합물에 0.08 N HCl 또는 TFA(trifluoroacetic acid)의 n-부탄올 solution (3.75 mL, 0.30 mmol)을 첨가하였다. 상기 반응 튜브를 Teflon-lined cap으로 봉하고, 반응 혼합물을 95 °C에서 밤샘교반시켰다. 상기 혼합물을 감압농축하고, 잔여물을 prep-HPLC로 정제하여 N-(2-((5-클로로-2-((2-메톡시-4-(피페라진-1-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설폰아마이드 (150 mg, 82%)를 흰색 고체로 얻었다.

[0468] ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 8.09 (s, 1 H), 7.82-7.77 (m, 1 H), 7.54 (dd, J = 7.9, 1.7 Hz, 1 H), 7.44-7.31 (m, 3 H), 6.74 (d, J = 2.5 Hz, 1 H), 6.50 (s, 1 H), 3.87 (s, 3 H), 3.45 (m, 4 H), 3.41 (m, 4 H), 2.98 (s, 3 H)

[0470] <실시예 24> N-(2-((2-((4-(4-(1-아세틸피페리딘-4-일)피페라진-1-일)-2-메톡시페닐)아미노)-5-클로로피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설폰아마이드의 제조

[0471] 상기 실시예 19의 단계 4와 동일한 방법을 수행하여 N-(2-((2-((4-(4-(1-아세틸피페리딘-4-일)피페라진-1-일)-2-메톡시페닐)아미노)-5-클로로피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설폰아마이드 (60 mg, 64%)를 얻었다.

[0472] ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.09 (s, 1 H), 7.79 (d, J = 8.8 Hz, 1 H), 7.75-7.68 (m, 1 H), 7.60 (s, 1 H), 7.57-7.50 (m, 1 H), 7.37-7.31 (m, 2 H), 6.49 (d, J = 2.5 Hz, 1 H), 6.31 (d, J = 8.8 Hz, 1 H), 3.84 (s, 3 H), 3.29-3.18 (br s, 4 H), 3.16-3.40 (m, 2 H), 2.94 (s, 3 H), 2.90-2.81 (br s, 4 H), 2.66-2.52 (m, 2 H), 2.13 (s, 3 H), 1.99-1.95 (m, 2 H), 1.59-1.47 (s, 2 H); LC-MS calcd for C₂₉H₃₇ClN₈O₄S 628.23, found 627.0 (M - H⁺)

[0474] <실시예 25> *N*-(2-((5-클로로-2-((2-메톡시-4-(4-(1-메틸피페리딘-4-일)피페라진-1-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설폰아마이드의 제조

[0475] 상기 실시예 19의 단계 4와 동일한 방법을 수행하여 *N*-(2-((5-클로로-2-((2-메톡시-4-(4-(1-메틸피페리딘-4-일)피페라진-1-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설폰아마이드 (29.6 mg, 33%)를 얻었다.

[0476] ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 8.08 (s, 1 H), 7.80 (d, *J* = 7.8 Hz, 1 H), 7.53 (dd, *J* = 7.7, 1.8 Hz, 1 H), 7.40-7.33 (m, 3 H), 6.73 (d, *J* = 2.5 Hz, 1 H), 6.50 (d, *J* = 8.7 Hz, 1 H), 3.87 (s, 3 H), 3.75 (d, *J* = 12.8 Hz, 2 H), 3.62-3.45 (m, 8 H), 3.20-3.12 (m, 2 H), 2.98 (s, 3 H), 2.95 (s, 3 H), 2.56-2.47 (d, *J* = 13.4 Hz, 2 H), 2.20-2.10 (m, 2 H); LC-MS calcd for C₂₈H₃₇ClN₈O₃S 600.24, found 599.0 (M - H⁺)

[0478] <실시예 26> *tert*-부틸 4-(4-(4-((5-클로로-4-((2-메틸설폰아미도)페닐)아미노)피리미딘-2-일)아미노)-3-메톡시페닐)피페라진-1-일)피페리딘-1-카복실레이트의 제조

[0479] 상기 실시예 19의 단계 4와 동일한 방법을 수행하여 *tert*-부틸 4-(4-(4-((5-클로로-4-((2-메틸설폰아미도)페닐)아미노)피리미딘-2-일)아미노)-3-메톡시페닐)피페라진-1-일)피페리딘-1-카복실레이트 (16.0 mg, 17%)를 얻었다.

[0480] ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.09 (s, 1 H), 7.79 (d, *J* = 8.8 Hz, 1 H), 7.74-7.68 (m, 1 H), 7.56-7.51 (m, 2 H), 7.38-7.31 (m, 2 H), 6.49 (d, *J* = 2.5 Hz, 1 H), 6.32 (d, *J* = 9.2 Hz, 1 H), 4.23 (br s, 2 H), 3.84 (s, 3 H), 3.29 (br s, 4 H), 2.94 (br s, 7 H), 2.83-2.67 (m, 4 H), 2.08-2.98 (m, 2 H), 1.49 (s, 9 H); LC-MS calcd for C₃₂H₄₃ClN₈O₅S 686.28, found 684.9 (M - H⁺)

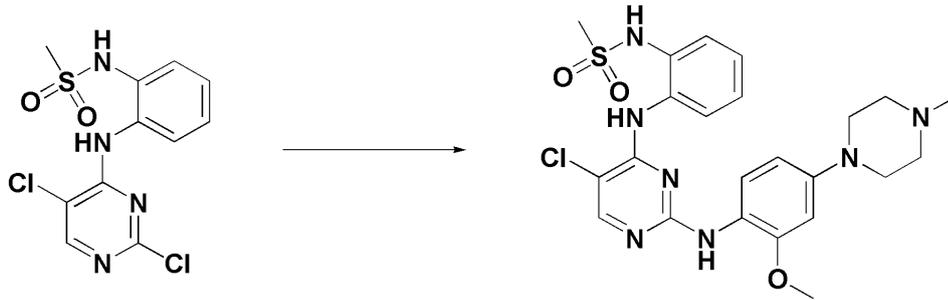
[0482] <실시예 27> *N*-(2-((5-클로로-2-((2-메톡시-4-(4-(피페리딘-4-일)피페라진-1-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설폰아마이드의 제조

[0483] 상기 실시예 21과 동일한 방법을 수행하여 *N*-(2-((5-클로로-2-((2-메톡시-4-(4-(피페리딘-4-일)피페라진-1-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설폰아마이드 (16 mg, 95%)를 얻었다.

