(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0022215
(43) 공개일자 2023년02월14일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 487/04 (2006.01) *A61K 31/4439* (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07D 487/04 (2022.08)
A61K 31/4439 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2023-7000509
(22) 출원일자(국제) 2021년06월07일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2023년01월05일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2021/065112
(87) 국제공개번호 WO 2021/249909
국제공개일자 2021년12월16일
(30) 우선권주장
2008598.1 2020년06월08일 영국(GB)
2016758.1 2020년10월22일 영국(GB)

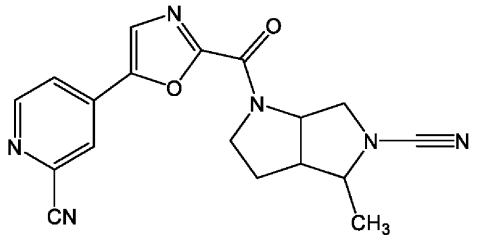
(71) 출원인
미션 테라퓨틱스 엘티디
영국 캠브리지 씨비22 3에이티 바브라함 바브라함 홀
(72) 발명자
룩쿠르스트 크리스토퍼 앤드류
영국 캠브리지 씨비22 3에이티 바브라함 바브라함 홀
켐프 마크 이안
영국 캠브리지 씨비22 3에이티 바브라함 바브라함 홀
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
제일특허법인(유)

전체 청구항 수 : 총 20 항

(54) 발명의 명칭 **미토콘드리아 기능장애, 암 및 섬유증의 치료에 사용하기 위한 USP30 억제제로서 1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카보니트릴**

(57) 요 약

본 발명은 미토콘드리아 기능장애를 수반하는 질환, 암 및 섬유증을 포함하는 다양한 치료 분야에서 유용성을 갖는, 탈유비퀴틴화 효소 USP30의 억제제로서 활성을 갖는 하기 화학식의 헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카보니트릴에 관한 것이다:



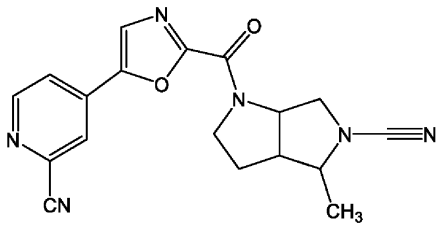
(52) CPC특허분류
A61P 25/28 (2018.01)
A61P 35/00 (2018.01)
A61P 43/00 (2018.01)
(72) 발명자
톰슨 폴 윌리엄
영국 캠브리지 씨비22 3에이티 바브라함 바브라함 홀
스토클리 마틴 리
영국 캠브리지 씨비22 3에이티 바브라함 바브라함 홀

명 세 서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 (I)의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염:

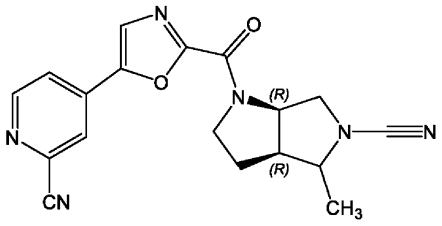


(I).

청구항 2

제1항에 있어서,

하기 화학식 (IA)의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염:

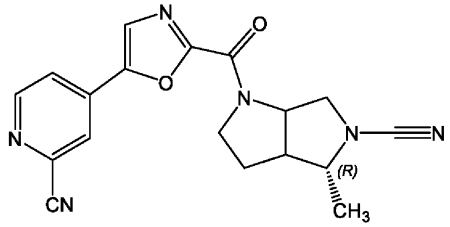


(IA).

청구항 3

제1항에 있어서,

하기 화학식 (IB)의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염:



(IB).

청구항 4

제1항에 있어서,

(3a*R*,4*R*,6a*R*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카보니트릴인 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서,

약제로서 사용하기 위한 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염.

청구항 6

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서,

미토콘드리아 기능장애를 수반하는 병태, 암 또는 섬유증의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염.

청구항 7

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염의, 미토콘드리아 기능장애를 수반하는 병태, 암 또는 섬유증의 치료 또는 예방용 약제의 제조에서의 용도.

청구항 8

효과량의 제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 수요 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 미토콘드리아 기능장애를 수반하는 병태, 암 또는 섬유증의 치료 또는 예방 방법.

청구항 9

제6항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서,

미토콘드리아 기능장애를 수반하는 병태가 중추신경계(CNS) 질환; 신경퇴행성 질환; 파킨슨병; 알츠하이머병; 근위축성 측삭 경화증; 헌팅턴병; 허혈증; 뇌졸중; 루이소체 치매; 전전두엽 치매; 다발성 경화증; 미토콘드리아성 뇌병증, 젖산 산증 및 뇌졸중-유사 에피소드(MELAS) 증후군; 모계-유전 당뇨병 및 난청; 레베르 유전성 시신경병증(Leber's hereditary optic neuropathy); 신경병증, 운동실조, 색소성 망막염-모계 유전 리 증후군(NARP-MILS); 다논병(Danon disease); 당뇨병; 당뇨병성 신장증; 대사장애; 심부전; 심근경색증으로 이어지는 허혈성 심장병; 정신 질환; 정신분열증; 다발성 설파타제 결핍증; II형 점액지질증; III형 점액지질증; IV형 점액지질증; GM1-강글리오시드증; 신경 세로이드-리포푸신증; 알퍼병(Alpers disease); 바스 증후군(Barth syndrome); 베타-산화 이상; 카르니틴-아실-카르니틴 결핍증; 카르니틴 결핍증; 크레아틴 결핍 증후군; 조효소 Q10 결핍증; 복합체 I 결핍증; 복합체 II 결핍증; 복합체 III 결핍증; 복합체 IV 결핍증; 복합체 V 결핍증; COX 결핍증; 만성 진행성 외안근마비 증후군; CPT I 결핍증; CPT II 결핍증; II형 글루타르산혈증; 컨스-세이어 증후군(Kearns-Sayre syndrome); 젖산 산증; 장쇄 아실-CoA 탈수소효소 결핍증; 리 질환 또는 증후군(Leigh disease or syndrome); 리 증후군 프랑스계 캐나다인 변종; 치사성 유아 심근병증; 루프트병(Luft disease); 중간쇄 아실-CoA 탈수소효소 결핍증; 근간대 뇌전증 및 불균일 적색 근육섬유 증후군; 미토콘드리아 세포병증; 미토콘드리아 열성 운동실조 증후군; 미토콘드리아 DNA 결여 증후군; 근신경 위장 질환 및 뇌병증; 피어슨 증후군(Pearson syndrome); 피루베이트 탈수소효소 결핍증; 피루베이트 카복실화효소 결핍증; POLG 돌연변이; 중간쇄/단쇄 3-하이드록시아실-CoA 탈수소효소 결핍증; 초장쇄(very long-chain) 아실-CoA 탈수소효소 결핍증; 과산화소체 질환; 메틸말론산혈증; 메발로네이트 키나제 결핍증; 인지 기능 및 근력의 연령-의존성 감퇴; 및 모든 신경퇴행성 및 신경정신병성 질환과 관련된 인지 손상으로부터 선택되는, 화합물, 용도 또는 방법.

청구항 10

제9항에 있어서,

신경퇴행성 질환이 파킨슨병, 알츠하이머병, 근위축성 측삭 경화증, 헌팅턴병, 허혈증, 뇌졸중, 루이소체 치매, 다계통 위축증, 진행성 핵상 마비, 피질기저 변성, 전전두엽 치매; α-시누클레인, 파킨, PINK1, GBA 및 LRRK2의 돌연변이와 관련된 파킨슨병; 및 상염색체 열성 소아 파킨슨병 또는 조기 발병 파킨슨병(EOPD)으로부터 선택되고, 이때 파킨 또는 PINK1은 돌연변이되거나 절두되거나 결실되는, 화합물, 용도 또는 방법.

청구항 11

제9항에 있어서,

신경퇴행성 질환이 리 증후군 또는 질환, X-연관 리 질환, 리 증후군 프랑스계 캐나다인 변종, 및/또는 리 질환과 관련된 증상인, 화합물, 용도 또는 방법.

청구항 12

제6항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서,

암이 유방암, 난소암, 전립선암, 폐암, 신장암, 위암, 결장암, 고환암, 두경부암, 췌장암, 뇌암, 흑색종, 골암, 간암, 연조직암, 조직 기관의 암, 혈액 세포의 암, CML, AML, 맨틀 세포 림프종, 신경아종, 연조직 육종, 지방

육종, 섬유아세포 육종, 평활근 육종, 간 세포 암종, 골 육종, 식도암, 백혈병, 림프종, 다발성 골수종, 전이성 암종, 연골 육종, 유잉 육종, 비인두 암종, 결장직장암, 비-소세포 폐 암종, 세포사멸 경로가 이상조절된 암, 및 BCL-2 계열의 단백질이 돌연변이되거나 과대 또는 과소 발현된 암으로부터 선택되는, 화합물, 용도 또는 방법.

청구항 13

제6항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서,

섬유증이, 외상, 염증, 조직 재생, 면역 반응, 세포 과형성 및 종양형성 후에 발생하는 세포외 기질 성분의 축적과 관련된 섬유증 또는 섬유증 질환으로부터 선택되는, 화합물, 용도 또는 방법.

청구항 14

제13항에 있어서,

섬유증이, 주요 장기 질환과 관련된 섬유증 또는 섬유증 질환, 섬유증식성 질환, 및 외상과 관련된 흉터로부터 선택되는, 화합물, 용도 또는 방법.

청구항 15

제14항에 있어서,

섬유증이, 간질성 폐 질환, 간 경화증, 비-알코올성 지방간 질환, 비-알코올성 지방간염, 신장 질환, 급성 신장 질환, 급성 신장 손상, 만성 신장 질환, 지연된 신장 이식편 기능, 심혈관 질환 및 눈 질환과 관련된 섬유증 또는 섬유증 질환; 전신 및 국소 경피증, 켈로이드, 비대성 흉터, 죽상경화증, 재협착증, 뒤프트랑 구축(Dupuytren's contracture), 수술 합병증, 화학치료 약물-유발 섬유증, 방사선-유발 섬유증, 사고로 인한 부상 및 화상, 후복막 섬유증, 및 복막 섬유증/복막 흉터로부터 선택되는, 화합물, 용도 또는 방법.

청구항 16

제15항에 있어서,

간질성 폐 질환과 관련된 섬유증이, 유사육종증, 규폐증, 약물 반응, 감염, 콜라겐 혈관 질환, 류마티스 관절염, 전신 경화증, 경피증, 폐 섬유증, 특발성 폐 섬유증, 통상형 간질성 폐렴, 간질성 폐 질환, 잠복성 섬유화 폐포염, 폐색성 세기관지염 및 기관지 확장증으로부터 선택되는, 화합물, 용도 또는 방법.

청구항 17

제15항에 있어서,

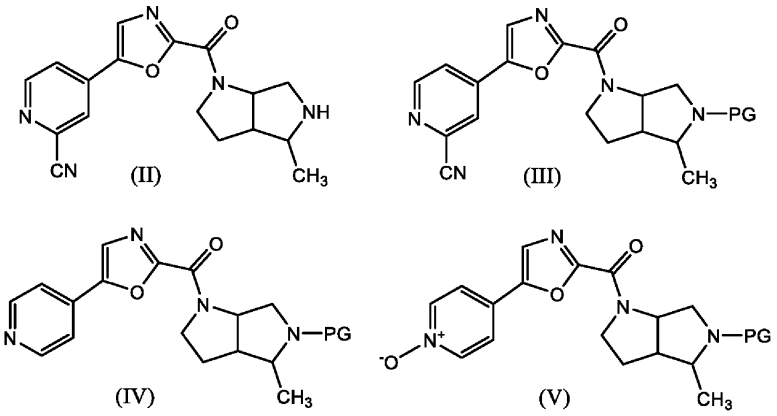
신장 질환이 급성 신장 질환, 급성 신장 손상 또는 만성 신장 질환인, 화합물, 용도 또는 방법.

청구항 18

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 하나 이상의 약학적으로 허용되는 부형제와 함께 포함하는 약학 조성물.

청구항 19

하기 화학식 (II), (III), (IV) 및 (V)로부터 선택되는 화합물 또는 상기 화합물의 염:

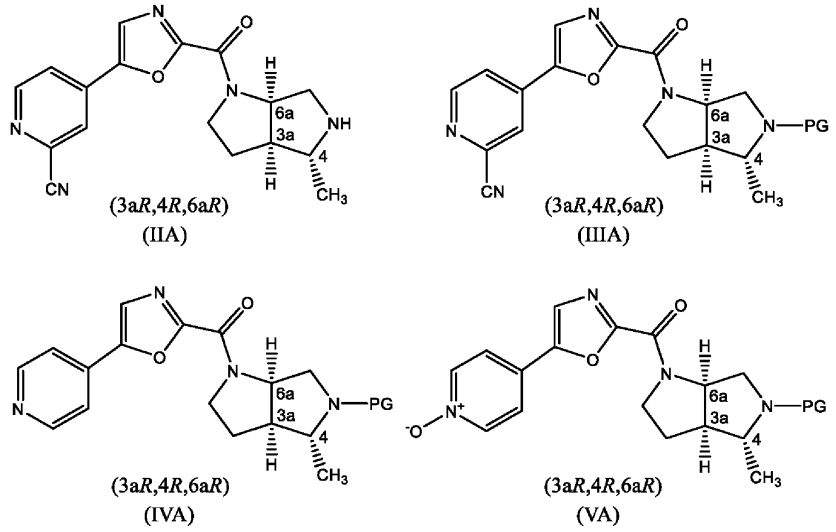


상기 식에서,

PG는 보호기이고, 바람직하게는 tert-부틸옥시카보닐, 벤질옥시카보닐, p-메톡시벤질카보닐, 9-플루오렌일메틸옥시카보닐, 아세틸, 벤조일, 벤질, 카바메이트, p-메톡시벤질, 3,4-다이메톡시벤질, p-메톡시페닐, 토실, 트라이클로로에톡시카보닐, 4-니트로벤젠설폰일 및 2-니트로페닐설펜일로부터 선택된다.

청구항 20

하기 화학식 (IIA), (IIIA), (IVA) 및 (VA)로부터 선택되는 화합물 또는 상기 화합물의 염:



발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 탈유비퀴틴화(deubiquitylating) 효소인 유비퀴틴 C-말단 가수분해효소 30(유비퀴틴 특이적 펩티다제 30(USP30)으로도 공지됨)의 억제제로서 활성을 갖는 헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카보니트릴, 이의 용도, 이의 제조 방법 및 상기 억제제를 함유하는 조성물에 관한 것이다. 이러한 억제제는 미토콘드리아 기능장애를 수반하는 질환, 암 및 섬유증을 포함하는 다양한 치료 영역에서의 유용성을 갖는다.

[0002] 하기에 인용되거나 의존하는 모든 문서는 본원에 참고로 명시적으로 혼입된다.

배 경 기 술

[0003] 유비퀴틴은 세포에서 단백질 기능의 조절에 중요한 76개의 아미노산으로 구성된 작은 단백질이다. 유비퀴틴화

및 탈유비퀴틴화는, 유비퀴틴이 탈유비퀴틴화 효소(DUB)(이 중 인간 세포에는 약 100개의 DUB가 있으며 서열 상동성을 기반으로 하위 계열로 나뉨)에 의해 표적 단백질에서 공유 결합되거나 이로부터 절단되는 효소에 의해 매개되는 과정이다. USP 계열은, DUB 활성에 중요한 Cys 및 His 잔기를 함유하는 공통 Cys 및 His 상자를 특징으로 한다. 유비퀴틴화 및 탈유비퀴틴화 과정은 세포 주기 진행, 세포사멸, 세포 표면 수용체의 변형, DNA 전사 및 DNA 복구의 조절을 포함하는 많은 세포 기능의 조절에 연루되어 있다. 따라서, 유비퀴틴 시스템은 염증, 바이러스 감염, 대사 기능장애, 중추신경계(CNS) 장애 및 종양 발생을 포함하는 많은 질병 상태의 발병에 연루되어 있다.

[0004] 유비퀴틴은 미토콘드리아 역학의 주조절자이다. 미토콘드리아는 동적 세포기관으로서, 이의 생체 생성, 융합 및 핵분열 사건이 많은 핵심 인자, 예컨대 미토푸신(mitofusin)의 유비퀴틴화를 통한 번역 후(post-translational) 조절에 의해 조절된다. 인간에서, USP30은 미토콘드리아 외막에서 발견되는 517개 아미노산 단백질이다(문헌[Nakamura et al, 2008, Mol Biol 19:1903-11]). 이는 미토콘드리아 어드레싱 신호를 지닌 유일한 탈유비퀴틴화 효소이며, 다수의 미토콘드리아 단백질을 탈유비퀴틴화하는 것으로 나타났다. USP30은 파킨(parkin)-매개된 미토파지(mitophagy)에 대항하고 USP30 활성의 감소는 미토파지의 파킨-매개된 결함을 구제할 수 있음이 입증되었다(문헌[Bingol et al, 2015, Nature 510:370-5]; [Gersch et al, 2017, Nat Struct Mol Biol 24(11): 920-930]; [Cunningham et al, 2015, Nat Cell Biol 17(2): 160-169]). 또한, USP30 비활성화는 잠재적으로 TOM 단백질의 유비퀴틴화를 통해 미토콘드리아 단백질 유입을 증가시킬 수 있다(문헌[Jacoupy et al, 2019, Sci Rep 9(1): 11829]). USP30의 작은 비율은 과산화소체에 국한되어 있으며, 이는 미토콘드리아 및 ER 소포의 융합을 통해 생성되며, 이때 USP30은 Pex2/자가포식 작용 경로를 잠재적으로 길항작용한다(문헌[Riccio et al, 2019, J Cell Biol 218(3): 798-807]). E3 Ub 리가제 March5 및 탈유비퀴틴화 효소 USP30은 트랜스로카제와 연관되고, 미토콘드리아 유입을 조절하며, March5가 미토콘드리아 유입에 대항하고 기질의 분해를 지시하는 반면에, USP30은 기질을 탈유비퀴틴화하여 이들의 유입을 촉진한다(문헌[Phu et al, 2020, Molecular Cell 77, 1107-1123]).

[0005] 미토콘드리아 기능장애는 감소된 미토콘드리아 함량(미토파지 또는 미토콘드리아 생물 발생)으로서, 미토콘드리아 활성 및 산화적 인산화의 감소로서, 뿐만 아니라 활성 산소종(ROS) 생성의 조절로서 또한 정의될 수 있다. 따라서, 매우 많은 노화 과정 및 병리학에서 미토콘드리아 기능장애의 역할이 있다.

[0006] 예를 들어, 파킨슨병은 전세계적으로 약 천만명에게 영향을 미치며(파킨슨병 재단) 흑질에서 도파민성 뉴런의 손실을 특징으로 한다. PD의 기초가 되는 정확한 기전은 불분명하지만; 미토콘드리아 기능장애는 PD에서 도파민성 신경 세포 감수성의 핵심 결정 요인으로 점차 인식되고 있으며, 이는 가족성 및 산발성 질환, 뿐만 아니라 독소-유발 파킨슨증의 특징이다. 파킨은 조기 발병 PD와 관련된 많은 단백질 중 하나이다. 대부분의 PD 사례는 알파-시누클레인의 결함과 관련되어 있지만, 파킨슨병 사례의 10%는 특정 유전적 결함과 관련이 있으며, 그 중 하나는 유비퀴틴 E3 리가제 파킨에 있다. 파킨 및 단백질 키나제 PTEN-유발 추정 키나제 1(PINK1)은 손상된 미토콘드리아의 미토콘드리아 막 단백질을 유비퀴틴화하도록 협력하여 미토파지를 유발한다. 미토파지의 이상조절은 PD의 특징으로 설명된 산화 스트레스를 증가시킨다. 따라서, USP30의 억제는 PD 치료를 위한 잠재적인 전략이 될 수 있다. 예를 들어, 활동 감소로 이어지는 파킨 돌연변이가 있는 PD 환자는 USP30의 억제에 의해 치료적으로 보완될 수 있다.

[0007] USP30의 고갈은 미토콘드리아의 미토파지 제거를 증진시키고 파킨-유발 세포사를 또한 증진시키는 것으로 보고되었다. USP30은 또한 파킨 과발현과 독립적으로 BAX/BAK 의존성 세포사멸을 조절하는 것으로 나타났다. USP30의 고갈은 파킨 과발현이 필요 없이 암 세포가 BH-3 모방체, 예컨대 ABT-737에 민감하게 만든다. 따라서, USP30에 대한 항-세포사멸 역할이 입증되었으며, 따라서, USP30은 항암 요법의 잠재적 표적이다.

[0008] 유비퀴틴-프로테아좀 시스템은 다발성 골수종 치료를 위한 프로테아좀 억제제 보르테조밉(bortezomib)(Velcade®)의 승인 후에 암 치료의 표적으로 관심을 얻었다. 보르테조밉을 사용하는 연장된 치료는 이의 관련 독성 및 약물 내성으로 인해 제한된다. 그러나, DUB와 같이 프로테아좀의 상류에 있는 유비퀴틴-프로테아좀 경로의 특정 측면을 표적으로 하는 치료 전략은 더 잘 견딜 것으로 예상된다(문헌[Bedford et al, 2011, Nature Rev 10:29-46]).

[0009] 신장, 간 및 폐 섬유증을 포함하는 섬유증 질환은 질병률 및 사망률의 주요 원인이며, 모든 조직 및 장기 시스템에 영향을 미칠 수 있다. 섬유증은 조직 또는 장기에 대한 급성 또는 만성 스트레스의 결과로 간주되며, 세포외 기질 침착, 혈관/세관/관/기도 개방의 감소, 및 궁극적으로 장기 부전을 초래하는 기능 손상을 특징으로 한다. 많은 섬유증 질환은 생활 방식 또는 환경적 요인에 의해 촉진되지만; 섬유증 질환의 일부는 유전적 요인을 통해 시작될 수 있거나 실제로 특발성(즉, 알려진 원인 없음)으로 간주된다. 특정 섬유성 질환, 예컨대 특발성

폐 섬유증(IPF)은 비특이적 키나제 억제제(닌테다닙(nintedanib)) 또는 완전히 특성규명된 작용 기전이 없는 약물(피르페니돈(pirfenidone))로 치료할 수 있다. 장기 섬유증, 예컨대 신장 또는 간 섬유증에 대한 다른 치료법은 장기 자체에 대한 스트레스를 완화한다(예를 들어, 경화증에 대한 베타 차단제, 만성 신장 질환에 대한 안지오텐신 수용체 차단제). 생활 방식 요인에 대한 주의, 글루코스 및 식이 조절은 질병의 경과 및 중증도에 영향을 미칠 수 있다.

[0010] 미토콘드리아 기능장애는 ATP 생산 감소와 함께 주요 병원성 매개체가 되는 기능장애의 하류 산화 스트레스와 함께 다수의 섬유성 질환과 관련이 있다. 전임상 모델에서, 미토파지 경로의 파괴(파킨 또는 PINK1의 돌연변이 또는 녹아웃(knockout)을 통해)는 증가된 산화 스트레스의 흔적으로서 폐 섬유증 및 신장 섬유증을 악화시킨다.

[0011] 문헌[Kurita et al, 2017, Respiratory Research 18:114]은 전섬유성 근섬유아세포의 축적이 IPF에서 섬유 리모델링을 위한 중요한 과정이라는 것을 개시한다. 최근의 연구 결과는, IPF 발병기전에서 리소좀 분해 절차의 일부인 자가포식(autophagy)/미토파지가 관여한다는 것을 보여주고 미토파지는 미토콘드리아 활성 산소종(ROS)-매개된 혈소판-유래된 성장 인자 수용체(PDGFR) 활성화 조절을 통해 근섬유아세포 분화에 연루되어 있다고 한다. Kurita의 결과는 피르페니돈이 PARK2-매개된 미토파지를 유발하고 불충분한 미토파지 환경에서 폐 섬유증 발달을 억제한다는 것을 시사하였고, 이는 IPF 치료를 위한 항섬유화 기전을 적어도 부분적으로 설명할 수 있다.

[0012] 문헌[Williams et al, 2015, Pharmacol Res. December; 102: 264-269]은, 미토파지를 통해 손상된 미토콘드리아를 제거함으로써 알코올 및 아세트아미노펜-유발 간 손상으로부터 보호하는 PINK1-파킨-매개된 자가포식의 역할에 대해 논의한다. USP8의 약리학적 안정화 또는 USP15 및 USP30의 비활성화가 파킨-유발 미토파지를 상향 조절하고 차례로 약물-유발 간 손상으로부터 보호하기 위한 잠재적인 치료 표적이 될 수 있다고 제안된다. 그러나, DUB는 전사적으로 및 번역 후에 둘 다에서 조절되어 이러한 특정 효소를 표적으로 하는 약물 개발을 어렵게 만들 수 있으며, 또한, 포스포릴화된 유비퀴틴은 DUB에 내성을 나타내는 것으로 나타났다. 저자는 PINK1 안정화 또는 키나제 활성을 상향 조절하는 것이 DUB를 억제하는 것보다 효과적인 표적이 될 수 있다고 결론지었다.

[0013] 문헌[Williams et al, 2015, Biomolecules 5, 2619-2642] 및 [Williams et al, 2015, Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 309: G324-G340]은, 간에서 미토콘드리아 항상성 조절과 관련된 기전, 및 이러한 기전이 알코올-유발 간 질환으로부터 보호할 수 있는 방법을 검토한다.

[0014] 문헌[Luciani et al, 2020, Nat. Commun. 11, 970]은, 말기 분화 세포에서 미토콘드리아 네트워크의 조절 해제가 메틸말론산혈증(MMA)을 비롯한 광범위한 장애에 기여한다고 보고한다. MMA는 미토콘드리아 메틸말론일-조효소 A 뮤타제(MMUT)의 결핍으로 인한 가장 흔한 유전 대사장애 중 하나이다. MMUT 결핍증은 PINK1/파킨-매개된 미토파지의 이례에 의해 악화되는 대사 및 미토콘드리아 변경을 유발하여 상피 스트레스 및 궁극적으로 세포 손상을 촉발하는 기능장애성 미토콘드리아의 축적을 초래한다. 원발성 MMUT 결핍증, 질병에 걸린 미토콘드리아, 미토파지 기능장애 및 상피 스트레스 사이의 연관성이 제안되고 MMA에 대한 잠재적인 치료 관점이 제공된다.

[0015] 문헌[Kluge et al, Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2018, 28 2655-2659]은 USP30의 선택적 억제제가 미토파지를 가속화한다고 보고한다.

[0016] N-시아노-치환된 헤테로사이클의 일련의 유도체는 탈유비퀴틴화 효소 억제제로서 WO 2016/046530(US 15/513125, US 15/894025, US 16/448066), WO 2016/156816(US 15/558632, US 16/297937, US 16/419558, US 16/419747, US 16/788446), WO 2017/009650(US 15/738900), WO 2017/093718(US 15/776149), WO 2017/103614(US 15/781615), WO 2017/149313(US 16/078518), WO 2017/109488(US 16/060299), WO 2017/141036(US 16/070936), WO 2017/163078(US 16/087515), WO 2017/158381(US 16/080229), WO 2017/158388(US 16/080506), WO 2018/065768(US 16/336685), WO 2018/060742(US 16/336202), WO 2018/060689(US 16/334836), WO 2018/060691(US 16/336363), WO 2018/220355(US 16/615040), WO 2018/234755(US 16/615709), WO 2020/212350, WO 2020/212351, WO 2021/043870, PCT/EP2021/059032 및 PCT/EP2021/064166에 개시되어 있으며, 이들 각각은 참고로 본원에 명시적으로 혼입된다. 본원에 참고로 명시적으로 혼입된 WO 2019/171042(US 16/977019)는 섬유증 질환의 치료를 위한 USP30의 억제제로서 N-시아노피롤리딘의 용도를 개시한다.

[0017] 문헌[Falgueyret et al, 2001, J.Med.Chem. 44, 94-104] 및 WO 01/77073은 골다공증 및 기타 골-흡수 관련된 질환을 치료하는 데 잠재적인 유용성을 지닌 카텝신 K 및 L의 억제제로서 시아노피롤리딘을 언급하고 있다. WO 2015/179190은 궤양성 대장염 및 크론병 치료에 잠재적 유용성을 지닌 N-아실에탄올아민 가수분해 산 아미다제

억제제를 언급한다. WO 2013/030218은 암, 신경퇴행성 질환, 염증성 장애 및 바이러스 감염을 치료하는 데 잠재적 유용성을 지닌 유비퀴틴 특이적 프로테아제, 예컨대 USP7의 억제제로서의 퀴나졸린-4-온 화합물을 언급한다. WO 2015/017502 및 WO 2016/019237은 질병, 예컨대 자가면역 질병, 염증성 질병 및 암을 치료하는 데 잠재적 유용성을 지닌 브루톤 티로신 키나제의 억제제를 언급한다. WO 2009/026197, WO 2009/129365, WO 2009/129370 및 WO 2009/129371은 COPD를 치료하는 데 잠재적 유용성을 지닌 카텝신 C의 억제제로서 시아노피롤리딘을 언급한다. US 2008/0300268은 티로신 키나제 수용체 PDGFR의 억제제로서의 다방향족 화합물을 언급한다. WO 2019/222468, WO 2019/071073, WO 2020/036940 및 WO 2020/072964, 문헌[Rusilowicz-Jones et al, 2020, bioRxiv 2020.04.16.044206 (20 April 2020)] 및 문헌[Tsefou et al, bioRxiv 2021.02.02.429344 (2 February 2021)]은 USP30 억제제로서 시안아미드-함유 화합물을 언급한다. 문헌[Yue et al, 2014, Cell Research, 24, 482-496]은 미토콘드리아 융합을 유도한 USP30 억제제로서 다이터페노이드 유도체 15-옥소스피라밀락톤을 언급한다.

[0018] WO 2015/183987은 암, 섬유증, 자가면역 질병 또는 질환, 염증성 질병 또는 질환, 신경퇴행성 질환 또는 질병, 또는 감염을 치료하는 방법에서 탈유비퀴틴화 효소 억제제 및 인간 혈청 알부민을 포함하는 약학 조성물을 언급한다. UCHL5/UCH37, USP4, USP9X, USP11 및 USP15를 포함하는 탈유비퀴틴화 효소는 TGF-베타 신호 전달 경로의 조절에 연루되어 있다고 알려져 있으며, 이의 방해는 신경퇴행성 및 섬유증 질환, 자가면역 기능장애 및 암을 유발한다.

[0019] WO 2006/067165는 인돌린온 키나제 억제제를 사용하여 섬유증 질환을 치료하는 방법을 언급한다. WO 2007/119214는 엔도텔린 수용체 길항제를 사용하여 초기 단계의 폐 섬유증을 치료하는 방법을 언급한다. WO 2012/170290은 THC 산을 사용하여 섬유증 질환을 치료하는 방법을 언급한다. WO 2018/213150은 미토콘드리아 결함을 수반하는 질환의 치료에 잠재적 유용성을 지닌 설폰아미드 USP30 억제제를 언급한다. 문헌[Larson-Casey et al, 2016, Immunity 44, 582-596]은 대식세포 Akt1 키나제-매개된 미토파지, 세포사멸 저항성 및 폐 섬유증에 관한 것이다. 문헌[Tang et al, 2015, Kidney Diseases 1, 71-79]은 신장 병태생리학에서 미토파지의 잠재적 역할을 검토한다.

