



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2015-0006899
(43) 공개일자 2015년01월19일

- | | |
|--|--|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 471/20 (2006.01) A61K 31/438 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01) A61P 3/04 (2006.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2014-7036653(분할)</p> <p>(22) 출원일자(국제) 2011년10월18일
심사청구일자 없음</p> <p>(62) 원출원 특허 10-2013-7013652
원출원일자(국제) 2011년10월18일
심사청구일자 2013년05월28일</p> <p>(85) 번역문제출일자 2014년12월29일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/IB2011/054643</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2012/056372
국제공개일자 2012년05월03일</p> <p>(30) 우선권주장
61/408,127 2010년10월29일 미국(US)
61/531,744 2011년09월07일 미국(US)</p> | <p>(71) 출원인
화이자 인코포레이티드
미국 뉴욕주 10017 뉴욕 이스트 42번 스트리트 235</p> <p>(72) 발명자
베이글리 스코트 윌리엄
미국 코네티컷주 06340 그로톤 이스턴 포인트 로드 화이자 글로벌 리서치 앤드 디벨롭먼트
도우 로버트 리
미국 코네티컷주 06340 그로톤 이스턴 포인트 로드 화이자 글로벌 리서치 앤드 디벨롭먼트
(뒷면에 계속)</p> <p>(74) 대리인
제일특허법인</p> |
|--|--|

전체 청구항 수 : 총 5 항

(54) 발명의 명칭 N1/N2-락탐 아세틸-CoA 카복실라아제 억제제

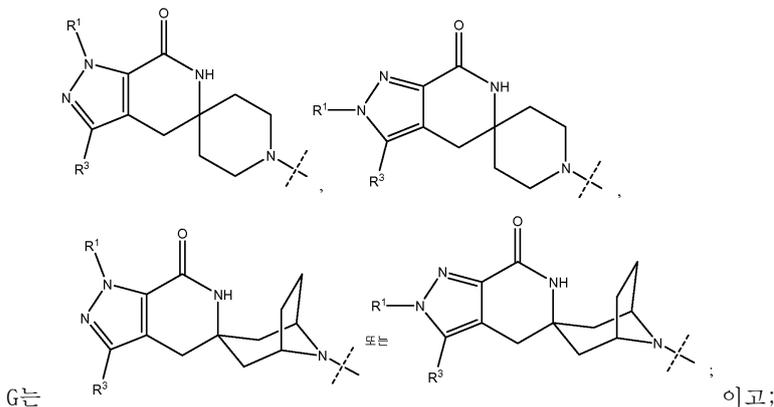
(57) 요약

본 발명은 하기 화학식 I의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 이의 약학 조성물, 및 동물에서 아세틸-CoA 카복실라아제 효소의 억제에 의해 조절되는 질환, 상태 또는 질병의 치료를 위한 이의 용도를 제공한다:

화학식 I



상기 식에서,



R¹, R² 및 R³은 본원에 기재된 바와 같다.

(72) 발명자

그리피스 데이비드 앤드류

미국 매사추세츠주 02140 캠브리지 캠브리지 파크
드라이브 87 화이자 글로벌 리서치 앤드 디벨롭먼트

스미스 아론 크리스토퍼

미국 코네티컷주 06340 그로턴 이스턴 포인트 로드
화이자 글로벌 리서치 앤드 디벨롭먼트

특허청구의 범위

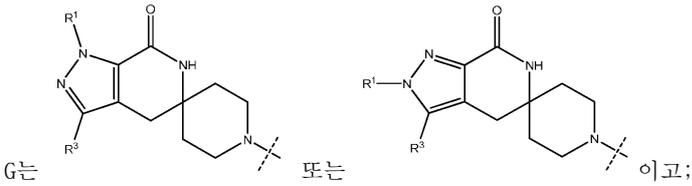
청구항 1

하기 화학식 I의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염:

화학식 I



상기 식에서,



R¹은 (C₁-C₆)알킬 또는 (C₃-C₅) 사이클로알킬이고;

R²는 벤조이미다졸릴, 피롤로피리디닐, 피라졸로피리디닐, 인다졸릴, 퀴놀리닐 또는 이소퀴놀리닐이고, 상기 R²가 (C₁-C₃)알킬, (C₁-C₃)알콕시 및 할로로부터 독립적으로 선택된 1 또는 2개의 치환기로 일 또는 이치환되거나 치환되지 않고;

R³은 수소 또는 (C₁-C₃)알킬이다.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

R²가 퀴놀리닐 또는 이소퀴놀리닐이고, 상기 R²가 독립적으로 1 또는 2개의 메틸, 메톡시 또는 클로로로 치환되거나 비치환된, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염.

청구항 3

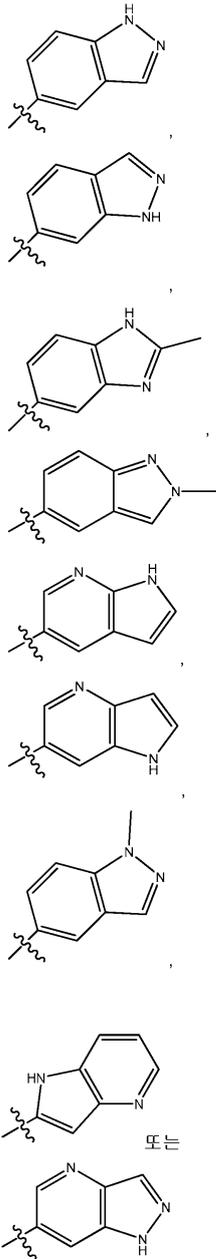
제 1 항에 있어서,

R³이 수소인, 화합물.

청구항 4

제 1 항에 있어서,

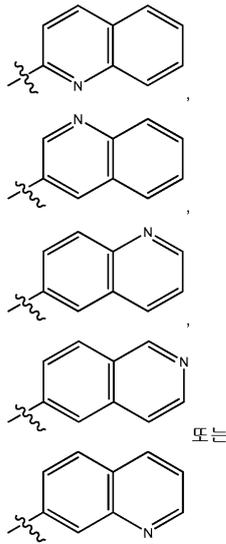
R²가 하기 화학식이고, 상기 각각의 R²가 (C₁-C₃)알킬, (C₁-C₃)알콕시 및 할로로부터 독립적으로 선택된 1 또는 2개의 치환기로 치환되거나 비치환된, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염:



청구항 5

제 1 항에 있어서,

R^2 가 하기 화학식이고, 상기 각각의 R^2 가 (C₁-C₃)알킬, (C₁-C₃)알콕시 및 할로로부터 독립적으로 선택된 1 또는 2개의 치환기로 치환되거나 비치환된, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염:



명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 아세틸-CoA 카복실라아제의 억제제로서 작용하는 치환된 피라졸로스피로케톤 화합물 및 아세틸-CoA 카복실라아제 효소의 억제에 의해 조절되는 질환, 상태 또는 질병의 치료에서 이의 용도에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 아세틸-CoA 카복실라아제(ACC)는 대부분의 종(species)에서 발견되는 효소의 과(family)이고 아세틸-CoA로부터 말로닐-CoA의 생성을 촉진하는 단계를 통해 지방산 합성과 물질 대사에 관련된다. 포유동물에서, ACC 효소의 2개의 이소폼이 확인되었다. 지방생성 조직, 예컨대 지방 및 간에서 높은 수준으로 발현되는 ACC1은 장쇄 지방산의 생합성 제 1 투입 단계를 조절한다. 아세틸-CoA가 말로닐-CoA를 형성하기 위해 카복실화되지 않을 경우, 이는 크렘(Kreb) 주기를 통해 대사작용을 한다. 간 ACC의 지엽적인 성분이지만 심장 및 골격근의 우성 이소폼인 ACC2는 미토콘드리아의 세포 기질 표면에서 말로닐-CoA의 생성을 촉진하고, 카르니틴 팔미토일 전이효소를 억제함으로써 β-산화에서 이용된 지방산의 양을 조절한다. 따라서, 지방산 이용을 증가시키고 드노보 지방산 합성의 증가를 억제시킴으로써, ACC 억제제(ACC-I)의 만성 투여는 또한 고지방식 또는 저지방식을 소모하는 비만인 개체에서 간 및 지방 조직 트리글리세리드(TG) 저장을 고갈시켜 체지방의 선택적인 손실을 야기할 수 있다.

[0003] 아부-에테이가(Abu-Etheiga) 등에 의해 수행된 연구는 ACC2가 지방산 산화를 조절하는데 필수적인 역할을 하여 비만 및 비만 관련 질환, 예컨대 2형 당뇨병에 대한 치료에서 표적을 제공한다고 제안한다. 문헌[Abu-Etheiga, L., et al., "Acetyl-CoA carboxylase 2 mutant mice are protected against pbesity and diabetes induced by high-fat/high-carbohydrate diets" *PNAS*, 100(18) 10207-10212 (2003)]을 참고한다. 또한, 문헌[Choi, C.S., et al., "Continuous fat oxidation in Acetyl-CoA carboxylase 2 knockout mice increases total energy expenditure, reduces fat mass, and improves insulin sensitivity" *PNAS*, 104(42) 16480-16485 (2007)]을 참고한다.

[0004] 간 지질 축적이 간장 인슐린 저항성을 야기하고 2형 당뇨병의 발병에 기여함이 점점 더 분명해지고 있다. 살바지(Salvage) 등은 ACC1 및 ACC2가 둘다 간세포에서 지방 산화를 조절하는데 관여하지만, 래트 간에서 우성 이소폼인 ACC1이 지방산 합성의 단독 조절자임을 입증하였다. 또한, 이의 모델에서, 2개 이소폼의 혼합된 감소가 유의하게 더 낮은 간의 말로닐-CoA 수준에 요구되고, 공급된 상태에서 지방 산화를 증가시키고, 지질 축적을 감소시키고, 생체 내 인슐린 작용을 개선시킨다. 따라서, 간의 ACC1 및 ACC2 억제제가 무알콜성 지방간 질환 (NAFLD) 및 간장 인슐린 저항성의 치료에 유용할 수 있음을 보여주고 있다. 문헌[Savage, D.B., et al., "Reversal of diet-induced hepatic steatosis and hepatic insulin resostance by antisense

oligonucleotide inhibitors of acetyl-CoA carboxylases 1 and 2" *J Clin Invest* doi: 10.1172/JCI127300]을 참조한다. 또한, 문헌[Oh, W., et al., "Glucose and fat metabolism in adipose tissue of acetyl-CoA carboxylase 2 knockout mice" *PNAS*, 102(5) 1384-1389 (2005)]을 참조한다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 따라서, 지방산 합성을 억제시키고 지방산 산화를 증가시킴으로써 비만 및 비만 관련 질환(예컨대, NAFLD 및 2형 당뇨병)을 치료하기 위해 ACC1 및/또는 ACC2 억제제를 함유하는 약제에 대한 필요가 있다.

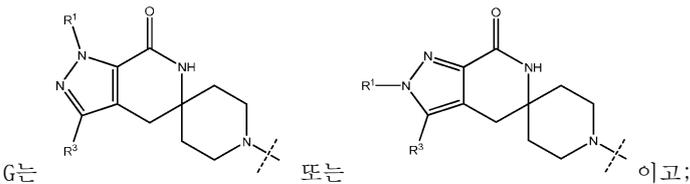
과제의 해결 수단

[0006] 본 발명은 하기 화학식 I의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염에 관한 것이다:

[0007] [화학식 I]



[0009] 상기 식에서,



[0011] R¹은 (C₁-C₆)알킬 또는 (C₃-C₆) 사이클로알킬이고;

[0012] R²는 페닐, 나프틸, 5 내지 12 원 헤테로아릴 또는 8 내지 12 원 융합된 헤테로사이클릭아릴이고;

[0013] 각각의 R² 기는 (C₁-C₃)알킬, (C₁-C₃)알콕시 할로 및 CONH₂로부터 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 치환기로 임의적으로 치환되고;

[0014] R³은 수소 또는 (C₁-C₃)알킬이다.

[0015] 본 발명의 바람직한 실시양태는 R¹이 이소프로필 또는 t-부틸인 화학식 I의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염이다.

[0016] 본 발명의 또 다른 바람직한 실시양태는 R²가 벤조이미다졸릴, 피롤로피리디닐, 피라졸로피리디닐, 인다졸릴, 퀴놀리닐 또는 이소퀴놀리닐이고, 상기 R²는 (C₁-C₃)알킬, (C₁-C₃)알콕시 및 할로로부터 독립적으로 선택된 1 또는 2개의 치환기로 임의적으로 일 또는 이치환된 화학식 I의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염이다. 본 발명의 또 다른 바람직한 실시양태는 R²가 인다졸릴, 벤조이미다졸릴 또는 1H-피롤로[3,2-b]피리디닐이고, 상기 R²는 1 또는 2개의 메틸, 메톡시 또는 클로로로 임의적으로 치환된 화학식 I의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염이다.

[0017] 본 발명의 또 다른 바람직한 실시양태는 1'-이소프로필-1-(2-메틸-1H-벤조[d]이미다졸-5-카보닐)-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(1'H)-온; 1'-이소프로필-1-(2-메틸-2H-인다졸-5-카보닐)-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(1'H)-온; 1'-이소프로필-1-(1H-피롤로[2,3-b]피리딘-5-카보닐)-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-

4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(1'H)-온; 및 1'-이소프로필-1-(1H-피롤로[3,2-b]피리딘-6-카보닐)-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(1'H)-온으로부터 선택된 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염이다.

[0018] 본 발명의 또 다른 바람직한 실시양태는 1'-이소프로필-1-(1-메틸-1H-인다졸-5-카보닐)-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(1'H)-온; 1-(4,8-다이메톡시퀴놀린-2-카보닐)-1'-이소프로필-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(1'H)-온; 1'-이소프로필-1-(1H-피롤로[3,2-b]피리딘-2-카보닐)-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(1'H)-온; 및 1'-이소프로필-1-(1H-피라졸로[4,3-b]피리딘-6-카보닐)-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(1'H)-온으로부터 선택된 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염이다.

[0019] 본 발명의 또 다른 바람직한 실시양태는 1-(3,7-다이메틸-1H-인다졸-5-카보닐)-1'-이소프로필-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(1'H)-온; 1'-이소프로필-1-(7-메틸-1H-인다졸-5-카보닐)-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(1'H)-온; 1-(1H-인다졸-5-카보닐)-1'-이소프로필-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(1'H)-온; 1'-t-부틸-1-(1H-인다졸-5-카보닐)-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(1'H)-온; 1'-t-부틸-1-(7-메틸-1H-인다졸-5-카보닐)-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(1'H)-온; 및 1'-t-부틸-1-(3,7-다이메틸-1H-인다졸-5-카보닐)-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(1'H)-온으로부터 선택된 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염이다.

[0020] 본 발명의 또 다른 바람직한 실시양태는 1-(7-클로로-1H-인다졸-5-카보닐)-1'-이소프로필-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(1'H)-온; 1'-이소프로필-1-(4-메톡시-1H-인다졸-6-카보닐)-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(1'H)-온; 1-(7-에틸-1H-인다졸-5-카보닐)-1'-이소프로필-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(1'H)-온; 1-(3-에틸-1H-인다졸-5-카보닐)-1'-이소프로필-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(1'H)-온; 및 1'-이소프로필-1-(3-메틸-1H-인다졸-5-카보닐)-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(1'H)-온으로부터 선택된 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염이다.

[0021] 본 발명의 또 다른 바람직한 실시양태는 1-(1H-인다졸-5-카보닐)-2'-이소프로필-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(2'H)-온; 2'-t-부틸-1-(1H-인다졸-5-카보닐)-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(2'H)-온; 2'-이소프로필-1-(7-메틸-1H-인다졸-5-카보닐)-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(2'H)-온; 1-(3,7-다이메틸-1H-인다졸-5-카보닐)-2'-이소프로필-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(2'H)-온; 2'-t-부틸-1-(7-메틸-1H-인다졸-5-카보닐)-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(2'H)-온; 2'-t-부틸-1-(3,7-다이메틸-1H-인다졸-5-카보닐)-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(2'H)-온; 및 2'-이소프로필-1-(2-메틸-1H-벤조[d]이미다졸-5-카보닐)-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(2'H)-온으로부터 선택된 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염이다.

[0022] 본 발명의 또 다른 바람직한 실시양태는 1'-이소프로필-1-(퀴놀린-3-카보닐)-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(1'H)-온; 1'-이소프로필-1-(퀴놀린-6-카보닐)-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(1'H)-온; 1'-이소프로필-1-(이소퀴놀린-6-카보닐)-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(1'H)-온; 1'-이소프로필-1-(이소퀴놀린-7-카보닐)-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(1'H)-온; 및 1'-이소프로필-1-(퀴놀린-7-카보닐)-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(1'H)-온으로부터 선택된 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염이다.

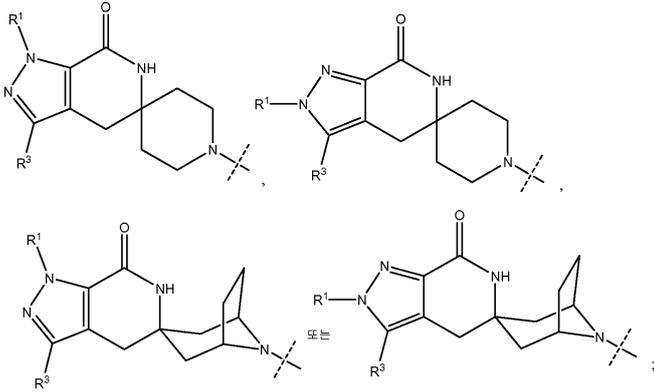
[0023] 본 발명의 또 다른 실시양태는 하기 화학식 I의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염이다:

[0024] 화학식 I



[0025]

[0026] 상기 식에서,



[0027] G는 이고;

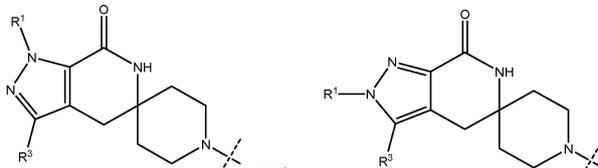
[0028] R¹은 (C₁-C₆)알킬 또는 (C₃-C₅) 사이클로알킬이고;

[0029] R²는 페닐, 나프틸, 5 내지 12 원 헤테로아릴 또는 8 내지 12 원 융합된 헤테로사이클릭아릴이고;

[0030] 각각의 R² 기는 (C₁-C₆)알킬, (C₃-C₇)사이클로알킬, (C₁-C₆)알콕시, 할로, 시아노, CONR⁴R⁵, NR⁴R⁵, 또는 3 내지 7 원 헤테로사이클릴로부터 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 치환기로 임의적으로 치환되고, 상기 (C₁-C₆)알킬, (C₃-C₇)사이클로알킬 또는 (C₁-C₆)알콕시는 1 내지 5개의 플루오로로 임의적으로 치환되고;

[0031] R³은 수소 또는 (C₁-C₃)알킬이고;

[0032] R⁴ 및 R⁵는 각각 독립적으로 수소, (C₁-C₆)알킬, (C₃-C₇)사이클로알킬, (C₁-C₃)알콕시-(C₁-C₆)알킬 또는 3 내지 7 원 헤테로사이클릴로부터 선택되고, 상기 (C₁-C₆)알킬, (C₃-C₇)사이클로알킬 또는 (C₁-C₃)알콕시-(C₁-C₆)알킬은 1 내지 5개의 플루오로로 임의적으로 치환된다.



[0033] 본 발명의 또 다른 실시양태는 G가 로필 또는 t-부틸인 화학식 I의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염이다.

[0034] 본 발명의 또 다른 실시양태는 R²가 벤조이미다졸릴, 벤조트리아졸릴, 피롤로피리디닐, 피라졸로피리디닐, 인돌릴, 인다졸릴, 퀴놀리닐 또는 이소퀴놀리닐이고, 상기 R²는 (C₁-C₆)알킬, (C₁-C₆)알콕시, 할로 또는 NR⁴R⁵로부터 독립적으로 선택된 1 또는 2개의 치환기로 임의적으로 치환되고, 상기 (C₁-C₆)알킬 또는 (C₁-C₆)알콕시는 1 내지 5개의 플루오로로 임의적으로 치환된 화학식 I의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염이다.

[0035] 본 발명의 또 다른 실시양태는 R²가 인다졸릴, 인돌릴, 벤조이미다졸릴 또는 1H-피롤로[3,2-b]피리디닐이고, 상기 R²는 1 또는 2개의 메틸, 메톡시, NH₂, NHCH₃ 또는 클로로로 임의적으로 치환된 화학식 I의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염이다.

[0036] 본 발명의 또 다른 실시양태는 R²가 퀴놀리닐 또는 이소퀴놀리닐이고, 상기 R²는 독립적으로 1 또는 2개의 메틸, 메톡시, NH₂, NHCH₃, NHCH₂CH₃, NHCH₂CF₃ 또는 클로로로 임의적으로 치환된 화학식 I의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염이다.

[0037] 본 발명의 바람직한 실시양태는 1-(3,7-다이메틸-1H-인다졸-5-카보닐)-1'-이소프로필-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(1'H)-온; 1-(3,7-다이메틸-1H-인다졸-5-카보닐)-1'-t-부틸-

4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(1'H)-온; 1-(3,7-다이메틸-1H-인다졸-5-카보닐)-2'-이소프로필-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(1'H)-온; 1-(6-메톡시퀴놀린-3-카보닐)-2'-t-부틸-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(1'H)-온; 1-(1-메톡시이소퀴놀린-7-카보닐)-2'-t-부틸-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(1'H)-온; 1-(3-클로로-7-메틸-1H-인다졸-5-카보닐)-2'-t-부틸-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(1'H)-온; 1-(2-메톡시퀴놀린-7-카보닐)-2'-t-부틸-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(1'H)-온; 1-(2-아미노퀴놀린-7-카보닐)-2'-t-부틸-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(1'H)-온; 1-(5-메톡시퀴놀린-3-카보닐)-2'-t-부틸-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(1'H)-온; 1-(2-아미노-1H-벤조[d]이미다졸-5-카보닐)-2'-t-부틸-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(1'H)-온; 1-(2-(메틸아미노)퀴놀린-7-카보닐)-2'-t-부틸-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(1'H)-온; 1-(1-(메틸아미노)이소퀴놀린-7-카보닐)-2'-t-부틸-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(1'H)-온; 1-(3-클로로-1H-인돌-6-카보닐)-2'-t-부틸-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(1'H)-온; 1-(3-클로로-1H-피롤로[3,2-b]피리딘-6-카보닐)-2'-t-부틸-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(1'H)-온; 1-(2-(메틸아미노)퀴놀린-7-카보닐)-1'-이소프로필-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(1'H)-온; 1-(1-(2,2,2-트라이플루오로에틸아미노)퀴놀린-7-카보닐)-2'-t-부틸-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(1'H)-온; 및 1-(1-(에틸아미노)이소퀴놀린-7-카보닐)-2'-t-부틸-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(1'H)-온으로 이루어진 군으로부터 선택된 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염이다.

[0038] 본 발명의 또 다른 양상은 임의의 상기 실시양태에 기재된 바와 같은 화학식 I의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염의 소정량 및 약학적으로 허용되는 부형제, 희석제 또는 담체를 포함하는 약학 조성물이다. 바람직하게는, 조성물은 본 발명의 화합물의 치료 효과량을 포함한다. 또한, 조성물은 하나 이상의 추가 약제를 함유할 수 있다. 바람직한 약제는 항당뇨병제 및/또는 항비만제를 포함한다.

[0039] 본 발명의 또 다른 양상은 치료 효과량의 본 발명의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 약학 조성물을 치료를 필요로 하는 포유동물, 바람직하게는 인간에게 투여하는 단계를 포함하는, 포유동물에서 아세틸-CoA 카복실라아제 효소의 억제에 의해 조절되는 질환, 상태 또는 질병의 치료 방법이다.

[0040] 아세틸-CoA 카복실라아제의 억제에 의해 조절되는 질환, 질병 또는 상태는 2형 당뇨병 및 당뇨병 관련 질환, 예컨대 무알콜성 지방간 질환(NAFLD), 간장 인슐린 저항성, 고혈당, 대사 증후군, 내당능 손상, 당뇨병성 신경병증, 당뇨병성 신장증, 당뇨병성 망막증, 비만, 이상지질혈증, 고혈압, 고인슐린혈증 및 인슐린 저항성 증후군을 포함한다. 바람직한 질환, 질병 또는 상태는 2형 당뇨병, 무알콜성 지방간 질환(NAFLD), 간장 인슐린 저항성, 고혈당, 내당능 손상, 비만 및 인슐린 저항성 증후군을 포함한다. 더욱 바람직한 질환, 질병 또는 상태는 2형 당뇨병, 무알콜성 지방간 질환(NAFLD), 간장 인슐린 저항성, 고혈당 및 비만이다. 가장 바람직한 질환, 질병 또는 상태는 2형 당뇨병이다.

[0041] 바람직한 실시양태는 치료 효과량의 본 발명의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 조성물을 치료를 필요로 하는 동물에게 투여하는 단계를 포함하는, 동물에서 2형 당뇨병 및 당뇨병 관련 질병의 치료(예를 들어, 발병 또는 진행의 지연) 방법이다.

[0042] 또 다른 바람직한 실시양태는 치료 효과량의 본 발명의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 조성물을 치료를 필요로 하는 동물에게 투여하는 단계를 포함하는, 동물에서 비만 및 비만 관련 질병의 치료 방법이다.

[0043] 또 다른 바람직한 실시양태는 치료 효과량의 본 발명의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 이의 조성물을 치료를 필요로 하는 동물에게 투여하는 단계를 포함하는, 동물에서 무알콜성 지방간 질환(NAFLD) 또는 간장 인슐린 저항성의 치료 방법이다.

[0044] 본 발명의 화합물은 다른 약제(특히, 하기되는 항비만제 및 항당뇨병제)와 조합으로 투여될 수 있다. 조합 치료는 (a) 본 발명의 화합물, 본원에 기재된 하나 이상의 추가 약제 및 약학적으로 허용되는 부형제, 희석제 또는 담체를 포함하는 단일 약학 조성물; 또는 (b)(i) 본 발명의 화합물 및 약학적으로 허용되는 부형제, 희석제 또는 담체를 포함하는 제 1 조성물, 및 (ii) 본원에 기재된 하나 이상의 추가 약제 및 약학적으로 허용되는 부형제, 희석제 또는 담체를 포함하는 제 2 조성물을 포함하는 2개의 개별적인 약학 조성물로서 투여될 수 있다.

약학 조성물은 동시에 또는 연속으로 및 임의의 순서로 투여될 수 있다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

정의

[0045]

[0046] 어구 "치료 효과량"은 (i) 특정 질환, 상태 또는 질병을 치료하거나 예방하거나, (ii) 특정 질환, 상태 또는 질병의 하나 이상의 증상을 약화시키거나 개선하거나 제거하거나, (iii) 본원에 기재된 특정 질환, 상태 또는 질병의 하나 이상의 증상의 발병을 막거나 지연시키는 본 발명의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염의 양을 의미한다.

[0047]

용어 "동물"은 인간(남성 또는 여성), 반려 동물(예를 들어, 개, 고양이 및 말), 식품원 동물, 동물원 동물, 해양 동물, 조류 및 다른 유사한 동물 종을 지칭한다. "식용 동물"은 식품원 동물, 예컨대 소, 돼지, 양 및 가금류를 지칭한다.

[0048]

어구 "약학적으로 허용되는"은 물질 또는 조성물이 화학적으로 및/또는 독물학적으로 제형을 포함하는 다른 성분과 호환될 수 있어야 하고/하거나 포유동물이 이들로 치료되는 것을 나타낸다.

[0049]

용어 "치료하는", "치료하다" 또는 "치료"는 모두 예방적인(즉, 예방을 위한) 및 일시적인 치료를 포괄한다.

[0050]

본원에 사용된 용어 "조절되는", "조절하는" 또는 "조절하다"는 달리 언급하지 않으면, 본 발명의 화합물을 사용한 아세틸-CoA 카복실라아제(ACC) 효소의 억제를 지칭한다.

[0051]

본원에 사용된 용어 "매개되는", "매개하는" 또는 "매개하다"는 달리 언급하지 않으면, (i) 특정 질환, 상태 또는 질병의 치료 또는 예방, (ii) 특정 질환, 상태 또는 질병 중 하나 이상의 증상의 약화, 개선 또는 제거, 또는 (iii) 아세틸-CoA 카복실라아제(ACC) 효소를 억제함으로써 본원에 기재된 특정 질환, 상태 또는 질병 중 하나 이상의 증상의 발병의 예방 또는 지연을 지칭한다.

[0052]

용어 "본 발명의 화합물"은 (달리 명시하지 않으면) 화학식 I의 화합물 및 화합물의 임의의 약학적으로 허용되는 염뿐만 아니라, 모든 입체 이성질체(부분입체 이성질체 및 거울상 이성질체를 포함함), 호변 이성질체, 형태 이성질체, 및 동위원소 표지된 화합물을 지칭한다. 본 발명의 화합물의 수화물 및 용매화물은 본 발명의 조성물로 간주되고, 상기 화합물은 각각 물 또는 용매와 함께 존재한다.

[0053]

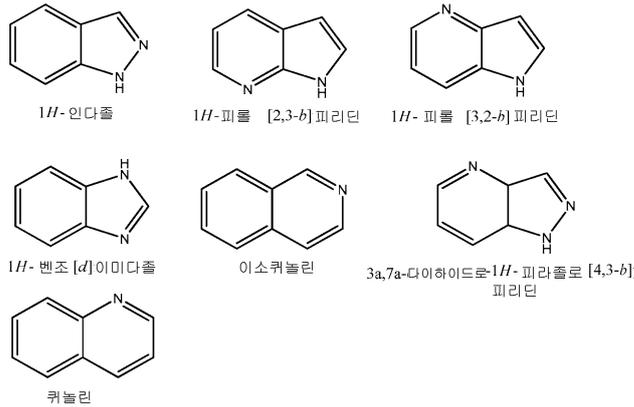
용어 "(C₁-C₆)알킬" 및 "(C₁-C₃)알킬"은 직쇄 또는 분지쇄일 수 있는 명시된 수의 탄소, 즉, 각각 1 내지 6개 또는 1 내지 3개의 탄소를 갖는 알킬 기이다. 예를 들어, 용어 "(C₁-C₃)알킬"은 1 내지 3개의 탄소를 갖고 메틸, 에틸, n-프로필 및 이소프로필로 이루어진다.

[0054]

용어 "(C₃-C₇)사이클로알킬"은 3 내지 7개의 탄소 원자를 갖고 사이클로프로필, 사이클로부틸, 사이클로펜틸, 사이클로헥실 및 사이클로헵틸로 이루어진 사이클로알킬 기를 의미한다. 용어 "할로"는 플루오로, 클로로, 브로모 또는 요오드를 의미한다. 용어 "(C₆-C₁₀)아릴"은 6 내지 10개의 탄소 원자로 이루어진 방향족 탄소환형 기, 예컨대 페닐 또는 나프틸을 의미한다.

[0055]

용어 "5 내지 12 원 헤테로아릴"은 질소, 산소 및 황으로부터 선택된 하나 이상의 헤테로원자를 함유하는 5 내지 12 원 방향족 기를 의미한다. 본원에 사용된 "5 내지 12 원 헤테로아릴" 기의 부착점은 상기 기의 탄소 원자상에 존재한다. "5 내지 12 원 헤테로아릴"기는 이환형일 수 있다. 이환형 헤테로아릴의 바람직한 실시양태는 하기 고리 시스템의 라디칼을 포함하지만, 이로써 한정되지 않는다:



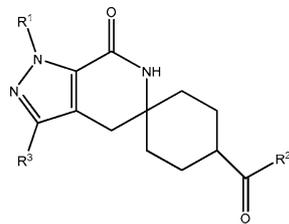
[0056]

[0057]

용어 "8 내지 12 원 융합된 헤테로사이클릭아릴"은 비방향족 헤테로환형 고리가 아릴 고리에 융합된 8 내지 12 원 고리 시스템을 의미한다. 본원에 사용된 "8 내지 12 원 융합된 헤테로사이클릭아릴" 기의 부착점은 상기 기의 탄소 원자상에 존재한다. 용어 "3 내지 7 원 헤테로사이클릴"은 1 내지 3개의 원자가 독립적으로 질소, 산소 및 황으로부터 선택된 헤테로원자인 3 내지 7 원 포화된 고리를 의미한다. "3 내지 7 원 헤테로사이클릴" 기의 예는 예컨대 아지리디닐, 아제티디닐, 피롤리디닐, 피페리디닐, 옥시라닐, 옥세타닐, 테트라하이드로푸라닐, 테트라하이드로-2H-피라닐, 테트라하이드로-2H-티오피라닐, 피페라지닐, 모폴리닐 및 티오모폴리닐 기를 포함하지만, 이로써 한정되지 않는다. "3 내지 7 원 헤테로사이클릴"의 부착점은 특정 기에 적합하도록 탄소 또는 질소 원자상에 존재할 수 있다.

[0058]

일 실시양태에서, 화학식 I의 화합물은 하기 구조를 갖는 N1 락탐 ACC 억제제 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염이다:



[0059]

[0060]

상기 식에서,

[0061]

R¹은 (C₁-C₆)알킬 또는 (C₃-C₆)사이클로알킬이고;

[0062]

R²는 페닐, 나프틸, 5 내지 12 원 헤테로아릴, 또는 8 내지 12 원 융합된 헤테로사이클릭아릴이고;

[0063]

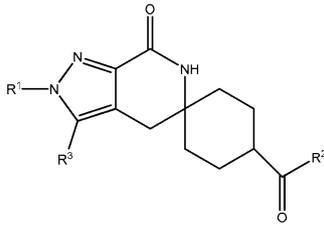
각각의 R² 기는 (C₁-C₃)알킬, (C₁-C₃)알콕시, 할로 및 CONH₂로부터 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 치환기로 임의적으로 치환되고;

[0064]

R³은 수소 또는 (C₁-C₃)알킬이다.

[0065]

일 실시양태에서, 화학식 I의 화합물은 하기 구조를 갖는 N2 락탐 ACC 억제제 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염이다:



[0066]

상기 식에서,

[0067]

R¹은 (C₁-C₆)알킬 또는 (C₃-C₆)사이클로알킬이고;

[0068]

R²는 페닐, 나프틸, 5 내지 12 원 헤테로아릴 또는 8 내지 12 원 융합된 헤테로사이클릭아릴이고;

[0069]

각각의 R² 기는 (C₁-C₃)알킬, (C₁-C₃)알콕시, 할로 및 CONH₂로부터 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 치환기로 임의적으로 치환되고;

[0070]

R³은 수소 또는 (C₁-C₃)알킬이다.

[0071]

본 발명의 화합물은 특히 본원에 함유된 개시 내용에 비추어, 화학 분야에 널리 공지된 공정과 유사한 공정을 포함하는 합성 경로에 의해 합성될 수 있다. 출발 물질은 일반적으로 통상적인 공급처, 예컨대 알드리치 케미칼스(Aldrich Chemicals, 미국 위스콘신주 밀워키 소재)로부터 이용가능하거나 당업자에게 널리 공지된 방법을 사용하여 쉽게 제조된다(예를 들어, 일반적으로 문헌[Louis F. Fieser and Mary Fieser, Reagents for Organic Synthesis, v. 1-19, Wiley, New York (1967-1999 ed.)] 또는 문헌[Beilsteins Handbuch der organischen Chemie, 4, Aufl. ed. Springer-Verlag, Berlin](부록(또한 베일스테인(Beilstein) 온라인 데이터베이스를 통해 이용가능함)을 포함함)에 기재된 방법에 의해 제조됨).

[0072]

예시적인 목적을 위해, 하기 도시된 반응식은 본 발명의 화합물뿐만 아니라 주요 중간체를 합성하기 위한 잠재적인 경로를 제공한다. 개별적인 반응 단계의 보다 구체적인 설명을 위해, 하기 실시예 섹션을 참고한다. 당업자는 본 발명의 화합물을 합성하기 위해 사용될 수 있는 다른 합성 경로를 인지할 것이다. 비록 특정 출발 물질 및 시약이 하기 반응식에 도시되고 논의될지라도, 다른 출발 물질 및 시약이 다양한 유도체 및/또는 반응 조건을 제공하기 위해 쉽게 대체될 수 있다. 게다가, 하기 기재된 방법에 의해 제조된 많은 화합물은 당업자에게 널리 공지된 통상적인 화학을 사용하여 본원의 개시내용에 비추어 추가로 개질될 수 있다.

[0073]

본 발명의 화합물의 제조에 있어서, 중간체의 원격 작용기(예를 들어, 1차 또는 2차 아민)의 보호가 필요할 수 있다. 이러한 보호에 대한 필요는 원격 작용기의 특성 및 제조 방법의 조건에 따라 다를 수 있다. 적합한 아미노-보호기(NH-Pg)는 아세틸, 트라이플루오로아세틸, *t*-부톡시카보닐(BOC), 벤질옥시카보닐(Cbz) 및 9-플루오레닐메틸렌옥시카보닐(Fmoc)을 포함한다. 유사하게, "하이드록시-보호기"는 하이드록시 작용기를 차단하거나 보호하는 하이드록시 기의 치환기를 지칭한다. 적합한 하이드록실-보호기(O-Pg)는 예를 들어, 알릴, 아세틸, 실릴, 벤질, 파라-메톡시벤질, 트라이틸 등을 포함한다. 이러한 보호에 대한 필요는 당업자에 의해 쉽게 결정된다. 보호기의 일반적인 설명 및 이들의 사용을 위해, 문헌[T. W. Greene, Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley & Sons, New York, 1991]을 참조한다.

[0074]

하기 반응식 I 내지 반응식 V는 화학식 I의 화합물을 제조하기 위해 사용된 대표적인 과정을 제공한다. 이들 반응식이 비제한적인 방식으로 해석되어야 하고 도시된 방법의 적당한 변화가 화학식 I의 화합물을 제조하는데 사용될 수 있음이 이해될 것이다.

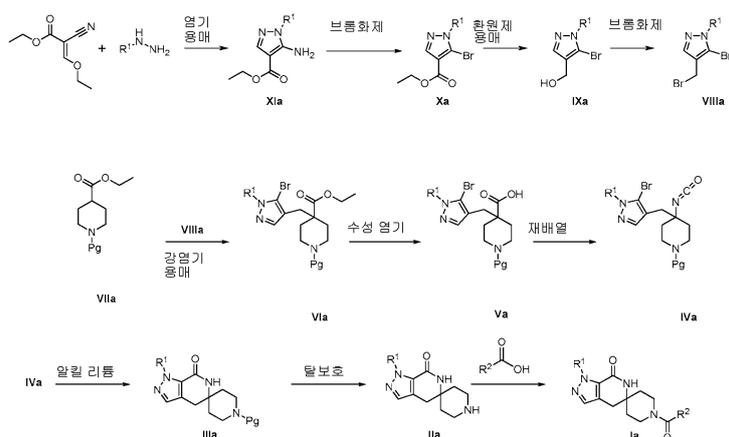
[0075]

하기 반응식 I은 화학식 Ia를 갖는 본 발명의 화합물인 N1 락탐 ACC 억제제를 제공하기 위해 사용될 수 있는 일반적인 과정을 개략하고, 이때 R¹은 (C₁-C₆)알킬 또는 (C₃-C₆)사이클로알킬이고; R²는 페닐, 나프틸, 5 내지 12 원 헤테로아릴 또는 8 내지 12 원 융합된 헤테로사이클릭아릴이고; 각각의 R² 기는 (C₁-C₃)알킬, (C₁-C₃)알콕시, 할로 및 CONH₂로부터 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 치환기로 임의적으로 치환된다.

[0076]

[0077]

[반응식 I]



[0078]

[0079]

반응식 I에 따라, 메틸 2-시아노-3-에톡시아크릴레이트를 염기, 예컨대 탄산 칼륨 및 용매의 존재하에 적절한 알킬 하이드라진(R¹NHNH₂)과 반응시켜 화학식 XIa의 화합물을 형성할 수 있다. 예를 들어, 화학식 XIa의 화합물은 약 20 °C 내지 약 80 °C의 온도에서 약 2 내지 24 시간 동안 메틸 2-시아노-3-에톡시아크릴레이트를 염기, 예컨대 환류 에탄올 중 탄산 칼륨(K₂CO₃)의 존재하에 적절한 알킬 하이드라진(R¹NHNH₂)과 반응시켜 목적 환화 화합물을 제공함으로써 형성될 수 있다.

[0080]

화학식 Xa의 화합물은 약 20 °C 내지 약 80 °C의 온도에서 약 2 내지 약 18 시간 동안 니트라이트, 예컨대 이소아밀니트라이트, 나트륨 니트라이트, 또는 t-부틸 니트라이트 및 브로마이드 공급원, 예컨대 아세트니트릴 중 구리 (II)브로마이드를 사용하여 화학식 XIa의 아릴아민을 아릴 브로마이드로 전환시킴으로써 형성될 수 있다.

[0081]

이어서, 화학식 IXa의 화합물은 약 0 °C 내지 약 80 °C의 온도에서 약 1 내지 약 12 시간 동안 화학식 Xa의 에스터를 비양성자성 용매, 예컨대 테트라하이드로푸란(THF), 톨루엔 또는 다이에틸 에터 중 환원제, 예컨대 다이이소부틸알루미늄 하이드라이드(DIBAL) 또는 리튬 알루미늄 하이드라이드(LAH)로 처리하여 제조될 수 있다.

[0082]

화학식 VIa의 화합물은 약 -20 °C 내지 약 60 °C의 온도에서 약 30 내지 약 120 분 동안 화학식 IXa의 화합물을 브롬화제, 예컨대 인 트리브로마이드(PBr₃), 또는 탄소 테트라브로마이드 및 트리페닐포스핀의 혼합물과 제 1 반응시켜 화학식 VIIa의 화합물을 형성함으로써 형성될 수 있다. 이어서, 화학식 VIIa의 화합물은 약 -78 °C 내지 약 20 °C의 온도에서 약 1 내지 약 18 시간 동안 비양성자성 용매, 예컨대 THF, 톨루엔 또는 다이에틸 에터 중 강염기, 예컨대 리튬 비스(트라이메틸실릴)아마이드(LiHMDS) 또는 리튬 다이이소프로필아민(LDA)의 존재하에 화학식 VIIa의 보호된 피페리딘 유도체 화합물과 반응시킨다. Pg 기는 적절한 아민 보호기를 나타내고 바람직하게는 N-t-부톡시카보닐(BOC) 또는 카보벤질옥시(Cbz)이다.

[0083]

이어서, 화학식 VIa의 화합물을, 약 0 °C 내지 약 100 °C의 온도에서 약 1 내지 약 18 시간 동안 수성 강염기, 예컨대 수산화 리튬 또는 수산화 나트륨으로 에스터 기를 가수분해하여 탈보호함으로써 카복실산을 함유하는 화학식 Va의 화합물을 형성한다.

[0084]

이어서, 화학식 IVa의 이소시아네이트 화합물은 약 60 °C 내지 약 120 °C의 온도에서 약 1 내지 약 12 시간 동안 화학식 Va의 카복실산을 염기, 예컨대 트리에틸아민(Et₃N) 또는 다이이소프로필에틸아민의 존재하에 다이페닐포스포릴 아지드(DPPA)와 반응시켜 형성될 수 있다.

[0085]

이어서, 화학식 IIIa의 락탐 화합물은 약 -78 °C 내지 약 0 °C의 온도에서 약 5 내지 약 120 분 동안 알킬 리튬, 예컨대 n-부틸리튬(n-BuLi) 또는 t-부틸리튬(t-BuLi)을 사용하여 이소시아네이트(화학식 IVa)를 환화함으로써 형성될 수 있다.

[0086]

이어서, 화학식 IIIa의 락탐 화합물을 탈보호하여 사용되는 보호기 Pg에 따라 달라지는 표준 방법을 사용하여 화학식 IIa의 자유 스피로피페리딘 유도체를 제공할 수 있다. 예를 들어, Pg가 BOC를 나타내는 경우, 표준 강산 탈보호 조건, 예컨대 적절한 용매, 예컨대 다이클로로메탄 중 트리플루오로아세트산 또는 다이옥산 중 4 N

염산이 BOC 기를 제거하기 위해 사용될 수 있다. Pg가 Cbz를 나타내는 경우, 에탄올 중 탄소상 팔라듐 상에서 수소화, 또는 에탄올 또는 에틸 아세테이트 중 탄소상 팔라듐의 존재하에 수소 공급원, 예컨대 암모늄 포르메이트 또는 1-메틸-1,4-사이클로헥사다이엔을 사용하는 처리가 탈보호를 수행하기 위해 사용될 수 있다.

[0087]

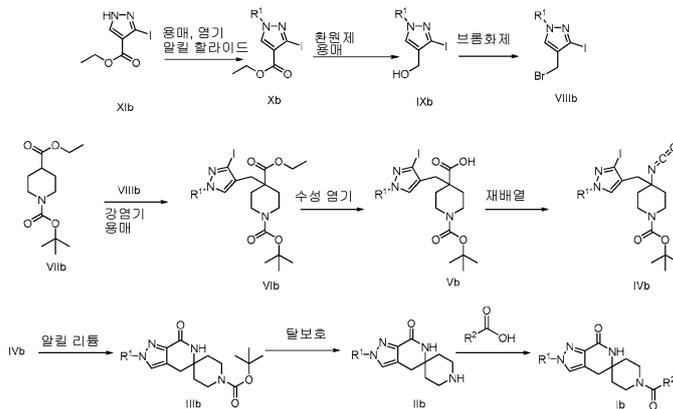
이어서, 표준 방법을 사용하여 화학식 IIa의 스피로피페리딘 유도체를 아실화하여 화학식 Ia의 화합물을 제공할 수 있다. 예를 들어, 목적 카복실산(R²CO₂H)과 표준 펩티드 커플링 반응시켜 화합물 Ia를 형성할 수 있다. 예를 들어, 스피로피페리딘 중간체 IIa 및 카복실산(R²CO₂H)은 활성화된 카복실산 에스터를 형성함으로써 커플링될 수 있는데, 예컨대 적합한 용매, 예컨대 THF 및/또는 DMF, 다이메틸아세트아마이드(DMA) 또는 다이클로로메탄 중 활성화제, 예컨대 하이드록시벤조트리아졸(HOBt)의 존재 또는 부재하에 및 적합한 염기, 예컨대 N,N-다이이소프로필에틸아민(DIEA), 트라이에틸아민 또는 N-메틸모폴린("NMM")의 존재하에 카복실산(R²CO₂H)을 펩티드 커플링 시약, 예컨대 O-(7-아자벤조트리아졸-1-일)-N,N,N',N'-테트라메틸우로늄 헥사플루오로포스페이트(HATU) 또는 1-에틸-3-(3-다이메틸아미노프로필)카보다이이미드하이드로클로라이드(EDC·HCl)와 접촉시킨 후, 활성화된 카복실산 에스터를 스피로피페리딘 유도체(IIa)와 접촉시켜 화학식 Ia의 화합물을 형성할 수 있다.

[0088]

하기 반응식 II는 화학식 Ib를 갖는 본 발명의 화합물인 N2 락탐 ACC 억제제를 제공하기 위해 사용될 수 있는 일반적인 과정을 개략하고, 이때 R¹은 (C₁-C₆)알킬 또는 (C₃-C₅)사이클로알킬이고, R²는 페닐, 나프틸, 5 내지 12 원 헤테로아릴 또는 8 내지 12 원 융합된 헤테로사이클릭아릴이고; 각각의 R² 기는 (C₁-C₃)알킬, (C₁-C₃)알콕시, 할로 및 CONH₂로부터 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 치환기로 임의적으로 치환된다:

[0089]

[반응식 II]



[0090]

[0091]

반응식 II에 따라, 화학식 XIb의 피라졸 화합물의 화학식 X의 화합물로의 알킬화는 약 20 °C 내지 약 100 °C의 온도에서 약 1 내지 약 12 시간 동안 열기, 예컨대 탄산 세슘(Cs₂CO₃) 또는 탄산 칼륨(K₂CO₃) 및 용매, 예컨대 다이메틸포름아미드(DMF)의 존재하에 1차 또는 2차 알킬 할라이드, 예컨대 메틸 요오다이드, 에틸 요오다이드, 1-브로모프로판, 1-요오도프로판, 2-브로모프로판, 2-요오도프로판 1-요오도부탄, 2-요오도부탄, 1-요오도-2-메틸프로판 또는 1-(브로모메틸)사이클로프로판을 사용하여 수행될 수 있다.

[0092]

이어서, 화학식 IXb의 화합물은 약 -78 °C 내지 약 60 °C의 온도에서 약 1 내지 약 12 시간 동안 화학식 Xb를 비양성자성 용매, 예컨대 THF, 톨루엔 또는 다이에틸 에터 중 환원제, 예컨대 DIBAL 또는 LAH로 처리하여 제조될 수 있다.

[0093]

화학식 VIIb의 화합물은 약 -20 °C 내지 약 60 °C의 온도에서 약 30 내지 약 120 분 동안 화학식 IXb의 화합물을 브롬화제, 예컨대 PBr₃ 또는 탄소 테트라브로마이드 및 트라이페닐포스핀의 혼합물과 제 1 반응시켜 화학식 VIIIb의 화합물을 형성함으로써 형성될 수 있다. 이어서, 화학식 VIIIb의 화합물은 약 -78 °C 내지 약 20 °C의 온도에서 약 1 내지 약 18 시간 동안 비양성자성 용매, 예컨대 THF, 톨루엔 또는 다이에틸 에터 중 강염기, 예컨대 리튬 비스(트라이메틸실릴)아마이드("LiHMDS") 또는 리튬 다이이소프로필아민("LDA")을 사용하여 화학식 VIIb의 보호된 피페리딘 유도체 화합물과 반응한다. Pg 기는 적절한 아민 보호기를 나타내고 바람직하게는 BOC

또는 Cbz이다.

[0094] 이어서, 화학식 VIb의 화합물은 약 0 °C 내지 약 100 °C의 온도에서 약 1 내지 약 18 시간 동안 에스터 기를 수성 강염기, 예컨대 수산화 리튬 또는 수산화 나트륨으로 가수분해하여 카복실산을 함유하는 화학식 Vb의 화합물을 형성함으로써 탈보호된다. 이어서, 화학식 IVb의 이소시아네이트 화합물은 약 60 °C 내지 약 120 °C의 온도에서 약 1 내지 약 12 시간 동안 염기, 예컨대 Et₃N 또는 다이이소프로필에틸아민의 존재하에 화학식 Vb의 카복실산을 DPPA와 반응시켜 형성될 수 있다.

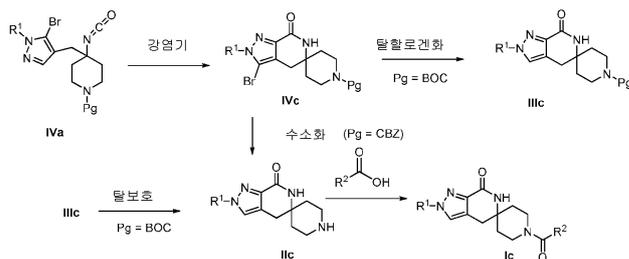
[0095] 화학식 IIIb의 락탐 화합물은 약 -78 °C 내지 약 0 °C의 온도에서 약 5 내지 약 120 분 동안 알킬 리튬, 예컨대 n-BuLi 또는 t-BuLi를 사용하여 이소시아네이트(화학식 IVb)를 환화함으로써 형성될 수 있다.

[0096] 이어서, 화학식 IIIb의 락탐 화합물은 사용되는 보호기(Pg)에 따라 달라지는 표준 방법을 사용하여 탈보호되어 화학식 IIb의 자유 스피로피페리딘 유도체를 제공할 수 있다. 예를 들어, Pg가 BOC를 나타내는 경우, 표준 강산 탈보호 조건, 예컨대 적절한 용매, 예컨대 다이클로로메탄 중 트라이플루오로아세트산 또는 다이옥산 중 4 N 염산이 사용되어 BOC 기를 제거할 수 있다. Pg가 Cbz를 나타내는 경우, 에탄올 중 탄소상 팔라듐에서 수소화, 또는 에탄올 또는 에틸 아세테이트 중 탄소상 팔라듐의 존재하에 수소 공급원, 예컨대 암모늄 포르메이트 또는 1-메틸-1,4-사이클로헥사다이엔으로 처리가 사용되어 탈보호를 수행할 수 있다.

