



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0090478
(43) 공개일자 2017년08월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 403/04 (2006.01) A61K 31/404 (2006.01)
A61K 31/4178 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07D 403/04 (2013.01)
A61K 31/404 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2017-7018180
(22) 출원일자(국제) 2015년11월19일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2017년06월30일
(86) 국제출원번호 PCT/IB2015/058965
(87) 국제공개번호 WO 2016/087975
국제공개일자 2016년06월09일
(30) 우선권주장
62/086,844 2014년12월03일 미국(US)

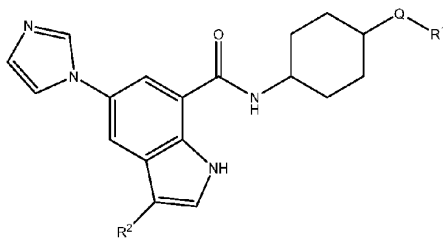
(71) 출원인
글락소스미스클라인 인텔렉추얼 프로퍼티 (넘버
2) 리미티드
영국 티더블유8 9지애스 미들섹스 브렌트포드 그
레이트 웨스트 로드 980
(72) 발명자
베체러, 제이. 데이비드
미국 27709 노스 캐롤라이나 리서치 트라이앵글
파크 파이프 무어 드라이브 글로벌 패이턴츠 글락
소스미스클라인 (내)
카딜라, 로돌포
미국 19406 펜실베이니아 킹 오브 프리시아 스웨
드랜드 로드 709 #1539 글락소스미스클라인 (내)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인 남앤드남

전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 발명의 명칭 CD38 억제제 및 치료 방법

(57) 요약

화학식 (I)의 화합물, 및 CD38 효소의 억제를 통해 세포성 NAD⁺ 수준을 조절함으로써 대사 질환을 치료하는 방법
이 기재된다. 하기 화학식 (I).



화학식 I

(52) CPC특허분류

A61K 31/4178 (2013.01)

(72) 발명자

디톤, 데이비드 노만

미국 19406 펜실베이니아 킹 오브 프리시아 스웨드
랜드 로드 709 #1539 글락소스미스클라인 (내)

하프너, 커트

미국 19406 펜실베이니아 킹 오브 프리시아 스웨드
랜드 로드 709 #1539 글락소스미스클라인 (내)

헨케, 브래드 리차드

미국 27709 노스 캐롤라이나 리서치 트라이앵글 파
크 파이프 무어 드라이브 글로벌 페이턴츠 글락소
스미스클라인 (내)

프레우샤트, 프랑크

미국 27709 노스 캐롤라이나 리서치 트라이앵글 파
크 파이프 무어 드라이브 글로벌 페이턴츠 글락소
스미스클라인 (내)

슐트, 크리스티

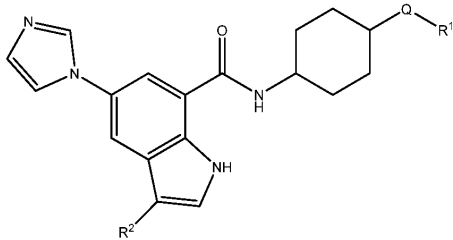
미국 19406 펜실베이니아 킹 오브 프리시아 스웨드
랜드 로드 709 #1539 글락소스미스클라인 (내)

명세서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 I의 화합물:



화학식 I

상기 식에서, Q는 O, NH, N(H)C(O), 또는 C(O)N(H)이며;

R^1 은 C_{1-5} 알킬S(O)₂CH₃, 또는 C_{1-6} 알킬이며, 여기에서 상기 알킬은 직쇄 부분, 분지쇄 부분, 사이클로알킬 부분을 포함할 수 있으며, 상기 C_{1-6} 알킬은 하나의 OH 또는 OCH₃에 의해 치환되거나 비치환되며, 상기 C_{1-6} 알킬은 1 내지 3개의 불소 원자에 의해 추가로 치환되거나 비치환되며;

R^2 는 H, C_{1-3} 알킬, 또는 할로젠이다.

청구항 2

제 1항에 따른 화합물의 약학적으로 허용되는 염.

청구항 3

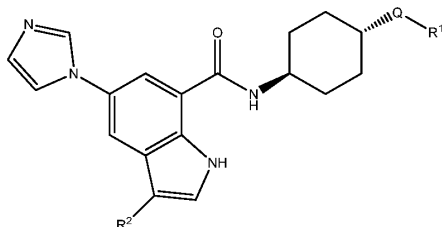
제 1항 또는 제 2항에 있어서, R^2 가 H 또는 Cl인 화합물 또는 염.

청구항 4

제 1항 또는 제 2항에 있어서, R^2 가 H인 화합물 또는 염.

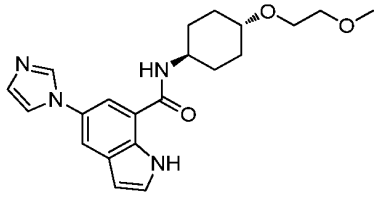
청구항 5

제 1항 내지 제 4항 중의 어느 한 항에 있어서, 사이클로헥실 고리 상의 배향이 하기 묘사된 바와 같이 트랜스인 화합물 또는 염:



청구항 6

하기 화합물:



청구항 7

제 1항 내지 제 6항 중의 어느 한 항에 따른 화합물 또는 염을 투여하는 것을 포함하여, NAD⁺ 증가로부터 이익을 얻는 질환 또는 병태를 치료하는 방법.

청구항 8

제 7항에 있어서, 상기 질환 또는 병태가 비알코올성 지방간염 (NASH), 만성 폐쇄성 폐 질환 (COPD), 또는 류마티스 관절염 (RA)인 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 CD38 효소의 억제를 통해 세포 NAD⁺ 수준을 조절함으로써 대사의 질환을 치료하는 화합물 및 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 니코틴아미드 아데닌 디뉴클레오타이드 (NAD⁺)는 산화환원효소 반응에서의 이의 역할로 인해 100년 이상 전에 먼저 특성결정된, 모든 세포에서 발견된 생화학물질이다. 그때부터, NAD⁺ 및 이의 관련된 피리딘 뉴클레오타이드 NADH, NADP⁺, 및 NADPH는 모든 유기체에서 주요 레독스 담체로서 인식된다. 이들 피리딘 디뉴클레오타이드는 세포 핵 및 미토콘드리아 레독스 상태를 조절하며 세포의 대사 상태를 모니터링하는 주요 참가인자이다. 이는 NAD⁺ 및 NADH가 당분해, TAC 사이클, 및 호흡 사슬과 관련된 대사 효소에 대한 보조인자를 수용하고 공여하는 수소화물로 작용하여 이러한 이화 과정에서 생성된 환원 등가물을 새로운 생체분자의 새로운 합성으로 재분배하기 때문이다 (Houtkooper et al Endo Reviews (2010) 31:194-223; Koch-Nolte et al (2009) Science Signalling 2:mr1; Houtkooper and Auwerx (2012) J. Cell Biol 199:205-209; Berger et al Trends in Bioch Sci 29:11-118).

[0003] 산화환원효소에 대한 보조인자로서의 이의 오래도록 인식된 역할 이외에, 더욱 최근의 연구는 NAD⁺가 또한 다양한 효소에 대한 기질이며, 여기에서 이는 이의 ADP 리보스를 수용체 분자로 공여하는 과정에서 소모됨을 입증한다. NAD⁺의 주요 소비자인 효소는 ADP 리보실 트랜스퍼라제 (즉, 효소의 PARP 및 ART 패밀리), 시르투인 (Sirt1-7), 및 ADP 리보실 사이클라제/하이드롤라제 (CD38/CD157)이다. 이들 효소는 Ca⁺⁺ 시그널링, 유전자 전사, DNA 복구, 세포 생존, 에너지 대사, 및 산화 스트레스를 조절하는 경로에 관여한다. 따라서, NAD⁺ 및 이의 인산화된 관계물 NADP 및 NAADP (이 둘 모두는 NAD⁺로부터 유래됨)는 또한 시그널링 분자로서 작용한다. NAD⁺는 또한, 세포 대사를 크로마틴 리모델링과 유전자 전사에 연결시키는 일일 진동 (daily oscillation)과 함께 일주기 (circadian cycle)의 중요한 구성 요소이다. 운동 및 칼로리 제한은 NAD⁺ 수준을 증가시키는 반면, 노화 및 비만은 세포 NAD⁺ 수준을 감소시키는 것으로 공지되어 있다. 상당량의 NAD⁺⁺를 소모하는 질환 상태에서 NAD⁺⁺ 수준 복원은 스트레스를 받는 동안 세포가 이의 에너지 상태를 유지하려고 노력할 때 아마도 의학적 이점을 가질 것이다. (Tevy et al (2103) Trends in Endo and Metab 24:229-237; Pugh et al (2013) Aging Cell 12:672-681; Massudi et al PLoS ONE 7:e42357; Xu and Sauve (2010) Mech of Ageing and Development 131:287-298; Sassone-Corsi (2012) 153:1-5).

[0004] 세포성 NAD⁺는 둘 모두 식이 공급원으로부터 수득된 니코틴산 (니아신) 및 니코틴아미드와 같은 전구체로부터의 셀비지 합성 경로 또는 트립토판으로부터의 새로운 합성 경로 중 어느 하나에 의해 생성된다. 세포성 NAD⁺ 수

준을 조절하는 제 3의 방법은 NAD⁺를 소비하는 효소를 억제함으로써 NAD⁺의 소비를 차단하는 것이다. CD38은 NAD⁺의 이러한 한 소비자이다. 또한, ADP 리보실 사이클라제로서 공지된 CD38은 타입 II 맴브레인-앵커링된 효소이다. 이는 NAD⁺의 니코틴아미드와 ADPR로의 분해를 효과적으로 촉매하며 NAADP를 ADPR로 가수분해한다. 또한, CD38은 가수분해효소로서보다 사이클라제로서 100-배 덜 효율적이지만, NAD⁺를 cADPR로 전환시키는 사이클라제로서 작용한다. CD38은 먼저 면역 세포 상의 표면 항원으로서 특성 규명되며 몸체 내의 대부분의 조직에 걸쳐 광범위하게 분포된다. 이는 원형질막 상에 그리고, 세포내 세포소기관 예컨대, 핵 및 미토콘드리아의 막 상에 존재한다. NAD⁺ 글리코하이드롤라제로서의 이의 기능으로부터 예측되는 바와 같이, CD38 KO 마우스는 야생형 대조군과 비교하여 NAD⁺ 수준을 증가시켰다. 마찬가지로, CD38 효소 활성의 억제체는 또한, NAD⁺ 조직 수준을 조절하며, CD38이 과다 발현하거나 세포성 NAD⁺ 수준이 감소되거나 비동기화되는 다양한 질환을 치료하는데 유용할 것이다. (Malavasi et al (2008) 88:841-886)

- [0005] NAD⁺ 수준 조절 이점을 시사하는 많은 참고문헌이 존재한다. CD38을 억제하여 NAD⁺ 수준을 증가시키는 화합물은 NAD⁺로부터 이익을 얻는 것으로 나타난 질환 또는 병태를 치료하는데 유용할 수 있다. 하기는 참조 예이다:
- [0006] - 급성 폐 손상/ARDS, 예를 들어, 문헌 [**Nicotinamide abrogates acute lung injury caused by ischaemia/reperfusion**, Su, C.-F.; Liu, D. D.; Kao, S. J.; Chen, H. I. *European Respiratory Journal* (2007), 30(2), 199-204] 참조;
- [0007] - 고인산혈증 예를 들어, 문헌 [**Nicotinamide suppresses hyperphosphatemia in hemodialysis patients**, Takahashi, Yutaka; Tanaka, Araki; Nakamura, Tsukasa; Fukuwatari, Tsutomu; Shibata, Katsumi; Shimada, Noriaki; Ebihara, Isao; Koide, Hikaru, *Kidney International* (2004), 65(3), 1099-1104] 참조;
- [0008] - 알코올 못견딤 예를 들어, 문헌 [**Disruption of the coenzyme binding site and dimer interface revealed in the crystal structure of mitochondrial aldehyde dehydrogenase "Asian" variant**, Larson, Heather N.; Weiner, Henry; Hurley, Thomas D. *Journal of Biological Chemistry* (2005), 280(34), 30550-30556] 참조;
- [0009] - 루푸스 예를 들어, 문헌 [**CD38 polymorphisms in Spanish patients with systemic lupus erythematosus**, Gonzalez-Escribano Maria Francisca; Aguilar Francisco; Torres Belen; Sanchez-Roman Julio; Nunez-Roldan Antonio *Human immunology* (2004), 65(6), 660-4, and **Increased CD38 expression in T cells and circulating anti-CD38 IgG autoantibodies differentially correlate with distinct cytokine profiles and disease activity in systemic lupus erythematosus patients** Pavon, Esther J.; Zumaquero, Esther; Rosal-Vela, Antonio; Khoo, Keng-Meng; Cerezo-Wallis, Daniela; Garcia-Rodriguez, Sonia; Carrascal, Montserrat; Abian, Joaquin; Graeff, Richard; Callejas-Rubio, Jose-Luis; et al *Cytokine* (2013), 62(2), 232-243] 참조;
- [0010] - 류마티스 관절염 예를 들어, 문헌 [**Mice deficient in CD38 develop an attenuated form of collagen type II-induced arthritis** Postigo, Jorge; Iglesias, Marcos; Cerezo-Wallis, Daniela; Rosal-Vela, Antonio; Garcia-Rodriguez, Sonia; Zubiaur, Mercedes; Sancho, Jaime; Merino, Ramon; Merino, Jesus *PLoS One* (2012), 7(3), e33534] 참조;
- [0011] - 혈관확장성 운동실조증 예를 들어, 문헌 [**Accumulation of DNA damage and reduced levels of nicotine adenine dinucleotide in the brains of Atm-deficient mice** Stern, Nora; Hochman, Ayala; Zemach, Naty; Weizman, Nir; Hammel, Ilan; Shiloh, Yosef; Rotman, Galit; Barzilai, Ari, *Journal of Biological Chemistry* (2002), 277(1), 602-608] 참조;
- [0012] - 수면 장애 예를 들어, 문헌 [**The effects of nicotinamide upon sleep in humans** Robinson C R; Pegram G V; Hyde P R; Beaton J M; Smythies J R *Biological psychiatry* (1977)), 12(1), 139-43] 참조;
- [0013] - 간질 예를 들어, 문헌 [**Partial epilepsy with pericentral spikes: a new familial epilepsy syndrome with evidence for linkage to chromosome 4p15** Kinton Lucy; Johnson Michael R; Smith Shelagh J M; Farrell Fiona; Stevens John; Rance James B; Claudino Angelica M; Duncan John S; Davis Mary B; Wood Nicholas W; et al *Annals of neurology* (2002), 51(6), 740-9] 참조;
- [0014] - 운동 못견딤증 예를 들어, 문헌 [**Effects of exercise on oxidative activities in rat liver mitochondria**, Glick, J. Leslie *American Journal of Physiology* (1966), 210(6), 1215-21] 참조;

- [0015] - 소폐세포 암종 예를 들어, 문헌 [**β -Lapachone Micellar Nanotherapeutics for Non-Small Cell Lung Cancer Therapy**, Blanco, Elvin; Bey, Erik A.; Khemtong, Chalermchai; Yang, Su-Geun; Setti-Guthi, Jagadeesh; Chen, Huabing; Kessinger, Chase W.; Carnevale, Kevin A.; Bornmann, William G.; Boothman, David A.; et al Cancer Research (2010), 70(10), 3896-3904] 참조;
- [0016] - 콩팥 투명 세포 암종 예를 들어, 문헌 [**Identification of nicotinamide N-methyltransferase as a novel tumor marker for renal clear cell carcinoma** Sartini, Davide; Muzzonigro, Giovanni; Milanese, Giulio; Pierella, Francesca; Rossi, Valentina; Emanuelli, Monica Journal of Urology (New York, NY, United States) (2006), 176(5), 2248-2254] 참조;
- [0017] - 고혈압 예를 들어, 문헌 [**Mice lacking the ADP ribosyl cyclase CD38 exhibit attenuated renal vasoconstriction to angiotensin II, endothelin-1, and norepinephrine** Thai Tiffany L; Arendshorst William J American journal of physiology. Renal physiology (2009), 297(1), F169-76] 참조;
- [0018] - 저산소 폐 혈관수축 예를 들어, 문헌 [**Adp-ribosyl cyclase and cyclic ADP-ribose hydrolase act as a redox sensor. a primary role for cyclic ADP-ribose in hypoxic pulmonary vasoconstriction**, Wilson H L; Dipp M; Thomas J M; Lad C; Galione A; Evans A M The Journal of biological chemistry (2001), 276(14), 11180-8] 참조;
- [0019] - 한센병 예를 들어, 문헌 [**Nicotineamide adenine dinucleotide glycohydrolase in normal and leprous armadillos** Dhople, Arvind M.; Johnson, Kara J.; Williams, Sharon L.; Zeigler, Joseph A.; Cook, Camille A.; Storrs, Eleanor E. Microbios Letters (1985), 28(109), 17-20] 참조;
- [0020] - 결핵 예를 들어, 문헌 [**NAD⁺ auxotrophy is bactericidal for the tubercle bacilli**, Vilcheze, Catherine; Weinrick, Brian; Wong, Ka-Wing; Chen, Bing; Jacobs, William R., Jr. Molecular Microbiology (2010), 76(2), 365-377] 참조;
- [0021] - 리슈만편모충증 예를 들어, 문헌 [**The NAD⁺ metabolism of Leishmania, notably the enzyme nicotinamidase involved in NAD⁺ salvage, offers prospects for development of anti-parasite chemotherapy** Michels Paul A M; Avilan Luisana Molecular microbiology (2011), 82(1), 4-8] 참조;
- [0022] - 심장 비대/CHF 예를 들어, 문헌 [**Exogenous NAD⁺ Blocks Cardiac Hypertrophic Response via Activation of the SIRT3-LKB1-AMP-activated Kinase Pathway** Pillai, Vinodkumar B.; Sundaresan, Nagalingam R.; Kim, Gene; Gupta, Madhu; Rajamohan, Senthilkumar B.; Pillai, Jyothish B.; Samant, Sadhana; Ravindra, P. V.; Isbatan, Ayman; Gupta, Mahesh P., Journal of Biological Chemistry (2010), 285(5), 3133-3144] 참조;
- [0023] - 근육 퇴행위축 예를 들어, 문헌 [**NAD⁺ biosynthesis ameliorates a zebrafish model of muscular dystrophy**, Goody, Michelle F.; Kelly, Meghan W.; Reynolds, Christine J.; Khalil, Andre; Crawford, Bryan D.; Henry, Clarissa A. PLoS Biology (2012), 10(10), e1001409] 참조;
- [0024] - 뇌졸중 예를 들어, 문헌 [**CD38 exacerbates focal cytokine production, postischemic inflammation and brain injury after focal cerebral ischemia**, Choe, Chi-un; Lardong, Kerstin; Gelderblom, Mathias; Ludwig, Peter; Leyboldt, Frank; Koch-Nolte, Friedrich; Gerloff, Christian; Magnus, Tim PLoS One (2011), 6(5), e19046] 참조;
- [0025] - 기관 재관류 손상 예를 들어, 문헌 [**Mouse embryonic fibroblasts from CD38 knockout mice are resistant to oxidative stresses through inhibition of reactive oxygen species production and Ca²⁺ overload** Ge, Yan; Jiang, Wei; Gan, Lu; Wang, Li-Jun; Sun, Chang-Yan; Ni, Pei-Yan; Liu, Yin; Wu, Si-Si; Gu, Lun-Da; Zheng, Wei; et al Biochemical and Biophysical Research Communications (2010), 399(2), 167-172] 참조;
- [0026] - 특발폐섬유증 예를 들어, 문헌 [**Biochemical mechanisms for the attenuation of bleomycin-induced lung fibrosis by treatment with niacin in hamsters: the role of NAD⁺ and ATP** O'Neill, Charles A.; Giri, Shri N. Experimental Lung Research (1994), 20(1), 41-56] 참조;
- [0027] - 췌장염 예를 들어, 문헌 [**The Renin-Angiotensin System and Reactive Oxygen Species: Implications in Pancreatitis** Chan, Yuk Cheung; Leung, Po Sing Antioxidants & Redox Signaling (2011), 15(10), 2743-

2755] 참조;

- [0028] - 양성섬유증 예를 들어, 문헌 [**Metabolomic Profiling Reveals Biochemical Pathways and Biomarkers Associated with Pathogenesis in Cystic Fibrosis Cells** Wetmore, Diana R.; Joseloff, Elizabeth; Pilewski, Joseph; Lee, Douglas P.; Lawton, Kay A.; Mitchell, Matthew W.; Milburn, Michael V.; Ryals, John A.; Guo, Lining, *Journal of Biological Chemistry* (2010), 285(40), 30516-30522] 참조;
- [0029] - 천식 예를 들어, 문헌 [**Role of CD38 in airway function**, Kang, Bit Na; Guedes, Alonso G. P.; Tirumurugaan, K. G.; Jude, Joseph A.; Deshpande, Deepak A.; Panettieri, Reynold A.; Amrani, Yassine; Lund, Frances E.; Walseth, Timothy F.; Kannan, Mathur S. *Current Respiratory Medicine Reviews* (2006), 2(2), 143-156] 참조;
- [0030] - COPD 예를 들어, 문헌 [**Systemic poly(ADP-ribose) polymerase-1 activation, chronic inflammation, and oxidative stress in COPD patients**, Hageman, Geja J.; Larik, Ingrid; Pennings, Herman-Jan; Haenen, Guido R. M. M.; Wouters, Emiel F. M.; Bast, Aalt *Free Radical Biology & Medicine* (2003), 35(2), 140-148] 참조;
- [0031] - 과민성 대장 증후군/대장염 예를 들어, 문헌 [**Adenosine 5'-diphosphate-ribose is a neural regulator in primate and murine large intestine along with β -NAD⁺** Durnin, Leonie; Hwang, Sung Jin; Ward, Sean M.; Sanders, Kenton M.; Mutafova-Yambolieva, Violeta N. *Journal of Physiology (Oxford, United Kingdom)* (2012), 590(8), 1921-1941] 참조;
- [0032] - 통풍 예를 들어, 문헌 [**Genome-wide scan identifies a quantitative trait locus at 4p15.3 for serum urate**, Cummings Nik; Dyer Thomas D; Kotea Navaratnam; Kowlessur Sudhir; Chitson Pierrot; Zimmet Paul; Blangero John; Jowett Jeremy B M *European journal of human genetics: EJHG* (2010), 18(11), 1243-7] 참조;
- [0033] - 비만/근감소성 비만 예를 들어, 문헌 [**The enzyme CD38 (a NAD⁺ glycohydrolase, EC 3.2.2.5) is necessary for the development of diet-induced obesity** Barbosa Maria Thereza P; Soares Sandra M; Novak Colleen M; Sinclair David; Levine James A; Aksoy Pinar; Chini Eduardo Nunes, *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* (2007), 21(13), 3629-39] 참조;
- [0034] - 대사 증후군 예를 들어, 문헌 [**Flavonoid apigenin is an inhibitor of the NAD⁺ ase CD38: implications for cellular NAD⁺ metabolism, protein acetylation, and treatment of metabolic syndrome**, Escande Carlos; Nin Veronica; Price Nathan L; Capellini Verena; Gomes Ana P; Barbosa Maria Thereza; O'Neil Luke; White Thomas A; Sinclair David A; Chini Eduardo N *Diabetes* (2013), 62(4), 1084-93] 참조;
- [0035] - 말기신질환 예를 들어, 문헌 [**A genome scan for all-cause end-stage renal disease in African Americans**, Freedman, Barry I.; Bowden, Donald W.; Rich, Stephen S.; Valis, Christopher J.; Sale, Michele M.; Hicks, Pamela J.; Langefeld, Carl D. *Nephrology, Dialysis, Transplantation* (2005), 20(4), 712-718] 참조;
- [0036] - 이상지질혈증 예를 들어, 문헌 [**A genome-wide screen for interactions reveals a new locus on 4p15 modifying the effect of waist-to-hip ratio on total cholesterol**, Surakka Ida; Isaacs Aaron; Karssen Lennart C; Laurila Pirkka-Pekka P; Middelberg Rita P S; Tikkanen Emmi; Ried Janina S; Lamina Claudia; Mangino Massimo; Igl Wilmar; et al *PLoS genetics* (2011), 7(10), e1002333] 참조;
- [0037] - 청력 손실 예를 들어, 문헌 [**Sirt3 mediates reduction of oxidative damage and prevention of age-related hearing loss under caloric restriction** Someya, Shinichi; Yu, Wei; Hallows, William C.; Xu, Jinze; Vann, James M.; Leeuwenburgh, Christiaan; Tanokura, Masaru; Denu, John M.; Prolla, Tomas A. *Cell (Cambridge, MA, United States)* (2010), 143(5), 802-812] 참조;
- [0038] - 지방증/NASH 예를 들어, 문헌 [**Elevated microRNA-34a in obesity reduces NAD⁺(+) levels and SIRT1 activity by directly targeting NAMPT** Choi Sung-E; Fu Ting; Seok Sunmi; Kim Dong-Hyun; Yu Eunkyung; Lee Kwan-Woo; Kang Yup; Li Xiaoling; Kemper Byron; Kemper Jongsook Kim *Aging cell* (2013)] 참조;
- [0039] - 알츠하이머병 예를 들어, 문헌 [**Nicotinamide riboside restores cognition through an upregulation of proliferator-activated receptor- γ coactivator 1 α regulated β -secretase 1 degradation and**

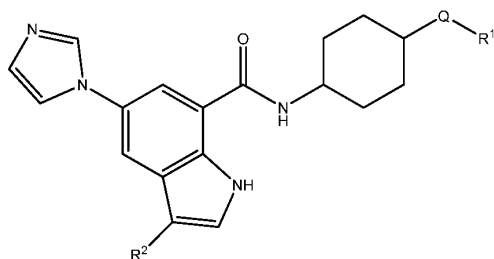
mitochondrial gene expression in Alzheimer's mouse models Gong Bing; Pan Yong; Vempati Prashant; Zhao Wei; Knable Lindsay; Ho Lap; Wang Jun; Sastre Magdalena; Ono Kenjiro; Sauve Anthony A; et al *Neurobiology of aging* (2013), 34(6), 1581-8] 참조;

