



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0167035
(43) 공개일자 2023년12월07일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 471/04 (2006.01) A61K 31/437 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01) C07D 213/65 (2006.01)
C07D 417/12 (2006.01) C07D 487/04 (2006.01)
C07D 491/056 (2006.01) C07D 498/04 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07D 471/04 (2022.08)
A61K 31/437 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2023-7033323
- (22) 출원일자(국제) 2022년03월03일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2023년09월26일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2022/018682
- (87) 국제공개번호 WO 2022/216386
국제공개일자 2022년10월13일
- (30) 우선권주장
63/156,806 2021년03월04일 미국(US)
63/228,505 2021년08월02일 미국(US)

- (71) 출원인
더 보드 어브 트러스티스 어브 더 리랜드 스탠포드 주니어 유니버시티
미국 94305-2038 캘리포니아주 스탠포드 피오 박스 20386 메인 퀴드 빌딩 170 3층 오피스 오브 더 체너럴 카운셀
아큐어엑스 바이오사이언시스 코포레이션
미국 캘리포니아 샌 칼로스 브리탄 애비뉴 930 (우: 94070-4002)
- (72) 발명자
왕, 신난
미국 94305 캘리포니아 스탠포드 웰치 로드 1201 빌딩 엠에스엘에스 알렘 피151 스탠포드 유니버시티 (내)
반하우워드, 롤랜드
미국 94305 캘리포니아 스탠포드 웰치 로드 1201 빌딩 엠에스엘에스 알렘 피151 스탠포드 유니버시티 (내)
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
특허법인 남앤남

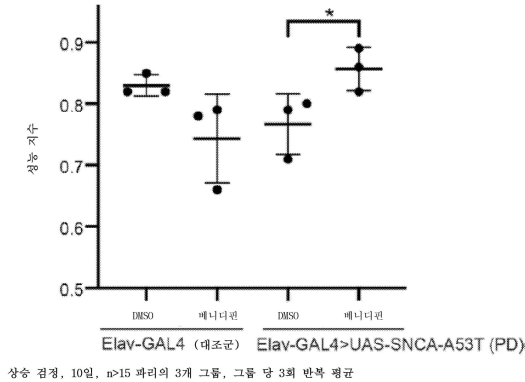
전체 청구항 수 : 총 49 항

(54) 발명의 명칭 T-타입 칼슘 채널 길항제 및 이의 용도

(57) 요약

세포를 유효량의 T-타입 칼슘 채널 길항제와 접촉시키는 것을 포함하는, 세포에서 Miro1 수준을 감소시키는 방법이 본원에 개시된다.

대표도



(52) CPC특허분류

A61P 25/28 (2018.01)
C07D 213/65 (2013.01)
C07D 417/12 (2013.01)
C07D 487/04 (2022.08)
C07D 491/056 (2013.01)
C07D 498/04 (2013.01)

(72) 발명자

잘리, 로버트

미국 94070 캘리포니아 샌 카를로스 브리탄 애비뉴
930 아큐어엑스 테라퓨틱스 (내)

바라트, 비니타

미국 94305 캘리포니아 스탠포드 웰치 로드 1201
빌딩 엠에스엘에스 알엠 피151 스탠포드 유니버시티 (내)

응우옌, 데이비드

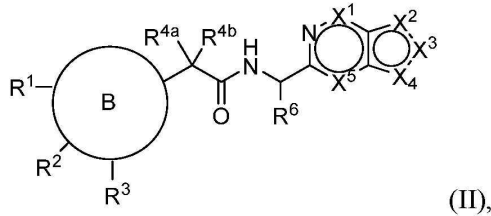
미국 94305 캘리포니아 스탠포드 웰치 로드 1201
빌딩 엠에스엘에스 알엠 피151 스탠포드 유니버시티 (내)

명세서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 (II)의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염:



상기 식에서,

고리 B는 C₆-C₁₀ 아릴 또는 5 내지 10원 헤테로아릴이고;

R¹, R², 및 R³은 각각 독립적으로 H, 할로젠, CN, OR¹¹, NR^{12a}R^{12b}, C₁-C₆ 알킬, C₂-C₆ 알콕시알킬, C₁-C₆ 할로알킬, C₂-C₆ 알케닐, C₂-C₆ 알키닐, 페닐, 5 내지 6원 헤테로아릴, C₃-C₇ 사이클로알킬, -(CH₂)_n-(C₃-C₇ 사이클로알킬), 4 내지 7원 헤테로사이클릴, 또는 -(CH₂)_n-(4 내지 7원 헤테로사이클릴)이고, 여기서 페닐, 헤테로아릴, 사이클로알킬 또는 헤테로사이클릴은 1, 2, 또는 3개의 할로젠, CN, OR¹¹, NR^{12a}R^{12b}, C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알콕시, C₁-C₆ 알킬아미노, 또는 C₁-C₆ 할로알킬로 선택적으로 치환되고;

R^{4a} 및 R^{4b}는 각각 독립적으로 H 또는 C₁-C₆ 알킬이거나, R^{4a} 및 R^{4b} 및 이들이 부착된 탄소 원자는 C₃-C₅ 사이클로알킬을 형성하고;

R⁶은 H, C₁-C₆ 알킬, 또는 C₁-C₆ 할로알킬이고;

X¹ 및 X⁵는 각각 독립적으로 N 또는 CR⁸이며, 단, X¹ 및 X⁵ 중 적어도 하나는 CR⁸이고;

X², X³, 및 X⁴는 각각 독립적으로 N, NR⁹, O, S, 또는 CR⁹이고, 단, X², X³, 및 X⁴ 중 적어도 하나는 N, NR⁹, O, 또는 S이고;

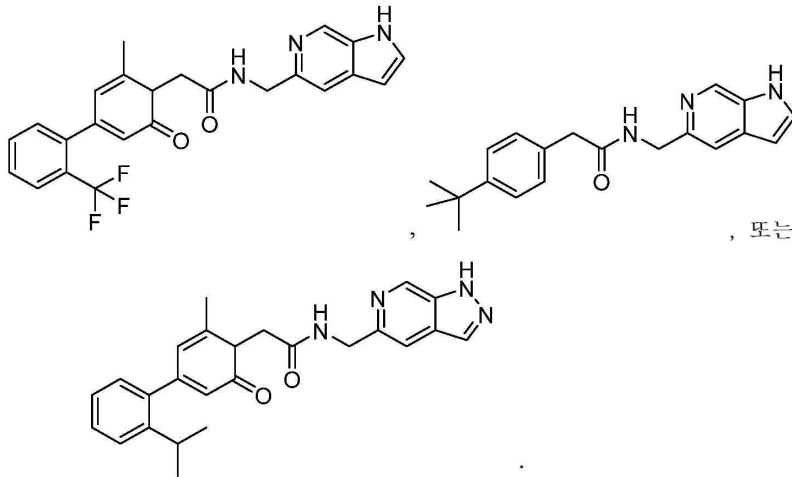
R⁸은 H, 할로젠, CN, OR¹¹, C₁-C₆ 알킬, C₂-C₆ 알콕시알킬, 또는 C₁-C₆ 할로알킬이고;

R⁹은 H, C₁-C₆ 알킬, C₂-C₆ 알콕시알킬, C₁-C₆ 할로알킬, C₂-C₆ 알케닐, C₂-C₆ 알키닐, C₃-C₇ 사이클로알킬, 또는 4 내지 7원 헤테로사이클릴이고, 여기서 사이클로알킬 또는 헤테로사이클릴은 1, 2, 또는 3개의 할로젠, CN, OH, NH₂, C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알콕시, C₁-C₆ 알킬아미노, 또는 C₁-C₆ 할로알킬로 선택적으로 치환되고;

각각의 R¹¹, R^{12a}, 및 R^{12b}는 독립적으로 H, C₁-C₆ 알킬, C₂-C₆ 알콕시알킬, C₁-C₆ 할로알킬, C₂-C₆ 알케닐, C₂-C₆ 알키닐, C₃-C₇ 사이클로알킬, 또는 4 내지 7원 헤테로사이클릴이고, 여기서 사이클로알킬 또는 헤테로사이클릴은 1, 2, 또는 3개의 할로젠 또는 CN으로 선택적으로 치환되고;

n은 1, 2, 또는 3이고;

단, 화합물은 하기 구조 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 갖지 않는다:



청구항 2

제1항에 있어서, X¹이 CR⁸인 화합물.

청구항 3

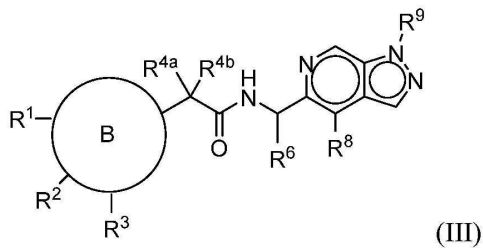
제1항 또는 제2항에 있어서, X⁸이 H인 화합물.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, X², X³, 및 X⁴가 각각 독립적으로 N, NR⁹, 또는 CR⁹이며, 단, X², X³, 및 X⁴ 중 적어도 하나는 N 또는 NR⁹인 화합물.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 하기 화학식 (III)의 구조를 갖는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염:



청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, R¹, R², 및 R³가 각각 독립적으로 H, 할로젠, CN, OH, NH₂, C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알콕시, C₁-C₆ 알킬아미노, C₂-C₆ 알콕시알킬, C₁-C₆ 할로알킬, 또는 C₃-C₇ 사이클로알킬이고, 여기서 사이클로알킬은 1, 2, 또는 3개의 할로젠, CN, OH, NH₂, C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알콕시, C₁-C₆ 알킬아미노, 또는 C₁-C₆ 할로알킬로 선택적으로 치환되는 화합물.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, R¹ 및 R²가 각각 독립적으로 H, 할로젠, C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알콕시, C₂-C₆ 알콕시알킬, C₁-C₆ 할로알킬, 또는 C₃-C₇ 사이클로알킬이고, 여기서 사이클로알킬은 1, 2, 또는 3개의 할로

겐, CN, OH, NH₂, C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알콕시, C₁-C₆ 알킬아미노, 또는 C₁-C₆ 할로알킬로 선택적으로 치환되는 화합물.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, R¹ 및 R²가 각각 독립적으로 H, 할로젠, C₁-C₃ 알킬, C₁-C₃ 알콕시, C₂-C₃ 알콕시알킬, C₁-C₃ 할로알킬, 또는 C₃-C₅ 사이클로알킬이고, 여기서 사이클로알킬은 1, 2, 또는 3개의 할로젠, CN, C₁-C₃ 알킬, C₁-C₃ 알콕시, C₁-C₃ 알킬아미노, 또는 C₁-C₃ 할로알킬로 선택적으로 치환되는 화합물.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, R^{4a} 및 R^{4b}가 각각 독립적으로 H 또는 CH₃인 화합물.

청구항 10

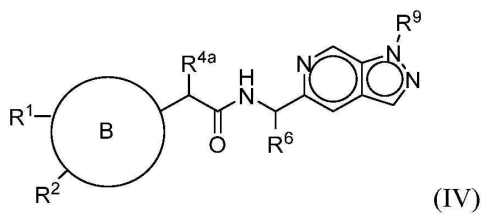
제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, R⁶가 H 또는 C₁-C₃ 알킬인 화합물.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, R⁶가 CH₃인 화합물.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 하기 화학식 (IV)의 구조를 갖는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염:



청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, R⁹가 C₁-C₆ 알킬, C₂-C₆ 알콕시알킬, C₁-C₆ 할로알킬, C₂-C₆ 알케닐, C₂-C₆ 알키닐, C₃-C₇ 사이클로알킬, 또는 4 내지 7원 헤테로사이클릴이고, 여기서 사이클로알킬 또는 헤테로사이클릴은 1, 2, 또는 3개의 할로젠, CN, OH, NH₂, C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알콕시, C₁-C₆ 알킬아미노, 또는 C₁-C₆ 할로알킬로 선택적으로 치환되는 화합물.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, R⁹가 C₁-C₆ 알킬, C₂-C₆ 알콕시알킬, C₁-C₆ 할로알킬, C₃-C₇ 사이클로알킬, 또는 4 내지 7원 헤테로사이클릴이고, 여기서 사이클로알킬 또는 헤테로사이클릴은 1, 2, 또는 3개의 할로젠, CN, OH, NH₂, C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알콕시, C₁-C₆ 알킬아미노, 또는 C₁-C₆ 할로알킬로 선택적으로 치환되는 화합물.

청구항 15

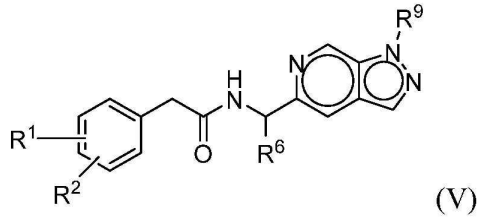
제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 고리 B가 페닐 또는 5 내지 6원 헤테로아릴인 화합물.

청구항 16

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 고리 B가 페닐 또는 피리딜인 화합물.

청구항 17

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 하기 화학식 (V)의 구조를 갖는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염:



청구항 18

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 표 1 또는 표 2의 화합물 중 어느 하나의 구조를 갖는 화합물.

청구항 19

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약학적 조성물.

청구항 20

신경퇴행성 장애의 치료를 필요로 하는 대상체에서 신경퇴행성 장애를 치료하는 방법으로서, 치료적 유효량의 제1항 내지 제18항 중 어느 한 항의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는 방법.

청구항 21

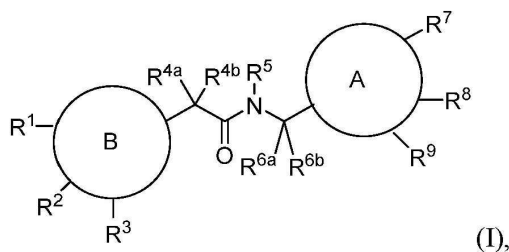
세포를 유효량의 T-타입 칼슘 채널 길항제와 접촉시키는 것을 포함하는, 세포에서 Miro1 수준을 감소시키는 방법.

청구항 22

제21항에 있어서, T-타입 칼슘 채널 길항제가 L-타입, N-타입, P-타입, 및/또는 R-타입 칼슘 채널 중 하나 이상에 비해 적어도 약 1.2배 이상의 T-타입 칼슘 채널에 대한 선택성을 갖는 방법.

청구항 23

제21항 또는 제22항에 있어서, T-타입 칼슘 채널 길항제가 하기 화학식 (I)의 구조 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 갖는 방법:



상기 식에서,

고리 A 및 고리 B는 각각 독립적으로 C₆-C₁₀ 아릴 또는 5 내지 10원 헤테로아릴이고;

R¹, R², 및 R³은 각각 독립적으로 H, 할로젠, CN, OR¹¹, NR^{12a,12b}, C₁-C₆ 알킬, C₂-C₆ 알콕시알킬, C₁-C₆ 할로알킬, C₂-C₆ 알케닐, C₂-C₆ 알킬닐, 페닐, 5 내지 6원 헤테로아릴, C₃-C₇ 사이클로알킬, 또는 4 내지 7원 헤테로사이클

릴이고, 여기서 페닐, 헤테로아릴, 사이클로알킬 또는 헤테로사이클릴은 1, 2, 또는 3개의 할로젠, CN, OR¹¹, NR^{12a}R^{12b}, C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알콕시, C₁-C₆ 알킬아미노, 또는 C₁-C₆ 할로알킬로 선택적으로 치환되고;

R^{4a} 및 R^{4b}는 각각 독립적으로 H 또는 C₁-C₆ 알킬이고;

R⁵는 H 또는 C₁-C₆ 알킬이고;

R^{6a} 및 R^{6b}는 각각 독립적으로 H 또는 C₁-C₆ 알킬이고;

R⁷은 H, 할로젠, CN, OR¹¹, NR^{12a}R^{12b}, C₁-C₆ 알킬, C₂-C₆ 알콕시알킬, C₁-C₆ 할로알킬, C₂-C₆ 알케닐, C₂-C₆ 알키닐, 페닐, 5 내지 6원 헤테로아릴, C₃-C₇ 사이클로알킬, 또는 4 내지 7원 헤테로사이클릴이고, 여기서 페닐, 헤테로아릴, 사이클로알킬 또는 헤테로사이클릴은 1, 2, 또는 3개의 할로젠, CN, OR¹¹, NR^{12a}R^{12b}, C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알콕시, C₁-C₆ 알킬아미노, 또는 C₁-C₆ 할로알킬로 선택적으로 치환되고;

R⁸은 H, C₁-C₆ 알킬, C₂-C₆ 알콕시알킬, C₁-C₆ 할로알킬, C₂-C₆ 알케닐, C₂-C₆ 알키닐, C₃-C₇ 사이클로알킬, 또는 4 내지 7원 헤테로사이클릴이고, 여기서 사이클로알킬 또는 헤테로사이클릴은 1, 2, 또는 3개의 할로젠, CN, OH, NH₂, C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알콕시, C₁-C₆ 알킬아미노, 또는 C₁-C₆ 할로알킬로 선택적으로 치환되고;

R⁹는 H, C₁-C₆ 알킬, C₂-C₆ 알콕시알킬, C₁-C₆ 할로알킬, C₂-C₆ 알케닐, C₂-C₆ 알키닐, C₃-C₇ 사이클로알킬, 또는 4 내지 7원 헤테로사이클릴이고, 여기서 사이클로알킬 또는 헤테로사이클릴은 1, 2, 또는 3개의 할로젠, CN, OH, NH₂, C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알콕시, C₁-C₆ 알킬아미노, 또는 C₁-C₆ 할로알킬로 선택적으로 치환되고;

각각의 R¹¹, R^{12a}, 및 R^{12b}는 독립적으로 H, C₁-C₆ 알킬, C₂-C₆ 알콕시알킬, C₁-C₆ 할로알킬, C₂-C₆ 알케닐, C₂-C₆ 알키닐, C₃-C₇ 사이클로알킬, 또는 4 내지 7원 헤테로사이클릴이고, 여기서 사이클로알킬 또는 헤테로사이클릴은 1, 2, 또는 3개의 할로젠 또는 CN으로 선택적으로 치환된다.

청구항 24

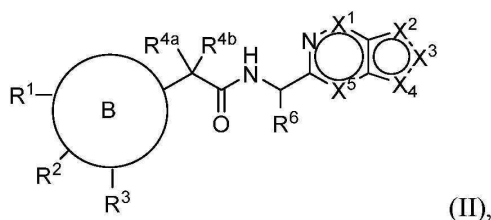
제23항에 있어서, 고리 A가 9 내지 10원 헤테로아릴인 방법.

청구항 25

제23항 또는 제24항에 있어서, 고리 B가 페닐 또는 5 내지 6원 헤테로아릴인 방법.

청구항 26

제21항에 있어서, T-타입 칼슘 채널 길항제가 하기 화학식 (II)의 구조 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 갖는 방법:



상기 식에서,

고리 B는 C₆-C₁₀ 아릴 또는 5 내지 10원 헤테로아릴이고;

R¹, R², 및 R³은 각각 독립적으로 H, 할로젠, CN, OR¹¹, NR^{12a}R^{12b}, C₁-C₆ 알킬, C₂-C₆ 알콕시알킬, C₁-C₆ 할로알킬,

C₂-C₆ 알케닐, C₂-C₆ 알키닐, 페닐, 5 내지 6원 헤테로아릴, C₃-C₇ 사이클로알킬, -(CH₂)_n-(C₃-C₇ 사이클로알킬), 4 내지 7원 헤테로사이클릴, 또는 -(CH₂)_n-(4 내지 7원 헤테로사이클릴)이고, 여기서 페닐, 헤테로아릴, 사이클로알킬 또는 헤테로사이클릴은 1, 2, 또는 3개의 할로젠, CN, OR¹¹, NR^{12a,12b}, C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알콕시, C₁-C₆ 알킬아미노, 또는 C₁-C₆ 할로알킬로 선택적으로 치환되고;

R^{4a} 및 R^{4b}는 각각 독립적으로 H 또는 C₁-C₆ 알킬이거나, R^{4a} 및 R^{4b} 및 이들이 부착된 탄소 원자는 C₃-C₅ 사이클로알킬을 형성하고;

R⁶은 H, C₁-C₆ 알킬, 또는 C₁-C₆ 할로알킬이고;

X¹ 및 X⁵는 각각 독립적으로 N 또는 CR⁸이며, 단, X¹ 및 X⁵ 중 적어도 하나는 CR⁸이고;

X², X³, 및 X⁴는 각각 독립적으로 N, NR⁹, O, S, 또는 CR⁹이고, 단, X², X³, 및 X⁴ 중 적어도 하나는 N, NR⁹, O, 또는 S이고;

R⁸은 H, 할로젠, CN, OR¹¹, C₁-C₆ 알킬, C₂-C₆ 알콕시알킬, 또는 C₁-C₆ 할로알킬이고;

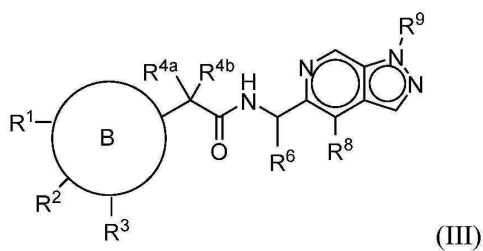
R⁹는 H, C₁-C₆ 알킬, C₂-C₆ 알콕시알킬, C₁-C₆ 할로알킬, C₂-C₆ 알케닐, C₂-C₆ 알키닐, C₃-C₇ 사이클로알킬, 또는 4 내지 7원 헤테로사이클릴이고, 여기서 사이클로알킬 또는 헤테로사이클릴은 1, 2, 또는 3개의 할로젠, CN, OH, NH₂, C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알콕시, C₁-C₆ 알킬아미노, 또는 C₁-C₆ 할로알킬로 선택적으로 치환되고;

각각의 R¹¹, R^{12a}, 및 R^{12b}는 독립적으로 H, C₁-C₆ 알킬, C₂-C₆ 알콕시알킬, C₁-C₆ 할로알킬, C₂-C₆ 알케닐, C₂-C₆ 알키닐, C₃-C₇ 사이클로알킬, 또는 4 내지 7원 헤테로사이클릴이고, 여기서 사이클로알킬 또는 헤테로사이클릴은 1, 2, 또는 3개의 할로젠 또는 CN으로 선택적으로 치환되고;

n은 1, 2, 또는 3이다.

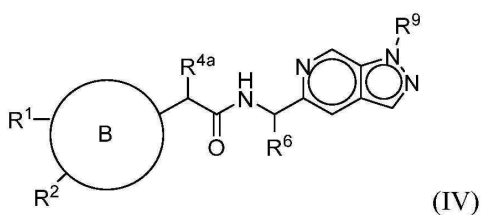
청구항 27

제21항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, T-타입 칼슘 채널 길항제가 하기 화학식 (III)의 구조 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 갖는 방법:



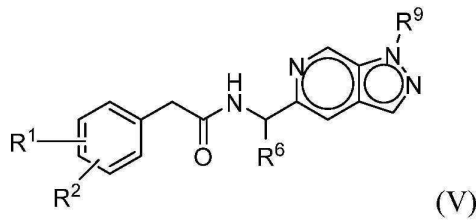
청구항 28

제21항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, T-타입 칼슘 채널 길항제가 하기 화학식 (IV)의 구조 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 갖는 방법:



청구항 29

제21항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, T-타입 칼슘 채널 길항제가 하기 화학식 (V)의 구조 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 갖는 방법:



청구항 30

제21항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 세포가 근육 세포인 방법.

청구항 31

제21항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, 세포가 뉴런 세포인 방법.

청구항 32

제21항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, Miro1 수준의 감소가 시험관내 또는 생체의 감소인 방법.

청구항 33

제21항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, Miro1 수준의 감소가 생체내 감소인 방법.

청구항 34

Miro1-관련 장애가 발생할 위험이 있는 대상체를 확인하기 위한 방법으로서, 상기 방법이

- a) 대상체로부터 취득되고 미토콘드리아 스트레스인자로 처리된 생물학적 샘플에서 Miro1 수준이 대상체로부터 취득되고 처리되지 않은 대조군 생물학적 샘플의 대조군 Miro1 수준과 비교하여 유사하거나 더 높은지 여부를 검출하는 단계; 및
- b) Miro1 수준이 대조군 생물학적 샘플의 대조군 Miro1 수준과 비교하여 생물학적 샘플에서 유사하거나 더 높은 경우 Miro1-관련 장애가 발생할 위험이 있는 대상체를 확인하는 단계를 포함하고;

여기서 생물학적 샘플 및 대조군 생물학적 샘플이 iPSC 또는 iPSC로부터 분화된 세포를 포함하는, 방법.

청구항 35

제34항에 있어서, 대조군 Miro1 수준에 대한 Miro1 수준의 비율이 약 0.5 내지 약 10인 방법.

청구항 36

제34항에 있어서, 대조군 Miro1 수준에 대한 Miro1 수준의 비율이 약 0.7 내지 약 4인 방법.

청구항 37

제34항에 있어서, 미토콘드리아 스트레스인자가 카르보닐 시아나이드 3-클로로페닐히드라존(CCCP)인 방법.

청구항 38

Miro1-관련 장애가 발생할 위험이 있는 대상체를 확인하기 위한 방법으로서, 상기 방법이

- a) 대상체로부터 취득되고 미토콘드리아 스트레스인자로 처리된 생물학적 샘플에서 Miro1 수준이 대상체로부터 취득되고 처리되지 않은 대조군 생물학적 샘플의 대조군 Miro1 수준과 비교하여 유사하거나 더 높은지 여부를 검출하는 단계;
- b) Miro1 수준이 대조군 생물학적 샘플의 대조군 Miro1 수준과 비교하여 생물학적 샘플에서 유사하거나 더 높은

경우 Miro1-관련 장애가 발생할 위험이 있는 대상체를 확인하는 단계; 및

c) 치료적 유효량의 제1항 내지 제18항 중 어느 한 항의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 투여함으로써 Miro1-관련 장애가 발생할 위험이 있는 대상체를 치료하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 39

제38항에 있어서, 대조군 Miro1 수준에 대한 Miro1 수준의 비율이 약 0.5 내지 약 10인 방법.

청구항 40

제38항에 있어서, 대조군 Miro1 수준에 대한 Miro1 수준의 비율이 약 0.7 내지 약 4인 방법.

청구항 41

제38항에 있어서, 미토콘드리아 스트레스인자가 카르보닐 시아나이드 3-클로로페닐히드라존(CCCP)인 방법.

청구항 42

제38항에 있어서, 생물학적 샘플 및 대조군 생물학적 샘플이 섬유모세포를 포함하는 방법.

청구항 43

신경퇴행성 장애의 치료를 필요로 하는 대상체에서 신경퇴행성 장애를 치료하기 위한 방법으로서, 상기 방법이

a) 대상체로부터 취득되고 미토콘드리아 스트레스인자로 처리된 생물학적 샘플에서 Miro1 수준이 대상체로부터 취득되고 처리되지 않은 대조군 생물학적 샘플의 대조군 Miro1 수준과 비교하여 유사하거나 더 높은지 여부를 검출하는 단계;

b) Miro1 수준이 대조군 생물학적 샘플의 대조군 Miro1 수준과 비교하여 생물학적 샘플에서 유사하거나 더 높은 경우 치료를 위한 대상체를 확인하는 단계; 및

c) 치료적 유효량의 제1항 내지 제18항 중 어느 한 항의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 대상체에 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 44

제43항에 있어서, 대조군 Miro1 수준에 대한 Miro1 수준의 비율이 약 0.5 내지 약 10인 방법.

청구항 45

제43항에 있어서, 대조군 Miro1 수준에 대한 Miro1 수준의 비율이 약 0.7 내지 약 4인 방법.

청구항 46

제43항에 있어서, 미토콘드리아 스트레스인자가 카르보닐 시아나이드 3-클로로페닐히드라존(CCCP)인 방법.

청구항 47

제43항에 있어서, 생물학적 샘플 및 대조군 생물학적 샘플이 섬유모세포를 포함하는 방법.

청구항 48

제43항 내지 제47항 중 어느 한 항에 있어서, 신경퇴행성 장애가 약물-유발 파킨슨증, 진행성 핵상 마비, 혈관성 파킨슨증, 루이소체 치매, 미만성 루이소체병, 피질기저 핵변성, 다계통 변성(샤이-드래거 증후군), 파킨슨 병, 알츠하이머병, 픽병, 전두측두엽 치매, 다계통 위축, 혈관성 치매, 또는 진행성 핵상 마비(스틸-리차드슨 증후군)인 방법.

청구항 49

제43항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체가 신경퇴행성 장애에 대해 무증상인 방법.

발명의 설명

기술분야

[0001] 관련 출원에 대한 상호 참조

[0002] 본 출원은 2021년 3월 4일에 출원된 미국 가출원 번호 63/156,806 및 2021년 8월 2일에 출원된 63/228,505에 대한 우선권을 주장하며, 이들 각각은 모든 목적을 위해 그 전체가 본원에 포함된다.

배경기술

[0003] 뉴런은 세포체로부터 멀리 떨어진 위치에서 높은 에너지 요구량을 갖는 대사적으로 활성인 세포이다. 결과적으로, 미토콘드리아 기능장애의 질병이 종종 신경퇴행성 성분을 갖는다는 관찰에 의해 반영되는 바와 같이, 이러한 세포는 특히 미토콘드리아 기능에 의존적이다. 최근의 발견은 뉴런이 특히 미토콘드리아의 동적 특성에 의존한다는 것을 강조하였다. 미토콘드리아는 여러 기준에 의해 동적 소기관이다. 이들은 반복된 융합 및 핵분열 주기에 관여하며, 이는 미토콘드리아 집단의 지질 및 내용물을 혼합하는 역할을 한다. 또한, 미토콘드리아는 뉴런의 축삭 및 수지상 돌기와 같은 세포하 부위에 적극적으로 동원된다. 마지막으로, 미토콘드리아 집단의 품질은 결합 있는 미토콘드리아가 선택적으로 분해되는 자가포식의 형태인 미토파지를 통해 유지된다. 미토콘드리아 융합, 핵분열, 수송 및 미토파지와 같은 미토콘드리아 역학의 주요 특징에서의 결함은 신경퇴행성 장애와 관련이 있다. 파킨슨병, 알츠하이머병 및 헌팅턴병을 포함하는 여러 주요 신경퇴행성 장애는 미토콘드리아 역학의 붕괴를 포함한다.

[0004] 미토콘드리아 운동은 에너지 항상성을 유지하고 산화 스트레스를 방지하기 위해 엄격하게 제어된다. 미토콘드리아 운동성은 탈분극된 미토콘드리아가 자가포식소체 및 리소좀을 통해 분해되는 중요한 세포 메커니즘인 미토파지의 개시 전에 중단된다. 운동성의 정지는 손상된 미토콘드리아를 격리시켜, 이들이 이동하는 것을 방지하고 다른 건강한 미토콘드리아에 손상을 재도입하는 것을 방지할 수 있다.

[0005] Miro는 미토콘드리아에 미세소관 모터 키네신 및 디네인을 고정시키는 외부 미토콘드리아 막(OMM) 단백질이다 (Glater et al., "Axonal transport of mitochondria requires milton to recruit kinesin heavy chain and is light chain independent," *The Journal of cell biology*, 2006,173:545-557; and Koutsopoulos et al., "Human Miltons associate with mitochondria and induce microtubule-dependent remodeling of mitochondrial networks," *Biochimica et biophysica acta*, 2010,1803:564-574). 이러한 탈분극-유발된 미토콘드리아 정지는 손상된 미토콘드리아 표면으로부터 Miro의 제거에 의해 달성된다(Wang et al., "PINK1 and Parkin target Miro for phosphorylation and degradation to arrest mitochondrial motility," *Cell*, 2011,147:893-906). Miro는 이후 프로테아좀에 의해 분해된다(Wang et al., 2011). 증거에 따르면 2개의 PD-연결 단백질, 즉, PINK1(PTEN-유도된 추정 키나제 1) 및 Parkin은 분해를 위해 Miro를 표적화하기 위해 협력하여 작용하는 것으로 나타났다(Ashrafi et al., "Mitophagy of damaged mitochondria occurs locally in distal neuronal axons and requires PINK1 and Parkin," *The Journal of cell biology*, 2014,206:655-670; Liu et al., "Parkinson's disease-associated kinase PINK1 regulates Miro protein level and axonal transport of mitochondria," *PLoS genetics*, 2012,8:e1002537; and Wang et al., 2011). PINK1 또는 Parkin의 돌연변이는 드문 형태의 열성 조기-발병 PD와 관련이 있다.

[0006] 변경된 미토콘드리아 수송은 주요 성인-발병 신경퇴행성 질환의 병원성 변화 중 하나이다(Sheng ZH, Cai Q, "Mitochondrial transport in neurons: impact on synaptic homeostasis and neurodegeneration," *Nat Rev Neurosci*, 2012 Jan 5;13(2):77-93). 돌연변이 LRRK2G2019 세포에서, 미토콘드리아 외막 단백질 Miro는 안정화되고 정상보다 더 오래 손상된 미토콘드리아에 남아, 활성 수송을 연장하고 미토콘드리아 분해를 억제한다(Hsieh et al., "Functional Impairment in Miro Degradation and Mitophagy Is a Shared Feature in Familial and Sporadic Parkinson's Disease," *Cell Stem Cell*, 2016 Dec 1;19(6):709-724). Miro 분해 및 미토콘드리아 운동성은 산발성 PD 환자에서도 손상된다(Hsieh et al., 2016). Miro의 연장된 보유, 및 뒤따르는 다운스트림 결과는 PD 발병기전의 중심 성분을 구성할 수 있다.

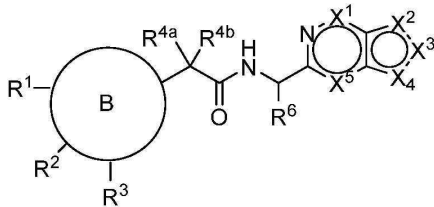
[0007] T-타입 전압-의존성 칼슘 채널 또는 T-타입 칼슘 채널은 세포막 과분극 동안 탈불활성화되지만 이후 탈분극으로 개방되는 저전압 활성화된 칼슘 채널이다. 3개의 공지된 T-타입 칼슘 채널 서브타입이 있다: Ca_v3.1, Ca_v3.2, 및 Ca_v3.3. 다양한 세포로의 칼슘의 진입은 이와 관련된 많은 상이한 생리학적 반응을 갖는다. 심장 근육 세포 및 평활근 세포 내에서 전압-개폐 칼슘 채널 활성화는 세포질 농도를 증가시킴으로써 직접 수축을 개시한다. T-타입 칼슘 채널은 심장 및 평활근 뿐만 아니라 중추 신경계 내의 많은 뉴런 세포에 존재한다.

[0008] 예를 들어, 파킨슨병과 같은 신경퇴행성 질환을 치료하기 위해, 세포에서 Miro1 수준을 감소시키기 위한 신규한 화합물 및 방법이 필요하다.

발명의 내용

[0009] 간단한 개요

[0010] 일 양태에서, 본 개시는 하기 화학식 (II)의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 제공한다:



(II),

[0011]

[0012] 상기 식에서,

[0013] 고리 B는 C₆-C₁₀ 아릴 또는 5 내지 10원 헤테로아릴이고;

[0014] R¹, R², 및 R³은 각각 독립적으로 H, 할로젠, CN, OR¹¹, NR^{12a,12b}, C₁-C₆ 알킬, C₂-C₆ 알콕시알킬, C₁-C₆ 할로알킬, C₂-C₆ 알케닐, C₂-C₆ 알키닐, 페닐, 5 내지 6원 헤테로아릴, C₃-C₇ 사이클로알킬, -(CH₂)_n-(C₃-C₇ 사이클로알킬), 4 내지 7원 헤테로사이클릴, 또는 -(CH₂)_n-(4 내지 7원 헤테로사이클릴)이고, 여기서 페닐, 헤테로아릴, 사이클로알킬 또는 헤테로사이클릴은 1, 2, 또는 3개의 할로젠, CN, OR¹¹, NR^{12a,12b}, C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알콕시, C₁-C₆ 알킬아미노, 또는 C₁-C₆ 할로알킬로 선택적으로 치환되고;

[0015] R^{4a} 및 R^{4b}는 각각 독립적으로 H 또는 C₁-C₆ 알킬이거나, R^{4a} 및 R^{4b} 및 이들이 부착된 탄소 원자는 C₃-C₅ 사이클로알킬을 형성하고;

[0016] R⁶은 H, C₁-C₆ 알킬, 또는 C₁-C₆ 할로알킬이고;

[0017] X¹ 및 X⁵는 각각 독립적으로 N 또는 CR⁸이며, 단, X¹ 및 X⁵ 중 적어도 하나는 CR⁸이고;

[0018] X², X³, 및 X⁴는 각각 독립적으로 N, NR⁹, O, S, 또는 CR⁹이고, 단, X², X³, 및 X⁴ 중 적어도 하나는 N, NR⁹, O, 또는 S이고;

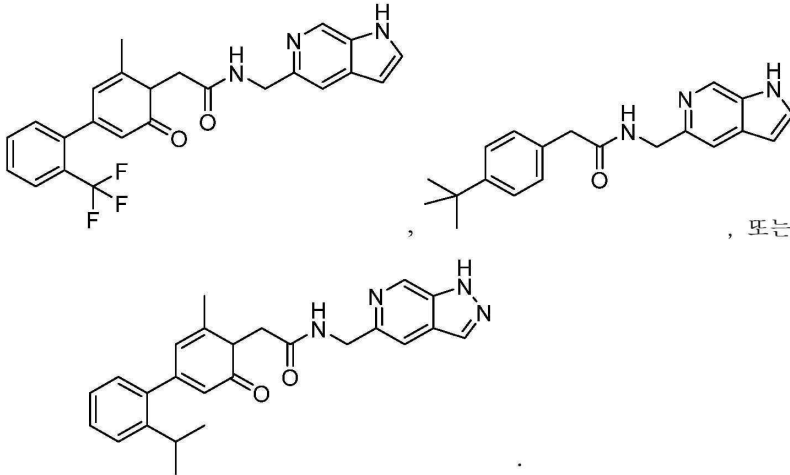
[0019] R⁸은 H, 할로젠, CN, OR¹¹, C₁-C₆ 알킬, C₂-C₆ 알콕시알킬, 또는 C₁-C₆ 할로알킬이고;

[0020] R⁹은 H, C₁-C₆ 알킬, C₂-C₆ 알콕시알킬, C₁-C₆ 할로알킬, C₂-C₆ 알케닐, C₂-C₆ 알키닐, C₃-C₇ 사이클로알킬, 또는 4 내지 7원 헤테로사이클릴이고, 여기서 사이클로알킬 또는 헤테로사이클릴은 1, 2, 또는 3개의 할로젠, CN, OH, NH₂, C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알콕시, C₁-C₆ 알킬아미노, 또는 C₁-C₆ 할로알킬로 선택적으로 치환되고;

[0021] 각각의 R¹¹, R^{12a}, 및 R^{12b}는 독립적으로 H, C₁-C₆ 알킬, C₂-C₆ 알콕시알킬, C₁-C₆ 할로알킬, C₂-C₆ 알케닐, C₂-C₆ 알키닐, C₃-C₇ 사이클로알킬, 또는 4 내지 7원 헤테로사이클릴이고, 여기서 사이클로알킬 또는 헤테로사이클릴은 1, 2, 또는 3개의 할로젠 또는 CN으로 선택적으로 치환되고;

[0022] n은 1, 2, 또는 3이고;

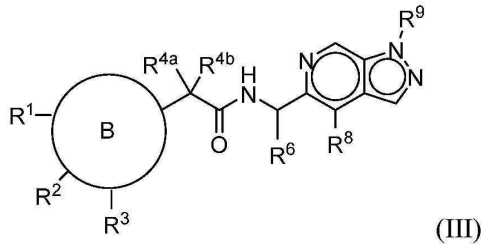
[0023] 단, 화합물은 하기 구조 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 갖지 않는다:



[0024]

[0025] 화학식 (II)의 화합물은 X^1 이 CR^8 인 구조를 가질 수 있다. 예를 들어, R^8 은 H일 수 있다. 화학식 (II)의 화합물은 각각 독립적으로 N, NR^9 , 또는 CR^9 인 X^2 , X^3 , 및 X^4 를 포함할 수 있으며, 단, X^2 , X^3 , 및 X^4 중 적어도 하나는 N 또는 NR^9 이다.

[0026] 본 개시는 또한 하기 화학식 (III)의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 제공한다:



[0027]

[0028] 상기 식에서 R^1 , R^2 , R^3 , R^{4a} , R^{4b} , R^6 , R^8 , 및 R^9 는 본원의 다른 곳에 정의된 바와 같다.

[0029] 화학식 (II) 또는 (III)의 화합물 또는 이의 약학적 염은 각각 독립적으로 H, 할로젠, CN, OH, NH_2 , C_1-C_6 알킬, C_1-C_6 알콕시, C_1-C_6 알킬아미노, C_2-C_6 알콕시알킬, C_1-C_6 할로알킬, 또는 C_3-C_7 사이클로알킬인 R^1 , R^2 , 및 R^3 을 가질 수 있고, 여기서 사이클로알킬은 1, 2, 또는 3개의 할로젠, CN, OH, NH_2 , C_1-C_6 알킬, C_1-C_6 알콕시, C_1-C_6 알킬아미노, 또는 C_1-C_6 할로알킬로 선택적으로 치환된다.

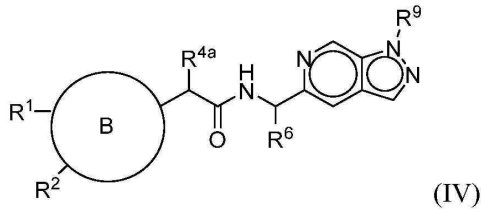
[0030] 화학식 (II) 또는 (III)의 화합물 또는 이의 약학적 염은 각각 독립적으로 H, 할로젠, C_1-C_6 알킬, C_1-C_6 알콕시, C_2-C_6 알콕시알킬, C_1-C_6 할로알킬, 또는 C_3-C_7 사이클로알킬인 R^1 및 R^2 를 가질 수 있고, 여기서 사이클로알킬은 1, 2, 또는 3개의 할로젠, CN, OH, NH_2 , C_1-C_6 알킬, C_1-C_6 알콕시, C_1-C_6 알킬아미노, 또는 C_1-C_6 할로알킬로 선택적으로 치환된다. 예를 들어, R^1 및 R^2 는 각각 독립적으로 H, 할로젠, C_1-C_3 알킬, C_1-C_3 알콕시, C_2-C_3 알콕시알킬, C_1-C_3 할로알킬, 또는 C_3-C_5 사이클로알킬일 수 있고, 여기서 사이클로알킬은 1, 2, 또는 3개의 할로젠, CN, C_1-C_3 알킬, C_1-C_3 알콕시, C_1-C_3 알킬아미노, 또는 C_1-C_3 할로알킬로 선택적으로 치환된다.

[0031] 화학식 (II) 또는 (III)의 화합물 또는 이의 약학적 염은 각각 독립적으로 H 또는 CH_3 인 R^{4a} 및 R^{4b} 를 가질 수 있다.

[0032] 화학식 (II) 또는 (III)의 화합물 또는 이의 약학적 염은 H 또는 C_1-C_3 알킬인 R^6 을 가질 수 있다. 예를 들어,

R⁶은 CH₃일 수 있다.

[0033] 본 개시는 또한 하기 화학식 (IV)의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 제공한다:

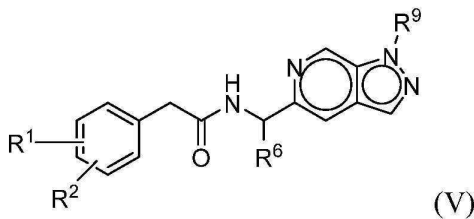


[0034] ,
 [0035] 상기 식에서 R¹, R², R^{4a}, R⁶, 및 R⁹는 본원의 다른 곳에 정의된 바와 같다.

[0036] 화학식 (II), (III), 또는 (IV)의 화합물 또는 이의 약학적 염은 C₁-C₆ 알킬, C₂-C₆ 알콕시알킬, C₁-C₆ 할로알킬, C₂-C₆ 알케닐, C₂-C₆ 알키닐, C₃-C₇ 사이클로알킬, 또는 4 내지 7원 헤테로사이클릴인 R⁹를 가질 수 있고, 여기서 사이클로알킬 또는 헤테로사이클릴은 1, 2, 또는 3개의 할로겐, CN, OH, NH₂, C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알콕시, C₁-C₆ 알킬아미노, 또는 C₁-C₆ 할로알킬로 선택적으로 치환된다. 예를 들어, R⁹는 C₁-C₆ 알킬, C₂-C₆ 알콕시알킬, C₁-C₆ 할로알킬, C₃-C₇ 사이클로알킬, 또는 4 내지 7원 헤테로사이클릴일 수 있고, 여기서 사이클로알킬 또는 헤테로사이클릴은 1, 2, 또는 3개의 할로겐, CN, OH, NH₂, C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알콕시, C₁-C₆ 알킬아미노, 또는 C₁-C₆ 할로알킬로 선택적으로 치환된다.

[0037] 화학식 (II), (III), 또는 (IV)의 화합물 또는 이의 약학적 염은 페닐 또는 5 내지 6원 헤테로아릴인 고리 B를 가질 수 있다. 예를 들어, 고리 B는 페닐 또는 피리딜일 수 있다.

[0038] 본 개시는 또한 하기 화학식 (V)의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 제공한다:



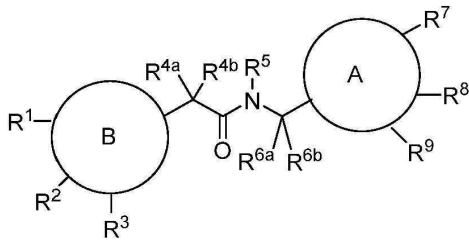
[0039] ,
 [0040] 상기 식에서 R¹, R², R⁶, 및 R⁹는 본원의 다른 곳에 정의된 바와 같다.

[0041] 본 개시의 예시적인 T-타입 칼슘 채널 길항제는 표 1의 화합물 중 어느 하나의 구조를 가질 수 있다. 본 개시의 화합물에 대한 추가 구조는 표 2에서 찾을 수 있다.

[0042] 본 개시는 본원에 기재된 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염의 약학적 조성물을 포함한다.

[0043] 본원에 기재된 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 투여하는 것을 포함하는 대상체에서 신경퇴행성 장애를 치료하는 방법이 본원에 추가로 제공된다.

[0044] 또 다른 양태에서, 세포를 유효량의 T-타입 칼슘 채널 길항제와 접촉시키는 것을 포함하는, 세포에서 Miro1 수준을 감소시키는 방법이 본원에 개시된다. T-타입 칼슘 채널 길항제는 L-타입, N-타입, P-타입, 및/또는 R-타입 칼슘 채널 중 하나 이상에 비해 적어도 약 1.2배 이상의 T-타입 칼슘 채널에 대한 선택성을 가질 수 있다. 상기 방법은 하기 화학식 (I)의 구조 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 갖는 T-타입 칼슘 채널 길항제를 포함할 수 있다:



(I),

[0045]

[0046]

[0047]

[0048]

[0049]

[0050]

[0051]

[0052]

[0053]

[0054]

[0055]

[0056]

[0057]

[0058]

상기 식에서,

고리 A 및 고리 B는 각각 독립적으로 C₆-C₁₀ 아릴 또는 5 내지 10원 헤테로아릴이고;

R¹, R², 및 R³은 각각 독립적으로 H, 할로젠, CN, OR¹¹, NR^{12a}R^{12b}, C₁-C₆ 알킬, C₂-C₆ 알콕시알킬, C₁-C₆ 할로알킬, C₂-C₆ 알케닐, C₂-C₆ 알키닐, 페닐, 5 내지 6원 헤테로아릴, C₃-C₇ 사이클로알킬, 또는 4 내지 7원 헤테로사이클릴이고, 여기서 페닐, 헤테로아릴, 사이클로알킬 또는 헤테로사이클릴은 1, 2, 또는 3개의 할로젠, CN, OR¹¹, NR^{12a}, R^{12b}, C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알콕시, C₁-C₆ 알킬아미노, 또는 C₁-C₆ 할로알킬로 선택적으로 치환되고;

R^{4a} 및 R^{4b}는 각각 독립적으로 H 또는 C₁-C₆ 알킬이고;

R⁵는 H 또는 C₁-C₆ 알킬이고;

R^{6a} 및 R^{6b}는 각각 독립적으로 H 또는 C₁-C₆ 알킬이고;

R⁷은 H, 할로젠, CN, OR¹¹, NR^{12a}, R^{12b}, C₁-C₆ 알킬, C₂-C₆ 알콕시알킬, C₁-C₆ 할로알킬, C₂-C₆ 알케닐, C₂-C₆ 알키닐, 페닐, 5 내지 6원 헤테로아릴, C₃-C₇ 사이클로알킬, 또는 4 내지 7원 헤테로사이클릴이고, 여기서 페닐, 헤테로아릴, 사이클로알킬 또는 헤테로사이클릴은 1, 2, 또는 3개의 할로젠, CN, OR¹¹, NR^{12a}, R^{12b}, C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알콕시, C₁-C₆ 알킬아미노, 또는 C₁-C₆ 할로알킬로 선택적으로 치환되고;

R⁸은 H, C₁-C₆ 알킬, C₂-C₆ 알콕시알킬, C₁-C₆ 할로알킬, C₂-C₆ 알케닐, C₂-C₆ 알키닐, C₃-C₇ 사이클로알킬, 또는 4 내지 7원 헤테로사이클릴이고, 여기서 사이클로알킬 또는 헤테로사이클릴은 1, 2, 또는 3개의 할로젠, CN, OH, NH₂, C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알콕시, C₁-C₆ 알킬아미노, 또는 C₁-C₆ 할로알킬로 선택적으로 치환되고;

R⁹은 H, C₁-C₆ 알킬, C₂-C₆ 알콕시알킬, C₁-C₆ 할로알킬, C₂-C₆ 알케닐, C₂-C₆ 알키닐, C₃-C₇ 사이클로알킬, 또는 4 내지 7원 헤테로사이클릴이고, 여기서 사이클로알킬 또는 헤테로사이클릴은 1, 2, 또는 3개의 할로젠, CN, OH, NH₂, C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알콕시, C₁-C₆ 알킬아미노, 또는 C₁-C₆ 할로알킬로 선택적으로 치환되고;

각각의 R¹¹, R^{12a}, 및 R^{12b}는 독립적으로 H, C₁-C₆ 알킬, C₂-C₆ 알콕시알킬, C₁-C₆ 할로알킬, C₂-C₆ 알케닐, C₂-C₆ 알키닐, C₃-C₇ 사이클로알킬, 또는 4 내지 7원 헤테로사이클릴이고, 여기서 사이클로알킬 또는 헤테로사이클릴은 1, 2, 또는 3개의 할로젠 또는 CN으로 선택적으로 치환된다.

고리 A는 9 내지 10원 헤테로아릴일 수 있다. 고리 B는 페닐 또는 5 내지 6원 헤테로아릴일 수 있다. 예를 들어, T-타입 칼슘 채널 길항제는 화학식 (II), (III), (IV), 또는 (V)의 구조 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 가질 수 있다.

본원에 기재된 Miro1 수준을 감소시키는 방법은 임의의 적합한 세포에서 수행될 수 있다. 예를 들어, 세포는 근육 세포일 수 있다. 또 다른 예에서, 세포는 뉴런 세포일 수 있다. Miro1 수준의 감소는 시험관내 또는 생체의 감소일 수 있다. 대안적으로, Miro1 수준의 감소는 생체내 감소일 수 있다.

또 다른 양태에서, Miro1-관련 장애가 발생할 위험이 있는 대상체를 확인하기 위한 방법이 본원에 제공되며, 상

기 방법은 a) 대상체로부터 수득되고 미토콘드리아 스트레스인자로 처리된 생물학적 샘플에서 Miro1 수준이 대상체로부터 수득되고 처리되지 않은 대조군 생물학적 샘플의 대조군 Miro1 수준과 비교하여 유사하거나 더 높은지 여부를 검출하는 단계; 및 b) Miro1 수준이 대조군 생물학적 샘플의 대조군 Miro1 수준과 비교하여 생물학적 샘플에서 유사하거나 더 높은 경우 Miro1-관련 장애가 발생할 위험이 있는 대상체를 확인하는 단계를 포함하고, 여기서 생물학적 샘플 및 대조군 생물학적 샘플은 iPSC 또는 iPSC로부터 분화된 세포를 포함한다. 미토콘드리아 스트레스인자는 카르보닐 시아나이드 3-클로로페닐히드라존(CCCP)일 수 있다. 상기 방법은 치료적 유효량의 본원에 기재된 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 투여함으로써 Miro1-관련 장애가 발생할 위험이 있는 대상체를 치료하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.

