



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0063802
(43) 공개일자 2017년06월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 209/14 (2006.01) A61K 31/404 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07D 209/14 (2013.01)
A61K 31/404 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2017-7011122
(22) 출원일자(국제) 2015년09월30일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2017년04월24일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2015/072551
(87) 국제공개번호 WO 2016/050841
국제공개일자 2016년04월07일
(30) 우선권주장
14187374.5 2014년10월01일
유럽특허청(EPO)(EP)
15159164.1 2015년03월16일
유럽특허청(EPO)(EP)

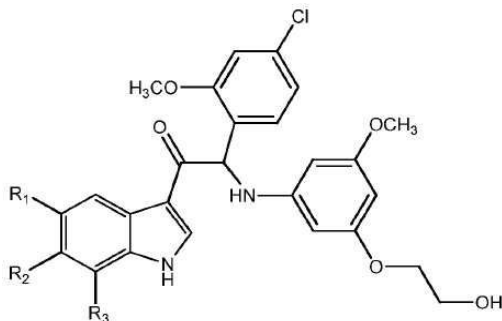
(71) 출원인
얀센 파마슈티칼즈, 인코포레이티드
미국 뉴저지 08560 타이더스빌 트랜턴-하버튼 로드 1125
카톨릭에케 유니버시티에 루벤
벨기에, 3000 루벤, 와아이스트라아트 6-박스 5105, 케이유 루벤 리서치 앤드 디벨롭먼트
(72) 발명자
케스텔레인 바르트 루돌프 로마니에
벨기에왕국 베-2340 비어세 투른호우트세베크 30
얀센 파마슈티카 엔브이
봉팡티 장-프랑수아
프랑스 에프-92787 이시-레-몰리노 세텍스 9 티에스 에이 91003 뤼 카미유 데몰랭 얀센-실락 1
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인한성

전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 발명의 명칭 뎅기 바이러스 복제 억제제로서의 1 치환 또는 2 치환 인돌 유도체

(57) 요약

본 발명은 뎅기 바이러스 감염의 예방 또는 치료에 유용한 하기 화학식 I:



의 1 치환 또는 2 치환 인돌 유도체에 관한 것이며, 또한, 의약으로 사용하기 위한, 더 바람직하게는 뎅기 바이러스 감염을 치료 또는 예방하는 의약으로 사용하기 위한 상기 화합물에 관한 것이다. 더욱이, 본 발명은 본 화합물의 제약 조성물 또는 복합 제제 (combination preparation), 의약으로 사용하기 위한, 더 바람직하게는 뎅기 바이러스 감염의 예방 또는 치료를 위한 조성물 또는 제제에 관한 것이다. 또한 본 발명은 이 화합물의 제조 방법에 관한 것이다.

(52) CPC특허분류

A61K 45/06 (2013.01)

C07B 2200/13 (2013.01)

(72) 발명자

윤커스 팀 휴고 마리아

벨기에왕국 베-2340 비어세 투른호우트세베크 30
안센 파마슈티카 엔브이

라보이송 피에르 장-마리 베르나르

벨기에왕국 베-2340 비어세 투른호우트세베크 30
안센 파마슈티카 엔브이

바르디오트 도로테 엘리스 마리에-에바

벨기에 베-3001 루벤 (헤베를리) 개스톤 그린슬란
씨스팀 루벤 브이제트더블유

마르상 아르노 디디에 엠

벨기에 베-3001 루벤 (헤베를리) 개스톤 그린슬란
씨스팀 루벤 브이제트더블유

명세서

청구범위

청구항 1

R₁이 H이고, R₂가 F이고 R₃이 H, F 또는 CH₃이거나;

R₁이 F 또는 CH₃이고, R₂가 OCH₃이고 R₃이 H이거나;

R₁이 F이고, R₂가 H이고 R₃이 CH₃이거나;

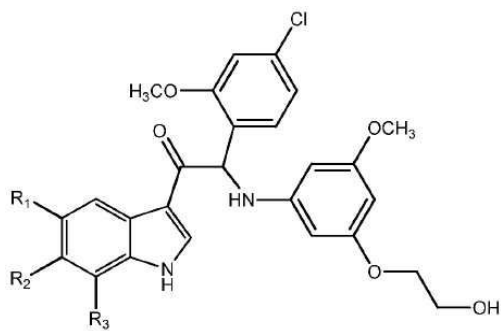
R₁이 H이고, R₂가 OCH₃이고 R₃이 H이거나;

R₁이 H이고, R₂가 Cl이고 R₃이 H 또는 CH₃이거나;

R₁이 F이고, R₂가 F이고 R₃이 H이거나;

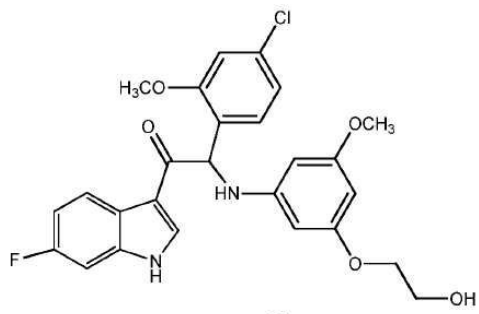
R₁이 CH₃이고, R₂가 H이고 R₃이 F인 군으로부터 선택되는, 1치환 또는 2치환 인돌 기를 포함하는 하기 화학식 I의 화합물, 이의 입체 이성질체 형태, 제약상 허용가능한 염, 용매화물 또는 다형체:

[화학식 I]

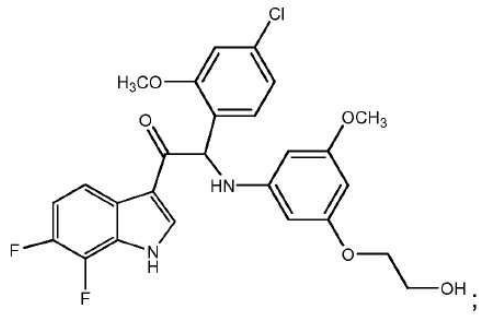


청구항 2

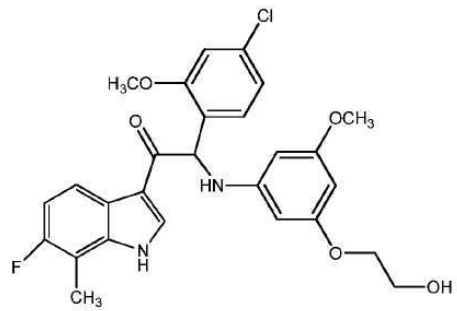
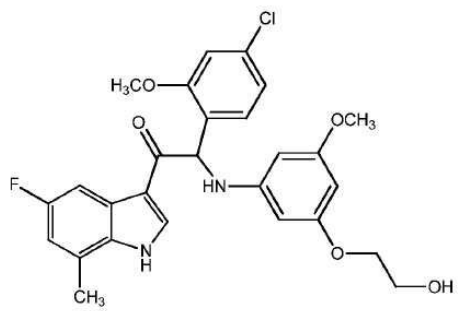
제1항에 있어서, 하기 군으로부터 선택되는 화합물 또는 그의 입체 이성질체 형태, 이들의 제약상 허용가능한 염, 용매화물 또는 다형체:



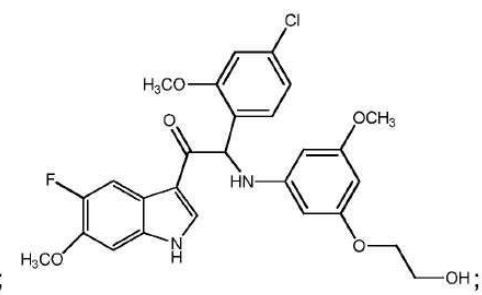
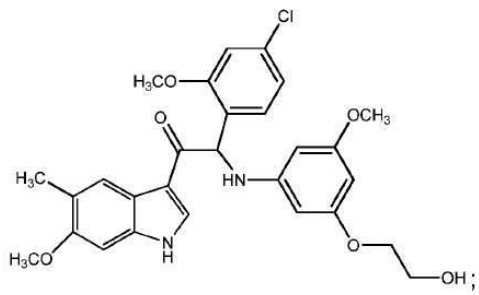
;



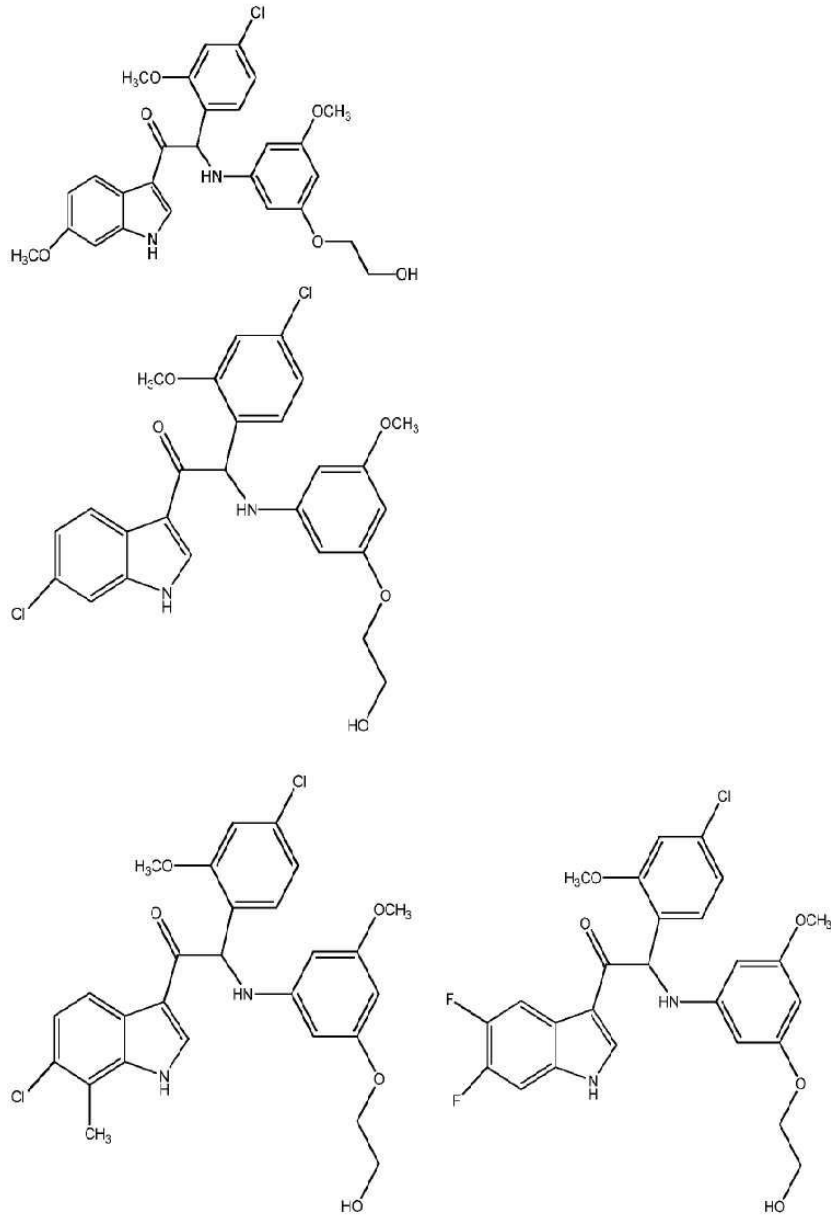
;



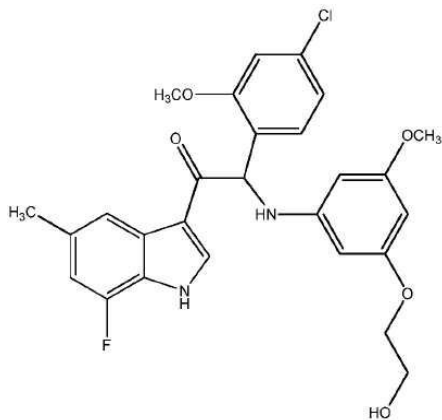
;



;



또는



청구항 3

제1항 또는 제2항에 따른 화학식 I의 화합물 또는 이의 입체 이성질체 형태, 제약상 허용가능한 염, 용매화물 또는 다형체를 1가지 이상의 제약상 허용가능한 부형제, 희석제 또는 담체와 함께 포함하는 제약 조성물.

청구항 4

의약으로 사용하기 위한 제1항에 따른 화학식 I의 화합물 또는 이의 입체 이성질체 형태, 제약상 허용가능한 염, 용매화물 또는 다형체 또는 제3항에 따른 제약 조성물.

청구항 5

Dengue열의 치료에서 사용하기 위한 제1항에 따른 화학식 I의 화합물 또는 이의 입체 이성질체 형태, 제약상 허용가능한 염, 용매화물 또는 다형체 또는 제3항에 따른 제약 조성물.

청구항 6

생물학적 샘플 또는 환자에서 Dengue 바이러스(들)의 복제를 억제함에 있어서의,

R_1 이 H이고, R_2 가 F이고 R_3 이 H, F 또는 CH_3 이거나;

R_1 이 F 또는 CH_3 이고, R_2 가 OCH_3 이고 R_3 이 H이거나;

R_1 이 F이고, R_2 가 H이고 R_3 이 CH_3 이거나;

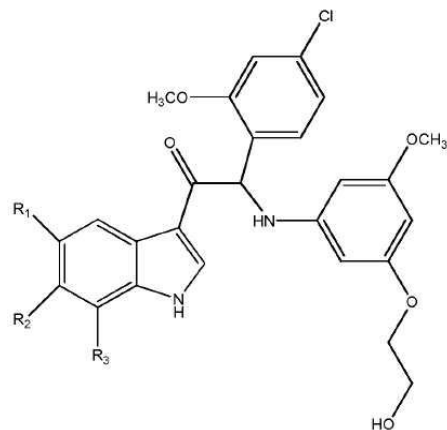
R_1 이 H이고, R_2 가 OCH_3 이고 R_3 이 H이거나;

R_1 이 H이고, R_2 가 Cl이고 R_3 이 H 또는 CH_3 이거나;

R_1 이 F이고, R_2 가 F이고 R_3 이 H이거나;

R_1 이 CH_3 이고, R_2 가 H이고 R_3 이 F인 군으로부터 선택되는, 1치환 또는 2치환 인돌 기를 포함하는 하기 구조 화학식 I로 표시되는 화합물, 이의 입체 이성질체 형태, 제약상 허용가능한 염, 용매화물 또는 다형체의 용도:

[화학식 I]



청구항 7

제6항에 있어서, 추가의 치료제를 공동 투여하는 것을 추가로 포함하는 용도.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 추가의 치료제는 항바이러스제 또는 Dengue 백신, 또는 이들 둘 모두로부터 선택되는 용도.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

본 발명은 1치환 또는 2치환 인돌 화합물, 상기 화합물을 이용하여 Dengue 바이러스 감염을 예방 또는 치료하는 방법에 관한 것이며, 또한, 의약으로 사용하기 위한, 더 바람직하게는 Dengue 바이러스 감염을 치료 또는 예방하는 의약으로 사용하기 위한 상기 화합물에 관한 것이다. 더욱이, 본 발명은 본 화합물의 제약 조성물 또는 복합

제제 (combination preparation), 의약으로 사용하기 위한, 더 바람직하게는 Dengue 바이러스 감염의 예방 또는 치료를 위한 조성물 또는 제제에 관한 것이다. 또한 본 발명은 화합물의 제조 방법에 관한 것이다.

배경 기술

- [0002] 모기 또는 진드기에 의해 전염되는 플라비바이러스 (Flavivirus)는 인간에 있어서 생명을 위협하는 감염, 예컨대 뇌염 및 출혈열을 야기한다. 플라비바이러스 Dengue의 4가지의 특유한, 그러나 밀접하게 관련된 혈청형, 소위 DENV-1, -2, -3, 및 -4가 공지되어 있다. Dengue는 전 세계의 대부분의 열대 및 아열대 지역의, 주로 도시 및 준도시 지역의 풍토병이다. 세계 보건 기구 (World Health Organization; WHO)에 따르면, 25억명의 사람들 (이중 10억명은 아동임)이 DENV 감염의 위험이 있다 (WHO, 2002). Dengue열 [dengue fever; DF]의 추정된 5000만 내지 1억의 사례, 중증 Dengue 질환 (즉, Dengue 출혈열 [dengue hemorrhagic fever; DHF] 및 Dengue 속 증후군 [dengue shock syndrome; DSS]의 500만의 사례, 및 20,000명 초과 사망이 매해 전 세계적으로 일어난다. DHF는 풍토 지역에서 아동 사이에서의 입원 및 사망의 주된 원인이 되었다. 대체로, Dengue는 아르보바이러스 질환 (arboviral disease)의 가장 일반적인 원인을 대표한다. 라틴 아메리카, 동남 아시아 및 서태평양에 위치하는 국가 (브라질, 푸에르토리코, 베네수엘라, 캄보디아, 인도네시아, 베트남, 태국을 포함함)에서의 최근의 많은 발생 때문에, Dengue 사례의 수는 지난 몇 년에 걸쳐 극적으로 상승하였다. 상기 질환이 새로운 지역으로 확산되고 있음에 따라 Dengue 사례의 수가 증가하고 있을 뿐만 아니라 그 발생도 더 심각해지는 경향이 있다.
- [0003] Dengue 바이러스 감염과 연관된 질환의 예방 및/또는 제어를 위하여, 현재 이용가능한 유일한 방법으로는 그 벡터 (vector)를 제어하기 위한 모기 박멸 전략이 있다. Dengue에 대한 백신의 개발에 있어서 진전이 이루어지고 있지만, 많은 어려움에 직면하고 있다. 이것은 항체 의존성 강화 (antibody-dependent enhancement; ADE)로 칭해지는 현상의 존재를 포함한다. 1가지 혈청형에 의한 감염으로부터의 회복은 그 혈청형에 대한 평생 면역을 제공하지만, 다른 3가지의 혈청형 중 하나에 의한 후속적인 감염에 대해서는 단지 부분적이고 일시적인 보호를 부여한다. 또 다른 혈청형에 의한 감염 후, 기존의 이중 항체는 새로운 감염 Dengue 바이러스 혈청형과 복합체를 형성하지만 그 병원체를 중화시키지 않는다. 대신, 세포 내로의 바이러스 침입 (entry)이 촉진되어서 제어되지 않은 바이러스 복제 및 더 높은 피크 바이러스 역가를 생성하는 것으로 생각된다. 일차 및 이차 감염 둘 모두에서, 더 높은 바이러스 역가는 더 중증인 Dengue 질환과 연관된다. 모체 항체는 모유 수유에 의해 유아에게 용이하게 전해질 수 있기 때문에, 이것은 아동이 성인보다 더 많이 중증 Dengue 질환에 걸리는 이유 중 하나일 수 있다.
- [0004] 고도착병성 (hyper endemic) 지역으로도 칭해지는, 2가지 이상의 혈청형이 동시에 돌고 있는 장소에서, 심각한 Dengue 질환의 위험이 유의하게 더 높으며, 이는 이차적인, 더 중증인 감염을 경험할 위험의 증가로 인한 것이다. 게다가, 고풍토성 (hyper-endemicity)의 상황에서, 전염성이 더 강한 주 (strain)의 출현 확률이 증가되며, 이는 다시 Dengue 출혈열 (DHF) 또는 Dengue 속 증후군의 확률을 증대시킨다.
- [0005] 아에데스 아에집티 (*Aedes aegypti*) 및 아에데스 알보픽투스 (*Aedes albopictus*) (외줄모기 (tiger mosquito))를 포함하는 Dengue 매개 모기는 지구 상에서 북쪽으로 이동하고 있다. 미국 (US) 질병 관리 본부 (Centers for Disease Control and Prevention; CDC)에 따르면, 상기 둘 모두의 모기는 현재 미국 텍사스 남부에 편재한다. Dengue-매개 모기의 북쪽에서의 확산은 미국에 국한되지 않으며, 유럽에서도 관찰되었다.
- [0006] 지난 30년에 걸친 큰 노력에도 불구하고, Dengue 바이러스 질환에 대하여 인간을 보호하는 데 이용가능한 백신은 현재 없다. 주요 문제점은 모든 4가지 혈청형에 대하여 동일한 정도로 보호를 제공하는 백신 (4가 (tetraivalent) 백신)을 개발하는 것이다. 더욱이, 오늘날, Dengue열 바이러스 감염의 치료 또는 예방을 위한 특정한 항바이러스약은 이용가능하지 않다. 명백하게, 동물에서, 더욱 특히는 인간에서 바이러스 감염의 예방 또는 치료를 위한, 그리고 특히 플라비바이러스, 더욱 특히는 Dengue 바이러스에 의해 야기되는 바이러스 감염의 예방 또는 치료를 위한 치료제에 대한 충족되지 않은 큰 의학적 필요성이 여전히 있다. 우수한 항바이러스 효력을 가지며, 부작용이 전혀 없거나 부작용 수준이 낮고, 다수의 Dengue 바이러스 혈청형에 대한 광범위한 스펙트럼의 활성을 가지며, 저 독성 및/또는 우수한 약동학적 또는 약력학적 특성을 갖는 화합물이 고도로 필요하다.
- [0007] 이제 본 발명은 Dengue 바이러스의 모든 네 가지 (4가지) 혈청형에 대하여 높은 강력한 활성을 나타내는 화합물, 1치환 또는 2치환 인돌 유도체를 제공한다. 또한 본 발명에 따른 화합물은 우수한 약동학적 프로파일을 보유하며 놀랍게도 이러한 특정 화합물은 향상된 키랄 안정성을 나타낸다.

발명의 내용

- [0008] 본 발명은 상기 문제들 중 적어도 하나가 본 발명의 현재의 화합물에 의해 해결될 수 있다는 예기치 않은 발견

을 기반으로 한다.

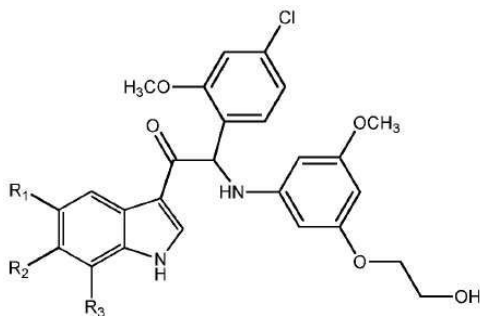
[0009] 본 발명은 현재 공지된 모든 네 가지 (4가지) 혈청형에 대하여 강력한 항바이러스 활성을 보유하는 것으로 밝혀진 화합물을 제공한다. 더욱이 본 발명은 이러한 화합물이 뎅기 바이러스 (DENV)의 증식을 효율적으로 억제함을 입증한다. 따라서, 이러한 화합물은 동물, 포유류 및 인간에서 바이러스 감염의 치료 및/또는 예방에서, 더 구체적으로, 뎅기 바이러스에 의한 감염의 치료 및/또는 예방에 사용될 수 있는 유용한 부류의 강력한 화합물을 구성한다.

[0010] 더욱이, 본 발명은 그러한 화합물의 약으로서의 용도 및 동물 또는 포유류에서 바이러스 감염, 특히 뎅기 바이러스 패밀리에 속하는 바이러스에 의한 감염을 치료 및/또는 예방하기 위한 의약의 제조에 있어서의 그의 용도에 관한 것이다. 또한 본 발명은 모든 그러한 화합물의 제조 방법 및 이를 유효량으로 포함하는 제약 조성물에 관한 것이다.

[0011] 또한 본 발명은 인간에서의 뎅기 바이러스 감염의 치료 또는 예방 방법에 관한 것으로서, 본 방법은 이를 필요로 하는 환자에게 1가지 이상의 다른 약, 예컨대 또 다른 항바이러스제와 임의로 조합된 유효량의 1가지 이상의 그러한 화합물, 또는 이의 제약상 허용가능한 염을 투여함에 의한 것이다.