[0484] ¹NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 8.09 (s, 1 H), 7.75 (br s, 1 H), 7.55 (br s, *J* = 7.9, 1.6 Hz, 1 H), 7.48-7.35 (m, 2 H), 7.29 (d, *J* = 8.8 Hz, 1 H), 6.77 (s, 1 H), 6.54 (br s, 1 H), 4.04-3.90 (m, 2 H), 3.88 (s, 3 H), 3.84-3.69 (m, 4 H), 3.66-3.58 (m, 2 H), 3.44-3.34 (m, 2 H), 3.27-3.11 (m, 3 H), 3.00 (s, 3 H), 2.55 (d, *J* = 13.3 Hz, 2 H), 2.29-2.00 (m, 2 H); LC-MS calcd for C₂₇H₃₅ClN₈O₃S 586.22, found 585.0 (M - H⁺)

[0486] 하기 반응예 18에 따라 실시예 28의 화합물을 제조하였다.

[0487] [반응예 18]



[0488]

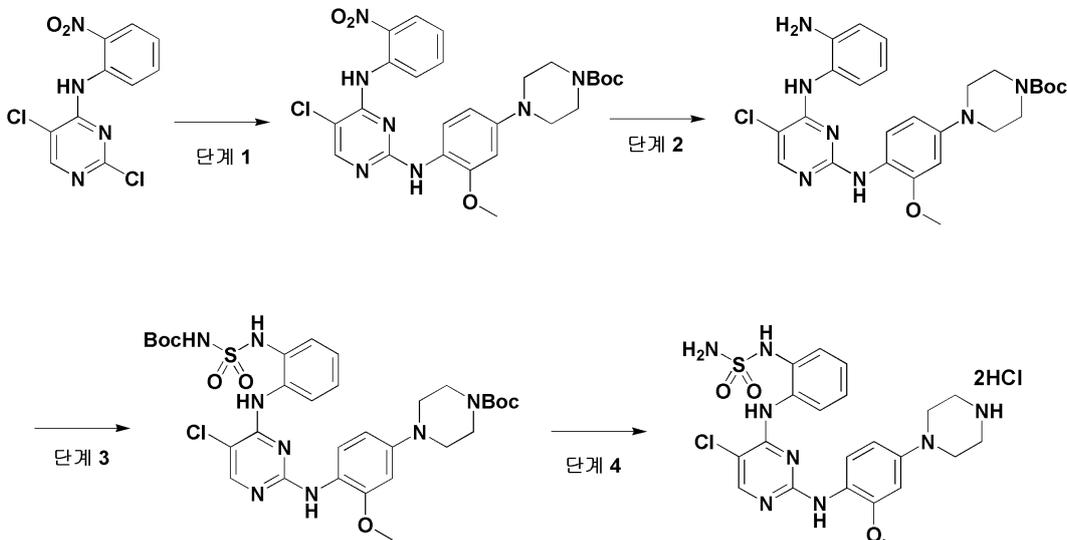
[0489] <실시예 28> N-(2-((5-클로로-2-((2-메톡시-4-(4-메틸피페라진-1-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설펜아마이드의 제조

[0490] 상기 실시예 1의 단계 2와 동일한 방법을 수행하여 N-(2-((5-클로로-2-((2-메톡시-4-(4-메틸피페라진-1-일)페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설펜아마이드 (15.0 mg, 19%)를 얻었다.

[0491] ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8.09 (s, 1 H), 7.78 (d, $J = 8.8$ Hz, 1 H), 7.74-7.68 (m, 1 H), 7.59-7.51 (m, 2 H), 7.38-7.32 (m, 2 H), 6.48 (d, $J = 2.5$ Hz, 1 H), 6.35-6.28 (m, 1 H), 3.85 (s, 3 H), 3.34-3.26 (m, 4 H), 3.02-2.86 (m, 7 H), 2.59 (s, 3 H); LC-MS calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{ClN}_7\text{O}_3\text{S}$ 517.17, found 515.9 ($\text{M} - \text{H}^+$)

[0493] 상기 반응예 19에 따라 실시예 29의 화합물을 제조하였다.

[0494] [반응예 19]



[0495]

[0496] <실시예 29> 4-(4-((5-클로로-4-((2-(설펜아미노)페닐)아미노)피리미딘-2-일)아미노)-3-메톡시페닐)피페라진의 제조

[0497] 단계 1: *tert*-부틸 4-(4-((5-클로로-4-((2-니트로페닐)아미노)피리미딘-2-일)아미노)-3-메톡시페닐)피페라진-1-카복실레이트의 제조

[0498] 상기 실시예 6의 단계 1과 동일한 방법을 수행하여 *tert*-부틸 4-(4-((5-클로로-4-((2-니트로페닐)아미노)피리미딘-2-일)아미노)-3-메톡시페닐)피페라진-1-카복실레이트 (1.35 g, 69%)를 얻었다.

