(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0103033
(43) 공개일자 2017년09월12일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 471/04 (2006.01) *A61K 31/4155* (2006.01)
A61K 31/4375 (2006.01) *A61K 31/4439* (2006.01)
C07D 401/14 (2006.01) *C07D 403/14* (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07D 471/04 (2013.01)
A61K 31/4155 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2017-7024389(분할)
(22) 출원일자(국제) 2014년03월26일
심사청구일자 없음
(62) 원출원 특허 10-2015-7031064
원출원일자(국제) 2014년03월26일
심사청구일자 2015년10월28일
(85) 번역문제출일자 2017년08월30일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2014/056013
(87) 국제공개번호 WO 2014/154725
국제공개일자 2014년10월02일
(30) 우선권주장
1305668.4 2013년03월28일 영국(GB)

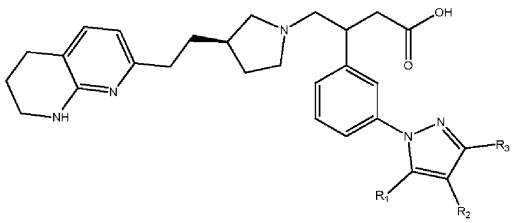
(71) 출원인
글락소스미스클라인 인털렉츄얼 프로퍼티 디벨로프먼트 리미티드
영국 미들섹스 브렌트포드 그레이트 웨스트 로드 980 (우: 티더블유8 9지에스)
(72) 발명자
앤더슨, 니얼 앤드류
영국 에스쥐1 2엔와이 허트포드셔 스티브니지 건넬스 우드 로드 글락소스미스클라인
펠런, 브렌단 존
영국 에스쥐1 2엔와이 허트포드셔 스티브니지 건넬스 우드 로드 글락소스미스클라인
프리처드, 존 마르틴
영국 에스쥐1 2엔와이 허트포드셔 스티브니지 건넬스 우드 로드 글락소스미스클라인
(74) 대리인
특허법인 남앤드남

전체 청구항 수 : 총 29 항

(54) 발명의 명칭 **알파-V-베타-6 인테그린 길항제로서 유용한 나프티리딘 유도체**

(57) 요 약

본 발명은 R_1이 수소 원자, 메틸기 또는 에틸기이고, R_2가 수소 원자 또는 플루오르 원자이고, R_3가 수소 원자, 메틸기 또는 에틸기인 하기 화학식 (I)의 화합물 또는 이의 염 (I)을 제공한다:



(I)

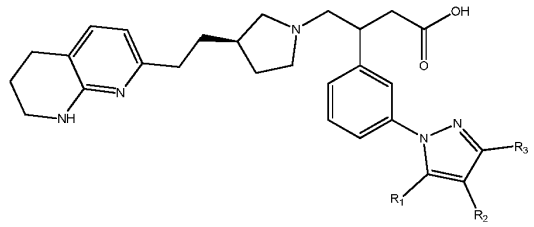
(52) CPC특허분류
A61K 31/4375 (2013.01)
A61K 31/4439 (2013.01)
C07D 401/14 (2013.01)
C07D 403/14 (2013.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 (I)의 화합물 또는 이의 염:



(I)

상기 식에서,

R_1은 수소 원자, 메틸기 또는 에틸기이고,

R_2는 수소 원자 또는 플루오르 원자이고,

R_3는 수소 원자, 메틸기 또는 에틸기이다.

청구항 2

제 1항에 있어서, R_1이 메틸기이고, R_2가 수소 원자이고, R_3가 메틸기인 화합물 또는 이의 염.

청구항 3

제 1항에 있어서, R_1이 메틸기이고, R_2가 수소 원자이고, R_3가 수소 원자인 화합물 또는 이의 염.

청구항 4

제 1항에 있어서, R_1이 메틸기이고, R_2가 플루오르기이고, R_3가 메틸기인 화합물 또는 이의 염.

청구항 5

제 1항에 있어서, R_1이 수소 원자이고, R_2가 수소 원자이고, R_3가 수소 원자인 화합물 또는 이의 염.

청구항 6

제 1항에 있어서, R_1이 에틸기이고, R_2가 수소 원자이고, R_3가 메틸기인 화합물 또는 이의 염.

청구항 7

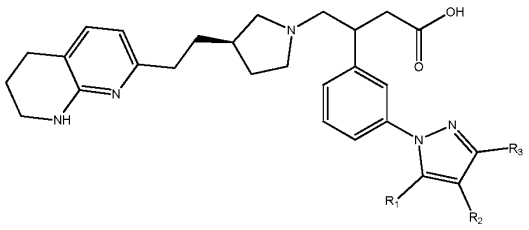
제 1항에 있어서, R_1이 에틸기이고, R_2가 수소 원자이고, R_3가 에틸기인 화합물 또는 이의 염.

청구항 8

제 1항에 있어서, R_1이 수소 원자이고, R_2가 수소 원자이고, R_3가 메틸기인 화합물 또는 이의 염.

청구항 9

하기 화학식 (I)의 화합물:



(I)

상기 식에서,

R_1은 수소 원자, 메틸기 또는 에틸기이고,

R_2는 수소 원자 또는 플루오르 원자이고,

R_3는 수소 원자, 메틸기 또는 에틸기이다.

청구항 10

제 9항에 있어서,

3-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-(2-(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부탄산;

3-(3-(5-메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-(2-(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부탄산;

3-(3-(5-에틸-3-메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-(2-(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부탄산;

3-(3-(1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-(2-(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부탄산;

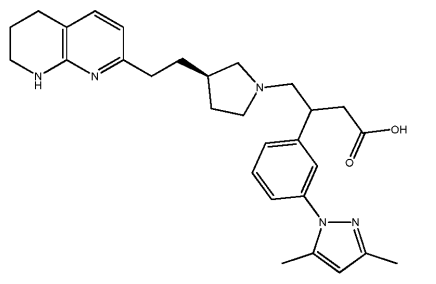
3-(3-(3,5-디에틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-(2-(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부탄산;

3-(3-(4-플루오로-3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-(2-(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부탄산;

3-(3-(3-메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-(2-(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부탄산으로부터 선택되는 화합물.

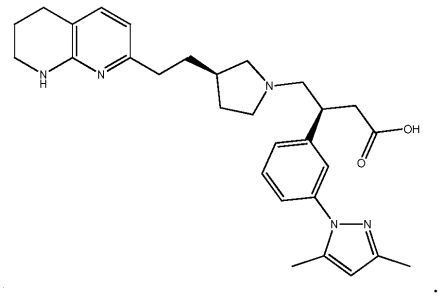
청구항 11

제 1항에 있어서, 하기 화학식의 3-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-(2-(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부탄산인 화합물:



청구항 12

제 1항에 있어서, 하기 화학식의 (*S*)-3-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-(2-(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부탄산인 화합물:



.

청구항 13

제 1항에 있어서, 3-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-(2-(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부탄산 하이드로클로라이드 염인 화합물.

청구항 14

제 1항에 있어서, (*S*)-3-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-(2-(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부탄산 하이드로클로라이드 염인 화합물.

청구항 15

치료에서 사용하기 위한 제 1항 내지 제 14항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염.

청구항 16

$\alpha_v\beta_6$ 수용체 길항제를 필요로 하는 질병 또는 질환의 치료에서 사용하기 위한 제 1항 내지 제 14항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염.

청구항 17

특발폐섬유증의 치료에서 사용하기 위한 제 1항 내지 제 14항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염.

청구항 18

치료적 유효량의 제 1항 내지 제 14항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 $\alpha_v\beta_6$ 수용체의 길항작용이 이로운 장애의 치료를 필요로 하는 인간에게 투여하는 것을 포함하는, 인간에서 $\alpha_v\beta_6$ 수용체의 길항작용이 이로운 장애의 치료를 위한 방법.

청구항 19

치료적 유효량의 제 1항 내지 제 14항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 $\alpha_v\beta_6$ 수용체의 길항작용이 이로운 장애의 예방을 필요로 하는 인간에게 투여하는 것을 포함하는, 인간에서 $\alpha_v\beta_6$ 수용체의 길항작용이 이로운 장애의 예방을 위한 방법.

청구항 20

치료적 유효량의 제 1항 내지 제 14항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 섬유성 질병의 치료를 필요로 하는 인간에게 투여하는 것을 포함하는, 인간에서 섬유성 질병의 치료를 위한 방법.

청구항 21

치료적 유효량의 제 1항 내지 제 14항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 섬유

성 질병의 예방을 필요로 하는 인간에게 투여하는 것을 포함하는, 인간에서 섬유성 질병의 예방을 위한 방법.

청구항 22

치료적 유효량의 제 1항 내지 제 14항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 특발폐섬유증의 치료를 필요로 하는 인간에게 투여하는 것을 포함하는, 인간에서 특발폐섬유증의 치료를 위한 방법.

청구항 23

치료적 유효량의 제 1항 내지 제 14항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 특발폐섬유증의 예방을 필요로 하는 인간에게 투여하는 것을 포함하는, 인간에서 특발폐섬유증의 예방을 위한 방법.

청구항 24

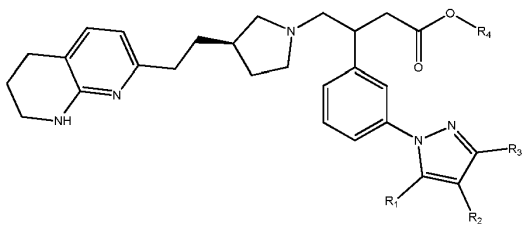
제 1항 내지 제 14항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 및 하나 이상의 약학적으로 허용되는 담체, 희석제 또는 부형제를 포함하는 약학적 조성물.

청구항 25

$\alpha_v\beta_6$ 수용체 길항제를 필요로 하는 질병 또는 질환의 치료를 위한 약제의 제조에서의 제 1항 내지 제 14항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염의 용도.

청구항 26

하기 화학식 (II)의 화합물 또는 이의 염:



(II)

상기 식에서,

R_1은 수소 원자, 메틸기 또는 에틸기이고,

R_2는 수소 원자 또는 플루오르 원자이고,

R_3는 수소 원자, 메틸기 또는 에틸기이고,

R_4는 C_1 내지 C_6 알킬기이다.

청구항 27

제 26항에 있어서, R_4가 *터트*-Bu, 이소-프로필, 에틸 또는 메틸기인 화합물.

청구항 28

제 27항에 있어서, 메틸 3-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-(2-(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부타노에이트인 화합물.

청구항 29

제 27항에 있어서, *터트*-부틸 3-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-(2-(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부타노에이트인 화합물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] **발명의 분야**

[0002] 본 발명은 $\alpha_v\beta_6$ 인테그린 길항제인 피롤리딘 화합물, 상기 화합물을 포함하는 약학적 조성물 및 치료, 특히, $\alpha_v\beta_6$ 인테그린의 길항제를 필요로 하는 질환의 치료를 위한 약제의 제조에서의 화합물로 사용하기 위한 $\alpha_v\beta_6$ 인테그린 길항제를 필요로 하는 질환의 치료에서의 이들의 용도 및 인간에서 $\alpha_v\beta_6$ 인테그린의 길항작용을 필요로 하는 장애의 치료 또는 예방을 위한 방법, 및 상기 화합물의 제조를 위해 중간체로 사용될 수 있는 화합물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0003] **발명의 배경**

[0004] 인테그린 상과 단백질은 알파 및 베타 서브유닛으로 구성된 이종이합체 세포 표면 수용체이다. 18개의 알파 및 8개의 베타 서브유닛이 보고되어 있으며, 이들은 24개의 별개의 알파/베타 이종이합체를 형성하는 것을 나타내었다. 각각의 사슬은 사슬 당 약 20개의 아미노산의 막횡단 스패닝 영역, 및 일반적으로 사슬 당 30-50개의 아미노산의 짧은 세포질 꼬리와 함께 큰 세포외 도메인 (베타 서브유닛에 대해 >640개의 아미노산, 알파 서브유닛에 대해 >940개의 아미노산)을 포함한다. 다양한 인테그린이 세포외 기질로의 세포 부착, 세포-세포 상호작용, 및 세포 이동, 증식, 분화 및 생존에 대한 효과를 포함하는 많은 세포생물학에 관여하는 것으로 밝혀졌다 (Barczyk et al, *Cell and Tissue Research*, **2010**, *339*, 269).

[0005] 인테그린 수용체는 리간드와의 짧은 단백질-단백질 결합 경계면을 통해 결합 단백질과 상호작용하며, 인테그린 패밀리는 상기 리간드 내에 유사한 결합 인지 모티프를 공유하는 서브패밀리로 그룹화될 수 있다. 주요 서브패밀리는 단백질 서열 내에 RGD(아르기닌-글리신-아스파르트산) 모티프를 함유하는 리간드를 인지하는 RGD-인테그린이다. 상기 서브패밀리에서 8개의 인테그린, 즉, $\alpha_v\beta_1$, $\alpha_v\beta_3$, $\alpha_v\beta_5$, $\alpha_v\beta_6$, $\alpha_v\beta_8$, $\alpha_{IIb}\beta_3$, $\alpha_5\beta_1$, $\alpha_8\beta_1$이 존재하며, 여기서 명칭은 $\alpha_v\beta_1$, $\alpha_v\beta_3$, $\alpha_v\beta_5$, $\alpha_v\beta_6$, & $\alpha_v\beta_8$가 다양한 β 서브유닛과 함께 공통의 V 서브유닛을 공유하고, $\alpha_v\beta_1$, $\alpha_5\beta_1$ & $\alpha_8\beta_1$이 다양한 α 서브유닛과 함께 공통의 β_1 서브유닛을 공유하는 것을 나타낸다. β_1 서브유닛은 11개의 상이한 α 서브유닛과 쌍을 이루는 것으로 밝혀졌고, 이중 단지 상기 나열된 3개가 일반적으로 RGD 펩티드 모티프를 인지한다(Humphries et al, *Journal of Cell Science*, **2006**, *119*, 3901).

[0006] 이 중에서, 8개의 RGD-결합 인테그린은 다양한 RGD-함유 리간드에 대해 다양한 결합 친화성 및 특이성이 존재한다. 리간드는 단백질, 예를 들어, 섬유결합소, 비트로넥틴, 오스테오폰틴(osteopontin), 및 전환 성장 인자 β_1 및 β_3(TGFβ_1 및 TGFβ_3)의 잠복기 관련 펩티드(LAP)를 포함한다. TGFβ_1 및 TGFβ_3 생물학적 활성의 활성화, 및 이후의 TGFβ-유도 생물학을 가능케 하는 LAP로의 TGFβ_1 및 TGFβ_3의 결합이 여러 시스템에서 밝혀졌다 (Worthington et al, *Trends in Biochemical Sciences*, **2011**, *36*, 47). 상기 리간드로의 RGD 인테그린의 특정 결합은 세포 표현형에 따라 다수의 요인에 좌우된다. RGD-결합 인테그린의 발현 패턴과 커플링된 상기 리간드의 다양성은 질병 개입을 위한 다수의 기회를 발생시킨다. 상기 질병은 섬유성 질병(Margadant et al, EMBO reports, **2010**, *11*, 97), 염증 장애, 암(Desgrosellier et al, *Nature Reviews Cancer*, **2010**, *10*, 9), 재협착, 및 혈관신생 구성요소를 갖는 다른 질병(Weis et al, *Cold Spring. Harb. Perspect. Med.* **2011**, *1*, a006478)을 포함한다.

[0007] 길항제 항체, 작은 펩티드 및 화합물을 포함하는 유의한 수의 α_v 인테그린 길항제(Goodman et al, *Trends in Pharmacological Sciences*, **2012**, *33*, 405)가 문헌에 개시되었다. 항체에 대해, 이들은 범(pan)-α_v 길항제 인테투무맙(Intetumumab), 선택적 $\alpha_v\beta_3$ 길항제 에타라시주맙(Etaracizumab), 및 선택적 $\alpha_v\beta_6$ 길항제 STX-100을 포함한다. 실렌지티드(Cilengitide)는 $\alpha_v\beta_3$ 및 $\alpha_v\beta_5$ 둘 모두를 억제하는 사이클릭 펩티드 길항제이고, SB-267268은 $\alpha_v\beta_3$ 및 $\alpha_v\beta_5$ 둘 모두를 억제하는 화합물의 한 예이다(Wilkinson-Berka et al, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, **2006**, *47*, 1600). 다양한 조합의 α_v 인테그린의 길항제로 작용하는 화합물의 발명은 신규한 작용제가 발생되고, 특정 질병 적응증에 맞춤화되는 것을 가능케 한다.

[0008] 폐 섬유증은 특발성 간질성 폐렴을 포함하는 여러 간질성 폐 질병의 최종 단계이며, 이는 폐 간질 내의 세포외 기질의 과도한 침착을 특징으로 한다. 특발성 간질성 폐렴 중에서, 특발폐섬유증(IPF)은 진단 후 3 내지 5년의 중앙 생존을 갖는 가장 흔하고 가장 치면적인 질환이다. IPF에서의 섬유증은 일반적으로 진행성이고, 현재의 약리학적 개입으로는 난치성이고, 기능성 폐포 단위의 폐색으로 인해 호흡 부전을 가차없이 발생시킨다. 미국 및 유럽에서 약 500,000명의 사람이 IPF에 걸린다. 따라서, 이러한 질환은 신규한 치료 접근법이 시급히 요구되는 충족되지 않은 주요한 의학적 필요성을 제시한다(Datta A *et al*, Novel therapeutic approaches for pulmonary fibrosis, *British Journal of Pharmacology* **2011** 163: 141-172).

[0009] TGF-β1의 활성화에서 상피-제한된 인테그린 $\alpha_v\beta_6$의 중요한 역할을 뒷받침하는 강한 시험관내 실험 동물 및 IPF 환자 면역조직화학 데이터가 존재한다. 이러한 인테그린의 발현은 정상 상피 조직에서 낮으며, IPF에서 활성화된 상피를 포함하는 손상되고 염증이 발생된 상피에서 유의하게 상향 조절된다. 따라서, 상기 인테그린을 표적화시키는 것은 더 넓은 TGF-β 항상성 역할을 방해할 이론적 가능성을 감소시킨다. 항체 차단에 의한 $\alpha_v\beta_6$ 인테그린의 부분적 억제는 염증을 악화시킴이 없이 폐 섬유증을 방지하는 것으로 밝혀졌다(Horan GS *et al* Partial inhibition of integrin $\alpha_v\beta_6$ prevents pulmonary fibrosis without exacerbating inflammation. *Am J Respir Crit Care Med* **2008** 177: 56-65).

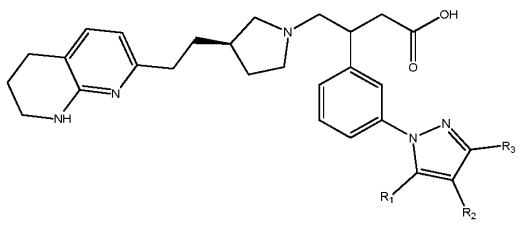
[0010] $\alpha_v\beta_3$ 인테그린은 혈관 내피를 포함하는 다수의 세포 유형에서 발현되고, 여기서 이는 장벽 내성의 조절인자로 특성규명되었다. 급성 폐 손상 및 패혈증의 동물 모델에서의 데이터는, 넉아웃(knockout) 마우스가 폐부종 또는 사망을 초래하는 현저히 향상된 혈관 누출을 나타냄에 따라 혈관 누출에서의 상기 인테그린의 유의한 역할을 입증하였다. 더욱이, $\alpha_v\beta_3$ 기능을 억제할 수 있는 항체는 다수의 성장인자에 반응하여 인간 폐 동맥 및 제정맥 내피 세포에서 단층 투과성에서 있어서 급격한 증가를 야기시켰다. 이들 데이터는 혈관 자극 후의 혈관 내피 온전성의 유지에서의 $\alpha_v\beta_3$에 대한 보호 역할을 암시하며, 상기 기능의 억제가 만성 질병 환경에서 병원성 반응을 유도할 수 있음을 암시한다(Su *et al* Absence of integrin $\alpha_v\beta_3$ enhances vascular leak in mice by inhibiting endothelial cortical actin formation *Am J Respir Crit Care Med* **2012** 185: 58-66). 따라서, $\alpha_v\beta_3$에 비한 $\alpha_v\beta_6$에 대한 선택성은 안전성 장점을 제공할 수 있다.

[0011] $\alpha_v\beta_6$ 길항제를 제공하는 것이 본 발명의 목적이다.

발명의 내용

[0012] **발명의 개요**

[0013] 본 발명의 첫번째 양태에서, 하기 화학식 (I)의 화합물 또는 이의 염, 더욱 특히 하기 화학식 (I)의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염이 제공된다:



[0014] (I)

[0015] 상기 식에서,

[0016] R_1은 수소 원자, 메틸기 또는 에틸기이고,

[0017] R_2는 수소 원자 또는 플루오르 원자이고,

[0018] R_3는 수소 원자, 메틸기 또는 에틸기이다.

[0019] 화학식 (I)의 화합물 및 이의 염은 $\alpha_v\beta_6$ 길항제 활성을 가지며, 특정 장애의 치료 또는 예방에서 잠재적으로

유용한 것으로 생각된다.

[0020] 본 발명의 두번째 양태에서, 화학식 (I)의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 및 하나 이상의 약학적으로 허용되는 담체, 희석제 또는 부형제를 포함하는 약학적 조성물이 제공된다.

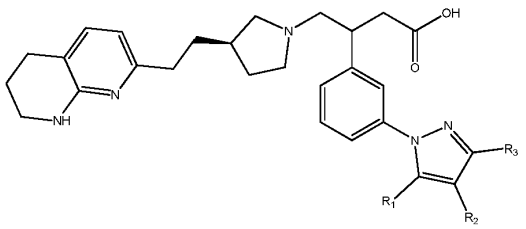
[0021] 본 발명의 세번째 양태에서, 치료, 특히 $\alpha_v\beta_6$ 인테그린 수용체 길항제를 필요로 하는 질병 또는 질환의 치료에서 사용하기 위한 화학식 (I)의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염이 제공된다.

[0022] 본 발명의 네번째 양태에서, 치료적 유효량의 화학식 (I)의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 $\alpha_v\beta_6$ 인테그린 수용체 길항제를 필요로 하는 질병 또는 질환의 치료 또는 예방을 필요로 하는 인간에게 투여하는 것을 포함하는, $\alpha_v\beta_6$ 인테그린 수용체 길항제를 필요로 하는 질병 또는 질환의 치료 또는 예방을 필요로 하는 인간에서 $\alpha_v\beta_6$ 인테그린 수용체 길항제를 필요로 하는 질병 또는 질환의 치료 또는 예방 방법이 제공된다.

[0023] 본 발명의 다섯번째 양태에서, $\alpha_v\beta_6$ 인테그린 수용체 길항제를 필요로 하는 질병 또는 질환의 치료를 위한 약제의 제조에서의 화학식 (I)의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염의 용도가 제공된다.

[0024] **발명의 상세한 설명**

[0025] 본 발명의 첫번째 양태에서, 하기 화학식 (I)의 화합물 또는 이의 염이 제공된다:



(I)

[0026]

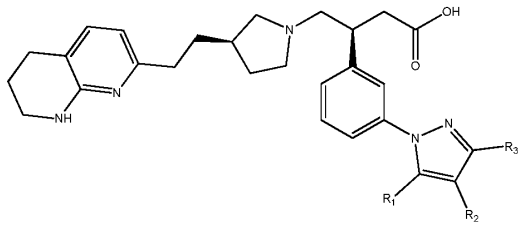
[0027] 상기 식에서,

[0028] R_1은 수소 원자, 메틸기 또는 에틸기이고,

[0029] R_2는 수소 원자 또는 플루오르 원자이고,

[0030] R_3는 수소 원자, 메틸기 또는 에틸기이다.

[0031] 일부 구체예에서, 화학식 (I)의 화합물은 하기 입체형태를 갖는다:



[0032] .

[0033] 본 발명은 상기 기재된 특정 그룹 및 바람직한 그룹의 모든 조합을 포함하는 것이 이해되어야 한다.

[0034] 일부 구체예에서, R_1은 메틸기이고, R_2는 수소 원자이고, R_3는 메틸기이다.

[0035] 일부 구체예에서, R_1은 메틸기이고, R_2는 수소 원자이고, R_3는 수소 원자이다.

[0036] 일부 구체예에서, R_1은 메틸기이고, R_2는 플루오르기이고, R_3는 메틸기이다.

[0037] 일부 구체예에서, R_1은 수소 원자이고, R_2는 수소 원자이고, R_3는 수소 원자이다.

[0038] 일부 구체예에서, R_1은 에틸기이고, R_2는 수소 원자이고, R_3는 메틸기이다.

[0039] 일부 구체예에서, R_1은 에틸기이고, R_2는 수소 원자이고, R_3는 에틸기이다.

[0040] 일부 구체예에서, R_1은 수소 원자이고, R_2는 수소 원자이고, R_3는 메틸기이다.

[0041] 일부 구체예에서, 화합물은,

[0042] 3-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-(2-(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부탄산;

[0043] 3-(3-(5-메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-(2-(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부탄산;

[0044] 3-(3-(5-에틸-3-메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-(2-(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부탄산;

[0045] 3-(3-(1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-(2-(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부탄산;

[0046] 3-(3-(3,5-디에틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-(2-(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부탄산;

[0047] 3-(3-(4-플루오로-3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-(2-(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부탄산;

[0048] 3-(3-(3-메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-(2-(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부탄산;

[0049] 또는 이들의 약학적으로 허용되는 염으로부터 선택된다.

[0050] 한 구체예에서, 화합물은 3-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-(2-(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부탄산 또는 이의 약학적으로 허용되는 염이다.

[0051] 본 발명은 화학식 (I)의 화합물의 자유 염기 및 염, 예를 들어, 화학식 (I)의 화합물의 약학적으로 허용되는 염으로서 화학식 (I)의 화합물을 포함하는 것이 인지될 것이다. 한 구체예에서, 본 발명은 화학식 (I)의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염에 관한 것이다.

[0052] 적합한 염에 대한 개관을 위해, 문헌[Berge et al., *J. Pharm. Sci.*, **66**:1-19, (1977)]을 참조하라. 적합한 약학적으로 허용되는 염은 문헌[P H Stahl and C G Wermuth, editors, *Handbook of Pharmaceutical Salts; Properties, Selection and Use,* Weinheim/Surich: Wiley-VCH/VHCA, 2002]에 나열되어 있다. 적합한 약학적으로 허용되는 염은 무기산, 예를 들어, 염산, 브롬화수소산, 오르토인산, 질산, 인산, 또는 황산, 또는 유기산, 예를 들어, 메탄설폰산, 에탄설폰산, p-톨루엔설폰산, 아세트산, 프로피온산, 락트산, 시트르산, 푸마르산, 말산, 숙신산, 살리실산, 말레산, 글리세로인산, 타르타르산, 벤조산, 글루탐산, 아스파르트산, 벤젠설폰산, 나프탈렌설폰산, 예를 들어, 2-나프탈렌설폰산, 헥산산 또는 아세틸살리실산과의 산 부가염을 포함할 수 있다. 통상적으로, 약학적으로 허용되는 염은 적절한 경우 요망되는 산 또는 염기를 이용하여 용이하게 제조될 수 있다. 생성된 염은 용액으로부터 침전될 수 있고, 여과에 의해 수거될 수 있거나, 용매의 증발에 의해 회수될 수 있다.

[0053] 다른 비-약학적으로 허용되는 염, 예를 들어, 포르메이트, 옥살레이트 또는 트리플루오로아세테이트가, 예를 들어, 화학식 (I)의 화합물의 분리에서 사용될 수 있으며, 이는 본 발명의 범위 내에 포함된다.

[0054] 약학적으로 허용되는 염기 부가염은 임의로 적합한 용매 중에서 화학식 (I)의 화합물과 적합한 무기 또는 유기 염기(예를 들어, 트리에틸아민, 에탄올아민, 트리에탄올아민, 콜린, 아르기닌, 리신 또는 히스티딘)의 반응에 의해, 예를 들어, 결정화 및 여과에 의해 일반적으로 분리되는 염기 부가염을 생성시킴으로써 형성될 수 있다. 약학적으로 허용되는 염기염은 암모늄 염, 알칼리 금속염, 예를 들어, 소듐 및 포타슘의 알칼리 금속염, 알킬리토금속염, 예를 들어, 칼슘 및 마그네슘의 알칼리토금속염 및 유기 염기와의 염, 예를 들어, 일차, 이차 및 삼차 아민, 예를 들어, 이소프로필아민, 디에틸아민, 에탄올아민, 트리메틸아민, 디사이클로헥실 아민 및 N-메틸-D-글루카민의 염을 포함한다.

[0055] 한 구체예에서, 화학식 (I)의 화합물은 자유 염기의 형태, 예를 들어, 3-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-

4-((*R*)-3-(2-(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부탄산이다.

[0056] 또 다른 구체예에서, 화학식 (I)의 화합물은 하이드로클로라이드 염, 예를 들어, 3-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-(2-(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부탄산 하이드로클로라이드 염이다.

[0057] 본 발명은 이의 범위 내에 화학식 (I)의 화합물의 염의 모든 가능한 화학량론적 및 비-화학량론적 형태를 포함한다.

[0058] 많은 유기 화합물이 이들이 반응되거나, 이들이 침전되거나 결정화되는 용매와 함께 복합체를 형성할 수 있음이 인지될 것이다. 이들 복합체는 "용매화물"로 공지되어 있다. 예를 들어, 물과의 복합체는 "수화물"로 공지되어 있다. 높은 비등점을 갖고/갖거나 수소 결합을 형성할 수 있는 용매, 예를 들어, 물, 자일렌, N-메틸 피롤리디논, 메탄올 및 에탄올이 용매화물을 형성시키기 위해 사용될 수 있다. 용매화물의 확인을 위한 방법은 NMR 및 미량분석을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 화학식 (I)의 화합물의 용매화물은 본 발명의 범위 내이다.

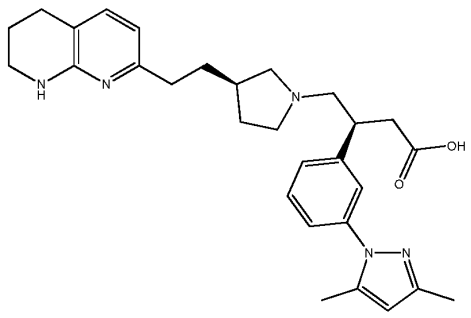
[0059] 화학식 (I)의 화합물은 결정성 형태 또는 무정형으로 존재할 수 있다. 또한, 화학식 (I)의 화합물의 결정성 형태의 일부는 다형태로 존재할 수 있으며, 이들은 본 발명의 범위 내에 포함된다. 화학식 (I)의 화합물의 다형태 형태는 X-선 분말 회절(XRPD) 패턴, 적외선(IR) 스펙트럼, 라만 스펙트럼, 시차 주사 열량계(DSC), 열중량 분석(TGA) 및 고체 상태 핵 자기 공명(SSNMR)을 포함하나, 이에 제한되지는 않는 다수의 통상적인 분석 기술을 이용하여 특성규명되고 구별될 수 있다.

[0060] 결정성 형태는 임의로 수화되거나 용매화될 수 있음이 인지될 것이다. 본 발명은 화학식 (I)의 화합물의 범위 내에 화학량론적 수화물 뿐만 아니라 가변적 양의 물을 함유하는 화학식 (I)의 화합물을 포함한다. 적합한 용매화물은 약학적으로 허용되는 용매화물, 예를 들어, 수화물을 포함한다. 용매화물은 화학량론적 용매화물 및 비-화학량론적 용매화물을 포함한다.

[0061] 본원에 기재된 화합물은 광학적 이성질체, 예를 들어, 부분입체 이성질체가 형성될 수 있도록 하는 2개의 비대칭 중심을 함유한다. 따라서, 본 발명은 다른 이성질체를 실질적으로 함유하지 않도록 분리된 개별적 이성질체(즉, 순수함)이거나 혼합물이건 간에 화학식 (I)의 화합물의 이성질체를 포함한다. 다른 이성질체를 실질적으로 함유하지 않도록 분리된 개별적 이성질체(즉, 순수함)는 10% 미만, 특히 약 1% 미만, 예를 들어, 약 0.1% 미만의 다른 이성질체가 존재하도록 분리될 수 있다.

