(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년09월20일
(11) 등록번호 10-2707109
(24) 등록일자 2024년09월11일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 401/06 (2006.01) *A61K 31/4439* (2006.01)
A61K 31/5383 (2006.01) *A61K 31/675* (2006.01)
A61P 1/04 (2006.01) *C07D 405/14* (2006.01)
C07D 413/06 (2006.01) *C07D 417/06* (2006.01)
C07D 498/04 (2006.01) *C07F 9/6558* (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07D 401/06 (2013.01)
A61K 31/4439 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2023-7038931
(22) 출원일자(국제) 2022년08월08일
심사청구일자 2023년11월22일
(85) 번역문제출일자 2023년11월10일
(65) 공개번호 10-2023-0163568
(43) 공개일자 2023년11월30일
(86) 국제출원번호 PCT/US2022/039689
(87) 국제공개번호 WO 2023/018643
국제공개일자 2023년02월16일
(30) 우선권주장
63/231,590 2021년08월10일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
WO2020149553 A1

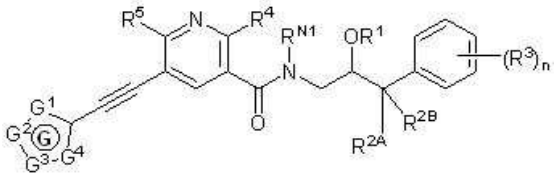
(73) 특허권자
애브비 인코포레이티드
미국 일리노이주 60064 놀스 시카고 놀스 워키건 로드 1
(72) 발명자
쿠삭 케빈 패트릭
미국 매사추세츠주 01605 워세스터 리서치 드라이브 100
호만 마이클 젤러
미국 매사추세츠주 01605 워세스터 리서치 드라이브 100
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
장훈

전체 청구항 수 : 총 8 항 심사관 : 최경윤

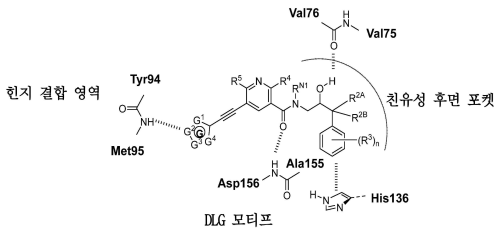
(54) 발명의 명칭 **니코틴아미드 RIPK1 억제제**

(57) 요 약

본원에는 RIPK1 억제제로서 유용한 화학식 I의 화합물 및 이의 약제학적으로 허용되는 염, 및 이를 포함하는 약제학적 조성물이 제공된다. 사용 및 제조 방법이 추가로 제공된다. (I)



대 표 도



(52) CPC특허분류
A61K 31/5383 (2013.01)
A61K 31/675 (2013.01)
A61P 1/04 (2018.01)
C07D 405/14 (2013.01)
C07D 413/06 (2013.01)
C07D 417/06 (2013.01)
C07D 498/04 (2013.01)
C07F 9/65583 (2013.01)

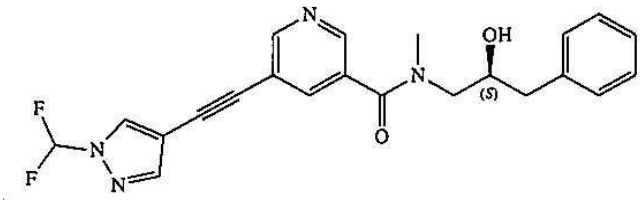
(72) 발명자
킨스만 데이비드 앤드류
미국 매사추세츠주 01605 워세스터 리서치 드라이브 100
오스만 사미
미국 매사추세츠주 01605 워세스터 리서치 드라이브 100
스탬불리 제임스 패트릭
미국 매사추세츠주 01605 워세스터 리서치 드라이브 100
아기리아디 마리아 아나스타시아
미국 매사추세츠주 01605 워세스터 리서치 드라이브 100
오레일리 시아란
영국 노팅햄 엔지1 1지알 페니풋 스트리트 바이오시티 시그네이쳐 디스커버리 리미티드
덱스터 하나흐
영국 노팅햄 엔지1 1지알 페니풋 스트리트 바이오시티 시그네이쳐 디스커버리 리미티드
포디스 에우안
영국 노팅햄 엔지1 1지알 페니풋 스트리트 바이오시티 시그네이쳐 디스커버리 리미티드
에스티 갈라이 스티브
영국 노팅햄 엔지1 1지알 페니풋 스트리트 바이오시티 시그네이쳐 디스커버리 리미티드

명 세 서

청구범위

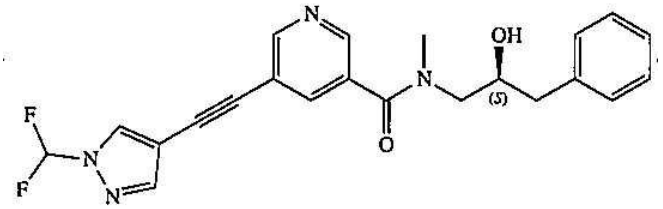
청구항 1

하기 화학식의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염:



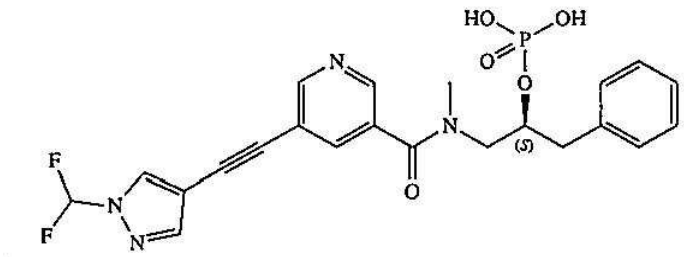
청구항 2

제1항에 있어서, 하기 화학식의 화합물.



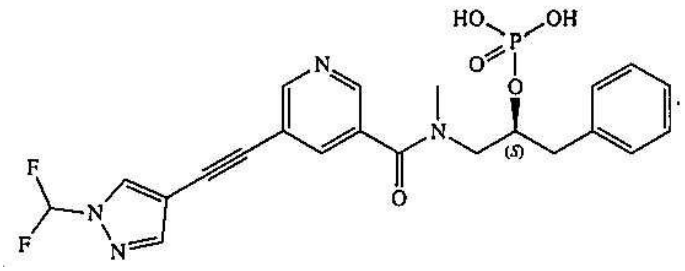
청구항 3

하기 화학식의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염:



청구항 4

제3항에 있어서, 하기 화학식의 화합물.



청구항 5

궤양성 대장염을 치료하는데 사용하기 위한, 제1항의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는

약제학적 조성물.

청구항 6

궤양성 대장염을 치료하는데 사용하기 위한, 제2항의 화합물을 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 7

궤양성 대장염을 치료하는데 사용하기 위한, 제3항의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 8

궤양성 대장염을 치료하는데 사용하기 위한, 제4항의 화합물을 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 관련 출원

[0002] 본 출원은 2021년 8월 10일자로 출원된 미국 가특허 출원 제63/231,590호에 대한 우선권의 이익을 주장하고, 이의 내용은 본원에 참조로 인용된다.

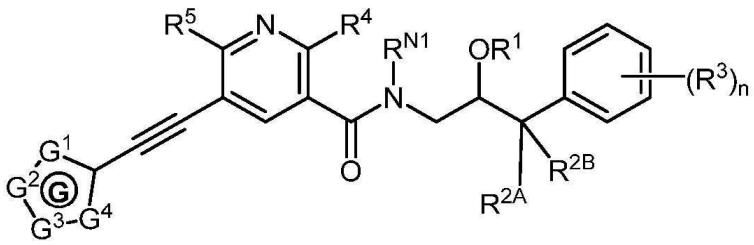
배 경 기 술

[0003] 수용체 상호작용 단백질 키나제(RIPK1)는 네크롭토시스, 아폽토시스 및 염증 촉진성 사이토킨 생성의 유도에 관여하는 염증의 주요 조절인자이다. 네크롭토시스는 세포막이 파괴되고 세포내 내용물이 국소적인 세포 환경으로 방출되는 것을 특징으로 하는 조절된 세포 사멸의 염증 촉진성 형태이다. 손상 관련 분자 패턴(DAMP)으로 공지된 세포내 내용물은 다양한 면역 세포를 활성화하여 염증 반응의 시작과 추가적인 세포 사멸에 기여하는 염증성 사이토킨의 생성을 유도하여 염증 주기를 유도한다. RIPK1에 의한 네크롭토시스 유도에 대해 가장 많이 연구된 경로는 종양 괴사 인자(TNF) 경로이지만, RIPK1은 다른 TNF 수퍼패밀리 구성원(FAS/TRAIL) 및 톨(Toll)

유사 수용체(TLR; TLR3/TLR4)에 의한 네크롭토시스 유도에도 관여한다. RIPK1의 인산화는 RIPK3의 후속 인산화와 아밀로이드 구조의 형성을 유도하고, 이는 후속적으로 네크롭토시스성 세포 사멸의 중요한 구성요소인 슈도키나제 MLKL(혼합 계통 키나제 도메인 유사)을 동원하고 활성화한다. RIPK1의 억제는 사건들의 이러한 네크롭토시스 유도된 캐스케이드 및 이에 따른 염증 반응의 억제와 관련이 있다. 예를 들어, 문헌(Li, et al., Necroptosis in inflammatory bowel disease and other intestinal diseases. World J. Clin. Cases (2018) 6(14):745-752)을 참조한다. 따라서, 궤양성 대장염 치료에 유용한 RIPK1 억제제를 추가로 개발할 필요성이 존재한다.

[0004] **요약**

[0005] 본원에는 화학식 I의 화합물 및 이의 약제학적으로 허용되는 염이 기재되어 있다:



[0006] (I)

[0007] 상기 식에서:

[0008] R^1은 수소이거나,

[0009] R^1은 $-P(=O)(OR^{P1})_2$, $-C(=O)CH_2OR^{P1}$, $-C(=O)CH_2N(R^{P1})_2$, 또는 $-C(=O)R^{P2}$이고, 여기서, 각각의 R^{P1}은 수소 및 치환되거나 비치환된 C_{1-4}알킬로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고, R^{P2}는 치환되거나 비치환된 C_{1-4}알킬이고;

[0010] R^{2A} 및 R^{2B}는 각각 독립적으로 수소 또는 할로이고;

[0011] 각각의 R^3은 할로 및 치환되거나 비치환된 C_{1-4}알킬로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고, 여기서 n은 0, 1, 또는 2이고;

[0012] R^{N1}은 수소 또는 치환되거나 비치환된 C_{1-4}알킬이고;

[0013] R^4는 수소, $-OR^{4A}$, 및 치환되거나 비치환된 C_{1-4}알킬로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고, 여기서 R^{4A}는 수소 또는 치환되거나 비치환된 C_{1-4}알킬이고;

[0014] R^5는 수소, $-OR^{5A}$, 및 치환되거나 비치환된 C_{1-4}알킬로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고, 여기서 R^{5A}는 수소 또는 치환되거나 비치환된 C_{1-4}알킬이고;

[0015] 고리 G는 5원 헤테로아릴 고리이고, 각각의 G^1, G^2, G^3, 및 G^4는 독립적으로, CH, CR^{G1}, N, NR^{N2}, O, 또는 S이고, 단, G^1, G^2, G^3, 및 G^4 중 적어도 하나는 N, NR^{N2}, O, 또는 S이고, 여기서 G^1, G^2, G^3, 및 G^4 중 2개 이하는 O 또는 S이고;

[0016] 각각의 경우의 R^{G1}은 할로, $-OR^{G2}$, $-NR^7$, 치환되거나 비치환된 C_{1-4}알킬, 치환되거나 비치환된 3-4원 카보사이클릴, 또는 치환되거나 비치환된 4원 헤테로사이클릴로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고, 여기서 R^{G2}는 수소 또는 치환되거나 비치환된 C_{1-4}알킬이거나;

[0017] 2개의 인접한 R^{G1}기는 이들이 부착된 원자와 함께 취하여 융합된 치환되거나 비치환된 5-6원 카보사이클릴 또는

융합된 치환되거나 비치환된 5-6원 헤테로사이클릴을 형성하거나;

[0018] 인접한 R^{G1}기 및 R^{N2}기는 이들이 부착된 원자와 함께 취하여 융합된 치환되거나 비치환된 5-6원 헤테로사이클릴을 형성하고;

[0019] 각각의 R^{N2}는 수소, 치환되거나 비치환된 C_{1-4}알킬, 치환되거나 비치환된 3-4원 카보사이클릴, 및 치환되거나 비치환된 4원 헤테로사이클릴로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;

[0020] 각각의 R^{7}은 수소, 치환되거나 비치환된 C_{1-4}알킬, 치환되거나 비치환된 3-4원 카보사이클릴 및 치환되거나 비치환된 4원 헤테로사이클릴로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;

[0021] 각각의 경우의 치환된 또는 비치환된은 선택적으로 및 독립적으로 할로, -OH, -O(C_{1-4}알킬), 및 -O(C_{1-4}할로알킬)로 이루어진 군으로부터 선택된 0, 1, 2 또는 3개의 치환체에 의해 치환된다.

[0022] 특정 구현예에서, 고리 G에서, G^1, G^2, G^3, 및 G^4 중 적어도 하나는 N 또는 NR^{N2}이다.

[0023] 특정 구현예에서, 고리 G에서, G^2 또는 G^3 중 적어도 하나는 N 또는 NR^{N2}이다.

[0024] 특정 구현예에서, 고리 G에서, G^1, G^2, G^3, 및 G^4 중 적어도 2개는 N 또는 NR^{N2}이다.

[0025] 특정 구현예에서, 고리 G는 디아졸이다. 특정 구현예에서, G^2 및 G^3은 각각 독립적으로 N 또는 NR^{N2}이다.

[0026] 추가의 구현예에서, 고리 G는 트리아졸이다. 특정 구현예에서, G^2, G^3 및 G^4는 각각 독립적으로 N 또는 NR^{N2}이다.

[0027] 특정 구현예에서, R^{N2}는 알킬 또는 할로알킬이다.

[0028] 특정 구현예에서, G^1 및 G^2 중 하나는 CR^{G1}이다. 특정 구현예에서, R^{G1}은 메틸 또는 사이클로프로필이다.

[0029] 특정 구현예에서, R^4는 수소이다.

[0030] 특정 구현예에서, R^5는 수소, 알콕시 또는 할로알킬이다.

[0031] 추가의 구현예에서, R^5는 수소, 메틸, 메톡시 또는 디플루오로메틸이다. 여전히 추가의 구현예에서, R^5는 수소이다.

[0032] 특정 구현예에서, R^{N1}은 수소 또는 메틸이다. 예를 들어, 일부 구현예에서, R^{N1}은 수소이고; 대안적으로, 일부 구현예에서, R^{N1}은 메틸이다.

[0033] 특정 구현예에서, R^{2A} 및 R^{2B}는 각각 수소이다.

[0034] 특정 구현예에서, R^{2A} 및 R^{2B} 중 하나는 수소이고 다른 하나는 플루오로이다.

[0035] 특정 구현예에서, n은 0 또는 1이다.

[0036] 특정 구현예에서, n은 1이다. 이러한 특정 구현예에서, R^3은 할로이다.

[0037] 대안적인 구현예에서, n은 0이다.

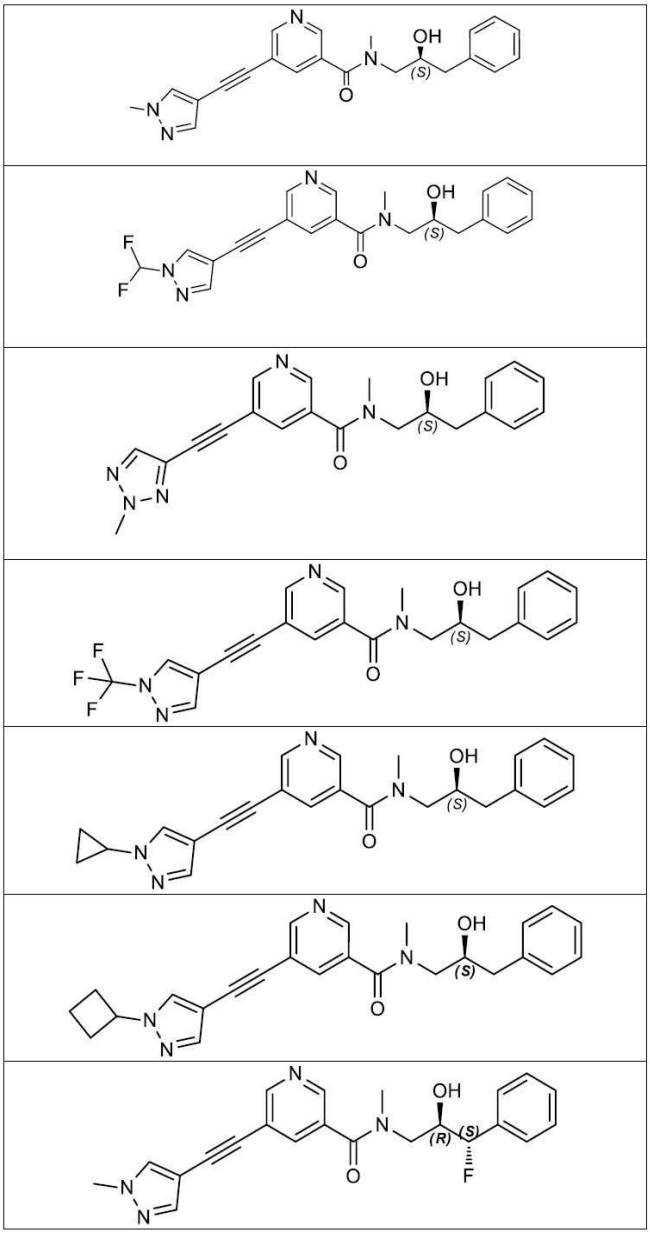
[0038] 특정 구현예에서, R^1은 수소이다.

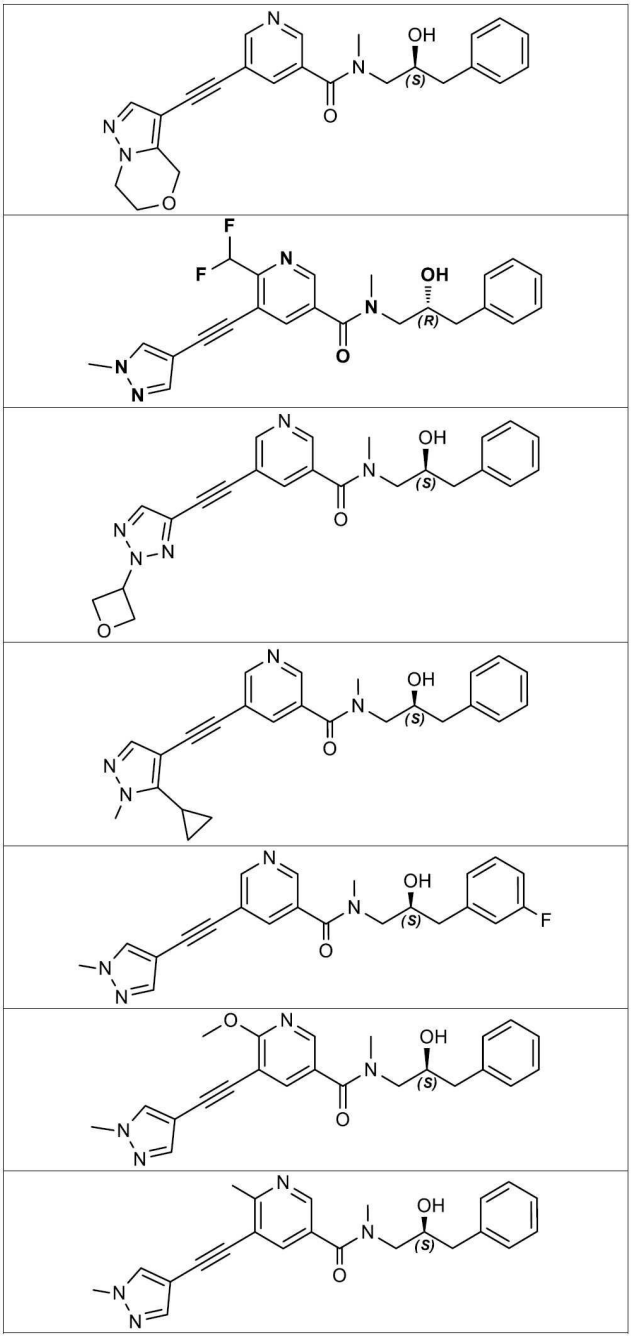
[0039] 대안적인 구현예에서, R^1은 $-P(=O)(OR^{P1})_2$, $-C(=O)CH_2N(R^{P1})_2$, 또는 $-C(=O)R^{P2}$이다. 예를 들어, R^1은 $-P(=O)(OR^{P1})_2$이다. 이러한 특정 구현예에서, 각각의 R^{P1}은 수소 및 비치환된 C_{1-4}알킬로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된다. 이러한 추가의 구현예에서, 각각의 R^{P1}은 수소이다. 대안적으로, 각각의 R^{P1}은 비치환된

C_{1-4}알킬일 수 있다.

[0040] 특정 구현예에서, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염은 하기의 표로부터 선택된다.

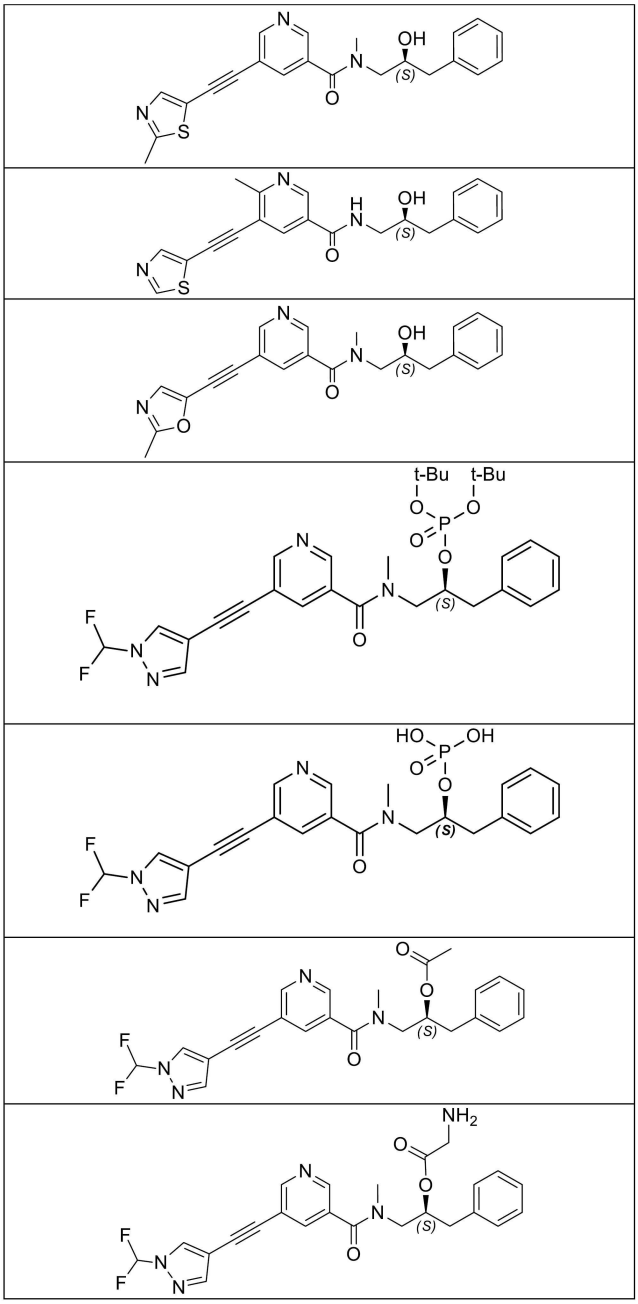
[0041]

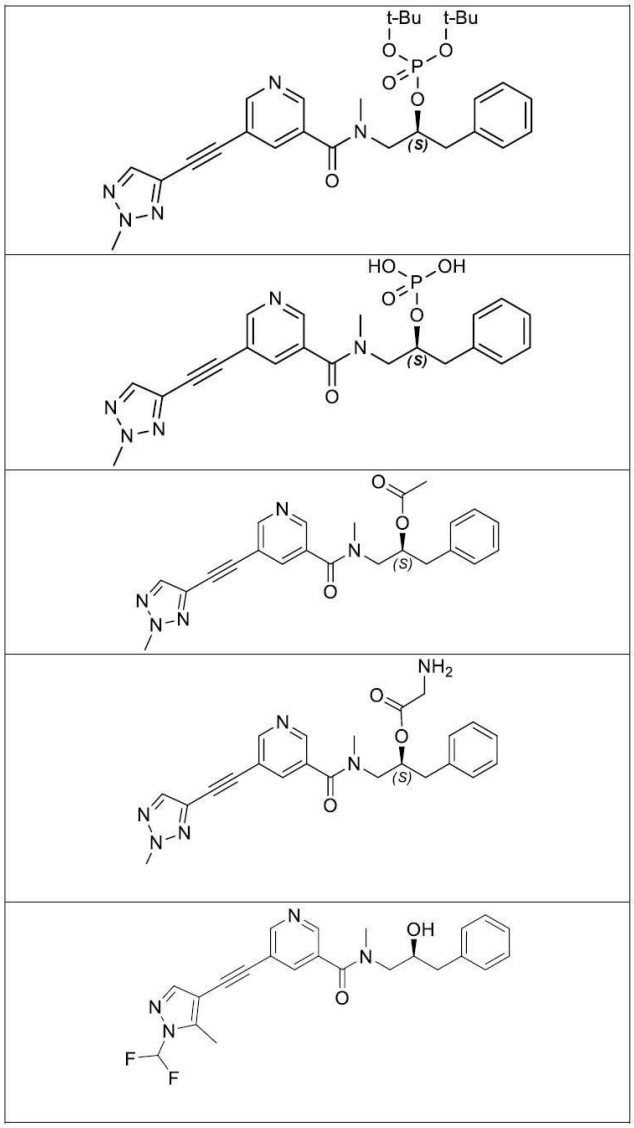




[0042]

[0043]





[0044]

[0045] 또한 본원에는 화학식 I의 화합물을 포함하는 약제학적 조성물이 제공된다.

도면의 간단한 설명

[0046] 도 1은 RIPK1의 ATP(아데노사이드 트리포스페이트) 결합 포켓에서 R^1이 수소인 화학식 I의 화합물의 모델링된 결합 방식을 도시하고, 이는 관찰된 RIPK1 결합 활성 및 다른 키나제에 대한 선택성에 대한 작동 가설을 제공한다. 특히, 특정 이론에 국한시키고자 하는 것 없이 우측에서 좌측으로 여러 상호-작용이 결합을 위한 앵커 포인트 역할을 하는 것으로 여겨진다. (1) 말단 페닐 고리는 His136의 측쇄 고리와 가장자리에서 정면 방향족 상호 작용(edge-to-face aromatic interaction)을 하는 것 외에도 친유성 후면 포켓의 용적을 채우고; (2) 하이드록실기는 Val76 잔기의 백본 카보닐과 수소 결합 상호작용을 하고; (3) 카보닐기는 DLG 모티프(Asp156-Leu157-Gly158)의 백본 Asp156 잔기와 수소 결합 상호작용을 하고; (4) 헤테로아릴 고리의 전자 공여기("고리 G"로 지정됨)는 힌지 영역에서 Met95 잔기의 백본 NH와 상호작용을 한다. DLG 모티프는 RIPK1에 고유한 것은 아니지만 키나제의 작은 하위세트에서만 발견되고; 대신에 대부분의 키나제는 DFG(Asp-Phe-Gly) 모티프를 포함한다. 특정 이론에 국한시키고자 하는 것 없이, 보다 수용적인 DLG 모티프(부피가 큰 페닐알라닌 고리가 없음)의 존재 외에도 친유성 포켓의 형상과 His136 잔기와의 상호 작용이 전체적인 곡선형 결합 형태에 기여하고, 이를 수용함으로써 RIPK1 선택성을 유도하여 보다 특이적인 RIPK1 접촉 및 결합을 가능하게 하는 것으로 추가로 추정된다.

도 2는 실시예 19에 대한 피크 면적 비율을 기준으로 전구약물 손실을 나타내는 플롯을 포함한다. 기질 고갈에 대한 효과로 입증된 바와 같이 1 mM 오르토바나데이트에 의한 포스파타제 활성의 억제도 나타나 있다.

도 3은 실시예 19에 대한 피크 면적 비율을 기준으로 모체 형성을 보여주는 플롯을 포함한다. 모체 형성에 대한 효과에 의해 입증된 바와 같이 1 mM 오르토바나데이트에 의해 포스파타제 활성의 억제도 나타나 있다.

정의

특정 작용기 및 화학 용어의 정의는 아래에 더 자세히 설명되어 있다. 화학 원소는 원소 주기율표(CAS version, Handbook of Chemistry and Physics, 75th Ed. inside cover)에 따라 확인되며 특정 작용기는 일반적으로 여기에 설명대로 정의된다. 추가로, 특정 작용성 모이어티 및 반응성 뿐만 아니라 유기 화학의 일반 원리는 문헌(참조: Organic Chemistry, Thomas Sorrell, University Science Books, Sausalito, 1999; Smith and March March's Advanced Organic Chemistry, 5th Edition, John Wiley & Sons, Inc., New York, 2001; Larock, Comprehensive Organic Transformations, VCH Publishers, Inc., New York, 1989; and Carruthers, Some Modern Methods of Organic Synthesis, 3rd Edition, Cambridge University Press, Cambridge, 1987)에 기재되어 있다.

본원에 기재된 화합물은 하나 이상의 비대칭 중심을 포함할 수 있고, 따라서 다양한 입체이성질체 형태, 예를 들어 조성물 중 거울상이성질체 및/또는 부분입체이성질체 및/또는 기하학적(시스/트랜스 또는 E/Z) 이성질체로 존재할 수 있다. 예를 들어, 조성물은 라세미(동등) 혼합물, 하나 이상의 입체이성질체가 풍부한 혼합물을 포함하는 입체이성질체의 혼합물을 포함할 수 있거나, 실질적으로 순수한(>99%) 형태의 개별 입체이성질체를 포함할 수 있다. 본원에 사용된 "풍부한"은 조성물에 존재할 수 있는 다른 입체이성질체(들)의 총합에 비해 하나의 입체이성질체를 (>) 50% 초과로 포함하는 조성물을 지칭한다. 특정 구현예에서, 조성물은 조성물에 존재할 수 있는 기타 입체이성질체(들)의 총합에 비해 >60%, >65%, >70%, >75%, >80%, >85%, >90%, >91%, >92%, >93%, >94%, >95%, >96%, >97%, >98%, >99%, >99.5%, >99.9%, 또는 심지어 100%의 하나의 입체이성질체를 포함할 수 있거나; 조성물에 존재할 수 있는 기타 입체이성질체(들)의 총합에 비해 0% 또는 (<) 0.1%, <0.5%, <1%, <2%, <3%, <4%, <5%, <6%, <7%, <8%, <9%, <10%, <15%, <20%, <25%, <30%, <35%, <40%, <45%, 또는 <50% 미만의 하나의 입체이성질체를 포함할 수 있다. 단순화를 위해, 조성물에 약제학적으로 허용되는 염(들)으로 제공되는 경우 임의의 입체이성질체(들)의 풍부한 양을 계산하는 것은 유리 염기 형태의 가상 양을 기준으로 한다. 특정 구현예에서, 조성물에는 이의 (S)-거울상이성질체가 풍부하다. 다른 구현예에서, 조성물에는 이의 (R)-거울상이성질체가 풍부하다.

달리 명시하지 않는 한, 본원에 도시된 구조는 또한 하나 이상의 동위원소가 풍부한 원자의 존재에서만 상이한 화합물을 포함하는 것을 의미한다. 예를 들어, 중수소 또는 삼중수소에 의한 수소 대체, ^{19}F의 ^{18}F로의 대체, ^{13}C- 또는 ^{14}C-풍부한 탄소에 의한 탄소의 대체 및/또는 산소 원자의 ^{18}O로의 대체를 제외하고 본 구조를 갖는 화합물은 본 개시내용의 범위 내에 있다.

값의 범위가 열거되는 경우, 범위 내 각각의 값 및 하위범위를 포괄하는 것으로 의도된다. 예를 들어, "C_{1-6} 알킬"은 C_1, C_2, C_3, C_4, C_5, C_6, C_{1-6}, C_{1-5}, C_{1-4}, C_{1-3}, C_{1-2}, C_{2-6}, C_{2-5}, C_{2-4}, C_{2-3}, C_{3-6}, C_{3-5}, C_{3-4}, C_{4-6}, C_{4-5}, 및 C_{5-6} 알킬을 포괄하는 것으로 의도된다.

"알킬"은 1 내지 4개의 탄소원자를 갖는 직쇄 또는 분지형 포화 탄화수소기의 1가 라디칼("C_{1-4} 알킬")을 지칭한다. 일부 구현예에서, 알킬기는 1 내지 3개의 탄소원자("C_{1-3} 알킬")를 갖는다. 일부 구현예에서, 알킬기는 1 내지 2개의 탄소원자("C_{1-2} 알킬")를 갖는다. 일부 구현예에서, 알킬기는 1개의 탄소원자("C_1 알킬")를 갖는다. C_{1-4} 알킬기의 예는 메틸(C_1), 에틸(C_2), n-프로필(C_3), 이소프로필(C_3), n-부틸(C_4), tert-부틸(C_4), sec-부틸(C_4), 및 이소-부틸(C_4) 기를 포함한다.

"할로알킬"은 하나 이상의 수소 원자가 할로겐, 예를 들어 플루오로, 브로모, 클로로 또는 요오도에 의해 독립적으로 대체된 알킬기이다. "퍼할로알킬"은 할로알킬의 하위세트이고, 모든 수소 원자가 할로겐, 예를들어, 플루오로, 브로모, 클로로 또는 요오도로 독립적으로 대체된 알킬기를 지칭한다. 일부 구현예에서, 할로알킬 모이어티는 1 내지 4개의 탄소 원자("C_{1-4} 할로알킬")를 갖는다. 일부 구현예에서, 할로알킬 모이어티는 1 내지 3개의 탄소 원자("C_{1-3} 할로알킬")를 갖는다. 일부 구현예에서, 할로알킬 모이어티는 1 내지 2개의 탄소 원자("C_{1-2} 할로알킬")를 갖는다. 일부 구현예에서, 모든 할로알킬 수소 원자는 플루오로로 대체되어 퍼플루오로알킬기를 제공한다. 할로알킬기의 예는 $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CFH_2$, $-CF_2CF_3$, $-CH_2CF_3$, $-CF_2CF_2CF_3$, $-CCl_3$, $-CFCl_2$, 및

-CF_2Cl을 포함한다.

"카보사이클릴" 또는 "카보사이클릭"은 3 내지 6개의 고리 탄소 원자("C_{3-6} 카보사이클릴") 및 0개의 고리 헤테로원자를 갖는 모노사이클릭 비방향족 3 내지 6원 고리 시스템의 1가 라디칼을 지칭한다. 일부 구현예에서, 카보사이클릴기는 3 내지 4개의 고리 탄소원자("C_{3-4} 카보사이클릴")를 갖는다. 일부 구현예에서, 카보사이클릴기는 4 내지 6개의 고리 탄소원자("C_{4-6} 카보사이클릴")를 갖는다. 일부 구현예에서, 카보사이클릴기는 5 내지 6개의 고리 탄소원자("C_{5-6} 카보사이클릴")를 갖는다. 예시적인 C_{3-6} 카보사이클릴기는 제한 없이 사이클로프로필(C_3), 사이클로프로페닐(C_3), 사이클로부틸(C_4), 사이클로부테닐(C_4), 사이클로펜틸(C_5), 사이클로펜테닐(C_5), 사이클로헥실(C_6), 사이클로헥세닐(C_6), 및 사이클로헥사디에닐(C_6)을 포함한다.

"헤테로사이클릴" 또는 "헤테로사이클릭"은 고리 탄소 원자 및 1 내지 3개의 고리 헤테로원자를 갖는 모노사이클릭, 비방향족, 4 내지 6원 고리 시스템의 1가 라디칼을 지칭하고, 여기서 각각의 헤테로원자는 질소, 산소, 및 황("4 내지 6원 헤테로사이클릴")으로부터 독립적으로 선택된다. 1개의 헤테로원자를 함유하는 예시적인 4원 헤테로사이클릴기는 제한 없이 아제티디닐, 옥세타닐 및 티에타닐을 포함한다. 1개의 헤테로원자를 함유하는 예시적인 5원 헤테로사이클릴기는, 제한 없이, 테트라하이드로푸라닐, 디하이드로푸라닐, 테트라하이드로티오페닐, 디하이드로티오페닐, 피롤리디닐 및 디하이드로피롤릴을 포함한다. 2개의 헤테로원자를 함유하는 예시적인 5원 헤테로사이클릴기는 제한 없이 디옥솔라닐, 옥사티올라닐 및 디티올라닐을 포함한다. 3개의 헤테로원자를 함유하는 예시적인 5원 헤테로사이클릴기는 제한 없이 트리아졸리닐, 옥사디아졸리닐 및 티아디아졸리닐을 포함한다. 1개의 헤테로원자를 함유하는 예시적인 6원 헤테로사이클릴기는 제한 없이 피페리디닐, 테트라하이드로피라닐, 디하이드로피리디닐 및 티아닐을 포함한다. 2개의 헤테로원자를 함유하는 예시적인 6원 헤테로사이클릴기는 제한없이 피페라지닐, 모르폴리닐, 디티아닐 및 디옥사닐을 포함한다. 3개의 헤테로원자를 함유하는 예시적인 6원 헤테로사이클릴기는 제한 없이 트리아지나닐을 포함한다.