[0020] 미토콘드리아 기능장애를 수반하는 질환, 암 및 섬유증, 및 이와 관련된 다양한 증상 및 병태의 치료 또는 예방을 위한 안전하고/거나 대체가능하고/거나 개선된 방법 및 조성물이 필요하다. 특정 이론 또는 기전에 구속되기를 바라는 것은 아니지만, 본 발명의 화합물은 효소 USP30을 억제하는 작용을 하며, 이는 차례로 파킨-유발 미토파지를 상향 조절하는 것으로 생각된다.

[0021] 급성 신장 손상(AKI)은 KDIGO(Kidney Disease Improving Global Outcomes) 지침에 기술된 바와 같이 증가된 혈청 크레아티닌(SCr) 및 감소된 소변 배출량을 기반으로 하여 손상의 중증도가 7일 이하에 걸쳐 발생하는 신장 기능의 급격한 감소로 정의된다. AKI는 연간 약 1,330만 명에서 발생하며 그 중 85%가 개발도상국에 살고 있고, 매년 약 170만건의 사망에 기여하는 것으로 생각된다(문헌[Mehta et al, 2015, Lancet 385(9987): 2616-2643]). AKI는 영구적인 신장 손상(즉, 만성 신장 질환; CKD)을 초래할 가능성이 더 높고, 비-신장 장기에도 손상을 줄 수 있다. AKI는 특히 사고성 CKD, 진행성 CKD, 말기 신장 질환 및 심혈관 이벤트가 발생한 환자의 절대 수를 고려할 때 심각한 공중 보건 문제이다. AKI는 COVID-19에 의해 입원한 환자에서 널리 퍼진 것으로 밝혀졌으며 잠재적인 병태생리학적 기전 및 치료 표적으로서 보고된 미토콘드리아 손상 및 기능장애와 함께 병원 사망률과 밀접한 관련이 있다(문헌[Kellum et al, Nephrol Dial Transplant (2020) 35: 1652-1662]).

[0022] AKI 및 CKD는 동일한 질병 스펙트럼에서 연속체로 간주된다(문헌[Chawla et al, 2017, Nat Rev Nephrol 13(4): 241-257]). 관상 동맥 우회로 이식술(CABG)을 받는 환자는 신장 손상의 위험이 높다. AKI의 치료 및/또는 예방을 위한 의약품 개발에 분명히 충족되지 않은 의학적 수요가 있다.

[0023] 신장은 고 대사 요구량의 부위이고, 이때 생체내 높은 미토파지 비율이 나타난다(문헌[McWilliams et al, 2018, Cell Metab 27(2): 439-449 e435]). 용질/이온 교환을 위해 상당한 ATP 요구량을 갖는 세포 유형인 RPTEC(신장 근위 세뇨관 상피 세포)는 미토콘드리아가 풍부하고 신장에서 AKI(급성 신장 손상)의 주요 효과기 세포이다. 미토콘드리아 기능장애는 전임상 AKI 및 CKD 모델의 증거의 다수의 라인을 통해 및 환자 생검에서 비정상적인 미토콘드리아 표현형을 보여주는 데이터를 통해 AKI/CKD 기전과 관련이 있다(문헌[Emma et al, 2016, Nat Rev Nephrol 12(5): 267-280]; [Eirin et al, 2017, Handb Exp Pharmacol 240: 229-250]). 또한, 원발성 미토콘드리아 질병은 MELAS/MIDD 환자에서 종종 신장 증상, 예컨대 국소 분절 사구체 경화증으로 나타나고(문헌[Kawakami et al, 2015, J Am Soc Nephrol 26(5): 1040-1052]), 조효소 Q 결핍 환자의 원발성 세뇨관 병리로도 나타난다. mtDNA의 돌연변이는 모계-유전성 세뇨관 간질 질환을 유발할 수 있다(문헌[Connor et al, 2017, PLoS

Genet 13(3): e1006620]).

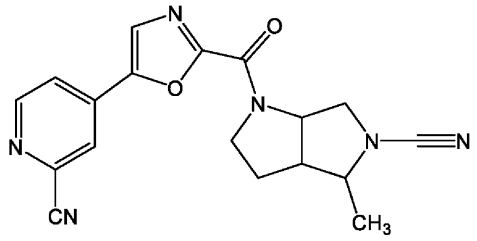
[0024] 신장 손상의 미토콘드리아 품질 관리와 관련하여(문헌[Tang et al, 2018, Autophagy 14(5): 880-897]), PINK1 KO 및 PARK2 KO 마우스 둘 다에서 허혈성 AKI 후 신장 손상이 악화되었음이 나타났고, 이는 PINK1/파킨-매개된 미토파지가 신장에서 IRI 후 보호 역할을 한다는 것을 시사한다. 또한, 파킨/PINK1 미토파지는 시스플라틴(cisplatin)-유발 신장 손상으로부터 보호한다(문헌[Wang et al, 2018, Cell Death Dis 9(11): 1113]). CKD의 제한된 모델은 미토파지 조사에 이용가능하며, 섬유증에서 미토콘드리아 품질 관리에 대한 보충 증거는 섬유증 폐 질환, 예컨대 COPD 및 IPF에 대한 연구에서 비롯된다. 파킨 녹아웃 동물은 블레오마이신에 반응하여 악화된 폐 섬유증을 나타낸다(문헌[Kobayashi et al, 2016, J Immunol, 197:504-516]). 유사하게, 파킨 녹아웃(KO) 동물의 기도 상피 세포는 담배 연기에 대한 악화된 섬유화 및 노화 반응을 나타낸다(문헌[Araya et al, 2019, Autophagy 15(3): 510-526]).

[0025] 전임상 모델은 인간 조건과 일치하는 섬유증 병리학(예를 들어, 콜라겐 침착)을 모델링하는 능력을 통해 잠재적인 새로운 치료법을 연구하는 데 이용가능하다. 전임상 모델은 독소-매개 모델(예를 들어, 폐 및 피부 섬유증에 대한 블레오마이신), 수술적 모델(예를 들어, 급성 세뇨관 간질 섬유증에 대한 허혈증/재관류 손상 모델 및 일측성 요관 폐쇄 모델), 또는 유전적 모델일 수 있다(예를 들어, 당뇨병성 신장병증에 대한 당뇨병(db/db) 마우스). 예를 들어, 표시된 IPF 치료(닌테다닙 및 피르페니돈)에 대해 이전에 제공된 두 가지 예는 블레오마이신 폐 섬유증 모델에서 효능을 나타낸다.

[0026] 따라서, USP30의 억제가 지시되는 질환의 치료 또는 예방을 위한 USP30의 억제제 화합물이 필요하다. 특히, 표적 질환에 대한 효능을 최대화하기 위해 적합하고/거나 개선된 특성을 갖는 USP30 억제제가 필요하다.

발명의 내용

[0027] 본 발명은 하기 화학식 (I)의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 제공한다:

[0028] 

(I).

[0029] 또한, 본 발명은 특히 미토콘드리아 기능장애를 수반하는 질환, 암 및 섬유증의 치료에서의 화학식 I의 화합물의 용도, 이의 제조 방법, 및 상기 화합물을 함유하는 약학 조성물에 관한 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0030] 본 발명은 표적 질병에 대한 효능을 최대화하기 위해 적합하고/거나 개선된 특성을 갖는 USP30 억제제에 관한 것이다. 이러한 특성에는, 예를 들어 효능, 선택성, 물리화학적 특성, ADME(흡수, 분포, 대사 및 배설) 특성, 예컨대 PK(약동학) 프로파일 및 안전성 프로파일이 포함된다.

[0031] 환자에게 투여할 효과적/유효적 투여량을 낮추기 위해 관련 분석에서 표적 효소에 대한 약물 분자의 효능을 최대화하는 것이 일반적으로 바람직하다. 본 발명의 화합물을, 본원에 기재된 시험관내 생화학적 형광 편광(FP) 분석을 사용하여 USP30 친화도에 대해 시험할 수 있다.

[0032] USP30은 세포 내부에 존재하는 에너지 생성 세포 기관인 미토콘드리아의 외막에 위치한 막 관통 단백질이다. 따라서, 이는 생리학적 환경(즉, USP30 억제제 화합물이 세포를 침투할 수 있는 경우)에서 표적을 결합하는 더 큰 능력을 나타낼 수 있는 많은 구성요소 중 하나이기 때문에, 시험관내 세포 활성을 입증할 수 있는 것이 유리하다. USP30 세포 웨스턴 블롯(WB) 분석은 USP30 활성을 모니터링하기 위해 비가역적 활성 프로브를 사용하여 세포에서 USP30에 대한 화합물의 활성을 시험하는 것을 목표로 한다. 세포 웨스턴 블롯 검정과 유사하게, 표적 결합 평가(생체외)는 화합물-투여된 동물로부터의 뇌 또는 신장 조직 샘플에서 수행될 수 있다.

[0033] 표적 결합 지식을 다운스트림 약력학으로 확장하기 위해 TOM20(미토콘드리아 외부 막 단백질) 유비퀴틴화를 평가할 수 있다.

[0034] 일반적으로, 약물이 목적하는 표적 효소에 대해 가능한 한 선택적인 것이 중요하고; 추가 활성은 부작용의 가능성을 야기한다. 많은 DUB의 정확한 생리학적 역할은 아직 완전히 결정되지 않았지만, 이러한 DUB가 수행하지 않거나 수행할 수 있는 역할에 관계 없이, 모든 약물이 미공지된 생리학적 기능의 관련된 기계적 표적에 대해 선택성을 갖도록 하는 것은 타당한 의약 화학 지침이다. 본 발명의 화합물이 스크리닝될 수 있는 DUB 효소의 대표적인 예는 UCHL1, UCHL3, UCHL5, YOD1, SENP2, SENP6, TRABID, BAP1, Cezanne, MINDY2/FAM63B, OTU1, OTUD3, OTUD5, OTUD6A, OTUD6B, OTUB1/UBCH5B, OTUB2, CYLD, VCPIP, AMSH-LP, JOSD1, JOSD2, USP1/UAF1, USP2, USP4, USP5, USP6, USP7, USP8, USP9x, USP10, USP11, USP12/UAF1, USP13, USP14, USP15, USP16, USP19, USP20, USP21, USP22, USP24, USP25, USP28, USP32, USP34, USP35, USP36, USP45, USP46/UAF1, USP47 및 USP48이다. 바람직하게는, 본 발명의 화합물은 이러한 DUB 효소 중 하나 이상에 비해 USP30에 대해 우수한 선택성을 갖는다.

[0035] 다른 DUB 효소에 대한 선택성을 제외하고, 약물이 다른 표적에 대해 낮은 친화성을 갖는 것이 중요하고, 잠재적인 오프-표적 효과에 대한 가능성을 평가하고 이를 최소화하기 위해 표적 패널에 대해 약리학적 프로파일링을 수행할 수 있다. 본 발명의 화합물이 스크리닝될 수 있는 표적의 예는 GPCR 수용체, 수송체, 이온 채널, 핵 수용체, 및 키나제 및 비-키나제 효소의 대표적인 선택으로서 44개의 표적을 포함하는 산업 표준 Eurofins-Cerep SafetyScreen44 패널의 표적이다. 바람직하게는, 본 발명의 화합물은 이 스크리닝 패널의 표적에 대해 사소한 친화성을 갖는다. 본 발명의 화합물이 스크리닝될 수 있는 표적의 추가 예는 키나제 효소의 대표적인 선택으로서 39개의 표적을 포함하는 Thermo Fisher SelectScreen 키나제 프로파일링 패널의 키나제이다. 바람직하게는, 본 발명의 화합물은 이 스크리닝 패널의 표적에 대해 사소한 친화성을 갖는다. 추가로, 본 발명의 화합물이 스크리닝될 수 있는 특정 효소 부류의 예는 카텝신(예를 들어, 카텝신 A, B, C, H, K, L, L2, S, V 및 Z)이다. 바람직하게는, 본 발명의 화합물은 이들 효소 중 하나 이상에 비해 USP30에 대해 우수한 선택성을 갖는다.

[0036] 경구 투여에 적합하도록 유리한 약동학적 특성을 갖는 화합물이 또한 필요하다. 경구 투여되는 약물은 양호한 생체이용률을 가져야 하고; 이는 위장관(GI)을 쉽게 통과할 수 있는 능력이며, 위장관에서 전신 순환으로 통과할 때 광범위한 대사를 받지 않는다. 약물이 전신 순환에 들어가면, 대사율이 약물이 체내에 머무는 시간을 결정하는 데 중요하다.

[0037] 따라서, 약물 분자가, 쉽게 위장관을 통과할 수 있고 체내에서 천천히 대사되는 특성을 갖는 것이 분명히 유리하다. Caco-2 분석은 주어진 분자가 위장관을 통과하는 능력을 예측하기 위해 널리 인정되는 모델이다. 약물 분자의 대사의 대부분은 일반적으로 간에서 발생하고, 전세포 간 세포(동물 또는 인간)를 사용한 시험관내 분석은 간에서 대사에 대한 주어진 분자의 감수성을 측정하기 위해 널리 인정되는 방법이다. 이러한 분석은 간 세포에서 계산된 제거율 값으로부터 생체내 제거율을 예측하는 것을 목표로 한다.

[0038] 양호한 Caco-2 플럭스를 갖고 간 세포에 대해 안정적인 화합물은 양호한 경구 생체이용률(위장관을 통한 우수한 흡수 및 간을 통과할 때 화합물의 최소 추출) 및 약물이 효과적이기에 충분한 긴 체내 체류 시간을 가질 것으로 예상된다.

[0039] 화합물의 용해도는 예상되는 약리학적 반응에 대해 전신 순환에서 목적하는 약물 농도를 달성하는 데 중요한 요소이다. 낮은 수용해도는 새로운 화학 물질의 제형 개발에서 직면하는 문제이고, 흡수되기 위해서는 약물이 흡수 부위에 용액 형태로 존재해야 한다. 화합물의 동역학적 용해도는 탁도계 용해도 분석을 사용하여 측정될 수 있고, 이 데이터는 또한 투여량 의존적 인간 장 흡수를 예측하기 위해 Caco-2 투과성 데이터와 함께 사용될 수 있다.

[0040] 화합물의 노출 프로파일을 나타내는 표준 분석을 사용하여 측정할 수 있는 기타 파라미터는, 예를 들어 혈장 안정성(반감기 측정), 혈액 AUC, C_{max}, C_{min} 및 T_{max} 값을 포함한다.

[0041] 알츠하이머병, 파킨슨병 및 본원에 기재된 기타 장애를 비롯한 CNS 질환의 치료는 뇌를 표적으로 하는 약물 분자를 필요로 하며, 이는 혈액 뇌 장벽의 적절한 침투를 필요로 한다. 따라서, 효과적인 혈액 뇌 침투 특성을 갖고 뇌에서 효과적인 체류 시간을 제공하는 USP30 억제제가 필요하다. 화합물이 혈액 뇌 장벽을 통과할 확률은 MDR1-MDCK 세포 단층(인간 유출 수송체 P-당단백질의 과발현을 초래하는, MDR-1로 형질감염된 Madin-Darby 개 신장 세포)을 사용하는 시험관내 플럭스 분석으로 측정할 수 있다. 또한 생체내 동물 모델을 사용하여 뇌 및 혈장에서 노출을 직접 측정할 수도 있다.

[0042] 또한, 다양한 표준 시험관내 및 생체내 방법에 의해 측정될 수 있는 유리한 안전성 프로파일을 갖는 화합물이 필요하다. 미토콘드리아 활성에 대한 반응으로 레자수린(rezasurin)(alamarBlue™)에서 레소푸린(resofurin)으

로의 형광 검출을 통해 특정 세포주(예를 들어, HCT116)에서 항증식/세포독성 효과를 분석하는 데 세포 독성 카운터-스크린이 사용될 수 있다.

[0043] 또한, 독성 및 안전성 연구는 부작용에 대한 잠재적인 표적 기관을 식별하고 임상 시험에서 초기 시작 투여량을 설정하기 위한 치료 지수를 정의하기 위해 수행될 수 있다. 규제 요건은 일반적으로 적어도 두 가지 실험 동물종, 한 가지 설치류(래트 또는 마우스) 및 한가지 비설치류(토끼, 개, 인간이 아닌 영장류 또는 기타 적합한 종)에서 연구를 수행하는 것을 요구한다.

[0044] 박테리아 역돌연변이 분석(Ames Test)은 일반적으로 아미노산 히스티딘의 생합성을 위한 돌연변이체인 박테리아 균주 살모넬라 티피무리움(*Salmonella typhimurium*)을 사용하여 본 발명의 화합물의 돌연변이-유발 특성을 평가하는 데 사용될 수 있다.

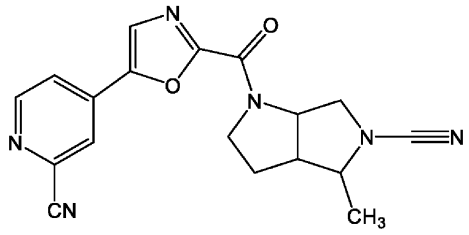
[0045] 소핵 분석은, 소핵의 존재를 평가함으로써 화합물이 유전독성인지 여부를 결정하는 데 사용될 수 있다. 소핵은 DNA 파손으로부터 생성된 염색체 단편(클라스토겐(clastogen)) 또는 유사분열 장치의 파괴에 의해 생성된 전체 염색체(아뉴겐(aneugen))를 포함할 수 있다.

[0046] hERG 예측자 분석은 시험 화합물이 칼륨 채널에 결합할 수 있는 가능성 및 심초음파에서 QT 연장에 대한 가치 있는 정보를 제공한다. hERG 전류의 억제는 QT 간격 연장을 유발하여 잠재적으로 치명적인 심실 빈맥(Torsades de Pointes)을 초래한다. 전형적으로, 분석 데이터는 자동화된 패치-클램프 분석 플랫폼에서 생성될 수 있다.

[0047] 따라서, 본 발명은 표적 질환에 대한 효능을 최대화하기 위해 적합하고/거나 개선된 특성을 갖는 USP30 억제제에 관한 것이다. 이러한 특성은, 예를 들어 효능 선택성, 물리화학적 특성, ADME(흡수, 분포, 대사 및 배설) 특성, 예컨대 PK(약동학) 프로파일 및 안전성 프로파일을 포함한다.

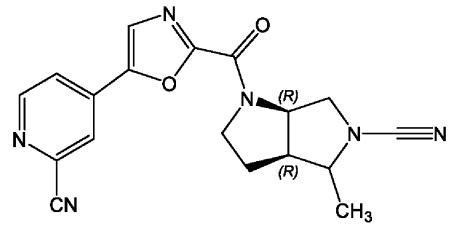
[0048] 본 발명의 가장 바람직한 화합물은 본원에 기술된 생화학적 검정에서 측정된 바와 같이 USP30에 대해 매우 강력하고, 다른 DUB 및 카텝신 대비 USP30에 대해 유의하게 더욱 선택적이다. 본 발명의 화합물은 이의 중요하면서도 예상치 못한 특성으로 인해 USP30 활성과 관련된 질병의 치료 및/또는 예방에 사용하기에 특히 적합하다.

[0049] 제1 양상에 따라서, 본 발명은 하기 화학식 (I)의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 제공한다:



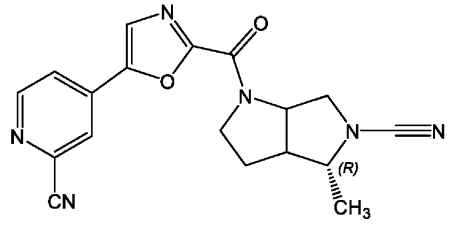
[0050] (I).

[0051] 제1 바람직한 양상에서, 본 발명은 하기 화학식 (IA)의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 제공한다:



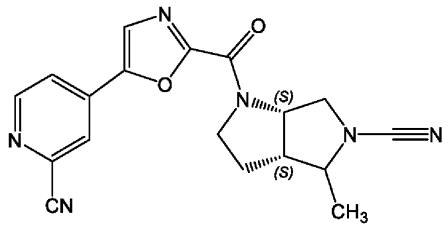
[0052] (IA).

[0053] 제2 바람직한 양상에서, 본 발명은 하기 화학식 (IB)의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 제공한다:

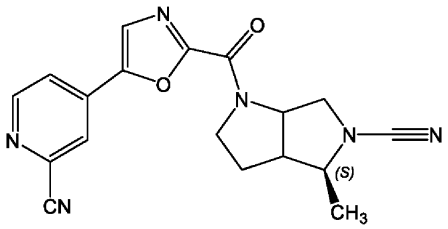


[0054] (IB).

[0055] 제3 바람직한 양상에서, 본 발명은 하기 화학식 (IC)의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 제공한다:

[0056]  (IC).

[0057] 제4 바람직한 양상에서, 본 발명은 하기 화학식 (ID)의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 제공한다:

[0058]  (ID).

[0059] 화학식 (I)의 바람직한 화합물은 다음으로부터 선택된다:

[0060] (3a*R*,4*R*,6a*R*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카보니트릴;

[0061] (3a*S*,4*S*,6a*S*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카보니트릴;

[0062] (3a*R*,4*S*,6a*R*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카보니트릴;

[0063] (3a*S*,4*R*,6a*S*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카보니트릴;

[0064] (3a*R*,4*R*,6a*S*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카보니트릴;

[0065] (3a*S*,4*S*,6a*R*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카보니트릴;

[0066] (3a*R*,4*S*,6a*S*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카보니트릴;

[0067] (3a*S*,4*R*,6a*R*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카보니트릴; 및

[0068] 이들의 약학적으로 허용되는 염.

[0069] 화학식 (I)의 더욱 바람직한 화합물은 다음으로부터 선택된다:

[0070] (3a*R*,4*R*,6a*R*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카보니트릴;

[0071] (3a*S*,4*S*,6a*S*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카보니트릴;

[0072] (3a*R*,4*S*,6a*R*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카보니트릴;

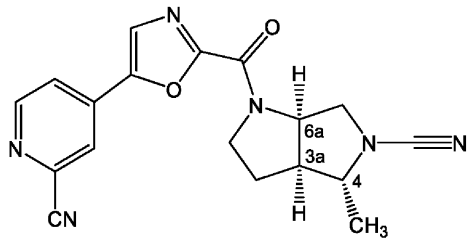
[0073] (3a*S*,4*R*,6a*S*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카보니트릴; 및

[0074] 이들의 약학적으로 허용되는 염.

[0075] 화학식 (I)의 가장 바라직한 화합물은 (3a*R*,4*R*,6a*R*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카보니트릴 또는 이의 약학적으로 허용되는 염이다.

[0076] 실시예 1은 본 발명의 가장 바람직한 화합물이다.

[0077] 이러한 화학식 (I)의 가장 바람직한 화합물은 단일 우회전성 입체 이성질체로서 존재하고, 제시된 절대 배열을 갖는 하기 구조를 갖는 것으로서 식별되었다:

[0078] 

;

[0079] (3a*R*,4*R*,6a*R*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카보니트릴.

[0080] 화학식 (I)의 화합물은 3개의 키랄 중심을 갖고, 이에 따라 8개의 입체화학적 배열로 존재할 수 있다. 하기 실험에 따라서, 이환형 고리의 합성은 4개의 가능한 입체 이성질체를 생성하는 *시스*-융합된 고리 시스템을 생성하는 것으로 여겨진다. 화학식 (I)의 가장 바람직한 화합물의 입체화학적 배열은 실시예 1의 입체화학적 배열이고, 생화학적 검정에서 USP30에 대해 가장 활성인 화합물이다.

[0081] 4개의 입체 이성질체는 하기 실시예 1 내지 4에 기술된 실험에 의해 제조되었다. 실험 조건(*c* = 0.05 g/100 cm^3, MeOH) 하에 측정될 때, 실시예 1 및 3은 우회전성이고, 실시예 2 및 4는 좌회전성이다. 실시예 1은, 2개의 상이한 방법에 의해 제조될 때, $[\alpha]_D^{25}$ = +208° 및 +204° 의 광학 회전 측정치를 생성하였다. 작은 편차는 실험적 차이 또는 광학 순도의 차이에 기인할 수 있다. 실시예 3은 $[\alpha]_D^{25}$ = +166° 의 광학 회전 측정치를 생성하였다.

[0082] 본 발명은 추가적으로 기술된 바와 같이 측정될 때 우회전성인 *시스*-융합된 입체 이성질체에 관한 것이고, +204° 내지 +208° 의 영역에서 근사치인 광학 회전을 갖는다. 광학 순도에 의존하여, 이러한 입체 이성질체는, 실질적으로 순수할 때, +190° 내지 +220° 의 영역에서 광학 회전을 생성할 수 있다. 이러한 수치는 본 발명의 화합물을, 또한 우회전성인 다른 *시스*-융합된 입체 이성질체와 명백히 구별한다.

[0083] 본 발명은 추가적으로 (+)-(3a*R**,4*R**,6a*R**)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카보니트릴(I) 또는 이의 약학적으로 허용되는 염에 관한 것이다.

[0084] 본 발명은 추가적으로 실시예 1의 실험 과정에 의해 생성된 주요 입체 이성질체에 관한 것이다.

[0085] 화학식 (I)의 화합물의 약학적으로 허용되는 염은 이의 산 부가 및 염기 염(이-염을 포함함)을 포함한다.

[0086] 적절한 산 부가 염은 무독성 염을 형성하는 산으로부터 형성된다. 예는 아세테이트, 아스파르테이트, 벤조에이트, 베실레이트, 바이카보네이트/카보네이트, 바이설페이트, 캄실레이트, 시트레이트, 에디실레이트, 에실레이트, 푸마레이트, 글루셉테이트, 글루코네이트, 글루쿠로네이트, 하이벤제이트, 하이드로클로라이드/클로라이드, 하이드로브로마이드/브로마이드, 하이드로요오다이드/요오다이드, 수소 포스페이트, 이세티오네이트, D- 및 L-락테이트, 말레이트, 말레에이트, 말로네이트, 메실레이트, 메틸설페이트, 2-나프실레이트, 니코티네이트, 니트레이트, 오로테이트, 팔메이트, 포스페이트, 사카레이트, 스테아레이트, 석시네이트 설페이트, D- 및 L-타르트레이트 및 토실레이트 염을 포함한다.

[0087] 적합한 염기 염은 무독성 염을 형성하는 염기로부터 형성된다. 예는 알루미늄, 암모늄, 아르기닌, 벤자틴, 칼슘, 콜린, 다이에틸아민, 다이올아민, 글리신, 리신, 마그네슘, 메글루민, 올라민, 칼륨, 나트륨, 트로메타민 및 아연 염을 포함한다.

[0088] 적합한 염에 대한 검토는 문헌[Stahl and Wermuth, Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use, Wiley-VCH, Weinheim, Germany (2002)]을 참조한다.

[0089] 화학식 (I)의 화합물의 약학적으로 허용되는 염은 적절하게 화학식 (I)의 화합물의 용액을 바람직한 산 또는 염기와 함께 혼합함으로써 용이하게 제조될 수 있다. 염은 용액으로부터 침전될 수 있고 여과에 의해 수집되거나 용매의 증발에 의해 회수될 수 있다.

[0090] 본 발명에 따른 약학적으로 허용되는 용매화물은 수화물 및 용매화물을 포함하며, 이때 결정화의 용매는 방사선 동위원소(예를 들어, D_2O, 아세톤-d_6, DMSO-d_6)로 치환될 수 있다.

[0091] 또한, 본 발명의 범위에는, 포접물, 약물-호스트 봉입 복합체가 있으며, 이때 전술한 용매화물과 대조적으로 약물 및 호스트는 비화학량론적 양으로 존재한다. 이러한 복합체에 대한 검토는 문헌[J. Pharm Sci, 64 (8), 1269-1288 by Haleblian (August 1975)]을 참조한다.

[0092] 이하, 화학식 (I)의 화합물에 대한 모든 언급은 이의 염, 및 화학식 (I)의 화합물 및 이의 염의 용매화물 및 포접물에 대한 언급을 포함한다.

[0093] 본 발명은 상기 정의된 화학식 (I)의 화합물의 모든 다형체를 포함한다.

[0094] 또한, 본 발명의 범위 내에는 화학식 (I)의 화합물의 소위 "전구약물"이 있다. 따라서, 약리학적 활성이 거의 또는 전혀 없는 화학식 (I)의 화합물의 특정 유도체는, 체내 투여시 대사될 때, 원하는 목적하는 활성을 갖는 화학식 (I)의 화합물을 야기한다. 이러한 유도체를 "전구약물"로 지칭한다.

[0095] 본 발명에 따른 전구약물은, 예를 들어 화학식 (I)의 화합물에 존재하는 적절한 작용기를 당업자에게 "전구잔기(pro-moiety)"(예를 들어, 문헌["Design of Prodrugs" by H Bundgaard (Elsevier, 1985)]에 기재됨)로 공지된 특정 잔기로 대체함으로써 생성될 수 있다.

[0096] 마지막으로, 화학식 (I)의 특정 화합물은 그 자체로 화학식 (I)의 다른 화합물의 전구약물로서 작용할 수 있다.

[0097] 질소 원자를 함유하는 화학식 (I)의 화합물의 특정 유도체는 또한 상응하는 N-옥사이드를 형성할 수 있고, 이러한 화합물이 또한 본 발명의 범위 내에 있다.

[0098] 화학식 (I)의 화합물의 모든 호변 이성질체 형태가 본 발명의 범위 내에 포함된다.

[0099] 개별 거울상 이성질체의 제조/단리를 위한 통상적인 기술에는 적합한 광학적으로 순수한 전구체로부터 키랄 합성, 또는, 예를 들어 키랄 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC)를 사용하는 라세미체(또는 염 또는 유도체의 라세미체)의 분할이 포함된다. 대안적으로, 라세미체(또는 라세미 전구체)는 적합한 광학 활성 화합물, 예를 들어 알코올, 또는 화학식 (I)의 화합물이 산성 또는 염기성 잔기를 함유하는 경우 염기 또는 산, 예컨대 1-페닐에틸아민 또는 타르타르산과 반응할 수 있다. 생성된 부분입체 이성질체 혼합물은 크로마토그래피 및/또는 분별 결정화에 의해 분리될 수 있고 부분입체 이성질체 중 하나 또는 둘 다는 당업자에게 주지된 수단에 의해 상응하는 순수한 거울상 이성질체로 전환될 수 있다. 본 발명의 키랄 화합물(및 이의 키랄 전구체)은, 0 내지 50 부피%의 프로판-2-올, 전형적으로 2 내지 20 부피%, 및 0 내지 5 부피%의 알킬아민, 전형적으로 0.1%의 다이에틸아민을 함유하는 탄화수소, 전형적으로 헵탄 또는 헥산으로 이루어진 이동상을 갖는 비대칭 수지 상에서의 크로마토그래피, 전형적으로 HPLC를 사용하여 거울상 이성질체-풍부 형태로 수득될 수 있다. 용출액의 농축은 농축된 혼합물을 제공한다. 본 발명은 라세미체 및 그의 라세미 혼합물(콘글로머리트(conglomerate))을 포함하는 화학식 (I)의 화합물의 모든 결정 형태를 포함한다. 입체 이성질체 콘글로머리트는 당업자에게 공지된 통상적인 기술에 의해 분리될 수 있다(예를 들어, 문헌["Stereochemistry of Organic Compounds" by E. L. Eliel and S. H. Wilen (Wiley, New York, 1994)]을 참조한다).