[0062] 특정 부분입체 이성질체는 다른 부분입체 이성질체보다 덜 활성일 수 있고, 개별적 부분입체 이성질체의 활성이 선택된 한도 아래에 해당할 수 있음이 당업자에 의해 이해될 것이다.

[0063] 한 구체예에서, 화학식 (I)의 화합물은 하기 화학식의 (*S*)-3-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-(2-(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부탄산이다:



[0064]

[0065] 또 다른 구체예에서, 화학식 (I)의 화합물은 (*S*)-3-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-(2-(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부탄산 하이드로클로라이드 염이다.

[0066] 이성질체의 분리는 당업자에게 공지된 통상적인 기술, 예를 들어, 분별 결정화, 크로마토그래피 또는 HPLC에 의해 달성될 수 있다.

[0067] 화학식 (I)의 화합물은 여러 토토머 형태 중 하나로 존재할 수 있다. 본 발명은 개별적 토토머이거나 이들의 혼합물이건 간에 화학식 (I)의 화합물의 모든 토토머를 포함하는 것이 이해될 것이다.

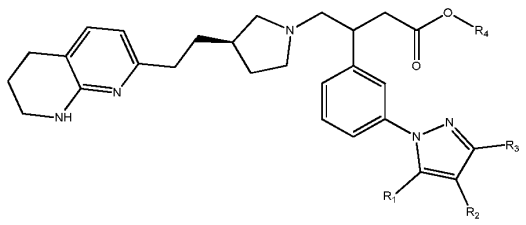
[0068] 화학식 (I)의 화합물의 용매화물, 이성질체 및 다형태 형태 및 이들의 염이 본 발명의 범위 내에 포함되는 것이

상기로부터 인지될 것이다.

[0069] **화합물 제조**

[0070] 본 발명의 화합물은 표준 화학을 포함하는 다양한 방법에 의해 제조될 수 있다. 임의의 이전에 규정된 변수가 달리 나타내지 않는 한 이전에 규정된 의미를 지속적으로 가질 것이다. 예시적인 일반 합성 방법이 하기에 기재되며, 이후 본 발명의 특정 화합물이 실시예에서 제조된다.

[0071] 구조 화학식 (I)의 화합물은 하기 구조 화학식 (II)의 화합물의 첫번째 탈보호, 즉, 에스테르기의 분해 후, 염으로의 전환을 포함하는 과정에 의해 제조될 수 있다:



(II)

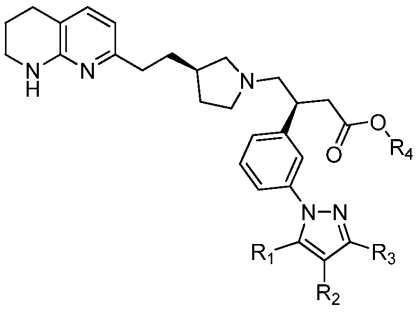
[0072]

[0073] 상기 식에서, R_1, R_2 및 R_3는 상기 정의된 바와 같고,

[0074] R_4는 C_1 내지 C_6 알킬기, 예를 들어, *터트*-Bu, 이소-프로필, 에틸 또는 메틸기이다.

[0075] 본 발명의 여섯번째 양태는 화학식 (II)의 화합물을 제공한다.

[0076] 한 구체예에서, 화학식 (II)의 화합물은 하기 입체형태를 갖는다:



[0077] .

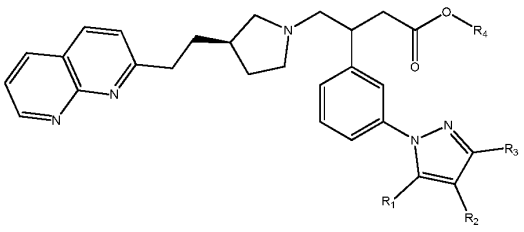
[0078] R_4가 *터트*-Bu인 구조 화학식 (II)의 화합물의 탈보호는, 예를 들어, 비활성 용매, 예를 들어, DCM, 2-메틸-테트라하이드로푸란, 테트라하이드로푸란, 1,4-디옥산 또는 사이클로펜틸 메틸 에테르 중 염산, 브롬화수소산, 황산, 또는 트리플루오로아세트산을 이용한 산 가수분해에 의해 달성될 수 있다.

[0079] 대안적으로, R_4가 메틸인 구조 화학식 (II)의 화합물의 탈보호는, 예를 들어, 적합한 용매, 예를 들어, 메탄올 중 수성 소듐 하이드록시드 또는 포타슘 하이드록시드를 이용한 염기 가수분해에 의해 달성될 수 있다.

[0080] 에스테르기의 분해 후, 생성된 생성물은 당업자에게 널리 공지된 방법에 의해 필요한 염으로 전환될 수 있다.

[0081] 한 구체예에서, 하이드로클로라이드 염으로의 자유 염기의 전환은 염산 수용액을 이용한 자유 염기의 아세토니트릴 용액의 처리, 생성된 염 용액의 농축 및 아세토니트릴로부터의 결정화에 의해 달성된다.

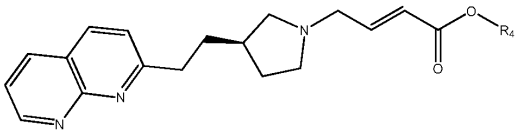
[0082] 구조 화학식 (II)의 화합물은 R_1, R_2, R_3 및 R_4가 상기 정의된 바와 같은 하기 구조 화학식 (III)의 화합물의 촉매, 예를 들어, 탄소상 팔라듐 또는 로듐 상에서의 촉매 수소화반응에 의해 수득될 수 있다. 수소화반응은 적합한 용매, 예를 들어, EtOH, MeOH 또는 둘 모두의 혼합물 중에서 대기압 또는 약간 더 높은 압력, 예를 들어, 2 내지 10 기압의 수소 가스에서 수행될 수 있다:



(III)

[0083] .

[0084] 구조 화학식 (III)의 화합물은 염기의 존재하에서 상승된 온도에서 임의로 키랄 리간드의 존재하에서 적합한 촉매의 존재하에서 하기 구조 화학식 (IV)의 화합물과 하기 구조 화학식 (V)의 보론산의 반응을 포함하는 과정에 의해 제조될 수 있다:



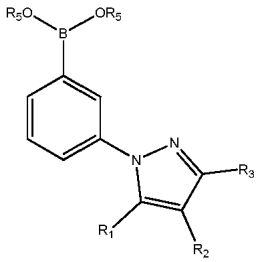
(IV)

[0085] .

[0086] 상기 식에서, R_1, R_2, R_3 및 R_4는 상기 정의된 바와 같고, 이중 결합의 결합 구조는 (*E*) 또는 (*E*) 및 (*Z*) 이성질체의 혼합물, 바람직하게는 순수한 (*E*) 이성질체일 수 있다.

[0087] 구조 화학식 (V)의 화합물에서, R_1, R_2, R_3는 상기 정의된 바와 같고, R_5는 수소, 또는 C_1 내지 C_6 알킬기, 예를 들어, 2,3-디메틸부탄-2,3-디올(피나콜)이다.

[0088] 구조 화학식 (V)의 화합물은 순수한 보론산(R_5 = H), 또는 보론산 에스테르(R_5 = 알킬기)로 사용될 수 있으며, 이는 제자리에서 물 및 염기, 예를 들어, 포타슘 하이드록시드의 존재하에서 보론산으로 전환될 수 있다:



(V)

[0089] .

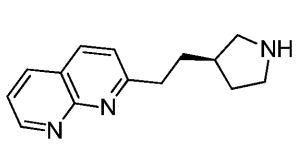
[0090] 구조 화학식 (IV) 및 (V)의 화합물을 축합시키는 과정은 상승된 온도, 예를 들어, 50 내지 90℃에서 염기, 예를 들어, 포타슘 하이드록시드의 존재하에서 수-혼화성 비활성 용매, 예를 들어, 1,4-디옥산 중에서 적합한 촉매, 예를 들어, 로듐 촉매, 바람직하게는 약 5%의 클로로(1,5-사이클로옥타디엔)로듐(I) 이합체의 존재하에서 수행된다. 축합 과정은 엄격한 무산소 조건하에서 수행되며, 여기서 반응 혼합물은 비활성 가스, 예를 들어 질소로 퍼징되고, 감압하에서 배출되고, 배출 및 질소를 이용한 퍼징의 과정이 수회, 예를 들어, 3회 반복된다.

[0091] 상기 축합 과정은 결정화, 크로마토그래피, 또는 HPLC에 의해 분리될 수 있는 약 1:1 비의 2개의 부분입체 이성질체를 생성시킨다. 바람직한 분리 방법은 키랄 지지체, 예를 들어, Chiralpak 컬럼 상에서의 키랄 HPLC이다. 형성된 부분입체 이성질체의 비는 10%의 첨가물, 예를 들어, 키랄 리간드의 존재하에서, 예를 들어, 약 80:20로 실질적으로 증가될 수 있다. 상기 첨가물은 거울상 이성질체적으로 순수한 포스핀 리간드, 예를 들어, 주요 이성질체로서 생물학적으로 더욱 활성인 부분입체 이성질체를 제공하는 (*R*)-(+)-2,2'-비스(디페닐포스피노)-1,1'-바이나프탈렌[(*R*)-BINAP]을 포함한다.

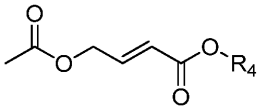
[0092] 부분입체 이성질체 비는 알킬기 R_4의 크기에 의존적인 것으로 밝혀졌다. 따라서, R_4가 삼차인 경우, 더 높은 비의 요망되는 주요 이성질체가 수득되었다. 바람직한 알킬기 R_4는 95:5 이하의 부분입체 이성질체 비를 발생시킨

터트-Bu이다. 부분입체 이성질체 비는 키랄 HPLC 또는 결정화에 의해, 예를 들어, 99:1 초과로 추가로 증가될 수 있다. 대규모로, 알킬기 R_4가 메틸인 경우에 90:10의 부분입체 이성질체 비가 수득되었다.

[0093] 구조 화학식 (IV)의 화합물은 주위 온도에서 삼차 아민 염기, 예를 들어, 트리에틸아민 또는 디이소프로필에틸아민의 존재하에서 적합한 비활성 용매, 예를 들어, DCM 중에서 약 10%의 적합한 팔라듐 촉매의 존재하에서 (*R*)-2-(2-(피롤리딘-3-일)에틸)-1,8-나프티리딘[하기 구조 화학식 (VI)의 화합물]과 하기 구조 화학식 (VII)의 화합물의 반응에 의해 제조될 수 있다. 적합한 팔라듐 촉매는 바람직하게는 두자리 리간드(bidentate ligand), 예를 들어, 2개의 디페닐포스핀 기, 예를 들어, 1,1'-비스(디페닐포스피노)페로센]디클로로팔라듐(II)[Pd(dppf)Cl_2]를 갖는다. 구조 화학식 (VI)의 화합물은 자유 염기로서 사용될 수 있거나, 삼차 아민 염기의 존재하에서 염, 예를 들어, 디하이드로클로라이드 염으로부터 제자리에서 생성될 수 있다:



(VI)

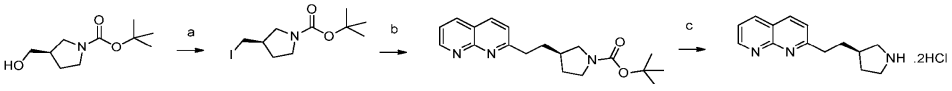


(VII)

[0094]

[0095] 구조 화학식 (VI)의 화합물[(*R*)-2-(2-(피롤리딘-3-일)에틸)-1,8-나프티리딘]은 본원에 기재된 방법에 의해 제조될 수 있다. 예를 들어, (*R*)-2-(2-(피롤리딘-3-일)에틸)-1,8-나프티리딘은 하기 반응식 1에 기재된 방법에 의해 제조될 수 있다.

[0096] **반응식 1**

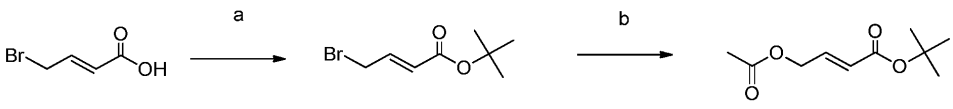
[0097] 

[0098] **시약 및 조건**: (a) 요오드, 이미다졸, 트리페닐포스핀, DCM, 0℃; (b) 2-메틸-[1,8]-나프티리딘, $LiN(TMS)_2$, THF, 0℃; (c) 디옥산 중 4M HCl.

[0099] (*R*)-*터트*-부틸 3-(하이드록시메틸)피롤리딘-1-카르복실레이트는 Fluorochem, 또는 BePharm Ltd로부터 상업적으로 이용가능하고, 2-메틸-[1,8]-나프티리딘은, 예를 들어, Manchester Organics Ltd, Aldrich, 또는 Alfa Aesar로부터 상업적으로 이용가능하다.

[0100] 구조 화학식 (VII)의 화합물은 본원에 기재된 방법에 의해 제조될 수 있다. 예를 들어, R_4가 *터트*-부틸이고, 이중 결합이 (*E*) 결합 구조를 갖는 구조 화학식 (VI)의 화합물은 반응식 2에 기재된 방법에 의해 제조될 수 있다.

[0101] **반응식 2**

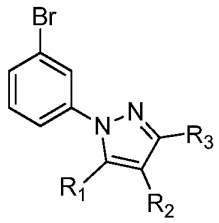
[0102] 

[0103] **시약 및 조건**: (a) 이소부틸렌, 농축된 H_2SO_4, 디에틸 에테르, 24 h; (b) 포타슘 아세테이트, 아세토니트릴, 60℃, 4 h.

[0104] (*E*)-4-브로모부트-2-엔산은 문헌의 절차에 따라 제조되었다[T. Den Hartog, D. J. Van Dijken, A. J. Minnaard, B. L. Feringa *Tetrahedron: Asymmetry* **2010**, *21*, 1574-1584].

[0105] R_4가 메틸인 구조 화학식 (VII)의 화합물은 본원에 기재된 방법에 의해 제조될 수 있다. 예를 들어, (*E*)-메틸 4-아세톡시부트-2-에노에이트는 상승된 온도, 예를 들어, 45-55℃에서 적합한 용매, 예를 들어, 아세토니트릴 중에서 상업적으로 이용가능한 (*E*) 메틸 4-브로모부트-2-에노에이트와 아세테이트 염, 예를 들어, 포타슘 또는 소듐 아세테이트의 반응에 의해 제조될 수 있다.

[0106] 구조 화학식 (V)의 화합물은 R_1, R_2, 및 R_3가 상기 정의된 바와 같은 하기 구조 화학식 (VIII)의 화합물로부터 제조될 수 있다:



(VIII)

[0107] .

[0108] R_5가 H인 구조 화학식 (V)의 화합물은 질소 또는 아르곤의 비활성 대기하에서 저온, 예를 들어, -60 내지 -78℃에서 비활성 용매, 예를 들어, THF 또는 2-메틸-테트라하이드로푸란 중에서의 구조 화학식 (VIII)의 화합물과 오르가노리튬 시약, 예를 들어, n-부틸리튬의 반응 후, 트리알킬 보레이트 에스테르, 예를 들어, 트리(이소프로필) 보레이트와의 반응, 및 최종적으로 가수분해를 포함하는 3-단계 과정에 의해 제조될 수 있다.

[0109] 대안적으로, R_5가 피나콜인 구조 화학식 (V)의 화합물은 비활성 대기, 예를 들어, 질소하에서 상승된 온도, 예를 들어, 110℃에서 비활성 용매, 예를 들어, 1,4-디옥산 중에서 팔라듐 촉매, 예를 들어, 트리스(디벤질리덴아세톤)디팔라듐(Aldrich로부터 이용가능함)의 존재, 및 포스핀 리간드, 예를 들어, 2-디사이클로헥실포스피노-2',4',6'-트리이소프로필바이페닐(X-PHOS)(Aldrich로부터 이용가능함)의 존재, 및 포타슘 아세테이트의 존재하에서 구조 화학식 (VIII)의 화합물과 비스(피나콜레이토)디보론(Aldrich로부터 이용가능함)의 반응에 의해 제조될 수 있다. 반응 종료시 반응 혼합물로의 물의 첨가는 생성된 피나콜레이토 에스테르를 가수분해시켜 필요한 보론산(V)을 제공한다.

[0110] (3-(1*H*-피라졸-1-일)페닐)보론산, 즉, R_1, R_2 및 R_3 각각이 수소인 화합물 (V)는, 예를 들어, ABCR GmbH로부터 상업적으로 이용가능하다.

[0111] 구조 화학식 (VIII)의 화합물은 실험 섹션에 본원에 기재된 방법에 의해 (3-브로모페닐)하이드라진(Aldrich로부터 이용가능한), 또는 (3-브로모페닐)하이드라진 하이드로클로라이드(Amatek 또는 Reddy & Reddy로부터 이용가능함)로부터 제조될 수 있고, 적절한 디카르보닐 화합물, 예를 들어, 펜탄-2,4-디온, 헵탄-3,5-디온, 3-플루오로-펜탄-2,4-디온, 또는 은폐 디온, 예를 들어, (*E*)-4-(디메틸아미노)부트-3-엔-2-온, 또는 아세틸렌계 케톤, 예를 들어, 헥스-3-인-2-온과 함께 가열될 수 있다.

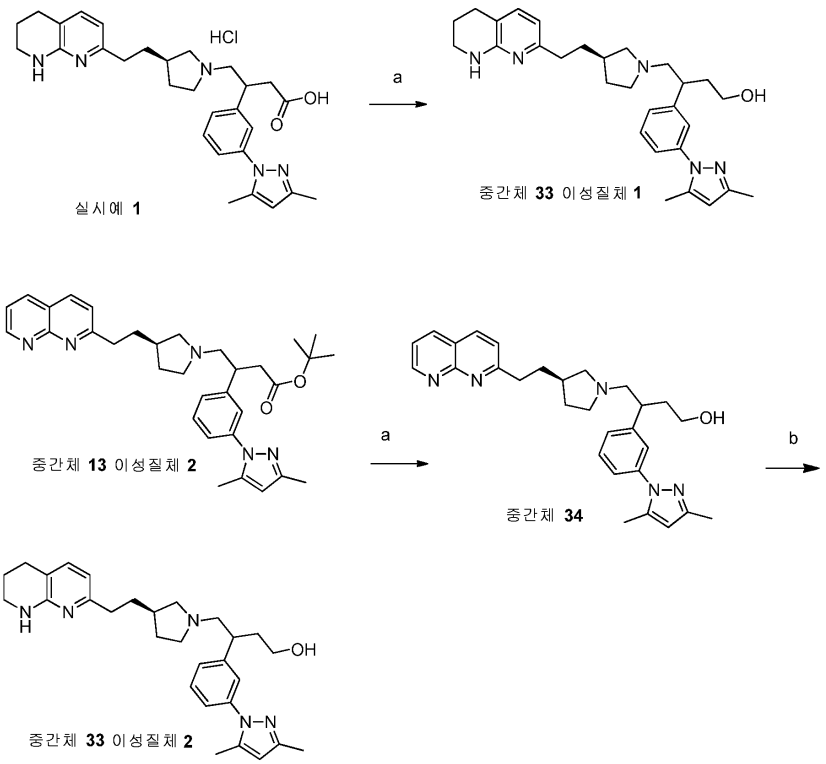
[0112] 상기 기재된 경로 중 임의의 경로에서 하나 이상의 작용기를 보호하는 것이 유리할수 있음이 인지될 것이다. 보호기 및 이들의 제거를 위한 수단의 예는 문헌[T. W. Greene 'Protective Groups in Organic Synthesis' (3rd edition, J. Wiley and Sons, 1999)]에서 발견될 수 있다. 적합한 아민 보호기는 적절한 경우 가수분해(예를 들어, 산, 예를 들어, 디옥산 중 염산 또는 디클로로메탄 중 트리플루오로아세트산을 이용함)에 의하거나 환원적(예를 들어, 벤질 또는 벤질옥시카르보닐기의 가수소분해(hydrogenolysis) 또는 아세트산 중 아연을 이용한 2',2',2'-트리클로로에톡시카르보닐기의 환원적 제거)으로 제거될 수 있는 아실(예를 들어, 아세틸, 카르바메이트(예를 들어, 2',2',2'-트리플로로에톡시카르보닐, 벤질옥시카르보닐 또는 t-부톡시카르보닐) 및 아릴알킬(예를 들어, 벤질)을 포함한다. 다른 적합한 아민 보호기는 염기 촉매된 가수분해에 의해 제거될 수 있는 트리플루오로아세틸($-COCF_3$)을 포함한다.

[0113] 상기 기재된 경로 중 임의의 경로에서, 다양한 기 및 모이어티가 분자로 도입되는 합성 단계의 정확한 순서가 변경될 수 있음이 인지될 것이다. 상기 과정의 한 단계에서 도입되는 기 또는 모이어티가 이후의 전환 및 반응에 의해 영향을 받지 않는 것을 보장하고, 이에 따라 합성 단계의 순서를 선택하는 것은 해당 분야의 숙련자의 기술 내일 것이다.

[0114] 화학식 (V) 내지 (VIII)의 특정 화합물은 또한 신규한 것으로 생각되며, 따라서 본 발명의 또 다른 추가 양태를 형성한다.

[0115] R_1이 메틸기이고, R_2가 수소 원자이고, R_3가 메틸기인 화합물 (I)의 절대 입체형태(실시예 **1**)를 공지된 절대 입체형태의 일반적인 중간체를 제공하는 독립적 거울상 선택성 비대칭 합성, 및 둘 모두의 합성 경로로부터 유래

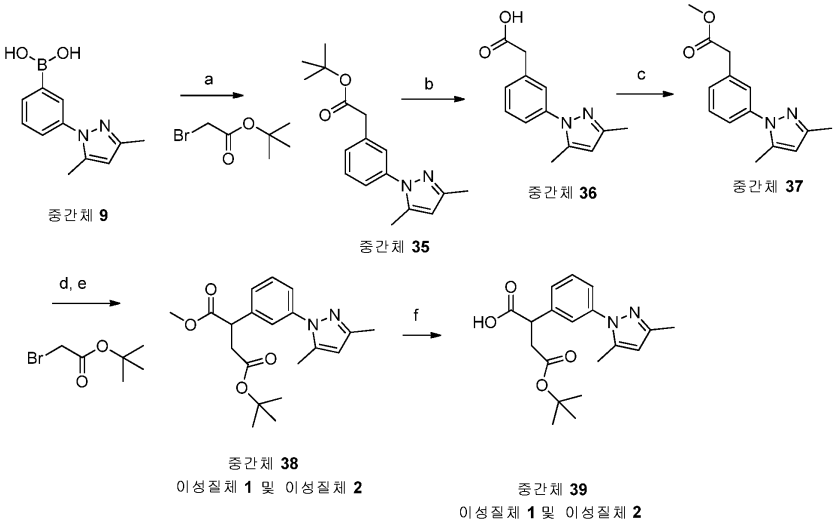
된 일반적인 중간체의 분광 광학 회전 및 분석 키랄 HPLC의 비교에 따라 수득하였다. 일반적인 중간체를 알콜 중간체 **33** 이성질체 1을 생성시키는 리튬 알루미늄 하이드라이드를 이용한 실시예 **1**의 카르복실산 기의 환원에 의해 수득하였다(반응식 3). 중간체 **33**의 다른 부분입체 이성질체(이성질체 2)를 리튬 알루미늄 하이드라이드 환원 및 생성된 나프티리딘 알콜의 탄소상 5% Rh의 촉매 수소화반응에 의해 중간체 **13**의 더 적은 생성물(이성질체 2)로부터 수득하였다.



[0116]

[0117] **반응식 3. 시약 및 조건**: (a) $LiAlH_4$, THF; (b) H_2, 5% Rh/C, EtOH

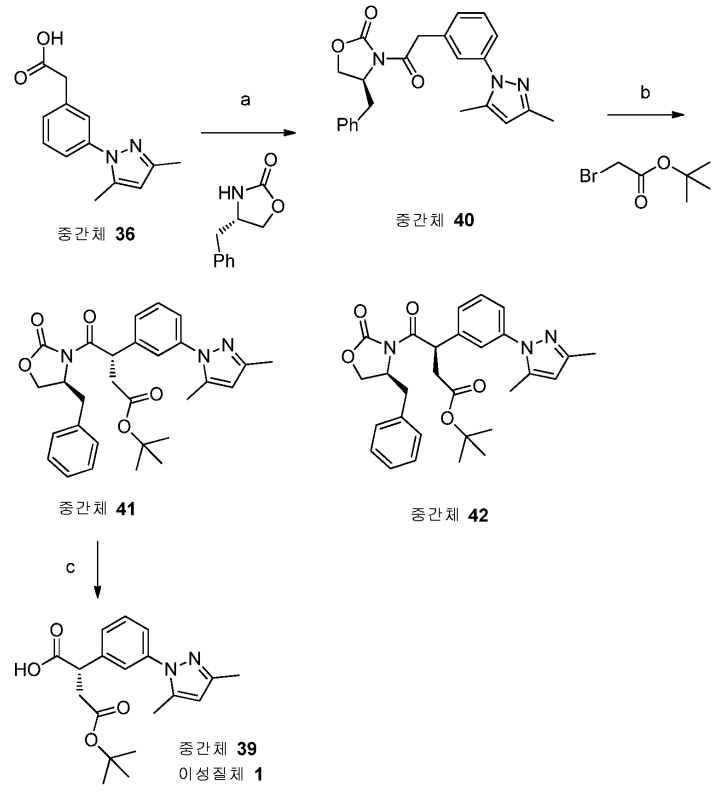
[0118] 독립적 합성을 *터트*-부틸 2-브로모아세테이트, 팔라듐 디아세테이트, 트리(o-톨릴)포스핀 및 트리포타슘 포스페이트를 이용한 중간체 **9**의 중간체 **35**로의 전환에 의해 개시하였다(반응식 4). 터트-부틸 에스테르를 TFA로 제거하여 중간체 **36**을 생성시키고, 이후 이를 메탄올로 에스테르화시켜 중간체 **37**을 생성시켰다. 중간체 **37**을 *터트*-부틸 2-브로모아세테이트로 알킬화시켜, 라세미 중간체 **38**을 생성시켰다. 라세미체 **38**을 분취용 키랄 HPLC에 의해 이의 2개의 거울상 이성질체인 이성질체 1 및 이성질체 2로 분리시켰다. 중간체 38의 이성질체 1은 CHCl3에서 +81의 광회전을 가진 반면, 이성질체 2는 -82의 광회전을 가졌다. 중간체 **38**의 각각의 거울상 이성질체의 메틸 에스테르를 리튬 하이드록시드 및 하이드로겐 퍼옥사이드를 이용하여 선택적으로 가수분해시켜 중간체 **39**의 이성질체 1 및 이성질체 2를 생성시켰다. 이성질체 1은 +42의 광회전을 가진 반면, 이성질체 2는 -41의 광회전을 가졌다.



[0119]

[0120] **반응식 4 시약 및 조건**: (a) $Pd(OAc)_2$, P(o-톨릴)$_3$, K_3PO_4, THF, 환류; (b) TFA, DCM; (c) MeOH, HCl, 환류; (d) $LiN(TMS)_2$, THF, -78℃; (e) 분취용 키랄 HPLC 분리; (f) LiOH, H_2O_2, THF, 0℃

[0121] 중간체 **39**의 거울상 이성질체 각각의 절대 입체형태를 에반스 방법(Evans methodology)을 이용한 독립적 비대칭 합성에 의해 수득하였다. 따라서, 중간체 **36**을 상업적으로 이용가능한 (*S*)-4-벤질옥사졸리딘-2-온을 이용하여 중간체 **40**으로 전환시켰다(반응식 5). 중간체 **40**을 먼저 -78℃에서 리튬 헥사메틸디실라지드를 이용하여 에놀화시킨 후, *터트*-부틸 2-브로모아세테이트로 알킬화시켜, 덜 방해된 측면으로부터 에놀레이트의 알킬화에 의해 유래된 부분입체 이성질체로서 중간체 **41**(주요 이성질체)을 생성시켰다. 더 적은 성분은 더 방해된 측면으로부터 에놀레이트의 알킬화에 의해 유래된 이성질체(중간체 **42**)였다. 리튬 하이드록시드 및 하이드로겐 퍼옥사이드를 이용한 주요 이성질체(중간체 **41**)의 가수분해는 +65의 광회전을 갖는 중간체 **39**의 예상 (*S*)-거울상 이성질체를 생성시켰다. 따라서, 중간체 **39** 이성질체 1은 (*S*)-입체형태를 갖는다.

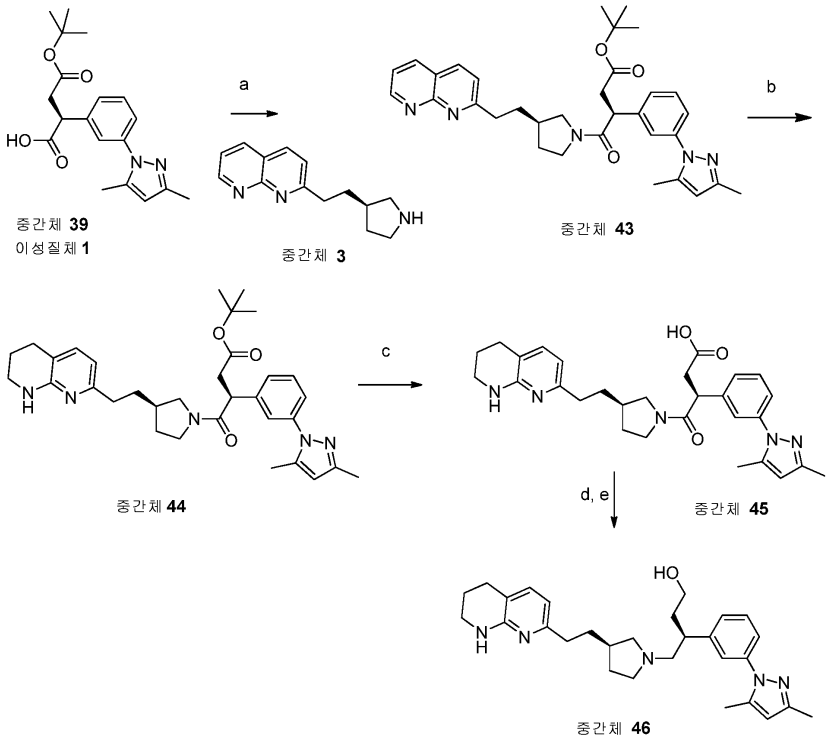


[0122]

[0123] **반응식 5. 시약 및 조건**: (a) 피발로일 클로라이드, DIPEA, THF, -78℃; (b) $LiN(TMS)_2$, THF, -78℃; (c)

LiOH, H_2O_2, THF, 0℃

[0124] 이후, EDC, *N*-하이드록시벤즈트리아졸 및 *N*-메틸 모르폴린의 존재하에서 중간체 **3**을 중간체 **39**의 (*S*)-거울상 이성질체(이성질체 1)으로 아실화시켜 중간체 **43**을 생성시키고, 이를 5% Rh/C 상에서의 촉매 수소화반응에 의해 중간체 **44**로 전환시켰다(반응식 6). 중간체 **44**의 *터트*-부틸 에스테르를 TFA로 분해하여 중간체 **45**를 생성시키고, 이를 먼저 보란-THF 복합체 및 이후 리튬 알루미늄 하이드라이드로 환원시켜, 중간체 **46**을 생성시켰다. 중간체 **46**의 주요 성분의 600 MHz ^{1}H NMR 스펙트럼, 광회전 및 분석 키랄 HPLC는 중간체 **33** 이성질체 1에 대해 발생된 데이터와 일치하였다. 따라서, 중간체 **33** 이성질체 1의 벤질 비대칭 중심의 입체형태는 (*S*)-입체형태를 갖는다.



[0125]

[0126] **반응식 6. 시약 및 조건**: (a) EDC, HOBT, NMM, DCM; (b) H_2, 5% Rh/C, EtOH; (c) TFA, DCM; (d) BH_3.THF; (e) $LiAlH_4$, THF, 60℃

[0127] **사용 방법**

[0128] 화학식 (I)의 화합물 및 이의 염은 인테그린 수용체 활성, 특히 $\alpha_v\beta_6$ 수용체 활성의 억제제인 것으로 생각되며, 따라서 $\alpha_v\beta_6$ 화합물을 필요로 하는 질병 또는 질환의 치료에서 잠재적으로 유용하다.