"5원 헤테로아릴"은 방향족 고리 시스템에 제공된 고리 탄소 원자 및 1 내지 3개의 고리 헤테로원자를 갖는 5원 모노사이클릭 4n+2 방향족 고리 시스템(예를 들어, 사이클릭 배열에서 공유된 6개의 파이 전자를 가짐)의 라디칼을 지칭하고, 여기서 각 헤테로원자는 질소, 산소 및 황으로부터 독립적으로 선택된다. 하나 이상의 질소 원자를 함유하는 헤테로아릴기에서 부착 지점은 원자가가 허용하는 바와 같이 탄소 또는 질소 원자일 수 있다. 일부 구현예에서, 5원 헤테로아릴은 질소, 산소 및 황으로부터 선택된 1-3개의 고리 헤테로원자를 갖는다. 일부 구현예에서, 5원 헤테로아릴은 질소, 산소 및 황으로부터 선택된 2개의 고리 헤테로원자를 갖는다. 일부 구현예에서, 5원 헤테로아릴은 질소, 산소 및 황으로부터 선택된 1개의 고리 헤테로원자를 갖는다. 1개의 헤테로원자를 함유하는 예시적인 5원 헤테로아릴기는 제한 없이 피롤릴, 푸라닐 및 티오페닐을 포함한다. 2개의 헤테로원자를 함유하는 예시적인 5원 헤테로아릴기는 제한 없이 이미다졸릴, 피라졸릴, 옥사졸릴, 이속사졸릴, 티아졸릴 및 이소티아졸릴을 포함한다. 3개의 헤테로원자를 함유하는 예시적인 5원 헤테로아릴기는 제한 없이 트리아졸릴, 옥사디아졸릴 및 티아디아졸릴을 포함한다.

"할로"는 불소(플루오로, -F), 염소(클로로, -Cl), 브롬(브로모, -Br) 또는 요오드(요오도, -I)를 지칭한다.

"치환된"은 명시된 기 또는 모이어티가 하나 이상의 치환체를 갖는 것을 의미한다. 임의의 기가 다수의 치환체를 가질 수 있고 다양한 가능한 치환체가 제공되는 경우, 치환체는 독립적으로 선택되고 동일할 필요는 없다. 예시적인 치환체는 하이드록실, 할로, 시아노, 니트로, 티올, 알킬, 알케닐, 카보사이클릴, 헤테로사이클릴, 헤테로아릴, 아릴, 헤테로아릴알킬, 아릴알킬, 알콕시, 포스페이트, 포스포네이트, 아미노, 아미도, 카복실레이트 및 에스테르를 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

"비치환된"은 명시된 기가 어떠한 치환체도 갖지 않음을 의미한다.

"선택적으로 및 독립적으로 치환된"은 명시된 기가 하나 이상의 치환체로 추가로 치환될 수도 있고 그렇지 않을 수도 있고, 하나 초과의 치환체가 존재하는 경우 이들 치환체는 동일할 필요가 없음을 의미한다.

"염"은 임의의 모든 염을 지칭하고, 염기성 화합물과 무기 또는 유기산, 또는 산성 화합물과 무기 또는 유기 염기의 이온 착화로부터 생성되어 전자적으로 중성인 화합물을 제공한다. "약제학적으로 허용되는 염"은 건전한 의학적 판단의 범위 내에서 과도한 독성, 자극, 알레르기 반응 등이 없이 사람 및 하등동물의 조직과 접촉하여 사용하기에 적합하고 합리적인 이익/위험 비율에 적당한 염을 지칭한다. 또한 문헌(Berge et al., J. Pharmaceutical Sciences (1977) 66:1-19)을 참조한다. 화합물의 "유리 염기"는 중성 및 염이 없는 형태의 화합물이다. 특정 구현예에서, 화학식 I의 화합물은 염(예를 들어, 약제학적으로 허용되는 염)일 수 있다. 특정

구현예에서, 예를 들어 약제학적으로 허용되는 염에 대한 언급 없이, 화학식 I의 화합물은 유리 염기 형태로 존재할 수 있다.

"이탈기"는 이종분해 결합 절단에서 한 쌍의 전자와 함께 이탈하는 분자 단편을 지칭하고, 여기서 분자 단편은 음이온 또는 중성 분자이다. "이탈기"는 또한 교차-커플링 반응을 통해 이탈하는 분자 단편을 지칭한다. 이종분해 결합 절단에서 한 쌍의 전자와 함께 이탈하는 예시적인 이탈기는 할로(예를들어, 클로로, 브로모, 요오도) 및 활성화된 하이드록실기, 예를 들어 트리플루오로메탄설포닐 활성화된 하이드록실기(-OTf) 4-톨루엔설포닐 활성화된 하이드록실기(-OTs), 메탄설포닐 활성화된 하이드록실기(-OMs), 벤젠설포닐 활성화된 하이드록실기(-OBs) 또는 $-OS(O)_2OCH_3$을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 교차-커플링 반응을 통해 이탈하는 예시적인 이탈기는 보론산 또는 보론산 에스테르(예를 들어, 디옥소보롤란기, 예를 들어, 테트라메틸 디옥소보롤란), 트리알킬 스타난(예를 들어, $(R')_3Sn-$, 여기서 R'는 C_{1-3} 알킬임) 및 할로(예를 들어, 클로로, 브로모, 요오도)를 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

하이드록실 보호기는 당업계에 널리 공지되어 있고, 문헌(참조: Protecting Groups in Organic Synthesis, T. W. Greene and P. G. M. Wuts, 3rd edition, John Wiley & Sons, 1999)에 상세히 기재된 것들을 포함한다. 본원에 사용된 예시적인 "하이드록실 보호기"는 메톡실메틸(MOM), 메틸티오메틸(MTM), t-부틸티오메틸, (페닐디메틸실릴)메톡시메틸(SMOM), 벤질옥시메틸(BOM), p-메톡시벤질옥시메틸(PMBM), (4-메톡시페녹시)메틸(p-AOM), 구아이아콜메틸(GUM), t-부톡시메틸, 4-펜테닐옥시메틸(POM), 실록시메틸, 2-메톡시에톡시메틸(MEM), 2,2,2-트리클로로에톡시메틸, 비스(2-클로로에톡시)메틸, 2-(트리메틸실릴)에톡시메틸(SEMOR), 테트라하이드로피라닐(THP), 3-브로모테트라하이드로피라닐, 테트라하이드로티오피라닐, 1-메톡시사이클로헥실, 4-메톡시테트라하이드로피라닐(MTHP), 4-메톡시테트라하이드로티오피라닐, 1-[(2-클로로-4-메틸)페닐]-4-메톡시피페리딘-4-일(CTMP), 알릴, 벤질(Bn), p-메톡시벤질, 3,4-디메톡시벤질, o-니트로벤질, p-니트로벤질, p-할로벤질, 2,6-디클로로벤질, p-시아노벤질, p-페닐벤질, 디페닐메틸, 트리페닐메틸, 트리메틸실릴(TMS), 트리에틸실릴(TES), 트리이소프로필실릴(TIPS), 디메틸이소프로필실릴(IPDMS), 디에틸이소프로필실릴(DEIPS), 디메틸헥실실릴, t-부틸디메틸실릴(TBDMS), t-부틸디페닐실릴(TBDPS), 트리벤질실릴, 트리페닐실릴, 디페닐메틸실릴(DPMS), t-부틸메톡시페닐실릴(TBMPS), 아세테이트, 클로로아세테이트, 디클로로아세테이트, 트리클로로아세테이트, 트리플루오로아세테이트, 메톡시아세테이트, 트리페닐메톡시아세테이트, 페녹시아세테이트, p-클로로페녹시아세테이트, 메틸 카보네이트, 9-플루오레닐메틸 카보네이트(Fmoc), 에틸 카보네이트, 2,2,2-트리클로로에틸 카보네이트(Troc), 2-(트리메틸실릴)에틸 카보네이트(TMSEC), 2-(페닐설포닐) 에틸 카보네이트(Psec), 2-(트리페닐포스포니오) 에틸 카보네이트(Peoc), 이소부틸 카보네이트, 비닐 카보네이트, 알릴 카보네이트, t-부틸 카보네이트(BOC), p-니트로페닐 카보네이트, 벤질 카보네이트, p-메톡시벤질 카보네이트, 3,4-디메톡시벤질 카보네이트, o-니트로벤질 카보네이트, 및 p-니트로벤질 카보네이트를 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

"대상체"는 포유류를 지칭하고, 사람(즉, 임의의 연령 그룹의 남성 또는 여성, 예를 들어 소아 대상체(예를 들어, 유아, 어린이, 청소년) 또는 성인 대상체(예를 들어, 젊은 성인, 중년 성인 또는 노년 성인)) 및/또는 기타 비사람 포유류, 예를 들어 영장류(예를 들어, 시노몰구스 원숭이, 붉은털 원숭이), 고양이 및/또는 개를 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

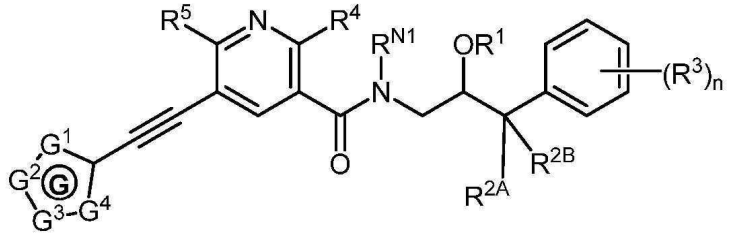
"치료하다", "치료하는" 및 "치료"는 대상체가 질환을 앓고 있는 동안 발생하고 질환의 중증도를 감소시키거나 질환 또는 관련 증상의 진행을 지연시키거나 늦추는 작용을 지칭한다.

화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염의 "유효량"은 단독으로 또는 다른 치료요법과 조합하여 대상체가 앓고 있는 질환의 치료에서 치료학적 이득을 제공하거나 대상체가 앓고 있는 질환과 관련된 하나 이상의 증상을 지연시키거나 최소화하는 양이다.

발명의 상세한 설명

(I) 화합물

본원에는 화학식 I의 화합물 및 이의 약제학적으로 허용되는 염



(I)

이 기재되어 있다;

상기 식에서:

R^1은 수소이거나,

R^1은 $-P(=O)(OR^{P1})_2$, $-C(=O)CH_2OR^{P1}$, $-C(=O)CH_2N(R^{P1})_2$, 또는 $-C(=O)R^{P2}$이고, 여기서, 각각의 R^{P1}은 수소 및 치환되거나 비치환된 C_{1-4}알킬로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고, R^{P2}는 치환되거나 비치환된 C_{1-4}알킬이고;

R^{2A} 및 R^{2B}는 각각 독립적으로 수소 또는 할로이고;

각각의 R^3은 할로 및 치환되거나 비치환된 C_{1-4}알킬로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고, 여기서 n은 0, 1, 또는 2이고;

R^{N1}은 수소 또는 치환되거나 비치환된 C_{1-4}알킬이고;

R^4는 수소, $-OR^{4A}$, 및 치환되거나 비치환된 C_{1-4}알킬로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고, 여기서 R^{4A}는 수소 또는 치환되거나 비치환된 C_{1-4}알킬이고;

R^5는 수소, $-OR^{5A}$, 및 치환되거나 비치환된 C_{1-4}알킬로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고, 여기서 R^{5A}는 수소 또는 치환되거나 비치환된 C_{1-4}알킬이고;

고리 G는 5원 헤테로아릴 고리이고, 각각의 G^1, G^2, G^3, 및 G^4는 독립적으로, CH, CR^{G1}, N, NR^{N2}, O, 또는 S이고, 단, G^1, G^2, G^3, 및 G^4 중 적어도 하나는 N, NR^{N2}, O, 또는 S이고, 여기서 G^1, G^2, G^3, 및 G^4 중 2개 이하는 O 또는 S이고;

각각의 R^{G1}은 할로, $-OR^{G2}$, $-NR^7$, 치환되거나 비치환된 C_{1-4}알킬, 치환되거나 비치환된 3-4원 카보사이클릴, 또는 치환되거나 비치환된 4원 헤테로사이클릴로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고, 여기서 R^{G2}는 수소 또는 치환되거나 비치환된 C_{1-4}알킬이거나;

2개의 인접한 R^{G1}기는 이들이 부착된 원자와 함께 취하여 융합된 치환되거나 비치환된 5-6원 카보사이클릴 또는 융합된 치환되거나 비치환된 5-6원 헤테로사이클릴을 형성하거나;

인접한 R^{G1}기 및 R^{N2}기는 이들이 부착된 원자와 함께 취하여 융합된 치환되거나 비치환된 5-6원 헤테로사이클릴을 형성하고;

각각의 R^{N2}는 수소, 치환되거나 비치환된 C_{1-4}알킬, 치환되거나 비치환된 3-4원 카보사이클릴, 및 치환되거나 비치환된 4원 헤테로사이클릴로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;

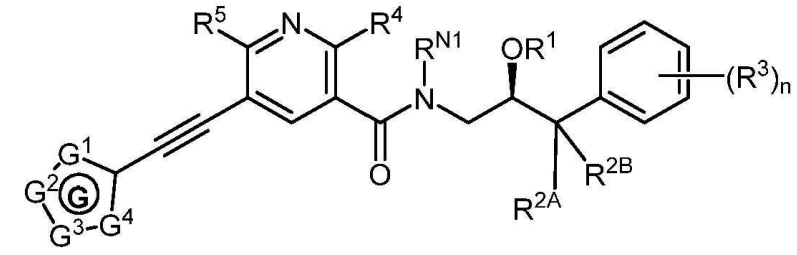
각각의 R^7은 수소, 치환되거나 비치환된 C_{1-4}알킬, 치환되거나 비치환된 3-4원 카보사이클릴 및 치환되거나 비치

환된 4원 헤테로사이클릴로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;

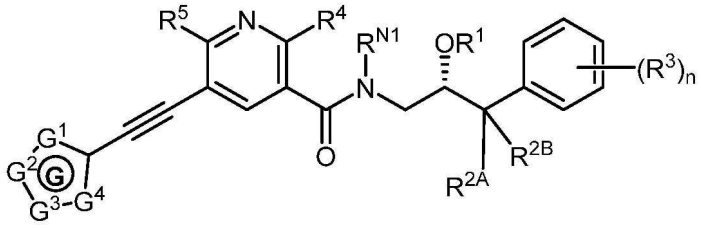
각각의 치환된 또는 비치환된은 선택적으로 및 독립적으로 할로, -OH, -O(C_{1-4}알킬), 및 -O(C_{1-4}할로알킬)로 이루어진 군으로부터 선택된 0, 1, 2 또는 3개의 치환체들에 의해 치환된다.

화학식 I의 화합물은 RIPK1에 선택적으로 결합하여 RIPK1을 억제할 수 있다(도 1 참조; 검정 및 활성 데이터에서 RIPK1 결합 검정). RIPK1을 억제함으로써, 본 발명의 화합물은 TNF-유발 네크롭토시스를 예방할 수 있다(검정 및 활성 데이터에서 U937 TNF/zVAD 세포독성 세포 검정 참조).

화학식 I의 화합물은 하나 이상의 입체중심을 추가로 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 화합물은 OR^1기가 부착된 탄소 상에 입체중심을 포함한다. 예를 들어, 특정 구현예에서, 화합물은 화학식 I-a의 입체이성질체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다. 특정 구현예에서, 화합물은 화학식 I-b의 입체이성질체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다.



(I-a)



(I-b)

고리 G

특정 구현예에서, 고리 G에서, G^1, G^2, G^3, 및 G^4 중 적어도 하나는 N 또는 NR^{N2}이다.

특정 구현예에서, 고리 G에서, G^2 또는 G^3 중 적어도 하나는 N 또는 NR^{N2}이다.

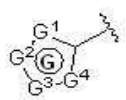
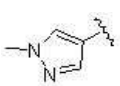
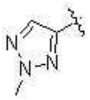
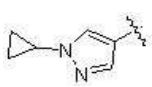
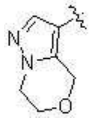
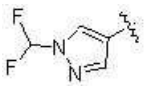
특정 구현예에서, 고리 G에서, G^1, G^2, G^3, 및 G^4 중 적어도 2개는 N 또는 NR^{N2}이다.

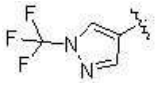
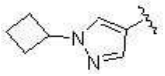
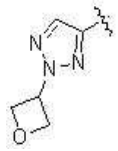
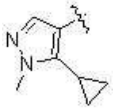
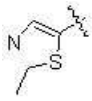
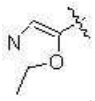
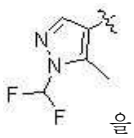
이러한 특정 구현예에서, 고리 G는 디아졸이다. 이러한 특정 구현예에서, G^2 및 G^3은 각각 독립적으로 N 또는 NR^{N2}이다.

추가의 구현예에서, 고리 G는 트리아졸이다. 이러한 특정 구현예에서, G^2, G^3 및 G^4는 각각 독립적으로 N 또는 NR^{N2}이다.

특정 구현예에서, R^{N2}는 알킬 또는 할로알킬이다.

예를 들어, G^1, G^2, G^3, 및 G^4 중 적어도 하나가 N 또는 NR^{N2}이거나 고리 G가 디아졸인 특정 구현예에서, G^1 및 G^2 중 하나는 CR^{G1}이다. 이러한 특정 구현예에서, R^{G1}은 메틸 또는 사이클로프로필이다.

화학식  의 예시적 군은 , , , , ,

, , , , , , , 및  을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

R^4 및 R^5

특정 구현예에서, R^4는 수소이다.

특정 구현예에서, R^5는 수소, 알콕시 또는 할로알킬이다.

특정 구현예에서, R^5는 수소, 메틸, 메톡시 또는 디플루오로메틸이다. 예를 들어, R^5는 수소일 수 있다.

R^{N1}

특정 구현예에서, R^{N1}은 수소 또는 메틸이다. 예를 들어, R^{N1}은 수소일 수 있다. 대안적으로, R^{N1}은 메틸이다.

R^{2A} 및 R^{2B}

특정 구현예에서, R^{2A} 및 R^{2B}는 각각 수소이다. 대안적으로, R^{2A} 및 R^{2B} 중 하나는 수소이고 다른 하나는 플루오로이다.

R^3 및 n

특정 구현예에서, n은 0 또는 1이다.

일부 구현예에서, n은 1이다. 특정 상기 구현예에서, R^3은 할로이다. 대안적으로, n은 0이다.

R^1

특정 구현예에서, R^1은 수소이다.

대안적으로, R^1은 $-P(=O)(OR^{P1})_2$, $-C(=O)CH_2N(R^{P1})_2$, 또는 $-C(=O)R^{P2}$일 수 있다. 예를 들어, 일부 구현예에서, R^1은 $-P(=O)(OR^{P1})_2$이다. 특정 상기 구현예에서, 각각의 R^{P1}은 수소 및 비치환된 C_{1-4}알킬로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된다. 예를 들어, 각각의 R^{P1}은 수소일 수 있다. 대안적으로, 각각의 R^{P1}은 비치환된 C_{1-4}알킬일 수 있다.

화학식 I의 특정 구현예에서, G^2 또는 G^3 중 적어도 하나는 N 또는 NR^{N2}이고; R^4는 수소이고; R^5는 수소, 알콕시 또는 할로알킬이고; R^{N1}은 수소 또는 메틸이고; R^{2A} 및 R^{2B}는 각각 수소이고; n은 0 또는 1이고; R^1은 수소이다.

화학식 I의 특정 구현예에서, G^2 또는 G^3 중 적어도 하나는 N 또는 NR^{N2}이고; R^4는 수소이고; R^5는 수소, 알콕시 또는 할로알킬이고; R^{N1}은 수소 또는 메틸이고; R^{2A} 및 R^{2B}는 각각 수소이고; n은 0 또는 1이고; R^1은 $-P(=O)(OR^{P1})_2$, $-C(=O)CH_2N(R^{P1})_2$, 또는 $-C(=O)R^{P2}$이다.

화학식 I의 특정 구현예에서, G^2 또는 G^3 중 적어도 하나는 N 또는 NR^{N2}이고; R^4는 수소이고; R^5는 수소, 알콕시 또는 할로알킬이고; R^{N1}은 수소 또는 메틸이고; R^{2A} 및 R^{2B}는 각각 수소이고; n은 0 또는 1이고; R^1은 $-P(=O)(OR^{P1})_2$이다. 이러한 특정 구현예에서, 각각의 R^{P1}은 수소 및 비치환된 C_{1-4}알킬로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된다. 특정한 바람직한 구현예에서, 각각의 R^{P1}은 H이다.

화학식 I의 특정 구현예에서, G^2 또는 G^3 중 적어도 하나는 N 또는 NR^{N2}이고; R^4는 수소이고; R^5는 수소, 알콕시 또는 할로알킬이고; R^{N1}은 수소 또는 메틸이고; R^{2A} 및 R^{2B}는 각각 수소이고; n은 0이고; R^1은 수소이다.

화학식 I의 특정 구현예에서, G^2 또는 G^3 중 적어도 하나는 N 또는 NR^{N2}이고; R^4는 수소이고; R^5는 수소, 알콕시 또는 할로알킬이고; R^{N1}은 수소 또는 메틸이고; R^{2A} 및 R^{2B}는 각각 수소이고; n은 0이고; R^1은 $-P(=O)(OR^{P1})_2$, $-C(=O)CH_2N(R^{P1})_2$, 또는 $-C(=O)R^{P2}$이다.

화학식 I의 특정 구현예에서, G^2 또는 G^3 중 적어도 하나는 N 또는 NR^{N2}이고; R^4는 메틸이고; R^5는 수소, 알콕시 또는 할로알킬이고; R^{N1}은 수소 또는 메틸이고; R^{2A} 및 R^{2B}는 각각 수소이고; n은 0이고; R^1은 $-P(=O)(OR^{P1})_2$이다. 이러한 특정 구현예에서, 각각의 R^{P1}은 수소 및 비치환된 C_{1-4}알킬로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된다. 특정 바람직한 구현예에서, 각각의 R^{P1}은 H이다.

화학식 I의 특정 구현예에서, G^2 또는 G^3 중 적어도 하나는 N 또는 NR^{N2}이고; R^4는 수소이고; R^5는 수소, 알콕시 또는 할로알킬이고; R^{N1}은 수소 또는 메틸이고; R^{2A} 및 R^{2B}는 각각 수소이고; n은 1이고; R^3은 할로이고, R^1은 수소이다.

화학식 I의 특정 구현예에서, G^2 또는 G^3 중 적어도 하나는 N 또는 NR^{N2}이고; R^4는 수소이고; R^5는 수소, 알콕시 또는 할로알킬이고; R^{N1}은 수소 또는 메틸이고; R^{2A} 및 R^{2B}는 각각 수소이고; n은 1이고; R^3은 할로이고; R^1은 $-P(=O)(OR^{P1})_2$, $-C(=O)CH_2N(R^{P1})_2$, 또는 $-C(=O)R^{P2}$이다.

화학식 I의 특정 구현예에서, G^2 또는 G^3 중 적어도 하나는 N 또는 NR^{N2}이고; R^4는 수소이고; R^5는 수소, 알콕시 또는 할로알킬이고; R^{N1}은 수소 또는 메틸이고; R^{2A} 및 R^{2B}는 각각 수소이고; n은 1이고; R^3은 할로이고; R^1은 $-P(=O)(OR^{P1})_2$이다. 이러한 특정 구현예에서, 각각의 R^{P1}은 수소 및 비치환된 C_{1-4}알킬로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된다. 특정 바람직한 구현예에서, 각각의 R^{P1}은 H이다.

화학식 I의 특정 구현예에서, G^2 또는 G^3 중 적어도 하나는 N 또는 NR^{N2}이고; R^4는 수소이고; R^5는 수소, 알콕시 또는 할로알킬이고; R^{N1}은 수소 또는 메틸이고; R^{2A} 및 R^{2B} 중 하나는 수소이고; 다른 하나는 플루오로이고; n은 0 또는 1이고; R^1은 수소이다.

화학식 I의 특정 구현예에서, G^2 또는 G^3 중 적어도 하나는 N 또는 NR^{N2}이고; R^4는 수소이고; R^5는 수소, 알콕시 또는 할로알킬이고; R^{N1}은 수소 또는 메틸이고; R^{2A} 및 R^{2B} 중 하나는 수소이고 다른 하나는 플루오로이고; n은 0 또는 1이고; R^1은 $-P(=O)(OR^{P1})_2$, $-C(=O)CH_2N(R^{P1})_2$, 또는 $-C(=O)R^{P2}$이다.

화학식 I의 특정 구현예에서, G^2 또는 G^3 중 적어도 하나는 N 또는 NR^{N2}이고; R^4는 수소이고; R^5는 수소, 알콕시 또는 할로알킬이고; R^{N1}은 수소 또는 메틸이고; R^{2A} 및 R^{2B} 중 하나는 수소이고 다른 하나는 플루오로이고; n은 0 또는 1이고; R^1은 $-P(=O)(OR^{P1})_2$이다. 이러한 특정 구현예에서, 각각의 R^{P1}은 수소 및 비치환된 C_{1-4}알킬로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된다. 특정한 바람직한 구현예에서, 각각의 R^{P1}은 H이다.

화학식 I의 특정 구현예에서, G^2 또는 G^3 중 적어도 하나는 N 또는 NR^{N2}이고; R^4는 수소이고; R^5는 수소, 알콕시 또는 할로알킬이고; R^{N1}은 수소이고; R^{2A} 및 R^{2B}는 각각 수소이고; n은 0 또는 1이고; R^1은 수소이다.

화학식 I의 특정 구현예에서, G^2 또는 G^3 중 적어도 하나는 N 또는 NR^{N2}이고; R^4는 수소이고; R^5는 수소, 알콕시

또는 할로알킬이고; R^{N1}은 수소이고; R^{2A} 및 R^{2B}는 각각 수소이고; n은 0 또는 1이고; R^{1}은 $-P(=O)(OR^{P1})_2$, $-C(=O)CH_2N(R^{P1})_2$, 또는 $-C(=O)R^{P2}$이다.

화학식 I의 특정 구현예에서, G^2 또는 G^3 중 적어도 하나는 N 또는 NR^{N2}이고; R^4는 수소이고; R^5는 수소, 알콕시 또는 할로알킬이고; R^{N1}은 수소이고; R^{2A} 및 R^{2B}는 각각 수소이고; n은 0 또는 1이고; R^{1}은 $-P(=O)(OR^{P1})_2$이다. 이러한 특정 구현예에서, 각각의 R^{P1}은 수소 및 비치환된 C_{1-4}알킬로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된다. 특정한 바람직한 구현예에서, 각각의 R^{P1}은 H이다.

화학식 I의 특정 구현예에서, G^2 또는 G^3 중 적어도 하나는 N 또는 NR^{N2}이고; R^4는 수소이고; R^5는 수소, 알콕시 또는 할로알킬이고; R^{N1}은 메틸이고; R^{2A} 및 R^{2B}는 각각 수소이고; n은 0 또는 1이고; R^{1}은 수소이다.

화학식 I의 특정 구현예에서, G^2 또는 G^3 중 적어도 하나는 N 또는 NR^{N2}이고; R^4는 수소이고; R^5는 수소, 알콕시 또는 할로알킬이고; R^{N1}은 메틸이고; R^{2A} 및 R^{2B}는 각각 수소이고; n은 0 또는 1이고; R^{1}은 $-P(=O)(OR^{P1})_2$, $-C(=O)CH_2N(R^{P1})_2$, 또는 $-C(=O)R^{P2}$이다.

화학식 I의 특정 구현예에서, G^2 또는 G^3 중 적어도 하나는 N 또는 NR^{N2}이고; R^4는 수소이고; R^5는 수소, 알콕시 또는 할로알킬이고; R^{N1}은 메틸이고; R^{2A} 및 R^{2B}는 각각 수소이고; n은 0 또는 1이고; R^{1}은 $-P(=O)(OR^{P1})_2$이다. 특정 상기 구현예에서, 각각의 R^{P1}은 수소 및 비치환된 C_{1-4}알킬로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된다. 특정 바람직한 구현예에서, 각각의 R^{P1}은 H이다.

화학식 I의 특정 구현예에서, G^2 또는 G^3 중 적어도 하나는 N 또는 NR^{N2}이고; R^4는 수소이고; R^5는 수소, 메틸, 메톡시 또는 디플루오로메틸이고; R^{N1}은 메틸이고; R^{2A} 및 R^{2B}는 각각 수소이고; n은 0 또는 1이고; R^{1}은 수소이다.

화학식 I의 특정 구현예에서, G^2 또는 G^3 중 적어도 하나는 N 또는 NR^{N2}이고; R^4는 수소이고; R^5는 수소, 메틸, 메톡시 또는 디플루오로메틸이고; R^{N1}은 메틸이고; R^{2A} 및 R^{2B}는 각각 수소이고; n은 0 또는 1이고; R^{1}은 $-P(=O)(OR^{P1})_2$, $-C(=O)CH_2N(R^{P1})_2$, 또는 $-C(=O)R^{P2}$이다.

화학식 I의 특정 구현예에서, G^2 또는 G^3 중 적어도 하나는 N 또는 NR^{N2}이고; R^4는 수소이고; R^5는 수소, 메틸, 메톡시 또는 디플루오로메틸이고; R^{N1}은 메틸이고; R^{2A} 및 R^{2B}는 각각 수소이고; n은 0 또는 1이고; R^{1}은 $-P(=O)(OR^{P1})_2$이다. 이러한 특정 구현예에서, 각각의 R^{P1}은 수소 및 비치환된 C_{1-4}알킬로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된다. 특정한 바람직한 구현예에서, 각각의 R^{P1}은 H이다.

화학식 I의 특정 구현예에서, G^2 및 G^3은 각각 독립적으로 N 또는 NR^{N2}이고; R^4는 수소이고; R^5는 수소, 알콕시 또는 할로알킬이고; R^{N1}은 수소 또는 메틸이고; R^{2A} 및 R^{2B}는 각각 수소이고; n은 0 또는 1이고; R^{1}은 수소이다.

화학식 I의 특정 구현예에서, G^2 및 G^3은 각각 독립적으로 N 또는 NR^{N2}이고; R^4는 수소이고; R^5는 수소, 알콕시 또는 할로알킬이고; R^{N1}은 수소 또는 메틸이고; R^{2A} 및 R^{2B}는 각각 수소이고; n은 0 또는 1이고; R^{1}은 $-P(=O)(OR^{P1})_2$, $-C(=O)CH_2N(R^{P1})_2$, 또는 $-C(=O)R^{P2}$이다. 화학식 I의 특정 구현예에서, G^2 및 G^3은 각각 독립적으로 N 또는 NR^{N2}이고; R^4는 수소이고; R^5는 수소, 알콕시 또는 할로알킬이고; R^{N1}은 수소 또는 메틸이고; R^{2A} 및 R^{2B}는 각각 수소이고; n은 0 또는 1이고; R^{1}은 $-P(=O)(OR^{P1})_2$이다.

특정 상기 구현예에서, 각각의 R^{P1}은 수소 및 비치환된 C_{1-4}알킬로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된다.

특정 바람직한 구현예에서, 각각의 R^{P1}은 H이다.

화학식 I의 특정 구현예에서, G^2 및 G^3은 각각 독립적으로 N 또는 NR^{N2}이고; R^4는 수소이고; R^5는 수소, 메틸, 메톡시이고; R^{N1}은 수소 또는 메틸이고; R^{2A} 및 R^{2B}는 각각 수소이고; n은 0 또는 1이고; R^1은 수소이다.

화학식 I의 특정 구현예에서, G^2 및 G^3은 각각 독립적으로 N 또는 NR^{N2}이고; R^4는 수소이고; R^5는 수소, 메틸, 메톡시이고; R^{N1}은 수소 또는 메틸이고; R^{2A} 및 R^{2B}는 각각 수소이고; n은 0 또는 1이고; R^1은 $-P(=O)(OR^{P1})_2$, $-C(=O)CH_2N(R^{P1})_2$, 또는 $-C(=O)R^{P2}$이다.

화학식 I의 특정 구현예에서, G^2 및 G^3은 각각 독립적으로 N 또는 NR^{N2}이고; R^4는 수소이고; R^5는 수소, 메틸, 메톡시이고; R^{N1}은 수소 또는 메틸이고; R^{2A} 및 R^{2B}는 각각 수소이고; n은 0 또는 1이고; R^1은 $-P(=O)(OR^{P1})_2$이다.

특정 상기 구현예에서, 각각의 R^{P1}은 수소 및 비치환된 C_{1-4}알킬로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된다.

특정한 바람직한 구현예에서, 각각의 R^{P1}은 H이다.

화학식 I의 특정 구현예에서, G^2 및 G^3은 각각 독립적으로 N 또는 NR^{N2}이고; R^4는 수소이고; R^5는 수소, 알콕시 또는 할로알킬이고; R^{N1}은 메틸이고; R^{2A} 및 R^{2B}는 각각 수소이고; n은 0 또는 1이고; R^1은 수소이다.

화학식 I의 특정 구현예에서, G^2 및 G^3은 각각 독립적으로 N 또는 NR^{N2}이고; R^4는 수소이고; R^5는 수소, 알콕시 또는 할로알킬이고; R^{N1}은 메틸이고; R^{2A} 및 R^{2B}는 각각 수소이고; n은 0 또는 1이고; R^1은 $-P(=O)(OR^{P1})_2$, $-C(=O)CH_2N(R^{P1})_2$, 또는 $-C(=O)R^{P2}$이다.

화학식 I의 특정 구현예에서, G^2 및 G^3은 각각 독립적으로 N 또는 NR^{N2}이고; R^4는 수소이고; R^5는 수소, 알콕시 또는 할로알킬이고; R^{N1}은 메틸이고; R^{2A} 및 R^{2B}는 각각 수소이고; n은 0 또는 1이고; R^1은 $-P(=O)(OR^{P1})_2$이다.

특정 상기 구현예에서, 각각의 R^{P1}은 수소 및 비치환된 C_{1-4}알킬로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된다.

특정 바람직한 구현예에서, 각각의 R^{P1}은 H이다.

화학식 I의 특정 구현예에서, G^2 또는 G^3 중 적어도 하나는 N 또는 NR^{N2}이고; G^1은 CR^{G1}이고; R^{G1}은 메틸 또는 사이클로프로필이고; R^4는 수소이고; R^5는 수소, 알콕시 또는 할로알킬이고; R^{N1}은 수소 또는 메틸이고; R^{2A} 및 R^{2B}는 각각 수소이고; n은 0 또는 1이고; R^1은 수소이다.

특정 구현예에서, 화합물은 하기로 이루어진 군으로부터 선택된다:

(S)-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-N-메틸-5-((1-메틸-1H-피라졸-4-일)에티닐)니코틴아미드;

(S)-5-((1-(디플루오로메틸)-1H-피라졸-4-일)에티닐)-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-N-메틸니코틴아미드;

(S)-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-N-메틸-5-((2-메틸-2H-1,2,3-트리아졸-4-일)에티닐)니코틴아미드;

(S)-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-N-메틸-5-((1-(트리플루오로메틸)-1H-피라졸-4-일)에티닐)니코틴아미드;

(S)-5-((1-사이클로프로필-1H-피라졸-4-일)에티닐)-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-N-메틸니코틴아미드;

(S)-5-((1-사이클로부틸-1H-피라졸-4-일)에티닐)-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-N-메틸니코틴아미드;

N-((2R,3S)-3-플루오로-2-하이드록시-3-페닐프로필)-N-메틸-5-((1-메틸-1H-피라졸-4-일)에티닐)니코틴아미드;

(S)-5-((6,7-디하이드로-4H-피라졸로[5,1-c][1,4]옥사진-3-일)에티닐)-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-N-메틸니코틴아미드;

(R)-6-(디플루오로메틸)-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-N-메틸-5-((1-메틸-1H-피라졸-4-일)에티닐)니코틴아미드;

(S)-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-N-메틸-5-((2-(옥세탄-3-일)-2H-1,2,3-트리아졸-4-일)에티닐)니코틴아미드;

(S)-5-((5-사이클로프로필-1-메틸-1H-피라졸-4-일)에티닐)-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-N-메틸니코틴아미드;

(S)-N-(3-(3-플루오로페닐)-2-하이드록시프로필)-N-메틸-5-((1-메틸-1H-피라졸-4-일)에티닐)니코틴아미드;

(S)-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-6-메톡시-N-메틸-5-((1-메틸-1H-피라졸-4-일)에티닐)니코틴아미드;

(S)-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-N,6-디메틸-5-((1-메틸-1H-피라졸-4-일)에티닐)니코틴아미드;

(S)-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-N-메틸-5-((2-메틸티아졸-5-일)에티닐)니코틴아미드;

(S)-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-6-메틸-5-(티아졸-5-일에티닐)니코틴아미드;

(S)-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-N-메틸-5-((2-메틸옥사졸-5-일)에티닐)니코틴아미드;

(S)-디-tert-부틸(1-(5-((1-(디플루오로메틸)-1H-피라졸-4-일)에티닐)-N-메틸니코틴아미도)-3-페닐프로판-2-일) 포스페이트;

(S)-1-(5-((1-(디플루오로메틸)-1H-피라졸-4-일)에티닐)-N-메틸니코틴아미도)-3-페닐프로판-2-일 디하이드로겐 포스페이트;

(S)-1-(5-((1-(디플루오로메틸)-1H-피라졸-4-일)에티닐)-N-메틸니코틴아미도)-3-페닐프로판-2-일 아세테이트;

(S)-1-(5-((1-(디플루오로메틸)-1H-피라졸-4-일)에티닐)-N-메틸니코틴아미도)-3-페닐프로판-2-일 글리시네이트;

(S)-디-tert-부틸 (1-(N-메틸-5-((2-메틸-2H-1,2,3-트리아졸-4-일)에티닐)니코틴아미도)-3-페닐프로판-2-일) 포스페이트;

(S)-1-(N-메틸-5-((2-메틸-2H-1,2,3-트리아졸-4-일)에티닐)니코틴아미도)-3-페닐프로판-2-일 디하이드로겐 포스페이트;

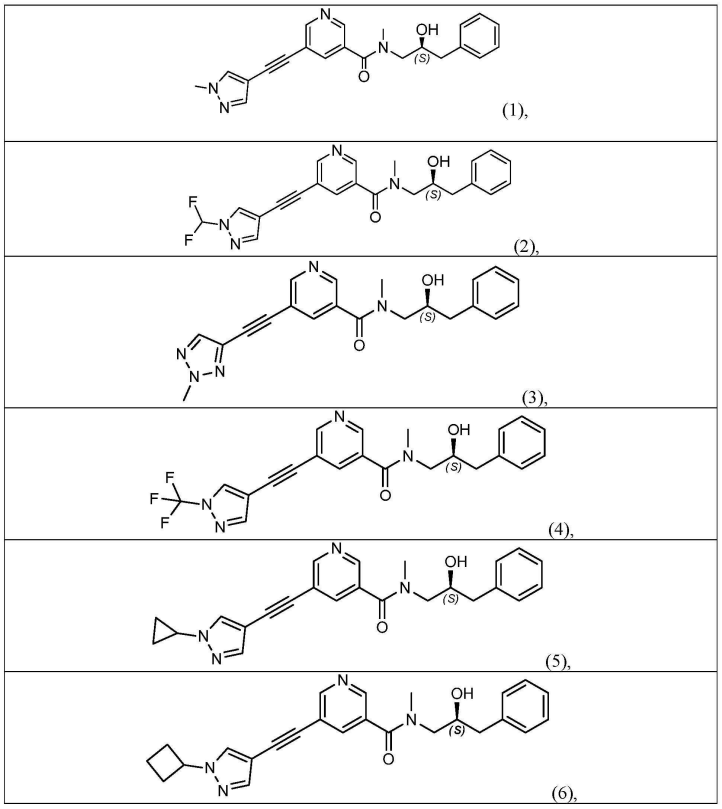
(S)-1-(N-메틸-5-((2-메틸-2H-1,2,3-트리아졸-4-일)에티닐)니코틴아미도)-3-페닐프로판-2-일 아세테이트;

(S)-1-(N-메틸-5-((2-메틸-2H-1,2,3-트리아졸-4-일)에티닐)니코틴아미도)-3-페닐프로판-2-일 글리시네이트; 및

(S)-5-((1-(디플루오로메틸)-5-메틸-1H-피라졸-4-일)에티닐)-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-N-메틸니코틴아미드.

