(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2021년02월25일
(11) 등록번호 10-2220242
(24) 등록일자 2021년02월19일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 211/56 (2006.01) *A61K 31/437* (2006.01)
A61K 31/4412 (2006.01) *A61P 29/00* (2006.01)
C07D 405/06 (2006.01) *C07D 471/04* (2006.01)
C07D 471/20 (2006.01) *C07D 487/04* (2006.01)
C07F 7/18 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07D 211/56 (2013.01)
A61K 31/437 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2020-7001976(분할)
(22) 출원일자(국제) 2013년03월13일
심사청구일자 2020년02월20일
(85) 번역문제출일자 2020년01월21일
(65) 공개번호 10-2020-0011559
(43) 공개일자 2020년02월03일
(62) 원출원 특허 10-2014-7025146
원출원일자(국제) 2013년03월13일
심사청구일자 2018년02월23일
(86) 국제출원번호 PCT/US2013/030696
(87) 국제공개번호 WO 2013/138418
국제공개일자 2013년09월19일
(30) 우선권주장
61/610,746 2012년03월14일 미국(US)
61/644,648 2012년05월09일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
WO2008130524 A1
WO2010027927 A1
JP2007519729 A

(73) 특허권자
머크 샤프 앤드 돔 코포레이션
미국 뉴저지 (우편번호 07065-0907) 라웨이 이스트 링컨 애비뉴 126
(72) 발명자
벨릭, 케빈, 엠.
미국 07065-0907 뉴저지주 라웨이 이스트 링컨 애비뉴 126
클이에이터, 에드워드
영국 호데스돈 허트포드샤이어 이엔11 9비유 허트포드 로드
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
장덕순

전체 청구항 수 : 총 12 항 심사관 : 박수진

(54) 발명의 명칭 **CGRP 수용체 길항제의 제조 방법**

(57) 요 약

본 발명은 매우 효과적인 스피로산 합성을 이용하는, 편두통의 치료에 유용한 CGRP 수용체 길항제인 피페리디논 카스복스아미드 인단 및 아자이난 유도체의 제조를 위한 신규 방법을 포함한다.

(52) CPC특허분류
A61K 31/4412 (2013.01)
A61P 29/00 (2018.01)
C07D 405/06 (2013.01)
C07D 471/04 (2013.01)
C07D 471/20 (2013.01)
C07D 487/04 (2013.01)
C07F 7/1804 (2018.08)

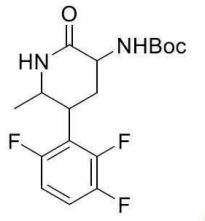
(72) 발명자
쿠오, 셴-춘
미국 07083 뉴저지주 유니온 글렌우드 코트 140
말리그레스, 피터, 엠마뉴엘
미국 07065-0907 뉴저지주 라웨이 이스트 링컨 애비뉴 126
지앙, 방핑
미국 07065-0907 뉴저지주 라웨이 이스트 링컨 애비뉴 126
야수다, 노부요시
미국 07065-0907 뉴저지주 라웨이 이스트 링컨 애비뉴 126
인, 지앙규오
미국 07065-0907 뉴저지주 라웨이 이스트 링컨 애비뉴 126

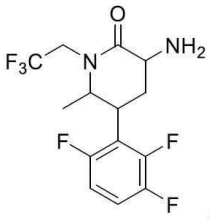
명 세 서

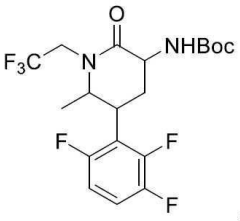
청구범위

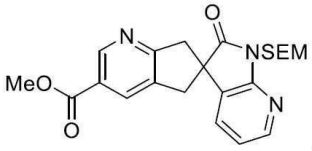
청구항 1

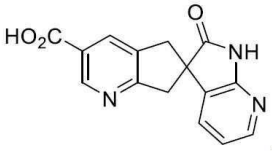
하기로 이루어진 군으로부터 선택된 화합물, 또는 그의 염 또는 입체이성질체.

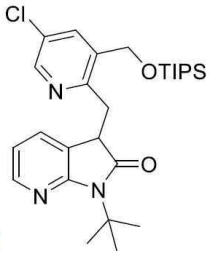


,


,


,


,


, 및


(상기 식에서,

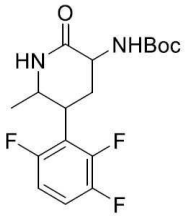
Boc는 tert-부톡시카르보닐이고,

SEM은 2-(트리메틸실릴)에톡시메틸이고,

TIPS는 트리이소프로필실릴임)

청구항 2

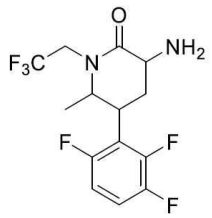
제1항에 있어서, 화합물이



인 화합물, 또는 그의 염 또는 입체이성질체.

청구항 3

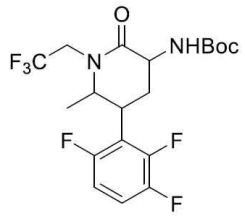
제1항에 있어서, 화합물이



인 화합물, 또는 그의 염 또는 입체이성질체.

청구항 4

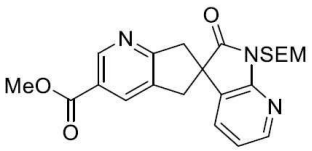
제1항에 있어서, 화합물이



인 화합물, 또는 그의 염 또는 입체이성질체.

청구항 5

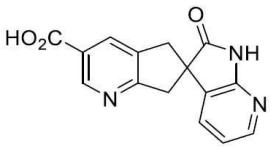
제1항에 있어서, 화합물이



인 화합물, 또는 그의 염 또는 입체이성질체.

청구항 6

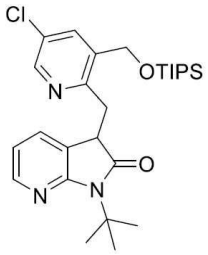
제1항에 있어서, 화합물이



인 화합물, 또는 그의 염 또는 입체이성질체.

청구항 7

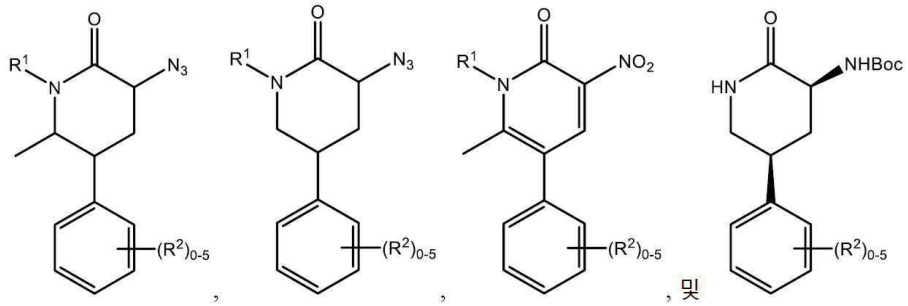
제1항에 있어서, 화합물이



인 화합물, 또는 그의 염 또는 입체이성질체.

청구항 8

하기로 이루어진 군으로부터 선택된 화학식에 따른 화합물 또는 그의 염.



(상기 식에서,

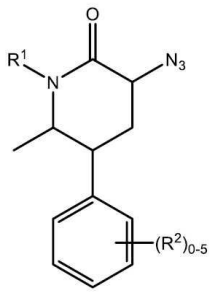
R^1은 C_{1-4}알킬, 시클로프로필메틸, 시클로부틸메틸 및 [1-(트리플루오로메틸)시클로프로필]메틸로 이루어진 군으로부터 선택되며, 이들 각각은 F 및 히드록시로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된 1개 이상의 치환기로 원자가에 의해 허용되는 만큼 임의로 치환되고;

R^2는 수소, 메틸, F, Cl, 또는 Br이고;

Boc는 tert-부톡시카르보닐임)

청구항 9

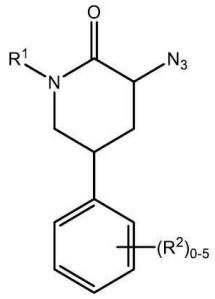
제8항에 있어서, 화학식이



인 화합물 또는 그의 염.

청구항 10

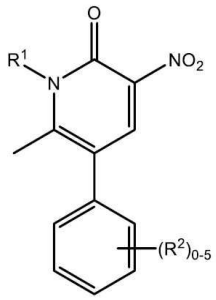
제8항에 있어서, 화학식이



인 화합물 또는 그의 염.

청구항 11

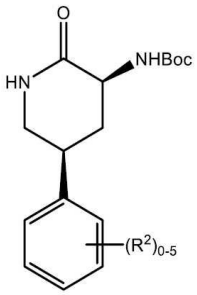
제8항에 있어서, 화학식이



인 화합물 또는 그의 염.

청구항 12

제8항에 있어서, 화학식이



인 화합물 또는 그의 염.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 서열 목록에 대한 참조

[0002] 서열 목록의 공식 카피는 파일명이 "23237USPSP-SEQLIST-09MAY2012"이고, 생성일은 2012년 5월 9일이며, 크기는 4,570 바이트인 ASCII 양식으로서 EFS-웹을 통해 명세서와 동시에 제출되었다. EFS-웹을 통해 제출된 서열 목록은 명세서의 일부이고, 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

배 경 기 술

[0003] 본 발명은 편두통의 치료에 유용한 CGRP 수용체 길항제인 피페리디논 카르복스아미드 인단 및 아자이난 유도체의 제조 방법에 관한 것이다. 이러한 부류의 화합물은 2011년 11월 10일에 출원된 미국 특허 출원 13/293,166, 2011년 11월 10일에 출원된 13/293,177 및 2011년 11월 10일에 출원된 13/293,186, 및 2011년 11월 10일에 출원된 PCT 국제 출원 PCT/US11/60081 및 2011년 11월 10일에 출원된 PCT/US11/60083에 기재되어 있다.

[0004] CGRP (칼시토닌 유전자-관련 펩티드)는, 칼시토닌 메신저 RNA의 조직-특이적 선택적 프로세싱에 의해 생성되고, 중추 및 말초 신경계에 광범위하게 분포되어 있는 자연 발생 37-아미노산 펩티드이다. CGRP는 감각 구심성 및 중추 뉴런에서 우세하게 국재화되고, 혈관확장을 비롯한 여러 생물학적 작용을 매개한다. CGRP는 래트 및 인간에서 각각 1개 및 3개의 아미노산이 상이한 알파- 및 베타-형태로 발현된다. CGRP-알파 및 CGRP-베타는 유사한 생물학적 특성을 나타낸다. 세포로부터 방출될 때, CGRP는 아데닐릴 시클라제의 활성화에 우세하게 커플링되는 특이적 세포 표면 수용체에 결합함으로써 그의 생물학적 반응을 개시한다. CGRP 수용체는 뇌, 심혈관, 내피 및 평활근 기원의 것들을 비롯한 여러 조직 및 세포에서 확인되고 약리학적으로 평가된 바 있다.

[0005] 약리학적 특성을 기초로 하여, 이러한 수용체들은 $CGRP_1$ 및 $CGRP_2$로 표시되는 2종 이상의 하위유형으로 나뉘어진다. 7개의 N-말단 아미노산 잔기가 결여된 CGRP의 단편인 인간 α-CGRP-(8-37)은 $CGRP_1$의 선택적 길항제인 반면에, 디아세토아미도 메틸 시스테인 CGRP ([Cys(ACM)2,7]CGRP)인 CGRP의 선형 유사체는 $CGRP_2$의 선택적 효능제이다. CGRP는 뇌혈관 장애, 예컨대 편두통 및 군발성 두통의 병리상태에 관여된 강력한 신경조절제이다. 임상 연구에서, 경정맥에서의 CGRP의 상승된 수준은 편두통 발작 동안 발생하는 것으로 밝혀졌고 (문헌 [Goadsby et al., Ann. Neurol., 1990, 28, 183-187]), CGRP의 타액 수준은 편두통 대상체에서 발작 사이에 상승되고 (문헌 [Bellamy et al., Headache, 2006, 46, 24-33]), 및 CGRP 자체는 편두통성 두통을 촉발하는 것으로 제시되었다 (문헌 [Lassen et al., Cephalalgia, 2002, 22, 54-61]). 임상 시험에서, CGRP 길항제 BIBN4096BS는 편두통의 급성 발작을 치료하는데 효과적인 것으로 제시되었고 (문헌 [Olesen et al., New Engl. J. Med., 2004, 350, 1104-1110]) 대조군에서 CGRP 주입에 의해 유발된 두통을 예방할 수 있었다 (문헌 [Petersen et al., Clin. Pharmacol. Ther., 2005, 77, 202-213]).

[0006] 삼차신경혈관계의 CGRP-매개 활성화는 편두통 발병기전에서 주요 역할을 할 수 있다. 추가로, CGRP는 두개내 혈관의 평활근 상의 수용체를 활성화시켜, 편두통 발작 동안 두통 통증에 기여하는 것으로 여겨지는 혈관확장을 증가시킨다 (문헌 [Lance, Headache Pathogenesis: Monoamines, Neuropeptides, Purines and Nitric Oxide, Lippincott-Raven Publishers, 1997, 3-9]). 경막에서 주요 동맥인 중뇌수막 동맥은 CGRP를 비롯한 여러 뉴로펩티드를 함유하는 삼차신경절로부터의 감각 섬유에 의해 신경분포된다. 고양이에서의 삼차신경절 자극은 CGRP의 증가된 수준을 생성하였고, 인간에서 삼차신경계의 활성화는 안면 홍조 및 외부 경정맥 내 CGRP의 증가된 수준의 원인이 되었다 (문헌 [Goadsby et al., Ann. Neurol., 1988, 23, 193-196]). 래트에서 경막의 전기 자극은 중뇌수막 동맥의 직경을 증가시켰으며, 그 효과는 펩티드 CGRP 길항제인 CGRP(8-37)의 선행 투여에 의해 차단되었다 (문헌 [Williamson et al., Cephalalgia, 1997, 17, 525-531]). 삼차신경절 자극은 CGRP(8-37)에 의해 억제된 래트에서의 안면 혈류를 증가시켰다 (문헌 [Escott et al., Brain Res. 1995, 669, 93-99]). 마모셋에서 삼차신경절의 전기 자극은 비-펩티드 CGRP 길항제 BIBN4096BS에 의해 차단될 수 있는 안면 혈류의 증가를 유발하였다 (문헌 [Doods et al., Br. J. Pharmacol., 2000, 129, 420-423]). 따라서 CGRP의 혈관 효과는 CGRP 길항제에 의해 약화되거나 방지되거나 역전될 수 있다.

[0007] 래트 중뇌수막 동맥의 CGRP-매개 혈관확장은 삼차신경 꼬리핵의 뉴런을 감작시키는 것으로 나타났다 (문헌 [Williamson et al., The CGRP Family: Calcitonin Gene-Related Peptide (CGRP), Amylin, and Adrenomedullin, Landes Bioscience, 2000, 245-247]). 유사하게, 편두통성 두통 동안 경막 혈관의 팽창은 삼차신경 뉴런을 감작시킬 수 있다. 두개외 통증 및 안면 이질통을 비롯한 편두통의 연합 증상 중 일부는 감작된 삼차신경 뉴런의 결과일 수 있다 (문헌 [Burstein et al., Ann. Neurol. 2000, 47, 614-624]). CGRP 길항제는 뉴런 감작의 효과를 약화시키거나 방지하거나 역전시키는데 유익할 수 있다.

[0008] CGRP 길항제로서 작용하는 화합물의 능력은 이들을 인간 및 동물에서, 그러나 특히 인간에서 CGRP와 관련된 장애를 위한 유용한 약리학적 작용제로 만든다. 이러한 장애는 편두통 및 군발성 두통 (문헌 [Doods, Curr Opin Inves Drugs, 2001, 2 (9), 1261-1268; Edvinsson et al., Cephalalgia, 1994, 14, 320-327]); 만성 긴장형 두통 (문헌 [Ashina et al., Neurology, 2000, 14, 1335-1340]); 통증 (문헌 [Yu et al., Eur. J. Pharm., 1998, 347, 275-282]); 만성 통증 (문헌 [Hulsebosch et al., Pain, 2000, 86, 163-175]); 신경원성 염증 및 염증성 통증 (문헌 [Holzer, Neurosci., 1988, 24, 739-768; Delay-Goyet et al., Acta Physiol. Scanda. 1992, 146, 537-538; Salmon et al., Nature Neurosci., 2001, 4(4), 357-358]); 눈 통증 (문헌 [May et al.

Cephalalgia, 2002, 22, 195-196]), 치아 통증 (문헌 [Awawdeh et al., Int. Endocrin. J., 2002, 35, 30-36]), 비-인슐린 의존성 당뇨병 (문헌 [Molina et al., Diabetes, 1990, 39, 260-265]); 혈관 장애; 염증 (문헌 [Zhang et al., Pain, 2001, 89, 265]), 관절염, 기관지 과민성, 천식 (문헌 [Foster et al., Ann. NY Acad. Sci., 1992, 657, 397-404; Schini et al., Am. J. Physiol., 1994, 267, H2483-H2490; Zheng et al., J. Virol., 1993, 67, 5786-5791]); 쇼크, 패혈증 (문헌 [Beer et al., Crit. Care Med., 2002, 30 (8), 1794-1798]); 오피에이트 금단 증후군 (문헌 [Salmon et al., Nature Neurosci., 2001, 4(4), 357-358]); 모르핀 내성 (문헌 [Menard et al., J. Neurosci., 1996, 16 (7), 2342-2351]); 남성 및 여성에서의 안면 홍조 (문헌 [Chen et al., Lancet, 1993, 342, 49; Spetz et al., J. Urology, 2001, 166, 1720-1723]); 알레르기성 피부염 (문헌 [Wallengren, Contact Dermatitis, 2000, 43 (3), 137-143]); 건선; 뇌염, 뇌 외상, 허혈, 졸중, 간질 및 신경변성 질환 (문헌 [Rohrenbeck et al., Neurobiol. of Disease 1999, 6, 15-34]); 피부 질환 (문헌 [Geppetti and Holzer, Eds., Neurogenic Inflammation, 1996, CRC Press, Boca Raton, FL]), 신경원성 피부 발적, 피부 장미증 및 홍반; 이명 (문헌 [Herzog et al., J. Membrane Biology, 2002, 189(3), 225]); 염증성 장 질환, 과민성 장 증후군 (문헌 [Hoffman et al. Scandinavian Journal of Gastroenterology, 2002, 37(4) 414-422]) 및 방광염을 포함한다. 편두통 및 군발성 두통을 비롯한 두통의 급성 또는 예방적 치료가 특히 중요하다.

[0009] 본 발명은 CGRP 수용체 길항제인 피페리디논 카르복스아미드 인단 및 아자이난 유도체의 제조를 위한 신규 방법을 기재한다.

발명의 내용

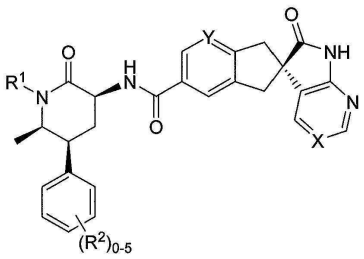
[0010] 본 발명은 매우 효과적인 스피로산 합성을 이용하는, 편두통의 치료에 유용한 CGRP 수용체 길항제인 피페리디논 카스복스아미드 인단 및 아자이난 유도체의 제조를 위한 신규 방법을 포함한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0011] 본 발명은

[0012] 하기 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염의 제조 방법이며,

[0013] <화학식 I>



[0014]

[0015] (상기 식에서,

[0016] X는 $-C(R^3)=$ 또는 $-N=$으로부터 선택되고, 여기서 R^3은 수소, F 또는 CN이고;

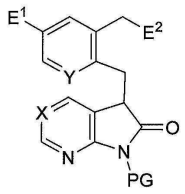
[0017] Y는 CH 또는 N이고;

[0018] R^1은 C_{1-4}알킬, 시클로프로필메틸, 시클로부틸메틸 및 [1-(트리플루오로메틸)시클로프로필]메틸로 이루어진 군으로부터 선택되며, 이들 각각은 F 및 히드록시로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된 1개 이상의 치환기로 원자가에 의해 허용되는 만큼 임의로 치환되고;

[0019] R^2는 수소, 메틸, F, Cl, 또는 Br임)

[0020] 수성 상 및 유기 상을 포함하는 2상 매질을 형성하도록 수성 상 중의 모노- 또는 비스-4급 신코나 알칼로이드 염 및 무기 염기의 존재 하에 유기 상 중에서 하기 화학식 F의 화합물의 반응을 개시하여

[0021] <화학식 F>



[0022]

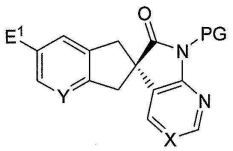
[0023] (상기 식에서, E^1은 할로겐, -C(O)-O-R", -CN, -CONRR', -NRR', $-CH_2$-OR, OR, 메틸 및 비닐로 이루어진 군으로부터 선택되고, 여기서 각각의 R 및 R'는 독립적으로 수소, C_{1-6}알킬, 아릴, 헤테로아릴 또는 벤질로 이루어진 군으로부터 선택되고, R"는 수소 또는 카르복실산으로 가용화될 수 있는 탄소 함유 치환기이고,

[0024] E^2는 이탈 능력을 갖는 관능기이고,

[0025] PG는 질소 보호기임)

[0026] 하기 화학식 G의 화합물을 제조하고,

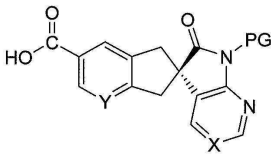
[0027] <화학식 G>



[0028]

[0029] E^1이 -C(O)-O-H가 아닌 경우에, 적합한 화학 반응을 이용하여 E^1을 카르복실산으로 대체하거나 또는 E^1을 카르복실산으로 전환시켜 하기 화학식 H의 화합물을 제공하고,

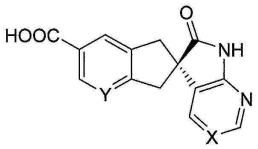
[0030] <화학식 H>



[0031]

[0032] 화학식 H의 화합물을 탈보호하여 임의로 염으로서 단리된 하기 화학식 C의 화합물을 제공하고,

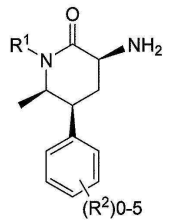
[0033] <화학식 C>



[0034]

[0035] 산과 아민 사이의 아미드 결합 형성을 위한 조건 하에 화학식 C의 화합물을 임의로 염으로서의 하기 화학식 B의 화합물과 커플링시켜

[0036] <화학식 B>



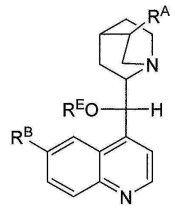
[0037]

[0038] 화학식 I의 화합물을 제공하는 것을 포함하는,

[0039] 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 제조하는 방법을 포괄한다.

[0040] 본 발명의 한 실시양태에서, R^1은 1 내지 3개의 F 또는 히드록시 또는 둘 다로 임의로 치환된 C_{1-4}알킬이다. 실시양태의 한 부류에서, R^1은 이소프로필, 2,2,2-트리플루오로에틸, 2,2-디플루오로에틸, 2-메틸프로필, 3,3,3-트리플루오로프로필 및 3,3,3-트리플루오로-2-히드록시프로필로 이루어진 군으로부터 선택된다. 실시양태의 하위부류에서, R^1은 2,2,2-트리플루오로에틸이다.

[0041] 용어 "모노- 또는 비스-4급 신코나 알칼로이드 염"은 하기 구조를 갖는 화합물의 염을 의미한다.

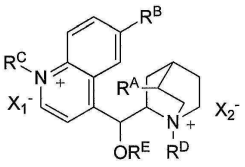


[0042]

[0043] 상기 식에서 하나 또는 양쪽 질소 원자는 4급화된다. 달리 도시 또는 명시되지 않는 한, 본 발명의 신코나 알칼로이드 염은 신코닌, 신코니딘, 퀴닌, 퀴니딘, 디히드로신코닌, 디히드로신코니딘, 디히드로퀴니딘 및 디히드로퀴닌을 비롯한 모든 입체이성질체를 포괄한다. R^A에 대한 도시  는 순수한 에틸, 순수한 비닐, 또는 에틸 및 비닐의 혼합물을 의미한다. 신코나 알칼로이드 염은 본원에 기재된 비대칭 합성에서 상 이동 촉매로 작용한다. 문헌 [Takashi Ooi and Keiji Maruoka, Recent Advances in Asymmetric Phase-Transfer Catalysis, Angew. Chem. Int. Ed. 2007, 46, 4222-4266] 참조.

[0044] 한 실시양태에서, 본 발명은 신코나 알칼로이드 염이 비스-4급이고 하기 화학식 II의 화학 구조를 갖는 것인 본원에 기재된 방법을 포괄한다.

[0045] <화학식 II>



[0046]

[0047] 상기 식에서,

[0048] R^A는  이고,

[0049] R^B는 수소 및 메톡시로 이루어진 군으로부터 선택되고,

[0050] R^C 및 R^D는 각각 독립적으로 C_{1-6}알킬, C_{2-6}알케닐, C_{2-6}알키닐, C_{3-6}시클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, -C_{1-4}알킬-아릴

및 -C_{1-4}알킬-헤테로아릴로 이루어진 군으로부터 선택되고, 여기서 C_{1-6}알킬, C_{2-6}알케닐, C_{2-6}알키닐, C_{3-6}시클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 및 -C_{1-4}알킬-아릴 및 -C_{1-4}알킬-헤테로아릴의 아릴 및 헤테로아릴 부분은 R^F로부터 독립적으로 선택된 1 내지 5개의 치환기로 임의로 치환되고,

[0051] R^E는 수소, C(O)R, C(O)OR, CONRR' 및 C_{1-6}알킬로 이루어진 군으로부터 선택되고,

[0052] R^F는 C_{1-4}알킬, 아릴, C_{1-4}알콕시, 히드록시, CN, CO_2R, CONRR', SR, SO_2R, SO_3R, PR_3, $PO(OR)_2$, PO(OR)(NRR'), $PO(NRR')_2$, $P(OR)_2$, P(OR)(NRR'), $P(NRR')_2$, SiRR'R", $B(OR)_2$, C(O)R, NRR', NO_2, 할로겐 및 CF_3으로 이루어진 군으로부터 선택되고,

[0053] 각각의 R, R' 및 R"는 독립적으로 수소, C_{1-6}알킬, 히드록실, C_{1-6}알콕시, 아릴, 헤테로아릴, -CH_2-아릴, -CH_2-헤테로아릴로 이루어진 군으로부터 선택되고,

[0054] 각각의 X^1 및 X^2는 독립적으로 할라이드, OH, HSO_4, SO_4, BF_4, SbF_6, 카르복실레이트, 카르보네이트, 히드로겐카르보네이트, NO_3, 술포네이트, 헥사플루오로포스페이트, 포스페이트, 히드로겐 포스페이트 및 퍼클로레이트로 이루어진 군으로부터 선택된 음이온이다.

[0055] E^1이 -C(O)-O-H가 아닌 경우에, E^1은 적절한 화학 반응을 이용하여 카르복실산으로 대체되거나 또는 카르복실산으로 전환될 수 있다. 이러한 반응은 당업자에게 널리 공지되어 있다. 예를 들어, E^1이 할로겐인 경우에, 카르복실산이 팔라듐 촉매 카르보닐화 또는 그리냐르(Grignard) 시약 형성을 통해 도입되고, 이어서 이산화탄소가 첨가되거나, 또는 카르복실산 에스테르가 또한 알콜 용매 중에서 전이 금속 매개 카르보닐화를 통해 도입된다. E^1이 에스테르 (-C(O)-O-R"), -CONRR' 또는 -CN인 경우에, 상기 기는 가용매분해를 통해 카르복실산으로 전환될 수 있다. E^1이 -NRR'인 경우에, 아미노 기는 샌드마이어(Sandmeyer) 반응을 통해 할로겐으로 전환되거나 또는 전이 금속 매개 카르보닐화에서 디아조늄을 통해 카르복실산 또는 에스테르로 직접 전환될 수 있다. E^1이 -CH_2-OR인 경우에, 카르복실산 또는 에스테르는 산화에 의해 도입될 수 있다. E^1이 OR인 경우에, OR 기는 할로겐 또는 O-술포네이트 (예컨대 토실레이트, 트리플레이트)로 전환될 수 있고 이어서 전이 금속 매개 카르보닐화를 사용하여 카르복실산 또는 에스테르로 추가로 전환될 수 있다. E^1이 메틸 또는 비닐인 경우에, 이들 기는 산화 ($KMnO_4$, O_3 포함)를 통해 카르복실산으로 전환될 수 있다.

[0056] 또 다른 실시양태에서, E^1은 할로겐이다. 이러한 실시양태 내에서, 본 발명은 화학식 G의 화합물의 카르보닐화가 일산화탄소와의 팔라듐 촉매 반응을 통해 이루어지고, 이에 따라 화학식 G의 화합물이 팔라듐 촉매, 제1 염기 및 리간드의 존재 하에 일산화탄소와 반응하여 화학식 H의 화합물을 제공하는, 본원에 기재된 방법을 포괄한다. 본 발명의 한 실시양태에서, 리간드는 포스핀 리간드이다. 본 발명의 또 다른 실시양태에서, 리간드는 DCPE 및 DCPP로부터 선택된다. 염기는 예를 들어 탄산칼륨이다.

[0057] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 E^1이 할로겐인 화학식 G의 화합물의 카르보닐화가 그리냐르 시약 형성을 통해 이루어지고, 이에 따라 화학식 G의 화합물이 마그네슘 또는 리튬 이어서 CO_2 및 산과 반응하여 화학식 H의 화합물을 제공하는, 본원에 기재된 방법을 포괄한다.

[0058] "카르복실산으로 가용화될 수 있는 탄소 함유 치환기"는 예를 들어 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, n-부틸, 이소-부틸, sec-부틸, tert-부틸, 알릴, 헥실, 옥틸, 시클로헥실, 벤질 및 페닐이다.