- [0040] - 다발경화증 예를 들어, 문헌 [**The importance of NAD⁺ in multiple sclerosis**, Penberthy, W. Todd; Tsunoda, Ikuo *Current Pharmaceutical Design* (2009), 15(1), 64-99] 참조;
- [0041] - 신경인지장애 예를 들어, 문헌 [**CD38/cyclic ADP-ribose regulates astrocyte calcium signaling: implications for neuroinflammation and HIV-1-associated dementia** Banerjee Sugato; Walseth Timothy F; Borgmann Kathleen; Wu Li; Bidasee Keshore R; Kannan Mathur S; Ghorpade Anuja *Journal of neuroimmune pharmacology : The official journal of the Society on NeuroImmune Pharmacology* (2008), 3(3), 154-64] 참조;
- [0042] - 시신경병증 예를 들어, 문헌 [**Axonal and cell body protection by nicotinamide adenine dinucleotide in tumor necrosis factor-induced optic neuropathy** Kitaoka, Yasushi; Hayashi, Yasuhiro; Kumai, Toshio; Takeda, Hiroyuki; Munemasa, Yasunari; Fujino, Hiromi; Kitaoka, Yuka; Ueno, Satoki; Sadun, Alfredo A.; Lam, Tim T. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology* (2009), 68(8), 915-927] 참조;
- [0043] - 폐경후 골다공증 예를 들어, 문헌 [**CD38 is associated with premenopausal and postmenopausal bone mineral density and postmenopausal bone loss** Drummond Frances J; Mackrill John J; O'sullivan Kathleen; Daly Mary; Shanahan Fergus; Molloy Michael G *Journal of bone and mineral metabolism* (2006), 24(1), 28-35] 참조;
- [0044] - 양극성 장애/정신분열병 예를 들어, 문헌 [**Association analysis of the chromosome 4p15-p16 candidate region for bipolar disorder and schizophrenia**, Christoforou, A.; Le Hellard, S.; Thomson, P. A.; Morris, S. W.; Tenesa, A.; Pickard, B. S.; Wray, N. R.; Muir, W. J.; Blackwood, D. H.; Porteous, D. J.; *Molecular Psychiatry* (2007), 12(11), 1011-1025] 참조;
- [0045] - 헌팅톤병 예를 들어, 문헌 [**The gene coding for PGC-1 α modifies age at onset in Huntington's Disease**, Weydt Patrick; Soyal Selma M; Gellera Cinzia; Didonato Stefano; Weidinger Claus; Oberkofler Hannes; Landwehrmeyer G Bernhard; Patsch Wolfgang *Molecular neurodegeneration* (2009), 4, 3] 참조;
- [0046] - 당뇨병 예를 들어, 문헌 [**Evidence of a novel quantitative-trait locus for obesity on chromosome 4p in mexican Americans** Arya, Rector; Duggirala, Ravindranath; Jenkinson, Christopher P.; Almasy, Laura; Blangero, John; O'Connell, Peter; Stern, Michael P. *American Journal of Human Genetics* (2004), 74(2), 272-282] 참조;
- [0047] - 하트넵병 예를 들어, 문헌 [**Hartnup disease** Jepson, John B.; Spiro, Mary Jane, *Metabolic Basis of Inherited Disease* (1960), 1338-64] 참조;
- [0048] - 펠라그라 예를 들어, 문헌 [**Pellagra: A clue as to why energy failure causes diseases?** Williams, Adrian C.; Ramsden, David B. *Medical Hypotheses* (2007), 69(3), 618-628] 참조;
- [0049] - 피부 과다색소침착 예를 들어, 문헌 [**Oxidation of reduced nicotinamide adenine dinucleotide by melanin**, Van Woert M H *Life sciences* (1967), 6(24), 2605-12] 참조;
- [0050] - 당뇨병 신경병증 예를 들어, 문헌 [**Functional and biochemical evidence indicating beneficial effect of Melatonin and Nicotinamide alone and in combination in experimental diabetic neuropathy**, Negi Geeta; Kumar Ashutosh; Kaundal Ravinder K; Gulati Anil; Sharma Shyam S, *Neuropharmacology* (2010), 58(3), 585-92] 참조;
- [0051] - 방사선 보호 예를 들어, 문헌 [**NAD⁺ administration significantly attenuates synchrotron radiation X-ray-induced DNA damage and structural alterations of rodent testes** Sheng, Caibin; Chen, Heyu; Wang, Ban; Liu, Tengyuan; Hong, Yunyi; Shao, Jiaxiang; He, Xin; Ma, Yingxin; Nie, Hui; Liu, Na; et al *International Journal of Physiology, Pathophysiology and Pharmacology* (2012), 4(1), 1-9] 참조;
- [0052] - UV 피부 손상 예를 들어, 문헌 [**NAD in skin: therapeutic approaches for niacin** Benavente, Claudia A.; Jacobson, Myron K.; Jacobson, Elaine L. *Current Pharmaceutical Design* (2009), 15(1), 29-38] 참조;

- [0053] - 건선 예를 들어, 문헌 [In search for new antipsoriatic agents: NAD⁺ topical composition, Wozniacka A; Szajerski P; Adamus J; Gebicki J; Sysa-Jedrzejowska A Skin pharmacology and physiology (2007), 20(1), 37-42] 참조;
- [0054] - 치주병 예를 들어, 문헌 [CD38 expression in neutrophils from patients with localized aggressive periodontitis, Fujita Tsuyoshi; Kantarci Alpdogan; Warbington Martha L; Zawawi Khalid H; Hasturk Hatice; Kurihara Hidemi; Van Dyke Thomas E Journal of periodontology (2005), 76(11), 1960-5] 참조;
- [0055] - 만성림프성 백혈병 예를 들어, 문헌 [CD38 as a molecular compass guiding topographical decisions of chronic lymphocytic leukemia cells, Deaglio, Silvia; Vaisitti, Tiziana; Zucchetto, Antonella; Gattei, Valter; Malavasi, Fabio Seminars in Cancer Biology (2010), 20(6), 416-423] 참조;
- [0056] - 근위축측삭경화증 예를 들어, 문헌 [Biochemical alterations associated with ALS, Lawton, Kay A.; Cudkowicz, Merit E.; Brown, Meredith V.; Alexander, Danny; Caffrey, Rebecca; Wulff, Jacob E.; Bowser, Robert; Lawson, Robert; Jaffa, Matt; Milburn, Michael V.; et al Amyotrophic Lateral Sclerosis (2012), 13(1), 110-118] 참조;
- [0057] - 파킨슨병 예를 들어, 문헌 [Nicotinamide-N-메틸transferase is higher in the lumbar cerebrospinal fluid of patients with Parkinson's disease, Aoyama K; Matsubara K; Kondo M; Murakawa Y; Suno M; Yamashita K; Yamaguchi S; Kobayashi S Neuroscience letters (2001), 298(1), 78-80] 참조;
- [0058] - 레베르 유전성 흑내장 예를 들어, 문헌 [Mutations in NMNAT1 cause Leber congenital amaurosis and identify a new disease pathway for retinal degeneration Koenekoop, Robert K.; Wang, Hui; Majewski, Jacek; Wang, Xia; Lopez, Irma; Ren, Huanan; Chen, Yiyun; Li, Yumei; Fishman, Gerald A.; Genead, Mohammed; et al., Nature Genetics (2012), 44(9), 1035-1039] 참조;
- [0059] - 인슐린 내성 예를 들어, 문헌 [Nicotinamide Mononucleotide, a Key NAD⁺ Intermediate, Treats the Pathophysiology of Diet- and Age-Induced Diabetes in Mice, Yoshino, Jun; Mills, Kathryn F.; Yoon, Myeong Jin; Imai, Shin-ichiro, Cell Metabolism (2011), 14(4), 528-536] 참조;
- [0060] - 타입 I 당뇨병 예를 들어, 문헌 [The use of nicotinamide in the prevention of type 1 diabetes, Elliott, R. B.; Pilcher, C. C.; Stewart, A.; Fergusson, D.; McGregor, M. A. Annals of the New York Academy of Sciences (1993), 696(Immunosuppressive and Antiinflammatory Drugs), 333-41] 참조.

발명의 내용

- [0061] 간단하게는, 한 양태에서, 본 발명은 하기 화학식 I의 화합물을 기재한다:



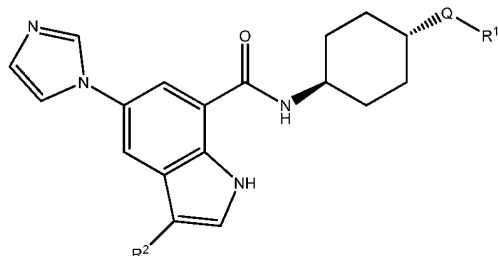
- [0062]
- [0063] 화학식 I
- [0064] 상기 식에서, Q는 O, NH, N(H)C(O), 또는 C(O)N(H)이며;
- [0065] R¹은 C₁₋₅알킬S(O)₂CH₃, 또는 C₁₋₆알킬이며, 상기 알킬은 직쇄 부분, 분지쇄 부분, 사이클로알킬 부분을 포함할 수 있으며, 상기 C₁₋₆알킬은 1개의 OH 또는 OCH₃에 의해 치환되거나 비치환되며, 상기 C₁₋₆알킬은 1 내지 3개의 불소 원자에 의해 추가로 치환되거나 비치환되며;
- [0066] R²는 H, C₁₋₃알킬, 또는 할로젠이다.
- [0067] 또 다른 양태에서, 본 발명은 화학식 I의 화합물의 약학적으로 허용되는 염을 기재한다.

[0068] 또 다른 양태에서, 본 발명은 본 발명의 화합물 또는 염을 투여하는 것을 포함하여, NAD⁺의 증가로부터 이익을 얻는 질환 또는 병태를 치료하는 방법을 기재한다.

[0069] 발명의 상세한 설명

[0070] 바람직하게는, R²는 H 또는 Cl이다. 가장 바람직하게는, R²는 H이다.

[0071] 바람직하게는, 화학식 I의 화합물은 하기 묘사된 사이클로헥실 고리에서 트랜스 배향을 갖는다:



[0072]

[0073] 본 발명은 CD38이 과다 발현되는 질환 또는 상승하는 NAD⁺ 수준이 질환 진행을 악화시킴으로써 유익한 효과를 갖는 질환에 대해 사용될 수 있는 CD38 효소의 특정 억제제의 발견에 관한 것이다. 본 발명자들은 본원에서 실시예에 제공될 때 CD38을 강력하게 억제하고 증가된 혈중 및 조직중 NAD⁺ 수준을 증가시키는 화합물을 보여준다. 이들 억제제는, NAD⁺가 에너지 대사, 산화 스트레스, Ca⁺⁺ 항상성, 유전자 전사, 미토콘드리아 기능, 및 세포 아포토시스에서 역할이 있기 때문에 다양한 질환을 치료하는데 사용될 수 있다. CD38 억제제의 투여가 유익할 수 있는 질환의 예는 배경 부분에 제공되어 있다.

[0074] 특히, 본 발명의 화합물은 비알코올성 지방간염 (NASH), 만성 폐쇄성 폐 질환 (COPD), 및 류마티스 관절염 (RA)을 치료하는데 유용할 수 있다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

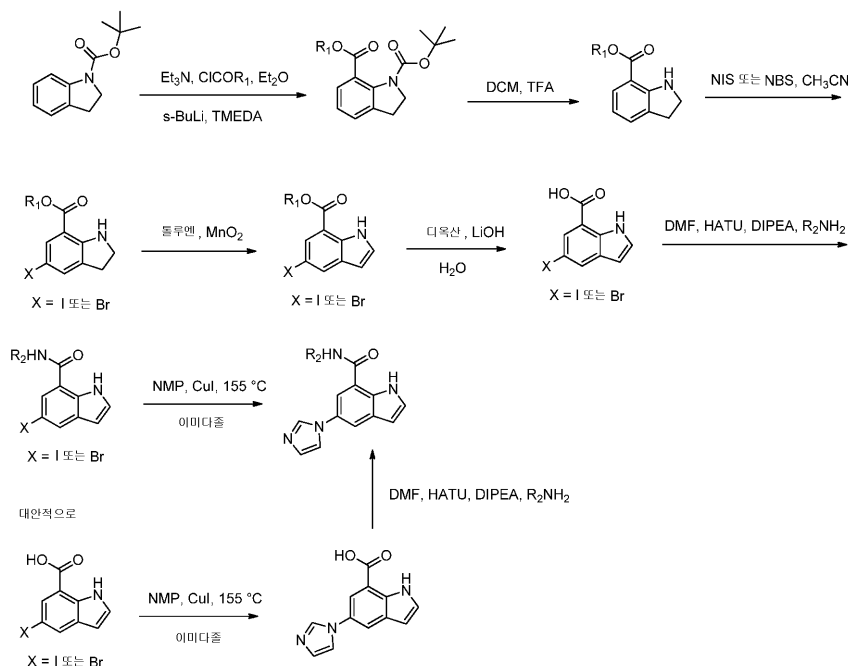
[0075] 실시예

[0076] 본 발명의 화합물은 널리 공지된 표준 합성 방법을 포함한 다양한 방법에 의해 제조될 수 있다. 예시적인 일반적인 합성 방법은 하기 제시되어 있으며, 이어서 본 발명의 특정 화합물은 작업 실시예에서 제조된다.

[0077] 하기 기술된 모든 반응식에서, 필요에 따라 민감성 또는 반응성 기에 대한 보호기가 일반적인 합성 화학 원리에 따라 사용된다. 보호기는 유기 합성의 표준 방법에 따라 처리된다 (보호기에 대한 참조로서 통합된 문헌 [T. W. Green and P. G. M. Wuts (1991) *Protecting Groups in Organic Synthesis*, John Wiley & Sons]). 이들은 당업자에게 쉽게 자명한 방법을 이용하여 화합물 합성의 편리한 단계에서 제거된다. 공정의 선택은 물론 반응 조건 및 이들의 실행 순서는 화학식 (I)의 화합물의 제조와 일관되어야 한다.

[0078] 당업자는 입체중심이 화학식 (I)의 화합물에 존재하는 지를 알아낼 것이다. 따라서, 본 발명은 모든 가능한 입체이성질체를 포함하며, 라세미체 화합물 뿐만 아니라 개별 거울상이성질체를 포함한다. 단일 거울상이성질체로서의 화합물이 요구되는 경우, 이는 입체특이적 합성에 의해 또는 최종 생성물 또는 임의의 편리한 중간체의 분리 의해 획득될 수 있다. 최종 생성물, 중간체 또는 출발 물질의 분리는 당업계에 공지된 임의의 적합한 방법에 의해 수행될 수 있다. 예를 들어, 입체화학에 대한 참조로서 통합된 문헌 [*Stereochemistry of Organic Compounds* by E. L. Eliel, S. H. Wilen, and L. N. Mander (Wiley-Interscience, 1994)] 참조.

[0079] 반응식 1



[0080]

[0081]

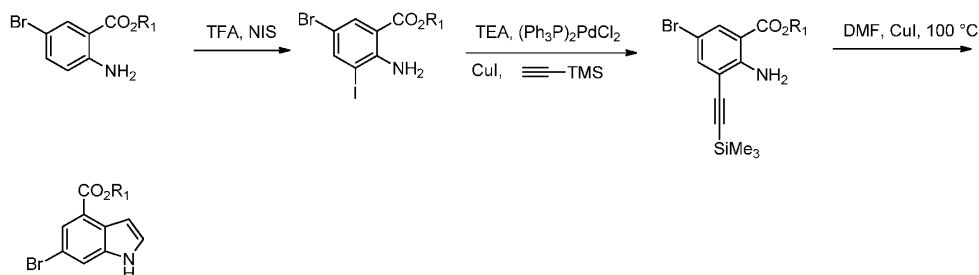
당업자는 화학식 (I)에 묘사된 바와 같은 이미다조인돌이 합성될 수 있는 한 방법이 적합하게 N-보호된 인돌로부터 비롯됨을 인지할 것이다. 전형적이나 비제한적인 디에틸 에테르와 같은 적합한 용매 중에서 2차-부틸 리튬과 같은 유기리튬 시약을 통한 직접 탈양자화 이어서 메틸 클로로포르메이트와 같은 알킬 클로로포르메이트로의 아실화는 7-카르보닐화된 인돌린을 생성시킨다. 이어서, 보호기는 전형적이나 비제한적인 TFA와 같은 산성 조건하에 제거되어 NH 인돌린을 제공할 수 있다. 할로겐화는 전형적이나 비제한적인 NIS 또는 NBS로 수행되어 5-할로겐화된 인돌린을 제공할 수 있다. 이어서, 에스테르는 전형적이나 비제한적인 디옥산과 같은 적합한 용매 중에서 리튬 또는 소듐 하이드록사이드로 가수분해되어 산을 생성할 수 있다. 이어서, 아마이드는 HATU와 같은 커플링 시약 및 DIPEA와 같은 염기의 존재하에 적합한 아민과의 반응을 통해 형성되어 전형적이나 비제한적인 아마이드를 제공한다. 이어서, 전형적이나 비제한적인 열 조건하에 구리 아이오다이드 및 이미다졸과 같은 금속 염의 존재하에 NMP와 같은 적합한 용매를 사용하여 합성된다. 또한, 합성 단계의 순서는 가수분해 반응 후에 이미다졸이 첨가될 수 있도록 교환될 수 있다. (반응식 1).

[0082]

당업자는 화학식 (I)에 묘사된 바와 같은 인돌 코어를 구성하기 위한 대안적인 합성 경로가 존재함을 인지할 것이다.

[0083]

반응식 2

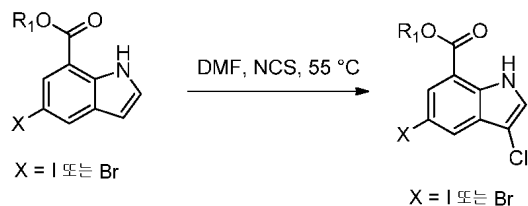


[0084]

[0085]

예를 들어, 전형적이나 비제한적인 산성 조건하에 NIS와 같은 할로겐화 조건하에서 브로모안트라닐산 에스테르의 반응은 3-아이오도-5-브로모안트라닐산 에스테르를 제공한다. 전형적이나 비제한적인 조건하에서 트리에틸아민 및 구리 아이오다이드와 같은 유기 염기의 존재하에 예컨대, 팔라듐과의, 트리메틸실릴아세틸렌과의 금속 촉매된 커플링 반응은 요망되는 인돌을 생성한다. 이어서, 인돌을 상기 언급된 조건을 이용하여 이미다조인돌로 전환될 수 있다 (반응식 2).

[0086] 반응식 3



대안적으로



[0087]

[0088] 당업자는 C3 치환된 인돌이 상기 언급된 인돌 코어로부터 합성될 수 있음을 인지할 것이다. 예를 들어, 전형적 이나 비제한적으로, DMF 중에서 5-브로모 또는 5-아이오도인돌 중 어느 하나의 NCS로의 처리는 3-클로로인돌을 생성시킨다. 대안적으로, TMSOTf와 같은 루이스산 조건하에 아세톤과 같은 케톤과 5-브로모 또는 5-아이오도인돌의 반응에 이어서 전형적이나 비제한적인 트리에틸실란으로의 환원은 3-알킬 치환된 인돌을 제공하며, 이는 이전에 기술된 바와 같은 유사한 조건을 통해 이미다조인돌로 전환될 수 있다 (반응식 3).

[0089] 약어

[0090] 본원에 사용된 바와 같이, 이러한 공정, 반응식 및 실시예에 사용된 기호 및 관례는 현대의 과학 문헌 예를 들어, 문헌 [the *Journal of the American Chemical Society* or the *Journal of Biological Chemistry*]에 사용된 것과 일관된다. 특히, 하기 약어가 실시예 및 명세서 전반에 걸쳐 사용될 수 있다:

[0091] g (그램); mg (밀리그램);

[0092] L (리터); mL (밀리리터);

[0093] μL (마이크로리터); N (노르말);

[0094] M (몰랄); mM (밀리몰랄);

[0095] Hz (헤르츠); MHz (메가헤르츠);

[0096] mol (몰); mmol (밀리몰);

[0097] rt (실온); min (분(들));

[0098] h (시간(들)); d (일);

[0099] MS (질량 분석); LCMS (액체 크로마토그래피 질량 분석);

[0100] ESI (전자분무 이온화); SFC (초임계 유체 크로마토그래피);

[0101] TLC (박층 크로마토그래피); R_f (체류 인자);

[0102] HPLC (고성능 액체 크로마토그래피);

[0103] UV (자외선); ee (거울상이성질체 과잉율);

[0104] VCD (진동 선회 이색성); PS (지지된 폴리머);

[0105] NH₄Cl (암모늄 클로라이드); THF (테트라하이드로푸란);

[0106] MP-TSOH (마크로포러스 폴리스티렌 수지 지지된 p-톨루엔설포산);

- [0107] NaH (소듐 하이드라이드); NaBH₄ (소듐 보로하이드라이드);
- [0108] ZnI₂ (아연 아이오다이드); TMSCN (트리메틸실릴시아니드);
- [0109] Pd(PPh₃)₄ (팔라듐 테트라키스트리페닐 포스핀);
- [0110] LiOH (리튬 하이드록사이드); LiBH₄ (리튬 보로하이드라이드);
- [0111] CuCN (구리 시아니드); NH₄OH (암모늄 하이드록사이드);
- [0112] NBS (N-브로모석신이미드); JLR (자켓형 랩 반응기);
- [0113] CH₂Cl₂ 또는 DCM (메틸렌 클로라이드); NaOH (소듐 하이드록사이드);
- [0114] TEA (트리에틸아민); TFA (트리플루오로아세트산);
- [0115] CDCl₃ (중수소화된 클로로포름); CD₃OD (중수소화된 메탄올);
- [0116] SiO₂ (실리카); DMSO (디메틸설폭사이드);
- [0117] EtOAc (EtOAc); Na₂SO₄ (소듐 설페이트);
- [0118] HCl (염산); CHCl₃ (클로로포름);
- [0119] DMF (N,N-디메틸포름아미드); FA (포름산);
- [0120] Cs₂CO₃ (세슘 카르보네이트); Me (메틸);
- [0121] Et (에틸); EtOH (에탄올);
- [0122] MeOH (메탄올); t-Bu (3차-부틸);
- [0123] Et₂O (디에틸 에테르); N₂ (질소);
- [0124] sat'd (포화된); MgSO₄ (마그네슘 설페이트);
- [0125] NaHCO₃ (소듐 바이카르보네이트); Na₂CO₃ (소듐 카르보네이트);
- [0126] K₂CO₃ (포타슘 카르보네이트); TMEDA (테트라메틸 에틸렌 디아민);
- [0127] IPA (이소프로필 알코올); NCS (N-클로로석신이미드)
- [0128] n-BuLi (n-부틸리튬); NMP (N-메틸-2-피롤리돈);
- [0129] HATU (O-(7-아자벤조트리아졸-1-일)-N,N,N'-테트라메틸우로늄 헥사플로오로포스페이트);
- [0130] DIEA (디이소프로필에틸 아민); MCPBA (m-클로로페르벤조산);
- [0131] MeCN 또는 CH₃CN (아세토니트릴); PTSA (p-톨루엔 설폰산);
- [0132] DIAD (디이소프로필 아조디카르복실레이트); CsF (세슘 플루오라이드);
- [0133] Zn(CN)₂ (아연 시아니드); H₂SO₄ (황산);
- [0134] TBME (t-부틸 메틸 에테르); dppf (1,1'-비스(디페닐포스피노)페로센);
- [0135] Pd₂(dba)₃ (트리스(디벤질리덴아세톤)디팔라듐(0)).
- [0136] DMI (디메틸이소소르비드) atm (대기);
- [0137] Brett phos (2-(디사이클로헥실포스피노)3,6-디메톡시-2',4',6'-트리이소프로필-1,1'-바이페닐);
- [0138] DMEA (디메틸아미노에탄올); CuI (구리 아이오다이드);

[0139] $(\text{Ph}_3\text{P})_2\text{PdCl}_2$ (비스트리페닐포스핀 팔라듐 (II) 클로라이드)

[0140] $s\text{-BuLi}$ (2차-부틸 리튬); NIS (N-아이오도석신이미드);

[0141] MnO_2 (망간 디옥사이드)

[0142] 달리 나타내지 않는 한, 모든 온도는 $^{\circ}\text{C}$ (섭씨 도)로 표현된다. 달리 지적되지 않는 한 모든 반응은 실온에서 불활성 대기하에 수행하였다. 합성 세부 사항없이 사용된 시약은 시중에서 입수가능하거나 문헌 절차에 따라 제조된다. 중심 또는 축방향 키랄을 함유하는 모든 화합물은 달리 나타내지 않는 한 라세미체이다.

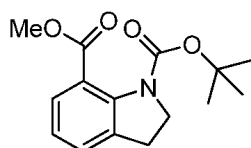
[0143] UPLC-MS 분석은 Waters Acquity UPLC 시스템에서 40°C 에서 $2.1 \times 50 \text{ mm}$ 크기의 Waters BEH C18 컬럼 또는 40°C 에서 Phenomenex Kinetex $1.7\mu\text{m}$ $2.1 \times 50 \text{ mm}$ XB-C18 100A 컬럼을 사용하여 수행되었다. 바늘 오버필 주사 (needle overfill injection)을 갖는 $0.5 \mu\text{L}$ 부분 루프를 제조하고, UV 검출은 Waters Acquity PDA 검출기에서 40 Hz 에서 210 내지 350 nm 스캐닝에서 수행하였다. 물 + 0.2% 포름산 v/v (용매 A)/아세토니트릴 + 0.15% 포름산 v/v (용매 B) 구배를 1.10 분에 걸쳐 초기 조건 $95/5\%$ (A/B)로부터 $1/99\%$ 로 실행하고 1.5 분까지 유지하였다. 1 mL/min 의 유량을 이용하였다. 질량 스펙트럼 분석은, 교대의 양성/음성 전자분무 또는 대기 화학 이온화가 $125\text{--}1000 \text{ amu}$ 에서 스캐닝하고, 스캔 시간은 105 msec 이고, 스캔간 지연은 20 msec 인 Waters Acquity SQD에서 수행하였다.

[0144] ^1H NMR 스펙트럼을 Varian Inova 400 MHz 또는 Bruker AS400 NMR 분광기에서 획득하였다. 샘플을 각 샘플에 대해 지시된 바와 같이 99.9% 중수소화된 클로로포름- d , $\text{DMSO-}d_6$, 또는 메탄올- d_4 에서 용해시켰다. 화학적 이동은 백만 분율 (ppm, δ 단위)로 표현된다. 커플링 상수는 헤르츠 (Hz) 단위이다. 분할 패턴은 명백한 다중도를 기술하며, s (일중선), d (이중선), t (삼중선), q (사중선), quin (오중선), m (다중선) 또는 b (브로드)로서 지정된다.

[0145] 실시예 1: N-((1*r*,4*r*)-4-((2-하이드록시-2-(트리플루오로메틸)부틸)아미노)사이클로헥실)-5-(1*H*이미다졸-1-일)-1*H*-인돌-7-카르복사미드

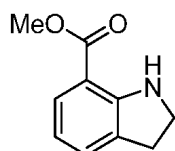
[0146] A. 1-*t*-부틸 7-메틸 인돌린-1,7-디카르복실레이트

[0147]



[0148] 2차-부틸리튬 (200 mL , 280 mmol)의 1.4 M 현탁액을 *t*-부틸 인돌린-1-카르복실레이트 (55.7 g , 254 mmol), TMEDA (100 mL , 663 mmol) 및 Et_2O (1.1 L)의 기계적으로 교반된 현탁액에 25 분에 걸쳐 -75°C 에서 첨가하였다. 반응 혼합물을 -78°C 에서 90 분 동안 교반하였다. 진한 현탁액을 Et_2O (650 mL) 중의 메틸 클로로포르메이트 (100 g , 1.06 mol)의 기계적으로 교반된 용액에 반응 온도를 -55 내지 -50°C 로 유지하면서 캐놀라에 의해 20 분에 걸쳐 첨가하였다. 현탁액을 -77°C 에서 45 분 동안 교반하고 1.5 시간에 걸쳐 -20°C 로 가온시키고 20 분에 걸쳐 MeOH (60 mL)를 적가하여 켄칭시켰다 (온도는 4°C 로 증가됨). 반응 혼합물을 20 분 동안 교반하고 빙수 (3 L)에 부었다. 층을 분리하고 Et_2O 상을 10% $\text{Na}_2\text{H}_2\text{PO}_4$ (1 L)로 세척하고, MgSO_4 상에서 건조시키고, 회전증발기에 의해 농축하여 헵탄으로 채이싱(chasing)하였다. 고형물을 헵탄으로 분쇄하고 여과하여 1-*t*-부틸 7-메틸 인돌린-1,7-디카르복실레이트 (47 g , 169 mmol)를 베이지색 고형물로서 제공하였다: ^1H NMR (CDCl_3) δ : 7.50 (d, 1H , $J = 8 \text{ Hz}$), 7.28 (d, 1H , $J = 8 \text{ Hz}$), 7.02 (t, 1H , $J = 8 \text{ Hz}$), 4.12 (t, 2H , $J = 8 \text{ Hz}$), 3.84 (s, 3H), 3.08 (t, 2H , $J = 8 \text{ Hz}$), 1.51 (2, 9H). LCMS: (ES API) $\text{MH}^+ = 278$

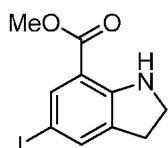
[0149] B. 메틸 인돌린-7-카르복실레이트 트리플루오로아세테이트.



