



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0017959  
(43) 공개일자 2019년02월20일

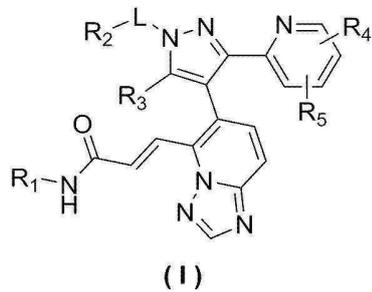
- |   |   |
|---|---|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)<br/>C07D 471/04 (2006.01) A61K 31/4155 (2006.01)<br/>A61K 31/4439 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)<br/>C07D 401/14 (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류<br/>C07D 471/04 (2013.01)<br/>A61K 31/4155 (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2019-7001025<br/>(22) 출원일자(국제) 2017년06월08일<br/>심사청구일자 없음<br/>(85) 번역문제출일자 2019년01월11일<br/>(86) 국제출원번호 PCT/CN2017/087546<br/>(87) 국제공개번호 WO 2017/215506<br/>국제공개일자 2017년12월21일<br/>(30) 우선권주장<br/>201610410554.8 2016년06월13일 중국(CN)</p> | <p>(71) 출원인<br/>젠플리트 테라퓨틱스 (상하이) 아이엔씨.<br/>중국 201203 상하이 푸둥 뉴 에리아 스위트 63 장<br/>홍 로드 1000<br/>메드샤인 디스커버리 아이엔씨.<br/>중국 지양수 272004, 난징, 가오신 디벨롭먼트<br/>디스트릭트, 넘버 9 가오신 로드, 룸 218</p> <p>(72) 발명자<br/>순 페이<br/>중국 상하이 200131 푸둥 뉴 에리아 푸테중 로드<br/>288<br/>우 리팡<br/>중국 상하이 200131 푸둥 뉴 에리아 푸테중 로드<br/>288<br/>(뒷면에 계속)<br/>(74) 대리인<br/>특허법인 플러스</p> |
|---|---|

전체 청구항 수 : 총 18 항

(54) 발명의 명칭 TGF-βRI 억제제인 벤조트리아졸에서 유도된 α, β-불포화 아미드계 화합물

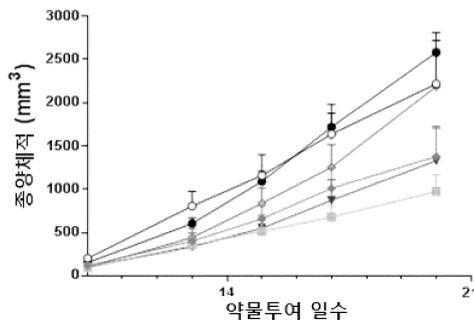
(57) 요약

본 발명은 TGF-βR1 억제제의 구조가 식(I)으로 표시되는 벤조트리아졸에 의해 유도된 α, β-불포화 아미드계 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 공개한다.



대표도 - 도2

- ◆ Vehicle, PO, BID x 3W, n=12
- ▲ 실시예1, 75 mg/kg, po, BID x 3W, n=12
- ◇ LY2157299, 75 mg/kg, po, BID x 3W, n=12
- BioXcell-mPD-L1, 10 mg/kg, ip, BIW x 3W, n=12
- 실시예1, 75 mg/kg, po, BID x 3W + BioXcell-mPD-L1, 10 mg/kg, ip, BIW x 3W, n=12
- ◊ LY2157299, 75 mg/kg, po, BID x 3W + BioXcell-mPD-L1, 10 mg/kg, ip, BIW x 3W, n=12



(52) CPC특허분류

*A61K 31/4439* (2013.01)

*A61P 35/00* (2018.01)

*C07D 401/14* (2013.01)

(72) 발명자

**딩 찰스 제트.**

중국 상하이 200131 푸둥 뉴 에리아 푸테중 로드  
288

**후 구오핑**

중국 상하이 200131 푸둥 뉴 에리아 푸테중 로드  
288

**리 지엔**

중국 상하이 200131 푸둥 뉴 에리아 푸테중 로드  
288

**첸 슈후이**

중국 상하이 200131 푸둥 뉴 에리아 푸테중 로드  
288

**루 지엔유**

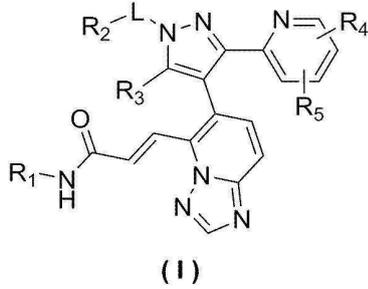
중국 상하이 200131 푸둥 뉴 에리아 푸테중 로드  
288

명세서

청구범위

청구항 1

식(I)으로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염:



상기 식(I)에서,

R<sub>1</sub>은 수소, 히드록시기 및 아미노기로부터 선택되거나, 선택적으로 1개, 2개 또는 3개의 R에 의해 치환되는 C<sub>1-3</sub>알킬기 및 C<sub>3-6</sub>시클로알킬기로부터 선택되고;

R<sub>2</sub>는 선택적으로 1개, 2개 또는 3개의 R에 의해 치환되는 C<sub>1-3</sub>알킬기, C<sub>3-6</sub>시클로알킬기 및 페닐기로부터 선택되며;

R<sub>3</sub>은 수소로부터 선택되거나, 선택적으로 1개, 2개 또는 3개의 R에 의해 치환되는 C<sub>1-3</sub>알킬기로부터 선택되고;

선택적으로, R<sub>2</sub>와 R<sub>3</sub>은 연결되어, 선택적으로 1개, 2개 또는 3개의 R에 의해 치환되는 하나의 5 내지 6원 고리를 형성하며;

R<sub>4</sub> 및 R<sub>5</sub>는 각각 독립적으로 수소 및 할로젠으로부터 선택되거나, 선택적으로 1개, 2개 또는 3개의 R에 의해 치환되는 C<sub>1-3</sub>알킬기 및 C<sub>1-3</sub>헤테로알킬기로부터 선택되고;

L은 단일 결합 및 -(CRR)<sub>1-3</sub>-로부터 선택되며;

R은 F, Cl, Br, I, CN, OH, NH<sub>2</sub> 및 COOH로부터 선택되거나, 선택적으로 1개, 2개 또는 3개의 R'에 의해 치환되는 C<sub>1-6</sub>알킬기, C<sub>1-6</sub>헤테로알킬기, C<sub>3-6</sub>시클로알킬기, 3 내지 6원 헤테로시클로알킬기, 페닐기 및 5 내지 6원 헤테로아릴기로부터 선택되고;

R'은 F, Cl, Br, I, OH, CN, NH<sub>2</sub>, COOH, Me, Et, CF<sub>3</sub>, CHF<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>F, NHCH<sub>3</sub> 및 N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>로부터 선택되며;

"헤테로"는 헤테로 원자 또는 헤테로 원자단을 표시하고, -C(=O)N(R)-, -N(R)-, -C(=NR)-, -S(=O)<sub>2</sub>N(R)-, -S(=O)N(R)-, -O-, -S-, =O, =S, -O-N=, -C(=O)O-, -C(=O)-, -C(=S)-, -S(=O)-, -S(=O)<sub>2</sub>- 및 -N(R)C(=O)N(R)-로부터 선택되고;

이상의 어느 하나의 경우, 헤테로 원자 또는 헤테로 원자단의 개수는 각각 독립적으로 1, 2 또는 3으로부터 선택된다.

청구항 2

제 1항에 있어서,

R은 F, Cl, Br, I, CN 및 OH로부터 선택되거나, 선택적으로 1개, 2개 또는 3개의 R'에 의해 치환되는 C<sub>1-6</sub>알킬기, C<sub>3-6</sub>시클로알킬기 및 페닐기로부터 선택되는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염.

**청구항 3**

제 2항에 있어서,

R은 F, Cl, Br, I, CN, OH, 메틸기, CHF<sub>2</sub>, 에틸기, 프로필기, 시클로프로필기 및 페닐기로부터 선택되는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염.

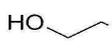
**청구항 4**

제 1항 내지 제 3항 중 어느 한 항에 있어서,

R<sub>1</sub>은 수소로부터 선택되거나, 선택적으로 1개, 2개 또는 3개의 R에 의해 치환되는 메틸기, 에틸기 및 로부터 선택되는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염.

**청구항 5**

제 4항에 있어서,

R<sub>1</sub>은 수소, 메틸기, 에틸기,  및 로부터 선택되는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염.

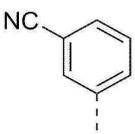
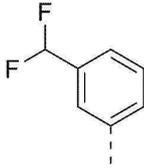
**청구항 6**

제 1항 내지 제 3항 중 어느 한 항에 있어서,

R<sub>2</sub>는 선택적으로 1개, 2개 또는 3개의 R에 의해 치환되는 메틸기, 에틸기, 이소프로필기, 시클로펜틸기 및 페닐기로부터 선택되는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염.

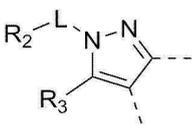
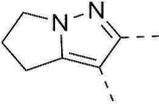
**청구항 7**

제 6항에 있어서,

R<sub>2</sub>는 메틸기, 에틸기, 이소프로필기, 시클로펜틸기,  및 로부터 선택되는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염.

**청구항 8**

제 1항 내지 제 3항 중 어느 한 항에 있어서,

R<sub>2</sub>와 R<sub>3</sub>은 연결되고, 구조 단위  는  인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염.

**청구항 9**

제 1항 내지 제 3항 중 어느 한 항에 있어서,

R<sub>4</sub> 및 R<sub>5</sub>는 각각 독립적으로 수소, F, Cl, Br, 메틸기 및 에틸기로부터 선택되는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염.





**청구항 17**

암을 치료하기 위한 약물 제조에서의 제 1항 내지 제 15항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 제 16항에 따른 약학 조성물의 용도.

**청구항 18**

제 17항에 있어서,

암은 유방암인 용도.

**발명의 설명**

**기술분야**

[0001] 본 발명은 TGF-βR1 억제제인 벤조트리아졸에서 유도된 α, β-불포화 아미드계 화합물에 관한 것으로, 구체적으로 식(I)으로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염에 관한 것이다.

**배경기술**

[0002] 전환성장인자-β (Transforming growth factor-β, TGF-β)는 하나의 다기능 성장인자 슈퍼패밀리이고, 광범위한 생물학적 활성을 구비하며, 조기배태 발육, 연골 및 뼈의 형성, 세포외 기질의 합성, 염증, 간질섬유증, 면역 및 내분비 기능의 조절, 종양의 형성과 발전에 관여한다.

[0003] TGF-β 슈퍼패밀리는 한가지 구조 및 기능에 관련되는 폴리펩티드 성장인자로 구성되고, TGF-βs(즉, 좁은 의미로는 TGF-β 입), 액티빈(axtivins), 인히빈(inhibins), 골형성단백(BMPs), 즉, 뮐러저해제(mullerian) 등을 포함하며, TGF-β는 해당 패밀리의 중요한 멤버 중의 하나이다. 포유동물에서 TGF-β는 주로 TGF-β1, TGF-β2 및 TGF-β3인 3가지 형태로 존재하는데, 이들은 상이한 염색체에 위치하고, 여기서 TGF-β1가 체세포에서 차지하는 비율이 제일 높으며(>90%), 이의 활성이 제일 강하고, 기능이 제일 많으며, 제일 광범위하게 분포된다. 새로 합성된 TGF-β는 무활성의 전구체 형태로 나타나고, 시그널 펩티드, 잠복기 관련 펩티드(Latency-associated peptide, LAP) 및 성숙된 TGF-β인 3개의 부분으로 구성되며, 효소 분해를 거친 후 활성을 구비하는 TGF-β를 형성한 다음, 이의 수용체와 결합하여 생물학적 효과를 발휘한다.

[0004] TGF-β 신호 분자는 막관통의 수용체 복합물을 통해 신호 전달을 진행한다. TGF-β 수용체는 세포 표면에 존재하는 막관통 단백질이며, I형 수용체(TGF-βRI), II형 수용체(TGF-βRII) 및 III형 수용체(TGF-βRIII)로 나뉘고, 여기서, TGF-β I는 액티빈 수용체 유사 키나아제 5(activin receptor-like kinase 5, ALK5)라고도 불리운다. TGF-βRIII는 내재적 활성이 결핍한데, 주로 TGF-β의 저장과 관여한다. TGF-βRI와 TGF-βRII는 세린/트레오닌 키나아제 패밀리에 속하고, II형 수용체는 비교적 높은 친화력으로 TGF-β 리간드와 결합되며, I형 수용체와 함께 이종 수용체 복합체를 형성하고, I형 수용체 막근접의 부분에 글리신, 세린 잔기를 대량으로 함유하는 도메인(GS 도메인)을 인산화시켜 세포내 신호 캐스케이드(cascade) 반응을 일으키도록 한다.

[0005] Smads는 세포내 중요한 TGF-β 신호 전달과 조절 분자이고, TGF-β 신호를 직접 세포막으로부터 예컨대 세포핵 내로 직접 전달하며, TGF-β/Smads 신호 경로는 종양의 발생과 발전에서 중요한 작용을 일으킨다. TGF-β/Smads 신호 전달 과정에서, 활성화된 TGF-β는 먼저 세포막 표면의 TGF-βRII과 결합하여 이종 이합체 복합체를 형성하고, TGF-βRI는 해당 이원 복합체를 식별하고 결합시킨다.

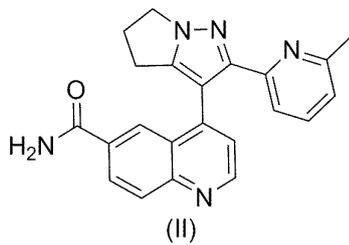
[0006] TGF-βRII는 TGF-βRI 시토솔(cytosol) 도메인 GS 도메인의 세린/트레오닌을 인산화시켜 TGF-βRI를 활성화시키고, 활성화된 TGF-βRI는 R-Smads(Smad2/Smad3) 단백질을 더 활성화시키며, 후자는 Co-Smad(Smad4)와 다시 결합하여 이종 삼량체 복합체를 형성하고, 이러한 복합체는 세포핵 내에 들어가 다른 보조 활성인자(co-activator)와 보조 억제인자(co-inhibitor)와 함께 작용하며, 타겟 유전자의 전사를 조절한다. TGF-β/Smads 신호 전달경로에서 임의의 하나의 부분이 개변되면, 신호 전달 경로에 이상이 발생하게 된다.

[0007] 현재의 연구는, 종양 세포에서, TGF-β는 종양의 성장(TGF-β 신호의 비고유성 영향)에 직접적으로 영향줄 수 있거나, 상피-중간엽 전이를 유도하고 항종양 면역 응답을 차단하며 종양 관련 섬유화를 증가시키고 혈관 재생을 강화시켜 종양 성장(TGF-β의 고유성 영향)에 간접적으로 영향 줄 수 있음을 표명한다. 아울러, TGF-β는 아주 강한 섬유화 유도 작용을 구비하는데, 이는 종양 관련 섬유모세포의 활성화제이다. 이러한 섬유모세포는 I형 콜라겐과 다른 섬유화 인자의 주요한 공급원이다. 섬유모세포와 다른 섬유화 인자의 유도 산물은 하나의 미소

서식 환경을 계속하여 만들어낼 수 있고, 이러한 환경은 면역 응답을 감소시키며 약물 내성을 증가시키고 종양 혈관 생성을 강화시키는 이외에, 개체 발육과 종양 성장 과정에서, TGF-β는 혈관 재생에 영향준다. 예를 들어, TGF-βRI형 결핍의 마우스 배태에 엄중한 혈관 발육 결핍이 나타나면, TGF-β 신호 경로가 혈관 내피 및 평활근 세포 발육에서의 관건적인 조절인자인 것을 증명한다.

[0008] 2013년에 FDA는 미국 일라이 릴리(Eli Lilly) 회사의 소분자 TGF-βRI 억제제인 LY2157299(WO2002/094833)를 허가하여 신경교종과 간암 치료에 사용하도록 하였다. LY2157299는 연구중의 고약이었고, 명칭은 Galunisertib이다. Galunisertib는 종양 세포의 침습과 전이를 억제할 수 있는 동시에, 종양 세포가 혈관내로 침투되는 것을 억제할 수 있다. 간암을 치료받는 환자의 2기 임상 실험에서, Galunisertib 치료를 거친 후 약 23%의 환자의 혈청에서 알파태아단백(α-fetoprotein, AFP)의 수준이 20% 이상 감소되었다. 이런 환자들은 AFP 응답 반응이 없는 환자들에 비해 종양 발전이 비교적 느리고 생존 기간이 더 길며, 이런 환자들 체내에서도 상피 세포 카드헤린(cadherin)의 발현이 증가되었음을 발견하였는데, 이는 Galunisertib가 TGF-β 신호 경로를 억제하여 EMT를 조절함으로써 간암의 발전을 억제할 수 있음을 설명하였다.

[0009] Galunisertib(LY2157299)의 구조는 식(II)으로 표시된다.



[0010]

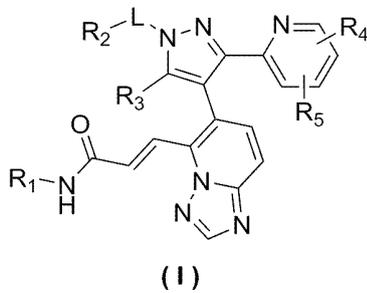
[0011] 배경 연구 개발 자료는 하기와 같은 문헌을 참조한다.

[0012]

WO2009/009059; WO2007/076127; WO2004/026306; WO2004/072033; WO2002/094833.

**발명의 내용**

[0013] 본 발명은 식(I)으로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 제공하고,



[0014]

[0015] 상기 식(I)에서,

[0016]

R<sub>1</sub>은 수소, 히드록시기 및 아미노기로부터 선택되거나, 선택적으로 1개, 2개 또는 3개의 R에 의해 치환되는 C<sub>1-3</sub>알킬기 및 C<sub>3-6</sub>시클로알킬기로부터 선택되고;

[0017]

R<sub>2</sub>는 선택적으로 1개, 2개 또는 3개의 R에 의해 치환되는 C<sub>1-3</sub>알킬기, C<sub>3-6</sub>시클로알킬기 및 페닐기로부터 선택되며;

[0018]

R<sub>3</sub>은 수소로부터 선택되거나, 선택적으로 1개, 2개 또는 3개의 R에 의해 치환되는 C<sub>1-3</sub>알킬기로부터 선택되고;

[0019]

선택적으로, R<sub>2</sub>와 R<sub>3</sub>은 연결되어, 선택적으로 1개, 2개 또는 3개의 R에 의해 치환되는 하나의 5~6원 고리를 형성하며;

[0020]

R<sub>4</sub> 및 R<sub>5</sub>는 각각 독립적으로 수소 및 할로젠으로부터 선택되거나, 선택적으로 1개, 2개 또는 3개의 R에 의해 치환되는 C<sub>1-3</sub>알킬기 및 C<sub>1-3</sub>헤테로알킬기로부터 선택되고;

[0021] L은 단일 결합 및  $-(CRR)_{1-3}-$ 로부터 선택되며;

[0022] R은 F, Cl, Br, I, CN, OH, NH<sub>2</sub> 및 COOH로부터 선택되거나, 선택적으로 1개, 2개 또는 3개의 R'에 의해 치환되는 C<sub>1-6</sub>알킬기, C<sub>1-6</sub>헤테로알킬기, C<sub>3-6</sub>시클로알킬기, 3 ~ 6원 헤테로시클로알킬기, 페닐기 및 5 ~ 6원 헤테로아릴기로부터 선택되고;

[0023] R'은 F, Cl, Br, I, OH, CN, NH<sub>2</sub>, COOH, Me, Et, CF<sub>3</sub>, CHF<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>F, NHCH<sub>3</sub> 및 N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>로부터 선택되며;

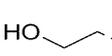
[0024] "헤테로"는 헤테로 원자 또는 헤테로 원자단을 표시하고,  $-C(=O)N(R)-$ ,  $-N(R)-$ ,  $-C(=NR)-$ ,  $-S(=O)_2N(R)-$ ,  $-S(=O)N(R)-$ ,  $-O-$ ,  $-S-$ ,  $=O$ ,  $=S$ ,  $-O-N=$ ,  $-C(=O)O-$ ,  $-C(=O)-$ ,  $-C(=S)-$ ,  $-S(=O)-$ ,  $-S(=O)_2-$  및  $-N(R)C(=O)N(R)-$ 로부터 선택되고;

[0025] 이상의 어느 하나의 경우, 헤테로 원자 또는 헤테로 원자단의 개수는 각각 독립적으로 1, 2 또는 3으로부터 선택된다.

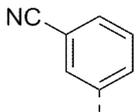
[0026] 본 발명의 일부 실시양태에서, 상기 R은 F, Cl, Br, I, CN 및 OH로부터 선택되거나, 선택적으로 1개, 2개 또는 3개의 R'에 의해 치환되는 C<sub>1-6</sub>알킬기, C<sub>3-6</sub>시클로알킬기 및 페닐기로부터 선택된다.

[0027] 본 발명의 일부 실시양태에서, 상기 R은 F, Cl, Br, I, CN, OH, 메틸기, CHF<sub>2</sub>, 에틸기, 프로필기, 시클로프로필기 및 페닐기로부터 선택된다.

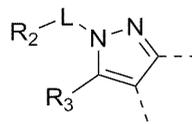
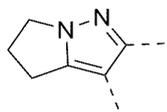
[0028] 본 발명의 일부 실시양태에서, 상기 R<sub>1</sub>은 수소로부터 선택되거나, 선택적으로 1개, 2개 또는 3개의 R에 의해 치환되는 메틸기, 에틸기 및 로부터 선택된다.

[0029] 본 발명의 일부 실시양태에서, 상기 R<sub>1</sub>은 수소, 메틸기, 에틸기,  및 로부터 선택된다.

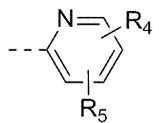
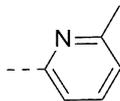
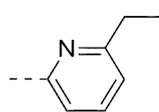
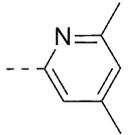
[0030] 본 발명의 일부 실시양태에서, 상기 R<sub>2</sub>는 선택적으로 1개, 2개 또는 3개의 R에 의해 치환되는 메틸기, 에틸기, 이소프로필기, 시클로펜틸기 및 페닐기로부터 선택된다.

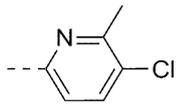
[0031] 본 발명의 일부 실시양태에서, 상기 R<sub>2</sub>는 메틸기, 에틸기, 이소프로필기, 시클로펜틸기,  및

로부터 선택된다.

[0032] 본 발명의 일부 실시양태에서, 상기 R<sub>2</sub>와 R<sub>3</sub>은 연결되고, 구조 단위  는  이다.

[0033] 본 발명의 일부 실시양태에서, 상기 R<sub>4</sub> 및 R<sub>5</sub>는 각각 독립적으로 수소, F, Cl, Br, 메틸기 및 에틸기로부터 선택된다.

[0034] 본 발명의 일부 실시양태에서, 상기 구조 단위  는 , ,  및



로부터 선택된다.

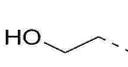
[0035] 본 발명의 일부 실시양태에서, 상기 L은 단일 결합 및  $-(CH_2)_{1-3}-$ 로부터 선택된다.

[0036] 본 발명의 일부 실시양태에서, 상기 L은 단일 결합,  $-CH_2-$  및  $-CH_2CH_2-$ 로부터 선택된다.

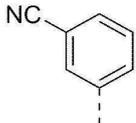
[0037] 본 발명의 일부 실시양태에서, 상기 R은 F, Cl, Br, I, CN 및 OH로부터 선택되거나, 선택적으로 1개, 2개 또는 3개의 R'에 의해 치환되는  $C_{1-6}$ 알킬기,  $C_{3-6}$ 시클로알킬기 및 페닐기로부터 선택되고, 다른 변수는 위에서 정의된 바와 같다.

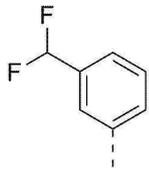
[0038] 본 발명의 일부 실시양태에서, 상기 R은 F, Cl, Br, I, CN, OH, 메틸기,  $CHF_2$ , 에틸기, 프로필기, 시클로프로필기 및 페닐기로부터 선택되고, 다른 변수는 위에서 정의된 바와 같다.

[0039] 본 발명의 일부 실시양태에서, 상기  $R_1$ 은 수소로부터 선택되거나, 선택적으로 1개, 2개 또는 3개의 R에 의해 치환되는 메틸기, 에틸기 및 로부터 선택되고, 다른 변수는 위에서 정의된 바와 같다.

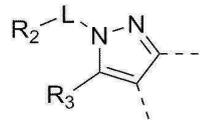
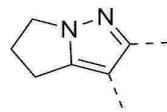
[0040] 본 발명의 일부 실시양태에서, 상기  $R_1$ 은 수소, 메틸기, 에틸기,  및 로부터 선택되고, 다른 변수는 위에서 정의된 바와 같다.

[0041] 본 발명의 일부 실시양태에서, 상기  $R_2$ 는 선택적으로 1개, 2개 또는 3개의 R에 의해 치환되는 메틸기, 에틸기, 이소프로필기, 시클로펜틸기 및 페닐기로부터 선택되고, 다른 변수는 위에서 정의된 바와 같다.

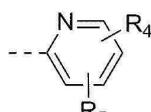
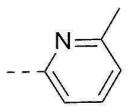
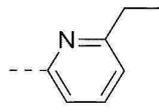
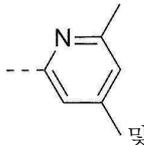
[0042] 본 발명의 일부 실시양태에서, 상기  $R_2$ 는 메틸기, 에틸기, 이소프로필기, 시클로펜틸기,  및

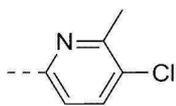


로부터 선택되고, 다른 변수는 위에서 정의된 바와 같다.

[0043] 본 발명의 일부 실시양태에서, 상기  $R_2$ 와  $R_3$ 은 연결되고, 구조 단위  는  이며, 다른 변수는 위에서 정의된 바와 같다.

[0044] 본 발명의 일부 실시양태에서, 상기  $R_4$  및  $R_5$ 는 각각 독립적으로 수소, F, Cl, Br, 메틸기 및 에틸기로부터 선택되고, 다른 변수는 위에서 정의된 바와 같다.