[0059] 용어 "질소 보호기"는 반응에서 질소 원자를 시약 또는 화학적 환경으로부터 보호하는 치환기를 의미한다. 질소 보호기는 당업계에 널리 공지되어 있고, 예를 들어 t-부틸, 비닐, 페닐, 벤질, p-메톡시벤질, 3,4-디메톡시벤질, p-니트로벤질, 벤즈히드릴, 트리틸, 트리알킬실릴, 메톡시메틸 에테르, (2,2,2-트리클로로에톡시)메틸 및 2-(트리메틸실릴)에톡시)메틸을 포함한다. 질소를 탈보호하기 위한 방법은 또한 당업자에게 널리 공지되어 있다. 한 실시양태에서, 본 발명은 본원에 기재된 방법을 포괄하고, 여기서 PG는 C_{1-6} 알킬, 비닐, C(O)-O-L, C(O)-L, 아릴, 헤테로아릴, 벤질, 벤즈히드릴, 트리틸, 안트라닐 및 C_{1-6}알콕시메틸로 이루어진 군으로부터 선택

되고, 여기서 아릴, 헤테로아릴, 벤질, 벤즈히드릴 및 트리틸은 메톡시 및 니트로로부터 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 치환기로 임의로 치환되고, C_{1-6}알콕시메틸은 트리메틸실릴로 임의로 치환되고, L은 C_{1-6}알킬, 아릴 또는 벤질이다.

[0060] 용어 "이탈 능력을 갖는 관능기"는 치환 또는 탈리 반응에서 기질로부터 이탈하는 원자 또는 원자단, 즉 이탈기를 의미하고, 예를 들어 할로겐 및 술포네이트를 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명은 E^2가 할로겐, OMs, OTs, OBs, $OP(O)(OR^i)_4$, $OC(O)R^i$, $OC(O)OR^i$ 및 $OC(O)NR^iR^{ii}$로 이루어진 군으로부터 선택되고, 여기서 R^i 및 R^{ii}가 독립적으로 H 및 C_{1-6}알킬로부터 선택된 것인 본원에 기재된 방법을 포괄한다.

[0061] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 유기 상이 벤젠, 톨루엔, 크실렌, 클로로벤젠, 에틸 에테르, 이소프로필 에테르, 테트라히드로푸란, 2-메틸 테트라히드로푸란, 디옥산, 메틸 tert-부틸 에테르, 시클로펜틸 메틸 에테르, 이소프로필 아세테이트, 에틸 아세테이트, 헥산, 헵탄, 시클로헥산, 디클로로메탄, 디클로로에탄, 아세토니트릴, 아세톤, 메틸 에틸 케톤, 부탄올 및 아밀 알콜로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 본원에 기재된 방법을 포괄한다.

[0062] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 무기 염기가 수산화나트륨, 수산화리튬, 수산화칼륨, 탄산나트륨, 탄산리튬, 탄산칼륨, 수산화세슘, 탄산세슘, 탄산수소나트륨, 탄산수소칼륨, 탄산수소리튬, 플루오린화리튬, 플루오린화나트륨, 플루오린화칼륨, 플루오린화세슘, 리튬 tert-부톡시드, 소듐 tert-부톡시드, 포타슘 tert-부톡시드, 인산나트륨 및 인산칼륨으로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 본원에 기재된 방법을 포괄한다.

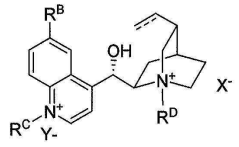
[0063] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 유기 상이 톨루엔이고 무기 염기가 수산화나트륨인 본원에 기재된 방법을 포괄한다.

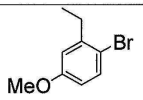
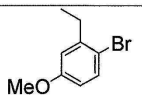
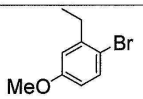
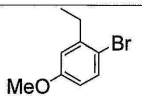
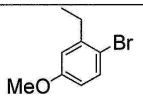
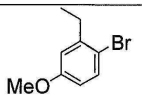
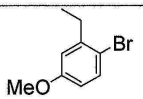
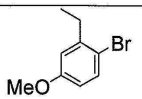
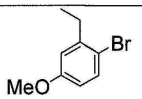
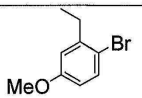
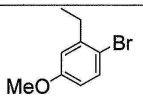
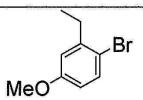
[0064] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 화학식 C의 화합물이 HCl, H_2SO_4, Na, K, Li, H_3PO_4 및 HBF_4로부터 선택된 염으로서 단리된 것인 본원에 기재된 방법을 포괄한다.

[0065] 산과 아민 사이의 아미드 결합 형성을 위한 조건은 예를 들어 비-반응성 용매 중에서 화학식 B (염 파괴 후) 및 C의 화합물을 아미드 커플링 시약 및 임의로 첨가제 및 염기와 반응시키는 것을 포함한다. 아미드 커플링 시약은 예를 들어 EDC, CDI, $SOCl_2$, $(COCl)_2$, DCC, T_3P, DPPA 등을 포함한다. 첨가제는 HOBT, HOAt, HATU, HOPO 및 HOSu, 피리딘, 피리딘 유도체 등을 포함한다. 적절한 염기는 화학식 $N(R^x)_3$을 갖는 아민을 포함하고, 여기서 R^x는 독립적으로 수소, 알킬 및 아릴, 무기 염기, 예컨대 수산화나트륨, 수산화리튬, 수산화칼륨, 탄산나트륨, 중탄산나트륨, 탄산칼륨, 중탄산칼륨, 탄산리튬, 탄산리튬, 탄산세슘, 인산칼륨 등이다. 산 또는 에스테르와 아민 사이의 아미드 결합 형성을 위한 조건은 또한 혼합된 탄산 무수물 중간체를 통해 활성화된 아실을 이용하는 것을 포함한다. 예는 피발로일 클로라이드, 알킬 클로로포르메이트 플러스 염기를 포함한다. 유기 합성에서의 펩티드 커플링 시약의 추가의 예는 당업계에 널리 공지되어 있고 예를 들어 문헌 [Han, et al., Tetrahedron 60 (2004) 2447-2467]에 기재되어 있다.

[0066] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은, 화학식 II의 비스-4급 신코나 알칼로이드 염에서, R^C 및 R^D가 독립적으로 C_{1-6} 알킬 또는 벤질이고, 여기서 알킬 또는 각각의 상기 벤질의 페닐 부분이 R^F로부터 독립적으로 선택된 1 내지 5개의 치환기로 임의로 치환 것인 본원에 기재된 방법을 포괄한다. 한 실시양태에서, 화학식 II의 비스-4급 신코나 알칼로이드 염에서, R^B는 메톡시이다. 또 다른 실시양태에서, 화학식 II의 비스-4급 신코나 알칼로이드 염에서, R^F는 할로겐 및 메톡시로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0067] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 비스-4급 신코나 알칼로이드 염이 하기 화학식의 것인 본원에 기재된 방법을 포괄한다.

[0068] 

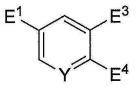
R^B	R^C	R^D	X^-	Y^-
OMe			Br	Br
H			Br	Br
H			I	I
H			Br	I
H			Br	Br
H	Me		Br	I
H			Br	Br
H		알릴	Br	Br

[0069]

[0070] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은,

[0071] 하기 화학식 J의 화합물을

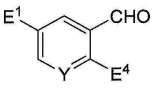
[0072] <화학식 J>

[0073] 

[0074] (상기 식에서, E^3 및 E^4는 독립적으로 이탈 능력을 갖는 관능기임)

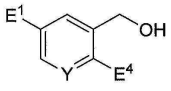
[0075] R^4-Z^1 또는 그의 염 및 HC(O)-N(R^5)$_2$ (여기서, R^4는 C_{1-6}알킬이고, Z^1은 마그네슘 할라이드 또는 리튬이고, 각각의 R^5는 독립적으로 H 또는 C_{1-6}알킬임)와 반응시켜 하기 화학식 K의 화합물을 제공하고,

[0076] <화학식 K>

[0077] 

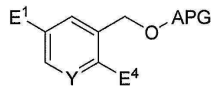
[0078] 화학식 K의 화합물을 제1 환원제와 반응시켜 하기 화학식 L의 화합물을 제공하고,

[0079] <화학식 L>

[0080] 

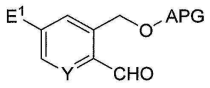
[0081] 알콜 보호기 (APG)를 화학식 L의 화합물에 도입하여 하기 화학식 M의 화합물을 제공하고,

[0082] <화학식 M>

[0083] 

[0084] (i) 일산화탄소 및 수소와의 팔라듐 촉매 반응을 통한 화학식 M의 화합물의 환원성 카르보닐화에 의해 또는 (ii) 화학식 M의 화합물을 R^6-Z^2 또는 그의 염 및 HC(O)-N(R^7)$_2$ (여기서, R^6은 C_{1-6}알킬이고, Z^2는 마그네슘 할라이드 또는 리튬이고, 각각의 R^7은 독립적으로 H 또는 C_{1-6}알킬임)와 반응시켜 하기 화학식 N의 화합물을 제공하고,

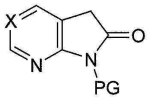
[0085] <화학식 N>

[0086] 

[0087] 이어서 하기 단계 (a) 또는 단계 (b)에 따라 화학식 F의 화합물을 제공하며,

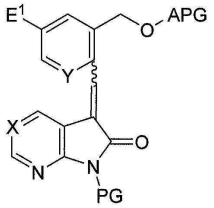
[0088] 단계 (a) - 제2 염기의 존재 하에 화학식 N의 화합물을 하기 화학식 O의 화합물과 커플링시켜

[0089] <화학식 O>

[0090] 

[0091] 하기 화학식 P의 화합물을 제공하고,

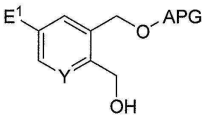
[0092] <화학식 P>

[0093] 

[0094] 화학식 P의 화합물을 제2 환원제와 반응시키고, 이어서 알콜을 탈보호하고 알콜을 적절한 이탈기 E^2로 대체하여 화학식 F의 화합물을 제공하거나, 또는

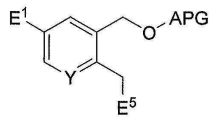
[0095] 단계 (b) - 화학식 N의 화합물에서의 알데히드를 알콜로 환원시켜 하기 화학식 Q의 화합물을 생성하고,

[0096] <화학식 Q>

[0097] 

[0098] 화학식 Q의 화합물을 활성화제와 반응시켜 하기 화학식 R의 화합물을 제공하고,

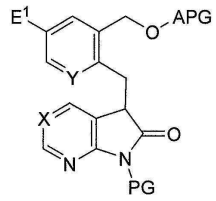
[0099] <화학식 R>

[0100] 

[0101] (상기 식에서, E^5는 독립적으로 이탈 능력을 갖는 관능기임)

[0102] 제2 염기의 존재 하에 화학식 R의 화합물을 화학식 O의 화합물과 커플링시켜 하기 화학식 S의 화합물을 제공하고,

[0103] <화학식 S>

[0104] 

[0105] 이어서 알콜을 탈보호하고 알콜을 적절한 이탈기 E^2로 대체하여 화학식 F의 화합물을 제공함으로써

[0106] 화학식 F의 화합물을 제조하는 것을 추가로 포함하는 본원에 기재된 방법을 포괄한다. 본 발명의 한 실시양태에서, E^3 및 E^4는 독립적으로 할로겐이다.

[0107] 한 실시양태에서, 본 발명은, 화학식 N의 화합물을, 화학식 M의 화합물을 R^6-Z^2 또는 그의 염 및 $HC(O)-N(R^7)_2$ (여기서, R^6은 C_{1-6}알킬이고, Z^2는 마그네슘 할라이드 또는 리튬이고, 각각의 R^7은 독립적으로 H 또는 C_{1-6}알킬임)와 반응시켜 화학식 N의 화합물을 제공함으로써 제조하는 것인 본원에 기재된 방법을 포함한다. 본 발명의 한 실시양태에서, R^4 및 R^6은 독립적으로 이소프로필 또는 s-부틸이고, 임의적인 염 R^4-Z^1 및 R^6-Z^2는 각 경우에 리튬이고, 각각의 R^5 및 R^7은 메틸이다.

[0108] 용어 "알콜 보호기"는 반응에서 알콜/산소 원자를 시약 또는 화학적 환경으로부터 보호하는 치환기를 의미한다. 알콜 보호기는 당업계에 널리 공지되어 있다. 알콜 보호기의 도입 및 제거는 통상적으로 당업계에 널리 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌 [Philip J. Koceienski, Protecting Groups, 3rd Ed., Thieme, 2005] 참조. 한 실시양태에서, 본 발명은 APG가 THP, 테트라히드로푸릴, SEM, MOM, BOM, TMS, TES, TBDMS, TIPS, 및 할로겐, 메틸, 메톡시 및 니트로로부터 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 치환기로 임의로 치환된 벤질로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 본원에 기재된 방법을 포괄한다.

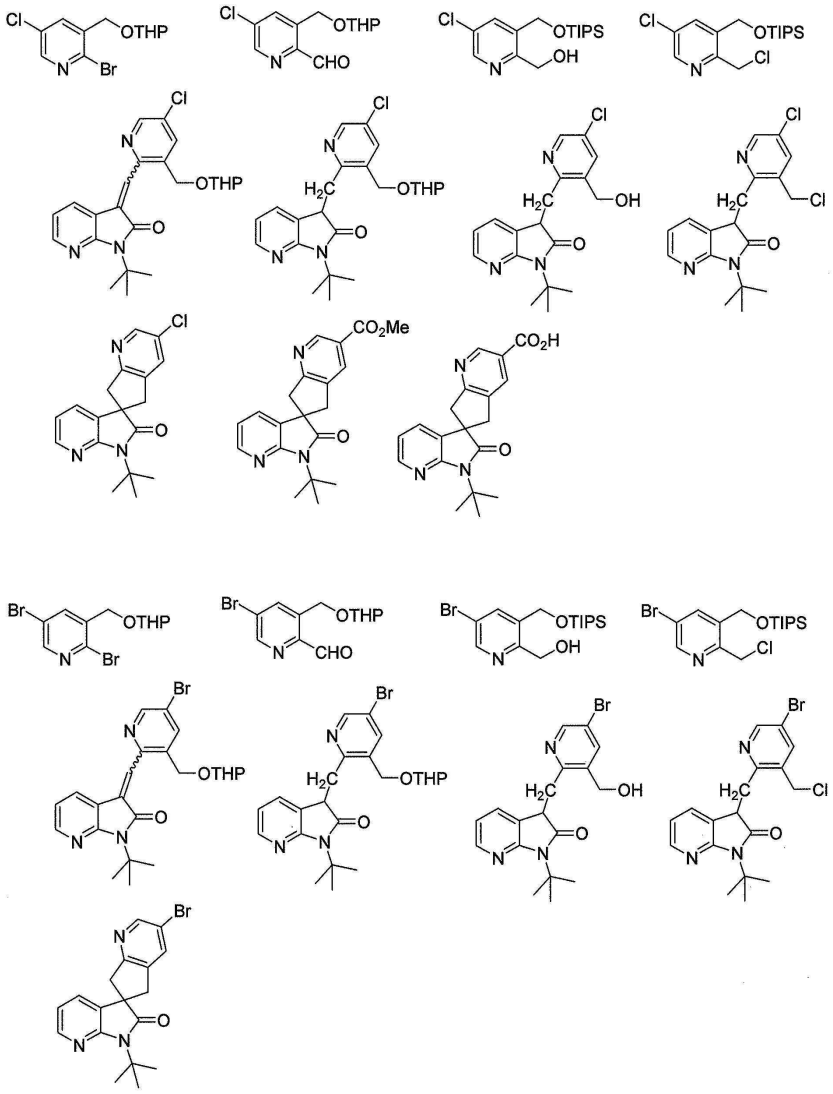
[0109] 용어 "환원제"는 수소를 전달할 수 있는 작용제를 의미하고, 당업자에게 널리 공지되어 있다. 한 실시양태에서, 본 발명은 제1 환원제 및 제2 환원제가 독립적으로 H_2, HCO_2H, HCO_2NH_4, $NaBH_4$, $LiBH_4$ 및 $LiAlH_4$로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 본원에 기재된 방법을 포괄한다.

[0110] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 제2 염기가 DBU, N,N-디이소프로필에틸아민, TEA, 모르폴린 및 N-메틸모르폴린으로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 본원에 기재된 방법을 포괄한다.

[0111] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 제2 염기가 무기 염기인 본원에 기재된 방법을 포괄한다.

[0112] 알콜의 적절한 이탈기 E^2로의 대체는 당업자에게 널리 공지된 기술에 의해 달성될 수 있다. 예를 들어, 알콜은 티오닐 클로라이드와의 반응에 의해 클로라이드로 대체될 수 있다. 용어 "활성화제"는 알콜을 이탈기 예를 들어 메실 클로라이드, 토실 클로라이드, $(PhO)_2POCl$, 옥살릴 클로라이드, $SOCl_2$ 및 포스겐으로 대체할 수 있는 작용제를 의미한다.

[0113] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 하기 군으로부터 선택된 화합물



[0114]

[0115] 또는 상기 중 임의의 것의 염을 포함한다.

[0116] 본원에서 사용된 용어 "알킬"은 명시된 범위 내의 탄소 원자 수를 갖는 1가 직쇄 또는 분지쇄, 포화 지방족 탄화수소 라디칼을 지칭한다. 따라서, 예를 들어, "C_{1-6} 알킬" (또는 "C_1-C_6 알킬")은 헥실 알킬 및 펜틸 알킬 이성질체 뿐만 아니라 n-, 이소-, sec- 및 t-부틸, n- 및 이소-프로필, 에틸 및 메틸 중 임의의 것을 지칭한다. 또 다른 예로서, "C_{1-4} 알킬"은 n-, 이소-, sec- 및 t-부틸, n- 및 이소프로필, 에틸 및 메틸을 지칭한다. 또 다른 예로서, "C_{1-3} 알킬"은 n-프로필, 이소프로필, 에틸 및 메틸을 지칭한다.

[0117] 용어 "아실"은 알킬이 상기 정의된 바와 같은 -C(O)-알킬을 의미한다.

[0118] 용어 "알콕시"는 알킬이 상기 정의된 바와 같은 -O-알킬을 의미한다.

[0119] 용어 "알케닐"은 명시된 범위 내의 탄소 원자 수 및 1개 이상의 탄소-탄소 이중 결합, 및 다르게는 탄소-탄소 단일 결합을 갖는 1가 직쇄 또는 분지쇄, 포화 지방족 탄화수소 라디칼을 지칭한다. 알케닐은 예를 들어 에테닐, 1-메틸에티닐, 2-프로페닐, 2-부테닐, 1,4-펜타디에닐 등을 포함한다.

[0120] 용어 "알키닐"은 명시된 범위 내의 탄소 원자 수 및 1개 이상의 탄소-탄소 삼중 결합, 및 다르게는 탄소-탄소 이중 또는 단일 결합을 갖는 1가 직쇄 또는 분지쇄, 포화 지방족 탄화수소 라디칼을 지칭한다. 알키닐은 예를 들어 2-프로피닐, 1-부티닐, 3-헥센-5-이닐 등을 포함한다.

[0121] 용어 "시클로알킬"은 명시된 범위 내의 탄소 원자수를 갖는 알칸의 임의의 모노시클릭 고리를 지칭한다. 따라

서, 예를 들어, "C_{3-6} 시클로알킬" (또는 "C_3-C_6 시클로알킬")은 시클로프로필, 시클로부틸, 시클로펜틸 및 시클로헥실을 지칭하고, "C_{3-5} 시클로알킬"은 시클로프로필, 시클로부틸 및 시클로펜틸을 지칭한다.

[0122] 용어 "할로겐" (또는 "할로")은 플루오린, 염소, 브로민 및 아이오딘 (대안적으로 플루오로, 클로로, 브로모, 및 아이오도로 지칭됨)을 지칭한다.

[0123] 용어 "아릴"은 페닐, 나프틸 및 안트라닐을 지칭한다.

[0124] 용어 "헤테로아릴"은 (i) N, O 및 S로부터 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 헤테로원자를 함유하는 5-또는 6-원 헤테로방향족 고리, 또는 (ii) 인돌릴, 퀴놀리닐, 이소퀴놀리닐 및 퀴녹살리닐로부터 선택된 헤테로비시클릭 고리를 지칭한다. 적합한 5- 및 6-원 헤테로방향족 고리는, 예를 들어, 피리딜 (또한 피리디닐로 지칭됨), 피롤릴, 피라지닐, 피리미디닐, 피리다지닐, 트리아지닐, 티에닐, 푸라닐, 이미다졸릴, 피라졸릴, 트리아졸릴, 옥사졸릴, 이소옥사졸릴, 옥사디아졸릴, 옥사트리아졸릴, 티아졸릴, 이소티아졸릴 및 티아디아졸릴을 포함한다. 특히 관심있는 헤테로아릴은 피롤릴, 이미다졸릴, 피리딜, 피라지닐, 퀴놀리닐 (또는 퀴놀릴), 이소퀴놀리닐 (또는 이소퀴놀릴) 및 퀴녹살리닐이다.

[0125] 본 발명의 범위 내에서 4- 내지 7-원, 포화 헤테로시클릭 고리의 예는, 예를 들어, 아제티디닐, 피페리디닐, 모르폴리닐, 티오모르폴리닐, 티아졸리디닐, 이소티아졸리디닐, 옥사졸리디닐, 이속사졸리디닐, 피롤리디닐, 이미다졸리디닐, 피페라지닐, 테트라히드로푸라닐, 테트라히드로티에닐, 피라졸리디닐, 헥사히드로피리미디닐, 티아지나닐, 티아제파닐, 아제파닐, 디아제파닐, 테트라히드로피라닐, 테트라히드로티오피라닐 및 디옥사닐을 포함한다. 본 발명의 범위 내에서 4- 내지 7-원, 불포화 헤테로시클릭 고리의 예 (HetB 참조)는 단일 결합이 이중 결합으로 대체된 (예를 들어, 탄소-탄소 단일 결합이 탄소-탄소 이중 결합으로 대체됨) 상기 문장에 열거된 포화 헤테로시클릭 고리에 상응하는 단일-불포화 헤테로시클릭 고리를 포함한다.

[0126] 상기 열거된 특정한 고리가 본 발명에 사용될 수 있는 고리에 대한 제한은 아닌 것으로 이해된다. 이들 고리는 단지 대표적인 것이다.

[0127] 특정한 문맥에서 반대로 명백하게 언급되지 않는 한, 본원에 기재된 임의의 다양한 시클릭 고리 및 고리계는 임의의 고리 원자 (즉 임의의 탄소 원자 또는 임의의 헤테로원자)에서 화합물의 나머지에 결합될 수 있으며, 단 안정한 화합물이 생성되어야 한다.

[0128] 반대로 명백하게 언급되지 않는 한, 본원에 언급된 모든 범위는 포괄적이다. 예를 들어, "1 내지 4개의 헤테로원자"를 함유하는 것으로 기재된 헤테로방향족 고리는 고리가 1, 2, 3 또는 4개의 헤테로원자를 함유할 수 있다는 것을 의미한다. 또한 본원에서 언급된 임의의 범위는 그의 범위 내의 모든 하위-범위의 범주를 포함하는 것으로 이해된다. 따라서, 예를 들어 "1 내지 4개의 헤테로원자"를 함유하는 것으로 기재된 헤테로시클릭 고리는 그의 측면으로서 2 내지 4개의 헤테로원자, 3 또는 4개의 헤테로원자, 1 내지 3개의 헤테로원자, 2 또는 3개의 헤테로원자, 1 또는 2개의 헤테로원자, 1개의 헤테로원자, 2개의 헤테로원자, 3개의 헤테로원자 및 4개의 헤테로원자를 함유하는 헤테로시클릭 고리를 포함하는 것으로 의도된다. 또 다른 예로서, "1 내지 4개의 치환기"로 임의로 치환된 것으로 기재된 아릴 또는 헤테로아릴은 그의 측면으로서 1 내지 4개의 치환기, 2 내지 4개의 치환기, 3 내지 4개의 치환기, 4개의 치환기, 1 내지 3개의 치환기, 2 내지 3개의 치환기, 3개의 치환기, 1 내지 2개의 치환기, 2개의 치환기 및 1개의 치환기로 치환된 아릴 또는 헤테로아릴을 포함하는 것으로 의도된다.

[0129] 임의의 가변기가 임의의 구성성분에서 또는 본 발명의 화합물을 도시하고 기재하는 임의의 화학식에서 1회 초과로 발생하는 경우에, 각 경우에 대한 그의 정의는 매번 다른 경우에서의 그의 정의와 독립적이다. 또한, 치환기 및/또는 가변기의 조합은 이러한 조합이 안정한 화합물을 생성하는 경우에만 허용된다.

[0130] 반대로 명백하게 언급되지 않는 한, 명명된 치환기에 의한 치환은 고리 (예를 들어, 시클로알킬, 아릴 또는 헤테로아릴) 내 임의의 원자 상에서 허용되며, 단 이러한 고리 치환이 화학적으로 허용되며 안정한 화합물이 생성되어야 한다.

[0131] 본 발명의 화합물은 키랄 중심을 함유할 수 있고, 치환기 및 치환기 패턴의 선택의 결과로서, 추가의 키랄 중심을 함유할 수 있으며, 따라서 입체이성질체의 혼합물로서, 또는 개별 부분입체이성질체, 또는 거울상이성질체로서 발생할 수 있다. 이들 화합물의 모든 이성질체 형태는 개별적으로든 또는 혼합물이든 본 발명의 범위에 포함된다.

[0132] 치환기 범위 및 치환기 패턴이 본 발명의 화합물 중의 호변이성질체 (예를 들어, 케토-엔올 호변이성질체)의 존재를 제공하는 정도까지, 이들 화합물의 모든 호변이성질체 형태는 개별적으로든 또는 혼합물로든 본 발명의 범

위에 포함된다. 헤테로방향족 고리의 탄소 원자 상에 히드록시 치환기를 갖는 본 발명의 화합물은 단지 히드록시가 존재하는 화합물, 단지 호변이성질체의 케토 형태 (즉, 옥소 치환기)가 존재하는 화합물, 및 케토 및 엔올 형태가 둘 다 존재하는 화합물을 포함하는 것으로 이해된다.

[0133] 약어

[0134] 하기 약어는 본 명세서 전반에 걸쳐 사용된다.

[0135] Bs = 벤질술포닐

[0136] Boc = tert-부톡시카르보닐

[0137] BOM = 벤질옥시메틸

[0138] BOP = (벤조트리아졸-1-일옥시)-트리스(디메틸아미노)포스포늄 헥사플루오로포스페이트

[0139] Cbz = 벤질옥시카르보닐

[0140] CDI = 1,1'-카르보닐디이미다졸

[0141] CPME = 시클로펜틸 메틸 에테르

[0142] DBU = 1,8-디아자비시클로[5.4.0]운데스-7-엔

[0143] DCC = N,N'-디시클로헥실카르보디이미드

[0144] DCM = 디클로로메탄

[0145] DCPE = 1,3-비스(디시클로헥실포스피노)에탄

[0146] DCPP = 1,3-비스(디시클로헥실포스피노)프로판

[0147] DHP = 3,4-디히드로-2H-피란

[0148] DMAc = N,N-디메틸아세트아미드

[0149] DMF = N,N-디메틸포름아미드

[0150] DMPU = 1,3-디메틸-3,4,5,6-테트라히드로-2(1H)-피리미디논

[0151] DMSO = 디메틸 술폭시드

[0152] DPPA = 디페닐포스포릴 아지드

[0153] EDC = N-(3-디메틸아미노프로필)-N'-에틸카르보디이미드 히드로클로라이드

[0154] HATU = O-(7-아자벤조트리아졸-1-일)-N,N,N'N'-테트라메틸우로늄 HCl

[0155] HCl = 염산

[0156] HOAt = 1-히드록시-7-아자벤조트리아졸

[0157] HOPO = 2-히드록시피리딘-N-옥시드

[0158] HOBT = 1-히드록시벤조트리아졸

[0159] HOSu = N-히드록시숙신이미드

[0160] IPA 또는 iPA = 이소프로필 알콜

[0161] IPAc = 이소프로필 아세테이트

[0162] LCAP = 액체 크로마토그래피 면적 퍼센트

[0163] LiHMDS = 리튬 비스(트리메틸실릴)아미드

[0164] Ms = 메탄술포닐

[0165] MOM = 메톡시메틸

[0166] MTBE = 메틸 tert-부틸 에테르

[0167] NMP = N-메틸-2-피롤리돈

[0168] Ph = 페닐

[0169] PTC = 상 이동 촉매

[0170] RBF = 둥근 바닥 플라스크

[0171] RT = 실온

[0172] SEM = 2-(트리메틸실릴)에톡시메틸

[0173] SFC = 초임계 유체 크로마토그래피

[0174] TBDMS = tert-부틸디메틸실릴

[0175] TEA = 트리에틸아민

[0176] TES = 트리에틸실릴

[0177] THF = 테트라히드로푸란

[0178] THP = 테트라히드로피라닐

[0179] TIPS = 트리이소프로필실릴

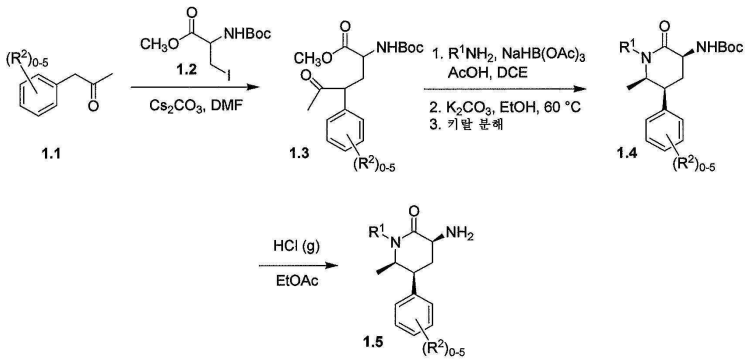
[0180] TMS = 트리메틸실릴

[0181] Ts = 톨루엔술포닐

[0182] 화학식 I의 화합물을 합성하기 위한 이전 방법은 하기 기재된 반응식 1 내지 15에 제시된다.