[0150]

[0151] CH_2Cl_2 (100 mL) 중의 1-*t*-부틸 7-메틸 인돌린-1,7-디카르복실레이트 (47 g, 169 mmol) 용액을 빙조에서 냉각하고, TFA (100 mL)를 첨가하였다. 용액을 실온으로 가온시키면서 4시간 동안 교반하고, 회전증발기에 의해 농축하고 CH_3CN 으로 2회 및 Et_2O 로 1회 체이싱하였다. 생성된 고형물을 Et_2O (35 mL)로 분쇄하고 고형물을 여과에 의해 수집하였다. 제 2 수득물을 모액으로부터 유사한 방식으로 수득하였다. 2개의 배치를 합쳐 메틸 인돌린-7-카르복실레이트의 트리플루오로아세테이트 염을 베이지색 고형물 (41 g, 141 mmol)로서 제공하였다: ^1H NMR (CDCl_3) δ : 8.52 (br s, 2H), 7.75 (d, 1H, J = 8 Hz), 7.39 (d, 1H, J = 7 Hz), 7.02 (br t, 1H, J = 8 Hz), 3.91 (s, 3H), 3.90 (t, 2H, J = 9 Hz), 3.22 (t, 2H, J = 9 Hz). LCMS: (ES API) MH^+ = 178.

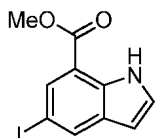
[0152] C. 메틸 5-아이오도인돌린-7-카르복실레이트



[0153]

[0154] CH_3CN (600 mL) 중의 메틸 인돌린-7-카르복실레이트 (41g, 141 mmol)의 트리플루오로아세테이트 염의 교반된 현탁액을 -17°C 로 냉각하고, 반응 온도를 -10°C 미만으로 유지하면서 NIS (35 g, 156 mmol)를 20분에 걸쳐 나누어서 첨가하였다. 반응 혼합물을 -12°C 에서 40분 동안 교반하고 10% $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (250 mL)를 첨가하여 켄칭시켰다. 현탁액을 0°C 에서 15분 동안 교반하고 고형물을 여과에 의해 수집하였다. 제 2의 결정 수득물을 모액으로부터 수득하고 고온 헤파탄으로부터 재결정화시켰다. 합친 고형물은 진공 오븐에서 55°C 에서 밤새 건조시켜 메틸 5-아이오도인돌린-7-카르복실레이트를 연황색 고형물 (31g, 102 mmol)로서 제공하였다. ^1H NMR (CDCl_3) δ : 8.52 (br s, 2H), 7.85 (s, 1H), 7.38 (s, 1H), 6.15 (br s, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.73 (t, 2H, J = 9 Hz), 3.05 (t, 2H, J = 9 Hz). LCMS: (ES API) MH^+ = 304.

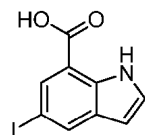
[0155] D. 메틸 5-아이오도-1H-인돌-7-카르복실레이트



[0156]

[0157] 톨루엔 (625 mL) 중의 메틸 5-아이오도인돌린-7-카르복실레이트 (31 g, 102 mmol)의 교반 용액에 MnO_2 (46 g, 529 mmol)를 첨가하고 반응 혼합물을 1시간에 걸쳐 75°C 로 가열하고 75°C 에서 1.5시간 동안 유지시켰다. 혼합물을 30°C 로 냉각시키고 여과하고 CH_2Cl_2 로 린싱하였다. 여과물을 회전증발기에 의해 농축하여 메틸 5-아이오도-1H-인돌-7-카르복실레이트를 연황색 고형물 (27.5 g, 91 mmol)로서 제공하였다. ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 11.3 (br s, 1H), 8.22 (s, 1H), 7.42 (m, 1H), 6.54 (m, 1H), 3.94 (s, 3H). LCMS: (ES API) MH^+ = 302.

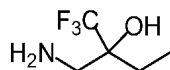
[0158] E. 5-아이오도-1H-인돌-7-카르복실산



[0159]

[0160] NaOH (60 mL, 180 mmol)의 3M 용액을 MeOH (60 mL) 중의 메틸 5-아이오도-1H-인돌-7-카르복실레이트 (7.5 g, 24.91 mmol)의 교반된 용액에 첨가하고; THF (60 mL)를 첨가하고 반응 혼합물을 1시간 동안 실온에서 교반하였다. 반응 혼합물을 회전증발기에 의해 농축하고 진한 HCl (20 mL)로 산성화시켰다. 생성된 고형물을 여과에 의해 수집하고 진공오븐에서 45°C 에서 건조시켜 5-아이오도-1H-인돌-7-카르복실산을 백색 고형물 (6.8 g, 23.69 mmol)로서 제공하였다. ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 11.3 (br s, 1H), 11.2 (s, 1H), 8.18 (s, 1H), 7.93 (s, 1H), 7.37 (m, 1H), 6.51 (m, 1H). LCMS: (ES API) MH^- = 286.

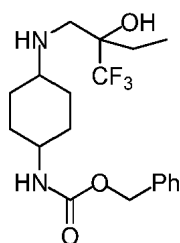
[0161] F. 2-(아미노메틸)-1,1,1-트리플루오로부탄-2-올 하이드로클로라이드



[0162]

[0163] N₂ 하에 0℃에서 2-하이드록시-2-(트리플루오로메틸)부탄니트릴 (500 mg, 3.27 mmol)의 디에틸 에테르 (5 mL) 용액에 LiAlH (7.18 mL, 7.18 mmol) (THF 중의 1.0 M 용액)를 서서히 첨가하였다. 이어서 생성 혼합물을 실온에서 주말에 걸쳐 교반하였다. 혼합물을 0℃에서 0.5 mL의 물로 켄칭시키고, 이어서 0.5 mL 15% NaOH를 첨가한 후 2.5 mL 물을 첨가하였다. 혼합물을 1.5시간 동안 교반하고, 이어서 여과하고 다량의 에테르로 세척하였다. 그 후, 디옥산 중의 4.0 N HCl 용액 2 mL를 서서히 첨가하고 30분 동안 교반하였다. 용매를 진공에서 제거하여 2-(아미노메틸)-1,1,1-트리플루오로부탄-2-올 하이드로클로라이드 (530 mg, 2.74 mmol)를 백색 고형물로서 제공하였다. ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ: 8.14 (br. s., 3H), 6.76 (br. s., 1H), 3.04 (m, 2H), 1.78 (q, *J* = 7.53 Hz, 2H), 0.94 (t, *J* = 7.40 Hz, 3H). LCMS: (ES API) MH⁺ = 158 (ELSD).

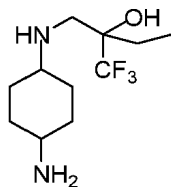
[0164] G. 벤질 (4-((2-하이드록시-2-(트리플루오로메틸)부틸)아미노)사이클로헥실)카르바메이트



[0165]

[0166] 2-(아미노메틸)-1,1,1-트리플루오로부탄-2-올 하이드로클로라이드 (1.72 g, 8.90 mmol) 및 벤질 (4-옥소사이클로헥실)카르바메이트 (2.0 g, 8.09 mmol)의 1,2-DCE (80 mL) 혼합물에, 4A 분자체 (8.0 g) 및 Et₃N (1.35 mL, 9.71 mmol)를 첨가하였다. 생성 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하고 이 시간에 소듐 트리아세톡시보로하이드라이드 (2.06 g, 9.71 mmol)를 첨가하고 이어서 몇 방울의 아세트산을 첨가하였다. 혼합물을 밤새 교반하고 이어서 셀라이트를 통해 여과하였다. 여과물을 CH₂Cl₂에 취하고 포화된 NaHCO₃로 세척하고 이어서 MgSO₄ 상에서 건조시켰다. 용매를 진공에서 제거하고 잔류물을 ISCO Combiflash (0-15% MeOH/DCM과 1% NH₄OH)에서 정제하여 벤질 (4-((2-하이드록시-2-(트리플루오로메틸)부틸)아미노)사이클로헥실)카르바메이트의 부분입체이성질체 혼합물 (2.4 g, 6.18 mmol)을 백색 고형물로서 수득하였다. ¹H NMR (CDCl₃) δ: 7.29 - 7.44 (m, H), 5.11 (2개의 일중선, 2H), [4.82 (m), 4.63 (m), 함께 1H 이룸], [3.97 (m), 3.75 (m), 함께 1H 이룸], 3.07 (m, 1H) 2.09 - 2.45 (m, 2H), 1.93 - 2.13 (m, 2H), 1.41 - 1.90 (m, 6H), 1.10 - 1.31 (m, 2H), 0.84 - 1.05 (m, 3H). LCMS: (ES API) M+H = 389.

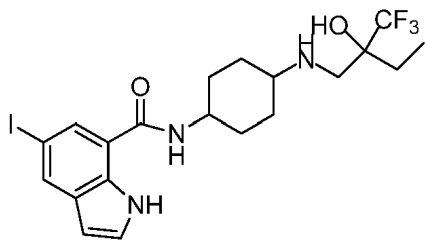
[0167] H. 2-(((4-아미노사이클로헥실)아미노)메틸)-1,1,1-트리플루오로부탄-2-올



[0168]

[0169] 벤질 (4-((2-하이드록시-2-(트리플루오로메틸)부틸)아미노)사이클로헥실)카르바메이트 (2.4 g, 6.18 mmol)의 메탄올 (30 mL) 용액에 Pd/C (0.986 g, 0.927 mmol, 탄소상 10%)를 첨가하였다. 혼합물을 N₂ 하에 탈기시키고 이어서 H₂ 벌룬 하에서 밤새 교반하였다. 혼합물을 셀라이트를 통하여 여과하고 여과물을 진공에서 농축하여 2-(((4-아미노사이클로헥실)아미노)메틸)-1,1,1-트리플루오로부탄-2-올 (1.85 g, 7.28 mmol)을 미량의 Pd로 오염된 백색 고형물을 제공하였다. ¹H NMR (메탄올-*d*₄) δ: 2.33 (m, 1H), 2.21 (m, 1H) 1.79 - 2.15 (m, 6H), 1.44 - 1.75 (m, 4H), 1.10 (d, *J* = 7.03 Hz, 3H). LCMS: (ES API) MH⁺ = 255 (ELSD).

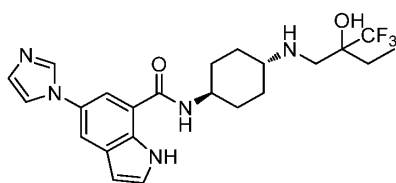
[0170] I. N-(4-((2-하이드록시-2-(트리플루오로메틸)부틸)아미노)사이클로헥실)-5-아이오도-1H-인돌-7-카르복사미드



[0171]

[0172] 5-아이오도-1H-인돌-7-카르복실산 (400 mg, 1.39 mmol)의 DMF (10 mL) 용액에 HATU (636 mg, 1.67 mmol) 이어서 후니그 염기 (0.487 mL, 2.79 mmol)를 첨가하였다. 생성 혼합물을 15분 동안 교반한 후 2-((4-아미노사이클로헥실)아미노)메틸)-1,1,1-트리플루오로부탄-2-올 (532 mg, 2.09 mmol)을 첨가하였다. 이러한 반응 혼합물을 밤새 교반하고 이 시간에 반응물을 포화된 NaHCO_3 용액 이어서 물을 첨가하여 켄칭시켰다. DCM으로의 희석 후, 2개의 상을 나누고, 수성상을 DCM으로 추출하였다. 합친 유기물을 물 및 염수로 세척하고 이어서 MgSO_4 상에서 건조하였다. 여과하면, 여과물을 진공에서 농축하여 시스/트랜스 혼합물로서 미정제 물질을 제공하고, 이를 정제 없이 다음 단계로 이동시켰다. ^1H NMR (CDCl_3) δ : 10.2 (br. s., 1H) 8.04, 8.13 (2 singlets, 1H), 8.00 (m, 1H), 7.54 - 7.65 (2 sets of m, 1H) 7.19 - 7.29 (m, 2H) 6.17 - 6.51 (m, 2H), 3.06 (m, 1H), 2.40 - 2.52 (m, 2H), 1.50 - 2.15 (m, 8H), 1.20 - 1.33 (m, 2H), 0.88 - 1.01 (m, 3 H). LCMS: (ES API) $\text{MH}^+ = 524$.

[0173] J. N-((1r,4r)-4-((2-하이드록시-2-(트리플루오로메틸)부틸)아미노)사이클로헥실)-5-(1H이미다졸-1-일)-1H-인돌-7-카르복사미드 및 N-((1s,4s)-4-((2-하이드록시-2-(트리플루오로메틸)부틸)아미노)사이클로헥실)-5-(1H이미다졸-1-일)-1H-인돌-7-카르복사미드

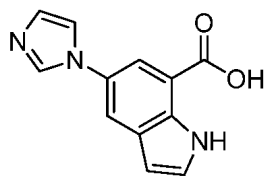


[0174]

[0175] N-(4-((2-하이드록시-2-(트리플루오로메틸)부틸)아미노)사이클로헥실)-5-아이오도-1H-인돌-7-카르복사미드 (695 mg, 1.33 mmol), 구리(I) 아이오다이드 (25.3 mg, 0.13 mmol) 및 이미다졸 (226 mg, 3.32 mmol)을 함유하는 NMP 용액 (12 mL)을 8시간 동안 155°C 로 가열하였다. 어두운 이종성 용액을 2x 여과하여 고형물을 제거하고 호박색 액체를 XBridge 30x150 mm C18 컬럼을 사용하여 Agilent 반-분취용 HPLC (20-95% ACN/0.1% $\text{NH}_4\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$) 상에서 직접 정제하였다. 요망되는 생성물을 함유하는 분획물을 농축하여 N-((1r,4r)-4-((2-하이드록시-2-(트리플루오로메틸)부틸)아미노)사이클로헥실)-5-(1H-이미다졸-1-일)-1H-인돌-7-카르복사미드 (40 mg, 0.07 mmol)를 갈색 고형물로서 및 N-((1s,4s)-4-((2-하이드록시-2-(트리플루오로메틸)부틸)아미노)사이클로헥실)-5-(1H-이미다졸-1-일)-1H-인돌-7-카르복사미드 (51 mg, 0.10 mmol)를 또한 갈색 고형물로서 생성하였다. 트랜스: ^1H NMR ($\text{MeOH}-d_4$) δ : 8.09 (br. s., 1H), 7.87 (s, 1H), 7.75 (s, 1H), 7.56 (br. s., 1H), 7.44 (d, $J = 2.93$ Hz, 1H), 7.13 (br. s., 1H), 6.59 (d, $J = 3.12$ Hz, 1H), 3.93 (t, $J = 11.5$ Hz, 1H), 2.87 (d, $J = 12.9$ Hz, 1H), 2.71 (d, $J = 12.9$ Hz, 1H), 2.37-2.50 (m, 1H), 2.02 (t, $J = 10.6$ Hz, 4H), 1.61-1.82 (m, 2H), 1.37-1.55 (m, 2H), 1.18-1.35 (m, 2H), 0.94 (t, $J = 7.42$ Hz, 3H). LCMS (ES API) $\text{MH}^+ = 464$. 시스: ^1H NMR ($\text{MeOH}-d_4$) δ : 8.09 (br. s., 1H), 7.86 (d, $J = 1.37$ Hz, 1H), 7.78 (s, 1H), 7.57 (br. s., 1H), 7.44 (d, $J = 3.12$ Hz, 1H), 7.13 (br. s., 1H), 6.59 (d, $J = 2.93$ Hz, 1H), 4.05 (t, $J = 8.20$ Hz, 1H), 2.85 (d, $J = 12.9$ Hz, 1H), 2.61-2.75 (m, 2H), 1.52-1.96 (m, 10H), 0.95 (t, $J = 7.42$ Hz, 3H). LCMS (ES API) $\text{MH}^+ = 464$.

[0176] 실시예 2: 5-(1H-이미다졸-1-일)-N-((1R,4r)-4-((R)-1,1,1-트리플루오로-3-하이드록시-2-메틸프로판-2-일)아미노)사이클로헥실)-1H-인돌-7-카르복사미드

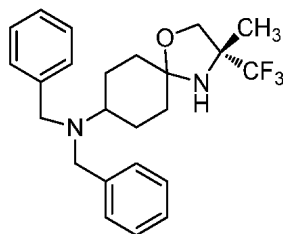
[0177] A. 5-(1H-이미다졸-1-일)-1H-인돌-7-카르복실산



[0178]

[0179] 5-아이오도-1H-인돌-7-카르복실산 (1.5 g, 5.23 mmol), 이미다졸 (1.067 g, 15.7 mmol), 구리(I) 아이오다이드 (0.100 g, 0.523 mmol), 및 포타슘 카르보네이트 (2.167 g, 15.7 mmol)를 두꺼운 벽의 유리 튜브에 넣고 NMP (15 mL)를 첨가하였다. 생성된 반응 혼합물을 20시간 동안 160℃에서 가열하였다. 반응물을 실온으로 냉각시키고 20 mL의 MeOH로 희석하고, 셀라이트 패드를 통해 여과하고, MeOH로 린싱하였다. 진공하에 MeOH 및 NMP를 제거하여 어두운 오일을 제공하였다. 이어서 미정제 물질을 역상 분취용 HPLC (Agilent 반-분취용 HPLC, (5-60% ACN/0.1% NH₄OH/H₂O) XBridge 30x150 mm C18 컬럼을 사용)의해 정제하고 진공하에 용매를 제거한 후 5-(1H-이미다졸-1-일)-1H-인돌-7-카르복실산을 암갈색 고형물로서 제공하였다. ¹H NMR (DMSO-d₆) δ: 11.2 (s, br, 1H), 8.06 (s, 1H), 7.63 (m, 3H), 7.37 (s, br, 1H), 7.07 (s, 1H), 6.43 (m, 1H); LCMS (ES API) MH⁺ = 228.

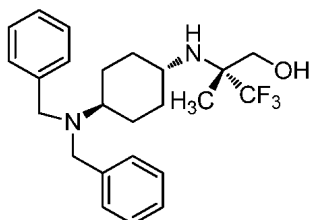
[0180] B. (R)-N,N-디벤질-3-메틸-3-(트리플루오로메틸)-1-옥사-4-아자스피로[4.5]데칸-8-아민



[0181]

[0182] 1.00 g (5.57 mmol)의 (R)-2-아미노-3,3,3-트리플루오로-2-메틸프로판-1-올의 HCl 염 (문헌 [Simon, J. et al., *Organic Letters* **2012**, 604-607]의 방법에 의해 제조됨)을 밀봉된 튜브에 넣고 2 mL의 1,4-디옥산 및 10 mL의 톨루엔과 슬러리화시켰다. 트리에틸아민 (0.854 mL, 6.13 mmol)을 첨가하고 이어서, 4-(디벤질아미노)사이클로헥사논 (1.389 g, 4.73 mmol) 및 *p*-TsOH (0.212 g, 1.114 mmol)을 첨가하였다. 활성화된 4Å 분자체를 첨가하고, 반응 혼합물을 26시간 동안 115℃로 가열시켰다. 반응물을 실온으로 냉각시키고, 체를 여과 제거하고, 용매를 진공하에 제거하였다. 미정제 반응 혼합물을 추가의 조사 없이 실리카 겔 크로마토그래피 (ISCO Combiflash Rf, 40 g 실리카 겔 컬럼, SS: 헥산 중 0-50% EtOAc 구배 용리, 15분 진행 시간)를 통해 직접 정제하여 (R)-N,N-디벤질-3-메틸-3-(트리플루오로메틸)-1-옥사-4-아자스피로[4.5]데칸-8-아민을 분리불가능한 부분 입체이성질체의 혼합물로서 제공하였다. ¹H NMR (CDCl₃) δ: 7.34 (m, 4H), 7.25 (m, 4H), 7.18 (m, 2H), 4.07 (m, 1H), 3.64 (m, 2H), 2.53 (m, 1H), 1.98-1.82 (m, 2H), 1.77-1.48 (m, 9H), 1.39 (m, 3H), 1.26 (m, 1H); LCMS (ES API) MH⁺ = 419.

[0183] C. (R)-2-(((1r,4R)-4-(디벤질아미노)사이클로헥실)아미노)-3,3,3-트리플루오로-2-메틸프로판-1-올

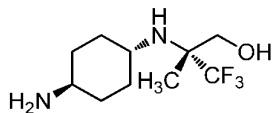


[0184]

[0185] (R)-N,N-디벤질-3-메틸-3-(트리플루오로메틸)-1-옥사-4-아자스피로[4.5]데칸-8-아민 (1.07 g, 2.56 mmol)을 20 mL 무수성 THF에 용해시켰다. 리튬 알루미늄 하이드라이드 (7.67 mL, 7.67 mmol)를 첨가하고 생성 용액을 18시간 동안 실온에서 교반하였다. 그 후, 290 μL의 물 이어서, 290 μL의 15% NaOH 및 이어서 870 μL의 물을 첨가함으로써 반응물을 퀀칭시켰다. 미정제 반응물을 5분 동안 교반한 후, 여과하여 알루미늄 염을 제거하였다. 여과물을 진공하에 농축하여 연황색 오일을 제공하였다. 미정제 물질을 실리카 겔 크로마토그래피

(ISCO Combiflash Rf, 24 g 실리카 겔 컬럼, 10-50% EtOAc/헥산)를 통해 정제하여 시스 이성질체 (R)-2-(((1s,4S)-4-(디벤질아미노)사이클로헥실)아미노)-3,3,3-트리플루오로-2-메틸프로판-1-올 및 트랜스 이성질체 (R)-2-(((1r,4R)-4-(디벤질아미노)사이클로헥실)아미노)-3,3,3-트리플루오로-2-메틸프로판-1-올을 백색 고형물로서 제공하였다. 트랜스 이성질체: ^1H NMR (CDCl_3) δ : 7.38-7.19 (m, 10H), 3.61 (s, 4H), 3.49 (m, 1H), 3.41 (m, 1H), 2.66 (t, 1H, $J = 11.1$), 2.47 (m, 2H), 1.88 (m, 4H), 1.56-1.36 (m, 3H), 1.27 (s, 3H), 1.06 (m, 2H); LCMS (ES API) $\text{MH}^+ = 421$.

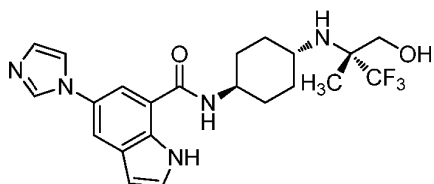
[0186] D. (R)-2-(((1r,4R)-4-아미노사이클로헥실)아미노)-3,3,3-트리플루오로-2-메틸프로판-1-올



[0187]

[0188] (R)-2-(((1r,4R)-4-(디벤질아미노)사이클로헥실)아미노)-3,3,3-트리플루오로-2-메틸프로판-1-올 (675 mg, 1.605 mmol)을 5 mL의 무수 EtOH에 용해시키고, 두꺼운 벽의 유리 튜브에 넣었다. 필만 촉매 (113 mg, 0.161 mmol)를 첨가하였다. 반응 용기를 비우고 질소로 3회 플라싱시키고, 이어서 H_2 를 사용하여 40 psi로 가압시키고, 16시간 동안 실온에서 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하여 촉매를 제거하고, EtOAc로 린싱하고 용매를 진공하에 제거하여 (R)-2-(((1r,4R)-4-아미노사이클로헥실)아미노)-3,3,3-트리플루오로-2-메틸프로판-1-올을 백색 고형물로서 제공하였다. ^1H NMR (CDCl_3) δ : 3.51 (m, 1H), 3.42 (m, 1H), 2.72 (m, 1H), 1.88 (m, 5H), 1.69-1.49 (m, 5H), 1.28-1.15 (m, 5H); LCMS (ES API) $\text{MH}^+ = 241$.

[0189] E. 5-(1H-이미다졸-1-일)-N-((1R,4r)-4-(((R)-1,1,1-트리플루오로-3-하이드록시-2-메틸프로판-2-일)아미노)사이클로헥실)-1H-인돌-7-카르복사미드

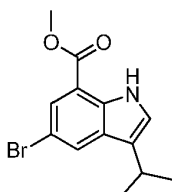


[0190]

[0191] 5-(1H-이미다졸-1-일)-1H-인돌-7-카르복실산 (72 mg, 0.317 mmol)을 2 mL의 무수 DMF와 1 mL의 NMP의 혼합물에 용해시켰다. 트리에틸아민 (0.132 mL, 0.951 mmol) 이어서, HATU (133 mg, 0.349 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 10분 동안 실온에서 교반하고, 이어서 (R)-2-(((1r,4R)-4-아미노사이클로헥실)아미노)-3,3,3-트리플루오로-2-메틸프로판-1-올 (80 mg, 0.333 mmol)을 백색 고형물로서 첨가하였다. 생성된 반응 혼합물을 2시간 동안 실온에서 교반하였다. 반응 혼합물을 추가의 조사 없이 역상 분취용 HPLC (Agilent 반-분취용 HPLC, (20-95% ACN/0.1% $\text{NH}_4\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$) XBridge 30x150 mm C18 컬럼 사용)의해 직접 정제하고 진공하에 용매를 제거한 후 5-(1H-이미다졸-1-일)-N-((1R,4r)-4-(((R)-1,1,1-트리플루오로-3-하이드록시-2-메틸프로판-2-일)아미노)사이클로헥실)-1H-인돌-7-카르복사미드를 백색 고형물로서 제공하였다. ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 11.3 (s, br, 1H), 8.34 (d, 1H, $J = 7.8$ Hz), 8.15 (s, 1H), 7.90 (d, 1H, $J = 1.4$ Hz), 7.84 (d, 1H, $J = 1.4$ Hz), 7.68 (s, 1H), 7.42 (s, br, 1H), 7.09 (s, 1H), 6.52 (s, br, 1H), 5.06 (s, br, 1H), 3.79 (m, 1H), 3.41 (m, 2H), 2.63 (m, 1H), 1.86 (m, 5H), 1.40 (q, 2H, $J = 12.4$), 1.18 (m, 5H); LCMS (ES API) $\text{MH}^+ = 450$.