[0129] 따라서, 본 발명은 치료에서 사용하기 위한 화학식 (I)의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 제공한다. 화학식 (I)의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염은 $\alpha_v\beta_6$ 수용체 길항제를 필요로 하는 질병 또는 질환의 치료에서 사용될 수 있다.

[0130] 따라서, 본 발명은 $\alpha_v\beta_6$ 수용체 길항제를 필요로 하는 질병 또는 질환의 치료에서 사용하기 위한 화학식 (I)의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 제공한다.

[0131] 또한, $\alpha_v\beta_6$ 수용체 길항제를 필요로 하는 질병 또는 질환의 치료를 위한 약제의 제조에 있어서 화학식 (I)의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염의 용도가 제공된다.

[0132] 또한, 치료적 유효량의 화학식 (I)의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 투여하는 것을 포함하는, $\alpha_v\beta_6$ 수용체 길항제를 필요로 하는 질병 또는 질환을 치료할 필요가 있는 대상체에서 $\alpha_v\beta_6$ 수용체 길항제를 필요로 하는 질병 또는 질환을 치료하는 방법이 제공된다.

[0133] 적합하게는, 상기를 필요로 하는 대상체는 포유동물, 특히 인간이다.

[0134] 본원에서 사용되는 용어 "유효량"은, 예를 들어, 연구자 또는 임상의에 의해 연구되는 조직, 시스템, 동물 또는 인간의 생물학적 또는 의학적 반응을 유도하는 약물 또는 약학적 작용제의 양을 의미한다. 또한, 용어 "치료적 유효량"은 상기량을 투여받지 않은 상응하는 대상체에 비해 질병, 장애 또는 부작용의 개선된 치료, 치유, 예방 또는 개선, 또는 질병 또는 장애 진행 속도의 감소를 발생시키는 임의의 양을 의미한다. 상기 용어는 또한 이의 범위 내에 정상 생리학적 기능을 향상시키는데 효과적인 양을 포함한다.

[0135] 섬유성 질병은 수복 또는 반응 과정에서 기관 또는 조직 내의 과도한 섬유성 결합 조직의 형성을 수반한다. $\alpha_v\beta_6$ 길항제는 $\alpha_v\beta_6$ 인테그린 기능 및 알파 v 인테그린을 통한 전환 성장 인자 베타의 활성화에 의존하는 것을 포함하는 다양한 상기 질병 또는 질환의 치료에서 유용한 것으로 생각된다. 질병은 폐섬유증, 예를 들어, 특발 폐섬유증, 비특이적 간질성 폐렴(NSIP), 통상성 간질성 폐렴(UIP), 헤르만스키-푸들라크 증후군, 진행성 광범위 증후군(탄광부 진폐증의 합병증), 결합 조직 질병-관련 폐 섬유증, 천식 및 COPD에서의 기도 섬유증, 급성 호흡 곤란 증후군(ARDS) 관련 섬유증, 급성 폐손상; 방사선-유도 섬유증; 가족성 폐 섬유증; 폐동맥 고혈압); 신장 섬유증(당뇨신장병증, IgA 신장병증, 루푸스 신장염; 국소 분절 사구체경화증(FSGS), 이식 신장병증, 자가면역 신장병증, 약물-유도 신장병증, 고혈압-관련 신장병증, 신장기원 전신 섬유증); 간 섬유증(바이러스-유도 섬유증(예를 들어, C형 간염 또는 B형 간염), 자가면역 간염, 원발성 담즙성 간경변증, 알콜성 간 질병, 비-알콜성 지방간 질병, 예를 들어, 비-알콜성 지방간염(NASH), 선천성 간섬유증, 원발성 경화성 담관염, 약물-유도 간염, 간경변증); 피부 섬유증(비후성 반흔, 피부경화증, 켈로이드, 피부근육염, 호산구성 근막염, 뒤시엔느 근위축증, 엘러스-단로스 증후군, 페로니병 이영양성 표피 수포증, 구강 점막하 섬유증); 안구 섬유증(AMD, 당뇨 황반 부종, 건성안, 녹내장); 심장 섬유증(울혈성 심부전, 심내막심근 섬유증, 비대심근병증(HCM), 확장심근병증(DCM), 부정맥유발성 우심실 심근증(ARVC), 고혈압 심장병, 심자 사코이드증 및 다른 형태의 심부전) 및 다른 기타 섬유성 질환(종격섬유증, 골수섬유증, 복막후 섬유증, 크론병, 신경섬유종증, 자궁근종(유섬유), 만성 기관 이식 거부)을 포함할 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다. $\alpha_v\beta_5$ 또는 $\alpha_v\beta_8$의 추가 길항작용에 대해 추가 이점이 존재할 수 있다.

[0136] 또한, $\alpha_v\beta_6$ 인테그린과 관련된 전암성 병변 또는 암이 또한 치료될 수 있다(이들은 자궁내막암, 기저 세포암, 간암, 결장암, 자궁경부암, 구강암, 췌장암, 유방암 및 난소암, 카포시 육종, 거대 세포 종양 및 암 관련 기질을 포함할 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다). 혈관신생에 대한 효과로부터 이익이 유도될 수 있는 질환이 또한 이로울 수 있다(예를 들어, 고형 종양).

[0137] 용어 "$\alpha_v\beta_6$ 억제제를 필요로 하는 질병 또는 질환"은 상기 질병 상태 중 임의의 질병 상태 또는 모든 질병 상태를 포함하는 것으로 의도된다.

[0138] 한 구체예에서, $\alpha_v\beta_6$ 억제제를 필요로 하는 질병 또는 질환은 특발폐섬유증으로부터 선택된다.

[0139] **조성물**

[0140] 치료에서 사용하기 위해 화학식 (I)의 화합물 뿐만 아니라 이의 약학적으로 허용되는 염은 원료 화합물로서 투여되는 것이 가능하나, 이는 약학적 조성물로서 활성 성분을 제공하는 것이 일반적이다.

[0141] 따라서, 본 발명은 추가 양태에서 화학식 (I)의 화합물 또는 약학적으로 허용되는 염 및 하나 이상의 약학적으로 허용되는 담체, 희석제 및/또는 부형제를 포함하는 약학적 조성물을 제공한다. 화학식 (I)의 화합물 및 약학적으로 허용되는 염은 상기 기재된 바와 같다. 담체(들), 희석제(들) 또는 부형제(들)은 조성물의 다른 다른 성분과 사용되고, 이의 수용자에게 해롭지 않은 의미로 허용되어야 한다.

[0142] 본 발명의 또 다른 양태에 따르면, 화학식 (I)의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염과 하나 이상의 약학적으로 허용되는 담체, 희석제 또는 부형제를 혼합하는 것을 포함하는 약학적 조성물의 제조를 위한 방법이 또한 제공된다. 약학적 조성물은 본원에 기재된 질환 중 임의의 질환의 치료에서 사용하기 위한 것일 수 있다.

[0143] 화학식 (I)의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 포함하는, $\alpha_v\beta_6$ 수용체 억제제를 필요로 하는 질병 또는 질환의 치료를 위한 약학적 조성물이 추가로 제공된다.

[0144] 0.05 내지 1000mg의 화학식 (I)의 화합물 또는 이의 약학적 염 및 0.1 내지 2g의 하나 이상의 약학적으로 허용되는 담체, 희석제 또는 부형제를 포함하는 약학적 조성물이 추가로 제공된다.

[0145] 화학식 (I)의 화합물은 약학적 조성물에서 사용하기 위한 것으로 의도되므로, 이들은 각각 바람직하게는 실질적으로 순수한 형태, 예를 들어, 적어도 60% 순수한 형태, 더욱 적합하게는 적어도 75% 순수한 형태 및 바람직하게는 적어도 85% 순수한 형태, 특히 적어도 98% 순수한 형태(중량을 기준으로 한 중량 %)로 제공되는 것이 용이하게 이해될 것이다.

[0146] 약학적 조성물은 단위 용량 당 소정량의 활성 성분을 함유하는 단위 용량 형태로 제공될 수 있다. 바람직한 단위 투여 조성물은 활성 성분의 일일 용량 또는 하위-용량, 또는 이의 적절한 분획을 함유하는 것이다. 따라서, 이러한 단위 용량은 하루에 1회 초과로 투여될 수 있다. 바람직한 단위 투여 조성물은 활성 성분의 상기 본원에 언급된 바와 같은 일일 용량 또는 하위-용량(하루에 1회 초과의 투여용) 또는 이의 적절한 분획을 함유하는 것이다.

[0147] 약학적 조성물은 임의의 적절한 경로, 예를 들어, 경구(협측 또는 설하를 포함함), 직장, 흡입, 비내, 국소(협측, 설하 또는 경피를 포함함), 질내 또는 비경구(피하, 근내, 정맥내 또는 피내를 포함함) 경로에 의한 투여를 위해 적합화될 수 있다. 상기 조성물은 약학 분야에 공지된 임의의 방법에 의해, 예를 들어, 활성 성분과 담체(들) 또는 부형제(들)을 회합시킴으로써 제조될 수 있다.

[0148] 한 구체예에서, 약학적 조성물은 비내 또는 흡입 투여를 위해 적합화된다.

[0149] 비내 또는 흡입 투여를 위한 투여 형태는 편리하게는 에어로졸, 용액, 현탁액, 젤 또는 건조 분말로 제형화될 수 있다.

[0150] 흡입 투여에 적합하고/하거나 적합화된 조성물에 대해, 본 발명의 화합물이 입자 크기 감소된 형태인 것이 바람직하고, 더욱 바람직하게는 크기 감소된 형태는 미분화에 의해 수득되거나 수득가능하다. 크기 감소된(예를 들어, 미분화된) 화합물 또는 염의 바람직한 입자 크기는 약 0.5 내지 약 10 마이크론(예를 들어, 레이저 회절을 이용하여 측정됨)의 D50 값에 의해 정의된다.

[0151] 예를 들어, 흡입 투여를 위한 에어로졸 제형은 약학적으로 허용되는 수성 또는 비수성 용매 중 활성 물질의 용액 또는 미세 현탁액을 포함할 수 있다. 에어로졸 제형은 분무 장치 또는 흡입기와 함께 사용하기 위해 카트리지 또는 보충물 형태를 취할 수 있는 밀봉된 용기 내의 멸균 상태의 단일 또는 다중용량 양으로 제공될 수 있다. 대안적으로, 밀봉된 용기는 용기의 내용물이 소모된 후에 처분하는 것으로 의도된 계량 밸브(계량 용량 흡입기)가 장비된 에어로졸 분배기 또는 단일 용량 비내 흡입기와 같은 단일 분배 장치일 수 있다.

[0152] 투여 형태가 에어로졸 분배기를 포함하는 경우, 이는 바람직하게는 압력하의 적합한 분사제, 예를 들어, 압축 공기, 이산화탄소 또는 유기 분사제, 예를 들어, 하이드로플루오로카본(HFC)을 함유한다. 적합한 HFC 분사제는 1,1,1,2,3,3,3-헵타플루오로프로판 및 1,1,1,2-테트라플루오로에탄을 포함한다. 에어로졸 투여 형태는 또한 펌프-분무기의 형태를 취할 수 있다. 가압된 에어로졸은 활성 화합물의 용액 또는 현탁액을 함유할 수 있다. 이는 현탁액 제형의 분산 특징 및 균질성을 개선시키기 위해 추가 부형제, 예를 들어, 공용매 및/또는 계면활성제의 포함을 필요로 할 수 있다. 용액 제형은 또한 공용매, 예를 들어, 에탄올의 첨가를 필요로 할 수 있다. 다른 부형제 개질제가 또한, 예를 들어, 제형의 안정성 및/또는 맛 및/또는 미세 입자 집단 특징(양 및/또는 프로파일)을 개선시키기 위해 포함될 수 있다.

[0153] 흡입 투여에 적합하고/하거나 적합화된 약학적 조성물에 대해, 약학적 조성물은 건조 분말 흡입용 조성물일 수 있다. 이러한 조성물은 분말 기재, 예를 들어, 락토스, 글루코스, 트레할로스, 만니톨 또는 전분, 화학식 (I)의 화합물 또는 이의 염(바람직하게는, 입자-크기-감소 형태, 예를 들어, 미분화 형태), 및 임의로 성능 개질제, 예를 들어, L-류신 또는 또 다른 아미노산 및/또는 스테아르산의 금속 염, 예를 들어, 마그네슘 또는 칼슘 스테아레이트를 포함할 수 있다. 바람직하게는, 건조 분말 흡입용 조성물은 락토스 및 화학식 (I)의 화합물 또는 이의 염의 건조 분말 블렌드를 포함한다. 락토스는 바람직하게는 락토스 하이드레이트, 예를 들어, 락토스 모노하이드레이트이고/이거나, 바람직하게는 흡입-등급 및/또는 미세-등급 락토스이다. 바람직하게는, 락토스의 입자 크기는 직경이 1000 마이크론(마이크로미터) 미만(예를 들어, 10-1000 마이크론, 예를 들어, 30-1000 마이크론)인 90% 또는 그 초과(중량 또는 부피 기준)의 락토스 입자, 및/또는 직경이 500 마이크론 미만(예를 들어, 10-500 마이크론)인 50% 또는 그 초과의 락토스 입자로 정의된다. 더욱 바람직하게는, 락토스의 입자 크기는 직경이 300 마이크론 미만(예를 들어, 10-300 마이크론, 예를 들어, 50-300 마이크론)인 90% 또는 그 초과의 락토스 입자, 및/또는 직경이 100 마이크론 미만인 50% 또는 그 초과의 락토스 입자로 정의된다. 임의로, 락토스의 입자 크기는 직경이 100-200 마이크론 미만인 90% 또는 그 초과의 락토스 입자, 및/또는 직경이 40-70 마이크론 미만인 50% 또는 그 초과의 락토스 입자로 정의된다. 가장 중요하게는, 입자의 약 3 내지 약

30%(예를 들어, 약 10%)(중량 또는 부피 기준)가 직경에 있어서 50 마이크론 미만 또는 20 마이크론 미만인 것이 바람직하다. 예를 들어, 비제한적으로, 적합한 흡입-등급 락토스는 E9334 락토스(10% 미세)(Borculo Domo Ingredients, Hanzeplein 25, 8017 JD Zwolle, Netherlands)이다.

[0154] 임의로, 특히 건조 분말 흡입용 조성물에 대해, 흡입 투여를 위한 약학적 조성물은 적합한 흡입 장치 내의 스트립 또는 리본 내에 세로로 마운팅된 복수의 밀봉된 용량 용기(예를 들어, 건조 분말 조성물을 함유함)로 포함될 수 있다. 상기 용기는 요구시 파열가능하거나 껍질이 개방될 수 있으며, 예를 들어, 건조 분말 조성물의 용량은 GlaxoSmithKline에 의해 시판되는 DISKUS TM 장치와 같은 장치를 통해 흡입에 의해 투여될 수 있다. DISKUS TM 흡입 장치는, 예를 들어, GB 2242134 A호에 기재되어 있으며, 이러한 장치에서, 분말 형태의 약학적 조성물에 대한 적어도 하나의 용기(상기 용기 또는 용기들은 바람직하게는 스트립 또는 리본 내에 세로로 마운팅된 복수의 밀봉 용량 용기임)가 서로 벗겨질 수 있게 고정된 2개의 일원 사이에서 규정되며, 상기 장치는 상기 용기 또는 용기들에 대한 개방 위치를 규정하는 수단; 용기를 개방시키기 위해 개방 위치에서 일원들을 별개로 벗겨내기 위한 수단; 및 개방된 용기로부터 사용자가 분말 형태의 약학적 조성물을 흡입할 수 있는, 개방된 용기와 소통하는 배출구를 포함한다.

[0155] 본 발명의 화합물은 유체 분배기, 예를 들어, 사용자 적용된 힘의 적용시 유체 분배기의 펌프 메커니즘으로 계량 용량의 액체 제형이 분배되는 분배 노즐 또는 분배 구멍을 갖는 유체 분배기로부터의 전달을 위해 유체 제형으로 제형화될 수 있다.

[0156] 상기 유체 분배기에는 일반적으로 유체 제형의 다수의 계량된 용량의 저장소가 제공되며, 상기 용량은 연속 펌프 작동시 분배가능하다. 분배 노즐 또는 구멍이 비강으로의 유체 제형의 분무 분배를 위해 사용자의 콧구멍으로의 삽입을 위해 형성될 수 있다. 상기 언급된 유형의 유체 분배기는 전체내용이 참조로서 본원에 포함되는 WO-A-2005/044354호에 기재되고 예시되어 있다. 분배기는 유체 제형을 함유하기 위한 용기에 마운팅된 압축 펌프를 갖는 유체 방출 장치를 수용하는 하우징을 갖는다. 하우징은 하우징에서 용기를 위로 회전시키기 위해 하우징과 관련하여 안쪽으로 이동가능하여, 펌프를 압축시키고, 하우징의 비내 노즐을 통해 펌프 스템 외부로 제형의 계량된 용량을 펌핑시키는 적어도 하나의 손가락에 의해 작동가능한 측면 레버를 갖는다. 특히 바람직한 유체 분배기는 WO-A-2005/044354호의 도 30-40에 예시된 일반 유형의 유체 분배기이다.

[0157] 흡입 또는 비내 투여를 위한 조성물은 또한 분무에 의해 폐 또는 기도의 다른 영역으로 투여될 수 있다. 이러한 조성물은 수용액 또는 현탁액일 수 있다. 분무에 의한 흡입을 위한 용액은 작용제, 예를 들어, 산 또는 알칼리, 완충 염, 등장성 조절제, 계면활성제 또는 항미생물제, 예를 들어, 벤즈알코늄 클로라이드(BAC)의 첨가와 함께 제형화될 수 있다. 조성물은 멸균될 수 있고, 항미생물 보존제를 함유하지 않을 수 있다. 이들은, 예를 들어, 여과 또는 오토클레이브에서의 가열에 의해 멸균될 수 있다. 이들은 비-멸균 용액으로 제공될 수 있다. 치료적 유효량의 본 발명의 화합물의 단일 단위 용량은 단일 용기 내에 미리 혼합되고 미리 측정된 제형으로 제공될 수 있다.

[0158] 또 다른 구체예에서, 약학적 조성물은 경구 투여에 적합화된다.

[0159] 경구 투여에 적합화된 약학적 조성물은 별개의 단위, 예를 들어, 캡슐 또는 정제; 분말 또는 과립; 수성 또는 비수성 액체 중의 용액 또는 현탁액; 식용 포움(foam) 또는 휘프(whip); 또는 수중유 액체 에멀젼 또는 유중수 액체 에멀젼으로 제공될 수 있다.

[0160] 예를 들어, 정제 또는 캡슐 형태의 경구 투여를 위해, 활성 약물 성분은 비독성의 약학적으로 허용되는 경구 비활성 담체, 예를 들어, 에탄올, 글리세롤, 물 등과 조합될 수 있다. 정제 또는 캡슐로 포함되기에 적합한 분말은 화합물을 적합한 미세 크기로 감소(예를 들어, 미분화에 의함)시키고, 유사하게 제조된 약학적 담체, 예를 들어, 식용 탄수화물, 예를 들어, 전분 또는 만니톨과 혼합함으로써 제조될 수 있다. 착향제, 보존제, 분산제 및 착색제가 또한 제공될 수 있다.

[0161] 캡슐은 상기 기재된 바와 같이 분말 혼합물을 제조하고, 형성된 젤라틴 껍질을 충전시킴으로써 제조될 수 있다. 활택제 및 윤활제, 예를 들어, 콜로이드 실리카, 탤크(talc), 마그네슘 스테아레이트, 칼슘 스테아레이트 또는 고체 폴리에틸렌 글리콜이 충전 작업 전에 분말 혼합물에 첨가될 수 있다. 붕해제 또는 용해화제, 예를 들어, 아가아가(agaragar), 캡슐이 섭취되는 경우에 약제의 이용가능성을 개선시키기 위해 칼슘 카르보네이트 또는 소듐 카르보네이트가 또한 첨가될 수 있다.

[0162] 또한, 요망되거나 필요한 경우, 적합한 결합제, 활택제, 윤활제, 감미제, 착향제, 붕해제 및 착색제가 또한 혼합물에 포함될 수 있다. 적합한 결합제는 전분, 젤라틴, 자연 당, 예를 들어, 글루코스 또는 베타-락토스, 옥

수수 감미제, 자연 및 합성 검, 예를 들어, 아카시아, 트래거캔쓰 또는 소듐 알기네이트, 카르복시메틸셀룰로스, 폴리에틸렌 글리콜, 왁스 등을 포함한다.

[0163] 이들 투여 형태에서 사용되는 윤활제는 소듐 올레에이트, 소듐 스테아레이트, 마그네슘 스테아레이트, 소듐 벤조에이트, 소듐 아세테이트, 소듐 클로라이드 등을 포함한다.

[0164] 붕해제는 전분, 메틸 셀룰로스, 아가, 벤토나이트, 잔탄 검 등을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 정제는, 예를 들어, 분말 혼합물을 제조하고, 과립화시키거나 슬러그화시키고, 윤활제 및 붕해제를 첨가하고, 정제로 압축시킴으로써 제형화된다. 분말 혼합물은 적합하게 분쇄된 화합물과 희석제 또는 상기 기재된 바와 같은 베이스, 및 임의로 결합제, 예를 들어, 카르복시메틸셀룰로스, 알기네이트, 젤라틴, 또는 폴리비닐 피롤리돈, 용액 지연제, 예를 들어, 파라핀, 흡수 촉진제, 예를 들어, 4차 염 및/또는 흡수제, 예를 들어, 벤토나이트, 카올린 또는 디칼슘 포스페이트와 혼합시킴으로써 제조된다. 분말 혼합물은 결합제, 예를 들어, 시럽, 전분 페이스트, 아카디아 점액(acadia mucilage) 또는 셀룰로스 또는 중합체 물질의 용액으로 습윤화시키고, 스크린을 통과시킴으로써 과립화될 수 있다. 과립화에 대한 대안으로서, 분말 혼합물이 정제 기계를 통해 이동될 수 있고, 그 결과는 과립으로 부서지는 불완전하게 형성된 슬러그이다. 과립은 정제 형성 다이에 대한 점착을 방지하기 위해 스테아르산, 스테아레이트 염, 탤크 또는 무기질유의 첨가에 의해 윤활될 수 있다. 윤활된 혼합물은 이후 정제로 압축될 수 있다. 본 발명의 화합물은 또한 자유 유동 비활성 담체와 조합될 수 있고, 과립화 또는 슬러그화 단계를 통하지 않고 직접 정제로 압축될 수 있다. 셸락의 밀봉 코트, 당 또는 중합체 물질의 코팅 및 왁스의 광택 코팅으로 구성된 투명하거나 불투명한 보호 코팅이 제공될 수 있다. 다양한 단위 투여량을 구별하기 위해 염료가 상기 코팅에 첨가될 수 있다.

[0165] 경구 유체, 예를 들어, 용액, 시럽 및 엘릭서는 제공된 양이 소정량의 화합물을 함유하는 투여 단위 형태로 제조될 수 있다. 시럽은 적합하게 착향된 수용액에 화합물을 용해시킴으로써 제조될 수 있는 반면, 엘릭서는 비독성 알콜 비히클의 사용을 통해 제조된다. 현탁액은 화합물을 비독성 비히클에 분산시킴으로써 제형화될 수 있다. 용해화제 및 유화제, 예를 들어, 에톡실화 이소스테아릴 알콜 및 폴리옥시 에틸렌 소르비톨 에테르, 보존제, 착향 첨가물, 예를 들어, 페퍼민트 오일 또는 자연 감미제 또는 사카린 또는 다른 인공 감미제 등이 또한 첨가될 수 있다.

[0166] 적절한 경우, 경구 투여를 위한 투여 단위 조성물은 미세캡슐화될 수 있다. 제형은 또한, 예를 들어, 미립자 물질을 중합체, 왁스 등으로 코팅하거나 이에 포매시킴으로써 방출을 연장시키거나 유지시키도록 제조될 수 있다.

[0167] 본 발명의 화합물은 또한 리포솜 전달 시스템, 예를 들어, 작은 단층 소포, 큰 단층 소포 및 다층 소포의 형태로 투여될 수 있다. 리포솜은 다양한 인지질, 예를 들어, 콜레스테롤, 스테아릴아민 또는 포스파티딜콜린으로부터 형성될 수 있다.

[0168] 경피 투여에 적합화된 약학적 조성물은 연장된 기간 동안 수용자의 표피와 밀접하게 접촉된 채로 유지시키기 위해 의도된 별개의 패치로 제공될 수 있다.

[0169] 국소 투여에 적합화된 약학적 조성물은 연고, 크림, 현탁액, 로션, 분말, 용액, 페이스트, 젤, 스프레이, 에어로졸 또는 오일로 제형화될 수 있다.

[0170] 눈 또는 다른 외부 조직, 예를 들어, 입 및 피부의 치료를 위해, 조성물은 바람직하게는 국소 연고 또는 크림으로 적용된다. 연고로 제형화되는 경우, 활성 성분은 파라핀성 또는 수 혼화성 연고 기재와 함께 이용될 수 있다. 대안적으로, 활성 성분은 수중유 크림 베이스 또는 유중수 베이스와 함께 크림으로 제형화될 수 있다.

[0171] 눈으로의 국소 투여에 적합화된 약학적 조성물은 활성 성분이 적합한 담체, 특히 수성 용매에 용해되거나 현탁된 안약(eyedrop)을 포함한다.

[0172] 입으로의 국소 투여에 적합화된 약학적 조성물은 로젠지(lozenge), 패스틸(pastille) 및 함수제를 포함한다.

[0173] 직장 투여에 적합화된 약학적 조성물은 좌약 또는 관장제로 제공될 수 있다.

[0174] 질내 투여에 적합화된 약학적 조성물은 페서리, 탐폰, 크림, 젤, 페이스트, 포움 또는 스프레이 제형으로 제공될 수 있다.

[0175] 비경구 투여에 적합화된 약학적 조성물은 항산화제, 완충제, 정균제 및 조성물이 의도된 수용자의 혈액과 등장성이 되도록 하는 용질을 함유할 수 있는 피하, 정맥내 또는 근내 투여를 위한 수성 및 비수성 멸균 주사 용액;

및 현탁제 및 증점제를 포함할 수 있는 수성 및 비수성 멸균 현탁액을 포함한다. 조성물은 단위-용량 또는 다중-용량 용기, 예를 들어, 밀봉된 앰풀 및 바이얼로 제공될 수 있고, 사용 직전에 주사를 위해 멸균 액체 담체, 예를 들어, 물의 첨가만을 필요로 하는 동결-건조된(동결건조된) 상태로 저장될 수 있다. 즉석 주사 용액 및 현탁액이 멸균 분말, 과립 및 정제로부터 제조될 수 있다.

[0176] 본 발명의 화합물의 치료적 유효량은, 예를 들어, 대상체의 연령 및 체중, 치료를 필요로 하는 정확한 질환 및 이의 중증도, 제형의 특성, 및 투여 경로를 포함하는 다수의 요인에 좌우될 것이며, 궁극적으로는 담당의 또는 수의사의 재량일 것이다. 약학적 조성물에서, 경구 또는 비경구 투여를 위한 각각의 투여 단위는 바람직하게는 자유 염기로서 계산된 0.01 내지 3000 mg, 더욱 바람직하게는 0.5 내지 1000 mg의 본 발명의 화합물을 함유한다.

[0177] 비내 또는 흡입 투여를 위한 각각의 투여 단위는 바람직하게는 자유 염기로서 계산된 0.001 내지 50 mg, 더욱 바람직하게는 0.01 내지 50 mg, 더욱 더 바람직하게는 1 내지 50mg의 화학식 (I)의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 함유한다.

[0178] 분무된 용액 또는 현탁액의 투여를 위해, 투여 단위는 통상적으로 1 내지 15mg, 예를 들어, 2mg 내지 10mg, 또는 4mg 내지 6mg을 함유하며, 이는 적합하게는 하루에 1회, 하루에 2회 또는 하루에 2회 초과로 전달될 수 있다. 본 발명의 화합물은 약국에서 또는 환자에 의해 재구성을 위한 건조 또는 동결건조된 분말로 제공될 수 있거나, 예를 들어, 수성 염수 용액으로 제공될 수 있다.

[0179] 본 발명의 약학적으로 허용되는 화합물은, 예를 들어, 자유 염기로서 계산된 하루 당 0.01 mg 내지 3000 mg 또는 하루 당 0.5 내지 1000 mg의 경구 또는 비경구 용량, 또는 하루 당 0.001 내지 50 mg 또는 하루 당 0.01 내지 50 mg의 비내 또는 흡입 용량, 또는 10 내지 50mg의 화학식 (I)의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염의 일일 용량(성인 환자에 대함)으로 투여될 수 있다. 이러한 양은 전체 일일 용량이 동일하도록 하여 하루 당 단일 용량 또는 더욱 일반적으로는 하루 당 다수(예를 들어, 2, 3, 4, 5 또는 6회)의 하위-용량으로 제공될 수 있다. 화학식 (I)의 화합물의 염의 유효량은 화학식 (I)의 화합물의 유효량 자체의 비율로 결정될 수 있다.

[0180] 본 발명의 화합물은 단독으로 또는 다른 치료제와 조합하여 이용될 수 있다. 따라서, 본 발명에 따른 조합 요법은 화학식 (I)의 적어도 하나의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염의 투여, 및 적어도 하나의 다른 약학적 활성제의 사용을 포함한다. 바람직하게는, 본 발명에 따른 조합 요법은 화학식 (I)의 적어도 하나의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 적어도 하나의 다른 약학적 활성제의 투여를 포함한다. 본 발명의 화합물(들) 및 다른 약학적 활성제(들)은 단일 약학적 조성물로서 함께 또는 단독으로 투여될 수 있고, 단독으로 투여되는 경우, 이는 동시에 또는 임의의 순서로 순차적으로 발생할 수 있다. 본 발명의 화합물(들) 및 다른 약학적 활성제(들)의 양 및 상대 투여 시기는 요망되는 조합 치료 효과를 달성하도록 선택될 것이다.

[0181] 따라서, 추가 양태에서, 본 발명의 화합물 및 적어도 하나의 다른 약학적 활성제를 포함하는 조합물이 제공된다.

[0182] 따라서, 한 양태에서, 본 발명에 따른 화합물 및 약학적 조성물은 하나 이상의 다른 치료제와 조합하여 사용될 수 있거나, 하나 이상의 다른 치료제를 포함할 수 있다. 본 발명의 화합물이 보통 흡입, 정맥내, 경구, 비내 또는 기타 경로에 의해 투여되는 하나 이상의 다른 치료적 활성제와 조합하여 투여되는 경우, 생성된 약학적 조성물이 동일 경로에 의해 투여될 수 있음이 인지될 것이다. 대안적으로, 조성물의 개별적 성분은 다양한 경로에 의해 투여될 수 있다.

