



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년10월24일

(11) 등록번호 10-2720992

(24) 등록일자 2024년10월18일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
**C07D 413/06** (2006.01) **A61P 3/06** (2006.01)  
**A61P 9/00** (2006.01) **C07D 207/08** (2006.01)
- (52) CPC특허분류  
**C07D 413/06** (2013.01)  
**A61P 3/06** (2018.01)
- (21) 출원번호 10-2024-7002433(분할)
- (22) 출원일자(국제) 2020년06월03일  
 심사청구일자 2024년01월22일
- (85) 번역문제출일자 2024년01월22일
- (65) 공개번호 10-2024-0014618
- (43) 공개일자 2024년02월01일
- (62) 원출원 특허 10-2022-7043106  
 원출원일자(국제) 2020년06월03일  
 심사청구일자 2023년06월02일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2020/035825
- (87) 국제공개번호 WO 2020/247429  
 국제공개일자 2020년12월10일
- (30) 우선권주장  
 19382477.8 2019년06월07일  
 유럽특허청(EPO)(EP)
- (56) 선행기술조사문헌  
 W02005068412 A1  
 W02005068410 A1  
 EP01452521 A1

- (73) 특허권자  
**일라이 릴리 앤드 캄파니**  
 미국 46285 인디애나주 인디애나폴리스 릴리 코포  
 레이트 센터
- (72) 발명자  
**라푸엔테 블랑코, 셀리아**  
 미국 46206-6288 인디애나주 인디애나폴리스 피.  
 오. 박스 6288 일라이 릴리 앤드 캄파니 내  
**디아즈 부에조, 누리아**  
 미국 46206-6288 인디애나주 인디애나폴리스 피.  
 오. 박스 6288 일라이 릴리 앤드 캄파니 내  
 (뒷면에 계속)
- (74) 대리인  
**장덕순, 김영**

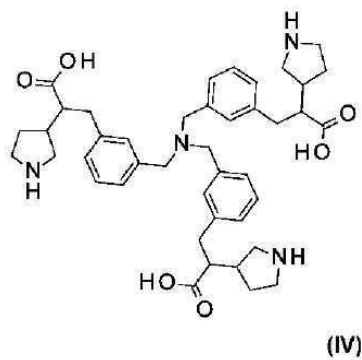
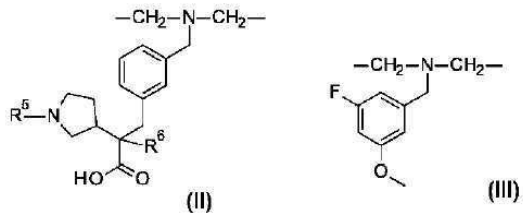
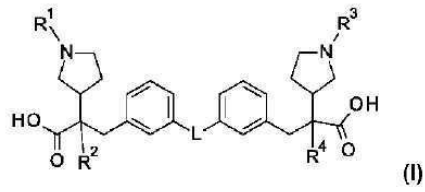
전체 청구항 수 : 총 4 항

심사관 : 조호정

(54) 발명의 명칭 **피롤리딘 화합물****(57) 요약**

본 발명은 화학식 (I)의 화합물 (여기서 L은  $-\text{CH}_2\text{NHCH}_2-$ ,  $-\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{NH}-$ ,  $-\text{S}-$ ,  $-\text{S}(\text{O})-$ ,  $-\text{S}(\text{O})_2-$ ,  $-\text{O}-$ ,  $-\text{OCH}_2-$ ,  $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}-$ ,  $-\text{NHSO}_2\text{NH}-$ , (II) 및 (III)로 이루어진 군으로부터 선택됨) 또는 그의 제약상 허용되는 염; 화학식 (IV)의 화합물, 상기 화합물 및 그의 염을 제조하는 방법, 제약 조성물, 및 그러한 치료를 필요로 하는 환자를 (뒷면에 계속)

치료하는 방법을 제공한다.



(52) CPC특허분류

*A61P 9/00* (2018.01)

*C07D 207/08* (2013.01)

(72) 발명자

**마르티네즈 페레즈, 호세 안토니오**

미국 46206-6288 인디애나주 인디애나폴리스 피.  
오. 박스 6288 일라이 릴리 앤드 캄파니 내

**산스 힐, 헤마 콘수엘로**

미국 46206-6288 인디애나주 인디애나폴리스 피.  
오. 박스 6288 일라이 릴리 앤드 캄파니 내

**프리에고 솔레르, 홀리안**

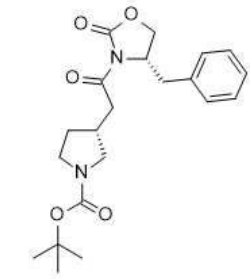
미국 46206-6288 인디애나주 인디애나폴리스 피.  
오. 박스 6288 일라이 릴리 앤드 캄파니 내

## 명세서

### 청구범위

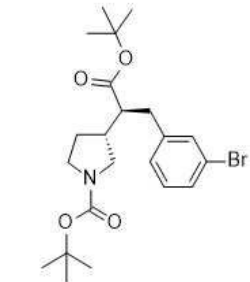
#### 청구항 1

하기 화학식의 화합물:



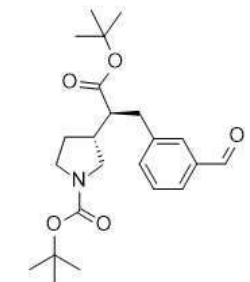
#### 청구항 2

하기 화학식의 화합물:



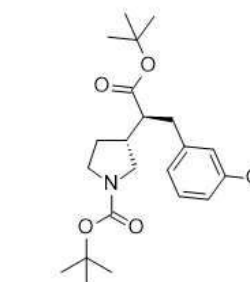
#### 청구항 3

하기 화학식의 화합물:



#### 청구항 4

하기 화학식의 화합물:



## 발명의 설명

### 기술 분야

[0001] 본 발명은 피롤리딘 화합물, 그의 제약상 허용되는 염, 제약 조성물, 및 상기 화합물의 치료 용도에 관한 것이다.

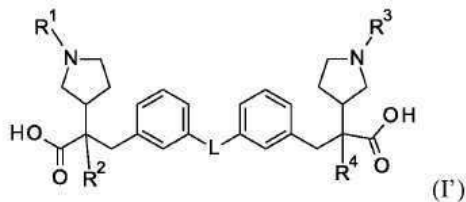
### 배경 기술

[0002] 심혈관 질환 (CVD)의 치료에 상당한 진보가 있었다. 치료의 진전에도 불구하고, 환자는 계속해서 협심증, 심근 경색 및 졸중 등 심혈관 질환 사건을 경험하며, 이는 치료되지 않으면 사망으로 이어진다. 지질 장애 또는 이상지혈증은 CVD에 대한 주요 위험 인자로 남아있다. 지질 장애는 4가지 일반적인 위험 인자로 나뉠 수 있다: 상승된 저밀도 지단백질 콜레스테롤 (LDL-c), 낮은 고밀도 지단백질 콜레스테롤 (HDL-c), 상승된 트리글리세리드 (TG), 및 상승된 지단백질(a) (Lp(a)). 상승된 LDL-c, 낮은 HDL-c, 및 상승된 트리글리세리드를 표적으로 하는 다양한 치료 요법이 존재한다. 상승된 Lp(a) 농도를 갖는 환자에 대한 승인된 치료 옵션은 거의 없다. 일부 경우에, 분리반출술을 사용하여 혈액을 여과하여 LDL 및 Lp(a)를 제거할 수 있지만; 효과는 일시적이고, 전형적으로 2주마다 반복해야 한다. Lp(a) 수준을 낮추는 것으로 승인된 제약 치료는 없다. Lp(a)의 생리학적 기능은 복잡하지만; 상승된 Lp(a) 혈장 수준은 CVD에 대한 독립적인 위험 인자인 것으로 보고되어 있다. Lp(a)이 상승된 환자를 위한 제약 치료가 필요하다.

[0003] 심혈관 질환을 앓고 있는 환자, 특히 지질 장애 또는 이상지혈증을 앓고 있는 환자를 위한 추가의 치료 옵션이 요구된다. 식이, 운동, 및/또는 스타틴, 피브레이트 및 니아신 등 1종 이상의 약물의 사용과 같은 현행 표준 관리 요법의 사용으로 심혈관 위험이 적절하게 관리되지 않는 환자를 위한 추가의 치료 옵션이 필요하다. 본 발명은 CVD를 앓고 있는 환자를 위한 또 다른 치료 옵션을 제공한다. 혈장 Lp(a) 수준을 감소시키기 위한 제약상 허용되는 화합물 및 치료 옵션이 필요하다.

### 발명의 내용

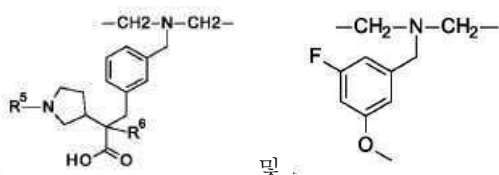
[0004] 화학식 I'의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염이 제공된다:



[0005]

[0006] 여기서

[0007] L은  $-\text{CH}_2\text{NHCH}_2-$ ,  $-\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{NH}-$ ,  $-\text{S}-$ ,  $-\text{S}(\text{O})-$ ,  $-\text{S}(\text{O})_2-$ ,  $-\text{O}-$ ,  $-\text{OCH}_2-$ ,  $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}-$ ,  $-\text{NHSO}_2\text{NH}-$ ,

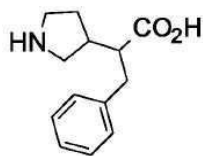


[0008]

[0009] 로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0010]  $\text{R}^1$ ,  $\text{R}^2$ ,  $\text{R}^3$ ,  $\text{R}^4$ ,  $\text{R}^5$ , 및  $\text{R}^6$ 은 각각 독립적으로 H 및  $\text{CH}_3$ 으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0011] 화학식 I"의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염이 제공된다:

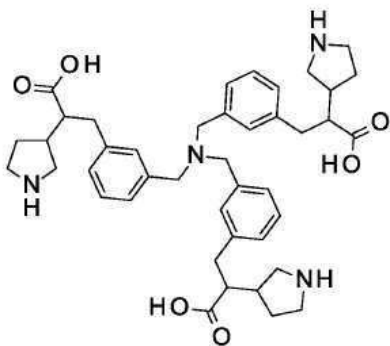


(I'')

[0012]

[0013]

화학식 1의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염이 제공된다:

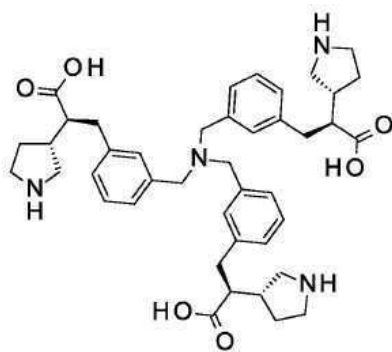


(1)

[0014]

[0015]

한 실시양태는 화학식 2의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염이다:



(2)

[0016]

[0017]

한 실시양태에서, 제약상 허용되는 염인 화학식 I', I'', 1 또는 화학식 2의 화합물이 제공된다. 한 실시양태에서, 히드로클로라이드 염인 화학식 I', 화학식 1 또는 화학식 2의 화합물이 제공된다. 한 실시양태에서, 테트라히드로클로라이드 염인 화학식 1 또는 화학식 2의 화합물이 제공된다.

[0018]

한 실시양태에서, 모노히드로클로라이드, 디히드로클로라이드, 트리히드로클로라이드 및 테트라히드로클로라이드로 이루어진 군으로부터 선택된 히드로클로라이드 염인 화학식 I', 화학식 1 또는 화학식 2의 화합물이 제공된다. 한 실시양태에서, 썬비터 이온으로서의 화학식 1 또는 화학식 2의 화합물이 제공된다.

[0019]

L이  $-\text{CH}_2\text{NHCH}_2-$ ,  $-\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{NH}-$ ,  $-\text{S}-$ ,  $-\text{S}(\text{O})-$ ,  $-\text{S}(\text{O})_2-$ ,  $-\text{O}-$ ,  $-\text{OCH}_2-$ ,  $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}-$  및  $-\text{NHSO}_2\text{NH}-$ 로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 화학식 I'의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염이 제공된다.

[0020]

$\text{R}^1$  및  $\text{R}^3$ 이 각각 H이고; L이  $-\text{CH}_2\text{NHCH}_2-$ ,  $-\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{NH}-$ ,  $-\text{S}-$ ,  $-\text{S}(\text{O})-$ ,  $-\text{S}(\text{O})_2-$ ,  $-\text{O}-$ ,  $-\text{OCH}_2-$ ,  $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}-$  및  $-\text{NHSO}_2\text{NH}-$ 로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 화학식 I'의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염이 제공된다.

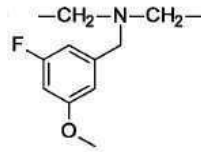
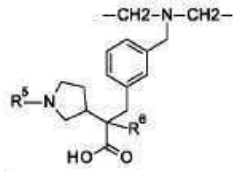
[0021]

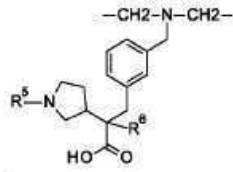
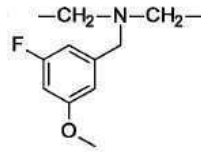
$\text{R}^1$  및  $\text{R}^3$ 이 각각 H이고;  $\text{R}^2$  및  $\text{R}^4$ 가 각각  $\text{CH}_3$ 이고; L이  $-\text{CH}_2\text{NHCH}_2-$ ,  $-\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{NH}-$ ,  $-\text{S}-$ ,  $-\text{S}(\text{O})-$ ,  $-\text{S}(\text{O})_2-$ ,  $-\text{O}-$ ,  $-\text{OCH}_2-$ ,  $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}-$ , 및  $-\text{NHSO}_2\text{NH}-$ 로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 화학식 I'의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염이 제공된다.

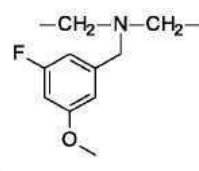
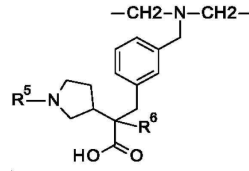
[0022]

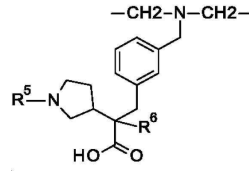
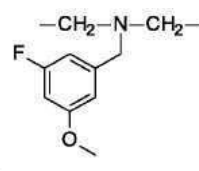
$\text{R}^1$  및  $\text{R}^3$ 이 각각 H이고;  $\text{R}^2$  및  $\text{R}^4$ 가 각각 H이고; L이  $-\text{CH}_2\text{NHCH}_2-$ ,  $-\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{NH}-$ ,  $-\text{S}-$ ,  $-\text{S}(\text{O})-$ ,  $-\text{S}(\text{O})_2-$ ,  $-\text{O}-$ ,  $-\text{OCH}_2-$ ,  $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}-$ , 및  $-\text{NHSO}_2\text{NH}-$ 로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 화학식 I'의 화합물 또는 그의 제약상 허

용되는 염이 제공된다.



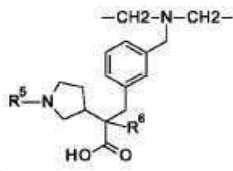
[0023] L이  및  로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 화학식 I'의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염이 제공된다.

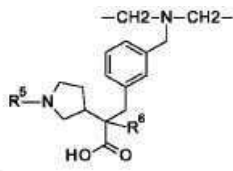


[0024]  $R^1$ ,  $R^3$ , 및  $R^5$ 가 각각 H이고; L이  및  로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 화학식 I'의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염이 제공된다.

[0025]  $R^1$ ,  $R^3$ , 및  $R^5$ 가 각각 H이고;  $R^2$ ,  $R^4$ , 및  $R^6$ 이 각각 H인 화학식 I'의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염이 제공된다.

[0026]  $R^1$ ,  $R^3$ , 및  $R^5$ 가 각각 H이고;  $R^2$ ,  $R^4$ , 및  $R^6$ 이 각각  $CH_3$ 인 화학식 I'의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염이 제공된다.



[0027] L이  로 이루어진 군으로부터 선택되고;  $R^1$ ,  $R^3$ , 및  $R^5$ 가 각각 H이고;  $R^2$ ,  $R^4$ , 및  $R^6$ 이 각각  $CH_3$ 인 화학식 I'의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염이 제공된다.

[0028] 한 실시양태에서, 화학식 I', 화학식 I'', 화학식 1 또는 화학식 2의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염, 및 적어도 1종의 제약상 허용되는 담체, 희석제 또는 부형제를 포함하는 제약 조성물이 제공된다.

[0029] 한 실시양태에서, 유효량의 화학식 I', 화학식 1 및 2로 이루어진 군으로부터 선택된 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 투여하는 것을 포함하는, 심혈관 질환의 치료를 필요로 하는 환자를 치료하는 방법이 제공된다. 한 실시양태에서, 유효량의 화학식 I''의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 투여하는 것을 포함하는, 심혈관 질환의 치료를 필요로 하는 환자를 치료하는 방법이 제공된다. 한 실시양태에서, 유효량의 화학식 I', 화학식 1 또는 화학식 2로 이루어진 군으로부터 선택된 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 투여하는 것을 포함하는, 상승된 Lp(a) 혈장 수준의 치료를 필요로 하는 환자를 치료하는 방법이 제공된다. 한 실시양태에서, 유효량의 화학식 I''의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 투여하는 것을 포함하는, 상승된 Lp(a) 혈장 수준의 치료를 필요로 하는 환자를 치료하는 방법이 제공된다.

[0030] 한 실시양태에서, 요법에 사용하기 위한, 화학식 I', 화학식 1 및 2로 이루어진 군으로부터 선택된 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염이 제공된다. 한 실시양태에서, 요법에 사용하기 위한, 화학식 I''의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염이 제공된다.

[0031] 한 실시양태에서, 심혈관 질환의 치료에 사용하기 위한, 화학식 I', 화학식 1 및 2로 이루어진 군으로부터 선택된 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염이 제공된다. 한 실시양태에서, 심혈관 질환의 치료에 사용하기 위한, 화학식 I''의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염이 제공된다.

[0032] 한 실시양태에서, 상승된 Lp(a) 혈장 수준을 치료하는 데 사용하기 위한, 화학식 I', 화학식 1 및 2로 이루어진 군으로부터 선택된 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염이 제공된다.