[0012] 본 발명의 일 측면은 1치환 또는 2치환 인돌 기를 포함하는 하기 화학식 I:

[0013] [화학식 I]



[0014] 의 화합물, 이의 입체 이성질체 형태, 제약상 허용가능한 염, 용매 화물 또는 다형체를 제공하는 것이며; 상기 화합물은

[0015] R1이 H이고, R2가 F이고 R3이 H, F 또는 CH3이거나;

[0016] R1이 F 또는 CH3이고, R2가 OCH3이고 R3이 H이거나;

[0017] R1이 F이고, R2가 H이고 R3이 CH3이거나;

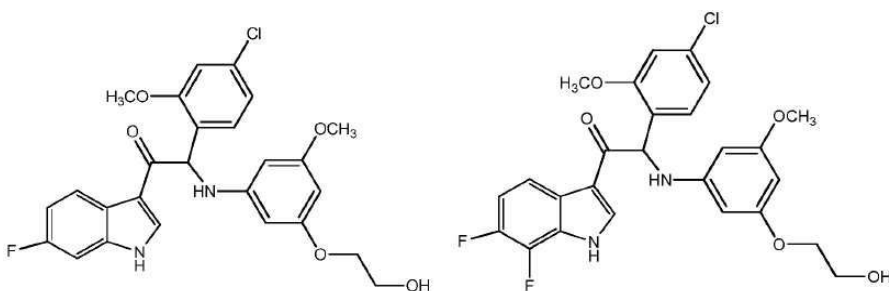
[0018] R1이 H이고, R2가 OCH3이고 R3이 H이거나;

[0019] R1이 H이고, R2가 Cl이고 R3이 H 또는 CH3이거나;

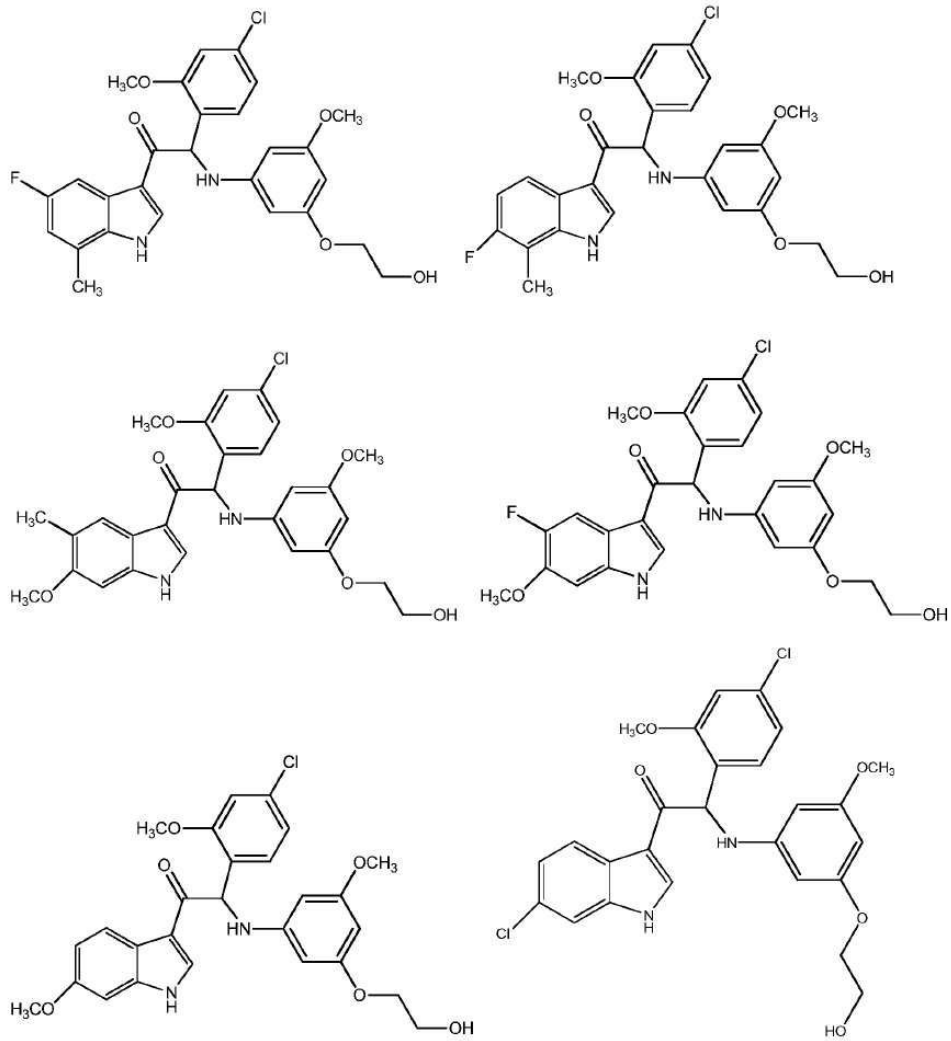
[0020] R1이 F이고, R2가 F이고 R3이 H이거나;

[0021] R1이 CH3이고, R2가 H이고 R3이 F인 군으로부터 선택된다.

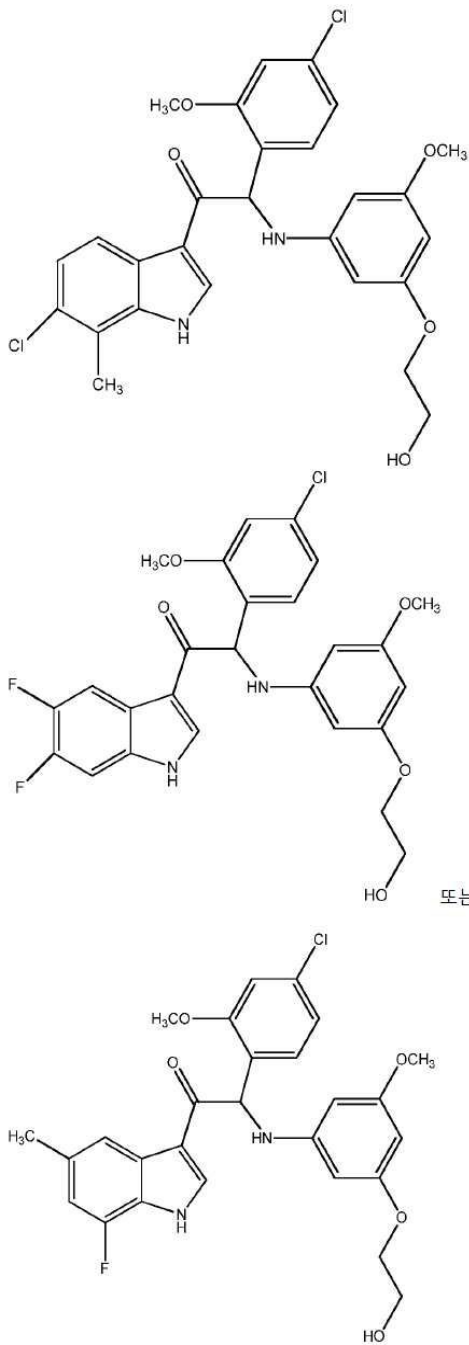
[0022] 특히, 본 발명의 화합물 또는 그의 입체 이성질체 형태, 이들의 제약상 허용가능한 염, 용매화물 또는 다형체는 하기 군으로부터 선택된다:



[0023]



[0024]



[0025]

[0026]

본 발명의 일부는 또한 화학식 I의 화합물 또는 이의 입체 이성질체 형태, 제약상 허용가능한 염, 용매화물 또는 다형체를 1가지 이상의 제약상 허용가능한 부형제, 희석제 또는 담체와 함께 포함하는 제약 조성물이다.

[0027]

화학식 I의 화합물의 제약상 허용가능한 염은 이의 산 부가염 및 염기 염을 포함한다. 적합한 산 부가염은 비독성 염을 형성하는 산에 의해 형성된다. 적합한 염기 염은 비독성 염을 형성하는 염기에 의해 형성된다.

[0028]

본 발명의 화합물은 또한 비용매화된 형태 및 용매화된 형태로 존재할 수 있다. 본원에서 "용매화물"이라는 용어는 본 발명의 화합물 및 1가지 이상의 제약상 허용가능한 용매 분자, 예를 들어 에탄올을 포함하는 분자 복합체를 기술하기 위하여 사용된다.

[0029]

"다형체"라는 용어는 1가지 초과 형태 또는 결정 구조로 존재하는 본 발명의 화합물의 능력을 나타낸다.

[0030]

본 발명의 화합물은 결정성 또는 무정형 생성물로서 투여될 수 있다. 본 화합물은 예를 들어 침전, 결정화, 냉동 건조, 분무 건조, 또는 증발 건조와 같은 방법에 의해 고체 플러그 (plug), 분말 또는 필름으로 수득될 수 있다. 본 화합물은 단독으로 또는 본 발명의 1가지 이상의 다른 화합물과 조합되거나 1가지 이상의 다른 약물과 조합되어 투여될 수 있다. 일반적으로, 본 화합물은 1가지 이상의 제약상 허용가능한 부형제와 결부되어 제형으

로서 부여된다. 본원에서 "부형제"라는 용어는 본 발명의 화합물(들) 이외의 임의의 성분을 기술하기 위하여 사용된다. 부형제의 선택은 대부분 특정 투여 양식, 용해성 및 안정성에 대한 부형제의 영향, 및 투여 형태의 성질과 같은 요인에 의존한다.

[0031] 본 발명의 화합물 또는 이의 임의의 하위군 (subgroup)은 투여 목적을 위하여 다양한 제약 형태 (pharmaceutical form)로 제형화될 수 있다. 적절한 조성물로서 전신 투여 약물에 일반적으로 이용되는 모든 조성물이 인용될 수 있다. 본 발명의 제약 조성물의 제조를 위하여, 활성 성분으로서의, 유효량의 특정 화합물 (임의로 부가염 형태)이 제약상 허용가능한 담체와 친밀한 혼합물 형태로 조합되며, 상기 담체는 투여에 요망되는 제제 형태에 따라 매우 다양한 형태를 취할 수 있다. 이러한 제약 조성물은 바람직하게는 예를 들어 경구 또는 직장 투여에 적합한 일원화된 투여 형태 (unitary dosage form)로 존재한다. 예를 들어, 경구 투여 형태의 조성물의 제조에 있어서, 임의의 일반적인 제약 매체, 예를 들어 경구 액체 제제, 예컨대 현탁액, 시럽, 엘릭시르, 에멀전 및 용액의 경우 물, 글리콜, 오일, 알코올 등; 또는 산제, 알약, 캡슐 및 정제의 경우 전분, 당, 카올린, 희석제, 활택제, 결합제, 붕해제 등과 같은 고체 담체가 이용될 수 있다. 정제 및 캡슐은, 그의 투여의 용이함 때문에, 가장 유리한 경구 단위 투여 형태를 대표하며, 이 경우, 고체 제약 담체가 명백하게 이용된다. 또한, 사용 직전에 액체 형태로 전환될 수 있는 고체 형태 제제가 포함된다.

[0032] 투여의 용이함 및 투여량의 균일성을 위하여 전술한 제약 조성물을 단위 투여 형태로 제형화하는 것이 특히 유리하다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 단위 투여 형태는 일원화된 투여형으로서 적합한 물리적 불연속 단위를 나타내며, 각각의 단위는 요망되는 제약 담체와 결부되어 요망되는 치료 효과를 생성하도록 계산된 활성 성분의 소정량을 포함한다. 그러한 단위 투여 형태의 예로는 정제 (분할선이 있는 정제 (scored tablet) 또는 코팅정을 포함함), 캡슐, 알약, 산제 패킷 (packet), 웨이퍼 (wafer), 좌약, 주사제 용액 또는 현탁액 등, 및 이들의 분리된 다중형 (segregated multiple)이 있다.

[0033] 감염병 치료의 숙련자라면 이하에 제시된 테스트 결과로부터 유효량을 결정할 수 있을 것이다. 일반적으로, 일일 유효량은 체중 1 kg당 0.01 mg 내지 체중 1 kg당 50 mg, 더 바람직하게는 체중 1 kg당 0.1 mg 내지 체중 1 kg당 10 mg임이 고려된다. 요구되는 용량을 온종일 적절한 간격으로 2개, 3개, 4개의 또는 이보다 더 많은 하위 용량 (sub-dose)로서 투여하는 것이 적절할 수 있다. 상기 하위 용량은 예를 들어 단위 투여 형태당 1 내지 1000 mg, 특히 5 내지 200 mg의 활성 성분을 포함하는 단위 투여 형태로서 제형화될 수 있다.

[0034] 정확한 투여량 및 투여 빈도는 사용되는 특정 화학식 I의 화합물, 치료되는 특정 병태, 치료되는 병태의 중증도, 특정한 환자의 연령, 체중 및 전반적인 신체 상태와, 개인이 복약 중일 수 있는 다른 약물에 의존하며, 이는 당업자에게 잘 알려진 바와 같다. 더욱이, 유효량은 치료되는 대상체의 응답에 따라 및/또는 본 발명의 화합물을 처방하는 의사의 평가에 따라 저하되거나 증가될 수 있다. 따라서 상기 유효량 범위는 단지 지침이며, 본 발명의 범주 또는 용도를 임의의 정도로 한정하고자 하는 것이 아니다.

[0035] 또한 본 발명은 본 발명의 화합물에 존재하는 원자의 임의의 동위원소를 포함하고자 한다. 예를 들어, 수소의 동위원소는 삼중 수소 및 중수소를 포함하며 탄소의 동위원소는 C-13 및 C-14를 포함한다.

[0036] 본 발명에서 사용되는 본 발명의 화합물은 또한 동일한 시퀀스 (sequence)의 결합으로 결합된 동일 원자들로 구성되지만 호환가능하지 않은 상이한 3차원 구조를 갖는 모든 가능한 화합물을 규정하는 그의 입체화학적 이성질체 형태로 존재할 수 있다. 달리 언급되지 않거나 표시되지 않으면, 화합물의 화학적 표기는 상기 화합물이 가질 수 있는 모든 가능한 입체화학적 이성질체 형태들의 혼합물을 포함한다.

[0037] 상기 혼합물은 상기 화합물의 기본적인 분자 구조의 모든 부분입체 이성질체 및/또는 거울상 이성질체를 포함할 수 있다. 임의의 라세미 혼합물 또는 라세미체를 비롯하여 순수한 형태의 또는 서로와의 혼합물 형태의 본 발명에서 사용되는 화합물의 모든 입체화학적 이성질체 형태는 본 발명의 범주 내에 포함되는 것으로 의도된다.

[0038] 본원에서 언급된 화합물 및 중간체의 순수한 입체 이성질체 형태는 상기 화합물 또는 중간체의 동일한 기본적인 분자 구조의 다른 거울상 이성질체 또는 부분입체 이성질체 형태가 실질적으로 없는 이성질체로서 정의된다. 특히, '입체 이성질체로서 순수한 (stereoisomerically pure)'이라는 용어는 80% 이상의 입체이성질체 과잉물 (stereoisomeric excess) (즉, 최소 90%의 1가지의 이성질체 및 최대 10%의 다른 가능한 이성질체) 내지 최대 100%의 입체이성질체 과잉물 (즉, 1가지 이성질체가 100%이고 다른 것은 없음)을 갖는 화합물 또는 중간체, 더욱 특히는, 90% 내지 최대 100%의 입체이성질체 과잉물을 갖는, 훨씬 더 특히는 94% 내지 최대 100%의 입체 이성질체 과잉물을 갖는, 그리고 가장 특히는 97% 내지 최대 100%의 입체이성질체 과잉물을 갖는 화합물 또는 중간체에 관련된다. '거울상 이성질체로서 순수한' 및 '부분입체 이성질체로서 순수한'이라는 용어는 유사한 방식

으로 이해되어야 하지만, 당해 혼합물의 각각 거울상 이성질체 과잉물, 부분입체 이성질체 과잉물과 관련하여 이해되어야 한다.

[0039]

본 발명의 화합물 및 중간체의 순수 입체이성질체 형태는 본 기술 분야에 공지된 절차의 적용에 의해 수득될 수 있다. 예를 들어, 거울상 이성질체는 광학 활성 산 또는 염기를 이용한 그의 부분입체 이성질체 염의 선택적 결정화에 의해 서로로부터 분리될 수 있다. 이의 예로는 타르타르산, 디벤조일타르타르산, 디톨루오일타르타르산 및 캄포술포산이 있다. 대안적으로, 거울상 이성질체는 키랄 고정상을 이용하여 크로마토그래피 기술에 의해 분리될 수 있다. 상기 순수 입체화학적 이성질체 형태는, 반응이 입체특이적으로 일어난다면, 적절한 출발 재료의 상응하는 순수 입체화학적 이성질체 형태로부터 또한 유도될 수 있다. 바람직하게는, 특정 입체이성질체가 요망될 경우, 상기 화합물은 입체특이적 제조 방법에 의해 합성된다. 이러한 방법은 유리하게는 거울상 이성질체로서 순수한 출발 재료를 이용한다.

[0040]

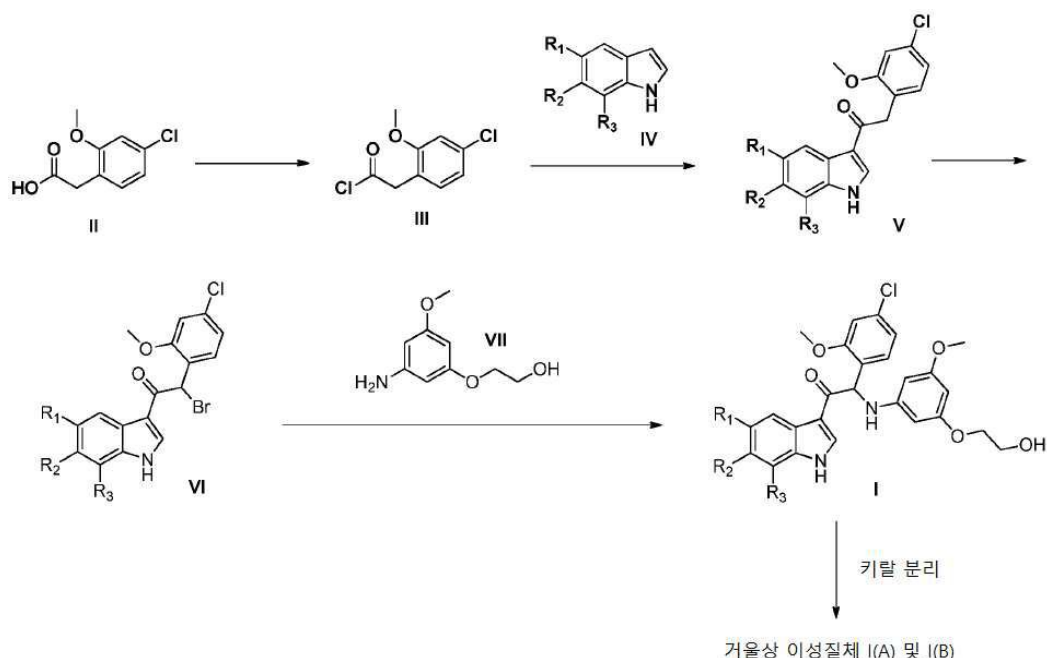
일반적인 합성 접근법

[0041]

화학식 I의 화합물의 합성은 반응식 1에 약술된 바와 같이 수행될 수 있다. 2-(4-클로로-2-메톡시페닐)아세트산 (II)은 예를 들어 티오닐 클로라이드와 같은 염소화 시약을 이용하여 상응하는 2-(4-클로로-2-메톡시페닐)아세틸 클로라이드 (III)로 전환될 수 있다. 산 클로라이드 III과 화학식 IV의 치환 인돌의 프리델-크래프츠 (Friedel-Crafts) 반응을 예를 들어 CH_2Cl_2 와 같은 적합한 용매에서, 그리고 전형적으로 냉각을 포함하는 적합한 반응 조건 하에서 예를 들어 Et_2AlCl 과 같은 루이스산 (Lewis acid) 시약을 이용하여 수행하여 화학식 V의 3-아실화 인돌을 제공할 수 있다. 화학식 V의 화합물의 카르보닐 모이어티 (moiety)에의 알파 위치에서의 아닐린 모이어티의 도입을 예를 들어 THF와 같은 적합한 용매에서 예를 들어 페닐트리메틸암모늄 트리브로마이드와 같은 시약을 이용한, 예를 들어 화학식 V의 화합물의 브로화를 포함하는 반응 시퀀스에 의해 성취하여 화학식 VI의 화합물을 제공하고, 예를 들어 CH_3CN 과 같은 적합한 용매에서의, 그리고 전형적으로 예를 들어 TEA 또는 DIPEA와 같은 염기를 이용한 화학식 VI의 화합물과 2-(3-아미노-5-메톡시페녹시)에탄올 (VII)의 후속적인 반응에 의해 화학식 I의 화합물을 라세미 혼합물로서 제공할 수 있다. 화학식 I의 화합물의 키랄 분리를 예를 들어 키랄 크로마토그래피에 의해 수행하여 화학식 I의 거울상 이성질체 A 및 B를 제공할 수 있다.

[0042]

[반응식 1]



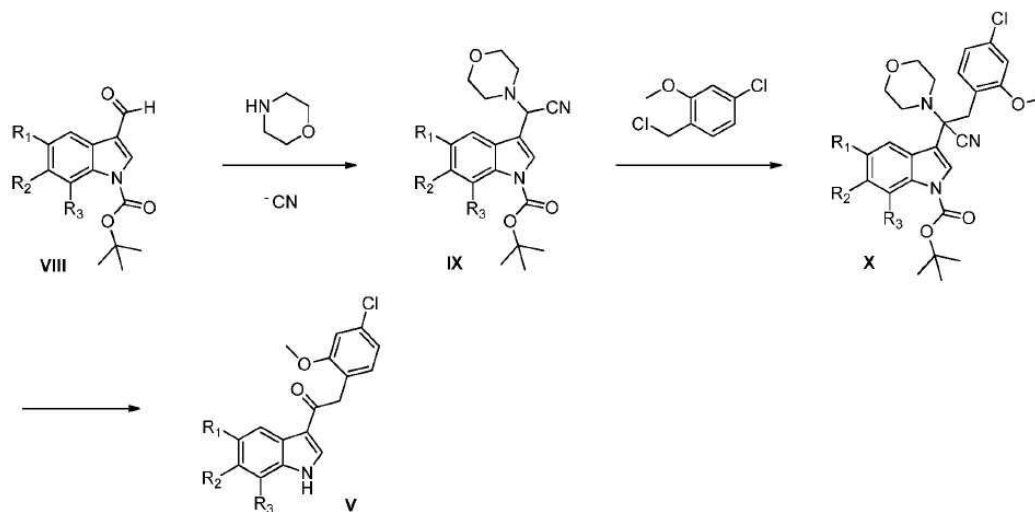
[0043]

[0044]

대안적인 접근법으로서, 화학식 V의 중간체는 또한 반응식 2에 약술된 바와 같이 제조될 수 있다: 화학식 VIII의 *N*-Boc-보호된 치환 인돌-3-카르브알데히드는 예를 들어 시안화나트륨 및 중아황산나트륨과 같은 시약의 존재 하에 그리고 예를 들어 물과 수-혼합성 유기 용매, 예를 들어 디옥산의 혼합물과 같은 적합한 용매에서 모르폴린과의 반응에 의해 화학식 IX의 중간체의 상응하는 스트레커-타입 (Strecker-type)으로 전환될 수 있다. 4-클로로-2-메톡시-벤질클로라이드를 이용한 화학식 IX의 화합물의 알킬화를 예를 들어 포타슘 헥사메틸디실라잔과

같은 염기의 존재 하에 그리고 예를 들어 DMF와 같은 적합한 용매에서 성취하여 화학식 X의 화합물을 제공할 수 있다. 예를 들어 승온에서의 수성 염산 용액을 이용한 처리와 같은 적합한 수성 산성 가수분해 조건을 화학식 X의 화합물에 적용하여 화학식 V의 중간체를 제공한다.

[0045] [반응식 2]



[0046]

[0047] 실시예

[0048] LC/MS법

[0049] 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC) 측정을 LC 펌프, 다이오드-어레이(diode-array; DAD) 또는 UV 검출기 및 컬럼 - 각각의 방법에서 특정됨 - 을 이용하여 수행하였다. 필요할 경우, 추가의 검출기를 포함시켰다 (하기의 방법에 대한 표를 참조).

[0050] 컬럼으로부터의 유동물은 질량 분광계 (MS)로 갔는데, 상기 분광계는 대기압 이온원으로 구성되었다. 화합물의 명목상 단일 동위원소 분자량 (MW)의 확인을 허용하는 이온을 얻기 위하여 조정 파라미터 (예를 들어, 스캐닝 범위, 드웰 (dwell) 시간...)를 설정하는 것은 당업자의 지식 이내이다. 데이터 획득을 적절한 소프트웨어를 이용하여 수행하였다.

[0051] 화합물을 그의 실험적 체류 시간 (R_t) 및 이온에 의해 설명한다. 데이터의 표에서 다르게 특정되지 않으면, 보고된 분자 이온은 $[M+H]^+$ (양성자화된 분자) 및/또는 $[M-H]^-$ (탈양성자화된 분자)에 상응한다. 화합물을 직접적으로 이온화할 수 없었을 경우, 부가물의 유형이 특정되어 있다 (즉, $[M+NH_4]^+$, $[M+HCOO]^-$ 등...). 다수의 동위원소 패턴을 갖는 분자 (Br, Cl)에 있어서, 보고된 값은 최저 동위원소 질량에 대하여 얻어진 것이다. 모든 결과는 사용한 방법과 일반적으로 연관되는 실험적 불확실성을 가지고서 얻어졌다.

[0052] 이하, "SQD"는 단일 사중극자 검출기 (Single Quadrupole Detector)를 의미하며, "MSD"는 질량 선택 검출기 (Mass Selective Detector)를 의미하며, "RT"는 실온을 의미하며, "BEH"는 가교된 에틸실록산/실리카 하이브리드 (hybrid)를 의미하며, "DAD"는 다이오드 어레이 검출기 (Diode Array Detector)를 의미하며, "HSS"는 고강도 실리카 (High Strength silica)를 의미한다.

[0053] LC/MS법 코드 (유량은 mL/분 단위로 표현되며; 컬럼 온도 (T)는 $^{\circ}C$ 단위로 표현되고; 실행 시간은 분 단위로 표현됨)

방법 코드	기기	컬럼	이동상	구배	유량 ----- Col T	실행 시간 (분)
LC-A	워터스 (Waters): 어퀴티 (Acquity) [®] UPLC [®] - DAD-SQD	워터스: BEH C18 (1.7 μm, 2.1x50 mm)	A: 95% H ₂ O + 5% CH ₃ CN 중 10 mM CH ₃ COONH ₄ B: CH ₃ CN	95% A로부터 1.3 분 내에 5% A 까지, 0.7 분 동안 유지	0.8 mL/분 ----- 55°C	2
LC-B	워터스: 어퀴티 [®] UPLC [®] - DAD-SQD	워터스: HSS T3 (1.8 μm, 2.1x100 mm)	A: 95% H ₂ O + 5% CH ₃ CN 중 10 mM CH ₃ COONH ₄ B: CH ₃ CN	100% A로부터 2.10 분 내에 5% A 까지, 0.90 분 내에 0% A 까지, 0.5 분 내에 5% A 까지	0.7 mL/분 ----- 55°C	3.5
LC-C	워터스: 어퀴티 [®] UPLC [®] - DAD- 콰트로 마이크로 (Quattro Micro) TM	워터스: BEH C18 (1.7 μm, 2.1x100 mm)	A: 95% CH ₃ COONH ₄ (7 Mm) / 5% CH ₃ CN, B: CH ₃ CN	0.49 분 동안 84.2% A 에서 2.18 분 내에 10.5% A 까지, 1.94 분 동안 유지, 0.73 분 내에 다시 84.2% A 까지, 0.73 분 동안 유지	0.343 mL/분 ----- 40°C	6.2
LC-D	워터스: 어퀴티 [®] UPLC [®] - DAD- TQD	워터스: HSS C18 (1.8 μm, 2.1x50 mm)	A: H ₂ O 중 0.1% 포름산 B: CH ₃ CN	50% A 에서 3.5 분 내에 10%까지, 1.5 분 동안 유지	0.5 mL/분 ----- 40°C	5

[0054]

[0055]

SFC-MS법

[0056]

이산화탄소 (CO₂) 전달용의 이중 펌프 및 모디파이어 (modifier), 오토샘플러 (autosampler), 컬럼 오븐, 400 bar까지 견디는 고압 유동 셀을 갖춘 다이오드 어레이 검출기로 구성된 분석용 초임계 유체 크로마토그래피 (Supercritical fluid chromatography; SFC)를 사용하여 SFC 측정을 수행하였다. 질량 분광계 (MS)로 구성되어 있다면, 컬럼으로부터의 유동물은 MS 분광계로 갔다. 화합물의 명목상 단일 동위원소 분자량 (MW)의 확인을 허용하는 이온을 얻기 위하여 조정 파라미터 (예를 들어, 스캐닝 범위, 드웰 시간...)를 설정하는 것은 당업자의 지식 이내이다. 데이터 획득을 적절한 소프트웨어를 이용하여 수행하였다.

