



(19) 대한민국특허청(KR)
 (12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0103960
 (43) 공개일자 2017년09월13일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 401/14 (2006.01) *A61K 31/422* (2006.01)
A61K 31/44 (2006.01) *A61K 51/04* (2006.01)
C07D 413/12 (2006.01)

(52) CPC특허분류
C07D 401/14 (2013.01)
A61K 31/422 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2017-7022757

(22) 출원일자(국제) 2016년01월20일
 심사청구일자 없음

(85) 번역문제출일자 2017년08월16일

(86) 국제출원번호 PCT/IB2016/050276

(87) 국제공개번호 WO 2016/116875
 국제공개일자 2016년07월28일

(30) 우선권주장
 62/105,336 2015년01월20일 미국(US)

(71) 출원인
 노파르티스 아게
 스위스 체하-4056 바젤 리히트스트라쎄 35

(72) 발명자
 아우베르슨, 이베스
 스위스 4002 바젤 포스트파흐 베르크 클라이백 노
 파르티스 파마 아게
 브리아드, 엠마뉴엘

스위스 4002 바젤 포스트파흐 베르크 클라이백 노
 파르티스 파마 아게
 (뒷면에 계속)

(74) 대리인
 양영준, 이상영

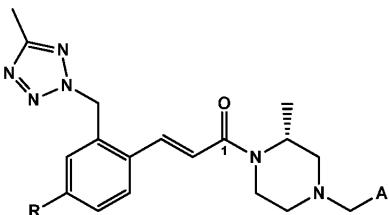
전체 청구항 수 : 총 16 항

(54) 발명의 명칭 PET 영상화제

(57) 요 약

PET 영상화제로서의 사용을 위한 화학식 I의 신규 2-벤질-5-메틸-2H-테트라졸 유도체의 제조. 본 발명은 화학식 I의 신규 화합물 및 그의 제조법 및 영상화 기술을 위한 PET 영상화제로서의 사용 및 효소 오토타신 질환에 의해 매개되거나 그에 관련된 질환 및 장애의 분야에서의 진단에 관한 것이다.

<화학식 I>



(52) CPC특허분류

A61K 31/44 (2013.01)

A61K 51/044 (2013.01)

A61K 51/0474 (2013.01)

C07D 413/12 (2013.01)

(72) 발명자

오베르하우저, 베른트

스위스 4002 바젤 포스트파흐 베르크 클라이백 노
파르티스 파마 아게

레그란드, 다렌

영국 알에이치12 5에이비 호르샵 서섹스 웨스트 서
섹스 워블허스트 로드 노바티스 파마슈티칼스 유케
이 리미티드

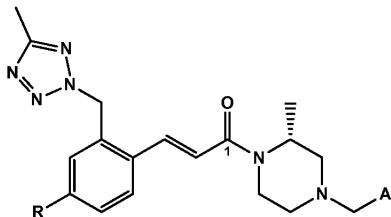
명세서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 I의 화합물, 및/또는 그의 제약상 허용되는 염.

<화학식 I>



여기서

R은 할로겐, -CF₃, -OCF₃, -OCH₃, -CH₃ 또는 CN이 고;

A는 할로-(C₁₋₆-알킬), 할로-(C₁₋₃-알킬)옥시(C₂₋₄-알킬) 또는 할로-(C₁₋₃-알킬)옥시(C₂₋₄-알킬) 옥시(C₂₋₄-알킬)로부터 선택된 적어도 하나의 치환기로 치환된 피리디닐 또는 옥사졸릴 기이다.

청구항 2

제1항에 있어서, ³H를 함유하는 화합물.

청구항 3

제1항에 있어서, R이 -CF₃ 또는 -OCF₃인 화합물.

청구항 4

제3항에 있어서, 적어도 하나의 ¹⁸F를 함유하는 화합물.

청구항 5

제1항에 있어서, R이 할로겐인 화합물.

청구항 6

제5항에 있어서, R이 ¹⁸F, ¹⁹F, ¹²³I, ¹²⁴I, ¹²⁵I, ¹²⁷I 또는 ¹³¹I로부터 선택된 것인 화합물.

청구항 7

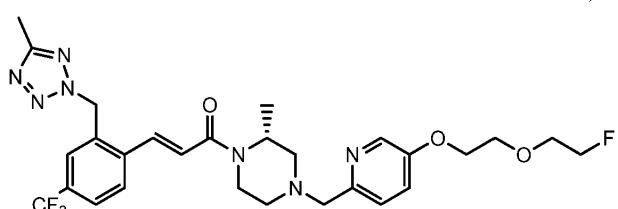
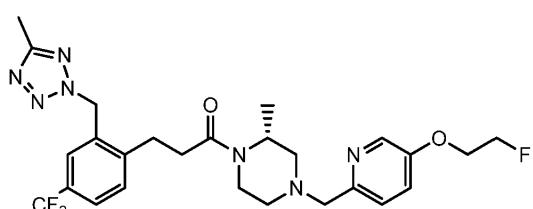
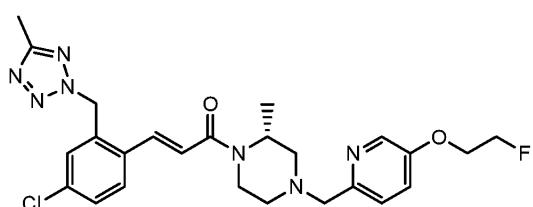
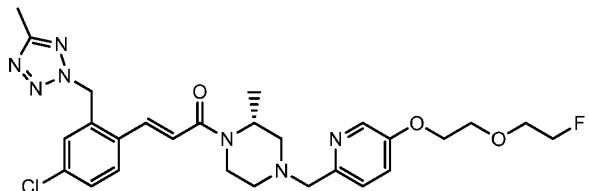
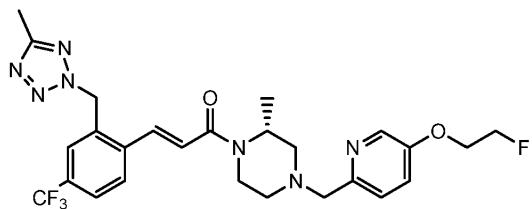
제1항에 있어서, A가 ¹⁸F, ¹⁹F, ¹²³I, ¹²⁴I, ¹²⁵I, ¹²⁷I 또는 ¹³¹I 중 적어도 하나를 함유하는 것인 화합물.

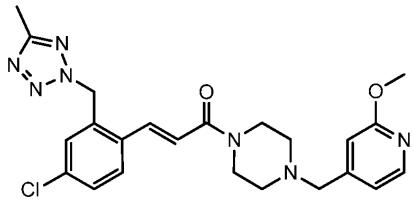
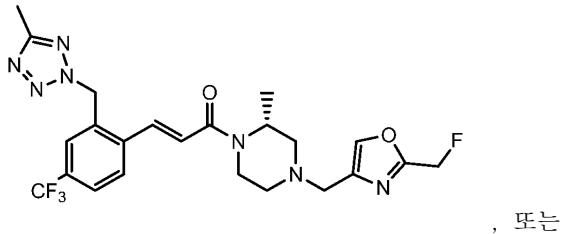
청구항 8

제1항에 있어서, "1"로 넘버링된 탄소 원자가 ¹¹C, ¹²C 또는 ¹⁴C로부터 선택된 것인 화합물.

청구항 9

제1항에 있어서, 하기로부터 선택된 화합물, 및/또는 그의 제약상 허용되는 염.



**청구항 10**

제9항에 있어서, ^3H , ^{18}F , ^{11}C 또는 ^{14}C 로부터 선택된 적어도 하나의 원자를 포함하는 화합물.

청구항 11

오토타신의 검출을 필요로 하는 것으로 인식되는 대상체에서 오토타신을 검출하는 방법이며, (i) 상기 대상체에게 화학식 I의 방사성표지된 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염을 투여하는 단계; 및 (ii) 생체내 PET 또는 SPECT 영상화에 의해 상기 화합물의 흡수를 검출하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 12

오토타신에 결합하는 리간드의 투여 후에, 대상체에서 미결합된 오토타신의 백분율 또는 백분율에서의 변화를 정량화하기 위한 방법이며,

- (i) 상기 대상체에게 제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 따른 방사성표지된 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염을 투여하는 단계;
- (ii) 생체내 PET 또는 SPECT 영상화에 의해 단계 (i)에서 투여된 상기 방사성표지된 화합물의 흡수를 검출하는 단계;
- (iii) 단계 (i)에서 투여된 화합물이 방사성 붕괴되도록 하기에 적합한 양의 경과 시간을 허용하는 단계;
- (iv) (a) 비-방사성표지된 오토타신 리간드 또는 (b) 오토타신 기질의 내인성 수준에 영향을 미치는 비-방사성 표지된 작용제의 유효량을, 단계 (i)에서 정의된 바와 같은 화학식 I의 방사성표지된 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염의 동시 투여와 함께 투여하는 단계; 및
- (v) 생체내 PET 또는 SPECT 영상화에 의해 단계 (iv)에서 투여된 상기 화학식 I의 화합물의 흡수를 검출하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 13

제12항에 있어서, 단계 (iii)에서 허용된 경과 시간이 방사성 동위원소 반감기의 4 배 초과인 방법.

청구항 14

제12항에 있어서, 단계 (iii)에서 허용된 경과 시간이 방사성 동위원소 반감기의 적어도 6 배인 방법.

청구항 15

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염 중 적어도 하나를 포함하는 조성물.

청구항 16

제15항에 있어서, PET 영상화에서의 사용에 적합한 조성물.

발명의 설명

발명의 내용

[0001]

본 출원은 신규 화합물, 특히 신규 방사성 화합물, 이러한 화합물의 염, 그의 제조법, 및 영상화 기술을 위한 방사성추적자/마커로서의 이러한 신규 방사성 화합물의 사용 및 효소 오토타신에 의해 매개되고/되거나 그에 관련된 질환 또는 장애, 예컨대 섬유생성, 소양증, 간경변증, 암, 신경병증성 통증 및 신장 질환의 분야에서의 진단 도구에 관한 것이다.

[0002]

오토타신 (ATX) (엑토뉴클레오티드 피로포스파타제/포스포디에스테라제 (ENPP2)로도 공지됨)은, 리소포스포리파제 D 활성을 갖는 것으로 공지된 분비된 외효소이고 (Umezawa-Goto et al., 2002), 리소포스파티딜콜린 (LPC)의 가수분해에 의한 생물활성 지질 매개체 리소포스파티드산 (LPA)의 생성을 담당한다 (Tokumura et al., 2002). LPA는 다수의 생리-병리학적 질환, 예컨대 암 (Liu et al., 2009; Mills & Moolenaar, 2003), 신경병증성 통증 (Inoue et al., 2004) 및 섬유증 (Tager et al., 2008)의 발병기전에 고도로 관련된다. LPA의 생성 후에, 지질은 7종의 공지된 이소형이 존재하는 특이적 G 단백질-커플링된 수용체에 결합한다 (Noguchi et al., 2009). LPA의 결합은 다중 신호전달 경로 (Mills & Moolenaar, 2003), 예컨대 세포 이동 (van Dijk et al., 1998), 증식 및 생존 (Brindley, 2004)을 활성화시킨다. 다른 세포성 반응은 평활근 수축, 아폽토시스 및 혈소판 응집을 포함한다 (Tigyi & Parrill, 2003).

[0003]

ATX는 원래 인간 A2058 흑색종 세포로부터 단리 후에 세포 운동-자극 인자로서 확인되었다 (Stracke et al., 1992). 효소에 대한 후속 연구는 많은 암 유형, 예컨대 유방암 및 신암 (Stassar et al., 2001), 호지킨 림프종 (Baumforth et al., 2005), 여포성 림프종 (Masuda et al., 2008), 뿐만 아니라 폐 및 신장의 섬유증 (Hama et al., 2004)에서의 그의 이상 발현으로 인해 운동 인자로서의 그의 역할에 대해 초점을 맞추었다. ATX는 발견 10년 후에 분비된 리소포스포리파제 (리소PLD)로서 특성화되었다 (Tokumura et al., 2002; Gesta et al., 2002). 그 아래로 ATX 유전자 녹아웃 마우스는 ATX-LPA 신호전달 축이 심혈관계 및 신경계의 배아 발달 동안 중요한 역할을 하여 (Tanaka et al., 2006; van Meeteren et al., 2006), 조기 배아 치사를 초래하는 것 (Bachner et al., 1999)으로 나타났다.

[0004]

ATX는 유전자 ENPP에 의해 코딩되는, 뉴클레오티드 피로포스파타제/포스포디에스테라제 (NPP)로 칭해지는 단백질의 패밀리에 속한다. 패밀리는 그의 발견에 따라 번호가 매겨진, 척추동물 내에서 보존되는 7종의 구조적으로 관련된 효소 (ENPP 1-7)로 이루어진다. 이들은 처음에, ENPP2 및 콜린 포스페이트 에스테르 (ENPP6 & 7)가 다른 세포외 비-뉴클레오티드 분자에 대한 특이적 활성을 갖지만, 시험관내에서 다양한 뉴클레오티드 및 뉴클레오티드 유도체의 피로포스페이트 또는 포스포디에스테르 결합을 가수분해하는 그의 능력에 의해 정의되었다 (Stefan et al., 1999; Goding et al., 1998; Gijsbers et al., 2001). ENPP2 (ATX)는 유일한 분비된 단백질 이므로 패밀리 내에서 특유한 반면에, 다른 ENPP 부재는 막횡단 단백질이다 (Stefan et al., 2005).