상기 열거된 화합물명은 문헌(PerkinElmer ChemDraw Version 19.1.1.21 또는 21.0.0.28)에 의한 구조로부터 생성되었다.

특정 구현예에서, 화학식 I의 화합물 및 이의 약제학적으로 허용되는 염으로 이루어진 군으로부터 선택된다:



(1),

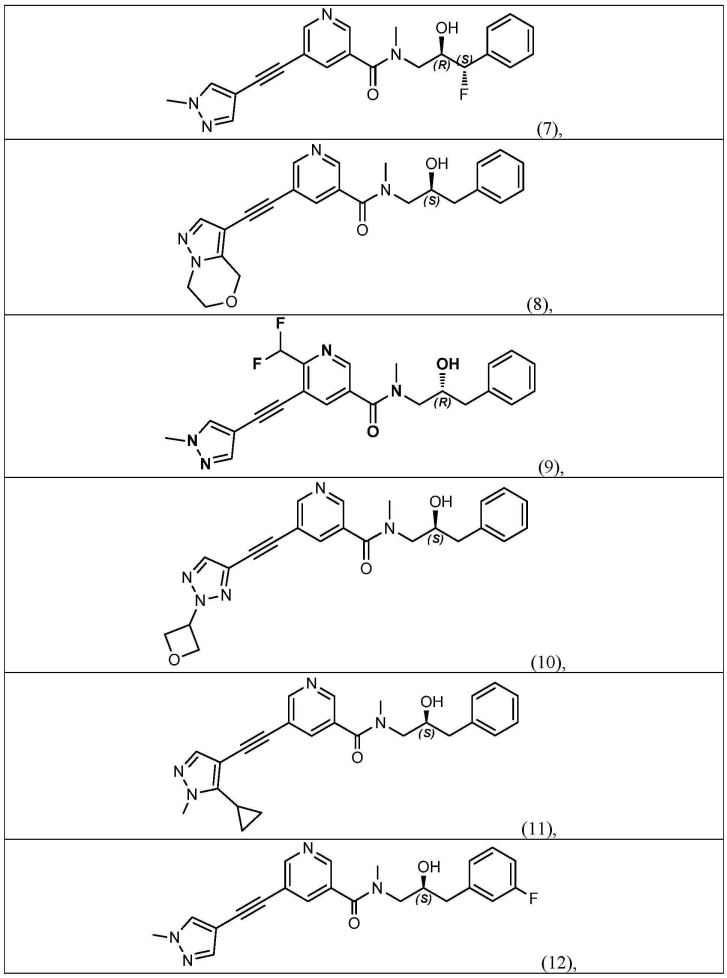
(2),

(3),

(4),

(5),

(6),



(7),

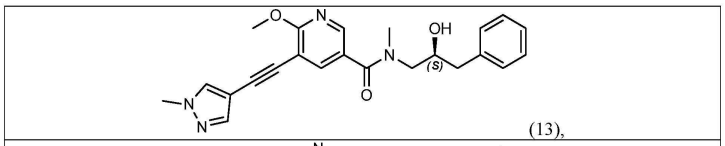
(8),

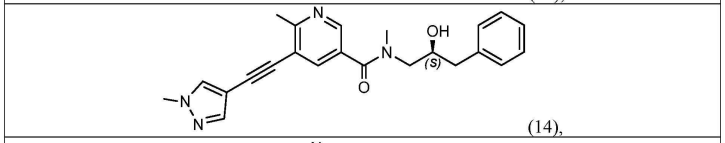
(9),

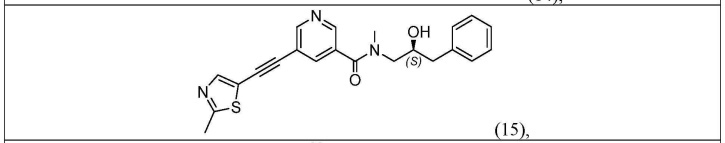
(10),

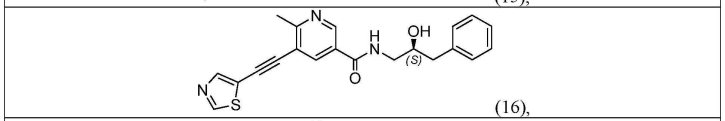
(11),

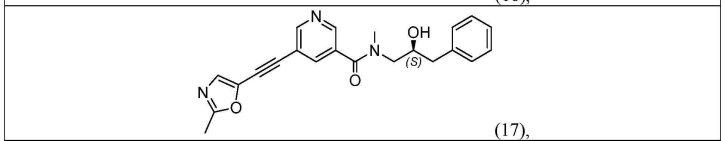
(12),

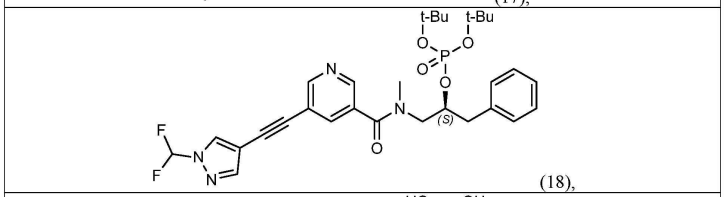

(13),

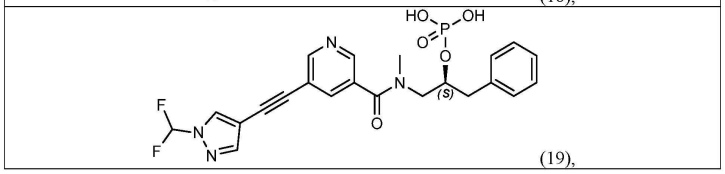

(14),

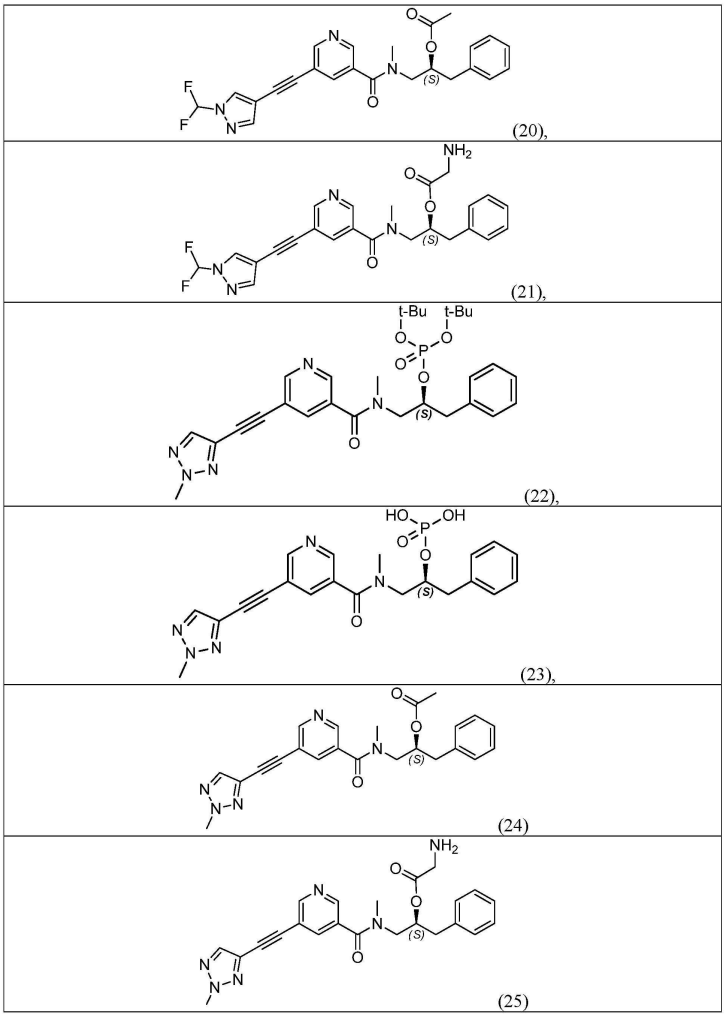

(15),


(16),


(17),


(18),


(19),


(20),

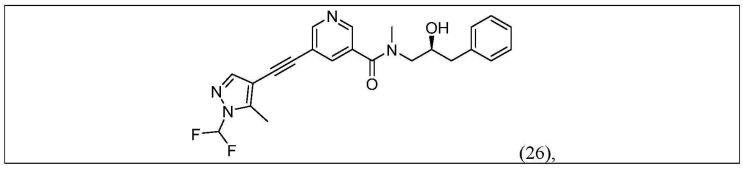
(21),

(22),

(23),

(24)

(25)


(26),

(ii) 약제학적 조성물 및 이의 사용 방법

또 다른 양상에서, 본 발명은 치료학적 유효량의 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 약제학적으로 허용되는 담체와 함께 포함하는 약제학적 조성물에 관한 것이다.

화학식 I의 화합물, 이의 약제학적으로 허용되는 염, 및 이를 포함하는 약제학적 조성물은 예를 들어 RIPK1 활성의 억제와 관련된 것들과 같은 다양한 질환 및 병태를 앓고 있는 대상체의 치료에 유용할 수 있다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 본 발명의 화합물은 궤양성 대장염을 치료하는 데 유용하다. 의약에 사용하기 위한, 예를 들어 궤양성 대장염을 치료하는데 사용하기 위한 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 또는 이를 포함하는 조성물이 추가로 제공된다.

(iii) 제조 방법

본원에는 화학식 I의 화합물, 및 이의 염을 제조하는 예시적인 방법이 추가로 제공된다. 예를 들어, 하기 반응식 1-4 및 실시예를 참조한다.

특정 양상에서, R^1이 H인 화학식 I의 화합물 및 이의 염은 헤테로아릴기와 말단 알킨 사이의 교차 커플링 반응을 통해 제조될 수 있다(예를 들어, 반응식 1 및 2 참조).

반응식 1은 말단 알킨기를 포함하는 화학식 A의 화합물을, 화학식 I의 화합물을 생성하기에 충분한 커플링 조건

하에 이탈기 LG^1에 의해 치환된 피리디닐기를 포함하는 화학식 B의 화합물에 커플링시켜 R^1이 H인 화학식 I의 화합물 또는 이의 염을 제조하는 방법을 도시한다. 특정 구현예에서, 이탈기 LG^1은 할로(예를 들어, 클로로, 브로모, 요오도) 또는 활성화된 하이드록실기 (예를 들어, -OTf, -OTs, -OMs, 또는 -OBs)이다. 특정 구현예에서, 커플링 조건은 Pd(II) 촉매, 선택적으로 리간드 및 염기를 포함한다. 예를 들어, Pd(II) 촉매는 비스(아세토니트릴)디클로로팔라듐(II) ($Pd(MeCN)_2Cl_2$), 클로로(2-디사이클로헥실포스피노-2′,4′,6′-트리이소프로필-1,1′-바이페닐)[2-(2′-아미노-1,1′-바이페닐)]팔라듐(II) (XPhos Pd G2)일 수 있고, 리간드는 2-디사이클로헥실포스피노-2′,4′,6′-트리이소프로필바이페닐(X-Phos)일 수 있고, 염기는 Cs_2CO_3일 수 있다. 다른 구현예에서, 커플링 조건은 Pd(0) 촉매, 선택적으로 리간드 및 염기를 포함한다. 예를 들어, Pd(0) 촉매는 비스(트리-tert-부틸포스핀)팔라듐(0)일 수 있고, 염기는 인산칼륨일 수 있다. 특정 구현예에서, 커플링 조건은 구리 염, 예를 들어, CuI를 추가로 포함한다.

반응식 2는 이탈기 LG^2를 포함하는 화학식 C의 화합물을, 화학식 I의 화합물을 생성하기에 충분한 커플링 조건 하에 말단 알킬기에 의해 치환된 피리디닐기를 포함하는 화학식 D의 화합물에 커플링시켜 R^1이 H인 화학식 I의 화합물 또는 이의 염을 제조하는 방법을 도시한다. 특정 구현예에서, 이탈기 LG^2는 할로(예를 들어, 클로로, 브로모, 요오도) 또는 활성화된 하이드록실기(예를 들어, -OTf, -OTs, -OMs, 또는 -OBs)이다. 특정 구현예에서, 커플링 조건은 Pd(II) 촉매, 선택적으로 리간드 및 염기를 포함한다. 예를 들어, Pd(II) 촉매는 비스(아세토니트릴)디클로로팔라듐 (II) ($Pd(MeCN)_2Cl_2$), 클로로(2-디사이클로헥실포스피노-2′,4′,6′-트리이소프로필-1,1′-바이페닐)[2-(2′-아미노-1,1′-바이페닐)]팔라듐(II) (XPhos Pd G2)일 수 있고, 리간드는 2-디사이클로헥실포스피노-2′,4′,6′-트리이소프로필바이페닐(X-Phos)일 수 있고, 염기는 Cs_2CO_3일 수 있다. 다른 구현예에서, 커플링 조건은 Pd(0) 촉매, 선택적으로 리간드 및 염기를 포함한다. 예를 들어, Pd(0) 촉매는 비스(트리-tert-부틸포스핀)팔라듐(0)일 수 있고, 염기는 인산칼륨일 수 있다. 특정 구현예에서, 커플링 조건은 추가로 구리 염, 예를 들어, CuI를 포함한다.

특정 양상에서, 화학식 I의 화합물 및 이의 염은 아미드 커플링 반응을 통해 제조될 수 있다(예를 들어, 반응식 3 참조).

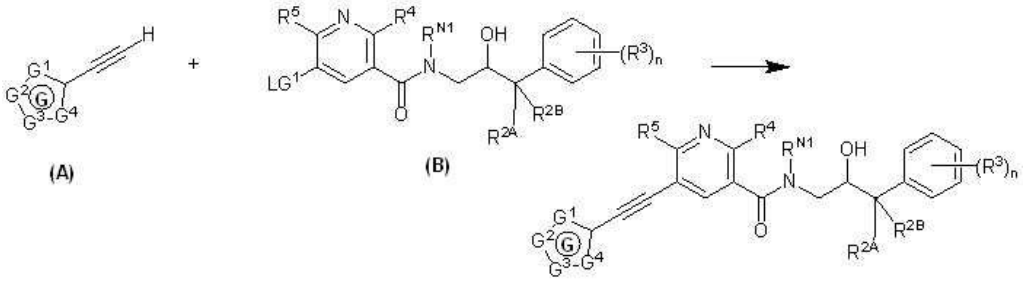
반응식 3은 카보닐기에 결합되는 이탈기 LG^3을 포함하는 화학식 E의 화합물을, 화학식 I의 화합물을 생성하기에 충분한 커플링 조건 하에 아미노기-NHR^{N1}을 포함하는 화학식 F의 화합물에 커플링시켜 R^1이 H인 화학식 I의 화합물 또는 이의 염을 제조하는 방법을 도시한다. 특정 구현예에서, 이탈기 LG^3은 할로(예를 들어, 클로로, 브로모, 요오도), 하이드록실기 또는 활성화된 하이드록실기(예를 들어, -OTf, -OTs, -OMs, 또는 -OBs)이다. 특정 구현예에서, 커플링 조건은 아미드 커플링 시약 및 염기를 포함한다. 특정 구현예에서, 아미드 커플링 시약은 1-[비스(디메틸아미노)메틸렌]-1H-1,2,3-트리아졸로[4,5-b]피리디늄 3-옥사이드 헥사플루오로포스페이트(HATU), N,N'-카보닐디이미다졸(CDI), 2-(1H-벤조트리아졸-1-일)-1,1,3,3-테트라메틸아미늄 테트라플루오로보레이트(TBTU)이다. 특정 구현예에서, 염기는 N,N-디이소프로필에틸아민(DIEA) 또는 트리메틸아민(TEA)이다.

특정 구현예에서, R^1이 H가 아닌 화학식 I의 화합물은 $-OR^1$ 하이드록실기가 예를 들어 포스페이트기에 의해 치환되는 반응에 의해 제조될 수 있다.

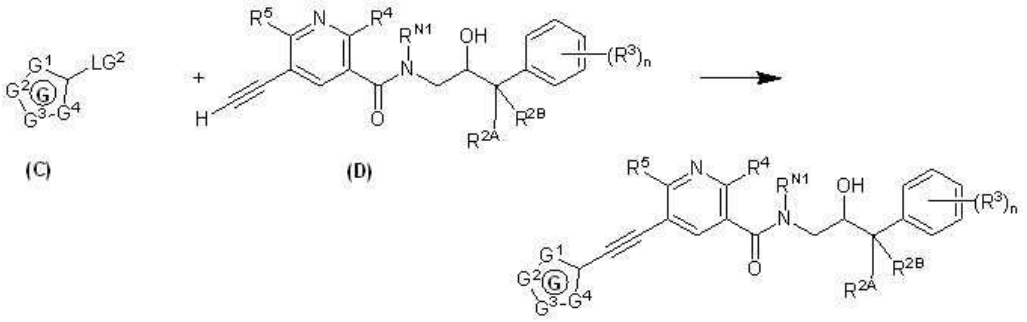
반응식 4는 R^1이 $-P(=O)(OR^P)_2$인 화합물을 생성하기에 충분한 조건 하에 하이드록실기를 인 함유 제제와 반응시킴으로써, R^1이

$-P(=O)(OR^P)_2$인 화학식 I의 화합물 또는 이의 염을 제조하는 방법을 도시한다. 일부 구현예에서, 인-함유 제제는 포스포르아미디트(예를 들어, 디-tert-부틸 디에틸포스포르아미디트)이다.

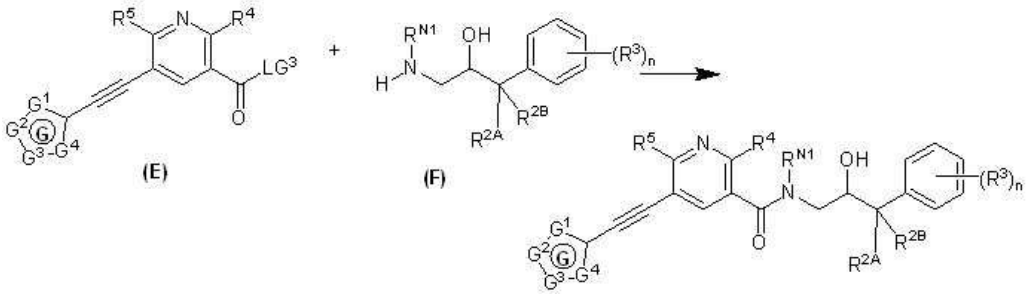
반응식 1



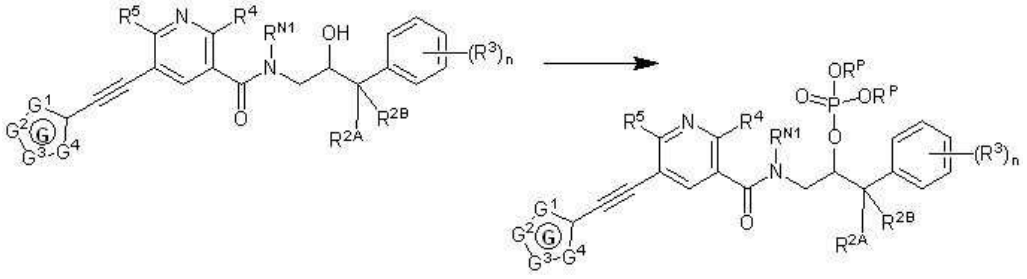
반응식 2



반응식 3



반응식 4



예시

본 개시내용을 보다 완전하게 이해할 수 있도록 하기 실시예를 기재한다. 이들 실시예는 예시적인 목적만을 위한 것이고 어떤 방식으로든 본 개시 내용을 제한하는 것으로 해석되어서는 안 된다는 것을 이해해야 한다.

전체적으로 사용되는 당업자에게 잘 알려진 일반적인 약어는 표 A의 약어를 포함한다.

[표 A]

[약어]

약어	정의
NMR	핵 자기 공명
s	단일선
br s	브로드 단일선
d	이중선
br d	브로드 이중선
t	삼중선
br t	브로드 삼중선
q	사중선
m	다중선
br m	브로드 다중선
dd	이중선의 이중선
br dd	이중선의 브로드 이중선
ddd	이중선의 이중선의 이중선
dt	삼중선의 이중선
dtd	이중선의 삼중선의 이중선
tt	삼중선의 삼중선
min	분
h	시간
mL	밀리리터
μL	마이크로리터
L	리터
g	그램
mg	밀리그램
mmol	밀리몰
M	몰농도 (몰/리터)
μM	마이크로몰

약어	정의
nM	나노몰
ppm	백만분율(parts per million)
HPLC	고압 액체 크로마토그래피
UPLC® 또는 UHPLC	초고성능 액체 크로마토그래피
LC/MS 또는 LCMS	액체 크로마토그래피-질량 분광법
MS	질량 분광법
ATP	아데노신 트리포스페이트
BSA	소 혈청 알부민
EDTA	에틸렌디아민테트라아세트산
DTT	디티오트레이톨
FRET	형광 에너지 전달
HEPES	(4-(2-하이드록시에틸)-1-피페라진에탄설폰산)
IC_{50}	절반 최대 억제 농도
Boc	tert-부톡시카복실
MOM	메톡시메틸
PMBM	파라-메톡시벤질메틸
THP	테트라하이드로피라닐
XPhos	2-디사이클로헥실포스피노-2,4,6-트리이소프로필바이페닐
XPhos Pd G2	클로로(2-디사이클로헥실포스피노-2′,4′,6′-트리이소프로필-1,1′-바이페닐)[2-(2′-아미노-1,1′-바이페닐)]팔라듐(II)
R_t	체류 시간

분석 방법

달리 명시하지 않는 한 모든 ^{1}H NMR 데이터는 Varian 400 MHz Mercury Plus, Inova 또는 400-MR 기기에서 수집되었고 화학적 이동은 백만분율(ppm)로 표시된다. HPLC(고압 액체 크로마토그래피), UPLC(초고성능 액체 크로마토그래피 및 LC/질량 분광법(LC/MS) 조건은 표 B에 제공된 방법 문자를 사용하여 언급된다.

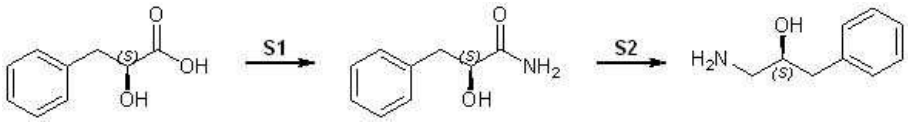
[표 B]

방법	조건
aa	LC/MS: 구배는 1.6분 내에 5~60% 이동상 B에 이어서 2.2분까지 60~95% 이동상 B였고 0.1분 동안 95% 이동상 B에서 유지하였다(1.0 mL/분 유속). 이동상 A는 10 mM 암모늄 아세테이트(NH_4OAc)였고, 이동상 B는 HPLC 등급 아세토니트릴(MeCN)이었다. 크로마토그래피에 사용된 컬럼은 2.1x30 mm Waters Cortecs C18 컬럼(1.6 μm 입자)이다. 검출 방법은 다이오드 어레이(DAD) 및 증발 광산란(ELSD) 검출뿐만 아니라 질량 분광법의 양성/음성 전기분무 이온화이다.
bb	LC/MS: 구배는 15분 동안 5~95% 이동상 B였다(1.0 mL/분 유속). 이동상 A는 물 중 0.1% 포름산이었고, 이동상 B는 HPLC 등급 아세토니트릴(MeCN)이었다. 크로마토그래피에 사용된 컬럼은 2.1 x 30 mm Waters X–Select UPLC C18(1.7 μm 입자)이었다. 검출 방법은 다이오드 어레이(DAD) 및 증발 광산란(ELSD) 검출뿐만 아니라 양성/음성 전기분무 이온화였다.
cc	LC/MS: 구배는 4분 동안 5-95% 이동상 B였다(1.0 mL/분 유속). 이동상 A는 물 중 0.1% 포름산이었고, 이동상 B는 HPLC 등급 아세토니트릴(MeCN)이었다. 크로마토그래피에 사용된 컬럼은 4.6 x 30mm Waters X–Select UPLC C18(2.5μm 입자)이었다. 검출 방법은 다이오드 어레이(DAD) 및 증발 광산란(ELSD) 검출뿐만 아니라 양성/음성 전기분무 이온화였다.
dd	LC/MS: 구배는 3분 동안 5~95% 이동상 B(2.5 mL/분 유속)였다. 이동상 A는 물 중 0.1% 암모늄이었고, 이동상 B는 HPLC 등급 아세토니트릴(MeCN)이었다. 크로마토그래피에 사용된 컬럼은 4.6 x 30 mm Waters X–Bridge BEH C18(2.5 um 입자)이었다. 검출 방법은 UV(254 nm) 뿐만 아니라 양성/음성 전기분무 이온화이다.
ee	LC/MS: 구배는 3분 동안 5~95% 이동상 B(2.5mL/분 유속)였다. 이동상 A는 0.1% 포름산이었고, 이동상 B는 0.1% 포름산을 포함한 HPLC 등급 아세토니트릴(MeCN)이었다. 크로마토그래피에 사용된 컬럼은 4.6 x 30 mm X–Select CSH C18 XP(2.5 um 입자)이다. 검출 방법은 UV(254 nm) 뿐만 아니라 양성/음성 전기분무 이온화이다.
ff	LC/MS (구배는 0.40분에 5% 이동상 B 및 0.40-3.00 분에 5–95% 이동상 B이고, 1.00분 동안 95% 이동상 B에서 유지하고, 이어서 0.01분에 95–5% 이동상 B이고, 유속은 1.0 mL/분이었다. 이동상 A는 물 중 0.037% 트리플루오로아세트산이었고, 이동상 B는 아세토니트릴 중 0.018% 트리플루오로아세트산이었다. 크로마토그래피에 사용된 컬럼은 Kinetex C18 50*2.1 mm 컬럼(5 um 입자)이었다. 검출 방법은 다이오드 어레이(DAD) 및 증발 광산란(ELSD) 검출뿐만 아니라 양성 전기분무 이온화이다. MS 범위는 100–1000이었다.

방법	조건
a	UPLC: 구배는 3분 동안 5-95% 이동상 B였다(0.77 mL/분 유속). 이동상 A는 물 중 0.1% 암모늄이었고, 이동상 B는 HPLC 등급 아세토니트릴(MeCN)이었다. 크로마토그래피에 사용된 컬럼은 2.1 x 30 mm Waters Acquity BEH C18이다. 검출 방법은 다이오드 어레이(DAD) 및 증발 광산란(ELSD)뿐만 아니라 양성/음성 전기분무 이온화이다.
b	UPLC: 구배는 3분 동안 5-95% 이동상 B였다(0.77 mL/분 유속). 이동상 A는 물 중 0.1% 포름산이었고, 이동상 B는 0.1% 포름산을 포함한 HPLC 등급 아세토니트릴(MeCN)이었다. 크로마토그래피에 사용된 컬럼은 2.1 x 30 mm Waters Acquity CSH C18이다. 검출 방법은 다이오드 어레이(DAD) 및 증발 광산란(ELSD)뿐만 아니라 양성/음성 전기분무 이온화이다.
c	HPLC: 구배는 0.40분에 5% 이동상 B 및 0.40-3.00 분에 5–95% 이동상 B였고, 1분 동안 95% 이동상 B에서 유지하고, 이어서 0.01분에 95–5% 이동상 B였고, 유속은 1.0 mL/분이었다. 이동상 A는 물 중 0.037% 트리플루오로아세트산이었고, 이동상 B는 아세토니트릴 중 0.018% 트리플루오로아세트산이었다. 크로마토그래피에 사용된 컬럼은 Kinetex C18 50*2.1 mm 컬럼(5 um 입자)이었다. 검출 방법은 다이오드 어레이(DAD) 및 증발 광산란(ELSD) 검출뿐만 아니라 양성 전기분무 이온화이다. MS 범위는 100–1000이었다.
d	역상 HPLC: 크로마토그래피에 사용된 컬럼은 Luna-C18 2.0*30 mm(3 um 입자)이었다. 검출 방법은 다이오드 어레이(DAD)였다. MS 모드는 양성 전기분무 이온화였다. MS 범위는 100–1000이었다. 이동상 A는 물 중 0.037% 트리플루오로아세트산이었고, 이동상 B는 HPLC 등급 아세토니트릴 중 0.018% TFA였다. 구배는 2분에 5-95% 이동상 B, 0.01분에 0.5% 이동상 B, 5-95% 이동상 B(0.01-1.00 분), 95-100% 이동상 B(1.00-1.80 분), 1.81분에 5% 이동상 B이고 0.19분 동안 5% 이동상 B에서 유지하였다. 유속은 1.0 mL/분(0.00-1.80 분) 및 1.2 mL/분(1.81-2.00 분)이었다.

합성 중간체

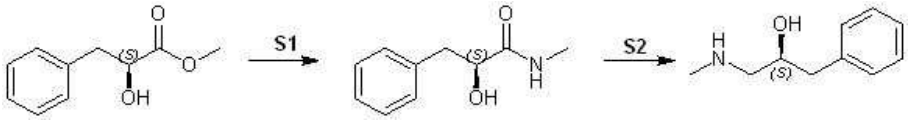
제조 #1:(S)-1-아미노-3-페닐프로판-2-올



단계 1: (S)-2-하이드록시-3-페닐프로판아미드. 염화티오닐(397 g, 3340 mmol)을 약 -20℃로 냉각된 메탄올(1.50 L)에 적가하였다. (S)-2-하이드록시-3-페닐프로판산(150 g, 903 mmol)을 첨가하고 혼합물을 실온에서 약 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 진공에서 농축시키고, 수득한 미정제 산 클로라이드를 메탄올 중 7 N 암모니아 용액(1.50 L, 903 mmol)에 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 약 12시간 동안 교반한 후, 혼합물을 진공에서 농축시켜 표제 생성물을 수득하였다(140 g, 93% 수율).; ^{1}H NMR (400 ㎒, 클로로포름-d) δ 2.44 (br d, J=3.55 ㎐, 1H), 2.85 (dd, J=13.94, 8.68 ㎐, 1H), 3.18 (dd, J=13.94, 4.16 ㎐, 1H), 4.20-4.32 (m, 1H), 5.46 (br s, 1H), 6.31 (br s, 1H), 7.15-7.34 (m, 5H).

단계 2: (S)-1-아미노-3-페닐프로판-2-올. 테트라하이드로푸란(THF)(1.40L) 중 (S)-2-하이드록시-3-페닐프로판아미드(140 g, 848 mmol)의 용액에 보란-디메틸 설파이드 착물(424 mL, 4470 mmol)을 실온에서 적가하였다. 첨가가 완료되면, 혼합물을 약 70℃에서 약 12시간 동안 교반하였다. 이어서, 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 메탄올(20 mL)로 조심스럽게 켄칭하고, 진공에서 농축시켜 표제 화합물(105 g, 81% 수율)을 수득하였다; ^{1}H NMR (400 ㎒, 클로로포름-d) δ 2.61 (dd, J=12.72, 8.07 ㎐, 1H), 2.75-2.79 (m, 2H), 2.87 (dd, J=12.72, 3.42 ㎐, 1H), 3.73-3.82 (m, 1H), 7.18-7.40 (m, 5H).

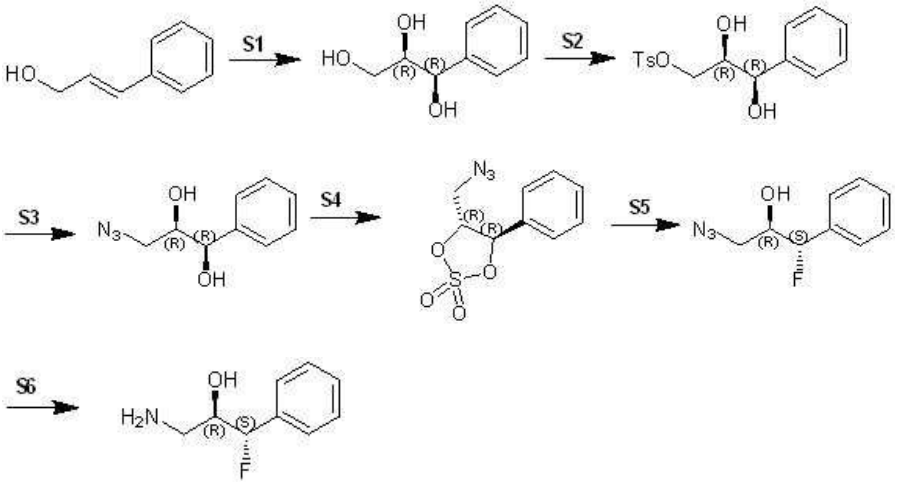
제조 #2: (S)-1-(메틸아미노)-3-페닐프로판-2-올



단계 1:(S)-2-하이드록시-3-페닐프로판아미드. 실온에서 메탄올(1.00 L) 중 (S)-메틸 2-하이드록시-3-페닐프로파노에이트(110 g, 549 mmol)의 용액에 메틸아민(1373 mL, 2747 mmol)을 적가하였다. 첨가가 완료되면, 혼합물을 실온에서 약 8시간 동안 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시켜 미정제 오일을 수득한 다음, 이를 석유 에테르/에틸 아세테이트(10:1; 800 mL)의 혼합물을 사용하여 약 4시간 동안 분쇄하였다. 수득한 생성물은 진공 여과에 의해 회수하였고 진공 하에 건조시켜 표제 화합물(80 g, 73%)을 수득하였다; ^{1}H NMR (400 ㎒, 클로로포름-d) δ 2.81 (d, J=5.01 ㎐, 3H), 2.83-2.91 (m, 1H), 3.24 (dd, J=13.69, 3.91 ㎐, 1H), 4.29 (dd, J=8.56, 3.91 ㎐, 1H), 6.58 (br s, 1H), 7.23-7.30 (m, 3H), 7.31-7.37 (m, 2H).

단계 2: (S)-1-(메틸아미노)-3-페닐프로판-2-올. 테트라하이드로푸란(THF)(700 mL) 중 (S)-2-하이드록시-- N-메틸-3-페닐프로판아미드(70 g, 391 mmol)의 용액에 보란-디메틸 설파이드 착물(117 mL, 1172 mmol)을 약 5℃에서 적가하였다. 첨가가 완료되면, 혼합물을 실온에서 약 1시간 동안 교반한 다음, 약 70℃로 가열하고 약 12시간 동안 교반하였다. 이어서, 혼합물을 약 10℃로 냉각시키고, 내부 온도를 약 10 내지 30℃로 유지하면서 메탄올(500 mL)을 적가하였다. 이어서, 메탄올(4 M, 2 L) 중 HCl 용액을 적가하고 생성된 혼합물을 실온에서 약 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 농축시키고, 잔류물을 물(400 mL)과 디클로로메탄(DCM)(400 mL) 사이에 분배하였다. 수성상을 디클로로메탄(DCM)(400 mL)으로 세척한 다음, 6N Aq(수성) NaOH를 천천히 첨가하여 약 pH = 12로 중화하였다. 수용액을 2-메틸 테트라하이드로푸란(2-MeTHF)(3 x 400 mL)으로 추출하였다. 합한 유기상을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고 농축시켜 잔류물을 수득하였고, 이를 석유 에테르(120 mL)로 4시간 동안 분쇄하였다. 생성물은 여과에 의해 수집하고 농축시켜 표제 화합물(54.9 g, 85%)을 수득하였다; ^{1}H NMR (400 ㎒, 메탄올-d_4) δ 2.35 (s, 3H), 2.47-2.60 (m, 2H), 2.71-2.76 (m, 2H), 3.90 (dtd, J=8.54, 6.64, 3.53 ㎐, 1H), 7.10-7.32 (m, 5H).