[0033] 한 실시양태에서, 심혈관 질환의 의약의 제조에서의, 화학식 I', 화학식 1 및 화학식 2로 이루어진 군으로부터 선택된 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염의 용도가 제공된다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

- [0034] Lp(a)는 혈전유발 특성 및 항혈전 특성, 및 아테롬성혈전성 특성 모두를 나타낼 수 있다. Lp(a)는 섬유소용해를 억제하고 혈관 벽에 축적되어 혈전형성 및 아테롬성동맥경화성 병변을 유도할 수 있다. Lp(a)의 혈장 수준은 개체마다 실질적으로 상이하다. 다른 위험 인자와 달리, Lp(a) 혈장 수준은 식이 및 운동에 따라 유의하게 변하지 않는다. Lp(a) 혈장 수준은 유전적 소인과 연관될 수 있다.
- [0035] Lp(a)는 LDL 지질 코어와 수반되는 아포지단백질 B (apoB)를 함께 포함한다는 점에서 LDL-c와 유사하지만, LDL-c와 달리, Lp(a)는 또한 디스리포드 결합을 통해 apoB에 결합된 고유한 아포지단백질(a) (apo(a))을 함유한다. apo(a)는 간에서 합성된다. (LDL) 입자와 apo(a)로부터의 Lp(a)의 어셈블리는 간세포에서, 세포 벽 상에서, 또는 혈장에서 발생할 수 있다. LDL 입자와 apo(a)의 어셈블리의 억제는 Lp(a) 수준을 감소시킬 수 있다.
- [0036] 본원에 사용된 용어 "상승된 Lp(a) 혈장 수준"은 약 50 mg/dL 이상인 혈장 수준을 의미한다. 본원에 제공된 화합물은 Lp(a) 혈장 수준을 감소시키는 치료에 사용될 수 있다.
- [0037] 본원에 사용된 용어 "제약상 허용되는 염"은 임상 및/또는 수의학적 용도에 허용되는 화합물의 염을 지칭한다. 제약상 허용되는 염 및 그를 제조하기 위한 통상의 방법론의 예는 문헌 ["Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use" P. Stahl, et al., 2nd Revised Edition, Wiley-VCH, 2011] 및 [S.M. Berge, et al., "Pharmaceutical Salts", Journal of Pharmaceutical Sciences, 1977, 66(1), 1-19]에서 찾을 수 있다. 화학식 I', I'', 1 또는 화학식 2의 화합물은 쯔비티이온, 모노-, 디- 또는 트리-산 부가염일 수 있다. 화학식 I', I'', 1 또는 화학식 2의 화합물은 모노-, 디- 또는 트리-염기 부가염일 수 있다.
- [0038] 본 발명의 제약 조성물은 제약상 허용되는 첨가제를 사용하여 제조될 수 있다. 용어 "제약상 허용되는"은 조성물의 다른 성분과 상용성이며 환자에게 제약상 유해하지 않은 1종 이상의 담체, 희석제 및/또는 부형제를 지칭한다. 제약 조성물 및 그의 제조 방법의 예는 통상의 기술자에게 널리 공지되어 있고, 예를 들어 문헌 ["Remington: The Science and Practice of Pharmacy", Loyd, V., et al. Eds., 22<sup>nd</sup> Ed., Mack Publishing Co., 2012]에서 찾아볼 수 있다.
- [0039] 본원에 사용된 용어 "유효량"은 장애를 치료하는 데 효과적인 투여량을 지칭한다. 특정한 환자에 대한 유효량은 숙련된 건강 전문가에 의해 결정될 수 있다.
- [0040] 본원에 사용된 용어 "치료하는", "치료하기 위한" 또는 "치료"는 기존 증상, 장애, 상태 또는 질환의 진행 또는 증중도를 둔화, 감소, 예방 또는 역전시키는 것을 포함한다. 본원에 사용된 "심혈관 질환을 치료하는"은 심장 또는 혈관 질환의 진행을 둔화, 감소, 예방 또는 역전시키는 것을 의미한다. 심근경색의 치료를 필요로 하는 환자에게 화학식 I', 화학식 1 또는 화학식 2의 화합물을 투여하는 것을 포함하는, 심근경색을 치료하는 방법이 제공된다.
- [0041] 본원에 사용된 용어 "환자"는 포유동물을 지칭한다. 바람직하게는, 환자는 인간이다.
- [0042] 바람직한 제약 조성물은 경구 투여용 정제 또는 캡슐, 경구 투여용 용액, 또는 주사가능한 용액으로서 제제화될 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 조성물은 경구 투여에 적합하다.
- [0043] 특정 약어는 하기와 같이 정의된다: "Apo"는 아포지단백질을 지칭하고; "BOC"는 tert-부톡시카르보닐을 지칭하고; "BSA"는 소 혈청 알부민을 지칭하고; "DAD"는 다이오드 어레이 검출기를 지칭하고; "DCM"은 디클로로메탄 또는 메틸렌 클로라이드를 지칭하고; "de"는 부분입체이성질체 과잉률을 지칭하고; "DMEA"는 디메틸에틸아민을 지칭하고; "DMEM"은 돌베코 변형 이글 배지를 지칭하고; "DMF"는 N,N-디메틸포름아미드를 지칭하고; "DMSO"는 디메틸 술폰을 지칭하고; "ee"는 거울상이성질체 과잉률을 지칭하고; "EACA"는 엡실론-아미노카프로산 또는 6-아미노카프로산을 지칭하고; "ELISA"는 효소-연결 면역흡착 검정을 지칭하고; "equiv"는 당량을 지칭하고; "Et<sub>2</sub>O"는 디에틸 에테르를 지칭하고; "EtOAc"는 에틸 아세테이트를 지칭하고; "EtOH"는 에탄올 또는 에틸 알콜을 지칭하고; "Ex"는 예를 지칭하고; "FBS"는 태아 소 혈청을 지칭하고; "HEC"는 히드록시 에틸 셀룰로스를 지칭하고; "HEK"는 인간 배아 신장을 지칭하고; "HepG2"는 인간 간암 세포주를 지칭하고; "HEPES"는 4-(2-히드록시에틸)-1-피페라진에탄술폰산을 지칭하고; "HPLC"는 고성능 액체 크로마토그래피를 지칭하고; "HRP"는 양고추냉이 퍼옥시다제를 지칭하고; "IC<sub>50</sub>"는 작용제에 대해 가능한 최대 억제 반응의 50%를 생성하는 작용제의 농도를 지칭하고; "min"은 분을 지칭하고; "MeOH"는 메탄올 또는 메틸 알콜을 지칭하고; "MTBE"는 메틸 tert-부틸 에테르를 지칭하고; "RP-HPLC/MS"는 역상 고성능 액체 크로마토그래피 동반 질량 분광측정법을 지칭하고; "RT"는 실



온을 지칭하고; "SFC"는 초임계 유체 크로마토그래피를 지칭하고; "SPA"는 섬광 근접 검정을 지칭하고; " $t_{(R)}$ "는 체류 시간을 지칭하고; "THF"는 테트라히드로푸란을 지칭하고; "TMB"는 3,3',5,5'-테트라메틸벤지딘을 지칭하고, "트리스"는 트리스(히드록시메틸)아미노메탄을 지칭한다.

[0044] 개별 이성질체, 거울상이성질체 및 부분입체이성질체는 통상의 기술자에게 공지된 방법, 예컨대 선택적 결정화 기술 또는 키랄 크로마토그래피에 의해 하기 열거된 화합물의 합성에서의 임의의 편리한 시점에서 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 분리 또는 분할될 수 있다.

[0045] 화학식 I', 화학식 I'', 화학식 1 또는 화학식 2의 화합물은 제약상 허용되는 염으로 용이하게 전환되고, 제약상 허용되는 염으로서 분리될 수 있다. 염 형성은 제약상 허용되는 산을 첨가하여 산 부가염을 형성하거나 또는 제약상 허용되는 염기를 첨가하여 염기 부가염을 형성할 때 일어날 수 있다. 염은 또한 질소 또는 산소의 탈보호, 즉 보호기의 제거 시에 동시에 형성될 수 있다. 염 형성을 위한 예, 반응 및 조건은 통상의 기술자에게 공지되어 있다.

[0046] 화학식 I', 화학식 I'', 화학식 1 및 화학식 2로 이루어진 군으로부터 선택된 화합물 또는 그의 염은 다양한 절차에 의해 제조될 수 있으며, 이들 중 일부는 하기 제조에 및 실시예에 예시되어 있다. 기재된 각각의 경로에 대한 구체적인 합성 단계는 본 발명의 화합물 또는 염을 제조하기 위해 상이한 방식으로 또는 상이한 경로로부터의 단계와 함께 조합될 수 있다. 하기 제조예에서의 각 단계의 생성물은 추출, 증발, 침전, 크로마토그래피, 여과, 연화처리 및 결정화를 비롯한 통상적인 방법에 의해 회수될 수 있다.

[0047] 하기 반응식에서, 모든 치환기는 달리 나타내지 않는 한, 상기 정의된 바와 같다. 시약 및 출발 물질은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 용이하게 이용가능하다. 본 발명의 범주를 제한하지 않으면서, 하기 반응식, 제조예, 및 실시예가 본 발명을 추가로 예시하기 위해 제공된다. 화학식 I', I'', 화학식 1 및 화학식 2의 화합물 또는 그의 염은 상응하는 목적하는 입체화학적 배위를 갖는 출발 물질 또는 중간체를 사용함으로써 제조될 수 있다.

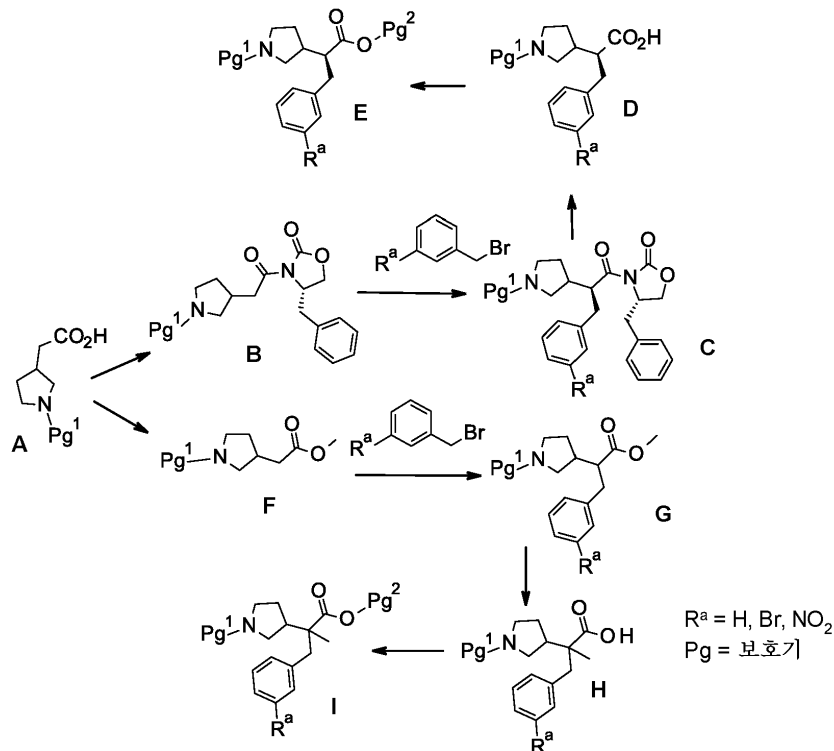
[0048] 반응식 1은 본 발명의 화합물에 접근할 수 있는 중간체의 제조를 도시한다. 보호된 피롤리딘-3-일 아세트산 유도체 A를 초기에 아실 옥사졸리딘 B로 전환시킨다. 이는 초기에 A를 산 클로라이드로 전환시키고, 염화리튬의 존재 하에 10℃에서 (4S)-4-벤질옥사졸리딘-2-온과 반응시킴으로써 달성된다. 0℃에서 벤질 브로마이드 유도체 및 염기 예컨대 리튬 비스(트리메틸실릴)아미드에 의한 아실 옥사졸리딘 B의 알킬화는 부분입체선택적 방식으로 중간체 C를 제공한다. 옥사졸리딘 치환의 입체화학적 알킬화의 부분입체선택성에 영향을 미치며, 이 합성에서 반대 또는 라세미 입체화학적 배위의 옥사졸리딘 유도체 B를 사용하면 각각 반대 부분입체선택성, 또는 부분입체선택성의 부재를 제공할 수 있다는 것을 관련 기술분야의 통상의 기술자는 인지할 것이다. 아실 옥사졸리딘 C의 산 중간체 D로의 전환은 5 내지 15℃에서 THF 중 수성 LiOH 및 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 사용하여 달성한다. 산 중간체 D는 임의로 암모늄 염으로서 분리된다. 산 중간체 D를, 예를 들어 승온에서 tert-부틸-1,3-디이소프로필이소우레아와의 반응에 의해 tert-부틸 에스테르로서 보호하여 중간체 E를 수득한다.

[0049] 반응식 1은 또한 산 A의 메틸 에스테르 F로의 전환을 도시하며, 이는 카르보네이트 염기의 존재 하에 A를 아이오도메탄과 반응시킴으로써 달성한다. 이어서 중간체 F를 -78℃에서 염기, 예컨대 리튬 비스(트리메틸실릴)아미드를 사용하여 벤질 브로마이드 유도체로 알킬화시켜 중간체 G를 수득한다. 중간체 G를 -78℃에서 염기, 예컨대 리튬 비스(트리메틸실릴)아미드를 사용하여 아이오도메탄으로 다시 알킬화시킨 다음, 에스테르를 승온에서 수산화나트륨에 의해 가수분해시켜 산 중간체 H를 수득한다. 산 중간체 H를 승온에서 tert-부틸-1,3-디이소프로필이소우레아와의 반응에 의해, 예를 들어 tert-부틸 에스테르로서 보호하여 중간체 I를 수득한다.

[0050] 특히, R<sup>a</sup>가 브로민 또는 -NO<sub>2</sub>인 중간체 D, E, H 및 I는 화학식 I'의 화합물의 제조에서 추가의 변환에 특히 유용하다. R<sup>a</sup>가 -H인 중간체 D는 벤질 브로마이드를 사용한 B의 알킬화에 이은 아실 옥사졸리딘의 가수분해에 의해 제조하거나, 또는 R<sup>a</sup>가 브로민인 중간체 D를 수소 분위기 하에 탄소 상 팔라듐과 교반함으로써 제조할 수 있다. R<sup>a</sup>가 -H인 경우, 중간체 D 상의 피롤리딘 질소의 탈보호는 화학식 I''의 화합물을 제공한다.



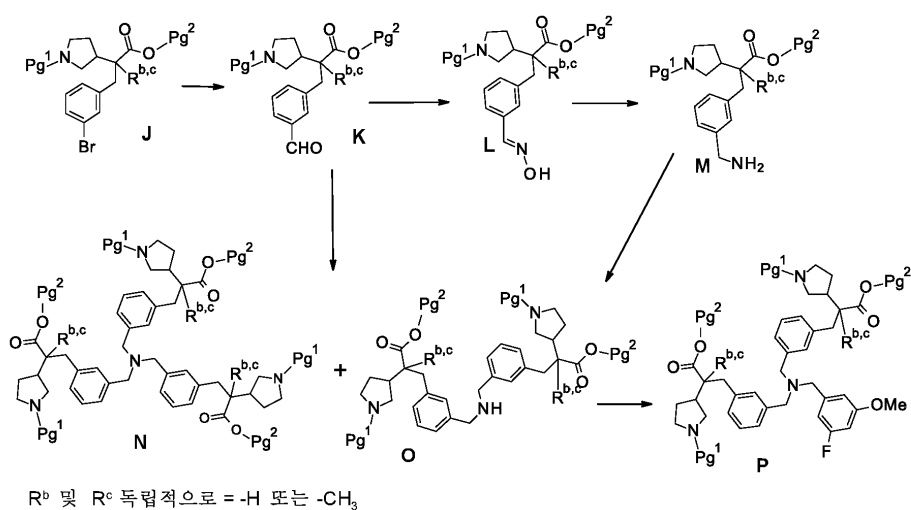
[0051] 반응식 1



[0052]

[0053] 반응식 2는 주요 중간체 (J, 반응식 1에 기재된 바와 같이 제조됨)로부터의 본 발명의 끝에서 두 번째 화합물로  
의 전환을 도시한다. 브로마이드를 승온에서 합성가스 (1:1 CO/H<sub>2</sub>), 팔라듐(II) 아세테이트, 부틸다-1-아다만  
틸포스핀, 및 N,N,N',N'-테트라메틸에틸렌디아민을 사용하여 알데히드 K로 전환시킨다. 이어서 알데히드 K를  
암모니아 및 환원제, 예컨대 소듐 트리아세톡시보로하이드라이드 또는 소듐 시아노보로하이드라이드를 사용한 K의  
환원성 아미노화에 의해 N 및 O (각각 2 또는 3 당량)의 혼합물로 전환시킨 다음, N 및 O를 크로마토그래피에  
의해 분리한다. 대안적으로, 알데히드 K를 알도심 L로 전환시키고, 승온에서 스폰지 니켈 촉매를 사용한 유동  
수소화에 의해 L을 아민 M으로 환원시키고, 이어서 알데히드 K에 의한 아민 M의 환원성 아미노화에 의해 이량체  
화합물 O를 제조한다. 중간체 P는 3-플루오로-5-메톡시벤즈알데히드에 의한 이량체 중간체 O의 환원성 아미노  
화에 의해 제조한다.

[0054] 반응식 2



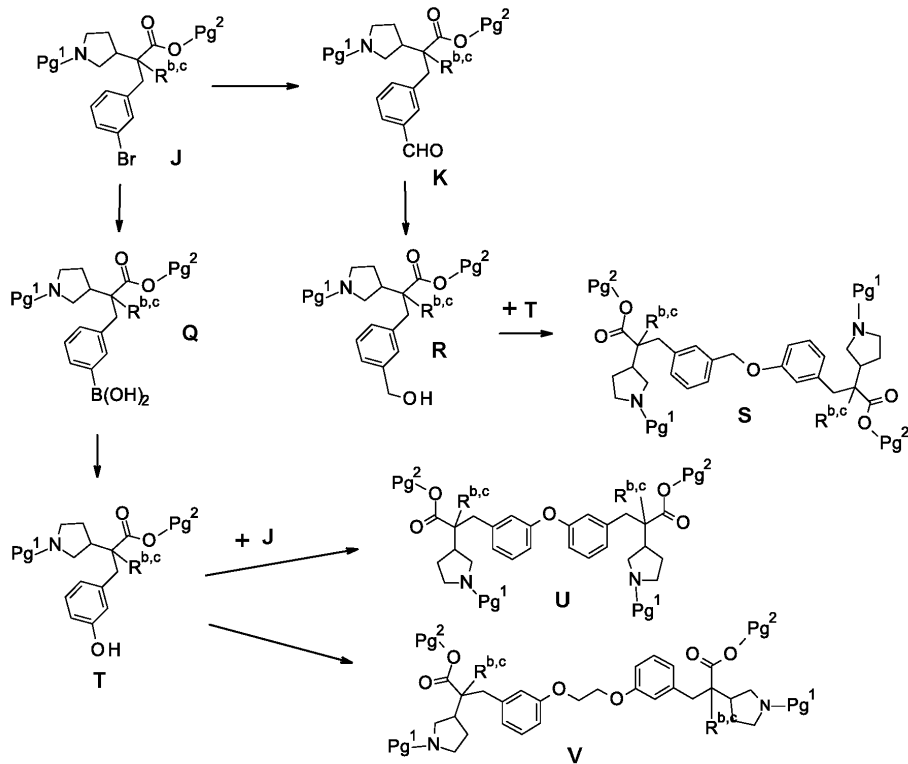
[0055]

[0056] 반응식 3은 본 발명의 끝에서 두 번째 화합물을 제조하기 위한 브로마이드 중간체 J의 추가의 사용을 나타낸다.  
브로마이드 J를 승온에서 테트라히드로시디보론, 클로로(2-디시클로헥실포스피노-2',4',6'-트리-*i*-프로필-1,1'-

비페닐)(2'-아미노-1,1'-비페닐-2-일) 팔라듐(II), X-PHOS 및 아세트산칼륨을 사용하여 보론산 Q로 전환시킨다. 이어서 보론산 Q를 5°C에서 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 사용하여 페놀 T로 전환시킨다. 페놀 T를 승온에서 아이오딘화구리(I), N,N-디메틸글리신 히드로클로라이드 및 탄산세슘을 사용하여 브로마이드 J 상에 커플링시켜 비페닐 에테르 U를 수득한다. 페놀 T를 또한 승온에서 1,2-디브로모에탄 및 카르보네이트 염기와 반응시켜 V를 수득한다. 알데히드 중간체 K (반응식 2에 기재된 바와 같이 브로마이드 J로부터 제조됨)를 0°C에서 수소화붕소나트륨을 사용하여 알콜 R로 환원시킨 다음, 미즈노부 반응을 거쳐 중간체 S를 수득한다.

[0057]

반응식 3



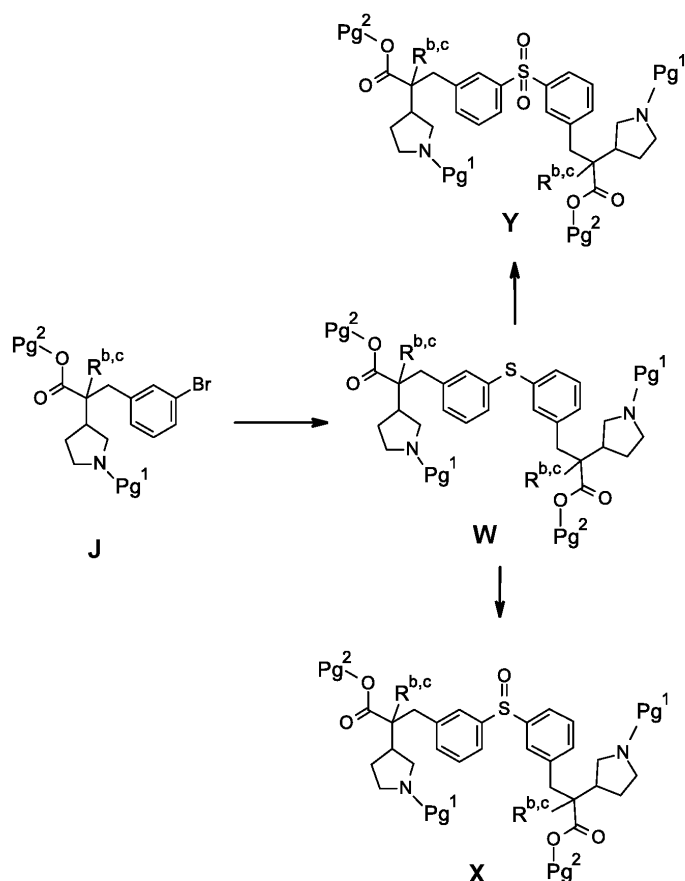
R<sup>b</sup> 및 R<sup>c</sup> 독립적으로 =-H 또는 -CH<sub>3</sub>

[0058]

[0059]

반응식 4는 본 발명의 끝에서 두 번째 화합물을 제조하기 위한 브로마이드 중간체 J의 추가의 사용을 나타낸다. 2 당량의 브로마이드 J를 비스(디벤질리덴아세톤)팔라듐, 삼염기성 인산칼륨, 1,1'-비스(디페닐포스피노)페로센을 사용하여 티오아세트산칼륨과 커플링시켜 디페닐 술포드 W를 수득한다. 이어서 술포드 W를 각각 1 또는 2 당량의 메타-클로로퍼옥시벤조산을 사용하여 술포 X 또는 술포시드 Y로 전환시킨다.