[0005]

비침습적 핵 영상화 기술을 사용하여 살아있는 대상체, 예컨대 실험 동물, 환자 및 지원자의 생리학적 및 생화학적 기초 및 진단 정보를 수득할 수 있다. 이들 기술은 살아있는 대상체에 투여된 방사성추적자로부터 방출되는 방사선을 검출할 수 있는 영상화 기기의 사용에 의존한다. 수득된 정보는 시간의 함수로서의 방사성추적자의 분포 및/또는 농도를 보여주는 평면 및 단층촬영 영상을 제공하도록 재구성될 수 있다.

[0006]

양전자 방출 단층촬영 (PET)은 모든 핵 의학 영상화 양식의 최고 공간 및 시간 해상도를 제공하고 조직 중 추적자 농도의 참 정량화를 허용할 수 있다는 추가적인 장점을 갖는 비침습적 영상화 기술이다. 기술은 살아있는 조직 중에 다양한 과정의 생리학 또는 생화학에 관한 파라미터의 측정을 허용하는 생체내 특성을 갖도록 설계된 양전자 방출 방사성핵종으로 표지된 방사성추적자의 사용을 수반한다.

[0007]

양전자 방출 단층촬영 (PET)은 신체 중에 기능적 과정의 3-차원 영상을 제조하는 핵 의학, 기능적 영상화 기술이다. 시스템은 신체 내로 생물학적 활성 분자 상에 도입되는, 양전자 방출 방사성핵종 (추적자)에 의해 간접적으로 방출된 감마선의 쌍들을 검출한다. 이어서, 신체 내 추적자 농도의 3-차원 영상이 컴퓨터 분석에 의해 구축된다. 현대의 PET-CT 스캐너에서, 3-차원 영상화는 종종, 동일 기계에서, 동일 세션 동안 환자에 대해 수행되는 CT X-선 스캔의 보조 하에 달성된다.

[0008]

PET 스캐닝에 사용된 방사성핵종은 전형적으로 짧은 반감기, 예컨대 탄소-11 (~20 분), 질소-13 (~10 분), 산소-15 (~2 분), 플루오린-18 (~110 분), 또는 루비듐-82 (~1.27 분)을 갖는 동위원소이다. 이들 방사성핵종은 신

체에 의해 통상적으로 사용되는 화합물, 예컨대 글루코스 (또는 글루코스 유사체), 물, 또는 암모니아나, 또는 약물 작용의 수용체 또는 다른 부위에 결합하는 분자에 통합된다. 이와 같이 표지된 화합물은 방사성추적자로서 공지되어 있다. PET 기술은 해당 화합물이 PET 동위원소로 방사성표지될 수 있다면, 살아있는 인간 (및 또한 많은 다른 종)에서 임의의 화합물의 생물학적 경로를 추적하는데 사용될 수 있다. 따라서, PET에 의해 프로빙될 수 있는 특정 과정은 실질적으로 무한하다.

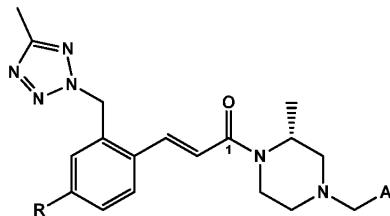
[0009] 대부분의 양전자 방출 방사성동위원소의 짧은 반감기 때문에, 방사성추적자는 전통적으로 PET 영상화 시설에 가까이 근접한 사이클로트론을 사용하여 제조되어 왔다. 플루오린-18의 반감기는 플루오린-18로 표지된 방사성추적자를 오프사이트 위치에서 상업적으로 제조하고 영상화 센터로 운송할 수 있을 정도로 충분히 길다.

[0010] 단일-광자 방출 컴퓨터 단층촬영 (SPECT)은 PET와 유사한 핵 의학 영상화 기술이다. 이는 또한 방사성 표지된 추적자를 사용하고 감마선의 검출을 기초로 한다. PET와는 대조적으로, SPECT에서 사용되는 방사성 표지, 예를 들어 ¹²³I는 직접 측정되는 감마 방사선을 방출한다. 본 발명자들은 특정 방사성-표지된 화합물이 자가방사선촬영 기술 또는 분자 영상화 양식, 예컨대 PET 또는 SPECT를 사용하여 시험관내 및 생체내에서 오토탁신을 프로빙하기 위해 사용될 수 있다는 것을 밝혀내었다. 본원에 기재된 화합물은 전자, 양전자 또는 감마 방출 방사성동위원소, 예컨대 상기 기재된 것들, 예컨대 ³H, ¹³N, ¹¹C, ¹⁴C, ¹⁸F, ¹²³I, ¹²⁴I, ¹²⁵I 및/또는 ¹³¹I를 포함하나 이에 제한되지는 않는 것들로 표지될 수 있다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0011] 제1 측면에서, 본 출원은 화학식 I의 화합물 및/또는 그의 제약상 허용되는 염을 제공한다.

[0012] <화학식 I>



[0013]

[0014] 여기서 R은 할로겐, -CF₃, -OCF₃, -OCH₃, -CH₃ 또는 CN이고;

[0015]

A는 할로-(C₁₋₆-알킬), 할로-(C₁₋₃-알킬)옥시(C₂₋₄-알킬) 또는 할로-(C₁₋₃-알킬)옥시(C₂₋₄-알킬)로부터 선택된 적어도 하나의 치환기로 치환된 피리디닐 또는 옥사졸릴 기이다.

[0016]

또 다른 측면에서, 본 출원은 임의로 ³H를 함유하는 화학식 I의 화합물을 제공한다.

[0017]

또 다른 측면에서, 본 출원은 화학식 I의 화합물을 제공하며, 여기서 R은 -CF₃ 또는 -OCF₃이고 여기서 이들 기는 각각 임의로 적어도 하나의 ¹⁸F를 함유할 수 있다.

[0018]

또 다른 측면에서, 본 출원은 화학식 I의 화합물을 제공하며, 여기서 "할로" 또는 "할로겐"은 F, Br, Cl, 또는 I로부터 선택된 모이어티이다. 또 다른 측면에서, 할로 또는 할로겐은 ¹⁸F, ¹⁹F, ¹²³I, ¹²⁴I, ¹²⁵I 또는 ¹³¹I로부터 선택된다.

[0019]

추가 측면에서, 본 출원은 화학식 I의 화합물을 제공하며, 여기서 "I"로 넘버링된 탄소 원자는 ¹¹C, ¹²C 또는 ¹⁴C로부터 선택된다.

[0020]

본원에 개시된 화합물은 오토탁신 억제제이다. 그들의 비-방사성 형태 (즉, 단지 ¹²C, ¹⁹F 또는 ¹²⁷I를 함유하는 경우)로서, 이를 화합물은 오토탁신이 수반되는 질환의 치료제로서 사용될 수 있다. 그들의 방사성표지된 형태로서, 본 발명의 화합물은 영상화 또는 방사선치료를 위해 진단제로서 사용될 수 있다. 보다 구체적으로, 그들의 ³H-, ¹¹C-, ¹⁴C-, ¹⁸F-, ¹²³I-, ¹²⁴I-, ¹²⁵I- 또는 ¹³¹I- 방사성표지된 형태로서, 본원에 기재된 화합물은 진단 또는 영상화를 위해, 또는 방사선치료제로서 사용될 수 있다. 특히, ³H- 및 ¹⁴C-방사성표지된 유도체는 시험관내

및 생체외 방사성리간드 결합 검정 또는 자가방사선촬영을 위해 사용될 수 있다. ^{11}C - ^{18}F - ^{123}I - 및 ^{124}I - 방사성표지된 유도체는 추가적으로 SPECT (단일 광자 방출 컴퓨터 단층촬영) 또는 PET (양전자 방출 단층촬영)를 사용하는 생체내 영상화, 예를 들어 오토타신 단백질 농도를 영상화하거나, 또는 오토타신에 결합하는 분자에 의한 결합 부위의 점유율을 측정하기에 적합할 수 있다. ^{131}I - 방사성표지된 유도체는 영상화제 및 방사선치료, 예를 들어 오토타신 발현 종양의 치료에 적합할 수 있다.

[0021] 방사성표지된 오토타신 리간드의 적용은 조직에서 오토타신 단백질 농도를 정량화하거나, 질환 진행을 병기결정 또는 모니터링하거나, 또는 오토타신 단백질 발현에 대한 치유적 치료의 효과를 측정하는 임상 연구 (예를 들어, Hepatology 2012 56(4):1391-400 for the link between ATX expression and pruritus of cholestasis 참조)를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 방사성표지된 오토타신 리간드는 또한 오토타신에 결합하는 약물의 수용체 점유율을 결정하기 위해, 뿐만 아니라 오토타신-발현 세포와 연관된 종양, 예를 들어, 인간 간세포성 암종(예를 들어, Molecular Cancer 2010, 9:71 참조)을 영상화하기 위해 생체외 또는 생체내에서 사용될 수 있다.

[0022] 상기에 따라, 본 출원은 암 영상화를 위한 마커 또는 방사선요법제로서의 사용을 위한 작용제, 또는 요법 및 오토타신이 수반되는 질환, 예를 들어 담즙정체의 소양증, 간경변증, 당뇨병, 신장 질환, 통증, 기관 섬유증, 예를 들어 특발성 폐 섬유증을 모니터링 하기 위해 사용되는 작용제를 제공한다.

[0023] 또 다른 측면에 따르면, 오토타신의 검출을 필요로 하는 것으로 인식되는 대상체에서 (i) 상기 대상체에게 본원 임의의 부분에 기재된 바와 같은 화학식 I의 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염을 투여하는 단계; 및 (ii) 생체내 PET 또는 SPECT 영상화에 의해 상기 화합물의 흡수를 검출하는 단계를 포함하는, 오토타신을 검출하는 방법이 제공된다. 방법은 오토타신이 수반된 장애의 진단 및 임상 연구에 유용성을 갖는 정보와 데이터를 제공 할 것으로 여겨진다. 한 실시 양태에서, 대상체는 포유동물, 가장 적합하게는 오토타신이 수반되는 장애를 가지고 있거나 또는 갖는 것으로 의심되는 인간이다. 방법은 질환의 진행을 진단하거나 또는 추적하도록 오토타신의 양 또는 양에서의 변화, 또는 오토타신의 밀도 또는 밀도에서의 변화가 결정될 수 있도록 정량적으로 수행 될 수 있다. 대안적으로, 방법은 생체내에서 오토타신을 배치시키는데 사용될 수 있다.

[0024] 또 다른 추가 측면에서, 오토타신에 결합하는 리간드의 투여 후에, 대상체에서 미결합된 오토타신의 백분율 또는 백분율에서의 변화를 정량화하기 위한 방법이 제공되며, 이는

[0025] (i) 상기 대상체에게 상기 정의된 바와 같은 화학식 I의 방사성표지된 화합물 또는 그의 염 또는 용매화물을 투여하는 단계;

[0026] (ii) 생체내 PET 또는 SPECT 영상화에 의해 단계 (i)에서 투여된 상기 화학식 I의 방사성표지된 화합물의 흡수를 검출하는 단계;

[0027] (iii) 단계 (i)에서 투여된 화합물이 방사성 붕괴되도록 하기에 적합한 양의 경과 시간을 허용하는 단계; 이어서 (iv) (a) 비-방사성표지된 오토타신 리간드 또는 (b) 오토타신 기질의 내인성 수준에 영향을 미치는 비-방사성표지된 작용제의 유효량을, 단계 (i)에서 정의된 바와 같은 화학식 I의 방사성표지된 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염의 동시 투여와 함께 투여하는 단계; (v) 생체내 PET 또는 SPECT 영상화에 의해 단계 (iv)에서 투여된 상기 화학식 I의 화합물의 흡수를 검출하는 단계를 포함한다.

[0028] 단계 (iii)에서 허용된 경과 시간은 적합하게는 방사성 동위원소 반감기의 4 배 초과, 보다 적합하게는 방사성 동위원소 반감기의 적어도 6 배이며, 보다 적합하게는 단계 (i)에서 투여된 화학식 I의 방사성표지된 화합물로부터의 PET 또는 SPECT 신호가 더 이상 검출가능하지 않도록 하는 것이다.

[0029] 추가 측면에서, 다음을 포함하는, 오토타신의 검출을 필요로 하는 것으로 인식되는 대상체에서 오토타신을 검출하는 방법이 제공된다. (i) 상기 대상체에게 본 출원의 임의의 부분에 기재된 바와 같은 화학식 I의 방사성표지된 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염을 투여하는 단계;

[0030] (ii) 생체내 PET 또는 SPECT 영상화에 의해 단계 (i)에서 투여된 상기 화학식 I의 방사성표지된 화합물의 흡수를 검출하는 단계;

[0031] (iii) (a) 비-방사성표지된 오토타신 리간드 또는 (b) 오토타신 기질의 내인성 수준에 영향을 미치는 비-방사성 표지된 작용제의 유효량을 투여하는 단계; 및

[0032] (iv) 생체내 PET 또는 SPECT 영상화에 의해 단계 (i)에서 투여된 상기 화학식 I의 화합물의 흡수를 검출하는 단

계.