[0183] 화학식 (I)의 화합물 및 이의 약학적으로 허용되는 염은 알레르기 질병, 염증성 질병, 자가면역 질병의 예방 또는 치료에서 유용할 수 있는 하나 이상의 다른 작용제, 예를 들어, 항원 면역요법제, 항히스타민제, 코르티코스테로이드(예를 들어, 플루티카손 프로피오네이트, 플루티카손 푸로에이트, 베클로메타손 디프로피오네이트, 부데소니드, 시클레소니드, 모메타손 푸로에이트, 트리암시놀론, 플루니솔리드), NSAID, 류코트리엔 조정자(예를 들어, 몬테루카스트, 자피르루카스트, 프란루카스트) iNOS 억제제, 트립타제 억제제, IKK2 억제제, p38 억제제, Syk 억제제, 엘라스타제 억제제, 베타-2 인테그린 길항제, 아데노신 a2a 효능제, 케모카인 길항제, 예를 들어, CCR3 길항제 또는 CCR4 길항제, 매개체 방출 억제제, 예를 들어, 소듐 크로모글리케이트, 5-리폭시게나제 억제제(zyflo), DP1 길항제, DP2 길항제, pI3K 델타 억제제, ITK 억제제, LP(리소포스파티드산) 억제제 또는 FLAP(5-리폭시게나제 활성화 단백질) 억제제(예를 들어, 소듐 3-(3-(터트-부틸티오)-1-(4-(6-에톡시피리딘-3-일)벤질)-5-((5-메틸피리딘-2-일)메톡시)-1H-인돌-2-일)-2,2-디메틸프로파노에이트), 메토트렉세이트, 및 유사한 작용제; 모노클로날 항체 요법, 예를 들어, 항-IgE, 항-

TNF, 항-IL-5, 항-IL-6, 항-IL-12, 항-IL-1 및 유사한 작용제; 수용체 요법, 예를 들어, 에타너셉트 및 유사한 작용제; 항원 비특이적 면역요법제(예를 들어, 인터페론 또는 다른 사이토카인/케모카인, 사이토카인/케모카인 수용체 조정자, 사이토카인 효능제 또는 길항제, TLR 효능제 및 유사한 작용제)), TGFβ 합성의 억제제, 예를 들어, 피르페니돈, 혈관 내피 성장 인자(VEGF), 혈소판-유래 성장 인자(PDGF) 및 섬유모세포 성장 인자(FGF) 수용체 키나제를 표적으로 하는 티로신 키나제 억제제, 예를 들어, 인테다니브(BIBF-1120) 및 이마티니브 메실레이트(Gleevec), 엔도텔린 수용체 길항제, 예를 들어, 암브리센탄 또는 마시텐탄, 항산화제, 예를 들어, N-아세틸시스테인(NAC 또는 플루이무실), 광범위 항생제, 예를 들어, 테트라사이클린, 예를 들어, 미노사이클린 하이드로클로라이드, 포스포디에스테라제 5(PDE5) 억제제, 예를 들어, 실데나필과 조합하여 사용될 수 있다. 대안적으로, 항 $\alpha_v\beta_6$ 항체, 예를 들어, 모노클로날 항체, 예를 들어, WO2003100033A2호에 기재된 것이 조합하여 사용될 수 있다.

[0184] 적절한 경우, 다른 치료 성분(들)은 치료 성분의 활성 및/또는 안정성 및/또는 물리적 특징, 예를 들어, 용해도를 최적화시키기 위해 염, 예를 들어, 알칼리 금속 또는 아민 염 또는 산 부가염, 또는 프로드러그, 또는 에스테르, 예를 들어, 저급 알킬 에스테르, 또는 용매화물, 예를 들어, 수?c루의 형태로 사용될 수 있음이 당업자에게 명백할 것이다. 적절한 경우, 치료 성분은 광학적으로 순수한 형태로 사용될 수 있음이 또한 명백할 것이다.

[0185] 상기 언급된 조합물은 편리하게는 약학적 조성물의 형태로 사용하기 위해 제공될 수 있으며, 따라서 상기 정의된 바와 같은 조합물과 함께 약학적으로 허용되는 희석제 또는 담체를 포함하는 약학적 조성물이 본 발명의 추가 양태이다.

[0186] 상기 조합물의 개별적 화합물은 독립되거나 조합된 약학적 조성물로 순차적으로 또는 동시에 투여될 수 있다. 바람직하게는, 개별적 화합물은 조합된 약학적 조성물로 동시에 투여될 것이다. 공지된 치료제의 적절한 용량은 당업자에 의해 용이하게 인지될 것이다.

[0187] **약어**

[0188] 하기 목록은 본원에서 사용되는 바와 같은 특정 약어의 정의를 제공한다. 이러한 목록은 총망라된 것이 아님이 인지될 것이며, 본원에서 하기 정의되지 않은 약어의 의미는 당업자에게 용이하게 명백할 것이다.

[0189] Ac (아세틸)

[0190] BCECF-AM (2',7'-비스-(2-카르복시에틸)-5-(및-6)-카르복시플루오레세인 AM 에스테르)

[0191] Bu (부틸)

[0192] CHAPS (3-[(3-콜아미도프로필)디메틸암모니오]-1-프로판설포네이트)

[0193] CV (컬럼 부피)

[0194] DCM (디클로로메탄)

[0195] DMF (*N*,*N*-디메틸포름아미드)

[0196] DMSO (디메틸설폭시드)

[0197] DSC (시차 주사 열량계)

[0198] Et (에틸)

[0199] EtOH (에탄올)

[0200] EtOAc (에틸 아세테이트)

[0201] h (시간/시간들)

[0202] HCl (염산)

[0203] HEPES (4-(2-하이드록시에틸)-1-피페라진에탄설폰산)

[0204] L (리터)

[0205] M (몰)

[0206] MDAP (질량 특이적 자가-분취용 HPLC)

[0207] Me (메틸)

[0208] MeOH (메탄올)

[0209] min (분/분들)

[0210] MTBE (메틸 t-부틸 에테르)

[0211] Ph (페닐)

[0212] ^{i}Pr (이소프로필)

[0213] (R)-BINAP (*R*)-(+)-2,2'-비스(디페닐포스피노)-1,1'-바이나프탈렌

[0214] Si (실리카)

[0215] SPE (고상 추출)

[0216] TEA (트리에틸아민)

[0217] TFA (트리플루오로아세트산)

[0218] THF (테트라하이드로푸란)

[0219] TLC (박층 크로마토그래피)

[0220] XRPD (X-선 분말 회절)

[0221] 염수에 대한 모든 언급은 소듐 클로라이드의 포화 수용액을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0222] **실험 세부사항**

[0223] **분석 LCMS**

[0224] 분석 LCMS를 하기 시스템 A, B 또는 C 중 하나로 수행하였다. 모든 시스템에 대한 UV 검출은 220 nm 내지 350 nm의 파장으로부터의 평균화된 신호였고, 질량 스펙트럼은 교대-스캔 양성 및 음성 모드 전기분무 이온화를 이용하여 질량분광계에서 기록되었다.

[0225] 본원에서 언급된 바와 같은 LCMS 시스템 A-B의 실험 세부사항은 다음과 같다:

[0226] 시스템 A

[0227] 컬럼: 50 mm × 2.1 mm ID, 1.7 ㎛ Acquity UPLC BEH C_{18} 컬럼

[0228] 유량: 1 mL/분

[0229] 온도: 40℃

[0230] 용매: A: 암모니아 용액을 이용하여 pH 10으로 조정된 물 중 10 mM 암모늄 바이카르보네이트

[0231] B: 아세토니트릴

[0232] 구배: 시간 (분)A%B%

[0233] 0 99 1

[0234] 1.5 3 97

[0235] 1.9 3 97

[0236] 2.0 0 100

[0237] 시스템 B

[0238] 컬럼: 50 mm × 2.1 mm ID, 1.7 ㎛ Acquity UPLC BEH C_{18}

[0239] 유량: 1 mL/분

[0240] 온도: 40℃

[0241] 용매: A: 물 중 트리플루오로아세트산의 0.1% v/v 용액

[0242] B: 아세토니트릴 중 트리플루오로아세트산의 0.1% v/v 용액

[0243] 구배: 시간 (분)A%B%

[0244] 0 97 3

[0245] 1.5 0 100

[0246] 1.9 0 100

[0247] 2.0 97 3

[0248] 시스템 C

[0249] 컬럼: 50 mm × 2.1 mm ID, 1.7 ㎛ Acquity UPLC BEH C18 컬럼

[0250] 유량: 1 mL/분

[0251] 온도: 40℃

[0252] 용매: A: 물 중 포름산의 0.1% v/v 용액

[0253] B: 아세토니트릴 중 포름산의 0.1% v/v 용액

[0254] 구배: 시간 (분)A%B%

[0255] 0 97 3

[0256] 1.5 0 100

[0257] 1.9 0 100

[0258] 2.0 97 3

[0259] **질량 특이적 자가-분취용 HPLC**

[0260] 미정제 생성물을 하기 방법 A-C 중 하나에 의해 MDAP HPLC에 의해 정제하였다. 달리 언급되지 않는 한 작업 시간은 15분이었다. 모든 방법에 대한 UV 검출은 210 nm 내지 350 nm의 파장으로부터의 평균화된 신호였고, 질량 스펙트럼은 교대-스캔 양성 및 음성 모드 전기분무 이온화를 이용하여 질량분광계에서 기록되었다.

[0261] 방법 A:

[0262] 방법 A를 주위 온도에서 XBridge C_{18} 컬럼(통상적으로 100 mm × 30 mm i.d. 5 μm 패킹 직경)에서 수행하였다. 사용된 용매는 다음과 같았다:

[0263] A = 암모니아 용액을 이용하여 pH 10으로 조정된 10 mM 수성 암모늄 바이카르보네이트.

[0264] B = 아세토니트릴.

[0265] 이용된 구배는 다음과 같았다:

[0266]

시간 (분)	유량 (mL/분)	% A	% B
0	40	85	15
1	40	85	15
10	40	45	55
11	40	1	99
15	40	1	99

[0267] 방법 B:

[0268] 방법 A를 주위 온도에서 X Bridge C_{18} 컬럼(통상적으로 100 mm × 30 mm i.d. 5 μm 패킹 직경)에서 수행하였다. 사용된 용매는 다음과 같았다:

[0269] A = 암모니아 용액을 이용하여 pH 10으로 조정된 10 mM 수성 암모늄 바이카르보네이트.

[0270] B = 아세토니트릴.

[0271] 이용된 구배는 다음과 같았다:

[0272]

시간 (분)	유량 (mL/분)	% A	% B
0	40	85	15
1	40	85	15
20	40	45	55
21	40	1	99
25	40	1	99

[0273] 방법 C:

[0274] 방법 C를 주위 온도에서 XBridge C_{18} 컬럼(통상적으로 150 mm × 30 mm i.d. 5 μm 패킹 직경)에서 수행하였다.

[0275] 사용된 용매는 다음과 같았다:

[0276] A = 물 중 포름산의 0.1% v/v 용액.

[0277] B = 아세토니트릴 중 포름산의 0.1% v/v 용액.

[0278] 이용된 구배는 다음과 같았다:

[0279]

시간 (분)	유량 (mL/분)	% A	% B
0	40	50	50
1	40	50	50
10	40	1	99
10.5	40	1	99
15	40	1	99

[0280] UV 검출은 210nm 내지 350nm의 파장으로부터의 평균화된 신호였다.

[0281] **중간체의 제조**

[0282] **중간체 1: (*R*)-*터트*-부틸 3-(아이오도메틸)피롤리딘-1-카르복실레이트**

[0283] 5L 진공-피복 유리 반응 용기(Radley's LARA)에 DCM(2 L), 및 이후 트리페닐포스핀(339 g, 1.29 mol) 및 이미다졸(88 g, 1.29 mol)을 충전시키고, 온도를 0℃로 감소시켰다. 이후, 발열을 조절하기 위해 반응 온도를 0-5℃에서 유지시키면서 30분에 걸쳐 요오드(328 g, 1.29 mol)를 나누어 첨가하였다. 첨가 동안, 진한 갈색 침전물이 형성되었다. 침전물을 15분에 걸쳐 실온으로 가온시킨 후, 추가 30분 동안 실온에서 교반하였다. 반응 온도를 24-30℃에서 유지시키면서 DCM(200 mL) 중 (*R*)-*터트*-부틸 3-(하이드록시메틸 피롤리딘-1-카르복실레이트(200 g, 994 mmol)(Fluorochem 또는 BePharm Ltd로부터 이용가능함)의 용액을 15분에 걸쳐 나누어 첨가하였다. 반응 혼합물을 2시간 동안 교반한 후, TBME(8 L)로 희석시키고, 여과시켰다. 여과액을 감압하에서 농축시키고, 얼음물 수조에서 잔여물(700 g)을 디에틸 에테르(2 L) 중에서 분쇄시켜, 333 g의 미정제 생성물을 생성시켰다. 미정제 생성물의 27g 부분을 30분에 걸쳐 0-50% 에틸 아세테이트-사이클로헥산의 구배로 용리시키는 실리카 카트리지(100 g) 상에서의 크로마토그래피에 의해 정제하였다. 적절한 분획을 결합시키고, 진공하에서 증발시켜, 황색 오일로서 표제 화합물(16.33 g, 5%)을 생성시켰다. 잔여 미정제 물질(~306 g)을 9.5 컬럼 부피 초과의 0-30% 에틸 아세테이트-사이클로헥산의 구배로 용리시키는 실리카 카트리지(1.5 kg) 상에서의 크로마토그래피에 의해 정제하였다. 적절한 분획을 결합시키고, 진공하에서 증발시켜, 담황색 오일로서 표제 화합물(233.94 g, 76%)을 생성시켰다: LCMS (시스템 A) RT = 1.19분, 100%, ES+ve *m/z* 312 $(M+H)^+$; $[\alpha]_D^{20}$ = + 23 (EtOH 중 c

1.00).

[0284] **중간체 2: (*R*)-*터트*-부틸 3-(2-(1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-카르**복실레이트

[0285] THF(1 L) 중 2-메틸-1,8-나프티리딘(57.5 g, 399 mmol)(Manchester Organics로부터 이용가능함) 및 (*R*)-*터트*-부틸 3-(아이오도메틸)피롤리딘-1-카르복실레이트(124.2 g, 399 mmol)(중간체 1)의 교반된 용액을 0℃로 냉각시키고, 20분에 걸쳐 질소하에서 THF 중 리튬 비스(트리메틸실릴)아미드의 용액(1M, 399 mL, 399 mmol)을 처리하고, 반응 혼합물을 3시간 동안 0℃에서 교반하였다. 반응을 포화 암모늄 클로라이드 용액(500 mL) 및 물(500 mL)로 켄칭시키고, 에틸 아세테이트(1 L)를 첨가하였다. 층을 분리시키고, 수성상을 추가 에틸 아세테이트(1 L)로 추출하였다. 결합된 유기층을 건조($MgSO_4$)시키고, 여과시키고, 진공하에서 증발시켰다. 잔여 갈색 오일(162 g)을 8컬럼 부피 초과의 0-100% [(5% MeOH-95% 에틸 아세테이트) 중 에틸 아세테이트]의 구배로 용리시키는 실리카 카트리지(750 g) 상에서의 크로마토그래피에 의해 정제하였다. 적절한 분획을 결합시키고, 진공하에서 증발시켜, 오렌지색 고체로서 표제 화합물(46.65 g, 36%)을 생성시켰다: LCMS (시스템 A) RT = 0.99분, 97%, ES+ve *m/z* 328 $(M+H)^+$, $[\alpha]_D^{20}$ = + 22 (EtOH 중 c 1.00).

[0286] **중간체 3: (*R*)-2-(2-(피롤리딘-3-일)에틸)-1,8-나프티리딘, 디하이드로클로**라이드 염

[0287] 실온에서 DCM(500 mL) 중 (*R*)-*터트*-부틸 3-(2-(1,8-나프티리딘-2-일)에틸)31이롤리돈-1-카르복실레이트(104.71 g, 320 mmol)의 용액에 HCl(1,4-디옥산 중 4M(200 mL, 800 mmol)을 천천히 처리하였다. 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였고, 상기 시간 동안 플라스크 내에 큰 고체 덩어리가 형성되었다. 고체를 용해시키는 것을 돕기 위해 MeOH(~100 mL)를 첨가하고, 교반을 지속시켰다. LCMS는 ~72%의 생성물 및 ~25%의 시작 물질을 나타내었다. 추가량의 1,4-디옥산(100 mL) 중 4M HCl을 첨가하고, 교반을 1시간 동안 지속시켰다. 용매를 진공하에서 증발시켜, 자주색 착색된 고체로서 표제 화합물(89.66 g, 93%)을 생성시켰다: LCMS (시스템 B) RT = 0.34분, 100%, ES+ve *m/z* 228 $(M+H)^+$.

[0288] **중간체 4: (*E*)-*터트*-부틸 4-브로모부트-2-에노에이트**

[0289] 이소부틸렌 가스(363 mL, 3.82 mol)를 스틸 오토클레이브에서 30분 동안 -40℃에서 디에틸 에테르(1 L) 중 (*E*)-4-브로모부트-2-엔산(210 g, 1.27 mmol)[T. Den Hartog, D. J. Van Dijken, A. J. Minnaard, B. L. Feringa *Tetrahedron Asymmet*. 2010, *21*, 1574-1584] 및 농축된 H_2SO_4(20.35 mL, 382 mmol)의 교반된 용액을 통해 버블링시켰다. 혼합물을 오토클레이브에서 밀봉시키고, 혼합물을 24시간 동안 실온에서 교반하였다. 반응물을 0℃로 냉각시킨 후, 트리에틸아민(250 mL)으로 염기화시키고, DCM(3 × 200 mL)으로 추출하였다. 유기층을 건조시키고, 진공하에서 농축시켰다. 잔여물을 n-펜탄(200 mL) 중에서 분쇄시켜, 갈색 시럽으로서 표제 화합물(140 g, 50%)을 생성시켰다: ^{1}H NMR δ ($CDCl_3$, 400 MHz) 6.89 (dt, *J*=15, 7.5 Hz, 1H), 5.95 (dt, *J*=15, 1 Hz, 1H), 3.99 (dd, *J*=7.5, 1 Hz, 2H), 1.48 (s, 9H). 수성층을 2M HCl을 이용하여 pH 2로 산성화시키고, EtOAc(2 × 250 mL)로 추출하고, 결합된 유기층을 물(2 × 500 mL)로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 진공하에서 증발시켜, 회백색 고체로서 미반응된 시작 물질(50 g)을 생성시켰다.

[0290] **중간체 5: (*E*)-*터트*-부틸 4-아세톡시부트-2-에노에이트**

[0291] 실온에서 아세토니트릴(1.2 L) 중 (*E*)-*터트*-부틸 4-브로모부트-2-에노에이트(280 g, 1.27 mol)의 교반된 용액에 포타슘 아세테이트(186 g, 1.9 mol)를 처리하였다. 혼합물을 4시간 동안 60℃에서 교반하고, 반응을 TLC(석유 에테르 중 10% 디에틸 에테르, R_f = 0.4, UV에 의한 검출)에 의해 모니터하였다. 반응 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 고체를 여과에 의해 분리시키고, 디에틸 에테르(600 mL)로 세척하였다. 여과액을 감압하에서 농축시키고, 잔여물을 석유 에테르 중 10% 디에틸 에테르로 용리시키는 실리카 겔 상에서의 플래시 컬럼 크로마토그래피에 의해 정제하였다. 적절한 분획을 결합시키고, 증발시켜, 담황색 액체로서 표제 화합물(148 g, 58% 수율)을 생성시켰다: ^{1}H NMR δ ($CDCl_3$, 400 MHz) 6.82 (dt, *J*=15.5, 5 Hz, 1H), 5.94 (dt, *J*=15.5, 2 Hz, 1H), 4.71 (dd, *J*=5, 2 Hz, 2H), 2.11 (s, 3H), 1.49 (s, 9H).

[0292] **중간체 6: 1-(3-브로모페닐)-5-메틸-1*H*-피라졸**

[0293] 아세트산(2.2 L) 중 (3-브로모페닐)하이드라진 하이드로클로라이드(Amatek로부터 이용가능함)(300 g, 1.34 mol)의 용액에 디이소프로필에틸아민(234 mL, 1.34 mol), 및 이후 (*E*)-4-(디메틸아미노) 부트-3-엔-2-온(Acros로

부터 이용가능함)(152 g, 1.34 mol)을 처리하고, 반응 혼합물을 2시간 동안 90℃에서 가열하였다. 반응 혼합물을 감압하에서 농축시키고, 잔여물을 포화 $NaHCO_3$ 용액에 붓고, 에틸 아세테이트(2 × 1 L)로 추출하였다. 유기상을 분리시키고, Na_2SO_4 상에서 건조시켰다. 여과액을 진공하에서 증발시키고, 잔여물을 석유 에테르 중 0-4.5% 에틸 아세테이트를 이용한 플래시 실리카 겔(100-200 메쉬(mesh)) 컬럼 크로마토그래피에 의해 정제하였다. 적절한 분획을 수거하고, 감압하에서 농축시켜, 1-(3-브로모페닐)-3-메틸-1*H*-피라졸(중간체 29)(40 g, 13%)을 생성시켰다. 석유 에테르 중 20-40% 에틸 아세테이트를 이용한 컬럼의 추가 용리로 황색 액체로서 표제 화합물(205 g, 64%)을 생성시켰다: ^{1}H NMR δ ($CDCl_3$; 600 MHz) 7.67 (t, *J*=1.9 Hz, 1H), 7.59 (d, *J*=1.5 Hz, 1H), 7.54 - 7.49 (m, 1H), 7.43 - 7.40 (m, 1H), 7.37 - 7.32 (m, 1H), 6.21 (d, *J*=0.7 Hz, 1H), 2.38 (s, 3H).

[0294] **중간체 7: (3-(5-메틸-1*H*-피라졸-1-일)-페닐)보론산**

[0295] THF(2 L) 중 1-(3-브로모페닐)-5-메틸-1*H*-피라졸(중간체 6)(200 g, 844 mmol)의 용액에 트리이소프로필 보레이트(Avra로부터 이용가능함)(294 mL, 1.265 mol)를 천천히 처리한 후, -78℃로 냉각시키고, n-BuLi(844 mL, 2109 mmol)를 -78℃에서 30분에 걸쳐 첨가하였다. 혼합물을 2시간 동안 -78℃에서 교반하였다. 반응을 TLC(이동상: 석유 에테르 중 30% EtOAc)에 의해 모니터하였다. 반응 혼합물을 2M HCl에 붓고, THF를 감압하에서 제거하였다. 잔여물을 2M NaOH로 염기화시키고, 에틸 아세테이트(2 × 700mL)로 추출하였다. 수성층을 2M HCl을 이용하여 중화(pH~7)시키고, 에틸 아세테이트(2 × 1 L)로 추출하였다. 유기층을 결합시키고, 무수 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 진공하에서 증발시켜, 백색 고체로서 표제 화합물(120 g, 69%)을 생성시켰다. MS ES+ve *m/z* 203 $(M+H)^+$.

[0296] **중간체 8: 1-(3-브로모페닐)-3,5-디메틸-1*H*-피라졸**

[0297] DCM(225 mL) 중 (3-브로모페닐)하이드라진 하이드로클로라이드(Reddy & Reddy로부터 이용가능함)(45 g, 200 mmol) 및 펜탄-2,4-디온(Aldrich)(30.2 g, 302 mmol)의 용액에 농축된 H_2SO_4(1.073 mL, 20.13 mmol)를 적가 처리하고, 16시간 동안 실온에서 질소하에서 교반하였다. 반응 혼합물을 DCM(500 mL)으로 희석시키고, 물(2 × 250 mL)로 세척하였다. 유기층을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 감압하에서 농축시켰다. 잔여물을 헥산 중 5% 에틸 아세테이트로 용리시키는 실리카 겔(100-200 메쉬) 상에서의 컬럼 크로마토그래피에 의해 정제하여, 밝은 갈색 액체로서 표제 화합물(30 g, 59%)을 생성시켰다: ^{1}H NMR δ ($CDCl_3$, 400 MHz) 7.71 (t, *J*=2 Hz, 1H), 7.57 - 7.49 (m, 2H), 7.46 - 7.40 (t, *J*=8 Hz, 1H), 6.07 (s, 1H), 2.31 (s, 3H), 2.18 (s, 3H).

[0298] **중간체 9: (3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)보론산**

[0299] THF(500 mL) 중 1-(3-브로모페닐)-3,5-디메틸-1*H*-피라졸(중간체 8)(30 g, 119 mmol)의 용액에 트리이소프로필 보레이트(Avra로부터 이용가능함)(41.6 mL, 179 mmol)를 처리하고, -78℃로 냉각시키고, 아르곤 하에서 1시간에 걸쳐 2.5 M nBuLi(119 mL, 299 mmol)를 적가 처리하고, -78℃에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 HCl 수용액(2M, 150 mL)으로 켄칭시키고, 2M NaOH 용액으로 중화시키고, 에틸 아세테이트(2 × 300 mL)로 추출하였다. 결합된 유기 용액을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 감압하에서 농축시켰다. 잔여물을 펜탄 및 디에틸 에테르(1:1)로 분쇄시키고, 고체를 여과에 의해 수거하여, 회백색 고체로서 표제 화합물(15 g, 57%)을 생성시켰다: MS ES+ve *m/z* 217 $(M+H)^+$.

[0300] **중간체 10: 1-(3-브로모페닐)-5-에틸-3-메틸-1*H*-피라졸**

[0301] EtOH(20 mL) 중 (3-브로모페닐)하이드라진 하이드로클로라이드(Anichem으로부터 이용가능함)(2.0 g, 8.9 mmol) 및 트리에틸아민(1.25 mL, 8.9 mmol)의 현탁액을 균질해질때까지 잠시 교반한 후, 헥스-3-인-2-온(MP Biomedicals 또는 Alfa Aesar로부터 이용가능함)(0.887 g, 8.9 mmol)을 첨가하고, 혼합물을 10분 동안 50℃로 가열하였다. 혼합물을 농축된 HCl(12M, 2.5 mL)로 처리하고, 20분 동안 100℃로 가열하였다. 혼합물을 감압하에서 농축시키고, 잔여물을 에틸 아세테이트와 소듐 바이카르보네이트 수용액 사이에 분배시켰다. 유기 용액을 수성 $NaHCO_3$, 염수로 세척하고, 건조($MgSO_4$)시키고, 감압하에서 증발시켰다. 잔여물을 10 CV 초과의 0-100% DCM-사이클로헥산의 구배로 용리시키는 실리카(330 g) 카트리지 상에서의 크로마토그래피에 의해 정제하였다. 적절한 분획을 결합시키고, 감압하에서 증발시켜, 오렌지색 오일로서 표제 화합물(1.95 g, 82%)을 생성시켰다:

^{1}H NMR δ (DMSO-d_6, 400 MHz) 7.67 (t, *J*=2 Hz, 1H), 7.58 (dt, *J*=8, 2 Hz, 1H), 7.49 (m, 1H), 7.47 - 7.42 (m, 1H), 6.11 (s, 1H), 2.66 (q, *J*=7.5 Hz, 2H), 2.19 (s, 3H), 1.13 (t, *J*=7.5 Hz, 3H).

[0302] **중간체 11: (3-(5-에틸-3-메틸-1H-피라졸-1-일)페닐)보론산**

[0303] -78℃에서 1-(3-브로모페닐)-5-에틸-3-메틸-1*H*-피라졸(중간체 10)(2.795 g, 10.54 mmol) 및 트리이소프로필보레이트(Aldrich로부터 이용가능함)(2.4 g, 12.7 mmol)의 혼합물에 n-BuLi(1.6M, 13.2 mL)를 적가 처리하고, 온도를 -60℃ 아래로 유지시켰다. 혼합물을 밤새 실온으로 가온시켰다. 이후, 혼합물을 2M HCl 용액(11 mL, pH 7)으로 켄칭시키고, 에틸 아세테이트와 함께 분배시켰다. 유기 용액을 염수로 세척하고, 건조($MgSO_4$)시켰다. 여과액을 감압하에서 농축시키고, 잔여 오일을 고체를 수득할 때까지 사이클로헥산-석유 에테르(40-60°)로 분쇄시켰다. 고체를 여과에 의해 수거하고, 석유 에테르로 세척한 후, 소량의 물로 세척하고, 공기 건조시킨 후, 60℃에서 진공하에서 건조시켜, 황색 고체로서 표제 화합물(623 mg, 26%)을 생성시켰다: MS ES+ve *m/z* 231 $(M+H)^+$.

[0304] **중간체 12: (*R*,*E*)-*터트*-부틸 4-(3-(2-(1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-**1-일)부트-2-에노에이트

[0305] DCM(100 mL) 중 (*E*)-*터트*-부틸 4-아세톡시부트-2-에노에이트(중간체 5)(14.20 g, 70.9 mmol) 및 1,1'-비스(디페닐포스피노)페로센]디클로로팔라듐(II)[Pd(dppf)Cl_2](4.72 g, 6.45 mmol)의 혼합물을 질소하에서 15분 동안 교반한 후, 디이소프로필에틸아민(56.3 mL, 322 mmol) 및 DCM(200 mL) 중 (*R*)-2-(2-(피롤리딘-3-일)에틸)-1,8-나프티리딘 디하이드로클로라이드(중간체 3)(17g, 57 mmol)의 용액을 첨가하였다. 투명한 적색 용액을 수득하였고, 이를 24시간 동안 질소하에서 교반하였다. 혼합물을 DCM과 물(3 × 170 mL) 사이에 분배시켰다. 유기상을 상-분리기 카트리지를 통해 통과시키고, 여과액을 감압하에서 농축시켰다. DCM 중 잔여 오일(27 g)을 아미노프로필 카트리지(900 g)에 로딩하고, 10 컬럼 부피 초과의 0 내지 100% 에틸 아세테이트-사이클로헥산의 구배를 이용한 CombiFlash Companion XL 상에서의 크로마토그래피에 의해 정제하였다. 적절한 분획을 결합시키고, 진공하에서 증발시켜, 갈색 오일로서 표제 화합물(17.62 g, 85%)을 생성시켰고, 이는 방치시 고체화되었다: LCMS (시스템 A) RT = 1.05분, 100%; ES+ve *m/z* 368 $(M+H)^+$.

[0306] **중간체 13: *터트*-부틸 4-((*R*)-3-(2-(1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-**일)-3-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)부타노에이트

[0307] KOH(3.8 M, 54.4 mL, 207 mmol) 중 (3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)보론산(중간체 9)(44.7 g, 207 mmol)의 용액에 1,4-디옥산(300 mL) 중 (*R*,*E*)-*터트*-부틸 4-(3-(2-(1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부트-2-에노에이트(중간체 12)(40 g, 103 mmol)의 용액을 처리하고, 5분 동안 진공 및 질소를 이용하여 수회 탈기시켰다. 클로로(1,5-사이클로옥타디엔)로듐(I) 이합체(2.55 g, 5.17 mmol), 및 이후 (*R*)-BINAP(6.44 g, 10.3 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 추가 5분 동안 탈기시켰다. 용액을 60분 동안 90℃에서 가열하였다. 냉각 후, 반응 혼합물을 DCM(250 mL)과 물(200 mL) 사이에 분배시켰다. 수성상을 DCM(200 mL)으로 추가로 추출하고, 결합된 유기 용액을 진공하에서 증발시켰다. 잔여 오일(95 g)을 DCM에 용해시키고, 10CV 초과의 0-50% 에틸 아세테이트-사이클로헥산의 구배로 용리시키는 아미노프로필 카트리지 KPNH(900 g) 상에서의 크로마토그래피에 의해 정제하였다. 적절한 분획을 결합시키고, 진공하에서 증발시켜, 갈색 오일(39 g)을 생성시켰다. 20% EtOH(0.2% 이소프로필아민을 함유함) - 헵탄, 유량 = 1.0 mL/분으로 동용매적으로 용리시키고, 215 nm에서 검출하는 Chiralpak AD-H 컬럼(250 mm × 4.6 mm) 상에서의 분석 키랄 HPLC는 오일이 2개의 부분입체 이성질체의 혼합물인 것을 나타내었다: 피크 1 RT = 7.87분, 90.4%; 피크 2 RT = 9.78분, 9.6%. 혼합물을 20% 에탄올(0.2% 이소프로필아민을 함유함)-헵탄, 유량=50 mL/분으로 용리시키고, 240 nm에서 검출하고, RT = 11-16분을 갖는 주요 성분의 분획을 수거하는 Chiralpak AD 컬럼(50 mm × 200 mm) 상에서의 키랄 분취용 HPLC에 의해 분리시켰다. 결합된 분획을 감압하에서 증발시켜, 갈색 오일로서 표제 화합물(이성질체 1)(25.1 g, 45%)의 주요 이성질체를 생성시켰다: LCMS (시스템 A) RT= 1.25분, ES+ve *m/z* 540 $(M+H)^+$; Chiralpak AD-H 컬럼 상에서의 분석 키랄 HPLC, RT = 7.87분, >99.5%; ^{1}H NMR δ ($CDCl_3$; 600 MHz) 9.07 (dd, *J*=4.2, 2.0 Hz, 1H), 8.15 (dd, *J*=8.0, 1.9 Hz, 1H), 8.08 (d, *J*=8.4 Hz, 1H), 7.43 (dd, *J*=8.0, 4.3 Hz, 1H), 7.37 (d, *J*=8.3 Hz, 1H), 7.37 - 7.33 (m, 1H), 7.27 (d, *J*=1.1 Hz, 1H), 7.27 - 7.25 (m, 1H), 7.21 (d, *J*=7.7 Hz, 1H), 5.98 (s, 1H), 3.31 (d, *J*=5.3 Hz, 1H), 3.10 - 2.95 (m, 2H), 2.85 (dd, *J*=15.4, 5.7 Hz, 1H), 2.84 - 2.79 (m, 1H), 2.78 - 2.71 (m, 1H), 2.75 - 2.67 (m, 1H), 2.55 - 2.47 (m, 1H), 2.48 - 2.41 (m, 1H), 2.43 - 2.35 (m, 1H), 2.30 (s,

3H), 2.27 (s, 3H), 2.26 - 2.18 (m, 1H), 2.23 - 2.13 (m, 1H), 2.02 - 1.95 (m, 1H), 1.98 - 1.91 (m, 2H), 1.50 - 1.42 (m, 1H), 1.30 (s, 9H). 보다 작은 성분을 함유하는 분획(RT=19-25분)을 결합시키고, 감압하에서 농축시켜, 갈색 오일로서 표제 화합물 이성질체 2(2.03g, 4%)를 생성시켰다: LCMS (시스템 A) RT= 1.25분, ES+ve *m/z* 540 $(M+H)^+$; Chiralpak AD-H 컬럼 상에서의 분석 키랄 HPLC, RT=9.78분, >99.5%.