제조 #3:(1S,2R)-3-아미노-1-플루오로-1-페닐프로판-2-올



단계 1: (1R,2R)-1-페닐프로판-1,2,3-트리올. 약 0℃로 냉각된 신나밀 알코올(5.58 mL, 43.2 mmol), 물(94 mL), tert-부탄올(94 mL)의 혼합물에 Sharpless 비대칭 디하이드록실화 AD-MIX-BETA(62.5 g, 43.2 mmol) 및 메탄설폰아미드(6.17 g, 64.8 mmol)를 첨가하고 혼합물을 약 16시간 동안 교반하였다. 10% 수성 티오황산나트륨(150 mL) 및 에틸 아세테이트(EtOAc)(125 mL)를 첨가하고 약 30분 동안 교반하였다. 수성상을 EtOAc(2 x 125 mL)로 추출하였다. 합한 유기상을 염수로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켰다. 미정제 물질을 0-100% EtOAc/헵탄으로 용출시키는 실리카 겔 상에서 플래쉬 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 표제 화합물(4.5 g, 26.8 mmol, 61.9% 수율)을 수득하였다; ^{1}H NMR (400 ㎒, 클로로포름-d) δ ppm 3.21 - 3.30 (m, 1 H) 3.37 - 3.55 (m, 2 H) 3.69 - 3.77 (m, 1 H) 3.79 - 4.05 (m, 2 H) 4.61 (dd, J=6.79, 3.36

Hz, 1 H) 7.27 (br s, 5 H).

단계 2: (2R,3R)-2,3-디하이드록시-3-페닐프로필 4-메틸벤젠설포네이트. 톨루엔(80 mL) 중 (1R,2R)-1-페닐프로판-1,2,3-트리올(4.5 g, 26.8 mmol)의 혼합물에 디부틸주석 산화물(0.133 g, 0.535 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 20분 동안 환류 가열하고, 혼합물을 실온으로 냉각시켰다. 냉각시, 혼합물을 감압 하에 농축시켰다. 건조 디클로로메탄(DCM)(53.5 mL), p-톨루엔설포닐 클로라이드(5.10 g, 26.8 mmol) 및 트리에틸아민(TEA)(3.73 mL, 26.8 mmol)을 첨가하고 반응물을 N_2 하에 실온에서 약 16시간 동안 교반하였다. 물을 첨가하여 혼합물을 켄칭하고, 용액을 DCM(3 x 75 mL)으로 추출하였다. 합한 유기상을 물로 세척하고 건조시키고(Na_2SO_4) 농축시켰다. 미정제 물질을 0-50% 에틸 아세테이트(EtOAc)/헵탄으로 용출시키는 실리카 겔 상에서 플래쉬 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 표제 화합물(5.5 g, 17.06 mmol, 63.8% 수율)을 수득하였다. ^{1}H NMR (400 ㎒, 클로로포름-d) δ 3.81-3.98 (m, 2H), 4.00-4.10 (m, 1H), 4.03-4.09 (m, 1H), 4.10-4.17 (m, 1H), 4.67 (br d, J=5.07 Hz, 1H), 7.16-7.35 (m, 8H), 7.76 (d, J=7.94 Hz, 2H)

단계 3: (1R,2R)-3-아지도-1-페닐프로판-1,2-디올. N,N-디메틸포름아미드(DMF)(85 mL) 중 (2R,3R)-2,3-디하이드록시-3-페닐프로필 4-메틸벤젠설포네이트(5.5 g, 17.06 mmol)와 아지드화 나트륨(2.218 g, 34.1 mmol)의 혼합물을 약 80℃에서 약 3시간 동안 가열하였다. 반응 혼합물을 냉각시킨 다음, EtOAc(250 mL)와 물(200 mL) 사이에 분배하였다. 층을 분리한 후, 수성 상을 EtOAc(2 x 100 mL)로 추출하였다. 합한 유기상을 염수로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켰다. 미정제 물질을 0%-100% EtOAc/헵탄으로 용출시키는 실리카 겔 상에서 플래쉬 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 표제 화합물(2.98 g, 90%)을 수득하였다; ^{1}H NMR(400 ㎒, 디메틸설폭사이드-d_6) δ 7.37 - 7.21 (m, 5H), 5.37 (dd, J = 4.7, 0.9 Hz, 1H), 5.23 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 4.50 (t, J = 5.0 Hz, 1H), 3.77 - 3.67 (m, 1H), 3.12 (dd, J = 12.7, 3.3 Hz, 1H), 2.98 (dd, J = 12.7, 7.8 Hz, 1H).

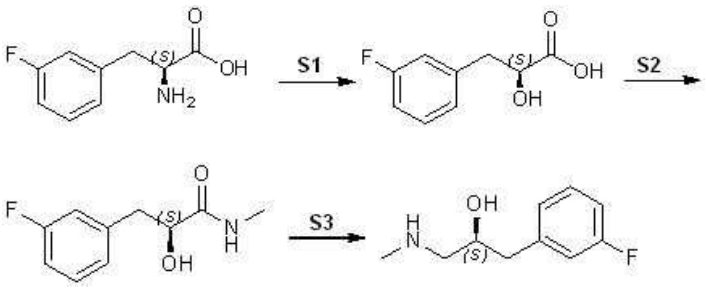
단계 4: (4S,5S)-4-(아지도메틸)-5-페닐-1,3,2-디옥사티올란 2,2-디옥사이드. 염화티오닐(2.252 mL, 30.8 mmol)을 디클로로메탄(DCM)(154 mL) 중 (1R,2R)-3-아지도-1-페닐프로판-1,2-디올(2.98 g, 15.42 mmol)과 피리딘(3.74 mL, 46.3 mmol)의 용액에 약 0℃에서 첨가하고, 혼합물을 약 0℃에서 1시간 동안 교반하였다. 포화 수성 $CuSO_4$(75 mL)를 첨가하고 혼합물을 DCM(3 × 75 mL)으로 추출하였다. 합한 유기층을 염수로 세척하고, 건조시키고(Na_2SO_4), 여과하고 농축시켰다. 수득한 물질을 아세토니트릴(MeCN)(100 mL) 및 DCM(100 mL)에 용해시키고, 용액을 0℃로 냉각시켰다. 과요오드산나트륨(6.53 g, 30.5 mmol), 염화루테늄(III) 수화물(0.069 g, 0.305 mmol) 및 물(150 mL)을 첨가하고, 혼합물을 0℃에서 2시간 동안 교반하였다. 디에틸 에테르(120 mL)를 첨가하고, 혼합물을 물(50 mL), 포화 수성 $NaHCO_3$(2 × 50 mL) 및 염수(2 × 50 mL)로 세척하였다. 유기층을 건조($MgSO_4$)시키고 농축시켜 표제 화합물(3.5 g, 90%)을 수득하였다; ^{1}H NMR (400 ㎒, 클로로포름-d) δ 7.52 - 7.42 (m, 5H), 5.76 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 4.91 (ddd, J = 8.7, 4.4, 3.4 Hz, 1H), 3.79 (dd, J = 14.3, 3.3 Hz, 1H), 3.54 (dd, J = 14.3, 4.4 Hz, 1H).

단계 5: (1S,2R)-3-아지도-1-플루오로-1-페닐프로판-2-올. 4Å 분자체로 건조시킨 테트라-N-부틸암모늄 플루오라이드(TBAF)(78 mL, 78 mmol)와 아세토니트릴(MeCN)(100 mL)의 혼합물을 약 0℃에서 MeCN(100 mL) 중 (4S,5S)-4-(아지도메틸)-5-페닐-1,3,2-디옥사티올란 2,2-디옥사이드(10 g, 39.2 mmol)의 용액에 첨가하였다. 반응 혼합물을 0℃에서 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 농축시키고, 생성된 미정제 생성물을 0℃에서 테트라하이드로푸란(THF)(100 mL), H_2O(0.776 mL, 43.1 mmol) 및 H_2SO_4(2.297 mL, 43.1 mmol)에 용해시켰다. 생성된 혼합물을 약 12시간 동안 실온에서 교반하였다. 생성된 혼합물을 에틸 아세테이트(EtOAc) (150 mL×2)로 추출하였다. 유기상을 염수(75 mL)로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고 농축시켰다. 미정제 물질을 0-100% EtOAc/석유 에테르로 용출시키는 실리카 겔 상에서 플래쉬 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 표제 화합물(50 g, 35%)을 수득하였다. ^{1}H NMR (400 ㎒, 클로로포름-d) δ ppm: 2.00 (d, J=5.14 Hz, 1 H) 3.53 (dd, J=5.01, 1.22 Hz, 2 H) 4.02 - 4.11 (m, 1 H) 5.27 - 5.52 (m, 1 H) 7.37 - 7.46 (m, 5 H).

단계 6: (1S,2R)-3-아미노-1-플루오로-1-페닐프로판-2-올. 3방향 기밀 마개가 장착된 100 mL 환저 플라스크에 (1S,2R)-3-아지도-1-플루오로-1-페닐프로판-2-올(0.684 g, 3.50 mmol)과 Lindlar 촉매(메탄올(20 mL) 중 팔라듐, 탄산칼슘 상에 5중량%, 납으로 중독됨)를 충전시켰다. 생성된 현탁액을 수소(풍선) 대기하에 실온에서 밤새 교반하였다. 현탁액을 메탄올 린스로 셀라이트 패드를 통해 여과하고, 여과물을 감압 하에 농축시켜 표제

화합물(0.55 g, 3.25 mmol, 93% 수율)을 수득하였다. ^{1}H NMR (400 ㎒, 클로로포름-d) δ 7.46 - 7.26 (m, 5H), 5.40 (dd, J = 46.8, 5.6 ㎐, 1H), 3.88 - 3.76 (m, 1H), 2.99 - 2.81 (m, 2H), 1.78 (br s, 3H).

제조 #4: (S)-1-(3-플루오로페닐)-3-(메틸아미노)프로판-2-올

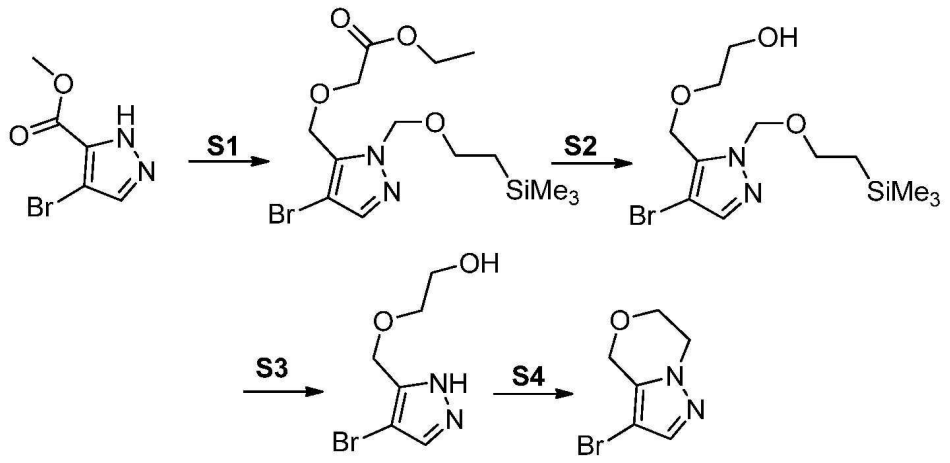


단계 1:(S)-3-(3-플루오로페닐)-2-하이드록시프로판산. H_2O(21.6 mL) 중 $NaNO_2$(2.26 g, 32.8 mmol)의 용액을 약 0℃에서 H_2O(50 mL) 및 아세트산(AcOH) (15 mL) 중 (S)-2-아미노-3-(3-플루오로페닐)프로판산(2.0 g, 10.92 mmol)의 교반 용액에 적가하였다. 혼합물을 실온으로 가온하고 약 20시간 동안 교반하였다. 메틸아민(테트라하이드로푸란(THF) 중 2 M, 22 mL, 43.7 mmol)을 적가하고 혼합물을 실온에서 약 1시간 동안 교반하였다. 이어서 혼합물을 진공에서 농축하여 THF를 제거하고 생성된 수성 혼합물을 에틸 아세테이트(EtOAc)(3 x 30 mL)로 추출하였다. 합한 유기층을 포화 수성 NaCl(30 mL)로 세척하고, $MgSO_4$ 상에서 건조시키고 진공에서 농축시켜 표제 화합물(20.11 g, 100% 수율)을 수득하였다; ^{1}H NMR (500 ㎒, 클로로포름-d) δ 7.32 - 7.26 (m, 1H), 7.09 - 6.95 (m, 3H), 4.53 (dd, J = 7.1, 4.2 ㎐, 1H), 3.21 (dd, J = 14.1, 4.2 ㎐, 1H), 3.01 (dd, J = 14.1, 7.0 ㎐, 1H).

단계 2:(S)-3-(3-플루오로페닐)-2-하이드록시-N-메틸프로판아미드. 염화티오닐(2.87 mL, 39.3 mmol)을 약 -20℃에서 메탄올(10 mL)에 적가하고, 메탄올(5.00 mL) 중 (S)-3-(3-플루오로페닐)-2-하이드록시프로판산(2.01 g, 10.91 mmol) 용액을 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 약 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 진공에서 농축시키고 잔류물을 메틸아민(에탄올 중 33%, 14 mL, 109 mmol)에 용해시키고 실온에서 약 2시간 동안 교반하였다. 용매를 진공에서 제거하고 잔류물을 실리카 겔 상에서 플래쉬 크로마토그래피(0-10% 메탄올/DCM)로 정제하여 표제 화합물(1.67 g, 70% 수율)을 수득하였다; LC/MS(표 B, 방법 ee) R_t = 1.15 min; MS m/z 198 $(M+H)^+$.

단계 3: (S)-1-(3-플루오로페닐)-3-(메틸아미노)프로판-2-올. 테트라하이드로푸란(THF)(45 mL) 중 (S)-3-(3-플루오로페닐)-2-하이드록시-N-메틸프로판아미드(1.67 g, 8.47 mmol)의 용액을 약 65℃로 가열하고 보란 디메틸 설파이드 착물($BH_3 \cdot SMe_2$)(2.4 mL, 25.4 mmol)을 첨가하였다. 생성된 혼합물은 약 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 실온으로 냉각시키고 메탄올(15 mL)을 적가하여 켄칭하고 용매를 진공에서 제거하였다. 잔류물을 강한 양이온 교환(SCX) 컬럼에 로딩하고 메탄올(100 mL)로 세척하였다. 생성물을 메탄올(100 mL) 중 0.7 M NH_3으로 용출시키고 용매를 진공에서 제거하여 표제 화합물(999 mg, 61%)을 수득하였다; LC/MS(표 B, 방법 ee) R_t = 0.32 min; MS m/z 184 $(M+H)^+$.

제조 #5: 3-브로모-6,7-디하이드로-4H-피라졸로[5,1-c][1,4]옥사진



단계 1: 에틸 2-((4-브로모-1-((2-(트리메틸실릴)에톡시)메틸)-1H-피라졸-3-일)메톡시)아세테이트. 메틸 4-브로모-1H-피라졸-5-카복실레이트(10.0 g, 48.8 mmol)를 약 0℃에서 교반하면서 N,N-디메틸포름아미드(DMF)(200 mL) 중 수소화나트륨(미네랄 오일 중 60%)의 현탁액에 분획으로 첨가하였다. 생성된 현탁액을 약 0℃에서 약 15분 동안 교반하고, 이 시점에 2-(트리메틸실릴)에톡시메틸 클로라이드(10.4 mL, 58.5 mmol)를 적가하였다(Me = 메틸). 생성된 용액을 약 0℃에서 약 1시간 동안 교반하였다. 반응물을 빙수(250 mL)로 켄칭하고 에틸 아세테이트(EtOAc)(3 x 100 mL)로 추출하였다. 합한 유기상을 염수(250 mL)로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켰다. 생성된 생성물 혼합물을 테트라하이드로푸란(THF)(50.0 mL)에 용해시키고, 약 0℃로 냉각된 THF(150 mL) 중 수소화알루미늄리튬(LAH)(1.37 g, 36.1 mmol)의 교반 혼합물에 적가하였다. 생성된 현탁액을 약 0℃에서 약 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을, 물(1.5 mL)을 조심스럽게 첨가한 후, 5 N 수성 NaOH(1.5 mL) 및 추가 물(3 mL)을 첨가하여 0℃에서 켄칭하였다. 혼합물을 디에틸 에테르(100 mL)로 희석하고, $MgSO_4$(약 25 g)를 첨가하고 현탁액을 약 30분 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 셀라이트 패드를 통해 여과하고, EtOAc로 헹구었다. 여과물을 농축시키고, 잔류물을 0-50% EtOAc/헵탄으로 용출시키는 실리카 겔 상에서 플래쉬 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 생성물 혼합물(10.7 g)을 수득하였다. 혼합물을 THF(174 mL)에 용해시키고, 에틸 브로모아세테이트(6.11 g, 36.6 mmol)를 첨가하고, 용액을 약 0℃로 냉각시켰다. 수소화나트륨(미네랄 오일 중 60%)(1.46 g, 36.6 mmol)을 첨가하고, 생성된 현탁액을 약 0℃에서 약 3시간 동안 교반하였다. 실온에서 약 16시간 동안 계속 교반한 후, 반응물을 약 0℃로 냉각시키고 물(약 50 mL)로 켄칭하였다. 혼합물을 EtOAc(3 x 75 mL)로 추출하고 합한 유기상을 염수로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켰다. 미정제 물질을 0-50% EtOAc/헵탄으로 용출시키는 실리카 겔 상에서 플래쉬 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 표제 화합물(7.76 g, 56.7% 수율)을 수득하였다; ^{1}H NMR (400 MHz, 클로로포름-d) δ 7.48 (s, 1 H), 5.51 - 5.66 (m, 2 H), 4.76 (s, 2 H), 4.23 (q, J=7.21 Hz, 2 H), 4.03 - 4.12 (m, 2 H), 3.51 - 3.64 (m, 2 H), 1.30 (t, J=7.09 Hz, 3 H), 0.82 - 0.96 (m, 2 H), 0.02 (s, 9 H).

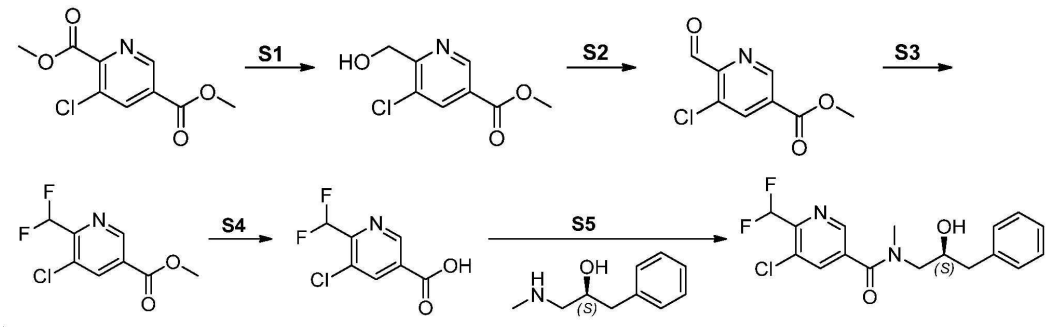
단계 2: 2-((4-브로모-1-((2-(트리메틸실릴)에톡시)메틸)-1H-피라졸-3-일)메톡시)에탄올. 빙욕조에서 냉각된 테트라하이드로푸란(THF)(80 mL) 중 수소화알루미늄리튬(LAH)(0.562 g, 14.8 mmol) 현탁액에 THF(20 mL) 중 에틸 2-((4-브로모-1-((2-(트리메틸실릴)에톡시)메틸)-1H-피라졸-3-일)메톡시)아세테이트(7.76 g, 19.73 mmol)를 첨가하고, 생성된 용액을 약 20분 동안 교반하였다. 물(약 0.5 mL)을 첨가하고, 이어서 5 N 수성 NaOH(0.5 mL), 추가의 물(약 1 mL) 및 디에틸 에테르(50 mL)를 첨가하였다. 혼합물을 약 10분 동안 교반하고; $MgSO_4$(약 20 g)를 첨가하고 현탁액을 30분 동안 교반하였다. 현탁액을 에틸 아세테이트(EtOAc)로 세척된 셀라이트 패드를 통해 여과하였다. 합한 여과물을 감압 하에 농축시켜 표제 화합물(6.83 g, 99% 수율)을 수득하였다; ^{1}H NMR (400 MHz, 클로로포름-d) δ 7.59 (s, 1 H), 5.37 (s, 2 H), 4.60 (s, 2 H), 3.71 - 3.77 (m, 2 H), 3.63 - 3.67 (m, 2 H), 3.52 - 3.60 (m, 2 H), 2.37 (br t, J=6.11 Hz, 1 H), 0.85 - 0.97 (m, 2 H), 0.03 - 0.01 (m, 9 H).

단계 3: 2-((4-브로모-1H-피라졸-3-일)메톡시)에탄올. 에탄올(100 mL) 중 2-((4-브로모-1-((2-(트리메틸실릴)에톡시)메틸)-1H-피라졸-3-일)메톡시)에탄올(6.83 g, 19.4 mmol)의 용액을 농축된 수성 HCl(39 mL, 78mmo

l)로 처리하고 용액을 약 60℃에서 가열하였다. 약 20시간 후, 반응물을 실온으로 냉각시킨 다음, 감압 하에 농축시켰다. 포화 $NaHCO_3$ 수용액(75 mL)을 첨가하고 혼합물을 약 20분 동안 교반하였다. 혼합물을 에틸 아세테이트(EtOAc)(3 x 50 mL)로 추출하고 합한 유기 상을 염수로 세척하고 Na_2SO_4 상에서 건조시키고 여과하고 감압 하에 농축시켜 표제 화합물(3.87 g, 90% 수율)을 수득하였다. ^{1}H NMR (400 ㎒, 클로로포름-d) δ 7.52 (s, 1 H), 4.62 (s, 2 H), 3.77 - 3.81 (m, 2 H), 3.65 - 3.68 (m, 2 H).

단계 4: 3-브로모-6,7-디하이드로-4H-피라졸로[5,1-c][1,4]옥사진. 톨루엔(12 mL) 중 2-((4-브로모-1H-피라졸-3-일)메톡시)에탄올(0.250 g, 1.13 mmol) 및 트리-N-부틸포스핀(0.558 mL, 2.26 mmol)의 용액을 약 50℃에서 주사기를 통해 적가된 N,N,N',N'-테트라메틸아조디카복사미드(0.389 g, 2.26 mmol)로 처리하였다. 생성된 용액을 실온에서 약 20분 동안 교반시킨 후, 반응물을 물(1 mL)로 켄칭하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시키고, 잔류물을 0-100% 에틸 아세테이트(EtOAc)/헵탄으로 용출시키는 실리카 겔 상에서 플래쉬 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 표제 화합물(0.103 g, 45% 수율)을 수득하였다.; ^{1}H NMR (400 ㎒, 클로로포름-d) δ 7.46 (s, 1 H), 4.76 (s, 2 H), 4.14 - 4.20 (m, 2 H), 4.07 - 4.13 (m, 2 H).

제조 #6: (S)-5-클로로-6-(디플루오로메틸)-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-N-메틸니코틴아미드



단계 1: 메틸 5-클로로-6-(하이드록시메틸)니코티네이트. 디메틸 3-클로로피리딘-2,5-디카복실레이트(2.0 g, 8.71 mmol)를 테트라하이드로푸란(THF)/메탄올(1:2, 60 mL)에 용해시키고 약 0℃로 냉각시켰다. $CaCl_2$(7.8 g, 70 mmol)를 첨가하고 반응 혼합물을 약 30분 동안 교반하였다. 수소화붕소나트륨($NaBH_4$) (0.832 g, 22 mmol)을 분획으로 첨가하고 반응물을 약 0℃에서 약 3시간 동안 교반하였다. 반응물을 디클로로메탄(DCM) (50 mL)으로 희석하고, 빙 냉각 H_2O(100 mL)에 부었다. 층을 분리하고, 수성 층을 DCM(2 x 25 mL)으로 추출하였다. 합한 유기상을 포화 수성 NaCl(2 x 25 mL)로 세척하고, $MgSO_4$ 상에서 건조시키고, 용매를 진공에서 제거하여 표제 화합물(1.0 g, 54% 수율)을 수득하였다. ^{1}H NMR (500 ㎒, 디메틸설폭사이드-d_6) δ 9.00 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 8.29 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 5.42 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 4.71 (d, J = 6.1 Hz, 2H), 3.91 (s, 3H).

단계 2: 메틸 5-브로모-6-포르밀니코티네이트. 디클로로메탄(DCM)(10 mL) 중 메틸 5-브로모-6-(하이드록시메틸)니코티네이트(0.723 g, 2.94 mmol)의 용액에 데스-마틴 페리오디난(Dess-Martin periodinane)(1.87 g, 4.41 mmol)을 첨가하고 반응 혼합물을 실온에서 약 18시간 동안 교반하였다. 여기에 포화 수성 $NaHCO_3$/1M 수성 $Na_2S_2O_3$(1:1, 50 mL)의 혼합물을 첨가하고 2상 혼합물을 맑아질 때까지 교반하였다. 상을 분리하고 수성상을 디클로로메탄(DCM) (2 x 50 mL)으로 세척하였다. 합한 유기상을 $MgSO_4$ 상에서 건조시키고, 용매를 진공에서 제거하여 표제 화합물(0.623 g, 83% 수율)을 수득하였다. ^{1}H NMR (500 ㎒, 디메틸설폭사이드-d_6) δ 10.16 (s, 1H), 9.18 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 8.48 (d, J= 1.5 Hz 1H), 3.95 (s, 3H).

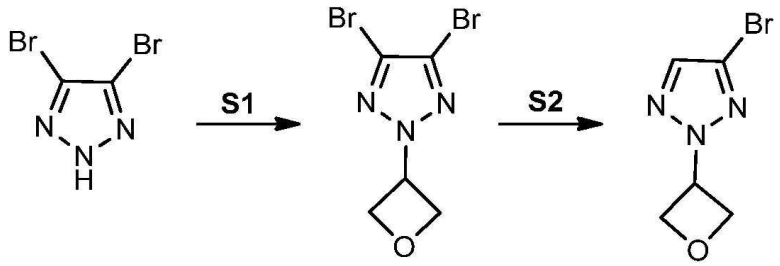
단계 3: 메틸 5-클로로-6-(디플루오로메틸)니코티네이트. 클로로포름(30 mL) 중 메틸 5-클로로-6-포르밀니코티네이트(0.623 mg, 3.12 mmol)의 교반 용액에 Deoxo-Fluor®(톨루엔 중 50%, 2.9 mL, 7.80 mmol)를 첨가하고 혼합물을 약 45℃에서 약 24시간 동안 교반하였다. 포화 수성 $NaHCO_3$(10 mL)을 첨가하여 반응을 켄칭하고, H_2O(10 mL)로 희석하고, 디클로로메탄(DCM)(3 x 10 mL)으로 추출하였다. 합한 유기층을 $MgSO_4$ 상에서 건조시키고, 여과하고, 용매를 진공에서 제거하였다. 잔류물을 0-60% 에틸 아세테이트(EtOAc)/이소헥산으로 용출시키는 실리카 겔 상에서 플래쉬 컬럼 크로마토그래피를 통해 정제하여 표제 화합물(0.433 g, 60% 수율)을 수득하였다.

^{1}H NMR (500 ㎒, 디메틸설폭사이드-d_6) δ 9.10 (d, J = 1.8 ㎐, 1H), 8.50 (d t, J = 1.7, 0.8 ㎐, 1H), 7.28 (t, J = 52.9 ㎐, 1H), 3.94 (s, 3H).

단계 4: 5-클로로-6-(디플루오로메틸)니코틴산. 메틸 5-클로로-6-(디플루오로메틸)니코티네이트(0.200 g, 0.71 mmol)를 메탄올(2 mL)에 현탁시키고, 2 M 수성 NaOH(1 mL, 2.00 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 약 3시간 동안 교반하였다. pH 2가 될 때까지 수성 1M HCl을 적가하고, 혼합물을 에틸 아세테이트(EtOAc) (3 x 5 mL)에 추출하였다. 합한 유기상을 $MgSO_4$ 상에서 건조시키고, 용매를 진공에서 제거하여 표제 화합물(0.141 g, 91% 수율)을 수득하였다. ^{1}H NMR (500 ㎒, 디메틸설폭사이드-d_6) δ 14.03 (s, 1H), 9.08 (d, J = 1.7 ㎐, 1H), 8.46 (d, J = 1.8 ㎐, 1H), 7.27 (t, J = 53.0 ㎐, 1H).

단계 5: (S)-5-클로로-6-(디플루오로메틸)-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-N-메틸니코틴아미드. 5-클로로-6-(디플루오로메틸)니코틴산(0.141 g, 0.68 mmol), (S)-1-(메틸아미노)-3-페닐프로판-2-올(0.123 mg, 0.75 mmol) (제조 #2), 4-메틸모르폴린(0.187 mL, 1.70 mmol), 1-(3-디메틸아미노프로필)-3-에틸카보디이미드 하이드로클로라이드(EDC.HCl) (195 mg, 1.02 mmol) 및 1-하이드록시벤조트리아졸 (HOBt) 수화물(156 mg, 1.02 mmol)의 혼합물을 N,N-디메틸포름아미드(DMF) (5 mL)에 용해시키고 실온에서 약 18시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 에틸 아세테이트(EtOAc)(10 mL)로 희석하고, 포화 수성 NH_4Cl(10 mL), 포화 수성 $NaHCO_3$(10 mL) 및 포화 수성 NaCl(3 x 10 mL)로 순차적으로 세척하였다. 유기상을 $MgSO_4$ 상에서 건조시키고, 용매를 진공에서 제거하였다. 미정제 잔류물을 추가의 정제 없이 사용하였다. LC/MS(표 B, 방법 dd) R_t = 1.89 min; MS m/z: 355 $(M+H)^+$.

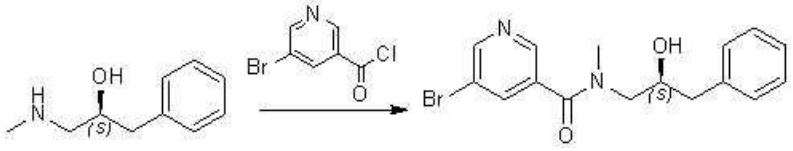
제조 #7: 4-브로모-2-(옥세탄-3-일)-2H-1,2,3-트리아졸



단계 1: 4,5-디브로모-2-(옥세탄-3-일)-2H-1,2,3-트리아졸. N,N-디메틸포름아미드(DMF)(20 mL) 중 4,5-디브로모-2H-1,2,3-트리아졸(500 mg, 2.20 mmol)과 3-요오도옥세탄(0.213 mL, 2.42 mmol)의 혼합물에 Cs_2CO_3(2.1 g, 6.45 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 약 120℃에서 약 18시간 동안 교반하였다. 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 에틸 아세테이트(EtOAc)(200 mL)로 희석하고, H_2O(3 x 100 mL), 포화 수성 NaCl(2 x 200 mL)로 세척하고, $MgSO_4$ 상에서 건조시키고, 여과하고 진공에서 농축시켰다. 물질을 실리카 겔 상에서 플래쉬 크로마토그래피(0-100% EtOAc/이소헥산)로 정제하여 표제 화합물(529 mg, 81% 수율)을 수득하였다; ^{1}H NMR (500 ㎒, 디메틸설폭사이드-d_6) δ 5.90 - 5.81 (m, 1H), 4.97 (t, J = 7.4 ㎐, 2H), 4.88 (t, J = 6.5 ㎐, 2H).

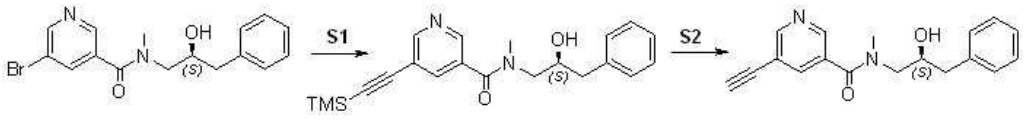
단계 2: 4-브로모-2-(옥세탄-3-일)-2H-1,2,3-트리아졸. 바이알에 4,5-디브로모-2-(옥세탄-3-일)-2H-1,2,3-트리아졸(250 mg, 0.88 mmol) 및 테트라하이드로푸란(THF)(4 mL)을 첨가하였다. 혼합물을 약 -30℃로 냉각시켰다. 이소프로필마그네슘 클로라이드(iPrMgCl)(THF 중 2M, 1.3 mL, 2.65 mmol)를 적가하고, 혼합물을 약 3시간에 걸쳐 실온으로 가온하였다. 혼합물을 포화 수성 NH_4Cl(20 mL)로 켄칭하고, 수성층을 에틸 아세테이트(EtOAc)(3 x 20 mL)로 추출하였다. 유기층을 포화 수성 NaCl(2 x 50 mL)로 세척하고, $MgSO_4$ 상에서 건조시키고, 여과하고, 용매를 진공에서 증발시켜 표제 화합물(125 mg, 56% 수율)을 수득하였다; ^{1}H NMR (500 ㎒, 디메틸설폭사이드-d_6) δ 8.11 (s, 1H), 5.90 - 5.82 (m, 1H), 5.01 - 4.95 (m, 2H), 4.91 - 4.86 (m, 2H).

제조 #8: (S)-5-브로모-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-N-메틸니코틴아미드



디클로로메탄(DCM)(130 mL) 및 N,N-디메틸포름아미드(DMF)(200 μL) 중 5-브로모니코틴산(7.52 g, 37.2 mmol)의 교반된 현탁액에 디클로로메탄(DCM) 중 옥살릴 클로라이드 용액(2M; 37.2 mL, 74.5 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 약 2시간 동안 교반하고, 이후 이를 진공 하에 농축시켰다. 잔류물을 테트라하이드로푸란(THF)(150 mL)에 용해시키고, 생성된 혼합물을 빙욕조에서 냉각시킨 후 THF(20 mL) 중 (S)-1-(메틸아미노)-3-페닐프로판-2-올(제조 #2) (6.15 g, 37.2 mmol)과 N,N-디이소프로필에틸아민(DIEA)(19.5 mL, 112 mmol)의 혼합물을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 약 1시간 동안 교반하고, 이후 에틸 아세테이트(EtOAc) (50 mL), 메틸 tert-부틸 에테르(MTBE) (50 mL) 및 $NaHCO_3$(100 mL)을 첨가하였다. 층을 분리하고, 유기물을 진공 하에 농축시켰다. 생성된 미정제 물질을 0-100% EtOAc/헵탄의 구배로 용출시키는 실리카 겔 상에서 플래쉬 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 표제 화합물(11 g, 85% 수율)을 수득하였다; 90℃에서 ^{1}H NMR (500 ㎒, 디메틸설폭사이드-d_6) δ 8.70 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 8.54 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 8.01 (t, J = 2.0 Hz, 1H), 7.21 (d t, J = 31.1, 7.5 Hz, 5H), 4.76 (s, 1H), 4.02 (s, 1H), 3.27 (d, J = 21.5 Hz, 2H), 3.00 (s, 3H), 2.65 (s, 2H).

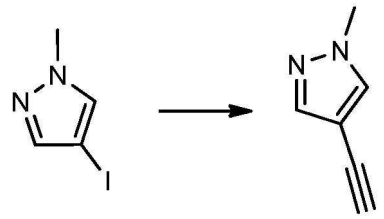
제조 #9: (S)-5-에티닐-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-N-메틸니코틴아미드



단계 1: (S)-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-N-메틸-5-((트리메틸실릴)에티닐)니코틴아미드. N,N-디메틸포름아미드(DMF)(60 mL) 중 (S)-5-브로모-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-N-메틸니코틴아미드(4.0 g, 8.93 mmol) (제조 # 8), 에티닐트리메틸실란(2.5 mL, 17.87 mmol), 비스(트리페닐-포스핀)-팔라듐(II) 디클로라이드($Pd(PPh_3)_2Cl_2$) (0.753 g, 1.07 mmol), CuI(0.340 g, 1.79 mmol) 및 Et_3N(8.7 mL, 62.5 mmol)의 혼합물에 N_2를 분사한 다음, 약 90℃로 약 2시간 동안 가열하였다. 혼합물을 실온으로 냉각하고, 셀라이트를 통해 여과하고, 에틸 아세테이트(EtOAc)(200 mL)로 세척하였다. 여과물을 EtOAc(200 mL) 및 H_2O(600 mL)로 희석하고 층을 분리하였다. 수성층을 EtOAc(2 x 300 mL)로 추출하고, 합한 유기층을 포화 수성 NaCl(2 x 300 mL)로 세척하고, $MgSO_4$ 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공에서 농축하였다. 생성된 물질을 실리카 겔 상에서 플래쉬 크로마토그래피(0-100% EtOAc/이소헥산)로 정제하여 표제 화합물(3.3 g, 91% 수율)을 정제하였다; LC/MS(표 B, 방법 ee) R_t = 2.35 min; MS m/z 367 $(M+H)^+$.