[0192] 실시예 3: N-((1r,4r)-4-(2-하이드록시-2-메틸프로폭시)사이클로헥실)-5-(1H-이미다졸-1-일)-3-이소프로필-1H-인돌-7-카르복사미드

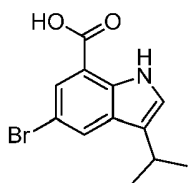
[0193] A. 메틸 5-브로모-3-이소프로필-1H-인돌-7-카르복실레이트



[0194]

[0195] 프로판-2-온 (300 mg, 5.17 mmol)을 DCM (10 mL)에 0℃에서 용해시켰다. 이어서, 트리메틸실릴 트리플루오로메탄설포네이트 (525 mg, 2.361 mmol)를 1분에 걸쳐 적가하였다. 반응 혼합물을 3분 교반하고 이어서 메틸 5-브로모-1H-인돌-7-카르복실레이트 (실시에 4 단계 C) (500 mg, 1.968 mmol)를 한 번에 첨가하였다. 혼합물을 30 분 동안 0℃에서 교반하고 이어서, 트리에틸실란 (0.654 mL, 3.94 mmol)을 적가하고, 반응물이 밤새 교반되고 실온으로 가온되게 하였다. 반응 혼합물을 에틸 아세테이트로 희석하고, 후속 유기물을 포화된 소듐 바이카르보네이트로 세척하였다. 유기물을 수성 혼합물로부터 분리하고 실리카 겔 상으로 직접 농축시켰다. 이어서, 사전-흡수된 샘플을 0-50% EtOAc/헥산으로 용리시킨 ISCO Combiflash 상에서 정제하였다. 요망되는 생성물 피크를 수집하고 농축 건조시켰다. NMR 및 LCMS에 의해 생성물이 대략 70% 순수한 메틸 5-브로모-3-이소프로필-1H-인돌-7-카르복실레이트 (264 mg, 0.891 mmol)임을 측정하였다. ¹H NMR (DMSO-d₆) δ: 11.1 (br. s., 1H), 8.04 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H), 7.79 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 7.21 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 3.94 (s, 3H), 3.17 (quin, *J* = 6.8 Hz, 1H), 1.29 (d, *J* = 6.8 Hz, 6H).

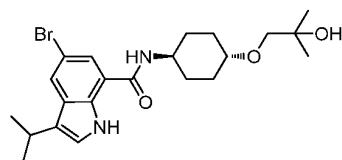
[0196] B. 5-브로모-3-이소프로필-1H-인돌-7-카르복실산



[0197]

[0198] 메틸 5-브로모-3-이소프로필-1H-인돌-7-카르복실레이트 (264 mg, 0.891 mmol)를 교반하면서 리튬 하이드록사이드 하이드레이트 (41.1 mg, 0.981 mmol), 물 (1.5 mL) 및 1,4-디옥산 (6 mL)과 조합시켰다. 혼합물을 4시간 동안 50℃로 가열하고 이어서 밤새 실온에 두었다. 반응물을 농축 건조시키고, 고진공하에 밤새 추가로 건조시켰다. 미정제의 분리된 생성물은 대략 70% 순수한 것으로 측정되었으며, 이는 반응에 불순한 출발 물질을 사용한 것으로 인한 것이며, 5-브로모-3-이소프로필-1H-인돌-7-카르복실산 리튬 염 (258 mg, 0.624 mmol)을 제공하였다. LCMS (ES API) MH⁻ = 280, 282.

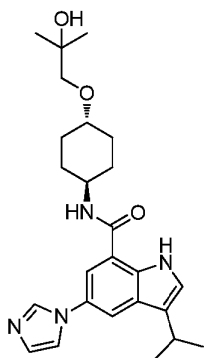
[0199] C. 5-브로모-N-((1r,4r)-4-(2-하이드록시-2-메틸프로폭시)사이클로헥실)-3-이소프로필-1H-인돌-7-카르복사미드



[0200]

[0201] 5-브로모-3-이소프로필-1H-인돌-7-카르복실산 (100 mg, 0.354 mmol)을 DMF (3 mL) 중의 HATU (148 mg, 0.390 mmol) 및 DIEA (~50 mg)와 조합하였다. 반응물을 10분 동안 교반시키고, 이어서 1-(((1r,4r)-4-아미노사이클로헥실)옥시)-2-메틸프로판-2-올 (73.0 mg, 0.390 mmol) 및 ~51 mg DIEA를 교반 혼합물에 첨가하였다. 이를 실온에서 밤새 교반되게 하였다. 미정제 반응물을 V10 증발기 상에서 농축 건조시켜 DMF를 제거하였다. 반응 혼합물을 DCM으로 희석하고 후속 유기물을 포화된 소듐 바이카르보네이트 및 염수로 세척하였다. 유기물을 수성물로부터 분리하고, 소듐 설페이트로 처리하고, 여과하고 농축 건조하여 불순물을 갖는 요망되는 생성물을 제공하여 5-브로모-N-((1r,4r)-4-(2-하이드록시-2-메틸프로폭시)사이클로헥실)-3-이소프로필-1H-인돌-7-카르복사미드 (80 mg, 0.177 mmol)를 제공하였으며, 그 후 이는 다음 반응에서 직접 사용되었다. ¹H NMR (DMSO-d₆) δ: 11.0 (br. s., 1H), 8.40 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.87 (d, *J* = 1.4 Hz, 1H), 7.80 (d, *J* = 1.4 Hz, 1H), 7.12 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H), 4.23 (s, 1H), 3.77-3.87 (m, 1H), 3.05-3.29 (m, 4H), 2.04 (d, *J* = 12.7 Hz, 2H), 1.89 (d, *J* = 10.0 Hz, 2H), 1.33-1.49 (m, 2H), 1.14-1.31 (m, 8H), 1.02-1.10 (m, 6H). LCMS (ES API) MH⁺ = 451, 453.

[0202] D. N-((1r,4r)-4-(2-하이드록시-2-메틸프로폭시)사이클로헥실)-5-(1H-이미다졸-1-일)-3-이소프로필-1H-인돌-7-카르복사미드



[0203]

[0204]

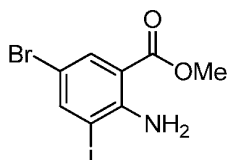
5-브로모-N-((1r,4r)-4-(2-하이드록시-2-메틸프로폭시)사이클로헥실)-3-이소프로필-1H-인돌-7-카르복사미드 (80 mg, 0.177 mmol)를 1H-이미다졸 (48.3 mg, 0.709 mmol), K_2CO_3 (49.0 mg, 0.354 mmol), 구리(I) 아이오다이드 (6.75 mg, 0.035 mmol) 및 NMP (2 mL)와 마이크로파 반응 용기에 넣었다. 이러한 혼합물을 마이크로파 반응 용기에서 4시간 동안 120℃에서 가열하고, 이어서 추가로 12시간 동안 160℃에서 가열하였다. 이어서 반응물을 미세 PTFE 필터를 통해 여과한 후 염기성 (H_2O 중의 1% NH_4OH): CH_3CN Agilent 20-95% 구배로 정제하였다. 요망되는 생성물 피크를 수집하고 농축 건조하였다. 이어서 에틸 에테르를 첨가하고 준속된 고형물을 여과 제거하여 요망되는 생성물 N-((1r,4r)-4-(2-하이드록시-2-메틸프로폭시)사이클로헥실)-5-(1H-이미다졸-1-일)-3-이소프로필-1H-인돌-7-카르복사미드 (18 mg, 0.039 mmol)를 제공하였다. 1H NMR ($DMSO-d_6$) δ : 11.0 (br. s., 1H), 8.36 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 8.19 (s, 1H), 7.89 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 7.83 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 7.73 (s, 1H), 7.18 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.12 (s, 1H), 4.23 (s, 1H), 3.81-3.91 (m, 1H), 3.19 (s, 2H), 3.14-3.28 (m, 2H), 2.05 (d, J = 10.2 Hz, 2H), 1.93 (d, J = 11.3 Hz, 2H), 1.35-1.48 (m, 2H), 1.31 (d, J = 6.8 Hz, 6H), 1.21-1.34 (m, 2H), 1.07 (s, 6H), LCMS (ES API) MH^+ = 439.

[0205]

실시예 4: 5-(1H-이미다졸-1-일)-N-((1s,4s)-4-(메틸카르바모일)사이클로헥실)-1H-인돌-7-카르복사미드

[0206]

A. 메틸 2-아미노-5-브로모-3-아이오도벤조에이트.



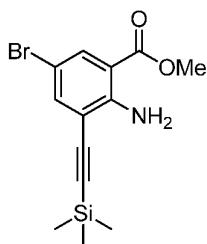
[0207]

[0208]

TFA (20 mL, 260 mmol) 중의 메틸 2-아미노-5-브로모벤조에이트 (5 g, 21.73 mmol)의 교반 용액에 NIS (4.99 g, 22.17 mmol)를 한번에 첨가하였다. 1시간 후, 반응 혼합물을 감압하에 농축하였다. 잔류물을 EtOAc에 용해시키고 포화된 Na_2CO_3 용액 (2x), 10% 수성 소듐 디티오나이트 (2x) 및 염수 (1x)로 순차적으로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고 농축하여 표제 화합물 (7.47 g, 18.89 mmol, ~90% 순도)을 암갈색 고형물로서 제공하였다. LCMS (ES API) MH^+ = Br 동위원소에 있어서 356 & 358.

[0209]

B. 메틸 2-아미노-5-브로모-3-((트리메틸실릴)에티닐)벤조에이트.



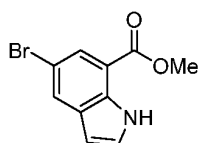
[0210]

[0211]

TEA (40 mL, 287 mmol) 중의 메틸 2-아미노-5-브로모-3-아이오도벤조에이트 (7.47 g, 20.99 mmol)의 용액에 $Pd(PPh_3)_2Cl_2$ (0.884 g, 1.259 mmol), 및 구리(I) 아이오다이드 (0.240 g, 1.259 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 N_2 하에 약 5분 동안 교반하고, 이어서 트리메틸실릴아세틸렌 (3.83 mL, 27.3 mmol)을 첨가하였다. 혼합물

을 실온에서 ~1시간 동안 교반하였다. 반응에 이어 LCMS를 수행하였다 (1시간 후 단지 6% 생성물). 이어서 혼합물을 압력 튜브로 옮기고 추가의 $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$ (0.14 g, 0.199 mmol) 및 구리(I) 아이오다이드 (0.036 g, 0.189 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 1분 동안 N_2 로 퍼징시키고, 이어서 이를 2시간 동안 60℃에서 가열하였다 (LCMS는 54% 모노-알킨 및 35% 비스-알킨을 보여준다). 반응 혼합물을 감압하에 농축하였다. 잔류물을 CH_2Cl_2 에 취하고 셀라이트 플러그를 통해 여과하였다. 셀라이트 플러그를 CH_2Cl_2 로 세척하였다. 여과물을 물 (2x) 및 염수 (1x)로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고 농축하였다. 잔류물을 0-5% EtOAc/헥산 구배로 용리시킨 실리카 겔 (120 g ISCO 컬럼)에서 크로마토그래피하여 메틸 2-아미노-5-브로모-3-((트리메틸실릴)에티닐)벤조에이트와 메틸 2-아미노-3,5-비스((트리메틸실릴)에티닐)벤조에이트의 혼합물 (4.2 대 1 비, ^1H NMR)을 수득하였다. LCMS (ES API) $\text{MH}^+ = \text{Br}$ 동위원소 모노-알킨 생성물에 있어서 326 & 328; 및 LCMS (ES API) $\text{MH}^+ = 344$ 비스-알킨 생성물.

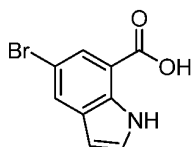
[0212] C. 메틸 5-브로모-1H-인돌-7-카르복실레이트.



[0213]

[0214] DMF (4 mL) 중의 메틸 2-아미노-5-브로모-3-((트리메틸실릴)에티닐)벤조에이트 (500 mg, 1.53 mmol; ~20%의 메틸 2-아미노-3,5-비스((트리메틸실릴)에티닐)벤조에이트로 오염됨)와 2 당량의 CuI (584 mg, 3.07 mmol)의 혼합물을 N_2 하에 두고 밀봉된 튜브에서 80분 동안 100℃에서 가열하였다. 냉각되면, 반응 혼합물을 Et_2O 로 희석하고 셀라이트 플러그를 통해 여과하였다. 셀라이트 플러그를 Et_2O 및 EtOAc로 세척하였다. 여과물을 감압하에 농축하였다. 잔류물을 0-15% EtOAc-헥산 구배로 용리시킨 실리카 겔에서 크로마토그래피하여 표제 화합물을 연황색 고형물로서 제공하였다. LCMS (ES API) $\text{MH}^+ = \text{Br}$ 동위원소에 있어서 254 & 256.

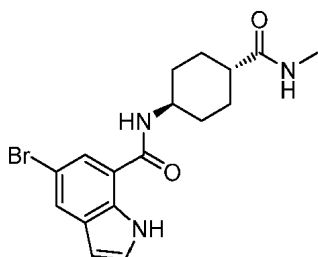
[0215] D. 5-브로모-1H-인돌-7-카르복실산.



[0216]

[0217] 1:1 THF/MeOH (4 mL) 중의 메틸 5-브로모-1H-인돌-7-카르복실레이트 (200 mg, 0.787 mmol)의 용액에 물 (2 mL) 중의 NaOH (212 mg, 5.30 mmol)의 용액을 첨가하였다. 균질한 용액을 실온에서 밤새 교반하였다. 반응 혼합물을 1.0 N HCl (~8 mL)을 사용하여 서서히 산성화시켰다. 연황색 고형물이 침전되고 이를 여과에 의해 수집하고, 물과 헥산으로 순차적으로 세척하고, 건조시켜 표제 화합물을 연황색 고형물 (183 mg, 0.724 mmol)로서 제공하였다. LCMS (ES API) $\text{MH}^- = \text{Br}$ 동위원소에 있어서 238 & 240.

[0218] E. 5-브로모-N-((1s,4s)-4-(메틸카르바모일)사이클로헥실)-1H-인돌-7-카르복사미드.

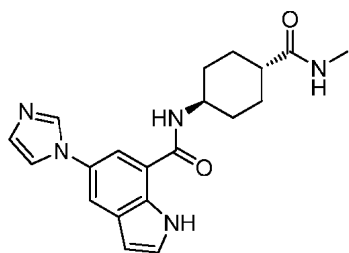


[0219]

[0220] DMF (3 mL) 중의 5-브로모-1H-인돌-7-카르복실산 (182 mg, 0.758 mmol) 용액에 DIEA (0.172 mL, 0.986 mmol) 및 HATU (346 mg, 0.910 mmol)를 첨가하였다. ~1분 후, (1r,4r)-4-아미노-N-메틸사이클로헥산카르복사미드 (142 mg, 0.910 mmol)를 첨가하고, 이어서 DIEA (0.172 mL, 0.986 mmol)를 첨가하였다. ~30분 후, 반응 혼합물을 물 (~10 mL)로 서서히 희석하였으며, 백색 고형물이 침전되었다. 수분 동안 교반한 후, 고형물을 여과에

의해 수집하고, 물 및 헥산으로 순차적으로 세척하고, 고진공하에 건조하였다. 이어서, 물질을 실리카 겔 (24 g ISCO 컬럼)에서 크로마토그래피하여 표제 화합물을 백색 고형물 (210 mg, 0.516 mmol)로서 제공하였다. LCMS (ES API) MH⁺ = Br 동위원소에 있어서 378 & 380.

[0221] F. 5-(1H-이미다졸-1-일)-N-((1s,4s)-4-(메틸카르바모일)사이클로헥실)-1H-인돌-7-카르복사미드.

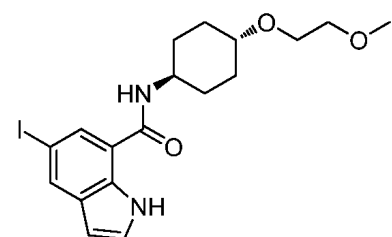


[0222]

[0223] DMF (2 mL) 중의 5-브로모-N-((1s,4s)-4-(메틸카르바모일)사이클로헥실)-1H-인돌-7-카르복사미드 (60 mg, 0.159 mmol), 1H-이미다졸 (21.60 mg, 0.317 mmol), 구리(I) 아이오다이드 (3.02 mg, 0.016 mmol) 및 K₂CO₃ (43.8 mg, 0.317 mmol)의 혼합물을 수분 동안 N₂로 퍼징시키고, 이어서 이를 밀봉된 튜브에서 19시간 동안 150 °C에서 가열하였다. (LCMS는 42% 전환율을 보여줌). 추가의 1H-이미다졸 (21.60 mg, 0.317 mmol), 구리(I) 아이오다이드 (3.02 mg, 0.016 mmol) 및 K₂CO₃ (43.8 mg, 0.317 mmol)를 첨가하고, N₂ 하에 재설정하고 밀봉된 튜브에서 추가의 ~15시간 동안 150°C에서 가열하였다. 냉각되면, 반응 혼합물을 MeOH (~5 mL)로 희석하였다. 불용성 물질을 여과 제거하고 MeOH (~10 mL) 및 CH₂Cl₂ (~10 mL)로 세척하였다. 여과물을 DMF 상으로 농축하였다. 잔류물을 분취용 HPLC (Phenomenex Luna 컬럼; 5-50% MeCN/물과 0.1% NH₄OH)에 의해 정제하였다. 생성물을 지닌 분획물을 농축 건조시켜 황색 고형물을 제공하였다. 물질을 0-10% MeOH/CH₂Cl₂로 용리시킨 실리카 겔 크로마토그래피 (1 mm 크로마토트론 플레이트)에 의해 추가로 정제하였다. 이어서, 생성물을 CH₂Cl₂/헥산 (플러스 최소량의 MeOH)으로부터 결정화시켜 표제 화합물을 연베이지색 고형물 (29 mg, 0.077 mmol)로서 제공하였다. ¹HNMR (DMSO-d₆) δ: 11.3 (s, NH), 8.41 (d, J = 7.8 Hz, NH), 8.18 (s, 1H), 7.93 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 7.86 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 7.75-7.71 (m, 2H), 7.44 (t, J = 2.7 Hz, 1H), 7.12 (s, 1H), 6.55 (t, J = 2.4 Hz, 1H), 3.9-3.8 (m, 1H), 2.57 (d, J = 4.5 Hz, 3H), 2.14-2.04 (m, 1H), 1.99-1.93 (m, 2H), 1.83-1.70 (m, 2H), 1.55-1.30 (m, 4H). LCMS (ES API) MH⁺ = 366.

[0224] 실시예 5: 5-(1H-이미다졸-1-일)-N-((1s,4s)-4-(2-메톡시에톡시)사이클로헥실)-1H-인돌-7-카르복사미드의 합성

[0225] A. 5-아이오도-N-((1r,4r)-4-(2-메톡시에톡시)사이클로헥실)-1H-인돌-7-카르복사미드.



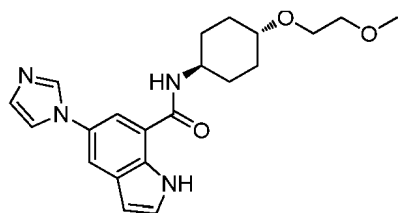
[0226]

[0227] DMF (2 mL) 중의 5-아이오도-1H-인돌-7-카르복실산 (270 mg, 0.941 mmol)의 용액에 DIEA (0.214 mL, 1.22 mmol) 및 HATU (429 mg, 1.129 mmol)를 첨가하였다. ~1분 동안 교반시킨 후, DMF (0.5 mL) 중의 (1r,4r)-4-(2-메톡시에톡시)사이클로헥산아민 (196 mg, 1.129 mmol)의 용액을 첨가하고 이어서 추가의 DIEA (0.214 mL, 1.223 mmol)를 첨가하였다. ~1시간 후, 반응 혼합물을 EtOAc로 희석하고 묽은 K₂CO₃ 용액으로 세척하였다. 유기상을 묽은 K₂CO₃ 용액 (1x) 및 염수 (1x)로 희석하고, Na₂SO₄ 상에서 건조하고, 여과하고 농축하였다. 잔류물을 10-50% EtOAc/헥산 구배로 용리시킨 실리카 겔 (40 g ISCO 컬럼)에서 크로마토그래피하였다. 생성물을 역상 HPLC (C18 Phenomenex Luna 컬럼; 구배: 10-100% MeCN/물과 0.1% TFA)에 의해 추가로 정제하였다. 생성물을 지닌 분획물을 합치고 수성 상으로 농축시켰다. 잔류물을 EtOAc로 희석하고 K₂CO₃ 수용액으로 중화시켰다. 상을 분리하였다. 유기 상을 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고 농축하여 표제 화합물을 백색

고형물 (265 mg, 0.551 mmol)로서 제공하였다. LCMS (ES API) MH⁺ = 443.

[0228]

B. 5-(1H-이미다졸-1-일)-N-((1s,4s)-4-(2-메톡시에톡시)사이클로헥실)-1H-인돌-7-카르복사미드.



[0229]

[0230]

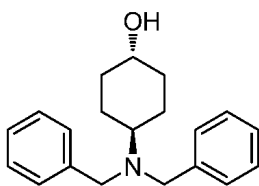
DMF (2 mL) 중의 5-아이오도-N-((1r,4r)-4-(2-메톡시에톡시)사이클로헥실)-1H-인돌-7-카르복사미드 (60 mg, 0.136 mmol), 1H-이미다졸 (27.7 mg, 0.407 mmol), 구리(I) 아이오다이드 (2.58 mg, 0.014 mmol) 및 K₂CO₃ (56.2 mg, 0.407 mmol)의 혼합물을 수분 동안 N₂로 퍼징하고, 이어서 이를 밀봉 튜브에서 19시간 동안 150°C에서 가열하였다. (LCMS는 44% 생성물 및 56% SM을 보여준다). 추가의 각각 2당량의 1H-이미다졸 (18.47 mg, 0.271 mmol) 및 K₂CO₃ (37.5 mg, 0.271 mmol) 및 촉매량의 구리(I) 아이오다이드 (2.58 mg, 0.014 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 추가의 10시간 동안 가열하고, 냉각되면, 반응 혼합물을 MeOH로 희석하고 작은 셀라이트 플러그를 통해 여과하였다. 고형물을 MeOH 및 CH₂Cl₂로 세척하였다. 여과물을 농축 건조시켰다. 잔류물을 역상 HPLC (C18 Phenomenex Luna 컬럼; 구배: 10-100% MeCN/물과 0.1% TFA)에 의해 정제하였다. 생성물을 지닌 분획물을 합치고 농축하였다. 잔류물을 EtOAc와 NaHCO₃ 수용액 사이로 나누었다. 유기상을 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고 농축하였다. 잔류물을 CH₂Cl₂/헥산으로부터 결정화시켜 표제 화합물을 얻었다. 고형물 (24 mg, 0.060 mmol)로서 제공하였다. ¹H NMR (DMSO-d₆) δ: 11.3 (s, NH), 8.40 (d, J = 7.6 Hz, NH), 8.18 (s, 1H), 7.93 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 7.86 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.72 (s, 1H), 7.45 (t, J = 2.7 Hz, 1H), 7.12 (s, 1H), 6.55 (t, J = 2.5 Hz, 1H), 3.91-3.82 (m, 1H), 3.56-3.53 (m, 2H), 3.44-3.42 (m, 2H), 3.32-3.20 (m, 1H), 3.25 (s, 3H), 2.08-2.0 (m, 2H), 1.97-1.90 (m, 2H), 1.45-1.35 (m, 2H), 1.30-1.20 (m, 2H). LCMS (ES API) MH⁺ = 383.

[0231]

실시예 6: N-((1r,4r)-4-(2-하이드록시-2-메틸프로폭시)사이클로헥실)-5-(1H-이미다졸-1-일)-1H-인돌-7-카르복사미드

[0232]

A. (1r,4r)-4-(디벤질아미노)사이클로헥사놀

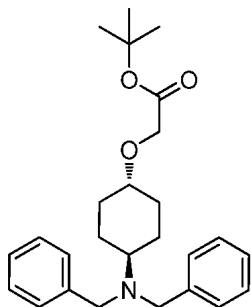


[0233]

[0234]

EtOH (102 mL) 중의 교반되는 (1r,4r)-4-아미노사이클로헥사놀 하이드로클로라이드 (5.0 g, 33.0 mmol) 및 소듐 바이카르보네이트 (8.31 g, 99 mmol)에 벤질 브로마이드 (7.8 mL, 65.6 mmol)를 첨가한 후 24시간 동안 80°C로 가열하였다. 반응물을 여과하고 가운시키고 감압하에 농축시켰다. 물질을 DCM 중에 취하고 1.0 N 수성 NaOH (2x)로 세척하였다. 합친 수성 NaOH 분획물을 다시 DCM으로 추출하였다. 합친 유기물을 염수로 세척하고, 소듐 설페이트 상에서 건조시키고, 여과하고 감압하에 농축하였다. 잔류물을 15-45% EtOAc/헥산으로부터의 구배로 용리시킨 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피에 의해 정제하여 백색 고형물을 (1r,4r)-4-(디벤질아미노)사이클로헥사놀 (5.18 g, 17.5 mmol)로서 수득하였다. ¹H NMR (CDCl₃) δ: 1.14 - 1.28 (m, 2H), 1.30 (d, J = 4.77 Hz, 1H), 1.38 - 1.52 (m, 2H), 1.91 (d, J = 12.55 Hz, 2H), 2.00 (br. s., 1H), 2.53 (tt, J = 11.7, 3.48 Hz, 1H), 3.50 - 3.59 (m, 1H), 3.62 (s, 4H), 7.18 - 7.25 (m, 2H), 7.27 - 7.32 (m, 4H), 7.33 - 7.38 (m, 4H). LCMS: (ESI) MH⁺ = 296.

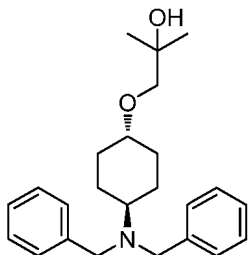
[0235] B. 3차-부틸 2-(((1r,4r)-4-(디벤질아미노)사이클로헥실)옥시)아세테이트



[0236]

[0237] (1r,4r)-4-(디벤질아미노)사이클로헥사놀 (1.0 g, 3.4 mmol) 및 3차-부틸 2-브로모아세테이트 (1.0 mL, 6.8 mmol)를 DMF (5 mL) 중에서 55℃에서 교반하고, 이어서 NaH (0.27 g, 6.8 mmol)의 미네랄 중 60% 분산물을 1시간에 걸쳐 나누어서 첨가하였다. LCMS는 동일한 생성물 및 출발 물질을 나타냈으며, 따라서 더 많은 3차-부틸 2-브로모아세테이트 (1.00 mL, 6.8 mmol)를 첨가하고, NaH (0.27 g, 6.8 mmol)의 미네랄 중 60% 분산물을 1시간에 걸쳐 나누어서 첨가하였다. 반응물을 밤새 동일한 온도에서 교반되게 한 후 물로 켄칭시켰다. 반응물을 분리 깔때기 안에 붓고, 1.0 N 수성 NaOH로 희석하고 에틸 아세테이트 (1x)로 추출하였다. 유기층을 물 (2x) 이어서 염수로 세척하였다. 합친 수성 분획물을 에틸 아세테이트로 추출하고, 합친 유기물을 소듐 설페이트 상에서 건조시키고, 여과하고 감압하에 농축하였다. 잔류물을 2-15% (에틸 아세테이트:에탄올:헥산의 3:1 비)로부터의 구배로 용리시킨 ISCO Combiflash를 통해 실리카 겔 크로마토그래피에 의해 정제하였다. 회수된 분획물을 감압하에 3차-부틸 2-(((1r,4r)-4-(디벤질아미노)사이클로헥실)옥시)아세테이트 (497 mg, 1.21 mmol)로서의 무색 오일로 농축하였다. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 1.43 - 1.46 (m, 4H), 1.47 (s, 9H), 1.92 (d, J = 12.3 Hz, 2H), 2.07 - 2.14 (m, 2H), 2.48 - 2.58 (m, 1H), 3.24 - 3.30 (m, 1H), 3.61 (s, 4H), 3.96 (s, 2H), 7.17 - 7.24 (m, 2H), 7.26 - 7.32 (m, 4H), 7.34 - 7.38 (m, 4H). LCMS: (ELSD) MH^+ = 410.