[0100] 본 발명의 화학식 (I)의 가장 바람직한 화합물은 화학식 (I)의 바람직한 화합물의 하나 이상의 다른 입체 이성질체와 조합으로 존재할 수 있다. 예를 들어, 화합물은 이의 거울상 이성질체와 함께 존재할 수 있거나(즉, 라세미체로서), 부분입체 이성질체와 함께 존재할 수 있다.

[0101] 본 발명의 화학식 (I)의 바람직한 화합물은 바람직하게는 단일 입체 이성질체로서 존재한다. 화학식 (I)의 바람직한 화합물은 단일 입체 이성질체로서 단리되고, 60% 이상, 바람직하게는 80% 이상, 더욱 바람직하게는 90% 이상, 더욱 바람직하게는 95% 이상, 예를 들어 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 입체 이성질체 과량으로 존재할 수 있다. 입체 이성질체 과량은 거울상 이성질체 과량의 측정치일 수 있거나, 부분입체 이성질체 비율의 측정치일 수 있다.

[0102] 또한, 본 발명은 화학식 (I)의 화합물의 모든 약학적으로 허용되는 동위원소 변형을 포함한다. 동위원소 변형은 적어도 하나의 원자가 원자 번호는 같지만, 자연에서 일반적으로 발견되는 원자량과 다른 원자량을 갖는 원자로

대체되는 것으로 정의된다.

[0103] 본 발명의 화합물에 포함되기에 적합한 동위원소의 예는 수소의 동위원소, 예컨대 ^{2}H 및 ^{3}H, 탄소의 동위원소, 예컨대 ^{13}C 및 ^{14}C, 질소의 동위원소, 예컨대 ^{15}N, 산소의 동위원소, 예컨대 ^{17}O 및 ^{18}O, 인의 동위원소, 예컨대 ^{32}P, 황의 동위원소, 예컨대 ^{35}S, 불소의 동위원소, 예컨대 ^{18}F, 및 염소의 동위원소, 예컨대 ^{36}Cl을 포함한다.

[0104] 동위원소, 예컨대 중수소에 의한 본 발명의 화합물의 치환은 더 큰 대사 안정성, 예를 들어 증가된 생체내 반감기 또는 감소된 투여량 요구를 야기하는 특정 치료적 이점을 제공할 수 있고, 따라서, 일부 상황에서 바람직할 수 있다.

[0105] 화학식 (I)의 화합물의 특정 동위원소 변형, 예를 들어 방사성 동위원소를 포함하는 것은 약물 및/또는 기질 조직 분포 연구에 유용하다. 방사성 동위원소인 삼중수소 및 ^{14}C는 통합이 용이하고 검출이 용이하다는 점에서 이 목적에 특히 유용하다.

[0106] 화학식 (I)의 화합물의 동위원소 변형은 일반적으로 당업자에게 공지된 통상적인 기술에 의해 또는 적합한 시약의 적절한 동위원소 변형을 사용하여 첨부된 실시예 및 제법에 기재된 것과 유사한 공정에 의해 제조될 수 있다.

[0107] 화학식 (I)의 화합물은 탈유비퀴틴화 효소 USP30의 억제제이다.

[0108] 추가적 양상에 따라, 본 발명은 약제로서 사용하기 위한 본원에 정의된 화학식 (I)의 화합물, 이의 호변 이성질체, 또는 상기 화합물 또는 호변 이성질체의 약학적으로 허용되는 염을 제공한다.

[0109] 추가적 양상에 따라, 본 발명은 포유동물에서 USP30의 억제가 유익한 효과를 생성하는 것으로 알려져 있거나 나타날 수 있는 장애 또는 질환의 치료 또는 예방 방법을 제공하고, 이는 상기 포유동물에게 치료 효과량의 본원에 정의된 화학식 (I)의 화합물, 이의 호변 이성질체, 또는 상기 화합물 또는 호변 이성질체의 약학적으로 허용되는 염을 투여하는 단계를 포함한다.

[0110] 추가적 양상에 따라, 본 발명은 USP30의 억제가 유익한 효과를 생성하는 것으로 알려져 있거나 나타날 수 있는 장애 또는 질환의 치료용 또는 예방용 약제의 제조에서의 본원에 정의된 화학식 (I)의 화합물, 이의 호변 이성질체, 또는 상기 화합물 또는 호변 이성질체의 약학적으로 허용되는 염의 용도를 제공한다. 약제의 제조는 특히 화학식 (I)의 화합물 또는 이의 염의 화학적 합성, 또는 상기 화합물 또는 염을 포함하는 조성물 또는 제형의 제조, 또는 상기 화합물을 포함하는 임의의 약제의 패키징을 포함할 수 있다.

[0111] 추가 양상에 따라서, 본 발명은 치료 효과량의 본원에 정의된 화학식 (I)의 화합물, 이의 호변 이성질체, 또는 상기 화합물 또는 호변 이성질체의 약학적으로 허용되는 염을 환자에게 투여함을 포함하는, 상기 환자에서 USP30을 억제하는 방법을 제공한다.

[0112] USP30 활성으로부터 이익을 얻는 장애 또는 질환은 미토콘드리아 기능장애를 수반하는 질환, 암 및 섬유증으로부터 선택된다.

[0113] 본 발명의 모든 양상의 하나의 바람직한 양태에서, USP30 활성으로부터 이익을 얻는 장애 또는 질환은 미토콘드리아 기능장애를 수반하는 질환이다.

[0114] 미토콘드리아 기능장애는 적혈구를 제외한 신체의 모든 세포에 존재하는 특수 구획인 미토콘드리아의 결함으로 인해 초래된다. 미토콘드리아가 고장나면, 세포 내에서 생성되는 에너지가 점점 줄어들고, 세포 손상 또는 세포사가 뒤따른다. 이러한 과정이 몸 전체에 반복되면 이것이 일어나는 개체의 생명이 심각하게 위협받는다. 미토콘드리아의 질병은 에너지를 많이 요구하는 장기, 예컨대 뇌, 심장, 간, 골격근, 신장, 내분비계 및 호흡계에서 가장 흔히 나타난다.

[0115] 미토콘드리아 기능장애를 수반하는 질환은 미토파지 결함을 수반하는 질환, 미토콘드리아 DNA의 돌연변이를 수반하는 질환, 미토콘드리아 산화 스트레스를 수반하는 질환, 미토콘드리아 막 전위의 결함을 수반하는 질환, 미토콘드리아 생물 발생, 미토콘드리아 모양 또는 형태의 결함을 수반하는 질환, 리소좀 저장 결함을 수반하는 질환으로부터 선택될 수 있다.

[0116] 특히, 미토콘드리아 기능장애를 수반하는 질환은 신경퇴행성 질환; 다발성 경화증(MS); 미토콘드리아성 뇌병증, 젖산 산증 및 뇌졸중-유사 에피소드(MELAS) 증후군; 모계-유전 당뇨병 및 난청(MIDD); 레베르 유전성 시신경병

증(Leber's hereditary optic neuropathy: LHON); 암(예를 들어, 유방암, 난소암, 전립선암, 폐암, 신장암, 위암, 결장암, 고환암, 두경부암, 췌장암, 뇌암, 흑색종, 골암 또는 조직 기관의 기타 암, 및 혈액 세포의 암, 예컨대 림프종 및 백혈병, 다발성 골수종, 전이성 암종, 골 육종, 연골 육종, 유잉 육종, 비인두 암종, 결장직장암, 및 비-소세포 폐 암종을 포함함); 신경병증, 운동실조, 색소성 망막염, 모계-유전 리 증후군(NARP-MILS); 다논병(Danon disease); 당뇨병; 당뇨병성 신장증; 대사장애; 심부전; 심근경색증으로 이어지는 허혈성 심장병; 정신 질환, 예를 들어 정신분열증; 다발성 설파타제 결핍증(MSD); II형 점액지질증(ML II); III형 점액지질증(ML III); IV형 점액지질증(ML IV); GM1-강글리오시드증(GM1); 신경 세로이드-리포푸신증(NCL1); 알퍼병(Alpers disease); 바스 증후군(Barth syndrome); 베타-산화 이상; 카르니틴-아실-카르니틴 결핍증; 카르니틴 결핍증; 크레아틴 결핍 증후군; 조효소 Q10 결핍증; 복합체 I 결핍증; 복합체 II 결핍증; 복합체 III 결핍증; 복합체 IV 결핍증; 복합체 V 결핍증; COX 결핍증; 만성 진행성 외안근마비 증후군(CPEO); CPT I 결핍증; CPT II 결핍증; II형 글루타르산혈증; 컨스-세이어 증후군(Kearns-Sayre syndrome); 젖산 산증; 장쇄 아실-CoA 탈수소효소 결핍증(LCHAD); 리 질환 또는 증후군(Leigh disease or syndrome); 리 증후군 프랑스계 캐나다인(LSFC) 변종; 치사성 유아 심근병증(LIC); 루프트병(Luft disease); 중간쇄 아실-CoA 탈수소효소 결핍증(MCAD); 근간대 뇌전증 및 불균일 적색 근육섬유(MERRF) 증후군; 미토콘드리아 세포병증; 미토콘드리아 열성 운동실조 증후군; 미토콘드리아 DNA 결여 증후군; 근신경 위장관 장애 및 뇌병증; 피어슨 증후군(Pearson syndrome); 피루베이트 탈수소효소 결핍증; 피루베이트 카복실화효소 결핍증; POLG 돌연변이; 중간쇄/단쇄 3-하이드록시아실-CoA 탈수소효소(M/SCHAD) 결핍증; 초장쇄(very long-chain) 아실-CoA 탈수소효소(VLCAD) 결핍증; 과산화소체 질환; 메틸말론산혈증; 메발로네이트 키나제 결핍증; 인지 기능 및 근력의 연령-의존성 감퇴; 및 신경퇴행성 및 신경정신병성 질환과 관련된 인지 손상으로부터 선택될 수 있다.

[0117] 미토콘드리아 기능장애를 수반하는 질환은 CNS 질환, 예를 들어 신경퇴행성 질환일 수 있다.

[0118] 신경퇴행성 질환은 비제한적으로 파킨슨병, 알츠하이머병, 근위축성 측삭 경화증(ALS), 헌팅턴병, 허혈증, 뇌졸중, 루이소체 치매, 다계통 위축증(MSA), 진행성 핵상 마비(PSP), 피질기저 변성(CBD) 및 전전두엽 치매를 포함한다.

[0119] 특히, 본 발명의 화합물은 비제한적으로 α-시누클레인, 파킨, PINK1, GBA 및 LRRK2의 돌연변이와 관련된 PD, 및 파킨이 돌연변이된 상염색체 열성 소아 파킨슨병(AR-JP) 또는 조기 발병 파킨슨병(EOPD)(이때, 파킨 또는 PINK1은 돌연변이되거나 절두되거나 결실됨)을 포함하는 파킨슨병 치료 또는 예방에 유용할 수 있다.

[0120] 특히, 본 발명의 화합물은, 예를 들어, 알츠하이머병 및 파킨슨병과 관련된 인지 손상, AD 및 PD의 전임상 또는 전구 형태, 헌팅턴병, 루이소체 질환을 갖는 치매, 정신분열증과 관련된 인지 손상, 기분 장애, 양극성 및 주요 우울 장애를 비롯한 신경퇴행성 및 신경정신병성 질환과 관련된 인지 손상의 치료에 유용할 수 있다.

[0121] 본원에 기재된 본 발명의 화합물 또는 이의 약학 조성물은 미토콘드리아 기능장애를 수반하는 질환의 치료 또는 예방을 위해 사용될 때 하나 이상의 추가 제제와 조합될 수 있다. 화합물은 레보도파, 도파민 작용제, 모노아미노 옥시게나제(MAO) B 억제제, 카테콜 O-메틸트랜스퍼라제(COMT) 억제제, 항콜린제, 릴루졸(riluzole), 아만타딘(amantadine), 콜린에스테라제 억제제, 메만틴(memantine), 테트라베나진(tetrabenazine), 항정신병제, 디아제팜(diazepam), 클로나제팜(clonazepam), 항우울제 및 항경련제로부터 선택되는 하나 이상의 추가 제제와 조합될 수 있다. 화합물은 신경퇴행성 질환에서 병원성 단백질 응집체를 감소/제거하는 제제, 예컨대 파킨슨병, 다계통 위축증 또는 루이소체 치매에서 알파-시누클레인을 감소/제거하는 제제; 알츠하이머병 또는 진행성 핵상 마비에서 Tau를 감소/제거하는 제제; ALS 또는 전전두엽 치매에서 TDP-43을 감소/제거하는 제제와 조합될 수 있다.

[0122] 본 발명의 모든 양상의 또 다른 바람직한 양태에서, USP30 활성으로부터 이익을 얻는 장애 또는 질환은 암이다. 암은 미토콘드리아 기능장애와 관련이 있을 수 있다. 바람직한 암은, 예를 들어 유방암, 난소암, 전립선암, 폐암, 신장암, 위암, 결장암, 고환암, 두경부암, 췌장암, 뇌암, 흑색종, 골암 또는 조직 기관의 기타 암, 및 혈액 세포의 암, 예컨대 림프종 및 백혈병, 다발성 골수종, 전이성 암종, 골 육종, 연골 육종, 유잉 육종, 비인두 암종, 대장암, 결장직장암 및 비-소세포 폐 암종을 포함한다.

[0123] 특히, 본 발명의 화합물은, 세포사멸 경로가 이상조절된 암, 보다 특히 BCL-2 계열의 단백질이 돌연변이되거나 과대 또는 과소 발현된 암의 치료 또는 예방에 유용할 수 있다.

[0124] 섬유증은 외상, 염증, 조직 재생, 면역 반응, 세포 과형성 및 종양형성 후에 발생하는 세포외 기질 성분의 축적을 지칭한다. 본 발명의 화합물 및 조성물에 의해 치료할 수 있는 섬유증 질환은 특히 주요 장기 질환, 예를 들

어 간질성 폐 질환(ILD), 간 경화증, 비-알코올성 지방간 질환(NAFLD) 및 비-알코올성 지방간염(NASH)(간 섬유증), 신장 질환(신장 섬유증), 급성 신장 손상(AKI), 급성 신장 질환(AKD), 만성 신장 질환(CKD), 지연된 신장 이식편 기능, 심혈관 질환(심장 섬유증) 및 눈 질환과 관련된 섬유증/섬유증 질환; 섬유증식성 질환, 예를 들어 전신 및 국소 경피증, 켈로이드 및 비대성 흉터, 죽상경화증, 재협착증 및 뒤프트랑 구축(Dupuytren's contracture); 외상과 관련된 흉터, 예를 들어 수술 합병증, 화학치료 약물-유발 섬유증(예를 들어, 블레오마이신-유발 섬유증), 방사선-유발 섬유증, 사고로 인한 부상 및 화상; 후복막 섬유증(오르몬드병(Ormond's disease)); 및 일반적으로 신장 이식 후 복막 투석을 받는 환자의 복막 섬유증/복막 흉터를 포함한다. 예를 들어, 문헌[Wynn et al, 2004, Nat Rev Immunol. August; 4(8): 583-594]을 참조한다. 따라서, 본 발명은, 예를 들어 폐, 간, 신장, 심장, 피부, 눈, 위장관, 복막 및 골수를 비롯한 주요 장기의 섬유증/섬유증 질환 및/또는 이와 관련된 섬유증/섬유증 질환, 및 본원에 기재된 기타 질병/장애의 치료 또는 예방 방법, 및 상기 방법에 사용되는 화합물 및 조성물에 관한 것이다.

[0125] 화합물은 항당뇨병제, 심혈관 질병 제제, 및 질병 관련 경로, 예컨대 산화 스트레스(비제한적으로 nrf2/keap-1 경로를 포함함) 및 항-세포사멸 경로(비제한적으로 항 p53 제제를 포함함)를 표적으로 하는 신규 제제를 비롯한 신장 질환의 치료제로 사용되는 제제와 조합될 수 있다.

[0126] 간질성 폐 질환(ILD)은 폐 염증 및 섬유화가 병리학의 최종 공통 경로인 장애, 예를 들어 유사육종증, 규폐증, 약물 반응, 감염, 및 콜라겐 혈관 질환, 예컨대 류마티스 관절염 및 전신 경화증(경피증)을 포함한다. 폐의 섬유증 질환은, 예를 들어 폐 섬유증, 특발성 폐 섬유증(IPF), 통상형 간질성 폐렴(UIP), 간질성 폐 질환, 잠복성 섬유화 폐포염(CFA), 폐색성 세기관지염 및 기관지 확장증을 포함한다.

[0127] 특발성 폐 섬유증(IPF)은 가장 흔한 유형의 ILD이며 알려진 원인이 없다.

[0128] 화합물은 닌테다닙 및 피르페니돈을 포함하는 IPF 및 잠재적으로 ILD에 대한 치료제인 제제와 조합될 수 있다.

[0129] 간 경화증은 ILD와 유사한 원인을 가지며, 예를 들어 바이러스성 간염과 관련된 경화증, 주혈흡충증 및 만성 알코올 중독을 포함한다.

[0130] 신장 질환은 당뇨병과 관련될 수 있으며, 이는 신장에 손상을 입히고 흉터를 남겨 점진적인 기능 상실 및 고혈압 질병으로 이어질 수 있다. 신장 섬유증은 손상 후 급성 신장 질환(AKD) 또는 만성 신장 질환(CKD)(예컨대, 사고성 CKD 및 진행성 CKD)에서 말기 신장 질환(ESRD)에 이르는 신장 질환의 임의의 단계에서 발생할 수 있다. 신장 섬유증은 심혈관 질병, 예컨대 고혈압 또는 당뇨병(이들 둘 다 신장 기능에 막대한 부담을 주어 섬유증 반응을 촉진함)의 결과로 발생할 수 있다. 그러나, 신장 섬유증은 특발성(알려진 원인 없이)일 수도 있고, 특정 유전적 미토콘드리아 질병은 또한 신장 섬유증 징후 및 관련 증상을 나타낸다.

[0131] 심장병은 심장의 펌프 기능을 손상시킬 수 있는 흉터 조직을 유발할 수 있다.

[0132] 눈 질환은, 예를 들어 시력을 손상시킬 수 있는 황반 변성, 및 망막 및 유리체 망막병증을 포함한다.

[0133] 바람직한 양태에서, 본 발명은 특발성 폐 섬유증(IPF)의 치료 또는 예방에 관한 것이다.

[0134] 또 다른 바람직한 양태에서, 본 발명은 신장 섬유증의 치료 또는 예방에 관한 것이다.

[0135] 또 다른 바람직한 양태에서, 본 발명은 특히 고위험 환자에서 급성 신장 손상(AKI)의 치료 또는 예방에 관한 것이다. 예는 수술 후 AKI, 예를 들어 허혈 재관류 손상으로 인한 장기 이식, 지연된 이식 기능; 화학 요법으로 인한 종양학, 예컨대 AKI; 조영제-유발 신장증, 예컨대 직접 세관 세포독성, 혈류역학적 허혈 및 삼투 효과; 급성 간질성 신염, 예컨대 약물 또는 감염으로 인한 급성 간질성 신염; 신장 결석과 같은 패색에 기인한 AKI; 및 COVID-19-유발된 AKI를 포함한다. 특정 고위험 환자 하위 군은 심장 수술, 예를 들어 관상 동맥 우회 이식 및/또는 판막 수술을 받는 환자이다. AKI에 대한 확립된 고정된 위험 요인, 예컨대 65세 이상의 연령, 인슐린 의존성 당뇨병, 만성 신장 질환(CKD)(추정 사구체 여과율[eGFR]이 60 mL/min/1.73 m^2 미만인 성인이 특히 위험함), 심부전, 간 질환, 또는 AKI의 병력이 있다.

[0136] 또 다른 바람직한 양태에서, 본 발명은, 예를 들어 세뇨관 간질성 섬유증 및 당뇨병성 신장증을 포함하는 AKI로부터 급성 신장 질환(AKD) 또는 기인한 만성 신장 질환(CKD)의 치료 또는 예방에 관한 것이다.

[0137] 다른 바람직한 양태에서, 본 발명은, 비제한적으로 NAFLD, NASH, 간 경화증, 문맥성 고혈압, 급성 간부전 및 간세포 암종을 비롯한 간 질환의 치료 또는 예방에 관한 것이다. NAFLD 및 NASH와 같은 간 질환은 대사 증후군 및 II형 당뇨병과 같은 다양한 대사 병태와 관련될 수 있고, 또한 당뇨병성 망막증 및 말초 신경병증을 비롯한 다

양한 당뇨병 관련 병리에 대한 위험을 증가시킬 것이다.

[0138] 본원에 기술된 본 발명의 화합물 또는 이의 약학 조성물은, 간 질환 및 대사 기능장애, 예컨대 메트포르민, 설폰일우레아, DPP-4 억제제, GLP-1 작용제, PPAR 작용제, SGLT2 억제제, 앤지오텐신-전환 효소(ACE) 억제제 및 앤지오텐신 II 수용체 차단제(ARB)를 포함하는 병태의 치료 또는 예방에 사용될 때, 하나 이상의 추가 제제와 조합될 수 있다.

[0139] 리 증후군은 중추 신경계에 영향을 미치는 드문 유전성 신경 대사장애이다. 이러한 진행성 장애는 생후 3개월 내지 2세의 영아에서 시작된다. 드물게, 십대 및 성인에서 발생한다. 리 증후군은 미토콘드리아 단백질을 암호화하는 핵 DNA의 돌연변이, 미토콘드리아 DNA의 돌연변이(모계-유전 리 증후군: MILS)에 의해, 또는 X 염색체의 짧은 아암(arm)에 위치한 피루베이트 탈수소효소로 지칭되는 효소의 결핍에 의해(X-연관 리 증후군) 발생할 수 있다. 리 증후군의 증상은 일반적으로 빠르게 진행된다. 가장 초기의 징후는 불량한 빠는 능력(sucking ability), 및 머리 조절 및 운동 능력의 상실일 수 있다. 이러한 증상은 식욕 상실, 구토, 과민성, 지속적인 울음 및 발작을 동반할 수 있다. 장애가 진행됨에 따라, 증상은 또한 전신 쇠약, 근 긴장도 부족, 젖산증 에피소드를 포함할 수 있고, 이는 호흡 및 신장 기능의 장애로 이어질 수 있다.

[0140] 모계-유전 리 증후군(MILS)에서, 미토콘드리아 DNA의 유전적 돌연변이(>90%의 높은 비율)는 운동적 이동에 역할을 하는 뇌 영역에서 세포를 운영하는 에너지원을 방해한다. 미토콘드리아 DNA의 유전적 돌연변이는 이러한 세포에 만성적인 에너지 결핍을 초래하고, 이는 차례로 중추신경계에 영향을 미치고 운동 기능의 점진적인 퇴화를 유발한다. MILS를 유발하는 미토콘드리아 DNA의 유전적 돌연변이가 덜 풍부한 경우(90% 미만), 질환은 신경병증 운동실조 및 색소성 망막염(NARP)으로 공지되어 있다. 또한, 세포 대사에 중요한 또 다른 군의 물질을 생성하는 유전자에서의 돌연변이의 결과인 리 질환이 존재한다(X-연관 리 질환으로 지칭됨). LRPPRC로 지칭되는 유전자의 돌연변이를 특징으로 하는 프랑스계 캐나다인 변종으로 지칭되는 리 증후군의 추가 변종이 존재한다. 프랑스계 캐나다인 변종에서 또한 간 지방증이 흔히 관찰되지만, 유사한 신경학적 증상이 리 증후군의 경우와 같이 발현된다.

[0141] 바람직한 양태에서, 본 발명은, 예를 들어 X-연관 리 질환, 리 증후군 프랑스계 캐나다인 변종, 및/또는 리 질환과 관련된 증상을 포함하는 리 증후군 또는 리 질환의 치료 또는 예방에 관한 것이다.

[0142] 화합물은 니코틴아미드 리보사이드를 포함하나 이에 제한되지 않는 미토콘드리아 질병의 치료제로 사용될 수 있는 신규 제제와 조합될 수 있다.

[0143] "치료"에 대한 언급은 일시적으로 또는 영구적으로 증상을 개선 또는 완화하거나, 증상의 원인을 제거하는 수단을 포함한다. 본 발명의 화합물은 인간 및 다른 포유동물에서 본원에 개시된 질병의 치료에 유용하다.

[0144] 또 다른 양태에서, 본 발명은 본원에 개시된 질병의 예방 요법을 포함하고 명명된 장애 또는 질환의 증상의 출현을 예방하거나 지연시키는 수단을 포함한다. 본 발명의 화합물은 인간 및 다른 포유동물에서 본원에 개시된 질병의 예방에 유용하다.

[0145] 치료 또는 예방이 필요한 환자는, 예를 들어 질환으로 고통받거나 질환으로 고통받을 위험이 있는 인간 또는 기타 포유동물일 수 있다.

[0146] 추가적 양상에 따라, 본 발명은 약학적으로 허용되는 희석제 또는 담체와 함께 본원에 정의된 화학식 (I)의 화합물, 또는 상기 화합물 또는 호변 이성질체의 약학적으로 허용되는 염을 포함하는 약학 조성물을 제공한다.

[0147] 본 발명의 약학 조성물은 임의의 약학적으로 허용되는 담체, 보조제 또는 비히클과 조합된 임의의 본 발명의 화합물을 포함한다. 약학적으로 허용되는 담체의 예는 당업자에게 공지되어 있으며, 이에 제한되지는 않지만 투여 방식 및 투여 형태의 특성에 따라 보존제, 충전제, 붕해제, 습윤제, 유화제, 현탁제, 감미제, 향미제, 방향제, 항균제, 항진균제, 윤활제 및 분산제를 포함한다. 조성물은, 예를 들어 정제, 캡슐, 분말, 과립, 엘릭시르, 로젠지, 좌약, 시럽, 및 액체 제제(현탁액 및 용액을 포함함)의 형태일 수 있다. 본 발명에 있어서 용어 "약학 조성물"은, 활성제를 포함하고 추가로 하나 이상의 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 조성물을 의미한다. 조성물은 투여 방식 및 투여 형태의 특성에 따라, 예를 들어 희석제, 보조제, 부형제, 비히클, 보존제, 충전제, 붕해제, 습윤제, 유화제, 현탁제, 감미제, 향미제, 방향제, 항균제, 항진균제, 윤활제 및 분산제로부터 선택되는 성분을 추가로 함유할 수 있다.

[0148] 본원에 기재된 본 발명의 화합물 또는 이의 약학 조성물은 단독으로 또는 하나 이상의 추가 약학 제제와 조합되어 사용될 수 있다. 화합물은 추가의 항종양 치료제, 예를 들어 화학치료 약물 또는 다른 조절 단백질의 억제제

와 조합될 수 있다. 한 양태에서, 추가의 항종양 치료제는 BH-3 모방체이다. 추가적 양태에서, BH-3 모방체는 비제한적으로 ABT-737, ABT-199, ABT-263 및 Obatoclax 중 하나 이상으로부터 선택될 수 있다. 추가적 양태에서, 추가적 항암제는 화학치료제이다. 화학치료제는 비제한적으로 올라파립(olaparib), 미토마이신 C(mitomycin C), 시스플라틴, 카보플라틴(carboplatin), 옥살리플라틴(oxaliplatin), 이온화 방사선(IR), 캄프토테신(camptothecin), 이리노테칸(irinotecan), 토포테칸(topotecan), 테모졸로미드(temozolomide), 탁센(taxane), 5-플루오로피리미딘, 젬시타빈(gemcitabine) 및 독소루비신(doxorubicin)으로부터 선택될 수 있다.

[0149] 섬유증 질환의 치료 또는 예방을 위해, 예를 들어, 본원에 기재된 본 발명의 화합물 또는 이의 약학 조성물은 단독으로 사용될 수 있거나, 항콜린제, 베타-2 모방체, 스테로이드, PDE-IV 억제제, p38 MAP 키나제 억제제, NK1 길항제, LTD4 길항제, EGFR 억제제 및 엔도텔린 길항제로부터 선택되는 하나 이상의 추가적 약학 제제와 조합으로 사용될 수 있다.

[0150] 특히, 본원에 기재된 본 발명의 화합물 또는 이의 약학 조성물은 단독으로 사용될 수 있거나, 일반 면역 억제 약물, 예컨대 코르티코스테로이드, 면역억제제 또는 세포독성제, 또는 항섬유화제, 예컨대 피르페니돈 또는 비특이적 키나제 억제제(예를 들어, 닌테다닙)로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 추가적 약학 제제와 조합으로 사용될 수 있다.

[0151] 본 발명의 약학 조성물은 경구, 비경구, 국소, 흡입, 비강내, 직장, 질내, 안구 및 귀와 같은 임의의 적합하게 효과적인 방식으로 투여될 수 있다. 본 발명의 화합물의 전달에 적합한 약학 조성물 및 이의 제조 방법은 당업자에게 용이하게 명백할 것이다. 이러한 조성물 및 이의 제조 방법은, 예를 들어 문헌["Remington's Pharmaceutical Sciences", 19th Edition (Mack Publishing Company, 1995)]에서 찾아볼 수 있다.

[0152] 경구 투여

[0153] 본 발명의 화합물은 경구 투여될 수 있다. 경구 투여는 화합물이 위장관으로 들어가도록 삼키는 것을 포함할 수 있거나, 화합물이 입에서 직접 혈류로 들어가는 볼점막 또는 설하 투여가 사용될 수 있다.

[0154] 경구 투여에 적합한 제형은 고체 제형, 예컨대 정제; 미립자, 액체 또는 분말을 함유하는 캡슐; 로젠지(액체 충전 포함), 츄, 다중 및 나노 미립자, 겔, 필름(점막 접착제 포함), 오뷸(ovule), 스프레이 및 액체 제형을 포함한다.

[0155] 액체 제형은 현탁액, 용액, 시럽 및 엘릭시르를 포함한다. 이러한 제형은 연질 또는 경질 캡슐의 충전제로 사용될 수 있고, 전형적으로 담체, 예를 들어 물, 에탄올, 프로필렌 글리콜, 메틸셀룰로스, 또는 적합한 오일, 및 하나 이상의 유화제 및/또는 현탁제를 포함한다. 액체 제형은 또한, 예를 들어 사쉐로부터 고체의 재구성에 의해 제조될 수 있다.

[0156] 본 발명의 화합물은 또한 신속 용해, 신속 붕해 투여 형태, 예컨대 문헌[Expert Opinion in Therapeutic Patents, 11 (6), 981-986 by Liang and Chen (2001)]에 기재된 것으로 사용될 수 있다.