[0059] 또 다른 양태에서, Miro1-관련 장애가 발생할 위험이 있는 대상체를 확인하기 위한 방법이 제공되며, 상기 방법은 a) 대상체로부터 수득되고 미토콘드리아 스트레스인자로 처리된 생물학적 샘플에서 Miro1 수준이 대상체로부터 수득되고 처리되지 않은 대조군 생물학적 샘플의 대조군 Miro1 수준과 비교하여 유사하거나 더 높은지 여부를 검출하는 단계; b) Miro1 수준이 대조군 생물학적 샘플의 대조군 Miro1 수준과 비교하여 생물학적 샘플에서 유사하거나 더 높은 경우 Miro1-관련 장애가 발생할 위험이 있는 대상체를 확인하는 단계를 포함한다. 미토콘드리아 스트레스인자는 카르보닐 시아나이드 3-클로로페닐히드라존(CCCP)일 수 있고; c) 치료적 유효량의 본원에 기재된 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 투여함으로써 Miro1-관련 장애가 발생할 위험이 있는 대상체를 치료하는 단계. 생물학적 샘플 및 대조군 생물학적 샘플은 섬유모세포를 포함할 수 있다.

[0060] 본 개시는 신경퇴행성 장애의 치료를 필요로 하는 대상체에서 신경퇴행성 장애를 치료하기 위한 방법을 추가로 기술하며, 상기 방법은 a) 대상체로부터 수득되고 미토콘드리아 스트레스인자로 처리된 생물학적 샘플에서 Miro1 수준이 대상체로부터 수득되고 처리되지 않은 대조군 생물학적 샘플의 대조군 Miro1 수준과 비교하여 유사하거나 더 높은지 여부를 검출하는 단계; b) Miro1 수준이 대조군 생물학적 샘플의 대조군 Miro1 수준과 비교하여 생물학적 샘플에서 유사하거나 더 높은 경우 치료를 위한 대상체를 확인하는 단계; 및 c) 치료적 유효량의 본원에 기재된 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 미토콘드리아 스트레스인자는 카르보닐 시아나이드 3-클로로페닐히드라존(CCCP)일 수 있다. 생물학적 샘플 및 대조군 생물학적 샘플은 섬유모세포를 포함할 수 있다. 신경퇴행성 장애는 약물-유발 파킨슨증, 진행성 핵상 마비, 혈관성 파킨슨증, 루이소체 치매, 미만성 루이소체병, 피질기저 핵변성, 다계통 변성(샤이-드래거 증후군), 파킨슨병, 알츠하이머병, 픽병, 전두측두엽 치매, 다계통 위축, 혈관성 치매, 및 진행성 핵상 마비(스틸-리차드슨 증후군)을 포함한다. 대상체는 신경퇴행성 장애에 대해 무증상일 수 있다.

[0061] 대조군 Miro1 수준과 비교하여 Miro1 수준은 당 분야의 임의의 방법, 예를 들어, 본원에 추가로 기재된 방법에 의해 결정될 수 있다. 예를 들어, 대조군 Miro1 수준에 대한 Miro1 수준의 비율은 약 0.5 내지 약 10일 수 있다. 또 다른 예에서, 대조군 Miro1 수준에 대한 Miro1 수준의 비율은 약 0.7 내지 약 4일 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0062] 도 1은 파킨슨병 파리 모델에서 로코모터(locomotor) 저하에 대한 사료 중 베니디핀의 효과를 보여준다.

도 2는 유도된 다능성 줄기 세포(iPSC)에서 카르보닐 시아나이드 3-클로로페닐히드라존(CCCP)에 대한 Miro1 반응을 보여준다. (A) 관독의 개략도. (B) Healthy-2, PD-29, 및 Risk-39를 사용한 관독의 예. 세포 용해물을 지시된 바와 같이 블롯팅하였다. (C) 웨스턴 블롯팅 결과의 요약. 동일한 대상체 내에서 "DMSO 사용" 및 "CCCp 사용"의 정규화된 Miro1 강도를 스튜던트 T Test에 의해 비교하고, CCCP 후 유의한 Miro1 상향조절을 나타낸 대상체와 함께 P > 0.05인 대상체의 수, 또는 CCCP 후 Miro1 감소에 대해 P < 0.05인 대상체의 수를 "No. (Miro1 DMSO 대 CCCP P > 0.05 또는 <0.05)" 컬럼에 표시하였다. "Healthy"와 비교하여 특정 그룹의 P 값을 결정하기 위해 Fisher Exact Test를 사용하였다. (D) 히트맵은 웨스턴 블롯팅에 의해 측정된 동일한 대상체의 평균 정규화된 Miro1 강도의 상대 비율("CCCp 사용"을 "DMSO 사용"으로 나눈 값)을 나타내었다. n = 3-55. (E-G) Miro1에 대한 ELISA의 검증. (E) 대표적인 표준 곡선이 표시된다. LLOD = 0.112 ng/ml. 동적 범위 = 0.625-40 ng/ml. (F) 4개의 상이한 플레이트에서 동일한 샘플(Healthy-1)을 측정함으로써 플레이트간 변동성을 입증하였다. (G) 동일한 플레이트에서 동일한 샘플(Healthy-1)을 4회 측정함으로써 플레이트내 변동성을 나타내었다. (H) 히트맵은 ELISA에 의해 측정된 동일한 대상체의 평균 Miro1 값의 상대 비율("CCCp 사용"을 "DMSO 사용"으로 나눈 값)을 나타낸다. n = 3-4. *P < 0.05; **P < 0.01; 및 ***P < 0.001.

도 3은 iPSC에서 Miro1 비율의 상관관계 분석을 보여준다. (A) 일원 Anova를 사용하여 모든 그룹 간의 유의한 차이를 결정하였다. (B) 이원 Anova를 사용하여 반응 변수로서 Miro1 비율을 사용하여 성별과 유전적 배경 사이의 상호작용을 결정하였다. (C, D) 연령과 유전적 배경(C), 또는 연령과 성별(D) 사이의 상호작용을 결정하기

위해 다변수 회귀를 사용하였고, 반응 변수로서 Miro1 비율을 사용하였다. 모든 P 값은 선형 핏에 의해 계산되었다.

도 4는 섬유모세포에서 Miro1 비율의 상관관계 분석을 보여준다. (A) 일원 Anova를 사용하였다. (B) 이원 Anova를 사용하여 반응 변수로서 Miro1 비율을 사용하여 성별과 유전적 배경 사이의 상호작용을 결정하였다. (C, D) 연령과 유전적 배경(C), 또는 연령과 성별(D) 사이의 상호작용을 결정하기 위해 다변수 회귀를 사용하였고, 반응 변수로서 Miro1 비율을 사용하였다. 모든 P 값은 선형 핏에 의해 계산되었다.

도 5는 인구통계학적 및 임상적 변수 사이의 상호작용을 보여준다. (A) 대표적인 부분 회귀 플롯은 Miro1 비율에 대한 단일 변수인 간이 정신 상태 검사(Mini-Mental Status Examination)(MMSE)의 영향을 보여준다. (B-D) 대표적인 부분 회귀 플롯은 Miro1 비율에 영향을 미치는 두 변수의 상호작용을 보여준다. (B) 혼야 척도(Hoehn and Yahr Scale)(hys) 및 발병 연령. (C) MMSE 및 hys. (D) 발병 연령 및 MMSE.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0063] 본 개시는 특히 세포의 Miro1 수준을 감소시킬 수 있는, 선택적 L-타입 또는 N-타입 칼슘 채널 길항제도 아니고 혼합된 L-/N-타입 또는 L-/N-/P-타입 칼슘 채널 길항제도 아닌 선택적 T-타입 칼슘 채널 길항제의 방법 및 조성물을 제공한다. 따라서, 선택적 T-타입 전압-의존성 칼슘 채널 길항제, 또는 T-타입 길항제 활성을 갖는 혼합된 선택성 칼슘 채널 길항제는 세포, 예를 들어, 뉴런 세포의 Miro1 수준의 감소로부터 이익을 얻을 질병 또는 질환에서 Miro1 수준을 감소시키는데 유용할 수 있다. 이러한 질병 또는 질환은 파킨슨병과 같은 신경퇴행성 질환을 포함한다.

[0064] 화학식 (II)의 아미드 화합물이 또한 본원에 개시된다. 실시예 1-55 참조. 이러한 화합물은 T-타입 칼슘 채널 길항제 활성을 나타내었다(실시예 60). 따라서, 화학식 (II)의 화합물은 세포의 Miro1 수준을 감소시킬 수 있고, 파킨슨병과 같은 신경퇴행성 질환을 치료하는데 유용할 수 있다.

[0065] 추가로, 미토콘드리아 스트레스인자로 처리된 대상체의 생물학적 샘플로부터의 Miro1 수준을 상응하는 처리되지 않은 생물학적 샘플로부터 측정된 대조군 Miro1 수준과 비교하여 측정함으로써, Miro1-관련 장애가 발생할 위험이 있는 대상체를 확인하는 방법이 제공된다. Miro1-관련 장애는 본원에 기재된 임의의 신경퇴행성 장애, 예를 들어, 파킨슨병을 포함한다. 실시예 64에 예시된 바와 같이, 정상 대상체에서, 미토콘드리아 스트레스인자 CCCP로 처리된 대상체-유래 생물학적 샘플로부터의 세포, 예를 들어, 유도된 다능성 줄기 세포(iPSC) 또는 피부 섬유모세포의 Miro1 수준은 처리되지 않은 세포의 대조군 Miro1 수준보다 낮았다. 그러나, 파킨슨병 환자 및 파킨슨병 발생 위험이 있는 대상체에서, Miro1 수준은 대조군 Miro1 수준과 유사하거나 더 높았다(도 2-4). 따라서, Miro1 수준은 파킨슨병 증상이 있는 개인 및 무증상 개인과 같은 Miro1-관련 장애가 발생할 위험이 있는 대상체를 표시하는데 사용될 수 있다. 또한, 더 높은 Miro1 수준은 MMSE 점수에 의해 측정된 바와 같이 인지 저하와 상관관계가 있었고(도 5), 이는 Miro1이 인지 장애와 함께 파킨슨병의 진행을 모니터링하는데 활용될 수 있음을 시사한다. 이러한 결과는 Miro1 수준이 파킨슨병을 포함하는 전증상 Miro1-관련 장애를 갖는 대상체를 확인하고, 증상이 나타나기 전에 Miro1 수준을 감소시킬 수 있는 화합물로 대상체를 치료하는데 사용될 수 있음을 시사한다.

[0066] **I. 정의**

[0067] "알킬"은 선형 또는 분지형 포화 1가 탄화수소이다. 예를 들어, 알킬 기는 1 내지 18개의 탄소 원자(즉, C₁₋₁₈ 알킬) 또는 1 내지 8개의 탄소 원자(즉, C₁₋₈ 알킬) 또는 1 내지 6개의 탄소 원자(즉, C₁₋₆ 알킬) 또는 1 내지 4개의 탄소 원자(즉, C₁₋₄ 알킬)를 가질 수 있다. 알킬 기의 예는 메틸(Me, -CH₃), 에틸(Et, -CH₂CH₃), 1-프로필(*n*-Pr, *n*-프로필, -CH₂CH₂CH₃), 2-프로필(*i*-Pr, *i*-프로필, -CH(CH₃)₂), 1-부틸(*n*-Bu, *n*-부틸, -CH₂CH₂CH₂CH₃), 2-메틸-1-프로필(*i*-Bu, *i*-부틸, -CH₂CH(CH₃)₂), 2-부틸(*s*-Bu, *s*-부틸, -CH(CH₃)CH₂CH₃), 2-메틸-2-프로필(*t*-Bu, *t*-부틸, -C(CH₃)₃), 1-펜틸(*n*-펜틸, -CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃), 2-펜틸(-CH(CH₃)CH₂CH₂CH₃), 3-펜틸(-CH(CH₂CH₃)₂), 2-메틸-2-부틸(-C(CH₃)₂CH₂CH₃), 3-메틸-2-부틸(-CH(CH₃)CH(CH₃)₂), 3-메틸-1-부틸(-CH₂CH₂CH(CH₃)₂), 2-메틸-1-부틸(-CH₂CH(CH₃)CH₂CH₃), 1-헥실(-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃), 2-헥실(-CH(CH₃)CH₂CH₂CH₂CH₃), 3-헥실(-CH(CH₂CH₃)(CH₂CH₂CH₃)), 2-메틸-2-펜틸(-C(CH₃)₂CH₂CH₂CH₃), 3-메틸-2-펜틸(-CH(CH₃)CH(CH₃)CH₂CH₃), 4-메틸-2-펜틸(-CH(CH₃)CH₂CH(CH₃)₂), 3-메틸-3-펜틸(-C(CH₃)(CH₂CH₃)₂), 2-메틸-3-펜틸(-CH(CH₂CH₃)CH(CH₃)₂), 2,3-디메틸-2-부틸(-C(CH₃)₂CH(CH₃)₂),

및 3,3-디메틸-2-부틸(-CH(CH₃)C(CH₃)₃)를 포함하나 이에 제한되지 않는다. 다른 알킬 기는 헵틸, 옥틸, 노닐, 데실, 운데실, 도데실, 펜타데실, 헥사데실, 헵타데실 및 옥타데실을 포함한다.

[0068] "알케닐"은 적어도 2개의 탄소 원자 및 적어도 하나의 이중 결합을 갖는 직쇄 또는 분지형 탄화수소를 지칭한다. 알케닐은 임의의 수의 탄소, 예를 들어, C₂, C₂₋₃, C₂₋₄, C₂₋₅, C₂₋₆, C₂₋₇, C₂₋₈, C₂₋₉, C₂₋₁₀, C₃, C₃₋₄, C₃₋₅, C₃₋₆, C₄, C₄₋₅, C₄₋₆, C₅, C₅₋₆, 및 C₆을 포함할 수 있다. 알케닐 기는 1, 2, 3, 4, 5개 이상을 포함하나 이에 제한되지 않는 임의의 적합한 수의 이중 결합을 가질 수 있다. 알케닐 기의 예는 비닐(에테닐), 프로페닐, 이소프로페닐, 1-부테닐, 2-부테닐, 이소부테닐, 부타디에닐, 1-펜테닐, 2-펜테닐, 이소펜테닐, 1,3-펜타디에닐, 1,4-펜타디에닐, 1-헥세닐, 2-헥세닐, 3-헥세닐, 1,3-헥사디에닐, 1,4-헥사디에닐, 1,5-헥사디에닐, 2,4-헥사디에닐, 또는 1,3,5-헥사트리에닐을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 알케닐 기는 치환되거나 비치환될 수 있다.

[0069] "알키닐"은 적어도 2개의 탄소 원자 및 적어도 하나의 삼중 결합을 갖는 직쇄 또는 분지형 탄화수소를 지칭한다. 알키닐은 임의의 수의 탄소, 예를 들어, C₂, C₂₋₃, C₂₋₄, C₂₋₅, C₂₋₆, C₂₋₇, C₂₋₈, C₂₋₉, C₂₋₁₀, C₃, C₃₋₄, C₃₋₅, C₃₋₆, C₄, C₄₋₅, C₄₋₆, C₅, C₅₋₆, 및 C₆을 포함할 수 있다. 알키닐 기의 예는 아세틸레닐, 프로피닐, 1-부티닐, 2-부티닐, 부타다이닐, 1-펜티닐, 2-펜티닐, 이소펜티닐, 1,3-펜타다이닐, 1,4-펜타다이닐, 1-헥시닐, 2-헥시닐, 3-헥시닐, 1,3-헥사다이닐, 1,4-헥사다이닐, 1,5-헥사다이닐, 2,4-헥사다이닐, 또는 1,3,5-헥사트리에닐을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 알키닐 기는 치환되거나 비치환될 수 있다.

[0070] "알콕시"는 부착점에 알킬 기를 연결시키는 산소 원자를 갖는 알킬 기를 지칭한다: 알킬-0-. 알킬 기처럼, 알콕시 기는 C₁₋₆과 같이 임의의 적합한 수의 탄소 원자를 가질 수 있다. 알콕시 기는, 예를 들어, 메톡시, 에톡시, 프로톡시, 이소-프로톡시, 부톡시, 2-부톡시, 이소-부톡시, 2차-부톡시, 3차-부톡시, 펜톡시, 헥소시 등을 포함한다. 알콕시 기는 본원에 기재된 다양한 치환기로 추가로 치환될 수 있다. 알콕시 기는 치환되거나 비치환될 수 있다.

[0071] "알콕시알킬"은 알킬 기가 2개가 되도록 화합물의 나머지에 연결된 알킬 기에 연결된 알콕시 기를 지칭한다. 알콕시알킬은 2 내지 6(C₂₋₆ 알콕시알킬), 2 내지 5(C₂₋₅ 알콕시알킬), 2 내지 4(C₂₋₄ 알콕시알킬), 또는 2 내지 3(C₂₋₃ 알콕시알킬)과 같은 임의의 적합한 수의 탄소를 가질 수 있다. 탄소의 수는 알콕시 및 알킬 기의 총 탄소 수를 지칭한다. 예를 들어, C₆ 알콕시알킬은 부틸(C₄ 알킬)에 연결된 에톡시(C₂ 알콕시), 및 이소프로필(C₃ 알킬)에 연결된 n-프로톡시(C₃ 알콕시)를 지칭한다. 알콕시 및 알킬은 알킬이 2개인 상기 정의된 바와 같고, 메톡시메틸(CH₃OCH₂-), 메톡시에틸(CH₃OCH₂CH₂-) 등을 포함할 수 있으나 이에 제한되지 않는다.

[0072] 본원에서 사용되는 "할로" 또는 "할로젠"은 플루오로(-F), 클로로(-Cl), 브로모(-Br) 및 요오도(-I)를 지칭한다.

[0073] 본원에서 사용되는 "할로알킬"은 알킬의 하나 이상의 수소 원자가 동일하거나 상이할 수 있는 할로 치환기로 독립적으로 대체된 본원에 정의된 바와 같은 알킬을 지칭한다. 예를 들어, C₁₋₄ 할로알킬은 C₁₋₄ 알킬의 수소 원자 중 하나 이상이 할로 치환기로 대체된 C₁₋₄ 알킬이다. 할로알킬 기의 예는 플루오로메틸, 플루오로클로로메틸, 디플루오로메틸, 디플루오로클로로메틸, 트리플루오로메틸, 1,1,1-트리플루오로에틸 및 펜타플루오로에틸을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0074] "사이클로알킬"은 3 내지 20개의 환형 탄소 원자(즉, C₃₋₂₀ 사이클로알킬), 예를 들어, 3 내지 12개의 환형 원자, 예를 들어, 3 내지 10개의 환형 원자, 또는 3 내지 8개의 환형 원자, 또는 3 내지 6개의 환형 원자, 또는 3 내지 5개의 환형 원자, 또는 3 내지 4개의 환형 원자를 갖는 단일 포화 또는 부분 불포화된 모든 탄소 고리를 지칭한다. 용어 "사이클로알킬"은 또한 다중 축합, 포화 및 부분 불포화된 모든 탄소 고리 시스템(예를 들어, 2, 3 또는 4개의 카르보사이클릭 고리를 포함하는 고리 시스템)을 포함한다. 따라서, 사이클로알킬은 바이사이클릭 카르보사이클(예를 들어, 6 내지 12개의 환형 탄소 원자를 갖는 바이사이클릭 카르보사이클, 예를 들어, 바이사이클로[3.1.0]헥산 및 바이사이클로[2.1.1]헥산), 및 폴리사이클릭 카르보사이클(예를 들어, 20개 이하의 환형 탄소 원자를 갖는 트리사이클릭 및 테트라사이클릭 카르보사이클)과 같은 멀티사이클릭 카르보사이클을 포함한다. 다중 축합 고리 시스템의 고리는 원자가 요건에 의해 허용되는 경우 융합, 스피로 및 가교 결합을 통해서 연결될 수 있다. 모노사이클릭 사이클로알킬의 비제한적인 예는 사이클로프로필, 사이클로부틸, 사이클로펜틸, 1-사이클로펜트-1-에닐, 1-사이클로펜트-2-에닐, 1-사이클로펜트-3-에닐, 사이클로헥실, 1-사이클로헥스-

1-에닐, 1-사이클로헥스-2-에닐 및 1-사이클로헥스-3-에닐을 포함한다.

[0075]

본원에서 사용되는 "헤테로사이클릴" 또는 "헤테로사이클" 또는 "헤테로사이클로알킬"은 고리에 적어도 하나의 헤테로원자(즉, 산소, 질소, 및 황으로부터 선택된 적어도 하나의 환형 헤테로자)를 갖는 단일 포화 또는 부분 불포화된 비-방향족 고리 또는 다중 고리 시스템을 지칭하며, 여기서 다중 고리 시스템은 적어도 하나의 헤테로자를 함유하는 적어도 비-방향족 고리를 포함한다. 다중 고리 시스템은 또한 다른 방향족 고리 및 비-방향족 고리를 포함할 수 있다. 달리 명시되지 않는 한, 헤테로사이클릴 기는 3 내지 20개의 환형 원자, 예를 들어, 3 내지 12개의 환형 원자, 예를 들어, 3 내지 10개의 환형 원자, 또는 3 내지 8개의 환형 원자, 또는 3 내지 6개의 환형 원자, 또는 3 내지 5개의 환형 원자, 또는 4 내지 6개의 환형 원자, 또는 4 내지 5개의 환형 원자를 갖는다. 따라서, 상기 용어는 고리에 1 내지 6개의 환형 탄소 원자 및 산소, 질소 및 황으로 구성된 군으로부터 선택된 1 내지 3개의 환형 헤테로원자를 갖는 단일 포화 또는 부분 불포화된 고리(예를 들어, 3, 4, 5, 6 또는 7 원 고리)를 포함한다. 헤테로원자는 선택적으로 산화되어 $-N(OH)-$, $=N(O^-)-$, $-S(=O)-$ 또는 $-S(=O)_2-$ 를 형성할 수 있다. 다중 축합 고리(예를 들어, 바이사이클릭 헤테로사이클릴) 시스템의 고리는 원자가 요건에 의해 허용되는 경우 융합, 스피로 및 가교 결합을 통해 서로 연결될 수 있다. 헤테로사이클은 아제티딘, 아지리딘, 이미다졸리딘, 모르폴린, 옥시란(에폭사이드), 옥세탄, 티에탄, 피페라진, 피페리딘, 피라졸리딘, 피페리딘, 피롤리딘, 피롤리디논, 테트라하이드로푸란, 테트라하이드로티오펜, 디하이드로피리딘, 테트라하이드로피리딘, 퀴누클리딘, 2-옥사-6-아자스피로[3.3]헵탄-6-일, 6-옥사-1-아자스피로[3.3]헵탄-1-일, 2-티아-6-아자스피로[3.3]헵탄-6-일, 2,6-디아자스피로[3.3]헵탄-2-일, 2-아자바이사이클로[3.1.0]헥산-2-일, 3-아자바이사이클로[3.1.0]헥사닐, 2-아자바이사이클로[2.1.1]헥사닐, 2-아자바이사이클로[2.2.1]헵탄-2-일, 4-아자스피로[2.4]헵타닐, 5-아자스피로[2.4]헵타닐 등을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0076]

본원에서 사용되는 "아릴"은 고리 중 적어도 하나가 방향족인 단일의 모든 탄소 방향족 고리 또는 다중 축합된 모든 탄소 고리 시스템을 지칭한다. 예를 들어, 일부 구체예에서, 아릴 기는 6 내지 20개의 탄소 원자, 6 내지 14개의 탄소 원자, 또는 6 내지 12개의 탄소 원자를 갖는다. 아릴은 페닐 라디칼을 포함한다. 아릴은 또한 9 내지 20개의 탄소 원자, 예를 들어, 9 내지 16개의 탄소 원자를 갖는 다중 축합 고리 시스템(예를 들어, 2, 3 또는 4개의 고리를 포함하는 고리 시스템)을 포함하고, 여기서 적어도 하나의 고리는 방향족이고 다른 고리는 방향족이거나 방향족이 아닐 수 있다(즉, 카르보사이클). 이러한 다중 축합 고리 시스템은 다중 축합 고리 시스템의 임의의 카르보사이클 부분에서 하나 이상(예를 들어, 1, 2 또는 3개)의 옥소 기로 선택적으로 치환된다. 다중 축합 고리 시스템의 고리는 원자가 요건에 의해 허용되는 경우 융합, 스피로 및 가교 결합을 통해 서로 연결될 수 있다. 특정 원자-범위 구성원 아릴(예를 들어, 6-10원 아릴)이 언급될 때, 원자 범위는 아릴의 총 고리 원자에 대한 것임이 또한 이해되어야 한다. 예를 들어, 6원 아릴은 페닐을 포함할 것이고, 10원 아릴은 나프틸 및 1,2,3,4-테트라하이드로나프틸을 포함할 것이다. 아릴 기의 비제한적인 예는 페닐, 인데닐, 나프틸, 1,2,3,4-테트라하이드로나프틸, 안트라세닐 등을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0077]

본원에서 사용되는 "헤테로아릴"은 고리에 탄소 이외의 적어도 하나의 원자를 갖는 단일 방향족 고리를 지칭하며, 여기서 원자는 산소, 질소 및 황으로 구성된 군으로부터 선택되고; "헤테로아릴"은 또한 적어도 하나의 이러한 방향족 고리를 갖는 다중 축합 고리 시스템을 포함하며, 다중 축합 고리 시스템은 하기에 추가로 기술된다. 따라서, "헤테로아릴"은 1 내지 6개의 탄소 원자 및 산소, 질소 및 황으로 구성된 군으로부터 선택된 1 내지 4개의 헤테로원자의 단일 방향족 고리를 포함한다. 황 및 질소 원자는 또한 고리가 방향족인 경우 산화된 형태로 존재할 수 있다. 예시적인 헤테로아릴 고리 시스템은 피리딜, 피리미디닐, 옥사졸릴 또는 푸릴을 포함하나 이에 제한되지 않는다. "헤테로아릴"은 또한 다중 축합 고리 시스템(예를 들어, 2, 3 또는 4개의 고리를 포함하는 고리 시스템)을 포함하며, 여기서 상기 정의된 바와 같은 헤테로아릴 기는 헤테로아릴(예를 들어, 1,8-나프티리디닐을 형성함), 헤테로사이클(예를 들어, 1,2,3,4-테트라하이드로-1,8-나프티리디닐을 형성함), 카르보사이클(예를 들어, 5,6,7,8-테트라하이드로퀴놀릴을 형성함) 및 아릴(예를 들어, 인다졸릴을 형성함)로부터 선택된 하나 이상의 고리와 축합하여 다중 축합 고리 시스템을 형성한다. 따라서, 헤테로아릴(단일 방향족 고리 또는 다중 축합 고리 시스템)은 헤테로아릴 고리 내에 1-20개의 탄소 원자 및 1-6개의 헤테로원자를 갖는다. 이러한 다중 축합 고리 시스템은 축합 고리의 카르보사이클 또는 헤테로사이클 부분 상에서 하나 이상(예를 들어, 1, 2, 3 또는 4개)의 옥소 기로 선택적으로 치환될 수 있다. 다중 축합 고리 시스템의 고리는 원자가 요건에 의해 허용되는 경우 융합, 스피로 및 가교 결합을 통해 서로 연결될 수 있다. 다중 축합 고리 시스템의 개별 고리는 서로에 대해 임의의 순서로 연결될 수 있는 것으로 이해되어야 한다. 헤테로아릴 또는 헤테로아릴 다중 축합 고리 시스템에 대한 부차점은 탄소 원자 및 헤테로원자(예를 들어, 질소)를 포함하는 헤테로아릴 또는 헤테로아릴 다중 축합 고리 시스템의 임의의 적합한 원자에 있을 수 있는 것으로 이해되어야 한다. 또한, 특정

원자-범위 구성원 헤테로아릴(예를 들어, 5 내지 10원 헤테로아릴)이 언급될 때, 원자 범위는 헤테로아릴의 총 고리 원자에 대한 것이고 탄소 원자 및 헤테로원자를 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 예를 들어, 5원 헤테로아릴은 티아졸릴을 포함할 것이고, 10원 헤테로아릴은 퀴놀리닐을 포함할 것이다. 예시적인 헤테로아릴은 피리딘, 피롤릴, 피라지닐, 피리미디닐, 피리다지닐, 피라졸릴, 티에닐, 인돌릴, 이미다졸릴, 옥사졸릴, 이속사졸릴, 티아졸릴, 푸릴, 옥사디아졸릴, 티아디아졸릴, 퀴놀릴, 이소퀴놀릴, 벤조티아졸릴, 벤즈사졸릴, 인다졸릴, 퀴녹살릴, 퀴나졸릴, 5,6,7,8-테트라하이드로피소퀴놀리닐, 벤조푸라닐, 벤즈이미다졸릴, 티아나프테닐, 피롤로[2,3-b]피리디닐, 퀴나졸리닐-4(3H)-온, 및 트리아졸릴을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0078] 또한, 탄소 원자에 부착된 1 내지 n개의 수소 원자가 중수소 원자 또는 D로 대체될 수 있는 본원에 기재된 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 이성질체, 또는 혼합물이 제공되며, 여기서 n은 분자에서 수소 원자의 수이다. 당 분야에 공지된 바와 같이, 중수소 원자는 수소 원자의 비방사성 동위원소이다. 이러한 화합물은 대사에 대한 내성을 증가시킬 수 있고, 따라서 포유동물에게 투여될 때 본원에 기재된 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 이성질체, 또는 혼합물의 반감기를 증가시키는데 유용할 수 있다. 예를 들어, 문헌[Foster, "Deuterium Isotope Effects in Studies of Drug Metabolism," Trends Pharmacol. Sci., 5(12):524-527 (1984)] 참조. 이러한 화합물은 당 분야에 널리 공지된 수단, 예를 들어, 하나 이상의 수소 원자가 중수소로 대체된 출발 물질을 사용하여 합성된다.

[0079] 개시된 화합물에 포함될 수 있는 동위원소의 예는 또한 수소, 탄소, 질소, 산소, 인, 불소, 염소 및 요오드의 동위원소, 예를 들어, 각각 ²H, ³H, ¹¹C, ¹³C, ¹⁴C, ¹³N, ¹⁵N, ¹⁵O, ¹⁷O, ¹⁸O, ³¹P, ³²P, ³⁵S, ¹⁸F, ³⁶Cl, ¹²³I, 및 ¹²⁵I를 포함한다. 양전자 방출 동위원소, 예를 들어, ¹¹C, ¹⁸F, ¹⁵O 및 ¹³N으로의 치환은 기질 수용체 점유율을 검사하기 위한 양전자 방출 단층촬영(PET) 연구에 유용할 수 있다. 동위원소-표지된 화학식 (I)의 화합물은 일반적으로 당업자에게 공지된 통상적인 기술에 의해 제조될 수 있거나 이전에 사용된 비-표지된 시약 대신에 적절한 동위원소-표지된 시약을 사용하여 하기에 기재된 바와 같은 실시예에 기술된 것과 유사한 공정에 의해 제조될 수 있다.

[0080] "본 개시의 화합물"은 본원에 기재된 화합물을 포함하고, 예를 들어, 본 개시의 화합물은 실시예의 화합물을 포함하여, 화학식 (I), (II), (III), (IV), 및 (V)의 화합물을 포함한다.

[0081] 본원에서 사용되는 "조성물"은 특정량의 특정 성분을 포함하는 생성물 뿐만 아니라 특정량의 특정 성분의 조합으로부터 직접 또는 간접적으로 생성되는 임의의 생성물을 포함하는 것으로 의도된다. "약학적으로 허용되는"은 담체, 희석제 또는 부형제가 제형의 다른 성분과 상용성이어야 하고, 이의 수용자에게 유해하지 않아야 함을 의미한다.

[0082] "약학적 유효량"은 원하는 치료 또는 약학적 결과를 제공하는, 제형 또는 이의 조합물에서의 본 개시의 화합물의 양을 지칭한다.

[0083] "약학적으로 허용되는 부형제"는 비제한적으로 인간 또는 가축에 사용하도록 허용되는 미국 식품의약국에 의해 승인된 임의의 애췌번트, 담체, 부형제, 활택제, 감미제, 희석제, 보존제, 염료/착색제, 향미 증진제, 계면활성제, 습윤제, 분산제, 현탁제, 안정화제, 등장제, 용매, 또는 유효제를 포함한다.

[0084] 본원에서 사용되는 "치료" 또는 "치료하다" 또는 "치료하는"은 이롭거나 원하는 결과를 얻기 위한 접근법을 지칭한다. 본 개시의 목적을 위해, 이롭거나 원하는 결과는 증상의 완화 및/또는 증상의 정도의 감소 및/또는 질병 또는 질환과 관련된 증상의 악화를 예방하는 것을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 일부 구체예에서, "치료" 또는 "치료하는"은 하기 중 하나 이상을 포함한다: a) 질병 또는 질환의 억제(예를 들어, 질병 또는 질환으로부터 초래되는 하나 이상의 증상의 감소, 및/또는 질병 또는 질환의 정도의 감소); b) 질병 또는 질환과 관련된 하나 이상의 증상의 발달을 늦추거나 정지시키는 것(예를 들어, 질병 또는 질환의 안정화, 질병 또는 질환의 악화 또는 진행의 지연); 및 c) 질병 또는 질환의 완화, 예를 들어, 임상 증상의 퇴행 유발, 질환 상태의 개선, 질병 진행의 지연, 삶의 질 증가, 및/또는 생존 연장.

[0085] 본원에서 사용되는 "치료적 유효량" 또는 "유효량"은 질병을 치료하기 위해 대상체에 투여될 때, 질병에 대한 이러한 치료를 수행하기에 충분한 화합물의 양을 포함하여, 원하는 생물학적 또는 의학적 반응을 유도하는데 효과적인 양을 지칭한다. 유효량은 화합물, 질병 및 이의 중증도 및 치료되는 대상체의 연령, 체중 등에 따라 달라질 수 있다. 유효량은 다양한 양을 포함할 수 있다. 당 분야에서 이해되는 바와 같이, 유효량은 1회 이상의 용량일 수 있으며, 즉, 원하는 치료 종말점을 달성하기 위해 단일 용량 또는 다중 용량이 필요할 수 있다. 유효량은 하나 이상의 치료제를 투여하는 맥락에서 고려될 수 있고, 단일 제제는 하나 이상의 다른 제제와 함께 바

람직하거나 이로온 결과가 달성될 수 있거나 달성되는 경우 유효량으로 제공되는 것으로 간주될 수 있다. 임의의 공동-투여된 화합물의 적합한 용량은 화합물의 조합된 작용(예를 들어, 부가 또는 상승 효과)으로 인해 선택적으로 낮아질 수 있다.

[0086] "투여"는 대상체로의 경구 투여, 좌약으로서의 투여, 국소 접촉, 비경구, 정맥내, 복막내, 근내, 병변내, 비내 또는 피하 투여, 수막강내 투여, 또는 서방형 장치, 예를 들어, 미니 삼투 펌프의 이식을 지칭한다. 투여는 투여 빈도, 투여 용량, 및 다른 인자를 지정하는 스케줄에 따라 수행될 수 있다.

[0087] 본원에서 사용되는 "공동-투여"는 하나 이상의 추가 치료제의 단위 투여량의 투여 전 또는 후에 본원에 개시된 화합물의 단위 투여량의 투여, 예를 들어, 하나 이상의 추가 치료제의 투여의 수 초, 수 분 또는 수 시간 내에 본원에 개시된 화합물의 투여를 지칭한다. 예를 들어, 일부 구체예에서, 본 개시의 화합물의 단위 용량이 먼저 투여되고, 이후 수 초 또는 수 분 이내에 하나 이상의 추가 치료제의 단위 용량이 투여된다. 대안적으로, 다른 구체예에서, 하나 이상의 추가 치료제의 단위 용량이 먼저 투여되고, 이후 수 초 또는 수 분 이내에 본 개시의 화합물의 단위 용량이 투여된다. 일부 구체예에서, 본 개시의 화합물의 단위 용량이 먼저 투여되고, 이후 수 시간(예를 들어, 1-12시간) 후에 하나 이상의 추가 치료제의 단위 용량이 투여된다. 다른 구체예에서, 하나 이상의 추가 치료제의 단위 용량이 먼저 투여되고, 이후 수 시간(예를 들어, 1-12시간) 후에 본 개시의 화합물의 단위 용량이 투여된다. 본원에 개시된 화합물과 하나 이상의 추가 치료제의 공동-투여는 일반적으로 치료적 유효량의 각 제제가 환자의 체내에 존재하도록 본원에 개시된 화합물 및 하나 이상의 추가 치료제의 동시 또는 순차적 투여를 지칭한다.

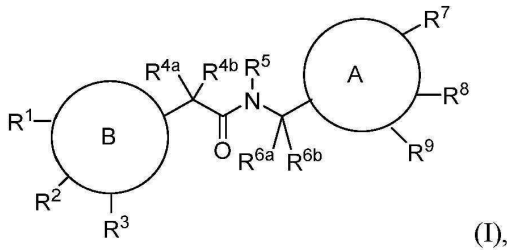
[0088] "대상체"는 영장류(예를 들어, 인간), 소, 양, 염소, 말, 개, 고양이, 토끼, 래트, 마우스 등을 포함하나 이에 제한되지 않는 포유동물과 같은 동물을 지칭한다. 일부 구체예에서, 대상체는 인간이다.

[0089] "질병" 또는 "질환"은 본원에 제공된 화합물, 약학적 조성물, 또는 방법으로 치료될 수 있는 환자 또는 대상체의 상태 또는 건강 상태를 지칭한다.

[0090] **II. 화합물**

[0091] 본 개시는 T-타입 전압-의존성 칼슘 채널 길항제로서 유용한 화합물을 제공한다.

[0092] 일부 구체예에서, 화합물은 하기 화학식 (I)의 구조 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 갖는다:



[0093] .
 [0094] 상기 식에서,

[0095] 고리 A 및 고리 B는 각각 독립적으로 C₆-C₁₀ 아릴 또는 5 내지 10원 헤테로아릴이고;

[0096] R¹, R², 및 R³은 각각 독립적으로 H, 할로젠, CN, OR¹¹, NR^{12a}R^{12b}, C₁-C₆ 알킬, C₂-C₆ 알콕시알킬, C₁-C₆ 할로알킬, C₂-C₆ 알케닐, C₂-C₆ 알키닐, 페닐, 5 내지 6원 헤테로아릴, C₃-C₇ 사이클로알킬, 또는 4 내지 7원 헤테로사이클릴이고, 여기서 페닐, 헤테로아릴, 사이클로알킬 또는 헤테로사이클릴은 1, 2, 또는 3개의 할로젠, CN, OR¹¹, NR^{12a}, R^{12b}, C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알콕시, C₁-C₆ 알킬아미노, 또는 C₁-C₆ 할로알킬로 선택적으로 치환되고;

[0097] R^{4a} 및 R^{4b}는 각각 독립적으로 H 또는 C₁-C₆ 알킬이고;

[0098] R⁵는 H 또는 C₁-C₆ 알킬이고;

[0099] R^{6a} 및 R^{6b}는 각각 독립적으로 H 또는 C₁-C₆ 알킬이고;

[0100] R^7 은 H, 할로젠, CN, OR^{11} , $NR^{12a,12b}$, C_1-C_6 알킬, C_2-C_6 알콕시알킬, C_1-C_6 할로알킬, C_2-C_6 알케닐, C_2-C_6 알키닐, 페닐, 5 내지 6원 헤테로아릴, C_3-C_7 사이클로알킬, 또는 4 내지 7원 헤테로사이클릴이고, 여기서 페닐, 헤테로아릴, 사이클로알킬 또는 헤테로사이클릴은 1, 2, 또는 3개의 할로젠, CN, OR^{11} , $NR^{12a,12b}$, C_1-C_6 알킬, C_1-C_6 알콕시, C_1-C_6 알킬아미노, 또는 C_1-C_6 할로알킬로 선택적으로 치환되고;

[0101] R^8 은 H, C_1-C_6 알킬, C_2-C_6 알콕시알킬, C_1-C_6 할로알킬, C_2-C_6 알케닐, C_2-C_6 알키닐, C_3-C_7 사이클로알킬, 또는 4 내지 7원 헤테로사이클릴이고, 여기서 사이클로알킬 또는 헤테로사이클릴은 1, 2, 또는 3개의 할로젠, CN, OH, NH_2 , C_1-C_6 알킬, C_1-C_6 알콕시, C_1-C_6 알킬아미노, 또는 C_1-C_6 할로알킬로 선택적으로 치환되고;

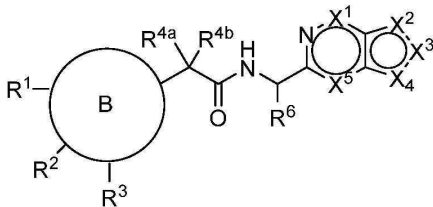
[0102] R^9 은 H, C_1-C_6 알킬, C_2-C_6 알콕시알킬, C_1-C_6 할로알킬, C_2-C_6 알케닐, C_2-C_6 알키닐, C_3-C_7 사이클로알킬, 또는 4 내지 7원 헤테로사이클릴이고, 여기서 사이클로알킬 또는 헤테로사이클릴은 1, 2, 또는 3개의 할로젠, CN, OH, NH_2 , C_1-C_6 알킬, C_1-C_6 알콕시, C_1-C_6 알킬아미노, 또는 C_1-C_6 할로알킬로 선택적으로 치환되고;

[0103] 각각의 R^{11} , R^{12a} , 및 R^{12b} 는 독립적으로 H, C_1-C_6 알킬, C_2-C_6 알콕시알킬, C_1-C_6 할로알킬, C_2-C_6 알케닐, C_2-C_6 알키닐, C_3-C_7 사이클로알킬, 또는 4 내지 7원 헤테로사이클릴이고, 여기서 사이클로알킬 또는 헤테로사이클릴은 1, 2, 또는 3개의 할로젠 또는 CN으로 선택적으로 치환된다.

[0104] 일부 구체예에서, 고리 A는 9 내지 10원 헤테로아릴이다.

[0105] 일부 구체예에서, 고리 A는 피롤로피리딘, 이속사졸로피리딘, 피라졸로피리딘, 피라졸로피리다진, 또는 트리아졸로피리딘이다. 일부 구체예에서, 고리 A는 피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일, 피라졸로[4,3-c]피리딘-6-일, 이속사졸로[4,5-c]피리딘-6-일, 이속사졸로[5,4-c]피리딘-5-일, 피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일, 피라졸로[3,4-c]피리다진-5-일, [1,2,3]트리아졸로[4,5-c]피리딘-6-일, 또는 피롤로[2,3-c]피리딘-5-일이다. 일부 구체예에서, 고리 A는 피라졸로피리딘이다.

[0106] 일부 구체예에서, 화합물은 하기 화학식 (II)의 구조 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 갖는다:



(II),

[0107]

[0108] 상기 식에서,

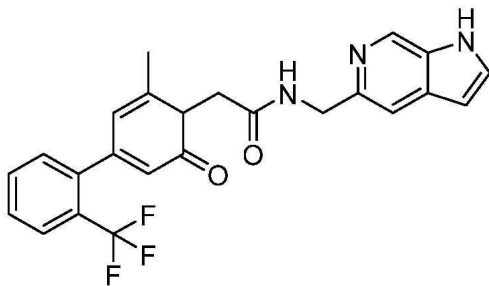
[0109] 고리 B는 C_6-C_{10} 아릴 또는 5 내지 10원 헤테로아릴이고;

[0110] R^1 , R^2 , 및 R^3 은 각각 독립적으로 H, 할로젠, CN, OR^{11} , $NR^{12a,12b}$, C_1-C_6 알킬, C_2-C_6 알콕시알킬, C_1-C_6 할로알킬, C_2-C_6 알케닐, C_2-C_6 알키닐, 페닐, 5 내지 6원 헤테로아릴, C_3-C_7 사이클로알킬, $-(CH_2)_n-(C_3-C_7$ 사이클로알킬), 4 내지 7원 헤테로사이클릴, 또는 $-(CH_2)_n-(4$ 내지 7원 헤테로사이클릴)이고, 여기서 페닐, 헤테로아릴, 사이클로알킬 또는 헤테로사이클릴은 1, 2, 또는 3개의 할로젠, CN, OR^{11} , $NR^{12a,12b}$, C_1-C_6 알킬, C_1-C_6 알콕시, C_1-C_6 알킬아미노, 또는 C_1-C_6 할로알킬로 선택적으로 치환되고;

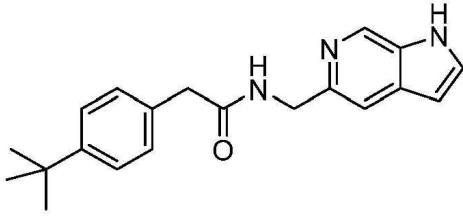
[0111] R^{4a} 및 R^{4b} 는 각각 독립적으로 H 또는 C_1-C_6 알킬이거나, R^{4a} 및 R^{4b} 및 이들이 부착된 탄소 원자는 C_3-C_5 사이클로알킬을 형성하고;

[0112] R^6 은 H, C_1-C_6 알킬, 또는 C_1-C_6 할로알킬이고;

- [0113] X^1 및 X^5 는 각각 독립적으로 N 또는 CR^8 이며, 단, X^1 및 X^5 중 적어도 하나는 CR^8 이고;
- [0114] X^2 , X^3 , 및 X^4 는 각각 독립적으로 N, NR^9 , O, S, 또는 CR^9 이고, 단, X^2 , X^3 , 및 X^4 중 적어도 하나는 N, NR^9 , O, 또는 S이고;
- [0115] R^8 은 H, 할로젠, CN, OR^{11} , C_1-C_6 알킬, C_2-C_6 알콕시알킬, 또는 C_1-C_6 할로알킬이고;
- [0116] R^9 는 H, C_1-C_6 알킬, C_2-C_6 알콕시알킬, C_1-C_6 할로알킬, C_2-C_6 알케닐, C_2-C_6 알키닐, C_3-C_7 사이클로알킬, 또는 4 내지 7원 헤테로사이클릴이고, 여기서 사이클로알킬 또는 헤테로사이클릴은 1, 2, 또는 3개의 할로젠, CN, OH, NH_2 , C_1-C_6 알킬, C_1-C_6 알콕시, C_1-C_6 알킬아미노, 또는 C_1-C_6 할로알킬로 선택적으로 치환되고;
- [0117] 각각의 R^{11} , R^{12a} , 및 R^{12b} 는 독립적으로 H, C_1-C_6 알킬, C_2-C_6 알콕시알킬, C_1-C_6 할로알킬, C_2-C_6 알케닐, C_2-C_6 알키닐, C_3-C_7 사이클로알킬, 또는 4 내지 7원 헤테로사이클릴이고, 여기서 사이클로알킬 또는 헤테로사이클릴은 1, 2, 또는 3개의 할로젠 또는 CN으로 선택적으로 치환되고;
- [0118] n은 1, 2, 또는 3이다.
- [0119] 일부 구체예에서, X^1 은 CR^8 이다.
- [0120] 일부 구체예에서, R^8 은 H이다.
- [0121] 일부 구체예에서, X^2 , X^3 , 및 X^4 는 각각 독립적으로 N, NR^9 , 또는 CR^9 이며, 단, X^2 , X^3 , 및 X^4 는 중 적어도 하나는 N 또는 NR^9 이다.
- [0122] 일부 구체예에서, X^1 은 N 또는 CR^8 이고, X^2 및 X^3 은 각각 독립적으로 N 또는 NR^9 이고, X^4 는 N, NR^9 , 또는 CR^9 이고, X^5 는 CR^8 이다. 예를 들어, X^1 은 CR^8 일 수 있고, X^2 및 X^3 은 각각 독립적으로 N 또는 NR^9 일 수 있고, X^4 는 N, NR^9 , 또는 CR^9 일 수 있고, X^5 는 CR^8 일 수 있다. 일부 구체예에서, X^1 은 N 또는 CR^8 이고; X^2 는 N 또는 NR^9 이고; X^3 은 N, NR^9 , 또는 CR^9 이고; X^4 는 N 또는 CR^9 이고; X^5 는 CR^9 이다. 일부 구체예에서, X^1 은 CR^8 이고; X^2 는 N 또는 NR^9 이고; X^3 은 N, NR^9 , 또는 CR^9 이고; X^4 는 N 또는 CR^9 이고; X^5 는 CR^9 이다.
- [0123] 화학식 (I) 및/또는 (II)의 화합물의 일부 구체예에서, 화합물은 하기 구조 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 갖지 않는다:

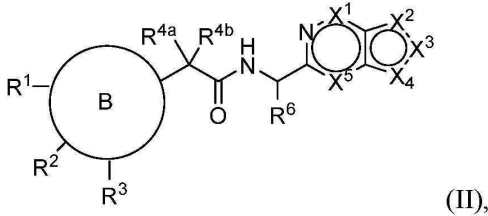


- [0124] .
- [0125] 화학식 (I) 및/또는 (II)의 화합물의 일부 구체예에서, 화합물은 하기 구조 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 갖지 않는다:



[0126]

[0127] 화학식 (II)의 화합물의 일부 구체예에서, 화합물은 하기 구조 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 갖는다:



[0128]

상기 식에서,

[0129]

[0130] 고리 B는 C₆-C₁₀ 아릴 또는 5 내지 10원 헤테로아릴이고;

[0130]

[0131] R¹, R², 및 R³은 각각 독립적으로 H, 할로젠, CN, OR¹¹, NR^{12a, 12b}, C₁-C₆ 알킬, C₂-C₆ 알콕시알킬, C₁-C₆ 할로알킬, C₂-C₆ 알케닐, C₂-C₆ 알키닐, 페닐, 5 내지 6원 헤테로아릴, C₃-C₇ 사이클로알킬, -(CH₂)_n-(C₃-C₇ 사이클로알킬), 4 내지 7원 헤테로사이클릴, 또는 -(CH₂)_n-(4 내지 7원 헤테로사이클릴)이고, 여기서 페닐, 헤테로아릴, 사이클로알킬 또는 헤테로사이클릴은 1, 2, 또는 3개의 할로젠, CN, OR¹¹, NR^{12a, 12b}, C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알콕시, C₁-C₆ 알킬아미노, 또는 C₁-C₆ 할로알킬로 선택적으로 치환되고;

[0131]

[0132] R^{4a} 및 R^{4b}는 각각 독립적으로 H 또는 C₁-C₆ 알킬이거나, R^{4a} 및 R^{4b} 및 이들이 부착된 탄소 원자는 C₃-C₅ 사이클로알킬을 형성하고;

[0132]

[0133] R⁶은 H, C₁-C₆ 알킬, 또는 C₁-C₆ 할로알킬이고;

[0133]

[0134] X¹ 및 X⁵는 각각 독립적으로 N 또는 CR⁸이며, 단, X¹ 및 X⁵ 중 적어도 하나는 CR⁸이고;

[0134]

[0135] X², X³, 및 X⁴는 각각 독립적으로 N, NR⁹, O, S, 또는 CR⁹이고, 단, X², X³, 및 X⁴ 중 적어도 하나는 N, NR⁹, O, 또는 S이고;

[0135]

[0136] R⁸은 H, 할로젠, CN, OR¹¹, C₁-C₆ 알킬, C₂-C₆ 알콕시알킬, 또는 C₁-C₆ 할로알킬이고;

[0136]

[0137] R⁹는 H, C₁-C₆ 알킬, C₂-C₆ 알콕시알킬, C₁-C₆ 할로알킬, C₂-C₆ 알케닐, C₂-C₆ 알키닐, C₃-C₇ 사이클로알킬, 또는 4 내지 7원 헤테로사이클릴이고, 여기서 사이클로알킬 또는 헤테로사이클릴은 1, 2, 또는 3개의 할로젠, CN, OH, NH₂, C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알콕시, C₁-C₆ 알킬아미노, 또는 C₁-C₆ 할로알킬로 선택적으로 치환되고;

[0137]

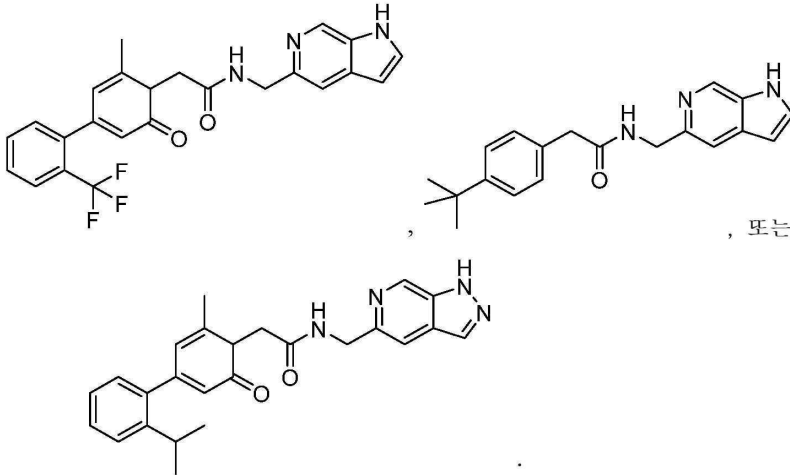
[0138] 각각의 R¹¹, R^{12a}, 및 R^{12b}는 독립적으로 H, C₁-C₆ 알킬, C₂-C₆ 알콕시알킬, C₁-C₆ 할로알킬, C₂-C₆ 알케닐, C₂-C₆ 알키닐, C₃-C₇ 사이클로알킬, 또는 4 내지 7원 헤테로사이클릴이고, 여기서 사이클로알킬 또는 헤테로사이클릴은 1, 2, 또는 3개의 할로젠 또는 CN으로 선택적으로 치환되고;

[0138]

[0139] n은 1, 2, 또는 3이고;

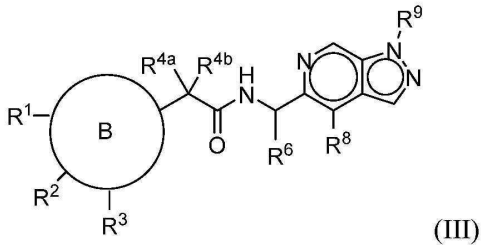
[0139]

[0140] 단, 화합물은 하기 구조 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 갖지 않는다:



[0141]

[0142] 일부 구체예에서, 화합물은 하기 화학식 (III)의 구조 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 갖는다:



(III)

[0143]

[0144] 화학식 (I), (II), 및/또는 (III)의 화합물의 일부 구체예에서, R¹, R², 및 R³은 각각 독립적으로 H, 할로젠, CN, OH, NH₂, C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알콕시, C₁-C₆ 알킬아미노, C₂-C₆ 알콕시알킬, C₁-C₆ 할로알킬, 또는 C₃-C₇ 사이클로알킬이고, 여기서 사이클로알킬은 1, 2, 또는 3개의 할로젠, CN, OH, NH₂, C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알콕시, C₁-C₆ 알킬아미노, 또는 C₁-C₆ 할로알킬로 선택적으로 치환된다.