[0060] 반응식 4



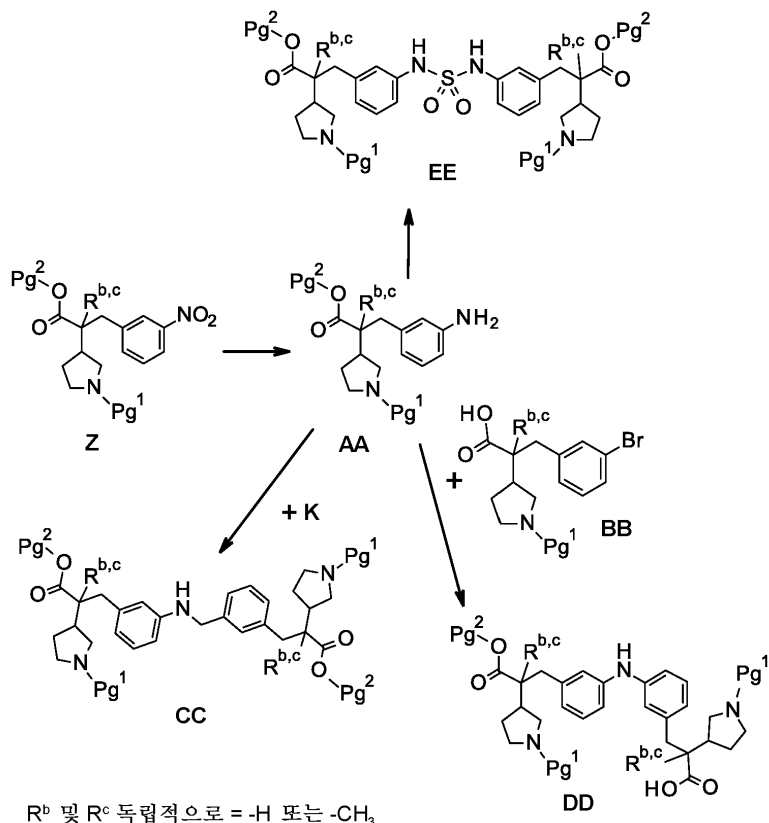
R<sup>b</sup> 및 R<sup>c</sup> 독립적으로 = -H 또는 -CH<sub>3</sub>

[0061]

[0062]

반응식 5는 본 발명의 끝에서 두 번째 화합물을 제조하기 위한 니트로 중간체 Z (반응식 1에서와 같이 제조됨)의 사용을 도시한다. 니트로 중간체 Z를 수소 분위기 하에 촉매의 존재 하에 아닐린 AA로 환원시킨다. 아닐린 AA를 환원제 예컨대 소듐 트리아세톡시보로하이드라이드를 사용하여 알데히드 K (반응식 2에서와 같이 제조됨)와 함께 환원성 아미노화시켜 CC를 제공한다. 승온에서 [(2-디-시클로헥실포스피노-3,6-디메톡시-2',4',6'-트리이소프로필-1,1'-비페닐)-2-(2'-아미노-1,1'-비페닐)]팔라듐(II) 메탄술포네이트 (BrettPhos Pd G3) 및 탄산칼륨을 사용하여 아닐린 AA 및 브로마이드 BB (반응식 1에서와 같이 제조됨)를 부흐발트(Buchwald) 반응시켜 디페닐아민 유도체 DD를 수득한다. 2 당량의 아닐린 AA를 또한 승온에서 1,4-디아자비시클로[2.2.2]옥탄 비스(이산화황) 부가물 (DABSO) 및 아이오딘과 반응시켜 술포미드 EE를 수득한다.

[0063] 반응식 5

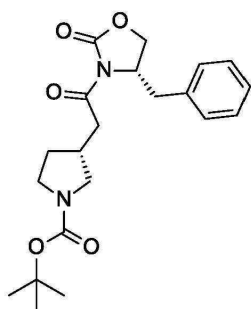


[0064]

[0065] 반응식 2 내지 5로부터의 중간체 N, O, P, S, U, V, W, X, Y, CC, DD 및 EE의 전체적 탈보호는 화학식 I'의 화합물을 제공한다. 피롤리딘 보호기 (반응식 1 내지 5에서 Pg<sup>1</sup>)가 -BOC이고, 에스테르 (반응식 1 내지 5에서 Pg<sup>2</sup>)가 tert-부틸 에스테르인 경우에, 유기 용매, 예컨대 디에틸 에테르, 디옥산 또는 이소프로판올 중 HCl의 용액을 사용하여 1 단계로 전체적 탈보호를 달성한다. 탈보호 시, 화학식 I'의 화합물에서의 피롤리딘 질소는 파라포름알데히드 및 소듐 트리아세톡시보로히드라이드를 사용한 환원성 아미노화에 의해 메틸화시킬 수 있다.

[0066] 제조예 1

[0067] tert-부틸 (3R)-3-[2-[[(4S)-4-벤질-2-옥소-옥사졸리딘-3-일]-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트



[0068]

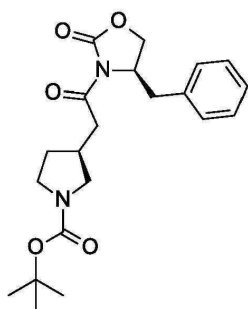
[0069] 트리에틸아민 (56.5 g, 77.9 mL, 559 mmol, 2.5 당량)을 10℃에서 유지되는 THF (540 mL) 중 2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]아세트산 (53.8 g, 235 mmol, 1.05 당량)의 용액에 첨가하였다. 5분 후, 피발로일 클로라이드 (33.7 g, 34.2 mL, 279 mmol, 1.25 당량)를 첨가하였다. 15분 후, THF (540 mL) 중 염화리튬 (11.8 g, 279 mmol, 1.25 당량) 및 (4S)-4-벤질옥사졸리딘-2-온 (40.0 g, 223 mmol, 1 당량)을 첨가하였다. 혼합물을 실온으로 가온되도록 하고, 24시간 동안 교반하였다. 24시간 후, 1N 수성 HCl (500 mL)을 첨가하고, 유기 상을 수성 상으로부터 분리하였다. 유기 상을 1N 수성 NaOH (500 mL) 및 포화 수성 NaCl (500 mL)로 세척하고, MgSO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 용액을 진공 하에 농축시켰다. 잔류물을 MeOH / 물의 혼합물 (1:2, 575 mL) 중에 현탁시키고, 실온에서 밤새 교반하였다. 고체를 여과하고, 헥산 (2 x 150 mL)으로 세척하고, 고

체를 건조시켜 표제 화합물 (65.7 g, 76%)을 수득하였다.

[0070] ES/MS (m/z): 333 (M+H-tert-부틸),  $^1\text{H}$  NMR (400.13 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.38-7.28 (m, 3H), 7.25-7.20 (m, 2H), 4.73-4.70 (m, 1H), 4.27-4.19 (m, 2H), 3.75-3.66 (m, 1H), 3.55-3.48 (m, 1H), 3.38-3.30 (m, 2H), 3.11-2.96 (m, 3H), 2.84-2.76 (m, 1H), 2.74-2.65 (m, 1H), 2.14-2.11 (m, 1H), 1.64-1.58 (m, 1H), 1.49 (s, 9H).

[0071] 제조예 2

[0072] tert-부틸 (3S)-3-[2-[(4R)-4-벤질-2-옥소-옥사졸리딘-3-일]-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트



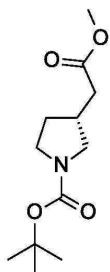
[0073]

[0074] 표제 화합물을 2-[(3S)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]아세트산 및 (4R)-4-벤질옥사졸리딘-2-온을 사용하여 본질적으로 제조예 1에 기재된 바와 같이 제조하였다. 생성물을 헥산 중 10 → 50% EtOAc의 구배를 사용한 실리카 겔 크로마토그래피에 의해 정제하였다.

[0075] ES/MS (m/z): 333 (M+H-tert-부틸)

[0076] 제조예 3

[0077] tert-부틸 (3R)-3-(2-메톡시-2-옥소-에틸)피롤리딘-1-카르복실레이트



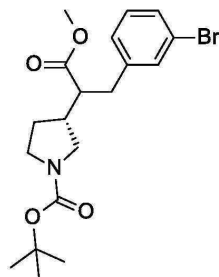
[0078]

[0079] 아이오도메탄 (MTBE 중 2 mol/L, 240 mL, 480 mmol, 1.1 당량)을 실온에서 DMF (800 mL) 중 2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]아세트산 (100g, 436 mmol)의 용액에 첨가하였다. 탄산칼륨 (90.4 g, 654 mmol, 1.5 당량)을 첨가하고, 생성된 혼합물을 4시간 동안 교반하였다. 물 (1.5 L)을 첨가하고, MTBE (3 L)로 추출하였다. 유기 상을 얼음/물 (3 x 500 mL)로 세척하고, 유기 상을  $\text{MgSO}_4$  상에서 건조시키고, 여과하고, 용액을 감압 하에 농축시켜 표제 화합물 (103 g, 97%)을 수득하였다.

[0080]  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  3.68 (s, 3H), 3.65-3.53 (m, 1H), 3.52-3.36 (m, 1H), 3.35-3.23 (m, 1H), 3.03-2.84 (m, 1H), 2.64-2.49 (m, 1H), 2.45-2.30 (m, 2H), 2.13-1.97 (m, 1H), 1.65-1.48 (m, 1H), 1.45 (s, 9H).

[0081] 제조예 4

[0082] tert-부틸 (3R)-3-[1-[(3-브로모페닐)메틸]-2-메톡시-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트



[0083]

[0084]

-78℃에서 THF (93 mL) 중 tert-부틸 (3R)-3-(2-메톡시-2-옥소-에틸)피롤리딘-1-카르복실레이트 (7 g, 28 mmol)의 용액에 리튬 비스(트리메틸실릴)아미드 (THF 중 1 M 용액, 33.5 mL, 33.5 mmol, 1.2 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 -78℃에서 1시간 동안 교반하였다. THF (5 mL) 중 3-브로모벤질 브로마이드 (8.37 g, 33.5 mmol, 1.2 당량)의 용액을 첨가하였다. 혼합물을 실온으로 가온되도록 하고, 밤새 교반하였다. 혼합물을 포화 수성 NH<sub>4</sub>Cl로 켄칭하고, EtOAc로 추출하였다. 유기부를 포화 수성 NaCl로 세척하고, MgSO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 증발 건조시켰다. 잔류물을 헥산 중 10 → 40% EtOAc의 구배를 사용한 실리카 겔 크로마토그래피에 의해 정제하여 표제 화합물의 부분입체이성질체의 혼합물 (8.4 g, 73%)을 황색 오일로서 수득하였다.

[0085]

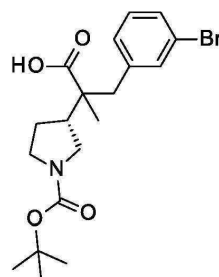
ES/MS (m/z): 356, 358 (M+H-tert-부틸).

[0086]

제조예 5

[0087]

3-(3-브로모페닐)-2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]-2-메틸-프로판산



[0088]

[0089]

질소 하에 -78℃에서 THF (100 mL) 중 tert-부틸 (3R)-3-[1-[(3-브로모페닐)메틸]-2-메톡시-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트 (8.4 g, 20 mmol)의 용액에 리튬 비스(트리메틸실릴)아미드 (THF 중 1 M 용액, 41 mL, 41 mmol, 2 당량)를 첨가하였다. 반응물을 -78℃에서 2시간 동안 교반하였다. 아이오도메탄 (25 mL, 410 mmol, 20 당량)을 첨가하고, 혼합물을 실온으로 가온되도록 하였다. 혼합물을 밤새 교반하였다. 포화 수성 NH<sub>4</sub>Cl을 첨가하고, EtOAc로 추출하였다. 유기 층을 포화 수성 NaCl로 세척하고, MgSO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 용매를 진공 하에 제거하였다. 잔류물을 MeOH (80 mL) 및 THF (80 mL) 중에 용해시킨 다음, 수산화나트륨 (물 중 5 M 용액, 81 mL, 410 mmol, 20 당량)을 첨가하고, 생성된 혼합물을 60℃에서 3일 동안 가열하였다. 혼합물을 실온으로 냉각되도록 하고, HCl (1 N 수용액)을 첨가하여 혼합물 pH를 2-3으로 조정하였다. 수성 층을 EtOAc로 추출하였다. 유기 층을 MgSO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 하에 농축시켰다. 잔류물을 하기 파라미터 하에 키랄 SFC에 적용하였다: 칼럼 - 키랄팩® AD (25 x 3 cm, 5 μm); 이동상 - 용매 A = CO<sub>2</sub>, 용매 B = MeOH+0.2% v/v DMEA; 구배 - 등용매 80:20 A:B; 유량 - 120 mL/분). 표제 화합물의 이성질체 1 (1.7 g, 27%) 및 이성질체 2 (3.4 g, 41%)를 백색 고체로서 수득하였다.

[0090]

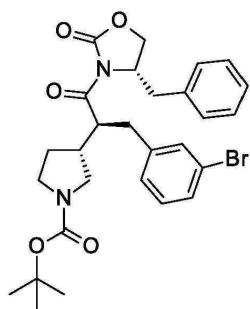
ES/MS (m/z): 356/ 358 (M+H-tert-부틸).

[0091]

제조예 6

[0092]

tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-2-[(4S)-4-벤질-2-옥소-옥사졸리딘-3-일]-1-[(3-브로모페닐)메틸]-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트



[0093]

[0094]

리튬 비스(트리메틸실릴)아미드의 용액 (THF 중 1M, 818 mL, 818 mmol, 1.2 당량)을 29분에 걸쳐 빙조 내 3구 3 L 둥근 바닥 플라스크 내의 THF (1325 mL) 중 tert-부틸 (3R)-3-[2-[(4S)-4-벤질-2-옥소-옥사졸리딘-3-일]-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트 (265 g, 682 mmol)의 0℃ 용액에 질소 하에 기계적 교반 하에 첨가하였다. 혼합물을 0.6℃에서 47분 동안 교반하였다. 이어서, THF (450 mL) 중 1-브로모-3-(브로모메틸)벤젠 (190 g, 760 mmol, 1.12 당량)의 용액을 28분에 걸쳐 첨가하고, 반응 온도를 5.1℃로 상승시켰다. 혼합물을 밤새 교반하면서 실온으로 가온되도록 하였다. 반응 혼합물을 빙수조를 사용하여 냉각시킨 다음, NH<sub>4</sub>Cl의 포화 수용액 (1 L)을 반응 온도를 21℃ 미만으로 유지하는 속도로 4 부분으로 첨가하였다. 물 (1 L)을 혼합물에 첨가하고, MTBE (3.5 L)로 추출하였다. 유기 층을 물 (1 L) 및 포화 수성 NaCl (500 mL)의 혼합물로 세척하고, 이어서 포화 수성 NaCl (500 mL)로 세척하였다. 유기부를 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과한 다음, 진공 하에 농축시켰다. 잔류물에 헥산 (1 L)을 첨가하고, 진공 하에 농축시킨 다음, 고진공 하에 밤새 건조시켜 표제 화합물을 오렌지색 오일 (416 g, > 100%)로서 수득하였고, 순도는 이론적 수율에 기초하여 90 wt%로 추정되었다.

[0095]

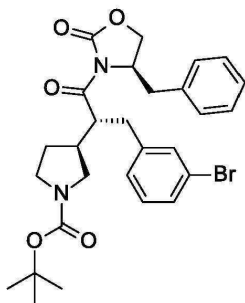
ES/MS (m/z): 501/503 (M+H-tert-부틸).

[0096]

제조예 7

[0097]

tert-부틸 (3S)-3-[(1R)-2-[(4R)-4-벤질-2-옥소-옥사졸리딘-3-일]-1-[(3-브로모페닐)메틸]-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트



[0098]

[0099]

tert-부틸 (3S)-3-[2-[(4R)-4-벤질-2-옥소-옥사졸리딘-3-일]-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트를 사용하여 본질적으로 제조예 6에 대하여 기재된 바와 같이 표제 화합물을 제조하였다.

[0100]

ES/MS (m/z): 501, 503 (M+H-tert-부틸).

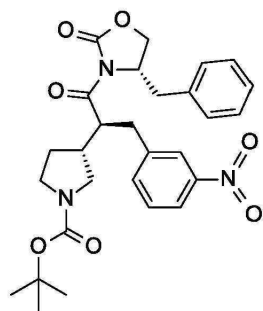
[0101]

제조예 8

[0102]

tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-2-[(4S)-4-벤질-2-옥소-옥사졸리딘-3-일]-1-[(3-니트로페닐)메틸]-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트





[0103]

[0104]

리튬 비스(트리메틸실릴)아미드 (THF 중 1.0 M, 46 mL, 46 mmol, 1.2 당량)를 THF (75 mL) 중 tert-부틸 (3R)-3-[2-[(4S)-4-벤질-2-옥소-옥사졸리딘-3-일]-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트 (15 g, 39 mmol, 1 당량)의 용액에 -20℃에서 첨가하였다. 혼합물을 -20℃에서 20분 동안 교반하였다. THF (45 mL) 중 1-(브로모메틸)-3-니트로-벤젠 (9.17 g, 42.5 mmol, 1.1 당량)의 용액을 첨가하였다. 용액을 2시간 동안 교반하고, 이를 실온으로 가온되도록 하였다. 혼합물을 MTBE로 희석하고, NH<sub>4</sub>Cl의 포화 수용액으로 켄칭하였다. 상을 분리하고, 수성 상을 MTBE로 추출하였다. 유기 추출물을 합하고, 유기부를 순차적으로 물 및 포화 수성 NaCl로 세척하였다. Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 여과물을 진공 하에 농축시켰다. 잔류물을 MeOH/H<sub>2</sub>O의 혼합물 (2:1, 150 mL)로 연화처리하였다. 슬러리를 밤새 교반하였다. 여과하여 고체를 수집하고, 헥산으로 세척하였다. 고체를 진공 하에 40℃에서 건조시켜 표제 화합물 (19 g, 88%)을 수득하였다.

[0105]

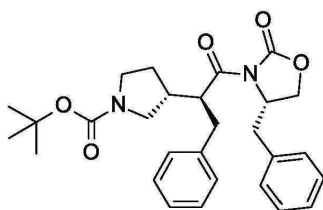
ES/MS (m/z): 468 (M+H-tert-부틸).

[0106]

제조예 9

[0107]

tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-1-벤질-2-[(4S)-4-벤질-2-옥소-옥사졸리딘-3-일]-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트



[0108]

[0109]

벤질 브로마이드를 사용하여 본질적으로 제조예 6에 기재된 바와 같이 76% 순도로 표제 화합물을 제조하였다.

[0110]

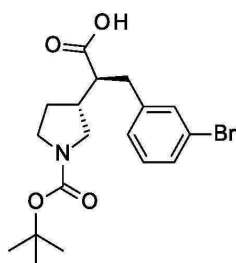
ES/MS (m/z): 423 (M+H-tert-부틸).