[0157] 전형적인 정제는 제형화 화학자에게 공지된 표준 공정, 예를 들어 직접 압축, 과립화(건식, 습식 또는 용융), 용융 응고 또는 압출에 의해 제조될 수 있다. 정제 제형은 하나 이상의 층을 포함할 수 있고 코팅되지 않거나 코팅될 수 있다.

[0158] 경구 투여에 적합한 부형제의 예는 담체, 예를 들어 셀룰로스, 탄산 칼슘, 이염기성 인산 칼슘, 만니톨 및 시트르산 나트륨, 과립화 결합제, 예를 들어 폴리비닐피롤리딘, 하이드록시프로필셀룰로스, 하이드록시프로필메틸셀룰로스 및 젤라틴, 붕해제, 예를 들어 나트륨 전분 글리콜레이트 및 실리케이트, 윤활제, 예를 들어 마그네슘 스테아레이트 및 스테아르산, 습윤제, 예를 들어 나트륨 라우릴 설페이트, 방부제, 산화 방지제, 향료 및 착색제를 포함한다.

[0159] 경구 투여를 위한 고체 제형은 속방성 및/또는 변형 방출형으로 제형화될 수 있다. 변형 방출 제형은 지연, 지속, 펄스, 제어 이중, 표적 및 프로그래밍 방출을 포함한다. 고에너지 분산, 삼투 및 코팅된 입자와 같은 적절한 변형 방출 기술의 세부사항은 문헌[Verma et al, Pharmaceutical Technology On-line, 25 (2), 1-14 (2001)]에서 찾아볼 수 있다. 기타 변형 방출 제형은 US 6,106,864에 기재되어 있다.

[0160] 비경구 투여

[0161] 본 발명의 화합물은 또한 혈류 내로, 근육 내로, 또는 내부 기관 내로 직접 투여될 수 있다. 비경구 투여에 적합한 수단은 정맥내, 동맥내, 복강내, 척추강내, 뇌실내, 요도내, 흉골내, 두개내, 근육내 및 피하를 포함한다.

비경구 투여에 적합한 장치는 바늘(마이크로 바늘을 포함함) 주사기, 무바늘 주사기 및 주입 기술을 포함한다.

[0162] 비경구 제형은 전형적으로 부형제, 예컨대 염, 탄수화물 및 완충제(바람직하게는 pH 3 내지 9)를 함유할 수 있는 수용액이지만, 일부 용도의 경우, 이는 멸균 비-수성 용액 또는 적합한 비히클, 예컨대 멸균된 무발열원 물과 함께 사용되는 건조된 형태로 더욱 적합하게 제형화될 수 있다.

[0163] 멸균 조건 하에, 예를 들어 동결건조에 의한 비경구 제형의 제조는 당업자에게 주지된 표준 제약 기술을 사용하여 용이하게 달성될 수 있다.

[0164] 비경구 용액의 제조에 사용되는 화학식 (I)의 화합물의 용해도는 적합한 처리, 예를 들어 고에너지 분무-건조 분산액의 사용 및/또는 적절한 제형화 기술, 예컨대 용해도 증진제의 사용에 의해 증가될 수 있다.

[0165] 비경구 투여용 제형은 속방성 및/또는 변형 방출형으로 제형화될 수 있다. 변형 방출 제형은 지연, 지속, 펄스, 제어 이중, 표적 및 프로그래밍 방출을 포함한다.

[0166] 본 발명의 약학 조성물은 또한 혈액 뇌 장벽을 우회하거나 뇌에 직접 주사될 수 있는 당업계에 공지된 조성물 및 방법을 포함한다. 주사에 적합한 부위는 대뇌 피질, 소뇌, 중뇌, 뇌간, 시상하부, 척수 및 심실 조직, 및 경동맥 및 부신 수질을 포함하는 PNS를 포함한다.

[0167] 투여량

[0168] 화합물의 유효 투여량의 크기는 물론 치료할 질환의 중증도의 특성 및 투여 경로에 따라 달라질 것이다. 적절한 투여량의 선택은 의사의 소관이다. 1일 투여량 범위는 인간 및 비인간 동물의 체중 1 kg 당 약 10 μg 내지 약 100 mg이고, 일반적으로 투여량 당 체중 1 kg 당 10 μg 내지 30 mg일 수 있다. 상기 투여량은 1일 1회 내지 3회 투여될 수 있다.

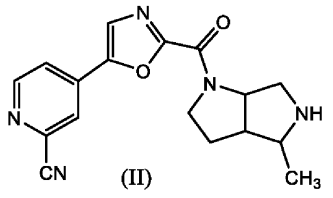
[0169] 예를 들어, 경구 투여는 5 mg 내지 1,000 mg, 예컨대 5 내지 500 mg의 총 1일 투여량이 필요할 수 있는 반면에, 정맥내 투여량은 단지 0.01 내지 30 mg/kg 체중, 예컨대 0.1 내지 10 mg/kg, 더욱 바람직하게는 0.1 내지 1 mg/kg 체중을 요구할 수 있다. 총 1일 투여량은 단일 또는 분할 투여량으로 투여될 수 있다.

[0170] 당업자는 또한 특정 질환의 치료 또는 예방에서 본 발명의 화합물이 "필요에 따라"(즉, 필요하거나 원하는 대로) 단일 투여량으로 취해질 수 있음을 이해할 것이다.

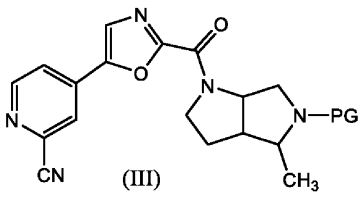
[0171] 합성 방법

[0172] 반응식 및 대표적인 실시예에서 하기 기재된 방법을 사용하여 화학식 (I)의 화합물을 제조할 수 있다. 적절한 경우, 반응식의 개별 변환이 상이한 순서로 완료될 수 있다. 본 발명은 하기 비제한적 실시예에 의해 예시되고, 이때 하기 약어 및 정의가 사용된다. 화합물은 액체 크로마토그래피-질량 분광법(LCMS) 또는 ^{1}H NMR, 또는 둘 다에 의해 특성규명되었다.

[0173] 추가 양상에 따라서, 본 발명은 표준 방법을 사용하여 화학식 (III)의 화합물을 탈보호하여 아민(II)을 제공하고, 이어서 시아노겐 브로마이드와 반응시켜 상응하는 화학식 (I)의 화합물을 제공하는 단계를 포함하는 화학식 (I)의 화합물의 제조 방법을 제공한다:



(II)



(III)

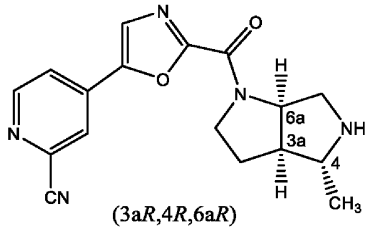
[0174]

[0175] 상기 식에서,

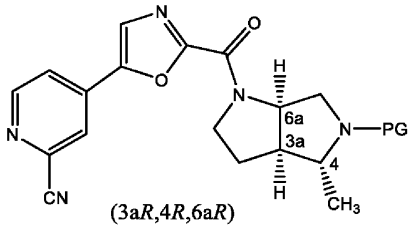
[0176] PG는 보호기이다.

[0177] 추가 양상에서, 본 발명은 화학식 (II) 및 (III)으로부터 선택되는 화합물 또는 상기 화합물의 염을 제공하고, 이때 PG는 보호기이다.

[0178] 바람직한 양태에서, 본 발명은 하기 화학식 (IIA) 및 (IIIA)로부터 선택되는 화합물 또는 상기 화합물의 염을 제공한다:



(3a*R*,4*R*,6a*R*)
(IIA)



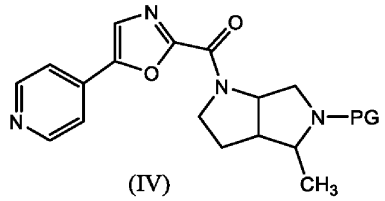
(3a*R*,4*R*,6a*R*)
(IIIA)

[0179]

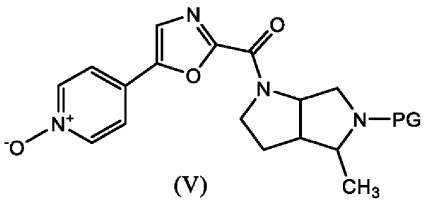
[0180] 상기 식에서,

[0181] PG는 보호기이다.

[0182] 추가 양상에 따라서, 본 발명은 표준 방법을 사용하여(예컨대, *m*-클로로퍼벤조산에 의해) 화학식 (IV)의 화합물을 산화시켜 *N*-옥사이드(V)를 제공하고, 이어서 트라이메틸실릴 시아나이드 및 다이메틸카바모일 클로라이드와 반응시켜 상응하는 화학식 (III)의 화합물을 제공할 수 있는 단계를 포함하는, 화학식 (III)의 화합물의 제조 방법을 제공한다:



(IV)



(V)

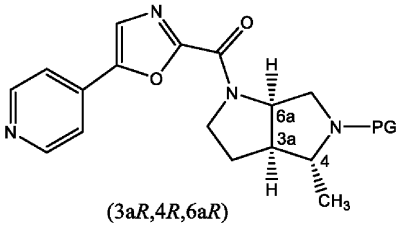
[0183]

[0184] 상기 식에서,

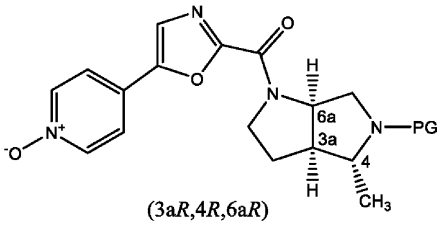
[0185] PG는 보호기이다.

[0186] 추가 양상에서, 본 발명은 화학식 (IV) 및 (V)로부터 선택되는 화합물 또는 상기 화합물의 염을 제공하고, 이때 PG는 보호기이다.

[0187] 바람직한 양태에서, 본 발명은 하기 화학식 (IVA) 및 (VA)로부터 선택되는 화합물 또는 상기 화합물의 염을 제공한다:



(3a*R*,4*R*,6a*R*)
(IVA)



(3a*R*,4*R*,6a*R*)
(VA)

[0188]

[0189] 상기 식에서,

[0190] PG는 보호기이다.

[0191] 보호기는 바람직하게는 tert-부틸옥시카보닐(BOC), 벤질옥시카보닐(Cbz), p-메톡시벤질카보닐(MeOZ), 9-플루오렌일메틸옥시카보닐(Fmoc), 아세틸(Ac), 벤조일(Bz), 벤질(Bn), 카바메이트, p-메톡시벤질(PMB), 3,4-다이메톡시벤질(DMPM), p-메톡시페닐(PMP), 토실(Ts), 트라이클로로에톡시카보닐(Troc), 4-니트로벤젠설폰일(Nosyl) 및 2-니트로페닐설펜일(Nps)로부터 선택된다. BOC 및 Cbz가 가장 바람직하다.

[0192] 약어

br s	넓은 단일항 (NMR 신호)	MeOH	메탄올
CO	일산화탄소	min	분
d	이중항 (NMR 신호)	MsCl	메탄설폰일 클로라이드
dba	다이벤질아세톤	N_2	질소
(L)-DBTA	다이벤조일-L-타르타르산 일수화물	NMP	*N*-메틸피롤리돈
DCM	다이클로로메탄	p-TSA	4-톨루엔설폰산
DMF	*N*,*N*-다이메틸포름아미드	*rac*	라세미
DMSO	다이메틸설폭사이드	rt	실온
d.r.	부분입체 이성질체 비율	R_f	체류 인자
e.e.	거울상 이성질체 과량	s	단일항 (NMR 신호)
ES	전기분무	SFC	초임계 유체 크로마토그래피
EtOAc	에틸 아세테이트	$SOCl_2$	티온일 클로라이드
			1,5,7-
h	시간	TBD	트라이아자바이사이클로[4.4
			.0]데크-5-엔
H_2	수소	TEA	트라이에틸아민
HPLC	고 성능 액체 크로마토그래피	TFA	트라이플루오로아세트산
IPA	프로판-2-올	THF	테트라하이드로퓨란
LCMS	액체 크로마토그래피 - 질량 분광법	TMSCN	트라이메틸실릴 시아나이드
m	다중항 (NMR 신호)	vol	부피
MeCN	아세토니트릴		

[0193]

[0194] LCMS / HPLC / SFC 방법

[0195] 방법 C

이동상	(A)	2 mM 암모늄 아세테이트 & 물 중 0.1% 포름산	
	(B)	아세토니트릴 중 0.1% 포름산	
기기		PDA 및 SQ 검출기가 장착된 Waters ACQUITY H Class	
컬럼		BEH C18 (50 mm x 2.1 mm) 1.7 μm	
유량		0.550 mL/min	
컬럼 오븐 온도		상온	
실행 시간		3.0 min	
구배			
시간 (min)	유량 (mL/min)	%A	%B
0.01	0.55	98	2
0.30	0.55	98	2
0.60	0.55	50	50
1.10	0.55	25	75
2.00	0.60	0	100
2.70	0.60	0	100
2.71	0.55	98	2
3.00	0.55	98	2

[0196]

[0197] 방법 C1

이동상	(A)	2 mM 암모늄 아세테이트 & 물 중 0.1% 포름산	
	(B)	아세토니트릴 중 0.1% 포름산	
기기		PDA 및 SQ 검출기가 장착된 Waters ACQUITY UPLC H Class	
컬럼		BEH C18 (50 mm x 2.1 mm) 1.7 μm	
유량		0.550 mL/min	
컬럼 오븐 온도		상온	
실행 시간		2.0 min	
구배			
시간 (min)	유량 (mL/min)	%A	%B
0.00	0.55	95	5
0.60	0.60	30	70
0.80	0.65	10	90
1.10	0.65	0	100
1.70	0.65	0	100
1.71	0.55	95	5
2.00	0.55	95	5

[0198]

[0199] 방법 E

이동상	(A)	물 중 0.1% v/v (30% v/v 수성 암모니아)	
	(B)	100% MeOH	
기기		PDA 검출기가 장착된 Waters e2695 HPLC	
컬럼		X-bridge C8 (250 x 4.6 mm), 5 μm	
컬럼 오븐 온도		45 °C	
유량		1.0 mL/ min	
실행 시간		45 min	
구배			
시간 (min)	유량 (mL/min)	%A	%B
0.0	1.0	10	90
5.00	1.0	20	80
10.00	1.0	30	70
30.00	1.0	30	70
35.00	1.0	60	40
35.01	1.0	90	10
40.00	1.0	90	10
40.01	1.0	10	90
45.00	1.0	10	90

[0200]

[0201] 방법 F

이동상	(A)	물 중 10 mM 암모늄 아세테이트	
	(B)	100% 아세토니트릴	
기기		Agilent 6120 질량 검출기 및 PDA 검출기가 부착된 Agilent 1290 Infinity RRLC	
컬럼		YMC TRIART, C18 (150 mm x 4.6 mm), 5 μm	
유량		1.0 mL/min	
컬럼 오븐 온도		상온	
실행 시간		12.0 min	
구배			
시간 (min)	유량 (mL/min)	%A	%B
0.01	1.0	90	10
5.00	1.0	10	90
7.00	1.0	0	100
11.00	1.0	0	100
11.01	1.0	90	10
12.00	1.0	90	10

[0202]

[0203] 방법 H

이동상	(A)	물 중 5 mM 암모늄 바이카본에이트	
	(B)	100% 아세토니트릴	
기기		2020 단일 사중극 질량 검출기가 장착된 Shimadzu Nexera UFLC	
컬럼		Waters X-Bridge C18 (50 x 4.6 mm) 3.5 μm	
컬럼 오븐 온도		상온	
유량		1.0 mL/min	
실행 시간		8.0 min	
구배			
시간 (min)	유량 (mL/min)	%A	%B
0.01	1.0	95	5
3.50	1.0	10	90
4.50	1.0	5	95
6.00	1.0	5	95
6.01	1.0	95	5
8.00	1.0	95	5

[0204]

[0205] 방법 H1

이동상	(A)	물 중 5 mM 암모늄 바이카본에이트	
	(B)	100% 아세토니트릴	
기기		2020 단일 사중극 질량 검출기가 장착된 Shimadzu Nexera UFLC	
컬럼		Waters X-Bridge C18 (50 x 4.6 mm) 3.5 μm	
컬럼 오븐 온도		상온	
유량		1.0 mL/min	
실행 시간		6.0 min	
구배			
시간 (min)	유량 (mL/min)	%A	%B
0.01	1.0	95	5
2.80	1.0	15	85
3.50	1.0	5	95
5.00	1.0	5	95
5.01	1.0	95	5
6.00	1.0	95	5

[0206]

[0207] 방법 H3

이동상	(A)	물 중 5 mM 암모늄 바이카본에이트	
	(B)	100% 아세토니트릴	
기기		Shimadzu Nexera 고압 UHPLC 및 LCMS-2020	
컬럼		Waters X-Bridge C18 (50 x 4.6 mm), 3.5 μm	
컬럼 오븐 온도		상온	
유량		1.0 mL/min	
실행 시간		6.0 min	
구배			
시간 (min)	유량 (mL/min)	%A	%B
0.01	1.0	95	5
2.80	1.0	15	85
3.50	1.0	5	95
5.00	1.0	5	95
5.01	1.0	95	5
6.00	1.0	95	5

[0208]

[0209] 방법 X

이동상	(A)	10 mM 암모늄 아세테이트 & 물 중 0.1% 포름산	
	(B)	아세토니트릴 중 0.1% 포름산	
기기		Agilent 6120 질량 검출기 및 PDA 검출기가 부착된 Agilent 1290 Infinity RRLC	
컬럼		YMC-Pack ODS-AQ (250 x 4.6 mm), 5 μm	
유량		1.0 mL/min	
컬럼 오븐 온도		상온	
실행 시간		30.0 min	
구배			
시간 (min)	유량 (mL/min)	%A	%B
0.01	1.0	90	10
10.00	1.0	60	40
20.00	1.0	20	80
25.00	1.0	0	100
28.00	1.0	0	100
28.01	1.0	90	10
30.00	1.0	90	10

[0210]

[0211] 방법 X2

이동상	(A)	물 중 0.1% v/v (30% v/v 수성 암모니아)	
	(B)	아세토니트릴 중 0.1% v/v (30% v/v 수성 암모니아)	
기기		PDA 검출기가 장착된 Waters e2695 HPLC	
컬럼		X-bridge C8 (250 x 4.6 mm), 5 μm	
유량		1.0 mL/min	
실행 시간		40.0 min	
구배			
시간 (min)	유량 (mL/min)	%A	%B
0.0	1.0	95	5
5.00	1.0	95	5
10.00	1.0	70	30
15.00	1.0	70	30
25.00	1.0	40	60
30.00	1.0	10	90
35.00	1.0	10	90
35.01	1.0	95	5

[0212]

[0213] 방법 Y4

이동상	(A)	액체 이산화탄소	
	(B)	프로판-2-올 : 아세토니트릴 (50:50) 중 0.1% 다이에틸아민	
기기		Waters SFC 조사기 및 PDA 검출기	
컬럼		Chiralpak IH (250 x 4.6 mm), 5 μm	
유량		4.0 mL/min	
실행 시간		10.0 min	
구배			
시간 (min)	유량 (mL/min)	%B 출발	%B 종료
0 내지 5	4.0	5	50
5 내지 10	4.0	50	50

[0214]

[0215] 방법 Y11

이동상	(A)	n-헥산 중 0.1% 다이에틸아민	
	(B)	프로판-2-올 : 아세토니트릴 (70:30) 중 0.1% 다이에틸아민	
기기		Agilent 1260 Series HPLC 및 PDA 검출기	
컬럼		Chiralpak IC (250 x 4.6 mm), 5 μm	
유량		1.0 mL/min	
실행 시간		25.0 min	
구배			
시간 (min)	유량 (mL/min)	%A	%B
0.01	1.0	80	20
5.00	1.0	50	50
10.00	1.0	30	70
20.00	1.0	30	70
20.01	1.0	80	20
25.00	1.0	80	20

[0216]

[0217] 방법 Y13

이동상	(A)	액체 이산화탄소	
	(B)	프로판-2-올 : 아세토니트릴 (50:50) 중 0.1% 다이에틸아민	
기기		Waters SFC 조사기 및 PDA 검출기	
컬럼		Chiralpak IC (250 x 4.6 mm), 5 μm	
유량		4.0 mL/min	
실행 시간		8.0 min	
구배			
시간 (min)	유량 (mL/min)	%B 출발	%B 종료
0 내지 5	4.0	5	50
5 내지 8	4.0	50	50

[0218]

[0219] 방법 Y15

이동상	(A)	n-헥산 중 0.1% 다이에틸아민	
	(B)	프로판-2-올 : 아세토니트릴 (70:30) 중 0.1% 다이에틸아민	
기기		Agilent 1260 series HPLC 및 PDA 검출기	
컬럼		Chiralpak IC (250 x 4.6 mm), 5 μm	
유량		1.0 mL/min	
실행 시간		25.0 min	
구배			
시간 (min)	유량 (mL/min)	%A	%B
0.01	1.0	80	20
5.00	1.0	45	55
10.00	1.0	30	70
15.00	1.0	30	70
20.00	1.0	80	20
25.00	1.0	80	20

[0220]

[0221] 방법 Y17

이동상	(A)	메탄올 중 0.1% 다이에틸아민	
	(B)	아세토니트릴 중 0.1% 다이에틸아민	
기기		Agilent 1260 series HPLC 및 PDA 검출기	
컬럼		Chiralpak IG (250 x 4.6 mm), 5 μm	
유량		1.0 mL/min	
실행 시간		20.0 min	
등용매			
시간 (min)	유량 (mL/min)	%A	%B
0.01	20.00	50	50

[0222]

[0223] 방법 Y20

이동상	(A)	액체 이산화탄소	
	(B)	프로판-2-올 : 아세토니트릴 (50:50) 중 0.1% 다이에틸아민	
기기		Waters SFC 조사기 및 PDA 검출기	
컬럼		Chiralpak IH (250 x 4.6 mm), 5 μm	
유량		4.0 mL/min	
실행 시간		9.0 min	
구배			
시간 (min)	유량 (mL/min)	%B 출발	%B 종료
0 내지 5	4.0	5	50
5 내지 9	4.0	50	50

[0224]

[0225] 방법 Y22

이동상	(A)	액체 이산화탄소	
	(B)	메탄올 중 0.2% NH_4OH	
기기		PDA 검출기가 장착된 Waters SFC 조사기	
컬럼		Chiralpak IC (250 x 4.6 mm), 5 μm	
유량		4.0 mL/min	
실행 시간		10 min	
구배			
시간 (min)	유량 (mL/min)	%B 출발	%B 종료
0 내지 5	4.0	5	50
5 내지 10	4.0	50	50

[0226]

[0227] 방법 Y23

이동상	(A)	메탄올 중 0.1% 다이에틸아민	
	(B)	액체 이산화탄소	
기기		PDA 검출기가 장착된 Agilent 1100 series HPLC	
컬럼		Chiralpak IG (250 x 4.6 mm), 5 μm	
유량		1.0 mL/ min	
실행 시간		8 min	
등용매			
시간 (min)	유량 (mL/min)	%A	%B
0 내지 8	1.0	100	0

[0228]

[0229] 방법 Y24

이동상	(A)	액체 이산화탄소	
	(B)	메탄올 중 0.1% 다이에틸아민 : 아세토니트릴 (50:50)	
기기		PDA 검출기가 장착된 Waters SFC 조사기	
컬럼		Chiralpak AD-H (250 x 4.6 mm), 5 μm	
유량		4.0 mL/ min	
실행 시간		14 min	
구배			
시간 (min)	유량 (mL/min)	%B 출발	%B 종료
0 내지 5	4.0	5	50
5 내지 9	4.0	50	50

[0230]

[0231] 방법 Y25

이동상	(A)	액체 이산화탄소	
	(B)	프로판-2-올 : 아세토니트릴 (50:50) 중 0.1% 다이에틸아민	
기기		PDA 검출기가 장착된 Waters SFC 조사기	
컬럼		Chiralpak AD-H (250 x 4.6 mm), 5 μm	
유량		4.0 mL/ min	
실행 시간		15 min	
구배			
시간 (min)	유량 (mL/min)	%B 출발	%B 종료
0 내지 5	4.0	5	50
5 내지 10	4.0	50	50

[0232]

[0233] 방법 Y26

이동상	(A)	메탄올 중 0.1% 다이에틸아민	
	(B)	액체 이산화탄소	
기기		PDA 검출기가 장착된 Agilent 1100 series HPLC	
컬럼		Chiralpak IG (250 x 4.6 mm), 5 μm	
유량		1.0 mL/ min	
실행 시간		9 min	
등용매			
시간 (min)	유량 (mL/min)	%A	%B
0 내지 9	1.0	100	0

[0234]

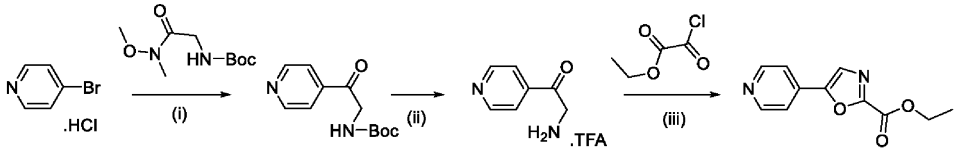
[0235] 방법 Y28

이동상	(A)	n-헥산 중 0.1% 다이에틸아민	
	(B)	프로판-2-올 : 아세토니트릴 (70:30) 중 0.1% 다이에틸아민	
기기		PDA 검출기가 장착된 Agilent 1260 infinity series HPLC	
컬럼		Chiralpak IC (250 x 4.6 mm), 5 μm	
유량		1.0 mL/min	
실행 시간		40.0 min	
등용매			
시간 (min)	유량 (mL/min)	%A	%B
0.01 내지 40	1.0	60	40

[0236]

[0237] 중간체 A

[0238] *에틸 5-(피리딘-4-일)옥사졸-2-카복실레이트*

[0239] 

[0240] (i) *i*-PrMgCl, THF, rt; (ii) TFA, DCM, 0℃ 내지 rt; (iii) TEA, DCM, 0℃ 내지 rt.

[0241] 단계 (i)

[0242] *tert*-부틸 (2-옥소-2-(피리딘-4-일)에틸)카밤에이트

[0243] 4-브로모피리딘 하이드로클로라이드(CAS 19524-06-2, CombiBlocks, 8.0 g, 41.2 mmol)를 5% 수성 Na_2CO_3(300 mL)으로 처리하고, DCM(2 x 100 mL)으로 추출하였다. 합한 유기 상을 Na_2SO_4 상에서 건조하고, 감압 하에 농축하였다. 잔사를 무수 THF(50 mL)에 즉시 용해시키고, 이소프로필마그네슘 클로라이드(THF 중 2 M, 20.57 mL, 41.2 mmol)를 실온에서 N_2 하에 적가하였다. 생성된 어두운 용액을 실온에서 1.5시간 동안 교반하였고, 이러한 시간 동안 침전물이 형성되었다. 그 동안, THF(50 mL) 중 *tert*-부틸-(2-(메톡시(메틸)아미노)-2-옥소에틸)카밤에이트(7.1 g, 32.9 mmol)의 교반된 현탁액에 이소프로필마그네슘 클로라이드(THF 중 2 M, 16.4 mL, 32.9 mmol)를 0℃에서 적가하였다. 용액을 10분 동안 교반한 후, 실온에서 피리딜 그리냐르(Grignard)에 적가하였다. 혼합물을 실온에서 16시간 동안 교반하고, 이어서 물(200 mL)에 붓고, EtOAc(2 x 200 mL)로 추출하였다. 합한 유기 상을 Na_2SO_4 상에서 건조하고, 감압 하에 농축하였다. 잔사를 컬럼 크로마토그래피(*n*-헥산 중 30% EtOAc)로 정제하여 *tert*-부틸 (2-옥소-2-(피리딘-4-일)에틸)카밤에이트(4.8 g, 20.3 mmol, 49% 수율)를 수득하였다.

[0244] LCMS: 방법 C, 1.40 min, MS: ES+ 237.1; ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ ppm: 8.88 - 8.89 (d, *J* = 5.6 Hz, 2H), 7.77 - 7.79 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H), 5.49 (br s, 1H), 4.69 - 4.71 (d, *J* = 4.4 Hz, 2H), 1.52 (s, 9H).

[0245] 단계 (ii)

[0246] *2-아미노-1-(피리딘-4-일)에탄-1-온 TFA 염*

[0247] DCM(50 mL) 중 *tert*-부틸 (2-옥소-2-(피리딘-4-일)에틸)카밤에이트(4.8 g, 20.34 mmol)의 교반된 용액에 TFA(2.4 mL, 5 vol)를 0℃에서 적가하였다. 혼합물을 실온으로 천천히 가온하고, 2시간 동안 교반하고, 이어서 감압 하에 DCM(3 x 100 mL)으로 농축하여 2-아미노-1-(피리딘-4-일)에탄-1-온 TFA 염(7.0 g, 정량적인 수율)을 수득하였다.

[0248] LCMS: 방법 C, 0.29 min, MS: ES+ 136.96; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: 8.91 - 8.93 (d, *J* = 6.0 Hz, 2H), 8.36 (br s, 3H), 7.92 - 7.94 (d, *J* = 6.0 Hz, 2H), 4.68 (t, *J* = 5.2 Hz, 2H).

[0249] 단계 (iii)

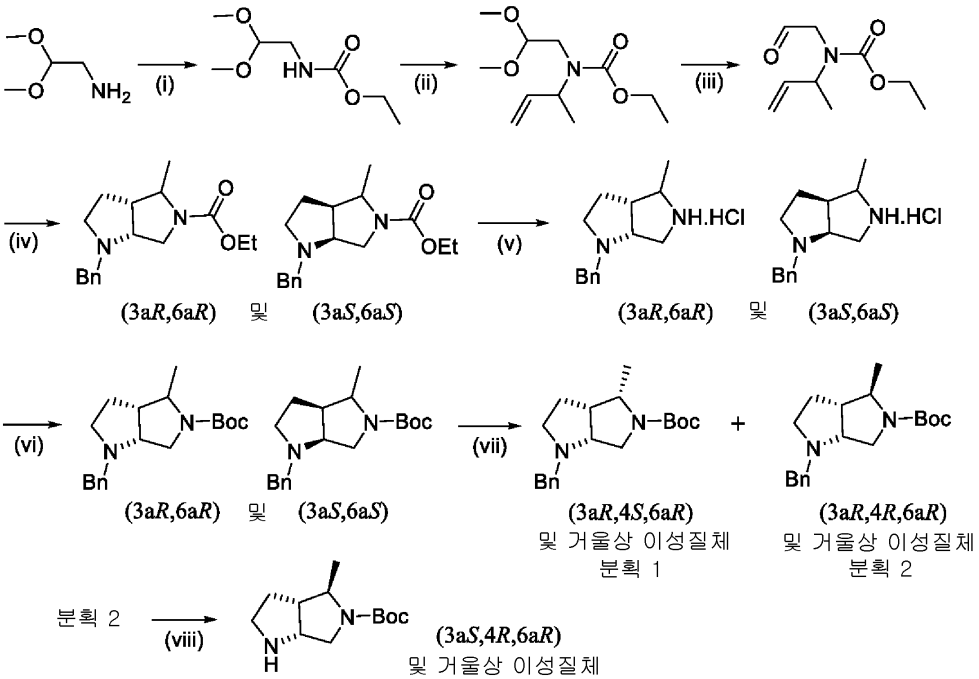
[0250] *에틸 5-(피리딘-4-일)옥사졸-2-카복실레이트*

[0251] 본 반응은 2회 수행되었다. DCM(80 mL) 중 2-아미노-1-(피리딘-4-일)에탄-1-온 TFA 염(3.0 g, 12 mmol)의 교반된 용액에 TEA(3.75 g, 5.17 mL, 37.2 mmol)를 실온에서 적가하였다. 에틸 클로로옥살레이트(1.63 g, 1.33 mL, 12 mmol)를 0℃에서 적가하였다. 혼합물을 실온으로 천천히 가온하고, 24시간 동안 교반하였다. 2개의 회분을 합하고, 물(200 mL)에 붓고, DCM(2 x 200 mL)으로 추출하였다. 합한 유기 상을 Na_2SO_4 상에서 건조하고, 감압 하에 농축하였다. 잔사를 컬럼 크로마토그래피(*n*-헥산 중 40% EtOAc)로 정제하여 에틸 5-(피리딘-4-일)옥사졸-2-카복실레이트(0.45 g, 2.06 mmol, 2 단계에 걸쳐 10% 수율)를 수득하였다.