[0308] **중간체 14: *터트*-부틸 3-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-(2-**(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부타노에이트

[0309] 에탄올(200 mL) 중 *터트*-부틸 4-((*R*)-3-(2-(1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)-3-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)부타노에이트(이성질체 1)(중간체 13)(8.0 g, 14.8 mmol)의 용액을 밤새 실온에서 수소 가스의 대기하에서 10% Pd/C(1.58 g) 상에서 신속히 교반하였다. 촉매를 셀라이트를 통한 여과에 의해 제거하고, 에탄올로 세척하였다. 결합된 여과액 및 세척액을 감압하에서 증발시켜, 갈색 오일로서 표제 화합물(7.19 g, 89%)을 생성시켰다. LCMS (시스템 A) RT = 1.44분, ES+ve *m/z* 544 $(M+H)^+$.

[0310] **중간체 15: *터트*-부틸 4-((*R*)-3-(2-(1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-**일)-3-(3-(5-메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)부타노에이트

[0311] 수성 KOH(3.8M, 14.69 mL, 55.8 mmol) 중 (3-(5-메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)보론산(중간체 7)(12.53 g, 55.8 mmol)의 용액에 1,4-디옥산(196 mL) 중 (*R,E*)-*터트*-부틸 4-(3-(2-(1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부트-2-에노에이트(중간체 12)(11.4 g, 27.9 mmol)의 용액을 처리하고, 용액을 5분 동안 진공 및 질소를 이용하여 수회 탈기시켰다. 클로로(1,5-사이클로옥타디엔)로듐(I) 이합체(0.688 g, 1.396 mmol) 및 (*R*)-BINAP(1.738 g, 2.79 mmol)를 혼합물에 첨가하고, 용액을 추가 5분 동안 탈기시켰다. 반응 혼합물을 60분 동안 90℃에서 가열하였다. 냉각 후, 반응 혼합물을 진공하에서 증발시키고, 잔여물을 DCM과 물 사이에 분배시켰다. 수성상을 DCM으로 추가로 추출하고, 결합된 유기 용액을 진공하에서 증발시켰다. 잔여 오일(21.53 g)을 DCM에 용해시키고, 12 컬럼 부피 초과의 0 내지 100% 에틸 아세테이트-사이클로헥산의 구배로 용리시키는 CombiFlash Companion XL 상에서의 아미노프로필 카트리지(375 g)의 크로마토그래피에 의해 정제하였다. 적절한 분획을 결합시키고, 진공하에서 증발시켜, 갈색 오일(13.56 g)을 생성시켰다. 20% EtOH-헵탄, 유량 = 1.0 mL/분으로 동용매적으로 용리시키고, 215 nm에서 검출하는 Chiralpak OD-H 컬럼(250 mm × 4.6 mm) 상에서의 분석 키랄 HPLC는 오일이 2개의 부분입체 이성질체의 혼합물임을 나타내었다: 피크 1 RT = 15.1분, 8.2%; 피크 2 RT = 22.6분, 91.8%. 혼합물을 30% 에탄올-헵탄, 유량 50 mL/분으로 용리시키고, 215 nm에서 검출하고, RT = 37-50분을 갖는 주요 성분의 분획을 수거하는 Chiralpak AD 컬럼(50 mm × 200 mm) 상에서의 키랄 분취용 HPLC로 분리시켰다. 결합된 분획을 감압하에서 증발시키고, 잔여물을 12 컬럼 부피 초과의 0-100% 에틸 아세테이트-사이클로헥산의 구배로 용리시키는 아미노프로필 카트리지(375 g)로 추가로 정제하였다. 적절한 분획을 결합시키고, 진공하에서 증발시켜, 갈색 오일로서 표제 화합물의 이성질체 1(9.06 g, 62%)을 생성시켰다: LCMS (시스템 A) RT=1.20분, 97%, ES+ve *m/z* 526 $(M+H)^+$. 다른 적절한 분획을 감압하에서 증발시켜, 표제 화합물의 더 적은 이성질체(이성질체 2)(1.83 g, 12%)를 생성시켰다: LCMS (시스템 A) RT=1.21분, ES+ve *m/z* 526 $(M+H)^+$.

[0312] **중간체 16: *터트*-부틸 3-(3-(5-메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-(2-**(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부타노에이트

[0313] 에탄올(250 mL) 중 *터트*-부틸 4-((*R*)-3-(2-(1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)-3-(3-(5-메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)부타노에이트(이성질체 1)(중간체 15)(9.06 g, 17.2 mmol)의 용액을 48시간 동안 실온에서 10% Pd/C(1.834 g) 상에서 수소화반응시켰다. 촉매를 셀라이트를 통한 여과에 의해 제거하고, 에탄올로 세척하였다. 결합된 여과액 및 세척액을 진공하에서 증발시켜, 황색 오일로서 표제 화합물(7.68 g, 84%)을 생성시켰다: LCMS (시스템 A) RT = 1.40분, 95%, ES+ve *m/z* 530 $(M+H)^+$.

[0314] **중간체 17: *터트*-부틸 4-((*R*)-3-(2-(1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-**일)-3-(3-(5-에틸-3-메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)부타노에이트

[0315] 1,4-디옥산(15 mL) 중 (*R,E*)-*터트*-부틸 4-(3-(2-(1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부트-2-에노에이트(중간체 12)(360 mg, 0.980 mmol), (3-(5-에틸-3-메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)보론산(중간체 10)(676 mg, 2.94 mmol), 수성 KOH(3.8M, 0.516 mL, 1.96 mmol), 클로로(1,5-사이클로옥타디엔)로듐(I) 이합체(48.3 mg, 0.098 mmol), (*R*)-BINAP(122 mg, 0.196 mmol)의 혼합물을 95℃에서 3시간 동안 가열하였다. 반응 혼합물을 진공하에

서 농축시키고, DCM(25 mL)과 물(25 mL) 사이에 분배시켰다. 수성층을 분리시키고, 추가 DCM(25 mL)으로 추출하고, 결합된 유기 용액을 진공하에서 농축시켰다. 잔여물을 DCM에 용해시키고, 0-25% MeOH-DCM으로 용리시키는 실리카 카트리지(50 g) 상에서의 크로마토그래피에 의해 정제하였다. 적절한 분획을 결합시키고, 진공하에서 증발시켜, 오렌지색 오일로서 표제 화합물(158 mg, 29%)을 생성시켰다: LCMS (시스템 A) RT = 1.31분, 81%, ES+ve *m/z* 554 $(M+H)^+$; 분석 키랄 HPLC Chiralpak AD (250 mm × 4.6 mm) 15% EtOH - 헵탄, 동용매, 유량 1 mL/분, 215 nm에서 검출. RT = 10.5분, 92.6% (주요 이성질체) 및 14.8분, 7.4% (더 적은 이성질체); ^{1}H NMR δ ($CDCl_3$; 600 MHz) 9.10 (dd, *J*=4.2, 2.0 Hz, 1H), 8.17 (dd, *J*=8.1, 2.2 Hz, 1H), 8.11 (d, *J*=8.4 Hz, 1H), 7.46 (dd, *J*=8.1, 4.4 Hz, 1H), 7.41 - 7.34 (m, 2H), 7.31 - 7.21 (m, 3H), 6.03 (s, 1H), 3.74 (q, *J*=7.0 Hz, 1H), 3.33 (br. S., 1H), 3.11 - 2.97 (m, 2H), 2.91 - 2.70 (m, 4H), 2.63 (q, *J*=7.7 Hz, 2H), 2.56 - 2.38 (m, 3H), 2.33 (s, 3H), 2.27 - 2.14 (m, 2H), 2.06 - 1.92 (m, 3H), 1.51 - 1.45 (m, 1H), 1.36 - 1.31 (m, 9H), 1.19 (t, *J*=7.5 Hz, 3H).

[0316] **중간체 18: *터트*-부틸 3-(3-(5-에틸-3-메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-**(2-(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부타노에이트

[0317] *터트*-부틸 4-((*R*)-3-(2-(1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)-3-(3-(5-에틸-3-메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)부타노에이트(중간체 17)(158 mg, 0.285 mmol)를 18시간 동안 에탄올(10 mL) 중 10% Pd/C(30 mg) 상에서 수소화반응시켰다. 촉매를 셀라이트(10 g)를 통한 여과에 의해 제거하고, 에탄올로 세척하였다. 결합된 여과액 및 세척액을 진공하에서 증발시켜, 오렌지색 오일로서 표제 화합물(130 mg, 82%)을 생성시켰다: LCMS (시스템 A) RT = 1.49분, ES+ve *m/z* 558 $(M+H)^+$.

[0318] **중간체 19: *터트*-부틸 4-((*R*)-3-(2-(1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-**일)-3-(3-(1*H*-피라졸-1-일)페닐)부타노에이트

[0319] 1,4-디옥산(15 mL) 중 (*R,E*)-*터트*-부틸 4-(3-(2-(1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부트-2-에노에이트(중간체 12)(333 mg, 0.906 mmol), (3-(1*H*-피라졸-1-일)페닐)보론산(ABCR GmbH로부터 이용가능함)(511 mg, 2.72 mmol), 수성 KOH(3.8M, 0.477 mL, 1.81 mmol), 클로로(1,5-사이클로옥타디엔)로듐(I) 이합체(44.7 mg, 0.091 mmol), (*R*)-BINAP(113 mg, 0.196 mmol)의 혼합물을 95℃에서 3시간 동안 가열하였다. 반응 혼합물을 진공하에서 농축시키고, DCM(25 mL)과 물(25 mL) 사이에 분배시켰다. 수성층을 분리시키고, 추가 DCM(25 mL)으로 추출하고, 결합된 유기 용액을 진공하에서 농축시켰다. 잔여물을 DCM에 용해시키고, 0-25% MeOH-DCM으로 용리시키는 실리카 카트리지(50 g) 상에서의 크로마토그래피에 의해 정제하였다. 적절한 분획을 결합시키고, 진공하에서 증발시켜, 오렌지색 오일로서 표제 화합물(128 mg, 28%)을 생성시켰다: LCMS (시스템 A): RT = 1.22분, ES+ve *m/z* 512 $(M+H)^+$; 30% EtOH-0.1% 이소프로필아민을 함유하는 헵탄, 유량 1 mL/분으로 동용매적으로 용리시키고, 235 nm에서 검출하는 분석 키랄 HPLC Chiralpak AD (250 mm × 4.6 mm): RT = 7.05분, 95% (주요 이성질체) 및 12.2분, 5% (더 적은 이성질체).

[0320] **중간체 20: *터트*-부틸 3-(3-(1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-(2-(5,6,7,8-테**트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부타노에이트

[0321] *터트*-부틸4-((*R*)-3-(2-(1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)-3-(3-(1*H*-피라졸-1-일)페닐)부타노에이트(중간체 19)(128 mg, 0.25 mmol)를 18시간 동안 에탄올(10 mL) 중에서 10% Pd/C(53 mg) 상에서 수소화반응시켰다. 촉매를 셀라이트(10 g)를 통한 여과에 의해 제거하고, 에탄올로 세척하였다. 결합된 여과액 및 세척액을 진공하에서 증발시켜, 오렌지색 오일로서 표제 화합물(100 mg, 78%)을 생성시켰다: LCMS (시스템 A) RT = 1.45분, ES+ve *m/z* 516 $(M+H)^+$.

[0322] **중간체 21: 1-(3-브로모페닐)-3,5-디에틸-1*H*-피라졸**

[0323] 헵탄-3,5-디온(Aldrich로부터 이용가능함)(3.60 g, 28.1 mmol), (3-브로모페닐)하이드라진(Anichem Inc로부터 이용가능함)(3.50 g, 18.7 mmol)을 DCM(20 mL)에 용해시켰다. 농축된 H_2SO_4(18M, 0.100 mL, 1.8 mmol)를 첨가하고, 반응물을 18시간 동안 실온에서 교반하였다. 반응 혼합물을 진공하에서 농축시키고, DCM(25 mL)과 물(25 mL) 사이에 분배시키고, 수성상을 분리시키고, 추가 DCM(25 mL)으로 추출하였다. 결합된 유기상을 진공하에서 농축시켜, 표제 화합물(3.64 g, 70%)을 생성시켰다: LCMS (시스템 A): RT = 1.31분, ES+ve *m/z* 279/281

$(M+H)^+$.

[0324] **중간체 22: (3-(3,5-디에틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)보론산**

[0325] 1,4-디옥산(75 mL) 중 1-(3-브로모페닐)-3,5-디에틸-1*H*-피라졸(중간체 21)(3.637 g, 13.03 mmol), 2-디사이클로헥실포스피노-2',4',6'-트리이소프로필바이페닐(X-PHOS)(Aldrich로부터 이용가능함)(298 mg, 0.625 mmol), 트리스(디벤질리덴아세톤)디팔라듐(Aldrich로부터 이용가능함)(179 mg, 0.195 mmol), 포타슘 아세테이트(3.20 g, 32.6 mmol) 및 비스(피나콜레이토)디보론(Aldrich로부터 이용가능함)(3.64 g, 14.3 mmol)의 혼합물을 4시간 동안 110℃로 가열하였다. 물 및 에틸 아세테이트를 반응 혼합물에 첨가하고, 층을 분리시켰다. 수성층을 EtOAc로 2회 추가로 추출하였다. 결합된 유기 추출물을 소수성 프릿(hydrophobic frit)을 통해 통과시키고, 여과액을 진공하에서 증발시켰다. 잔여물을 아세토니트릴에 용해시키고, 10 CV 초과의 0.1% 포름산을 함유하는 25-85% 아세토니트릴-물의 구배로 용리시키는 역상 크로마토그래피(100 g)에 의해 정제하였다. 적절한 분획을 결합시키고, 진공하에서 증발시켜, 표제 화합물(1.055 g, 33%)을 생성시켰다: LCMS (시스템 A) RT = 0.86분, ES+ve *m/z* 245 $(M+H)^+$.

[0326] **중간체 23: *터트*-부틸 4-((*R*)-3-(2-(1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-**일)-3-(3-(3,5-디에틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)부타노에이트

[0327] 1,4-디옥산(5 mL) 중 (*R*,*E*)-*터트*-부틸 4-(3-(2-(1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부트-2-에노에이트(중간체 12)(210 mg, 0.571 mmol), (3-(3,5-디에틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)보론산(중간체 22)(283 mg, 1.16 mmol), 수성 KOH(3.8M, 0.3 mL, 1.14 mmol), 클로로(1,5-사이클로옥타디엔)로듐(I) 이합체(14.1 mg, 0.03 mmol), (*R*)-BINAP(35.6 mg, 0.06 mmol)의 혼합물을 95℃에서 4시간 동안 가열하였다. 반응 혼합물을 진공하에서 농축시키고, EtOAc(100 mL)와 물(100 mL) 사이에 분배시켰다. 수성층을 분리시키고, 추가 EtOAc(100 mL)로 추출하고, 결합된 유기 용액을 진공하에서 농축시켰다. 잔여물을 1시간에 걸쳐 0-100% EtOAc-사이클로헥산으로 용리시키는 아미노프로필 SPE 카트리지(50 g) 상에서의 크로마토그래피에 의해 정제하였다. 적절한 분획을 결합시키고, 진공하에서 증발시켜, 오렌지색 오일로서 표제 화합물(130 mg, 40%)을 생성시켰다: LCMS (시스템 C): RT = 0.97분, ES+ve *m/z* 568 $(M+H)^+$; 10% EtOH-0.1% 이소프로필아민을 함유하는 헵탄, 유량 1 mL/분으로 동용매적으로 용리시키고, 215 nm에서 검출하는 분석 키랄 HPLC Chiralpak AD (250 mm × 4.6 mm): RT = 10.5분, 86% (주요 이성질체) 및 13.7분, 13% (더 적은 이성질체). 10% EtOH-0.2% 이소프로필아민을 함유하는 헵탄, 유량 30 mL/분으로 동용매적으로 용리시키고, 215 nm에서 검출하는 Chiralpak AD(250 mm × 30 mm) 상에서의 분취용 키랄 HPLC에 의해 부분입체 이성질체를 분리시켰다. 적절한 분획을 결합시키고, 감압하에서 증발시켜, 표제 화합물의 주요 이성질체(이성질체 1)(53 mg, 41%)를 생성시켰다: LCMS (시스템 C) RT = 0.95분, ES+ve *m/z* 568 $(M+H)^+$; ^{1}H NMR δ ($CDCl_3$; 400 MHz) 9.08 (dd, *J*=4, 2 Hz, 1H), 8.15 (dd, *J*=8, 2 Hz, 1H), 8.09 (d, *J*=8 Hz, 1H), 7.44 (dd, *J*=8, 4 Hz, 1H), 7.38 (d, *J*=8 Hz, 1H), 7.37 - 7.34 (m, 1H), 7.27 - 7.24 (m, 2H), 7.22 (br. d, *J*=8 Hz, 1H), 6.05 (s, 1H), 3.37 - 3.25 (br, 1H), 3.09 - 2.97 (m, 2H), 2.86 (dd, *J*=15, 5.5 Hz, 1H), 2.83 - 2.79 (m, 1H), 2.78 - 2.71 (m, 1H), 2.70 (q, *J*=7 Hz, 2H), 2.75 - 2.67 (m, 1H), 2.62 (q, *J*=7 Hz, 2H), 2.55 - 2.35 (m, 3H), 2.30 - 2.13 (m, 2H), 2.05 - 1.92 (m, 2H), 1.72 - 1.58 (m, 1H), 1.50 - 1.42 (m, 1H), 1.31 (s, 9H), 1.29 (t, *J*=7 Hz, 3H), 1.19 (t, *J*=7 Hz, 3H). 다른 적절한 분획의 증발로 표제 화합물의 더 적은 부분입체 이성질체(이성질체 2)(5 mg, 4%)를 생성시켰다: LCMS (시스템 C) RT = 0.96분, ES+ve *m/z* 568 $(M+H)^+$.

[0328] **중간체 24: *터트*-부틸 3-(3-(3,5-디에틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-(2-**(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부타노에이트

[0329] *터트*-부틸4-((*R*)-3-(2-(1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)-3-(3-(3,5-디에틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)부타노에이트(이성질체 1)(중간체 23)(144 mg, 0.25 mmol)를 18시간 동안 에탄올(10 mL) 중에서 10% Pd/C(27 mg) 상에서 수소화반응시켰다. 촉매를 셀라이트(10 g)를 통한 여과에 의해 제거하고, 에탄올로 세척하였다. 결합된 여과액 및 세척액을 진공하에서 증발시켜, 오렌지색 오일로서 표제 화합물(116 mg, 80%)을 생성시켰다: LCMS (시스템 A) RT = 1.61분, ES+ve *m/z* 572 $(M+H)^+$.

[0330] **중간체 25: 1-(3-브로모페닐)-4-플루오로-3,5-디메틸-1*H*-피라졸**

[0331] 3-플루오로펜탄-2,4-디온(Fluorochem로부터 이용가능함)(2.84 g, 24.1 mmol), (3-브로모페닐)하이드라진

(Anichem Inc로부터 이용가능함)(3.0 g, 16 mmol)을 DCM(20 mL)에 용해시켰다. 농축된 H_2SO_4(0.171 mL, 3.21 mmol)를 첨가하고, 반응물을 18시간 동안 실온에서 교반하였다. 반응 혼합물을 진공하에서 농축시키고, DCM(25 mL)과 물(25 mL) 사이에 분배시키고, 수성상을 분리시키고, 추가 DCM(25 mL)으로 추출하였다. 이후, 결합된 유기상을 진공하에서 농축시켜, 표제 화합물(2.61 g, 60%)을 생성시켰다: LCMS (시스템 A) RT = 1.22분, ES+ve *m/z* 269/271 $(M+H)^+$.

[0332] **중간체 26: (3-(4-플루오로-3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)보론산**

[0333] 1,4-디옥산(75 mL) 중 1-(3-브로모페닐)-4-플루오로-3,5-디메틸-1*H*-피라졸(중간체 25)(2.61 g, 9.70 mmol), 2-디사이클로헥실포스피노-2',4',6'-트리이소프로필바이페닐(X-PHOS)(Aldrich로부터 이용가능함)(222 mg, 0.466 mmol), 트리스(디벤질리덴아세톤)디팔라듐(Aldrich로부터 이용가능함)(133 mg, 0.146 mmol), 포타슘 아세테이트(2.38 g, 24.3 mmol) 및 비스(피나콜레이토)디보론(Aldrich로부터 이용가능함)(2.71 g, 10.67 mmol)의 혼합물을 4시간 동안 110℃로 가열하였다. 물 및 에틸 아세테이트를 반응 혼합물에 첨가하고, 층을 분리시켰다. 수성층을 EtOAc로 추가로 추출하였다. 결합된 유기 추출물을 소수성 프릿을 통해 통과시키고, 여과액을 진공하에서 증발시켰다. 잔여물을 아세토니트릴에 용해시키고, 10 CV 초과의 25-85% 아세토니트릴-0.1% 포름산을 함유하는 물의 구배를 이용한 역상 크로마토그래피(100 g 카트리지)에 의해 정제하였다. 적절한 분획을 결합시키고, 진공하에서 증발시켜, 표제 화합물(400 mg, 18%)을 생성시켰다: LCMS (시스템 A) RT = 0.77분, ES+ve *m/z* 235 $(M+H)^+$.

[0334] **중간체 27: *터트*-부틸 4-((*R*)-3-(2-(1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-**일)-3-(3-(4-플루오로-3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)부타노에이트

[0335] 1,4-디옥산(6 mL) 중 (3-(4-플루오로-3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)보론산(중간체 26)(382 mg, 1.63 mmol), 사이클로옥타디엔 로듐(I) 클로라이드 이합체(121 mg, 0.245 mmol), 수성 KOH(3.8M, 0.430 mL, 1.63 mmol)의 용액을 질소하에서 5분 동안 주위 온도에서 교반한 후, (*R,E*)-*터트*-부틸 4-(3-(2-(1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부트-2-에노에이트사이클로옥타디엔(중간체 12)(300 mg, 0.82 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 1시간 동안 95℃에서 가열한 후, 물(20 mL)과 EtOAc(20 mL) 사이에 분배시켰다. 유기층을 감압하에서 농축시키고, MeOH(5 mL)에 용해시키고, MeOH(1 CV)로 사전-컨디셔닝된 10 g 아미노프로필 SPE 카트리지 상에 로딩하였다. 컬럼을 MeOH(3 CV)로 세척하고, 분획을 감압하에서 농축시켰다. 잔여물(385 mg)을 10 mM 암모늄 바이카르보네이트 수용액 중 50-80% 아세토니트릴(0.1% 암모니아를 함유함)로 용리시키는 C18(30 g) 카트리지 상에서의 역상 크로마토그래피에 의해 정제하였다. 적절한 분획을 감압하에서 농축시켜, 부분입체 이성질체의 혼합물로서 표제 화합물(70 mg, 15%)을 생성시켰다: LCMS (시스템 A) RT = 1.34분, ES+ve *m/z* 558 $(M+H)^+$.

[0336] **중간체 28: *터트*-부틸 3-(3-(4-플루오로-3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-**4-((*R*)-3-(2-(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부타노에이트

[0337] *터트*-부틸4-((*R*)-3-(2-(1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)-3-(3-(4-플루오로-3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)부타노에이트(중간체 27)(70 mg, 0.063 mmol)를 4시간 동안 에탄올(4 mL) 중에서 10% Pd/C(13.4 mg) 상에서 수소화반응시켰다. 촉매를 셀라이트를 통한 여과에 의해 제거하고, 에틸 아세테이트로 세척하였다. 결합된 여과액 및 세척액을 감압하에서 농축시켜, 황색 오일로서 표제 화합물(70 mg, 35%)을 생성시켰다: LCMS (시스템 A) RT = 1.50분, ES+ve *m/z* 562 $(M+H)^+$.

[0338] **중간체 29: 1-(3-브로모페닐)-3-메틸-1*H*-피라졸**

[0339] MeOH(20 mL) 중 부트-3-인-2-온(1.75 mL, 22.4 mmol), (3-브로모페닐)하이드라진, 하이드로클로라이드(5.0 g, 22.4 mmol)의 용액에 농축된 HCl(0.680 mL, 22.4 mmol)을 처리하고, 반응물을 120℃에서 2분 동안 밀봉된 마이크로파 바이얼에서 가열하였다. 반응 혼합물을 진공하에서 농축시키고, DCM(25 mL)과 물(25 mL) 사이에 분배시키고, 수성층을 분리시키고, 추가 DCM(25 mL)으로 추출하였다. 결합된 유기 용액을 농축시키고, 0-100% DCM-사이클로헥산의 구배로 용리시키는 실리카 SPE 카트리지(100 g) 상에서의 크로마토그래피에 의해 정제하였다. 적절한 분획을 결합시키고, 진공하에서 증발시켜, 표제 화합물(2.39 g, 45%)을 생성시키고: LCMS (시스템 A) RT = 1.15분, ES+ve *m/z* 237/239 $(M+H)^+$; ^1H NMR δ ($CDCl_3$; 600 MHz) 7.85 (t, *J*=2.0 Hz, 1H), 7.75 (d, *J*=2.4 Hz, 1H), 7.54 (ddd, *J*=8.2, 2.1, 0.9 Hz, 1H), 7.35 - 7.31 (m, 1H), 7.26 - 7.21 (m, 1H), 6.23 (d, *J*=2.4 Hz, 1H), 2.35 (s, 3H), 이의 위치이성질체 1-(3-브로모페닐)-5-메틸-1*H*-피라졸(중간체 6)(1.7 g, 32%)을 생성

시켰다: LCMS (시스템 A) RT = 1.05분, ES+ve *m/z* 237/239 $(M+H)^+$.

[0340] **중간체 30: (3-(3-메틸-1*H*-피라졸-1-일)-페닐)보론산**

[0341] 중간체 29(2.39 g, 10.1 mmol)로부터 시작하여 중간체 26의 제조에 대해 기재된 것과 유사한 방법에 의해 표제 화합물(2.23 g, 100%)을 제조하였다: LCMS (시스템 A) RT = 0.60분, ES+ve *m/z* 203 $(M+H)^+$.

[0342] **중간체 31: 터트-부틸 4-((*R*)-3-(2-(1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-**일)-3-(3-(3-메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)부타노에이트

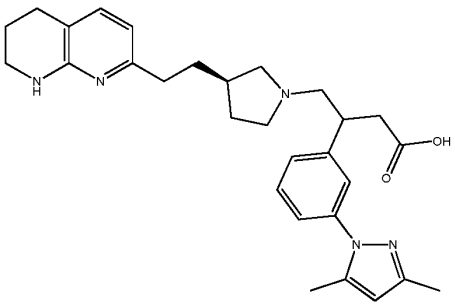
[0343] 중간체 12(336 mg, 0.914 mmol) 및 중간체 30(554 mg, 2.74 mmol)으로부터 시작하여 중간체 27의 제조에 대해 기재된 것과 유사한 방법에 의해 표제 화합물(212 mg, 44%)을 제조하였다: LCMS (시스템 A) RT = 1.26분, ES+ve *m/z* 526 $(M+H)^+$; 40% EtOH-헵탄, 유량 1 mL/분으로 동용매적으로 용리시키고, 215 nm에서 검출하는 분석 키랄 HPLC Chiralcel OD (250 mm × 4.6 mm): RT = 10.1분, 16.7% (더 적은 이성질체) 및 14.1분, 83.3% (주요 이성질체).

[0344] **중간체 32: 터트-부틸 3-(3-(3-메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-(2-**(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부타노에이트

[0345] EtOH(10 mL) 중 터트-부틸 4-((*R*)-3-(2-(1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)-3-(3-(3-메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)부타노에이트(중간체 31)(212 mg, 0.403 mmol)의 용액을 18시간 동안 Pd/C(42.9 mg) 상에서 수소화반응시켰다. 촉매를 셀라이트를 통한 여과에 의해 수거하고, EtOH로 세척하였다. 결합된 여과액 및 세척액을 진공하에서 농축시켜, 오렌지색 오일로서 표제 화합물(171 mg, 80%)을 생성시켰다: LCMS (시스템 A): RT= 1.46분, ES+ve *m/z* 530 $(M+H)^+$.

[0346] **실시예의 제조**

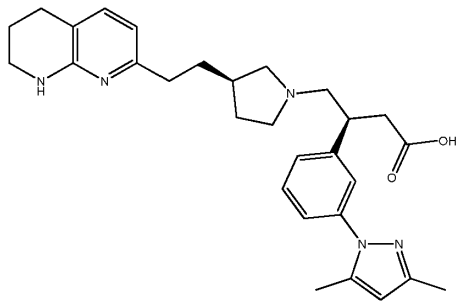
[0347] **실시예 1: 3-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-(2-(5,6,7,8-테**트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부탄산

[0348] 

[0349] 2-메틸THF(0.5 mL) 중 *터트*-부틸 3-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-(2-(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부타노에이트(중간체 14)(100 mg, 0.184 mmol)의 용액에 농축된 HCl(12M, 0.077 mL, 0.92 mmol)을 처리하고, 2시간 동안 40℃에서 교반하였다. 용매를 진공하에서 증발시키고, 잔여 오일을 에탄올(2 mL)에 용해시키고, 에탄올(2 CV) 및 이후 MeOH 중 2M 암모니아(2 CV)로 용리시키는 SCX-2 이온-교환 카트리지(5 g)에 적용시켰다. 암모니아성 분획을 결합시키고, 진공하에서 증발시켜, 회백색 고체로서 표제 화합물(79 mg, 88%)을 생성시켰다: LCMS (시스템 A) RT= 0.86분, 100%, ES+ve *m/z* 488 $(M+H)^+$; ^1H NMR δ ($CDCl_3$; 600 MHz): 7.42 - 7.37 (m, 1H), 7.31 (d, *J*=1.5 Hz, 1H), 7.29 (d, *J*=0.9 Hz, 1H), 7.23 (d, *J*=7.7 Hz, 1H), 7.21 (d, *J*=7.3 Hz, 1H), 6.31 (d, *J*=7.3 Hz, 1H), 5.99 (s, 1H), 3.55 (br. s., 1H), 3.60 - 3.52 (m, 1H), 3.45 (t, *J*=5.4 Hz, 2H), 3.27 (t, *J*=10.6 Hz, 1H), 3.09 (br. s.,1H), 2.93 - 2.86 (m, 1H), 2.82 (d, *J*=10.1 Hz, 1H), 2.86 - 2.75 (m, 2H), 2.72 (t, *J*=6.2 Hz, 1H), 2.74 - 2.67 (m, 2H), 2.75 (d, *J*=9.0 Hz, 1H), 2.61 - 2.50 (m, 1H), 2.31 (s, 3H), 2.29 (s, 3H), 2.33 - 2.26 (m, 1H), 2.24 - 2.11 (m, 1H), 1.94 - 1.86 (m, 2H), 1.94 - 1.84 (m, 1H), 1.78 - 1.66 (m, 1H), 1.65 - 1.51 (m, 1H).

