



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2025년01월24일
(11) 등록번호 10-2758923
(24) 등록일자 2025년01월20일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 401/14 (2006.01) A61K 31/4439 (2006.01)
A61K 31/4545 (2006.01) A61P 31/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) A61P 37/00 (2006.01)
C07D 213/85 (2006.01) C07D 401/12 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07D 401/14 (2013.01)
A61K 31/4439 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2020-7027712
- (22) 출원일자(국제) 2019년02월28일
심사청구일자 2022년02월28일
- (85) 번역문제출일자 2020년09월25일
- (65) 공개번호 10-2020-0127007
- (43) 공개일자 2020년11월09일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2019/020032
- (87) 국제공개번호 WO 2019/169123
국제공개일자 2019년09월06일
- (30) 우선권주장
62/637,009 2018년03월01일 미국(US)
- (56) 선행기술조사문헌
KR1020200057700 A*
W02018005374 A1
W02019023575 A1
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

- (73) 특허권자
브리스톨-마이어스 스킵 컴퍼니
미국, 뉴저지 08543-4000, 프린스턴, 루트 206 엔드 프로빈스 라인 로드
- (72) 발명자
윤, 캅-선
미국 08543 뉴저지주 프린스턴 루트 206 엔드 프로빈스 라인 로드
생 로랑, 데니스 알.
미국 08543 뉴저지주 프린스턴 루트 206 엔드 프로빈스 라인 로드
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
양영준

전체 청구항 수 : 총 3 항

심사관 : 박지영

(54) 발명의 명칭 **면역조정제로서 유용한 화합물**

(57) 요약

본 개시내용은 일반적으로 면역조정제로서 유용한 화합물에 관한 것이다. 화합물, 이러한 화합물을 포함하는 조성물, 및 그의 사용 방법이 본원에 제공된다. 개시내용은 추가로 암 및 감염성 질환을 포함한 다양한 질환의 치료에 유용한, 개시내용에 따른 적어도 1종의 화합물을 포함하는 제약 조성물에 관한 것이다.

(52) CPC특허분류

A61K 31/4545 (2013.01)

A61P 31/00 (2018.01)

A61P 35/00 (2018.01)

A61P 37/00 (2018.01)

C07D 213/85 (2013.01)

C07D 401/12 (2013.01)

(72) 발명자

랭글리, 데이비드 알.

미국 08543 뉴저지주 프린스턴 루트 206 앤드 프로
빈스 라인 로드

스콜라, 폴 마이클

미국 08543 뉴저지주 프린스턴 루트 206 앤드 프로
빈스 라인 로드

명세서

청구범위

청구항 1

(2S)-1-(5-클로로-4-((4-(2-클로로-3-((1-메틸피페리딘-3-일)메톡시)페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)-2-((5-시아노피리딘-3-일)메톡시)벤질)피페리딘-2-카르복실산;

(2R)-2-((5-클로로-4-((4-(2-클로로-3-((1-메틸피페리딘-3-일)메톡시)페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)-2-((5-시아노피리딘-3-일)메톡시)벤질)아미노)-3-히드록시-2-메틸프로판산;

5-((4-클로로-5-((4-(2-클로로-3-((1-메틸피페리딘-3-일)메톡시)페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)-2-(히드록시메틸)페녹시)-메틸)니코티노니트릴;

((R)-2-((5-클로로-4-((S)-4-(2-클로로-3-((R)-1-메틸피페리딘-3-일)메톡시)페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)-2-((5-시아노피리딘-3-일)메톡시)벤질)아미노)-3-히드록시-2-메틸프로판산;

5-((4-클로로-5-((S)-4-(2-클로로-3-((R)-1-메틸피페리딘-3-일)메톡시)페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)-2-(히드록시메틸)페녹시)메틸)니코티노니트릴;

(R)-2-((5-클로로-4-((R)-4-(2-클로로-3-((R)-1-메틸피페리딘-3-일)메톡시)페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)-2-((5-시아노피리딘-3-일)메톡시)벤질)아미노)-3-히드록시-2-메틸프로판산;

5-((4-클로로-5-((R)-4-(2-클로로-3-((R)-1-메틸피페리딘-3-일)메톡시)페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)-2-(히드록시메틸)페녹시)메틸)니코티노니트릴;

(R)-2-((5-클로로-4-((S)-4-(2-클로로-3-((S)-1-메틸피페리딘-3-일)메톡시)페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)-2-((5-시아노피리딘-3-일)메톡시)벤질)아미노)-3-히드록시-2-메틸프로판산;

5-((4-클로로-5-((S)-4-(2-클로로-3-((S)-1-메틸피페리딘-3-일)메톡시)페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)-2-(히드록시메틸)페녹시)메틸)니코티노니트릴;

(R)-2-((5-클로로-4-((R)-4-(2-클로로-3-((S)-1-메틸피페리딘-3-일)메톡시)페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)-2-((5-시아노피리딘-3-일)메톡시)벤질)아미노)-3-히드록시-2-메틸프로판산;

5-((4-클로로-5-((R)-4-(2-클로로-3-((S)-1-메틸피페리딘-3-일)메톡시)페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)-2-(히드록시메틸)페녹시)메틸)니코티노니트릴;

(2R)-2-((5-클로로-2-((5-시아노피리딘-3-일)메톡시)-4-((4-(3-(3-((R)-3-히드록시피롤리딘-1-일)프로폭시)-2-메틸페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)벤질)-아미노)-3-히드록시-2-메틸프로판산;

5-((4-클로로-2-(히드록시메틸)-5-((4-(3-(3-((R)-3-히드록시피롤리딘-1-일)프로폭시)-2-메틸페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)페녹시)메틸)니코티노니트릴;

(2S)-1-(5-클로로-2-((5-시아노피리딘-3-일)메톡시)-4-((4-(3-(3-((R)-3-히드록시피롤리딘-1-일)프로폭시)-2-메틸페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)벤질)-피페리딘-2-카르복실산;

(5-클로로-2-((5-시아노피리딘-3-일)메톡시)-4-((4-(3-(3-((R)-3-히드록시피롤리딘-1-일)프로폭시)-2-메틸페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)벤질)-L-호모세린;

(2R)-2-((4-((4-(3-(3-(4-아세트아미도피페리딘-1-일)프로폭시)-2-클로로페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)-5-클로로-2-((5-시아노피리딘-3-일)메톡시)벤질)아미노)-3-히드록시-2-메틸프로판산;

(2S)-1-(4-((4-(3-(3-(4-아세트아미도피페리딘-1-일)프로폭시)-2-클로로페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)-5-클로로-2-((5-시아노피리딘-3-일)메톡시)벤질)피페리딘-2-카르복실산;

(4-((4-(3-(3-(4-아세트아미도피페리딘-1-일)프로폭시)-2-클로로페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)-5-클로로-2-((5-시아노피리딘-3-일)메톡시)벤질)-L-호모세린;

(2R)-2-((5-클로로-4-((4-(2-클로로-3-(3-((S)-2,3-디히드록시프로필)아미노)프로폭시)페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)-2-((5-시아노피리딘-3-일)메톡시)벤질)아미노)-3-히드록시-2-메틸프로판산;

5-((4-클로로-5-((4-(2-클로로-3-(3-((S)-2,3-디히드록시프로필)아미노)프로폭시)페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)-2-(히드록시메틸)페녹시)메틸)니코티노니트릴; 및

(5-클로로-4-((4-(2-클로로-3-(3-((S)-2,3-디히드록시프로필)아미노)프로폭시)페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)-2-((5-시아노피리딘-3-일)메톡시)벤질)-L-호모세린

으로부터 선택된 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 2

치료 유효량의 제1항의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 포함하는, 면역 반응의 증진, 자극, 조정 및/또는 증가를 필요로 하는 대상체에서 면역 반응을 증진, 자극, 조정 및/또는 증가시키기 위한 제약 조성물.

청구항 3

치료 유효량의 제1항의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 포함하는, 암 세포의 성장, 증식 또는 전이의 억제를 필요로 하는 대상체에서 암 세포의 성장, 증식 또는 전이를 억제하기 위한 제약 조성물.

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 개시내용은 일반적으로 PD-1/PD-L1 단백질/단백질 및 CD80/PD-L1 단백질/단백질 상호작용의 억제제로서 유용한 화합물에 관한 것이다. 화합물, 이러한 화합물을 포함하는 조성물, 및 그의 사용 방법이 본원에 제공된다. 개시내용은 추가로 암 및 감염성 질환을 포함한 다양한 질환의 치료에 유용한, 개시내용에 따른 적어도 1종의 화합물을 포함하는 제약 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 프로그램화된 사멸-1 (CD279)은 T 세포 상의 수용체이며, 이는 그의 리간드인 프로그램화된 사멸-리간드 1 (PD-L1, CD274, B7-H1) 또는 PD-L2 (CD273, B7-DC)가 결합하는 경우에 T 세포 수용체로부터 활성화 신호를 억제하는 것으로 밝혀졌다 (Sharpe et al., Nat. Imm. 2007). PD-1 발현 T 세포가 그의 리간드를 발현하는 세포와 접촉하면, 증식, 시토카인 분비, 및 세포용해 활성을 포함한, 항원 자극에 반응한 기능적 활성이 감소된다. PD-1/PD-리간드 상호작용은 감염 또는 종양의 해소 동안 또는 자기 내성의 발생 동안 면역 반응을 하향 조절한다 (Keir Me, Butte MJ, Freeman GJ, et al. Annu. Rev. Immunol. 2008; 26: Epub). 종양 질환 또는 만성 감염 동안 발생하는 것과 같은 만성 항원 자극은, 상승된 수준의 PD-1을 발현하고 만성 항원에 대한 활성화에 관하여 기능이상인 T 세포를 발생시킨다 (문헌 [Kim and Ahmed, Curr Opin Imm, 2010]에서 검토됨). 이는 "T 세포 소진"으로 불린다. B 세포도 또한 PD-1/PD-리간드 억제 및 "소진"을 나타낸다.

[0003] PD-L1은 또한 CD80과 상호작용하는 것으로 밝혀졌다 (Butte MJ et al., Immunity 27:111-122 (2007)). 발현 면역 세포 상에서의 PD-L1/CD80 상호작용은 억제적인 것으로 밝혀졌다. 이 상호작용의 차단은 이 억제 상호작용을 제거하는 것으로 밝혀졌다 (Paterson AM, et al., J Immunol., 187:1097-1105 (2011); Yang J, et al. J Immunol. Aug 1;187(3):1113-9 (2011)).

[0004] PD-L1에 대한 항체를 사용한 PD-1/PD-L1 상호작용의 차단은 많은 시스템에서 T 세포 활성화를 회복 및 증대시키는 것으로 밝혀졌다. 진행성 암을 갖는 환자는 PD-L1에 대한 모노클로날 항체를 사용한 요법으로부터 이익을 얻는다 (Brahmer et al., New Engl J Med 2012). 종양의 전임상 동물 모델은 모노클로날 항체에 의한 PD-1/PD-L1 경로의 차단이 면역 반응을 증진시키고 다수의 조직학적으로 별개의 종양에 대한 면역 반응을 생성할 수 있다는 것을 밝혀냈다 (Dong H, Chen L. J Mol Med. 2003; 81(5):281-287; Dong H, Strome SE, Salamoia DR, et al. Nat Med. 2002; 8(8):793-800).

[0005] PD-1/PD-L1 상호작용에 대한 간섭은 또한 만성 감염 시스템에서 증진된 T 세포 활성을 보여주었다. 마우스의 만성 림프구성 백라수막염 바이러스 감염은 또한 PD-L1의 차단에 의해 개선된 바이러스 클리어런스 및 회복된 면역을 나타낸다 (Barber DL, Wherry EJ, Masopust D, et al. Nature 2006; 439(7077):682-687). HIV-1에 감염된 인간화 마우스는 CD4+ T 세포의 바이러스혈증에 대한 증진된 보호 및 감소된 바이러스 고갈을 보여준다 (Palmer et al., J. Immunol 2013). PD-L1에 대한 모노클로날 항체를 통한 PD-1/PD-L1의 차단은 HIV 환자 (Day, Nature 2006; Petrovas, J. Exp. Med. 2006; Trautman, Nature Med. 2006; D'Souza, J.Immunol. 2007; Zhang, Blood 2007; Kaufmann, Nature Imm. 2007; Kasu, J. Immunol. 2010; Porichis, Blood 2011), HCV 환자 [Golden-Mason, J. Virol. 2007; Jeung, J. Leuk. Biol. 2007; Urbani, J. Hepatol. 2008; Nakamoto, PLoS Path. 2009; Nakamoto, Gastroenterology 2008] 또는 HBV 환자 (Boni, J. Virol. 2007; Fisticaro, Gastro. 2010; Fisticaro et al., Gastroenterology, 2012; Boni et al., Gastro., 2012; Penna et al., J Hep, 2012; Raziorrough, Hepatology 2009; Liang, World J Gastro. 2010; Zhang, Gastro. 2008)로부터의 T 세포에 대해 시험관내 항원-특이적 관능성을 회복시킬 수 있다.

[0006] PD-L1/CD80 상호작용의 차단은 또한 면역을 자극하는 것으로 밝혀졌다 (Yang J., et al., J Immunol. Aug 1;187(3):1113-9 (2011)). PD-L1/CD80 상호작용의 차단으로부터 발생한 면역 자극은 추가의 PD-1/PD-L1 또는 PD-1/PD-L2 상호작용의 차단과의 조합을 통해 증진되는 것으로 밝혀졌다.

[0007] 면역 세포 표현형에서의 변경은 패혈성 쇼크에서 중요한 인자인 것으로 가설화된다 (Hotchkiss, et al., Nat Rev Immunol (2013)). 이들은 증가된 수준의 PD-1 및 PD-L1 및 T 세포 아포토시스를 포함한다 (Guignant, et al., Crit. Care (2011)). PD-L1에 대해 지시된 항체는 면역 세포 아포토시스의 수준을 감소시킬 수 있다

(Zhang et al., Crit. Care (2011)). 게다가, PD-1 발현 결핍 마우스는 야생형 마우스보다 패혈성 쇼크 증상에 대해 보다 내성이 있다 (Yang J., et al.. J Immunol. Aug 1;187(3):1113-9 (2011)). 연구는 항체를 사용한 PD-L1의 상호작용의 차단이 부적절한 면역 반응을 억제할 수 있고 질환 증상을 호전시킬 수 있다는 것을 밝혀내었다.

[0008] 만성 항원에 대한 면역 반응을 증진시키는 것 뿐만 아니라, PD-1/PD-L1 경로의 차단은 또한 만성 감염의 맥락에서 치료 백신접종을 포함한 백신접종에 대한 반응을 증진시키는 것으로 밝혀졌다 (S. J. Ha, S. N. Mueller, E. J. Wherry et al., The Journal of Experimental Medicine, vol. 205, no. 3, pp. 543-555, 2008.; A. C. Finnefrock, A. Tang, F. Li et al., The Journal of Immunology, vol. 182, no. 2, pp.980-987, 2009; M.-Y. Song, S. -H. Park, H. J. Nam, D. -H. Choi, 및 Y.-C. Sung, The Journal of Immunotherapy, vol. 34, no. 3, pp. 297-306, 2011).

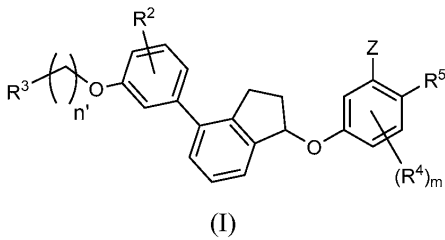
[0009] PD-1 경로는 만성 감염 및 종양 질환 동안 만성 항원 자극으로부터 발생하는 T 세포 소진에서의 주요 억제 분자이다. PD-L1 단백질의 표적화를 통한 PD-1/PD-L1 상호작용의 차단은 종양 또는 만성 감염의 상황에서 백신접종에 대한 증진된 반응을 포함한, 시험관내 및 생체내 항원-특이적 T 세포 면역 기능을 회복시키는 것으로 밝혀졌다.

[0010] 따라서, PD-L1과 PD-1 또는 CD80의 상호작용을 차단하는 작용제가 바람직하다.

[0011] 출원인들은 PD-L1과 PD-1 및 CD80의 상호작용의 억제제로서 활성을 갖고, 이에 따라 치료 백신을 포함한, 암 또는 감염에서 면역을 증진시키기 위한 치료적 투여에 유용할 수 있는 강력한 화합물을 발견하였다. 이들 화합물은 그의 약물성에 중요한 바람직한 안정성, 생체이용률, 치료 지수, 및 독성 값을 갖는 제약으로서 유용한 것으로 제공된다.

발명의 내용

[0012] 제1 측면에서, 본 개시내용은 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 제공한다:



[0013] 여기서

[0014] m은 0, 1, 또는 2이고;

[0015] n'는 1, 2, 또는 3이고;

[0016] Z는 수소, -CH₃, -O(CH₂)_nX 및 -O(CH₂)_nAr로부터 선택되고; 여기서

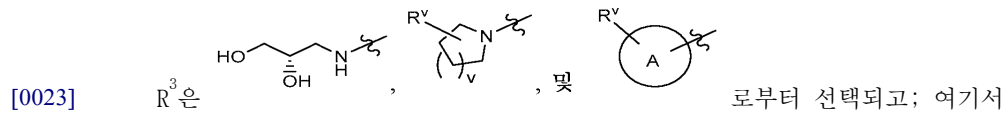
[0017] n은 1, 2, 3, 또는 4이고;

[0018] X는 수소, -CH₃, -CF₃, CN, -CO₂R¹, -C(O)NH₂, OR¹, 및 피롤리도닐로부터 선택되고;

[0019] R¹은 H 또는 C₁-C₃알킬이고, 단 n이 1인 경우, R¹은 C₁-C₃알킬이고;

[0020] Ar은 벤조디옥사닐, 인다졸릴, 이소퀴놀리닐, 이속사졸릴, 나프틸, 옥사디아졸릴, 페닐, 피리디닐, 피리미디닐, 및 퀴놀리닐로부터 선택되고; 여기서 각각의 고리는 C₁-C₄알콕시, C₁-C₄알콕시카르보닐, C₁-C₄알콕시카르보닐아미노, C₁-C₄알킬, (C₁-C₄알킬)카르보닐, (C₁-C₄알킬)술포닐, 아마이드, 아미노카르보닐, 아미노카르보닐(C₁-C₃알킬), -(CH₂)_qCO₂C₁-C₄알킬, -(CH₂)_qOH, 카르복시, 시아노, 포르밀, 할로, 할로C₁-C₄알킬, 할로C₁-C₄알콕시, 니트로, 1개의 시아노 기로 임의로 치환된 페닐, 1개의 할로 기로 임의로 치환된 페닐옥시, 페닐카르보닐, 피롤, 및 테트라히드로피란으로부터 독립적으로 선택된 1, 2, 3, 또는 4개의 치환기로 임의로 치환되고; 여기서 q는 0, 1, 2, 3, 또는 4이고;

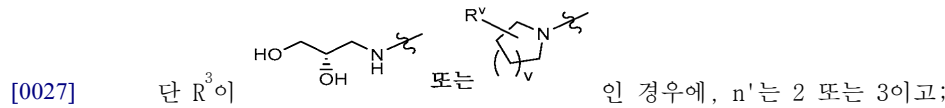
[0022] R²는 수소, C₁-C₃알킬, 시아노, 할로, 및 할로C₁-C₃알킬로부터 선택되고;



[0024] v는 1 또는 2이고;

[0025] 고리 A는 1개의 질소 원자를 함유하는 5- 또는 6-원 고리이고, 여기서 상기 고리는 고리 내의 탄소 원자를 통해 모 분자 모이어티에 부착되고;

[0026] R^v는 C₁-C₃알킬, C₁-C₃알킬카르보닐아미노, 및 히드록시로부터 선택되고;



[0028] 각각의 R⁴는 C₂-C₄알케닐, C₁-C₄알콕시, C₁-C₄알킬, 시아노, 할로, 및 할로C₁-C₄알킬로부터 독립적으로 선택되고;

[0029] R⁵는 -(CH₂)_pCHO, -(CH₂)_pCO₂H, -(CH₂)_wOH, -C(O)NR¹⁰⁰R¹⁰¹, -CH(CH₃)NR⁹R⁸, 및 -(CH₂)_wNR⁹R⁸로부터 선택되고; 여기서

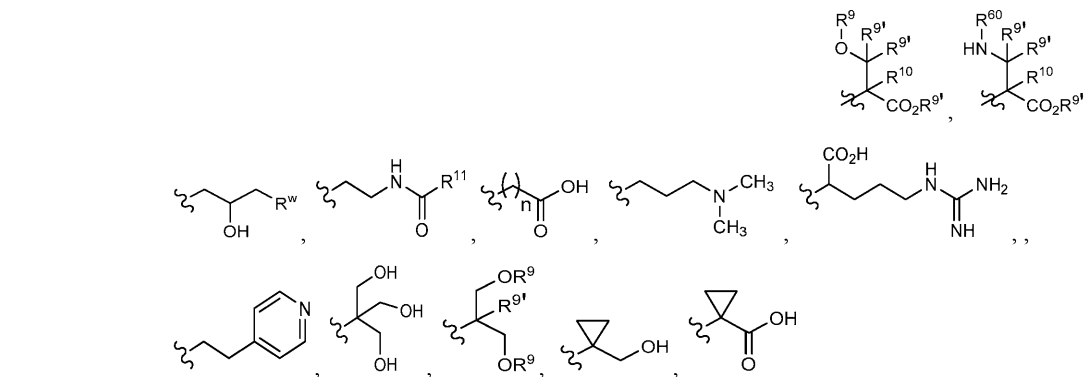
[0030] R¹⁰⁰ 및 R¹⁰¹은 수소, C₁-C₆알킬, 및 추가의 히드록시 기로 임의로 치환된 히드록시(C₁-C₆알킬)로부터 선택되거나; 또는 R¹⁰⁰ 및 R¹⁰¹은 이들이 부착되어 있는 질소 원자와 함께, 카르복시 기로 임의로 치환된 6-원 고리를 형성하고;

[0031] p는 0, 1, 2, 또는 3이고;

[0032] w는 1, 2, 3, 또는 4이고;

[0033] R⁹는 수소, C₁-C₄알킬, 벤질, (C₃-C₆시클로알킬)C₁-C₃알킬, 할로C₁-C₄알킬, 제2 히드록시 기로 임의로 치환된 히드록시C₁-C₆알킬, 및 시아노 기로 임의로 치환된 피리디닐(C₁-C₃알킬)로부터 선택되고;

[0034] R⁸은 수소, C₁-C₄알킬, -(CH₂)_nN(CH₃)₂, 카르복시C₂-C₆알케닐, 카르복시C₁-C₆알킬, 및 히드록시C₁-C₆알킬, 여기서 카르복시C₁-C₆알킬 및 히드록시C₁-C₆알킬의 알킬 부분은 1개의 히드록시 또는 페닐 기로 임의로 치환되고, 여기서 페닐 기는 추가로 히드록시 기로 임의로 치환됨;



[0036] 로부터 선택되고;

[0037] R^w는 -CONH₂이고,

[0038] R⁹는 수소, 벤질, 및 메틸로부터 선택되고;

[0039] 각각의 R^{9'}는 수소 및 C₁-C₃알킬로부터 독립적으로 선택되고;

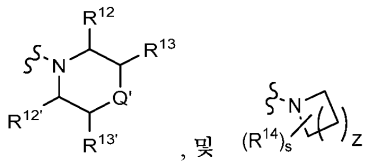
[0040] R¹⁰은 수소, C₁-C₃알킬, 및 벤질로부터 선택되고;

[0041] R¹¹은 C₂-C₄알케닐 및 C₁-C₄알킬로부터 선택되고;

[0042] R⁶⁰은 수소, C₁-C₆알킬, 및 C₁-C₆알콕시카르보닐로부터 선택되거나,

[0043] 또는

[0044] R⁸ 및 R⁹는 이들이 부착되어 있는 질소 원자와 함께,



[0045]

[0046]로부터 선택된 고리를 형성하고; 여기서

[0047] s는 0, 1, 또는 2이고;

[0048] z는 1, 2, 또는 3이고;

[0049] Q'는 CHR^{13*}, S, O, NH, NC(O)OC₁-C₆알킬, N(CH₂)₂OH, 및 NCH₃으로부터 선택되고;

[0050] R¹² 및 R^{12'}는 수소, -CO₂H, 히드록시C₁-C₄알킬, 옥소, 및 -C(O)NHSO₂R¹⁶으로부터 독립적으로 선택되고;

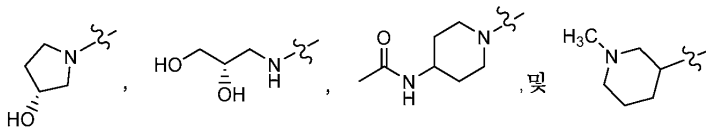
[0051] R¹³ 및 R^{13'}는 수소, 히드록시C₁-C₄알킬, 옥소, 및 -CO₂H로부터 독립적으로 선택되고;

[0052] R^{13*}은 히드록시C₁-C₃알킬, 및 -CO₂H로부터 선택되고;

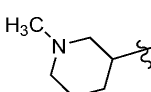
[0053] 각각의 R¹⁴는 C₁-C₄알콕시카르보닐, C₁-C₆알킬, 카르복시, 할로, 히드록시, 히드록시C₁-C₄알킬, -NR^{c'}R^{d'}, 및 페닐 옥시카르보닐로부터 독립적으로 선택되고, 여기서 페닐은 니트로 기로 임의로 치환되고, 여기서 R^{c'} 및 R^{d'}는 수소, C₁-C₄알콕시카르보닐, 및 C₁-C₄알킬카르보닐로부터 독립적으로 선택되고;

[0054] R¹⁶은 트리플루오로메틸, 시클로프로필, C₁-C₄알킬, 디메틸아미노, 및 메틸 기로 치환된 이미다졸릴로부터 선택된다.

[0055] 제1 측면의 제1 실시양태에서, 본 개시내용은 R³이



로부터 선택된 것인 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 제공한다.

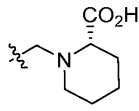
[0056] 제1 측면의 제2 실시양태에서, 본 개시내용은 R³이 인 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 제공한다.