[0183] 반응식 1은 본 발명의 화합물을 제조하는데 사용될 수 있는 유형 1.5의 3-아미노피페리디논 중간체로의 경로를 예시한다. 아릴 아세톤 1.1을 염기성 조건 하에 아이오도알라닌 유도체 1.2를 사용하여 알킬화시켜 케토 에스테르 1.3을 제공할 수 있다. 환원성 아미노화에 이어서 고리화 및 에피머화는 주로 시스-치환된 락탐 1.4를 라세미 혼합물로서 제공한다. 예를 들어, 정상 액체 크로마토그래피를 사용하는 키랄 분해 및 EtOAc 중 HCl을 사용하는 Boc 보호기의 제거는 3-아미노피페리디논 1.5를 히드로클로라이드 염으로서 제공한다.

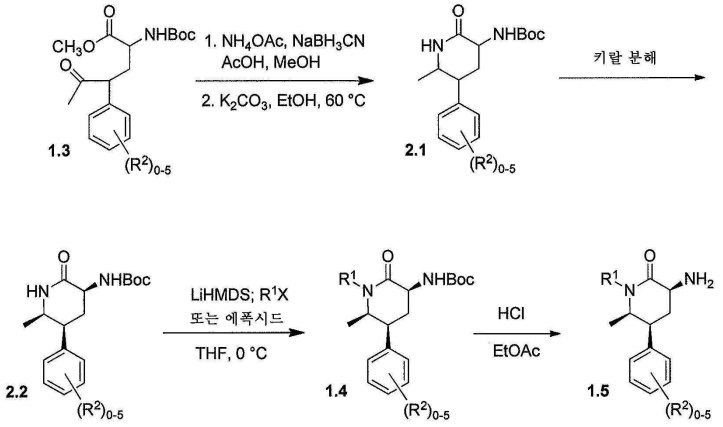
[0184] <반응식 1>



[0185]

[0186] 유형 1.5의 3-아미노피페리디논 중간체로의 대안적 순서는 반응식 2에 제시된다. 암모니아를 사용하는 케토 에스테르 1.3의 환원성 아미노화에 이어서 에피머화는 2.1을 대부분 시스-치환된 라세미 혼합물로서 제공한다. 거울상이성질체의 키랄 분해는 2.2를 제공한다. 예를 들어, 염기로서의 LiHMDS, 및 알킬 할라이드 또는 에폭시드를 사용하는 N-알킬화는 1.4를 제공한다. 이어서, HCl을 사용하는 Boc 보호기의 제거는 1.5를 히드로클로라이드 염으로서 제공한다.

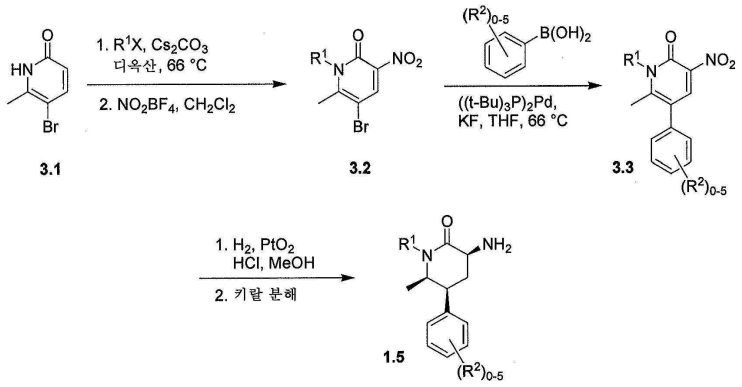
[0187] <반응식 2>



[0188]

[0189] 유형 1.5의 3-아미노피페리디논 중간체로의 제3 방법은 반응식 3에 제시된다. 염기로서의 탄산세슘, 및 알킬 할라이드를 사용하는 5-브로모-6-메틸피리딘-2(1H)-온 (3.1)의 N-알킬화에 이어서 니트로화는 3.2를 제공한다. 이어서, 아릴 보론산을 사용하는 팔라듐-촉매 가교-커플링은 3.3을 제공한다. 산성 조건 하에 산화백금을 사용하는 수소화 및 대부분 시스-치환된 라세미 생성물 혼합물의 키랄 분해는 1.5를 단일 거울상이성질체로서 제공한다.

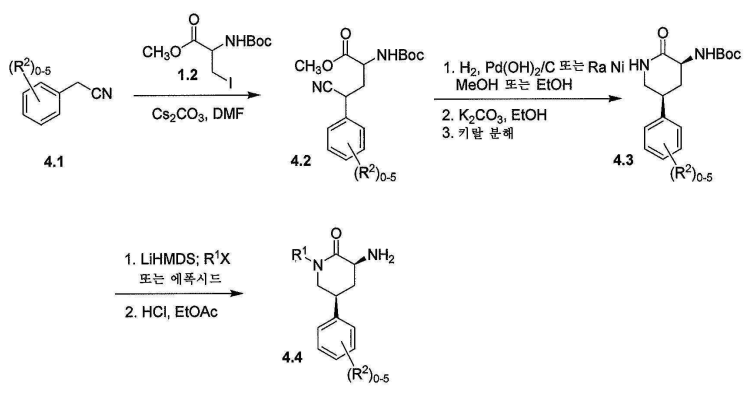
[0190] <반응식 3>



[0191]

[0192] 유형 4.4의 3-아미노피페리디논 중간체로의 합성 경로는 반응식 4에 제시된다. 아릴 아세토니트릴 4.1을 염기성 조건 하에 아이오도알라닌 유도체 1.2를 사용하여 알킬화시켜 시아노 에스테르 4.2를 제공할 수 있다. 수소 및 탄소상 수산화팔라듐 또는 라니(Raney) 니켈을 사용하는 환원성 고리화, 에피머화 및 키랄 분해는 시스 락탐 4.3을 단일 거울상이성질체로서 제공한다. 이어서, N-알킬화 및 Boc 보호기의 제거는 4.4를 히드로클로라이드 염으로서 제공한다.

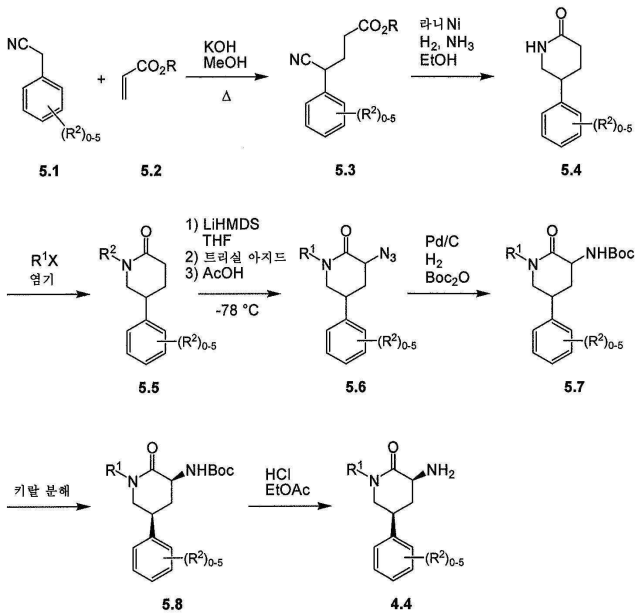
[0193] <반응식 4>



[0194]

[0195] 반응식 5는 유형 4.4의 3-아미노피페리디논 중간체로의 대안적 경로를 예시한다. 아릴아세토니트릴 5.1을 승온에서 아크릴레이트 5.2와 응축시켜 4-시아노부타노에이트 에스테르 5.3을 제공할 수 있다. 라니 니켈 촉매 및 암모니아의 에탄올성 용액을 사용하는 니트릴 5.3의 수소화는 상응하는 아민 생성물을 제공하며, 이는 전형적으로 계내에서 고리화되어 피페리디논 5.4를 제공한다. 락탐 5.4의 N-알킬화는 유기 합성의 당업자에게 공지된 다양한 방법에 의해 달성될 수 있고, 조건의 정확한 선택은 알킬화제, R^1X의 특성에 의해 영향을 받는다. 생성된 치환된 락탐 5.5의 친전자성 아지드화는 에반스(Evans) 및 동료들에 의해 기재된 유사한 방법론 (문헌 [Evans et al. (1990) J. Am. Chem. Soc. 112, 4011-4030])을 사용하여 달성될 수 있고, 아지드 5.6을 부분입체이성질체의 혼합물로서 제공하며, 이는 크로마토그래피에 의해 분리될 수 있다. 아지드 5.6의 목적하는 시스 부분입체이성질체를 디-tert-부틸 디카르보네이트의 존재 하에 촉매 수소화에 의해 환원시켜 상응하는 Boc-보호된 아민 5.7을 제공하고, 키랄 HPLC 또는 SFC를 사용하는 거울상이성질체의 분리는 (3S,5S)-이성질체 5.8을 유도한다. 최종적으로, 표준 탈보호는 목적하는 3-아미노피페리디논 중간체 4.4를 히드로클로라이드 염으로서 제공한다.

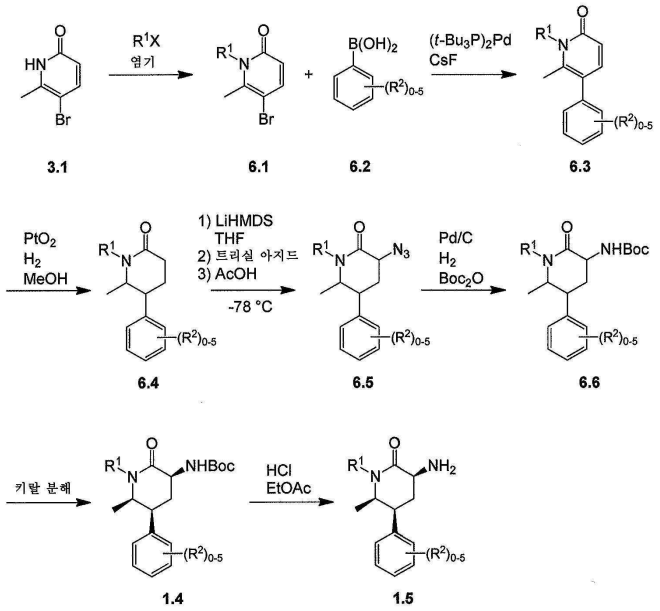
[0196] <반응식 5>



[0197]

[0198] 특히 3-아미노-6-메틸-5-아릴피페리딘-2-온, 예컨대 1.5를 제조하기에 유용한, 관심 3-아미노피페리디논 중간체로의 또 다른 접근법이 반응식 6에 개략된다. 피리딘-2(1H)-온 3.1은 염기성 조건 하에 적합한 친전자체 (R^1X)로의 처리에 의해 N-치환된 피리디논 6.1로 전환될 수 있다. 이어서 피리디논 6.1은 보론산 6.2와의 스즈키-미야우라(Suzuki-Miyaura) 커플링에 적용될 수 있고, 생성된 5-아릴피리디논 6.3은, 예를 들어, 백금(IV) 옥시드 촉매를 사용하여 수소화되어 상응하는 5-아릴피페리디논 6.4를 제공하며, 이는 통상적으로 시스 이성질체로서 우세하게 수득된다. 피페리디논 6.4의 추가의 정교화는 반응식 5에 기재된 것과 유사한 방법론을 이용하여 달성될 수 있다. 특히, 친전자성 아지드화에 이어서 원-포트 환원 및 Boc 보호가 카르바메이트 6.6을 유도하고, 목적하는 거울상이성질체는 키랄 크로마토그래피를 사용하여 수득될 수 있다. 일부 경우에서, 아지드 6.5의 목적하는 부분입체이성질체는 조 생성물의 실리카 겔 크로마토그래피 후에 (3S,5S,6R)- 및 (3R,5R,6S)-이성질체의 라세미 혼합물로서 단리될 수 있고, 이 혼합물은 반응식 6에 개략된 바와 같이 정교화될 수 있다. 다른 경우에서, 아지드 6.5의 부분입체이성질체의 혼합물을 상응하는 카르바메이트 6.6이 되게 하는 것이 유리할 수 있다. 카르바메이트 6.6 부분입체이성질체의 혼합물은 염기성 조건, 예컨대 EtOH 중 탄산칼륨 하에 에피머화되어, 목적하는 (3S,5S,6R)- 및 (3R,5R,6S)-이성질체가 상당히 풍부화된 혼합물을 제공할 수 있고, 추가의 정제를 이용하여 본원에 개략된 바와 같은 관심 거울상이성질체를 수득할 수 있다.

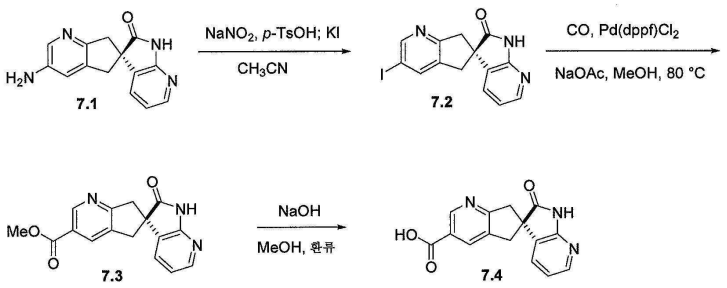
[0199] <반응식 6>



[0200]

[0201] 아자옥스인돌 피리딘 산 중간체 7.4로의 합성 경로는 반응식 7에 제시된다. 제조가 WO 2008/020902에 기재되어 있는 아미노피리딘 7.1의 디아조화에 이어서 $NaNO_2$의 존재 하에서 아이오딘화칼륨으로의 처리는 아이오다이드 7.2를 제공한다. 이어서 메탄올 중 팔라듐-촉매 카르보닐화는 에스테르 7.3을 제공하고, 이를 수산화나트륨으로 비누화시켜 7.4를 제공한다.

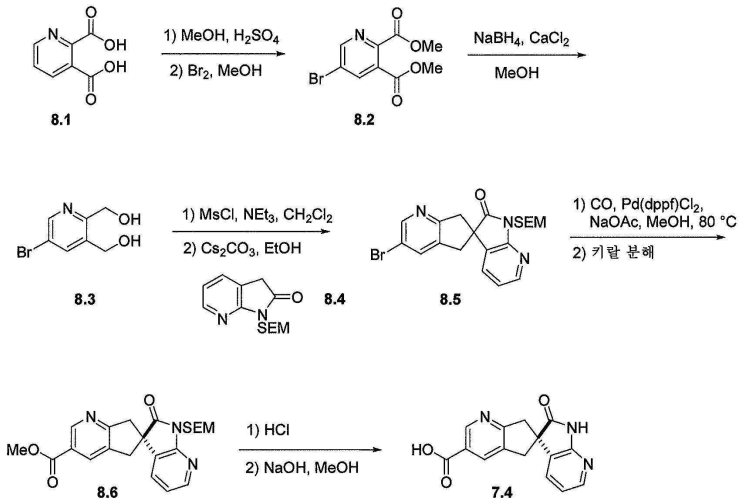
[0202] <반응식 7>



[0203]

[0204] 아자옥스인돌 피리딘 산 중간체 7.4의 대안적 합성은 반응식 8에 제시된다. 이산 8.1의 에스테르화에 이어서 브로민화는 8.2를 제공한다. 이어서, 수소화붕소나트륨을 사용하는 환원은 디올 8.3을 제공한다. 8.3으로부터 생성된 비스-메실레이트를 사용하는 보호된 아자옥스인돌 8.4의 알킬화는 스피로사이클 8.5를 제공한다. 메탄올 중 팔라듐-촉매 카르보닐화에 이어서 키랄 분해는 에스테르 8.6을 단일 거울상이성질체로서 제공한다. 산성 조건 하에 SEM 보호기의 제거 및 수산화나트륨을 사용하는 에스테르의 가수분해는 7.4를 제공한다.

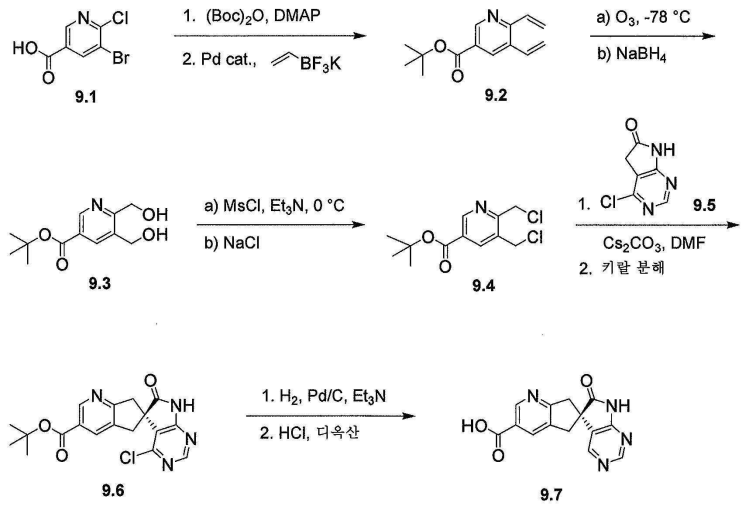
[0205] <반응식 8>



[0206]

[0207] 디아자옥스인돌 카르복실산 중간체 9.7로의 합성 경로가 반응식 9에 제시된다. 산 9.1의 에스테르화에 이어서 팔라듐 촉매작용 하의 비닐화는 디비닐 피리딘 9.2를 제공한다. 이어서, 보로히드라이드 환원성 후처리와 함께 가오존분해는 디올 9.3을 생성한다. 메실화 및 염화나트륨으로의 처리 후에, 생성된 디클로로 중간체 9.4를 염기성 조건 하에 옥스인돌 9.5로 알킬화시킨 다음, 거울상이성질체를 키랄 분해한 후 스피로사이클 9.6을 제공할 수 있다. 완충 수소화 조건 하의 탈염소화 및 산성 탈보호는 산 9.7을 제공한다.

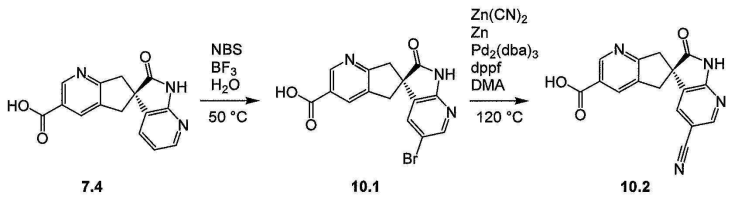
[0208] <반응식 9>



[0209]

[0210] 본원에 기재된 중간체의 유용한 유도체는 널리 선례가 있는 방법론을 사용하여 제조될 수 있다. 하나의 이러한 예는 반응식 10에 예시되어 있고, 여기서 아자옥스인돌 중간체 7.4는 본 발명의 화합물을 제조하는데 사용될 수 있는 상응하는 니트릴 유도체 10.2로 전환될 수 있다. 삼플루오린화붕소 2수화물 중에서 N-브로모숙신이미드를 사용하는 7.4의 브로민화는 브로모 유도체 10.1을 제공하며, 이는 제시된 바와 같이 시안화아연 및 팔라듐 촉매를 사용하여 목적하는 니트릴 10.2로 전환될 수 있다.

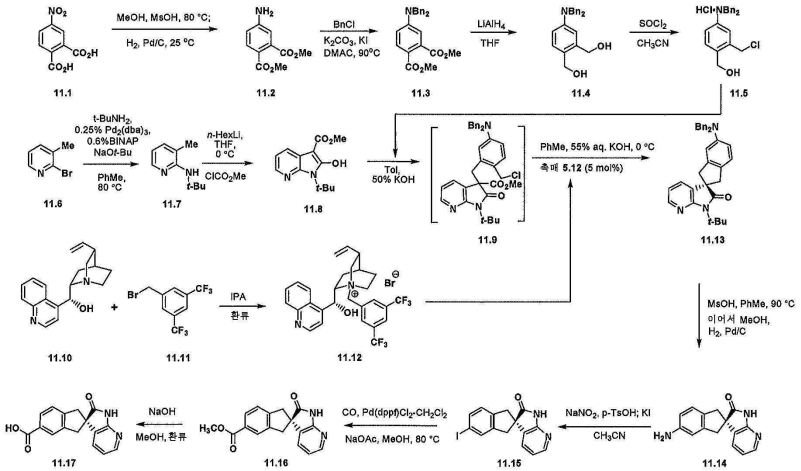
[0211] <반응식 10>



[0212]

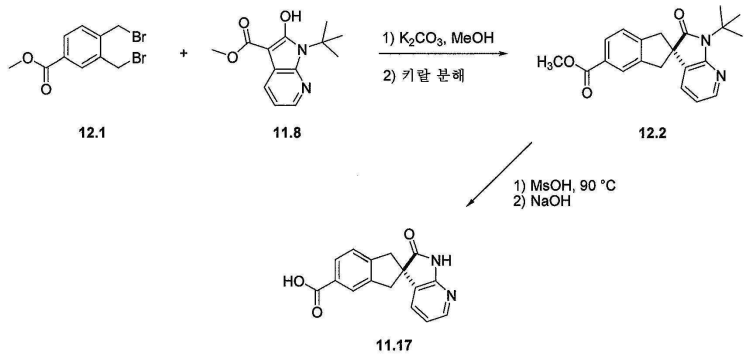
[0213] 아자옥스인돌 인단 산 중간체 11.17로의 합성 경로는 반응식 11에 제시된다. 이산 11.1의 에스테르화에 이어서 탄소상 팔라듐을 촉매로 사용하는 수소화는 아닐린 11.2를 제공한다. 가열 하에 염기성 조건 하에서의 디벤질화는 11.3을 제공하고, $LiAlH_4$를 사용하는 디에스테르의 환원은 디올 11.4를 제공한다. 티오닐 클로라이드를 사용하는 염소화는 벤질 클로라이드 11.5를 제공한다. tert-부틸아민을 사용하는 브로마이드 11.6의 팔라듐-촉매 아미노화는 11.7을 제공한다. n-헥실리튬 및 메틸 클로로포르메이트 (2x)로의 순차적 처리는 아자옥스인돌 에스테르 11.8을 제공한다. 염기성 조건 하에 신코니딘-유도된 촉매 11.12 (신코니딘 11.10과 벤질 브로마이드 11.11의 알킬화를 통해 제조됨)의 존재 하에 벤질클로라이드 11.5와의 알킬화는 스피로사이클 11.13을 제공한다. 가열 하에 메탄술폰산을 사용하는 아자옥스인돌의 탈보호 및 표준 수소화 조건 하의 탈벤질화는 아닐린 11.14를 제공한다. 디아조화에 이어서 아이오딘화칼륨으로의 처리는 아이오다이드 11.15를 제공한다. 이어서 메탄올 중 팔라듐-촉매 카르보닐화는 에스테르 11.16을 제공하며, 이는 수산화나트륨과의 비누화에 의해 11.17을 제공할 수 있다.

[0214] <반응식 11>

[0215] 

[0216] 아자옥스인돌 피리딘 산 중간체 11.17의 대안적 합성은 반응식 12에 제시된다. 디벤질 브로마이드 12.1을 사용하는 아자옥스인돌 에스테르 11.8의 알킬화에 이어서 거울상이성질체의 키랄 분해는 에스테르 12.2를 제공한다. 가열 하에 메탄술폰산을 사용하는 아자옥스인돌의 순차적 탈보호 및 에스테르의 가수분해는 11.17을 제공한다.

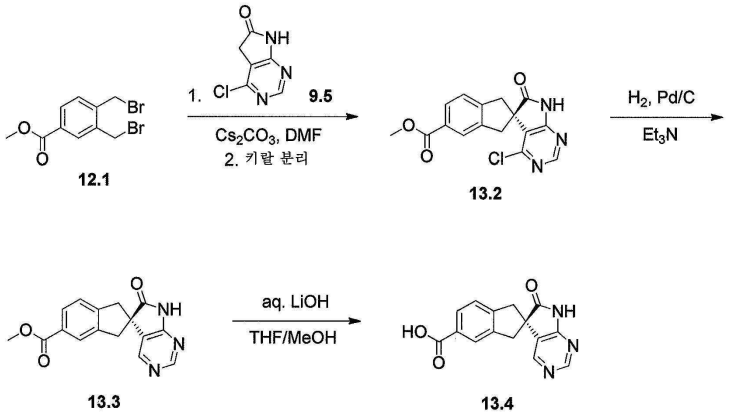
[0217] <반응식 12>



[0218]

[0219] 디아자옥스인돌 카르복실산 중간체 13.4로의 합성 경로는 반응식 13에 제시된다. 염기성 조건 하에 옥스인돌 9.5를 사용하는 디브로마이드 12.1의 알킬화 및 후속 키랄 분해는 스피로사이클 13.2를 제공한다. 이어서 완충 수소화 조건 하의 탈염소화 및 에스테르 가수분해는 13.4를 제공한다.

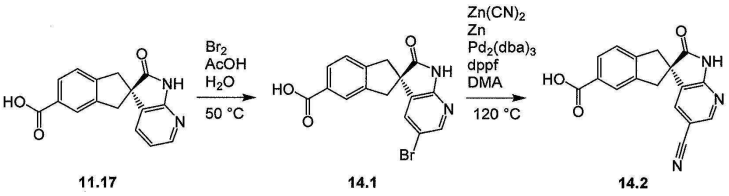
[0220] <반응식 13>



[0221]

[0222] 본원에 기재된 중간체의 유용한 유도체는 널리 선례가 있는 방법론을 사용하여 제조될 수 있다. 하나의 이러한 예는 반응식 14에 예시되어 있고, 여기서 아자옥스인돌 중간체 11.17은 본 발명의 화합물을 제조하는데 사용될 수 있는 상응하는 니트릴 유도체 14.2로 전환될 수 있다. 아세트산 중 브로민으로의 11.17의 처리는 브로모 유도체 14.1을 제공하며, 이는 제시된 바와 같이 시안화아연 및 팔라듐 촉매를 사용하여 목적하는 니트릴 14.2로 전환될 수 있다.

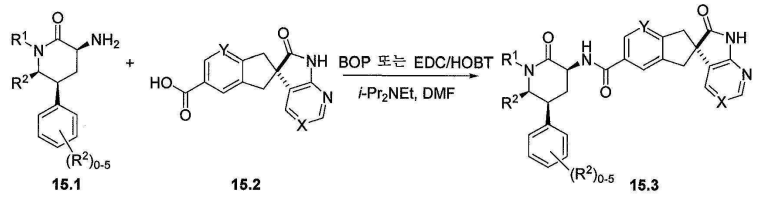
[0223] <반응식 14>



[0224]

[0225] 반응식 15는 3-아미노피페리디논 중간체, 예컨대 15.1 및 카르복실산 중간체 15.2의 커플링을 통해, 이 경우에 아미드 15.3을 생성하는데 사용될 수 있는 조건을 예시한다. 이들 표준 커플링 조건은 본 발명의 화합물을 제조하는데 사용되는 방법을 대표한다.

[0226] <반응식 15>

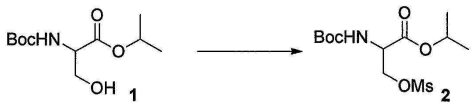


[0227]

[0228] 락탐 중간체를 합성하기 위한 이전 방법은 하나 이상의 결점을 겪었다: 라세미 혼합물은 키랄-HPLC에 의해 분리되고, 부분입체이성질체 혼합물의 분리는 결정화 및/또는 값비싼 PtO_2의 사용에 의해 수행되었다. 본 발명의 방법은 트랜스아미나제 유도된 동적 동역학적 분해를 이용하여 C5 및 C6 위치에서 높은 부분입체선택성을 제공한다. N-모노-트리플루오로에틸화가 발견 및 개발되었다. 아민의 알파 위치에서의 시스 및 트랜스 이성질체는 아릴알데히드 유도체의 존재 하에 결정화에 의해 성공적으로 제어되었다. 전반적으로, 합성 단계는 보다 짧아지고, 실용성 및 효율성 및 수율은 극적으로 개선되었다.

[0229] 실시예 1

[0230] 이소프로필 2-(tert-부톡시카르보닐아미노)-3-(메틸술포닐옥시)프로파노에이트 (2)

[0231] 

[0232] 디클로로메탄 (100 mL) 중 N-tert-부틸-L-세린 이소프로필 에스테르 1 (12 g, 48.5 mmol)* 및 메탄술포닐 클로라이드 (4.0 ml)의 용액에 트리에틸아민 (7.2 ml)을 빙조 하에 천천히 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반한 다음, 1 N HCl (40 mL)을 교반하면서 첨가하였다. 유기 층을 분리하고, 1 N HCl (40 ml) 및 염수 (40 ml)로 세척하고, $MgSO_4$ 상에서 건조시키고, 진공 하에 농축시켜 2 (14.5 g, 91.9 %)를 고체로서 수득하였다.

[0233] ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz): δ 5.45 (s, 넓음, 1H), 5.13 (m, 1H), 4.62-4.47 (m, 3 H), 3.04 (s, 3 H), 1.48 (s, 9 H), 1.31 (d, J = 6.4 Hz, 6 H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): δ 168.0, 135.1, 80.6, 70.5, 69.1, 53.3, 37.4, 28.3, 21.7, 21.6; HRMS m/z 계산값 $C_{12}H_{23}NO_7S$ 348.1087 (M+Na); 측정값 348.1097

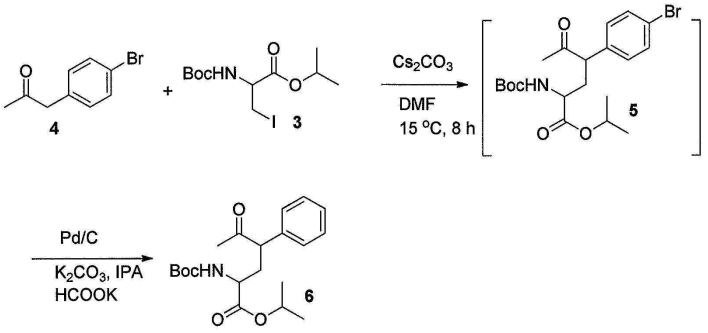
[0234] * 1의 제조는 문헌 [J. Med. Chem., 2010, 53, 6825-6837 6825]에 보고됨.