[0499] ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 10.61 (s, 1 H), 8.95 (dd, $J = 8.7, 1.3$ Hz, 1 H), 8.26 (dd, $J = 8.5, 1.6$ Hz, 1 H), 8.19 (s, 1 H), 8.02 (d, $J = 8.7$ Hz, 1 H), 7.60 (td, $J = 8.6, 7.9, 1.6$ Hz, 1 H), 7.30 (s, 1 H),

7.16 (ddd, $J = 8.5, 7.2, 1.3$ Hz, 1 H), 6.56 (d, $J = 2.5$ Hz, 1 H), 6.50 (dd, $J = 8.7, 2.5$ Hz, 1 H), 3.89 (s, 3 H), 3.71-3.50 (m, 4 H), 3.12-3.08 (m, 4 H), 1.49 (s, 9H); LC-MS calcd for $C_{26}H_{30}ClN_7O_5$ 555.2, found 555.9 ($M + H^+$)

[0501] 단계 2: *tert*-부틸 4-(4-((4-((2-아미노페닐)아미노)-5-클로로피리미딘-2-일)아미노)-3-메톡시페닐)피페라진-1-카복실레이트의 제조

[0502] 상기 실시예 6의 단계 2와 동일한 방법을 수행하여 *tert*-부틸 4-(4-((4-((2-아미노페닐)아미노)-5-클로로피리미딘-2-일)아미노)-3-메톡시페닐)피페라진-1-카복실레이트 (900 mg, 70%)를 얻었다.

[0503] LC-MS calcd for $C_{26}H_{32}BrN_7O_3$ 525.2, found 526.0 ($M + H^+$)

[0505] 단계 3: *tert*-부틸 4-(4-((4-((2-((*N*-(*tert*-부톡시카보닐)설펜모일)아미노)페닐)아미노)-5-클로로피리미딘-2-일)아미노)-3-메톡시페닐)피페라진-1-카복실레이트의 제조

[0506] 상기 실시예 6의 단계 3과 동일한 방법을 수행하여 *tert*-부틸 4-(4-((5-클로로-4-((2-((*N*-(*tert*-부톡시카보닐)설펜모일)아미노)페닐)아미노)피리미딘-2-일)아미노)-3-메톡시페닐)피페라진-1-카복실레이트 (13.5 mg, 39%)를 얻었다.

[0507] 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 8.03-7.90 (m, 3H), 7.87 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.46-7.28 (m, 3H), 7.20 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 6.50 (s, 1H), 6.34 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 3.82 (s, 3H), 3.58 (t, $J = 5.0$ Hz, 4H), 3.04 (t, $J = 5.0$ Hz, 4H), 1.48 (s, 18H)

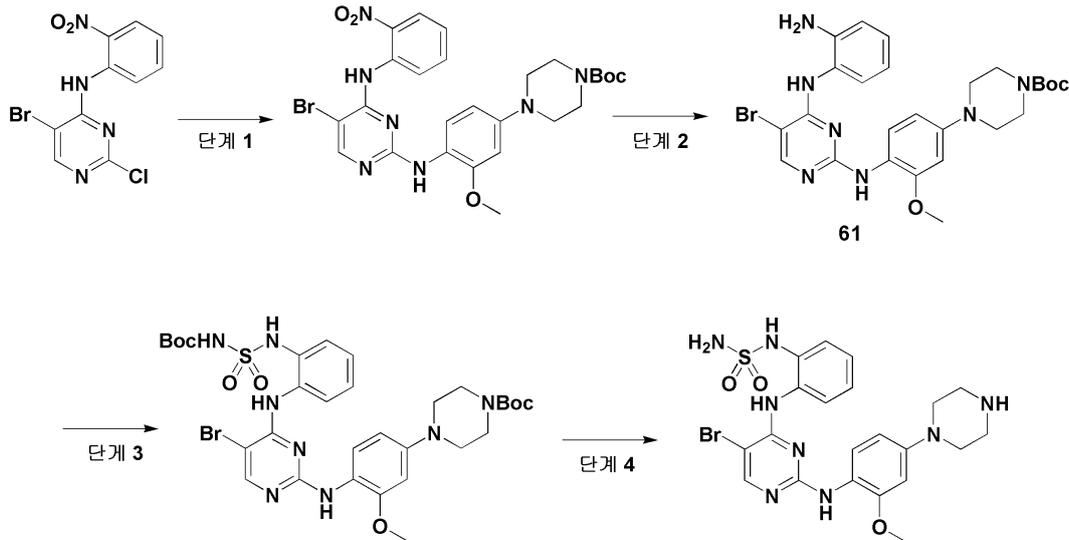
[0509] 단계 4: 4-(4-((5-클로로-4-((2-(설펜모일)아미노)페닐)아미노)피리미딘-2-일)아미노)-3-메톡시페닐)피페라진의 제조

[0510] 상기 실시예 6의 단계 4와 동일한 방법을 수행하여 4-(4-((5-클로로-4-((2-(설펜모일)아미노)페닐)아미노)피리미딘-2-일)아미노)-3-메톡시페닐)피페라진 (3.6mg, 정량적 수율)을 얻었다.

[0511] 1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 8.05 (s, 1 H), 7.93-7.81 (m, 1 H), 7.50 (dd, $J = 7.7, 1.9$ Hz, 1 H), 7.43-7.24 (m, 3 H), 6.73 (s, 1 H), 6.53 (d, $J = 8.7$ Hz, 1 H), 3.85 (s, 3 H), 3.43-3.40 (m, 8 H); LC-MS calcd for $C_{21}H_{25}ClN_8O_3S$ 504.2, found 504.8 ($M + H^+$)

[0513] 하기 반응예 20에 따라 실시예 30의 화합물을 제조하였다.