[0097] 이어서, 화학식 IIb의 스피로피페리딘 유도체는 표준 방법을 사용하여 아실화되어 화학식 Ib의 화합물을 제공할 수 있다. 예를 들어, 목적 카복실산(R²CO₂H)으로 표준 펩티드 커플링 반응시켜 화합물 Ib를 형성할 수 있다. 예를 들어, 스피로피페리딘 중간체(IIb) 및 카복실산(R²CO₂H)은 활성화된 카복실산 에스터를 형성함으로써 커플링될 수 있는데, 예컨대 적합한 용매, 예컨대 THF 및/또는 DMF, DMA 또는 다이클로로메탄 중 활성화제, 예컨대 HOBt의 존재 또는 부재하에 및 적합한 염기, 예컨대 DIEA, NMM의 존재하에 카복실산(R²CO₂H)을 펩티드 커플링 시약, 예컨대 HATU 또는 EDC·HCl과 접촉시킨 후, 활성화된 카복실산 에스터를 스피로피페리딘 유도체(IIb)와 접촉시켜 화학식 Ib의 화합물을 형성할 수 있다.

[0098] 하기 반응식 III은 화학식 Ic를 갖는 본 발명의 화합물인 N2 락탐 ACC 억제제를 제공하기 위해 사용될 수 있는 일반적인 과정을 개략하고, 이때 R¹은 (C₁-C₆)알킬 또는 (C₃-C₆)사이클로알킬이고, R²는 페닐, 나프틸, 5 내지 12 원 헤테로아릴 또는 8 내지 12 원 융합된 헤테로사이클릭아릴이고; 각각의 R² 기는 (C₁-C₃)알킬, (C₁-C₃)알콕시, 할로 및 CONH₂로부터 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 치환기로 임의적으로 치환된다:

[반응식 III]



[0100] 화학식 IVc의 락탐 화합물은 약 -78 °C 내지 약 0 °C의 온도에서 약 30 분 내지 약 6 시간 동안 강염기, 예컨대 리튬 2,2,6,6-테트라메틸피페리다이드("LTMP") 또는 마그네슘 2,2,6,6-테트라메틸피페리다이드를 사용하여 이소시아네이트(화학식 IVa)를 환화함으로써 형성될 수 있다.

[0102] Pg가 BOC를 나타내는 경우, 화학식 IVc의 락탐 화합물은 약 20 °C 내지 약 100 °C의 온도에서 약 30 분 내지 약 6 시간 동안 염기, 예컨대 에탄올 중 탄소상 팔라듐 상에서 Et₃N의 존재하에 수소화, 또는 염기, 예컨대 Et₃N 및 에탄올 또는 에틸 아세테이트 중 탄소상 팔라듐의 존재하에 수소 공급원, 예컨대 암모늄 포르메이트 또는 1-메틸-1,4-사이클로헥사다이엔으로 처리에 의해 탈할로겐화되어 화학식 IIIc의 락탐 화합물을 제공할 수 있다.

[0103] Pg가 BOC를 나타내는 경우, 화학식 IIIc의 락탐 화합물은 BOC 기를 제거하기 위해 표준 강산 탈보호 조건, 예컨대

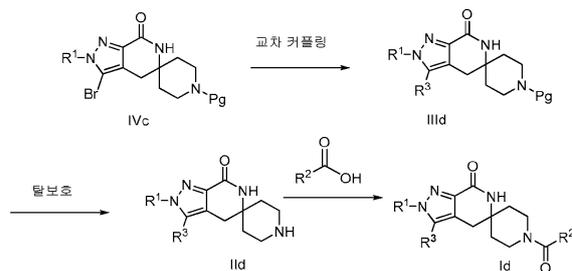
대 적절한 용매, 예컨대 다이클로로메탄 중 다이옥산 또는 트라이플루오로아세트산 중 4 N 염산을 사용하여 탈보호되어 화학식 IIc의 자유 스피로피페리딘 유도체를 제공할 수 있다.

[0104] Pg가 Cbz를 나타내는 경우, 화학식 IVc의 락탐 화합물은 에탄올 중 탄소상 팔라듐 상에서 수소화, 또는 에탄올 또는 에틸 아세테이트 중 탄소상 팔라듐의 존재하에 수소 공급원, 예컨대 암모늄 포르메이트 또는 1-메틸-1,4-사이클로헥사다이엔으로 처리에 의해 동시에 탈할로겐화되고 탈보호될 수 있다.

[0105] 이어서, 화학식 IIc의 스피로피페리딘 유도체는 표준 방법을 사용하여 아실화되어 화학식 Ic의 화합물을 제공할 수 있다. 예를 들어, 목적 카복실산(R²CO₂H)과 표준 펩티드 커플링 반응시켜 화합물 Ic를 형성할 수 있다. 예를 들어, 스피로피페리딘 중간체(IIc) 및 카복실산(R²CO₂H)은 활성화된 카복실산 에스터를 형성함으로써 커플링될 수 있는데, 예컨대 적합한 용매, 예컨대 THF 및/또는 DMF, DMA 또는 다이클로로메탄 중 활성화제, 예컨대 HOBt의 존재 또는 부재하에, 및 적합한 염기, 예컨대 DIEA, 트라이에틸아민 또는 NMM의 존재하에 카복실산(R²CO₂H)을 펩티드 커플링 시약, 예컨대 HATU 또는 EDC·HCl과 접촉시킨 후, 활성화된 카복실산 에스터를 스피로피페리딘 유도체(IIc)와 접촉시켜 화학식 Ic의 화합물을 형성할 수 있다.

[0106] 하기 반응식 IV는 화학식 Id를 갖는 본 발명의 화합물인 N2 락탐 ACC 억제제를 제공하기 위해 사용되는 일반적인 과정을 개략하고, 이때 R¹은 (C₁-C₆)알킬 또는 (C₃-C₆)사이클로알킬이고, R²는 페닐, 나프틸, 5 내지 12 원 헤테로아릴 또는 8 내지 12 원 융합된 헤테로사이클릭아릴이고; 각각의 R² 기는 (C₁-C₃)알킬, (C₁-C₃)알콕시, 할로 및 CONH₂로부터 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 치환기로 임의적으로 치환된다:

[0107] [반응식 IV]



[0108] 화학식 IIIId의 락탐 화합물은 약 20 °C 내지 약 100 °C의 온도에서 약 2 시간 내지 약 18 시간 동안, 또는 약 100 °C 내지 약 150 °C의 온도에서 약 5 분 내지 약 60 분 동안 마이크로파 가열하에, 양성자성 용매, 예컨대 에탄올 또는 t-아밀 알코올 또는 비양성자성 용매, 예컨대 테트라하이드로푸란 또는 다이메틸포름아미드 중 팔라듐 촉매, 예컨대 테트라키스(트라이페닐포스핀)팔라듐(0) 또는 전촉매 및 리간드 조합, 예컨대 팔라듐(II)아세테이트 및 2-다이사이클로헥실포스피노-2',6'-다이메톡시바이페닐("SPhos")의 존재하에, 및 염기, 예컨대 탄산 칼륨의 존재 또는 부재하에 화학식 IVc의 브로마이드를 알킬 또는 알케닐 트라이부틸스타난, 예컨대 메틸 트라이-n-부틸스타난 또는 비닐 트라이-n-부틸스타난 또는 알릴 트라이-n-부틸스타난, 또는 트라이알킬 보록신, 예컨대 트라이메틸 보록신 또는 트라이비닐 보록신과 팔라듐 촉매된 교차-커플링시켜 형성될 수 있다. 알케닐 트라이알킬스타난 또는 알케닐 보록신이 R³ 기를 도입하기 위해 사용된 경우, 생성된 올레핀의 환원은 에탄올 중 탄소상 팔라듐 상에서 수소화, 또는 에탄올 또는 에틸 아세테이트 중 탄소상 팔라듐의 존재하에 수소 공급원, 예컨대 암모늄 포르메이트 또는 1-메틸-1,4-사이클로헥사다이엔의 처리에 의해 수행될 수 있다.

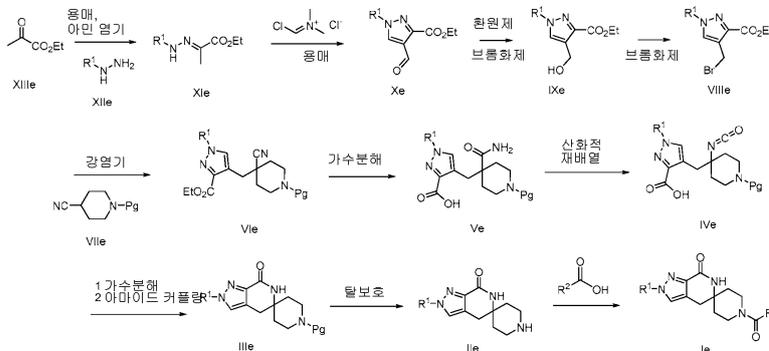
[0110] 이어서, 화학식 IIIId의 락탐 화합물은 사용되는 보호기(Pg)에 따라 달라지는 표준 방법을 사용하여 탈보호되어 화학식 IIId의 자유 스피로피페리딘 유도체를 제공할 수 있다. 예를 들어, Pg가 BOC를 나타내는 경우, 표준 강산 탈보호 조건, 예컨대 적절한 용매, 예컨대 다이클로로메탄 중 트라이플루오로아세트산 또는 다이옥산 중 4 N 염산이 BOC 기를 제거하기 위해 사용될 수 있다. Pg가 Cbz를 나타내는 경우, 에탄올 중 탄소상 팔라듐 상에서 수소화, 또는 에탄올 또는 에틸 아세테이트 중 탄소상 팔라듐의 존재하에 수소 공급원, 예컨대 암모늄 포르메이트 또는 1-메틸-1,4-사이클로헥사다이엔의 처리가 탈보호를 수행하기 위해 사용될 수 있다.

[0111] 이어서, 화학식 IIId의 스피로피페리딘 유도체는 표준 방법을 사용하여 아실화되어 화학식 Id의 화합물을 제공할

수 있다. 예를 들어, 목적 카복실산(R²CO₂H)과 표준 펩티드 커플링 반응시켜 화합물 Id를 형성할 수 있다. 예를 들어, 스피로피페리딘 중간체(IIId) 및 카복실산(R²CO₂H)은 활성화된 카복실산 에스터의 형성에 의해 커플링될 수 있는데, 예컨대 카복실산(R²CO₂H)을 적합한 용매, 예컨대 THF 및/또는 DMF, DMA 또는 다이클로로메탄 중 활성화제, 예컨대 HOBt의 존재 또는 부재하에, 및 적합한 염기, 예컨대 DIEA, 트리에틸아민 또는 NMM의 존재하에 펩티드 커플링 시약, 예컨대 HATU 또는 EDC·HCl과 접촉시킨 후, 활성화된 카복실산 에스터를 스피로피페리딘 유도체(IIId)와 접촉시켜 화학식 Id의 화합물을 형성할 수 있다.

[0112] 하기 반응식 V는 화학식 Id를 갖는 본 발명의 화합물인 N2 락탐 ACC 억제제를 제공하기 위해 사용된 일반적인 과정을 개략하고, 이때 R¹은 (C₁-C₆)알킬 또는 (C₃-C₅)사이클로알킬이고, R²는 페닐, 나프틸, 5 내지 12 원 헤테로아릴 또는 8 내지 12 원 융합된 헤테로사이클릭아릴이고; 각각의 R² 기는 (C₁-C₃)알킬, (C₁-C₃)알콕시, 할로 및 CONH₂로부터 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 치환기로 임의적으로 치환된다:

[0113] [반응식 V]



[0114] 반응식 V에 따라, 화학식 XIe의 화합물은 약 20 °C 내지 약 100 °C의 온도에서 약 1 내지 약 12 시간 동안 극성 양성자성 용매, 예컨대 에탄올 중 3차 아민 염기, 예컨대 트리에틸아민 또는 N,N-다이소프로필에틸아민의 존재하에 화학식 XIIIe의 케토 에스터 화합물과 화학식 XIIe의 적절한 알킬 하이드라진 하이드로클로라이드, 예컨대 t-부틸하이드라진 하이드로클로라이드의 축합에 의해 제조될 수 있다.

[0116] 화학식 Xe의 화합물은 화학식 XIe의 화합물을 약 0 °C 내지 약 120 °C의 온도에서 약 1 내지 12 시간 동안 비양성자성 용매, 예컨대 다이메틸포름아미드 또는 톨루엔 또는 1,2-다이클로로에탄 중 (클로로메틸렌)다이메틸염화암모늄(빌스마이어 염, 시그마 알드리치(Sigma Aldrich), 카탈로그 번호 280909)으로 처리함으로써 제조될 수 있다.

[0117] 화학식 IXe의 화합물은 화학식 Xe의 알데하이드를 약 0 °C 내지 약 60 °C의 온도에서 약 1 내지 약 6 시간 동안 양성자성 용매, 예컨대 메탄올 또는 에탄올 중 환원제, 예컨대 수소화붕소 나트륨으로 처리함으로써 제조될 수 있다.

[0118] 화학식 VIe의 화합물은 화학식 IXe의 화합물을 약 -20 °C 내지 약 60 °C의 온도에서 약 30 내지 약 120 분 동안 브롬화제, 예컨대 인 트리브로마이드(PBr₃), 또는 탄소 테트라브로마이드 및 트라이페닐포스핀의 혼합물로 제 1 반응시켜 화학식 VIIIe의 화합물을 형성함으로써 형성될 수 있다. 이어서, 화학식 VIIIe의 화합물은 약 -78 °C 내지 약 20 °C의 온도에서 약 1 내지 약 18 시간 동안 비양성자성 용매, 예컨대 테트라하이드로푸란(THF), 톨루엔 또는 다이에틸 에터 중 강염기, 예컨대 리튬 비스(트라이메틸실릴)아마이드(LiHMDS) 또는 리튬 다이이소프로필아민(LDA)의 존재하에 화학식 VIIA의 보호된 4-시아노피페리딘 유도체 화합물과 반응된다. Pg 기는 적절한 아민 보호기를 나타내고 바람직하게는 N-t-부톡시카보닐(BOC) 또는 카보벤질옥시(Cbz)이다.

[0119] 화학식 Ve의 아마이드 화합물은 약 20 °C 내지 약 100 °C의 온도에서 약 1 내지 12 시간 동안 화학식 VIe의 니트릴 화합물을 가수분해 조건, 예컨대 수성 수산화물 염기, 예컨대 수산화 리튬 또는 수산화 나트륨, 및 용매, 예컨대 메탄올 또는 에탄올 또는 테트라하이드로푸란에 적용함으로써 제조될 수 있다. 다르게는 피옥사이드 착체, 예컨대 우레아-과산화수소는 약 0 °C 내지 약 60 °C의 온도에서 약 1 내지 12 시간 동안 용매, 예컨대 메탄

올 또는 에탄올 중 수성 수산화물 염기, 예컨대 수산화 나트륨과 조합하여 사용될 수 있다.

- [0120] 화학식 Ve의 아마이드 화합물의 화학식 IVe의 이소시아네이트 화합물로의 재배열은 약 20 °C 내지 약 60 °C의 온도에서 약 1 내지 6 시간 동안 용매, 예컨대 아세트니트릴 중 무기 염기, 예컨대 중탄산 나트륨의 존재하에 시약, 예컨대(비스(트라이플루오로아세톡시)요소도)벤젠으로 처리함으로써 수행될 수 있다.
- [0121] 화학식 IVe의 이소시아네이트 화합물의 화학식 IIIe의 락탐 화합물로의 전환은 용매, 예컨대 메탄올 또는 테트라하이드로푸란 중 수성 수산화물 염기, 예컨대 수산화 나트륨 또는 수산화 리튬 중 이소시아네이트의 제 1 가수분해에 의해 진행될 수 있다. 이어서, 생성된 아민을 약 0 °C 내지 약 60 °C의 온도에서 약 1 내지 24 시간 동안 아마이드 커플링 시약, 예컨대 1-에틸-3-(3-다이메틸아미노프로필)카보다이이미드 또는 2-(7-아자-1H-벤조트리아아졸-1-일)-1,1,3,3-테트라메틸우로늄 헥사플루오로포스페이트, 및 용매, 예컨대 다이클로로메탄 또는 다이메틸포름아미드 중 알킬 아민 염기, 예컨대 트라이에틸아민 또는 *N,N*-다이이소프로필에틸아민으로 처리하여 화학식 IIIe의 락탐 화합물을 수득할 수 있다.
- [0122] 이어서, 화학식 IIIe의 락탐 화합물은 사용되는 보호기(Pg)에 따라 달라지는 표준 방법을 사용하여 탈보호되어 화학식 IIe의 자유 스피로피페리딘 유도체를 제공할 수 있다. 예를 들어, Pg가 *t*-부틸옥시카보닐(BOC)을 나타내는 경우, 표준 강산 탈보호 조건, 예컨대 적절한 용매, 예컨대 다이클로로메탄 중 트라이플루오로아세트산 또는 다이옥산 중 4 N 염산은 BOC 기를 제거하기 위해 사용될 수 있다. Pg가 카보벤질옥시("Cbz")를 나타내는 경우, 에탄올 중 탄소상 팔라듐 상에서 수소화, 또는 에탄올 또는 에틸 아세테이트 중 탄소상 팔라듐의 존재하에 수소 공급원, 예컨대 암모늄 포르메이트 또는 1-메틸-1,4-사이클로헥사다이엔으로 처리가 탈보호를 수행하기 위해 사용될 수 있다.
- [0123] 이어서, 화학식 IIe의 스피로피페리딘 유도체는 표준 방법을 사용하여 아실화되어 화학식 Ie의 화합물을 제공할 수 있다. 예를 들어, 목적 카복실산(R²CO₂H)과 표준 펩티드 커플링 반응시켜 화합물 Ie를 형성할 수 있다. 예를 들어, 스피로피페리딘 중간체(IIe) 및 카복실산(R²CO₂H)은 활성화된 카복실산 에스터의 형성에 의해 커플링될 수 있는데, 예컨대 적합한 용매, 예컨대 THF 및/또는 DMF, DMA 또는 다이클로로메탄 중 활성화제, 예컨대 하이드록시벤조트리아아졸("HOBt")의 존재 또는 부재하에, 및 적합한 염기, 예컨대 DIEA, NMM의 존재하에 카복실산(R²CO₂H)을 펩티드 커플링 시약, 예컨대 HATU 또는 EDC·HCl과 접촉시킨 후, 활성화된 카복실산 에스터를 스피로피페리딘 유도체(IIe)와 접촉시켜 화학식 Ie의 화합물을 형성할 수 있다.
- [0124] 본 발명의 화합물은 단리될 수 있고 그 자체로, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염의 형태로 사용될 수 있다. 본 발명에 따라, 다중 염기성 질소 원자를 갖는 화합물은 산의 당량(eq.)의 수의 변화에 따라 염을 형성할 수 있다. 이러한 모든 염이 본 발명의 범주내에 속함이 전문가에 의해 이해될 것이다.
- [0125] 본 발명의 화합물과 관련하여 본원에서 사용된 "약학적으로 허용되는 염"은 화합물의 약학적으로 허용되는 무기 및 유기 염을 포함한다. 이들 염은 화합물의 최종 단리 및 정제 동안 동일 반응계에서, 또는 상이 화합물을 적합한 유기 또는 무기 산과 별도로 반응시키고 이렇게 형성된 염을 단리함으로써 제조될 수 있다. 대표적인 염은 하이드로브로마이드, 하이드로클로라이드, 하이드로요오다이드, 설페이트, 바이설페이트, 니트레이트, 아세테이트, 트라이플루오로아세테이트, 옥살레이트, 베실레이트, 팔미테이트, 과모에이트, 말로네이트, 스테아레이트, 라우레이트, 말레이트, 보레이트, 벤조에이트, 락테이트, 포스페이트, 헥사플루오로포스페이트, 벤젠 설포네이트, 토실레이트, 포르메이트, 시트레이트, 말레에이트, 푸마레이트, 숙시네이트, 타르트레이트, 나프틸레이트, 메실레이트, 글루코헵토네이트, 락토비오네이트 및 라우릴설포네이트 염 등을 포함하지만, 이로써 한정되지 않는다. 이들은 또한 알칼리 및 알칼리 토금속, 예컨대 나트륨, 리튬, 칼륨, 칼슘, 마그네슘 등에 기초한 양이온뿐만 아니라 비독성 암모늄, 4차 암모늄, 및 암모늄, 테트라메틸암모늄, 테트라에틸암모늄, 메틸암모늄, 다이메틸암모늄, 트라이메틸암모늄, 트라이에틸암모늄, 에틸암모늄 등을 포함하는 아민 양이온을 포함하지만, 이로써 한정되지 않는다. 추가 예를 위해 예를 들어, 문헌[Berge, et al., J. Pharm. Sci., 66, 1-19 (1977)]을 참조한다.
- [0126] 본 발명의 화합물은 하나 초과와 결정질 형태로 존재할 수 있다. 화학식 I의 화합물 및 이의 염(용매화물 및 수화물 포함)의 다형체는 본 발명의 요소이고 상이한 조건하에 본 발명의 화합물의 결정화에 의해 제조될 수 있다. 예를 들어, 재결정화를 위한 상이한 용매 또는 상이한 용매 혼합물의 사용; 상이한 온도에서 결정화; 다양한 냉각 방식, 결정화 동안 고속 내지 저속의 냉각 범위를 사용한다. 또한, 다형체는 본 발명의 화합물을 가열하거나 용융한 후, 점진적이거나 빠르게 냉각함으로써 수득될 수 있다. 다형체의 존재는 고체 프로브 핵 자기

공명(NMR) 분광법, 적외선(IR) 분광법, 시차 주사 열량 측정법, 분말 X-선 회절법 또는 이러한 다른 기술에 의해 측정될 수 있다.

[0127] 또한 본 발명은 화학식 I에 기재된 바와 동일하지만, 사실상 하나 이상의 원자가 자연에서 일반적으로 발견되는 원자의 질량 또는 질량 수와 상이한 원자의 질량 또는 질량 수를 갖는 원자에 의해 대체된 동위원소-표지된 화합물을 포함한다. 본 발명의 화합물에 혼입될 수 있는 동위원소의 예는 수소, 탄소, 질소, 산소, 황 및 불소의 동위원소, 예컨대 각각 ²H, ³H, ¹³C, ¹⁴C, ¹⁵N, ¹⁸O, ¹⁷O, ³⁵S, ³⁶S, ¹²⁵I, ¹²⁹I 및 ¹⁸F를 포함한다. 본 발명의 특정 동위원소-표지된 화합물(예를 들어 방사선 동위원소, 예컨대 ³H 및 ¹⁴C가 혼입된 것)은 약물 및/또는 기질 조직 분포 분석에 유용하다. 삼중 수소(즉, ³H) 및 탄소-14(즉, ¹⁴C) 동위원소가 제조 및 검출의 용이성을 위해 특히 바람직하다. 또한, 중질 동위원소, 예컨대 중수소(즉, ²H)로 치환은 큰 대사 안정성으로부터 야기되는 특정 치료 이점, 예를 들어 증가된 생체 내 반감기 또는 감소된 복용 요건을 수득할 수 있고, 따라서 일부 환경에서 바람직할 수 있다. 본 발명의 동위원소 표지된 화합물은 일반적으로 비동위원소 표지된 시약을 쉽게 이용가능한 동위원소 표지된 시약으로 치환하여 반응식 및/또는 하기 실시예에 개시된 과정을 수행함으로써 제조될 수 있다.

[0128] 본 발명의 화합물은 입체 중심을 함유할 수 있다. 이들 화합물은 거울상 이성질체의 혼합물로서 또는 순수 거울상 이성질체로서 존재할 수 있다. 화합물이 입체 중심을 포함하는 점에서, 화합물은 당업자에게 공지된 방법, 예를 들어 결정화에 의해 분리될 수 있는 부분입체 이성질체 염의 형성; 예를 들어, 결정화, 기체-액체 또는 액체 크로마토그래피에 의해 분리될 수 있는 입체 이성질체 유도체 또는 착체의 형성; 거울상 이성질체-특이적 시약을 갖는 하나의 거울상 이성질체의 선택적인 반응, 예를 들어 효소의 에스테르화; 또는 키랄 환경에서 (예를 들어 키랄 지지체, 예컨대 실리카와 결합된 키랄 리간드 상에서 또는 키랄 용매의 존재하에) 기체-액체 또는 액체 크로마토그래피에 의해 순수 거울상 이성질체로 분할될 수 있다. 목적 입체 이성질체가 상기한 분리 과정 중 하나에 의해 또 다른 화합물로 전환되는 경우, 추가 단계가 목적 거울상 이성질체 형태를 유지시키기 위해 요구됨이 인지될 것이다. 다르게는, 특이적 입체 이성질체는 광학 활성 출발 물질을 사용함으로써, 광학 활성 시약, 기질, 촉매 또는 용매를 사용하는 비대칭 합성에 의해, 또는 비대칭 변형에 의해 하나의 입체 이성질체를 또 다른 입체 이성질체로 전환함으로써 합성될 수 있다.

[0129] 본 발명의 화합물은 분리될 수 있는 상이한 안정된 배좌 형태로 존재할 수 있다. 예를 들어 입체 장애 또는 고리 변형 때문에 비대칭 단일 결합에 관하여 제한된 회전에 기인한 비틀린 비대칭은 상이한 형태 이성질체의 분리를 허용할 수 있다. 본 발명의 화합물은 또한 화학식 I의 화합물 및 이의 혼합물의 각각의 형태 이성질체를 포함한다.

[0130] 본 발명의 화합물은 아세틸-CoA 카복실라아제 효소(구체적으로, ACC1 및 ACC2)의 억제에 의해 조절된 질환, 상태 및/또는 질병을 치료하기에 유용하다. 본 발명의 또 다른 실시양태는 본 발명의 화합물의 치료 효과량 및 약학적으로 허용되는 부형제, 희석제 또는 담체를 포함하는 약학 조성물이다. 본 발명의 화합물(본원에 사용된 조성물 및 공정을 포함)은 또한 본원에 기재된 치료 적용을 위한 약제의 제조에서 사용될 수 있다.

[0131] 전형적인 제형은 본 발명의 화합물 및 담체, 희석제 또는 부형제를 혼합하여 제조된다. 적합한 담체, 희석제 및 부형제는 당업자에게 널리 공지되고 물질, 예컨대 탄수화물, 왁스, 수용성 및/또는 수팽윤성 중합체, 친수성 또는 소수성 물질, 젤라틴, 오일, 용매, 물 등을 포함한다. 사용된 특정 담체, 희석제 또는 부형제는 본 발명의 화합물이 적용되는 방식 및 목적에 따라 다를 것이다. 용매는 포유동물에게 투여하기에 안전한 것으로 당업자에게 인지된 용매를 기초하여 일반적으로 선택된다(GRAS). 일반적으로, 안전한 용매는 비독성 수성 용매, 예컨대 물 및 물에 용해성 또는 혼화성인 다른 비독성 용매이다. 적합한 수성 용매는 물, 에탄올, 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜(예를 들어, PEG400, PEG300) 등 및 이들의 혼합물을 포함한다. 제형은 또한 하나 이상의 완충제, 안정화제, 계면활성제, 습윤제, 윤활제, 유화제, 현탁제, 방부제, 산화방지제, 불투명화제, 활주제, 가공 보조제, 착색제, 감미료, 방향제, 향미제 및 약물(즉, 본 발명의 화합물 또는 이의 약학 조성물)의 우아한 제시를 제공하기 위한 다른 공지된 첨가제 또는 약학 생성물의 제조의 보조제(즉, 약제를 제조하기 위해 사용하기 위함)를 포함할 수 있다.

[0132] 제형은 통상적인 용해 및 혼합 과정을 사용하여 제조될 수 있다. 예를 들어, 벌크 약물 물질(즉, 본 발명의 화합물 또는 화합물의 안정화된 형태(예를 들어, 사이클로덱스트린 유도체 또는 다른 공지된 착화제와의 착체))은 상기한 하나 이상의 부형제의 존재하에 적합한 용매 중에 용해된다. 불량한 수용성 화합물의 용해율은 분무 건조 분산, 예컨대 문헌[Takeuchi, H., et al. in "Enhancement of the dissolution rate of a poorly water-

soluble drug(tobutamide) by a spray-drying solvent deposition method and disintegrants" *J. Pharm. Pharmacol.*, 39, 769-773 (1987)]; 및 유럽특허 제 0901786 B1 호(미국특허 제 2002/009494 호)(참고로서 본원에 혼입됨)에 기재된 방법을 사용하여 강화될 수 있다. 본 발명의 화합물은 전형적으로 약학 복용 형태로 제형화되어 쉽게 조절가능한 복용량의 약물을 제공하고 우아하고 쉽게 다룰 수 있는 제품을 환자에게 준다.

[0133] 약학 조성물은 또한 본 발명의 화합물의 용매화물 및 수화물을 포함한다. 용어 "용매화물"은 하나 이상의 용매 분자와 화학식 I에 의해 나타낸 화합물(이의 약학적으로 허용되는 염 포함)의 분자 착체를 지칭한다. 상기 용매 분자는 수용체에게 무해하다고 공지된, 약학 분야에서 통상적으로 사용되는 것, 예를 들어, 물, 에탄올, 에틸렌 글리콜 등이다. 용어 "수화물"은 용매 분자가 물인 착체를 지칭한다. 용매화물 및/또는 수화물은 바람직하게는 결정질 형태로 존재한다. 더욱 바람직한 용매화물의 제조에서 중간체 용매화물로서 다른 용매, 예컨대 메탄올, 메틸 t-부틸 에터, 에틸 아세테이트, 메틸 아세테이트, (S)-프로필렌 글리콜, (R)-프로필렌 글리콜, 1,4-부틴-다이올 등이 사용될 수 있다.

[0134] 적용을 위해 약학 조성물(또는 제형)은 약물을 투여하기 위해 사용된 방법에 따라 다양한 방식으로 포장될 수 있다. 일반적으로, 분배용 제품은 적절한 형태로 약학 제형이 함유된 용기를 포함한다. 적합한 용기는 당업자에게 널리 공지되어 있고 물질, 예컨대 병(플라스틱 및 유리), 사체(sachet), 앰플, 비닐 봉지, 금속 주사기 등을 포함한다. 또한, 용기는 포장의 내용물에 부주의한 접근을 막기 위해 변조 방지 균집물을 포함할 수 있다. 게다가, 용기는 용기의 내용물을 기재하는 표지가 붙여진다. 표지는 또한 적절한 경고를 포함할 수 있다.

[0135] 본 발명은 치료 효과량의 본 발명의 화합물, 또는 효과량의 본 발명의 화합물 및 약학적으로 허용되는 부형제, 희석제 또는 담체를 포함하는 약학 조성물을 치료를 필요로 하는 동물에게 투여함을 포함하는, 동물에서 아세틸-CoA 카복실라아제 효소의 억제에 의해 조절되는 질환, 상태 및/또는 질병의 치료 방법을 추가로 제공한다. 상기 방법은 특히 아세틸-CoA 카복실라아제 효소의 억제로부터 이익을 얻는 질환, 상태 및/또는 질병의 치료에 유용하다.

[0136] 본 발명의 제 1 양상은 비만, 및 비만 관련 질병(예를 들어, 과체중, 체중 증가 또는 체중 유지)의 치료이다.

[0137] 비만 및 과체중은 일반적으로 체질량 지수(BMI)에 의해 정의되고, 이는 총 체지방과 관련되어 있고 질환의 상대 위험도를 측정한다. BMI는 제곱 미터 단위의 높이로 나눈 킬로그램 단위의 무게에 의해 계산된다(kg/m^2). 과체중은 전형적으로 25 내지 29.9 kg/m^2 의 BMI로서 정의되고, 비만은 전형적으로 30 kg/m^2 의 BMI로서 정의된다. 예를 들어, 문헌[National Heart, Lung, and Blood Institute, Clinical Guidelines on the Identification, Evaluation, and Treatment of Overweight and Obesity in Adults, The Evidence Report, Washington, DC: U.S. Department of Health and Human Services, NIH publication no. 98-4083 (1998)]을 참조한다.

[0138] 본 발명의 또 다른 양상은 당뇨병 또는 당뇨병 관련 질병, 예컨대 1형(인슐린-의존 진성 당뇨병, 또한 "IDDM"으로서 지칭됨) 및 2형(비인슐린-의존 진성 당뇨병, 또한 "NIDDM"으로서 지칭됨) 당뇨병, 내당능 손상, 인슐린 저항, 고혈당, 및 당뇨 합병증(예컨대, 아테롬성 동맥경화증, 관상 동맥성 심장 질환, 뇌졸중, 말초 혈관 질환, 신증, 고혈압, 신경 장애 및 망막증)의 치료(예를 들어, 발병 및 진행의 지연)에 대한 것이다.

[0139] 본 발명의 또 다른 양상은 비만 동반-질환, 예컨대 대사 증후군의 치료이다. 대사 증후군은 질환, 상태 또는 질병, 예컨대 이상지질혈증, 고혈압, 인슐린 저항, 당뇨병(예를 들어, 2형 당뇨병), 관상 동맥성 동맥 질환 및 심부전을 포함한다. 대사 증후군에 대한 보다 구체적인 정보는 예를 들어, 문헌[Zimmet, P.Z., et al., "The Metabolic Syndrome: Perhaps an Etiologic Mystery but Far From a Myth - Where Does the International Diabetes Federation Stand?", *Diabetes & Endocrinology*, 7(2), (2005)]; 및 문헌[Alberti, K.G., et al., "The Metabolic Syndrome - A New Worldwide Definition", *Lancet*, 366, 1059-62 (2005)]을 참조한다. 바람직하게는, 본 발명의 화합물의 투여는 약물을 함유하지 않는 비히클 대조군에 비해 하나 이상의 심혈관 질환 위험 인자에서 통계상으로 유의한($p < 0.05$) 감소, 예컨대 플라즈마 렙틴, C-반응성 단백질(CRP) 및/또는 콜레스테롤의 저하를 제공한다. 본 발명의 화합물의 투여는 또한 글루코스 혈청 수준에서 통계상으로 유의한($p < 0.05$) 감소를 제공할 수 있다.

[0140] 본 발명의 또 다른 양상은 무알콜성 지방간 질환(NAFLD) 및 간장 인슐린 저항성의 치료이다.

[0141] 약 100 kg 체중의 정상 성인 인간에게, 전형적으로 체중(kg)당 약 0.001 mg 내지 약 10 mg의 범위의 투여량이 충분하고, 바람직하게는 약 0.01 mg/kg 내지 약 5.0 mg/kg, 더욱 바람직하게는 약 0.01 mg/kg 내지 약 1 mg/kg 이 충분하다. 그러나, 치료되는 대상체의 연령 및 체중, 의도된 투여 경로, 투여되는 특정 화합물 등에 따라

일반적인 투여량 범위에서 일부 변동이 요구될 수 있다. 특정 환자에 대한 투여 범위 및 최적 투여량은 본 개시내용의 이점을 갖는 당업자의 능력 내에서 잘 결정된다. 본 발명의 화합물이 지속 방출, 제어 방출 및 지연 방출 제형으로 사용될 수 있으며, 이들 형태가 또한 당업자에게 널리 공지되어 있음이 또한 주목된다.

[0142] 본 발명의 화합물은 또한 본원에 기재된 질환, 상태 및/또는 질병의 치료를 위해 다른 약제와 조합으로 사용될 수 있다. 따라서, 다른 약제와 조합으로 본 발명의 화합물을 투여함을 포함하는 치료 방법이 또한 제공된다. 본 발명의 화합물과 조합으로 사용될 수 있는 적합한 약제는 항비만제(식욕 억제제를 포함), 항당뇨병제, 항고혈당제, 지질저하제 및 항고혈압제를 포함한다.

[0143] 본 발명의 화합물과 조합될 수 있는 적합한 지질저하제는 예를 들어, 국제특허출원공개 제 2011005611 호의 30면 20행 내지 31면 31행에 기재된 것을 포함한다. 지질저하제는 담즙산 격리제, HMG-CoA 환원효소 억제제, HMG-CoA 합성효소 억제제, 콜레스테롤 흡수 억제제, 아실 조효소 A-콜레스테롤 아실 전이효소(ACAT) 억제제, CETP 억제제, 스쿠알렌 합성효소 억제제, PPAR α 작용제, FXR 수용체 조절제, LXR 수용체 조절제, 리포단백질 합성 억제제, 레닌 안지오텐신 시스템 억제제, PPAR δ 부분 작용제, 담즙산 재흡수 억제제, PPAR γ 작용제, 트리글리세리드 합성 억제제, 마이크로솜 트리글리세리드 수송 억제제, 전사 조절제, 스쿠알렌 에폭시디아제 억제제, 저밀도 리포단백질 수용체 유도제, 혈소판 응집 억제제, 5-LO 또는 FLAP 억제제, 니아신 결합 크로뮴 및 지질 조성물에 영향을 끼치는 다른 시약을 포함한다.

[0144] 본 발명의 화합물과 조합될 수 있는 적합한 항고혈압제는 예를 들어, 국제특허출원공개 제 2011005611 호의 31면 31행 내지 32면 18행에 기재된 것을 포함한다. 항고혈압제는 이노제, β -아드레날린 차단제, 칼슘 통로 차단제, 안지오텐신 전환 효소(ACE) 억제제, 중성 엔도펩티다아제 억제제, 엔도텔린 길항제, 혈관확장제, 안지오텐신 II 수용체 길항제, α/β 아드레날린 차단제, $\alpha 1$ 차단제, $\alpha 2$ 작용제, 알도스테론 억제제, 무기질 코르티코이드 수용체 억제제, 레닌 억제제 및 안지오펜이오텐-2-결합제를 포함한다.

[0145] 적합한 항당뇨병제는 아세틸-CoA 카복실라아제-(ACC) 억제제(예를 들어, 국제특허출원공개 제 2009144554 호, 국제특허출원공개 제 2003072197 호, 국제특허출원공개 제 2009144555 호 및 국제특허출원공개 제 2008065508 호에 기재됨), 다이아실글리콜 0-아실전이효소 1(DGAT-1) 억제제(예를 들어, 국제특허출원공개 제 09016462 호 또는 국제특허출원공개 제 2010086820 호에 기재됨), AZD7687 또는 LCQ908, 다이아실글리콜 0-아실전이효소 2(DGAT-2) 억제제, 모노아실글리콜 0-아실전이효소 억제제, 포스포다이에스테라아제(PDE)-10 억제제, AMPK 활성화제, 설포닐우레아(예를 들어, 아세토희사미드, 클로로프로파미드, 다이아비네즈, 글리벤클라미드, 글리피지드, 글리부리드, 글리메피리드, 글리클라지드, 글리퀼티드, 글리퀴돈, 글리솔라미드, 톨라자미드 및 톨부타미드), 메글리티니드, α -아밀라아제 억제제(예를 들어, 텐다미스타트, 트레스타틴 및 AL-3688), α -글루코시드 가수분해효소 억제제(예를 들어, 아카르보즈), α -글루코시다아제 억제제(예를 들어, 아디포신, 카미글리보즈, 에미글리테이트, 미글리톨, 보글리보즈, 프라디미신-Q 및 살보스타틴), PPAR γ 작용제(예를 들어, 발라글리타존, 시글리타존, 다르글리타존, 엔글리타존, 이사글리타존, 피오글리타존, 로시글리타존 및 트로글리타존), PPAR α/γ 작용제(예를 들어, CLX-0940, GW-1536, GW-1929, GW-2433, KRP-297, L-796449, LR-90, MK-0767 및 SB-219994), 바이구아나이드(예를 들어, 메트포르민), 글루카곤 유사 펩티드 1(GLP-1) 조절제, 예컨대 작용제(예를 들어, 엑세딘-3 및 엑세딘-4), 리라글루티드, 알비글루티드, 엑세나티드(바이에타(Byetta: 등록상표)), 알비글루티드, 타스포글루티드, 리시세나티드, 둘라글루티드, 세마글루티드, NN-9924, TTP-054, 단백질 티로신 인산가수분해효소-1B(PTP-1B) 억제제(예를 들어, 트로더스커민, 하이르티오살 추출물, 및 문헌[Zhang, S., et al., Drug Discovery Today, 12(9/10), 373-381 (2007)]에 의해 개시된 화합물), SIRT-1 억제제(예를 들어, 레스베라트롤, GSK2245840 또는 GSK184072), 다이펩티드 펩티다아제 IV(DPP-IV) 억제제(예를 들어, 국제특허출원공개 제 2005116014 호에 기재됨, 시타글립틴, 빌다글립틴, 알로글립틴, 두토글립틴, 리나글립틴 및 삭사글립틴), 인슐린 분비촉진제, 지방산 산화 억제제, A2 길항제, c-jun 아미노-말단 키나아제(JNK) 억제제, 글루코키나아제 활성화제(GKa)(예를 들어, 국제특허출원공개 제 2010103437 호, 국제특허출원공개 제 2010103438 호, 국제특허출원공개 제 2010013161 호, 국제특허출원공개 제 2007122482 호에 기재됨), TTP-399, TTP-355, TTP-547, AZD1656, ARRY403, MK-0599, TAK-329, AZD5658 또는 GKM-001, 인슐린, 인슐린 모방제, 글리코겐 포스포릴라아제 억제제(예를 들어, GSK1362885), VPAC2 수용체 작용제, 예컨대 다파글리플로진, 카나글리플로진, BI-10733, 토포글리플로진(CSG452), ASP-1941, THR1474, TS-071, ISIS388626 및 LX4211을 포함하는 문헌[E. C. Chao et al. Nature Reviews Drug Discovery 9, 551-559 (July 2010)] 및 국제특허출원공개 제 2010023594 호에 기재된 SGLT2 억제제, 글루카곤 수용체 조절제(예를 들어, 문헌[Demong, D.E. et al. Annual Reports in Medicinal Chemistry, 43, 119-137 (2008)]에 기재됨), GPR119 조절제, 특히 작용제(예를 들어, 국제특허출원공개 제 2010140092 호, 국제특허출원공개 제 2010128425 호, 국제특허출원공개 제 2010128414 호, 국제특허출원공개 제

2010106457 호, 문헌[Jones, R.M. et al. in Medicinal Chemistry, 44, 149-170 (2009)](예를 들어, MBX-2982, GSK1292263, APD597 및 PSN821)에 기재됨), FGF21 유도체 또는 유사제(예를 들어, 문헌[Kharitonov, A. et al. et al., Current Opinion in Investigational Drugs, 10(4) 359-364 (2009)]에 기재됨), TGR5(또한 GPR119로 칭함) 수용체 조절제, 특히 작용제(예를 들어, 문헌[Zhong, M., Current Topics in Medicinal Chemistry, 10(4), 386-396 (2010)]에 기재됨) 및 INT777, GPR40 작용제, 예컨대 TAK-875, GPR120 조절제, 특히 작용제, 고친화성 니코틴산 수용체(HM74A) 활성제(비제한적으로 문헌[Medina, J.C., Annual Reports in Medicinal Chemistry, 43, 75-85 (2008)]에 기재됨), 및 SGLT1 억제제, 예컨대 GSK1614235를 포함한다. 본 발명의 화합물과 조합될 수 있는 항당뇨병제의 추가 대표적인 목록은 예를 들어, 국제특허출원공개 제 2011005611 호의 28면 35행 내지 30면 19행에서 발견될 수 있다. 바람직한 항당뇨병제는 메트포르민 및 DPP-IV 억제제(예를 들어, 시타글립틴, 빌다글립틴, 알로글립틴, 두토글립틴, 리나글립틴 및 삭사글립틴)이다. 다른 항당뇨병제는 카르니틴 팔미토일 전이효소 효소의 억제제 또는 조절제, 프루토스 1,6-다이인산가수분해효소의 억제제, 알도스 환원효소의 억제제, 무기질 코르티코이드 수용체 억제제, TORC2의 억제제, CCR2 및/또는 CCR5의 억제제, PKC 이소폼(예를 들어 PKC α , PKC β , PKC γ)의 억제제, 지방산 합성효소의 억제제, 세린 팔미토일 전이효소의 억제제, GPR81, GPR39, GPR43, GPR41, GPR105의 조절제, Kv1.3, 레티놀 결합 단백질 4, 글루코코르티코이드 수용체, 소마토스타틴 수용체(예를 들어 SSTR1, SSTR2, SSTR3 및 SSTR5), PDHK2 또는 PDHK4의 억제제 또는 조절제, MAP4K4의 억제제, IL-1 β 를 포함하는 IL-1 과의 조절제, RXR α 의 조절제를 포함할 수 있다. 게다가 적합한 항당뇨병제는 문헌[Carpino, P.A., Goodwin, B. Expert Opin. Ther. Pat, 20(12), 1627-51 (2010)]에 의해 나열된 기사를 포함한다.

[0146]

적합한 항비만제(이의 일부는 항당뇨병제로서도 작용함)는 11 β -하이드록시 스테로이드 탈수효소-1(11 β -HSD 1형) 억제제, 스테아로일-CoA 불포화효소-1(SCD-1) 억제제, MCR-4 작용제, 콜레시스토키닌-A(CCK-A) 작용제, 모노아민 재흡수 억제제(예컨대 시부트라민), 교감 신경 흥분제, β_3 아드레날린 작용제, 도파민 작용제(예컨대 브로모크립틴), 멜라노사이트-자극 호르몬 유사제, 5HT_{2c} 작용제, 멜라닌 농축 호르몬 길항제, 렙틴(OB 단백질), 렙틴 유사제, 렙틴 작용제, 갈라닌 길항제, 리파아제 억제제(예컨대, 테트라하이드로립스타틴, 즉, 오를리스타트), 식욕 감퇴제(예컨대, 뱀배신 작용제), 신경펩티드- γ 길항제(예를 들어, NPY Y5 길항제 예컨대 벨레페리트), PYY₃₋₃₆(이의 유사제 포함), BRS3 조절제, 오피오이드 수용체 아형의 혼합된 길항제, 갑상샘 모사제, 디하이드로에피안드로스테론 또는 이의 유사제, 글루코코르티코이드 작용제 또는 길항제, 오렉신 길항제, 글루카곤 유사 펩티드-1 작용제, 섬모 향신경성 인자(예컨대, 레제네론 파마슈니칼스 인코포레이티드(Regeneron Pharmaceuticals, Inc., 미국 뉴욕주 테리타운 소재) 및 프록터 앤드 갬블 캄파니(Procter & Gamble Company, 미국 오하이오주 신시내티 소재)로부터 이용가능한 알소킨(Axokine: 상표)), 인간 아고티 관련 단백질(AGRP) 억제제, 히스타민 3 길항제 또는 역 작용제, 뉴로메딘 U 작용제, MTP/ApoB 억제제(예를 들어, 장-선택적 MTP 억제제, 예컨대, 딜로타피드, JTT130, 우시스타피드, SLX4090), 오피오이드 길항제, GSK1521498을 포함하지만 이에 국한되지 않는 무오피오이드 수용체 조절제, ZGN-433을 포함하지만 이에 국한되지 않는 MetAp2 억제제, 2개 이상의 글루카곤에서 혼합된 조절 활성을 갖는 시약, GIP 및 GLP1 수용체, 예컨대, MAR-701 또는 ZP2929, 노르에피네프린 수용체 억제제, 카나비노이드-1-수용체 길항제/역 작용제, 그렐린 작용제/길항제, 옥신토모듈린 및 유사제, 예컨대 테소펜신으로 국한되지 않는 모노아민 재흡수 억제제, 오렉신 길항제, 조합 시약(예컨대, 부프로피온과 조니사미드, 프람린티드와 메트레렛틴, 부프로피온과 날트렉손, 펜테르민과 토피라메이트) 등을 포함한다.

[0147]

본 발명의 조합 양상에서 사용하기 위한 바람직한 항비만제는 장-선택적 MTP 억제제(예를 들어, 딜로타피드, 미트라타피드 및 임플리타피드, R56918(CAS 번호 403987) 및 CAS 번호 913541-47-6), CCKa 작용제(예를 들어, 국제특허출원공개 제 2005/116034 호 또는 미국특허출원 제 2005-0267100 A1 호에 기재된 N-벤질-2-[4-(1H-인돌-3-일메틸)-5-옥소-1-페닐-4,5-다이하이드로-2,3,6,10b-테트라아자-벤조[e]아줄렌-6-일]-N-이소프로필-아세트아마이드), 5HT_{2c} 작용제(예를 들어, 로르카세린), MCR4 작용제(예를 들어, 미국특허 제 6,818,658 호에 기재된 화합물), 리파아제 억제제(예를 들어, 세틸리스타트), PYY₃₋₃₆(본원에 기재된 바와 같이 "PYY₃₋₃₆"은 유사제, 예컨대, 미국특허출원 제 2006/0178501 호에 기재된 폐기화된 PYY₃₋₃₆을 포함함), 오피오이드 길항제(예를 들어, 날트렉손), 올레오일-에스트론(CAS 번호 180003-17-2), 오비네피티드(TM30338), 프람린티드(심린(SymLin: 등록상표)), 테소펜신(NS2330), 렙틴, 브로모크립틴, 오를리스타트, AOD-9604(CAS 번호 221231-10-3) 및 시부트라민을 포함한다. 바람직하게는, 본 발명의 화합물 및 조합 치료는 운동 및 현명한 식이요법과 병용으로 투여된다.