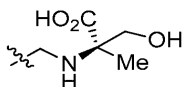
[0057] 제1 측면의 제3 실시양태에서, 본 개시내용은 R²가 할로인 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을

제공한다.

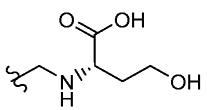
[0058] 제1 측면의 제4 실시양태에서, 본 개시내용은 Z가 $-O(CH_2)_nAr$ 이고, 여기서 n은 1이고, Ar은 1개의 시아노 기로 치환된 피리디닐인 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 제공한다.

[0059] 제1 측면의 제5 실시양태에서, 본 개시내용은 m이 1이고, R⁴가 할로인 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 제공한다.

[0060] 제1 측면의 제6 실시양태에서, 본 개시내용은 R⁵가  인 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 제공한다.

[0061] 제1 측면의 제7 실시양태에서, 본 개시내용은 R⁵가  인 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 제공한다.

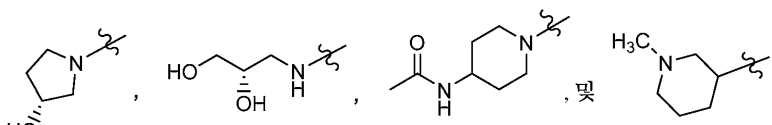
[0062] 제1 측면의 제8 실시양태에서, 본 개시내용은 R⁵가 $-CH_2OH$ 인 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 제공한다.

[0063] 제1 측면의 제9 실시양태에서, 본 개시내용은 R⁵가  인 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 제공한다.

[0064] 제1 측면의 제10 실시양태에서, 본 개시내용은

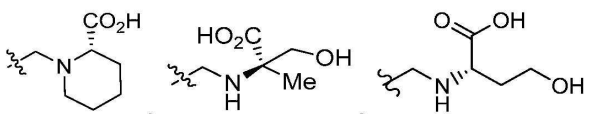
[0065] Z가 $-O(CH_2)_nAr$ 이고, 여기서 n은 1이고 및 Ar은 1개의 시아노 기로 치환된 피리디닐이고;

[0066] R²가 할로이고;

[0067] R³이  로부터 선택되고;

[0068] m이 1이고;

[0069] R⁴가 할로이고;

[0070] R⁵가  및 $-CH_2OH$ 로부터 선택된 것인

[0071] 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 제공한다.

[0072] 제2 측면에서, 본 개시내용은 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 조성물을 제공한다.

[0073] 제3 측면에서, 본 개시내용은 면역 반응의 증진, 자극, 조정 및/또는 증가를 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 면역 반응을 증진, 자극, 조정 및/또는 증가시키는 방법을 제공한다. 제3 측면의 제1 실시양태에서, 방법은 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 투여하기 전, 그 후, 또는 그와 동시에 추가의 작용제를 투여하는 것을

추가로 포함한다. 제2 실시양태에서 추가의 작용제는 항미생물제, 항바이러스제, 세포독성제, 유전자 발현 조정 작용제, 및/또는 면역 반응 조절제이다.

[0074] 제4 측면에서, 본 개시내용은 암 세포의 성장, 증식 또는 전이의 억제를 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 암 세포의 성장, 증식 또는 전이를 억제하는 방법을 제공한다. 제4 측면의 제1 실시양태에서, 암은 흑색종, 신세포 암종, 편평 비소 세포 폐암 (NSCLC), 비-편평 NSCLC, 결장직장암, 거세-저항성 전립선암, 난소암, 위암, 간세포성 암종, 췌장 암종, 두경부의 편평 세포 암종, 식도, 위장관 및 유방의 암종, 및 혈액 악성종양으로부터 선택된다.

[0075] 제5 측면에서, 본 개시내용은 감염성 질환의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 화학식 I의 화합물 또는 그의 치료상 허용되는 염을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 감염성 질환을 치료하는 방법을 제공한다. 제5 측면의 제1 실시양태에서, 감염성 질환은 바이러스에 의해 유발된다. 제5 측면의 제2 실시양태에서, 바이러스는 HIV, A형 간염, B형 간염, C형 간염, D형 간염, 포진 바이러스, 유두종바이러스, 및 인플루엔자로부터 선택된다.

[0076] 제6 측면에서, 본 개시내용은 패혈성 쇼크의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 화학식 I의 화합물 또는 그의 치료상 허용되는 염을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 패혈성 쇼크를 치료하는 방법을 제공한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0077] 본원에 달리 구체적으로 언급되지 않는 한, 단수에 대한 언급은 복수를 또한 포함할 수 있다. 예를 들어, 단수 형은 하나, 또는 하나 이상을 지칭할 수 있다.

[0078] 본원에 사용된 어구 "화합물(들) 또는 그의 제약상 허용되는 염"은 적어도 1종의 화합물, 화합물의 적어도 1종의 염, 또는 그의 조합을 지칭한다. 예를 들어, 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염은 화학식 I의 화합물; 화학식 I의 2종의 화합물; 화학식 I의 화합물의 염; 화학식 I의 화합물 및 화학식 I의 화합물의 1종 이상의 염; 및 화학식 I의 화합물의 2종 이상의 염을 포함한다.

[0079] 달리 나타내지 않는 한, 충족되지 않은 원자가를 갖는 임의의 원자는 원자가를 만족시키기에 충분한 수소 원자를 갖는 것으로 가정된다.

[0080] 본 명세서 전반에 걸쳐, 기 및 그의 치환기는 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 안정한 모이어티 및 화합물을 제공하도록 선택될 수 있다.

[0081] 본 개시내용을 기재하는데 사용된 다양한 용어의 정의가 하기 열거된다. 이들 정의는 개별적으로 또는 더 큰 군의 일부로서 본 명세서 전반에 걸쳐 이들이 사용된 바와 같은 (달리 구체적 경우에 제한되지 않는 한) 용어에 적용된다. 본원에 제시된 정의는 본원에 참조로 포함된 임의의 특허, 특허 출원 및/또는 특허 출원 공개공보에 제시된 정의보다 우선한다.

[0082] 본원에 사용된 용어 " C_2-C_4 알케닐"은 1 또는 2개의 이중 결합을 함유하는 2 내지 4개의 탄소 원자의 탄화수소를 지칭한다.

[0083] 본원에 사용된 용어 " C_1-C_4 알콕시"는 산소 원자를 통해 모 분자 모이어티에 부착된 C_1-C_4 알킬 기를 지칭한다.

[0084] 본원에 사용된 용어 " C_1-C_4 알콕시카르보닐"은 카르보닐 기를 통해 모 분자 모이어티에 부착된 C_1-C_4 알콕시 기를 지칭한다.

[0085] 본원에 사용된 용어 " C_1-C_6 알콕시카르보닐"은 카르보닐 기를 통해 모 분자 모이어티에 부착된 C_1-C_6 알콕시 기를 지칭한다.

[0086] 본원에 사용된 용어 " C_1-C_4 알콕시카르보닐아미노"는 -NH 기를 통해 모 분자 모이어티에 부착된 C_1-C_4 알콕시카르보닐 기를 지칭한다.

[0087] 본원에 사용된 용어 " C_1-C_3 알킬"은 1 내지 3개의 탄소 원자를 함유하는 직쇄 또는 분지쇄 포화 탄화수소로부터 유도된 기를 지칭한다.

[0088] 본원에 사용된 용어 " C_1-C_4 알킬"은 1 내지 4개의 탄소 원자를 함유하는 직쇄 또는 분지쇄 포화 탄화수소로부터

유도된 기를 지칭한다.

- [0089] 본원에 사용된 용어 " C_1-C_6 알킬"은 1 내지 6개의 탄소 원자를 함유하는 직쇄 또는 분지쇄 포화 탄화수소로부터 유도된 기를 지칭한다.
- [0090] 본원에 사용된 용어 " C_1-C_4 알킬카르보닐"은 카르보닐 기를 통해 모 분자 모이어티에 부착된 C_1-C_4 알킬 기를 지칭한다.
- [0091] 본원에 사용된 용어 " C_1-C_3 알킬카르보닐아미노"는 R^a 가 C_1-C_3 알킬 기인 $R^aC(O)NH-$ 을 지칭한다.
- [0092] 본원에 사용된 용어 " C_1-C_4 알킬술포닐"은 술포닐 기를 통해 모 분자 모이어티에 부착된 C_1-C_4 알킬 기를 지칭한다.
- [0093] 본원에 사용된 용어 "아미도"는 $-C(O)NH_2$ 를 지칭한다.
- [0094] 본원에 사용된 용어 "아미노카르보닐"은 $-C(O)NH_2$ 를 지칭한다.
- [0095] 본원에 사용된 용어 "아미노카르보닐(C_1-C_3 알킬)"은 C_1-C_3 알킬 기를 통해 모 분자 모이어티에 부착된 아미노카르보닐 기를 지칭한다.
- [0096] 본원에 사용된 용어 "카르보닐"은 $-C(O)-$ 를 지칭한다.
- [0097] 본원에 사용된 용어 "카르복시"는 $-CO_2H$ 를 지칭한다.
- [0098] 본원에 사용된 용어 "카르복시 C_2-C_6 알케닐"은 C_2-C_6 알케닐 기를 통해 모 분자 모이어티에 부착된 카르복시 기를 지칭한다.
- [0099] 본원에 사용된 용어 "카르복시 C_1-C_6 알킬"은 C_1-C_6 알킬 기를 통해 모 분자 모이어티에 부착된 카르복시 기를 지칭한다.
- [0100] 본원에 사용된 용어 "시아노"는 $-CN$ 을 지칭한다.
- [0101] 본원에 사용된 용어 " C_3-C_6 시클로알킬"은 3 내지 6개의 탄소 원자 및 0개의 헤테로원자를 갖는 포화 모노시클릭 탄화수소 고리계를 지칭한다. 시클로알킬 기의 대표적인 예는 시클로프로필, 시클로부틸, 시클로펜틸, 및 시클로헥실을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.
- [0102] 본원에 사용된 용어 " $(C_3-C_6$ 시클로알킬) C_1-C_3 알킬"은 C_3-C_6 시클로알킬 기로 치환된 C_1-C_3 알킬 기를 지칭한다.
- [0103] 본원에 사용된 용어 "포르밀"은 $-C(O)H$ 를 지칭한다.
- [0104] 본원에 사용된 용어 "할로" 및 "할로겐"은 F, Cl, Br, 또는 I를 지칭한다.
- [0105] 본원에 사용된 용어 "할로 C_1-C_4 알콕시"는 산소 원자를 통해 모 분자 모이어티에 부착된 할로 C_1-C_4 알킬 기를 지칭한다.
- [0106] 본원에 사용된 용어 "할로 C_1-C_3 알킬"은 1, 2 또는 3개의 할로겐 원자로 치환된 C_1-C_3 알킬 기를 지칭한다.
- [0107] 본원에 사용된 용어 "할로 C_1-C_4 알킬"은 1, 2 또는 3개의 할로겐 원자로 치환된 C_1-C_4 알킬 기를 지칭한다.
- [0108] 본원에 사용된 용어 "히드록시 C_1-C_3 알킬"은 C_1-C_3 알킬 기를 통해 모 분자 모이어티에 부착된 히드록시 기를 지칭한다.
- [0109] 본원에 사용된 용어 "히드록시 C_1-C_4 알킬"은 C_1-C_4 알킬 기를 통해 모 분자 모이어티에 부착된 히드록시 기를 지칭한다.
- [0110] 본원에 사용된 용어 "히드록시 C_1-C_6 알킬"은 C_1-C_6 알킬 기를 통해 모 분자 모이어티에 부착된 히드록시 기를 지칭한다.
- [0111] 본원에 사용된 용어 "니트로"는 $-NO_2$ 를 지칭한다.

- [0112] 본원에 사용된 용어 "옥소"는 =O를 지칭한다.
- [0113] 본원에 사용된 용어 "페닐카르보닐"은 카르보닐 기를 통해 모 분자 모이어티에 부착된 페닐 기를 지칭한다.
- [0114] 본원에 사용된 용어 "페닐옥시"는 산소 원자를 통해 모 분자 모이어티에 부착된 페닐 기를 지칭한다.
- [0115] 본원에 사용된 용어 "페닐옥시카르보닐"은 카르보닐 기를 통해 모 분자 모이어티에 부착된 페닐옥시 기를 지칭한다.
- [0116] 본원에 사용된 용어 "피리디닐(C₁-C₃)알킬"은 C₁-C₃알킬 기를 통해 모 분자 모이어티에 부착된 피리디닐 기를 지칭한다.
- [0117] 어구 "제약상 허용되는"은, 타당한 의학적 판단의 범주 내에서, 합리적인 이익/위험 비에 상응하여 과도한 독성, 자극, 알레르기 반응, 또는 다른 문제 또는 합병증 없이 인간 및 동물의 조직과 접촉하여 사용하기에 적합한 이들 화합물, 물질, 조성물 및/또는 투여 형태를 지칭하는 것으로 본원에서 사용된다.
- [0118] 화학식 I의 화합물은 또한 본 개시내용의 범주 내에 있는 염을 형성할 수 있다. 달리 나타내지 않는 한, 본 발명의 화합물에 대한 언급은 그의 1종 이상의 염에 대한 언급을 포함하는 것으로 이해된다. 용어 "염(들)"은 무기 및/또는 유기 산 및 염기를 사용하여 형성된 산성 및/또는 염기성 염을 나타낸다. 또한, 용어 "염(들)"은, 예를 들어 화학식 I의 화합물이 염기성 모이어티, 예컨대 아민 또는 피리딘 또는 이미다졸 고리, 및 산성 모이어티, 예컨대 카르복실산 둘 다를 함유하는 경우에 쓰비티이온 (내부 염)을 포함할 수 있다. 제약상 허용되는 (즉, 비-독성인 생리학상 허용되는) 염, 예컨대 예를 들어 양이온이 염의 독성 또는 생물학적 활성에 유의하게 기여하지 않는, 허용되는 금속 및 아민 염이 바람직하다. 그러나, 다른 염이, 예를 들어 제조 동안 사용될 수 있는 단리 또는 정제 단계에서 유용할 수 있으며, 따라서 이는 개시내용의 범주 내에 있는 것으로 고려된다. 화학식 I의 화합물의 염은, 예를 들어 화학식 I의 화합물을 일정량, 예컨대 등가량의 산 또는 염기와 매질, 예컨대 염이 침전되는 매질 중에서 또는 수성 매질 중에서 반응시킨 다음 동결건조시키는 것에 의해 형성될 수 있다.
- [0119] 예시적인 산 부가염은 아세테이트 (예컨대 아세트산 또는 트리할로아세트산, 예를 들어, 트리플루오로아세트산에 의해 형성된 것), 아디페이트, 알기네이트, 아스코르베이트, 아스파르테이트, 벤조에이트, 벤젠술포네이트, 비스페이트, 보레이트, 부티레이트, 시트레이트, 캄포레이트, 캄포르술포네이트, 시클로펜탄프로피오네이트, 디글루코네이트, 도데실술포네이트, 에탄술포네이트, 푸마레이트, 글루코헵타노에이트, 글리세로포스페이트, 헤미술포네이트, 헵타노에이트, 헥사노에이트, 히드로클로라이드 (염산에 의해 형성됨), 히드로브로마이드 (브로민화수소에 의해 형성됨), 히드로아이오다이드, 말레이이트 (말레산에 의해 형성됨), 2-히드록시에탄술포네이트, 락테이트, 메탄술포네이트 (메탄술포산에 의해 형성됨), 2-나프탈렌술포네이트, 니코티네이트, 니트레이트, 옥살레이트, 펙티네이트, 퍼술포네이트, 3-페닐프로피오네이트, 포스페이트, 피크레이트, 피발레이트, 프로피오네이트, 살리실레이트, 숙시네이트, 술포네이트 (예컨대 황산에 의해 형성된 것), 술포네이트 (예컨대 본원에 언급된 것), 타르트레이트, 티오시아네이트, 툴루엔술포네이트 예컨대 토실레이트, 운데카노에이트 등을 포함한다.
- [0120] 예시적인 염기성 염은 암모늄 염, 알칼리 금속 염, 예컨대 나트륨, 리튬, 및 칼륨 염; 알칼리 토금속 염, 예컨대 칼슘 및 마그네슘 염; 바륨, 아연, 및 알루미늄 염; 유기 염기 (예를 들어, 유기 아민), 예컨대 트리알킬아민, 예컨대 트리에틸아민, 프로카인, 디벤질아민, N-벤질-β-페네틸아민, 1-에페나민, N,N'-디벤질에틸렌-디아민, 테히드로아비에틸아민, N-에틸피페리딘, 벤질아민, 디시클로헥실아민 또는 유사한 제약상 허용되는 아민과의 염 및 아미노산, 예컨대 아르기닌, 리신과의 염 등을 포함한다. 염기성 질소-함유 기는 작용제 예컨대 저급 알킬 할라이드 (예를 들어, 메틸, 에틸, 프로필, 및 부틸 클로라이드, 브로마이드 및 아이오다이드), 디알킬 술포네이트 (예를 들어, 디메틸, 디에틸, 디부틸, 및 디아밀 술포네이트), 장쇄 할라이드 (예를 들어, 데실, 라우릴, 미리스틸 및 스테아릴 클로라이드, 브로마이드 및 아이오다이드), 아르알킬 할라이드 (예를 들어, 벤질 및 페네틸 브로마이드) 등으로 4급화될 수 있다. 바람직한 염은 모노히드로클로라이드, 히드로젠술포네이트, 메탄술포네이트, 포스페이트 또는 니트레이트 염을 포함한다.
- [0121] 다양한 형태의 전구약물이 관련 기술분야에 널리 공지되어 있으며,
- [0122] a) The Practice of Medicinal Chemistry, Camille G. Wermuth et al., Ch 31, (Academic Press, 1996);
- [0123] b) Design of Prodrugs, edited by H. Bundgaard, (Elsevier, 1985);

- [0124] c) A Textbook of Drug Design and Development, P. Krosggaard-Larson and H. Bundgaard, eds. Ch 5, pgs 113 - 191 (Harwood Academic Publishers, 1991); 및
- [0125] d) Hydrolysis in Drug and Prodrug Metabolism, Bernard Testa and Joachim M. Mayer, (Wiley-VCH, 2003)
- [0126] 에 기재되어 있다.
- [0127] 본 개시내용의 화합물은 비대칭 또는 키랄 중심이 존재하는 입체이성질체를 함유할 수 있다. 구체적 입체화학은 키랄 탄소 원자 주위의 치환기들의 배위에 따라, 기호 "R" 또는 "S"로 지정될 수 있다. 본 발명은 다양한 입체이성질체 (즉, 거울상이성질체 및 부분입체이성질체) 및 그의 혼합물을 고려하고, PD-L1에 결합하는 모든 입체이성질체를 포함하는 것으로 의도된다. 본 발명의 화합물의 개별 입체이성질체는 비대칭 또는 키랄 중심을 함유하는 상업적으로 입수가능한 출발 물질로부터, 또는 라세미 혼합물의 제조에 이어서 통상의 기술자에게 널리 공지된 분할 방법에 의해 합성적으로 제조할 수 있다.
- [0128] 또한, 화학식 I의 화합물을, 그의 제조에 후속하여 단리 및 정제하여 중량 기준으로 99% 이상의 양의 ("실질적으로 순수한") 화학식 I의 화합물을 함유하는 조성물을 수득할 수 있고, 이어서 이는 본원에 기재된 바와 같이 사용되거나 제제화된다. 이러한 "실질적으로 순수한" 화학식 I의 화합물은 또한 본원에서 본 개시내용의 일부로서 고려된다.
- [0129] "안정한 화합물" 및 "안정한 구조"는 반응 혼합물로부터 유용한 정도의 순도도의 단리, 및 효과적인 치료제로의 제제화를 견디기에 충분히 강건한 화합물을 나타내는 것으로 의도된다. 본 개시내용은 안정한 화합물을 구현하는 것으로 의도된다.
- [0130] "치료 유효량"은 PD-1/PD-L1 단백질/단백질 및/또는 CD80/PD-L1 단백질/단백질 상호작용을 억제하는데 효과적이거나, 또는 암 또는 감염성 질환, 예컨대 폐혈성 쇼크, HIV 또는 B형 간염, C형 간염 및 D형 간염을 치료 또는 예방하는데 효과적인 본 개시내용의 화합물 단독의 양 또는 청구된 화합물의 조합물의 양 또는 다른 활성 성분과 조합된 본 개시내용의 화합물의 양을 포함하는 것으로 의도된다.
- [0131] 본원에 사용된 "치료하는" 또는 "치료"는 포유동물에서, 특히 인간에서 질환-상태의 치료를 포함하고, 하기를 포함한다: (a) 특히 포유동물이 질환-상태에 소인이 있지만, 아직 이를 앓고 있는 것으로 진단되지는 않은 경우에 질환-상태가 이러한 포유동물에서 일어나는 것을 예방하는 것; (b) 질환-상태를 억제하는 것, 즉, 그의 발병을 저지하는 것; 및/또는 (c) 질환-상태를 완화시키는 것, 즉, 질환 상태의 퇴행을 일으키는 것.
- [0132] 본 개시내용의 화합물은 본 발명의 화합물에서 발생하는 원자의 모든 동위원소를 포함하는 것으로 의도된다. 동위원소는 동일한 원자 번호를 갖지만 상이한 질량수를 갖는 이들 원자를 포함한다. 일반적 예로서 및 비제한적으로, 수소의 동위원소는 중수소 (D) 및 삼중수소 (T)를 포함한다. 탄소의 동위원소는 ¹³C 및 ¹⁴C를 포함한다. 동위원소-표지된 개시내용의 화합물은 일반적으로 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 통상적인 기술에 의해 또는 본원에 기재된 것과 유사한 과정에 의해, 달리 사용되는 비-표지된 시약 대신 적절한 동위원소-표지된 시약을 사용하여 제조될 수 있다. 예를 들어, 메틸 (-CH₃)은 또한 중수소화 메틸 기 예컨대 -CD₃을 포함한다.
- [0133] 화학식 I에 따른 화합물 및/또는 그의 제약상 허용되는 염은 치료될 상태에 적합한 임의의 수단에 의해 투여될 수 있으며, 이는 부위-특이적 치료에 대한 필요에 따라 또는 전달될 화학식 I 화합물의 양에 따라 달라질 수 있다. 또한, 화학식 I의 화합물 및/또는 그의 제약상 허용되는 염; 및 1종 이상의 비-독성, 제약상 허용되는 담체 및/또는 희석제 및/또는 아주반트 (본원에서 집합적으로 "담체" 물질로 지칭됨), 및 원하는 경우에 다른 활성 성분을 포함하는 제약 조성물의 부류가 본 개시내용에 포괄된다. 화학식 I의 화합물은 임의의 적합한 경로에 의해, 바람직하게는 이러한 경로에 적합화된 제약 조성물의 형태로, 및 의도된 치료에 효과적인 용량으로 투여될 수 있다. 본 개시내용의 화합물 및 조성물은, 예를 들어 경구로, 점막으로, 직장으로, 또는 비경구로, 예컨대 혈관내로, 정맥내로, 복강내로, 피하로, 근육내로, 및 흉골내로, 통상적인 제약상 허용되는 담체, 아주반트 및 비히클을 함유하는 투여 단위 제제로 투여될 수 있다. 예를 들어, 제약 담체는 만니톨 또는 락토스 및 미세결정질 셀룰로스의 혼합물을 함유할 수 있다. 혼합물은 추가의 성분, 예컨대 윤활제, 예를 들어 스테아르산마그네슘 및 붕해제, 예컨대 크로스포비돈을 함유할 수 있다. 담체 혼합물은 젤라틴 캡슐 내로 충전되거나 또는 정제로서 압축될 수 있다. 제약 조성물은, 예를 들어 경구 투여 형태 또는 주입으로서 투여될 수 있다.
- [0134] 경구 투여를 위해, 제약 조성물은, 예를 들어 정제, 캡슐, 액체 캡슐, 현탁액, 또는 액체 형태일 수 있다. 제

약 조성물은 바람직하게는 특정한 양의 활성 성분을 함유하는 투여 단위의 형태로 제조된다. 예를 들어, 제약 조성물은 약 0.1 내지 1000 mg, 바람직하게는 약 0.25 내지 250 mg, 보다 바람직하게는 약 0.5 내지 100 mg 범위의 양의 활성 성분을 포함하는 정제 또는 캡슐로서 제공될 수 있다. 인간 또는 다른 포유동물에 적합한 1일 용량은 환자의 상태 및 다른 인자에 따라 광범위하게 달라질 수 있지만, 상용 방법을 사용하여 결정될 수 있다.

[0135] 본원에서 고려되는 임의의 제약 조성물은, 예를 들어 임의의 허용되고 적합한 경구 제제를 통해 경구로 전달될 수 있다. 예시적인 경구 제제는, 예를 들어 정제, 트로키, 로젠지, 수성 및 유성 현탁액, 분산성 분말 또는 과립, 에멀전, 경질 및 연질 캡슐, 액체 캡슐, 시럽 및 엘릭시르를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 경구 투여를 위해 의도된 제약 조성물은 경구 투여를 위해 의도된 제약 조성물을 제조하기 위한 관련 기술분야에 공지된 임의의 방법에 따라 제조될 수 있다. 제약상 맛우수한 제제를 제공하기 위해, 개시내용에 따른 제약 조성물은 감미제, 향미제, 착색제, 완화제, 항산화제, 및 보존제로부터 선택된 적어도 1종의 작용제를 함유할 수 있다.