[0145] 화학식 (I), (II), 및/또는 (III)의 화합물의 일부 구체예에서, R³은 H, 할로젠, 또는 CN이다. 일부 구체예에서, R³은 H 또는 할로젠이다. 일부 구체예에서, R³은 H이다.

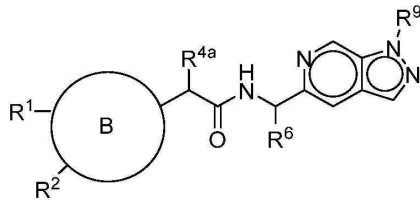
[0146] 화학식 (I), (II), 및/또는 (III)의 화합물의 일부 구체예에서, R^{4b}는 H 또는 CH₃이다.

[0147] 화학식 (I), (II), 및/또는 (III)의 화합물의 일부 구체예에서, R^{4a} 및 R^{4b}는 각각 독립적으로 H 또는 CH₃이다.

[0148] 화학식 (I), (II), 및/또는 (III)의 화합물의 일부 구체예에서,

[0149] 고리 B는 페닐, 1H-벤조[d]이미다졸-5-일, 1H-인다졸-5-일, 벤조[d][1,3]디옥솔-5-일, 2H-인다졸-6-일, 티오펜-2-일, 피리딘-2-일, 또는 피리딘-3-일이고; R¹은 F, Me, iPr, CF₃, CF₂CH₃, 사이클로프로필, 1-플루오로사이클로프로필, 1-시아노사이클로프로필, 2,2-디플루오로사이클로프로필, 또는 1-트리플루오로메틸사이클로프로필, 1,1-디플루오로메틸사이클로프로필이고; R²는 H, F, Cl, CN, 또는 CH₃이고; R³은 H 또는 CH₃이다.

[0150] 일부 구체예에서, 화합물은 하기 화학식 (IV)의 구조 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 갖는다:



(IV)

[0151]

[0152]

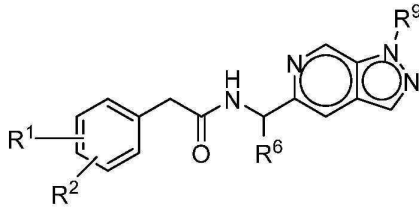
화학식 (I), (II), (III), 및/또는 (IV)의 화합물의 일부 구체예에서, 고리 B는 페닐 또는 5 내지 6원 헤테로아릴이다. 일부 구체예에서, 고리 B는 페닐 또는 피리딜이다.

[0153]

화학식 (I), (II), 및/또는 (III)의 화합물의 일부 구체예에서, R^{4a}는 H 또는 CH₃이다.

[0154]

일부 구체예에서, 화합물은 하기 화학식 (V)의 구조 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 갖는다:



(V)

[0155]

[0156]

화학식 (I), (II), (III), (IV), 및/또는 (V)의 화합물의 일부 구체예에서, R¹은 H, 할로젠, C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알콕시, 또는 C₂-C₆ 알콕시알킬이다. 일부 구체예에서, R¹은 H, 할로젠, C₁-C₃ 알킬, 또는 C₁-C₃ 할로알킬이다. 일부 구체예에서, R¹은 H 또는 할로젠이다. 일부 구체예에서, R¹은 C₁-C₃ 할로알킬이다. 일부 구체예에서, R¹은 CF₃이다.

[0157]

화학식 (I), (II), (III), (IV), 및/또는 (V)의 화합물의 일부 구체예에서, R²는 H, 할로젠, C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알콕시, 또는 C₂-C₆ 알콕시알킬이다. 일부 구체예에서, R²는 H, 할로젠, C₁-C₃ 알킬, 또는 C₁-C₃ 할로알킬이다. 일부 구체예에서, R²는 H 또는 할로젠이다. 일부 구체예에서, R²는 H이다.

[0158]

화학식 (I), (II), (III), (IV), 및/또는 (V)의 화합물의 일부 구체예에서, R¹ 및 R²는 각각 독립적으로 H, 할로젠, C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알콕시, C₂-C₆ 알콕시알킬, C₁-C₆ 할로알킬, 또는 C₃-C₇ 사이클로알킬이고, 여기서 사이클로알킬은 1, 2, 또는 3개의 할로젠, CN, OH, NH₂, C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알콕시, C₁-C₆ 알킬아미노, 또는 C₁-C₆ 할로알킬로 선택적으로 치환된다. 일부 구체예에서, R¹ 및 R²는 각각 독립적으로 H, 할로젠, C₁-C₃ 알킬, C₁-C₃ 알콕시, C₂-C₃ 알콕시알킬, C₁-C₃ 할로알킬, 또는 C₃-C₅ 사이클로알킬이고, 여기서 사이클로알킬은 1, 2, 또는 3개의 할로젠, CN, C₁-C₃ 알킬, C₁-C₃ 알콕시, C₁-C₃ 알킬아미노, 또는 C₁-C₃ 할로알킬로 선택적으로 치환된다. 일부 구체예에서, R¹ 및 R²는 각각 독립적으로 H, 할로젠, C₁-C₃ 알킬, 또는 C₁-C₃ 할로알킬이다. 일부 구체예에서, R¹ 및 R²는 각각 독립적으로 H 또는 할로젠이다. 일부 구체예에서, R¹ 및 R²는 각각 독립적으로 H, C₁-C₃ 알킬, 또는 C₁-C₃ 할로알킬이다. 일부 구체예에서, R¹ 및 R²는 각각 독립적으로 H 또는 C₁-C₃ 할로알킬이다.

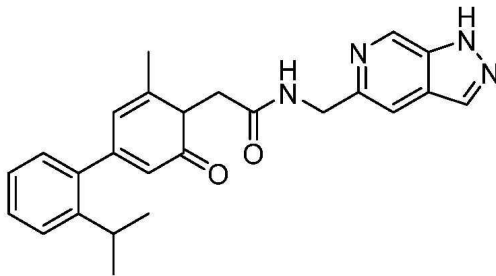
[0159]

화학식 (I), (II), (III), (IV), 및/또는 (V)의 화합물의 일부 구체예에서, R¹은 H 또는 C₁-C₃ 할로알킬이고; R²는 H 또는 할로젠이다. 일부 구체예에서, R¹은 C₁-C₃ 할로알킬이고; R²는 H이다. 일부 구체예에서, R¹은 CF₃이고; R²는 H이다.

[0160] 화학식 (I), (II), (III), (IV), 및/또는 (V)의 화합물의 일부 구체예에서, R⁶은 H 또는 C₁-C₃ 알킬이다. 일부 구체예에서, R⁶은 CH₃이다.

[0161] 화학식 (I), (II), (III), (IV), 및/또는 (V)의 화합물의 일부 구체예에서, R⁹는 C₁-C₆ 알킬, C₂-C₆ 알콕시알킬, C₁-C₆ 할로알킬, C₂-C₆ 알케닐, C₂-C₆ 알키닐, C₃-C₇ 사이클로알킬, 또는 4 내지 7원 헤테로사이클릴이고, 여기서 사이클로알킬 또는 헤테로사이클릴은 1, 2, 또는 3개의 할로젠, CN, OH, NH₂, C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알콕시, C₁-C₆ 알킬아미노, 또는 C₁-C₆ 할로알킬로 선택적으로 치환된다. 일부 구체예에서, R⁹는 C₁-C₆ 알킬, C₂-C₆ 알콕시알킬, C₁-C₆ 할로알킬, C₃-C₇ 사이클로알킬, 또는 4 내지 7원 헤테로사이클릴이고, 여기서 사이클로알킬 또는 헤테로사이클릴은 0, 1, 2, 또는 3개의 할로젠, CN, OH, NH₂, C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알콕시, C₁-C₆ 알킬아미노, 또는 C₁-C₆ 할로알킬로 치환된다. 일부 구체예에서, R⁹는 C₁-C₃ 알킬, C₂-C₃ 알콕시알킬, C₁-C₃ 할로알킬, C₃-C₇ 사이클로알킬, 또는 4 내지 7원 헤테로사이클릴이고, 여기서 사이클로알킬 또는 헤테로사이클릴은 0, 1, 2, 또는 3개의 F, Cl, CN, OH, NH₂, C₁-C₃ 알킬, C₁-C₃ 알콕시, C₁-C₃ 알킬아미노, 또는 C₁-C₃ 할로알킬로 치환된다. 일부 구체예에서, R⁹는 C₁-C₃ 알킬, C₂-C₃ 알콕시알킬, 또는 C₁-C₃ 할로알킬이다. 일부 구체예에서, R⁹는 C₁-C₃ 할로알킬이다. 일부 구체예에서, R⁹는 CH₂CF₃이다.

[0162] 화학식 (I), (II), (III), (IV), 및/또는 (V)의 화합물의 일부 구체예에서, 화합물은 하기 구조 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 갖지 않는다:



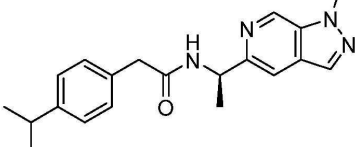
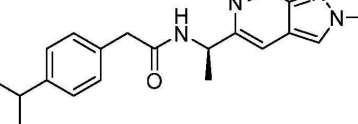
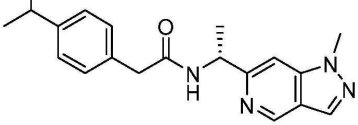
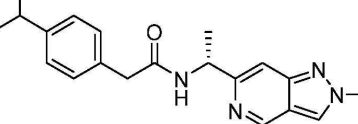
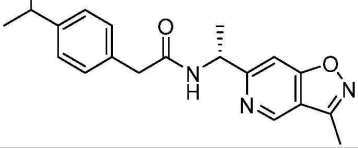
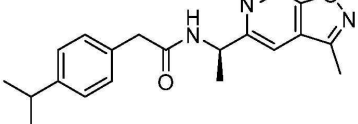
[0163]

[0164] 특정 치환 패턴에 따라, 화학식 (I), (II), (III), (IV), 및/또는 (V)의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염은 하나 이상의 입체중심을 가질 수 있다. 화합물 평가를 용이하게 하기 위해, 특정 예에서, 개별 거울상이성질체 및/또는 부분입체이성질체를 분리하고 평가하는 것이 유리할 수 있다. 개별 부분입체이성질체 및/또는 거울상이성질체를 생성하는 방법은 비제한적으로 크로마토그래피, 예를 들어, 키랄 크로마토그래피, 예를 들어, 키랄 아밀로스 컬럼 상에서의 초임계 유체 크로마토그래피, 및 키랄 보조제를 사용한 부분입체선택적 및/또는 거울상선택적 합성, 예를 들어, 키랄 설피이민에 대한 유기금속 첨가를 포함하여, 당 분야에 공지되어 있다. 예를 들어, 실시예 8에 기재된 절차를 참조한다. 따라서, 일부 구체예에서, 화합물은 거울상이성질체적으로 풍부하고, 약 90% 내지 약 99.999%의 거울상이성질체 과량(ee), 예를 들어, 약 90% 내지 약 99.99%, 약 93% 내지 약 99.99%, 약 95% 내지 약 99.99%, 약 95% 내지 약 99.9%, 약 97% 내지 약 99.9%, 약 98% 내지 약 99.9%, 또는 약 99% 내지 약 99.99% ee로 존재한다. 임의의 다른 지시가 없으면, 우세한 이성질체는 본원의 화합물 구조에 제시된 입체화학이다. 일부 구체예에서, 화합물은 주로 R 이성질체이다. 일부 구체예에서, 화합물은 주로 S 이성질체이다.

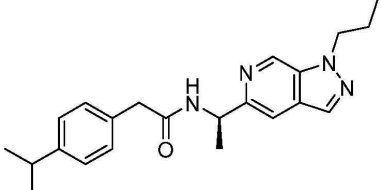

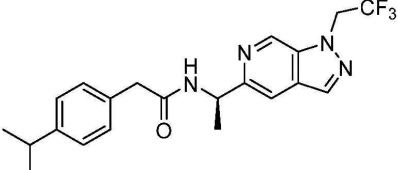

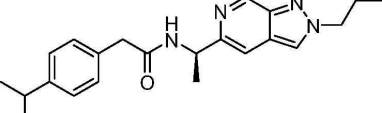
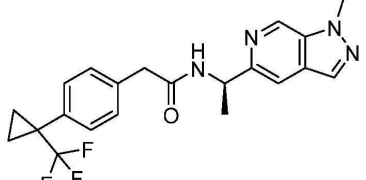
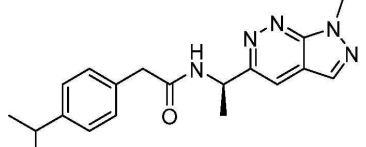
[0165] 화학식 (I), (II), (III), (IV), 및/또는 (V)의 화합물의 일부 구체예에서, 화합물은 표 1 및 표 2의 화합물 중 어느 하나의 구조, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 갖는다.

[0166] 화학식 (I), (II), (III), (IV), 및/또는 (V)의 화합물의 일부 구체예에서, 화합물은 표 1의 화합물 중 어느 하나의 구조, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 갖는다.

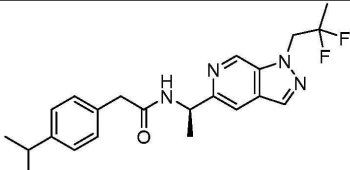
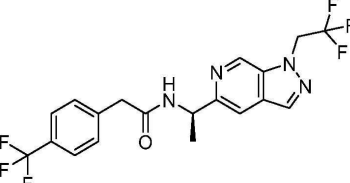
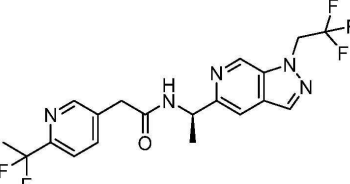
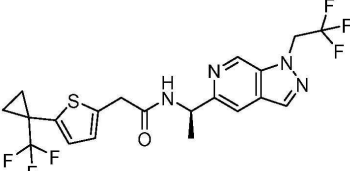
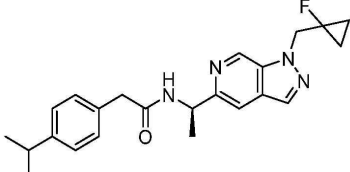
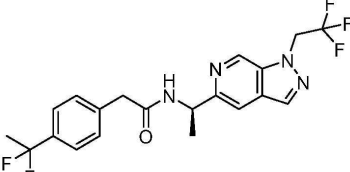
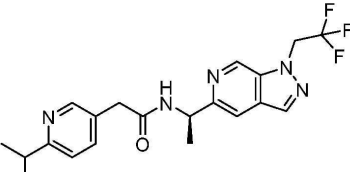
[0167] 표 1.

실시예	구조
1	
2	
3	
4	
5	
6	

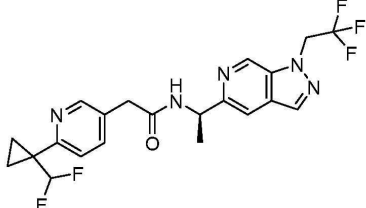
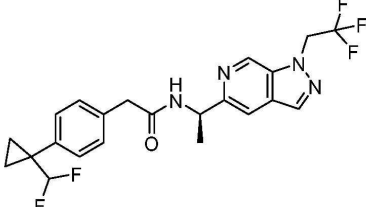
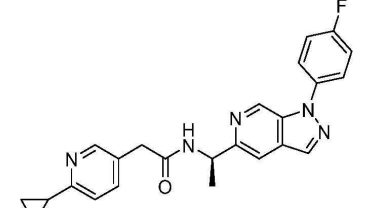
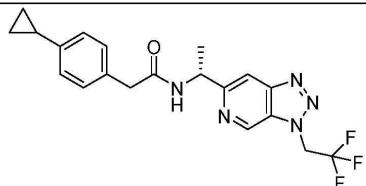
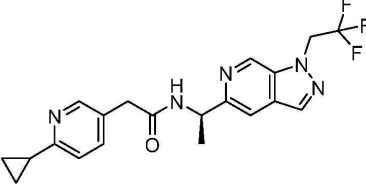
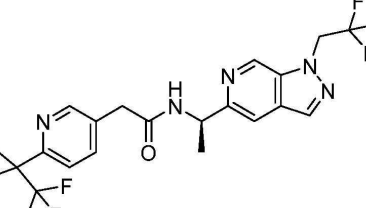
[0168]

실시예	구조
7	
8	
9	
10	
11	
12	
13	

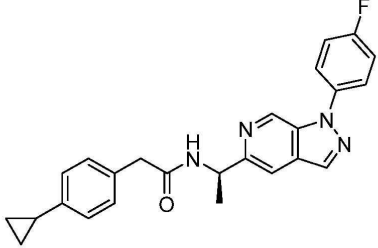
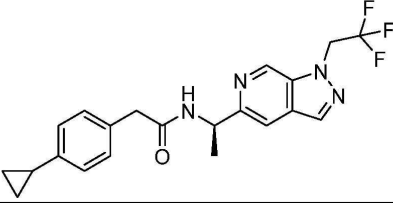
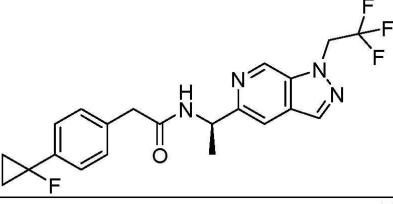
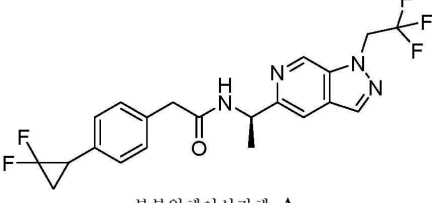
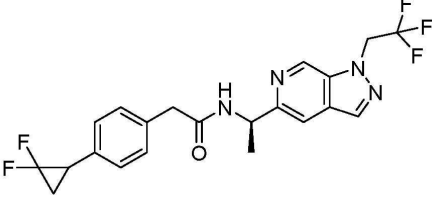
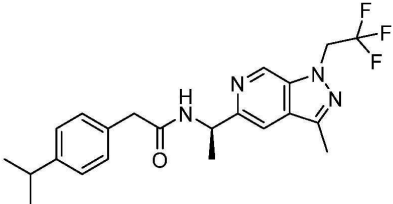
[0169]

실시예	구조
14	
15	
16	
17	
18	
19	
20	

[0170]

실시예	구조
21	
22	
23	
24	
25	
26	

[0171]

실시예	구조
27	
28	
29	
30	 <p data-bbox="440 1088 608 1115">부분입체이성질체 A</p>
31	 <p data-bbox="440 1330 608 1357">부분입체이성질체 B</p>
32	

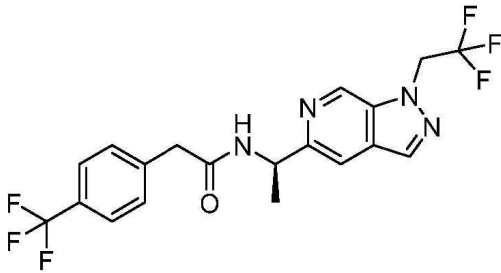
[0172]

실시예	구조
33	
34	
35	

[0173]

[0174]

예를 들어, 일부 구체예에서, 본 개시의 화합물은 하기 구조 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 갖는다:



[0175]

[0176]

화학식 (I), (II), (III), (IV), 및/또는 (V)의 화합물의 일부 구체예에서, 화합물은 표 2의 화합물 중 어느 하나의 구조, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 갖는다.

[0177]

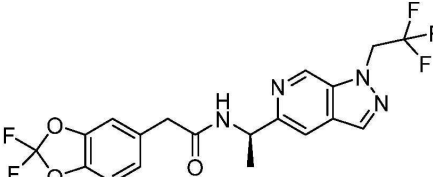
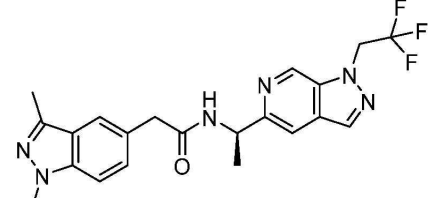
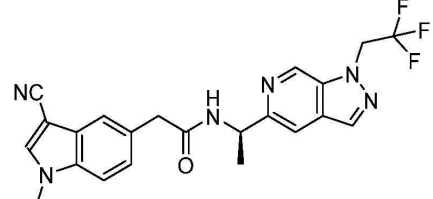
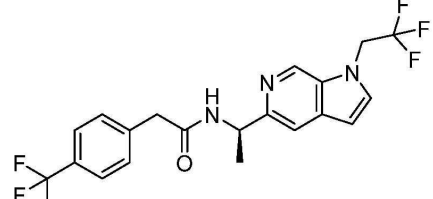
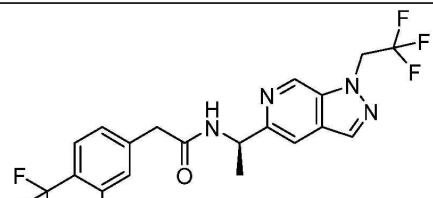
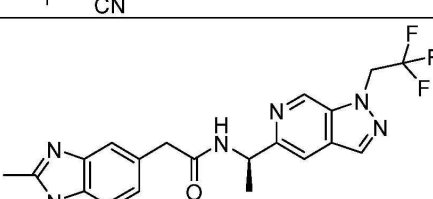
표 2.

실시예	구조
36	
37	
38	
39	
40	
41	

[0178]

실시예	구조
42	
43	
44	
45	
46	
47	

[0179]

실시예	구조
48	
49	
50	
51	
52	
53	

[0180]

실시예	구조
54	
55	

[0181]

[0182] 화학식 (I)의 화합물의 일부 구체예에서, 화합물은 표 3의 화합물 중 어느 하나의 구조, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 갖는다.

[0183]

표 3.

실시예	구조
56	
57	
58	
59	

[0184]

[0185] 본원에 기재된 화합물은 T-타입 칼슘 채널 길항제 또는 T-타입 전압-의존성 칼슘 채널 길항제이다. 따라서, 본 개시의 화합물은 당 분야에 공지되어 있거나 본원에 기재된 하나 이상의 검정에서 T-타입 칼슘 채널 길항제 활성을 나타낼 수 있다.

[0186]

화합물 활성

[0187]

본 개시의 화합물은 일반적으로 본원에 기술되거나 당 분야에 공지된 하나 이상의 T-타입 칼슘 채널 길항제 검정에서 활성을 갖는다. 일부 구체예에서, 본 개시의 화합물은 패치 클램프 검정에서 T-타입 칼슘 채널 길항제 활성을 갖는다. 일부 구체예에서, 화합물은 패치 클램프 검정에서 $IC_{50} < 20 \mu M$ 을 갖는다. 일부 구체예에서, 화합물은 패치 클램프 검정에서 $IC_{50} < 10 \mu M$ 을 갖는다. 일부 구체예에서, 화합물은 패치 클램프 검정에서 $IC_{50} < 1 \mu M$ 을 갖는다. 일부 구체예에서, 화합물은 패치 클램프 검정에서 $IC_{50} < 100 nM$ 을 갖는다. 일부 구체예에서, 화합물은 패치 클램프 검정에서 $IC_{50} < 10 nM$ 을 갖는다. 일부 구체예에서, 화합물은 패치 클램프 검정에서 IC_{50}

< 1 nM을 갖는다. 일부 구체예에서, 화합물은 패치 클램프 검정에서 $IC_{50} < 0.1$ nM을 갖는다. 일부 구체예에서, 화합물은 패치 클램프 검정에서 $IC_{50} < 0.01$ nM을 갖는다.

[0188] 일부 구체예에서, 화합물은 패치 클램프 검정에서 약 0.01 nM 내지 약 20 μ M 범위의 IC_{50} 을 갖는다. 일부 구체예에서, 화합물은 패치 클램프 검정에서 약 0.01 nM 내지 약 10 μ M 범위의 IC_{50} 을 갖는다. 일부 구체예에서, 화합물은 패치 클램프 검정에서 약 0.01 nM 내지 약 1 μ M 범위의 IC_{50} 을 갖는다. 일부 구체예에서, 화합물은 패치 클램프 검정에서 약 0.01 nM 내지 약 100 nM 범위의 IC_{50} 을 갖는다. 일부 구체예에서, 화합물은 패치 클램프 검정에서 약 0.01 nM 내지 약 10 nM 범위의 IC_{50} 을 갖는다. 일부 구체예에서, 화합물은 패치 클램프 검정에서 약 0.1 nM 내지 약 100 nM 범위의 IC_{50} 을 갖는다. 일부 구체예에서, 화합물은 패치 클램프 검정에서 약 0.1 nM 내지 약 10 nM 범위의 IC_{50} 을 갖는다.

[0189] **다른 이온 채널에 대한 화합물 선택성**

[0190] 화합물 선택성은 일반적으로 바람직하지 않은 표적의 효과의 가능성을 감소시키면서 원하는 약리학적 효과를 달성하기 위해 바람직하다. 따라서, 일부 구체예에서, 본 개시의 화합물은 L-타입, N-타입, P-타입, 및/또는 R-타입 칼슘 채널을 포함하는 다른 타입에 비해 T-타입 칼슘 채널에 대해 선택적이다. 일부 구체예에서, 본 개시의 화합물은 L-타입 칼슘 채널보다 T-타입 칼슘 채널에 대해 선택적이다. 일부 구체예에서, 본 개시의 화합물은 N-타입 칼슘 채널보다 T-타입 칼슘 채널에 대해 선택적이다. 일부 구체예에서, 본 개시의 화합물은 P-타입 칼슘 채널보다 T-타입 칼슘 채널에 대해 선택적이다. 일부 구체예에서, 본 개시의 화합물은 R-타입 칼슘 채널보다 T-타입 칼슘 채널에 대해 선택적이다.

[0191] 선택성 결정을 위한 비교기 이온 채널은 $Ca_v1.2$ (L-타입), $Ca_v1.3$ (L-타입), $Ca_v2.1$ (P-타입), $Ca_v2.2$ (N-타입), $Ca_v2.3$ (L-타입), $K_v1.5$, $K_v4.3$, KChIP2, $K_v7.1$, KCNE1(minK), $K_v7.2$, $K_v7.3$, $K_v11.1$ (hERG), HCN4, Kir2.1, Kir3.1, Kir3.4, $Na_v1.1$, $Na_v1.2$, $Na_v1.5$, 및 $Na_v1.6$ 을 포함한다.

[0192] 선택성은 비교 가능한 검정 포맷에서 적어도 2개의 상이한 이온 채널 타입에 대한 주어진 화합물의 길항제 활성을 비교함으로써 결정될 수 있다. 칼슘 채널 길항제 활성을 측정할 수 있는 임의의 적합한 검정이 선택성을 결정하는데 사용될 수 있다. 일부 구체예에서, 선택성은 IC_{50} 또는 % 억제 값을 비교함으로써 결정될 수 있다. 활성 및 선택성을 결정하는데 사용될 수 있는 예시적인 검정은 하기에 추가로 기재된다. 예를 들어, T-타입 칼슘 채널 $Ca_v3.1$ 의 화합물 선택성은 패치 클램프 검정에 의해 각각의 칼슘 채널에 대해 수득된 화합물의 길항제 IC_{50} 값을 비교함으로써 R-타입 칼슘 채널 $Ca_v2.3$ 에 대해 측정될 수 있다. $Ca_v3.1$ $IC_{50} = 100$ nM 및 $Ca_v2.3$ $IC_{50} = 1000$ nM을 갖는 주어진 화합물은 $Ca_v2.3$ 보다 $Ca_v3.1$ 에 대해 10배 더 활성이고, 따라서, R-타입 칼슘 채널보다 T-타입 칼슘 채널에 대해 10배 선택성을 갖는다.

[0193] 일부 구체예에서, 본 개시의 화합물은 L-타입, N-타입, P-타입, 및/또는 R-타입 칼슘 채널을 포함하는 하나 이상, 예를 들어, 2, 3개 이상의 다른 칼슘 채널 타입에 비해 적어도 약 1.2, 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 10000, 100000배 이상의 T-타입 칼슘 채널에 대한 선택성을 갖는다. L-타입, N-타입, P-타입, 및/또는 R-타입 칼슘 채널을 포함하는 다른 칼슘 채널 타입에 비해 T-타입 칼슘 채널에 대한 선택성은 당 분야에 공지된 임의의 검정, 예를 들어, 패치 클램프 검정에 의해 결정될 수 있다. 일부 구체예에서, 본 개시의 화합물은 L-타입, N-타입, P-타입, 및/또는 R-타입 칼슘 채널을 포함하는 하나 이상, 예를 들어, 2, 3개 이상의 다른 칼슘 채널 타입에 비해 적어도 약 1.2배 이상의 T-타입 칼슘 채널에 대한 선택성을 갖는다. 일부 구체예에서, 본 개시의 화합물은 L-타입, N-타입, P-타입, 및/또는 R-타입 칼슘 채널을 포함하는 하나 이상, 예를 들어, 2, 3개 이상의 다른 칼슘 채널 타입에 비해 적어도 약 1.5배 이상의 T-타입 칼슘 채널에 대한 선택성을 갖는다. 일부 구체예에서, 본 개시의 화합물은 L-타입, N-타입, P-타입, 및/또는 R-타입 칼슘 채널을 포함하는 하나 이상, 예를 들어, 2, 3개 이상의 다른 칼슘 채널 타입에 비해 적어도 약 10배 이상의 T-타입 칼슘 채널에 대한 선택성을 갖는다. 일부 구체예에서, 본 개시의 화합물은 L-타입, N-타입, P-타입, 및/또는 R-타입 칼슘 채널을 포함하는 하나 이상, 예를 들어, 2, 3개 이상의 다른 칼슘 채널 타입에 비해 적어도 약 100배 이상의 T-타입 칼슘 채널에 대한 선택성을 갖는다. 일부 구체예에서, 본 개시의 화합물은 L-타입, N-타입, P-타입, 및/또는 R-타입 칼슘 채널을 포함하는 하나 이상, 예를 들어, 2, 3개 이상의 다른 칼슘 채널 타입에 비해 적어도 약 1000배 이상의 T-타입 칼슘 채널

에 대한 선택성을 갖는다. 일부 구체예에서, 본 개시의 화합물은 L-타입, N-타입, P-타입, 및/또는 R-타입 칼슘 채널을 포함하는 하나 이상, 예를 들어, 2, 3개 이상의 다른 칼슘 채널 타입에 비해 적어도 약 10000배 이상의 T-타입 칼슘 채널에 대한 선택성을 갖는다. 일부 구체예에서, 본 개시의 화합물은 L-타입, N-타입, P-타입, 및/또는 R-타입 칼슘 채널을 포함하는 하나 이상, 예를 들어, 2, 3개 이상의 다른 칼슘 채널 타입에 비해 적어도 약 100000배 이상의 T-타입 칼슘 채널에 대한 선택성을 갖는다.

[0194] 일부 구체예에서, 본 개시의 화합물은 L-타입, N-타입, P-타입, 및/또는 R-타입 칼슘 채널을 포함하는 하나 이상, 예를 들어, 2, 3개 이상의 다른 칼슘 채널 타입에 비해 약 1.2배 내지 약 100000배 범위의 T-타입 칼슘 채널에 대한 선택성을 갖는다. L-타입, N-타입, P-타입, 및/또는 R-타입 칼슘 채널을 포함하는 다른 칼슘 채널 타입에 비해 T-타입 칼슘 채널에 대한 선택성은 당 분야에 공지된 임의의 검정, 예를 들어, 패치 클램프 검정에 의해 결정될 수 있다. 일부 구체예에서, 본 개시의 화합물은 L-타입, N-타입, P-타입, 및/또는 R-타입 칼슘 채널을 포함하는 하나 이상, 예를 들어, 2, 3개 이상의 다른 칼슘 채널 타입에 비해 약 1.2배 내지 약 10000배 범위의 T-타입 칼슘 채널에 대한 선택성을 갖는다. 일부 구체예에서, 본 개시의 화합물은 L-타입, N-타입, P-타입, 및/또는 R-타입 칼슘 채널을 포함하는 하나 이상, 예를 들어, 2, 3개 이상의 다른 칼슘 채널 타입에 비해 약 1.2배 내지 약 1000배 범위의 T-타입 칼슘 채널에 대한 선택성을 갖는다. 일부 구체예에서, 본 개시의 화합물은 L-타입, N-타입, P-타입, 및/또는 R-타입 칼슘 채널을 포함하는 하나 이상, 예를 들어, 2, 3개 이상의 다른 칼슘 채널 타입에 비해 약 1.2배 내지 약 100배 범위의 T-타입 칼슘 채널에 대한 선택성을 갖는다. 일부 구체예에서, 본 개시의 화합물은 L-타입, N-타입, P-타입, 및/또는 R-타입 칼슘 채널을 포함하는 하나 이상, 예를 들어, 2, 3개 이상의 다른 칼슘 채널 타입에 비해 약 10배 내지 약 100000배 범위의 T-타입 칼슘 채널에 대한 선택성을 갖는다. 일부 구체예에서, 본 개시의 화합물은 L-타입, N-타입, P-타입, 및/또는 R-타입 칼슘 채널을 포함하는 하나 이상, 예를 들어, 2, 3개 이상의 다른 칼슘 채널 타입에 비해 약 100배 내지 약 100000배 범위의 T-타입 칼슘 채널에 대한 선택성을 갖는다.

[0195] **III. 조성물**

[0196] 본 개시는, 특히, 본원에 개시된 바와 같은 T-타입 칼슘 채널 길항제인 하나 이상의 화합물의 조성물을 제공한다. 하나 이상의 화합물의 조성물은 T-타입 칼슘 채널을 통해 작용함으로써 세포에서 Miro1의 수준을 감소시킬 수 있다.

[0197] 일부 구체예에서, 조성물은 본 개시의 화합물 또는 이의 염을 포함한다. 일부 구체예에서, 조성물은 담체 및 부형제를 추가로 포함한다.

[0198] 일부 구체예에서, 본 개시는 약학적 유효량의 본 개시의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 약학적으로 허용되는 담체 또는 부형제를 포함하는 약학적 조성물 또는 약학적 제형을 제공한다. 약학적 조성물은 하기에 추가로 기재된 바와 같이 치료적으로 효과적인 치료를 생성하기에 충분한 양의 본 개시의 화합물을 전달할 수 있다. 또한 약학적 유효량의 화학식 (I), (II), (III), (IV), 및/또는 (V)의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 약학적으로 허용되는 허용되는 담체 또는 부형제를 포함하는 약학적 제형이 본원에 제공된다.

[0199] 본원의 화합물은 통상적인 관행에 따라 선택될 통상적인 담체 및 부형제와 함께 제형화된다. 정제는 부형제, 활택제, 충전제, 결합제 등을 함유할 것이다. 수성 제형은 멸균 형태로 제조되며, 경구 투여 이외의 전달을 의도하는 경우 일반적으로 등장성일 것이다. 모든 제형은 "Handbook of Pharmaceutical Excipients" (1986)에 기재된 것과 같은 부형제를 선택적으로 함유할 것이다. 부형제는 아스코르브산 및 다른 항산화제, 킬레이트제, 예를 들어, EDTA, 탄수화물, 예를 들어, 덱스트란, 하이드록시알킬셀룰로스, 하이드록시알킬메틸셀룰로스, 스테아르산 등을 포함한다. 제형의 pH는 약 3 내지 약 11의 범위이지만, 일반적으로 약 7 내지 10이다.

[0200] 활성 성분은 단독으로 투여되는 것이 가능하지만, 이들을 약학적 제형으로 제공하는 것이 바람직할 수 있다. 수의학 및 인간용 둘 모두의 제형은 상기 정의된 바와 같은 적어도 하나의 활성 성분을 하나 이상의 허용되는 담체 및 선택적으로 다른 치료 성분, 특히 본원에 논의된 바와 같은 추가 치료 성분과 함께 포함한다. 담체(들)는 제형의 다른 성분과 양립 가능하고 이의 수용자에게 생리학적으로 무해하다는 의미에서 "허용 가능"해야 한다.

[0201] 제형은 상기 투여 경로에 적합한 것들을 포함한다. 제형은 편리하게 단위 투여 형태로 제공될 수 있고 약학 분야에 잘 공지된 임의의 방법에 의해 제조될 수 있다. 기술 및 제형은 일반적으로 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Co., Easton, PA)]에서 확인된다. 이러한 방법은 활성 성분을 하나 이상의 보조 성분을 구성하는 담체와 혼합시키는 단계를 포함한다. 일반적으로, 제형은 활성 성분을 액체 담체

또는 미분된 고체 담체 또는 둘 모두와 균일하고 긴밀하게 회합시킨 후, 필요한 경우, 생성물을 성형하여 제조된다.

[0202] 경구 투여에 적합한 제형은 각각 미리 결정된 양의 활성 성분을 함유하는 캡슐, 사체 또는 정제와 같은 개별 단위로서; 분말 또는 과립으로서; 수성 또는 비-수성 액체 중의 용액 또는 현탁액으로서; 또는 수중유 액체 에멀전 또는 유중수 액체 에멀전으로서 제공될 수 있다. 활성 성분은 또한 볼루스, 연질약, 또는 페이스트로 투여될 수 있다.

[0203] 정제는 선택적으로 하나 이상의 보조 성분과 함께, 압축 또는 성형에 의해 제조된다. 압축 정제는 선택적으로 결합제, 윤활제, 비활성 희석제, 보존제, 표면 활성제 또는 분산제와 혼합된 분말 또는 과립과 같은 자유-유동 형태의 활성 성분을 적합한 기계에서 압축시킴에 의해 제조될 수 있다. 성형 정제는 비활성 액체 희석제로 습윤화된 분말화된 활성 성분의 혼합물을 적합한 기계에서 성형시킴으로써 제조될 수 있다. 정제는 선택적으로 코팅되거나 스코어링될 수 있고, 선택적으로 그로부터 활성 성분의 느리거나 제어된 방출을 제공하도록 제형화된다.

[0204] 본원의 약학적 제형은 하나 이상의 약학적으로 허용되는 담체 또는 부형제 및 선택적으로 다른 치료제와 함께 조합물을 포함한다. 활성 성분을 함유하는 약학적 제형은 의도된 투여 방법에 적합한 임의의 형태일 수 있다. 경구 사용을 위해 사용될 때, 예를 들어, 정제, 트로키, 로젠지, 수성 또는 오일 현탁액, 분산성 분말 또는 과립, 에멀전, 경질 또는 연질 캡슐, 용액, 시럽 또는 엘릭서가 제조될 수 있다. 경구 사용을 위한 약학적 조성물은 약학적 조성물의 제조를 위해 당 분야에 공지된 임의의 방법에 따라 제조될 수 있고, 이러한 조성물은 구미에 맞는 제조물을 제공하기 위해 감미제, 착향제, 착색제 및 보존제를 포함하는 하나 이상의 제제를 함유할 수 있다. 정제의 제조에 적합한 무독성 약학적으로 허용되는 부형제와 혼합된 활성 성분을 함유하는 정제가 허용된다. 이러한 부형제는, 예를 들어, 비활성 희석제, 예를 들어, 칼슘 또는 소듐 카르보네이트, 락토스, 칼슘 또는 소듐 포스페이트; 과립화제 및 봉해제, 예를 들어, 옥수수 전분 또는 알긴산; 결합제, 예를 들어, 전분, 젤라틴 또는 아카시아; 및 윤활제, 예를 들어, 마그네슘 스테아레이트, 스테아르산 또는 탈크일 수 있다. 정제는 코팅되지 않을 수 있거나, 위장관에서 봉해 및 흡착을 지연시켜 장기간에 걸쳐 지속적인 작용을 제공하기 위해 마이크로캡슐화를 포함하는 공지된 기술에 의해 코팅될 수 있다. 예를 들어, 글리세릴 모노스테아레이트 또는 글리세릴 디스테아레이트와 같은 시간 지연 물질이 단독으로 또는 왁스와 함께 사용될 수 있다.

[0205] 눈으로의 국소 투여에 적합한 제형은 또한 활성 성분이 적합한 담체, 특히 활성 성분과 대한 수성 용매에 용해되거나 현탁된 점안제를 포함한다. 활성 성분은 이러한 제형에 약 0.5 내지 약 20%, 예를 들어, 약 0.5 내지 약 10%, 예를 들어, 약 1.5% w/w의 농도로 존재할 수 있다.

[0206] **IV. 방법**

[0207] A. 검정

[0208] T-타입 칼슘 채널 길항제 활성을 포함하는 칼슘 채널 길항제 활성은 당 분야에 공지된 패치 클램프 검정 또는 형광 영상화 플레이트 판독기(FLIPR) 검정을 사용하여 평가될 수 있다. 예를 들어, 문헌[Leech, C.A. and Holz, G.G., IV. Methods Cell Biol. 1994; 40: 135-151; Bell, D.C. and Dallas, M.L. Br. J. Pharmacology 2018, 175, 2312-2321; Bezencon et al., J. Med. Chem. 2017, 60, 9769; Uebele et al., Cell Biochem Biophys 2009. 55, 81; Xiang et al, ACS Chemical Neuroscience 2011, 2, 730; and US 10,562,857] 참조.

[0209] Miro1 수준 및/또는 활성을 감소시킬 수 있는 T-타입 칼슘 채널 길항제는 T-타입 칼슘 채널 길항제의 부재에 비해 존재시에 Miro1의 수준 및/또는 활성을 검출하기 위한 당 분야의 임의의 편리한 방법에 의해 그 자체로 검증될 수 있다. 예를 들어, Miro 단백질(Miro1 및 Miro2의 Ser156, Thr298 또는 Thr299, 예를 들어, 문헌[Wang et al. Cell 2011, 147(4): 893-906] 참조)의 수준 및/또는 인산화 상태는, 예를 들어, 미토콘드리아 수송 단백질-특이적 항체로 면역침전시킨 후 포스포-특이적 또는 일반 항체를 사용한 웨스턴 블롯팅에 의해 검출될 수 있고, 여기서 Miro 단백질의 인산화 증가 및/또는 총 Miro 단백질 수준의 감소, 또는 제제와 접촉한 후 Khc의 인산화 감소는 해당 제제가 파킨슨병을 치료할 것임을 나타낼 수 있다. 또 다른 예로서, Miro 단백질의 수준 및/또는 유비퀴틴화는, 예를 들어, 미토콘드리아 수송 단백질-특이적 항체로 면역침전시킨 후 유비퀴틴-특이적 항체를 사용한 웨스턴 블롯팅에 의해 검출될 수 있고, 여기서 후보 제제와 접촉한 후 유비퀴틴화의 증가는 해당 제제가 파킨슨병을 치료할 것임을 나타낸다. 또 다른 예로서, 세포 내에서 미토콘드리아를 수송하는 표적 미토콘드리아 단백질의 능력은, 예를 들어, 배양된 세포(예를 들어, 뉴런)를 T-타입 칼슘 채널 길항제로 처리하고 세포에서 미토콘드리아의 수송을, 예를 들어, 생 세포 영상화 기술을 사용하여, T-타입 칼슘 채널 길항제로 처리하지 않은 세포와 비교하여 관찰함으로써 평가될 수 있다(예를 들어, 문헌[Brickley and Stephenson J. Biol

Chem 286(20): 18079-92 (2011); Misko et al. J Neurosci 30(19): 4232-40 (2010); Russo GJ et al. J. Neurosci 29(17):5443-55 (2009)] 참조). 또 다른 예로서, Miro(예를 들어, Miro 1 및 2), TRAK(예를 들어, TRAK1 및 2), 및 Khc 사이의 복합체의 형성은 뉴런에서 미토콘드리아 수송에 필수적이기 때문에(예를 들어, 문헌[Brickley and Stephenson J. Biol Chem 286(20): 18079-92 (2011)] 참조), Miro 기능에 대한 T-타입 칼슘 채널 길항제의 효과는 T-타입 칼슘 채널 길항제의 존재 하에 복합체를 형성하는 Miro, TRAK 및 Khc의 능력을 평가함으로써 평가될 수 있다. 이러한 평가는 공동-면역침전 및 친화성 정제 기술을 포함하나 이에 제한되지 않는 단백질-단백질 상호작용을 결정하기 위한 임의의 기술을 사용하여 수행될 수 있다. 특정 구체예에서, 능력은 가족성 PD 돌연변이, 예를 들어, PINK1 또는 LRRK2 돌연변이를 갖는 세포에서 평가된다.

[0210] 종종 면역검정인 친화성 검정은 표적 분자, 즉, Miro1의 수용체, 항체 또는 다른 거대분자에 대한 결합에 의존하는 검정 또는 분석 절차이다. 검출 방법을 사용하여 형성된 결합 복합체의 존재 및 정도를 결정한다. 이러한 검정을 위한 많은 포맷이 당 분야에 공지되어 있고 사용되며, 미토콘드리아 언커플링 또는 탈분극 후 Miro1 분해의 검출에 적합하다. 일부 구체예에서, 검정 포맷은 고-처리량 분석에 적합하다.

[0211] 적합한 검정 포맷에는 Miro1에 특이적인 항체를 이용하는 면역검정이 포함된다. 이러한 목적에 적합한 항체는 공지되어 있고, 예를 들어, Invitrogen으로부터, 모노클로날 CL1095, CL1083; Sigma Aldrich로부터 클론 4H4, Santa Cruz Biotechnology 항-Rho T1 항체(A-8); 등을 포함하여, 폴리클로날 또는 모노클로날 조성물로서 상업적으로 이용 가능하다.

[0212] 관심 검정은, 예를 들어, 웨스턴 블롯; 면역조직화학; 면역침전; 등을 포함하고, 특히 효소-결합 면역흡착 검정 (ELISA), 방사선면역검정(RIA); 효소 면역검정(EIA)과 같은 면역검정을 포함한다.

[0213] 효소-결합 면역흡착 검정(ELISA)은 세포 용해물과 같은 액체 샘플에서 Miro1과 같은 특정 가용성 항원의 존재 또는 농도를 정성적 및 정량적으로 분석하는데 사용된다. 이러한 검정은 일반적으로 동족 항원을 포획하는 항체에 결합하는 다중웰 플레이트 또는 기타의 능력을 이용한다. 일반적으로 흡광도 파장을 통해 검출될 수 있고 항원 또는 항체 희석액의 공지된 표준 곡선으로부터 정량될 수 있는 비색 종말점이 사용된다. 검출 항체는 종종 양고추냉이 퍼옥시다제 또는 알칼리성 포스포타타제와 같은 효소, 또는 형광 태그, 또는 전기화학발광 표지료, 또는 비오틴과 같은 중간 표지를 통해 표지된다.

[0214] 일반적인 ELISA 포맷은 분석물이 2개의 상이한 항체 사이에 "샌드위치"되기 때문에 명명된 샌드위치 ELISA를 포함한다. 이러한 포맷의 포획 기질은 검정의 특이성을 증가시키고 배경 잡음을 감소시키기 위해 포획 항체, 종종 모노클로날 항체이다. 분석물은 포획 항체에 결합된 다음, 검출 항체에 결합함으로써 검출된다. 단일-분자 검정 (Simoa)으로 불리는 샌드위치 ELISA 검정의 변형은 포획 항체로 코팅된 비드를 사용하고; 각각의 비드는 하나 또는 0개의 표적 분자에 결합되고, 개별 비드는 또 다른 항체(검출 항체) 및 표지화 효소로 검출된다.

[0215] 다른 ELISA 포맷은 간접 ELISA를 포함하며, 여기서 포획 기질은 시험되는 특정 항원이고 검출 단계는 1차 항체 및 1차 항체에 대해 반응성인 효소-컨쥬게이션된 2차 항체에 의해 매개된다. 따라서, 항원을 인식하는 1차 항체는 표지되지 않는다. 직접 ELISA에서 포획 기질은 시험되는 특정 항원이고, 색-변화 반응을 촉매하는 효소는 항원 검출기 항체에 컨쥬게이션된다.

[0216] Immuno-PCR(I-PCR)은 PCR에 의한 핵산 증폭의 감도를 항체-기반 검정의 특이성과 조합하여 검출 감도를 증가시키는 기술이다.

[0217] 화합물 투여 후 Miro1 감소를 측정하기 위한 예시적인 방법은 문헌[Hsieh C-H, Li L, Vanhauwaert R, Nguyen KT, Davis MD, Bu G, et al. Miro1 Marks Parkinson's Disease Subset and Miro1 Reducer Rescues Neuron Loss in Parkinson's Models. Cell Metab. 2019; 1131-1140]에 게시되어 있다.

[0218] B. Miro1을 감소시키는 방법

[0219] 세포를 유효량의 T-타입 칼슘 채널 길항제와 접촉시키는 것을 포함하는, 세포에서 Miro1 수준을 감소시키는 방법이 본원에 제공된다. 일부 구체예에서, T-타입 칼슘 채널 길항제는 본원에 기재된 화학식 (I), (II), (III), (IV), 및/또는 (V)의 화합물 중 하나 이상의 구조를 갖는다. 예를 들어, 세포에서 Miro1 수준을 감소시키는 방법은 표 1, 표 2, 및 표 3의 화합물 중 어느 하나 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 사용하여 수행될 수 있다. 본 개시는 추가로 T-타입 칼슘 채널에 대해 적어도 일부 활성을 갖는 칼슘 채널 길항제가 웨스턴 블롯 및 섬유모세포 검정에서 Miro1 수준의 용량-의존적 감소에 영향을 미칠 수 있음을 보여준다(실시예 61 및 62). T-타입 칼슘 채널 길항제 활성을 갖고 Miro1 감소 능력을 나타내는 화합물은 베니디핀 (1,4-디하이드로-2,6-디메틸-4-(3-니트로페닐)-3,5-피리딘-디카르복실산 메틸 1-(페닐메틸)-3-피페리딘 에스테르); MK-8998 ((R)-2-(4-

이소프로필페닐)-N-(1-(5-(2,2,2-트리플루오로에톡시)피리딘-2-일)에틸)아세트아미드); ABT-639 (5-[(8aR)-3,4,6,7,8,8a-헥사하이드로-1H-피롤로[1,2-a]피라진-2-카르보닐]-4-클로로-2-플루오로-N-(2-플루오로페닐)벤젠설포아미드); ACT-709478 (N-(1-((5-시아노피리딘-2-일)메틸)-1H-피라졸-3-일)-2-(4-(1-(플루오로메틸)사이클로프로필)페닐)아세트아미드), 및 조니사미드 (1,2-벤즈이속사졸-3-메탄설포아미드)를 포함한다. 하나의 예시적인 화합물인 베니디핀은 파킨슨병 파리 모델에서 로코모터 결함을 구제하는 생체내 활성을 나타내었다(실시에 63).

[0220] T-타입 칼슘 채널 길항제는 미국 특허 번호 8,377,968; 9,403,798; 10,562,857; 미국 출원 공개 번호 20120264804; 20150329533; 20160340322; EP 3572403; 및 PCT 공개 번호 W02011022315; W02012094615; W02013148640; W02018200850; W02019175395; W02020072773; 및 W02021007487에 기술되었고; 이들 각각은 그 전체가 본원에 참조로 포함된다. 상기 언급된 간행물에서 T-타입 칼슘 채널 길항제 중 임의의 하나는 본원에 기재된 바와 같은 방법에 사용될 수 있다.