[0235] 이소프로필 2-(tert-부톡시카르보닐아미노)-3-아이오도프로파노에이트 (3)

[0236] 

[0237] 아세톤 (3.14 L) 중 2 (392 g)의 용액에, 아이오딘화나트륨 (542 g)을 첨가하였다. 반응 온도가 17℃로부터 29℃로 상승하였다. 반응 혼합물을 주말에 걸쳐 실온으로 유지하였다. 혼합물을 여과하고, MTBE로 세척하였다. 여과물 및 세척물을 합하고, 농축시켰다. 잔류물을 MTBE 및 물 소량의 티오황산나트륨으로 처리하였다. 유기 층을 물로 세척하고, 오일로 농축시켰다. 소량의 시드를 함유하는 오일을 물 (2 L) 및 DMF (300 ml)의 혼합물에 5℃에서 천천히 충전하였다. 결정을 여과하고, 건조시켜 3 (400 g, 93% 수율)을 수득하였다.

[0238] 이소프로필 4-(4-브로모페닐)-2-(tert-부톡시카르보닐아미노)-5-옥소헥사노에이트 (5) 및 이소프로필 4-페닐-2-(tert-부톡시카르보닐아미노)-5-옥소헥사노에이트 (6)

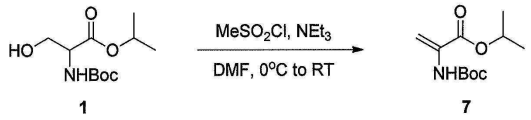
[0239] 

[0240] DMF (850 ml) 중 4 (51.7 g, 243 mmol)의 용액에 3 (88 g, 246 mmol)을 첨가하였다. 생성된 용액을 5℃로 냉각시키고, Cs_2CO_3 (240 g)을 한 번에 첨가하였다. 현탁액을 15℃로 가온하고, 이 온도에서 2.5시간 동안 교반하였다. 추가의 Cs_2CO_3 (25 g)을 충전하고, 혼합물을 추가로 8시간 동안 또는 HPLC 분석이 95% 초과의 전환율을 나타낼 때까지 교반하였다. 이어서, 배치를 2N HCl (850 mL) 및 MTBE (900 mL)의 혼합물로 5-20℃에서 천천히 켄칭하였다. 유기 층을 분리하고, 수성 층을 MTBE (400 mL)로 추출하였다. 합한 유기 층을 5% $NaHCO_3$ 용액 (400 mL)으로 2회 세척하였다. 목적 생성물 5 (90% LC 순도)를 함유하는 생성된 용액을 진공 하에 농축시켰다. 잔류물을 이소프로판올 (1 L) 중에 용해시켰다. 용액에 K_2CO_3 (25 g), 포름산칼륨 (34 g) 및 10% Pd/C (20 g)를 첨가하였다. 혼합물을 60℃로 가온하고, 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 실온으로 냉각시킨 후 여과하였다. 여과물의 HPLC 분석은 용액이 6 (54.7 g, 95 wt%, 62% 수율)을 함유함을 나타내었다. 조 생성물을 직접

후속 단계에 추가 정제 없이 사용하였다. 화합물 6은 부분입체이성질체 6-1 및 6-2의 2쌍의 혼합물이고, 실리카 겔 상에서 에틸 아세테이트 및 헵탄을 용리액 (1:10)으로 사용하여 플래쉬 크로마토그래피에 의해 부분적으로 분리할 수 있다.

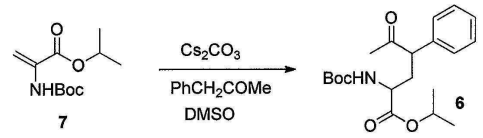
[0241] **6-1**: ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz): δ 7.35 (m, 2H), 7.30 (m, 1H), 7.20 (m, 2H), 5.17 (br, 1H), 4.95 (m, 1H), 4.76 (br, 1H), 3.73 (m, 1H), 2.70 (br, 1H), 2.07 (s, 1H), 1.45 (s, 9H), 1.29 (d, J = 6.6 Hz, 3 H), 1.28 (d, J = 6.6 Hz, 3H); **6-2**: ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz): δ 5.12 (m, 1H), 4.70 (m, 1H), 3.27 (m, 1H), 2.80 (m 1H), 2.34 (s, 3H), 1.50 (s, 9H), 1.26 (d, J = 6.6 Hz, 3H), 1.25 (d, J = 6.6 Hz, 3H); HRMS m/z: 계산값 **6-1**: $C_{20}H_{29}NO_5$ 386.1938 (M+Na); 측정값 386.1947.

[0242] 이소프로필 2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)아크릴레이트 (7)

[0243] 

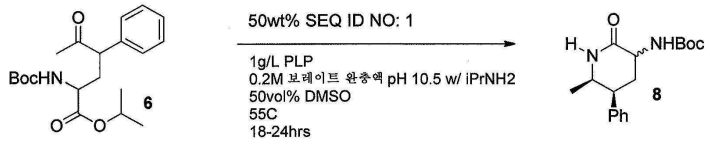
[0244] DMF (100 mL) 중 1 (10.05 g, 40.6 mmol)의 용액에 빙냉 하에 MsCl (4.12 mL, 52.8 mmol)을 첨가하였다. 이어서, 반응 온도를 0-5℃로 유지하면서 트리에틸아민 (14.16 mL, 102.0 mmol)을 추가의 깔때기를 통해 30분에 걸쳐 적가하였다. 첨가가 완결되었을 때, 냉각조를 제거하고, 황색 불균질 반응 혼합물을 실온에서 N_2 하에 밤새 숙성시켰다. 반응 혼합물을 빙냉수 (1 L) 및 MTBE (1 L)로 희석하였다. 층을 분리하고, 수성 층을 MTBE (500 mL)로 역추출하였다. 유기 층을 합하고, 1M 시트르산 (750 mL), 물 (1 L)에 이어서 10% 수성 NaCl (1 L)로 세척하였다. 유기 용액은 7 (8.652 g, 93% 수율)을 함유하였다. 용매를 < 40℃에서 DMSO로 바꾸고, 용액을 후속 단계에 직접 사용하였다.

[0245] 이소프로필 4-페닐-2-(tert-부톡시카르보닐아미노)-5-옥소헥사노에이트 (6)

[0246] 

[0247] 화합물 6을 7로부터 DMSO 중에서 0.5 당량 Cs_2CO_3 및 1.05 당량의 페닐아세톤의 존재 하에 실온에서 79% 수율로 제조하였다.

[0248] tert-부틸 (5S,6R)-6-메틸-2-옥소-5-페닐피페리딘-3-일카르바메이트 (8)

[0249] 

[0250] 오버헤드 교반기, 온도 조절기, pH 탐침기 및 염기 첨가 라인이 장착된 5L RBF에 사붕산나트륨 10수화물 (26.7 g) 및 DI수 (1.4 L)를 첨가하였다. 모든 고체가 용해된 후, 이소프로필아민 (82.8 g)을 첨가하였다. 완충액의 pH를 6 N HCl을 사용하여 pH 10.5로 조정하였다. 완충액을 실온으로 냉각시켰다. 이어서, 피리독살-5-포스페이트 (2.8 g) 및 서열 1 (70 g)을 첨가하고 실온에서 천천히 용해시켰다.

[0251] 70.7wt% 케토 에스테르 6 (140g, 0.385 mol)을 함유하는 오일 (197.9 g)을 DMSO (1.4 L) 중에 용해시켰다. 용액을 플라스크에 5-10분에 걸쳐 첨가하고, 반응물을 55℃로 가열하였다. pH를 휴대용 pH 미터에 의해 10.5로 조정하고 8 M 수성 이소프로필아민을 사용하는 자동화 pH 조절제로 밤새 조절하였다. 반응물을 24시간 동안 숙성시켰다. HPLC에 의한 전환율이 >95A%인 것을 확인한 후에, 반응물을 먼저 iPA:IPAc (3:4, 2.8 L)의 혼합물의 첨가 및 20분 동안 교반에 의해 추출하였다. 상을 분리하고, 수성 층을 iPA:IPAc의 혼합물 (2:8, 2.8 L)로 역추출하였다. 상을 분리하고, 유기 층을 합하고, DI수 (0.5 L)로 세척하였다. 유기 층에서의 HPLC 기반 검정 수율은 8 (114.6 g)이었고, C5 및 C6 위치에서 >60:1 dr을 갖는다. C2 위치에서 입체이성질체의 비는 ~1:1이었다. 추출물을 농축시키고, CH_2Cl_2 중에 용해시켰다. 유기 용액을 물에 이어서 포화 수성 NaCl로 세척하고, 농

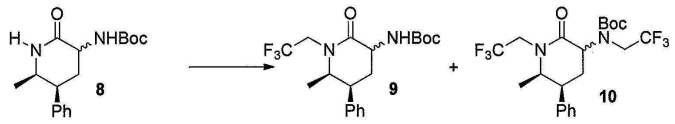
축시키고, MTBE/n-헥산 (2:3)으로부터 결정화시켰다. 결정을 실온에서 여과하고, MTBE/n-헥산 (2:3)으로 세척하고, 건조시켜 락탐 8 (99.6 g, 80.0 %)의 시스 및 트랜스 혼합물 (~1 :1.2)을 결정으로서 제공하였다.

[0252] 시스:트랜스 (~1: 1.2) 혼합물의 NMR 적분은 1:1로 보고됨 (양성자 수 계수에 대해)

[0253] Mp 87-90.9℃;

[0254] ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz):δ 7.40-7.20 (m, 8H, *cis* 및 *trans*), 7.16-7.12 (m, 2H, *cis* 및 *trans*); 6.56 (넓은 s, 1H, *trans*), 6.35 (넓은 s, 1H, *cis*), 5.57 (넓은 d, J = 4.6 Hz, 1H, *cis*), 5.34 (넓은 d, J = 5.7 Hz, 1H, *trans*), 4.33-4.15 (m, 2H, *cis* 및 *trans*), 3.93 (m, 1H, *trans*), 3.81 (m, 1H, *cis*), 3.41 (dt, J = 11.8, 5.0 Hz, 1H, *cis*), 3.29 (dt, J =8.0, 4.4 Hz, 1H, *trans*), 2.74 (m, 1H, *cis*), 2.57 (m, 1H, *trans*), 2.23 (ddd, J =13.5, 8.0, 4.4 Hz, *trans*), 2.07 (q, J =11.8 Hz, 1H, *cis*), 1.46 (s, 9H, *cis*), 1.42 (s, 9H, *trans*), 1.05 (d, J = 6.9 Hz, 3 H, *trans*), 0.89 (d, J = 6.9 Hz, 3 H, *cis*); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): δ 171.52 (*cis*), 171.46 (*trans*), 156.04 (*cis* 또는 *trans*), 155.93 (*cis* 또는 *trans*), 140.8 (*cis*), 139.9 (*trans*), 128.8 (*trans*), 128.7 (*cis*), 128.6 (*trans*), 128.1 (*cis*), 127.25 (*trans*), 127.18 (*cis*), 79.98 (*trans*), 79.91 (*cis*), 52.4 (*trans*), 51.8 (넓음, *cis*), 51.7 (*cis*), 49.0 (넓음, *trans*), 42.1 (*cis*), 41.9 (*trans*), 32.4 (넓음, *trans*), 30.1 (*cis*), 28.57 (*cis* 또는 *trans*), 28.53 (*cis* 또는 *trans*), 18.3 (*cis*), 18.1 (넓음, *trans*); HRMS m/z 계산값 $C_{17}H_{24}N_2O_3$ 327.1679 (M+Na); 측정값 327.1696

[0255] tert-부틸 (5S,6R)-6-메틸-2-옥소-5-페닐-1-(2,2,2-트리플루오로에틸)피페리딘-3-일카르바메이트 (9) 및 tert-부틸 (5S,6R)-6-메틸-2-옥소-5-페닐-1-(2,2,2-트리플루오로에틸)피페리딘-3-일(2,2,2-트리플루오로에틸)카르바메이트 (10)

[0256] 

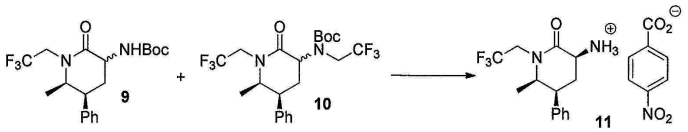
[0257] 무수 THF (3.8 L) 중 8 (480 g, 1.58 mol)의 용액에 헵탄 (512 mL, 3.1 M, 1.58 mol) 중 리튬 tert-아목시드 용액을 약 15분에 걸쳐 반응 온도를 15 내지 20℃로 유지하면서 첨가하였다. 이어서, 생성된 용액을 0 내지 2℃의 온도로 냉각시켰다. 2,2,2-트리플루오로에틸 트리플루오로메탄술포네이트 (368 g, 1.58 mol)을 15분에 걸쳐 반응 온도를 0 내지 3℃로 유지하면서 첨가하였다. 용액을 0℃에서 15분 동안 교반하였다. DMPU (300 ml)를 추가의 깔때기를 통해 30분에 걸쳐 반응 온도를 0 내지 3℃로 유지하면서 충전하였다. 생성된 용액을 0℃에서 2.5시간 동안 교반하였다. 추가의 2,2,2-트리플루오로에틸 트리플루오로메탄술포네이트 (182 g, 0.79 mol)를 10분에 걸쳐 첨가하고, 이어서 반응 온도를 0 내지 3℃로 유지하면서 추가의 3.1 M 리튬 tert-아목시드 용액 (104 mL)을 혼합물에 첨가하였다. 배치를 0℃에서 추가 2.5시간 동안 교반하였다. 혼합물을 15℃ 미만에서 헵탄 (4.8 L), 물 (3.4 L) 및 2N HCl 용액 (280 mL)의 혼합물로 켄칭하였다. 상을 분리하였다. 수성 상을 헵탄 (4 L)으로 추출하였다. 합한 유기 상을 물 (2 L)로 세척하였다. 용액을 진공 하에 25 내지 50℃에서 약 1 L의 부피로 농축시켰다. 조 물질을 헵탄/에틸 아세테이트를 사용하여 짧은 실리카 겔 플러그에 통과시켰다. 생성된 용액을 증류가 멈출 때까지 50℃ 미만의 온도에서 진공 하에 농축시키고, IPAc (2 L) 중에 용해시키고, 후속 단계에 사용하였다. 시스 및 트랜스 이성질체 둘 다에 대한 9의 검정 수율은 ~8 대 1의 비로 85%였다.

[0258] 9의 분석적으로 순수한 시스 및 트랜스 이성질체를 실리카 겔 상에서 에틸 아세테이트 및 헵탄을 용리액으로서 사용하여 크로마토그래피에 의해 단리시켰다.

9 (*cis*) : ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz): δ 7.30 (m, 5H), 5.75 (s, 넓음, 1H), 4.35 (m, 1H), 4.15 (m, 1H), 3.80 (m, 1H), 3.50 (m, 1H), 3.17 (m, 1H), 2.45 (m, 2H), 1.45 (s, 9H), 0.93 (d, J = 6.7 Hz, 3H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): δ 170.3, 155.9, 140.0, 128.6, 127.6, 127.1, 124.6 (q, J = 279 Hz), 79.7, 58.7, 52.2, 45.3 (q, J = 33.7 Hz), 41.9, 28.3, 27.4, 13.4; HRMS: m/z 계산값 $C_{19}H_{25}F_3N_2O_3$ 387.1890 (M+H); 측정값 : 387.1899. **9** (*trans*): ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz): δ 7.40 (m, 2H), 7.30 (m, 3H), 5.55 (br, 1H), 4.53 (br, 1H), 4.45 (m, 1H), 3.78 (m 2H), 3.45 (m, 1H), 3.0 (m, 1H), 2.12 (m, 1H), 1.46 (s, 9H), 1.12 (d, J = 7.0 Hz, 3H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): δ 170.2, 155.9, 139.6, 128.7, 127.9, 127.4, 124.3 (q, J = 279 Hz), 80.0, 59.6, 49.1, 46.9 (q, J = 34.0 Hz), 42.1, 28.3, 25.3, 13.4; HRMS: m/z 계산값 $C_{19}H_{25}F_3N_2O_3$ 387.1890 (M+H); 측정값 387.1901.

[0259]

[0260] (3S,5S,6R)-6-메틸-2-옥소-5-페닐-1-(2,2,2-트리플루오로에틸)피페리딘-3-아미늄 4-니트로벤조에이트 (11)



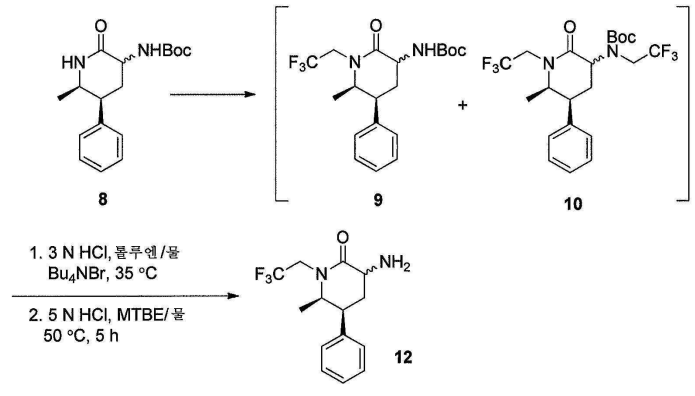
[0261]

[0262] iPAC (8 ml) 중 상기 실험으로부터 수득한 조 9 (10 g 검정, 25.9 mmol)의 용액에 p-톨루엔술폰산 1수화물 (6.7g, 35.2 mmol)을 첨가하고, 혼합물을 반응이 완결될 때까지 (>99%) 50-60℃에서 3시간 동안 교반하였다. 용액을 15-20℃로 냉각시키고, 10% 수성 K_2CO_3에 이어서 물로 세척하였다. 수성 층을 iPAc (5 ml)로 재추출하였다. 유기 층을 합하고, 55-60℃로 가열하였다. 4-니트로벤조산 (3.9 g, 23.2 mmol)을 20분 동안 천천히 첨가하였다. 혼합물을 실온으로 천천히 냉각시켰다. 5-니트로-2-히드록실벤즈알데히드 (50 mg)를 첨가하고, 배치를 12시간 이상 동안 교반하였다. 혼합물을 여과하고, MeCN로 세척하여 11을 결정으로서 수득하였다. 임의로, MeCN 중 슬러리를 11의 추가 정제에 대해 수행하였다. 단리 수율은 90% 이었다. Mp 205 - 208℃;

^{1}H NMR (DMSO-d_6, 400 MHz): δ 8.21 (dd, J = 9.0, 2.1 Hz, 2H), 8.08 (dd, J = 9.0, 2.1 Hz, 2H), 7.37 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 7.28 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 7.24 (d, J = 7.4 Hz, 2H), 4.65 (ddd, J = 15.1, 9.7, 7.7 Hz, 1H), 3.72-3.98 (m, 3H), 3.57 (m, 1H), 2.46 (q, J = 12.6 Hz, 1H), 2.25 (m, 1H), 0.90 (d, J = 6.4 Hz, 3H); ^{19}F NMR (DMSO-d_6, 376 MHz): δ -69 (s); ^{13}C NMR (DMSO-d_6, 100 MHz): δ 168.7, 167.3, 148.3, 143.8, 140.1, 130.1, 128.6, 127.4, 127.0, 124.9 (q, J = 280.9 Hz), 122.8, 58.7, 49.8, 44.5 (q, J = 32.7 Hz), 40.6, 25.3, 13.2.

[0263]

[0264] (5S,6R)-3-아미노-6-메틸-5-페닐-1-(2,2,2-트리플루오로에틸)피페리딘-2-온 (12)

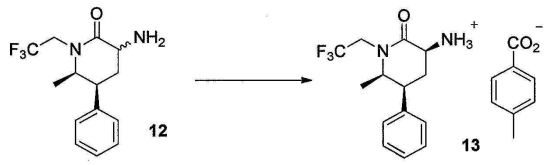


[0265]

[0266] THF (200 mL) 중 8 (20.0 g, 65.7 mmol) 및 $Na_2S_2O_3$ (0.52 g, 3.3 mmol)의 혼합물에 tert-BuOLi (6.8 g, 85 mmol)을 16℃에서 첨가하였다. 혼합물을 16℃에서 15분 동안 교반하고, 이어서 트리플루오로에틸 트리플루오로메탄술포네이트 (20.6 g, 89 mmol)를 한 번에 첨가하였다. 생성된 혼합물을 18시간 동안 16℃에서 교반하였다. 이어서, 반응 혼합물을 톨루엔 (70 mL)에 이어서 0.5N HCl 용액 (50 mL)의 첨가에 의해 켄칭하였다. 수성 층을 분리하고, 톨루엔 (20 mL)으로 추출하였다. 합한 유기 층은 HPLC에 의해 87%의 9, 6%의 10 및 6%의 8을 함유하였고, 목적 생성물 9의 수율은 87%였다. 이어서 유기 층을 3N HCl 용액 (80 ml) 및 테트라부틸암모늄 브로마이드 (0.8 g)와 함께 HPLC 분석이 미반응 8 중의 Boc 기의 선택적 제거가 완결된 것을 나타낼 때까지 약 3시간 동

안 교반하였다. 수성 층을 제거하였다. 이어서, 9 및 10을 함유하는 유기 층을 진공 하에 60℃에서 농축시켜 대부분의 용매를 제거하였다. 잔류물을 MTBE (60 mL) 중에 용해시키고, 5N HCl 용액 (65 mL)을 첨가하였다. 10이 주로 무손상이면서 9의 탈보호가 완결될 때까지 2상성 용액을 50℃에서 약 5시간 동안 격렬하게 교반하였다. 헵탄 (30 mL)을 혼합물에 첨가한 후, 유기 층을 45℃에서 분리하였다. 수성 층을 물 (60 mL) 및 생성된 수성으로 희석하고, 45℃에서 헵탄 (30 mL)으로 세척하였다. 이어서, 수용액을 MTBE (100 mL)와 혼합하고, 혼합물의 pH가 약 10이 될 때까지 10 N NaOH 용액으로 염기성화하였다. 유기 층을 분리하고, 수성 층을 MTBE (60 mL)로 역추출하였다. 합한 유기 층을 염수 (60 mL)로 세척하였다. 생성된 유기 용액은 후속 반응에 적합했다. 용액은 4 대 1 비의 2종의 부분입체이성질체 (시스 및 트랜스)의 혼합물로서 97% LC 순도를 갖는 12 (15.6 g, 8로부터 83%)를 함유하였다.

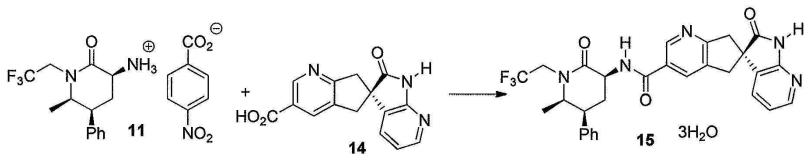
[0267] (3S,5S,6R)-6-메틸-2-옥소-5-페닐-1-(2,2,2-트리플루오로에틸)피페리딘-3-아미늄 4-메틸벤조에이트 (13)

[0268] 

[0269] MTBE (40 mL) 중 4-메틸벤조산 (6.8 g, 49.9 mmol) 및 3,5-디클로로살리실알데히드 (93 mg, 0.49 mmol)의 현탁액에 MTBE (약 150 mL) 중 12 (13.9 g, 48.5 mmol)의 용액을 50℃에서 1시간에 걸쳐 첨가하였다. 생성된 현탁액을 50℃에서 약 3시간 동안 교반하였다. 고체를 1시간에 걸쳐 -5℃로 냉각시킨 후 여과에 의해 수집하였다. 케이크를 MTBE (50 mL)로 세척하였다. 고체를 진공 오븐 중에서 건조시켜 13 (17.6 g, 86%)을 99.5% LC 순도 및 99.6% de를 갖는 결정으로서 수득하였다.

[0270] ^{1}H NMR (DMSO-d_6, 400 MHz): δ 7.85 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 7.40 (m, 2H), 7.25 (m, 5H), 6.0 (br, 3H), 4.65 (m, 1H), 3.65-3.80 (m, 2H), 3.45-3.65 (m, 2H), 2.35(s, 3H), 2.30 (m, 1H), 2.15 (m, 1H), 0.88 (d, J = 6.5 Hz, 3H); ^{13}C NMR (DMSO-d_6, 100 MHz): δ 172.4, 168.5, 142.1, 141.1, 130.9, 129.7, 129.2, 129.0, 128.0, 125.5 (q, J = 279 Hz), 59.1, 51.6, 45.1 (q, J = 32Hz), 41.6, 28.0, 21.5, 13.9.

[0271] (S)-N-((3S,5S,6R)-6-메틸-2-옥소-5-페닐-1-(2,2,2-트리플루오로에틸)피페리딘-3-일)-2'-옥소-1',2',5,7-테트라히드로스피로[시클로펜타[b]피리딘-6,3'-피롤로[2,3-b]피리딘]-3-카르복스아미드 3수화물 (15)

[0272] 

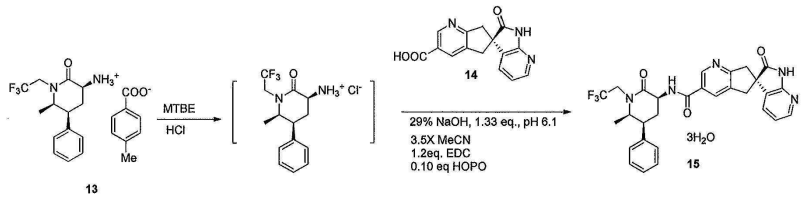
[0273] iPAc (4.6 L) 중 11 (465 g, 96% wt, 0.99 mol)의 현탁액에 5% 수성 K_3PO_4 (4.6 L)를 첨가하였다. 혼합물을 5분 동안 교반하였다. 유기 층을 분리하고, 5% 수성 K_3PO_4 (4.6 L)로 2회 세척하고, 진공 하에 농축시키고, 아세토니트릴 (1.8 L) 중에 용해시켰다.

[0274] 또 다른 플라스크에 14 (303 g, 91.4 wt%), 아세토니트릴 (1.8 L) 및 물 (1.8 L)에 이어서 10 N NaOH (99 mL)를 첨가하였다. 생성된 용액을 실온에서 5분 동안 교반하고, 상기에서 제조한 키랄 아민 용액을 혼합물에 충전하고, 용기를 아세토니트릴 (900 mL)로 헹구었다. HOBT 수화물 (164 g)에 이어서 EDC 히드로클로라이드 (283 g)를 충전하였다. 혼합물을 실온에서 2.5시간 동안 교반하였다. 혼합물에 iPAc (4.6 L)를 첨가하고, 유기 층을 분리하고, 5% 수성 $NaHCO_3$ (2.3 L)에 이어서 15% 수성 시트르산 (3.2 L) 및 포화 수성 NaCl (1.2 L)의 혼합물로 세척하였다. 생성된 유기 층을 최종적으로 5% 수성 $NaHCO_3$ (2.3 L)로 세척하였다. 유기 용액을 50℃ 미만에서 농축시키고, 메탄올 (2.3 L) 중에 용해시켰다. 용액에 시드 결정 ~2 g을 함유하는 물 (6 L) 및 메탄올 (600 mL)을 천천히 첨가하였다. 생성된 현탁액을 실온에서 밤새 교반하였다. 결정을 여과하고, 물/메탄올 (4 L, 10:1)로 헹구고, 질소 흐름 하에 실온에서 건조시켜 15 (576 g, 97 % 수율)를 3수화물로서 수득하였다.

^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ 10.15 (br s, 1 H), 8.91 (br s, 1 H), 8.21 (d, J = 6.0 Hz, 1 H), 8.16 (dd, J = 5.3, 1.5 Hz, 1 H), 8.01 (br s, 1 H), 7.39-7.33 (m, 2 H), 7.31-7.25 (m, 1 H), 7.22-7.20 (m, 2 H), 7.17 (dd, J = 7.4, 1.6 Hz, 1 H), 6.88 (dd, J = 7.4, 5.3 Hz, 1 H), 4.94 (dq, J = 9.3, 7.6 Hz, 1 H), 4.45-4.37 (m, 1 H), 3.94-3.87 (m, 1 H), 3.72 (d, J = 17.2 Hz, 1 H), 3.63-3.56 (m, 2 H), 3.38-3.26 (m, 1 H), 3.24 (d, J = 17.3 Hz, 1 H), 3.13 (d, J = 16.5 Hz, 1 H), 2.78 (q, J = 12.5 Hz, 1 H), 2.62-2.56 (m, 1 H), 1.11 (d, J = 6.5 Hz, 3 H); ^{13}C NMR (126 MHz, CD_3CN): δ 181.42, 170.63, 166.73, 166.63, 156.90, 148.55, 148.08, 141.74, 135.77, 132.08, 131.09, 130.08, 129.66, 129.56, 128.78, 128.07, 126.25 (q, J = 280.1 Hz), 119.41, 60.14, 53.07, 52.00, 46.41 (q, J = 33.3 Hz), 45.18, 42.80, 41.72, 27.79, 13.46; HRMS m/z: 계산값 $C_{29}H_{26}F_3N_5O_3$ 550.2061 (M+H): 측정값 550.2059.

[0275]

[0276] 15에 대한 대안적 절차:



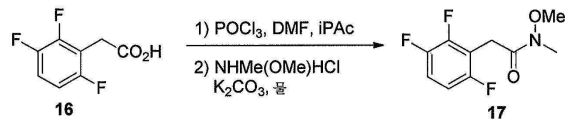
13 14 15

[0277]

[0278] MTBE (70 mL) 중 13 (10 g, 98 wt%, 23.2 mmol)의 현탁액에 0.6 N HCl (42 mL)을 첨가하였다. 유기 층을 분리하고, 추가의 0.6 N HCl (8 mL)로 추출하였다. 합한 수용액을 MTBE (10 mL x3)로 세척하였다. 생성된 수용액에 아세토니트릴 (35 mL) 및 14 (6.66 g, 99 wt%)를 첨가하였다. 생성된 현탁액을 29% NaOH 용액을 사용하여 pH 6으로 중화시켰다. HOPO (0.26 g)에 이어서 EDC 히드로클로라이드 (5.34 g)를 첨가하였다. 혼합물을 전환이 완결될 때까지 (>99%) 실온에서 6-12시간 동안 교반하였다. 에탄올 (30 ml)을 첨가하고, 혼합물을 35℃로 가열하였다. 생성된 용액을 에탄올 (10 mL), 물 (30 mL) 및 15 시드 (0.4 g)를 함유하는 또 다른 3구 플라스크에 2시간에 걸쳐 첨가하였다. 동시에, 물 (70 mL)을 또한 혼합물에 첨가하였다. 이어서, 현탁액을 30분에 걸쳐 5℃로 냉각시키고, 여과하였다. 케이크를 에탄올/물의 혼합물 (1:3, 40 mL)로 세척하였다. 케이크를 40℃에서 진공 오븐 중에서 건조시켜 15 3수화물 (13.7 g, 95%)을 결정으로서 수득하였다.