[0136] 정제는, 예를 들어 화학식 I의 적어도 1종의 화합물 및/또는 그의 적어도 1종의 제약상 허용되는 염을 정제의 제조에 적합한 적어도 1종의 비-독성의 제약상 허용되는 부형제와 혼합함으로써 제조될 수 있다. 예시적인 부형제는, 예를 들어 불활성 희석제, 예컨대 예를 들어 탄산칼슘, 탄산나트륨, 락토스, 인산칼슘 및 인산나트륨; 과립화제 및 봉해제, 예컨대 예를 들어 미세결정질 셀룰로스, 소듐 크로스카르멜로스, 옥수수 전분 및 알긴산; 결합제, 예컨대 예를 들어 전분, 젤라틴, 폴리비닐-피롤리돈 및 아카시아; 및 윤활제, 예컨대 예를 들어 스테아르산마그네슘, 스테아르산 및 활석을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 추가적으로, 정제는 코팅되지 않거나, 또는 불쾌한 맛이 나는 약물의 나쁜 맛을 차폐하거나 또는 위장관에서의 활성 성분의 봉해 및 흡수를 지연시켜 활성 성분의 효과를 보다 긴 기간 동안 지속시키기 위해 공지된 기술에 의해 코팅될 수 있다. 예시적인 수용성 및 차폐 물질은 히드록시프로필-메틸셀룰로스 및 히드록시프로필-셀룰로스를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 예시적인 시간 지연 물질은 에틸 셀룰로스 및 셀룰로스 아세테이트 부티레이트를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0137] 경질 젤라틴 캡슐은, 예를 들어 화학식 I의 적어도 1종의 화합물 및/또는 그의 적어도 1종의 염을 적어도 1종의 불활성 고체 희석제, 예컨대 예를 들어, 탄산칼슘; 인산칼슘; 및 카올린과 혼합함으로써 제조될 수 있다.

[0138] 연질 젤라틴 캡슐은, 예를 들어 화학식 I의 적어도 1종의 화합물 및/또는 그의 적어도 1종의 제약상 허용되는 염을 적어도 1종의 수용성 담체, 예컨대 예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜; 및 적어도 1종의 오일 매질, 예컨대 예를 들어, 땅콩 오일, 액체 파라핀, 및 올리브 오일과 혼합함으로써 제조될 수 있다.

[0139] 수성 현탁액은, 예를 들어 화학식 I의 적어도 1종의 화합물 및/또는 그의 적어도 1종의 제약상 허용되는 염을 수성 현탁액의 제조에 적합한 적어도 1종의 부형제와 혼합함으로써 제조될 수 있다. 수성 현탁액의 제조에 적합한 예시적인 부형제는 예를 들어 현탁화제, 예컨대 예를 들어 소듐 카르복시메틸셀룰로스, 메틸셀룰로스, 히드록시프로필메틸-셀룰로스, 알긴산나트륨, 알긴산, 폴리비닐-피롤리돈, 트라가칸트 검 및 아카시아 검; 분산제 또는 습윤제, 예컨대 예를 들어 자연 발생 포스파티드, 예를 들어 레시틴; 알킬렌 옥시드와 지방산의 축합 생성물, 예컨대 예를 들어 폴리옥시에틸렌 스테아레이트; 에틸렌 옥시드와 장쇄 지방족 알코올의 축합 생성물, 예컨대 예를 들어 헵타데카에틸렌-옥시세탄올; 에틸렌 옥시드와 지방산 및 헥시톨로부터 유래된 부분 에스테르의 축합 생성물, 예컨대 예를 들어 폴리옥시에틸렌 소르비톨 모노올레레이트; 및 에틸렌 옥시드와 지방산 및 헥시톨 무수물로부터 유래된 부분 에스테르의 축합 생성물, 예컨대 예를 들어 폴리에틸렌 소르비탄 모노올레이트를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 수성 현탁액은 또한 적어도 1종의 보존제, 예컨대 예를 들어 에틸 및 n-프로필 p-히드록시벤조에이트; 적어도 1종의 착색제; 적어도 1종의 향미제; 및/또는 예를 들어 수크로스, 사카린, 및 아스파르탐을 포함하나 이에 제한되지는 않는 적어도 1종의 감미제를 함유할 수 있다.

[0140] 유성 현탁액은, 예를 들어 화학식 I의 적어도 1종의 화합물 및/또는 그의 적어도 1종의 제약상 허용되는 염을 식물성 오일, 예컨대 예를 들어 아라키스 오일; 올리브 오일; 참깨 오일; 및 코코넛 오일; 또는 미네랄 오일, 예컨대 예를 들어 액체 파라핀 중에 현탁시킴으로써 제조될 수 있다. 유성 현탁액은 또한 적어도 1종의 증점제, 예컨대 예를 들어 밀랍; 경질 파라핀; 및 세틸 알코올을 함유할 수 있다. 맛이 우수한 유성 현탁액을 제공하기 위해, 상기에 이미 기재된 적어도 1종의 감미제, 및/또는 적어도 1종의 향미제가 유성 현탁액에 첨가될 수 있다. 유성 현탁액은, 예를 들어 항산화제, 예컨대 예를 들어 부틸화 히드록시아니솔 및 알파-토코페롤을 포함하나 이에 제한되지는 않는, 적어도 1종의 보존제를 추가로 함유할 수 있다.

[0141] 분산성 분말 및 과립은, 예를 들어 화학식 I의 적어도 1종의 화합물 및/또는 그의 적어도 1종의 제약상 허용되는 염을 적어도 1종의 분산제 및/또는 습윤제; 적어도 1종의 현탁화제; 및/또는 적어도 1종의 보존제와 혼합함

으로써 제조될 수 있다. 적합한 분산제, 습윤제, 및 현탁화제는 상기에 이미 기재된 바와 같다. 예시적인 보존제는 또한 항산화제, 예를 들어, 아스코르브산을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 추가로, 분산성 분말 및 과립은 또한 예를 들어, 감미제; 향미제; 및 착색제를 포함하나 이에 제한되지 않는 적어도 1종의 부형제를 함유할 수 있다.

[0142] 화학식 I의 적어도 1종의 화합물 및/또는 그의 적어도 1종의 제약상 허용되는 염의 에멀전은, 예를 들어 수중유 에멀전으로서 제조될 수 있다. 화학식 I의 화합물을 포함하는 에멀전의 유성 상은 공지된 성분으로부터 공지된 방식으로 구성될 수 있다. 오일 상은, 예를 들어 식물성 오일, 예컨대 예를 들어 올리브 오일 및 아라키스 오일; 미네랄 오일, 예컨대 예를 들어 액체 파라핀; 및 그의 혼합물에 의해 제공될 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다. 상은 단지 유화제만을 포함할 수 있지만, 이는 적어도 1종의 유화제와 지방 또는 오일 또는 지방 및 오일 둘 다의 혼합물을 포함할 수 있다. 적합한 유화제는, 예를 들어 자연-발생 포스파티드, 예를 들어 대두 레시틴; 지방산 및 핵시톨 무수물로부터 유래된 에스테르 또는 부분 에스테르, 예컨대 예를 들어 소르비탄 모노올레에이트; 및 부분 에스테르와 에틸렌 옥시드의 축합 생성물, 예컨대 예를 들어 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노올레에이트를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 바람직하게는, 친수성 유화제는 안정화제로서 작용하는 친 지성 유화제와 함께 포함된다. 또한 오일 및 지방 둘 다를 포함하는 것이 바람직하다. 이와 함께, 안정화제 (들) 포함 또는 불포함 유화제(들)는 소위 유화 왁스를 구성하며, 왁스는 오일 및 지방과 함께, 크림 제제의 유 성 분산 상을 형성하는 소위 유화 연고 베이스를 구성한다. 에멀전은 또한 감미제, 향미제, 보존제, 및/또는 항산화제를 함유할 수 있다. 본 개시내용의 제제에 사용하기에 적합한 유화제 및 에멀전 안정화제는 트윈 (Tween) 60, 스펀(Span) 80, 세토스테아릴 알콜, 미리스틸 알콜, 글리세릴 모노스테아레이트, 소듐 라우릴 술페이트, 글리세릴 디스테아레이트를 단독으로, 또는 왁스 또는 관련 기술분야에 널리 공지된 다른 물질과 함께 포함한다.

[0143] 화학식 I의 화합물 및/또는 그의 적어도 1종의 제약상 허용되는 염은, 예를 들어 또한 임의의 제약상 허용되고 적합한 주사가능한 형태를 통해 정맥내로, 피하로 및/또는 근육내로 전달될 수 있다. 예시적인 주사가능한 형태는, 예를 들어 허용되는 비히클 및 용매, 예컨대 예를 들어 물, 링거액, 및 등장성 염화나트륨 용액을 포함하는 멸균 수용액; 멸균 수중유 마이크로에멀전; 및 수성 또는 유질 현탁액을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0144] 비경구 투여를 위한 제제는 수성 또는 비-수성 등장성 멸균 주사 용액 또는 현탁액의 형태일 수 있다. 이들 용액 및 현탁액은 경구 투여를 위한 제제에 사용하기 위한 것으로 언급된 담체 또는 희석제 중 1종 이상을 사용하거나, 또는 다른 적합한 분산제 또는 습윤제 및 현탁화제를 사용함으로써 멸균 분말 또는 과립으로부터 제조될 수 있다. 화합물은 물, 폴리에틸렌 글리콜, 프로필렌 글리콜, 에탄올, 옥수수 오일, 목화씨 오일, 땅콩 오일, 참깨 오일, 벤질 알콜, 염화나트륨, 트라가칸트 검, 및/또는 다양한 완충제 중에 용해될 수 있다. 다른 아주반트 및 투여 방식이 제약 기술분야에 널리 광범위하게 공지되어 있다. 활성 성분은 또한 염수, 텍스트로스 또는 물을 포함한 적합한 담체, 또는 시클로덱스트린 (즉, 캡티솔(Captisol)), 공용매 가용화제 (즉, 프로필렌 글리콜) 또는 미셀 가용화제 (즉, 트윈 80)와의 조성물로서 주사에 의해 투여될 수 있다.

[0145] 멸균 주사가능한 제제는 또한, 예를 들어 1,3-부탄디올 중 용액과 같이 비-독성의 비경구로 허용되는 희석제 또는 용매 중 멸균 주사가능한 용액 또는 현탁액일 수 있다. 이 중 사용될 수 있는 허용되는 비히클 및 용매는 물, 링거액 및 등장성 염화나트륨 용액이다. 게다가, 멸균 고정 오일은 용매 또는 현탁 매질로서 통상적으로 사용된다. 이 목적을 위해 임의의 무자극 고정 오일은 합성 모노- 또는 디글리세리드를 포함하여 사용될 수 있다. 추가로, 지방산 예컨대 올레산은 주사제의 제조에서의 용도를 확인한다.

[0146] 멸균 주사가능한 수중유 마이크로에멀전은, 예를 들어 1) 화학식 I의 적어도 1종의 화합물을 유성 상, 예컨대 예를 들어 대두 오일 및 레시틴의 혼합물 중에 용해시키고; 2) 화학식 I 함유 유성 상을 물 및 글리세롤 혼합물과 배합하고; 3) 배합물을 가공하여 마이크로에멀전을 형성함으로써 제조될 수 있다.

[0147] 멸균 수성 또는 유질 현탁액은 관련 기술분야에 이미 공지된 방법에 따라 제조될 수 있다. 예를 들어, 멸균 수용액 또는 현탁액은 비-독성의 비경구로 허용되는 희석제 또는 용매, 예컨대 예를 들어 1,3-부탄 디올을 사용하여 제조될 수 있고; 멸균 유질 현탁액은 멸균 비-독성의 허용되는 용매 또는 현탁 매질, 예컨대 예를 들어 멸균 고정 오일, 예를 들어 합성 모노- 또는 디글리세리드; 및 지방산, 예컨대 예를 들어 올레산을 사용하여 제조될 수 있다.

[0148] 본 개시내용의 제약 조성물에 사용될 수 있는 제약상 허용되는 담체, 아주반트, 및 비히클은 이온 교환체, 알루미늄, 스테아르산알루미늄, 레시틴, 자기-유화 약물 전달 시스템 (SEDDS), 예컨대 d-알파-토코페롤 폴리에틸렌 글리콜 1000 숙시네이트, 제약 투여 형태에 사용되는 계면활성제, 예컨대 트윈, 폴리에톡실화 피마자 오일, 예

컨대 크레모포르(CREMOPHOR) 계면활성제 (바스프(BASF)), 또는 다른 유사한 중합체 전달 매트릭스, 혈청 단백질, 예컨대 인간 혈청 알부민, 완충제 물질, 예컨대 포스페이트, 글리신, 소르브산, 소르브산칼륨, 포화 식물성 지방산의 부분 글리세리드 혼합물, 물, 염 또는 전해질, 예컨대 프로타민 술페이트, 인산수소이나트륨, 인산수소칼륨, 염화나트륨, 아연 염, 콜로이드성 실리카, 삼규산마그네슘, 폴리비닐 피롤리돈, 셀룰로스계 물질, 폴리에틸렌 글리콜, 소듐 카르복시메틸셀룰로스, 폴리아크릴레이트, 왁스, 폴리에틸렌-폴리옥시프로필렌-블록 중합체, 폴리에틸렌 글리콜 및 양모 지방을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 또한, 시클로텍스트린, 예컨대 알파-, 베타- 및 감마-시클로텍스트린, 또는 화학적으로 변형된 유도체, 예컨대 히드록시알킬시클로텍스트린, 예컨대 2- 및 3-히드록시프로필-시클로텍스트린, 또는 다른 가용화된 유도체가 본원에 기재된 화학식의 화합물의 전달을 증진시키는 데 유리하게 사용될 수 있다.

[0149] 본 개시내용의 제약 활성 화합물은 제약학의 통상적인 방법에 따라 가공되어 인간 및 다른 포유동물을 포함한 환자에게 투여하기 위한 의약 작용제를 제조할 수 있다. 제약 조성물은 통상적인 제약 작업, 예컨대 멸균에 적용될 수 있고/거나, 통상적인 아주반트, 예컨대 보존제, 안정화제, 습윤제, 유화제, 완충제 등을 함유할 수 있다. 정제 및 환제는 추가적으로 장용 코팅을 갖는 것으로 제조될 수 있다. 이러한 조성물은 또한 아주반트, 예컨대 습윤제, 감미제, 향미제, 및 퍼폼제를 포함할 수 있다.

[0150] 본 개시내용의 화합물 및/또는 조성물을 사용하여 질환 상태를 치료하기 위한, 투여되는 화합물의 양 및 투여 요법은 대상체의 연령, 체중, 성별, 의학적 상태, 질환의 유형, 질환의 중증도, 투여 경로 및 빈도, 및 사용되는 특정한 화합물을 포함한 다양한 인자에 따라 달라진다. 따라서, 투여 요법은 폭넓게 달라질 수 있지만, 표준 방법을 사용하여 정례적으로 결정될 수 있다. 약 0.001 내지 100 mg/kg 체중, 바람직하게는 약 0.0025 내지 약 50 mg/kg 체중, 가장 바람직하게는 약 0.005 내지 10 mg/kg 체중의 1일 용량이 적절할 수 있다. 1일 용량은 1일에 1 내지 4회 용량으로 투여될 수 있다. 다른 투여 스케줄은 1주에 1회 용량 및 2일에 1회 용량 사이클을 포함한다.

[0151] 치료 목적을 위해, 본 개시내용의 활성 화합물은 지시된 투여 경로에 적절한 1종 이상의 아주반트와 통상적으로 조합된다. 경구로 투여되는 경우에, 화합물은 락토스, 수크로스, 전분 분말, 알칸산의 셀룰로스 에스테르, 셀룰로스 알킬 에스테르, 활석, 스테아르산, 스테아르산마그네슘, 산화마그네슘, 인산 및 황산의 나트륨 및 칼슘 염, 젤라틴, 아카시아 검, 알긴산나트륨, 폴리비닐피롤리돈 및/또는 폴리비닐 알콜과 혼합된 다음, 편리한 투여를 위해 정제화 또는 캡슐화될 수 있다. 이러한 캡슐 또는 정제는, 히드록시프로필메틸 셀룰로스 중 활성 화합물의 분산액에 제공될 수 있는 바와 같이, 제어-방출 제제를 함유할 수 있다.

[0152] 본 개시내용의 제약 조성물은 화학식 I의 적어도 1종의 화합물 및/또는 그의 적어도 1종의 제약상 허용되는 염, 및 임의로 임의의 제약상 허용되는 담체, 아주반트, 및 비히클로부터 선택된 추가의 작용제를 포함한다. 본 개시내용의 대안적 조성물은 본원에 기재된 화학식 I의 화합물, 또는 그의 전구약물, 및 제약상 허용되는 담체, 아주반트, 또는 비히클을 포함한다.

[0153] 개시내용의 화합물은 PD-1/PD-L1 단백질/단백질을 억제하여 PD-L1 차단을 발생시킨다. PD-L1의 차단은 인간을 포함한 포유동물에서 암성 세포 및 감염성 질환에 대한 면역 반응을 증진시킬 수 있다.

[0154] 한 측면에서, 본 개시내용은 암성 종양의 성장이 억제되도록 화학식 I의 화합물 또는 그의 염을 사용하여 대상체를 생체내 치료하는 것에 관한 것이다. 화학식 I의 화합물 또는 그의 염은 암성 종양의 성장을 억제하기 위해 단독으로 사용될 수 있다. 대안적으로, 화학식 I의 화합물 또는 그의 염은 하기 기재된 바와 같이 다른 면역원성 작용제 또는 표준 암 치료와 함께 사용될 수 있다.

[0155] 한 실시양태에서, 개시내용은 대상체에게 치료 유효량의 화학식 I의 화합물 또는 그의 염을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 종양 세포의 성장을 억제하는 방법을 제공한다.

[0156] 한 실시양태에서, 암의 치료를 필요로 하는 환자에게 치료 유효량의 화학식 I의 화합물 또는 그의 염을 투여하는 것을 포함하는, 암을 치료하는 방법이 제공된다. 개시내용의 화합물의 사용하여 성장이 억제될 수 있는 것을 포함한 암의 예는 전형적으로 면역요법에 반응성인 암을 포함한다. 치료를 위해 바람직한 암의 비제한적인 예는 흑색종 (예를 들어, 전이성 악성 흑색종), 신암 (예를 들어, 투명 세포 암종), 전립선암 (예를 들어, 호르몬 불응성 전립선 선암종), 유방암, 결장암 및 폐암 (예를 들어, 비소세포 폐암)을 포함한다. 추가적으로, 개시내용은, 개시내용의 화합물을 사용하여 성장이 억제될 수 있는 불응성 또는 재발성 악성종양을 포함한다.

[0157] 개시내용의 방법을 사용하여 치료될 수 있는 다른 암의 예는 골암, 췌장암, 피부암, 두경부암, 피부 또는 안내 악성 흑색종, 자궁암, 난소암, 직장암, 항문부암, 위암, 고환암, 자궁암, 난관 암종, 자궁내막 암종, 자궁경부

암종, 질 암종, 외음부 암종, 호지킨병, 비-호지킨 림프종, 식도암, 소장암, 내분비계암, 갑상선암, 부갑상선암, 부신암, 연부 조직 육종, 요도암, 음경암, 급성 골수성 백혈병, 만성 골수성 백혈병, 급성 림프모구성 백혈병, 만성 림프구성 백혈병을 포함한 만성 또는 급성 백혈병, 소아기 고형 종양, 림프구성 림프종, 방광암, 신장암 또는 요도암, 신우 암종, 중추 신경계 (CNS)의 신생물, 원발성 CNS 림프종, 종양 혈관신생, 척수 축 종양, 뇌간 신경교종, 뇌하수체 선종, 카포시 육종, 표피양암, 편평 세포암, T-세포 림프종, 식면에 의해 유발된 것을 포함한 환경적으로 유발된 암, 및 상기 암의 조합을 포함한다. 본 개시내용은 또한 전이성 암, 특히 PD-L1을 발현하는 전이성 암의 치료에 유용하다 (Iwai et al. (2005) Int. Immunol. 17:133-144).

[0158] 임의로, 화학식 I의 화합물 또는 그의 염은 또 다른 면역원성 작용제, 예컨대 암성 세포, 정제된 종양 항원 (제조합 단백질, 펩티드 및 탄수화물 분자 포함), 세포, 및 면역 자극 시토카인을 코딩하는 유전자로 형질감염된 세포와 조합될 수 있다 (He et al. (2004) J. Immunol. 173:4919-28). 사용될 수 있는 종양 백신의 비-제한적 예는 흑색종 항원의 펩티드, 예컨대 gp100, MAGE 항원, Trp-2, MART1 및/또는 티로시나제의 펩티드, 또는 시토카인 GM-CSF를 발현하도록 형질감염된 종양 세포를 포함한다.

[0159] 인간에서, 일부 종양, 예컨대 흑색종은 면역원성인 것으로 제시된 바 있다. PD-L1 차단에 의해 T 세포 활성화의 역치를 상승시킴으로써, 종양 반응이 숙주에서 활성화될 것을 예상할 수 있는 것으로 기대된다.

[0160] PD-L1 차단은 백신접종 프로토콜과 조합될 수 있다. 종양에 대한 백신접종을 위한 많은 실험적 전략이 고안되었다 (문헌 [Rosenberg, S., 2000, Development of Cancer Vaccines, ASCO Educational Book Spring: 60-62; Logothetis, C., 2000, ASCO Educational Book Spring: 300-302; Khayat, D. 2000, ASCO Educational Book Spring: 414-428; Foon, K. 2000, ASCO Educational Book Spring: 730-738] 참조; 또한 [Restifo, N. and Sznol, M., Cancer Vaccines, Ch. 61, pp. 3023-3043 in DeVita, V. et al. (eds.), 1997, Cancer: Principles and Practice of Oncology. Fifth Edition] 참조). 이들 전략 중 하나에서, 백신은 자가 또는 동종 종양 세포를 사용하여 제조된다. 이들 세포성 백신은 GM-CSF를 발현하도록 종양 세포가 형질도입될 때 가장 효과적인 것으로 밝혀졌다. GM-CSF는 종양 백신접종을 위한 항원 제시의 강력한 활성화제인 것으로 밝혀졌다 (Dranoff et al. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 90: 3539-43).

[0161] 다양한 종양에서의 유전자 발현 및 대규모 유전자 발현 패턴에 관한 연구로, 소위 종양 특이적 항원이 정의되었다 (Rosenberg, S A (1999) Immunity 10: 281-7). 다수의 경우에서, 이들 종양 특이적 항원은 종양 및 종양이 발생한 세포에서 발현된 분화 항원, 예를 들어 멜라닌세포 항원 gp100, MAGE 항원, 및 Trp-2이다. 보다 중요하게는, 이들 항원 중 다수는 숙주에서 발견되는 종양 특이적 T 세포의 표적인 것으로 제시될 수 있다. PD-L1 차단을 종양에서 발현되는 제조합 단백질 및/또는 펩티드의 수집과 함께 사용하여 이들 단백질에 대한 면역 반응을 생성할 수 있다. 이들 단백질은 통상적으로 면역계에 의해 자기 항원으로 간주되고, 따라서 그에 대해 허용된다. 종양 항원은 또한, 염색체의 텔로미어의 합성에 필요하고 85% 초과인 인간 암에서 및 단지 제한된 수의 체성 조직에서 발현되는 단백질 텔로머라제를 포함할 수 있다 (Kim, N et al. (1994) Science 266: 2011-2013). (이들 체성 조직은 다양한 수단에 의해 면역 공격으로부터 보호될 수 있음). 또한, 종양 항원은 단백질 서열을 변경하거나 또는 2개의 관련되지 않은 서열 사이의 융합 단백질 (즉, 필라델피아 염색체 내의 bcr-abl), 또는 B 세포 종양으로부터의 이디오타임을 생성하는 체세포 돌연변이로 인해 암 세포에서 발현되는 "신생-항원"일 수 있다.

[0162] 다른 종양 백신은 인간 암에 연루된 바이러스, 예컨대 인간 유두종 바이러스 (HPV), 간염 바이러스 (HBV, HDV 및 HCV) 및 카포시 포진 육종 바이러스 (KHSV)로부터의 단백질을 포함할 수 있다. PD-L1 차단과 함께 사용될 수 있는 또 다른 형태의 종양 특이적 항원은 종양 조직 자체로부터 단리된 정제된 열 쇼크 단백질 (HSP)이다. 이들 열 쇼크 단백질은 종양 세포로부터의 단백질의 단편을 함유하고, 이들 HSP는 종양 면역 도출을 위해 항원 제시 세포로의 전달시 고도로 효율적이다 (Suot, R & Srivastava, P (1995) Science 269:1585-1588; Tamura, Y. et al. (1997) Science 278:117-120).

[0163] 수지상 세포 (DC)는 항원-특이적 반응을 촉발하는데 사용될 수 있는 강력한 항원 제시 세포이다. DC는 생체의 생산될 수 있고, 다양한 단백질 및 펩티드 항원, 뿐만 아니라 종양 세포 추출물로 로딩될 수 있다 (Nestle, F. et al. (1998) Nature Medicine 4: 328-332). DC는 또한, 이들 종양 항원을 또한 발현시키기 위해 유전적 수단에 의해 형질도입될 수 있다. DC는 또한 면역화 목적을 위해 종양 세포에 직접 융합되었다 (Kugler, A. et al. (2000) Nature Medicine 6:332-336). 백신접종 방법으로서, DC 면역화는 보다 강력한 항종양 반응을 활성화시키기 위해 PD-L1 차단과 효과적으로 조합될 수 있다.

[0164] PD-L1 차단은 또한 표준 암 치료와 조합될 수 있다. PD-L1 차단은 화학요법과 효과적으로 조합될 수 있다. 이

들 경우에, 화학요법제 시약의 투여량을 감소시키는 것이 가능할 수 있다 (Mokyr, M. et al. (1998) Cancer Research 58: 5301-5304). 이러한 조합의 예는 흑색종의 치료를 위해 다카르바진과 조합된 본 개시내용의 화합물이다. 이러한 조합의 또 다른 예는 흑색종의 치료를 위해 인터류킨-2 (IL-2)와 조합된 본 개시내용의 화합물이다. PD-L1 차단 및 화학요법의 조합 사용을 뒷받침하는 과학적 근거는 대부분의 화학요법 화합물의 세포독성 작용의 결과인 세포 사멸이 항원 제시 경로에서 중앙 항원의 수준을 증가시켜야 한다는 것이다. 세포 사멸을 통한 PD-L1 차단과 상승작용을 유발할 수 있는 다른 조합 요법은 방사선요법, 수술 및 호르몬 박탈이다. 각각의 이들 프로토콜은 숙주에서 중앙 항원의 공급원을 생성한다. 또한, 혈관신생 억제제가 PD-L1 차단과 조합될 수 있다. 혈관형성의 억제는 중앙 항원을 숙주 항원 제시 경로 내로 공급할 수 있는 중앙 세포 사멸로 이어진다.