[0221] 본원에 기재된 바와 같은 방법에서 Miro1 수준의 감소는 Miro1 단백질의 양의 감소 및/또는 Miro1 단백질의 활성의 감소이다. 일부 구체예에서, Miro1 수준의 감소는 당 분야에 공지된 검정 및 본 개시에 기재된 검정을 포함하는 임의의 검정 방법에 의해 결정되는 바와 같이 Miro1 단백질의 양의 감소이며, 이는 Miro1 활성의 감소를 초래한다. 본원에 기재된 실시예 37-39에서, T-타입 칼슘 채널 길항제는 질병-유래 섬유모세포 또는 iPSC DA 뉴런 세포에서 나이브 건강한 섬유모세포 또는 대조군 iPSC DA 뉴런 세포에서 관찰되는 것보다 높은 Miro1 수준을 유도하지 않았다. 추가로, T-타입 칼슘 채널 길항제는 질병-유래 섬유모세포 또는 iPSC DA 뉴런 세포에서 나이브 건강한 섬유모세포 또는 대조군 iPSC DA 뉴런 세포에서 관찰된 대조군 수준 미만으로 Miro1 수준을 감소시키지 않았다.

[0222] 임의의 적합한 세포는 본원에 기재된 Miro1 수준을 감소시키거나 하향조절하는 방법에 사용될 수 있다. 배양된 세포는 환자 또는 대조군 샘플로부터 유래될 수 있고; 유전자-변형된 세포, 시험관내 분화된 세포, 후보 치료제에 노출된 세포 등을 생성하도록 변형될 수 있다. 일부 구체예에서, 세포는 근육 세포이다. 예를 들어, 근육 세포는 심장 세포, 즉, 심근세포일 수 있다. 일부 구체예에서, 세포는 신장 세포이다. 일부 구체예에서, 세포는 간 세포이다. 일부 구체예에서, 세포는 뉴런 세포이다. 상기 방법은 시험관내, 생체외, 또는 생체내 세포에서 수행될 수 있다. 일부 구체예에서, Miro1 수준의 감소는 시험관내 또는 생체외 감소이다. 일부 구체예에서, Miro1 수준의 감소는 생체내 감소이다.

[0223] 세포를 포함하는 임의의 적합한 생물학적 샘플이 본원에 기재된 방법에 사용될 수 있다. 상기 방법은 피부 섬유모세포와 같은 섬유모세포, 말초 혈액 림프구, iPSC 등과 같은 생물학적 샘플을 비제한적으로 포함하는 대상체로부터 획득된 생물학적 샘플로 수행될 수 있다.

[0224] 본원에 기재된 방법에서 측정된 Miro1 수준은 당 분야에 공지된 임의의 방법에 의해 대조군 Miro1 수준과 비교될 수 있다. 예를 들어, 문헌[Hsieh C-H, et al. Cell Metab. 2019; 1131-1140]에 기재된 ELISA 검정 참조.

[0225] 일부 구체예에서, T-타입 칼슘 채널 길항제는 Miro1의 수준을 정상 범위로 감소시킨다. 예를 들어, 일부 구체예에서, Miro1 정상 범위는 치료되지 않거나 나이브 건강한 섬유모세포 또는 iPSC DA 뉴런 세포(범위의 상단)와 미토콘드리아 스트레스인자-첼린지된 건강한 섬유모세포 또는 iPSC DA 뉴런 세포(범위의 하단) 사이에서 관찰되는 범위일 수 있다.

[0226] 일부 구체예에서, T-타입 칼슘 채널 길항제는 Miro1의 수준을 Miro1의 대조군 수준에 비해 약 50%, 약 40%, 약 30%, 또는 약 20% 이내로 감소시키거나 하향조절한다. 일부 구체예에서, Miro1의 대조군 수준은 비정상적인 Miro1 수준에 의해 매개되는 질병 또는 장애를 갖지 않거나 갖는 것으로 의심되지 않는 대조군 대상체로부터의 대조군 세포에서 측정된다. 예를 들어, T-타입 칼슘 채널 길항제는 파킨슨병 환자로부터의 뉴런 세포에서 Miro1 수준을 파킨슨병을 갖지 않거나 갖는 것으로 의심되지 않는 연령-일치 환자로부터의 대조군 뉴런 세포의 Miro1의 대조군 수준에 비해 약 50% 이내로 하향조절할 수 있다.

[0227] T-타입 칼슘 채널 길항제와 접촉시킨 후 세포에서 Miro1의 수준은 대조군 세포의 Miro1의 대조군 수준보다 높거나 낮을 수 있다. 일부 구체예에서, T-타입 칼슘 채널 길항제와 접촉시킨 후 세포에서 Miro1의 수준은 대조군 세포의 Miro1의 대조군 수준보다 약 20%, 약 30%, 약 40%, 또는 약 50% 더 높다. 일부 구체예에서, T-타입 칼슘 채널 길항제와 접촉시킨 후 세포에서 Miro1의 수준은 대조군 세포의 Miro1의 대조군 수준보다 약 20% 내지 약 50% 더 높다. 일부 구체예에서, T-타입 칼슘 채널 길항제와 접촉시킨 후 세포에서 Miro1의 수준은 대조군 세포의 Miro1의 대조군 수준보다 약 20%, 약 30%, 약 40%, 또는 약 50% 더 낮다. 일부 구체예에서, T-타입 칼슘 채널

의 수준 또는 생물학적 활성을 약 40% 내지 약 60%만큼 감소시킨다.

- [0231] C. Miro1-관련 장애가 발생할 위험이 있는 대상체를 확인하는 방법
- [0232] 세포로부터 Miro1을 분해하거나 제거하는 능력의 결핍은 대상체가 신경퇴행성 장애의 명백한 증상, 예를 들어, 본원에 기재된 증상 중 하나 이상을 나타내기 전에, Miro1-관련 장애, 예를 들어, 신경퇴행성 장애, 예를 들어, 파킨슨병의 발생과 상관관계가 있는 것으로 여겨진다. 따라서, 일부 구체예에서, 대상체는 신경퇴행성 장애에 대해 무증상이다. 실시예 64는 파킨슨병 환자 또는 파킨슨병 발생 위험이 있는 사람들로부터 유래된 세포로부터 Miro1 제거 결핍의 상관관계를 뒷받침하는 실험 데이터를 보여준다. 또한, 환자-유래 피부 섬유모세포 및 iPSC 세포에서 파킨슨병과 높은 Miro1 비율의 상관관계를 나타내는 도 2-5를 참조한다. 따라서, Miro1은 이러한 장애가 발생할 위험이 있는 대상체에서 신경퇴행성 장애에 대한 예측 바이오마커로서, 예를 들어, 증상이 나타나기 전에 신경퇴행성 장애를 치료하는 초기 단계로서 사용될 수 있다. 발생 위험이 있는 대상체는 신경퇴행성 장애가 발생한 가족력을 가질 수 있거나, 신경퇴행성 장애가 발생할 위험의 증가와 관련된 유전적 마커, 예를 들어, 파킨슨병의 경우 LRRK2 G2019S 돌연변이를 나타낼 수 있거나, 신경퇴행성 장애 발생의 알려진 위험이 없을 수 있다.
- [0233] 문헌[Hsieh C-H, et al. Cell Metab. 2019; 1131-1140, and PCT publication WO 2021/046368]에 기술한 바와 같이, 미토콘드리아 스트레스인자로 처리된 세포에서 Miro1 수준은 미토콘드리아 스트레스인자에 의해 유도된 미토과지 과정으로 인해 미처리 대조군 세포의 대조군 Miro1 수준보다 낮을 것으로 예상된다. 대상체로부터 유래된 생물학적 샘플 세포의 경우, 미처리 대조군 세포의 대조군 Miro1 수준과 비교하여 미토콘드리아 스트레스 인자로 처리된 세포에서 유사하거나 더 높은 Miro1 수준은 결함이 있는 미토과지 과정과 상관관계가 있는 신경퇴행성 장애를 나타낼 수 있다.
- [0234] 일부 구체예에서, Miro1-관련 장애가 발생할 위험이 있는 대상체를 확인하기 위한 방법이 제공되며, 상기 방법은 a) 대상체로부터 획득되고 미토콘드리아 스트레스인자로 처리된 생물학적 샘플에서 Miro1 수준이 대상체로부터 획득되고 처리되지 않은 대조군 생물학적 샘플의 대조군 Miro1 수준과 비교하여 유사하거나 더 높은지 여부를 검출하는 단계; 및 b) Miro1 수준이 대조군 생물학적 샘플의 대조군 Miro1 수준과 비교하여 생물학적 샘플에서 유사하거나 더 높은 경우 Miro1-관련 장애가 발생할 위험이 있는 대상체를 확인하는 단계를 포함하고, 여기서 생물학적 샘플 및 대조군 생물학적 샘플은 iPSC 또는 iPSC로부터 분화된 세포를 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 방법은 치료적 유효량의 본원에 기재된 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 투여함으로써 Miro1-관련 장애가 발생할 위험이 있는 대상체를 치료하는 단계를 추가로 포함한다. 특정 구체예에서, 화합물은 표 1에 기재된 바와 같은 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염이다.
- [0235] 일부 구체예에서, Miro1-관련 장애가 발생할 위험이 있는 대상체를 확인하기 위한 방법이 제공되며, 상기 방법은 a) 대상체로부터 획득되고 미토콘드리아 스트레스인자로 처리된 생물학적 샘플에서 Miro1 수준이 대상체로부터 획득되고 처리되지 않은 대조군 생물학적 샘플의 대조군 Miro1 수준과 비교하여 유사하거나 더 높은지 여부를 검출하는 단계; b) Miro1 수준이 대조군 생물학적 샘플의 대조군 Miro1 수준과 비교하여 생물학적 샘플에서 유사하거나 더 높은 경우 Miro1-관련 장애가 발생할 위험이 있는 대상체를 확인하는 단계; 및 c) 치료적 유효량의 본원에 기재된 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 투여함으로써 Miro1-관련 장애가 발생할 위험이 있는 대상체를 치료하는 단계를 포함한다. 일부 구체예에서, 화합물은 화학식 (I), (II), (III), (IV), 및/또는 (V)의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염이다. 특정 구체예에서, 화합물은 표 1에 기재된 바와 같은 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염이다.
- [0236] Miro-1 관련 장애는 Miro1 단백질의 비정상적인 분해 및/또는 제거와 상관관계가 있는 임의의 질병 또는 장애이며, 본원에 기재된 신경퇴행성 장애 중 임의의 하나를 포함한다. 일부 구체예에서, Miro-1 관련 장애는 약물-유발 파킨슨증, 진행성 핵상 마비, 혈관성 파킨슨증, 루이소체 치매, 미만성 루이소체병, 피질기저 핵변성, 다계통 변성(샤이-드래거 증후군), 파킨슨병, 알츠하이머병, 픽병, 전두측두엽 치매, 다계통 위축, 혈관성 치매, 또는 진행성 핵상 마비(스틸-리차드슨 증후군)이다. 일부 구체예에서, Miro1-관련 장애는 파킨슨병이다. 일부 구체예에서, Miro1-관련 장애는 알츠하이머병이다. 일부 구체예에서, Miro1-관련 장애는 픽병이다. 일부 구체예에서, Miro1-관련 장애는 전두측두엽 치매이다. 일부 구체예에서, Miro1-관련 장애는 다계통 위축이다.
- [0237] 추가로 신경퇴행성 장애의 치료를 필요로 하는 대상체에서 신경퇴행성 장애를 치료하기 위한 방법이 본원에 제공되며, 상기 방법은 a) 대상체로부터 획득되고 미토콘드리아 스트레스인자로 처리된 생물학적 샘플에서 Miro1 수준이 대상체로부터 획득되고 처리되지 않은 대조군 생물학적 샘플의 대조군 Miro1 수준과 비교하여 유사하거나 더 높은지 여부를 검출하는 단계; b) Miro1 수준이 대조군 생물학적 샘플의 대조군 Miro1 수준과 비교하여

생물학적 샘플에서 유사하거나 더 높은 경우 치료를 위한 대상체를 확인하는 단계; 및 c) 치료적 유효량의 본원에 기재된 바와 같은 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 구체예에서, 신경퇴행성 장애는 약물-유발 파킨슨증, 진행성 핵상 마비, 혈관성 파킨슨증, 루이소체 치매, 미만성 루이소체병, 피질기저 핵변성, 다계통 변성(샤이-드래거 증후군), 파킨슨병, 알츠하이머병, 픽병, 전두측두엽 치매, 다계통 위축, 혈관성 치매, 또는 진행성 핵상 마비(스틸-리차드슨 증후군)이다. 일부 구체예에서, 화합물은 화학식 (I), (II), (III), (IV), 및/또는 (V)의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염이다. 특정 구체예에서, 화합물은 표 1에 기재된 바와 같은 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염이다. 실시예 65는 전두측두엽 치매(FTD)가 발생할 위험이 있는 P301L tau 공여자의 섬유모세포에서 Miro1 부족의 용량-의존적 구제를 나타내는 본 개시의 한 화합물, 실시예 15를 예시한다.

[0238] 본원에 기재된 임의의 적합한 생물학적 샘플이 상기 방법에 사용될 수 있다. 일부 구체예에서, 생물학적 샘플 및 대조군 생물학적 샘플은 섬유모세포를 포함한다. 예를 들어, 피부 섬유모세포는 대상체로부터 직접 취득될 수 있다. 일부 구체예에서, 생물학적 샘플 및 대조군 생물학적 샘플은 iPSC 또는 iPSC로부터 분화된 세포를 포함한다.

[0239] iPSC는 대상체로부터 직접 취득되거나 당 분야에 공지된 임의의 방법에 따라 대상체로부터 취득된 다른 세포 유형으로부터 배양될 수 있다. 문헌[Shi, Y. et al. Nature Reviews Drug Discovery vol. 16, pages 115-130 (2017)], 및 그 안에 인용된 참고 문헌을 참조한다. 예를 들어, iPSC는 대상체로부터 직접 취득된 섬유모세포로부터 탈분화될 수 있다. 또한, iPSC는 뉴런 세포, 피부 세포, 혈액 세포, 및 간 세포를 포함하는 다양한 상이한 세포 유형으로 재분화될 수 있다.

[0240] 대상체의 iPSC로부터 분화된 이러한 세포는 대상체로부터 직접 표적 세포 유형을 직접 취득하지 않고 편리한 방식으로 개인화 요법을 결정하는데 사용될 수 있다. 예시적인 예에서, 피부 섬유모세포는 파킨슨병이 발생할 위험이 있는 대상체로부터 취득될 수 있다. 피부 섬유모세포는 iPSC로 탈분화될 수 있고, 이후 운동 뉴런으로 재분화될 수 있다. iPSC로부터 분화된 운동 뉴런은 대상체가 Miro1 감소 요법, 예를 들어, 본 개시의 화합물을 함유하는 요법에 반응할 수 있는지 여부를 확인하기 위해 미토콘드리아 스트레스인자의 처리 유무에 따른 Miro1 부족에 대해 본원에 기재된 검정에서 시험될 수 있다.

[0241] Miro1 수준을 대조군 Miro1 수준과 비교하는 방법은 당 분야에 공지되어 있다. 대상체로부터 취득되고 미토콘드리아 스트레스인자로 처리된 생물학적 샘플에서 Miro1 수준이 대상체로부터 취득되고 처리되지 않은 대조군 생물학적 샘플의 대조군 Miro1 수준과 비교하여 유사하거나 더 높은지 여부를 검출할 때, 대조군 Miro1 수준에 대한 Miro1 수준의 비율을 비교할 수 있다. 일부 구체예에서, 대조군 Miro1 수준에 대한 Miro1 수준의 비율은 약 0.5 내지 약 10, 예를 들어, 약 0.5 내지 약 5, 약 0.6 내지 약 6, 약 0.7 내지 약 4, 약 0.7 내지 약 3, 약 0.8 내지 약 3, 또는 약 0.9 내지 약 2이다. 예를 들어, 대조군 Miro1 수준에 대한 Miro1 수준의 비율은 약 0.5 내지 약 10일 수 있다. 또 다른 예에서, 대조군 Miro1 수준에 대한 Miro1 수준의 비율은 약 0.7 내지 약 4일 수 있다.

[0242] 당 분야에 공지된 임의의 미토콘드리아 스트레스인자가 본원에 기재된 방법에 사용될 수 있다. 적합한 미토콘드리아 스트레스인자는 미토콘드리아 탈분극제, 예를 들어, 카르보닐 시아나이드 4-(트리플루오로메톡시)페닐히드라존(FCCP) 및 카르보닐 시아나이드 3-클로로페닐히드라존(CCCP); 복합체 I 억제제, 예를 들어, 로테논, 피에리시딘 A, 1-메틸-4-페닐-1,2,3,6-테트라하이드로피리딘(MPTP), 및 파라콰트(paraquat), 복합체 III 억제제, 예를 들어, 안티마이신 A, 복합체 V 억제제, 예를 들어, 올리고마이신 A, 및 미토콘드리아 막 포타슘 이오노포어, 예를 들어, 발리노마이신을 포함하는 미토콘드리아 전자 수송 사슬 억제제; 메트포르민과 같은 인슐린 신호전달의 조절제, 및 라파마이신과 같은 세포 성장 및 대사에 필요한 mTOR 마스터 신호전달 경로의 억제제를 포함하는 대사 조절제를 포함한다. 일부 구체예에서, 미토콘드리아 스트레스인자는 카르보닐 시아나이드 3-클로로페닐히드라존(CCCP)이다. 일부 구체예에서, 미토콘드리아 스트레스인자는 카르보닐 시아나이드 4-(트리플루오로메톡시)페닐히드라존(FCCP)이다.

[0243] D. 치료 방법

[0244] 신경퇴행성 장애를 치료하는 방법이 본원에 제공되고, 상기 방법은 대상체에게 본원에 기재된 치료적 유효량의 T-타입 칼슘 채널 길항제 또는 이의 약학적 조성물을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구체예에서, T-타입 칼슘 채널 길항제는 화학식 (I), (II), (III), (IV), 및/또는 (V)의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염이다. 일부 구체예에서, 상기 방법은 하기에 추가로 기재된 질환의 하나 이상의 증상을 치료하기에 충분한 치료적 유효량의 본 개시의 화합물 또는 이의 약학적 조성물을 전달한다.

[0245] 본 개시의 방법에 포함되는 신경퇴행성 장애는 파킨슨병 관련 장애에서 보여지는 것과 유사한 증상을 공유하는 신경학적 장애를 포함하나 이에 제한되지 않는다. 일부 경우에, 신경학적 장애는 파킨슨병, 비정형 파킨슨병 또는 파킨슨 플러스병과 유사한 증상을 나타낼 수 있다. 예는 약물-유발 파킨슨증, 진행성 핵상 마비, 혈관성 파킨슨증, 루이소체 치매, 미만성 루이소체병, 피질기저 핵변성, 다계통 변성(샤이-드래거 증후군), 알츠하이머병, 픽병, 전두측두엽 치매, 다계통 위축, 혈관성 치매, 및 진행성 핵상 마비(스틸-리차드슨 증후군)을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 본 발명의 방법 내에 또한 포함되는 다른 질환은 연령-관련 치매 및 혈관성 치매, 미만성 백질 질환(빈스방거병), 내분비 또는 대사 기원의 치매, 두부 외상 및 미만성 뇌 손상의 치매, 권투 선수 치매 및 전두엽 치매를 포함하는 기억 상실을 갖는 다른 치매 및 질환을 포함한다. 일부 경우에, 신경학적 장애는 도파민성 치료에 잘 반응하지 않을 수 있고, 다양한 혈관, 약물-관련, 감염성, 독성, 구조적 및 다른 공지된 2차 원인의 결과로 야기될 수 있다. 약물-유발 파킨슨증은 항정신병제 및 항구토제 및 소듐 발프로에이트, 항우울제, 레세르핀, 테트라베나진 등과 같이, 높은 친화성으로 시냅스후 도파민 D2 수용체를 차단하는 제제에 의해 야기될 수 있다.

[0246] 다양한 대상체가 본 개시의 T-타입 칼슘 채널 길항제를 사용한 치료에 적합하다. 적합한 대상체는 운동완만증, 반복 동작, 떨림, 사지 강직, 보행 및 균형 문제, 안구 근육의 약화로 인한 눈 조준 불능, 쇠약, 감각 상실, REM 수면 거동 장애와 같은 비-운동 증상, 기분 장애 및 인지 변화를 포함하는 신경정신병적 증상, 불안, 무관심, 사고 능력의 변화, 주의력 또는 각성도 및 시각적 환각의 수준, 지능 및 기능 저하, 건망증, 성격 변화, 심혈관, 호흡기, 비뇨생식기, 위장 및 한선운동성 기능에 영향을 미치는 자율신경계 장애, 호흡 및 연하 곤란, 발한 불능, 기립성 저혈압, 통증, 변비, 및 후각 상실, 예를 들어, 후각저하증과 같은 파킨슨병의 증상을 나타내는 임의의 대상체를 포함한다. 일부 구체예에서, 대상체는 뚜렛한 스피치 또는 언어 장애, 뚜렛한 전방 제시(frontal presentation) 및 보행 동걸을 경험할 수 있다.

[0247] 일부 구체예에서, 대상체는 파킨슨병의 임의의 명백한 증상을 나타내지 않을 수 있다. 일부 경우에, 필요로 하는 대상체는 증가된 감염 감수성, 저체온, 약한 뼈, 관절 강직, 관절염, 구부린 자세, 느린 동작, 전체 에너지의 감소, 변비, 요실금, 기억 상실, 느린 사고, 느린 반사, 균형 장애, 시력 감소, 주변 시력 감소, 청력 상실, 피부 주름, 백발, 체중 감소, 근육 조직 손실을 나타낼 수 있다.

[0248] 일부 구체예에서, 대상체는 알츠하이머병을 갖는 것으로 진단된 대상체; 1회 이상의 뇌졸중을 겪은 대상체; 외상성 두부 손상을 겪은 대상체; 높은 혈청 콜레스테롤 수준을 갖는 개인; 뇌 조직에 침착을 포함하는 단백병증을 갖는 대상체; 1회 이상의 심장 사건을 겪은 대상체; 심장 수술을 받는 대상체; 및 다발성 경화증을 갖는 대상체로부터 선택된다.

[0249] 일부 구체예에서, 대상체는 운동 뉴런 질환, 예를 들어, 근위축성 측삭 경화증, 퇴행성 운동실조, 피질기저 핵 변성, 광의 ALS-파킨슨-치매 복합체, 아급성 경화성 범뇌염, 헌팅턴병, 파킨슨병, 시누클레인병증, 원발성 진행성 실어증, 선조체흑색 변성, 마카도-조셉병(Machado-Joseph disease)/척수소뇌 운동실조 타입 3 및 올리브뇌교 소뇌 변성, 질 드 라 뚜렛병(Gilles De La Tourette's disease), 숨뇌 및 거짓숨뇌 마비, 척수 및 척수숨뇌 근 위축(케네디병), 원발성 측삭경화증, 가족성 경직 하반신마비, 베르드니히-호프만병(Werdnig-Hoffmann disease), 쿠겔베르그-웰란더병(Kugelberg-Welander disease), 테이-삭스병(Tay-Sach's disease), 샌드호프병(Sandhoff disease), 가족성 경직 질환, 볼파르트-쿠겔베르그-웰란더병(Wohlfart-Kugelberg-Welander disease), 경직 하반신불완전마비, 진행성 다초점 백질뇌병증, 및 프리온 질환(크로이츠펠트-야콥(Creutzfeldt-Jakob), 저스만-스트라우슬러-헝커병(Gerstmann-Straussler-Scheinker disease), 쿠루 및 치명적인 가족성 불면증 포함)을 포함하는 신경학적 질환과 관련된 증상을 나타낸다. 또한, 다른 신경퇴행성 장애는 색전성 폐색 및 혈전성 폐색 뿐만 아니라 임의의 유형의 두개내 출혈(경막외, 경막하, 지주막하 및 뇌내를 포함하나 이에 제한되지 않음), 및 두개내 및 척추내 병변(타박상, 관통, 진단, 압축 및 열상을 포함하나 이에 제한되지 않음)을 포함하는 뇌허혈 또는 경색으로부터 초래된다.

[0250] **V. 실시예**

[0251] **약어.** 특정 약어 및 두문자어가 실험 세부사항을 설명하는데 사용된다. 이들 대부분은 당업자에 의해 이해될 것이지만, 이들 약어 및 두문자어 중 다수가 하기에 열거되어 있다.

약어	의미
ACN	아세토니트릴
Bn	벤질
Boc	3 차-부틸옥시카르보닐
Bu	부틸
nBuLi	n-부틸 리튬
cBu	사이클로부틸
CDCl ₃	클로로포름-d
cHex	사이클로헥실
cPr	사이클로프로필
DCM	디클로로메탄
DMAP	4-디메틸아미노피리딘
DMSO	디메틸설폭사이드
DMF	디메틸포름아미드
EA	에틸 아세테이트
EDCI	N-(3-디메틸아미노프로필)-N'-에틸카르보디이미드 하이드로클로라이드
Et	에틸
iBu	이소부틸
iPr	이소프로필
LC	액체 크로마토그래피
Me	메틸
m/z	질량 대 전하비
MS 또는 ms	질량 스펙트럼
NMP	N-메틸-2-피롤리돈
Ph	페닐
Ph ₃ P	트리페닐포스핀
prep. HPLC	분취용 고성능 액체 크로마토그래피 (또한 분취-HPLC)

[0252]

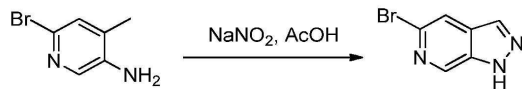
약어	의미
RT	실온
tBu	3 차-부틸
TEA	트리에틸아민
TFA	트리플루오로아세트산
THF	테트라하이드로푸란
TLC	박층 크로마토그래피
TMS	트리메틸실릴
TMSCl	트리메틸실릴 클로라이드
δ	잔류 비-중수소화 용매 피크에 대한 백만분율

[0253]

[0254] **실시예 1. (R)-2-(4-이소프로필페닐)-N-(1-(1-메틸-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드**

[0255]

단계 1. 5-브로모-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘의 합성



[0256]

[0257]

아세트산(60 mL) 중 6-브로모-4-메틸피리딘-3-아민(1.0 g)의 용액에 소듐 니트라이트(0.37 mL)를 빙욕에서 냉각시키면서 첨가하였다. 반응물을 실온에서 밤새 교반하였다. 이후, 반응물을 농축시킨 다음 포화 수성 NaHCO₃로 처리하였다. 수성 혼합물을 EA로 추출하였다. 유기 층을 분리하고, 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공에서 농축시켰다. 이후, 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 5-브로모-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘(442 mg)을 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 198 [M+H]⁺.

[0258]

단계 2. 1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-카르보알데히드의 합성



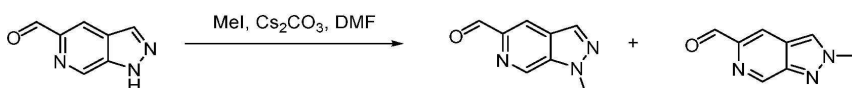
[0259]

[0260]

무수 THF(100 mL) 중 5-브로모-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘(3.3 g)의 용액에 -78℃에서 n-BuLi(20.0 mL, THF 중 2 N)를 첨가하였다. 혼합물을 -78℃에서 1시간 동안 교반하였다. 이후, DMF(3.87 mL)를 -78℃에서 혼합물에 첨가하고, 혼합물을 -78℃에서 1시간 동안 교반하였다. 반응물을 실온으로 가온하고 NH₄Cl 용액으로 킨칭하였다. 2개의 상을 분리하고, 수성 상을 DCM(10 mL x 3)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 실리카 겔 상에서 컬럼 크로마토그래피(DCM:MeOH = 1:0 내지 20:1)로 정제하여 1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-카르보알데히드(1.0 g)를 백색 고체로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 148 [M+H]⁺.

[0261]

단계 3. 1-메틸-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-카르보알데히드의 합성



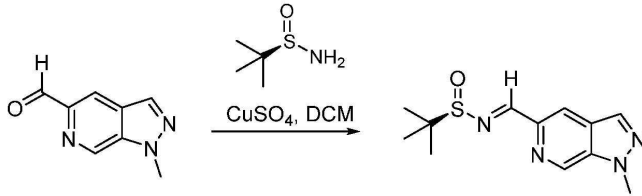
[0262]

[0263]

DMF(15 mL) 중 1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-카르보알데히드(1 g)의 용액에 Cs₂CO₃(4.4 g) 및 아이오도메탄(1.1 g)을 첨가하였다. 혼합물을 25℃에서 12시간 동안 교반하였다. 이후, 혼합물을 물로 희석하고 EtOAc로 추출하였다. 합한 추출물을 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 1-메틸-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-카르보알데히드(400 mg)[¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10.12 (s, 1H), 9.35 (s, 1H), 8.43 (s, 2H), 4.25 (s, 3H).] 및 2-메틸-

2H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-카르보알데히드(200 mg) [^1H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10.05 (s, 1H), 9.27 (s, 1H), 8.80 (s, 1H), 8.43 (d, J = 1.2 Hz, 1H), 4.31 (s, 3H).]를 황색 고체로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 162 [M+H]⁺.

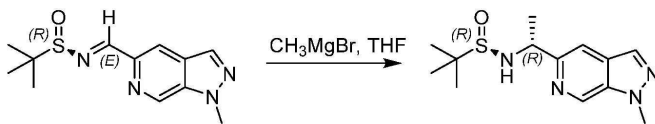
[0264] 단계 4. (R,E)-2-메틸-N-((1-메틸-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)메틸렌)프로판-2-설피나미드의 합성



[0265]

[0266] DCM(15 mL) 중 1-메틸-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-카르보알데히드(235 mg)의 용액에 (R)-2-메틸프로판-2-설피나미드(230 mg) 및 CuSO₄(349 mg)를 첨가하였다. 반응물을 실온에서 밤새 교반하였다. 용액을 셀라이트의 패드를 통해 여과하고 여액을 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 컬럼으로 정제하여 (R,E)-2-메틸-N-((1-메틸-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)메틸렌)프로판-2-설피나미드(340 mg)를 수득하였다. ^1H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.06 (s, 1H), 8.83 (s, 1H), 8.34 (s, 1H), 8.17 (s, 1H), 4.25 (s, 3H), 1.31 (s, 9H) ppm. LC/MS ESI (m/z): 265 [M+H]⁺.

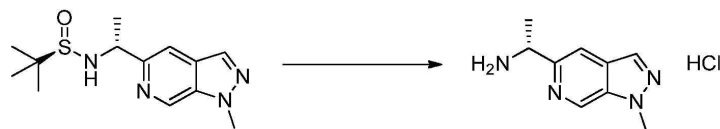
[0267] 단계 5. (R)-2-메틸-N-((R)-1-(1-메틸-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)프로판-2-설피나미드의 합성



[0268]

[0269] 무수 THF(20 mL) 중 (R,E)-2-메틸-N-((1-메틸-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)메틸렌)프로판-2-설피나미드(347 mg)의 용액에 CH₃MgBr(에테르 중 3.0 M, 2.2 mL)을 첨가하였다. 반응물을 -60°C에서 2시간 동안 교반하였다. 이후, 반응물을 포화 NH₄Cl로 킨칭하고 EtOAc로 추출하였다. 유기 층을 분리하고, 추가 포화 NaCl로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공에서 농축시켰다. 이후, 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 (R)-2-메틸-N-((R)-1-(1-메틸-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)프로판-2-설피나미드(314 mg)를 담황색 오일로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 281 [M+H]⁺.

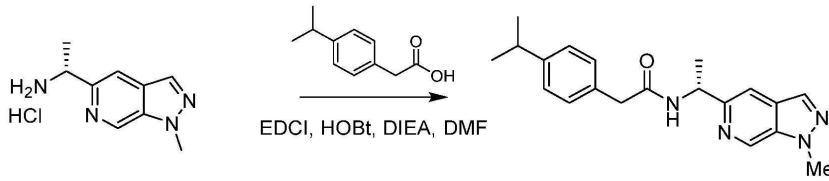
[0270] 단계 6. (R)-1-(1-메틸-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드의 합성



[0271]

[0272] 디옥산(2.0 mL) 중 (R)-2-메틸-N-((R)-1-(1-메틸-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)프로판-2-설피나미드(57 mg)의 용액에 HCl-디옥산(디옥산 중 4 M, 1.0 mL)을 첨가하고, 반응물을 실온에서 30분 동안 교반하였다. 이후, 혼합물을 농축시켜 미정제 (R)-1-(1-메틸-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드를 제공하고, 이를 다음 단계에 사용하였다. LC/MS ESI (m/z): 177 [M+H]⁺.

[0273] 단계 7. (R)-2-(4-이소프로필페닐)-N-(1-(1-메틸-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드의 합성

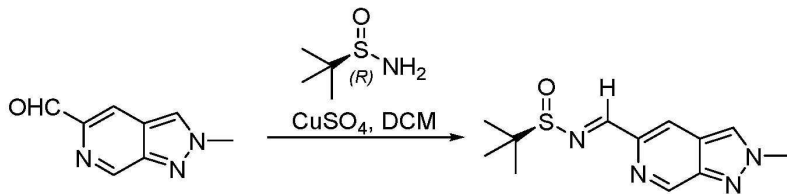


[0274]

[0275] DMF(5 mL) 중 미정제 (R)-1-(1-메틸-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드(70 mg), 2-[4-(프로판-2-일)페닐]아세트산(77.88 mg), EDCI(91.38 mg), HOBT(64.41 mg) 및 DIEA(0.08 mL)의 용액을 25 °C에서 3시간 동안 교반하였다. 혼합물을 물로 희석하고 EtOAc로 추출하였다. 합한 추출물을 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하였다. 잔류물을 분취-HPLC[컬럼: YMC-Actus Triart C18 250*21mm; 이동상: H₂O(0.1% NH₃H₂O)와 함께 20% 내지 95% MeCN; 유량: 15 mL/분; 파장: 220 nm/254 nm] 및 SFC(컬럼: ChiralPak IA, 250x21.3mm I.D., 5 μm; 이동상: CO₂의 경우 A 및 MEOH+0.1%NH₃H₂O의 경우 B; 구배: B 35%; 파장: 220 nm)로 정제하여 (R)-2-(4-이소프로필페닐)-N-(1-(1-메틸-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드(17.1 mg)를 백색 고체로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 337 (M+H)⁺; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.83 (s, 1H), 7.98 (s, 1H), 7.50 (s, 1H), 7.20 (s, 4H), 6.62 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 5.30 - 5.23 (m, 1H), 4.18 (s, 3H), 3.60 - 3.52 (m, 2H), 2.95 - 2.88 (m, 1H), 1.46 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 1.26 (d, J = 8.0 Hz, 6H) ppm.

[0276] **실시예 2. (R)-2-(4-이소프로필페닐)-N-(1-(2-메틸-2H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드**

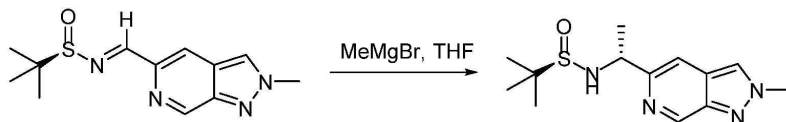
[0277] 단계 1. (R,E)-2-메틸-N-((2-메틸-2H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)메틸렌)프로판-2-설피나미드의 합성



[0278]

[0279] 무수 디클로로메탄(10 mL) 중 2-메틸-2H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-카르브알데히드(210 mg)의 용액에 (R)-2-메틸프로판-2-설피나미드(190 mg) 및 CuSO₄(520 mg)를 첨가하고, 반응물을 실온에서 밤새 교반하였다. 이후, 혼합물을 여과하고, 여액을 진공에서 농축시켰다. 잔류물을 실리카 젤 컬럼으로 정제하여 (R,E)-2-메틸-N-((2-메틸-2H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)메틸렌)프로판-2-설피나미드(421 mg, 미정제)를 백색 고체로서 수득하였다. LC/MS ESI: 265 (M+H)⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.25 (s, 1H), 8.71 (s, 1H), 8.59 (s, 1H), 8.49 (s, 1H), 4.31 (s, 3H), 1.21 (s, 9H).

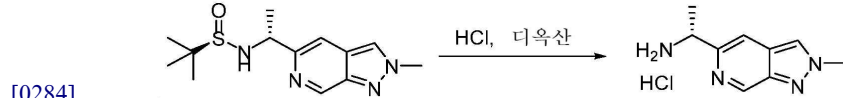
[0280] 단계 2. (R)-2-메틸-N-((R)-1-(2-메틸-2H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)프로판-2-설피나미드의 합성



[0281]

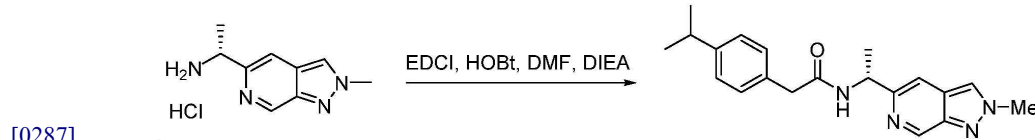
[0282] THF(8.0 mL) 중 (R,E)-2-메틸-N-((2-메틸-2H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)메틸렌)프로판-2-설피나미드(274 mg)의 용액에 -78°C에서 메틸마그네슘 브로마이드(1.38 mL, 에테르 중 3 M)를 첨가하고, 혼합물을 -78°C에서 4시간 동안 교반하였다. 이후, 혼합물을 NH₄Cl 용액으로 켄칭하고 EtOAc로 추출하였다. 합한 추출물을 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 (R)-2-메틸-N-((R)-1-(2-메틸-2H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)프로판-2-설피나미드(285 mg)를 수득하였다. LC/MS ESI: 281 (M+H)⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.20 (s, 1H), 7.90 (s, 1H), 7.49 (d, J = 0.8 Hz, 1H), 4.65 - 4.62 (m, 1H), 4.43 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 4.28 (d, J = 3.0 Hz, 3H), 1.57 (d, J = 6.7 Hz, 3H), 1.25 (s, 9H).

[0283] 단계 3. (R)-1-(2-메틸-2H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드의 합성



[0285] 디옥산(6 mL) 중 (R)-2-메틸-N-((R)-1-(2-메틸-2H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)프로판-2-설피나미드(215 mg)의 용액에 4 N HCl-디옥산(2 mL)을 첨가하고, 반응물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 이후, 반응물을 농축시키고 다음 단계에 직접 사용하였다. LC/MS ESI: 177 (M+H)⁺.

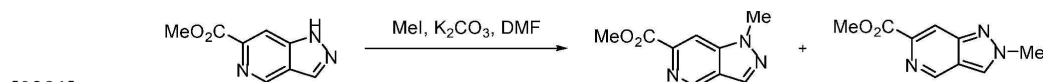
[0286] 단계 4. (R)-2-(4-이소프로필페닐)-N-(1-(2-메틸-2H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드의 합성



[0288] (R)-1-(2-메틸-2H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드(135 mg), EDCI(177 mg), HOBT(125 mg) 및 2-(4-이소프로필페닐)아세트산(151 mg)을 무수 N,N-디메틸포름아미드(5.0 mL)에 용해시키고, 이어서 DIEA(0.51 mL, 3.064)를 용액에 첨가하였다. 반응물을 실온에서 1시간 동안 교반하고 에틸 아세테이트로 물로부터 추출하였다. 유기 층을 분리하고, 포화 수성 NaCl로 세척하고, 진공에서 농축시켰다. 잔류물을 분취-HPLC[컬럼: YMC-Actus Triart C180250*21mm; 이동상: H₂O(0.1% NH₃H₂O)와 함께 20% 내지 95% MeCN; 유량: 15 mL/분; 파장: 220 nm/254 nm] 및 SFC[컬럼: ChiralPak IA, 250x21.3mm I.D., 5 μm; 이동상: CO₂의 경우 A 및 MeOH+0.1%NH₃H₂O의 경우 B; 구배: B 40%; 유량: 50mL/분; 배압: 100 bar; 컬럼 온도: 35°C; 파장: 220 nm)로 정제하여 (R)-2-(4-이소프로필페닐)-N-(1-(2-메틸-2H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드(46.5 mg)를 수득하였다. LC/MS ESI: 337 (M+H)⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.11 (s, 1H), 7.89 (s, 1H), 7.38 (s, 1H), 7.18 (s, 4H), 6.64 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 5.24 - 5.16 (m, 1H), 4.27 (s, 3H), 3.54 - 3.52 (m, 2H), 2.93 - 2.86 (m, 1H), 1.45 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 1.24 (d, J = 6.9 Hz, 6H).

[0289] **실시예 3. (R)-2-(4-이소프로필페닐)-N-(1-(1-메틸-1H-피라졸로[4,3-c]피리딘-6-일)에틸)아세트아미드**

[0290] 단계 1. 메틸 1-메틸-1H-피라졸로[4,3-c]피리딘-6-카르복실레이트 및 메틸 2-메틸-2H-피라졸로[4,3-c]피리딘-6-카르복실레이트의 합성

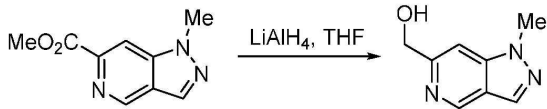


[0292] 무수 DMF(20 mL) 중 메틸 1H-피라졸로[4,3-c]피리딘-6-카르복실레이트(2.0 g)의 용액에 Cs₂CO₃(5.5 g) 및 아이오도메탄(1.8 g)을 첨가하고, 반응물을 실온에서 18시간 동안 교반하였다. 이후, 물 및 EtOAc를 반응 혼합물에 첨가하였다. 2개의 상을 분리하고, 수성 상을 DCM(10 mL x 3)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 메틸 1-메틸-1H-피라졸로[4,3-c]피리딘-6-카르복실레이트(1.2 g) 및 메틸 2-메틸-2H-피라졸로[4,3-c]피리딘-6-카르복실레이트(0.54 g)를 수득하였다.

[0293] 메틸 1-메틸-1H-피라졸로[4,3-c]피리딘-6-카르복실레이트: LC/MS ESI (m/z): 192 [M+H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9.17 (d, J = 1.2 Hz, 1H), 8.44 (t, J = 1.0 Hz, 1H), 8.41 (d, J = 0.9 Hz, 1H), 4.17 (s, 3H), 3.92 (s, 3H).

[0294] 메틸 2-메틸-2H-피라졸로[4,3-c]피리딘-6-카르복실레이트: LC/MS ESI (m/z): 192 [M+H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9.23 (d, J = 1.2 Hz, 1H), 8.78 (s, 1H), 8.28 (t, J = 1.0 Hz, 1H), 4.28 (s, 3H), 3.89 (s, 3H).

[0295] 단계 2. (1-메틸-1H-피라졸로[4,3-c]피리딘-6-일)메탄올의 합성



[0296]

[0297] THF(5 mL) 중 메틸 1-메틸-1H-피라졸로[4,3-c]피리딘-6-카르복실레이트(350 mg)의 용액에 리튬 알루미늄 하이드라이드(208.42 mg)를 0°C에서 첨가하고, 혼합물을 25°C에서 2시간 동안 교반하였다. 이후, 혼합물을 NaOH 수용액(2 M)으로 켄칭하고 DCM으로 추출하였다. 합한 추출물을 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 (1-메틸-1H-피라졸로[4,3-c]피리딘-6-일)메탄올(160 mg)을 황색 오일로서 제공하고, 이를 다음 단계에 직접 사용하였다. LC/MS ESI (m/z): 164 [M+H]⁺

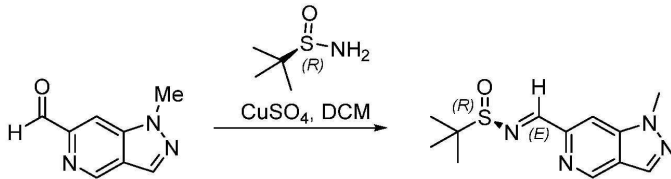
[0298] 단계 3. 1-메틸-1H-피라졸로[4,3-c]피리딘-6-카르보알데히드의 합성



[0299]

[0300] DCM(5 mL) 중 (1-메틸-1H-피라졸로[4,3-c]피리딘-6-일)메탄올(160 mg)의 용액에 이산화망간(426.3 mg)을 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 3시간 동안 교반하였다. 이후, 혼합물을 여과하고, 여액을 진공에서 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 다음 반응에 직접 사용하였다. LC/MS ESI (m/z): 265 [M+H]⁺

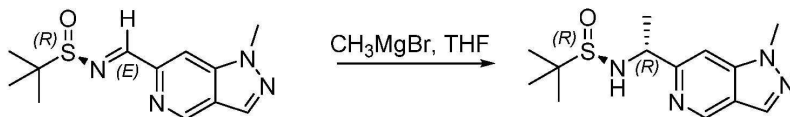
[0301] 단계 4. 메틸 (R,E)-2-메틸-N-((1-메틸-1H-피라졸로[4,3-c]피리딘-6-일)메틸렌)프로판-2-설피나미드의 합성



[0302]

[0303] CH₂Cl₂(10 mL) 중 (1-메틸-1H-피라졸로[4,3-c]피리딘-6-일)메탄올(140 mg)의 용액에 (R)-2-메틸프로판-2-설피나미드(105.3 mg) 및 구리(II) 설피에이트(693.3 mg)를 실온에서 첨가하고, 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. LC/MS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 반응 혼합물을 얼음물로 켄칭한 다음, EtOAc로 2회 추출하였다. 합한 추출물을 농축시키고, 잔류물을 실리카 겔 상에서 컬럼 크로마토그래피(PE:EA = 2:1)로 정제하여 (R,E)-2-메틸-N-((1-메틸-1H-피라졸로[4,3-c]피리딘-6-일)메틸렌)프로판-2-설피나미드(110 mg)를 황색 고체로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 265 [M+H]⁺.

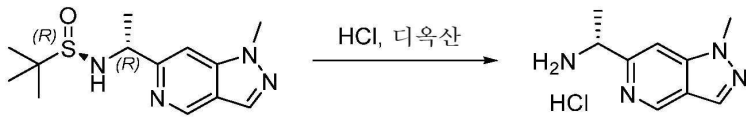
[0304] 단계 5. (R)-2-메틸-N-((R)-1-(1-메틸-1H-피라졸로[4,3-c]피리딘-6-일)에틸)프로판-2-설피나미드의 합성



[0305]

[0306] THF(5 mL) 중 (R,E)-2-메틸-N-((1-메틸-1H-피라졸로[4,3-c]피리딘-6-일)메틸렌)프로판-2-설피나미드(110 mg)의 용액에 -78°C에서 N₂ 하에 CH₃MgBr(0.41 mL, 에테르 중 3 M)을 첨가하고, 혼합물을 -78°C에서 1시간 동안 교반하였다. LC/MS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 이후, 반응 혼합물을 얼음물로 켄칭하고, EtOAc로 2회 추출하였다. 합한 추출물을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 상에서 컬럼 크로마토그래피(DCM/MeOH = 10:1)로 정제하여 (R)-2-메틸-N-((R)-1-(1-메틸-1H-피라졸로[4,3-c]피리딘-6-일)에틸)프로판-2-설피나미드(80 mg)를 담황색 오일로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 281 [M+H]⁺.

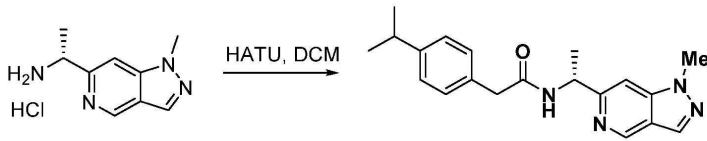
[0307] 단계 6. (R)-1-(1-메틸-1H-피라졸로[4,3-c]피리딘-6-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드의 합성



[0308]

[0309] 디옥산(3.0 mL) 중 (R)-2-메틸-N-((R)-1-(1-메틸-1H-피라졸로[4,3-c]피리딘-6-일)에틸)프로판-2-설피나미드(85 mg)의 용액에 실온에서 디옥산 중 4 N HCl(253.9 mg)을 첨가하고, 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. LC/MS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 용매를 제거하여 (R)-1-(1-메틸-1H-피라졸로[4,3-c]피리딘-6-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드(85 mg)를 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 177 [M+H]⁺.

[0310] 단계 7. (R)-2-(4-이소프로필페닐)-N-(1-(1-메틸-1H-피라졸로[4,3-c]피리딘-6-일)에틸)아세트아미드

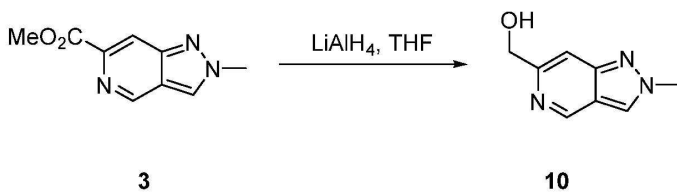


[0311]

[0312] CH₂Cl₂(5 mL) 중 (R)-1-(1-메틸-1H-피라졸로[4,3-c]피리딘-6-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드(91 mg)의 용액에 2-(4-이소프로필페닐)아세트산(92 mg), HATU(392 mg) 및 트리에틸아민(156 mg)을 첨가하고, 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. LC/MS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 이후, 반응 혼합물을 얼음물로 쉐킷하고, EtOAc로 2회 추출하였다. 합한 추출물을 농축시키고, 잔류물을 실리카 겔 상에서 컬럼 크로마토그래피(PE:EA = 3:1) 및 이어서 분취-HPLC[컬럼: YMC-Actus Triart C18 250*21mm; 이동상: H₂O(0.1% FA)와 함께 20% 내지 95% MeCN; 유량: 15 mL/분; 파장: 220 nm/254 nm] 및 SFC(이동상: CO₂의 경우 A 및 MeOH+0.1%NH₃H₂O의 경우 B; 구배: B 40%)로 정제하여 (R)-2-(4-이소프로필페닐)-N-(1-(1-메틸-1H-피라졸로[4,3-c]피리딘-6-일)에틸)아세트아미드(28 mg)를 백색 고체로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 337 [M+H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.82 (s, 1H), 8.14 (s, 1H), 7.36 (s, 1H), 7.20 - 7.11 (m, 4H), 6.87 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 5.28-5.24 (m, 1H), 4.06 (s, 3H), 3.57 (s, 2H), 2.89 -2.85 (m, 1H), 1.50 (t, J = 8.0 Hz, 3H), 1.23 (t, J = 8.0 Hz, 6H).

[0313] **실시예 4. (R)-2-(4-이소프로필페닐)-N-(1-(2-메틸-2H-피라졸로[4,3-c]피리딘-6-일)에틸)아세트아미드**

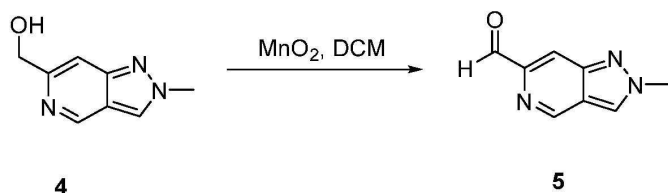
[0314] 단계 1. (2-메틸-2H-피라졸로[4,3-c]피리딘-6-일)메탄올



[0315]

[0316] THF(10 mL) 중 메틸 2-메틸-2H-피라졸로[4,3-c]피리딘-6-카복실레이트(530 mg)의 용액에 리튬 알루미늄 하이드라이드(315.6 mg)를 0°C에서 첨가하고, 혼합물을 25°C에서 3시간 동안 교반하였다. 이후, 혼합물을 수성 NaOH(2 M)로 쉐킷하고 DCM으로 추출하였다. 합한 추출물을 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 (2-메틸-2H-피라졸로[4,3-c]피리딘-6-일)메탄올(280 mg, 무색 오일)을 제공하고, 이를 다음 단계에 직접 사용하였다. LC/MS ESI (m/z): 164 [M+H]⁺.

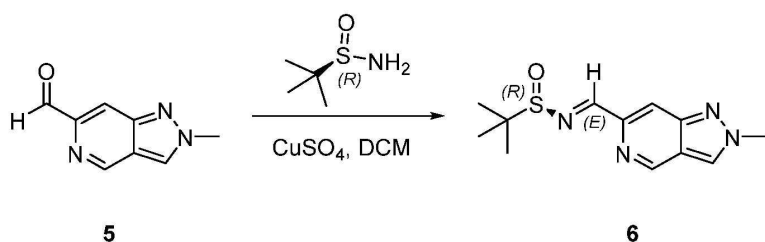
[0317] 단계 2. 2-메틸-2H-피라졸로[4,3-c]피리딘-6-카르브알데히드



[0318]

[0319] DCM(5 mL) 중 (2-메틸-2H-피라졸로[4,3-c]피리딘-6-일)메탄올(280 mg)의 용액에 이산화망간(0.12 mL)을 첨가하고, 혼합물을 25°C에서 3시간 동안 교반하였다. 이후, 혼합물을 여과하고, 여액을 진공에서 농축시켜 미정제 2-메틸-2H-피라졸로[4,3-c]피리딘-6-카르브알데히드를 제공하고, 이를 다음 단계에 직접 사용하였다. LC/MS ESI (m/z): 162 [M+H]⁺.