[0514] [반응예 20]



[0515]

[0517] <실시예 30> 4-(4-((5-브로모-4-((2-(설펜아미노)페닐)아미노)피리미딘-2-일)아미노)-3-메톡시페닐)피페라진-1-카복실레이트의 제조

[0518] 단계 1: *tert*-부틸 4-(4-((5-브로모-4-((2-니트로페닐)아미노)피리미딘-2-일)아미노)-3-메톡시페닐)피페라진-1-카복실레이트의 제조

[0519] 상기 실시예 6의 단계 1과 동일한 방법을 수행하여 *tert*-부틸 4-(4-((5-브로모-4-((2-니트로페닐)아미노)피리미딘-2-일)아미노)-3-메톡시페닐)피페라진-1-카복실레이트 (70 mg, 12%)를 얻었다.

[0520] ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 10.58 (s, 1 H), 8.86 (d, *J* = 8.8 Hz, 1 H), 8.30-8.25 (m, 2H), 8.04 (s, 1 H), 7.60 (t, *J* = 8.0 Hz, 1 H), 7.19 (t, *J* = 7.8 Hz, 1 H), 6.61 (s, 1H), 3.90 (s, 3 H), 3.69 (br s, 4 H), 3.16 (br s, 4 H), 1.52-1.44 (s, 9 H); LC-MS calcd for C₂₆H₃₀BrN₇O₅ 599.2, found 600.7 (M + H⁺)

[0522] 단계 2: *tert*-부틸 4-(4-((4-((2-아미노페닐)아미노)-5-브로모피리미딘-2-일)아미노)-3-메톡시페닐)피페라진-1-카복실레이트의 제조

[0523] 상기 실시예 6의 단계 2와 동일한 방법을 수행하여 *tert*-부틸 4-(4-((4-((2-아미노페닐)아미노)-5-브로모피리미딘-2-일)아미노)-3-메톡시페닐)피페라진-1-카복실레이트 (50mg, 74%)를 얻었다.

[0524] LC-MS calcd for C₂₆H₃₃BrN₇O₃ 569.2, found 569.8 (M + H⁺)

[0526] 단계 3: *tert*-부틸 4-(4-((5-브로모-4-((2-((*N*-(*tert*-부톡시카보닐)설펜아미노)페닐)아미노)피리미딘-2-일)아미노)-3-메톡시페닐)피페라진-1-카복실레이트의 제조

[0527] 상기 실시예 6의 단계 3과 동일한 방법을 수행하여 *tert*-부틸 4-(4-((5-브로모-4-((2-((*N*-(*tert*-부톡시카보닐)설펜아미노)페닐)아미노)피리미딘-2-일)아미노)-3-메톡시페닐)피페라진-1-카복실레이트 (20mg, 33%)를 얻었다.

[0528] ¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 8.07 (s, 1 H), 7.94 (d, *J* = 8.0 Hz, 1 H), 7.82 (s, 1 H), 7.66 (d, *J* = 8.7 Hz, 1 H), 7.38 (dd, *J* = 7.7, 1.5 Hz, 1 H), 7.31 (td, *J* = 7.8, 1.7 Hz, 1 H), 7.27-7.19 (m, 1 H), 6.62 (s, 1 H), 6.39 (s, 1 H), 3.84 (s, 3 H), 3.62-3.52 (m, 4 H), 3.09 (br s, 4H), 1.49 (s, 9 H), 1.48 (s, 9

H); LC-MS calcd for C₃₁H₄₁BrN₈O₇S 748.2, found 748.6 (M + H⁺)

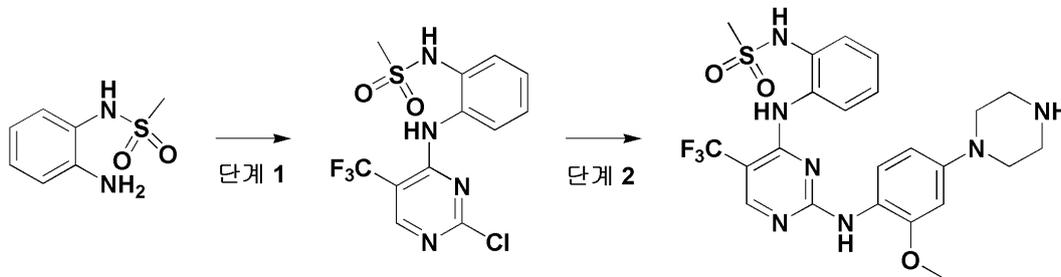
[0530] 단계 4: 4-(4-((5-브로모-4-((2-(설펜모일아미노)페닐)아미노)피리미딘-2-일)아미노)-3-메톡시페닐)피페라진의 제조

[0531] 상기 실시예 6의 단계 4와 동일한 방법을 수행하여 4-(4-((5-브로모-4-((2-(설펜모일아미노)페닐)아미노)피리미딘-2-일)아미노)-3-메톡시페닐)피페라진 (16.9 mg, 정량적 수율)을 얻었다.

[0532] ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 8.13 (s, 1 H), 7.90 (s, 1 H), 7.50 (dd, J = 7.7, 1.6 Hz, 1 H), 7.41-7.25 (m, 3 H), 6.74 (d, J = 2.5 Hz, 1 H), 6.55 (s, 1 H), 3.85 (s, 3 H), 3.45 (q, J = 4.1, 3.6 Hz, 4H), 3.39 (dd, J = 6.7, 3.3 Hz, 4H); LC-MS calcd for C₂₁H₂₅BrN₈O₃S 548.1, found 548.7 (M + H⁺)

[0534] 하기 반응예 21에 따라 실시예 31의 화합물을 제조하였다.