[0057]

SFC-MS 분석 방법 (유량은 mL/분 단위로 표현되며; 컬럼 온도 (T)는 °C 단위로 표현되고; 실행 시간은 분 단위로 표현되며; 배압 (backpressure; BPR)은 bar 단위로 표현됨).

방법 코드	컬럼	이동상	구배	유량	실행 시간
				Col T	BPR
SFC-A	다이셀 키랄팩 (Daicel Chiralpak® AD-H 컬럼 (5 μm, 150 x 4.6 mm))	A: CO ₂ B: MeOH	30% B, 7 분 유지,	3 ----- 35	7 ----- 100
SFC-B	다이셀 키랄팩® AD-H 컬럼 (5 μm, 150 x 4.6 mm)	A: CO ₂ B: MeOH	40% B, 7 분 유지,	3 ----- 35	7 ----- 100
SFC-C	다이셀 키랄셀 (Daicel Chiralcel® OJ-H 컬럼 (5 μm, 250 x 4.6 mm))	A: CO ₂ B: MeOH	40% B, 7 분 유지,	3 ----- 35	7 ----- 100
SFC-D	다이셀 키랄셀® OD-H 컬럼 (5 μm, 150 x 4.6 mm)	A: CO ₂ B: MeOH	40% B, 7 분 유지,	3 ----- 35	7 ----- 100
SFC-E	헬크 (WHELK)-O1 (S,S) 250*4.6 mm 5 μm Regis	A: CO ₂ B: MeOH	60% B, 7 분 유지,	3 ----- 35	7 ----- 100
SFC-F	다이셀 키랄팩® AS3 컬럼 (3.0 μm, 150 x 4.6 mm)	A: CO ₂ B: EtOH +0.2% iPrNH ₂ +3%H ₂ O	25% B (6 분 유지)에서 1 분 내에 50%까지, 2.5 분 유지	2.5 ----- 40	9.5 ----- 110
SFC-G	다이셀 키랄팩® AS3 컬럼 (3.0 μm, 150 x 4.6 mm)	A: CO ₂ B: EtOH +0.2% iPrNH ₂ +3% H ₂ O	30% B (6 분 유지)에서 1 분 내에 50%까지, 2.5 분 유지	2.5 ----- 40	9.5 ----- 110

[0058]

[0059]

용점

[0060]

값은 피크 값 또는 용융 범위이며, 일반적으로 이러한 분석 방법과 연관된 실험적 불확실성을 가지고서 얻어진다.

[0061]

DSC823e (DSC로 표시됨)

[0062]

다수의 화합물에 있어서, 용점을 DSC823e (메틀러-톨레도 (Mettler-Toledo))를 이용하여 결정하였다. 용점을 10 °C/분의 온도 구배를 이용하여 측정하였다. 최대 온도는 300 °C였다.

[0063]

선광도

[0064]

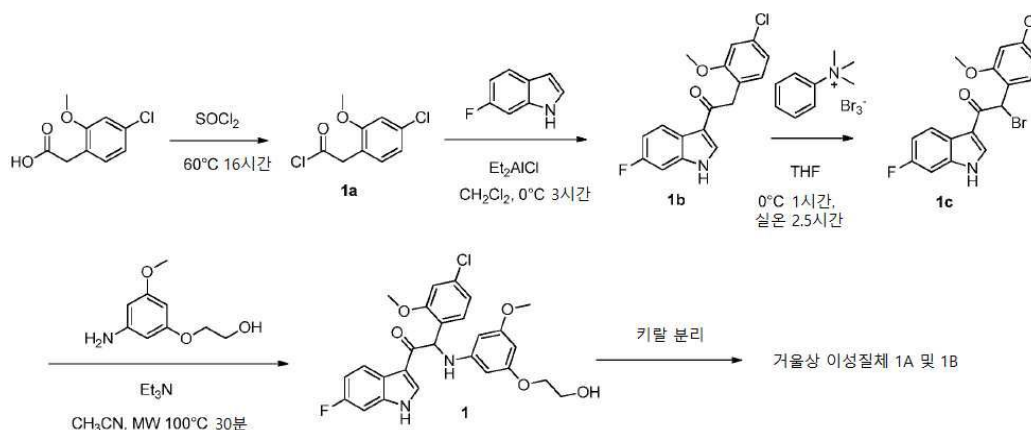
선광도를 나트륨 램프를 이용하여 퍼킨-엘머(Perkin-Elmer) 341 편광계에서 측정하고, 하기와 같이 보고하였다: $[a]^\circ (\lambda, c \text{ g}/100 \text{ ml}, \text{용매}, T^\circ\text{C})$.

[0065]

$[a]_\lambda^T = (100 a) / (\ell \times c)$: 여기서, ℓ 은 dm 단위의 경로 길이이며, c는 온도 T (°C) 및 파장 λ (nm 단위)에 서 샘플에 있어서의 g/100 ml 단위의 농도이다. 사용되는 광의 파장이 589 nm (나트륨 D 라인)라면, 부호 D가 대신 사용될 수 있다. 선광도 부호 (+ 또는 -)를 항상 제공하여야 한다. 이러한 등식을 사용할 때, 농도 및 용매는 항상 선광도 뒤의 괄호 안에 제공된다. 선광도를 ° 를 이용하여 보고하며, 농도의 단위는 제공되어 있지 않다 (이것은 g/100 ml인 것으로 추정된다).

[0066]

실시예 1: 2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-1-(6-플루오로-1*H*-인돌-3-일)-2-((3-(2-히드록시에톡시)-5-메톡시페닐)아미노)에탄논 (화합물 1)의 합성 및 거울상 이성질체 1A 및 1B로의 키랄 분리.



[0067]

중간체 1a의 합성:

[0069]

2-(4-클로로-2-메톡시페닐)아세트산 [CAS 170737-95-8] (5.8 g, 28.9 mmol)을 티오닐 클로라이드 (50 mL)에 조금씩 첨가하고, 생성된 용액을 60℃에서 하룻밤 교반시켰다. 용매를 감압 하에 농축시키고, 톨루엔과 함께 공동 증발시켜 2-(4-클로로-2-메톡시페닐)아세트 클로라이드 1a (6.5 g)를 유성 잔사로 제공하고, 이를 추가의 정제 없이 다음 단계에서 사용하였다.

[0070]

중간체 1b의 합성:

[0071]

0℃에서 hexan 중 1 M 디에틸알루미늄 클로라이드 (37.1 mL, 37.14 mmol)를 CH₂Cl₂ (100 mL) 중 6-플루오로-1*H*-인돌 [CAS 399-51-9] (3.34 g, 24.76 mmol)의 용액에 적가하였다. 0℃에서의 30분 후, CH₂Cl₂ (100 mL) 중 2-(4-클로로-2-메톡시페닐)아세트 클로라이드 1a (6.3 g, 28.76 mmol)의 용액을 0℃에서 서서히 첨가하였다. 상기 반응물을 0℃에서 3시간 동안 교반시켰다. 빙수를 첨가하고, 침전물을 여과 제거하고, 물 및 소량의 CH₂Cl₂로 세척하였다. 고형물을 진공 하에 70℃에서 하룻밤 건조시켜 2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-1-(6-플루오로-1*H*-인돌-3-일)에탄논 1b (4.9 g)를 제공하였다.

[0072]

중간체 1c의 합성:

[0073]

0℃에서, THF (65 mL) 중 페닐트리메틸암모늄 트리브로마이드 [CAS 4207-56-1] (5.8 g, 15.4 mmol)의 용액을 THF (60 mL) 중 2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-1-(6-플루오로-1*H*-인돌-3-일)에탄논 1b (4.9 g, 15.4 mmol)의 혼합물에 적가하였다. 상기 혼합물을 0℃에서 1시간 동안, 그리고 실온에서 2.5시간 동안 교반시켰다. 침전물을 여과 제거하고, EtOAc로 세척하였다. 여과액을 감압 하에 농축시켰다. 잔사를 EtOAc로 용해시키고, 물로 세척하였다. 침전물이 유기 층에서 나타났으며, 이를 여과 제거하고 건조시켜 2-브로모-2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-1-(6-플루오로-1*H*-인돌-3-일)에탄논 1c (4.6 g)의 첫 번째 배치 (batch)를 제공하였다. 유기 층을 분리하고, MgSO₄로 건조시키고, 여과시키고, 용매를 감압 하에 증발시켰다. 잔사를 EtOAc로부터 결정화하고, 침전물을 여과 제거하고, Et₂O로 세척하고, 진공 하에 건조시켜 2-브로모-2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-1-(6-플루오로-1*H*-인돌-3-일)에탄논 1c (1.6 g)의 두 번째 분획을 제공하였다.

[0074]

화합물 1의 합성 및 거울상 이성질체 1A 및 1B로의 키랄 분리:

[0075]

밀봉 튜브 내의 CH₃CN (16 mL) 중 2-브로모-2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-1-(6-플루오로-1*H*-인돌-3-일)-에탄논 1c (2.1 g, 5.3 mmol), 2-(3-아미노-5-메톡시페녹시)에탄올 [CAS 725237-16-1] (924 mg, 5.05 mmol) 및 트리에틸아민 (1.47 mL, 10.6 mmol)의 혼합물을 0 내지 400 W의 범위의 출력 (power output)을 갖는 마이크로웨이브 바이오테이지[®] 이니시에이터 (Initiator) EXP 60 (고정된 홀드 타임 (hold time))을 이용하여 100℃에서 30분 동안 가열하였다. 상기 반응물을 CH₂Cl₂로 희석시키고, 유기 층을 물로 세척하고, MgSO₄로 건조시키고, 여과시키고, 용매를 감압 하에 농축시켰다. 잔사를 50/50에서 0/100까지의 헵탄/EtOAc 구배를 이용하여 실리카겔 (15 내지 40 μm, 80 g)에서의 플래시 크로마토그래피에 의해 정제하였다. 순수 분획을 수집하고, 농축시켜 1.1 g의 화합물 1을 제공하였다. 이 분획을 또 다른 배치의 0.93 g의 화합물 1과 합하고, 후속적으로 키랄 SFC

(고정상: 시아노 (CYANO) 6 μ m 150x21.2 mm, 이동상: 75% CO₂, 25% MeOH)를 통하여 정제하여 2-(4-클로로-2-메톡시-페닐)-1-(6-플루오로-1*H*-인돌-3-일)-2-((3-(2-히드록시에톡시)-5-메톡시페닐)아미노)-에타논 (화합물 1, 1.36 g)을 라세미 혼합물로서 제공하였다.

[0076] 화합물 1 (1.36 g)의 거울상 이성질체를 키랄 SFC (고정상: 키라셀 (Chiracel)[®] OJ 20x250 mm, 이동상: 60% CO₂, 40% MeOH)를 통하여 분리하여 611 mg의 첫 번째로 용출된 거울상 이성질체 및 586 mg의 두 번째로 용출된 거울상 이성질체를 생성하였다. 첫 번째로 용출된 거울상 이성질체를 CH₃CN/디이소프로필에테르/헵탄으로 용해시켰다. 침전물을 여과 제거하고, 건조시켜 거울상 이성질체 1A (496 mg)를 무정형 분말로서 제공하였다. 두 번째로 용출된 거울상 이성질체를 CH₃CN/디이소프로필에테르/헵탄으로 용해시켰다. 침전물을 여과 제거하고, 건조시켜 거울상 이성질체 1B (458 mg)를 무정형 분말로서 제공하였다.

[0077] **화합물 1:**

[0078] ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 3.61 (s, 3 H) 3.64 (q, *J*=5.3 Hz, 2 H) 3.77 - 3.88 (m, 2 H) 3.96 (s, 3 H) 4.78 (t, *J*=5.5 Hz, 1 H) 5.71 (t, *J*=1.9 Hz, 1 H) 5.93 (d, *J*=1.9 Hz, 2 H) 6.15 (d, *J*=8.2 Hz, 1 H) 6.40 (d, *J*=8.2 Hz, 1 H) 6.96 (dd, *J*=8.2, 1.9 Hz, 1 H) 7.02 - 7.08 (m, 1 H) 7.09 (d, *J*=1.9 Hz, 1 H) 7.27 (dd, *J*=9.6, 2.4 Hz, 1 H) 7.35 (d, *J*=8.5 Hz, 1 H) 8.13 (dd, *J*=8.8, 5.7 Hz, 1 H) 8.43 (s, 1 H) 11.96 - 12.17 (m, 1 H)

[0079] LC/MS (방법 LC-C): R_t 2.95분, MH⁺ 499

[0080] **거울상 이성질체 1A:**

[0081] ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 3.57 - 3.68 (m, 5 H) 3.77 - 3.89 (m, 2 H) 3.96 (s, 3 H) 4.73 - 4.87 (m, 1 H) 5.71 (t, *J*=1.9 Hz, 1 H) 5.91 - 5.96 (m, 2 H) 6.15 (d, *J*=8.2 Hz, 1 H) 6.39 (d, *J*=8.2 Hz, 1 H) 6.96 (dd, *J*=8.2, 1.9 Hz, 1 H) 7.01 - 7.11 (m, 2 H) 7.27 (dd, *J*=9.6, 2.4 Hz, 1 H) 7.36 (d, *J*=8.2 Hz, 1 H) 8.13 (dd, *J*=9.6, 5.7 Hz, 1 H) 8.43 (s, 1 H) 11.45 - 12.31 (m, 1 H)

[0082] LC/MS (방법 LC-C): R_t 2.95, MH⁺ 499

[0083] [α]_D²⁰: +112.1° (c 0.281, DMF)

[0084] 키랄 SFC (방법 SFC-C): R_t 3.17분, MH⁺ 499, 키랄 순도 100%.

[0085] **거울상 이성질체 1B:**

[0086] ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 3.57 - 3.67 (m, 5 H) 3.74 - 3.90 (m, 2 H) 3.96 (s, 3 H) 4.78 (br. s., 1 H) 5.70 - 5.74 (m, 1 H) 5.93 (s, 2 H) 6.15 (d, *J*=8.2 Hz, 1 H) 6.40 (d, *J*=8.2 Hz, 1 H) 6.96 (dd, *J*=8.2, 1.9 Hz, 1 H) 7.02 - 7.08 (m, 1 H) 7.09 (d, *J*=1.9 Hz, 1 H) 7.27 (dd, *J*=9.6, 2.4 Hz, 1 H) 7.36 (d, *J*=8.2 Hz, 1 H) 8.13 (dd, *J*=9.6, 5.5 Hz, 1 H) 8.43 (s, 1 H) 11.63 - 12.47 (m, 1 H)

[0087] LC/MS (방법 LC-C): R_t 2.95, MH⁺ 499

[0088] [α]_D²⁰: -113.9° (c 0.28, DMF)

[0089] 키랄 SFC (방법 SFC-C): R_t 4.12분, MH⁺ 499, 키랄 순도 100%.

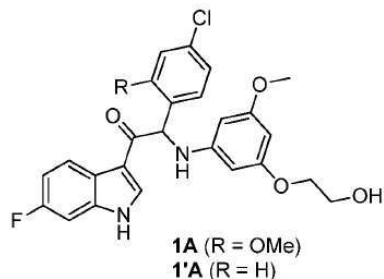
[0090] 실시예 1.1: pH 7.4에서의 거울상 이성질체 1A의 키랄 안정성

[0091] 거울상 이성질체 1A (R = OMe)의 키랄 안정성을 40℃ 및 60℃에서 pH 7.4에서 완충 용액에서 24시간 및 48시간 동안 인큐베이션한 후 거울상 이성질체 과잉률 (enantiomeric excess; ee%)을 결정함으로써 평가하였다. 라세미 화에 대한 안정성에 대한 거울상 이성질체 1A (R = OMe)의 메톡시-치환체의 영향을 평가하기 위하여, 거울상 이

성질체 1'A (R = H)의 키랄 안정성을 동일 조건 하에서 테스트하였다.

[0092]

이것을 위하여, 1A 및 1'A의 5 μ M 완충 (pH = 7.4) 용액을 DMSO 중 1A 또는 1'A의 100 μ M 용액 25 μ L와 pH 7.4의 수성 완충제 475 μ L의 혼합에 의해 제조하였다. 샘플을 40°C 및 60°C에서 인큐베이션한지 24시간 및 48시간 후에 취하였다. 분석용 샘플을 키랄 SFC (MS 검출)에 의해 분석하고, 키랄 순도를 거울상 이성질체 과잉률 (ee% = %거울상 이성질체 A - %거울상 이성질체 B)로서 표현하였다. 거울상 이성질체 1A 및 1'A 둘 모두는 그의 인큐베이션 전 키랄 순도가 100%였다.

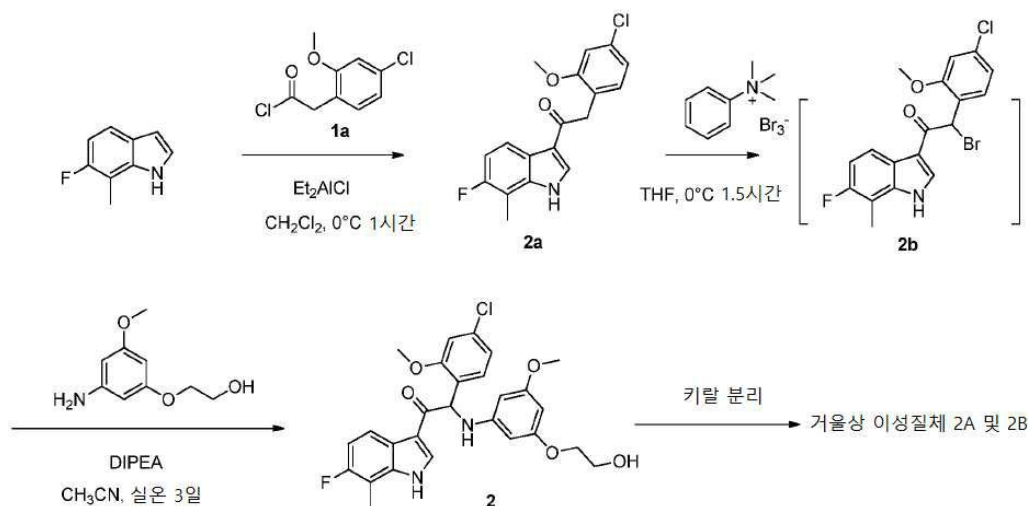


화합물	온도	ee%	
		샘플링 시점 (시간)	
		24	48
1A	40°C	100	100
	60°C	99	96
1'A	40°C	69	41
	60°C	0	0

[0093]

[0094]

실시예 2: 2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-1-(6-플루오로-7-메틸-1H-인돌-3-일)-2-((3-(2-히드록시에톡시)-5-메톡시페닐)아미노)에탄논 (화합물 2)의 합성 및 거울상 이성질체 2A 및 2B로의 키랄 분리.



[0095]

[0096]

중간체 2a의 합성:

[0097]

N₂-유동 하에 빙조에서 CH₂Cl₂ (40 mL) 중 6-플루오로-7-메틸-1H-인돌 [CAS 57817-10-4] (1.10 g, 7.37 mmol)의 용액을 냉각시켰다. hexan 중 1 M 디에틸알루미늄 클로라이드 (10 mL, 10 mmol)를 15분에 걸쳐 적가하였다. 0°C에서 15분 동안 추가로 교반시킨 후, CH₂Cl₂ (35 mL) 중 2-(4-클로로-2-메톡시-페닐)아세트릴 클로라이드 1a (2.06 g, 9.42 mmol, 합성: 실시예 1 참조)의 용액을 0°C에서 75분에 걸쳐 첨가하였다. 상기 반응물을 0°C에서 1시간 동안 교반시키고, 후속적으로, 물 (10 mL) 중 포타슘 소듐 타르타레이트 4수화물 (롯데 (Rochelle) 염)

[CAS 6100-16-9] (4.24 g, 15 mmol)의 용액의 느린 첨가에 의해 켄칭 (quenching)하였다 (상기 혼합물의 내부 온도를 10℃ 미만으로 유지하면서). 빙조를 제거하고, 2-메틸-THF (160 mL) 및 Na₂SO₄ (60 g)를 첨가하고, 생성된 혼합물을 실온에서 하룻밤 교반시켰다. 상기 혼합물을 디칼라이트 (dicalite)[®]로 여과시키고, 필터 케이크 (filter cake)를 몇 부분의 THF로 세척하였다. 합한 여과액을 감압 하에 증발시키고, 잔사를 소량의 CH₂Cl₂로 미분화하였다. 고형물을 여과에 의해 분리하고, 진공 하에 건조시켜 2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-1-(6-플루오로-7-메틸-1*H*-인돌-3-일)에타논 2a (1.9 g)를 백색 분말로써 제공하였다.

[0098] **화합물 2의 합성 및 거울상 이성질체 2A 및 2B로의 키랄 분리:**

[0099] N₂-유동 하에 빙조에서 건조 THF (60 mL) 중 2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-1-(6-플루오로-7-메틸-1*H*-인돌-3-일)-에타논 2a (1.9 g, 5.73 mmol)의 용액을 냉각시켰다. 0℃에서, THF (50 mL) 중 페닐트리메틸암모늄 트리브로마이드 [CAS 4207-56-1] (2.3 g, 5.91 mmol)의 용액을 1시간의 기간에 걸쳐 적가하고, 혼합물을 0℃에서 추가 1.5시간 동안 교반시켰다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시키고, 조 브롬화 중간체 2b를 포함하는 잔사를 CH₃CN (100 mL)에 용해시켰다. 2-(3-아미노-5-메톡시페녹시)에탄올 [CAS 725237-16-1] (2.11 g, 11.5 mmol) 및 디이소프로필에틸아민 (2 mL, 11.6 mmol)을 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에서 3일 동안 교반시켰다. 물 (350 mL)을 첨가하고, 반응 생성물을 2-메틸-THF (3x 100 mL)로 추출하였다. 합한 유기 층을 0.5 M HCl (200 mL) 및 물 (3x 300 mL)로 세척하고, MgSO₄로 건조시키고, 감압 하에 증발시켰다. 잔사 (2.48 g)를 컬럼 크로마토그래피 (고정상: 실리카 40 g, HP-스피어 (Spher)[®] 40 μm; 이동상: 헵탄/EtOAc, 구배: 100/0에서 0/100까지)에 의해 정제하였다. 반응 생성물을 포함하는 분획을 합하고, 감압 하에 증발시켰다. 잔사를 소량의 EtOAc/헵탄 (1/1) 혼합물로 미분화하고, 고형물을 여과 제거하고, 진공 하에 건조시켜 2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-1-(6-플루오로-7-메틸-1*H*-인돌-3-일)-2-((3-(2-히드록시에톡시)-5-메톡시페닐)아미노)에타논 (화합물 2, 1.38 g)을 라세미 혼합물로서 제공하였다. 화합물 2 (1.38 g)의 거울상 이성질체를 예비 SFC (고정상: 키랄팩[®] 디아셀 AS 20 x 250 mm, 이동상: CO₂, 0.4% *i*PrNH₂를 포함하는 EtOH)를 통하여 분리하였다. 첫 번째로 용출된 거울상 이성질체를 MeOH (50 mL)와 물 (20 mL)의 혼합물에 용해시키고, 혼합물을 감압 (200 mbar, 수조: 40℃) 하에 20 ml의 잔존 부피까지 증발시켰다. 생성된 현탁물을 20 ml의 물로 희석시키고, 실온에서 3시간 동안 교반시켰다. 백색 고형물을 여과 제거하고, 물로 세척하고, 진공 하에 실온에서 건조시켜 거울상 이성질체 2A (631 mg)를 무정형 백색 분말로써 제공하였다. 두 번째로 용출된 거울상 이성질체를 MeOH (50 mL)와 물 (20 mL)의 혼합물에 용해시키고, 혼합물을 감압 (200 mbar, 수조: 40℃) 하에 20 ml의 잔존 부피까지 증발시켰다. 생성된 현탁물을 20 ml의 물로 희석시키고, 실온에서 3시간 동안 교반시켰다. 백색 고형물을 여과 제거하고, 물로 세척하고, 진공 하에 실온에서 건조시켜 거울상 이성질체 2B (625 mg)를 무정형 백색 분말로써 제공하였다.