[0111]

제조예 10

[0112]

(2S)-3-(3-브로모페닐)-2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]프로판산



[0113]

[0114]

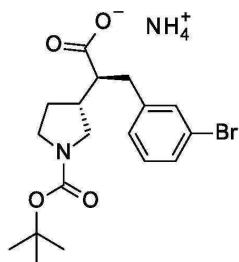
과산화수소 (물 중 0.88 M, 105 mL, 926 mmol, 1.5 당량)의 용액을 한 번에 THF (4 L) 중 tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-2-[(4S)-4-벤질-2-옥소-옥사졸리딘-3-일]-1-[(3-브로모페닐)메틸]-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트 (90 wt% 순도, 381 g, 615 mmol)의 기계적으로-교반된 혼합물에 첨가하고, 빙수조를 갖는 3구 12 L 둥근 바닥 플라스크에서 8.6℃로 냉각시켰다. 물 (930 mL) 중 수산화리튬 1수화물 (38.7 g, 923 mmol, 1.5 당량)의 용액을 25분에 걸쳐 첨가하고, 반응 온도를 12.8℃로 상승시켰다. 반응물을 2.5시간 동안 교반한 다음, 5.7℃

로 냉각시켰다. 물 (2 L) 중 중아황산나트륨 (129.4 g, 1244 mmol, 2.02 당량)의 용액을 40분에 걸쳐 첨가하고, 반응 온도를 14.7℃로 상승시켰다. NaOH (5N)의 수용액을 첨가하여 반응 혼합물의 pH를 > 12로 상승시킨 다음, 물 (1 L) 및 MTBE (4 L)를 첨가하였다. 층을 분리하고, 수성 층을 MTBE (2 L)로 추출하였다. 유기부를 합하고, 물 (1 L)로 추출한 다음, 이 수성 추출물을 벌크 수용액에 첨가하였다. 수용액을 MTBE (3 L)로 교반하고, 혼합물을 5℃로 냉각시켰다. 염산 (5N)의 수용액을 첨가하여 혼합물의 pH를 3으로 만들었다. 층을 분리하고, 유기 층을 포화 수성 NaCl (1 L) 및 물 (500 mL)의 혼합물로 세척하였다. 유기부를 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 하에 40℃에서 농축시켰다. 잔류물을 고진공 하에 건조시켜 표제 화합물 (221.5 g, 90 %)을 백색 고체로서 수득하였다.

[0115] ES/MS (m/z): 342/344 (M+H-tert-부틸).

[0116] 제조예 11

[0117] 암모늄; (2S)-3-(3-브로모페닐)-2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]프로파노에이트



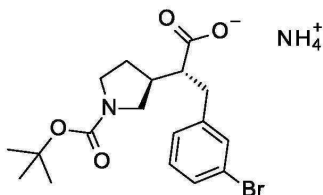
[0118]

[0119] (2S)-3-(3-브로모페닐)-2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]프로판산 (237.6 g, 596.5 mmol) 및 MTBE (3801 mL)를 혼합하여 고체와의 탁한 혼합물을 수득하였다. 혼합물을 2개의 유리 섬유 여과지 상에서 여과하고, MeOH 중 암모니아 (7 M) (128 mL, 896 mmol, 1.5 당량)를 기계적 교반 하에 질소 하에 여과물에 첨가하였다. 백색 고체가 침전되고, 혼합물이 매우 농후해졌다. MTBE (800 mL)를 혼합물에 첨가하여 자유-유동 슬러리를 수득하였다. 혼합물을 실온에서 1.5시간 동안 교반한 다음, 얼음/아세톤 조에서 -5 내지 0℃로 냉각시키고, 1.5시간 동안 교반하였다. 고체를 프로펠렌 매트 및 3 L 유리-프릿 깔때기를 통한 진공 여과에 의해 여과하고, 고체를 MTBE (1 L)로 행군 다음, 실온에서 밤새 질소 블랭킷 하에 진공을 계속 적용하였다. 고체를, (2S)-3-(3-브로모페닐)-2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]프로판산 (47.3 g, 113 mmol, 및 53.0 g, 120 mmol)으로 출발하여 유사한 방식으로 제조된 물질의 2개 이상의 배치와 합하였다. 고체를 아세토니트릴 (4300 mL) 중에 현탁시키고, 혼합물을 23℃에서 밤새 질소 하에 기계적 교반 하에 교반하였다. 고체를 진공 여과에 의해 여과하고, 아세토니트릴 (500 mL) 및 MTBE (1 L)로 세척한 다음, 질소 블랭킷 하에 실온에서 4시간 동안 진공을 계속 적용하여 표제 화합물을 백색 분말 (249.5 g, 77%)로서 수득하였다.

[0120] ES/MS (m/z): 342/344 (M+H-tert-부틸).

[0121] 제조예 12

[0122] 암모늄; (2R)-3-(3-브로모페닐)-2-[(3S)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]프로파노에이트



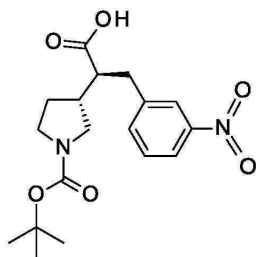
[0123]

[0124] tert-부틸 (3S)-3-[(1R)-2-[(4R)-4-벤질-2-옥소-옥사졸리딘-3-일]-1-[(3-브로모페닐)메틸]-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트를 사용하여 본질적으로 제조예 10에 기재된 바와 같이 표제 화합물을 제조한 후, 제조예 11에 기재된 바와 같이 암모늄 염을 형성하였다.

[0125] ES/MS (m/z): 342, 344 (M+H-tert-부틸).

[0126] 제조예 13

[0127] (2S)-2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]-3-(3-니트로페닐) 프로판산



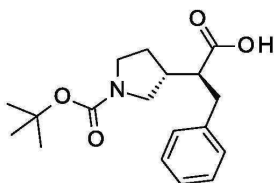
[0128]

[0129] 반응 후처리에서 중아황산나트륨의 수용액을 첨가하는 단계를 생략하고, tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-2-[(4S)-4-벤질-2-옥소-옥사졸리딘-3-일]-1-[(3-니트로페닐)메틸]-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트를 사용하여 본질적으로 제조예 10에 기재된 바와 같이 표제 화합물을 제조하였다.

[0130] ES/MS (m/z): 309 (M+H-tert 부틸).

[0131] 제조예 14

[0132] (2S)-2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]-3-페닐-프로판산



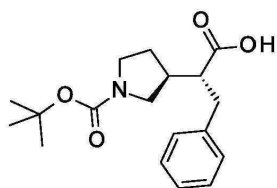
[0133]

[0134] tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-1-벤질-2-[(4S)-4-벤질-2-옥소-옥사졸리딘-3-일]-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트를 사용하여 본질적으로 제조예 10에 기재된 바와 같이 표제 화합물을 제조하였다. 생성물을 1:1 MeOH:물로의 연화처리에 의해 정제하였다.

[0135] ES/MS (m/z): 264 (M+H-tert 부틸).

[0136] 제조예 15

[0137] (2R)-2-[(3S)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]-3-페닐-프로판산



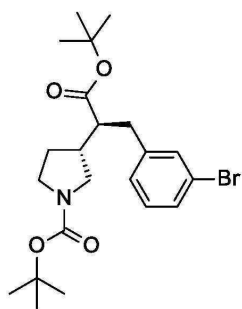
[0138]

[0139] 암모늄; (2R)-3-(3-브로모페닐)-2-[(3S)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]프로파노에이트 (830 mg, 2.08 mmol)를 EtOH (20 mL) 중에 용해시키고, 탄소 상 팔라듐 (10% w/w, 222 mg, 0.208 mmol, 0.1 당량)을 첨가하였다. 혼합물을 수소의 풍선 하에 실온에서 밤새 교반하였다. 반응 혼합물을 규조토의 패드 상에서 여과하였다. 여과물을 농축시키고, 잔류물을, 1% 아세트산의 첨가와 함께 헥산 중 10 → 40% EtOAc의 구배를 사용한 실리카 겔 크로마토그래피에 의해 정제하여 표제 화합물 (560 mg, 84%)을 백색 고체로서 수득하였다.

[0140] ES/MS (m/z): 264 (M+H-tert-부틸).

[0141] 제조예 16

[0142] tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-1-[(3-브로모페닐)메틸]-2-tert-부톡시-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트



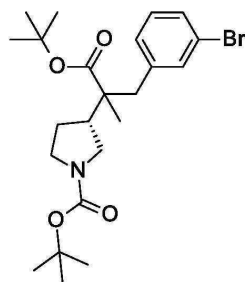
[0143]

[0144] 반응기에 암모늄; (2S)-3-(3-브로모페닐)-2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]프로파노에이트 (500 g, 1210 mmol), 2-메틸테트라히드로푸란 (4000 mL)에 이어서 KHSO<sub>4</sub>의 용액 (물 중 1M, 3000 mL)을 첨가하였다. 혼합물을 30분 동안 교반하고, 이 시간 동안 pH는 2-3인 것으로 측정되었다. 반응 혼합물의 상을 분리하고, 수성 층을 2-메틸테트라히드로푸란 (1000 mL)으로 추출하였다. 유기 상을 합하고, 이들을 포화 수성 NaCl로 세척하였다. 유기 상을 MgSO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 이를 여과하였다. 용액을 반응기로 옮기고, 2-tert-부틸-1,3-디이소프로필이소우레아 (618.2 g, 3024 mmol, 2.5 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 65°C에서 3시간 동안 교반하고, 추가의 2-tert-부틸-1,3-디이소프로필이소우레아 (247.3 g, 1210 mmol, 1 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 65°C에서 밤새 교반하였다. 혼합물을 실온으로 냉각시켰다. 고체를 여과하고, 유기 층을 포화 수성 NaHCO<sub>3</sub> (1000 mL)으로 세척하였다. 유기 층을 MgSO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 하에 농축시켰다. MTBE (2000 mL)를 잔류물에 첨가하고, 고체를 여과하였다. 여과물을 농축시켜 표제 화합물 (483 g, 88%)을 백색 고체로서 수득하였다.

[0145] ES/MS (m/z): 342/344 (M+H- 2x tert-부틸).

[0146] 제조예 17

[0147] tert-부틸 (3R)-3-[1-[(3-브로모페닐)메틸]-2-tert-부톡시-1-메틸-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트



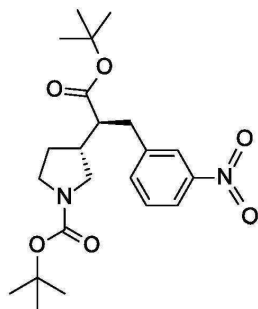
[0148]

[0149] 2-메틸테트라히드로푸란 (33 mL) 중 3-(3-브로모페닐)-2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]-2-메틸-프로판산, 이성질체 2 (3.4 g, 8.2 mmol)의 용액에 2-tert-부틸-1,3-디이소프로필이소우레아 (5.1 g, 5.7 mL, 25 mmol, 3 당량)를 첨가하고, 혼합물을 55°C에서 3.5시간 동안 가열하였다. 추가의 2-tert-부틸-1,3-디이소프로필이소우레아 (5.1 g, 5.7 mL, 25 mmol, 3 당량)를 첨가하고, 반응물을 55°C에서 1.5시간 동안 가열을 계속하였다. 추가의 2-tert-부틸-1,3-디이소프로필이소우레아 (2.5 g, 2.9 mL, 12 mmol, 1.5 당량)를 첨가하고, 반응물을 55°C에서 밤새 가열을 계속하였다. 백색 고체를 여과하고, MTBE로 세척한 다음, 여과물을 증발 건조시켰다. 잔류물을 헥산 중 0 → 100% EtOAc의 구배를 사용한 실리카 겔 크로마토그래피에 의해 정제하여 표제 화합물 (3.6 g, 93%)을 황색 오일로서 수득하였다.

[0150] ES/MS (m/z): 356, 358 [M+H-(2xtert-부틸)].

[0151] 제조예 18

[0152] tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-2-tert-부톡시-1-[(3-니트로페닐)메틸]-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트



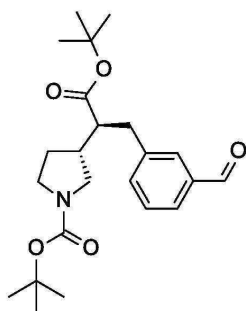
[0153]

[0154] (2S)-2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]-3-(3-니트로페닐) 프로판산을 사용하고, 반응 용매로서 톨루엔 중 80℃에서 반응을 수행하여, 본질적으로 제조예 17에 기재된 바와 같이 표제 화합물을 제조하였다. 조 생성물을 헥산 중 5 → 20% EtOAc의 구배를 사용한 실리카 겔 크로마토그래피에 의해 정제하였다.

[0155] ES/MS (m/z): 309 [M+H-(2xtert-부틸)].

[0156] 제조예 19

[0157] tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-2-tert-부톡시-1-[(3-포르밀페닐)메틸]-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트



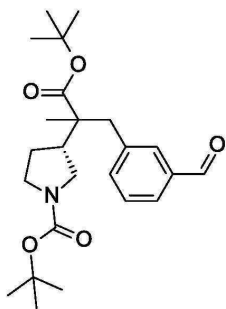
[0158]

[0159] 파르 반응기에 톨루엔 (3000 mL) 중 tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-1-[(3-브로모페닐)메틸]-2-tert-부톡시-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트 (300 g, 660 mmol)의 용액에 이어서 아세트산팔라듐 (II) (7.41 g, 33.0 mmol, 0.05 당량), 부틸디-1-아다만틸포스핀 (24.92 g, 66.02 mmol, 0.1 당량) 및 N,N,N',N'-테트라메틸에틸렌디아민 (115g, 149 mL, 990 mmol, 1.5 당량)을 첨가하였다. 혼합물을 70 psi의 합성가스 (CO/H<sub>2</sub> 1:1)로 가압하고, 100℃에서 밤새 교반하였다. 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 용매를 증발 건조시켰다. 잔류물을 EtOAc 중에 용해시키고, 실리카 겔을 통해 여과하여 표제 화합물 (273 g, 97%)을 오렌지색 오일로서 수득하였다.

[0160] ES/MS (m/z): 426 (M+Na).

[0161] 제조예 20

[0162] tert-부틸 (3R)-3-[2-tert-부톡시-1-[(3-포르밀페닐)메틸]-1-메틸-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트



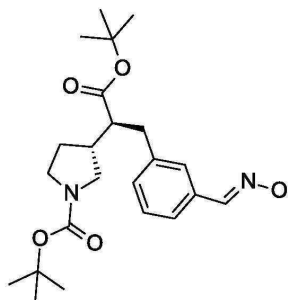
[0163]

[0164] 표제 화합물을 tert-부틸 (3R)-3-[1-[(3-브로모페닐)메틸]-2-tert-부톡시-1-메틸-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트를 사용하여 본질적으로 제조예 19에 기재된 바와 같이 제조하였다. 조 생성물을 헥산 중 10 → 30% 아세톤의 구배를 사용한 실리카 겔 크로마토그래피에 의해 정제하였다.

[0165] ES/MS (m/z): 262 (M+H-tert-부틸-BOC).

[0166] 제조예 21

[0167] tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-2-tert-부톡시-1-[[3-[히드록시이미노메틸]페닐]메틸]-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트



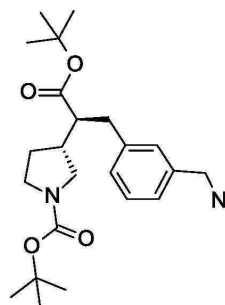
[0168]

[0169] tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-2-tert-부톡시-1-[(3-포르밀페닐)메틸]-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트 (50 g, 105 mmol, 순도 85%), EtOH (400 mL), 피리딘 (17.0 mL, 211 mmol, 2 당량) 및 히드록실아민 히드로클로라이드 (10.98 g, 158.0 mmol, 1.5 당량)를 혼합하였다. 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 용매를 증발시키고, KHSO<sub>4</sub> (물 중 1 M 용액, 300 mL) 및 MTBE (500 mL)를 첨가하였다. 유기 층을 분리하고, 유기 층을 포화 수성 NaHCO<sub>3</sub>으로 세척하고, 여과하고, MgSO<sub>4</sub> 상에서 건조시켰다. 셀라이트®를 통해 여과하고, 농축 건조시켜 표제 화합물을 황색 오일 (49g, 98% 수율, 순도 88% w/w)로서 수득하였다.

[0170] ES/MS (m/z): 319 (M+H-Boc).

[0171] 제조예 22

[0172] tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-1-[[3-(아미노메틸)페닐]메틸]-2-tert-부톡시-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트



[0173]

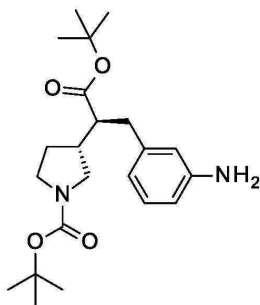
[0174] 스폰지 니켈 촉매 (2 g) 및 유리 비드 (6 g, 212 내지 300 마이크로미터)를 함유하는 스테인레스강 충전층 반응기 칼럼 (1.2 cm 내부 직경 x 10 cm 길이)을 갖는 플로우캣(FlowCAT) 고압 유동 화학 반응기 (H.E.L Ltd)를 제조하였다. 반응기에 기체 및 액체 유동 제어기 및 칼럼 주위의 가열 재킷을 장착하였다. 칼럼을 하기 파라미터: 액체 유량 - 4 mL/분; H<sub>2</sub> 유량 - 60 mL/분; 압력 - 50 bar; 반응기 칼럼 재킷 온도 - 120℃ (50℃에서 유지된 내부 반응 온도)를 갖는 MeOH 및 수소 기체로 플러싱함으로써 평형화시켰다.

[0175] tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-2-tert-부톡시-1-[[3-[히드록시이미노메틸]페닐]메틸]-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트 (49 g, 103 mmol, 순도 88% w/w)를 암모니아 (MeOH 중 7 M 용액, 606 mL) 중에 용해시키고, 이를 칼럼 평형 파라미터를 사용하여 수소 기체와 함께 반응기 칼럼을 통해 플러싱하고, 반응기 칼럼으로부터 용리액을 수집하였다. 칼럼을 20분에 걸쳐 암모니아 (MeOH 중 7 M 용액)로 다시 플러싱하고, 반응기 칼럼 용리액을 수집하였다. 반응기 칼럼 용리액 분획을 합하고, 혼합물을 진공 하에 농축시켜 표제 화합물을 오일 (46.9 g, 88% 수율, 순도 78% w/w)로서 수득하였다.

[0176] ES/MS (m/z): 405 (M+H).

[0177] 제조예 23

[0178] tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-1-[(3-아미노페닐)메틸]-2-tert-부톡시-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트



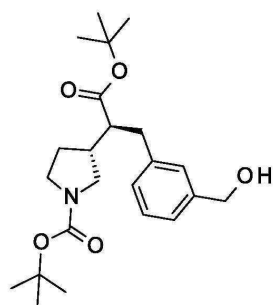
[0179]

[0180] 탄소 상 팔라듐 (10% w/w, 380 mg, 0.36 mmol, 0.05 당량)을 EtOAc (71 mL) 중 tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-2-tert-부톡시-1-[(3-니트로페닐)메틸]-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트 (3 g, 7.1 mmol)의 교반 용액에 질소 분위기 하에 첨가하였다. 혼합물을 수소로 퍼징하고, 수소의 풍선 하에 실온에서 밤새 교반하였다. 반응 혼합물을 규조토의 패드 상에서 여과하였다. 여과물을 진공 하에 농축시켜 표제 화합물 (2.62 g, 94%)을 백색 고체로서 수득하였다.

[0181] ES/MS (m/z): 291 (M+H-BOC).

[0182] 제조예 24

[0183] tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-2-tert-부톡시-1-[[3-(히드록시메틸)페닐]메틸]-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트



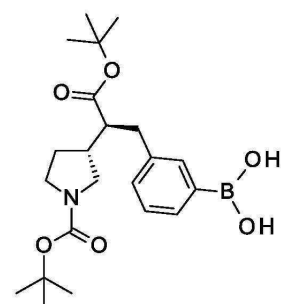
[0184]

[0185] 수소화붕소나트륨 (0.208 g, 5.50 mmol, 1.2 당량)을 MeOH (25 mL) 중 tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-2-tert-부톡시-1-[(3-포르밀페닐)메틸]-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트 (1.85 g, 4.58 mmol)의 용액에 0℃에서 첨가하였다. 10분 후, 용매를 증발시켰다. 포화 수성 NaHCO<sub>3</sub>을 첨가하고, 수성 층을 EtOAc로 추출하였다. 유기부를 물 및 포화 수성 NaCl로 세척하였다. 유기부를 MgSO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 진공 하에 농축시켜 표제 화합물 (2.94 g, 97.5%)을 무색 오일로서 수득하였다.

[0186] ES/MS (m/z): 428 (M+Na).