[0279] 실시예 2

[0280] N-메톡시-N-메틸-2-(2,3,6-트리플루오로페닐)아세트아미드 (17)



16 17

[0281]

[0282] iPAc (951 mL) 중 DMF (58.1 mL, 750 mmol)의 용액에 빙냉 하에 $POCl_3$ (55.9 mL, 600 mmol)를 첨가하였다. 빙조 하에 1시간 동안 숙성시킨 후, 산 16 (95 g, 500 mmol)을 빙냉 하에 첨가하였다. 용액을 빙냉 하에 30분 동안 교반하였다. 용액을 30분에 걸쳐 물 (951 mL) 중 K_2CO_3 (254 g, 1.835 mol) 및 NHMe(OMe)HCl (73.2 g, 750 mmol)의 용액에 8℃ 미만에서 첨가하였다. 8℃ 미만에서 30분 동안 숙성시킨 후, 유기 층을 분리하고, 물 (500 mL)로 2회 및 포화 수성 NaCl (100 mL)로 1회 세척하고, 진공 하에 농축시켜 17을 오일 (117.9 g, 97.7 wt%, 99% 수율)로서 수득하였다.

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz); δ 7.05 (m, 1H), 6.82 (m, 1H), 3.86 (s, 2H), 3.76 (s, 3H), 3.22 (s, 3H); ^{19}F NMR ($CDCl_3$, 376.6 MHz); δ -120.4 (dd, J = 15.1, 2.7 Hz), -137.9 (dd, J = 20.8, 2.7 Hz), -143.5 (dd, J = 20.8, 15.1 Hz); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz); δ 169.4, 156.9 (ddd, J = 244, 6.2, 2.7 Hz), 149.3 (ddd, J = 249, 14.4, 8.4 Hz), 147.1 (ddd, J = 244, 13.1, 3.5 Hz), 115.5 (ddd, J = 19.4, 9.9, 1.5 Hz), 133.4 (dd, J = 22.3, 16.4 Hz), 110.2 (ddd, J = 24.8, 6.7, 4.1 Hz), 32.4 (넓음), 26.6 (m); HRMS m/z 계산값 $C_{10}H_{10}F_3NO_2$ 234.0736 (M+H); 측정값 234.0746

[0283]

[0284] 1-(2,3,6-트리플루오로페닐)프로판-2-온 (18)



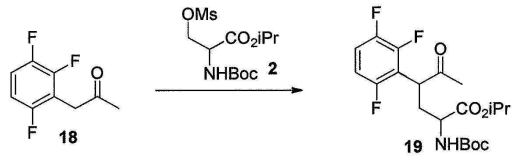
[0285]

[0286] $CeCl_3$ (438 g, 1779 mmol) 및 THF (12 L)의 혼합물을 40℃에서 약 2시간 동안 가열하고, 이어서 5℃로 냉각시켰다. THF (3 M, 3.4 L) 중 메틸마그네슘 클로라이드를 5-9℃에서 충전하고, 이어서 16℃로 가온하고, 1시간 동안 유지하였다. 현탁액을 -10 내지 -15℃로 재냉각시켰다. THF (2.4 L) 중 17 (1.19 kg)의 용액을 15분에 걸쳐 현탁액에 충전하였다. 반응의 완결을 확인한 후, 반응 혼합물을 5-10℃에서 염산 (2 N, 8.4 L) 및 MTBE (5 L)의 차가운 용액으로 옮겼다. 수성 상을 분리하고, 유기 층을 수성 5% K_2CO_3 (6 L)에 이어서 10% 수성 NaCl (5 L)로 세척하였다. 유기 층을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 농축시켜 조 18 (917g, >99wt%)을 95% 수율로 수득하였다. 조 18을 후속 단계에 추가 정제 없이 사용하였다. 분석적으로 순수한 18을 실리카 겔 칼럼에 의해 수득하였다.

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz); δ 7.07 (m, 1H), 6.84 (m, 1H), 3.82 (s, 2H), 2.28 (s, 3H); ^{19}F NMR ($CDCl_3$, 376.6 MHz); δ -120.3 (dd, J = 15.3, 2.5 Hz), -137.8 (dd, J = 21.2, 2.5 Hz), -143.0 (dd, J = 20.2, 15.3 Hz); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz); δ 202.2, 156.5 (ddd, J = 244, 6.3, 2.9 Hz), 148.9 (ddd, J = 249, 14.4, 8.6 Hz), 147.0 (ddd, J = 244, 13.1, 3.5 Hz), 115.7 (ddd, J = 19.4, 10.5, 1.2 Hz), 112.8 (dd, J = 22.7, 17.0 Hz), 110.3 (ddd, J = 24.8, 6.7, 4.1 Hz), 37.2 (d, J =1.2 Hz), 29.3.

[0287]

[0288] 이소프로필 2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-5-옥소-4-(2,3,6-트리플루오로페닐)헥사노에이트 (19)

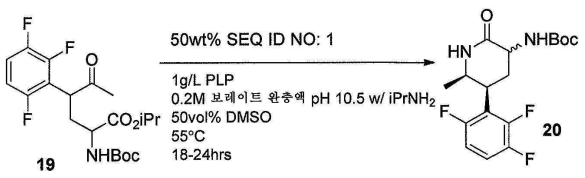


[0289]

[0290] MTBE (1.8 L) 중 18 (195 g, 1.03 mol)의 용액에 브로민화아연 (67 g, 0.30 mol)에 이어서 2 (390 g, 1.2 mol)를 첨가하였다. 이어서 반응 온도를 40℃ 미만으로 유지하면서 tert-BuOLi (290 g, 3.6 mol)를 여러 번으로 나누어 첨가하였다. 생성된 혼합물을 35℃에서 24시간 동안 교반하고, 2 N HCl (5.6 L) 및 헵탄 (5 L)의 혼합물로 0℃에서 켄칭하였다. 유기 층을 분리하고, 5% 수성 $NaHCO_3$ (5 L)으로 2회 세척하였다. 생성된 유기 용액을 진공 하에 농축시켰다. 잔류물을 헵탄 (2 L) 중에 용해시키고, 용액을 다시 진공 하에 농축시켰다. 생성된 오일을 DMSO (2.5 L) 중에 용해시키고, 용액을 후속 단계에 추가 정제 없이 사용하였다. HPLC 분석은 용액이 5%의 출발 물질 18과 함께 주요 성분으로서의 목적 생성물 19 (290 g, 67% 수율)를 함유함을 나타내었다. 부분입체이성질체의 1쌍로서의 분석적으로 순수한 생성물 19를 에틸 아세테이트 및 헵탄 혼합물을 용리액으로서 사용하여 실리카 겔 상에서 크로마토그래피에 의해 단리시켰다.

[0291] HRMS: m/z 계산값 $C_{20}H_{26}F_3NO_5$ 418.1836 (M+H); 측정값 418.1849.

[0292] tert- 부틸 ((5S,6R)-6-메틸-2-옥소-5-(2,3,6-트리플루오로페닐)피페리딘-3-일)카르바메이트 (20)



[0293]

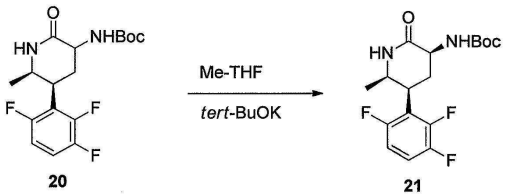
[0294] 오버헤드 교반기, 온도 조절기, pH 탐침기 및 염기 첨가 라인이 장착된 0.5 L 실린더형 식스포스(Sixfors) 반응기에, 사붕산나트륨 10수화물 (3.12 g) 및 DI수 (163 mL)를 첨가하였다. 모든 고체가 용해된 후, 이소프로필아

민 (9.63 g)을 첨가하였다. 완충액의 pH를 6 N HCl을 사용하여 pH 10.5로 조정하였다. 완충액을 실온으로 냉각시켰다. 이어서, 피리독살-5-포스페이트 (0.33 g) 및 서열 1 (8.15 g)을 첨가하고, 실온에서 천천히 용해시켰다.

[0295] 조 케토 에스테르 19 (23.6 g, 69 wt%, 16.3 g 검정, 39 mmol)를 DMSO (163 mL) 중에 용해시키고, 용액을 반응기에 5-10분에 걸쳐 첨가하였다. 이어서, 반응물을 55℃로 가열하였다. pH를 휴대용 pH 미터에 의해 10.5로 조정하고 8 M 수성 이소프로필아민을 사용하는 자동화 pH 조절제로 밤새 조절하였다. 반응물을 27.5시간 동안 숙성시켰다.

[0296] HPLC에 의한 전환율이 >95A%인 것을 확인한 후, 반응물을 먼저 iPA: iPAc (3:4, 350 mL)의 혼합물을 첨가함으로써 추출하고, 20분 동안 교반하였다. 상을 분리하고, 수성 층을 iPA: iPAc의 혼합물 (2:8, 350 mL)로 역추출하였다. 상을 분리하였다. 유기 층을 합하고, DI수 (90 mL)로 세척하였다. 유기 층에서의 HPLC 기반 분석 수율은 20 (9.86 g, 70.5 % 검정 수율) 이었고, C5 및 C6 위치에서 >60:1 dr을 갖는다.

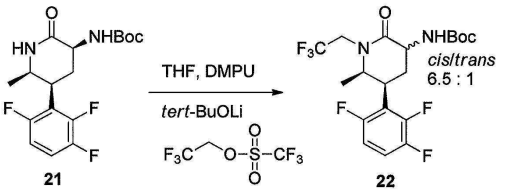
[0297] tert-부틸 ((3S,5S,6R)-6-메틸-2-옥소-5-(2,3,6-트리플루오로페닐)피페리딘-3-일)카르바메이트 (21)

[0298] 

[0299] iPAc 및 iPA의 혼합물 (1.83 wt%, 9.9 kg; 혼합물로서의 181 g 검정) 중 조 시스 및 트랜스 혼합물 20의 용액을 진공 하에 농축시키고, 2-Me-THF (3.6 L) 중에 용해시켰다. 용액에 실온에서 tert-BuOK (66.6 g, 0.594 mol)를 첨가하였다. 현탁액을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 물 (3.5 L)에 붓고, 유기 층을 분리하고, 15 wt%의 수성 NaCl (3.5 L)로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 농축 건조시켰다. 잔류물을 iPAc (275 mL) 및 헵탄 (900 mL)으로 60℃에서 현탁시켰다. 현탁액을 1℃로 천천히 냉각시켰다. 고체를 여과하고, iPAc 및 헵탄 (1:3)으로 헹구고, 건조시켜 결정으로서의 21 (166 g, 93 wt%; 85 %)을 수득하였다. Mp 176-179 ℃;

[0300] ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz): δ 7.06 (m, 1H), 6.84 (m, 1H), 5.83 (넓은 s, 1H), 5.58 (넓은 s, 1H), 4.22 (m, 1H), 3.88-3.79 (m, 2H), 2.77 (m, 1H), 2.25 (m, 1H), 1.46 (s, 9H), 1.08 (d, J = 6.4 Hz, 3H); ^{19}F NMR ($CDCl_3$, 376 MHz): δ -117 (d, J = 14 Hz), -135 (d, J = 20 Hz), -142 (dd, J = 20, 14 Hz); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): δ 171.1, 156.6 (ddd, J = 245, 6.4, 2.8 Hz), 155.8, 149.3 (ddd, J = 248, 14.4, 8.8 Hz), 147.4 (ddd, J = 245, 14.2, 3.8 Hz), 118.0 (dd, J = 19.3, 14.5 Hz), 115.9 (dd, J = 19.2, 10.4 Hz), 111.0 (ddd, J = 26.4, 6.0, 4.3 Hz), 79.8, 51.4, 49.5, 34.1, 29.3, 28.3, 18.0; HRMS: m/z 계산값 $C_{17}H_{21}F_3N_2O_3$ 381.1396 (M+ Na); 측정값 381.1410.

[0301] tert-부틸 ((5S,6R)-6-메틸-2-옥소-1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-5-(2,3,6-트리플루오로페닐)피페리딘-3-일)카르바메이트 (22)

[0302] 

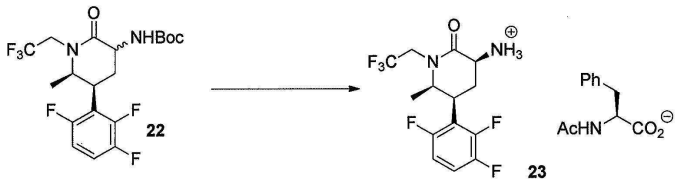
[0303] THF (70 ml) 중 21 (10 g, 87% 순도, 24.3 mmol)의 용액에 tert-BuOLi (2.5 g, 31.2 mmol)을 5℃에서 한 번에 첨가하였다. 용액을 0 내지 5℃로 냉각시키고, 트리플루오로에틸 트리플루오로메탄술포네이트 (10.0 g, 43 mmol)를 한 번에 첨가하였다. 반응 온도를 5℃ 미만으로 유지하면서 DMPU (7 mL)를 15분에 걸쳐 천천히 첨가하였다. 혼합물을 0℃에서 3시간 동안 교반한 후, 추가의 tert-BuOLi (0.9 g, 11.2 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 추가 90분 동안 숙성시켰다. 혼합물을 0.2 N HCl (70 ml)로 켄칭하고, 이어서 헵탄 (80 ml)을 첨가하였다. 유기 층을 분리하고, 수성 층을 헵탄 (30 ml)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 15% 수성 시트르

산 (50 mL) 및 5% 수성 $NaHCO_3$ (50 mL)으로 세척하였다. 용액을 진공 하에 40℃에서 농축시키고, 생성된 오일을 iPAc (30 mL) 중에 용해시켰다. 용액을 직접 후속 단계에 추가 정제 없이 사용하였다. HPLC 분석은 용액이 4%의 출발 물질 21 및 8%의 N,N'-알킬화 화합물과 함께 22 (9.8 g, 92%, 6.5 대 1의 비로 시스 및 트랜스 혼합물로서)를 함유함을 나타내었다. 분석적으로 순수한 22 (시스 이성질체)를 에틸 아세테이트 및 헵탄을 용리액으로서 사용하여 실리카 겔 상에서 크로마토그래피에 의해 단리시켰다.

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz): δ 7.15 (m, 1H), 6.85 (m, 1H), 5.45 (넓음, s, 1H), 4.90 (m, H), 4.20 (m, 1H), 3.92 (m, 2H), 3.28 (m, 1H), 2.70 (m, 2H), 1.48 (s, 9H), 1.20 (d, J = 5.9 Hz, 3H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): δ 170.2, 156.9 (ddd, J = 245, 6.3,2.7 Hz), 156.0, 149.6 (ddd, J = 251, 14.8, 8.8 Hz), 147.6 (ddd, J = 246, 13.9,3.6 Hz), 124.5 (q, J = 281 Hz), 117.6 (dd, J = 19.2, 3.7 Hz), 116.4 (dd, J = 19.1, 10.4 Hz), 111.4 (ddd, J = 25.8, 6.4,4.1Hz), 56.6, 52.8, 45.3 (q, J = 34.2 Hz), 35.2, 28.7, 28.3 (br t, J = 4 Hz), 14.6; HRMS: m/z 계산값 $C_{19}H_{22}F_6N_2O_3$ (M+H): 441.1607; 측정값 441.1617.

[0304]

[0305] (3S,5S,6R)-6-메틸-2-옥소-1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-5-(2,3,6-트리플루오로페닐)피페리딘-3-아미늄 (S)-2-아세트아미도-3-페닐프로파노에이트 (23)



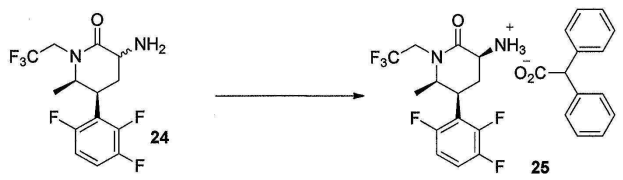
[0306]

[0307] 이전 단계로부터 수득한 22의 iPAc 용액 (529 g 검정, 1.2 mol)을 iPAc를 사용하여 6 L로 희석시키고, p-톨루엔술폰산 1수화물 (343 g, 1.8 mol)를 첨가하고, 용액을 55℃로 가열하였다. 4시간 후, 반응이 완결되었다 (>99% 전환율). 수성 K_2CO_3 (물 3 L 중 530 g)을 15-25℃로 냉각시킨 후, 용액에 충전하였다. 수성 층을 분리하고, iPAc (2 L)로 역추출하였다. iPAc 용액을 합하고, iPAc를 첨가하여 총 부피를 10 L로 조정하였다. 용액을 50-60℃로 가열하였다. 약 20 g의 N-아세틸 L-페닐알라닌을 첨가하고, 용액을 15분 동안 또는 고체가 침전될 때까지 교반하였다. 나머지 N-아세틸 L-페닐알라닌 (총 250 g, 1.2 mol)을 천천히 충전하고, 2-히드록시-5-니트로벤즈알데히드 (2 g)를 충전하였다. 현탁액을 20℃에서 12시간 동안 교반한 다음, 0℃로 3시간 동안 냉각시켰다. 현탁액을 여과하고, iPAc로 3회 세척하고, 건조시켜 23 (583g, 89% 수율)을 결정으로서 수득하였다. Mp 188 - 190℃;

^{1}H NMR (DMSO-d_6, 400 MHz): δ 7.96 (d, J = 8.0 Hz, 1H) , 7.48 (m, 1H), 7.15-7.25 (m, 6H), 4.65 (ddd, J = 19.4, 15.3, 9.6 Hz, 1H), 4.33 (ddd, J = 8.7, 8.4, 4.9 Hz, 1H), 3.70-3.87 (m, 3H), 3.57 (dd, J = 11.5, 6.6 Hz, 1H), 3.04 (dd, J = 13.7, 4.9 Hz, 1H), 2.82 (dd, J = 13.7, 8.9 Hz,1H), 2.59 (m, 1H), 2.24 (m, 1H), 2.95 (s, 3H), 1.10 (d, J = 6.4 Hz, 1H); ^{19}F NMR (DMSO-d_6, 376 MHz): δ -69 (s), -118 (d, J = 15 Hz), -137 (d, J = 21 Hz), -142 (dd, J = 21, 15 Hz); ^{13}C NMR (DMSO-d_6, 100 MHz): δ 173.6, 171,.1, 168.7, 156.3 (ddd, J = 243.5, 7.0, 3.1 Hz), 148.7 (ddd, J = 249, 14.4, 9.1 Hz), 146.8 (ddd, J = 245, 13.7, 3.1 Hz), 138.5, 129.2, 128.0, 126.1, 124.9 (q, J = 280.9 Hz), 117.4.0 (dd, J = 19.3, 13.8 Hz), 116.7 (dd, J = 19.3, 10.6 Hz), 111.8 (ddd, J = 26.0, 6.7, 3.6 Hz), 56.6, 54.3, 51,2, 44.3 (q, J = 32.5 Hz), 37.2, 34.8, 26.9 (br t, J = 4 Hz), 22.5, 14.1.

[0308]

[0309] (3S,5S,6R)-6-메틸-2-옥소-1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-5-(2,3,6-트리플루오로페닐)피페리딘-3-아미늄 2,2-디페닐아세테이트 (25)



[0310]

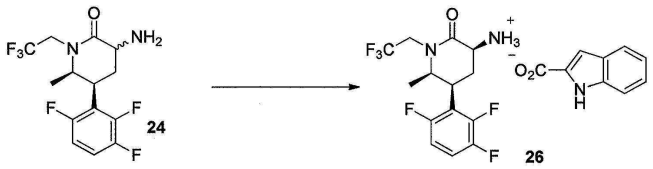
[0311] 이소프로필 아세테이트 (15.0 ml) 중 이전 실시예의 동일한 방법에 따라 제조된 (5S,6R)-3-아미노-6-메틸-1-

(2,2,2-트리플루오로에틸)-5-(2,3,6-트리플루오로페닐)피페리딘-2-온 (24, 2.00 g, 5.88 mmol)을 함유하는 조 물질 및 3,5-디클로로-2-히드록시벤즈알데히드 (0.011 g, 0.059 mmol)의 혼합물에 THF (10.0 ml) 중 디페닐아세트산 (1.26 g, 5.88 mmol)의 용액을 55-60℃에서 질소 하에 2시간 동안 천천히 첨가하였다. 산 첨가의 완결시, 진한 염 현탁액을 55-60℃에서 추가 18시간 동안 교반한 다음, 주위 온도로 냉각되도록 하였다. 염을 여과하고, 이소프로필 아세테이트로 세척하였다. 진공 오븐 중에 60℃에서 8시간 동안 질소 퍼징 하에 건조시킨 후, 25 (2.97 g, 91.4%)를 결정으로서 수득하였다.

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6): δ 7.48 (qd, J = 9.4, 4.9 Hz, 1 H), 7.32 (d, J = 7.7 Hz, 4 H), 7.25-7.26 (m, 4 H), 7.19-7.17 (m, 3 H), 6.79 (br, 3H), 4.95 (s, 1 H), 4.67 (dq, J = 15.3, 9.7 Hz, 1 H), 3.81-3.79 (m, 3 H), 3.62 (dd, J = 11.6, 6.5 Hz, 1 H), 2.66-2.62 (m, 1 H), 2.25 (dd, J = 12.9, 6.4 Hz, 1 H), 1.11 (d, J = 6.5 Hz, 3 H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 174.4, 171.8, 156.9 (ddd, J= 244, 7.0, 2.5 Hz), 149.1 (ddd, J = 249, 14.4, 8.5 Hz), 147.2 (ddd, J = 246, 13.9, 3.2 Hz), 141.4, 129.0, 128.5, 126.7, 125.5 (q, J = 281 Hz), 118.0 (dd, J = 19.8, 13.8 Hz), 117.1 (dd, J = 19.2, 10.6 Hz), 112.3 (ddd, J = 26.1, 6.7, 3.3 Hz), 58.5, 57.1, 51.7, 44.8 (q, J = 32.7 Hz), 35.3, 27.5 (br t, J = 4.6 Hz), 14.5.

[0312]

[0313] (3S,5S,6R)-6-메틸-2-옥소-1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-5-(2,3,6-트리플루오로페닐)피페리딘-3-아미늄 1H-인돌-2-카르복실레이트 (26)



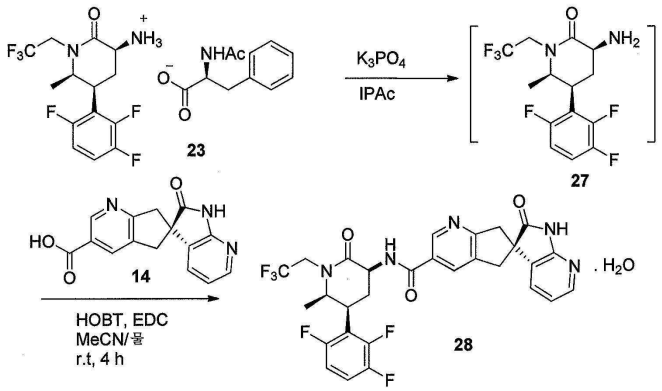
[0314]

[0315] 이소프로필 아세테이트 (15.0 ml) 중 24 (2.00 g, 5.88 mmol)를 함유하는 조 물질 및 3,5-디클로로-2-히드록시벤즈알데히드 (0.011 g, 0.059 mmol)의 혼합물에 THF (10.0 ml) 중 1H-인돌-2-카르복실산 (0.96 g, 5.88 mmol)의 용액을 55-60℃에서 질소 하에 2시간에 걸쳐 천천히 첨가하였다. 산 첨가의 완결시, 진한 염 현탁액을 55-60℃에서 추가 18시간 동안 교반한 다음, 주위 온도로 냉각되도록 하였다. 염을 여과하고, 이소프로필 아세테이트로 세척하였다. 진공 오븐 중에 60℃에서 8시간 동안 질소 퍼징 하에 건조시킨 후, 26 (2.33 g, 79.0%)을 결정으로서 단리시켰다.

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO): δ 11.40 (s, 1 H), 7.56 (d, J = 8.0 Hz, 1 H), 7.45 (br, 3 H), 7.47 (ddd, J = 14.8, 10.1, 8.3 Hz, 1 H), 7.41-7.40 (m, 1 H), 7.16-7.14 (m, 2 H), 6.98-6.97 (m, 1 H), 6.87 (s, 1 H), 4.69 (dq, J = 15.3, 9.6 Hz, 1 H), 3.84-3.81 (m, 4 H), 2.76-2.71 (m, 1 H), 2.34 (dd, J = 12.7, 6.3 Hz, 1 H), 1.13 (d, J = 6.5 Hz, 3 H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 170.9, 164.8, 156.8 (ddd, J = 244, 7.0, 2.5 Hz), 149.1 (ddd, J = 249, 14.4, 8.5 Hz), 147.2 (ddd, J = 246, 13.9, 3.2 Hz), 137.0, 133.5, 127.8, 125.4 (q, J = 282 Hz), 123.3, 121.8, 119.7, 117.8 (dd, J = 19.8, 13.8 Hz), 117.2 (dd, J = 19.2, 10.6 Hz), 112.7, 112.3 (ddd, J = 26.1, 6.7, 3.3 Hz), 105.1, 57.1, 51.3, 44.8 (q, J = 32.7 Hz), 35.2, 26.9, 14.5.

[0316]

[0317] N-((3S,5S,6R)-6-메틸-2-옥소-1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-5-(2,3,6-트리플루오로페닐)피페리딘-3-일)-2'-옥소-1',2',5,7-테트라히드로스피로[시클로펜타[b]피리딘-6,3'-피롤로[2,3-b]피리딘]-3-카르복스아미드 1수화물 (28)



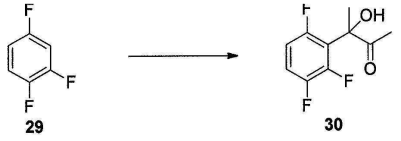
[0318]

[0319] 이소프로필 아세테이트 (50 mL) 중 23 (5.0 g, 9.1 mmol)의 현탁액에 5% 수성 K_3PO_4 (50 mL)를 첨가하였다. 혼합물을 5분 동안 교반하였다. 유기 층을 분리하고, 수성 K_3PO_4 (50 mL)로 세척하였다. 용매를 진공 하에 제거하고, 생성된 오일 (27)을 아세토니트릴 (20 mL) 중에 용해시켰다. 또 다른 플라스크에 14 (2.57 g), 아세토니트릴 (40 mL), 물 (20 mL) 및 NaOH 용액 (10N, 0.9 mL)을 첨가하였다. 혼합물에 아세토니트릴 중 27의 용액에 이어서 HOBT 1수화물 (1.5 g) 및 EDC 히드로클로라이드 (2.6 g)를 충전하였다. 혼합물을 실온에서 4시간 동안 교반하고, HPLC 분석이 완전한 전환을 나타내었다. 반응 혼합물을 이소프로필 아세테이트 (60 mL)와 함께 교반하고, 수성 층을 제거하였다. 유기 층을 5% 수성 $NaHCO_3$ (40 mL)에 이어서 15% 수성 시트르산 (40 mL) 및 포화 수성 NaCl (10 mL)의 혼합물로 세척하였다. 생성된 유기 층을 최종적으로 5% 수성 $NaHCO_3$ (40 mL)으로 세척하였다. 용매를 진공 하에 제거하고, 잔류물을 메탄올 (20 mL) 중에 용해시켰다. 메탄올 용액을 물 (50 mL) 및 메탄올 (5 mL)의 혼합물에 30분에 걸쳐 잘 교반하면서 천천히 충전하고, 이어서 30분에 걸쳐 물 (50 mL)을 첨가하였다. 현탁액을 밤새 실온에서 교반하였다. 혼합물을 여과하고, 결정을 진공 오븐 중에 50℃에서 5시간 동안 건조시켜 28 (5.4 g, 95%)을 1수화물로서 수득하였다.

[0320] ^{1}H NMR (500 MHz, CD_3OD): δ 8.88 (t, J = 1.2 Hz, 1 H), 8.15 (t, J = 1.2 Hz, 1 H), 8.09 (dd, J = 5.3, 1.5 Hz, 1 H), 7.36 (dd, J = 7.4, 1.5 Hz, 1 H), 7.28 (qd, J = 9.3, 4.7 Hz, 1 H), 7.01 (tdd, J = 9.7, 3.6, 1.9 Hz, 1 H), 6.96 (dd, J = 7.4, 5.3 Hz, 1 H), 4.80 (dq, J = 15.2, 9.2 Hz, 1 H), 4.56 (dd, J = 11.7, 6.8 Hz, 1 H), 4.03 (ddd, J = 13.6, 4.2, 2.6 Hz, 1 H), 3.97-3.90 (m, 1 H), 3.68 (dq, J = 15.3, 8.8 Hz, 1 H), 3.59 (t, J = 16.2 Hz, 2 H), 3.35 (d, J = 4.4 Hz, 1 H), 3.32 (d, J = 3.5 Hz, 1 H), 3.21 (qt, J = 12.7, 3.1 Hz, 1 H), 2.38-2.32 (m, 1 H), 1.34 (d, J = 6.5 Hz, 3 H); ^{13}C NMR (126 MHz, CD_3OD): δ 182.79, 171.48, 168.03, 166.71, 159.37 (ddd, J = 244.1, 6.5, 2.1 Hz), 157.43, 150.88 (ddd, J = 249.4, 14.4, 8.7 Hz), 148.96 (ddd, J = 243.8, 13.7, 3.1 Hz), 148.67, 148.15, 136.84, 133.43, 131.63, 130.83, 130.48, 126.41 (q, J = 280.0 Hz), 119.85, 118.89 (dd, J = 19.0, 13.5 Hz), 117.77 (dd, J = 19.8, 10.8 Hz), 112.80 (ddd, J = 26.5, 6.5, 4.2 Hz), 58.86, 53.67, 52.87, 46.56 (q, J = 33.3 Hz), 45.18, 42.06, 36.95, 27.76 (t, J = 4.8 Hz), 14.11.