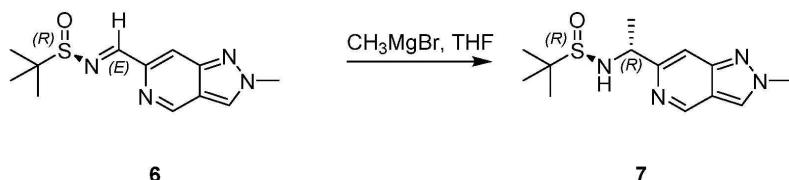
[0320] 단계 3. (R,E)-2-메틸-N-((2-메틸-2H-피라졸로[4,3-c]피리딘-6-일)메틸렌)프로판-2-설피나마이드



[0321]

[0322] DCM(5.0 mL) 중 2-메틸-2H-피라졸로[4,3-c]피리딘-6-카르브알데히드(280 mg), (R)-2-메틸프로판-2-설피나마이드(316 mg) 및 구리 설페이트 5수화물(465 mg)의 용액을 25°C에서 3시간 동안 교반하였다. 이후, 혼합물을 여과하고, 농축시켜 황색 오일을 제공하고, 이를 실리카 겔 상에서 컬럼 크로마토그래피(DCM:MeOH = 50:1 내지 20:1)로 정제하여 (R,E)-2-메틸-N-((2-메틸-2H-피라졸로[4,3-c]피리딘-6-일)메틸렌)프로판-2-설피나마이드(400 mg)를 황색 고체로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 265 [M+H]⁺

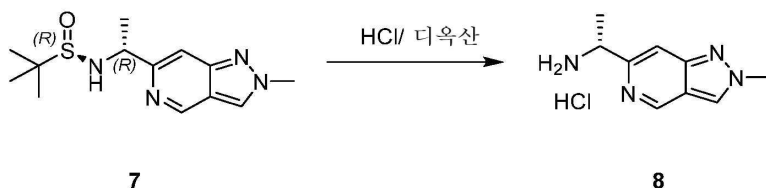
[0323] 단계 4. (R)-2-메틸-N-((R)-1-(2-메틸-2H-피라졸로[4,3-c]피리딘-6-일)에틸)프로판-2-설피나마이드



[0324]

[0325] THF(5 mL) 중 (R,E)-2-메틸-N-((2-메틸-2H-피라졸로[4,3-c]피리딘-6-일)메틸렌)프로판-2-설피나마이드(180 mg)의 용액에 -70°C에서 CH₃MgBr(에테르 중 3 M, 2.0 mL)을 첨가하고, 혼합물을 -70°C에서 2시간 동안 교반하였다. 이후, 반응 혼합물을 포화 수성 암모늄 클로라이드(5 mL)로 킨칭하고 EtOAc(10 mL)로 추출하였다. 유기 층을 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 황색 오일을 제공하고, 이를 실리카 겔 상에서 컬럼 크로마토그래피(DCM:MeOH = 50:1 내지 20:1)로 정제하여 (R)-2-메틸-N-((R)-1-(2-메틸-2H-피라졸로[4,3-c]피리딘-6-일)에틸)프로판-2-설피나마이드(40 mg)를 백색 고체로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 281 [M+H]⁺

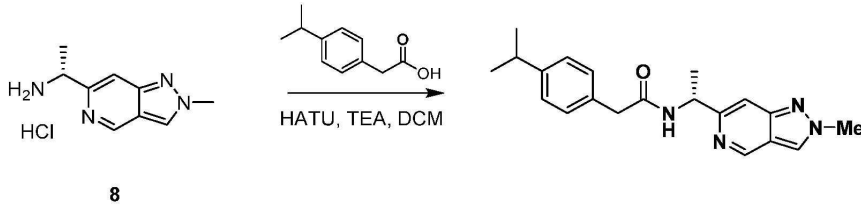
[0326] 단계 5. (R)-1-(2-메틸-2H-피라졸로[4,3-c]피리딘-6-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드



[0327]

[0328] 디옥산(2 mL) 중 2-메틸-N-[(1R)-1-{2-메틸-2H-피라졸로[4,3-c]피리딘-6-일}에틸]프로판-2-설파아미드(40 mg)의 용액에 HCl/디옥산(디옥산 중 4 N, 1 mL)을 첨가하고, 혼합물을 25°C에서 30분 동안 교반하였다. 이후, 혼합물을 농축시켜 (R)-1-(2-메틸-2H-피라졸로[4,3-c]피리딘-6-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드(30 mg, 미정제)를 백색 고체로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 177 [M+H]⁺

[0329] 단계 6. (R)-2-(4-이소프로필페닐)-N-(1-(2-메틸-2H-피라졸로[4,3-c]피리딘-6-일)에틸)아세트아미드



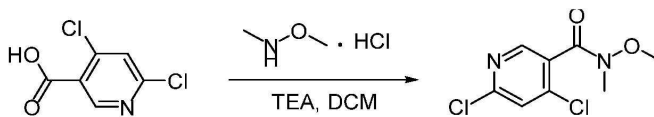
[0330]

[0331] DCM(2.0 mL) 중 (R)-1-(2-메틸-2H-피라졸로[4,3-c]피리딘-6-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드(30 mg), 2-[4-(프로판-2-일)페닐]아세트산(33.4 mg), HATU(97 mg) 및 TEA(0.07 mL)의 용액을 25°C에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 물로 희석하고 EtOAc로 추출하였다. 합한 추출물을 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류 생성물을 제공하고, 이를 분취-HPLC[컬럼: Shim-pack GIST C18 250*21mm; 이동상: H₂O(0.1% NH₃H₂O)와 함께 10% 내지 85% MeCN; 유량: 15 mL/분; 파장: 220 nm/254 nm]로 정제하여 (R)-2-(4-이소프로필페닐)-N-(1-(2-메틸-2H-피라졸로[4,3-c]피리딘-6-일)에틸)아세트아미드(14 mg)를 무색 오일로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 337 (M+H)⁺;

[0332] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.02 (s, 1H), 8.06 (s, 1H), 7.40 (s, 1H), 7.20 (s, 4H), 6.67 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 5.26-6.19 (m, 1H), 4.25 (s, 3H), 3.57-3.56 (m, 2H), 2.94-2.87 (m, 1H), 1.46 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 1.25 (d, J = 8.0 Hz, 6H).

[0333] **실시예 5. (R)-2-(4-이소프로필페닐)-N-(1-(3-메틸이속사졸로[4,5-c]피리딘-6-일)에틸)아세트아미드**

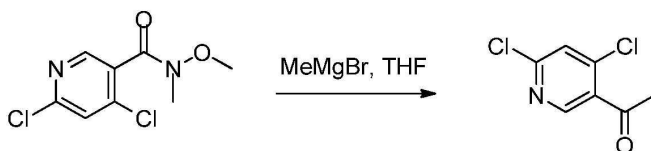
[0334] 4,6-디클로로-N-메톡시-N-메틸니코틴아미드의 합성.



[0335]

[0336] DCM(70 mL) 중 4,6-디클로로니코틴산(5.0 g)의 용액에 HATU(10.9 g, 28.6)를 실온에서 첨가하고, 반응물을 10분 동안 교반하였다. 이후, N-메톡시메탄아민, HCl(3.0 g) 및 TEA(10.8 mL)를 실온에서 첨가하고, 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 이후, 혼합물을 물로 켄칭하고 EA로 추출하였다. 합한 추출물을 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 진공에서 농축시켜 4,6-디클로로-N-메톡시-N-메틸니코틴아미드(6.0 g)를 황색 오일로서 제공하였다. LC/MS ESI: 234(M+H)⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8.58 (s, 1H), 7.96 (s, 1H), 3.49 (s, 3H), 3.32 (s, 3H).

[0337] 1-(4,6-디클로로피리딘-3-일)에탄-1-온의 합성

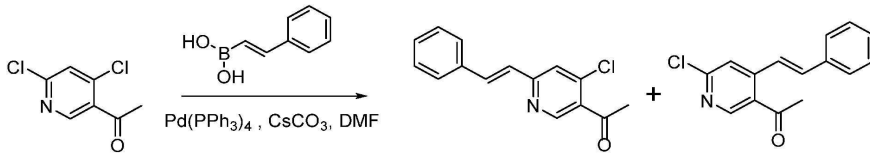


[0338]

[0339] 4,6-디클로로-N-메톡시-N-메틸니코틴아미드(6.0 g)를 무수 THF(86 mL)에 용해시키고 0-5°C에서 10분 동안 교반하였다. 이후, MeMgBr(14 mL, 에테르 중 3 M)을 용액에 천천히 첨가하였다. 0-5°C에서 2시간 후, 출발 물질을 소비하고, 반응물을 포화 수성 암모늄 클로라이드로 켄칭하고, 에틸 아세테이트로 추출하였다. 합한 추출물을 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 증발시켜 오일을 제공하였다. 오일을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 1-(4,6-디클로로피리딘-3-일)에탄-1-온(4.3 g)을 수득하였다. LC/MS ESI: 190 (M+H)⁺. ¹H NMR

(400 MHz, CDCl₃) δ 8.62 (s, 1H), 7.46 (s, 1H), 2.68 (s, 3H).

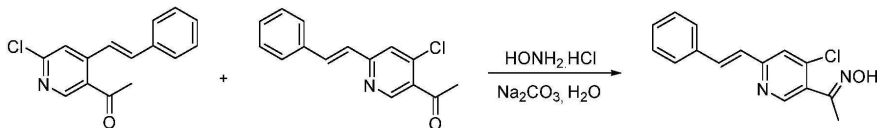
[0340] 단계 3. (*E*)-1-(4-클로로-6-스티릴피리딘-3-일)에탄-1-온 및 (*E*)-1-(6-클로로-4-스티릴피리딘-3-일)에탄-1-온의 합성



[0341]

[0342] DMF(6.0 mL) 중 1-(4,6-디클로로피리딘-3-일)에탄-1-온(228 mg) 및 (*E*)-스티릴보론산(266 mg)의 혼합물에 Pd(PPh₃)₄(100 mg) 및 2 N Cs₂CO₃(1.8 mL)를 첨가하였다. 반응물을 N₂로 3회 채우고 80℃에서 6시간 동안 교반하고, 50 mL의 EA를 반응물에 첨가하였다. 유기 상을 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하였다. 여액을 진공 하에 농축시키고, 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피(PE 중 10% EA)로 정제하여 (*E*)-1-(4-클로로-6-스티릴피리딘-3-일)에탄-1-온 및 (*E*)-1-(6-클로로-4-스티릴피리딘-3-일)에탄-1-온을 이성질체의 혼합물로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 258 (M+H)⁺.

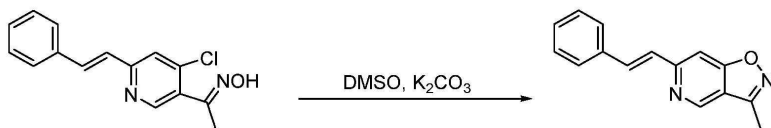
[0343] 1-(4-클로로-6-((*E*)-스티릴)피리딘-3-일)에탄-1-온 옥심(N201201-118)의 합성



[0344]

[0345] EtOH(25 mL) 및 H₂O(5 mL) 중 (*E*)-1-(4-클로로-6-스티릴피리딘-3-일)에탄-1-온 및 (*E*)-1-(6-클로로-4-스티릴피리딘-3-일)에탄-1-온(1.5 g, 이성질체의 혼합물)의 용액에 하이드록실아민 하이드로클로라이드(0.80 g) 및 Na₂CO₃(1.2 g)를 첨가하였다. 반응물을 65℃에서 밤새 교반하였다. 반응물을 EA 및 물로 희석하였다. 2개의 상을 분리하고, 수성 상을 DCM(10 mL x 3)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 1-(4-클로로-6-((*E*)-스티릴)피리딘-3-일)에탄-1-온 옥심(307 mg)을 수득하였다. LC/MS ESI: 273 (M+H)⁺.

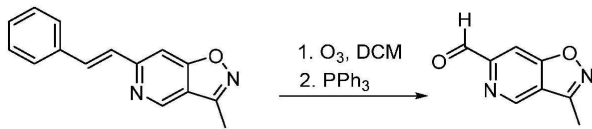
[0346] (*E*)-3-메틸-6-스티릴이속사졸로[4,5-*c*]피리딘(N201201-122)의 합성



[0347]

[0348] DMSO(15 mL) 중 1-(4-클로로-6-((*E*)-스티릴)피리딘-3-일)에탄-1-온 옥심(307 mg)의 용액에 K₂CO₃(466.741 mg)을 첨가하고, 반응물을 100℃에서 2시간 동안 교반하였다. 실온으로 냉각시킨 후, 물 및 EtOAc를 첨가하였다. 2개의 상을 분리하고, 수성 상을 DCM(10 mL x 3)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 (*E*)-3-메틸-6-스티릴이속사졸로[4,5-*c*]피리딘(235 mg)을 수득하였다. LC/MS ESI: 237 (M+H)⁺; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.15 (d, J = 0.7 Hz, 1H), 7.87 - 7.83 (m, 2H), 7.70 (d, J = 7.3 Hz, 2H), 7.46 - 7.42 (m, 3H), 7.36 (d, J = 7.3 Hz, 1H), 2.64 (s, 3H).

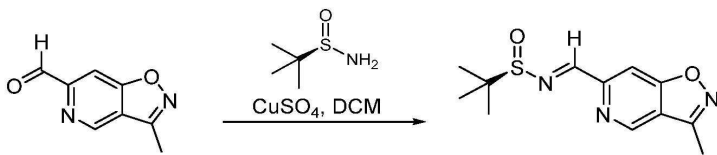
[0349] 3-메틸이속사졸로[4,5-c]피리딘-6-카르브알데히드의 합성



[0350]

[0351] 오존을 -78°C 에서 10분 동안 무수 DCM(20 mL) 중 (*E*)-3-메틸-6-스티릴이속사졸로[4,5-c]피리딘(486 mg)의 용액을 통해 버블링시켰다. 이후, 오존 가스를 질소로 10분 동안 퍼징하고, PPh_3 (644 mg)을 실온에서 첨가하였다. 반응물을 추가로 40분 동안 교반하였다. 용매를 여과하고, 여액을 진공에서 농축시켜 잔류물을 수득하고, 이를 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 3-메틸이속사졸로[4,5-c]피리딘-6-카르브알데히드(150 mg)를 제공하였다. LC/MS ESI: 163 ($\text{M}+\text{H}$)⁺; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 10.27 (s, 1H), 9.15 (d, $J = 0.4$ Hz, 1H), 8.14 (d, $J = 0.8$ Hz, 1H), 2.74 (s, 3H).

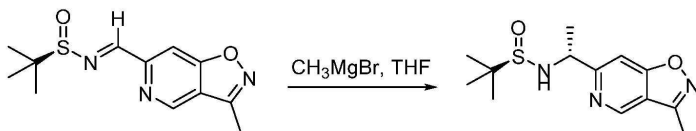
[0352] (*R,E*)-2-메틸-N-((3-메틸이속사졸로[4,5-c]피리딘-6-일)메틸렌)프로판-2-설피나미드의 합성



[0353]

[0354] 무수 DCM(15 mL) 중 3-메틸이속사졸로[4,5-c]피리딘-6-카르브알데히드(150 mg)의 용액에 (*R*)-2-메틸프로판-2-설피나미드(145.8 mg) 및 CuSO_4 (738 mg)을 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 이후, 반응물을 여과하고 여액을 진공에서 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 (*R,E*)-2-메틸-N-((3-메틸이속사졸로[4,5-c]피리딘-6-일)메틸렌)프로판-2-설피나미드(197 mg)를 백색 고체로서 수득하였다. LC/MS ESI: 266 ($\text{M}+\text{H}$)⁺; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 9.10 (d, $J = 0.9$ Hz, 1H), 8.86 (s, 1H), 8.19 (d, $J = 0.9$ Hz, 1H), 2.72 (s, 3H), 1.32 (s, 9H) ppm.

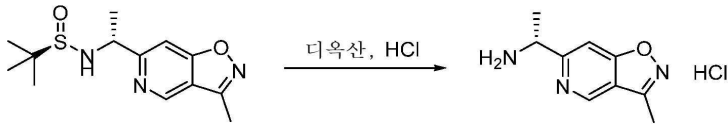
[0355] (*R*)-2-메틸-N-((*R*)-1-(3-메틸이속사졸로[4,5-c]피리딘-6-일)에틸)프로판-2-설피나미드(N201201-131)의 합성



[0356]

[0357] 무수 THF(10 mL) 중 (*R,E*)-2-메틸-N-((3-메틸이속사졸로[4,5-c]피리딘-6-일)메틸렌)프로판-2-설피나미드(197 mg)의 용액에 -78°C 에서 N_2 하에 CH_3MgBr (1.2 mL, 에테르 중 3.0 M)을 적가하였다. 내부 반응 온도가 -60°C 보다 절대 높아지지 않는 속도로 그리냐르 시약을 첨가하였다. 첨가 후, 반응 혼합물을 -78°C 에서 2시간 동안 교반한 다음, 실온으로 가온하고, 포화 수성 암모늄 클로라이드로 켄칭하였다. 유기 층을 분리하고, 수성 층을 에틸 아세테이트로 1회 추출하였다. 합한 유기 층을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 (*R*)-2-메틸-N-((*R*)-1-(3-메틸이속사졸로[4,5-c]피리딘-6-일)에틸)프로판-2-설피나미드(187 mg)를 수득하였다. LC/MS ESI: 282 ($\text{M}+\text{H}$)⁺; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.93 (d, $J = 1.0$ Hz, 1H), 7.47 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H), 4.72 - 4.63 (m, 2H), 2.64 (s, 3H), 1.57 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H), 1.26 (s, 9H).

[0358] (*R*)-1-(3-메틸이속사졸로[4,5-c]피리딘-6-일)에탄-1-아민, 하이드로클로라이드의 합성



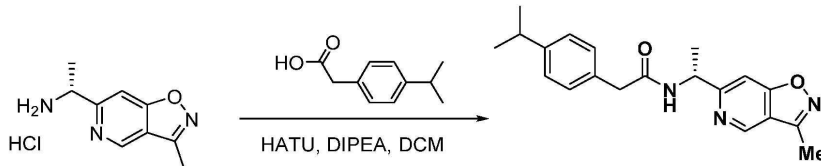
[0359]

[0360]

디옥산(6.0 mL) 중 (R)-2-메틸-N-((R)-1-(3-메틸이속사졸로[4,5-c]피리딘-6-일)에틸)프로판-2-설피아미드(172 mg)의 용액에 4 N HCl-디옥산(2.0 mL)을 첨가하였다. 반응물을 실온에서 20분 동안 교반하고, 혼합물을 농축시켜 (R)-1-(3-메틸이속사졸로[4,5-c]피리딘-6-일)에탄-1-아민, 하이드로클로라이드를 잔류물로서 제공하고, 이를 다음 단계에 직접 사용하였다. LC/MS ESI: 178(M+H)⁺.

[0361]

(R)-2-(4-이소프로필페닐)-N-(1-(3-메틸이속사졸로[4,5-c]피리딘-6-일)에틸)아세트아미드



[0362]

[0363]

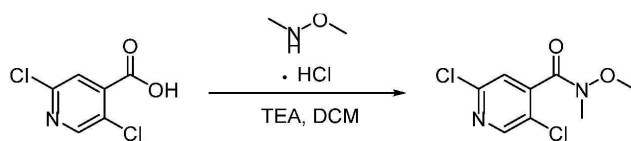
(R)-1-(3-메틸이속사졸로[4,5-c]피리딘-6-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드(108 mg)를 무수 DCM(10 mL)에 용해시킨 다음, 2-(4-이소프로필페닐)아세트산(119.5 mg), HATU(347.6 mg) 및 DIPEA(0.2 mL)를 첨가하였다. 반응물을 실온에서 1시간 동안 교반하고, 혼합물을 물로 희석하였다. 2개의 상을 분리하고, 수성 상을 DCM(10 mL x 3)으로 추출하였다. 합한 추출물을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 분취-HPLC[컬럼: Shim-pack GIST C18 250*21mm; 이동상: H₂O(0.1% NH₃H₂O)와 함께 10% 내지 95% MeCN; 유량: 15 mL/분; 파장: 220 nm/254 nm]로 정제하여 (R)-2-(4-이소프로필페닐)-N-(1-(3-메틸이속사졸로[4,5-c]피리딘-6-일)에틸)아세트아미드(93.7 mg)를 백색 고체로서 수득하였다. LC/MS ESI: 338(M+H)⁺; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.83 (s, 1H), 7.34 (s, 1H), 7.23 - 7.18 (m, 4H), 6.60 (d, J = 7.3 Hz, 1H), 5.29 - 5.22 (m, 1H), 3.57 (s, 2H), 2.95 - 2.90 (m, 1H), 2.63 (s, 3H), 1.46 (d, J = 6.9 Hz, 3H), 1.26 (d, J = 6.9 Hz, 6H).

[0364]

실시예 6. (R)-2-(4-이소프로필페닐)-N-(1-(3-메틸이속사졸로[5,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드

[0365]

2,5-디클로로-N-메톡시-N-메틸니코틴아미드의 합성.



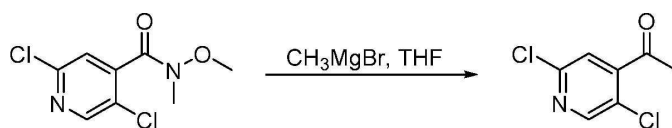
[0366]

[0367]

DCM(70 mL) 중 2,5-디클로로이소니코틴산(5.0 g)의 용액에 HATU(10.9 g)를 실온에서 첨가하고, 반응물을 실온에서 10분 동안 교반하였다. 이후, 하이드로클로라이드 N-메톡시메탄아민(3.0 g) 및 TEA(10.8 mL)를 반응 혼합물에 첨가하고, 혼합물 용액을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 반응물을 물로 켄칭하고 EA로 추출하였다. 유기층을 분리하고, 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 진공에서 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 2,5-디클로로-N-메톡시-N-메틸이소니코틴아미드(6.0 g)를 백색 고체로서 수득하였다.

[0368]

1-(2,5-디클로로피리딘-4-일)에탄-1-온(N201201-101)의 합성



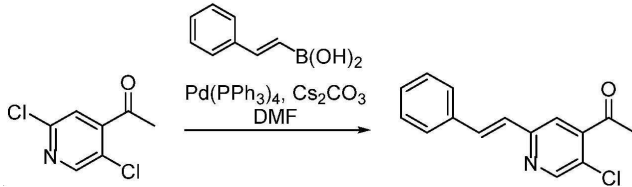
[0369]

[0370]

2,5-디클로로-N-메톡시-N-메틸이소니코틴아미드(5.0 g)를 무수 테트라하이드로푸란(71 mL)에 용해시키고, 0-5°C에서 N₂ 하에 10분 동안 교반하였다. 이후, CH₃MgBr(11 mL, 에테르 중 3.0 M)을 용액에 천천히 첨가하고, 반응

물을 0-5℃에서 2시간 동안 교반하였다. 반응물을 포화 수성 암모늄 클로라이드로 켄칭하고, 에틸 아세테이트로 추출하였다. 합한 추출물을 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 증발시켜 오일을 제공하고, 이를 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 1-(2,5-디클로로피리딘-4-일)에탄-1-온(3.4 g)을 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 189.9 [M+H]⁺

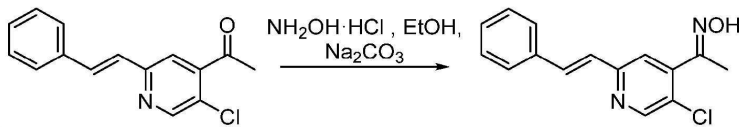
[0371] (E)-1-(5-클로로-2-스티릴피리딘-4-일)에탄-1-온의 합성



[0372]

[0373] DMF 중 1-(2,5-디클로로피리딘-4-일)에탄-1-온(1.1 g), (E)-스티릴보론산(1.3 g)의 용액에 2.0 N Cs₂CO₃(6.0 mL) 및 Pd(PPh₃)₄(420 mg)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 80℃에서 5시간 동안 교반하였다. EA(50 mL) 및 H₂O(40 mL)를 첨가하였다. 2개의 상을 분리하고, 수성 상을 DCM(10 mL x 3)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피(PE 중 10% EA로 용리시킴)로 정제하여 (E)-1-(5-클로로-2-스티릴피리딘-4-일)에탄-1-온을 황색 고체(900 mg)로서 수득하였다.

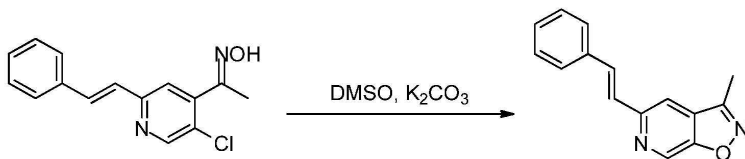
[0374] 1-(5-클로로-2-((E)-스티릴)피리딘-4-일)에탄-1-온 옥심의 합성



[0375]

[0376] EtOH(25 mL) 및 H₂O(5 mL) 중 1-(5-클로로-2-스티릴피리딘-4-일)에탄-1-온(1.48 g)의 용액에 NH₂OH·HCl(0.8 g) 및 Na₂CO₃(1.21 g)를 첨가하였다. 반응물을 65℃에서 밤새 교반하였다. 이후, 반응물을 EA 및 물로 희석하였다. 2개의 상을 분리하고, 수성 상을 DCM(10 mL x 3)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 1-(5-클로로-2-((E)-스티릴)피리딘-4-일)에탄-1-온 옥심(294 mg)을 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 273 [M+H]⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 11.02 (s, 1H), 8.71 (s, 1H), 7.76 - 7.70 (m, 3H), 7.57 (s, 1H), 7.49 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 7.40 (t, J = 11.7 Hz, 2H), 2.18 (s, 3H) ppm.

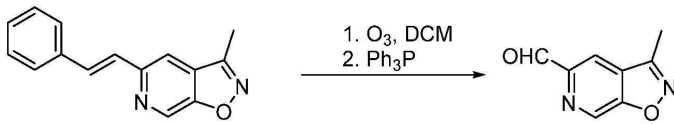
[0377] (E)-3-메틸-5-스티릴이속사졸로[5,4-c]피리딘의 합성



[0378]

[0379] DMSO(10 mL) 중 1-(5-클로로-2-((E)-스티릴)피리딘-4-일)에탄-1-온 옥심(294 mg)의 용액에 K₂CO₃(448.2 mg)을 첨가하였다. 반응물을 100℃에서 2시간 동안 교반하였다. 실온으로 냉각시킨 후, 물 및 EtOAc를 반응 혼합물에 첨가하였다. 2개의 상을 분리하고, 수성 상을 DCM(10 mL x 3)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 (E)-3-메틸-5-스티릴이속사졸로[5,4-c]피리딘(231 mg)을 황색 고체로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 237 [M+H]⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9.17 (s, 1H), 8.06 (s, 1H), 7.69 (t, J = 11.2 Hz, 3H), 7.50 - 7.39 (m, 3H), 7.33 (t, J = 7.3 Hz, 1H), 2.63 (s, 3H).

[0380] 3-메틸이속사졸로[5,4-c]피리딘-5-카르브알데히드(N201201-109/115)의 합성

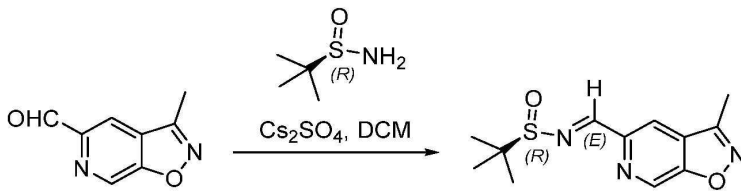


[0381]

[0382] 오존을 -78℃에서 10분 동안 무수 DCM(10 mL) 중 (E)-3-메틸-5-스티릴이속사졸로[5,4-c]피리딘(483 mg)의 용액을 통해 버블링시켰다. 이후, 과량의 오존 가스를 질소로 퍼징한 다음, 트리페닐포스핀(644 mg)을 첨가하였다. 혼합물을 추가로 40분 동안 교반한 다음, 진공에서 농축시켜 잔류물을 수득하고, 이를 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 3-메틸이속사졸로[5,4-c]피리딘-5-카르브알데히드(200 mg)를 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 163 [M+H]⁺.

[0383] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 10.23 (s, 1H), 9.16 (s, 1H), 8.35 (d, J = 0.9 Hz, 1H), 2.70 (s, 3H).

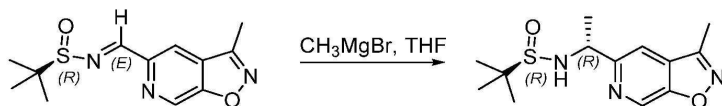
[0384] (R,E)-2-메틸-N-((3-메틸이속사졸로[5,4-c]피리딘-5-일)메틸렌)프로판-2-설피아미드의 합성



[0385]

[0386] 무수 디클로로메탄(10 mL) 중 3-메틸이속사졸로[5,4-c]피리딘-5-카르브알데히드(0.23 g)의 용액에 (R)-2-메틸프로판-2-설피아미드(0.26 g) 및 CuSO₄(1.15 g)을 첨가하고, 반응물을 실온에서 밤새 교반하였다. 이후, 반응 용액을 여과하고 진공에서 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 (R,E)-2-메틸-N-((3-메틸이속사졸로[5,4-c]피리딘-5-일)메틸렌)프로판-2-설피아미드(309 mg)을 백색 고체로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 266 [M+H]⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9.33 (d, J = 1.1 Hz, 1H), 8.69 - 8.62 (m, 2H), 2.69 (s, 3H), 1.24 (s, 9H) ppm.

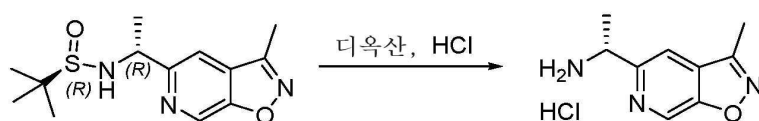
[0387] (R)-2-메틸-N-((R)-1-(3-메틸이속사졸로[5,4-c]피리딘-5-일)에틸)프로판-2-설피아미드의 합성



[0388]

[0389] 무수 테트라하이드로푸란(5.0 mL) 중 (R,E)-2-메틸-N-((3-메틸이속사졸로[5,4-c]피리딘-5-일)메틸렌)프로판-2-설피아미드(337 mg)의 용액에 -78℃에서 CH₃MgBr(1.7 mL, Et₂O 중 3.0 M)을 적가하였다. 내부 반응 온도가 -60℃보다 절대 높아지지 않는 속도로 그리냐르 시약을 첨가하였다. 첨가 후, 혼합물을 -78℃에서 3시간 동안 교반한 다음, 실온으로 가온하였다. 반응물을 포화 수성 암모늄 클로라이드로 퀀칭시켰다. 2개의 상을 분리하고, 수성 상을 DCM(10 mL x 3)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 (R)-2-메틸-N-((R)-1-(3-메틸이속사졸로[5,4-c]피리딘-5-일)에틸)프로판-2-설피아미드(226 mg)를 수득하였다. LC/MS ESI (m/z):282 [M+H]⁺.

[0390] (R)-1-(3-메틸이속사졸로[5,4-c]피리딘-5-일)에탄-1-아민, 하이드로클로라이드의 합성

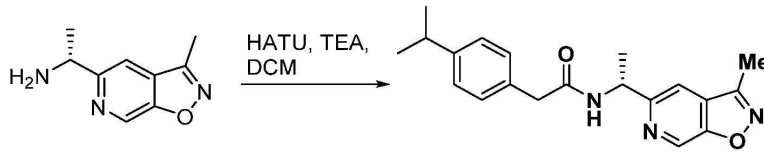


[0391]

[0392] 디옥산(3 mL) 중 (R)-2-메틸-N-((R)-1-(3-메틸이속사졸로[5,4-c]피리딘-5-일)에틸)프로판-2-설피아미드(219 mg)의 용액에 4 N HCl-디옥산(1 mL)을 첨가하고, 반응물을 실온에서 30분 동안 교반하였다. 이후, 혼합물을 진공에서 농축시켜 (R)-1-(3-메틸이속사졸로[5,4-c]피리딘-5-일)에탄-1-아민, 하이드로클로라이드의 미정제 생성

물을 수득하고, 이를 그대로 다음 단계에 사용하였다. LC/MS ESI (m/z):178 [M+H]⁺.

[0393] (R)-2-(4-이소프로필페닐)-N-(1-(3-메틸이속사졸로[5,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드의 합성

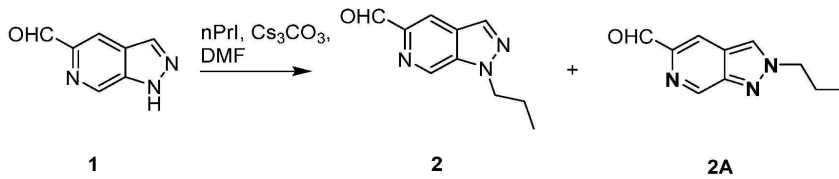


[0394]

[0395] (R)-1-(3-메틸이속사졸로[5,4-c]피리딘-5-일)에탄-1-아민, 하이드로클로라이드(137 mg)를 무수 DCM(15 mL)에 용해시킨 다음, 2-[4-(프로판-2-일)페닐]아세트산(151.6 mg), HATU(587.9 mg) 및 TEA(0.32 mL)를 용액에 첨가하였다. 반응물을 실온에서 1시간 동안 교반한 다음 물로 희석하였다. 2개의 상을 분리하고, 수성 상을 DCM(10 mL x 3)으로 추출하였다. 합한 추출물을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 분취-HPLC[컬럼: YMC-Actus Triart C18 250*21mm; 이동상: H₂O(0.1% NH₃H₂O)와 함께 20% 내지 95% MeCN; 유량: 15 mL/분; 파장: 220 nm/254 nm]로 정제하여 (R)-2-(4-이소프로필페닐)-N-(1-(3-메틸이속사졸로[5,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드(146.8 mg)를 무색 오일로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z):338 [M+H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.88 (s, 1H), 7.48 (s, 1H), 7.20 - 7.16 (m, 4H), 6.55 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 5.32-5.25 (m, 1H), 3.55 (s, 2H), 2.92-2.89 (m, 1H), 2.60 (s, 3H), 1.47 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 1.25 (d, J = 6.9 Hz, 6H).

[0396] 실시예 7. (R)-2-(4-이소프로필페닐)-N-(1-(1-프로필-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드

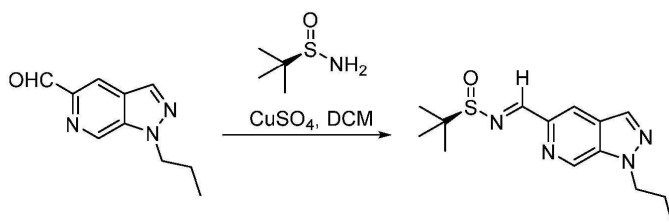
[0397] 메틸 1-프로필-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-카르보알데히드의 합성



[0398]

[0399] DMF(1.0 mL) 중 1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-카르보알데히드(480 mg), 1-아이오도프로판(0.35 mL) 및 Cs₂CO₃(1.6 g)의 용액을 25°C에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 물로 희석하고 EtOAc로 추출하였다. 합한 추출물을 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 실리카 겔 상에서 컬럼 크로마토그래피(DCM:MeOH = 1:0 내지 20:1)로 정제하여 1-프로필-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-카르보알데히드(185 mg)를 백색 고체로서 수득하였다. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 10.22 (s, 1H), 9.06 (s, 1H), 8.39 (d, J = 1.2Hz, 1H), 8.24 (s, 1H), 4.51 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 2.06-2.04 (m, 2H), 0.96 (t, J = 7.2 Hz, 3H). 2-프로필-2H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-카르보알데히드(125 mg)를 백색 고체로서 수득하였다. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 10.18 (s, 1H), 9.32 (s, 1H), 8.32 (d, J = 1.2 Hz, 1H), 8.20 (s, 1H), 4.49 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 2.12-2.08 (m, 2H), 0.98 (t, J = 7.2 Hz, 3H).

[0400] (R,E)-2-메틸-N-((1-프로필-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)메틸렌)프로판-2-설펜아미드(N201201-161)의 합성

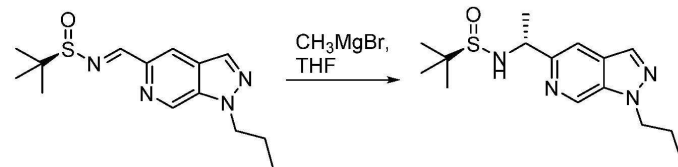


[0401]

[0402] DCM(11 mL) 중 1-프로필-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-카르보알데히드(185 mg)의 용액에 (R)-2-메틸프로판-2-설펜아미드(154.0 mg) 및 CuSO₄(234.1 mg)를 첨가하였다. 반응물을 실온에서 밤새 교반하였다. 고체를 셀라이트로

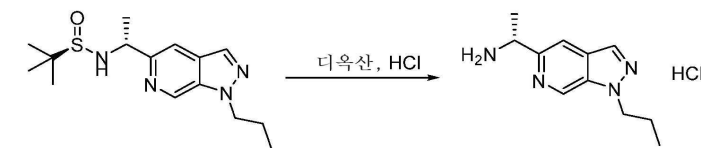
여과하였다. 이후, 여액을 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 (*R,E*)-2-메틸-N-((1-프로필-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)메틸렌)프로판-2-설피나미드(233 mg)를 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 293 [M+H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9.36 (s, 1H), 8.64 (s, 1H), 8.54 (s, 1H), 8.40 (s, 1H), 4.57 (t, J = 6.9 Hz, 2H), 1.94 - 1.89 (m, 2H), 1.22 (s, 9H), 0.84 (t, J = 7.4 Hz, 3H).

[0403] (*R*)-2-메틸-N-((*R*)-1-(1-프로필-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)프로판-2-설피나미드(N201201-166)의 합성



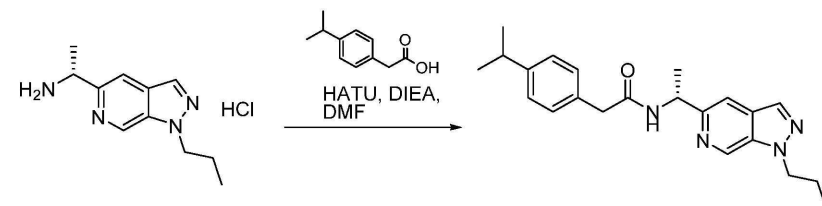
[0404] 무수 THF(10 mL) 중 (*R,E*)-2-메틸-N-((1-프로필-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)메틸렌)프로판-2-설피나미드(233 mg)의 용액에 N₂ 하에 3 M CH₃MgBr(1.328 mL, 에테르 중 3 M)을 적가하고, 반응물을 -60°C에서 2시간 동안 교반하였다. 반응물을 수성 NH₄Cl로 켄칭하고 EA로 추출하였다. 합한 추출물을 포화 NaCl로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공에서 농축시켰다. 이후, 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 (*R*)-2-메틸-N-((*R*)-1-(1-프로필-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)프로판-2-설피나미드(146 mg)를 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 309 [M+H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9.14 (s, 1H), 8.19 (d, J = 0.6 Hz, 1H), 7.80 (d, J = 0.6 Hz, 1H), 5.63 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 4.62 - 4.44 (m, 2H), 1.93 - 1.84 (m, 2H), 1.48 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 1.14 (s, 9H), 0.83 (t, J = 7.4 Hz, 3H) ppm.

[0406] (*R*)-1-(1-프로필-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에탄아민, 하이드로클로라이드의 합성



[0407] 디옥산(3 mL) 중 (*R*)-2-메틸-N-((*R*)-1-(1-프로필-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)프로판-2-설피나미드(95 mg)의 용액에 4 N HCl-디옥산(1.0 mL)을 첨가하였다. 반응물을 실온에서 30분 동안 교반하였다. 이후, 혼합물을 농축시켜 (*R*)-1-(1-프로필-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에탄아민 하이드로클로라이드를 제공하고, 이를 다음 단계에 직접 사용하였다. LC/MS ESI (m/z): 205 [M+H]⁺.

[0409] (*R*)-2-(4-이소프로필페닐)-N-((1-1-프로필-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드의 합성

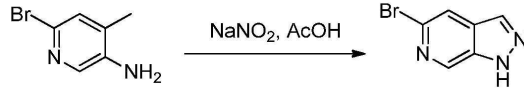


[0410] 무수 DMF 중 (*R*)-1-(1-프로필-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에탄아민 하이드로클로라이드(82 mg)의 용액에 DIEA(0.12 mL, 용액 A)를 첨가하였다. 무수 DMF 중 2-(4-이소프로필페닐)아세트산(78.7 mg)의 용액에 HATU(167.9 mg)를 첨가하고 실온에서 3분 동안 교반하였다(용액 B). 용액 A를 용액 B에 첨가하고 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 혼합물을 물로 희석하고, 수성 상을 DCM(10 mL x 3)으로 추출하였다. 합한 추출물을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 분취-HPLC[컬럼: YMC Triart C18 250*20mm I.D., 5um; 이동상: H₂O(0.1% FA)와 함께 10% 내지 95% MeCN; 유량: 14 mL/분; 파장: 220 nm/254 nm]로 정제하여 (*R*)-2-(4-이소프로필페닐)-N-((1-1-프로필-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드를 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 365 [M+H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.82 (s, 1H), 7.98 (s, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.19

(s, 4H), 6.62 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 5.28-5.21 (m, 1H), 4.42 (t, J = 7.0 Hz, 2H), 3.56 -3.55(m, 2H), 2.92-2.88 (m, 1H), 2.00 - 1.96 (m, 2H), 1.46 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 1.25 (d, J = 6.9 Hz, 6H), 0.93 (t, J = 7.4 Hz, 3H).

[0412] **실시예 8. (R)-N-(1-(1-에틸-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)-2-(4-이소프로필페닐)아세트아미드**

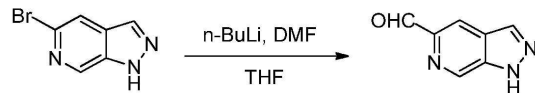
[0413] 5-브로모-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘의 합성



[0414]

[0415] 아세트산(60 mL) 중 6-브로모-4-메틸피리딘-3-아민(1.0 g)의 용액에 소듐 니트라이트(0.37 mL)를 빙욕에서 첨가하였다. 반응물을 실온에서 밤새 교반하였다. 이후, 반응물을 농축시킨 다음 포화 수성 NaHCO₃로 처리하였다. 수성 혼합물을 EA로 추출하였다. 합한 추출물을 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공에서 농축시켰다. 이후, 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 5-브로모-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘(442 mg)을 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 198 [M+H]⁺.

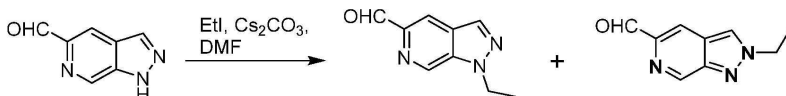
[0416] 1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-카르보알데히드의 합성



[0417]

[0418] 무수 THF(100 mL) 중 5-브로모-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘(3.3 g)의 용액에 -78°C에서 n-BuLi(20.0 mL, THF 중 2 N)를 첨가하였다. 혼합물을 -78°C에서 1시간 동안 교반하였다. 이후, DMF(3.87 mL)를 -78°C에서 혼합물에 첨가하고, 혼합물을 -78°C에서 1시간 동안 교반하였다. 반응물을 실온으로 가온하고 NH₄Cl 용액으로 쉐킷하였다. 2개의 상을 분리하고, 수성 상을 DCM(10 mL x 3)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 실리카 겔 상에서 컬럼 크로마토그래피(DCM:MeOH = 1:0 내지 20:1)로 정제하여 1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-카르보알데히드(1.0 g)를 백색 고체로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 148 [M+H]⁺

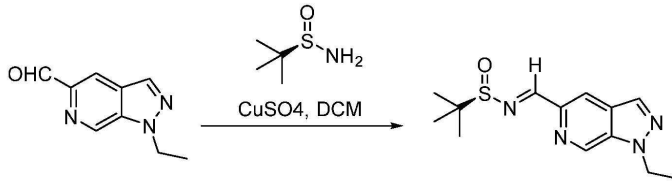
[0419] 1-에틸-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-카르보알데히드의 합성



[0420]

[0421] DMF(1.0 mL) 중 1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-카르보알데히드(480 mg), 에틸 아이오다이드(0.35 mL) 및 Cs₂CO₃(1.6 g)의 용액을 25°C에서 12시간 동안 교반하였다. 이후, 혼합물을 물로 희석하고 EtOAc로 추출하였다. 합한 추출물을 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 실리카 겔 상에서 컬럼 크로마토그래피(DCM:MeOH = 1:0 내지 20:1)로 정제하여 1-에틸-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-카르보알데히드(185 mg)를 백색 고체로서 수득하였다. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10.11 (s, 1H), 9.39 (s, 1H), 8.53 - 8.39 (m, 2H), 4.65 (q, J = 7.2 Hz, 2H), 1.47 (t, J = 7.2 Hz, 3H). 2-프로필-2H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-카르보알데히드(125 mg)를 백색 고체로서 수득하였다. ¹H NMR (400 MHz, DMSO): 10.05 (s, 1H), 9.36 - 9.23 (m, 1H), 8.85 (s, 1H), 8.43 (d, J = 1.2 Hz, 1H), 4.60 (q, J = 7.2 Hz, 2H), 1.55 (t, J = 7.2 Hz, 3H).

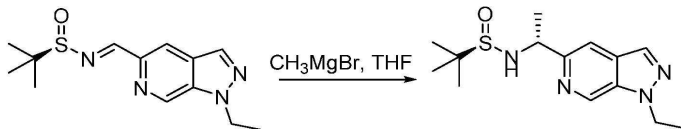
[0422] (*R,E*)-*N*-((1-에틸-1*H*-피라졸로[3,4-*c*]피리딘-5-일)메틸렌)-2-메틸프로판-2-설피나마미드의 합성



[0423]

[0424] 무수 DCM(10 mL) 중 1-에틸-1*H*-피라졸로[3,4-*c*]피리딘-5-카르보알데히드(186 mg)의 용액에 2-메틸프로판-2-설피나마미드(157.6 mg) 및 CuSO₄(239.4 mg)를 첨가하였다. 반응물을 실온에서 밤새 교반하였다. 이후, 혼합물을 여과하고, 여액을 진공에서 농축시켜 잔류물을 수득하고, 이를 실리카에 의해 정제하여 (*R,E*)-*N*-((1-에틸-1*H*-피라졸로[3,4-*c*]피리딘-5-일)메틸렌)-2-메틸프로판-2-설피나마미드(207 mg)를 백색 고체로서 수득하였다. LC/MS ESI (*m/z*): 279 [M+H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.35 (s, 1H), 8.64 (s, 1H), 8.54 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H), 8.39 (d, *J* = 0.6 Hz, 1H), 4.66 - 4.61 (m, 2H), 1.47 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H), 1.22 (s, 9H) ppm.

[0425] (*R*)-*N*-((*R*)-1-(1-에틸-1*H*-피라졸로[3,4-*c*]피리딘-5-일)에틸)-2-메틸프로판-2-설피나마미드의 합성



[0426]

[0427] 무수 THF(15 mL) 중 (*R,E*)-*N*-((1-에틸-1*H*-피라졸로[3,4-*c*]피리딘-5-일)메틸렌)-2-메틸프로판-2-설피나마미드(207 mg)의 용액에 CH₃MgBr(1.24 mL, 에테르 중 3.0 M)을 적가하였다. 반응물을 -60°C에서 2시간 동안 교반하였다. 이후, 반응물을 포화 NH₄Cl 용액으로 켄칭하였다. 2개의 상을 분리하고, 수성 상을 DCM(10 mL x 3)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 (*R*)-*N*-((*R*)-1-(1-에틸-1*H*-피라졸로[3,4-*c*]피리딘-5-일)에틸)-2-메틸프로판-2-설피나마미드(103 mg)를 황색 오일로서 수득하였다: LC/MS ESI (*m/z*): 295 [M+H]⁺.

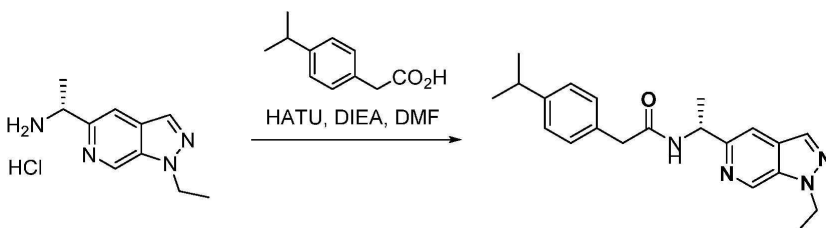
[0428] (*R*)-1-(1-에틸-1*H*-피라졸로[3,4-*c*]피리딘-5-일)에탄-1-아민, 하이드로클로라이드의 합성



[0429]

[0430] 디옥산(3 mL) 중 (*R*)-*N*-((*R*)-1-(1-에틸-1*H*-피라졸로[3,4-*c*]피리딘-5-일)에틸)-2-메틸프로판-2-설피나마미드(142 mg)의 용액에 4 N HCl-디옥산(1 mL)을 첨가하고, 반응물을 실온에서 30분 동안 교반하였다. 이후, 혼합물을 농축시켜 (*R*)-1-(1-에틸-1*H*-피라졸로[3,4-*c*]피리딘-5-일)에탄-1-아민, 하이드로클로라이드를 제공하고, 이를 다음 단계에 직접 사용하였다. LC/MS ESI (*m/z*): 191 [M+H]⁺.

[0431] (*R*)-*N*-1-(1-에틸-1*H*-피라졸로[3,4-*c*]피리딘-5-일)에틸)-2-(4-이소프로필페닐)아세트아미드의 합성



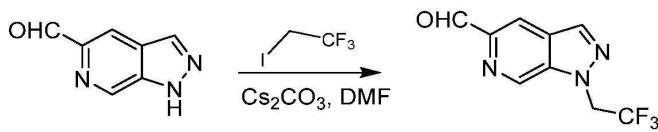
[0432]

[0433] 무수 DMF 중 (*R*)-1-(1-에틸-1*H*-피라졸로[3,4-*c*]피리딘-5-일)에탄아민 하이드로클로라이드(134 mg)의 용액에 DIEA(0.5 mL)를 첨가하여 용액 A를 제공하였다. 무수 DMF 중 2-(4-이소프로필페닐)아세트산(95.9 mg)의 용액에 HATU(225 mg)를 첨가하고 실온에서 3분 동안 교반하여 용액 B를 제공하였다. 용액 A를 용액 B에 첨가하고 실온

에서 1시간 동안 교반하였다. 반응물을 EA 및 물로 희석하였다. 2개의 상을 분리하고, 수성 상을 DCM(10 mL x 3)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 분취-HPLC[컬럼: Xbudge prep C18 250*19mm 5um OBD; 이동상: H₂O(0.1 FA)와 함께 10% 내지 95% MeCN; 유량: 20 mL/분; 파장: 205 nm/254 nm] 및 SFC(컬럼: ChiralPak IA, 250x21.3mm I.D., 5µm; 이동상: CO₂의 경우 A 및 MeOH+0.1%NH₃H₂O의 경우 B; 구배: B 40%; 파장: 220 nm)로 정제하여 (R)-N-(1-(1-에틸-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)-2-(4-이소프로필페닐)아세트아미드 (44.8 mg)를 백색 고체로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 351 [M+H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.83 (s, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.19 (s, 4H), 6.62 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 5.28-5.21 (m, 1H), 4.52 (q, J = 7.3 Hz, 2H), 3.55 (s, 2H), 2.92-2.87 (m, 1H), 1.56 (t, J = 7.3 Hz, 3H), 1.46 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 1.25 (d, J = 6.9 Hz, 6H).