[0187] 제조예 25

[0188] [3-[(2S)-3-tert-부톡시-2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]-3-옥소-프로필]페닐]보론산



[0189]

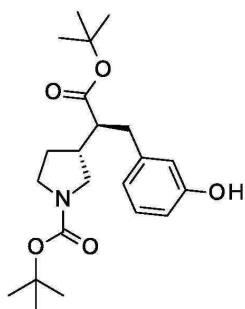


[0190] tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-1-[(3-브로모페닐)메틸]-2-tert-부톡시-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트 (16.4 g, 36.1 mmol), 테트라히드로시디보론 (5.00 g, 54.1 mmol, 1.5 당량), 클로로(2-디시클로헥실포스피노-2',4',6'-트리아이소프로필-1,1'-비페닐)[2-(2'-아미노-1,1'-비페닐)]팔라듐 (II) (XPhos Pd G2, 0.145 g, 0.180 mmol, 0.005 당량), 2-디시클로헥실포스피노-2',4',6'-트리아이소프로필비페닐 (XPhos, 0.176 g, 0.361 mmol, 0.01 당량), 아세트산칼륨 (10.6 g, 108 mmol, 3 당량), EtOH (246 mL) 및 에틸렌 글리콜 (6.10 mL, 108 mmol, 3 당량)을 혼합하였다. 질소로 5분 동안 퍼징하였다. 혼합물을 90℃에서 밤새 교반하였다. 반응물을 RT로 냉각시키고, 2-메틸테트라히드로푸란 (158 mL)을 첨가하고, 여과하였다. 농축시키고, 잔류물을 제조예 26에서 추가 정제 없이 사용하였다.

[0191] ES/MS (m/z): 308 (M+H-2x tert-부틸).

[0192] 제조예 26

[0193] tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-2-tert-부톡시-1-[(3-히드록시페닐)메틸]-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트



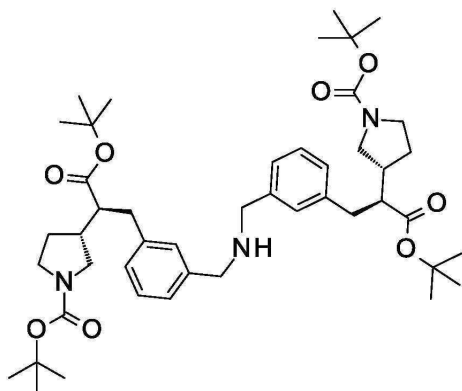
[0194]

[0195] THF (42 mL) 중 [3-[(2S)-3-tert-부톡시-2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]-3-옥소-프로필]페닐]보론산 (3.8 g, 8.4 mmol)의 용액에 과산화수소의 용액 (물 중 30%, 9.1 mL, 84 mmol, 10 당량)을 첨가하였다. 반응물을 실온에서 밤새 교반하였다. 반응물을 중아황산나트륨의 용액 (물 중 20% w/v, 120 mL)의 첨가에 의해 천천히 퀀칭하였다. 혼합물을 EtOAc로 2회 추출하고, 합한 유기부를 포화 수성 NaCl로 세척하였다. 유기부를 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 하에 농축시켰다. 잔류물을 헥산 중 10 → 40% 아세톤의 구배를 사용한 실리카 겔 크로마토그래피에 의해 정제하여 표제 화합물 (3.05 g, 90%)을 베이지색 고체로서 수득하였다.

[0196] ES/MS (m/z): 280 (M+H-2x tert-부틸)

[0197] 제조예 27

[0198] tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-2-tert-부톡시-1-[[3-[[[3-[(2S)-3-tert-부톡시-2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]-3-옥소-프로필]페닐]메틸]아미노]메틸]페닐]메틸]-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트



[0199]

[0200] tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-2-tert-부톡시-1-[(3-포르밀페닐)메틸]-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트 (48g, 100 mmol, 순도 85% w/w, 1.1 당량), 이소프로판올 (328 mL) 및 tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-1-[[3-(아미노메틸)페닐]메틸]-2-tert-부톡시-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트 (46.9 g, 93 mmol, 순도 78%, 1 당량)를 둥근 바닥 플라스크에 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 혼합물을 0℃에서 냉각시키고, 소듐 트리아세톡시보로하이드라이드 (59 g, 280 mmol, 3 당량)를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 2일 동안 교반하였다.

용매를 감압 하에 제거하였다. 물 (200 mL), 포화 수성 NaHCO<sub>3</sub> (300 mL) 및 EtOAc (500 mL)를 첨가하였다. 유기 층을 분리하고, 헥산 중 50 → 100% EtOAc의 구배를 사용한 실리카 겔 크로마토그래피에 의해 정제하여 표제 화합물을 무색 오일 (36 g, 42% 수율, 순도 85% w/w)로서 수득하였다.

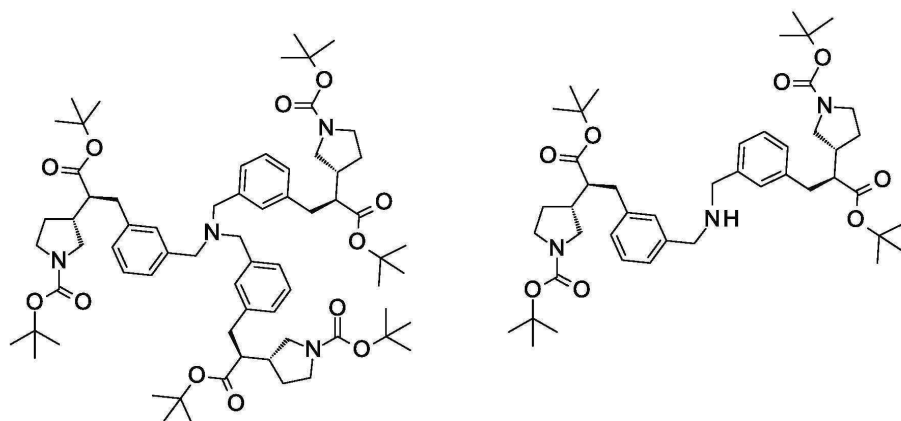
[0201] ES/MS (m/z): 792 (M+H).

[0202] 제조예 28

[0203] tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-1-[[3-[[비스[[3-[(2S)-3-tert-부톡시-2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]-3-옥소-프로필]페닐]메틸]아미노]메틸]페닐]메틸]-2-tert-부톡시-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트

[0204] &

[0205] tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-2-tert-부톡시-1-[[3-[[[3-[(2S)-3-tert-부톡시-2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]-3-옥소-프로필]페닐]메틸]아미노]메틸]페닐]메틸]-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트



[0206]

[0207] 혼합물로서의 표제 화합물의 제조 및 이어서 크로마토그래피에 의한 분리를 위한 방법 1

[0208] 둥근 바닥 플라스크에 tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-2-tert-부톡시-1-[(3-포르밀페닐]메틸]-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트 (222 g, 550 mmol), 2-프로판올 (888 mL) 및 암모니아의 용액 (2-프로판올 중 2 M, 302.6 mL, 605.2 mmol, 1.1 당량)을 첨가하였다. 혼합물을 빙수조로 0 내지 5℃로 냉각시켰다. 소듐 트리아세톡시보로하이드라이드 (116.6 g, 550.2 mmol, 1 당량)를 4 부분으로, 각 부분의 첨가 사이가 40분이도록 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 용매를 증발 건조시켰다. 잔류물에 물 (200 mL), 수성 K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (300 mL)를 첨가하고, 수성 층을 MTBE (2 x 500 mL)로 추출하였다. 유기 층을 MgSO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축 건조시켰다. 잔류물을 헥산 중 20 → 80% EtOAc의 구배를 사용한 실리카 겔 크로마토그래피에 의해 정제하여 tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-1-[[3-[[비스[[3-[(2S)-3-tert-부톡시-2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]-3-옥소-프로필]페닐]메틸]아미노]메틸]페닐]메틸]-2-tert-부톡시-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트 (57.8 g, 27%)를 백색 고체로서 수득하였다.

[0209] <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.30-7.24 (m, 6H), 7.12 (s, 3H), 7.04 (s, 3H), 3.75-3.43 (m, 12H), 3.30-3.21 (m, 3H), 3.10-2.96 (m, 3H), 2.89-2.76 (m, 6H), 2.49 (d, J= 4.7 Hz, 3H), 2.37 (dd, J= 7.2, 14.4 Hz, 3H), 1.98-1.90 (m, 3H), 1.74-1.61 (m, 3H), 1.48 (s, 27H), 1.22 (s, 27H).

[0210] 상기 실리카 겔 크로마토그래피로부터, 또한 tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-2-tert-부톡시-1-[[3-[[[3-[(2S)-3-tert-부톡시-2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]-3-옥소-프로필]페닐]메틸]아미노]메틸]페닐]메틸]-2-tert-부톡시-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트 (82.50 g, 34%)를 무색 오일로서 수득하였다.

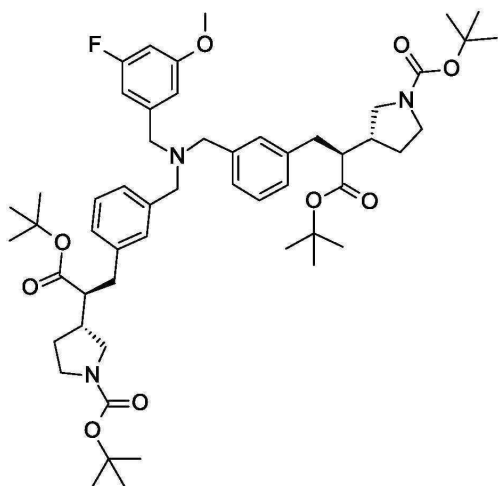
[0211] ES/MS (m/z): 792 (M+H), HPLC는 90 wt% 순도를 나타내었다.

[0212] tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-1-[[3-[[비스[[3-[(2S)-3-tert-부톡시-2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]-3-옥소-프로필]페닐]메틸]아미노]메틸]페닐]메틸]-2-tert-부톡시-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트의 제조를 위한 방법 2

[0213] 둥근 바닥 플라스크에 tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-2-tert-부톡시-1-[[3-[[[3-[(2S)-3-tert-부톡시-2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]-3-옥소-프로필]페닐]메틸]아미노]메틸]페닐]메틸]-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트 (90 wt% 순도, 81.5 g, 92.6 mmol), tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-2-tert-부톡시-1-[(3-포르밀페닐]메틸]-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트 (85 wt% 순도, 50.6 g, 106 mmol, 1.15 당량), 2-프로판올 (652 mL) 및 아세트산 (5.31 mL, 92.6 mmol, 1 당량)을 첨가하고, 혼합물을 30분 동안 교반하였다. 소듐 트리아세톡시보로히드라이드 (2 당량, 185 mmol, 39.3 g)를 혼합물에 첨가하고, 실온에서 2시간 동안 교반한 다음, 반응 혼합물을 진공 하에 농축시켰다. 물 (200 mL) 및 MTBE (300 mL)를 잔류물에 첨가한 다음, 진한 수성 수산 화암모늄을 첨가하여 pH 9-10으로 조정하였다. 유기 상을 분리하고, MgSO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축 건조시켰다. 잔류물을 헥산 중 20 → 40% EtOAc의 구배를 사용한 실리카 겔 크로마토그래피에 의해 정제하여 tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-1-[[3-[[비스[[3-[(2S)-3-tert-부톡시-2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]-3-옥소-프로필]페닐]메틸]아미노]메틸]페닐]메틸]-2-tert-부톡시-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트 (89 g, 82%)를 백색 고체로서 수득하였다.

[0214] 제조예 29

[0215] tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-2-tert-부톡시-1-[[3-[[[3-[(2S)-3-tert-부톡시-2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]-3-옥소-프로필]페닐]메틸]-(3-플루오로-5-메톡시-페닐]메틸]아미노]메틸]페닐]메틸]-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트



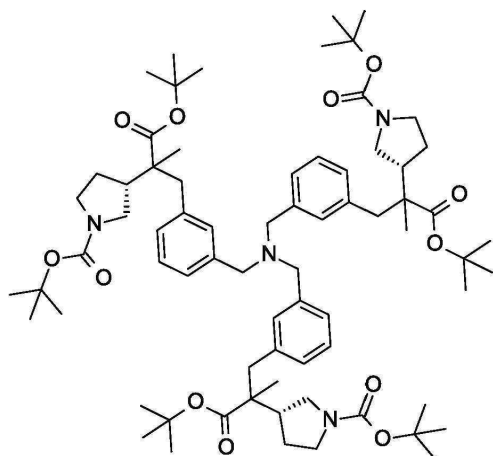
[0216]

[0217] tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-2-tert-부톡시-1-[[3-[[[3-[(2S)-3-tert-부톡시-2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]-3-옥소-프로필]페닐]메틸]아미노]메틸]페닐]메틸]-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트 (36 g, 39 mmol, 순도 85%), 3-플루오로-5-메톡시벤즈알데히드 (6.684 g, 42.49 mmol, 1.1 당량), 이소프로판올 (288 mL) 및 소듐 트리아세톡시보로히드라이드 (16.38 g, 77.26 mmol, 2 당량)를 혼합하고, 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 용매를 증발시켰다. 포화 수성 NaHCO<sub>3</sub> (500 mL)을 첨가하고, 수성 층을 EtOAc (500 mL)로 추출하였다. 유기 층을 MgSO<sub>4</sub> 상에서 건조시킨 다음, 여과하고, 농축 건조시켰다. 헥산 중 10 → 40% EtOAc의 구배를 사용한 실리카 겔 크로마토그래피에 의해 정제하여 표제 화합물을 무색 오일 (32g, 76% 수율, 순도 85% w/w)로서 수득하였다.

[0218] ES/MS (m/z): 931 (M+H).

[0219] 제조예 30

[0220] tert-부틸 (3R)-3-[[1-[[3-[[비스[[3-[[3-tert-부톡시-2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]-2-메틸-3-옥소-프로필]페닐]메틸]아미노]메틸]페닐]메틸]-2-tert-부톡시-1-메틸-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트



[0221]

[0222]

표제 화합물을 tert-부틸 (3R)-3-[2-tert-부톡시-1-[(3-포르밀페닐)메틸]-1-메틸-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트를 사용하여 본질적으로 제조예 28에 기재된 바와 같이 제조하였다. 조 물질을 hexan 중 20 → 40% EtOAc의 구배를 사용한 실리카 겔 크로마토그래피에 의해 정제하였다.

[0223]

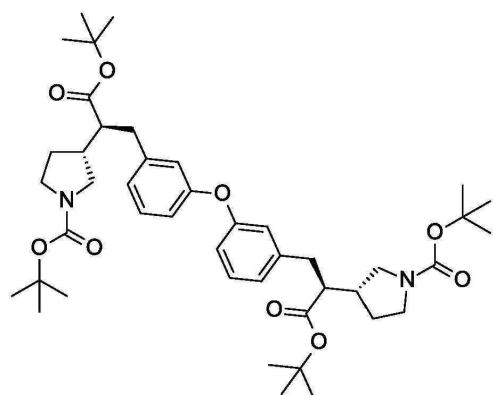
$^1\text{H}$  NMR (400.21 MHz,  $d_6$ -DMSO):  $\delta$  7.27-7.19 (m, 6H), 7.13 (s, 3H), 7.08-7.00 (m, 3H), 3.57-3.24 (m, 9H, 용매 하에), 3.22-2.98 (m, 9H), 2.63-2.38 (m, 9H, 용매 하에), 1.86-1.68 (m, 6H), 1.40 (s, 27H), 1.31 (s, 27H), 0.93 (s, 9H).

[0224]

제조예 31

[0225]

tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-2-tert-부톡시-1-[[3-[3-[(2S)-3-tert-부톡시-2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]-3-옥소-프로필]페녹시]페닐]메틸]-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트



[0226]

[0227]

DMF (2.3 mL) 중 tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-1-[(3-브로모페닐)메틸]-2-tert-부톡시-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트 (150 mg, 0.330 mmol), tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-2-tert-부톡시-1-[(3-히드록시페닐)메틸]-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트 (0.155 g, 0.396 mmol, 1.2 당량), 아이오딘화제1구리 (6 mg, 0.03 mmol, 0.1 당량), N,N-디메틸글리신 히드록로라이드 (0.0138 g, 0.0990 mmol, 0.3 당량) 및 탄산세슘 (0.215 g, 0.660 mmol, 2 당량)을 혼합하였다. 혼합물을 질소 하에 110°C에서 밤새 교반하였다. 반응물을 냉각시킨 다음, 규조 토 패드를 통해 여과하고, DCM 및 MeOH로 세척하였다. 여과물을 진공 하에 농축시켰다. 생성된 잔류물을 하기 파라미터를 사용하여 RP-HPLC/MS에 의해 정제하였다: 칼럼 - 엑스브리지(XBridge)<sup>TM</sup> C18 (19 x 100 mm, 5  $\mu\text{m}$ ); 이동상 - 용매 A = 물 중 20 mM 중탄산암모늄 (pH 9), 용매 B = 아세트ونی트릴; 구배 - 0:100 → 100:0 B:A; 유량 - 25 mL/분. 표제 화합물 (43 mg, 17%)을 수득하였다.

[0228]

ES/MS (m/z): 665 (M+H-BOC).

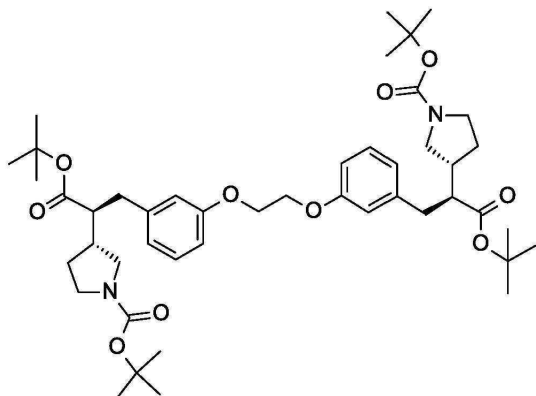
[0229]

제조예 32

[0230]

tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-2-tert-부톡시-1-[[3-[2-[3-[(2S)-3-tert-부톡시-2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]-3-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트

리딘-3-일]-3-옥소-프로필]페녹시]에톡시]페닐]메틸]-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트



[0231]

[0232]

tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-2-tert-부톡시-1-[(3-히드록시페닐]메틸]-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트 (275 mg, 0.70 mmol)를 DMF (1.2 mL) 중에 용해시켰다. 탄산세슘 (285 mg, 0.86 mmol) 및 1,2-디브로모에탄 (0.030 mL, 0.34 mmol)을 첨가하고, 실온에서 3일 동안 교반하였다. 다음 9일 동안, 탄산세슘 또는 탄산칼륨 및 1,2-디브로모에탄의 3개의 추가 부분을 첨가하고, 온도를 70 및 110℃로 단계적으로 증가시켰다. 혼합물을 실온에서 냉각시키고, 포화 수성 NH<sub>4</sub>Cl을 첨가하였다. 수성 층을 EtOAc로 추출하였다. 유기 상을 포화 수성 NaCl 및 물로 세척하였다. 유기 상을 MgSO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 용액을 진공 하에 농축시켰다. 잔류물을 헥산 중 0 → 30% EtOAc의 구배를 사용한 실리카 겔 크로마토그래피에 의해 정제하여 표제 화합물 (33.4 mg, 11%)을 무색 오일로서 수득하였다.

[0233]

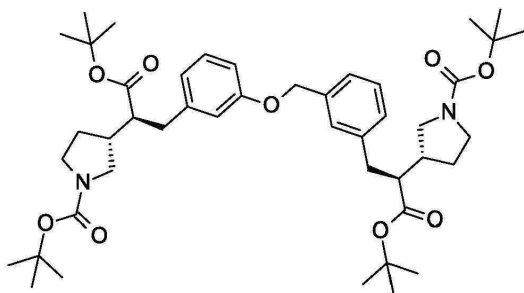
ES/MS (m/z): 709 (M+H-BOC).

[0234]

제조예 33

[0235]

tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-2-tert-부톡시-1-[[3-[[3-[(2S)-3-tert-부톡시-2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]-3-옥소-프로필]페녹시]메틸]페닐]메틸]-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트



[0236]

[0237]

트리페닐포스핀 (0.5733 g, 2.164 mmol, 1.5 당량)을 THF (14 mL) 중 tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-2-tert-부톡시-1-[[3-[(3-히드록시메틸]페닐]메틸]-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트 (585 mg, 1.443 mmol) 및 tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-2-tert-부톡시-1-[(3-히드록시페닐]메틸]-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트 (0.8472 g, 2.164 mmol, 1.5 당량)의 용액에 첨가하였다. 질소로 퍼징한 다음, 디에틸 아조디카르복실레이트 (0.34 mL, 2.2 mmol, 1.5 당량)를 적가하였다. 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 반응물을 규조토의 패드를 통해 여과한 다음, DCM 및 MeOH로 세척하였다. 여과물을 진공 하에 농축시켰다. 생성된 잔류물을 하기 파라미터를 갖는 SFC에 의해 정제하였다: 칼럼 - 키라셀(Chiracel)® OD (5 μm, 2 x 25 cm); 이동상 - 용매 A = CO<sub>2</sub>, 용매 B = MeOH + DMEA (1.0% v/v); 구배 - 등용매 80:20 A:B; 유량 - 80 mL/분; 압력 - 120 bar; 칼럼 온도 - 40℃. 표제 화합물 (315 mg, 28%)을 수득하였다.