[0165] 본 개시내용의 화합물은 또한 중앙 세포에 대해 Fc 알파 또는 Fc 감마 수용체-발현 이펙터 세포를 표적화하는 이중특이적 화합물과 조합되어 사용될 수 있다 (예를 들어 미국 특허 번호 5,922,845 및 5,837,243 참조). 이중특이적 화합물을 사용하여 2개의 별개의 항원을 표적화할 수 있다. 예를 들어 항-Fc 수용체/항중앙 항원 (예를 들어, Her-2/neu) 이중특이적 화합물은 대식세포를 중앙 부위로 표적화하는데 사용되었다. 이러한 표적화는 중앙 특이적 반응을 보다 효과적으로 활성화시킬 수 있다. 이들 반응의 T 세포 아암(arm)은 PD-L1 차단의 사용에 의해 증대될 것이다. 대안적으로, 중앙 항원 및 수지상 세포 특이적 세포 표면 마커에 결합하는 이중특이적 화합물의 사용에 의해 항원이 DC에 직접 전달될 수 있다.

[0166] 중앙은 매우 다양한 메카니즘에 의해 숙주 면역 감시를 피한다. 이들 메카니즘 중 많은 것은, 중앙에 의해 발현되고 면역억제성인 단백질의 불활성화에 의해 극복될 수 있다. 이들은 특히 TGF-베타 (Kehrl, J. et al. (1986) J. Exp. Med. 163: 1037-1050), IL-10 (Howard, M. & O'Garra, A. (1992) Immunology Today 13: 198-200), 및 Fas 리간드 (Hahne, M. et al. (1996) Science 274: 1363-1365)를 포함한다. 각각의 이들 엔티에 결합하고 차단하는 억제제는 면역억제제의 효과를 상쇄시키고 숙주에 의한 중앙 면역 반응을 유리하게 하기 위해 본 개시내용의 화합물과 조합되어 사용될 수 있다.

[0167] 숙주 면역 반응성을 활성화하는 화합물이 PD-L1 차단과 조합되어 사용될 수 있다. 이들은 DC 기능 및 항원 제시를 활성화시키는 수지상 세포의 표면 상의 분자를 포함한다. 항-CD40 화합물은 T 세포 헬퍼 활성을 효과적으로 대체할 수 있고 (Ridge, J. et al. (1998) Nature 393: 474-478), PD-L1 차단과 함께 사용될 수 있다 (Ito, N. et al. (2000) Immunobiology 201 (5) 527-40). T 세포 공동자극 분자 예컨대 CTLA-4 (e.g., U.S. Pat. number 5,811,097), OX-40 (Weinberg, A. et al. (2000) Immunol 164: 2160-2169), 4-1BB (Melero, I. et al. (1997) Nature Medicine 3: 682-685 (1997), 및 ICOS (Hutloff, A. et al. (1999) Nature 397: 262-266)에 대해 화합물을 활성화하는 것은 또한 증가된 수준의 T 세포 활성화를 제공할 수 있다.

[0168] 골수 이식은 조혈계 기원의 다양한 중앙을 치료하는데 현재 사용된다. 이식편 대 숙주 질환은 이러한 치료의 결과이지만, 이식편 대 중앙 반응으로부터 치료 이익을 획득할 수 있다. 공여자 생착 중앙 특이적 T 세포의 유효성을 증가시키기 위해 PD-L1 차단이 사용될 수 있다.

[0169] 개시내용의 다른 방법은 특정한 독소 또는 병원체에 노출된 적 있는 환자를 치료하는데 사용된다. 따라서, 개시내용의 또 다른 측면은 대상체에게 치료 유효량의 화학식 I의 화합물 또는 그의 염을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 감염성 질환을 치료하는 방법을 제공한다.

[0170] 상기 논의된 바와 같은 중앙에 대한 그의 적용과 유사하게, 화학식 I의 화합물 또는 그의 염은 병원체, 독소 및 자기-항원에 대한 면역 반응을 자극하기 위해 단독으로, 또는 아주반트로서, 백신과 조합되어 사용될 수 있다. 이 치료 접근법이 특히 유용할 수 있는 병원체의 예는 현재 효과적인 백신이 없는 병원체, 또는 통상적인 백신이 완전하게 효과적이지는 않은 병원체를 포함한다. 이들은 HIV, 간염 (A, B, C 또는 D), 인플루엔자 (Influenza), 헤르페스(Herpes), 지아르디아(*Giardia*), 말라리아(Malaria), 리슈마니아(*Leishmania*), 스타필로코쿠스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*), 슈도모나스 아에루기노사(*Pseudomonas Aeruginosa*)를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. PD-L1 차단은 감염 과정에 걸쳐 변경된 항원을 제시하는 HIV와 같은 작용제에 의해 확립된 감염에 대해 특히 유용하다. 이들 신규한 에피토프는 투여 시점에 외래로 인식되고, 따라서 PD-1을 통한 음성 신호에 의해 약화되지 않는 강한 T 세포 반응을 유발한다.

[0171] 개시내용의 방법에 의해 치료가능한 감염을 유발하는 병원성 바이러스의 일부 예는 HIV, 간염 (A, B, C, 또는 D), 포진 바이러스 (예를 들어, VZV, HSV-1, HAV-6, HHV-7, HHV-8, HSV-2, CMV, 및 엡스타인 바르(Epstein Barr) 바이러스), 아데노바이러스, 인플루엔자 바이러스, 플라비바이러스, 에코바이러스, 리노바이러스, 콕사키 바이러스, 코로나바이러스, 호흡기 세포융합 바이러스, 볼거리 바이러스, 로타바이러스, 홍역 바이러스, 풍진

바이러스, 파르보바이러스, 백시니아 바이러스, HTLV 바이러스, 탱기 바이러스, 유두종바이러스, 연속종 바이러스, 폴리오바이러스, 광견병 바이러스, JC 바이러스 및 아르보바이러스 너염 바이러스를 포함한다.

[0172] 개시내용의 방법에 의해 치료가능한 감염을 유발하는 병원성 박테리아의 일부 예는 클라미디아, 리케치아 박테리아, 미코박테리움, 스타필로코쿠스, 스트렙토코쿠스, 뉴모코쿠스, 메닝고코쿠스 및 고노코쿠스, 클레브시엘라, 프로테우스, 세라티아, 슈도모나스, 레지오넬라, 디프테리아, 살모넬라, 바실루스, 콜레라, 파상풍, 보툴리눔독소증, 탄저병, 흑사병, 렙토스피라증 및 라임병 박테리아를 포함한다.

[0173] 본 개시내용의 방법에 의해 치료가능한 감염을 유발하는 병원성 진균의 일부 예는 칸디다(*Candida*) (알비칸스(*albicans*), 크루세이(*krusei*), 글라브라타(*glabrata*), 트로피칼리스(*tropicalis*) 등), 크립토코쿠스 네오프르만스(*Cryptococcus neoformans*), 아스페르길루스(*Aspergillus*) (푸미가투스(*fumigatus*), 니거(*niger*) 등), 뮤코랄레스(*Mucorales*) 속 (뮤코르(*mucor*), 압시디아(*absidia*), 리조푸스(*rhizophus*)), 스포로트릭스 쉐크키이(*Sporothrix schenckii*), 블라스토미세스 더마티티디스(*Blastomyces dermatitidis*), 파라코크시디오이데스 브라질리엔시스(*Paracoccidioides brasiliensis*), 콕시디오이데스 임미티스(*Coccidioides immitis*) 및 히스토플라스마 캡슐라툼(*Histoplasma capsulatum*)을 포함한다.

[0174] 본 개시내용의 방법에 의해 치료가능한 감염을 유발하는 병원성 기생충의 일부 예는 엔트아메바 히스톨리티카(*Entamoeba histolytica*), 발란티디움 콜라이(*Balantidium coli*), 네글레리아포울레리(*Naegleria fowleri*), 아칸트아메바(*Acanthamoeba*) 종, 지아르디아 람비아(*Giardia lamblia*), 크립토스포리디움(*Cryptosporidium*) 종, 뉴모시스티스 카리니이(*Pneumocystis carinii*), 플라스모디움 비박스(*Plasmodium vivax*), 바베시아 마이크로티(*Babesia microti*), 트리파노소마 브루세이(*Trypanosoma brucei*), 트리파노소마 크루지(*Trypanosoma cruzi*), 리슈마니아 도노바니(*Leishmania donovani*), 톡소플라스마 곤디(*Toxoplasma gondi*) 및 니포스트롱길루스 브라질리엔시스(*Nippostrongylus brasiliensis*)를 포함한다.

[0175] 상기 모든 방법에서, PD-L1 차단은 다른 형태의 면역요법, 예컨대 시토카인 치료 (예를 들어, 인터페론, GM-CSF, G-CSF, IL-2), 또는 종양 항원의 증진된 제시를 제공하는 이중특이적 항체 요법 (예를 들어, 문헌 [Holliger (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448; Poljak (1994) Structure 2:1121-1123] 참조), 백신, 또는 유전자 발현을 변형시키는 작용제와 조합될 수 있다.

[0176] 본 개시내용의 화합물은 자가면역 반응을 유발하고 증폭시킬 수 있다. 사실상, 종양 세포 및 펩티드 백신을 사용한 항-종양 반응의 유도는 많은 항-종양 반응이 항-자기 반응성을 수반하는 것을 보인다 (상기한 반 엘사스 (van Elsas) 등에서 항-CTLA-4+GM-CSF-변형된 B 16 흑색종에서 관찰된 탈색소; Trp-2 백신접종된 마우스에서의 탈색소 (Overwijk, W. et al. (1999) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 96: 2982-2987); TRAMP 종양 세포 백신에 의해 유발된 자가면역 전립선염 (상기한 문헌 [Hurwitz, A. (2000)]), 흑색종 펩티드 항원 백신접종, 및 인간 임상 시험에서 관찰된 백반증 (Rosenberg, S A and White, D E (1996) J. Immunother Emphasis Tumor Immunol 19 (1): 81-4).

[0177] 따라서, 질환 치료를 위해 이들 자기 단백질에 대한 면역 반응을 효과적으로 생성하도록 백신접종 프로토콜을 고안하기 위해 항-PD-L1 차단을 다양한 자기 단백질과 함께 사용하는 것을 고려하는 것이 가능하다. 예를 들어, 알츠하이머병은 뇌에서 아밀로이드 침착물 내에 A. 베타.펩티드의 부적절한 축적을 수반하고; 아밀로이드에 대한 항체 반응은 이들 아밀로이드 침착물을 제거할 수 있다 (Schenk et al., (1999) Nature 400: 173-177).

[0178] 다른 자기 단백질이 또한 알레르기 및 천식의 치료를 위한 IgE, 및 류마티스 관절염을 위한 TNF.알파.와 같이 표적으로서 사용될 수 있다. 마지막으로, 다양한 호르몬에 대한 항체 반응이 화학식 I의 화합물 또는 그의 염을 사용하여 유도될 수 있다. 생식 호르몬에 대한 중화 항체 반응은 피임을 위해 사용될 수 있다. 특정한 종양의 성장을 위해 요구되는 호르몬 및 다른 가용성 인자에 대한 중화 항체 반응이 또한 가능한 백신접종 표적으로서 고려될 수 있다.

[0179] 항-PD-L1 항체의 사용에 대해 상기 기재된 것과 유사한 방법이, 다른 자기-항원 예컨대 알츠하이머병에서의 A. 베타.를 포함한 아밀로이드 침착물, 시토카인 예컨대 TNF 알파, 및 IgE의 부적절한 축적을 갖는 환자를 치료하기 위해 치료적 자가면역 반응의 유도를 위해 사용될 수 있다.

[0180] 본 개시내용의 화합물은 화학식 I의 화합물 또는 그의 염과 관심 항원 (예를 들어, 백신)의 공투여에 의해 항원-특이적 면역 반응을 자극하는데 사용될 수 있다. 따라서, 또 다른 측면에서, 개시내용은 대상체에게 (i) 항원; 및 (ii) 화학식 I의 화합물 또는 그의 염을 투여하여 대상체에서의 항원에 대한 면역 반응이 증진되는 것

을 포함하는, 대상체에서 항원에 대한 면역 반응을 증진시키는 방법을 제공한다. 항원은, 예를 들어 종양 항원, 바이러스 항원, 박테리아 항원, 또는 병원체로부터의 항원일 수 있다. 이러한 항원의 비제한적 예는 상기 섹션에서 논의된 것, 예컨대 상기 논의된 종양 항원 (또는 종양 백신), 또는 바이러스, 박테리아 또는 상기 기재된 다른 병원체로부터의 항원을 포함한다.

[0181] 이전에 기재된 바와 같이, 개시내용의 화합물은 1종 이상의 다른 치료제, 예를 들어 세포독성제, 방사성독성제 또는 면역억제제와 공투여될 수 있다. 개시내용의 화합물은 다른 치료제 전에, 그 후에 또는 그와 공동으로 투여될 수 있거나, 또는 다른 공지된 요법, 예를 들어 항암 요법, 예를 들어 방사선과 공투여될 수 있다. 이러한 치료제는 특히 그 자체로는 환자에게 독성 또는 준독성인 수준에서만 효과적인 항신생물제, 예컨대 독소루비신 (아드리아마이신), 시스플라틴 블레오마이신 술페이트, 카르무스틴, 클로람부실, 데카르바진 및 시클로포스파미드 히드록시우레아를 포함한다. 시스플라틴은 100 mg/용량으로 4주마다 1회 정맥내로 투여되고, 아드리아마이신은 60-75 mg/mL 용량으로 21일마다 1회 정맥내로 투여된다. 화학식 I의 화합물 또는 그의 염과 화학요법제의 공-투여는 인간 종양 세포에 세포독성 효과를 가져오는 상이한 메카니즘을 통해 작용하는 2종의 항암 작용제를 제공한다. 이러한 공-투여는 약물에 대한 내성의 발생, 또는 항체와 비반응성이 되게 할 종양 세포의 항원성에서의 변화로 인한 문제를 해결할 수 있다.

[0182] 또한 화학식 I의 화합물 또는 그의 염 및 사용에 대한 지침서를 포함하는 키트가 본 개시내용의 범주 내에 있다. 키트는 추가로 적어도 1종의 추가의 시약을 함유할 수 있다. 키트는 전형적으로 키트의 내용물의 의도되는 용도를 나타내는 라벨을 포함한다. 용어 라벨은 키트 상에 또는 키트와 함께 공급되거나, 또는 달리 키트에 동반되는 임의의 문서 또는 기록물을 포함한다.

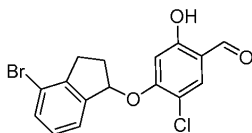
[0183] 상기 다른 치료제는, 본 개시내용의 화합물과 조합되어 사용되는 경우에, 예를 들어 의사 처방 참고집 (PDR)에 지시된 양으로 또는 달리 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 결정된 양으로 사용될 수 있다. 본 개시내용의 방법에서, 이러한 다른 치료제(들)는 본 발명의 화합물의 투여 전에, 그와 동시에, 또는 그 후에 투여될 수 있다.

[0184] 실시예

[0185] 본 발명은 하기 실시예에서 추가로 정의된다. 실시예는 단지 예시로서 주어진 것으로 이해되어야 한다. 상기 논의 및 실시예로부터, 관련 기술분야의 통상의 기술자는 본 발명의 필수적인 특징을 확인할 수 있으며, 본 개시내용의 취지 및 범주에서 벗어나지 않으면서, 본 발명을 다양한 용도 및 조건에 적합하도록 다양하게 변화 및 변형시킬 수 있다. 그 결과, 본 발명은 하기 본원에 제시된 예시적인 예에 의해 제한되지 않고, 오히려 본원에 첨부된 청구범위에 의해 규정된다.

[0186] 본 명세서에 사용된 하기 용어는 나타낸 의미를 갖는다: THF: 테트라히드로푸란, h 또는 hr: 시간, min: 분, rt 또는 RT 또는 Rt: 실온 또는 체류 시간 (문맥이 지시할 것임), t_R: 체류 시간, DMSO: 디메틸설폭사이드, DMF: N,N-디메틸포름아미드, 및 MeOH: 메탄올.

[0187] 중간체: 4-((4-브로모-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)-5-클로로-2-히드록시벤즈알데히드



[0188]

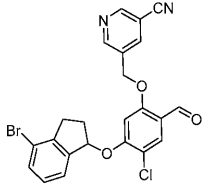
[0189] 디이소프로필 아조디카르복실레이트 (0.76 mL, 3.87 mmol)를 건조 THF (15 mL) 중 4-브로모-2,3-디히드로-1H-인덴-1-올 (750.0 mg, 3.52 mmol), 5-클로로-2,4-디히드록시벤즈알데히드 (607.0 mg, 3.52 mmol) 및 트리페닐포스핀 (1.02 g, 3.87 mmol)의 용액에 0°C에서 적가하였다. 생성된 황색 용액을 실온으로 가온되도록 하였으며, 여기서 이를 16시간 동안 교반하였다. 용매를 진공 하에 제거하고, 잔류물을 소량의 디클로로메탄에 녹이고, 레디셉Rf 정상 실리카 겔 텔레다인 이스코 80 g 일회용 칼럼에 채우고, 이를 헥산으로 200 mL 동안, 이어서 0 - 50% B로 1500 mL 동안 제1 용리시켰다 (여기서 용매 B = 에틸 아세테이트 및 용매 A = 헥산). 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 원심 증발을 통해 건조시켜 목적 생성물인 4-((4-브로모-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)-5-클로로-2-히드록시벤즈알데히드 (742.6 mg, 38.9%)를 담황색 고체로서 수득하였으며, 이를 직접 사용하였다.

[0190] LCMS: t_R (채류 시간) = 1.50분.

[0191] LCMS 조건: 주입 부피 = 3 μ L; 구배 = 2 - 98% B; 구배 시간 = 1.5분; 유량 = 0.8 ml/분; 파장 = 220 nm; 이동상 A = 0:100 아세트니트릴:물, 0.05% 트리플루오로아세트산 포함; 이동상 B = 100:0 아세트니트릴:물, 0.05% 트리플루오로아세트산 포함; 칼럼 = 워터스 액티비티 BEH C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 μ m; 오븐 온도 = 40°C.

[0192] 1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 10.05 (s, 1H), 7.69 (s, 1H), 7.60 (d, J=8.1 Hz, 1H), 7.47 (d, J=7.3 Hz, 1H), 7.26 (t, J=7.7 Hz, 1H), 6.92 (s, 1H), 6.07 (dd, J=6.6, 3.7 Hz, 1H), 3.12 - 3.01 (m, 1H), 2.98 - 2.87 (m, 1H), 2.75 - 2.61 (m, 1H), 2.16 - 2.07 (m, 1H).

[0193] 중간체: 5-((5-((4-브로모-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)-4-클로로-2-포르밀페녹시)메틸)-니코티노니트릴



[0194]

[0195] 건조 DMF (8 mL) 중 4-((4-브로모-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)-5-클로로-2-히드록시벤즈알데히드 (500 mg, 1.36 mmol), 5-(클로로메틸)니코티노니트릴 (270 mg, 1.77 mmol) 및 탄산세슘 (665 mg, 2.04 mmol)의 현탁액을 실온에서 16시간 동안 교반하였다. 용매를 진공 하에 제거하고, 잔류물을 에틸 아세테이트와 물 사이에 분배하였다. 수성 상을 분리하고, 에틸 아세테이트를 사용하여 1회 넘게 추출하였다. 유기 추출물을 합하고, 염수로 세척하고, 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 수득하였으며, 이를 디클로로메탄 및 헥산으로 연화처리하여 목적 생성물인 5-((5-((4-브로모-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)-4-클로로-2-포르밀페녹시)메틸)니코티노-니트릴 (201.2 mg, 28.9%)를 흡인-여과 후에 담황갈색 고체로서 수득하였다. 여과물을 농축시키고, 소량의 디클로로메탄에 녹이고, 레디셉Rf 정상 실리카 겔 텔레다인 이스코 40 g 일회용 칼럼에 채우고, 헥산으로 60 mL 동안, 이어서 0 - 50% B로 600 mL 동안 제1 용리시켰다 (여기서 용매 B = 에틸 아세테이트 및 용매 A = 헥산). 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 원심 증발을 통해 건조시켜 추가의 생성물 (101.3 mg, 10.4%)을 황갈색 고체로서 수득하였다. 분획 둘 다를 합하고, 이후에 직접 사용하였다.

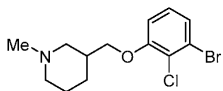
[0196] LCMS: t_R = 1.43분;

[0197] LCMS (ESI) m/z = 485.05 $[M+H]^+$.

[0198] LCMS 조건: 주입 부피 = 3 μ L; 구배 = 2 - 98% B; 구배 시간 = 1.5분; 유량 = 0.8 ml/분; 파장 = 220 nm; 이동상 A = 0:100 아세트니트릴:물, 0.05% 트리플루오로아세트산 포함; 이동상 B = 100:0 아세트니트릴:물, 0.05% 트리플루오로아세트산 포함; 칼럼 = 워터스 액티비티 BEH C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 μ m; 오븐 온도 = 40°C.

[0199] 1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 10.26 (s, 1H), 9.05 (s, 1H), 9.05 (s, 1H), 8.58 - 8.55 (m, 1H), 7.73 (s, 1H), 7.61 (d, J=7.7 Hz, 1H), 7.42 (d, J=7.3 Hz, 1H), 7.31 - 7.13 (m, 2H), 6.31 (dd, J=6.6, 4.0 Hz, 1H), 5.52 (s, 2H), 3.13 - 3.04 (m, 1H), 2.98 - 2.88 (m, 1H), 2.76 - 2.66 (m, 1H), 2.13 - 2.05 (m, 1H).

[0200] 중간체: 3-((3-브로모-2-클로로페녹시)메틸)-1-메틸피페리딘



[0201]

[0202] 탄산칼륨 (0.80 g, 5.78 mmol)을 건조 DMF (10 mL)에 들은 3-브로모-2-클로로페놀 (0.50 g, 2.41 mmol) 및 3-(브로모메틸)-1-메틸피페리딘 히드رو브로마이드 (0.66 g, 2.41 mmol)의 교반 용액에 한 번에 첨가하였다. 현탁액을 60°C에서 16시간 동안 교반하였다. 실온으로 냉각시킨 후, 이어서 혼합물을 에틸 아세테이트 및 물로 희석하였다. 수성 상을 분리하고, 에틸 아세테이트를 사용하여 1회 넘게 추출하였다. 합한 유기 추출물을 염수로 세척하고, $MgSO_4$ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 오일을 수득하였으며, 이를 소량의 디클로로메탄에 녹이고, 레디셉Rf 정상 실리카 겔 텔레다인 이스코 24 g 일회용 칼럼에 채우고, 디클로로메탄으로 100 mL 동안,

이어서 0 - 10% B로 650 mL 동안 제1 용리시켰다 (여기서 용매 B = 메탄올 및 용매 A = 디클로로메탄). 용리액을 농축시킨 후, 목적 생성물인 3-((3-브로모-2-클로로페녹시)메틸)-1-메틸피페리딘 (585.5 mg, 76% 수율)을 무색 오일로서 단리하였다.

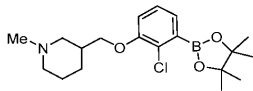
[0203] LCMS: $t_R = 0.97$ 분;

[0204] LCMS (ESI) $m/z = 317.85$ 및 $319.90 [M+H]^+$.

[0205] LCMS 조건: 주입 부피 = 3 μ L; 구배 = 2 - 98% B; 구배 시간 = 1.5분; 유량 = 0.8 ml/분; 파장 = 220 nm; 이동상 A = 0:100 아세트오니트릴:물, 0.05% 트리플루오로아세트산 포함; 이동상 B = 100:0 아세트오니트릴:물, 0.05% 트리플루오로아세트산 포함; 칼럼 = 워터스 액티비티 BEH C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 오븐 온도 = 40°C.

[0206] 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.21 (dd, $J=8.1, 1.0$ Hz, 1H), 7.05 (t, $J=8.1$ Hz, 1H), 6.85 (d, $J=8.2$ Hz, 1H), 4.06 - 3.64 (m, 2H), 2.96 (br d, $J=10.2$ Hz, 1H), 2.74 (br d, $J=10.4$ Hz, 1H), 2.29 (s, 3H), 2.24 - 2.14 (m, 1H), 1.99 (br t, $J=10.4$ Hz, 1H), 1.91 (br t, $J=10.2$ Hz, 1H), 1.84 - 1.77 (m, 1H), 1.77 - 1.69 (m, 1H), 1.69 - 1.59 (m, 1H), 1.26 - 1.10 (m, 1H).

[0207] 중간체: 3-((2-클로로-3-(4,4,5,5-테트라메틸-1,3,2-디옥사보롤란-2-일)페녹시)메틸)-1-메틸피페리딘



[0208]

[0209] 1,1-비스(디페닐포스포노)페로센-팔라듐(II)디클로라이드 (0.12 g, 0.16 mmol)를 실온에서 교반용 자석이 장착된 후벽의 스크류 탑상 압력 튜브에 들은 건조 디옥산 (20 mL) 중 3-((3-브로모-2-클로로페녹시)메틸)-1-메틸피페리딘 (1.0 g, 3.14 mmol), 4,4,4',4',5,5,5',5'-옥타메틸-2,2'-비(1,3,2-디옥사보롤란) (1.20 g, 4.71 mmol), 및 아세트산칼륨 (0.92 g, 9.42 mmol)의 아르곤-탈기된 현탁액에 한 번에 첨가하였다. 혼합물을 95°C에서 4.5시간 동안 교반한 다음, 이를 실온으로 냉각시키고, 셀라이트를 통해 흡인-여과하여 무기물질을 제거하였다. 이어서, 여과물을 농축시켜 조 생성물을 갈색 오일로서 수득하였으며, 이를 소량의 디클로로메탄에 녹이고, 레디셉Rf 정상 실리카 겔 텔레다인 이스코 80 g 일회용 칼럼에 채우고, 디클로로메탄으로 300 mL 동안, 이어서 0 - 20% B로 1500 mL 동안 제1 용리시켰다 (여기서 용매 A = 디클로로메탄 및 용매 B = 메탄올). 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 원심 증발을 통해 건조시켰다. 목적 생성물 (763.1 mg, 66%)을 갈색 오일로서 단리시키고, 수득한 대로 사용하였고, 사용하지 않을 때는 냉장시켰다.