[0434] **실시예 9. (R)-N-(1-(1-에틸-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)-2-(4-이소프로필페닐)아세트아미드**

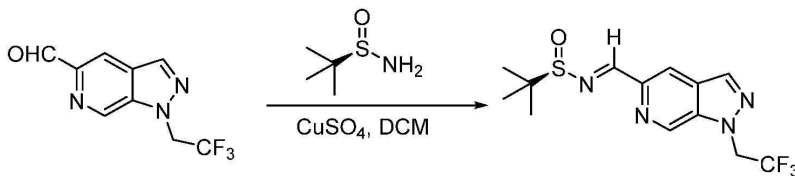
[0435] 단계 1. 1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-카르보알데히드의 합성



[0436]

[0437] DMF(10 mL) 중 1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-카르보알데히드(760 mg), 1,1,1-트리플루오로-2-아이오도에탄(0.51 mL) 및 Cs₂CO₃(2.5 g)의 용액을 100°C에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 물로 희석하고 EtOAc로 추출하였다. 합한 추출물을 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하였다. 잔류물을 실리카 겔 상에서 컬럼 크로마토그래피(DCM:MeOH = 1:0 내지 20:1)로 정제하여 1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-카르보알데히드(500 mg)를 황색 고체로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 230 [M+H]⁺.

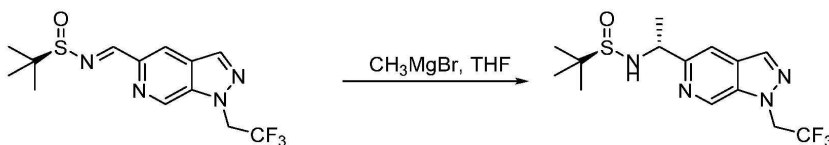
[0438] 단계 2. (R,E)-2-메틸-N-((1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)메틸렌)프로판-2-설펜아미드의 합성



[0439]

[0440] DCM(15 mL) 중 1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-카르보알데히드(500 mg), (R)-2-메틸프로판-2-설펜아미드(396.7 mg) 및 구리 설펜이트 5수화물(1.0 g)의 용액을 25°C에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하였다. 잔류물을 실리카 겔 상에서 컬럼 크로마토그래피(DCM:MeOH = 1:0 내지 20:1)로 정제하여 (R,E)-2-메틸-N-((1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)메틸렌)프로판-2-설펜아미드(450 mg)를 황색 고체로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 333 [M+H]⁺.

[0441] 단계 3. (R)-2-메틸-N-((R)-1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)프로판-2-설펜아미드의 합성

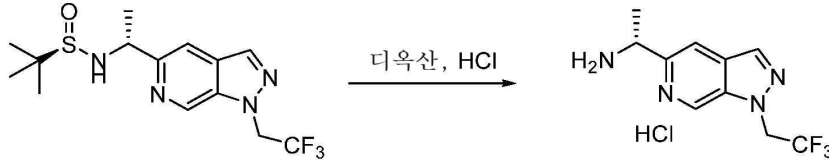


[0442]

[0443] THF(5 mL) 중 (R,E)-2-메틸-N-((1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)메틸렌)프로판-2-설펜아미드(450 mg)의 용액에 -78°C에서 CH₃MgBr(에테르 중 3.0 M, 1.35 mL)을 첨가하였다. 혼합물을 -78°C에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 NH₄Cl 용액으로 켄칭하고 EtOAc로 추출하였다. 합한 추출물을 건조시키고, 여

과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하였다. 잔류물을 실리카 겔 상에서 컬럼 크로마토그래피(DCM:MeOH = 1:0 내지 20:1)로 정제하여 (R)-2-메틸-N-((R)-1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)프로판-2-설피아미드(350 mg)를 황색 고체로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 349 [M+H]⁺.

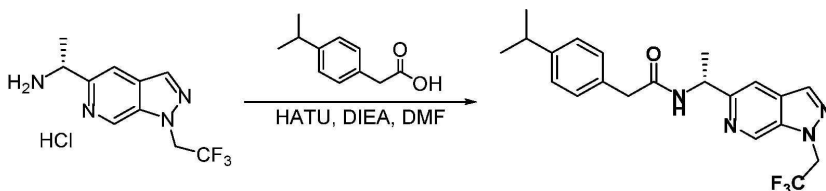
[0444] 단계 4. (R)-1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드의 합성



[0445]

[0446] 디옥산(2.0 mL) 중 (R)-2-메틸-N-((R)-1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)프로판-2-설피아미드(300 mg)의 용액에 HCl/디옥산(디옥산 중 4 N, 2.0 mL)을 첨가하였다. 혼합물을 25℃에서 30 분 동안 교반하였다. 혼합물을 농축시켜 (R)-1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드(300 mg, 미정제)를 백색 고체로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 245 [M+H]⁺.

[0447] 단계 5. (R)-2-(4-이소프로필페닐)-N-((R)-1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드의 합성

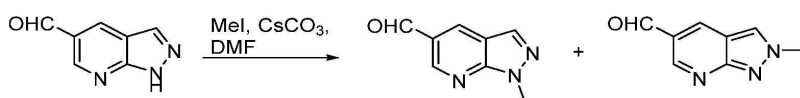


[0448]

[0449] DCM(10 mL) 중 (R)-1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드(300 mg), 2-[4-(프로판-2-일)페닐]아세트산(240.8 mg), HATU(560.49 mg) 및 DIEA(0.41 mL)의 용액을 25℃에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 물로 세척하였다. 유기 층을 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하였다. 잔류물을 분취-HPLC[컬럼: YMC-Actus Triart C18 250*21mm; 이동상: H₂O(0.1% FA)와 함께 50% 내지 95% MeCN; 유량: 20 mL/분; 파장: 220 nm/254 nm] 및 SFC(컬럼: ChiralPak IA, 250x21.3mm I.D., 5µm; 이동상: CO₂의 경우 A 및 MeOH+0.1%NH₃H₂O의 경우 B; 구배: B 40%; 파장: 220 nm)로 정제하여 (R)-2-(4-이소프로필페닐)-N-((R)-1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드(128.6 mg)를 백색 고체로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 405 (M+H)⁺; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.85 (s, 1H), 8.08 (s, 1H), 7.54 (s, 1H), 7.24 - 7.12 (m, 4H), 6.58 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 5.27-5.24 (m, 1H), 5.03 (q, J = 8.4 Hz, 2H), 3.59 - 3.51 (m, 2H), 2.95-2.85 (m, 1H), 1.46 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 1.25 (d, J = 6.6 Hz, 3H); ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -70.8 ppm.

[0450] **실시예** 10.
(R)-N-((1-(1-메틸-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일)에틸)-2-(4-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)페닐)아세트아미드

[0451] 1-메틸-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-카르보알데히드의 합성



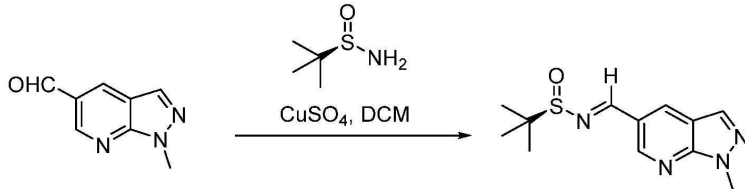
[0452]

[0453] 무수 DMF(10 mL) 중 1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-카르보알데히드(594 mg)의 용액에 Cs₂CO₃(1.97 g) 및 아이오도메탄(630.3 mg)을 첨가하고, 반응물을 실온에서 반새 교반하였다. 반응물을 EA 및 물로 희석하였다. 유기 층을 분리하고, 포화 NaCl 용액으로 세척하고, 진공에서 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정

제하여 1-메틸-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-카르보알데히드(285 mg)를 제공하였다. 1-메틸-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-카르보알데히드: LC/MS ESI (m/z): 162 [M+H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10.15 (d, J = 1.3 Hz, 1H), 9.06 (s, 1H), 8.81 (s, 1H), 8.41 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 4.12 (d, J = 1.2 Hz, 3H).

[0454] 2-메틸-2H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-카르보알데히드: LC/MS ESI (m/z): 162 [M+H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.07 (s, 1H), 9.01 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 8.86 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 8.75 (s, 1H), 4.25 (s, 3H).

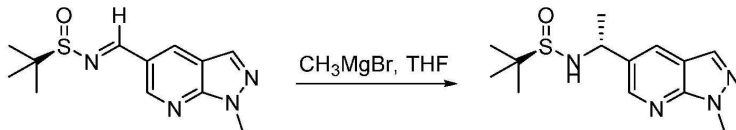
[0455] (R,E)-2-메틸-N-((1-메틸-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일)메틸렌)프로판-2-설펜아미드의 합성



[0456]

[0457] 무수 DCM(15 mL) 중 1-메틸-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-카르보알데히드(285 mg)의 용액에 (R)-2-메틸프로판-2-설펜아미드(278.6 mg) 및 CuSO₄(423.4 mg)를 첨가하고, 반응물을 실온에서 밤새 교반하였다. 용액을 셀라이트의 패드를 통해 여과하고 여액을 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 컬럼으로 정제하여 (R,E)-2-메틸-N-((1-메틸-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일)메틸렌)프로판-2-설펜아미드(158 mg)를 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 265 [M+H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.06 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 8.74 (s, 1H), 8.51 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 8.13 (s, 1H), 4.20 (s, 3H), 1.29 (s, 9H) ppm.

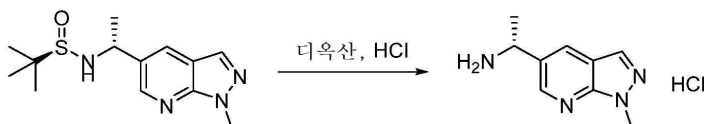
[0458] 단계 3. (R)-2-메틸-N-((R)-1-(1-메틸-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일)에틸)프로판-2-설펜아미드의 합성



[0459]

[0460] 무수 THF(30 mL) 중 (R,E)-2-메틸-N-((1-메틸-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일)메틸렌)프로판-2-설펜아미드(407 mg)의 용액에 CH₃MgBr(9.0 mL, 에테르 중 3.0 M)을 적가하고, 반응물을 -78°C에서 6시간 동안 교반하였다. 반응물을 포화 수성 NH₄Cl로 켄칭하고 EtOAc로 추출하였다. 합한 추출물을 분리하고, 포화 NaCl 용액으로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공에서 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 (R)-2-메틸-N-((R)-1-(1-메틸-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일)에틸)프로판-2-설펜아미드(236 mg)를 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 281 [M+H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.56 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 8.04 - 7.95 (m, 2H), 4.79 - 4.73 (m, 1H), 4.16 (s, 3H), 3.43 (d, J = 2.7 Hz, 1H), 1.63 (d, J = 6.7 Hz, 3H), 1.21 (s, 9H).

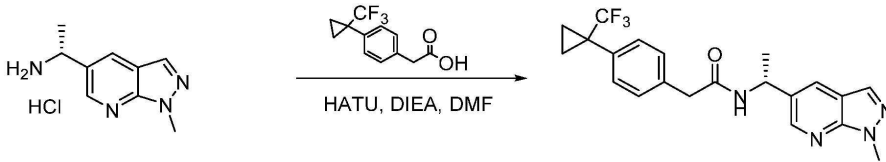
[0461] 단계 4. (R)-1-(1-메틸-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드의 합성



[0462]

[0463] 디옥산(3 mL) 중 (R)-2-메틸-N-((R)-1-(1-메틸-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일)에틸)프로판-2-설펜아미드(77 mg)의 용액에 4 N HCl-디옥산(1.0 mL)을 첨가하고, 반응물을 실온에서 30분 동안 교반하였다. 이후, 혼합물을 농축시켜 (R)-1-(1-메틸-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드를 제공하고 다음 단계에 직접 사용하였다. LC/MS ESI (m/z): 177 [M+H]⁺.

[0464] 단계 5. (R)-N-(1-(1-메틸-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일)에틸)-2-(4-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)페닐)아세트아미드의 합성



[0465]

[0466]

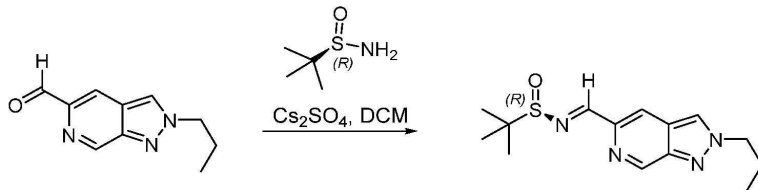
무수 DMF(4.0 mL) 중 (R)-1-(1-메틸-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드(107 mg)의 용액에 DIEA(0.5 mL)를 첨가하여 용액 A를 제공하였다. 무수 DMF(4.0 mL) 중 2-(4-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)페닐)아세트산(134.8 mg)의 용액에 HATU(230.9 mg)를 첨가하고 실온에서 10분 동안 교반하여 용액 B를 제공하였다. 용액 B를 용액 A에 첨가하고 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 이후, 반응물을 EA 및 물로 희석하였다. 유기 층을 분리하고, 포화 NaCl 용액으로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 진공에서 농축시켰다. 이후, 잔류물을 분취-HPLC(컬럼: YMC Triart C18 250*20mm I.D., 5um; 이동상: H₂O(0.1% FA)와 함께 20% 내지 95% MeCN; 유량: 15 mL/분; 파장: 220 nm/254 nm)로 정제하여 (R)-N-(1-(1-메틸-1H-피라졸로[3,4-b]피리딘-5-일)에틸)-2-(4-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)페닐)아세트아미드(67.3 mg)를 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 403 [M+H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.48 (s, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.43 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.22 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 5.71 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 5.30-5.23 (m, 1H), 4.14 (s, 3H), 3.56 (s, 2H), 1.52 (d, J = 7.0 Hz, 3H), 1.37-1.34 (m, 2H), 1.02-1.01 (m, 2H); ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -70.08 (s).

[0467]

실시예 11. (R)-2-(4-이소프로필페닐)-N-(1-(2-프로필-2H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드

[0468]

(R,E)-2-메틸-N-((2-프로필-2H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)메틸렌)프로판-2-설피나미드의 합성



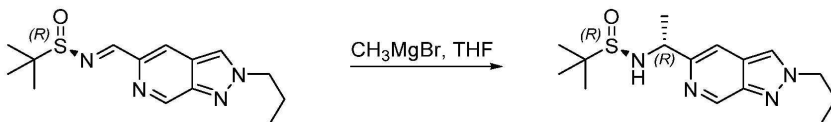
[0469]

[0470]

CH₂Cl₂(2 mL) 중 2-프로필-2H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-카르브알데히드(34 mg)의 용액에 (R)-2-메틸프로판-2-설피나미드(28.3 mg) 및 구리 설피이트 5수화물(129.5 mg)을 실온에서 첨가하였다. 반응물을 실온에서 밤새 교반하였고, LC/MS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 반응 혼합물을 얼음물로 켄칭한 다음, EtOAc로 추출하였다. 합한 추출물을 농축시키고, 잔류물을 실리카 겔 상에서 컬럼 크로마토그래피(PE:EA = 3:1)로 정제하여 (R,E)-2-메틸-N-((2-프로필-2H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)메틸렌)프로판-2-설피나미드(25 mg, 황색 고체)를 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 293 [M+H]⁺.

[0471]

(R)-2-메틸-N-((R)-1-(2-프로필-2H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)프로판-2-설피나미드의 합성

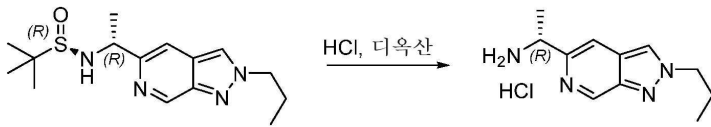


[0472]

[0473]

THF(3.0 mL) 중 (R,E)-2-메틸-N-((2-프로필-2H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)메틸렌)프로판-2-설피나미드(100 mg)의 용액에 -78°C에서 질소 하에 CH₃MgBr(0.45 mL; 에테르 중 3 M)을 첨가하였다. 혼합물을 -78°C에서 2시간 동안 교반하였고, LC/MS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 반응 혼합물을 얼음물로 켄칭한 다음 EtOAc로 2회 추출하였다. 합한 추출물을 농축시키고, 잔류물을 실리카 겔 상에서 컬럼 크로마토그래피(PE:EA = 3:1)로 정제하여 (R)-2-메틸-N-((R)-1-(2-프로필-2H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)프로판-2-설피나미드(80 mg)를 황색 고체로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 309 [M+H]⁺.

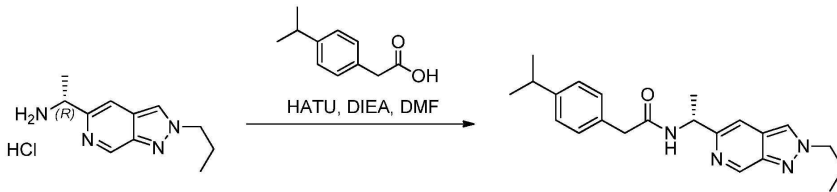
[0474] (R)-1-(2-프로필-2H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드의 합성



[0475]

[0476] 디옥산(3 mL) 중 (R)-2-메틸-N-((R)-1-(2-프로필-2H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)프로판-2-설펜아미드(80 mg)의 용액에 실온에서 HCl-디옥산(0.18 mL, 디옥산 중 4 N)을 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였고, LC/MS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 용매를 농축시켜 (R)-1-(2-프로필-2H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드(120 mg, 황색 고체)를 제공하고, 이를 다음 단계에 직접 사용하였다. LC/MS ESI (m/z): 204 [M+H]⁺.

[0477] 단계 4. (R)-2-(4-이소프로필페닐)-N-(1-(2-프로필-2H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드의 합성



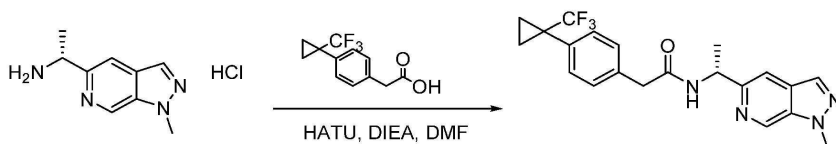
[0478]

[0479] DMF(3.0 mL) 중 2-(4-이소프로필페닐)아세트산(50 mg)의 용액에 (R)-1-(2-프로필-2H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드(57.0 mg), HATU(160 mg) 및 DIEA(108.6 mg)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였고, LC/MS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 반응 혼합물을 얼음물로 킨칭한 다음 EtOAc로 2회 추출하였다. 합한 추출물을 농축시키고, 잔류물을 실리카 겔 상에서 컬럼 크로마토그래피(PE:EA = 1:1)로 정제하고, 분취-HPLC[컬럼: YMC-Triart C18 250*20.0mm; 이동상: 80% 내지 5% H₂O(0.1% FA), 20% 내지 95% MeCN; 유량: 20 mL/분; 파장: 220 nm/254 nm] 및 SFC[컬럼: ChiralPak IA, 250x21.3mm I.D., 5µm; 이동상: CO₂의 경우 A 및 MeOH+0.1%NH₃H₂O의 경우 B; 구배: B 40%; 파장: 220 nm)로 추가로 정제하여 (R)-2-(4-이소프로필페닐)-N-(1-(2-프로필-2H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드(6.7 mg)를 무색 오일로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 365 [M+H]⁺.

[0480] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.12 (s, 1H), 7.89 (s, 1H), 7.39 (s, 1H), 7.17 (s, 4H), 6.66 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 5.23-5.15 (m, 1H), 4.42 (t, J = 7.1 Hz, 2H), 3.53 - 3.52 (m, 2H), 2.90 - 2.85 (m, 1H), 2.08 - 2.02 (m, 2H), 1.44 (t, J = 6.9 Hz, 3H), 1.24 (d, J = 6.9 Hz, 6H), 0.95 (t, J = 7.4 Hz, 3H).

[0481] **실시예 12. (R)-N-(1-(1-메틸-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)-2-(4-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)페닐)아세트아미드**

[0482] (R)-N-(1-(1-메틸-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)-2-(4-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)페닐)아세트아미드의 합성



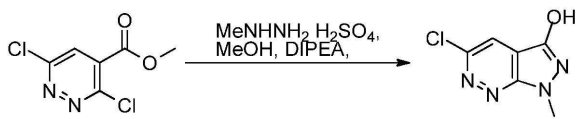
[0483]

[0484] 무수 DMF(5.0 mL) 중 (R)-1-(1-메틸-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드(41.2 mg)의 용액에 DIEA(0.21 mL)를 첨가하여 용액 A를 제공하였다. 무수 DMF(5.0 mL) 중 2-(4-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)페닐)아세트산(51.9 mg)의 용액에 HATU(88.9 mg)를 첨가하고 실온에서 5분 동안 교반하여 용액 B를 제공하였다. 용액 A를 용액 B에 첨가하고 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 이후, 반응물을 EA 및 물로 희석하였다. 유기 층을 분리하고, 포화 NaCl로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고,

진공에서 농축시켜 잔류물을 수득하고, 이를 (컬럼: YMC-Actus Triart C18 250*21mm; 이동상: H₂O(0.1% FA)와 함께 20% 내지 95% MeCN; 유량: 14 mL/분; 파장: 220 nm/254 nm) 및 SFC(컬럼: ChiralPak IA, 250x21.3mm I.D., 5 μm; 이동상: CO₂의 경우 A 및 MEOH+0.1%NH₃H₂O의 경우 B; 구배: B 40%; 파장: 220 nm)로 정제하여 (R)-N-(1-(1-메틸-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)-2-(4-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)페닐)아세트아미드(28.5 mg)를 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 403 [M+H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.80 (s, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.42 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.24 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 6.74 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 5.27-5.20 (m, 1H), 4.17 (s, 3H), 3.57 (s, 2H), 1.47 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 1.36-1.34 (m, 2H), 1.04-1.00 (m, 2H). ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -70.07 (s).

[0485] **실시예 13. (R)-2-(4-이소프로필페닐)-N-(1-(1-메틸-1H-피라졸로[3,4-c]피리다진-5-일)에틸)아세트아미드**

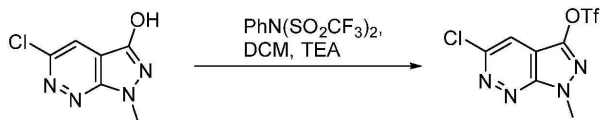
[0486] 5-클로로-1-메틸-1H-피라졸로[3,4-c]피리다진-3-올의 합성



[0487]

[0488] MeOH(20 mL) 중 메틸 3,6-디클로로피리다진-4-카르복실레이트(500 mg), 메틸하이드라진 설페이트(417 g) 및 DIEA(1.1 g)의 용액을 70℃에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 실리카 겔 상에서 컬럼 크로마토그래피(DCM:MeOH = 50:1 내지 10:1)로 정제하여 5-클로로-1-메틸-1H-피라졸로[3,4-c]피리다진-3-올(400 mg)을 오렌지색 고체로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 185 (M+H)⁺; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 11.90 (s, 1H), 8.23 (s, 1H), 3.96 (s, 3H).

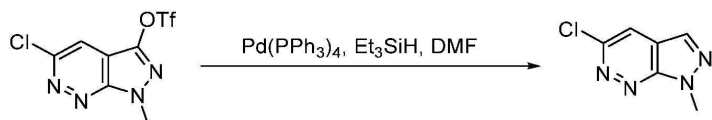
[0489] 5-클로로-1-메틸-1H-피라졸로[3,4-c]피리다진-3-일 트리플루오로메탄설포네이트의 합성



[0490]

[0491] DCM(30 mL) 중 5-클로로-1-메틸-1H-피라졸로[3,4-c]피리다진-3-올(2.0 g)의 용액에 N-비스(트리플루오로메탄설포닐)아닐린(7.7 g), TEA(4.5 mL) 및 DMAP(264.7 mg)를 첨가하였다. 혼합물을 25℃에서 12시간 동안 교반한 다음 물로 세척하였다. 유기 층을 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 실리카 겔 상에서 크로마토그래피(PE:DCM = 50:1 내지 0:1)로 정제하여 5-클로로-1-메틸-1H-피라졸로[3,4-c]피리다진-3-일 트리플루오로메탄설포네이트(600 mg)를 백색 고체로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 317 [M+H]⁺.

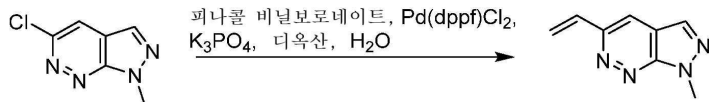
[0492] 5-클로로-1-메틸-1H-피라졸로[3,4-c]피리다진의 합성



[0493]

[0494] DMF (2 mL) 중 5-클로로-1-메틸-1H-피라졸로[3,4-c]피리다진-3-일 트리플루오로메탄설포네이트(1.1g), Pd(PPh₃)₄(0.20g) 및 트리에틸실란(1.12mL)의 용액을 60℃에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 물 및 DCM으로 희석하고, 2개의 상을 분리하고, 수성 상을 DCM(10 mL x 3)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 실리카 겔 크로마토그래피(PE:DCM =50:1 내지 0:1)로 정제하여 5-클로로-1-메틸-1H-피라졸로[3,4-c]피리다진(400 mg)을 백색 고체로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 169 [M+H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.00 (s, 1H), 7.79 (s, 1H), 4.28 (s, 3H).

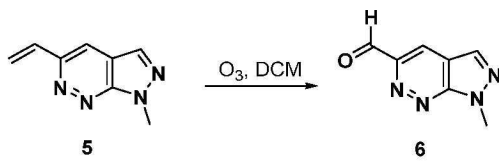
[0495] 1-메틸-5-비닐-1H-피라졸로[3,4-c]피리다진의 합성



[0496]

[0497] 디옥산(20 mL) 및 H₂O(4 mL) 중 5-클로로-1-메틸-1H-피라졸로[3,4-c]피리다진(400 mg), 피나콜 비닐보로네이트(0.80 mL), K₃PO₄(1.2 g) 및 디클로로[1,1'-비스(디사이클로헥실포스피노)페로센]팔라듐(II)(179.3 mg)의 용액을 N₂로 채우고 100℃에서 N₂ 하에 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 물로 희석하고 EtOAc로 추출하였다. 합한 추출물을 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 크로마토그래피(PE:DCM= 50:1 내지 0:1)로 정제하여 1-메틸-5-비닐-1H-피라졸로[3,4-c]피리다진(400 mg, 미정제)을 황색 고체로서 제공하고, 이를 다음 단계에 사용하였다. LC/MS ESI (m/z): 161 [M+H]⁺.

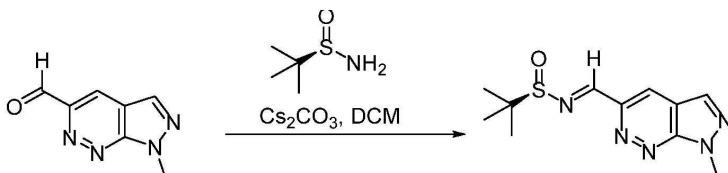
[0498] 1-메틸-1H-피라졸로[3,4-c]피리다진-5-카르보알데히드의 합성



[0499]

[0500] 오존을 -78℃에서 10분 동안 무수 DCM(10 mL) 중 1-메틸-5-비닐-1H-피라졸로[3,4-c]피리다진(382 mg)의 용액을 통해 버블링시켰다. 과량의 오존을 질소로 10분 동안 퍼징한 다음, PPh₃(751 mg)을 첨가하고 실온에서 40분 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 진공에서 농축시켜 미정제 생성물을 수득하고, 이를 다음 단계에 사용하였다. LC/MS ESI (m/z): 163 [M+H]⁺.

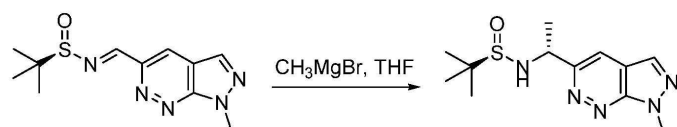
[0501] (R,E)-2-메틸-N-((1-메틸-1H-피라졸로[3,4-c]피리다진-5-일)메틸렌)프로판-2-설피나미드의 합성



[0502]

[0503] 무수 DCM(10 mL) 중 1-메틸-1H-피라졸로[3,4-c]피리다진-5-카르보알데히드(400 mg)의 용액에 CuSO₄(1.18 g) 및 (R)-2-메틸프로판-2-설피나미드(358.8 mg)를 첨가하고, 반응물을 실온에서 밤새 교반하였다. 용액을 셀라이트의 패드를 통해 여과하고 여액을 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 컬럼으로 정제하여 (R,E)-2-메틸-N-((1-메틸-1H-피라졸로[3,4-c]피리다진-5-일)메틸렌)프로판-2-설피나미드(255 mg)를 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 266 [M+H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.26 (s, 1H), 8.59 (s, 1H), 8.24 (s, 1H), 4.42 (s, 3H), 1.32 (s, 9H).

[0504] (R)-2-메틸-N-((R)-1-(1-메틸-1H-피라졸로[3,4-c]피리다진-5-일)에틸)프로판-2-설피나미드의 합성

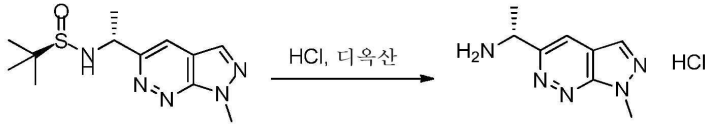


[0505]

[0506] 무수 THF(15 mL) 중 (R,E)-2-메틸-N-((1-메틸-1H-피라졸로[3,4-c]피리다진-5-일)메틸렌)프로판-2-설피나미드(205 mg)의 용액에 -78℃에서 질소 하에 3 M CH₃MgBr(1.29 mL, 에테르 중 3.0 M)을 적가하였다. 반응물을 -78℃에서 2시간 동안 교반하였다. 이후, 반응물을 포화 NH₄Cl 용액으로 퀸칭하고 EA로 추출하였다. 합한 추출물을 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 진공에서 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로

정제하여 (R)-2-메틸-N-((R)-1-(1-메틸-1H-피라졸로[3,4-c]피리다진-5-일)에틸)프로판-2-설피아미드(50 mg)를
 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 282 [M+H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.08 (s, 1H), 7.87 (s, 1H), 4.95
 (t, J = 6.8 Hz, 1H), 4.35 (s, 3H), 1.71 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 1.26 (s, 9H) ppm.

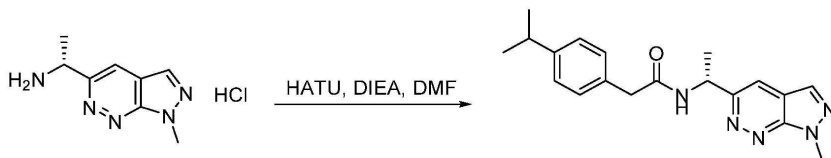
[0507] (R)-1-(1-메틸-1H-피라졸로[3,4-c]피리다진-5-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드의 합성



[0508]

[0509] 디옥산(1.5 mL) 중 (R)-2-메틸-N-((R)-1-(1-메틸-1H-피라졸로[3,4-c]피리다진-5-일)에틸)프로판-2-설피아미드
 (55 mg)의 용액에 4 M HCl-디옥산(1 mL)을 첨가하고, 반응물을 실온에서 30분 동안 교반하였다. 이후, 혼합물을
 농축시켜 (R)-1-(1-메틸-1H-피라졸로[3,4-c]피리다진-5-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드를 잔류물로서 제공
 하고, 이를 이후 다음 단계에 사용하였다. LC/MS ESI (m/z): 178 [M+H]⁺.

[0510] (R)-2-(4-이소프로필페닐)-N-(1-(1-메틸-1H-피라졸로[3,4-c]피리다진-5-일)에틸)아세트아미드(N201201-266)의
 합성



[0511]

[0512] DMF(1 mL) 중 (R)-1-(1-메틸-1H-피라졸로[3,4-c]피리다진-5-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드(61 mg)의 용액
 에 DIEA(242.6 mg, 0.31 mL)를 첨가하여 용액 A를 제공하였다. DMF(1 mL) 중 2-(4-이소프로필페닐)아세트산
 (55.8 mg)의 용액에 HATU(131 mg)를 첨가하고 실온에서 5분 동안 교반하여 용액 B를 제공하였다. 용액 B를 용액
 A에 첨가하고 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 이후, 반응물을 EA 및 물로 희석하였다. 2개의 상을 분리하고,
 수성 상을 DCM(10 mL x 3)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류
 물을 제공하고, 이를 분취-HPLC(컬럼: YMC-Actus Triart C18 250*21mm; 이동상: H₂O(0.1 % TFA)와 함께 20% 내
 지 95% MeCN; 유량: 15 mL/분; 파장: 220 nm/254 nm)로 정제하여 (R)-2-(4-이소프로필페닐)-N-(1-(1-메틸-
 1H-피라졸로[3,4-c]피리다진-5-일)에틸)아세트아미드(14.6 mg)를 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 338 [M+H]⁺; ¹H
 NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.06 (s, 1H), 7.75 (s, 1H), 7.19 (s, 4H), 6.68 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 5.48 -
 5.41 (m, 1H), 4.34 (s, 3H), 3.55-3.54 (m, 2H), 2.93-2.86 (m, 1H), 1.60 (d, J = 6.9 Hz, 3H), 1.24 (d, J
 = 6.9 Hz, 6H) ppm.

[0513] **실시에 14. (R)-N-(1-(1-(2,2-디플루오로프로필)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)-2-(4-이소프로필페닐)
 아세트아미드**

[0514] 2,2-디플루오로프로필 4-메틸벤젠설포네이트의 합성

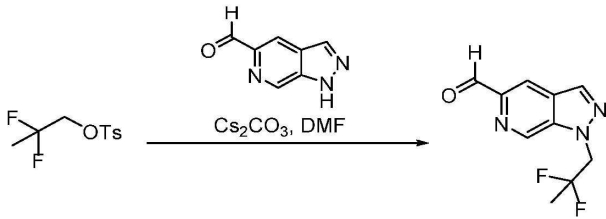


[0515]

[0516] 무수 DCM(40 mL) 중 2,2-디플루오로프로판-1-올(2.0 g)의 용액에 TEA(8.7 mL)를 첨가하였다. TsCl(11.9 g)을 0
 °C에서 반응 용액에 첨가하고, 반응물을 실온에서 밤새 교반하였다. 이후, 반응물을 물로 희석하고, 2개의 상을
 분리하고, 수성 상을 DCM(10 mL x 3)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농
 축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 2,2-디플루오로프로필 4-메틸벤젠
 설포네이트(5 g)를 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 251 [M+H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.81 (d, J = 8.3
 Hz, 2H), 7.37 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 4.09 (t, J = 11.1 Hz, 2H), 2.47 (s, 3H), 1.64 (t, J = 18.7 Hz, 3H)

ppm; ^{19}F NMR (377 MHz, CDCl_3) δ -98.43 (s).

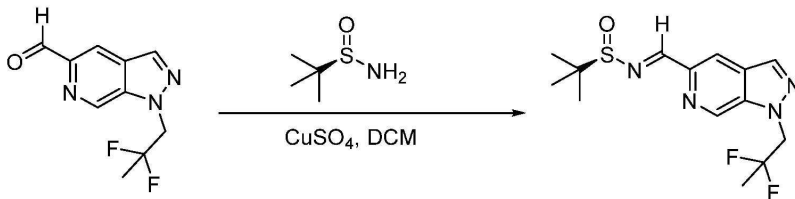
[0517] 1-(2,2-디플루오로프로필)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-카르브알데히드의 합성



[0518]

[0519] 무수 DMF(30 mL) 중 1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-카르브알데히드(498 mg)의 용액에 Cs_2CO_3 (1.3g) 및 2,2-디플루오로프로필 4-메틸벤젠설포네이트(1.0 g)를 첨가하였다. 반응물을 100°C에서 밤새 교반한 다음, 반응물을 EA 및 물로 희석하였다. 2개의 상을 분리하고, 수성 상을 DCM(10 mL x 3)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 1-(2,2-디플루오로프로필)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-카르브알데히드(181 mg)를 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 226 [M+H] $^+$; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 10.23 (s, 1H), 9.13 (s, 1H), 8.41 (d, J = 1.2 Hz, 1H), 8.29 (s, 1H), 4.88 (t, J = 12.1 Hz, 2H), 1.67 (t, J = 18.7 Hz, 3H) ppm. ^{19}F NMR (377 MHz, CDCl_3) δ -93.83 (s).

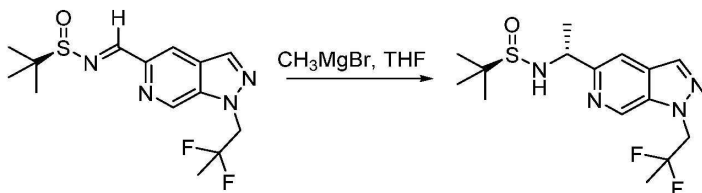
[0520] (R,E)-N-((1-(2,2-디플루오로프로필)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)메틸렌)-2-메틸프로판-2-설피나미드의 합성



[0521]

[0522] 무수 DCM(14 mL) 중 1-(2,2-디플루오로프로필)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-카르브알데히드(209 mg)의 용액에 CuSO_4 (444.4 mg) 및 (R)-2-메틸프로판-2-설피나미드(146.2 mg)를 첨가하였다. 반응물을 실온에서 밤새 교반한 다음, 용액을 셀라이트의 패드를 통해 여과하고, 여액을 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 컬럼으로 정제하여 (R,E)-N-((1-(2,2-디플루오로프로필)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)메틸렌)-2-메틸프로판-2-설피나미드(229 mg)를 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 329 [M+H] $^+$; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 9.12 (s, 1H), 8.84 (s, 1H), 8.36 (d, J = 1.1 Hz, 1H), 8.23 (d, J = 0.6 Hz, 1H), 4.86 (t, J = 12.1 Hz, 2H), 1.66 (t, J = 18.4 Hz, 3H), 1.31 (s, 9H). ppm. ^{19}F NMR (377 MHz, CDCl_3) δ -93.83 (s).

[0523] (R)-N-((R)-1-(1-(2,2-디플루오로프로필)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)-2-메틸프로판-2-설피나미드의 합성

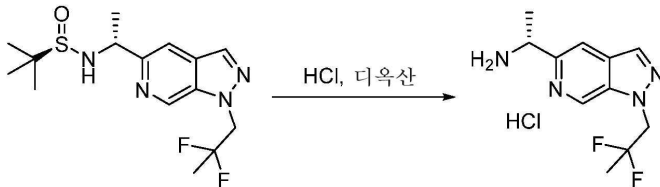


[0524]

[0525] 무수 THF(9.0 mL) 중 (R,E)-N-((1-(2,2-디플루오로프로필)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)메틸렌)-2-메틸프로판-2-설피나미드(229 mg)의 용액에 -78°C에서 질소 하에 CH_3MgBr (1.2 mL, 에테르 중 3.0 M)을 적가하였다. 반응물을 -78°C에서 2시간 동안 교반하였다. 이후, 반응 용액을 수성 NH_4Cl 로 킨칭하고 EA로 추출하였다. 유기 층을

분리하고, 염수로 세척하고, 건조시키고, 진공에서 농축시켰다. 이후, 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 (R)-N-((R)-1-(1-(2,2-디플루오로프로필)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)-2-메틸프로판-2-설피아미드(193 mg)를 황색 오일로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 345 [M+H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.97 (s, 1H), 8.06 (d, J = 0.5 Hz, 1H), 7.62 (d, J = 0.9 Hz, 1H), 4.79 (t, J = 12.0 Hz, 2H), 4.73 - 4.66 (m, 1H), 4.49 (d, J = 6.2 Hz, 1H), 1.68 - 1.56 (m, 6H), 1.25 (s, 9H).ppm. ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -93.56 (d, J = 5.5 Hz).

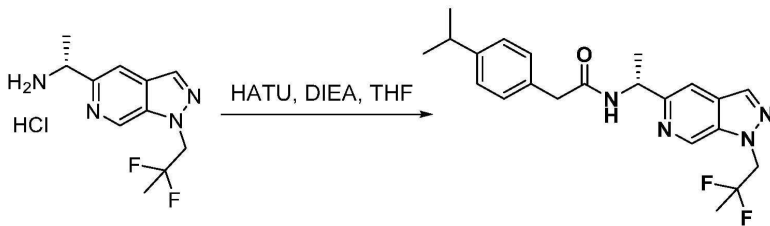
[0526] (R)-1-(1-(2,2-디플루오로프로필)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드의 합성



[0527]

[0528] 디옥산(3.0 mL) 중 (R)-N-((R)-1-(1-(2,2-디플루오로프로필)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)-2-메틸프로판-2-설피아미드(153 mg)의 용액에 4 N HCl-디옥산(1.5 mL)을 첨가하였다. 반응물을 실온에서 30분 동안 교반한 다음, 혼합물을 농축시켜 미정제 (R)-1-(1-(2,2-디플루오로프로필)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드를 제공하고, 이를 다음 단계에 직접 사용하였다. LC/MS ESI (m/z): 241 [M+H]⁺

[0529] (R)-N-(1-(1-(2,2-디플루오로프로필)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)-2-(4-이소프로필페닐)아세트아미드의 합성

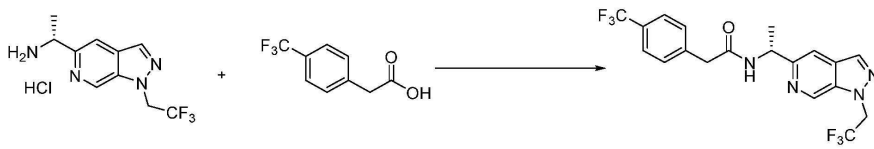


[0530]

[0531] 무수 DMF(3 mL) 중 (R)-1-(1-(2,2-디플루오로프로필)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드(123 mg)의 용액에 DIEA를 첨가하여 용액 A를 제공하였다. 무수 DMF 중 2-(4-이소프로필페닐)아세트산(80.75 mg)의 용액에 HATU(156 mg)를 첨가하고 실온에서 15분 동안 교반하여 용액 B를 제공하였다. 용액 B를 용액 A에 첨가하고 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 이후, 반응물을 EA 및 물로 희석하였다. 2개의 상을 분리하고, 수성 상을 DCM(10 mL x 3)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 [컬럼: YMC-Actus Triart C18 250*21mm; 이동상: H₂O(0.1% FA)와 함께 20% 내지 95% MeCN; 유량: 15 mL/분; 파장: 220 nm/254 nm] 및 SFC(컬럼: ChiralPak IA, 250x21.3mm I.D., 5 μm; 이동상: CO₂의 경우 A 및 MeOH+0.1%NH₃H₂O의 경우 B; 구배: B 40%; 파장: 220 nm)로 정제하여 (R)-N-(1-(1-(2,2-디플루오로프로필)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)-2-(4-이소프로필페닐)아세트아미드(98.6 mg)를 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 401 [M+H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.88 (s, 1H), 8.04 (s, 1H), 7.51 (s, 1H), 7.19 (s, 4H), 6.61 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 5.29-5.22 (m, 1H), 4.78 (t, J = 12.0 Hz, 2H), 3.55-3.54 (m, 2H), 2.94-2.87 (m, 1H), 1.66-1.56 (m, 3H), 1.46 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 1.25 (d, J = 6.9 Hz, 6H); ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -93.56 (s).

[0532] **실시예 15. (R)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)-2-(4-(트리플루오로메틸)페닐)아세트아미드**

[0533] (R)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)-2-(4-(트리플루오로메틸)페닐)아세트아미드의 합성



[0534]

[0535]

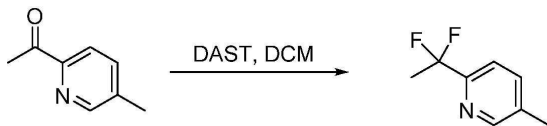
3 mL DMF 중 2-(4-(트리플루오로메틸)페닐)아세트산(96.4 mg) 및 HATU(269.5 mg)의 용액을 실온에서 15분 동안 교반하였다(용액 A). DIEA(0.48 mL)를 습윤 pH 페이퍼에 의해 용액의 pH가 7 초과일 때까지 2 mL DMF 중 (R)-1-[1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일]에탄-1-아민 하이드로클로라이드(실시에 9 참조, 150 mg)에 첨가하였다. 용액 B를 용액 A에 첨가하고, 반응물을 1시간 동안 교반하였고, 이 시간에 LCMS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 반응물을 EA 및 물로 희석하였다. 2개의 상을 분리하고, 수성 상을 DCM(10 mL x 2)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공에서 농축시켰다. 잔류물을 DCM 중 메탄올(0-7%)로 용리시키면서 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 미정제 생성물을 획득하고, 이를 분취-HPLC(컬럼: YMC-Actus Triart C18 250*20mm; 이동상: H₂O(0.1% FA)와 함께 28% 내지 95% MeCN; 유량: 15 mL/분; 파장: 220 nm/254 nm) 및 SFC(컬럼: ChiralPak IA, 250x21.2mm I.D., 5 μm; 이동상: CO₂의 경우 A 및 MeOH+0.1%NH₃H₂O의 경우 B; 구배: B 40%; 유량: 50mL/분; 파장: 210 nm)로 정제하여 N-[(1R)-1-[1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일]에틸]-2-[4-(트리플루오로메틸)페닐]아세트아미드(92.1 mg)를 백색 고체로서 획득하였다. LC/MS ESI (m/z): 431 [M+H]⁺. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8.87 (s, 1H), 8.10 (s, 1H), 7.63 - 7.51 (m, 3H), 7.40 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 6.72 (d, J = 6.9 Hz, 1H), 5.26-5.24 (m, 1H), 5.04 (q, J = 8.3 Hz, 2H), 3.63 (s, 2H), 1.48 (d, J = 6.8 Hz, 3H). ¹⁹F-NMR (377 MHz, CDCl₃): δ -62.54, -70.81.

[0536]

실시에 16. (R)-2-(6-(1,1-디플루오로에틸)피리딘-3-일)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드

[0537]

2-(1,1-디플루오로에틸)-5-메틸피리딘의 합성



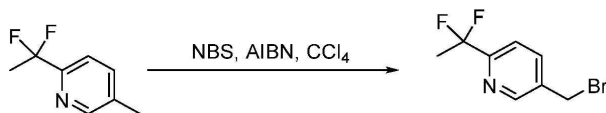
[0538]

[0539]

DCM(30 mL) 중 1-(5-메틸피리딘-2-일)에탄-1-온(2.0 g)의 용액에 DAST(19.6 mL)를 0°C에서 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 48시간 동안 교반하였다. 혼합물을 NaHCO₃ 용액으로 켄칭하였다. 2개의 상을 분리하고, 수성 상을 DCM(10 mL x 3)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 실리카 겔 상에서 크로마토그래피(PE:EA = 1:0 내지 20:1)로 정제하여 2-(1,1-디플루오로에틸)-5-메틸피리딘(1.1 g)을 무색 오일로서 획득하였다. LC/MS ESI (m/z): 158 [M+H]⁺.

[0540]

5-(브로모메틸)-2-(1,1-디플루오로에틸)피리딘의 합성

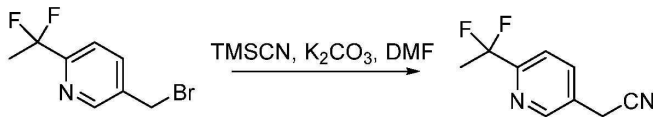


[0541]

[0542]

CCl₄(30 mL) 중 2-(1,1-디플루오로에틸)-5-메틸피리딘(1.02 g)의 용액에 NBS(1.28 g) 및 AIBN(0.048 mL)을 첨가하였다. 반응물을 80°C에서 밤새 교반하였다. 반응물을 여과하고, 여액을 진공에서 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피(PE:EA = 1:0 내지 10:1)로 정제하여 5-(브로모메틸)-2-(1,1-디플루오로에틸)피리딘(780 mg)을 획득하였다. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.65 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 7.85-7.83 (m, 1H), 7.66-7.64 (m, 1H), 4.49 (s, 2H), 2.07-1.97 (m, 3H); LC/MS ESI (m/z): 237 [M+H]⁺.

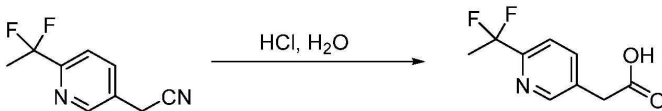
[0543] 2-(6-(1,1-디플루오로에틸)피리딘-3-일)아세트니트릴의 합성



[0544]

[0545] DMF(15 mL) 중 5-(브로모메틸)-2-(1,1-디플루오로에틸)피리딘(780 mg)의 용액에 TMSCN(1.6 mL) 및 K₂CO₃(685 mg)을 첨가하였다. 반응물을 50℃에서 밤새 교반하였다. 반응물을 DCM 및 물로 희석하였다. 2개의 상을 분리하고, 수성 상을 DCM(10 mL x 3)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피(PE:EA = 10:1)로 정제하여 2-[6-(1,1-디플루오로에틸)피리딘-3-일]아세트니트릴(194 mg)을 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 183 [M+H]⁺.

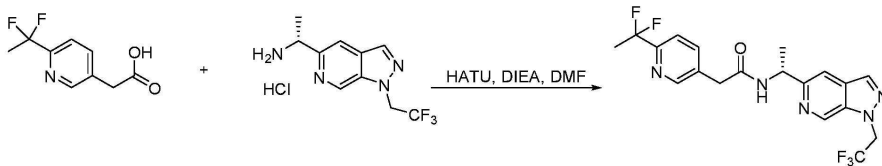
[0546] 2-(6-(1,1-디플루오로에틸)피리딘-3-일)아세트산의 합성



[0547]

[0548] 농축 수성 HCl(3.0 mL) 중 2-[6-(1,1-디플루오로에틸)피리딘-3-일]아세트니트릴(194 mg)의 용액을 100℃에서 2 시간 동안 교반하였다. 혼합물을 물에 첨가하고 EA로 추출하였다. 합한 추출물을 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 2-(6-(1,1-디플루오로에틸)피리딘-3-일)아세트산(110 mg, 미정제)을 백색 고체로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 200 [M-H]⁻.

[0549] (R)-2-(6-(1,1-디플루오로에틸)피리딘-3-일)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드의 합성

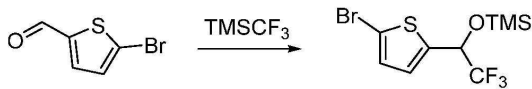


[0550]

[0551] DMF(2.0 mL) 중 2-[6-(1,1-디플루오로에틸)피리딘-3-일]아세트산(110 mg) 및 HATU(312 mg)의 용액을 실온에서 15분 동안 교반하였다. 이후, (R)-1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드(173.6 mg) 및 DIEA(0.542 mL, 3.281)을 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였고, LC/MS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 반응물을 EA 및 물로 희석하고, 2개의 상을 분리하고, 수성 상을 DCM(10 mL x 3)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 분취-HPLC[컬럼: YMC-Actus Triart C18 250*20mm 이동상: H₂O(1% FA)와 함께 15% 내지 95% MeCN; 유량: 15 mL/분; 파장: 220 nm/254 nm] 및 SFC[컬럼: ChiralPak IA, 250x21.3mm I.D., 5 μm; 이동상: CO₂의 경우 A 및 IPA+0.1%NH₃H₂O의 경우 B; 구배: B 40%; 유량: 50 mL/분; 파장: 210 nm]로 정제하여 (R)-2-(6-(1,1-디플루오로에틸)피리딘-3-일)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드(121 mg)를 백색 고체로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 428 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.93 (s, 1H), 8.54 (s, 1H), 8.13 (s, 1H), 7.78 (dd, J = 8.1, 2.1 Hz, 1H), 7.60 (dd, J = 4.2, 3.2 Hz, 2H), 6.96 (t, J = 14.2 Hz, 1H), 5.28-5.24 (m, 1H), 5.07(q, J = 8.3 Hz, 2H), 3.62 (s, 2H), 2.05-1.95 (m, 3H), 1.52 (t, J = 6.3 Hz, 3H). ¹⁹F-NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -70.76, -90.68.

[0552] 실시예 17. (R)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)-2-(5-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)티오펜-2-일)아세트아미드

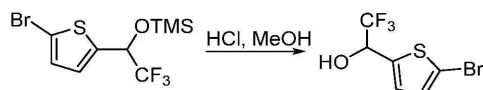
[0553] 단계 1. (1-(5-브로모티오펜-2-일)-2,2,2-트리플루오로에톡시)트리메틸실란의 합성



[0554]

[0555] 1,2-디메톡시에탄(30 mL) 중 5-브로모티오펜-2-카르보알데히드(8.4 mL, 70.7 mmol)의 용액에 (트리플루오로메틸)트리메틸실란(13.7 mL, 91.9 mmol) 및 세슘 플루오라이드(0.26 mL, 7.01 mmol)를 0°C에서 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 3시간 동안 교반하였고, TLC는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 반응 혼합물을 얼음물로 켄칭한 다음 EtOAc로 2회 추출하였다. 합한 추출물을 농축시키고, 잔류물을 실리카 겔 상에서 컬럼 크로마토그래피(PE:EA = 3:1)로 정제하여 (1-(5-브로모티오펜-2-일)-2,2,2-트리플루오로에톡시)트리메틸실란(19.6 g)을 무색 오일로서 수득하였다.