[0321] 실시예 3

[0322] 3-히드록시-3-(2,3,6-트리플루오로페닐)부탄-2-온 (30)



[0323]

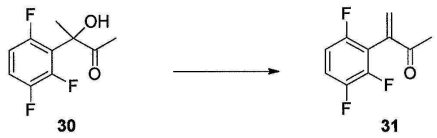
[0324] -70℃에서의 THF (750 mL) 중 1,2,4-트리플루오로벤젠 (29, 49.00 g, 371 mmol) 및 디이소프로필아민 (4.23 mL, 29.7 mmol)의 용액에 2.5 M의 n-BuLi (156.0 ml, 390 mmol)을 반응 온도를 -45 내지 -40℃로 유지하면서 천천히 첨가하였다. 배치를 30분 동안 교반하였다. 또 다른 플라스크에, THF (150 mL) 중 2,3-부타디온 (37.7 mL, 427 mmol)의 용액을 제조하고, -70℃로 냉각시켰다. 사전에 제조한 리튬 트리플루오로벤젠 용액을 -70 내지 -45℃에서 제2 플라스크로 옮겼다. 반응물을 1시간 동안 -55 내지 -45℃에서 교반한 다음, AcOH (25.7 mL, 445 mmol)에 이어서 물 (150 mL)을 첨가하여 켄칭하였다. 실온으로 가온한 후, 수성 층을 분리하였다. 수용액

을 MTBE (200 mL x 1)로 추출하고, 합한 유기 층을 염수 (100 mL x1)로 세척하였다. 유기 층을 25-35℃에서 농축시켰다. 잔류물을 헵탄 (100 mL x1)으로 플러싱하고, 농축 건조시켜 30 (87.94 g, 90.2 wt%, 98% 수율, 및 >99% HPLC 순도)을 오일로서 수득하였다.

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ 7.16 (m, 1H), 6.86 (m, 1H), 6.88 (s, 1H), 4.59 (s, 1H), 2.22 (s, 3H), 1.84 (dd, *J* = 4.0, 2.8 Hz, 3H); ^{19}F NMR ($CDCl_3$, 376.6 MHz): δ -114.6 (dd, *J* = 14.5, 1.4 Hz), -133.6 (d, *J* = 19.9 Hz), -141.3 (dd, *J* = 19.9, 14.5 Hz); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): δ 207.4, 156.4 (ddd, *J* = 247, 6.2, 2.9 Hz), 149.4 (ddd, *J* = 253, 15.0, 9.0 Hz), 147.5 (ddd, *J* = 245, 14.4, 3.3 Hz), 119.4 (dd, *J* =17.3, 11.7 Hz), 117.0 (ddd, *J* =19.3, 11.1, 1.4 Hz), 116.6 (ddd, *J* = 26.6, 6.5, 4.1 Hz), 77.9, 25.0 (dd, *J* = 6.5, 4.9 Hz), 23.3.

[0325]

[0326] 3-(2,3,6-트리플루오로페닐)부트-3-엔-2-온 (31)



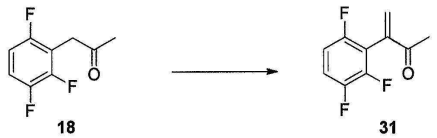
[0327]

[0328] 히드록시 케톤 30 (7.69 g, 35.2 mmol) 및 95% H_2SO_4 (26.2 mL, 492.8 mmol)를 각각 2.3 및 9.2 mL/min로 유량 반응기에 펌핑하였다. 반응기를 수조 (21℃)에 위치시켜 혼합 온도를 22-25℃로 조절하였다. 용출액을 0℃로 냉각된 자켓 반응기에서 냉수 (106 g) 및 헵탄/IPAc (1:1, 92 mL)의 혼합물로 켄칭하였고; 반응 동안의 켄칭 용액의 내부 온도는 ~ 7℃이었다. 켄칭 반응기 내의 층을 분리하고, 유기 층을 10% NaH_2PO_4/Na2HPO$_4$ (1:1, 50 mL)로 세척하였다. 최종 세척액의 pH는 5-6이었다. 솔카 플록(Solka flock) (3.85 g, 50 wt%)을 유기 용액에 첨가하였다. 생성된 슬러리를 농축시키고, 25-30℃에서 헵탄으로 용매-교체하였다. 혼합물을 여과하고, 헵탄 (50 mL x 1)으로 세척하였다. 합한 여과물을 진공 하에 농축시켜 31을 담황색 오일 (6.86 g, 90 wt%, 87% 수율)로서 수득하였으며, 이를 동결기 중에서 응고시켰다.

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ 7.13 (m, 1H), 6.86 (m, 1H), 6.60 (s, 1H), 6.15 (s, 1H), 2.46 (s, 3H); ^{19}F NMR ($CDCl_3$, 376.6 MHz): δ -117.7 (dd, *J* = 15.0, 1.4 Hz), -135.4 (dd, *J* = 21.4, 1.4 Hz), -42.7 (dd, *J* = 21.4, 15.0 Hz); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): δ 196.3, 155.3 (ddd, *J* = 245, 5.1, 2.9 Hz), 147.9 (ddd, *J* = 250, 14.5, 7.8 Hz), 147.0 (ddd, *J* = 245, 13.4, 3.7 Hz), 137.5 (d, *J* =1.3 Hz), 131.7, 116.6 (ddd, *J* = 19.9, 9.7, 1.2 Hz), 116.2 (dd, *J* = 22.6, 16.5 Hz), 110.6 (ddd, *J* = 24.8, 6.5, 4.1 Hz), 25.8.

[0329]

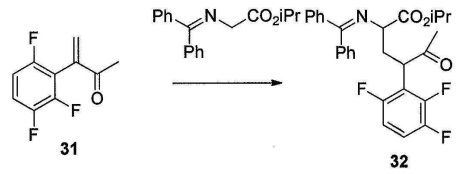
[0330] 3-(2,3,6-트리플루오로페닐)부트-3-엔-2-온 (31)의 대안적 합성



[0331]

[0332] MeCN (20 mL) 중 18 (3.5 g, 18.6 mmol), 아세트산 (0.34 ml, 5.58 mmol), 피페리딘 (0.37 ml, 3.72 mmol), 포름알데히드 (6.0 g, 37% 수용액)의 용액을 주말에 걸쳐 가열하였다. 전환율은 약 60%였다. 반응물을 70℃로 밤새 가열하였다. 혼합물을 농축시키고, MTBE 및 HCl (0.5N)로 추출하였다. 유기 층을 수성 K_2CO_3 (0.5N) 및 물로 교대로 세척하였다. 유기 층을 농축시켰다. 생성물을 크로마토그래피 칼럼 (헥산 및 EtOAc)에 의해 단리시키고, 31 (2.29 g, 61.5%)을 수득하였다.

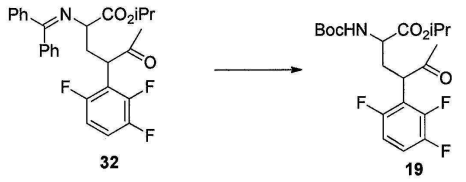
[0333] 이소프로필 2-((디페닐메틸렌)아미노)-5-옥소-4-(2,3,6-트리플루오로페닐)헥사노에이트 (32)



[0334]

[0335] 디페닐리덴 이소프로필 글리시네이트 (2.0 g, 7.0 mmol) 및 31 (1.4 g, 7.0 mmol)을 THF (10 ml) 중에 용해시켰다. 용액을 -10℃로 냉각시켰다. tert-BuOLi (0.56 g, 7.0 mmol)를 여러 번으로 나누어 용액에 충전하였다. 반응물을 실온으로 천천히 가온하고, 밤새 교반하였다. 수성 NH_4Cl의 첨가에 의해 켄칭한 후, 용매를 진공 하에 증류에 의해 제거하였다. 잔류물을 헥산 및 EtOAc 용리액을 사용하는 실리카 크로마토그래피 칼럼에 적용시켜 32 (3.0 g, 89 %)를 오일로서 수득하였고, 직접 후속 단계에 사용하였다.

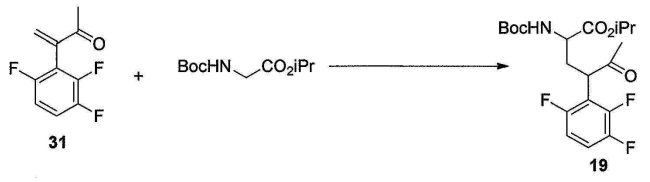
[0336] 이소프로필 2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-5-옥소-4-(2,3,6-트리플루오로페닐)헥사노에이트 (19)



[0337]

[0338] 화합물 32 (100 mg, 0.21 mmol)를 THF (2 ml) 중에 용해시키고, 용액을 -10℃로 냉각시켰다. 염산 (2N, 1 ml)을 첨가하고 TLC에 의해 모든 출발 물질이 사라질 때까지 교반하였다. 반응물의 pH를 수성 K_2CO_3을 첨가하여 조정하였다 (pH.>10). Boc_2O (68 mg, 0.31 mmol)를 혼합물에 첨가하고, 밤새 교반하였다. 반응물을 TLC에 의해 확인하여 완결하고, 생성물은 아이오도 커플링 경로로부터 제조한 것과 동일하였다.

[0339] 이소프로필 2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-5-옥소-4-(2,3,6-트리플루오로페닐)헥사노에이트 (19)



[0340]

[0341] 100 mL 둥근 바닥에 2-메틸 THF (43.7 mL) 및 디이소프로필 아민 (4.92 mL, 34.2 mmol)을 충전하고, 용액을 -70℃로 냉각시켰다. 온도를 -45℃ 미만으로 조절하면서 n-BuLi (13.08 mL, 32.7 mmol)를 적하 충전하였다. 혼합물을 -45℃에서 0.5시간 동안 교반하였다. 온도를 -45 내지 -40℃로 유지하면서 N-Boc-글리신 에스테르 (3.58 g)를 적가하고, 동일한 온도에서 1시간 동안 숙성시켰다.

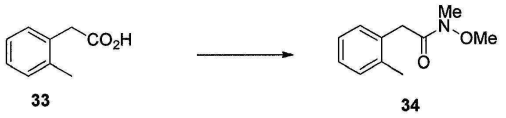
[0342] 이어서, 2-메틸 THF (2.9 mL) 중 31 (2.91 g, 14.5 mmol)의 용액을 동일한 방식으로 -45 내지 -40℃에서 첨가하였다. 0.5-1시간 동안 숙성시킨 후, LC 분석은 거의 완전한 반응을 나타내었다. 반응물을 HOAc (3.83 mL)의 첨가에 의해 켄칭하고, 혼합물을 -10℃로 가온하고, 물 (11.6 mL, 4 vol)을 < 20℃에서 충전하였다. 상을 분리하고, 유기 층을 16% NaCl 수용액 (11.6 mL)으로 세척하였다. 유기 용액 중 부분입체이성질체의 혼합물로서의 목적하는 생성물 19의 검정은 5.40 g (89% 수율)이었다. 유기 층을 농축시켜 조 생성물 19를 수득하였으며, 이를 직접 후속 단계 반응에 사용하였다. 특성화 목적을 위해, 작은 샘플을 플래쉬 크로마토그래피 (실리카 겔, EtOAc/헥산 = 1:10)에 의해 정제하여 2종의 부분입체이성질체 19A 및 19B를 수득하였다.

19A 무색 결정으로서, NMR (CD_3CN, 400 MHz) δ: 7.29 (m, 1 H), 7.02 (m, 1 H), 5.58 (d, J = 6.1 Hz, 1 H), 4.91 (m, 1 H), 4.19-4.05 (m, 2 H), 2.79 (m, 1 H), 2.05 (s, 3 H), 1.84 (m, 1 H), 1.41 (s, 9 H), 1.23 (d, J = 6.7 Hz, 3 H), 1.22 (d, J = 6.7 Hz, 3 H); ^{13}C NMR (CD_3CN, 100 MHz) δ: 204.7, 172.4, 158.6 (ddd, J = 244, 6, 3 Hz), 156.3, 149.8 (ddd, J = 248, 15, 9 Hz), 148.5 (ddd, J = 242, 14, 3 Hz), 118.3 (dd, J = 21, 16 Hz), 117.7 (ddd, J = 19, 10, 2 Hz), 112.6 (ddd, J = 26, 7, 4 Hz), 80.2, 70.0, 53.5, 46.0, 32.0, 28.5, 22.0, 21.9. **19B** 무색 결정으로서, MP 91.5-92.0 °C, ^1H NMR (CD_3CN, 400 MHz) δ: 7.31 (m, 1 H), 7.03 (m, 1 H), 5.61 (d, J = 8.2 Hz, 1 H), 4.95 (m, 1 H), 4.19 (dd, J = 10.2, 5.1 Hz, 1 H), 3.72 (m, 1 H), 2.45-2.29 (m, 2 H), 2.09 (s, 3 H), 1.41 (s, 9 H), 1.21 (d, J = 6.3 Hz, 3 H), 1.20 (d, J = 6.3 Hz, 3 H); ^{13}C NMR (CD_3CN, 100 MHz) δ: 205.0, 172.8, 157.9 (ddd, J = 244, 7, 3 Hz), 156.5, 150.3 (ddd, J = 248, 149, 9 Hz), 148.5 (ddd, J = 242, 13, 4 Hz), 117.9 (dd, J = 19, 10 Hz), 115.9 (dd, J = 21, 15 Hz), 111.5 (ddd, J = 25, 8, 4 Hz), 80.1, 69.9, 52.9, 46.5, 31.1, 28.5, 22.0, 21.9.

[0343]

[0344] 실시예 4

[0345] N-메톡시-N-메틸-2-(o-톨릴)아세트아미드 (34)



33 34

[0346]

[0347] THF (1 L) 중 NHMe(OMe)·HCl (203 g, 2.1 mol), H_2O (400 mL) 및 TEA (263 g, 2.2 mol)의 용액에, 33 (200 g, 1.3 mol) 및 CDI (243 g,1.5 mol)를 0-10℃에서 첨가하였다. 반응 혼합물을 0-10℃에서 5시간 동안 교반하였다. HPLC가 반응의 완결을 나타낸 후, 혼합물을 셀라이트를 통해 여과하고, 여과물을 물 및 EtOAc를 사용하여 분배하였다. 유기 용액을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 농축시켰다. 조 잔류물을 추가로 실리카 겔 (5-10% EtOAc/PE) 상에서 플래쉬 크로마토그래피에 의해 정제하여 34 (200 g, 78% 수율)를 수득하였다.

^1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ 7.17-7.13 (m, 4 H), 3.75 (m, 2 H), 3.66 (d, 3 H), 3.11 (s, 3H), 2.20 (s, 3 H), 1.63-1.55 (m, 1 H); MS (ESI) m/e $[M+H]^+$: 194.1.

[0348]

[0349] 1-(o-톨릴)프로판-2-온 (35)



34 35

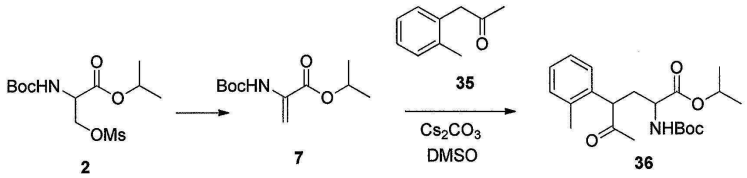
[0350]

[0351] THF (4 L) 중 $CeCl_3$ (114.4 g, 0.45 mol)의 용액을 1시간 동안 탈기하고, 45-50℃로 5시간 동안 가열하였다. 용액을 -10~-5℃로 냉각시키고, THF 중 MeMgCl (193.2 g, 2.6 mol)을 첨가하고, 혼합물을 -10~-5℃에서 1시간 동안 교반하였다. 아미드 34 (256 g, 1.3 mol)를 -10~-5℃에서 반응 혼합물로 충전한 후, 혼합물을 10-20℃에서 5시간 동안 교반하였다. LCMS에 의해 모니터링하여 반응이 완결된 후, 혼합물을 1M HCl에 의해 켄칭한 다음, 물 및 EtOAc를 사용하여 분배하였다. 유기 상을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 농축시켰다. 조 잔류물을 추가로 실리카 겔 (2-10% EtOAc/PE) 상에서 플래쉬 크로마토그래피에 의해 정제하여 35 (157 g, 80% 수율)를 수득하였다.

^1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ 7.1 -6.91 (d, 4 H), 3.55 (s, 3 H), 2.25 (s, 3 H), 2.05 (s, 3 H); MS (ESI) m/e $[M+H]^+$: 149.05.

[0352]

[0353] 이소프로필 2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-5-옥소-4-(o-톨릴)헥사노에이트 (36)



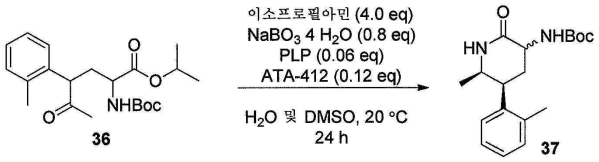
[0354]

[0355] THF (1 L) 중 2 (181.2 g, 0.557 mol)의 용액에 TEA (84.6 g, 0.836 mol)를 15-20℃에서 조금씩 첨가하였다. 혼합물을 30시간 동안 교반하였다. 반응이 완결된 후, 용액을 농축시켜 조 7을 수득하였다. DMSO (1 L) 중 35 (82.5 g, 0.557 mol) 및 Cs_2CO_3 (91 g, 0.279 mol)의 용액에 DMSO (500 mL) 중 조 7을 30분에 걸쳐 15-20℃에서 천천히 첨가하였다. 혼합물을 1시간 동안 교반하였다. 반응이 완결된 후, 혼합물을 물 및 MTBE (5 L)를 사용하여 분배하고, MTBE로 2회 추출하였다. 합한 유기 층을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 농축시켰다. 조 잔류물을 추가로 실리카 겔 (5-10% EtOAc/PE) 상에서 플래쉬 크로마토그래피에 의해 정제하여 36 (138 g, 65% 수율)을 수득하였다.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, 400 MHz): δ 7.14-7.09 (m, 3H), 7.10-6.91 (d, 1 H), 4.93-4.89 (m, 1H), 4.05-3.98 (s, 3H), 2.39-2.37 (d, 3H), 1.98-1.92 (d, 3H), 1.20-1.19 (m, 9H), 1.18-1.15 (m, 6H);

[0356] MS (ESI) m/e $[M+H]^+$: 364.2

[0357] tert-부틸 ((5S,6R)-6-메틸-2-옥소-5-(o-톨릴)피페리딘-3-일)카르바메이트 (37)



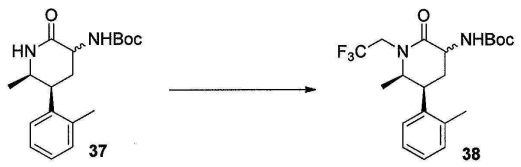
[0358]

[0359] H_2O (180 g) 중 $NaBO_3 \cdot 4H_2O$ (10 g, 0.026 mol)의 용액에 이소프로필아민 (30 g, 0.25 mmol)을 20℃에서 적하 충전하였다. 혼합물을 30분 동안 교반한 후, pH를 6M HCl에 의해 10.3-10.5로 조정하였다. PLP (1 g, 6.4 mmol) 및 ATA-412 (25 g)를 20℃에서 용액에 충전하였다. 상기 혼합물을 1시간 동안 교반한 후, DMSO (250 mL) 중 36 (50 g, 4.7 mmoL)의 용액을 20℃에서 천천히 첨가하였다. 용액을 55℃로 가열하고, 24시간 동안 교반하였다. 반응이 완결된 후, 반응물을 이소프로필 알콜 (100 mL)에 의해 켄칭한 다음, 물 및 IPAc를 사용하여 분배하였다. 유기 상을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 농축시켰다. 조 잔류물을 추가로 실리카 겔 (5-20% EtOAc/PE) 상에서 플래쉬 크로마토그래피에 의해 정제하여 37 (16.5 g, 40 % 수율)을 수득하였다.

^{1}H (DMSO-d_6, 400 MHz): δ 7.83 (s, 1H), 7.18-7.13 (m, 4H), 4.06 (br, 1H), 3.67-3.51 (m, 2H), 2.30 (d, 3H), 1.99 (t, 1H), 1.36 (s, 9H), 0.82 (m, 3H); MS (ESI) m/e $[M+H]^+$: 319.2

[0360]

[0361] tert-부틸 ((5S,6R)-6-메틸-2-옥소-5-(o-톨릴)-1-(2,2,2-트리플루오로에틸)피페리딘-3-일)카르바메이트 (38)



[0362]

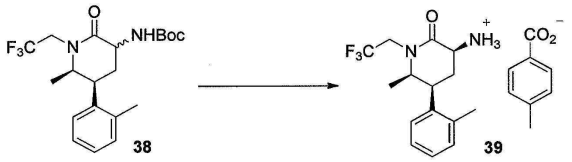
[0363] THF (500 mL) 중 37 (50 g, 0.164 mol) 및 DMPU (25 g, 0.2 mol)에 tert-BuOLi (16.5 g, 0.2 mol)의 용액을 20℃에서 0.5시간 동안 조금씩 첨가하였다. 혼합물을 30분 동안 20℃에서 탈기시킨 후, CF_3CH_2OTf (45.8 g, 0.2 mol)를 20-25℃에서 첨가하였다. 반응물을 20-25℃에서 24시간 동안 교반하였다. 반응이 완결된 후, 혼합물을 물에 의해 켄칭한 다음, 물 및 EtOAc를 사용하여 분배하였다. 유기 용액을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 농축시켰다. 조 잔류물을 추가로 실리카 겔 (2-10% EtOAc/PE) 상에서 플래쉬 크로마토그래피에 의해 정제하여 생

성물 38 (50 g, 78% 수율)을 수득하였다.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, 400 MHz): δ 7.18-7.13 (m, 4H), 4.17 (m, 1H), 4.11 (br, 1H), 3.67 (m, 3H), 2.66 (s, 1H), 2.33 (d, 3H), 1.83 (t, 1H), 1.41 (s, 9H), 0.96 (d, 3H); MS (ESI) m/e $[M+H]^+$ 405.17.

[0364]

[0365] (3S,5S,6R)-6-메틸-2-옥소-5-(o-톨릴)-1-(2,2,2-트리플루오로에틸)피페리딘-3-아미늄 4-메틸벤조에이트 (39)



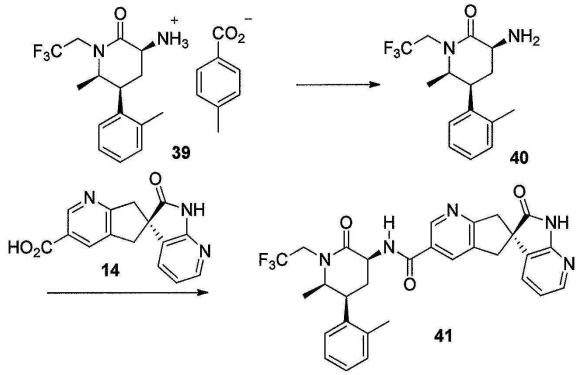
[0366]

[0367] THF (10 mL) 중 38 (2.0 g, 5.0 mol)의 용액에 6N HCl (10 mL, 59.9 mmol)을 적가하였다. 반응물을 20-25℃에서 5시간 동안 숙성시킨 다음, 농축시켜 THF를 제거하였다. 잔류물을 MTBE로 희석하고, K_2CO_3로 염기성화하였다. 총 3 mL의 H_2O를 첨가하여 모든 고체를 용해시켰다. 유기 층을 분리하고, 염수로 세척하고 IPAC로 용매-교체하였다. 유기 층의 1/3에 4-메틸벤조산 (0.27 g, 2.00 mmol)을 첨가하였다. 용액을 50℃로 가열하고, 2-히드록시-5-니트로벤즈알데히드 (0.0028 g, 0.017 mmol)를 첨가하였다. 반응물을 20-25℃에서 16시간 동안 숙성시켰다. 생성된 슬러리를 빙조 내에서 2℃로 냉각시키고, 여과하였다. 고체를 IPAC로 세척하고, 건조시켜 생성물 39 (0.38 g, 52%)를 결정으로서 수득하였다.

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6): δ 7.82 (d, J = 8.0 Hz, 2 H), 7.26 (d, J = 7.9 Hz, 2 H), 7.18-7.19 (m, 3 H), 7.12 (d, J = 7.5 Hz, 1 H), 4.67 (dq, J = 15.2, 9.7 Hz, 1 H), 3.72-3.74 (m, 2 H), 3.61-3.63 (m, 1 H), 3.55 (dd, J = 11.3, 6.7 Hz, 1 H), 2.40 (dd, J = 25.2, 12.9 Hz, 1 H), 2.35 (s, 3 H), 2.32 (s, 3 H), 2.02 (dd, J = 12.6, 6.7 Hz, 1 H), 0.91 (d, J = 6.4 Hz; 3 H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 172.7, 168.3, 142.4, 139.1, 136.1, 130.9, 130.5, 129.7, 129.3, 127.4, 127.2, 126.5, 125.6 (q, J =281 Hz), 56.2, 52.1, 45.0 (q, J =32.3 Hz), 38.5, 29.1, 21.5, 18.7, 14.2

[0368]

[0369] (S)-N-((3S,5S,6R)-6-메틸-2-옥소-5-(o-톨릴)-1-(2,2,2-트리플루오로에틸)피페리딘-3-일)-2'-옥소-1',2',5,7-테트라히드로스피로[시클로펜타[b]피리딘-6,3'-피롤로[2,3-b]피리딘]-3-카르복스아미드 (41)



[0370]

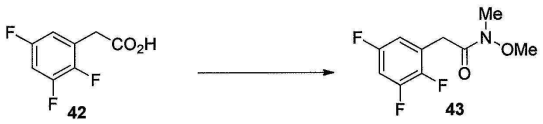
[0371] 염 39 (0.25 g, 0.58 mmol)를 IPAC (2.5 mL) 및 K_3PO_4의 5 wt% 수용액 (2.5 mL) 사이에 분배하고, 5 wt% 수성 K_3PO_4로 2회 세척하였다. 유기 층을 염수로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 농축시켜 조 40을 수득하였다. 조 40을 MeCN (1.75 mL) 및 H_2O (1.0 mL) 중에 용해시켰다. 여기에 산 14 (0.17 g, 0.53 mmol), HOBT (0.11 g, 0.70 mmol) 및 EDC·HCl (0.17 g, 0.87 mmol)을 첨가하였다. 불균질 혼합물을 20-25℃에서 16시간 동안 숙성시켰다. 균질 반응물을 IPAC 및 포화 수성 $NaHCO_3$ 사이에 분배하고, 포화 수성 $NaHCO_3$으로 2회 세척하였다. 유기 층을 15 wt% 수성 시트르산 용액, 포화 수성 $NaHCO_3$ 및 염수로 세척하였다. 유기 층을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 농축시켜 생성물 41 (0.29 g, 89 % 수율)을 수득하였다.

^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ 8.91 (s, 1H), 8.56 (s, 1H), 8.17 (dd, *J* = 5.0, 1.5 Hz, 1H), 8.05 (s, 1H), 7.30 (d, *J* = 5.0 Hz, 1H), 7.20 (m, 3H), 7.12 (m, 2H), 6.89 (dd, *J* = 7.5, 5.0 Hz, 1H), 5.00-4.94 (m, 1H), 4.55 (m, 1H), 3.93-3.90 (m, 1H), 3.81-3.76 (m, 2H), 3.68 (d, *J* = 16.5 Hz, 1H), 3.31-3.23 (m, 2H), 3.17 (d, *J* = 16.5 Hz, 1H), 2.75-2.67 (m, 2H), 2.41 (s, 3H), 1.11 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD): δ 182.8, 171.8, 168.0, 166.7, 157.5, 148.7, 148.2, 139.5, 137.5, 136.8, 133.4, 132.0, 131.6, 130.8, 130.6, 128.4, 128.3,127.4, 126.6 (q, *J* = 283 Hz), 119.9, 58.1, 53.7, 53.0, 46.7 (q, *J* = 33.4 Hz), 45.2, 42.1, 40.2, 28.8, 19.0, 13.6; HRMS: *m/z* = 564.2219 (M + 1), 계산값 *m/z* = 564.2234 : $C_{30}H_{28}F_3N_5O_3$.

[0372]

[0373] 실시예 5

[0374] N-메톡시-N-메틸-2-(2,3,5-트리플루오로페닐)아세트아미드 (43)



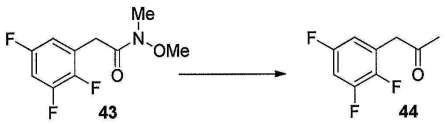
[0375]

[0376] THF (110 mL) 중 NHMe(OMe)·HCl (20.3 g, 0.21 mol), H_2O (40 mL) 및 TEA (26.3 g, 0.22 mol)의 용액에 2,3,5-트리플루오로아세트산 (42, 24.7 g, 0.13 mol) 및 CDI (24.3 g, 0.15 mol)를 0-10℃에서 첨가하였다. 반응 혼합물을 0-10℃에서 5시간 동안 교반하였다. HPLC가 반응의 완결을 나타낸 후, 혼합물을 셀라이트를 통해 여과하고, 여과물을 물 및 EtOAc를 사용하여 분배하였다. 유기 용액을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 농축시켰다. 조 잔류물을 추가로 실리카 겔 (5-10% EtOAc/PE) 상에서 플래쉬 크로마토그래피에 의해 정제하여 43 (24.0 g, 80% 수율)을 수득하였다.

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ 6.76-6.72 (m, 2 H), 3.72 (m, 2 H), 3.66 (d, 3 H), 3.15 (d, 3 H); MS (ESI) m/e $[M+H]^+$: 234.07.