[0210] LCMS: $t_R = 1.18$ 분;

[0211] LCMS (ESI) m/z 관찰치 $365.90 [M+H]^+$ (보론산 에스테르); $t_R = 0.86$ 분;

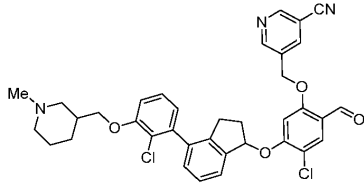
[0212] LCMS (ESI) m/z 관찰치 $283.75 [M+H]^+$ (LCMS에서 관찰된 보론산).

[0213] LCMS 조건: 주입 부피 = 3 μ L; 구배 = 2 - 98% B; 구배 시간 = 1.5분; 유량 = 0.8 ml/분; 파장 = 220 nm; 이동상 A = 0:100 아세트오니트릴:물, 0.05% 트리플루오로아세트산 포함; 이동상 B = 100:0 아세트오니트릴:물, 0.05% 트리플루오로아세트산 포함; 칼럼 = 워터스 액티비티 BEH C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 오븐 온도 = 40°C.

[0214] 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.23 - 7.20 (m, 1H), 7.19 - 7.14 (m, 1H), 6.95 (dd, $J=8.1, 1.5$ Hz, 1H), 3.93 - 3.88 (m, 1H), 3.88 - 3.82 (m, 1H), 2.99 (br d, $J=10.4$ Hz, 1H), 2.74 (br d, $J=10.7$ Hz, 1H), 2.27 (s, 3H), 2.25 - 2.15 (m, 1H), 2.00 - 1.92 (m, 1H), 1.91 - 1.84 (m, 1H), 1.84 - 1.77 (m, 1H), 1.75 - 1.69 (m, 1H), 1.68 - 1.60 (m, 1H), 1.37 (s, 12H), 1.20 - 1.08 (m, 1H).

[0215] 중간체:

5-((4-클로로-5-((4-(2-클로로-3-((1-메틸피페리딘-3-일)메톡시)페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)-2-포르밀페녹시)메틸)니코티노니트릴



[0216]

[0217]

제2 세대 XPhos 촉매 (16.3 mg, 0.021 mmol)를 1 드램 바이알에 들은 THF (1.5 mL) 및 물 (0.5 mL) 중 3-((2-클로로-3-(4,4,5,5-테트라메틸-1,3,2-디옥사보롤란-2-일)-페녹시)메틸)-1-메틸피페리딘 (126 mg, 0.21 mmol), 5-((5-((4-브로모-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)-4-클로로-2-포르밀페녹시)메틸)니코티노니트릴 (100 mg, 0.21 mmol) 및 인산칼륨 (110 mg, 0.52 mmol)의 아르곤-탈기된 혼합물에 첨가하였다. 바이알을 밀봉하고, 혼합물을 실온에서 16시간 동안 교반한 후, 이것을 에틸 아세테이트와 물 사이에 분배하였다. 수성 상을 분리하고 에틸 아세테이트로 1회 넘게 추출한 후, 유기 추출물을 합하고, 염수로 세척하고, MgSO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 조 생성물을 황색 오일로서 수득하였다. 조 생성물을 소량의 디클로로메탄에 녹이고, 레디셉Rf 정상 실리카 겔 텔레다인 이스코 24 g 일회용 칼럼에 채우고, 이를 디클로로메탄으로 80 mL 동안, 이어서 0 - 20% B로 800 mL 동안 제1 용리시켰다 (여기서 용매 B = 메탄올 및 용매 A = 디클로로메탄). 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 이를 원심 증발을 통해 건조시켜 생성물인 5-((4-클로로-5-((4-(2-클로로-3-((1-메틸피페리딘-3-일)메톡시)페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)-2-포르밀페녹시)메틸)니코티노니트릴 (124.1 mg, 93%)을 담황색 오일로서 수득하였으며, 사용하지 않을 때는 냉장시켰다.

[0218]

LCMS: t_R = 1.34분;

[0219]

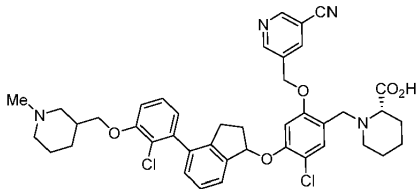
LCMS (ESI) m/z = 642.10 및 644.05 [M+H]⁺.

[0220]

LCMS 조건: 주입 부피 = 3 μL; 구배 = 2 - 98% B; 구배 시간 = 1.5분; 유량 = 0.8 ml/분; 파장 = 220 nm; 이동상 A = 0:100 아세토니트릴:물, 0.05% 트리플루오로아세트산 포함; 이동상 B = 100:0 아세토니트릴:물, 0.05% 트리플루오로아세트산 포함; 칼럼 = 워터스 액티비티 BEH C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 오븐 온도 = 40°C.

[0221]

실시예 1001: (2S)-1-(5-클로로-4-((4-(2-클로로-3-((1-메틸피페리딘-3-일)메톡시)페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)-2-((5-시아노피리딘-3-일)메톡시)벤질)피페리딘-2-카르복실산



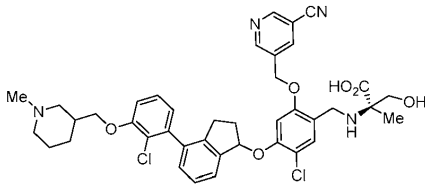
[0222]

[0223]

보란 2-피콜린 착물 (4.1 mg, 0.039 mmol)을 건조 DMF (0.5 mL) 중 5-((4-클로로-5-((4-(2-클로로-3-((1-메틸피페리딘-3-일)메톡시)-페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)-2-포르밀페녹시)메틸)니코티노니트릴 (25.0 mg, 0.039 mmol), (S)-피페리딘-2-카르복실산 (10.1 mg, 0.078 mmol) 및 아세트산 (50 μL)의 교반 용액에 실온에서 한 번에 첨가하였다. 혼합물을 16시간 동안 교반한 후, 혼합물을 질소 스트림을 사용하여 거의 농축 건조시켰다. 그 후, 메탄올을 첨가하고, 생성된 현탁액을 시린지를 통해 여과하고, 정제용 LCMS에 의해 하기 조건을 사용하여 정제하였다: 칼럼: 엑스브리지 C18, 19 x 200 mm, 5 U; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴: 물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴: 물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 구배: 25분 동안 12 - 52% B, 이어서 100% B에서 5분 유지; 유량: 20 mL/분; 칼럼 온도: 25°C. 분획 수집을 MS 및 UV 신호에 의해 촉발시켰다. 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 원심 증발을 통해 건조시켰다. 생성물의 수율은 9.7 mg이고, LCMS 분석에 의한 그의 추정 순도는 95%이었다. 2중의 분석용 LCMS 주입을 사용하여 최종 순도를 결정하였다. 주입 1 조건: 칼럼: 워터스 액티비티 UPLC BEH C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 온도: 50°C; 구배: 3분 동안 0 - 100% B, 이어서 100% B에서 0.75분 유지; 유량: 1.0 mL/분; 검출: 220 nm에서 UV. 주입 1 결과: 순도: 100.0%; 관찰된 질량: 755.2; 체류 시간: 1.71분. 주입 2 조건: 칼럼: 워터스 액티비티 UPLC BEH C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:물, 0.1% 트리플루오로아세트산 포함; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:물, 0.1% 트리플루오로아세트산 포함; 온도: 50°C; 구배: 3분 동안 0 - 100% B, 이어서 100% B에서 0.75

분 유지; 유량: 1.0 mL/분; 검출: 220 nm에서 UV. 주입 1 결과: 순도: 94.7%; 관찰된 질량: 755.2; 체류 시간: 1.50분.

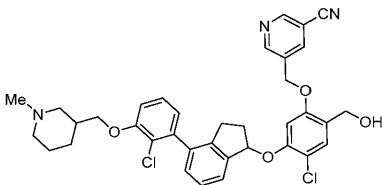
[0224] 실시예 1002: (2R)-2-((5-클로로-4-((4-(2-클로로-3-((1-메틸피페리딘-3-일)메톡시)페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)-2-((5-시아노피리딘-3-일)메톡시)벤질)아미노)-3-히드록시-2-메틸프로판산



[0225]

[0226] THF 중 1 M 소듐 시아노보로하이드라이드의 용액 (78 μ L, 0.078 mmol)을 실온에서 3시간 후 건조 에탄올 (0.5 mL), 디클로로에탄 (0.2 mL), DMF (0.2 mL) 및 THF (0.2 mL) 중 5-((4-클로로-5-((4-(2-클로로-3-((1-메틸피페리딘-3-일)메톡시)페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)-2-포르밀-페녹시)메틸)니코티노니트릴 (25.0 mg, 0.039 mmol), (R)-2-아미노-3-히드록시-2-메틸프로판산 (9.3 mg, 0.078 mmol), 아세트산 (50 μ L), 4Å 분자체 (25 mg) 및 두 방울의 건조 트리에틸아민의 교반 용액에 조금씩 첨가하였다. 혼합물을 16시간 동안 교반한 후, 이것을 질소 스트림을 사용하여 농축시켰다. 그 후, 메탄올을 첨가하고, 생성된 현탁액을 시린지 필터를 통해 여과하고, 정제용 LCMS에 의해 하기 조건을 사용하여 정제하였다: 칼럼: 엑스브리지 C18, 19 x 200 mm, 5 U; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴: 물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴: 물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 구배: 10 - 50% B로 25분 동안, 이어서 100% B에서 4분 유지; 유량: 20 mL/분; 칼럼 온도: 25 $^{\circ}$ C. 분획 수집을 MS 및 UV 신호에 의해 촉발시켰다. 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 원심 증발을 통해 건조시켰다. 생성물의 수율은 5.9 mg이고, LCMS 분석에 의한 그의 추정 순도는 99%이었다. 분석용 LCMS를 사용하여 최종 순도를 결정하였다. 주입 1 조건: 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:물, 0.1% 트리플루오로아세트산 포함; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:물, 0.1% 트리플루오로아세트산 포함; 온도: 50 $^{\circ}$ C; 구배: 3분 동안 0 - 100% B, 이어서 100% B에서 0.75분 유지; 유량: 1 mL/분; 검출: MS 및 UV (220 nm). 주입 1 결과: 순도: 100.0%; 관찰된 질량: 745.15; 체류 시간: 1.46분. 주입 2 조건: 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 온도: 50 $^{\circ}$ C; 구배: 3분 동안 0 - 100% B, 이어서 100% B에서 0.75분 유지; 유량: 1 mL/분; 검출: MS 및 UV (220 nm). 주입 2 결과: 순도: 99.2%; 관찰된 질량: 745.15; 체류 시간: 1.67분.

[0227] 실시예 1003: 5-((4-클로로-5-((4-(2-클로로-3-((1-메틸피페리딘-3-일)메톡시)페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)-2-(히드록시메틸)페녹시)-메틸)니코티노니트릴



[0228]

[0229] 실시예 1003을 반응 혼합물 및 상기 실시예 1002의 정제물로부터 단리시켰다. 트리아세트산 염으로서의 생성물의 수율은 13.7 mg이고, LCMS 분석에 의한 그의 추정 순도는 100%이었다. 분석용 LCMS를 사용하여 최종 순도를 결정하였다. 주입 1 조건: 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 2.1 mm x 50 mm, 1.7 U; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:물, 0.1% 트리플루오로아세트산 포함; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:물, 0.1% 트리플루오로아세트산 포함; 온도: 50 $^{\circ}$ C; 구배: 3분 동안 0 - 100% B, 이어서 100% B에서 0.75분 유지; 유량: 1 mL/분; 검출: MS 및 UV (220 nm). 주입 1 결과: 순도: 100.0%; 관찰된 질량: 644.11; 체류 시간: 1.76분. 주입 2 조건: 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 2.1 mm x 50 mm, 1.7 U; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 온도: 50 $^{\circ}$ C; 구배: 3분 동안 0 - 100% B, 이어서 100% B에서 0.75분 유지; 유량: 1 mL/분; 검출: MS 및 UV (220 nm). 주입 2 결과: 순도: 100.0%; 관찰된 질량: 644.11; 체류 시간: 2.01분.

[0230] 1 H NMR (500 MHz, 메탄올- d_4) δ 8.95 (br s, 1H), 8.90 (br s, 1H), 8.35 (br s, 1H), 7.41 (br s, 1H), 7.37

- 7.31 (m, 2H), 7.30 - 7.25 (m, 1H), 7.17 (br d, J=6.7 Hz, 1H), 7.11 (br d, J=7.6 Hz, 1H), 6.99 - 6.87 (m, 2H), 5.92 (br s, 1H), 5.30 (br s, 2H), 4.64 (br s, 2H), 4.14 - 4.08 (m, 1H), 4.00 (br t, J=7.3 Hz, 1H), 3.43 (br d, J=8.2 Hz, 1H), 3.38 - 3.35 (m, 1H), 3.20 (br d, J=9.8 Hz, 1H), 3.05 - 2.70 (m의 시리즈, 3H), 2.63 (br s, 3H), 2.58 - 2.44 (m, 3H), 2.34 (br s, 1H), 2.16 (br s, 1H), 1.86 - 1.74 (m, 1H), 1.46 - 1.35 (m, 1H).

[0231] 중간체: (S)-4-브로모-2,3-디히드로-1H-인덴-1-올 및 (R)-4-브로모-2,3-디히드로-1H-인덴-1-올



[0232]

[0233] 2종의 거울상이성질체를 상업적으로 입수가 가능한 4-브로모-2,3-디히드로-1H-인덴-1-올 (~ 5.0 g)의 키랄 분해로부터 하기 조건을 사용하여 수득하였다: 칼럼: 키랄셀 OD-H, 30 x 250 mm, 5 U; 이동상: 10% 아세토니트릴:에탄올 (1:1) / 90% CO₂; 압력: 150 bar; 온도: 30°C; 유량: 120 mL/분; UV: 220 nm; 주입: 0.25 mL (아세토니트릴:에탄올 (9:1) 중 ~160 mg/mL), 4.00분에 적층; 분획 수집: 기울기 및 수준: 피크 1 윈도우: 4.50 - 5.80분, 및 피크 2 윈도우: 5.50 - 7.50분. 절대 입체화학을 X선 결정학에 의해 측정하였다.

[0234] (S)-4-브로모-2,3-디히드로-1H-인덴-1-올 (피크 1, 2.58 g, 회백색 고체):

[0235] LCMS: t_R = 1.20분.

[0236] LCMS 조건: 주입 부피 = 3 µL; 구배 = 2 - 98% B; 구배 시간 = 1.5분; 유량 = 0.8 ml/분; 파장 = 220 nm; 이동상 A = 0:100 아세토니트릴:물, 0.05% 트리플루오로아세트산 포함; 이동상 B = 100:0 아세토니트릴:물, 0.05% 트리플루오로아세트산 포함; 칼럼 = 워터스 액티비티 BEH C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 오븐 온도 = 40°C.

[0237] ¹H NMR (400 MHz, 클로로포름-d) δ 7.43 (d, J=8.0 Hz, 1H), 7.36 (d, J=7.5 Hz, 1H), 7.17 - 7.10 (m, 1H), 5.32 (q, J=5.5 Hz, 1H), 3.08 (ddd, J=16.7, 8.8, 4.6 Hz, 1H), 2.89 - 2.78 (m, 1H), 2.53 (dddd, J=13.4, 8.5, 7.0, 4.5 Hz, 1H), 2.03 - 1.91 (m, 1H), 1.84 (br d, J=6.0 Hz, 1H).

[0238] (R)-4-브로모-2,3-디히드로-1H-인덴-1-올 (피크 2, 2.53 g, 회백색 고체):

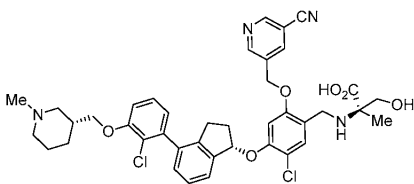
[0239] LCMS: t_R = 1.205분.

[0240] LCMS 조건: 주입 부피 = 3 µL; 구배 = 2 - 98% B; 구배 시간 = 1.5분; 유량 = 0.8 ml/분; 파장 = 220 nm; 이동상 A = 0:100 아세토니트릴:물, 0.05% 트리플루오로아세트산 포함; 이동상 B = 100:0 아세토니트릴:물, 0.05% 트리플루오로아세트산 포함; 칼럼 = 워터스 액티비티 BEH C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 오븐 온도 = 40°C.

[0241] ¹H NMR (400 MHz, 클로로포름-d) δ 7.43 (d, J=8.0 Hz, 1H), 7.36 (d, J=7.5 Hz, 1H), 7.17 - 7.10 (m, 1H), 5.31 (br t, J=6.0 Hz, 1H), 3.08 (ddd, J=16.6, 8.7, 4.5 Hz, 1H), 2.89 - 2.77 (m, 1H), 2.53 (dddd, J=13.4, 8.5, 7.0, 4.5 Hz, 1H), 2.03 - 1.91 (m, 1H), 1.85 (br s, 1H).

[0242] 실시예 1004 내지 실시예 1011을 4-브로모-2,3-디히드로-1H-인덴-1-올 및 3-((3-브로모-2-클로로페녹시)메틸)-1-메틸피페리딘의 키랄 물질을 사용하여 실시예 1002 및 실시예 1003과 동일한 방식으로 제조하였다.

[0243] 실시예 1004: ((R)-2-((5-클로로-4-((S)-4-(2-클로로-3-((R)-1-메틸피페리딘-3-일)메톡시)페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)-2-((5-시아노피리딘-3-일)메톡시)벤질)아미노)-3-히드록시-2-메틸프로판산

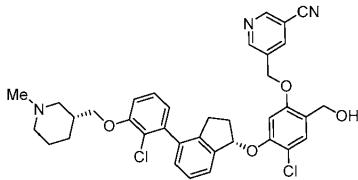


[0244]

[0245] 1 M 소듐 시아노트리아히드로보레이트 (0.17 mL, 0.17 mmol)를 실온에서 3시간 후 건조 에탄올 (0.6 mL), 디클로로에탄 (0.2 mL), DMF (0.1 mL) 및 THF (0.1 mL) 중 5-((4-클로로-5-((S)-4-(2-클로로-3-((R)-1-메틸피페리딘-3-일)메톡시)페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)-2-포르밀-페녹시)메틸)니코티노니트릴 (55.0 mg, 0.086

mmol), (R)-2-아미노-3-히드록시-2-메틸프로판산 (20.4 mg, 0.17 mmol), 아세트산 (0.024 mL, 0.428 mmol), 4 Å 분말 분자체 (25 mg) 및 건조 트리에틸아민 (2 방울)의 교반 용액에 조금씩 첨가하였다. 혼합물을 16시간 동안 교반한 후, 이것을 DMF 및 MeOH (1:2)에 의해 최대 2 mL 총 부피로 희석하고, 시린지 필터를 통해 여과하고, 정제용 LCMS를 통해 하기 조건에 의해 정제하였다: 칼럼: 엑스브리지 C18, 19 x 200 mm, 5 U; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 구배: 10 - 50% B로 22분 동안, 이어서 100% B에서 6분 유지; 유량: 20 mL/분; 칼럼 온도: 25°C. 분획 수집을 UV 신호에 의해 촉발시켰다. 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 원심 증발을 통해 건조시켰다. 생성물의 수율은 39.3 mg (60.9%)이고, LCMS 분석에 의한 그의 추정 순도는 99%이었다. 분석용 LCMS를 사용하여 최종 순도를 결정하였다. 주입 1 조건: 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 온도: 50°C; 구배: 3분 동안 0 - 100% B, 이어서 100% B에서 0.50분 유지; 유량: 1 mL/분; 검출: MS 및 UV (220 nm). 주입 1 결과: 순도: 99.2%; 관찰된 질량: 745.15; 체류 시간: 1.48분. 주입 2 조건: 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:물, 0.1% 트리플루오로아세트산 포함; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:물, 0.1% 트리플루오로아세트산 포함; 온도: 50°C; 구배: 3분 동안 0 - 100% B, 이어서 100% B에서 0.50분 유지; 유량: 1 mL/분; 검출: MS 및 UV (220 nm). 주입 2 결과: 순도: 98.9%; 관찰된 질량: 745.16; 체류 시간: 1.45분.

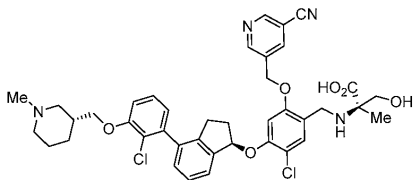
[0246] 실시예 1005: 5-((4-클로로-5-(((S)-4-(2-클로로-3-((R)-1-메틸피페리딘-3-일)메톡시)페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)-2-(히드록시메틸)페녹시)메틸)니코티노니트릴



[0247]

[0248] 실시예 1005를 상기 실시예 1004에 대한 반응 혼합물의 정제물로부터 분리시켰다. 생성물의 수율은 3.6 mg (6.1 mg)이고, LCMS 분석에 의한 그의 추정 순도는 93%이었다. 분석용 LCMS를 사용하여 최종 순도를 결정하였다. 주입 1 조건: 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 온도: 50°C; 구배: 3분 동안 0 - 100% B, 이어서 100% B에서 0.50분 유지; 유량: 1 mL/분; 검출: MS 및 UV (220 nm). 주입 1 결과: 순도: 94.5%; 관찰된 질량: 644.08; 체류 시간: 1.82분. 주입 2 조건: 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:물, 0.1% 트리플루오로아세트산 포함; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:물, 0.1% 트리플루오로아세트산 포함; 온도: 50°C; 구배: 3분 동안 0 - 100% B, 이어서 100% B에서 0.50분 유지; 유량: 1 mL/분; 검출: MS 및 UV (220 nm). 주입 2 결과: 순도: 93.3%; 관찰된 질량: 644.08; 체류 시간: 1.79분.

[0249] 실시예 1006: (R)-2-((5-클로로-4-(((R)-4-(2-클로로-3-((R)-1-메틸피페리딘-3-일)메톡시)페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)-2-((5-시아노피리딘-3-일)메톡시)벤질)아미노)-3-히드록시-2-메틸프로판산

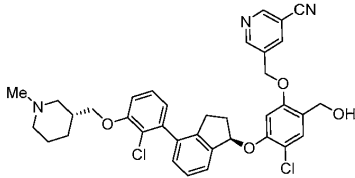


[0250]

[0251] 조 물질을 정제용 LCMS를 통해 하기 조건을 사용하여 정제하였다: 칼럼: 엑스브리지 C18, 19 x 200 mm, 5 U; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 구배: 10 - 50% B로 22분 동안, 이어서 100% B에서 6분 유지; 유량: 20 mL/분; 칼럼 온도: 25°C. 분획 수집을 UV 신호에 의해 촉발시켰다. 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 원심 증발을 통해 건조시켰다. 생성물의 수율은 51.9 mg (55.0%)이고, LCMS 분석에 의한 그의 추정 순도는 98%이었다. 분석용 LCMS를 사용하여 최종 순도를 결정하였다. 주입 1 조건: 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:물, 0.1% 트리플루오로아세트산 포함; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:물, 0.1% 트리플루오로

아세트산 포함; 온도: 50℃; 구배: 3분 동안 0 - 100% B, 이어서 100% B에서 0.50분 유지; 유량: 1 mL/분; 검출: MS 및 UV (220 nm). 주입 1 결과: 순도: 98.4%; 관찰된 질량: 745.13; 체류 시간: 1.6분. 주입 2 조건: 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 이동상 A: 5:95 아세트니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 이동상 B: 95:5 아세트니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 온도: 50℃; 구배: 3분 동안 0 - 100% B, 이어서 100% B에서 0.50분 유지; 유량: 1 mL/분; 검출: MS 및 UV (220 nm). 주입 2 결과: 순도: 99.5%; 관찰된 질량: 745.16; 체류 시간: 1.54분.

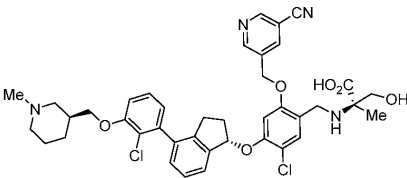
[0252] 실시예 1007: 5-((4-클로로-5-(((R)-4-(2-클로로-3-(((R)-1-메틸피페리딘-3-일)메톡시)페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)-2-(히드록시메틸)페녹시)메틸)니코티노니트릴



[0253]

[0254] 실시예 1007을 상기 실시예 1006에 대한 반응 혼합물의 정제물로부터 단리시켰다. 생성물의 수율은 14.5 mg (17.7%)이고, LCMS 분석에 의한 그의 추정 순도는 98%이었다. 분석용 LCMS를 사용하여 최종 순도를 결정하였다. 주입 1 조건: 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 이동상 A: 5:95 아세트니트릴:물, 0.1% 트리플루오로아세트산 포함; 이동상 B: 95:5 아세트니트릴:물, 0.1% 트리플루오로아세트산 포함; 온도: 50℃; 구배: 3분 동안 0 - 100% B, 이어서 100% B에서 0.50분 유지; 유량: 1 mL/분; 검출: MS 및 UV (220 nm). 주입 1 결과: 순도: 98.2%; 관찰된 질량: 644.11; 체류 시간: 1.76분. 주입 2 조건: 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 이동상 A: 5:95 아세트니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 이동상 B: 95:5 아세트니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 온도: 50℃; 구배: 3분 동안 0 - 100% B, 이어서 100% B에서 0.50분 유지; 유량: 1 mL/분; 검출: MS 및 UV (220 nm). 주입 2 결과: 순도: 98.7%; 관찰된 질량: 644.12; 체류 시간: 1.9분.