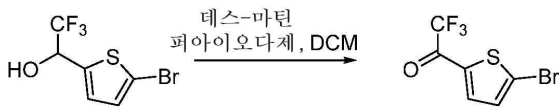
[0556] 단계 2. 1-(5-브로모티오펜-2-일)-2,2,2-트리플루오로에탄-1-올의 합성



[0557]

[0558] MeOH(20 mL) 중 (1-(5-브로모티오펜-2-일)-2,2,2-트리플루오로에톡시)트리메틸실란(19.4 g, 58.2 mmol)의 용액에 HCl(9.7 mL, 116.4 mmol, 12 mol/L)을 0°C에서 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 3시간 동안 교반하였고, TLC는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 반응 혼합물을 얼음물로 켄칭한 다음, EtOAc로 2회 추출하였다. 합한 추출물을 농축시키고, 잔류물을 실리카 겔 상에서 컬럼 크로마토그래피(PE:EA = 5:1)로 정제하여 (1-(5-브로모티오펜-2-일)-2,2,2-트리플루오로에탄-1-올(14.8 g)을 무색 오일로서 수득하였다.

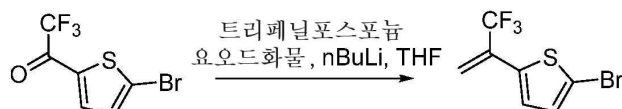
[0559] 단계 3. 1-(5-브로모티오펜-2-일)-2,2,2-트리플루오로에탄-1-온의 합성



[0560]

[0561] CH₂Cl₂(30 mL) 중 1-(5-브로모티오펜-2-일)-2,2,2-트리플루오로에탄-1-올(17.3 g, 66.3 mmol)의 용액에 데스-마틴 피라이오디난(30.9 mL, 99.4 mmol)을 0°C에서 첨가하였다. 혼합물을 실온으로 가온하고 3시간 동안 교반하였다. TLC는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 반응 혼합물을 얼음물로 켄칭한 다음 EtOAc로 2회 추출하였다. 합한 추출물을 농축시키고, 잔류물을 실리카 겔 상에서 컬럼 크로마토그래피(100% PE)로 정제하여 1-(5-브로모티오펜-2-일)-2,2,2-트리플루오로에탄-1-온(10.4 g)을 담황색 오일로서 수득하였다. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7.64 (dd, J = 2.5, 1.3 Hz, 1H), 7.17 - 7.12 (m, 1H); ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃): δ -72.2.

[0562] 단계 4. 2-브로모-5-(3,3,3-트리플루오로프로프-1-엔-2-일)티오펜의 합성

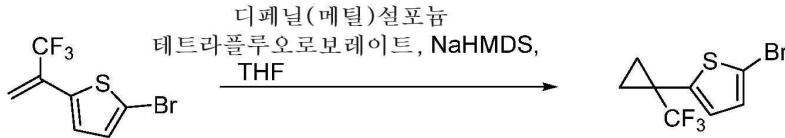


[0563]

[0564] 메틸 트리페닐포스포늄 요오드(1.8 g, 4.6 mmol)를 아르곤 대기 하에 THF(25 mL)에 용해시켰다. 현탁액을 0°C로 냉각시킨 후, n-BuLi(2.5 mL, 2.5 N)을 첨가하였다. 혼합물을 0°C에서 10분 동안 교반한 다음, 반응물을 -78°C로 냉각시켰다. THF(1.0 mL) 중 1-(5-브로모티오펜-2-일)-2,2,2-트리플루오로에탄-1-올(1.0 g, 3.9 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 -78°C에서 30분 동안 교반한 다음, 실온에서 밤새 교반하였다. 반응물을 포화 NH₄Cl로 첨가하고 석유 에테르(10 mL)로 추출하였다. 유기 층을 포화 NaCl로 세척하고, 무수 Na₂SO₄로 건조시키고, 여과하였다. 여액을 농축시키고, 잔류물을 실리카 겔 상에서 컬럼 크로마토그래피(PE:EA = 10:1)로 정제하여 2-브로모-5-

(3,3,3-트리플루오로프로프-1-엔-2-일)티오펜(435 mg)을 무색 오일로서 수득하였다. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7.00-6.98 (m, 1H), 6.96-6.93 (m, 1H), 5.82 (s, 1H), 5.75 (s, 1H). ^{19}F NMR (377 MHz, CDCl_3): δ -65.9.

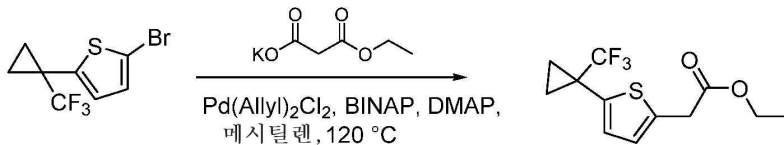
[0565] 단계 5. 2-브로모-5-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)티오펜의 합성



[0566]

[0567] 무수 테트라하이드로푸란(5 mL) 중 2-브로모-5-(3,3,3-트리플루오로프로프-1-엔-2-일)티오펜(200 mg, 0.78 mmol) 및 메틸디페닐설포늄 테트라플루오로보레이트(291 mg, 1.0 mmol)를 함유하는 오븐 건조된 20 mL 바이알에 소듐 비스(트리메틸실릴)아미드(THF 중 1 M, 1.2 mL)를 0°C에서 질소 하에 첨가하였다. 반응 혼합물을 0°C에서 10분 동안 교반한 다음, 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 반응물을 250 μL 의 메탄올로 켄칭하고 미정제 혼합물을 진공에서 농축시켜 잔류물을 수득하고, 이를 자동화 플래쉬 컬럼 크로마토그래피(용리제: EA 중 100 PE% 내지 50% PE)로 정제하여 2-브로모-5-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)티오펜(70 mg)을 무색 오일로서 수득하였다. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 6.90 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H), 6.86 (d, $J = 4.0$ Hz, 1H), 1.42-1.39 (m, 2H), 1.15-1.11 (m, 2H); ^{19}F NMR (377 MHz, CDCl_3): δ -70.4.

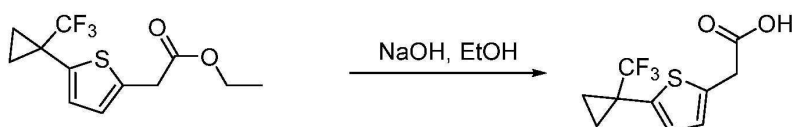
[0568] 단계 6. 에틸 2-(5-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)티오펜-2-일)아세테이트의 합성



[0569]

[0570] 교반 막대가 장착된 Schlenk 튜브를 비우고 질소로 다시 채웠다. $\text{Pd}_2(\text{알릴})_2\text{Cl}_2$ (3.65 mg, 0.01 mmol), BINAP(18.7 mg, 0.03 mmol), DMAP(6.1 mg, 0.05 mmol) 및 에틸 포타슘 말로네이트(128 mg, 0.75 mmol)를 첨가하였다. 이후, 2-브로모-5-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)티오펜(136 mg, 0.5 mmol) 및 메시틸렌(2 mL)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 10분 동안 밀봉된 튜브에서 N_2 하에 교반한 다음, 120°C에서 밤새 가열하였다. 완료시, 반응물을 실온으로 냉각시키고 EA(30 mL)로 희석하였다. 생성된 혼합물을 포화 NaCl로 세척하고 농축시켰다. 잔류물을 플래쉬 컬럼 크로마토그래피(EA 중 5%-10% PE로 용리시킴)로 정제하여 에틸 2-(5-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)티오펜-2-일)아세테이트를 황색 액체(50 mg)로서 수득하였다. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 6.95 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H), 6.78 (d, $J = 4.0$ Hz, 1H), 4.21-4.16 (m, 2H), 3.76 (s, 2H), 1.40-1.37 (m, 2H), 1.28 (t, $J = 6.8$ Hz, 3H), 1.16-1.12 (m, 2H) ppm; ^{19}F NMR(377 MHz, CDCl_3): δ -70.34 ppm.

[0571] 단계 7. 2-(5-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)티오펜-2-일)아세트산의 합성

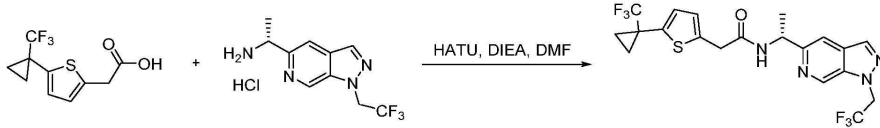


[0572]

[0573] 에탄올(10 mL) 중 에틸 2-(5-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)티오펜-2-일)아세테이트(50 mg, 0.18 mmol)의 혼합물에 NaOH(7.2 mg, 0.18 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 환류 하에 16시간 동안 교반하였다. 실온으로 냉각시킨 후, 1 N 염화수소를 첨가하여 반응물의 pH를 2로 조정하였다. 이후, 반응 혼합물을 에틸 아세테이트(2 x 20 mL)로 추출하고, 합한 추출물을 포화 NaCl로 세척하였다. 유기 상을 농축시켜 2-(5-(1-(트리플루오로메틸)사

이클로프로필)티오펜-2-일)아세트산(40 mg)을 갈색 고체로서 수득하였다. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 6.96 (d, J = 3.6 Hz, 1H), 6.80 (d, J = 3.6 Hz, 1H), 3.82 (s, 2H), 1.41-1.38 (m, 2H), 1.16-1.14 (m, 2H); ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃): δ -70.4.

[0574] 단계 8. (R)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)-2-(5-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)티오펜-2-일)아세트아미드의 합성

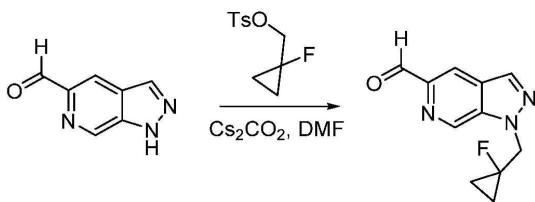


[0575]

[0576] DMF(2.5 mL) 중 2-(5-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)티오펜-2-일)아세트산(158 mg) 및 HATU(360 mg)의 용액을 실온에서 15분 동안 교반하였다. 이후, (R)-1-[1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일]에탄-1-아민 하이드로클로라이드(200 mg) 및 DIEA(0.63 mL)를 첨가하고, 혼합물을 1시간 동안 교반하였다. LC/MS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 반응물을 EA 및 물로 희석하였다. 유기 층을 분리하고, 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공에서 농축시켰다. 잔류물을 분취-HPLC[컬럼: YMC-Actus Triart C18 250*21mm; 이동상: H₂O(0.1% FA)와 함께 30% 내지 95% MeCN; 유량: 15 mL/분; 파장: 220 nm/254 nm] 및 SFC[컬럼: ChiralPak IA, 250x21.3mm I.D., 5 μm; 이동상: CO₂의 경우 A 및 MEOH+0.1%NH₃H₂O의 경우 B; 구배: B 40%; 유량: 50 mL/분; 파장: 210 nm]로 정제하여 (R)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)-2-(5-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)티오펜-2-일)아세트아미드(80.9 mg)를 백색 고체로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 477 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.90 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.60 (s, 1H), 6.97 (d, J = 3.5 Hz, 2H), 6.79 (d, J = 3.5 Hz, 1H), 5.28-5.24 (m, 1H), 5.05 (q, J = 8.3 Hz, 2H), 3.78 - 3.68 (m, 2H), 1.51 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 1.39-1.35 (m, 2H), 1.13-1.11 (m, 2H); ¹⁹F-NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -70.32, -70.81.

[0577] **실시예 18. (R)-N-(1-(1-((1-플루오로사이클로프로필)메틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)-2-(4-이소프로필페닐)아세트아미드**

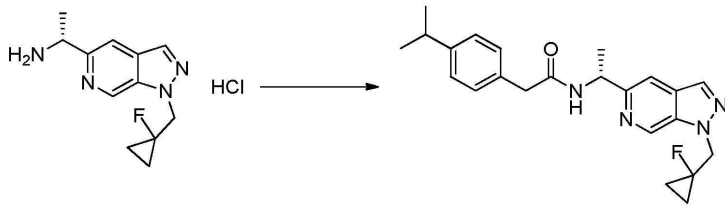
[0578] 1-(1-(1-플루오로사이클로프로필)메틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-카르보알데히드의 합성



[0579]

[0580] 무수 DMF(1.5 mL) 중 1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-카르보알데히드(546 mg)의 용액에 Cs₂CO₃(1.45 g) 및 (1-플루오로사이클로프로필)메틸 4-메틸벤젠설포네이트(1.09 g)를 첨가하고, 반응물을 실온에서 4시간 동안 교반하였다. 반응물을 EA 및 물로 희석하였다. 2개의 상을 분리하고, 수성 상을 DCM(10 mL x 3)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 실리카 겔 컬럼으로 정제하여 1-(1-(1-플루오로사이클로프로필)메틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-카르보알데히드(192 mg)를 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 230 [M+H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 10.23 (s, 1H), 9.18 (d, J = 0.7 Hz, 1H), 8.41 (d, J = 1.1 Hz, 1H), 8.27 (s, 1H), 4.88 (d, J = 21.2 Hz, 2H), 1.29 - 1.10 (m, 2H), 1.05 - 0.91 (m, 2H).

[0581] (R,E)-N-((1-(1-(1-플루오로사이클로프로필)메틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)메틸렌)-2-메틸프로판-2-설피나미드의 합성



[0591]

[0592]

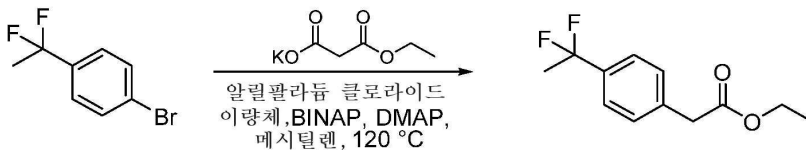
무수 DMF 중 (R)-1-(1-((1-플루오로사이클로프로필)메틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드(170 mg)의 용액에 DIEA(487 mg)를 첨가하여 용액 A를 제공하였다. 무수 DMF 중 2-(4-이소프로필페닐)아세트산(107.8 mg)의 용액에 HATU(252.9 mg)를 첨가하고 실온에서 15분 동안 교반하여 용액 B를 제공하였다. 용액 B를 용액 A에 첨가하고, 생성된 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 이후, 반응물을 EA 및 물로 희석하였다. 2개의 상을 분리하고, 수성 상을 DCM(10 mL x 3)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 분취-HPLC(컬럼: YMC-Actus Triart C18 250*21mm; 이동상: H₂O(1% NH₃H₂O)와 함께 20% 내지 95% MeCN; 유량: 15 mL/분; 파장: 220 nm/254 nm)로 정제하여 (R)-N-(1-(1-((1-플루오로사이클로프로필)메틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)-2-(4-이소프로필페닐)아세트아미드(162.2 mg)를 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 395 [M+H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.95 (s, 1H), 8.03 (s, 1H), 7.54 (s, 1H), 7.19 (s, 4H), 6.74 (d, J = 6.9 Hz, 1H), 5.30-5.23 (m, 1H), 4.80 (d, J = 21.1 Hz, 2H), 3.55 (s, 2H), 2.93-2.86 (m, 1H), 1.49 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 1.24 (d, J = 6.9 Hz, 6H), 1.18-1.13 (m, 2H), 0.95 -0.93 (m, 2H) ppm; ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -183.10 (s).

[0593]

실시예 19. (R)-2-(4-(1,1-디플루오로에틸)페닐)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드

[0594]

단계 1. 에틸 2-(4-(1,1-디플루오로에틸)페닐)아세테이트



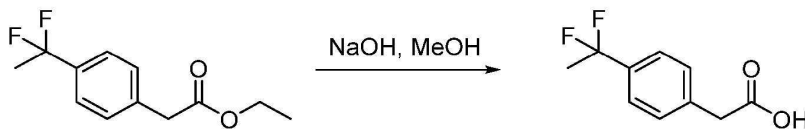
[0595]

[0596]

1,3,5-트리메틸벤젠(10 mL) 중 1-브로모-4-(1,1-디플루오로에틸)벤젠(0.54 mL), 에틸 포타슘 말로네이트(924.0 mg), 알릴팔라듐 클로라이드 이량체(26.5 mg), BINAP(135.2 mg) 및 DMAP(442.2 mg)의 용액을 N₂로 채우고 140°C에서 1시간 동안 교반하였다. 이후, 혼합물을 120°C에서 추가로 12시간 동안 교반하였다. 반응물을 물로 희석하고 EtOAc로 추출하였다. 합한 추출물을 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 실리카 겔 상에서 컬럼 크로마토그래피(PE:EA = 20:1)로 정제하여 에틸 2-[4-(1,1-디플루오로에틸)페닐]아세테이트(180 mg)를 무색 오일로서 수득하였다. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.47 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.34 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 4.20-4.12 (m, 2H), 3.64 (s, 2H), 1.91 (t, J = 18.4 Hz, 3H), 1.26 (t, J = 7.2 Hz, 3H).

[0597]

단계 2. 2-(4-(1,1-디플루오로에틸)페닐)아세트산



[0598]

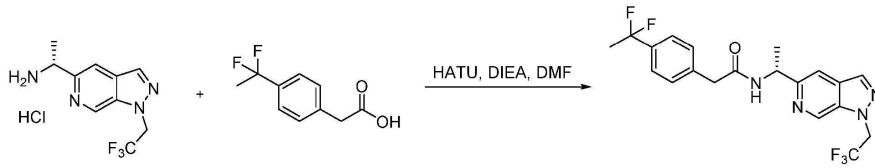
[0599]

MeOH(0.5 mL) 중 에틸 2-[4-(1,1-디플루오로에틸)페닐]아세테이트(150 mg)의 용액에 NaOH(H₂O 중 2 M, 2.0 mL)를 첨가하고, 혼합물을 25°C에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 pH = 3으로 조정하고 EtOAc로 추출하였다. 합한 추출물을 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 2-[4-(1,1-디플루오로에틸)페닐]아세트산(110 mg)을 백색 고체로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 199 [M-H]⁻.

[0600]

단계 3. (R)-2-(4-(1,1-디플루오로에틸)페닐)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-

일)에틸)아세트아미드



[0601]

[0602]

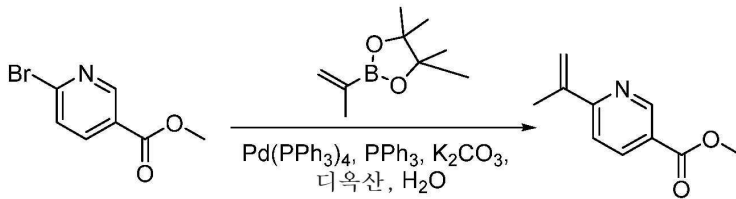
DMF(5.0 mL) 중 (1R)-1-[1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일]에탄-1-아민 하이드로클로라이드(140 mg), 2-[4-(1,1-디플루오로에틸)페닐]아세트산(114.8 mg), HATU(239.8 mg) 및 DIEA(0.28 mL)의 용액을 25℃에서 1시간 동안 교반하였다. 혼합물을 물로 희석하고 DCM으로 추출하였다. 합한 추출물을 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하였다. 잔류물을 분취-HPLC[컬럼: YMC-Actus Triart C18 250*20mm; 이동상: H₂O(0.1% FA)와 함께 25% 내지 95% MeCN; 유량: 15 mL/분; 파장: 220 nm/254 nm]로 정제하여 (R)-2-(4-(1,1-디플루오로에틸)페닐)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드(109.9 mg)를 백색 고체로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 427 (M+H)⁺; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.91 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.59 (s, 1H), 7.46 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.33 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 6.77 (s, 1H), 5.28-5.24 (m, 1H), 5.05 (q, J = 8.4 Hz, 2H), 3.61 (s, 2H), 1.91 (t, J = 18.0 Hz, 3H), 1.50 (d, J = 6.8 Hz, 3H) ppm; ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -70.78, -87.35 ppm.

[0603]

실시예 20. (R)-2-(6-이소프로필피리딘-3-일)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드

[0604]

메틸 6-(프로프-1-엔-2-일)니코티네이트의 합성



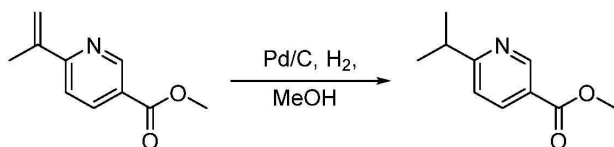
[0605]

[0606]

디옥산/물(20 mL, 9:1) 중 메틸 6-브로모니코티네이트(7.0 g)의 용액에 4,4,5,5-테트라메틸-2-(프로프-1-엔-2-일)-1,3,2-디옥사보롤란(6.1 mL), Pd(PPh₃)₄(0.75 g), PPh₃(1.70 g) 및 K₂CO₃(13.44 g)을 첨가하였다. 혼합물을 N₂로 채우고, 질소 하에 80℃에서 밤새 교반하였고, 이 시점에서 LC/MS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 반응 혼합물을 얼음물로 켄칭한 다음 EtOAc로 2회 추출하였다. 합한 추출물을 농축시키고, 잔류물을 실리카 겔 상에서 컬럼 크로마토그래피(PE:EA = 10:1)로 정제하여 메틸 6-(프로프-1-엔-2-일)니코티네이트(4.9 g)를 백색 고체로서 수득하였다. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.36 - 8.82 (m, 1H), 8.24 (dd, J = 8.3, 2.2 Hz, 1H), 7.54 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.00 (d, J = 0.5 Hz, 1H), 5.53 - 5.02 (m, 1H), 3.94 (s, 3H), 2.23 (d, J = 0.5 Hz, 3H) ppm.

[0607]

메틸 6-이소프로필니코티네이트의 합성



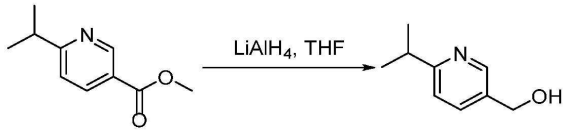
[0608]

[0609]

MeOH(20 mL) 중 메틸 6-(프로프-1-엔-2-일)니코티네이트(2.5 g)의 용액에 10% Pd/C(1.46 mL)를 첨가하였다. 혼합물을 수소 하에 실온에서 2시간 동안 교반하였고, LC/MS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 반응물을 여과하고, 용매를 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 실리카 겔 상에서 컬럼 크로마토그래피(PE:EA = 5:1)로 정제하여 메틸 6-이소프로필니코티네이트(2.0 g)를 무색 오일로서 수득하였다. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 9.01 (d, J =

2.1 Hz, 1H), 8.29 (dd, J = 8.2, 2.1 Hz, 1H), 7.44 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 3.93 (s, 3H), 3.13 (m, 1H), 1.32 (d, J = 6.9 Hz, 6H) ppm.

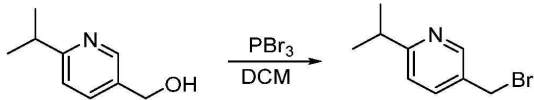
[0610] (6-이소프로필피리딘-3-일)메탄올의 합성



[0611]

[0612] THF(10 mL) 중 메틸 6-이소프로필니코티네이트(1.5 g)의 용액에 LiAlH₄(0.95 g)를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 4시간 동안 교반하였다. LC/MS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 이후, 반응 혼합물을 얼음물로 켄칭하고, EtOAc로 2회 추출하였다. 합한 추출물을 농축시키고, 잔류물을 실리카 겔 상에서 컬럼 크로마토그래피(PE:EA = 1:1)로 정제하여 (6-이소프로필피리딘-3-일)메탄올(1.0 g)을 무색 오일로서 수득하였다. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8.41 (d, J = 1.7 Hz, 1H), 7.63 (dd, J = 8.0, 2.3 Hz, 1H), 7.23 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 5.24 (t, J = 5.7 Hz, 1H), 4.48 (d, J = 5.6 Hz, 2H), 3.05-2.95 (m, 1H), 1.22 (d, J = 6.9 Hz, 6H); LC/MS ESI (m/z): 152 [M+H]⁺.

[0613] 단계 4. 5-(브로모메틸)-2-이소프로필피리딘의 합성



[0614]

[0615] CH₂Cl₂(10 mL) 중 (6-이소프로필피리딘-3-일)메탄올(1.0 g)의 용액에 인 트리브로마이드(1.24 mL)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였고, 이 시점에서 LC/MS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 반응 혼합물을 얼음물로 켄칭한 다음 EtOAc로 2회 추출하였다. 합한 추출물을 농축시키고, 잔류물을 실리카 겔 상에서 컬럼 크로마토그래피(PE:EA = 5:1)로 정제하여 5-(브로모메틸)-2-이소프로필피리딘(1.1 g)을 무색 오일로서 수득하였다. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8.61 - 8.47 (m, 1H), 7.86 - 7.69 (m, 1H), 7.30 (t, J = 11.2 Hz, 1H), 4.72 (s, 2H), 3.12 - 2.90 (m, 1H), 1.22 (d, J = 6.9 Hz, 6H); LC/MS ESI (m/z): 214 [M+H]⁺.

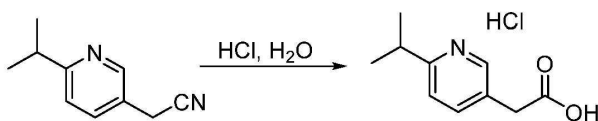
[0616] 단계 5. 2-(6-이소프로필피리딘-3-일)아세토니트릴의 합성



[0617]

[0618] DMF(15 mL) 중 5-(브로모메틸)-2-이소프로필피리딘(1.1 g)의 용액에 KCN(1.67 g)을 첨가하였다. 혼합물을 50°C에서 3시간 동안 교반하였다. LC/MS 및 TLC는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 반응 혼합물을 얼음물로 켄칭한 다음 EtOAc로 2회 추출하였다. 합한 추출물을 농축시키고, 잔류물을 실리카 겔 상에서 컬럼 크로마토그래피(PE:EA = 5:1)로 정제하여 2-(6-이소프로필피리딘-3-일)아세토니트릴(120 mg)을 무색 오일로서 수득하였다. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.49 (d, J = 1.7 Hz, 1H), 7.65 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.23 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 3.74 (s, 2H), 3.21 - 2.91 (m, 1H), 1.31 (d, J = 6.9 Hz, 6H) ppm; LC/MS ESI (m/z): 161 [M+H]⁺.

[0619] 단계 6. 2-(6-이소프로필피리딘-3-일)아세트산 하이드로클로라이드의 합성

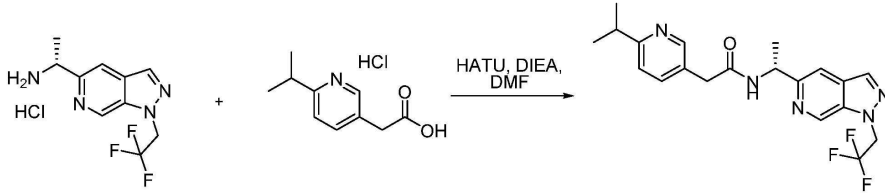


[0620]

[0621] 물(3.0 mL) 중 2-(6-이소프로필피리딘-3-일)아세토니트릴(120 mg)의 용액에 12 N HCl(1.4 g)을 첨가하였다. 혼

합물을 100℃에서 2시간 동안 교반하였고, LC/MS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 반응 혼합물을 얼음물로 킨칭한 다음 EtOAc로 2회 추출하였다. 수상을 증발 건조시켜 2-(6-이소프로필피리딘-3-일)아세트산 하이드로클로라이드(130 mg)를 갈색 고체로서 제공하고, 이를 다음 단계에 사용하였다; LC/MS ESI (m/z): 180 [M+H]⁺.

[0622] 단계 7. (R)-2-(6-이소프로필피리딘-3-일)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드의 합성

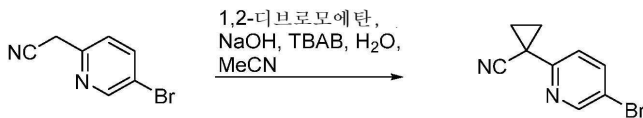


[0623]

[0624] DMF(4.0 mL) 중 (1R)-1-[1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일]에탄-1-아민 하이드로클로라이드(140 mg), 2-(6-이소프로필피리딘-3-일)아세트산 하이드로클로라이드(102.0 mg), HATU(239.8 mg) 및 DIEA(0.28 L)의 용액을 25℃에서 1시간 동안 교반하였다. 혼합물을 물 및 DCM으로 희석하였다. 2개의 상을 분리하고, 수성 상을 DCM(10 mL x 3)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 분취-HPLC[컬럼: YMC-Actus Triart C18 250*21mm 이동상: H₂O(0.1% NH₃H₂O)와 함께 10% 내지 85% MeCN; 유량: 15 mL/분; 파장: 220 nm/254 nm] 및 SFC(컬럼: ChiralPak IA, 250x21.3mm I.D., 5 μm; 이동상: CO₂의 경우 A 및 MeOH+0.1%NH₃H₂O의 경우 B; 구배: B 40%; 파장: 220 nm)로 정제하여 (R)-2-(6-이소프로필피리딘-3-일)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드(67.9 mg)를 백색 고체로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 406 (M+H)⁺; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.87 (s, 1H), 8.50 (s, 1H), 8.09 (s, 1H), 7.81-7.74 (m, 1H), 7.56 (s, 1H), 7.27 (s, 1H), 6.98-6.90 (m, 1H), 5.29-5.22 (m, 1H), 5.11-5.02 (m, 2H), 3.60 (s, 2H), 3.27-3.17 (m, 1H), 1.50 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 1.34-1.32 (m, 6H); ¹⁹F-NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -70.79.

[0625] **실시예 21. (R)-2-(6-(1-(디플루오로메틸)사이클로프로필)피리딘-3-일)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드**

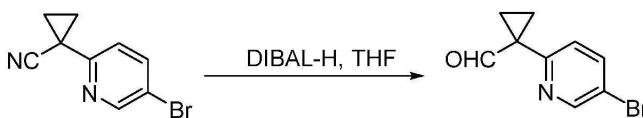
[0626] 단계 1. 1-(5-브로모피리딘-2-일)사이클로프로판-1-카르보니트릴



[0627]

[0628] H₂O(20 mL) 중 NaOH(10.1 g)의 용액에 2-(5-브로모피리딘-2-일)아세트오닐트릴(5.0 g), 1,2-디브로모에탄(2.2 mL), 테트라부틸암모늄 브로마이드(7.9 mL) 및 CH₃CN(80 mL)을 첨가하였다. 혼합물을 25℃에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 물로 희석하고 EtOAc로 추출하였다. 합한 추출물을 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 실리카 겔 상에서 크로마토그래피(PE:EA = 1:0 내지 50:1)로 정제하여 1-(5-브로모피리딘-2-일)사이클로프로판-1-카르보니트릴(4.5 g)을 백색 고체로서 수득하였다. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8.66 - 8.62 (m, 1H), 8.08 (dd, J = 8.4, 2.4 Hz, 1H), 7.51 (dd, J = 8.4, 0.6 Hz, 1H), 1.91 - 1.78 (m, 2H), 1.73 - 1.61 (m, 2H).

[0629] 단계 2. 1-(5-브로모피리딘-2-일)사이클로프로판-1-카르보알데히드



[0630]

[0631] THF(80 mL) 중 1-(5-브로모피리딘-2-일)사이클로프로판-1-카르보니트릴(4.5 g)의 용액에 디이소부틸알루미늄 하

이드라이드(THF 중 1.0 M, 40.3 mL)를 0°C에서 첨가하고, 반응 혼합물을 0°C에서 2시간 동안 교반하였다. 반응물을 MeOH(20 mL) 및 1 N HCl(30 mL)로 퀀칭하고 EtOAc로 추출하였다. 합한 추출물을 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 1-(5-브로모피리딘-2-일)사이클로프로판-1-카르보알데히드(1.8 g)를 황색 오일로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 246 [M+H]⁺.

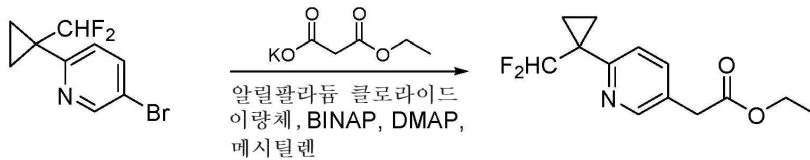
[0632] 단계 3. 5-브로모-2-(1-(디플루오로메틸)사이클로프로필)피리딘



[0633]

DCM(30 mL) 중 1-(5-브로모피리딘-2-일)사이클로프로판-1-카르보알데히드(1.8 g)의 용액에 DAST(3.2 mL)를 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 12시간 동안 교반하였다. 이후, 반응물을 0°C에서 NaHCO₃ 용액으로 퀀칭하고 물로 세척하였다. 유기 층을 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 실리카 겔 상에서 크로마토그래피(PE:EtOAc = 1:0 내지 50:1)로 정제하여 5-브로모-2-[1-(디플루오로메틸)사이클로프로필]피리딘(700 mg)을 무색 오일로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 248 [M+H]⁺.

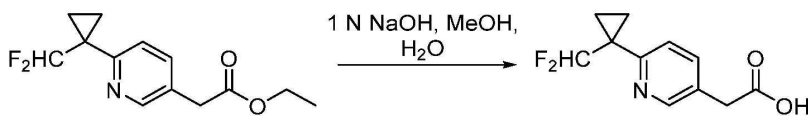
[0635] 단계 4. 에틸 2-(6-(1-(디플루오로메틸)사이클로프로필)피리딘-3-일)아세테이트



[0636]

메시틸렌(10 mL) 중 5-브로모-2-[1-(디플루오로메틸)사이클로프로필]피리딘(700 mg), 1-에틸 3-포타슘 프로판디오에이트(720 mg), 알릴팔라듐 클로라이드 이량체(103.2 mg), BINAP(527.1 mg) 및 DMAP(344.7 mg)의 용액을 N₂로 3회 채우고 140°C에서 1시간 동안 교반하였다. 이후, 혼합물을 120°C에서 추가로 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 크로마토그래피 실리카 겔(PE:EtOAc = 1:0 내지 20:1)로 정제하여 에틸 2-(6-[1-(디플루오로메틸)사이클로프로필]피리딘-3-일)아세테이트(430 mg)를 황색 오일로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 256 [M+H]⁺.

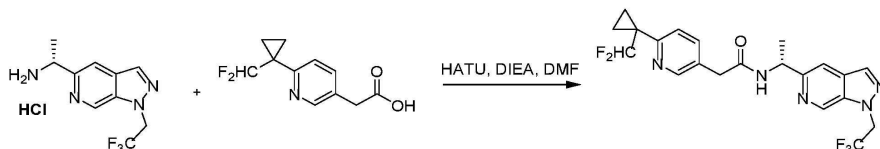
[0638] 단계 5. 2-(6-(1-(디플루오로메틸)사이클로프로필)피리딘-3-일)아세트산



[0639]

MeOH(1.0 mL) 중 에틸 2-(6-[1-(디플루오로메틸)사이클로프로필]피리딘-3-일)아세테이트(430 mg)의 용액에 NaOH(H₂O 중 1 M, 4.0 mL)를 첨가하고, 혼합물을 25°C에서 30분 동안 교반하였다. 이후, 혼합물을 농축시키고, 물로 희석하고 EtOAc로 추출하였다. 수성 상을 1 N 수성 HCl로 pH = 4로 조정하고 다음 동결건조시켜 2-(6-(1-(디플루오로메틸)사이클로프로필)피리딘-3-일)아세트산(230 mg)을 백색 고체로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 226 [M-H]⁻.

[0641] 단계 6. (R)-2-(6-(1-(디플루오로메틸)사이클로프로필)피리딘-3-일)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드

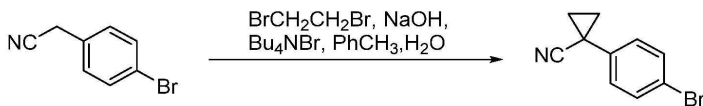


[0642]

[0643] DMF(5 mL) 중 2-(6-(1-(디플루오로메틸)사이클로프로필)피리딘-3-일)아세트산(130 mg), (*R*)-1-[1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-*c*]피리딘-5-일]에탄-1-아민 하이드로클로라이드(153.7 mg), HATU(239.3 mg) 및 DIEA(0.284 mL)의 용액을 25°C에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 물로 희석하고 DCM으로 추출하였다. 합한 추출물을 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 분취-HPLC[컬럼: Shim-pack GIST C18 250*20mm; 이동상: H₂O(0.1% NH₃H₂O)와 함께 10% 내지 95% MeCN; 유량: 15 mL/분; 파장: 220 nm/254 nm]로 정제하여 (*R*)-2-(6-(1-(디플루오로메틸)사이클로프로필)피리딘-3-일)-*N*-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-*c*]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드(89.4 mg)를 백색 고체로서 수득하였다. LC/MS ESI (*m/z*): 454 (*M*+H)⁺; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.90 (s, 1H), 8.43 (s, 1H), 8.11 (s, 1H), 7.62 (dd, *J* = 8.2, 2.3 Hz, 1H), 7.58 (s, 1H), 7.32 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 6.82 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 6.18 (t, *J* = 57.1 Hz, 1H), 5.27-5.24 (m, 1H), 5.06 (q, *J* = 8.3 Hz, 2H), 3.55 (s, 2H), 1.51 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 1.40 - 1.11 (m, 4H); ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -70.80, -119.76.

[0644] **실시예 22. (*R*)-2-(4-(1-(디플루오로메틸)사이클로프로필)페닐)-*N*-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-*c*]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드**

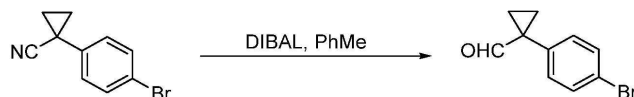
[0645] 1-(4-브로모페닐)사이클로프로판-1-카르보니트릴의 합성



[0646]

[0647] 톨루엔(40 mL) 중 1,2-디브로모에탄(6.17 mL) 및 2-(4-브로모페닐)아세토니트릴(10 g)의 용액을 함유하는 250 mL 둥근 바닥 플라스크에 실온에서 50% 수성 NaOH(40 mL) 및 테트라부틸암모늄 브로마이드(3.17 mL)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 24시간 동안 격렬하게 교반하였다. 이후, 반응물을 450 mL 얼음물 용액에 붓고, 이 용액을 EA(130 mL x 3)로 추출하였다. 합한 추출물을 물(150 mL x 2)로 세척하고, 염수(150 mL)로 세척하고, 최종적으로 무수 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하였다. 용매를 진공 하에 제거하여 미정제 생성물을 제공하고, 이를 실리카 겔 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 1-(4-브로모페닐)사이클로프로판-1-카르보니트릴(7.75 g)을 황색 오일로서 수득하였다. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.51- 7.44 (m, 2H), 7.21- 7.11 (m, 2H), 1.81 - 1.67 (m, 2H), 1.45 - 1.31 (m, 2H) ppm.

[0648] 1-(4-브로모페닐)사이클로프로판-1-카르보알데히드의 합성



[0649]

[0650] THF(30 mL) 중 1-(4-브로모페닐)사이클로프로판-1-카르보니트릴(4.0 g) 및 디이소부틸알루미늄 하이드라이드(36.02 mL)의 혼합물을 0°C에서 1시간 동안 교반하고, 반응 혼합물을 실온으로 가온하였다. 반응이 완료되면, 반응 혼합물을 0°C로 냉각시키고 MeOH로 쉐칭시켰다. 반응물을 15분에 걸쳐 실온으로 천천히 가온시킨 다음, 1 M HCl을 첨가하였다. 반응물을 EA로 추출하고 NaCl 용액으로 세척하였다. 유기 상을 농축시켜 1-(4-브로모페닐)사이클로프로판-1-카르보알데히드를 황색 오일(3.79 g, 미정제)로서 수득하였다. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.16 (s, 1H), 7.51- 7.46 (m, 2H), 7.20- 7.15 (m, 2H), 1.60- 1.56 (m, 2H), 1.41 - 1.37 (m, 2H) ppm.

[0651] 1-브로모-4-(1-(디플루오로메틸)사이클로프로필)벤젠의 합성

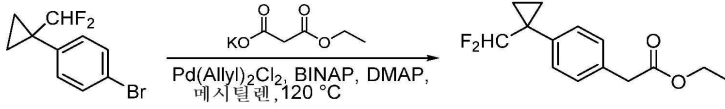


[0652]

[0653] DCM(40 mL) 중 1-(4-브로모페닐)사이클로프로판-1-카르보알데히드(3.79 g)의 용액에 DAST(22 g)를 첨가하고, 반응물을 실온에서 밤새 교반하였다. 반응물을 DCM 및 물로 희석하였다. 2개의 상을 분리하고, 수성 상을 DCM(10

mL x 3)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피(PE:EA = 10:1)로 정제하여 1-브로모-4-[1-(디플루오로메틸)사이클로프로필]벤젠을 황색 오일(2.2g)로서 수득하였다. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.56-7.35 (m, 2H), 7.29-7.26 (m, 2H), 5.58 (t, J = 56.0 Hz, 1H), 1.21-1.07 (m, 2H), 0.99-0.86 (m, 2H) ppm. ¹⁹F-NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -117.06 ppm.

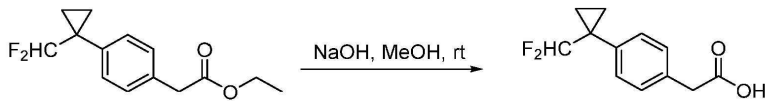
[0654] 에틸 2-(4-(1-(디플루오로메틸)사이클로프로필)페닐)아세테이트의 합성



[0655]

[0656] 메시틸렌(10 mL) 중 1-브로모-4-[1-(디플루오로메틸)사이클로프로필]벤젠(636 mg)의 용액에 디알릴팔라듐 디클로라이드(18.8 mg), BINAP(96.2 mg), DMAP(31.4 mg) 및 에틸 포타슘 말로네이트(657.2 mg)를 첨가하였다. 반응물을 N₂로 3회 채우고 120 °C에서 밤새 교반하였다. 반응물을 EA 및 물로 희석하였다. 2개의 상을 분리하고, 수성 상을 DCM(10 mL x 3)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피(PE:EA = 10:1)로 정제하여 에틸 2-(4-(1-(디플루오로메틸)사이클로프로필)페닐)아세테이트(267 mg)를 황색 오일로서 수득하였다. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.36 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.26-7.20 (m, 2H), 5.64 (t, J = 56.0 Hz, 1H), 4.20-4.10 (m, 2H), 3.60 (s, 2H), 1.26 (t, J = 4.0 Hz, 3H), 1.16-1.12 (m, 2H), 0.98-0.92 (m, 2H) ppm. ¹⁹F-NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -117.51 ppm.

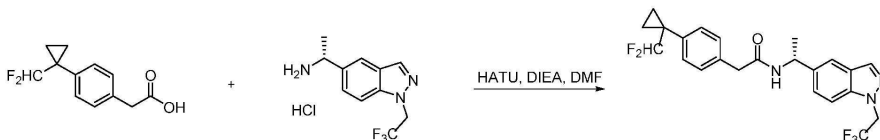
[0657] 2-(4-(1-(디플루오로메틸)사이클로프로필)페닐)아세트산의 합성



[0658]

[0659] 25 mL 둥근 바닥 플라스크에서 에틸 2-(4-(1-(디플루오로메틸)사이클로프로필)페닐)아세테이트(66 mg) 및 1 M 수성 NaOH(2.0 mL) 및 MeOH(2.0 mL)를 조합하여 무색 용액을 제공하였다. 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 이후, 물(20 mL)을 첨가하고 수성 층을 EA로 세척하였다. 수성 층을 1 M 수성 HCl을 사용하여 pH < 3으로 산성화하고, 혼합물을 EA로 추출하였다. 산성 수층으로부터의 합한 EtOAc 추출물을 포화 NaCl로 세척하고, Na₂SO₄로 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 2-(4-(1-(디플루오로메틸)사이클로프로필)페닐)아세트산을 백색 고체(244 mg, 미정제)로서 수득하였다. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.37 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.25 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 5.63 (t, J = 56.0 Hz, 1H), 3.64 (s, 2H), 1.16-1.11 (m, 2H), 0.97 - 0.92 (m, 2H) ppm; ¹⁹F-NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -117.43 ppm.

[0660] (R)-2-(4-(1-(디플루오로메틸)사이클로프로필)페닐)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-인다졸-5-일)에틸)아세트아미드의 합성



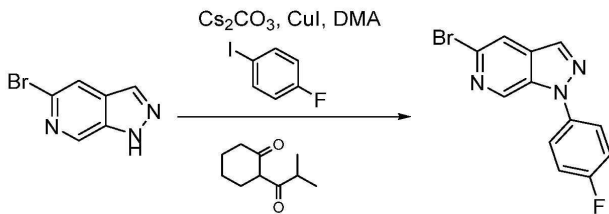
[0661]

[0662] DMF(5.0 mL) 중 2-(4-(1-(디플루오로메틸)사이클로프로필)페닐)아세트산(164 mg) 및 HATU(413.5 mg)의 용액을 실온에서 15분 동안 교반하였다. 이후, (R)-1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-인다졸-5-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드(230.2mg) 및 DIEA(0.72mL)를 첨가하였다. 반응물을 1시간 동안 교반하였고, LC/MS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 반응물을 EA 및 물로 희석하였다. 2개의 상을 분리하고, 수성 상을 DCM(10 mL x 3)으로 추출하였다. 합한 유기 상을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 분취-

HPLC[컬럼: YMC-Actus Triart C18 250*20mm; 이동상: H₂O(0.1% FA)와 함께 25% 내지 95% MeCN; 유량: 15 mL/분; 파장: 220 nm/254 nm]로 정제하여 (R)-2-(4-(1-(디플루오로메틸)사이클로프로필)페닐)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-인다졸-5-일)에틸)아세트아미드(160 mg)를 갈색-황색 고체로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 453 (M+H)⁺; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8.88 (s, 1H), 8.11 (s, 1H), 7.57 (s, 1H), 7.36 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 7.23 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 6.75 (s, 1H), 5.63 (t, J = 57.3 Hz, 1H), 5.26-5.23 (m, 1H), 5.04 (q, J = 8.3 Hz, 2H), 3.57 (s, 2H), 1.49 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 1.14 (dd, J = 6.3, 4.7 Hz, 2H), 0.95 (d, J = 2.1 Hz, 2H); ¹⁹F-NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -70.81, -117.15.

[0663] **실시예 23. (R)-2-(6-사이클로프로필피리딘-3-일)-N-(1-(1-(4-플루오로페닐)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드**

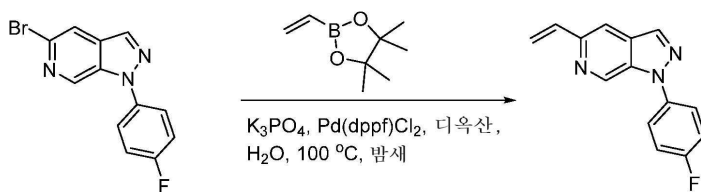
[0664] 5-브로모-1-(4-플루오로페닐)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘의 합성



[0665]

[0666] 30 mL의 DMA 중 5-브로모-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘(4.0 g), 4-플루오로-1-아이오도벤젠(6.95 g), 2-이소부틸릴사이클로헥사논(1.69 mL), CuI(0.77 g) 및 Cs₂CO₃(12.5 g)의 현탁액을 15분 동안 질소로 탈기시켰다. 이후, 반응 혼합물을 100℃로 가온하고 밤새 교반하였다. 이후, 반응 혼합물을 냉각시키고 DCM으로 희석하였다. 유기 상을 1 N 수성 NaOH 및 물로 세척하고, Na₂SO₄로 건조시키고, 농축 건조시켰다. 고체 잔류물을 에테르에 현탁시키고, 30분 동안 교반하고, 여과하여 원하는 생성물 5-브로모-1-(4-플루오로페닐)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘(1.66 g)을 백색 고체로서 수집하였다. LC/MS ESI (m/z): 292 (M+H)⁺; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.93 (s, 1H), 8.24-8.14 (m, 1H), 7.91 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 7.76-7.63 (m, 2H), 7.33-7.27 (m, 2H) ppm; ¹⁹F-NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -113.02.

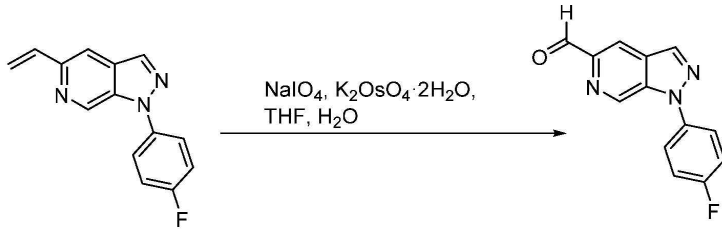
[0667] 1-(4-플루오로페닐)-5-비닐-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘의 합성



[0668]

[0669] 디옥산/물 5:1(100 mL) 중 5-브로모-1-(4-플루오로페닐)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘(2.24 g)의 용액에 2-에테닐-4,4,5,5-테트라메틸-1,3,2-디옥사보롤란(1.95 mL), K₃PO₄(4.07 g), 및 Pd(dppf)Cl₂(0.56 g)를 첨가하였다. 반응물을 N₂(3x)로 채우고 100℃에서 밤새 교반하였다. 반응물을 EA 및 물로 희석하였다. 2개의 상을 분리하고, 수성 상을 DCM(10 mL x 3)으로 추출하였다. 합한 추출물을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 석유 에테르 중 10% 에틸 아세테이트로 용리시키며 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피를 사용하여 정제하여 1-(4-플루오로페닐)-5-비닐-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘(1.21 g)을 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 240 (M+H)⁺; ¹H-NMR: (400 MHz, CDCl₃) δ 9.17 (s, 1H), 8.26 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 7.76-7.65 (m, 3H), 7.32-7.27 (m, 2H), 7.03-6.88 (m, 1H), 6.31 (d, J = 16.0 Hz, 1H), 5.50 (d, J = 12.0 Hz, 1H) ppm.

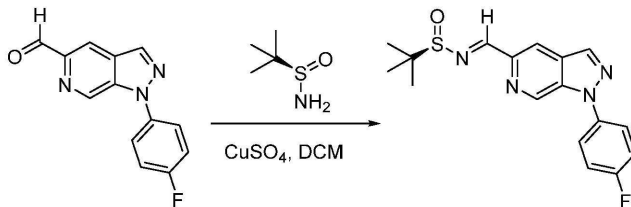
[0670] 1-(4-플루오로페닐)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-카르보알데히드의 합성



[0671]

[0672] THF(80 mL) 및 H₂O(10 mL) 중 1-(4-플루오로페닐)-5-비닐-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘(1.2 g)의 용액에 소듐 퍼아 이오데이트(6.4 g) 및 포타슘 오스메이트 2수화물(0.18 g)을 첨가하였다. 반응물을 실온에서 0.5시간 동안 교반 한 다음, EA 및 물로 희석하였다. 2개의 상을 분리하고, 수성 상을 DCM(10 mL x 3)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 석유 에테르 중 14% 에틸 아세테 이트로 용리시키며 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피를 사용하여 정제하여 1-(4-플루오로페닐)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-카르보알데히드(701 mg)를 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 242(M+H)⁺.

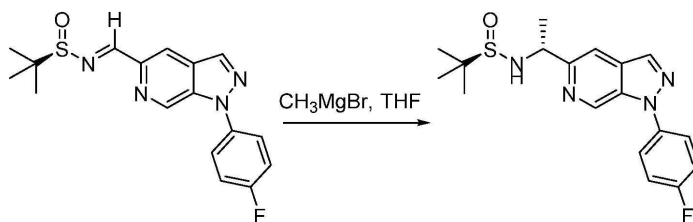
[0673] (R,E)-N-((1-(4-플루오로페닐)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)메틸렌)-2-메틸프로판-2-설펜아미드의 합성



[0674]

[0675] DCM(20 mL) 중 1-(4-플루오로페닐)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-카르보알데히드(700 mg), (R)-(+)-2-메틸-2-프로판설펜아미드(457 mg) 및 CuSO₄(1.4 g)의 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. LC/MS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 반응 혼합물을 DCM 및 물로 희석하였다. 2개의 상을 분리하고, 수성 상을 DCM(10 mL x 3)으로 추출 하였다. 합한 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 실리카 겔 상에서 크로마토그래피(PE:EA = 5:1)로 정제하여 (R,E)-N-((1-(4-플루오로페닐)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)메틸렌)-2-메틸프로판-2-설펜아미드(811 mg)를 수득하였다; LC/MS ESI (m/z): 345 (M+H)⁺.