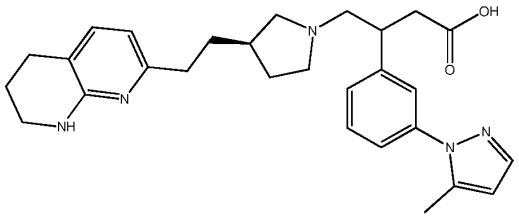
[0350] 실시예 1을 (*S*)-3-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-(2-(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘

-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부탄산으로서 이하 기재되는 방법에 의해 확인하였다.



[0351]

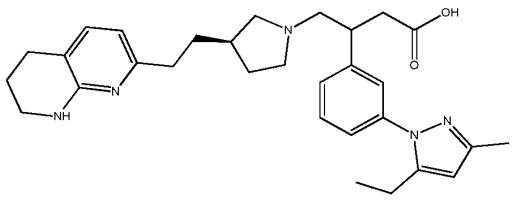
[0352] **실시예 2: 3-(3-(5-메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-(2-(5,6,7,8-테트라**하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부탄산



[0353]

[0354] 2-메틸THF(15 mL) 중 *터트*-부틸 3-(3-(5-메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-(2-(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부타노에이트(중간체 16)(2.80 g, 5.29 mmol)의 용액에 농축된 HCl(12M, 3.96 mL, 47.6 mmol)을 처리하고, 2시간 동안 40℃에서 교반하였다. 용매를 진공하에서 증발시키고, 잔여물(3.8 g)을 에탄올(2 mL)에 용해시키고, 에탄올(1 CV) 및 이후 MeOH 중 2M 암모니아(1 CV)로 용리시키는 SCX-2 카트리지(70 g) 상에서의 이온-교환 크로마토그래피에 의해 정제하였다. 암모니아성 분획을 진공하에서 증발시키고, 잔여물을 DCM에 용해시키고, 30분에 걸쳐 0-25% MeOH-DCM의 구배로 용리시키는 아미노프로필 카트리지(100 g) 상에서 추가로 정제하였다. 적절한 분획을 결합시키고, 진공하에서 증발시켜, 백색 포움(foam)으로서 표제 화합물(2.01 g, 80%)을 생성시켰다: LCMS (시스템 A) RT = 0.83분, 100%, ES+ve *m/z* 474 $(M+H)^+$; ^{1}H NMR δ (DMSO-d_6; 600 MHz) 7.55 (d, *J*=1.5 Hz, 1H), 7.47 - 7.41 (m, 1H), 7.38 (s, 1H), 7.34 (d, *J*=8.1 Hz, 1H), 7.30 (d, *J*=7.7 Hz, 1H), 7.02 (d, *J*=7.0 Hz, 1H), 6.32 - 6.22 (m, 3H), 3.35 - 3.26 (m, 2H), 3.26 - 3.20 (m, 2H), 2.92 - 2.75 (m, 3H), 2.73 - 2.65 (m, 1H), 2.63 - 2.52 (m, 4H), 2.47 (dd, *J*=15.8, 7.3 Hz, 1H), 2.41 (t, *J*=7.7 Hz, 2H), 2.33 (s, 3H), 2.28 (dd, *J*=9.0, 7.5 Hz, 1H), 2.10 - 1.96 (m, 1H), 1.94 - 1.85 (m, 1H), 1.79 - 1.71 (m, 2H), 1.68 - 1.54 (m, 2H), 1.34 (dd, *J*=12.3, 7.9 Hz, 1H).

[0355] **실시예 3: 3-(3-(5-에틸-3-메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-(2-**(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부탄산

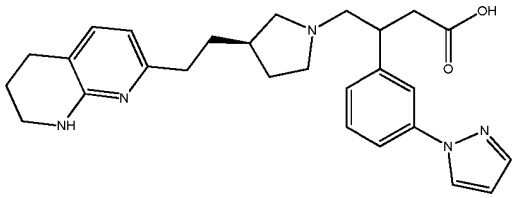


[0356]

[0357] *터트*-부틸3-(3-(5-에틸-3-메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-(2-(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부타노에이트(중간체 18)(130 mg, 0.233 mmol)를 1,4-디옥산(5 mL)에 용해시키고, 농축된 HCl(37%, 0.038 mL, 0.466 mmol)을 첨가하고, 반응 혼합물을 18시간 동안 실온에서 교반하였다. 혼합물을 진공하에서 농축시키고, 샘플을 DMSO(1 mL)에 용해시키고, 암모늄 카르보네이트 완충액과 함께 아세토니트릴-물을 이용한 Xbridge 컬럼 상에서의 Mass Directed AutoPrepHPLC(방법 B)에 의해 정제하였다. 용매를 래들리 블로우-다운(Radley's blow-down) 장치에서 질소 스트림 하에서 제거하여, 표제 화합물(20 mg, 17%)을

생성시켰다: LCMS (시스템 A) RT = 0.90분, 95%, ES+ve *m/z* 502 $(M+H)^+$; ^{1}H NMR δ (CD_3OD; 400 MHz) 7.48 (t, *J*=8Hz, 1H), 7.39 - 7.32 (m, 2H), 7.30 (br d, *J*=8 Hz, 1H), 7.14 (d, *J*=7.5 Hz, 1H), 6.38 (d, *J*=7.5 Hz, 1H), 6.10 (s, 1H), 3.62 - 3.45 (m, 2H), 3.39 - 3.32 (m, 4H), 3.25 (dd, *J*=12, 3 Hz, 1H), 3.08 (br. t, *J*=9 Hz, 1H), 2.86 (dd, *J*=16, 10 Hz, 1H), 2.71 - 2.53 (m, 7H), 2.38 - 2.26 (m, 1H), 2.25 (s, 3H), 2.24 - 2.16 (m, 1H), 1.90 - 1.63 (m, 5H), 1.16 (t, *J*=7.5 Hz, 3H).

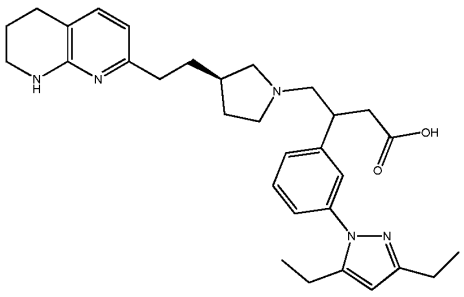
[0358] **실시예 4: 3-(3-(1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-(2-(5,6,7,8-테트라하이드**로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부탄산



[0359]

[0360] *터트*-부틸 3-(3-(1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-(2-(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부타노에이트(중간체 20)(100 mg, 0.19 mmol)를 1,4-디옥산(5 mL)에 용해시키고, 농축된 HCl(37%, 0.032 mL, 0.39 mmol)을 첨가하고, 반응 혼합물을 18시간 동안 실온에서 교반하였다. 혼합물을 진공하에서 농축시키고, 샘플을 DMSO-MeOH(1:1; 1 mL)에 용해시키고, 암모늄 카르보네이트 완충액과 함께 아세토니트릴-물을 이용한 Xbridge 컬럼 상에서의 Mass Directed AutoPrepHPLC(방법 A)에 의해 정제하였다. 용매를 래들리 블로우-다운 장치에서 질소 스트림 하에서 제거하여, 표제 화합물(10 mg, 11%)을 생성시켰다: LCMS (시스템 A) RT = 0.82분, 98.6%, ES+ve *m/z* 460 $(M+H)^+$; ^{1}H NMR δ (CD_3OD; 400 MHz) 8.23 (d, J=2.5 Hz, 1H), 7.72 (br. d, *J*=2 Hz, 1H), 7.68 (m, 1H), 7.63 (br. d, *J*=8 Hz, 1H), 7.46 (t, *J*=8 Hz, 1H), 7.25 (br. d, *J*=7.5 Hz, 1H), 7.15 (d, J=7.5 Hz, 1H), 6.52 (m, 1H), 6.38 (d, J=7.5 Hz, 1H), 3.64 - 3.45 (m, 2H), 3.39 - 3.32 (m, 4H), 3.26 (CHD_2OD에 의해 가려짐, 1H), 3.15 - 3.06 (m, 1H), 2.88 (dd, *J*=16.5, 10 Hz, 1H), 2.71 - 2.61 (m, 3H), 2.56 (t, *J*=8 Hz, 2H), 2.40 - 2.28 (m, 1H), 2.26 - 2.16 (m, 1H), 1.90 - 1.61 (m, 5H).

[0361] **실시예 5: 3-(3-(3,5-디에틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-(2-(5,6,7,8-테**트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부탄산

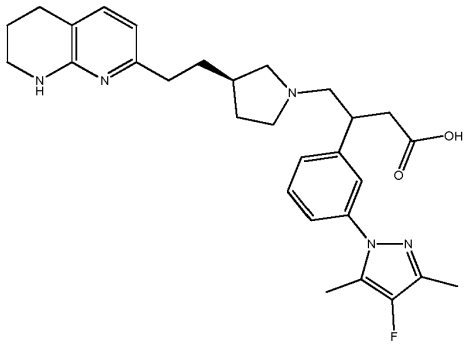


[0362]

[0363] *터트*-부틸3-(3-(3,5-디에틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-(2-(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부타노에이트(116 mg, 0.203 mmol)를 1,4-디옥산(5 mL)에 용해시킨 후, 농축된 HCl(0.033 mL, 0.406 mmol)을 처리하고, 반응물을 18시간 동안 실온에서 교반하였다. 반응물을 진공하에서 농축시키고, 잔여물을 DMSO(1 mL)에 용해시키고, 암모늄 카르보네이트 완충액과 함께 아세토니트릴-물을 이용한 Xbridge 컬럼 상에서의 Mass Directed AutoPrep HPLC(방법 A)에 의해 정제하였다. 용매를 래들리 블로우-다운 장치에서 질소 스트림 하에서 건조시켜, 표제 화합물(27 mg, 26%)을 생성시켰다: LCMS (시스템 A) RT = 0.94분, ES+ve *m/z* 516 $(M+H)^+$: ^{1}H NMR δ (CD_3OD; 600 MHz) 7.49 (t, *J*=8.0 Hz, 1H), 7.37 (d, *J*=8.0 Hz, 1H), 7.34 (br. s, 1H), 7.31 (br. d, *J*=8.0 Hz, 1H), 7.14 (d, *J*=7.3 Hz, 1H), 6.38 (d, *J*=7.3 Hz, 1H), 6.14 (s, 1H), 3.57 (dd, *J*=12.5, 9.4 Hz, 1H), 3.53 - 3.47 (m, 1H), 3.39 - 3.33 (m, 3H), 3.32 - 3.29 (m, 2H), 3.25 (dd, *J*=12.6, 3.6 Hz, 1H), 3.10 - 3.01 (m, 1H), 2.86 (dd, *J*=16.4, 10.4 Hz, 1H), 2.68 (t,

J=6.2 Hz, 2H), 2.67 - 2.61 (m, 1H), 2.66 - 2.58 (m, 4H), 2.56 (t, *J*=7.8 Hz, 2H), 2.38 - 2.28 (m, 1H), 2.21 (d, *J*=6.8 Hz, 1H), 1.88 - 1.83 (m, 2H), 1.83 - 1.72 (m, 2H), 1.67 (dd, *J*=13.0, 8.4 Hz, 1H), 1.25 (t, *J*=7.7 Hz, 3H), 1.17 (t, *J*=7.6 Hz, 3H)

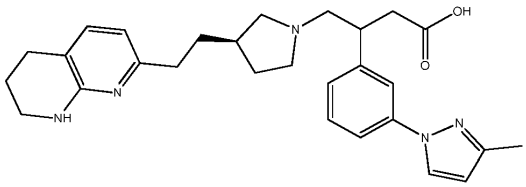
[0364] **실시예 6: 3-(3-(4-플루오로-3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-(2-**(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부탄산



[0365]

[0366] *터트*-부틸3-(3-(4-플루오로-3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-(2-(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부타노에이트(중간체 28)(70 mg, 0.125 mmol)를 아세토니트릴(1 mL)에 용해시키고, 디옥산 중 4M HCl(0.093 mL, 0.37 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 2시간 동안 주위 온도에서 교반하였다. 이 시점에서의 LCMS는 생성물로의 매우 낮은 전환을 나타내었고, 더 많은 디옥산 중 4M HCl(0.093 mL, 0.37 mmol)을 첨가하고, 반응 혼합물을 또 다른 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압하에서 농축시키고, MeOH-DMSO(1:1; 2 mL)에 용해시키고, MDAP에 의해 정제하였다(방법 A). 적절한 분획을 결합시키고, 블로우-다운 유닛에서 질소 스트림 하에서 농축시켜, 오렌지색 검으로서 표제 화합물(30 mg, 48%)을 생성시켰다: LCMS (시스템 A) RT = 0.90분, 98.5%, ES+ve *m/z* 506 $(M+H)^+$; ^1H NMR δ (CD_3OD; 400 MHz) 7.49 (t, *J*=8 Hz, 1H), 7.40 - 7.31 (m, 3H), 7.13 (t, *J*=8 Hz, 1H), 6.38 (m, 1H), 3.61 - 3.46 (m, 3H), 3.44 - 3.32 (m, 4H), 3.28 - 3.21 (m, 2H), 2.90 - 2.80 (m, 2H), 2.74 - 2.50 (m, 5H), 2.41 - 2.28 (m, 1H), 2.25 (d, *J*=9 Hz, 6H), 2.22 - 2.14 (m, 1H), 1.90 - 1.66 (m, 4H).

[0367] **실시예 7: 3-(3-(3-메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-(2-(5,6,7,8-테트라**하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부탄산



[0368]

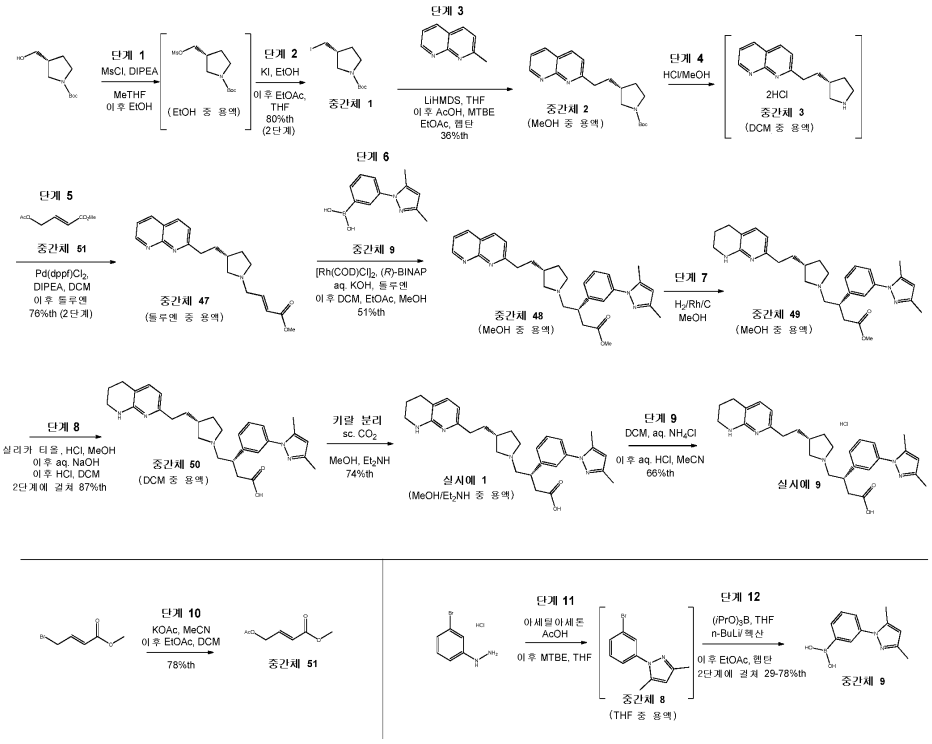
[0369] 터트-부틸3-(3-(3-메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-(2-(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부타노에이트(중간체 32)(92 mg, 0.17 mmol)를 1,4-디옥산(5 mL)에 용해시킨 후, 농축된 HCl(0.029 mL, 0.35 mmol)을 처리하고, 반응물을 18시간 동안 실온에서 교반하였다. 반응물을 진공하에서 농축시키고, 잔여물을 DMSO(1 mL)에 용해시키고, Mass Directed AutoPreparative HPLC(방법 A)에 의해 정제하였다. 적절한 분획을 결합시키고, 래들리 블로우-다운 장치에서 질소 가스 스트림 하에서 증발시켜, 표제 화합물(18 mg, 22%)을 생성시켰다: LCMS (시스템 A) RT = 0.84분, ES+ve *m/z* 474 $(M+H)^+$; ^1H NMR δ (CD_3OD; 400 MHz) 9.15 (d, *J*=2.5 Hz, 1H), 8.46 (t, *J*=1.5Hz, 1H), 8.40 (dd, J=8, 1.5 Hz, 1H), 8.16 (t, J=8 Hz, 1H), 7.93 (br d, *J*=8 Hz, 1H), 7.81 (d, *J*=7.5 Hz, 1H), 7.11 (d, J=2 Hz, 1H), 7.09 - 7.06 (m, 1H), 7.04 (d, J=7.5 Hz, 1H), 4.11 - 4.00 (m, 3H), 3.72 - 3.57 (m, 3H), 3.54 - 3.46 (m, 1H), 3.45 - 3.32 (m, 4H), 3.29 - 3.16 (m, 3H), 3.15 - 3.09 (m, 1), 3.07 (s, 3H), 2.87 - 2.77 (m, 1H), 2.75 - 2.65 (m, 1H), 2.58 - 2.50 (m, 2H), 2.46 - 2.35 (m, 2H), 2.19 - 2.09 (m, 1H).

[0370] **실시예 8: *(S)*-3-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-(2-**(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부탄산, 하이드로클로라이드 염

[0371] 3-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-(2-(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부탄산(실시예 1)(37.89 g, 78 mmol)을 분취용 키랄 HPLC에 의해 추가로 정제하였다. 이를 에탄올(4 mL)에 용해시키고, 용액을 헵탄(6 mL)으로 희석시켰다. 용액을 30분 동안 방치시킨 후, 여과시켰다. 여과액을 30% 에탄올(0.1% 이소프로필아민을 함유함)-70% 헵탄(0.1% 이소프로필아민을 함유함)으로 동용매적으로 용리시키는 Chiralpak AD 컬럼(20 마이크론, 75 mm × 250 mm)으로 주입(주입 당 1 g)하였다. 적절한 분획을 결합시키고, 진공하에서 증발시켜, 회백색 포움으로서 순수한 실시예 1(31.87 g)을 생성시켰다. 다양한 다른 뱃치를 유사한 방식으로 정제하였다.

[0372] **실시예 8: (*S*)-3-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-(2-**(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부탄산, 하이드로클로라이드 염의 대규모 제조

[0373] 실시예 8의 대규모 제조가 하기 반응식에 개설된다:



[0374]

[0375] **중간체 1 (*R*)-*터트*부틸 3-(아이오도메틸)피롤리딘-1-카르복실레이트 단계** 1&2. (대안적 방법)

[0376] 질소 하에서 반응기에 2-메틸테트라하이드로푸란(145 kg), *N*,*N*-디이소프로필에틸아민(16.6 kg) 및 (*R*)-*터트*-부틸 3-(하이드록시메틸)피롤리딘-1-카르복실레이트(16.5 kg)를 충전하였다. 뱃치(batch)를 0-10℃로 냉각시키고, 메탄설포닐 클로라이드(11.6 kg)를 첨가한 후, 2-메틸테트라하이드로푸란(8 kg)을 첨가하고, 반응물을 약 5시간 동안 교반하였다. 추가의 메탄설포닐 클로라이드(2.4 kg)를 첨가한 후, 2-메틸테트라하이드로푸란(5.2 kg)을 첨가하고, 반응물을 약 4.5시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 10% 소듐 하이드록시드 수용액(80 kg), 물(85 kg), 1N 암모늄 클로라이드 수용액(101 kg), 물(100 kg) 및 25% aq. NaCl(100 kg)로 연속적으로 세척하였다. 유기상을 감압하에서 2-3vol로 증류시키고, 에탄올(78 kg)로 희석시켰다. 혼합물을 감압하에서 2-3vol로 증류시키고, 에탄올(72 kg)로 희석시켰다. 혼합물을 감압하에서 2-3vol로 증류시키고, 에탄올(77 kg)로 희석시켰다. 혼합물에 에탄올(72 kg) 및 포타슘 아이오다이드(70 kg)를 첨가하고, 반응 혼합물을 16시간 동안 70-80℃로 가열한 후, 40-50℃로 냉각시켰다. 반응 혼합물을 8시간 동안 70-80℃로 가열한 후, 40-50℃로 냉각시켰다. 반응 혼합물을 4시간 동안 70-80℃로 가열한 후, 40-50℃로 냉각시켰다. 혼합물을 감압하에서 2-3vol로 증류시켰다. 물(180 kg) 및 에틸 아세테이트(80 kg)를 농축액에 첨가하고, 유기층을 물(90 kg) 및 25% 소듐 클로라이드 수용액(98 kg)으로 연속적으로 세척하였다. 잔여 유기상을 감압하에서 1-3vol로 증류시키고, THF(76 kg)로 희석시켰다. 혼합물을 감압하에서 1-3vol로 증류시키고, THF(76 kg)로 희석시켰다. 혼합물을 감압하에서 1-3vol로 증류시키고, THF(33 kg)로 희석시켰다. 혼합물을 감압하에서 1-3vol로 증류시키고, THF(34 kg)로 희석시켰다. 혼합물을 THF(31 kg)로 희석시켜, 생성물의 용액을 생성시키고, 이를 다음 단계에 직접 사용하였다(89.6 kg, 22.4%w/w 검정, 80% 이론치).

[0377] HPLC RT = 15.15분, 86.1%

[0378] 컬럼: 150 mm × 4.6 mm ID, 3.5 mm Agilent Zorbax SB-C8

[0379] 유량: 1.0 mL/분

[0380] 온도: 40℃

[0381] 검출 파장: 210 nm

[0382] 용매: A: 물 중 트리플루오로아세트산의 0.05% v/v 용액

[0383] B: 아세토니트릴 중 트리플루오로아세트산의 0.05% v/v 용액

[0384] 구배: 시간 (분)A%B%

[0385] 0.01 95 5

[0386] 15.0 5 95

[0387] 18.0 5 95

[0388] 18.0 95 5

[0389] **중간체 2. (*R*)-*터트*-부틸 3-(2-(1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-카르**복실레이트

[0390] **단계 3**

[0391] 용액 1의 제조: (*R*)-*터트*-부틸 3-(아이오도메틸)피롤리딘-1-카르복실레이트(중간체 1)(89.6 kg, 22.4% 검정, 20.1 kg 활성)의 용액을 감압하에서 1-2vol로 증류시키고, THF(180 kg)로 희석시키고, 2-메틸나프티리딘(9.2 kg)을 첨가하고, 용액을 질소하에서 5-7℃로 냉각시켰다.

[0392] 용액 2의 제조: THF(59.2 kg) 중 리튬 비스(트리메틸실리)아미드의 용액을 질소하에서 5-7℃로 냉각시켰다.

[0393] 반응을 하기 조건에 따라 정적 혼합 및 유동 반응기를 통해 상기 제조된 용액 1 및 2를 펌핑시키고, 산출 반응 혼합물을 물(80 kg) 및 아세트산(42 kg)의 용액으로 켄칭시킴으로써 수행하였다.

체류 시간	온도	관류의 길이	관류의 부피	혼합기의 부피	관의 내부 직경
12 분	5~7°C	48.05m	564mL	1~2mL	0.386cm
펌프 헤딩 관류	관류의 재료	혼합기	펌프 1 의 유량	펌프 2 의 유량	전체 반응 시간
실리콘 중 테플론(Teflon)	테플론	스테인레스 강철 고정 혼합기*2	35.945mL/분	11.054mL/분	96h

[0394]

[0395] 워크-업(Work-up):

[0396] 혼합물을 2N NaOH 용액(347 kg)으로 처리하고, MTBE(160 kg)로 추출하였다. MTBE 상을 0-10℃에서 1N HCl 용액(196 kg)으로 처리하고, 유기층을 폐기하였다. 산성 수성층을 MTBE로 2회(142 kg 및 146 kg) 세척한 후, 2N aq, NaOH(80 kg)의 첨가에 의해 pH5-6으로 조정하였다. 수성상을 에틸 아세테이트(162 kg)로 추출하고, 수성상을 NaOH(14 kg)의 첨가에 의해 pH5-6로 조정하였다. 수성상을 에틸 아세테이트(166 kg)로 추출하고, 수성상을 NaOH(10 kg)의 첨가에 의해 pH5-6으로 조정하였다. 수성상을 에틸 아세테이트(176 kg)로 추출하고, 결합된 EtOAc 상을 물(210 kg) 및 25% 소듐 클로라이드 수용액(210 kg)으로 세척하였다. 유기 용액을 감압하에서 2-4vol로 증류시키고, MTBE(80 kg)로 희석시켰다. 혼합물을 감압하에서 2-4vol로 증류시키고, n-헵탄(80 kg)으로 희석시켰다. 혼합물을 감압하에서 2-4vol로 증류시키고, n-헵탄(80 kg)으로 희석시켰다. 혼합물을 감압하에서

2-4vol로 증류시키고, MTBE(16 kg)로 희석시켰다. 혼합물을 5-10℃로 냉각시키고, n-헵탄(40 kg)을 처리하였다. 고체 생성물을 여과(원심분리)에 의해 수거하고, n-헵탄(10 kg)으로 세척하고, 진공하에서 50-60℃에서 건조시켜, 고체로서 표제 생성물(4.3 kg)을 생성시켰다.

[0397] 여과액을 EtOAc(203 kg)로 처리하고, 감압하에서 100-150L로 증류시켰다. 혼합물을 MTBE(80 kg)로 희석시키고, 감압하에서 80L로 증류시켰다. 혼합물을 n-헵탄(60 kg)으로 희석시키고, 감압하에서 60L로 증류시켰다. 혼합물을 n-헵탄(23 kg)으로 희석시키고, 감압하에서 60L로 증류시켰다. 혼합물을 MTBE(16 kg)로 희석시키고, 감압하에서 80L로 증류시켰다. 혼합물을 MTBE(8 kg)로 희석시키고, 감압하에서 60-80L로 증류시켰다. 혼합물을 MTBE(8 kg)로 희석시키고, 질소하에서 5-10℃로 냉각시켰다. 혼합물에 n-헵탄(21 kg)을 처리하고, 약 1시간 동안 교반하였다. 고체 생성물을 여과(원심분리)에 의해 수거하고, n-헵탄(5 kg)으로 세척하고, 진공하에서 50-60℃에서 건조시켜, 고체로서 표제 생성물의 두번째 수확물(3.65 kg)을 생성시켰다.

[0398] 전체 7.95kg, 36% 이론치,

[0399] HPLC 1st 수확물 RT = 9.33분, 97.6%,

[0400] HPLC 2nd 수확물 RT = 9.27분, 99.1%,

[0401] 컬럼: 150 mm × 4.6 mm ID, 3.5 ㎛ Agilent Zorbax SB-C8

[0402] 유량: 1.0 mL/분

[0403] 온도: 40℃

[0404] 검출 파장: 210 nm

[0405] 용매: A: 물 중 트리플루오로아세트산의 0.05% v/v 용액

[0406] B: 아세토니트릴 중 트리플루오로아세트산의 0.05% v/v 용액

[0407] 구배: 시간 (분)A%B%

[0408] 0.01 80 20

[0409] 15.0 5 95

[0410] 18.0 5 95

[0411] 18.1 80 20

[0412] 키랄 HPLC 결합된 RT = 28.95분, 98.8%,

[0413] 컬럼: 250 mm × 4.6 mm ID, Chiralpak IC

[0414] 유량: 1.0 mL/분

[0415] 온도: 30℃

[0416] 검출 파장: 218 nm

[0417] 용매: A: n-헵탄 중 이소부틸아민의 0.1% v/v 용액

[0418] B: 에탄올 중 이소부틸아민의 0.1% v/v 용액

[0419] 구배: 시간 (분)A%B%

[0420] 0.01 70 30

[0421] 40 70 30

[0422] **중간체 51. (*E*)-메틸 4-아세톡시부트-2-에노에이트 단계 10**

[0423] 반응기에 아세토니트릴(140 kg), 포타슘 아세테이트(10 kg), (*E*)-메틸 4-브로모부트-2-에노에이트(18 kg, 1wt) 및 아세토니트릴(3 kg)을 충전하였다. 혼합물을 약 12.5시간 동안 45-55℃에서 교반하고, 20-30℃로 냉각시켰다. 혼합물을 여과시키고, 필터 케이크를 에틸 아세테이트(14 kg)로 세척하였다. 여과액을 감압하에서 2-3vol로 농축시키고, 에틸 아세테이트(90kg)로 희석시켰다. 용액을 물로 4회(2x91 kg, 2x92 kg) 및 11% 소듐 클로라

이드 수용액(99 kg)으로 세척하였다. 유기상을 감압하에서 1-2vol로 농축시키고, DCM(80 kg)을 첨가하였다. 유기상을 감압하에서 1-2vol로 농축시키고, DCM(80 kg)을 첨가하였다. 유기상을 감압하에서 1-2vol로 농축시켜, DCM 중 표제 화합물의 용액(14.8 kg, 53.4% 검정, 78%th)을 생성시켰다.

[0424] HPLC RT = 10.37분, 83.9%,

[0425] 컬럼: 150 mm × 4.6 mm ID, 3.5 ㎛ Agilent Zorbax SB-C8

[0426] 유량: 1.0 mL/분

[0427] 온도: 40℃

[0428] 검출 파장: 210 nm

[0429] 용매: A: 물 중 트리플루오로아세트산의 0.05% v/v 용액

[0430] B: 아세토니트릴 중 트리플루오로아세트산의 0.05% v/v 용액

[0431] 구배: 시간 (분)A%B%

[0432] 0.01 95 5

[0433] 15.0 5 95

[0434] 18.0 5 95

[0435] 18.1 95 5

[0436] **중간체 47. (*R,E*)-메틸 4-(3-(2-(1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)**부트-2-에노에이트. 단계 4&5

[0437] MeOH 중 HCl의 용액을 4.6mol/L의 농도에 도달할 때까지 -10 내지 0℃에서 메탄올(40 kg)로 HCl 가스를 살포함으로써 제조하였다. 상기 용액에 MeOH(24 kg) 중 중간체 2(8 kg, 1wt)의 용액을 첨가하고, 질소하에서 약 4.5시간 동안 35-45℃로 가열하였다. 반응물을 감압하에서 2-3vol로 증류시켰다. MeOH(21 kg)를 첨가하고, 혼합물을 감압하에서 2-3vol로 농축시켰다. MeOH(24 kg)를 첨가하고, 혼합물을 감압하에서 2-3vol로 농축시켰다. DCM(64 kg)을 첨가하고, 혼합물을 감압하에서 2-3vol로 농축시켰다. DCM(64 kg)을 첨가하고, 혼합물을 감압하에서 2-3vol로 농축시켰다. DCM(64 kg)을 첨가하고, 혼합물을 10-20℃로 조정하고, <30℃로 온도를 유지시키면서 *N,N*-디이소프로필에틸아민(20 kg)을 적가 처리하여, (*R*)-2-(2-(피롤리딘-3-일)에틸)-1,8-나프티리딘, 디하이드로클로라이드 염(중간체 3)의 용액을 생성시켰다. 또 다른 반응기에 DCM(61 kg), (*E*)-메틸 4-아세톡시부트-2-에노에이트(중간체 51)(DCM 중 53%w/w 용액, 8.8 kg, 4.7kg 활성), 및 1,1'-[비스(디페닐포스피노)페로센]팔라듐 (II) 클로라이드(2.1 kg)를 충전하고, 반응기 공간 부분을 질소로 퍼징시키고, 30분 동안 20-30℃에서 교반하였다. 이러한 혼합물에 상기 제조된 (*R*)-2-(2-(피롤리딘-3-일)에틸)-1,8-나프티리딘, 디하이드로클로라이드 염(중간체 3)의 용액을 첨가하고, 혼합물을 약 22시간 동안 20-30℃에서 교반하였다. 반응 혼합물에 물(85 kg)을 처리하고, DCM(19 kg)으로 세척하는 규조토(6 kg; DCM(22 kg)으로 미리 습윤화됨)를 통해 여과시켰다. 유기상을 물(80 kg)로 세척하고, 5-10℃로 냉각시키고, 0.5N HCl(204 kg)로 산성화시켰다. 수성층을 DCM(60 kg)으로 세척하고, DCM(123 kg)으로 희석시키고, 1N NaOH 용액(78 kg)으로 중화시켰다. 수성층을 DCM(59 kg)으로 추출하였다. 결합된 DCM 상을 25% NaCl 용액(46 kg)으로 세척하고, 감압하에서 1-2vol로 농축시켰다. 톨루엔(34 kg)을 첨가하고, 혼합물을 감압하에서 35-45L로 농축시켜, 표제 화합물(42.15 kg, 13.4% 검정, 76%th 수율)의 용액을 생성시켰다. 본원에서 수행된 어떤 분석에서도 상기 물질은 불안정하지 않았으므로, 이를 다음 단계에 직접 사용하였다.