[0238]

ES/MS (m/z): 679 (M+H-BOC).

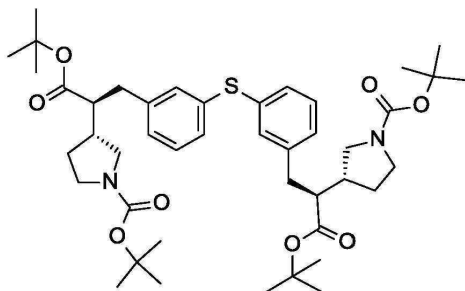
[0239]

제조예 34

[0240]

tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-2-tert-부톡시-1-[[3-[[3-[(2S)-3-tert-부톡시-2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘

-3-일]-3-옥소-프로필]페닐]술폰페닐]메틸]-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트



[0241]

[0242]

건조 톨루엔 (0.9 mL) 및 아세톤 (1.8 mL)을 tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-1-[(3-브로모페닐)메틸]-2-tert-부톡시-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트 (796 mg, 1.75 mmol), 삼염기성 인산칼륨 (229 mg, 1.06 mmol), 비스 (디벤질리덴아세톤)팔라듐 (50 mg, 0.09 mmol), 1,1'-비스(디페닐포스피노)페로센 (70 mg, 0.12 mmol) 및 티오 아세트산칼륨 (103 mg, 0.90 mmol)의 혼합물에 첨가하였다. 생성된 혼합물을 질소 분위기 하에 5분 동안 초음파처리한 다음, 110°C에서 6시간 동안 교반하였다. 포화 수성  $\text{NH}_4\text{Cl}$  및 EtOAc를 첨가하였다. 유기 층을 물로 세척하였다. 유기 상을  $\text{MgSO}_4$  상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 하에 농축시켰다. 잔류물을 헥산 중 0 → 40% EtOAc의 구배를 사용한 실리카 겔 크로마토그래피에 의해 정제하여 표제 화합물을 황색 오일 (370 mg, 52%)로서 수득하였다.

[0243]

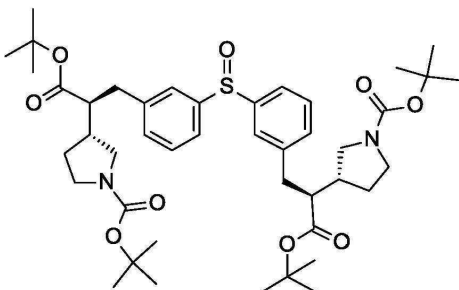
ES/MS (m/z): 781 (M+H).

[0244]

제조예 35

[0245]

tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-2-tert-부톡시-1-[[3-[3-[(2S)-3-tert-부톡시-2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]-3-옥소-프로필]페닐]술폰페닐]메틸]-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트



[0246]

[0247]

tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-2-tert-부톡시-1-[[3-[3-[(2S)-3-tert-부톡시-2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]-3-옥소-프로필]페닐]술폰페닐]메틸]-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트 (111 mg, 0.14 mmol)를 DCM (2 mL) 중에 용해시켰다. 3-클로로퍼옥시벤조산 (34 mg, 0.14 mmol, 1 당량)을 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 3시간 동안 교반하였다. 포화 수성  $\text{NaHCO}_3$ 에 이어서 DCM을 첨가하고, 층을 분리하였다. 유기 상을 NaOH의 용액 (물 중 3% w/v) 및 물로 세척하였다. 유기 상을  $\text{MgSO}_4$  상에서 건조시킨 다음, 여과하고, 용액을 진공 하에 농축시켰다. 잔류물을 헥산 중 0 → 60% EtOAc의 구배를 사용한 실리카 겔 크로마토그래피에 의해 정제하여 표제 화합물 (97.2 mg, 87%)을 무색 오일로서 수득하였다.

[0248]

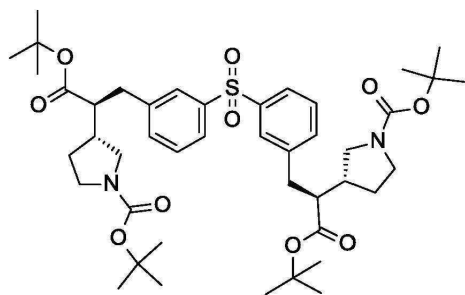
ES/MS (m/z): 697 (M+H-BOC).

[0249]

제조예 36

[0250]

tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-2-tert-부톡시-1-[[3-[3-[(2S)-3-tert-부톡시-2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]-3-옥소-프로필]페닐]술폰페닐]메틸]-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트



[0251]

[0252]

화합물을, 2.5 당량의 3-클로로퍼옥시벤조산을 사용한 것을 제외하고는 제조예 35의 방법과 본질적으로 유사한 방식으로 제조하였다. 조 생성물을 헥산 중 20 → 60% EtOAc의 구배를 사용한 실리카 겔 크로마토그래피에 의해 정제하여 표제 화합물 (116.6 mg, 82%)을 백색 고체로서 수득하였다.

[0253]

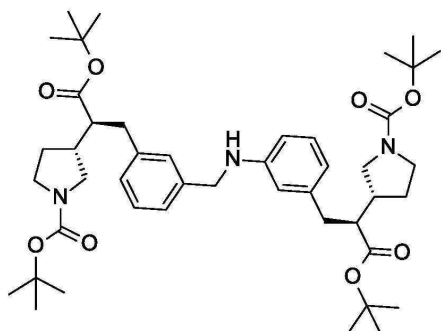
ES/MS (m/z): 713 (M+H-BOC).

[0254]

제조예 37

[0255]

tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-2-tert-부톡시-1-[[3-[[3-[(2S)-3-tert-부톡시-2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]-3-옥소-프로필]아닐리노]메틸]페닐]메틸]-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트



[0256]

[0257]

소듐 트리아세톡시보로히드라이드 (543 mg, 2.56 mmol, 2 당량)를 tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-1-[(3-아미노페닐)메틸]-2-tert-부톡시-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트 (500 mg, 1.28 mmol), tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-2-tert-부톡시-1-[(3-포르밀페닐)메틸]-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트 (620 mg, 1.54 mmol, 1.2 당량) 및 아세트산 (220  $\mu$ L, 3.84 mmol, 3 당량)의 용액에 첨가하였다. 실온에서 4일 동안 교반하였다. 포화 수성  $\text{NaHCO}_3$ 을 첨가하고, 수성 층을 DCM으로 추출하였다. 합한 유기 층을  $\text{MgSO}_4$  상에서 건조시키고, 여과하고, 용액을 진공 하에 농축시켰다. 잔류물을 헥산 중 10 → 50% EtOAc의 구배를 사용한 실리카 겔 크로마토그래피에 의해 정제하여 표제 화합물 (850 mg, 72%)을 수득하였다.

[0258]

ES/MS (m/z): 778 (M+H).

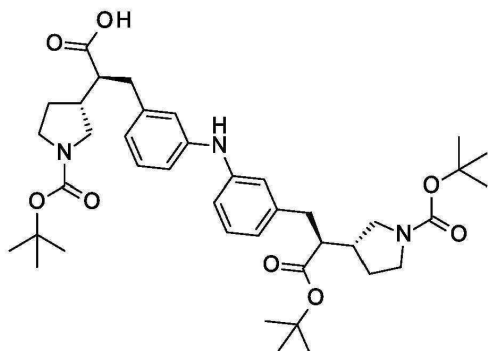
[0259]

제조예 38

[0260]

(2S)-3-[3-[3-[(2S)-3-tert-부톡시-2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]-3-옥소-프로필]아닐리노]페닐]-2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]프로판산





[0261]

[0262]

1,4-디옥산 (160 mL) 중 (2S)-3-(3-브로모페닐)-2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]프로판산 (8 g, 20 mmol), tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-1-[(3-아미노페닐)메틸]-2-tert-부톡시-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트 (8.628 g, 22.09 mmol, 1.1 당량) 및 탄산칼륨 (4 당량, 11.22 g, 80.34 mmol)을 혼합하였다. 혼합물을 60℃에서 15분 동안 질소 하에 가열하였다. [(2-디-시클로헥실포스피노-3,6-디메톡시-2',4',6'-트리이소프로필-1,1'-비페닐)-2-(2'-아미노-1,1'-비페닐)]팔라듐 (II) 메탄술포네이트 (BrettPhos Pd G3, 0.371 g, 0.402 mmol, 0.02 당량)를 첨가하고, 반응물을 100℃에서 밤새 교반하면서 가열하였다. 반응물을 실온으로 냉각시키고, EtOAc로 희석하고, 수성 HCl (1 N)의 첨가에 의해 혼합물의 pH를 3 미만으로 조정하였다. 수성 층을 Me-THF로 3회 추출하였다. 합한 유기부를 포화 수성 NaCl로 세척하였다. 유기부를 MgSO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 용액을 진공 하에 농축시켰다. 잔류물을 헥산 중 0 → 100% EtOAc의 구배를 사용한 실리카 겔 크로마토그래피에 의해 정제하여 표제 화합물을 수득하였다 (9.5 g, 67%).

[0263]

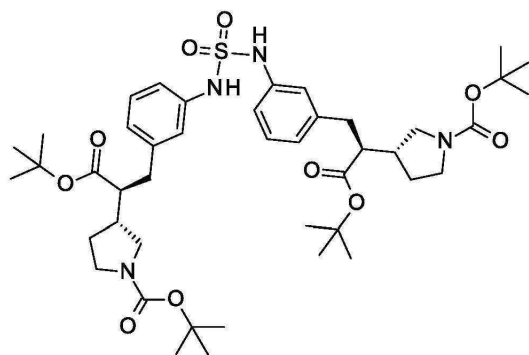
ES/MS (m/z): 608 (M+H-BOC).

[0264]

제조예 39

[0265]

디-tert-부틸 3,3'-((2S,2'S)-((술폰비스(아잔디일))비스(3,1-페닐렌))비스(3-(tert-부톡시)-3-옥소프로판-1,2-디일))(3R,3'R)-비스(피롤리딘-1-카르복실레이트)



[0266]

[0267]

아세트니트릴 (12.8 mL) 중 1,4-디아자비시클로[2.2.2]옥탄 비스(이산화황) 부가물 (DABSO, 0.6279 g, 2.561 mmol, 2 당량)의 용액을 0℃로 냉각시켰다. 아이오딘 (0.4875 g, 1.921 mmol, 1.5 당량)을 첨가하였다. 혼합물을 0℃에서 15분 동안 교반한 다음, tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-1-[(3-아미노페닐)메틸]-2-tert-부톡시-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트 (500 mg, 1.280 mmol)를 첨가하였다. 반응물을 80℃로 밤새 가열하였다. 반응물을 냉각시키고, 규조토의 패드를 통해 여과하고, 패드를 DCM 및 MeOH로 세척하였다. 여과물을 진공 하에 농축시켰다. 잔류물을 하기 파라미터를 갖는 RP-HPLC/MS에 의해 정제하였다: 칼럼 - 엑스브리지<sup>TM</sup> C18 (19 x 100 mm, 5 μm); 이동상 - 용매 A = 20 mM 수성 중탄산암모늄 (pH 9), 용매 B = 아세트니트릴; 구배 - 등용매 80:20 A:B; 유량 - 25 mL/분; RT. 표제 화합물 (195 mg, 18%)을 연황색 고체로서 수득하였다.

[0268]

ES/MS (m/z): 743 (M+H-BOC).

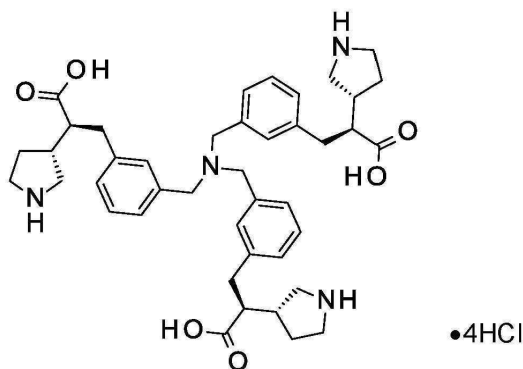
[0269]

실시예 1

[0270]

(2S)-3-[3-[[비스[[3-[(2S)-2-카르복시-2-[(3R)-피롤리딘-3-일]에틸]페닐]메틸]아미노]메틸]페닐]-2-[(3R)-피

롤리딘-3-일]프로판산; 테트라히드로클로라이드



[0271]

[0272]

염산의 용액 (1,4-디옥산 중 4M, 67 mL, 270 mmol, 20 당량)을 tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-1-[[3-[[비스[[3-[(2S)-3-tert-부톡시-2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]-3-옥소-프로필]페닐]메틸]아미노]메틸]페닐]메틸]-2-tert-부톡시-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트 (15.7 g, 13.3 mmol)에 첨가하고, 혼합물을 40℃에서 밤새 교반하였다. 혼합물을 실온으로 냉각시킨 다음, 농축 건조시켰다. 잔류물을 물 (40 mL) 중에 용해시키고, 동결건조시켰다. 생성된 고체를 물 (40 mL) 중에 다시 용해시키고, 동결건조시켜 표제 화합물 (8.6 g, 75%)을 백색 발포체로서 수득하였다.

[0273]

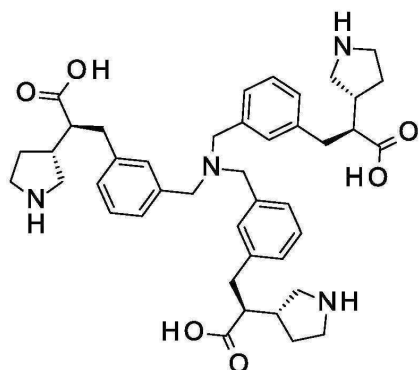
ES/MS (m/z): 711 (M+H); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 7.35-7.10 (m, 12H), 4.25-4.17 (m, 6H), 3.55 (dd, J= 8.1, 11.5 Hz, 3H), 3.38-3.33 (m, 3H), 3.22-3.15 (m, 3H), 3.03-2.87 (m, 12H), 2.56-2.45 (m, 3H), 2.12-2.08 (m, 3H), 1.73-1.63 (m, 3H).

[0274]

실시예 2

[0275]

(2S)-3-[3-[[비스[[3-[(2S)-2-카르복시-2-[(3R)-피롤리딘-3-일]에틸]페닐]메틸]아미노]메틸]페닐]-2-[(3R)-피롤리딘-3-일]프로판산



[0276]

[0277]

둥근 바닥 플라스크에 tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-1-[[3-[[비스[[3-[(2S)-3-tert-부톡시-2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]-3-옥소-프로필]페닐]메틸]아미노]메틸]페닐]메틸]-2-tert-부톡시-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트 (499.3 g, 423.3 mmol), 1,4-디옥산 (1997 mL), 및 염산의 용액 (물 중 12 M, 529.1 mL, 15 당량)을 첨가하였다. 혼합물을 40℃에서 1시간 동안 교반한 다음, 혼합물을 진공 하에 농축시켜 1,4-디옥산을 제거하여, 수성 슬러리를 생성하였다. 혼합물을 프로필렌 필터를 통해 여과하여 불용성 입자를 제거하였다. NaOH의 용액 (물 중 2M)을 사용하여 여과물의 pH를 9-10으로 조정하였다. 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 생성된 고체를 종이 필터를 사용하여 천천히 여과하였다 (느린 여과, 저진공 사용). 고체를 물로 세척하고, 진공 하에 45℃에서 건조시켜 표제 화합물 (281 g, 88%)을 백색 결정질 고체로서 수득하였다.

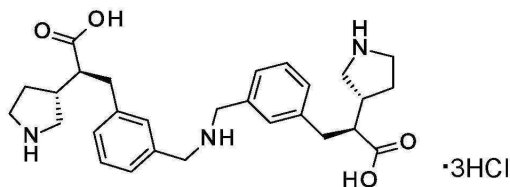
[0278]

ES/MS (m/z): 711 (M+H); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 7.33 (t, J= 7.6 Hz, 3H), 7.27 (d, J= 7.8 Hz, 3H), 7.13 (d, J= 7.8 Hz, 3H), 7.09 (s, 3H), 4.20 (s, 6H), 3.54 (dd, J= 7.9, 11.6 Hz, 3H), 3.39-3.34 (m, 3H), 3.23-3.17 (m, 3H), 3.02-2.98 (m, 3H), 2.84 (dd, J= 4.6, 13.7 Hz, 3H), 2.76 (dd, J= 10.6, 13.3 Hz, 3H),

2.60 (td, J= 9.9, 4.8 Hz, 3H), 2.48 (td, J= 17.3, 9.6 Hz, 3H), 2.12-2.07 (m, 3H), 1.73-1.65 (m, 3H).

[0279] 실시예 3

[0280] (2S)-3-[3-[[[3-[(2S)-2-카르복시-2-[(3R)-피롤리딘-3-일]에틸]페닐]메틸아미노]메틸]페닐]-2-[(3R)-피롤리딘-3-일]프로판산;트리히드로클로라이드



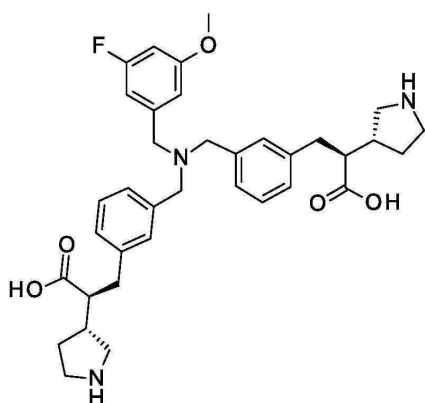
[0281]

[0282] 실온에서 tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-2-tert-부톡시-1-[[3-[[[3-[(2S)-3-tert-부톡시-2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]-3-옥소-프로필]페닐]메틸]아미노]메틸]페닐]메틸]-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트 및 Et<sub>2</sub>O 중 2 M HCl을 사용하여 본질적으로 실시예 1에 대하여 기재된 바와 같이 표제 화합물을 제조하였다.

[0283] ES/MS (m/z): 480 (M+H).

[0284] 실시예 4

[0285] (2S)-3-[3-[[[3-[(2S)-2-카르복시-2-[(3R)-피롤리딘-3-일]에틸]페닐]메틸]-[(3-플루오로-5-메톡시-페닐)메틸]아미노]메틸]페닐]-2-[(3R)-피롤리딘-3-일]프로판산



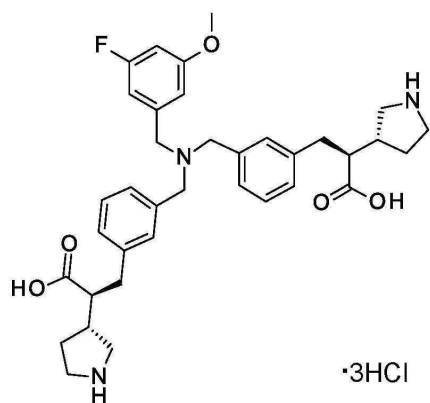
[0286]

[0287] tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-2-tert-부톡시-1-[[3-[[[3-[(2S)-3-tert-부톡시-2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]-3-옥소-프로필]페닐]메틸]-[(3-플루오로-5-메톡시-페닐)메틸]아미노]메틸]페닐]메틸]-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트를 사용하여 본질적으로 실시예 2에 대하여 기재된 바와 같이 표제 화합물을 제조하였다.

[0288] ES/MS (m/z): 618 (M+H).

[0289] 실시예 5

[0290] (2S)-3-[3-[[[3-[(2S)-2-카르복시-2-[(3R)-피롤리딘-3-일]에틸]페닐]메틸]-[(3-플루오로-5-메톡시-페닐)메틸]아미노]메틸]페닐]-2-[(3R)-피롤리딘-3-일]프로판산;트리히드로클로라이드



[0291]

[0292]

tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-2-tert-부톡시-1-[[3-[[[3-(2S)-3-tert-부톡시-2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]-3-옥소-프로필]페닐]메틸]-[(3-플루오로-5-메톡시-페닐)메틸]아미노]메틸]페닐]-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트 (541 mg, 0.582 mmol), HCl (디에틸 에테르 중 2 M 용액, 5.8 mL) 및 물 (0.5 mL)을 혼합하였다. 혼합물을 실온에서 5시간 동안 교반하였다. 용매를 감압 하에 제거하여 표제 화합물 (434 mg, 102%)을 수득하였다.