[0252] LCMS: 방법 C, 1.29 min, MS: ES+ 219.25; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: 8.74 - 8.75 (d, *J* = 5.6 Hz, 2H), 8.29 (s, 1H), 7.79 - 7.80 (d, *J* = 6.0 Hz, 2H), 4.40-4.45 (q, *J* = 7.2, Hz, 2H), 1.37 (t, *J* = 6.8 Hz, 3H).

[0253] 중간체 B

[0254] *rac-tert-부틸-(3aS,4R,6aR)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카복실레이트*



[0255]

[0256] (i) EtOC(O)Cl, NaOH, DCM, 0℃ 내지 rt; (ii) NaH, DMF, 3-클로로부트-1-엔, 0℃ 내지 rt; (iii) HCO_2H, 0℃, 이어서 100℃; (iv) *N*-벤질글리신, 톨루엔, 110℃; (v) 농축 HCl, 110℃; (vi) $(BOC)_2O$, TEA, 4-다이메틸아미노피리딘, DCM, 0℃ 내지 rt; (vii) 크로마토그래피 분리; (viii) $Pd(OH)_2$, MeOH, H_2, rt.

[0257] 단계 (i)

[0258] *에틸 (2,2-다이메톡시에틸)카밤에이트*

[0259] DCM(100 mL) 중 2,2-다이메톡시에탄-1-아민(CAS 22483-09-6, Combi-blocks, 12.5 g, 118.9 mmol)의 교반된 용액에 물(31 mL) 중 수성 나트륨 하이드록사이드(5.2 g, 130.8 mmol) 용액을 0℃에서 적가하였다. 에틸 클로로포름에이트(14.2 g, 130.8 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 16시간 동안 교반하였다. 이러한 혼합물 및 중복 반응 혼합물을 물(500 mL)에 붓고, DCM(3 x 500 mL)으로 추출하였다. 합한 유기 상을 무수 Na_2SO_4 상에서 건조하고, 여과하고, 감압 하에 농축하여 에틸 (2,2-다이메톡시에틸)카밤에이트(36.5 g, 정량적인 수율)를 수득하였다.

[0260] ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: 7.15 (s, 1H), 4.34 (t, *J* = 5.2 Hz, 1H), 3.98 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H), 3.24 (s, 6H), 3.05 (t, *J* = 5.6 Hz, 2H), 1.15 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H).

[0261] 단계 (ii)

[0262] *에틸 부트-3-엔-2-일-(2,2-다이메톡시에틸)카밤에이트*

[0263] DMF(50 mL) 중 에틸 (2,2-다이메톡시에틸)카밤에이트(12.1 g, 68.3 mmol)의 교반된 용액에 NaH(광유 중 60%, 6.84 g, 170.9 mmol)를 분할식으로 0℃에서 2시간에 걸쳐 첨가하였다. 혼합물을 0℃에서 2시간 동안 교반하고, 이어서 3-클로로부트-1-엔(7.6 mL, 75.2 mmol)을 첨가하고, 혼합물을 실온에서 20시간 동안 교반하였다. 이러한 혼합물 및 2개의 중복 반응 혼합물을 빙랭수(300 mL)로 급랭시키고, EtOAc(3 x 500 mL)로 추출하였다. 합한 유기 상을 냉수(3 x 150 mL) 및 염수(2 x 150 mL)로 세척하였다. 유기 상을 무수 Na_2SO_4 상에서 건조하고, 감압 하에 농축하였다. 잔사를 컬럼 크로마토그래피(염기성 알루미늄 산화물, *n*-헥산 중 5% EtOAc)로 정제하여 에틸 부트-3-엔-2-일-(2,2-다이메톡시에틸)카밤에이트(15.5 g, 67.0 mmol, 2 단계에 걸쳐 28% 수율)를 수득하였다.

[0264] ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: 5.88 - 5.94 (m, 1 H), 5.08 - 5.11 (m, 2H), 4.41 - 4.48 (m, 2H), 4.05 - 4.06 (m, 2H), 3.18 - 3.35 (m, 8H), 1.18 - 1.24 (m, 6H).

[0265] 단계 (iii)

[0266] *에틸 부트-3-엔-2-일(2-옥소에틸)카밤에이트*

[0267] 에틸 부트-3-엔-2-일(2,2-다이메톡시에틸)카밤에이트(15.5 g, 67.0 mmol)의 교반된 용액에 포름산(36 mL)을 0℃에서 적가하였다. 혼합물을 100℃에서 2시간 동안 가열한 후, 실온으로 냉각하고, 빙랭수(200 mL)에 붓고, EtOAc(3 x 300 mL)로 추출하였다. 합한 유기 상을 포화 $NaHCO_3$ 용액(3 x 100 mL)으로 세척하였다. 유기 상을 무수 Na_2SO_4 상에서 건조하고, 감압 하에 농축하여 에틸 부트-3-엔-2-일-(2-옥소에틸)카밤에이트(11.3 g, 61.1 mmol, 91% 수율)를 수득하였다.

[0268] ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: 9.47 (s, 1H), 5.75 - 5.85 (m, 1H), 5.10 - 5.15 (m, 2H), 4.65 - 4.77 (m, 1H), 3.80 - 4.07 (m, 4H), 1.10 - 1.18 (m, 6H).

[0269] 단계 (iv)

[0270] *rac-에틸-(3aR,6aR)-1-벤질-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카복실레이트*

[0271] 톨루엔(100 mL) 중 에틸 부트-3-엔-2-일-(2-옥소에틸)카밤에이트(4.7 g, 25.4 mmol)의 교반된 용액에 *N*-벤질글리신(CAS 17136-36-6, Combi-blocks, 4.2 g, 25.4 mmol)을 실온에서 첨가하였다. 혼합물을 110℃에서 16시간 동안 가열한 후, 감압 하에 농축하였다. 잔사를 컬럼 크로마토그래피(염기성 알루미늄 산화물, *n*-헥산 중 7% EtOAc)로 정제하여 *rac*-에틸 (*3aR,6aR*)-1-벤질-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤-5(1*H*)-카복실레이트(3.2 g, 11.1 mmol, 43% 수율)를 수득하였다.

[0272] LCMS: 방법 C, 1.33 min, 2개의 넓은 피크가 합체되고, 2개의 부분입체 이성질체의 기준선 분리가 없음, MS: ES+ 289.3.

[0273] 단계 (v)

[0274] *rac-(3aR,6aR)-1-벤질-4-메틸옥타하이드로피롤로[3,4-b]피롤 HCl 염*

[0275] 농축 HCl(40 mL, 12.5 vol) 중 *rac*-에틸 (3a*R*,6a*R*)-1-벤질-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤-5(1*H*)-카복실레이트(3.2 g, 11.1 mmol)의 교반된 용액을 100℃에서 16시간 동안 가열하였다. 혼합물을 실온으로 냉각하고, 감압 하에 농축하여 *rac*-(3a*R*,6a*R*)-1-벤질-4-메틸옥타하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤 HCl 염(3.72 g, 정량적인 수율)을 수득하였다.

[0276] LCMS: 방법 F, 4.45 min 및 4.92 min, 2개의 부분입체 이성질체, MS: ES+ 217.3.

[0277] 단계 (vi)

[0278] *rac-tert-부틸-(3aR,6aR)-1-벤질-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카복실레이트*

[0279] DCM(40 mL) 중 *rac*-(3a*R*,6a*R*)-1-벤질-4-메틸옥타하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤 HCl 염(3.7 g, 14.65 mmol)의 교반된 용액에 트라이에틸아민(10.3 mL, 73.5 mmol), 4-다이메틸아미노피리딘(0.09 g, 0.73 mmol) 및 다이-*tert*-부틸 다이카보네이트(3.83 g, 17.58 mmol)를 0℃에서 첨가하였다. 혼합물을 실온으로 가온하고, 5시간 동안 교반하고, 이어서 물(100 mL)에 붓고, DCM(2 x 150 mL)으로 추출하였다. 합한 유기 상을 무수 Na_2SO_4 상에서 건조하고, 감압 하에 농축하였다. 잔사는 단계 (vii)에서 크로마토그래피 분리를 수행하였다.

[0280] 단계 (vii)

[0281] *rac-tert-부틸-(3aR,4R,6aR)-1-벤질-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카복실레이트*(주요 이성질체), 및

[0282] *rac-tert-부틸-(3aR,4S,6aR)-1-벤질-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카복실레이트*(소수 이성질체)

[0283] 단계 (vi)으로부터의 잔사를 컬럼 크로마토그래피(염기성 알루미늄 산화물, *n*-헥산 중 2% EtOAc)로 정제하여 2개의 별개의 분획을 4.2:1 비로 수득하였다.

[0284] 제1 용리 분획(분획 1)인 *rac-tert*-부틸-(3a*R*,4*S*,6a*R*)-1-벤질-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤-5(1*H*)-카복실레이트(소수 이성질체, 0.50 g)를 무색 오일로서 단리하였다. TLC: Rf 0.5 (30% EtOAc/*n*-헥산).

[0285] LCMS: 방법 C, 1.46 min, MS: ES+ 317.4 및 방법 X, 13.70 min, MS: ES+ 317.3.

[0286] 제2 용리 분획(분획 2)인 *rac-tert*-부틸-(3a*R*,4*R*,6a*R*)-1-벤질-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤-5(1*H*)-카복실레이트(주요 이성질체, 2.10 g, 6.63 mmol, 45% 수율)를 무색 오일로서 단리하였다. TLC: Rf 0.4 (30% EtOAc / *n*-헥산).

[0287] LCMS: 방법 C, 1.46 min, MS: ES+ 317.4 및 방법 X, 13.37 min, MS: ES+ 317.3; 방법 X에 의해 d.r. 99:1.

[0288] 분획 2를 단계 (viii)로 전달하였다.

[0289] 단계 (viii)

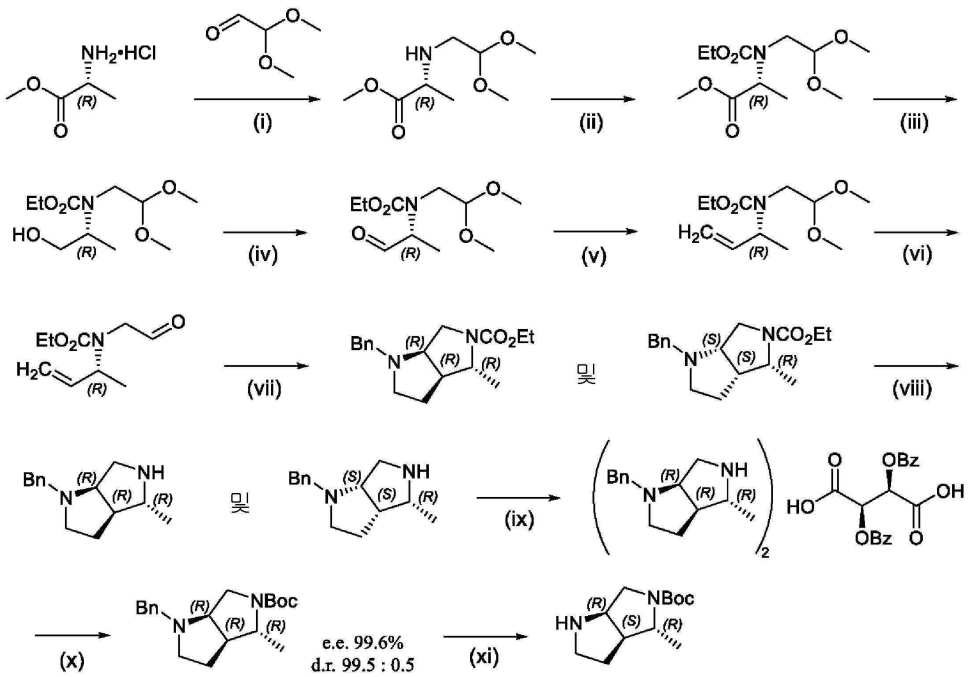
[0290] *rac-tert-부틸-(3aS,4R,6aR)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카복실레이트*

[0291] MeOH(10 mL) 중 *rac-tert*-부틸 (3a*R*,4*R*,6a*R*)-1-벤질-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-*b*]-피롤-5(1*H*)-카복실레이트(분획 2, 주요 이성질체, 0.50 g, 1.58 mmol)의 교반된 용액에 20% $Pd(OH)_2$(50% 수분, 250 mg, 50% w/w)를 첨가하고, H_2 기체를 4시간 동안 실온에서 퍼징하였다. 혼합물을 셀라이트 층을 통해 여과를 하고, MeOH(50 mL)로 세척하고, 감압 하에 농축하여 *rac-tert*-부틸-(3a*S*,4*R*,6a*R*)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤-5(1*H*)-카복실레이트(0.33 g, 1.46 mmol, 92% 수율)를 수득하였다.

[0292] LCMS: 방법 C, 1.29 min, MS: ES+ 227.32.

[0293] 중간체 C

[0294] *tert-부틸-(3aS,4R,6aR)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카복실레이트*

[0295] 

[0296] 단계 (i)

[0297] *메틸 (2,2-다이메톡시에틸)-D-알라닌에이트*

[0298] MeOH(100 mL) 중 2,2-다이메톡시아세트알데하이드(97.01 g, 931.89 mmol)의 교반된 혼합물에 메틸 D-알라닌에이트 HCl(100.0 g, 716.84 mmol)을 0℃에서 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 나트륨 시아노보로하이드라이드(58.52 g, 931.89 mmol)를 분할식으로 N_2 대기 하에 0℃에서 첨가하고, 실온에서 18시간 동안 교반하였다. 혼합물을 셀라이트 상에서 여과하고, MeOH(2 x 200 mL)로 세척하였다. 여액을 감압 하에 농축하고, 잔사를 물(1,000 mL)에 붓고, DCM(2 x 1,000 mL)으로 추출하였다. 합한 유기 상을 나트륨 설페이트 상에서 건조하고, 감압 하에 40℃에서 농축하여 메틸 (2,2-다이메톡시에틸)-D-알라닌에이트를 연황색 오일(135.0 g, 705.95 mmol, 98% 수율)로서 수득하였다.

[0299] ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ ppm: 4.41 - 4.54 (m, 1H), 3.75 (s, 3H), 3.47 - 3.50 (m, 1H), 3.38 - 3.46 (m, 6H), 2.76 - 2.81 (m, 1H), 2.64 - 2.68 (m, 1H), 1.31 - 1.35 (d, J = 7.2 Hz, 3H).

[0300] 메틸 D-알라닌에이트 HCl(500 g, 1,200 g 및 1,200 g 스케일)을 사용하여 동일한 방식으로 상기 방법을 3회 반복하여 부제 화합물(각각 680 g, 1,625 g 및 1,625 g)을 수득하였다. 3개의 회분 모두의 합한 중량: 4,065 g, 21.25 mol.

[0301] 단계 (ii)

[0302] *메틸 N-(2,2-다이메톡시에틸)-N-(에톡시카보닐)-D-알라닌에이트*

[0303] 물(810 mL) 중 나트륨 바이카보네이트(88.95 g, 1,058 mmol)의 교반된 혼합물에 THF(810 mL) 중 메틸 (2,2-다이메톡시에틸)-D-알라닌에이트(135 g, 705.95 mmol)의 용액을 실온에서 첨가하였다. 에틸 클로로포름에이트(91.93 g, 847.14 mmol)를 냉각된 2상 용액(-5 내지 5℃)에 첨가하고, 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 물(1.35 L)에 붓고, EtOAc(2 x 675 mL)로 추출하였다. 합한 유기 상을 $KHSO_4$(675 mL)의 포화 용액으로 세척하고, 나트륨 설페이트 상에서 건조하고, 감압 하에 40℃에서 농축하여 메틸 N-(2,2-다이메톡시에틸)-N-(에톡시카보닐)-D-알라닌에이트를 오일(150.0 g, 569.71 mmol, 80% 수율)로서 수득하였다.

[0304] ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ ppm: 4.52 (m, 2H), 4.15 - 4.27 (m, 2H), 3.78 (s, 3H), 3.40 - 3.63 (m, 9H), 1.50 - 1.52 (d, J = 6.8 Hz, 2H), 1.23 - 1.39 (m, 3H).

[0305] 메틸 (2,2-다이메톡시에틸)-D-알라닌에이트(680 g, 1,000 g, 1,000 g 및 1,250 g 스케일)를 사용하여 동일한 방식으로 상기 방법을 4회 반복하여 부제 화합물(각각 775 g, 1,360 g, 1,365 g 및 1,375 g)을 수득하였다. 3개의 회분 모두의 합한 중량: 5,025 g, 19.09 mol.

[0306] 단계 (iii)

[0307] *에틸 (R)-(2,2-다이메톡시에틸)(1-하이드록시프로판-2-일)카밤에이트*

[0308] 에탄올(1.8 L) 및 THF(200 mL) 중 메틸 *N*-(2,2-다이메톡시에틸)-*N*-(에톡시카보닐)-D-알라닌에이트(100 g, 379.8 mmol)의 교반된 혼합물에 $LiBH_4$(THF 중 2 M, 949.5 mL, 1,899.04 mmol)를 0℃에서 적가하였다. 혼합물을 실온에서 18시간 동안 교반하고, 이어서 물(500 mL) 중 암모늄 클로라이드(50 g)의 차가운 용액을 2회 첨가하여 급랭시키고, 감압 하에 농축하여 더 휘발성인 유기 용매를 제거하였다. 잔사를 EtOAc(500 mL)에 용해시켰다. 유기 상을 분리하고, 나트륨 설페이트 상에서 건조하고, 감압 하에 40℃에서 농축하여 에틸 (*R*)-(2,2-다이메톡시에틸)(1-하이드록시프로판-2-일)카밤에이트를 오일(72.0 g, 306.01 mmol, 81% 수율)로서 수득하였다.

[0309] ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ ppm: 4.85 - 4.86 (m, 1H), 4.65 (m, 1H), 4.15 - 4.24 (m, 3H), 3.71 - 3.72 (m, 2H), 3.41 - 3.56 (m, 6H), 3.14 -3.19 (m, 1H), 2.99 - 3.05 (m, 2H), 1.28 - 1.34 (m, 3H), 1.13 - 1.15 (m, 1H), 1.03 - 1.05 (m, 1H).

[0310] 메틸 N-(2,2-다이메톡시에틸)-N-(에톡시카보닐)-D-알라닌에이트(500 g, 500 g, 1,200 g, 1,200 g 및 1,200 g 스케일)를 사용하여 동일한 방식으로 상기 방법을 5회 반복하여 부제 화합물(각각 336 g, 336 g, 929 g, 930 g 및 930 g)을 수득하였다. 3개의 회분 모두의 합한 중량: 3,533 g, 15.01 mol.

[0311] 단계 (iv)

[0312] *에틸 (R)-(2,2-다이메톡시에틸)(1-옥소프로판-2-일)카밤에이트*

[0313] DCM:물(1.04 L, 1:1) 중 에틸 (*R*)-(2,2-다이메톡시에틸)(1-하이드록시프로판-2-일)카밤에이트(400.0 g, 1,700.1 mmol)의 교반된 혼합물에 $NaHCO_3$(428 g, 5,100 mmol) 및 TEMPO(2.6 g, 17.0 mmol)를 실온에서 첨가하였다. 나트륨 하이포클로라이트의 용액(1 M NaOCl 용액을 고체 NaOCl:$5H_2O$로부터 새로 제조하였음, 391.1 g, 2,210.13 mmol, 4.98 L 물로 희석됨)을 2상 용액에 0℃에서 첨가하였다. 혼합물을 실온으로 가온하고, 18시간 동안 교반하고, 이어서 10%(w/v) 수성 나트륨 티오설페이트 용액(2.8 L)으로 조심스럽게 급랭시키고, DCM(2 x 4.0 L)으로 추출하였다. 유기 상을 나트륨 설페이트 상에서 건조하고, 감압 하에 40℃에서 농축하여 에틸 (*R*)-(2,2-다이메톡시에틸)(1-하이드록시프로판-2-일)카밤에이트를 오일(360 g, 1,543.3 mmol, 90.78% 수율)로서 수

득하였다.

[0314] ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ ppm: 9.59 (s, 1H), 4.46 - 4.48 (m, 1H), 4.16 - 4.24 (m, 2H), 3.84 - 3.89 (m, 1H), 3.52 - 3.56 (m, 1H), 3.42 - 3.47 (m, 6H), 3.30 - 3.40 (m, 1H), 1.38 - 1.41 (m, 3H), 1.22 - 1.34 (m, 3H).

[0315] 에틸 (*R*)-(2,2-다이메톡시에틸)(1-하이드록시프로판-2-일)카밤에이트(1,100 g, 840 g 및 1,200 g)를 사용하여 동일한 방식으로 상기 방법을 3회 반복하여 부제 화합물(각각 1,026 g, 820 g 및 1,020 g)을 수득하였다. 3개의 회분 모두의 합한 중량: 3,226 g, 13.83 mol.

[0316] 단계 (v)

[0317] *에틸 (R)-부트-3-엔-2-일(2,2-다이메톡시에틸)카밤에이트*

[0318] THF(1.8 L) 중 메틸트라이페닐포스포늄 브로마이드(137.7 g, 385.8 mmol)의 교반된 혼합물에 KHMDS(THF 중 1 M, 401.26 ml, 401.2 mmol)를 0℃에서 적가하였다. 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하고, 이어서 THF(576 mL) 중 에틸 (*R*)-(2,2-다이메톡시에틸)(1-하이드록시프로판-2-일)카밤에이트(72.0 g, 308.6 mmol)의 용액을 -78℃에서 N_2 대기 하에 적가하였다. 혼합물을 실온에서 18시간 동안 교반한 후, tMeOH(2.2 mL)로 급랭시키고, 30분 동안 실온에서 교반하였다. 혼합물을 농축하고, 헥산(3 x 1,500 mL)으로 공동 증류시키고, 0℃로 냉각하고, 여과하여 침전된 $MePPh_2O$ 및 PPh_3O를 제거하였다. 유기 상을 농축하고, 냉각하고, 재여과하였다. 생성된 여액을 감압 하에 40℃에서 농축하여 에틸 (*R*)-부트-3-엔-2-일(2,2-다이메톡시에틸)카밤에이트(65 g, 1,543.3 mmol, 91% 수율)를 연갈색 오일로서 수득하였다.

[0319] ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) ppm: δ 5.92 - 6.03 (m, 1H), 5.11 - 5.16 (m, 1H), 4.52 (s, 2H), 4.17 - 4.23 (m, 2H), 3.45 (s, 6H), 3.27 (m, 2H), 2.67 - 2.72 (m, 1H), 1.26 - 1.33 (m, 6H).

[0320] 에틸 (R)-(2,2-다이메톡시에틸)(1-하이드록시프로판-2-일)카밤에이트(735 g, 1,417 g 및 1,020 g)를 사용하여 동일한 방식으로 상기 방법을 3회 반복하여 부제 화합물(각각 644 g, 1,262 g 및 860 g)을 수득하였다. 3개의 회분 모두의 합한 중량: 2,831 g, 12.24 mol.

[0321] 단계 (vi)

[0322] *에틸 (R)-부트-3-엔-2-일(2-옥소에틸)카밤에이트*

[0323] 아세톤(6.0 L) 및 물(600 mL) 중 에틸 (*R*)-부트-3-엔-2-일(2,2-다이메톡시에틸)카밤에이트(300.0 g, 1,297.07 mmol)의 교반된 혼합물에 p-톨루엔 설폰산 일수화물(78.9 g, 415.06 mmol)을 실온에서 첨가하였다. 혼합물을 60℃에서 18시간 동안 가열하고, 실온으로 냉각하고, 감압 하에 농축하였다. 혼합물을 농축하고, 잔사를 포화 $NaHCO_3$ 용액(1,500 mL)에 붓고, EtOAc(2 x 1,000 mL)로 추출하였다. 합한 유기 상을 무수 Na_2SO_4 상에서 건조하고, 여과하고, 감압 하에 농축하여 에틸 (*R*)-부트-3-엔-2-일(2-옥소에틸)카밤에이트를 연황색 오일(230 g, 1,242.5 mmol, 96% 수율)로서 수득하였다.

[0324] ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ ppm: 9.55 (s, 1H), 5.79 - 5.86 (m, 1H), 5.05 - 5.25 (m, 2H), 5.00 - 5.05 (m, 1H), 4.12 - 4.22 (m, 2H), 3.70 - 3.92 (m, 2H), 1.24 - 1.31 (m, 6H).

[0325] 에틸 (R)-부트-3-엔-2-일(2,2-다이메톡시에틸)카밤에이트(1,020 g, 670 g 및 860 g)를 사용하여 동일한 방식으로 상기 방법을 3회 반복하여 부제 화합물(각각 795 g, 480 g, 605 g)을 수득하였다. 3개의 회분 모두의 합한 중량: 2,110 g, 11.39 mol.

[0326] 단계 (vii)

[0327] *에틸 (3aR,4R,6aR)-1-벤질-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카복실레이트, 에틸 (3aS,4R,6aS)-1-벤질-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카복실레이트와의 혼합물(부분입체 이성질체의 약 70:30 혼합물)*

[0328] Dean-Stark 기기가 장착된 10 L 환저 플라스크에서, 톨루엔(7.2 L, 36 vol) 중 에틸 (*R*)-부트-3-엔-2-일-(2-옥소에틸)카밤에이트(200.0 g, 1,079.7 mmol)의 혼합물을 실온에서 교반하였다. *N*-벤질글리신(214.02 g, 1,295.7 mmol)을 혼합물에 첨가하고, 이어서 120℃에서 18시간 동안 가열하고, 실온으로 냉각하고, 감압 하에 농축하였

다. 잔사를 포화 $NaHCO_3$ 용액(2,000 mL)에 붓고, DCM(2 x 1,000 mL)으로 추출하였다. 합한 유기 상을 무수 Na_2SO_4 상에서 건조하고, 여과하고, 감압 하에 농축하여 부제 화합물(부분입체 이성질체의 약 70:30 혼합물)을 갈색 오일(306.0 g, 1,061.06 mmol, 98% 수율)로서 수득하였다.

[0329] LCMS: 방법 H3, 3.46 min, 부분입체 이성질체의 혼합물, MS: ES+ 289.2; ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ ppm: 7.16 - 7.40 (m, 5H), 4.16 (m, 2H), 3.91 (m, 2H), 3.65 (m, 1H), 3.49 (m, 1H), 3.32 (m, 1H), 3.18 (m, 1H), 2.92 (m, 1H), 2.64 - 2.72 (m, 1H), 2.40 (s, 1H), 2.33 (m, 1H), 2.10 (m, 1H), 1.30 (t, 3H), 1.20 (d, *J* = 5.2 Hz, 3H); 키랄 HPLC: 방법 Y26, 5.23 min - 주요 피크; 5.61 min - 소수 피크.

[0330] 에틸 (*R*)-부트-3-엔-2-일-(2-옥소에틸)카밤에이트(515 g, 600 g 및 760 g)를 사용하여 동일한 방식으로 상기 방법을 3회 반복하여 부제 화합물(각각 751 g, 880 g 및 970 g)을 수득하였다. 모든 4개의 회분의 합한 중량: 2,907 g, 10.09 mol.

[0331] 단계 (viii)

[0332] *(3aR,4R,6aR)-1-벤질-4-메틸옥타하이드로피롤로[3,4-b]피롤, (3aS,4R,6aS)-1-벤질-4-메틸옥타하이드로피롤로[3,4-b]피롤과의 혼합물*

[0333] 수성 HBr(48 중량%, 1,988 mL, 16,644.12 mmol) 중 단계 (vii)의 생성물(부분입체 이성질체의 약 70:30 혼합물, 300.0 g, 1,040.25 mmol)의 교반된 혼합물을 가열하여 6시간 동안 환류시켰다. 혼합물을 물(1.5 L, 5 vol)에 붓고, 톨루엔(3 x 600 mL, 2 vol)으로 세척하였다. 수성 층을 K_2CO_3(약 2.0 kg, 14,563.5 mmol)으로 pH 약 10까지 염기성화시키고, DCM(3 x 1.5 L)으로 추출하였다. 합한 유기 상을 무수 Na_2SO_4 상에서 건조하고, 여과하고, 감압 하에 농축하였다. 잔사를 DCM(500 mL)에 용해시키고, 1 N NaOH 용액(150 mL)으로 완전히 세척하였다. 수성 층을 DCM(200 mL)으로 추출하였다. 합한 유기 상을 무수 Na_2SO_4 상에서 건조하고, 여과하고, 감압 하에 농축하여 부제 화합물(부분입체 이성질체의 약 70:30 혼합물)을 갈색 오일(155.0 g, 716.49 mmol, 69% 수율)로서 수득하였다.

[0334] LCMS: 방법 F, 3.05 min, 부분입체 이성질체의 혼합물, MS: ES+ 217.2; ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ ppm: 7.21 - 7.40 (m, 5H), 3.63 - 3.87 (m, 1H), 3.42 - 3.59 (m, 1H), 3.08 - 3.23 (m, 1H), 2.83 - 3.09 (m, 3H), 2.77 (m, 1H), 2.65 (s, 1H), 2.20 - 2.36 (m, 2H), 1.99 (m, 1H), 1.49 (m, 1H), 1.02 - 1.21 (m, 3H); 키랄 HPLC: 방법 Y26, 4.98 min 및 5.55 min, 2개의 별개의 피크만이 보였다.

[0335] 에틸 (3a*R*,4*R*,6a*R*)-1-벤질-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤-5(1*H*)-카복실레이트(부분입체 이성질체의 약 70:30 혼합물, 1,100 g 및 1,700 g)를 사용하여 동일한 방식으로 상기 방법을 2회 반복하여 부제 화합물(각각 575 g 및 838 g)을 수득하였다. 3개의 회분 모두의 합한 중량: 1,568 g, 7.24 mol.