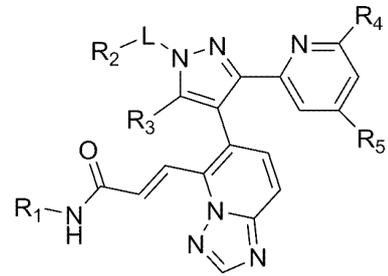
[0045] 본 발명의 일부 실시양태에서, 상기 구조 단위  는 , ,  및



로부터 선택되고, 다른 변수는 위에서 정의된 바와 같다.

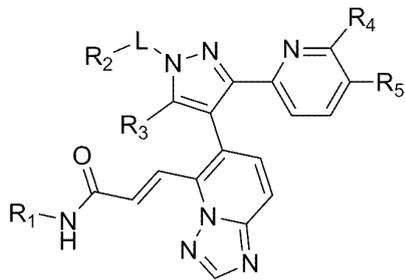
[0046] 본 발명의 일부 실시양태에서, 상기 L은 단일 결합 및  $-(CH_2)_{1-3}-$ 로부터 선택되고, 다른 변수는 위에서 정의된 바와 같다.

[0047] 본 발명의 일부 실시양태에서, 상기 L은 단일 결합,  $-CH_2-$  및  $-CH_2CH_2-$ 로부터 선택되고, 다른 변수는 위에서 정의된 바와 같다.



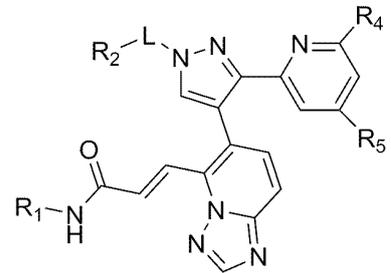
(I-1)

[0048] 본 발명의 일부 실시양태에서, 상기 화합물은



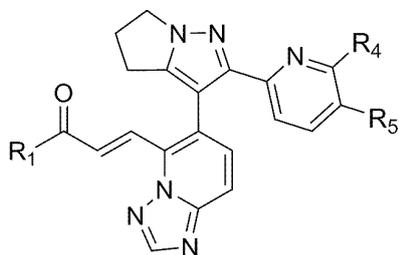
(I-2)

로부터 선택되고, 여기서,  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$ ,  $R_5$ , L은 위에서 정의된 바와 같으며,  $R_4$ 와  $R_5$ 가 동시에 H가 아니다.

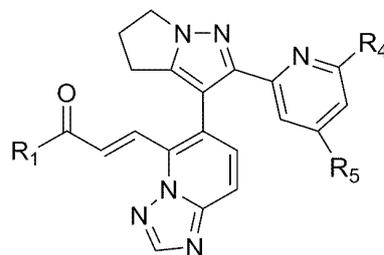


(I-a)

[0049] 본 발명의 일부 실시양태에서, 상기 화합물은



(I-b)



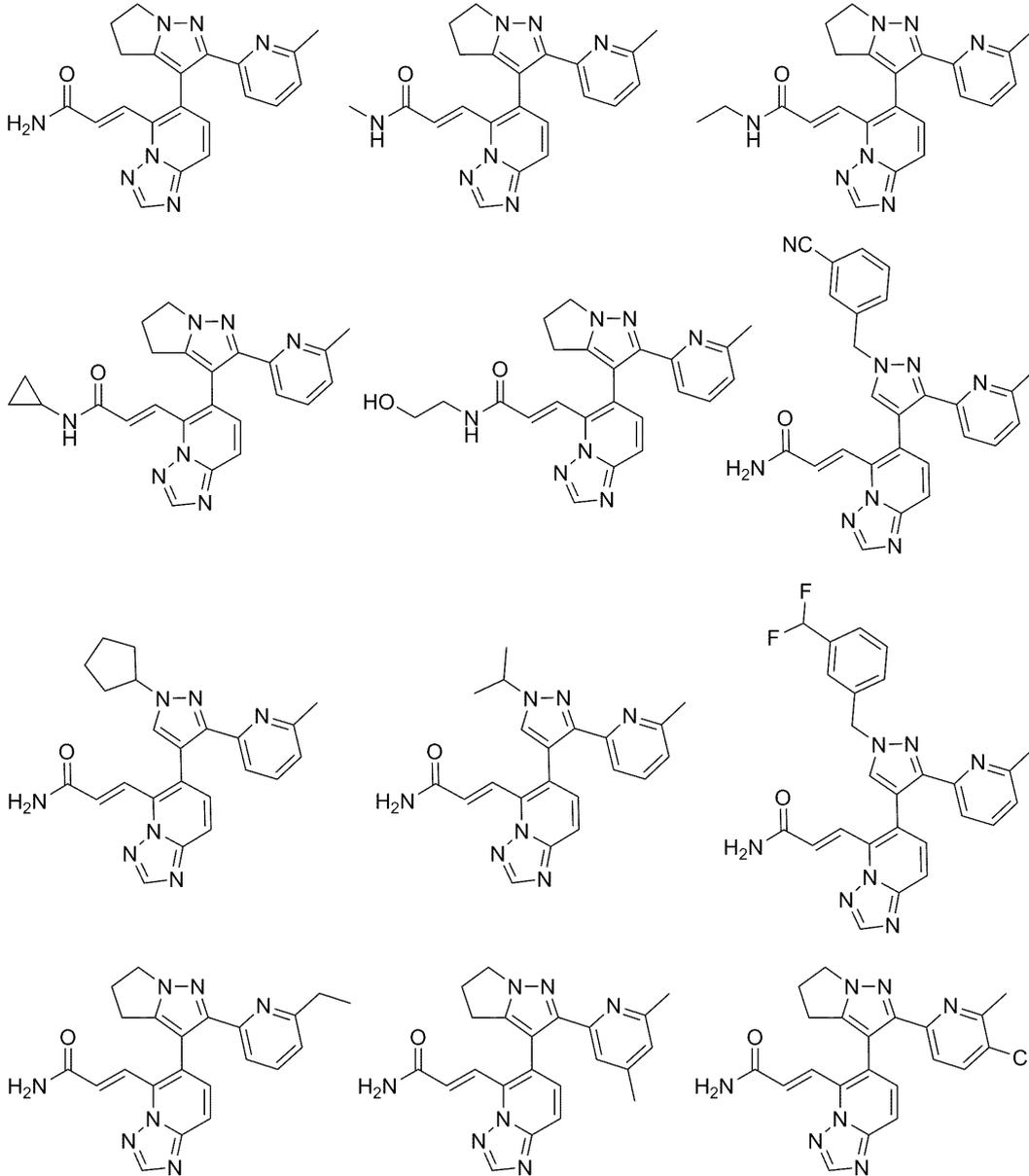
(I-c)

및

로부터 선택되고,

[0050] 여기서,  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_4$ ,  $R_5$ , L은 위에서 정의된 바와 같으며,  $R_4$ 와  $R_5$ 가 동시에 H가 아니다.

[0051] 본 발명은 하기 그룹으로부터 선택되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 더 제공한다.



[0052]

[0053] 본 발명은 치료 유효량의 상기 청구항에 따른 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학 조성물을 더 제공한다.

[0054] 본 발명은 암을 치료하기 위한 약물 제조에서의 상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 상기 약학 조성물의 응용을 더 제공한다.

[0055] 본 발명의 일부 실시양태에서, 상기 암은 유방암이다.

[0056] 본 발명의 다른 일부 실시양태는 상기 변수의 임의의 조합으로 실현된다.

[0057] 기술적 효과

[0058] 본 발명의 화합물의 용도는 주로 TGF-beta R1의 억제제로서, TGF-R1에 대한 억제를 통해 TGF-beta에 다운스트림 경로를 차단함으로써, 희망하는 약리적 작용을 발휘하는 것이다. 선행기술과 상이한 점은, 본 발명의 화합물에서 벤조트리아졸의 구조는 TGF-beta R1과 결합하는 중요한 약물특이분자단인 것이다. 예기치 못한 점은, 본 발명의 화합물의 화학 구조의 조합이 선행기술보다 더 우수한 생물적 활성을 가져다준다는 것이다. 동일한 투여량 하에서, 마우스의 CT-26 Syngeneic 모델에서, 본 발명의 화합물 단일요법 및 PDL-1와의 병용투여 종양 억제 효과에 대해 모두 선행기술보다 우수하고, 마우스4T1 동소성 이식 항전이성 유방암모델에 있어서, 본 발명의 화합물은 선행기술에 비해 현저히 우수한 항전이 능력을 구비한다. 본 발명의 화합물은 종양이 많은 조직기관에서의

전이와 전이의 강도에 대해 모두 현저한 억제 작용을 구비하고, 이를 치료 약물로 사용하는 것은 거대한 잠재력을 나타낸다. 본 발명의 화합물은 유방암 전이 억제제로서 아주 전망이 좋고, 유방암의 병용 요법에서 중요한 전이 억제 작용을 일으키며, 임상 유방암의 치료를 위해 잠재적인 새로운 치료 전략을 제공한다.

[0059] 정의 및 설명

[0060] 다른 설명이 없으면, 본문에서 사용되는 하기 용어 및 문구는 하기 함의를 포함함을 의미한다. 하나의 특정된 용어 또는 문구는 특별히 정의되지 않는 상황 하에 불정확하거나 불명확한 것으로 이해되어서는 아니되고, 통상의 함의로 이해해야 한다. 본문에서 상품명이나 나타날 경우, 이에 대응되는 상품 또는 이의 활성 성분을 대신 지칭하는 것이다. 여기서 사용되는 용어 "약학적으로 허용 가능한"은 그러한 화합물, 재료, 조성물 및/또는 제형에 있어서, 이들이 신뢰되는 약학에서 판단되는 범위 내에서 인간과 동물의 조직 접촉에 사용되는 것이고, 과도한 독성, 자극성, 과민성 반응 또는 다른 문제 또는 합병증이 없으며, 합리적인 이익/위험 비율을 의미한다.

[0061] 용어 "약학적으로 허용 가능한 염"은 본 발명의 화합물의 염을 의미하고, 본 발명이 발견한 특정 치환기를 구비하는 화합물과 상대적으로 독성이 없는 산 또는 염기로 제조된다. 본 발명의 화합물에 상대적으로 산성인 관능기가 포함될 경우, 순수한 용액 또는 적합한 불활성 용매에서 충족한 양의 염기와 이러한 유형의 화합물이 중성 형태로 접촉시키는 방식을 통해 염기 부가염을 획득할 수 있다. 약학적으로 허용 가능한 염기 부가염은 나트륨, 칼륨, 칼슘, 암모늄, 유기 암모니아 또는 마그네슘염 또는 유사한 염을 포함한다. 본 발명의 화합물에 상대적으로 염기성인 관능기가 포함될 경우, 순수한 용액 또는 적합한 불활성 용매에서 충족한 양의 산과 이러한 유형의 화합물이 중성 형태로 접촉시키는 방식을 통해 산 부가염을 획득할 수 있다. 약학적으로 허용 가능한 산 부가염의 구현에는 무기산염 및 유기산염을 포함하고, 상기 무기산염은 예컨대 염산, 브롬화수소산(Hydrobromic acid), 질산(Nitric acid), 탄산(Carbonic acid), 중탄산기(bicarbonate group), 인산(Phosphoric acid), 인산 일수소기(Monohydrogen phosphate), 인산 이수소기(Dihydrogen phosphate group), 황산(sulfuric acid), 황산 수소기(Hydrogen sulfate group), 요오드화수소산(Hydroiodic acid), 아인산염(phosphoric acid) 등을 포함하고; 유기산염은 아세트산(Acetic acid), 프로피온산(Propionic acid), 이소부티르산(Isobutyric acid), 말레산(Maleic acid), 말론산(malonic acid), 벤조산(benzoic acid), 숙신산(Succinic acid), 수베린산(Suberic acid), 푸마르산(fumaric acid), 락트산(Lactic acid), 만델린산(Mandelic acid), 프탈산(phthalic acid), 벤젠술폰산(Benzenesulfonic acid), p-톨루엔술폰산(p-Toluenesulfonic acid), 구연산(Citric acid), 타르타르산(tartaric acid) 및 메탄술폰산(Methanesulfonic acid) 등 유사한 산을 포함하며; 아미노산(예를 들어 아르기닌 등)의 염, 및 글루쿠론산(Glucuronic acid)과 같은 유기산의 염을 더 포함한다(Berge et al., "Pharmaceutical Salts", Journal of Pharmaceutical Science 66: 1-19 (1977)를 참조). 본 발명의 일부 특정 화합물은 염기성과 산성 관능기를 포함하여 어느 하나의 염기 또는 산 부가염으로 전환될 수 있다.

[0062] 바람직하게는, 통상적인 방식으로 염과 염기 또는 산을 접촉시키는 것으로 모체 화합물을 다시 분리시켜 화합물의 중성 형식을 재생시킨다. 화합물의 모체 형식과 이의 여러가지 염의 형식의 상이한 점은 극성 용매에서의 용해도의 차이와 같은 일부 물리적 성질에 있다.

[0063] 본문에서 사용된 "약학적으로 허용 가능한 염"은 산 부가염 또는 염기 부가염의 방식으로 상기 모체 화합물을 수식하는 본 발명 화합물의 유도체에 속한다. 약학적으로 허용 가능한 염의 구현예로 아민과 같은 염기성기의 무기산 또는 유기산염, 카르복실산(carboxylic acid)과 같은 산기의 알칼리금속 또는 유기염 등을 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 약학적으로 허용 가능한 염으로 무독성의 무기산 또는 유기산으로 형성된 염과 같은 통상적인 무독성의 염 또는 모체 화합물의 4급암모늄염(Quaternary ammonium salt)을 포함한다. 통상적인 무독성의 염은 무기산 및 유기산으로 유도된 염을 포함하지만 이에 한정되지 않으며, 상기 무기산 또는 유기산은 2-아세톡시벤조산(2-acetoxybenzoic acid), 2-히드록시에탄술폰산(2-hydroxyethanesulfonic acid), 아세트산, 아스코르빈산(ascorbic acid), 벤젠술폰산, 벤조산, 탄산수소 이온, 탄산, 구연산, 에데트산(Edetic Acid), 에탄디술폰산(Ethane disulfonic acid), 에탄술폰산(Ethanesulfonic acid), 푸마르산(Fumaric acid), 글루코헵토스(glucoheptose), 글루콘산(Gluconic acid), 글루타민산(Glutamic acid), 글리콜산(glycollic acid), 브롬화수소산, 염산, 요오드화수소산염(hydriodate), 히드록시기(Hydroxyl group), 히드록시나프탈렌(Hydroxynaphthalene), 이세티온산(isethionic acid), 락트산, 유당, 도데실술폰산(Dodecyl sulfonic acid), 말레산, 말산(Malic acid), 만델린산, 메탄술폰산(Methanesulfonic acid), 질산, 옥살산(oxalic acid), 팜산(pamoic acid), 판토텐산(pantothenic acid), 페닐아세트산(Phenylacetic acid), 인산, 폴리갈락토스알데히드(Polygalactosaldehyde), 프로피온산, 살리실산(Salicylic acid), 스테아린산(Stearic acid), 엽산칼슘(Calcium Folate), 숙신산, 술파민산(Sulfamic acid), P-아미노벤젠술폰산(P-aminobenzenesulfonic acid),

황산, 탄닌(Tannin), 타르타르산 및 p-톨루엔술폰산으로부터 선택된다.

- [0064] 본 발명의 약학적으로 허용 가능한 염은 산기 또는 염기를 함유한 모체 화합물로 통상적인 화학적 방법으로 합성할 수 있다. 일반적인 경우, 이러한 염의 제조 방법은, 물 또는 유기 용매 또는 양자의 혼합물에서 유리산 또는 염기 형식의 이러한 화합물을 화학적 계량된 적절한 염기 또는 산과 반응시켜 제조한다. 일반적으로, 바람직하게는 에테르(Ether), 에틸아세테이트(Ethyl acetate), 에탄올(Ethanol), 이소프로판올(Isopropanol) 또는 아세토니트릴(Acetonitrile) 등 비수성 매질이다.
- [0065] 염의 형식 외에, 본 발명에서 제공되는 화합물은 프로드럭 형식도 존재한다. 본문에서 기술되는 화합물의 프로드럭은 생리적 조건 하에서 용이하게 화학 변화를 일으켜 본 발명의 화합물로 전환된다. 이 외에, 전구체 약물은 체내 환경에서 화학적 또는 생화학적 방법에 의해 본 발명의 화합물로 전환될 수 있다.
- [0066] 본 발명의 일부 화합물은 수화물 형식을 포함하는 비용매화 형식 또는 용매화 형식으로 존재할 수 있다. 일반적으로, 용매화 형식과 비용매화는 동등하며, 모두 본 발명의 범위 내에 포함된다.
- [0067] 본 발명의 일부 화합물은 비대칭 탄소 원자(광학 중심) 또는 이중 결합을 구비할 수 있다. 라세미체, 부분입체 이성질체, 기하적 이성질체와 단일 이성질체는 모두 본 발명의 범위 내에 속한다.
- [0068] 본문에서 라세미체, ambiscalemic 및 scalemic 또는 거울상이성질체가 순수한 화합물의 도시법은 Maehr, J. Chem. Ed. 1985, 62: 114-120로부터 획득한다. 다른 설명이 없으면, 췌기형 결합과 점선 결합으로 하나의 입체 중심의 절대적 배열을 나타낸다. 본문에서 서술된 화합물은 올레핀계 이중 결합 또는 다른 기하적 비대칭 중심을 포함하고, 달리 규정되지 않는 한, 이들은 E, Z 기하적 이성질체를 포함한다. 마찬가지로, 모든 호변 이성질체 형식은 모두 본 발명의 범위 내에 속한다.
- [0069] 본 발명의 화합물은 특정된 기하적 또는 입체 이성질체 형식으로 존재할 수 있다. 본 발명은 이러한 화합물은 거울상이성질체 또는 부분입체이성질체로 농축된 혼합물과 같은 시스(Cis) 및 트랜스(trans) 이성질체, (-) 및 (+)-거울상이성질체, (R)- 및 (S)-거울상이성질체, 부분입체이성질체, (D)-이성질체, (L)-이성질체, 및 이의 라세미체 혼합물 및 기타 혼합물을 포함하는 것으로 구성되고, 모든 이러한 혼합물은 모두 본 발명의 범위에 속한다. 알킬기 등 치환기에는 다른 비대칭 탄소 원자가 존재할 수 있다. 이들 모든 이성질체 및 이들의 혼합물은 모두 본 발명의 범위 내에 속한다.
- [0070] 키랄(Chiral) 합성 또는 키랄 시약 또는 기타 통상적인 기술을 통해 광학 활성의 (R)- 및 (S)-이성질체 및 D 및 L 이성질체를 제조할 수 있다. 본 발명 화합물의 거울상이성질체를 얻으려면, 비대칭 합성 또는 키랄 보조제를 구비한 유도 작용으로 제조할 수 있으며, 여기서 얻은 부분입체이성질체 혼합물을 분리하고, 보조 라디칼을 절단하여 순수한 필요되는 거울상이성질체를 제공한다. 또는, 분자에 염기성 관능기(예를 들어 아미노기) 또는 산성 관능기(예를 들어 카복실기(Carboxyl group))가 함유될 경우, 적합한 광학 활성의 산 또는 염기와 부분입체이성질체의 염을 형성한 후, 본 분야에 공지된 통상적인 방법으로 부분입체이성질체를 분해한 후, 회수하여 순수한 거울상이성질체를 얻는다. 이 외에, 일반적으로 거울상이성질체와 부분입체이성질체의 분리는 크로마토그래피법(Chromatography)으로 완성되고, 상기 크로마토그래피법은 키랄 고정상을 사용하며 선택적으로 화학적 유도법과 결합하였다(예를 들어 아민으로 카바메이트(carbamate)를 생성하였다).
- [0071] 본 발명의 화합물은 상기 화합물을 구성하는 하나 또는 다수의 원자 상에 비천연적 비율의 원자 동위원소를 함유할 수 있다. 예를 들어, 트리튬(tritium)(<sup>3</sup>H), 요오드-125(<sup>125</sup>I) 또는 C-14(<sup>14</sup>C)와 같은 방사성 동위원소로 화합물을 표기할 수 있다. 본 발명의 화합물의 모든 동위원소로 조성된 변환은 방사성이든 아니든 모두 본 발명의 범위 내에 속한다.
- [0072] 용어 "약학적으로 허용 가능한 담체"는 본 발명의 유효량의 활성 물질을 전달할 수 있고, 활성 물질의 생물적 활성을 간섭하지 않으며 숙주 또는 환자에 독성이 없고 부작용이 없는 임의의 제제 또는 대표적인 담체로 물, 오일, 야채 및 미네랄, 크립기제, 세제기제, 연고기제 등을 포함하는 담체 매질을 지칭한다. 이러한 기제로 현탁제, 점착제, 경피 촉진제 등을 포함한다. 이들의 제제는 화장품 분야 또는 국소 약물 분야의 기술자들에게 주지된 바와 같다. 담체의 기타 정보에 관련하여 Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st Ed., Lippincott, Williams & Wilkins (2005)를 참조할 수 있고, 해당 문헌의 내용은 인용하는 방식을 통해 본문에 병합된다.
- [0073] 용어 "부형제"는 통상적으로 유효한 약물 조성물을 제조할때 필요되는 담체, 희석제 및/또는 매질을 지칭한다.
- [0074] 약물 또는 약리학적 활성제에 대하여, 용어 "유효량" 또는 "치료 유효량"은 독성이 없지만 충분히 예기된 효과

에 도달할 수 있는 약물 또는 약제의 충분한 용량을 지칭한다. 본 발명에서의 경구 투여 제형에 있어서, 조성물에서 활성 물질의 "유효량"은 상기 조성물에서 다른 활성 물질과 병용될 경우 예기된 효과에 도달하기 위한 사용량을 지칭한다. 유효량의 확정은 사람에 따라 다르고, 수용체의 연령과 일반적인 상황에 따라 다르며, 구체적인 활성 물질에 따라서는 다르므로, 사례에서 적합한 유효량은 당업자에 의해 통상적인 시험으로 확정될 수 있다.

[0075] 용어 "활성 성분", "치료제", "활성 물질" 또는 "활성제"는 표적의 문란, 질환 또는 병증을 효과적으로 치료할 수 있는 화학적 실체이다.

[0076] "선택적" 또는 "선택적으로"는 후술되는 나타날 수 있지만 무조건 나타나는 것은 아닌 것을 지칭하고, 상기 해당 설명은 상기 사건 또는 상기 상황이 발생된 경우 및 상기 사건 또는 상황이 발생되지 않는 경우를 포함한다.

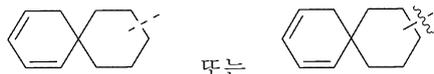
[0077] 용어 "치환된"은 특정 원자에서의 어느 하나 또는 다수의 수소 원자가 치환기에 의해 치환되는 것을 의미하며, 단지 특정 원자의 원자가가 정상적이고 치환된 후의 화합물이 안정적이면 중수소 및 수소의 변이체를 포함할 수 있다. 치환기가 케토기(즉 =O)일 경우, 두개의 수소 원자가 치환된 것을 의미한다. 케톤 치환은 아릴기에서 발생되지 않는다. 용어 "선택적으로 치환된"은 치환되거나 치환되지 않을 수도 있는 것을 의미하고, 다른 규정이 없으면, 치환기의 종류와 개수는 화학적으로 실현 가능한 기초 상에서 임의적일 수 있다.

[0078] 화합물의 조성 또는 구조에서 임의의 변수(예를 들어 R)가 한번 이상 나타날 경우, 이의 각각의 경우에서의 정의는 모두 독립적이다. 따라서, 예를 들어, 만약 하나의 라디칼이 0 ~ 2개의 R에 의해 치환되면, 상기 라디칼은 선택적으로 두 개 이하의 R에 의해 치환될 수 있고, 각각의 경우에서의 R은 모두 독립적인 선택항이다. 이외에, 치환기 및/또는 이의 변이체의 조합은 이러한 조합이 안정적인 화합물을 생성하는 경우에서만 허용된다

[0079]  $-(CRR)_0-$ 와 같이 하나의 연결기의 개수가 0일 경우, 상기 연결기는 단일 결합을 나타낸다.

[0080] 그 중에서의 하나의 변수가 단일 결합으로부터 선택될 경우, 연결된 두개의 라디칼이 직접적으로 연결된 것을 나타내며, 예를 들어 A-L-Z에서 L이 단일 결합을 나타낼 경우 상기 구조는 실제로 A-Z임을 나타낸다.

[0081] 하나의 치환기가 비어 있을 경우, 상기 치환기는 존재하지 않는 것을 나타내며, 예를 들어 A-X에서 X가 비어 있을 경우 상기 구조는 실제로 A임을 나타낸다. 하나의 치환기의 결합이 하나의 고리의 두개의 원자에 교차 연결될 수 있을 경우, 이러한 치환기는 그 고리 상의 임의의 원자에 결합될 수 있다. 예를 들어, 치환기에서 어느 하나의 원자를 통해 화학 구조 일반식에 포함되지만 구체적으로 언급되지 않은 화합물에 연결되는 것을 명시하지 않을 경우, 이러한 치환기는 이의 임의의 원자에 의해 결합될 수 있다. 치환기 및/또는 이의 변이체의 조합은 단지 이러한 조합에서 안정한 화합물을 생성할 수 있는 상황만이 허용된다. 예를 들어, 구조 단위



또는  $\text{C}_6\text{H}_4$ 는 이가 시클로헥실기(Cyclohexyl group) 또는 시클로헥사디엔기(Cyclohexadiene group) 상의 임의의 하나의 위치에서 치환될 수 있음을 의미한다.

[0082] 다른 설명이 없으면, 용어 "헤테로"는 헤테로 원자 또는 헤테로 원자단(즉 헤테로 원자를 함유한 원자단)을 나타내고, 탄소(C)와 수소(H) 외의 원자 및 이러한 헤테로 원자를 함유한 원자단을 포함하며, 예를 들어 산소(O), 질소(N), 유황(S), 규소(Si), 게르마늄(Ge), 알루미늄(Al), 붕소(B), -O-, -S-, =O, =S, -C(=O)O-, -C(=O)-, -C(=S)-, -S(=O)-, -S(=O)<sub>2</sub>-, 및 선택적으로 치환된 -C(=O)N(H)-, -N(H)-, -C(=NH)-, -S(=O)<sub>2</sub>N(H)- 또는 -S(=O)N(H)-를 포함한다.