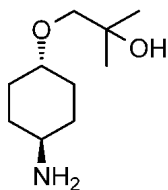
[0238] C. 1-(((1r,4r)-4-(디벤질아미노)사이클로헥실)옥시)-2-메틸프로판-2-올



[0239]

[0240] 3차-부틸 2-(((1r,4r)-4-(디벤질아미노)사이클로헥실)옥시)아세테이트 (0.40 g, 0.977 mmol)를 THF (2.5 mL) 중에서 질소하에 0℃에서 교반한 후 디에틸 에테르 중의 메틸마그네슘 브로마이드 (0.8 mL, 2.4 mmol)의 3.0 M 용액을 첨가하였다. 반응물을 실온에서 3시간 동안 교반하고 이어서 포화된 수성 NH_4Cl (3 mL)로 켄칭시키고 실온에서 밤새 교반하였다. 반응물을 분리 깔때기에 붓고 에틸 아세테이트로 희석하고, 이어서 포화된 수성 소듐 바이카르보네이트 (1x), 물 (2x) 및 염수로 세척하였다. 유기물을 소듐 설페이트 상에서 건조시키고, 여과하고 감압하에 농축하였다. 잔류물을 5-15% (에틸 아세테이트:에탄올:헥산의 3:1 비)로부터의 구배로 용리시킨 ISCO Combiflash를 통해 실리카 겔 크로마토그래피에 의해 잔류물을 정제하여 무색 오일을 제공하였으며, 이는 시간 경과에 따라 1-(((1r,4r)-4-(디벤질아미노)사이클로헥실)옥시)-2-메틸프로판-2-올 (0.168 g, 0.457 mmol)로서 고형화되었다. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 1.09 - 1.22 (m, 8H), 1.33 - 1.47 (m, 2H), 1.88 - 1.97 (m, 2H), 2.04 - 2.11 (m, 2H), 2.53 (tt, J = 11.7, 3.36 Hz, 1 H), 3.19 (tt, J = 11.0, 4.36 Hz, 1H), 3.24 (s, 2H), 3.61 (s, 4H), 7.18 - 7.24 (m, 2H), 7.26 - 7.33 (m, 4H), 7.34 - 7.39 (m, 4H). LCMS: (ELSD) MH^+ = 368.

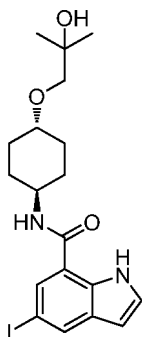
[0241] D. 1-(((1r,4r)-4-아미노사이클로헥실)옥시)-2-메틸프로판-2-올



[0242]

[0243] EtOH (5 mL) 중의 1-(((1r,4r)-4-(디벤질아미노)사이클로헥실)옥시)-2-메틸프로판-2-올 (620 mg, 1.69 mmol)과 탄소상 팔라듐 하이드록사이드 (300 mg, 2.14 mmol)의 혼합물을 2시간 동안 55 psi (Fisher-Porter 장치)에서 수소화시켰다. 반응 혼합물을 셀라이트 플러그를 통해 여과시켰다. 촉매를 MeOH 및 CH₂Cl₂로 세척하였다. 여과물을 농축 건조하고 고진공하에 건조시켜 표제 화합물을 회색 고형물 (306 mg)로서 제공하였다. ¹H NMR (CDCl₃) δ: 3.25 (s, 2H), 3.3-3.2 (m, 1H), 2.81-2.75 (m, 1H), 2.6-2.37 (매우 넓은 s, 3H), 2.05-1.98 (m, 2H), 1.95-1.88 (m, 2H), 1.35-1.07 (m, 4H), 1.17 (s, 6H).

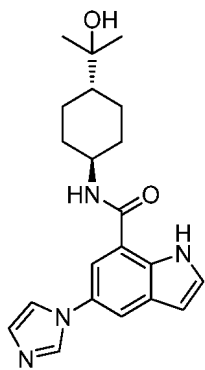
[0244] E. N-((1r,4r)-4-(2-하이드록시-2-메틸프로폭시)사이클로헥실)-5-아이오도-1H-인돌-7-카르복사미드



[0245]

[0246] 5-아이오도-1H-인돌-7-카르복실산 (0.175 g, 0.61 mmol)을 DMF (2 mL)에서 교반시키고 이어서 DIPEA (0.16 mL, 0.914 mmol)를 첨가한 후 HATU (0.278 g, 0.732 mmol)를 첨가하였다. 반응물을 실온에서 ~5분 동안 교반되게 한 후 1-(((1r,4r)-4-아미노사이클로헥실)옥시)-2-메틸프로판-2-올 (0.15 g, 0.801 mmol)을 첨가하였다. 반응물이 동일한 온도에서 4시간 동안 교반되게 한 후 에틸 아세테이트로 희석하고 물 (2x) 이어서 염수로 세척하였다. 유기물을 소듐 설페이트 상에서 건조시키고, 여과하고 감압하에 농축하였다. 잔류물을 30-75% 에틸 아세테이트/헥산으로부터의 구배로 용리시킨 실리카 겔 크로마토그래피에 의해 정제하여 N-((1r,4r)-4-(2-하이드록시-2-메틸프로폭시)사이클로헥실)-5-아이오도-1H-인돌-7-카르복사미드 (0.258 g, 0.565 mmol)를 수득하였다. ¹H NMR (CDCl₃) δ: 10.3 (br. s., 1 H), 8.11 (s, 1 H), 7.56 (s, 1 H), 7.29 (t, J = 2.64 Hz, 1 H), 7.27 (s, 1 H), 6.50 (t, J = 2.64 Hz, 1 H), 6.11 (d, J = 7.53 Hz, 1 H), 4.02 (m, J = 10.9, 10.92, 7.34, 3.73, 3.73 Hz, 1 H), 3.29 - 3.39 (m, 3 H), 2.08 - 2.21 (m, 4 H), 1.42 - 1.55 (m, 2 H), 1.30 - 1.41 (m, 2 H), 1.22 (s, 6 H). LCMS (ES API) MH⁺ = 457

[0247] F. N-((1r,4r)-4-(2-하이드록시-2-메틸프로폭시)사이클로헥실)-5-(1H-이미다졸-1-일)-1H-인돌-7-카르복사미드



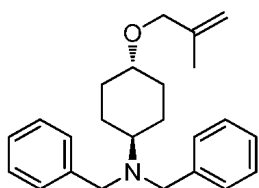
[0248]

[0249] NMP (2 mL) 중의 N-((1r,4r)-4-(2-하이드록시-2-메틸프로폭시)사이클로헥실)-5-아이오도-1H-인돌-7-카르복사미

트 (0.25 g, 0.548 mmol), 이미다졸 (0.112 g, 1.644 mmol), K_2CO_3 (0.227 g, 1.644 mmol) 및 구리(I) 아이오다이드 (0.021 g, 0.110 mmol)를 160℃에서 4시간 동안 마이크로파 처리하였다. 반응물을 20-95% CH_3CN /물/0.1% NH_4OH 로부터의 구배로 용리시킨 Agilent 역상 C18 HPLC에 의해 정제하였다. 회수된 분획물을 감압하에 농축하고 이어서 N-((1r,4r)-4-(2-하이드록시-2-메틸프로폭시)사이클로헥실)-5-(1H-이미다졸-1-일)-1H-인돌-7-카르복사미드 (28 mg, 0.070 mmol)로서의 황갈색의 거품 같은 무정형 고형물로 동결건조하였다. 1H NMR ($CDCl_3$) δ : 10.4 (br. s., 1H), 7.79 (s, 1H), 7.44 (t, J = 2.64 Hz, 1H), 7.36 - 7.41 (m, 1H), 6.63 (t, J = 2.51 Hz, 1H), 6.42 (br. s., 1H), 4.04 (br. s., 1H), 3.26 - 3.38 (m, 3H), 2.10 (br. s., 4H), 1.44 (m, J = 12.8 Hz, 4H), 1.21 (s, 6H); 피크는 $CDCl_3$ 피크하에 숨겨진다. LCMS (ES API) MH^+ = 397.

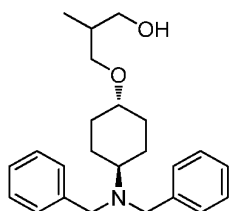
실시예 7: N-((1r,4r)-4-(2-하이드록시프로폭시)사이클로헥실)-5-(1H-이미다졸-1-일)-1H-인돌-7-카르복사미드

A. (1r,4r)-N,N-디벤질-4-((2-메틸알릴)옥시)사이클로헥산아민



NaH (0.106 g, 2.64 mmol)의 미네랄 오일 중의 60% 분산액을 천천히 나누어서 첨가하면서 (1r,4r)-4-(디벤질아미노)사이클로헥사놀 (0.39 g, 1.32 mmol) 및 3-아이오도-2-메틸프로프-1-엔 (0.481 g, 2.64 mmol)을 DMF (2.5 mL) 중에서 55℃에서 교반하였다. 반응물을 동일한 온도에서 ~1시간 동안 교반시킨 후 실온으로 냉각시키고 DCM으로 희석하였다. 유기물을 1.0 N 수성 NaOH (1x) 그 후, 물 (2x) 이어서 염수로 세척하였다. 합친 수성 분획물을 DCM으로 추출하고, 합친 유기물을 소듐 설페이트 상에서 건조시키고 여과하고 감압하에 농축하여 무색 잔류물을 (1r,4r)-N,N-디벤질-4-((2-메틸알릴)옥시)사이클로헥산아민 (423 mg, 1.21 mmol)로서 수득하였다. 1H NMR ($CDCl_3$) δ : 1.11 - 1.23 (m, 2H), 1.27 (s, 3H), 1.39 (qd, J = 12.67, 3.03 Hz, 2H) 1.72 (s, 3H), 1.86 - 1.97 (m, 2H), 2.06 (br. s., 2H), 2.49 - 2.60 (m, 1H), 3.18 (tt, J = 11.0, 4.06 Hz, 1H), 3.61 (s, 4H), 3.88 (s, 2H), 7.18 - 7.24 (m, 2H), 7.27 - 7.31 (m, 4H), 7.34 - 7.38 (m, 4H). LCMS: (ESI) MH^+ = 350.

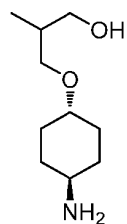
B. 3-(((1r,4r)-4-(디벤질아미노)사이클로헥실)옥시)-2-메틸프로판-1-올



보란-테트라하이드로푸란 착물 (2.86 mL, 2.86 mmol)을 질소하에 0℃에서 교반시키고 이어서 2,3-디메틸부트-2-엔 (0.354 mL, 2.86 mmol)을 적가하였다. 첨가 후, 반응물이 동일한 온도에서 2시간 동안 교반되게 하였다. (1r,4r)-N,N-디벤질-4-((2-메틸알릴)옥시)사이클로헥산아민 (1.0 g, 2.86 mmol)을 THF (6 mL)에 취하고 반응물에 서서히 첨가하였다. 첨가 후, 반응물을 동일한 온도에서 ~15분 동안 교반시킨 후 실온으로 가온시키고, 1.5 시간 동안 교반하였다. TLC는 반응이 완료되었음을 보여주었다. 따라서, 35% 수성 과산화수소 (0.8 mL, 9.14 mmol)를 첨가하고 실온에서 밤새 교반되게 하였다. 용액을 EtOAc로 희석하고, 물 (2x) 및 염수로 세척하였다. 유기물을 소듐 설페이트 상에서 건조시키고, 여과하고 감압하에 농축하였다. 잔류물을 15-50% EtOAc/헥산으로부터의 구배로 용리시킨 실리카 겔 크로마토그래피에 의해 정제하여 무색 오일을 3-(((1r,4r)-4-(디벤질아미노)사이클로헥실)옥시)-2-메틸프로판-1-올 (580 mg, 1.58 mmol)로서 제공하였다. 1H NMR (클로로FORM-d) δ : 0.84 (d, J = 7.03 Hz, 3H), 1.09 - 1.21 (m, 2H), 1.32 - 1.45 (m, 2H), 1.92 (d, J = 12.8 Hz, 2H), 2.00 (ddd, J = 11.3, 7.53, 4.02 Hz, 1H), 2.04 - 2.11 (m, 2H), 2.53 (tt, J = 11.8, 3.42 Hz, 1H), 2.86 (dd, J = 7.53, 3.76 Hz, 1H), 3.16 (tt, J = 10.9, 4.17 Hz, 1H), 3.36 (t, J = 8.66 Hz, 1H), 3.51 - 3.60 (m, 2H), 3.61 (s, 4H), 7.18 - 7.24 (m, 2H), 7.27 - 7.32 (m, 4H), 7.34 - 7.38 (m, 4H). LCMS: (ESI) MH^+ =

368.

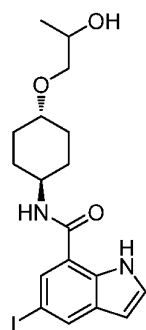
[0257] C. 3-(((1r,4r)-4-아미노사이클로헥실)옥시)-2-메틸프로판-1-올



[0258]

[0259] EtOH (15 mL) 중의 3-(((1r,4r)-4-(디벤질아미노)사이클로헥실)옥시)-2-메틸프로판-1-올 (0.58 g, 1.58 mmol) 및 탄소상 팔라듐 하이드록사이드 (0.111 g, 0.789 mmol)를 40 psi에서 수소화시키면서 실온에서 밤새 교반하였다. TLC는 반응이 완료되었음을 보여주었다. 용액을 셀라이트 패드를 통해 여과시키고 셀라이트를 EtOAc로 린싱하고 감압하에 무색 오일로서 농축시키고, 이는 3-(((1r,4r)-4-아미노사이클로헥실)옥시)-2-메틸프로판-1-올 (0.27 g, 1.44 mmol)로서의 백색 고형물로 변화하였다. ¹H NMR (메탄올-d₄) δ: 0.91 (d, *J* = 7.03 Hz, 3H), 1.11 – 1.31 (m, 4H), 1.78 – 1.86 (m, 1H), 1.86 – 1.91 (m, 2H), 1.99 – 2.07 (m, 2H), 2.59 – 2.69 (m, 1H), 3.17 – 3.26 (m, 1H), 3.35 (dd, *J* = 9.29, 6.02 Hz, 1H), 3.43 (ddd, *J* = 11.9, 9.98, 6.27 Hz, 2H), 3.49 – 3.55 (m, 1 H).

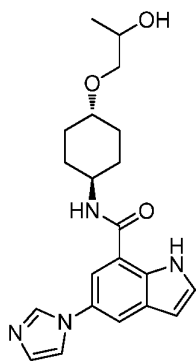
[0260] D. N-(((1r,4r)-4-(2-하이드록시프로폭시)사이클로헥실)-5-아이오도-1H-인돌-7-카르복사미드



[0261]

[0262] 5-아이오도-1H-인돌-7-카르복실산 (0.3 g, 1.045 mmol)을 DMF (10 mL) 중에 교반시키고 이어서 DIPEA (0.3 mL, 1.718 mmol)를 첨가하고 이어서 HATU (0.477 g, 1.254 mmol)를 첨가하였다. 반응물을 실온에서 ~10분 동안 교반시킨 후 1-(((1r,4r)-4-아미노사이클로헥실)옥시)프로판-2-올 (0.235 g, 1.359 mmol)을 첨가하고 반응물을 동일한 조건하에서 밤새 계속 교반시켰다. 반응물을 물로 희석하고 고형 침전물을 형성시켰다. 이를 여과에 의해 수집하고 진공하에 밤새 건조시켜 황갈색 고형물을 N-(((1r,4r)-4-(2-하이드록시프로폭시)사이클로헥실)-5-아이오도-1H-인돌-7-카르복사미드 (443 mg, 1.002 mmol)로서 회수하였다. ¹H NMR (DMSO-d₆) δ: 11.2 (br. s., 1H), 8.39 (d, *J* = 7.78 Hz, 1H), 8.07 (s, 1H), 7.92 (d, *J* = 1.25 Hz, 1H), 7.33 (t, *J* = 2.76 Hz, 1H), 6.41 – 6.47 (m, 1 H), 4.48 (d, *J* = 4.77 Hz, 1H), 3.77 – 3.87 (m, 1H), 3.68 (dt, *J* = 11.2, 5.71 Hz, 1H), 3.17 – 3.28 (m, 3H), 2.04 (d, *J* = 10.0 Hz, 2H), 1.88 (br. s., 2H), 1.35 – 1.49 (m, 2H), 1.20 – 1.32 (m, 2H), 1.03 (d, *J* = 6.27 Hz, 3H). LCMS (ES API) MH⁺ = 443.

[0263] E, N-((1r,4r)-4-(2-하이드록시프로폭시)사이클로헥실)-5-(1H-이미다졸-1-일)-1H-인돌-7-카르복사미드

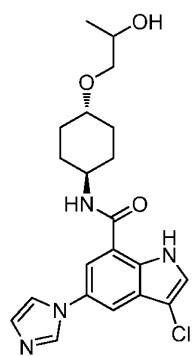


[0264]

[0265] NMP (3 mL) 중의 N-((1r,4r)-4-(2-하이드록시프로폭시)사이클로헥실)-5-아이오도-1H-인돌-7-카르복사미드 (0.44 g, 0.995 mmol), 구리(I) 아이오다이드 (0.038 g, 0.199 mmol), 이미다졸 (0.169 g, 2.487 mmol) 및 K₂CO₃ (0.344 g, 2.487 mmol)를 160℃에서 4시간 동안 마이크로파 처리하였다. 반응물을 셀라이트의 패드를 통해 여과하고 에틸 아세테이트로 세척하였다. 여과물을 감압하에 농축하고 20-95% CAN/물/0.1% NH₄OH로부터의 구배로 용리시킨 역상 C18 Agilent HPLC에 의해 정제하였다. 회수된 분획물을 감압하에 농축시키고, 이어서 고형물로 동결건조시켰다. 고형물을 디에틸 에테르로 분쇄하여 황갈색 고형물을 N-((1r,4r)-4-(2-하이드록시프로폭시)사이클로헥실)-5-(1H-이미다졸-1-일)-1H-인돌-7-카르복사미드 (191 mg, 0.474 mmol)로서 회수하였다. ¹H NMR (DMSO-d₆) δ: 11.3 (br. s., 1H), 8.37 (d, J = 7.53 Hz, 1H), 8.16 (s, 1H), 7.92 (s, 1H), 7.85 (s, 1H), 7.70 (s, 1H), 7.44 (d, J = 2.76 Hz, 1H), 7.11 (s, 1H), 6.55 (d, J = 2.51 Hz, 1H), 4.48 (d, J = 4.77 Hz, 1H), 3.81 - 3.94 (m, 1H), 3.68 (dt, J = 11.2, 5.80 Hz, 1H), 3.32 - 3.36 (m, 1H), 3.24 - 3.29 (m, 1H), 3.19 - 3.24 (m, 1H), 2.05 (d, J = 10.5 Hz, 2H), 1.94 (d, J = 10.8 Hz, 2H), 1.36 - 1.50 (m, 2H), 1.21 - 1.34 (m, 2H), 1.04 (d, J=6.27 Hz, 3H). LCMS (ES API) MH⁺ = 383.

[0266] 실시예 8: 3-클로로-N-((1r,4r)-4-(2-하이드록시프로폭시)사이클로헥실)-5-(1H-이미다졸-1-일)-1H-인돌-7-카르복사미드

[0267] A, 3-클로로-N-((1r,4r)-4-(2-하이드록시프로폭시)사이클로헥실)-5-(1H-이미다졸-1-일)-1H-인돌-7-카르복사미드

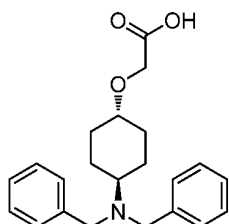


[0268]

[0269] N-((1r,4r)-4-(2-하이드록시프로폭시)사이클로헥실)-5-(1H-이미다졸-1-일)-1H-인돌-7-카르복사미드 (0.1 g, 0.261 mmol)를 DMF (2.0 mL)에서 교반시키고, 이어서 DMF (0.5 mL) 중에 용해시킨 NCS (0.038 g, 0.288 mmol)를 첨가하였다. 반응물을 실온에서 밤새 교반되게 하고, 이어서 50℃로 14시간 동안 가열한 후 20-95% CH₃CN/물/0.1%NH₄OH로부터의 구배로 용리시킨 역상 Agilent HPLC에 의해 정제하였다. 회수된 분획물을 감압하에 농축시키고, 이어서 고형물로 동결건조시켰다. 고형물을 디에틸 에테르 및 에틸 아세테이트로부터 결정화시켜 갈색 고형물을 3-클로로-N-((1r,4r)-4-(2-하이드록시프로폭시)사이클로헥실)-5-(1H-이미다졸-1-일)-1H-인돌-7-카르복사미드 (54.6 mg, 0.130 mmol)로서 제공하였다. ¹H NMR (MeOH-d₄) δ: 8.16 (s, 1H), 7.85 (dd, J = 9.16, 1.88 Hz, 2H), 7.63 (s, 1H), 7.48 (s, 1H), 7.18 (s, 1H), 3.92 - 4.01 (m, 1H), 3.81 - 3.90 (m, 1H), 3.37 - 3.41 (m, 2H), 3.35 (dd, J = 4.14, 2.13 Hz, 1H), 2.03 - 2.21 (m, 4H), 1.34 - 1.57 (m, 4H), 1.15 (d, J = 6.27 Hz, 3H). LCMS (ES API) MH⁺ = 417

[0270] 실시예 9: 5-(1H-이미다졸-1-일)-N-((1r,4r)-4-(3,3,3-트리플루오로-2-하이드록시-2-메틸프로폭시)사이클로헥실)-1H-인돌-7-카르복사미드

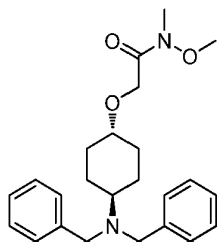
[0271] A. 2-(((1r,4r)-4-(디벤질아미노)사이클로헥실)옥시)아세트산 하이드로클로라이드



[0272]

[0273] 3차-부틸 2-(((1r,4r)-4-(디벤질아미노)사이클로헥실)옥시)아세테이트 (2.0 g, 4.88 mmol)를 DCM (5.0 mL) 및 TFA (3 mL)에서 실온에서 1시간 동안 교반한 후 감압하에 농축하였다. 잔류물을 1,4-디옥산 (5 mL)에 취하고 디옥산 (2 mL) 중의 4.0M HCl을 첨가하고 이어서 0℃에서 교반하였다. 디에틸 에테르 (20 mL)를 첨가하고 생성된 침전물을 동일한 온도에서 ~10 분 동안 교반시킨 후 진공 여과에 의해 수집하였다. 고형물을 디에틸 에테르로 세척하여 백색 고형물을 2-(((1r,4r)-4-(디벤질아미노)사이클로헥실)옥시)아세트산 하이드로클로라이드 (2.03 g, 5.21 mmol)로서 제공하였다. LCMS (ES API) MH⁺ = 354.

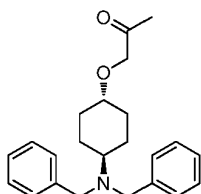
[0274] B. 2-(((1r,4r)-4-(디벤질아미노)사이클로헥실)옥시)-N-메톡시-N-메틸아세트아미드



[0275]

[0276] 2-(((1r,4r)-4-(디벤질아미노)사이클로헥실)옥시)아세트산 하이드로클로라이드 (2.0 g, 5.13 mmol)를 DMF (50 mL)에서 교반하고 이어서 DIPEA (3 mL, 17.18 mmol) 및 HATU (2.34 g, 6.16 mmol)를 첨가하였다. 반응물을 실온에서 ~5분 동안 교반하면서 N,O-디메틸하이드록실아민 하이드로클로라이드 (0.751 g, 7.69 mmol)를 첨가하였다. 반응물이 동일한 온도에서 밤새 교반되게 하였다. 반응물을 에틸 아세테이트로 희석하고 포화된 수성 소듐 바이카르보네이트로 세척하였다. 유기물을 분리하고 염수로 세척하고 소듐 설페이트 상에서 건조시키고, 여과하고 감압하에 농축하였다. 잔류물을 50-90% 에틸 아세테이트/헵탄으로부터의 구배로 용리시킨 실리카 겔 크로마토그래피에 의해 정제하였다. 회수된 분획물을 감압하에 농축하고 고진공하에 고형화시켜 황색 고형물을 2-(((1r,4r)-4-(디벤질아미노)사이클로헥실)옥시)-N-메톡시-N-메틸아세트아미드 (1.735 g, 4.38 mmol)로서 발생시켰다. ¹H NMR (CDCl₃) δ: 7.18 - 7.40 (m, 10H), 4.27 (s, 2H), 3.68 (s, 3H), 3.61 (s, 4H), 3.27 - 3.37 (m, 1H), 3.18 (s, 3H), 2.49 - 2.60 (m, 1H), 2.14 (d, J=10.8 Hz, 2H), 1.92 (d, J = 12.0 Hz, 2H), 1.34 - 1.46 (m, 2H), 1.17 - 1.30 (m, 2H). LCMS (ES API) MH⁺ = 398.

[0277] C. 1-(((1r,4r)-4-(디벤질아미노)사이클로헥실)옥시)프로판-2-온

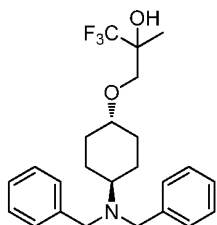


[0278]

[0279] 2-(((1r,4r)-4-(디벤질아미노)사이클로헥실)옥시)-N-메톡시-N-메틸아세트아미드 (1.73 g, 4.36 mmol)를 THF (7 mL)중에서 빙조에서 교반하면서 메틸마그네슘 브로마이드 (2 mL, 6.0 mmol)의 디에틸 에테르 중의 3.0 M 용액을 서서히 첨가하였다. 반응물을 동일한 온도에서 ~10분 동안 교반되게 한 후 실온으로 가온시키고 밤새 교반하였다. 반응물을 포화된 수성 NH₄Cl로 토크시키고 에틸 아세테이트로 추출하였다. 유기물을 염수로 세척하고, 소

듬 설페이트 상에서 건조시키고, 여과하고 감압하에 농축하여 오렌지색 오일을 1-(((1r,4r)-4-(디벤질아미노)사이클로헥실)옥시)프로판-2-온 (1.52 g, 4.32 mmol)로서 제공하였다. ^1H NMR (CDCl_3) δ : 7.34 - 7.39 (m, 4H), 7.29 (t, 4H), 7.18 - 7.24 (m, 2H), 4.03 (s, 2H), 3.61 (s, 4H), 3.17 - 3.26 (m, 1H), 2.50 - 2.60 (m, 1H), 2.15 (s, 3H), 2.04 - 2.12 (m, 2H), 1.94 (d, J = 12.0 Hz, 2H), 1.33 - 1.48 (m, 2H), 1.16 - 1.28 (m, 2H). LCMS (ES API) MH^+ = 352.