[0100] **화합물 2:**

[0101] ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 2.37 (br s, 3 H) 3.60 (s, 3 H) 3.63 (q, *J*=5.2 Hz, 2 H) 3.76 - 3.89 (m, 2 H) 3.96 (s, 3 H) 4.76 (t, *J*=5.5 Hz, 1 H) 5.71 (t, *J*=2.1 Hz, 1 H) 5.94 (d, *J*=2.2 Hz, 2 H) 6.16 (d, *J*=8.1 Hz, 1 H) 6.36 (d, *J*=8.1 Hz, 1 H) 6.95 (dd, *J*=8.4, 2.0 Hz, 1 H) 7.00 (dd, *J*=10.1, 8.8 Hz, 1 H) 7.08 (d, *J*=2.0 Hz, 1 H) 7.35 (d, *J*=8.1 Hz, 1 H) 7.95 (dd, *J*=8.7, 5.2 Hz, 1 H) 8.41 (s, 1 H) 12.17 (br s, 1 H)

[0102] LC/MS (방법 LC-A): R_t 1.19분, MH⁺ 513

[0103] **거울상 이성질체 2A:**

[0104] ¹H NMR (360 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 2.38 (s, 3 H) 3.61 (s, 3 H) 3.62 - 3.67 (m, 2 H) 3.82 (ddt, *J*=15.4, 10.2, 5.1, 5.1 Hz, 2 H) 3.97 (s, 3 H) 4.81 (t, *J*=5.5 Hz, 1 H) 5.71 (br t, *J*=1.8 Hz, 1 H) 5.95 (d, *J*=1.5 Hz, 2 H) 6.17 (br d, *J*=8.4 Hz, 1 H) 6.40 (br d, *J*=8.1 Hz, 1 H) 6.96 (dd, *J*=8.4, 1.8 Hz, 1 H) 7.02 (br dd, *J*=10.1, 9.0 Hz, 1 H) 7.10 (d, *J*=1.8 Hz, 1 H) 7.36 (d, *J*=8.1 Hz, 1 H) 7.96 (dd, *J*=8.6, 5.3 Hz, 1 H) 8.44 (s, 1 H) 12.22 (br s, 1 H)

[0105] LC/MS (방법 LC-A): R_t 1.20, MH⁺ 513

[0106] $[\alpha]_D^{20}$: +83.3° (c 0.36, DMF)

[0107] 키랄 SFC (방법 SFC-F): R_t 2.05분, MH^+ 513, 키랄 순도 100%

[0108] 거울상 이성질체 2B:

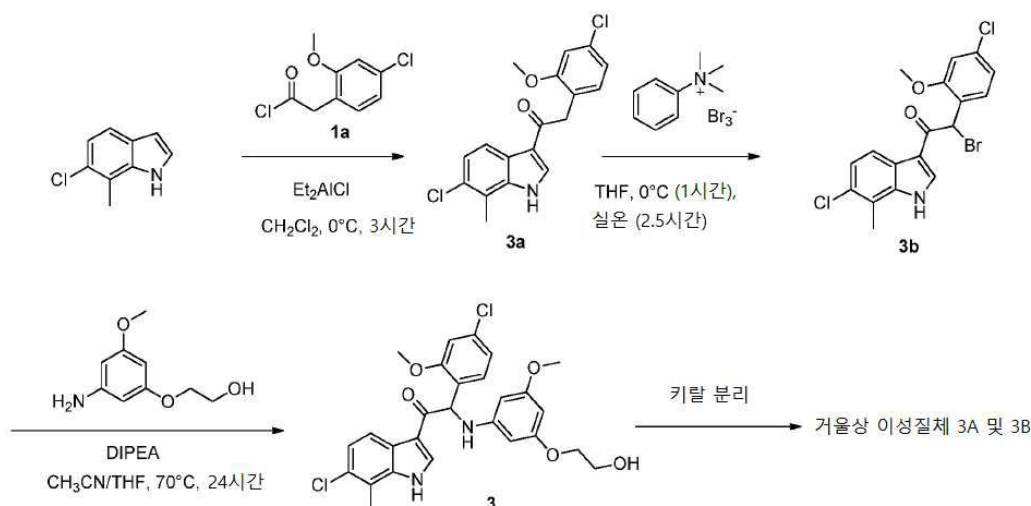
[0109] ^1H NMR (360 MHz, $DMSO-d_6$) δ ppm 2.38 (s, 3 H) 3.61 (s, 3 H) 3.62 - 3.67 (m, 2 H) 3.83 (qt, $J=10.2$, 5.1 Hz, 2 H) 3.97 (s, 3 H) 4.80 (t, $J=5.5$ Hz, 1 H) 5.71 (br t, $J=2.2$ Hz, 1 H) 5.95 (d, $J=1.8$ Hz, 2 H) 6.17 (d, $J=8.1$ Hz, 1 H) 6.40 (d, $J=8.1$ Hz, 1 H) 6.96 (dd, $J=8.4$, 1.8 Hz, 1 H) 7.02 (dd, $J=10.2$, 8.8 Hz, 1 H) 7.10 (d, $J=1.8$ Hz, 1 H) 7.36 (d, $J=8.1$ Hz, 1 H) 7.96 (dd, $J=8.6$, 5.3 Hz, 1 H) 8.44 (s, 1 H) 12.21 (br s, 1 H)

[0110] LC/MS (방법 LC-A): R_t 1.20, MH^+ 513

[0111] $[\alpha]_D^{20}$: -81.9° (c 0.515, DMF)

[0112] 키랄 SFC (방법 SFC-F): R_t 3.28분, MH^+ 513, 키랄 순도 100%

[0113] 실시예 3: 2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-1-(6-클로로-7-메틸-1*H*-인돌-3-일)-2-((3-(2-히드록시에톡시)-5-메톡시페닐)아미노)에타논 (화합물 3)의 합성 및 거울상 이성질체 3A 및 3B로의 키랄 분리.



[0114]

[0115] 중간체 3a의 합성:

[0116] 0°C에서 hexan 중 1 M 디에틸알루미늄 클로라이드 (18.1 mL, 18.1 mmol)를 CH_2Cl_2 (60 mL) 중 6-클로로-7-메틸-1*H*-인돌 [CAS 57817-09-1] (2 g, 12.08 mmol)의 용액에 적가하였다. 0°C에서의 30분 후, CH_2Cl_2 (60 mL) 중 2-(4-클로로-2-메톡시페닐)아세틸 클로라이드 1a (3.21 g, 14.66 mmol, 합성: 실시예 1 참조)의 용액을 0°C에서 서서히 첨가하였다. 상기 반응물을 0°C에서 3시간 동안 교반시켰다. 빙수를 첨가하고, 침전물을 여과 제거하고, 물로 세척하였다. 고형물을 진공 하에 건조시켜 2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-1-(6-클로로-7-메틸-1*H*-인돌-3-일)에타논 3a (3.2 g)를 제공하였다.

[0117] 중간체 3b의 합성:

[0118] 0°C에서, THF (85 mL) 중 페닐트리메틸암모늄 트리브로마이드 [CAS 4207-56-1] (3.63 g, 9.65 mmol)의 용액을 THF (85 mL) 중 2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-1-(6-클로로-7-메틸-1*H*-인돌-3-일)에타논 3a (3.2 g, 9.2 mmol)의 용액에 적가하였다. 상기 혼합물을 0°C에서 1시간 동안, 그리고 실온에서 2.5시간 동안 교반시켰다. 침전물을 여과 제거하고, EtOAc로 세척하였다. 여과액을 감압 하에 농축시켰다. 잔사를 최소의 CH_3CN /다이소프로필에테르로 용해시켰다. 침전물을 여과 제거하고, 진공 하에 건조시켜 2-브로모-2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-1-(6-클로로-7-메틸-1*H*-인돌-3-일)-에타논 3b (4.1 g)를 제공하였다.

[0119] **화합물 3의 합성 및 거울상 이성질체 3A 및 3B로의 키랄 분리:**

[0120] $\text{CH}_3\text{CN}/\text{THF}$ (1/1) (120 mL) 중 2-브로모-2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-1-(6-클로로-7-메틸-1*H*-인돌-3-일)에탄논 3b (3.1 g, 7.26 mmol), 2-(3-아미노-5-메톡시페녹시)에탄올 [CAS 725237-16-1] (1.33 g, 7.26 mmol) 및 디이소프로필에틸아민 (1.9 mL, 10.9 mmol)의 혼합물을 70°C에서 24시간 동안 교반시켰다. 상기 혼합물을 감압 하에 농축시켰다. 잔사를 CH_2Cl_2 로 희석시키고, 1 N HCl로 세척하였다. 유기 층을 분리하고, MgSO_4 로 건조시키고, 여과시키고, 용매를 감압 하에 증발시켰다. 잔사를 실리카 겔에서의 컬럼 크로마토그래피 (15 내지 40 μm , $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (99.5/0.5) 중 80 g)에 의해 정제하였다. 순수 분획을 수집하고, 감압 하에 증발시켰다 (2.3 g). 소량을 $\text{Et}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$ 으로부터 결정화하여 2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-1-(6-클로로-7-메틸-1*H*-인돌-3-일)-2-((3-(2-히드록시에톡시)-5-메톡시페닐)아미노)에탄논 (화합물 3)의 분석용 샘플을 라세미체로서 제공하였다.

[0121] 화합물 3 (2.2 g)의 거울상 이성질체를 예비 키랄 SFC (고정상: (S,S) 헬크-01 5 μm 250 x 21.1 mm, 이동상: 45% CO_2 , 55% EtOH (+ 2% CH_2Cl_2))를 통하여 분리하여 1.11 g의 첫 번째로 용출된 거울상 이성질체 및 1.07 g의 두 번째로 용출된 거울상 이성질체를 제공하였다. 첫 번째로 용출된 거울상 이성질체를 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{Et}_2\text{O}$ /헥산으로부터 고형화하여 거울상 이성질체 3A (461 mg)를 무정형 백색 분말로서 생성하였다. 두 번째로 용출된 거울상 이성질체를 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{Et}_2\text{O}$ /헥산으로부터 고형화하여 거울상 이성질체 3B (872 mg)를 무정형 백색 분말로서 생성하였다.

[0122] **화합물 3:**

[0123] ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 12.26 (d, $J=2.8$ Hz, 1 H) 8.46 (d, $J=3.2$ Hz, 1 H) 7.97 (d, $J=8.5$ Hz, 1 H) 7.35 (d, $J=8.2$ Hz, 1 H) 7.22 (d, $J=8.5$ Hz, 1 H) 7.09 (d, $J=1.9$ Hz, 1 H) 6.96 (dd, $J=8.2$, 1.9 Hz, 1 H) 6.40 (d, $J=8.2$ Hz, 1 H) 6.18 (d, $J=8.2$ Hz, 1 H) 5.95 (d, $J=2.2$ Hz, 2 H) 5.71 (t, $J=2.2$ Hz, 1 H) 4.79 (t, $J=5.5$ Hz, 1 H) 3.96 (s, 3 H) 3.77 - 3.89 (m, 2 H) 3.58 - 3.67 (m, 5 H)

[0124] LC/MS (방법 LC-C): R_t 3.28분, MH^+ 529

[0125] 융점: 220°C

[0126] **거울상 이성질체 3A:**

[0127] ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 12.26 (br. s., 1 H) 8.46 (s, 1 H) 7.97 (d, $J=8.2$ Hz, 1 H) 7.36 (d, $J=8.2$ Hz, 1 H) 7.21 (d, $J=8.5$ Hz, 1 H) 7.10 (d, $J=1.9$ Hz, 1 H) 6.96 (dd, $J=8.2$, 1.9 Hz, 1 H) 6.40 (d, $J=7.9$ Hz, 1 H) 6.18 (d, $J=8.2$ Hz, 1 H) 5.95 (d, $J=2.2$ Hz, 2 H) 5.71 (t, $J=2.0$ Hz, 1 H) 4.79 (t, $J=5.5$ Hz, 1 H) 3.97 (s, 3 H) 3.77 - 3.89 (m, 2 H) 3.59 - 3.67 (m, 5 H)

[0128] LC/MS (방법 LC-C): R_t 3.27분, MH^+ 529

[0129] $[\alpha]_D^{20}$: +88.8° (c 0.2691, DMF)

[0130] 키랄 SFC (방법 SFC-E): R_t 3.40분, MH^+ 529, 키랄 순도 100%.

[0131] **거울상 이성질체 3B:**

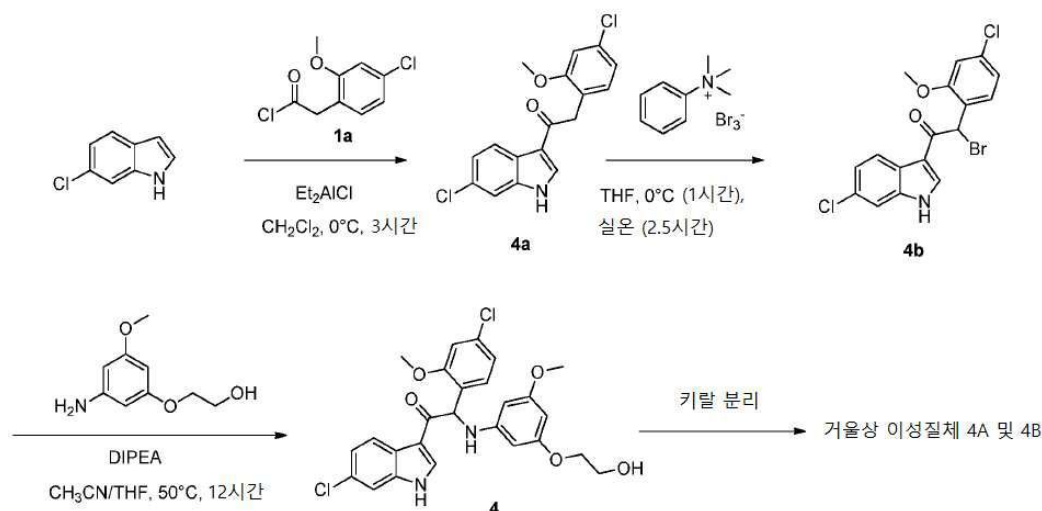
[0132] ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 12.26 (br. s., 1 H) 8.45 (s, 1 H) 7.97 (d, $J=8.5$ Hz, 1 H) 7.36 (d, $J=8.5$ Hz, 1 H) 7.21 (d, $J=8.5$ Hz, 1 H) 7.09 (d, $J=1.9$ Hz, 1 H) 6.96 (dd, $J=8.2$, 1.9 Hz, 1 H) 6.40 (d, $J=8.2$ Hz, 1 H) 6.18 (d, $J=8.2$ Hz, 1 H) 5.95 (d, $J=2.2$ Hz, 2 H) 5.71 (t, $J=2.0$ Hz, 1 H) 4.79 (t, $J=5.5$ Hz, 1 H) 3.97 (s, 3 H) 3.76 - 3.90 (m, 2 H) 3.60-3.66 (m, 5 H)

[0133] LC/MS (방법 LC-C): R_t 3.27분, MH^+ 529

[0134] $[\alpha]_D^{20}$: -87.4° (c 0.2564, DMF)

[0135] 키랄 SFC (방법 SFC-E): R_t 4.19분, MH^+ 529, 키랄 순도 100%.

[0136] 실시예 4: 1-(6-클로로-1*H*-인돌-3-일)-2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-2-((3-(2-히드록시에톡시)-5-메톡시페닐)아미노)에탄논 (화합물 4)의 합성 및 거울상 이성질체 4A 및 4B로의 키랄 분리.



[0137]

[0138] 중간체 4a의 합성:

[0139] 0°C에서 hexan 중 1 M 디에틸알루미늄 클로라이드 (19.8 mL, 19.8 mmol)를 CH_2Cl_2 (45 mL) 중 6-클로로-1*H*-인돌 [CAS 17422-33-2] (2 g, 13.2 mmol)의 용액에 적가하였다. 0°C에서의 30분 후, CH_2Cl_2 (45 mL) 중 2-(4-클로로-2-메톡시페닐)아세틸 클로라이드 1a (3.36 g, 15.3 mmol, 합성: 실시예 1 참조)의 용액을 0°C에서 서서히 첨가하였다. 상기 반응물을 0°C에서 3시간 동안 교반시켰다. 빙수를 첨가하고, 침전물을 여과 제거하고, 물 및 최소의 CH_2Cl_2 로 세척하였다. 고형물을 진공 하에 건조시켜 1-(6-클로로-1*H*-인돌-3-일)-2-(4-클로로-2-메톡시페닐)에탄논 4a (2.68 g)를 제공하였다.

[0140] 중간체 4b의 합성:

[0141] 0°C에서, THF (50 mL) 중 페닐트리메틸암모늄 트리브로마이드 [CAS 4207-56-1] (3.165 g, 8.4 mmol)의 용액을 THF (50 mL) 중 1-(6-클로로-1*H*-인돌-3-일)-2-(4-클로로-2-메톡시페닐)에탄논 4a (2.68 g, 8 mmol)의 용액에 적가하였다. 상기 혼합물을 0°C에서 1시간 동안, 그리고 실온에서 2.5시간 동안 교반시켰다. 침전물을 여과 제거하고, EtOAc로 세척하였다. 여과액을 감압 하에 농축시켰다. 잔사를 EtOAc에 용해시키고, 물로 세척하였다. 침전물이 나타났으며, 고형물을 여과 제거하고, 진공 하에 건조시켜 2-브로모-1-(6-클로로-1*H*-인돌-3-일)-2-(4-클로로-2-메톡시페닐)에탄논 4b (2.75 g)를 제공하였다.

[0142] 화합물 4의 합성 및 거울상 이성질체 4A 및 4B로의 키랄 분리:

[0143] CH_3CN/THF (1/1) (140 mL) 중 2-브로모-1-(6-클로로-1*H*-인돌-3-일)-2-(4-클로로-2-메톡시페닐)에탄논 4b (2.3 g, 5.6 mmol), 2-(3-아미노-5-메톡시페녹시)에탄올 [CAS 725237-16-1] (1.53 g, 8.4 mmol) 및 디이소프로필에틸아민 (2.4 mL, 13.9 mmol)의 혼합물을 50°C에서 12시간 동안 교반시켰다. 상기 혼합물을 감압 하에 농축시켰다. 잔사를 EtOAc로 희석시키고, 1 N HCl, 그리고 그 후 물로 세척하였다. 유기 층을 $MgSO_4$ 로 건조시키고, 여과시키고, 용매를 감압 하에 증발시켰다. 조 화합물을 실리카 겔에서의 컬럼 크로마토그래피 (15 내지 40 μm , $CH_2Cl_2/MeOH$ (99.5/0.5) 중 80 g)에 의해 정제하였다. 순수 분획을 수집하고, 감압 하에 증발시켰다. 소량을 Et_2O/CH_3CN 으로부터 결정화하여 1-(6-클로로-1*H*-인돌-3-일)-2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-2-((3-(2-히드록시에톡시)-5-메톡시페닐)아미노)에탄논 (화합물 4)의 분석용 샘플을 라세미 혼합물로서 제공하였다. 잔존량의 화합물 4 (2.1 g)를 예비 LC (고정상: 비구형 베어 (irregular bare) 실리카 150 g, 이동상: 95/5의 톨루엔/iPrOH)를 통하여 추가로 정제하였다.

[0144] 화합물 4 (1.9 g)의 거울상 이성질체를 예비 키랄 SFC (고정상: 키랄팩® IC 5 μm 250 x 30 mm, 이동상: 60% CO_2 , 40% MeOH)를 통하여 분리하여 870 mg의 첫 번째로 용출된 거울상 이성질체 및 870 mg의 두 번째로 용출된

거울상 이성질체를 제공하였다. 상기 두 거울상 이성질체를 실리카 겔에서의 플래시 크로마토그래피 (15 내지 40 μm , $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (99.5/0.5) 중 24 g)에 의해 다시 정제하였다. 첫 번째로 용출된 거울상 이성질체 (800 mg)를 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{Et}_2\text{O}$ 로부터 고형화하여 거울상 이성질체 4A (693 mg)를 무정형 백색 분말로서 생성하였다. 두 번째로 용출된 거울상 이성질체를 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{Et}_2\text{O}$ 로부터 고형화하여 거울상 이성질체 4B (619 mg)를 무정형 백색 분말로서 생성하였다.

[0145] **화합물 4:**

[0146] ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 3.60 (s, 3 H) 3.64 (t, $J=5.0$ Hz, 2 H) 3.75 - 3.88 (m, 2 H) 3.95 (s, 3 H) 4.38 - 5.09 (m, 1 H) 5.71 (t, $J=1.9$ Hz, 1 H) 5.93 (d, $J=2.2$ Hz, 2 H) 6.13 - 6.18 (m, 1 H) 6.35 - 6.46 (m, 1 H) 6.97 (dd, $J=8.4, 1.9$ Hz, 1 H) 7.09 (d, $J=2.2$ Hz, 1 H) 7.21 (dd, $J=8.5, 1.9$ Hz, 1 H) 7.35 (d, $J=8.4$ Hz, 1 H) 7.53 (d, $J=1.9$ Hz, 1 H) 8.13 (d, $J=8.5$ Hz, 1 H) 8.46 (d, $J=2.8$ Hz, 1 H) 12.13 (d, $J=2.8$ Hz, 1 H)

[0147] LC/MS (방법 LC-C): R_t 3.11분, MH^+ 515

[0148] 융점: 154°C

[0149] **거울상 이성질체 4A:**

[0150] ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 3.60 (s, 3 H) 3.64 (q, $J=5.0$ Hz, 2 H) 3.74 - 3.88 (m, 2 H) 3.95 (s, 3 H) 4.79 (t, $J=5.0$ Hz, 1 H) 5.71 (t, $J=2.0$ Hz, 1 H) 5.93 (d, $J=2.0$ Hz, 2 H) 6.15 (d, $J=7.9$ Hz, 1 H) 6.41 (d, $J=8.2$ Hz, 1 H) 6.97 (dd, $J=8.2, 1.9$ Hz, 1 H) 7.09 (d, $J=1.9$ Hz, 1 H) 7.21 (dd, $J=8.5, 1.9$ Hz, 1 H) 7.35 (d, $J=8.2$ Hz, 1 H) 7.53 (d, $J=1.9$ Hz, 1 H) 8.13 (d, $J=8.5$ Hz, 1 H) 8.46 (s, 1 H) 12.12 (br. s., 1 H)

[0151] LC/MS (방법 LC-C): R_t 3.13분, MH^+ 515

[0152] $[\alpha]_D^{20}$: $+111.6^\circ$ (c 0.284, DMF)

[0153] 키랄 SFC (방법 SFC-A): R_t 3.68분, MH^+ 515, 키랄 순도 100%.

[0154] **거울상 이성질체 4B:**

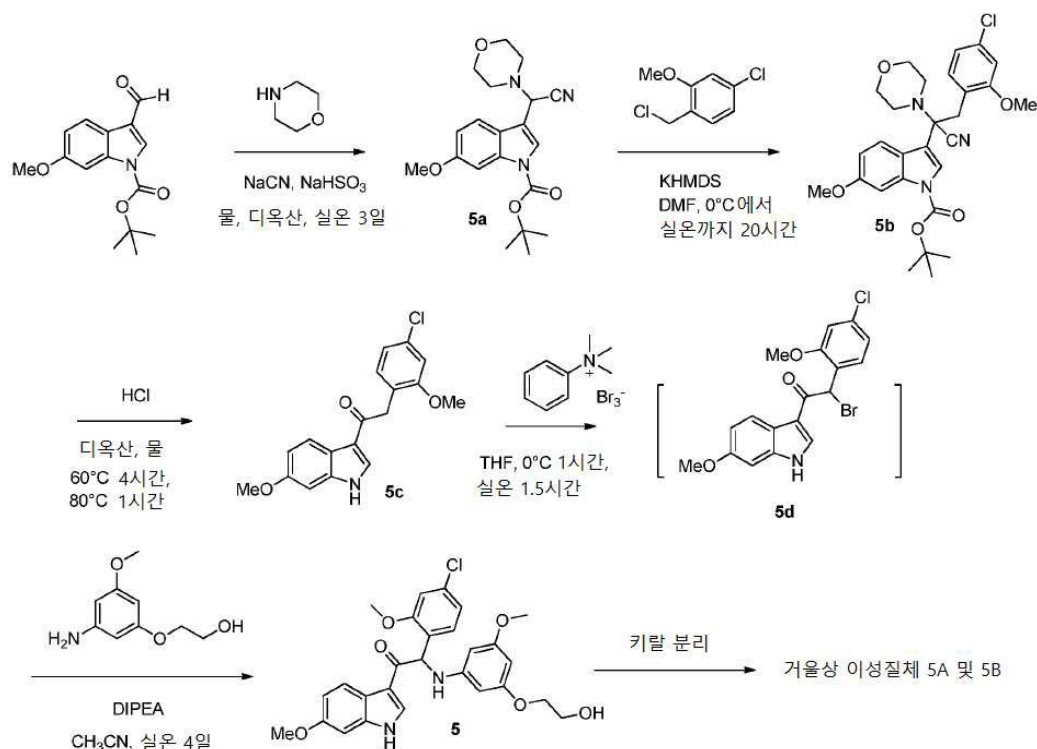
[0155] ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 3.61 (s, 3 H) 3.62 - 3.68 (m, 2 H) 3.76 - 3.89 (m, 2 H) 3.95 (s, 3 H) 4.74 - 4.83 (m, 1 H) 5.72 (t, $J=2.0$ Hz, 1 H) 5.93 (d, $J=2.0$ Hz, 2 H) 6.15 (d, $J=7.9$ Hz, 1 H) 6.42 (d, $J=8.2$ Hz, 1 H) 6.97 (dd, $J=8.2, 1.9$ Hz, 1 H) 7.09 (d, $J=1.9$ Hz, 1 H) 7.21 (dd, $J=8.5, 1.9$ Hz, 1 H) 7.35 (d, $J=8.2$ Hz, 1 H) 7.53 (d, $J=1.9$ Hz, 1 H) 8.13 (d, $J=8.5$ Hz, 1 H) 8.46 (s, 1 H) 12.13 (br. s., 1 H)

[0156] LC/MS (방법 LC-C): R_t 3.14분, MH^+ 515

[0157] $[\alpha]_D^{20}$: -113.9° (c 0.288, DMF)

[0158] 키랄 SFC (방법 SFC-A): R_t 5.04분, MH^+ 515, 키랄 순도 100%.

[0159] 실시예 5: 2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-2-((3-(2-히드록시에톡시)-5-메톡시페닐)아미노)-1-(6-메톡시-1*H*-인돌-3-일)에타논 (화합물 5)의 합성 및 거울상 이성질체 5A 및 5B로의 키랄 분리.



[0160]

[0161]

[0162]

중간체 5a의 합성:

물 (45 mL) 중 NaHSO₃ (5.7 g, 54.5 mmol)의 용액을 디옥산 (45 mL) 중 *tert*-부틸 3-포르밀-6-메톡시-1H-인돌-1-카르복실레이트 [CAS 847448-73-1] (10 g, 36.3 mmol)의 교반 용액에 첨가하였다. 15분 후, 모르폴린 (4.8 mL, 54.5 mmol)을 첨가하고, 35분 후, 시안화나트륨 (NaCN) (1.96 g, 40 mmol)을 첨가하였다. 생성된 현탁물을 반응이 완료될 때까지 실온에서 3일 동안 교반시켰다. 생성물을 여과 제거하고, 디옥산/물 (3x 35 mL)의 1/1 혼합물, 및 후속적으로 물 (3x 45 mL)로 세척하고, 진공 하에 60°C에서 건조시켰다. 고형물을 Et₂O (125 mL)에서 교반시키고, 여과 제거하고, Et₂O (3x)로 세척하고, 진공 하에 50°C에서 건조시켜 *tert*-부틸 3-(시아노(모르폴리노)메틸)-6-메톡시-1H-인돌-1-카르복실레이트 5a (12.3 g)를 제공하였다.