[0535] [반응예 21]



[0536]

[0537] <실시예 31> N-(2-((2-((2-메톡시-4-(피페라진-4-일)페닐)아미노)-5-(트리플루오로메틸)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설펜아마이드의 제조

[0538] 단계 1: N-(2-((2-클로로-5-(트리플루오로메틸)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설펜아마이드의 제조

[0539] 상기 실시예 1의 단계 1과 동일한 방법을 수행하여 N-(2-((2-클로로-5-(트리플루오로메틸)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설펜아마이드(199 mg, 18%)를 얻었다.

[0540] ¹H NMR(300 MHz, CDCl₃) δ 8.47(s, 1 H), 8.23(br s, 1 H), 7.92(d, J = 7.8 Hz, 1 H), 7.46-7.28(m, 3 H), 6.27(br s, 1 H), 3.05(s, 3 H); LC-MS calcd for C₁₂H₁₀ClF₃N₄O₂S 366.0, found 366.8 (M + H⁺)

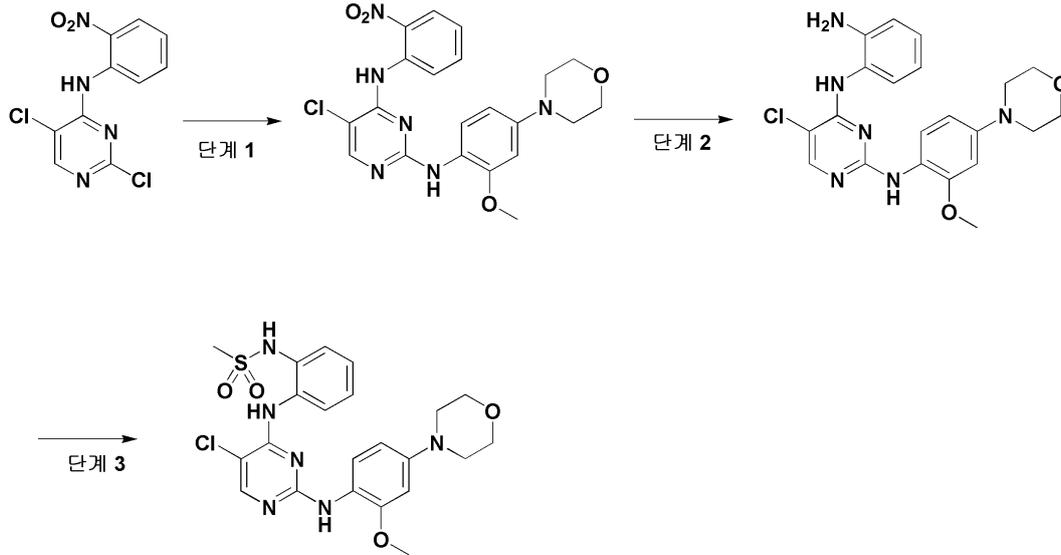
[0542] 단계 2: N-(2-((2-((2-메톡시-4-(피페라진-4-일)페닐)아미노)-5-(트리플루오로메틸)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설펜아마이드의 제조

[0543] 상기 실시예 1의 단계 2와 동일한 방법을 수행하여 N-(2-((2-((2-메톡시-4-(피페라진-4-일)페닐)아미노)-5-(트리플루오로메틸)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설펜아마이드 (54.2 mg, 65%)를 얻었다.

[0544] ¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 8.32 (br s, 1 H), 7.68 (br s, 1 H), 7.49 (dd, J = 7.4, 2.1 Hz, 1 H), 7.43-7.29 (m, 3 H), 6.69 (br s, 1 H), 6.39 (br s, 1 H), 3.85 (s, 3 H), 3.39 (br s, 8 H), 2.93 (s, 3 H); LC-MS calcd for C₂₃H₂₆F₃N₇O₃S 537.2, found 537.8 (M + H⁺)

[0546] 하기 반응예 22에 따라 실시예 32의 화합물을 제조하였다.

[0547] [반응예 22]



[0548]

[0549] <실시예 32> *N*-(2-((5-클로로-2-((2-메톡시-4-모폴리노페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드의 제조

[0550] 단계 1: 5-클로로-*N*²-(2-메톡시-4-모폴리노페닐)-*N*⁴-(2-니트로페닐)피리미딘-2,4-디아민의 제조

[0551] 상기 실시예 6의 단계 1과 동일한 방법을 수행하여 5-클로로-*N*²-(2-메톡시-4-모폴리노페닐)-*N*⁴-(2-니트로페닐)피리미딘-2,4-디아민 (125.2 mg, 39%)을 얻었다.

[0552] ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 11.08 (s, 1 H), 10.31 (s, 1 H), 8.52 (d, *J* = 7.9 Hz, 1 H), 8.28 (d, *J* = 8.1 Hz, 1 H), 8.10 (s, 1 H), 7.69 (d, *J* = 5.8 Hz, 1 H), 7.57-7.47 (m, 1 H), 7.33-7.30 (m, 1 H), 7.11 (s, 1 H), 6.86 (d, *J* = 7.1 Hz, 1 H), 4.12 (br s, 4 H), 3.87 (s, 3 H), 3.44 (br s, 4 H).