[0083] 다른 설명이 없으면, "시클로"는 치환 또는 비치환된 시클로알킬기, 헤테로시클로알킬기, 시클로알케닐기(Cycloalkenyl group), 헤테로시클로알케닐기(Heterocycloalkenyl group), 시클로알키닐기(Cycloalkynyl group), 헤테로시클로알키닐기(Heterocycloalkynyl group), 아릴기 또는 헤테로아릴기를 나타낸다. 이른바 고리는 단일 고리, 비고리(Bicyclo), 스피로 고리, 앤드 고리 또는 브릿지 고리이다. 고리 상의 원자의 개수는 통상적으로 고리의 원수로 정의되고, 예를 들어, "5 ~ 7원 고리"는 5 ~ 7개의 원자가 고리를 둘러 배열된 것을 의미한다. 다른 설명이 없으면, 상기 고리는 선택적으로 1 ~ 3개의 헤테로 원자를 포함한다. 따라서, "5 ~ 7원 고리"는 예를 들어 페닐기, 피리딘과 피페리디닐기(Piperidinyl group)를 포함하고; 한편, 용어 "5 ~ 7원 헤테로시클로알킬기 고리"는 피리딘기와 피페리디닐기를 포함하지만 페닐기를 포함하지 않는다. 용어 "고리"는 적어도 하나의 고리를 함유하는 고리계를 더 포함하고, 여기서의 각각의 "고리"는 모두 독립적으로 상기 정의에 부합된다.

[0084]

다른 설명이 없으면, 용어 "헤테로시클로(Heterocyclo)" 또는 "헤테로시클로기(Heterocyclo group)"는 헤테로 원자 또는 헤테로 원자단을 함유한 안정적인 단일 고리, 이중 고리 또는 삼중 고리를 의미하고, 이들은 포화, 부분 불포화 또는 불포화된(방향족의) 것일 수 있으며, 이들은 탄소 원자와 독립적으로 N, O 및 S로부터 선택되는 1개, 2개, 3개 또는 4개의 시클로헤테로 원자를 포함하고, 여기서 상기 임의의 헤테로시클로 고리는 하나의 벤젠 고리에 축합되어 이중 고리를 형성할 수 있다. 질소와 유황 헤테로 원자는 선택적으로 산화될 수 있다(즉 NO 및 S(O)<sub>p</sub>이고, p는 1 또는 2임). 질소 원자는 치환 또는 비치환된 것일 수 있다(즉 N 또는 NR이고, 여기서 R은 H 또는 본문에서 정의된 기타 치환기임). 상기 헤테로시클로는 임의의 헤테로 원자 또는 탄소 원자의 축쇄에 부착되어 안정적인 구조를 형성할 수 있다. 만약 생성된 화합물이 안정적이면, 본문에서 서술되는 헤테로시클로는 탄소 부위 또는 질소 부위에서 치환될 수 있다. 헤테로시클로에서의 질소 원자는 선택적으로 4차 암모늄화된다. 하나의 바람직한 해결수단에 있어서, 헤테로시클로에서 S 및 O 원자의 총수가 1을 초과할 경우, 이들 헤테로 원자는 서로 인접되지 않는다. 다른 하나의 바람직한 해결수단에 있어서, 헤테로시클로에서 S 및 O 원자의 총수가 1을 초과하지 않는다. 본문에서 사용된 바와 같이, 용어 "방향족헤테로시클로" 또는 "헤테로아릴"은 안정적인 5원, 6원, 7원 단일 고리 또는 이중 고리 또는 7원, 8원, 9원 또는 10원 이중 고리 헤테로시클로기의 방향족 고리를 의미하고, 이는 탄소 원자와 독립적으로 N, O 및 S로부터 선택되는 1개, 2개, 3개 또는 4개의 시클로헤테로 원자를 포함한다. 질소 원자는 치환 또는 비치환된 것일 수 있다(즉 N 또는 NR이고, 여기서 R은 H 또는 본문에서 정의된 기타 치환기임). 질소와 유황 헤테로 원자는 선택적으로 산화될 수 있다(즉 NO 및 S(O)<sub>p</sub>이고, p는 1 또는 2임). 방향족 헤테로시클로 상의 S와 O 원자의 총수는 1을 초과하지 않는다는 것을 유의해야 한다. 브릿지 고리도 헤테로시클로의 정의에 포함될 수도 있다. 하나 또는 다수의 원자(즉 C, O, N 또는 S)가 두개의 인접되지 않은 탄소 원자 또는 질소 원자에 연결될 경우 브릿지 고리를 형성한다. 바람직한 브릿지 고리로 하나의 탄소 원자, 두개의 탄소 원자, 하나의 질소 원자, 두개의 질소 원자와 하나의 탄소-질소기를 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 하나의 브릿지는 단일 고리를 삼중 고리로 항상 전환시킨다는 것을 유의해야 한다. 브릿지 고리에서 고리 상의 치환기는 브릿지 상에 나타날 수도 있다.

[0085]

헤테로시클로 화합물의 구현예로 아크리디닐기(acridinyl group), 아조시닐기(Azocinel group), 벤조이미다졸릴기, 벤조푸라닐기, 벤조메르캅토푸라닐기(Benzomercapto group), 벤조메르캅토펜기(Benzomercapto group), 벤조옥사졸릴기(Benzoxazolyl group), 벤조옥사졸릴닐기(Benzoxazolinylyl group), 벤조티아졸릴기, 벤조트리아졸릴기(Benzotriazole group), 벤조테트라졸릴기(Benzotetrazolyl group), 벤조이소옥사졸릴기(Benzoisooxazolyl group), 벤조이소티아졸릴기(Benzoisothiazolyl group), 벤조이미다졸릴기(Benzoimidazolyl group), 카르바졸릴기(Carbazolyl group), 4aH-카르바졸릴기, 카르볼리닐기(Carbolinyl group), 벤조디히드로피라닐기(Benzodihydropyranlyl group), 크로멘(Chromene), 신놀리닐기, 데칼히드로퀴놀릴기(decahydroquinolyl), 2H,6H-1,5,2-디티아지닐기(2H,6H-1,5,2-Dithiazinyl group), 디히드로푸로[2,3-b]테트라히드로푸라닐기(Dihydrofuro[2,3-b]tetrahydrofuranlyl group), 푸라닐기(Furanlyl group), 푸라자닐기(Furazanyl group), 이미다졸리디닐기(Imidazolidinyl group), 이미다졸리닐기(Imidazolinylyl group), 이미다졸릴기, 1H-인다졸릴기, 인돌알케닐기(Indolealkenyl group), 디히드로인돌릴기(Dihydroindolyl group), 인돌리진닐기(Indolizinylyl group), 인돌릴기(Indolyl group), 3H-인돌릴기, 이소벤조푸라닐기(Isobenzofuranlyl group), 이소인돌릴기(Isoindolyl group), 이소디히드로인돌릴기(Isodihydroindolyl group), 이소퀴놀릴기, 이소티아졸릴기, 이소옥사졸릴기, 메틸렌디옥시페닐기(Methylene dioxyphenyl group), 모르폴리닐기(Morpholinyl group), 나프티리디닐기(Naphthyridinyl group), 옥타히드로이소퀴놀리닐기(Octahydroisoquinolinylyl group), 옥사디아졸릴기(Oxadiazolyl group), 1,2,3-옥사디아졸릴기, 1,2,4-옥사디아졸릴기, 1,2,5-옥사디아졸릴기, 1,3,4-옥사디아졸릴기, 옥사졸리디닐기(Oxazolidinyl group), 옥사졸릴기, 옥시인돌릴기(Oxyindolyl group), 피리미디닐기(Pyrimidinyl group), 페난트리디닐기(Phenanthridinyl group), 페난트롤리닐기(Phenanthrolinyl group), 페나진(Phenazine), 페노티아진(Phenothiazine), 벤조크산티닐기(Benzoxanthinyl group), 페녹사지닐기(Phenoxazinyl group), 프탈라지닐기(Phthalazinyl group), 피페라지닐기(Piperazinyl group), 피페리디닐기, 피페리디노닐기(Piperidinonylyl group), 4-피페리디노닐기, 피페로닐기(Piperonyl group), 프테리디닐기(Pteridinyl group), 푸리닐기(Purinyl group), 피라닐기(Pyranlyl group), 피라지닐기(Pyrazinyl group), 피라졸리디닐기(Pyrazolidinyl group), 피라졸리닐기(Pyrazolinylyl group), 피라졸릴기, 피리다지닐기(Pyridazinyl group), 피리도옥사졸릴기(Pyridooxazolyl group), 피리도이미다졸릴기(Pyridoimidazolyl group), 피리도티아졸릴기(Pyridothiazolyl group), 피리딜기, 피롤리디닐기(Pyrrolidinyl group), 피롤리닐기(Pyrrolinyl group), 2H-피롤릴기(2H-Pyrrolyl group), 피롤릴기(Pyrrolyl group), 퀴나졸리닐기(Quinazolinylyl group), 퀴놀릴기, 4H-퀴놀리지닐기(4H-Quinolizinylyl group), 퀴녹살리닐기(Quinoxalinylyl group), 퀴누클리디닐기(Quinuclidinyl group), 테트라히드로푸라닐기(Tetrahydrofuranlyl group), 테트라히드로이소퀴놀릴기

(Tetrahydroisoquinolyl group), 테트라히드로퀴놀릴기, 테트라졸릴기(Tetrazolyl group), 6H-1,2,5-티아디아졸릴기(6H-1,2,5-Thiadiazolyl group), 1,2,3-티아디아졸릴기(1,2,3-Thiadiazolyl group), 1,2,4-티아디아졸릴기(1,2,4-Thiadiazolyl group), 1,2,5-티아디아졸릴기(1,2,5-Thiadiazolyl group), 1,3,4-티아디아졸릴기(1,3,4-Thiadiazolyl group), 티안트레닐기(Thianthrenyl group), 티아졸릴기, 이소티아졸릴티오펜릴기(Isothiazolylthiophenyl group), 티에노옥사졸릴기(Thienooxazolyl group), 티에노티아졸릴기(Thienothiazolyl group), 티에노이미다졸릴기(Thienoimidazolyl group), 티에닐기(Thienyl group), 트리아지닐기(Triazinyl group), 1,2,3-트리아졸릴기(1,2,3-Triazolyl group), 1,2,4-트리아졸릴기(1,2,4-Triazolyl group), 1,2,5-트리아졸릴기(1,2,5-Triazolyl group), 1,3,4-트리아졸릴기(1,3,4-Triazolyl group) 및 크산테닐기(Xanthianyl group)를 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 축합 고리와 스피로 고리 화합물을 더 포함한다.

[0086] 다른 설명이 없으면, 용어 "탄화수소기(Hydrocarbon group)" 또는 이의 하위 개념(예를 들어 알킬기, 알케닐기(alkenyl group), 알키닐기(Alkynyl group), 아릴기 등) 자체 또는 다른 하나의 치환기의 일부분으로서 직쇄, 분지쇄 또는 고리형의 탄화수소 원자단 또는 이들의 조합을 나타내고, 완전 포화된(예를 들어 알킬기), 일가 또는 다가 불포화된 것일 수 있으며(예를 들어 알케닐기, 알키닐기, 아릴기), 일 치환 또는 이 치환 또는 다중 치환될 수 있고, 1가(예를 들어 메틸기), 2가(예를 들어 메틸렌기) 또는 다가(예를 들어 메틴기(methine group)) 일 수 있으며, 2가 또는 다가 원자단을 포함할 수 있고, 지정된 개수의 탄소 원자(예를 들어 C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>는 1개 내지 12개의 탄소를 나타내고, C<sub>1-12</sub>는 C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>, C<sub>5</sub>, C<sub>6</sub>, C<sub>7</sub>, C<sub>8</sub>, C<sub>9</sub>, C<sub>10</sub>, C<sub>11</sub> 및 C<sub>12</sub>으로부터 선택되며; C<sub>3-12</sub>는 C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>, C<sub>5</sub>, C<sub>6</sub>, C<sub>7</sub>, C<sub>8</sub>, C<sub>9</sub>, C<sub>10</sub>, C<sub>11</sub> 및 C<sub>12</sub>로부터 선택된다)를 구비한다. "탄화수소기"는 지방족 탄화수소기와 방향족 탄화수소기를 포함하지만 이에 한정되지 않고, 상기 지방족 탄화수소기는 사슬형과 고리형을 포함하며, 구체적으로 알킬기, 알케닐기, 알키닐기를 포함하지만 이에 한정되지 않고, 상기 방향족 탄화수소기는 벤젠, 나프탈렌과 같은 6-12원의 방향족 탄화수소기를 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 일부 실시예에서, 용어 "탄화수소기"는 직쇄 또는 분지쇄의 원자단 또는 이들의 조합을 나타내고, 완전 포화된, 일가 또는 다가 불포화된 것일 수 있으며, 2가 및 다가 원자단을 포함할 수 있다. 포화 탄화수소 원자단의 구현예로 메틸기, 에틸기, n-프로필기(n-propyl group), 이소프로필기(Isopropyl group), n-부틸기(n-butyl group), tert-부틸기(tert-butyl group), 이소부틸기(Isobutyl group), Sec-부틸기(Sec-butyl group), 이소부틸기, 시클로헥실기, (시클로헥실)메틸기, 시클로프로필메틸기(Cyclopropylmethyl group), 및 n-펜틸기(n-pentyl group), n-헥실기(n-hexyl group), n-헵틸기(n-heptyl group), n-옥틸기(n-octyl group) 등 원자단의 동족체 또는 이성질체를 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 불포화 탄화수소기는 하나 또는 다수의 이중 결합 또는 삼중 결합을 구비하고, 이의 구현예로 비닐기(Vinyl group), 2-프로펜기(2-propenyl group), 부텐기(Butenyl group), 크로틸기(Crotyl group), 2-이소펜텐기(2-isopentenyl group), 2-(부타디에닐기)(2-butadienyl group), 2,4-펜타디에닐기(2,4-pentadienyl group), 3-(1,4-펜타디에닐기)(3-(1,4-pentadienyl group)), 에티닐기(Ethynyl group), 1-프로피닐기(1-Propinyl group) 및 3-프로피닐기(3-Propinyl group), 3-부티닐기(3-Butynyl group), 및 더욱 높은 동족체 및 이성질체를 포함하지만 이에 한정되지 않는다.

[0087] 다른 설명이 없으면, 용어 "헤테로탄화수소기" 또는 이의 하위 개념(예를 들어 헤테로알킬기, 헤테로알케닐기(Heteroalkenyl group), 헤테로알키닐기(Heteroalkynyl group), 헤테로아릴기 등) 자체 또는 다른 용어와 함께 직쇄, 분지쇄 또는 고리형의 탄화수소 원자단 또는 이들의 조합을 나타내고, 일정 개수의 탄소 원자와 적어도 하나의 헤테로 원자로 이루어진다. 일부 실시예에서, 용어 "헤테로알킬기"는 자체 또는 다른 용어와 함께 안정적인 직쇄, 분지쇄의 탄화수소 원자단 또는 이들의 조합을 나타내고, 일정 개수의 탄소 원자와 적어도 하나의 헤테로 원자로 이루어진다. 하나의 전형적인 실시예에서, 헤테로 원자는 B, O, N 및 S로부터 선택되고, 여기서 질소와 유황 원자는 선택적으로 산화되며, 질소헤테로 원자는 선택적으로 4차 암모늄화된다. 헤테로 원자 또는 헤테로 원자단은 상기 탄화수소기가 부착되는 분자의 나머지 부분의 위치를 포함하는 헤테로탄화수소기의 임의의 내부 위치에 위치할 수 있지만, 용어 "알콕시기", "알킬아미노기(Alkylamino group)" 및 "알킬티오기(Alkylthio group)"(또는 티오알킬기(Thioalkyl group))는 통상적인 표현에 속하는 것으로, 각각 하나의 산소 원자, 아미노기 또는 유황 원자를 통해 분자의 나머지 부분에 연결되는 알킬기를 지칭한다. 구현예로 -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH-CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-N(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>-S-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>, -S(O)-CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-S(O)<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>, -CH=CH-O-CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>-CH=N-OCH<sub>3</sub> 및 -CH=CH-N(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>3</sub>을 포함하지만 이에 한정되지 않는다. -CH<sub>2</sub>-NH-OCH<sub>3</sub>와 같이 적어도 두개의 헤테로 원자는 연속적일 수 있다.

[0088] 다른 설명이 없으면, 용어 "시클로탄화수소기(Cyclohydrocarbon group)", "헤테로시클로탄화수소기(heterocyclohydrocarbon group)" 또는 이의 하위 개념(예를 들어 아릴기, 헤테로아릴기, 시클로알킬기, 헤테로

시클로알킬기, 시클로알케닐기, 헤테로시클로알케닐기, 시클로알키닐기, 헤테로시클로알키닐기 등) 자체 또는 기타 용어와 함께 시클로화된 "탄화수소기", "헤테로탄화수소기"를 각각 나타낸다. 이 외에, 헤테로탄화수소기 또는 헤테로시클로탄화수소기(예를 들어 헤테로알킬기, 헤테로시클로알킬기)에 대하여, 헤테로 원자는 상기 헤테로시클로에 부착된 분자의 나머지 부분의 위치를 차지할 수 있다. 시클로탄화수소기의 구현예로 시클로펜틸기(Cyclopentyl group), 시클로헥실기, 1-시클로헥세닐기(1-Cyclohexenyl group), 3-시클로헥세닐기(3-Cyclohexenyl group), 시클로헵틸기(Cycloheptyl group) 등을 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 헤테로시클로기의 비제한적인 구현예로 1-(1,2,5,6-테트라히드로피리디닐기)(1-(1,2,5,6-tetrahydropyridyl group)), 1-피페리디닐기, 2-피페리디닐기, 3-피페리디닐기, 4-모르폴리닐기, 3-모르폴리닐기, 테트라히드로푸란-2-일(Tetrahydrofuran-2-yl), 테트라히드로푸릴인돌-3-일(Tetrahydrofuryl indol-3-yl), 테트라히드로티오펜-2-일(Tetrahydrothiophen-2-yl), 테트라히드로티오펜-3-일(Tetrahydrothiophen-3-yl), 1-피페라지닐기 및 2-피페라지닐기를 포함한다.

[0089] 다른 설명이 없으면, 용어 "알킬기"는 직쇄 또는 분지쇄의 포화 탄화수소기를 나타내고, 단일 치환(예를 들어 -CH<sub>3</sub>F) 또는 다중 치환된 것일 수 있으며(예를 들어 -CF<sub>3</sub>), 1가(예를 들어 메틸기), 2가(예를 들어 메틸렌기) 또는 다가(예를 들어 메틸기)일 수 있다. 알킬기의 예로 메틸기(Me), 에틸기(Et), 프로필기(예를 들어, n-프로필기 및 이소프로필기), 부틸기(예를 들어, n-부틸기, 이소부틸기, s-부틸기, t-부틸기), 펜틸기(예를 들어, n-펜틸기, 이소펜틸기(Isopentyl group), 네오펜틸기(neopentyl group)) 등을 포함한다.

[0090] 다른 설명이 없으면, "알케닐기"는 사슬의 임의의 위치에 하나 또는 다수의 탄소-탄소 이중 결합을 갖는 알킬기를 의미하고, 단일 치환 또는 다중 치환될 수 있으며, 1가, 2가 또는 다가일 수 있다. 알케닐기의 예로 비닐기, 프로펜기, 부테닐기, 펜테닐기(Pentenyl group), 헥세닐기(Hexenyl group), 부타디에닐기(Butadienyl group), 펜타디에닐기(Pentadienyl group), 헥사디에닐기(Hexadienyl group) 등을 포함한다.

[0091] 다른 설명이 없으면, "알키닐기"는 사슬의 임의의 위치에 하나 또는 다수의 탄소-탄소 삼중 결합을 갖는 알킬기를 의미하고, 단일 치환 또는 다중 치환될 수 있으며, 1가, 2가 또는 다가일 수 있다. 알키닐기의 예로 에티닐기, 프로피닐기, 부티닐기, 펜티닐기(Pentynyl group) 등을 포함한다.

[0092] 다른 설명이 없으면, 시클로알킬기는 임의의 안정적인 고리형 또는 다환 탄화수소기를 포함하고, 임의의 탄소 원자는 전부 포화된 것이며, 단일 치환 또는 다중 치환될 수 있고, 1가, 2가 또는 다가일 수 있다. 이러한 시클로알킬기의 구현예로 시클로프로필기(Cyclopropyl group), 노르보닐기(Norbornyl group), [2.2.2]디시클로옥탄([2.2.2]dicyclooctane), [4.4.0]비시클로데칸([4.4.0]Bicyclodecane) 등을 포함하지만 이에 한정되지 않는다.

[0093] 다른 설명이 없으면, 시클로알케닐기는 임의의 안정적인 고리형 또는 다환 탄화수소기를 포함하고, 상기 탄화수소기는 고리의 임의의 위치에 하나 또는 다수의 불포화의 탄소-탄소 이중 결합을 함유하며, 단일 치환 또는 다중 치환될 수 있고, 1가, 2가 또는 다가일 수 있다. 이러한 시클로알케닐기의 구현예로 시클로펜테닐기(Cyclopentenyl group), 시클로헥세닐기 등을 포함하지만 이에 한정되지 않는다.

[0094] 다른 설명이 없으면, 시클로알키닐기는 임의의 안정적인 고리형 또는 다환 탄화수소기를 포함하고, 상기 탄화수소기는 고리의 임의의 위치에 하나 또는 다수의 탄소-탄소 삼중 결합을 함유하며, 단일 치환 또는 다중 치환될 수 있고, 1가, 2가 또는 다가일 수 있다.

[0095] 다른 설명이 없으면, 용어 "할로젠화" 또는 "할로젠"은 자체 또는 다른 치환기의 일부분으로서 불소, 염소, 브롬 또는 요오드 원자를 나타낸다. 이 외에, 용어 "할로젠화 알킬기"는 모노할로젠화 알킬기와 폴리할로젠화 알킬기를 포함한다. 예를 들어, 용어 "할로젠화 (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)알킬기"는 트리플루오로메틸기(Trifluoromethyl group), 2,2,2-트리플루오로에틸기(2,2,2-trifluoroethyl group), 4-클로로부틸기(4-chlorobutyl group) 및 3-브로모프로필기(3-bromopropyl group) 등을 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 다른 설명이 없으면, 할로젠화 알킬기의 구현예로 트리플루오로메틸기(Trifluoromethyl group), 트리클로로메틸기(Trichloromethyl group), 펜타플루오로에틸기(Pentafluoroethyl group), 및 펜타클로로에틸기(Pentachloroethyl group)를 포함하지만 이에 한정되지 않는다.

[0096] "알콕시기"는 특정 개수의 탄소 원자를 갖는 산소 가교를 통해 결합된 상기 알킬기를 나타내며, 다른 설명이 없으면, C<sub>1-6</sub>알콕시기는 C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>, C<sub>5</sub> 및 C<sub>6</sub>의 알콕시기를 포함한다. 알콕시기의 예로 메톡시기, 에톡시기(Ethoxy group), n-프로폭시기(n-propoxy group), 이소프로폭시기(Isopropoxy group), n-부톡시기(n-butoxy group), Sec-부톡시기(Sec-butoxy group), Tert-부톡시기(Tert-butoxy group), n-펜틸옥시기(n-pentyloxy group) 및 S-펜틸옥시기(S-pentyloxy group)를 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 다른 설명이 없으면, 용어 "

아릴기"는 다가 불포화된 방향족 탄화수소 치환기를 나타내고, 단일 치환 또는 다중 치환될 수 있으며, 1가, 2가 또는 다가일 수 있고, 단일 고리 또는 다중 고리 (예를 들어 1개 내지 3개 고리이며; 여기서 적어도 하나의 고리는 방향족임)일 수 있으며, 이들은 함께 축합되거나 공유 결합되어 있다. 용어 "헤테로아릴기"는 1개 내지 4개의 헤테로 원자를 포함하는 아릴기(또는 고리)를 지칭한다. 하나의 전형적인 구현예에서, 헤테로 원자는 B, N, O 및 S로부터 선택되고, 여기서 질소와 유황 원자는 선택적으로 산화되며, 질소 원자는 선택적으로 4차 암모늄화된다. 헤테로아릴기는 헤테로 원자에 의해 분자의 나머지 부분에 연결될 수 있다. 아릴기 또는 헤테로아릴기의 비제한적인 실시예로 페닐기, 1-나프틸기(1-Naphthyl group), 2-나프틸기(2-Naphthyl group), 4-비페닐기(4-Biphenyl group), 1-피롤릴기(1-Pyrrolyl group), 2-피롤릴기(2-Pyrrolyl group), 3-피롤릴기(3-Pyrrolyl group), 3-피라졸릴기, 2-이미다졸릴기, 4-이미다졸릴기, 피라지닐기, 2-옥사졸릴기, 4-옥사졸릴기, 2-페닐-4-옥사졸릴기, 5-옥사졸릴기, 3-이소옥사졸릴기, 4-이소옥사졸릴기, 5-이소옥사졸릴기, 2-티아졸릴기, 4-티아졸릴기, 5-티아졸릴기, 2-푸라닐기(2-Furanyl group), 3-푸라닐기(3-Furanyl group), 2-티에닐기, 3-티에닐기, 2-피리딜기, 3-피리딜기, 4-피리딜기, 2-피리미디닐기(2-Pyrimidinyl group), 4-피리미디닐기(4-Pyrimidinyl group), 5-벤조티아졸릴기, 푸리닐기, 2-벤조이미다졸릴기, 5-인돌릴기, 1-이소퀴놀릴기, 5-이소퀴놀릴기, 2-퀴녹살리닐기(2-Quinoxalinylyl group), 5-퀴녹살리닐기(5-Quinoxalinylyl group), 3-퀴놀릴기 및 6-퀴놀릴기를 포함한다. 상기 임의의 하나의 아릴기와 헤테로아릴기의 고리계의 치환기는 하기에서 서술되는 허용 가능한 치환기로부터 선택된다.