- [0148] 모든 인용된 미국특허 및 간행물(실시예에 언급된 모든 기술적인 게시를 포함)은 이들의 전체가 참고로서 본원에 혼입된다.
- [0149] 본원에 기재된 하기 실시예는 오직 예시적인 목적을 위해서이다. 본원에 반영된 조성물, 방법 및 다양한 매개 변수는 본 발명의 다양한 양상 및 실시양태를 단지 예시하고자 하는 것이고, 어떠한 방식으로든 청구된 발명의 범주를 제한하지 않는 것으로 의도된다.
- [0150] 하기 제제는 하기 실시예에서 예시된 화합물의 합성에 사용된다.
- [0151] 하기의 시판중인 출발 물질은 하기 실시예에 기재된 화합물을 제조하기 위해 사용된다: 메틸 3-요오도-1H-인다졸-5-카복실레이트(아니켄 엘엘씨(Anichem LLC), 미국 뉴저지주 노스 브런즈윅 소재), (1R,5S)-8-(t-부톡시카보닐)-8-아자바이사이클로[3.2.1]옥탄-3-카복실산(아스타테크 인코포레이티드(AstaTech, Inc.), 미국 펜실베이니아주 브리스톨 소재), 6-브로모이소퀴놀린-3-아민(아크 팜 인코포레이티드(Ark Pharm, Inc.), 미국 일리노이스주 리버티빌 소재), 3-하이드록시-1H-인다졸-5-카복실산(아세스 파마 인코포레이티드(Aces Pharma, Inc.), 미국 코네티컷주 브렌포드 소재), 에틸 퀴놀린-7-카복실레이트(에이에스더블유 메드켄 인코포레이티드(ASW MedChem, Inc.), 미국 뉴저지주 뉴 브런즈윅 소재), 7-브로모이소퀴놀린-1(2H)-온(알파 아에사(Alfa Aesar), 미국 마이애미주 월드 힐 소재), 3-옥소-2,3-다이하이드로-1H-인다졸-6-카복실산(에이에스더블유 메드켄 인코포레이티드), 5-브로모-3-(트라이플루오로메틸)-1H-인다졸(제이앤더블유 파마랩 엘엘씨(J&W Pharm Lab LLC.), 미국 펜실베이니아주 레비트타운 소재), 6-브로모이소퀴놀린-1(2H)-온(아니켄 엘엘씨), 메틸 1H-피롤로[3,2-b]피리딘-6-카복실레이트(에이씨에스 사이언티픽 인코포레이티드(ACS Scientific Inc.), 미국 뉴저지주 메튜첸 소재), 4-브로모-2-플루오로-N-메틸벤즈아마이드(오크우드 프로덕츠 인코포레이티드(Oakwood Products, Inc.), 미국 사우스 캐롤리나주 웨스트 콜롬비아 소재), 7-브로모-3-클로로이소퀴놀린(알리켄 엘엘씨(Allichem LLC), 미국 메릴랜드주 발티모어 소재), 7-브로모이소퀴놀린-3-아민(알리켄 엘엘씨), 6-브로모이소퀴놀린-3-올(아크 팜 인코포레이티드), 1H-피롤로[2,3-b]피리딘-5-카복실산(에이에스디아이 인코포레이티드(ASDI Inc.), 미국 델라웨어주 뉴왁 소재), 1-클로로이소퀴놀린-7-카복실산(아메리칸 커스텀 케미칼스 코퍼레이션(American Custom Chemicals Corp.), 미국 캘리포니아주 샌 디에고 소재), 3,7-다이메틸-1H-인다졸-5-카복실산(안커 오가닉스 캠페니 리미티드(Anker Organics Co. Ltd.), 중국 우한 소재), 7-메틸-1H-인다졸-5-카복실산(제이앤더블유 파마랩 엘엘씨), 2-메틸-2H-인다졸-5-카복실산(베팜 리미티드(Bepharm Ltd.), 중국 상하이 소재), 1H-피롤로[3,2-b]피리딘-6-카복실산(시노바 인코포레이티드(Sinova Inc.), 미국 메릴랜드주 베테스다 소재), 7-클로로-1H-인다졸-5-카복실산(안커 오가닉스 캠페니 리미티드), 4-메톡시-1H-인다졸-6-카복실산(에이에스더블유 메드켄 인코포레이티드), 1-메틸-1H-인다졸-5-카복실산(제이앤더블유 파마랩 엘엘씨), 7-에틸-1H-인다졸-5-카복실산(안커 오가닉스 캠페니 리미티드), 3-에틸-1H-인다졸-5-카복실산(알리켄 엘엘씨), 3-메틸-1H-인다졸-5-카복실산(아크 팜 인코포레이티드), 1H-피롤로[3,2-b]피리딘-2-카복실산(아세스 파마 인코포레이티드), 퀴놀린-3-카복실산(베타 파마 인코포레이티드(β Pharma Inc.), 미국 코네티컷주 브렌포드 소재), 퀴놀린-7-카복실산(아크 팜 인코포레이티드), 이소퀴놀린-6-카복실산(아크 팜 인코포레이티드), 이소퀴놀린-7-카복실산(인도핀 케미칼 캠페니 인코포레이티드(Indofine Chemical Company Inc.), 미국 뉴저지주 힐스버리 소재), 6-메톡시퀴놀린-3-카복실산(프린스턴 바이오펠레큘라 리서치 인코포레이티드(Princeton Biomolecular Research Inc.), 미국 뉴저지주 몬마우쓰 정션 소재), 4-메톡시-7-메틸-1H-인돌-2-카복실산(아우로라 파인 케미칼스 엘엘씨(Aurora Fine Chemicals LLC), 미국 캘리포니아주 샌 디에고 소재), 2-아미노퀴놀린-6-카복실산(프린스턴 바이오펠레큘라 리서치 인코포레이티드), 8-메톡시퀴놀린-3-카복실산(바이오블록스 인코포레이티드(BioBlocks Inc.), 미국 캘리포니아주 샌 디에고 소재), 2-아미노퀴놀린-7-카복실산(프린스턴 바이오펠레큘라 리서치 인코포레이티드), 2-메틸-1H-벤조[d]이미다졸-5-카복실산(아크로스 오가닉스(Acros Organics), 벨기에 길 소재), 1H-인다졸-5-카복실산(시그마 알드리치), 퀴놀린-6-카복실산(아크로스 오가닉스), 6-메톡시-2-나프토산(시그마 알드리치), 1H-인다졸-6-카복실산(시그마 알드리치), 1H-벤조[d][1,2,3]트리아졸-5-카복실산(시그마 알드리치), 3,4-다이아미노-5-클로로벤조산(프린스턴 바이오펠레큘라 리서치 인코포레이티드), 7-브로모-1-클로로이소퀴놀린(알파 아에사) 7-브로모퀴놀린(아니켄 엘엘씨).
- [0152] 하기 카복실산(하기 실시예에 기재된 화합물을 제조하기 위해 사용됨)은 종래 공개된 방법으로 제조된다: 3,7-다이메틸-1H-인다졸-5-카복실산(국제특허출원공개 제 2009144554 호), 7-메틸-1H-인다졸-5-카복실산(국제특허출원공개 제 2009144554 호), 7-메톡시-2-나프토산(국제특허출원공개 제 2003018586 호), 5-메톡시-2-나프토산(국제특허출원공개 제 2003072578 호), 4,8-다이메톡시퀴놀린-2-카복실산(국제특허출원공개 제 2007011809 호), 3-클로로-7-메틸-1H-인다졸-5-카복실산(국제특허출원공개 제 2009144554 호), 3-클로로-1H-인다졸-5-카복실산(국제특허출원공개 제 2009144554 호), 8-메톡시-2-나프토산(국제특허출원공개 제 2003072578 호), 3-클로로-1H-인

들-5-카복실산(국제특허출원공개 제 2008065508 호), 3-클로로-1H-인돌-6-카복실산(국제특허출원공개 제 2008065508 호), 7-메톡시-3-메틸-1H-인다졸-5-카복실산(국제특허출원공개 제 2009144554 호), 4,8-다이메톡시퀴놀린-2-카복실산(국제특허출원공개 제 2007011809 호).

실시예

하기 기재된 화합물 및 중간체는 쉘드로우 울트라(Chemdraw Ultra), 버전 11.0.1(캠브리지소프트 코퍼레이션(CambridgeSoft Corp.), 미국 매사추세츠주 캠브리지 소재)로 제공된 명명 규칙을 사용하여 명명된다. 쉘드로우 울트라, 버전 11.0.1로 제공된 명명 규칙은 당업자에 의해 널리 공지되어 있고 쉘드로우 울트라, 버전 11.0.1로 제공된 명명 규칙은 일반적으로 유기 화학의 명명법 및 CAS 색인 규칙의 IUPAC(국제 순수 응용 화학 연합: International Union for Pure and Applied Chemistry) 권고에 따른 것으로 여겨진다. 달리 언급하지 않으면, 모든 반응물은 상업적으로 취득된다. 하기 본원에 인용된 모든 참고 문헌은 참고로서 혼입된다.

문헌[Still et al., J. Org. Chem., 43, 2923 (1978)]에 기재된 방법에 따라 플래시 크로마토그래피를 수행하였다.

KP-SIL 실리카(40 내지 63 μm, 60 옹스트롬)(바이오타지 에이비(Biotage AB); 스웨덴 울살라 소재) 함유 바이오타지(등록상표) SNAP 컬럼을 사용하여 본원에 기재된 모든 바이오타지(등록상표) 정제를 수행하였다.

포장된 레디셉(RediSep: 등록상표) 실리카 컬럼을 이용하는 콤비플래시(Combiflash: 등록상표) 콤파니온 시스템(텔레딘 이스코(Teledyne Isco), 미국 네브래스카주 링컨 소재)을 사용하여 본원에 기재된 모든 콤비플래시(등록상표) 정제를 수행하였다.

질량 스펙트럼을 워터스 마이크로매스 플랫폼(Waters Micromass Platform) II 스펙트로미터(워터스 코퍼레이션(Waters Corp.); 미국 매사추세츠주 밀포드 소재) 상에 기록하였다. 달리 언급하지 않는 한, 질량 스펙트럼을 워터스 마이크로매스 플랫폼 II 스펙트로미터 상에 기록하였다.

양성자 NMR 화학 이동은 테트라메틸실란으로부터 다운필드로 ppm 단위로 주어지고 이를 바리안 유니티(Varian Unity) 300, 400 또는 500 MHz(메가헤르츠) 스펙트로미터(바리안 인코포레이티드(Varian Inc.), 미국 캘리포니아주 팔로 알토 소재)상에 기록하였다. NMR 화학 이동은 테트라메틸실란(양성자에 대해) 또는 플루오로트라이클로로메탄(불소에 대해)으로부터 다운필드로 ppm 단위로 주어진다.

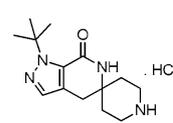
HPLC 체류 시간을 하기 방법을 사용하여 측정하였다: 방법 A: 컬럼: 워터스 아틀란티스(Waters Atlantis) dC18 4.6 x 50 mm, 5 μm; 이동상 A: 물(v/v) 중 0.05 % TFA; 이동상 B: 아세토니트릴(v/v) 중 0.05 % TFA; 구배: 4.0 분에서 95 % A/5 % B 선형 내지 5 % A/95 % B, 5 % A/95 % B에서 5.0 분 유지; 유량: 2.0 mL/분. 방법 B: 컬럼: 워터스 XBridge C18 4.6 x 50 mm, 5 μm; 이동상 A: 물(v/v) 중 0.03 % NH₄OH; 이동상 B: 아세토니트릴(v/v) 중 0.03 % NH₄OH; 구배: 4.0 분에서 95 % A/5 % B 선형 내지 5 % A/95 % B, 5 % A/95 % B에서 5.0 분 유지; 유량: 2.0 mL/분.

하기 제조에는 하기 실시예에 예시된 화합물의 합성에 사용되었다.

중간체 및 출발 물질의 제조

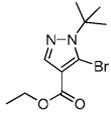
카복실산 중간체를 상업적으로 구입하거나, 하기한 바와 같이 제조하거나, 국제특허출원공개 제 2009/144554 호에 기재된 바와 같이 제조하거나, 당업자에게 널리 알려진 과정을 사용하여 제조하거나, 다른 카복실산 중간체에 대해 상기한 경로와 유사한 방식으로 제조하였다.

중간체 1: 1'-t-부틸-4',6'-다이하이드로스포로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(1'H)-온 하이드로클로라이드 염



[0165]

[0166] 단계 1: 에틸 5-브로모-1-t-부틸-1H-피라졸-4-카복실레이트



[0167]

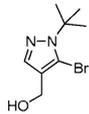
[0168] 아세트니트릴(20 mL) 중 에틸 5-아미노-1-t-부틸-1H-피라졸-4-카복실레이트(674 mg, 3.19 mmol, 문헌[Li et al. J. Heterocycl. Chem., 44, 749 (2007)])의 용액에 구리(II)브로마이드(720 mg, 3.19 mmol) 및 이소아밀니트라이드(0.56 mL, 4.15 mmol)를 첨가하였다. 금속의 현탁액을 45 °C에서 2 시간 동안 가열한 후 실온으로 냉각하고, 에틸 아세테이트(100 mL)로 희석하고 포화된 수성 중탄산 나트륨(50 mL), 물(50 mL) 및 염수(50 mL)로 세척하였다. 유기상을 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고 감압하에 농축하였다. 생성된 잔사를 플래시 크로마토그래피(5 내지 40 % 에틸 아세테이트/헵탄, 10 g 실리카 겔)로 정제하여 투명 오일로서 에틸 5-브로모-1-t-부틸-1H-피라졸-4-카복실레이트(685 mg)를 수득하였다.

[0169]

+APCI (M+H) 275.0; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 7.87 (s, 1 H), 4.32 (q, J = 7.0 Hz, 2 H), 1.77 (s, 9 H), 1.36 (t, J = 7.1 Hz, 3 H).

[0170]

단계 2: (5-브로모-1-t-부틸-1H-피라졸-4-일)메탄올



[0171]

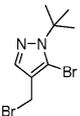
[0172] THF(20 mL) 중 에틸 5-브로모-1-t-부틸-1H-피라졸-4-카복실레이트(685 mg, 2.49 mmol)의 용액을 -78 °C로 냉각하고 다이이소부틸알루미늄 하이드라이드(7.47 mL, 7.47 mmol, 1 M THF)을 적가 처리하였다. 혼합물을 -78 °C에서 30 분 교반한 후 실온으로 18 시간 가온하였다. 혼합물을 에틸 아세테이트 (10 mL)로 급랭하고 15 분 동안 교반하였다. 이어서, 혼합물을 포화된 수성 로셸(Rochelle) 염(25 mL)으로 처리하고 1 시간 동안 실온에서 교반하였다. 혼합물을 에틸 아세테이트(100 mL)로 희석하고 물(100 mL)로 세척하였다. 유기층을 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고 농축하였다. 잔사를 플래시 크로마토그래피(10 내지 80 % 에틸 아세테이트/헵탄 구배, 25 g 실리카 겔)로 정제하여 투명 오일로서 (5-브로모-1-t-부틸-1H-피라졸-4-일)메탄올(460 mg)을 수득하였다.

[0173]

+APCI (M+H) 233.1, (M+2+H) 235.1; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 7.51 (s, 1 H), 4.53 (d, 2 H), 1.74 (s, 9 H), 1.55 (t, J = 5.8 Hz, 1 H).

[0174]

단계 3: 5-브로모-4-(브로모메틸)-1-t-부틸-1H-피라졸



[0175]

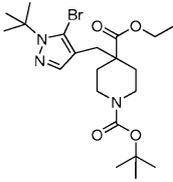
[0176] 다이클로로메탄(25 mL) 중 (5-브로모-1-t-부틸-1H-피라졸-4-일)메탄올(460 mg, 1.97 mmol)의 용액을 0 °C로 냉각한 후 인(III)브로마이드(0.37 mL, 3.46 mmol)로 5 분간에 걸쳐서 적가 처리하였다. 혼합물을 0 °C에서 30 분 교반한 후 실온에서 1 시간 교반하였다. 혼합물을 물(50 mL)로 천천히 급랭하고, 30 분 교반한 후, 에틸 아세테이트(2 x 50 mL)로 추출하였다. 유기상을 포화된 수성 중탄산 나트륨(50 mL)으로 세척하고, 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고 농축하여 투명 오일로서 5-브로모-4-(브로모메틸)-1-t-부틸-1H-피라졸(362 mg)을 수득하였다.

[0177]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 7.54 (s, 1 H), 4.39 (s, 2 H), 1.74 (s, 9 H).

[0178]

단계 4: 1-t-부틸 4-에틸 4-((5-브로모-1-t-부틸-1H-피라졸-4-일)메틸)피페리딘-1,4-다이카복실레이트



[0179]

[0180]

THF(15 mL) 중 1-t-부틸 4-에틸 피페리딘-1,4-다이카복실레이트(0.37 mL, 1.47 mmol)의 용액을 -78 °C로 냉각한 후 리튬 비스(트라이메틸실릴) 아마이드(1.48 mL, 1.48 mmol, 1 M 톨루엔)로 적가 처리하였다. 반응물을 -78 °C에서 15 분 교반하고, 0 °C로 30 분 동안 가온한 후 -78 °C로 다시 냉각하였다. THF(10 mL) 중 5-브로모-4-(브로모메틸)-1-t-부틸-1H-피라졸(335 mg, 1.13 mmol)의 용액을 첨가하고, 혼합물을 -78 °C에서 1 시간 교반한 후, 실온에서 18 시간 교반하였다. 반응물을 포화된 수성 염화 암모늄(20 mL)으로 급랭하고, 실온에서 30 분 교반하고, 물(50 mL)로 희석하고 에틸 아세테이트(2 x 50 mL)로 추출하였다. 유기물을 합하고, 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고 농축하였다. 생성된 잔사를 플래시 크로마토그래피(5 내지 40 % 에틸 아세테이트/헥산, 25 g 실리카 겔)로 정제하여 투명 오일로서 1-t-부틸 4-에틸 4-((5-브로모-1-t-부틸-1H-피라졸-4-일)메틸)피페리딘-1,4-다이카복실레이트(256 mg)를 수득하였다.

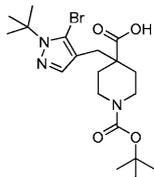
+ESI

(M+H) 474.2, (M+2+H) 476.2; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 7.20 (s, 1 H), 4.16 (q, J = 7.2 Hz, 2 H), 3.93 (br. s., 2 H), 2.84 (m, 2 H), 2.66 (s, 2 H), 2.10 (d, J = 12.5 Hz, 2 H), 1.72 (s, 9 H), 1.45 (m, 11 H), 1.25 (t, J = 7.1 Hz, 3 H).

[0181]

[0182]

단계 5: 4-((5-브로모-1-t-부틸-1H-피라졸-4-일)메틸)-1-(t-부톡시카보닐)피페리딘-4-카복실산



[0183]

[0184]

메탄올(15 mL) 중 1-t-부틸 4-에틸 4-((5-브로모-1-t-부틸-1H-피라졸-4-일)메틸)피페리딘-1,4-다이카복실레이트(256 mg, 0.54 mmol)의 용액에 수성 2.5 M NaOH(5 mL)를 첨가하고, 생성된 혼합물을 18 시간 동안 환류 가열하였다. 혼합물을 실온으로 냉각하고 메탄올을 감압하여 제거하였다. 생성된 슬러리를 물(25 mL) 중에 취하고, 수성 1 N HCl로 산성화한 후, 에틸 아세테이트(2 x 50 mL)로 추출하였다. 합한 유기물을 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고 농축하여 무색 고체로서 4-((5-브로모-1-t-부틸-1H-피라졸-4-일)메틸)-1-(t-부톡시카보닐)피페리딘-4-카복실산(241 mg)을 수득하였다.

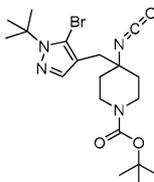
+APCI (M+H) 444.2,

(M+2+H) 446.2; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 7.35 (s, 1 H), 3.95 (br. s., 2 H), 2.92 (br. s., 2 H), 2.71 (s, 2 H), 2.08 (d, J = 12.9 Hz, 2 H), 1.73 (s, 9 H), 1.50 (m, 11 H).

[0185]

[0186]

단계 6: t-부틸 4-((5-브로모-1-t-부틸-1H-피라졸-4-일)메틸)-4-이소시아나토피페리딘-1-카복실레이트



[0187]

[0188]

톨루엔(10 mL) 중 4-((5-브로모-1-t-부틸-1H-피라졸-4-일)메틸)-1-(t-부톡시카보닐)피페리딘-4-카복실산(241 mg, 0.54 mmol)의 용액에 트라이에틸아민(91 μL, 0.65 mmol) 및 다이페닐포스포릴 아지드(0.14 mL, 0.65 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 120 °C에서 3 시간 동안 가열하고, 반응물을 냉각하고 휘발성 물질을 감압하여 제거하였다. 생성된 오일을 플래시 크로마토그래피(25 g 실리카, 7 내지 60 % 에틸 아세테이트/헥산 구배)로 정제하여 투명 오일로서 t-부틸 4-((5-브로모-1-t-부틸-1H-피라졸-4-일)메틸)-4-이소시아나토피페리딘-1-카복실

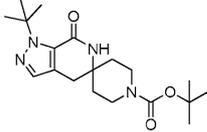
레이트(225 mg)를 수득하였다.

+APCI (M+H) 385.1;

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 7.40 (s, 1 H), 4.03 (br. s., 2 H), 2.97 (br. t, J = 12.3, 12.3 Hz, 2 H), 2.70 (s, 2 H), 1.74 (s, 9 H), 1.67 (m, 2 H), 1.62 (m, 2 H), 1.46 (s, 9 H).

[0189]

단계 7: t-부틸 1'-t-부틸-7'-옥소-1',4',6',7'-테트라하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-1-카복실레이트



[0191]

THF(10 mL) 중 t-부틸 4-((5-브로모-1-t-부틸-1H-피라졸-4-일)메틸)-4-이소시아나토피페리딘-1-카복실레이트(225 mg, 0.51 mmol)의 용액을 -78 °C로 냉각하고 t-부틸 리튬(0.6 mL, 펜탄 중 1.7 M)을 2 분간에 걸쳐서 적가하였다. 혼합물을 -78 °C에서 30 분 교반하고, 0 °C로 가온한 후, 포화된 수성 NH₄Cl(20 mL)로 급랭하였다.

혼합물을 실온에서 30 분 교반하고, 물(25 mL)로 희석한 후, 에틸 아세테이트(2 x 50 mL)로 추출하였다. 합한 유기물을 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고 농축하였다. 잔사를 플래시 크로마토그래피(12 내지 100 % 에틸 아세테이트/헥산, 10 g 실리카 겔)로 정제하여 무색 고체로서 t-부틸 1'-t-부틸-7'-옥소-1',4',6',7'-테트라하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-1-카복실레이트(137 mg)를 수득하였다.

+ESI

(M-tBu) 307.2; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 7.74 (s, 1 H), 7.30 (s, 1 H), 3.51 (m, 2 H), 3.20 (m, 2 H), 2.79 (s, 2 H), 1.64 (s, 9 H), 1.56 (t, J = 5.8 Hz, 4 H), 1.38 (s, 9 H).

[0193]

단계 8: 1'-t-부틸-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(1'H)-온 하이드로클로라이드 염

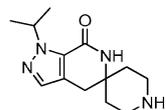
에틸 아세테이트(4 mL) 중 t-부틸 1'-t-부틸-7'-옥소-1',4',6',7'-테트라하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-1-카복실레이트(137 mg, 0.39 mmol)의 용액에 다이옥산(2 mL) 중 4 N HCl을 첨가하였다. 실온에서 1 시간 교반한 후, 휘발성 물질을 감압하에 제거하고 생성된 무색 고체를 헥산(10 mL)으로부터 마쇄하여 무색 고체로서 표제 화합물(112 mg)을 수득하였다.

[0195]

+APCI (M+H) 263.3; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 8.84 (m, 2 H), 8.00 (s, 1 H), 7.29 (s, 1 H), 3.13 (d, J = 6.1 Hz, 2 H), 3.03 (br. s., 2 H), 2.78 (s, 2 H), 1.76 (m, 4 H), 1.60 (s, 9 H).

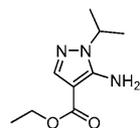
[0196]

중간체 2: 하기에 나타낸 1'-이소프로필-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(1'H)-온을 다음과 같이 제조하였다.



[0198]

단계 1: 5-아미노-1-이소프로필-1H-피라졸-4-카복실레이트



[0200]

90 % 에탄올/메탄올(1.5 L) 중 에틸 2-시아노-3-에톡시아크릴레이트(84.4 g, 0.50 mol), 이소프로필 하이드라진 하이드로클로라이드(55.2 g, 0.50 mol) 및 탄산 칼륨(68.8 g, 0.50 mol)의 혼합물을 16 시간 동안 환류 가열하였다. 이어서, 용매를 진공에서 제거하고 물 및 에틸 아세테이트를 첨가하였다. 혼합물을 분리하고 유기층을 황산 마그네슘 상에서 건조하고, 여과하고, 용매를 진공에서 제거하여 에틸 5-아미노-1-이소프로필-1H-피라졸-4-카복실레이트(92.4 g, 94 %)를 수득하였다.

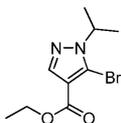
[0201]

+ESI

(M+H) 198.1; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 7.63 (s, 1 H), 4.97 (br.s., 2 H), 4.28 (q, 2 H), 4.18 (m, 1 H), 1.45 (d, 6 H), 1.31 (t, 3 H).

[0202]

[0203] 단계 2: 5-아미노-1-이소프로필-1H-피라졸-4-카복실레이트



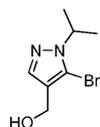
[0204]

[0205] 아세트니트릴(1 L) 중 에틸 5-아미노-1-이소프로필-1H-피라졸-4-카복실레이트(107.5 g, 0.55 mol)의 혼합물에 구리(II) 브로마이드(182.6 g, 0.82 mol)을 실온에서, 아르곤하에 첨가하였다. 혼합물을 50 °C로 가열하고 이소아밀 니트라이트(109.8 mL, 0.82 mol)를 적가하였다(발열이 관찰되고 온도는 65 °C로 증가함). 반응물을 50 °C에서 2 시간 동안 교반한 후, 혼합물을 실온으로 냉각하고 2 M HCl 위에 붓고, 15 분 동안 교반한 후 에틸 아세테이트로 추출하였다. 유기층을 합하고, 염수로 세척한 후 포화된 수성 중탄산 나트륨으로 세척하고, 황산 마그네슘 상에서 건조하고, 여과하고, 용매를 진공에서 제거하여 에틸 5-브로모-1-이소프로필-1H-피라졸-4-카복실레이트(163 g, 정량적)를 수득하고 이를 추가 정제 없이 다음 단계에서 사용하였다.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 7.97 (s, 1 H), 4.77 (m, 1 H), 4.28 (q, 2 H), 1.35 (t, 3 H), 0.90 (d, 6 H).

[0206]

[0207] 단계 3: (5-브로모-1-이소프로필-1H-피라졸-4-일)메탄올



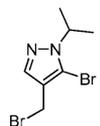
[0208]

[0209] 0 °C에서 아르곤하에 2-메틸 테트라하이드로푸란(400 mL) 중 에틸 5-브로모-1-이소프로필-1H-피라졸-4-카복실레이트(163 g, 0.50 mol)의 용액에 보란-DMS(140 mL, 1.50 mol)를 첨가하였다(50 mL을 첨가한 후 비등이 중단됨). 혼합물을 실온에서 30 분 동안 교반한 후 70 °C로 2 시간 동안 가열한 후, 17 시간 동안 환류하였다. 보란-DMS(40 mL)의 추가 부분을 첨가하고 혼합물을 추가 3 시간 동안 환류에서 교반하였다. 혼합물을 실온으로 냉각한 후 빙냉 메탄올(500 mL)을 교반하면서 30 분간 걸쳐서 점진적으로 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 30 분 동안 교반한 후 2 M 수성 수산화 나트륨(1.5 L)을 첨가하였다. 층을 분리하고 수층을 에틸 아세테이트(2 x 500 mL)로 추출하였다. 유기층을 합하고, 염수(500 mL)로 세척하고, 황산 마그네슘 상에서 건조하고, 여과하고 용매를 진공에서 제거하였다. 조질 생성물을 무수 플래시 크로마토그래피(헥산 중 0 내지 50 % 에틸 아세테이트)로 정제하여 (5-브로모-1-이소프로필-1H-피라졸-4-일)메탄올(70.8 g, 두 단계에 걸쳐서 65 %)을 수득하였다.

+ESI (M+H) 220.9; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 7.52 (s, 1 H), 4.67 (m, 1 H), 4.47 (s, 2 H), 2.59 (br. s., 1 H), 1.41 (s, 6 H).

[0210]

[0211] 단계 4: 5-브로모-4-(브로모메틸)-1-이소프로필-1H-피라졸



[0212]

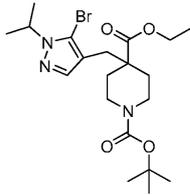
[0213] 다이클로로메탄(200 mL) 중 (5-브로모-1-이소프로필-1H-피라졸-4-일)메탄올(10.0 g, 45.7 mmol)의 교반된 용액에 PBr₃(6.5 mL, 68.5 mmol)을 0 °C에서 첨가하였다. 첨가가 완료된 후, 혼합물을 실온으로 가온시키고 3 시간 동안 교반하였다. 혼합물을 빙냉 물(300 mL)에 붓고, 진탕하고, 분리한 후 빙냉 물(2 x 100 mL)로 2회 세척한 후 염수(100 mL)로 세척하고, 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고 용매를 진공에서 제거하여 5-브로모-4-(브로모메틸)-1-이소프로필-1H-피라졸(12.2 g, 95 %)을 수득하였다.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, δ): 7.58 (s, 1 H), 4.64 (m, 1 H), 4.35 (s, 2 H), 1.43 (d, 6 H).

[0214]

[0215]

단계 5: 1-t-부틸 4-에틸 4-((5-브로모-1-이소프로필-1H-피라졸-4-일)메틸)피페리딘-1,4-다이카복실레이트



[0216]

[0217]

2-메틸 테트라하이드로푸란(120 mL) 중 1-t-부틸 4-에틸 피페리딘-1,4-다이카복실레이트(14.5 g, 56.3 mmol)의 교반된 용액에 테트라하이드로푸란(57 mL, 56.3 mmol) 중 1 M LiHMDS를 -78 °C에서 아르곤하에 적가하였다. 20 분 후, 2-메틸테트라하이드로푸란(10 mL) 중 5-브로모-4-(브로모메틸)-1-이소프로필-1H-피라졸(12.2 g, 43.3 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 실온으로 가온시키고 18 시간 동안 교반하였다. 혼합물을 물(200 mL)로 희석하고 혼합물을 분리하였다. 유기상을 10 % 시트르산 용액(2 x 100 mL)으로 세척한 후 염수(100 mL)로 세척하고, 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고 용매를 진공에서 제거하였다. 조질 생성물을 플래시 컬럼 크로마토그래피(헥산 중 10 내지 30 % 에틸 아세테이트)로 정제하여 1-t-부틸 4-에틸 4-((5-브로모-1-이소프로필-1H-피라졸-4-일)메틸)피페리딘-1,4-다이카복실레이트(9.3 g)를 수득하였다. 또한, 출발 에스터 및 목적 생성물의 7.1 g의 혼합된 분획을 컬럼으로부터 단리하였다. 이를 90 % 에탄올/메탄올 중 1 당량의 수산화 나트륨으로 2 시간 동안 실온에서 교반하였다. 용매를 진공에서 제거하고 에틸 아세테이트(100 mL)를 첨가하였다. 혼합물을 2 N 수산화 나트륨(2 x 50 mL)으로 세척한 후 염수(100 mL)로 세척하고, 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고 용매를 진공에서 제거하여 1-t-부틸 4-에틸 4-((5-브로모-1-이소프로필-1H-피라졸-4-일)메틸)피페리딘-1,4-다이카복실레이트(5.1 g)의 제 2 수확물을 수득하였다. 합한 수율은 14.4 g(72 %)이다.

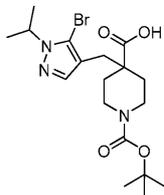
+ESI (M+H) 404.0; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 4.62 (m, 1 H), 4.12 (q, 2 H), 3.90 (br.

s., 2 H), 2.82 (m, 2 H), 2.63 (s, 2 H), 2.08 (d, 2 H), 1.66 (m, 2 H), 1.42 (s, 9 H), 1.21 (t, 3 H).

[0218]

[0219]

단계 6: 4-((5-브로모-1-이소프로필-1H-피라졸-4-일)메틸)-1-(t-부톡시카보닐)피페리딘-4-카복실산



[0220]

[0221]

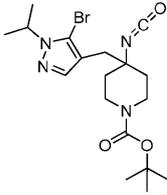
메탄올(50 mL) 중 1-t-부틸 4-에틸 4-((5-브로모-1-이소프로필-1H-피라졸-4-일)메틸)피페리딘-1,4-다이카복실레이트(14.5 g, 31.6 mmol)의 용액에 수산화 리튬(1.52 g, 36.2 mmol)을 첨가하고 혼합물을 80 °C에서 18 시간 동안 교반하였다. 수산화 리튬(2.55 g, 63.3 mmol)의 추가 부분을 첨가하고 혼합물을 3 시간 동안 격렬하게 환류 가열하고, 실온으로 냉각하고, 용매를 진공에서 제거하였다. 잔사를 에틸 아세테이트로 세척하고, 여과하고, 여액을 모았다. 고체를 2 N 수성 수산화 나트륨(40 mL) 중에 용해한 후 10 % 시트르산 용액을 사용하여 pH 5로 산성화하였다. 수용액을 에틸 아세테이트(3 x 40 mL)로 추출하고, 유기물을 합하고, 황산 마그네슘 상에서 건조하고, 여과한 후 원래의 여액과 합하였다. 용매를 감압하에 여액으로부터 제거하고 생성된 잔사를 플래시 컬럼 크로마토그래피(에틸 아세테이트/헥산)로 정제하여 무색 고체로서 4-((5-브로모-1-이소프로필-1H-피라졸-4-일)메틸)-1-(t-부톡시카보닐)피페리딘-4-카복실산(10.1 g, 74 %)을 수득하였다.

+ESI (M+H) 429.9; ¹H

NMR (300 MHz, CDCl₃, δ): 7.41 (s, 1 H), 4.64 (m, 1 H), 3.94 (m, 2 H), 2.95 (m, 2 H), 2.68 (m, 2 H), 2.09 (m, 2 H), 1.47 (m, 17 H).

[0222]

[0223] 단계 7: t-부틸 4-((5-브로모-1-이소프로필-1H-피라졸-4-일)메틸)-4-이소시아나토펜페리딘-1-카복실레이트



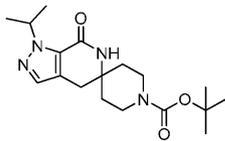
[0224]

[0225] 톨루엔(15 mL) 중 4-((5-브로모-1-이소프로필-1H-피라졸-4-일)메틸)-1-(t-부톡시카보닐)피페리딘-4-카복실산 (2.54 g, 5.9 mmol), 다이페닐포스포릴 아지드(1.79 g, 6.5 mmol) 및 트라이에틸아민(0.91 mL, 6.5 mmol)의 혼합물을 3 시간 동안 환류 가열하였다. 이어서, 혼합물을 실온으로 냉각하고 용매를 진공에서 제거하였다. 조질 생성물을 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 t-부틸 4-((5-브로모-1-이소프로필-1H-피라졸-4-일)메틸)-4-이소시아나토펜페리딘-1-카복실레이트(2.8 g, 100 %)를 수득하였다.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, δ): 7.47 (s, 1 H), 4.68 (m, 1 H), 3.99 (m, 2 H), 2.95 (m, 2 H), 2.67 (s, 2 H), 1.62 (m, 4 H), 1.45 (m, 15 H).

[0226]

[0227] 단계 8: t-부틸 1'-이소프로필-7'-옥소-1',4',6',7'-테트라하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-1-카복실레이트



[0228]

[0229] -78 °C에서 아르곤하에 2-메틸 테트라하이드로푸란(10 mL) 중 t-부틸 4-((5-브로모-1-이소프로필-1H-피라졸-4-일)메틸)-4-이소시아나토펜페리딘-1-카복실레이트(1.4 g, 3.3 mmol)의 혼합물에 t-부틸 리튬(헥산 중 1.7 M, 4.3 mL, 7.2 mmol)을 첨가하였다. 첨가가 완료된 후, 혼합물을 실온으로 가온시키고 18 시간 동안 교반하였다. 혼합물을 물(10 mL)로 급랭한 후 에틸 아세테이트(20 mL)로 희석하였다. 층을 분리하고 유기층을 염수(10 mL)로 세척하고, 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고 용매를 진공에서 제거하였다. 조질 생성물을 플래시 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 t-부틸 1'-이소프로필-7'-옥소-1',4',6',7'-테트라하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-1-카복실레이트(0.77 g, 67 %)를 수득하였다.

+ESI (M+H) 374.1; ¹H

NMR (300 MHz, CDCl₃, δ): 7.34 (s, 1 H), 6.35 (s, 1 H), 5.45 (m, 1 H), 3.57 (m, 2 H), 3.42 (m, 2 H), 2.79 (s, 2 H), 1.70 (m, 4 H), 1.45 (m, 15 H).

[0230]

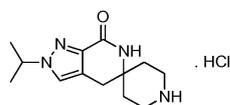
[0231] 단계 9: 1'-이소프로필-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(1'H)-온

[0232] 에틸 아세테이트(4 mL) 중 t-부틸 1'-이소프로필-7'-옥소-1',4',6',7'-테트라하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-1-카복실레이트(100 mg, 0.29 mmol)의 용액에 다이옥산(2 mL) 중 4 N HCl을 첨가하였다. 실온에서 30 분 교반한 후, 메탄올(1 mL)을 첨가하고 생성된 용액을 5 시간 동안 실온에서 교반하였다. 휘발성 물질을 감압하에 제거하고 생성된 무색 고체를 1:1의 아세토니트릴/다이클로로메탄으로 마쇄하여 무색 고체로서 표제 화합물(71 mg)을 수득하였다.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 8.72 (br. s., 2 H), 8.05 (s, 1 H), 7.37 (s, 1 H), 5.36 (m, 1 H), 3.15 (m, 2 H), 3.05 (m, 2 H), 2.78 (s, 2 H), 1.78 (m, 4 H), 1.33 (d, J = 6.6 Hz, 6 H).

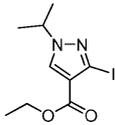
[0233]

[0234] **중간체 3**: 하기 나타낸 2'-이소프로필-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(2'H)-온 하이드로클로라이드 염을 다음과 같이 제조하였다:



[0235]

[0236] 단계 1: 에틸 3-요오도-1-이소프로필-1H-피라졸-4-카복실레이트



[0237]

[0238] N,N-다이메틸포름아미드(20 mL) 중 에틸 3-요오도피라졸-4-카복실레이트(1.58 g, 5.94 mmol, 문헌[Truong, et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 19, 4920 (2009)])의 용액에 탄산 세슘(3.87 g, 11.9 mmol) 및 2-요오도프로판(0.89 mL, 8.90 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 60 °C에서 2 시간 교반한 후 상온으로 냉각하였다. 반응 혼합물을 물(150 mL)로 희석하고 다이에틸 에터(2 x 100 mL)로 추출하였다. 합한 유기물을 염수(50 mL)로 세척하고, 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고 농축하였다. 생성된 오일을 플래시 크로마토그래피(7 내지 60 % 에틸 아세테이트/헵탄 구배, 50 g 실리카)로 정제하여 방치시 결정화되는 투명 오일로서 에틸 5-요오도-1-이소프로필-1H-피라졸-4-카복실레이트(340 mg) 및 투명 오일로서 에틸 3-요오도-1-이소프로필-1H-피라졸-4-카복실레이트(740 mg)를 수득하였다.

[0239] 에틸 5-요오도-1-이소프로필-1H-피라졸-4-카복실레이트:

+APCI (M+H) 309.0; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 8.05

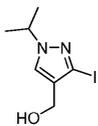
[0240] (s, 1 H) 4.82 (spt, J = 6.6 Hz, 1 H) 4.33 (q, J = 7.2 Hz, 2 H) 1.50 (d, J = 6.6 Hz, 6 H) 1.37 (t, J = 7.1 Hz, 3 H).

[0241] 에틸 3-요오도-1-이소프로필-1H-피라졸-4-카복실레이트:

+APCI (M+H) 309.0; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 7.84

[0242] (s, 1 H) 4.52 (spt, J = 6.7 Hz, 1 H) 4.32 (q, J = 7.1 Hz, 2 H) 1.52 (d, J = 6.6 Hz, 6 H) 1.37 (t, J = 7.1 Hz, 3 H).

[0243] 단계 2: (3-요오도-1-이소프로필-1H-피라졸-4-일)메탄올



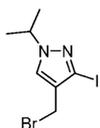
[0244]

[0245] 테트라하이드로푸란(20 mL) 중 에틸 3-요오도-1-이소프로필-1H-피라졸-4-카복실레이트(740 mg, 2.40 mmol)의 용액을 -78 °C로 냉각하고 다이이소부틸알루미늄 하이드라이드(톨루엔 중 1.5 M, 0.8 mL, 7.21 mmol)로 적가 처리하였다. 혼합물을 -78 °C에서 1 시간 동안 교반한 후 실온으로 2 시간 동안 가온하였다. 혼합물을 에틸 아세테이트(10 mL)로 급랭하고, 15 분 교반한 후, 포화된 수성 로셀염(25 mL)으로 처리하였다. 실온에서 추가 1 시간 교반한 후, 혼합물을 에틸 아세테이트(50 mL)로 희석하고 물(100 mL)로 세척하였다. 수층을 추가 에틸 아세테이트(50 mL)로 추출하였다. 합한 유기층을 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고 농축하였다. 이어서, 잔사를 플래시 크로마토그래피(12 내지 100 % 에틸 아세테이트/헵탄, 25 g 실리카 겔)로 정제하여 투명 오일로서 (3-요오도-1-이소프로필-1H-피라졸-4-일)메탄올(630 mg)을 수득하였다.

+APCI (M+H) 266.8; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 7.37 (s, 1 H), 4.49 (m, 3 H), 1.67 (t, J = 5.9 Hz, 1 H), 1.50 (s, 6 H).

[0246]

[0247] 단계 3: 4-(브로모메틸)-3-요오도-1-이소프로필-1H-피라졸



[0248]

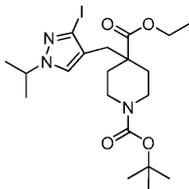
[0249] 다이클로로메탄(20 mL) 중 (3-요오도-1-이소프로필-1H-피라졸-4-일)메탄올(0.63 g, 2.37 mmol)의 용액을 0 °C로 냉각하였다. 인(III)브로마이드(0.67 mL, 7.10 mmol)를 상기 용액에 첨가하고 혼합물을 0 °C에서 30 분, 실온에서 1 시간 교반한 후, 물(50 mL)로 급랭하고 실온에서 15 분 교반하였다. 혼합물을 포화된 수성 중탄산 나트륨으로 처리하고 에틸 아세테이트(2 x 50 mL)로 추출하였다. 합한 유기층을 염수(50 mL)로 세척하고, 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고 농축하였다. 잔사를 플래시 크로마토그래피(10 내지 80 % 에틸 아세테이트/헵탄, 25 g 실리카 겔)로 정제하여 무색 고체로서 4-(브로모메틸)-3-요오도-1-이소프로필-1H-피라졸(400 mg)을

수득하였다.

+APCI (M+H) 329.0; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 7.42 (s, 1 H), 4.47 (spt, J = 6.7 Hz, 1 H), 4.35 (s, 2 H), 1.50 (d, J = 6.6 Hz, 6 H).

[0250]

단계 4: 1-t-부틸 4-에틸 4-((3-요오도-1-이소프로필-1H-피라졸-4-일)메틸)피페리딘-1,4-다이카복실레이트



[0252]

[0253]

질소하에 100 mL 건조 환저 플라스크에서 테트라하이드로푸란(15 mL) 중 1-t-부틸 4-에틸 피페리딘-1,4-다이카복실레이트(0.54 mL, 2.11 mmol)의 용액을 -78 °C로 냉각한 후 리튬 비스(트라이메틸실릴)아마이드(1 M 톨루엔, 2.13 mL, 2.13 mmol)로 처리하였다. 45 분 동안 -78 °C에서 교반한 후, 4-(브로모메틸)-3-요오도-1-이소프로필-1H-피라졸(535 mg, 1.63 mmol)을 현탁액으로서 테트라하이드로푸란(10 mL) 중에 첨가하였다. 혼합물을 -78 °C에서 1 시간 교반한 후 실온에서 18 시간 교반하였다. 반응 혼합물을 포화된 수성 염화 암모늄(20 mL)으로 급랭하고, 실온에서 30 분 교반하고, 물(50 mL)로 희석한 후 에틸 아세테이트(2 x 50 mL)로 추출하였다. 합한 유기물을 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고 농축하였다. 잔사를 플래시 크로마토그래피(10 내지 80 % 에틸 아세테이트/헥산, 25 g 실리카 겔)로 정제하여 투명 오일로서 1-t-부틸 4-에틸 4-((3-요오도-1-이소프로필-1H-피라졸-4-일)메틸)피페리딘-1,4-다이카복실레이트(645 mg)를 수득하였다.

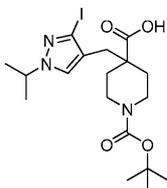
+ESI (M-tBu)

450.1; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 7.02 (s, 3 H), 4.44 (spt, J = 6.6 Hz, 1 H), 4.17 (m, 2 H), 3.92 (m, 2 H), 2.86 (m, 2 H), 2.62 (s, 2 H), 2.08 (m, 2 H), 1.46 (m, 17 H), 1.25 (t, J = 7.1 Hz, 3 H).

[0254]

[0255]

단계 5: 1-(t-부톡시카보닐)-4-((3-요오도-1-이소프로필-1H-피라졸-4-일)메틸)피페리딘-4-카복실산



[0256]

[0257]

메탄올(20 mL) 중 1-t-부틸 4-에틸 4-((3-요오도-1-이소프로필-1H-피라졸-4-일)메틸)피페리딘-1,4-다이카복실레이트(455 mg, 0.9 mmol)의 용액에 2 N NaOH(5 mL)를 첨가하였다. 18 시간 동안 실온에서 교반한 후, 메탄올을 감압하에 제거하고 생성된 슬러리를 물(20 mL) 중에 취하고, 2 N HCl로 산성화하고 에틸 아세테이트(2 x 30 mL)로 추출하였다. 합한 유기 추출물을 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고 농축하여 무색 고체로서 1-(t-부톡시카보닐)-4-((3-요오도-1-이소프로필-1H-피라졸-4-일)메틸)피페리딘-4-카복실산(430 mg)을 수득하였다.

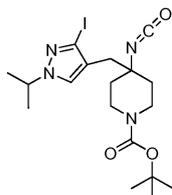
-APCI

(M-H) 476.1; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 7.11 (s, 1 H), 4.45 (dqin, J = 13.4, 6.7 Hz, 1 H), 3.95 (br. s., 2 H), 2.91 (m, 2 H), 2.69 (s, 2 H), 2.08 (m, 2 H), 1.47 (m, 8 H).

[0258]

[0259]

단계 6: t-부틸 4-((3-요오도-1-이소프로필-1H-피라졸-4-일)메틸)-4-이소시아나토피페리딘-1-카복실레이트



[0260]

[0261]

톨루엔(10 mL) 중 1-(t-부톡시카보닐)-4-((3-요오도-1-이소프로필-1H-피라졸-4-일)메틸)피페리딘-4-카복실산

(430 mg, 0.90 mmol)의 용액에 트라이에틸아민(0.15 mL, 1.08 mmol) 및 다이페닐포스포릴 아지드(0.24 mL, 1.08 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 120 °C에서 3 시간 동안 가열하고, 휘발성 물질을 감압하에 제거하고 생성된 오일을 플래시 크로마토그래피(7 내지 60 % 에틸 아세테이트/헥산, 25 g 실리카 겔)로 정제하여 투명 오일로서 t-부틸 4-((3-요오도-1-이소프로필-1H-피라졸-4-일)메틸)-4-이소시아나토펜페리딘-1-카복실레이트(280 mg)를 수득하였다.

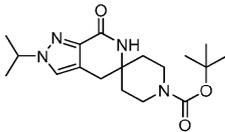
FT-IR (cm⁻¹): 2253; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃,

δ): 7.27 (s, 1 H), 4.50 (m, 1 H), 4.03 (br. s., 2 H), 2.97 (br. s., 2 H), 2.65 (s, 2 H), 1.65 (m, 4 H), 1.50 (s, 6 H), 1.47 (s, 9 H).

[0262]

[0263]

단계 7: t-부틸 2'-이소프로필-7'-옥소-2',4',6',7'-테트라하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-1-카복실레이트



[0264]

[0265]

테트라하이드로푸란(10 mL) 중 t-부틸 4-((3-요오도-1-이소프로필-1H-피라졸-4-일)메틸)-4-이소시아나토펜페리딘-1-카복실레이트(280 mg, 0.59 mmol)의 -78 °C 용액에 t-부틸 리튬(0.7 mL, 펜탄 중 1.7 M)을 적가하였다. 30 분 동안 -78 °C에서 교반한 후, 혼합물을 0 °C로 가온하고, 포화된 수성 염화 암모늄(20 mL)으로 급랭하고, 실온에서 추가 30 분 교반하였다. 반응 혼합물을 물(25 mL)로 희석하고 에틸 아세테이트(2 x 50 mL)로 추출하였다. 합한 유기물을 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고 농축하였다. 이어서, 잔사를 플래시 크로마토그래피(12 내지 100 % 에틸 아세테이트/헥산, 10 g 실리카 겔)로 정제하여 무색 고체로서 t-부틸 2'-이소프로필-7'-옥소-2',4',6',7'-테트라하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-1-카복실레이트(130 mg)를 수득하였다.

+ESI (M+H) 349.1; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, δ): 7.28 (s, 1 H), 5.78 (s, 1 H), 4.57 (spt, J = 6.6 Hz, 1 H), 3.59 (m, 2 H), 3.37 (m, 2 H), 2.82 (s, 2 H), 1.74 (m, 4 H), 1.55 (d, J = 6.6 Hz, 6 H), 1.47 (s, 9 H).

[0266]

[0267]

단계 8: 2'-이소프로필-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(2'H)-온 하이드로클로라이드

[0268]

에틸 아세테이트(5 mL) 중 t-부틸 2'-이소프로필-7'-옥소-2',4',6',7'-테트라하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-1-카복실레이트(130 mg, 0.37 mmol)의 용액에 1,4-다이옥산 중 4 M 염산(2 mL)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 3 시간 교반하고, 휘발성 물질을 감압하에 제거하고 생성된 잔사를 헥산(10 mL)으로 마쇄하였다. 고체를 감압하에 건조하여 회백색 고체로서 2'-이소프로필-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(2'H)-온 하이드로클로라이드(105 mg)를 수득하였다.

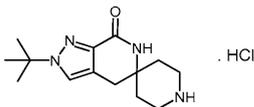
+ESI (M+H) 249.1; ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆,

δ): 7.91 (s, 1 H) 7.69 (s, 1 H) 4.48 - 4.62 (m, 1 H) 3.02 - 3.28 (m, 4 H) 2.78 (s, 2 H) 1.74 - 1.89 (m, 4 H) 1.41 (d, J = 6.59 Hz, 6 H).

[0269]

[0270]

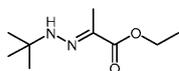
중간체 4: 하기 나타낸 2'-t-부틸-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(2'H)-온 하이드로클로라이드 염을 다음과 같이 제조하였다:



[0271]

[0272]

단계 1: (E)-에틸 2-(2-t-부틸하이드라조노)프로파노에이트



[0273]

[0274]

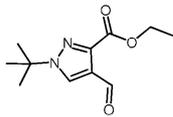
에탄올(150 mL) 중 에틸 피루베이트(20.22 g, 174.1 mmol)의 용액에 t-부틸 하이드라진 하이드로클로라이드(21.7 g, 174 mmol) 및 N,N-다이이소프로필에틸 아민(33.4 mL, 192 mmol)을 첨가하였다. 18 시간 동안 환류에

서 교반한 후, 반응물을 냉각하고 휘발성 물질을 감압하에 제거하였다. 생성된 금색 오일을 에틸 아세테이트 (300 mL) 중에 취하고 물(200 mL) 및 포화된 수성 중탄산 나트륨(300 mL)으로 세척하였다. 유기층을 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고 농축하여 맑은 연황색 오일로서 (E)-에틸 2-(2-t-부틸하이드라조노)프로파노에이트(23.1 g)를 수득하였다.

+APCI (M+H) 187.3; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 5.51 (br. s., 1 H), 4.25 (q, J = 7.2 Hz, 2 H), 1.89 (s, 3 H), 1.32 (t, J = 7.1 Hz, 3 H), 1.28 (s, 9 H).

[0275]

[0276] 단계 2: 에틸 1-t-부틸-4-포밀-1H-피라졸-3-카복실레이트



[0277]

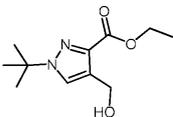
[0278]

톨루엔(300 mL) 중 (E)-에틸 2-(2-t-부틸하이드라조노)프로파노에이트(22.9 g, 123 mmol)의 연주황색 용액에 1 회 분량으로 (클로로메틸렌)다이메틸염화 암모늄(빌스마이어(Vilsmeier) 염, 34.0 g, 252 mmol)을 첨가하였다. 현탁액을 실온에서 3 시간 교반하여 친천히 탁한 주황색 오일 상에서 톨루엔의 2상 혼합물이 되도록 하였다. 반응 혼합물을 0 °C로 냉각하여 포화된 수성 중탄산 나트륨으로 친천히 중화하였다. 층을 분리하고 수층을 추가 에틸 아세테이트(2 x 200 mL)로 추출하였다. 유기층을 합하고, 염수(200 mL)로 세척하고, 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고 농축하여 방치시 고체화되는 황갈색-주황색 오일로서 에틸 1-t-부틸-4-포밀-1H-피라졸-3-카복실레이트(18.6 g)를 수득하였다.

+APCI (M+H) 225.1; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 10.37 (s, 1 H), 8.14 (s, 1 H), 4.48 (q, J = 7.0 Hz, 2 H), 1.65 (s, 9 H), 1.44 (t, 3 H).

[0279]

[0280] 단계 3: 에틸 1-t-부틸-4-(하이드록시메틸)-1H-피라졸-3-카복실레이트



[0281]

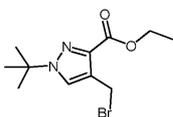
[0282]

에탄올(50 mL) 중 에틸 1-t-부틸-4-포밀-1H-피라졸-3-카복실레이트(2.87 g, 12.8 mmol)의 용액에 1회 분량으로 수산화붕소 나트륨(0.97 g, 25.6 mmol)을 첨가하였다. 30 분 동안 실온에서 교반한 후, 혼합물을 1 N 수성 염산(100 mL)으로 급랭하고, 15 분 동안 교반한 후, 포화된 수성 중탄산 나트륨으로 중화하였다. 혼합물을 에틸 아세테이트(2 x 150 mL)로 추출한 후, 합한 유기물을 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고 농축하여 투명 오일로서 에틸 1-t-부틸-4-(하이드록시메틸)-1H-피라졸-3-카복실레이트(2.57 g)를 수득하였다.