[0553] ; LC-MS calcd for C₂₁H₂₂ClN₆O₄ 457.1, found 456.9(M + H⁺)

[0555] 단계 2: *N*⁴-(2-아미노페닐)-5-클로로-*N*²-(2-메톡시-4-모폴리노페닐)피리미딘-2,4-디아민의 제조

[0556] 상기 실시예 6의 단계 2와 동일한 방법을 수행하여 *N*⁴-(2-아미노페닐)-5-클로로-*N*²-(2-메톡시-4-모폴리노페닐)피리미딘-2,4-디아민 (43.2 mg, 92%)을 얻었다. LC-MS calcd for C₂₁H₂₄ClN₆O₂ 427.2, found 426.9(M + H⁺)

[0558] 단계 3: *N*-(2-((5-클로로-2-((2-메톡시-4-모폴리노페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드의 제조

[0559] *N*⁴-(2-아미노페닐)-5-클로로-*N*²-(2-메톡시-4-모폴리노페닐)피리미딘-2,4-디아민 (43.2 mg, 0.10 mmol)의 디클로로메탄 (2 mL)에 0 °C에서 트리에틸아민 (50 μL, 0.40 mmol) 및 메탄설포닐 클로라이드 (30 μL, 0.30 mmol)를 첨가하였다. 상기 반응 혼합물을 상온에서 밤샘교반시켰다. 상기 혼합물을 감압농축하고, 잔여물을 플래시 컬럼 크로마토그래피(CH₂Cl₂/EtOAc, 5:1)로 정제하여 *N*-(2-((5-클로로-2-((2-메톡시-4-모폴리노페닐)아미노)피리미딘-4-일)아미노)페닐)메탄설포아마이드(16.1 mg, 회미한 노란색 고체)를 32% 수율로 얻었다.

[0560] ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.07 (s, 1 H), 7.77 (d, *J* = 8.8 Hz, 1 H), 7.70-7.67 (m, 1 H), 7.53-7.50 (m, 1 H), 7.45 (br s, 1 H), 7.34-7.30 (m, 2 H), 7.27 (br s, 1 H), 6.47 (sd, *J* = 2.5 Hz, 1 H), 6.30 (dd, *J* = 8.9, 2.5 Hz, 1 H), 3.88-3.85 (m, 4 H), 3.83 (s, 3 H), 3.10-3.07 (m, 4 H), 2.90 (s, 3 H); LC-MS calcd

for C₂₂H₂₆ClN₆O₄S 505.1, found 504.9 (M + H⁺)

[0562] 하기 표 1 내지 3에 실시예 1-32에서 제조한 화합물의 화학구조식을 정리하여 나타내었다.

표 1

[0563]

실시예	화학구조	실시예	화학구조
1		2	
3		4	
5		6	
7		8	
9		10	
11		12	

표 2

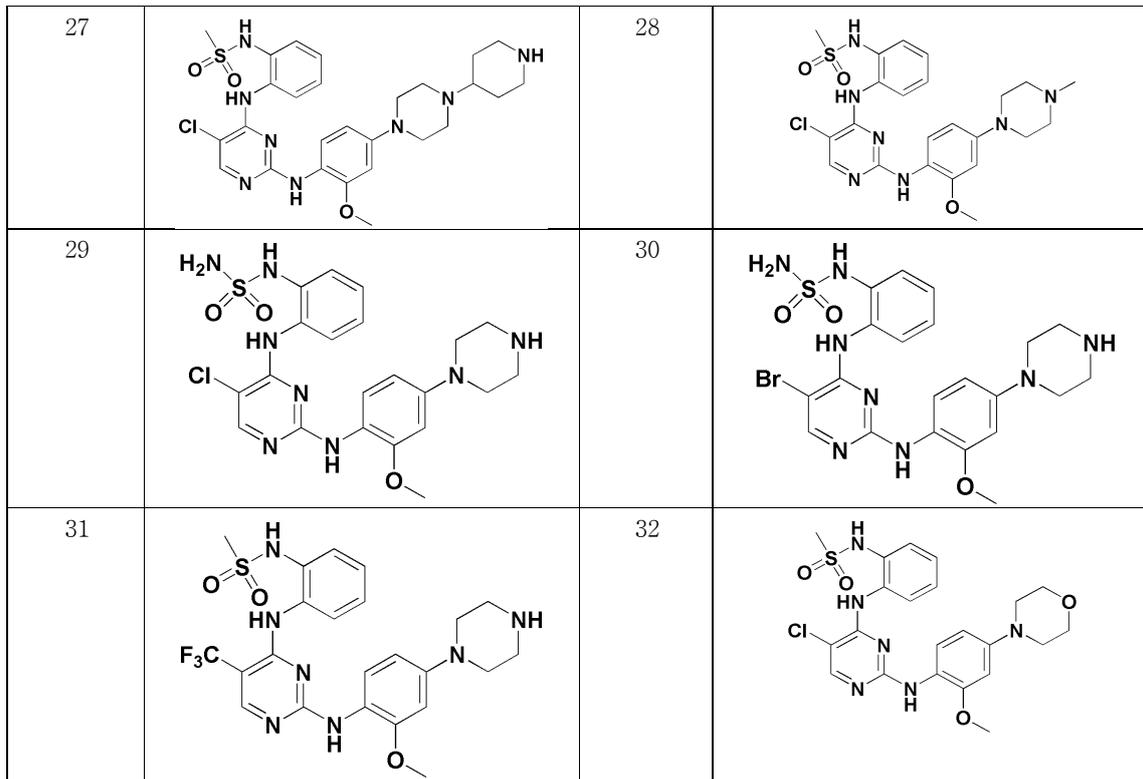
실시예	화학구조	실시예	화학구조
13		14	
15		16	
17		18	
19		20	
21		22	
23		24	

표 3

실시예	화학구조	실시예	화학구조
25		26	

[0565]

[0567]



[0569] <실험예 1> 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물(N2,N4-디페닐피리미딘-2,4-디아민 유도체)의 야생형 EGFR 및 EGFR 돌연변이에 대한 억제능 측정

[0570] 본 발명에 따른 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물의 야생형 EGFR 및 EGFR 돌연변이에 대한 억제능을 확인하기 위하여, 하기와 같은 실험을 수행하였다. 그 결과를 하기 표 4에 나타내었다.