[0033] PET 또는 SPECT 영상화 실험은 나이브 또는 사전치료된 동물 또는 인간 대상체에게 추적자 주사 (예를 들어, 적합하게 표지된 화학식 I의 화합물) 후에, 방사능 분포의 3-차원 영상을 제공할 것이다.

[0034] 간략하게는, PET 또는 SPECT 영상화 (예를 들어, ^{11}C , ^{18}F 또는 ^{123}I)에 적합한 방사성동위원소로 표지한 후에, 본 발명의 화합물은 나이브 또는 사전치료된 동물 또는 인간 대상체의 혈액 순환 내로 주사될 것이다. 분자에 신체에서 분배되는 것을 허용하는 임의의 대기 기간 후에, 대상체는 PET 또는 SPECT 스캐너에 배치될 것이고, 방사능 분포의 영상은 충분한 수의 블록 사건을 기록한 후에 재구성될 것이다. 해석을 돋기 위해, 자기 공명 영상화 또는 컴퓨터 단층촬영 X선 스캔이 PET 또는 SPECT 스캔과 병행하여 수행될 수 있다. 표적 발현을 측정하기 위해서는 (예를 들어, 오토타신이 수반된 질환을 연구하거나 또는 오토타신-발현 종양을 검출하기 위해서는), 방사성표지된 화합물은 요법의 사전치료 없이 주사될 수 있다. 오토타신에 결합하는 약물에 의한 오토타신 점유율을 측정하거나 또는 오토타신 발현에 대한 요법의 효과를 측정하기 위해서는, 방사성표지된 화합물은 약물 치료 후에 또는 요법 후에 주사될 수 있고 기준선, 즉 요법의 약물 처리 전에 관찰된 방사능 신호와 비교할 것이다.

[0035] 또한, 화학식 I의 표지된 화합물로부터 유도된 방사능의 분포는 생체외 또는 시험관내의 자가방사선촬영에 의해 측정될 수 있다. 일반적 예로서, 동물은 화학식 I의 방사성표지된 화합물 (약물 또는 요법에 의한 사전치료의 존재 또는 부재 하에)로 주사되고 후속적으로 희생된다. 전체 관심 동물 또는 기관은 이어서 동결 또는 포매, 절편화되고, 방사선촬영 필름 또는 영상화 플레이트에 대한 절편의 적용, 예를 들어 광자극가능한 인광체 플레이트를 사용하고 인광체 이미저로 영상을 생성하는 것 후에 영상이 제조된다.

[0036] 실시예

[0037] 하기 실시예는 본 발명을 예시하도록 의도되며, 그에 대한 제한으로서 해석되어서는 안 된다.

[0038] 일반적 조건:

[0039] 질량 스펙트럼은 하기 구성의 기기의 범위로부터의 전기분무, 화학적 및 전자 충격 이온화 방법을 사용하는 LC-MS, SFC-MS, 또는 GC-MS 시스템 상에서 획득하였다: 애질런트(Agilent) 6110 질량 분광계를 갖는 애질런트 1100 HPLC 시스템. $[\text{M}+\text{H}]^+$ 는 화학 종의 양성자화 분자 이온을 지칭한다.

[0040] NMR 스펙트럼은 탑스핀(TopSpin) 프로그램 제어 하에, 아이콘(ICON)-NMR을 사용하는 브루커 아반스(Bruker AVANCE) 400MHz 또는 500MHz 또는 600MHz NMR 분광계 상에서 획득하였다. 스펙트럼은 달리 나타내지 않는 한 298K에서 측정하였고, 용매 공명에 대해 참조하였다.

[0041] 기기

[0042] MS 방법: 애질런트 6110 질량 분광계를 갖는 애질런트 1100 HPLC 시스템

[0043] 2minLowpHv03:

[0044] 칼럼: 워터스 액큐티(Waters Acquity) CSH 1.7 μm , 2.1 x 50mm

[0045] 온도: 50°C

[0046] 이동상: A: 물 +0.1% 포름산 B: 아세토니트릴 +0.1% 포름산

[0047] 유량: 1.0mL/분

[0048] 구배: 0.0분 5%B, 0.2-1.8분 5-98%B, 1.8-2.1분 98%B, 2.1-2.3분 98%B

[0049] 2minLowpHv01:

[0050] 칼럼: 워터스 액큐티 CSH 1.7 μm , 2.1 x 50mm

[0051] 온도: 50°C

[0052] 이동상: A: 물 +0.1% 포름산 B: 아세토니트릴 +0.1% 포름산

[0053] 유량: 1.0mL/분

[0054] *구배: 0.0분 5%B, 0.2-1.55분 5-98%B, 1.55-1.75분 98%B, 1.75-1.8분 98-5%B

- [0055] 2minLowpH:
- [0056] 칼럼: 워터스 액큐티 CSH 1.7 μ m, 2.1 x 50mm
- [0057] 온도: 50°C
- [0058] 이동상: A: 물 +0.1% 포름산 B: 아세토니트릴 +0.1% 포름산
- [0059] 유량: 1.0mL/분
- [0060] 구배: 0.0분 5%B, 0.2-1.3분 5-98%B, 1.3-1.55분 98%B, 1.55-1.6분 98-5%B
- [0061] 10minLowpH:
- [0062] 칼럼: 워터스 액큐티 CSH 1.7 μ m, 2.1 x 100mm
- [0063] 온도: 50°C
- [0064] 이동상: A: 물 +0.1% 포름산 B: 아세토니트릴 +0.1% 포름산
- [0065] 유량: 0.7mL/분
- [0066] 구배: 0.0분 2%B, 0.5-8.0분 2-98%B, 8.0-9.0분 98%B, 9.0-9.1분 98-2%B
- [0067] 2minHighpHv03:
- [0068] 칼럼: 워터스 액큐티 CSH 1.7 μ m, 2.1 x 50mm
- [0069] 온도: 50°C
- [0070] 이동상 : A : 물 +0.1% 암모니아 B: 아세토니트릴 +0.1% 암모니아
- [0071] 유량: 1.0mL/분
- [0072] 구배: 0.0분 5%B, 0.2-1.8분 5-98%B, 1.8-2.1분 98%B, 2.1-2.3분 98-5%B
- [0073] 2 분 최종 분석:
- [0074] 칼럼: 워터스 액큐티 HSS 1.8 μ m, 2.1 x 50mm
- [0075] 온도: 60°C
- [0076] 이동상: A: 물 + 0.05% 포름산 B : 아세토니트릴 +0.04% 포름산
- [0077] 유량: 1mL/분
- [0078] 구배 : 1.4분 내 5에서 98% B
- [0079] 분석용 HPLC:
- [0080] 칼럼 : 조르박스(Zorbax) XDB - C18 5 μ , 150 x 4.6mm
- [0081] 온도: 40°C
- [0082] 이동상 : A : 물 +0.01% TFA B: 아세토니트릴/MeOH (1:1)
- [0083] 유량: 1mL/분
- [0084] 구배: 5분 내 5에서 95% B
- [0085] 약어
- [0086] BOC 3급 부틸 카르복시
- [0087] br 넓음
- [0088] d 이중선
- [0089] dd 이중선의 이중선
- [0090] DCM 디클로로메탄

- [0091] DIPEA 디에틸이소프로필아민
- [0092] DMA N,N-디메틸포름아미드
- [0093] DME 1,4-디메톡시에탄
- [0094] DMF N,N-디메틸포름아미드
- [0095] DMSO 디메틸су록시드
- [0096] EtOAc 에틸 아세테이트
- [0097] h 시간
- [0098] HPLC 고압 액체 크로마토그래피
- [0099] LCMS 액체 크로마토그래피 및 질량 분광측정법
- [0100] MeOH 메탄올
- [0101] MS 질량 분광측정법
- [0102] m 또는 mult 다중선
- [0103] mg 밀리그램
- [0104] min 분
- [0105] mL 밀리리터
- [0106] mmol 밀리몰
- [0107] MTBE 메틸 3급-부틸 에테르
- [0108] m/z 질량 대 전하 비
- [0109] NMR 핵 자기 공명
- [0110] ppm 백만분율
- [0111] rac 라세미
- [0112] Rt 체류 시간
- [0113] s 단일선
- [0114] t 삼중선
- [0115] TBME 메틸 tert-부틸 에테르
- [0116] TFA 트리플루오로아세트산
- [0117] THF 테트라히드로푸란
- [0118] 중간체의 제조
- [0119] 중간체 A
- [0120] (R,E)-3-(4-클로로-2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)페닐)-1-(2-메틸페페라진-1-일)프로프-2-엔-1-온
- [0121]
-
- [0122] 단계 1: 2-(2-브로모-5-클로로벤질)-5-메틸-2H-테트라졸
- [0123] 5-메틸-2H-테트라졸 (77 g, 913 mmol)을 빙조를 사용하여 0°C에서 건조 DMF (400 mL)가 들어있는 플라스크에 넣

었다. 탄산칼륨 (168 g, 1217 mmol)을 조금씩 첨가하고 이어서 DMF (400 mL) 중 1-브로모-2-(브로모메틸)-4-클로로벤젠 (173 g, 608 mmol)을 조금씩 적가하였다. 생성된 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 물에 끓고, 생성된 혼탁액을 여과에 의해 수집하였다. 고체를 이소-헥산으로 연화처리하고, 미용해 고체를 여과에 의해 제거하였다. 여과물을 감압 하에 농축시켜 백색 고체를 수득하였으며, 이를 물 중에 혼탁시키고, 밤새 교반하였다. 생성물을 여과하고, 물로 세척하여 표제 화합물을 수득하였다.

[0124] LCMS: Rt 1.15 분; MS m/z 289.0 [M+H]+; 2minLowpHv01

[0125] 단계 2: (E)-에틸 3-(4-클로로-2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)페닐)아크릴레이트

[0126] 2-(2-브로모-5-클로로벤질)-5-메틸-2H-테트라졸 (15 g, 52.2 mmol), 트리-o-톨릴포스핀 (0.794 g, 2.61 mmol) 및 트리에틸아민 (10.56 g, 104 mmol)을 전조, 탈기된 DMF (80 mL)가 들어있는 플라스크에 넣었다. 에틸 아크릴레이트 (7.83 g, 78 mmol)에 이어서 팔라듐 디아세테이트 (0.586 g, 2.61 mmol)를 첨가하고, 반응 혼합물을 100°C에서 밤새 교반하였다. 혼합물을 냉각되도록 허용하고, EtOAc (150 mL)으로 희석하고 고체를 제거하기 위해 여과하였다. 반응 혼합물을 EtOAc 및 물 사이에 분배하였다. 유기 상을 물 및 염수로 세척하고, MgSO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 용매를 진공중에서 제거하였다. 용매의 ~75%가 제거되었을 때, 고체가 침전되었으며, 이를 여과에 의해 수집하고, 건조시켜 표제 화합물을 백색 고체로서 수득하였다.

[0127] ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 7.92 (¹H, d), 7.89 (¹H, d), 7.59 (¹H, d), 7.51 (¹H, d의 d), 6.59 (¹H, d), 6.09 (²H, s), 4.20 (²H, q), 2.41 (³H, s), 1.26 (³H, t)

[0128] 단계 3: (E)-3-(4-클로로-2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)페닐)아크릴산

[0129] (E)-에틸 3-(4-클로로-2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)페닐)아크릴레이트 (8.75g, 28.5mmol)를 EtOH (100mL)이 들어 있는 플라스크에 넣었다. 2M NaOH (57.1mL, 114mmol)를 첨가하고 반응 혼합물은 실온에서 밤새 교반하였다. 에탄올을 진공 하에 제거하고, 반응 혼합물을 2M 수성 HCl로 산성화시켰다. 생성된 침전물을 여과에 의해 수집하고, 물로 세척하고, 건조시켜 표제 화합물을 백색 고체로서 수득하였다.

[0130] LCMS: Rt 0.99 분; MS m/z 279.2 [M+H]+; 방법 2minLowpHv01

[0131] 단계 4: (R,E)-tert-부틸 4-(3-(4-클로로-2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)페닐)아크릴로일)-3-메틸피페라진-1-카르복실레이트

[0132] NMP (15 mL) 중 (E)-3-(4-클로로-2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)페닐)아크릴산 (1.29 g, 4.63 mmol)에 HATU (2.112 g, 5.55 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 5분 동안 교반하였다. (R)-tert-부틸 3-메틸피페라진-1-카르복실레이트 (0.927 g, 4.63 mmol)에 이어서 DIPEA (1.617 mL, 9.26 mmol)를 첨가하고, 반응물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 물에 끓고, EtOAc로 추출하였다. 유기부를 물, 포화 수성 중탄산나트륨, 물, 염수로 세척하였고 상 분리기 상에서 건조시켰다. 용매를 감압 하에 제거하였다. 조 생성물을 이소-헥산 중 0 - 100% EtOAc의 구배를 사용하여 실리카 상에서 크로마토그래피에 의해 정제함으로써 표제 화합물을 수득하였다.