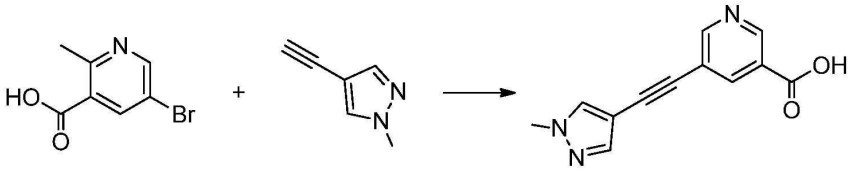
단계 2: (S)-5-에티닐-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-N-메틸니코틴아미드. 테트라하이드로푸란(THF)(30 mL) 중 (S)-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-N-메틸-5-((트리메틸실릴)에티닐)니코틴아미드(3.3 g, 9.00 mmol)의 교반 용액에 테트라-N-부틸암모늄 플루오라이드(TBAF)(THF 중 1 M)(11.70 mL, 11.70 mmol)를 첨가하고 혼합물을 실온에서 약 1시간 동안 교반하였다. 혼합물을 에틸 아세테이트(EtOAc)(150 mL)에 용해시키고 H_2O(150 mL) 및 포화 수성 NaCl(150 mL)로 세척하고, $MgSO_4$ 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공에서 농축시켜 갈색 오일을 수득하고, 이를 실리카 겔 상에서 플래쉬 크로마토그래피(0-100% EtOAc/이소헥산)로 정제하여 표제 화합물(2.3 g, 76% 수율)을 수득하였다; LC/MS(표 B, 방법 ee) R_t = 1.65 min; MS m/z 295 $(M+H)^+$.

제조 #10: 4-에티닐-1-메틸-1H-피라졸



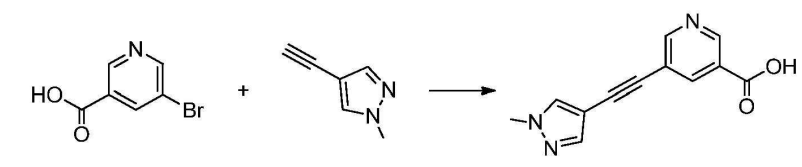
N,N-디메틸포름아미드(DMF) (120 mL) 중 4-요오도-1-메틸-1H-피라졸(20 g, 96 mmol)의 용액에 에티닐트리메틸실란(13.2 g, 135 mmol), 요오드화 구리(I)(1. 282 g, 6.73 mmol), 트리페닐포스핀(PPh_3)(5.04 g, 19.23 mmol), 디이소프로필아민(12.6 g, 125 mmol) 및 팔라듐(II) 아세테이트($Pd(OAc)_2$)(1.30 g, 5.77 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 N_2하에 약 60℃에서 약 1시간 동안 교반하였다. 실온으로 냉각시킨 후, 혼합물을 물(200 mL)에 붓고 에틸 아세테이트(EtOAc)(3 x 200 mL)로 추출하였다. 유기층을 합하고, 염수(200 mL)로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 메틸 tert-부틸 에테르(MTBE)로 분쇄하고, 생성된 현탁액을 여과하여 고체를 제거하였다. 고체를 메틸 tert-부틸 에테르(MTBE)로 헹구고, 합한 여과물을 진공 하에 농축시켰다. 생성된 미정제 생성물을 메탄올(200 mL)에 용해시키고 K_2CO_3(1.55 g, 11.2 mmol)을 첨가하고, 혼합물을 실온에서 약 1 시간 동안 교반하였다. 이 혼합물을 물(200 mL)에 붓고, EtOAc(3 x 100 mL)로 추출하였다. 유기층을 합하고, 염수(100 mL)로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켰다. 생성된 미정제 물질을 0-25% EtOAc/석유 에테르로 용출시키는 실리카 겔 상에서 플래쉬 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 표제 화합물(5.0 g, 42% 수율)을 수득하였다. ^{1}H NMR (400 ㎒, 클로로포름-d) δ 3.00 (s, 1H), 3.89 (s, 3H), 7.49-7.54 (m, 1H), 7.60 (s, 1H).

제조 #11: 6-메틸-5-((1-메틸-1H-피라졸-4-일)에티닐)니코틴산



N,N-디메틸포름아미드(DMF) (20 mL) 중 4-에티닐-1-메틸-1H-피라졸(제조 # 10) (1.175 g, 9.96 mmol), 5-브로모-6-메틸니코틴산(2.080 g, 9. 63 mmol), 메탄설포나토(2-디사이클로헥실포스피노-2',4',6'-트리-i-프로필-1,1'-바이페닐(2'-아미노-1,1'-바이페닐-2-일)팔라듐(II) (XPhos Pd G3) (0.060 g, 0.071 mmol) 및 Cs_2CO_3(3.760 g, 11.54 mmol)의 혼합물에 약 5분 동안 N_2를 분사하였다. 반응 혼합물을 N_2하에 약 70℃에서 약 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 실온으로 냉각하고 물(40 mL)을 첨가하고 1 M HCl(수성)(~20 mL)을 사용하여 혼합물을 pH ~2로 산성화하였다. 침전물을 여과하고, 이어서 고체를 물(30 mL)로 세척하고 진공 오븐에서 건조시켜 표제 화합물(2.18 g, 89% 수율)을 수득하였다. ^{1}H NMR (500 ㎒, 디메틸설폭사이드-d_6) δ 13.45 (s, 1H), 8.87 (d, J = 2.1 ㎐, 1H), 8.17 (d, J = 2.2 ㎐, 1H), 8.15 (s, 1H), 7.75 (d, J = 0.7 ㎐, 1H), 3.87 (s, 3H), 2.68 (s, 3H).

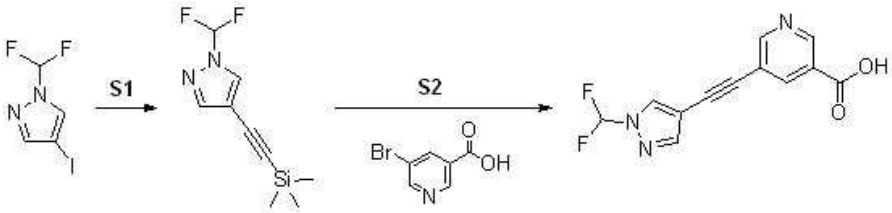
제조 # 12: 5-메틸((1-메틸-1H-피라졸-4-일)에티닐)니코틴산



5-브로모니코틴산(1.59 g, 7.87 mmol), 2-디사이클로헥실포스피노-2′,4′,6′-트리이소프로필바이페닐(X-Phos)(0.375 g, 0.79 mmol), 비스(아세토니트릴)디클로로팔라듐(II)($Pd(MeCN)_2Cl_2$)(0.102 g, 0.39 mmol) 및

Cs_2CO_3(3.1 g, 9.45 mmol)를 플라스크에 첨가하고, N,N-디메틸포름아미드(DMF)(30 mL)에 용해시켰다. DMF(5 mL) 중 4-에티닐-1-메틸-1H-피라졸(제조 #10)(1.0 g, 9.45 mmol)을 첨가하고, 반응 혼합물을 약 70℃에서 약 3시간 동안 교반하였다. 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 용매를 진공에서 제거하였다. 잔류물을 H_2O(60 mL) 및 에틸 아세테이트(EtOAc)(60 mL)로 희석하였다. 층을 분리하고 수성상을 1M 수성 HCl을 사용하여 pH 2로 산성화하였다. 생성된 고체를 여과하고 건조시켜 표제 화합물(1.66 g, 90% 수율)을 수득하였다; LC/MS(표 B, 방법 ee) R_t = 1.42 min; MS m/z 228 $(M+H)^+$.

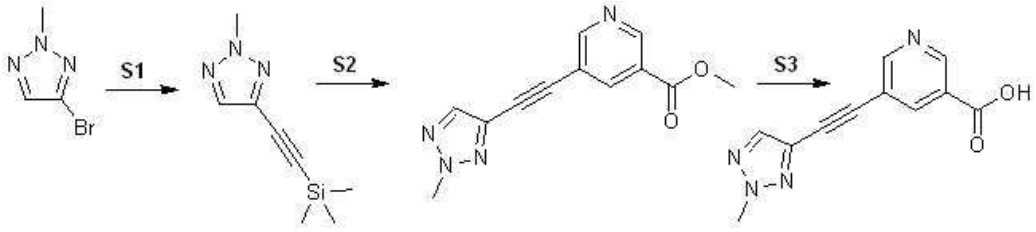
제조 #13: 5-((1-(디플루오로메틸)-1H-피라졸-4-일)에티닐)니코틴산



단계 1: 1-(디플루오로메틸)-4-((트리메틸실릴)에티닐)-1H-피라졸. 테트라하이드로푸란(THF) (100 mL) 중 1-(디플루오로메틸)-4-요오도-1H-피라졸(10.0 g, 41.0 mmol), 에티닐트리메틸실란(6.04 g, 61. 5 mmol) 및 메탄설포나토(2-디사이클로헥실포스피노-2',4',6'-트리-i-프로필-1,1'-바이페닐)(2'-아미노-1,1'-바이페닐-2-일)팔라듐(II)(XPhos Pd G3) (0.173 g, 0.205 mmol)의 현탁액에 N_2를 약 15분 동안 분사하였다. 디이소프로필아민(11.68 mL, 82 mmol)과 요오드화 구리(I)(0.020 g, 0.10 mmol)를 첨가하였다. 생성된 혼합물은 약 65℃에서 약 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 메틸 tert-부틸 에테르(MTBE)/에틸 아세테이트(EtOAc)(1:1, 50 mL)로 희석하고 물(100 mL) 및 포화 NaCl(100 mL)로 세척하였다. 유기층을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고 여과하고 농축하였다. 미정제 물질을 약 160℃에서 진공 증류로 증류하여 표제 화합물(4.0 g, 44% 수율)을 수득하였다; ^{1}H NMR (400 ㎒, 클로로포름-d) δ 0.21-0.28 (m, 9H), 6.94-7.36 (m, 1H), 7.69-7.77 (m, 1H), 7.95 (s, 1H).

단계 2: 5-((1-(디플루오로메틸)-1H-피라졸-4-일)에티닐)니코틴산 N,N-디메틸포름아미드(DMF)(500 mL) 중 1-(디플루오로 메틸)-4-((트리메틸실릴)에티닐)-1H-피라졸(73. 8 g, 317 mmol), 5-브로모니코틴산(40 g, 198 mmol), Cs_2CO_3(77 g, 238 mmol) 및 메탄설포나토(2-디사이클로헥실포스피노-2',4',6'-트리-i-프로필-1,1'-바이페닐) (2'-아미노-1,1'-바이페닐-2-일)팔라듐(II) (XPhos Pd G3) (1. 676 g, 1.980 mmol)의 혼합물에 N_2 분사하에 약 10분 동안 교반하고, 이후 테트라부틸암모늄 플루오라이드(218 mL, 218 mmol)를 첨가하고 혼합물을 N_2 하에 약 60℃에서 약 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시키고, 물(500 mL)로 희석하였다. 수성상을 메틸 tert 부틸 에테르(3 x 250 mL)로 추출한 다음, 수성층을 5N 수성 HCl로 pH 약 3으로 조정하였다. 생성된 고체를 진공 여과를 통해 수집하고 진공 하에 건조시켜 표제 화합물(47.5 g, 91% 수율)을 수득하였다; ^{1}H NMR (400 ㎒, 디메틸설폭사이드-d_6) δ = 14.40 - 12.47 (m, 1H), 9.04 (d, J = 2.0 ㎐, 1H), 8.92 (d, J = 2.5 ㎐, 1H), 8.73 (s, 1H), 8.31 (t, J = 2.3 ㎐, 1H), 8.12 (s, 1H), 8.02 - 7.70 (m, 1H).

제조 #14: 5-((2-메틸-2H-1,2,3-트리아졸-4-일)에티닐)니코틴산



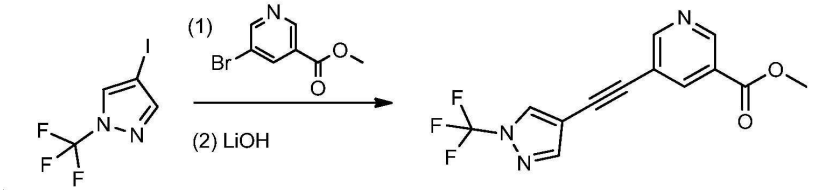
단계 1: 2-메틸-4-((트리메틸실릴)에티닐)-2H-1,2,3-트리아졸. N,N-디메틸포름아미드(DMF)(6 mL) 중 4-브로모-2-메틸-2H-1,2,3-트리아졸(500 mg, 3.09 mmol), 에티닐트리메틸실란(1.283 mL, 9.26 mmol), 트리에틸아민(TEA)(0.860 mL, 6.17 mmol), 요오드화 구리(I)(29.4 mg, 0.154 mmol) 및 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐(0)($Pd(PPh_3)_4$)(178 mg, 0.154 mmol)의 N_2를 사용하여 혼합물을 5분 동안 탈기시킨 다음, 약 100℃로 약 1시간 동안 가열하였다. 혼합물을 진공에서 농축시키고 0-50% 수율의 에틸 아세테이트(EtOAc)/이소-헥산으로 용출시

키는 실리카 겔 상에서 플래쉬 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 표제 화합물(438 mg, 63% 수율)을 수득하였다; ^{1}H NMR (500 ㎒, 클로로포름-d) δ 7.63 (s, 1H), 4.17 (s, 3H), 0.25 (s, 9H).

단계 2: 메틸 5-((2-메틸-2H-1,2,3-트리아졸-4-일)에티닐)니코티네이트 메틸 5-브로모니코티네이트(1.142 g, 5.29 mmol), 2-메틸-4-((트리메틸실릴)에티닐)-2H-1,2,3-트리아졸(1.517 g, 6.35 mmol), 트리에틸아민(TEA)(5.16 mL, 37.0 mmol), 요오드화 구리(I)(0.101 g, 0.529 mmol) 및 비스(트리페닐포스핀)팔라듐(II) 디클로라이드($Pd(PPh_3)_2Cl_2$)(0.371 g, 0.529 mmol)를 함유하는 바이알에 N,N-디메틸포름아미드(DMF)(15 mL)를 첨가하고 혼합물을 질소로 5분 동안 탈기시킨 다음, 테트라하이드로푸란(THF) 중 테트라-N-부틸암모늄 플루오라이드(TBAF) 1 M(7.93 mL, 7.93 mmol)을 첨가하고 혼합물을 30초 동안 탈기시킨 다음, 100℃에서 1시간 동안 가열하였다. 혼합물을 농축시킨 다음, 에틸 아세테이트(EtOAc)(100 mL)에 용해시키고 포화 중탄산나트륨(수성)(100 mL)으로 세척하였다. 수성층을 EtOAc(2 x 50 mL)로 추가로 추출하고, 합한 유기층을 물(100 mL)로 세척하였다. 유기층을 Na_2SO_4를 사용하여 건조시키고, 여과하고 농축시켜 갈색 오일을 수득하였고, 이를 0-60% EtOAc/이소헥산으로 용출시키는 실리카 겔 상에서 플래쉬 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 표제 화합물(0.978 g, 69% 수율)을 정제하였다; ^{1}H NMR (500 ㎒, 클로로포름-d) δ 9.17 (d, J = 2.1 ㎐, 1H), 8.92 (d, J = 2.1 ㎐, 1H), 8.43 (t, J = 2.1 ㎐, 1H), 7.76 (s, 1H), 4.24 (s, 3H), 3.98 (s, 3H).

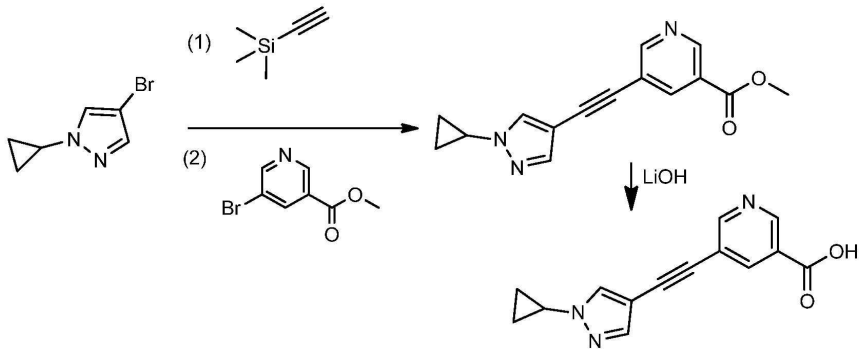
단계 3: 5-((2-메틸-2H-1,2,3-트리아졸-4-일)에티닐)니코틴산. 테트라하이드로푸란(THF)(540 mL)과 물(90 mL) 중 메틸 5-((2-메틸-2H-1,2,3-트리아졸-4-일)에티닐)니코티네이트(54 g, 223 mmol)를 함유하는 플라스크에 NaOH(13.37 g, 334 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 3시간 동안 교반하였다. 혼합물을 농축시키고 1M HCl(수성)(~10 mL)을 사용하여 pH 2로 산성화하였다. 생성된 침전물을 여과하고, 진공 오븐에서 밤새 건조시켜 표제 화합물(49 g, 91% 수율)을 수득하였다; ^{1}H NMR (500 ㎒, 디메틸설폭사이드-d_6) δ 9.14 (s, 1H), 9.06 (s, 1H), 8.37 (s, 1H), 8.15 (s, 1H), 4.70 br (s, 1H), 4.21 (s, 3H).

제조 #15:5-((1-(트리플루오로메틸)-1H-피라졸-4-일)에티닐)니코틴산



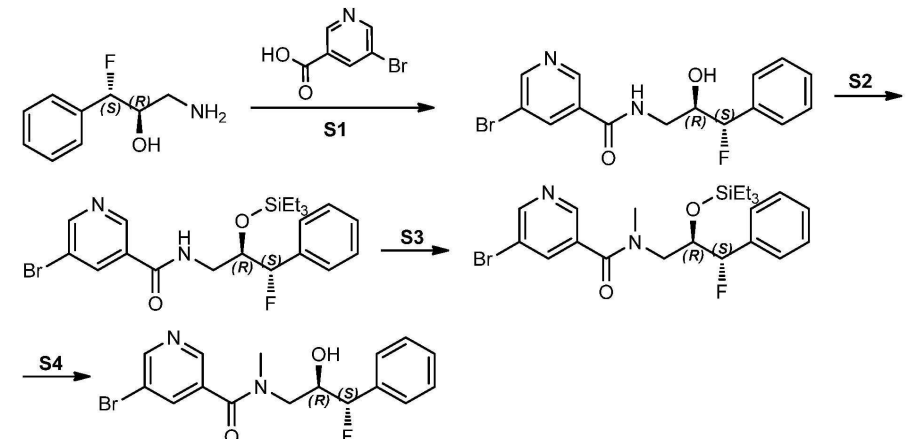
N,N-디메틸포름아미드(DMF)(8 mL) 중 트리에틸아민(TEA)(0.745 mL, 5.34 mmol), 요오드화 구리(I)(0.051 g, 0.267 mmol), 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐(0)($Pd(PPh_3)_4$)(0.309 g, 0.267 mmol), 4-요오도-1-(트리플루오로메틸)-1H-피라졸(1 g, 2. 67 mmol) 및 에티닐트리메틸실란(1.110 mL, 8.02 mmol)의 혼합물에 N_2를 5분 동안 분사시킨 다음, 약 100℃로 약 3시간 동안 가열하였다. 혼합물을 실온으로 냉각하고, 진공에서 농축시키고, 50% 에틸 아세테이트(EtOAc)/이소헥산으로 헹구는 것을 사용하여 실리카 겔 플러그를 통해 여과하였다. 여과물을 농축시키고 잔류물을 아세토니트릴(MeCN)(30 mL) 에 용해시키고, CsF(0.848 g, 5.58 mmol), 메틸 5-브로모니코티네이트(1.005 g, 4.65 mmol), 디사이클로헥실(2',4', 6'-트리이소프로필-[1,1'-바이페닐]-2-일)포스핀(0.222 g, 0.465 mmol), 비스(아세토니트릴)디클로로팔라듐(II)($Pd(MeCN)_2Cl_2$)(0.060 g, 0.233 mmol) 및 Cs_2CO_3(2.275 g, 6.98 mmol)을 첨가하였다. 혼합물에 N_2를 분사하고 N_2 하에 약 70℃에서 약 16시간 동안 교반하였다. 반응물을 실온으로 냉각시키고, 혼합물을 감압 하에 셀라이트(~25 g)에 흡착한 후 10-20% EtOAc/헥산으로 용출시키는 실리카 겔 상에서 플래쉬 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 메틸 5-((1-(트리플루오로메틸)-1H-피라졸-4-일)에티닐)니코티네이트(530 mg)를 수득하였다. 이 물질을 테트라하이드로푸란(THF)(8.0 mL)에 용해시키고 여기에 물(2.0 mL) 중 LiOH(43 mg, 1.8 mmol)의 용액을 첨가하고 혼합물을 실온에서 약 16시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시키고 잔류 용액을 1M 염산으로 산성화하였다. 생성된 침전물을 여과하여 수거하고 물(5 mL)과 헥산(10 mL)으로 세척한 다음 진공에서 건조시켜 표제 화합물(479 mg, 94% 수율)을 수득하였다. ^{1}H NMR (500 ㎒, 디메틸설폭사이드-d_6) δ 9.02 (s, 1H), 8.94 (d, J = 1.9 ㎐, 1H), 8.61 (d, J = 2.2 ㎐, 1H), 8.28 (t, J = 0.9 ㎐, 1H), 8.20 (t, J = 2.1 ㎐, 1H).

제조 #16: 5-((1-사이클로프로필-1H-피라졸-4-일)에티닐)니코틴산



아세토니트릴(MeCN)(4 mL) 중 4-브로모-1-사이클로프로필-1H-피라졸(660 mg, 3.53 mmol) 및 에티닐트리메틸실란(1.8 mL, 12.99 mmol)의 용액을 아세토니트릴(MeCN)(8 mL) 중 요오드화 구리(I)(16 mg, 0.084 mmol), 2-디사이클로헥실포스피노-2′,4′,6′-트리이소프로필바이페닐(X-Phos)(205 mg, 0.430 mmol), $PdCl_2(MeCN)_2$(60 mg, 0.231 mmol) 및 N,N-디이소프로필에틸아민(DIEA)(1.5 mL, 8.59 mmol)의 N_2 분사된 용액에 첨가하고 70℃로 가열하였다. 약 2시간 후, N_2 분사에 의해 탈기된 아세토니트릴(MeCN)(3 mL) 중 디사이클로헥실(2',4',6'-트리이소프로필-[1,1'-바이페닐]-2-일)포스핀(XPhos)(205 mg, 0.430 mmol), $PdCl_2(MeCN)_2$(60 mg, 0.231 mmol) 및 Cs_2CO_3(1150 mg, 3. 53 mmol)의 혼합물에 이어 에티닐트리메틸실란(1.8 mL, 12.99 mmol)을 첨가하고 혼합물을 약 70℃에서 약 16시간 동안 가열하였다. 용액을 실온으로 냉각시키고, 1:1 헥산/에틸 아세테이트(EtOAc)(20 mL)의 세척액을 사용하여 실리카 겔을 통해 여과하고 여과물을 감압 농축시켰다. 미정제 물질을 아세토니트릴(MeCN)(12.5 mL)에 용해시키고, CsF(536 mg, 3.53 mmol), 메틸 5-브로모니코티네이트(635 mg, 2.94 mmol), X-Phos(140 mg, 0.294 mmol), $PdCl_2(MeCN)_2$(38.1 mg, 0.147 mmol) 및 Cs_2CO_3(1437 mg, 4.41 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 N_2 분사하여 탈기시킨 다음 약 70℃에서 약 4시간 동안 가열하였다. 반응물을 감압 하에 셀라이트(~15 mL) 상에 농축시키고 20-70% EtOAc/헥산으로 용출시키는 실리카 겔 상에서 플래쉬 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 원하는 메틸 에스테르(564 mg)를 수득하였다. 물(4 mL) 중 LiOH(76 mg, 3.17 mmol)를 테트라하이드로푸란(THF)(12 mL) 중 미정제 메틸 에스테르(564 mg, 2.110 mmol)의 용액에 첨가하고 실온에서 2시간 동안 교반한 다음, 감압 하에 농축시켜 표제 화합물(545 mg, 70% 수율)을 수득하였다; ^{1}H NMR (500 MHz, 디메틸설폭사이드-d_6) δ 8.87 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 8.53 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 8.22 (s, 1H), 8.12 (t, J = 2.0 Hz, 1H), 7.72 (s, 1H), 3.77 (t t, J = 7.4, 3.9 Hz, 1H), 1.08 (t, J = 3.6 Hz, 2H), 0.98 (dd, J = 7.4, 2.5 Hz, 2H). 산 양성자는 관찰되지 않았다.

제조 #17: 5-브로모-N-((2R,3S)-3-플루오로-2-하이드록시-3-페닐프로필)-N-메틸니코틴아미드



단계 1: 5-브로모-N-((2R,3S)-3-플루오로-2-하이드록시-3-페닐프로필)니코틴아미드 고무 격막과 질소 주입 바늘이 장착된 50 mL 환저 플라스크에 5-브로모니코틴산(0.322 g, 1.60 mmol), (1S,2R)-3-아미노-1-플루오로-1-페닐프로판-2-올(제조 #3)(0.270 g, 1. 60 mmol) (제조 # 5), 1-(3-디메틸아미노프로필)-3-에틸카보디이미드 하

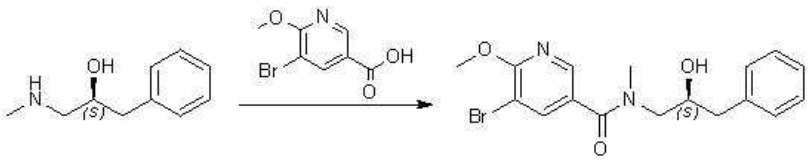
이드로클로라이드(EDC.HCl) (0.459 g, 2.39 mmol), 1-하이드록시벤조트리아졸(HOBt) 수화물(0.367 g, 2.39 mmol), N,N-디이소프로필에틸아민(DIEA)(0.836 mL, 4.79 mmol) 및 N,N-디메틸포름아미드(DMF)(15 mL)를 충전하였다. 생성된 용액을 실온에서 약 16시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 에틸 아세테이트(50 mL)와 포화 $NaHCO_3$(50 mL) 사이에 분배하였다. 층을 분리한 후, 수성층을 에틸 아세테이트(EtOAc)(2 x 25 mL)로 추출하였다. 합한 유기층을 염수로 세척하고 Na_2SO_4 상에서 건조시키고 여과하고 진공 농축시켰다. 미정제 잔류물을 0-100% EtOAc/헵탄으로 용출시키는 실리카 겔 상에서 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 표제 화합물(0.44 g, 78% 수율)을 수득하였다; LC/MS(표 B, 방법 aa) R_t = 1.02 min; MS m/z : 353 및 355 $(M+H)^+$.

단계 2: 5-브로모-N-((2R,3S)-3-플루오로-3-페닐-2-((트리에틸실릴)옥시)프로필)니코틴아미드. 환저 플라스크에 5-브로모-N-((2R,3S)-3-플루오로-2-하이드록시-3-페닐프로필)니코틴아미드(0.44 g, 1.25 mmol), 4-디메틸아미노피리딘(DMAP)(0.076 g, 0.623 mmol), 트리에틸아민(TEA)(1.04 mL, 7.47 mmol), 트리에틸클로로실란($SiEt_3$-Cl)(0.316 mL, 1.87 mmol) 및 디클로로메탄(DCM)(10 mL)을 충전하였다. 반응물을 0℃에서 약 3시간 동안 교반하였다. 반응물을 포화 수성 $NaHCO_3$(10 mL) 및 물(10 mL)과 에틸 아세테이트(EtOAc) (50 mL)에서 분배하였다. 유기층을 분리하고 수성층을 EtOAc(20 mL)로 추출하였다. 합한 유기층을 염수(20 mL)로 세척하고 황산나트륨상에서 건조시키고, 여과하고 진공에서 농축시켜 표제 화합물(0.63 g, 100% 수율)을 수득하였다; LC/MS(표 B, 방법 aa) R_t = 2.04 min; MS m/z:467 및 469 $(M+H)^+$.

단계 3: 5-브로모-N-((2R,3S)-3-플루오로-3-페닐-2-((트리에틸실릴)옥시)프로필)-N-메틸니코틴아미드. N,N-디메틸포름아미드(DMF)(10 mL) 중 5-브로모-N-((2R,3S)-3-플루오로-3-페닐-2-((트리에틸실릴)옥시)-프로필)니코틴아미드(0.410 g, 0.807 mmol) 및 요오드화메틸(MeI)(0.101 mL, 1.61 mmol)의 용액을 0℃에서 미네랄 오일 중 60% 수산화나트륨(0.032 g, 0.807 mmol)으로 처리하였다. 생성된 현탁액을 0℃에서 약 1시간 동안 교반하였다. 반응물을 포화 NH_4Cl(20 mL)로 켄칭하고 물로 희석하고 에틸 아세테이트(EtOAc)(3 x 30 mL)로 추출하였다. 유기층을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공에서 농축시켰다. 미정제 잔류물을 0-100% EtOAc/헵탄으로 용출시키는 실리카 겔 상에서 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 표제 화합물(0.32 g, 82% 수율)을 수득하였다; LC/MS(표 B, 방법 aa) R_t = 2.05 min; MS m/z : 481 및 483 $(M+H)^+$.

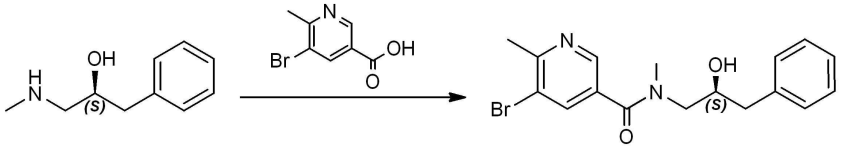
단계 4: 5-브로모-N-((2R,3S)-3-플루오로-2-하이드록시-3-페닐프로필)-N-메틸니코틴-아미드. 0℃에서 5-브로모-N-((2R,3S)-3-플루오로-3-페닐-2-((트리에틸실릴)옥시)-프로필)-N-메틸-니코틴아미드(0.32 g, 0.66 mmol) 및 테트라하이드로푸란(THF)(10 mL)의 용액을 THF 중 1M 테트라-N-부틸암모늄 플루오라이드(0.73 mL, 0.73 mmol)로 처리하였다. 반응물을 0℃에서 약 2시간 동안 교반하였다. 포화 NH_4Cl(20 mL)을 첨가하여 반응을 0℃에서 켄칭하였다. 혼합물을 에틸 아세테이트(EtOAc) (3 x 20 mL)로 추출하였다. 합한 유기층을 염수(75 mL)로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공에서 농축시켰다. 미정제 잔류물을 0-100% EtOAc/헵탄으로 용출시키는 실리카 겔 상에서 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 표제 화합물(0.29 g, 95% 수율)을 수득하였다; LC/MS(표 B, 방법 aa) R_t = 1.07 min; MS m/z : 367 및 369 $(M+H)^+$.

제조 #18: (S)-5-브로모-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-6-메톡시-N-메틸니코틴아미드



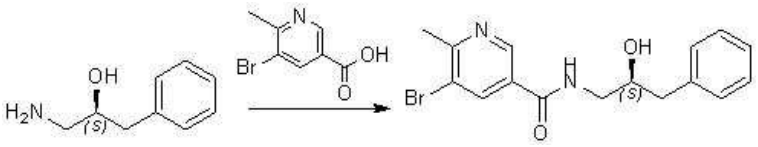
디클로로메탄(DCM)(13 mL) 중 5-브로모-6-메톡시니코틴산(0.300 g, 1.29 mmol) 및 (S)-1-(메틸아미노)-3-페닐프로판-2-올(제조 #2)(0.214 g, 1.29 mmol)의 교반 용액에 N,N-디이소프로필에틸아민(DIEA)(0.677 mL, 3.88 mmol)에 이어서 1-[비스(디메틸아미노)메틸렌]-1H-1,2,3-트리아졸로[4,5-b]피리디늄 3-옥사이드 헥사플루오로포스페이트(HATU)(0.737 g, 1.94 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 약 18시간 동안 교반하였다. 혼합물을 농축시키고, 실리카 겔 상에서 플래쉬 크로마토그래피(0-100% 에틸 아세테이트(EtOAc)/이소헥산)로 정제하여 표제 화합물(0.66 g, 94% 수율)을 수득하였다; LC/MS(표 B, 방법 b) R_t = 1.99 min; MS m/z 379 및 381 $(M+H)^+$.

제조 #19: (S)-5-브로모-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-N,6-디메틸니코틴아미드



N,N-디메틸포름아미드(DMF)(10 mL) 중 5-브로모-6-메틸니코틴산(1.0 g, 4.66 mmol), 1-하이드록시 벤조트리아졸(HOBt) 수화물(324 mg, 2.12 mmol) 및 1-(3-디메틸아미노프로필)-3-에틸카보디이미드 하이드로클로라이드(EDC.HCl) (1.0 g, 5. 51 mmol)의 용액에 N,N-디이소프로필에틸아민(DIEA)(0.740 mL, 4.24 mmol)을 첨가하고 용액을 약 5분 동안 교반한 다음, (S)-1-(메틸아미노)-3-페닐프로판-2-올(제조 #2)(700 mg, 4.24 mmol)을 첨가하였다. 반응물을 실온에서 약 20시간 동안 교반하고 용매를 진공에서 농축시켰다. 잔류물을 에틸 아세테이트(EtOAc)(50 mL)와 H_2O(50 mL) 사이에 분배하고, 층을 분리하고, 수성상을 EtOAc(2 x 50 mL)로 추출하였다. 이어서, 합한 유기물을 포화 수성 NaCl(2 x 50 mL)로 세척하고, $MgSO_4$ 상에서 건조시키고, 진공에서 농축시켰다. 미정제 물질을 실리카 겔 상에서 플래쉬 크로마토그래피(0-100% 에틸 아세테이트(EtOAc)/이소헥산)로 정제하여 표제 화합물(411 mg, 24% 수율)을 수득하였다; LC/MS(표 B, 방법 a) R_t = 1.79 min; MS m/z 364 및 366 $(M+H)^+$.

제조 #20: (S)-5-브로모-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-6-메틸니코틴아미드



5-브로모-6-메틸니코틴산(2.7 g, 13.2 mmol), (S)-1-아미노-3-페닐프로판-2-올(2 g, 13 mmol), 1-(3-디메틸 아미노프로필)-3-에틸카보디이미드 하이드로클로라이드(EDC. HCl) (3.3 g, 17.2 mmol) 및 1-하이드록시벤조트리아졸(HOBt) 수화물(2.6 g, 17.2 mmol)의 혼합물을 N,N-디메틸포름아미드(DMF)에 용해시켰다. N,N-디이소프로필에틸아민(DIEA) (5.8 mL, 33.1 mmol)을 1분획으로 첨가하였다. 생성된 용액을 실온에서 약 16시간 동안 교반되도록 하였다. 포화된 수성 $NaHCO_3$(150 mL) 및 에틸 아세테이트(EtOAc) (150 mL)를 첨가하고 상을 분리하였다. 수성상을 EtOAc(3 x 25 mL)로 추출하였다. 합한 유기상을 염수(2 x 100 mL)로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 0-100% EtOAc/헵탄으로 용출시키는 실리카 겔 상에서 플래쉬 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 표제 화합물(2.3 g, 49% 수율)을 수득하였다. ^{1}H NMR (400 ㎒, 클로로포름-d) δ 2.55 (s, 3H), 2.62-2.70 (m, 1H), 2.72-2.80 (m, 1H), 3.25 (ddd, J = 13.63, 8.07, 5.20 ㎐, 1H), 3.45 (br s, 1H), 3.62 (ddd, J = 13.82, 6.36, 3.18 ㎐, 1H), 3.93-4.00 (m, 1H), 7.02-7.12 (m, 3H), 7.16-7.23 (m, 2H), 8.08 (d, J = 1.83 ㎐, 1H), 8.62 (d, J = 1.71 ㎐, 1H).

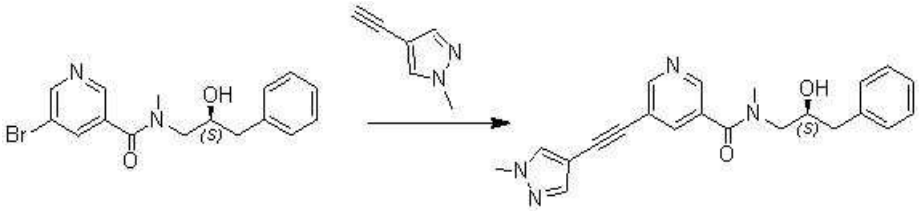
제조 #21:5-에티닐-2-메틸옥사졸



메탄올(MeOH)(3 mL) 중 2-메틸옥사졸-5-카브알데하이드(0.10 g, 0.94 mmol)와 K_2CO_3(0.26 g, 1.87 mmol)의 교반 용액에 MeOH(1 mL) 중 디메틸(1-디아조-2-옥소프로필)포스포네이트(0.21 g, 0.94 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 약 18시간 동안 교반한 다음, MeOH(10 mL)로 헹구면서 셀라이트를 통해 여과하였다. 용액을 진공에서 조심스럽게 농축시키고, 잔류물을 실리카 겔 상에서 플래쉬 크로마토그래피(0-50% EtOAc/이소헥산)로 정제하여 표제 화합물(0.17 g, 52% 수율)을 수득하였다; ^{1}H NMR (500 ㎒, 클로로포름-d) δ 7.17(s, 1H), 3.56(s, 1H), 2.47(s, 3H).