[0572] 본 발명의 화합물에 대한 야생형 및 EGFR 돌연변이 효소에 대한 활성측정은 Cisbio사에서 판매하는 HTRF 시스템을 활용하여 다음과 같이 실험하였다. EGFR 야생형 및 EGFR del19, EGFR del19/T790M 돌연변이 효소는 Carina Biosciences에서 제공하는 재조합 단백질을 구매하여 사용하였고 EGFR del19/T790M/C797S 돌연변이 효소는 SignalChem사에서 제공하는 단백질을 구매하여 효소원으로 사용하였다.

[0573] 활성측정에 사용된 assay buffer의 조성은 50 mM Tris-HCl pH 7.5, 100 mM NaCl, 7.5 mM MgCl₂, 3 mM KCl, 0.01% Tween 20, 0.1% BSA, 1 mM DTT 이었다. 여기에 50 mM 농도의 ATP와 0.5 mM 농도의 biotin으로 표지된 펩타이드 기질을 사용하여 효소반응을 진행하였다. 화합물의 EGFR 활성억제효과 분석은 하기의 분석 반응 레시피에 따라 진행되었다.

[0575] Component 1: 4 ml의 EGFR 야생형 또는 돌연변이 효소

[0576] Component 2: 2 ml의 화합물 용액

[0577] Component 3: 4 ml ATP와 biotin 표지 펩타이드

[0579] 효소반응은 component 1과 component 2를 먼저 섞어준 후에 component 3을 첨가하여 시작한다. 37°C에서 2시간 반응 후에 Cisbio사에서 제공되는 streptavidin-XL665와 europium 표지된 anti-phosphotyrosine antibody로 이루어진 측정용액 10 ml를 효소반응 용액에 추가하고 1시간동안 상온에서 반응한다. 최종적으로 Perkin-Elmer사의 Envision 장비를 이용하여 615 nm와 665 nm에서의 형광 값의 비율을 구하여 효소활성을 정량적으로

로 측정하고 화합물의 억제능을 확인한다. 7가지 화합물 농도에서 측정된 측정값을 Prism 프로그램(버전 5.01, Graphpad Software, Inc.)을 사용하여 분석하고 화합물의 억제능 지표인 IC₅₀값을 산출하였다.

표 4

[0581]

실시예	EGFR wt. IC ₅₀ (μ M)	EGFR del19 IC ₅₀ (μ M)	EGFR del19/T790M IC ₅₀ (μ M)	EGFR del19/T790M/C797S IC ₅₀ (μ M)
1	2.1	0.020	0.016	0.015
2	0.73	0.012	0.012	0.003
3	0.84	0.018	0.005	0.002
4	nd	nd	nd	0.72
5	4.3	0.033	0.013	0.014
6	0.39	0.026	0.010	0.011
7	>10	0.079	0.038	0.002
8	nd	nd	nd	0.36
9	nd	nd	nd	0.093
10	0.43	0.0007	0.004	0.0002
11	nd	nd	nd	0.006
12	1.2	0.022	0.13	0.002
13	1.9	0.013	0.25	0.033
14	1.4	0.006	0.095	0.034
15	nd	nd	nd	0.33
16	5.4	0.044	0.34	0.023
17	0.6	0.004	0.078	0.012
18	0.97	0.013	0.092	0.03
19	0.7	0.0007	0.069	0.042
20	nd	nd	nd	0.3
21	0.16	0.0001	0.014	0.005
22	0.26	0.0004	0.031	0.0008
23	2.7	0.025	0.032	0.029
24	0.82	0.003	0.064	0.012
25	0.3	0.0002	0.018	0.009
26	nd	nd	nd	0.11
27	0.28	0.0003	0.021	0.001
28	0.64	0.0009	0.027	0.009
29	1.2	0.005	0.004	0.007
30	1.8	0.024	0.034	0.003
31	0.58	0.036	0.029	0.007
32	1.3	0.004	0.16	0.014

[0582]

상기 표 4에서 nd는 no data를 나타낸다.

[0584]

상기 표 4에 나타난 바와 같이, 본 발명의 모든 실시예 화합물이 야생형 EGFR에 대하여 상대적으로 약한 EGFR 활성억제효과를 나타내면서, EGFR 돌연변이에 대하여 선택적으로 높은 억제능을 나타내고, 특히, 삼중 돌연변이인 EGFR del19/T790M/C797S에 대하여 높은 억제능을 나타냄을 알 수 있다.

[0586]

<실험예 2> 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물(N2,N4-디페닐피리미딘-2,4-디아민 유도체)의 Ba/F3세포주에서의 야생형 Ba/F3 EGFR 및 Ba/F3 EGFR 돌연변이에 대한 억제능 측정

[0587]

본 발명에 따른 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물의 Ba/F3세포주에서의 야생형 Ba/F3 EGFR 및 Ba/F3 EGFR 돌연변이에 대한 억제능을 확인하기 위하여, 하기와 같은 실험을 수행하였다. 그 결과를 하기 표 5에 나타내었다.

[0589] 본 발명의 화합물에 대한 야생형 및 돌연변이 Ba/F3 EGFR 세포주에 대한 활성측정은 Promega사에서 판매하는 CellTiter-Glo 시스템을 활용하여 다음과 같이 실험하였다. CellTiter-Glo assay은 세포 배양 상태에서 세포에 존재하는 ATP를 측정하여 세포 viability를 확인하는 방법이다. Ba/F3 EGFR 야생형 및 Ba/F3 EGFR del19, Ba/F3 EGFR del19/T790M, Ba/F3 del19/T790M/C797S 돌연변이 세포주는 크라운 바이오사이언스사에서 제공하는 세포주를 구매하여 사용하였다. Ba/F3 EGFR 야생형 및 Ba/F3 EGFR del19, Ba/F3 EGFR del19/T790M, Ba/F3 del19/T790M/C797S 돌연변이 세포주는 10% FBS, 1% penicillin-streptomycin 이 들어있는 RPMI 에 puromycine 1ug 을 넣어 37℃, 5% CO₂ 인큐베이터에 배양 하였다.