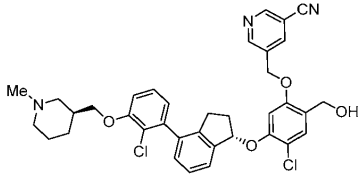
[0255] 실시예 1008: (R)-2-((5-클로로-4-(((S)-4-(2-클로로-3-(((S)-1-메틸피페리딘-3-일)메톡시)페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)-2-((5-시아노피리딘-3-일)메톡시)벤질)아미노)-3-히드록시-2-메틸프로판산



[0256]

[0257] 조 물질을 정제용 LCMS를 통해 하기 조건: 칼럼: 엑스브리지 C18, 19 x 200 mm, 5 U; 이동상 A: 5:95 아세트니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 이동상 B: 95:5 아세트니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 구배: 12 - 52% B로 20분 동안, 이어서 100% B에서 5분 유지; 유량: 20 mL/분; 칼럼 온도: 25℃을 사용하여 정제하였다. 분획 수집을 MS 및 UV 신호에 의해 촉발시켰다. 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 원심 증발을 통해 건조시켰다. 생성물의 수율은 29.4 mg (56.0%)이고, LCMS 분석에 의한 그의 추정 순도는 99%이었다. 분석용 LCMS를 사용하여 최종 순도를 결정하였다. 주입 1 조건: 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 이동상 A: 5:95 아세트니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 이동상 B: 95:5 아세트니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 온도: 50℃; 구배: 3분 동안 0 - 100% B, 이어서 100% B에서 0.50분 유지; 유량: 1 mL/분; 검출: MS 및 UV (220 nm). 주입 1 결과: 순도: 100.0%; 관찰된 질량: 745.13; 체류 시간: 1.56분. 주입 2 조건: 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 이동상 A: 5:95 아세트니트릴:물, 0.1% 트리플루오로아세트산 포함; 이동상 B: 95:5 아세트니트릴:물, 0.1% 트리플루오로아세트산 포함; 온도: 50℃; 구배: 3분 동안 0 - 100% B, 이어서 100% B에서 0.50분 유지; 유량: 1 mL/분; 검출: MS 및 UV (220 nm). 주입 2 결과: 순도: 99.4%; 관찰된 질량: 745.14; 체류 시간: 1.46분.

[0258] 실시예 1009: 5-((4-클로로-5-(((S)-4-(2-클로로-3-(((S)-1-메틸피페리딘-3-일)메톡시)페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)-2-(히드록시메틸)페녹시)메틸)니코티노니트릴



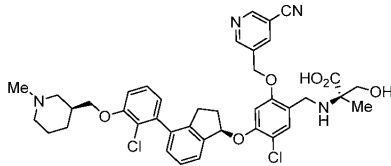
[0259]

[0260]

실시예 1009를 상기 실시예 1008에 대한 반응 혼합물의 정제물로부터 단리시켰다. 생성물의 수율은 6.5 mg (13.4%)이고, LCMS 분석에 의한 그의 추정 순도는 93%이었다. 분석용 LCMS를 사용하여 최종 순도를 결정하였다. 주입 1 조건: 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 온도: 50°C; 구배: 3분 동안 0 - 100% B, 이어서 100% B에서 0.50분 유지; 유량: 1 mL/분; 검출: MS 및 UV (220 nm). 주입 1 결과: 순도: 98.1%; 관찰된 질량: 644.11; 체류 시간: 1.92분. 주입 2 조건: 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:물, 0.1% 트리플루오로아세트산 포함; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:물, 0.1% 트리플루오로아세트산 포함; 온도: 50°C; 구배: 3분 동안 0 - 100% B, 이어서 100% B에서 0.50분 유지; 유량: 1 mL/분; 검출: MS 및 UV (220 nm). 주입 2 결과: 순도: 93.3%; 관찰된 질량: 644.08; 체류 시간: 1.77분.

[0261]

실시예 1010: (R)-2-((5-클로로-4-(((R)-4-(2-클로로-3-(((S)-1-메틸피페리딘-3-일)메톡시)페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)-2-((5-시아노피리딘-3-일)메톡시)벤질)아미노)-3-히드록시-2-메틸프로판산



[0262]

[0263]

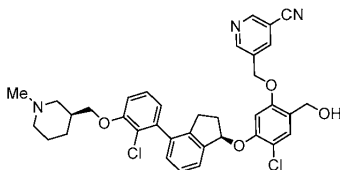
조 물질을 정제용 LCMS를 통해 하기 조건을 사용하여 정제하였다: 칼럼: 엑스브리지 C18, 19 x 200 mm, 5 U; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 구배: 8 - 48% B로 25분 동안, 이어서 100% B에서 6분 유지; 유량: 20 mL/분; 칼럼 온도: 25°C. 분획 수집을 UV 신호에 의해 촉발시켰다. 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 원심 증발을 통해 건조시켰다. 생성물의 수율은 46.2 mg (80.0%)이고, LCMS 분석에 의한 그의 추정 순도는 100%이었다.

[0264]

분석용 LCMS를 사용하여 최종 순도를 결정하였다. 주입 1 조건: 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 온도: 50°C; 구배: 3분 동안 0 - 100% B, 이어서 100% B에서 0.50분 유지; 유량: 1 mL/분; 검출: MS 및 UV (220 nm). 주입 1 결과: 순도: 100.0%; 관찰된 질량: 745.17; 체류 시간: 1.55분. 주입 2 조건: 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:물, 0.1% 트리플루오로아세트산 포함; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:물, 0.1% 트리플루오로아세트산 포함; 온도: 50°C; 구배: 3분 동안 0 - 100% B, 이어서 100% B에서 0.50분 유지; 유량: 1 mL/분; 검출: MS 및 UV (220 nm). 주입 2 결과: 순도: 100.0%; 관찰된 질량: 745.13; 체류 시간: 1.42분.

[0265]

실시예 1011: 5-((4-클로로-5-(((R)-4-(2-클로로-3-(((S)-1-메틸피페리딘-3-일)메톡시)페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)-2-(히드록시메틸)페녹시)메틸)니코티노니트릴



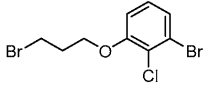
[0266]

[0267]

실시예 1011을 상기 실시예 1010에 대한 반응 혼합물의 정제물로부터 단리시켰다. 생성물의 수율은 5.5 mg (10.2%)이고, LCMS 분석에 의한 그의 추정 순도는 93%이었다. 분석용 LCMS를 사용하여 최종 순도를 결정하였다. 주입 1 조건: 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 온도: 50°C;

구배: 3분 동안 0 - 100% B, 이어서 100% B에서 0.50분 유지; 유량: 1 mL/분; 검출: MS 및 UV (220 nm). 주입 1 결과: 순도: 93.2%; 관찰된 질량: 644.12; 체류 시간: 1.89분. 주입 2 조건: 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:물, 0.1% 트리플루오로아세트산 포함; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:물, 0.1% 트리플루오로아세트산 포함; 온도: 50°C; 구배: 3분 동안 0 - 100% B, 이어서 100% B에서 0.50분 유지; 유량: 1 mL/분; 검출: MS 및 UV (220 nm). 주입 2 결과: 순도: 93.2%; 관찰된 질량: 644.11; 체류 시간: 1.72분.

[0268] 중간체: 1-브로모-3-(3-브로모프로폭시)-2-클로로벤젠



[0269]

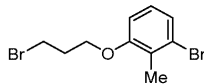
[0270] 탄산칼륨 (8.3 g, 60.3 mmol)을 건조 아세톤 (400 mL)에 들은 3-브로모-2-클로로페놀 (10.0 g, 48.2 mmol) 및 1,3-디브로모프로판 (48.9 mL, 482 mmol)의 교반 용액에 한 번에 첨가하였다. 현탁액을 실온에서 5일 (d = 일) 동안 교반한 후, 혼합물을 흡인-여과하여 염을 제거하였다. 이어서, 여과물을 진공 하에 담황색 오일로 농축시키고, 이를 250 mL RBF (둥근 바닥 플라스크)로 옮기고, 짧은-경로 증류 헤드를 사용하여 고진공 하에 증류시켜 모든 과량의 1,3-디브로모프로판을 제거하였으며, 이는 38 - 40°C (조 온도 = 70°C)에서 무색 액체로서 제거되었다. 그 후, 증류 포트에서 조 목적 생성물을 점성의 끈-색상 오일로서 단리시켰으며, 이는 상당히 순수하고 따라서 '그대로' 사용하였다. 필요하지 않을 때는 이를 냉장고에 저장하였다.

[0271] LCMS: $t_R = 1.46$ 분.

[0272] LCMS 조건: 주입 부피 = 3 μ L; 구배 = 2 - 98% B; 구배 시간 = 1.5분; 유량 = 0.8 ml/분; 파장 = 220 nm; 이동상 A = 0:100 아세토니트릴:물, 0.05% 트리플루오로아세트산 포함; 이동상 B = 100:0 아세토니트릴:물, 0.05% 트리플루오로아세트산 포함; 칼럼 = 워터스 액티비티 BEH C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 오븐 온도 = 40°C.

[0273] ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.26 (dd, $J=8.0, 1.1$ Hz, 1H), 7.09 (t, $J=8.2$ Hz, 1H), 6.91 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 4.18 (t, $J=5.8$ Hz, 2H), 3.67 (t, $J=6.3$ Hz, 2H), 2.38 (quin, $J=6.0$ Hz, 2H).

[0274] 중간체: 1-브로모-3-(3-브로모프로폭시)-2-메틸벤젠



[0275]

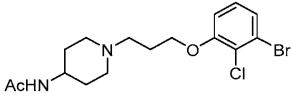
[0276] 탄산칼륨 (9.2 g, 66.8 mmol)을 건조 아세톤 (400 mL)에 들은 3-브로모-2-메틸페놀 (10.0 g, 53.5 mmol) 및 1,3-디브로모프로판의 교반 용액 (54.3 mL, 535 mmol)에 한 번에 첨가하였다. 현탁액을 실온에서 6일 동안 교반한 후, 혼합물을 흡인-여과하여 염을 제거하였다. 이어서, 여과물을 진공 하에 담황색 오일로 농축시키고, 이를 250 mL RBF로 옮기고, 고진공 하에 짧은-경로 증류 헤드를 사용하여 증류시켜 모든 과량의 1,3-디브로모프로판을 제거하였으며, 이는 28 - 32°C (조 온도 = 70°C)에서 무색 액체로서 제거되었다. 그 후, 조 목적 생성물을 증류 포트에서 단리시켰으며, 이를 '그대로' 사용하였다. 필요하지 않을 때는 냉장고에 저장하였다.

[0277] LCMS: $t_R = 1.76$ 분.

[0278] LCMS 조건: 주입 부피 = 3 μ L; 구배 = 2 - 98% B; 구배 시간 = 1.5분; 유량 = 0.8 ml/분; 파장 = 220 nm; 이동상 A = 0:100 아세토니트릴:물, 0.05% 트리플루오로아세트산 포함; 이동상 B = 100:0 아세토니트릴:물, 0.05% 트리플루오로아세트산 포함; 칼럼 = 워터스 액티비티 BEH C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 오븐 온도 = 40°C.

[0279] ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.18 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.02 (t, $J=8.1$ Hz, 1H), 6.81 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 4.11 (t, $J=5.8$ Hz, 2H), 3.63 (t, $J=6.4$ Hz, 2H), 2.39 - 2.34 (m, 2H), 2.33 (s, 3H).

[0280] 중간체: N-(1-(3-(3-브로모-2-클로로페녹시)프로필)피페리딘-4-일)아세트아미드



[0281]

[0282] 탄산칼륨 (2.43 g, 17.58 mmol)을 건조 아세토니트릴 (20 mL) 및 DMF (10 mL)에 들은 1-브로모-3-(3-브로모프로폭시)-2-클로로벤젠 (2.31 g, 7.03 mmol) 및 N-(피페리딘-4-일)아세트아미드 (1.00 g, 7.03 mmol)의 교반 용액에 한 번에 첨가하였다. 혼합물을 60°C로 16시간 동안 가열한 후, 이것을 실온으로 냉각시키고, 에틸 아세테이트 및 물로 희석하였다. 수성 상을 분리하고, 에틸 아세테이트를 사용하여 1회 넘게 추출하였다. 합한 유기 상을 염수로 세척하고, 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 여과하고, 흡인-여과에 의해 ¼ 부피로 농축시켜 생성물인 N-(1-(3-(3-브로모-2-클로로페녹시)-프로필)피페리딘-4-일)아세트아미드 (1.13 g, 41.2%)를 백색 고체로서 수득하였다. 여과물을 농축시키고, 최소량의 디클로로메탄에 녹이고, 레디셉Rf 정상 실리카 겔 텔레다인 이스코 40 g 일회용 칼럼에 채우고, 이를 디클로로메탄으로 150 mL 동안, 이어서 0 - 20% B로 1300 mL 동안 제1 용리시켰다 (여기서 용매 A = 디클로로메탄 및 용매 B = 메탄올). 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 원심 증발을 통해 건조시켜 추가의 생성물인 N-(1-(3-(3-브로모-2-클로로페녹시)프로필)-피페리딘-4-일)아세트아미드 (0.62 g, 22.4%)를 백색 고체로서 수득하였다.

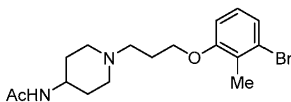
[0283] LCMS: $t_R = 0.86$ 분;

[0284] LCMS (ESI) $m/z = 388.90$ 및 390.90 $[M+H]^+$.

[0285] LCMS 조건: 주입 부피 = 3 μ L; 구배 = 2 - 98% B; 구배 시간 = 1.5분; 유량 = 0.8 ml/분; 파장 = 220 nm; 이동상 A = 0:100 아세토니트릴:물, 0.05% 트리플루오로아세트산 포함; 이동상 B = 100:0 아세토니트릴:물, 0.05% 트리플루오로아세트산 포함; 칼럼 = 워터스 액티비 BEH C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 오븐 온도 = 40°C.

[0286] 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.23 (dd, $J=8.1, 1.2$ Hz, 1H), 7.07 (t, $J=8.2$ Hz, 1H), 6.88 (dd, $J=8.2, 0.9$ Hz, 1H), 5.38 - 5.10 (m, 1H), 4.08 (t, $J=6.2$ Hz, 2H), 3.94 - 3.64 (m, 1H), 2.86 (br d, $J=11.7$ Hz, 2H), 2.55 (t, $J=7.3$ Hz, 2H), 2.13 (br t, $J=11.0$ Hz, 2H), 2.05 - 1.99 (m, 2H), 1.98 (s, 3H), 1.94 (br d, $J=12.1$ Hz, 2H), 1.43 (qd, $J=11.6, 3.7$ Hz, 2H).

[0287] 중간체: N-(1-(3-(3-브로모-2-메틸페녹시)프로필)피페리딘-4-일)아세트아미드



[0288]

[0289] 탄산칼륨 (607 mg, 4.40 mmol)을 건조 DMF (7 mL)에 들은 1-브로모-3-(3-브로모프로폭시)-2-메틸벤젠 (542 mg, 1.76 mmol) 및 N-(피페리딘-4-일)아세트아미드 (250 mg, 1.76 mmol)의 교반 용액에 한 번에 첨가하였다. 혼합물을 60°C로 16시간 동안 가열한 후, 용매를 질소 스트림을 사용하여 실온에서 밤새 제거하였다. 잔류물을 디클로로메탄에 녹이고, 현탁액을 5분 동안 초음파처리하고, 흡인-여과하여 과량의 탄산칼륨을 제거하였다. 이어서, 여과물을 농축시키고, 최소량의 디클로로메탄으로 레디셉Rf 정상 실리카 겔 텔레다인 이스코 24 g 일회용 칼럼에 채우고, 디클로로메탄으로 150 mL 동안, 이어서 0 - 20% B로 600 mL 동안 제1 용리시켰다 (여기서 용매 A = 디클로로메탄 및 용매 B = 메탄올). 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 원심 증발을 통해 건조시켰다. 목적 생성물인 N-(1-(3-(3-브로모-2-메틸페녹시)프로필)피페리딘-4-일)아세트아미드 (0.42 g, 64.4%)를 백색 고체로서 단리시켰다.

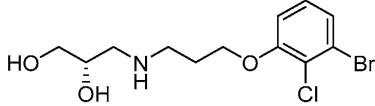
[0290] LCMS: $t_R = 1.07$ 분;

[0291] LCMS (ESI) $m/z = 368.95$ 및 370.90 $[M+H]^+$.

[0292] LCMS 조건: 주입 부피 = 3 μ L; 구배 = 2 - 98% B; 구배 시간 = 1.5분; 유량 = 0.8 ml/분; 파장 = 220 nm; 이동상 A = 0:100 아세토니트릴:물, 0.05% 트리플루오로아세트산 포함; 이동상 B = 100:0 아세토니트릴:물, 0.05% 트리플루오로아세트산 포함; 칼럼 = 워터스 액티비 BEH C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 오븐 온도 = 40°C.

[0293] ^1H NMR (500 MHz, 클로로포름-d) δ 7.15 (d, J=8.0 Hz, 1H), 6.99 (t, J=8.1 Hz, 1H), 6.77 (d, J=8.0 Hz, 1H), 5.31 (s, 1H), 4.00 (t, J=6.2 Hz, 2H), 3.90 - 3.68 (m, 1H), 2.87 (br d, J=11.5 Hz, 2H), 2.53 (t, J=7.4 Hz, 2H), 2.31 (s, 3H), 2.12 (br t, J=10.6 Hz, 2H), 2.01 - 1.88 (m, 4H), 1.98 (s, 3H), 1.44 (qd, J=11.7, 3.6 Hz, 2H).

[0294] 중간체: (S)-3-((3-(3-브로모-2-클로로페녹시)프로필)아미노)프로판-1,2-디올



[0295]

[0296] 휘니그 염기 (1.6 mL, 9.13 mmol)를 건조 DMF (30 mL)에 들은 1-브로모-3-(3-브로모프로폭시)-2-클로로벤젠 (1.0 g, 3.04 mmol) 및 (S)-3-아미노-프로판-1,2-디올 (1.4 g, 15.22 mmol)의 교반 용액에 한 번에 첨가하였다. 이어서, 혼합물을 60°C로 16시간 동안 가열한 후, 이것을 실온으로 냉각시키고, 질소 스트림으로 농축시켰다. 생성된 잔류물을 메탄올 (최대 10 mL)로 희석하고, 와트만 13 mm PVDF 시린지 필터 (45 μM)를 통해 여과하고, 5 pHPLC 바이알 (2 mL)에 두고, 선파이어 C18 칼럼 (30 x 100 mm, 5 U)을 사용하여 정제용 HPLC에 의해 여러 부분으로 (40 ml/분에서 12분 구배 동안 10 - 100% B) 정제하였다 (여기서 이동상 A: 5:95 아세트니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함 및 이동상 B: 95:5 아세트니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함). 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 원심 증발을 통해 건조시켰다. 정제된 생성물인 (S)-3-((3-(3-브로모-2-클로로페녹시)프로필)아미노)-프로판-1,2-디올 (971.0 mg, 94%)을 담황색 점성 오일로서 단리시키고, 이를 동결기에서 밤새 정치하여 담황색 고체로 응고시켰다.

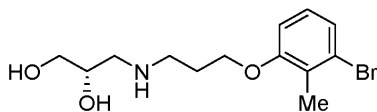
[0297] LCMS: t_R = 1.04분;

[0298] LCMS (ESI) m/z = 338.00 및 340.00 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[0299] LCMS 조건: 주입 부피 = 3 μL ; 구배 = 2 - 98% B; 구배 시간 = 1.5분; 유량 = 0.8 ml/분; 파장 = 220 nm; 이동상 A = 0:100 아세트니트릴:물, 0.05% 트리플루오로아세트산 포함; 이동상 B = 100:0 아세트니트릴:물, 0.05% 트리플루오로아세트산 포함; 칼럼 = 워터스 액티브 BEH C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 오븐 온도 = 40°C.

[0300] ^1H NMR (500 MHz, 메탄올-d₄) δ 7.30 (dd, J=8.0, 0.9 Hz, 1H), 7.19 (t, J=8.2 Hz, 1H), 7.12 - 7.05 (m, 1H), 4.21 (t, J=5.7 Hz, 2H), 3.91 (br dd, J=8.7, 3.6 Hz, 1H), 3.63 - 3.50 (m, 2H), 3.35 (s, 1H), 3.29 - 3.24 (m, 2H), 3.18 (dd, J=12.5, 3.1 Hz, 1H), 3.02 (dd, J=12.5, 9.3 Hz, 1H), 2.32 - 2.16 (m, 2H).

[0301] 중간체: (S)-3-((3-(3-브로모-2-메틸페녹시)프로필)아미노)프로판-1,2-디올



[0302]

[0303] 휘니그 염기 (1.70 mL, 9.74 mmol)를 건조 DMF (30 mL)에 들은 1-브로모-3-(3-브로모프로폭시)-2-메틸벤젠 (1.00 g, 3.25 mmol) 및 (S)-3-아미노프로판 -1,2-디올 (1.48 g, 16.23 mmol)의 교반 용액에 한 번에 첨가하였다. 이어서, 혼합물을 60°C로 16시간 동안 가열한 후, 이를 실온으로 냉각시키고, 질소 스트림으로 농축시켰다. 생성된 잔류물을 메탄올 (최대 10 mL)로 희석하고, 와트만 13 mm PVDF 시린지 필터 (45 μM)를 통해 여과하고, 5 pHPLC 바이알 (2 mL)에 두고, 선파이어 C18 칼럼 (30 x 100 mm, 5 U)을 사용하여 정제용 HPLC에 의해 여러 부분으로 (40 ml/분에서 12분 구배 동안 10 - 100% B) 정제하였다 (여기서 이동상 A: 5:95 아세트니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함 및 이동상 B: 95:5 아세트니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함). 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 원심 증발을 통해 건조시켰다. 정제된 생성물인 (S)-3-((3-(3-브로모-2-메틸페녹시)프로필)아미노)-프로판-1,2-디올 (944.3 mg, 91%)을 무색 오일로서 단리시켰으며, 이를 동결기에서 정치하여 백색 고체로 응고시켰다.

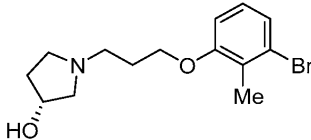
[0304] LCMS: t_R = 1.07분;

[0305] LCMS (ESI) m/z = 318.07, 실측치: 318.05 및 320.05 [M+H]⁺.

[0306] LCMS 조건: 주입 부피 = 3 μL; 구배 = 2 - 98% B; 구배 시간 = 1.5분; 유량 = 0.8 ml/분; 파장 = 220 nm; 이동상 A = 0:100 아세트니트릴:물, 0.05% 트리플루오로아세트산 포함; 이동상 B = 100:0 아세트니트릴:물, 0.05% 트리플루오로아세트산 포함; 칼럼 = 워터스 액티비티 BEH C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 오븐 온도 = 40℃.

[0307] ¹H NMR (500 MHz, 메탄올-d₄) δ 7.16 (d, J=7.9 Hz, 1H), 7.05 (t, J=8.1 Hz, 1H), 6.92 (d, J=8.2 Hz, 1H), 4.12 (t, J=5.8 Hz, 2H), 3.90 (br dd, J=8.5, 3.6 Hz, 1H), 3.63 - 3.47 (m, 2H), 3.26 - 3.19 (m, 2H), 3.16 (dd, J=12.5, 3.1 Hz, 1H), 3.00 (dd, J=12.5, 9.2 Hz, 1H), 2.32 (s, 3H), 2.25 - 2.14 (m, 2H).

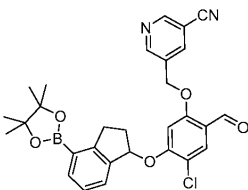
[0308] 중간체: (R)-1-(3-(3-브로모-2-메틸페녹시)프로필)피롤리딘-3-올



[0309]

[0310] 무수 DMF (100 mL) 중 1-브로모-3-(3-클로로프로폭시)-2-메틸벤젠 (5.15 g, 19.54 mmol), (R)-피롤리딘-3-올 히드록로라이드 (3.62 g, 29.30 mmol), 분말 탄산칼륨 (4.05 g, 29.3 mmol) 및 아이오딘화나트륨 (2.93 g, 19.54 mmol)의 교반 현탁액을 80℃에서 16시간 동안 가열하였다. 이어서, 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 용매를 진공 하에 제거하였다. 잔류물을 에틸 아세테이트와 물 사이에 분배한 후, 수성 상을 분리하고, 에틸 아세테이트를 사용하여 1회 넘게 추출하였다. 유기 추출물을 합하고, 염수로 세척하고, 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 수득하였으며, 이를 소량의 디클로로메탄에 녹이고, 레디셉Rf 정상 실리카 겔 텔레다인 이스코 80 g 일회용 칼럼에 채우고, 이를 디클로로메탄으로 200 mL 동안, 이어서 0 - 100% B로 1500 mL 동안 제1 용리시켰다 (여기서 용매 A = 디클로로메탄 및 용매 B = 메탄올). 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 원심 증발을 통해 건조시켰다. 생성물인 (R)-1-(3-(3-브로모-2-메틸페녹시)프로필)피롤리딘-3-올 (5.10 g, 83%)을 캐러멜색 오일로서 단리시키고, 동결기에서 저장하고 '그대로' 사용하였다. 특징화 목적을 위해서, 이 생성물의 일부 (~33 mg)를 정제용 LCMS를 통해 하기 조건을 사용하여 추가로 정제하였다: 칼럼: 엑스브리지 C18, 19 x 200 mm, 5 U; 이동상 A: 5:95 아세트니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 이동상 B: 95:5 아세트니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 구배: 20분 동안 12 - 52% B, 이어서 100% B에서 5분 유지; 유량: 20 mL/분. 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 원심 증발을 통해 건조시켰다. 순수 생성물의 수율은 25.1 mg이고, LCMS 분석에 의한 그의 추정 순도는 98%이었다. 2종의 분석용 LCMS 주입을 사용하여 최종 순도를 결정하였다. 주입 1 조건: 칼럼: 워터스 액티비티 UPLC BEH C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 이동상 A: 5:95 아세트니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 이동상 B: 95:5 아세트니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 온도: 50℃; 구배: 3분 동안 0 - 100% B, 이어서 100% B에서 0.75분 유지; 유량: 1.0 mL/분; 검출: 220 nm에서 UV. 주입 1 결과: 순도: 98.2%; 관찰된 질량: 314.0; 체류 시간: 1.37분. 주입 2 조건: 칼럼: 워터스 액티비티 UPLC BEH C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 이동상 A: 5:95 아세트니트릴:물, 0.1% 트리플루오로아세트산 포함; 이동상 B: 95:5 아세트니트릴:물, 0.1% 트리플루오로아세트산 포함; 온도: 50℃; 구배: 3분 동안 0 - 100% B, 이어서 100% B에서 0.75분 유지; 유량: 1.0 mL/분; 검출: 220 nm에서 UV. 주입 2 결과: 순도: 98.5%; 관찰된 질량: 314.0; 체류 시간: 1.38분.