+APCI (M+Na) 249.2; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 7.49 (s, 1 H), 4.65 (d, J = 6.8 Hz, 2 H), 4.43 (q, J = 7.2 Hz, 2 H), 3.62 (t, J = 6.9 Hz, 1 H), 1.59 (s, 9 H), 1.41 (t, J = 7.1 Hz, 3 H).

[0283]

[0284] 단계 4: 에틸 4-(브로모메틸)-1-t-부틸-1H-피라졸-3-카복실레이트



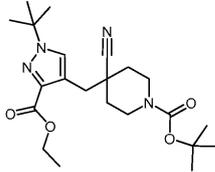
[0285]

[0286]

다이클로로메탄(120 mL) 중 에틸 1-t-부틸-4-(하이드록시메틸)-1H-피라졸-3-카복실레이트(3.9 g, 17.24 mmol)의 0 °C 용액에 인 트리브로마이드(4.91 mL, 51.7 mmol)를 첨가하고, 생성된 혼합물을 0 °C에서 30 분 교반한 후 실온에서 1 시간 교반하였다. 혼합물을 물(50 mL)로 급랭하고, 포화된 수성 중탄산 나트륨으로 중화하고, 30 분 교반한 후, 다이클로로메탄(2 x 150 mL)으로 추출하였다. 합한 유기 추출물을 염수(100 mL)로 세척하고, 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고 농축하였다. 생성된 잔사를 플래시 크로마토그래피(7 내지 60 % 에틸 아세테이트/헵탄, 50 g 실리카 겔)로 정제하여 투명 오일로서 에틸 4-(브로모메틸)-1-t-부틸-1H-피라졸-3-카복실레이트(4.12 g)를 수득하였다.

+APCI (M+H) 289.1; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 7.61 (s, 1 H), 4.70 (s, 2 H), 4.41 (q, J = 7.2 Hz, 2 H), 1.60 (s, 9 H), 1.40 (t, 3 H).

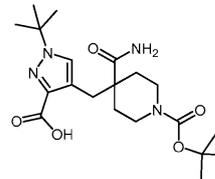
단계 5: t-부틸 4-((1-t-부틸-3-(에톡시카보닐)-1H-피라졸-4-일)메틸)-4-시아노피페리딘-1-카복실레이트



테트라하이드로푸란(20 mL) 중 t-부틸 4-시아노피페리딘-1-카복실레이트(1.0 g, 4.76 mmol)의 -78 °C 용액에 리튬 비스(트라이메틸실릴)아마이드(4.76 mL, 테트라하이드로푸란 중 1 M)를 첨가하였다. 혼합물을 -78 °C에서 30 분 교반하고, 0 °C로 30 분 동안 가온한 후 -78 °C로 냉각하였다. 이어서, 테트라하이드로푸란 중 에틸 4-(브로모메틸)-1-t-부틸-1H-피라졸-3-카복실레이트(1.38 g, 4.76 mmol)의 용액을 적가하였다. -78 °C에서 30 분 교반한 후, 혼합물을 실온으로 가온시키고 추가 18 시간 교반하였다. 반응 혼합물을 포화된 수성 염화 암모늄(50 mL)으로 급랭하고, 30 분 동안 교반하고, 물(50 mL)로 희석한 후 에틸 아세테이트(2 x 50 mL)로 추출하였다. 유기물을 합하고, 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고 농축하였다. 잔사를 플래시 크로마토그래피(7 내지 60 % 에틸 아세테이트/헵탄, 100 g 실리카 겔)로 정제하여 투명 오일로서 t-부틸 4-((1-t-부틸-3-(에톡시카보닐)-1H-피라졸-4-일)메틸)-4-시아노피페리딘-1-카복실레이트(455 mg)를 수득하였다.

+APCI (M+H) 419.3; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, δ): 7.68 (s, 1 H), 4.40 (q, J = 7.2 Hz, 2 H), 4.13 (br. s., 2 H), 3.17 (s, 2 H), 2.97 (br. s., 2 H), 1.81 (d, J = 13.2 Hz, 2 H), 1.63 (s, 9 H), 1.56 (m, 2 H), 1.46 (s, 9 H), 1.41 (t, J = 7.2 Hz, 3 H).

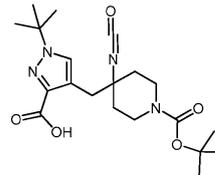
단계 6: 4-((1-(t-부톡시카보닐)-4-카바모일피페리딘-4-일)메틸)-1-t-부틸-1H-피라졸-3-카복실산



메탄올(11 mL) 중 t-부틸 4-((1-t-부틸-3-(에톡시카보닐)-1H-피라졸-4-일)메틸)-4-시아노피페리딘-1-카복실레이트(455 mg, 1.09 mmol)의 0 °C 용액에 1 M 수성 수산화 나트륨(10.9 mL) 중 우레아-과산화수소(1.05 g, 10.9 mmol)의 용액을 적가하였다. 18 시간 동안 실온에서 교반한 후, 휘발성 물질을 감압하에 제거하고 생성된 슬러리 물(50 mL) 중에 취하고, 2 N 수성 염산으로 산성화하고 에틸 아세테이트(2 x 50 mL)로 추출하였다. 합한 유기 추출물을 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고 농축하여 무색 고체 4-((1-(t-부톡시카보닐)-4-카바모일피페리딘-4-일)메틸)-1-t-부틸-1H-피라졸-3-카복실산(418 mg)을 수득하였다.

-APCI (M-H) 407.3; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 12.33 (br. s., 1 H), 7.47 (s, 1 H), 7.11 (br. s., 1 H), 6.99 (s, 1 H), 3.59 (d, J = 13.3 Hz, 2 H), 2.89 (s, 2 H), 2.77 (m, 2 H), 1.84 (m, 2 H), 1.44 (s, 9 H), 1.31 (s, 9 H), 1.16 (m, 2 H).

단계 7: 4-((1-(t-부톡시카보닐)-4-이소시아나토피페리딘-4-일)메틸)-1-t-부틸-1H-피라졸-3-카복실산



아세트니트릴(20 mL) 중 4-((1-(t-부톡시카보닐)-4-카바모일피페리딘-4-일)메틸)-1-t-부틸-1H-피라졸-3-카복실산(388 mg, 0.95 mmol)의 현탁액에 중탄산 나트륨(319 mg, 3.80 mmol) 및 비스(트라이플루오로아세톡시) 요오도 이소벤젠(632 mg, 1.42 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 90 분 교반하고, 물(50 mL)로 희석하고, 1 N

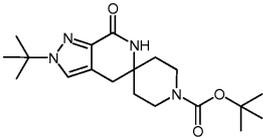
수성 염산으로 산성화한 후, 에틸 아세테이트(2 x 50 mL)로 추출하였다. 합한 유기 추출물을 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고 농축하였다. 생성된 잔사를 플래시 크로마토그래피(1 내지 10 % 메탄올/다이클로로메탄, 25 g 실리카 겔)로 정제하여 무색 고체로서 4-((1-(t-부톡시카보닐)-4-이소시아나토피페리딘-4-일)메틸)-1-t-부틸-1H-피라졸-3-카복실산(172 mg)을 수득하였다.

-APCI (M-H) 405.4; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 12.52 (br. s., 1 H), 7.82 (s, 1 H), 3.83 (br. s., 2 H), 3.03 (s, 2 H), 2.82 (br. s., 2 H), 1.49 (m, 13 H), 1.36 (m, 9 H).

[0299]

[0300]

단계 8: t-부틸 2'-t-부틸-7'-옥소-2',4',6',7'-테트라하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-1-카복실레이트



[0301]

[0302]

테트라하이드로푸란(5 mL) 중 4-((1-(t-부톡시카보닐)-4-이소시아나토피페리딘-4-일)메틸)-1-t-부틸-1H-피라졸-3-카복실산(180 mg, 0.44 mmol)의 용액을 2 N 수성 수산화 나트륨(0.664 mL, 1.33 mmol)으로 처리하였다. 혼합물을 실온에서 3 시간 교반하고, 테트라하이드로푸란 및 물을 회전 증발기로 제거하고 생성된 무색 고체를 아세트니트릴(10 mL) 중에 슬러리화한 후 농축하여 건조하였다. 마쇄를 아세트니트릴(10 mL)로부터 2 회 이상 반복하였다. 생성된 무색 고체를 다이클로로메탄(10 mL) 중에 취하고 (3-(다이메틸아미노)프로필)에틸 카보다이이미드하이드로클로라이드(170 mg, 0.89 mmol)로 처리하였다. 혼합물을 실온에서 18 시간 교반한 후 다이클로로메탄(50 mL)으로 희석하고 물(30 mL)로 세척하였다. 유기상을 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고 농축하였다. 이어서, 잔사를 플래시 크로마토그래피(30 내지 100 % 에틸 아세테이트/헥산, 10 g 실리카 겔)로 정제하여 무색 고체로서 t-부틸 2'-t-부틸-7'-옥소-2',4',6',7'-테트라하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-1-카복실레이트(70 mg)를 수득하였다.

+ESI (M+H) 363.3; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 7.68 (s, 1 H), 7.57 (s, 1 H), 3.47 (m, 2 H), 3.20 (m, 2 H), 2.73 (s, 2 H), 1.53 (t, J = 5.7 Hz, 4 H), 1.49 (s, 9 H), 1.36 (s, 9 H).

[0303]

[0304]

단계 9: 표제 화합물인 2'-t-부틸-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(2'H)-온 하이드로클로라이드 염

[0305]

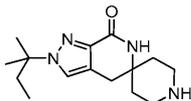
에틸 아세테이트(5 mL) 중 t-부틸 2'-t-부틸-7'-옥소-2',4',6',7'-테트라하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-1-카복실레이트(70 mg, 0.19 mmol)의 용액에 1,4-다이옥산(2 mL) 중 4 M 염산을 첨가하고 상기 혼합물을 실온에서 교반하였다. 휘발성 물질을 감압하에 제거하고 생성된 무색 고체를 헥산(10 mL)으로부터 마쇄하고 감압하에 건조하여 회백색 고체로서 2'-t-부틸-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(2'H)-온 하이드로클로라이드 염(56 mg)을 수득하였다.

+ESI (M+H) 263.1; ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆, δ): 8.72 (m, 2 H), 7.92 (s, 1 H), 7.75 (s, 1 H), 3.20 (br. s, 2 H), 3.09 (br. s., 2 H), 2.78 (s, 2 H), 1.79 (m, 4 H), 1.48 (s, 9 H).

[0306]

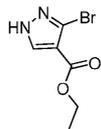
[0307]

중간체 5: 하기 나타낸 2'-t-펜틸-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(2'H)-온 을 다음과 같이 제조하였다.



[0308]

[0309] 단계 1: 에틸 3-브로모-1H-피라졸-4-카복실레이트



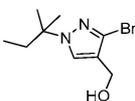
[0310]

[0311] 아세트니트릴(65 mL) 중 에틸 3-아미노-1H-피라졸-4-카복실레이트(5.0 g, 32 mmol) 및 구리(II) 브로마이드 (7.2 g, 32 mmol)의 0 °C 용액에 이소아밀 니트라이트(12 mL, 86 mmol)를 천천히 첨가하였다. 반응물을 50 °C 로 가열하고 밤새 교반하였다. 반응물을 실온으로 냉각하고 1 N 수성 염산(150 mL)으로 급랭하였다. 혼합물을 에틸 아세테이트(3 x 100 mL)로 추출하였다. 합한 유기물을 물로 세척하고, 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고, 농축하여 갈색 오일로서 표제 화합물을 수득하고, 이를 진공하에 밤새 부분적으로 고체화하였다(7.1g, 100 %).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 9.78 (br. s., 1 H), 8.10 (br. s., 1 H), 4.33 (q, J = 7.22 Hz, 2 H), 1.36 (m, 3 H).

[0312]

[0313] 단계 2: (3-브로모-1-t-펜틸-1H-피라졸-4-일)메탄올



[0314]

[0315] 농축된 황산(0.45 mL, 4.8 mmol)을 에틸 3-브로모-1H-피라졸-4-카복실레이트(1.0 g, 4.6 mmol) 및 t-아밀 알코올(3.0 mL, 27 mmol)의 혼합물에 첨가하였다. 반응물을 100 °C로 2.5 시간 동안 가열하였다. 이어서, 반응물을 실온으로 냉각하고 밤새 교반하면서 방치하였다. 반응물을 에틸 아세테이트로 희석하고 물로 세척하였다. 유기층을 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고, 농축하여 조질 갈색 오일로서 에틸 3-브로모-1-t-펜틸-1H-피라졸-4-카복실레이트(1.3 g)를 수득하였다.

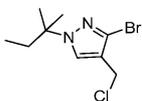
[0316]

이 조질 생성물(1.3 g)을 테트라하이드로푸란(24 mL) 중에 용해하고 -78 °C로 냉각하였다. 다이이소부틸알루미늄 하이드라이드(톨루엔 중 1.5 M, 9.0 mL, 160 mmol)의 용액을 천천히 첨가하고, 반응물을 -78 °C에서 1 시간 동안 교반하였다. 이어서, 반응물을 실온으로 가온시키고 또 다른 2 시간 동안 교반하였다. 반응물을 에틸 아세테이트(20 mL) 및 포화된 수성 로셀염(20 mL)으로 희석하였다. 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 층을 분리하고 수층을 에틸 아세테이트로 추출하였다. 합한 유기물을 염수로 세척하고, 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고, 농축하였다. 플래시 컬럼 크로마토그래피(0 내지 100 % 에틸 아세테이트/헥산)로 정제하여 연황색 오일로서 표제 화합물(685 mg, 62 %)을 수득하였다.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 7.45 (s, 1 H), 4.51 (s, 2 H), 1.86 (q, J = 7.41 Hz, 2 H), 1.66 (s, 1 H), 1.51 (s, 6 H), 0.69 (m, 3 H).

[0317]

[0318] 단계 3: 3-브로모-4-(클로로메틸)-1-t-펜틸-1H-피라졸



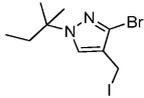
[0319]

[0320] 다이클로로메탄(10 mL) 중 (3-브로모-1-t-펜틸-1H-피라졸-4-일)메탄올(675 mg, 2.73 mmol)의 용액을 0 °C로 냉각하였다. 트라이에틸아민(0.53 mL, 3.8 mmol) 및 메탄설포닐 클로라이드(0.28 mL, 3.6 mmol)를 첨가하였다. 반응물을 0 °C에서 15 분 동안 교반한 후, 실온으로 가온하고 1.5 시간 동안 교반하였다. 반응물을 에틸 아세테이트로 희석하고, 물 및 염수로 세척하고, 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고, 농축하여 투명 오일로서 표제 화합물(725 mg, 100 %)을 수득하였다.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 7.48 (s, 1 H), 4.47 (s, 2 H), 1.86 (q, J = 7.48 Hz, 2 H), 1.52 (s, 6 H), 0.69 (m, 3 H).

[0321]

[0322] 단계 4: 3-브로모-4-(요오도메틸)-1-t-펜틸-1H-피라졸



[0323]

[0324] 아세톤(25 mL) 중 3-브로모-4-(클로로메틸)-1-t-펜틸-1H-피라졸(725 mg, 2.73 mmol)의 용액에 나트륨 요오다이드(4.09 g, 27.3 mmol)를 첨가하였다. 반응물을 2 시간 동안 환류 가열한 후, 실온으로 냉각하고 밤새 교반하였다. 용매를 진공에서 제거하고 잔사를 에틸 아세테이트와 물 사이에 배분하였다. 유기층을 포화된 수성 나트륨 티오설피이트 및 염수로 세척하였다. 유기물을 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고, 농축하여 갈색 오일로서 표제 화합물(824 mg, 85 %)을 수득하였다.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 7.47 (s, 1 H), 4.26 (s, 2 H), 1.83 (q,

J = 7.41 Hz, 2 H), 1.50 (s, 6 H), 0.67 (t, J = 7.51 Hz, 3 H).

[0325]

[0326] 단계 5: 2'-t-펜틸-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(2'H)-온

[0327] 3-브로모-4-(요오도메틸)-1-t-펜틸-1H-피라졸을 사용하여 단계 4 내지 8 중 중간체 3에 대하여 기재된 바와 유사한 방법으로 표제 화합물을 제조하였다.

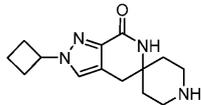
+ESI (M+H) 277.3; ¹H NMR (400 MHz,

CD₃OD, δ): 7.67 (s, 1 H), 3.22 - 3.37 (m, 4 H), 2.93 (s, 2 H), 1.92 (q, J = 7.61 Hz, 2 H), 1.88 - 2.05 (m, 4 H),

1.57 (s, 6 H), 0.67 (t, J = 7.41 Hz, 3 H).

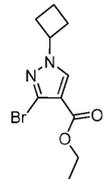
[0328]

[0329] **중간체 6:** 하기 나타낸 2'-사이클로부틸-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(2'H)-온을 다음과 같이 제조하였다.



[0330]

[0331] 단계 1: 에틸 3-브로모-1-사이클로부틸-1H-피라졸-4-카복실레이트



[0332]

[0333] N,N-다이메틸포름아미드(10 mL) 중 에틸 3-브로모-1H-피라졸-4-카복실레이트(1.00 g, 4.56 mmol), 사이클로부틸 브로마이드(0.65 mL, 6.9 mmol) 및 탄산 세슘(2.97 g, 9.13 mmol)의 혼합물을 60 °C로 가열하고 밤새 교반하였다. 반응물을 실온으로 냉각하고 1:1의 헵탄/에틸 아세테이트와 물 사이에 배분하였다. 수성을 1:1의 헵탄/에틸 아세테이트로 다시 추출하였다. 합한 유기물을 염수로 세척하고, 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고, 농축하였다. 플래시 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 무색 오일로서 2개의 위치이성질체 생성물을 수득하였다.

[0334] 에틸 5-브로모-1-사이클로부틸-1H-피라졸-4-카복실레이트(230 mg, 18 %):

+ESI (M+H+1) 275.1; ¹H NMR (400

MHz, CDCl₃, δ): 7.98 (s, 1 H), 4.98 (m, 1 H), 4.30 (q, J = 7.02 Hz, 2 H), 2.61 - 2.74 (m, 2 H), 2.43 (m, 2 H),

1.84 - 1.95 (m, 2 H), 1.34 (m, 3 H).

[0335]

[0336] 에틸 3-브로모-1-사이클로부틸-1H-피라졸-4-카복실레이트(570 mg, 46 %):

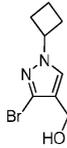
+ESI (M+H+1) 275.1; ¹H NMR (400

MHz, CDCl₃, δ): 7.87 (s, 1 H), 4.69 (m, 1 H), 4.29 (q, J = 7.22 Hz, 2 H), 2.41 - 2.61 (m, 4 H), 1.78 - 1.98 (m, 2

H), 1.34 (m, 3 H).

[0337]

[0338] 단계 2: (3-브로모-1-사이클로부틸-1H-피라졸-4-일)메탄올



[0339]

[0340] 테트라하이드로푸란(10 mL) 중 에틸 3-브로모-1-사이클로부틸-1H-피라졸-4-카복실레이트(565 mg, 2.07 mmol)의 용액을 -78 °C로 냉각하였다. 다이이소부틸알루미늄 하이드라이드(4.13 mL, 6.02 mmol, 톨루엔 중 1.5 M)를 천천히 첨가하고 반응물을 -78 °C에서 1 시간 동안 교반하였다. 이어서, 반응물을 실온으로 가온시키고 추가 2 시간 동안 교반하였다. 반응물을 에틸 아세테이트(20 mL) 및 포화된 수성 로셀염(20 mL)으로 희석하였다. 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 혼합물을 에틸 아세테이트로 추가로 희석하고 물로 세척하였다. 수층을 에틸 아세테이트로 추출하고 합한 유기물을 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고, 농축하여 무색 오일로서 표제 화합물(478 mg, 100 %)을 수득하였다.

+APCI (M+H+1) 233.1; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 7.40 (s, 1 H), 4.62 - 4.71 (m, 1 H), 4.51 (s, 2 H), 2.39 - 2.59 (m, 4 H), 1.74 - 1.92 (m, 3 H).

[0341]

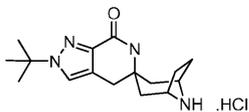
[0342] 단계 3: 2'-사이클로부틸-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(2'H)-온

[0343] (3-브로모-1-사이클로부틸-1H-피라졸-4-일)메탄올을 사용하여 단계 3 내지 5 중 중간체 5에 대해 기재된 바와 유사한 방법으로 표제 화합물을 제조하였다.

+ESI (M+H) 261.3; ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD, δ): 7.62 (s, 1 H), 4.84 - 4.92 (m, 1 H), 3.21 - 3.36 (m, 4 H), 2.93 (s, 2 H), 2.50 - 2.63 (m, 2 H), 2.40 - 2.50 (m, 2 H), 1.82 - 2.05 (m, 6 H).

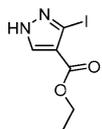
[0344]

[0345] **중간체 7:** 하기 나타낸 2'-t-부틸-4',6'-다이하이드로-8-아자스피로[바이사이클로[3.2.1]옥탄-3,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(2'H)-온 하이드로클로라이드를 다음과 같이 제조하였다:



[0346]

[0347] 단계 1: 에틸 3-요오도-1H-피라졸-4-카복실레이트



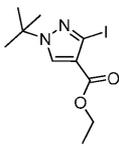
[0348]

[0349] 에틸 3-아미노-1H-피라졸-4-카복실레이트(860.0 mg, 5.54 mmol)를 아세트산(5 mL) 및 물(5 mL) 중에 용해하였다. 칼륨 요오다이드(921 mg, 5.54 mmol)를 첨가하고 혼합물을 모든 고체가 용해될 때까지 교반하였다. 이어서, 물(2 mL) 중 나트륨 니트라이드(386 mg, 5.54 mmol)의 용액을 적가하였다. 침전물 형성으로 인해 교반이 방해되었을 경우 반응물을 실온에서 2 분 동안 교반하였다. 추가 물(5 mL)을 첨가하고 반응물을 밤새 교반하였다. 아세트산을 감압하에 제거하였다. 갈색 잔사를 포화된 수성 중탄산 나트륨 중에 취하고 에틸 아세테이트(2 x 50 mL)로 추출하였다. 합한 유기물을 포화된 수성 나트륨 티오설피이트(50 mL)로 세척하고, 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고, 농축하였다. 플래시 컬럼 크로마토그래피(10 내지 80 % 에틸 아세테이트/헥산)로 정제하여 백색 고체로서 표제 화합물(863 mg, 59 %)을 수득하였다.

+APCI (M+H) 267.2; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 12.63 (br. s., 1 H), 8.13 (s, 1 H), 4.34 (q, J = 7.0 Hz, 2 H), 1.38 (t, J = 7.2 Hz, 3 H).

[0350]

[0351] 단계 2: 에틸 1-t-부틸-3-요오도-1H-피라졸-4-카복실레이트



[0352]

[0353] t-부탄올(5 mL) 중 에틸 3-요오도-1H-피라졸-4-카복실레이트(1.10 g, 3.91 mmol)의 용액에 황산(0.40 mL, 4.18 mmol, 18 M)을 첨가하였다. 반응물을 100 °C로 가열하고 3 시간 동안 교반하였다. 반응물을 실온으로 냉각하고 에틸 아세테이트(100 mL) 및 물(25 mL)로 희석하였다. 포화된 수성 중탄산 나트륨으로 pH를 8로 조정하였다. 층을 분리하고 유기물을 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고, 농축하였다. 플래시 컬럼 크로마토그래피(7 내지 60 % 에틸 아세테이트/헥산)로 정제하여 2 위치 이성질체 생성물을 수득하였다.

[0354] 에틸 1-t-부틸-5-요오도-1H-피라졸-4-카복실레이트:

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 7.91 (s, 1 H), 4.32 (q, J = 7.2 Hz, 2 H), 1.83 (s, 9 H), 1.37 (t, J = 7.1 Hz, 3 H).

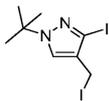
[0355]

[0356] 투명 오일로서 에틸 1-t-부틸-3-요오도-1H-피라졸-4-카복실레이트(976 mg, 73 %):

+APCI (M+H) 323.3; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 7.90 (s, 1 H), 4.31 (q, J = 7.0 Hz, 2 H), 1.59 (s, 9 H), 1.36 (t, J = 7.1 Hz, 3 H).

[0357]

[0358] 단계 3: 1-t-부틸-3-요오도-4-(요오도메틸)-1H-피라졸



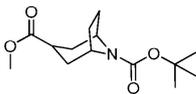
[0359]

[0360] 에틸 1-t-부틸-3-요오도-1H-피라졸-4-카복실레이트를 사용하여 단계 2 내지 4 중 중간체 5에 대해 기재된 바와 유사한 방법으로 표제 화합물을 제조하였다.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 7.49 (s, 1 H), 4.25 (s, 2 H), 1.56 (s, 9 H).

[0361]

[0362] 단계 4: (1R,5S)-8-t-부틸 3-메틸 8-아자바이사이클로[3.2.1]옥탄-3,8-다이카복실레이트



[0363]

[0364] N,N-다이메틸포름아미드(5 mL) 중 (1R,5S)-8-(t-부톡시카보닐)-8-아자바이사이클로[3.2.1]옥탄-3-카복실산(500 mg, 1.96 mmol)의 용액에 탄산 칼륨(541 mg, 3.92 mmol) 및 메틸 요오다이드(0.18 mL, 2.94 mmol)를 첨가하였다. 반응물을 실온에서 18 시간 동안 교반하였다. 반응물을 에틸 아세테이트(50 mL) 및 헥산(50 mL)으로 희석한 후, 물(100 mL) 및 염수(50 mL)로 세척하였다. 유기물을 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고, 농축하였다. 플래시 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 투명 오일로서 표제 화합물(486 mg, 92 %)을 수득하였다.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 4.17 - 4.29 (m, 2 H), 3.65 (s, 3 H), 2.75 - 2.86 (m, 1 H), 1.93 - 2.01 (m, 2 H), 1.79 - 1.92 (m, 2 H), 1.67 - 1.76 (m, 2 H), 1.58 - 1.66 (m, 2 H), 1.45 (s, 9 H).

[0365]

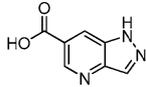
[0366] 단계 5: 2'-t-부틸-4',6'-다이하이드로-8-아자스피로[바이사이클로[3.2.1]옥탄-3,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(2'H)-온 하이드로클로라이드

[0367] (1R,5S)-8-t-부틸 3-메틸 8-아자바이사이클로[3.2.1]옥탄-3,8-다이카복실레이트 및 1-t-부틸-3-요오도-4-(요오도메틸)-1H-피라졸을 사용하여 단계 4 내지 8 중 중간체 3에 대해 기재된 바와 유사한 방법으로 표제 화합물을 제조하였다.

+ESI (M+H) 289.2; ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD, δ): 7.69 (s, 1 H), 4.03 - 4.10 (m, 2 H), 2.74 (s, 2 H), 2.39 - 2.46 (m, 2 H), 2.10 - 2.25 (m, 6 H), 1.59 (s, 9 H).

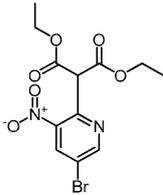
[0368]

[0369] **중간체 8:** 하기 나타낸 1H-피라졸로[4,3-b]피리딘-6-카복실산을 다음과 같이 제조하였다:



[0370]

[0371] 단계 1: 다이에틸 2-(5-브로모-3-니트로피리딘-2-일)말로네이트



[0372]

[0373] N,N-다이메틸포름아미드(75 mL) 중 수소화 나트륨(5.08 g, 127 mmol)의 현탁액에 다이에틸 말로네이트(19.26 mL, 127 mmol)를 0 °C에서 첨가하였다. 이어서, 용액을 상온에서 30 분 동안 교반하고 N,N-다이메틸포름아미드(75 mL) 중 5-브로모-2-클로로-3-니트로피리딘(30 g, 127 mmol)의 용액을 적가하였다. 이어서, 짙은 갈색 혼합물을 100 °C에서 2 시간 동안 교반한 후 상온으로 냉각하고 염화 암모늄(500 mL)의 포화된 용액으로 0 °C에서 급랭하였다. 혼합물을 에틸 아세테이트(3 x 500 mL)로 추출하고 합한 유기물을 황산 마그네슘 상에서 건조하고 여과하였다. 용매를 진공에서 제거하여 짙은 갈색 오일을 수득하고 이를 플래시 컬럼 크로마토그래피(10 % 에틸 아세테이트/헥산)로 정제하여 갈색 고체(31.8 g, 69 %)로서 다이에틸 2-(5-브로모-3-니트로피리딘-2-일)말로네이트를 수득하였다.

[0372]

[0373]

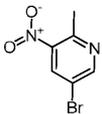
¹HNMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 8.86 (s, 1 H), 8.61

[0374]

(s, 1 H), 5.44 (s, 1 H), 4.29 (q, 4 H), 1.27 (t, 6 H).

[0375]

단계 2: 5-브로모-2-메틸-3-니트로피리딘



[0376]

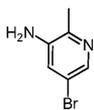
[0377] 수성 염산(6 M, 1.4 L) 중 다이에틸 2-(5-브로모-3-니트로피리딘-2-일)말로네이트(31.8 g, 88 mmol)의 혼합물을 18 시간 동안 환류에서 교반하였다. 반응 혼합물을 상온으로 냉각하고 수성 중탄산 나트륨(4 L)의 포화된 수용액을 0 °C에서 매우 천천히 첨가하였다. 이어서, 혼합물을 다이클로로메탄(7 L)으로 추출하고, 황산 마그네슘 상에서 건조하고 용매를 진공에서 제거하여 방치시 고체화되는 주황색 오일(13.8 g, 72 %)로서 5-브로모-2-메틸-3-니트로피리딘을 수득하였다.

[0378]

¹HNMR (300 MHz, CDCl₃, δ): 8.78 (s, 1 H), 8.43 (s, 1 H), 2.79 (s, 3 H).

[0379]

단계 3: 5-브로모-2-메틸피리딘-3-아민



[0380]

[0381] 40 °C에서 공업용 변성 알코올(330 mL) 중 5-브로모-2-메틸-3-니트로피리딘(13.8 g, 63.9 mmol)의 용액에 철분말(20 g)을 (응집을 방지하기 위해 나누어)첨가한 후 농축된 수성 염산(5 mL)을 첨가하였다. 짙은 갈색 혼합물을 2 시간 동안 환류에서 격렬하게 교반한 후 냉각하고, 셀라이트(등록상표)(공업용 변성 알코올(1 L)로 세척됨)를 통해 여과하였다. 이어서, 용매를 진공에서 제거하고 잔사를 에틸 아세테이트(200 mL) 중에 취하고 중탄산 나트륨(200 mL)의 포화된 수용액으로 세척하고, 황산 마그네슘 상에서 건조하고 용매를 진공에서 제거하여

주황색 고체(10.7 g, 90 %)로서 5-브로모-2-메틸피리딘-3-아민을 수득하였다.

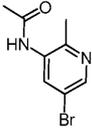
[0382]

¹HNMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 7.91 (s, 1 H), 7.00 (s, 1 H), 3.75 (br.s., 2 H), 2.25 (s, 3 H).

[0383]

단계 4: N-(5-브로모-2-메틸피리딘-3-일)아세트아마이드

[0384]



[0385]

0 °C에서 다이클로로메탄(575 mL) 중 5-브로모-2-메틸피리딘-3-아민(10.7 g, 57.5 mmol)의 용액에 무수 아세트산(12 mL, 126.5 mmol)을 첨가한 후 트라이에틸아민(22 mL, 158 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 상온으로 가온시키고 추가 당량의 무수 아세트산(6 mL, 63 mmol)이 첨가되는 지점에서 18 시간 동안 교반하였다. 혼합물을 상온에서 추가 72 시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 중탄산 나트륨(500 mL)의 포화된 수용액으로 급랭하고 유기상을 포화된 수성 나트륨 클로라이드(500 mL)로 세척하고, 황산 마그네슘 상에서 건조하고 진공에서 농축하여 갈색 고체를 수득하였다. 이 고체를 헥산 중 30 % 에틸 아세테이트로 마쇄하여 회백색 고체(8.28 g, 63 %)로서 N-(5-브로모-2-메틸피리딘-3-일)아세트아마이드를 수득하였다.

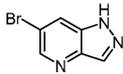
[0386]

¹HNMR (400 MHz, CD₃OD, δ): 8.31 (s, 1 H), 8.18 (s, 1 H), 2.43 (s, 3 H), 2.18 (s, 3 H).

[0387]

단계 5: 6-브로모-1H-피라졸로[4,3-b]피리딘

[0388]



[0389]

상온에서 클로로포름(550 mL) 중 N-(5-브로모-2-메틸피리딘-3-일)아세트아마이드(8.28 g, 36 mmol)의 용액에 칼륨 아세테이트(4.32 g, 43.6 mmol), 아세트산(2.5 mL, 43.6 mmol)을 첨가한 후 무수 아세트산(6.86 mL, 72.6 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 상온에서 15 분 동안 교반한 후 40 °C로 가열하였다. 이어서, 이소아밀니트라이드를 적가하였다. 이어서, 반응물을 60 °C에서 48 시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 0 °C에서 중탄산 나트륨(500 mL)의 포화된 용액 내에 천천히 부었다. 유기상을 남기고 수상을 다이클로로메탄(500 mL)으로 추출하였다. 이어서, 합한 유기물을 갈색 오일로 농축하고 이를 메탄올(500 mL) 중에 용해하였다. 수성 수산화 나트륨(2 M, 500 mL)을 0 °C에서 첨가하고 상기 혼합물을 상온에서 1 시간 동안 교반한 후 메탄올을 진공에서 제거하였다. 이어서, 수성 혼합물을 에틸 아세테이트(3 x 500 mL)로 추출하였다. 합한 유기물을 황산 마그네슘 상에서 건조하고, 여과하고, 용매를 진공에서 제거하여 연갈색 고체(5.5 g, 77 %)로서 6-브로모-1H-피라졸로[4,3-b]피리딘을 수득하였다.

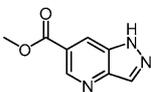
[0390]

¹HNMR (400 MHz, CD₃OD, δ): 8.55 (s, 1 H), 8.24 (s, 1 H), 8.21 (s, 1 H).

[0391]

단계 6: 메틸 1H-피라졸로[4,3-b]피리딘-6-카복실레이트

[0392]



[0393]

메탄올(125 mL) 및 아세트니트릴(75 mL) 중 6-브로모-1H-피라졸로[4,3-b]피리딘(5.5 g, 27.9 mmol)의 용액에 트라이에틸아민(22 mL, 156 mmol), 2,2'-비스(다이페닐포스피노)-1,1'-바이나프틸(1.98 g, 3.07 mmol) 및 팔라듐 다이클로라이드(1.23 g, 6.98 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 20 bar의 일산화탄소하에 방치하고, 100 °C로 가열하고, 격렬하게 18 시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 상온으로 냉각하고 셀라이트(등록상표)를 통해 여과한 후 용매를 진공에서 제거하여 갈색 오일을 수득하였다. 이어서, 이 조질 오일을 플래시 컬럼 크로마토그래피(50 % 에틸 아세테이트/헥산)로 정제하여 연황색 고체(4.52 g, 92 %)로서 메틸 1H-피라졸로[4,3-b]피리딘-6-카복실레이트를 수득하였다.

[0394]

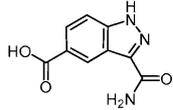
¹HNMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 10.56 (s, 1 H), 9.23 (s, 1 H), 8.35 (s, 1 H), 8.40 (s, 1 H), 4.01 (s, 3 H).

[0395] 단계 7: 1H-피라졸로[4,3-b]피리딘-6-카복실산

[0396] 0 °C에서 메탄올(250 mL) 및 물(190 mL) 중 메틸 1H-피라졸로[4,3-b]피리딘-6-카복실레이트(3.52 g, 20 mmol)의 용액에 수성 수산화 나트륨(2M, 64 mL, 128 mmol)을 적가하였다. 이어서, 현탁액을 상온으로 가온시키고 18 시간 동안 교반하였다. 이어서, 메탄올을 진공에서 제거하고, 수성 혼합물을 에틸 아세테이트(250 mL)로 추출하였다. 수층을 2 N 수성 염산(70 mL)으로 산성화(pH 5 내지 6)하였다. 이어서, 침전된 크림색 고체를 여과 제거하고 건조기에서 건조하여 표제 화합물(0.675 g, 21 %)을 수득하였다.

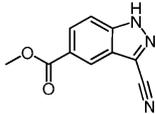
[0397] ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 8.97 (s, 1 H), 8.45 (s, 1 H), 8.39 (s, 1 H).

[0398] **중간체 9:** 하기 나타낸 3-카바모일-1H-인다졸-5-카복실산을 다음과 같이 제조하였다:



[0399]

[0400] 단계 1: 메틸 3-시아노-1H-인다졸-5-카복실레이트



[0401]

[0402] 메틸 3-요오도-1H-인다졸-5-카복실레이트(30.7 g, 102 mmol), 아연 시아나이드(20.3 g, 173 mmol), 아연 분말(4.05 g, 61.9 mmol), [1,1'-비스(다이페닐포스피노)페로센]-다이클로로팔라듐(II), 다이클로로메탄(12 g, 15 mmol)을 갖는 착체 및 구리(I) 요오다이드(19.7 g, 103 mmol)를 1 L 환저 플라스크에서 혼합하였다. N,N-다이메틸아세트아마이드(500 mL)를 첨가하고 반응 혼합물을 질소로 10 분 동안 퍼징하였다. 반응물을 120 °C로 1 시간 동안 가열하였다. 반응물을 실온으로 냉각하고 에틸 아세테이트(1 L)로 희석하고, 20 분 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 에틸 아세테이트(500 mL)로 행구면서 셀라이트의 플러그를 통해 여과하였다. 여액을 포화된 염화 암모늄 및 농축된 수산화 암모늄(2 L)의 용액(pH가 8이 될 때까지 수산화 암모늄을 염화 암모늄의 포화된 수용액에 첨가하여 제조됨)에 첨가하고 2상 용액을 격렬하게 1 시간 동안 교반하였다. 생성된 에멀전을 셀라이트의 작은 패드를 통해 여과하였다. 층을 분리하고 수층을 에틸 아세테이트(1100 mL)로 추가로 2회 추출하였는데, 각각의 추출시 셀라이트를 통해 생성된 에멀전으로 여과하였다. 합한 유기층을 물(2 x 900 mL) 및 염수(900 mL)로 세척하고, 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고 농축하였다. 조질 생성물에 메탄올(100 mL)을 첨가하고 상기 혼합물을 20 분 동안 교반하였다. 생성된 침전물을 여과 제거하고 메탄올(10 mL)로 세척하였다. 여액을 농축하여 고체로서 표제 화합물(13.2 g, 65 %)을 수득하였다.

[0403] -ESI (M-H) 200.0; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 8.43 - 8.45 (m, 1 H), 8.05 (dd, J = 8.8, 1.6 Hz, 1 H), 7.85 (dd, J = 8.9, 0.9 Hz, 1 H), 3.88 (s, 3 H).

[0404]

[0405] 단계 2: 3-카바모일-1H-인다졸-5-카복실산

[0405] 메탄올(1 L) 중 메틸 3-시아노-1H-인다졸-5-카복실레이트(50.0 g, 249 mmol)의 현탁액을 10 °C로 냉각하였다. 수산화 나트륨(1 L의 2.5 N) 및 물(100 mL) 중 우레아 과산화수소(241 g, 2.49 mol)의 용액을 25 °C 미만으로 내부 온도를 유지하면서 적가하였다. 첨가가 완료되었을 때, 빙육을 제거하고 반응물을 실온에서 16 시간 동안 교반하였다. 소량의 미반응된 출발 물질을 HPLC로 관찰하였다. 반응물을 15 °C로 냉각하고 추가 우레아 과산화수소(50 g)를 나누어 첨가하였다. 활발한 기포를 관찰하였다. 반응물을 또 다른 2 시간 동안 교반하였다. 조질 반응물을 여과하여 존재하는 고체를 제거하고 여액을 농축하여 메탄올을 제거하였다. 잔여 용액을 빙육에서 냉각하고 6 N 염산(420 mL)을 적가하여 pH를 4로 조정하였다. 용액을 20 분 동안 교반하고 생성된 황갈색 고체를 여과수집하고 건조하여 57.2 g의 조질 생성물을 수득하였다. 상기 조질 생성물에 아세트니트릴(700 mL) 및 다이클로로메탄(700 mL)을 첨가하고 상기 혼합물을 실온에서 1 시간 동안 교반하였다. 고체를 여과수집하고 1:1의 아세트니트릴:다이클로로메탄(400 mL)으로 세척하고 건조하여 황갈색 고체로서 표제 화합물(39.5 g, 77 %)을 수득하였다.

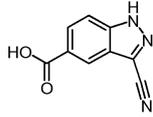
+ESI (M+H)

206.1; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 13.81 (s, 1 H), 12.85 (br. s., 1 H), 8.82 (d, J = 0.8 Hz, 1 H), 7.93 (dd, J = 8.8, 1.6 Hz, 1 H), 7.79 - 7.85 (m, 1 H), 7.64 (d, J = 8.6 Hz, 1 H), 7.44 (s, 1 H).

[0406]

[0407]

중간체 10: 하기 나타낸 3-시아노-1H-인다졸-5-카복실산을 다음과 같이 제조하였다:



[0408]

[0409]

메틸 3-시아노-1H-인다졸-5-카복실레이트(500 mg, 2.5 mmol)를 메탄올(12 mL) 중에 용해하고 2 N 수성 수산화리튬(3.7 mL, 7 mmol)을 첨가하였다. 반응물을 실온에서 밤새 교반하였다. 반응 혼합물을 농축하여 메탄올을 제거하고 1 N 수성 염산으로 잔사를 pH 4로 산성화하였다. 생성된 황색 침전물을 여과로 수집하고, 물로 세척하고, 진공 오븐에서 건조하여 표제 화합물(445 mg, 96 %)을 수득하였다.

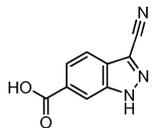
-ESI

(M-H) 186.4; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 13.17 (br. s., 1 H), 8.42 (s, 1 H), 8.05 (dd, J = 8.8, 1.6 Hz, 1 H), 7.83 (d, 1 H).

[0410]

[0411]

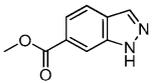
중간체 11: 하기 나타낸 3-시아노-1H-인다졸-6-카복실산을 다음과 같이 제조하였다:



[0412]

[0413]

단계 1: 메틸 1H-인다졸-6-카복실레이트



[0414]

[0415]

N,N-다이메틸포름아미드(46 mL) 중 1H-인다졸-6-카복실산(3.00 g, 18.5 mmol)의 용액에 탄산 나트륨(2.06 g, 19.4 mmol)을 첨가한 후, 요오도메탄(2.75 g, 1.21 mL, 19.4 mmol)을 적가하였다. 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 혼합물을 질반의 포화된 중탄산 나트륨 내에 붓고 에틸 아세테이트로 3 회 추출하였다. 합한 유기층을 염수로 세척하고, 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고 진공에서 농축하여 갈색 오일을 수득하였다. 이 잔사를 플래시 컬럼 크로마토그래피(12 내지 100 % 에틸 아세테이트/헵탄)로 정제하여 황색 고체(2.95 g, 90 %)로서 메틸 1H-인다졸-6-카복실레이트를 수득하였다.

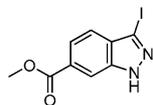
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 10.40 (br.

s., 1 H), 8.26 (s, 1 H), 8.13 (s, 1 H), 7.84 (d, J = 8.4 Hz, 1 H), 7.79 (d, J = 8.4 Hz, 1 H), 3.96 (s, 3 H).

[0416]

[0417]

단계 2: 메틸 3-요오도-1H-인다졸-6-카복실레이트



[0418]

[0419]

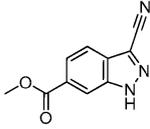
N,N-다이메틸포름아미드(12 mL) 중 메틸 1H-인다졸-6-카복실레이트(865 mg, 4.91 mmol)의 용액에 수산화 칼륨(840 mg, 3.05 mmol)을 첨가한 후 요오드(1.54 g, 5.9 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 3 시간 동안 교반하였다. 중황산 나트륨(30 mL의 5 % 수성)을 첨가하고 혼합물을 에틸 아세테이트로 2 회 추출하였다. 합한 유기층을 염수로 세척하고, 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고 진공에서 농축하였다. 잔사를 플래시 컬럼 크로마토그래피(5 내지 65 % 에틸 아세테이트/헵탄)를 통해 정제하여 무색 고체(1.16 g, 78 %)로서 메틸 3-요오도-1H-인다졸-6-카복실레이트를 수득하였다.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 13.84 (s, 1 H), 8.13 (s, 1 H), 7.72 (d, J =

8.4 Hz, 1 H), 7.54 (d, J = 8.6 Hz, 1 H), 3.87 (s, 3 H).

[0420]

[0421] 단계 3: 메틸 3-시아노-1H-인다졸-6-카복실레이트



[0422]

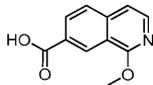
[0423] 다이메틸아세트아마이드(55 mL) 중 메틸 3-요오도-1H-인다졸-6-카복실레이트(3.0 g, 9.9 mmol), 아연 분말(400 mg, 6.11 mmol), 아연 시아나이드(2.0 g, 17.0 mmol), [1,1'-비스(다이페닐포스피노)페로센]-다이클로로팔라듐 (II), 다이클로로메탄(1.15 g, 1.41 mmol)과의 착체 및 구리(I) 요오다이드(1.90 g, 9.97 mmol)의 혼합물을 질 소로 15 분 동안 퍼징하였다. 혼합물을 120 °C에서 15 시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 냉각하고, 에틸 아세테이트(250 mL)로 희석하고, 셀라이트를 통해 여과하고, 에틸 아세테이트(100 mL)로 행겼다. 여액에 포화 된 수성 염화 암모늄 및 농축된 수산화 암모늄(pH가 8이 될 때까지 수산화 암모늄을 염화 암모늄의 포화된 수용 액에 첨가하여 제조함)의 용액(약 400 mL)을 첨가하였다. 혼합물을 1 시간 동안 교반하였다. 이어서, 층을 분 리하였다. 유기층을 물 및 염수로 세척하고, 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고 진공에서 농축하였다. 잔사에 메탄올(40 mL)을 첨가하고 상기 혼합물을 밤새 교반하였다. 혼합물을 여과하고 고체를 진공에서 건조하 여 황갈색 고체(1.47 g, 73 %)로서 메틸 3-시아노-1H-인다졸-6-카복실레이트를 수득하였다.

[0424] ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 13.40 (br. s., 1 H), 8.25 (s, 1 H), 7.94 (d, J = 8.6 Hz, 1 H), 7.83 (d, J = 8.4 Hz, 1 H), 3.88 (s, 3 H).

[0425] 단계 4: 3-시아노-1H-인다졸-6-카복실산

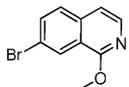
[0426] 메탄올(36 mL) 및 테트라하이드로푸란(20 mL) 중 메틸 3-시아노-1H-인다졸-6-카복실레이트(1.47 g, 7.31 mmol)의 용액에 2 N 수성 수산화 리튬(16 mL, 32 mmol)을 첨가하였다. 반응물을 50 °C로 72 시간 동안 가열하였다. 반응물을 실온으로 냉각하고 농축하였다. 잔사를 물로 희석하고 1 N 수성 염산으로 pH를 4로 조 정하였다. 생성된 침전물을 여과 제거하고, 물로 행구고, 진공하에 건조하여 황갈색 고체로서 표제 화합물(500 mg, 37 %)을 수득하였다. +ESI(M+H) 188.2.

[0427] **중간체 12:** 하기 나타낸 1-메톡시이소퀴놀린-7-카복실산을 다음과 같이 제조하였다:



[0428]

[0429] 단계 1: 7-브로모-1-메톡시이소퀴놀린

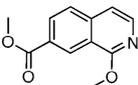


[0430]

[0431] 마이크로파 바이알에서 7-브로모-1-클로로이소퀴놀린(570 mg, 2.4 mmol)을 메탄올(10 mL) 및 나트륨 메톡사이드 (메탄올 중 25 중량%, 1.5 mL, 24 mmol)와 혼합하였다. 상기 바이알을 밀봉하고 130 °C로 3 시간 동안 마이크로파에서 가열하였다. 반응물을 농축하였다. 조질 잔사를 에틸 아세테이트 중에 취하고 물 및 포화된 수성 중 탄산 나트륨으로 세척하였다. 수층을 뜨거운 에틸 아세테이트로 2 회 추출하였다. 합한 유기물을 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고, 농축하여 표제 화합물(520 mg, 93 %)을 수득하였다.

[0432] +ESI (M+H+1) 240.0; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 8.25 - 8.28 (m, 1 H), 8.04 (d, J = 5.9 Hz, 1 H), 7.86 - 7.89 (m, 2 H), 7.40 (dd, J = 6.0, 0.9 Hz, 1 H), 4.03 (s, 3 H).

[0433] 단계 2: 메틸 1-메톡시이소퀴놀린-7-카복실레이트



[0434]

[0435] 메탄올(30 mL) 중 7-브로모-1-메톡시이소퀴놀린(520 mg, 2.2 mmol)의 용액에 나트륨 아세테이트(517 mg, 6.30

mmol) 및 [1,1'-비스(다이페닐포스피노)페로센]-다이클로로팔라듐(II), 다이클로로메탄(257 mg, 0.315 mmol)과의 착체를 첨가하였다. 혼합물을 진공처리하고 질소로 3 회 재충진하였다. 이어서, 반응 용기를 25 psi 일산화탄소로 가압하였다. 반응물을 70 °C로 가열하고 20 시간 동안 교반하였다. 반응물을 여과하고, 메탄올로 헹궜다. 여액을 농축하였다. 생성된 잔사를 다이클로로메탄 중에 취하고 잔여 고체를 여과 제거하였다. 여액을 농축하고 플래시 컬럼 크로마토그래피(0 내지 100 % 에틸 아세테이트/헥산)로 정제하여 백색 고체로서 표제 화합물(443 mg, 93 %)을 수득하였다.

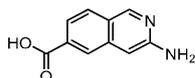
+ESI (M+H) 218.1; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 8.77 (d, J = 0.8 Hz, 1 H), 8.20 (dd, J = 8.6, 1.8 Hz, 1 H), 8.13 (d, J = 5.9 Hz, 1 H), 8.00 (d, J = 8.6 Hz, 1 H), 7.46 (d, J = 5.9 Hz, 1 H), 4.08 (s, 3 H), 3.90 (s, 3 H).

단계 3: 1-메톡시이소퀴놀린-7-카복실산

메탄올(10 mL) 중 메틸 1-메톡시이소퀴놀린-7-카복실레이트(443 mg, 2.04 mmol)의 용액에 2 N 수성 수산화 리튬(20 mL)을 첨가하였다. 반응물을 실온에서 24 시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 1 N 수성 염산 및 에틸 아세테이트로 회석하였다. 층을 분리하고 수성을 에틸 아세테이트로 2 회 이상 추출하였다. 합한 유기물을 염수로 세척하고, 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고, 농축하여 고체로서 표제 화합물(414 mg, 100 %)을 수득하였다.

+ESI (M+H) 204.1; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 13.24 (s, 1 H), 8.76 (d, J = 0.8 Hz, 1 H), 8.18 (dd, J = 8.6, 1.8 Hz, 1 H), 8.11 (d, J = 5.9 Hz, 1 H), 7.97 (d, J = 8.4 Hz, 1 H), 7.45 (d, J = 5.9 Hz, 1 H), 4.07 (s, 3 H).

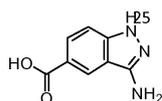
중간체 13: 하기 나타낸 3-아미노이소퀴놀린-6-카복실산을 다음과 같이 제조하였다:



6-브로모이소퀴놀린-3-아민을 사용하여 단계 2 또는 3 중 중간체 12에 대하여 기재된 바와 유사한 방법으로 표제 화합물을 제조하였다.