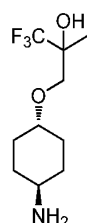
[0280] D. 3-(((1r,4r)-4-(디벤질아미노)사이클로헥실)옥시)-1,1,1-트리플루오로-2-메틸프로판-2-올



[0281]

[0282] THF (6.5 mL) 중의 1-(((1r,4r)-4-(디벤질아미노)사이클로헥실)옥시)프로판-2-온 (1.0 g, 2.85 mmol) 및 세슘 플루오라이드 (0.432 g, 2.85 mmol)를 빙조에서 교반하면서 트리메틸(트리플루오로메틸)실란 (1.2 mL, 8.12 mmol)을 서서히 첨가하였다. 반응물을 동일한 온도에서 1시간 동안 교반하였다. TBAF (3.2 mL, 3.20 mmol)의 THF 중의 1.0 M 용액을 첨가하고, 반응물을 1시간 동안 0°C에서 교반되게 하였다. 반응물을 에틸 아세테이트로 희석하고 물 이어서 염수로 세척하였다. 유기물을 소듐 설페이트 상에서 건조시키고, 여과하고 감압하에 오렌지색 오일로 농축시키고, 이를 30% 에틸 아세테이트/헵탄으로 용리시킨 ISCO Combiflash 상의 실리카 겔 크로마토그래피에 의해 정제하였다. 회수된 분획물을 감압하에 3-(((1r,4r)-4-(디벤질아미노)사이클로헥실)옥시)-1,1,1-트리플루오로-2-메틸프로판-2-올 (0.888 g, 2.107 mmol)로서의 황색 고형물로 농축시켰다. ^1H NMR (CDCl_3) δ : 7.33 - 7.39 (m, 4H), 7.27 - 7.32 (m, 4H), 7.19 - 7.24 (m, 2H), 3.67 (d, J = 9.79 Hz, 1H), 3.61 (s, 4H), 3.35 (dd, J = 9.91, 1.13 Hz, 1H), 3.19 - 3.28 (m, 1H), 2.49 - 2.59 (m, 1H), 2.06 (d, J = 6.53 Hz, 2H), 1.91 (br. s., 2H), 1.34 - 1.47 (m, 2H), 1.31 (s, 3H), 1.14 - 1.24 (m, 2H). LCMS (ES API) MH^+ = 422.

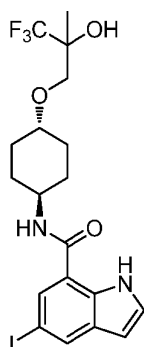
[0283] E. 3-(((1r,4r)-4-아미노사이클로헥실)옥시)-1,1,1-트리플루오로-2-메틸프로판-2-올



[0284]

[0285] 3-(((1r,4r)-4-(디벤질아미노)사이클로헥실)옥시)-1,1,1-트리플루오로-2-메틸프로판-2-올 (0.923 mL, 2.107 mmol) 및 20 wt% 펄만 촉매 (0.089 g, 0.632 mmol)를 EtOH (20 mL)에서 교반시키고 벌룬 (3x)을 통해 수소로 플라싱시킨 후 실온에서 밤새 교반되도록 방치하였다. 반응물을 셀라이트 패드를 통해 여과하고 에틸 아세테이트로 세척하였다. 여과물을 감압하에 3-(((1r,4r)-4-아미노사이클로헥실)옥시)-1,1,1-트리플루오로-2-메틸프로판-2-올 (0.483 g, 2.00 mmol)로서 녹색을 띤 오일로 농축하였다. ^1H NMR (CDCl_3) δ : 3.70 (d, J = 9.79 Hz, 1H), 3.39 (dd, J = 9.79, 1.25 Hz, 1H), 3.26 - 3.34 (m, 1H), 2.71 - 2.81 (m, 1H), 2.02 (d, J = 10.5 Hz, 2H), 1.86 - 1.95 (m, 2H), 1.28 - 1.41 (m, 5H), 1.11 - 1.22 (m, 2H). LCMS (ELSD) MH^+ = 242.

[0286] F. 5-아이오도-N-((1r,4r)-4-(3,3,3-트리플루오로-2-하이드록시-2-메틸프로폭시)사이클로헥실)-1H-인돌-7-카복사미드



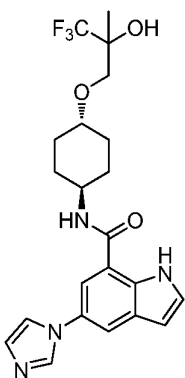
[0287]

[0288]

5-아이오도-1H-인돌-7-카르복실산 (0.1 g, 0.348 mmol)을 DMF (3 mL) 중에서 교반하고, 그 후 DIPEA (0.3 mL, 1.72 mmol) 이어서 HATU (0.159 g, 0.418 mmol)를 첨가하였다. 반응물을 실온에서 ~10분 동안 교반시킨 후 3-(((1r,4r)-4-아미노사이클로헥실)옥시)-1,1,1-트리플루오로-2-메틸프로판-2-올 (0.109 g, 0.453 mmol)을 첨가하고 반응물을 동일한 조건하에서 밤새 계속해서 교반시켰다. 반응물을 물로 희석하고 디에틸 에테르 (2x)로 추출하였다. 합친 유기물을 염수로 세척하고, 소듐 설페이트 상에서 건조시키고, 여과하고 감압하에 농축하였다. 잔류물을 30-50% 에틸 아세테이트/헵탄으로부터의 구배로 용리시킨 ISCO Combiflash (12 g 컬럼)을 통한 실리카 겔 크로마토그래피에 의해 정제하여 백색 고형물을 5-아이오도-N-((1r,4r)-4-(3,3,3-트리플루오로-2-하이드록시-2-메틸프로폭시)사이클로헥실)-1H-인돌-7-카르복사미드 (122 mg, 0.239 mmol)로서 제공하였다. ¹H NMR (CDCl₃) δ: 10.3 (br. s., 1H), 8.11 (s, 1H), 7.55 (s, 1H), 7.30 (t, *J* = 2.76 Hz, 1H), 6.49 - 6.52 (m, 1H), 6.06 (d, *J* = 7.28 Hz, 1H), 3.97 - 4.08 (m, 1H), 3.74 (d, *J* = 9.79 Hz, 1H), 3.45 (dd, *J* = 9.91, 1.38 Hz, 1H), 3.34 - 3.42 (m, 1H), 3.14 (s, 1H), 2.08 - 2.24 (m, 4H), 1.45 - 1.57 (m, 5H), 1.31 - 1.42 (m, 2H). LCMS (ES API) MH⁺ = 511.

[0289]

G. 5-(1H-이미다졸-1-일)-N-((1r,4r)-4-(3,3,3-트리플루오로-2-하이드록시-2-메틸프로폭시)사이클로헥실)-1H-인돌-7-카르복사미드



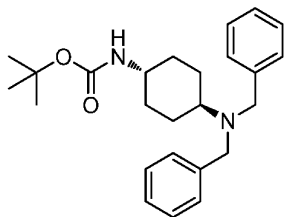
[0290]

[0291]

NMP (1 mL) 중의 5-아이오도-N-((1r,4r)-4-(3,3,3-트리플루오로-2-하이드록시-2-메틸프로폭시)사이클로헥실)-1H-인돌-7-카르복사미드 (0.122 g, 0.239 mmol), 이미다졸 (0.041 g, 0.598 mmol), K₂CO₃ (0.10 g, 0.724 mmol), 및 구리(I) 아이오다이드 (9.11 mg, 0.048 mmol)를 4시간 동안 150℃에서 마이크로파 처리하였다. 추가의 이미다졸 (0.016 g, 0.239 mmol)을 첨가하고 추가의 2시간 동안 동일한 온도에서 마이크로파 처리하였다. 반응물을 여과하고 에틸 아세테이트로 세척하고 여과물을 감압하에 농축하였다. 잔류물을 20-95% CH₃CN/물 /0.1%NH₄OH로부터의 구배로 용리시킨 역상 C18 HPLC에 의해 정제하였다. 회수된 분획물을 감압하에 농축하고 갈색 고형물로 동결건조시켰다. 고형물을 에틸 아세테이트 및 헥산으로부터 동결건조시켜 갈색 고형물을 5-(1H-이미다졸-1-일)-N-((1r,4r)-4-(3,3,3-트리플루오로-2-하이드록시-2-메틸프로폭시)사이클로헥실)-1H-인돌-7-카르복사미드 (15.6 mg, 0.034 mmol)로서 회수하였다. ¹H NMR (MeOH-*d*₄) δ: 8.11 (br. s., 1H), 7.90 (d, *J* = 1.76 Hz, 1H), 7.77 (d, *J* = 1.76 Hz, 1H), 7.59 (br. s., 1H), 7.47 (d, *J* = 3.26 Hz, 1H), 7.16 (br. s., 1H), 6.62 (d, *J* = 3.26 Hz, 1H), 3.98 (m, *J* = 4.52 Hz, 1H), 3.57 (s, 2H), 3.35 - 3.41 (m, 1H), 2.12 (m, *J* = 12.8 Hz, 4H), 1.39 - 1.58 (m, 4H), 1.35 (s, 3H). LCMS (ES API) MH⁺ = 451.

[0292] 실시예 10: 5-(1H-이미다졸-1-일)-N-((1r,4r)-4-((3,3,3-트리플루오로-2-하이드록시-2-메틸프로필)아미노)사이클로헥실)-1H-인돌-7-카르복사미드

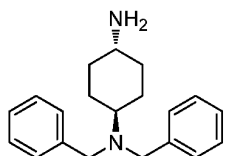
[0293] A. 3차-부틸 ((1r,4r)-4-(디벤질아미노)사이클로헥실)카르바메이트



[0294]

[0295] 아세트니트릴 (15 mL) 중에 현탁된 3차-부틸 ((1r,4r)-4-아미노사이클로헥실)카르바메이트 (1.0 g, 4.67 mmol), 벤질 브로마이드 (1.2 mL, 10.09 mmol) 및 K₂CO₃ (1.612 g, 11.67 mmol)를 80℃로 밤새 가열하였다. 실온으로 냉각 후, 용액을 여과하고 에틸 아세테이트로 세척하였다. 이를 15% 에틸 아세테이트/헵탄으로 용리시킨 ISCO Combiflash (40 g 컬럼)를 통한 실리카 겔 크로마토그래피에 의해 정제하여 백색 고형물을 3차-부틸 ((1r,4r)-4-(디벤질아미노)사이클로헥실)카르바메이트 (1.42 g, 3.60 mmol)로서 제공하였다. ¹H NMR (CDCl₃) δ: 7.33 - 7.39 (m, 4H), 7.28 - 7.33 (m, 4H), 7.18 - 7.23 (m, 2H), 3.62 (s, 4H), 2.49 (t, J = 11.5 Hz, 1H), 2.03 (d, J = 11.3 Hz, 2H), 1.91 (d, J = 12.0 Hz, 2H), 1.40 - 1.53 (m, 11H), 1.02 (m, J = 12.0 Hz, 2H). LCMS (ES API) MH⁺ = 395

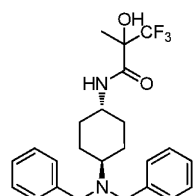
[0296] B. (1r,4r)-N1,N1-디벤질사이클로헥산-1,4-디아민



[0297]

[0298] 3차-부틸 ((1r,4r)-4-(디벤질아미노)사이클로헥실)카르바메이트 (1.4 g, 3.55 mmol)를 디옥산 (15 mL) 및 디옥산 중의 HCl (5 mL, 20.0 mmol)의 4.0 M 용액에서 교반하였다. 반응물을 실온에서 2시간 동안 교반되게 하였으며, 반응이 관찰되지 않았다. 따라서, 메탄올 (10 mL)을 첨가하고 1.5시간 동안 계속 교반시킨 후, 감압하에 농축시켰다. 백색의 고무질의 고형물을 DCM 중에 취하고 포화된 수성 포타슘 카르보네이트 (3 mL)로 세척하였다. 층을 분리하고 혼탁한 유기 층을 에틸 아세테이트로 희석하고, 이어서 소듐 설페이트 상에서 건조시키고, 여과하고 감압하에 농축하여 백색 고형물을 (1r,4r)-N1,N1-디벤질사이클로헥산-1,4-디아민 (1.09 g, 3.70 mmol)으로서 수득하였다. ¹H NMR (MeOH-d₄) δ: 7.35 (d, J = 7.43 Hz, 4H), 7.26 (t, J = 7.43 Hz, 4H), 7.15 - 7.21 (m, 2H), 3.60 (s, 4H), 2.44 - 2.61 (m, 2H), 1.88 (d, J = 10.6 Hz, 4H), 1.40 - 1.56 (m, 2H), 0.95 - 1.09 (m, 2H). LCMS (ES API) MH⁺ = 383.

[0299] C. N-((1r,4r)-4-(디벤질아미노)사이클로헥실)-3,3,3-트리플루오로-2-하이드록시-2-메틸프로판아미드

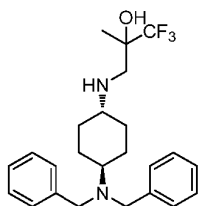


[0300]

[0301] (1r,4r)-N1,N1-디벤질사이클로헥산-1,4-디아민 (0.95 g, 3.23 mmol)을 DMF (31 mL) 중에서 교반시키고 이어서 HATU (1.472 g, 3.87 mmol), 3,3,3-트리플루오로-2-하이드록시-2-메틸프로판산 (0.561 g, 3.55 mmol) 및 DIPEA (1 mL, 5.73 mmol)을 첨가하였다. 반응물을 실온에서 밤새 교반되게 한 후, DCM으로 희석하고 포화된 수성 소듐 바이카르보네이트, 물 및 염수로 세척하였다. 유기물을 소듐 설페이트 상에서 건조시키고, 여과하고 감압하에 농축하였다. 잔류물을 20-60% 에틸 아세테이트/헵탄으로부터의 구배로 용리시킨 ISCO Combiflash (24 g 컬럼)에 의한 실리카 겔 크로마토그래피에 의해 정제하였다. 회수된 분획물은 N-((1r,4r)-4-(디벤질아미노)사이클로헥실)-3,3,3-트리플루오로-2-하이드록시-2-메틸프로판아미드 (1.09 g, 2.509 mmol)로서 백색 고형물을 생성

하였다. LCMS (ES API) MH⁺ = 435.

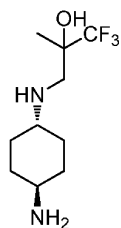
[0302] D. 3-(((1r,4r)-4-(디벤질아미노)사이클로헥실)아미노)-1,1,1-트리플루오로-2-메틸프로판-2-올



[0303]

[0304] N-(((1r,4r)-4-(디벤질아미노)사이클로헥실)-3,3,3-트리플루오로-2-하이드록시-2-메틸프로판아미드 (0.5 g, 1.151 mmol)를 빙조에서 THF (3 mL) 중에서 교반하면서 BH₃·THF (3.5 mL, 3.50 mmol)의 THF 중의 1.0 M 용액을 서서히 첨가하였다. 첨가 후, 반응물을 실온으로 가온시키고 이어서 3시간 동안 50℃로 가열하였다. 반응물을 실온으로 냉각시키고, 빙조에 넣고 포화된 수성 소듐 바이카르보네이트로 켄칭시켰다. 물로 희석시킨 용액을 분리 깔때기에 붓고 에틸 아세테이트 (2x)로 추출하였다. 합친 유기물을 염수로 세척하고, 소듐 설페이트 상에서 건조시키고, 여과하고 감압하에 농축하였다. 잔류물을 15-60% 에틸 아세테이트/헵탄로부터의 구배로 용리시킨 ISCO Combiflash (24 g 컬럼)를 통해 실리카 겔 크로마토그래피에 의해 정제하여 3-(((1r,4r)-4-(디벤질아미노)사이클로헥실)아미노)-1,1,1-트리플루오로-2-메틸프로판-2-올 (0.103 g, 0.245 mmol)을 제공하였다. LCMS (ELSD) MH⁺ = 421.

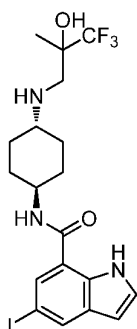
[0305] E. 3-(((1r,4r)-4-아미노사이클로헥실)아미노)-1,1,1-트리플루오로-2-메틸프로판-2-올



[0306]

[0307] EtOH (2.5 mL) 중에서 교반시킨 3-(((1r,4r)-4-(디벤질아미노)사이클로헥실)아미노)-1,1,1-트리플루오로-2-메틸프로판-2-올 (0.1 g, 0.238 mmol) 및 20 wt% 펄만 촉매 (0.017 g, 0.024 mmol)를 밤새 벌룬을 통해 수소화시켰다. 반응물을 셀라이트 패드를 통해 여과하고 에틸 아세테이트로 세척하였다. 여과물을 감압하에 농축하여 3-(((1r,4r)-4-아미노사이클로헥실)아미노)-1,1,1-트리플루오로-2-메틸프로판-2-올 (50.7 mg, 0.211 mmol)을 제공하였다. ¹H NMR (CDCl₃) δ: 3.46 (s, 1H), 3.17 (d, J = 13.3 Hz, 1H), 2.62 - 2.72 (m, 1H), 2.35 - 2.43 (m, 2H), 1.84 - 1.99 (m, 4H), 1.29 (s, 3H), 1.07 - 1.19 (m, 4H). LCMS (ESLD) MH⁺ = 241.

[0308] F. 5-아이오도-N-(((1r,4r)-4-((3,3,3-트리플루오로-2-하이드록시-2-메틸프로필)아미노)사이클로헥실)-1H-인돌-7-카르복사미드

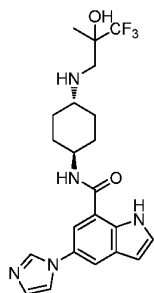


[0309]

[0310] 5-아이오도-1H-인돌-7-카르복실산 (0.054 g, 0.187 mmol)를 DMF (2 mL) 중에 교반시킨 후, DIPEA (0.10 mL, 0.573 mmol) 이어서 HATU (0.075 g, 0.198 mmol)를 첨가하였다. 반응물을 실온에서 ~10분 동안 교반시키면서 3-(((1r,4r)-4-아미노사이클로헥실)아미노)-1,1,1-트리플루오로-2-메틸프로판-2-올 (0.05g, 0.208 mmol)을 첨가하고 밤새 교반하였다. 반응물을 물로 희석하고 디에틸 에테르 (2x)로 추출하였다. 합친 유기물을 염수로

세척하고, 소듐 설페이트 상에서 건조시키고, 여과하고 감압하에 농축하였다. 잔류물을 30-50% 에틸 아세테이트/헥산으로부터의 구배로 용리시킨 ISCO Combiflash (12 g 컬럼)를 통한 실리카 겔 크로마토그래피에 의해 정제하여 백색 고형물을 5-아이오도-N-((1r,4r)-4-((3,3,3-트리플루오로-2-하이드록시-2-메틸프로필)아미노)사이클로헥실)-1H-인돌-7-카르복사미드 (104 mg, 0.204 mmol)로서 제공하였다. ¹H NMR (MeOH-*d*₄) δ: 8.06 (d, *J* = 1.51 Hz, 1H) 7.86 (d, *J* = 1.00 Hz, 1H) 7.33 (d, *J* = 3.26 Hz, 1H) 6.46 (d, *J* = 3.26 Hz, 1H) 3.88 - 3.97 (m, 1H) 2.92 (d, *J* = 12.3 Hz, 1H) 2.81 (s, 3H) 2.69 (d, *J* = 12.3 Hz, 1H) 2.45 - 2.54 (m, 1H) 2.01 - 2.06 (m, 4H) 1.42 - 1.51 (m, 2H) 1.36 (s, 3H) 1.24 - 1.34 (m, 2H).

[0311] G. 5-(1H-이미다졸-1-일)-N-((1r,4r)-4-((3,3,3-트리플루오로-2-하이드록시-2-메틸프로필)아미노)사이클로헥실)-1H-인돌-7-카르복사미드

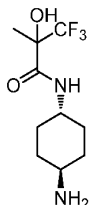


[0312]

[0313] NMP (1 mL) 중의 5-아이오도-N-((1r,4r)-4-((3,3,3-트리플루오로-2-하이드록시-2-메틸프로필)아미노)사이클로헥실)-1H-인돌-7-카르복사미드 (0.10 g, 0.196 mmol), 이미다졸 (0.045 g, 0.654 mmol), K₂CO₃ (0.090 g, 0.654 mmol), 및 구리(I) 아이오다이드 (8.31 mg, 0.044 mmol)를 160℃에서 4시간 동안 마이크로파 처리하였다. 반응물을 여과하고 에틸 아세테이트로 세척하였다. 여과물을 감압하에 농축하고, 잔류물을 20-95% CH₃CN/물/NH₄OH로부터의 구배로 용리시킨 역상 C18 Agilent HPLC에 의해 정제하였다. 회수된 분획물을 감압하에 농축하여 갈색 고체 잔류물을 5-(1H-이미다졸-1-일)-N-((1r,4r)-4-((3,3,3-트리플루오로-2-하이드록시-2-메틸프로필)아미노)사이클로헥실)-1H-인돌-7-카르복사미드 (19.8 mg, 0.040 mmol)로서 회수하였다. ¹H NMR (MeOH-*d*₄) δ: 1.26 - 1.38 (m, 5H) 1.41 - 1.57 (m, 2H) 2.06 (t, *J* = 10.3 Hz, 4H) 2.43 - 2.53 (m, 1H) 2.69 (d, *J* = 12.6 Hz, 1H) 2.92 (d, *J* = 12.3 Hz, 1H) 3.92 - 4.03 (m, 1H) 6.62 (d, *J* = 3.26 Hz, 1H) 7.18 (br. s., 1H) 7.47 (d, *J* = 3.26 Hz, 1H) 7.60 (br. s., 1H) 7.78 (d, *J* = 1.25 Hz, 1H) 7.89 (d, *J* = 1.51 Hz, 1H) 8.12 (br. s., 1H) LCMS (ESI) M⁺ = 450.

[0314] 실시예 11: 5-(1H-이미다졸-1-일)-N-((1r,4r)-4-(3,3,3-트리플루오로-2-하이드록시-2-메틸프로판아미도)사이클로헥실)-1H-인돌-7-카르복사미드

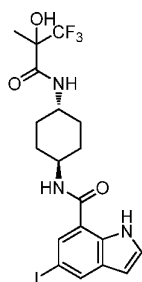
[0315] A. N-((1r,4r)-4-아미노사이클로헥실)-3,3,3-트리플루오로-2-하이드록시-2-메틸프로판아미드



[0316]

[0317] EtOH (16 mL) 중의 N-((1r,4r)-4-(디벤질아미노)사이클로헥실)-3,3,3-트리플루오로-2-하이드록시-2-메틸프로판아미드 (0.69 g, 1.588 mmol) 및 20 wt% 펄만 촉매 (0.223 g, 0.318 mmol)를 벌룬을 통해 수소로 피징시키고 밤새 실온에서 교반하였다. 반응물을 셀라이트를 통해 여과하고 에틸 아세테이트로 세척하였다. 여과물을 감압하에 농축하여 고형물을 N-((1r,4r)-4-아미노사이클로헥실)-3,3,3-트리플루오로-2-하이드록시-2-메틸프로판아미드 (455 mg, 1.790 mmol)로서 생성시켰다. LCMS (ELSD) MH⁺ = 255.

[0318] B. 5-아이오도-N-((1r,4r)-4-(3,3,3-트리플루오로-2-하이드록시-2-메틸프로판아미도)사이클로헥실)-1H-인돌-7-카르복사미드



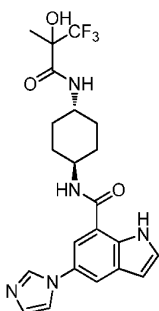
[0319]

[0320]

5-아이오도-1H-인돌-7-카르복실산 (0.2 g, 0.697 mmol)을 DMF (6 mL) 중에 교반시키고, 그 후 DIPEA (0.365 mL, 2.090 mmol) 이어서 HATU (0.30 g, 0.789 mmol)를 첨가하였다. 반응물을 실온에서 ~10분 동안 교반시키면서 N-((1r,4r)-4-아미노사이클로헥실)-3,3,3-트리플루오로-2-하이드록시-2-메틸프로판아미드 (0.213 g, 0.836 mmol)를 첨가하고, 반응물을 밤새 교반하였다. 반응물을 물로 희석하고 디에틸 에테르 (2x)로 추출하였다. 합친 유기물을 염수로 세척하고, 소듐 설페이트 상에서 건조시키고, 여과하고 감압하에 농축하여 고형화되는 초기 갈색 오일을 5-아이오도-N-((1r,4r)-4-(3,3,3-트리플루오로-2-하이드록시-2-메틸프로판아미도)사이클로헥실)-1H-인돌-7-카르복사미드 (0.40 g, 0.764 mmol)로서 제공하였다. ¹H NMR (MeOH-*d*₄) δ: 1.51 - 1.57 (m, 4H) 1.96 (d, *J* = 6.02 Hz, 1H) 2.05 (d, *J* = 6.02 Hz, 1H) 2.81 (s, 2H) 3.68 - 3.80 (m, 1H) 3.95 (d, *J* = 3.76 Hz, 1H) 6.47 (d, *J* = 3.01 Hz, 1H) 7.33 (d, *J* = 3.26 Hz, 1H) 7.86 (d, *J* = 1.25 Hz, 1H) 8.07 (d, *J* = 1.25 Hz, 1H). LCMS (ES API) M⁺ = 524.