[0311] 중간체: 5-((4-클로로-2-포르밀-5-((4-(4,4,5,5-테트라메틸-1,3,2-디옥사보롤란-2-일)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)페녹시)메틸)니코티노니트릴



[0312]

[0313] 1,1-비스(디페닐포스포노)페로센-팔라듐(II)디클로라이드 (193 mg, 2.64 μmol)을 실온에서 후벽 압력 튜브에 들은 건조 디옥산 (35 mL) 중 5-((5-((4-브로모-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)-4-클로로-2-포르밀페녹시)메틸)니코티노니트릴 (1.70 g, 3.51 mmol), 4,4,4',4',5,5,5',5'-옥타메틸-2,2'-비(1,3,2-디옥사보롤란) (0.98

g, 3.87 mmol), 및 아세트산칼륨 (1.04 g, 10.54 mmol)의 아르곤-탈기된 현탁액에 한 번에 첨가하였다. 혼합물을 교반하고, 80°C에서 10시간 동안 가열한 후, 이를 실온으로 냉각시키고, 에틸 아세테이트 및 물로 희석하였다. (파일럿 규모 반응 (50 mg)을 수행한 후, 이 반응을 수행하고, 그의 혼합물을 이것에 첨가한 다음 추출 후처리하였다.) 수성 상을 분리하고, 에틸 아세테이트로 1회 더 추출하고, 합한 유기 추출물을 염수로 세척하고, 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 조 생성물을 암갈색 오일로서 수득하였다. 이어서, 조 생성물을 소량의 디클로로메탄에 녹이고, 레디셉Rf 정상 실리카 겔 텔레다인 이스코 80 g 일회용 칼럼에 채우고, 이를 디클로로메탄으로 300 mL 동안, 이어서 0 - 40% B로 2700 mL 동안 제1 용리시켰다 (여기서 용매 A = 헥산 및 용매 B = 에틸 아세테이트). 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 원심 증발을 통해 건조시켰다. 5-((4-클로로-2-포르밀-5-((4-(4,4,5,5-테트라메틸-1,3,2-디옥사보롤란-2-일)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)페녹시)메틸)-니코티노니트릴 (1.36 g, 72.7%)을 회백색 고체로서 단리시키고, 이를 직접 사용하고, '그대로' 사용하였다.

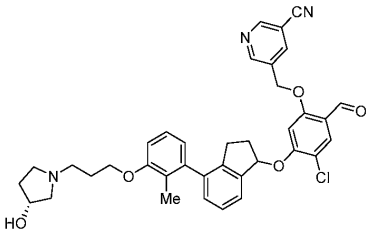
[0314] LCMS: $t_R = 1.72$ 분;

[0315] LCMS (ESI) $m/z = 531.10 [M+H]^+$.

[0316] LCMS 조건: 주입 부피 = 1 μ L; 구배 = 2 - 98% B; 구배 시간 = 1.5분; 유량 = 0.8 ml/분; 파장 = 220 nm; 이동상 A = 0:100 아세토니트릴:물, 0.05% 트리플루오로아세트산 포함; 이동상 B = 100:0 아세토니트릴:물, 0.05% 트리플루오로아세트산 포함; 칼럼 = 워터스 액티비티 BEH C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 오븐 온도 = 40°C.

[0317] 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 10.25 (s, 1H), 9.05 (s, 1H), 9.05 (s, 1H), 8.57 (t, J=2.0 Hz, 1H), 7.71 (s, 1H), 7.68 (dd, J=7.3, 1.0 Hz, 1H), 7.52 (d, J=7.3 Hz, 1H), 7.27 (s, 1H), 7.25 (s, 1H), 6.20 (br d, J=3.0 Hz, 1H), 5.53 (s, 2H), 3.27 - 3.16 (m, 1H), 3.13 - 3.03 (m, 1H), 2.64 - 2.53 (m, 1H), 2.06 - 1.99 (m, 1H), 1.31 (s, 12H).

[0318] 중간체: 5-((4-클로로-2-포르밀-5-((4-(3-(3-((R)-3-히드록시피롤리딘-1-일)프로폭시)-2-메틸페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)페녹시)메틸)니코티노니트릴



[0319]

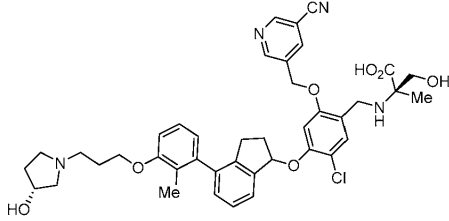
[0320] 제2 세대 XPhos 전촉매 (34 mg, 0.043 mmol)를 THF (4 mL) 및 물 (1 mL) 중 (R)-1-(3-(3-브로모-2-메틸페녹시)프로필)피롤리딘-3-올 (134 mg, 0.43 mmol), 5-((4-클로로-2-포르밀-5-((4-(4,4,5,5-테트라메틸-1,3,2-디옥사보롤란-2-일)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)페녹시)메틸)-니코티노니트릴 (250 mg, 0.47 mmol) 및 인산칼륨 (227 mg, 1.07 mmol)의 아르곤-탈기된 혼합물에 실온에서 한 번에 첨가하였다. 바이알을 밀봉하고, 생성된 현탁액을 16시간 동안 교반한 후, 이것을 에틸 아세테이트 및 물로 희석하였다. 수성 층을 분리하고, 에틸 아세테이트를 사용하여 1회 넘게 추출하였다. 이어서, 합한 유기 추출물을 염수로 세척하고, 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 조 생성물을 소량의 디클로로메탄에 녹이고, 레디셉Rf 정상 실리카 겔 텔레다인 이스코 25 g 일회용 칼럼에 채우고, 디클로로메탄으로 60 mL 동안, 이어서 0 - 10% B로 600 mL 동안 제1 용리시켰다 (여기서 용매 A = 디클로로메탄 및 용매 B = 메탄올). 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 원심 증발을 통해 건조시켰다. 목적 생성물인 5-((4-클로로-2-포르밀-5-((4-(3-(3-((R)-3-히드록시피롤리딘-1-일)프로폭시)-2-메틸페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)페녹시)메틸)-니코티노니트릴 (171.4 mg, 62.7%)을 벗짙색 오일로서 및 추가의 생성물인 5-((4-클로로-2-포르밀-5-((4-(3-(3-((R)-3-히드록시피롤리딘-1-일)프로폭시)-2-메틸페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)페녹시)메틸)니코티노니트릴 (25.2 mg, 9.2%)을 특징화 목적을 위해 절단된 중심이 수용된 담오렌지색 고체로서 단리시켰다.

[0321] LCMS: $t_R = 1.86$ 분;

[0322] LCMS (ESI) $m/z = 638.50 [M+H]^+$.

[0323] LCMS 조건: 주입 부피 = 1 μ L; 구배 = 2 - 98% B; 구배 시간 = 1.5분; 유량 = 0.8 ml/분; 파장 = 220 nm; 이동상 A = 0:100 아세트오니트릴:물, 0.05% 트리플루오로아세트산 포함; 이동상 B = 100:0 아세트오니트릴:물, 0.05% 트리플루오로아세트산 포함; 칼럼 = 워터스 액티티 BEH C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 오븐 온도 = 40°C.

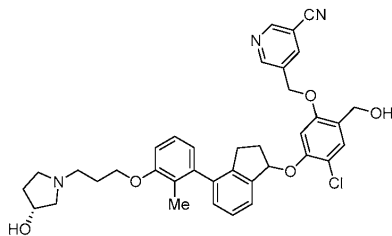
[0324] 실시예 1012: (2R)-2-((5-클로로-2-((5-시아노피리딘-3-일)메톡시)-4-((4-(3-(3-((R)-3-히드록시피롤리딘-1-일)프로폭시)-2-메틸페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)벤질)-아미노)-3-히드록시-2-메틸프로판산



[0325]

[0326] 1 M 소듐 시아노트리히드로보레이트 (0.10 mL, 0.094 mmol)를 실온에서 3시간 후 건조 DMF (0.50 mL) 및 MeOH (0.42 mL) 중 5-((4-클로로-2-포르밀-5-((4-(3-(3-((R)-3-히드록시-피롤리딘-1-일)프로폭시)-2-메틸페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)페녹시)-메틸)니코티노니트릴 (30.0 mg, 0.047 mmol), (R)-2-아미노-3-히드록시-2-메틸프로판산 (11.2 mg, 0.094 mmol), 아세트산 (13 μ L, 0.235 mmol), 및 4Å 분말 분자체 (25 mg)의 교반 용액에 조금씩 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 16시간 동안 교반한 후, 이것을 DMF 및 MeOH (1:2) 최대 2 mL 총 부피로 희석하고, 시린지 필터를 통해 여과하고, 정제용 LCMS를 통해 하기 조건에 의해 정제하였다: 칼럼: 엑스브리지 C18, 19 x 200 mm, 5 U; 이동상 A: 5:95 아세트오니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 이동상 B: 95:5 아세트오니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 구배: 11 - 51% B로 20분 동안, 이어서 100% B에서 4분 유지; 유량: 20 mL/분; 칼럼 온도: 25°C. 분획 수집을 UV 신호에 의해 촉발시켰다. 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 원심 증발을 통해 건조시켰다. 생성물의 수율은 17.7 mg (50.3%)이고, LCMS 분석에 의한 그의 추정 순도는 99%이었다. 분석용 LCMS를 사용하여 최종 순도를 결정하였다. 주입 1 조건: 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 이동상 A: 5:95 아세트오니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 이동상 B: 95:5 아세트오니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 온도: 50°C; 구배: 3분 동안 0 - 100% B, 이어서 100% B에서 0.50분 유지; 유량: 1 mL/분; 검출: MS 및 UV (220 nm). 주입 1 결과: 순도: 100.0%; 관찰된 질량: 741.19; 체류 시간: 1.51분. 주입 2 조건: 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 이동상 A: 5:95 아세트오니트릴:물, 0.1% 트리플루오로아세트산 포함; 이동상 B: 95:5 아세트오니트릴:물, 0.1% 트리플루오로아세트산 포함; 온도: 50°C; 구배: 3분 동안 0 - 100% B, 이어서 100% B에서 0.50분 유지; 유량: 1 mL/분; 검출: MS 및 UV (220 nm). 주입 2 결과: 순도: 99.1%; 관찰된 질량: 741.19; 체류 시간: 1.5분.

[0327] 실시예 1013: 5-((4-클로로-2-(히드록시메틸)-5-((4-(3-(3-((R)-3-히드록시피롤리딘-1-일)프로폭시)-2-메틸페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)페녹시)메틸)니코티노니트릴

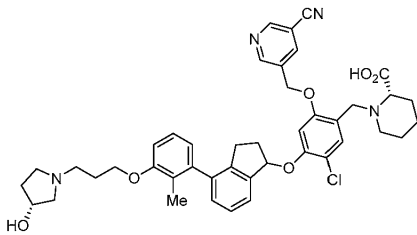


[0328]

[0329] 실시예 1013을 상기 실시예 1012에 대한 반응 혼합물의 정제물로부터 단리시켰다. 생성물의 수율은 10.7 mg (33.3%)이고, LCMS 분석에 의한 그의 추정 순도는 94%이었다. 분석용 LCMS를 사용하여 최종 순도를 결정하였다. 주입 1 조건: 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 이동상 A: 5:95 아세트오니트릴:물, 0.1% 트리플루오로아세트산 포함; 이동상 B: 95:5 아세트오니트릴:물, 0.1% 트리플루오로아세트산 포함; 온도: 50°C; 구배: 3분 동안 0 - 100% B, 이어서 100% B에서 0.50분 유지; 유량: 1 mL/분; 검출: MS 및 UV (220 nm). 주입 1 결과: 순도: 93.6%; 관찰된 질량: 640.24; 체류 시간: 1.81분. 주입 2 조건: 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 이동상 A: 5:95 아세트오니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 이동상 B: 95:5 아세트오니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 온도: 50°C; 구배: 3분 동안 0 - 100% B, 이어서 100%

B에서 0.50분 유지; 유량: 1 mL/분; 검출: MS 및 UV (220 nm). 주입 2 결과: 순도: 95.1%; 관찰된 질량: 640.25; 체류 시간: 1.92분.

[0330] 실시예 1014: (2S)-1-(5-클로로-2-((5-시아노피리딘-3-일)메톡시)-4-((4-(3-(3-((R)-3-히드록시피롤리딘-1-일)프로폭시)-2-메틸페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)벤질)-피페리딘-2-카르복실산

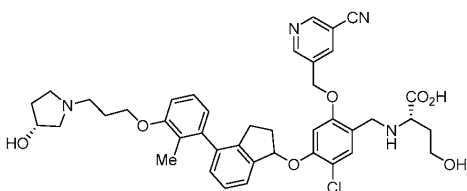


[0331]

[0332] 1 M 소듐 시아노트리히드로보레이트 (0.10 mL, 0.094 mmol)를 실온에서 3시간 후 건조 DMF (0.50 mL) 및 MeOH (0.42 mL) 중 5-((4-클로로-2-포르밀-5-((4-(3-(3-((R)-3-히드록시-피롤리딘-1-일)프로폭시)-2-메틸페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)페녹시)-메틸)니코티노니트릴 (30.0 mg, 0.047 mmol), (S)-피페리딘-2-카르복실산 (12.1 mg, 0.094 mmol), 아세트산 (13 μ L, 0.235 mmol), 및 4Å 분말 분자체 (25 mg)의 교반 용액에 조금씩 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 16시간 동안 교반한 후, 이것을 DMF 및 MeOH (1:2) 최대 2 mL 총 부피로 희석하고, 시린지 필터를 통해 여과하고, 정제용 LCMS에 의해 하기 조건을 사용하여 정제하였다: 칼럼: 엑스브리지 C18, 19 x 200 mm, 5 U; 이동상 A: 5:95 아세트니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 이동상 B: 95:5 아세트니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 구배: 10 - 50% B로 25분 동안, 이어서 100% B에서 5분 유지; 유량: 20 mL/분; 칼럼 온도: 25°C. 분획 수집을 MS 및 UV 신호에 의해 촉발시켰다. 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 원심 증발을 통해 건조시켰다. 생성물의 수율은 25.6 mg (67.5%)이고, LCMS 분석에 의한 그의 추정 순도는 93%이었다. 분석용 LCMS를 사용하여 최종 순도를 결정하였다.

[0333] 주입 1 조건: 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 이동상 A: 5:95 아세트니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 이동상 B: 95:5 아세트니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 온도: 50°C; 구배: 3분 동안 0 - 100% B, 이어서 100% B에서 0.50분 유지; 유량: 1 mL/분; 검출: MS 및 UV (220 nm). 주입 1 결과: 순도: 95.7%; 관찰된 질량: 751.23; 체류 시간: 1.61분. 주입 2 조건: 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 이동상 A: 5:95 아세트니트릴:물, 0.1% 트리플루오로아세트산 포함; 이동상 B: 95:5 아세트니트릴:물, 0.1% 트리플루오로아세트산 포함; 온도: 50°C; 구배: 3분 동안 0 - 100% B, 이어서 100% B에서 0.50분 유지; 유량: 1 mL/분; 검출: MS 및 UV (220 nm). 주입 2 결과: 순도: 93.1%; 관찰된 질량: 751.21; 체류 시간: 1.52 분.

[0334] 실시예 1015: (5-클로로-2-((5-시아노피리딘-3-일)메톡시)-4-((4-(3-(3-((R)-3-히드록시피롤리딘-1-일)프로폭시)-2-메틸페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)벤질)-L-호모세린

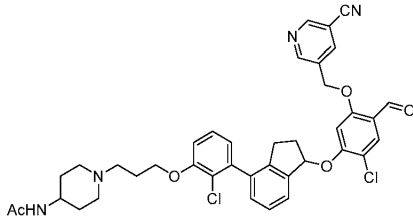


[0335]

[0336] 1 M 소듐 시아노트리히드로보레이트 (0.10 mL, 0.094 mmol)를 실온에서 3시간 후 건조 DMF (0.50 mL) 및 MeOH (0.42 mL) 중 5-((4-클로로-2-포르밀-5-((4-(3-(3-((R)-3-히드록시-피롤리딘-1-일)프로폭시)-2-메틸페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)페녹시)-메틸)니코티노니트릴 (30.0 mg, 0.047 mmol), L-호모세린 (11.2 mg, 0.094 mmol), 아세트산 (13 μ L, 0.24 mmol), 및 4Å 분말 분자체 (25 mg)의 교반 용액에 조금씩 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 16시간 동안 교반한 후, 이것을 DMF 및 MeOH (1:2) 최대 2 mL 총 부피로 희석하고, 시린지 필터를 통해 여과하고, 정제용 LCMS를 통해 하기 조건을 사용하여 정제하였다: 칼럼: 엑스브리지 C18, 19 x 200 mm, 5 U; 이동상 A: 5:95 아세트니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 이동상 B: 95:5 아세트니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 구배: 9 - 49% B로 20분 동안, 이어서 100% B에서 5분 유지; 유량: 20 mL/분; 칼럼 온도: 25°C. 분획 수집을 MS 및 UV 신호에 의해 촉발시켰다. 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 원심 증발을 통해 건조시켰다. 생성물의 수율은 25.9 mg (71.8%)이고, LCMS 분석에 의한 그의 추정 순도는 97%이었다.

분석용 LCMS를 사용하여 최종 순도를 결정하였다. 주입 1 조건: 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 이동상 A: 5:95 아세트오니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 이동상 B: 95:5 아세트오니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 온도: 50°C; 구배: 3분 동안 0 - 100% B, 이어서 100% B에서 0.50분 유지; 유량: 1 mL/분; 검출: MS 및 UV (220 nm). 주입 1 결과: 순도: 98.7%; 관찰된 질량: 741.19; 체류 시간: 1.55분. 주입 2 조건: 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 이동상 A: 5:95 메탄올:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 이동상 B: 95:5 메탄올:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 온도: 50°C; 구배: 3.5분 동안 0 - 100% B, 이어서 100% B에서 0.5분 유지; 유량: 0.5 mL/분; 검출: MS 및 UV (220 nm). 주입 2 결과: 순도: 96.6%; 관찰된 질량: 741.19; 체류 시간: 2.87분.

[0337] 중간체: N-(1-(3-(2-클로로-3-(1-(2-클로로-5-((5-시아노피리딘-3-일)메톡시)-4-포르밀페녹시)-2,3-디히드로-1H-인덴-4-일)페녹시)프로필)피페리딘-4-일)아세트아미드



[0338]

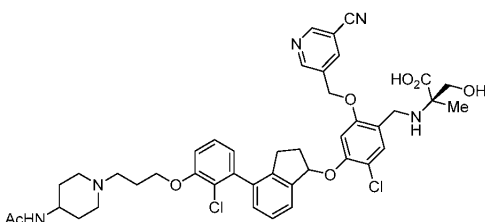
[0339] 제2 세대 XPhos 전촉매 (34 mg, 0.043 mmol)를 THF (4 mL) 및 물 (1 mL) 중 N-(1-(3-(3-브로모-2-클로로페녹시)프로필)-피페리딘-4-일)아세트아미드 (167 mg, 0.43 mmol), 5-((4-클로로-2-포르밀-5-((4-(4,4,5,5-테트라메틸-1,3,2-디옥사보롤란-2-일)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)페녹시)메틸)-니코티노니트릴 (250 mg, 0.47 mmol) 및 인산칼륨 (227 mg, 1.07 mmol)의 아르곤-탈기된 혼합물에 실온에서 한 번에 첨가하였다. 이어서, 바이알을 밀봉하고, 생성된 현탁액을 16시간 동안 교반한 후, 이것을 에틸 아세테이트 및 물로 희석하였다. 수성 층을 분리하고 에틸 아세테이트로 1회 넘게 추출한 후, 합한 유기 추출물을 염수로 세척하고, 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 갈색 오일을 수득하였으며, 이를 DMF, THF 및 메탄올 (2:1:1 mL)로 희석하고, 왓만 푸라디스크 13 mm PVDF 시린지 필터 (45 μM)를 통해 여과하고, 2종의 pHPLC 바이알 (2 mL)에 두고, 워터스-엑스브리지 C18 OBD 칼럼 (30 x 100 mm, 5 U) 사용하여 정제용 HPLC에 의해 4 부분으로 정제하였다 (40 ml/분에서 10분 구배 동안 10 - 100% B)(여기서 이동상 A: 90:10 아세트오니트릴:물, 0.1% 트리플루오로아세트산 포함 및 이동상 B: 10:90 아세트오니트릴:물, 0.1% 트리플루오로아세트산 포함. 220 nm의 UV 과장). 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 원심 증발을 통해 건조시켜 생성물인 N-(1-(3-(2-클로로-3-(1-(2-클로로-5-((5-시아노피리딘-3-일)메톡시)-4-포르밀페녹시)-2,3-디히드로-1H-인덴-4-일)페녹시)프로필)피페리딘-4-일)아세트아미드 (186.5 mg, 61.0%)를 무색 오일로서 수득하였다.

[0340] LCMS: $t_R = 1.29$ 분;

[0341] LCMS (ESI) $m/z = 713.15$ 및 715.10 $[M+H]^+$.

[0342] LCMS 조건: 주입 부피 = 3 μL; 구배 = 2 - 98% B; 구배 시간 = 1.5분; 유량 = 0.8 ml/분; 과장 = 220 nm; 이동상 A = 0:100 아세트오니트릴:물, 0.05% 트리플루오로아세트산 포함; 이동상 B = 100:0 아세트오니트릴:물, 0.05% 트리플루오로아세트산 포함; 칼럼 = 워터스 액티비티 BEH C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 오븐 온도 = 40°C.

[0343] 실시예 1016: (2R)-2-((4-((4-(3-(3-(4-아세트아미도피페리딘-1-일)프로폭시)-2-클로로페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)-5-클로로-2-((5-시아노피리딘-3-일)메톡시)벤질)아미노)-3-히드록시-2-메틸프로판산



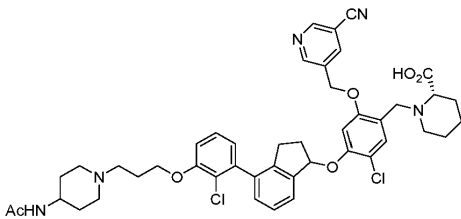
[0344]

[0345] 1 M 소듐 시아노트리히드로보레이트 (70 μL, 0.070 mmol)을 실온에서 3시간 후 건조 DMF (0.3 mL), 메탄올 (0.2 mL), 에탄올 (0.1 mL) 및 THF (0.1 mL) 중 (R)-2-아미노-3-히드록시-2-메틸프로판산 (8.4 mg, 0.070

mmol), N-(1-(3-(2-클로로-3-(1-(2-클로로-5-((5-시아노피리딘-3-일)메톡시)-4-포르밀페녹시)-2,3-디히드로-1H-인덴-4-일)페녹시)프로필)피페리딘-4-일)아세트아미드 (25.0 mg, 0.035 mmol), 아세트산 (10 μ l, 0.175 mmol), 4Å 분자체 (25 mg) 및 건조 TEA (2 방울)의 교반 용액에 조금씩 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 16시간 동안 교반한 후, 이것을 시린지 필터를 통해 여과하고, DMF 및 MeOH (1:2) 최대 2 mL 총 부피로 희석하고, 정제용 LCMS를 통해 하기 조건을 사용하여 정제하였다: 칼럼: 엑스브리지 C18, 19 x 200 mm, 5 U; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 구배: 20분 동안 6 - 46% B, 이어서 100% B에서 5-분 유지; 유량: 25 mL/분; 칼럼 온도: 25°C. 분획 수집을 UV 신호에 의해 촉발시켰다. 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 원심 증발을 통해 건조시켰다. 생성물의 수율은 3.7 mg (12.3%)이고, LCMS 분석에 의한 그의 추정 순도는 95%이었다.

[0346] 분석용 LCMS를 사용하여 최종 순도를 결정하였다. 주입 1 조건: 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 온도: 50°C; 구배: 3분 동안 0 - 100% B, 이어서 100% B에서 0.50분 유지; 유량: 1 mL/분; 검출: MS 및 UV (220 nm). 주입 1 결과: 순도: 95.4%; 관찰된 질량: 816.17; 체류 시간: 1.78분. 주입 2 조건: 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:물, 0.1% 트리플루오로아세트산 포함; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:물, 0.1% 트리플루오로아세트산 포함; 온도: 50°C; 구배: 3분 동안 0 - 100% B, 이어서 100% B에서 0.50분 유지; 유량: 1 mL/분; 검출: MS 및 UV (220 nm). 주입 2 결과: 순도: 99.0%; 관찰된 질량: 816.18; 체류 시간: 1.49분.

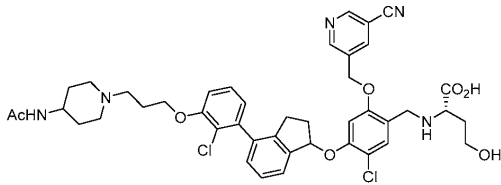
[0347] 실시예 1017: (2S)-1-(4-((4-(3-(3-(4-아세트아미도피페리딘-1-일)프로폭시)-2-클로로페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)-5-클로로-2-((5-시아노피리딘-3-일)메톡시)벤질)피페리딘-2-카르복실산



[0348]

[0349] 1 M 소듐 시아노트리히드로보레이트 (70 μ L, 0.070 mmol)을 실온에서 3시간 후 건조 DMF (0.75 mL) 및 THF (0.5 mL) 중 N-(1-(3-(2-클로로-3-(1-(2-클로로-5-((5-시아노피리딘-3-일)메톡시)-4-포르밀페녹시)-2,3-디히드로-1H-인덴-4-일)페녹시)프로필)피페리딘-4-일)아세트아미드 (25.0 mg, 0.035 mmol), (S)-피페리딘-2-카르복실산 (9.1 mg, 0.070 mmol), 아세트산 (10 μ l, 0.175 mmol), 4Å 분자체 (25 mg) 및 건조 TEA (2 방울)의 교반 용액에 조금씩 첨가하였다. 혼합물을 16시간 동안 교반한 후, 이것을 DMF 및 MeOH (1:2) 최대 2 mL 총 부피로 희석하고, 시린지 필터를 통해 여과하고, 정제용 LCMS를 통해 하기 조건을 사용하여 정제하였다: 칼럼: 엑스브리지 C18, 19 x 200 mm, 5 U; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 구배: 8 - 48% B로 20분 동안, 이어서 100% B에서 5분 유지; 유량: 25 mL/분; 칼럼 온도: 25°C. 분획 수집을 UV 신호에 의해 촉발시켰다. 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 원심 증발을 통해 건조시켰다. 생성물의 수율은 5.2 mg (16.4%)이고, LCMS 분석에 의한 그의 추정 순도는 91%이었다. 분석용 LCMS를 사용하여 최종 순도를 결정하였다. 주입 1 조건: 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 온도: 50°C; 구배: 3분 동안 0 - 100% B, 이어서 100% B에서 0.50분 유지; 유량: 1 mL/분; 검출: MS 및 UV (220 nm). 주입 1 결과: 순도: 100.0%; 관찰된 질량: 826.19; 체류 시간: 1.59분. 주입 2 조건: 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:물, 0.1% 트리플루오로아세트산 포함; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:물, 0.1% 트리플루오로아세트산 포함; 온도: 50°C; 구배: 3분 동안 0 - 100% B, 이어서 100% B에서 0.50분 유지; 유량: 1 mL/분; 검출: MS 및 UV (220 nm). 주입 2 결과: 순도: 91.1%; 관찰된 질량: 826.19; 체류 시간: 1.53분.