[0377]

[0378] 1-(2,3,5-트리플루오로페닐)프로판-2-온 (44)



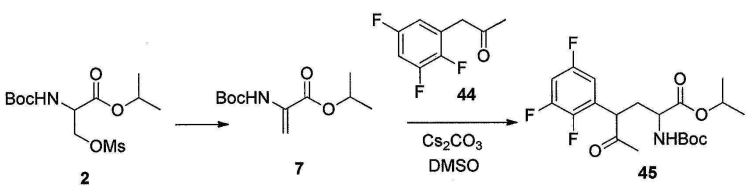
[0379]

[0380] THF (350 mL) 중 $CeCl_3$ (11.44 g, 0.045 mol)의 용액을 1시간 동안 탈기하고, 45-50℃로 5시간 동안 가열하였다. 용액을 -10~5℃로 냉각시키고, THF 중 MeMgCl (19.44 g, 0.26 mol)을 첨가하고, 혼합물을 -10~-5℃에서 1시간 동안 교반하였다. 아미드 43 (30.3 g, 0.13 mol)을 -10~-5℃에서 반응 혼합물에 충전한 후, 혼합물을 10-20℃에서 5시간 동안 교반하였다. 반응이 완결된 후, 혼합물을 1M HCl에 의해 켄칭한 다음, 물 및 EtOAc를 사용하여 분배하였다. 유기 상을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 농축시켰다. 조 잔류물을 추가로 실리카 겔 (2-10% EtOAc/PE) 상에서 플래쉬 크로마토그래피에 의해 정제하여 44 (20.8 g, 85% 수율)를 수득하였다.

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ 6.91-6.78 (m, 1 H), 6.69 (dd, 1 H), 3.77 (d, 2 H), 2.25 (s, 3 H); MS (ESI) m/e $[M+H]^+$:189.05.

[0381]

[0382] 이소프로필 2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-5-옥소-4-(2,3,5-트리플루오로페닐)헥사노에이트 (45)



[0383]

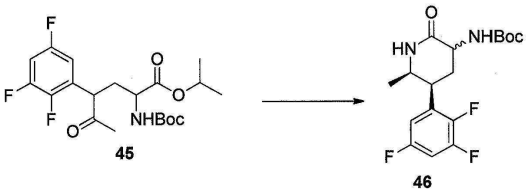
[0384] THF (50 mL) 중 2 (10.98 g, 33.7 mmol)의 용액에 TEA (4.8 g, 47.4 mmol)를 15-20℃에서 조금씩 첨가하였다. 혼합물을 30시간 동안 교반하였다. 반응이 완결된 후, 용액을 농축시켜 조 7을 수득하였다. DMSO (35 mL) 중

44 (6.3 g, 33.7 mmol) 및 Cs_2CO_3 (5.0 g, 15.3 mmol)의 용액에 DMSO (35 mL) 중 조 7의 용액을 30분에 걸쳐 15-20℃에서 천천히 첨가하였다. 혼합물을 1시간 동안 교반하였다. 반응이 완결된 후, 혼합물을 물 및 MTBE (50 mL)를 사용하여 분배하고 MTBE로 2회 추출하였다. 합한 유기 층을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 농축시켰다. 조 잔류물을 추가로 실리카 겔 (5-10% EtOAc/PE) 상에서 플래쉬 크로마토그래피에 의해 정제하여 45 (8.4 g, 60% 수율)를 수득하였다.

^1H NMR (DMSO-d_6, 400 MHz): δ 6.77 (d, 1H), 6.59 (d, 1 H), 5.11 (m, 1H), 4.93-4.89 (m, 1H), 4.12 (s, 2H), 2.66 (d, 1H), 2.05-2.01 (d, 3H), 1.38 (m, 9H), 1.18-1.15 (m, 6H); MS (ESI) m/e $[M+H]^+$: 418.18.

[0385]

[0386] tert-부틸 ((5S,6R)-6-메틸-2-옥소-5-(2,3,5-트리플루오로페닐)피페리딘-3-일)카르바메이트 (46)



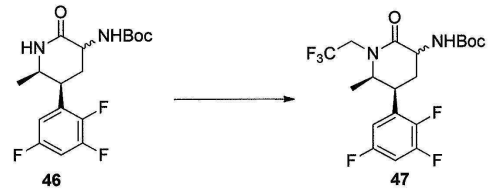
[0387]

[0388] H_2O (18.2 g) 중 $NaBO_3 \cdot 4H_2O$ (1.5 g, 3.9 mmol)의 용액에 이소프로필아민 (1.16 g, 19.6 mmol)을 20℃에서 적하 충전하였다. 혼합물을 30분 동안 교반한 후, pH를 6N HCl에 의해 10.2-10.3으로 조정하였다. PLP (0.042 g, 0.27 mmol) 및 ATA-412 (1.0 g)를 20℃에서 용액에 충전하였다. 상기 혼합물을 1시간 동안 교반한 후, DMSO (10 mL) 중 45 (2 g, 4.7 mmoL)의 용액을 20℃에서 천천히 첨가하였다. 용액을 55℃로 가열하고, 24시간 동안 교반하였다. 반응이 완결된 후, 반응물을 이소프로필 알콜 (10 mL)에 의해 켄칭한 다음, 물 및 IPAc를 사용하여 분배하였다. 유기 용액을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 농축시켰다. 조 잔류물을 추가로 실리카 겔 (5-20% EtOAc/PE) 상에서 플래쉬 크로마토그래피에 의해 정제하여 46 (1.45 g, 85% 수율)을 수득하였다.

^1H NMR (DMSO-d_6, 400 MHz): δ 7.95-7.78 (m, 1H), 6.95 (m, 1H), 3.01 (t, 1H), 1.36 (s, 9H), 1.17-1.10 (br, 4H), 1.12 (m, 3H); MS (ESI) m/e $[M+H]^+$: 359.15.

[0389]

[0390] tert-부틸 ((5S,6R)-6-메틸-2-옥소-1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-5-(2,3,5-트리플루오로페닐)피페리딘-3-일)카르바메이트 (47)



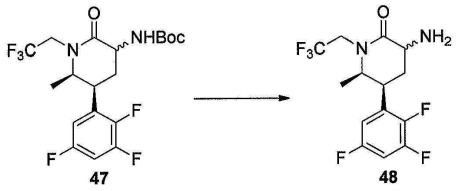
[0391] *

[0392] THF (500 mL) 중 46 (50 g, 0.14 mol) 및 DMPU (7.2 g, 0.06 mol)의 용액에 tert-BuOLi (8.6 g, 0.11 mol)를 20℃에서 0.5시간 동안 조금씩 첨가하였다. 혼합물을 30분 동안 20℃에서 탈기시킨 후, CF_3CH_2OTf (37.5 g, 0.14 mol)를 20-25℃에서 첨가하였다. 용액을 20-25℃에서 24시간 동안 교반하였다. 반응이 완결된 후, 혼합물을 물에 의해 켄칭한 다음, 물 및 EtOAc를 사용하여 분배하였다. 유기 용액을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 농축시켰다. 조 잔류물을 추가로 실리카 겔 (2-10% EtOAc/PE) 상에서 플래쉬 크로마토그래피에 의해 정제하여 생성물 47 (50 g, 82% 수율)을 수득하였다.

^1H (DMSO-d_6, 400 MHz): δ 7.52 (m, 1 H), 7.22-6.91 (m, 1 H), 4.65 (m, 1 H), 3.85 (br, 1H), 3.38-3.37 (m, 2 H), 1.40 (s, 9 H), 0.90 (m, 3 H); MS (ESI) m/e $[M+H]^+$: 441.15.

[0393]

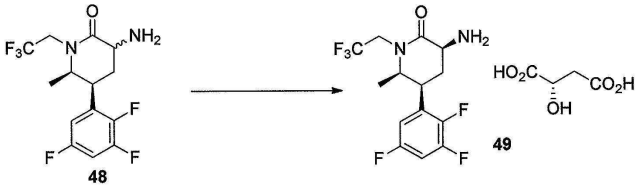
[0394] (5S,6R)-3-아미노-6-메틸-1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-5-(2,3,5-트리플루오로페닐)피페리딘-2-온 (48)



[0395]

[0396] IPAC (20 mL) 중 47 (2.0 g, 4.5 mmol)의 용액에 p-톨루엔술폰산 1수화물 (1.3 g, 6.8 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 55℃에서 4시간 동안 숙성시켰다. 반응이 완결된 후, 슬러리를 빙조에서 5℃로 냉각시키고, H_2O (10 mL) 중 탄산칼륨 (1.9 g, 13.6 mmol)의 용액을 첨가하였다. 수성 층 (pH=10)을 분리하고, 유기 층을 포화 수성 $NaHCO_3$, 물 및 염수로 번갈아가며 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시켰다. 농축시켜 48 (1.3 g, 86% 수율)을 부분 입체이성질체의 4:1 혼합물로서 수득하였다.

[0397] (3S,5S,6R)-3-아미노-6-메틸-1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-5-(2,3,5-트리플루오로페닐)피페리딘-2-온 (S)-2-히드록시숙시네이트 (49)



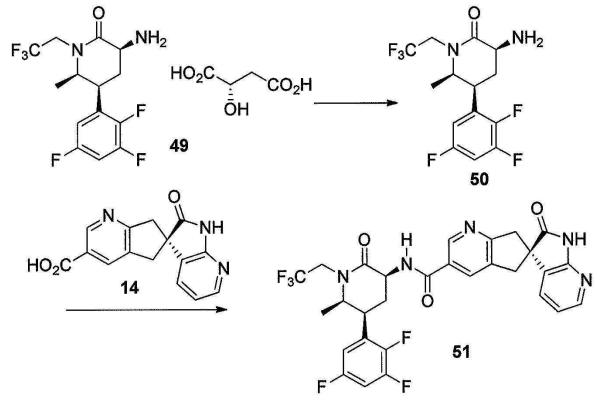
[0398]

[0399] THF (3.7 mL) 중 48 (0.24 g, 0.72 mmol)의 용액에 L-(-)-말산 (0.10 g, 0.75 mmol)을 첨가하였다. 균질 반응물을 58℃로 가열하고, 3시간 동안 숙성시켰다. 반응이 완결된 후, 슬러리를 20-25℃로 냉각시키고, 16시간 동안 숙성시켰다. 고체를 여과하고, 빙냉 THF로 2회 세척하고, 건조시켜 생성물 49 (0.25 g, 73% 수율)을 결정으로서 수득하였다.

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 7.50-7.54 (m, 1 H), 7.01-7.06 (m, 1 H), 4.68 (dq, J = 15.3, 9.6 Hz, 1 H), 4.05 (dd, J = 11.6, 6.7 Hz, 1 H), 3.91-3.92 (m, 2 H), 3.84-3.87 (m, 2 H), 2.51 (m, 1H), 2.45 (m, 1H), 2.33 (dd, J = 15.6, 4.4 Hz, 1 H), 2.15 (dd, J = 12.3, 6.7 Hz, 1 H), 0.97 (d, J = 6.4 Hz, 3 H); ^{13}C NMR (100 MHz, DSMO-d_6): δ 176.3, 172.0, 168.4, 157.4 (ddd, J = 243, 11, 2 Hz), 150.0 (dt, J = 248, 14 Hz), 144.7 (ddd, J = 242, 13, 4 Hz), 130.4 (dd, J = 13, 9 Hz), 124.8 (q, J = 281 Hz), 110.9 (dt, J = 26, 3 Hz), 105.1 (dd, J = 28, 21 Hz), 66.1, 56.0, 49.6, 44.5 (q, J =33 Hz), 41.3, 35.1, 25.1, 13.8; ^{19}F NMR (377 MHz, DMSO-d_6): δ -69.3, -114.6 (d, J = 14.9 Hz), -134.7 (d, J = 21.8 Hz), -148.8 (dd, J = 21.8, 14.9 Hz).

[0400]

[0401] (S)-N-((3S,5S,6R)-6-메틸-2-옥소-1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-5-(2,3,5-트리플루오로페닐)피페리딘-3-일)-2'-옥소-1',2',5,7-테트라히드로스피로[시클로펜타[b]피리딘-6,3'-피롤로[2,3-b]피리딘]-3-카르복스아미드 (51)



[0402]

[0403] 염 49 (0.60 g, 1.27 mmol)를 IPAC (6 mL)와 5 wt% 수성 K_3PO_4 (6 mL)로 분배하고, 5 wt% 수성 K_3PO_4로 2회 세

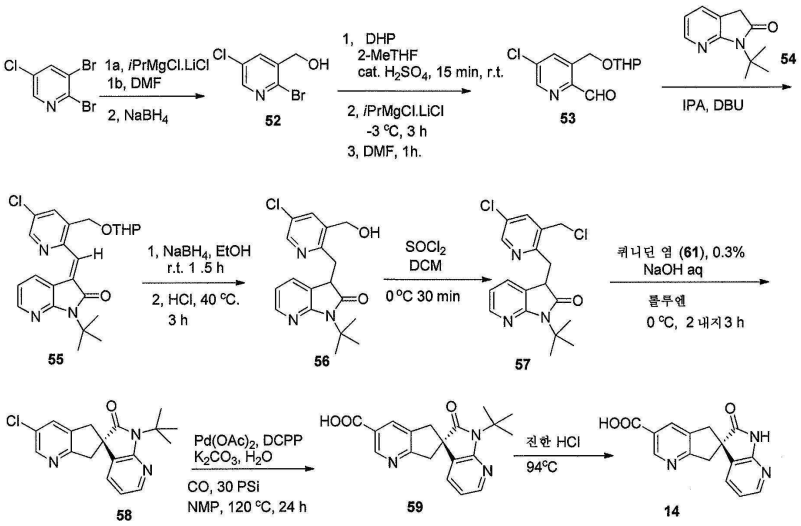
척하였다. 유기 층을 염수로 세척하고, Na_2SO_4로 건조시키고, 농축시켜 조 50을 수득하였다. 이어서, 조 50을 MeCN (4.2 mL) 및 H_2O (2.4 mL) 중에 용해시켰다. 이 용액에 산 14 (0.32 g, 1.12 mmol), HOBT (0.22 g, 1.42 mmol) 및 EDC·HCl (0.34 g, 1.77 mmol)을 첨가하였다. 불균질 혼합물을 20-25℃에서 16시간 동안 숙성시켰다. 반응물을 IPAC와 포화 수성 $NaHCO_3$ 사이에 분배하고, 포화 수성 $NaHCO_3$으로 2회 세척하였다. 이어서, 유기 층을 5 wt% 수성 시트르산, 포화 수성 $NaHCO_3$, 및 염수로 세척하였다. 유기 층을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 농축시켜 생성물 51을 수득하였다. 화합물 51을 물의 에탄올 용액의 첨가로부터 결정화하였다.

^{1}H NMR (500 MHz, CD_3OD): δ 9.15 (s, 1H), 8.82 (s, 1H), 8.22 (dd, *J* = 6.1, 1.2 Hz, 1H), 8.13 (dd, *J* = 7.3, 1.2 Hz, 1H), 7.37 (dd, *J* = 7.3, 6.1 Hz, 1H), 7.16 (m, 1H), 6.94 (m, 1H), 4.79 (m, 1H), 4.67 (dd, *J* = 11.5, 7.1 Hz, 1H), 4.06 (m, 1H), 4.01 (d, *J* = 14.2 Hz, 1H), 3.90 (s, 2H), 3.79 (d, *J* = 18.3 Hz, 1H), 3.73 (m, 1H), 3.69 (d, *J* = 16.6 Hz, 1H), 2.89 (q, *J* = 12.5 Hz, 1H), 2.28 (m, 1H), 1.20 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H); ^{13}C NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 182.8, 171.4, 168.1, 166.7, 159.6 (ddd, *J* = 245, 10.5, 2.8 Hz), 157.5, 151.9 (dt, *J* = 250, 14.2 Hz), 148.7, 148.2, 146.9 (ddd, *J* = 243, 12.6, 3.9 Hz), 136.8, 133.4, 132.3 (dd, *J* = 13.5, 8.5 Hz), 131.6, 130.8, 130.6, 126.4 (q, *J* = 280 Hz), 119.8, 111.7 (bd, *J* = 24.8 Hz), 105.7 (dd, *J* = 28.1, 21.8 Hz), 69.2, 58.0, 53.7, 52.5, 46.7 (q, *J* = 33.6 Hz), 45.2, 42.1, 37.5, 27.6, 13.7; ^{19}F NMR (400 MHz, CD_3OD): δ -71.96, -116.67 (d, *J* = 14.7 Hz), -136.41 (d, *J* = 20.0 Hz), -150.47 (dd, *J* = 19.5, 15.2 Hz); HRMS: *m/z* = 604.1778 (M + 1), 계산값 *m/z* = 604.1778 : $C_{29}H_{24}F_6N_5O_3$.

[0404]

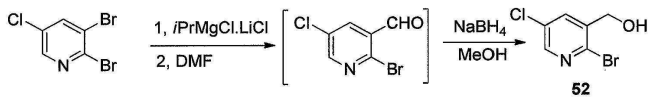
[0405] 실시예 6

[0406] <반응식>



[0407]

[0408] (2-브로모-5-클로로피리딘-3-일)메탄올 (52)



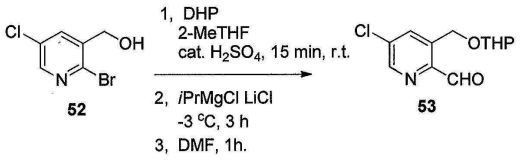
[0409]

[0410] THF (500 mL) 중 2,3-디브로모-5-클로로피리딘 (60 g, 221 mmol)의 용액에 THF (1.3M, 185 mL) 중 이소프로필 마그네슘 클로라이드 리튬 클로라이드의 용액을 -40℃에서 약 30분에 걸쳐 첨가하였다. 용액을 -40℃에서 30분 동안 교반하고, DMF (50 mL)를 첨가하였다. 생성된 용액을 실온으로 가온하고, 30분 동안 교반하였다. 반응물을 1 N HCl (400 mL)로 켄칭하고, MTBE (200 mL)를 첨가하였다. 유기 층을 분리하고, 5% 수성 $NaHCO_3$ (200 mL)으로 2회 세척하였다. 용매를 50℃에서 진공 하에 제거하였다. 생성된 고체 (알데히드 중간체)를 메탄올 (400 mL) 중에 용해시켰다. 용액을 빙조 하에 5℃로 냉각시켰다. 반응 온도를 실온 미만으로 유지하면서 $NaBH_4$ (3.6 g)를 30분에 걸쳐 천천히 첨가하였다. 반응 혼합물을 추가 30분 동안 교반하고, 이어서 물 (125 mL)을 첨가하였다. 생성된 혼합물을 진공 하에 대략 150 ml로 농축시켰다. 농축시키는 동안 고체가 침전하였다. 현탁액을 실온에서 1시간 동안 격렬히 교반하고, 고체를 여과에 의해 수집하였다. 습윤 케이크를 진공 오

븐 중에 밤새 60℃에서 건조시켜 52 (45.6 g, 93%)를 고체로서 수득하였다.

[0411] ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ 8.26 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 7.88 (d, J =2.5 Hz, 1H), 4.73 (d, J = 5.8 Hz, 2H), 2.33 (t, J = 11.4 Hz, 1H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): δ 147.12, 138.48, 138.39, 136.14, 132.06, 62.76.

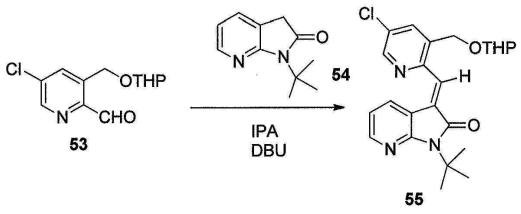
[0412] 5-클로로-3-(((테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)메틸)피콜린알데히드 (53)

[0413] 

[0414] 2-MeTHF (15 mL) 중 52 (5.0 g, 22.5 mmol)의 용액에 3,4-디히드로-2H-피란 (2.7 mL, 29.6 mmol) 및 진한 황산 (125 mg)을 실온에서 첨가하였다. 용액을 10분 동안 교반하고 이어서 - 3℃로 냉각시켰다. 이소프로필마그네슘 클로라이드 리튬 클로라이드 용액 (1.3 M, 30 ml, 39 mmol)을 -3 내지 3℃에서 천천히 첨가하였다. 생성된 용액을 HPLC가 97% 초과의 전환율을 나타낼 때까지 -3℃에서 3시간 동안 교반하였다. DMF (5 ml)를 15분에 걸쳐 5℃ 미만에서 첨가하였다. 생성된 용액을 이 온도에서 추가 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 MTBE (50 mL), 15% 수성 시트르산 (25 mL) 및 물 (15 mL)의 첨가에 의해 켄칭하였다. 유기 층을 분리하고, 5% 수성 NaCl (50 mL)로 2회 세척하였다. 유기 용액을 진공 하에 50℃에서 농축시켜 53을 오일 (6.2 g, 68 wt%, 16.6 mmol, 74% 수율)로서 수득하였다. 조 생성물을 직접 후속 단계에 추가 정제 없이 사용하였다. 순수한 샘플을 헥산을 포함하는 실리카 겔 중 5% 에틸 아세테이트 상에서 플래쉬 크로마토그래피에 의해 용리액으로서 단리시켰다.

[0415] ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ 10.13 (s, 1H), 8.65 (s, 1H), 8.20 (s, 1H), 5.25 (d, J = 16.6 Hz, 1H), 5.01 (d, J = 16.6 Hz, 1H), 4.80 (m, 1H), 3.88 (m, 1H), 3.58 (m, 1H), 1.7 (m, 6H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): δ 194.20, 147.06, 146.32, 138.98, 136.41, 134.87, 99.04, 64.42, 62.72, 30.53, 25.30, 19.66.

[0416] (E)-1-(tert-부틸)-3-((5-클로로-3-(((테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)메틸)피리딘-2-일)메틸렌)-1H-피롤로[2,3-b]피리딘-2(3H)-온 (55)

[0417] 

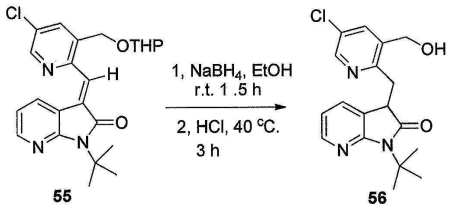
[0418] 이소프로판올 (40 mL) 중 조 53 (6.2 g, 68 wt%, 16.6 mmol) 및 54 (3.46 g, 18.3 mmol)의 용액에 - 2℃에서 DBU (0.12 g, 0.83 mmol)를 첨가하였다. -2℃에서 2시간 동안 교반한 후, 용액을 10℃로 가온하고, 이 온도에서 3시간 동안 교반하였다. 황색 고체가 용액으로부터 침전하였다. 현탁액을 밤새 교반하고, 배치는 실온으로 천천히 가온되도록 하였다. 현탁액을 최종적으로 50℃로 가온하고, 4시간 동안 이 온도에서 교반하였다. 30℃로 냉각시킨 후, 물 (35 ml)을 추가의 깔때기로부터 30분에 걸쳐 적가하였다. 현탁액을 실온으로 냉각시키고, 여과하였다. 케이크를 이소프로판올 (3 mL) 및 물 (3 mL)의 혼합물로 세척하였다. 침전물을 수집하고, 진공 오븐 중에 50℃에서 밤새 건조시켜 55 (6.2 g, 87%)을 고체로서 수득하였다.

[0419] ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ 8.72 (dd, J = 7.5, 1.8 Hz), 8.66 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 8.18 (dd, J =5.1, 1.8 Hz, 1H), 7.94 (d, J = 2.4Hz, 1H), 7.78 (s, 1H, 1H), 6.89 (dd, J = 7.5, 5.1 Hz, 1H), 4.99 (d, J = 13.8 Hz, 1H), 4.80 (m, 1H), 4.70 (d, J = 13.8 Hz, 1H), 3.90 (m, 1H), 3.60 (m, 1H), 1.83 (s, 9H), 2.0-1.5 (m, 6H).

[0420] 트랜스 이성질체로서의 이중 결합의 입체형태는 NOE 실험에 의해 확인되었다.

[0421] ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): δ 168.75, 159.64, 148.99, 147.85, 146.65, 137.01, 135.29, 133.56, 132.41, 129.50, 129.37, 117.27, 116.32, 98.77 64.80, 62.49, 58.62, 30.39, 29.01, 25.26, 19.34.

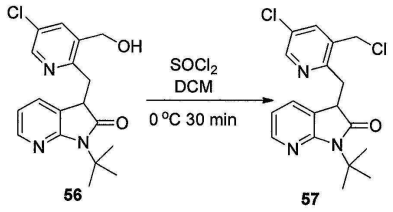
[0422] 1-(tert-부틸)-3-((5-클로로-3-(히드록시메틸)피리딘-2-일)메틸)-1H-피롤로[2,3-b]피리딘-2(3H)-온 (56)

[0423] 

[0424] 에탄올 (25 mL) 중 55 (3.0 g, 7.0 mmol)의 현탁액에 $NaBH_4$ (0.37 g)를 한 번에 첨가하였다. 생성된 현탁액을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 반응물을 물 (10 mL)에 이어서 이소프로판올 (5 mL) 중 6 N HCl 용액을 천천히 첨가하여 켄칭하였다. 용액을 40℃로 가온하고, 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 MTBE (50 mL) 및 포화 수성 NaCl (50 mL)과 혼합하였다. 유기부를 분리하고, 물 (50 mL)로 세척하였다. 용액을 진공 하에 50℃에서 농축시키고, 잔류물을 헥산 (30 mL)으로 연화처리하였다. 생성된 현탁액을 실온에서 30분 동안 교반하였다. 침전물을 여과에 의해 수집하여 56 (2.2 g, 86 %)을 고체로서 수득하였다.

[0425] ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ 8.34 (s, 1H), 8.15 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.30 (d, J = 7.1 Hz, 1H), 6.83 (t, J = 5.7 Hz, 1H), 4.73 (dd, J = 13.4, 4.9 Hz, 1H), 4.63 (dd, J = 13.4, 5.7 Hz, 1H), 4.01 (t, J = 6.1 Hz, 1H), 3.44 (dd, J = 15.4, 5.2 Hz, 1H), 3.17 (dd, J = 15.4, 7.2 Hz, 1H), 2.94 (t, J = 5.5 Hz, 1H), 1.79 (s, 9H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): δ 178.72, 159.12, 153.82, 146.45, 145.83 135.72, 135.32, 130.63, 130.27, 124.04, 117.33, 61.40, 58.70, 44.12, 34.01, 28.81.

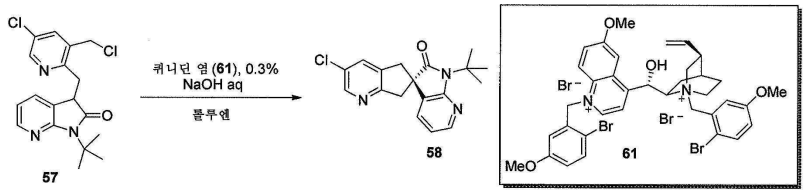
[0426] 1-(tert-부틸)-3-((5-클로로-3-(클로로메틸)피리딘-2-일)메틸)-1H-피롤로[2,3-b]피리딘-2(3H)-온 (57)

[0427] 

[0428] 디클로로메탄 (30 mL) 중 56 (5.8 g, 16.8 mmol)의 용액에 DMF (60 μL) 및 티오닐 클로라이드 (2.2 g)를 5℃에서 첨가하였다. 혼합물을 이 온도에서 30분 동안 교반하고, 이어서 5% 수성 NaCl (30 mL)을 첨가하였다. 유기 층을 분리하고, 5% 수성 NaCl (30 mL)로 세척하였다. 용매를 제거하고, 잔류물을 헵탄 (20 mL) 중에 용해시켰다. 용액을 30분 동안 교반하고, 생성물이 침전하였다. 현탁액을 0℃로 냉각시키고, 여과하여 57 (5.8 g, 93%)을 고체로서 수득하였다:

[0429] ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ 8.36 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 8.13 (dd, J = 5.1, 1.4 Hz, 1H), 7.65 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 7.19 (om, 1H), 6.78 (dd, J = 7.3, 5.2 Hz, 1H), 4.58 (m, 2H), 4.06 (m, 1H), 3.66 (dd, J = 16.3, 4.6 Hz, 1H), 3.32 (dd, J = 16.3, 7.5 Hz, 1H), 1.75 (s, 9H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): δ 178.06, 159.45, 154.58, 147.39, 145.73, 136.87, 132.47, 130.42, 130.11, 123.77, 117.03, 58.51, 43.37, 42.25, 33.69, 28.82.

[0430] (S)-1'-(tert-부틸)-3-클로로-5,7-디히드로스피로[시클로펜타[b]피리딘-6,3'-피롤로[2,3-b]피리딘]-2'(1'H)-온 (58)

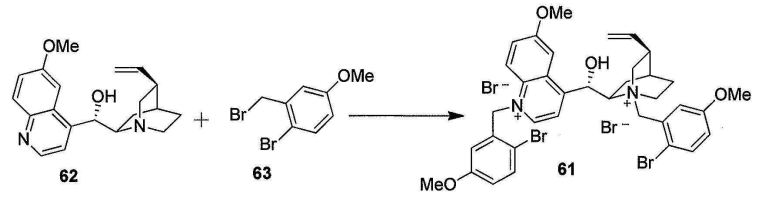
[0431] 

[0432] 톨루엔 (50 mL) 중 57 (2.39 g, 6.56 mmol)의 용액을 질소 분위기 하에 -2.5℃로 냉각시켰다. 화합물 61 (17 mg, 0.020 mmol)을 충전하고, 생성된 용액을 -3.3℃로 냉각시키면서 약 15분 동안 숙성시켰다. 사전에 냉각된 (-1℃) 수성 NaOH (26.2 mL, 0.3 N)를 4분에 걸쳐 -0.6℃ 미만에서 충전하였다. 반응물을 -1.3℃에서 3시간 동안 숙성시켰다. 반응물을 물 (10 ml)로 켄칭하였다. 유기 층을 물 (10 mL)로 세척하고, 농축시키고, IPA로 플러싱하여 조 생성물 58 (내부 표준으로서 1,3,5-트리메톡시벤젠에 대한 NMR에 의해, 2.59 g, 94.4%ee, 83% wt)을 수득하였다.

[0433] 조 생성물을 IPA 및 물로부터 재결정화하고, 여과하고, 50℃에서 오븐 중에서 건조시켜 58 (1.95 g, 95.7%wt, 99%ee, 87% 수율)을 고체로서 수득하였다.