[0097] 다른 설명이 없으면, 아릴기를 기타 용어와 함께 사용할 경우(예를 들어 아릴옥시기(Aryloxy group), 아릴티오기(Arylthio group), 아랄킬기), 상기에서 정의된 아릴기와 헤테로아릴기 고리를 포함한다. 따라서, 용어 "아랄킬기"는 아릴기를 포함하는 알킬기에 부착된 원자단을 의미하고(예를 들어 벤질기(Benzyl group), 페닐에틸기(Phenylethyl group), 피리딜메틸기 등), 그 중의 탄소 원자(예를 들어 메틸렌기)가 예를 들어 산소 원자에 의해 대체된 페녹시메틸기(Phenoxyethyl group), 2-피리딜옥시메틸3-(1-나프틸옥시)프로필기(2-pyridyloxymethyl 3-(1-naphthoxy)propyl group)와 같은 그러한 알킬기를 포함한다.

[0098] 용어 "이탈기"는 다른 관능기 또는 원자에 의해 치환 반응(예를 들어 친핵성 치환 반응)을 통해 치환된 관능기 또는 원자를 지칭한다. 예를 들어, 대표적인 이탈기로 트리플루오로메탄설포네이트(Trifluoromethanesulfonate); 염소, 브롬, 요오드; 메탄설포네이트(methane sulfonate), 토실레이트(tosylate), P-브로모벤젠설포네이트(P-bromobenzenesulfonate), p-톨루엔설포네이트(p-toluenesulfonate)과 같은 설포네이트기(Sulfonate group); 아세톡시기(Acetoxy group), 트리플루오로아세톡시기(Trifluoroacetoxy group)와 같은 아실옥시기(Acyloxy group) 등을 포함한다.

[0099] 용어 "보호기"는 "아미노기 보호기", "히드록시기 보호기" 또는 "메르캡토기(Mercapto group) 보호기"를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 용어 "아미노기 보호기"는 아미노기 질소 위치에서 부반응을 방지하는데 적합한 보호기를 지칭한다. 대표적인 아미노기 보호기로 포르밀기(Formyl group);알카노일기(alkanoyl group)(예를 들어 아세틸기(Acetyl group), 트리클로로아세틸기(Trichloroacetyl group) 또는 트리플루오로아세틸기(Triple fluoroacetyl group))와 같은 아실기(Acyl group); tert-부톡시카르보닐기(tert-butoxycarbonyl group)(Boc)와 같은 알콕시카르보닐기(Alkoxycarbonyl group); 벤질옥시카르보닐기(Benzyloxycarbonyl group)(Cbz) 및 9-플루오렌닐메톡시카르보닐기(9-fluorenylmethoxycarbonyl group)(Fmoc)와 같은 아릴메톡시카르보닐기(Arylmethoxycarbonyl group); 벤질기(Bn), 트리페닐메틸기(Triphenylmethyl group)(Tr), 1,1-비스(4'-메톡시페닐)메틸기(1,1-bis-(4'-methoxyphenyl)methyl group)와 같은 아릴메틸기; 트리메틸실릴기(Trimethylsilyl group)(TMS) 및 tert-부틸디메틸실릴기(tert-butyl dimethylsilyl group)(TBS)와 같은 실릴기(Silyl group) 등을 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 용어 "히드록시기 보호기"는 히드록시기 부반응을 억제하는데 적합한 보호기를 지칭한다. 대표적인 히드록시기 보호기로 메틸기, 에틸기 및 tert-부틸기와 같은 알킬기; 알카노일기(예를 들어 아세틸기)와 같은 아실기; 벤질기(Bn), p-메톡시벤질기(p-methoxybenzyl group)(PMB), 9-플루오렌닐메틸기(9-fluorenylmethyl group)(Fm) 및 디페닐메틸기(Diphenylmethyl group)(디페닐메틸기, DPM)와 같은 아릴메틸기; 트리메틸실릴기(TMS) 및 tert-부틸디메틸실릴기(TBS)와 같은 실릴기 등을 포함하지만 이에 한정되지 않는다.

[0100] 본 발명의 화합물은 본 기술분야의 기술자들에게 공지된 다양한 합성 방법으로 제조될 수 있고, 하기에서 예들 든 구체적인 실시형태, 이를 기타 화학 합성 방법과 결합하여 형성한 실시형태 및 본 기술분야의 기술자들에게 공지된 등가 교체 방식을 포함하며, 바람직한 실시형태는 본 발명의 실시예를 포함하지만 이에 한정되지 않는다.

- [0101] 본 발명에서 사용된 용매는 시중에서 구매할 수 있다.
- [0102] 본 발명은 하기와 같은 약칭을 사용한다. aq는 물을 나타내고; HATU는 0-(7-아자벤조트리아졸-1-일)-N,N,N',N'-테트라메틸우로늄헥사플루오로포스페이트(0-(7-azabenzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetramethyluronium hexafluorophosphate)를 나타내며; m-CPBA는 3-클로로페록시벤조산(3-chloroperoxybenzoic acid)을 나타내고; eq는 당량, 동등한 량을 나타내며; CDI는 카르보닐디이미다졸(Carbonyldiimidazole)을 나타내고; DCM는 디클로로메탄(Dichloromethane)을 나타내며 PE는 석유에테르(Petroleum ether)를 나타내고; DIAD는 디이소프로필 아조디카복실레이트(Diisopropyl azodicarboxylate)를 나타내며; DMF는 N,N-디메틸포름아미드(N,N-dimethylformamide)를 나타내며; DMSO는 디메틸술폭시드(Dimethyl sulfoxide)를 나타내고; EtOAc는 에틸아세테이트를 나타내며; EtOH는 에탄올을 나타내고; MeOH는 메탄올(Methanol)을 나타내며; Cbz는 아민 보호기인 벤질 옥시카르보닐기(Benzyloxycarbonyl group)를 나타내고; Boc는 아민 보호기인 tert-부틸카르보닐기(tert-butylcarbonyl group)를 나타내며; HOAc는 아세트산을 나타내고; NaCNBH<sub>3</sub>는 소듐 시아노보로하이드라이드(Sodium cyanoborohydride)를 나타내고; r.t.는 실온을 나타내며; O/N은 하룻밤 지새우는 것을 의미하며; THF는 테트라히드로푸란(Tetrahydrofuran)을 나타내고; Boc<sub>2</sub>O는 디-tert-부틸디카보네이트(Di-tert-butyl dicarbonate)를 나타내며; TFA는 트리플루오로아세트산(Trifluoroacetate)을 나타내고; DIPEA는 디이소프로필 에틸아민(Diisopropylethylamine)을 나타내며; SOCl<sub>2</sub>는 염화티오닐(Thionyl chloride)을 나타내고; CS<sub>2</sub>는 이황화탄소(Carbon disulfide)를 나타내며; TsOH는 파라톨루엔설포산(p-Toluenesulfonic acid)을 나타내고; NFSI는 N-플루오로-N-(페닐술포닐)벤젠술포나미드(N-fluoro-N-(phenylsulfonyl)benzenesulfonamide)를 나타내며; NCS는 1-클로로피롤리딘-2,5-디온(1-chloropyrrolidine-2,5-dione)을 나타내고; n-Bu<sub>4</sub>NF는 불화테트라부틸암모늄(Tetrabutylammonium fluoride)을 나타내며; iPrOH는 2-프로판올(2-propanol)을 나타내고; mp는 용융점을 나타내고; LDA는 디이소프로필아미노리튬(Diisopropylamino lithium)을 나타내며; FBS는 소태아혈청을 나타내고; DPBS는 돌베코 인산 완충용액을 나타내며; EDTA는 에틸렌디아민테트라아세트산(Ethylenediaminetetraacetic acid)을 나타내고; DMEM은 돌베코변형이글베지를 나타내며; CellTiter-Glo(CTG)는 ATP 형광 활성 검출 방법을 나타내며; PO는 위내 직접투여를 의미하고; IP는 복강 투여를 의미한다.
- [0103] 화합물은 수공 또는 ChemDraw® 소프트웨어로 명명되고, 시판되는 화합물은 공급 업체 목록 명칭을 사용하였다.

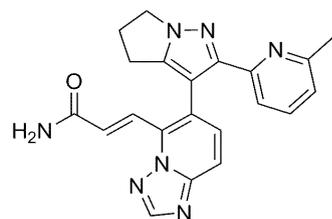
**도면의 간단한 설명**

- [0104] 도 1은 실시예1, LY2157299 및 BioXcell-mPD-L1이 CT-26 세포피하 이종이식 종양 자성 BALB/c 마우스 모델에 대한 체중 영향이다.
- 도 2는 CT-26 이식 종양 모델 답암 마우스에 실시예1, LY2157299 및 BioXcell-mPD-L1을 투여한 후의 종양 성장 그래프이다.
- 도 3은 마우스 유래의 유방암 4T1 세포 BALB/c 마우스 원위치 이식 모델 종양 세포 전이 억제 실험에서 동물의 상대적 체중 변화이다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

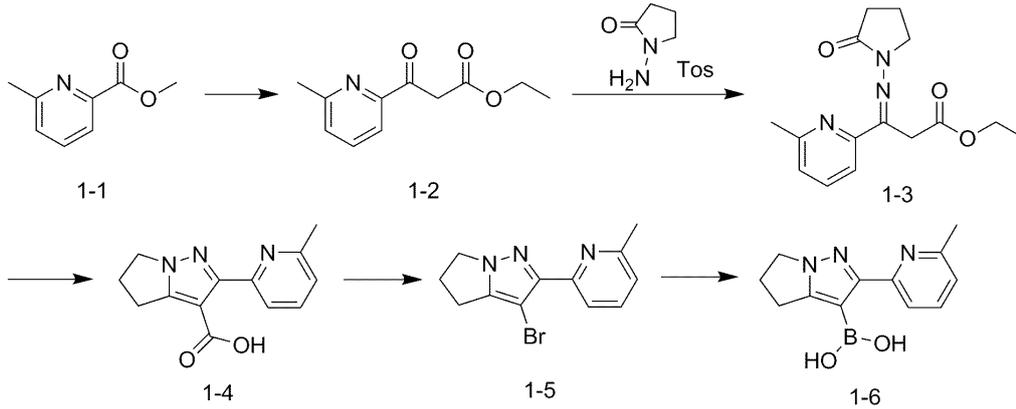
- [0105] 아래 실시예를 통하여 본 발명을 상세하게 설명하지만, 본 발명은 어떠한 불리한 제한도 받지 않는다. 본문에서 이미 본 발명을 상세하게 설명하였고, 여기서 구체적인 실시형태도 공개하였으며, 본 기술분야의 기술자들에게 있어서, 본 발명의 정신과 범위를 벗어나지 않는 사항하에서 본 발명의 구체적인 실시형태에 대해 다양한 변화와 개선을 진행하는 것은 자명한 것이다.

- [0106] 실시예1



- [0107]

[0108] 중간체1-6의 제조:



[0109]

[0110] 단계A: 에틸아세테이트(291.41 mL, 2.98 mol)를 톨루엔(750.00 mL)에 용해시킨 다음, 실온에서 나트륨에톡사이드(Sodium ethoxide)(135.06 g, 1.98 mol)를 차수를 나누어 넣었고, 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 6-메틸피리딘-메틸포메이트(6-methylpyridyl-methyl formate)(150.00 g, 992.33 mmol)를 25℃에서 상기 반응액에 넣은 다음, 95℃까지 가열하고 15시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 30℃까지 냉각시켰고, 초산으로 pH를 7까지 조절하였으며, 물(500 mL)을 넣고 희석한 다음, 에틸아세테이트(500 mL)로 추출하였다. 유기상을 무수 황산나트륨으로 건조시켰고, 여과하여 감압 농축시켰다. 잔여물을 실리카 겔 컬럼(용출제: 석유에테르/에틸아세테이트=50/1)으로 정제시켜, 3-(6-메틸-2-피리딘)-3-옥소-프로피온산 에틸에스테르(3-(6-methyl-2-pyridine)-3-oxo-propionic acid ethyl ester)(120.00 g, 수율: 58.35%)를 얻었다.

[0111]

단계B: 3-(6-메틸-2-피리딘)-3-옥소-프로피온산 에틸에스테르(120.00 g, 579.07 mmol)를 피리딘(300 mL)에 용해시킨 다음, 1-아미노피롤리딘-2-온(1-aminopyrrolidin-2-one)의 p-톨루엔술포네이트(p-toluenesulfonat)(172.01 g, 631.66 mmol)를 넣었다. 반응 혼합물을 25℃에서 16시간 동안 교반한 다음, 감압 농축시켜 용매를 제거하였다. 물(300 mL)을 넣고 잔여물을 희석한 다음, 에틸아세테이트(300 mL×2)로 추출하였다. 합쳐진 유기상을 무수 황산나트륨으로 건조시키고, 여과하고 감압 농축시켜 3-(6-메틸-2-피리딘)-3-(2-카르보닐-피롤리딘)이미노-프로피온산 에틸에스테르(3-(6-methyl-2-pyridine)-3-(2-carbonyl-pyrrolidine)imino-propionic acid ethyl ester)(150 g, 수율: 90.28%)를 얻었다.

[0112]

단계C: 3-(6-메틸-2-피리딘)-3-(2-카르보닐-피롤리딘)이미노-프로피온산 에틸에스테르(155.00 g, 535.72 mmol)를 톨루엔에 용해시킨 다음, 나트륨에톡사이드(72.91 g, 1.07 mol)를 넣었다. 반응 혼합물을 100℃까지 가열하여 16시간 동안 교반한 다음, 실온까지 냉각시켰다. 물(1.5 L)을 천천히 넣고 희석하였으며, 농염산으로 pH를 4까지 조절하였으며, 디클로로메탄/이소프로판올(10/1)(1 L×7)로 추출하였다. 합쳐진 유기상을 무수 황산나트륨으로 건조시켰고, 여과하여 감압 농축시켰다. 잔여물을 석유에테르/에틸아세테이트=10/1(200 mL)로 펄핑(pulping)하였고, 여과하여 고체를 수집하였다. 상기 고체를 감압 건조시킨 후 2-(6-메틸-2-피리딘)-5,6-디히드로-4H-피롤[1,2-b]피라졸-3-카르복실산(2-(6-methyl-2-pyridine)-5,6-dihydro-4H-pyrrole[1,2-b]pyrazole-3-carboxylic acid)(52.80 g, 수율: 40.52%)을 얻었다.

[0113]

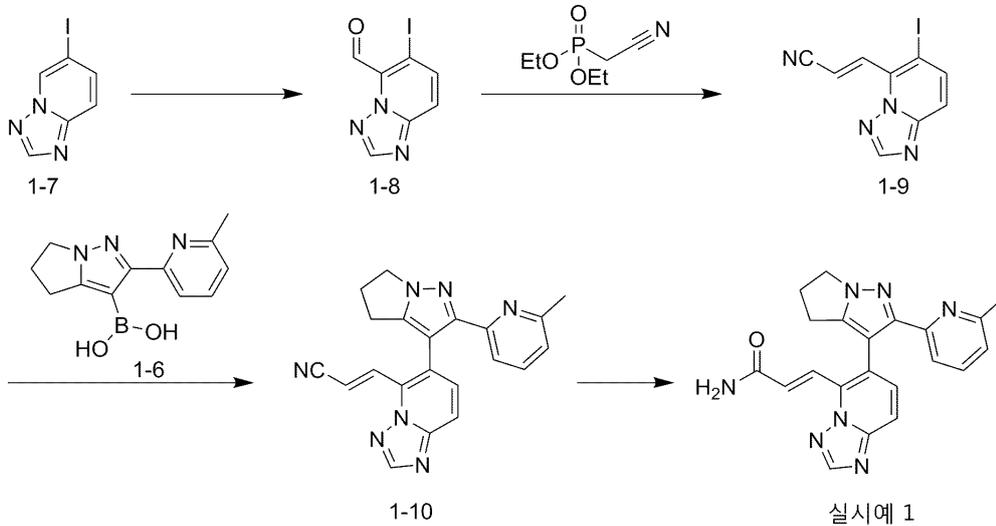
단계D: 2-(6-메틸-2-피리딘)-5,6-디히드로-4H-피롤[1,2-b]피라졸-3-카르복실산(45.00 g, 184.99 mmol)을 N,N-디메틸포름아미드(650.00 mL)에 용해시킨 다음, NBS(49.09 g, 258.99 mmol)를 넣었다. 반응 혼합물을 30~40℃에서 60시간 동안 교반한 다음, 물(600 mL)로 희석하였고, 디클로로메탄/이소프로판올(10/1)(500 mL×3)로 추출하였다. 합쳐진 유기상을 수산화나트륨(0.5 mol/L, 800 mL)으로 한번 세척하였고, 무수 황산나트륨으로 건조시켰으며, 여과하여 감압 농축시켰다. 얻은 고체를 석유에테르/에틸아세테이트=10/1(200 mL)로 펄핑하였고, 여과하여 고체를 수집하였다. 상기 고체를 감압 건조시켜, 3-브로모-2-(6-메틸-2-피리딘)-5,6-디히드로-4H-피롤[1,2-b]피라졸(3-bromo-2-(6-methyl-2-pyridine)-5,6-dihydro-4H-pyrrolo[1,2-b]pyrazole)(33.00 g, 수율: 64.13%)을 얻었다.

[0114]

단계E: 3-브로모-2-(6-메틸-2-피리딘)-5,6-디히드로-4H-피롤[1,2-b]피라졸(1.00 g, 3.60 mmol)과 트리이소프로필 보레이트(Triisopropyl borate)(1.79 g, 9.54 mmol)를 테트라히드로푸란(20.00 mL)에 용해시켰다. 반응 혼합물을 영하 70℃까지 냉각시킨 다음, n-부틸리튬(n-butyllithium)(2.5M, 3.74 mL)을 적가하였다. 적가 완료 후, 반응 혼합물을 25℃에서 1시간 동안 교반하였고, 염산 수용액(0.5 mol/L)으로 pH를 7까지 조절하였다. 다음, 감압 농축시켜 테트라히드로푸란을 제거한 후, 15℃까지 냉각시켰다. 상기 혼합물을 여과하고, 필터 케이

크를 석유에테르/에틸아세테이트=10/1(5.5 mL)로 펄핑하였으며, 여과하여 고체를 수집하였고, 상기 고체를 감압 건조시킨 후 [2-(6-메틸-2-피리딘)-5,6-디히드로-4H-피롤로[1,2-b]피라졸-3-일]보론산([2-(6-Methyl-2-pyridyl)-5,6-dihydro-4H-pyrrolo[1,2-b]pyrazol-3-yl]boronic acid)(750 mg, 수율: 85.71 %)을 얻었다.

[0115] 실시예1의 제조:



[0116]

[0117] 단계A: 6-요오도-[1,2,4]트리아졸로[1,5-a]피리딘(6-iodo-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridine)(16.00 g, 65.30 mmol)을 테트라히드로푸란(800.00 mL)에 용해시켜, 영하 60~70℃까지 냉각시킨 후, 리튬 헥사메틸디실라지드(Lithium hexamethyldisilazide)(1 mol/L, 130.60 mL, 65.30 mmol)를 적가하였다. 반응 혼합물을 영하 60 ~ 70 ℃에서 15분 동안 교반한 다음, N,N-디메틸포름아미드(14.32g, 195.90mmol, 15.07mL)를 첨가하였다. 이어서, 영하 60 ~ 70 ℃에서 15분 동안 더 교반한 다음, 포화 염화암모늄 수용액(500 mL)으로 쿼칭(quenching)하였다. 반응 혼합물을 실온까지 승온시킨 후 에틸아세테이트(500 mL×2)로 추출하였다. 합쳐진 유기상을 염수(500 mL)로 세척하고, 무수 황산나트륨으로 건조시켰으며, 여과하여 감압 농축시켰다. 잔여물을 실리카 겔 컬럼(용출제: 디클로로메탄/에틸아세테이트=10/1)으로 정제시켜, 6-요오드-[1,2,4]트리아졸로[1,5-a]피리딘-5-포름알데히드(6-iodo-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridine-5-formaldehyde)(6.40 g, 수율: 35.90 %)를 얻었다. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 10.46(s, 1H), 8.62(s, 1H), 8.16(d, J = 9.3 Hz, 1H), 7.88(d, J = 9.3 Hz, 1H).

[0118]

단계B: 온도계와 질소가스 불이 들어있는 500 mL의 삼구 플라스크에 2-디에톡시포스포릴 아세토니트릴(2-diethoxyphosphoryl acetonitrile)(3.83 g, 21.61 mmol, 3.48 mL)과 테트라히드로푸란(80 mL)을 넣었다. 혼합물을 0℃까지 냉각시킨 다음, 칼륨 tert-부톡시드(Potassium tert-butoxide)(2.42 g, 21.61 mmol)를 차수를 나누어 넣었다. 반응 혼합물을 0 ℃에서 15분 동안 교반한 후 드로핑 깔때기(dropping funnel)로 다른 현탁액 (6-요오드-[1,2,4]트리아졸로[1,5-a]피리딘-5-포름알데히드를 테트라히드로푸란(120 mL)에 분산시켜 0 ℃까지 냉각시켰음)에 적가하였다. 반응 혼합물을 0 ℃에서 15분 동안 교반한 다음, 물(300 mL)을 넣고 쿼칭시키고, 에틸아세테이트(200 mL)와 디클로로메탄(200 mL×2)으로 추출하였다. 합쳐진 유기상을 염수(300 mL)로 세척하였고, 무수 황산나트륨으로 건조시켰으며, 여과하여 감압 농축시켰다. 잔여물을 실리카 겔 컬럼 (용출제: 디클로로메탄/에틸아세테이트=200/1 내지 10/1)으로 정제시켜, (E)-3-(6-요오드-[1,2,4]트리아졸로[1,5-a]피리딘-5-일)프로프-2-엔니트릴((E)-3-(6-iodo-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-5-yl)prop-2-enenitrile)(4.2 g, 수율: 65.66 %)을 얻었다. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CHLOROFORM-d) δ 8.42(s, 1H), 8.03(d, J = 9.3 Hz, 1H), 7.98-7.91(m, 1H), 7.85-7.78(m, 1H), 7.60(d, J = 9.2 Hz, 1H).

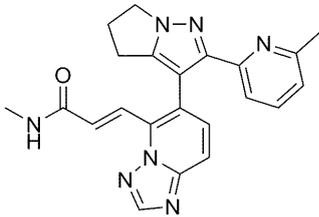
[0119]

단계C: (E)-3-(6-요오드-[1,2,4]트리아졸로[1,5-a]피리딘-5-일)프로프-2-엔니트릴(4.50 g, 15.20 mmol), [2-(6-메틸-2-피리딘)-5,6-디히드로-4H-피롤로[1,2-b]피라졸-3-일]보론산([2-(6-Methyl-2-pyridyl)-5,6-dihydro-4H-pyrrolo[1,2-b]pyrazol-3-yl]boronic acid)(4.43 g, 18.24 mmol), 탄산나트륨(4.83 g, 45.60 mmol), [1,1'-비스(디페닐포스피노)페로센]팔라듐디클로라이드([1,1'-bis(diphenylphosphino)ferrocene]palladium dichloride)(556.07 mg, 759.96 μmol), 2-디시클로헥실포스핀-2', 6'-디메톡시비페닐(2-dicyclohexylphosphine-2', 6'-dimethoxybiphenyl)(311.98 mg, 759.96 μmol) 및 [2-(2-아미노페닐)페닐]-클로로-팔라듐-시클로헥실-[2-(2,6-디메톡시페닐)페닐]포스핀([2-(2-Aminophenyl)phenyl]-chloro-palladium-

cyclohexyl-[2-(2,6-dimethoxyphenyl)phenyl]phosphine)(547.64 mg, 759.96  $\mu\text{mol}$ )을 디옥산(dioxane)(100 mL)과 물(20 mL)의 혼합 용매에 넣었다. 질소가스로 3번 치환한 다음 90~100 $^{\circ}\text{C}$ 까지 가열하여 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 물(200 mL)에 넣고 퀀칭시키고, 디클로로메탄(200 mL $\times$ 2)으로 추출하였다. 합쳐진 유기상을 염수(200 mL)로 세척하였고, 무수 황산나트륨으로 건조시켰으며, 여과하여 감압 농축시켰다. 잔여물을 실리카 겔 컬럼(용출제: 디클로로메탄/메탄올=30/1)으로 정제시켜, 조품을 얻었고, 조품을 석유에테르/에틸아세테이트=5/1의 혼합 용매에서 12시간 동안 교반하였으며, 여과하여 고체를 수집하였고, 상기 고체를 감압 농축 건조시켜 (E)-3-[6-[2-(6-메틸-2-피리딜)-5,6-디히드로-4H-피롤로[1,2-b]피라졸-3-일]-[1,2,4]트리아졸로[1,5-a]피리딘-5-일]프로프-2-엔니트릴((E)-3-[6-[2-(6-methyl-2-pyridyl)-5,6-dihydro-4H-pyrrolo[1,2-b]pyrazol-3-yl]-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-5-yl]prop-2-enitrile)(5.37 g, 수율: 96.16 %)을 얻었다.  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, CHLOROFORM-d)  $\delta$  8.49(s, 1H), 7.82-7.74(m, 2H), 7.59-7.46(m, 4H), 6.99(dd,  $J$  = 2.6, 6.1 Hz, 1H), 4.39(d,  $J$  = 6.3 Hz, 2H), 2.90-2.70(m, 4H), 2.20(s, 3H).