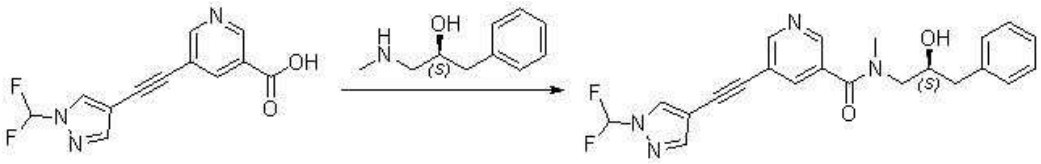
<u>합성 실시예</u>

실시예 #1: (S)-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-N-메틸-5-((1-메틸-1H-피라졸-4-일)에티닐)니코틴아미드



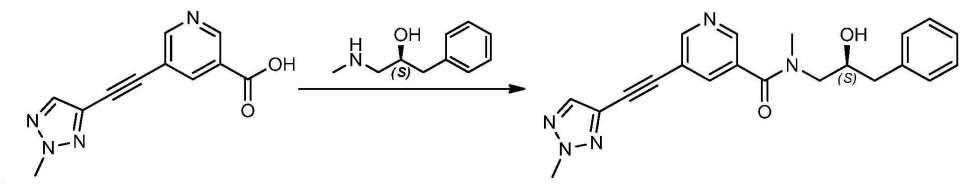
(S)-5-브로모-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-N-메틸니코틴아미드(0.45 g, 1.29 mmol)(제조 #8), 4-에티닐-1-메틸-1H-피라졸(제조 #10)(0.31 g, 2.92 mmol), 2-디사이클로헥실포스피노-2′,4′,6′-트리이소프로필바이페닐(X-Phos) (60 mg, 0.13 mmol), 비스(아세토니트릴)-디클로로팔라듐(II)($Pd(MeCN)_2Cl_2$)(20 mg, 0.08 mmol) 및 Cs_2CO_3(0.51 g, 1.57 mmol)을 아세토니트릴(MeCN)(21 mL)에 용해시키고 혼합물에 N_2로 10분 동안 분사하였다. 이어서, 생성된 혼합물을 약 70℃에서 약 3시간 동안 교반하였다. 혼합물을 냉각하고 에틸 아세테이트(EtOAc)(60 mL)로 헹구면서 셀라이트를 통해 여과하였다. 용매를 진공에서 제거하고 잔류물을 실리카 겔 상에서 플래쉬 크로마토그래피(0-10% 메탄올/EtOAc)로 정제하여 표제 화합물(0.25 g, 49% 수율)을 수득하였다. LC/MS(표 B, 방법 ee) R_t = 1.77 min; MS m/z 375 $(M+H)^+$; ^1H NMR (500 ㎒, 90℃에서 디메틸설폭사이드-d_6) δ 8.65 (d, J = 2.0 ㎐, 1H), 8.50 (d, J = 2.0 ㎐, 1H), 8.04 (s, 1H), 7.82 (s, 1H), 7.68 (s, 1H), 7.29 - 7.12 (m, 5H), 4.75 (br s, 1H), 4.02 (br s, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.36 - 3.26 (m, 2H), 3.00 (s, 3H), 2.70 - 2.61 (m, 2H).

실시예 #2: (S)-5-((1-(디플루오로메틸)-1H-피라졸-4-일)에티닐)-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-N-메틸니코틴아미드



N,N-디메틸 포름 아미드(DMF) (1.00 L) 중 5-((1-(디플루오로메틸)-1H-피라졸-4-일)에티닐)니코틴산(제조 #13)(95 g, 361 mmol), N,N-디이소프로필에틸아민(DIEA)(189 mL, 1083 mmol) 및 1-[비스(디메틸아미노)메틸렌]-1H-1,2,3-트리아졸로[4,5-b]피리디늄 3-옥사이드 헥사플루오로 포스페이트(HATU) (151 g, 397 mmol)의 혼합물을 실온에서 약 0.5시간 동안 교반하였다. 이어서, (S)-1-(메틸아미노)-3-페닐프로판-2-올(제조 #2) (59.6 g, 361 mmol)을 첨가하고 혼합물을 실온에서 약 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 물(2.00L)에 붓고 에틸 아세테이트(EtOAc)(3 x 800 mL)로 추출하였다. 유기상을 염수(1.50 L)로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 감압 하에 농축시켰다. 생성된 물질을 0-100% EtOAc/석유 에테르로 용출시키는 실리카 겔 상에서 플래쉬 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 표제 화합물(98 g, 66% 수율)을 수득하였다; LC/MS (표 B, 방법 aa) R_t = 1.21 min; MS m/z: 411 $(M+H)^+$; ^1H NMR (400 ㎒, 디메틸설폭사이드-d_6) δ = 8.78 - 8.66 (m, 2H), 8.62 - 8.50 (m, 1H), 8.12 (d, J = 6.4 ㎐, 1H), 8.03 - 7.69 (m, 2H), 7.30 - 7.07 (m, 5H), 5.17 - 4.95 (m, 1H), 4.06 (br d, J = 2.9 ㎐, 1H), 3.89 (br d, J = 5.4 ㎐, 1H), 3.58 (br dd, J = 3.9, 13.2 ㎐, 1H), 3.41 - 3.35 (m, 1H), 3.20 - 3.11 (m, 1H), 2.98 (br d, J = 14.7 ㎐, 3H), 2.81 - 2.72 (m, 1H), 2.71 - 2.63 (m, 1H).

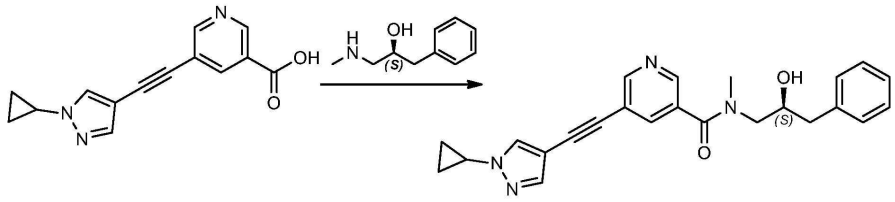
실시예 #3: (S)-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-N-메틸-5-((2-메틸-2H-1,2,3-트리아졸-4-일)에티닐)니코틴아미드



테트라하이드로푸란(THF)(115 mL) 중 5-((2-메틸-2H-1,2,3-트리아졸-4-일)에티닐)니코틴산(제조 #14)(23 g,

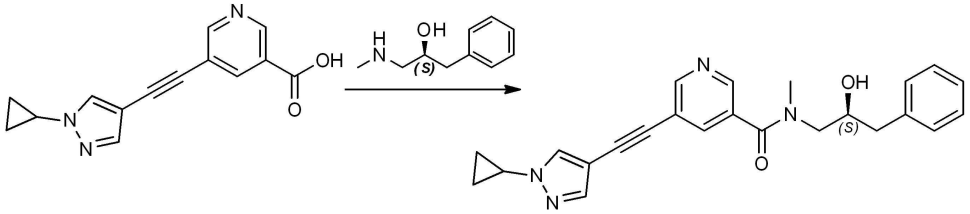
101 mmol)을 포함하는 플라스크에 N,N'-카보닐디이미다졸(CDI)(24.51 g, 151 mmol)을 첨가하고 혼합물을 실온에서 약 5시간 동안 교반하였다. 반응물을 테트라하이드로푸란(THF)(115 mL) 중 (S)-1-(메틸아미노)-3-페닐프로판-2-올(제조 #2)(27.8 g, 151 mmol) 및 트리에틸아민(TEA)(28.1 mL, 202 mmol) 용액에 첨가하였다. 반응물을 25℃에서 2시간 동안 교반하였다. 반응은 LC/MS에 의해 완료하였다. 반응물을 물(50 mL)로 희석하고 에틸 아세테이트(EtOAc)(300 mL)로 추출하였다. 유기층을 15% 시트르산(300 mL), 염수(500 mL)로 세척하고, 건조시키고, 여과하고 농축시켜 잔류물을 수득하였고, 이를 석유 에테르:EtOAc =100:1~0:1로 실리카 겔 상에서 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 표제 화합물(70 g, 183 mmol, 91% 수율)을 수득하였다. (표 B, 방법 bb) R_t = 4.24 min; MS m/z: 376 $(M+H)^+$; ^1H NMR (90℃에서 500 ㎒ 디메틸설폭사이드-d_6) δ 8.75 (s, 1H), 8.58 (s, 1H), 8.03 (s, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.33 - 7.09 (m, 5H), 4.84 - 4.68 (브로드 m, 1H), 4.21 (s, 3H), 4.10 - 3.96 (브로드 m, 1H), 3.53 - 3.19 (브로드 m, 2H), 3.01 (s, 3H), 2.75 - 2.59 (브로드 m, 2H).

실시예 #4: (S)-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-N-메틸-5-((1-(트리플루오로메틸)-1H-피라졸-4-일)에티닐)니코틴아미드



2-(3H-[1,2,3]트리아졸로[4,5-b]피리딘-3-일)-1,1,3,3-테트라메틸이소우로늄 테트라플루오로보레이트(TBTU)(859 mg, 2.67 mmol)를 (S)-1-(메틸아미노)-3-페닐프로판-2-올(제조 #2) (441 mg, 2. 67 mmol)의 용액에 첨가하고, N,N-디메틸포름아미드(DMF)(12.4 mL) 중 5-((1-(트리플루오로메틸)-1H-피라졸-4-일)에티닐)니코틴산(제조 #15)(500 mg, 1.778 mmol) 및 N,N-디이소프로필에틸아민(DIEA)(0.932 mL, 5.33 mmol)을 약 36시간 동안 실온에서 교반하였다. 에틸 아세테이트(EtOAc)(10 mL)를 첨가하고, 혼합물을 물(2 mL)과 염수(10 mL)로 세척하고 황산마그네슘상에서 건조시킨 다음, 감압 하에 농축하였다. 미정제 생성물을 50-100% 에틸 아세테이트(EtOAc)/헥산으로 용출시키는 실리카 겔 상에서 플래쉬 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 표제 화합물(655 mg, 78% 수율)을 수득하였다; (표 B, 방법 aa) R_t = 1.38 min; MS m/z: 429 $(M+H)^+$; ^1H NMR (500 ㎒, 디메틸설폭사이드-d_6) δ 9.05 (d, J = 9.7 ㎐, 1H), 8.87 - 8.50 (m, 2H), 8.30 (d, J = 8.0 ㎐, 1H), 8.05 - 7.81 (m, 2H), 7.39 - 7.01 (m, 5H), 5.07 (dd, J = 76.1, 5.6 ㎐, 1H), 4.07 (d, J = 8.9 ㎐, 0.5H), 3.90 (d, J = 8.8 ㎐, 0.5H), 3.58 (dd, J = 13.3, 4.1 ㎐, 0.5H), 3.42 - 3.33 (m, 0.5H), 3.16 (dd, J = 6.3, 3.6 ㎐, 1H), 2.99 (d, J = 18.2 ㎐, 3H), 2.74 (s, 0.5H), 2.72 - 2.61 (m, 0.5H).

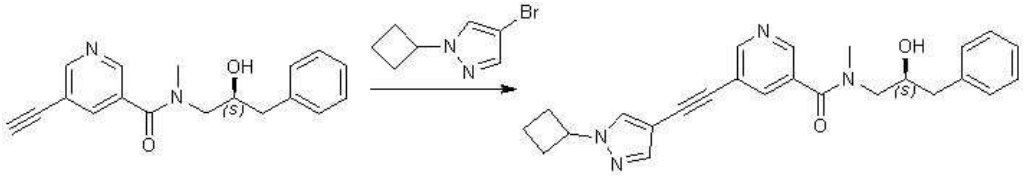
실시예 #5: (S)-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-N-메틸-5-((1-(트리플루오로메틸)-1H-피라졸-4-일)에티닐)니코틴아미드



디클로로메탄(DCM)(20 mL) 및 테트라하이드로푸란(THF)(10 mL) 중 1-[비스(디메틸아미노)메틸렌]-1H-1,2,3-트리아졸로[4,5-b]피리디늄 3-옥사이드 헥사플루오로포스페이트(HATU)(882 mg, 2.319 mmol), 5-((1-사이클로프로필-1H-피라졸-4-일)에티닐)니코틴산(제조 #16)(534 mg, 2. 109 mmol), (S)-1-(메틸아미노)-3-페닐프로판-2-올(제조 #2)(383 mg, 2.319 mmol) 및 N,N-디이소프로필에틸아민(DIEA)(1.105 mL, 6.33 mmol)의 용액을 첨가하고 실온에서 약 16시간 동안 교반하였다. 이어서, 추가의 N,N-디이소프로필에틸아민(DIEA)(1.105 mL, 6.33 mmol), (S)-1-(메틸아미노)-3-페닐프로판-2-올(160 mg, 0.968 mmol) 및 HATU(882 mg, 2.319 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 이어서, 반응 혼합물을 포화 수성 염화암모늄(2 x 50 mL)으로 세척한 DCM(50 mL)으로 희석하였다. 유기물 부분을 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에

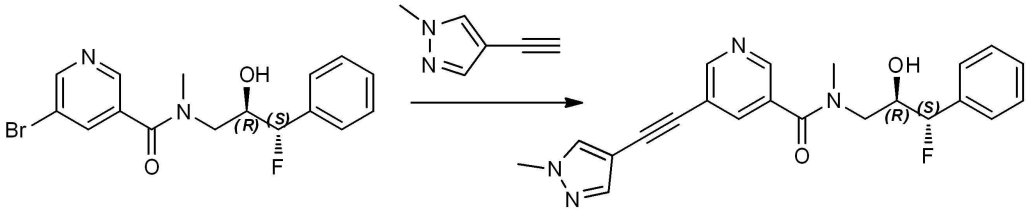
농축시켰다. 생성된 미정제 물질을 0-6% 메탄올/디클로로메탄(DCM)으로 용출시키는 실리카 겔 상에서 플래쉬 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 표제 화합물(460 mg, 52% 수율)을 수득하였다. (표 B, 방법 cc) R_t = 1.89 min; MS m/z: 401 $(M+H)^+$; ^1H NMR (500 ㎒, 디메틸설폭사이드-d_6) δ 8.67 (dd, J = 31.1, 2.0 ㎐, 1H), 8.53 (dd, J = 33.8, 2.0 ㎐, 1H), 8.25 (d, J = 8.5 ㎐, 1H), 7.88 (dt, J = 53.3, 2.1 ㎐, 1H), 7.74 (d, J = 7.5 ㎐, 1H), 7.29 (d, J = 4.5 ㎐, 2H), 7.23 - 7.08 (m, 2H), 5.06 (dd, J = 70.9, 5.6 ㎐, 1H), 4.10 - 3.84 (m, 1H), 3.78 (dh, J = 6.9, 3.3 ㎐, 1H), 3.69 - 3.51 (m, 1H), 3.43 - 3.33 (m, 1H), 3.21 - 3.09 (m, 2H), 2.98 (d, J = 18.2 ㎐, 3H), 2.80 - 2.62 (m, 1H), 1.13 - 1.04 (m, 2H), 1.04 - 0.96 (m, 2H).

실시예 #6. (S)-5-((1-사이클로부틸-1H-피라졸-4-일)에티닐)-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-N-메틸니코틴아미드



질소 주입 바늘이 장착된 격막 캡이 장착된 7 mL 반응 바이알에 테트라하이드로푸란(THF)(2 mL) 중 (S)-5-에티닐-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-N-메틸니코틴아미드(제조 #9)(0.140 g, 0.476 mmol), 4-브로모-1-사이클로부틸-1H-피라졸(0.096 g, 0.476 mmol), 인산칼륨(0.121 g, 0.571 mmol) 및 비스(트리-tert-부틸포스핀)팔라듐(0)(0.012 g, 0.024 mmol)을 충전하였다. 반응 혼합물에 약 20분 동안 질소를 분사한 다음, 약 50℃에서 약 10시간 동안 가열하였다. 반응물을 실온으로 냉각시켰다. 반응물을 셀라이트 패드를 통해 여과한 다음, 필터 케이크를 에틸 아세테이트(EtOAc)로 헹구었다. 여과물을 진공에서 농축시켰다. 미정제 잔류물을 0-100% EtOAc/헵탄으로 용출시킨 후 0-5% 메탄올/EtOAc로 용출시키는 실리카 겔 상에서 플래쉬 크로마토그래피로 정제하였다. 용출액을 진공 농축하여 표제 화합물(0.056 g, 28% 수율)을 수득하였다; LC/MS(표 B, 방법 aa) R_t = 1.33 min; MS m/z: 415 $(M+H)^+$; ^1H NMR (400 ㎒, 디메틸설폭사이드-d_6) δ 8.67 (d, J = 24.6 ㎐, 1H), 8.52 (d, J = 26.4 ㎐, 1H), 8.27 (d, J = 6.6 ㎐, 1H), 7.96 - 7.71 (m, 2H), 7.34 - 7.05 (m, 5H), 5.16-4.92 (m, 1H), 4.11-3.83 (m, 1H), 3.23 - 3.07 (m, 1H), 2.98 (d, J = 14.1 ㎐, 3H), 2.79 - 2.62 (m, 1H), 2.48-2.43 (m, 7H), 1.88 - 1.71 (m, 2H).

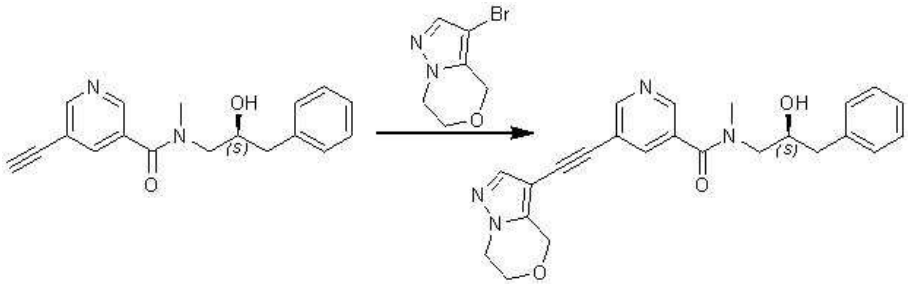
실시예 #7: N-((2R,3S)-3-플루오로-2-하이드록시-3-페닐프로필)-N-메틸-5-((1-메틸-1H-피라졸-4-일)에티닐)니코틴아미드



질소 주입 바늘이 장착된 격막 캡이 장착된 20 mL 반응 바이알에 4-에티닐-1-메틸-1H-피라졸(제조 #10) (0.105 g, 0.987 mmol), 5-브로모-N-((2R,3S)-3-플루오로-2-하이드록시-3-페닐프로필)-N-메틸니코틴아미드(제조 #17) (0.29 g, 0.79 mmol), 클로로(2-디사이클로헥실포스피노-2′,4′,6′-트리이소프로필-1,1′-바이페닐)[2-(2′-아미노-1,1′-바이페닐)]팔라듐(II) (XPhos Pd G2) (0.031 g, 0.039 mmol) 및 탄산세슘 (0.322 g, 0.987 mmol)을 충전하였다. 반응물을 질소로 플러싱하였다. 아세토니트릴(MeCN)(3.95 mL)을 첨가하고 혼합물에 질소를 분사하였다. 반응 혼합물을 약 65℃에서 약 3시간 동안 가열하였다. 반응물을 실온으로 냉각시켰다. 반응물을 셀라이트 패드를 통해 여과한 다음, 필터 케이크를 에틸 아세테이트(EtOAc)로 헹구었다. 여과물을 진공에서 농축시켰다. 미정제 잔류물을 0-100% EtOAc/헵탄으로 용출시키는 실리카 겔 상에서 플래쉬 크로마토그래피로 정제하였다. 물질을 진공 하에 건조시켜 표제 화합물(0.139 g, 45% 수율)을 수득하였다; LC/MS(표 B, 방법 aa) R_t = 1.04 min; MS m/z: 393 $(M+H)^+$; ^1H NMR (400 ㎒, 디메틸설폭사이드-d_6) δ 8.66 (d, J = 35.0 ㎐, 1H), 8.49 (d, J = 30.1 ㎐, 1H), 8.13 (d, J = 5.5 ㎐, 1H), 7.84 (d, J = 39.3 ㎐, 1H), 7.73 (s, 1H), 7.48-7.23 (m, 5H), 5.67 - 5.16 (m, 2H), 4.31 - 4.00 (m, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.39-3.19 (m, 2H), 2.98 (d, J =

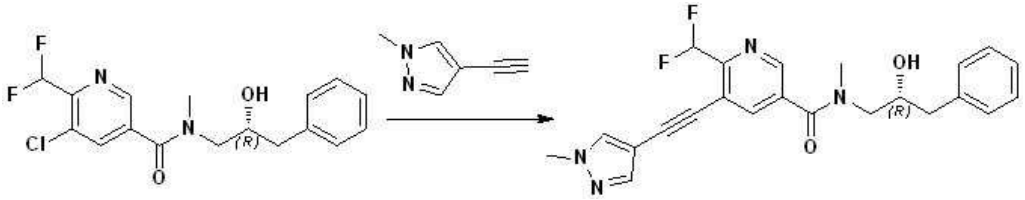
20.7 Hz, 3H).

실시예 #8: (S)-5-((6,7-디하이드로-4H-피라졸로[5,1-c][1,4]옥사진-3-일)에티닐)-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-N-메틸니코틴아미드



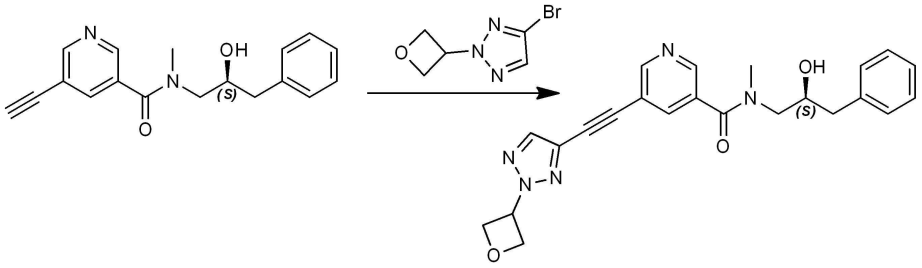
반응 바이알에 (S)-5-에티닐-N-(2-하이드록시-3-페닐 프로필)-N-메틸니코틴아미드(제조 #9) (0.192 g, 0.652 mmol), 3-브로모-6,7-디하이드로-4H-피라졸로[5,1-c][1,4]옥사진(제조 #5) (0.301 g, 0.652 mmol), K_3PO_4(0.166 g, 0.783 mmol), 비스(트리-tert-부틸포스핀)팔라듐(0)(Pd(P-tBu_3)$_2$) (0.017 g, 0.033 mmol) 및 테트라하이드로푸란(THF) (2.2 mL)을 충전하였다. 반응 혼합물에 약 20분 동안 N_2를 분사한 다음, 약 20시간 동안 약 50℃로 가열하였다. 반응 혼합물을 실온으로 냉각하고 셀라이트 패드를 통해 여과하였다. 필터 케이크를 에틸 아세테이트(EtOAc)로 헹구고, 합한 여과물을 진공에서 농축시켰다. 미정제 단리물을 플래쉬 크로마토그래피(헵탄 중 0%-100% 에틸 아세테이트(EtOAc)에 이어서 EtOAc 중 0~5%의 메탄올)를 통해 정제하여 표제 생성물(0.12 g, 44% 수율)을 수득하였다. LC/MS(표 B, 방법 aa) R_t = 1.04 min; MS m/z: 417 $(M+H)^+$. ^{1}H NMR (400 ㎒, 디메틸설폭사이드-d_6) (회전이성질체 존재) δ: 8.74 - 8.61 (m, 1H), 8.60 - 8.46 (m, 1H), 7.97 - 7.81 (m, 1H), 7.81 - 7.73 (m, 1H), 7.33 - 7.25 (m, 2H), 7.25 - 7.06 (m, 3H), 5.16 - 4.88 (m, 3H), 4.18 - 3.83 (m, 5H), 3.62 - 3.33 (m, 1H), 3.21 - 3.10 (m, 1H), 3.03 - 2.93 (m, 3H), 2.81 - 2.52 (m, 2H).

실시예 #9: (S)-6-(디플루오로메틸)-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-N-메틸-5-((1-메틸-1H-피라졸-4-일)에티닐)니코틴아미드



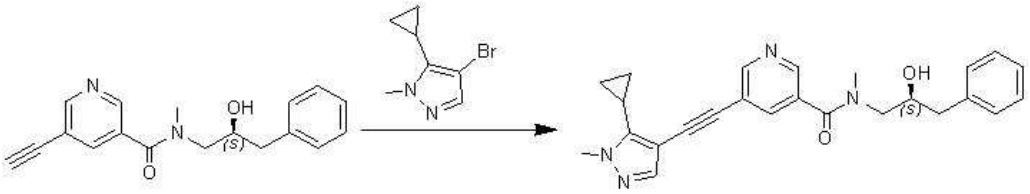
(S)-5-클로로-6-(디플루오로메틸)-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-N-메틸니코틴아미드(100 mg, 0.28 mmol)(제조 #6), 4-에티닐-1-메틸-1H-피라졸(제조 #10)(30 g, 0.28 mmol), 2-디사이클로헥실포스피노-2′,4′,6′-트리이소프로필바이페닐(X-Phos) (27 mg, 0.06 mmol), 비스(아세토니트릴)-디클로로팔라듐(II)(Pd(MeCN)$_2$Cl$_2$)(7.31 mg, 0.03 mmol) 및 Cs_2CO_3(184 mg, 0.56 mmol)를 아세토니트릴(MeCN)(2 mL)에 용해시키고 반응 혼합물에 10분 동안 N2를 분사하였다. 수득한 혼합물을 이어서 약 3시간 동안 약 70℃에서 교반하였다. 반응물을 냉각시키고 용매를 진공에서 제거하였다. 잔류물을 0-10% 메탄올/디클로로메탄(DCM)으로 용출시키는 실리카 겔 상에서 플래쉬 컬럼 크로마토그래피에 적용하여 표제 화합물(54 mg, 43% 수율)을 수득하였다. LC/MS(표 B, 방법 dd) R_t = 1.85 min; MS m/z: 425 $(M+H)^+$; ^{1}H NMR (500 ㎒, 90℃, 디메틸설폭사이드-d_6) δ 8.59 (s, 1H), 8.09 (s, 1H), 7.98 (s, 1H), 7.72 (s, 1H), 7.36 - 6.97 (m, 6H), 4.80 (br s, 1H), 4.04 (s, 1H), 3.90 (br s, 3H), 3.30 (br s, 1H), 3.02 (br s, 4H) 2.71 (br s, 2H).

실시예 #10: (S)-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-N-메틸-5-((2-(옥세탄-3-일)-2H-1,2,3-트리아졸-4-일)에티닐)니코틴아미드



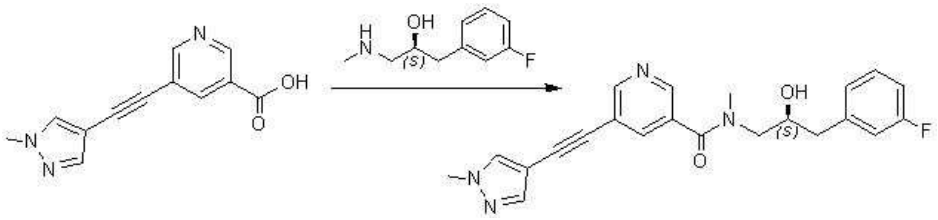
바이알에 (S)-5-에티닐-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-N-메틸니코틴아미드(제조 #9) (0.120 g, 0.41 mmol), 4-브로모-2-(옥세탄-3-일)-2H-1,2,3-트리아졸(제조 #7) (0.125 g, 0.61 mmol), Cs_2CO_3(0.398 g, 1.22 mmol), 비스(아세토니트릴) 디클로로 팔라듐(II) ($Pd(MeCN)_2Cl_2$) (5 mg, 0.02 mmol), 및 2-디사이클로헥실포스피노-2′,4′,6′-트리이소프로필바이페닐(X-Phos)(19 mg, 0.04 mmol)을 첨가하고 바이알을 비우고 N_2(x 3)로 다시 충전하였다. 바이알에 아세토니트릴(MeCN)(3.2 mL)을 첨가하고 약 5분 동안 N_2를 분사한 다음, 약 18시간 동안 약 70℃로 가열하였다. 혼합물을 실온으로 냉각하고, 셀라이트를 통해 여과하고, 에틸 아세테이트(EtOAc)(40 mL)로 세척하였다. 용액을 진공 농축시키고, 실리카 겔 상에서 플래쉬 크로마토그래피(0-5% 메탄올/디클로로메탄(DCM))로 2회 정제하였다. 고체를 메틸 tert-부틸 에테르(MTBE)로 분쇄한 다음, 건조시켜 표제 화합물(13 mg, 7% 수율)을 수득하였다; LC/MS(표 B, 방법 ee) R_t = 1.77 min; MS m/z 418 $(M+H)^+$; ^1H NMR (500 ㎒, 90℃에서 디메틸설폭사이드-d_6) δ 8.78 (s, 1H), 8.61 (s, 1H), 8.20 (s, 1H), 7.98 (s, 1H), 7.30 - 7.11 (m, 5H), 5.93 - 5.86 (m, 1H), 5.08 - 5.03 (m, 2H), 5.00 - 4.96 (m, 2H), 4.83 - 4.71 (m, 1H), 4.11 - 3.97 (m, 1H), 3.45 - 3.24 (m, 2H), 3.02 (s, 3H), 2.76 - 2.60 (m, 2H).

실시예 #11: (S)-5-((5-사이클로프로필-1-메틸-1H- 피라졸-4-일)에티닐)-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-N-메틸니코틴아미드



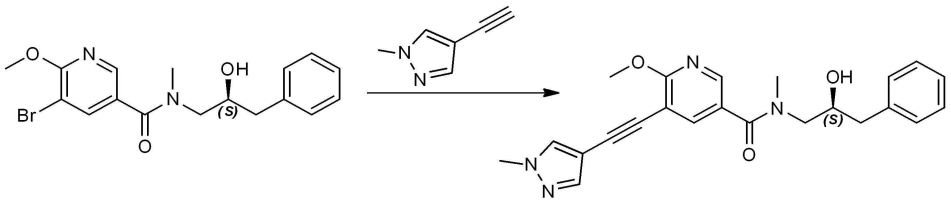
바이알에 (S)-5-에티닐-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-N-메틸니코틴아미드(제조 #9) (60 mg, 0.20 mmol), 4-브로모-5-사이클로프로필-1-메틸-1H-피라졸(82 mg, 0.41 mmol), Cs_2CO_3(199 mg, 0.61 mmol), 비스(아세토니트릴) 디클로로팔라듐(II) ($Pd(MeCN)_2Cl_2$) (5 mg, 0.019 mmol), 및 2-디사이클로헥실포스피노-2′,4′,6′-트리이소프로필바이페닐(X-Phos)(19 mg, 0.04 mmol)을 첨가하고, 바이알을 비우고, N_2(x 3)로 다시 충전하였다. 바이알에 아세토니트릴(MeCN)(2 mL)을 첨가하고, 혼합물에 약 5분 동안 N_2를 분사한 다음, 약 4시간 동안 약 70℃로 가열하였다. 혼합물을 에틸 아세테이트(EtOAc) (10 mL)로 헹구면서 셀라이트를 통해 여과하였다. 용액을 진공에서 농축시키고, 실리카 겔 상에서 플래쉬 크로마토그래피(0-100% 에틸 아세테이트(EtOAc)/이소헥산)를 통해 정제하여 표제 화합물(16 mg, 18% 수율)을 수득하였다; LC/MS (표 B, 방법 b) R_t = 1.21 min; MS m/z 415 $(M+H)^+$; ^1H NMR (500 ㎒, 90℃에서 디메틸설폭사이드-d_6) δ 8.63 (d, J = 2.0 ㎐, 1H), 8.50 (d, J = 2.0 ㎐, 1H), 7.80 (d, J = 2.1 ㎐, 1H), 7.53 (s, 1H), 7.27 - 7.13 (m, 5H), 4.76 (br s, 1H), 4.08 - 4.02 (m, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.44 - 3.35 (m, 2H), 3.01 (s, 3H), 2.67 - 2.62 (m, 2H), 1.97 (ddd, J = 13.8, 8.1, 5.7 ㎐, 1H), 1.13 - 1.04 (m, 4H).

실시예 #12: (S)-N-(3-(3-플루오로페닐)-2-하이드록시프로필)-N-메틸-5-((1-메틸-1H- 피라졸-4-일)에티닐)니코틴아미드



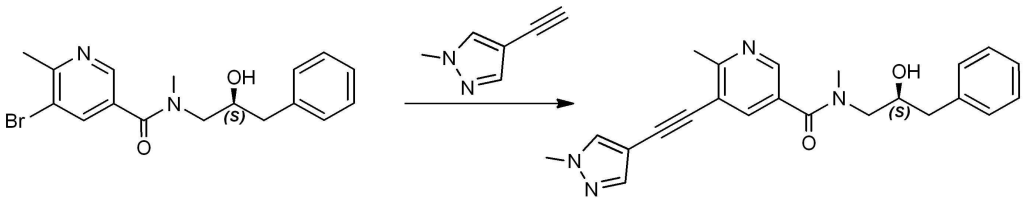
2-(3H-[1,2,3]트리아졸로[4,5-b]피리딘-3-일)-1,1,3,3-테트라메틸이소우로늄테트라플루오로-보레이트(TBTU)(127 mg, 0.393 mmol)를 N,N-디메틸포름아미드(DMF)(2 mL) 중 (S)-1-(3-플루오로페닐)-3-(메틸 아미노)프로판-2-올(제조 #4)(60 mg, 0.327 mmol), 5-((1-메틸-1H-피라졸-4-일)에티닐)니코틴산(제조 #12)(74.4 mg, 0.327 mmol) 및 N,N-디이소프로필에틸아민(DIEA)(0.172 mL, 0.982 mmol)의 용액에 실온에서 첨가하고 약 18시간 동안 교반하였다. 혼합물을 에틸 아세테이트(EtOAc) (10 mL) 및 포화 수성 NH_4Cl(10 mL)로 희석하고, 층을 분리하였다. 유기층을 포화 수성 NaCl(3 x 10 mL)로 세척하고 $MgSO_4$ 상에서 건조시키고, 진공에서 농축시켰다. 미정제 물질을 실리카 겔 상에 플래쉬 크로마토그래피(0-10% 메탄올/디클로로메탄(DCM))에 이어서 역상 크로마토그래피(H_2O(+ 0.1% 중탄산암모늄)에서 15-75% 아세토니트릴(MeCN))로 정제하여 표제 화합물(72 mg, 53% 수율)을 수득하였다; LC/MS(표 B, 방법 ee) R_t = 1.74 min; MS m/z 393 $(M+H)^+$. ^1H NMR (500 ㎒, 90℃에서 디메틸설폭사이드-d_6) δ 8.66 (d, J = 2.0 ㎐, 1H), 8.52 (d, J = 2.0 ㎐, 1H), 8.04 (s, 1H), 7.84 (s, 1H), 7.68 (s, 1H), 7.28 (q, J = 7.5 ㎐, 1H), 7.04 (s, 2H), 6.99 - 6.94 (m, 1H), 4.82 (br s, 1H), 4.04 (br s, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.44 - 3.27 (m, 2H), 3.01 (s, 3H), 2.76 - 2.61 (m, 2H).

실시예 #13: (S)-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-6-메톡시-N-메틸-5-((1-메틸-1H-피라졸-4-일)에티닐)니코틴아미드



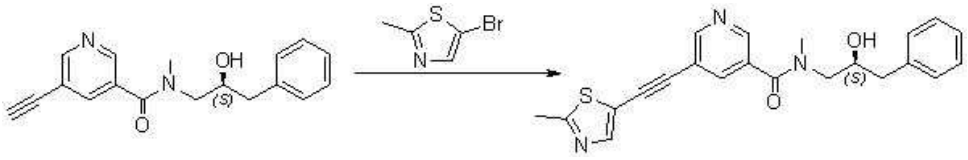
플라스크에 (S)-5-브로모-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-6-메톡시-N-메틸니코틴아미드(제조 #18) (0.220 g, 0.464 mmol), Cs_2CO_3(0.189 g, 0.580 mmol), 비스(아세토니트릴)디클로로팔라듐(II) ($Pd(MeCN)_2Cl_2$)(6 mg, 0.023 mmol), XPhos(0.022 g, 0.046 mmol) 및 아세토니트릴(MeCN)(4 mL)을 첨가하였다. 반응물에 10분 동안 N_2를 분사하고, 아세토니트릴(MeCN)(1 mL) 중 4-에티닐-1-메틸-1H-피라졸(제조 #10)(0.075 g, 0.707 mmol)을 첨가하였다. 이어서, 반응물을 약 30분 동안 약 75℃로 가열하였다. 혼합물을 진공에서 농축시키고, 실리카 겔 상에서 플래쉬 크로마토그래피(0-100% 에틸 아세테이트(EtOAc)/이소헥산))로 정제하여 무색 오일을 수득하였다. 오일을 메탄올(1 mL)과 아세트산(AcOH)(0.2 mL)에 용해시키고, 강한 양이온 교환(SCX) 패드에 부하하였다. 패드를 메탄올(20 mL)로 세척한 후, 메탄올(20 mL) 중 0.7 M NH_3으로 세척하였다. 염기성 용액을 농축시키고 실리카 겔(0-10% 메탄올/디클로로메탄(DCM)) 상에서 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 표제 화합물(25 mg, 13% 수율)을 수득하였다; LC/MS(표 B, 방법 b) R_t = 1.86 min; MS m/z 405 $(M+H)^+$; ^1H NMR (500 ㎒, 90℃에서 디메틸설폭사이드-d_6) δ 8.16 (d, J = 2.3 ㎐, 1H), 8.00 (s, 1H), 7.78 (d, J = 2.3 ㎐, 1H), 7.64 (s, 1H), 7.28 - 7.12 (m, 5H), 4.71 (d, J = 5.6 ㎐, 1H), 3.99 (s, 3H), 3.87 (s, 3H), 3.39 (s, 1H), 3.32 (dd, J = 13.8, 8.4 ㎐, 1H), 3.01 (s, 3H), 2.70 - 2.60 (m, 2H).