+ESI (M+H) 189.0; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 13.15 (br. s., 1 H), 8.94 (s, 1 H), 8.20 (s, 1 H), 7.91 (m, 1 H), 7.62 - 7.59 (m, 1 H), 6.78 (s, 1 H), 6.14 (s, 2 H).

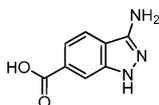
중간체 14: 하기 나타낸 3-아미노-1H-인다졸-5-카복실산을 다음과 같이 제조하였다:



에탄올(6 mL) 중 3-시아노-4-플루오로벤조산(980.0 mg, 5.94 mmol)의 용액에 하이드라진 수화물(0.89 mL, 17.8 mmol)을 첨가하였다. 반응물을 3 시간 동안 환류 가열하였다. 반응물을 실온으로 냉각하고 에탄올을 감압하여 제거하였다. 생성된 황색 오일을 물(50 mL) 중에 취하고 1 N 수성 수산화 나트륨(5 mL)으로 염기화하였다. 용액을 에틸 아세테이트(25 mL)로 1 회 세척하였다. 6 N 수성 염산으로 수상을 pH 3으로 산성화하고 실온에서 1 시간 동안 교반하였다. 생성된 침전물을 여과로 수집하고 진공하에 건조하여 분홍색 고체로서 표제 화합물(612 mg, 48 %)을 수득하였다.

+ESI (M+H) 178.1; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 8.42 - 8.47 (m, 1 H), 7.76 (dd, J = 8.8, 1.6 Hz, 1 H), 7.21 (d, J = 8.8 Hz, 1 H).

중간체 15: 하기 나타낸 3-아미노-1H-인다졸-6-카복실산을 다음과 같이 제조하였다:



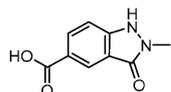
n-부탄올(9 mL) 중 4-시아노-3-플루오로벤조산(500 mg, 3.0 mmol)의 용액에 하이드라진 일수화물(0.5 mL, 10

mmol)을 첨가하였다. 반응물을 110 °C로 밤새 가열하였다. 반응물을 실온으로 냉각하고 침전물을 여과로 수집하였다. 이어서, 고체를 1 N 수성 수산화 나트륨(2 mL) 중에 용해하고 에틸 아세테이트로 2 회 추출하였다. 1 N 수성 염산으로 수층을 pH 4로 산성화하였다. 생성된 침전물을 여과로 수집하고 진공하에 건조하여 적색 고체로서 표제 화합물(140 mg, 26 %)을 수득하였다.

+ESI (M+H) 178.2; ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD, δ): 7.99 - 8.01 (m, 1 H), 7.73 (dd, J = 8.4, 0.8 Hz, 1 H), 7.61 (dd, J = 8.5, 1.3 Hz, 1 H).

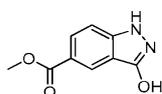
[0451]

중간체 16: 하기 나타낸 2-메틸-3-옥소-2,3-다이하이드로-1H-인다졸-5-카복실산을 다음과 같이 제조하였다:



[0453]

단계 1: 메틸 3-하이드록시-1H-인다졸-5-카복실레이트



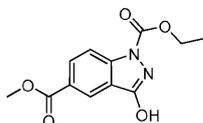
[0455]

3-하이드록시-1H-인다졸-5-카복실산(1.5 g, 8.4 mmol)을 메탄올(17 mL) 중에 현탁하였다. 농축된 염산(3.11 mL, 101 mmol)을 첨가하고 반응물을 100 °C로 6 시간 동안 가열하였다. 반응물을 농축하여 표제 화합물(1.60 g, 99 %)을 수득하였다.

+ESI (M+H) 193.1; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 12.00 (br. s., 1 H), 8.35 (s, 1 H), 7.83 (dd, J = 8.9, 1.7 Hz, 1 H), 7.33 (dd, J = 8.9, 0.7 Hz, 1 H), 3.82 (s, 3 H).

[0457]

단계 2: 1-에틸 5-메틸 3-하이드록시-1H-인다졸-1,5-다이카복실레이트



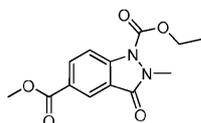
[0459]

메틸 3-하이드록시-1H-인다졸-5-카복실레이트(1.60 g, 8.33 mmol)를 피리딘(10 mL) 중에 현탁하였다. 에틸 클로로포르메이트(0.90 mL, 9.3 mmol)를 천천히 첨가하고 반응물을 실온에서 1 시간 동안 교반하였다. 추가 에틸 클로로포르메이트(0.30 mL, 3.1 mmol)를 첨가하고 반응물을 또 다른 30 분 동안 교반하였다. 반응물을 물(65 mL)에 붓고 냉장고에서 3 시간 동안 냉각하였다. 갈색 고체를 여과로 수집하고, 물로 헹구고, 진공하에 건조하여 표제 화합물(1.75 g, 80 %)을 수득하였다.

+ESI (M+H) 265.1; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 8.56 (s, 1 H), 8.29 (d, J = 7.8 Hz, 1 H), 8.13 (br. s., 1 H), 4.59 (q, J = 7.0 Hz, 2 H), 3.97 (s, 3 H), 1.56 (t, J = 7.0 Hz, 3 H).

[0461]

단계 3: 1-에틸 5-메틸 2-메틸-3-옥소-2,3-다이하이드로-1H-인다졸-1,5-다이카복실레이트



[0463]

1-에틸 5-메틸 3-하이드록시-1H-인다졸-1,5-다이카복실레이트(1.75 g, 6.62 mmol)를 아세톤(85 mL) 중에 현탁하였다. 탄산 세슘(2.27 g, 6.95 mmol) 및 메틸 요오다이드(1.3 mL, 20 mmol)를 첨가하고 반응물을 22 시간 동안 환류 가열하였다. 반응물을 농축하여 건조시키고 잔사를 다이클로로메탄(60 mL)과 물(100 mL) 사이에 배분하였다. 층을 분리하고 수층을 다이클로로메탄(60 mL)으로 다시 추출하였다. 합한 유기물을 황산 마그네슘 상에서 건조하고, 여과하고, 농축하였다. 플래시 컬럼 크로마토그래피(7 내지 60 % 에틸 아세테이트/헵탄)로 정제하여 2개의 위치 이성질체 생성물을 수득하였다.

[0464]

[0465] 백색 고체로서 1-에틸 5-메틸 3-메톡시-1H-인다졸-1,5-다이카복실레이트(590 mg, 32 %).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 8.41 (dd, J = 1.6, 0.8 Hz, 1 H), 8.22 (dd, J = 9.2, 3.5 Hz, 1 H), 8.14 (d, J = 9.2 Hz, 1 H), 4.57 (q, J = 7.1 Hz, 2 H), 4.20 (s, 3 H), 3.95 (s, 3 H), 1.51 (t, J = 7.1 Hz, 3 H).

[0466]

[0467] 황색 고체로서 1-에틸 5-메틸 2-메틸-3-옥소-2,3-다이하이드로-1H-인다졸-1,5-다이카복실레이트(699 mg, 38 %).

+ESI (M+H) 279.1; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 8.56 (dd, J = 1.8, 0.6 Hz, 1 H), 8.30 (dd, J = 8.8, 1.8 Hz, 1 H), 7.93 (d, J = 8.8 Hz, 1 H), 4.50 (q, J = 7.0 Hz, 2 H), 3.94 (s, 3 H), 3.67 (s, 3 H), 1.48 (t, J = 7.1 Hz, 3 H).

[0468]

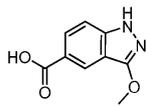
[0469] 단계 4: 2-메틸-3-옥소-2,3-다이하이드로-1H-인다졸-5-카복실산

[0470] 1-에틸 5-메틸 2-메틸-3-옥소-2,3-다이하이드로-1H-인다졸-1,5-다이카복실레이트(300 mg, 1.08 mmol)를 에탄올 (4 mL) 중에 용해하였다. 수산화 칼륨(485 mg, 8.62 mmol)을 첨가하고 반응물을 실온에서 1.5 시간 동안 교반하였다. LCMS는 반응이 불완전함을 나타내었다. 이어서, 수산화 칼륨(10 mL, 10 mmol, 1.0 M)의 수용액을 첨가하고 반응물을 65 °C에서 2 시간 동안 가열하였다. 반응물을 실온으로 냉각하고 농축하였다. 생성된 주황색 고체를 물 중에 용해하고 1 N 수성 염산으로 산성화하였다. 침전물을 여과로 수집하고 진공하에 건조하여 백색 고체로서 표제 화합물(158 mg, 76 %)을 수득하였다.

+ESI (M+H) 193.1; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 12.75 (br. s., 1 H), 11.06 (s, 1 H), 8.15 (s, 1 H), 7.99 (dd, J = 8.7, 1.5 Hz, 1 H), 7.28 (d, J = 8.6 Hz, 1 H), 3.37 (s, 3 H).

[0471]

[0472] 중간체 17: 하기 나타낸 3-메톡시-1H-인다졸-5-카복실산을, 다음과 같이 제조하였다:



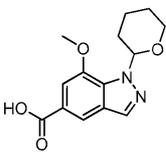
[0473]

[0474] 단계 3에서 형성된 위치 이성질체 생성물인 1-에틸 5-메틸 3-메톡시-1H-인다졸-1,5-다이카복실레이트를 사용하여 중간체 16에 대해 기재된 바와 유사한 방법으로 표제 화합물을 제조하였다.

+ESI (M+H) 193.1; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 12.65 (br. s., 1 H), 12.26 (s, 1 H), 8.18 (s, 1 H), 7.86 (dd, J = 8.9, 1.5 Hz, 1 H), 7.38 (d, J = 8.8 Hz, 1 H), 3.99 (s, 3 H).

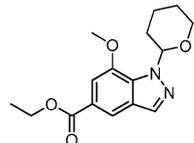
[0475]

[0476] 중간체 18: 하기 나타낸 7-메톡시-1-(테트라하이드로-2H-피란-2-일)-1H-인다졸-5-카복실산을 다음과 같이 제조하였다:



[0477]

[0478] 단계 1: 에틸 7-메톡시-1-(테트라하이드로-2H-피란-2-일)-1H-인다졸-5-카복실레이트



[0479]

[0480] N,N-다이메틸포름아미드(1 mL) 중 에틸 7-하이드록시-1-(테트라하이드로-2H-피란-2-일)-1H-인다졸-5-카복실레이트(국제특허출원공개 제 2009144554 호)(100 mg, 0.34 mmol) 및 탄산 칼륨(95.1 mg, 0.68 mmol)의 혼합물에 메틸 요오다이드(32 μL, 0.51 mmol)를 첨가하였다. 반응물을 실온에서 밤새 교반하였다. 반응물을 물로 희석하고 에틸 아세테이트로 4 회 추출하였다. 합한 유기층을 물 및 염수로 세척하고, 황산 나트륨 상에서 건조하고,

여과하고, 농축하여 황색 오일로서 표제 화합물(105 mg, 100 %)을 수득하였다.

+ESI (M+1-THP) 221.2; ¹H NMR

(400 MHz, CDCl₃, δ): 8.07 - 8.10 (m, 2 H), 7.43 (d, J = 0.98 Hz, 1 H), 6.24 (dd, J = 10.24, 2.44 Hz, 1 H), 4.38 (q, J = 7.15 Hz, 2 H), 4.08 (dt, J = 11.56, 2.02 Hz, 1 H), 4.04 (s, 3 H), 3.70 - 3.78 (m, 1 H), 2.54 - 2.66 (m, 1 H), 2.09 - 2.19 (m, 1 H), 2.01 - 2.08 (m, 1 H), 1.71 - 1.83 (m, 2 H), 1.55 - 1.64 (m, 1 H), 1.41 (t, J = 7.12 Hz, 3 H).

[0481]

[0482]

단계 2: 7-메톡시-1-(테트라하이드로-2H-피란-2-일)-1H-인다졸-5-카복실산

[0483]

테트라하이드로피란(2 mL) 중 에틸 7-메톡시-1-(테트라하이드로-2H-피란-2-일)-1H-인다졸-5-카복실레이트(102 mg, 0.33 mmol)의 용액에 1 N 수성 수산화 리튬(0.67 mL, 0.67 mmol)을 첨가하였다. 반응물을 실온에서 밤새 교반하였다. LCMS는 반응이 완료되었음을 나타낸다. 추가 수산화 리튬(0.35 mL, 2 M, 0.7 mmol)을 첨가하고 반응물을 40 °C로 1 시간 동안 가열하였다. 이어서, 반응물을 실온에서 70 시간 동안 교반하면서 방치하였다. 테트라하이드로피란을 진공에서 제거하고 1 N 수성 염산으로 잔사를 pH 4로 산성화하였다. 용액을 에틸 아세테이트로 3 회 추출하였다. 합한 유기물을 염수로 세척하고, 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고, 농축하여 고체로서 표제 화합물(84 mg, 91 %)을 수득하였다.

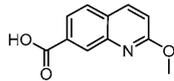
¹H NMR (400 MHz,

CDCl₃, δ): 8.18 (d, J = 1.37 Hz, 1 H), 8.12 (s, 1 H), 7.46 (d, J = 1.17 Hz, 1 H), 6.26 (dd, J = 10.15, 2.54 Hz, 1 H), 4.07 - 4.12 (m, 1 H), 4.06 (s, 3 H), 3.65 - 3.81 (m, 1 H), 2.54 - 2.72 (m, 1 H), 2.10 - 2.22 (m, 1 H), 2.01 - 2.10 (m, 1 H), 1.71 - 1.85 (m, 2 H), 1.57 - 1.67 (m, 1 H).

[0484]

[0485]

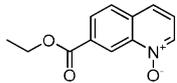
중간체 19: 하기 나타낸 2-메톡시퀴놀린-7-카복실산을 다음과 같이 제조하였다:



[0486]

[0487]

단계 1: 7-(에톡시카보닐)퀴놀린 1-옥사이드



[0488]

[0489]

다이클로로메탄(20 mL) 중 에틸 퀴놀린-7-카복실레이트(1.02 g, 5.05 mmol)의 용액에 피아세트산(2.13 mL, 10.1 mmol, 아세트산 중 32 중량%)을 첨가하였다. 반응물을 실온에서 밤새 교반하였다. 반응물을 물과 다이클로로메탄 사이에 배분하였다. 층을 분리하고 수성을 다이클로로메탄으로 4 회 추출하였다. 합한 유기물을 물 및 염수로 세척하고, 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고, 농축하였다. 고체를 헵탄 및 에틸 아세테이트로부터 수 회 농축한 후, 진공하에 건조하여 황색 고체로서 표제 화합물(1.01 g, 92 %)을 수득하였다.

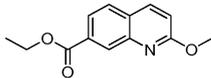
+ESI (M+H) 218.2; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 9.40 (s, 1 H), 8.65 (d, J = 6.05 Hz, 1 H),

8.27 (dd, J = 8.58, 1.56 Hz, 1 H), 7.95 (d, J = 8.39 Hz, 1 H), 7.82 (d, J = 8.58 Hz, 1 H), 7.42 (dd, J = 8.49, 6.15 Hz, 1 H), 4.47 (q, J = 7.02 Hz, 2 H), 1.45 (t, J = 7.1 Hz, 3 H).

[0490]

[0491]

단계 2: 에틸 2-메톡시퀴놀린-7-카복실레이트



[0492]

[0493]

메탄올(5 mL) 중 7-(에톡시카보닐)퀴놀린 1-옥사이드(150 mg, 0.69 mmol) 및 톨루엔-4-설포닐 클로라이드(171 mg, 0.89 mmol)의 0 °C 용액에 트라이에틸아민(0.19 mL, 1.4 mmol)을 첨가하였다. 반응물을 실온에서 밤새 교반하였다. LCMS는 반응이 불완전함을 나타내었다. 추가 트라이에틸아민(0.05 mL)을 첨가하고 반응물을 또 다른 4 시간 동안 교반하였다. 반응물을 농축하고 잔사를 에틸 아세테이트와 포화된 수성 탄산 나트륨 사이에 배분하였다. 층을 분리하고 수성을 에틸 아세테이트로 2 회 이상 추출하였다. 합한 유기물을 염수로 세척하고, 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고, 농축하였다. 플래시 컬럼 크로마토그래피(0 내지 40 % 에틸 아세테이트/헵탄)로 정제하여 연황색 고체로서 표제 화합물(130 mg, 81 %)을 수득하였다.

+ESI (M+H) 232.2; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 8.49 - 8.60 (m, 1 H), 7.95 - 8.05 (m, 2 H), 7.75 (d, J = 8.19 Hz, 1 H), 6.98 (d, J = 8.78 Hz, 1 H), 4.43 (q, J = 7.22 Hz, 2 H), 4.08 (s, 3 H), 1.43 (t, J = 7.12 Hz, 3 H).

[0494]

[0495]

단계 3: 2-메톡시퀴놀린-7-카복실산

[0496]

테트라하이드로푸란(1.5 mL) 중 에틸 2-메톡시퀴놀린-7-카복실레이트(125 mg, 0.54 mmol)의 용액에 2 N 수성 수산화 리튬(0.81 mL, 1.6 mmol)을 첨가하였다. 반응물을 실온에서 65 시간 동안 교반하였다. 테트라하이드로푸란을 진공에서 제거하고 1 N 수성 염산으로 잔사를 pH 4로 산성화하였다. 혼합물을 물로 희석하고 생성된 침전물을 여과로 수집하고 진공하에 건조하여 백색 고체로서 표제 화합물(106 mg, 96 %)을 수득하였다.

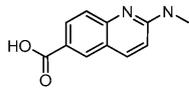
[0497]

+ESI (M+H) 204.2; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 8.64 (d, J = 1.37 Hz, 1 H), 8.01 - 8.04 (m, 1 H), 8.01 (s, 1 H), 7.79 (d, J = 8.58 Hz, 1 H), 7.01 (d, J = 8.78 Hz, 1 H), 4.09 (s, 3 H).

[0498]

중간체 20: 하기 나타낸 2-(메틸아미노)퀴놀린-6-카복실산을 다음과 같이 제조하였다:

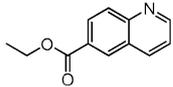
[0499]



[0500]

단계 1: 에틸 퀴놀린-6-카복실레이트

[0501]



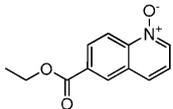
[0502]

에탄올(100 mL) 중 퀴놀린-6-카복실산(2.8 g, 16 mmol)의 용액에 농축된 황산(2 mL)을 첨가하였다. 반응물을 밤새 환류 가열하였다. 용매를 증발시켜 갈색 잔사를 수득하고 이를 에틸 아세테이트(150 mL) 중에 취하였다. 혼합물을 물(2 x 30 mL), 포화된 수성 중탄산 나트륨(2 x 30 mL) 및 염수(2 x 30 mL)로 세척하였다. 유기층을 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고, 오일로 농축하였다. 플래시 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 갈색 고체로서 표제 화합물(2.0 g, 81 %)을 수득하였다.

[0503]

단계 2: 6-(에톡시카보닐)퀴놀린 1-옥사이드

[0504]



[0505]

다이클로로메탄(120 mL) 중 에틸 퀴놀린-6-카복실레이트(3.2 g, 16 mmol)에 메타-클로로퍼옥시벤조산(4.9 g, 0.024 mol)을 나누어 첨가하였다. 반응물을 실온에서 4 시간 동안 교반하였다. 반응물을 다이클로로메탄으로 희석하고 포화된 수성 탄산 나트륨(3 x 30 mL) 및 염수(2 x 40 mL)로 세척하였다. 유기층을 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고, 농축하였다. 플래시 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 갈색 고체로서 표제 화합물(2.45 g, 71 %)을 수득하였다.

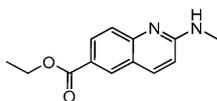
[0506]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 8.81 - 8.79 (d, 1 H), 8.62 (s, 2 H), 8.35 - 8.33 (d, 1 H), 7.87 - 7.85 (d, 1 H), 7.39 (s, 1 H), 4.49 - 4.44 (q, 2 H), 1.47 - 1.43 (t, 3 H).

[0507]

단계 3: 에틸 2-(메틸아미노)퀴놀린-6-카복실레이트

[0508]



[0509]

무수 트라이플루오로메탄설포산(1.92 mL, 11.4 mmol)을 다이클로로메탄(150 mL) 중 6-(에톡시카보닐)퀴놀린 1-옥사이드(2.25 g, 10.4 mmol)의 -70 °C 용액에 적가하였다. 혼합물을 -70 °C에서 5 분 동안 교반하였다. 이어서, 테트라하이드로푸란(31 mL, 62 mmol, 2 M) 중 메틸아민의 용액을 적가하였다. 혼합물을 -70 °C에서 5 분 동안 교반하였다. 반응물을 물(20 mL)로 급랭하였다. 층을 분리하고 수성을 다이클로로메탄(3 x 30 mL)으로

추출하였다. 합한 유기물을 염수로 세척하고, 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고, 농축하였다. 플래시 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 황색 고체로서 표제 화합물(850 mg, 35 %)을 수득하였다.

¹H NMR (400

MHz, CDCl₃, δ): 8.33 (d, 1 H), 8.16 - 8.13 (m, 1 H), 7.90 - 7.87 (d, 1 H), 7.70 - 7.67 (d, 1 H), 6.68 (d, 1 H), 5.30 (br. s., 1 H), 4.43 - 4.38 (q, 2 H), 3.13 - 3.12 (d, 3 H), 1.44 - 1.40 (m, 3 H).

[0510]

[0511]

단계 4: 2-(메틸아미노)퀴놀린-6-카복실산

[0512]

수성 수산화 나트륨(4 mL, 8 mmol, 2 N)을 에탄올(10 mL) 중 에틸 2-(메틸아미노)퀴놀린-6-카복실레이트(850 mg, 3.7 mmol)의 용액에 첨가하였다. 반응물을 50 °C로 밤새 가열하였다. 에탄올을 진공에서 제거하고 잔사를 1 N 수성 염산으로 pH 5로 산성화하였다. 생성된 침전물을 여과로 수집하고 진공하에 건조하여 황색 고체로서 표제 화합물(710 mg, 96 %)을 수득하였다.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 8.26 (d, 1 H), 7.96 - 7.93 (m, 2

H), 7.50 (d, 1 H), 7.43 (d, 1 H), 6.81 (d, 1 H), 2.91 (d, 3 H).

[0513]

[0514]

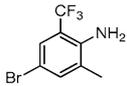
중간체 21: 하기 나타낸 7-(트리플루오로메틸)-1H-인다졸-5-카복실산을 다음과 같이 제조하였다:



[0515]

[0516]

단계 1: 4-브로모-2-메틸-6-(트리플루오로메틸)아닐린



[0517]

[0518]

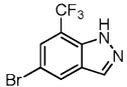
아세트니트릴(85 mL) 중 2-메틸-6-(트리플루오로메틸)아닐린(3.0 g, 17 mmol)의 실온 용액에 소량의 N-브로모 석신이미드(3.0 g, 17 mmol)를 30 분간에 걸쳐서 첨가하였다. 반응물을 1 시간 동안 교반하였다. 반응물을 물/염수 혼합물에 부었고 에틸 아세테이트로 3 회 추출하였다. 합한 유기물을 황산 마그네슘 상에서 건조하고, 여과하고, 농축하였다. 플래시 컬럼 크로마토그래피(0 내지 40 % 에틸 아세테이트/헵탄)로 정제하여 갈색 오일로서 표제 화합물(4.13 g, 95 %)을 수득하였다.

[0519]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 7.42 (d, J = 2.34 Hz, 1 H), 7.31 (s, 1 H), 2.17 (s, 3 H).

[0520]

단계 2: 5-브로모-7-(트리플루오로메틸)-1H-인다졸



[0521]

[0522]

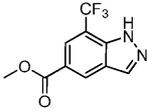
톨루엔(65 mL) 및 차가운 아세트산(11.2 mL, 195 mmol) 중 4-브로모-2-메틸-6-(트리플루오로메틸)아닐린(3.3 g, 13 mmol)의 용액에 칼륨 아세테이트(10.2 g, 104 mmol)를 나누어 첨가하였다. 15 분 후 다량의 침전물이 형성되어 반응물의 교반을 방해하였다. 반응물을 아세트산(10 mL)으로 희석하였다. 이어서, 이소아밀 니트라이트(1.92 mL, 14.3 mmol)를 적가하고 반응물을 실온에서 3 시간 동안 교반하였다. 추가 이소아밀 니트라이트(0.5 mL, 3.7 mmol)를 첨가하고 반응물을 15 시간 동안 교반하면서 방치하였다. 반응물을 물(100 mL)로 희석하고 1.5 시간 동안 교반하였다. 용액을 에틸 아세테이트와 포화된 수성 중탄산 나트륨 사이에 배분하였다. 층을 분리하고 유기물을 염수로 세척하고, 황산 마그네슘 상에서 건조하고, 여과하고, 농축하였다. 플래시 컬럼 크로마토그래피(5 내지 50 % 에틸 아세테이트/헵탄)로 정제하여 황색 분말로서 표제 화합물(1.78 g, 52 %)을 수득하였다.

-ESI (M-H+1) 264.9; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 8.13 (s, 1

H), 8.09 - 8.11 (m, 1 H), 7.76 (dd, J = 1.66, 0.88 Hz, 1 H).

[0523]

[0524] 단계 3: 메틸 7-(트라이플루오로메틸)-1H-인다졸-5-카복실레이트



[0525]

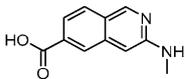
[0526] 밀폐된 튜브에 [1,1'-비스(다이페닐포스피노)페로센]-다이클로로팔라듐(II), 다이클로로메탄(45.7 mg, 0.056 mmol)과의 착체, 5-브로모-7-(트라이플루오로메틸)-1H-인다졸(100 mg, 0.38 mmol), 트라이에틸아민(105 μ L, 0.752 mmol) 및 메탄올(2 mL)을 첨가하였다. 튜브의 뚜껑을 덮고 일산화탄소를 5 분 동안 발포하였다. 이어서, 반응물을 70 $^{\circ}$ C로 5 시간 동안 가열하였다. 반응물을 실온으로 냉각하고 2 일 동안 교반하면서 방치하였다. 반응물을 농축하고 플래시 컬럼 크로마토그래피(0 내지 50 % 에틸 아세테이트/헵탄)로 정제하여 백색 분말로서 표제 화합물(64 mg, 69 %)을 수득하였다.

[0527] -ESI (M-H) 243.1; 1 H NMR (400 MHz, $CDCl_3$, δ): 8.72 (s, 1 H), 8.37 (s, 1 H), 8.28 (s, 1 H), 3.98 (s, 3 H).

[0528] 단계 4: 7-(트라이플루오로메틸)-1H-인다졸-5-카복실산

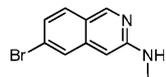
[0529] 메탄올(2 mL) 및 테트라하이드로푸란(2 mL) 중 메틸 7-(트라이플루오로메틸)-1H-인다졸-5-카복실레이트(62 mg, 0.25 mmol)의 용액에 1 N 수성 수산화 리튬(0.76 mL, 0.76 mmol)을 첨가하였다. 반응물을 60 $^{\circ}$ C로 17 시간 동안 가열하였다. 반응물을 농축하고 잔사를 물로 희석하고 pH가 3이 되도록 1 N 수성 염산으로 산성화하였다. 용액을 다이클로로메탄으로 3 회 추출하였다. 합한 유기물을 염수로 세척하고, 황산 마그네슘 상에서 건조하고, 여과하고, 농축하여 희백색 분말로서 표제 화합물(17 mg, 29 %)을 수득하였다. +ESI(M+H) 231.1.

[0530] 중간체 22: 하기 나타낸 3-(메틸아미노)이소퀴놀린-6-카복실산을 다음과 같이 제조하였다:



[0531]

[0532] 단계 1: 6-브로모-N-메틸이소퀴놀린-3-아민



[0533]

[0534] N,N-다이메틸포름아미드(10 mL) 중 6-브로모이소퀴놀린-3-아민(50.0 mg, 2.6 mmol)의 용액에 N,N-다이메틸포름아미드 다이메틸아세탈(2 mL)을 첨가하였다. 반응 용기를 밀봉하고 바이오타지 스미스 합성기 마이크로파에서 110 $^{\circ}$ C로 20 분 동안 가열하였다. 이어서, 나트륨 트리아세톡시보로하이드라이드(59 mg, 0.28 mmol)를 반응 혼합물에 첨가하였다. 바이알을 다시 밀봉하고 바이오타지 스미스 합성기 마이크로파에서 110 $^{\circ}$ C로 10 분 동안 다시 가열하였다. 반응물을 농축하였다. 잔사를 에틸 아세테이트(50 mL) 중에 용해하고 염수(2 x 20 mL)로 세척하였다. 유기물을 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고, 농축하였다. 플래시 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 백색 고체로서 표제 화합물(23 mg, 43 %)을 수득하였다.

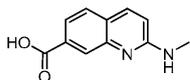
[0535] 1 H NMR (400 MHz, $CDCl_3$, δ): 8.76 (s, 1 H), 7.74 (s, 1 H), 7.61 (d, 1 H), 7.28 (d, 1 H), 6.40 (s, 1 H), 5.09 - 5.07 (m, 1 H), 2.97 (s, 3 H).

[0536] 단계 2: 3-(메틸아미노)이소퀴놀린-6-카복실산

[0537] 6-브로모-N-메틸이소퀴놀린-3-아민을 사용하여 중간체 21의 단계 3에 기재된 바와 유사한 방법으로 메틸 3-(메틸아미노)이소퀴놀린-6-카복실레이트를 제조하였다. 조질 물질(580 mg, 2.7 mmol)에 물(5 mL), 메탄올(5 mL) 및 수산화 리튬 일수화물(300 mg, 7 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 반응물을 농축하고 pH가 5가 되도록 1 N 수성 염산으로 잔사를 산성화하였다. 생성된 잔사를 진공하에 건조하고 역상 HPLC로 정제하여 백색 고체로서 표제 화합물(512 mg, 89 %)을 수득하였다.

[0538] 1 H NMR (400 MHz, CD_3OD , δ): 8.81 (s, 1 H), 8.23 (s, 1 H), 7.80 (d, 1 H), 7.72 (d, 1 H), 6.70 (s, 1 H), 2.93 (s, 3 H).

[0539] **중간체 23:** 하기 나타낸 2-(메틸아미노)퀴놀린-7-카복실산을 다음과 같이 제조하였다:



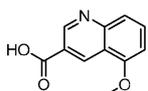
[0540]

[0541] 7-(에톡시카보닐)퀴놀린 1-옥사이드를 사용하여 중간체 20의 단계 3 내지 4에 기재된 바와 유사한 방법으로 표제 화합물을 제조하였다.

[0542]

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 8.08 (s, 1 H), 7.90 (d, 1 H), 7.71 - 7.62 (m, 2 H), 7.21 (s, 1 H), 6.84 (d, 1 H), 2.91 (d, 3 H).

[0543] **중간체 24:** 하기 나타낸 5-메톡시퀴놀린-3-카복실산을 다음과 같이 제조하였다:



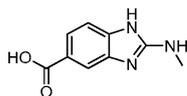
[0544]

[0545] 수성 수산화 리튬을 사용하여 메틸 5-메톡시퀴놀린-3-카복실레이트(문헌[Organic and Biomolecular Chemistry, 7(12), 2612-2618, 2009])를 비누화하였다.

[0546]

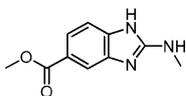
+ESI (M+H) 203.9; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 9.30 (d, 1 H), 9.03 (d, 1 H), 7.84 - 7.80 (m, 1 H), 7.66 (d, 1 H), 7.15 (d, 1 H), 4.04 (s, 3 H).

[0547] **중간체 25:** 하기 나타낸 2-(메틸아미노)-1H-벤조[d]이미다졸-5-카복실산을 다음과 같이 제조하였다:



[0548]

[0549] 단계 1: 메틸 2-(메틸아미노)-1H-벤조[d]이미다졸-5-카복실레이트



[0550]

[0551] 3,4-다이아미노벤조산(15 g, 0.09 mol) 및 이소티오시아나토메탄(6.6 g, 0.09 mol)의 혼합물을 테트라하이드로푸란(90 mL) 중에 용해하였다. 반응물을 3 시간 동안 환류 가열한 후 농축하였다. 잔사를 빙수에 부었다. 생성된 침전물을 여과하고, 물로 세척하고 진공하에 건조하여 메틸 4-아미노-3-(3-메틸티오우레이도)벤조에이트(12.0 g, 56 %)를 수득하였다.

[0552] 고체(12 g, 0.05 mol)에 에탄올(200 mL)을 첨가한 후, 메틸 요오다이드(35.5 g, 0.25 mol)를 첨가하였다. 반응물을 환류 가열하고 밤새 교반하였다. 반응물을 농축하고 잔사를 수산화 암모늄으로 염기화하였다. 고체를 여과로 수집하고 물로 세척하였다. 컬럼 크로마토그래피(9 내지 25 % 에틸 아세테이트/석유 에터)로 정제하여 황색 고체로서 표제 화합물(2.9 g, 28 %)을 수득하였다.

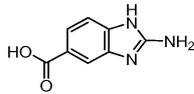
[0553] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 8.37 (s, 1 H), 7.92 - 7.96 (m, 1 H), 7.51 (d, J = 8.4 Hz, 1 H), 3.93 (s, 3 H), 2.81 (s, 3 H).

[0554] 단계 2: 2-(메틸아미노)-1H-벤조[d]이미다졸-5-카복실산

[0555] 3 N 수성 염산(14 mL, 42 mmol)을 메틸 2-(메틸아미노)-1H-벤조[d]이미다졸-5-카복실레이트(2.9 g, 14 mmol)에 첨가하고 상기 반응물을 밤새 환류에서 교반하였다. 반응물을 농축하여 황색 고체로서 표제 화합물(2.4 g, 90 %)을 수득하였다.

[0556] ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD, δ): 7.96 - 8.00 (m, 2 H), 7.40 (d, J = 8.4 Hz, 1 H), 3.10 (s, 3 H).

[0557] **중간체 26:** 하기 나타낸 2-아미노-1H-벤조[d]이미다졸-5-카복실산을 다음과 같이 제조하였다:



[0558]

[0559] 시아노겐 브로마이드(5.0 mL, 아세트니트릴 중 5 M, 25 mmol)의 용액을 물(50 mL) 중 메틸 3,4-다이아미노벤조에이트(3.0 g, 18 mmol)의 혼합물에 첨가하였다. 반응물을 실온에서 밤새 교반하였다. 수성 암모니아 (20 mL) 및 에틸 아세테이트(100 mL)를 반응 혼합물에 첨가하고 층을 분리하였다. 유기물을 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고, 농축하였다. 조질 잔사에 2 N 수성 염산(18 mL, 36.0 mmol)을 첨가하고 상기 혼합물을 환류에서 밤새 가열하였다. 반응물을 농축하여 표제 화합물(2.90 g, 97 %)을 수득하였다.

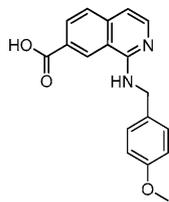
¹H NMR (400 MHz,

[0560]

DMSO-d₆, δ): 8.75 (s, 2 H), 7.84 (s, 1 H), 7.77 (dd, J = 1.2, 8.4 Hz, 1 H), 7.38 (d, J = 8.4 Hz, 1 H).

[0561]

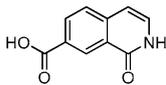
중간체 27: 하기 나타낸 1-(4-메톡시벤질아미노)이소퀴놀린-7-카복실산을 다음과 같이 제조하였다:



[0562]

[0563]

단계 1: 1-옥소-1,2-다이하이드로이소퀴놀린-7-카복실산



[0564]

[0565]

N,N-다이메틸포름아미드(1 L) 중 7-브로모이소퀴놀린-1(2H)-온(70 g, 0.31 mol)의 현탁액에 구리 시아나이드(56 g, 0.63 mol)를 첨가하였다. 반응물을 180 °C로 2 시간 동안 가열하였다. 반응물을 실온으로 냉각하고 물(1 L)로 희석하였다. 용액을 에틸 아세테이트로 3 회 추출하였다. 유기물을 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고, 농축하여 조질 1-옥소-1,2-다이하이드로이소퀴놀린-7-카보닐트릴(37 g)을 수득하였다. 이 조질 물질을 에탄올(500 mL) 중에 취하고 1 N 수성 수산화 나트륨(400 mL)을 첨가하였다. 혼합물을 환류 가열하고 2 시간 동안 교반하였다. 반응물을 실온으로 냉각하고 1 N 수성 염산으로 pH를 약 2로 조정하였다. 고체를 여과로 수집하고, 물로 헹구고, 진공하에 건조하여 회백색 고체로서 표제 화합물(35 g, 85 %)을 수득하였다.

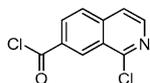
¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 13.15 (br. s., 1 H), 11.49 (s, 1

[0566]

H), 8.75 (s, 1 H), 8.17 - 8.14 (m, 1 H), 7.75 (d, 1 H), 7.34 - 7.29 (m, 1 H), 6.62 (d, 1 H).

[0567]

단계 2: 1-클로로이소퀴놀린-7-카보닐 클로라이드



[0568]

[0569]

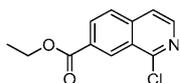
인 옥시클로라이드(74 mL, 793 mmol)를 1-옥소-1,2-다이하이드로이소퀴놀린-7-카복실산(3.0 g, 20 mmol)에 첨가하였다. 반응물을 90 °C로 5 시간 동안 가열하였다. 반응물을 농축하여 건조하였다. 상기 물질을 다이클로로메탄(250 mL) 및 포화된 수성 중탄산 나트륨(200 mL) 중에 취하였다. 층을 분리하고 수성을 다이클로로메탄(100 mL)으로 다시 추출하였다. 합한 유기물을 황산 마그네슘 상에서 건조하고, 여과하고, 농축하여 황색 고체로서 표제 화합물(3.0 g, 80 %)을 수득하였다.

+ESI (M+H) 227.1; ¹H NMR (400 MHz,

[0570]

CDCl₃, δ): 9.18 - 9.22 (m, 1 H), 8.44 (d, J = 5.7 Hz, 1 H), 8.32 (dd, J = 8.8, 1.8 Hz, 1 H), 7.95 (d, J = 8.8 Hz, 1 H), 7.68 (d, J = 5.7 Hz, 1 H).

[0571] 단계 3: 에틸 1-클로로이소퀴놀린-7-카복실레이트



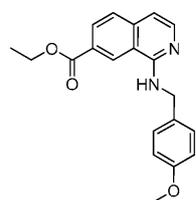
[0572]

[0573] 1-클로로이소퀴놀린-7-카보닐 클로라이드(3.02 g, 13.4 mmol)를 테트라하이드로푸란(135 mL) 중에 용해하고 0 °C로 냉각하였다. 에탄올(6.1 mL, 94 mmol) 및 트라이에틸아민(2.05 mL, 14.7 mmol)을 첨가하였다. 반응물을 실온으로 가온시키고 2 시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 에틸 아세테이트(500 mL)와 포화된 수성 중탄산 나트륨(250 mL) 사이에 배분하였다. 유기층을 황산 마그네슘 상에서 건조하고, 여과하고, 농축하여 황색 고체로서 표제 화합물(3.0 g, 96 %)을 수득하였다.

[0574]

+ESI (M+H) 236.1; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 9.06 (s, 1 H), 8.30 - 8.39 (m, 2 H), 7.89 (d, J = 8.6 Hz, 1 H), 7.63 (d, J = 5.7 Hz, 1 H), 4.48 (q, J = 7.1 Hz, 2 H), 1.46 (t, J = 7.1 Hz, 3 H).

[0575] 단계 4: 에틸 1-(4-메톡시벤질아미노)이소퀴놀린-7-카복실레이트



[0576]

[0577] N,N-다이메틸포름아미드(9.3 mL) 중 에틸 1-클로로이소퀴놀린-7-카복실레이트(548 mg, 2.32 mmol)의 용액에 4-메톡시-벤질아민(4.6 mL, 35 mmol) 및 탄산 칼륨(5.14 g, 37.2 mmol)을 첨가하였다. 반응물을 70 °C로 가열하고 밤새 교반하였다. 반응물을 실온으로 냉각하고 에틸 아세테이트 및 물로 추출하였다. 층을 분리하고 수성을 에틸 아세테이트로 2 회 추출하였다. 합한 유기물을 물 및 염수로 세척하고, 황산 마그네슘 상에서 건조하고, 여과하고, 농축하였다. 플래시 컬럼 크로마토그래피(0 내지 35 % 에틸 아세테이트/헵탄)로 정제하여 녹색을 띤 오일로서 표제 화합물(430 mg, 55 %)을 수득하였다.

[0578]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 8.49 (s, 1 H), 8.16 (dd, J = 8.6, 1.6 Hz, 1 H), 8.09 (d, J = 5.9 Hz, 1 H), 7.69 (d, J = 8.6 Hz, 1 H), 7.33 - 7.40 (m, 2 H), 6.96 (d, J = 5.9 Hz, 1 H), 6.87 - 6.93 (m, 2 H), 5.67 (br. s., 1 H), 4.76 (d, J = 5.1 Hz, 2 H), 4.41 (q, J = 7.2 Hz, 2 H), 3.81 (s, 3 H), 1.37 - 1.43 (m, 3 H).

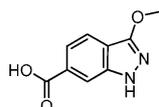
[0579] 단계 5: 1-(4-메톡시벤질아미노)이소퀴놀린-7-카복실산

[0580] 메탄올(8.5 mL) 중 에틸 1-(4-메톡시벤질아미노)이소퀴놀린-7-카복실레이트(430 mg, 1.28 mmol)의 용액에 6 N 수성 수산화 나트륨(1.1 mL, 6.4 mmol)을 첨가하였다. 반응물을 실온에서 밤새 교반하였다. 반응물을 농축하였다. 잔사를 물 중에 취하고 침전물이 형성될 때까지 1 N 수성 염산으로 산성화하였다. 고체를 여과로 수집하고 진공하에 건조하여 황색 고체로서 표제 화합물(328 mg, 83 %)을 수득하였다.

[0581]

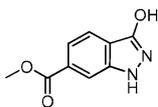
¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 8.92 (s, 1 H), 8.30 (t, J = 5.8 Hz, 1 H), 8.06 (dd, J = 8.4, 1.4 Hz, 1 H), 7.88 (d, J = 5.7 Hz, 1 H), 7.69 (d, J = 8.6 Hz, 1 H), 7.24 - 7.31 (m, 2 H), 6.88 (d, J = 5.7 Hz, 1 H), 6.79 - 6.85 (m, 2 H), 4.62 (d, J = 5.9 Hz, 2 H), 3.67 (s, 3 H).

[0582] **중간체 28:** 하기 나타낸 3-메톡시-1H-인다졸-6-카복실산을 다음과 같이 제조하였다:



[0583]

[0584] 단계 1: 메틸 3-하이드록시-1H-인다졸-6-카복실레이트



[0585]

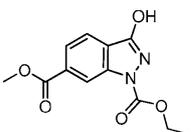
[0586] 3-옥소-2,3-다이하이드로-1H-인다졸-6-카복실산(1.5 g, 8.4 mmol)을 메탄올(17 mL) 중에 현탁하였다. 농축된 염산(3.1 mL, 101 mmol)을 첨가하고 반응물을 24 시간 동안 환류 가열하였다. 반응물을 농축하여 표제 화합물(1.6 g, 100 %)을 수득하였다.

+ESI (M+H) 193.1; ¹H

NMR (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 11.98 (br. s., 1 H), 7.89 (s, 1 H), 7.72 (d, J = 8.6 Hz, 1 H), 7.50 (dd, J = 8.5, 1.3 Hz, 1 H), 3.85 (s, 3 H).

[0587]

[0588] 단계 2: 1-에틸 6-메틸 3-하이드록시-1H-인다졸-1,6-다이카복실레이트



[0589]

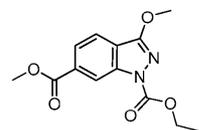
[0590] 메틸 3-하이드록시-1H-인다졸-6-카복실레이트(1.6 g, 8.3 mmol)를 피리딘(10 mL) 중에 현탁하였다. 에틸 클로로포르메이트(1.0 mL, 10 mmol)를 천천히 첨가하고 반응물을 실온에서 2 시간 동안 교반하였다. 반응물을 물(65 mL)에 붓고 냉장고에서 4 시간 동안 냉각하였다. 생성된 갈색 침전물을 여과로 수집하고, 물로 헹구고, 진공하에 건조하여 베이지색 고체로서 표제 화합물(1.35 g, 61 %)을 수득하였다.

+ESI (M+H) 265.0; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 8.80 (d,

J = 6.0 Hz, 1 H), 8.01 (dd, J = 8.2, 1.2 Hz, 1 H), 7.88 (d, J = 8.6 Hz, 1 H), 4.60 (q, J = 7.0 Hz, 2 H), 3.98 (s, 3 H), 1.57 (t, J = 7.1 Hz, 3 H).

[0591]

[0592] 단계 3: 1-에틸 6-메틸 3-메톡시-1H-인다졸-1,6-다이카복실레이트



[0593]

[0594] 1-에틸 6-메틸 3-하이드록시-1H-인다졸-1,6-다이카복실레이트(1.35 g, 5.11 mmol)를 아세톤(65 mL) 중에 현탁하였다. 탄산 세슘(1.75 g, 5.36 mmol) 및 메틸 요오다이드(1.0 mL, 15 mmol)를 첨가하고 반응물을 23 시간 동안 환류 가열하였다. 반응물을 농축하여 건조하였다. 잔사를 다이클로로메탄(100 mL) 및 물(100 mL) 중에 취하였다. 층을 분리하고 수성을 다이클로로메탄으로 다시 추출하였다. 합한 유기물을 황산 마그네슘 상에서 건조하고, 여과하고, 농축하였다. 플래시 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 2개의 위치 이성질체 생성물을 수득하였다.

[0595]

백색 고체로서 1-에틸 6-메틸 3-메톡시-1H-인다졸-1,6-다이카복실레이트(444 mg, 31 %).

¹H NMR (400

MHz, CDCl₃, δ): 8.78 (s, 1 H), 7.96 (dd, J = 8.2, 1.4 Hz, 1 H), 7.70 (dd, J = 8.2, 0.8 Hz, 1 H), 4.57 (q, J = 7.2 Hz, 2 H), 4.19 (s, 3 H), 3.96 (s, 3 H), 1.51 (t, J = 7.1 Hz, 3 H).

[0596]

[0597] 황색 고체로서 1-에틸 6-메틸 2-메틸-3-옥소-2,3-다이하이드로-1H-인다졸-1,6-다이카복실레이트(514 mg, 36 %).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 8.56 (s, 1 H), 8.00 (m, 1 H), 7.92 (d, J = 8.6 Hz, 1 H), 4.49 (q, J = 7.2 Hz, 2 H), 3.97 (s, 3 H), 3.69 (s, 3 H), 1.49 (t, J = 7.1 Hz, 3 H).

[0598]

[0599] 단계 4: 3-메톡시-1H-인다졸-6-카복실산

[0600]

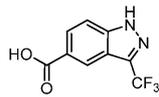
1-에틸 6-메틸 3-메톡시-1H-인다졸-1,6-다이카복실레이트(444 mg, 1.60 mmol)를 에탄올(5 mL) 중에 현탁하였다. 수산화 칼륨(16 mL, 16 mmol, 1 M)의 수용액을 첨가하고 반응물을 65 °C로 가열하고 1.5 시간 동

안 교반하였다. 반응물을 실온으로 냉각하고 농축하였다. 잔사를 물 중에 취하고 침전물이 형성될 때까지 용액을 1 N 수성 염산으로 산성화하였다. 고체를 여과로 수집하고, 물로 행구고, 진공하에 건조하여 황색 고체로서 표제 화합물(232 mg, 76 %)을 수득하였다.

+ESI (M+H) 193.2; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 12.22 (s, 1 H), 7.90 - 7.94 (m, 1 H), 7.64 (d, J = 8.4 Hz, 1 H), 7.53 (dd, J = 8.4, 1.4 Hz, 1 H), 3.99 (s, 3 H).

[0601]

중간체 29: 하기 나타낸 3-(트라이플루오로메틸)-1H-인다졸-5-카복실산을 다음과 같이 제조하였다:



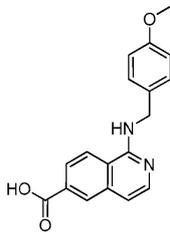
[0603]

5-브로모-3-(트라이플루오로메틸)-1H-인다졸을 사용하여 중간체 21의 단계 3 내지 4에 기재된 바와 유사한 방법으로 표제 화합물을 제조하였다. +ESI(M+H) 231.1.

[0604]

중간체 30: 하기 나타낸 1-(4-메톡시벤질아미노)이소퀴놀린-6-카복실산을 다음과 같이 제조하였다:

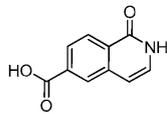
[0605]



[0606]

단계 1: 1-옥소-1,2-다이하이드로이소퀴놀린-6-카복실산

[0607]



[0608]

메탄올(300 mL) 중 6-브로모이소퀴놀린-1(2H)-온(30 g, 0.134 mol), 트라이에틸아민(17.6 g, 0.174 mol), 팔라듐(II) 클로라이드(0.24 g, 1.34 mmol) 및 2,2'-비스(다이페닐포스피노)-1,1'-바이나프틸(0.84 g, 1.34 mmol)의 혼합물을 2 MPa의 일산화탄소로 가압하였다. 반응물을 100 °C로 가열하고 12 시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 셀라이트를 통해 여과하고 농축하였다. 잔사를 물로 세척하고 고체를 진공하에 건조하여 황색 고체로서 조질 메틸 1-옥소-1,2-다이하이드로이소퀴놀린-6-카복실레이트(23.8 g, 95.2 %)를 수득하였다. 고체를 테트라하이드로푸란(200 mL) 및 물(200 mL)로 희석하였다. 이 혼합물에 수산화 리튬(16.8 g, 0.4 mol)을 첨가하고 반응물을 실온에서 4 시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 에틸 아세테이트로 3 회 세척하고 이들 세척액을 버렸다. 수층의 pH가 5가 되도록 4 N 수성 염산으로 산성화하였다. 생성된 침전물을 여과로 수집하고 진공하에 건조하여 황색 고체로서 표제 화합물(11.3 g, 49 %)을 수득하였다.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 11.48 (s, 1 H), 8.24 (d, 2 H), 7.93 (d, 1 H), 7.22 (d, 1 H), 6.68 (d, 1 H).

[0610]

단계 2: 1-(4-메톡시벤질아미노)이소퀴놀린-6-카복실산

[0611]

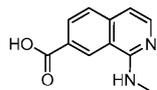
1-옥소-1,2-다이하이드로이소퀴놀린-6-카복실산을 사용하여 중간체 27의 단계 2 내지 5에 기재된 바와 유사한 방법으로 표제 화합물을 제조하였다.

[0612]

+ESI (M+H) 309.2; ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD, δ): 8.37 (d, J = 1.56 Hz, 1 H), 8.34 (d, J = 8.78 Hz, 1 H), 8.12 (dd, J = 8.68, 1.66 Hz, 1 H), 7.67 (d, J = 6.44 Hz, 1 H), 7.29 - 7.36 (m, 2 H), 7.15 (d, J = 6.24 Hz, 1 H), 6.86 - 6.93 (m, 2 H), 4.73 (s, 2 H), 3.76 (s, 3 H).

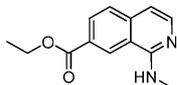
[0613]

[0614] **중간체 31:** 하기 나타낸 1-(메틸아미노)이소퀴놀린-7-카복실산을 다음과 같이 제조하였다:



[0615]

[0616] 단계 1: 에틸 1-(메틸아미노)이소퀴놀린-7-카복실레이트



[0617]

[0618] 테트라하이드로푸란(30 mL, 60 mmol, 2 M) 중 메틸아민의 용액을 밀폐된 튜브에서 에틸 1-클로로이소퀴놀린-7-카복실레이트(중간체 27의 단계 3에서 형성됨)(705 mg, 2.99 mmol)에 첨가하였다. 반응물을 60 °C로 가열하고 밤새 교반하였다. LCMS는 반응이 완료되지 않았음을 나타내었다. 추가 메틸아민(10 mL, 20 mmol, THF 중 2 M)을 첨가하고 반응물을 60 °C로 추가 18 시간 동안 가열하였다. 반응물을 실온으로 냉각하고 농축하였다. 잔사를 물과 다이클로로메탄 사이에 배분하였다. 유기층을 황산 마그네슘 상에서 건조하고, 여과하고, 농축하였다. 플래시 컬럼 크로마토그래피(25 내지 65 % 에틸 아세테이트/헥산)로 정제하여 황색 오일로서 표제 화합물(584 mg, 85 %)을 수득하고, 이는 방치시 고체화되었다.