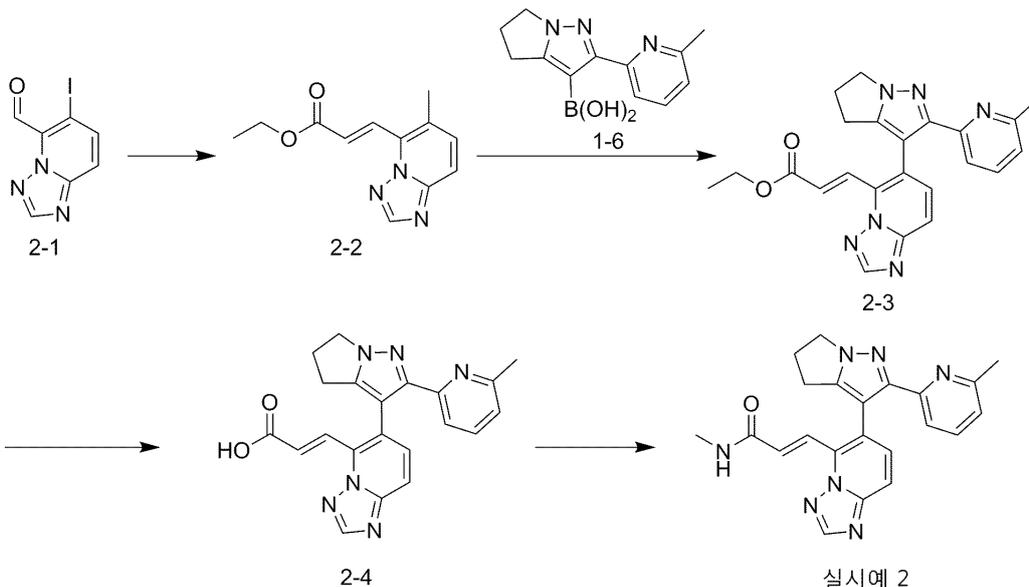
[0120] 단계D: (E)-3-[6-[2-(6-메틸-2-피리딜)-5,6-디히드로-4H-피롤로[1,2-b]피라졸-3-일]-[1,2,4]트리아졸로[1,5-a]피리딘-5-일]프로프-2-엔니트릴(5.37 g, 14.62 mmol)을 디클로로메탄(20 mL), 디메틸술폭시드(70 mL)와 물(20 mL)의 혼합 용매에 용해시킨 다음, 과산화수소수(8.29 g 73.10 mmol, 7.02 mL, 30 %) 및 수산화나트륨(2 mol/L, 14.62 mL)을 각각 넣었다. 혼합물을 15~20 $^{\circ}\text{C}$ 에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 물(200 mL)에 넣고 퀀칭시키고, 디클로로메탄/이소프로판올(3/1)의 혼합 용매(200 mL $\times$ 1)로 추출하였다. 유기상을 포화 티오황산나트륨 수용액(200 mL)으로 세척하였고, 무수 황산나트륨으로 건조시켜, 여과하여 감압 농축시켰다. 잔여물을 제조용 고성능액체크로마토그래피(컬럼: Phenomenex Gemini C18 250 $\times$ 50 mm $\times$ 10  $\mu\text{m}$ ; 이동상: [물(0.05 %암모니아수v/v)-아세트니트릴]; 구배: 5 % 내지 32 %, 33; 80 %분)로 정제하여, 실시예1(3.6g, 수율: 63.82%)을 얻었다.  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, CHLOROFORM-d)  $\delta$  8.45(s, 1H), 8.09(d,  $J$  = 15.6 Hz, 1H), 7.85(d,  $J$  = 15.6 Hz, 1H), 7.69(d,  $J$  = 9.2 Hz, 1H), 7.55-7.45(m, 2H), 7.37(d,  $J$  = 7.8 Hz, 1H), 6.99(d,  $J$  = 7.7 Hz, 1H), 5.93-5.65(m, 2H), 4.35(br. s., 2H), 2.99-2.64(m, 4H), 2.33(s, 3H).

[0121] 실시예2



[0122]

[0123] 실시예2의 제조:



[0124]

[0125] 단계A: 2-디에톡시포스포릴 에틸아세테이트(2-diethoxyphosphoryl ethyl acetate)(295.93 mg, 1.32 mmol,

261.88 μL)를 테트라히드로푸란(6 mL)에 용해시켜, 0 °C까지 냉각시킨 후, 수소화나트륨(52.80 mg, 1.32 mmol)을 한번에 넣었다. 반응 혼합물을 0°C에서 15분 동안 교반한 후 다른 현탁액(6-요오드-[1,2,4]트리아졸로[1,5-a]피리딘-5-포르말데히드(300 mg, 1.10 mmol)를 테트라히드로푸란(6 mL)에 분산시켜 영하 10 내지 15 °C까지 냉각시킴)에 적가하였다. 반응 혼합물을 영하 10~15°C에서 15분 동안 교반한 후, 포화 염화암모늄 수용액(20 mL)을 넣고 퀴칭시키고, 디클로로메탄(20 mL×3)으로 추출하였다. 합쳐진 유기상을 염수(30 mL)로 세척하였고, 무수 황산나트륨으로 건조시키며, 감압 농축시켰다. 잔여물을 실리카 겔 컬럼(용출제: 디클로로메탄/에틸아세테이트=10/1)으로 정제시켜, 에틸 (E)-3-(6-요오도-[1,2,4]트리아졸로[1,5-a]피리딘-5-일)프로프-2-에노에이트(ethyl (E)-3-(6-Iodo-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-5-yl)prop-2-enoate)(330 mg, 수율: 87.43 %)를 얻었다.

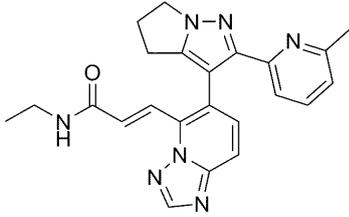
[0126] 단계B: 에틸 (E)-3-(6-요오도-[1,2,4]트리아졸로[1,5-a]피리딘-5-일)프로프-2-에노에이트(330 mg, 961.76 μmol), [2-(6-메틸-2-피리딜)-5,6-디히드로-4H-피롤로[1,2-b]피라졸-3-일]보론산([2-(6-Methyl-2-pyridyl)-5,6-dihydro-4H-pyrrolo[1,2-b]pyrazol-3-yl]boronic acid) (268.84 mg, 1.11 mmol), 탄산나트륨(305.81 mg, 2.89 mmol), [1,1'-비스(디페닐포스핀)페로센]팔라듐디클로라이드.디클로로메탄(39.27 mg, 48.09 μmol), 디시클로헥실포스핀-2',6'-디메톡시비페닐(Bicyclohexylphosphine-2',6'-dimethoxybiphenyl)(19.74 mg, 48.09 μmol) 및 [2-(2-아미노페닐)페닐]-클로로-팔라듐([2-(2-Aminophenyl)phenyl]-chloro-palladium); 시클로헥실-[2-(2,6-디메톡시페닐)페닐]포스핀(Cyclohexyl-[2-(2,6-dimethoxyphenyl)phenyl]phosphine)(34.65 mg, 48.09 μmol)을 디옥산(10 mL)과 물(2 mL)의 혼합 용매에 넣었다. 반응 혼합물을 질소가스로 3번 치환한 다음, 90 내지 100도로 가열하고 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 물(20 mL)에 넣어 퀴칭시키고, 디클로로메탄(20 mL×3)으로 추출하였다. 합쳐진 유기상을 염수로 세척하였고, 무수 황산나트륨으로 건조시켰으며, 여과하여 감압 농축시켰다. 잔여물을 제조용 실리카 겔 플레이트(전개제: 디클로로메탄/메탄올=30/1)로 정제시켜, 에틸 (E)-3-[6-[2-(6-메틸-2-피리딜)-5,6-디히드로-4H-피롤로[1,2-b]피라졸-3-일]-[1,2,4]트리아졸로[1,5-a]피리딘-5-일]프로프-2-에노에이트(ethyl (E)-3-[6-[2-(6-methyl-2-pyridyl)-5,6-dihydro-4H-pyrrolo[1,2-b]pyrazol-3-yl]-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-5-yl]prop-2-enoate)(359 mg, 수율: 81.57 %)를 얻었다.

[0127] 단계C: 에틸 (E)-3-[6-[2-(6-메틸-2-피리딜)-5,6-디히드로-4H-피롤로[1,2-b]피라졸-3-일]-[1,2,4]트리아졸로[1,5-a]피리딘-5-일]프로프-2-에노에이트(359.00 mg, 866.19 μmol)를 테트라히드로푸란(6 mL)과 물(2 mL)의 혼합 용매에 용해시킨 다음, 수산화리튬 1수화물(Lithium hydroxide monohydrate)(109.04 mg, 2.6 mmol)을 한번에 넣었다. 반응 혼합물을 15 내지 20 °C에서 12시간 동안 교반한 다음, 물(15 mL)로 희석하고 희염산(1 mol/L)으로 pH를 5 내지 6으로 조절한 후, 디클로로메탄(20 mL×1)으로 추출하였다. 유기상을 염수(30 mL)로 세척하였고, 무수 황산나트륨으로 건조시키고, 여과하고 감압 농축시켜 (E)-3-[6-[2-(6-메틸-2-피리딜)-5,6-디히드로-4H-피롤로[1,2-b]피라졸-3-일]-[1,2,4]트리아졸로[1,5-a]피리딘-5-일]프로프-2-엔산((E)-3-[6-[2-(6-methyl-2-pyridyl)-5,6-dihydro-4H-pyrrolo[1,2-b]pyrazol-3-yl]-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-5-yl]prop-2-enoic acid)(330 mg, 수율: 98.59 %)을 얻었다.

[0128] 단계D: (E)-3-[6-[2-(6-메틸-2-피리딜)-5,6-디히드로-4H-피롤로[1,2-b]피라졸-3-일]-[1,2,4]트리아졸로[1,5-a]피리딘-5-일]프로프-2-엔산(65 mg, 168.22 μmol), 메틸아민 히드로클로라이드(Methylamine hydrochloride)(22.72 mg, 336.44 μmol), HATU(127.92 mg, 336.44 μmol) 및 트리에틸아민(triethylamine)(68.09 mg, 672.88 μmol, 93.27 μL)을 N,N-디메틸포름아미드(2 mL)에 용해시켰다. 반응 혼합물을 15 내지 20 °C에서 12시간 동안 교반하고, 메탄올(2 mL)로 직접 희석한 후, 제조용 고성능액체크로마토그래피(컬럼: Phenomenex Gemini 150×25 mm×10 μm; 이동상: [물(0.05 % 암모니아수v/v)-아세토니트릴]; 구배: 21 %-51 %, 15분)로 정제시켜, 실시예2(27.79 mg, 수율: 41.36 %)를 얻었다. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.67(s, 1H), 8.43(d, J = 4.6 Hz, 1H), 7.93-7.80(m, 2H), 7.68-7.61(m, 2H), 7.60-7.49(m, 2H), 7.02(dd, J = 1.6, 6.8 Hz, 1H), 4.29(d, J = 9.0 Hz, 2H), 2.84-2.72(m, 2H), 2.69-2.57(m, 5H), 1.99(s, 3H).

[0129] 실시예3 내지 실시예 5는 모두 실시예2의 제조 과정을 참조하여 제조할 수 있다.

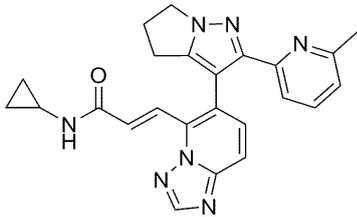
[0130] 실시예3



[0131]

[0132]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz, DMSO-d6)  $\delta$  8.67(s, 1H), 8.48(br t,  $J = 5.3$  Hz, 1H), 7.95-7.78(m, 2H), 7.69-7.46(m, 4H), 7.02(dd,  $J = 1.6, 6.7$  Hz, 1H), 4.29(br d,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 3.26-3.08(m, 2H), 2.81-2.58(m, 4H), 1.99(s, 3H), 1.04(t,  $J = 7.2$  Hz, 3H).

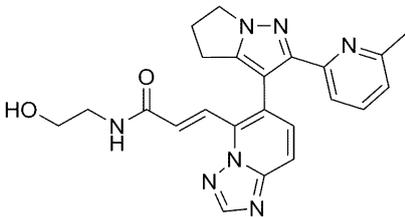
[0133] 실시예4



[0134]

[0135]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz, DMSO-d6)  $\delta$  8.66(s, 1H), 8.53(d,  $J = 4.8$  Hz, 1H), 8.14(s, 1H), 7.89-7.81(m, 2H), 7.69-7.61(m, 2H), 7.60-7.48(m, 2H), 7.06-7.00(m, 1H), 4.30(d,  $J = 8.9$  Hz, 2H), 2.83-2.73(m, 3H), 2.66-2.60(m, 2H), 1.99(s, 3H), 0.65(d,  $J = 5.6$  Hz, 2H), 0.46(d,  $J = 2.8$  Hz, 2H).

[0136] 실시예5

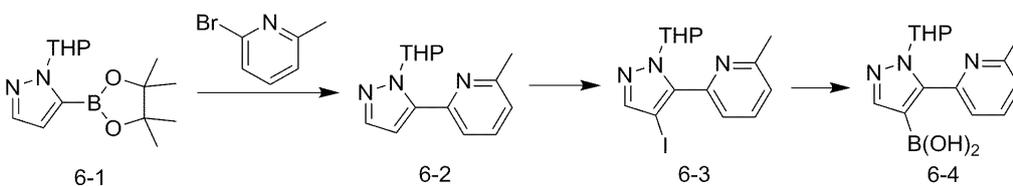


[0137]

[0138]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz, DMSO-d6)  $\delta$  8.67(s, 1H), 8.50(t,  $J = 5.6$  Hz, 1H), 7.93(d,  $J = 15.6$  Hz, 1H), 7.83(d,  $J = 9.2$  Hz, 1H), 7.69-7.61(m, 2H), 7.59-7.49(m, 2H), 7.02(dd,  $J = 1.8, 6.7$  Hz, 1H), 4.69(t,  $J = 5.5$  Hz, 1H), 4.34-4.24(m, 2H), 3.43(q,  $J = 5.9$  Hz, 2H), 3.21(d,  $J = 3.1$  Hz, 2H), 2.83-2.73 (m, 2H), 2.62(quin,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 1.99(s, 3H).

[0139] 실시예6

[0140] 중간체6-4의 제조:



[0141]

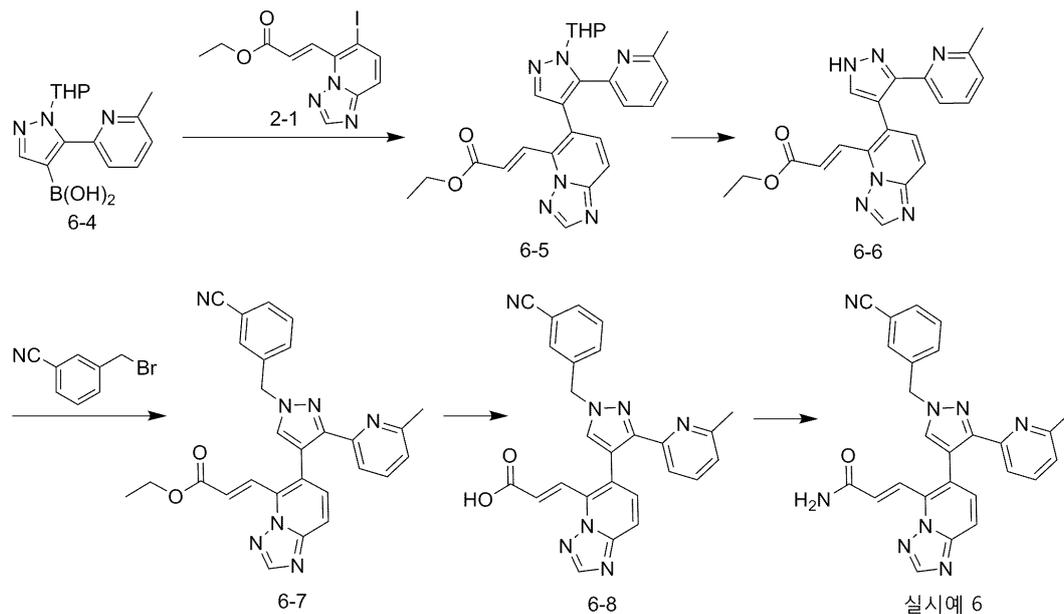
[0142] 단계A: 1-테트라히드로피란-2-일-5-(4,4,5,5-테트라메틸-1,3,2-디옥사보롤란-2-일)피라졸(1-tetrahydropyran-2-yl-5-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)pyrazole)(10.96 g, 39.41 mmol), 2-브로모-6-메틸-피리딘(6.00 g, 34.88 mmol, 3.97 mL) 및 [1,1'-비스(디페닐포스피노)페로센]팔라듐디클로라이드(1.28 g, 1.74 mmol) 및 탄산나트륨(11.09 g, 104.64 mmol)을 디옥산(200.00 mL)과 물(40.00 mL)의 혼합 용매에 넣었다. 반응 혼합물을 질소가스로 3번 치환한 다음, 80 내지 90 °C까지 가열하여 3시간 동안 교반한 다음, 물(200 mL)에 넣

어 퀴칭시키고, 에틸아세테이트(180 mL×2)로 추출하였다. 합쳐진 유기상을 식염수(200 mL)로 세척하고, 무수 황산나트륨으로 건조시키고, 여과하여 감압 농축시켰다. 잔여물을 실리카 겔 컬럼 (용출제: 석유에테르/에틸아세테이트=10/1 내지 5/1)으로 정제시켜, 2-메틸-6-(2-테트라히드로피란-2-일피라졸-3-일)피리딘(2-methyl-6-(2-tetrahydropyran-2-ylpyrazol-3-yl)pyridine)(4.10 g, 조품)을 얻었다. 제품을 핵자기를 거쳐 조품으로 감정하였다.

[0143] 단계B: 2-메틸-6-(2-테트라히드로피란-2-일피라졸-3-일)피리딘(2.10 g, 조품)을 아세트산(20.00 mL)에 용해시킨 다음, NIS(2.04 g, 9.06 mmol)를 한번에 넣었다. 혼합물을 70 내지 80 °C까지 가열하여 1시간 동안 교반한 후, 포화 탄산수소나트륨 수용액(50 mL)에 넣고 퀴칭시킨 다음, 에틸아세테이트(50 mL×3)로 추출하였다. 합쳐진 유기상을 염수(30 mL)로 세척하고, 무수 황산나트륨으로 건조시키고, 여과하여 감압 농축시켰다. 잔여물을 실리카 겔 컬럼(용출제: 석유에테르/에틸아세테이트=10/1)으로 정제시켜, 2-(4-요오도-2-테트라히드로피란-2-일-피라졸-3-일)-6-메틸 피리딘(2-(4-iodo-2-tetrahydropyran-2-yl-pyrazol-3-yl)-6-methylpyridine)(1.60 g, 수율: 50.22 %)을 얻었다.

[0144] 단계C: 2-(4-요오도-2-테트라히드로피란-2-일-피라졸-3-일)-6-메틸 피리딘(500.00 mg, 1.35 mmol) 및 트리이소프로필 보레이트(Triisopropyl borate)(672.82 mg, 3.58 mmol, 820.51 μL)를 테트라히드로푸란(10 mL)에 용해시켰다. 반응 혼합물을 영하 78°C까지 냉각시킨 후, n-부틸리튬(2.5M, 1.40 mL)을 적가하고, 영하 78 ~ 60 °C에서 30분 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 포화 염화암모늄 용액(20 mL)에 넣고 퀴칭시키고 10분 동안 교반한 다음, 에틸아세테이트(20 mL×2)로 추출하였다. 합쳐진 유기상을 무수 황산나트륨으로 건조시키고, 여과하여 감압 농축시켰다. 잔여물을 제조용 실리카 겔 플레이트 (전개제: 석유에테르/에틸아세테이트=1/1)로 정제시켜, [5-(6-메틸-2-피리딜)-1-테트라히드로피란-2-일-피라졸-4-일]보론산([5-(6-Methyl-2-pyridyl)-1-tetrahydropyran-2-yl-pyrazol-4-yl]boronic acid)(200.00 mg, 수율: 51.60 %)을 얻었다.

[0145] 실시예6의 제조:



[0146] 단계A: [5-(6-메틸-2-피리딜)-1-테트라히드로피란-2-일-피라졸-4-일]보론산(200.00 mg, 696.57 μmol), 에틸 (E)-3-(6-요오도-[1,2,4]트리아졸로[1,5-a]피리딘-5-일)프로프-2-에노에이트(239.01 mg, 696.57 μmol), 탄산나트륨(221.49 mg, 2.09 mmol), [1,1'-비스(디페닐포스포노)페로센]팔라듐디클로라이드(50.97 mg, 69.66 μmol), 디시클로헥실포스핀-2',6'-디메톡시비페닐(28.60 mg, 69.66 μmol) 및 [2-(2-아미노페닐)페닐]-클로로-팔라듐; 시클로헥실-[2-(2,6-디메톡시페닐)페닐]포스핀(50.20 mg, 69.66 μmol)을 디옥산(3 mL)과 물(1 mL)의 혼합 용매에 넣었다. 질소가스로 3번 치환한 다음, 80 내지 90 °C까지 가열하여 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 물(30 mL)에 넣고 퀴칭시킨 다음, 에틸아세테이트(30 mL×2)로 추출하였다. 합쳐진 유기상을 무수 황산나트륨으로 건조시키고, 여과하여 감압 농축시켰다. 잔여물을 제조용 실리카 겔 플레이트(전개제: 디클로로메탄/메탄올=30/1)로 정제시켜, 에틸 (E)-3-[6-(5-(6-메틸-2-피리딜)-1-테트라히드로피란-2-일-피라졸-4-일)-[1,2,4]트리아졸로[1,5-a]피리딘-5-일]프로프-2-에노에이트(ethyl (E)-3-[6-[5-(6-methyl-2-pyridyl)-1-tetrahydropyran-2-yl-pyrazol-4-yl]-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-5-yl]prop-2-enoate)(250.00 mg, 수율:

78.27 %)를 얻었다.

[0148] 단계B: 에틸 (E)-3-[6-(5-(6-메틸-2-피리딜)-1-테트라히드로피란-2-일-피라졸-4-일)-[1,2,4]트리아졸로[1,5-a]피리딘-5-일]프로프-2-에노에이트(250.00 mg, 545.24  $\mu\text{mol}$ )를 에탄올(3 mL)에 용해시킨 다음, 디옥산 염산염(Dioxane hydrochloride)(4M, 5.01 mL)을 넣었다. 반응 혼합물을 15 내지 20  $^{\circ}\text{C}$ 에서 12시간 동안 교반한 후, 감압 농축시켜 용매를 제거하였고, 포화 탄산수소나트륨 용액(20 mL)으로 pH를 8 내지 9로 조절한 다음, 디클로로메탄(20 mL $\times$ 2)으로 추출하였다. 합쳐진 유기상을 염수(30 mL)로 세척하고, 무수 황산나트륨으로 건조시켰으며, 여과하고 감압 농축시켜 에틸 (E)-3-[6-(5-(6-메틸-2-피리딜)-1H-피라졸-4-일)-[1,2,4]트리아졸로[1,5-a]피리딘-5-일]프로프-2-에노에이트(ethyl (E)-3-[6-[5-(6-methyl-2-pyridyl)-1H-pyrazol-4-yl]-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-5-yl]prop-2-enoate)(230.00 mg, 조품)를 얻었다.

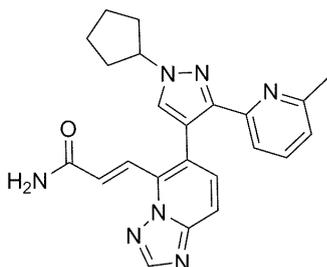
[0149] 단계C: 에틸 (E)-3-[6-(5-(6-메틸-2-피리딜)-1H-피라졸-4-일)-[1,2,4]트리아졸로[1,5-a]피리딘-5-일]프로프-2-에노에이트(230.00 mg, 조품)를 테트라히드로푸란(5 mL)에 용해시켰다. 반응 혼합물을 영하 20  $^{\circ}\text{C}$ 까지 냉각시킨 다음, 수소화나트륨(27.03mg, 675.75  $\mu\text{mol}$ )를 첨가하고, 계속하여 영하 20 $^{\circ}\text{C}$ 에서 30분 동안 교반하였다. 이어서 3-시아노벤질 브로마이드(3-cyanobenzyl bromide)(132.47 mg, 675.75  $\mu\text{mol}$ )를 넣었다. 반응 혼합물을 15 내지 20  $^{\circ}\text{C}$ 까지 승온시켜 계속하여 4시간 동안 교반한 다음, 물(20 mL)에 넣고 퀴칭시키고, 희염산(1M)으로 pH를 5 내지 6으로 조절하였으며, 에틸아세테이트(20 mL $\times$ 2)로 추출하였다. 합쳐진 유기상을 무수 황산나트륨으로 건조시켰고, 여과하여 감압 농축시켰다. 잔여물을 제조용 실리카 겔 플레이트 (전개제: 디클로로메탄/메탄올=30/1)로 정제시켜, 에틸 (E)-3-[6-[1-[(3-벤조니트릴)메틸]-3-(6-메틸-2-피리딜)피라졸-4-일]-[1,2,4]트리아졸로[1,5-a]피리딘-5-일]프로프-2-에노에이트(ethyl (E)-3-[6-[1-[(3-Benzonitrile)methyl]-3-(6-methyl-2-pyridyl)pyrazol-4-yl]-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-5-yl]prop-2-enoate)(150.00 mg, 수율: 46.67 %)를 얻었다.

[0150] 단계D: 에틸 (E)-3-[6-[1-[(3-벤조니트릴)메틸]-3-(6-메틸-2-피리딜)피라졸-4-일]-[1,2,4]트리아졸로[1,5-a]피리딘-5-일]프로프-2-에노에이트(150.00 mg, 306.42  $\mu\text{mol}$ )를 테트라히드로푸란(3 mL)에 용해시킨 다음, 수산화리튬 1수화물(38.57 mg, 919.26  $\mu\text{mol}$ )을 한번에 넣었다. 반응 혼합물을 15 내지 20  $^{\circ}\text{C}$ 에서 12시간 동안 교반한 다음, 물(10 mL)에 넣고 퀴칭시키고, 희염산(1M)으로 pH를 5 내지 6으로 조절하였으며, 디클로로메탄(20 mL $\times$ 2)으로 추출하였다. 합쳐진 유기상을 염수(30 mL)로 세척하고, 무수 황산나트륨으로 건조시켰으며, 여과하고 감압 농축시켜 (E)-3-[6-[1-[(3-벤조니트릴)메틸]-3-(6-메틸-2-피리딜)피라졸-4-일]-[1,2,4]트리아졸로[1,5-a]피리딘-5-일]프로프-2-엔산((E)-3-[6-[1-[(3-Benzonitrile)methyl]-3-(6-methyl-2-pyridyl)pyrazol-4-yl]-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-5-yl]prop-2-enoic acid)(130.00 mg, 수율: 91.94 %)을 얻었다.