[0350] 실시예 1018: (4-((4-(3-(3-(4-아세트아미도피페리딘-1-일)프로폭시)-2-클로로페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)-5-클로로-2-((5-시아노피리딘-3-일)메톡시)벤질)-L-호모세린



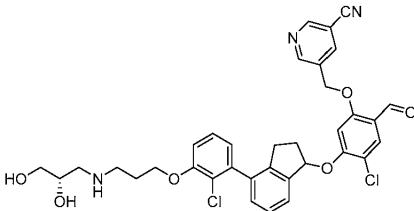
[0351]

[0352]

1 M 소듐 시아노트리히드로보레이트 (80 μ L, 0.080 mmol)을 실온에서 3시간 후 건조 DMF (0.1 mL), 에탄올 (0.2 mL), 디클로로에탄 (0.1 mL) 및 THF (0.1 mL) 중 L-호모세린 (9.7 mg, 0.081 mmol), N-(1-(3-(2-클로로-3-(1-(2-클로로-5-((5-시아노피리딘-3-일)메톡시)-4-포르밀페녹시)-2,3-디히드로-1H-인덴-4-일)페녹시)프로필)피페리딘-4-일)아세트아미드 (29.0 mg, 0.041 mmol), 아세트산 (12 μ L, 0.20 mmol), 4Å 분말 분자체 (25 mg) 및 건조 TEA (2 방울)의 교반 용액에 조금씩 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 16시간 동안 교반한 후, 이것을 DMF 및 MeOH (1:2) 최대 2 mL 중 부피로 희석하고, 시린지 필터를 통해 여과하고, 정제용 LCMS를 통해 하기 조건을 사용하여 정제하였다: 칼럼: 엑스브리지 C18, 19 x 200 mm, 5 U; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 구배: 7 - 47% B로 25분 동안, 이어서 100% B에서 5분 유지; 유량: 20 mL/분; 칼럼 온도: 25°C. 분획 수집을 MS 및 UV 신호에 의해 촉발시켰다. 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 원심 증발을 통해 건조시켰다. 생성물의 수율은 1.8 mg (5.3%)이고, LCMS 분석에 의한 그의 추정 순도는 97%이었다. 분석용 LCMS를 사용하여 최종 순도를 결정하였다. 주입 1 조건: 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 온도: 50°C; 구배: 3분 동안 0 - 100% B, 이어서 100% B에서 0.50분 유지; 유량: 1 mL/분; 검출: MS 및 UV (220 nm). 주입 1 결과: 순도: 98.4%; 관찰된 질량: 816.2; 체류 시간: 1.52분. 주입 2 조건: 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:물, 0.1% 트리플루오로아세트산 포함; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:물, 0.1% 트리플루오로아세트산 포함; 온도: 50°C; 구배: 3분 동안 0 - 100% B, 이어서 100% B에서 0.50분 유지; 유량: 1 mL/분; 검출: MS 및 UV (220 nm). 주입 2 결과: 순도: 97.2%; 관찰된 질량: 816.15; 체류 시간: 1.38 분.

[0353]

중간체: 5-((4-클로로-5-((4-(2-클로로-3-(3-(((S)-2,3-디히드록시프로필)아미노)프로폭시)페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)-2-포르밀페녹시)메틸)니코티노니트릴



[0354]

[0355]

제2 세대 XPhos 전촉매 (30 mg, 0.038 mmol)를 THF (4 mL) 및 물 (1 mL) 중 (S)-3-((3-(3-브로모-2-클로로페녹시)-프로필)아미노)프로판-1,2-디올 (128 mg, 0.38 mmol), 5-((4-클로로-2-포르밀-5-((4-(4,4,5,5-테트라메틸-1,3,2-디옥사보롤란-2-일)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)페녹시)-메틸)니코티노니트릴 (220 mg, 0.41 mmol) 및 인산칼륨 (200 mg, 0.94 mmol)의 아르곤-탈기된 혼합물에 실온에서 한 번에 첨가하였다. 바이알을 밀봉하고, 생성된 현탁액을 16시간 동안 교반한 후, 이것을 에틸 아세테이트 및 물로 희석하였다. 수성 층을 분리하고, 에틸 아세테이트로 1회 넘게 추출한 후, 합한 유기 추출물을 염수로 세척하고, 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 조 생성물을 소량의 디클로로메탄에 녹이고, 레디셀Rf 정상 실리카 겔 텔레다인 이스코 12 g 일회용 칼럼에 채우고, 디클로로메탄으로 30 mL 동안, 이어서 0 - 20% B로 240 mL 동안 및 최종적으로 20 - 100% B로 200 mL 동안 제1 용리시켰다 (여기서 용매 A = 디클로로메탄 및 용매 B = 메탄올). 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 원심 증발을 통해 건조시켜 생성물인 5-((4-클로로-5-((4-(2-클로로-3-(3-(((S)-2,3-디히드록시프로필)아미노)프로폭시)페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)-2-포르밀페녹시)메틸)니코티노니트릴 (117.7 mg, 47.1%)을 오렌지색 고체로서 수득하였다. 이 물질을 직접 사용하고, '그대로' 사용하였다.

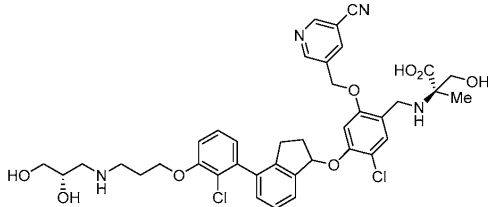
[0356]

LCMS: t_R = 1.26분;

[0357] LCMS (ESI) m/z = 662.10 및 664.05 [M+H]⁺.

[0358] LCMS 조건: 주입 부피 = 1 μL; 구배 = 2 - 98% B; 구배 시간 = 1.5분; 유량 = 0.8 ml/분; 파장 = 220 nm; 이동상 A = 0:100 아세트니트릴:물, 0.05% 트리플루오로아세트산 포함; 이동상 B = 100:0 아세트니트릴:물, 0.05% 트리플루오로아세트산 포함; 칼럼 = 워터스 액티비티 BEH C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 오븐 온도 = 40°C.

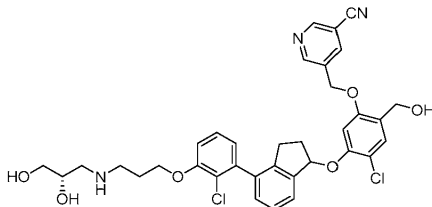
[0359] 실시예 1019: (2R)-2-((5-클로로-4-((4-(2-클로로-3-(3-((S)-2,3-디히드록시프로필)아미노)프로폭시)페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)-2-((5-시아노피리딘-3-일)메톡시)벤질)아미노)-3-히드록시-2-메틸프로판산



[0360]

[0361] 1 M 소듐 시아노트리히드로보레이트 (0.90 μL, 0.090 mmol)을 실온에서 3시간 후 건조 DMF (0.50 mL) 및 MeOH (0.42 mL) 중 5-((4-클로로-5-((4-(2-클로로-3-(3-((S)-2,3-디히드록시-프로필)아미노)프로폭시)페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)-2-포르밀페녹시)-메틸)니코티노니트릴 (30.0 mg, 0.045 mmol), (R)-2-아미노-3-히드록시-2-메틸프로판산 (10.8 mg, 0.091 mmol), 아세트산 (13 μL, 0.23 mmol), 및 4Å 분말 분자체 (25 mg)의 교반 용액에 조금씩 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 16시간 동안 교반한 후, 이것을 DMF 및 MeOH (1:2) 최대 2 mL 총 부피로 희석하고, 시린지 필터를 통해 여과하고, 정제용 LCMS를 통해 하기 조건을 사용하여 정제하였다: 칼럼: 엑스브리지 C18, 19 x 200 mm, 5 U; 이동상 A: 5:95 아세트니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 이동상 B: 95:5 아세트니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 구배: 7 - 47% B로 20분 동안, 이어서 100% B에서 5분 유지; 유량: 20 mL/분; 칼럼 온도: 25°C. 분획 수집을 MS 및 UV 신호에 의해 촉발시켰다. 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 원심 증발을 통해 건조시켰다. 생성물의 수율은 10.4 mg (30.0%)이고, LCMS 분석에 의한 그의 추정 순도는 100%이었다. 분석용 LCMS를 사용하여 최종 순도를 결정하였다. 주입 1 조건: 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 이동상 A: 5:95 아세트니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 이동상 B: 95:5 아세트니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 온도: 50°C; 구배: 3분 동안 0 - 100% B, 이어서 100% B에서 0.50분 유지; 유량: 1 mL/분; 검출: MS 및 UV (220 nm). 주입 1 결과: 순도: 100.0%; 관찰된 질량: 765.16; 체류 시간: 1.64분. 주입 2 조건: 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 이동상 A: 5:95 아세트니트릴:물, 0.1% 트리플루오로아세트산 포함; 이동상 B: 95:5 아세트니트릴:물, 0.1% 트리플루오로아세트산 포함; 온도: 50°C; 구배: 3분 동안 0 - 100% B, 이어서 100% B에서 0.50분 유지; 유량: 1 mL/분; 검출: MS 및 UV (220 nm). 주입 2 결과: 순도: 100.0%; 관찰된 질량: 765.17; 체류 시간: 1.61분.

[0362] 실시예 1020: 5-((4-클로로-5-((4-(2-클로로-3-(3-((S)-2,3-디히드록시프로필)아미노)프로폭시)페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)-2-(히드록시메틸)페녹시)메틸)니코티노니트릴

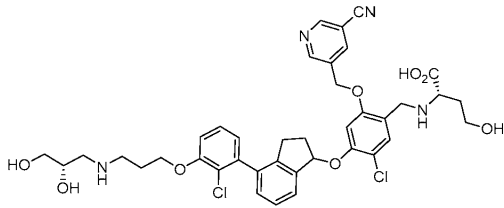


[0363]

[0364] 실시예 1020을 상기 실시예 1019에 대한 반응 혼합물의 정제물로부터 분리시켰다. 생성물의 수율은 4.7 mg (14.0%)이고, LCMS 분석에 의한 그의 추정 순도는 90%이었다. 분석용 LCMS를 사용하여 최종 순도를 결정하였다. 주입 1 조건: 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 이동상 A: 5:95 아세트니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 이동상 B: 95:5 아세트니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 온도: 50°C; 구배: 3분 동안 0 - 100% B, 이어서 100% B에서 0.50분 유지; 유량: 1 mL/분; 검출: MS 및 UV (220 nm). 주입 1 결과: 순도: 92.4%; 관찰된 질량: 664.09; 체류 시간: 1.9분. 주입 2 조건: 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 이동상 A: 5:95 아세트니트릴:물, 0.1% 트리플루오로아세트산 포함; 이동상 B: 95:5 아세트니트릴:물, 0.1% 트리플루오로아세트산 포함; 온도: 50°C; 구배: 3분 동안 0 - 100% B, 이어서 100% B에서

0.50분 유지; 유량: 1 mL/분; 검출: MS 및 UV (220 nm). 주입 2 결과: 순도: 89.8%; 관찰된 질량: 664.07; 체류 시간: 1.87분.

[0365] 실시예 1021: (5-클로로-4-((4-(2-클로로-3-(3-((S)-2,3-디히드록시프로필)아미노)프로폭시)페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)-2-((5-시아노피리딘-3-일)메톡시)벤질)-L-호모세린



[0366]

[0367] 보란·2-피콜린 착물 (9.7 mg, 0.091 mmol)을 실온에서 3시간 후 건조 DMF (0.50 mL) 중 5-((4-클로로-5-((4-(2-클로로-3-(3-((S)-2,3-디히드록시프로필)아미노)프로폭시)페닐)-2,3-디히드로-1H-인덴-1-일)옥시)-2-포르밀페녹시)메틸)-니코티노니트릴 (30.0 mg, 0.045 mmol), L-호모세린 (53.9 mg, 0.453 mmol), 아세트산 (26 μ L, 0.45 mmol), 및 4Å 분말 분자체 (25 mg)의 교반 용액에 첨가하였다. 혼합물을 16시간 동안 교반한 후, 이것을 DMF 및 MeOH (1:2) 최대 2 mL 총 부피로 희석하고, 시린지 필터를 통해 여과하고, 정제용 LCMS를 통해 하기 조건을 사용하여 정제하였다: 칼럼: 엑스브리지 C18, 19 x 200 mm, 5 U; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 구배: 3 - 43% B로 23분 동안, 이어서 100% B에서 5분 유지; 유량: 20 mL/분; 칼럼 온도: 25°C. 분획 수집을 UV 신호에 의해 촉발시켰다. 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 원심 증발을 통해 건조시켰다. 이 물질을 추가로 정제용 LCMS에 의해 하기 조건을 사용하여 정제하였다: 칼럼: 엑스브리지 C18, 19 x 200 mm, 5 U; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 구배: 9 - 49% B로 25분 동안, 이어서 100% B에서 5분 유지; 유량: 20 mL/분; 칼럼 온도: 25°C. 분획 수집을 MS 및 UV 신호에 의해 촉발시켰다. 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 원심 증발을 통해 건조시켰다. 생성물의 수율은 2.1 mg (5.9%)이고, LCMS 분석에 의한 그의 추정 순도는 97%이었다. 분석용 LCMS를 사용하여 최종 순도를 결정하였다. 주입 1 조건: 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:물, 10 mM 아세트산암모늄 포함; 온도: 50°C; 구배: 3분 동안 0 - 100% B, 이어서 100% B에서 0.50분 유지; 유량: 1 mL/분; 검출: MS 및 UV (220 nm). 주입 1 결과: 순도: 98.5%; 관찰된 질량: 765.18; 체류 시간: 1.5분. 주입 2 조건: 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 U; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:물, 0.1% 트리플루오로아세트산 포함; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:물, 0.1% 트리플루오로아세트산 포함; 온도: 50°C; 구배: 3분 동안 0 - 100% B, 이어서 100% B에서 0.50분 유지; 유량: 1 mL/분; 검출: MS 및 UV (220 nm). 주입 2 결과: 순도: 97.1%; 관찰된 질량: 765.2; 체류 시간: 1.41분.

[0368] 생물학적 검정

[0369] PD-L1에 결합하는 화학식 I의 화합물의 능력을 PD-1/PD-L1 균질 시간-분해 형광 (HTRF) 결합 검정을 사용하여 조사하였다.

[0370] 균질 시간-분해 형광 (HTRF) 결합 검정.

[0371] PD-1 및 PD-L1의 상호작용은 2개의 단백질의 세포외 도메인의 가용성, 정제된 재제를 사용하여 평가될 수 있다. PD-1 및 PD-L1 단백질 세포외 도메인을 검출 태그와의 융합 단백질로서 발현시켰고, PD-1의 경우에 태그는 이뮤노글로불린의 Fc 부분이었고 (PD-1-Ig), PD-L1의 경우에는 6개의 히스티딘 모티프였다 (PD-L1-His). 모든 결합 연구는 0.1% (w/v) 소 혈청 알부민 및 0.05% (v/v) 트윈-20이 보충된 dPBS로 이루어진 HTRF 검정 완충제 중에서 수행하였다. h/PD-L1-His 결합 검정을 위해, 억제제를 검정 완충제 4 μ l 중 PD-L1-His (10 nM 최종)와 함께 15분 동안 사전-인큐베이션하고, 이어서 검정 완충제 1 μ l 중 PD-1-Ig (20 nM 최종)을 첨가하고, 추가로 15분 동안 인큐베이션하였다. HTRF 검출은 유로폼 크립테이트-표지된 항-Ig (1 nM 최종) 및 알로피코시아닌 (APC) 표지된 항-His (20 nM 최종)를 사용하여 달성하였다. 항체를 HTRF 검출 완충제 중에 희석하고, 5 μ l를 결합 반응물의 상단에 분배하였다. 반응 혼합물을 30분 동안 평형화되도록 하고, 엔비전(EnVision) 형광계를 사용하여 생성된 신호 (665nm/620nm 비)를 획득하였다. 추가의 결합 검정을 인간 단백질 PD-1-Ig/PD-L2-His (각각 20 & 5 nM) 및 CD80-His/PD-L1-Ig (각각 100 & 10 nM) 사이에 수립하였다.

[0372] 재조합 단백질: 이뮤노글로불린 G (Ig) 에피토프 태그의 C-말단 인간 Fc 도메인을 갖는 인간 PD-1 (25-167) [hPD-1 (25-167)-3S-Ig] 및 C-말단 His 에피토프 태그를 갖는 인간 PD-L1 (18-239) [hPD-L1(18-239)-TVMV-His]을 HEK293T 세포에서 발현시키고, 단백질A 친화성 크로마토그래피 및 크기 배제 크로마토그래피에 의해 순차적으로 정제하였다. 인간 PD-L2-His 및 CD80-His는 상업적 공급원을 통해 획득하였다.

재조합 인간 PD-1-Ig의 서열

hPD1(25-167)-3S-Ig

```

1      LDSFDRPWNF PTFSPALLV TEGDNATFTC SFNTSESFV LSWYRMSPEN
51     QTDKLAAPPE DESQPGQDCR FRVTQLPWRG DFHMSVVRAR RNDSGTYLGG
101    AISLAPKAQI KESLEALELV TERRAEVPTA HPSFSPRFAG QPQGSFGGGG
151    GREFKSSDKT HTSPPSPAPE LGGSSVFLF PPKPKDTLMI SRTPEVTCVV
201    VDVSHEDPEV KFNWYVDGVE VHNAKTKFRE EQYNSTYRVV SVLTVLHQDW
251    LMGKEYKCKV SNKALPAPIE KTISKAKGQP REFQVYTLPP SRDELTKNQV
301    SLTCLVKGFY PSDIAYEWES NGQPFENNYKT TYPVLDSDGS FFLYSKLTVD
351    KSRWQQGVNF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL SPGK
    
```

(SEQ ID

NO: 1)

재조합 인간 PD-L1-His의 서열

hPDL1(18-239)-TVMV-His

```

1      AFTVTVPKDL YVVEYGSNMT IECKFPVEKQ LDLAALIVYW EMEKNIQPF
51     VHGEEDLKVQ HSSYRQRARL LKQQLSLGNA ALQITDVKLQ DAGVYRCMIS
101    YGGADYKRIT VKVWAPYKNI NQRILVVDPV TSEHELTCQA EGYPKAEVIW
151    TSSDQQLVSG KTTTNSKRE EKLFNVTSTL RINTTNEIIP YCIPRRLDPE
201    ENHTAELVIP ELPLAHPNE RTGSSETVRF QGHHHHHH
    
```

(SEQ ID

NO: 2)

[0373]

[0374] 하기 표는 PD-1/PD-L1 균질 시간-분해 형광 (HTRF) 결합 검정에서 측정된 본 개시내용의 대표적인 예에 대한 IC₅₀ 값을 열거한다.

실시예 번호	IC50 (μM)
실시예 1001	0.0014
실시예 1002	0.0009
실시예 1003	0.0091
실시예 1004	0.0039
실시예 1005	0.0106
실시예 1006	0.0035
실시예 1007	0.0043
실시예 1008	0.0030
실시예 1009	0.0241
실시예 1010	0.0020
실시예 1011	0.0104
실시예 1012	0.0018
실시예 1013	0.0181
실시예 1014	0.0058
실시예 1015	0.0019
실시예 1016	0.0034
실시예 1017	0.0002
실시예 1018	0.0029
실시예 1019	0.0025
실시예 1020	0.0109
실시예 1021	0.0010

[0375]

[0376]

화학식 I의 화합물은 PD-1/PD-L1 상호작용의 억제제로서 활성을 보유하고, 따라서 PD-1/PD-L1 상호작용과 연관된 질환 또는 결핍의 치료에 사용될 수 있다. PD-1/PD-L1 상호작용의 억제를 통해, 본 개시내용의 화합물은 감염성 질환 예컨대 HIV, 패혈성 쇼크, A형, B형, C형 또는 D형 간염 및 암을 치료하는데 사용될 수 있다.

[0377]

구체적 실시양태의 상기 기재는 본 발명의 일반적 특성을 충분히 밝혀낼 것이며, 다른 이들은 관련 기술분야의 기술 내의 지식을 적용함으로써, 본 발명의 일반적 개념으로부터 벗어나지 않으면서 과도한 실험 없이 이러한 구체적 실시양태를 다양한 적용을 위해 용이하게 변형 및/또는 변경시킬 수 있을 것이다. 따라서, 이러한 적합화 및 변형은 본원에 제시된 교시 및 지침을 기초로, 개시된 실시양태의 등가물의 의미 및 범위 내에 포함되는 것으로 의도된다. 본 명세서의 용어 및 어구가 본 발명의 교시 및 지침을 고려하여 관련 기술분야의 통상의 기술자들에게 해석되도록, 본원의 어구 또는 용어는 설명을 위한 것이며 제한하려는 것이 아님을 이해해야 한다.

[0378]

본 발명의 다른 실시양태는 명세서의 고려사항 및 본원에 개시된 본 발명의 실시로부터 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 명백할 것이다. 명세서 및 실시예는 단지 예시적인 것으로 여겨지며, 본 발명의 진정한 범주 및 취지는 하기 청구범위에 의해 제시되는 것으로 의도된다.

[0379]

본원에 개시된 모든 공개, 특허 및 특허 출원은, 각각의 개별 공개, 특허 또는 특허 출원이 참조로 포함되는 것으로 구체적으로 및 개별적으로 지시된 것과 동일한 정도로 참조로 포함된다.

서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY

<120> COMPOUNDS USEFUL AS IMMUNOMODULATORS

<130> 3338.172PC01/ELE/C-K/PAM

<150> US 62/637,009

<151> 2018-03-01

<160> 2

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 384

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> hPD1(25-167)-3S-IG

<400> 1

Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro Trp Asn Pro Pro Thr Phe Ser Pro Ala

1 5 10 15

Leu Leu Val Val Thr Glu Gly Asp Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe

20 25 30

Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val Leu Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro

35 40 45

Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala Ala Phe Pro Glu Asp Arg Ser Gln

50 55 60

Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg Met Thr Gln Leu Pro Asn Gly Arg

65 70 75 80

Asp Phe His Met Ser Val Val Arg Ala Arg Arg Asn Asp Ser Gly Thr

85 90 95

Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu Ala Pro Lys Ala Gln Ile Lys Glu

100 105 110

Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val Thr Glu Arg Arg Ala Glu Val Pro

115 120 125

Thr Ala His Pro Ser Pro Ser Pro Arg Pro Ala Gly Gln Phe Gln Gly

130 135 140

Ser Pro Gly Gly Gly Gly Gly Arg Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr
 145 150 155 160
 His Thr Ser Pro Pro Ser Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Ser Ser
 165 170 175
 Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
 180 185 190
 Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
 195 200 205
 Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala

 210 215 220
 Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
 225 230 235 240
 Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Val Gly Lys Glu Tyr
 245 250 255
 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
 260 265 270
 Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu

 275 280 285
 Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
 290 295 300
 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 305 310 315 320
 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
 325 330 335
 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser

 340 345 350
 Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 355 360 365
 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 370 375 380

<210> 2

<211> 238

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> hPDL1(18-239)-TVMV-His

<400> 2

Ala Phe Thr Val Thr Val Pro Lys Asp Leu Tyr Val Val Glu Tyr Gly

1 5 10 15
 Ser Asn Met Thr Ile Glu Cys Lys Phe Pro Val Glu Lys Gln Leu Asp

 20 25 30
 Leu Ala Ala Leu Ile Val Tyr Trp Glu Met Glu Asp Lys Asn Ile Ile

 35 40 45
 Gln Phe Val His Gly Glu Glu Asp Leu Lys Val Gln His Ser Ser Tyr

 50 55 60
 Arg Gln Arg Ala Arg Leu Leu Lys Asp Gln Leu Ser Leu Gly Asn Ala

65 70 75 80
 Ala Leu Gln Ile Thr Asp Val Lys Leu Gln Asp Ala Gly Val Tyr Arg

 85 90 95
 Cys Met Ile Ser Tyr Gly Gly Ala Asp Tyr Lys Arg Ile Thr Val Lys

 100 105 110
 Val Asn Ala Pro Tyr Asn Lys Ile Asn Gln Arg Ile Leu Val Val Asp

 115 120 125
 Pro Val Thr Ser Glu His Glu Leu Thr Cys Gln Ala Glu Gly Tyr Pro

 130 135 140
 Lys Ala Glu Val Ile Trp Thr Ser Ser Asp His Gln Val Leu Ser Gly

145 150 155 160
 Lys Thr Thr Thr Thr Asn Ser Lys Arg Glu Glu Lys Leu Phe Asn Val

 165 170 175
 Thr Ser Thr Leu Arg Ile Asn Thr Thr Thr Asn Glu Ile Phe Tyr Cys

 180 185 190
 Thr Phe Arg Arg Leu Asp Pro Glu Glu Asn His Thr Ala Glu Leu Val

 195 200 205

Ile Pro Glu Leu Pro Leu Ala His Pro Pro Asn Glu Arg Thr Gly Ser
210 215 220
Ser Glu Thr Val Arg Phe Gln Gly His His His His His His
225 230 235