[0438] **중간체 9 (3-(3,5-디메틸-1H-피라졸-1-일)페닐)보론산. 단계 11&12**

[0439] 반응기에 3-브로모페닐하이드라진 하이드로클로라이드(6 kg), 아세틸 아세톤(4031.7 g) 및 빙초산(18 L)을 충전하고, 혼합물을 90-100℃로 가열하고, 3-4시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 물(20 L)로 희석된 오일로 농축시키고, 5.5M aq. NaOH(10 L)를 이용하여 pH~7로 조정하고, MTBE(20 L)로 추출하였다. MTBE 층을 물(15 L) 및 염수(10 L)로 세척하고, 농축시켜, 오일을 생성시켰다. 오일에 이소프로필 보레이트 ($B(OiPr)_3$)(6058.6 g) 및 THF(40 L)를 첨가하고, 혼합물을 -75 내지 -60℃로 냉각시켰다. n-BuLi(2.5M, 12.9 L)를 -70 내지 -60℃에서 적가하고, 밤새 교반하였다. 반응물을 -10 내지 0℃로 가온시키고, 물(24 L를 첨가함), 및 이후 농축된 HCl(4 L)을 첨가하고, 혼합물을 10분 동안 교반하고, 분리시켰다. 수성상을 1N NaOH 용액을 이용하여 pH5-6으로 조정하고, EtOAc(2x10 L)로 추출하였다. 결합된 유기물을 $NaHCO_3$ 용액 및 염수로 세척하고, 농축시켜, 오일

을 생성시켰다. 이러한 오일을 헵탄(20 L)으로 희석시키고, 0-10℃로 냉각시켜, 백색 고체를 생성시키고, 이를 여과에 의해 분리하여, 표제 화합물(4530g, 71%th)을 생성시켰다.

[0440] HPLC RT = 6.53분, 98.7%,

[0441] 컬럼: 150 mm × 4.6 mm ID, 3.5 ㎛ Agilent Zorbax Bonus RP

[0442] 유량: 1.0 mL/분

[0443] 온도: 40℃

[0444] 검출 파장: 220 nm

[0445] 용매: A: 물 중 트리플루오로아세트산의 0.05% v/v 용액

[0446] B: 아세토니트릴 중 트리플루오로아세트산의 0.05% v/v 용액

[0447] 구배: 시간 (분)A%B%

[0448] 0.01 90 10

[0449] 15.0 5 95

[0450] 18.0 5 95

[0451] 18.1 90 10

[0452] **중간체 48.** **메틸 4-((*R*)-3-(2-(1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)-**3-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)부타노에이트. 단계 6.

[0453] 반응기에 톨루엔(25 kg), (*R,E*)-메틸 4-(3-(2-(1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부트-2-에노에이트(톨루엔 중 중간체 47(42.15 kg, 13.4% 검정, 5.6 kg (1wt) 활성), 17%w/w KOH 수용액(10 kg), (3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)보론산(중간체 9)(8.4 kg), 클로로-(1,5-사이클로옥타디엔)로듐(I) 이합체(0.433 kg) 및 (*R*)-(+)-2,2'-비스(디페닐포스피노)-1,1'-바이나프틸(1.3 kg)을 충전하였다. 반응기를 질소로 퍼징시키고, 75-85℃로 가열하고, 약 5시간 동안 질소하에서 교반하였다. 혼합물을 감압하에서 1-3vol로 증류시키고, 20-30℃로 냉각시켰다. 혼합물에 DCM(166 kg) 및 물(57 kg)을 처리하고, 교반하고, 수성상을 폐기하였다. 유기상을 0.5N HCl 수용액(141 kg)으로 산성화시키고, 분리시키고, 수성상을 DCM(45 및 43 kg)으로 2회 세척하였다. 에틸 아세테이트(57 kg)를 수성상에 첨가하고, 혼합물을 1N aq. NaOH(56 kg)를 이용하여 pH7-8로 중화시켰다. 유기층을 수거하고, 수성층을 에틸 아세테이트(2x28 kg)로 2회 추출하였다. 결합된 EtOAc 추출물을 25% aq. NaCl(32 kg)로 세척하고, 감압하에서 1-2vol로 증류시켰다. 혼합물을 MeOH(25 kg)로 희석시키고, 감압하에서 1-2vol로 증류시켰다. 잔여물을 MeOH(29 kg)로 희석시켜, MeOH 중 표제 화합물의 용액(~9:1dr, 49.4 kg, 9.0% 검정, 51%th 수율)을 생성시켰다.

[0454] HPLC RT = 11.68분, 90.9%,

[0455] 컬럼: 150 mm × 4.6 mm ID, 3.5 ㎛ Agilent Zorbax SB-C8

[0456] 유량: 1.0 mL/분

[0457] 온도: 40℃

[0458] 검출 파장: 210 nm

[0459] 용매: A: 물 중 트리플루오로아세트산의 0.05% v/v 용액

[0460] B: 아세토니트릴 중 트리플루오로아세트산의 0.05% v/v 용액

[0461] 구배: 시간 (분)A%B%

[0462] 0.0 95 5

[0463] 15.0 30 70

[0464] 18.0 5 95

[0465] 20.0 5 95

[0466] 20.1 95 5

[0467] 키랄 HPLC RT = 10.27분, 90.0%,

[0468] 컬럼: 250 mm × 4.6 mm ID, 5 ㎛ CHIRALPAK AD-H

[0469] 유량: 1.0 mL/분

[0470] 온도: 40℃

[0471] 검출 파장: 248 nm

[0472] 용매: A: n-헥산 중 디에틸 아민의 0.1% v/v 용액

[0473] B: 에탄올 중 디에틸아민의 0.1% v/v 용액

[0474] 구배: 시간 (분)A%B%

[0475] 0.01 80 20

[0476] 40 80 20

[0477] **중간체 49. 메틸 3-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-(2-**(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부타노에이트. 단계 7

[0478] 수소화반응 용기에 MeOH(49.4 kg, 9.0% 검정, 4.4kg (1wt) 활성) 및 Rh/C(1.1 kg) 중 메틸 4-((*R*)-3-(2-(1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)-3-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)부타노에이트(중간체 48)의 용액을 첨가하고, 용기를 질소로 퍼징시켰다. 반응물을 수소 대기(0.3MPa)하에 두고, 약 26시간 동안 35-45℃에서 교반하였다. 반응 대기를 질소로 대체하고, 20-30℃로 냉각시켰다. 반응 혼합물을 여과시키고, 고체 잔여물을 MeOH(3x13 kg)로 세척하였다. 결합된 여과액을 감압하에서 100-200L로 농축시키고, 여과시키고, MeOH(20 kg)로 세척하고, 추가로 농축시켜, 메탄올 중 표제 화합물의 용액(27.2 kg)을 생성시켰다.

[0479] HPLC RT = 23.63분, 85.4%,

[0480] 컬럼: 150 mm × 4.6 mm ID, 2.5 ㎛ Waters XSELECT HSS C18

[0481] 유량: 0.6 mL/분

[0482] 온도: 40℃

[0483] 검출 파장: 245 nm

[0484] 용매: A: 물 중 트리플루오로아세트산의 0.2% v/v 용액

[0485] B: 아세토니트릴 중 트리플루오로아세트산의 0.2% v/v 용액

[0486] 구배: 시간 (분)A%B%

[0487] 0.0 90 10

[0488] 25.0 50 50

[0489] 35.0 5 95

[0490] 40.0 5 95

[0491] 40.1 90 10

[0492] **중간체 50. 3-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-(2-(5,6,7,8-**테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부탄산. 단계 8

[0493] 단계 7에서 수득된 메탄올(27.2 kg, 4.4 kg (1wt) 활성) 중 메틸 3-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-(2-(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부타노에이트(중간체 50)의 용액을 감압하에서 1-2 vol.로 증류시키고, MeOH(26 kg)로 희석시켰다. 상기 용액에 실리카 티올(0.5 kg)을 첨가하고, 혼합물의 pH를 HCl/MeOH(3.5M, 8 kg)를 이용하여 ~1로 조정하였다. 혼합물을 10시간 동안 60-70℃에서 교반하고, 20-30℃로 냉각시키고, 여과시켰다. 필터 케이크를 메탄올(4 kg 및 이후 2x5 kg)로 세척하였다. 여과

액을 ~6-8 vol.로 농축시키고, MeOH(4 kg)로 희석시키고, 실리카 티올(0.5 kg)을 충전시켰다. HCl/MeOH(3.5M, 2 kg)를 이용하여 pH를 ~1로 조정한 후, 용액을 10시간 동안 60-70℃에서 교반하였다. 혼합물을 20-30℃로 냉각시키고, 여과시키고, 필터 케이크를 메탄올(5 kg 및 이후 2x4 kg)로 세척하고, 여과액을 감압하에서 ≤45℃에서 ~6-8 vol.로 농축시켰다. 잔여물을 MeOH(13 kg)로 희석시키고, 감압하에서 ≤45℃에서 1-2vol로 추가로 농축시켰다. 잔여물을 MeOH(13 kg)로 희석시키고, 2M NaOH 수용액(22kg)을 첨가하여, pH>14의 혼합물을 생성시키고, 이를 11시간 동안 30-40℃에서 교반한 후, MeOH(4 kg)로 희석시키고, 감압하에서 ≤45℃에서 4-5 vol.로 농축시켰다. pH를 HCl(3M aq., 6 kg)을 이용하여 8-9로 조정하고, 혼합물을 DCM(20 kg)으로 처리하고, 수성상의 pH를 NaOH(2M aq., 5.7 kg)의 첨가에 의해 pH 8-9로 조정하였다. 수성상을 DCM(2x30 kg, 31 kg, 30 kg)으로 4회 추출하였다. 결합된 유기상을 물(10 kg) 및 HCl(3M aq., 6 kg)의 혼합물로 세척하고, 수성상을 DCM(30 kg, 31 kg)으로 2회 추출하였다. 결합된 유기상을 감압하에서 ≤40℃에서 1-2 vol.로 농축시키고, DCM(10 kg)으로 희석시켜, DCM 중 표제 화합물의 용액(16.8 kg, 22.4% 검정, 2단계에 걸쳐 87%th)을 생성시켰다.

[0494] HPLC RT = 20.69분, 87.8%,

[0495] 컬럼: 150 mm × 4.6 mm ID, 2.5 ㎛ Waters XSELECT HSS C18

[0496] 유량: 0.6 mL/분

[0497] 온도: 40℃

[0498] 검출 파장: 245 nm

[0499] 용매: A: 물 중 트리플루오로아세트산의 0.2% v/v 용액

[0500] B: 아세토니트릴 중 트리플루오로아세트산의 0.2% v/v 용액

[0501] 구배: 시간 (분)A%B%

[0502] 0.0 90 10

[0503] 25.0 50 50

[0504] 35.0 5 95

[0505] 40.0 5 95

[0506] 40.1 90 10

[0507] **키랄 분리**

[0508] 단계 8로부터 제조된 DCM 중 3-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-(2-(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부탄산(중간체 50) 용액을 감압하에서 농축시키고, MeOH를 첨가하여, 100 mg/mL 용액을 제조하고, 이를 여과시켰다. 용액을 키랄 분리를 위해 초임계 유체 크로마토그래피(SFC)에 적용시켰다. SFC 분리 파라미터는 하기와 같았다:

[0509]

분취용 컬럼	CHIRALPAK OJ, 250*50mm (I.D.),
이동상 A	초임계 CO_2
이동상 B	MeOH (0.1%DEA, v/v)
A:B 비	70:30
유량	250 g/분
검출 파장	220 nm
컬럼 온도	40 °C
역압	100.0 바(bar)
주입 부피(양)	~0.5g
주입 간격	4.5 분
요망되는 생성물	두번째 주요 피크

[0510] 요망되는 이성질체를 함유하는 분획을 감압하에서 30℃에서 농축시켜, MeOH/디에틸아민 중 용액으로서 (*S*)-3-

(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-(2-(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부탄산(실시예 1)(12.2 kg, 22.9% 검정, 74%th)을 생성시켰다.

[0511] **실시예 9. (*S*)-3-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-(2-(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부탄산, 하이드로클로라이드 염. 단계 9.**

[0512] 메탄올 중 (*S*)-3-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-(2-(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부탄산(실시예 1)의 용액(12.1 kg, 22.9% 검정, 2.8 kg (1wt) 활성)을 DCM(3 kg)으로 희석시키고, 감압하에서 ≤35℃에서 1-3vol로 농축시켰다. 생성된 용액을 DCM(36 kg)으로 희석시키고, 잔여 디에틸아민이 <0.5%가 될때까지 33% 암모늄 클로라이드 수용액으로 2회(14 kg x 2) 세척하였다. 유기상을 DCM(4 kg)으로 희석시키고, 무수 Na_2SO_4(2.8 kg) 상에서 건조시키고, 여과시키고, 케이크를 DCM(5 kg x 3)으로 세척하였다. 결합된 여과액을 감압하에서 ≤55℃에서 1-3 vol.로 농축시켰다. 아세토니트릴(6 kg)을 충전시키고, 혼합물을 감압하에서 ≤45℃에서 1-3 vol.로 증류시켜, 잔여 메탄올을 제거하였다. 잔여물을 아세토니트릴(20 kg)로 희석시킨 후, HCl 수용액(3M, 1.9 kg)을 충전하였다. 35℃에서 40분 동안 교반한 후, 혼합물을 MeCN(3 kg)으로 세척하는 카트리지 필터를 통해 결정화 용기로 여과시켰다. 용액을 감압하에서 ≤45℃에서 ~4 vol로 증류시켜, 아세토니트릴 중 표제 화합물의 용액을 생성시켰다. 4개 부분의 아세토니트릴(8 kg x 2, 14 kg, 19 kg)을 첨가하고, 감압하에서 ≤45℃에서 3-5 vol.로 증류시켜, 잔여 물을 제거하였다. 아세토니트릴(17 kg)을 충전하여 미정제 생성물을 희석시키고, 생성된 용액을 질소 보호하에서 16시간 동안 50-55℃에서 교반하였다. 뱃치를 5시간에 걸쳐 0-5℃로 냉각시키고, 질소하에서 ~4시간 동안 0-5℃에서 교반하였다. 뱃치를 50-55℃로 가열하고, 질소하에서 ~4시간 동안 50-55℃에서 교반하였다. 뱃치를 6시간에 걸쳐 -10- -8℃로 냉각시키고, 질소하에서 ~23시간 동안 -10- -8℃에서 교반하였다. 형태를 XRPD 및 DSC에 의해 확인한 후, 현탁액을 여과시키고, 필터 케이크를 질소하에서 아세토니트릴(6 kg)로 세척하였다. 습윤 고체를 감압하에서 20시간 동안 20-35℃에서 건조시킨 후, 온도를 추가 50시간 동안 45-55℃로 증가시켰다. 물질을 체질한 후, 이를 추가 20시간 동안 45-55℃에서 건조시켜, 표제 화합물(1.966 kg, 66%th)을 생성시켰다.

[0513] Mpt: 197-202℃

[0514] ^{1}H NMR (DMSO-d_6; 500 MHz) δ ppm 13 - 11 (br. s., 1 H), 7.43 - 7.51 (m, 2 H), 7.35 - 7.41 (m, 2 H), 7.18 (d, *J*=7.2 Hz, 1 H), 7.02 (br. s., 1 H), 6.35 (d, *J*=7.3 Hz, 1 H), 6.07 (s, 1 H), 3.54 - 3.64 (m, 1 H), 3.47 (dd, *J*=12.8, 7.2 Hz, 1 H), 3.25 - 3.37 (m, 4 H), 3.18 (br. s., 1 H), 3.05 - 3.13 (m, 1 H), 3.00 (dd, *J*=16.3, 5.6 Hz, 1 H), 2.86 (t, *J*=9.5 Hz, 1 H), 2.56 - 2.68 (m, 3 H), 2.41 - 2.49 (m, 2 H), 2.30 (s, 3 H), 2.14 - 2.27 (m, 1 H), 2.18 (s, 3 H), 1.98 - 2.10 (m, 1 H), 1.72 - 1.81 (m, 2 H), 1.61 - 1.72 (m, 2 H), 1.56 (dq, *J*=12.7, 8.2 Hz, 1 H).

[0515] HPLC RT = 20.56분, 99.4%,

[0516] 컬럼: 150 mm × 4.6 mm ID, 2.5 ㎛ Waters XSELECT HSS C18

[0517] 유량: 0.6 mL/분

[0518] 온도: 40℃

[0519] 검출 파장: 245 nm

[0520] 용매: A: 물 중 트리플루오로아세트산의 0.2% v/v 용액

[0521] B: 아세토니트릴 중 트리플루오로아세트산의 0.2% v/v 용액

[0522] 구배: 시간 (분)A%B%

[0523] 0 90 10

[0524] 25 50 50

[0525] 35 5 95

[0526] 40 5 95

[0527] 40.1 90 10

[0528] 52 중지

[0529] 키랄 HPLC RT = 34.8분, 100% a/a,

[0530] 컬럼: 250 mm × 4.6 mm ID, 5 ㎛ CHIRALPAK AS-H

[0531] 유량: 1.0 mL/분

[0532] 온도: 40℃

[0533] 검출 파장:319 nm

[0534] 용매: A: n-헵탄 중 트리에틸아민의 0.2% v/v 용액

[0535] B: 에탄올 중 트리에틸아민의 0.2% v/v 용액

[0536] 구배: 시간 (분)A%B%

[0537] 0.01 92 8

[0538] 100 중지

[0539] **실시예 1의 절대 입체형태의 결정**

[0540] **실시예 1 및 이의 부분입체 이성질체의 환원**

[0541] **중간체 33: 이성질체 1. 3-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-**(2-(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부탄-1-올

[0542] 20℃에서 THF(5 mL) 중 3-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-(2-(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부탄산 하이드로클로라이드(실시예 8, 이는 실시예 1의 하이드로클로라이드 염임)(238 mg, 0.454 mmol)의 현탁액에 에테르 중 $LiAlH_4$ 용액(1M, 1.5 mL)을 처리하고, 혼합물을 1.5시간 동안 질소하에서 교반하였다. LCMS는 반응의 완료를 나타내었다. 반응을 2M NaOH 용액(0.8 mL) 및 에틸 아세테이트의 첨가에 의해 켄칭시켰다. 혼합물을 분배시키고, 유기 용액을 $NaHCO_3$ 용액, 염수로 세척하고, 건조($MgSO_4$)시키고, 감압하에서 증발시켰다. 잔여물을 1:1 MeOH-DMSO(2 mL)에 용해시키고, RT=6.6-9.4분을 갖는 분획을 수거하는 MDAP(방법 A)에 의해 정제하였다. 용매를 감압하에서 제거하여, 무색 오일로서 표제 화합물(157 mg, 73%)을 생성시켰다: NMR δ (DMSO-d_6, 600 MHz) δ 7.40-7.36 (m, 1H), 7.28-7.26 (m, 1H), 7.28-7.25 (m, 1H), 7.20 (d, *J*=7.7 Hz, 1H), 6.99 (d, *J*=7.3 Hz, 1H), 6.22 (d, *J*=7.2 Hz, 1H), 6.20 (br. s., 1H), 6.05 (s, 1H), 3.32-3.28 (m, 1H), 3.25-3.21 (m, 1H), 3.24-3.18 (m, 2H), 2.97-2.90 (m, 1H), 2.71 (t, *J*=8.2 Hz, 1H), 2.64 (dd, *J*=11.8, 7.8 Hz, 1H), 2.59 (t, *J*=6.2 Hz, 2H), 2.57-2.53 (m, 1H), 2.54-2.50 (m, 1H), 2.39-2.34 (m, 2H), 2.37-2.32 (m, 1H), 2.26 (s, 3H), 2.17 (s, 3H), 2.07-2.01 (m, 1H), 1.94 (dd, *J*=13.1, 7.4 Hz, 1H), 1.97-1.88 (m, 1H), 1.87-1.79 (m, 1H), 1.74 (dt, *J*=11.5, 6.0 Hz, 2H), 1.67-1.59 (m, 1H), 1.60-1.53 (m, 2H), 1.31-1.24 (m, 1H); $[\alpha]_D^{20}$ = + 17 ($CHCl_3$ 중 c=1.56).

[0543] **중간체 34. 4-((*R*)-3-(2-(1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)-3-(3-**(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)부탄-1-올

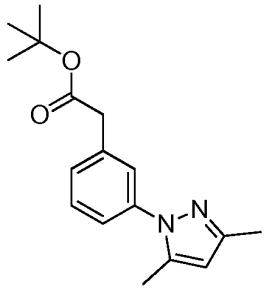
[0544] 2-Me-THF(3 mL) 중 *터트*-부틸 4-((*R*)-3-(2-(1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)-3-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)부타노에이트(중간체 13, 이성질체 2)(155 mg, 0.287 mmol)의 용액을 얼음에서 5℃로 냉각시킨 후, THF 중 리튬 알루미늄 하이드라이드 용액(1M, 1.5 mL)을 조심스럽게 처리하였다. 혼합물을 2시간 동안 질소하에서 교반하였고, LCMS는 완료를 나타내었다. 반응을 2M NaOH 용액(0.3 mL)의 첨가에 의해 켄칭시키고, 혼합물을 0.5시간 동안 교반하였다. 에틸 아세테이트, 및 고체 소듐 설페이트를 첨가하고, 혼합물을 5분 동안 교반하고, 여과시키고, 고체를 에틸 아세테이트를 세척하고, 감압하에서 증발시켰다. 잔여물을 DMSO-MeOH(1:1, 2 mL)에 용해시키고, RT=5.09분을 갖는 분획을 수거하는 MDAP(방법 A)에 의해 정제하였다. 용매를 감압하에서 증발시키고, 잔여물을 MeOH에 용해시키고, 감압하에서 재증발시켜 2개의 불순한 분획을 생성시켰다. 2개의 분획을 결합(31 mg)시키고, RT=6.41분, m/z 470을 갖는 분획을 수거하는 MDAP 25분 작업(높은 pH)에 의해 재정제하고, 감압하에서 증발시켜, 무색 오일로서 표제 화합물(16.4 mg, 12%)을 생성시켰다: LCMS (방법 A) RT=0.94분, 91%, ES+ve *m/z* 470 $(M+H)^+$; $[\alpha]_D^{20}$ = - 14 ($CHCl_3$ 중 c=1.64).

[0545] **중간체 33 이성질체 2. 3-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-**3-(2-(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부탄-1-올

[0546] 에탄올(5 mL) 중 4-((*R*)-3-(2-(1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)-3-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)부탄-1-올(중간체 34)(8 mg, 0.02 mmol)의 용액을 2.5일에 걸쳐 5% Rh/C 습윤 촉매(5 mg) 상에서 수소화반응시켰다. 반응 혼합물을 셀라이트를 통해 여과시키고, 촉매를 에탄올로 세척하였다. 여과액 및 세척액을 감압하에서 증발시켜, 무색 오일로서 표제 화합물(7 mg, 87%)을 생성시켰다: NMR δ (DMSO-*d*6, 600 MHz): 7.37 (t, *J*=7.8 Hz, 1H), 7.26 - 7.28 (m, 1H), 7.24 - 7.27 (m, 1H), 7.20 (d, *J*=7.7 Hz, 1H), 6.99 (d, *J*=7.3 Hz, 1H), 6.21 (d, *J*=7.2 Hz, 1H), 6.19 (br. s., 1H), 6.04 (s, 1H), 4.61 (br. s., 1H), 3.27 - 3.30 (m, 1H), 3.21 - 3.23 (m, 2H), 3.19 - 3.25 (m, 1H), 2.90 - 2.98 (m, 1H), 2.68 (t, *J*=8.1 Hz, 1H), 2.57 - 2.61 (m, 2H), 2.56 - 2.61 (m, 2H), 2.51 - 2.56 (m, 1H), 2.35 - 2.41 (m, 1H), 2.32 - 2.39 (m, 2H), 2.26 (s, 3H), 2.17 (s, 3H), 2.03 (dd, *J*=8.5, 7.1 Hz, 1H), 1.88 - 1.99 (m, 2H), 1.78 - 1.87 (m, 1H), 1.73 (quin, *J*=5.9 Hz, 2H), 1.60-1.66 (m, 1H), 1.51 - 1.58 (m, 2H), 1.24 - 1.30 (m, 1H); $[\alpha]_D^{20}$ = -19 ($CHCl_3$ 중 c=0.689).

[0547] **중간체 39 이성질체 1 및 이성질체 2의 제조**

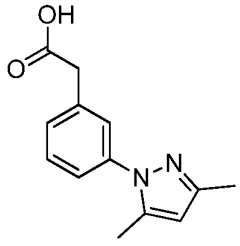
[0548] **중간체 35. *터트*-부틸 2-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)아세테이트**



[0549]

[0550] (3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)보론산(중간체 9)(10.8 g, 50 mmol), *터트*-부틸 2-브로모아세테이트(14.6 g, 75 mmol), 트리-o-톨릴포스핀(1.5 g, 4.93 mmol), $Pd(OAc)_2$(700 mg, 3.12 mmol), 분말화된 트리포타슘 포스페이트(42.5 g, 200 mmol) 및 테트라하이드로푸란(100 mL)의 혼합물을 질소/진공 주기하에서 탈기시키고, 16시간 동안 가열 환류시켰다. LCMS 분석은 ~70% 전환을 나타낸다. 추가 팔라듐 아세테이트(300 mg) 및 *터트*-부틸 2-브로모아세테이트(3 g)를 첨가하고, 혼합물을 6시간 동안 환류시켰다. LCMS는 시작 물질 및 생성물의 존재를 나타내지 않는다. 혼합물을 물(200 mL)과 EtOAc(2 × 200 mL) 사이에 분배시키고, 건조($MgSO_4$)시켰다. 유기상을 증발시키고, 잔여물을 0-40% 에틸 아세테이트-사이클로헥산(15CV)으로 용리시키는 실리카 카트리지(330 g) 상에서의 크로마토그래피에 의해 정제하여, 황색 오일로서 표제 화합물(10.4 g, 72%)을 생성시켰다: LCMS (방법 C) RT=1.18분, ES+ve *m/z* 287 $(M+H)^+$.

[0551] **중간체 36. 2-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)아세테이트**

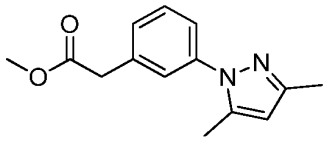


[0552]

[0553] 디클로로메탄(10 mL) 중 *터트*-부틸 2-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)아세테이트(중간체 35)(10 g, 28 mmol)의 용액에 TFA(20 mL, 260 mmol)를 천천히 첨가하고, 2시간 동안 실온에서 교반하였다. LCMS 분석은 반응의 완료를 나타내었다. 용액을 감압하에서 증발시키고, 잔여물을 2N NaOH(100 mL)에 용해시키고, 디에틸 에테르(2 x 100 mL)로 세척하였다. 수성상을 2N HCl로 산성화시키고, 냉각된 현탁액을 EtOAc(2 x 150 mL)로 추출

하였다. 유기 용액을 건조($MgSO_4$)시키고, 증발시켰다. 잔여물(~7 g)을 디에틸 에테르(40 mL)로 분쇄시키고, 여과에 의해 수거하여, 베이지색 고체로서 표제 화합물(5.2 g, 81%)을 생성시켰다: LCMS (방법 C) RT=0.76분, 100%, ES+ve *m/z* 231 $(M+H)^+$; NMR δ ($CDCl_3$, 400 MHz) 7.51 - 7.44 (1H, m), 7.41 - 7.30 (3H, m), 6.08 (1H, s), 3.70 (2H, s), 2.29 (3H, s), 2.26 (3H, s).

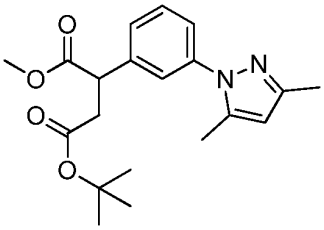
[0554] **중간체 37. 메틸 2-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)아세테이트**



[0555]

[0556] 2-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)아세트산(중간체 36)(460 mg, 2 mmol)의 용액을 MeOH(70 mL)에 용해시키고, 사이클로펜틸 메틸 에테르(3M, 10 mL) 중 하이드로겐 클로라이드 용액을 처리하고, 혼합물을 2시간 동안 가열 환류시켰다. 혼합물을 감압하에서 농축시키고, 잔여물을 에틸 아세테이트와 소듐 바이카르보네이트 사이에 분배시켰다. 유기상을 염수로 세척하고, $MgSO_4$ 상에서 건조시키고, 감압하에서 증발시켰다. 잔여물을 20분에 걸쳐 0-25% 에틸 아세테이트-사이클로헥산의 구배로 용리시키는 실리카 카트리지(20 g) 상에서의 크로마토그래피에 의해 정제하였다. 주요 성분을 함유하는 적절한 분획을 결합시키고, 증발시켜, 무색 오일로서 표제 화합물(251 mg, 51%)을 생성시켰다: NMR δ ($CDCl_3$) 7.43-7.37 (2H, m), 7.33 (1H, br d, J 8 Hz), 7.29-7.24 (1H, m $CHCl_3$에 의해 가려짐), 5.99 (1H, s), 3.70 (3H, s), 3.68 (2H, s), 2.31 (3H, s) 및 2.30 (3H, s).

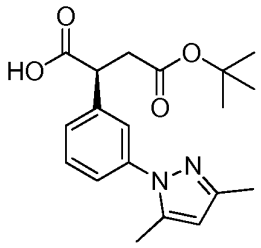
[0557] **중간체 38. 4-*터트*-부틸 1-메틸 2-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)숙**시네이트



[0558]

[0559] THF 중 리튬 헥사메틸디실라지드의 용액(1M, 1.85 mL)을 -78℃로 냉각시키고, THF(2 mL) 중 메틸 2-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)아세테이트(중간체 37)(453 mg, 1.85 mmol)의 용액을 처리하였다. 5분 후, 반응 혼합물에 THF(2 mL) 중 *터트*-부틸 2-브로모아세테이트(0.82 mL, 5.6 mmol)를 처리하고, 30분 후, -78℃에서, 혼합물을 실온으로 가온시켰다. 혼합물을 2.5시간 동안 교반한 후, HCl 수용액(0.2 M, 10 mL)으로 켄칭시키고, 에틸 아세테이트로 추출하였다. 유기 용액을 $NaHCO_3$ 수용액, 0.2M HCl, 염수로 세척하고, 건조($MgSO_4$)시키고, 감압하에서 증발시켰다. 잔여물을 0-25% EtOAc-사이클로헥산으로 용리시키는 50 g 실리카 카트리지 상에서의 크로마토그래피에 의해 정제하였다. 주요 피크를 함유하는 분획을 결합시키고, 감압하에서 증발시켜, 무색 오일(780 mg)을 생성시키고, 이를 0-50% TBME-사이클로헥산으로 용리시키는 70 g 실리카 카트리지 상에서의 크로마토그래피에 의해 추가로 정제하여, 무색 오일로서 표제 화합물(479 mg, 72%)을 생성시켰다: NMR δ ($CDCl_3$) 7.43-7.33 (3H, m), 7.29-7.25 (1H, m), 6.00 (1H, s), 4.09 (1H, dd, J 10.0, 5.5 Hz), 3.69 (3H, s), 3.13 (1H, dd, J 16.7, 10.0 Hz), 2.64 (1H, dd, J 16.7, 5.5 Hz), 2.30 (6H, s), 1.42 (9H, s). 상기 화합물의 2개의 거울상 이성질체를 5% IPA-헥산, 유량 = 20 mL/분으로 용리시키는 Chiralcel OD-H 컬럼(30 mm × 250 mm) 상에서의 분취용 키랄 HPLC에 의해 분리시켜, 무색 오일로서 이성질체 1(267 mg)을 생성시키고: $[\alpha]_D^{22}$ + 81 ($CHCl_3$ 중 c=1.028); Chiralcel OJ-H 컬럼(4.6 mm id × 250 mm) 상에서의 분석 키랄 HPLC RT=7.75분, 99.3% (다른 거울상 이성질체를 함유함, RT=9.35분, 0.7%), 무색 오일로서 이성질체 2(230 mg)를 생성시켰다: $[\alpha]_D^{22}$ - 82 ($CHCl_3$ 중 c=1.016); 분석 키랄 HPLC RT=9.35분, 98.6% (다른 거울상 이성질체를 함유함, RT=7.75분, 1.4%).