[0590] 화합물의 EGFR 억제능 효과 분석은 하기의 분석 반응 레시피에 따라 진행되었다.

[0591] 2500 cells/ 90ul 을 96 well 세포배양 plate 에 계대하여 배양하고 24시간 후에 화학식 1로 표시되는 화합물을 0, 0.01, 0.03, 0.1, 0.3, 1, 3, 10 (μM) 로 처리하였다. 72시간 동안 반응 후 화합물을 처리한 plate 를 30 분 동안 상온에 방치 한 후 reagent 를 100 μl 더 처리 하고 10분 동안 상온에서 shaking 하였다. 최종적으로 장비를 이용하여 570nm 에서의 형광 값의 비율을 구하여 정량적으로 측정하고 화합물의 억제능을 확인한다. 8가지 화합물 농도에서 측정된 측정값을 Prism 프로그램(버전 5.01, Graphpad Software, Inc.)을 사용하여 분석하고 화합물의 억제능 지표인 IC₅₀값을 산출하였다.

표 5

실시예	Ba/F3 EGFR wt. IC ₅₀ (μM)	Ba/F3 EGFR del19 IC ₅₀ (μM)	Ba/F3 EGFR del19/T790M IC ₅₀ (μM)	Ba/F3 EGFR del19/T790M/C797S IC ₅₀ (μM)
11	0.34	0.0047	0.031	0.038

[0595] 상기 표 5에 나타난 바와 같이,

[0596] 본 발명에 따른 실시예 11 화합물은 Ba/F3세포주에서 야생형 EGFR에 대하여 상대적으로 약한 활성억제능을 나타내면서, 삼중 돌연변이인 EGFR del19/T790M/C797S를 포함한 EGFR 돌연변이에 대하여 선택적으로 높은 억제능을 나타냄을 알 수 있다.

[0598] 따라서, 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물은, EGFR 돌연변이에 대하여 높은 억제능을 나타내므로, EGFR del19, EGFR del19/T790M, EGFR del19/T790M/C797S, EGFR L858R, EGFR L858R/T790MS, EGFR L858R/T790M/C797S등의 EGFR 돌연변이가 발현된 암의 치료에 유용하게 사용될 수 있고, 특히, 삼중 돌연변이인 EGFR del19/T790M/C797S 또는 EGFR L858R/T790M/C797S에 대한 억제능이 현저히 우수한 바, EGFR del19/T790M/C797S 또는 EGFR L858R/T790M/C797S가 발현된 암의 치료에도 유용하게 사용될 수 있다.

[0600] <제제예 1> 산제의 제조

[0601] 화학식 1로 표시되는 유도체 2g

[0602] 유당 1g

[0603] 상기의 성분을 혼합하고 기밀포에 충전하여 산제를 제조하였다.

[0605] <제제예 2> 정제의 제조

[0606] 화학식 1로 표시되는 유도체 100 mg

- [0607] 옥수수전분 100 mg
- [0608] 유당 100 mg
- [0609] 스테아린산 마그네슘 2 mg
- [0610] 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조하였다.

[0612] <제제예 3> 캡슐제의 제조

- [0613] 화학식 1로 표시되는 유도체 100 mg
- [0614] 옥수수전분 100 mg
- [0615] 유당 100 mg
- [0616] 스테아린산 마그네슘 2 mg
- [0617] 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 캡슐제의 제조방법에 따라서 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조하였다.

[0619] <제제예 4> 주사제의 제조

- [0620] 화학식 1로 표시되는 유도체 100 mg
- [0621] 만니톨 180 mg
- [0622] $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 26 mg
- [0623] 증류수 2974 mg
- [0624] 통상적인 주사제의 제조방법에 따라, 상기 성분들을 제시된 함량으로 함유시켜 주사제를 제조하였다.

[0626] <제제예 5> 건강식품의 제조

- [0627] 화학식 1로 표시되는 유도체 500ng
- [0628] 비타민 혼합물 적량
- [0629] 비타민 A 아세테이트 70mg
- [0630] 비타민 E 1.0mg
- [0631] 비타민 0.13mg
- [0632] 비타민 B2 0.15mg
- [0633] 비타민 B6 0.5mg
- [0634] 비타민 B12 0.2mg
- [0635] 비타민 C 10mg
- [0636] 비오틴 10mg
- [0637] 니코틴산아미드 1.7mg
- [0638] 엽산 50mg
- [0639] 판토텐산 칼슘 0.5mg
- [0640] 무기질 혼합물 적량
- [0641] 황산제1철 1.75mg

[0642]	산화아연	0.82mg
[0643]	탄산마그네슘	25.3mg
[0644]	제1인산칼륨	15mg
[0645]	제2인산칼슘	55mg
[0646]	구연산칼륨	90mg
[0647]	탄산칼슘	100mg
[0648]	염화마그네슘	24.8mg

[0649] 상기의 비타민 및 미네랄 혼합물의 조성비는 비교적 건강식품에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하며, 통상의 건강식품 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 과립을 제조하고, 통상의 방법에 따라 건강식품 조성물 제조에 사용할 수 있다.

[0651] <제제예 6> 건강음료의 제조

[0652]	화학식 1로 표시되는 유도체	500ng
[0653]	구연산	1000mg
[0654]	올리고당	100g
[0655]	매실농축액	2g
[0656]	타우린	1g
[0657]	정제수를 가하여 전체	900ml

[0658] 통상의 건강 음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 약 1시간 동안 85℃에서 교반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관한 다음 건강 음료 조성물 제조에 사용하였다.

[0659] 상기 조성비는 비교적 기호 음료에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만 수요계층이나, 수요국가, 사용용도 등 지역적, 민족적 기호 도에 따라서 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.