[0293]

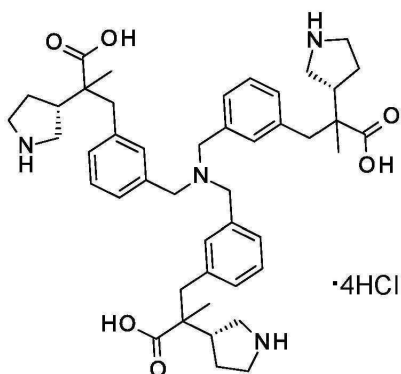
ES/MS (m/z): 618 (M+H).

[0294]

실시예 6

[0295]

3-[3-[[비스[[3-[2-카르복시-2-[(3R)-피롤리딘-3-일]프로필]페닐]메틸]아미노]메틸]페닐]-2-메틸-2-[(3R)-피롤리딘-3-일]프로판산; 테트라히드로클로라이드



[0296]

[0297]

tert-부틸 (3R)-3-[1-[[3-[[비스[[3-[3-tert-부톡시-2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]-2-메틸-3-옥소-프로필]페닐]메틸]아미노]메틸]페닐]메틸]-2-tert-부톡시-1-메틸-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트 (275 mg, 0.225 mmol)를 DCM (1.4 mL) 중에서 혼합하고, HCl (Et<sub>2</sub>O 중 2 M 용액, 3.4 mL, 6.7 mmol, 30 당량)을 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 반응 용매를 백색 고체로부터 경사분리하고, 고체를 물 중에 용해시켰다. 혼합물을 질소 스트림 하에 증발 건조시킨 다음, 진공 하에 40℃에서 건조시켜 표제 화합물 (190 mg, 86%)을 백색 고체로서 수득하였다.

[0298]

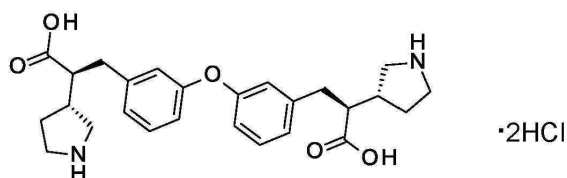
ES/MS (m/z): 753 (M+H).

[0299]

실시예 7

[0300]

(2S)-3-[3-[3-[(2S)-2-카르복시-2-[(3R)-피롤리딘-3-일]에틸]페녹시]페닐]-2-[(3R)-피롤리딘-3-일]프로판산; 디히드로클로라이드



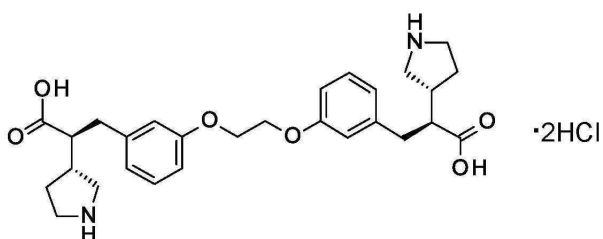
[0301]

[0302] tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-2-tert-부톡시-1-[[3-[3-[(2S)-3-tert-부톡시-2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]-3-옥소-프로필]페녹시]페닐]메틸]-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트를 사용하여 본질적으로 실시예 6에 기술된 것과 같이 표제 화합물을 제조하였다.

[0303] ES/MS (m/z): 453 (M+H).

[0304] 실시예 8

[0305] (2S)-3-[3-[2-[3-[(2S)-2-카르복시-2-[(3R)-피롤리딘-3-일]에틸]페녹시]에톡시]페닐]-2-[(3R)-피롤리딘-3-일]프로판산; 디히드로클로라이드



[0306]

[0307] tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-2-tert-부톡시-1-[[3-[2-[3-[(2S)-3-tert-부톡시-2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]-3-옥소-프로필]페녹시]에톡시]페닐]메틸]-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트를 사용하여 본질적으로 실시예 6에 기재된 바와 같이 표제 화합물을 제조하였다. MTBE로 연화처리하여 생성물을 단리하였다.

[0308] ES/MS (m/z): 497 (M+H).

[0309] 실시예 9

**[0310]** (2S)-3-[3-[3-[3-(2S)-2-카르복시-2-[(3R)-피롤리딘-3-일]에틸]페녹시]메틸]페닐]-2-[(3R)-피롤리딘-3-일]프로판산; 디히드로클로라이드



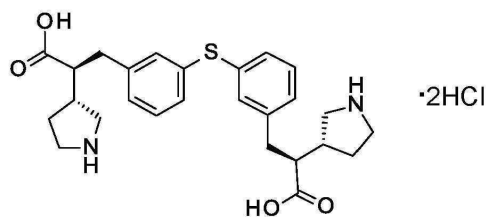
[0311]

[0312] tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-2-tert-부톡시-1-[[3-[[3-[(2S)-3-tert-부톡시-2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]-3-옥소-프로필]페녹시]메틸]페닐]메틸]-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트를 사용하여 본질적으로 실시예 6에 기술된 것과 같이 표제 화합물을 제조하였다.

[0313] ES/MS (m/z): 467 (M+H).

[0314] 실시예 10

[0315] (2S)-3-[3-[3-[(2S)-2-카르복시-2-[(3R)-피롤리딘-3-일]에틸]페닐]술과닐페닐]-2-[(3R)-피롤리딘-3-일]프로판산; 디히드로클로라이드



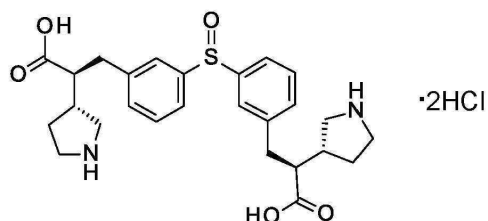
[0316]

[0317] tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-2-tert-부톡시-1-[[3-[3-[(2S)-3-tert-부톡시-2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]-3-옥소-프로필]페닐]술과닐페닐]메틸]-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트를 사용하여 본질적으로 실시예 6에 기재된 바와 같이 표제 화합물을 제조하였다. Et<sub>2</sub>O로 연화처리하여 생성물을 단리하였다.

[0318] ES/MS (m/z): 469 (M+H).

[0319] 실시예 11

[0320] (2S)-3-[3-[3-[(2S)-2-카르복시-2-[(3R)-피롤리딘-3-일]에틸]페닐]술피닐페닐]-2-[(3R)-피롤리딘-3-일]프로판산; 디히드로콜로라이드



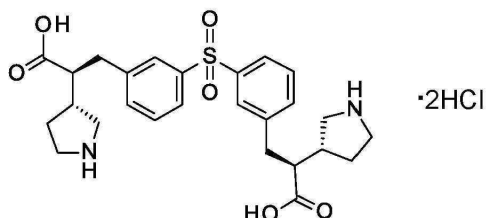
[0321]

[0322] tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-2-tert-부톡시-1-[[3-[3-[(2S)-3-tert-부톡시-2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]-3-옥소-프로필]페닐]술폰피닐페닐]메틸]-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트를 사용하여 본질적으로 실시예 6에 기재된 바와 같이 표제 화합물을 제조하였다. 생성물을 Et<sub>2</sub>O로의 연화처리에 이어서 하기 파라미터를 사용하는 RP-HPLC/MS에 의해 분리하였다: 칼럼 - 애질런트 조르박스 보너스(Agilent ZORBAX Bonus) RP; 이동상 - 용매 A = 물 중 0.05% 트리플루오로아세트산 (pH 2.5), 용매 B = 아세트ونی트릴 + 0.05% 트리플루오로아세트산; 구배 - 용매 A 중 5 → 30% 용매 B; 유량: 25 mL/분. 생성물을 HCl (10% w/v 수성) 및 물의 혼합물 중에 녹인 다음, 용매를 질소의 스트림 하에 40℃에서 증발시켰다.

[0323] ES/MS (m/z): 485 (M+H).

[0324] 실시예 12

[0325] (2S)-3-[3-[3-[(2S)-2-카르복시-2-[(3R)-피롤리딘-3-일]에틸]페닐]술포닐페닐]-2-[(3R)-피롤리딘-3-일]프로판산; 디히드로클로라이드



[0326]

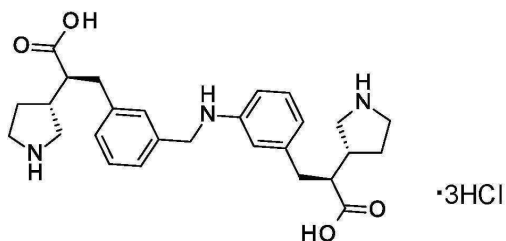
[0327] tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-2-tert-부톡시-1-[[3-[3-[(2S)-3-tert-부톡시-2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]-3-옥소-프로필]페닐]술포닐페닐]메틸]-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트를 사용하여 본질적으로 실시예 6에 기재된 바와 같이 표제 화합물을 제조하였다. Et<sub>2</sub>O로 연화처리하여 생성물을 단리하였다.

[0328] ES/MS (m/z): 501 (M+H).

[0329] 실시예 13

[0330] (2S)-3-[3-[3-[3-(2S)-2-카르복시]-2-[(3R)-피롤리딘-3-일]에틸]아닐리노]메틸]페닐]-2-[(3R)-피롤리딘-3-일]프

로판산; 트리히드로클로라이드



[0331]

[0332]

tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-2-tert-부톡시-1-[[3-[[3-[(2S)-3-tert-부톡시-2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]-3-옥소-프로필]아닐리노]메틸]페닐]메틸]-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트를 사용하여 본질적으로 실시예 6에 기재된 바와 같이 표제 화합물을 제조하였다. 생성물을 경사분리한 후, 하기 파라미터를 사용하여 RP-HPLC/MS에 의해 정제하였다: 칼럼 - 워터스(Waters)<sup>TM</sup> 엑스브리지 (XBridge)<sup>TM</sup> C18 (19 x 100 mm, 5  $\mu$  m); 이동상 - 용매 A = 물 중 20 mM  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ , 용매 B = 아세트ونی트릴; 유량 25 mL/분; 구배 - 5:95  $\rightarrow$  25:75 B:A. 정제된 물질을 수성 HCl (1 N) 중에 용해시키고, 실온에서 1시간 동안 교반하고, 용매를 질소 스트림 하에 증발시키고, 고체를 진공 하에 40°C에서 건조시켰다.

[0333]

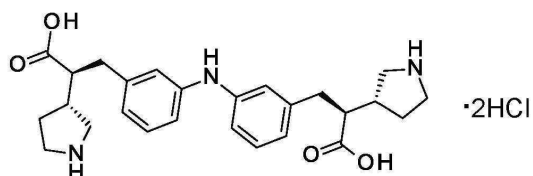
ES/MS (m/z): 466 (M+H).

[0334]

실시예 14

[0335]

(2S)-3-[3-[3-[(2S)-2-카르복시-2-[(3R)-피롤리딘-3-일]에틸]아닐리노]페닐]-2-[(3R)-피롤리딘-3-일]프로판산; 디히드로클로라이드



[0336]

[0337]

(2S)-3-[3-[3-[(2S)-3-tert-부톡시-2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]-3-옥소-프로필]아닐리노]페닐]-2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]프로판산 (9g, 12.7 mmol), 이소프로판올 (27 mL), 및 HCl (이소프로판올 중 5.5 M 용액)을 혼합하고, 실온에서 2.5시간 동안 교반하였다. 반응물을 60°C로 2.5시간 동안 가열한 다음, 실온으로 냉각시키고, 3일 동안 교반하였다. 반응물을 다시 60°C로 2시간 동안 가열하고, 실온으로 냉각시키고, 반응 혼합물을 진공 하에 농축 건조시켰다. 초음파처리하면서 고체 잔류물을 MTBE로 연화처리하고, 여과하고, MTBE로 행군 다음, 고체를 진공 하에 건조시켰다. 고체를 진한 수성 HCl과 혼합하고, 80°C로 밤새 가열한 다음, 실온으로 냉각시키고, 진공 하에 농축 건조시켰다. 잔류물을 최소량의 물 중에 용해시키고, 수성 NaOH의 첨가에 의해 pH를 7.5로 조정하였다. 혼합물을 실온에서 3시간 동안 교반한 다음, 침전된 고체를 여과하였다. 고체를 수성 HCl (1 N) 중에 용해시키고, 실온에서 15분 동안 교반한 다음, 물을 진공 하에 제거하였다. 잔류물을 진공 하에 45°C에서 밤새 건조시켜 표제 화합물 (5.4 g, 81%)을 수득하였다.

[0338]

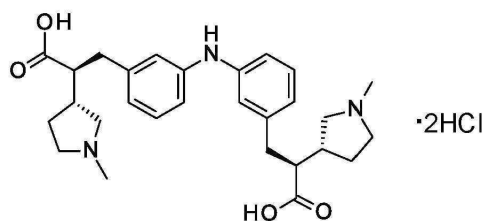
ES/MS (m/z): 452 (M+H).

[0339]

실시예 15

[0340]

(2S)-3-[3-[3-[(2S)-2-카르복시-2-[(3R)-1-메틸피롤리딘-3-일]에틸]아닐리노]페닐]-2-[(3R)-1-메틸피롤리딘-3-일]프로판산; 디히드로클로라이드



[0341]

[0342]

파라포름알데히드 (89 mg, 0.95 mmol)를 MeOH (1.9 mL) 중 (2S)-3-[3-[3-[(2S)-2-카르복시-2-[(3R)-피롤리딘-3-일]에틸]아닐리노]페닐]-2-[(3R)-피롤리딘-3-일]프로판산; 디히드로클로라이드 (100 mg, 0.19 mmol)의 현탁액에 첨가하였다. 실온에서 15분 동안 교반하였다. 소듐 트리아세톡시보로하이드라이드 (202 mg, 0.95 mmol)를 첨가하고, 실온에서 16시간 동안 교반하였다. 용액을 진공 하에 농축시켰다. 잔류물을 수성  $\text{NH}_4\text{CO}_3$  (pH 9) 중 5 → 25% 아세토니트릴의 구배를 사용한 역상 크로마토그래피 (칼럼: 클라리셉(Claricep) C-시리즈 실리카-결합된 C18)에 의해 정제하였다. 정제된 물질을 수성 염산 (1 N, 1 mL)으로 용해시키고, 실온에서 6시간 동안 교반하였다. 진공 하에 용액을 농축시켜 표제 화합물 (30 mg, 27%)을 수득하였다.

[0343]

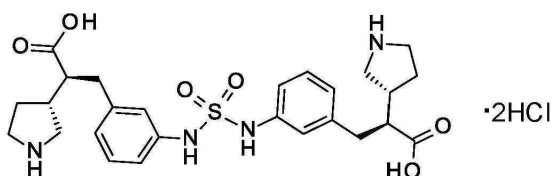
ES/MS (m/z): 480 (M+H).

[0344]

실시예 16

[0345]

(2S,2'S)-3,3'-[술포닐비스(아잔디일-3,1-페닐렌)]비스{2-[(3R)-피롤리딘-3-일]프로판산}; 디히드로클로라이드



[0346]

[0347]

di-tert-부틸 3,3'-((2S,2'S)-((술포닐비스(아잔디일))비스(3,1-페닐렌))비스(3-(tert-부톡시)-3-옥소프로판-1,2-디일))(3R,3'R)-비스(피롤리딘-1-카르복실레이트)를 사용하여 본질적으로 실시예 6에 기술된 것과 같이 표제 화합물을 제조하였다.

[0348]

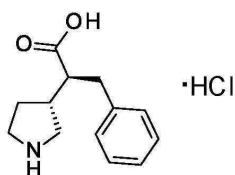
ES/MS (m/z): 531 (M+H).

[0349]

실시예 17

[0350]

(2S)-3-페닐-2-[(3R)-피롤리딘-3-일]프로판산; 히드로클로라이드



[0351]

[0352]

HCl (이소프로판올 중 5.5 M, 511 mL, 2.81 mol, 13 당량)을 이소프로판올 (207 mL) 중 (2S)-2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]-3-페닐-프로판산 (69 g, 216 mmol)의 용액에 첨가하고, 실온에서 밤새 교반하였다. 혼합물을 2:1 MTBE:헥산 (900 mL)의 혼합물로 희석하고, 10분 동안 교반하였다. 현탁액을 여과하고, 고체를 1:1 MTBE:헥산 (100 mL)으로 세척하였다. 고체를 진공 하에 50°C에서 건조시켜 표제 화합물 (51.3 g, 93%)을 백색 고체로서 수득하였다.

[0353]

ES/MS (m/z): 220 (M+H).

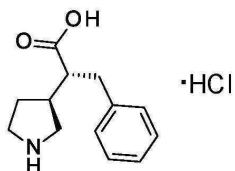
[0354]

실시예 18

[0355]

(2R)-3-페닐-2-[(3S)-피롤리딘-3-일]프로판산; 히드로클로라이드





[0356]

[0357]

(2R)-2-[(3S)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]-3-페닐-프로판산을 사용하여 본질적으로 실시예 6에 기재된 바와 같이 표제 화합물을 제조하였다. 단리된 생성물을 HCl (에테르 중 2 M) 및 물과 함께 3시간 동안 교반하고, 진공 하에 농축시킨 다음, MTBE로 연화처리하고, 진공 하에 40℃에서 건조시켰다.

[0358]

ES/MS (m/z): 220 (M+H).

[0359]

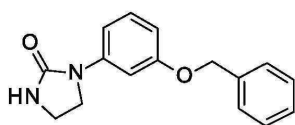
시험관내 Apo(a) 결합 검정을 위한 방사성표지된 표준물 및 콜드 (즉, 비-방사성표지된) 표준물의 합성

[0360]

제조예 40

[0361]

1-(3-벤질옥시페닐)이미다졸리딘-2-온



[0362]

[0363]

아르곤-살포된 DMF (20 mL)를 에틸렌우레아 (1.4 g, 16 mmol), 1-벤질옥시-3-아이오도벤젠 (4.9 g, 16 mmol, 1.0 당량), 아이오딘화제1구리 (0.61 g, 3.1 mmol, 0.20 당량), 인산이수소칼륨 (4.2 g, 31 mmol, 2.0 당량)의 혼합물에 첨가하였다. 생성된 현탁액에 N,N'-디메틸에틸렌디아민 (0.33 mL, 0.28 g, 3.1 mmol, 0.20 당량)을 첨가하였다. 청색 현탁액을 마이크로웨이브 반응기에서 120℃에서 3시간 동안 가열하였다. 반응물을 냉각시키고, 실리카 겔의 패드를 통해 여과하고, 패드를 EtOAc로 플러싱하였다. 여과물을 농축시켰다. 잔류물을 헥산 중 5:20:75 MeOH:아세톤:EtOAc의 0 → 100%의 구배를 사용한 실리카 겔 크로마토그래피에 의해 정제하여 표제 화합물 (1.10 g, 26%)을 황색 고체로서 수득하였다.

[0364]

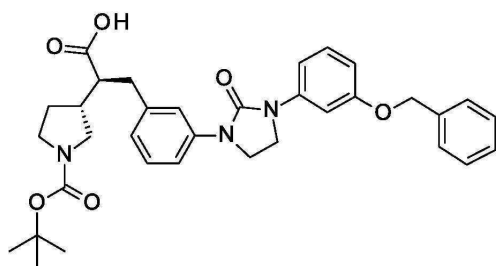
ES/MS (m/z): 269 (M+H)

[0365]

제조예 41

[0366]

(2S)-3-[3-[3-(3-벤질옥시페닐)-2-옥소-이미다졸리딘-1-일]페닐]-2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]프로판산



[0367]

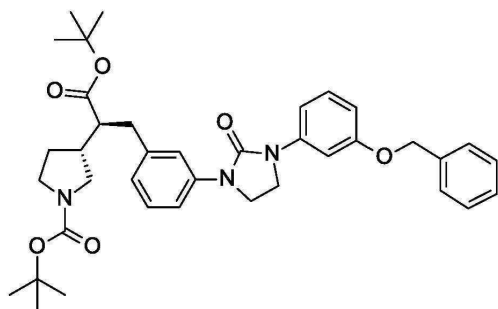
[0368]

1-(3-벤질옥시페닐)이미다졸리딘-2-온 (3.33 g, 12.4 mmol, 1.50 당량) 및 암모늄; (2S)-3-(3-브로모페닐)-2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]프로파노에이트 (3.30 g)의 혼합물에 질소 분위기 하에 아세트니트릴 (41 mL) 및 DMF (용해도를 보조하기 위함)를 첨가하였다. 15분에 걸쳐 현탁액을 통해 아르곤의 정상 스트림을 버블링하였다. 탄산칼륨 (3.75 g, 26.8 mmol, 3.24 당량), 아이오딘화제1구리 (0.316 g, 1.66 mmol, 0.2 당량) 및 N,N'-디메틸에틸렌디아민 (0.360 mL, 3.31 mmol, 0.4 당량)을 첨가하였다. 밀봉된 용기를 100℃에서 주말 동안 가열하였다. 물을 첨가하고, 수성 층을 EtOAc로 2회 추출하였다. 수성 상을 물 중 0.5 N HCl로 산성화시키고, 수성 층을 EtOAc, DCM에 이어서 EtOAc로 추출하였다. 합한 유기 상을 MgSO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 증발 건조시켰다. 잔류물을 헥산 중 10 → 60% (1% 아세트산/아세톤)의 구배를 사용한 실리카 겔 크로마토그래피에 의해 정제하여 표제 화합물 (4 g, 82%)을 수득하였다.