[0163]

중간체 5b의 합성:

[0164]

건조 DMF (80 mL) 중 *tert*-부틸 3-(시아노(모르폴리노)메틸)-6-메톡시-1H-인돌-1-카르복실레이트 5a (6.0 g, 16.2 mmol)의 혼합물을 빙조에서 냉각시키면서 N₂-분위기 하에 교반시켰다. 톨루엔 중 0.5 M KHMDS의 용액 (35.5 mL, 17.8 mmol)을 10분에 걸쳐 적가하였다. 추가 10분 동안 교반시킨 후, 4-클로로-1-(클로로메틸)-2-메톡시벤젠 [CAS 101079-84-9] (3.09 g, 16.2 mmol)을 첨가하고, 생성된 혼합물을 실온에서 20시간 동안 교반시켰다. 반응 혼합물을 냉수 (400 mL) 내에 붓고, 생성물을 Et₂O (2x)로 추출하였다. 합한 유기 층을 염수로 세척하고, MgSO₄로 건조시키고, 여과시키고, 감압 하에 증발시키고, 자일렌과 함께 공동 증발시켰다. 잔사를 플래시 크로마토그래피 (고정상: 바이오테이지[®] 그레이스 레벨레리스 (Grace Reveleris) 실리카 120 g, 이동상: 헵탄/EtOAc, 구배: 100/0에서 20/80까지)에 의해 정제하였다. 요망되는 분획을 합하고, 감압 하에 증발시키고, 디옥산과 함께 공동 증발시켜 *tert*-부틸 3-(2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-1-시아노-1-모르폴리노에틸)-6-메톡시-1H-인돌-1-카르복실레이트 5b (7.75 g)를 제공하였다.

[0165]

중간체 5c의 합성:

[0166]

디옥산 (40 mL) 및 물 (20 mL) 중 *tert*-부틸 3-(2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-1-시아노-1-모르폴리노에틸)-6-메톡시-1H-인돌-1-카르복실레이트 5b (7.75 g, 14.7 mmol)의 교반 현탁물을 이소프로판올 중 6 M HCl의 용액 (36.8 mL, 220 mmol)에 첨가하였다. 생성된 혼합물을 60°C에서 4시간 및 후속적으로 80°C에서 1시간 동안 교반시켰다. 실온까지 냉각시킨 후, 혼합물을 20시간 동안 정치시켜 반응 생성물을 결정화하였다. 생성물을 여과 제거하고, *i*PrOH/H₂O/디옥산의 1/1/1 혼합물 (2x 15 mL)로 세척하고, 진공 하에 50°C에서 건조시켜 2-(4-클로로-

2-메톡시페닐)-1-(6-메톡시-1*H*-인돌-3-일)에타논 5c (3.67 g)를 제공하였다.

[0167] **화합물 5의 합성 및 거울상 이성질체 5A 및 5B로의 키랄 분리:**

[0168] THF (100 mL) 중 2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-1-(6-메톡시-1*H*-인돌-3-일)-에타논 5c (2.35 g, 7.13 mmol)의 교반 혼합물을 N₂-분위기 하에 빙조에서 냉각시켰다. 페닐트리메틸암모늄 트리브로마이드 [CAS 4207-56-1] (2.81 g, 7.48 mmol)를 첨가하고, 반응 혼합물을 0℃에서 1시간 동안 및 후속적으로 실온에서 1.5시간 동안 교반시켰다. 2-(3-아미노-5-메톡시페녹시)에탄올 [CAS 725237-16-1] (2.61 g, 14.3 mmol), 디이소프로필에틸아민 (2.46 mL, 14.3 mmol) 및 CH₃CN (100 mL)을 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에서 18시간 동안, 그리고 55℃에서 2시간 동안 교반시켰다. 반응 혼합물을 감압 하에 원래 부피의 50%까지 농축시켰다. 2-(3-아미노-5-메톡시페녹시)에탄올 [CAS 725237-16-1] (1 g) 및 디이소프로필에틸아민 (1.5 mL)을 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에서 65시간 동안 교반시켰다. 반응 혼합물을 물 (400 mL) 내에 붓고, 생성물을 2-MeTHF (2x)로 추출하였다. 합한 유기 층을 염수로 세척하고, MgSO₄로 건조시키고, 여과시키고, 감압 하에 증발시켰다. 잔사 (7 g)를 플래시 크로마토그래피 (고정상: 바이오테이지[®] 그레이스 레벨레리스 실리카 120 g, 이동상: 헵탄/EtOAc/EtOH, 구배: 100/0/0에서 50/37/13까지)에 의해 정제하였다. 요망되는 분획을 합하고, 감압 하에 증발시켰다. 잔사 (5.8 g)를 예비 HPLC (고정상: 업티스피어 (Uptisphere)[®] C18 ODB - 10 μm, 200 g, 5 cm, 이동상: 물 중 0.25% NH₄HCO₃ 용액, CH₃CN)에 의해 추가로 정제하였다. 생성물 분획을 합하고, 감압 하에 증발시켰다. 잔사를 MeOH (20 mL)에 용해시키고, 4시간 동안 정치시켜 결정화하였다. 고형물을 여과 제거하고, MeOH (3x 5 mL)로 세척하고, 진공 하에 50℃에서 건조시켜 2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-2-((3-(2-히드록시에톡시)-5-메톡시페닐)아미노)-1-(6-메톡시-1*H*-인돌-3-일)에타논 (화합물 5, 2.06 g)을 라세미 혼합물로서 제공하였다.

[0169] 화합물 5 (2 g)의 키랄 분리를 순상 키랄 분리 (고정상: AD-H, 이동상: 50% 메탄올, 50% 에탄올)를 통하여 수행하였다. 생성물 분획을 합하고, 감압 하에 증발시켰다. 첫 번째로 용출된 거울상 이성질체를 물 (3 mL)의 첨가에 의해 MeOH (13 mL)의 교반 용액으로부터 결정화하였다. 하룻밤 교반시킨 후, 고형물을 여과 제거하고, MeOH/H₂O의 3/1 혼합물 (4x 3mL)로 세척하고, 진공 하에 50℃에서 건조시켜 거울상 이성질체 5A (476 mg)를 제공하였다. 두 번째로 용출된 거울상 이성질체를 물 (3 mL)의 첨가에 의해 MeOH (13 mL)의 교반 용액으로부터 결정화하였다. 하룻밤 교반시킨 후, 고형물을 여과 제거하고, MeOH/H₂O의 3/1 혼합물 (4x 3mL)로 세척하고, 진공 하에 50℃에서 건조시켜 거울상 이성질체 5B (362 mg)를 제공하였다.

[0170] **화합물 5:**

[0171] ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 3.61 (s, 3 H) 3.65 (q, *J*=5.3 Hz, 2 H) 3.77 (s, 3 H) 3.78 - 3.90 (m, 2 H) 3.97 (s, 3 H) 4.77 (t, *J*=5.6 Hz, 1 H) 5.71 (t, *J*=2.1 Hz, 1 H) 5.93 (d, *J*=2.2 Hz, 2 H) 6.13 (d, *J*=8.1 Hz, 1 H) 6.36 (d, *J*=7.9 Hz, 1 H) 6.83 (dd, *J*=8.7, 2.3 Hz, 1 H) 6.92 - 7.00 (m, 2 H) 7.09 (d, *J*=2.0 Hz, 1 H) 7.36 (d, *J*=8.4 Hz, 1 H) 8.01 (d, *J*=8.6 Hz, 1 H) 8.29 (d, *J*=2.9 Hz, 1 H) 11.81 (br d, *J*=2.2 Hz, 1 H)

[0172] LC/MS (방법 LC-B): R_t 1.93, MH⁺ 511

[0173] **거울상 이성질체 5A:**

[0174] ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 3.61 (s, 3 H) 3.64 (q, *J*=5.4 Hz, 2 H) 3.77 (s, 3 H) 3.78 - 3.90 (m, 2 H) 3.97 (s, 3 H) 4.77 (t, *J*=5.5 Hz, 1 H) 5.71 (t, *J*=2.0 Hz, 1 H) 5.93 (d, *J*=2.0 Hz, 2 H) 6.13 (d, *J*=8.1 Hz, 1 H) 6.36 (d, *J*=7.9 Hz, 1 H) 6.83 (dd, *J*=8.7, 2.3 Hz, 1 H) 6.92 - 6.99 (m, 2 H) 7.09 (d, *J*=2.0 Hz, 1 H) 7.36 (d, *J*=8.4 Hz, 1 H) 8.01 (d, *J*=8.8 Hz, 1 H) 8.29 (d, *J*=3.1 Hz, 1 H) 11.81 (br d, *J*=2.4 Hz, 1 H)

[0175] LC/MS (방법 LC-A): R_t 1.08, MH⁺ 511

[0176] [α]_D²⁰: +109.3° (c 0.61, DMF)

[0177] 키랄 SFC (방법 SFC-G): R_t 1.78분, MH^+ 511, 키랄 순도 100%

[0178] 거울상 이성질체 5B:

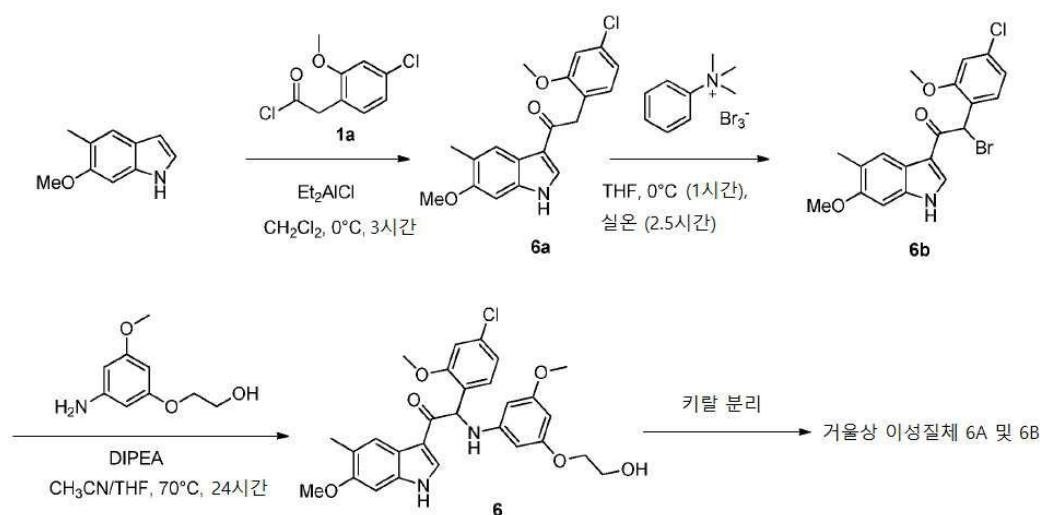
[0179] ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 3.61 (s, 3 H) 3.64 (q, $J=5.2$ Hz, 2 H) 3.77 (s, 3 H) 3.78 - 3.89 (m, 2 H) 3.97 (s, 3 H) 4.77 (t, $J=5.6$ Hz, 1 H) 5.71 (t, $J=2.1$ Hz, 1 H) 5.93 (d, $J=2.0$ Hz, 2 H) 6.12 (d, $J=7.9$ Hz, 1 H) 6.35 (d, $J=7.9$ Hz, 1 H) 6.82 (dd, $J=8.7$, 2.3 Hz, 1 H) 6.91 - 7.01 (m, 2 H) 7.09 (d, $J=2.0$ Hz, 1 H) 7.36 (d, $J=8.1$ Hz, 1 H) 8.01 (d, $J=8.6$ Hz, 1 H)

[0180] LC/MS (방법 LC-A): R_t 1.08, MH^+ 511

[0181] $[\alpha]_D^{20}$: -108.9° (c 0.52, DMF)

[0182] 키랄 SFC (방법 SFC-G): R_t 2.19분, MH^+ 511, 키랄 순도 100%

[0183] 실시예 6: 2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-2-((3-(2-히드록시에톡시)-5-메톡시페닐)아미노)-1-(6-메톡시-5-메틸-1H-인돌-3-일)에타논 (화합물 6)의 합성 및 거울상 이성질체 6A 및 6B로의 키랄 분리.



[0184]

[0185] 중간체 6a의 합성:

[0186] 0°C에서 헥산 중 1 M 디에틸알루미늄 클로라이드 (13.5 mL, 13.5 mmol)를 CH_2Cl_2 (45 mL) 중 6-메톡시-5-메틸-1H-인돌 [CAS 1071973-95-9] (1.45 g, 9 mmol)의 용액에 적가하였다. 0°C에서의 30분 후, CH_2Cl_2 (45 mL) 중 2-(4-클로로-2-메톡시페닐)아세트 클로라이드 1a (2.4 g, 10.9 mmol, 합성: 실시예 1 참조)의 용액을 0°C에서 서서히 첨가하였다. 상기 반응물을 0°C에서 3시간 동안 교반시켰다. 빙수를 첨가하고, 침전물을 여과 제거하고, 물로 세척하였다. 고형물을 진공 하에 건조시켜 2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-1-(6-메톡시-5-메틸-1H-인돌-3-일)에타논 6a (2.1 g)를 제공하였다.

[0187] 중간체 6b의 합성:

[0188] 0°C에서, THF (65 mL) 중 페닐트리메틸암모늄 트리브로마이드 [CAS 4207-56-1] (2.4 g, 6.4 mmol)의 용액을 THF (60 mL) 중 2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-1-(6-메톡시-5-메틸-1H-인돌-3-일)에타논 6a (2.1 g, 6.1 mmol)의 혼합물에 적가하였다. 상기 혼합물을 0°C에서 1시간 동안, 그리고 실온에서 2.5시간 동안 교반시켰다. 침전물을 여과 제거하고, EtOAc로 세척하였다. 여과액을 감압 하에 농축시켰다. 잔사를 최소의 디이소프로필에테르로 용해시켰다. 침전물을 여과 제거하고, 진공 하에 건조시켜 2-브로모-2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-1-(6-메톡시-5-메틸-1H-인돌-3-일)에타논 6b (2.36 g)를 제공하였다.

[0189] 화합물 6의 합성 및 거울상 이성질체 6A 및 6B로의 키랄 분리:

[0190] CH_3CN/THF (1/1) (80 mL) 중 2-브로모-2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-1-(6-메톡시-5-메틸-1H-인돌-3-일)에타논 6b

(1.35 g, 3.2 mmol), 2-(3-아미노-5-메톡시페녹시)에탄올 [CAS 725237-16-1] (0.585 g, 3.2 mmol) 및 디이소프로필에틸아민 (0.83 mL, 4.8 mmol)의 혼합물을 70℃에서 24시간 동안 교반시켰다. 상기 혼합물을 감압 하에 농축시켰다. 잔사를 CH_2Cl_2 로 희석시키고, 1 N HCl 및 물로 세척하였다. 유기 층을 분리하고, MgSO_4 로 건조시키고, 여과시키고, 용매를 감압 하에 증발시켰다. 조 화합물을 실리카 겔에서의 컬럼 크로마토그래피(15 내지 40 μm , $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (99.5/0.5) 중 80 g)에 의해 정제하였다. 소량을 $\text{Et}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$ 으로부터 결정화하여 2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-2-((3-(2-히드록시에톡시)-5-메톡시페닐)아미노)-1-(6-메톡시-5-메틸-1*H*-인돌-3-일)에탄논 (화합물 6)의 분석용 샘플을 라세미 혼합물로서 제공하였다. 잔존량의 조 화합물 6을 또 다른 배치와 혼합하고 (총량: 1.19 g), 예비 LC (고정상: 비구형 베어 실리카 150 g, 이동상: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (98/2), 및 그 후 톨루엔/iPrOH (95/5))를 통하여 추가로 2회 정제하였다.

[0191] 화합물 6 (950 mg)의 거울상 이성질체를 예비 키랄 SFC (고정상: 키랄팩[®] IC 5 μm 250 x 30 mm, 이동상: 50% CO_2 , 50% MeOH)를 통하여 분리하여 485 mg의 첫 번째로 용출된 거울상 이성질체 및 480 mg의 두 번째로 용출된 거울상 이성질체를 제공하였다. 첫 번째로 용출된 거울상 이성질체를 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{Et}_2\text{O}$ 로부터 고형화하여 거울상 이성질체 6A (406 mg)를 무정형 백색 분말로서 생성하였다. 두 번째로 용출된 거울상 이성질체를 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{Et}_2\text{O}$ 로부터 고형화하여 거울상 이성질체 6B (436 mg)를 무정형 백색 분말로서 생성하였다.

[0192] **화합물 6:**

[0193] ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 2.21 (s, 3 H) 3.61 (s, 3 H) 3.62 - 3.68 (m, 2 H) 3.74 - 3.90 (m, 5 H) 3.97 (s, 3 H) 4.76 (t, $J=4.8$ Hz, 1 H) 5.68 - 5.74 (m, 1 H) 5.93 (d, $J=1.5$ Hz, 2 H) 6.11 (d, $J=7.6$ Hz, 1 H) 6.31 (d, $J=7.6$ Hz, 1 H) 6.92 (s, 1 H) 6.95 (dd, $J=8.3$, 1.8 Hz, 1 H) 7.09 (d, $J=1.8$ Hz, 1 H) 7.35 (d, $J=8.3$ Hz, 1 H) 7.89 (s, 1 H) 8.22 (s, 1 H) 11.73 (br. s., 1 H)

[0194] LC/MS (방법 LC-C): R_t 3.02분, MH^+ 525

[0195] **거울상 이성질체 6A:**

[0196] ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 2.20 (s, 3 H) 3.60 (s, 3 H) 3.64 (q, $J=5.3$ Hz, 2 H) 3.75 - 3.88 (m, 5 H) 3.97 (s, 3 H) 4.78 (t, $J=5.3$ Hz, 1 H) 5.70 (t, $J=2.0$ Hz, 1 H) 5.92 (d, $J=2.0$ Hz, 2 H) 6.11 (d, $J=7.9$ Hz, 1 H) 6.33 (d, $J=7.9$ Hz, 1 H) 6.92 (s, 1 H) 6.95 (dd, $J=8.2$, 1.9 Hz, 1 H) 7.09 (d, $J=1.9$ Hz, 1 H) 7.35 (d, $J=8.2$ Hz, 1 H) 7.88 (s, 1 H) 8.23 (s, 1 H) 11.75 (br. s., 1 H)

[0197] LC/MS (방법 LC-C): R_t 3.04분, MH^+ 525

[0198] $[\alpha]_D^{20}$: +116.8° (c 0.4536, DMF)

[0199] 키랄 SFC (방법 SFC-B): R_t 2.40분, MH^+ 525, 키랄 순도 100%.

[0200] **거울상 이성질체 6B:**

[0201] ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 2.20 (s, 3 H) 3.60 (s, 3 H) 3.64 (q, $J=5.4$ Hz, 2 H) 3.77 - 3.88 (m, 5 H) 3.97 (s, 3 H) 4.78 (t, $J=5.4$ Hz, 1 H) 5.70 (t, $J=2.0$ Hz, 1 H) 5.92 (d, $J=2.0$ Hz, 2 H) 6.11 (d, $J=7.9$ Hz, 1 H) 6.33 (d, $J=7.9$ Hz, 1 H) 6.92 (s, 1 H) 6.95 (dd, $J=8.2$, 1.9 Hz, 1 H) 7.09 (d, $J=1.9$ Hz, 1 H) 7.35 (d, $J=8.2$ Hz, 1 H) 7.88 (s, 1 H) 8.23 (s, 1 H) 11.75 (br. s., 1 H)

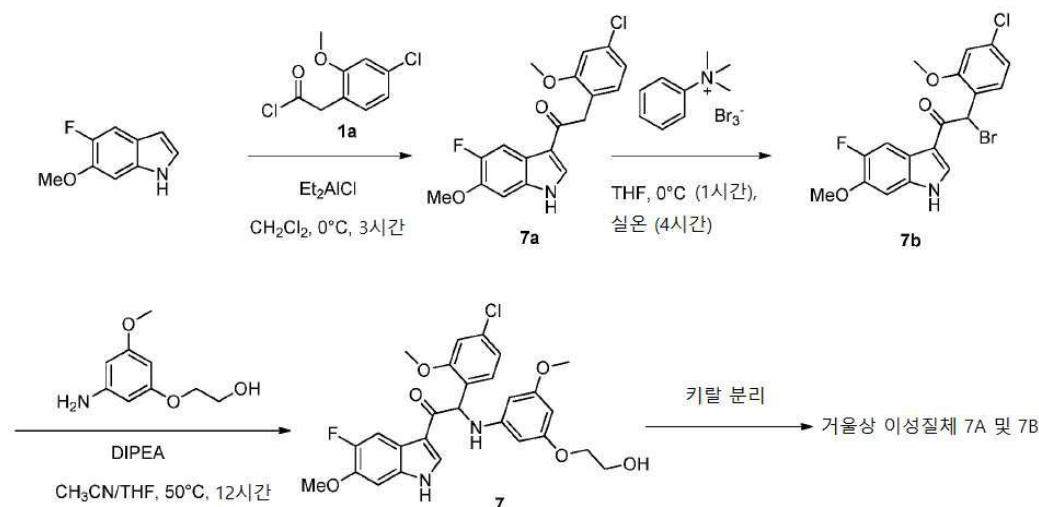
[0202] LC/MS (방법 LC-C): R_t 3.04분, MH^+ 525

[0203] $[\alpha]_D^{20}$: -121.9° (c 0.3855, DMF)

[0204] 키랄 SFC (방법 SFC-B): R_t 3.75분, MH^+ 525, 키랄 순도 99.86%.

[0205]

실시예 7: 2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-1-(5-플루오로-6-메톡시-1*H*-인돌-3-일)-2-((3-(2-히드록시에톡시)-5-메톡시페닐)아미노)에탄논 (화합물 7)의 합성 및 거울상 이성질체 7A 및 7B로의 키랄 분리.



[0206]

[0207]

중간체 7a의 합성:

[0208]

0°C에서 헥산 중 1 M 디에틸알루미늄 클로라이드 (15.7 mL, 15.7 mmol)를 CH₂Cl₂ (50 mL) 중 5-플루오로-6-메톡시-1*H*-인돌 [CAS 1211595-72-0] (2 g, 12.1 mmol)의 용액에 적가하였다. 0°C에서의 30분 후, CH₂Cl₂ (50 mL) 중 2-(4-클로로-2-메톡시페닐)아세틸 클로라이드 1a (3.2 g, 14.6 mmol, 합성: 실시예 1 참조)의 용액을 0°C에서 서서히 첨가하였다. 상기 반응물을 0°C에서 3시간 동안 교반시켰다. 빙수를 첨가하고, 침전물을 여과 제거하고, 물 및 최소의 CH₂Cl₂로 세척하였다. 고형물을 진공 하에 건조시켜 2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-1-(5-플루오로-6-메톡시-1*H*-인돌-3-일)에탄논 7a (2.82 g)를 제공하였다.

[0209]

중간체 7b의 합성:

[0210]

0°C에서, THF (20 mL) 중 페닐트리메틸암모늄 트리브로마이드 [CAS 4207-56-1] (3.5 g, 8.1 mmol)의 용액을 THF (46 mL) 중 2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-1-(5-플루오로-6-메톡시-1*H*-인돌-3-일)에탄논 7a (2.82 g, 8.1 mmol)의 용액에 적가하였다. 상기 혼합물을 0°C에서 1시간 동안, 그리고 실온에서 4시간 동안 교반시켰다. 침전물을 여과 제거하고, EtOAc로 세척하였다. 여과액을 감압 하에 농축시켰다. 잔사를 EtOAc에 용해시키고, 물로 세척하였다. 유기 상을 MgSO₄로 건조시키고, 여과시키고, 용매를 감압 하에 증발시켰다. 잔사를 최소의 EtOAc로 용해시켰다. 침전물을 여과 제거하고, 진공 하에 건조시켜 2-브로모-2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-1-(5-플루오로-6-메톡시-1*H*-인돌-3-일)에탄논 7b (2.5 g)를 제공하였다.

[0211]

화합물 7의 합성 및 거울상 이성질체 7A 및 7B로의 키랄 분리:

[0212]

CH₃CN/THF (1/1) (48 mL) 중 2-브로모-2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-1-(5-플루오로-6-메톡시-1*H*-인돌-3-일)에탄논 7b (2.4 g, 5.6 mmol), 2-(3-아미노-5-메톡시페녹시)에탄올 [CAS 725237-16-1] (1.5 g, 8.2 mmol) 및 디이소프로필에틸아민 (1.45 mL, 8.4 mmol)의 혼합물을 50°C에서 12시간 동안 교반시켰다. 상기 혼합물을 감압 하에 농축시켰다. 잔사를 EtOAc로 희석시키고, 1 N HCl 및 물로 세척하였다. 유기 층을 분리하고, MgSO₄로 건조시키고, 여과시키고, 용매를 감압 하에 증발시켰다. 잔사를 실리카 겔에서의 컬럼 크로마토그래피 (15 내지 40 μm, CH₂Cl₂/MeOH (99.5/0.5) 중 80 g)에 의해 정제하였다. 순수 분획을 수집하고, 감압 하에 증발시켰다. 소량을 Et₂O/CH₃CN으로부터 고형화하여 2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-1-(5-플루오로-6-메톡시-1*H*-인돌-3-일)-2-((3-(2-히드록시에톡시)-5-메톡시페닐)아미노)에탄논 (화합물 7)의 분석용 샘플을 라세미 혼합물로서 제공하였다.