[0434] ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ 8.42 (s, 1H), 8.19 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 7.56 (s, 1H), 7.10 (d, J = 7.3 Hz, 1H), 6.83 (dd, J = 7.3, 5.2 Hz, 1H), 3.60 (dd, J = 24.9, 16.8 Hz, 2 H), 3.09 (dd, J = 28.6, 16.8 Hz, 2H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 Hz): δ 179.43, 160.54, 157.82, 147.44, 146.54, 135.80, 132.17, 130.62, 129.33, 128.36, 117.69, 58.83, 51.94, 44.35, 41.57, 28.83.

[0435] (1S,2R,4S,5R)-1-(2-브로모-5-메톡시벤질)-2-((S)-(1-(2-브로모-5-메톡시벤질)-6-메톡시퀴놀린-1-윰-4-일)(히드록시)메틸)-5-비닐퀴누클리딘-1-윰 브로마이드 (61)

[0436] 

[0437] IPA (4.0 ml) 및 DMF (28.4 mL) 중 퀴니딘 (62, 8.1 g, 23.7 mmol, ~14% 디히드로퀴니딘을 함유) 및 2-브로모-5-메톡시벤질브로마이드 (63, 16.59 g, 59.3 mmol)의 슬러리를 진공에 의해 탈기하고, N_2로 플러싱하고, 이어서 70℃로 7시간 동안 가열하였다. 반응 혼합물을 22℃로 냉각시키고, 이 반응 용액을 22℃에서 10분에 걸쳐 교반하면서 AcOEt (320 ml)로 충전하였다. 생성된 슬러리를 22℃에서 1 내지 2시간 동안 숙성시키고, 여과하고, AcOEt (2 x 24 ml)에 이어서 헥산 (2 x 24 ml)으로 헹구었다. 고체를 진공 하에 건조시켜 분말을 비스-염의 혼합물(비스-퀴니딘 염 61 및 비스-디히드로퀴니딘 염)로서 수득하였다. (총 19.7 g, 94% 수율). 61의 실제 샘플을 SFC (IC 칼럼, 20 x 250 mm, 60% MeOH/CO_2, 50 mL/min, 100 bar, 35℃, 220 nm, 샘플 농도: 133 mg/mL (MeOH 중); 목적 피크: 3 내지 4.5 min)에 의해 정제하였다.

[0438] ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz): δ 9.34 (d, J = 6.1 Hz, 1H), 8.46 (d, J = 6.1 Hz, 1H), 8.38 (d, J = 9.7 Hz, 1H), 8.0 (dd, J = 9.7, 2.1 Hz, 1H), 7.86 (s, 1H), 7.79 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 7.74 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 7.60 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 7.42 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 7.17 (dd, J = 8.8, 2.8 Hz, 1H), 7.03 (dd, J = 8.8, 2.7 Hz, 1H), 6.93 (s, 1H), 6.50 (d, J = 2.4 Hz, 1 H), 6.06 (m, 1H), 5.24 (m, 3H), 4.95 (d, J = 12.9 Hz, 1H), 4.37 (m, 1H), 4.23 (m, 4H),4.12 (m, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.69 (s, 3H), 3.54 (m, 1H), 3.32 (s, 2H), 3.23 (m, 1H), 2.71 (m, 1H), 2.51 (s, 2H), 2.33 (m, 1H), 1.94 (br, 1H), 1.83 (br, 2H), 1.17 (br, 1H); ^{13}C NMR (DMSO-d_6, 100 Hz): δ 159.45, 159.07, 158.67, 156.12, 146.01, 137.08, 134.68, 134.30, 133.21, 132.98, 128.18, 128.03, 127.45, 122.13, 121.89, 121.22, 118.08, 117.5, 117.07, 116.73, 116.20, 115.81, 112.67, 105.09, 66.81, 65.51, 62.43, 56.75, 56.06, 55.91, 55.52, 54.80, 36.84, 25.91, 23.10, 20.75.

[0439] (S)-1'-(tert-부틸)-2'-옥소-1',2',5,7-테트라히드로스피로[시클로펜타[b]피리딘-6,3'-피롤로[2,3-b]피리딘]-

3-카르복실산 (59)



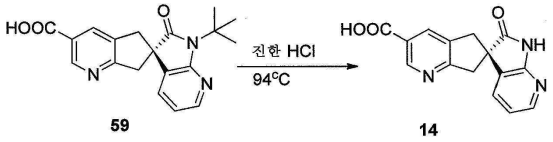
[0440]

[0441] NMP (32 mL) 중 58 (5.0 g, 14.5 mmol), K_2CO_3 (5.01 g, 36.2 mmol), $Pd(OAc)_2$ (33 mg, 0.145 mmol), 1,3-비스(디시클로헥실포스피노)프로판 (DCPP, 127 mg, 0.290 mmol) 및 물 (0.522 mL, 29.0 mmol)의 혼합물을 30 psi의 CO 하에 120℃에서 24시간 동안 가열하였다. 실온으로 냉각시킨 후, 생성된 슬러리를 물 (100 mL)로 희석하였다. pH를 2 N HCl로 천천히 3~4로 조정하였다. 슬러리를 실온에서 1시간 동안 숙성시키고, 여과하고, 물 (40 내지 50 mL)로 헹구고, 오븐 하에 60℃에서 건조시켜 59 (4.64 g, 95%)를 고체로서 수득하였다.

[0442] ^{1}H NMR (DMSO-d_6, 500 MHz): δ 8.90 (s, 1H), 8.19 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 7.54 (d, J = 7.3 Hz, 1H,), 6.99 (dd, J = 7.3, 5.2 Hz, 1H), 3.33 (m, 4H), 1.72 (s, 9H); ^{13}C NMR (DMSO-d_6, 125 MHz): δ 180.16, 167.44, 166.97, 158.07, 149.76, 146.61, 135.39, 133.09, 130.36, 128.81, 125.48, 118.44, 58.19, 51.12, 44.56, 41.24, 28.91.

[0443] (S)-2'-옥소-1',2',5,7-테트라히드로스피로[시클로펜타[b]피리딘-6,3'-피롤로[2,3-b]피리딘]-3-카르복실산 (14)

[0444]



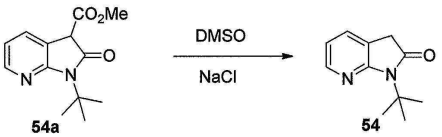
[0445] 59 (4 g, 97%wt)에 37% HCl (40 내지 44 mL)을 충전하였다. 슬러리를 94℃에서 최대 48시간 동안 가열하고, 실온으로 냉각시켰다. 용매를 감압하여 약 총 2 vol (~ 4 mL 물이 남음)으로 부분적으로 제거하였다. 잔류물을 물 (20 mL)로 희석하고, 이어서 NaOH (3.5 N, 4.5 mL)를 사용하여 pH를 2.6으로 조정하였다. 진한 슬러리를 1 내지 2시간 동안 숙성시키고, 여과하고, 물 (2 x 8 mL)에 이어서 물/아세톤 (1:1, 8 mL)으로 헹구었다. 습윤 케이크를 건조시켜 화합물 14 (3.1 g, 98%wt, 94%)를 결정으로서 수득하였다.

[0446] ^{1}H NMR (DMSO-d_6, 500 MHz): δ 13.31(br, 1H), 11.14 (s, 1H), 8.91 (s, 1H), 8.11 (m, 2H), 7.49 (dd, J = 7.3, 1.3 Hz, 1H), 6.93 (dd, J = 7.3, 5,3 Hz, 1H), 3.36 (m, 4H); ^{13}C NMR (DMSO-d_6, 125 MHz): δ 181.06, 167.36, 166.95, 156.80, 149.79, 147.32, 135.37, 133.19, 130.73, 128.88, 125.50, 118.46, 51.78, 44.12, 40.70.

[0447] 실시예 7

[0448] 1-(tert-부틸)-1H-피롤로[2,3-b]피리딘-2(3H)-온 (54)

[0449]

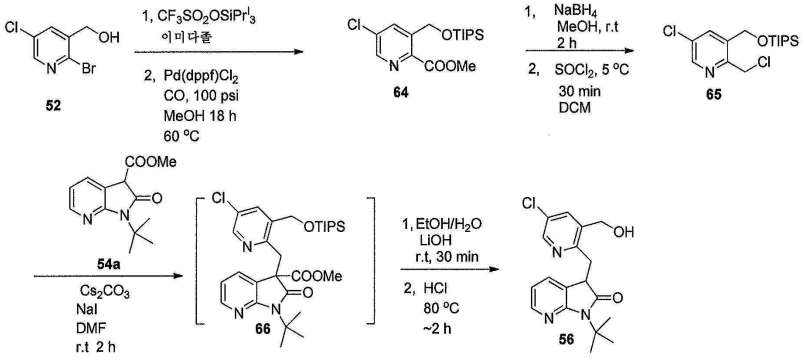


[0450] DMSO (50 mL) 중 화합물 54a (10.0 g, 40.3 mmol), NaCl (2.9g) 및 물 (2 mL)의 혼합물을 120℃에서 30분 동안 가열하였다. 혼합물을 30℃로 냉각시키고, 이어서 MTBE (200 mL) 및 물 (50 mL)을 첨가하였다. 유기 층을 분리하고, 수성 층을 또 다른 MTBE (50 mL)로 추출하였다. 합한 유기 층을 물 (50 mL)로 3회 세척하였다. 용매를 진공 하에 제거하고, 생성된 고체를 진공 오븐 중에 30℃에서 건조시켜 54 (7.0 g, 92%)를 고체로서 수득하였다.

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ 8.15 (dd, J = 5.2, 1.4 Hz, 1H), 7.40 (dd, J = 7.2, 1.4 Hz, 1H), 6.88 (dd, J = 7.2, 5.2 Hz, 1H), 3.45 (s, 2H), 1.78 (s, 9H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): δ 174.99, 160.06, 145.82, 130.80, 119.51, 117.15, 58.53, 35.98, 28.80.

[0451]

[0452] 실시예 8



[0453]

[0454] 메틸 5-클로로-3-(((트리이소프로필실릴)옥시)메틸)피콜리네이트 (64)

[0455] 디클로로메탄 (60 mL) 중 52 (15.0 g, 67.4 mmol)의 용액에 트리이소프로필실릴 트리플루오로메탄술포네이트 (29.0 g, 94 mmol)를 첨가하였다. 용액을 5℃로 냉각시키고, 이미다졸 (12.0 g, 176 mmol)을 20℃ 미만에서 약간씩 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 5분 동안 교반하고, 5% 염수 (50 mL)를 충전하였다. 유기 층을 분리하고, 용매를 50℃에서 진공 하에 제거하였다. 생성된 오일을 메탄올 (100 mL) 중에 용해시켰다. 용액을 CO (100 psi) 하에 60℃에서 18시간 동안 5 mol%의 Pd(dppf)Cl_2의 존재 하에 두었다. 용매를 제거하고, 잔류물을 필터 깔때기 상의 실리카 겔 (60 g)로 옮겼다. 혼합물을 헥산 (400 mL) 중 10% 에틸 아세테이트의 혼합물로 헹구었다. 생성된 용액을 농축시켜 조 64 (29.2 g, 98% LCAP, 84% wt, 100% 수율)를 오일로서 수득하였으며, 이를 직접 후속 단계에 추가 정제 없이 사용하였다.

[0456] ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ 8.56 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 8.30 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 5.23 (s, 2H), 4.01 (s, 3H), 1.25 (m, 3H), 1.12 (d, J = 6.8 Hz, 18H).

[0457] 5-클로로-2-(클로로메틸)-3-(((트리이소프로필실릴)옥시)메틸)피리딘 (65)

[0458] 메탄올 (120 mL) 중 조 64 (29.2 g, 84 wt%, 67.4 mmol)의 용액에 $NaBH_4$ (11.6 g)를 약 1시간에 걸쳐 5℃에서 조금씩 첨가하였다. 반응 혼합물을 물 (150 mL)로 켄칭하고, 혼합물을 MTBE (150 mL)로 추출하였다. 유기 용액을 물 (100 mL)로 세척하였다. 용매를 진공 하에 50℃에서 제거하고, 잔류물을 디클로로메탄 (60 mL) 중에 용해시켰다. 용액을 진공 하에 60℃에서 농축시켰다. 생성된 잔류물을 디클로로메탄 (100 mL) 중에 용해시켰다. 용액을 0℃로 냉각시키고, DMF (0.5 g)를 첨가하고, 이어서 티오닐 클로라이드 (11.1 g)를 적가하였다. 이어서, 반응 혼합물을 0℃에서 30분 동안 교반하고, 5% 염수 (100 mL)로 켄칭하였다. 유기 층을 분리하고, 염수 (100 mL)로 세척하였다. 용매를 진공 하에 60℃에서 제거하여 65를 오일 (25 g, 92% LCAP, 70% wt, 72% 수율)로서 수득하였으며, 이를 후속 단계에 추가 정제 없이 사용하였다.

[0459] ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ 8.44 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 7.94 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 4.96 (s, 2H), 4.65 (s, 2H), 1.22 (m, 3H), 1.12 (d, J = 6.7 Hz, 18H).

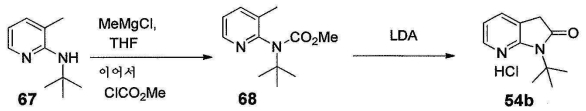
[0460] 1-(tert-부틸)-3-((5-클로로-3-(히드록시메틸)피리딘-2-일)메틸)-1H-피롤로[2,3-b]피리딘-2(3H)-온 (56)

[0461] DMF (30 mL) 중 65 (8 g, 70% wt, 16.1 mmol) 및 54a (4.15 g)의 용액에 Cs_2CO_3 (5.76 g) 및 NaI (2.4 g)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하고, 반응 혼합물을 MTBE (100 mL) 및 15% 수성 시트르산 (80 mL)과 혼합하였다. 유기부를 물 (80 mL)로 2회 세척하고, 용매를 제거하였다. 잔류물 (66, 90% LCAP)을 에탄올 (70 mL) 및 물 (20 mL)의 혼합물 중에 용해시켰다. LiOH (2.8 g)를 첨가한 후, 용액을 실온에서 30분 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 IPA (17 mL) 중 6N HCl 용액으로 산성화시켰다. 생성된 용액을 80℃에서 2시간 동안 가열하였다. 실온으로 냉각시킨 후, 혼합물을 MTBE (100 mL) 및 5% 염수 (50 mL)로 희석하였다. 유기 층을

물 (50 mL)로 세척하고, $MgSO_4$ 상에서 건조시켰다. 용액을 진공 하에 50℃에서 농축시키고, 잔류물을 헥산 (30 mL)으로부터 결정화하여 56 (3.75 g, 65로부터 67%)를 결정으로서 수득하였다.

[0462] 실시예 9

[0463] <반응식>

[0464] 

[0465] 메틸 tert-부틸(3-메틸피리딘-2-일)카르바메이트 (68)

[0466] THF (100 ml) 중 N-(tert-부틸)-3-메틸피리딘-2-아민 (67) (16.78 g, 92%wt, 102 mmol)에 THF 중 MeMgCl (44.3 mL, 3M, 133mmol)을 -10℃ 미만에서 5분에 걸쳐 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온으로 가온하고, 80분 동안 숙성시키고, 이어서 -20 내지 -15℃로 냉각시키고, 메틸 클로로포르메이트 (8.7 ml, 112 mol)를 10분에 걸쳐 -8℃ 미만에서 첨가하였다. 반응 혼합물을 서서히 가온하고, 밤새 실온에서 숙성시켰다. 반응 혼합물을 15% 수성 시트르산 (13 mL), 물 (40 mL) 및 MTBE (33 mL)를 0℃에서 첨가하여 켄칭하였다. 유기 층을 분리하고, 물 (50 mL), 포화 $NaHCO_3$/물 (1:3, 50 ml), 염수 (50 mL) 및 물 (50 mL)로 차례로 세척하였다. 유기 층을 농축시키고, THF로 농축시켜 68 (19.3 g, 92%)을 수득하였다.

[0467] 1-(tert-부틸)-1H-피롤로[2,3-b]피리딘-2(3H)-온 히드로클로라이드 (54b)

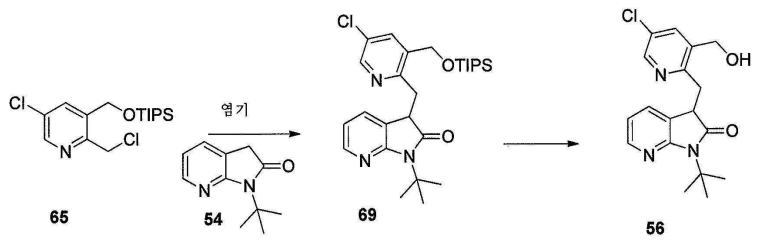
[0468] THF (30 ml) 또는 톨루엔 (50 ml) 중 화합물 68 (5 g, 97%wt, 21.8 mmol)을 탈기시키고, -45℃로 냉각시켰다. LDA (45.8 mL, 1.0 N)를 -45 내지 -40℃에서 13분에 걸쳐 첨가하였다. (주의: LDA는 또 다른 플라스크에서 THF 중 1.0 당량의 n-BuLi 및 1.1 당량의 디이소프로필아민을 사용하여 -35℃ 내지 0 내지 12℃에서 별개로 제조하고, 이어서 0℃로 냉각함.)

[0469] 상기 반응 혼합물을 4.5시간에 걸쳐 13℃로 서서히 가온하고, 빙조 하에서 냉각시키고, 20℃ 미만에서 2N HCl (~ 40 mL) (pH~4) 및 톨루엔 (15 mL)으로 켄칭하였다. 유기 층을 분리하고, 물 (15 mL), 염수 (15 mL), 및 물 (15 mL)로 차례로 세척하였다. 54 (3.79 g, 91% 검정 수율)를 함유하는 유기 용액을 농축시키고, 톨루엔으로 플러싱하여 물을 제거하였다. 톨루엔 (7.6 mL) 중 잔류물에 에테르 (12 mL) 중 2N HCl를 30분에 걸쳐 첨가하였다. 혼합물에 헥산 (8 ml)을 첨가하고, 1시간 동안 숙성시켰다. 침전물을 여과하고, 톨루엔/헥산 (1:2, 8 mL)에 이어서 헥산 (8 mL)으로 헹구고, 진공 하에 질소 스트림으로 건조시켜 염 54b (3.92 g, 87%)를 고체로서 수득하였다.

[0470] ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ 11.9 (br, 1H), 8.13 (dd, J = 5.2, 0.8 Hz, 1H), 7.54 (dd, J = 7.2, 1.1 Hz, 1H), 6.96 (dd, J = 7.2, 5.2 Hz, 1H), 3.52 (s, 2H), 1.69 (s, 9H); ^{13}C NMR (DMSO-d_6, 100 MHz): δ 174.99, 159.8, 145.67, 131.77, 120.54, 117.68, 57.89, 35.80, 28.99.

[0471] 실시예 10

[0472] <반응식>

[0473] 

[0474] 1-(tert-부틸)-3-((5-클로로-3-(((트리이소프로필실릴)옥시)메틸)피리딘-2-일)메틸)-1H-피롤로[2,3-b]피리딘-2(3H)-온 (69)

[0475] THF (200 ml) 중 65 (23.84 g, 60.7 mmol) 및 54 (17.32 g, 91 mmol)의 용액을 진공/플러싱 N_2에 의해 5℃ 미

만에서 탈기하였다. 용액에 헵텐 (27.4 mL, 40%, 85 mmol) 중 리튬 아목시드 용액을 7℃ 미만으로 유지하면서 첨가하였다. 반응물을 5℃ 미만에서 40분 동안 숙성시키고, 이어서 포화 수성 NH_4Cl (10 mL)로 켄칭하고, 헥산 (120 mL)으로 희석하였다. 유기 층을 분리하고, 포화 수성 NH_4Cl (100 mL) 및 물 (150 mL)로 세척하고, 농축시키고, 실리카 겔 칼럼 (0 → 5% AcOEt/헥산)으로 정제하여 69를 수득하고, 이를 후속 반응에 추가 정제 없이 사용하였다.

[0476] HRMS m/z 계산값 $C_{28}H_{41}ClN_3O_2Si$ 502.2651 (M+H); 측정값 502.2641

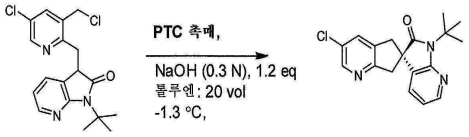
[0477] 1-(tert-부틸)-3-((5-클로로-3-(히드록시메틸)피리딘-2-일)메틸)-1H-피롤로[2,3-b]피리딘-2(3H)-온 (56)

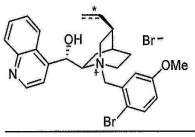
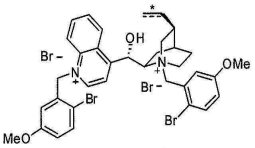
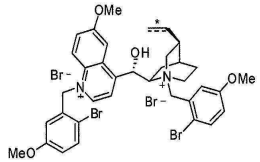
[0478] 이전 단계로부터의 수득한 THF (50 mL) 중 69 (최대 60.7 mmol)의 용액을 진공/플러싱 N_2에 의해 탈기하고, 5℃ 미만으로 냉각시키고, 이어서 TBAF (THF 중 79 ml, 1.0 N)로 충전하였다. 반응물을 실온에서 1시간 20분 동안 숙성시키고, 10℃ 미만으로 냉각시키고, 물 (100 ml)로 켄칭하고, AcOEt (200 mL)로 희석시켰다. 수성 층을 AcOEt (100 mL)로 추출하였다. 합한 유기 층을 $MgSO_4$로 건조시키고, 여과하고, 농축시키고, 실리카 겔 칼럼 (50 → 100% AcOEt/헥산)에 의해 정제하여 56 (16.3 g, 65로부터 78%)을 고체로서 수득하였다.

[0479] 결과

[0480] 표 1에 제시된 바와 같이, 비스-4급 촉매는 제시된 스피로고리화 반응에 대해 모노-4급 촉매와 비교하여 훨씬 더 활성이고 효율적이다. 본 실험을 위해, 비스-4급 촉매는 ~12 내지 15%의 이중 결합 포화 화합물 히드로퀴니딘 또는 히드로신코닌을 함유한다.

[0481] <표 1>



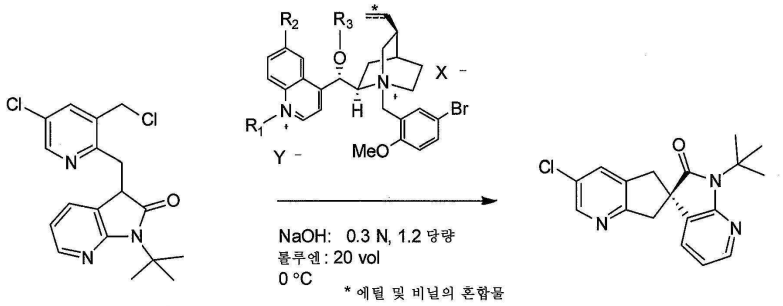
PTC 촉매 :	담지	EE	전환율	수율
	3%	58%	80%	ND
	0.3%	92%	100%	98%
	0.3%	94%	100%	100%

* 에틸 및 비닐의 혼합물

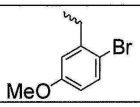
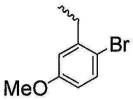
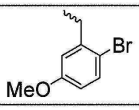
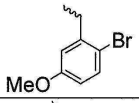
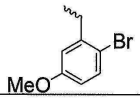
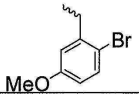
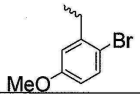
[0482]

[0483] 표 2 및 3은 스피로고리화 반응을 위한 비스-4급 PTC 촉매의 SAR 연구를 제시한다. 비스-4급 퀴니딘 및 신코닌 촉매 둘 다가 매우 효율적이다 (항목 2 내지 5). 비스-4급 퀴니딘 촉매가 비스-4급 신코닌 촉매보다 상대적으로 더 우수하다 (항목 2 및 3). 2-브로모-5-메톡시-벤질 기는 이 반응을 위해 가장 효과적인 기 중 하나이다.

[0484] <표 2>

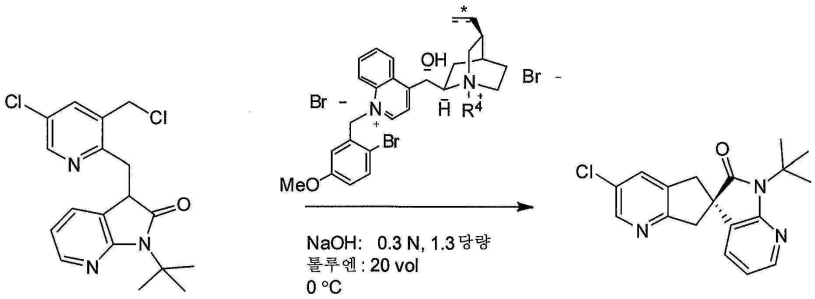


[0485]

항목	R1	R2	R3	X	Y	%ee
1	비-치환	H	H	Br	Br	58%ee
2		OMe	H	Br	Br	94%ee
3		H	H	Br	Br	90%ee
4		H	H	I	I	90%ee
5		H	H	Br	I	89%ee
6		H	H	Br	Br	85%ee
7	Me	H	H	Br	I	80%ee
8	비-치환	H		Br	Br	67%ee
9		H		Br	Br	27%ee

[0486]

[0487] <표 3>



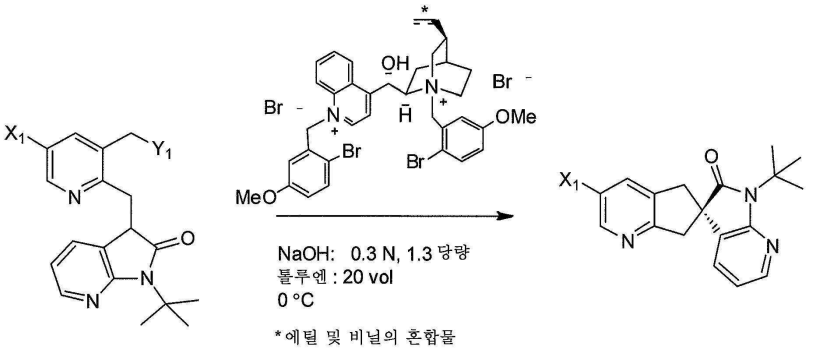
* 에틸 및 비닐의 혼합물

R4	EE	전환율
벤질	66.3%ee	93%
알릴	69.7%ee	100%
2-Br-5-MeO-벤질	92%ee	100%

[0488]

[0489] 표 4는 다양한 관능기의 연구를 제시한다.

[0490] <표 4>



*에틸 및 비닐의 혼합물

항목	X1	Y1	%ee
1	Cl	Cl	92
2	Br	Cl	92
3	$-CO_2Me$	Cl	92
4	Br	Tos	51
5	Br	Br	70

[0491]

서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> Merck Sharp & Dohme Corp.

Belyk, Kevin M.

Cleator, Edward

Kuo, Shen-Chun

Maligres, Peter Emmanuel

Xiang, Bangping

Yasuda, Nobuyoshi

Yin, Jianguo

<120> PROCESS FOR MAKING CGRP RECEPTOR
ANTAGONISTS
<130> 23237
<160> 2
<170> FastSEQ for Windows Version 4.0
<210> 1
<211> 330
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Engineered variant of Arthrobacter transaminase
<400> 1

```
Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Pro Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr

 1               5                  10                  15

Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn

            20                  25                  30

Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro

        35                  40                  45

Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Phe Tyr Thr Ser Asp

    50                  55                  60

Ala Thr Tyr Thr Val Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu

65                  70                  75                  80

Gly Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Ile Arg Leu

                85                  90                  95

Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu

            100                 105                 110

Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Glu Ala Ile Val Trp Val Ala Ile Thr

        115                 120                 125

Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Leu Glu Arg Asp Ile Thr Lys His Arg

    130                 135                 140

Pro Gln Val Tyr Met Tyr Ala Val Pro Tyr Gln Trp Ile Val Pro Phe
```

145 150 155 160

Asp Arg Ile Arg Asp Gly Val His Leu Met Val Ala Gln Ser Val Arg

165 170 175

Arg Thr Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Ala

180 185 190

Gly Asp Leu Ile Arg Ala Ile Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu

195 200 205

Leu Pro Leu Leu Leu Asp Cys Asp Asn Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly

210 215 220

Phe Asn Val Val Val Ile Lys Asp Gly Val Val Arg Ser Pro Gly Arg

225 230 235 240

Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu

245 250 255

Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Pro Ala Glu Leu

260 265 270

Tyr Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Ala Gly Gly Val Trp

275 280 285

Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Ser Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly

290 295 300

Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu

305 310 315 320

Pro Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr

325 330

<210> 2

<211> 990

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Engineered variant of Arthrobacter transaminase

<400> 2

atggcgttct cagcggacac ccctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat 60

atcacctact ctgactacga actggacccg gctaacccgc tggctggtgg tgctgcttgg 120

atcgaaggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggtttt 180

tatacttctg acgctaccta caccgtcttc cacgtttgga acggtaacgc tttccgtctg 240

ggggaccaca tcgaacgtct gttctctaat gcggaatcta ttcgtttgat cccgccgctg 300

acccaggacg aagttaaaga gatcgctctg gaactggttg ctaaaaccga actgcgtgaa 360

gcgattgttt gggttgcaat cacccgtggt tactcttcta ccccattgga gcgtgacatc 420

accaaacatc gtccgcaggt ttacatgtat gctgttccgt accagtggat cgtaccgttt 480

gaccgcatcc gtgacggtgt tcacctgatg gttgctcagt cagttcgtcg tacaccgcgt 540

agctctatcg acccgcaggt taaaaacttc caggcaggtg acctgatccg tgcaattcag 600

gaaacccacg accgtggttt cgagttaccg ctgctgctgg actgcgacaa cctgctggct 660

gaaggtccgg gtttcaacgt tgttgttatc aaagacggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720

gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780

gaagctatcc tggctgacat caccccggct gaactgtacg acgctgacga agttctgggt 840

tgctcaaccg cgggtggtgt ttggccgttc gtttctgttg acggtaactc tatctctgac 900

ggtgttccgg gtccggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960

ccttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990