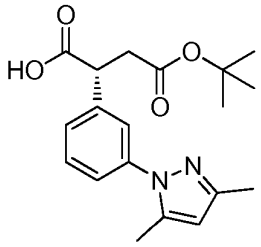
[0560] **중간체 39 이성질체 1. 4-(*터트*-부톡시)-2-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)**페닐)-4-옥소부탄산



[0561]

[0562] 4-*터트*-부틸 1-메틸 2-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)숙시네이트 이성질체 1(중간체 38, 이성질체 1)(257 mg, 0.72 mmol)의 용액을 THF(2 mL)에 용해시키고, 0℃(얼음-냉각)로 냉각시킨 후, 30% 하이드로겐 퍼옥사이드(0.366 mL, 3.6 mmol) 및 물 중 1M LiOH 용액(1M, 2.15 mL)을 첨가하였다. 밤새 냉장고에 방치 후, 반응 혼합물에 소듐 메타바이설파이트 수용액(1M, 3 mL)을 처리한 후, 2M HCl 용액을 이용하여 pH 1로 산성화시켰다. 반응 혼합물을 에틸 아세테이트로 3회 추출하고, 유기 용액을 $MgSO_4$ 상에서 건조시켰다. 용액을 감압하에서 증발시키고, 잔여 백색 포움을 MDAP에 의해 정제하였다(방법 C). 적절한 분획을 감압하에서 증발시켜, 무색 오일로서 표제 화합물(140 mg, 57%)을 생성시켰다: ^{1}H NMR δ (400 MHz; $CDCl_3$) 7.38-7.32 (2H, m), 7.30-7.24 (2H, m), 5.98 (1H, s), 4.05 (1H, dd, J 9.5, 6 Hz), 3.09 (1H, dd, J 16.5, 9.5 Hz), 2.63 (1H, dd, J 16.5, 6 Hz), 2.31 (3H, s), 2.24 (3H, s), 1.38 (9H, s). $[\alpha]_D^{20}$ + 42 ($CHCl_3$ 중 c=1.037).

[0563] **중간체 39 이성질체 2. 4-(*터트*-부톡시)-2-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)**페닐)-4-옥소부탄산

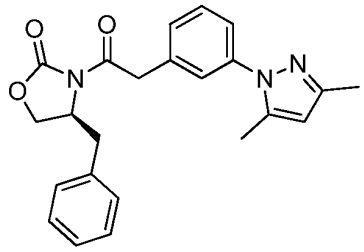


[0564]

[0565] 4-*터트*-부틸 1-메틸 2-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)숙시네이트 이성질체 2(중간체 38, 이성질체 2)(220 mg, 0.61 mmol)의 용액을 2-Me-THF(5 mL)에 용해시키고, 0℃(얼음-냉각)로 냉각시킨 후, 30% 하이드로겐 퍼옥사이드(0.313 mL, 3.1 mmol) 및 물 중 0.2M LiOH 용액(0.2M, 9.21 mL, 1.84 mmol)을 첨가하였다. LCMS는 반응이 6일 후에 완료된 것을 나타내었다. 반응 혼합물에 소듐 티오설페이트 용액(1M, 3 mL) 및 소듐 바이카르보네이트 용액(0.5M, 8 mL)을 처리하고, 혼합물(pH 8)을 10분 동안 교반한 후, 6M HCl 용액을 이용하여 pH 1으로 산성화시켰다. 반응 혼합물을 에틸 아세테이트로 3회 추출하고, 유기 용액을 $MgSO_4$ 상에서 건조시켰다. 감압하에서의 증발로 백색 고체를 생성시키고, 이를 MDAP에 의해 정제하였다(방법 C). 감압하에서의 적절한 분획의 증발로 무색 오일로서 표제 화합물(105 mg, 50%)을 생성시켰다: ^{1}H NMR δ (400 MHz; $CDCl_3$) 7.38-7.32 (2H, m), 7.30-7.22 (2H, m), 5.99 (1H, s), 4.05 (1H, dd, J 9.5, 6 Hz), 3.09 (1H, dd, J 16.5, 9.5 Hz), 2.63 (1H, dd, J 16.5, 6 Hz), 2.31 (3H, s), 2.24 (3H, s), 1.38 (9H, s). $[\alpha]_D^{20}$ - 41 ($CHCl_3$ 중 c=1.482).

[0566] **(*S*) 로서의 중간체 39 이성질체 1의 절대 입체형태의 결정(에반스 방법)**

[0567] **중간체 40. (*S*)-(+)-4-벤질-3-(2-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)아세**틸)옥사졸리딘-2-온



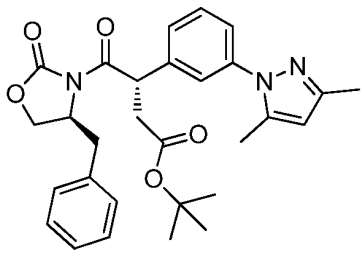
[0568]

[0569] 2-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)아세트산(중간체 36)(2.3 g, 9.99 mmol)을 THF(70 mL)에 용해시키고, DIPEA(2.268 mL, 12.99 mmol)를 처리하였다. 교반된 용액에 질소하에서 주사기를 통해 피발로일 클로라이드(1.229 mL, 9.99 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 45분 동안 0℃에서 교반한 후, -78℃로 재냉각시켜, 백색 슬러리를 생성시켰다.

[0570] 그 동안, 별개의 플라스크에서, (*S*)-4-벤질옥사졸리딘-2-온(3.19 g, 17.98 mmol)을 THF(50 mL)에 용해시키고, 교반시키면서 -78℃로 냉각시켰다. 상기 용액에 헥산 중 n-BuLi 1.6M(11.24 mL, 17.98 mmol)을 첨가하고, 혼합물을 0.5시간 동안 -78℃에서 교반하였다. 금속화된 옥사졸리디논을 삽입관을 이용하여 혼합된 무수물에 첨가하였다. 생성된 슬러리를 -78℃에서 1시간 동안 교반한 후, 주말에 걸쳐 실온으로 가온시켰다.

[0571] 반응 혼합물을 포화 암모늄 클로라이드 수용액(40 mL)으로 켄칭시키고, 물(10 mL)로 희석시키고, 에틸 아세테이트로 추출하였다. 유기상을 염수로 세척하고, 건조($MgSO_4$)시키고, 여과시키고, 진공하에서 농축시켰다. 잔여 오일을 DCM에 용해시키고, 40분에 걸쳐 사이클로헥산 중 0-50% 에틸 아세테이트의 구배로 용리시키는 100g 실리카 카트리지 상에서의 크로마토그래피에 의해 정제하였다. 주요 성분을 함유하는 분획을 결합시키고, 진공하에서 농축시켜, 무색 오일로서 표제 화합물(2.1 g, 54%)을 생성시켰다: ^{1}H NMR δ (600 MHz, DMSO-d_6) 7.48-7.44 (m, 1H), 7.43 (s, 1H), 7.41-7.38 (m, 1H), 7.29 (d, *J*=8.3 Hz, 1H), 7.28-7.25(m, 2H), 7.25-7.21 (m, 1H), 7.17-7.13 (m, 2H), 6.07 (s, 1H), 4.69 (tt, *J*=7.8, 3.0 Hz, 1H), 4.36 (t, *J*=8.5 Hz, 1H), 4.36-4.32 (m, 1H), 4.26-4.20 (m, 1H), 4.23-4.18 (m, 1H), 3.03-2.97 (m, 1H), 2.95-2.90 (m, 1H), 2.29 (s, 3H), 2.18 (s, 3H); $[\alpha]_D^{20}$ = + 49 ($CHCl_3$ 중 c 1.64).

[0572] **중간체 41 (*S*)-*터트*-부틸 4-((*S*)-4-벤질-2-옥소옥사졸리딘-3-일)-3-(3-(3,5-**디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-옥소부타노에이트, 및 중간체 42. (*R*)-*터트*-*부틸* 4-((*S*)-4-벤질-2-옥소옥사졸리딘-3-일)-3-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-옥소부타노에이트

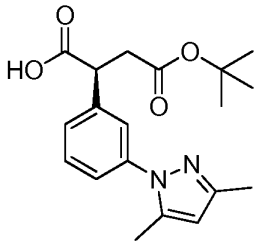


[0573]

[0574] THF 중 리튬 헥사메틸디실라지드의 용액(1M, 5.7 mL)을 -78℃에서 THF(10 mL) 중 (*S*)-4-벤질-3-(2-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)아세틸)옥사졸리딘-2-온(중간체 40)(2.0 g, 5.14 mmol)의 용액에 첨가하고, 혼합물을 60분 동안 -78℃에서 교반한 후, *터트*-부틸 2-브로모아세테이트(2.3 mL, 15 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 3시간 동안 -78℃에서 교반한 후, 실온으로 가온시키고, 2일 동안 교반한 후, 이를 포화 암모늄 클로라이드 수용액의 첨가에 의해 켄칭시켰다. 혼합물을 에틸 아세테이트로 분배시키고, 유기상을 분리시키고, 염수로 세척(2회)하고, $MgSO_4$ 상에서 건조시키고, 감압하에서 증발시켰다. 잔여물을 1시간에 걸쳐 0-50% 에틸 아세테이트-사이클로헥산으로 용리시키는 실리카(100 g) 카트리지 상에서의 크로마토그래피에 의해 정제하여, 2개의 부분입체이성질체의 혼합물인 황색 오일로서 생성물(1.2 g, 46%)을 생성시켰다: LCMS (방법 C) RT=1.32분, 11%, ES+ve *m/z* 504 및 RT=1.36분, 53%, ES+ve *m/z* 504 $(M+H)^+$. 예상 생성물의 부분입체 이성질체 혼합물의 일부(200 m

g)를 RT=9.56분을 갖는 주요 분획을 수거하는 MDAP(방법 C)에 의해 추가로 정제하여, 무색 오일로서 (*S*)-*터트*-부틸 4-((*S*)-4-벤질-2-옥소옥사졸리딘-3-일)-3-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-옥소부타노에이트(중간체 41)(69 mg)를 생성시켰다: LCMS (방법 C) RT=1.36분, ES+ve *m/z* 504 $(M+H)^+$; ^{1}H NMR δ (400 MHz, $CDCl_3$) 7.47 (1H, br s), 7.43-7.28 (8H, m), 6.00 (1H, s), 5.56 (1H, dd, J 11, 4 Hz), 4.67-4.59 (1H, m), 4.15-4.06 (2H, m), 3.42-3.30 (2H, m), 2.83 (1H, dd, J 13, 10 Hz), 2.67 (1H, dd, J 17, 4 Hz), 2.32 (3H, s), 2.30 (3H, s), 1.46 (9H, s); $[\alpha]_D^{20}$ = +102 ($CHCl_3$ 중 c=1.20). RT=9.2분을 갖는 MDAP 정제로부터의 더 적은 분획을 블로우-다운 유닛에서 질소 스트림 하에서 증발시켜, (*R*)-*터트*-*부틸* 4-((*S*)-4-벤질-2-옥소옥사졸리딘-3-일)-3-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-옥소부타노에이트(중간체 42)(7 mg)를 생성시켰다: LCMS (방법 C) RT=1.32분, ES+ve *m/z* 504 $(M+H)^+$; 1H NMR δ (400 MHz, $CDCl_3$) 7.51 (1H, br s), 7.46-7.38 (3H, m), 7.21-7.15 (3H, m), 6.99-6.94 (2H, m), 5.97 (1H, s), 5.46 (1H, dd, J 11, 4 Hz), 4.81-4.73 (1H, m), 4.24 (1H, t, J 8.5 Hz), 4.10 (1H, dd, J 9, 3 Hz), 3.33 (1H, dd, J 17, 11 Hz), 3.08 (1H, dd, J 13.5, 3 Hz), 2.66-2.59 (2H, m), 2.29 (3H, s), 2.28 (3H, s), 1.43 (9H, s); $[\alpha]_D^{20}$ = - 37 ($CHCl_3$ 중 c=0.71).

[0575] **중간체 39 이성질체 1 (*S*)-(+)-4-(*터트*-부톡시)-2-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-옥소부탄산**

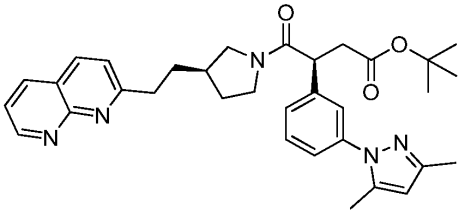


[0576]

[0577] 4℃에서 THF(1 mL) 중 (*S*)-*터트*-부틸 4-((*S*)-4-벤질-2-옥소옥사졸리딘-3-일)-3-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-옥소부타노에이트(중간체 41)(69 mg, 0.14 mmol)의 용액에 30% 하이드로겐 퍼옥사이드(8.8 M, 0.078 mL, 0.68 mmol)를 처리한 후, 수성 리튬 하이드록시드(1M, 0.411 mL)를 처리하고, 혼합물을 2시간 동안 얼음-수조에서 교반하였다. 반응 혼합물을 밤새 냉장고에 방치시킨 후, 소듐 메타바이설파이트 수용액의 첨가 후, 10분 후에 2M HCl의 첨가에 의해 켄칭시켰다. 2시간 후, 혼합물을 에틸 아세테이트로 추출하고, 수성층을 더 많은 EtOAc로 추출하였다. 결합된 유기 용액을 염수로 세척하고, 건조($MgSO_4$)시키고, 감압하에서 증발시켰다. 잔여물을 DMSO(1 mL)에 용해시키고, RT=8.3-9.9분, *m/z* 345를 갖는 피크를 수거하는 MDAP(방법 C)에 의해 정제하였다. 적절한 분획을 블로우-다운 유닛에서 질소 스트림 하에서 증발시켜, 무색 오일로서 표제 화합물(22 mg, 47%)을 생성시켰다: ^{1}H NMR δ ($CDCl_3$) 7.36-7.31 (2H, m), 7.28-7.23 (2H, m), 5.96 (1H, s), 4.04 (1H, dd, J 9.5, 6 Hz), 3.08 (1H, dd, J 16.5, 9.5 Hz), 2.62 (1H, dd, J 16.5, 6 Hz), 2.29 (3H, s), 2.23 (3H, s), 1.37 (9H, s); $[\alpha]_D^{20}$ = + 65 ($CHCl_3$ 중 c=2.08).

[0578] **동일한 이성질체임을 나타내는 중간체 46 및 중간체 33 이성질체 1의 합성**

[0579] **중간체 43. (*S*)-(+)-*터트*-부틸 4-((*R*)-3-(2-(1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피**롤리딘-1-일)-3-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-옥소부타노에이트

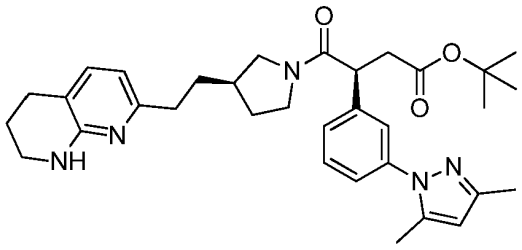


[0580]

[0581] DCM(1 mL) 중 4-*터트*-부틸 1-메틸 2-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)숙시네이트(중간체 39 이성질체 1)(107 mg, 0.31 mmol)의 용액에 *N*-[3-(디메틸아미노)프로필]-*N'*-에틸카르보디이미드 하이드로클로라이드(77

mg, 0.40 mmol) 및 *N*-하이드록시벤즈트리아졸 하이드레이트(62 mg, 0.40 mmol)를 처리하였다. 반응 혼합물을 10분 동안 교반한 후, DCM(3 mL) 중 (*R*)-2-(2-(피롤리딘-3-일)에틸)-1,8-나프티리딘(중간체 3)(100 mg, 0.44 mmol)의 용액 및 *N*-Me-모르폴린(0.102 mL, 0.93 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 물로 희석시키고, 상을 상-분리기 프릿에서 분리시키고, 유기상을 감압하에서 증발시켰다. 잔여물을 *m/z* 554를 갖는 분획을 수거하는 MDAP(방법 C)에 의해 정제하였다. 용매를 감압하에서 제거하여, 무색 오일로서 표제 화합물(160 mg, 93%)을 생성시켰다: LCMS (방법 C) RT= 0.99분, 98.5%, ES+ve *m/z* 554 $(M+H)^+$; $[\alpha]_D^{20}$ = +41 ($CHCl_3$ 중 c=1.720); 235 nm에서 검출하는 0.1% 이소프로필아민을 함유하는 10% EtOH-헵탄으로 용리시키는 분석 키랄 HPLC Chiralcel OD-H(4.6 mm × 250 mm), 유량=1 mL/분, RT=30.4분, 77.3% 및 RT=37.6분, 22.7%.

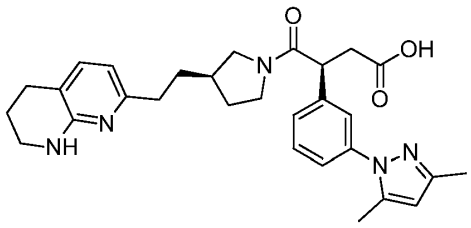
[0582] **중간체 44.** **(*S*)-*터트*-부틸 3-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-옥소-**4-((*R*)-3-(2-(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부타노에이트



[0583]

[0584] 에탄올(20 mL) 중 (*S*)-*터트*-부틸 4-((*R*)-3-(2-(1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)-3-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-옥소부타노에이트(중간체 43)(107 mg, 0.19 mmol)의 용액을 4일에 걸쳐 5% Rh/C(28 mg) 상에서 수소화반응시켰다. 더 많은 촉매(5 mg)를 첨가하고, 혼합물을 하루 더 수소화반응시켰다. 촉매를 셀라이트를 통한 여과에 의해 제거하고, 에탄올로 세척하였다. 결합된 여과액 및 세척액을 감압하에서 농축시켜, 표제 화합물(101 mg, 94%)을 생성시켰다: LCMS (방법 C) RT=0.86분, 98%, ES+ve *m/z* 558 $(M+H)^+$.

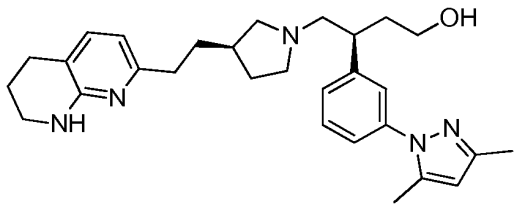
[0585] **중간체 45.** **(*S*)-(+)-3-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-옥소-4-**((*R*)-3-(2-(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부탄산



[0586]

[0587] $CHCl_3$(5 mL) 중 (*S*)-*터트*-부틸 3-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-옥소-4-((*R*)-3-(2-(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부타노에이트(중간체 44)(101 mg, 0.18 mmol)의 용액에 2일 동안 실온에서 TFA(3 mL)를 처리하였다. 반응 혼합물을 감압하에서 증발시키고, 잔여물을 DCM에 용해시키고, 감압하에서 3회 재증발시켰다. 잔여물(200 mg)을 아세토니트릴에 용해시키고, MeCN으로 미리 컨디셔닝된 SCX-2 카트리지(10 g) 아래로 통과시켰다. 화합물을 MeCN으로 세척하고, MeOH 중 2M 암모니아로 용리시켰다. 암모니아성 분획을 감압하에서 증발시켜, 백색 포움으로서 표제 화합물(80 mg, 88%)을 생성시켰다: LCMS (방법 A) RT=0.82분, 90%, ES+ve *m/z* 502 $(M+H)^+$; $[\alpha]_D^{20}$ = + 34 ($CHCl_3$ 중 c=0.88).

[0588] **중간체 46.** **(*S*)-(+)-3-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-((*R*)-3-(2-**(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부탄-1-올



[0589]

[0590] 실온에서 THF(1 mL) 중 (*S*)-3-(3-(3,5-디메틸-1*H*-피라졸-1-일)페닐)-4-옥소-4-((*R*)-3-(2-(5,6,7,8-테트라하이드로-1,8-나프티리딘-2-일)에틸)피롤리딘-1-일)부탄산(중간체 45)(65 mg, 0.13 mmol)의 용액에 질소하에서 THF 중 보란-THF 용액(1M, 2 mL)을 처리하였다. 혼합물을 밤새 주위 온도에서 교반하였다. 오전에, AcOH(0.5 mL)를 첨가하여 과량의 보란을 켄칭시킨 후, 2M NaOH 용액(1 mL)을 첨가하여 보란 복합체를 분해시켰다. 혼합물을 에테르로 희석시키고, 2M NaOH로 2회 세척한 후, 염수로 세척하고, 건조($MgSO_4$)시키고, 감압하에서 증발시켰다. 미정제 생성물(100 mg)을 THF(1 mL)에 용해시키고, 질소하에서 20℃에서 에테르 중 $LiAlH_4$ 용액(1M, 1.5 mL)을 처리하였다. 혼합물을 30분 동안 20℃에서 유지시킨 후, 2시간 동안 50℃로 가열하였다. 더 많은 $LiAlH_4$ 용액(1M, 0.7 mL)을 첨가하고, 혼합물을 45분 동안 60℃로 가열하였다. LCMS (방법 A), 생성물에 대해 RT=1.12분, 58%, *m/z* 474 $(M+H)^+$ 및 아미드에 대해 RT=1.23분, 27%, *m/z* 488 $(M+H)^+$. 온도를 추가 1시간 동안 80℃로 상승시켰으나, 반응은 중지된 것으로 보였다. 반응 혼합물을 2M NaOH 용액(1 mL) 및 에테르의 첨가에 의해 켄칭시켰다. 백색 고체를 여과에 의해 수거하고, 에테르 및 에틸 아세테이트로 세척하였다. 여과액 및 세척액을 감압하에서 증발시켰다. 잔여물(58 mg)을 MDAP(방법 A)에 의해 정제하여, 황색 검으로서 표제 화합물(30 mg, 49%)을 생성시켰다: LCMS (방법 A) RT=1.10분, 93%, ES+ve *m/z* 474 $(M+H)^+$; $[\alpha]_D^{20}$ = + 7.0 ($CHCl_3$ 중 c=0.859); ^1H NMR (DMSO-d_6, 600 MHz) δ 7.40-7.36 (m, 1H), 7.28-7.26 (m, 1H), 7.28-7.25 (m, 1H), 7.20 (d, *J*=7.7 Hz, 1H), 6.99 (d, *J*=7.3 Hz, 1H), 6.22 (d, *J*=7.2 Hz, 1H), 6.20 (br. s., 1H), 6.05 (s, 1H), 3.32-3.28 (m, 1H), 3.25-3.21 (m, 1H), 3.24-3.18 (m, 2H), 2.97-2.90 (m, 1H), 2.71 (t, *J*=8.2 Hz, 1H), 2.64 (dd, *J*=11.8, 7.8 Hz, 1H), 2.59 (t, *J*=6.2 Hz, 2H), 2.57-2.53 (m, 1H), 2.54-2.50 (m, 1H), 2.39-2.34 (m, 2H), 2.37-2.32 (m, 1H), 2.26 (s, 3H), 2.17 (s, 3H), 2.07-2.01 (m, 1H), 1.94 (dd, *J*=13.1, 7.4 Hz, 1H), 1.97-1.88 (m, 1H), 1.87-1.79 (m, 1H), 1.74 (dt, *J*=11.5, 6.0 Hz, 2H), 1.67-1.59 (m, 1H), 1.60-1.53 (m, 2H), 1.31-1.24 (m, 1H). ^1H NMR 스펙트럼은 표제 화합물의 부분입체 이성질체의 혼합물과 일치하는 ~3:1 혼합물의 밀접하게 관련된 신호를 나타내었다. 주요 성분은 중간체 33 이성질체 1과 일치하였고, 더 적은 성분은 중간체 33 이성질체 2와 일치하였다. 10% EtOH-0.1% 이소프로필아민을 함유하는 헵탄, 유량= 1 mL/분으로 용리시키고, 15 μL를 주입하고, 235 nm에서 검출하는 분석 키랄 HPLC (4.6 × 250 mm Chiralpak1 AD), RT=22.5분, 78.9% 및 RT=26.9분, 21.1%.

[0591] **용해도**

[0592] 화학발광 질소 검출(CLND) 동역학 용해도를 문헌[N. Bhattachar et. al. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2006**, *41*, 152-157]에 따라 측정하였고, 실시예 1에 대해 504 μM; 실시예 2에 대해 249 μM; 실시예 3에 대해 276 μM; 실시예 4에 대해 388 μM; 실시예 5에 대해 470 μM; 실시예 6에 대해 437 μM; 실시예 7에 대해 349 μM인 것으로 밝혀졌다.

[0593] **생물학적 검정**

[0594] ***부착 검정:*** 하기 설명의 요지와 함께 이용된 시약 및 방법은 문헌 [Ludbrook et al, *Biochem. J.* **2003**, *369*, 311)에 기재된 바와 같았다. 괄호 내의 리간드와 함께 다음과 같은 세포주를 이용하였다: K562-$\alpha_5\beta_1$(섬유결합소), K562-$\alpha_v\beta_3$(LAP-b_1), K562-$\alpha_v\beta_5$(비트로넥틴), K562-$\alpha_v\beta_6$(LAP-b_1), K562-$\alpha_v\beta_8$(LAP-b_1). 부착을 촉진시키기 위해 사용된 이가 양이온은 2 mM $MgCl_2$였다. 부착을 형광 염료 BCECF-AM(Life Technologies)을 이용한 세포 표지화에 의해 정량하였고, 여기서 $6x10^6$개의 세포/mL의 세포 현탁액을 10분 동안 37℃에서 0.66mL/mL의 30 mM BCECF-AM과 함께 인큐베이션한 후, 검정 플레이트에 분배하였다. 검정 결론에서, 부착된 세포를 50 μL/웰의 H_2O 중 0.5% Triton X-100을 이용하여 용해시켜 형광을 방출시켰다. 형광 강도를 Envision® 플레이트 판독기(Perkin Elmer)를 이용하여 검출하였다. 검정에서의 활성 길항제에 대해, 데이터를 IC_{50} 결정을 위해 4 파라

미터 로지스틱 방정식으로 적합화시켰다.

[0595] ***형광 편광 검정에 의한 RGD-함유 펩티드로의 인간 가용성 $\alpha_v\beta_6$ 단백질의*** 결합: α_v 및 β_6의 세포외 도메인을 배큘로바이러스 발현 시스템을 이용한 pFastBac 이중 작제물로부터 공동 발현시켰다. 발현된 단백질은 아미노산 31-987의 α_v 뒤에 Tev 분해 부위, Fos 에피토프 태그 및 6His 태그, 아미노산 21-707의 β_6 뒤에 프리시션 프로테아제(Prescission protease) 부위, Jun 에피토프 태그 및 FLAG 태그를 함유하였다. 단백질은 발현시 배지로 분비되었고, 이를 정용여과 후, His 태그 및 이후 FLAG 태그를 이용한 정제 후, 크기 배제 크로마토그래피를 이용하여 정제하였다. 이는 95% 순도 초과의 물질을 생성시켰다. 서열 Ac-GRRGDLGRLK(Cy3B)-NH2를 갖는 LAPβ_3를 기반으로 한 형광 결합 펩티드를 화학적으로 합성하였다. 25 mM HEPES pH7.4, 150 mM NaCl, 1 mM CHAPS 및 400 mM $MgCl_2$의 검정 완충액을 이용하였다. 흑색 저용적 384 웰 플레이트에 0.1 mL/웰의 100% DMSO 중 시험 화합물 및 이후 3 mL/웰의 10 nM $\alpha_v\beta_6$ 단백질을 첨가하였다. 플레이트를 15분 동안 실온에서 인큐베이션한 후, 3 mL/웰의 4 nM 형광 RGD-함유 펩티드를 첨가하였다. 플레이트를 실온에서 60분 동안 인큐베이션하고, 형광 편광을 531 nm에서의 여기 및 590 nm에서 측정된 방출로 Envision® 플레이트 판독기(Perkin Elmer)를 이용하여 검출하였다. 본 검정에서 활성 길항제에 대해, 데이터를 IC_{50} 결정을 위해 4 파라미터 로지스틱 방정식으로 적합화시켰다.

[0596] 실시예 1에 대한 형광 편광 검정에서의 인간 $\alpha_v\beta_6$ 단백질에 대한 친화성(pIC_{50})은 8.1인 반면, 세포 부착 검정에서의 이의 친화성은 다음과 같았다: $\alpha_v\beta_6$ pIC_{50} = 8.4; $\alpha_v\beta_3$ pIC_{50} = 6; $\alpha_v\beta_5$ pIC_{50} = 6.9; $\alpha_v\beta_8$ pIC_{50} = 7.7.

[0597] 실시예 2에 대한 형광 편광 검정에서의 인간 $\alpha_v\beta_6$ 단백질에 대한 친화성(pIC_{50})은 7.8인 반면, 세포 부착 검정에서의 이의 친화성은 다음과 같았다: $\alpha_v\beta_6$ pIC_{50} = 8.4; $\alpha_v\beta_3$ pIC_{50} = 6; $\alpha_v\beta_5$ pIC_{50} = 6.8; $\alpha_v\beta_8$ pIC_{50} = 7.7.

[0598] 실시예 3에 대한 형광 편광 검정에서의 인간 $\alpha_v\beta_6$ 단백질에 대한 친화성(pIC_{50})은 8.2인 반면, 세포 부착 검정에서의 이의 친화성은 다음과 같았다: $\alpha_v\beta_6$ pIC_{50} = 8.2; $\alpha_v\beta_3$ pIC_{50} = 6; $\alpha_v\beta_5$ pIC_{50} = 6.9; $\alpha_v\beta_8$ pIC_{50} = 7.7.

[0599] 실시예 4에 대한 형광 편광 검정에서의 인간 $\alpha_v\beta_6$ 단백질에 대한 친화성(pIC_{50})은 8.2인 반면, 세포 부착 검정에서의 이의 친화성은 다음과 같았다: $\alpha_v\beta_6$ pIC_{50} = 8.6; $\alpha_v\beta_3$ pIC_{50} = 6.9; $\alpha_v\beta_5$ pIC_{50} = 7.5; $\alpha_v\beta_8$ pIC_{50} = 7.8.

[0600] 실시예 5에 대한 형광 편광 검정에서의 인간 $\alpha_v\beta_6$ 단백질에 대한 친화성(pIC_{50})은 7.8인 반면, 세포 부착 검정에서의 이의 친화성은 다음과 같았다: $\alpha_v\beta_6$ pIC_{50} = 8.1; $\alpha_v\beta_3$ pIC_{50} = 6.1; $\alpha_v\beta_5$ pIC_{50} = 6.6; $\alpha_v\beta_8$ pIC_{50} = 7.4.

[0601] 실시예 6에 대한 형광 편광 검정에서의 인간 $\alpha_v\beta_6$ 단백질에 대한 친화성(pIC_{50})은 7.7인 반면, 세포 부착 검정에서의 이의 친화성은 다음과 같았다: $\alpha_v\beta_6$ pIC_{50} = 8.1; $\alpha_v\beta_3$ pIC_{50} = 5.8; $\alpha_v\beta_5$ pIC_{50} = 6.6; $\alpha_v\beta_8$ pIC_{50} = 7.3.

[0602] 실시예 7에 대한 형광 편광 검정에서의 인간 $\alpha_v\beta_6$ 단백질에 대한 친화성(pIC_{50})은 7.8인 반면, 세포 부착 검정에서의 이의 친화성은 다음과 같았다: $\alpha_v\beta_6$ pIC_{50} = 8.4; $\alpha_v\beta_3$ pIC_{50} = 6.7; $\alpha_v\beta_5$ pIC_{50} = 7.4; $\alpha_v\beta_8$ pIC_{50} = 7.3.