[0133] LC-MS: Rt = 1.23 분; [M+H]+ 461.3, 방법 2minLowpH.

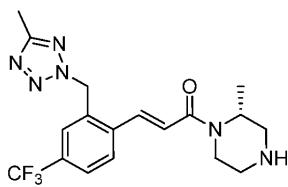
[0134] 단계 5: (R,E)-3-(4-클로로-2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)페닐)-1-(2-메틸피페라진-1-일)프로프-2-엔-1-온

[0135] DCM (22 mL) 중 (R,E)-tert-부틸 4-(3-(4-클로로-2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)페닐)아크릴로일)-3-메틸피페라진-1-카르복실레이트 (2.1g, 4.56 mmol)에 TFA (4.21 mL, 54.7 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 4시간 동안 교반하였다. 용매를 감압 하에 제거하였다. 생성된 잔류물을 MeOH에 이어서 MeOH 중 2M NH₃으로 용리하는 이솔루트® SCX-2 카트리지 상에 로딩하였다. 여액을 감압 하에 농축시켜 표제 화합물을 수득하였다.

[0136] LC-MS: Rt =2.40 분; [M+H]+ = 361.6, 방법 10minLowpH.

[0137] 중간체 B

[0138] (R,E)-3-(2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)-4-(트리플루오로메틸)페닐)-1-(2-메틸피페라진-1-일)프로프-2-엔-1-온



[0139]

단계 1: 2-(2-브로모-5-(트리플루오로메틸)벤질)-5-메틸-2H-테트라졸

[0141]

N_2 하에 $10^{\circ}C$ 에서 DMF (154 mL) 중 5-메틸-2H-테트라졸 (19.44 g, 231 mmol)의 교반 용액에 K_2CO_3 (42.6 g, 308 mmol)을 첨가하였다. 생성된 혼탁액을 -2° (얼음 염 조)로 냉각시키고, DMF (66 mL) 중 1-브로모-2-(브로모 메틸)-4-(트리플루오로메틸)벤젠 (49 g, 154 mmol)의 용액을 내부 온도가 $5^{\circ}C$ 미만이도록 유지하면서 30분에 걸쳐 적가하였다. 첨가 완료 시에, 혼합물을 실온으로 가온되도록 하고, 생성된 백색 혼탁액을 밤새 교반하였다. 물 (400 mL)을 혼합물에 천천히 첨가한 다음, 이어서 이를 EtOAc (2×500 mL)로 추출하였다. 합한 유기 추출물을 염수 (500 mL)로 세척하고, 건조 ($MgSO_4$)하고, 진공 하에 농축시켜 무색 오일을 수득하였다. 이소-헥산 (150 mL)을 첨가하고, 생성된 슬러리를 여과하고, 고체를 이소-헥산 (2×50 mL)으로 세척하였다. 여과물을 진공 하에 농축시켜 무색 오일을 수득하였다. 실리카 상에서 크로마토그래피에 의해 이소-헥산 중 0-50% EtOAc로 용리시키면서 정제하여 표제 화합물을 수득하였다.

[0142] LCMS: Rt 1.30 분; MS m/z 321.3 [M+H]+; 방법 2minLowpHv03

[0143] 단계 2: (E)-에틸-3-(2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)-4-(트리플루오로메틸)페닐)아크릴레이트

DMF (76 mL) 중 2-(2-브로모-5-(트리플루오로메틸)벤질)-5-메틸-2H-테트라졸 (17 g, 52.9 mmol)의 교반 용액에 트리-o-톨릴포스핀 (0.806 g, 2.65 mmol) 및 트리에틸아민 (14.76 mL, 106 mmol)을 첨가하였다. 용액을 20분 동안 N_2 를 베블링시켜 탈기시켰다. $Pd(OAc)_2$ (0.594 g, 2.65 mmol) 및 에틸 아크릴레이트 (8.66 mL, 79 mmol)를 첨가하고, 반응 혼합물을 N_2 하에 $90^{\circ}C$ 로 가열하였다. 실온으로 냉각시킨 후에, 혼합물을 물 (150 mL) 및 EtOAc (250 mL) 사이에 분배하였다. 상을 분리하고, 수성 상을 추가의 EtOAc (250 mL)로 추출하였다. 합한 유기 층을 염수 (2×250 mL)로 세척하고, 건조 ($MgSO_4$)하고, 진공 하에 농축시켜 표제 화합물을 오렌지색 오일로서 수득하였다.

[0145] LCMS: Rt 1.36 분; MS m/z 341.5 [M+H]+; 방법 2minLowpHv03

[0146] 단계 3: (E)-3-(2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)-4-(트리플루오로메틸)페닐)아크릴산

EtOH (212 mL) 중 조 (E)-에틸 3-(2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)-4-(트리플루오로메틸)페닐)아크릴레이트 (18.02 g, 추정 53.0 mmol)의 교반 용액에 2M 수성 NaOH (79 mL, 159 mmol)를 천천히 첨가하였다. 생성된 오렌지색 용액을 실온에서 밤새 교반시켰다. 생성된 혼합물을 100 mL의 부피로 진공 하에 농축시키고, 이어서 여과하였다. 5M HCl (38 mL)을 천천히 첨가하여 pH를 2로 조정하였으며, 이때 고체가 용액 밖으로 결정화되기 시작하였다. 혼합물은 완전 결정화를 허용하도록 2 시간 동안 실온에 교반하였다. 생성된 슬러리를 여과하고, 필터 케이크를 50% 수성 EtOH (2×20 mL)로 세척하였다. 고체를 진공 하에 $40^{\circ}C$ 에서 밤새 건조시켜 표제 화합물을 수득하였다.

[0148] LCMS: Rt 1.14 분; MS m/z 313.4[M+H]+; 방법 2minLowpHv03

[0149] 단계 4: (R,E)-tert-부틸 3-메틸-4-(3-(2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)-4-(트리플루오로메틸)페닐)아크릴로일)피페라진-1-카르복실레이트

에틸 아세테이트 (4.5 mL, 7.7 mmol) 중 T3P® 50%를 (E)-3-(4-(디플루오로메틸)-2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)페닐)아크릴산 (2 g, 6.41 mmol), (R)-tert-부틸 3-메틸피페라진-1-카르복실레이트 (2.0 g, 6.4 mmol) 및 DCM (20 mL) 중 TEA (3.6 mL, 25.6 mmol)의 용액에 첨가하였고 생성된 혼합물을 실온에서 1 시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 포화 수성 중탄산나트륨 (100 mL)으로 회석하였다. 수용액을 에틸 아세테이트 (3×100 mL)로 추출하였다. 합한 유기 용액을 물 (50 mL), 염수 (50 mL)로 세척하고, 황산나트륨 상에서 건조하고, 여과하고, 진공 하에서 농축시켰다. 정제는 에틸 아세테이트에 이소-헥산의 구배로 용리하는 실리카 젤 칼럼 크로마토그래피에 의해 수행되었다. 생성물 분획을 합하고 진공 하에 농축시켜 백색 고체를 수득하였다.

- [0151] LC MS: Rt 1.39 분; [M+H]⁺ 395.3, 방법 2minLowpHv03
- [0152] 단계 5: (R,E)-3-(2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)-4-(트리플루오로메틸)페닐)-1-(2-메틸파페라진-1-일)프로프-2-엔-1-온
- [0153] TFA (10 mL)를 DCM (10 mL) 중 (R,E)-tert-부틸 2-(3-메틸-4-(3-(2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)-4-(트리플루오로메틸)페닐)아크릴로일)파페라진-1-일)아세테이트 (2.7 g, 5.46 mmol) 용액에 첨가하고, 생성된 혼합물을 1시간 동안 교반하였다. 톨루엔 (100 mL)을 첨가하고, 반응물을 진공 하에 농축시켰다. 생성된 검을 디에틸 에테르 (250 mL) 중에 교반하고, 물 (1 mL)을 첨가하고, 생성된 고체를 여과에 의해 수집하고, 에테르로 세척하고, 진공 하에 건조시켜 표제 화합물을 트리플루오로아세테이트 염으로서 수득하였다.
- [0154] LC MS: Rt 0.74 분; [M+H]⁺ 395.0, 397.5, 방법 2minLowpHv03
- [0155] 중간체 C
- [0156] 5-(2-(2-플루오로에톡시)에톡시)파콜린알데히드
- [0157]
-
- [0158] 단계 1: 2-(2-((6-메틸파리딘-3-일)옥시)에톡시)에탄올
- [0159] DMF (18.6 mL) 중 6-메틸파리딘-3-올 (1.5 g, 13.75 mmol), 디에틸렌 글리콜 모노클로로히드린 (5.83 mL, 55.0 mmol), K₂CO₃ (2.85 g, 20.62 mmol) 및 NaI (0.11 g, 0.76 mmol)의 혼탁액을 아르곤 분위기 하에 16 시간 동안 85°C에서 교반하였다. 반응 혼합물을 RT로 냉각하도록 허용하였고, EtOAc로 회석하였고, 물로 2회 세척하였다. 수성 층을 DCM/i-PrOH (4/1)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 염수로 세척하고, 상 분리기 상에서 건조하고, 농축시켰다. 합한 유기 층을 건조하고 농축시켜 조 생성물을 자주색 오일로서 수득하였고 플래쉬 크로마토그래피 DCM/MeOH (100/0 내지 90/10)에 의해 정제하여 5.0g의 갈색 오일을 수득하였다.
- [0160] LC MS: Rt 0.32 분; [M+H]⁺ 198.1; 2 분 최종 분석
- [0161] 단계 2: 2-(2-((6-메틸파리딘-3-일)옥시)에톡시)에틸 4-메틸벤젠술포네이트
- [0162] CH₂Cl₂ (10 mL) 중 2-(2-((6-메틸파리딘-3-일)옥시)에톡시)에탄올 (2.35 g, 4.05 mmol)의 교반된 용액에 p-톨릴 술포닐 클로라이드 (1.87 g, 9.72 mmol)에 이어서 트리에틸아민 (2.82 mL, 20.26 mmol)을 0°C에서, 아르곤 하에 천천히 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 16시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 CH₂Cl₂ 및 물로 회석 하였다. 유기 층을 염수로 세척하였고, 상 분리기 상에서 건조시켰고 농축시켜 갈색 오일로서 조 생성물을 수득하였고, 플래쉬 크로마토그래피 (시클로헥산/EtOAc, 100/0 내지 0/100)로 정제하여 1.02 g의 목적 생성물을 황색 오일로서 수득하였다.
- [0163] LC MS: Rt 0.85 분; [M+H]⁺ 352.4; 2 분 최종 분석
- [0164] 단계 3: 5-(2-(2-플루오로에톡시)에톡시)-2-메틸파리딘
- [0165] THF (15.7 mL) 중 2-(2-((6-메틸파리딘-3-일)옥시)에톡시)에틸 4-메틸벤zen술포네이트 (1.02 g, 2.48 mmol)의 용액에 TBAF (THF 중 1M) (12.40 mL, 12.40 mmol)를 첨가하였고, 생성된 용액을 30분 동안 65°C에서 교반하였다. 용매를 증발시키고, 잔류물을 EtOAc에 녹이고 물로 세척하였다. 수성 층을 EtOAc로 2회 추출하였다. 합한 유기 층을 염수로 세척하였고, 상 분리기 상에서 건조하고 농축시켜 조 생성물을 갈색 오일로서 수득하였고, 플래쉬 크로마토그래피 (시클로헥산/EtOAc : 100/0 내지 0/100)에 의해 정제하여 표제 화합물을 오렌지색 오일 (465mg)로서 수득하였다.
- [0166] ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 2.41 (s, 3H) 3.64 – 3.72 (m, 1H) 3.76 – 3.83 (m, 3H) 4.16 (dd, J=5.44, 3.73 Hz, 2H) 4.45 – 4.53 (m, 1H) 4.61 – 4.64 (m, 1H) 7.18 (d, J=8.56 Hz, 1H) 7.31 (dd, J=8.50, 3.00 Hz, 1H) 8.17 (d, J=2.93 Hz, 1H)
- [0167] LC MS: Rt 0.44 분; [M+H]⁺ 200.1; 2 분 최종 분석
- [0168] 단계 4: 5-(2-(2-플루오로에톡시)에톡시)-2-메틸파리딘 1-옥시드