[0151] 단계E: (E)-3-[6-[1-[(3-벤조니트릴)메틸]-3-(6-메틸-2-피리딜)피라졸-4-일]-[1,2,4]트리아졸로[1,5-a]피리딘-5-일]프로프-2-엔산(130.00 mg, 281.71  $\mu\text{mol}$ ), HATU(214.23 mg, 563.42  $\mu\text{mol}$ ) 및 트리에틸아민(57.01 mg, 563.42  $\mu\text{mol}$ , 78.10  $\mu\text{L}$ )을 N,N-디메틸포름아미드(2 mL)에 용해시켰다. 반응 혼합물을 15 내지 20  $^{\circ}\text{C}$ 에서 1시간 동안 교반한 후, 3 mL의 암모니아의 테트라히드로푸란 용액(0 $^{\circ}\text{C}$ 에서 포화)을 넣었다. 반응 혼합물을 계속하여 15 내지 20  $^{\circ}\text{C}$ 에서 30분 동안 교반하고, 감압 농축시켜 용매를 제거한 다음, 메탄올(2 mL)로 희석하였다. 잔여물을 제조용 고성능액체크로마토그래피(컬럼: Phenomenex Synergi C18 150 $\times$ 30 mm $\times$ 4  $\mu\text{m}$ ; 이동상: [물(0.225 %의 포름산)-아세토니트릴]; 구배: 15 %-45 %, 12분)를 통해 정제시켜, 실시예6(53.00 mg, 수율: 40.32 %)을 얻었다.  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO-d6)  $\delta$  8.69(s, 1H), 8.25(s, 1H), 7.93-7.81(m, 5H), 7.67-7.52(m, 6H), 7.24(br. s., 1H), 7.04(dd,  $J$  = 2.0, 6.2 Hz, 1H), 5.61(s, 2H), 1.98(s, 3H).

[0152] 실시예7은 실시예6의 제조 과정을 참조하여 제조할 수 있다.

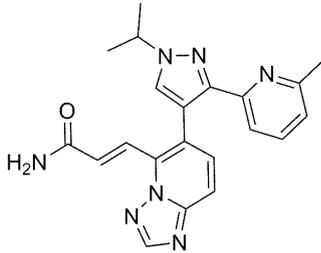
[0153] 실시예7



[0154]

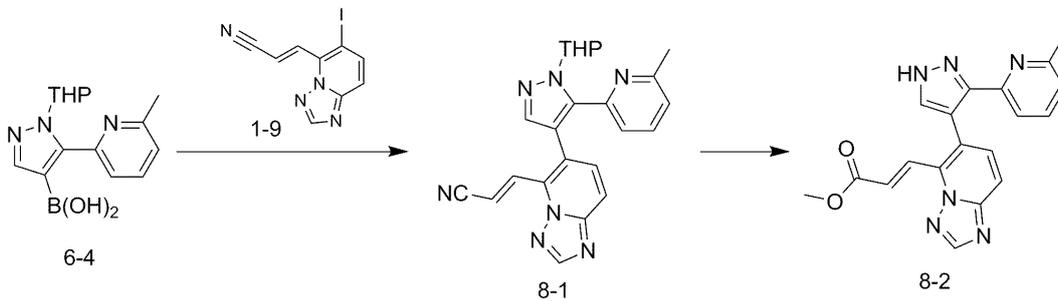
[0155]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  8.67(s, 1H), 8.41-8.36(m, 1H), 8.38(s, 1H), 8.09(s, 1H), 7.89-7.78 (m, 3H), 7.69-7.58(m, 3H), 7.51(d,  $J$  = 15.7 Hz, 1H), 7.16(br s, 1H), 7.02(d,  $J$  = 6.8 Hz, 1H), 4.86(quin,  $J$  = 6.9 Hz, 1H), 2.22-2.16(m, 2H), 2.14-2.04(m, 2H), 1.97(s, 3H), 1.92-1.83(m, 2H), 1.76-1.66(m, 2H).

[0156] 실시예8



[0157]

[0158] 중간체8-2의 제조:

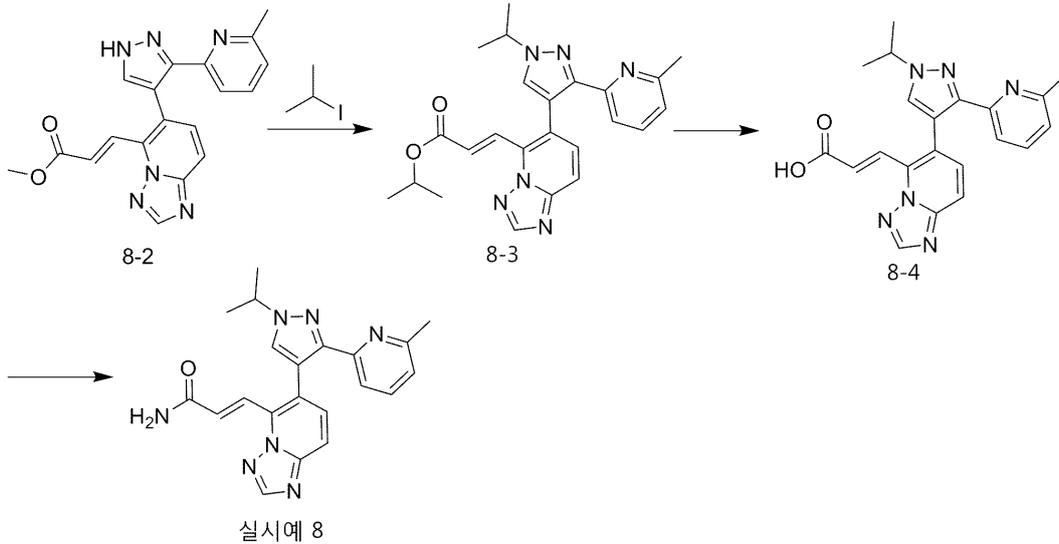


[0159]

[0160] 단계A: [5-(6-메틸-2-피리딜)-1-테트라히드로피란-2-일-피라졸-4-일]보론산(470.00 mg, 1.64 mmol), (E)-3-(6-요오도-[1,2,4]트리아졸로[1,5-a]피리딘-5-일)프로프-2-엔니트릴(485.55 mg, 1.64 mmol), 탄산나트륨(521.47 mg, 4.92 mmol), [1,1'-비스(디페닐포스피노)페로센]팔라듐디클로라이드(36.00 mg, 49.20  $\mu$ mol), 디스클로헥실포스핀-2',6'-디메톡시비페닐(Bicyclohexylphosphine-2',6'-dimethoxybiphenyl)(6.73 mg, 16.40  $\mu$ mol) 및 [2-(2-아미노페닐)페닐]-클로로-팔라듐; 시클로헥실-[2-(2,6-디메톡시페닐)페닐]포스핀(11.82 mg, 16.40  $\mu$ mol)을 디옥산(20 mL)과 물(5 mL)의 혼합 용매에 넣었다. 반응 혼합물을 질소가스로 3번 치환한 후 80 내지 90  $^{\circ}\text{C}$  까지 가열하여 12시간 동안 교반한 다음, 물(30 mL)에 넣고 퀴칭시키고, 에틸아세테이트(30 mL $\times$ 2)로 추출하였다. 합쳐진 유기상을 무수 황산나트륨으로 건조시키고, 여과하여 감압 농축시켰다. 얻은 조품을 석유에테르(12 mL)와 에틸아세테이트(4 mL)의 혼합 용매에서 30분 동안 교반한 후 여과하였다. 고체를 수집하고, 감압 농축 건조시켜 (E)-3-[6-(5-(6-메틸-2-피리딜)-1-테트라히드로피란-2-일-피라졸-4-일)-[1,2,4]트리아졸로[1,5-a]피리딘-5-일]프로프-2-엔니트릴((E)-3-[6-[5-(6-methyl-2-pyridyl)-1-tetrahydropyran-2-yl-pyrazol-4-yl]-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-5-yl]prop-2-enitrile)(554.00 mg, 수율: 82.32 %)을 얻었다.

[0161] 단계B: (E)-3-[6-(5-(6-메틸-2-피리딜)-1-테트라히드로피란-2-일-피라졸-4-일)-[1,2,4]트리아졸로[1,5-a]피리딘-5-일]프로프-2-엔니트릴(554.00 mg, 1.35 mmol)을 메탄올(5 mL)에 용해시킨 다음, 디옥산 염산염(4 mol/L, 5 mL)을 넣었다. 반응 혼합물을 15 내지 20  $^{\circ}\text{C}$ 에서 12시간 동안 교반한 다음, 감압 농축시켜 용매를 제거하였고, 포화 탄산수소나트륨 용액(20 mL)으로 pH를 8 내지 9까지 조절하였으며, 디클로로메탄(20 mL $\times$ 2)으로 추출하였다. 합쳐진 유기상을 염수(30 mL)로 세척하고, 무수 황산나트륨으로 건조시켰으며, 여과하고 감압 농축시켜 메틸 (E)-3-[6-(5-(6-메틸-2-피리딜)-1H-피라졸-4-일)-[1,2,4]트리아졸로[1,5-a]피리딘-5-일]-2-에노에이트 (methyl (E)-3-[6-[5-(6-methyl-2-pyridyl)-1H-pyrazol-4-yl]-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridine-5-yl]-2-enoate)(500.00 mg, 조품)를 얻었다.

[0162] 실시예8의 제조:



[0163]

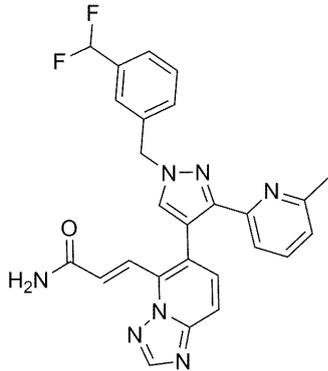
[0164] 단계A: 메틸 (E)-3-[6-(5-(6-메틸-2-피리딜)-1H-피라졸-4-일)-[1,2,4]트리아졸로[1,5-a]피리딘-5-일]-2-에노에이트(260.00 mg, 조품)를 테트라히드로푸란(4 mL)에 용해시켰다. 반응 혼합물을 0 °C까지 냉각시키고, 수소화나트륨(31.75 mg, 793.63 μmol)을 한번에 넣은 다음, 0 °C에서 30분 동안 교반하고, 요오드이소프로필(134.91 mg, 793.63 μmol)을 넣었다. 반응 혼합물을 15 내지 20 °C에서 12시간 동안 교반하였다. LCMS 검출 결과 메틸 (E)-3-[6-(5-(6-메틸-2-피리딜)-1H-피라졸-4-일)-[1,2,4]트리아졸로[1,5-a]피리딘-5-일]프로프-2-에노에이트가 완전히 소모되었지만 목표 산물이 생성되지 않은 것으로 나타났다(MS (ESI) m/z: 347 [M+H]). 혼합물을 감압 농축시켜 테트라히드로푸란을 제거하고, 잔여물을 N,N-디메틸포름아미드(3 mL)에 용해시킨 후, 2-아이오도프로페인(613.22 mg, 3.61 mmol, 360.72 μL)과 탄산칼륨(498.58 mg, 3.61 mmol)을 각각 넣었다. 반응 혼합물을 15 내지 20 °C에서 계속하여 12시간 동안 교반하였다. LCMS 검출 결과 반응이 완료된 것으로 나타났다. 혼합물을 물(20 mL)에 넣고 퀴칭시킨 후, 에틸아세테이트(30 mL×3)로 추출하였다. 합쳐진 유기상을 염수(60 mL)로 세척하고, 무수 황산나트륨으로 건조시켜, 여과하여 감압 농축시켰다. 잔여물을 제조용 실리카 겔 크로마토그래피(전개제: 디클로로메탄/메탄올=30/1)로 정제시켜, (E)-3-[6-[1-이소프로필-3-(6-메틸-2-피리딜)피라졸-4-일]-[1,2,4]트리아졸로[1,5-a]피리딘-5-일]프로프-2-엔산 이소프로필에스테르((E)-3-[6-[1-isopropyl-3-(6-methyl-2-pyridyl)pyrazol-4-yl]-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-5-yl]prop-2-enoic acid isopropyl ester)(100.00 mg, 조품)를 얻었다.

[0165] 단계B: (E)-3-[6-[1-이소프로필-3-(6-메틸-2-피리딜)피라졸-4-일]-[1,2,4]트리아졸로[1,5-a]피리딘-5-일]프로프-2-엔산 이소프로필에스테르(100.00 mg, 조품)를 테트라히드로푸란(1 mL), 메탄올(1 mL) 및 물(1 mL)의 혼합 용매에 용해시킨 다음, 수산화리튬 1수화물(29.24 mg, 696.87 μmol)을 한번에 넣었다. 반응 혼합물을 15 내지 20 °C에서 3시간 동안 교반한 다음, 회염산(5%)으로 pH를 5 내지 6까지 조절하였으며, 에틸아세테이트(20 mL×3)로 추출하였다. 합쳐진 유기상을 염수(30 mL)로 세척하였고, 무수 황산나트륨으로 건조시키고, 여과하고 감압 농축시켜 (E)-3-[6-[1-이소프로필-3-(6-메틸-2-피리딜)피라졸-4-일]-[1,2,4]트리아졸로[1,5-a]피리딘-5-일]프로프-2-엔산((E)-3-[6-[1-isopropyl-3-(6-methyl-2-pyridyl)pyrazol-4-yl]-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-5-yl]prop-2-enoic acid)(100.00 mg, 조품)을 얻었다.

[0166] 단계C: (E)-3-[6-[1-이소프로필-3-(6-메틸-2-피리딜)피라졸-4-일]-[1,2,4]트리아졸로[1,5-a]피리딘-5-일]프로프-2-엔산(100.00 mg, 조품)을 테트라히드로푸란(3 mL)에 용해시킨 다음, HATU(195.78 mg, 514.90 μmol)와 트리에틸아민(52.10 mg, 514.90 μmol, 71.37 μL)을 각각 한번에 넣었다. 반응 혼합물을 15 내지 20 °C에서 1시간 동안 교반한 후, 3 mL의 암모니아의 테트라히드로푸란 용액(0°C에서 포화됨)을 넣었다. 반응 혼합물을 15 내지 20 °C에서 계속하여 12시간 동안 교반하였고, 감압 농축시켜 용매를 제거하여 메탄올(3 mL)로 희석한 다음, 제조용 고성능액체크로마토그래피(컬럼: Phenomenex Synergi C18 150×30 mm×4 μm; 이동상: [물(0.225%의 포름산)-아세트니트릴]; 구배: 10%-40%, 12분)로 정제시켜, 실시예8(30.50 mg, 수율: 30.08%)을 얻었다. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.68(s, 1H), 8.10(s, 1H), 7.89-7.81(m, 3H), 7.68-7.59(m, 3H), 7.51(d, J = 15.7 Hz, 1H), 7.18(br s, 1H), 7.02(dd, J = 1.2, 7.1 Hz, 1H), 4.67(quin, J = 6.7 Hz, 1H), 1.97(s, 3H),

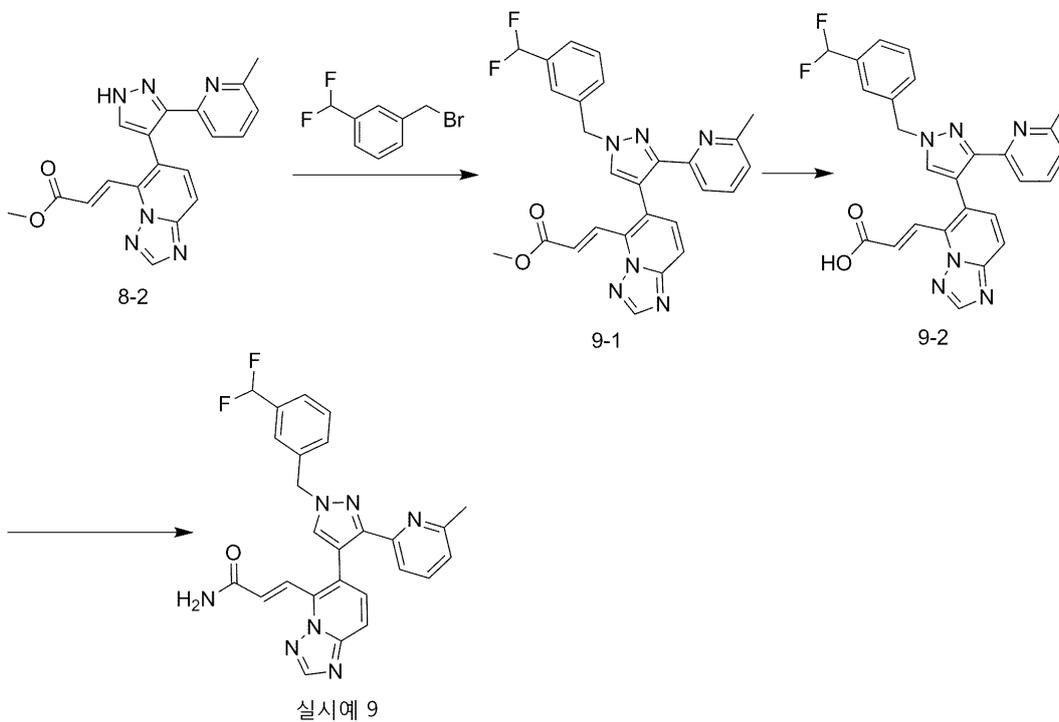
1.55(d,  $J = 6.7$  Hz, 6H).

[0167] 실시예9



[0168]

[0169] 실시예9의 제조:



[0170]

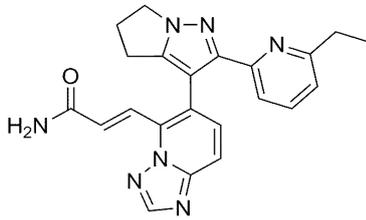
[0171] 단계A: 메틸 (E)-3-[6-(5-(6-메틸-2-피리딜)-1H-피라졸-4-일)-[1,2,4]트리아졸로[1,5-a]피리딘-5-일]-2-에노에이트(200.00 mg, 조품)를 테트라히드로푸란(5 mL)에 용해시켜, 0 °C까지 냉각시킨 후, 수소화나트륨(24.42 mg, 610.49  $\mu$ mol)을 한번에 넣었다. 반응 혼합물을 0°C에서 30분 동안 교반한 다음, 1-(브로모메틸)-3-(디플루오로메틸)벤젠(1-(bromomethyl)-3-(difluoromethyl)benzene) (134.94mg, 610.49  $\mu$ mol) 을 넣은 후, 15 내지 20 °C 까지 승온시켜 계속하여 5시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 물(20 mL)에 넣고 퀀칭시킨 다음, 에틸아세테이트(20 mL×3)로 추출하였다. 합쳐진 유기상을 염수(30 mL)로 세척하고, 무수 황산나트륨으로 건조시켰으며, 여과하고 감압 농축시켜 메틸 (E)-3-[6-[1-[[3-(디플루오로메틸)페닐]메틸]-3-(6-메틸-2-피리딜)피라졸-4-일]-[1,2,4]트리아졸로[1,5-a]피리딘-5-일]프로프-2-에노에이트(methyl (E)-3-[6-[1-[[3-(Difluoromethyl)phenyl]methyl]-3-(6-methyl-2-pyridyl)pyrazol-4-yl]-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-5-yl]prop-2-enoate) (150.00 mg, 조품)를 얻었다.

[0172] 단계B: 메틸 (E)-3-[6-[1-[[3-(디플루오로메틸)페닐]메틸]-3-(6-메틸-2-피리딜)피라졸-4-일]-[1,2,4]트리아졸로[1,5-a]피리딘-5-일]프로프-2-에노에이트(150.00 mg, 조품)를 테트라히드로푸란(1 mL), 메탄올(1 mL) 및 물(1 mL)의 혼합 용매에 용해시킨 다음, 수산화리튬 1수화물(37.73 mg, 899.10  $\mu$ mol)을 한번에 넣었다. 반응 혼합물을 15 내지 20 °C에서 10분 동안 교반한 다음, 희염산(0.5M)으로 pH를 5 내지 6으로 조절하였는데, 이 시점에서 고체가 석출되었다. 여과하여 고체를 수집하여 (E)-3-[6-[1-[[3-(디플루오로메틸)페닐]메틸]-3-(6-메틸-2-

피리딜)피라졸-4-일]-[1,2,4]트리아졸로[1,5-a]피리딘-5-일]프로프-2-엔산((E)-3-[6-[1-[3-(Difluoromethyl)phenyl)methyl]-3-(6-methyl-2-pyridyl)pyrazol-4-yl]-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-5-yl]prop-2-enoic acid)(120.00 mg, 수율: 60.34 %)을 얻었다.

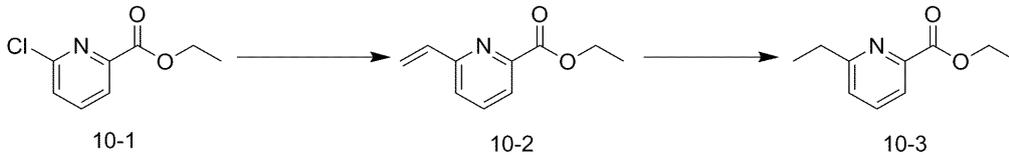
[0173] 단계C: (E)-3-[6-[1-[3-(디플루오로메틸)페닐]메틸]-3-(6-메틸-2-피리딜)피라졸-4-일]-[1,2,4]트리아졸로[1,5-a]피리딘-5-일]프로프-2-엔산(120.00 mg, 180.83  $\mu$ mol), HATU(187.59 mg, 493.36  $\mu$ mol) 및 트리에틸아민(49.92 mg, 493.36  $\mu$ mol/68.38  $\mu$ L)을 테트라히드로푸란(3 mL)에 용해시켰다. 반응 혼합물을 15 내지 20  $^{\circ}$ C에서 1시간 동안 교반한 다음, 3 mL의 암모니아의 테트라히드로푸란 용액(0 $^{\circ}$ C에서 포화됨)을 넣었다. 반응 혼합물을 15 내지 20  $^{\circ}$ C에서 12시간 동안 교반한 다음, 물(15 mL)에 넣고 퀀칭시키고, 에틸아세테이트(20 mL $\times$ 3)로 추출하였다. 합쳐진 유기상을 염수(50 mL)로 세척하고, 무수 황산나트륨으로 건조시켰으며, 여과하여 감압 농축시켰다. 잔여물을 제조용 고성능액체크로마토그래피(컬럼: Phenomenex Synergi C18 150 $\times$ 30 mm $\times$ 4  $\mu$ m; 이동상: [물(0.225 %의 포름산)-아세트니트릴]; 구배 15 % 내지 45 %, 12분)로 정제시켜, 실시예9(47.85 mg, 수율: 39.81 %)를 얻었다.  $^1$ H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  8.70(s, 1H), 8.26(s, 1H), 7.95-7.83(m, 3H), 7.67-7.51(m, 8H), 7.28(d, *J* = 11.2 Hz, 1H), 7.07-6.96 (m, 1H), 7.12(s, 1H), 5.61(s, 2H), 1.97(s, 3H).

[0174] 실시예10



[0175]

[0176] 중간체10-3의 제조:



[0177]

[0178] 단계A: 에틸 6-클로로피리딘-2-카르복실레이트(Ethyl 6-chloropyridine-2-carboxylate) (500.00 mg, 2.69 mmol), 비닐 트리부틸 주석(Vinyl tributyltin)(887.12 mg, 2.80 mmol, 813.87  $\mu$ L) 및 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐(Tetrakis(triphenylphosphine)palladium)(155.42 mg, 134.50  $\mu$ mol)을 톨루엔(10 mL)에 용해시켰다. 반응 혼합물을 질소가스로 3번 치환한 다음, 110 내지 120  $^{\circ}$ C까지 가열하여 3시간 동안 교반하였다. 냉각시킨 후 포화 불화칼륨 용액(30 mL)에 넣고 30분 동안 교반하였다. 상기 혼합물을 여과하고, 필터 케이크를 에틸아세테이트(10 mL $\times$ 3)로 세척하였다. 여액을 에틸아세테이트(30 mL $\times$ 2)로 추출하였다. 합쳐진 유기상을 염수(50 mL)로 세척하고, 무수 황산나트륨으로 건조시켰으며, 여과하여 감압 농축시켰다. 잔여물을 실리카 겔 컬럼(용출제: 석유에테르/에틸아세테이트=10/1)으로 정제시켜, 에틸 6-비닐피리딘-2-카르복실레이트(Ethyl 6-vinylpyridine-2-carboxylate)를 얻었다.  $^1$ H NMR (400MHz, CHLOROFORM-d) 8.00(dd, *J* = 0.8, 7.8 Hz, 1H), 7.81(t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.61(dd, *J* = 0.9, 7.9 Hz, 1H), 6.96(dd, *J* = 10.9, 17.6 Hz, 1H), 6.25(dd, *J* = 0.6, 17.6 Hz, 1H), 5.67-5.56(m, 1H), 4.50(q, *J* = 7.2 Hz, 2H), 1.46(t, *J* = 7.2 Hz, 3H).

[0179]

단계B: 에틸 6-비닐피리딘-2-카르복실레이트(364.00 mg, 2.05 mmol)를 에탄올(4 mL)에 용해시킨 다음, 팔라듐 탄소(40.00 mg, 10 %)를 한번에 넣었다. 반응 혼합물을 수소로 3번 치환한 다음, 15 psi의 수소 압력, 15 내지 20  $^{\circ}$ C에서 3시간 동안 교반하였다. 다음, 여과하여 팔라듐 탄소를 제거하고, 여액을 감압 농축시켜 에틸 6-에틸피리딘-2-카르복실레이트(Ethyl 6-ethylpyridine-2-carboxylate)(320.00 mg, 수율: 87.10 %)를 얻었다.  $^1$ H NMR (400MHz, CHLOROFORM-d) 7.95(d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.75(t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.37(d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 4.49(q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 2.96(q, *J* = 7.7 Hz, 2H), 1.44(t, *J* = 7.2 Hz, 3H), 1.34(t, *J* = 7.7 Hz, 3H).

[0180]

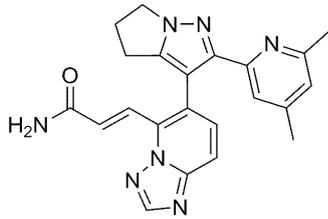
실시예10은 실시예1의 제조 과정을 참조하여 제조할 수 있다.