[0321]

C. 5-(1H-이미다졸-1-일)-N-((1r,4r)-4-(3,3,3-트리플루오로-2-하이드록시-2-메틸프로판아미도)사이클로헥실)-1H-인돌-7-카르복사미드



[0322]

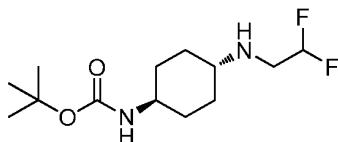
[0323]

NMP (3 mL) 중의 5-아이오도-N-((1r,4r)-4-(3,3,3-트리플루오로-2-하이드록시-2-메틸프로판아미도)사이클로헥실)-1H-인돌-7-카르복사미드 (0.40 g, 0.764 mmol), 이미다졸 (0.16 g, 2.350 mmol), K₂CO₃ (0.32 g, 2.315 mmol), 및 구리(I) 아이오다이드 (0.03 g, 0.158 mmol)를 오일조에서 밤새 150°C에서 교반하였다. 반응물을 셀라이트 패드를 통해 여과하고 에틸 아세테이트로 세척하였다. 여과물을 감압하에 농축하고 20-95% CH₃CN/물/0.1% NH₄OH로부터의 구배로 용리시킨 역상 C18 Agilent HPLC에 의해 정제하였다. 회수된 분획물을 감압하에 농축하고, 이어서 디에틸 에테르/에틸 아세테이트로 분쇄하여 황갈색 고형물을 5-(1H-이미다졸-1-일)-N-((1r,4r)-4-(3,3,3-트리플루오로-2-하이드록시-2-메틸프로판아미도)사이클로헥실)-1H-인돌-7-카르복사미드 (124.6 mg, 0.269 mmol)로서 수득하였다. ¹H NMR (MeOH-*d*₄) δ: 1.50 - 1.62 (m, 7H) 1.97 (br. s., 2H) 2.10 (br. s., 2H) 3.35 (br. s., 1H) 6.62 (d, *J* = 3.01 Hz, 1H) 7.16 (br. s., 1H) 7.48 (d, *J* = 3.26 Hz, 1H) 7.59 (br. s., 1H) 7.79 (d, *J* = 1.76 Hz, 1H) 7.91 (d, *J* = 2.01 Hz, 1H) 8.11 (br. s., 1H), 한 양성자는 MeOD 피크 하에 숨겨짐. LC-MS (ES API) MH⁺ = 464.

[0324]

실시예 12: N-((1r,4r)-4-((2,2-디플루오로에틸)아미노)사이클로헥실)-5-(1H-이미다졸-1-일)-1H-인돌-7-카르복사미드

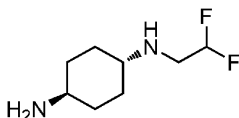
[0325] A. 3차-부틸 (트랜스-4-((2,2-디플루오로에틸)아미노)사이클로헥실)카르바메이트



[0326]

[0327] N,N-디이소프로필에틸아민 (1.63 mL, 9.33 mmol)을 1,4-디옥산 (7.70 mL) 중의 3차-부틸 (트랜스-4-아미노사이클로헥실)카르바메이트 (1.00 g, 4.67 mmol)에 실온에서 첨가하고 이어서 2,2-디플루오로에틸 트리플루오로메탄 설포네이트 (1.20 g, 5.60 mmol)를 첨가하고, 반응 혼합물을 70°C에서 16시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 농축하고 잔류물을 에틸 아세테이트:헥산 (3:2)으로 용리시킨 실리카 겔 크로마토그래피에 의해 정제하여 3차-부틸 (트랜스-4-((2,2-디플루오로에틸)아미노)사이클로헥실)카르바메이트 (0.791 g, 2.70 mmol)를 제공하였다. ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 6.68 (d, 1H, $J = 8$ Hz), 5.90 (tt, 1H, $J = 56, 5$ Hz), 3.20-3.06 (m, 1H), 2.85 (tt, 2H, $J = 16, 5$ Hz), 2.34-2.22 (m, 1H), 1.82 (br d, 2H, $J = 12$ Hz), 1.80-1.66 (m, 3H), 1.35 (s, 9H), 1.11 (dq, 2H, $J = 14, 3$ Hz), 0.97 (dq, 2H, $J = 13, 3$ Hz). LCMS: (ESI) $\text{M}+\text{H} = 279$.

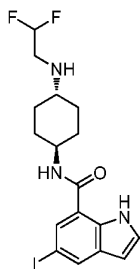
[0328] B. 트랜스-N1-(2,2-디플루오로에틸)사이클로헥산-1,4-디아민 디하이드로클로라이드



[0329]

[0330] 디옥산 중의 4.0 M 염산 (7.10 mL, 28.4 mmol)을 메탄올 (7.10 mL) 중의 3차-부틸 (트랜스-4-((2,2-디플루오로에틸)아미노)사이클로헥실)카르바메이트 (0.791 g, 2.84 mmol)에 실온에서 첨가하고, 반응 혼합물을 20시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 농축하여 트랜스-N1-(2,2-디플루오로에틸)사이클로헥산-1,4-디아민 디하이드로클로라이드 (0.705 g, 2.67 mmol)를 제공하였다. ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 9.61 (br s, 2H), 8.10 (br s, 3H), 6.48 (tt, 1H, $J = 54, 3$ Hz), 3.58-3.32 (m, 2H), 3.10-2.88 (m, 2H), 2.13 (br d, 2H, $J = 11$ Hz), 2.01 (br d, 2H, $J = 11$ Hz), 1.45 (q, 2H, $J = 13$ Hz), 1.35 (q, 2H, $J = 13$ Hz); LCMS: (ESI) $\text{M}+\text{H} = 179$.

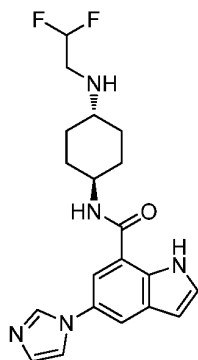
[0331] C. N-((1r,4r)-4-((2,2-디플루오로에틸)아미노)사이클로헥실)-5-아이오도-1H-인돌-7-카르복사미드



[0332]

[0333] 5-아이오도-1H-인돌-7-카르복실산 (0.20 g, 0.697 mmol)을 DMF (6.4 mL) 중에서 교반한 후, DIPEA (0.61 mL, 3.48 mmol) 이어서 HATU (0.306 g, 0.805 mmol)를 첨가하였다. 반응물을 실온에서 ~10분 동안 교반하면서 (1r,4r)-N1-(2,2-디플루오로에틸)사이클로헥산-1,4-디아민 (0.216 g, 0.860 mmol)을 첨가하고 반응물을 동일한 조건하에서 밤새 계속해서 교반하였다. 반응물을 물로 희석하고, 침전물을 형성시키고, 이를 수집하고 진공하에 건조시켜 황갈색 고형물을 N-((1r,4r)-4-((2,2-디플루오로에틸)아미노)사이클로헥실)-5-아이오도-1H-인돌-7-카르복사미드 (0.213g, 0.476 mmol)로서 제공하였다. ^1H NMR ($\text{MeOH}-d_4$) δ : 8.06 (s, 1H) 7.85 (s, 1H) 7.33 (d, $J = 3.26$ Hz, 1H) 6.47 (d, $J = 3.01$ Hz, 1H) 5.73 - 6.07 (m, 1H) 3.93 (t, $J = 11.7$ Hz, 1H) 2.99 (td, $J = 15.4, 4.27$ Hz, 2H) 2.55 (t, $J = 11.0$ Hz, 1H) 2.05 (d, $J = 10.0$ Hz, 4H) 1.42 - 1.55 (m, 2H) 1.22 - 1.35 (m, 2H). LCMS (ES API) $\text{MH}^+ = 448$

[0334] D. N-((1r,4r)-4-((2,2-디플루오로에틸)아미노)사이클로헥실)-5-(1H-이미다졸-1-일)-1H-인돌-7-카르복사미드

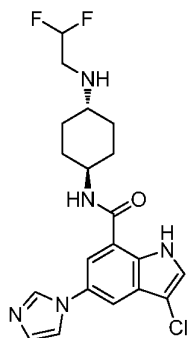


[0335]

[0336] NMP (2 mL) 중의 N-((1r,4r)-4-((2,2-디플루오로에틸)아미노)사이클로헥실)-5-아이오도-1H-인돌-7-카르복사미드 (0.2 g, 0.447 mmol), 이미다졸 (0.091 g, 1.341 mmol), K₂CO₃ (0.185 g, 1.341 mmol), 및 구리(I) 아이오다이드 (0.017 g, 0.089 mmol)를 오일조에서 150℃에서 밤새 교반하였다. 반응물을 셀라이트 패드를 통해 여과하고 에틸 아세테이트로 세척하였다. 여과물을 감압하에 농축하고 20-95% ACN:물:0.1% NH₄OH로부터의 구배로 용리시킨 역상 C18 Agilent HPLC에 의해 정제하였다. 회수된 분획물을 감압하에 농축하고, 그 후 Et₂O/EtOAc로 분쇄하여 황갈색 고형물을 N-((1r,4r)-4-((2,2-디플루오로에틸)아미노)사이클로헥실)-5-(1H-이미다졸-1-일)-1H-인돌-7-카르복사미드 (45.4 mg, 0.111 mmol)로서 수득하였다. ¹H NMR (MeOH-*d*₄) δ: 8.11 (s, 1 H) 7.90 (d, *J* = 1.76 Hz, 1 H) 7.78 (d, *J* = 1.76 Hz, 1H), 7.59 (s, 1H) 7.47 (d, *J* = 3.01 Hz, 1H) 7.16 (s, 1H) 6.62 (d, *J* = 3.01 Hz, 1H) 5.74 - 6.08 (m, 1H) 3.92 - 4.04 (m, 1H) 2.99 (td, *J* = 15.6, 4.27 Hz, 2H) 2.51 - 2.59 (m, 1H) 2.08 (d, *J* = 9.79 Hz, 4H) 1.42 - 1.56 (m, 2H) 1.24 - 1.38 (m, 2H). LC-MS (ES API) MH⁺ = 390

[0337] **실시예 13:** 3-클로로-N-((1r,4r)-4-((2,2-디플루오로에틸)아미노)사이클로헥실)-5-(1H-이미다졸-1-일)-1H-인돌-7-카르복사미드

[0338] A. 3-클로로-N-((1r,4r)-4-((2,2-디플루오로에틸)아미노)사이클로헥실)-5-(1H-이미다졸-1-일)-1H-인돌-7-카르복사미드



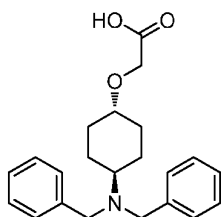
[0339]

[0340] N-((1r,4r)-4-((2,2-디플루오로에틸)아미노)사이클로헥실)-5-(1H-이미다졸-1-일)-1H-인돌-7-카르복사미드 (0.023 g, 0.059 mmol)를 DMF (0.5 mL) 중에서 교반하고, 이어서 DMF (0.5 mL) 중에 용해시킨 NCS (8.72 mg, 0.065 mmol)를 첨가하였다. 반응물을 실온에서 60℃에서 밤새 교반되게 하였다. 추가의 NCS (8.72 mg, 0.065 mmol)를 첨가하고, 반응물을 동일한 온도에서 밤새 교반시켰다. 반응물을 20-80% ACN:물:0.1%NH₄OH로부터의 구배로 용리시킨 역상 Agilent HPLC에 의해 정제하였다. 회수된 분획물을 감압하에 농축한 후 3-클로로-N-((1r,4r)-4-((2,2-디플루오로에틸)아미노)사이클로헥실)-5-(1H-이미다졸-1-일)-1H-인돌-7-카르복사미드 (2 mg, 3.79 μmol)로써의 황갈색 고형물로 동결건조시켰다. ¹H NMR (MeOH-*d*₄) δ: 7.93 - 8.06 (m, 1H) 7.73 (s, 2H) 7.36 - 7.44 (m, 2H) 7.17 (br. s., 1H) 5.71 - 6.10 (m, 1H) 3.89 - 4.04 (m, 1H) 3.02 (td, *J* 15.1, 4.14 Hz, 2H) 2.56 - 2.65 (m, 1H) 2.07 (t, *J* = 13.9 Hz, 4H) 1.25 - 1.47 (m, 4H). LCMS (ES API) MH⁺ = 422.

[0341] **실시예 14:** N-((1r,4r)-4-(2-하이드록시-3-메틸부톡시)사이클로헥실)-5-(1H-이미다졸-1-일)-1H-인돌-7-카르복사

미드

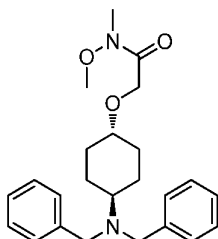
[0342] A. 2-(((1r,4r)-4-(디벤질아미노)사이클로헥실)옥시)아세트산 하이드로클로라이드



[0343]

[0344] 3차-부틸 2-(((1r,4r)-4-(디벤질아미노)사이클로헥실)옥시)아세테이트 (10 g, 24.42 mmol)를 DCM (200 mL) 및 TFA (30 mL) 중에서 실온에서 2시간 동안 교반시킨 후 감압하에 농축하였다. 잔류물을 디옥산 (15mL) 중에 취하고 HCl의 4.0 M 디옥산 용액을 첨가하였다. 용액을 빙조에서 냉각시키고 5분 동안 교반한 후 디에틸 에테르 (30 mL)를 첨가하였다. 백색 침전물이 형성되었으며, 현탁액을 빙조에서 추가의 30분 동안 교반시킨 후 여과하였다. 백색 고형물을 일부 잔여의 디옥산을 지닌 2-(((1r,4r)-4-(디벤질아미노)사이클로헥실)옥시)아세트산 하이드로클로라이드 (10.34 g, 26.5 mmol)로서 수집하였다. ¹H NMR (MeOH-*d*₄) δ: 7.44 - 7.52 (m, 6H), 7.37 - 7.43 (m, 4H), 4.53 (d, *J* = 13.3 Hz, 2H), 4.27 (d, *J* = 13.3 Hz, 2H), 4.13 (s, 2H), 3.40 - 3.50 (m, 1H), 3.19 - 3.28 (m, 1H), 2.30 (d, *J* = 10.5 Hz, 2H), 2.21 (d, *J* = 12.3 Hz, 2H), 1.88 (qd, *J* = 12.6, 2.26 Hz, 2H), 1.29 (q, 2H). LCMS (ES API) MH⁺ = 354.

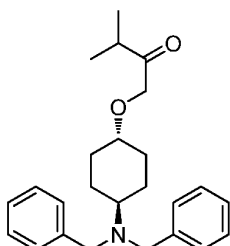
[0345] B. 2-(((1r,4r)-4-(디벤질아미노)사이클로헥실)옥시)-N-메톡시-N-메틸아세트아미드



[0346]

[0347] 2-(((1r,4r)-4-(디벤질아미노)사이클로헥실)옥시)아세트산 (5.0 g, 14.15 mmol) 및 N,O-디메틸하이드록실아민 하이드로클로라이드 (2.07 g, 21.2 mmol)를 DMF (100 mL) 중에 교반시키고, 이어서 HATU (6.45 g, 16.98 mmol) 및 DIPEA (7.5 mL, 42.9 mmol)를 첨가하였다. 반응물을 실온에서 밤새 교반되게 한 후, 물로 희석하고 에틸 아세테이트로 추출하였다. 수성 상을 분리하고 에틸 아세테이트 (1x)로 추출하였다. 합친 유기물을 염수로 세척하고, 소듐 설페이트 상에서 건조시키고, 여과하고 감압하에 농축하였다. 잔류물을 15-50% 에틸 아세테이트:헵탄으로부터의 구배로 용리시킨 실리카 겔 크로마토그래피에 의해 정제하였다. 컬럼의 시작으로부터 분획물을 회수하여 백색 고형물을 생성물로서 제공하였다. 그 후, 컬럼을 2-10% MeOH:DCM로부터의 구배로 플러싱시켜 황색 고형물을 일부 미량의 불순물을 갖는 생성물로서 제공하였다. 회수된 물질을 합쳐 2-(((1r,4r)-4-(디벤질아미노)사이클로헥실)옥시)-N-메톡시-N-메틸아세트아미드 (1.28 g, 3.23 mmol)를 수득하였다. ¹H NMR (MeOH-*d*₄) δ: 1.05 - 1.21 (m, 2H) 1.38 - 1.53 (m, 2H) 1.91 (d, *J* = 12.3 Hz, 2H) 2.12 (d, *J* = 12.0 Hz, 2H) 2.50 (tt, *J* = 11.76, 3.29 Hz, 1H) 3.17 (s, 3H) 3.59 (s, 4H) 3.71 (s, 3H) 4.29 (br. s., 2H) 7.14 - 7.22 (m, 2H) 7.26 (t, *J* = 7.40 Hz, 4H) 7.31 - 7.38 (m, 4H). LCMS (ES API) MH⁺ = 397.

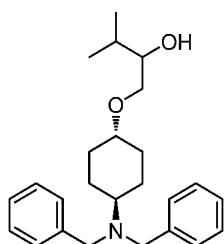
[0348] C. 1-(((1r,4r)-4-(디벤질아미노)사이클로헥실)옥시)-3-메틸부탄-2-온



[0349]

[0350] 2-(((1r,4r)-4-(디벤질아미노)사이클로헥실)옥시)-N-메톡시-N-메틸아세트아미드 (1.2 g, 3.03 mmol)를 THF (10 mL) 중에서 질소하에 교반시킨 후, 이소프로필마그네슘 클로라이드 (3.5 mL, 4.55 mmol)의 THF 중 1.3 M 용액을 서서히 첨가하였다. 반응물을 ~10분 동안 동일한 온도에서 교반되게 한 후 실온으로 가온시키고 1시간 동안 교반하였다. 반응물을 빙조에 넣고 포화된 수성 NH_4Cl 로 켄칭시키고, 이어서 분리 깔때기에 붓고 물로 희석하였다. 유기물을 에틸 아세테이트로 추출하고 물 이어서 염수로 세척하였다. 유기물을 소듐 설페이트 상에서 건조시키고, 여과하고 감압하에 농축하여 황색 오일을 1-(((1r,4r)-4-(디벤질아미노)사이클로헥실)옥시)-3-메틸부탄-2-온 (1.18 g, 3.11 mmol)으로서 수득하였다. ^1H NMR ($\text{MeOH}-d_4$) δ : 1.03 - 1.19 (m, 8H) 1.37 - 1.51 (m, 2H) 1.90 (d, J = 12.6 Hz, 2H) 2.09 (d, J = 11.8 Hz, 2H) 2.50 (tt, J = 11.8, 3.29 Hz, 1H) 2.72 - 2.79 (m, 1H) 3.23 (tt, J = 10.9, 4.02 Hz, 1H) 3.59 (s, 4H) 4.22 (s, 2H) 7.15 - 7.21 (m, 2H) 7.26 (t, J = 7.40 Hz, 4H) 7.31 - 7.37 (m, 4H). LCMS (ES API) MH^+ = 381.

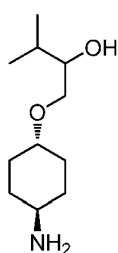
[0351] D. 1-(((1r,4r)-4-(디벤질아미노)사이클로헥실)옥시)-3-메틸부탄-2-올



[0352]

[0353] 1-(((1r,4r)-4-(디벤질아미노)사이클로헥실)옥시)-3-메틸부탄-2-온 (0.558 g, 1.470 mmol)을 질소하에 빙조에 서서 THF (3.5 mL) 중에서 교반한 후, LAH (1.5 mL, 1.5 mmol)의 THF 중 1.0 M 용액을 서서히 첨가하였다. 반응물을 1시간 동안 교반되게 한 후 물 (0.05 mL), 15% 수성 NaOH (0.05 mL) 이어서 물 (0.15 mL)로 켄칭하였다. 켄칭 후, 반응물을 에틸 아세테이트로 희석하고 물 이어서 염수로 세척하였다. 유기물을 소듐 설페이트 상에서 건조시키고, 여과하고 감압하에 농축하여 오일을 1-(((1r,4r)-4-(디벤질아미노)사이클로헥실)옥시)-3-메틸부탄-2-올 (540 mg, 1.42 mmol)로서 회수하였다. ^1H NMR (CDCl_3) δ : 0.90 (d, J = 6.78 Hz, 3H) 0.96 (d, J = 6.78 Hz, 3H) 1.12 - 1.21 (m, 2H) 1.34 - 1.45 (m, 2H) 1.69 (dq, J = 13.4, 6.76 Hz, 1H) 1.92 (d, J = 13.0 Hz, 2H) 2.04 - 2.11 (m, 2H) 2.49 - 2.59 (m, 1H) 3.19 (tt, J = 10.8, 4.20 Hz, 1H) 3.26 - 3.34 (m, 1H) 3.43 (ddt, J = 8.41, 5.90, 2.89, 2.89 Hz, 1H) 3.53 (dd, J = 9.16, 2.89 Hz, 1H) 3.62 (s, 4H) 7.19 - 7.24 (m, 2H) 7.27 - 7.32 (m, 4H) 7.33 - 7.39 (m, 4H). LCMS (ES API) MH^+ = 382.

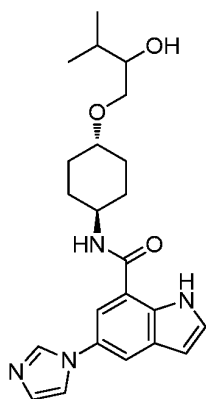
[0354] E. 1-(((1r,4r)-4-아미노사이클로헥실)옥시)-3-메틸부탄-2-올



[0355]

[0356] EtOH (15 mL) 중에 교반시킨 1-(((1r,4r)-4-(디벤질아미노)사이클로헥실)옥시)-3-메틸부탄-2-올 (0.54 g, 1.415 mmol) 및 20 wt% 팔만 촉매 (0.199 g, 0.283 mmol)를 2시간 동안 별분을 통해 수소화시켰다. 반응물을 셀라이트를 통해 여과하고 패드를 에틸 아세테이트로 린싱하였다. 여과물을 감압하에 농축하여 무색 오일을 1-(((1r,4r)-4-아미노사이클로헥실)옥시)-3-메틸부탄-2-올 (0.258 g, 1.282 mmol)로서 제공하였다. ^1H NMR ($\text{MeOH}-d_4$) δ : 3.48 - 3.57 (m, 1H) 3.38 - 3.44 (m, 2H) 3.21 - 3.29 (m, 1H) 2.64 (tt, J = 10.6, 3.92 Hz, 1H) 2.01 - 2.09 (m, 2H) 1.85 - 1.94 (m, 2H) 1.68 - 1.80 (m, 1H) 1.11 - 1.34 (m, 4H) 0.93 (d, J = 7.03 Hz, 6H).

[0357] F. N-((1r,4r)-4-(2-하이드록시-3-메틸부톡시)사이클로헥실)-5-(1H-이미다졸-1-일)-1H-인돌-7-카르복사미드



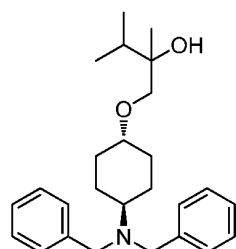
[0358]

[0359] 5-아이오도-1H-인돌-7-카르복실산 (75 mg, 0.261 mmol)을 DMF (2.5 mL) 중에 교반한 후, DIPEA (0.14 mL, 0.802 mmol) 이어서 HATU (0.109 g, 0.287 mmol)를 첨가하였다. 반응물을 실온에서 ~10분 동안 교반시키면서 1-(((1r,4r)-4-아미노사이클로헥실)옥시)-3-메틸부탄-2-올 (0.056 g, 0.278 mmol)를 첨가하고, 반응물을 동일한 조건하에 밤새 교반하였다. 반응물을 물로 희석하고 에틸 아세테이트로 추출하였다. 에틸 아세테이트를 소듐 바이카르보네이트 이어서 염수로 세척하였다. 유기물을 소듐 설페이트 상에서 건조시키고, 여과하고 감압하에 농축하여 황금색 오일을 미정제 N-((1r,4r)-4-(2-하이드록시-3-메틸부톡시)사이클로헥실)-5-아이오도-1H-인돌-7-카르복사미드로서 제공하였다. LCMS (ES API) MH⁺ = 471.

[0360] NMP (2.5 mL) 중의 미정제 N-((1r,4r)-4-(2-하이드록시-3-메틸부톡시)사이클로헥실)-5-아이오도-1H-인돌-7-카르복사미드, 이미다졸 (0.053 g, 0.784 mmol), K₂CO₃ (0.108 g, 0.784 mmol), 및 구리(I) 아이오다이드 (9.95 mg, 0.052 mmol)를 150°C에서 밤새 교반하였다. 반응물을 실온으로 냉각시키고 셀라이트 패드를 통해 여과하였다. 여과물을 감압하에 농축하여 20-80% ACN:물:0.1% NH₄OH로부터의 구배로 용리시킨 역상 C18 Agilent HPLC에 의해 정제하였다. 회수된 물질을 디에틸 에테르로 분쇄하여 갈색 고형물을 N-((1r,4r)-4-(2-하이드록시-3-메틸부톡시)사이클로헥실)-5-(1H-이미다졸-1-일)-1H-인돌-7-카르복사미드 (19.2 mg, 0.044 mmol)로서 제공하였다. ¹H NMR (MeOH-d₄) δ: 8.12 (br. s., 1H) 7.89 (s, 1H) 7.77 (s, 1H) 7.60 (br. s., 1H) 7.47 (d, J = 3.01 Hz, 1H) 7.18 (br. s., 1H) 6.62 (d, J = 3.01 Hz, 1H) 3.97 (t, J = 10.9 Hz, 1H) 3.52 - 3.60 (m, 1H) 3.41 - 3.48 (m, 2H) 3.33 - 3.38 (m, 1H) 2.03 - 2.20 (m, 4H) 1.71 - 1.82 (m, 1H) 1.34 - 1.58 (m, 4H), 0.94 (d, J = 6.78 Hz, 6H). LCMS (ES API) MH⁺ = 411.

[0361] **실시예 15: N-((1r,4r)-4-(2-사이클로프로필-2-하이드록시프로폭시)사이클로헥실)-5-(1H-이미다졸-1-일)-1H-인돌-7-카르복사미드**

[0362] A. 1-(((1r,4r)-4-(디벤질아미노)사이클로헥실)옥시)-2,3-디메틸부탄-2-올

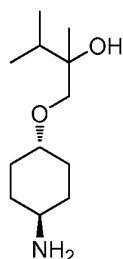


[0363]

[0364] THF (4.5 mL) 중의 1-(((1r,4r)-4-(디벤질아미노)사이클로헥실)옥시)-3-메틸부탄-2-올 (0.625 g, 1.647 mmol)을 빙조에서 질소하에 교반하면서 THF 중의 메틸마그네슘 클로라이드 (0.6 mL, 1.80 mmol)의 3.0 M 용액을 첨가하였다. 반응물을 동일한 온도에서 1시간 동안 교반되게 한 후 포화된 수성 NH₄Cl로 켄칭하였다. 반응물을 물로 희석하고 분리 깔때기에 붓고, 그 후 에틸 아세테이트로 추출하였다. 유기물을 물, 염수로 세척하고 소듐 설페이트 상에서 건조시킨 후 여과하였다. 용매를 진공하에 제거하고 황색 오일을 1-(((1r,4r)-4-(디벤질아미노)사이클로헥실)옥시)-2,3-디메틸부탄-2-올 (606 mg, 1.532 mmol)로서 생성시켰다. ¹H NMR (CDCl₃) δ: 0.85 (d, J = 7.03 Hz, 3H) 0.93 (d, J = 7.03 Hz, 3H) 1.02 (s, 3H) 1.10 - 1.21 (m, 2H) 1.33 - 1.46 (m, 2H)

1.80 (spt, $J = 6.90$ Hz, 1H) 1.88 - 1.98 (m, 2H) 2.03 - 2.10 (m, 2H) 2.53 (tt, $J = 11.6, 3.20$ Hz, 1H) 3.17 (tt, $J = 10.8, 4.20$ Hz, 1H) 3.23 (d, $J = 8.78$ Hz, 1H) 3.38 (d, $J = 8.78$ Hz, 1H) 3.62 (s, 4H) 7.18 - 7.24 (m, 2H) 7.27 - 7.32 (m, 4H) 7.34 - 7.39 (m, 4H). LCMS (ES API) $MH^+ = 396$.