[0336] 단계 (ix)

[0337] *(3aR,4R,6aR)-1-벤질-4-메틸옥타하이드로피롤로[3,4-b]피롤.0.5 (L)-DBTA 염*

[0338] 단계 (viii)의 생성물(부분입체 이성질체의 약 70:30 혼합물, 2.5 g, 11.56 mmol)에 THF 중 2.5% 물(19.2 mL)을 첨가하였다. THF 중 2.5% 물(6.8 mL, 2.75 vol) 중 (2*R*,3*R*)-2,3-비스(벤조일옥시)석신산 수화물(1.28 g, 3.57 mmol, Angene)의 용액을 실온에서 첨가하고, 용액을 실온에서 2.5시간 동안 교반하였다. 침전된 고체를 감압 하에 여과에 의해 수집하고, 필터 케이크를 THF 중 2.5% 물(2 x 10 mL)로 세척하여 백색 고체(3.0 g)를 수득하였다.

[0339] THF 중 2.5% 물(36 mL) 중 백색 고체(3.0 g)의 현탁액을 1시간 동안 가열 환류하여 투명한 용액을 수득하였다. 이어서, 혼합물을 1시간 동안 실온으로 냉각하고, 이어서 1시간 동안 실온에서 교반 없이 유지하였다. 결정화된 고체를 감압 하에 여과에 의해 수집하고, 필터 케이크를 THF 중 2.5% 물(2 x 10 mL)로 세척하고, 감압 하에 40 ℃에서 건조하여 (3a*R*,4*R*,6a*R*)-1-벤질-4-메틸옥타하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤.0.5 L-DBTA를 백색 고체(2.4 g, 3.03 mmol, 26% 수율)로서 수득하였다.

[0340] 키랄 HPLC: 방법 Y22, 5.35 min.

[0341] 단계 (ix): 대안

[0342] 단계 (viii)의 생성물(부분입체 이성질체의 약 70:30 혼합물, 150.0 g, 693.38 mmol)에 THF 중 2.5% 물(1.2 L)을 첨가하였다. 용액을 이전에 합성된 회분으로부터의 (*3aR,4R,6aR*)-1-벤질-4-메틸옥타하이드로피롤로[3,4-b]피롤.0.5 (L)-DBTA 염(700 mg)으로 시딩하였다. THF 중 2.5% 물(412 mL, 2.75 vol) 중 (2*R*,3*R*)-2,3-비스(벤조일옥시)석신산 수화물(79.50 g, 221.88 mmol, Angene)의 용액을 실온에서 첨가하고, 용액을 실온에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 실온에서 3시간 동안 유지하였다. 침전된 고체를 감압 하에 여과에 의해 수집하고, 필터 케이크를 THF 중 2.5% 물(2 x 1,500 mL)로 세척하여 황색 고체(178.0 g)를 수득하였다.

[0343] 제1 결정화: THF 중 2.5% 물(2,670 mL) 중 황색 고체(178.0 g)의 현탁액을 1시간 동안 가열 환류하여 투명한 용액을 수득하였다. 이어서, 혼합물을 1시간 동안 실온으로 냉각하고, 이어서 1시간 동안 실온에서 교반 없이 그대로 유지하였다. 결정화된 고체를 감압 하에 여과에 의해 수집하고, 필터 케이크를 THF 중 2.5% 물(2 x 1,780 mL)로 세척하고, 감압 하에 40℃에서 건조하여 (3a*R*,4*R*,6a*R*)-1-벤질-4-메틸옥타하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤.0.5 L-DBTA를 백색 고체(113.0 g, 142.0 mmol)로서 수득하였다.

[0344] 제2 결정화: 제1 결정화로부터 고체(113.0 g)를 THF 중 2.5% 물(1,695 mL)에 재현탁하고, 1시간 동안 가열 환류하여 용액을 형성하였다. 이어서, 혼합물을 실온으로 냉각하고, 1시간 동안 실온에서 교반 없이 그대로 유지하였다. 결정화된 고체를 감압 하에 여과에 의해 수집하고, 필터 케이크를 THF 중 2.5% 물(2 x 1,130 mL)로 세척하고, 감압 하에 40℃에서 건조하여 (3a*R*,4*R*,6a*R*)-1-벤질-4-메틸옥타하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤.0.5 L-DBTA 염을 백색 고체(103.0 g, 130.22 mmol, 18% 수율)로서 수득하였다.

[0345] 키랄 HPLC: 방법 Y22, 5.31 min.

[0346] (3a*R*,4*R*,6a*R*)-1-벤질-4-메틸옥타하이드로-피롤로[3,4-*b*]피롤(부분입체 이성질체의 약 70:30 혼합물, 570 g 및 838 g)을 사용하여 동일한 방식으로 상기 방법을 2회 반복하여 부제 화합물(각각 478 g 및 778 g)을 수득하였다. 3개의 회분 모두의 합한 중량: 1359 g, 1.72 mol.

[0347] 단계 (x)

[0348] *tert-부틸 (3aR,4R,6aR)-1-벤질-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카복실레이트*

[0349] THF:물(1,800 mL, 1:1.25) 중 (3a*R*,4*R*,6a*R*)-1-벤질-4-메틸옥타하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤.0.5 L-DBTA 염(100.0 g, 126.42 mmol)의 교반된 혼합물을 50℃에서 가열하였다. $NaHCO_3$(31.86 g, 379.28 mmol)을 분할식으로 50℃에서 첨가하였다. 혼합물을 25℃로 냉각하고, 다이-*tert*-부틸 다이카보네이트(66.14 g, 303.42 mmol)를 첨가하고, 2상 혼합물을 실온에서 16시간 동안 격렬하게 교반하였다. 혼합물을 물(500 mL)에 붓고, EtOAc(2 x 1 L)로 추출하였다. 합한 유기 상을 포화 수성 $NaHCO_3$ 용액(2 x 300 mL)으로 세척하고, 무수 Na_2SO_4 상에서 건조하고, 여과하고, 감압 하에 농축하였다. 잔사를 컬럼 크로마토그래피(100-200 실리카 겔, *n*-헥산 중 20% EtOAc)로 정제하여 *tert*-부틸 (3a*R*,4*R*,6a*R*)-1-벤질-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤-5(1*H*)-카복실레이트를 회색 점성 오일(45.0 g, 142.20 mmol, 61% 수율)로서 수득하였다.

[0350] LCMS: 방법 H3, 3.96 min, MS: ES+ 317.2; ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ ppm: 7.23 - 7.36 (m, 5H), 3.79 (s, 1H), 3.62 (s, 1H), 3.42 (s, 2H), 3.09 - 3.14 (m, 1H), 3.02 - 3.05 (m, 1H), 2.81 (s, 1H), 2.34 (s, 1H), 2.18 - 2.25 (m, 1H), 1.96 - 2.04 (m, 1H), 1.46 - 1.55 (m, 1H), 1.40 (s, 9H), 1.08 - 1.10 (d, *J* = 6.0 Hz, 3H); 키랄 HPLC: 방법 Y23, 4.31 min, 99.6% e.e., 99.5:0.5 d.r.

[0351] (3a*R*,4*R*,6a*R*)-1-벤질-4-메틸옥타하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤.0.5 L-DBTA 염(200 g 및 1,000 g)을 사용하여 동일한 방식으로 상기 방법을 2회 반복하여 부제 화합물(각각 134 g 및 685 g)을 수득하였다. 3개의 회분 모두의 합한 중량: 864 g, 2.73 mol.

[0352] 단계 (xi)

[0353] *tert-부틸 (3aS,4R,6aR)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카복실레이트*

[0354] 에탄올(1.6 L) 중 *tert*-부틸 (3a*R*,4*R*,6a*R*)-1-벤질-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤-5(1*H*)-카복실레이트(200.0 g, 632.01 mmol)의 교반된 혼합물에 10% Pd/C(50% 수분, 100.0 g, 0.5% w/w)를 첨가하고, 이어서 H_2 기체로 4시간 동안 실온에서 퍼징하였다. 혼합물을 셀라이트 Hyflow® 층을 통해 여과하고, MeOH(2 x 500 mL)로 세척하고, 감압 하에 농축하여 *tert*-부틸 (3a*S*,4*R*,6a*R*)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤-5(1*H*)-카복실레이트를 무색 오일(134.0 g, 592.08 mmol, 96% 수율)로서 수득하였다.

[0355] LCMS: 방법 H3, 2.22 min, MS: ES+ 227.2; ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ ppm: 3.75 - 3.82 (m, 1H), 3.48 - 3.49 (m, 2H), 3.04 - 3.08 (m, 1H), 2.85 - 2.91 (m, 1H), 2.32 - 2.38 (m, 1H), 2.22 (s, 2H), 2.00 - 2.05 (m, 1H), 1.64 - 1.70 (m, 1H), 1.45 (s, 9H), 1.15 - 1.19 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H); 키랄 HPLC: 방법 Y13, 4.55 min.

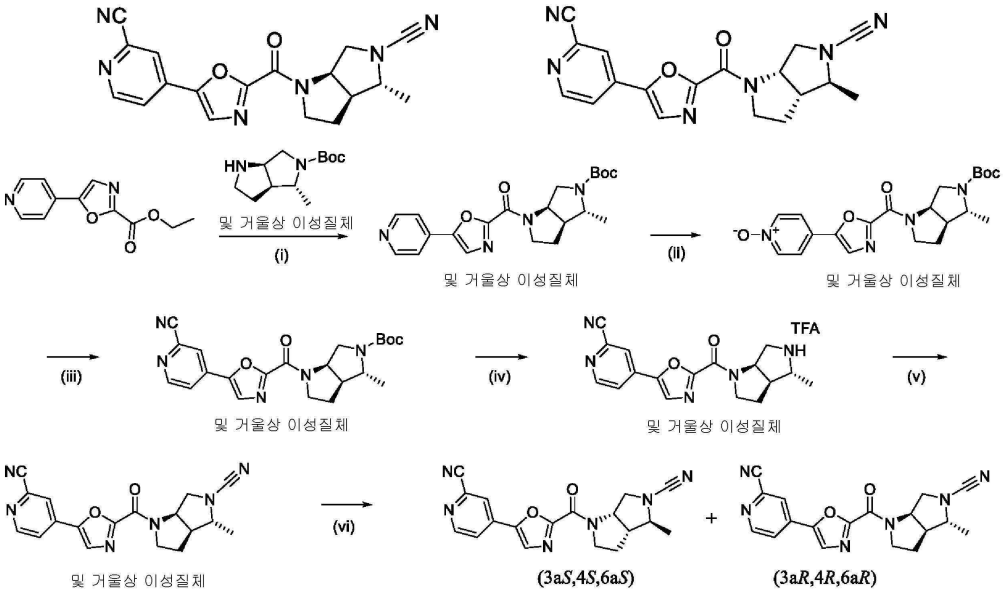
[0356] *tert*-부틸 (3a*R*,4*R*,6a*R*)-1-벤질-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤-5(1*H*)-카복실레이트(570 g)를 사용하여 동일한 방식으로 상기 방법을 반복하여 부제 화합물(400 g)을 수득하였다. 2개의 회분의 합한 중량: 534 g, 2.36 mol.

[0357] 실시예 1

[0358] *(+)-(3aR*,4R*,6aR*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카보니트릴*, 및

[0359] 실시예 2

[0360] *(-)-(3aR*,4R*,6aR*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카보니트릴*

[0361] 

[0362] (i) TBD, THF, 0℃ 내지 rt; (ii) *m*-CPBA, 0℃ 내지 rt; (iii) TMSCN, 다이메틸카바모일 클로라이드, MeCN, 0℃ 내지 rt; (iv) TFA, DCM, 0℃ 내지 rt; (v) K_2CO_3, BrCN, THF, 0℃ 내지 rt; (vi) 키랄 제조용 HPLC 정제.

[0363] 단계 (i)

[0364] *rac-tert-부틸 (3aR,4R,6aR)-4-메틸-1-(5-(피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카복실레이트*

[0365] THF(50 mL) 중 에틸 5-(피리딘-4-일)옥사졸-2-카복실레이트(5.0 g, 22.93 mmol) 및 *rac-tert*-부틸-(3a*S*,4*R*,6a*R*)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤-5(1*H*)-카복실레이트(4.15 g, 18.35 mmol)의 교반된 용액에 TBD(4.78 g, 34.39 mmol)를 분할식으로 0℃에서 첨가하였다. 혼합물을 실온으로 가온하고, 1시간 동안 교반하고, 이어서 물(50 mL)에 붓고, EtOAc(2 x 200 mL)로 추출하였다. 합한 유기 상을 무수 Na_2SO_4 상에서 건조하고, 여과하고, 감압 하에 농축하였다. 잔사를 플래시 컬럼 크로마토그래피(실리카 겔, DCM 중 2% MeOH)로 정제하여 *rac-tert*-부틸 (3a*R*,4*R*,6a*R*)-4-메틸-1-(5-(피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)헥사하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤-5(1*H*)-카복실레이트(5.5 g, 13.82 mmol, 60% 수율)를 수득하였다.

[0366] LCMS: 방법 C1, 1.14 min, MS: ES+ 399.4.

[0367] 단계 (ii)

[0368] *rac-4-(2-((3aR,4R,6aR)-5-(tert-부톡시카보닐)-4-메틸옥타하이드로피롤로[3,4-b]피롤-1-카보닐)옥사졸-5-일) 피리딘 1-옥사이드*

[0369] DCM(60 mL) 중 *rac-tert*-부틸 (3a*R*,4*R*,6a*R*)-4-메틸-1-(5-(피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)헥사하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤-5(1*H*)-카복실레이트(5.5 g, 13.82 mmol)의 교반된 용액에 *m*-클로로퍼벤조산(4.77 g, 27.64 mmol)을 분할식으로 0℃에서 첨가하였다. 혼합물을 실온으로 가온하고, 24시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 포화 $NaHCO_3$ 용액(200 mL)에 붓고, EtOAc(2 x 300 mL)로 추출하였다. 합한 유기 상을 포화 $NaHCO_3$ 용액(3 x 100 mL), 10% 나트륨 티오설페이트(200 mL)로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조하고, 감압 하에 농축하여 *rac*-4-(2-((3a*R*,4*R*,6a*R*)-5-(*tert*-부톡시카보닐)-4-메틸-옥타하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤-1-카보닐)옥사졸-5-일)피리딘 1-옥사이드(4.80 g, 11.58 mmol, 83% 수율)를 수득하였다.

[0370] LCMS: 방법 C1, 1.15 min, MS: ES+ 415.6.

[0371] 단계 (iii)

[0372] *rac-tert-부틸 (3aR,4R,6aR)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카복실레이트*

[0373] 아세토니트릴(50 mL) 중 *rac*-4-(2-((3a*R*,4*R*,6a*R*)-5-(*tert*-부톡시카보닐)-4-메틸-옥타하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤-1-카보닐)옥사졸-5-일)피리딘 1-옥사이드(4.80 g, 11.58 mmol)의 교반된 용액에 다이메틸카바모일 클로라이드(3.11 g, 2.68 mL, 28.97 mmol) 및 TMSCN(3.45 g, 34.74 mmol)을 0℃에서 적가하였다. 혼합물을 실온으로 가온하고, 16시간 동안 교반하고, 이어서 물(200 mL)에 붓고, EtOAc(2 x 300 mL)로 추출하였다. 합한 유기 상을 무수 Na_2SO_4 상에서 건조하고, 여과하고, 감압 하에 농축하였다. 잔사를 플래시 컬럼 크로마토그래피(실리카 겔, DCM 중 2% MeOH)로 정제하여 *rac-tert*-부틸 (3a*R*,4*R*,6a*R*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤-5(1*H*)-카복실레이트(5.1 g, 12.05 mmol, 정량적인 수율)를 수득하였다.

[0374] LCMS: 방법 C1, 1.28 min, MS: ES+ [M+18] 441.4.

[0375] 단계 (iv)

[0376] *rac-4-(2-((3aR,4R,6aR)-4-메틸옥타하이드로피롤로[3,4-b]피롤-1-카보닐)옥사졸-5-일)피콜리노니트릴*

[0377] DCM(50 mL) 중 *rac-tert*-부틸 (3a*R*,4*R*,6a*R*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤-5(1*H*)-카복실레이트(5.1 g, 2.16 mmol)의 교반된 용액에 TFA(10 mL, 2 vol)를 0℃에서 적가하였다. 혼합물을 실온으로 가온하고, 2시간 동안 교반하고, 이어서 감압 하에 농축하여 *rac*-4-(2-((3a*R*,4*R*,6a*R*)-4-메틸옥타하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤-1-카보닐)옥사졸-5-일)피콜리노니트릴 TFA 염(5.0 g, 11.44 mmol, 2 단계에 걸쳐 98% 수율)을 수득하였다.

[0378] LCMS: 방법 C1, 0.91 min, MS: ES+ 324.3.

[0379] 단계 (v)

[0380] *rac-(3aR,4R,6aR)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카보니트릴*

[0381] THF(6 mL) 중 *rac*-4-(2-((3a*R*,4*R*,6a*R*)-4-메틸옥타하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤-1-카보닐)옥사졸-5-일)피콜리노니트릴 TFA 염(0.14 g, 0.33 mmol)의 교반된 용액에 K_2CO_3(0.14 g, 1.00 mmol)을 실온에서 첨가하고, 10분 동안 교반하였다. 시아노겐 브로마이드(0.03 g, 0.27 mmol)를 0℃에서 첨가하였다. 혼합물을 0℃에서 15분 동안 교반하고, 이어서 물(10 mL)에 붓고, EtOAc(3 x 10 mL)로 추출하였다. 합한 유기 상을 Na_2SO_4 상에서 건조하고, 감압 하에 농축하였다. *n*-펜탄(2 x 10 mL)을 사용하여 잔사를 마쇄에 의해 정제하여 *rac*-(3a*R*,4*R*,6a*R*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-*b*]-피롤-5(1*H*)-카보니트릴(0.08 g, 0.23 mmol, 88% 수율, 2 단계에 걸쳐)을 수득하였다.

[0382] LCMS: 방법 H, 2.49 min, MS: ES+ 349.1; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: 8.89 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 8.51 (s, 1H), 8.36 (s, 0.7H), 8.34 (s, 0.3H), 8.05 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 5.11 - 5.19 (m, 0.4H), 4.57 - 4.63 (m, 0.7H), 4.24 - 4.29 (m, 0.8H), 3.89 - 4.01 (m, 2H), 3.42 - 3.57 (m, 2.6H), 2.51 - 2.61 (m, 0.5H, 모

호함), 1.85 - 2.05 (m, 2H), 1.30 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H), 로타머의 혼합물.

[0383] 부제 화합물(1.9 g, 5.45 mmol, 47% 수율)을 또한 *rac*-4-(2-((3a*R*,4*R*,6a*R*)-4-메틸옥타하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤-1-카보닐)옥사졸-5-일)피콜리노니트릴 TFA 염(5.0 g)으로부터 유사하게 제조하였다.

[0384] 단계 (vi)

[0385] 실시예 1: *(+)-(3aR*,4R*,6aR*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카보니트릴*, 및

[0386] 실시예 2: *(-)-(3aR*,4R*,6aR*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카보니트릴*

[0387] 라세미체의 거울상 이성질체 실시예 1 및 실시예 2로의 분리

[0388] 각각의 2개의 거울상 이성질체를 라세미 화합물 *rac*-(3a*R*,4*R*,6a*R*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤-5(1*H*)-카보니트릴(1.5 g)로부터, Chiralpak IC 250 mm x 21.0 mm, 5 μm 컬럼과 함께, UV 검출기에 커플링된 Shimadzu LC-20AP 기기를 사용하는 HPLC 크로마토그래피 분리를 통해 단리하였다. 유량을 20.0 mL/min으로 설정하였다. 이동상은 (A) *n*-헥산 중 0.1% DEA, 및 (B) 70:30 IPA/MeCN 중 0.1% DEA였다. UV 스펙트럼을 295 nm 람다 맥스에서 기록하였다. 크로마토그래피를 등용매 이동상 40:60 B/A로 70 min 기간에 걸쳐 수행하여 후술되는 2개의 거울상 이성질체를 수득하였고, 용리 시간은 각각 40.0 min 및 55.6 min였다.

[0389] 더 빠른 용리 분획(실시예 2)

[0390] *(-)-(3aR*,4R*,6aR*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카보니트릴*

[0391] 수율(0.44 g, 1.26 mmol), 백색 고체.

[0392] LCMS: 방법 H, 2.56 min, MS: ES+ 349.2.

[0393] ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: 8.89 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 8.51 (s, 1H), 8.35 - 8.37 (m, 1H), 8.06 - 8.07 (m, 1H), 5.12 - 5.17 (m, 0.4H), 4.59 - 4.62 (m, 0.7H), 4.25 - 4.29 (m, 0.7H), 3.91 - 4.02 (m, 2H), 3.42 - 3.59 (m, 2.7H), 2.57 - 2.61 (m, 0.5H, 모호함), 1.85 - 2.05 (m, 2H), 1.31 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H), 로타머의 혼합물.

[0394] 키랄 HPLC: 방법 Y11, 12.89 min; >99% ee.

[0395] 융점 = 142℃ 내지 146℃.

[0396] $[\alpha]_D^{25}$ = -208° (*c* = 0.05 g/100 cm^3, MeOH).

[0397] 더 느린 용리 분획(실시예 1)

[0398] *(+)-(3aR*,4R*,6aR*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카보니트릴*

[0399] 수율(0.48 g, 1.38 mmol), 백색 고체.

[0400] LCMS: 방법 H, 2.56 min, MS: ES+ 349.2.

[0401] ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: 8.89 (d, *J* = 4.4 Hz, 1H), 8.51 (s, 1H), 8.36 - 8.38 (m, 1H), 8.06 - 8.07 (m, 1H), 5.12 - 5.16 (m, 0.4H), 4.57 - 4.65 (m, 0.7H), 4.22 - 4.30 (m, 0.7H), 3.91 - 4.02 (m, 2H), 3.41 - 3.58 (m, 2.7H), 2.61 - 2.63 (m, 0.5H, 모호함), 1.82 - 2.07 (m, 2H), 1.31 (d, *J* = 6.0 Hz, 3H), 로타머의 혼합물.

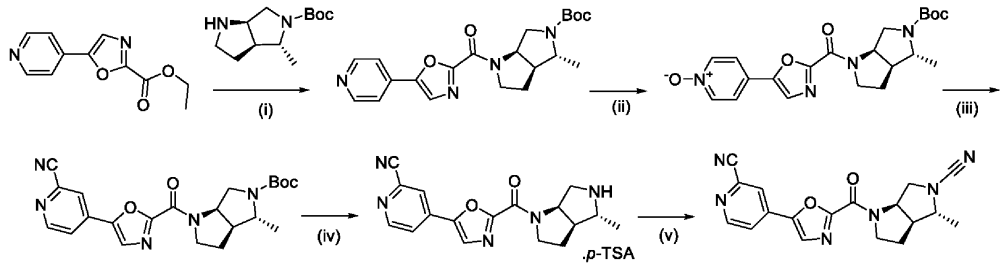
[0402] 키랄 HPLC: 방법 Y11, 15.09 min; >99% ee.

[0403] $[\alpha]_D^{25}$ = +208° (*c* = 0.05 g/100 cm^3, MeOH).

[0404] 유사한 방법에 의해 제조된 물질의 회분: 융점 = 144℃ 내지 146℃.

[0405] 실시예 1 대안적인 합성.

[0406] *(+)-(3aR,4R,6aR)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카보니트릴*

[0407] 

[0408] 단계 (i)

[0409] *tert-부틸 (3aR,4R,6aR)-4-메틸-1-(5-(피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카복실레이트*

[0410] THF(370 mL) 중 에틸 5-(피리딘-4-일)옥사졸-2-카복실레이트(37.0 g, 169.72 mmol) 및 *tert*-부틸-(3a*S*,4*R*,6a*R*)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤-5(1*H*)-카복실레이트(30.70 g, 135.64 mmol)의 교반된 혼합물에 0℃에서 TBD(28.32 g, 203.47 mmol)를 분할식으로 첨가하였다. 혼합물을 실온으로 가온하고, 2시간 동안 교반하고, 이어서 물(370 mL)에 붓고, EtOAc(2 x 370 mL)로 추출하였다. 합한 유기 상을 무수 Na_2SO_4 상에서 건조하고, 여과하고, 감압 하에 농축하였다. 잔사를 플래시 컬럼 크로마토그래피(실리카 겔, DCM 중 5% MeOH)로 정제하여 *tert*-부틸 (3a*R*,4*R*,6a*R*)-4-메틸-1-(5-(피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)헥사하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤-5(1*H*)-카복실레이트를 연황색 고체(29.0 g, 72.78 mmol, 43% 수율)로서 수득하였다.

[0411] LCMS: 방법 H3, 2.79 min, MS: ES+ 399.2; ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ ppm: 8.72 - 8.82 (m, 2H), 8.20 - 8.24 (m, 1H), 7.76 - 7.77 (m, 2H), 5.10 - 5.11 (m, 1H), 4.56 (s, 1H), 4.03 (s, 1H), 3.57 - 3.85 (m, 4H), 2.09 - 2.14 (m, 1H), 1.73 - 1.86 (m, 1H), 1.36 (s, 9H), 1.21 - 1.10 (m, 3H); 키랄 HPLC: 방법 Y24, 5.35 min.

[0412] *tert*-부틸-(3a*S*,4*R*,6a*R*)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤-5(1*H*)-카복실레이트(165 g 및 457 g)를 사용하여 동일한 방식으로 상기 방법을 2회 반복하여 부제 화합물(각각 255 g 및 620 g)을 수득하였다. 3개의 회분 모두의 합한 중량: 904 g, 2.27 mol.

[0413] 단계 (ii)

[0414] *4-(2-((3aR,4R,6aR)-5-(tert-부톡시카보닐)-4-메틸옥타하이드로피롤로[3,4-b]피롤-1-카보닐)옥사졸-5-일)피리딘 1-옥사이드*

[0415] DCM(435 mL) 중 *tert*-부틸 (3a*R*,4*R*,6a*R*)-4-메틸-1-(5-(피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)헥사하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤-5(1*H*)-카복실레이트(29.0 g, 72.82 mmol)의 교반된 혼합물에 *m*-클로로퍼벤조산(37.69 g, 218.46 mmol)을 분할식으로 0℃에서 첨가하였다. 혼합물을 실온으로 가온하고, 20시간 동안 교반하고, 이어서 포화 NaOH 용액(725 mL, 25 vol)에 붓고, DCM(2 x 290 mL)으로 추출하였다. 합한 유기 상을 10% 나트륨 티오설페이트(290 mL)로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조하고, 감압 하에 농축하여 4-(2-((3a*R*,4*R*,6a*R*)-5-(*tert*-부톡시카보닐)-4-메틸옥타하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤-1-카보닐)옥사졸-5-일)피리딘 1-옥사이드를 황색 고체(28.30 g, 68.32 mmol, 94% 수율)로서 수득하였다.

[0416] LCMS: 방법 H3, 2.41 min, MS: ES+ 259.0 (M-56); ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ ppm: 8.25 - 8.26 (m, 2H), 8.08 - 8.11 (m, 1H), 7.78 -7.79 (m, 2H), 5.08 - 5.09 (m, 0.4 H), 4.54 (m, 0.6 H), 4.02 - 4.09 (m, 1H), 3.66 - 3.82 (m, 4H), 2.07 - 2.12 (m, 2H), 1.64-1.84 (m, 1H), 1.38 (s, 9H), 1.15 -1.19 (m, 3H); 키랄 HPLC: 방법 Y25, 6.13 min.

[0417] *tert*-부틸 (3a*R*,4*R*,6a*R*)-4-메틸-1-(5-(피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)헥사하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤-5(1*H*)-카복실레이트(255 g 및 620 g)를 사용하여 동일한 방식으로 상기 방법을 2회 반복하여 부제 화합물(각각 235 g 및 550 g)을 수득하였다. 3개의 회분 모두의 합한 중량: 813.3 g, 1.96 mol.

[0418] 단계 (iii)

[0419] *tert-부틸 (3aR,4R,6aR)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카복실레이트*

[0420] 아세토니트릴(1,132 mL) 중 4-(2-((3a*R*,4*R*,6a*R*)-5-(*tert*-부톡시카보닐)-4-메틸옥타하이드로피롤로[3,4-*b*]-피롤-1-카보닐)옥사졸-5-일)피리딘 1-옥사이드(28.30 g, 68.32 mmol)의 교반된 혼합물에 다이메틸카바모일 클로라이드(22.04 g, 18.87 mL, 204.96 mmol) 및 TMSCN(20.33 g, 204.96 mmol)을 0℃에서 적가하였다. 혼합물을 80℃에서 2시간 동안 가열하고, 실온으로 냉각하고, 이어서 물(280 mL)에 붓고, EtOAc(2 x 280 mL)로 추출하였다. 합한 유기 상을 무수 Na_2SO_4 상에서 건조하고, 여과하고, 감압 하에 농축하여 *tert*-부틸 (3a*R*,4*R*,6a*R*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-*b*]-피롤-5(1*H*)-카복실레이트를 갈색 오일(28.0 g, 66.16 mmol, 97% 수율)로서 수득하였다.

[0421] LCMS: 방법 H3, 3.06 min, MS: ES+ 368.0 (M-56); ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: 8.87 - 8.88 (m, 1H), 8.48 (s, 1H), 8.34 - 8.36 (m, 1H), 8.03 - 8.05 (m, 1H), 4.55 (s, 1H), 4.02 (s, 1H), 3.55 - 3.84 (m, 3H), 2.74 (s, 2H), 2.08 - 2.13 (m, 1H), 1.75 - 1.83 (m, 1H), 1.38 (s, 9H), 1.16 - 1.20 (m, 3H); 키랄 HPLC: 방법 Y4, 4.67 min.

[0422] 4-(2-((3a*R*,4*R*,6a*R*)-5-(*tert*-부톡시카보닐)-4-메틸옥타하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤-1-카보닐)옥사졸-5-일)피리딘 1-옥사이드(235 g 및 550 g)를 사용하여 동일한 방식으로 상기 방법을 2회 반복하여 부제 화합물(각각 180 g 및 470 g)을 수득하였다. 3개의 회분 모두의 합한 중량: 678 g, 1.60 mol.

[0423] 단계 (iv)

[0424] *4-(2-((3aR,4R,6aR)-4-메틸옥타하이드로피롤로[3,4-b]피롤-1-카보닐)옥사졸-5-일)피콜리노니트릴 p-TSA 염*

[0425] 아세토니트릴(560 mL) 중 *tert*-부틸 (3a*R*,4*R*,6a*R*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤-5(1*H*)-카복실레이트(28.0 g, 66.16 mmol)의 교반된 혼합물에 *p*-TSA(66.07 g, 383.72 mmol)를 분할식으로 0℃에서 첨가하였다. 혼합물을 실온으로 가온하고, 5시간 동안 교반하고, 이어서 감압 하에 농축하여 4-(2-((3a*R*,4*R*,6a*R*)-4-메틸옥타하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤-1-카보닐)옥사졸-5-일)피콜리노니트릴 *p*-TSA 염을 황색 오일(115.0 g, 정량적인 수율)로서 수득하였다.