- [0169] CHCl₃ (10.6 mL) 중 5-(2-(2-플루오로에톡시)에톡시)-2-메틸피리딘 (465 mg, 2.1 mmol)의 용액에 0°C에서 m-클로로페벤조산 (435 mg, 2.52 mmol)을 첨가하였다. 생성된 혼합물을 0°C에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 Na₂CO₃의 포화 용액에서 켄칭하였고, CH₂Cl₂로 2회 추출하였다. 합한 유기 층을 염수로 세척하고, 상 분리기 상에서 건조하고 농축시켜 562 mg의 조 생성물을 황색 오일로서 수득하였다.
- [0170] LC MS: Rt 0.48 분; [M+H]⁺ 216.1; 2 분 최종 분석
- [0171] 단계 5: (5-(2-(2-플루오로에톡시)에톡시)피리딘-2-일)메틸 아세테이트
- [0172] 아세트산 무수물 (2018 μl, 21.39 mmol)에 80°C에서 5-(2-(2-플루오로에톡시)에톡시)-2-메틸피리딘 1-옥시드 (562 mg, 1.645 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 130°C로 가열하고, 30분 동안 교반하였다. 생성된 혼합물을 냉수에 붓고 이어서 15분 동안 실온에서 교반하였다. 생성물을 EtOAc로 추출하였다. 유기 층을 포화 수성 NaHCO₃ 및 염수로 세척하였다. 수성 층을 EtOAc로 추출하였다. 합한 유기 층을 상 분리기 상에서 건조하고 농축시켜 조 생성물을 갈색 오일로서 수득하였고, 플래쉬 크로마토그래피 (시클로헥산/EtOAc, 100:0 내지 60/40)에 의해 정제하여 표제 화합물 352 mg을 황색 오일로서 수득하였다.
- [0173] LC MS: Rt 0.71 분; [M+H]⁺ 258.1; 2 분 최종 분석
- [0174] 단계 6: (5-(2-(2-플루오로에톡시)에톡시)피리딘-2-일)메탄올
- [0175] EtOH (4.7 mL) 및 물 (0.82 mL) 중 (5-(2-(2-플루오로에톡시)에톡시)피리딘-2-일)메틸 아세테이트 (352 mg, 1.08 mmol)의 용액에 NaOH (86 mg, 2.16 mmol)를 첨가하였다. 생성된 반응 혼합물을 1시간 동안 환류 하에 교반하였다. 용매를 증발시키고 잔류물을 EtOAc로 2회 추출하였다. 합한 유기 층은 상 분리기 상에서 건조하고 농축시켜 282mg의 조 생성물을 오렌지색 오일로서 수득하였다.
- [0176] LC MS: Rt 0.43 분; [M+H]⁺ 216.1; 2 분 최종 분석
- [0177] 단계 7: 5-(2-(2-플루오로에톡시)에톡시)피콜린알데히드
- [0178] CH₂Cl₂ (4.0 mL) 중 (5-(2-(2-플루오로에톡시)에톡시)피리딘-2-일)메탄올 (282 mg, 1.05 mmol)의 용액에 MnO₂ (911 mg, 10.5 mmol)를 첨가하였다. 생성된 반응 혼합물을 실온에서 2일 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 셀라이트로 여과하였고, EtOAc로 3회 세척하였다. 여과물을 증발시켜 185 mg의 조 생성물을 황색 오일로서 수득하였다.
- [0179] LC MS: Rt 0.65 분; [M+H]⁺ 214.0; 2 분 최종 분석
- [0180] 중간체 D
- [0181] 2-(플루오로메틸)옥사졸-4-카르복알데히드
- [0182]
-
- [0183] 단계 1: 메틸 2-(플루오로메틸)옥사졸-4-카르복실레이트
- [0184] CH₃CN (28.5 mL) 중 메틸 2-(클로로메틸)옥사졸-4-카르복실레이트 (1.0 g, 5.70 mmol)의 용액에 TBAF (THF 중 1M) (17.09 mL, 17.09 mmol)를 실온에서 첨가하였다. 생성된 녹색 용액을 실온에서 아르곤 하에 21시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 물에 붓고, EtOAc로 2회 추출하였다. 합한 유기 층을 염수로 세척하고, 상 분리기 상에서 건조하고 농축시켜 조 생성물을 오렌지색 오일로서 수득하였다. 조 생성물은 정제용 HPLC(워터스 선파이어 C180DB, 5 μm, 30 x 100, 용리액 : 20분 내 1% MeCN/99% H₂O에서 30% MeCN/70% H₂O, 0.1%의 TFA를 함유하는 H₂O, 유량 40 mL/분)에 의해 정제하였다. 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, EtOAc로 희석하고 포화 수성 NaHCO₃로 세척하였다. 수성 층을 EtOAc로 추출하였다. 합한 유기 층을 염수로 세척하고, 상 분리기 상에서 건조하고 농축시켜 291 mg의 백색 고체를 수득하였다.
- [0185] ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 3.76 (s, 3 H) 5.43 (s, 1 H) 5.55 (s, 1 H) 8.91 (d, J=1.34 Hz, 1 H)
- [0186] LC MS Rt 0.49 분; [M+H]⁺ 160.0; 2 분 최종 분석

[0187] 단계 2: (2-(플루오로메틸)옥사졸-4-일)메탄올

[0188] THF (3.6 mL) 중 메틸 2-(플루오로메틸)옥사졸-4-카르복실레이트 (291 mg, 1.46 mmol)의 용액에 -78°C에서 아르곤 하에 DIBAL-H (THF 중 1M) (3.22 mL, 3.22 mmol)를 적가하였다. 이어서 반응 혼합물을 -78°C에서 3시간 동안, 실온에서 16시간 동안 교반하였다. UPLC/MS는 잔류하는 출발 물질을 보였고 따라서 반응 혼합물을 -78°C로 냉각하고 DIBAL-H (THF의 1M) (3.22 mL, 3.22 mmol)을 첨가하고 -78°C에서 3시간 동안 교반하였다. 생성된 혼합물을 -78°C에서 CH₂Cl₂로 희석하고, 이어서 MeOH/물/2M 수성 NaOH로 켄칭하고 15분 동안 교반하였다. Na₂SO₄를 실온에서 첨가하였고 혼탁액을 15분 동안 교반하였다. 염을 여과에 의해 제거하고 여과액을 진공 하에 농축하였다. 조 생성물을 플래쉬 크로마토그래피 (CH₂Cl₂/MeOH : 100/0 내지 95/5)에 의해 정제하여 표제 화합물을 황색 오일 (79 mg)로서 수득하였다.

[0189] ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 4.31 – 4.34 (m, 2H) 5.32 (s, 1H) 5.44 (s, 1H) 7.84 – 8.03 (m, 1H)

[0190] LC MS Rt 0.32 분; [M+H]⁺ 132.0; 2 분 최종 분석

[0191] 단계 3: 2-(플루오로메틸)옥사졸-4-카르브알데히드

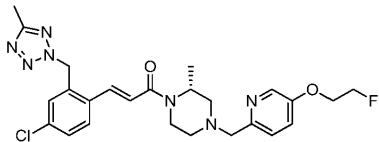
[0192] CH₂Cl₂ (6 mL) 중 (2-(플루오로메틸)옥사졸-4-일)메탄올 (78 mg, 0.6 mmol)의 용액에 MnO₂ (517 mg, 5.95 mmol)를 첨가하였다. 생성된 혼합물을 실온에서 2일 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 셀라이트로 여과하고 CH₂Cl₂로 3회 세척하였다. 여과물을 증발 건조시켜 32 mg의 조 생성물을 수득하였다. 조 생성물을 후속 단계에 추가 정제 없이 사용하였다.

[0193] LC MS Rt 0.34 분; [M+H]⁺ 130.0; 2 분 최종 분석

[0194] 실시예의 제조

[0195] 실시예 1

[0196] (R,E)-3-(4-클로로-2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)페닐)-1-(4-((5-(2-플루오로에톡시)파리딘-2-일)메틸)-2-메틸파페라진-1-일)프로프-2-엔-1-온



[0197]

[0198] 단계 1: (R,E)-3-(4-클로로-2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)페닐)-1-(4-((5-하이드록시파리딘-2-일)메틸)-2-메틸파페라진-1-일)프로프-2-엔-1-온;

[0199] DCE (60 mL) 중 (R,E)-3-(4-클로로-2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)페닐)-1-(2-메틸파페라진-1-일)프로프-2-엔-1-온 (중간체 A) (3.0 g, 8.3 mmol)의 교반 용액을 5-하이드록시파리딘-2-카르복스알데히드 (2.0 g, 16.6 mmol), 소듐 트리아세톡시보로하이드라이드 (3.5 g, 16.62 mmol) 및 아세트산 (0.95 mL)으로 0°C에서 처리하였다. 생성된 혼합물을 실온에서 17 시간 동안 교반하였다. 용매를 증발시키고, 물을 잔류물에 첨가하고, 수성 상을 EtOAc로 추출하였다. 유기 층을 포화 수성 NaHCO₃, 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조하고, 여과하고, 진공 하에 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 상에서 플래쉬 크로마토그래피에 의해 정제하였다.

[0200] HPLC Rt: 5.7 분 (분석용 HPLC)

[0201] 단계 2:
(R,E)-3-(4-클로로-2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)페닐)-1-(4-((5-(2-플루오로에톡시)파리딘-2-일)메틸)-2-메틸파페라진-1-일)프로프-2-엔-1-온

[0202] DMF (15 mL) 중 (R,E)-3-(4-클로로-2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)페닐)-1-(4-((5-하이드록시파리딘-2-일)메틸)-2-메틸파페라진-1-일)프로프-2-엔-1-온 (1.5 g, 3.2 mmol)의 용액에 N₂ 하에 Cs₂CO₃ (1.53 g, 4.8 mmol)에 이어서 1-브로모-2-플루오로에탄 (488 mg, 3.8 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 16 시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 물로 희석하고, 수용액을 에틸 아세테이트로 추출하였다. 합한 유기 용액을 황산나

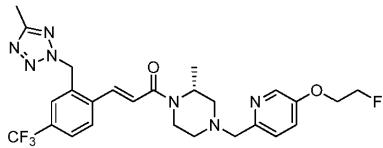
트룹 상에서 건조하고, 여과하고, 진공 하에 농축시켰다. 조 생성물을 정제용 HPLC에 의해 정제하였다.

[0203] ^1H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, 100°C) δ ppm 1.26 – 1.31 (m, 4 H) 2.09 (d, J=3.26 Hz, 1 H) 2.24 (dd, J=11.36, 3.83 Hz, 1 H) 2.44 (s, 3 H) 2.72 (d, J=11.29 Hz, 1 H) 2.82 – 2.90 (m, 1 H) 3.10 – 3.24 (m, 1 H) 3.52 – 3.65 (m, 2 H) 4.02 – 4.17 (m, 1 H) 4.29 – 4.34 (m, 1 H) 4.36 – 4.42 (m, 1 H) 4.46 – 4.58 (m, 1 H) 4.66 – 4.74 (m, 1 H) 4.78 – 4.86 (m, 1 H) 5.96 (s, 2 H) 7.03 (d, J=15.43 Hz, 1 H) 7.42 (d, J=1.76 Hz, 2 H) 7.44 – 7.51 (m, 2 H) 7.71 (d, J=15.31 Hz, 1 H) 7.81 (d, J=8.41 Hz, 1 H) 8.26 (t, J=1.76 Hz, 1 H)

[0204] LC MS: Rt 0.87 분; [M+H]⁺ 514.1; 2 분 최종 분석

[0205] 실시예 2:

[0206] (R,E)-1-(4-((5-(2-플루오로에톡시)페리딘-2-일)메틸)-2-메틸페페라진-1-일)-3-(2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)-4-(트리플루오로메틸)페닐)프로프-2-엔-1-온



[0207]

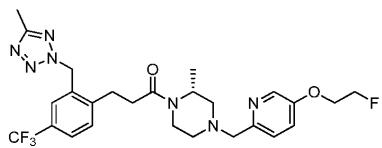
[0208] 표제 화합물을 실시예 1과 유사한 방법에 의해, 그러나 (R,E)-3-(2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)-4-(트리플루오로메틸)페닐)-1-(2-메틸페페라진-1-일)프로프-2-엔-1-온 (중간체 B)으로부터 제조하였다.

[0209] ^1H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, 100°C) δ ppm 1.29 (d, J=6.78 Hz, 3H) 2.00 – 2.14 (m, 1H) 2.21 – 2.29 (m, 1H) 2.44 (s, 3H) 2.66 – 2.76 (m, 1H) 2.84 – 2.92 (m, 1H) 3.12 – 3.25 (m, 1H) 3.60 (d, J=10.67 Hz, 2H) 4.06 – 4.17 (m, 1H) 4.28 – 4.34 (m, 1H) 4.35 – 4.42 (m, 1H) 4.45 – 4.58 (m, 1H) 4.66 – 4.74 (m, 1H) 4.78 – 4.87 (m, 1H) 6.06 (s, 2H) 7.11 (d, J=15.43 Hz, 1H) 7.42 (d, J=1.88 Hz, 2H) 7.77 (d, J=5.65 Hz, 3H) 7.92 – 8.04 (m, 1H) 8.26 (s, 1H)

[0210] LC MS: Rt 0.92 분; [M+H]⁺ 548.0; 2 분 최종 분석

[0211] 실시예 3:

[0212] (R)-1-(4-((5-(2-플루오로에톡시)페리딘-2-일)메틸)-2-메틸페페라진-1-일)-3-(2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)-4-(트리플루오로메틸)페닐)프로판-1-온



[0213]

[0214] EtOH (4.00 mL) 중 (R,E)-1-(4-((5-(2-플루오로에톡시)페리딘-2-일)메틸)-2-메틸페페라진-1-일)-3-(2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)-4-(트리플루오로메틸)페닐)프로프-2-엔-1-온 (46 mg, 0.084 mmol) 및 Pd/C (10%) (5.72 mg, 5.38 μmol)의 용액을 수소 하에 실온에서 18 시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 셀라이트 상에서 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 MeOH 1mL에 녹이고, 정제용 HPLC (워터스 선파이어 C18ODB, 5 μm, 30 x 100, 용리액: 20 분 내 5% MeCN/95% H₂O에서 50% MeCN/50% H₂O, 0.1%의 TFA를 함유하는 H₂O, 유량 40 mL/분)에 의해 정제하였다. 생성물을 함유하는 분획을 합하고 밤새 동결건조시켰다. 생성된 백색 분말을 EtOAc로 희석하고, NaHCO₃의 포화 용액으로 세척하였다. 수성 층을 EtOAc로 추출하고, 합한 유기 층을 염수로 세척하고, 상분리기 상에서 건조하고, 농축시키고, 진공 하에 건조시켜 표제 화합물 (22 mg, 47%)을 수득하였다.