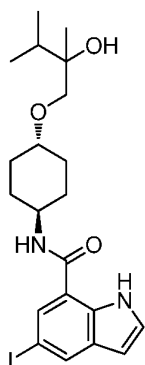
[0365] B. 1-(((1r,4r)-4-아미노사이클로헥실)옥시)-2,3-디메틸부탄-2-올



[0366]

[0367] 에탄올 (15 mL) 중에 교반시킨 1-(((1r,4r)-4-(디벤질아미노)사이클로헥실)옥시)-2,3-디메틸부탄-2-올 (0.60 g, 1.517 mmol) 및 20 wt%의 펄판 촉매 (0.213 g, 0.303 mmol)를 2시간 동안 벌룬을 통해 수소화시켰다. 그 후, 반응물을 셀라이트 패드를 통해 여과하고 패드를 에틸 아세테이트로 린싱하였다. 여과물을 감압하에 농축하여 무색 오일을 1-(((1r,4r)-4-아미노사이클로헥실)옥시)-2,3-디메틸부탄-2-올 (311 mg, 1.444 mmol)로서 회수하였다. 1H NMR ($MeOH-d_4$) δ : 3.32 - 3.40 (m, 2H) 3.32 - 3.40 (m, 2H) 3.18 - 3.27 (m, 1H) 2.60 - 2.70 (m, 1H) 2.00 - 2.09 (m, 2H) 1.79 - 1.94 (m, 3H) 1.12 - 1.36 (m, 4H) 1.04 (s, 3H) 0.90 (dd, $J = 16.6, 7.03$ Hz, 6H).

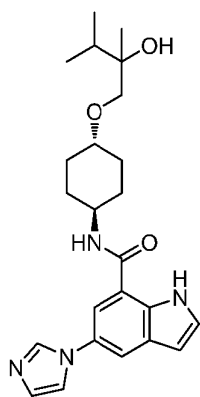
[0368] C. N-((1r,4r)-4-(2-사이클로프로필-2-하이드록시프로폭시)사이클로헥실)-5-아이오도-1H-인돌-7-카르복사미드



[0369]

[0370] 5-아이오도-1H-인돌-7-카르복실산 (0.10 g, 0.348 mmol), 1-(((1r,4r)-4-아미노사이클로헥실)옥시)-2-사이클로프로필프로판-2-올 (0.089 g, 0.418 mmol), HATU (0.146 g, 0.383 mmol) 및 DIPEA (0.18 mL, 1.045 mmol)를 DMF (3.3 mL)에서 밤새 교반하였다. 반응물을 분리 깔때기에 붓고, 그 후 에틸 아세테이트와 물로 나누었다. 유기물을 물 (1x) 이어서 염수로 세척하고, 그 후 소듐 설페이트 상에서 건조시켰다. 용매를 진공하에 제거하고, 잔류물을 20-50% 에틸 아세테이트:헵탄으로부터의 구배로 용리시킨 실리카 겔 크로마토그래피에 의해 정제하여 백색 고형물을 N-((1r,4r)-4-(2-사이클로프로필-2-하이드록시프로폭시)사이클로헥실)-5-아이오도-1H-인돌-7-카르복사미드 (164 mg, 0.340 mmol)로서 수득하였다. 1H NMR ($CDCl_3$) δ : 0.33 - 0.41 (m, 3H) 0.43 - 0.52 (m, 1H) 0.86 - 0.96 (m, 1H) 1.12 (s, 3H) 1.31 - 1.42 (m, 2H) 1.44 - 1.57 (m, 2H) 2.15 (t, $J = 14.4$ Hz, 4H) 3.30 - 3.47 (m, 3H) 3.97 - 4.07 (m, 1H) 6.07 (d, $J = 7.78$ Hz, 1H) 6.50 (t, $J = 2.64$ Hz, 1H) 7.30 (t, $J = 2.64$ Hz, 1H) 7.56 (d, $J = 1.00$ Hz, 1H) 8.11 (s, 1H) 10.27 (br. s., 1H). LCMS (ES API) $MH^+ = 482$.

[0371] D. N,N-((1r,4r)-4-(2-사이클로프로필-2-하이드록시프로폭시)사이클로헥실)-5-(1H-이미다졸-1-일)-1H-인돌-7-카르복사미드



[0372]

[0373]

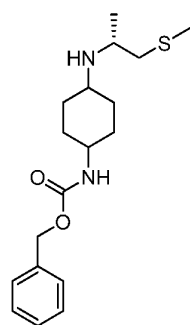
NMP (3 mL) 중의 N-((1r,4r)-4-(2-사이클로프로필-2-하이드록시프로폭시)사이클로헥실)-5-아이오도-1H-인돌-7-카르복사미드 (164 mg, 0.340 mmol), 이미다졸 (0.071 g, 1.045 mmol), K₂CO₃ (0.144 g, 1.045 mmol), 및 구리(I) 아이오다이드 (0.013 g, 0.070 mmol)를 밤새 140℃로 가열하였다. 반응물을 실온으로 냉각시키고 셀라이트를 통해 여과하였다. 여과물을 감압하에 농축하고, 그 후 20-95% ACN:물:0.1%NH₄OH로부터의 구배로 용리시킨 역상 C18 Agilent HPLC에 의해 정제하였다. 회수된 오일을 헵탄/디에틸 에테르로 분쇄하여 고형물을 N-((1r,4r)-4-(2-사이클로프로필-2-하이드록시프로폭시)사이클로헥실)-5-(1H-이미다졸-1-일)-1H-인돌-7-카르복사미드 (42.6 mg, 0.100 mmol)로서 회수하였다. ¹H NMR (MeOH-*d*₄) δ: 0.28 - 0.39 (m, 3H) 0.40 - 0.51 (m, 1H) 0.91 - 1.02 (m, 1H) 1.13 (s, 3H) 1.36 - 1.59 (m, 4H) 2.04 - 2.22 (m, 4H) 3.33 - 3.42 (m, 3H) 3.91 - 4.06 (m, 1H) 6.62 (d, *J* = 3.26 Hz, 1H) 7.16 (br. s., 1H) 7.47 (d, *J* = 3.26 Hz, 1H) 7.59 (br. s., 1H) 7.78 (d, *J* = 1.25 Hz, 1H) 7.90 (d, *J* = 1.51 Hz, 1H) 8.11 (br. s., 1H). LCMS (ES API) MH⁺ = 423.

[0374]

실시예 16: 5-(1H-이미다졸-1-일)-N-((1R,4r)-4-((R)-1-(메틸설포닐)프로판-2-일)아미노)사이클로헥실)-1H-인돌-7-카르복사미드

[0375]

A. 벤질 (4-(((R)-1-(메틸티오)프로판-2-일)아미노)사이클로헥실)카르바메이트

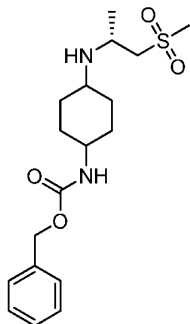


[0376]

[0377]

(R)-1-(메틸티오)프로판-2-아민 (0.304 g, 2.89 mmol) 및 벤질 (4-옥소사이클로헥실)카르바메이트 (0.65 g, 2.63 mmol)를 DCE (13 mL) 중에서 분자체와 2시간 동안 교반한 후 소듐 트리야세톡시보로하이드라이드 (0.669 g, 3.15 mmol) 및 몇 방울의 아세트산과 교반하였다. 반응물을 실온에서 밤새 교반한 후, 셀라이트의 패드를 통해 여과하고 DCM으로 린싱하였다. 여과물을 포화된 수성 소듐 바이카르보네이트 이어서, 염수로 세척하였다. 유기물을 소듐 설페이트 상에서 건조시키고, 여과하고 감압하에 농축하여 오일을 제공하였으며, 이는 밤새 벤질 (4-(((R)-1-(메틸티오)프로판-2-일)아미노)사이클로헥실)카르바메이트 (894 mg, 2.66 mmol)로서 고무질 고형물이 되기 시작하였다. LCMS (ES API) MH⁺ = 338.

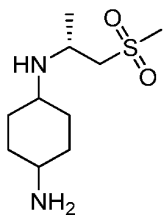
[0378] B. (R)-벤질 (4-((1-(메틸설포닐)프로판-2-일)아미노)사이클로헥실)카르바메이트



[0379]

[0380] 벤질 (4-((R)-1-(메틸티오)프로판-2-일)아미노)사이클로헥실)카르바메이트 (0.75 g, 2.229 mmol)를 실온에서 MeOH (5 mL) 중에 교반시킨 후, 물 (2 mL) 중의 옥손 (1.6 g, 2.60 mmol)의 혼합물을 첨가하였다. 반응물을 1 시간 동안 실온에서 교반시킨 후, 감압하에 수성물로 농축시켰다. 용액을 물로 희석하고 에틸 아세테이트 (2 x)로 추출하였다. 합친 유기물을 염수로 세척한 후, 소듐 설페이트 상에서 건조시키고, 여과하고 감압하에 농축하여 무색 고형물을 생성시켰다. 고형물을 2-10% MeOH:DCM으로부터의 구배로 용리시킨 실리카 겔 크로마토그래피 (ISCO Combiflash)에 의해 정제하여 무색 오일을 (R)-벤질 (4-((1-(메틸설포닐)프로판-2-일)아미노)사이클로헥실)카르바메이트 (88 mg, 0.239 mmol)로서 수득하였다. LCMS (ES API) MH⁺ = 369.

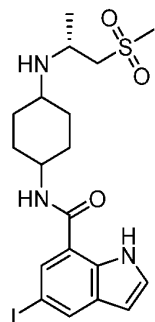
[0381] C. (R)-N1-(1-(메틸설포닐)프로판-2-일)사이클로헥산-1,4-디아민



[0382]

[0383] 에탄올 (2.5 mL) 중에 교반시킨 (R)-벤질 (4-((1-(메틸설포닐)프로판-2-일)아미노)사이클로헥실)카르바메이트 (0.088 g, 0.239 mmol) 및 20 wt% 펄만 촉매 (0.034 g, 0.048 mmol)를 벌룬을 통해 실온에서 밤새 수소화시켰다. 반응물을 셀라이트 패드를 통해 여과하고 에틸 아세테이트로 세척하였다. 여과물을 감압하에 농축하여 황금색 오일을 (R)-N1-(1-(메틸설포닐)프로판-2-일)사이클로헥산-1,4-디아민 (0.053 g, 0.226 mmol)으로서 회수하였다. LCMS (ESLD) MH⁺ = 235.

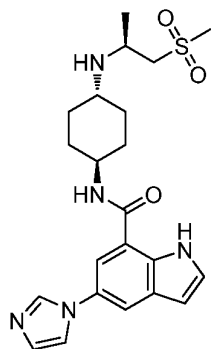
[0384] D. 5-아이오도-N-(4-((1-(메틸설포닐)프로판-2-일)아미노)사이클로헥실)-1H-인돌-7-카르복사미드



[0385]

[0386] DMF (2.033 mL) 중의 5-아이오도-1H-인돌-7-카르복실산 (0.055 g, 0.192 mmol)은 DIPEA (0.1 mL, 0.573 mmol)를 지니며, HATU (0.081 g, 0.213 mmol)를 여기에 첨가하였다. 반응물을 ~10분 동안 실온에서 교반시키면서 N1-(1-(메틸설포닐)프로판-2-일)사이클로헥산-1,4-디아민 (0.05g, 0.213 mmol)를 첨가하고, 반응물을 밤새 교반하였다. 반응물을 물로 희석하고 에틸 아세테이트 (2x)로 추출하였다. 합친 유기물을 포화된 수성 소듐 바이카르보네이트 및 염수로 세척한 후, 소듐 설페이트 상에서 건조하였다. 용매를 진공하에 제거하여 황금색 오일을 5-아이오도-N-(4-((1-(메틸설포닐)프로판-2-일)아미노)사이클로헥실)-1H-인돌-7-카르복사미드 (106 mg, 0.211 mmol)로서 수득하였다. LCMS (ESLD) MH⁺ = 504.

[0387] E. 5-(1H-이미다졸-1-일)-N-((1R,4r)-4-(((R)-1-(메틸설포닐)프로판-2-일)아미노)사이클로헥실)-1H-인돌-7-카르복사미드



[0388]

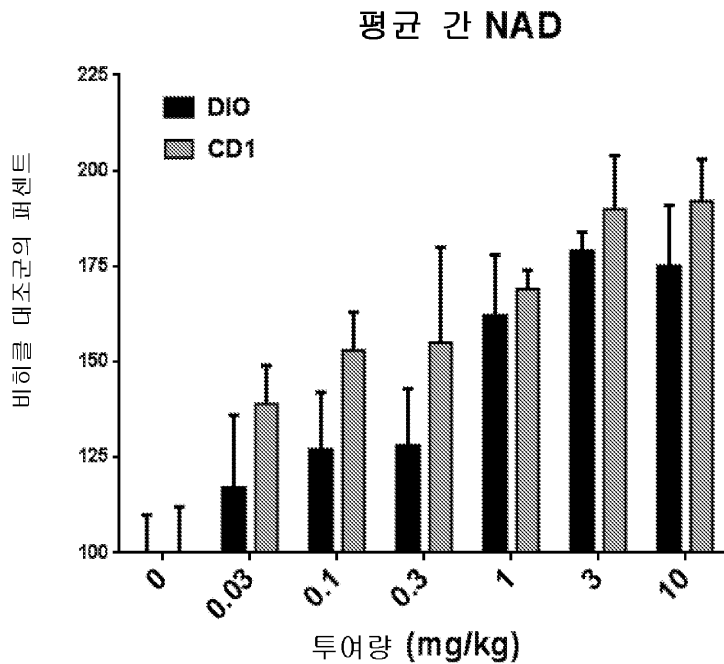
[0389] NMP (1.5 mL) 중의 5-아이오도-N-(4-(((R)-1-(메틸설포닐)프로판-2-일)아미노)사이클로헥실)-1H-인돌-7-카르복사미드 (0.10 g, 0.199 mmol), 이미다졸 (0.041 g, 0.596 mmol), K₂CO₃ (0.082 g, 0.596 mmol), 및 구리(I) 아이오다이드 (7.57 mg, 0.040 mmol)를 오일조에서 150℃에서 밤새 교반하였다. 반응물을 셀라이트 패드를 통해 여과하고 에틸 아세테이트로 세척하였다. 여과물을 감압하에 농축하고 20-95% ACN:물:0.1% NH₄OH로부터의 구배로 용리시킨 역상 C18 Agilent HPLC에 의해 정제하였다. 회수된 분획물을 감압하에 농축하여 부분입체이성질체를 갈색 고형물로서 회수하였다. 5-(1H-이미다졸-1-일)-N-((1R,4r)-4-(((R)-1-(메틸설포닐)프로판-2-일)아미노)사이클로헥실)-1H-인돌-7-카르복사미드 (4.2 mg, 8.52 μmol). ¹H NMR (MeOH-*d*₄) δ: 1.24 - 1.32 (m, 5H) 1.45 - 1.59 (m, 2H) 2.03 - 2.13 (m, 4H) 2.61 - 2.69 (m, 1H) 3.06 (s, 3H) 3.14, (d, *J* = 5.02 Hz, 1H) 3.22 (d, *J* = 7.03 Hz, 1H) 3.42 - 3.51 (m, 1H) 3.97 (t, *J* = 11.7 Hz, 1H) 6.60 - 6.66 (m, 1H) 7.16 (br. s., 1H) 7.47 (d, *J* = 3.26 Hz, 1H) 7.59 (br. s., 1H) 7.78 (d, *J* = 1.76 Hz, 1H) 7.90 (d, *J* = 2.01 Hz, 1H) 8.11 (br. s., 1H). LCMS (ESLD) MH⁺ = 444.

[0390] 5-(1H-이미다졸-1-일)-N-((1S,4s)-4-(((R)-1-(메틸설포닐)프로판-2-일)아미노)사이클로헥실)-1H-인돌-7-카르복사미드 (5.6 mg, 0.012 mmol). ¹H NMR (MeOH-*d*₄) δ: 1.23 (d, *J* = 6.53 Hz, 3H) 1.63 - 1.90 (m, 8H) 2.93 (br. s., 1H) 3.08 (s, 3H) 3.19 - 3.24 (m, 1H) 3.43 - 3.50 (m, 1H) 4.06 (br. s., 1H) 6.62 (d, *J* = 3.01 Hz, 1H) 7.16 (br. s., 1H) 7.47 (d, *J* = 3.26 Hz, 1H) 7.60 (br. s., 1H) 7.80 (d, *J* = 1.76 Hz, 1H) 7.90 (d, *J* = 1.76 Hz, 1H) 8.12 (br. s., 1H). LCMS (ELSD) MH⁺ = 444.

[0391] NAD⁺⁺ 화합물의 생체내 분석을 위한 LCMS 방법

[0392] DIO (음식물 유발 비만) 마우스에 60% 고지방 음식을 자유롭게 제공하고, CD-1 마우스에 pH ~3.5로 조절된 0.5% HPMC:0.1% Tween 80의 제형 중 0, 0.03, 0.1, 0.3, 1, 3, 및 10 mg/kg의 실시예 5를 투여하였다. 투여 후 2시간에 혈액 및 조직을 수집하고, 혈액을 물 중의 5% EDTA로 1:1 희석하고 혼합하고 드라이 아이스에서 냉동시켰다. 간 샘플을 100-250mg으로 슬라이싱하고 습식 중량을 기록하고 조직을 튜브에 넣고 액체 질소에서 급속 냉동시켰다.

[0393] 샘플을 -80℃에서 보관하였으며, 실온에서 매트릭스 중의 NAD⁺의 불안정성으로 인해 냉동기로부터 제거한 직후에 샘플 제조를 수행하였다. 메달 비드 라이징 매트릭스 (Medal bead lysing matrix)를 CD38 억제제 및 O¹⁸ NAD⁺를 함유하는 샘플의 80:20 아세토니트릴:물로의 4배 희석물과 함께 각 튜브에 첨가하였다. 샘플을 60초 동안 6 m/sec로 MP FastPrep-24에서 균질화시켰다. 균질물을 13,000 rpm에서 5분 동안 원심분리하고 상청액을 96 웰 플레이트에 옮기고 물로 1:10 희석하였다. NAD⁺의 분석은 Agilent 1290 HPLC 상의 Zorbax Hillic Plus 컬럼에 10 μL를 주입함으로써 수행하였고, Sciex API4000 Mass Spectrometer는 NAD⁺에 있어서 664-428 전이 및 O¹⁸ NAD⁺ 내부 표준에 있어서는 668-136 전이를 모니터링하였다. LC 분리는 이동상 A - 물과 0.1% 암모늄 아세테이트 및 이동상 B - 아세토니트릴 w/ 0.1% 포름산으로 달성되는데, 이는 98% 이동상 A에서 출발하여 0.5분의 구배로 5% 이동상으로 이동된다. 데이터는 O¹⁸ NAD⁺ 내부 기준에 대한 NAD⁺의 영역 비로서 보고하였다.



[0394]

[0395]

억제제 IC50 값의 측정 -

[0396]

CD38 억제제를 비색 기반 검정에서 인간 CD38 효소 활성을 억제하는 이들의 능력에 대해 평가하였다 (Preugschat et al. (2008) Archives of Biochem and Biophys 479 : 114). 인간 CD38의 세포의 도메인을 피치아 파스토리스에서 발현시키고 정제하여 균질성을 띠게 하였다. 효소 활성 검정은 총 용적 20 μ L로 저용적 384-웰 플레이트에서 수행하였다. 200 nL DMSO 중의 다양한 농도의 시험 화합물을 검정 플레이트 웰로 전달하였다. 플레이트의 컬럼 6 및 18은 화합물 없이 DMSO를 함유하였으며, 각각 높은 신호 및 낮은 신호 (CD38 첨가되지 않음) 대조군으로서 작용한다. 플레이트로 분석 시약을 모두 첨가하는 것은 Multidrop Combi를 사용하여 수행하였고, 플레이트를 각 첨가 후 3-5 초 동안 진탕시켰다. CD38 (0.8 nM)을 반응 개시 전에 30분 동안 100 mM HEPES, pH 7.4, 4 mM EDTA 및 1 mM CHAPS를 함유하는 10 μ L의 시험 화합물과 함께 인큐베이션하였다. 반응은 5 mM 소듐 아세테이트, pH 4.5, 1 mM CHAPS, 200 μ M NAD⁺ 및 500 μ M GW323434X를 함유하는 10 μ L 첨가에 의해 개시하였다. 2개의 첨가 각각에 대한 용액은 개별 성분의 농축된 원액으로부터 매일 신선한 것으로 준비하였다. 검정에서 최종 농도는 50 mM HEPES, 2 mM EDTA, 1 mM CHAPS 및 2.5 mM 소듐 아세테이트, 100 μ M NAD⁺, 250 μ M GW323434X 및 0.4 nM CD38이었다. GW323434X는 4-피리디날 화합물이며, 이는 NAD⁺ 상의 니코틴아미드와 염기 교환 반응에 참여하여 405nm에서 흡수되는 신규한 디뉴클레오티드를 형성하는 친핵체 (nucleophile)로서 작용한다. 이러한 신규한 발색단의 측매적 형성은 Envision 마이크로플레이트 판독기에서 2개의 시점 즉, 전형적으로, 반응의 처음 45분 이내에서 30분 간격을 둔 시점에서 흡광도의 판독으로 이어진다. 이러한 시점은 측정된 속도가 생성물 형성의 선상 범위에 있음을 보장하기 위해 경험적으로 확립되었다. 데이터 분석은 ActivityBase XE (Abase XE)를 사용하여 다음과 같은 방법으로 수행하였다. 15분 및 45분 판독 데이터는 각 플레이트 웰에 대해 45분 판독 값에서 15분 판독 값을 뺀 감산 함수를 수행하여 처리되었다. 비-대조군 웰에 대한 결과 값은 식 $100 * ((U-C1)/(C2-C1))$ 을 사용하여 억제 %로 변환하였으며, 상기 식에서 U는 시험 웰의 값이고, C1은 높은 신호 (컬럼 6) 대조군 웰의 값의 평균이며, C2는 낮은 신호 (컬럼 18) 대조군 웰의 값의 평균이다. 억제 퍼센트 (y)를 억제제 농도 (x)에 대해 플롯팅하고, 곡선 피팅을 하기 4개의 파라미터 방정식으로 수행하였다: $y = A + (B-A)/(1+(10^x/10^C)^D)$, 여기에서 A는 최소 반응이며, B는 최대 반응이며, C는 $\log_{10}IC_{50}$ 이고, D는 힐 기울기이다. 각 화합물에 대한 결과를 pIC₅₀ 값 (상기 식에서 -C)으로 기록하였다.

[0397]

마우스 CD38의 재조합 세포의 도메인을 CHO CGE 세포에서 발현시키고 정제하여 균질하게 하였다. 마우스 CD38에 대한 억제제의 pIC₅₀ 값은 형광 기반 검정에서 효소를 사용하여 생성시켰으며, 여기에서 효소 반응은 저-용적 384-웰 검정 플레이트에서 10 μ L 용적으로 발생시켰다. 검정은 속도가 선형인 45분의 반응 시간에 걸쳐 CD38 측매된 NAD⁺ 가수분해를 정량화하였다. 100 nL DMSO 중의 다양한 농도의 시험 화합물을 검정 플레이트 웰로 전달하였다. 플레이트의 컬럼 6 및 18은 DMSO를 함유하였으며, 각각 낮은 신호 및 높은 신호 대조군으로서 작용한다. 컬럼 18은 높은 신호 (효소 활성 없음) 대조군을 규정하는 강력한 마우스 CD38 억제제를 함유하였다. 화합물 이외의 플레이트로의 첨가는 Multidrop Combi를 사용하여 수행하였고, 플레이트는 각 첨가 후 3-5 초 동안

진탕시켰다. CD38 (0.45 nM)을 반응 개시 전에 30분 동안 20 mM HEPES, pH 7.2, 1 mM EDTA, 1 mM CHAPS를 함유하는 5 μ L의 시험 화합물과 함께 인큐베이션하였다. 반응은 20 mM HEPES, pH 7.2, 1 mM EDTA, 1 mM CHAPS 및 60 μ M NAD⁺를 함유하는 5 μ L 첨가에 의해 개시하였다. 검정에서 최종 농도는 20 mM HEPES, pH 7.2, 1 mM EDTA, 1 mM CHAPS, 30 μ M NAD⁺ 및 0.225 nM 마우스 CD38이었다. 반응 시간 후, 잔류하는 NAD⁺의 양은 이물 알코올 탈수소효소 (ADH)를 사용하여 NADH로 전환시킴으로써 정량화하였다. ADH는 9U/mL ADH, 90mM 소듐 피로 포스페이트, pH 8.8, 90mM 에탄올, 1mM EDTA 및 1mM CHAPS를 함유하는 5 μ L로 첨가하였다. 알코올 탈수소효소 반응은 5 μ L의 1M HEPES, pH 7.0, 1.0mM EDTA, 및 0.8M 디티오프레이톨 (DTT)을 함유하는 1mM CHAPS의 첨가에 의해 중단되었고, NADH 형광은 Envision 플레이트 판독기 (340nm 여기, 460 nm 방출)에서 측정하였다. 4개의 첨가 각각에 대한 용액은 개별 성분의 농축된 원액으로부터 매일 신선한 것으로 준비하였으며, 단 DTT는 고형물 로터 매일 신선하게 제조하였다. 이러한 검정에서, 효소 활성의 증가는 감소된 측정 형광 신호를 유도하였다. 각 화합물 플레이트는 ADH의 존재 (플레이트 A) 및 부재 (플레이트 B) 하에 이중으로 수행하였다. 데이터는 쌍을 이룬 플레이트를 판독하고 플레이트 A로부터 플레이트 B에 대한 값을 감하여 "보정된" 데이터 (시험 화합물로부터 고유 형광을 차지함)를 수득함으로써 획득하였다. Abase XE를 사용하여, 비-대조군 웰에 대한 "보정된" 형광 신호는 식 $100-100*((U-C2)/(C1-C2))$ 을 이용하여 억제 퍼센트 값으로 전환시켰으며, 상기 식에서 U는 시험 웰의 "보정된" 형광 신호 값이며, C1은 낮은 신호 (컬럼 6; 완전 CD38 효소 활성) 대조군 웰의 "보정된" 형광 값의 평균이고, C2는 높은 신호 (컬럼 18; CD38 효소 활성을 100% 억제시킴) 대조군 웰의 "보정된" 형광 값의 평균이다. 억제 퍼센트 데이터는 상기 기술된 4개의 파라미터 커브 피트 방정식(curve fit equation)을 이용하여 피팅하였다. 제시된 데이터에 있어서, pIC₅₀ 값을 방정식 $IC_{50} = 10^{-pIC_{50}}$ 에 따라 몰랄 IC₅₀ 값으로 전환시켰다. 통계는 IC₅₀ 값에 대해 수행하였다.

표 1

화합물	인간 IC ₅₀ (nM)
실시예 1	++
실시예 2	++
실시예 3	+
실시예 4	+++
실시예 5	+++
실시예 6	+++
실시예 7	+++
실시예 8	++
실시예 9	+++
실시예 10	+
실시예 11	+++
실시예 12	+++
실시예 13	+
실시예 14	+++
실시예 15	+++
실시예 16	+

IC₅₀ ≤ 500 nM = +++; IC₅₀ > 500 nM, 그러나, ≤ 1000 nM = ++; IC₅₀ > 1000 nM = +