[0426] LCMS: 방법 H3, 1.97 min, MS: ES+ 324.0; 키랄 HPLC: 방법 Y20, 5.17 min.

[0427] *tert*-부틸 (3a*R*,4*R*,6a*R*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤-5(1*H*)-카복실레이트(650 g)를 사용하여 동일한 방식으로 상기 방법을 반복하여 부제 화합물(1,000 g)을 수득하였다. 2개의 회분의 합한 중량: 1,115 g, 3.44 mol.

[0428] 단계 (v)

[0429] *(3aR,4R,6aR)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카보니트릴*

[0430] THF:물(5.4 L, 2:1) 중 4-(2-((3a*R*,4*R*,6a*R*)-4-메틸옥타하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤-1-카보닐)옥사졸-5-일)피콜리노니트릴 *p*-TSA 염(180.0 g, 363.22 mmol)의 교반된 용액에 K_2CO_3(145.26 g, 1,052.63 mmol)을 실온에서 첨가하고, 5분 동안 교반하였다. 시아노겐 브로마이드(26.0 g, 245.61 mmol)를 0℃에서 첨가하였다. 혼합물을 실온으로 가온하고, 1시간 동안 교반하고, 이어서 혼합물을 감압 하에 농축하고, 잔사를 빙랭수(2 L)에 붓고, 침전물을 형성하였다. 고체를 감압 하에 여과에 의해 수집하였다. 고체를 다시 물(2 L)에 현탁하고, 2시간 동안 실온에서 교반하고, 이어서 감압 하에 여과하였다. 고체 물질을 냉수(1 L), 이어서 *n*-헥산(500 mL), 다이에틸 에터(100 mL) 및 IPA(100 mL)로 세척하여 (3a*R*,4*R*,6a*R*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[*3,4-b*]피롤-5(1*H*)-카보니트릴(40.0 g, 114.83 mmol, 32% 수율)을 수득하였다.

[0431] LCMS: 방법 H3, 2.50 min, MS: ES+ 349.0; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: 8.89 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H),

8.50 (s, 1H), 8.35 - 8.37 (m, 1H), 8.05 - 8.06 (m, 1H), 5.12 - 5.13 (m, 0.4H), 4.57 - 4.61 (m, 0.6H), 4.23 - 4.28 (m, 0.7H), 3.89 - 4.00 (m, 2H), 3.41 - 3.58 (m, 2.4H), 2.54 - 2.67 (m, 1H, 모호함), 1.89 - 2.06 (m, 2H), 1.27 - 1.30 (m, 3H), 로타머의 혼합물; HPLC: 방법 X2, 19.78 min, 99.96%; 키랄 HPLC: 방법 Y15, 15.29 min; > 99% e.e.; 융점 = 147℃ 내지 149℃; $[\alpha]_D^{25}$ = +202° (*c* = 0.05 g/100 cm^3, MeOH).

[0432] 단계 (v) (대안적인 합성)

[0433] *(3aR,4R,6aR)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카보니트릴*

[0434] THF:물(804 mL, 9:5) 중 4-(2-((3a*R*,4*R*,6a*R*)-4-메틸옥타하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤-1-카보닐)옥사졸-5-일)피콜리노니트릴 *p*-TSA 염(115.0 g, 232.06 mmol)의 교반된 용액에 K_2CO_3(98.22 g, 711.76 mmol)을 실온에서 첨가하고, 10분 동안 교반하였다. 시아노겐 브로마이드(18.86 g, 177.94 mmol)를 0℃에서 첨가하였다. 혼합물을 실온으로 가온하고, 2시간 동안 교반하고, 이어서 물(1,150 mL)에 붓고, EtOAc(2 x 1,150 mL)로 추출하였다. 합한 유기 상을 Na_2SO_4 상에서 건조하고, 감압 하에 농축하였다. 잔사를 IPA(575 mL)에 현탁하고, 80℃에서 2시간 동안 가열하여 투명한 용액을 형성하였다. 혼합물을 천천히 실온으로 냉각하여 결정질 고체를 형성하고, 감압 하에 여과에 의해 수집하고, 차가운 IPA(115 mL)로 세척하고, 감압 하에 건조하여 (3a*R*,4*R*,6a*R*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-*b*]-피롤-5(1*H*)-카보니트릴(15.0 g, 43.08 mmol, 19% 수율)을 수득하였다.

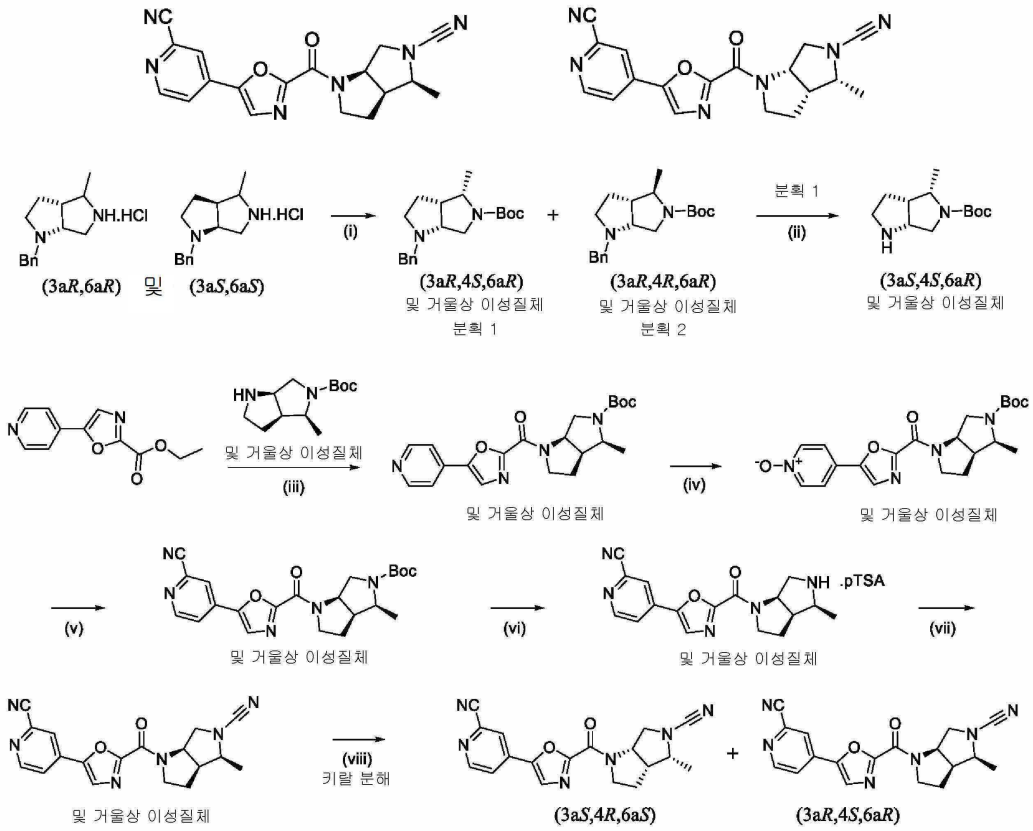
[0435] 4-(2-((3a*R*,4*R*,6a*R*)-4-메틸-옥타하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤-1-카보닐)옥사졸-5-일)피콜리노니트릴 *p*-TSA 염(1,000 g)을 사용하여 동일한 방식으로 상기 방법을 반복하여 표제 화합물(288 g)을 수득하였다. THF(909 mL, 3 vol) 중 288 g 및 15 g의 (3a*R*,4*R*,6a*R*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-*b*]-피롤-5(1*H*)-카보니트릴의 용액을 실온에서 2시간 동안 교반하여 투명한 용액을 형성하였다. 용매를 감압 하에 제거하여 백색 고체를 수득하고, 펜탄(300 mL, 1 vol)으로 더욱 세척하고, 4시간 동안 45℃ 미만에서 감압 하에 건조하여 (3a*R*,4*R*,6a*R*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-*b*]-피롤-5(1*H*)-카보니트릴(303.0 g)을 수득하였다.

[0436] LCMS: 방법 H3, 2.52 min, MS: ES+ 349.0; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: 8.87 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H), 8.48 (s, 1H), 8.30 - 8.38 (m, 1H), 8.04 - 8.05 (m, 1H), 5.12 - 5.13 (m, 0.4H), 4.59 - 4.60 (m, 0.6H), 4.23 - 4.27 (m, 0.6H), 3.91 - 4.02 (m, 2H), 3.41 - 3.56 (m, 2.4H), 2.54 - 2.61 (m, 1H, 모호함), 1.84 - 2.04 (m, 2H), 1.30 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H), 로타머의 혼합물; 키랄 HPLC: 방법 Y15, 15.11 min; HPLC: 방법 E, 27.87 min; > 99% e.e., 99.5:0.5 d.r.; 융점 = 161℃ 내지 162℃; $[\alpha]_D^{25}$ = +204° (*c* = 0.05 g/100 cm^3, MeOH).

[0437] 실시예 3 및 실시예 4

[0438] *(+)-(3aR*,4S*,6aR*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카보니트릴*, 및

[0439] *(-)-(3aR*,4S*,6aR*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카보니트릴*



[0440]

[0441] 단계 (i)

[0442] *rac-tert-*부틸-(3a*R*,4*S*,6a*R*)-1-벤질-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤-5(1*H*)-카복실레이트(소수 이성질체) 및 *rac-tert-*부틸 (3a*R*,4*R*,6a*R*)-1-벤질-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤-5(1*H*)-카복실레이트(주요 이성질체)

[0443] DCM(700 mL) 중 *rac*-(3a*R*,6a*R*)-1-벤질-4-메틸옥타하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤 HCl 염(중간체 B를 지향하는 단계 (v) 생성물, 68.0 g, 269.31 mmol)의 교반된 용액에 트라이에틸아민(136.0 g, 187.3 mL, 1,346.55 mmol), 4-다이메틸피리딘(1.64 g, 13.46 mmol) 및 다이-*tert*-부틸 다이카보네이트(70.51 g, 323.17 mmol)를 0℃에서 첨가하였다. 혼합물을 실온으로 가온하고, 6시간 동안 교반하고, 이어서 물(1,000 mL)에 붓고, DCM(2 x 1,000 mL)으로 추출하였다. 합한 유기 상을 무수 Na_2SO_4 상에서 건조하고, 감압 하에 농축하였다. 잔사를 컬럼 크로마토그래피(실리카 겔, 100-200 # 크기, *n*-헥산 중 7 내지 9% EtOAc)로 정제하여 부제 화합물을 2개의 별개의 분획인 분획 1(소수 이성질체, 0.8 g, 2.53 mmol, 0.94% 수율) 및 분획 2(주요 이성질체, 38.0 g, 120.25 mmol, 45% 수율)로서 수득하였다.

[0444] 분획 1 LCMS: 방법 H1, 4.19 min, MS: ES+ 317.2. 분획 2 LCMS: 방법 H1, 3.87 min, MS: ES+ 317.0. 소수 이성질체 분획 1을 단계 (ii)로 전달하였다.

[0445] 단계 (ii)

[0446] *rac-tert-*부틸 (3a*S*,4*S*,6a*R*)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤-5(1*H*)-카복실레이트

[0447] 에탄올(10 mL) 중 *rac-tert-*부틸-(3a*R*,4*S*,6a*R*)-1-벤질-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-*b*]-피롤-5(1*H*)-카복실레이트(분획 1, 소수 이성질체, 0.8 g, 2.53 mmol)의 교반된 용액에 10% Pd/C(50% 수분, 0.8 g)를 첨가하고, 수소 기체로 16시간 동안 실온에서 퍼징하였다. 혼합물을 셀라이트®를 통해 여과하고, 에탄올(50 mL)로 세척하고, 감압 하에 농축하여 *rac-tert-*부틸 (3a*S*,4*S*,6a*R*)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤-5(1*H*)-카복실레이트(0.42 g, 1.85 mmol, 73% 수율)를 수득하였다.

[0448] LCMS: 방법 H1, 2.25 min, MS: ES+ 227.2.

[0449] 단계 (iii)

[0450] *rac-tert-*부틸 (3a*R*,4*S*,6a*R*)-4-메틸-1-(5-(피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)헥사하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤-5(1*H*)-카복실레이트

[0451] 톨루엔(7 mL) 중 에틸 5-(피리딘-4-일)옥사졸-2-카복실레이트(0.49 g, 2.25 mmol) 및 *rac-tert-*부틸 (3a*S*,4*S*,6a*R*)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤-5(1*H*)-카복실레이트(0.41 g, 1.79 mmol)의 교반된 용액을 40℃에서 10분 동안 가열하여 출발 물질을 둘 다 용해시키고, 이어서 0℃로 냉각하고, 톨루엔(2 mL) 중 TBD(0.15 g, 1.12 mmol)의 용액을 0℃에서 적가하였다. 혼합물을 실온으로 가온하고, 3시간 동안 교반하고, 이어서 물(50 mL)에 붓고, EtOAc(2 x 50 mL)로 추출하였다. 합한 유기 상을 무수 Na_2SO_4 상에서 건조하고, 여과하고, 감압 하에 농축하였다. 잔사를 플래시 컬럼 크로마토그래피(실리카 겔, *n*-헥산 중 80 내지 90% EtOAc)로 정제하여 *rac-tert-*부틸 (3a*R*,4*S*,6a*R*)-4-메틸-1-(5-(피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)헥사하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤-5(1*H*)-카복실레이트(0.43 g, 1.09 mmol, 48% 수율)를 수득하였다.

[0452] LCMS: 방법 H1, 2.88 min, MS: ES+ 399.2.

[0453] 단계 (iv)

[0454] *rac-4-(2-((3aR,4S,6aR)-5-(tert-*부톡시카보닐)-4-메틸옥타하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤-1-카보닐)옥사졸-5-일) 피리딘 1-옥사이드

[0455] DCM(7 mL) 중 *rac-tert-*부틸 (3a*R*,4*S*,6a*R*)-4-메틸-1-(5-(피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)헥사하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤-5(1*H*)-카복실레이트(0.43 g, 1.08 mmol)의 교반된 용액에 *m*-클로로퍼벤조산(0.37 g, 2.16 mmol)을 분할식으로 0℃에서 첨가하였다. 혼합물을 실온으로 가온하고, 16시간 동안 교반하였다. 혼합물을 물(100 mL)에 붓고, EtOAc(2 x 100 mL)로 추출하였다. 합한 유기 상을 포화 $NaHCO_3$ 용액(2 x 100 mL), 10% 나트륨 티오설페이트(2 x 100 mL)로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조하고, 감압 하에 농축하여 *rac*-4-(2-((3a*R*,4*S*,6a*R*)-5-(*tert-*부톡시카보닐)-4-메틸옥타하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤-1-카보닐)옥사졸-5-일)피리딘 1-옥사이드(0.39 g, 0.95 mmol, 87% 수율)를 수득하였다.

[0456] LCMS: 방법 H1, 2.50 min, MS: ES+ [M-56] 359.0.

[0457] 단계 (v)

[0458] *rac-tert-*부틸 (3a*R*,4*S*,6a*R*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤-5(1*H*)-카복실레이트

[0459] MeCN(7 mL) 중 *rac*-4-(2-((3a*R*,4*S*,6a*R*)-5-(*tert-*부톡시카보닐)-4-메틸옥타하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤-1-카보닐)옥사졸-5-일) 피리딘 1-옥사이드(0.39 g, 0.94 mmol)의 교반된 용액에 다이메틸카바모일 클로라이드(0.30 g, 0.26 mL, 2.83 mmol) 및 트라이메틸실릴 시아나이드(0.28 g, 0.36 mL, 2.83 mmol)를 실온에서 적가하였다. 혼합물을 80℃에서 2시간 동안 가열하고, 이어서 물(50 mL) 중 10% Na_2CO_3 용액에 붓고, EtOAc(2 x 50 mL)로 추출하였다. 합한 유기 상을 무수 Na_2SO_4 상에서 건조하고, 감압 하에 농축하였다. 잔사를 플래시 컬럼 크로마토그래피(실리카 겔, *n*-헥산 중 80 내지 90% EtOAc)로 정제하여 *rac-tert-*부틸 (3a*R*,4*S*,6a*R*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-*b*]-피롤-5(1*H*)-카복실레이트(0.38 g, 0.89 mmol, 95% 수율)를 수득하였다.

[0460] LCMS: 방법 H1, 3.15 min, MS: ES+ [M-56] 368.0.

[0461] 단계 (vi)

[0462] *rac-4-(2-((3aR,4S,6aR)-4-*메틸옥타하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤-1-카보닐)옥사졸-5-일)피콜리노니트릴

[0463] DCM(10 mL) 중 *rac-tert-*부틸 (3a*R*,4*S*,6a*R*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤-5(1*H*)-카복실레이트(0.38 g, 0.89 mmol)의 교반된 용액에 *p*-톨루엔설폰산 일수화물(0.84 g, 4.45 mmol)을 분할식으로 0℃에서 첨가하였다. 혼합물을 실온으로 가온하고, 6시간 동안 교반하고, 이어서 감압 하에 농축하여 *rac*-4-(2-((3a*R*,4*S*,6a*R*)-4-메틸옥타하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤-1-카보닐)옥사졸-5-일)피콜리노니트릴 *p*-TSA 염(0.52 g, 정량적인 수율)을 수득하였다.

[0464] LCMS: 방법 H1, 1.93 min, MS: ES+ 324.0.

[0465] 단계 (vii)

[0466] *rac*-(3a*R*,4*S*,6a*R*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤-5(1*H*)-카보니트릴

[0467] THF(10 mL) 및 물(5 mL) 중 *rac*-4-(2-((3a*R*,4*S*,6a*R*)-4-메틸옥타하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤-1-카보닐)옥사졸-5-일)피콜리노니트릴 *p*-TSA 염(0.52 g, 1.01 mmol)의 교반된 용액에 K_2CO_3(0.70 g, 5.05 mmol)을 실온에서 첨가하고, 5분 동안 교반하였다. 시아노겐 브로마이드(0.13 g, 1.21 mmol)를 0℃에서 첨가하였다. 혼합물을 실온으로 가온하고, 1시간 동안 교반하고, 이어서 물(50 mL)에 붓고, EtOAc(2 x 50 mL)로 추출하였다. 합한 유기 상을 Na_2SO_4 상에서 건조하고, 감압 하에 농축하였다. 잔사를 플래시 컬럼 크로마토그래피(실리카 겔, *n*-헥산 중 90 내지 95% EtOAc)로 정제하여 *rac*-(3a*R*,4*S*,6a*R*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤-5(1*H*)-카보니트릴(0.18 g, 0.52 mmol, 57% 수율, 2 단계에 걸쳐)을 수득하였다.

[0468] LCMS: 방법 H1, 2.48 min, MS: ES+ 349.0; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 8.88 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 8.50 (s, 1H), 8.35 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H), 8.05 (dd, *J* = 5.2, 1.2 Hz, 1H), 5.06 - 5.10 (m, 0.6H), 4.56 - 4.60 (m, 0.7H), 4.16 - 4.21 (m, 0.7H), 3.44 - 3.95 (m, 4H), 2.81 - 2.93 (m, 1H), 1.77 - 1.99 (m, 2H), 1.25 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H), 로타머의 혼합물; HPLC: 방법 E, 28.58 min; 98.8:1.2 d.r.

[0469] 단계 (viii)

[0470] 실시예 3: *(+)-(3aR*,4S*,6aR*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카보니트릴*, 및

[0471] 실시예 4: *(-)-(3aR*,4S*,6aR*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카보니트릴*

[0472] 각각의 2개의 거울상 이성질체를 라세미 화합물 *rac*-(3a*R*,4*S*,6a*R*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-*b*]피롤-5(1*H*)-카보니트릴(0.10 g, 0.29 mmol)로부터, Chiralpak IG 250 mm x 21.0 mm, 5 μm 컬럼과 함께, UV 검출기에 커플링된 Shimadzu LC-20AP 기기를 사용하는 크로마토그래피 분리를 통해 단리하였다. 유량을 20.0 mL/min으로 설정하였다. 이동상은 (A) MeOH 중 0.1% DEA, 및 (B) MeCN 중 0.1% DEA였다. UV 스펙트럼을 292 nm 람다 맥스에서 기록하였다. 크로마토그래피를 등용매 이동상 50:50 B/A로 35 min 기간에 걸쳐 수행하여 후술된 2개의 거울상 이성질체를 수득하였고, 용리 시간은 각각 8.03 min 및 12.95 min였다.

[0473] 더 빠른 용리 분획(실시예 3)

[0474] *(+)-(3aR*,4S*,6aR*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카보니트릴*

[0475] 수율(23 mg, 0.07 mmol). LCMS: 방법 H1, 2.49 min, MS: ES+ 349.0; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 8.88 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 8.50 (s, 1H), 8.35 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H), 8.05 (dd, *J* = 5.2, 1.2 Hz, 1H), 5.06 - 5.11 (m, 0.6H), 4.56 - 4.61 (m, 0.7H), 4.16 - 4.22 (m, 0.7H), 3.43 - 3.95 (m, 4H), 2.81 - 2.95 (m, 1H), 1.77 - 1.98 (m, 2H), 1.25 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H), 로타머의 혼합물; 키랄 HPLC: 방법 Y17, 8.11 min.

[0476] 더 느린 용리 분획(실시예 4)

[0477] *(-)-(3aR*,4S*,6aR*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카보니트릴*

[0478] 수율(19 mg, 0.05 mmol). LCMS: 방법 H1, 2.49 min, MS: ES+ 349.0; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 8.88 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 8.50 (s, 1H), 8.35 (d, *J* = 3.2 Hz, 1H), 8.05 (d, *J* = 4.8, 1.2 Hz, 1H), 5.06 - 5.11 (m, 0.6H), 4.56 - 4.60 (m, 0.7H), 4.16 - 4.21 (m, 0.7H), 3.43 - 3.95 (m, 4H), 2.81 - 2.95 (m, 1H), 1.77 - 1.99 (m, 2H), 1.25 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H), 로타머의 혼합물; 키랄 HPLC: 방법 Y17, 13.17 min.

[0479] 실시예 3: 백색 고체; 키랄 HPLC: 방법 Y17, 8.11 min; > 99% e.e.; 99.5:0.5 d.r.; 융점 = 206℃ 내지 207℃;

$[\alpha]_D^{25}$ = +166° (*c* = 0.05 g/100 cm^3, MeOH).

[0480] 실시예 4: 백색 고체; 키랄 HPLC: 방법 Y17, 13.17 min; > 99% e.e.; 99.5:0.5 d.r.; 융점 = 206℃ 내지 207℃; $[\alpha]_D^{25}$ = -156° (*c* = 0.05 g/100 cm^3, MeOH).

[0481] 실시예 1 내지 4의 키랄 HPLC

[0482] 실시예 1 내지 4는 HPLC 및 키랄 HPLC 방법을 사용하여 분석하였다. 이러한 4개의 이성질체에 대한 기준선 분리는 단일 시스템에서 관찰되지 않았으므로, 키랄 HPLC(방법 Y28)를 거울상 이성질체 순도를 측정하는 데 사용한 반면, 비키랄 HPLC(방법 E)를 부분입체 이성질체 비율을 측정하는 데 사용하였다.

[0483] 본 발명의 화합물의 생물학적 활성

[0484] 약어:

TAMRA	카복시테트라메틸로다민
PCR	폴리머라제 쇄 반응
PBS	포스페이트 완충된 염수
EDTA	에틸렌다이아민테트라아세트산
Tris	2-아미노-2-(하이드록시메틸)-1,3-프로판다이올
NP-40	Nonidet P-40, 옥틸페녹시폴리에톡시에탄올
BSA	소 혈청 알부민
PNS	말초 신경계
BH3	Bcl-2 상동성 도메인 3
PTEN	포스파타제 및 텐신 동족체
SDS-PAGE	나트륨 도데실 설페이트 폴리아크릴아미드 겔 전기영동
DMSO	다이메틸 설폭사이드
YFP	황색 형광 단백질
VME	비닐 메틸 에스터
HA	헤마글루티닌
Ahx	아미노헥산산

[0485]

[0486] USP30 생화학적 IC_{50} 검정

[0487] 희석 플레이트를 96-웰 폴리프로필렌 V-바닥 플레이트(Greiner #651201)에서 50% DMSO에서 최종 농도의 21-배(최종 농도 100 μM의 경우, 2,100 μM)로 준비하였다. 전형적인 8-포인트 희석 시리즈는 최종 100, 30, 10, 3, 1, 0.3, 0.1 및 0.03 μM이다. 흑색 384-웰 플레이트(소량, Greiner 784076)에서 21 μL의 최종 반응 부피로 반응을 이중으로 수행하였다. 1 μL의 50% DMSO 또는 희석된 화합물을 플레이트에 첨가하였다. USP30(Boston Biochem #E582)을 반응 완충제(40 mM Tris, pH 7.5, 0.005% Tween 20, 0.5 mg/mL BSA, 5 mM 베타-머캅토에탄올)에 희석하여 4 nM의 최종 분석 농도를 달성하였고, 10 μL의 희석된 USP30을 화합물에 첨가하였다. 효소 및 화합물을 실온에서 30분 동안 배양하였다. 형광 편광 기질로서 이소-펩티드 결합을 통해 유비퀴틴에 연결된 50 nM의 TAMRA 표지된 펩티드를 첨가함으로써 반응을 개시하였다. 기질 첨가 직후 및 실온에서 2시간 배양 후에 반응을 판독하였다. Pherastar Plus(BMG Labtech)에서 판독을 수행하였다. λ 여기 540 nm; λ 방출 590 nm.

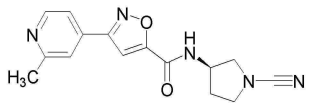
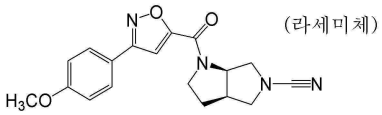
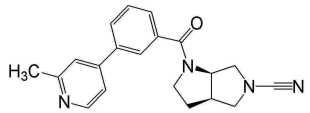
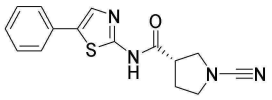
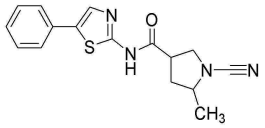
[0488] USP30 생화학적 IC_{50} 분석에서 예시적인 화합물의 활성

실시예	IC_{50} (nM)
1	11
2	1078
3	338
4	> 3000

[0489]

[0490] 참조 실시예

[0491] USP30 생화학적 IC_{50} 분석에서 예시적인 화합물의 활성

참조 실시예	화학식	출처	USP30 IC_{50} (nM)
A		WO 2016/156816 실시예 270	270
B	 (라세미체)	WO 2016/156816 실시예 56	70
C		WO 2016/156816 실시예 241	72
D		WO 2016/046530 실시예 1	310
E		WO 2016/046530 실시예 88	4400

[0492]

[0493] 오프-표적(Off-Target) 약리학

[0494] 실시예 1을 Eurofins CEREP SafetyScreen44 패널에서 약리학적 프로파일링시켰다. 10 μM의 단일 농도에서, 패널의 모든 표적에 대해 결합 또는 효소 활성의 50% 미만 억제가 관찰되었다. 실시예 1은 본 검정에서 표적에 대한 낮은 친화도로 인해 오프-표적 상호작용에 대한 가능성이 낮다.

[0495] 안전성 약리학

[0496] 실시예 1은 0.01 내지 30 μM의 농도에서 안정적으로 발현된 CHO 세포에서 hERG 칼륨 채널에 대한 효과에 대해 평가되었다. 실시예 2는 30 μM에서 hERG 전류 진폭의 27%의 억제 값을 생성하였고, 이는 QT 간격에 영향을 미치는 경향이 적음을 나타낸다.

[0497] 유전 독성학

[0498] 실시예 1은 박테리아 역돌연변이 분석(Ames) 및 시험관내 소핵 분석에서 평가되었다. 모든 시험관내 시험은 세포독성 또는 불용성으로 제한되는 농도 이하의 농도를 사용하여 외인성 대사 활성화의 존재 또는 부재 하에 수행되었다. 실시예 1은, 살모넬라 티피무리움 균주 TA98, TA100, TA1535 및 TA97a 및 에스케리키아 콜라이(*Escherichia Coli*) 균주 WP2 uvrA pKM101에서 역돌연변이 분석에서 대사 활성화의 존재 또는 부재 하에 최대 5,000 μg/플레이트까지 시험할 때 돌연변이를 유발하지 않았다.

[0499] 염색체 손상의 유도를 TK6 세포에서 시험관내 소핵 분석을 사용하여 평가하였다. 실시예 1은 외인성 대사 활성화의 존재 하에 3시간 동안 배양한 후 27시간 동안 회복된 경우 소핵 유도에 대해 음성이었고, 또한 외인성 대사 활성화의 부재 하에 27시간 동안 배양한 후 27시간 동안 회복된 경우에도 소핵 유도에 대해 음성이었다.

[0500] TOM20-유비퀴틴화 검정

[0501] 인간 세포주를 미토콘드리아 탈분극제(이오노포어(예를 들어, CCCP, 말리노마이신(valinomycin)), 미토콘드리아 복합체 억제제(올리고마이신(oligomycin), 안티마이신 A(antimycin A)))를 사용하여 시험하여 TOM20의 유비퀴틴화를 유도할 수 있고, 이는 USP30 억제제의 존재 하에 추가로 촉진된다. 이어서, TOM20 유비퀴틴화를 세포 용해물의 웨스턴 블롯팅을 통해 평가하였고, 이때 TOM20 유비퀴틴화 부가물 검출은 첨가된 유비퀴틴의 각 분자에 대해 8 kDa 분자량 증가로 인해 가능하였고, 이는 TOM20 면역반응성 밴드의 래더링(laddering)을 야기하였다. 래더링된 면역반응성 밴드의 화학발광 농도 측정을 사용하여 TOM20-유비퀴틴화 수준을 정량화할 수 있다.

[0502] USP30 내인성 세포 표적 결합 검정

[0503] YFP-파킨을 안정적으로 과발현하는 Hela 세포를 6-웰 접시에 시딩하였다. 부착되면, 세포를 37℃, 5% CO_2에서 1시간 동안 적절한 농도의 시험 화합물 또는 비히클 대조군으로 처리하였다. 상기 세포를 차가운 PBS 내로 스크래핑(scraping)하고, 원심분리하고, 용해 완충액(50 mM Tris-염기, pH 7.5, 50 mM NaCl, 1% NP-40/Igepal CA-630, 2 mM $MgCl_2$, 10% 글리세롤, 5 mM 베타-머캅토에탄올, cOmplete™ 미니 정제 EDTA 부재(Roche), PhosStop 정제(Roche))에서 10분 동안 원심분리함으로써 전세포 용해물을 제조하였다. 제거된 세포 용해물의 20 μg 단백질의 등가물을 실온에서 최종 농도 2.5 μM HA-Ahx-Ahx-Ub-VME 프로브와 함께 배양하였다. 5x SDS 샘플 로딩 완충제 및 SDS PAGE 및 웨스턴 블롯팅에 의해 분리된 단백질을 첨가하여 반응을 중단시켰다. USP30은 항-USP30 양 S746D 항체(MRC PPU Reagents and Services) 및 접합된 토끼 항 양 2차 IgG(H+L) 양고추냉이 퍼옥시다제(Thermo #31480)를 사용하여 검출되었고, ECL 시약(GE #RPN2109)을 사용하여 GE LAS4000 이미저 상에서 가시화되었다. 표적 결합은 Ub-VME 프로브에 결합된 USP30 및 USP30에 해당하는 밴드의 정량화 및 비히클 처리된 대조군과 비교하여 이 비율의 발현에 의해 측정되었다.