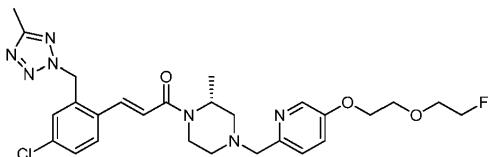
[0215] ^1H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.16 – 1.22 (m, 3H) 1.27 – 1.31 (m, 1H) 1.92 – 2.13 (m, 2H) 2.46 (s, 3H) 2.55 – 2.85 (m, 4H) 3.04 – 3.07 (m, 3H) 3.48 – 3.62 (m, 2H) 3.78 – 4.03 (m, 1H) 4.28 – 4.41 (m, 2H) 4.66 – 4.85 (m, 2H) 5.96 – 6.08 (m, 2H) 7.35 – 7.44 (m, 2H) 7.53 – 7.71 (m, 3H) 8.21 – 8.29 (m,

1H)

LC MS: Rt 0.89 분; [M+H]⁺ 550.1; 2 분 최종 분석

실시예 4:

(R,E)-3-(4-클로로-2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)페닐)-1-(4-((5-(2-(2-플루오로에톡시)에톡시)페리딘-2-일)메틸)-2-메틸페페란진-1-일)프로프-2-에-1-온



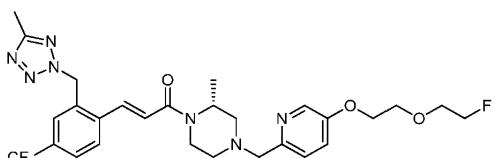
MeOH (2.0 mL) 중 (R,E)-3-(4-클로로-2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)페닐)-1-(2-메틸페페라진-1-일)프로포-2-엔-1-온 (중간체 A) (80 mg, 0.22 mmol)에 AcOH (0.2 mL) 및 5-(2-(2-플루오로에톡시)에톡시)페콜린알데히드 (중간체 C) (93 mg, 0.33 mmol)을 첨가하였다. 5 분 동안 교반한 후, 2-페콜린 보란 (44.2 mg, 0.35 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 20 시간 동안 교반하였다. 휘발성 물질을 증발시키고, 잔류물을 정제용 HPLC (워터스 선파이어 C18ODB, 5 μ m, 30 x 100, 용리액: 20 분 내 5% MeCN/95% H₂O에서 50% MeCN/50% H₂O, 0.1%의 TFA를 함유하는 H₂O, 유량 40 mL/분)에 의해 정제하였다. 목적 분획을 농축시켰다. 잔류물을 EtOAc에 녹이고, NaHCO₃의 포화 용액으로 세척하였다. 수성 층을 EtOAc로 추출하였다. 합한 유기 층을 염수로 세척하고, 상 분리기 상에서 건조하고, 농축시켜 63 mg의 황색 오일을 수득하였다.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, 100°C) δ ppm 1.28 (d, J=6.78 Hz, 3H) 2.01 – 2.15 (m, 1H) 2.25 (dd, J=11.48, 3.07 Hz, 1H) 2.44 (s, 3H) 2.73 (d, J=11.42 Hz, 1H) 2.88 (d, J=11.29 Hz, 1H) 3.17 (br. s., 1H) 3.52 – 3.66 (m, 2H) 3.70 – 3.76 (m, 1H) 3.78 – 3.88 (m, 3H) 4.12 (d, J=12.55 Hz, 1H) 4.18 – 4.28 (m, 2H) 4.44 – 4.56 (m, 2H) 4.57 – 4.65 (m, 1H) 5.96 (s, 2H) 7.03 (d, J=15.31 Hz, 1H) 7.40 (d, J=1.76 Hz, 2H) 7.44 – 7.51 (m, 2H) 7.71 (d, J=15.31 Hz, 1H) 7.81 (d, J=8.41 Hz, 1H) 8.24 (t, J=1.69 Hz, 1H)

LC MS Rt 0.87 분; $[M]^+$ 558.2, 560.1; 2 분 최종 분석

실시예 5:

(R,E)-1-(4-((5-(2-(2-플루오로에톡시)에톡시)페리딘-2-일)메틸)-2-메틸페페라진-1-일)-3-(5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)-4-(트리플루오로메틸)페닐)프로프-2-에-1-온



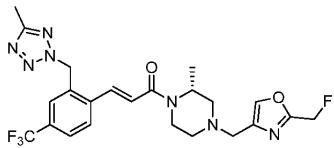
표제 화합물을 실시 예 4와 유사한 방법에 의해 (R,E)-3-(2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)-4-(트리플루오로메틸)페닐)-1-(2-메틸페라진-1-일)프로프-2-엔-1-온 (중간체 B) 및 5-(2-(2-플루오로에톡시)에톡시)피콜린알데히드 (중간체 C)로부터 제조하였다.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.29 (d, J=6.65 Hz, 3 H) 2.09 (td, J=11.67, 3.14 Hz, 1 H) 2.24 (dd, J=11.36, 3.70 Hz, 1 H) 2.40 – 2.46 (m, 3 H) 2.72 (d, J=11.29 Hz, 1 H) 2.88 (d, J=11.17 Hz, 1 H) 3.12 – 3.27 (m, 1 H) 3.50 – 3.64 (m, 2 H) 3.70 – 3.75 (m, 1 H) 3.78 – 3.87 (m, 3 H) 4.12 (d, J=13.80 Hz, 1 H) 4.19 – 4.26 (m, 2 H) 4.43 – 4.54 (m, 2 H) 4.57 – 4.65 (m, 1 H) 6.06 (s, 2 H) 7.11 (d, J=15.43 Hz, 1 H) 7.40 (d, J=1.13 Hz, 2 H) 7.69 – 7.84 (m, 3 H) 7.99 (d, J=8.53 Hz, 1 H) 8.24 (s, 1 H)

LC-MS Rt 0.92 は: $[M+H]^+$ 592 2: 2 は 최종 분석

신설예 6·

[0230] (R,E)-1-(4-((2-(플루오로메틸)옥사졸-4-일)메틸)-2-메틸피페라진-1-일)-3-(2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)-4-(트리플루오로메틸)페닐)프로프-2-엔-1-온



[0231]

[0232] 표제 화합물을 실시예 4와 유사한 방법에 의해 (R,E)-3-(2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)-4-(트리플루오로메틸)페닐)-1-(2-메틸피페라진-1-일)프로프-2-엔-1-온 (중간체 B) 및 2-(플루오로메틸)옥사졸-4-카르브알데히드 (중간체 D)로부터 제조하였다.

[0233]

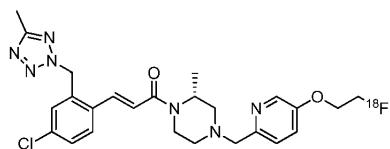
¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.27 (d, J=6.97 Hz, 3H) 2.05-2.11 (m, 1H) 2.23-2.27 (m, 1H) 2.44 (s, 3H) 2.76-2.80 (m, 1H) 2.90-2.95 (m, 1H) 3.10-3.20 (m, 1H) 3.5 (s, 2H) 4.1 (d, 1H) 4.5 (s, 1H) 4.45 (d, 2H) 6.06 (s, 2H) 7.1 (d, 1H) 7.70 - 7.80 (m, 4H) 7.98-8.01 (m, 1H)

[0234]

LC MS Rt 0.89 분; [M+H]⁺ 508.3; 2 분 최종 분석

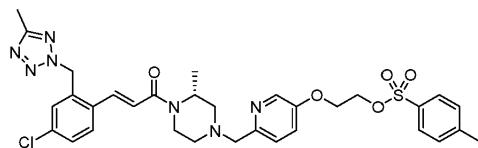
[0235]

실시예 7: (R,E)-3-(4-클로로-2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)페닐)-1-(4-((5-(2-[¹⁸F]플루오로에톡시)파리딘-2-일)메틸)-2-메틸피페라진-1-일)프로프-2-엔-1-온



[0236]

[0237] 단계 1: (R,E)-2-((6-((4-(4-클로로-2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)페닐)아크릴로일)-3-메틸피페라진-1-일)메틸)파리딘-3-일)옥시)에틸 4-메틸벤젠슬포네이트의 합성



[0238]

[0239] Cs₂CO₃ (446 mg, 1.37 mmol)을 실온에서 아르곤 하에 DMF (20 mL) 중 에틸렌 디(p-톨루엔슬포네이트) (475 mg, 1.28 mmol)의 용액에 첨가하고, 이어서 1 시간의 기간에 걸쳐 DMF (20 mL) 중 (R,E)-3-(4-클로로-2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)페닐)-1-(4-((5-히드록시파리딘-2-일)메틸)-2-메틸피페라진-1-일)프로프-2-엔-1-온 (200 mg, 0.43 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 2 시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 물로 희석하고, 수용액을 에틸 아세테이트로 추출하였다. 합한 유기 용액을 건조 (상 분리기)시키고, 농축시켰다. 조 생성물을 실리카 젤 (시클로헥산/EtOAc 100:0 내지 0:100) 상에서 플래쉬 크로마토그래피에 의해 정제하여 목적 생성물을 무색 오일 (180 mg, 62%)로서 수득하였다.

[0240]

¹H NMR (400 MHz, 300°C, DMSO-d₆) δ ppm 1.12-1.27 (m, 3H), 1.97 (s, 1H), 2.11 (s, 1H), 2.40 (d, J=4.0 Hz, 6H), 2.64 (d, J=11.3 Hz, 1H) 2.80 (d, J=11.0 Hz, 1H), 3.27 (s, 1H), 3.44-3.59 (m, 2H), 4.01 (q, J=7.1 Hz, 1H), 4.22 (dd, J=5.3, 2.8 Hz, 2H), 4.34 (dd, J= 5.3, 2.8 Hz, 2H), 4.4 (s, 1H), 6.03-5.91 (m, 2H), 7.11 (d, J=15.2 Hz, 1H), 7.29 (dd, J=8.6, 2.9 Hz, 1H), 7.35 (d, J=8.6 Hz, 1H), 7.43-7.51 (m, 4H), 7.70 (d, J=15.2 Hz, 1H), 7.78 (d, J=8.3 Hz, 2H), 7.87 (d, J=9.1 Hz, 1H), 8.07 (d, J=2.8 Hz, 1H);

[0241]

LC MS: Rt 1.06 분; [M]+ 666.5; 방법: 2 분 최종 분석.

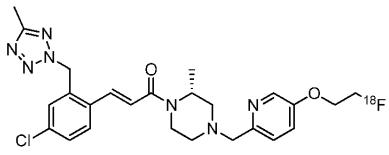
[0242]

단계 2: 실시예 7의 합성

[0243]

(R,E)-3-(4-클로로-2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)페닐)-1-(4-((5-(2-[¹⁸F]플루오로에톡시)파리딘-2-일)메

틸)-2-메틸피페라진-1-일)프로프-2-엔-1-온

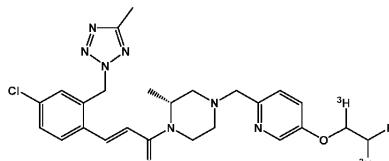


[0244]

[0245] 밀봉된 반응 바이알에서, 무수 DMSO 중 [¹⁸F]KF/크립토픽스 222를 (R,E)-2-((6-((4-(3-(4-클로로-2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)페닐)아크릴로일)-3-메틸피페라진-1-일)메틸)페리딘-3-일)옥시)에틸 4-메틸벤젠술포네이트에 첨가하고, 140°C에서 10 분 동안 가열하였다. 표지된 생성물을 반정제용 HPLC (페노메넥스 루나 (Phenomenex Luna) C18(2), 250 x 10 mm; 용리액: CH₃CN/H₂O/NEt₃ (50/50/0.1); 유량: 4 mL/분)에 의해 정제하였다. HPLC (워터스 엑스브리지 C18, 150 x 4.6 mm; MeOH/H₂O/NEt₃ (70/30/0.08), 1 mL/분)에 의한 분석은 6.37 분의 체류시간을 갖는다. 냉각 참조물 HPLC 추적자 (6.28 분)과의 비교는 생성물이 붕괴-보정된 방사화학적 수율 8 %로 수득된 실시에 7임을 확인하였다.