. +ESI (M+H) 231.1; ¹H

NMR (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 8.83 - 8.94 (m, 1 H), 8.07 (dd, J = 8.58, 1.56 Hz, 1 H), 7.99 (d, J = 5.85 Hz, 1 H), 7.89 (d, J = 4.49 Hz, 1 H), 7.77 (d, J = 8.58 Hz, 1 H), 6.92 (d, J = 5.07 Hz, 1 H), 4.38 (q, J = 7.02 Hz, 2 H), 2.97 (d, J = 4.49 Hz, 3 H), 1.38 (t, J = 7.12 Hz, 3 H).

[0619]

[0620] 단계 2: 1-(메틸아미노)이소퀴놀린-7-카복실산

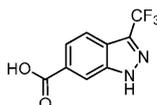
[0621] 에틸 1-(메틸아미노)이소퀴놀린-7-카복실레이트를 사용하여 중간체 19의 단계 3에서 기재된 바와 유사한 방법으로 표제 화합물을 제조하였다.

+ESI (M+H) 203.1; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆,

δ): 13.03 (br. s., 1 H), 8.87 (s, 1 H), 8.06 (dd, J = 8.51, 1.47 Hz, 1 H), 7.97 (d, J = 5.67 Hz, 1 H), 7.85 (d, J = 4.50 Hz, 1 H), 7.75 (d, J = 8.41 Hz, 1 H), 6.91 (d, J = 5.87 Hz, 1 H), 2.95 (d, J = 4.50 Hz, 3 H).

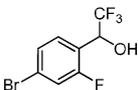
[0622]

[0623] **중간체 32:** 하기 나타낸 3-(트라이플루오로메틸)-1H-인다졸-6-카복실산을 다음과 같이 제조하였다:



[0624]

[0625] 단계 1: 1-(4-브로모-2-플루오로페닐)-2,2-트라이플루오로에탄올



[0626]

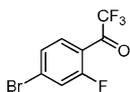
[0627] 테트라하이드로푸란(50 mL) 중 4-브로모-2-플루오로벤즈알데하이드(1.00 g, 4.93 mmol)의 0 °C 용액에 트라이메틸실릴 트라이플루오로메탄(0.77 mL, 4.9 mmol)을 5 분간에 걸쳐서 적가하였다. 반응물을 0 °C에서 10 분 동안 교반하였다. 이어서, 테트라부틸암모늄 플루오라이드(0.49 mL, 0.49 mmol, 테트라하이드로푸란 중 1 M)를 천천히 첨가하고 반응물을 점진적으로 실온으로 가온시키고 3 일 동안 교반하였다. 반응물을 농축하고 잔사를 다이클로로메탄 중에 취하였다. 용액을 1 N 수성 염산으로 1 회 및 염수로 1 회 세척하였다. 유기물을 황산 마그네슘 상에서 건조하고, 여과하고, 농축하였다. 컬럼 크로마토그래피(0 내지 50 % 에틸 아세테이트/헥산)로 정제하여 투명 오일로서 표제 화합물(1.0 g, 75 %)을 수득하였다.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 7.48 (d, J =

7.61 Hz, 1 H), 7.39 (d, J = 1.76 Hz, 1 H), 7.29 (dd, J = 9.56, 1.95 Hz, 1 H), 5.33 - 5.40 (m, 1 H), 2.70 (d, J = 5.46 Hz, 1 H).

[0628]

[0629] 단계 2: 1-(4-브로모-2-플루오로페닐)-2,2,2-트라이플루오로에탄올

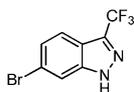


[0630]

[0631] 에틸 아세테이트(30 mL) 중 1-(4-브로모-2-플루오로페닐)-2,2,2-트라이플루오로에탄올(1.09 g, 3.99 mmol)의 용액에 2-요오독시벤조산(2.28 g, 7.97 mmol)을 첨가하였다. 반응물을 밤새 환류 가열하였다. 반응물을 실온으로 냉각하고 헵탄(30 mL)으로 희석하였다. 혼합물을 셀라이트를 통해 여과하고 여액을 농축하여 연황색 오일로서 표제 화합물(1.03 g, 95 %)을 수득하였다.

[0632] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 7.44 (dd, J = 10.15, 1.56 Hz, 1 H), 7.48 (m, 1 H), 7.76 (m, 1 H).

[0633] 단계 3: 6-브로모-3-(트라이플루오로메틸)-1H-인다졸



[0634]

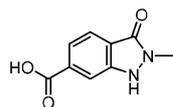
[0635] 하이드라진 수화물(3.5 mL, 45 mmol) 1-부탄올(15 mL) 중 1-(4-브로모-2-플루오로페닐)-2,2,2-트라이플루오로에탄올(1.00 g, 3.69 mmol)의 용액에 첨가하였다. 반응물을 5 시간 동안 환류 가열한 후, 실온으로 냉각하고 밤새 교반하면서 방치하였다. 반응물을 물(50 mL)로 희석하고 에틸 아세테이트로 3 회 추출하였다. 합한 유기물을 염수로 세척하고, 황산 마그네슘 상에서 건조하고, 여과하고, 농축하였다. 플래시 컬럼 크로마토그래피(0 내지 50 % 에틸 아세테이트/헵탄)로 정제하여 회백색 고체로서 표제 화합물(310 mg, 32 %)을 수득하였다.

[0636] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 7.42 (dd, J = 8.58, 1.56 Hz, 1 H), 7.72 (d, J = 8.58 Hz, 1 H), 7.75 (dd, J = 1.56, 0.78 Hz, 1 H).

[0637] 단계 4: 3-(트라이플루오로메틸)-1H-인다졸-6-카복실산

[0638] 6-브로모-3-(트라이플루오로메틸)-1H-인다졸을 사용하여 중간체 21의 단계 3 내지 4에 기재된 바와 유사한 방법으로 표제 화합물을 제조하였다. -ESI(M-H) 229.1.

[0639] **중간체 33:** 하기 나타낸 2-메틸-3-옥소-2,3-다이하이드로-1H-인다졸-6-카복실산을 다음과 같이 제조하였다:

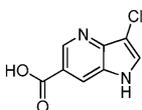


[0640]

[0641] 에탄올(6 mL) 중 1-에틸 6-메틸 2-메틸-3-옥소-2,3-다이하이드로-1H-인다졸-1,6-다이카복실레이트(중간체 28의 단계 3에서 형성됨)(514 mg, 1.85 mmol)의 현탁액에 1 N 수성 수산화 칼륨(18.5 mL, 18.5 mmol)을 첨가하였다. 반응물을 65 °C로 1.5 시간 동안 가열하였다. 반응물을 실온으로 냉각하고 농축하여 건조하였다. 잔사를 불중에 취하고 침전물이 형성될 때까지 1 N 수성 염산으로 산성화하였다. 고체를 여과로 수집하고 진공하에 건조하여 갈색 고체로서 표제 화합물(196 mg, 55 %)을 수득하였다.

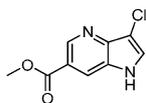
[0642] ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 13.12 (br. s., 1 H), 10.61 (br. s., 1 H), 7.76 (s, 1 H), 7.70 (d, J = 8.2 Hz, 1 H), 7.60 (dd, J = 8.2, 1.2 Hz, 1 H), 3.38 (s, 3 H).

[0643] **중간체 34:** 하기 나타낸 3-클로로-1H-피롤로[3,2-b]피리딘-6-카복실산을 다음과 같이 제조하였다:



[0644]

[0645] 단계 1: 메틸 3-클로로-1H-피롤로[3,2-b]피리딘-6-카복실레이트



[0646]

[0647] N,N-다이메틸포름아미드(15 mL) 중 메틸 1H-피롤로[3,2-b]피리딘-6-카복실레이트(1.00 g, 5.68 mmol)의 0 °C 용액에 N-클로로석신이미드(895 mg, 5.96 mmol)를 첨가하였다. 반응물을 실온으로 점진적으로 가온시키고 밤새 교반하였다. 반응물을 (125 mL)로 희석하고 20 분 동안 교반하였다. 생성된 고체를 여과로 수집하고, 물로 세척하고, 진공하에 건조하여 주황색 분말로서 표제 화합물(1.11 g, 93 %)을 수득하였다.

+ESI (M+H) 211.0; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 11.99 (br. s., 1 H), 8.92 (d, J = 2.0 Hz, 1 H), 8.31 (d, J = 1.8 Hz, 1 H), 8.08 (d, J = 3.1 Hz, 1 H), 3.88 (s, 3 H).

[0648]

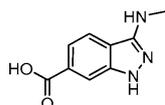
[0649] 단계 2: 3-클로로-1H-피롤로[3,2-b]피리딘-6-카복실산

[0650] 메틸 3-클로로-1H-피롤로[3,2-b]피리딘-6-카복실레이트(1.10 g, 5.22 mmol)를 1,4-다이옥산(25 mL) 중에 현탁하고 6 N 수성 염산(8.7 mL)을 첨가하였다. 반응물을 실온에서 밤새 교반하였다. 이어서, 반응물을 농축하고 표제 화합물(1.2 g, 100 %)을 수득하였다.

+ESI (M+H) 197.1; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 12.50 (br. s., 1 H), 8.92 (d, J = 1.6 Hz, 1 H), 8.46 (br. s., 1 H), 8.19 (br. s., 1 H).

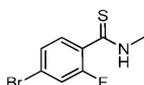
[0651]

[0652] **중간체 35:** 하기 나타낸 3-(메틸아미노)-1H-인다졸-6-카복실산을 다음과 같이 제조하였다:



[0653]

[0654] 단계 1: 4-브로모-2-플루오로-N-메틸벤조티오아마이드



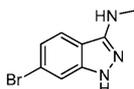
[0655]

[0656] 톨루엔(10 mL) 중 4-브로모-2-플루오로-N-메틸벤조티오아마이드(500 mg, 2 mmol) 및 로손(Lawesson) 시약(872 mg, 2.16 mmol)의 혼합물을 100 °C로 가열하고 4 시간 동안 교반하였다. 반응물을 실온으로 냉각하고, 톨루엔으로 희석하고, 여과하였다. 여액을 농축하고 잔사를 플래시 컬럼 크로마토그래피(0 내지 20 % 에틸 아세테이트/헵탄)로 정제하여 황색 고체로서 표제 화합물(520 mg, 97 %)을 수득하였다.

+ESI (M+H+1) 250.1; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 8.09 (t, J = 8.58 Hz, 1 H), 8.03 (br. s., 1 H), 7.35 (dd, J = 8.19, 2.15 Hz, 1 H), 7.27 (dd, J = 11.41, 1.85 Hz, 1 H), 3.36 (dd, J = 4.88, 0.78 Hz, 3 H).

[0657]

[0658] 단계 2: 6-브로모-N-메틸-1H-인다졸-3-아민



[0659]

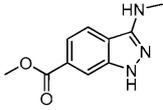
[0660] 무수 하이드라진(0.25 mL, 8.1 mmol)을 다이메틸설포사이드(2.5 mL) 중 4-브로모-2-플루오로-N-메틸벤조티오아마이드(200 mg, 0.8 mmol)의 용액에 첨가하였다. 반응물을 100 °C로 가열하고 2 시간 동안 교반하였다. 반응물을 실온으로 냉각하고 에틸 아세테이트 및 물로 희석하였다. 층을 분리하고 수성을 에틸 아세테이트로 3 회 추출하였다. 합한 유기물을 포화된 수성 탄산 나트륨 및 염수로 세척하고, 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고, 농축하였다. 플래시 컬럼 크로마토그래피(20 내지 100 % 에틸 아세테이트/헵탄)로 정제하여 백색 고체로서 표제 화합물(98 mg, 54 %)을 수득하였다.

[0661]

+ESI (M+H+1) 228.0; ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD, δ): 7.52 (d, J = 8.58 Hz, 1 H), 7.43 (s, 1 H), 7.04 (d, J = 8.39 Hz, 1 H), 2.94 (s, 3 H).

[0662]

단계 3: 메틸 3-(메틸아미노)-1H-인다졸-6-카복실레이트



[0663]

6-브로모-N-메틸-1H-인다졸-3-아민을 사용하여 중간체 12의 단계 2에 기재된 바와 유사한 방법으로 표제 화합물을 제조하였다.

[0664]

+ESI (M+H) 206.2; ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD, δ): 7.95 (t, J = 1.17 Hz, 1 H), 7.67 (dd, J = 8.39, 0.78 Hz, 1 H), 7.55 (dd, J = 8.49, 1.27 Hz, 1 H), 3.90 (s, 3 H), 2.96 (s, 3 H).

[0665]

단계 4: 3-(메틸아미노)-1H-인다졸-6-카복실산

[0666]

1,4-다이옥산(0.2 mL) 중 메틸 3-(메틸아미노)-1H-인다졸-6-카복실레이트(30.0 mg, 0.15 mmol)의 용액에 3 N 수성 염산(0.2 mL, 0.6 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 100 °C로 2 시간 동안 가열하였다. 반응물을 농축하고 진공하에 건조하여 황갈색 고체로서 표제 화합물(33 mg, 99 %)을 수득하였다.

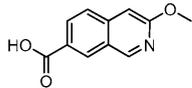
[0667]

+ESI (M+H) 192.1; ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD, δ): 8.09 (s, 1 H), 7.98 (dd, J = 8.58, 0.78 Hz, 1 H), 7.85 (dd, J = 8.58, 1.37 Hz, 1 H), 3.12 (s, 3 H).

[0668]

중간체 36: 하기 나타낸 3-메톡시이소퀴놀린-7-카복실산을 다음과 같이 제조하였다:

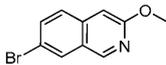
[0669]



[0670]

단계 1: 7-브로모-3-메톡시이소퀴놀린

[0671]



[0672]

다이클림(1 mL) 중 7-브로모-3-클로로이소퀴놀린(100 mg, 0.4 mmol) 및 나트륨 메톡사이드(113 mg, 2.1 mmol)의 혼합물을 150 °C로 1 시간 동안 가열하였다. 반응물을 실온으로 냉각하고 톨루엔 및 물로 희석하였다. 층을 분리하고 수층을 톨루엔으로 3 회 추출하였다. 합한 유기물을 물 및 염수로 세척하고, 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고, 오일로 농축하였다. 상기 오일을 진공하에 밤새 건조하여 황색 고체로서 표제 화합물(83 mg, 85 %)을 수득하였다.

[0673]

+ESI (M+H+1) 240.1; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 8.87 (s, 1 H), 8.01 - 8.05 (m, 1 H), 7.58 - 7.64 (m, 1 H), 7.53 - 7.58 (m, 1 H), 6.97 (s, 1 H), 4.02 (s, 3 H).

[0674]

단계 2: 3-메톡시이소퀴놀린-7-카복실산

[0675]

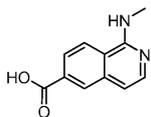
7-브로모-3-메톡시이소퀴놀린을 사용하여 중간체 21의 단계 3 내지 4에 기재된 바와 유사한 방법으로 표제 화합물을 제조하였다.

[0676]

+ESI (M+H) 204.2; ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD, δ): 9.08 (s, 1 H), 8.71 (s, 1 H), 8.14 (dd, J = 8.78, 1.56 Hz, 1 H), 7.83 (d, J = 8.78 Hz, 1 H), 7.17 (s, 1 H), 4.02 (s, 3 H).

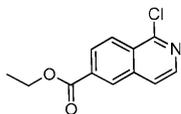
[0677]

[0678] **중간체 37:** 하기 나타낸 1-(메틸아미노)이소퀴놀린-6-카복실산을 다음과 같이 제조하였다:



[0679]

[0680] 단계 1: 에틸 1-클로로이소퀴놀린-6-카복실레이트



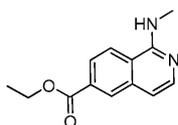
[0681]

[0682] 6-브로모이소퀴놀린-1(2H)-온을 사용하여 중간체 27의 단계 1 내지 3에 기재된 바와 유사한 방법으로 표제 화합물을 제조하였다.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 8.56 (d, J = 1.6 Hz, 1 H), 8.38 (d, J = 8.8 Hz, 1 H), 8.34 (d, J = 5.7 Hz, 1 H), 8.25 (dd, J = 8.8, 1.6 Hz, 1 H), 7.70 (d, J = 6.0 Hz, 1 H), 4.47 (q, J = 7.0 Hz, 2 H), 1.45 (t, J = 7.1 Hz, 3 H).

[0683]

[0684] 단계 2: 에틸 1-(메틸아미노)이소퀴놀린-6-카복실레이트



[0685]

[0686] 에틸 1-클로로이소퀴놀린-6-카복실레이트를 사용하여 중간체 31의 단계 1에 기재된 바와 유사한 방법으로 표제 화합물을 제조하였다.

+ESI (M+H) 231.1; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 8.39 (s, 1 H), 8.06 - 8.14 (m, 2 H), 8.00 (d, J = 5.9 Hz, 1 H), 7.02 (d, J = 6.0 Hz, 1 H), 4.44 (q, J = 7.3 Hz, 2 H), 3.25 (d, J = 4.7 Hz, 3 H), 1.43 (t, J = 7.1 Hz, 3 H).

[0687]

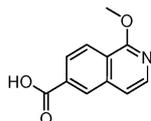
[0688] 단계 3: 1-(메틸아미노)이소퀴놀린-6-카복실산

[0689] 에탄올(2.5 mL) 중 에틸 1-(메틸아미노)이소퀴놀린-6-카복실레이트(150 mg, 0.65 mmol)의 현탁액에 1 N 수성 수산화 칼륨(6.5 mL, 6.5 mmol)을 첨가하였다. 반응물을 65 °C로 1.5 시간 동안 가열하였다. 반응물을 실온으로 냉각하고 농축하여 건조하였다. 고체를 물 중에 용해하고 용액을 1 N HCl로 산성화하였다. 혼합물을 농축하였다. 고체를 물(50 mL) 중에 용해하고 2-부탄올(50 mL)로 2 회 추출하였다. 합한 유기물을 염수(20 mL)로 세척하고, 황산 마그네슘 상에서 건조하고, 여과하고, 농축하여 백색 고체로서 표제 화합물(95 mg, 72 %)을 수득하였다.

+ESI (M+H) 203.2; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 13.07 (br.s., 1 H), 10.25 (d, J = 4.9 Hz, 1 H), 8.74 (d, J = 8.8 Hz, 1 H), 8.51 (s, 1 H), 8.15 (dd, J = 8.6, 1.8 Hz, 1 H), 7.67 (d, J = 6.8 Hz, 1 H), 7.35 (d, J = 7.0 Hz, 1 H), 3.15 (d, J = 4.7 Hz, 3 H).

[0690]

[0691] **중간체 38:** 1-메톡시이소퀴놀린-6-카복실산



[0692]

[0693] 교반하면서 나트륨 금속(870 mg, 37 mmol)을 메탄올(25 mL)에 천천히 첨가하여 나트륨 메톡사이드의 용액을 제조하였다. 모든 나트륨 금속을 반응시킨 후, 이 용액을 에틸 1-클로로이소퀴놀린-6-카복실레이트(440 mg, 1.9 mmol)에 첨가하였다. 생성된 현탁액을 환류 가열하고 3 일 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 실온으로 냉각하고 농축하였다. 잔사를 물과 에틸 아세테이트 사이에 배분하였다. 층을 분리하고 침전물이 형성될 때까지 수층을 1 N 수성 염산으로 산성화하였다. 고체를 여과로 수집하고 진공하에 건조하여 백색 고체로서 표제 화합물

(294 mg, 78 %)을 수득하였다.

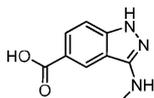
¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, δ):

8.50 (d, J = 1.2 Hz, 1 H), 8.23 (d, J = 8.8 Hz, 1 H), 8.02 - 8.10 (m, 2 H), 7.54 (d, J = 6.0 Hz, 1 H), 4.05 (s, 3 H).

[0694]

[0695]

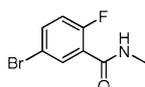
중간체 39: 하기 나타낸 3-(메틸아미노)-1H-인다졸-5-카복실산을 다음과 같이 제조하였다:



[0696]

[0697]

단계 1: 5-브로모-2-플루오로-N-메틸벤즈아마이드



[0698]

[0699]

다이클로로메탄(5 mL) 중 5-브로모-2-플루오로벤조산(200 mg, 0.91 mmol)의 혼합물에 옥살릴 클로라이드(0.16 mL, 1.8 mmol)를 첨가한 후, 1 방울의 N,N-다이메틸포름아미드를 첨가하였다. 반응물을 실온에서 1.5 시간 동안 교반하였다. 반응물을 농축하고 생성된 잔사를 다이클로로메탄(3 mL) 중에 용해하고 0 °C로 냉각하였다. 메틸아민(2.3 mL, 5 mmol, 테트라하이드로푸란 중 2 M)을 첨가하고 반응물을 0 °C에서 30 분 동안 교반하였다. 반응물을 물로 급랭하고 혼합물을 농축하였다. 잔사를 물로 희석하고 생성된 고체를 여과하고, 물로 헹구고, 진공하에 건조하여 백색 고체로서 표제 화합물(196.6 mg, 93 %)을 수득하였다.

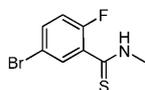
+ESI (M+H+1) 234.1; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 8.22 (dd, J = 6.83, 2.73 Hz, 1 H), 7.55

(ddd, J = 8.68, 4.49, 2.63 Hz, 1 H), 7.00 (dd, J = 11.32, 8.58 Hz, 1 H), 6.67 (br. s., 1 H), 3.02 (dd, J = 4.88, 1.17 Hz, 3 H).

[0700]

[0701]

단계 2: 5-브로모-2-플루오로-N-메틸벤조티오아마이드



[0702]

[0703]

톨루엔(10 mL) 중 5-브로모-2-플루오로-N-메틸벤즈아마이드(500 mg, 2 mmol) 및 로손 시약(872 mg, 2.16 mmol)의 혼합물을 100 °C로 가열하고 3.5 시간 동안 교반하였다. 반응물을 실온으로 냉각하고, 톨루엔으로 희석하고, 여과하였다. 여액을 농축하고 플래시 컬럼 크로마토그래피(0 내지 20 % 에틸 아세테이트/헵탄)로 정제하여 황색 오일로서 표제 화합물(494 mg, 92 %)을 수득하고, 이는 방치시 고체화되었다.

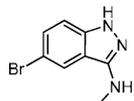
+ESI (M+H+1) 250.1; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 8.20 (dd, J =

6.93, 2.63 Hz, 1 H), 8.06 (br.s., 1 H), 7.47 (ddd, J = 8.73, 4.44, 2.63 Hz, 1 H), 6.95 (dd, J = 11.12, 8.78 Hz, 1 H), 3.32 (dd, J = 4.88, 0.78 Hz, 3 H).

[0704]

[0705]

단계 3: 5-브로모-N-메틸-1H-인다졸-3-아민



[0706]

[0707]

다이메틸설폭사이드(6 mL) 중 5-브로모-2-플루오로-N-메틸벤조티오아마이드(480 mg, 1.9 mmol) 및 무수 하이드라진(0.61 mL, 19 mmol)의 혼합물을 80 °C로 가열하고 1 시간 동안 교반하였다. 온도를 100 °C로 올리고 반응물을 40 분 동안 교반하였다. 온도를 추가로 130 °C로 올리고 반응물을 추가로 45 분 동안 교반하였다. 반응물을 실온으로 냉각하고 에틸 아세테이트 및 염수로 희석하였다. 층을 분리하고 수성을 에틸 아세테이트로 4 회 추출하였다. 합한 유기물을 물 및 염수로 세척하고, 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고, 농축하였다. 플래시 컬럼 크로마토그래피(20 내지 70 % 에틸 아세테이트/헵탄)로 정제하여 백색 고체로서 표제 화합물(103 mg, 23 %)을 수득하였다.

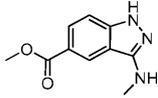
[0708]

+ESI (M+H+1) 228.0; ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD, δ): 7.78 (dd, *J* = 1.85, 0.68 Hz, 1 H), 7.29 - 7.40 (m, 1 H), 7.17 (dd, *J* = 8.88, 0.68 Hz, 1 H), 2.94 (s, 3 H).

[0709]

단계 4: 메틸 3-(메틸아미노)-1H-인다졸-5-카복실레이트

[0710]



[0711]

5-브로모-N-메틸-1H-인다졸-3-아민을 사용하여 중간체 21의 단계 3에 기재된 바와 유사한 방법으로 표제 화합물을 제조하였다.

[0712]

+ESI (M+H) 206.2; ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD, δ): 8.44 (dd, *J* = 1.56, 0.78 Hz, 1 H), 7.92 (dd, *J* = 8.78, 1.56 Hz, 1 H), 7.26 (dd, *J* = 8.78, 0.78 Hz, 1 H), 3.88 (s, 3 H), 2.96 (s, 3 H).

[0713]

단계 5: 3-(메틸아미노)-1H-인다졸-5-카복실산

[0714]

메틸 3-(메틸아미노)-1H-인다졸-5-카복실레이트(60.0 mg, 0.29 mmol)를 1,4-다이옥산(0.5 mL) 중에 용해하였다. 3 N 수성 염산(0.3 mL, 0.9 mmol)을 첨가하고 반응물을 100 °C로 11.5 시간 동안 가열하였다. 가열을 중단하고 반응물을 실온에서 밤새 교반하여 방치하였다. 반응물을 농축하여 황갈색 고체로서 표제 화합물(63 mg, 95 %)을 수득하였다.

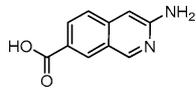
[0715]

+ESI (M+H) 192.1; ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD, δ): 8.61 (d, *J* = 0.78 Hz, 1 H), 8.19 (dd, *J* = 8.80, 1.57 Hz, 1 H), 7.38 (d, *J* = 8.80 Hz, 1 H), 3.02 (s, 3 H).

[0716]

중간체 40: 하기 나타난 3-아미노이소퀴놀린-7-카복실산을 다음과 같이 제조하였다:

[0717]



[0718]

7-브로모이소퀴놀린-3-아민을 사용하여 중간체 21의 단계 3 내지 4에 기재된 바와 유사한 방법으로 표제 화합물을 제조하였다.

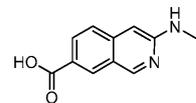
[0719]

+ESI (M+H) 189.2; ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD, δ): 8.87 (s, 1 H), 8.52 (d, *J* = 0.78 Hz, 1 H), 7.98 (dd, *J* = 8.78, 1.76 Hz, 1 H), 7.54 (d, *J* = 8.78 Hz, 1 H), 6.77 (s, 1 H).

[0720]

중간체 41: 하기 나타난 3-(메틸아미노)이소퀴놀린-7-카복실산을 다음과 같이 제조하였다:

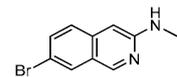
[0721]



[0722]

단계 1: 7-브로모-N-메틸이소퀴놀린-3-아민

[0723]



[0724]

1-메톡시-2-(2-메톡시에톡시)에탄(1 mL) 중 7-브로모-3-클로로이소퀴놀린(100 mg, 0.4 mmol), 메틸아민 하이드로클로라이드(139 mg, 2.06 mmol) 및 탄산 칼륨(456 mg, 3.30 mmol)의 혼합물을 150 °C로 가열하고 60 시간 동안 교반하였다. 추가 메틸아민 하이드로클로라이드(100 mg, 1.5 mmol) 및 탄산 칼륨(200 mg, 1.4 mmol)을 첨가하고 추가 40 시간 동안 가열을 계속하였다. 반응물을 실온으로 냉각하고 물로 희석하였다. 혼합물을 30 분 동안 교반하였다. 생성된 고체를 여과 제거하고, 물로 행구고 진공하에 건조하였다. 플래시 컬럼 크로마토그래피(10 내지 30 % 에틸 아세테이트/헵탄)로 정제하여 연황색 고체로서 표제 화합물(82 mg)을 수득하였다.

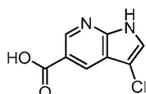
-APCI (M+H⁺) 237.8; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 8.70 (s, 1 H), 7.84 (d, J = 1.95 Hz, 1 H), 7.48 (dd, J = 8.97, 2.15 Hz, 1 H), 7.38 (d, J = 8.97 Hz, 1 H), 6.39 (s, 1 H), 2.92 (s, 3 H).

단계 2: 3-(메틸아미노)이소퀴놀린-7-카복실산

7-브로모-N-메틸이소퀴놀린-3-아민을 사용하여 중간체 21의 단계 3 내지 4에 기재된 바와 유사한 방법으로 표제 화합물을 제조하였다.

+ESI (M+H) 203.1; ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD, δ): 8.87 (s, 1 H), 8.51 (s, 1 H), 7.98 (dd, J = 8.88, 1.66 Hz, 1 H), 7.58 (d, J = 8.78 Hz, 1 H), 6.60 (s, 1 H), 2.93 (s, 3 H).

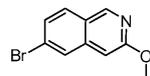
중간체 42: 하기 나타낸 3-클로로-1H-피롤로[2,3-b]피리딘-5-카복실산을 다음과 같이 제조하였다:



N,N-다이메틸포름아미드(5 mL) 중 1H-피롤로[2,3-b]피리딘-5-카복실산(250 mg, 1.5 mmol)의 현탁액을 40 °C로 가온하였다. N-클로로석신이미드(243 mg, 1.62 mmol)를 첨가하고 혼합물을 55 °C에서 5 시간 동안 교반하였다. 반응물을 실온으로 냉각하고 2 일 동안 교반하며 방치하였다. 혼합물을 물(20 mL)로 희석하고 밤새 교반하였다. 생성된 고체를 여과로 수집하고 건조하여 표제 화합물(161 mg, 55 %)을 수득하였다.

+ESI (M+H) 197.1; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 13.08 (br. s., 1 H), 12.39 (br. s., 1 H), 8.86 (d, J = 1.8 Hz, 1 H), 8.40 (d, J = 1.2 Hz, 1 H), 7.84 (d, J = 2.5 Hz, 1 H).

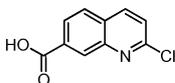
중간체 43: 하기 나타낸 6-브로모-3-메톡시이소퀴놀린을 다음과 같이 제조하였다:



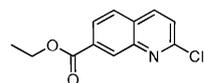
6-브로모이소퀴놀린-3-올(606 mg, 2.70 mmol), 탄산염 은(1.5 g, 5.3 mmol) 및 N,N-다이메틸포름아미드(12 mL)의 혼합물을 실온에서 16 분 동안 교반하였다. 메틸 요오다이드(186 μL, 2.97 mmol)를 첨가하고 반응물을 18 시간 동안 교반하며 방치하였다. 반응물을 메탄올로 희석하고 셀라이트를 통해 여과하였다. 여액을 농축하고 플래시 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 표제 화합물(90 mg, 14 %)을 수득하였다.

+ESI (M+H⁺) 240.0; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 8.91 (s, 1 H), 7.86 (d, J = 1.8 Hz, 1 H), 7.73 (d, J = 8.8 Hz, 1 H), 7.43 (dd, J = 8.8, 1.8 Hz, 1 H), 6.90 (s, 1 H), 4.02 (s, 3 H).

중간체 44: 하기 나타낸 2-클로로퀴놀린-7-카복실산을 다음과 같이 제조하였다:



단계 1: 에틸 2-클로로퀴놀린-7-카복실레이트



인 옥시클로라이드(1.94 mL, 20.7 mmol)를 다이클로로메탄(15 mL) 중 7-(에톡시카보닐)퀴놀린 1-옥사이드(450 mg, 2.07 mmol)의 용액에 첨가하였다. 반응물을 50 °C로 3 시간 동안 가열하였다. 이어서, 반응물을 실온으로 냉각하고 교반하면서 물(200 mL)에 천천히 부었다. 혼합물을 1 시간 동안 교반한 후 1 N 수성 수산화 칼륨으로 중화하였다. 혼합물을 다이클로로메탄으로 3 회 추출하였다. 추출물을 염수로 세척하고, 황산 마그네슘 상에서 건조하고, 여과하고, 농축하였다. 컬럼 크로마토그래피(0 내지 20 % 에틸 아세테이트/헵탄)로 정제하여 백색 고체로서 표제 화합물(254 mg, 52 %)을 수득하였다.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 8.70 - 8.79 (m, 1 H), 8.13 - 8.18 (m, 2 H), 7.87 (d, J = 8.39 Hz, 1 H), 7.47 (d, J = 8.58 Hz, 1 H), 4.44 (q, J = 7.02 Hz, 2 H), 1.43 (t, J = 7.12 Hz, 3 H).

[0742]

단계 2: 2-클로로퀴놀린-7-카복실산

[0743]

테트라하이드로푸란(10 mL) 중 에틸 2-클로로퀴놀린-7-카복실레이트(800 mg, 3.4 mmol)의 용액에 1 N 수성 수산화 리튬(7 mL, 7 mmol)을 첨가하였다. 반응물을 실온에서 밤새 교반하였다. 반응물을 농축하고 잔사를 물로 희석하고 1 N 수성 염산으로 산성화하였다. 생성된 침전물을 여과로 수집하고 진공하에 건조하여 백색 분말로서 표제 화합물(648 mg, 92 %)을 수득하였다.

[0744]

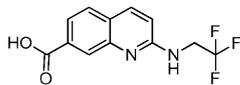
+ESI (M+H) 208.1; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆,

δ): 13.43 (s, 1 H), 8.53 (d, J = 8.7 Hz, 1 H), 8.44 - 8.45 (m, 1 H), 8.14 (d, J = 8.4 Hz, 1 H), 8.07 - 8.11 (m, 1 H), 7.70 (d, J = 8.5 Hz, 1 H).

[0745]

중간체 44: 하기 나타낸 2-((2,2,2-트라이플루오로에틸)아미노)퀴놀린-7-카복실산을 다음과 같이 제조하였다:

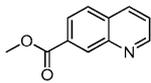
[0746]



[0747]

단계 1: 메틸 퀴놀린-7-카복실레이트

[0748]



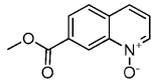
[0749]

출발 물질로서 7-브로모퀴놀린을 사용하여 중간체 21의 단계 3에 기재된 바와 유사한 방법으로 표제 화합물을 수득하였다.

[0750]

단계 2: 하기 나타낸 7-(메톡시카보닐)퀴놀린 1-옥사이드를 다음과 같이 제조하였다:

[0751]



[0752]

다이클로로메탄(315 mL) 중 메틸 퀴놀린-7-카복실레이트(17.8 g, 94.87 mmol)의 용액에 피아세트산(39.9 mL, 190 mmol, 아세트산 중 32 %)을 첨가하였다. 반응물을 실온에서 밤새 교반하였다. 피아세트산(10 mL, 48 mmol, 아세트산 중 32 %)을 첨가하고 혼합물을 5 시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 수성 중탄산 나트륨의 포화된 용액으로 희석하였다. 수상을 다이클로로메탄(2 x 1 L)으로 추출하였다. 추출물을 합하고, 황산 마그네슘 상에서 건조하고, 여과하고 감압하에 농축하였다. 플래시 크로마토그래피(다이클로로메탄 중 2 내지 15 % 메탄올)로 정제하여 황색 고체로서 표제 화합물(17.4g, 90 %)을 수득하였다.

[0753]

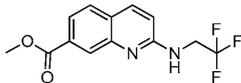
¹H NMR (400

MHz, 클로로포름 -d, δ): 9.41 (1 H, s), 8.56 (1 H, dd, J=6.0, 0.8 Hz), 8.24 (1 H, dd, J=8.5, 1.7 Hz), 7.93 (1 H, d, J=8.6 Hz), 7.75 (1 H, d, J=8.6 Hz), 7.39 (1 H, dd, J=8.6, 6.0 Hz), 4.01 (3 H, s)

[0754]

단계 3: 하기 나타낸 메틸 2-((2,2,2-트라이플루오로에틸)아미노)퀴놀린-7-카복실레이트를 다음과 같이 제조하였다:

[0755]



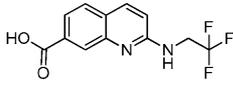
[0756]

0 °C에서 7-(메톡시카보닐)퀴놀린 1-옥사이드(200 mg, 0.984 mmol) 및 2,2,2-트라이플루오로에틸아민(292 mg, 0.295 mmol)의 용액에 4-메틸벤젠설포산 무수물(964 mg, 2.95 mmol)을 나누어 45 분간에 걸쳐서 첨가하였다. 반응물을 실온 이하로 가온시키고 밤새 교반하였다. 반응물을 다이클로로메탄으로 희석하고 염화 암모늄의 포화된 용액으로 세척하였다. 수층을 다이클로로메탄으로 1 회 추출하였다. 유기물을 합하고 염수로 세척하고, 황산 마그네슘 상에서 건조하고, 여과하고 감압하에 농축하였다. 플래시 크로마토그래피로 정제하여 표제 화합

[0757]

물(172 mg, 62 %)을 수득하였다. +ESI(M+H) 285.1

[0758] 단계 4: 2-((2,2,2-트라이플루오로에틸)아미노)퀴놀린-7-카복실산

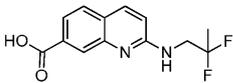


[0759]

[0760] 테트라하이드로푸란(5 mL) 중 메틸 2-((2,2,2-트라이플루오로에틸)아미노)퀴놀린-7-카복실레이트(172 mg, 0.605 mmol)의 용액에 수성 수산화 리튬(1.82 mL, 1.82 mmol, 1 M 용액)을 실온에서 첨가하였다. 반응물을 2.5 일 동안 교반하였다. 용매를 감압하에 제거하고 잔사를 1 N 수성 염산으로 산성화하였다. 생성된 침전물을 여과하고 건조하여 표제 화합물(65 mg, 40 %)을 수득하였다.

[0761] +ESI (M+H) 271.1, ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 4.31-4.41 (m, 2 H) 7.01 (d, J=8.87 Hz, 1H) 7.69 - 7.80 (m, 2 H) 8.06 (d, J=8.66 Hz, 1H) 8.14 (s, 1 H) 13.03 (bs, 1H)

[0762] 중간체 45: 하기 나타낸 2-((2,2-다이플루오로프로필)아미노)퀴놀린-7-카복실산을 다음과 같이 제조하였다:

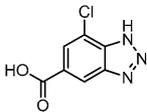


[0763]

[0764] 2,2,2-트라이플루오로에틸아민 대신에 2,2-다이플루오로에틸아민을 사용하여 중간체 44에 대해 기재된 바와 유사한 방법으로 표제 화합물을 제조하였다.

[0765] +ESI (M+H) 267.2; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 1.63 (t, J=19.02 Hz, 3 H) 3.89-3.99 (m, 2 H) 6.97 (d, J=8.97 Hz, 1 H) 7.54 (t, 1 H) 7.62 - 7.68 (m, 1 H) 7.71 (d, J=8.19 Hz, 1 H) 7.96 (d, J=9.10 Hz, 1H) 8.06 - 8.09 (m, 1H) 12.95 (bs, 1 H).

[0766] 중간체 46: 하기 나타낸 7-클로로-1H-벤조[d][1,2,3]트리아졸-5-카복실산을 다음과 같이 제조하였다:

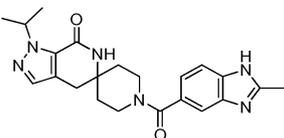


[0767]

[0768] 0 °C에서 농축된 황산(0.45 mL) 중 3,4-다이아미노-5-클로로벤조산(125 mg, 0.67 mmol)의 용액에 물(2 mL)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 0 °C에서 1 시간 동안 교반하였다. 혼합물을 밤새 교반하며 방치하였다. 반응물을 물로 희석하고 생성된 침전물을 여과하여 갈색 고체로서 표제 화합물(124 mg, 94 %)을 수득하였다.

[0769] +APCI (M+H) 198.0; ¹H NMR (400 MHz, 메탄올 -d₄, δ): 8.53 (d, J=1.2 Hz, 1 H), 8.10 (d, J=1.0 Hz, 1 H)

[0770] 실시예 1: 1'-이소프로필-1-(2-메틸-1H-벤조[d]이미다졸-5-카보닐)-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(1'H)-온



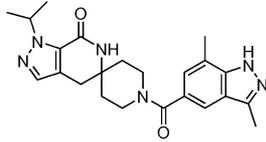
[0771]

[0772] 다이클로로메탄(2 mL) 중 2-메틸-1H-벤조[d]이미다졸-5-카복실산 (42 mg, 0.13 mmol)의 용액에 1'-이소프로필-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(1H)-온 하이드로클로라이드 염(42 mg, 0.13 mmol), 트라이에틸아민 (0.01 mL, 0.07 mmol) 및 (1H-7-아자벤조트리아졸-1-일)-1,1,3,3-테트라메틸 우로늄 헥사플루오로포스페이트(54.8 mg, 0.144 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 혼합물을 진공에서 농축하고, 생성된 고체를 에틸 아세테이트 중에 용해하고, 포화된 중탄산 나트륨으로 세척하고 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고, 진공에서 농축하였다. 잔사를 다이메틸 설펝사이드(1 mL) 중에 용해하고 역상 HPLC로 정제하였다(컬럼: 워터스 XBridge C18 19 x 100, 5 μm; 이동상 A: 물(v/v) 중 0.03 % NH₄OH; 이동상 B: 아세토니트릴(v/v) 중 0.03 % NH₄OH; 구배: 8.5 분 중 90 % A/10 % B 선형 내지 0 % A/100 %

B, 0 % A/100 % B에서 10.0 분 동안 체류; 유속: 25 mL/분. +ESI(M+H) 407.2; HPLC 체류 시간 1.74 분(방법 A)).

[0773]

실시예 2: 1-(3,7-다이메틸-1H-인다졸-5-카보닐)-1'-이소프로필-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(1'H)-온



[0774]

[0775]

다이메틸포름아미드(2 mL) 중 1'-이소프로필-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(1'H)-온 하이드로클로라이드 염(중간체 2, 430 mg, 1.3 mmol) 및 3,7-다이메틸-1H-인다졸-5-카복실산(306 mg, 1.6 mmol)의 용액에 트라이에틸아민(0.75 mL, 5.4 mmol), 4-다이메틸아미노피리딘(33 mg, 0.37 mmol) 및 1-프로판포스포산 환형 무수물(0.52 mL, 1.74 mmol, 에틸 아세테이트 중 50 % 용액)을 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 반응 혼합물을 진공에서 농축하고, 에틸 아세테이트 중에 취하고 포화된 수성 중탄산 나트륨으로 세척하였다. 유기층을 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고, 고체로 농축하였다. 고체를 플래시 컬럼 크로마토그래피(0 내지 15 % 메탄올/다이클로로메탄)를 통해 정제하여 유리질 고체를 수득하였다. 유리질 고체를 에틸 아세테이트 중에 16 시간 동안 교반하고 생성된 고체를 진공 여과로 수집하여 백색 고체(138 mg)로서 목적 생성물을 수득하였다.

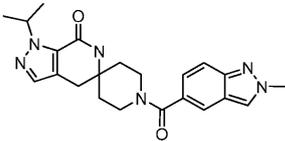
+ESI (M+H) 421.0; ¹H

NMR (400 MHz, CD₃OD, δ): 7.65 (s, 1 H) 7.42 (s, 1 H) 7.21 (s, 1 H) 5.50 (m, 1H) 3.95 (br. s., 1H) 3.50 - 3.62 (br. s., 3 H) 2.97 (s, 2 H) 2.56 (m, 6 H) 1.83 (br. s., 4 H) 1.44 (d, 6 H).

[0776]

[0777]

실시예 3: 1'-이소프로필-1-(2-메틸-2H-인다졸-5-카보닐)-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(1'H)-온



[0778]

[0779]

무수 다이메틸포름아미드 중 2-메틸-2H-인다졸-5-카복실산(28 mg, 0.16 mmol)의 용액에 1-에틸-3-(3-다이메틸아미노프로필) 카보다이이미드(37 mg, 0.19 mmol) 및 1-하이드록시벤조트리아졸(26 mg, 0.19 mmol), N,N-다이이소프로필에틸아민(84 μL, 0.48 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 10 분 동안 교반한 후 1'-이소프로필-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(1'H)-온 하이드로클로라이드를 첨가하고(중간체 2, 30 mg, 0.12 mmol), 반응물을 16 시간 동안 교반하였다. 혼합물을 냉각된 물에 붓고 생성된 침전물을 진공 여과로 수집하였다. 수득된 고체를 다이에틸 에터로부터 마쇄하여 1'-이소프로필-1-(2-메틸-2H-인다졸-5-카보닐)-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(1'H)-온(25 mg)을 수득하였다.

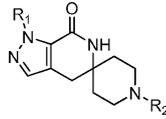
+ESI (M+H) 407.3; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 8.41 (s, 1 H), 7.85 (s, 1 H), 7.75 (s, 1 H), 7.63 (d, 1 H), 7.40 (s, 1 H), 7.20 (s, 1 H), 5.40 (m, 1 H), 4.18 (s, 3 H), 3.60 (br. s., 4 H), 2.85 (s, 2 H), 1.70 (br. s., 4 H), 1.35 (d, 6 H).

[0780]

[0781]

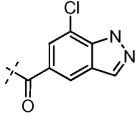
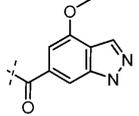
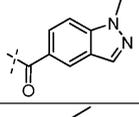
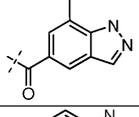
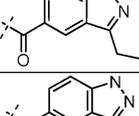
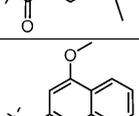
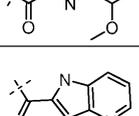
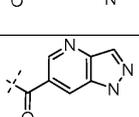
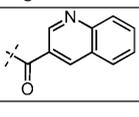
하기 표 1에 나열된 화합물은 시판중이거나, 당업자에게 널리 공지된 방법을 사용하여 제조되거나, 다른 중간체에 대하여 상기한 경로와 유사한 방식으로 제조된 적절한 출발 물질을 사용하여 실시예 1 내지 3의 화합물의 합성에 대해 상기한 바와 유사한 절차를 사용하여 제조되었다. 하기 화합물 목록은 처음에 자유 염기로서 단리되고 시험을 위해 약학적으로 허용되는 염으로 전환될 수 있다.

표 1



실시예	R ₁	R ₂	분석 데이터
4	iPr ^a		+ESI (M+H) 407.3; HPLC 체류 시간 2.16 분 (방법 A)
5	iPr		+ESI (M+H) 393.3; HPLC 체류 시간 2.07 분 (방법 A)
6	tBu ^b		+ESI (M+H) 407.1; ¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 13.23 (s, 1 H), 8.14 (s, 1 H), 7.83 (d, 2 H), 7.59 (s, 1 H), 7.36 (d, J = 8.5 Hz, 1 H), 7.33 (s, 1 H), 3.50 (br. s., 4 H), 2.85 (s, 2 H), 1.64 (m, 13 H).
7	tBu		+ESI (M+H) 421.2; ¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 13.31 (br. s., 1 H), 8.12 (s, 1 H), 7.83 (s, 1 H), 7.62 (s, 1 H), 7.33 (s, 1 H), 7.14 (s, 1 H), 3.64 (m, 4 H), 2.85 (s, 2 H), 2.53 (s, 3 H), 1.64 (m, 13 H).
8	tBu		+ESI (M+H) 435.3; ¹ H NMR (400 MHz, CDCl ₃ , δ): 10.34 (m, 1 H), 7.57 (s, 1 H), 7.23 (s, 1 H), 7.15 (s, 1 H), 6.59 (m, 1 H), 3.59 (m, 4 H), 2.83 (s, 2 H), 2.55 (br. s., 3 H), 2.49 (s, 3 H), 1.86 (br. s., 4 H), 1.70 (s, 9 H).
9	iPr		+ESI (M+H) 393.1; ¹ H NMR (300 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 11.85 (s, 1 H), 8.25 (s, 1 H), 8.00 (s, 1 H), 7.85 (s, 1 H), 7.55 (m, 1 H), 7.40 (s, 1 H), 6.50 (m, 1 H), 5.40 (m, 1 H), 3.60 (m, 4 H), 2.85 (s, 2 H), 1.75 (br. s., 4 H), 1.35 (d, 6 H).
10	iPr		+ESI (M+H) 393.2; ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 11.55 (s, 1 H), 8.35 (s, 1 H), 7.90 (s, 1 H), 7.85 (m, 2 H), 7.40 (s, 1 H), 6.60 (s, 1 H), 5.40 (m, 1 H), 3.60 (m, 4 H), 2.85 (s, 2 H), 1.75 (m, 4 H), 1.35 (d, 6 H).