[0213]

화합물 7 (1.6 g)의 거울상 이성질체를 예비 키랄 SFC (고정상: 키랄팩® IC 5 μm 250 x 30 mm, 이동상: 55% CO₂, 45% MeOH)에 의해 분리하여 680 mg의 첫 번째로 용출된 거울상 이성질체 및 720 mg의 두 번째로 용출된 거울상 이성질체를 제공하였다. 첫 번째로 용출된 거울상 이성질체를 CH₃CN/Et₂O로부터 고형화하여 거울상 이성질체 7A (603 mg)를 무정형 백색 분말로서 생성하였다. 두 번째로 용출된 거울상 이성질체를 CH₃CN/Et₂O로부터 고

형화하여 거울상 이성질체 7B (505 mg)를 무정형 백색 분말로서 생성하였다.

[0214] **화합물 7:**

[0215] ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 3.60 (s, 3 H) 3.62 - 3.67 (m, 2 H) 3.74 - 3.88 (m, 5 H) 3.96 (s, 3 H) 4.77 (t, $J=5.3$ Hz, 1 H) 5.66 - 5.75 (m, 1 H) 5.92 (d, $J=1.8$ Hz, 2 H) 6.12 (d, $J=8.1$ Hz, 1 H) 6.37 (d, $J=8.1$ Hz, 1 H) 6.96 (dd, $J=8.1, 1.8$ Hz, 1 H) 7.09 (d, $J=1.8$ Hz, 1 H) 7.14 (d, $J=7.6$ Hz, 1 H) 7.35 (d, $J=8.1$ Hz, 1 H) 7.81 (d, $J=11.6$ Hz, 1 H) 8.33 (s, 1 H) 11.94 (br. s., 1 H)

[0216] LC/MS (방법 LC-C): R_t 2.90분, MH^+ 529

[0217] **거울상 이성질체 7A:**

[0218] ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 3.60 (s, 3 H) 3.64 (q, $J=5.5$ Hz, 2 H) 3.76 - 3.88 (m, 5 H) 3.96 (s, 3 H) 4.79 (t, $J=5.5$ Hz, 1 H) 5.71 (t, $J=1.9$ Hz, 1 H) 5.92 (d, $J=1.9$ Hz, 2 H) 6.12 (d, $J=8.2$ Hz, 1 H) 6.39 (d, $J=8.2$ Hz, 1 H) 6.96 (dd, $J=8.2, 2.0$ Hz, 1 H) 7.09 (d, $J=1.9$ Hz, 1 H) 7.14 (d, $J=7.6$ Hz, 1 H) 7.35 (d, $J=8.2$ Hz, 1 H) 7.81 (d, $J=11.7$ Hz, 1 H) 8.34 (s, 1 H) 11.95 (br. s., 1 H)

[0219] LC/MS (방법 LC-C): R_t 2.90분, MH^+ 529

[0220] $[\alpha]_D^{20}$: +86.2° (c 0.232, DMF)

[0221] 키랄 SFC (방법 SFC-B): R_t 2.28분, MH^+ 529, 키랄 순도 100%.

[0222] **거울상 이성질체 7B:**

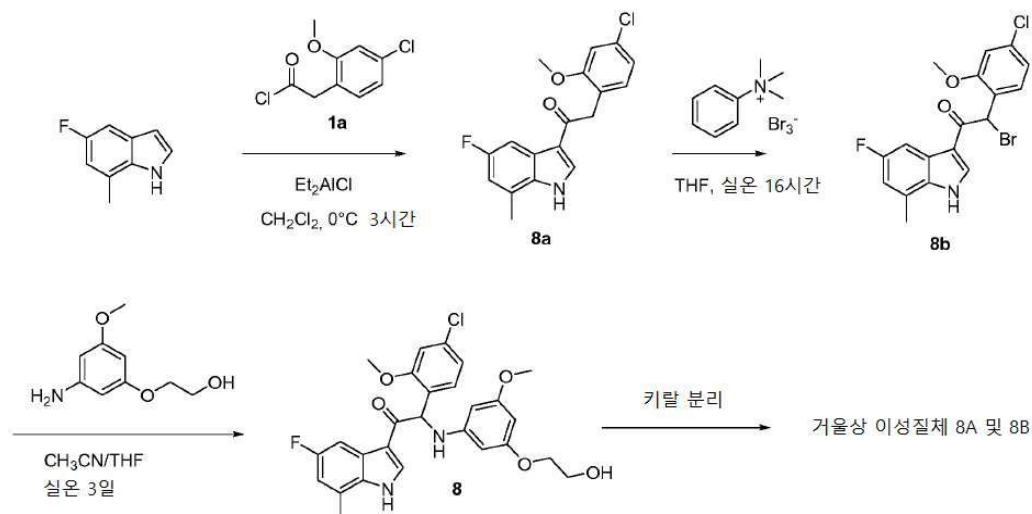
[0223] ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 3.60 (s, 3 H) 3.64 (q, $J=5.5$ Hz, 2 H) 3.76 - 3.88 (m, 5 H) 3.96 (s, 3 H) 4.79 (t, $J=5.5$ Hz, 1 H) 5.71 (t, $J=1.9$ Hz, 1 H) 5.92 (d, $J=1.9$ Hz, 2 H) 6.12 (d, $J=8.2$ Hz, 1 H) 6.39 (d, $J=8.2$ Hz, 1 H) 6.96 (dd, $J=8.2, 1.9$ Hz, 1 H) 7.09 (d, $J=1.9$ Hz, 1 H) 7.14 (d, $J=7.6$ Hz, 1 H) 7.35 (d, $J=8.2$ Hz, 1 H) 7.81 (d, $J=12.0$ Hz, 1 H) 8.34 (s, 1 H) 11.95 (br. s., 1 H)

[0224] LC/MS (방법 LC-C): R_t 2.90분, MH^+ 529

[0225] $[\alpha]_D^{20}$: -88.7° (c 0.3, DMF)

[0226] 키랄 SFC (방법 SFC-B): R_t 4.04분, MH^+ 529, 키랄 순도 100%.

[0227] 실시예 8: 2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-1-(5-플루오로-7-메틸-1*H*-인돌-3-일)-2-((3-(2-히드록시에톡시)-5-메톡시페닐)아미노)에타논 (화합물 8)의 합성 및 거울상 이성질체 8A 및 8B로의 키랄 분리.



[0228]

[0229]

중간체 8a의 합성:

[0230]

0°C 에서 헥산 중 1 M 디에틸알루미늄 클로라이드 (15.0 mL, 15.0 mmol)를 CH_2Cl_2 (20 mL) 중 5-플루오로-7-메틸-1H-인돌 [CAS 1082041-52-8] (1.49 g, 10.0 mmol)의 용액에 적가하였다. 0°C 에서의 30분 후, CH_2Cl_2 (10 mL) 중 2-(4-클로로-2-메톡시페닐)아세틸 클로라이드 1a (3.28 g, 15.0 mmol, 합성: 실시예 1 참조)의 용액을 0°C 에서 서서히 첨가하였다. 상기 반응물을 0°C 에서 3시간 동안 교반시켰다. 1 M 롯데 염 용액을 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에서 30분 동안 교반시켰다. 형성된 고형물을 여과 제거하고, EtOAc와 1 N HCl 사이에 분배시켰다. 상들을 분리하였다. 수성 층을 EtOAc로 추출하였다. 유기 상을 합하고, 염수로 세척하고, MgSO_4 로 건조시키고, 여과시키고, 감압 하에 농축시켜 2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-1-(5-플루오로-7-메틸-1H-인돌-3-일)에탄은 8a (2.03 g)을 제공하였다.

[0231]

중간체 8b의 합성:

[0232]

0°C 에서 THF (10 mL) 중 페닐트리메틸암모늄 트리브로마이드 [CAS 4207-56-1] (2.53 g, 6.72 mmol)의 용액을 THF (50 mL) 중 2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-1-(5-플루오로-7-메틸-1H-인돌-3-일)에탄은 8a (2.03 g, 6.11 mmol)의 용액에 적가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 하룻밤 교반시켰다. 침전물을 여과 제거하고, EtOAc로 세척하였다. 여과액을 감압 하에 농축시켰다. 잔사를 최소의 아세토니트릴로 용해시켰다. 침전물을 여과 제거하고, 아세토니트릴로 세척하고, 진공 하에 건조시켜 2-브로모-2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-1-(5-플루오로-7-메틸-1H-인돌-3-일)에탄은 8b (2.00 g)를 제공하였다.

[0233]

화합물 8의 합성 및 거울상 이성질체 8A 및 8B로의 키랄 분리:

[0234]

THF (10 mL) 및 CH_3CN (10 mL) 중 2-브로모-2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-1-(5-플루오로-7-메틸-1H-인돌-3-일)에탄은 8b (1.70 g, 4.14 mmol) 및 2-(3-아미노-5-메톡시페녹시)에탄올 [CAS 725237-16-1] (2.28 g, 12.4 mmol)의 혼합물을 실온에서 3일 동안 교반시켰다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켰다. 잔사를 EtOAc와 1 N HCl 사이에 분배시켰다. 상들을 분리하였다. 유기 상을 1 N HCl로 2회, 포화 NaHCO_3 수용액 및 염수로 세척하고, MgSO_4 로 건조시키고, 여과시키고, 감압 하에 농축시켰다. 잔사를 최소량의 아세토니트릴로 용해시켰다. 침전물을 여과 제거하고, 진공 하에 건조시켜 2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-1-(5-플루오로-7-메틸-1H-인돌-3-일)-2-((3-(2-히드록시에톡시)-5-메톡시페닐)아미노)에탄은 (화합물 8, 1.23 g)을 라세미 혼합물로서 제공하였다.

[0235]

화합물 8 (1.17 g)의 거울상 이성질체를 순상 키랄 분리 (고정상: 다이셀 키랄팩[®] OD-H, 이동상: 80% 헵탄, 20% 에탄올)를 통하여 분리하였다. 첫 번째로 용출된 생성물을 플래시 크로마토그래피 (고정상: 바이오테이지[®] 그레이스 레벨레리스 실리카 12 g, 이동상: 헵탄/EtOAc/EtOH, 구배: 100/0/0에서 40/45/15까지)에 의해 추가로 정제하였다. 순수 분획을 합하고, 증발시켰다. 생성물을 MeOH (4 mL)와 물 (1 mL)의 혼합물로부터 하룻밤 결정화하고, 여과 제거하고, MeOH (3x)로 세척하고, 진공 하에 50°C 에서 건조시켜 거울상 이성질체 8A (37 mg)를 제공하였다. 두 번째로 용출된 생성물을 플래시 크로마토그래피 (고정상: 바이오테이지[®] 그레이스 레벨레리스 실리카 12 g, 이동상: 헵탄/EtOAc/EtOH, 구배: 100/0/0에서 40/45/15까지)에 의해 추가로 정제하였다. 순수 분획

을 합하고, 증발시켰다. 생성물을 MeOH와 H₂O의 혼합물로부터 결정화하고, 여과 제거하고, MeOH로 세척하고, 진공 하에 50℃에서 건조시켜 거울상 이성질체 8B (177 mg)를 제공하였다.

[0236] **화합물 8:**

[0237] ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 2.48 (s, 3 H) 3.56 – 3.71 (m, 5 H) 3.74 – 3.92 (m, 2 H) 3.97 (s, 3 H) 4.79 (t, *J*=5.5 Hz, 1 H) 5.72 (s, 1 H) 5.95 (d, *J*=1.9 Hz, 2 H) 6.17 (d, *J*=7.9 Hz, 1 H) 6.40 (d, *J*=8.3 Hz, 1 H) 6.87 – 7.01 (m, 2 H) 7.10 (d, *J*=1.9 Hz, 1 H) 7.36 (d, *J*=8.3 Hz, 1 H) 7.65 (dd, *J*=9.8, 2.3 Hz, 1 H) 8.46 (s, 1 H) 12.22 (br. s., 1 H)

[0238] LC/MS (방법 LC-D): R_t 1.52분, MH⁺ 513

[0239] **거울상 이성질체 8A:**

[0240] ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 3.61 (s, 3 H) 3.64 (q, *J*=5.2 Hz, 2 H) 3.77 (s, 3 H) 3.78 – 3.89 (m, 2 H) 3.97 (s, 3 H) 4.77 (t, *J*=5.6 Hz, 1 H) 5.71 (t, *J*=2.1 Hz, 1 H) 5.93 (d, *J*=2.0 Hz, 2 H) 6.12 (d, *J*=7.9 Hz, 1 H) 6.35 (d, *J*=7.9 Hz, 1 H) 6.82 (dd, *J*=8.7, 2.3 Hz, 1 H) 6.91 – 7.01 (m, 2 H) 7.09 (d, *J*=2.0 Hz, 1 H) 7.36 (d, *J*=8.1 Hz, 1 H) 8.01 (d, *J*=8.6 Hz, 1 H) 8.29 (d, *J*=2.9 Hz, 1 H) 11.81 (br d, *J*=2.4 Hz, 1 H)

[0241] LC/MS (방법 LC-A): R_t 1.12분, MH⁺ 513

[0242] [α]_D²⁰: -83.8° (c 0.4725, DMF)

[0243] 키랄 SFC (방법 SFC-G): R_t 2.32분, MH⁺ 513, 키랄 순도 100%

[0244] **거울상 이성질체 8B:**

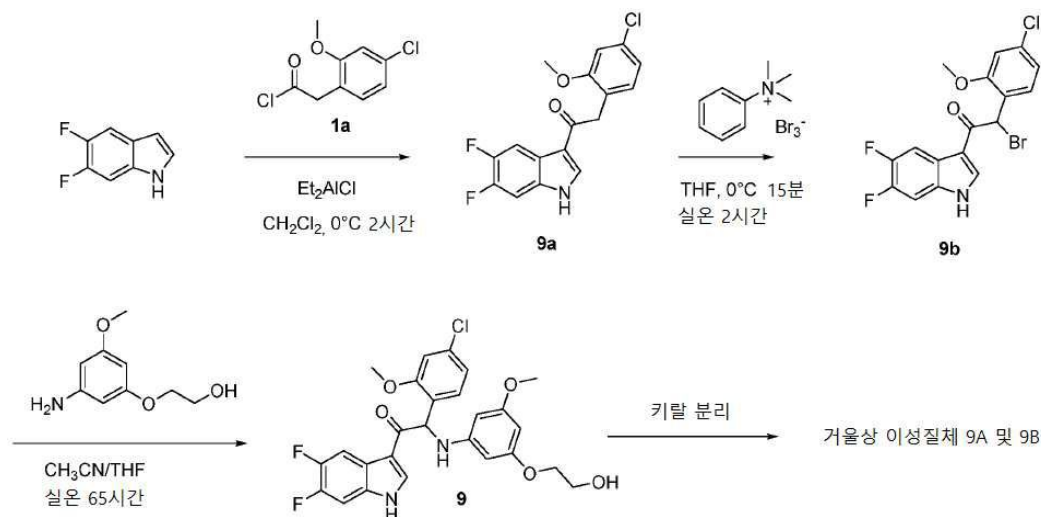
[0245] ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 2.47 (s, 3 H) 3.61 (s, 3 H) 3.65 (q, *J*=5.2 Hz, 2 H) 3.77 – 3.90 (m, 2 H) 3.97 (s, 3 H) 4.77 (t, *J*=5.6 Hz, 1 H) 5.72 (t, *J*=2.1 Hz, 1 H) 5.95 (d, *J*=2.0 Hz, 2 H) 6.16 (d, *J*=8.1 Hz, 1 H) 6.37 (d, *J*=7.9 Hz, 1 H) 6.92 (dd, *J*=10.1, 2.0 Hz, 1 H) 6.96 (dd, *J*=8.3, 1.9 Hz, 1 H) 7.10 (d, *J*=1.8 Hz, 1 H) 7.36 (d, *J*=8.4 Hz, 1 H) 7.65 (dd, *J*=9.7, 2.4 Hz, 1 H) 8.45 (d, *J*=3.5 Hz, 1 H) 12.20 (br d, *J*=2.9 Hz, 1 H)

[0246] LC/MS (방법 LC-A): R_t 1.14분, MH⁺ 513

[0247] [α]_D²⁰: +86.6° (c 0.4805, DMF)

[0248] 키랄 SFC (방법 SFC-G): R_t 1.44분, MH⁺ 513, 키랄 순도 100%

[0249] 실시예 9: 2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-1-(5,6-디플루오로-1*H*-인돌-3-일)-2-((3-(2-히드록시에톡시)-5-메톡시페닐)아미노)에타논 (화합물 9)의 합성 및 거울상 이성질체 9A 및 9B로의 키랄 분리.



[0250] [0251] 중간체 9a의 합성:

[0252] 0°C에서 헥산 중 1 M 디에틸알루미늄 클로라이드 (14.9 mL, 14.9 mmol)를 CH₂Cl₂ (20 mL) 중 5,6-디플루오로-1H-인돌 [CAS 169674-01-5] (1.50 g, 9.8 mmol)의 용액에 적가하였다. 0°C에서의 30분 후, CH₂Cl₂ (20 mL) 중 2-(4-클로로-2-메톡시페닐)아세트 클로라이드 1a (3.22 g, 14.7 mmol, 합성: 실시예 1 참조)의 용액을 0°C에서 서서히 첨가하였다. 상기 반응물을 0°C에서 2시간 동안 교반시켰다. 1 M 톨벤 올 용액을 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 격렬하게 교반시켰다. 침전물을 여과 제거하고, EtOAc와 1 N HCl 사이에 분배시켰다. 상들을 분리하였다. 수성 층을 EtOAc로 2회 추출하였다. 유기 상을 합하고, MgSO₄로 건조시키고, 여과시키고, 감압 하에 농축시켰다. 잔사를 최소의 아세토니트릴로 용해시켰다. 침전물을 여과 제거하고, 진공 하에 건조시켜 2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-1-(5,6-디플루오로-1H-인돌-3-일)에타논 9a (2.73 g)를 제공하였다.

[0253] 중간체 9b의 합성:

[0254] 0°C에서 THF (50 mL) 중 페닐트리메틸암모늄 트리브로마이드 [CAS 4207-56-1] (3.36 g, 8.94 mmol)의 용액을 THF (80 mL) 중 2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-1-(5,6-디플루오로-1H-인돌-3-일)-2-(4-클로로-2-메톡시페닐)에타논 9a (2.73 g, 8.13 mmol)의 용액에 적가하였다. 반응 혼합물을 0°C에서 15분 동안, 그리고 실온에서 2시간 동안 교반시켰다. 침전물을 여과 제거하고, EtOAc로 세척하였다. 여과액을 감압 하에 농축시켰다. 잔사를 최소의 아세토니트릴로 용해시켰다. 침전물을 여과 제거하고, 진공 하에 건조시켜 2-브로모-2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-1-(5,6-디플루오로-1H-인돌-3-일)에타논 9b (3.00 g)를 제공하였다.

[0255] 화합물 9의 합성 및 거울상 이성질체 9A 및 9B로의 키랄 분리:

[0256] THF (9 mL) 및 CH₃CN (9 mL) 중 2-브로모-2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-1-(5,6-디플루오로-1H-인돌-3-일)에타논 9b (1.80 g, 4.34 mmol) 및 2-(3-아미노-5-메톡시페녹시)에탄올 [CAS 725237-16-1] (2.39 g, 13.0 mmol)의 혼합물을 실온에서 65시간 동안 교반시켰다. 1 N HCl을 첨가하고, 반응 혼합물을 EtOAc로 추출하였다. 상들을 분리하였다. 유기 상을 1 N HCl로 세척하고, MgSO₄로 건조시키고, 여과시키고, 감압 하에 농축시켰다. 잔사를 디클로로메탄 중 EtOAc의 구배 (15%에서 70%까지)를 이용하여 실리카 겔에서의 플래시 크로마토그래피에 의해 정제하였다. 순수 분획을 합하고, 감압 하에 농축시켜 2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-1-(5,6-디플루오로-1H-인돌-3-일)-2-((3-(2-히드록시메톡시)-5-메톡시페닐)아미노)에타논 (화합물 9, 1.20 g)을 라세미 혼합물로서 생성하였다. 불순한 분획을 합하고, 디클로로메탄 중 에틸 아세테이트의 구배 (15%에서 70%까지)를 이용하여 실리카 겔에서의 플래시 크로마토그래피에 의해 정제하여 화합물 9 (0.290 g)의 두 번째 배치를 라세미 혼합물로서 생성하였다.

[0257] 화합물 9 (1.4 g)의 거울상 이성질체를 순상 키랄 분리 (고정상: 다이셀 키랄팩® OD-H, 이동상: 80% 헥산, 20% 에탄올)를 통하여 분리하였다. 첫 번째로 용출된 생성물을 플래시 크로마토그래피 (고정상: 바이오테이지® 그레이스 레벨레리스 실리카 12 g, 이동상: CH₂Cl₂/MeOH, 구배: 100/0에서 90/10까지)에 의해 추가로 정제하였다. 순수 분획을 합하고, 증발시키고, MeOH와 함께 공동 증발시켰다. 잔사를 CH₃CN (4.5 mL)과 물 (2.5 mL)의 용매

혼합물로부터 동결건조시키고, 진공 하에 45℃에서 건조시켜 거울상 이성질체 9A (409 mg)를 제공하였다. 두 번째로 용출된 생성물을 플래시 크로마토그래피 (고정상: 바이오테이지[®] 그레이스 레벨레리스 실리카 12 g, 이동상: CH₂Cl₂/MeOH, 구배: 100/0에서 90/10까지)에 의해 추가로 정제하였다. 순수 분획을 합하고, 증발시키고, MeOH와 함께 공동 증발시켰다. 잔사를 CH₃CN (5 mL)과 물 (3 mL)의 용매 혼합물로부터 동결건조시키고, 진공 하에 45℃에서 건조시켜 거울상 이성질체 9B (388 mg)를 제공하였다.

[0258] **화합물 9:**

[0259] ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 3.61 (s, 3 H) 3.62 - 3.70 (m, 2 H) 3.75 - 3.90 (m, 2 H) 3.95 (s, 3 H) 4.79 (t, *J*=5.6 Hz, 1 H) 5.72 (t, *J*= 2.1 Hz, 1 H) 5.93 (d, *J*=2.0 Hz, 1 H) 6.15 (d, *J*=8.1 Hz, 1 H) 6.42 (d, *J*=8.1 Hz, 1 H) 6.97 (dd, *J*=8.2, 2.2 Hz, 1 H) 7.10 (d, *J*=2.0 Hz, 1 H) 7.35 (d, *J*=8.3 Hz, 1 H) 7.54 (dd, *J*=10.8, 7.0 Hz, 1 H) 7.99 (dd, *J*=11.2, 8.2 Hz, 1 H) 8.48 (s, 1 H) 12.19 (br. s., 1 H)

[0260] LC/MS (방법 LC-D): R_t 1.44분, MH⁺ 517

[0261] **거울상 이성질체 9A:**

[0262] ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 3.61 (s, 3 H) 3.64 (q, *J*=5.2 Hz, 2 H) 3.77 - 3.89 (m, 2 H) 3.95 (s, 3 H) 4.77 (t, *J*=5.5 Hz, 1 H) 5.72 (t, *J*=2.1 Hz, 1 H) 5.93 (d, *J*=2.0 Hz, 2 H) 6.14 (d, *J*=8.1 Hz, 1 H) 6.39 (d, *J*=8.1 Hz, 1 H) 6.97 (dd, *J*=8.4, 2.0 Hz, 1 H) 7.09 (d, *J*=2.0 Hz, 1 H) 7.35 (d, *J*=8.1 Hz, 1 H) 7.53 (dd, *J*=10.8, 7.0 Hz, 1 H) 7.99 (dd, *J*=11.2, 8.1 Hz, 1 H) 8.47 (s, 1 H) 12.16 (br s, 1 H)

[0263] LC/MS (방법 LC-A): R_t 1.15분, MH⁺ 517

[0264] [α]_D²⁰: -98.9° (c 0.445, DMF)

[0265] 키랄 SFC (방법 SFC-G): R_t 1.92분, MH⁺ 517, 키랄 순도 100%

[0266] **거울상 이성질체 9B:**

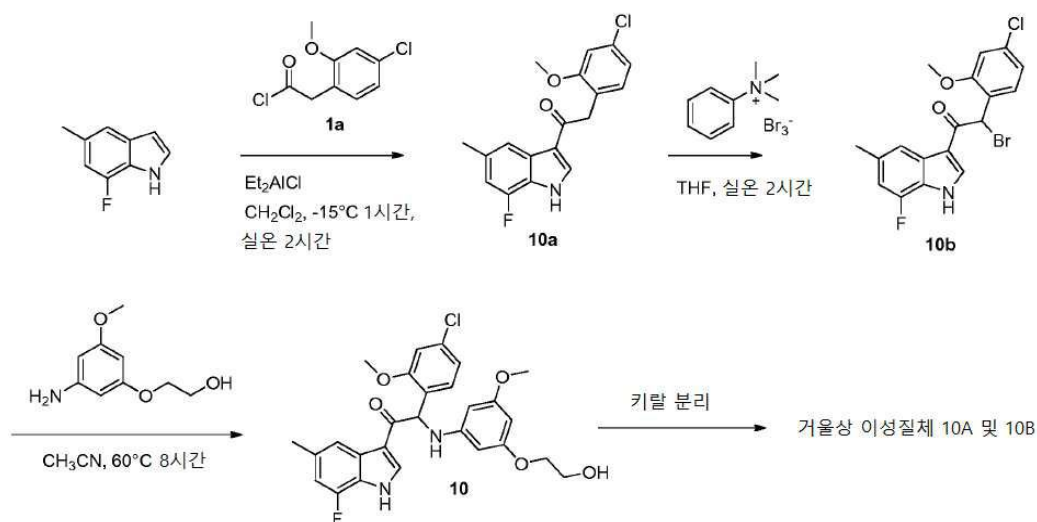
[0267] ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 3.61 (s, 3 H) 3.64 (q, *J*=5.2 Hz, 2 H) 3.75 - 3.91 (m, 2 H) 3.95 (s, 3 H) 4.77 (t, *J*=5.6 Hz, 1 H) 5.72 (t, *J*=2.1 Hz, 1 H) 5.93 (d, *J*=2.2 Hz, 2 H) 6.14 (d, *J*=8.1 Hz, 1 H) 6.39 (d, *J*=8.1 Hz, 1 H) 6.97 (dd, *J*=8.1, 2.0 Hz, 1 H) 7.09 (d, *J*=2.0 Hz, 1 H) 7.35 (d, *J*=8.1 Hz, 1 H) 7.53 (dd, *J*=10.8, 7.0 Hz, 1 H) 7.99 (dd, *J*=11.1, 8.3 Hz, 1 H) 8.47 (s, 1 H) 12.16 (br s, 1 H)

[0268] LC/MS (방법 LC-A): R_t 1.15분, MH⁺ 517

[0269] [α]_D²⁰: +98.9° (c 0.555, DMF)

[0270] 키랄 SFC (방법 SFC-G): R_t 1.36분, MH⁺ 517, 키랄 순도 100%

[0271] 실시예 10: 2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-1-(7-플루오로-5-메틸-1*H*-인돌-3-일)-2-((3-(2-히드록시에톡시)-5-메톡시페닐)아미노)에탄논 (화합물 10)의 합성 및 거울상 이성질체 10A 및 10B로의 키랄 분리.