[0246]

실시예 8: (E)-3-(4-클로로-2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)페닐)-1-((2R)-4-((5-(2-플루오로에톡시-1,2-t2)페리딘-2-일)메틸)-2-메틸피페라진-1-일)프로프-2-엔-1-온



[0247]

[0248] 단계 1: [³H]₂-2-플루오로에틸 4-(p-톨릴)벤젠술포네이트의 합성:

[0249]

6.15 mg (21.0 μmol)의 (E)-2-플루오로비닐 4'-메틸-[1,1'-비페닐]-4-술포네이트 및 7.07 mg (8.78 μmol; 0.42 당량)의 크랩트리의 촉매 (Strem 77-9500)를 0.75 mL 디클로로메탄 (플루카 66740) 중에 용해시켰다. 진 오렌지색 용액을 고진공 매니폴드에서 3회 탈기시켰고 실온에서 3.5시간 동안 삼중수소 기체 (8.7 Ci)의 분위기 하에 교반하였다. 용매가 여전히 동결되었을 때 초기 압력은 347 mbar였고, 반면에 실온에서의 최대 압력은 962 mbar였다. 용매를 진공 하에 제거하고, 불안정성 삼중수소를 1mL의 메탄올 (플루카 65543)을 첨가하고, 용액을 교반하고, 진공 하에 다시 용액을 제거함으로써 교환하였다. 이 과정을 3회 반복하였다. 최종적으로, 건조된 고체를 5 mL의 THF로 추출하였다. 조 생성물의 활성은 1003 mCi (37.1 GBq)이었다. 방사화학적 순도 (RCP)는 하기 HPLC 시스템을 사용하여 74%로 결정되었다. 마슈레 + 나겔 뉴클레오두르 중력(Macherey + Nagel Nucleodur Gravity) C18 (5 μm, 4.6 x 150 mm); 용매: A, 10 mM 수성 NH₄OAc; B, MeCN; 구배: 0 분 40% B; 10 분 100% B; 14.5 분 100% B; 15 분 40% B; 254 nm에서 검출; 유량 1.0 mL/분; 30°C. 조 생성물을 추가로 정제하지 않고 다음 단계에 사용하였다.

[0250]

실시예 8의 합성:

[0251]

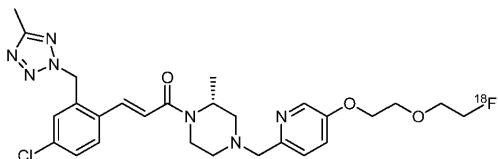
100 mCi (3.7 GBq)의 조 [³H]₂-2-플루오로에틸 4-(p-톨릴)벤젠술포네이트 (0.5 mL, 2.1 μmol)를 증발 건조시키고, 0.25 mL DMF 중 (R,E)-3-(4-클로로-2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)페닐)-1-((4-((5-히드록시페리딘-2-일)메틸)-2-메틸피페라진-1-일)프로프-2-엔-1-온 3.04 mg (6.5 μmol; 3.1 당량)의 용액을 첨가하였다. 이어서, 용액을 탄산세슘 4.36 mg (13.4 μmol; 6.4 당량)으로 처리하고, 수조 중에서 50°C에서 2.2 시간 동안 교반하였다. HPLC에 의한 반응 제어 (상기 조건)는 표지된 출발 물질의 정량적 전환율을 보였고 RCP는 63%로 결정되었다. 반응 혼합물을 하기 조건을 사용하는 HPLC에 의해 정제하였다. 마슈레 + 나겔 뉴클레오두르 중력 C18, 5 μm, 8 x 150 mm; 용매: A, 10 mM NH₄OAc; B, MeCN; 구배: 0 분 48.5% B; 8 분 48.5% B; 8.5 분 95% B; 12.5 분 95% B; 13 분 48.5% B.; 254 nm 및 230 nm에서의 검출; 유량: 3.1 mL/분; 20°C. 목적 화합물은 6.7 분 후에 용리하였다.

[0252]

목적 생성물을 고체 상 추출에 의한 HPLC 용매 혼합물로부터 단리시켰다. 분획의 부피를 회전 증발기에서 부분적으로 감소시켰고 생성물을 페노메넥스 스트라타엑스(StrataX) 카트리지 (3 mL, 100 mg)로 추출하고, 이를 에

탄을 10 mL로 용리시켰다. 40.5 mCi (1.50 GBq)의 활성을 갖는 추출된 생성물은 99% 초과의 RCP를 보였다. 비활성(specific activity)은 38.5 Ci/mmole (1.43 TBq/mmole)로 결정되었다. 냉각 참조물 HPLC 추적자와의 비교는 생성물의 동일성을 확인하였다. HPLC 조건: 마슈레 + 나겔 뉴클레오퍼드 중력 C18, 4.6 x 150 mm (5 μm); 이동상: A, 10 mM NH₄OAc; B: MeCN; 구배: 0 분 35% B; 10 분 95% B; 14.5 분 95% B; 15 분 35% B; 유량 1.0 mL/분. 참조 체류 시간 (UV 검출): 7.14 분; 생성물 체류 시간 (방사능 검출): 7.25 분. UV 및 무선 신호 사이의 지연은 연속 검출 시스템에 의한 것이다.

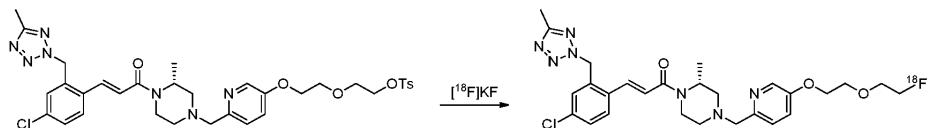
[0253] 1) (R,E)-3-(4-클로로-2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)페닐)-1-(4-((5-(2-(2-[¹⁸F]플루오로에톡시)에톡시)페리딘-2-일)메틸)-2-메틸피페라진-1-일)프로프-2-엔-1-온



[0254]

[0255] 전구체 (R,E)-2-(2-((6-((4-(3-(4-클로로-2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)페닐)아크릴로일)-3-메틸피페라진-1-일)메틸)페리딘-3-일)옥시)에톡시)에틸 4-메틸벤젠술포네이트는 화합물 4와 유사한 방법으로 (R,E)-3-(4-클로로-2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)페닐)-1-(2-메틸피페라진-1-일)프로프-2-엔-1-온 (중간체 A) 및 2-(2-((6-포르밀페리딘-3-일)옥시)에톡시)에틸 4-메틸벤젠술포네이트로부터 제조될 수 있다.

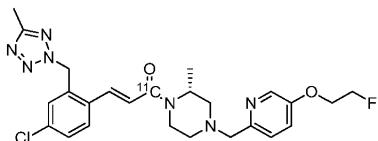
[0256] (R,E)-3-(4-클로로-2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)페닐)-1-(4-((5-(2-(2-[¹⁸F]플루오로에톡시)에톡시)페리딘-2-일)메틸)-2-메틸피페라진-1-일)프로프-2-엔-1-온의 합성은 극성 비양성자성 용매, 예컨대 DMF, DMSO 또는 CH₃CN 중에서 (R,E)-2-(2-((6-((4-(3-(4-클로로-2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)페닐)아크릴로일)-3-메틸피페라진-1-일)메틸)페리딘-3-일)옥시)에톡시)에틸 4-메틸벤zen술포네이트를 [¹⁸F]KF/K222 또는 [¹⁸F]TBAF로 처리함으로써 수행될 수 있다.



[0257]

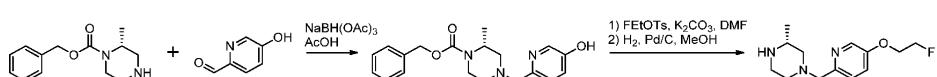
2)

(R,E)-3-(4-클로로-2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)페닐)-1-(4-((5-(2-플루오로에톡시)페리딘-2-일)메틸)-2-메틸피페라진-1-일)[카르보닐-¹¹C]프로프-2-엔-1-온의 합성



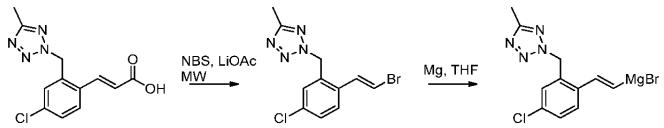
[0259]

[0260] 제1 단계에서, 방사성표지를 위한 전구체는 하기 보여지는 바와 같이 제조될 수 있다.

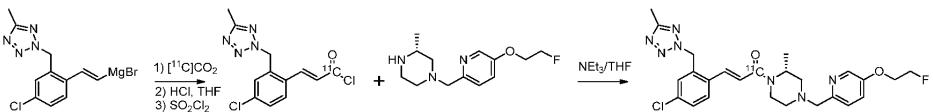


[0261]

[0262] 소듐 트리아세토트리아세트레이트 및 아세트산을 사용하는 (R)-벤질 2-메틸피페라진-1-카르복실레이트와 5-히드록시피콜린알데히드의 환원성 아미노화는 (R)-벤질 4-((5-히드록시페리딘-2-일)메틸)-2-메틸피페라진-1-카르복실레이트를 제공할 수 있다. 이 중간체는 염기, 예컨대 탄산칼륨의 존재 하에 2-플루오로에틸-토실레이트와 추가적으로 반응할 수 있고, 이어서 탄소 및 수소 기체 상에서 팔라듐을 사용하는 수소화는 (R)-1-((5-(2-플루오로에톡시)페리딘-2-일)메틸)-3-메틸피페라진을 제공할 수 있다.

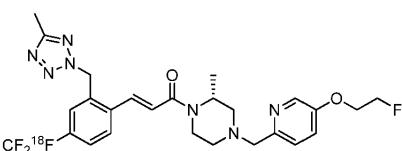


[0264] (E)-2-(2-(2-브로모비닐)-5-클로로벤질)-5-메틸-2H-테트라졸은 N-브로모숙신이미드 및 촉매량의 아세트산리튬의 존재 하에 (E)-3-(4-클로로-2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)페닐)아크릴산의 마이크로웨이브 조사에 의해 제조될 수 있다. 생성된 아릴비닐 브로마이드는 THF 중 마그네슘을 사용하여 (E)-(4-클로로-2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)스티릴)마그네슘 브로마이드로 전환될 수 있다.

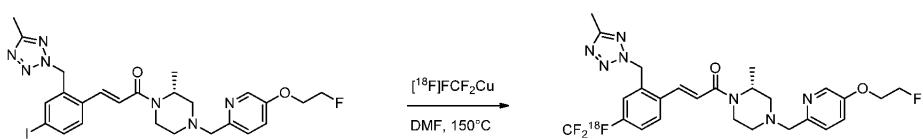


[0266] 표제 화합물은 (E)-(4-클로로-2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)스티릴)마그네슘 브로마이드를 [¹¹C]CO₂로 처리하여 [¹¹C]카르복시마그네슘 할라이드를 형성함으로써 제조될 수 있으며 이어서 [¹¹C]카르복실산으로 변환할 수 있다. 이것은 이어서 산 클로라이드로 전환될 수 있고 (R)-1-((5-(2-플루오로에톡시)페리딘-2-일)메틸)-3-메틸페페라진으로 처리하여 목적하는 아미드를 제공할 수 있다.

[0267] 3)
(R)-1-(4-((5-(2-플루오로에톡시)페리딘-2-일)메틸)-2-메틸페페라진-1-일)-3-(2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)-4-[¹⁸F](트리플루오로메틸)페닐) 프로프-2-엔-1-온

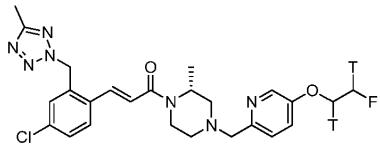


[0268] [0269] 전구체 (R,E)-1-(4-((5-(2-플루오로에톡시)페리딘-2-일)메틸)-2-메틸페페라진-1-일)-3-(4-아이오도-2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)페닐)프로프-2-엔-1-온은 실시예 1과 유사한 프로토콜을 따라, 5-메틸-2H-테트라졸 및 1-브로모-2-(브로모메틸)-4-아이오도벤젠으로부터 출발하여 수득될 수 있다.



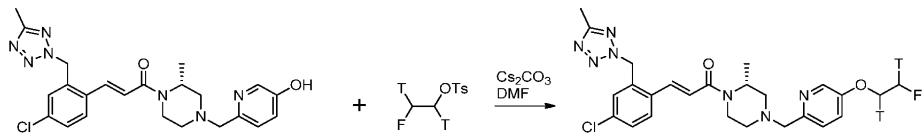
[0271] 문헌 [Huiban et al. (Nature Chemistry, 2013)]에서 보고된, [¹⁸F]플루오라이드로부터 (헵테로)아렌의 [¹⁸F]트리플루오로메틸화 후기 단계에 대한 프로토콜을 따라, 본 실시예는 (R)-1-(4-((5-(2-플루오로에톡시)페리딘-2-일)메틸)-2-메틸페페라진-1-일)-3-(2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)-4-[¹⁸F](트리플루오로메틸)페닐) 프로프-2-엔-1-온을 생성하기 위해 가능한 합성 경로를 도시한다. [¹⁸F]CF₃Cu는 메틸 클로로디플루오로아세테이트, CuI, TMEDA 및 [¹⁸F]플루오라이드로부터 계내 생성될 수 있고 (R,E)-1-(4-((5-(2-플루오로에톡시)페리딘-2-일)메틸)-2-메틸페페라진-1-일)-3-(4-아이오도-2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)페닐)프로프-2-엔-1-온과 반응하여 표제 화합물을 제공할 수 있다.