[0504] 시험관내 세포독성 (세포 Tox): 분석 종말점으로 alamarBlue™를 사용하여 HCT116 인간 대장 암종 세포에서 측정하였다. 화합물 세포독성은 96시간 연속 화합물 노출 기간에 걸쳐 측정되었다.

[0505] 추가 연구

[0506] log P: 분배 계수; 친유성 측정.

[0507] log D: 분포 계수; 친유성 측정.

[0508] TPSA: 토폴로지 극성 표면적.

[0509] 탁도 분석 용해도: 수성 완충액으로 희석된 DMSO에서 제조한 시험 화합물 용액.

[0510] 탁도 측정은 620 nm에서 흡광도를 측정하여 종말점으로 사용된다.

[0511] FaSSIF: pH 6.5에서 측정한 공복 상태의 모의실험된 장액.

[0512] Hep Cl 마우스: 마우스 세포에서 시험관내 간 세포 제거율.

[0513] Hep Cl 인간: 인간 세포에서 시험관내 간 세포 제거율.

[0514] 혈장 $f_{u,p}$: 시험관내 평형 투석에 의해 결정된 혈장 제제내 화합물의 유리 분율. 비결합된(유리) 화합물이 표적과 관계를 맺을 수 있음이 이해된다.

[0515] 뇌 $f_{u,br}$: 시험관내 평형 투석에 의해 결정된 뇌 균질액 제제에서 화합물의 유리 분율. 비결합된(유리) 화합물이 표적과 관계를 맺을 수 있음이 이해된다.

[0516] Cl_u: 시험관내 제거율. 본원에 정의된 Cl_u는 크기 조정된 제거율이며, 결과적으로 내재성 제거율에서 계산된다. 내재성 제거율은 간세포 제제에서 화합물의 배양으로부터 결정된, 간 대사 반응으로 인한 예상 제거율이다. mL/min/kg 단위의 값이 낮을수록 화합물이 더 안정적이다.

[0517] Cl 생체내 제거율: 단위 시간 당 물질이 완전히 제거된 혈장(또는 모든 기질) 부피의 약동학적 측정. mL/min/kg

단위의 값이 낮을수록 화합물이 더 안정적이다.

[0518] 경구 F: 경구 생체이용률.

[0519] MDR 1-MDCK(Madin-Darby 개 신장 세포 단층)(시험관내) 플럭스 분석.

[0520] WT-MDCK(야생형) 시험관내 플럭스.

[0521] Kp_{uu}는 혈장 내 미결합 약물에 대한 뇌의 미결합 약물의 비율이고, 말초 및/또는 CNS 적응증을 치료할 가능성을 나타낼 수 있다.

[0522]

연구		실시예 1
세포 TE WB	내인성 USP30 EC_{50} (μM)	0.026
세포 Tox	HCT116 EC_{50} (μM)	> 30
물리화학	pH 7.4 에서 측정된 Log D	1.4
	TPSA	110
	탁도계 용해도 (μM)	65
	pH 6.5 에서 측정된 FaSSIF (μM)	488
간세포 Cl 마우스	스케일링된 Cl_u (mL/min/kg)	40
간세포 Cl 인간	스케일링된 Cl_u (mL/min/kg)	18
안정성	마우스 혈장 $t_{½}$ (min)	> 120
MDR1-MDCK	효과적인 유출 비율	3.2
WT-MDCK	유출 비율, A-B P_{app} 플럭스 (10^{-6} cm/s)	0.8, 16

[0523]

연구		실시예 1
결합 마우스	혈장 $f_{u,p}$ / 뇌 $f_{u,br}$	0.14 / 0.30
PK 마우스 2 mg/kg IV	Cl 혈장 (mL/min/kg)	19
PK 마우스 10 mg/kg	경구 F (%)	87
TOM20-Ub 1.5-배 증가	안티마이신 A/올리고마이신 미토파지 트리거 EC1.5x (μM)	0.010
비결합된 혈장 Cmax/TOM20-Ub 세포 효능 (10 mg/kg PO 도스 - 마우스)		292
마우스 및 래트 PK 미세투석법 30 mg/kg *po*	마우스 Kp_{uu} (PFC_u/혈장 $_u$)	0.90
	마우스 PFC_u/세포 TOM20-Ub	125-배
	래트 Kp_{uu} (PFC_u/혈장 $_u$)	0.43
	마우스 PFC_u >9x 세포 TOM20-Ub	0.5 h 내지 > 6 h
	래트 PFC_u >9x 세포 TOM20-Ub	0.75 h 내지 2.25 h
개 PK 30 mg/kg *po*	Kp_{uu} (CSF/혈장 $_u$)	0.41

[0524] 실시예 1은 다른 화합물보다 잠재적인 우월성을 나타내는 유익한 특성을 갖는다. 예를 들어, 마우스에서 측정된 19 mL/min/kg의 관찰된 IV 혈장 제거율은 낮고, 이는 가치 있는 혈장 안정성을 나타내고, 화합물은 87%의 예외적인 경구 생체이용률을 나타낸다.

[0525] 실시예 1은, 마우스 및 래트에서 30 mg/kg 투여 후 뇌 영역의 미세투석법 샘플링에 의해 측정된 바와 같은, 경구 투여에 따른 높은 생체내 CNS 분포를 나타낸다. 실시예 1의 높은 비결합된 농도는 투여 후 수 시간에 걸쳐 관찰되었고, CNS에서 표적 적용범위의 적합한 추정 기간을 야기한다. 또한, 실시예 1은, 30 mg/kg으로 개에게 경구 투여될 때, 뇌-척수 유체(CSF)에 대한 높은 구획을 나타냈다.

[0526]

화합물		실시예 1	참조 실시예 A	참조 실시예 B	참조 실시예 C
DUB IC_{50} (μM)	USP30	0.011	0.27	0.070	0.072
DUB IC_{50} (μM)	USP2, USP6, USP10, USP16, USP21, USP25, USP28	24.9 - 107.2	0.90 - 59.4	0.54 - 38.8	4.0 - 92.4
USP30 v 7 DUB에 대한 DUB 선택성 선호도		> 2260	3.3 - 220	7.7 - 554	56 - 1283
카텝신 IC_{50} (μM)	카텝신 B	205.1	4.1	1.4	1.2
	카텝신 K	109.9	0.54	16.2	0.44
	카텝신 L	42.1	2.1	1.8	1.3
	카텝신 S	259.6	20.2	9.2	22.8
	카텝신 V	247.5	9.1	2.3	18.5
	B, K, L, S, V	≥ 42.1	0.54 - 20.2	1.8 - 16.2	0.44 - 22.8
USP30 v 카텝신에 대한 선택성 선호도		> 3800	2 - 75	20 - 231	6.1 - 317
간세포 Cl 마우스	스케일링된 Cl_u (mL/min/kg)	40	92	> 121	108
안정성	마우스 혈장 $t_{½}$ (min)	> 120	63	21	16

[0527]

화합물		실시예 1	참조 실시예 D	참조 실시예 E
DUB IC_{50} (μM)	USP30	0.011	0.31	4.4
	UCHL1	> 300	0.25	6.8
USP30 v UCHL1에 대한 DUB 선택성 선호도		> 27000	0.8	1.5

[0528] 비교 데이터

[0529] 참조 실시예 A, B, C, D 및 E는 USP30의 억제제로서 활성인 것으로 확인된 공지된 DUB 억제제이고, 시안아미드 구조적 특징을 보유하는 본 발명의 화합물과 일부 구조적 유사성을 공유한다. 참조 실시예 D 및 E는 UCHL1 억제 활성을 갖는 것으로 WO 2016/046530에 개시되어 있다.

[0530] 실시예 1은 참조 실시예 A, B 및 C와 비교하여 유의하게 개선된 간세포 대사 안정성(마우스 간세포에서 측정됨)을 나타낸다. 실시예 1은 참조 실시예 A, B 및 C와 비교하여 유의하게 개선된 혈장 안정성(적어도 2 내지 8-배, 마우스 혈장에서 측정됨)을 나타낸다.

[0531] USP30에 대한 효능

[0532] 본 발명의 실시예 1은 생화학적 검정에서 측정된 바와 같이 참조 실시예 A, B, C, D 및 E보다 USP30에 대해 유의하게 더 강력하다. 실시예 1은 참조 실시예 B 및 C보다 6-배 더 강력하고, 참조 실시예 A 및 D보다 24-배 더 강력하고, 참조 실시예 E보다 400-배 더 강력하다.

[0533] 다른 DUB 대비 USP30에 대한 선택성

[0534] 제공된 데이터는 실시예 1이 참조 실시예 A, B 및 C와 비교하여 7개의 DUB(USP2, USP6, USP10, USP16, USP21, USP25 및 USP28) 대비 USP30에 대해 유의하게 더 선택적임을 증명한다. 실시예 1은 7개의 DUB 각각에 대해서 보다 USP30에 대해 2,260-배 더 강력하다. 이것은 각각 단지 3.3-배 및 7.7-배 더 강력한 참조 실시예 A 및 B에 비해 유의한 선택성 이점이다. 참조 실시예 C는 A 및 B보다 더 선택적이지만, 다른 DUB에 대해서 보다 USP30에 대해 56-배 더 강력하고, 여전히 실시예 1보다 유의하게 열등하다.

[0535] UCHL1 대비 USP30에 대한 선택성

[0536] 제공된 데이터는 실시예 1이 참조 실시예 D 및 E와 비교하여 UCHL1 대비 USP30에 대해 유의하게 더 선택적임을 증명한다. 실시예 1은 UCHL1보다 USP30에 대해 27,000-배 초과로 더 강력한 반면, 참조 실시예 D 및 E는 각각 단지 0.8 및 1.5-배 더 강력하다.

[0537] 카텝신 B, K, L, S 및 V 대비 USP30에 대한 선택성

[0538] 제공된 데이터는 실시예 1이 참조 실시예 A, B 및 C와 비교하여, 카텝신(B, K, L, S 및 V) 대비 USP30에 대해 유의하게 더 선택적임을 증명한다. 실시예 1은 카텝신 각각에 대해서 보다 USP30에 대해 3,800-배 초과로 더 강력하다. 이것은 참조 실시예 A, B 및 C에 비해 유의한 선택성 이점이다.

[0539] 구체적으로, 실시예 1은, 참조 실시예 B 및 C(각각 단지 20 및 16.7-배 더 강력함)와 비교하여, 카텝신 B에 대해서 보다 USP30에 대해 18,000-배 초과로 더 강력하다. 실시예 1은 참조 실시예 A 및 C(각각 단지 2 및 6.1-배 더 강력함)와 비교하여, 카텝신 K에 대해서 보다 USP30에 대해 9,900-배 초과로 더 강력하다.

[0540] 선행 기술의 참조 실시예에 비해 본 발명의 실시예 1의 상기 확인된 이점은 모두 중요하면서도 예상치 못한 것이다. 그 자체로, 특히 조합하여, 이러한 우월성은 화합물을 USP30 활성과 관련된 질병의 치료 또는 예방에 사용하기에 특히 적합하게 만든다.

[0541] 전임상 생체내 모델

[0542] 본 발명의 화합물을, 예를 들어 하기를 포함하는 공개된 문헌의 표준 연구 절차를 사용하여 대표적인 생체내 질병 모델에서 효능에 대해 시험할 수 있다:

[0543] (a) 특발성 폐 섬유증의 생체 모델로 이어지는 블레오마이신-유발 폐 섬유증. 문헌[Kobayashi et al, 2016, J Immunol, 197(2):504-516]

[0544] (b) NAFLD 및 포도당 항상성의 식이-유발 모델. 문헌[Nishida et al, 2013, Lab Invest; Feb;93(2):230-41]

[0545] (c) 화학적으로 유발된 미토콘드리아 기능장애에 의해 촉발되는 뇌의 도파민성 시스템에서 신경변성을 관찰하기 위해 통상적으로 사용되는 패러다임인 파킨슨병의 MPTP 모델. 문헌[Karuppagouner et al, 2014, Sci Rep. 2014 May 2;4:4874]

[0546] (d) Ndufs4KO 리 증후군 모델. 문헌[Kruse et al, 2008, Cell Metab. Apr;7(4):312-20]

[0547] (e) 노화된 설치류 모델: 해마, 인지 및 운동 기능에 대한 효과. 문헌[Kobilo et al, 2014, Learn Mem. Jan 17;21(2):119-26]; [Creed et al, 2019, Neuroscience. Jun 15;409:169-179]; [Van Skike et al, 2020, Aging Cell. 19; e13057].

[0548] 늙은 설치류는 인지 능력의 생화학적 및 기능적 변화를 뒷받침하는 해마 신경퇴행을 자연적으로 발생시킨다. 글루타민/글루타메이트 축은 미토콘드리아 에너지 생산의 일부로서 뉴런에서의 글루타민 이용 사이의 긴밀한 관계를 고려할 때 해마 건강의 대리자로 간주될 수 있다.

[0549] (f) 일측성 요관 폐쇄성 신장 질환 모델(UUO). [Chevalier et al, 2009, Kidney Int 75(11): 1145-1152].

[0550] UUO는 세뇨관 세포 손상, 간질성 염증 및 섬유증을 특징으로 하는 신장 손상을 유발한다. 이는 회복 불가능한 신후성 급성 신장 손상(AKI)의 모델 역할을 한다. 실험 UUO는 세포사멸, 염증 및 섬유증의 분자 기전을 설명하였고, 이들 모두는 1차 손상에 관계 없이 신장 손상의 핵심 과정이다. 결과적으로, UUO 모델은 조사자에게 방해가 되지 않는 정보를 제공한다(문헌[Chevalier et al, 2009, Kidney Int 75(11): 1145-1152]).

[0551] 실시예 1을, 진행성 세뇨관 간질성 섬유증 및 만성 신장 질환(CKD)을 약화시키는 화합물의 능력을 결정하기 위해 UUO 모델에서 평가하였다.

[0552] 연구 제1일에, 성체 C57BL/6 마우스에게 다음 투여 양생법 중 하나에 따라 경구 위관 영양법으로 투여하였다:

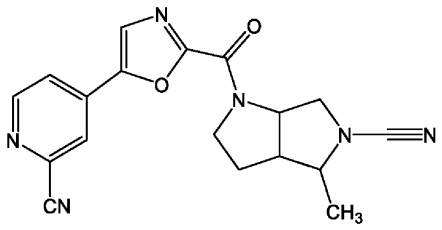
비히클, 1.5 또는 5 mg/kg 실시예 1(p.o.) BID. 연구 제1일에 투여 후 2시간째에 연구 마우스는 두 지점에서 왼쪽 요관을 결찰하는 수술을 받았다. 성공적인 UUO 수술은 나중에 수신증으로 인한 신우의 팽창의 관찰에 의해 확인되었다. 동물은 10일 동안 처방된 양생법에 따라 투여받았고, 이 시점에 신장을 조직병리학 평가 및 단백질/RNA 평가를 위해 채취하였다. 콜라겐 침착 정도를 평가하기 위해 Picrosirius Red 염색을 수행하였고, 상대적인 α-평활근 액틴(α-SMA) 발현을 평가하기 위해 IHC를 사용하였다.

[0553] 결과는, 결찰된 신장에서 감소된 Picrosirius Red 염색에 의해 입증된 바와 같이, BID 투여된 1.5 및 5mg/kg 실시예 1(p.o.) 둘 다가 통계적으로 콜라겐 침착을 감소시켰다는 것을 나타냈다. α-SMA 염색의 평가는, 1.5 mg/kg 실시예 1 BID의 경구 투여가 또한, 비히클 처리된 대조군과 비교할 때, UUO 손상된 신장에서 α-SMA 수준의 통계적인 감소를 야기하는 것으로 밝혀졌다.

[0554] (g) AKI는 양측 신장경 클램핑(bilateral renal pedical clamping)에 의해 유도되어 허혈 재관류 손상(IRI)을 초래하여 신장 기능의 심각한 손실, 세뇨관 손상 및 염증을 유발할 수 있다(문헌[Lu et al. 2012. J Nephrol. 25 (5): 738-45]).

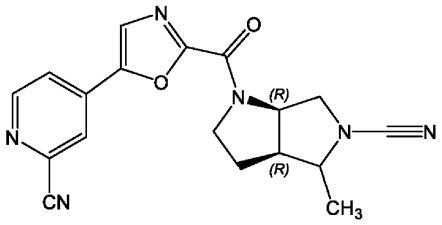
[0555] 본 발명의 항목

[0556] 1. 하기 화학식 (I)의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염:



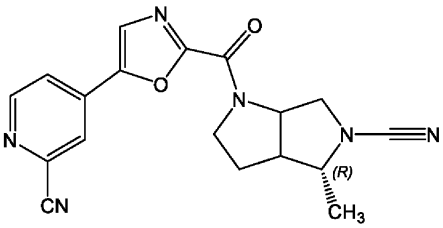
[0557] (I).

[0558] 2. 제1항목에 있어서, 하기 화학식 (IA)의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염:



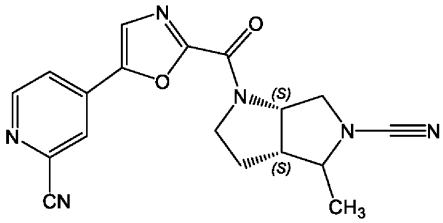
[0559] (IA).

[0560] 3. 제1항목에 있어서, 하기 화학식 (IB)의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염:



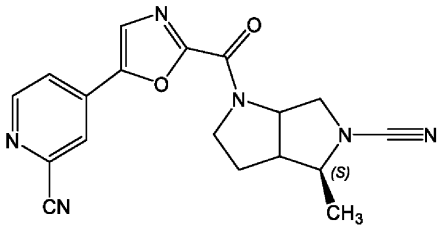
[0561] (IB).

[0562] 4. 제1항목에 있어서, 하기 화학식 (IC)의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염:



[0563] (IC).

[0564] 5. 제1항목에 있어서, 하기 화학식 (ID)의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염:

[0565]  (ID).

[0566] 6. 제1항목에 있어서,

[0567] (3a*R*,4*R*,6a*R*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카보니트릴;

[0568] (3a*S*,4*S*,6a*S*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카보니트릴;

[0569] (3a*R*,4*S*,6a*R*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카보니트릴;

[0570] (3a*S*,4*R*,6a*S*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카보니트릴;

[0571] (3a*R*,4*R*,6a*S*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카보니트릴;

[0572] (3a*S*,4*S*,6a*R*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카보니트릴;

[0573] (3a*R*,4*S*,6a*S*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카보니트릴; 및

[0574] (3a*S*,4*R*,6a*R*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카보니트릴

[0575] 로부터 선택되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염.

[0576] 7. 제6항목에 있어서,

[0577] (3a*R*,4*R*,6a*R*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카보니트릴;

[0578] (3a*S*,4*S*,6a*S*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카보니트릴;

[0579] (3a*R*,4*S*,6a*R*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카보니트릴; 및

[0580] (3a*S*,4*R*,6a*S*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카보니트릴

[0581] 로부터 선택되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염.

[0582] 8. 제7항목에 있어서, (3a*R*,4*R*,6a*R*)-1-(5-(2-시아노피리딘-4-일)옥사졸-2-카보닐)-4-메틸헥사하이드로피롤로[3,4-b]피롤-5(1H)-카보니트릴인 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염.

[0583] 9. 제1항목 내지 제8항목 중 어느 한 항목에 있어서, 약제로서 사용하기 위한 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염.

[0584] 10. 제1항목 내지 제8항목 중 어느 한 항목에 있어서, 미토콘드리아 기능장애를 수반하는 질환, 암 또는 섬유증의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염.

[0585] 11. 제1항목 내지 제8항목 중 어느 한 항목에 따른 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염의 미토콘드리아

기능장애를 수반하는 질환, 암 또는 섬유증의 치료용 또는 예방용 약제의 제조에서의 용도.

[0586] 12. 제1항목 내지 제8항목 중 어느 한 항목에 따른 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염의 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 미토콘드리아 기능장애를 수반하는 질환, 암 또는 섬유증의 치료 또는 예방 방법.

[0587] 13. 제10항목 내지 제12항목 중 어느 한 항목에 있어서, 미토콘드리아 기능장애를 수반하는 병태가 중추신경계(CNS) 질환; 신경퇴행성 질환; 파킨슨병; 알츠하이머병; 근위축성 측삭 경화증; 헌팅턴병; 허혈증; 뇌졸중; 루이소체 치매; 전전두엽 치매; 다발성 경화증; 미토콘드리아성 뇌병증, 젖산 산증 및 뇌졸중-유사 에피소드(MELAS) 증후군; 모계-유전 당뇨병 및 난청; 레베르 유전성 시신경병증(Leber's hereditary optic neuropathy); 신경병증, 운동실조, 색소성 망막염-모계 유전 리 증후군(NARP-MILS); 다논병(Danon disease); 당뇨병; 당뇨병성 신장증; 대사장애; 심부전; 심근경색증으로 이어지는 허혈성 심장병; 정신 질환; 정신분열증; 다발성 설파타제 결핍증; II형 점액지질증; III형 점액지질증; IV형 점액지질증; GM1-강글리오시드증; 신경 세로이드-리포푸신증; 알퍼병(Alpers disease); 바스 증후군(Barth syndrome); 베타-산화 이상; 카르니틴-아실-카르니틴 결핍증; 카르니틴 결핍증; 크레아틴 결핍 증후군; 조효소 Q10 결핍증; 복합체 I 결핍증; 복합체 II 결핍증; 복합체 III 결핍증; 복합체 IV 결핍증; 복합체 V 결핍증; COX 결핍증; 만성 진행성 외안근마비 증후군; CPT I 결핍증; CPT II 결핍증; II형 글루타르산혈증; 컨스-세이어 증후군(Kearns-Sayre syndrome); 젖산 산증; 장쇄 아실-CoA 탈수소효소 결핍증; 리 질환 또는 증후군(Leigh disease or syndrome); 리 증후군 프랑스계 캐나다인 변종; 치사성 유아 심근병증; 루프트병(Luft disease); 중간쇄 아실-CoA 탈수소효소 결핍증; 근간대 뇌전증 및 불균일 적색 근육섬유 증후군; 미토콘드리아 세포병증; 미토콘드리아 열성 운동실조 증후군; 미토콘드리아 DNA 결여 증후군; 근신경 위장 질환 및 뇌병증; 피어슨 증후군(Pearson syndrome); 피루베이트 탈수소효소 결핍증; 피루베이트 카복실화효소 결핍증; POLG 돌연변이; 중간쇄/단쇄 3-하이드록시아실-CoA 탈수소효소 결핍증; 초장쇄(very long-chain) 아실-CoA 탈수소효소 결핍증; 과산화소체 질환; 메틸말론산혈증; 메발로네이트 키나제 결핍증; 인지 기능 및 근력의 연령-의존성 감퇴; 및 모든 신경퇴행성 및 신경정신병성 질환과 관련된 인지 손상으로부터 선택되는, 화합물, 용도 또는 방법.

[0588] 14. 제13항목에 있어서, 신경퇴행성 질환이 파킨슨병, 알츠하이머병, 근위축성 측삭 경화증, 헌팅턴병, 허혈증, 뇌졸중, 루이소체 치매, 다계통 위축증, 진행성 핵상 마비, 피질기저 변성, 전전두엽 치매; α-시누클레인, 파킨, PINK1, GBA 및 LRRK2의 돌연변이와 관련된 파킨슨병; 및 상염색체 열성 소아 파킨슨병 또는 조기 발병 파킨슨병(EOPD)으로부터 선택되고, 이때 파킨 또는 PINK1은 돌연변이되거나 절두되거나 결실되는, 화합물, 용도 또는 방법.

[0589] 15. 제13항목에 있어서, 신경퇴행성 질환이 리 증후군 또는 질환, X-연관 리 질환, 리 증후군 프랑스계 캐나다인 변종, 및/또는 리 질환과 관련된 증상인, 화합물, 용도 또는 방법.

[0590] 16. 제10항목 내지 제12항목 중 어느 한 항목에 있어서, 암이 유방암, 난소암, 전립선암, 폐암, 신장암, 위암, 결장암, 고환암, 두경부암, 췌장암, 뇌암, 흑색종, 골암, 간암, 연조직암, 조직 기관의 암, 혈액 세포의 암, CML, AML, 맨틀 세포 림프종, 신경아종, 연조직 육종, 지방 육종, 섬유아세포 육종, 평활근 육종, 간 세포암종, 골 육종, 식도암, 백혈병, 림프종, 다발성 골수종, 전이성 암종, 연골 육종, 유잉 육종, 비인두 암종, 결장직장암, 비-소세포 폐 암종, 세포사멸 경로가 이상조절된 암, 및 BCL-2 계열의 단백질이 돌연변이되거나 과대 또는 과소 발현된 암으로부터 선택되는, 화합물, 용도 또는 방법.

[0591] 17. 제10항목 내지 제12항목 중 어느 한 항목에 있어서, 섬유증이, 외상, 염증, 조직 재생, 면역 반응, 세포 과형성 및 종양형성 후에 발생하는 세포외 기질 성분의 축적과 관련된 섬유증 또는 섬유증 질환으로부터 선택되는, 화합물, 용도 또는 방법.

[0592] 18. 제17항목에 있어서, 섬유증이, 주요 장기 질환과 관련된 섬유증 또는 섬유증 질환, 섬유증식성 질환, 및 외상과 관련된 흉터로부터 선택되는, 화합물, 용도 또는 방법.

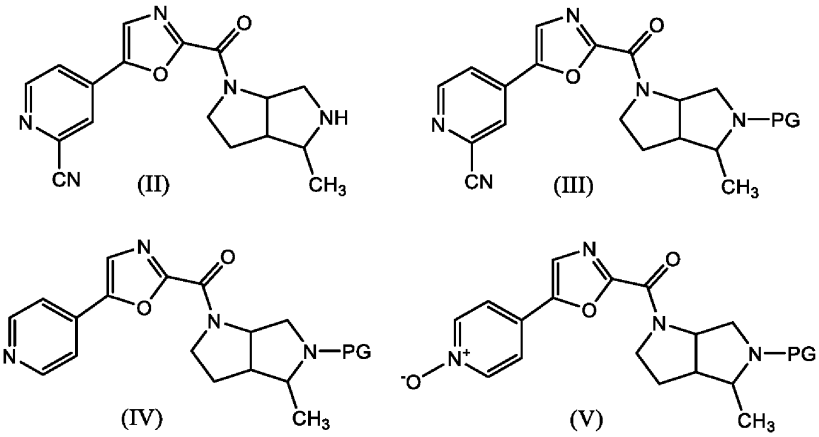
[0593] 19. 제18항목에 있어서, 섬유증이, 간질성 폐 질환, 간 경화증, 비-알코올성 지방간 질환, 비-알코올성 지방간염, 신장 질환, 급성 신장 질환, 급성 신장 손상, 만성 신장 질환, 지연된 신장 이식편 기능, 심혈관 질환 및 눈 질환과 관련된 섬유증 또는 섬유증 질환; 전신 및 국소 경피증, 켈로이드, 비대성 흉터, 죽상경화증, 재협착증, 뒤프트랑 구축(Dupuytren's contracture), 수술 합병증, 화학치료 약물-유발 섬유증, 방사선-유발 섬유증, 사고로 인한 부상 및 화상, 후복막 섬유증, 및 복막 섬유증/복막 흉터로부터 선택되는, 화합물, 용도 또는 방법.

[0594] 20. 제19항목에 있어서, 간질성 폐 질환과 관련된 섬유증이, 유사육종증, 규폐증, 약물 반응, 감염, 콜라겐 혈관 질환, 류마티스 관절염, 전신 경화증, 경피증, 폐 섬유증, 특발성 폐 섬유증, 통상형 간질성 폐렴, 간질성 폐 질환, 잠복성 섬유화 폐포염, 폐색성 세기관지염 및 기관지 확장증으로부터 선택되는, 화합물, 용도 또는 방법.

[0595] 21. 제19항목에 있어서, 신장 질환이 급성 신장 질환, 급성 신장 손상 또는 만성 신장 질환인, 화합물, 용도 또는 방법.

[0596] 22. 제1항목 내지 제8항목 중 어느 한 항목에 따른 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 하나 이상의 약학적으로 허용되는 부형제와 함께 포함하는 약학 조성물.

[0597] 23. 하기 화학식 (II), (III), (IV) 및 (V)로부터 선택되는 화합물 또는 상기 화합물의 염:

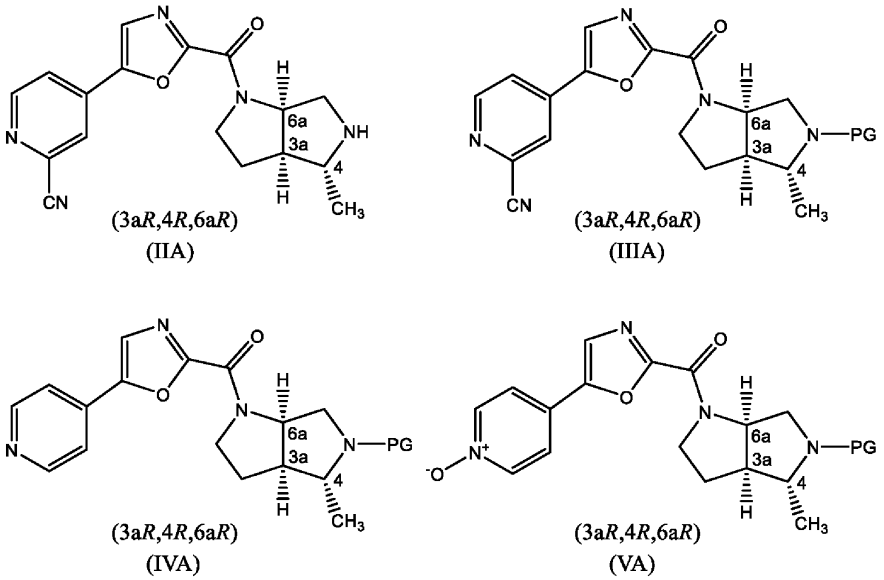


[0598]

[0599] 상기 식에서,

[0600] PG는 보호기이고, 바람직하게는 tert-부틸옥시카보닐, 벤질옥시카보닐, p-메톡시벤질카보닐, 9-플루오렌일메틸옥시카보닐, 아세틸, 벤조일, 벤질, 카바메이트, p-메톡시벤질, 3,4-다이메톡시벤질, p-메톡시페닐, 토실, 트라이클로로에톡시카보닐, 4-니트로벤젠설폰일 및 2-니트로페닐설펜일로부터 선택된다.

[0601] 24. 제23항목에 있어서, 하기 화학식 (IIA), (IIIA), (IVA) 및 (VA)로부터 선택되는 화합물 또는 상기 화합물의 염:



[0602]