중간체 10a의 합성:

N_2 유동 하에 -15°C 에서 헥산 중 1 M 디에틸알루미늄 클로라이드 (16 mL, 16 mmol)를 CH_2Cl_2 (150 mL) 중 7-플루오로-5-메틸-1H-인돌 [CAS 442910-91-0] (1.59 g, 10.7 mmol)의 용액에 적가하였다. -15°C 에서의 15분 후, CH_2Cl_2 (50 mL) 중 2-(4-클로로-2-메톡시페닐)아세트 클로라이드 1a (3.27 g, 14.9 mmol, 합성: 실시예 1 참조)의 용액을 -15°C 에서 서서히 첨가하였다. 상기 반응물을 -15°C 에서 1시간 동안, 그리고 실온에서 2시간 동안 교반시켰다. 반응 혼합물을 교반 얼음/롯데 얼음 혼합물 내에 부었다. 고형물을 짧은 디칼라이트® 패드에서의 여과에 의해 반응 혼합물로부터 제거하고, 필터 케이크를 THF로 수 회 행구었다. 층들을 분리하고, 수성 층을 THF로 추출하였다. 합한 유기 층을 염수, 물로 세척하고, MgSO_4 로 건조시키고, 여과시키고, 감압 하에 증발시켰다. 고체 잔사를 CH_2Cl_2 (10 mL)에 현탁시켰다. 고형물을 여과 제거하고, 소량의 CH_2Cl_2 로 세척하고, 진공 하에 50°C 에서 건조시켜 2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-1-(7-플루오로-5-메틸-1H-인돌-3-일)에탄논 10a (2.22 g)를 제공하였다.

중간체 10b의 합성:

0°C 에서 THF (50 mL) 중 페닐트리메틸암모늄 트리브로마이드 [CAS 4207-56-1] (2.77 g, 7.36 mmol)의 용액을 THF (150 mL) 중 2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-1-(7-플루오로-5-메틸-1H-인돌-3-일)에탄논 10a (2.22 g, 6.7 mmol)의 용액에 적가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반시켰다. 침전물을 여과 제거하고, THF로 세척하였다. 여과액을 감압 하에 농축시켰다. 잔사를 최소의 CH_2Cl_2 로 용해시켰다. 침전물을 여과 제거하고, CH_2Cl_2 (2x)로 세척하고, 진공 하에 50°C 에서 건조시켜 2-브로모-2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-1-(7-플루오로-5-메틸-1H-인돌-3-일)에탄논 10b (2.55 g)를 제공하였다.

화합물 10의 합성 및 거울상 이성질체 10A 및 10B로의 키랄 분리:

CH_3CN (100 mL) 중 2-브로모-2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-1-(7-플루오로-5-메틸-1H-인돌-3-일)에탄논 10b (2 g, 4.87 mmol), 2-(3-아미노-5-메톡시페녹시)에탄올 [CAS 725237-16-1] (1.6 g, 7.3 mmol) 및 디이소프로필에틸아민 (1.26 mL, 7.3 mmol)의 혼합물을 실온에서 20시간 동안, 60°C 에서 8시간 동안, 그리고 다시 실온에서 16시간 동안 교반시켰다. 용매를 감압 하에 증발시켰다. 잔사를 CH_2Cl_2 (50 mL)에 용해시키고, 0.5 M HCl (50 mL) 및 물 (50 mL)로 세척하고, MgSO_4 로 건조시키고, 여과시키고, 증발시켰다. 잔사를 컬럼 크로마토그래피(고정상: 바리오테이지® 그레이스 레벨레리스 실리카 120 g, 이동상: EtOAc/헥산, 구배: 0/100에서 60/40까지)에 의해 정제하였다. 생성물을 포함하는 분획을 합하고, 증발시키고, 진공 하에 50°C 에서 건조시켜 2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-1-(7-플루오로-5-메틸-1H-인돌-3-일)-2-((3-(2-히드록시에톡시)-5-메톡시페닐)아미노)에탄논 (화합물 10, 1.3 g)을 백색 고형물로서 제공하였다.

화합물 10 (1.3 g)의 거울상 이성질체를 순상 키랄 분리 (고정상: AD-H, 이동상: 70% 에탄올, 30% 메탄올)를 통하여 분리하여 637 mg의 첫 번째로 용출된 거울상 이성질체 및 628 mg의 두 번째로 용출된 거울상 이성질체를

제공하였다. 첫 번째로 용출된 생성물을 MeOH/물 혼합물로부터 결정화하였다. 고형물을 여과 제거하고, MeOH/물 (1/1) 혼합물로 세척하여 거울상 이성질체 10A (302 mg)를 백색 무정형 분말로서 제공하였다. 두 번째로 용출된 생성물을 플래시 크로마토그래피 (고정상: 바이오테이지[®] 그레이스 레벨레리스 실리카 40 g, 이동상: MeOH/CH₂Cl₂, 구배: 0/100에서 2/98까지)에 의해 추가로 정제하였다. 생성물을 포함하는 분획을 합하고, 증발시켜 거울상 이성질체 10B (335 mg)를 백색 무정형 분말로서 제공하였다.

[0280] **화합물 10:**

[0281] ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 2.38 (s, 3 H) 3.61 (s, 3 H) 3.62 - 3.67 (m, 2 H) 3.77 - 3.89 (m, 2 H) 3.95 (s, 3 H) 4.77 (t, *J*=5.5 Hz, 1 H) 5.72 (t, *J*=2.0 Hz, 1 H) 5.94 (d, *J*=2.0 Hz, 2 H) 6.15 (d, *J*=8.1 Hz, 1 H) 6.34 (d, *J*=8.1 Hz, 1 H) 6.90 (d, *J*=12.1 Hz, 1 H) 6.96 (dd, *J*=8.1, 2.0 Hz, 1 H) 7.09 (d, *J*=2.0 Hz, 1 H) 7.35 (d, *J*=8.4 Hz, 1 H) 7.77 (s, 1 H) 8.38 (s, 1 H) 12.46 (br s, 1 H)

[0282] LC/MS (방법 LC-A): R_t 1.16분, MH⁺ 513

[0283] **거울상 이성질체 10A:**

[0284] ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 2.38 (s, 3 H) 3.62 (s, 3 H) 3.66 (br t, *J*=4.8 Hz, 2 H) 3.77 - 3.92 (m, 2 H) 3.96 (s, 3 H) 4.78 (br s, 1 H) 5.73 (s, 1 H) 5.96 (s, 2 H) 6.17 (br d, *J*=7.9 Hz, 1 H) 6.35 (br d, *J*=8.1 Hz, 1 H) 6.91 (d, *J*=12.1 Hz, 1 H) 6.97 (dd, *J*=8.3, 1.4 Hz, 1 H) 7.10 (d, *J*=1.5 Hz, 1 H) 7.36 (d, *J*=8.4 Hz, 1 H) 7.79 (s, 1 H) 8.39 (s, 1 H) 12.47 (br s, 1 H)

[0285] LC/MS (방법 LC-A): R_t 1.15분, MH⁺ 513

[0286] [α]_D²⁰: +132.3° (c 0.505, DMF)

[0287] 키랄 SFC (방법 SFC-F): R_t 2.13분, MH⁺ 513, 키랄 순도 100%

[0288] **거울상 이성질체 10B:**

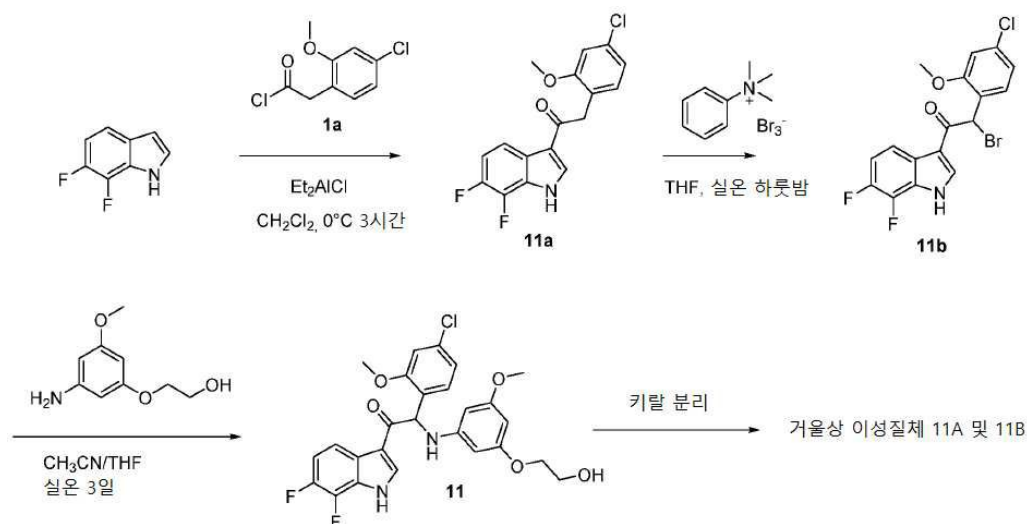
[0289] ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 2.38 (s, 3 H) 3.61 (s, 3 H) 3.63 - 3.68 (m, 2 H) 3.77 - 3.92 (m, 2 H) 3.96 (s, 3 H) 4.77 (br t, *J*=5.7 Hz, 1 H) 5.72 (t, *J*=2.0 Hz, 1 H) 5.95 (d, *J*=2.0 Hz, 2 H) 6.16 (d, *J*=7.9 Hz, 1 H) 6.35 (d, *J*=8.1 Hz, 1 H) 6.91 (d, *J*=12.1 Hz, 1 H) 6.97 (dd, *J*=8.4, 2.0 Hz, 1 H) 7.09 (d, *J*=2.0 Hz, 1 H) 7.36 (d, *J*=8.4 Hz, 1 H) 7.78 (s, 1 H) 8.39 (s, 1 H) 12.46 (br s, 1 H)

[0290] LC/MS (방법 LC-A): R_t 1.15분, MH⁺ 513

[0291] [α]_D²⁰: -144.1° (c 0.4975, DMF)

[0292] 키랄 SFC (방법 SFC-F): R_t 3.13분, MH⁺ 513, 키랄 순도 100%

[0293] 실시예 11: 2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-1-(6,7-디플루오로-1*H*-인돌-3-일)-2-((3-(2-히드록시에톡시)-5-메톡시페닐)아미노)에탄논 (화합물 11)의 합성 및 거울상 이성질체 11A 및 11B로의 키랄 분리.



중간체 11a의 합성:

0°C에서 헥산 중 1 M 디에틸알루미늄 클로라이드 (15.0 mL, 15.0 mmol)를 CH₂Cl₂ (20 mL) 중 6,7-디플루오로-1H-인돌[CAS 271780-84-8] (1.53 g, 10.0 mmol)의 용액에 적가하였다. 0°C에서의 30분 후, CH₂Cl₂ (10 mL) 중 2-(4-클로로-2-메톡시페닐)아세틸 클로라이드 1a (3.28 g, 15.0 mmol, 합성: 실시예 1 참조)의 용액을 0°C에서 서서히 첨가하였다. 상기 반응물을 0°C에서 3시간 동안 교반시켰다. 1 M 톨벤 염 용액을 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에서 30분 동안 교반시켰다. 고형물을 여과 제거하고, EtOAc와 1 N HCl 사이에 분배시켰다. 상들을 분리하였다. 수성 층을 EtOAc로 추출하였다. 유기 상을 합하고, 염수로 세척하고, MgSO₄로 건조시키고, 여과시키고, 감압 하에 농축시켜 2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-1-(6,7-디플루오로-1H-인돌-3-일)에탄논 11a (2.36 g)를 제공하였다.

중간체 11b의 합성:

0°C에서 THF (10 mL) 중 페닐트리메틸암모늄 트리브로마이드 [CAS 4207-56-1] (2.90 g, 7.02 mmol)의 용액을 THF (50 mL) 중 2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-1-(6,7-디플루오로-1H-인돌-3-일)에탄논 11a (2.36 g, 7.02 mmol)의 용액에 적가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 하룻밤 교반시켰다. 침전물을 여과 제거하고, EtOAc로 세척하였다. 여과액을 감압 하에 농축시켰다. 잔사를 최소의 아세토니트릴로 용해시켰다. 침전물을 여과 제거하고, 아세토니트릴로 세척하고, 진공 하에 건조시켜 2-브로모-2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-1-(6,7-디플루오로-1H-인돌-3-일)에탄논 11b (2.34 g)를 제공하였다.

화합물 11의 합성 및 거울상 이성질체 11A 및 11B로의 키랄 분리:

THF (10 mL) 및 CH₃CN (10 mL) 중 2-브로모-2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-1-(6,7-디플루오로-1H-인돌-3-일)에탄논 11b (1.70 g, 4.14 mmol) 및 2-(3-아미노-5-메톡시페닐)에탄올 [CAS 725237-16-1] (2.25 g, 12.3 mmol)의 혼합물을 실온에서 3일 동안 교반시켰다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켰다. 잔사를 EtOAc와 1 N HCl 사이에 분배시켰다. 상들을 분리하였다. 유기 상을 1 N HCl로 2회, 포화 NaHCO₃ 수용액 및 염수로 세척하고, MgSO₄로 건조시키고, 여과시키고, 감압 하에 농축시켰다. 잔사를 헵탄 중 EtOAc의 구배 (20%에서 100%까지)를 이용하여 실리카 겔에서의 플래시 크로마토그래피에 의해 정제하였다. 예상되는 화합물을 포함하는 분획을 합하고, 감압 하에 농축시켰다. 잔사를 Et₂O, 아세토니트릴 및 헵탄의 혼합물로부터 결정화하여 2-(4-클로로-2-메톡시페닐)-1-(6,7-디플루오로-1H-인돌-3-일)-2-((3-(2-히드록시에톡시)-5-메톡시페닐)아미노)에탄논 (화합물 11, 1.54 g)을 라세미 혼합물로서 생성하였다.

화합물 11 (1.22 g)의 거울상 이성질체를 예비 키랄 SFC (고정상: 키랄셀[®] OD-H 5 μm 250 x 30 mm, 이동상: 55% CO₂, 45% MeOH)에 의해 분리하여 550 mg의 첫 번째로 용출된 거울상 이성질체 및 570 mg의 두 번째로 용출된 거울상 이성질체를 제공하였다. 첫 번째로 용출된 거울상 이성질체를 CH₃CN/디이소프로필에테르로부터 고형화하여 거울상 이성질체 11A (487 mg)를 생성하였다. 두 번째로 용출된 거울상 이성질체를 CH₃CN/디이소프로필에

테르로부터 고형화하여 거울상 이성질체 11B (460 mg)를 생성하였다. 상기 둘 모두의 거울상 이성질체는 무정형 분말로 나타났다.

[0302] **화합물 11:**

[0303] ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 3.56 - 3.69 (m, 5 H) 3.75 - 3.90 (m, 2 H) 3.95 (s, 3 H) 4.79 (t, $J=5.5$ Hz, 1 H) 5.73 (s, 1 H) 5.95 (d, $J=1.9$ Hz, 2 H) 6.18 (d, $J=8.3$ Hz, 1 H) 6.41 (d, $J=8.3$ Hz, 1 H) 6.97 (dd, $J=8.1, 1.7$ Hz, 1 H) 7.10 (d, $J=1.9$ Hz, 1 H) 7.16 - 7.30 (m, 1 H) 7.36 (d, $J=8.3$ Hz, 1 H) 7.92 (dd, $J=8.7, 4.5$ Hz, 1 H) 8.50 (s, 1 H) 12.78 (br. s., 1 H)

[0304] LC/MS (방법 LC-D): R_t 1.52분, MH^+ 517

[0305] **거울상 이성질체 11A:**

[0306] ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 12.79 (br. s., 1 H) 8.50 (s, 1 H) 7.92 (dd, $J=8.7, 4.3$ Hz, 1 H) 7.36 (d, $J=8.5$ Hz, 1 H) 7.20 - 7.27 (m, 1 H) 7.10 (d, $J=1.6$ Hz, 1 H) 6.97 (dd, $J=8.4, 1.7$ Hz, 1 H) 6.42 (d, $J=8.2$ Hz, 1 H) 6.18 (d, $J=8.2$ Hz, 1 H) 5.95 (d, $J=1.6$ Hz, 2 H) 5.72 (s, 1 H) 4.79 (t, $J=5.4$ Hz, 1 H) 3.94 (s, 3 H) 3.78 - 3.89 (m, 2 H) 3.59 - 3.68 (m, 5 H)

[0307] LC/MS (방법 LC-C): R_t 3.07분, MH^+ 517

[0308] $[\alpha]_D^{20}$: -99.6° (c 0.2218, DMF)

[0309] 키랄 SFC (방법 SFC-D): R_t 1.80분, MH^+ 517, 키랄 순도 100%.

[0310] **거울상 이성질체 11B:**

[0311] ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 12.79 (br. s., 1 H) 8.50 (s, 1 H) 7.91 (dd, $J=8.7, 4.3$ Hz, 1 H) 7.36 (d, $J=8.2$ Hz, 1 H) 7.17 - 7.28 (m, 1 H) 7.10 (d, $J=1.9$ Hz, 1 H) 6.97 (dd, $J=8.2, 1.9$ Hz, 1 H) 6.41 (d, $J=8.2$ Hz, 1 H) 6.18 (d, $J=8.2$ Hz, 1 H) 5.95 (d, $J=1.9$ Hz, 2 H) 5.72 (t, $J=1.9$ Hz, 1 H) 4.79 (t, $J=5.5$ Hz, 1 H) 3.94 (s, 3 H) 3.77 - 3.88 (m, 2 H) 3.55 - 3.70 (m, 5 H)

[0312] LC/MS (방법 LC-C): R_t 3.07분, MH^+ 517

[0313] $[\alpha]_D^{20}$: $+99.2^\circ$ (c 0.2127, DMF)

[0314] 키랄 SFC (방법 SFC-D): R_t 3.38분, MH^+ 517, 키랄 순도 100%.

[0315] 본 발명의 화합물의 항바이러스 활성

[0316] *DENV-2 항바이러스 분석*

[0317] 본 발명의 모든 화합물의 항바이러스 활성을 강화 녹색 형광 단백질 (enhanced green fluorescent protein; eGFP)로 표지된 DENV-2 16681 주에 대하여 테스트하였다. 배양 배지는 2%의 열-불활성화 송아지 태아 혈청, 0.04%의 겐타마이신 (50 mg/mL) 및 2 mM의 L-글루타민이 보충된 최소 필수 배지로 이루어진다. ECACC로부터 획득한 베로 (Vero) 세포를 배양 배지에 현탁시키고, 25 μL 를 384웰 플레이트에 첨가하였는데 (2500개의 세포/웰), 상기 플레이트는 항바이러스 화합물을 이미 포함하고 있다. 전형적으로, 이러한 플레이트는 100% DMSO (200 nL) 중 최종 농도의 200배의 테스트 화합물의 9개의 희석 단계의 4배 연속 희석 희석물을 포함한다. 게다가, 각각의 화합물 농도를 사중으로 테스트한다 (최종 농도 범위: 25 μM 내지 0.00038 μM). 마지막으로, 각각의 플레이트는 바이러스 대조구 (화합물의 부재 하에 세포 및 바이러스를 포함함), 세포 대조구 (바이러스 및 화합물의 부재 하에 세포를 포함함) 및 배지 대조구 (세포, 바이러스 및 화합물의 부재 하에 배지를 포함함)로서 할당되는 웰을 포함한다. 배지 대조구로 할당된 웰에 25 μL 의 배양 배지를 베로 세포 대신 첨가하였다. 일단 세포를 플레이트에 첨가하였으면, 플레이트를 실온에서 30분 동안 인큐베이션하여 세포가 웰

내에 고르게 분포하게 하였다. 다음, 플레이트를 충분히 가습된 인큐베이터 (37℃, 5% CO₂)에서 다음날까지 인큐베이션하였다. 그 후, eGFP로 표지한 DENV-2 주 16681을 0.5의 감염 다중도 (multiplicity of infection; MOI)로 첨가하였다. 따라서, 15 μL의 바이러스懸탁물을 테스트 화합물을 포함하는 모든 웰 및 바이러스 대조구로 할당된 웰에 첨가하였다. 이와 병행하여, 15 μL의 배양 배지를 배지 대조구 및 세포 대조구에 첨가하였다. 다음, 플레이트를 충분히 가습된 인큐베이터 (37℃, 5% CO₂)에서 3일 동안 인큐베이션하였다. 판독일에, eGFP 형광을 488 nm에서 (청색 레이저) 자동 형광 현미경을 이용하여 측정하였다. 내부 LIMS 시스템을 이용하여, 각각의 화합물에 있어서의 억제 용량 반응 곡선을 계산하고, 반치 최대 유효 농도 (EC₅₀)를 결정하였다. 따라서, 모든 테스트 농도에 있어서의 억제 퍼센트 (I)는 하기 식을 이용하여 계산한다: $I = 100 * (S_T - S_{CC}) / (S_{VC} - S_{CC})$; S_T, S_{CC} 및 S_{VC}는 각각 테스트 화합물 웰, 세포 대조 웰 및 바이러스 대조 웰에서의 eGFP 시그널 (signal)의 양이다. EC₅₀은 바이러스 대조구와 비교하여 eGFP 형광 강도가 50% 감소되는 것에 의해 측정되는 바와 같이, 바이러스 복제가 50% 억제되는 화합물의 농도를 나타낸다. EC₅₀을 선형 내삽을 이용하여 계산한다 (표 1).

[0318]

이와 병행하여, 화합물의 독성을 동일 플레이트에서 평가하였다. 일단 eGFP 시그널의 판독이 행해졌으면, 10 μL의 레사주린 (resazurin) (세포 생존성에 대한 염색제 (cell viability stain))을 384웰 플레이트의 모든 웰에 첨가하였다. 레사주린 분석법은 세포에 의해 생성되는 NADH에 의한 청색 레사주린의 고도 형광 생성물인 레소루핀 (resorufin)으로의 환원을 기반으로 한다. 분홍색 형광 레소루핀의 형성은 웰에서의 생존성 세포의 수와 직접적으로 관련된다. 플레이트를 충분히 가습된 인큐베이터 (37℃, 5% CO₂)에서 추가 5시간 동안 인큐베이션하였다. 다음, 플레이트를 530 nm의 여기 파장을 이용하여 인피니트 판독기 (Infinite reader) (테칸 (Tecan))에서 측정하였다. 레사주린 전환을 세포 대조구 웰의 것과 비교하여 50%만큼 감소시키는 데 요구되는 농도로서 정의되는 반치 최대 세포독성 농도 (CC₅₀)를 또한 결정하였다 (표 1). 마지막으로, 선택도 지수 (selectivity index; SI)를 화합물에 대하여 결정하며, 이를 하기와 같이 계산한다: $SI = CC_{50} / EC_{50}$.

[0319] [표 1]

DENV-2 항바이러스 분석에서의 본 발명의 화합물의 EC₅₀, CC₅₀, 및 SI

화합물 번호	EC50 (μM)	N	CC50 (μM)	N	SI	N
1	0.0030	4	6.2	4	2053	4
1A	0.00081	14	4.3	16	5395	13
1B	0.14	7	6.3	7	44	7
2A	0.00081	4	4.2	4	5166	4
2B	0.081	3	6.2	3	77	3
3	0.00072	3	5.5	3	7587	3
3A	0.00034	4	4.5	4	20070	4
3B	0.045	3	7.1	3	158	3
4	0.0014	3	6.3	4	4398	3
4A	0.00070	3	4.9	3	6965	3
4B	0.045	3	7.4	3	164	3
5	0.0023	3	6.5	3	2860	3
5A	0.00084	4	5.9	4	7057	4
5B	0.40	3	8.1	3	21	3
6	0.0012	3	5.6	3	4639	3
6A	0.00082	15	5.1	15	6520	14
6B	0.076	4	5.4	4	71	4
7	0.0026	3	7.4	3	2860	3
7A	0.0011	4	6.1	4	5569	4
7B	0.069	3	7.8	3	112	3
8	0.0024	3	8.0	3	3270	3
8A	0.0012	3	4.2	3	3457	3
8B	0.26	3	5.7	3	22	3
9	0.0022	3	7.3	3	3329	3
9A	0.0044	4	3.9	4	899	4
9A	0.076	3	6.5	3	85	3
10	0.0075	3	5.8	3	767	3
10A	0.0032	3	4.5	3	1416	3
10B	0.19	4	3.8	3	20	3
11	0.0031	3	5.8	3	1879	3
11A	0.090	3	6.5	3	72	3
11B	0.0012	3	4.1	3	3526	3

N= 화합물을 테스트한 독립 실험의 수

[0320]

4가의 정량적 역전사효소-PCR (reverse transcriptase quantitative-PCR; RT-qPCR) 분석: 프로토콜 A.