[0272] 4) (R,E)-3-(4-클로로-2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)페닐)-1-(4-((5-(2-플루오로[³H]에톡시)페리딘-2-일)메틸)-2-메틸페페라진-1-일)프로프-2-엔-1-온의 합성



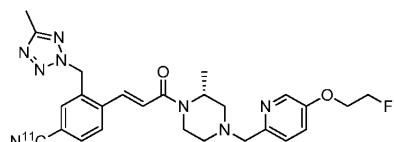
[0273]

[0274] $[^3\text{H}]_2$ -플루오로에틸-4-메틸벤زن솔포네이트의 합성은 문현 [Cochrane et al. (Journal of Labelled Compounds, 2013, 56, 447-450)]에 의해 보고되었다. 표제 화합물은 염기, 예컨대 탄산세슘의 존재 하에 (R,E)-3-(4-클로로-2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)페닐)-1-(4-((5-히드록시피리딘-2-일)메틸)-2-메틸피페라진-1-일)프로프-2-엔-1-온을 $[^3\text{H}]_2$ -플루오로에틸-4-메틸벤زن솔포네이트로 처리하여 수득할 수 있다.



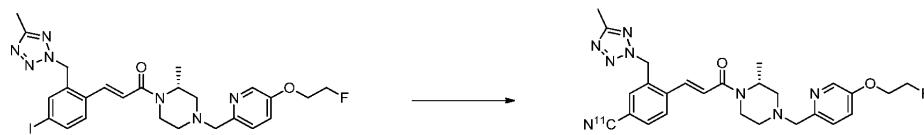
[0275]

[0276] 5) $[^{11}\text{C}]CN$ -함유 실시예, 예를 들어 (R,E)-1-(4-((5-(2-플루오로에톡시)피리딘-2-일)메틸)-2-메틸피페라진-1-일)-3-옥소프로프-1-엔-1-일)-3-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)벤조니트릴의 합성



[0277]

[0278] $[^{11}\text{C}]CN$ 기를 팔라듐 매개 시안화 반응을 통해 (R,E)-1-(4-((5-(2-플루오로에톡시)피리딘-2-일)메틸)-2-메틸피페라진-1-일)-3-(4-아이소시아노-2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)페닐)프로프-2-엔-1-온에 도입 할 수 있다. $[^{11}\text{C}]HCN$ 은 $[^{11}\text{C}]CuCN$ 으로 전환할 수 있고 로젠문트-폰 브라운(Rosenmund-von Braun) 반응을 통해 (R,E)-1-(4-((5-(2-플루오로에톡시)피리딘-2-일)메틸)-2-메틸피페라진-1-일)-3-(4-아이오도-2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)페닐)프로프-2-엔-1-온과 반응할 수 있다.



[0279]

[0280] 6) $[^{11}\text{C}]OCH_3$ 실시예, 예를 들어 (R,E)-1-(4-((5-(2-플루오로에톡시)피리딘-2-일)메틸)-2-메틸피페라진-1-일)-3-(4-[^{11}C]메톡시)-2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)페닐)프로프-2-엔-1-온의 합성

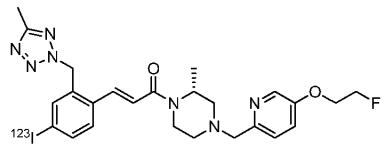


[0281]

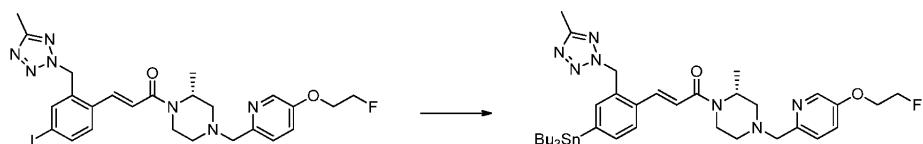
[0282] 표제 화합물의 전구체, ((R,E)-1-(4-((5-(2-플루오로에톡시)피리딘-2-일)메틸)-2-메틸피페라진-1-일)-3-(4-히드록시-2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)페닐)프로프-2-엔-1-온)은, 상응하는 알콜 및 5-메틸-2H-테트라졸로부터 제조된 (3-브로모-4-(브로모메틸)페녹시)트리이소프로필실란을 사용하여 실시예 1에 주어지는 합성 반응식을 따라 수득되어 (R,E)-1-(4-((5-(2-플루오로에톡시)피리딘-2-일)메틸)-2-메틸피페라진-1-일)-3-(2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)-4-(트리이소프로필실릴)옥시)페닐)프로프-2-엔-1-온을 제공할 수 있다. THF 중 TBAF를 사용하는 폐놀의 후속적 탈보호는 목적 전구체를 제공할 수 있다.

[0283] 염기의 존재 하에 $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$ 를 사용하는 (R,E)-1-(4-((5-(2-플루오로에톡시)파리딘-2-일)메틸)-2-메틸파페라진-1-일)-3-(4-하드록시-2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)페닐)프로프-2-엔-1-온의 메틸화는 표제 화합물을 유도할 수 있다.

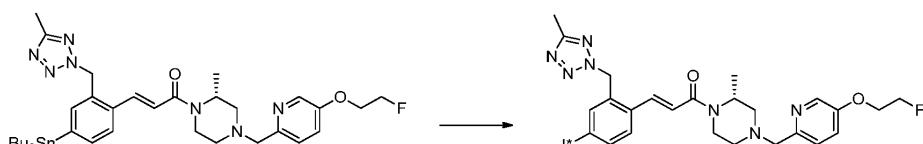
[0284] 7) $[^{123}\text{I}]$ - , $[^{124}\text{I}]$ - 또는 $[^{131}\text{I}]$ -함유 실시예, 예를 들어 (R,E)-1-(4-((5-(2-플루오로에톡시)파리딘-2-일)메틸)-2-메틸파페라진-1-일)-3-(4- $[^{123}\text{I}]$ 아이오도-2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)페닐)프로프-2-엔-1-온의 합성



[0285] [0286] 스탠난 전구체는 팔라듐 촉매, 예컨대 $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ 의 존재 하에 (R,E)-1-(4-((5-(2-플루오로에톡시)파리딘-2-일)메틸)-2-메틸파페라진-1-일)-3-(4-아이오도-2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)페닐)프로프-2-엔-1-온과 비스(트리부틸주석)을 반응시켜 제조될 수 있다.



[0287] [0288] 산화제, 예컨대 클로라민-T의 존재 하에 (R,E)-1-(4-((5-(2-플루오로에톡시)파리딘-2-일)메틸)-2-메틸파페라진-1-일)-3-(2-((5-메틸-2H-테트라졸-2-일)메틸)-4-(트리부틸스탄닐)페닐)프로프-2-엔-1-온의 $[^{123}\text{I}]\text{NaI}$, $[^{124}\text{I}]\text{NaI}$ 또는 $[^{131}\text{I}]\text{NaI}$ 로의 처리는 표제 화합물(*I = $[^{123}\text{I}]$, $[^{124}\text{I}]$ 또는 $[^{131}\text{I}]$)을 제공할 수 있다.



[0289] [0290] 생물학적 데이터

[0291] 본원에 기재된 화합물은 ATX 억제제이고 하기 검정에서 시험될 수 있다.

[0292] 시약 - LPC (올레오일 (18:1))는 아반티 폴라 리피즈 (Avanti Polar Lipids, 알라바마주)로부터 구입하고, 메탄올 중에 20 mM로 용해시켰다. 암플렉스 레드는 인비트로젠 라이프 테크놀로지스 (Invitrogen Life Technologies, 페이즐리, 영국)로부터 수득하였고 DMSO 중에 10 mM로 용해시켰다. 콜린 옥시다제 및 양고추냉이 페옥시다제 (HRP)를 시그마 알드리치 (Sigma Aldrich, 도싯, 영국)로부터 구입하고 HBSS 중에 각각 20 U/ml 및 200 U/ml로 용해시켰다. 모든 시약을 단일 사용 분취물로 -20°C에서 보관하였다. 모든 실험 측정을 사용 직전에 제조되는 검정 완충제 (HBSS, 0.01% BSA 본질적으로 지방산 무함유) 중에서 수행하였다.

[0293] 단백질 - 재조합 인간 ATX를 노파르티스 (Novartis, 바젤, 스위스)에서 인간 배아 신장 (HEK) 세포 체계 중에 제조하고, -80°C에서 보관된 26 mg/ml (26 μM) 스톡의 단일 사용 분취물로 보관하였다.

[0294] 방법 - 모든 실험 측정을 블랙 384 웰 폴리스티렌 (낮은 부피, 동근 바닥, 코닝(Corning) (3676)) 플레이트에서 수행하였다. 퍼킨엘머 엔비젼(PerkinElmer EnVision) (형광 강도/흡광도 단색기) 또는 테칸 인피니트(Tecan Infinite) 200 PRO 시리즈 플레이트 판독기를 사용하여 형광 강도에서의 변화를 검출하였다.

[0295] ATX 억제 평가 - ATX 활성을 ATX (10 nM), 콜린 옥시다제 (0.1 U/ml), HRP (100 U/ml), 암플렉스 레드 (50 μM) 및 LPC 18:1 (10 μM)을 함유하는 반응물에서 방출된 콜린을 측정함으로써 결정하였다. 본 발명의 화합물을 이중으로 1 μM으로부터 10 포인트 연속 희석물로서 제조하고 나머지 시약의 첨가 전에 20분 동안 37°C에서 ATX 와 사전-인큐베이션하였다. 유리된 콜린은 40분의 기간에 걸쳐 2 분마다 37°C에서 생성물 레조루핀의 형광 강

도 (λ_{ex} 530nm, λ_{em} 590nm)에서의 변화로부터 측정하였다. ATX 활성을 전형적으로 14 내지 24분에 진행 곡선의 선형 부분의 기울기로서 측정하였다.

[0296] 데이터 분석 - 기울기 데이터를 그래프패드(Graphpad) 프리즘 (그래프패드 소프트웨어, 샌디에고, 캘리포니아주)으로 외삽하고 여기서 데이터를 방정식 1에 피팅시켰다.

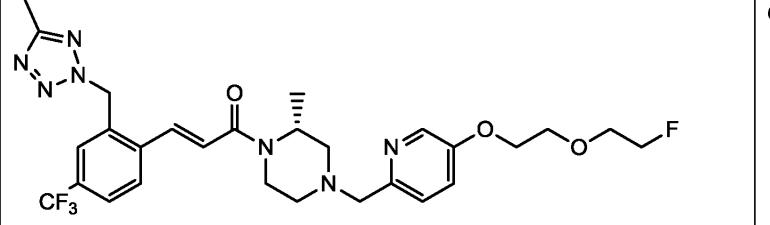
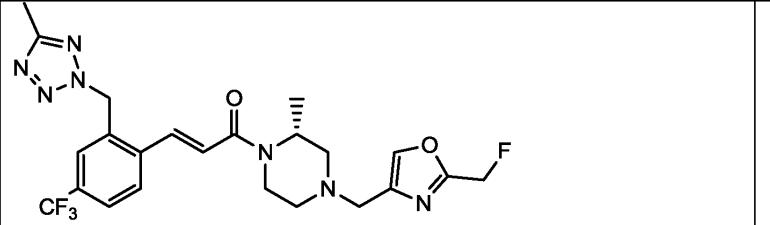
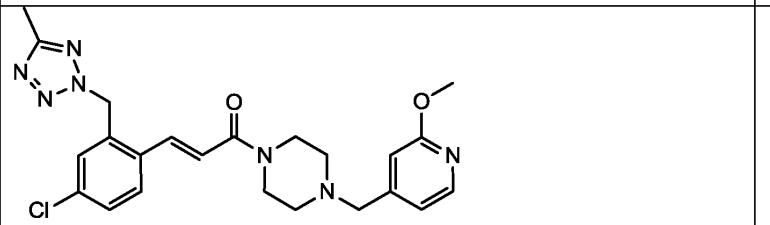
[0297] 방정식 1:

$$Y = \text{최저} + (\text{최고}-\text{최저})/(1+10^{((\text{LogIC50}-X)*\text{힐기울기})})$$

[0299] IC₅₀ 값은 총 활성을 50%만큼 감소시킨 화합물의 농도로부터 결정되고 평균 n ≥ 2를 나타낸다.

화합물	IC50
	3 nM
	5 nM
	4 nM
	2 nM

[0300]

	6 nM
	1.4 nM
	13 nM