실시예 #14: (S)-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-N,6-디메틸-5-((1-메틸-1H-피라졸-4-일)에티닐)니코틴아미드



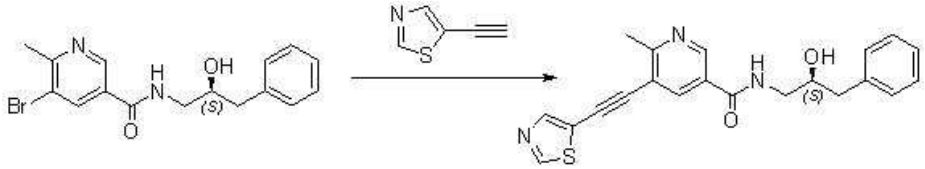
(S)-5-브로모-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-N,6-디메틸니코틴아미드(제조 #19)(130 mg, 0.358 mmol), 4-에티닐-1-메틸-1H-피라졸(제조 #10)(76 mg, 0.716 mmol), 2-디사이클로헥실포스피노-2′,4′,6′-트리이소프로필바이페닐(X-Phos) (17 mg, 0.036 mmol), 비스(아세토니트릴) 디클로로팔라듐(II)($Pd(MeCN)_2Cl_2$)(5 mg, 0.018 mmol) 및 Cs_2CO_3(140 mg, 0.429 mmol)을 아세토니트릴(MeCN)(6 mL)에 용해시키고, 혼합물에 10분 동안 N_2를 분사하였다. 이어서, 혼합물을 약 70℃에서 약 3시간 동안 교반하였다. 반응물을 냉각시키고, 에틸 아세테이트(EtOAc)(20 mL)로 헹구면서 셀라이트 패드를 통해 여과하였다. 용매를 진공에서 제거하고, 잔류물을 셀라이트에 사전 흡착시키고, 실리카 겔 상에서 플래쉬 크로마토그래피(0-10% 메탄올/디클로로메탄(DCM))로 정제하여 표제 화합물(106 mg, 75% 수율)을 수득하였다; LC/MS(표 B, 방법 a) R_t = 1.73 min; MS m/z 389 $(M+H)^+$. ^1H NMR (500 ㎒, 90℃에서 디메틸설폭사이드-d_6) δ 8.38 (d, J = 2.1 ㎐, 1H), 8.04 (s, 1H), 7.74 (d, J = 2.1 ㎐, 1H), 7.67 (s, 1H), 7.27 - 7.13 (m, 5H), 4.81 - 4.61 (m, 1H), 4.08 - 3.97 (m, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.49 - 3.23 (m, 2H), 3.00 (s, 3H), 2.71 - 2.66 (m, 2H), 2.64 (s, 3H).

실시예 #15: (S)-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-N-메틸-5-((2-메틸티아졸-5-일)에티닐)니코틴아미드



바이알에 5-브로모-2-메틸티아졸(181 mg, 1.02 mmol), (S)-5-에티닐-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-N-메틸니코틴아미드(제조 #9) (150 mg, 0.51 mmol), Cs_2CO_3(498 mg, 1.53 mmol), 비스(아세토니트릴) 디클로로팔라듐(II) ($Pd(MeCN)_2Cl_2$) (9.3 mg, 0.04 mmol), 및 2-디사이클로헥실포스피노-2′,4′,6′-트리이소프로필바이페닐(X-Phos)(24.3 mg, 0.05 mmol)을 첨가하고 바이알을 비우고 N_2(x 3)로 다시 충전하였다. 바이알에 아세토니트릴(5 mL)을 첨가하고 혼합물에 약 5분 동안 N_2를 분사한 다음, 약 3시간 동안 약 85℃로 가열하였다. 혼합물을 에틸 아세테이트(EtOAc)(40 mL)로 헹구면서 셀라이트를 통해 여과하였다. 용액을 진공에서 농축시키고, 실리카 겔 상에서 플래쉬 크로마토그래피(0-5% 메탄올/디클로로메탄(DCM))로 정제하여 잔류물을 수득하였고, 상기 잔류물을 메틸 tert-부틸 에테르(MTBE)로 분쇄하고, 건조시켜 표제 화합물(50 mg, 24% 수율)을 수득하였다; LC/MS (표 B, 방법 ee) R_t = 1.89 min; MS m/z 392 $(M+H)^+$; ^1H NMR (500 ㎒, 90℃에서 디메틸설폭사이드-d_6) δ 8.73 (s, 1H), 8.57 (s, 1H), 7.96 (s, 1H), 7.92 (s, 1H), 7.30 - 7.10 (m, 5H), 4.82 - 4.70 (브로드 m, 1H), 4.10 - 3.95 (브로드 m, 1H), 3.51 - 3.21 (브로드 m, 2H), 3.01 (s, 3H), 2.71 (s, 3H), 2.73 - 2.58 (브로드 m, 2H).

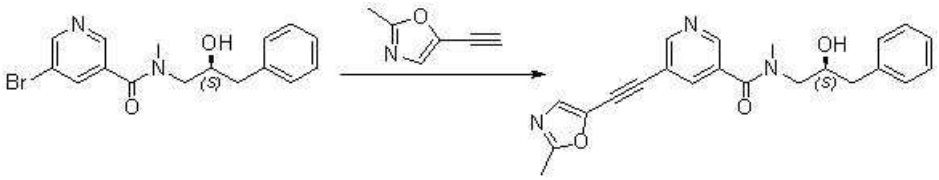
실시예 #16: (S)-N-2-하이드록시-3-페닐프로필)-6-메틸-5-(티아졸-5-일에티닐)니코틴아미드



바이알에 5-에티닐티아졸(30.6 mg, 0.28 mmol), (S)-5-브로모-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-6-메틸니코틴아미드 (제조 #20) (70 mg, 0.20 mmol) 및 CuI(7.6 mg, 0.04 mmol)를 충전하고, 바이알을 비우고, N_2(x 3)를 다시 충전하였다. N,N-디메틸포름아미드(DMF) (3 mL) 및 Et_3N(498 mg, 1.53 mmol)을 첨가하고 반응 혼합물에 약 15

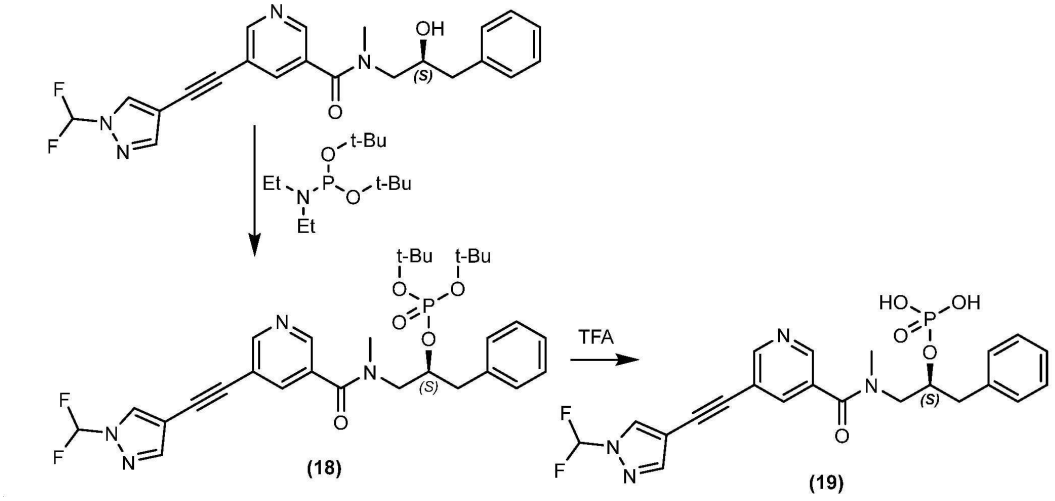
분 동안 N_2를 분사하였다. 비스(트리페닐포스핀)팔라듐(II) 디클로라이드($Pd(PPh_3)_2Cl_2$)(16.9 mg, 0.02 mmol)를 첨가하고, 반응 혼합물을 약 18시간 동안 약 90℃로 가열하였다. 혼합물을 에틸 아세테이트(EtOAc)(10 mL)로 헹구면서 셀라이트를 통해 여과하였다. 용액을 진공에서 농축시키고, 잔류물을 실리카 겔 상에서 플래쉬 크로마토그래피(0-10% 메탄올/디클로로메탄(DCM))로 정제하여 표제 화합물(17 mg, 21% 수율)을 수득하였다; LC/MS (표 B, 방법 ee) R_t = 2.03 min; MS m/z 378 $(M+H)^+$; ^1H NMR (500 ㎒, 디메틸설폭사이드-d_6) δ 9.23 (s, 1H), 8.88 (d, J = 2.3 ㎐, 1H), 8.64 (t, J = 5.7 ㎐, 1H), 8.33 (d, J = 2.3 ㎐, 1H), 8.31 (s, 1H), 7.31 - 7.21 (m, 4H), 7.21 - 7.14 (m, 1H), 4.92 (d, J = 5.4 ㎐, 1H), 3.92 - 3.84 (m, 1H), 3.38 - 3.29 (m, 1H), 3.25 - 3.18 (m, 1H), 2.76 (dd, J = 13.6, 5.0 ㎐, 1H), 2.69 (s, 3H), 2.65 (dd, J = 13.7, 7.6 ㎐, 1H).

실시예 #17: (S)-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-N-메틸-5-((2-메틸옥사졸-5-일)에티닐)니코틴아미드



(S)-5-브로모-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-6-메틸니코틴아미드(제조 # 20) (318 mg, 0.91 mmol), Cs_2CO_3(365 mg, 1.1 mmol), 비스(아세토니트릴) 디클로로팔라듐(II) ($Pd(MeCN)_2Cl_2$) (12 mg, 0.05 mmol) 및 2-디사이클로헥실포스피노-2′,4′,6′-트리이소프로필바이페닐(X-Phos)(43 mg, 0.09 mmol)을 MeCN(9 mL)에 용해시키고 MeCN(1 mL) 중 5-에티닐-2-메틸옥사졸(제조 #21)(0.19 g, 0.91 mmol)의 용액을 첨가하였다. 반응 혼합물에 약 5분 동안 N_2를 분사한 다음, 약 3시간 동안 약 60℃로 가열하였다. 혼합물을 셀라이트를 통해 여과하고 용매를 진공에서 농축시키고, 생성된 잔류물을 실리카 겔 상에서 플래쉬 크로마토그래피(0-10% MeOH/DCM)로 정제하여 표제 화합물(25 mg, 7%)을 수득하였다; LC/MS(표 B, 방법 ee) R_t = 1.92 min; MS m/z 376 $(M+H)^+$; ^1H NMR (500 ㎒, 90℃에서 디메틸설폭사이드-d_6) δ 8.79 - 8.72 (m, 1H), 8.59 (d, J = 2.1 ㎐, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.21 (dt, J = 31.1, 7.3 ㎐, 5H), 4.76 (br s, 1H), 4.02 (br s, 1H), 3.30 (br s, 2H), 3.01 (s, 3H), 2.64 (d, J = 9.1 ㎐, 2H), 2.48 (s, 3H).

실시예 #18 및 19: (S)-디-tert-부틸(1-(5-((1-(디플루오로메틸)-1H-피라졸-4-일)에티닐)-N-메틸니코틴아미도)-3-페닐프로판-2-일) 포스페이트(실시예 #18) 및 (S)-1-(5-((1-(디플루오로메틸)-1H-피라졸-4-일)에티닐)-N-메틸니코틴아미도)-3-페닐프로판-2-일 디하이드로겐 포스페이트(실시예 #19)

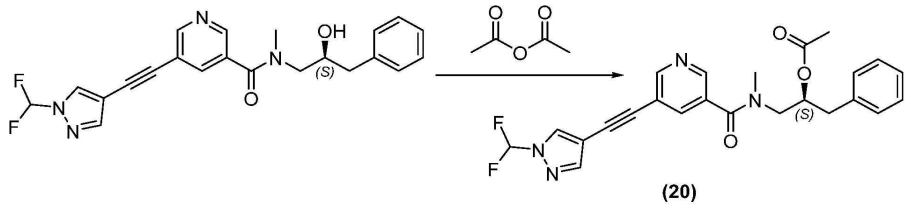


N-메틸-2-피롤리디논(1000 mL) 중 (S)-5-((1-(디플루오로메틸)-1H-피라졸-4-일)에티닐)-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-N-메틸니코틴아미드(실시예 #2) (500 mg, 1. 22 mmol)의 용액에 디-tert-부틸 디에틸포스포르아미디트(304 mg, 1.22 mmol)와 1H-테트라졸(10.8 mL, 4.87 mmol)을 N_2 하에 20℃에서 1분획으로 첨가하였다. 혼합물을 40℃에서 3시간 동안 교반하였다. 과산화수소(5.0 mL, 49 mmol)를 0℃에서 용액에 첨가하고, 혼합물을 추가

로 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 포화 Na_2SO_3(75 mL)에 붓고, 에틸 아세테이트(EtOAc) (3 × 100 mL)로 추출하였다. 유기상을 염수(100 mL)로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 감압 하에 농축시켜 미정제 t-부틸 포스페이트 에스테르를 수득하고, 이는 실리카 겔 상에서 크로마토그래피(석유 에테르: 에틸 아세테이트=1:1-1:4)하여 (S)-디-tert-부틸(1-(5-((1-(디플루오로 메틸)-1H-피라졸-4-일) 에티닐)-N-메틸니코틴아미도)-3-페닐프로판-2-일) 포스페이트(실시예 # 18) (384 mg, 0.64 mmol, 52% 수율)를 수득하였다. LC/MS(표 B, 방법 aa) R_t = 1,73 min; MS m/z: 545.20 $(M-tBu)^+$; ^1H NMR (400 ㎒, DMSO-d_6) δ 8.76 - 8.40 (m, 3H), 8.15 - 7.60 (m, 3H), 7.27-7.01 (m, 5H), 4.78-4.46 (br m, 1H), 3.75-2.72 (m, 7H), 1.50-1.18 (m, 18H). tBu = tert-부틸; Et = 에틸.

플라스크에 (S)-디-tert-부틸 (1-(5-((1-(디플루오로메틸)-1H-피라졸-4-일)에티닐)-N-메틸니코틴아미도)-3-페닐프로판-2-일)포스페이트(실시예 #18)(381 mg, .632 mmol), 디클로로메탄(DCM)(5 mL) 및 트리플루오로아세트산(TFA)(0.61 mL, 7.9 mmol)을 충전하고 실온에서 대략 19시간 동안 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시킨 다음, 역상 액체 크로마토그래피(Atlantis® Prep T3 Phenomenex 5 μm 19 x 50 mm 컬럼, 5 대 95 아세토니트릴(MeCN):물(포름산 완충액)을 1 mL/분으로)를 통해 정제하여 표제 화합물, 실시예 #19(230 mg, 0.47 mmol, 74% 수율)를 수득하였다. LC/MS(표 B, 방법 ff) R_t = 1.96 min; MS m/z: 491.0 $(M+H)^+$; ^1H NMR (400 ㎒, DMSO-d_6) δ 8.78 - 8.69 (m, 1H), 8.65 - 8.57 (m, 1H), 8.44 (d, J = 1.0 ㎐, 1H), 8.14 - 8.08 (m, 1H), 8.03 - 7.99 (m, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.88 - 7.84 (m, 1H), 7.76 (s, 1H), 7.73 - 7.69 (m, 1H), 7.35 - 7.28 (m, 2H), 7.27 - 7.21 (m, 1H), 7.19 - 7.12 (m, 1H), 7.03 (br d, J = 7.5 ㎐, 1H), 4.80 - 4.73 (m, 1H), 4.52 - 4.45 (m, 1H), 3.84 - 3.76 (m, 1H), 3.66 (br d, J = 13.5 ㎐, 1H), 3.33 (br dd, J = 9.5, 13.5 ㎐, 1H), 3.27 - 3.11 (m, 1H), 3.08 - 3.00 (m, 1H), 2.97 (s, 1H), 2.95 (br s, 1H), 2.92 (s, 2H), 2.90 - 2.85 (m, 1H), 2.79 - 2.69 (m, 1H), 2.07 (s, 1H), 1.78 (s, 1H), 1.74 (s, 1H).

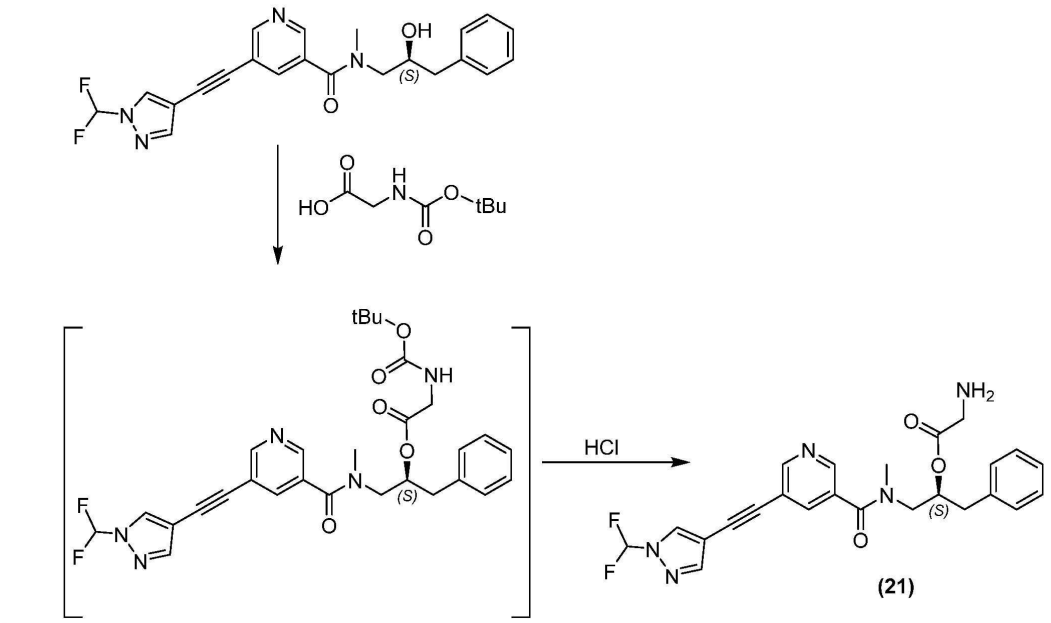
실시예 #20: (S)-1-(5-((1-(디플루오로메틸)-1H-피라졸-4-일)에티닐)-N-메틸니코틴아미도)-3-페닐프로판-2-일 아세테이트



(20)

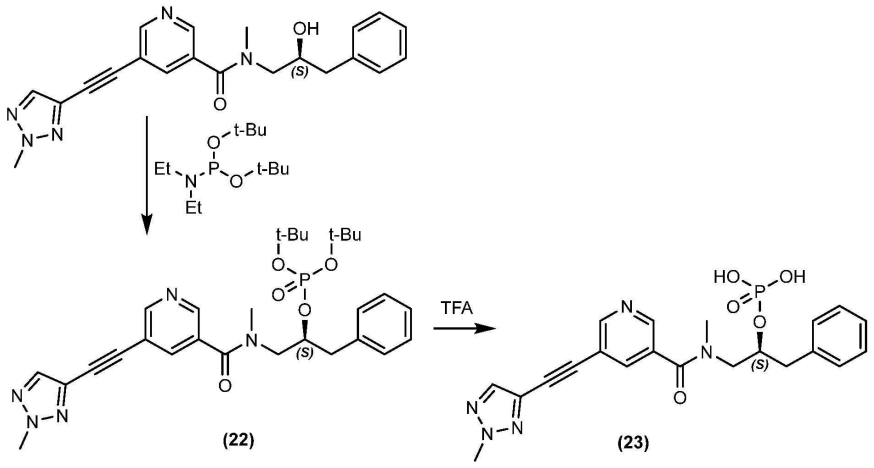
20 mL의 디클로로메탄 중 (S)-5-((1-(디플루오로메틸)-1H-피라졸-4-일)에티닐)-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-N-메틸니코틴아미드(실시예 #2)(2.00 g, 4. 87 mmol)의 용액에 트리에틸아민(2.38 mL, 17.1 mmol), 아세트산 무수물(1.0 mL, 11 mmol) 및 4-디메틸아미노피리딘(0.095 g, 0.78 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 20℃에서 2시간 동안 교반하였다. 이 시간 후, 혼합물을 포화 염화암모늄에 부었다. 유기상을 염수(50 mL)로 추출하고, 황산나트륨 상에서 건조시키고, 농축시켰다. 생성된 잔류물을 분취용 HPLC(표 B, 방법 c)로 정제하여 표제 화합물(1.0 g, 2.1 mmol, 44% 수율)을 수득하였다. ^1H NMR (400 ㎒, 클로로포름-d) δ = 8.74 (br s, 1H), 8.54 (s, 1H), 8.06 (s, 1H), 7.82 (s, 1H), 7.75 (br s, 1H), 7.38 - 7.28 (m, 2H), 7.24 - 7.03 (m, 3H), 5.58 - 5.21 (m, 1H), 4.02 - 3.89 (m, 1H), 3.64 - 3.55 (m, 1H), 3.54 - 3.45 (m, 1H), 3.40 - 3.26 (m, 1H), 3.13 - 2.93 (m, 5H), 2.89 - 2.78 (m, 1H), 2.69 - 2.53 (m, 1H), 2.14 - 1.99 (m, 3H).

실시예 #21: (S)-1-(5-(1-(디플루오로메틸)-1H-피라졸-4-일)에티닐)-N-메틸니코틴아미도)-3-페닐프로판-2-일 2-아미노아세테이트, 염산



5.0 mL의 아세토니트릴 중 2-((tert-부톡시카보닐)아미노)아세트산(0.854 g, 4.87 mmol) 용액에 (S)-5-((1-(디플루오로메틸)-1H-피라졸-3-일)에티닐)-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-N-메틸니코틴아미드(실시예 #2) (2.0 g, 4.9 mmol), N,N'-디사이클로헥실카보디이미드(DCC)(1.05 g, 5.08 mmol) 및 4-디메틸아미노피리딘(DMAP)(0.015 g, 0.12 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 20℃에서 12시간 동안 교반하였다. 이 시간 후, 반응 혼합물을 여과하고 여과물을 진공에서 농축시켜 미정제 중간체, (S)-1-(5-((1-(디플루오로메틸)-1H-피라졸-4-일)에티닐)-N-메틸니코틴아미도)-3-페닐프로판-2-일 (tert-부톡시카보닐)글리시네이트 (2.4 g, 4.2 mmol)를 수득한 다음, 이를 에틸 아세테이트(15 mL)에 용해시켰다. 에틸 아세테이트(4M, 20 mL) 중 염화수소 용액을 첨가하고 반응 혼합물을 20℃에서 30분 동안 교반하였다. 이 시간 후, 혼합물을 압력 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였고, 이를 분취용 HPLC(표 B, 방법 c; R_t = 2,13분)로 정제하여 표제 화합물(1.2 g, 2.3 mmol, 54% 수율)을 수득하였다. ^{1}H NMR (400 ㎒, 디메틸설폭사이드-d_6) δ = 8.88 - 8.70 (m, 2H), 8.61 (d, J = 1.5 ㎐, 1H), 8.57 - 8.42 (m, 3H), 8.19 - 8.09 (m, 1H), 8.09 - 7.74 (m, 2H), 7.37 - 7.29 (m, 3H), 7.28 - 7.15 (m, 2H), 7.08 (br d, J = 6.5 ㎐, 1H), 5.54 - 5.17 (m, 1H), 3.86 - 3.62 (m, 2H), 3.70 - 3.62 (m, 1H), 3.52 - 3.38 (m, 1H), 3.09 - 3.00 (m, 1H), 2.99 (s, 1H), 2.96 (s, 2H), 2.95 - 2.89 (m, 1H), 2.82 - 2.66 (m, 1H). tBu = tert-부틸.

실시예 #22 및 #23: (S)-디-tert-부틸 (1-(N-메틸-5-((2-메틸-5-2H-1,2,3-트리아졸-4-일)에티닐)니코틴아미도)-3-페닐프로판-2-일) 포스페이트(실시예 #22) 및 (S) (1-(N-메틸-5-((2-메틸-2H-1,2,3-트리아졸-4-일)에티닐)니코틴아미도)-3-페닐프로판-2-일) 디하이드로겐 포스페이트(실시예 #23)

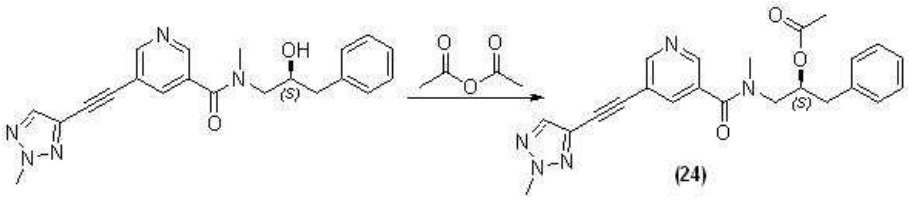


40 mL의 N-메틸피롤리딘 중 (S)-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-N-메틸-5-((2-메틸-2H-1,2,3-트리아졸-4-일)에

티닐)니코틴아미드(실시예 #3)(2.00 g, 5. 33 mmol)의 용액에 디-tert-부틸 디에틸포스포르아미디트(20.0 mL, 5.33 mmol)와 1H-테트라졸(1.493 g, 21.31 mmol)을 질소 하에 20℃에서 1분획으로 첨가하고, 2시간 동안 교반하였다. 이 시간 후, 과산화수소(20.0 mL, 555 mmol)를 0℃에서 용액에 첨가하였다. 혼합물을 20℃에서 1시간 동안 교반하고, 분취액을 제거하고 LC-MS로 분석하였다. LC-MS는 출발 물질이 완전히 소모되고 원하는 생성물(포스페이트 에스테르)이 검출되었음을 보여주었다. 생성된 혼합물을 10℃에서 20 mL의 아황산나트륨을 첨가하여 켄칭한 다음, 30분 동안 교반하였다. 혼합물을 빙수에 부은 다음, 포화 아황산나트륨 용액을 pH=7이 될 때까지 첨가하였다. 혼합물에 에틸 아세테이트(200 mL)를 첨가하고 혼합물을 교반하고 층을 분리하였다. 이 과정을 3회 반복하였다. 유기층을 농축시키고, 미정제 (S)-디-tert-부틸 (1-(N-메틸-5-((2-메틸-2H-1,2,3-트리아졸-4-일)에티닐)니코틴아미도)-3-페닐프로판-2-일) 포스페이트(실시예 #22)를 추가의 정제 없이 다음 단계에 사용하였다. tBu = tert-부틸; Et = 에틸.

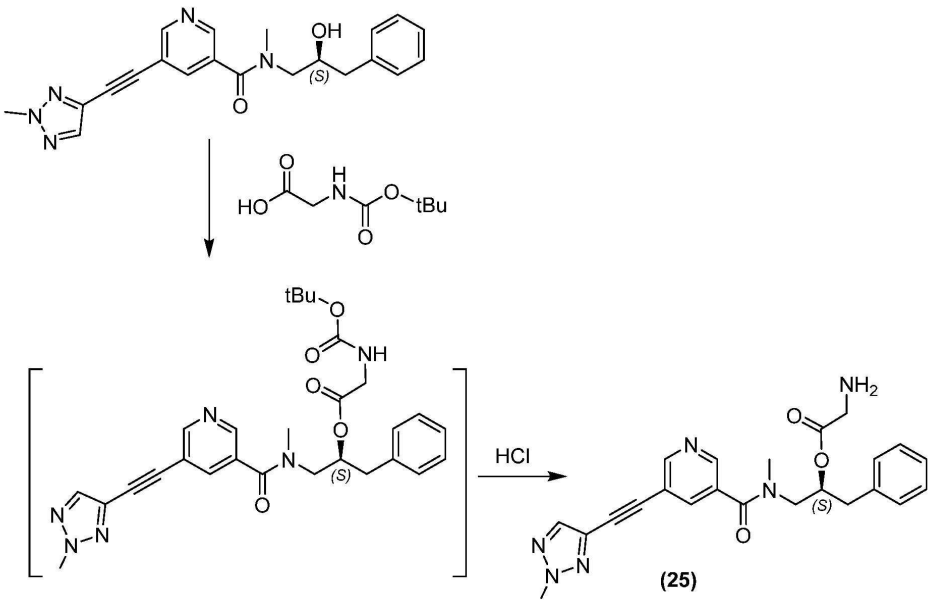
15 mL의 디클로로메탄 중 (S)-디-tert-부틸(1-(N-메틸-5-((2-메틸-2H-1,2,3-트리아졸-4-일)에티닐)니코틴아미도)-3-페닐프로판-2-일) 포스페이트(실시예 #22)(2 g, 3.52 mmol)의 용액에 질소 하에 20℃에서 트리플루오로아세트산(TFA)(5 mL, 64.9 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 2시간 동안 교반하였다. 이 시간 후, 반응물을 농축시키고, 역상 컬럼 크로마토그래피(표 B, 방법 d)로 정제하여 표제 화합물(실시예 #23)(930 mg, 2.00 mmol, 56.8% 수율)을 수득하였다. ^{1}H NMR (400 ㎒, 디메틸설폭사이드-d_6) δ 8.45-8.83 (m, 2H), 7.80-8.17 (m, 2H), 7.21-7.35 (m, 3H), 7.00-7.19 (m, 2H), 4.43-4.82 (m, 1H), 4.17-4.29 (m, 3H), 3.31-3.70 (m, 1H), 2.72-3.26 (m, 6H).

실시예 #24: (S)-1-(N-메틸-5-((2-메틸-2H-1,2,3-트리아졸-4-일)에티닐)니코틴아미도)-3-페닐프로판-2-일 아세테이트



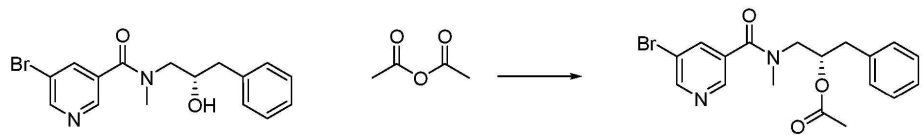
30 mL의 디클로로메탄 중 (S)-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-N-메틸-5-((2-메틸-2H-1,2,3-트리아졸-4-일)에티닐)니코틴아미드(실시예 #3)(1.50 g, 4.00 mmol)의 용액에 트리에틸아민(1.89 mL, 13.6 mmol)과 아세트산 무수물(0.857 g, 8.39 mmol)을 질소 하에 20℃에서 1분획으로 첨가하였다. 혼합물을 20℃에서 12시간 동안 교반하였다. 이 시간 후, 반응물을 50 mL의 물을 사용하여 켄칭하였다. 유기층과 수성층을 분리하고 디클로로메탄(3 x 10 mL)으로 수성상을 추출하였다. 유기층을 합하고, 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 여과하고 농축시키고, 생성물을 플래쉬 크로마토그래피(20-50% EtOAc/헥산)로 단리하여 표제 화합물(1.20 g, 2.86 mmol, 71.6% 수율)을 수득하였다. ^{1}H NMR (400 ㎒, 디메틸설폭사이드-d_6) δ 8.79 (s, 1H), 8.55 (d, J=1.75 ㎐, 1H), 8.06 (s, 1H), 7.90 (s, 1H), 7.10-7.34 (m, 5H), 5.24-5.42 (m, 1H), 4.21 (s, 3H), 3.47-3.70 (m, 2H), 2.97 (s, 3H), 2.76-2.95 (m, 2H), 1.96 (s, 3H).

실시예 #25: (S)-1-(N-메틸-5-((2-메틸-2H-1,2,3-트리아졸-4-일)에티닐)니코틴아미도)-3-페닐프로판-2-일 2-아미노아세테이트, 염산

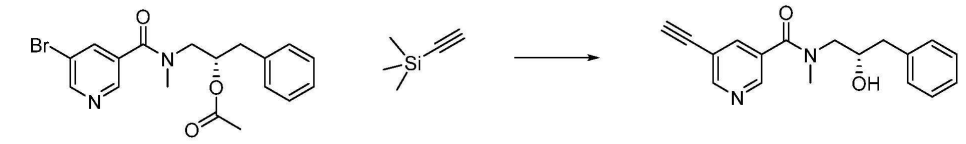


25℃에서 5.0 mL의 아세토니트릴 중 2-((tert-부톡시카보닐)아미노)아세트산(0.933 g, 5.33 mmol)의 교반 용액에 ((S)-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-N-메틸-5-((2-메틸-2H-1,2,3-트리아졸-4-일)에티닐)니코틴아미드(실시예 #3)(2.00 g, 5.33 mmol)를 첨가하였다. N,N'-디사이클로헥실카보디이미드(DCC)(1.37 g, 6.66 mmol)를 첨가하고, 이어서 4-디메틸아미노피리딘(DMAP)(0.020 g, 0.16 mmol)의 아세토니트릴 용액 5.3 mL를 천천히 첨가하면서 반응 온도를 20 내지 25℃로 유지하였다. 현탁액을 25℃에서 2시간 동안 교반하였다. 이 시간 후에 반응 혼합물을 여과하였다. 여과물을 농축시키고, 생성된 잔류물을 실리카 겔 상에서 플래쉬 크로마토그래피(석유 에테르 : 에틸 아세테이트 = 4:1 ~ 1:1)로 정제하여 미정제 중간체, (S)-1-(N-메틸-5-((2-메틸-2H-1,2,3-트리아졸-4-일)에티닐)니코틴아미도)-3-페닐프로판-2-일 2-((tert-부톡시카보닐)-아미노) 아세테이트(2. 2 g, 3.9 mmol, 74% 수율)를 수득한 다음, 이를 에틸 아세테이트(10 mL)에 용해시켰다. 에틸 아세테이트 중 염화수소 용액(4 M, 20 mL, 80 mmol)을 용액에 첨가하고 혼합물을 25℃에서 1시간 동안 교반하였다. 생성된 현탁액을 진공하에 건조시켜 표제 화합물(1.38 g, 2.85 mmol, 69.1% 수율)을 수득하였다. ^{1}H NMR (400 ㎒, 디메틸설폭사이드-d_6) δ 8.80 (s, 1H), 8.60 (br s, 1H), 8.47 (br s, 3H), 8.08 (s, 1H), 7.97 (br s, 1H), 7.16-7.35 (m, 5H), 5.25-5.57 (m, 1H), 4.63 (br s, 6H), 4.21 (s, 3H), 3.65-3.79 (m, 3H), 2.80-3.06 (m, 5H). tBu = tert-부틸.

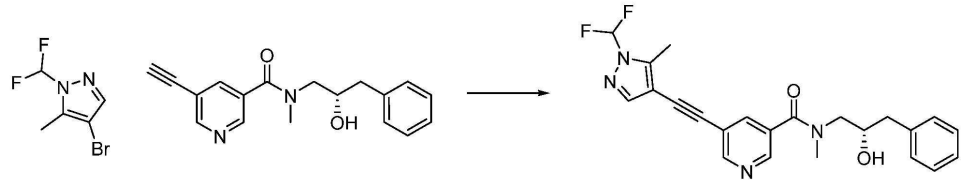
실시예 #26: (S)-5-((1-(디플루오로메틸)-5-메틸-1H-피라졸-4-일)에티닐)-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-N-메틸니코틴아미드



(S)-5-브로모-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-N-메틸니코틴아미드(15 g, 43.0 mmol)(제조 #8), N,N-디메틸피리딘-4-아민(0.525 g, 4.30 mmol) 및 피리딘(17.37 mL, 215 mmol)을 디클로로메탄(DCM)(150 mL)에서 약 실온에서 합하였다. 아세트산 무수물(5.26 g, 51.5 mmol)을 적가하였다. 약 4시간후, 메틸 tert-부틸 에테르(MTBE)(300 mL)와 포화 황산구리(200 mL)를 첨가하고, 유기물을 분리하고, 물(2 x 100 mL)로 세척하고, 건조시키고(Na_2SO_4), 진공에서 여과 및 농축시켜 (S)-1-(5-브로모-N-메틸니코틴아미도)-3-페닐프로판-2-일 아세테이트(16.8 g, 43.0 mmol, 100% 수율)를 오일로서 수득하였다. LC/MS(방법 aa) R_t = 1.31 min.; MS m/z: 391.18, 393.16 $(M+H)^+$.



(S)-1-(5-브로모-N-메틸니코틴아미도)-3-페닐프로판-2-일 아세테이트(12.8 g, 32.7 mmol), 에틸트리메틸실란(9.64 g, 98 mmol), 디이소프로필아민(9.33 mL, 65.4 mmol)을 약 실온에서 디메틸포름아미드(DMF)(60 mL)에서 합하였다. 3A 분자체를 첨가하였다. 약 2시간 후, 요오드화구리(I)(0.062 g, 0.327 mmol)와 비스(트리페닐포스핀)팔라듐(II) 클로라이드(0.230 g, 0.327 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 약 80℃로 가온하였다. 약 6시간 후, 혼합물을 실온으로 냉각시켰다. 포화 $NaHCO_3$(100 mL)와 메틸 tert-부틸 에테르(MTBE) (100 mL) 및 시스테인(2 g)을 첨가하고 반응 혼합물을 약 실온에서 교반하였다. 약 4시간 후, 혼합물을 셀라이트를 통해 여과하고, 유기물을 분리하고, 염수(50 mL)로 세척하고, 진공에서 농축시켰다. 미정제 알킨을 약 실온에서 메탄올(MeOH)(100 mL)에 용해시키고, 탄산칼륨(9.04 g, 65.4 mmol)을 첨가하였다. 약 4시간 후, 혼합물을 진공에서 부분 농축시켰다. 메틸 tert 부틸 에테르와 에틸 아세테이트(MTBE/EtOAc)(1:1)(100 mL)와 물(50 mL)을 첨가하였다. 유기물을 분리하고 진공에서 농축시키고 실리카 겔(SiO_2) 상에서 플래쉬 크로마토그래피(EtOAc/Hep)로 정제하여 (S)-5-에티닐-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-N-메틸니코틴아미드(6.8 g, 23.10 mmol, 70.6% 수율)를 오일로서 수득하였다. HPLC 방법 aa: R_t = 0.94 min.; MS m/z: 295.3 $(M+H)^+$.