[0181]

$^1$ H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  8.66(s, 1H), 7.81-7.91(m, 3H), 7.61-7.72(m, 2H), 7.57(d, *J* = 9.03 Hz, 1H), 7.49(d, *J* = 15.69 Hz, 1H), 7.21(br s, 1H), 6.96-7.03(m, 1H), 4.21-4.37(m, 2H), 2.70-2.92(m, 2H),

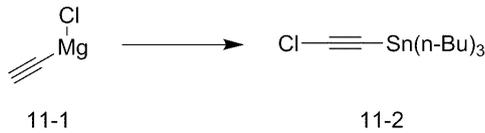
2.62(q,  $J = 7.18$  Hz, 2H), 2.27(q,  $J = 7.53$  Hz, 2H), 0.48(t,  $J = 7.53$  Hz, 3H).

[0182] 실시예11



[0183]

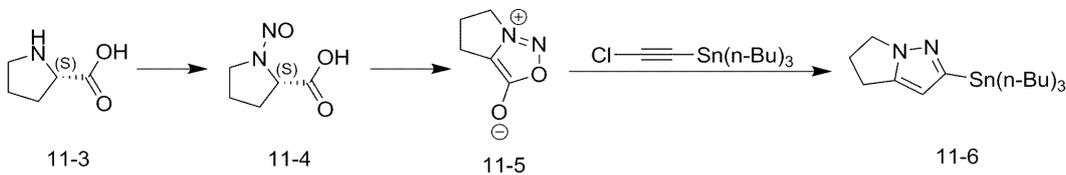
[0184] 중간체11-2의 제조:



[0185]

[0186] 단계A: 0 °C에서 교반 하에, 트리-n-부틸 주석 클로라이드(Tri-n-butyltin chloride)(72.09 mL, 268.00 mmol)를 에티닐 마그네슘 클로라이드(Ethynyl magnesium chloride)의 테트라히드로푸란 용액(0.5 mol/L, 800.00 mL)에 적가하였다(30분 이상). 반응 혼합물을 30°C에서 0.5시간 동안 교반한 다음, 다시 온도를 35°C로 승온시켜 1시간 교반하였다, 잇따라 다시 0°C도 냉각시킨 후 염화암모늄 수용액(800ml)으로 퀀칭시키고, 석유에테르(800 mL×2)로 추출하였고, 합쳐진 유기상을 염수(400 mL)로 세척하였으며, 무수 황산나트륨으로 건조시켰으며, 여과하고 감압 농축시켜 2-클로로 아세틸렌 트리-n-부틸 주석(2-chloroacetylene tri-n-butyltin)(84.00 g, 수율: 60.08 %)을 얻었다. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CHLOROFORM-d) δ : 1.54-1.67(m, 6H), 1.32-1.35(m, 6H), 0.88-1.04(m, 15H).

[0187] 중간체11-6의 제조:



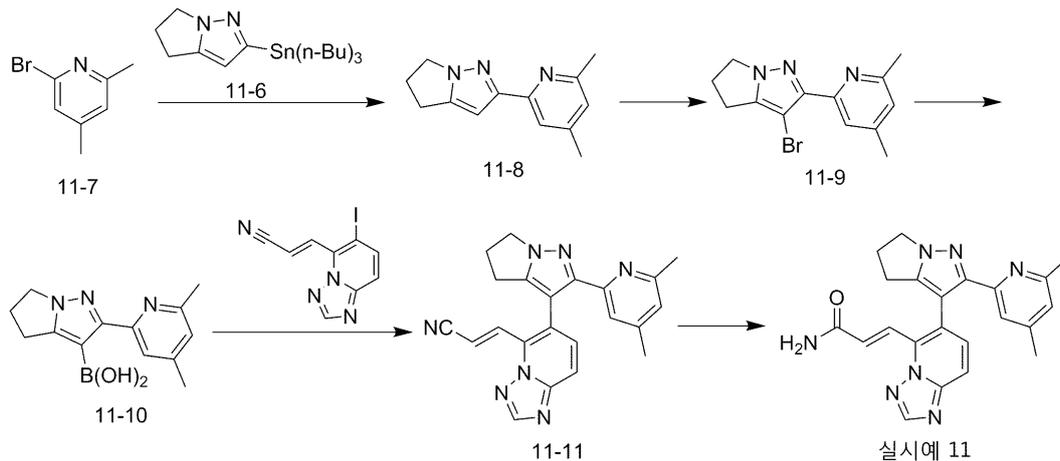
[0188]

[0189] 단계A: L-프롤린(L-Proline)(50 g, 434.29 mmol)과 아질산나트륨(41.95 g, 608.01 mmol)을 물에 용해시킨 다음, 영하 10°C 내지 0°C에서 농염산(50 mL)을 적가하였고, 온도를 10 °C이하로 제어하였다. 적가 완료 후, 반응 혼합물을 0 °C에서 0.5시간 동안 교반한 다음, 25 °C까지 승온시켜 16시간 동안 교반하였다. 혼합물을 물(200 mL)로 희석한 다음, 메틸 tert-부틸 에테르(Methyl tert-butyl ether)(300 mL×5)로 추출하였고, 합쳐진 유기상을 무수 황산나트륨으로 건조시키고, 여과하고 감압 농축시켜 N-니트로-L-프롤린(N-nitro-L-proline)(57.00 g, 조품)을 얻었다.

[0190] 단계B: N-니트로-L-프롤린(57.00 g, 조품)을 톨루엔(90 mL)에 용해시켜, 0°C까지 냉각시키고, 무수 트리플루오로 아세트산(Trifluoroacetic anhydride)(82.51 mL, 593.21 mmol)을 한시간에 걸쳐 적가하여 완료하였다. 반응 혼합물을 25 °C에서 2시간 동안 교반하였다. 탄산칼륨(87.45 g, 632.76 mmol)을 물(50 mL)과 디클로로메탄(100 mL)에 분산시키고, 0 °C에서 이전의 반응액을 1시간을 걸쳐 상기 용액에 적가하여 완료하였다. 적가 완료 후, 혼합물을 25 °C에서 1시간 동안 교반하였다. 혼합물을 디클로로메탄(100 mL×5)으로 추출하였다. 합쳐진 유기상을 염수(200 mL)로 세척하고, 무수 황산나트륨으로 건조시키며, 여과하여 감압 농축시켰다. 잔여물을 실리카 겔 컬럼(용출제: 석유에테르/에틸아세테이트=0/1)으로 정제시켜, 5,6-디히드로-4H-피롤로[1,2-c]옥사디아졸-7-이움-3-페네이트(5,6-dihydro-4H-pyrrolo[1,2-c]oxadiazole-7-ium-3-phenate)(39.00 g, 수율: 78.20 %)을 얻었다.

[0191] 단계C: 질소가스 보호 하에, 5,6-디히드로-4H-피롤로[1,2-c]옥사디아졸-7-이움-3-페네이트(23.5 g, 186.35 mmol)를 자일렌(xylene)(120 mL)에 용해시킨 다음, 2-클로로아세틸렌트리-n-부틸주석(84.67 g, 242.26 mmol)을 넣었다. 반응 혼합물을 150°C에서 40분 동안 교반하고, 직접 실리카 겔 컬럼(용출제: 석유에테르/에틸아세테이트=1/0-20/1)으로 정제시켜, 트리부틸(5,6-디히드로-4H-피롤로[1,2-b]피라졸-2-일)주석(Tributyl(5,6-dihydro-4H-pyrrolo[1,2-b]pyrazol-2-yl)tin)(13.00 g, 수율: 17.56 %)을 얻었다.

[0192] 실시예11의 제조:



[0193]

[0194] 단계A: 트리부틸(5,6-디히드로-4H-피롤로[1,2-b]피라졸-2-일)주석(1.49 g, 3.76 mmol), 2-브로모-4,6-디메틸-피리딘(700.00 mg, 3.76 mmol), 염화리튬(318.98 mg, 7.52 mmol) 및 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐(434.77 mg, 376.24 μmol)을 디옥산(20 mL)에 넣었다. 반응 혼합물을 질소가스로 3번 치환한 다음, 100 내지 110 °C로 가열하여 12시간 동안 교반하였다. LCMS 검출 결과 트리부틸(5,6-디히드로-4H-피롤로[1,2-b]피라졸-2-일)주석이 완전히 소모되지 않은 것으로 나타났다. 반응물을 100 내지 110 °C에서 계속하여 12시간 교반하였다. LCMS 재검출 결과 트리부틸(5,6-디히드로-4H-피롤로[1,2-b]피라졸-2-일)주석이 완전히 소모되지 않은 것으로 나타났다. 반응물을 100 내지 110 °C에서 계속하여 12시간 동안 교반하였다. 마지막으로 LCMS 검출 결과 반응이 완료된 것으로 나타났다. 반응 혼합물을 물(50 mL)에 넣고 퀀칭시킨다음, 에틸아세테이트(50 mL×3)로 추출하였다. 합쳐진 유기상을 염수(100 mL)로 세척하고, 무수 황산나트륨으로 건조시키며, 여과하여 감압 농축시켰다. 잔여물을 제조용 실리카 겔 플레이트(전개제: 디클로로메탄/메탄올=30/1)로 정제시켜, 2-(4,6-디메틸-2-피리딜)-5,6-디히드로-4H-피롤로[1,2-b]피라졸(2-(4,6-Dimethyl-2-pyridyl)-5,6-dihydro-4H-pyrrolo[1,2-b]pyrazole)(649.00 mg, 수율: 63.81 %, 순도: 78.847 %)을 얻었다.

[0195] 단계B: 2-(4,6-디메틸-2-피리딜)-5,6-디히드로-4H-피롤로[1,2-b]피라졸(150.00 mg, 703.30 μmol)과 NBS(137.69 mg, 773.63 μmol)를 N,N-디메틸포름아미드(3 mL)에 용해시켰다. 반응 혼합물을 15 내지 20 °C에서 2시간 동안 교반한 후, 물(15 mL)에 넣고 퀀칭시키고, 에틸아세테이트(20 mL×3)로 추출하였다. 합쳐진 유기상을 염수(15 mL)로 세척하고, 무수 황산나트륨으로 건조시키며, 여과하여 감압 농축시켰다. 잔여물을 제조용 실리카 겔 플레이트(전개제: 디클로로메탄/메탄올=30/1)로 정제시켜, 3-브로모-2-(4,6-디메틸-2-피리딜)-5,6-디히드로-4H-피롤로[1,2-b]피라졸(3-bromo-2-(4,6-dimethyl-2-pyridyl)-5,6-dihydro-4H-pyrrolo[1,2-b]pyrazole)(150.00 mg, 수율: 73.00 %)을 얻었다.

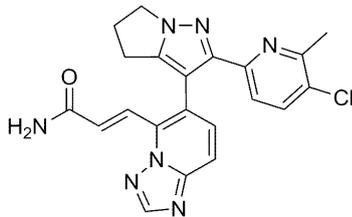
[0196] 단계C: 3-브로모-2-(4,6-디메틸-2-피리딜)-5,6-디히드로-4H-피롤로[1,2-b]피라졸(150.00 mg, 513.40 μmol)과 트라이소프로필 보레이트(255.87 mg, 1.36 mmol, 312.04 μL)를 테트라히드로푸란(4 mL)에 용해시켰다. 혼합물을 영하 78 내지 영하 60 °C까지 냉각시킨 다음, n-부틸리튬(2.5M, 533.94 μL)을 적가하였다. 반응 혼합물을 15 내지 20 °C까지 승온시켜 30분 동안 교반한 후, 포화 염화암모늄 용액(20 mL)을 넣고 퀀칭시키고, 에틸아세테이트(20 mL×2)로 추출하였다. 합쳐진 유기상을 염수(30 mL)로 세척하였고, 무수 황산나트륨으로 건조시키고, 여과하여 감압 농축시켰다. 잔여물을 제조용 실리카 겔 플레이트(전개제: 디클로로메탄/메탄올=30/1)로 정제시켜, [2-(4,6-디메틸-2-피리딜)-5,6-디히드로-4H-피롤로[1,2-b]피라졸-3-일]보론산([2-(4,6-Dimethyl-2-pyridyl)-5,6-dihydro-4H-pyrrolo[1,2-b]pyrazol-3-yl]boronic acid)(90.00 mg, 수율: 68.18 %)을 얻었다.

[0197] 단계D: (E)-3-(6-요오도-[1,2,4]트리아졸로[1,5-a]피리딘-5-일)프로프-2-엔이트릴(100.00 mg, 337.76 μmol), 2-(4,6-디메틸-2-피리딜)-5,6-디히드로-4H-피롤로[1,2-b]피라졸-3-일]보론산(86.84 mg, 337.76 μmol), 탄산나트륨(107.40 mg, 1.01 mmol), [1,1'-비스(디페닐포스피노)페로센]팔라듐디클로라이드(7.41 mg, 10.13 μmol), 디시클로헥실포스핀-2',6'-디메톡시비페닐(1.39 mg, 3.38 μmol) 및 [2-(2-아미노페닐)페닐]-클로로-팔라듐 및 시클로헥실-[2-(2,6-디메톡시페닐)페닐]포스핀(12.17 mg, 16.89 μmol)을 디옥산(20 mL)과 물(4 mL)의 혼합 용매에 넣었다. 반응 혼합물을 질소가스로 3번 치환한 다음, 80 내지 90 °C까지 가열하여 12시간 동안 교반한 다음, 물(30 mL)에 넣고 퀀칭시키고, 에틸아세테이트(30 mL×2)로 추출하였다. 합쳐진 유기상을 염수(40 mL)로 세척하고, 무수 황산나트륨으로 건조시켰으며, 여과하여 감압 농축시켰다. 잔여물을 제조용 실리카 겔 플레이트

(전개제: 디클로로메탄/메탄올=30/1)로 정제시켜, (E)-3-[6-[2-(4,6-디메틸-2-피리딜)-5,6-디히드로-4H-피롤로[1,2-b]피라졸-3-일]-[1,2,4]트리아졸로[1,5-a]피리딘-5-일]프로프-2-엔니트릴((E)-3-[6-[2-(4,6-Dimethyl-2-pyridyl)-5,6-dihydro-4H-pyrrolo[1,2-b]pyrazole-3-yl]]-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-5-yl]prop-2-enitrile)(80.00 mg, 조품)을 얻었다.

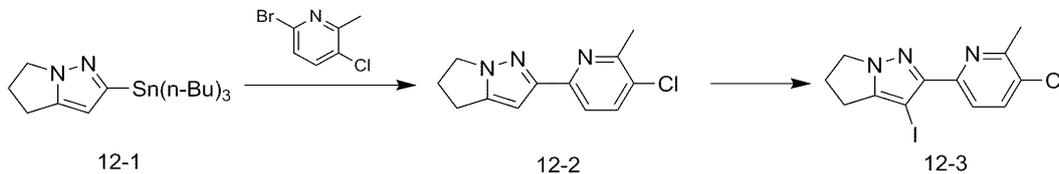
[0198] 단계E: (E)-3-[6-[2-(4,6-디메틸-2-피리딜)-5,6-디히드로-4H-피롤로[1,2-b]피라졸-3-일]-[1,2,4]트리아졸로[1,5-a]피리딘-5-일]프로프-2-엔니트릴(80.00 mg, 조품)을 물(1 mL)과 디메틸술폭시드(2 mL)의 혼합 용매에 용해시킨 다음, 수산화나트륨(10.49 mg, 262.18  $\mu$ mol)과 과산화수소수(74.31 mg, 655.45  $\mu$ mol)를 각각 한번에 넣었다. 반응 혼합물을 15 내지 20  $^{\circ}$ C에서 2시간 동안 교반한 다음, 물(20 mL)에 넣고 퀴칭시키고, 디클로로메탄(20 mL $\times$ 3)으로 추출하였다. 합쳐진 유기상을 염수(50 mL)로 세척하고, 무수 황산나트륨으로 건조시키며, 여과하여 감압 농축시켰다. 잔여물을 먼저 제조용 실리카 겔 플레이트(전개제: 디클로로메탄/메탄올=30/1)로 거쳐 정제시켜 고체를 얻었으며, 얻은 고체를 LCMS 검출한 결과 순수하지 않음을 확인하였다. 조품을 제조용 고성능 액체크로마토그래피(컬럼: Phenomenex Synergi C18 150 $\times$ 30 mm $\times$ 4  $\mu$ m; 이동상: [물(0.225 %의 포름산)-아세트니트릴]; 구배: 10 % 내지 40 %, 12분)로 재차 정제시켜, 실시예11(12.00 mg, 포름산염, 수율: 22.90 %)을 얻었다.  $^1$ H NMR (400MHz, METHANOL-d<sub>4</sub>)  $\delta$  8.53(s, 1H), 8.21(br s, 1H), 8.00(d, *J* = 15.8 Hz, 1H), 7.76(d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 7.68-7.56(m, 2H), 7.38(s, 1H), 6.99(s, 1H), 4.34(t, *J* = 6.7 Hz, 2H), 2.97-2.89(m, 2H), 2.80-2.69(m, 2H), 2.31(s, 3H), 2.17(s, 3H).

[0199] 실시예12



[0200]

[0201] 중간체12-3의 제조:

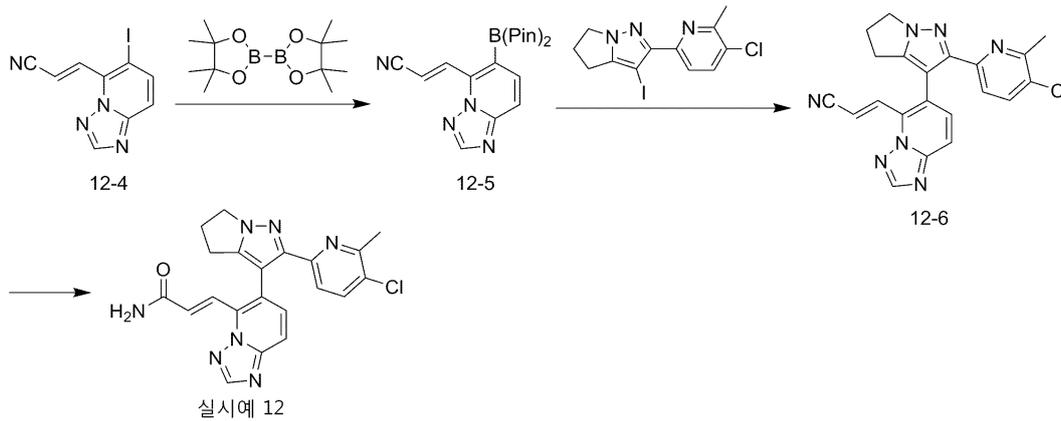


[0202]

[0203] 단계A: 트리부틸(5,6-디히드로-4H-피롤[1,2-b]피라졸-2-일)주석(2.69 g, 6.78 mmol), 6-브로모-3-클로로-2-메틸-피리딘(6-bromo-3-chloro-2-methyl-pyridine), 염화리튬(287.43 mg, 6.78 mmol) 및 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐(391.77 mg, 339.00  $\mu$ mol)을 디옥산(30 mL)에 넣었다. 반응 혼합물을 질소가스로 3번 치환한 다음, 100 내지 110  $^{\circ}$ C까지 가열하여 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 물(50 mL)에 넣고 퀴칭시킨 다음, 에틸아세테이트(50 mL $\times$ 3)로 추출하였다. 합쳐진 유기상을 염수(100 mL)로 세척하고, 무수 황산나트륨으로 건조시키며, 여과하여 감압 농축시켰다. 잔여물을 실리카 겔 컬럼(용출제: 석유에테르/에틸아세테이트=10/1 내지 5/1)으로 정제시켜, 2-(5-클로로-6-메틸-2-피리딜)-5,6-디히드로-4H-피롤로[1,2-b]피라졸(2-(5-chloro-6-methyl-2-pyridyl)-5,6-dihydro-4H-pyrrolo[1,2-b]pyrazole)(600.00 mg, 수율: 67.19 %)을 얻었다.  $^1$ H NMR (400MHz, CHLOROFORM-d) 7.65(q, *J* = 8.4 Hz, 2H), 6.59(s, 1H), 4.22(t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 2.95(t, *J* = 7.3 Hz, 2H), 2.71-2.59(m, 5H).

[0204] 단계B: 2-(5-클로로-6-메틸-2-피리딜)-5,6-디히드로-4H-피롤로[1,2-b]피라졸(200.00 mg, 855.80  $\mu$ mol)을 N,N-디메틸포름아미드(3 mL)에 용해시킨 다음, NIS(211.79 mg, 941.38  $\mu$ mol)를 한번에 넣었다. 반응 혼합물을 15 내지 20  $^{\circ}$ C에서 12시간 동안 교반한 후 여과하고, 필터 케이크를 수집하여 감압 농축 건조시켜, 2-(5-클로로-6-메틸-2-피리딜)-3-요오도-5,6-디히드로-4H-피롤로[1,2-b]피라졸(2-(5-chloro-6-methyl-2-pyridyl)-3-iodo-5,6-dihydro-4H-pyrrolo[1,2-b]pyrazole)(264.00 mg, 수율: 85.79 %)을 얻었다.

[0205] 실시예12의 제조:



[0206]

[0207] 단계A: (E)-3-(6-요오도-[1,2,4]트리아졸로[1,5-a]피리딘-5-일)프로프-2-엔니트릴(200.00 mg, 675.52 μmol), 비스(피나콜라토)디보론(Bis(pinacolato)diboron)(205.85 mg, 810.62 μmol), [1,1'-비스(디페닐포스피노)페로센]팔라듐디클로라이드(49.43 mg, 67.55 μmol) 및 칼륨 아세테이트(Potassium acetate)(132.59 mg, 1.35 mmol)를 디옥산(20 mL)에 넣었다. 반응 혼합물을 질소가스로 3번 치환한 다음, 100 내지 110 °C까지 가열하여 12시간 동안 교반하였다. 상기 반응을 처리하지 않고 용액을 다음 단계 반응에 직접 사용하였다.

[0208] 단계B: 단계A 중의 혼합물에 2-(5-클로로-6-메틸-2-피리딜)-3-요오도-5,6-디히드로-4H-피롤로[1,2-b]피라졸(121.43 mg, 337.69 μmol), 탄산나트륨(107.38 mg, 1.01 μmol), [1,1'-비스(디페닐포스피노)페로센]팔라듐디클로라이드(24.71 mg, 33.77 μmol), 디시클로헥실포스핀-2',6'-디메톡시비페닐(13.86 mg, 33.77 μmol), [2-(2-아미노페닐)페닐]-클로로-팔라듐; 시클로헥실-[2-(2,6-디메톡시페닐)페닐]포스핀(24.33 mg, 33.77 μmol), 디옥산(4.00 mL) 및 물(4.00 mL)을 넣었고, 질소가스로 3번 치환한 후, 90 내지 100 °C까지 가열하여 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 물(30 mL)에 넣고 퀵칭시킨 다음, 에틸아세테이트(30 mL×2)로 추출하였다. 합쳐진 유기상을 염수(50 mL)로 세척하였고, 무수 황산나트륨으로 건조시키며, 여과하여 감압 농축시켰다. 잔여물을 제조용 실리카 겔 플레이트(전개제: 디클로로메탄/메탄올=30/1)로 정제시켜, (E)-3-[6-[2-(5-클로로-6-메틸-2-피리딜)-5,6-디히드로-4H-피롤로[1,2-b]피라졸-3-일]-[1,2,4]트리아졸로[1,5-a]피리딘-5-일]프로프-2-엔니트릴((E)-3-[6-[2-(5-chloro-6-methyl-2-pyridyl)-5,6-dihydro-4H-pyrrolo[1,2-b]pyrazole-3-yl]-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-5-yl]prop-2-enenitrile)(120.00 mg, 수율: 88.43 %)을 얻었다.

[0209] 단계C: (E)-3-[6-[2-(5-클로로-6-메틸-2-피리딜)-5,6-디히드로-4H-피롤로[1,2-b]피라졸-3-일]-[1,2,4]트리아졸로[1,5-a]피리딘-5-일]프로프-2-엔니트릴(120.00 mg, 298.62 μmol)을 디메틸술폭시드(2 mL)와 물(1 mL)의 혼합 용매에 용해시킨 다음, 과산화수소수(338.54 mg, 2.99 mmol)와 수산화나트륨(2 mol/L, 597.24 μL)을 순차적으로 넣었다. 반응 혼합물을 15 내지 20 °C에서 12시간 동안 교반하였다. LCMS 검출 결과 반응이 미완료인 것으로 나타났다. 반응 혼합물을 40 내지 50 °C까지 가열하여 2시간 동안 교반하였다. LCMS 검출 결과 반응이 완료된 것으로 나타났다. 상기 혼합물을 물(10 mL)에 넣고 퀵칭시킨 다음, 디클로로메탄(30 mL×2)으로 추출하였다. 합쳐진 유기상을 무수 황산나트륨으로 건조시키고, 여과하여 감압 농축시켰다. 잔여물을 제조용 고성능액체 크로마토그래피(컬럼: Phenomenex Synergi C18 150×30 mm×4 μm; 이동상: [물(0.225 %의 포름산)-ACN]; 구배: 24 % 내지 54 %, 12분)로 정제시켜, 실시예12(21.46 mg, 수율: 15.72 %)를 얻었다. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, METHANOL-d4) δ 8.56(s, 1H), 8.06(d, J = 15.6 Hz, 1H), 7.79(d, J = 9.0 Hz, 1H), 7.73-7.61(m, 4H), 4.34(br d, J = 6.0 Hz, 2H), 2.94-2.85(m, 2H), 2.73(br s, 2H), 2.17(s, 3H).

[0210] 실험예1: TGFβ-R1 체외 억제 활성 실험

[0211] 실험방법:

[0212] 1) 피측정 화합물: 10개의 구배점으로, 각각의 구배를 3배 희석하는 방법으로 IC<sub>50</sub>를 측정하였고, 시작 농도는 5 μM였다.

[0213] 2) 양성 참조 화합물 LDN193189을 10개의 구배점으로, 각각의 구배를 3배 희석하는 방법으로 IC<sub>50</sub>를 측정하였고, 시작 농도는 20 μM였다.

- [0214] 3) 반응계에 10 Mm의 ATP가 함유되어 있다.
- [0215] 4) 샘플을 최고 농도조건하에 효소 활성 백분율(용매군에 비해)이 65 %보다 낮을 경우 곡선 피팅을 진행하여 IC<sub>50</sub>값을 계산한다.
- [0216] 실험결과: 표1을 참조한다
- [0217] 결론: 본 발명의 화합물은 우수한 체외 억제 활성을 구비한다.