[0321]

[0322]

본 발명의 화합물의 항바이러스 활성을 RT-qPCR 분석에서 DENV-1 주 TC974#666 (NCPV), DENV-2 주 16681, DENV-3 주 H87 (NCPV) 및 DENV-4 주 H241 (NCPV) 및 EDEN (SG/06K2270DK1/2005; 젠뱅크 (GenBank) 등록 번호 QG398256)에 대하여 테스트하였다. 따라서, 벡로 세포를 테스트 화합물의 존재 또는 부재 하에 DENV-1, 또는 -2, 또는 -3, 또는 -4 중 어느 하나로 감염시켰다. 감염 후 제3일에, 상기 세포를 용해시키고, 세포 용해물을 이용하여 바이러스 표적 (DENV의 3'UTR; 표 2) 및 세포 기준 유전자 (β-액틴, 표 2) 둘 모두의 cDNA를 제조하였다. 후속적으로, 듀플렉스 (duplex) 실시간 PCR을 라이트사이클러480 (Lightcycler480) 기기에서 수행하였다. 생성된 Cp 값은 이러한 표적의 RNA 발현의 양에 역비례한다. 테스트 화합물에 의한 DENV 복제의 억제 3'UTR 유전자에 있어서 Cp의 이동 (shift)으로 이어진다. 반면에, 테스트 화합물이 세포에 유독한 경우, β-액틴 발현에 대한 유사한 영향이 관찰된다. 비교용 ΔΔCp 방법을 이용하여 EC₅₀을 계산하는데, 이는 세포 항존 유전자 (housekeeping gene) (β-액틴)를 이용하여 정규화된 표적 유전자 (3'UTR)의 상대적인 유전자 발현을 기반으로 한다. 게다가, CC₅₀ 값을 항존 유전자 β-액틴에 대한 획득된 Cp 값을 기반으로 하여 결정하였다.

[0323] [표 2]

실시간, 정량적 RT-PCR에 이용한 프라이머 및 프로브

프라이머/프로브	표적	서열 ^{a, b}
F3utr258	DENV 3'-UTR	5'-CGGTTAGAGGAGACCCCTC-3'
R3utr425	DENV 3'-UTR	5'-GAGACAGCAGGATCTCTGGTC-3'
P3utr343	DENV 3'-UTR	FAM -5'-AAGGACTAGAGGTTAGAGGAGACCCCCC-3'- BHQ1
Factin743	β-액틴	5'-GGCCAGGTCATCACCATT-3'
Ractin876	β-액틴	5'-ATGTCCACGTCACACTTCATG-3'
Pactin773	β-액틴	HEX -5'-TTCCGCTGCCCTGAGGCTCTC-3'- BHQ1

^a 리포터 (reporter) 염색체 (FAM, HEX) 및 켄처 (quencher) (BHQ1) 요소를 볼드체 및 이탤릭체로 표시함.

^b 프라이머 및 프로브의 뉴클레오티드 서열을 젠뱅크에 기탁된 4 가지 Dengue 혈청형의 300 개의 뉴클레오티드 서열의 정렬을 기반으로 하여 Dengue 바이러스 게놈의 3'UTR 영역 내의 보존된 영역으로부터 선택함 (문헌[Gong et al., 2013, Methods Mol Biol, Chapter 16]).

[0324]

[0325]

배양 배지는 2%의 열-불활성화 송아지 태아 혈청, 0.04%의 겐타마이신 (50 mg/mL) 및 2 mM의 L-글루타민이 보충된 최소 필수 배지로 이루어졌다. ECACC로부터 획득한 배로 세포를 배양 배지에 현탁시키고, 웰당 75 μL를 96 웰 플레이트에 첨가하였는데 (10000개의 세포/웰), 상기 플레이트는 항바이러스 화합물을 이미 포함하고 있다. 전형적으로, 이러한 플레이트는 100% DMSO 중 최종 농도의 200배의 테스트 화합물의 9개의 희석 단계의 4배 연속 희석 희석물을 포함한다 (500 nL; 최종 농도 범위: 25 μM 내지 0.00038 μM). 게다가, 각각의 플레이트는 바이러스 대조구 (화합물의 부재 하에 세포 및 바이러스를 포함함) 및 세포 대조구 (바이러스 및 화합물의 부재 하에 세포를 포함함)로서 할당되는 웰을 포함한다. 일단 세포를 플레이트에 첨가하였으면, 플레이트를 충분히 가습된 인큐베이터 (37°C, 5% CO₂)에서 다음날까지 인큐베이션하였다. 그 후, DENV-1 주 TC974#666, DENV-2 주 16681, DENV-3 주 H87 또는 DENV-4 주 H241 또는 EDEN를 첨가하였다. 따라서, 대략 22의 Cp가 RTqPCR에서 달성된 바이러스 현탁물 25 μL를 테스트 화합물을 포함하는 모든 웰 및 바이러스 대조구로 할당된 웰에 첨가하였다. 이와 병행하여, 25 μL의 배양 배지를 세포 대조구에 첨가하였다. 다음, 플레이트를 충분히 가습된 인큐베이터(37°C, 5% CO₂)에서 3일 동안 인큐베이션하였다. 3일 후, 상청액을 웰로부터 제거하고, 세포를 빙냉 PBS (대략 100 μL)로 2회 세척하였다. 96웰 플레이트 내의 세포 펠렛을 1일 이상 동안 -80°C에서 보관하였다. 다음, RNA를 제조업자의 지침 (어플라이드 바이오시스템즈 (Applied Biosystems))에 따라 셀즈-투-씨티 (Cells-to-CT)TM 용해 키트를 이용하여 추출하였다. 세포 용해물을 -80°C에서 보관하거나 역전사 단계에서 즉시 사용할 수 있다.

[0326]

역전사 단계의 준비에서, 믹스 (mix) A (표 3A)를 제조하고, 웰당 7.57 μL를 96웰 플레이트 내에 분배하였다. 5 μL의 세포 용해물의 첨가 후, 75°C에서의 5분 변성을 수행하였다 (표 3B). 그 후 7.43 μL의 믹스 B를 첨가하고 (표 3C), 역전사 단계를 개시하여 (표 3D) cDNA를 생성하였다.

[0327]

마지막으로, RT-qPCR 믹스, 믹스 C를 제조하고 (표 4A), 96웰 라이트사이클러 qPCR용 플레이트 내에 분배하고, 여기에 3 μL의 cDNA를 첨가하고, qPCR을 표 4B의 조건에 따라 라이트사이클러 480에서 수행하였다.

[0328]

라이트사이클러 소프트웨어 및 내부 LIMS 시스템을 이용하여, 각각의 화합물의 용량 반응 곡선을 계산하고, 반치 유효 농도 (EC₅₀) 및 반치 최대 세포독성 농도 (CC₅₀)를 결정하였다 (표 6 내지 9).

[0329] [표 3]

믹스 A, 변성, 믹스 B 및 역전사를 이용한 cDNA 합성

믹스 A

A	플레이트	8			
	샘플	828			
	믹스 물품	농도			반응 부피 (μl)
		단위	스톡	최종	부피 (μl)
					1 개의 샘플
					x 샘플들
	밀리-큐 (Milli-Q) H ₂ O				7.27
	R3utr425	μm	20	0.27	0.15
	Ractin876	μm	20	0.27	0.15
		웰당 믹스의 부피 (μl)			7.57
		세포 용해물			5.00

[0330]

변성

B	단계:		
	단계	온도	시간
	변성	75°C	5'
	홀드	4°C	홀드

[0331]

믹스 B

C	샘플	864			
	믹스 물품	농도			부피 (μl)
		단위	스톡	최종	1 개의 샘플
					x 샘플들
	익스팬드 하이파이 완충제 2 (Expand HIFI buffer) 2	X	10.00	1.00	2.00
	MgCl ₂	mM	25.00	3.50	2.80
	dNTP	mM	10.00	1.00	2.00
	알엔아제 (Rnase) 억제제	U/μl	40.00	1.00	0.50
	익스팬드 (Expand) RT	U/μl	50.00	0.33	0.13
		믹스의 전체 부피 (μl)			7.43

[0332]

cDNA 합성

D 프로토콜

단계	온도	시간
역전사	42°C	30'
변성	99°C	5'
홀드	4°C	홀드

[표 4]

qPCR 믹스 및 프로토콜

A 믹스 C

샘플	833			반응 부피 (μl)	25
믹스 물품	농도			부피 (μl)	
	단위	스톡	최종	1 개의 샘플	x 샘플들
PCR 등급 H ₂ O 로슈 (Roche)				7.74	6447.42
로슈 2xMM 믹스	X	2	1	12.50	10412.50
F3utr258	μm	20	0.3	0.38	316.54
R3utr425	μm	20	0.3	0.38	316.54
P3utr343	μm	20	0.1	0.13	108.29
Factin743	μm	20	0.3	0.38	316.54
Ractin876	μm	20	0.3	0.38	316.54
Pactin773	μm	20	0.1	0.13	108.29
튜브당 믹스의 부피 (μl)				22.02	
cDNA				3.00	

B qPCR3 프로토콜

단계	온도	시간	증감 속도	40 사이클
예비인큐베이션/변성	95°C	10 분	4.4	
변성	95°C	10 초	4.4	
어닐링 (annealing)	58°C	1 분	2.2	
신장	72°C	1 초	4.4	
냉각	40°C	10 초	1.5	

4가의 정량적 역전사효소-PCR (RT-qPCR) 분석: 프로토콜 B.

베로 세포 (4×10^4 개)를 96웰 플레이트에 접종하였다. 1일 후, 세포 배양 배지를 화합물의 2x, 3x 또는 5x 연속 희석물 (농도 범위: 각각 50 μg/mL 내지 0.00038 μg/mL, 50 μg/mL 내지 0.0076 μg/mL, 및 50 μg/mL 내지 0.00013 μg/mL)을 포함하는 분석용 배지 100 μL 및 탱기 바이러스 희석물 100 μL로 바꾸었으며, 여기서, 대략 20의 Ct가 RTqPCR에서 달성된다. 2시간의 인큐베이션 기간 후, 세포 단층을 분석용 배지로 3회 세척하여, 잔존 비흡착 바이러스를 제거하고, 배양물을 억제제의 존재 하에 4일 동안 (DENV-2 NGC-통가라이크 (Tongalike)) 또는 7일 동안 (DENV-1 지부티 (Djibouti) 주 D1/H/IMTSSA/98/606, DENV-3 주 H87 프로토타입 (prototype), DENV-4 주 H241) 추가로 인큐베이션하였다. 상청액을 수확하고, 바이러스 RNA 로드 (load)를 실시간 정량적 RT-PCR에 의해 결정하였다. 바이러스 RNA 복제를 50%만큼 억제하는 데 요구되는 화합물 농도로 정

의되는 50% 유효 농도 (EC_{50})를 로그 내삽을 이용하여 결정하였다 (표 7 및 표 8).

[0339]

RNA를 제조업자가 설명한 바와 같이 뉴클레오스핀 (NucleoSpin) 96 바이러스 키트 (Virus kit) (독일 뢰렌 소재의 필터 서비스 (Filter Service))를 이용하여 100 μ L의 상청액으로부터 단리하였다. 탁맨 (TaqMan) 프라이머 (DENV-For, DENV-Rev; 표 5) 및 탁맨 프로브 (DENV-프로브; 표 5)의 서열을 프라이머 익스프레스 (Primer Express) 소프트웨어 (버전 2.0; 벨기에 렌니크 소재의 어플라이드 바이오시스템즈 (Applied Biosystems))를 이용하여 각각의 플라비바이러스의 비-구조 유전자 3 (non-structural gene 3; NS3) 또는 NS5로부터 선택하였다. 탁맨 프로브를 리포터 염색제로서 5' 말단에서 6-카르복시플루오레세인 (FAM)으로, 그리고 켄처로서 3' 말단에서 마이너 그루브 바인더 (minor groove binder; MGB)로 형광 표지하였다 (표 5). 1단계 (one-step), 정량적 RT-PCR을 25 μ L의 총 부피로 수행하였으며, 이는 13.9375 μ L의 H_2O , 6.25 μ L의 마스터 믹스 (master mix) (벨기에 세라잉 소재의 유로젠텍 (Eurogentec)), 0.375 μ L의 정방향 프라이머, 0.375 μ L의 역방향 프라이머, 1 μ L의 프로브, 0.0625 μ L의 역전사효소 (유로젠텍) 및 3 μ L의 샘플을 함유하였다. RT-PCR을 하기 조건을 이용하여 ABI 7500 패스트 리얼-타임 PCR 시스템 (Fast Real-Time PCR System) (미국 뉴저지주 브랜치버그 소재의 어플라이드 바이오시스템즈)을 사용하여 수행하였다: 48°C에서 30분, 및 95°C에서 10분, 이어서 95°C에서 15초 및 60°C에서 1분의 40 사이클. 데이터를 ABI 프리즘 (PRISM) 7500 SDS 소프트웨어 (버전 1.3.1; 어플라이드 바이오시스템즈)를 이용하여 분석하였다. 절대적인 정량화를 위하여, 공지된 농도의 주형 제제의 10배 희석물을 이용하여 표준 곡선을 생성하였다.

[0340] [표 5]

실시간, 정량적 RT-PCR에 이용한 프라이머 및 프로브

프라이머/프로브	서열 (5' → 3') ^a	소스 ^b	표적
DENV-For	TCGGAGCCGGAGTTTACAAA (서열 번호 1)	DENV 2 NGC	NS3
DENV-Rev	TCTTAACGTCCGCCCATGAT (서열 번호 2)		
DENV- 프로브	FAM – ATTCCACACAATGTGGCAT– MGB (서열 번호 3)		
DenS	GGATAGACCAGAGATCCTGCTGT (서열 번호 4)	DENV-1, -3, -4	NS5
DenAS1-3	CATTCCATTTTCTGGCGTTC (서열 번호 5)	DENV-1, -3	
DenAS4	CAATCCATCTTGCGGCGCTC (서열 번호 6)	DENV-4	
DEN_1-3 프로브	FAM – CAGCATCATTCCAGGCACAG– MGB (서열 번호 7)	DENV-1, -3	
DEN_4 프로브	FAM – CAACATCAATCCAGGCACAG– MGB (서열 번호 8)	DENV-4	

^a 리포터 염색제 (FAM) 및 캔처 (MGB/TAMRA) 요소를 볼드체 및 이탤릭체로 표시함.

^b 게놈 내의 프라이머 및 프로브의 뉴클레오티드 서열 및 위치를 DENV 2 NGC (젠뱅크 등록 번호 M29095; 문헌[Irie et al., 1989]), 땡기 바이러스 혈청형 1형 지부티 주 D1/H/IMTSSA/98/606 (젠뱅크 등록 번호 AF298808), 땡기 바이러스 혈청형 3형 주 H87 프로토타입 (c93130), 땡기 바이러스 혈청형 4형 주 H241 (서열은 입수가능하지 않음)의 뉴클레오티드 서열로부터 추정함.

[0341]

[0342] 세포독성 분석 (프로토콜 B)

[0343] 화합물의 잠재적인 세포독성 효과를 비감염 세포로 세포에서 평가하였다. 세포를 화합물의 2배, 3배 또는 5배 연속 희석물 (각각 50 µg/mL 내지 0.0038 µg/mL, 50 µg/mL 내지 0.0076 µg/mL, 및 50 µg/mL 내지 0.00013 µg/mL의 범위)의 존재 하에 96웰 플레이트에 웰당 4 x 10⁴개의 세포로 접종하고, 4일 내지 7일 동안 인큐베이션하였다. 배양 배지를 버리고, PBS 중 3-(4,5-디메틸티아졸-2-일)-5-(3-카르복시메톡시-페닐)-2-(4-술포페닐)-2H-테트라졸륨/페나진메토설페이트 (MTS/PMS; 네덜란드 라이덴 소재의 프로메가 (Promega)) 100 µL를 각각의 웰에 첨가하였다. 37°C에서의 2시간의 인큐베이션 기간 후, 광학 밀도를 498 nm에서 측정하였다. 세포독성 활성을 하기 식을 이용하여 계산하였다: 세포 생존성 (%) = 100 x (OD_{화합물}/OD_{CC}) (여기서, OD_{화합물} 및 OD_{CC}는 각각 화합물로 처리한 비감염 세포 배양물의 498 nm에서의 광학 밀도 및 비감염, 비처리 세포 배양물의 498 nm에서의 광학 밀도에 상응한다. 50% 세포독성 농도 (즉, 총 세포수를 50% 감소시키는 농도; CC₅₀)를 선형 내삽을 이용하여 계산하였다 (표 7 및 표 8).

[0344] [표 6]

RT-qPCR 분석에서 혈청형 1 형에 대한 화합물의 EC₅₀, CC₅₀, 및 SI

프로토콜 A						
RT-qPCR: 혈청형 1 형 TC974#666						
화합물번호	EC50 (μM)	N	CC50 (μM)	N	SI	N
1A	0.0077	5	4.1	5	530	5
2A	0.0071	4	4.5	4	628	4
3A	0.0053	3	3.8	3	721	3
4A	0.0078	4	4.6	3	447	3
5A	0.013	3	5.2	3	392	3
6A	0.0036	5	4.8	5	1348	5
7A	0.016	3	4.6	3	282	3
8A	0.0096	3	3.5	3	368	3
9A	0.0050	3	4.7	3	934	3
10A	0.014	3	4.1	3	290	3
11B	0.018	3	3.7	3	202	3

프로토콜 B						
RT-qPCR: 혈청형 1 형 지부티						
화합물번호	EC50 (μM)	N	CC50 (μM)	N	SI	N
1A	0.022	3	9.7	9	506	2
2A	0.017	2	7.4	5	447	2
3A	0.018	2	7.7	5	450	2
4A	0.020	2	9.5	5	392	2
5A	0.019	2	7.8	5	471	2
6A	<0.015	3	8.1	7	>693	3
7A	0.020	2	7.2	5	366	2
8A	0.017	2	7.7	5	450	2
9A	0.019	2	7.9	5	454	2
10A	0.020	2	8.0	5	413	2
11B	0.025	2	7.7	5	320	2

N= 화합물을 테스트한 독립 실험의 수.

[0345]

[0346]

[표 7]

RT-qPCR 분석에서 혈청형 2 형에 대한 화합물의 EC₅₀, CC₅₀, 및 SI

화합물번호	프로토콜 A					
	RT-qPCR 혈청형 2 형 16681					
	EC50 (μ M)	N	CC50 (μ M)	N	SI	N
1A	0.0011	9	4.7	9	4457	9
2A	0.00085	4	5.7	4	6744	4
3A	0.00024	3	4.3	6	25632	3
4A	0.00044	5	5.2	6	12915	5
5A	0.00050	4	4.5	5	10575	4
6A	0.00054	7	3.7	7	8391	6
7A	0.00091	3	4.7	4	5763	3
8A	0.0012	3	5.2	3	4406	3
9A	0.00079	3	3.8	3	4833	3
10A	0.0032	3	4.2	3	1312	3
11B	0.0010	3	4.7	3	4562	3

화합물번호	프로토콜 B					
	RT-qPCR 혈청형 2 형 NGC-통가라이크					
	EC50 (μ M)	N	CC50 (μ M)	N	SI	N
1A	0.00038	5	14	6	36900	5
2A	0.00040	3	13	3	31100	3
3A	<0.00033	3	12	3	>37200	3
4A	<0.00034	3	13	3	>37300	3
5A	<0.00040	3	11	3	>28000	3
6A	0.00040	4	13	4	29300	3
7A	0.00027	3	12	2	18900	2
8A	0.0014	3	11	3	8050	3
9A	<0.00031	3	12	3	>37300	3
10A	0.0014	3	12	3	8910	3
11B	0.00027	3	11	3	37900	1

N= 화합물을 테스트한 독립 실험의 수.

[0347]

[0348] [표 8]

RT-qPCR 분석에서 혈청형 3 형에 대한 화합물의 EC₅₀, CC₅₀, 및 SI

화합물번호	프로토콜 A					
	RT-qPCR 혈청형 3 형 H87					
	EC50 (μM)	N	CC50 (μM)	N	SI	N
1A	0.063	5	1.7	4	28	4
2A	0.053	4	3.9	3	76	3
3A	0.036	3	3.7	3	104	3
4A	0.065	4	3.8	2	52	2
5A	0.068	3	2.9	3	42	3
6A	0.026	5	3.0	4	106	4
7A	0.070	3	4.6	2	66	2
8A	0.076	3	3.6	3	47	3
9A	0.063	3	3.0	3	48	3
10A	0.070	3	3.3	3	47	3
11B	0.070	3	3.4	3	48	3

화합물번호	프로토콜 B					
	RT-qPCR 혈청형 3 형 H87					
	EC50 (μM)	N	CC50 (μM)	N	SI	N
1A	<0.015	6	9.7	9	>1440	6
2A	0.021	3	7.4	5	350	3
3A	0.020	3	7.7	5	383	3
4A	0.029	3	9.5	5	376	3
5A	0.025	3	7.8	5	291	3
6A	<0.015	4	8.1	7	>591	4
7A	<0.017	3	7.2	5	>423	3
8A	0.032	3	7.7	5	244	3
9A	0.018	3	7.9	5	400	3
10A	0.027	3	8.0	5	291	3
11B	0.026	3	7.7	5	294	3

N= 화합물을 테스트한 독립 실험의 수.

[0349]

[0350]

[표 9]

RT-qPCR 분석에서 혈청형 4 형 주 H241 (A) 및 SG/06K2270DK1/2005 (B)에 대한 화합물의 EC₅₀, CC₅₀, 및 SI

화합물번호	프로토콜 A					
	RT-qPCR 혈청형 4 형 H241					
	EC50 (μM)	N	CC50 (μM)	N	SI	N
1A	0.24	10	3.1	9	13	9
2A	0.26	4	1.7	3	7	3
3A	0.18	5	3.0	5	17	5
4A	0.24	4	2.4	4	10	4
5A	0.32	4	4.5	4	13	4
6A	0.084	8	2.1	8	25	8
7A	0.23	3	2.8	3	12	3
8A	0.30	3	3.1	2	11	2
9A	0.24	3	2.7	3	11	3
10A	0.32	3	2.7	2	8	2
11B	0.35	3	2.5	3	7	3

N= 화합물을 테스트한 독립 실험의 수.

화합물번호	프로토콜 A					
	RT-qPCR 혈청형 4 형 EDEN					
	EC50 (μM)	N	CC50 (μM)	N	SI	N
1A	0.0062	6	3.7	6	583	6
2A	0.0043	5	4.4	5	1007	5
3A	0.0029	4	4.1	3	1579	3
4A	0.0052	5	4.4	3	981	3
5A	0.0046	3	4.2	2	630	2
6A	0.0029	3	3.6	3	1241	3
7A	0.0066	4	3.7	3	536	3
8A	0.0065	4	4.5	4	690	4
9A	0.0047	3	2.6	3	717	3
10A	0.0086	4	4.4	3	436	3
11B	0.0098	4	4.0	3	374	3

N= 화합물을 테스트한 독립 실험의 수.

[0351]

서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Janssen Pharmaceuticals, Inc

Katholieke Universiteit Leuven

<120> Mono- or di-substituted indole derivatives as dengue viral replication inhibitors

<130> TIP 326 PCT

<150> EP14187374.5

<151> 2014-10-01

<150> EP15159164.1

<151> 2015-03-16

<160> 14

<170> BiSSAP 1.2

<210> 1

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Dengue virus
 <220>
 <221> source
 <222> 1..20
 <223> /organism="Dengue virus"
 /mol_type="unassigned DNA"
 <400> 1
 tcggagccgg agtttacaaa 20

<210> 2
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Dengue virus
 <220>
 <221> source
 <222> 1..20
 <223> /organism="Dengue virus"
 /mol_type="unassigned DNA"
 <400> 2
 tcttaacgtc cgcccatgat 20

<210> 3
 <211> 19
 <212> DNA
 <213> Dengue virus
 <220>
 <221> source
 <222> 1..19
 <223> /organism="Dengue virus"
 /mol_type="unassigned DNA"
 <400> 3
 attccacaca atgtggcat 19

<210> 4
 <211> 23

```

<212
> DNA
<213> Dengue virus
<220>
<221> source
<222> 1..23
<223> /organism="Dengue virus"
        /mol_type="unassigned DNA"
<400> 4
ggatagacca gagatcctgc tgt                23
<210> 5
<211> 20
<212> DNA
<213> Dengue virus
<220>
<221> source
<222> 1..20
<223> /organism="Dengue virus"
        /mol_type="unassigned DNA"
<400> 5
cattccattt tctggcggttc                20
<210> 6
<211> 20
<212> DNA
<213> Dengue virus

<220>
<221> source
<222> 1..20
<223> /organism="Dengue virus"
        /mol_type="unassigned DNA"
<400> 6
caatccatct tgcggcgctc                20
<210> 7
<211> 20

```

```

<212> DNA
<213> Dengue virus
<220>
<221> source
<222> 1..20
<223> /organism="Dengue virus"
        /mol_type="unassigned DNA"
<400> 7
cagcatcatt ccaggcacag                20
<210> 8
<211> 20
<212> DNA
<213> Dengue virus
<220>
<221> source
<
222> 1..20
<223> /organism="Dengue virus"
        /mol_type="unassigned DNA"
<400> 8
caacatcaat ccaggcacag                20
<210> 9
<211> 19
<212> DNA
<213> Dengue virus
<220>
<221> source
<222> 1..19
<223> /organism="Dengue virus"
        /mol_type="unassigned DNA"
<400> 9
cggtttagagg agaccacctc                19
<210> 10
<211> 21
<212> DNA

```

<213> Dengue virus

<220>

<221> source

<222> 1..21

<223> /organism="Dengue virus"

/mol_type="unassigned DNA"

<400> 10

gagacagcag gatctctggt c

21

<210> 11

<211> 28

<212> DNA

<213> Dengue virus

<220>

<221> source

<222> 1..28

<223> /organism="Dengue virus"

/mol_type="unassigned DNA"

<400> 11

aaggactaga ggtagagga gaccccc

28

<210> 12

<211> 18

<212> DNA

<213> Dengue virus

<220>

<221> source

<222> 1..18

<223> /organism="Dengue virus"

/mol_type="unassigned DNA"

<400> 12

ggccagggtca tcaccatt

18

<210> 13

<211> 21

<212> DNA

```

<213> Dengue virus
<220>
<221> source
<222> 1..21
<223> /organism="Dengue virus"
        /mol_type="unassigned DNA"
<400> 13
atgtccacgt cacacttcat g                21
<210> 14
<211> 21
<212> DNA
<213> Dengue virus
<220>
<221> source
<222> 1..21
<223> /organism="Dengue virus"
        /mol_type="unassigned DNA"
<400> 14
ttccgctgcc ctgaggctct c                21

```