[0369] ES/MS (m/z): 486 (M+H-BOC).

[0370] 제조예 42

[0371] tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-1-[[3-[3-(3-벤질옥시페닐)-2-옥소-이미다졸리딘-1-일]페닐]메틸]-2-tert-부톡시-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트



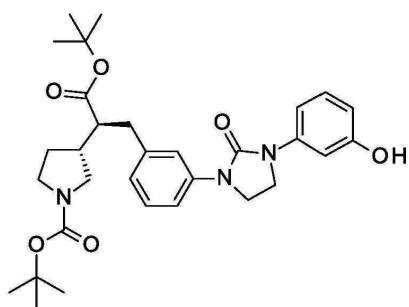
[0372]

[0373] 70℃에서 톨루엔 (68 mL) 중 (2S)-3-[3-[3-(3-벤질옥시페닐)-2-옥소-이미다졸리딘-1-일]페닐]-2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]프로판산 (4.0 g, 6.8 mmol)의 용액에 N,N-디메틸포름아미드 디-tert-부틸 아세탈 (15 mL, 55 mmol, 8.0 당량)을 첨가하고, 반응물을 70℃에서 밤새 가열하였다. 잔류물을 헥산 중 0 → 50% EtOAc의 구배를 사용한 실리카 겔 크로마토그래피에 의해 정제하여 표제 화합물 (1.56 g, 33%)을 수득하였다.

[0374] ES/MS (m/z): 542 (M+H-BOC).

[0375] 제조예 43

[0376] tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-2-tert-부톡시-1-[[3-[3-(3-히드록시페닐)-2-옥소-이미다졸리딘-1-일]페닐]메틸]-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트



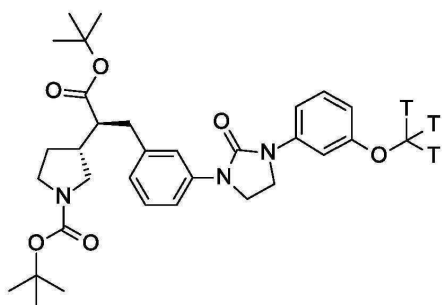
[0377]

[0378] tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-1-[[3-[3-(3-벤질옥시페닐)-2-옥소-이미다졸리딘-1-일]페닐]메틸]-2-tert-부톡시-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트 (1.56 g, 2.43 mmol)를 THF (80 mL) 중에 용해시키고, 수산화팔라듐 (0.7 g, 0.99 mmol, 0.41 당량)을 첨가하였다. 반응물을 진공 하에 탈기한 다음, 수소 기체에 3회 노출시켰다. 반응물을 실온에서 수소 (1 atm) 하에 4시간 동안 교반하였다. 반응물을 농축시키고, 잔류물을 산 중 0 → 50% EtOAc의 구배를 사용한 실리카 겔 크로마토그래피에 의해 핵정제하여 표제 화합물을 수득하였다 (1.19 g, 87%).

[0379] ES/MS (m/z): 452 (M+H-BOC).

[0380] 제조예 44

[0381] tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-2-tert-부톡시-2-옥소-1-[[3-[2-옥소-3-[3-(트리티오메톡시)페닐]이미다졸리딘-1-일]페닐]메틸]에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트



[0382]

[0383] DMF (0.5 mL) 중 tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-2-tert-부톡시-1-[[3-[3-(3-히드록시페닐)-2-옥소-이미다졸리딘-1-일]페닐]메틸]-2-옥소-에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트 (4 mg, 0.007 mmol)의 용액에 탄산세슘 (10 mg, 0.03 mmol)을 첨가하였다. 용액을 실온에서 10분 동안 교반하였다. [<sup>3</sup>H]메틸 노실레이트 (50 mCi)를 첨가하고, 실온에서 1.5시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 RP-HPLC/MS에 의해 하기 파라미터를 사용하여 정제하였다: 칼럼 - 페노메넥스 (Phenomenex)® 제미니(Gemini)® C18 (250 x 10 mm); 이동상 - 용매 A = 물 + 트리플루오로아세트산 (0.1%), 용매 B = 아세토니트릴 + 트리플루오로아세트산 (0.1%); 구배 - 50분에 걸쳐 A 중 50 → 100% B; 유량 - 3 mL/분. 정제된 생성물을 EtOH 중에 용해시키고, 추가의 특징화 없이 제조예 45로 진행하였다.

[0384] 제조예 45

[0385] (2S)-3-[3-[2-옥소-3-[3-(트리트리티오메톡시)페닐]이미다졸리딘-1-일]페닐]-2-[(3R)-피롤리딘-3-일]프로판산; 히드로클로라이드

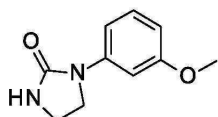


[0386]

[0387] tert-부틸 (3R)-3-[(1S)-2-tert-부톡시-2-옥소-1-[[3-[2-옥소-3-[3-(트리트리티오메톡시)페닐]이미다졸리딘-1-일]페닐]메틸]에틸]피롤리딘-1-카르복실레이트로부터 용매를 진공 하에 제거하고, 잔류물을 염화수소 (1,4-디옥산 중 4M 용액) 중에 용해시켰다. 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 반응 혼합물을 RP-HPLC/MS에 의해 하기 파라미터를 사용하여 정제하였다: 칼럼 - 페노메넥스® 제미니® C18 (250 x 10 mm); 이동상 - 용매 A = 물 + 트리플루오로아세트산 (0.1%), 용매 B = 아세토니트릴 + 트리플루오로아세트산 (0.1%); 구배 - 60분에 걸쳐 A 중 10 → 70% B; 유량 - 3 mL/분. 정제된 생성물을 에탄올 중에 용해시켰다. 질량 분광측정법은 불활성 물질과 일치하는 스펙트럼 [ES/MS (m/z): 410 (M+H)] 및 63 Ci/mmol의 비활성을 제공하였다.

[0388] 제조예 46

[0389] 1-(3-메톡시페닐)이미다졸리딘-2-온



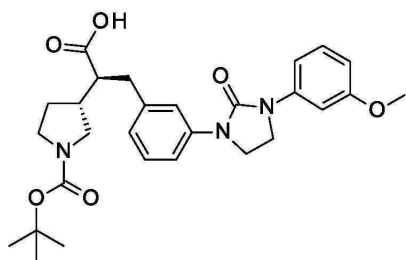
[0390]

[0391] 1-아이오도-3메톡시벤젠 및 삼염기성 인산칼륨을 염기로서 사용하여 표제 화합물을 본질적으로 제조예 40에 대해 기재된 바와 같이 제조하였다. 통상적인 가열을 사용하여 반응물을 120℃로 16시간 동안 가열하였다. 반응물을 EtOAc로 희석함으로써 후처리하고, 셀라이트®의 패드를 통해 여과하고, 유기부를 물, 수성 NH<sub>4</sub>OH, 및 포화 수성 NaCl로 세척하였다. 조 물질을 헥산 중 20 → 100% EtOAc의 구배를 사용한 실리카 겔 크로마토그래피에 의해 정제하였다.

[0392] ES/MS (m/z): 193 (M+H).

[0393] 제조예 47

[0394] (2S)-2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]-3-[3-[3-(3-메톡시페닐)-2-옥소-이미다졸리딘-1-일]페닐]프로판산



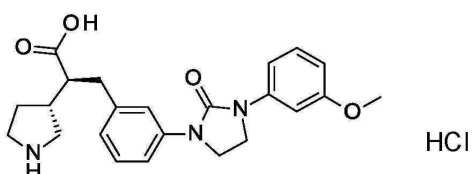
[0395]

[0396] 1,4-디옥산 (4.8 mL) 중 (2S)-3-(3-브로모페닐)-2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]프로판산 (190 mg, 0.4770 mmol), 1-(3-메톡시페닐)이미다졸리딘-2-온 (0.2751 g, 1.431 mmol, 3 당량), [(2-디-tert-부틸포스피노-2',4',6'-트리아이소프로필-1,1'-비페닐)-2-(2'-아미노-1,1'-비페닐)] 팔라듐 (II) 메탄술포네이트 (tBuXPhos-Pd-G3, 0.0379 g, 0.0477 mmol, 0.1 당량) 및 소듐 tert-부톡시드 (0.1418 g, 1.431 mmol, 3 당량) 를 혼합하고, 혼합물을 질소 분위기 하에 100℃에서 밤새 교반하였다. 혼합물을 EtOAc로 희석하고, HCl의 수용액 (1 N)으로 산성화시켰다. 혼합물을 셀라이트®의 패드를 통해 여과하고, 층을 분리하고, 유기부를 MgSO<sub>4</sub> 상에서 건조시켰다. 여과하고, 유기부를 농축시킨 다음, 잔류물을 수성 NH<sub>4</sub>CO<sub>3</sub> (pH 9) 중 40 → 70% 아세토니트릴의 구배를 사용한 역상 플래쉬 크로마토그래피 (실리카-결합된 C18 칼럼)에 의해 정제하여 표제 화합물 (70 mg, 28%)을 백색 고체로서 수득하였다. 하기 파라미터를 사용하여 RP-HPLC/MS에 의해 추가량의 표제 화합물 (90 mg, 36%)을 수득하였다: 칼럼 - 워터스™ 엑스브리지™ C18 (19 x 100 mm, 5 μm); 이동상 - 용매 A = 물 중 20 mM NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>, 용매 B = 아세토니트릴; 유량 25 mL/분; 구배 - 30:70 → 50:50 B:A.

[0397] ES/MS (m/z): 510 (M+H).

[0398] 제조예 48

[0399] (2S)-3-[3-[2-옥소-3-[3-(메톡시)페닐]이미다졸리딘-1-일]페닐]-2-[(3R)-피롤리딘-3-일]프로판산;히드로클로라이드



[0400]

[0401] (2S)-2-[(3R)-1-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-일]-3-[3-[3-(3-메톡시페닐)-2-옥소-이미다졸리딘-1-일]페닐]프로판산을 사용하여 본질적으로 제조예 45에 기재된 바와 같이 표제 화합물을 제조하였다.

[0402] ES/MS (m/z): 410 (M+H)

[0403] 생물학적 검정

[0404] 시험관내 Apo(a) 결합 검정

[0405] 의도된 표적 인간 Apo(a) 단백질에 대한 화합물의 시험관내 결합 친화도를 경쟁적 결합 검정에서 시험한다. 17 개의 크링글(Kringle) 반복부를 함유하는 인간 Apo(a) 단백질을 일시적으로 형질감염된 HEK-293F 세포의 조건화 배지로부터 친화도 정제한다. 모든 시약을 50 mM 트리스-HCl pH 7.4, 0.1% BSA를 함유하는 검정 완충제 중에서 제조한다. 투명-바닥 플레이트의 각각의 웰에 각각 50 μl의 (1) 시험 화합물의 일련의 희석물 (최종 농도 0.32~10000 nM), (2) Apo(a) 단백질 (6 ng/웰), (3) 재현된 밀 배아 응집소 폴리비닐톨루엔 SPA 비드 (20 mg/ml), 및 (4) 방사성리간드, 삼중수소-표지된 (2S)-3-[3-[2-옥소-3-[3-(트리티오메톡시)페닐]이미다졸리딘-1-일]페닐]-2-[(3R)-피롤리딘-3-일]프로판산;히드로클로라이드 (최종 농도 0.52 nM)를 첨가함으로써 결합 검정을 수행한다. 플레이트를 실온에서 60분 동안 인큐베이션하고, 트리룩스(TRILUX) LSC 상에서 수행한다. 10 μM

콜드 (즉, 비-방사성표지된) 리간드: (2S)-3-[3-[2-옥소-3-[3-(메톡시)페닐]이미다졸리딘-1-일]페닐]-2-[(3R)-피롤리딘-3-일]프로판산; 히드로클로라이드 존재 하에서의 결합으로서 정의되는 비-특이적 결합을 차감하여 특이적 결합을 결정한다. 데이터를 표준 단일 부위 결합 모델에 피팅함으로써 분석하고, 실시예 시험 화합물에 대한 IC<sub>50</sub>을 결정한다. 이들 결과는 표 1에 요약되고, 실시예 시험 화합물이 인간 Apo(a) 단백질에 결합함을 나타낸다. Apo(a) 단백질에 대한 결합을 통한 LDL 입자와 apo(a)의 어셈블리의 억제 Lp(a) 수준의 감소를 지지한다.

[0406] 표 1

실시예	IC <sub>50</sub> * (nM)
1	<0.314 (n=1)
3	2.13 ± 0.159 (n=2)
6	<0.314 (n=1)
14	<0.314 (n=1)
17	152 ± 21.3 (n=2)
18	126 ± 5.97 (n=2)

[0407]

[0408] \*기하 평균 ± SEM (n)

[0409] 시험관내 Lp(a) 어셈블리 검정

[0410] 시험관내에서 Lp(a) 입자의 형성을 억제하는 화합물의 능력을 무세포 어셈블리 검정에 의해 평가한다. 조건화 배지 (10% FBS, 20 mM HEPES, 및 1x 페니실린/스트렙토마이신으로 보충된 DMEM)를, 17개의 크링글 반복부를 함유하는 인간 Apo(a) 단백질을 발현하는 HEK293 안정한 세포주 (1 mg/ml 제네티신 상에서 선택됨)로부터 및 전면 성장 야생형 HepG2 세포 (내인성으로 발현된 ApoB의 공급원)로부터 37°C 및 5% CO<sub>2</sub>에서 24시간의 배양 후에 수집하였다. 시험관내 어셈블리 검정은 동등한 부의 HepG2 및 HEK293 조건화 배지를 일련의 희석물 (최종 농도 0.01~100 nM)로서 첨가되는 시험 화합물과 조합함으로써 수행한다. 반응물을 37°C에서 2시간 동안 인큐베이션한 다음, 6-아미노카프로산 (EACA)을 150 mM의 최종 농도로 첨가하여 정지시킨다. 샌드위치 ELISA를 사용하여 항-Lp(a) 포획 항체 및 HRP-접합된 항-ApoB 검출 항체로 Lp(a)를 검출한다. ELISA를 TMB를 사용하여 발색시키고, 1 N 황산을 사용하여 정지시키고, 신호를 몰레큘라 디바이시스(Molecular Devices) 플레이트 판독기 상에서 450 nm에서 판독한다. 각각의 시험 조건에 대해 형성된 Lp(a)의 % 억제는, 억제제가 존재하지 않는 어셈블리 반응 (1%의 매칭된 DMSO 농도를 가짐)을 0% 억제로 설정하고, 최소량의 HepG2 조건화 배지가 존재하는 어셈블리 반응 (50배 희석)을 100% 억제로 설정하여 결정한다. 데이터를 4-파라미터 곡선에 피팅하여 표 2에 요약된 IC<sub>50</sub> 값을 결정한다. ApoB 및 Apo(a)를 함유하는 조건화 배지에 실시예 시험 화합물을 첨가하면, 표 2에 요약된 바와 같이, 시험관내 Lp(a) 형성이 농도-의존적으로 억제된다. 결과는 이들 화합물이 Apo(a) 및 (LDL) 입자로부터의 Lp(a)의 어셈블리를 억제한다는 것을 나타낸다.

[0411] 표 2

실시예	IC <sub>50</sub> * (nM)
1	0.0963 ± 0.0233 (n=9)
3	0.934 ± 0.306 (n=2)
5	0.17 ± 0.0124 (n=4)
6	0.108 ± 0.0149 (n=4)
7	0.372 ± 0.0464 (n=8)
8	0.288 ± 0.19 (n=4)
9	0.359 ± 0.0292 (n=2)
10	0.36 ± 0.119 (n=4)
11	0.396 ± 0.241 (n=4)
12	0.235 ± 0.0509 (n=2)
13	2.39 ± 0.61 (n=2)
14	0.348 ± 0.0984 (n=13)
15	54.6 ± 9.15 (n=3)
16	0.563 ± 0.119 (n=2)
17	1690 ± 402 (n=43)
18	635 ± 165 (n=9)

[0412]

[0413] \*기하 평균 ± SEM (n)

[0414] 마우스에서의 생체내 Lp(a) 억제

[0415] 생체내 정상-상태 Lp(a) 수준을 감소시키는 화합물의 능력을 인간화 Lp(a) 입자를 생산할 수 있는 트랜스제닉 마우스 모델에서 평가한다. Lp(a) 파괴제 화합물의 생체내 효과를 17개의 크리글 반복부를 함유하는 인간 apo(a) 및 인간 apoB-100을 발현하는 7 내지 17개월령 암컷 이중 트랜스제닉 마우스: B6.SJL-Tg(APOB)1102Sgy Tg(Alb-LPA)32Arte에서 시험한다. 마우스를 표준 광 주기 (12시간 밝음/12시간 어둠)로, RT 72 ± 8°F 및 30~70%의 상대 습도에서, 물 및 정상 사료 식이 (하를란 테크라드(Harlan Teklad) 식이 2014)로의 자유로운 접근이 가능한 상태로 수용한다. 마우스들을, 연구를 위해 BRAT (블록 무작위 배정 도구)를 사용하여 체중 및 기준선 혈장 Lp(a) 농도에 의해 연구 3 내지 5일 전에 처리군 (n=5/군)으로 무작위화한다. 마우스에게 경구로 (또는 언급된 경우에 피하로) 비히클 (경구 용량 비히클: 10 mL/kg, 1% HEC, 0.25% 트윈80, 0.01% 소포제; 피하 용량 비히클: 5 mL/kg 염수) 또는 시험 화합물을 5일 동안 1일 2회 (6:30 am 및 3:30 pm) 다양한 용량 수준으로 투여한다. 혈액을 꼬리 채혈을 통해 헤파린-코팅된 모세관에 수집한다. 20 µL의 각각의 혈액 샘플을 약물 노출 분석을 위해 DBS 카드 (와트만(Whatman) Cat#: WB12 9243)로 옮긴다. 남아있는 혈액 샘플을 원심분리하여 혈장을 분리한다. 혈장 중 Lp(a) 농도를 시험관내 Lp(a) 어셈블리 검정에 대해 기재된 바와 같이 샌드위치 ELISA를 사용하여 측정한다. 비히클 대조군의 평균 Lp(a) 수준을 0% 억제로 설정하여 각각의 용량 군에 대한 % 억제를 결정한다. 표 3은 제3일에 아침 경구 투여 8시간 후에 꼬리 채혈 샘플을 채취한 용량 반응 연구로부터의 결과를 제시한다. 역치 최소 유효 용량 분석에 의해 결정된 ED<sub>50</sub> (50% Lp(a) 억제를 위한 유효 용량) 계산. 표 4는 제3일에 아침 경구 용량 (또는 언급된 경우에 피하 용량) 후 4시간 (또는 언급된 경우에 8시간)에 꼬리 채혈 샘플을 채취한 단일 용량 연구로부터의 결과를 제시한다. 표 3 및 4에 제시된 이들 결과는 화합물이 생체내 혈장 Lp(a) 수준을 감소시키는 데 효과적이라는 것을 입증하며, 이는 화합물이 Lp(a) 혈장 농도를 감소시키는 데 사용될 수 있다는 제안을 뒷받침한다.

[0416] 표 3

실시예	ED <sub>50</sub> (mg/kg) <sup>1</sup>	Lp(a) 억제 (30 mpk에서 %) <sup>2</sup>
1	3.3 ± 0.53	91 ± 0.73
14	14.6 ± 2.48	72 ± 2.23
17	20.6 ± 1.79	60 ± 3.46
18	7.6 ± 2.43	68 ± 1.82

[0417]

[0418] 1. ED<sub>50</sub> ± 표준 오차

[0419] 2. 평균 ± SEM

[0420] 표 4

실시예	용량 (mg/kg)	Lp(a) 억제 (%) <sup>1</sup>
5	3	43.8 ± 4.24
7	30 <sup>2</sup>	44.6 ± 5.0
9	30	56.5 ± 2.77
10	30	43.6 ± 4.6
12	30	50 ± 3.82 <sup>3</sup>

[0421]

[0422] 1. 평균 ± SEM

[0423] 2. 피하 투여

[0424] 3. 경구 투여 8시간 후에 채취한 샘플.