**표 1**

[0218] 샘플	TGF-βR1 IC <sub>50</sub>	샘플	TGF-βR1 IC <sub>50</sub>
실시예1	A	실시예7	B
실시예2	B	실시예8	B
실시예3	B	실시예9	B
실시예4	B	실시예10	B
실시예5	B	실시예11	C
실시예6	B	실시예12	C

[0219] 주석: IC<sub>50</sub>값의 범위는 50 nM ≥ A ≥ 1 nM; 500 nM ≥ B > 50 nM; C > 500 nM이다.

[0220] 실험예2: NIH/3T3 마우스 배태 세포의 증식 억제 실험

[0221] 실험원리:

[0222] Promega(프로메가) 회사의 Luminescent Cell Viability Assay(CellTiter-Glo® 방법, 즉, ATP 형광 활성 측정 분석)를 이용하여 화합물을 세포 배양 플레이트에 놓고 배양하였다. 측정 당일 세포내 ATP 함량을 측정하는 기질 완충용액을 넣었다. 경미하게 진탕하여 1000 rpm로 1분 동안 원심분리하였다. 10분 동안 정지한 후 측정하였다. 측정 플레이트는 PerkinElmer(펄킨엘머) 회사의 엔비전(Envision) 다기능 마이크로 플레이트 리더로 분석하였고, 분석 모드는 형광 측정이었으며, 데이터는 화학적 발광 신호 400 내지 700nm의 수치로 표시하였다.

[0223] 실험단계:

[0224] 1) 세포 성장 피복률이 70% 정도에 달할 경우, 먼저 10 mL의 칼슘, 마그네슘 이온이 없는 둘베코 인산 완충용액(D-PBS)으로 세포층을 세척고, 2mL의 0.25 %의 트립신-EDTA 소화액을 넣었으며, 세포 배양병을 37℃의 CO<sub>2</sub> 인큐베이터에 놓고 3 내지 5 분 동안 배양한 다음, 2 %의 FBS를 함유하는 8 mL의 DMEM 세포 완전 배지에 넣었고, 세포를 단일 세포로 균일하게 하였으며, Vi-cell 세포 계수기로 계수하였고, 0.375×10<sup>5</sup>/mL개의 세포가 되도록 NIH/3T3 세포 현탁액을 희석하였다.

[0225] 2) 384웰 세포 배양 플레이트 주위에 2 %를 함유하는 50 μL의 DMEM 배지를 넣었고, 나머지 웰에 각각 40 μL의 세포 현탁액을 넣어 각각의 웰에 1500개의 세포가 되도록 하였으며, 현미경으로 세포의 분포 균일 상황을 관찰하였고, 세포 플레이트를 37 °C, 5 %의 CO<sub>2</sub>의 세포 인큐베이터 내에 놓고 배양하였다.

[0226] 3) 화합물의 희석은 화합물의 제조를 참조한다.

[0227] 4) 화합물의 중간 플레이트에 1ng/mL TGF-β1의 2%의 소태아혈청을 함유하는 DMEM 배지의 혼합액을 수동으로 화합물 플레이트에 넣었고, 각각의 웰에 20 μL씩 넣었다.

[0228] 5) 화합물의 중간 플레이트를 경미하게 10초 동안 진탕하였고, 1000 rpm/min로 10초 동안 원심분리하여 사용을 위해 준비하였다.

[0229] 6) 브라보(Bravo) 액체 작업소에서 단계4, 단계5에서 혼합한 액체를 이미 이식한 세포 플레이트에 각각의 웰에 10 uL씩 전이시켜 이의 최종 체적이 50 μL가 되도록 하였고, TGF-β1 최종 농도가 0.2ng/mL가 되도록 희석하였다. 1000 rpm/min로 10초 동안 원심분리하였다. 플레이트를 37℃, 5 %의 CO<sub>2</sub>의 인큐베이터에 72시간 동안 놓았다. 화합물의 최종 농도는 하기와 같다. (단위: μM)

30	9.488	3.001	0.949	0.300	0.095	0.030	0.009	0.003
----	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

[0230]

[0231]

7) 화합물을 함유하는 세포 플레이트를 37℃, 5%의 CO<sub>2</sub>의 세포배양 인큐베이터에 놓고 3일간 배양하였다.

[0232]

8) 다음, 세포 플레이트의 각각의 웰에 25 μL의 ATP 형광 활성 측정액을 넣었고, 경미하게 1분 정도 진탕하였으며, 500 rpm/min로 30초 정도 원심분리하였고, 빛이 차단된 실온에 10분 동안 정치한 후 Envision 기기로 수치를 읽었다.

[0233]

실험결과: 표2를 참조한다.

표 2

[0234]

샘플	NIH3T3세포억제 IC <sub>50</sub>	샘플	NIH3T3세포억제 IC <sub>50</sub>
실시예1	A	실시예6	A
실시예2	B	실시예8	B
실시예3	B	실시예9	A
실시예4	B	실시예10	B
실시예5	C		

[0235]

주석: IC<sub>50</sub>값의 범위는 2 μM ≥ A ≥ 0.5 μM; 5 μM ≥ B > 2 μM; C > 5 μM이다.

[0236]

결론: 본 발명의 화합물은 우수한 NIH3T3 세포 증식 억제 활성을 구비한다.

[0237]

실험예3: BioXcell-mPD-L1과 병용하여 마우스 유래의 직장암 CT-26 세포피하 이식 종양 BALB/c 마우스 모델의 종양의 세포 증식 억제실험

[0238]

실험설계:

[0239]

하기 표에서 실시예1, 양성 참조 화합물 LY2157299 및 BioXcell회사의 PD-L1 단일 클론 항체(BioXcell-mPD-L1) 실험용 약물을 체내에 단독 사용과 병용함에 있어서 약효 실험의 동물 군 나눔 및 약물투여 방안을 예를 들었는 바, 표3과 같다.

[0240]

실험 동물 군 나눔 및 약물투여 방안

표 3

[0241]

군별	마우스 수량	화합물 치료	조제량 (mg/kg)	약물투여 부피 파라미터 (μl/g)	약물투여 경로	약물투여 빈도
1	12	용매 대조군	-	10	PO	1일 2번 × 3주
2	12	실시예1	75	10	PO	1일 2번 × 3주
3	12	LY2157299	75	10	PO	1일 2번 × 3주
4	12	BioXcell-mPD-L1	10	10	IP	1주 2번 × 3주
5	12	실시예1+BioXcell-mPD-L1	75+10	10	PO+IP	1일 2번 × 3주+ 1주 2번 × 3주
6	12	LY2157299+BioXcell-mPD-L1	75+10	10	PO+IP	1일 2번 × 3주+ 1주 2번 × 3주

[0242]

실험방법과 단계:

[0243]

1) 세포배양

[0244]

마우스 유래 결장암 CT-26 세포의 체외 단일층 배양에 있어서, 배양 조건은 RPMI1640 배지(로스웰 파크 기념 연구소(Roswell Park Memorial Institute) 1640호 배지)에 10 %의 소태아혈청을 넣고, 37℃, 5 %의 CO<sub>2</sub>에서 배양하는 것이다. 1주 2번 트립신-EDTA로 통상적인 소화처리를 진행하여 계대시켰다. 세포 포화도가 80 % 내지 90 % 일 경우, 세포를 수집하고 계수하며 이식하였다.

- [0245] 2) 종양 세포 이식
- [0246] 0.1 mL( $1 \times 10^5$ )의 CT-26 세포를 각각의 BALB/c 마우스의 우측 등에 피하 이식하였다. 세포를 이식한 두번째 날 부터 마우스의 체중에 따라 군을 나누어 약물을 투여하기 시작하였다.
- [0247] 3) 종양 측량 및 실험 지표
- [0248] 실험 지표는 종양 성장이 억제, 지연 또는 치유되었는지 여부를 관찰하는 것이다. 1주 2번 버니어 캘리퍼스 (vernier callipers)로 종양 직경을 측정하였다. 종양 체적의 계산 공식은  $V = 0.5a \times b^2$ 이고,  $a$ 와  $b$ 는 각각 종양의 긴 지름과 짧은 지름을 표시한다.
- [0249] 화합물의 종양 억제 치료효과는 TGI(%) 또는 종양 증식률 T/C(%)로 평가하였다. TGI(%)는 종양 성장 억제율을 반영한다. TGI(%)의 계산은 하기와 같다.  $TGI(\%) = [(1 - (\text{한 처리군이 약물투여가 끝날 시의 평균 종양 체적} - \text{상기 처리군이 약물투여를 시작할 시의 평균 종양 체적})) / (\text{용매 대조군이 치료가 끝날 시의 평균 종양 체적} - \text{용매 대조군이 치료를 시작할 시의 평균 종양 체적})] \times 100 \%$ .
- [0250] 종양 증식률T/C(%)의 계산 공식은  $T/C\% = T/C \times 100 \%$  (T: 치료군; C: 음성 대조군)이다.
- [0251] 실험이 끝난 후 종양 중량을 측정하였고 T/C weight 백분율을 계산하였으며, T weight와 C weight는 각각 약물 투여군과 용매 대조군의 종양 중량을 표시한다.
- [0252] 4) PK샘플수집
- [0253] 약물투여 후 20번째 날에 약물투여 방안에 따라 약물을 투여하였다.
- [0254] 12마리의 마우스를 4군으로 나누었고, 각각 제일 마지막으로 한번 약물투여한 후 0.25, 1, 1.5, 4, 8시간 지난 후에 채혈하였으며; 각각 0.25, 1, 4, 8시간 지난 후에 마우스를 죽이고 종양과 간장을 수집하였다. 전혈을 0.5 mL의 EDTA-2K의 응고방지 튜브에 넣고 7000 rpm으로 4 °C에서 10분 동안 원심분리하여 혈장을 얻었다. 종양 조직을 10 mL의 냉동보관 튜브에 넣었다. 혈장과 종양 조직을 -80 °C의 냉장고에 신속하게 이동하여 보관하였다.
- [0255] 5) 통계분석
- [0256] 통계분석은 각 군의 각 시점의 종양 체적의 평균값 및 표준 오차(SEM)(구체적인 데이터는 표4를 참조바람)를 포함한다. 치료군이 시험 끝날 시 약물투여 후 20번째 날에 제일 좋은 치료 효과를 나타내므로, 상기 데이터에 기반하여 통계학적 분석을 진행하여 군들 간의 차이점을 평가하였다. 두 군 사이의 비교는 T-test로 분석하였고, 세개 군 또는 다수 군들 사이의 비교는 일원 변량 분석법으로 분석하였으며, F값에 현저한 차이가 있으면, Games-Howell 방법으로 검사해야 한다. F값에 현저한 차이가 없으면, Dunnet(2-sided) 방법으로 분석해야 한다. SPSS 17.0로 모든 데이터 분석을 진행하였다.  $p < 0.05$ 는 현저한 차이점이 있는 것으로 생각한다.
- [0257] 실험결과:
- [0258] 1) 사망률, 발병률 및 체중 변화의 상황
- [0259] 실험 동물의 체중을 약물 독성을 간접적으로 측정하는 기준 지표로 하였다. 상기 모델에서 모든 약물투여군은 모두 현저한 체중 감량이 나타나지 않았고, 발병 또는 사망 현상이 없었다.
- [0260] 실시예1, LY2157299 및 BioXcell-mPD-L1이 CT-26 세포피하 이종이식 종양 자성 BALB/c 마우스 모델에 대한 체중 영향은 도 1에 도시된 바와 같다. 데이터 포인트는 군 내 평균 체중을 대표하고, 오차선은 표준 오차(SEM)를 대표한다.
- [0261] 2) 종양 부피
- [0262] CT-26 세포피하 이식 종양 자성 BALB/c 마우스 모델에 실시예1, LY2157299 및 BioXcell-mPD-L1를 투여하여 치료를 실시한 후 각 군의 종양 체적 변화는 표4에 도시된 바와 같다.
- [0263] 3) 종양 성장 그래프
- [0264] CT-26 이식 종양 모델 담양 마우스에 실시예1, LY2157299 및 BioXcell-mPD-L1를 투여한 후의 종양 성장 그래프는 도2에 도시된 바와 같다. 데이터 포인트는 군 내 평균 종양 체적을 대표하고, 오차선은 표준 오차(SEM)를 대표한다.

[0265] 각 군의 상이한 시점에서의 종양 체적

표 4

[0266]

약물 투여 기간	종양 체적(mm <sup>3</sup> ) <sup>a</sup>					
	용액 대조군	실시예1	LY2157299	BioXcell-mPD-L1	실시예1 + BioXcell-mPD-L1	LY2157299 + BioXcell-mPD-L1
		75 mg/kg	75 mg/kg	10 mg/kg	75 mg/kg + 10 mg/kg	75 mg/kg + 10 mg/kg
10	156 ± 20	102 ± 19	98 ± 14	205 ± 24	99 ± 12	120 ± 16
13	608 ± 62	339 ± 89	446 ± 104	808 ± 169	357 ± 72	404 ± 94
15	1091 ± 120	552 ± 147	840 ± 177	1160 ± 243	517 ± 118	661 ± 147
17	1720 ± 160	874 ± 240	1256 ± 257	1636 ± 343	680 ± 136	1012 ± 238
20	2578 ± 229	1331 ± 394	2186 ± 435	2218 ± 502	975 ± 193	1381 ± 327

[0267] 주석: a. 평균값 ± SEM.

[0268] 결론:

[0269] 본 실험은 실시예1, 양성 대조군 LY2157299 및 BioXcell-m PD-L이 마우스 유래의 결장암 CT-26 이식 종양 모델에서의 체내약물효과를 평가하였다. 약물투여를 시작한 후 20번째 날에 용매 대조군 담압 마우스의 종양 체적은 2578 mm<sup>3</sup>에 달했다. 실시예1(75mg/kg)와 BioXcell-mPD-L1(10mg/kg)의 병용 투여군은 용매 대조군에 비해 현저한 종양 억제 작용(T/C = 38%, TGI = 62.2 %, p =0.012)을 나타냈고, 종양 체적은 975 mm<sup>3</sup>였으며; 실시예1(75 mg/kg), LY2157299(75 mg/kg), BioXcell-mPD-L1(10 mg/kg)의 단독 투여군과 LY2157299(75 mg/kg) 및 BioXcell-mPD-L1(10 mg/kg)의 병용 투여군은 용액 대조군에 비해 모두 현저한 종양 억제 작용을 나타내지 못했으며, 종양 체적은 각각 1331, 2186, 2218 및 1381 mm<sup>3</sup>(T/C =51%, 85%, 86% 및 54%, p= 0.071, 0.906, 0.932 및 0.089)이었다.

[0270] 실험예4: 마우스 유래의 유방암4T1 세포 BALB/c 마우스 원위치 이식 모델 종양 세포 전이 억제 실험

[0271] 실험방법:

[0272] 1) 원위치 4T1 종양 모델의 구축:

[0273] 형광 표식된 마우스 유방암 4T1-Luc 세포는 체외 배양 증식을 거치고, 세포 수집 이식 전에, 마우스에 펜토바르비탈 나트륨(pentobarbital sodium)을 복강 주사하여 마취시키고, 마취된 마우스는 고정된 후, 70 %의 알콜로 복부 피부를 소독하였으며, 100 ul의 인산염 완충용액(0.5×10<sup>6</sup>개의 4T1-luc2 세포를 함유)을 마우스의 4번째 쌍의 복부 유선 지방패드 좌측에 이식하였고, 절개구를 봉합하였으며, 피부를 소독하였다. 동물이 깨나는 과정에 보온 담요로 보온시켰고, 동물이 깨날 때까지 관찰하였으며, 동물을 조롱에 돌려보냈다. 수술하기 30분 전, 수술 후 6시간 후 0.1 mg/kg의 부프레노르핀(Buprenorphine)을 피하 주사하였다.

[0274] 2) 군을 나누어 치료하는 방안:

[0275] 모델링한 후 3번째 날에 적외선 데이터 이미징을 이용하여 동물에 대해 생물 형광 측정을 진행하였고, 형광값에 따라 랜덤으로 군을 나누었으며, 군을 나눈 후 하기 표의 실험 방안에 따라 약물투여하여 치료하였는 바, 표5와 같다.

[0276] 3) 실험 중점 설계:

[0277] 실시예1의 종양 성장과 전이에 대한 억제 작용을 관찰하기 위하여, 상기 모델의 과거 데이터를 참조하였으며, 실험 중점은 약물투여 후의 30 내지 35번째 날로 설계하였다. 실험이 끝난 후, 해부하여 원위치 종양과 각 장기 조직을 적출하여 종양을 칭량하였으며, IVIS 형광으로 각 장기의 형광 강도를 측정하였다. 원위치 종양의 성장 억제는 실험 중점의 원위치 종양의 중량을 통해 비교할 수 있고, 억제 그래프는 실험 과정에서 1주 2번의 종양 체적 측량에 의해 데이터가 생성된다. 종양 전이에 대한 억제 작용은 각 장기의 형광 측정의 유무와 상대적인 형광 강도의 분석을 통해 판단하였다.

[0278] 실험이 끝난 후 종양 중량을 측정하였고, 상대적 종양 증식률 T/C(%)을 계산하였으며, 종양 체적의 계산 공식은  $V = 0.5a \times b^2$ 이고,  $a$ 와  $b$ 는 각각 종양의 긴 지름과 짧은 지름을 표시한다. 동시에, 폐, 간장, 비장, 신장, 장 및 왼쪽 상지를 박리시켜 각각 형광으로 측정하여 전이의 여부 및 전이 세기의 비율을 판단하였다.

[0279] 화합물의 종양 억제 치료효과는 종양 성장 억제율 TGI(%) 또는 상대적인 종양 증식률 T/C(%)로 평가하였다.

[0280] TGI(%)의 계산:

[0281]  $TGI(%) = [(1 - (\text{한 처리군의 약물투여가 끝날 시의 평균 종양 체적} - \text{상기 처리군이 약물투여를 시작할 시의 평균 종양 체적})) / (\text{용매 대조군의 치료가 끝날 시의 평균 종양 체적} - \text{용매 대조군이 치료를 시작할 시의 평균 종양 체적})] \times 100 \%$ .

[0282] 상대적인 종양 증식률 T/C(%)의 계산:

[0283]  $T/C(%) = Tt(\text{치료군}) / Ct(\text{대조군}) \times 100 \%$ 이고,  $Tt$ 는 어느 한번의 측량 시의 평균 종양 체적이며,  $Ct$ 는 동일한 날의 데이터를 취한 것이다.

[0284] 실험 결과는 one-way ANOVA로 통계 분석하였다. F값에 현저한 차이가 있으면, ANOVA 분석 이후 다중 비교를 진행해야 한다. 본 실험에서의 모든 데이터는 SPSS 17.0로 분석하였다.  $p < 0.05$ 일 경우, 현저한 차이점이 있는 것으로 생각한다.

[0285] 실험 동물 군 나눔 및 약물투여 방안

표 5

군별	마우스 수량	화합물 치료	조제량 (mg/kg)	약물투여 체적 파라미터 ( $\mu\text{l/g}$ ) <sup>2</sup>	약물투여 경로	약물투여 빈도
1	12	용매 대조군	--	10	PO	1일 1번 × 32일
2	12	LY2157299	75	10	PO	1일 1번 × 32일
3	12	실시예1	75	10	PO	1일 1번 × 32일

[0287] 실험결과:

[0288] 1) 동물 체중의 변화:

[0289] 상대적인 체중 변화는 약물투여를 시작할 시의 동물 체중에 기반하여 계산해냈는 바, 도3에 도시된 바와 같다. 데이터 포인트는 군 내 평균 체중 변화 백분율을 대표하며, 오차선은 표준오차(SEM)를 대표한다.

[0290] 2) 실시예1이 종양 전이 발생률에 대한 억제 작용:

[0291] 실험 중점에서 각 장기 조직을 박리하여 8분 내에 IVIS로 40초 동안 노출시켜, 형광 이미징을 측정하고, 형광 세기값을 기록하였다. 각 군의 최대값과 최소값을 제거한 후의 10마리의 동물의 피측정 조직의 형광 이미징 결과는 표6과 같다.

[0292] 실시예1 치료가 4T1 종양 전이 발생률에 대한 영향

표 6

전이률(%) <sup>a</sup>	용매 대조군	LY2245035	실시예1
폐	100	100	100
간장	90	80	50
비장	30	10	0
신장	30	30	20
장	80	60	60
상피	90	70	90

[0294] 주석: a. 각 군의 전이가 발생한 동물 수/전체 군의 동물 수.

[0295] 3) 실시예1이 각 장기 종양 전이도에 대한 억제 작용:

[0296] 실험 종점에서 측정하여 얻은 각 군의 장기 조직 형광 강도에 따라 대조군을 참조로 하여 표준화 처리시켜 각 군의 장기 조직의 상대적인 형광 세기 비율을 얻었고, 상기 비율은 상응한 장기에서의 전이 강도 수준을 반영하였는 바, 결과는 표7과 같다.

[0297] 실시예1이 장기 종양 전이 강도에 대한 영향

표 7

[0298]

전이 수준(%) <sup>a</sup>	용매 대조군	LY2245035	실시예1
폐	100	20	9
간장	100	31	10
비장	100	4	0
신장	100	121	67
장	100	41	1
상지	100	54	12

[0299] 주석: a. 약물투여군의 어느 장기에서 측정된 평균 형광값/대조군의 어느 장기에서 측정된 평균 형광값

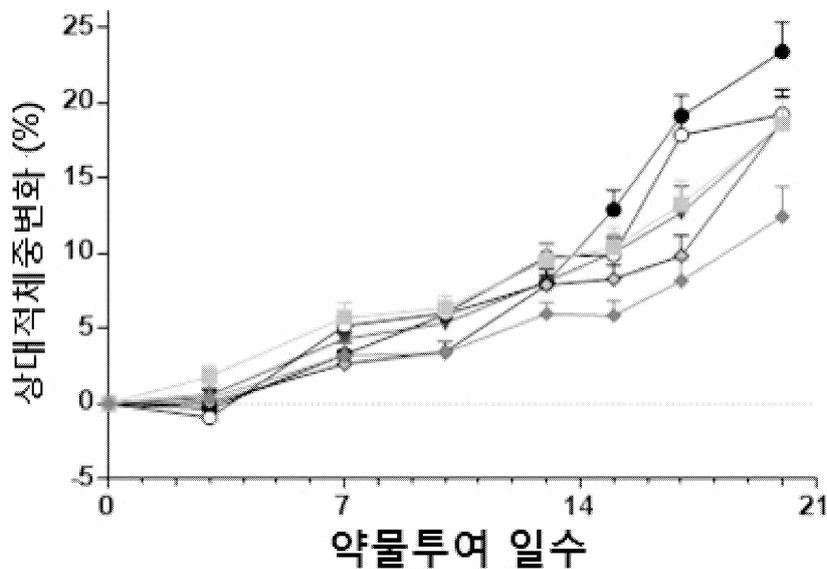
[0300] 결론:

[0301] 표에서의 수치를 비교해보면, 실시예1이 4T1의 간장, 비장, 신장 및 장의 전이 발생에 대해 현저한 억제 작용이 있고, 억제 작용이 양성 대조약물보다 현저히 우수함을 알 수 있다. 실시예1이 상기 종양의 전이 발생과 전이의 강도에 대해 많은 장기 조직에서 모두 현저하게 우수한 억제 작용을 나타냈고, 본 실험에서 사용한 양성 대조약물보다 현저히 우수한 것을 나타냈다.

도면

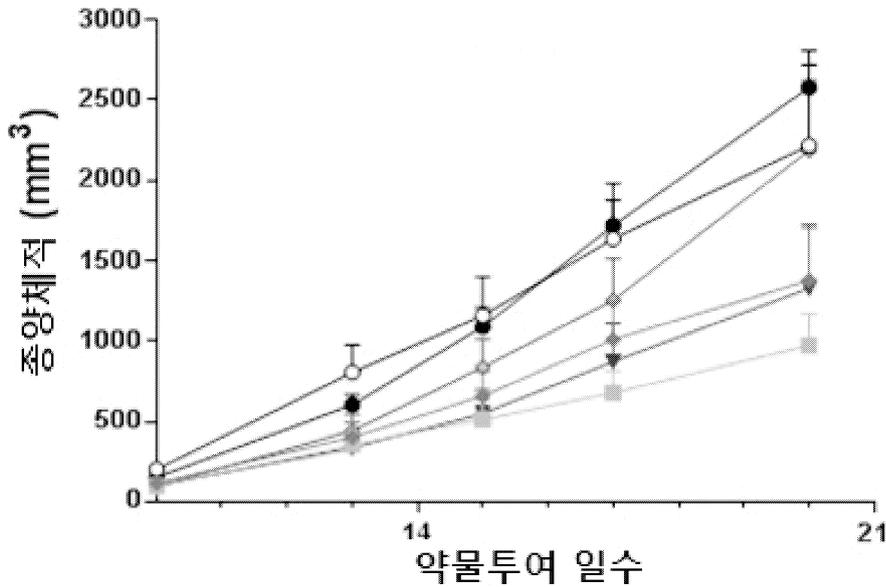
도면1

- Vehicle, PO, BID x 3W, n=12
- ▼ 실시예1, 75 mg/kg, po, BID x 3W, n=12
- ◇ LY2157299, 75 mg/kg, po, BID x 3W, n=12
- BioXcell-mPD-L1, 10 mg/kg, ip, BIW x 3W, n=12
- 실시예1, 75 mg/kg, po, BID x 3W + BioXcell-mPD-L1, 10 mg/kg, ip, BIW x 3W, n=12
- ◆ LY2157299, 75 mg/kg, po, BID x 3W + BioXcell-mPD-L1, 10 mg/kg, ip, BIW x 3W, n=12



도면2

- Vehicle, PO, BID x 3W, n=12
- ▼ 실시예1, 75 mg/kg, po, BID X 3W, n=12
- ◆ LY2157299, 75 mg/kg, po, BID X 3W, n=12
- BioXcell-mPD-L1, 10 mg/kg, ip, BIW x 3W, n=12
- 실시예1, 75 mg/kg, po, BID X 3W + BioXcell-mPD-L1, 10 mg/kg, ip, BIW x 3W, n=12
- ◆ LY2157299, 75 mg/kg, po, BID X 3W + BioXcell-mPD-L1, 10 mg/kg, ip, BIW x 3W, n=12



도면3