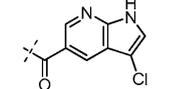
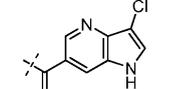
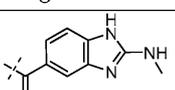
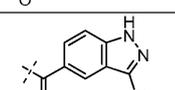
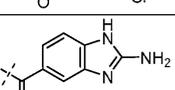
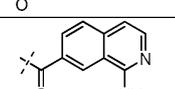
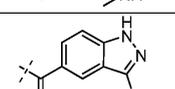
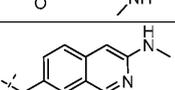
[0782]

11	iPr		+ESI(M+H) 427.2; ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 13.78 (s, 1 H), 8.26 (s, 1 H), 7.90 (s, 1 H), 7.80 (s, 1 H), 7.45 (s, 1 H), 7.41 (s, 1 H), 5.40 (m, 1 H), 3.60 (m, 4 H), 2.85 (s, 2 H), 1.75 (br. s., 4 H), 1.38 (d, 6 H).
12	iPr		+ESI (M+H) 423.2; HPLC 체류 시간 2.19 분 (방법 A)
13	iPr		+ESI (M+H) 407.3; ¹ H NMR (300 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 8.15 (s, 1 H), 7.88 (s, 1 H), 7.80 (s, 1 H), 7.70 (d, 1 H), 7.40 (m, 2 H), 5.45 (m, 1 H), 4.06 (s, 3 H), 2.85 (s, 2 H), 1.70 (br. s., 4 H), 1.35 (d, 6 H).
14	iPr		+ESI (M+H) 421.2; ¹ H NMR (300 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 13.35 (s, 1 H), 8.15 (s, 1 H), 7.86 (s, 1 H), 7.62 (s, 1 H), 7.41 (s, 1 H), 7.15 (s, 1 H), 5.40 (m, 1 H), 3.60 (m, 4 H), 2.95 (m, 4 H), 1.70 (br. s., 4 H), 1.30 (m, 9 H).
15	iPr		+ESI (M+H) 421.4; ¹ H NMR (400 MHz DMSO-d ₆ , δ): 12.78 (s, 1 H), 7.85 (s, 1 H), 7.78 (s, 1 H), 7.50 (d, 1 H), 7.40 (s, 1 H), 7.36 (d, 1 H), 5.40 (m, 1 H), 3.60 (m, 4 H), 2.94 (q, 2 H), 2.85 (s, 2 H), 2.70 (br. s., 4 H), 1.35 (m, 9 H).
16	iPr		+ESI (M+H) 407.3; HPLC 체류 시간 2.15 분 (방법 A)
17	iPr		+ESI (M+H) 464.3; ¹ H NMR (300 MHz DMSO-d ₆ , δ): 7.92 (s, 1 H), 7.68 (m, 1 H), 7.50 (t, 1 H), 7.41 (s, 1 H), 7.24 (s, 1 H), 5.42 (m, 1 H), 4.10 (s, 3 H), 3.92 (s, 1 H), 3.90 - 3.38 (m, 4 H), 2.86 (s, 2 H), 1.85 - 1.52 (m, 4 H), 1.38 (m, 6 H).
18	iPr		+ESI (M+H) 393.2; ¹ H NMR (300 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 11.81 (s, 1 H), 8.38 (m, 1 H), 7.95 (s, 1 H), 7.76 (d, 1 H), 7.41 (s, 1 H), 7.19 (m, 1 H), 6.85 (s, 1 H), 5.42 (m, 1 H), 4.02 - 3.58 (m, 4 H), 2.90 (s, 1 H), 1.86 - 1.46 (m, 4 H), 1.39 (d, 6 H).
19	iPr		+ESI (M+H) 394.0; ¹ H NMR (300 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 13.56 (s, 1 H), 8.56 (s, 1 H), 8.38 (s, 1 H), 8.08 (s, 1 H), 7.94 (s, 1 H), 7.42 (s, 1 H), 5.42 (m, 1 H), 3.94 - 3.41 (m, 4 H), 2.86 (s, 1 H), 1.87 - 1.60 (m, 4 H), 1.35 (m, 6 H).
20	iPr		+ESI (M+H) 404.3 ; HPLC 체류 시간 2.10 분 (방법 A)

[0783]

21	iPr		+ESI (M+H) 404.3; HPLC 체류 시간 1.79 분 (방법 A)
22	iPr		+ESI (M+H) 404.3; HPLC 체류 시간 1.75 분 (방법 A)
23	iPr		+ESI (M+H) 404.3; HPLC 체류 시간 1.76 분 (방법 A)
24	iPr		+ESI (M+H) 404.3; HPLC 체류 시간 1.84 분 (방법 A)
25	iPr		+ESI (M+H) 418.3; ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 12.81 (s, 1 H), 7.85 (s, 2 H), 7.80 (dd, J = 8.7, 0.9 Hz, 1 H), 7.51 (dd, J = 8.7, 1.5 Hz, 1 H), 7.38 (s, 1 H), 5.39 (s, 1 H), 3.32 - 3.87 (m, 4 H), 2.83 (s, 2 H), 1.69 (m, 4 H), 1.33 (d, J = 6.4 Hz, 6 H).
26	iPr		+ESI (M+H) 434.4; ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 8.68 (d, J = 2.1 Hz, 1 H), 8.26 (d, J = 1.4 Hz, 1 H), 7.87 - 7.96 (m, 2 H), 7.40 - 7.47 (m, 2 H), 7.38 (s, 1 H), 5.33 - 5.46 (m, 1 H), 3.88 (s, 3 H), 3.74 - 3.86 (m, 1 H), 3.60 - 3.74 (m, 1 H), 3.44 - 3.58 (m, 1 H), 3.31 - 3.44 (m, 1 H), 2.83 (s, 2 H), 1.59 - 1.82 (m, 4 H), 1.28 - 1.39 (m, 6 H).
27	iPr		+ESI (M+H) 436.3; ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 13.66 (br. s., 1 H), 8.16 (s, 1 H), 7.86 (s, 1 H), 7.75 (br. s., 1 H), 7.62 (d, J = 8.6 Hz, 1 H), 7.34 - 7.39 (m, 3 H), 5.33 - 5.43 (m, 1 H), 3.36 - 3.93 (m, 4 H), 2.83 (s, 2 H), 1.51 - 1.78 (m, 4 H), 1.33 (d, J = 6.7 Hz, 6 H).
28	iPr		+ESI (M+H) 434.0; HPLC 체류 시간 2.57 분 (방법 A)
29	iPr		+ESI (M+H) 433.0; HPLC 체류 시간 1.75 분 (방법 A)
30	iPr		+ESI (M+H) 434.2; HPLC 체류 시간 2.48 분 (방법 A)

[0784]

31	iPr		+ESI (M+H) 427.2; HPLC 체류 시간 (방법 A) 2.35 분
32	iPr		+ESI (M+H) 427.2; HPLC 체류 시간 (방법 A) 1.89 분
33	iPr		+ESI (M+H) 422.2; HPLC 체류 시간 (방법 B) 1.66 분
34	iPr		+ESI (M+H) 427.2; HPLC 체류 시간 (방법 A) 2.32 분
35	iPr		+ESI (M+H) 408.2; HPLC 체류 시간 (방법 B) 1.61 분
36	iPr		+ESI (M+H) 433.2; HPLC 체류 시간 (방법 A) 1.89 분
37	iPr		+ESI (M+H) 422.2; HPLC 체류 시간 (방법 A) 1.86 분
38	iPr		+ESI (M+H) 433.1; HPLC 체류 시간 (방법 A) 1.92 분

[0785]

a = 용어 "iPr"은 이소프로필 기를 지칭하기 위해 사용된다.

[0786]

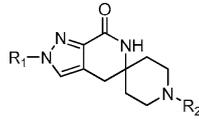
b = 용어 "tBu"는 t-부틸 기를 지칭하기 위해 사용된다.

[0787]

[0788]

하기 표 2에 나열된 화합물은 시판중이거나, 당업자에게 널리 공지된 방법을 사용하여 제조되거나, 다른 중간체에 대하여 상기한 경로와 유사한 방식으로 제조된 적절한 출발 물질을 사용하여, 실시예 1 내지 3의 화합물의 합성에 대해 상기 한 바와 유사한 절차를 사용하여 제조되었다. 하기 나열된 화합물은 처음에 자유 염기로서 단리되고 시험을 위해 약학적으로 허용되는 염으로 전환될 수 있다

표 2



실시예	R ₁	R ₂	분석 데이터
39	iPr ^a		+APCI (M+H) 393.2; ¹ H NMR (400 MHz, CD ₃ OD, δ): 8.12 (s, 1 H), 7.89 (s, 1 H), 7.59 (m, 2 H), 7.44 (dd, J = 8.7, 1.3 Hz, 1 H), 4.55 (m, 1 H), 3.76 (m, 4 H), 2.94 (s, 2 H), 1.82 (br. s., 4 H), 1.48 (d, J = 6.6 Hz, 6 H).
40	iPr		+APCI (M+H) 407.2; ¹ H NMR (400 MHz, CD ₃ OD, δ): 8.05 (br. s., 1 H), 7.54 (m, 2 H), 7.26 (dd, J = 8.4, 1.4 Hz, 1 H), 6.67 (d, J = 6.2 Hz, 1 H), 4.55 (m, 1 H), 3.77 (m, 4 H), 2.94 (s, 2 H), 2.57 (s, 3 H), 1.81 (m, 4 H), 1.48 (d, J = 6.6 Hz, 6 H).
41	tBu ^b		+APCI (M+H) 407.2; ¹ H NMR (400 MHz, CDCl ₃ , δ): 8.11 (br. s., 1 H), 7.84 (s, 1 H), 7.52 (d, 1 H), 7.44 (dd, 1 H), 7.38 (s, 1 H), 6.22 (s, 1 H), 3.51 - 3.62 (m, 2 H), 2.84 (s, 2 H), 1.73 - 1.93 (m, 4 H), 1.60 (s, 9 H).
42	iPr		+APCI (M+H) 407.3; ¹ H NMR (400 MHz, CDCl ₃ , δ): 11.67 (br. s., 1 H), 8.06 (s, 1 H), 7.62 (s, 1 H), 7.24 (d, J = 11.3 Hz, 1 H), 7.18 (d, J = 11.3 Hz, 2 H), 6.35 (m, 1 H), 4.53 (m, 1 H), 3.60 (t, J = 10.4 Hz, 2 H), 2.81 (s, 2 H), 2.54 (s, 3 H), 1.73 (m, 6 H), 1.49 (d, J = 6.6 Hz, 6 H).
43	iPr		+APCI (M+H) 421.3; ¹ H NMR (400 MHz, CDCl ₃ , δ): 10.81 (br. s., 1 H), 7.59 (s, 1 H), 7.27 (s, 1 H), 7.18 (s, 1 H), 6.77 (s, 1 H), 4.55 (spt, J = 6.7 Hz, 1 H), 3.62 (t, J = 10.1 Hz, 2 H), 2.84 (s, 2 H), 2.58 (s, 3 H), 2.53 (s, 3 H), 1.71 - 1.94 (m, 4 H), 1.50 (d, 6 H).
44	tBu		+ APCI (M+H) 421.0; ¹ H NMR (400 MHz, CDCl ₃ , δ): 11.17 (br. s., 1 H), 8.11 (s, 1 H), 7.67 (s, 1 H), 7.40 (s, 1 H), 7.24 (s, 1 H), 6.66 (s, 1 H), 3.57 (m, 2 H), 3.67 - 4.20 (m, 2 H), 2.86 (s, 2 H), 2.59 (s, 3 H), 1.83 (m, 4 H), 1.63 (s, 9 H).
45	tBu		+APCI (M+H) 435.1; ¹ H NMR (400 MHz, CDCl ₃ , δ): 10.93 (br. s., 1 H), 7.62 (s, 1 H), 7.40 (s, 1 H), 7.21 (s, 1 H), 6.74 (br. s., 1 H), 3.76 - 4.12 (m, 2 H), 3.64 (t, J = 10.2 Hz, 2 H), 2.86 (s, 2 H), 2.60 (s, 3 H), 2.55 (s, 3 H), 1.69 - 1.87 (m, 4 H), 1.63 (s, 9 H).
46	tBu		+ESI (M+H) 447.2; HPLC 체류 시간 2.73 분 (방법 A)

[0789]

47	t-아밀		+ESI (M+H) 449.2; HPLC 체류 시간 2.35 분 (방법 A)
48	tBu		+APCI (M+H) 448.6; ¹ H NMR (400 MHz, CDCl ₃ , δ): 8.74 (d, J = 2.1 Hz, 1 H), 8.10 (d, J = 1.6 Hz, 1 H), 7.96 (d, J = 9.4 Hz, 1 H), 7.37 (dd, J = 9.3, 2.8 Hz, 1 H), 7.24 (d, J = 6.4 Hz, 1 H), 7.05 (d, J = 2.7 Hz, 1 H), 3.93 - 4.16 (m, 1 H), 3.89 (s, 3 H), 3.45 - 3.78 (m, 3 H), 2.82 (s, 2 H), 1.60 - 2.04 (m, 4 H), 1.57 (s, 9 H).
49	tBu		+ESI (M+H) 447.0; HPLC 체류 시간 2.72 분 (방법 A)
50	tBu		+ESI (M+H) 447.0; HPLC 체류 시간 2.76 분 (방법 A)
51	tBu		+ESI (M+H) 478.0; HPLC 체류 시간 2.24 분 (방법 A)
52	tBu		+ESI (M+H) 407.0; HPLC 체류 시간 2.09 분 (방법 A)
53	tBu		+ESI (M+H) 432.2; HPLC 체류 시간 2.35 분 (방법 A)
54	tBu		+ESI (M+H) 450.2; HPLC 체류 시간 1.95 분 (방법 A)
55	tBu		+ESI (M+H) 448.4; ¹ H NMR (400 MHz, CDCl ₃ , δ): 8.27 - 8.30 (m, 1 H), 8.04 (d, J = 5.9 Hz, 1 H), 7.74 - 7.79 (m, 1 H), 7.66 - 7.70 (m, 1 H), 7.37 (s, 1 H), 7.20 - 7.24 (m, 1 H), 6.07 (s, 1 H), 4.13 (s, 3 H), 3.56 (br. s., 4 H), 2.85 (s, 2 H), 1.62 - 2.01 (m, 4 H), 1.60 (s, 9 H).

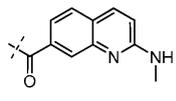
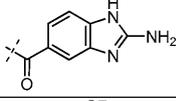
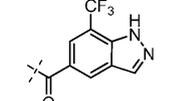
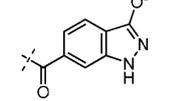
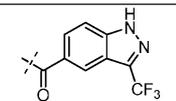
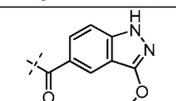
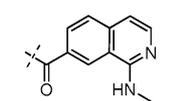
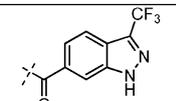
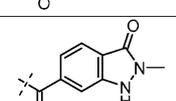
[0790]

56	tBu		+ESI (M+H) 450.2; HPLC 체류 시간 (방법 A) 2.79 분
57	사이클로부틸		+ESI (M+H) 433.1; HPLC 체류 시간 (방법 A) 2.14 분
58	tBu		+ESI (M+H) 433.2; HPLC 체류 시간 (방법 A) 1.79 분
59	tBu		+ESI (M+H) 433.2; HPLC 체류 시간 (방법 B) 1.83 분
60	tBu		+ESI (M+H) 432.2; HPLC 체류 시간 (방법 A) 2.27 분
61	tBu		+ESI (M+H) 422.2; HPLC 체류 시간 (방법 B) 1.67 분
62	tBu		+ESI (M+H) 455.2; HPLC 체류 시간 (방법 A) 2.39 분
63	tBu		+ESI (M+H) 418.2; HPLC 체류 시간 (방법 B) 1.9 분
64	tBu		+ESI (M+H) 441.1; HPLC 체류 시간 (방법 A) 2.31 분
65	tBu		+ESI (M+H) 422.3; ¹ H NMR (400 MHz, CD ₃ OD, δ): 7.78 (d, J = 8.19 Hz, 1 H), 7.65 (s, 1 H), 7.34 (s, 1 H), 7.01 (dd, J = 8.29, 1.27 Hz, 1 H), 3.87 - 4.00 (m, 1 H), 3.70 - 3.82 (m, 1 H), 3.51 - 3.65 (m, 1 H), 3.40 - 3.49 (m, 1 H), 2.93 (s, 2 H), 1.82 - 1.93 (m, 2 H), 1.70 - 1.79 (m, 2 H), 1.58 (s, 9 H).

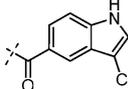
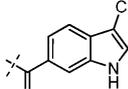
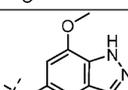
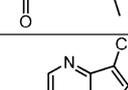
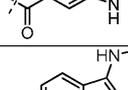
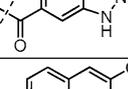
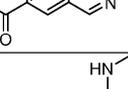
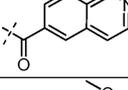
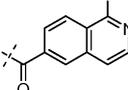
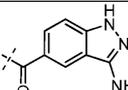
[0791]

66	tBu		+ESI (M+H) 437.2; HPLC 체류 시간 2.21 분 (방법 A)
67	tBu		+ESI (M+H) 437.2; HPLC 체류 시간 1.86 분 (방법 A)
68	tBu		+ESI (M+H) 448.2; HPLC 체류 시간 2.08 분 (방법 A)
69	tBu		+ESI (M+H) 447.2; HPLC 체류 시간 1.86 분 (방법 A)
70	tBu		+ESI (M+H) 447.2; HPLC 체류 시간 2.79 분 (방법 A)
71	tBu		+ESI (M+H) 448.2; HPLC 체류 시간 2.55 분 (방법 A)
72	tBu		+ESI (M+H) 433.1; ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 7.88 (m, 1 H), 7.72 (br. s., 1 H), 7.62 - 7.68 (m, 2 H), 7.34 (s, 1 H), 7.07 (m, 1 H), 6.76 (d, J = 8.97 Hz, 1 H), 6.53 (br. s., 2 H), 3.30 - 3.84 (m, 4 H), 2.74 - 2.83 (m, 2 H), 1.55 - 1.72 (m, 4 H), 1.49 (s, 9 H).
73	tBu		+ESI (M+H) 447.3; HPLC 체류 시간 1.86 분 (방법 A)
74	tBu		+ESI (M+H) 448.3; HPLC 체류 시간 2.15 분 (방법 A)
75	tBu		+ESI (M+H) 436.2; HPLC 체류 시간 1.81 분 (방법 A)

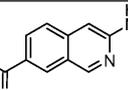
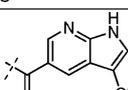
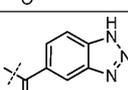
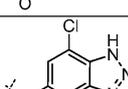
[0792]

76	tBu		+ESI (M+H) 447.3; ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 7.82 (d, J = 9.0 Hz, 1 H), 7.72 (s, 1 H), 7.60 - 7.67 (m, 2 H), 7.39 - 7.43 (m, 1 H), 7.03 - 7.14 (m, 2 H), 6.75 (d, J = 9.0 Hz, 1 H), 3.31 - 3.86 (m, 4 H), 2.87 (d, J = 4.7 Hz, 3 H), 2.79 (s, 2 H), 1.55 - 1.74 (m, 4 H), 1.49 (s, 9 H).
77	tBu		+ESI (M+H) 422.2; HPLC 체류 시간 1.78 분 (방법 A)
78	tBu		+ESI (M+H) 475.2; HPLC 체류 시간 2.34 분 (방법 A)
79	tBu		+ESI (M+H) 437.0; HPLC 체류 시간 2.27 분 (방법 A)
80	tBu		+ESI (M+H) 475.2; HPLC 체류 시간 2.49 분 (방법 A)
81	tBu		+ESI (M+H) 437.2; HPLC 체류 시간 2.20 분 (방법 A)
82	tBu		+ESI (M+H) 447.4; ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 8.23 (s, 1 H), 7.92 (d, J = 5.87 Hz, 1 H), 7.69 - 7.78 (m, 3 H), 7.57 (dd, J = 8.31, 1.47 Hz, 2 H), 6.89 (d, J = 5.87 Hz, 1 H), 3.33 - 3.85 (m, 4 H), 2.95 (d, J = 4.30 Hz, 3 H), 2.82 (s, 2 H), 1.55 - 1.79 (m, 4 H), 1.52 (s, 9 H).
83	tBu		+ESI (M+H) 475.2; HPLC 체류 시간 2.62 분 (방법 A)
84	tBu		+ESI (M+H) 437.2; HPLC 체류 시간 2.27 분 (방법 A)

[0793]

85	tBu		+ESI (M+H) 440.1; HPLC 체류 시간 (방법 A) 2.53 분
86	tBu		+ESI (M+H) 440.1; HPLC 체류 시간 (방법 A) 2.66 분
87	tBu		+ESI (M+H) 451.1; HPLC 체류 시간 (방법 A) 2.2 분
88	tBu		+ESI (M+H) 441.1; HPLC 체류 시간 (방법 A) 1.9 분
89	tBu		+ESI (M+H) 436.2; HPLC 체류 시간 (방법 B) 1.66 분
90	tBu		+ESI (M+H) 448.3; HPLC 체류 시간 (방법 A) 2.35 분
91	tBu		+ESI (M+H) 447.2; HPLC 체류 시간 (방법 A) 1.86 분
92	tBu		+ESI (M+H) 448.0; HPLC 체류 시간 (방법 A) 2.46 분
93	tBu		+ESI (M+H) 436.1; HPLC 체류 시간 (방법 A) 1.90 분
94	tBu		+ESI (M+H) 433.1; HPLC 체류 시간 (방법 A) 1.73 분

[0794]

95	tBu		+ESI (M+H) 447.2; HPLC 체류 시간 (방법 A) 1.93 분
96	tBu		+ESI (M+H) 441.1; HPLC 체류 시간 (방법 A) 2.21 분
97	tBu		+ESI (M+H) 402.8; HPLC 체류 시간 (방법 A) 1.91 분
98	tBu		

[0795]

[0796]

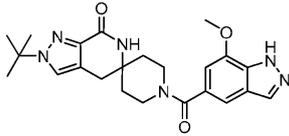
[0797]

[0798]

a = 용어 "iPr"은 이소프로필 기를 지칭하기 위해 사용된다.

b = 용어 "tBu"는 t-부틸 기를 지칭하기 위해 사용된다.

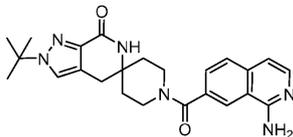
실시예 99: 2'-t-부틸-1-(7-메톡시-1H-인다졸-5-카보닐)-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로 [3,4-c]피리딘]-7'(2'H)-온



[0799]

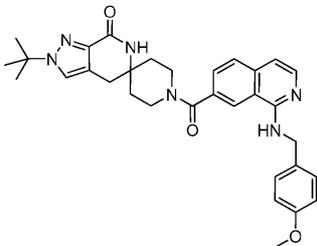
[0800] N,N-다이메틸포름아미드(0.4 mL) 중
 2'-t-부틸-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(2'H)-온 하이드로클로라이드 염 (중간체 4, 25 mg, 0.075 mmol) 및 7-메톡시-1-(테트라하이드로-2H-피란-2-일)-1H-인다졸-5-카복실산(중간체 18, 25 mg, 0.090 mmol)의 혼합물에 트라이에틸아민(0.05 mL, 0.37 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 5 분 동안 교반하였다. 이어서, 1-프로판포스폰산 환형 무수물(0.09 mL, 0.1 mmol, 에틸 아세테이트 중 50 % 용액)을 첨가하고 반응물을 실온에서 밤새 교반하였다. 반응물을 물로 희석하고 에틸 아세테이트로 3 회 추출하였다. 합한 유기층을 염수로 세척하고, 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고, 황색 검으로 농축하였다. 이 조질 물질에 염산(0.19 mL, 0.75 mmol, 다이옥산 중 4 M)을 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 반응물을 농축하였다. 역상 HPLC로 정제하여 표제 화합물(3.4 mg, 10 %)을 수득하였다. +ESI(M+H) 437.3; HPLC 체류 시간 2.12 분(방법 A).

[0801] **실시예 100:** 1-(1-아미노이소퀴놀린-7-카보닐)-2'-t-부틸-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(2'H)-온



[0802]

[0803] 단계 1: 2'-t-부틸-1-(1-(4-메톡시벤질아미노)이소퀴놀린-7-카보닐)-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(2'H)-온



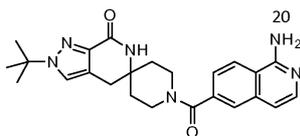
[0804]

[0805] 2'-t-부틸-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(2'H)-온 하이드로클로라이드 염 (중간체 4) 및 1-(4-메톡시벤질아미노)이소퀴놀린-7-카복실산(중간체 27)을 사용하여 실시예 3에 기재된 바와 유사한 방법으로 표제 화합물을 제조하였다. +ESI(M+H) 553.5.

[0806] 단계 2: 1-(1-아미노이소퀴놀린-7-카보닐)-2'-t-부틸-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(2'H)-온

[0807] 트라이플루오로아세트산(0.51 mL) 중 2'-t-부틸-1-(1-(4-메톡시벤질아미노)이소퀴놀린-7-카보닐)-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(2'H)-온(28 mg, 0.051 mmol)의 용액에 아니솔(8.3 µL, 0.076 mmol)을 첨가하였다. 반응물을 65 °C로 가열하고 19 시간 동안 교반하였다. 반응물을 농축하였다. 역상 HPLC로 정제하여 표제 화합물(7.1 mg, 32 %)을 수득하였다. +ESI(M+H) 433.2; HPLC 체류 시간 1.79 분(방법 A).

[0808] **실시예 101:** 1-(1-아미노이소퀴놀린-6-카보닐)-2'-t-부틸-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(2'H)-온



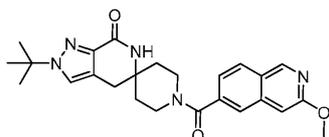
[0809]

[0810]

단계 1에서 1-(4-메톡시벤질아미노)이소퀴놀린-6-카복실산(중간체 30)을 사용하여 실시예 100에 대해 기재된 바와 유사한 방법으로 표제 화합물을 제조하였다. +ESI(M+H) 433.2; HPLC 체류 시간 1.82 분(방법 A).

[0811]

실시예 102: 2'-t-부틸-1-(3-메톡시이소퀴놀린-6-카보닐)-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(2'H)-온



[0812]

[0813]

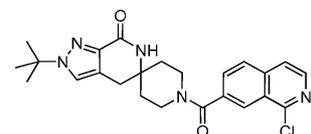
1,4-다이옥산(6 mL) 중 6-브로모-3-메톡시이소퀴놀린(중간체 43, 89.9 mg, 0.378 mmol)의 용액에 2'-t-부틸-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(2'H)-온 하이드로클로라이드 염(중간체 4, 244 mg, 0.727 mmol) 및 나트륨 아세테이트(130 mg, 1.5 mmol)를 첨가하였다. 질소 가스를 혼합물을 통해 15 분 동안 발포하였다. 이어서, [1,1'-비스(다이페닐포스포노)페로센]-다이클로로팔라듐(II), 다이클로로메탄(102 mg, 0.125 mmol)과의 착체를 첨가하고, 반응 용기의 뚜껑을 닫고 일산화탄소 가스를 통해 5 분 동안 발포하였다. 이어서, 반응물을 80 °C로 18 시간 동안 가열하였다. 반응물을 실온으로 냉각하고 에틸 아세테이트로 희석하였다. 혼합물을 셀라이트를 통해 여과하고 여액을 농축하였다. 역상 HPLC로 정제하여 표제 화합물을 수득하였다. +ESI(M+H) 448.1; HPLC 체류 시간 2.26 분(방법 A).

[0814]

실시예 103: 2'-t-부틸-1-(1-(다이메틸아미노)이소퀴놀린-7-카보닐)-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(2'H)-온

[0815]

단계 1: 2'-t-부틸-1-(1-클로로이소퀴놀린-7-카보닐)-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(2'H)-온



[0816]

[0817]

2'-t-부틸-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(2'H)-온 하이드로클로라이드 염(중간체 4) 및 1-클로로이소퀴놀린-7-카복실산을 사용하고, 4-다이메틸아미노피리딘을 제외하여 실시예 2에 대해 기재된 바와 유사한 방법으로 표제 화합물을 제조하였다.

+ESI(M+H) 452.3; ¹H

NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 8.37 (s, 1 H), 8.32 (d, J = 5.7 Hz, 1 H), 7.89 (d, J = 8.4 Hz, 1 H), 7.75 - 7.79 (m, 1 H), 7.62 (d, J = 5.7 Hz, 1 H), 7.39 (s, 1 H), 6.42 (s, 1 H), 3.43 - 3.73 (m, 4 H), 2.87 (s, 2 H), 1.64 - 2.01 (m, 4 H), 1.61 (s, 9 H).

[0818]

[0819]

단계 2: 2'-t-부틸-1-(1-(다이메틸아미노)이소퀴놀린-7-카보닐)-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(2'H)-온

[0820]

메탄올(1.75 mL, 3.50 mmol, 2 M) 중 다이메틸아민의 용액을 2'-t-부틸-1-(1-클로로이소퀴놀린-7-카보닐)-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(2'H)-온(158 mg, 0.350 mmol)에 첨가하였다. 반응 용기를 밀봉하고 혼합물을 60 °C로 가열하고 65 시간 동안 교반하였다. 반응물을 실온으로 냉각하고 농축하였다. 플래시 컬럼 크로마토그래피(1 내지 15 % 메탄올/다이클로로메탄)로 정제하여 백색 고체로서 표제 화합물(99 mg, 61 %)을 수득하였다.

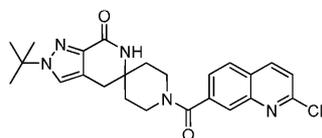
+APCI (M+H)

461.4; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 8.16 - 8.20 (m, 1 H), 8.12 (d, J = 5.9 Hz, 1 H), 7.75 (d, J = 8.2 Hz, 1 H), 7.58 - 7.64 (m, 1 H), 7.37 (s, 1 H), 7.14 (d, J = 5.9 Hz, 1 H), 6.00 (br. s., 1 H), 3.40 - 3.71 (m, 4 H), 3.10 - 3.28 (m, 6 H), 2.85 (s, 2 H), 1.64 - 1.99 (m, 4 H), 1.60 (s, 9 H).

[0821]

[0822]

실시예 104: 2'-t-부틸-1-(2-클로로퀴놀린-7-카보닐)-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(2'H)-온



[0823]

[0824]

2'-t-부틸-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(2'H)-온 하이드로클로라이드 염 (중간체 4) 및 2-클로로퀴놀린-7-카복실산(중간체 44)을 사용하여 실시예 3에 대하여 기재된 바와 유사한 방법으로 표제 화합물을 제조하였다.

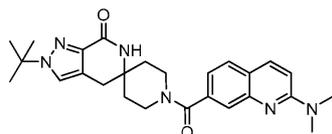
+ESI (M+H) 452.3; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃,

δ): 8.12 (d, J = 8.2 Hz, 1 H), 7.98 (br. s., 1 H), 7.88 (dd, J = 8.4 Hz, 1 H), 7.61 (dd, J = 8.4, 1.6 Hz, 1 H), 7.44 (d, J = 8.6 Hz, 1 H), 7.39 (s, 1 H), 5.91 (br. s., 1 H), 4.06 - 4.22 (m, 1 H), 3.38 - 3.64 (m, 3 H), 2.85 (br. s., 2 H), 1.67 - 1.97 (m, 4 H), 1.61 (s, 9 H).

[0825]

[0826]

실시예 105: 2'-t-부틸-1-(2-(다이메틸아미노)퀴놀린-7-카보닐)-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(2'H)-온



[0827]

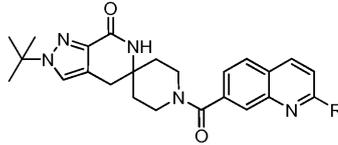
[0828]

테트라하이드로푸란(2.2 mL, 4.4 mmol, 2.0 M) 중 다이메틸아민의 용액을 2'-t-부틸-1-(2-클로로퀴놀린-7-카보닐)-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(2'H)-온(100 mg, 0.2 mmol)에 첨가하였다. 반응 용기를 밀봉하고 혼합물을 70 °C로 15 시간 동안 가열하였다. 반응물을 실온으로 냉각하고 농축하였다. 역상 HPLC로 정제하여 표제 화합물(25 mg, 25 %)을 수득하였다. +ESI(M+H) 461.2; HPLC 체류 시간 1.96 분(방법 A).

[0829]

하기 표 3에 나열된 화합물을 시판중이거나, 당업자에게 널리 공지된 방법을 사용하여 제조되거나 다른 중간체에 대해 상기한 경로와 유사한 방식으로 제조된 출발 물질을 사용하여, 실시예 105의 합성에 대해 상기한 바와 유사한 과정을 사용하여 제조하였다. 하기 나열된 화합물은 처음에 자유 염기로서 단리되고 시험을 위해 약학적으로 허용되는 염으로 전환될 수 있다.

표 3



실시예	R	분석 데이터
106		+ESI (M+H) 473.1; HPLC 체류 시간 2.21 분 (방법 B).
107		+ESI (M+H) 475.2; HPLC 체류 시간 1.82 분 (방법 A)
108		+ESI (M+H) 475.4; ¹ H NMR (400 MHz, CDCl ₃ , δ): 7.82 (d, J = 8.76 Hz, 1 H), 7.56 – 7.66 (m, 2 H), 7.37 (s, 1 H), 7.13 – 7.18 (m, 1 H), 6.89 (d, J = 9.15 Hz, 1 H), 5.79 (s, 1 H), 4.02 – 4.15 (m, 1 H), 3.68 (m, 2 H), 3.41 – 3.62 (m, 3 H), 3.17 – 3.22 (m, 3 H), 2.84 (s, 2 H), 1.66 – 1.93 (m, 4 H), 1.61 (s, 9 H), 1.21 (m, 3 H).
109		+APCI (M+H) 487.6; ¹ H NMR (400 MHz, CDCl ₃ , δ): 7.80 (d, J = 8.91 Hz, 1 H), 7.58 – 7.61 (m, 2 H), 7.37 (s, 1 H), 7.19 (dd, J = 9.76, 1.53 Hz, 1 H), 6.64 (d, J = 8.95 Hz, 1 H), 5.81 (s, 1 H), 4.98 – 5.04 (m, 1 H), 4.39 – 4.49 (m, 1 H), 4.02 – 4.16 (m, 1 H), 3.40 – 3.64 (m, 3 H), 2.83 (s, 2 H), 2.43 – 2.52 (m, 2 H), 1.72 – 1.96 (m, 8 H), 1.61 (s, 9 H).
110		+APCI (M+H) 475.6; ¹ H NMR (400 MHz, CDCl ₃ , δ): 7.79 (d, J = 8.81 Hz, 1 H), 7.61 – 7.62 (m, 1 H), 7.59 (d, J = 8.21 Hz, 1 H), 7.37 (s, 1 H), 7.19 (dd, J = 8.17, 1.57 Hz, 1 H), 6.65 (d, J = 8.81 Hz, 1 H), 5.79 (s, 1 H), 4.69 – 4.73 (m, 1 H), 4.00 – 4.15 (m, 1 H), 3.41 – 3.63 (m, 5 H), 2.83 (s, 2 H), 1.64 – 1.92 (m, 6 H), 1.61 (s, 9 H), 1.02 (t, J = 7.41 Hz, 3 H).
111		+APCI (M+H) 491.6; ¹ H NMR (400 MHz, CDCl ₃ , δ): 7.77 (d, J = 8.91 Hz, 1 H), 7.63 – 7.64 (m, 1 H), 7.59 (d, J = 8.13 Hz, 1 H), 7.37 (s, 1 H), 7.19 (dd, J = 8.20, 1.56 Hz, 1 H), 6.65 (d, J = 8.78 Hz, 1 H), 5.79 (s, 1 H), 5.05 – 5.10 (m, 1 H), 4.03 – 4.13 (m, 1 H), 3.70 – 3.73 (m, 2 H), 3.63 (t, 2 H), 3.43 – 3.61 (m, 3 H), 3.40 (s, 3 H), 2.84 (s, 2

[0830]

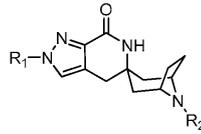
112		H), 1.66 – 1.93 (m, 4 H), 1.61 (s, 9 H). +APCI (M+H) 461.5; ¹ H NMR (400 MHz, CDCl ₃ , δ): 7.79 (d, J = 8.82 Hz, 1 H), 7.62 – 7.63 (m, 1 H), 7.59 (d, J = 8.21 Hz, 1 H), 7.37 (s, 1 H), 7.19 (dd, J = 8.19 Hz, 1.57 Hz, 1 H), 6.64 (d, J = 8.81 Hz, 1 H), 5.78 (s, 1 H), 4.67 – 4.71 (m, 1 H), 4.00 – 4.15 (m, 1 H), 3.44 – 3.59 (m, 5 H), 2.84 (s, 2 H), 1.64 – 1.94 (m, 4 H), 1.61 (s, 9 H), 1.29 (t, J = 7.22 Hz, 3 H).
113		+ESI (M+H) 489.3; HPLC 체류 시간 1.8 분 (방법 A)

[0831]

[0832]

하기 표 4에 나열된 화합물을 시판중이거나, 당업자에게 널리 공지된 방법을 사용하여 제조되거나 다른 중간체에 대해 상기한 경로와 유사한 방식으로 제조된 출발 물질을 사용하여, 실시예 1 내지 3의 합성에 대해 상기한 바와 유사한 과정을 사용하여 제조하였다. 하기 나열된 화합물은 처음에 자유 염기로서 단리되고 시험을 위해 약학적으로 허용되는 염으로 전환될 수 있다.

표 4



실시예	R ₁	R ₂	분석 데이터
114	tBu ^a		+ESI (M+H) 461.2; ¹ H NMR (400 MHz, CDCl ₃ , δ): 7.68 (s, 1 H), 7.34 (s, 1 H), 7.25 (s, 1 H), 6.23 (s, 1 H), 4.85 (br. s., 1 H), 4.26 (br. s., 1 H), 2.64 - 2.78 (m, 2 H), 2.61 (s, 3 H), 2.56 (s, 3 H), 1.74 - 2.36 (m, 8 H), 1.59 (s, 9 H).

[0833]

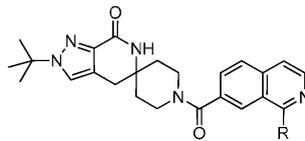
[0834]

a = 용어 "tBu"는 t-부틸 기를 지칭하기 위해 사용된다

[0835]

하기 표 5에 나열된 화합물을 시판중이거나, 당업자에게 널리 공지된 방법을 사용하여 제조되거나 다른 중간체에 대해 상기한 경로에 유사한 방식으로 제조된 출발 물질을 사용하여, 실시예 103의 합성에 대해 상기한 바와 유사한 과정을 사용하여 제조하였다. 하기 나열된 화합물은 처음에 자유 염기로서 단리되고 시험을 위해 약학적으로 허용되는 염으로 전환될 수 있다.

표 5

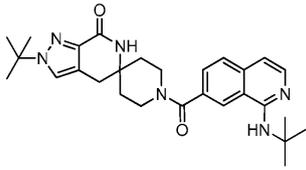


실시예	R	분석 데이터
115		+ESI (M+H) 473.3; HPLC 체류 시간 2.01 분 (방법 A).
116		+ESI (M+H) 475.3; HPLC 체류 시간 2.06 분 (방법 A)
117		+ESI (M+H) 475.3; HPLC 체류 시간 1.99 분 (방법 A)
118		+ESI (M+H) 487.3; HPLC 체류 시간 2.12 분 (방법 A)
119		+ESI (M+H) 475.3; HPLC 체류 시간 2.08 분 (방법 A)
120		+ESI (M+H) 491.3; HPLC 체류 시간 1.99 분 (방법 A)
121		+ESI (M+H) 461.2; HPLC 체류 시간 1.98 분 (방법 A)
122		+ESI (M+H) 489.3; HPLC 체류 시간 1.85 분 (방법 A)

[0836]

[0837]

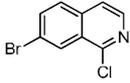
실시예 123: 2'-(t-부틸)-1-(1-(t-부틸아미노)이소퀴놀린-7-카보닐)-4',6'-다이하이드로스포로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(2'H)-온



[0838]

[0839]

단계 1: 1-클로로이소퀴놀린-7-카복실산



[0840]

[0841]

THF(12 mL) 및 디에틸 에터(12 mL) 중 -78 °C로 냉각된 7-브로모-1-클로로이소퀴놀린(2.000 g, 8.247 mmol)의 현탁액에 n-BuLi(3.96 mL, 9.9 mmol, 헥산 중 2.5 M)를 첨가하였다. 5 분 동안 교반한 후 약 1 분 동안 바늘로 통기시키면서 이산화탄소를 발포하였다. 반응 혼합물을 0 °C 이하로 가온하고 1 N 수성 수산화 나트륨(15 mL)을 첨가하였다. 혼합물을 디에틸 에터로 희석하고 18 시간 동안 교반하였다. 유기 및 수성 층을 분리하고 유기물을 1 N 수성 수산화 나트륨 및 물로 세척하였다. 수성 분획을 합하고 1 N 수성 염산으로 pH 4로 산성화하였다. 생성된 고체를 여과로 수집하고 건조하여 표제 화합물(1.252g, 73 %)을 수득하였다.

+ESI (M+H) 208.1 ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 13.58 (br. s., 1 H) 8.86 (m, 1 H) 8.43 (d, J=5.67 Hz, 1 H) 8.33 (dd, J=8.61, 1.57 Hz, 1 H) 8.19 (d, J=8.41 Hz, 1 H) 8.01 (dd, 1 H)

[0842]

[0843]

단계 2: 2'-(t-부틸)-1-(1-(t-부틸아미노)이소퀴놀린-7-카보닐)-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(2'H)-온

[0844]

다이옥산(0.5 mL) 중 1-클로로이소퀴놀린-7-카복실산(100 mg, 0.482 mmol), 루포스(RuPhos)(6.5 mg, 0.014 mmol), BrettPhos(11.2 mg, 0.014 mmol) 및 나트륨 t-부톡사이드(70.2 mg, 0.723 mmol)의 현탁액에 t-부틸아민(0.254 mL, 2.41 mmol)을 첨가하였다. 용기를 밀봉하고 혼합물을 110 °C로 가열하고 밤새 교반하였다. 반응물을 실온으로 냉각하고 리튬 비스트라이메틸실릴아마이드(0.136 mL, 0.723 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 110 °C로 가열하고 밤새 교반하며 방치하였다. 반응 혼합물을 실온으로 냉각하고 셀라이트를 통해 여과하고 메탄올로 헹궜다. 여액을 감압하에 농축하고 1 N 수성 수산화 나트륨(1 mL)을 첨가하였다. 에틸 아세테이트와 물 및 1 N 수성 수산화 나트륨의 혼합물 사이에 배분하였다. 층을 분리하고 수층을 pH 4로 산성화하였다. 수층을 에틸 아세테이트로 추출하였다. 추출물을 황산 마그네슘 상에서 건조하고, 여과하고 감압하에 농축하여 1-(t-부틸아미노)이소퀴놀린-7-카복실산을 수득하였다.

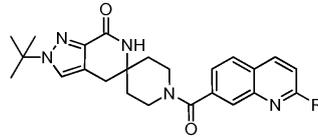
[0845]

N,N-다이메틸포름아미드(1 mL) 중 1-(t-부틸아미노)이소퀴놀린-7-카복실산(24.7 mg, 0.101 mmol) 및 2'-(t-부틸)-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(2'H)-온 하이드로클로라이드 염(33.9 mg, 0.101 mmol)의 현탁액에 트라이에틸아민(0.07 mL, 0.50 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 10 분 동안 교반하였다. 이어서, 1-프로판포스폰산 환형 무수물(0.07 mL, 0.12 mmol, 에틸 아세테이트 중 50 % 용액)을 첨가하고 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. N,N-다이메틸포름아미드를 감압하에 제거하고 잔사를 역상 HPLC로 정제하여 2'-(t-부틸)-1-(1-(t-부틸아미노)이소퀴놀린-7-카보닐)-4',6'-다이하이드로스피로[피페리딘-4,5'-피라졸로[3,4-c]피리딘]-7'(2'H)-온(6.1 mg, 24 %)을 수득하였다. +ESI(m+H) 489.3; HPLC 체류 시간 2.94 분(방법 B).

[0846]

하기 표 6에 나열된 화합물을 시판중이거나, 당업자에게 널리 공지된 방법을 사용하여 제조되거나 다른 중간체에 대해 상기한 경로에 유사한 방식으로 제조된 출발 물질을 사용하여, 실시예 1 내지 3의 합성에 대해 상기한 바와 유사한 과정을 사용하여 제조하였다. 하기 나열된 화합물은 처음에 자유 염기로서 단리되고 시험을 위해 약학적으로 허용되는 염으로 전환될 수 있다.

표 6



실시예	R	분석 데이터
124		+ESI (M+H) 515.3; HPLC 체류 시간 2.08 분 (방법 A)
125		+ESI (M+H) 511.3; HPLC 체류 시간 2.10 분 (방법 A)

[0847]

[0848] 약리 데이터

[0849] 생물학 프로토콜

[0850] 동물, 특히 포유동물(예를 들어, 인간)에서 질환(예컨대 본원에 상술된 것)의 치료에서 본 발명의 화합물의 유용성은 하기하는 시험관 내 및 생체 내 분석을 포함하는 당업자에게 공지된 통상적인 분석에서 이의 활성에 의해 입증될 수 있다. 이러한 분석은 또한 본 발명의 화합물의 활성이 다른 공지된 화합물의 활성과 비교될 수 있다는 의미를 제공한다.

[0851] **ACC1 및 ACC2의 활성의 직접 억제**

[0852] 본 발명의 화합물의 ACC 억제 활성은 표준 과정에 기초한 방법에 의해 입증되었다. 예를 들어, 화학식 I의 화합물에 대한 ACC 활성의 직접 억제는 재조합 인간 ACC1(rhACC1) 및 재조합 인간 ACC2(rhACC2)의 제조를 사용하여 측정된다. 분석에 사용될 수 있는 재조합 인간 ACC1 및 ACC2의 대표적인 서열은 각각 도 1(서열 번호 1) 및 도 2(서열 번호 2)에 제공된다.

[0853] [1] rhACC1의 제조. 전장 인간 ACC1 cDNA를 함유하는 재조합 배클로바이러스로 감염된 2 L의 SF9 세포를 병내 용해 완충액(25 mM 트리스(pH 7.5); 150 mM NaCl; 10 % 글리콜; 5 mM 이미다졸(이엠디 바이오사이언스(EMD Bioscience), 미국 뉴저지주 깁스타운 소재); 2 mM TCEP(바이오벡트라(BioVectra), 캐나다 카롯테타운 소재); 벤조나제 핵산분해효소(10000U/100 g 세포 페이스트; 노바젠(Novagen), 미국 위스콘신주 매디슨 소재); 무-EDTA 단백질분해효소 억제제 콕테일(1 tab/50 mL; 로슈 디아그노스틱스(Roche Diagnostics), 독일 만하임 소재) 중에 현탁하였다. 세포를 3 주기의 동결-용해로 용해시키고 40,000 X g에서 40 분(4 °C) 동안 원심분리하였다. 상청액을 히스트랩(HisTrap) FF 조절 컬럼(지이 헬스케어(GE Healthcare), 미국 뉴저지주 시프카타웨이 소재)위에 직접 로딩하고 20 컬럼 부피(CV)에 걸쳐서 0.5 M 이하의 이미다졸 구배로 용리하였다. ACC1-함유 분획을 모으고 25 mM 트리스(pH 7.5), 2 mM TCEP, 10 % 글리콜로 1:5로 희석하고 캡토큐(CaptoQ, 지이헬스케어) 컬럼 위에 직접 로딩하고 20 CV에 걸쳐서 1 M 이하의 NaCl 구배로 용리하였다. 포스페이트 기를 람다 인산가수분해효소(100U/10 μM 표적 단백질; 뉴 잉글랜드 바이오랩스(New England Biolabs), 미국 매사추세츠주 베버리 소재)로 14 시간 동안 4 °C에서 배양함으로써 정제된 ACC1로부터 제거하고; 오카다산을 첨가(1 μM 최종 농도; 로슈 디아그노스틱스)하여 인산가수분해효소를 억제하였다. 정제된 ACC1을 4 °C에서 6 시간 투석함으로써 25 mM 트리스(pH 7.5), 2 mM TCEP, 10 % 글리콜, 0.5 M NaCl로 전환하였다. 분취량을 제조하고 -80 °C에서 냉동하였다.

[0854] [2] rhACC1 억제의 측정. 50 μM ATP 반응에 대한 제조자의 추천 조건을 사용하는 트랜스크리너(Transcreener) ADP 검출 FP 분석 키트(벨브룩 랩스(Bellbrook Labs), 미국 위스콘신주 매디슨 소재)를 사용하여 rhACC1을 코스타르(Costar) #3676(코스타르, 미국 매사추세츠주 캄브리지 소재) 384-웰 플레이트에서 분석하였다. 분석을 위한 최종 조건은 50 mM HEPES(pH 7.2), 10 mM MgCl₂, 7.5 mM 트라이칼륨 시트레이트, 2 mM DTT, 0.1 mg/mL BSA, 30 μM 아세틸-CoA, 50 μM ATP 및 10 mM KHCO₃이었다. 전형적으로, 10 μL 반응을 120 분 동안 25 °C에서 수행하고 10 μL의 트랜스크리너 정지 및 검출 완충액을 첨가하고 상기 조합을 실온에서 추가 1 시간 동안 배양하였다. 620 여기 Cy5 FP 일반적인 이중 거울, 620 여기 Cy5 FP 필터, 688 방출(S) 및 688(P) 방출 필터를 사용하는 엔비전 형광 판독기(Envision Fluorescence reader; 펄킨엘머(PerkinElmer)) 상에서 데이터를 획득하였다.

- [0855] [3] rhACC2의 제조. 인간 ACC2 억제제를 정제된 재조합 인간 ACC2(hrACC2)를 사용하여 측정하였다. 요컨대, ACC2의 전장 사이트맥스(Cytomax) 클론을 캠브리지 바이오사이언스 리미티드(Cambridge Bioscience Limited)로부터 구입하고 서열화하고 pCDNA5 FRT TO-TOPO(인비트로젠(Invitrogen), 미국 캘리포니아주 칼스배드 소재)로 서브클론하였다. ACC2를 테트라사이클린 유도에 의해 CHO 세포에서 발현시키고 글루타민, 비오틴, 하이그로마 이신 및 블라스티시딘을 1 µg/mL 테트라사이클린(인비트로젠)과 함께 5 L의 DMEM/F12에서 수확하였다. 이어서, ACC2를 함유하는 조건부 배지를 소프트링크 소프트 방출 아비딘 컬럼(프로메가(Promega), 미국 위스콘신주 매디슨 소재)에 적용하고 5 mM 비오틴으로 용리하였다. 4 mg의 ACC2를 95 %의 추산 순도(A280에 의해 측정됨)로 0.05 mg/mL(A280에 의해 측정됨)의 농도에서 용리하였다. 정제된 ACC2를 50 mM 트리스, 200 mM NaCl, 4 mM DTT, 2 mM EDTA 및 5 % 글리콜 중에 투석하였다. 모든 단백질을, 용해시 활성의 손실이 없도록, 냉동시키고 -80 °C에서 저장하였다. ACC2 활성의 측정 및 ACC2 억제제의 평가를 위해, 시험 화합물을 DMSO 중에 용해하고 1 %의 최종 DMSO 농도를 갖는 5x 비축량으로서 rhACC2 효소에 첨가하였다.
- [0856] [4] 인간 ACC2 억제제의 측정. 50 µM ATP 반응에 대한 제조자의 추천 조건을 사용하는 트랜스크리너 ADP 검출 FP 분석 키트(벨브룩 랩스)를 사용하여 hACC2를 코스타르 #3676(코스타르) 384-웰 플레이트에서 분석하였다. 분석을 위한 최종 조건은 50 mM HEPES(pH 7.2), 5 mM MgCl₂, 5 mM 트라이칼륨 시트레이트, 2 mM DTT, 0.1 mg/mL BSA, 30 µM 아세틸-CoA, 50 µM ATP 및 8 mM KHCO₃이었다. 전형적으로, 10 µL 반응을 50 분 동안 25 °C에서 수행하고, 10 µL의 트랜스크리너 정지 및 검출 완충액을 첨가하고 상기 조합을 실온에서 추가 1 시간 동안 배양하였다. 620 여기 Cy5 FP 일반적인 이중 거울, 620 여기 Cy5 FP 필터, 688 방출(S) 및 688(P) 방출 필터를 사용하는 엔비전 형광 판독기(펄킨엘머) 상에서 데이터를 획득하였다.
- [0857] 상기 실시예에서 예시된 화학식 I의 화합물에 대하여 상기한 재조합 hACC1 및 재조합 hACC2 트랜스크리너 분석을 사용한 결과를 하기 표 7에 요약하였다.

표 7

실시예	hACC1 IC50 (nM)	n	hACC2 IC50 (nM)	n
1	417	3	312	3
2	24.2	8	19	8
3	3920	3	2280	3
4	43	6	38	6
5	227	4	174	4
6	269	3	305	3
7	62	3	47	3
8	27	3	18	3
9	648	3	560	3
10	403	3	498	3
11	88	3	72	3
12	35	3	37	3
13	2040	3	1550	3
14	131	3	91	3
15	251	3	143	3
16	118	3	90	3

[0858]

17	72	3	31	3
18	657	3	719	3
19	1480	4	2010	4
20	336	3	299	3
21	619	3	341	3
22	1250	3	843	3
23	621	3	520	3
24	688	3	320	3
25	259	3	137	3
26	121	3	60	3
27	296	3	132	3
28	158	4	56	4
29	33	3	9.2	3
30	98	3	30	3
31	179	3	96	3
32	154	3	56	3
33	523	3	108	3
34	116	3	50	3
35	487	3	91	3
36	67	3	28	3
37	302	3	127	3
38	364	3	107	3
39	329	4	97	4
40	656	4	177	4
41	164	3	67	3
42	68	3	29	3
43	29	4	11	4
44	26	3	10	3
45	6.6	7	2.1	7
46	36	3	5.3	3
47	21	7	2.7	7
48	30	3	9.2	3
49	8.5	3	3.8	3
50	30	3	7.5	3
51	15	3	4.4	3
52	88	3	17	3
53	47	3	13	3

[0859]

54	21	3	5.1	3
55	14	4	2.6	4
56	7.4	3	1.9	3
57	50	3	13	3
58	149	3	12	3
59	123	3	14	3
60	43	3	14	3
61	94	3	13	3
62	8.4	3	2.1	3
63	160	3	28	3
64	23	4	4.0	4
65	256	3	56	3
66	17	3	2.4	3
67	1340	3	311	3
68	221	3	68	3
69	185	3	28	3
70	5.8	3	2.4	3
71	20	4	5.2	4
72	28	4	5.9	4
73	48	4	5.5	4
74	18	3	3.2	3
75	79	3	11	3
76	5.6	5	1.7	5
77	80	3	8.4	3
78	155	3	34	3
79	216	3	18	3
80	78	3	21	3
81	46	3	5.3	3
82	21	3	6.4	3
83	163	3	19	3
84	194	3	33	3
85	27	3	5.9	3
86	18	3	4.1	3
87	17	3	2.1	3
88	19	4	4.2	4
89	343	3	44	3
90	209	3	31	3

[0860]

91	240	3	51	3
92	244	3	55	3
93	65	3	8.6	3
94	130	3	23	3
95	105	3	9.2	3
96	62	3	7.1	3
97	219	3	45	3
98				
99	23	1	5.6	1
100	62	3	21	3
101	160	3	26	3
102	78	3	12	3
103	73	4	8.9	4
104	89	3	16	3
105	7.4	3	1.5	3
106	7.5	3	2.6	3
107	6.1	3	2.2	3
108	15	3	2.4	3
109	3.4	3	1.0	3
110	5.6	3	1.1	3
111	27	3	3.3	3
112	8.9	3	1.8	3
113	507	3	44	3
114	4820	3	612	3
115	29	4	2.9	4
116	20	4	4.7	4
117	332	4	54	4
118	17	4	2.7	4
119	24	4	2.5	4
120	47	4	6.1	4
121	17	4	2.7	4
122	494	4	77	4
123	78	1	6.3	1
124	6.5	3	1.72	3
125	9.0	3	1.7	3

[0861]

"n"은 분석 수행의 수를 지칭하기 위해 사용된다.