(26)

(S)-5-에티닐-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-N-메틸니코틴아미드(6.8 g, 23.10 mmol), 4-브로모-1-(디플루오로메틸)-5-메틸-1H-피라졸(5.36 g, 25.4 mmol), 디이소프로필아민(6.59 mL, 46.2 mmol), 요오드화 구리(I)(0.044 g, 0.231 mmol) 및 메탄설포나토(2-디사이클로헥실포스피노-2',4',6'-트리-i-프로필-1,1'-바이페닐)(2'-아미노-1,1'-바이페닐-2-일)팔라듐(II) (0.196 g, 0.231 mmol)을 디메틸 포름아미드(DMF) (70 mL)에서 합하였다. 반응 혼합물에 질소를 분사하였다. 10분 후, rxn 혼합물을 80℃로 가열하였다. 4시간 후, 실온으로 냉각시켰다. 혼합물을 메틸 tert 부틸 에테르, 에틸 아세테이트(MTBE/EtOAc)(1:1)(20 mL) 및 물(20 mL)로 희석하고 시스테인(500 mg)을 첨가하였다. 4시간 동안 교반한 후, 유기물을 여과 및 분리하고, 염수(10 mL)로 세척하고, 진공에서 농축시키고, 실리카 겔(SiO_2) 상에서 플래쉬 크로마토그래피로 정제하였다(EtOAc/Hep). 생성물 분획을 합하고 진공에서 농축시켰다. 잔류물을 메틸 tert 부틸 에테르 MTBE(20 mL)에 용해하고 용액이 혼탁해질 때까지 헵탄을 첨가하였다. 20시간 동안 교반한 후 고체를 수집하고 진공에서 건조시켜 (S)-5-((1-(디플루오로메틸)-5-메틸-1H-피라졸-4-일)에티닐)-N-(2-하이드록시-3-페닐프로필)-N-메틸니코틴아미드(5.8 g, 13.66 mmol, 59.2% 수율)를 백색 고체로서 수득하였다. HPLC 방법 aa: R_t = 1.28 min.; MS m/z: 425.3 $(M+H)^+$. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8.77 - 8.65 (m, 1H), 8.58 - 8.47 (m, 1H), 8.01 - 7.67 (m, 2H), 7.30 - 7.04 (m, 6H), 5.10 - 4.90 (m, 1H), 4.09 - 3.81 (m, 1H), 3.59 - 3.29 (m, 1H), 3.16 - 3.07 (m, 1H), 2.99 - 2.91 (m, 4H), 2.78 - 2.59 (m, 1H), 2.56 - 2.51 (m, 3H).

검정 및 활성 데이터

RIPK1 결합 검정

재조합 사람 RIPK1로부터 형광 프로브를 대체하는 능력에 대해 화합물을 시험하였다. 시험 화합물 RIPK1 결합(IC_{50}) 데이터는 표 C에 제공된다.

재조합 사람 RIPK1(1-375)은 문헌(참조: Harris et al., ACS Med. Chem. Letters (2013) 4:1238-1243 (보충정보))에 기재된 바와 같이 제조하였고, 하기한 것은 예외이다: (i) NM_003804.3의 유전자 서열을 사용하는 대

신 BEV 발현 시스템에 대한 코돈 최적화로 유전자를 합성하였고, (ii) 유전자를 pDEST8이 아닌 벡터 pFastBac1에 클로닝하였다.

오레곤 녹색 형광단을 함유하는 형광 프로브는 RIPK1에 결합하는 것으로 알려진 화합물로부터 합성되었다.

검정은 50 mM N-2-하이드록시에틸피페라진-N'-2-에탄설폰산(HEPES)(pH 7.5), 10 mM $MgCl_2$, 1 mM 에틸렌 디아민 테트라아세트산(EDTA), 0.01% BRIJ-35(폴리옥시에틸렌(23) 라우릴 에테르)를 포함하는 완충액에서 수행하였다. 시험 화합물을 최종 농도로 디메틸 설폭사이드(DMSO)에 용매화하고 100 내지 0.000095 uM으로 빈 384웰 플레이트에서 기술적 중복으로 4배 연속 희석하였다. 재조합 RIPK1(최종 농도 2.5 nM)을 웰에 첨가하고, 실온에서 1시간 동안 시험 화합물과 함께 인큐베이션하였다. 이어서, 형광 프로브(최종 농도 5 nM)와 LanthaScreen Tb-항-GST 항체(Thermofisher Scientific; 최종 농도 5 nM)가 함유된 용액을 각 웰에 첨가하고, Tb-항-GST 항체가 재조합 RIPK1의 GST 부분에 결합하고 상응하는 FRET 쌍을 형광 프로브에 제공하였다. 플레이트를 실온에서 1시간 동안 인큐베이션하고 시간 분리능 FRET 프로토콜을 사용하여 Envision 플레이트 판독기에서 판독하였다. 데이터는 Dotmatics로부터의 연구를 사용하여 정규화하고 분석하였다.

U937 TNF/zVAD 세포독성 세포 검정

U937 세포에서 TNF 유도된 네크롭토시스를 예방하는 능력에 대해 화합물을 시험하였다. TNF 및 카스파제 억제제 zVAD-FMK로 치료하면 RIPK1이 활성화되고 인산화되며, 이후 RIPK3 및 MLKL(혼합 계통 키나제 도메인 유사 슈도키나제)이 인산화되어 세포 생존율 감소로 측정되는 네크롭토시스성 세포 사멸을 유도한다. U937 TNF/zVAD 유도된 세포독성(IC_{50}) 데이터는 RIPK1을 억제하는 시험 화합물의 능력을 나타내고 표 C에 제공된다. 유사한 U937 검정 프로토콜은 이전에 하기 문헌에 기재되었다; 예를 들어, 문헌(Harris et al., ACS Med. Chem. Letters (2013) 4:1238-1243 and Supplementary Information)을 참조한다.

시험 화합물을 디메틸 설폭사이드(DMSO)에 용매화하고 10 내지 0.0005 uM로 빈 384웰 플레이트에 기술적 중복으로 3배 연속 희석하였다. U937 세포를 10% 열 불활성화 소 태아 혈청(FBS)을 함유한 신선한 RPMI(Roswell Park Memorial Institute) 1640 성장 배지에 500,000 세포/mL의 농도로 재현탁시키고 화합물이 함유된 384웰 플레이트에 씨딩하고, 37℃에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 인큐베이션 후, 세포를 37℃에서 16-20 시간 동안 TNFα(최종 농도 10ng/mL) 및 Z-VAD FMK(N-벤질옥시카보닐-Val-Ala-Asp(O-Me) 플루오로메틸 케톤; 최종 농도 20 μM)로 챌린징하였다. TNFα/Z-VAD로 인큐베이션 후, 세포를 세포-역가-Glo로 용해하고 5-10분 동안 인큐베이션하였다. 이어서, 플레이트를 Envision 플레이트 판독기 상에서 판독하였다. 데이터는 Dotmatics로부터의 연구를 사용하여 정규화하고 분석하였다.

[표 C]

실시예	RIPK1 결합 IC_{50} (μM)	U937 TNF/zVAD 유도된 세포독성 IC_{50} (μM)
1	0.011	0.034
2	0.004	0.011
3	0.036	0.196
4	0.030	0.199
5	0.014	0.049
6	0.003	0.006
7	0.007	0.009
8	0.006	0.013
9	0.018	0.029
10	0.043	0.380
11	0.002	0.005
12	0.013	0.020
13	0.095	0.382
14	0.008	0.018
15	25	--
16	0.515	2.580
17	0.032	0.146
26	0.0018	0.003

선택성 데이터

화합물은 수백 개의 사람 키나제 및 질환 관련 돌연변이 변이체에 결합하는 능력에 대해 스크리닝 플랫폼에서 시험하였다. 결합 친화도는 표 D에 제공된다.

방법. 스크리닝 방법은 고체 지지체에 고정화된 리간드, DNA 태그가 부착된 키나제, 시험 화합물을 사용한다. 키나제 활성 부위에 결합하여 키나제가 고체 지지체 상의 고정화된 리간드에 결합하는 것을 직접적으로(입체적으로) 또는 간접적으로(알로스테릭적으로) 방지하는 시험 화합물은 고체 지지체에 포획된 키나제의 양을 감소시킬 것이다. 역으로, 키나제와 결합하지 않는 시험 화합물은 고체 지지체에 포획된 키나제의 양에 영향을 미치지 않는다. 스크리닝 "히트"는 키나제와 관련된 DNA 표지를 검출하는 정량적이고 정밀하며 초민감한 qPCR 방법을 사용하여 시험 화합물과 대조군 샘플에서 포획된 키나제의 양을 측정하여 동정된다. 유사한 방식으로, 시험 화합물-키나제 상호작용에 대한 해리 상수(K_d)는 시험 화합물 농도의 함수로서 고체 지지체상에 포획된 키나제의 양을 측정하여 계산한다.

키나제 검정. 대부분의 검정에서 키나제 태그가 부착된 T7 파아지 균주는 BL21 균주에서 유래한 이. 콜리 숙주에서 24웰 블록에서 병렬로 성장하였다. 이. 콜리를 대수기(log-phase)까지 성장시키고, 동결 스톡에서 T7 파아지로 감염시키고(감염 다중도 = 0.4) 용해될 때까지(90-150분) 32℃에서 진탕시키면서 인큐베이션하였다. 용해물을 원심분리(6,000 x g)하고 여과(0.2 μm)하여 세포 파쇄물을 제거하였다. 나머지 키나제는 HEK-293 세포에서 생산되었으며 이후 qPCR 검출을 위해 DNA로 태그를 부착하였다. 스트렙타비딘 코팅된 자성 비드를 바이오티닐화된 소분자 리간드로 실온에서 30분 동안 처리하여 키나제 검정용 친화성 수지를 생성하였다. 리간드화된 비드를 과량의 비오틴으로 차단하고 차단 완충액(SeaBlock (Pierce), 1% BSA, 0.05% Tween 20, 1 mM DTT)으로 세척하여 결합되지 않은 리간드를 제거하고 비특이적 파아지 결합을 감소시켰다. 키나제, 리간드화된 친화성 비드 및 시험 화합물을 1x 결합 완충액(20% SeaBlock, 0.17x PBS, 0.05% Tween 20, 6 mM DTT)에서 결합하여 결합반응을 어셈블리하였다. 시험 화합물을 100% DMSO에 40x 스톡으로 제조하여 검정에 직접 희석하였다. 모든 반응은 폴리프로필렌 384웰 플레이트에서 최종 용적 0.02 mL로 수행하였다. 검정 플레이트를 1시간 동안 진탕시키면서 실온에서 인큐베이션하고 친화성 비드를 세척 완충액(1x PBS, 0.05% Tween 20)으로 세척하였다. 이어서 비드를 용출 완충액(1x PBS, 0.05% Tween 20, 0.5 μM 비-바이오티닐화된 친화성 리간드)에 재현탁시키고 30분 동안 진탕시키면서 실온에서 인큐베이션하였다. 용출물에서 키나제 농도는 qPCR에 의해 측정하였다.

제어 퍼센트 계산. 화합물은 100 nM 농도에서 스크리닝하였고, 결합 상호작용에 대한 결과는 하기 표 D에 제어

퍼센트로 나타내고, 숫자가 낮을수록 히트가 보다 강하다는 것을 나타낸다. 제어 퍼센트에 대한 계산은 하기에 나타낸다. 음성 대조군은 DMSO(100% 대조군)였고, 대조군 화합물은 양성 대조군(0% 대조군)으로서 사용하였다.

$$\left\{\frac{\text{시험 화합물 신호 - 양성 대조군 신호}}{\text{음성 대조군 신호 - 양성 대조군 신호}}\right\} \times 100$$

[표 D]

	화합물 #2	화합물 #19
DiscoveRx 유전자 기호	100 nM 화합물 농도에서 제어 퍼센트	100 nM 화합물 농도에서 제어 퍼센트
AAK1	96	100
ABL1(E255K)-인산화된	86	91
ABL1(F317I)-비인산화된	100	100
ABL1(F317I)-인산화된	100	98
ABL1(F317L)-비인산화된	100	100
ABL1(F317L)-인산화된	82	88
ABL1(H396P)-비인산화된	88	96
ABL1(H396P)-인산화된	94	93
ABL1(M351T)-인산화된	86	97
ABL1(Q252H)-비인산화된	92	100
ABL1(Q252H)-인산화된	99	99
ABL1(T315I)-비인산화된	100	97
ABL1(T315I)-인산화된	80	92
ABL1(Y253F)-인산화된	100	100
ABL1-비인산화된	72	96
ABL1-인산화된	79	78
ABL2	100	98
ACVR1	100	100
ACVR1B	100	100
ACVR2A	94	100
ACVR2B	91	99
ACVRL1	100	100
ADCK3	100	100
ADCK4	100	100
AKT1	100	100
AKT2	99	90
AKT3	100	100
ALK	100	100
ALK(C1156Y)	100	100
ALK(L1196M)	100	100
AMPK-알파1	100	100
AMPK-알파2	89	100
ANKK1	100	100
ARK5	100	100
ASK1	88	100
ASK2	100	98
AURKA	100	100
AURKB	100	90
AURKC	100	100
AXL	100	96

	화합물 #2	화합물 #19
DiscoveRx 유전자 기호	100 nM 화합물 농도에서 제어 퍼센트	100 nM 화합물 농도에서 제어 퍼센트
BIKE	100	100
BLK	85	96
BMPR1A	86	94
BMPR1B	98	99
BMPR2	100	89
BMX	100	100
BRAF	100	100
BRAF(V600E)	97	97
BRK	100	100
BRSK1	99	99
BRSK2	96	95
BTK	100	96
BUB1	93	85
CAMK1	100	62
CAMK1B	82	83
CAMK1D	100	74
CAMK1G	93	100
CAMK2A	97	100
CAMK2B	100	92
CAMK2D	100	100
CAMK2G	94	100
CAMK4	100	100
CAMKK1	100	100
CAMKK2	99	100
CASK	99	94
CDC2L1	100	100
CDC2L2	100	100
CDC2L5	100	100
CDK11	4.8	92
CDK2	100	100
CDK3	100	100
CDK4	100	93
CDK4-사이클린D1	100	97
CDK4-사이클린D3	100	100
CDK5	100	100
CDK7	100	100
CDK8	10	98
CDK9	100	100
CDKL1	100	100
CDKL2	100	95
CDKL3	100	97
CDKL5	93	86

	화합물 #2	화합물 #19
DiscoveRx 유전자 기호	100 nM 화합물 농도에서 제어 퍼센트	100 nM 화합물 농도에서 제어 퍼센트
CHEK1	100	100
CHEK2	100	100
CIT	98	95
CLK1	100	100
CLK2	95	100
CLK3	97	93
CLK4	92	100
CSF1R	100	100
CSF1R-자동억제된	99	99
CSK	98	93
CSNK1A1	100	92
CSNK1A1L	100	97
CSNK1D	100	100
CSNK1E	67	74
CSNK1G1	100	100
CSNK1G2	100	95
CSNK1G3	99	100
CSNK2A1	98	98
CSNK2A2	100	100
CTK	100	90
DAPK1	100	100
DAPK2	100	90
DAPK3	100	97
DCAMKL1	100	100
DCAMKL2	100	100
DCAMKL3	100	100
DDR1	100	100
DDR2	100	100
DLK	100	100
DMPK	100	100
DMPK2	97	96
DRAK1	95	100
DRAK2	100	100
DYRK1A	90	85
DYRK1B	97	79
DYRK2	100	97
EGFR	93	100
EGFR(E746-A750del)	100	94
EGFR(G719C)	100	77
EGFR(G719S)	100	72
EGFR(L747-E749del, A750P)	100	84
EGFR(L747-S752del, P753S)	100	97

	화합물 #2	화합물 #19
DiscoveRx 유전자 기호	100 nM 화합물 농도에서 제어 퍼센트	100 nM 화합물 농도에서 제어 퍼센트
EGFR(L747-T751del,Sins)	100	79
EGFR(L858R)	100	94
EGFR(L858R,T790M)	83	94
EGFR(L861Q)	100	86
EGFR(S752-I759del)	100	100
EGFR(T790M)	100	100
EIF2AK1	100	96
EPHA1	100	100
EPHA2	100	100
EPHA3	100	100
EPHA4	97	96
EPHA5	100	100
EPHA6	100	100
EPHA7	97	96
EPHA8	99	100
EPHB1	100	100
EPHB2	100	100
EPHB3	100	100
EPHB4	100	100
EPHB6	100	100
ERBB2	70	65
ERBB3	100	100
ERBB4	94	93
ERK1	97	95
ERK2	100	100
ERK3	100	100
ERK4	100	100
ERK5	100	100
ERK8	100	100
ERN1	100	93
FAK	100	100
FER	100	96
FES	100	100
FGFR1	94	95
FGFR2	100	100
FGFR3	100	100
FGFR3(G697C)	100	100
FGFR4	100	100
FGR	100	99
FLT1	100	100
FLT3	100	100
FLT3(D835H)	100	100

	화합물 #2	화합물 #19
DiscoveRx 유전자 기호	100 nM 화합물 농도에서 제어 퍼센트	100 nM 화합물 농도에서 제어 퍼센트
FLT3(D835V)	100	100
FLT3(D835Y)	100	100
FLT3(ITD)	100	100
FLT3(ITD,D835V)	100	100
FLT3(ITD,F691L)	98	97
FLT3(K663Q)	100	100
FLT3(N841I)	99	96
FLT3(R834Q)	100	100
FLT3-자동억제된	95	96
FLT4	100	100
FRK	100	100
FYN	100	100
GAK	100	100
GCN2(Kin.Dom.2,S808G)	95	97
GRK1	100	98
GRK2	96	79
GRK3	82	81
GRK4	100	100
GRK7	100	100
GSK3A	100	100
GSK3B	100	98
HASPIN	86	83
HCK	100	100
HIPK1	72	82
HIPK2	99	79
HIPK3	100	88
HIPK4	100	100
HPK1	78	92
HUNK	82	96
ICK	100	93
IGF1R	100	98
IKK-알파	100	99
IKK-베타	96	96
IKK-엡실론	100	94
INSR	100	100
INSRR	100	100
IRAK1	91	86
IRAK3	96	92
IRAK4	91	83
ITK	99	100
JAK1(JH1도메인-촉매)	100	100
JAK1(JH2도메인-슈도키나제)	93	86

	화합물 #2	화합물 #19
DiscoveRx 유전자 기호	100 nM 화합물 농도에서 제어 퍼센트	100 nM 화합물 농도에서 제어 퍼센트
JAK2(JH1도메인-촉매)	100	100
JAK3(JH1도메인-촉매)	100	100
JNK1	92	87
JNK2	91	92
JNK3	83	86
KIT	100	99
KIT(A829P)	100	99
KIT(D816H)	100	98
KIT(D816V)	100	100
KIT(L576P)	100	98
KIT(V559D)	100	96
KIT(V559D,T670I)	97	100
KIT(V559D,V654A)	94	100
KIT-자동억제된	94	94
LATS1	100	88
LATS2	98	100
LCK	100	95
LIMK1	100	100
LIMK2	95	93
LKB1	70	79
LOK	100	100
LRRK2	100	81
LRRK2(G2019S)	100	93
LTK	100	100
LYN	71	80
LZK	99	99
MAK	100	100
MAP3K1	100	100
MAP3K15	100	97
MAP3K2	99	95
MAP3K3	96	92
MAP3K4	100	100
MAP4K2	88	83
MAP4K3	100	100
MAP4K4	92	95
MAP4K5	87	95
MAPKAPK2	100	100
MAPKAPK5	94	96
MARK1	100	96
MARK2	96	100
MARK3	98	97
MARK4	91	94

	화합물 #2	화합물 #19
DiscoveRx 유전자 기호	100 nM 화합물 농도에서 제어 퍼센트	100 nM 화합물 농도에서 제어 퍼센트
MAST1	100	97
MEK1	98	99
MEK2	99	98
MEK3	94	79
MEK4	100	100
MEK5	89	87
MEK6	100	96
MELK	77	83
MERTK	100	100
MET	100	100
MET(M1250T)	100	100
MET(Y1235D)	98	99
MINK	100	100
MKK7	98	96
MKNK1	96	91
MKNK2	82	79
MLCK	100	100
MLK1	100	96
MLK2	66	69
MLK3	95	89
MRCKA	100	100
MRCKB	95	100
MST1	100	100
MST1R	98	92
MST2	100	99
MST3	100	100
MST4	97	84
MTOR	73	67
MUSK	100	100
MYLK	87	86
MYLK2	100	96
MYLK4	99	100
MYO3A	99	93
MYO3B	95	79
NDR1	100	100
NDR2	94	84
NEK1	100	100
NEK10	91	100
NEK11	100	95
NEK2	100	100
NEK3	96	96
NEK4	100	100

	화합물 #2	화합물 #19
DiscoveRx 유전자 기호	100 nM 화합물 농도에서 제어 퍼센트	100 nM 화합물 농도에서 제어 퍼센트
NEK5	100	94
NEK6	100	100
NEK7	100	99
NEK9	100	100
NIK	84	88
NIM1	89	89
NLK	100	100
OSR1	88	89
p38-알파	100	100
p38-베타	100	97
p38-델타	100	100
p38-감마	100	88
PAK1	100	100
PAK2	97	92
PAK3	71	100
PAK4	98	98
PAK6	85	80
PAK7	100	100
PCTK1	91	84
PCTK2	100	100
PCTK3	100	100
PDGFRA	73	85
PDGFRB	100	100
PDPK1	99	100
PFCDPK1 (피. 팔시파룸(P.falciparum))	95	96
PFPK5(피. 팔시파룸)	90	100
PFTAIRE2	100	100
PFTK1	100	100
PHKG1	100	100
PHKG2	100	100
PIK3C2B	100	100
PIK3C2G	85	78
PIK3CA	100	100
PIK3CA(C420R)	83	86
PIK3CA(E542K)	89	81
PIK3CA(E545A)	89	94
PIK3CA(E545K)	91	85
PIK3CA(H1047L)	85	71
PIK3CA(H1047Y)	71	72
PIK3CA(I800L)	96	87
PIK3CA(M1043I)	92	85

	화합물 #2	화합물 #19
DiscoveRx 유전자 기호	100 nM 화합물 농도에서 제어 퍼센트	100 nM 화합물 농도에서 제어 퍼센트
PIK3CA(Q546K)	96	88
PIK3CB	100	95
PIK3CD	99	85
PIK3CG	100	100
PIK4CB	100	98
PIKFYVE	57	57
PIM1	98	100
PIM2	95	100
PIM3	100	100
PIP5K1A	100	92
PIP5K1C	100	85
PIP5K2B	100	95
PIP5K2C	63	74
PKAC-알파	94	94
PKAC-베타	92	100
PKMYT1	99	100
PKN1	91	100
PKN2	97	100
PKNB(엠. 튜버큘로시스(M.tuberculosis))	100	100
PLK1	87	87
PLK2	98	91
PLK3	97	92
PLK4	100	100
PRKCD	98	94
PRKCE	72	68
PRKCH	100	91
PRKCI	96	92
PRKCQ	94	98
PRKD1	100	100
PRKD2	79	100
PRKD3	100	100
PRKG1	92	100
PRKG2	100	97
PRKR	100	97
PRKX	100	100
PRP4	89	82
PYK2	100	100
QSK	88	85
RAF1	100	100
RET	100	100
RET(M918T)	100	100

	화합물 #2	화합물 #19
DiscoveRx 유전자 기호	**100 nM 화합물 농도에서 제어 퍼센트**	**100 nM 화합물 농도에서 제어 퍼센트**
RET(V804L)	100	100
RET(V804M)	100	100
RIOK1	100	100
RIOK2	95	95
RIOK3	100	100
RIPK1	**26**	**91**
RIPK2	100	100
RIPK4	100	100
RIPK5	100	96
ROCK1	100	100
ROCK2	100	100
ROS1	100	91
RPS6KA4(Kin.Dom.1-N-말단)	97	100
RPS6KA4(Kin.Dom.2-C-말단)	97	100
RPS6KA5(Kin.Dom.1-N-말단)	91	100
RPS6KA5(Kin.Dom.2-C-말단)	95	90
RSK1(Kin.Dom.1-N-말단)	96	100
RSK1(Kin.Dom.2-C-말단)	100	100
RSK2(Kin.Dom.1-N-말단)	100	94
RSK2(Kin.Dom.2-C-말단)	100	100
RSK3(Kin.Dom.1-N-말단)	97	100
RSK3(Kin.Dom.2-C-말단)	100	100
RSK4(Kin.Dom.1-N-말단)	100	93
RSK4(Kin.Dom.2-C-말단)	100	100
S6K1	95	95
SBK1	97	95
SGK	96	90
SgK110	81	77
SGK2	100	93
SGK3	100	100
SIK	100	100
SIK2	89	96
SLK	99	97
SNARK	99	99
SNRK	100	100
SRC	97	100
SRMS	100	96
SRPK1	100	100
SRPK2	93	100
SRPK3	90	100
STK16	98	92
STK33	88	100

	화합물 #2	화합물 #19
DiscoveRx 유전자 기호	100 nM 화합물 농도에서 제어 퍼센트	100 nM 화합물 농도에서 제어 퍼센트
STK35	99	100
STK36	100	100
STK39	100	100
SYK	97	93
TAK1	97	95
TAOK1	100	100
TAOK2	84	77
TAOK3	92	85
TBK1.	79	84
TEC	99	93
TESK1	100	100
TGFBR1	100	100
TGFBR2	100	100
TIE1	100	100
TIE2	100	88
TLK1	100	100
TLK2	100	100
TNIK	100	100
TNK1	100	100
TNK2	100	100
TNNI3K	100	100
TRKA	100	81
TRKB	100	94
TRKC	100	68
TRPM6	99	95
TSSK1B	88	76
TSSK3	82	100
TTK	100	82
TXK	100	100
TYK2(JH1도메인-촉매)	100	100
TYK2(JH2도메인-슈도키나제)	100	90
TYRO3	99	100
ULK1	100	100
ULK2	100	94
ULK3	97	96
VEGFR2	96	97
VPS34	87	90
VRK2	91	95
WEE1	92	100
WEE2	100	100
WNK1	93	94

	화합물 #2	화합물 #19
DiscoveRx 유전자 기호	100 nM 화합물 농도에서 제어 퍼센트	100 nM 화합물 농도에서 제어 퍼센트
WNK2	100	100
WNK3	100	100
WNK4	84	81
YANK1	100	100
YANK2	100	95
YANK3	67	54
YES	100	100
YSK1	100	97
YSK4	99	90
ZAK	100	100
ZAP70	98	98

표 D의 결합 친화도를 기준으로 화합물 선택성의 정량적 척도로서 각 화합물에 대해 선택성 스코어(S-스코어)를

계산하였다. S-스코어는 화합물이 결합하는 키나제의 수를 돌연변이 변이체를 제외하고 시험된 고유 키나제의 총 수로 나누어 계산한다. 선택성 스코어 값은 하기에 나타낸바와 같이 %Ctrl을 효능 임계값으로 사용하여 계산할 수 있고, 다양한 화합물의 비교가 용이하도록 화합물 선택성을 기재하는 정량적 방법을 제공한다.

S(10) = (%Ctrl<35인 비-돌연변이 키나제의 수)/(시험된 비-돌연변이 키나제의 수).

S(35) = (%Ctrl<10인 비-돌연변이 키나제의 수)/(시험된 비-돌연변이 키나제의 수).

S(35) = (%Ctrl<1인 비-돌연변이 키나제의 수)/(시험된 비-돌연변이 키나제의 수).

결과는 표 E에 나타낸다.

[표 E]

화합물	선택성 스코어 유형	히트 수	비-돌연변이 키나제의 수	스크리닝 농도 (nM)	선택성 스코어
화합물 #2	S(35)	3	403	100	0.007
화합물 #2	S(10)	1	403	100	0.002
화합물 #2	S(1)	0	403	100	0
화합물 #19	S(35)	0	403	100	0
화합물 #19	S(10)	0	403	100	0
화합물 #19	S(1)	0	403	100	0

전구약물 생물전환

포스파타제 효소는 고유한 조직 특이적 이소형으로 모호하게 발현되고 포스페이트 함유 전구약물의 전환에 중요한 촉매이다. 본 발명의 예시적인 포스페이트 전구약물 화합물이 관련 종에 걸쳐 효소적으로 모 분자로 전환되는지를 결정하기 위해, 전구약물 화합물을 마우스, 래트, 개, 몽키 및 사람으로부터 얻은 장내 S9 세포 분획물과 함께 인큐베이션하였다.

인산염 전구약물을 3 mM 염화마그네슘, 마우스, 래트, 개, 몽키 또는 사람의 장내 S9 단백질(0.01 및 25 mg/mL(ms, rat, hu, 표 F))을 함유하는 Tris-Cl 완충액(pH 7.4)에서 최대 2시간 동안 인큐베이션(1 μM)하였다. 포스파타제 억제제인 1 mM 나트륨 오르토바나데이트의 부재 및 존재 하에 인큐베이션을 수행하였다. 전구약물 고갈 및 모체 형성을 LC-MS/MS로 모니터링하고 분석물 피크 면적 비율로 내부 표준물로 정규화하였다.

[표 F]

장내 S9 세포 분획에서 전구약물 소멸로 측정한 시험관내 고유 제거율.

	Clint (μL/min/mg 장내 S9 단백질) (0.25 mg/mL)			Clint (μL/min/mg 장내 S9 단백질) (0.01 mg/mL)		
실시예	사람	래트	마우스	사람	래트	마우스
19	296	42.4	54.7	1608.5	< 137**	116.8
21	592.9	901.6	> 4166.5*	815.9	2599.5	11160
23	243.4	36.7	23.3	1180.2	< 137**	< 137**
25	410	393.8	> 1640.7*	378.1	1087.6	6821.9

* – Clint가 2개의 시점 곡선에서 생성되었기 때문에 값이 적격화되었다.

** – 적격 값은 2시간 인큐베이션 후 15%가 잔류하는 것을 기준으로 추정하였다.

[표 G]

장내 S9 세포 분획에서 실시예 #19 소멸로 측정한 시험관내 고유 제거율.

Clint (μL/min/mg 장내 S9 단백질) (0.25 mg/mL)					
실험	사람	몽키	개	래트	마우스
1	246	87.5	331	25.6	43.1
2	228	60.3	387	16.9	74.6
3	235	60.7	397	50.6	42.2
평균	236.3	69.5	371.7	31	53.3
SD	9.1	15.6	35.6	17.5	18.5

값은 μL/min/mg 장내 S9 단백질 단위로 Clint로 표시된다.

[표 H]

장내 S9 세포 분획에서 실시예 #21 소멸로 측정한 시험관내 고유 제거율.

Clint (μL/min/mg 장내 S9 단백질) 0.25 mg/mL)					
실험	사람	몽키	개	래트	마우스
1	391	89.6	5.62	396	> 480*
2	400	91.3	16.1	719	> 480*
3	355	90.7	14.3	750	> 480*
평균	382	90.5	12.0	622	> 480*
SD	24.3	0.861	5.62	196	

값은 μL/min/mg 장내 S9 단백질 유닛의 Clint로 나타낸다.
*- CLint가 2개의 시점 곡선에서 생성되었기 때문에 값이 적격화되었다.

[표 I]

장내 S9 세포 분획에서 실시예 #23 소멸로 측정한 시험관내 고유 제거율.

Clint (μL/min/mg 장내 S9 단백질) 0.25 mg/mL)					
실험	사람	몽키	개	래트	마우스
1	199	55.4	354	29.1	26.2
2	241	47.7	369	33.8	34.3
3	203	48.1	345	28.2	31.3
평균	214	50.4	356	30.4	30.6
SD	23.3	4.35	12.4	3.04	4.07

값은 μL/min/mg 장내 S9 단백질 단위로 Clint로 표시된다.
*- CLint가 2개의 시점 곡선에서 생성되었기 때문에 값이 적격화되었다.

[표 J]

장내 S9 세포 분획에서 실시예 #25 소실로 측정한 시험관내 고유 제거율.

Clint (μL/min/mg 장내 S9 단백질) 0.25 mg/mL)					
실험	사람	몽키	개	래트	마우스
1	272	38.1	10.2	217	> 480*
2	294	49.0	14.4	318	> 480*
3	293	40.7	11.5	299	> 480*
평균	286	42.6	12.0	278	> 480*
SD	12.7	5.66	2.14	53.8	

값은 μL/min/mg 장내 S9 단백질 단위로 Clint로 표시된다.
*- CLint가 2개의 시점 곡선에서 생성되었기 때문에 값이 적격화되었다.

기타 구현예

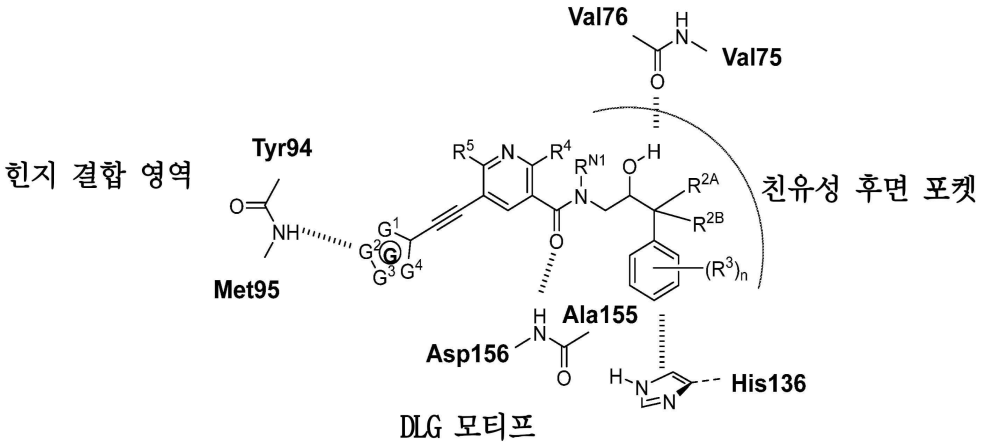
본 출원은 다양한 허여된 각종 특허, 공개된 특허 출원, 저널 논문 및 기타 간행물을 참조하고, 이들 각각은 본

원에 참조로 인용된다.

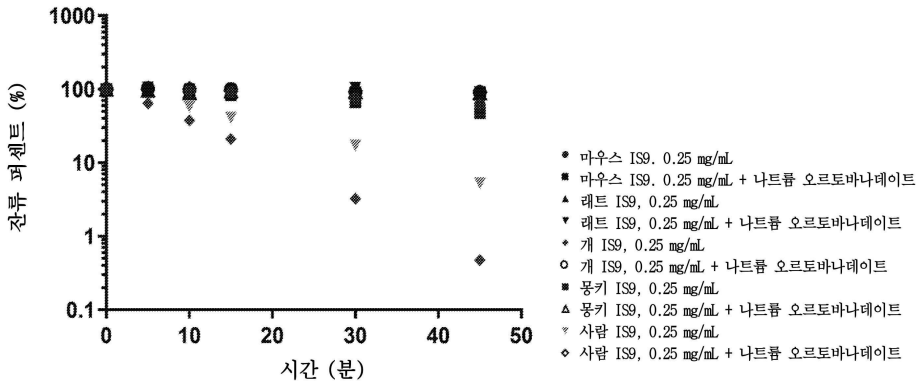
전술한 것은 본 개시내용의 특정 비제한적인 구현예에 대해 설명되었다. 당업자는 다음 청구범위에 정의된 바와 같이, 본 개시내용의 취지 또는 범위를 벗어나지 않고 본 설명에 대한 다양한 변화 및 변형이 이루어질 수 있음을 이해할 것이다.

도면

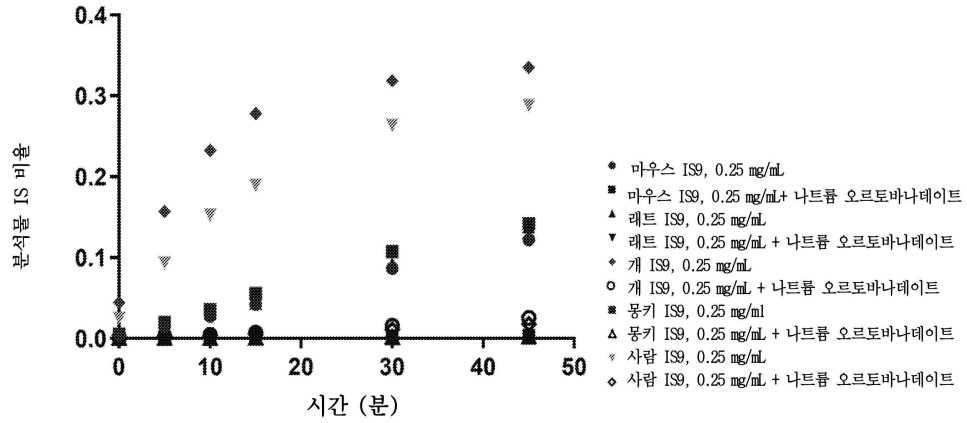
도면1



도면2



도면3


0.4
0.3
0.2
0.1
0.0
분석물 IS 비율
0
10
20
30
40
50
시간 (분)
마우스 IS9, 0.25 mg/mL
마우스 IS9, 0.25 mg/mL+ 나트륨 오르토바나데이트
래트 IS9, 0.25 mg/mL
래트 IS9, 0.25 mg/mL + 나트륨 오르토바나데이트
개 IS9, 0.25 mg/mL
개 IS9, 0.25 mg/mL + 나트륨 오르토바나데이트
몽키 IS9, 0.25 mg/ml
몽키 IS9, 0.25 mg/mL + 나트륨 오르토바나데이트
사람 IS9, 0.25 mg/mL
사람 IS9, 0.25 mg/mL + 나트륨 오르토바나데이트