[0862]

서열 목록 1은 트랜스크립터 시험관 내 분석에서 사용될 수 있는 재조합 인간 ACC1(서열 번호 1)의 서열을 제공한다.

[0863]

서열 목록 2는 트랜스크립터 시험관 내 분석에서 사용될 수 있는 재조합 인간 ACC2(서열 번호 2)의 서열을 제공한다.

[0864]

실험 동물에서 ACC 억제의 급성 생체 내 평가

[0865]

본 발명의 화합물의 ACC 억제 활성은 처리된 동물로부터 간 및 근육 조직 중 말로닐-CoA 수준을 감소시키기 위한 이의 능력의 평가에 의해 생체 내에서 확인될 수 있다.

[0866]

실험 동물에서 말로닐-CoA 생성 억제의 측정은 하기 방법론을 사용하여 측정될 수 있다.

[0867]

이 방법에서, 연구를 수행하기 전에 수컷 스프래그-다우리 래트(표준 식사 및 물 임의 공급 유지; 225 내지 275g)를 무작위화하였다. 동물은 섭식 또는 18 시간 동안 단식한 후 실험을 시작하였다. 광 주기로 2 시간 동안 동물에게 5 mL/kg의 부피(0.5 % 메틸 셀룰로스; 비히클) 또는 적절한 화합물(비히클 중에 제조됨)을 경구 투여하였다. 섭식 비히클 대조군은 조직 말로닐-CoA 수준의 기선을 측정함을 포함하는 반면, 단식 동물은 말로닐-CoA 수준에 대한 단식 효과를 측정함을 포함한다. 화합물 투여 1 시간 후 동물을 CO₂로 질식사시키고 조직을 제거하였다. 특히, 혈액을 심장 천자에 의해 수집하고 EDTA(비디 바이오사이언시즈, 미국 뉴저지주 소재)를 함유하는 비디 마이크로테이너 튜브에 넣고, 혼합하고, 얼음에 방치하였다. 약물 노출을 측정하기 위해 혈장을 사용하였다. 간 및 사두근을 제거하고, 즉시 동결-클램핑하고, 호일로 싸고 액체 질소에 저장하였다.

[0868]

- [0869] 조직을 액체 N₂ 하에 분쇄하여 샘플이 균일하도록 하였다. 패스트프렙(FastPrep) FP120(써모 사이언티픽(Thermo Scientific), 속도=5.5; 45 초 동안)에서 라이싱 매트릭스 에이(Lysing Matrix A, 엠펜 바이오메디칼스(MP Biomedicals), PN 6910) 중 10 % 트라이카복실산(5 부피)으로 조직(150 내지 200 mg)으로부터 말로닐-CoA를 추출하였다. 15000 x g에서 30 분 동안 원심분리(에펜도르프(Eppendorf) 원심분리기 5402)한 후 말로닐-CoA를 함유하는 상청액을 세포 파괴물로부터 제거하였다. 분석이 완료될 때까지 샘플을 -80 °C에서 안정되게 냉동하였다.
- [0870] 간 및 근육 조직에서 말로닐 CoA 수준의 분석은 하기 방법론을 사용하여 평가될 수 있다.
- [0871] 방법은 하기 물질을 사용하였다: 필요한 이동상을 제조하기 위해 이소테크(Isotec, 미국 오하이오주 마이애미스 버그 소재)로부터 구입한 말로닐-CoA 테트라리튬 염 및 말로닐-¹³C₃CoA 트라이리튬 염, 나트륨 퍼클로레이트(시그마(Sigma), 카탈로그 번호 410241), 트라이클로로아세트산(아크로스(ACROS), 카탈로그 번호 42145), 인산(제이 티 베이커(J.T. Baker), 카탈로그 번호 0260-01), 암모늄 포르메이트(플루카(Fluka), 카탈로그 번호 17843), 메탄올(HPLC 등급, 제이 티 베이커, 카탈로그 번호 9093-33) 및 물(HPLC 등급, 제이 티 베이커, 카탈로그 번호 4218-03)을 사용하였다. 스트라타-엑스(Strata-X) 온라인 고체상 추출 컬럼, 25 µm, 20 mm x 2.0 mm I.D(카탈로그 번호 00M-S033-B0-CB)을 페노메넥스(Phenomenex, 미국 캘리포니아주 토란스 소재)로부터 취득하였다. 선파이어(SunFire) C18 역상 컬럼, 3.5 µm, 100 mm x 3.0 mm I.D.(카탈로그 번호 186002543)을 워터스 코포레이션(Waters Corporation, 미국 매사추세츠주 밀포드 소재)으로부터 구입하였다.
- [0872] 이 방법은 하기 장치를 사용하여 수행될 수 있다. 아질런트(Agilent) 1100 2원 펌프, 아질런트 1100 4원 펌프 및 2개의 발코 케미너트(Valco Cheminert) 6-포트 2 위치 밸브를 사용하는 2차원 크로마토그래피. 10 °C에서 유지되는 펠티에르(Peltier) 냉각 스택 및 20 µL 샘플 루프를 갖는 LEAP HTC PAL 자동 샘플러를 통해 샘플을 도입하였다. 자동 샘플러를 위한 바늘 세척 용액은 세척 1에 대하여 물(w/v) 중 10 % 트라이클로로아세트산이고 세척 2에 대하여 90:10의 메탄올:물이었다. 마이크로테크 사이언티픽 마이크로-엘씨(MicroTech Scientific Micro-LC) 컬럼 오븐을 사용하여 분석 컬럼(선파이어)을 35 °C에서 유지하였다. 터보 이온 스프레이(Turbo Ion Spray)를 갖는 ABI Sciex API3000 3중 4중극 질량 스펙트로미터상에서 용리액을 분석하였다.
- [0873] 온라인 고체상 추출 및 역상 크로마토그래피에 대하여 별개의 구배 용리 조건을 사용하여 2차원 크로마토그래피를 동시에 수행하였다. 일반적인 고안된 방법은 1차원이 샘플 정화 및 관심 분석물의 포획을 위해 이용된 후 1차원으로부터 2차원으로 용리하기 위해 모든 차원의 짧은 커플링을 하는 것이다. 이어서, 차원은 정량화하기 위한 2차원으로부터 분석물의 구배 용리를 위해 커플링하지 않으면서, 동시에 서열에서 다음 샘플을 위한 1차원을 제조한다. 모든 차원이 짧게 함께 커플링되는 경우, 1차원에서 이동상의 유동은 최적의 피크 너비, 피크 형태 및 용리 시간을 허용하기 위해 2차원 상에서 분석물의 용리를 위하여 역전된다.
- [0874] HPLC 시스템의 1차원은 페노메넥스 스트라타-X 온라인 고체상 추출 컬럼, 및 용매 A에 대하여 100 mM 나트륨 퍼클로레이트/0.1 % (v/v) 인산 및 용매 B에 대하여 메탄올로 이루어진 이동상을 사용하였다.
- [0875] HPLC 시스템의 2차원은 워터스 선파이어 C18 역상 컬럼 및 용매 A에 대하여 암모늄 포르메이트(100 mM) 및 용매 B에 대하여 메탄올로 이루어진 이동상을 사용하였다. 구배의 초기 상태를 2 분 동안 유지하고 이 시간 동안 분석물을 분석 컬럼에 옮겼다. 초기 상태가 충분한 강도에서 온라인 SPE 컬럼으로부터 분석물을 용리하면서 분석 시 이를 유지하는 것이 중요하다. 이어서, 구배는 세척 및 재균형 단계 전에 연속적으로 4.5 분에서 74.5 % A로 증가하였다.
- [0876] HPLC와 커플링될 경우 질량 분석은 착체 매트릭스 중 분석물을 정량적으로 측정하기 위해 매우 선택적이고 민감한 방법일 수 있지만 여전히 간섭 및 억제된다. 2차원 HPLC와 질량 스펙트로미터의 커플링에 의해, 이들 간섭은 유의하게 감소하였다. 추가로, 3중 4중극 질량 스펙트로미터의 다중 반응 모니터링(MRM) 특징을 이용함으로써, 신호 대 잡음비를 유의하게 개선하였다.
- [0877] 이 분석을 위해, 질량 스펙트로미터를 2250V의 터보 이온 스프레이 전압을 갖는 양이온 방식으로 작동하였다. 분무 가스를 450 °C로 가열하였다. 디클러스터링 전압(Declustering Potential: DP), 포커싱 전압(Focusing Potential: FP) 및 충돌 에너지(Collision Energy: CE)를 각각 60, 340 및 42 V로 설정하였다. 4중극 1(Q1) 해상도를 낮게 설정된 4중극 3(Q3)을 갖는 단위 해상도로 설정하였다. CAD 가스를 8로 설정하였다. MRM 전이는 말로닐 CoA에 대하여 854.1→347.0 m/z(문헌[L. Gao et al. *J. Chromatogr. B* 853,303-313 (2007)]); 및 말로닐-¹³C₃CoA에 대하여 200 ms의 체류 시간을 갖는 857.1→350.0 m/z로 모니터링하였다. 용리액을 분석물에 대

한 예상된 용리 시간에 가까운 질량 스펙트로미터로 전환하고, 그렇지 않으면 공급원을 유지하고 장비의 견고성을 개선하는데 도움이 되도록 폐기물로 전환하였다. 생성된 크로마토그램을 분석 소프트웨어(어플라이드 바이오시스템스(Applied Biosystems))를 사용하여 통합하였다. 말로닐 CoA에 대한 조직 농도를 물 중 트라이클로로아세트산의 10 % 용액으로 제조된 표준 곡선으로부터 산출하였다.

[0878] 조직 추출물 중 말로닐-CoA의 정량화를 위한 표준 곡선을 포함하는 샘플을 0.01 내지 1 pmol/μL의 범위의 10 % (w/v) 트라이클로로아세트산(TCA)으로 제조하였다. 말로닐-¹³C₃-CoA(0.4 pmol/μL의 최종 농도)를 각각의 표준 곡선 성분 및 내부 표준으로서 샘플에 첨가하였다.

[0879] 6개의 내부-정성 분석 대조군을 제조하였다; 단식 동물로부터 제조된 모아진 추출물로부터 3개 및 섭식 동물로부터 제조된 모아진 것으로부터 3개. 이들을 ¹²C-말로닐-CoA(0, 0.1 또는 0.3 pmol/μL) 및 말로닐-¹³C₃-CoA(0.4 pmol/μL)를 첨가한 독립적인 샘플로서 수행하였다. 각각의 내부-정성 분석 대조군은 수성 조직 추출물 85% 및 내부 표준(0.4 pmol/μL) 및 ¹²C-말로닐-CoA에 의해 공급된 잔부를 함유하였다. 사두근의 1개의 단식된 샘플 및 1개의 섭식 모아진 샘플 및/또는 간의 1개의 단식된 샘플 및 1개의 섭식 모아진 샘플로 이루어진 중간 정성 분석 대조군을 각각의 수행에 포함하였다. 모든 이러한 대조군에 말로닐-¹³C₃-CoA(0.4 pmol/μL)를 첨가하였다.

[0880] 본원에 언급된 모든 간행물(허여된 특허, 특허 출원 및 학술 논문을 포함하나 이로 제한되지 않음)은 각각 이의 전체가 참고로서 본원에 혼입된다.

[0881] 비록 본 발명이 기재된 실시양태에 대해 상기 기재되었을지라도, 당업자는 상술된 특정 실험이 단지 본 발명의 예시임을 쉽게 인지할 것이다. 다양한 개질이 본 발명의 취지를 벗어남이 없이 제조될 수 있음이 이해되어야 한다. 따라서, 본 발명은 하기 특허청구범위에 의해서만 제한된다.

서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

- <110> Pfizer Inc
Griffith, David A
Dow, Robert L
Bagley, Scott W
Smith, Aaron
- <120> N1/N2-Lactam Acetyl-CoA Carboxylase Inhibitors
- <130> PC71687A
- <150> 61/531,744
- <151> 2011-09-07
- <150> 61/408,127
- <151> 2010-10-29
- <160> 2
- <170> PatentIn version 3.5
- <210> 1
- <211> 2356
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens

<400> 1

Met Ala His His His His His His Asp Glu Val Asp Asp Glu Pro Ser
 1 5 10 15

Pro Leu Ala Gln Pro Leu Glu Leu Asn Gln His Ser Arg Phe Ile Ile
 20 25 30

Gly Ser Val Ser Glu Asp Asn Ser Glu Asp Glu Ile Ser Asn Leu Val
 35 40 45

Lys Leu Asp Leu Leu Glu Lys Glu Gly Ser Leu Ser Pro Ala Ser Val
 50 55 60

Gly Ser Asp Thr Leu Ser Asp Leu Gly Ile Ser Ser Leu Gln Asp Gly
 65 70 75 80

Leu Ala Leu His Ile Arg Ser Ser Met Ser Gly Leu His Leu Val Lys
 85 90 95

Gln Gly Arg Asp Arg Lys Lys Ile Asp Ser Gln Arg Asp Phe Thr Val
 100 105 110

Ala Ser Pro Ala Glu Phe Val Thr Arg Phe Gly Gly Asn Lys Val Ile
 115 120 125

Glu Lys Val Leu Ile Ala Asn Asn Gly Ile Ala Ala Val Lys Cys Met
 130 135 140

Arg Ser Ile Arg Arg Trp Ser Tyr Glu Met Phe Arg Asn Glu Arg Ala
 145 150 155 160

Ile Arg Phe Val Val Met Val Thr Pro Glu Asp Leu Lys Ala Asn Ala
 165 170 175

Glu Tyr Ile Lys Met Ala Asp His Tyr Val Pro Val Pro Gly Gly Pro
 180 185 190

Asn Asn Asn Asn Tyr Ala Asn Val Glu Leu Ile Leu Asp Ile Ala Lys
 195 200 205

Arg Ile Pro Val Gln Ala Val Trp Ala Gly Trp Gly His Ala Ser Glu
 210 215 220

Asn Pro Lys Leu Pro Glu Leu Leu Leu Lys Asn Gly Ile Ala Phe Met
 225 230 235 240

Gly Pro Pro Ser Gln Ala Met Trp Ala Leu Gly Asp Lys Ile Ala Ser
 245 250 255

Ser Ile Val Ala Gln Thr Ala Gly Ile Pro Thr Leu Pro Trp Ser Gly
 260 265 270

Ser Gly Leu Arg Val Asp Trp Gln Glu Asn Asp Phe Ser Lys Arg Ile
 275 280 285

Leu Asn Val Pro Gln Glu Leu Tyr Glu Lys Gly Tyr Val Lys Asp Val
 290 295 300

Asp Asp Gly Leu Gln Ala Ala Glu Glu Val Gly Tyr Pro Val Met Ile
 305 310 315 320

Lys Ala Ser Glu Gly Gly Gly Lys Gly Ile Arg Lys Val Asn Asn
 325 330 335

Ala Asp Asp Phe Pro Asn Leu Phe Arg Gln Val Gln Ala Glu Val Pro
 340 345 350

Gly Ser Pro Ile Phe Val Met Arg Leu Ala Lys Gln Ser Arg His Leu
 355 360 365

Glu Val Gln Ile Leu Ala Asp Gln Tyr Gly Asn Ala Ile Ser Leu Phe
 370 375 380

Gly Arg Asp Cys Ser Val Gln Arg Arg His Gln Lys Ile Ile Glu Glu
 385 390 395 400

Ala Pro Ala Thr Ile Ala Thr Pro Ala Val Phe Glu His Met Glu Gln
 405 410 415

Cys Ala Val Lys Leu Ala Lys Met Val Gly Tyr Val Ser Ala Gly Thr
 420 425 430

Val Glu Tyr Leu Tyr Ser Gln Asp Gly Ser Phe Tyr Phe Leu Glu Leu
 435 440 445

Asn Pro Arg Leu Gln Val Glu His Pro Cys Thr Glu Met Val Ala Asp
 450 455 460

Val Asn Leu Pro Ala Ala Gln Leu Gln Ile Ala Met Gly Ile Pro Leu
 465 470 475 480

Tyr Arg Ile Lys Asp Ile Arg Met Met Tyr Gly Val Ser Pro Trp Gly

	485	490	495
Asp Ser Pro Ile Asp Phe Glu Asp Ser Ala His Val Pro Cys Pro Arg			
	500	505	510
Gly His Val Ile Ala Ala Arg Ile Thr Ser Glu Asn Pro Asp Glu Gly			
	515	520	525
Phe Lys Pro Ser Ser Gly Thr Val Gln Glu Leu Asn Phe Arg Ser Asn			
	530	535	540
Lys Asn Val Trp Gly Tyr Phe Ser Val Ala Ala Ala Gly Gly Leu His			
545	550	555	560
Glu Phe Ala Asp Ser Gln Phe Gly His Cys Phe Ser Trp Gly Glu Asn			
	565	570	575
Arg Glu Glu Ala Ile Ser Asn Met Val Val Ala Leu Lys Glu Leu Ser			
	580	585	590
Ile Arg Gly Asp Phe Arg Thr Thr Val Glu Tyr Leu Ile Lys Leu Leu			
	595	600	605
Glu Thr Glu Ser Phe Gln Met Asn Arg Ile Asp Thr Gly Trp Leu Asp			
	610	615	620
Arg Leu Ile Ala Glu Lys Val Gln Ala Glu Arg Pro Asp Thr Met Leu			
625	630	635	640
Gly Val Val Cys Gly Ala Leu His Val Ala Asp Val Ser Leu Arg Asn			
	645	650	655
Ser Val Ser Asn Phe Leu His Ser Leu Glu Arg Gly Gln Val Leu Pro			
	660	665	670
Ala His Thr Leu Leu Asn Thr Val Asp Val Glu Leu Ile Tyr Glu Gly			
	675	680	685
Val Lys Tyr Val Leu Lys Val Thr Arg Gln Ser Pro Asn Ser Tyr Val			
	690	695	700
Val Ile Met Asn Gly Ser Cys Val Glu Val Asp Val His Arg Leu Ser			
705	710	715	720
Asp Gly Gly Leu Leu Leu Ser Tyr Asp Gly Ser Ser Tyr Thr Thr Tyr			
	725	730	735

Met Lys Glu Glu Val Asp Arg Tyr Arg Ile Thr Ile Gly Asn Lys Thr
 740 745 750

Cys Val Phe Glu Lys Glu Asn Asp Pro Ser Val Met Arg Ser Pro Ser
 755 760 765

Ala Gly Lys Leu Ile Gln Tyr Ile Val Glu Asp Gly Gly His Val Phe
 770 775 780

Ala Gly Gln Cys Tyr Ala Glu Ile Glu Val Met Lys Met Val Met Thr
 785 790 795 800

Leu Thr Ala Val Glu Ser Gly Cys Ile His Tyr Val Lys Arg Pro Gly
 805 810 815

Ala Ala Leu Asp Pro Gly Cys Val Leu Ala Lys Met Gln Leu Asp Asn
 820 825 830

Pro Ser Lys Val Gln Gln Ala Glu Leu His Thr Gly Ser Leu Pro Arg
 835 840 845

Ile Gln Ser Thr Ala Leu Arg Gly Glu Lys Leu His Arg Val Phe His
 850 855 860

Tyr Val Leu Asp Asn Leu Val Asn Val Met Asn Gly Tyr Cys Leu Pro
 865 870 875 880

Asp Pro Phe Phe Ser Ser Lys Val Lys Asp Trp Val Glu Arg Leu Met
 885 890 895

Lys Thr Leu Arg Asp Pro Ser Leu Pro Leu Leu Glu Leu Gln Asp Ile
 900 905 910

Met Thr Ser Val Ser Gly Arg Ile Pro Pro Asn Val Glu Lys Ser Ile
 915 920 925

Lys Lys Glu Met Ala Gln Tyr Ala Ser Asn Ile Thr Ser Val Leu Cys
 930 935 940

Gln Phe Pro Ser Gln Gln Ile Ala Asn Ile Leu Asp Ser His Ala Ala
 945 950 955 960

Thr Leu Asn Arg Lys Ser Glu Arg Glu Val Phe Phe Met Asn Thr Gln
 965 970 975

Ser Ile Val Gln Leu Val Gln Arg Tyr Arg Ser Gly Ile Arg Gly His

980	985	990
Met Lys Ala Val Val Met Asp Leu	Leu Arg Gln Tyr Leu	Arg Val Glu
995	1000	1005
Thr Gln Phe Gln Asn Gly His Tyr Asp Lys Cys Val	Phe Ala Leu	
1010	1015	1020
Arg Glu Glu Asn Lys Ser Asp Met Asn Thr Val Leu	Asn Tyr Ile	
1025	1030	1035
Phe Ser His Ala Gln Val Thr Lys Lys Asn Leu Leu	Val Thr Met	
1040	1045	1050
Leu Ile Asp Gln Leu Cys Gly Arg Asp Pro Thr Leu	Thr Asp Glu	
1055	1060	1065
Leu Leu Asn Ile Leu Thr Glu Leu Thr Gln Leu Ser	Lys Thr Thr	
1070	1075	1080
Asn Ala Lys Val Ala Leu Arg Ala Arg Gln Val Leu	Ile Ala Ser	
1085	1090	1095
His Leu Pro Ser Tyr Glu Leu Arg His Asn Gln Val	Glu Ser Ile	
1100	1105	1110
Phe Leu Ser Ala Ile Asp Met Tyr Gly His Gln Phe	Cys Ile Glu	
1115	1120	1125
Asn Leu Gln Lys Leu Ile Leu Ser Glu Thr Ser Ile	Phe Asp Val	
1130	1135	1140
Leu Pro Asn Phe Phe Tyr His Ser Asn Gln Val Val	Arg Met Ala	
1145	1150	1155
Ala Leu Glu Val Tyr Val Arg Arg Ala Tyr Ile Ala	Tyr Glu Leu	
1160	1165	1170
Asn Ser Val Gln His Arg Gln Leu Lys Asp Asn Thr	Cys Val Val	
1175	1180	1185
Glu Phe Gln Phe Met Leu Pro Thr Ser His Pro Asn	Arg Gly Asn	
1190	1195	1200
Ile Pro Thr Leu Asn Arg Met Ser Phe Ser Ser Asn	Leu Asn His	
1205	1210	1215

Tyr Gly Met Thr His Val Ala Ser Val Ser Asp Val Leu Leu Asp
 1220 1225 1230
 Asn Ser Phe Thr Pro Pro Cys Gln Arg Met Gly Gly Met Val Ser
 1235 1240 1245
 Phe Arg Thr Phe Glu Asp Phe Val Arg Ile Phe Asp Glu Val Met
 1250 1255 1260
 Gly Cys Phe Ser Asp Ser Pro Pro Gln Ser Pro Thr Phe Pro Glu
 1265 1270 1275

 Ala Gly His Thr Ser Leu Tyr Asp Glu Asp Lys Val Pro Arg Asp
 1280 1285 1290
 Glu Pro Ile His Ile Leu Asn Val Ala Ile Lys Thr Asp Cys Asp
 1295 1300 1305
 Ile Glu Asp Asp Arg Leu Ala Ala Met Phe Arg Glu Phe Thr Gln
 1310 1315 1320
 Gln Asn Lys Ala Thr Leu Val Asp His Gly Ile Arg Arg Leu Thr
 1325 1330 1335

 Phe Leu Val Ala Gln Lys Asp Phe Arg Lys Gln Val Asn Tyr Glu
 1340 1345 1350
 Val Asp Arg Arg Phe His Arg Glu Phe Pro Lys Phe Phe Thr Phe
 1355 1360 1365
 Arg Ala Arg Asp Lys Phe Glu Glu Asp Arg Ile Tyr Arg His Leu
 1370 1375 1380
 Glu Pro Ala Leu Ala Phe Gln Leu Glu Leu Asn Arg Met Arg Asn
 1385 1390 1395

 Phe Asp Leu Thr Ala Ile Pro Cys Ala Asn His Lys Met His Leu
 1400 1405 1410
 Tyr Leu Gly Ala Ala Lys Val Glu Val Gly Thr Glu Val Thr Asp
 1415 1420 1425
 Tyr Arg Phe Phe Val Arg Ala Ile Ile Arg His Ser Asp Leu Val
 1430 1435 1440
 Thr Lys Glu Ala Ser Phe Glu Tyr Leu Gln Asn Glu Gly Glu Arg

1445	1450	1455
Leu Leu Leu Glu Ala Met Asp Glu Leu Glu Val Ala Phe Asn Asn		
1460	1465	1470
Thr Asn Val Arg Thr Asp Cys Asn His Ile Phe Leu Asn Phe Val		
1475	1480	1485
Pro Thr Val Ile Met Asp Pro Ser Lys Ile Glu Glu Ser Val Arg		
1490	1495	1500
Ser Met Val Met Arg Tyr Gly Ser Arg Leu Trp Lys Leu Arg Val		
1505	1510	1515
Leu Gln Ala Glu Leu Lys Ile Asn Ile Arg Leu Thr Pro Thr Gly		
1520	1525	1530
Lys Ala Ile Pro Ile Arg Leu Phe Leu Thr Asn Glu Ser Gly Tyr		
1535	1540	1545
Tyr Leu Asp Ile Ser Leu Tyr Lys Glu Val Thr Asp Ser Arg Thr		
1550	1555	1560
Ala Gln Ile Met Phe Gln Ala Tyr Gly Asp Lys Gln Gly Pro Leu		
1565	1570	1575
His Gly Met Leu Ile Asn Thr Pro Tyr Val Thr Lys Asp Leu Leu		
1580	1585	1590
Gln Ser Lys Arg Phe Gln Ala Gln Ser Leu Gly Thr Thr Tyr Ile		
1595	1600	1605
Tyr Asp Ile Pro Glu Met Phe Arg Gln Ser Leu Ile Lys Leu Trp		
1610	1615	1620
Glu Ser Met Ser Thr Gln Ala Phe Leu Pro Ser Pro Pro Leu Pro		
1625	1630	1635
Ser Asp Met Leu Thr Tyr Thr Glu Leu Val Leu Asp Asp Gln Gly		
1640	1645	1650
Gln Leu Val His Met Asn Arg Leu Pro Gly Gly Asn Glu Ile Gly		
1655	1660	1665
Met Val Ala Trp Lys Met Thr Phe Lys Ser Pro Glu Tyr Pro Glu		
1670	1675	1680

Gly Arg Asp Ile Ile Val Ile Gly Asn Asp Ile Thr Tyr Arg Ile
 1685 1690 1695

Gly Ser Phe Gly Pro Gln Glu Asp Leu Leu Phe Leu Arg Ala Ser
 1700 1705 1710

Glu Leu Ala Arg Ala Glu Gly Ile Pro Arg Ile Tyr Val Ser Ala
 1715 1720 1725

Asn Ser Gly Ala Arg Ile Gly Leu Ala Glu Glu Ile Arg His Met
 1730 1735 1740

Phe His Val Ala Trp Val Asp Pro Glu Asp Pro Tyr Lys Gly Tyr
 1745 1750 1755

Arg Tyr Leu Tyr Leu Thr Pro Gln Asp Tyr Lys Arg Val Ser Ala
 1760 1765 1770

Leu Asn Ser Val His Cys Glu His Val Glu Asp Glu Gly Glu Ser
 1775 1780 1785

Arg Tyr Lys Ile Thr Asp Ile Ile Gly Lys Glu Glu Gly Ile Gly
 1790 1795 1800

Pro Glu Asn Leu Arg Gly Ser Gly Met Ile Ala Gly Glu Ser Ser
 1805 1810 1815

Leu Ala Tyr Asn Glu Ile Ile Thr Ile Ser Leu Val Thr Cys Arg
 1820 1825 1830

Ala Ile Gly Ile Gly Ala Tyr Leu Val Arg Leu Gly Gln Arg Thr
 1835 1840 1845

Ile Gln Val Glu Asn Ser His Leu Ile Leu Thr Gly Ala Gly Ala
 1850 1855 1860

Leu Asn Lys Val Leu Gly Arg Glu Val Tyr Thr Ser Asn Asn Gln
 1865 1870 1875

Leu Gly Gly Ile Gln Ile Met His Asn Asn Gly Val Thr His Cys
 1880 1885 1890

Thr Val Cys Asp Asp Phe Glu Gly Val Phe Thr Val Leu His Trp
 1895 1900 1905

Leu Ser Tyr Met Pro Lys Ser Val His Ser Ser Val Pro Leu Leu

1910	1915	1920
Asn Ser Lys Asp Pro Ile Asp Arg Ile Ile Glu Phe Val Pro Thr		
1925	1930	1935
Lys Thr Pro Tyr Asp Pro Arg Trp Met Leu Ala Gly Arg Pro His		
1940	1945	1950
Pro Thr Gln Lys Gly Gln Trp Leu Ser Gly Phe Phe Asp Tyr Gly		
1955	1960	1965
Ser Phe Ser Glu Ile Met Gln Pro Trp Ala Gln Thr Val Val Val		
1970	1975	1980
Gly Arg Ala Arg Leu Gly Gly Ile Pro Val Gly Val Val Ala Val		
1985	1990	1995
Glu Thr Arg Thr Val Glu Leu Ser Ile Pro Ala Asp Pro Ala Asn		
2000	2005	2010
Leu Asp Ser Glu Ala Lys Ile Ile Gln Gln Ala Gly Gln Val Trp		
2015	2020	2025
Phe Pro Asp Ser Ala Phe Lys Thr Tyr Gln Ala Ile Lys Asp Phe		
2030	2035	2040
Asn Arg Glu Gly Leu Pro Leu Met Val Phe Ala Asn Trp Arg Gly		
2045	2050	2055
Phe Ser Gly Gly Met Lys Asp Met Tyr Asp Gln Val Leu Lys Phe		
2060	2065	2070
Gly Ala Tyr Ile Val Asp Gly Leu Arg Glu Cys Cys Gln Pro Val		
2075	2080	2085
Leu Val Tyr Ile Pro Pro Gln Ala Glu Leu Arg Gly Gly Ser Trp		
2090	2095	2100
Val Val Ile Asp Ser Ser Ile Asn Pro Arg His Met Glu Met Tyr		
2105	2110	2115
Ala Asp Arg Glu Ser Arg Gly Ser Val Leu Glu Pro Glu Gly Thr		
2120	2125	2130
Val Glu Ile Lys Phe Arg Arg Lys Asp Leu Val Lys Thr Met Arg		
2135	2140	2145

Arg Val Asp Pro Val Tyr Ile His Leu Ala Glu Arg Leu Gly Thr
 2150 2155 2160

Pro Glu Leu Ser Thr Ala Glu Arg Lys Glu Leu Glu Asn Lys Leu
 2165 2170 2175

Lys Glu Arg Glu Glu Phe Leu Ile Pro Ile Tyr His Gln Val Ala
 2180 2185 2190

Val Gln Phe Ala Asp Leu His Asp Thr Pro Gly Arg Met Gln Glu
 2195 2200 2205

Lys Gly Val Ile Ser Asp Ile Leu Asp Trp Lys Thr Ser Arg Thr
 2210 2215 2220

Phe Phe Tyr Trp Arg Leu Arg Arg Leu Leu Leu Glu Asp Leu Val
 2225 2230 2235

Lys Lys Lys Ile His Asn Ala Asn Pro Glu Leu Thr Asp Gly Gln
 2240 2245 2250

Ile Gln Ala Met Leu Arg Arg Trp Phe Val Glu Val Glu Gly Thr
 2255 2260 2265

Val Lys Ala Tyr Val Trp Asp Asn Asn Lys Asp Leu Ala Glu Trp
 2270 2275 2280

Leu Glu Lys Gln Leu Thr Glu Glu Asp Gly Val His Ser Val Ile
 2285 2290 2295

Glu Glu Asn Ile Lys Cys Ile Ser Arg Asp Tyr Val Leu Lys Gln
 2300 2305 2310

Ile Arg Ser Leu Val Gln Ala Asn Pro Glu Val Ala Met Asp Ser
 2315 2320 2325

Ile Ile His Met Thr Gln His Ile Ser Pro Thr Gln Arg Ala Glu
 2330 2335 2340

Val Ile Arg Ile Leu Ser Thr Met Asp Ser Pro Ser Thr
 2345 2350 2355

<210>

2

<211> 2458

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Met Val Leu Leu Leu Cys Leu Ser Cys Leu Ile Phe Ser Cys Leu Thr
 1 5 10 15
 Phe Ser Trp Leu Lys Ile Trp Gly Lys Met Thr Asp Ser Lys Pro Ile
 20 25 30
 Thr Lys Ser Lys Ser Glu Ala Asn Leu Ile Pro Ser Gln Glu Pro Phe
 35 40 45
 Pro Ala Ser Asp Asn Ser Gly Glu Thr Pro Gln Arg Asn Gly Glu Gly

 50 55 60
 His Thr Leu Pro Lys Thr Pro Ser Gln Ala Glu Pro Ala Ser His Lys
 65 70 75 80
 Gly Pro Lys Asp Ala Gly Arg Arg Arg Asn Ser Leu Pro Pro Ser His
 85 90 95
 Gln Lys Pro Pro Arg Asn Pro Leu Ser Ser Ser Asp Ala Ala Pro Ser
 100 105 110
 Pro Glu Leu Gln Ala Asn Gly Thr Gly Thr Gln Gly Leu Glu Ala Thr

 115 120 125
 Asp Thr Asn Gly Leu Ser Ser Ser Ala Arg Pro Gln Gly Gln Gln Ala
 130 135 140
 Gly Ser Pro Ser Lys Glu Asp Lys Lys Gln Ala Asn Ile Lys Arg Gln
 145 150 155 160
 Leu Met Thr Asn Phe Ile Leu Gly Ser Phe Asp Asp Tyr Ser Ser Asp
 165 170 175
 Glu Asp Ser Val Ala Gly Ser Ser Arg Glu Ser Thr Arg Lys Gly Ser

 180 185 190
 Arg Ala Ser Leu Gly Ala Leu Ser Leu Glu Ala Tyr Leu Thr Thr Gly
 195 200 205
 Glu Ala Glu Thr Arg Val Pro Thr Met Arg Pro Ser Met Ser Gly Leu
 210 215 220
 His Leu Val Lys Arg Gly Arg Glu His Lys Lys Leu Asp Leu His Arg
 225 230 235 240

Asp Phe Thr Val Ala Ser Pro Ala Glu Phe Val Thr Arg Phe Gly Gly
 245 250 255
 Asp Arg Val Ile Glu Lys Val Leu Ile Ala Asn Asn Gly Ile Ala Ala
 260 265 270
 Val Lys Cys Met Arg Ser Ile Arg Arg Trp Ala Tyr Glu Met Phe Arg
 275 280 285
 Asn Glu Arg Ala Ile Arg Phe Val Val Met Val Thr Pro Glu Asp Leu
 290 295 300
 Lys Ala Asn Ala Glu Tyr Ile Lys Met Ala Asp His Tyr Val Pro Val
 305 310 315 320
 Pro Gly Gly Pro Asn Asn Asn Asn Tyr Ala Asn Val Glu Leu Ile Val
 325 330 335
 Asp Ile Ala Lys Arg Ile Pro Val Gln Ala Val Trp Ala Gly Trp Gly
 340 345 350
 His Ala Ser Glu Asn Pro Lys Leu Pro Glu Leu Leu Cys Lys Asn Gly
 355 360 365
 Val Ala Phe Leu Gly Pro Pro Ser Glu Ala Met Trp Ala Leu Gly Asp
 370 375 380
 Lys Ile Ala Ser Thr Val Val Ala Gln Thr Leu Gln Val Pro Thr Leu
 385 390 395 400
 Pro Trp Ser Gly Ser Gly Leu Thr Val Glu Trp Thr Glu Asp Asp Leu
 405 410 415
 Gln Gln Gly Lys Arg Ile Ser Val Pro Glu Asp Val Tyr Asp Lys Gly
 420 425 430
 Cys Val Lys Asp Val Asp Glu Gly Leu Glu Ala Ala Glu Arg Ile Gly
 435 440 445
 Phe Pro Leu Met Ile Lys Ala Ser Glu Gly Gly Gly Gly Lys Gly Ile
 450 455 460
 Arg Lys Ala Glu Ser Ala Glu Asp Phe Pro Ile Leu Phe Arg Gln Val
 465 470 475 480
 Gln Ser Glu Ile Pro Gly Ser Pro Ile Phe Leu Met Lys Leu Ala Gln

Leu Ile Asn Leu Leu Glu Thr Glu Ser Phe Gln Asn Asn Asp Ile Asp
 740 745 750
 Thr Gly Trp Leu Asp Tyr Leu Ile Ala Glu Lys Val Gln Ala Glu Lys
 755 760 765
 Pro Asp Ile Met Leu Gly Val Val Cys Gly Ala Leu Asn Val Ala Asp
 770 775 780
 Ala Met Phe Arg Thr Cys Met Thr Asp Phe Leu His Ser Leu Glu Arg
 785 790 795 800
 Gly Gln Val Leu Pro Ala Asp Ser Leu Leu Asn Leu Val Asp Val Glu
 805 810 815
 Leu Ile Tyr Gly Gly Val Lys Tyr Ile Leu Lys Val Ala Arg Gln Ser
 820 825 830
 Leu Thr Met Phe Val Leu Ile Met Asn Gly Cys His Ile Glu Ile Asp
 835 840 845
 Ala His Arg Leu Asn Asp Gly Gly Leu Leu Leu Ser Tyr Asn Gly Asn
 850 855 860
 Ser Tyr Thr Thr Tyr Met Lys Glu Glu Val Asp Ser Tyr Arg Ile Thr
 865 870 875 880
 Ile Gly Asn Lys Thr Cys Val Phe Glu Lys Glu Asn Asp Pro Thr Val
 885 890 895
 Leu Arg Ser Pro Ser Ala Gly Lys Leu Thr Gln Tyr Thr Val Glu Asp
 900 905 910
 Gly Gly His Val Glu Ala Gly Ser Ser Tyr Ala Glu Met Glu Val Met
 915 920 925
 Lys Met Ile Met Thr Leu Asn Val Gln Glu Arg Gly Arg Val Lys Tyr
 930 935 940
 Ile Lys Arg Pro Gly Ala Val Leu Glu Ala Gly Cys Val Val Ala Arg
 945 950 955 960
 Leu Glu Leu Asp Asp Pro Ser Lys Val His Pro Ala Glu Pro Phe Thr
 965 970 975
 Gly Glu Leu Pro Ala Gln Gln Thr Leu Pro Ile Leu Gly Glu Lys Leu

980	985	990
His Gln Val Phe His Ser Val Leu	Glu Asn Leu Thr Asn	Val Met Ser
995	1000	1005
Gly Phe Cys Leu Pro Glu Pro	Val Phe Ser Ile Lys	Leu Lys Glu
1010	1015	1020
Trp Val Gln Lys Leu Met Met	Thr Leu Arg His Pro	Ser Leu Pro
1025	1030	1035
Leu Leu Glu Leu Gln Glu Ile	Met Thr Ser Val Ala	Gly Arg Ile
1040	1045	1050
Pro Ala Pro Val Glu Lys Ser	Val Arg Arg Val Met	Ala Gln Tyr
1055	1060	1065
Ala Ser Asn Ile Thr Ser Val	Leu Cys Gln Phe Pro	Ser Gln Gln
1070	1075	1080
Ile Ala Thr Ile Leu Asp Cys	His Ala Ala Thr Leu	Gln Arg Lys
1085	1090	1095
Ala Asp Arg Glu Val Phe Phe	Ile Asn Thr Gln Ser	Ile Val Gln
1100	1105	1110
Leu Val Gln Arg Tyr Arg Ser	Gly Ile Arg Gly Tyr	Met Lys Thr
1115	1120	1125
Val Val Leu Asp Leu Leu Arg	Arg Tyr Leu Arg Val	Glu His His
1130	1135	1140
Phe Gln Gln Ala His Tyr Asp	Lys Cys Val Ile Asn	Leu Arg Glu
1145	1150	1155
Gln Phe Lys Pro Asp Met Ser	Gln Val Leu Asp Cys	Ile Phe Ser
1160	1165	1170
His Ala Gln Val Ala Lys Lys	Asn Gln Leu Val Ile	Met Leu Ile
1175	1180	1185
Asp Glu Leu Cys Gly Pro Asp	Pro Ser Leu Ser Asp	Glu Leu Ile
1190	1195	1200
Ser Ile Leu Asn Glu Leu Thr	Gln Leu Ser Lys Ser	Glu His Cys
1205	1210	1215

Lys Val Ala Leu Arg Ala Arg Gln Ile Leu Ile Ala Ser His Leu
 1220 1225 1230
 Pro Ser Tyr Glu Leu Arg His Asn Gln Val Glu Ser Ile Phe Leu
 1235 1240 1245
 Ser Ala Ile Asp Met Tyr Gly His Gln Phe Cys Pro Glu Asn Leu
 1250 1255 1260
 Lys Lys Leu Ile Leu Ser Glu Thr Thr Ile Phe Asp Val Leu Pro
 1265 1270 1275
 Thr Phe Phe Tyr His Ala Asn Lys Val Val Cys Met Ala Ser Leu
 1280 1285 1290
 Glu Val Tyr Val Arg Arg Gly Tyr Ile Ala Tyr Glu Leu Asn Ser
 1295 1300 1305
 Leu Gln His Arg Gln Leu Pro Asp Gly Thr Cys Val Val Glu Phe
 1310 1315 1320
 Gln Phe Met Leu Pro Ser Ser His Pro Asn Arg Met Thr Val Pro
 1325 1330 1335
 Ile Ser Ile Thr Asn Pro Asp Leu Leu Arg His Ser Thr Glu Leu
 1340 1345 1350
 Phe Met Asp Ser Gly Phe Ser Pro Leu Cys Gln Arg Met Gly Ala
 1355 1360 1365
 Met Val Ala Phe Arg Arg Phe Glu Asp Phe Thr Arg Asn Phe Asp
 1370 1375 1380
 Glu Val Ile Ser Cys Phe Ala Asn Val Pro Lys Asp Thr Pro Leu
 1385 1390 1395
 Phe Ser Glu Ala Arg Thr Ser Leu Tyr Ser Glu Asp Asp Cys Lys
 1400 1405 1410
 Ser Leu Arg Glu Glu Pro Ile His Ile Leu Asn Val Ser Ile Gln
 1415 1420 1425
 Cys Ala Asp His Leu Glu Asp Glu Ala Leu Val Pro Ile Leu Arg
 1430 1435 1440
 Thr Phe Val Gln Ser Lys Lys Asn Ile Leu Val Asp Tyr Gly Leu

1445 1450 1455
 Arg Arg Ile Thr Phe Leu Ile Ala Gln Glu Lys Glu Phe Pro Lys
 1460 1465 1470
 Phe Phe Thr Phe Arg Ala Arg Asp Glu Phe Ala Glu Asp Arg Ile
 1475 1480 1485
 Tyr Arg His Leu Glu Pro Ala Leu Ala Phe Gln Leu Glu Leu Asn

 1490 1495 1500
 Arg Met Arg Asn Phe Asp Leu Thr Ala Val Pro Cys Ala Asn His
 1505 1510 1515
 Lys Met His Leu Tyr Leu Gly Ala Ala Lys Val Lys Glu Gly Val
 1520 1525 1530
 Glu Val Thr Asp His Arg Phe Phe Ile Arg Ala Ile Ile Arg His
 1535 1540 1545
 Ser Asp Leu Ile Thr Lys Glu Ala Ser Phe Glu Tyr Leu Gln Asn

 1550 1555 1560
 Glu Gly Glu Arg Leu Leu Leu Glu Ala Met Asp Glu Leu Glu Val
 1565 1570 1575
 Ala Phe Asn Asn Thr Ser Val Arg Thr Asp Cys Asn His Ile Phe
 1580 1585 1590
 Leu Asn Phe Val Pro Thr Val Ile Met Asp Pro Phe Lys Ile Glu
 1595 1600 1605
 Glu Ser Val Arg Tyr Met Val Met Arg Tyr Gly Ser Arg Leu Trp

 1610 1615 1620
 Lys Leu Arg Val Leu Gln Ala Glu Val Lys Ile Asn Ile Arg Gln
 1625 1630 1635
 Thr Thr Thr Gly Ser Ala Val Pro Ile Arg Leu Phe Ile Thr Asn
 1640 1645 1650
 Glu Ser Gly Tyr Tyr Leu Asp Ile Ser Leu Tyr Lys Glu Val Thr
 1655 1660 1665
 Asp Ser Arg Ser Gly Asn Ile Met Phe His Ser Phe Gly Asn Lys

 1670 1675 1680

Gln Gly Pro Gln His Gly Met Leu Ile Asn Thr Pro Tyr Val Thr
 1685 1690 1695

Lys Asp Leu Leu Gln Ala Lys Arg Phe Gln Ala Gln Thr Leu Gly
 1700 1705 1710

Thr Thr Tyr Ile Tyr Asp Phe Pro Glu Met Phe Arg Gln Ala Leu
 1715 1720 1725

Phe Lys Leu Trp Gly Ser Pro Asp Lys Tyr Pro Lys Asp Ile Leu
 1730 1735 1740

Thr Tyr Thr Glu Leu Val Leu Asp Ser Gln Gly Gln Leu Val Glu
 1745 1750 1755

Met Asn Arg Leu Pro Gly Gly Asn Glu Val Gly Met Val Ala Phe
 1760 1765 1770

Lys Met Arg Phe Lys Thr Gln Glu Tyr Pro Glu Gly Arg Asp Val
 1775 1780 1785

Ile Val Ile Gly Asn Asp Ile Thr Phe Arg Ile Gly Ser Phe Gly
 1790 1795 1800

Pro Gly Glu Asp Leu Leu Tyr Leu Arg Ala Ser Glu Met Ala Arg
 1805 1810 1815

Ala Glu Gly Ile Pro Lys Ile Tyr Val Ala Ala Asn Ser Gly Ala
 1820 1825 1830

Arg Ile Gly Met Ala Glu Glu Ile Lys His Met Phe His Val Ala
 1835 1840 1845

Trp Val Asp Pro Glu Asp Pro His Lys Gly Phe Lys Tyr Leu Tyr
 1850 1855 1860

Leu Thr Pro Gln Asp Tyr Thr Arg Ile Ser Ser Leu Asn Ser Val
 1865 1870 1875

His Cys Lys His Ile Glu Glu Gly Gly Glu Ser Arg Tyr Met Ile
 1880 1885 1890

Thr Asp Ile Ile Gly Lys Asp Asp Gly Leu Gly Val Glu Asn Leu
 1895 1900 1905

Arg Gly Ser Gly Met Ile Ala Gly Glu Ser Ser Leu Ala Tyr Glu

1910	1915	1920
Glu Ile Val Thr Ile Ser Leu	Val Thr Cys Arg Ala	Ile Gly Ile
1925	1930	1935
Gly Ala Tyr Leu Val Arg Leu	Gly Gln Arg Val Ile	Gln Val Glu
1940	1945	1950
Asn Ser His Ile Ile Leu Thr	Gly Ala Ser Ala Leu	Asn Lys Val
1955	1960	1965
Leu Gly Arg Glu Val Tyr Thr	Ser Asn Asn Gln Leu	Gly Gly Val
1970	1975	1980
Gln Ile Met His Tyr Asn Gly	Val Ser His Ile Thr	Val Pro Asp
1985	1990	1995
Asp Phe Glu Gly Val Tyr Thr	Ile Leu Glu Trp Leu	Ser Tyr Met
2000	2005	2010
Pro Lys Asp Asn His Ser Pro	Val Pro Ile Ile Thr	Pro Thr Asp
2015	2020	2025
Pro Ile Asp Arg Glu Ile Glu	Phe Leu Pro Ser Arg	Ala Pro Tyr
2030	2035	2040
Asp Pro Arg Trp Met Leu Ala	Gly Arg Pro His Pro	Thr Leu Lys
2045	2050	2055
Gly Thr Trp Gln Ser Gly Phe	Phe Asp His Gly Ser	Phe Lys Glu
2060	2065	2070
Ile Met Ala Pro Trp Ala Gln	Thr Val Val Thr Gly	Arg Ala Arg
2075	2080	2085
Leu Gly Gly Ile Pro Val Gly	Val Ile Ala Val Glu	Thr Arg Thr
2090	2095	2100
Val Glu Val Ala Val Pro Ala	Asp Pro Ala Asn Leu	Asp Ser Glu
2105	2110	2115
Ala Lys Ile Ile Gln Gln Ala	Gly Gln Val Trp Phe	Pro Asp Ser
2120	2125	2130
Ala Tyr Lys Thr Ala Gln Ala	Ile Lys Asp Phe Asn	Arg Glu Lys
2135	2140	2145

Leu Pro Leu Met Ile Phe Ala Asn Trp Arg Gly Phe Ser Gly Gly

2150	2155	2160
Met Lys Asp Met Tyr Asp Gln Val Leu Lys Phe Gly Ala Tyr Ile		
2165	2170	2175
Val Asp Gly Leu Arg Gln Tyr Lys Gln Pro Ile Leu Ile Tyr Ile		
2180	2185	2190
Pro Pro Tyr Ala Glu Leu Arg Gly Gly Ser Trp Val Val Ile Asp		
2195	2200	2205
Ala Thr Ile Asn Pro Leu Cys Ile Glu Met Tyr Ala Asp Lys Glu		
2210	2215	2220
Ser Arg Gly Gly Val Leu Glu Pro Glu Gly Thr Val Glu Ile Lys		
2225	2230	2235
Phe Arg Lys Lys Asp Leu Ile Lys Ser Met Arg Arg Ile Asp Pro		
2240	2245	2250
Ala Tyr Lys Lys Leu Met Glu Gln Leu Gly Glu Pro Asp Leu Ser		
2255	2260	2265
Asp Lys Asp Arg Lys Asp Leu Glu Gly Arg Leu Lys Ala Arg Glu		
2270	2275	2280
Asp Leu Leu Leu Pro Ile Tyr His Gln Val Ala Val Gln Phe Ala		
2285	2290	2295
Asp Phe His Asp Thr Pro Gly Arg Met Leu Glu Lys Gly Val Ile		
2300	2305	2310
Ser Asp Ile Leu Glu Trp Lys Thr Ala Arg Thr Phe Leu Tyr Trp		
2315	2320	2325
Arg Leu Arg Arg Leu Leu Leu Glu Asp Gln Val Lys Gln Glu Ile		
2330	2335	2340
Leu Gln Ala Ser Gly Glu Leu Ser His Val His Ile Gln Ser Met		
2345	2350	2355
Leu Arg Arg Trp Phe Val Glu Thr Glu Gly Ala Val Lys Ala Tyr		
2360	2365	2370
Leu Trp Asp Asn Asn Gln Val Val Val Gln Trp Leu Glu Gln His		

2375 2380 2385
Trp Gln Ala Gly Asp Gly Pro Arg Ser Thr Ile Arg Glu Asn Ile

2390 2395 2400
Thr Tyr Leu Lys His Asp Ser Val Leu Lys Thr Ile Arg Gly Leu

2405 2410 2415
Val Glu Glu Asn Pro Glu Val Ala Val Asp Cys Val Ile Tyr Leu

2420 2425 2430
Ser Gln His Ile Ser Pro Ala Glu Arg Ala Gln Val Val His Leu

2435 2440 2445
Leu Ser Thr Met Asp Ser Pro Ala Ser Thr

2450 2455