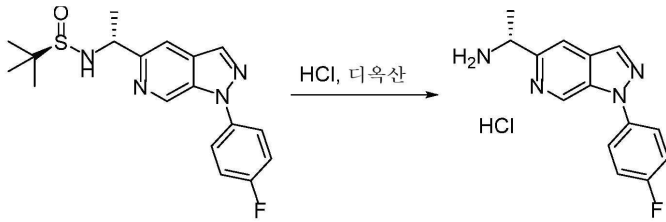
[0676] 단계 5. (R)-N-((R)-1-(1-(4-플루오로페닐)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)-2-메틸프로판-2-설펜아미드의 합성



[0677]

[0678] THF(10 mL) 중 (R,E)-N-((1-(4-플루오로페닐)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)메틸렌)-2-메틸프로판-2-설펜아 미드(300 mg)의 용액에 CH₃MgBr(4.1 mL, Et₂O 중 3.0 M)을 첨가하였다. 반응물을 -78°C에서 2시간 동안 교반하 였다. 반응물을 DCM 및 물로 희석하였다. 2개의 상을 분리하고, 수성 상을 DCM(10 mL x 3)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 실리카 겔 상에서 크로마 토그래피(DCM:MeOH = 15:1)로 정제하여 (R)-N-((R)-1-(1-(4-플루오로페닐)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에 틸)-2-메틸프로판-2-설펜아미드를 황색 고체(602 mg)로서 수득하였다; LC/MS ESI (m/z): 361 (M+H)⁺.

[0679] 단계 6. (R)-1-(1-(4-플루오로페닐)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드의 합성

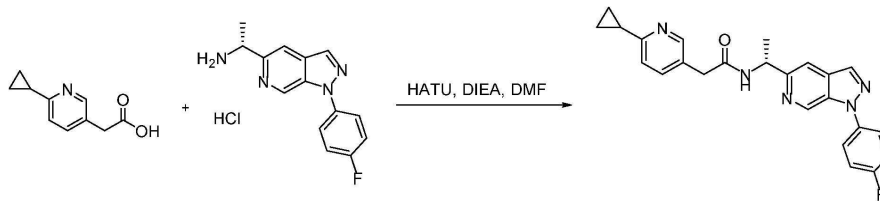


[0680]

[0681] 디옥산(10 mL) 중 (R)-N-((R)-1-(1-(4-플루오로페닐)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)-2-메틸프로판-2-일 펩타미드(602 mg)의 용액에 4 N HCl-디옥산(5.0 mL)을 첨가하고, 반응물을 실온에서 30분 동안 교반하였다. 반응물을 진공에서 증발시켰다. 생성된 고체를 여과하고, EtOAc로 세척한 다음, 진공 하에 건조시켜 (R)-1-(1-(4-플루오로페닐)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드를 백색 고체(545 mg, 미정제)로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 257 (M+H)⁺.

[0682]

단계 7. (R)-2-(6-사이클로프로필피리딘-3-일)-N-(1-(1-(4-플루오로페닐)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드의 합성



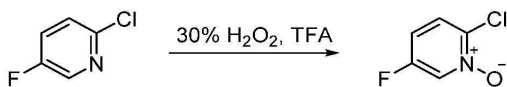
[0683]

[0684] DMF(5.0 mL) 중 2-(6-사이클로프로필피리딘-3-일)아세트산(250 mg, 미정제) 및 HATU(321.9 mg)의 혼합물을 실온에서 15분 동안 교반하였다. 이후, (R)-1-(1-(4-플루오로페닐)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드(205.4 mg, 미정제) 및 DIEA(0.56 mL)를 용액의 pH가 pH 페이퍼를 사용하여 7 초과일 때까지 첨가하였다. 1시간 동안 교반한 후, LC/MS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 반응물을 EA 및 물로 희석하고, 2개의 상을 분리하였다. 수성 상을 DCM(10 mL x 3)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하였다. 잔류물을 CH₃CN에서 침전시키고 CH₃CN으로 세척하여 149.8 mg의 생성물을 백색 고체로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 416 (M+H)⁺. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.07 (s, 1H), 8.34 (s, 1H), 8.20 (s, 1H), 7.74 -7.67(m, 2H), 7.58-7.50 (m, 2H), 7.33 - 7.26 (m, 2H), 7.10 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.74 (d, J = 7.0 Hz, 1H), 5.35 - 5.17 (m, 1H), 3.53 (s, 2H), 2.11 - 2.02 (m, 1H), 1.49 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 1.04 - 0.97 (m, 4H). ¹⁹F-NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -113.66.

[0685] **실시예 24. (R)-2-(4-사이클로프로필페닐)-N-(1-(3-(2,2,2-트리플루오로에틸)-3H-[1,2,3]트리아졸로[4,5-c]피리딘-6-일)에틸)아세트아미드**

[0686]

2-클로로-5-플루오로피리딘 1-옥사이드의 합성



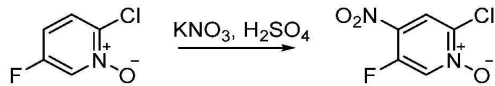
[0687]

[0688] 30% H₂O₂(96 mL) 중 2-클로로-5-플루오로피리딘(19.28 mL)의 용액에 TFA(175 mL)를 첨가하고, 반응물을 70°C에서 밤새 교반하였다. 반응물을 진공에서 농축시키고 톨루엔으로 희석하였다. 이후, 반응 용액을 다시 진공에서 농축시키고 DCM 및 물로 희석하였다. 2개의 상을 분리하고, 수성 상을 DCM(10 mL x 3)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 2-클로로-5-플루오로피리딘 1-옥사이드(26.2 g)를 미정제 생성물로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 148 [M+H]⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.35 - 8.28 (m, 1H),

7.52 - 7.43 (m, 1H), 7.11 - 7.01 (m, 1H) ppm.

[0689]

2-클로로-5-플루오로-4-니트로피리딘 1-옥사이드의 합성



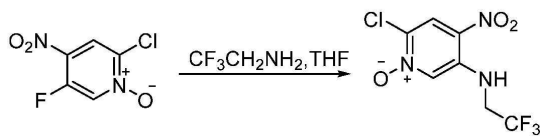
[0690]

[0691]

H₂SO₄(102 mL) 중 2-클로로-5-플루오로피리딘 1-옥사이드(10 g)의 용액에 KNO₃(27.4 g)를 실온에서 천천히 첨가하였다. 반응물을 질소 하에 110℃에서 16시간 동안 교반하였다. 반응물을 0℃에서 얼음에 붓고, 빙욕으로 온도를 15℃ 미만으로 유지하면서 30% 암모늄 하이드록사이드를 적가하여 중화시켰다. 침전된 담황색 결정을 여과에 의해 수집하였다. 이후, 침전물을 실리카 겔 상에서 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 2-클로로-5-플루오로-4-니트로피리딘 1-옥사이드(1.6 g)를 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 193 [M+H]⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.41 (d, J = 5.7 Hz, 1H), 8.31 (d, J = 8.4 Hz, 1H).

[0692]

2-클로로-4-니트로-5-((2,2,2-트리플루오로에틸)아미노)피리딘 1-옥사이드의 합성



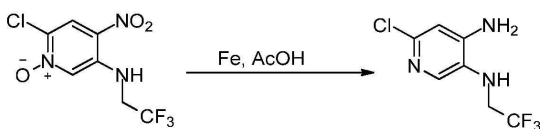
[0693]

[0694]

THF(24 mL) 중 2-클로로-5-플루오로-4-니트로피리딘 1-옥사이드(1.89 g)의 용액에 2,2,2-트리플루오로에탄-1-아민(1.568 mL)을 첨가하고, 반응물을 실온에서 밤새 교반하였다. 이후, 반응물을 DCM 및 물로 희석하였다. 2개의 상을 분리하고, 수성 상을 DCM(10 mL x 3)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 고진공 하에 추가로 농축시켜 2-클로로-4-니트로-5-((2,2,2-트리플루오로에틸)아미노)피리딘 1-옥사이드(2.1 g)를 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 272 [M+H]⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8.33 (s, 1H), 8.16 (s, 1H), 7.98 (brs, 1H), 3.98 - 3.87 (m, 2H).

[0695]

6-클로로-N³-(2,2,2-트리플루오로에틸)피리딘-3,4-디아민의 합성



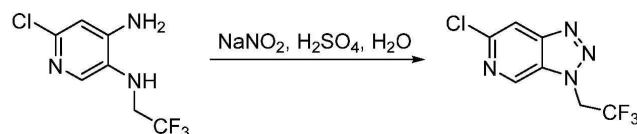
[0696]

[0697]

빙초산(21 mL) 중 2-클로로-4-니트로-5-((2,2,2-트리플루오로에틸)아미노)피리딘 1-옥사이드(2.0 g)의 용액에 Fe(0.209 mL)를 0℃에서 천천히 첨가하였다. 반응물을 실온에서 1시간 동안 교반하고, 반응물을 EA 및 물로 희석하였다. 2개의 상을 분리하고, 수성 상을 DCM(10 mL x 3)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 진공에서 농축시켜 6-클로로-N³-(2,2,2-트리플루오로에틸)피리딘-3,4-디아민(2.28 g, 미정제)을 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 226 [M+H]⁺.

[0698]

6-클로로-3-(2,2,2-트리플루오로에틸)-3H-[1,2,3]트리아졸로[4,5-c]피리딘의 합성



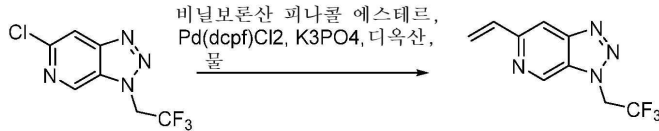
[0699]

[0700]

30 mL의 물 중 6-클로로-N³-(2,2,2-트리플루오로에틸)피리딘-3,4-디아민(2.67 g) 및 H₂SO₄(1.8 mL)의 용액에 물(17 mL) 중 NaNO₂(1.63 g)를 0℃에서 질소 하에 천천히 첨가하였다. 반응 혼합물을 0℃에서 4시간 동안 교반한 다음, 반응물을 포화 NaHCO₃로 pH 8로 중화시켰다. 생성된 고체를 수집하고 실리카 겔 컬럼에 의해 정제하여 6-

클로로-3-(2,2,2-트리플루오로에틸)-3H-[1,2,3]트리아졸로[4,5-c]피리딘(872 mg)을 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 237 [M+H]⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.96 (s, 1H), 8.06 (s, 1H), 5.38 - 5.32 (m, 2H). ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -70.30 (s).

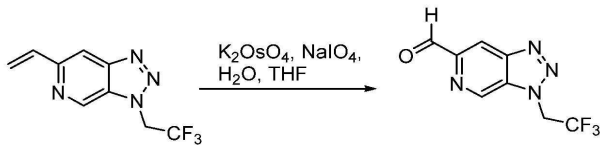
[0701] 3-(2,2,2-트리플루오로에틸)-6-비닐-3H-[1,2,3]트리아졸로[4,5-c]피리딘의 합성



[0702]

[0703] 디옥산-물(25 mL) 중 6-클로로-3-(2,2,2-트리플루오로에틸)-3H-[1,2,3]트리아졸로[4,5-c]피리딘(872 mg)의 용액에 비닐보론산 피나콜 에스테르(149.55 mg), K₃PO₄(1.9 g) 및 Pd(dcpf)Cl₂(276.38 mg)를 첨가하였다. 반응물을 N₂로 채우고 질소 하에 100°C에서 밤새 교반하였다. 반응물을 EA 및 물로 희석하고 셀라이트를 통해 여과하였다. 2개의 상을 분리하고, 수성 상을 DCM(10 mL x 3)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 3-(2,2,2-트리플루오로에틸)-6-비닐-3H-[1,2,3]트리아졸로[4,5-c]피리딘(807 mg)을 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 229 [M+H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.12 (s, 1H), 7.93 (d, J = 0.9 Hz, 1H), 7.01 - 6.94 (m, 1H), 6.38 - 6.33 (m, 1H), 5.57 - 5.54 (m, 1H), 5.38 - 5.32 (m, 2H).

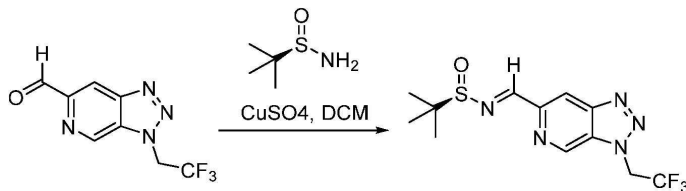
[0704] 3-(2,2,2-트리플루오로에틸)-3H-[1,2,3]트리아졸로[4,5-c]피리딘-6-카르브알데히드의 합성



[0705]

[0706] THF-물(8:1, 30 mL) 중 3-(2,2,2-트리플루오로에틸)-6-비닐-3H-[1,2,3]트리아졸로[4,5-c]피리딘(802 mg)의 용액에 NaIO₄(4.5 g) 및 포타슘 오스메이트(1.3 g)를 첨가하고, 반응물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 반응물을 셀라이트를 통해 여과하고 DCM 및 물로 희석하였다. 2개의 상을 분리하고, 수성 상을 DCM(10 mL x 3)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 3-(2,2,2-트리플루오로에틸)-3H-[1,2,3]트리아졸로[4,5-c]피리딘-6-카르브알데히드(584 mg)를 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 231 [M+H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 10.29 (s, 1H), 9.29 (s, 1H), 8.72 (s, 1H), 5.46 - 5.40 (m, 2H).

[0707] (R,E)-2-메틸-N-((3-(2,2,2-트리플루오로에틸)-3H-[1,2,3]트리아졸로[4,5-c]피리딘-6-일)메틸렌)프로판-2-설피나미드의 합성

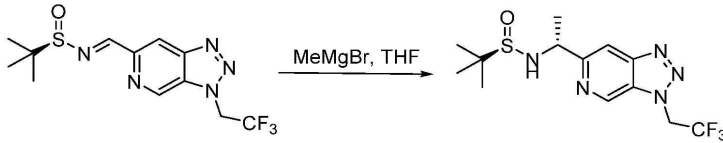


[0708]

[0709] 무수 DCM(15 mL) 중 3-(2,2,2-트리플루오로에틸)-3H-[1,2,3]트리아졸로[4,5-c]피리딘-6-카르브알데히드(584 mg)의 용액에 CuSO₄(1.2 g) 및 (R)-2-메틸프로판-2-설피나미드(399.8 mg)를 첨가하였다. 반응물을 실온에서 밤새 교반하였다. 용액을 셀라이트의 패드를 통해 여과하고 여액을 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 컬럼으로 정제하여 (R,E)-2-메틸-N-((3-(2,2,2-트리플루오로에틸)-3H-[1,2,3]트리아졸로[4,5-c]피리딘-6-일)메틸렌)프로판-2-설피나미드(840 mg)를 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 334 [M+H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.26 (s,

1H), 8.90 (s, 1H), 8.74 (d, J = 0.8 Hz, 1H), 5.45 - 5.36 (m, 2H), 1.32 (s, 9H).

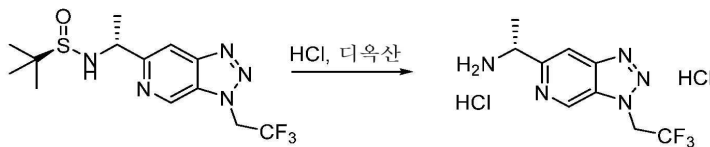
[0710] (R)-2-메틸-N-((R)-1-(3-(2,2,2-트리플루오로에틸)-3H-[1,2,3]트리아졸로[4,5-c]피리딘-6-일)에틸)프로판-2-설펜아미드의 합성



[0711]

[0712] 무수 THF(26 mL) 중 (R,E)-2-메틸-N-((3-(2,2,2-트리플루오로에틸)-3H-[1,2,3]트리아졸로[4,5-c]피리딘-6-일)메틸렌)프로판-2-설펜아미드의 용액에 MeMgBr(4.20 mL, 에테르 중 3.0 M)을 질소 하에 -78°C에서 적가하였다. 반응물을 -78°C에서 2시간 동안 교반하였다. 이후, 반응 용액을 수성 NH₄Cl로 켄칭하고 EA로 추출하였다. 합한 추출물을 분리하고, 염수로 세척하고, 진공에서 농축시켰다. 이후, 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 (R)-2-메틸-N-((R)-1-(3-(2,2,2-트리플루오로에틸)-3H-[1,2,3]트리아졸로[4,5-c]피리딘-6-일)에틸)프로판-2-설펜아미드(690 mg)를 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 350 [M+H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.12 (s, 1H), 7.98 (d, J = 0.7 Hz, 1H), 5.43 - 5.31 (m, 2H), 4.80 - 4.72 (m, 1H), 4.51 (d, J = 6.7 Hz, 1H), 1.61 (d, J = 6.7 Hz, 3H), 1.25 (s, 9H).

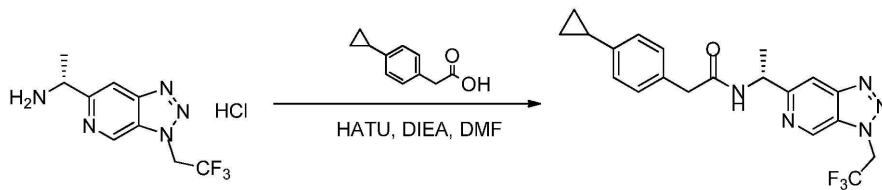
[0713] (R)-1-(3-(2,2,2-트리플루오로에틸)-3H-[1,2,3]트리아졸로[4,5-c]피리딘-6-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드의 합성



[0714]

[0715] 디옥산(6.0 mL) 중 (R)-2-메틸-N-((R)-1-(3-(2,2,2-트리플루오로에틸)-3H-[1,2,3]트리아졸로[4,5-c]피리딘-6-일)에틸)프로판-2-설펜아미드(680 mg)의 용액에 4 N HCl-디옥산(2.0 mL)을 첨가하고, 반응물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 이후, 혼합물을 진공에서 농축시키고 다음 단계에 직접 사용하였다. LC/MS ESI (m/z): 246 [M+H]⁺.

[0716] (R)-2-(4-사이클로프로필페닐)-N-(1-(3-(2,2,2-트리플루오로에틸)-3H-[1,2,3]트리아졸로[4,5-c]피리딘-6-일)에틸)아세트아미드(N201201-361)의 합성



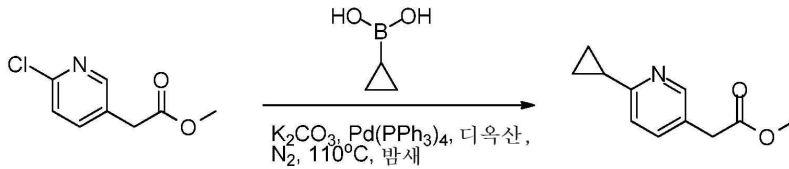
[0717]

[0718] 무수 DMF 중 (R)-1-[3-(2,2,2-트리플루오로에틸)-3H-[1,2,3]트리아졸로[4,5-c]피리딘-6-일]에탄-1-아민 하이드로클로라이드(150 mg)의 용액에 DIEA(0.607 mL)를 첨가하여 용액 A를 제공하였다. DMF(1 mL) 중 2-(4-사이클로프로필페닐)아세트산(129.3 mg)의 용액에 HATU(255.85 mg)를 첨가하고 실온에서 15분 동안 교반하여 용액 B를 제공하였다. 용액 B를 용액 A에 첨가하고, 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 반응물을 EA 및 물로 희석하였다. 2개의 상을 분리하고, 수성 상을 DCM(10 mL x 3)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na₂SO₄로 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 분취-HPLC[컬럼: YMC-Actus Triart C18 250*21mm; 이동상: H₂O(1% NH₃H₂O)와 함께 20% 내지 95% MeCN; 유량: 15 mL/분; 파장: 220 nm/254 nm] 및 SFC[컬럼: ChiralPak IA, 250x21.3mm I.D., 5 μm; 이동상: CO₂의 경우 A 및 MeOH+0.1%NH₃H₂O의 경우 B; 구배: B 35%; 파장: 220 nm]로 정제하여 (R)-2-(4-사이클로프로필페닐)-N-(1-(3-(2,2,2-트리플루오로에틸)-3H-[1,2,3]트리아졸로[4,5-c]피리딘-

6-일)에틸)아세트아미드(89.3mg)를 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 404 [M+H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 9.06 (s, 1H), 7.90 (s, 1H), 7.16 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 7.05 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 6.48 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 5.37 - 5.31 (m, 3H), 3.56 (s, 2H), 1.92-1.86 (m, 1H), 1.48 (d, J = 6.9 Hz, 3H), 0.98-0.96 (m, 2H), 0.70-0.68 (m, 2H) ppm; ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -70.30 (s).

[0719] **실시예 25. (R)-2-(6-사이클로프로필피리딘-3-일)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드**

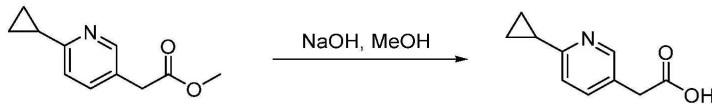
[0720] 에틸 2-(6-사이클로프로필피리딘-3-일)아세테이트의 합성



[0721]

[0722] 디옥산(40 mL) 중 에틸 2-(6-클로로피리딘-3-일)아세테이트(1.5 g), 사이클로프로필보론산(1.94 g) 및 포타슘 카르보네이트(1.04 g)의 용액에 Pd(PPh₃)₄(0.87 g)를 첨가하고, 혼합물을 N₂로 3회 채우고 110°C에서 밤새 교반 하였다. 실온으로 냉각시킨 후, 반응물을 EA(30 mL) 및 물(40 mL)로 희석하고, 2개의 층을 분리하였다. 이후, 수성 층을 EA(30 mL)로 추출하였다. 합한 유기 층을 물 및 염수(각각 40 mL)로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 미정제 생성물을 실리카 겔 크로마토그래피(5-18% EA/PE)로 정제하여 에틸 2-(6-사이클로프로필피리딘-3-일)아세테이트(1.21 g)를 무색 오일로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 192 (M+H)⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.33 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 7.51-7.48 (m, 1H), 7.09 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 3.70 (s, 3H), 3.57 (s, 2H), 2.06-2.01 (m, 1H), 1.05 - 0.92 (m, 4H).

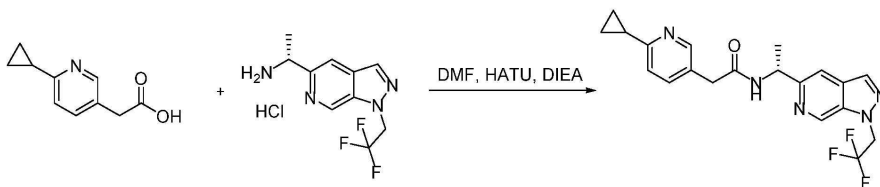
[0723] 2-(6-사이클로프로필피리딘-3-일)아세트산의 합성



[0724]

[0725] 250 mL 둥근 바닥 플라스크에 메틸 2-(6-사이클로프로필피리딘-3-일)아세테이트(1.2 g) 및 50 mL의 MeOH를 첨가 하였다. 수성 NaOH(1 N, 50 mL)를 혼합물에 첨가하여 무색 용액을 생성하였다. 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하고, 수성 층을 EA로 추출하였다. 수성 층을 1 N 수성 HCl을 사용하여 pH < 3으로 산성화시켰다. 이후, 수성 상을 EA로 추출하였다. 산성화된 수성 상으로부터의 EtOAc 추출물을 포화 NaCl 용액으로 세척하고, 여과하고, 농축시켜 2-(6-사이클로프로필피리딘-3-일)아세트산을 백색 고체(2.31 g, 미정제)로서 수득하였다.

[0726] (R)-2-(6-사이클로프로필피리딘-3-일)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드의 합성



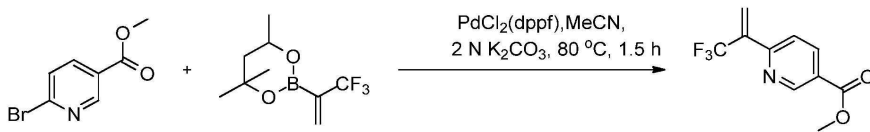
[0727]

[0728] DMF(5.0 mL) 중 2-(6-사이클로프로필피리딘-3-일)아세트산(250 mg, 미정제) 및 HATU(321.9 mg)의 용액을 실온에서 15분 동안 교반하였다. 이후, (R)-1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드(179.2 mg) 및 DIEA(0.56 mL)을 첨가하였다. 혼합물을 1시간 동안 교반하였고, LC/MS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 반응물을 EA 및 물로 희석하였다. 2개의 상을 분리하고, 수성 상을 DCM(10 mL x 2)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공에서 농축시켜 잔류물을 제공하

고, 이를 분취-HPLC[컬럼: YMC-Actus Triart C18 250*20mm; 이동상: H₂O(1% NH₃·H₂O)와 함께 10% 내지 95% MeCN; 유량: 15 mL/분; 파장: 220 nm/254 nm]로 정제하여 (R)-2-(6-사이클로프로필피리딘-3-일)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드(141.8 mg)를 백색 고체로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 404 (M+H)⁺; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8.86 (s, 1H), 8.38 (s, 1H), 8.08 (s, 1H), 7.64 (s, 1H), 7.54 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 7.10 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.84 (s, 1H), 5.32-5.20 (m, 1H), 5.14-4.95 (m, 2H), 3.65-3.47(m, 2H), 2.17 (s, 1H), 1.49 (d, J = 8.0 Hz, 3H), 1.11-1.01 (m, 4H); ¹⁹F-NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -70.78.

[0729] **실시예 26. (R)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)-2-(6-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)티오펜-3-일)아세트아미드**

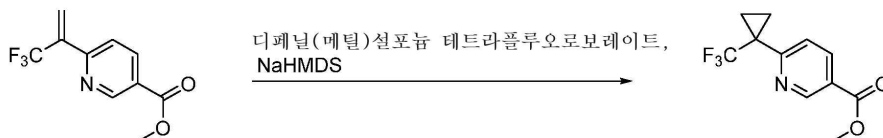
[0730] 메틸 6-(3,3,3-트리플루오로프로프-1-엔-2-일)니코티네이트의 합성



[0731]

[0732] 아세트니트릴(104 mL) 중 메틸 6-브로모니코티네이트(5.47 g), 4,4,6-트리메틸-2-(3,3,3-트리플루오로프로프-1-엔-2-일)-1,3,2-디옥사보리란(7.87 g), PdCl₂(dppf)(1.85 g), K₂CO₃(26.8 mL의 물 중 2 M)의 혼합물을 N₂로 3회 채우고 80 °C에서 90분 동안 가열하였다. LC/MS는 원하는 생성물의 형성을 나타내었다. 반응 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 물과 에틸 아세테이트 사이에서 분배시켰다. 2개의 상을 분리하고, 수성 상을 DCM(10 mL x 3)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피(0-20% 에틸 아세테이트/PE)로 정제하여 메틸 6-(3,3,3-트리플루오로프로프-1-엔-2-일)니코티네이트를 무색 오일(3.6 g)로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 232 [M+H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 9.22 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 8.75-8.74 (m, 1H), 8.34-8.31 (m, 1H), 8.25 (d, J = 1.2 Hz, 1H), 7.58 (d, J = 11.6 Hz, 1H), 3.97 (s, 3H); ¹⁹F NMR (376.48 MHz, CDCl₃): -63.98 ppm.

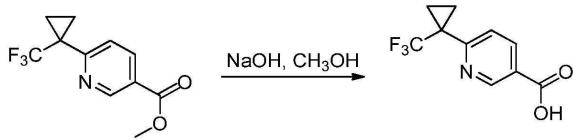
[0733] 메틸 6-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)니코티네이트의 합성



[0734]

[0735] 무수 테트라하이드로푸란(30 mL) 중 메틸 6-(3,3,3-트리플루오로프로프-1-엔-2-일)니코티네이트(2.47 g) 및 메틸디페닐설포늄 테트라플루오로보레이트(4.0 g)의 현탁액에 소듐 비스(트리메틸실릴)아미드(THF 중 2 M)를 질소 하에 0 °C에서 첨가하였다. 반응 혼합물을 0 °C에서 10분 동안 교반한 다음, 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 메탄올(250 μL)을 첨가하여 반응을 퀸칭시켰다. 미정제 혼합물을 진공에서 농축시켜 잔류물을 수득하고, 이를 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피(PE 중 10% EA)로 정제하여 메틸 6-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)니코티네이트를 백색 고체(1.3 mg)로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 246 [M+H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 9.09 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 8.26-8.23 (m, 1H), 7.64 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 3.95 (s, 3H), 1.54-1.53 (m, 2H), 1.50-1.49 (m, 2H) ppm; ¹⁹F NMR (376.48 MHz, CDCl₃): δ -67 ppm.

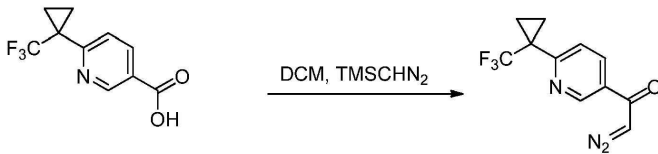
[0736] 6-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)니코틴산의 합성



[0737]

[0738] MeOH(20 mL) 중 메틸 6-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)니코티네이트(345 mg)의 용액에 4.0 mL의 NaOH(2.0 M)를 첨가하였다. 혼합물을 65°C에서 2시간 동안 교반하였고, TLC는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 용매를 진공에서 농축시키고, 반응 혼합물의 pH를 1 N HCl을 사용하여 2 내지 3으로 조정하였다. 반응물을 EA(50 mL)로 추출하고, 염수로 세척하고, 무수 Na₂SO₄로 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 6-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)니코틴산을 백색 고체(300 mg)로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 232 [M+H]⁺.

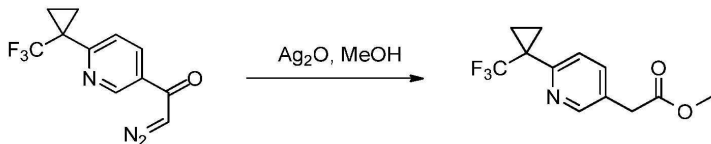
[0739] 2-디아조-1-(6-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)피리딘-3-일)에타논의 합성



[0740]

[0741] DCM(10 mL) 중 6-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)니코틴산(300 mg)을 0°C로 냉각시켰다. 옥살리 클로라이드(1.1 mL) 및 DMF(2 방울)를 첨가하고 생성된 용액을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 이후, 휘발성 물질을 진공 하에 제거하였다. 잔류물을 DCM(10 mL)에 재용해시키고 0°C로 냉각시켰다. TMSCHN₂(1.28 mL, 헥산 중 2 M 용액) 및 TEA(0.33 mL)를 천천히 첨가하고, 생성된 용액을 5°C에서 12시간 동안 유지하였다. 이후, 반응물을 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켜 2-디아조-1-(6-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)피리딘-3-일)에타논을 갈색 잔류물로서 제공하고, 이를 다음 단계에 직접 사용하였다. LC/MS ESI (m/z): 256 [M+H]⁺.

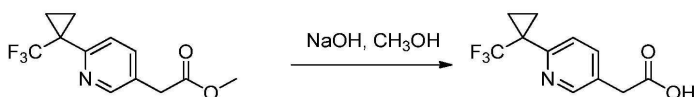
[0742] 단계 5. 메틸 2-(6-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)피리딘-3-일)아세테이트의 합성



[0743]

[0744] 메탄올(20 mL) 중 2-디아조-1-(6-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)피리딘-3-일)에타논(600 mg, 미정제)의 혼합물에 Ag₂O(175 mg)를 첨가하였다. 반응물을 2시간 동안 65°C에서 교반하였다. TLC는 미량의 생성물이 형성되었음을 나타내었고, 추가로 142 mg의 Ag₂O를 첨가하였다. 혼합물을 65°C에서 추가로 2시간 동안 교반하였다. 반응물을 진공 하에 농축시키고, 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피(PE 중 10% EA-20% EA)로 정제하여 메틸 2-(6-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)피리딘-3-일)아세테이트를 황색 오일(100 mg)로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 260 [M+H]⁺.

[0745] 단계 6. 2-(6-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)피리딘-3-일)아세트산의 합성



[0746]

[0747] MeOH(10 mL) 중 메틸 2-(6-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)피리딘-3-일)아세테이트(100 mg)의 용액에 2.0 mL의 NaOH(2.0 M)를 첨가하였다. 혼합물을 65°C에서 2시간 동안 교반하였다. 완료 후, 반응물을 감압 하에 제거하고, 반응물의 pH를 1 N HCl에 의해 pH를 2-3으로 조정하였다. 반응 혼합물을 EA(50 mL x 3)로 추출하였다. 합한 추출물을 염수로 세척하고, 무수 Na₂SO₄로 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 2-(6-(1-(트리플루오로메틸)사이

클로프로필)피리딘-3-일)아세트산을 백색 고체(70 mg)로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 246 [M+H]⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8.43 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 7.78-7.75 (m, 1H), 7.59-7.56 (m, 1H), 3.69 (s, 2H), 1.43-1.40 (m, 2H), 1.32-1.29 (m, 2H) ppm. ¹⁹F NMR (CDCl₃, -376.48): δ -69.78 ppm.

[0748] 단계 7. (R)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)-2-(6-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)티오펜-3-일)아세트아미드의 합성

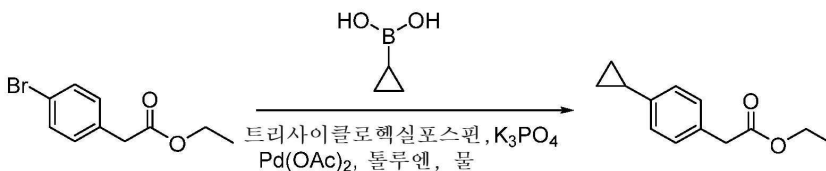


[0749]

[0750] DMF(1.0 mL) 중 2-(6-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)피리딘-3-일)아세트산(125.0 mg)의 혼합물에 HATU(213 mg)를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 5분 동안 교반하여 용액 A를 제공하였다. (R)-1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에탄아민 하이드로클로라이드(186 mg)를 함유하는 또 다른 둥근 플라스크에 DMF(1.0 mL) 및 DIEA(197 mg)를 첨가하고, 혼합물을 1분 동안 교반하였다(용액 B). 용액 B를 용액 A에 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. EA(50 mL) 및 물(40 mL)을 첨가하고, 유기 층을 물 및 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 분취-HPLC[컬럼: YMC-Actus Triart C18 250*21mm; 이동상: H₂O(0.1% FA)와 함께 10% 내지 85% MeCN; 유량: 15 mL/분; 파장: 220 nm/254 nm]로 정제하여 백색 고체(106.9 mg)를 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 472 (M+H)⁺; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8.90 (s, 1H), 8.43 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 8.11 (s, 1H), 7.64-7.62 (m, 1H), 7.58 (s, 1H), 7.52-7.49 (m, 1H), 6.84 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 5.30-5.23 (m, 1H), 5.08-5.02 (m, 2H), 3.56 (s, 2H), 1.51 (d, J = 6.4 Hz, 3H), 1.41-1.37 (m, 4H); ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃): δ -67.70, -70.79.

[0751] **실시예 27. (R)-2-(4-사이클로프로필페닐)-N-(1-(1-(4-플루오로페닐)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드**

[0752] 에틸 2-(4-사이클로프로필페닐)아세테이트의 합성



[0753]

[0754] 톨루엔/물(40 mL, 20:1) 중 에틸 4-브로모페닐아세테이트(2.0 g), 사이클로프로필보론산(0.92 g), 트리사이클로헥실포스핀(0.23 g) 및 K₃PO₄(6.11 g)의 용액에 팔라듐(II) 아세테이트(0.09 g)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 N₂로 채우고 100°C에서 밤새 교반하였다. 실온으로 냉각시킨 후, 반응물을 EA 및 물로 희석하고 2개의 층을 분리하였다. 수성 층을 EA(20 mL)로 추출하였다. 합한 유기 층을 물 및 염수(각각 40 mL)로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피(5-18% EA/PE)로 정제하여 에틸 2-(4-사이클로프로필페닐)아세테이트(1.368 g)를 담황색 오일로서 수득하였다. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.16 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.02 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 4.15 (q, J = 8.0 Hz, 2H), 3.56 (s, 2H), 1.90-1.84 (m, 1H), 1.24 (t, J = 8.0 Hz, 3H), 0.95-0.92 (m, 2H), 0.7-0.63 (m, 2H).

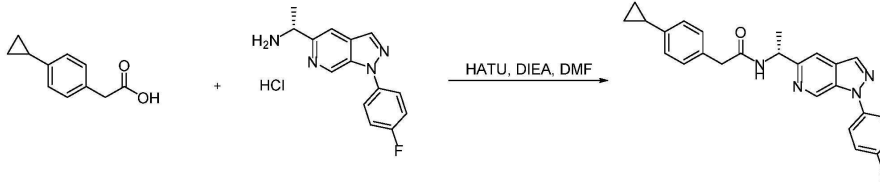
[0755] 단계 2. 2-(4-사이클로프로필페닐)아세트산의 합성



[0756]

[0757] THF(20.0 mL) 및 MeOH(8.0 mL) 중 에틸 2-(4-사이클로프로필페닐)아세테이트(1.24 g)의 용액에 2.5 M 수성 LiOH(12 mL)를 첨가하고, 생성된 용액을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 완료 후, 혼합물을 수성 1 N HCl로 산성화하고, 수성 상을 DCM으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 2-(4-사이클로프로필페닐)아세트산(1.04 g)을 황색 고체로서 제공하고, 이를 다음 단계에 사용하였다.

[0758] 단계 3. (R)-2-(4-사이클로프로필페닐)-N-(1-(1-(4-플루오로페닐)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드의 합성

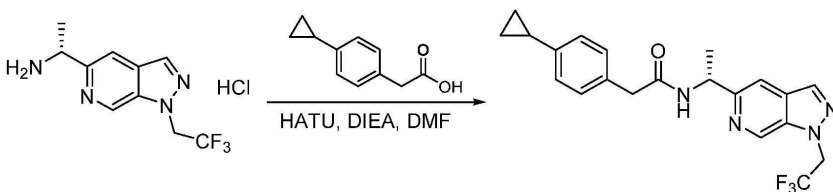


[0759]

[0760] DMF(5.0 mL) 중 2-(4-사이클로프로필페닐)아세트산(100 mg) 및 HATU(323.7 mg)의 용액을 실온에서 15분 동안 교반하였다. 이후, (R)-1-(1-(4-플루오로페닐)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드(206.6 mg) 및 DIEA(0.56 mL)를 첨가하였다. 반응물을 실온에서 1시간 동안 교반하였고, LC/MS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 반응물을 EA 및 물로 희석하였다. 이후, 2개의 상을 분리하였다. 수성 상을 EA(10 mL x 3)로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공에서 농축시켰다. 잔류물을 분취-HPLC[컬럼: YMC-Actus Triart C18 250*20mm; 이동상: H₂O(0.1% FA)와 함께 20% 내지 80% MeCN; 유량: 15 mL/분; 파장: 220 nm/254 nm]로 정제하여 화합물 (R)-2-(4-사이클로프로필페닐)-N-(1-(1-(4-플루오로페닐)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드(140 mg)를 백색 고체로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 415 (M+H)⁺; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.06 (s, 1H), 8.20 (s, 1H), 7.76 - 7.65 (m, 2H), 7.60 (s, 1H), 7.32 - 7.26 (m, 2H), 7.15 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 7.07 - 7.01 (m, 2H), 6.61 (s, 1H), 5.29-5.24 (m, 1H), 3.64 - 3.44 (m, 2H), 1.93 - 1.82 (m, 1H), 1.48 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 1.02 - 0.88 (m, 2H), 0.75- 0.61 (m, 2H). ¹⁹F-NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -113.57.

[0761] **실시예 28. (R)-2-(4-사이클로프로필페닐)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드**

[0762] (R)-2-(4-이소프로필페닐)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드의 합성



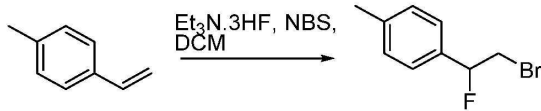
[0763]

[0764] 무수 DMF(1 mL) 중 (R)-1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드(151 mg)의 용액에 DIEA(0.61 mL, 3.71 mmol)를 첨가하여 용액 A를 수득하였다. DMF 중 2-(4-사이클로프로필페닐)아세트산(130.8 mg)의 용액에 HATU(258.6 mg)를 첨가하고 실온에서 5분 동안 교반하여 용액 B를 수득하였다. 용액 B를 용액 A에 첨가하고 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 반응물을 EA 및 물로 희석하고, 2개의 상을 분리하고, 수성 상을 DCM(10 mL x 3)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 분취-HPLC[컬럼: YMC-Actus Triart C18 250*20mm; 이동상: H₂O(0.1% FA)와 함께 20% 내지 95% MeCN; 유량: 15 mL/분; 파장: 220 nm/254 nm] 및 SFC(컬럼: ChiralPak IA, 250x21.3mm I.D., 5 μm; 이동상: CO₂의 경우 A 및 MeOH+0.1%NH₃H₂O의 경우 B; 구배: B 40%; 파장: 220nm)로 정제하여 (R)-2-(4-사이클로프로필페닐)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드를 백색 고체(97 mg)로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 403 [M+H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.86 (s, 1H), 8.08 (s, 1H), 7.53 (s, 1H), 7.16-7.03 (m, 4H), 6.53 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 5.30 - 5.23

(m, 1H), 5.06-5.00 (m, 2H), 3.54-3.53 (m, 2H), 1.93- 1.86 (m, 1H), 1.45 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 1.03 - 0.90 (m, 2H), 0.69-0.68 (m, 2H); ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -70.81 (s).

[0765] **실시예 29. (R)-2-(4-(1-플루오로사이클로프로필)페닐)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드**

[0766] 1-(2-브로모-1-플루오로에틸)-4-메틸벤젠의 합성



[0767]

[0768] DCM(80.0 mL) 중 1-에틸-4-메틸벤젠(9.45 g)의 얼음 냉각된 용액에 트리에틸아민 트리하이드로플루오라이드 (40 mL) 및 N-브로모숙신이미드(17.0 g)를 첨가하였다. 0°C에서 30분 동안 교반한 후, 반응 혼합물을 실온으로 가온하고 밤새 교반하였다. 반응 혼합물을 얼음물(500 mL)에 붓고 수성 NH₄OH로 중화시켰다. 2개의 상을 분리하고, 수성 상을 DCM(600 mL)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 0.1 M HCl(600 mL), 5% NaHCO₃ 및 물(200 mL)로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시켰다. 이후, 유기 층을 여과하고 진공에서 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 컬럼 (PE 중 5% EA)으로 정제하여 1-(2-브로모-1-플루오로에틸)-4-메틸벤젠(13.69 g)을 무색 오일로서 수득하였다. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.26 (d, J = 8.0, 2H), 7.16 (d, J =8.0 Hz, 2H), 5.66-5.63 (m, 1H), 5.54-5.51 (m, 1H), 3.70-3.61 (m, 3H), 2.35-2.32 (m, 1H); ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -172.35 (s).

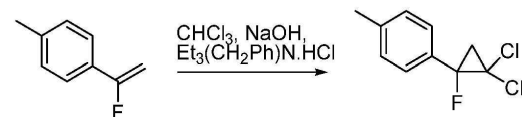
[0769] 1-(1-플루오로비닐)-4-메틸벤젠의 합성



[0770]

[0771] 1-(2-브로모-1-플루오로에틸)-4-메틸벤젠(2.0 g)을 펜탄(60 ml)에 용해시키고, tBuOK(2.09 g)를 0°C에서 천천히 첨가하였다. 반응 혼합물을 환류 하에 1시간 동안 교반하였다. 실온으로 냉각시킨 후, 혼합물을 얼음물(50 ml)에 부었다. 상을 분리한 후, 수성 상을 펜탄(300 ml)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 5% NaHCO₃(50 ml), 0.05 M HCl(25 ml), 및 물(50 ml)로 세척하였다. 유기 상을 건조시키고(NaSO₄) 여과하였다. 여액을 진공에서 농축시켜 잔류물을 수득하고, 이를 실리카 겔 컬럼(PE 중 5% EA)으로 정제하여 1-(1-플루오로비닐)-4-메틸벤젠 (711 mg)을 무색 액체로서 수득하였다. ¹H-NMR: (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7.51 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.26 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 5.36-5.22 (m, 1H), 4.90-4.85 (m, 1H), 2.33 (s, 3H); ¹⁹F-NMR (377 MHz, DMSO) δ -107.97.

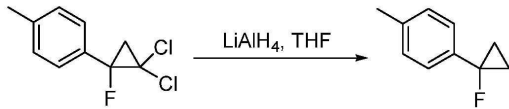
[0772] 1-(2,2-디클로로-1-플루오로사이클로프로필)-4-메틸벤젠의 합성



[0773]

[0774] 1-(1-플루오로비닐)-4-메틸벤젠(500 mg), CHCl₃(10 mL), NaOH(40%, 10 mL) 및 벤질트리에틸암모늄 클로라이드 (30 mg)의 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 혼합물을 H₂O(50 mL)에 부은 다음 CHCl₃(3 x 20 mL)로 추출하였다. CHCl₃ 층을 H₂O(3 x 20 mL)로 세척하고, 건조시키고(MgSO₄), 여과하였다. 여액을 감압 하에 농축시켜 미정제 1-(2,2-디클로로-1-플루오로사이클로프로필)-4-메틸벤젠(500 mg)을 무색 액체로서 제공하고, 이를 다음 반응에 직접 사용하였다. ¹H-NMR: (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7.40 (t, J = 12.7 Hz, 2H), 7.28 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 2.86-2.63 (m, 1H), 2.39-2.35 (m, 1H), 2.33 (s, 3H).

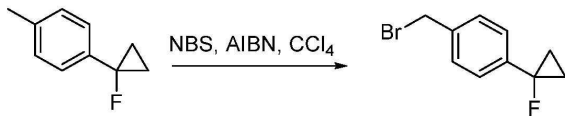
[0775] 1-(1-플루오로비닐)-4-메틸벤젠의 합성



[0776]

[0777] THF(10 mL) 중 1-(2,2-디클로로-1-플루오로사이클로프로필)-4-메틸벤젠(500 mg)의 혼합물에 리튬 알루미늄 테트라하이드라이드(436 mg)를 0°C에서 첨가하고, 생성된 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 혼합물을 H₂O(50 mL)에 부은 다음 EA(3 x 20 mL)로 추출하였다. 합한 EA 층을 H₂O(3 x 20 mL)로 세척하고, 건조시키고(MgSO₄), 여과하였다. 여액을 감압 하에 농축시켜 미정제 1-(1-플루오로사이클로프로필)-4-메틸벤젠(250 mg)을 무색 액체로서 제공하고, 이를 다음 단계에 직접 사용하였다. ¹H-NMR: (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7.25 - 7.04 (m, 4H), 2.38 - 2.25 (m, 3H), 1.51- 1.33 (m, 2H), 1.10- 1.01 (m, 2H).

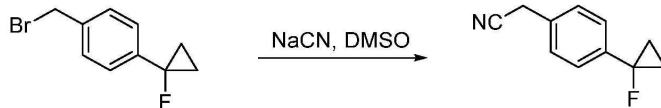
[0778] 단계 5. 1-(브로모메틸)-4-(1-플루오로사이클로프로필)벤젠의 합성



[0779]

[0780] CCl₄(4 mL) 중 1-(1-플루오로사이클로프로필)-4-메틸벤젠(200 mg)의 용액에 AIBN(0.02 mL) 및 NBS(355.5 mg)를 첨가하였다. 반응물을 80°C에서 16시간 동안 교반하였다. 반응물을 DCM 및 물로 희석하였다. 유기 층을 분리하고 진공에서 농축시켜 오일을 제공하고, 이를 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 1-(브로모메틸)-4-(1-플루오로사이클로프로필)벤젠(170 mg)을 무색 오일로서 수득하였다. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 7.40 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.23 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 4.55 (s, 2H), 1.52 - 1.37 (m, 2H), 1.14 - 1.04 (m, 2H).

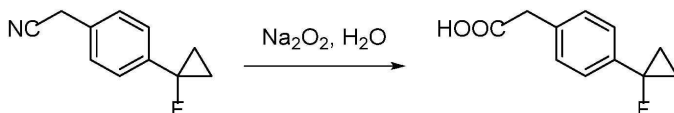
[0781] 단계 6. 2-(4-(1-플루오로사이클로프로필)페닐)아세트니트릴의 합성



[0782]

[0783] DMSO(5.0 mL) 중 1-(브로모메틸)-4-(1-플루오로사이클로프로필)벤젠(100.0 mg, 미정제)의 용액에 NaCN(107.0 mg)을 첨가하고, 반응 혼합물을 40°C에서 밤새 교반하였다. 이후, 반응 혼합물을 물(10 mL)에 붓고 EA(20 mL)로 추출하였다. 유기 층을 분리하고, 건조시키고(Na₂SO₄), 여과하고, 진공에서 농축시켜 잔류물을 수득하고, 이를 실리카 겔 컬럼(PE 중 5% EA)으로 정제하여 2-(4-(1-플루오로사이클로프로필)페닐)아세트니트릴(30 mg)을 무색 오일로서 수득하였다. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.30 (dd, J = 22.6, 8.2 Hz, 4H), 3.75 (s, 2H), 1.55 - 1.43 (m, 2H), 1.11 - 1.00 (m, 2H).

[0784] 단계 7. 2-(4-(1-플루오로사이클로프로필)페닐)아세트산의 합성

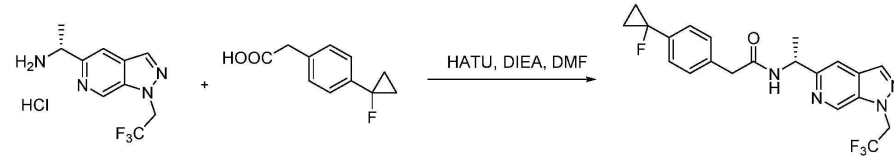


[0785]

[0786] H₂O(3 mL) 중 2-[4-(1-플루오로사이클로프로필)페닐]아세트니트릴(30 mg)의 용액에 소듐 퍼옥사이드(40 mg)를 첨가하였다. 혼합물을 50°C에서 24시간 동안 교반하였다. 이후, 혼합물을 60°C에서 24시간 동안 교반하였다. 혼합물의 pH를 1 N HCl 용액으로 4로 조정하고, EtOAc로 추출하였다. 합한 유기 층을 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 2-[4-(1-플루오로사이클로프로필)페닐]아세트산(30 mg)을 백색 고체로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z):

193 [M-H]⁻; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.29 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.24 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 3.66 (s, 1H), 1.53 - 1.48 (m, 1H), 1.48 - 1.42 (m, 2H), 1.10 - 1.01 (m, 2H).

[0787] 단계 8. (R)-2-(4-(1-플루오로사이클로프로필)페닐)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드의 합성

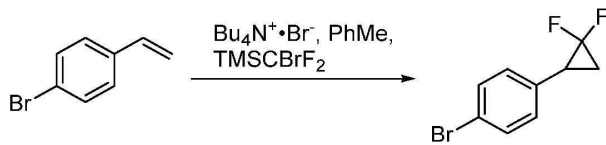


[0788]

[0789] DMF(5 mL) 중 2-[4-(1-플루오로사이클로프로필)페닐]아세트산(30 mg), (R)-1-[1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일]에탄-1-아민 하이드로클로라이드(49.0 mg), HATU(64.6 mg) 및 DIEA(0.077 mL)의 용액을 25°C에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 물로 희석하고 DCM으로 추출하였다. 합한 유기 추출물을 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하였다. 잔류물을 분취-HPLC(컬럼: YMC-Actus Triart C18 250*21mm; 이동상: H₂O(0.1% FA)와 함께 25% 내지 95% MeCN; 유량: 15 mL/분; 파장: 220 nm/254 nm)로 정제하여 (R)-2-(4-(1-플루오로사이클로프로필)페닐)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드(26.9 mg)를 백색 고체로서 수득하였다. LCMS ESI (m/z): 421 (M+H)⁺; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.90 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.59 (s, 1H), 7.31 - 7.27 (m, 2H), 7.24 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 6.71 (s, 1H), 5.35 - 5.20 (m, 1H), 5.18 - 4.93 (m, 2H), 3.59 (s, 2H), 1.52 - 1.46 (m, 5H), 1.10 - 1.02 (m, 2H). ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -70.78, -179.26.

[0790] **실시예 30. 2-(4-(2,2-디플루오로사이클로프로필)페닐)-N-((R)-1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드 부분입체이성질체 A**

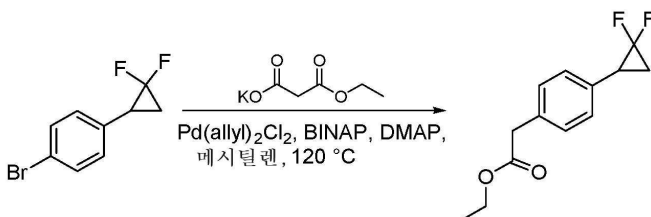
[0791] 단계 1. 1-브로모-4-(2,2-디플루오로사이클로프로필)벤젠



[0792]

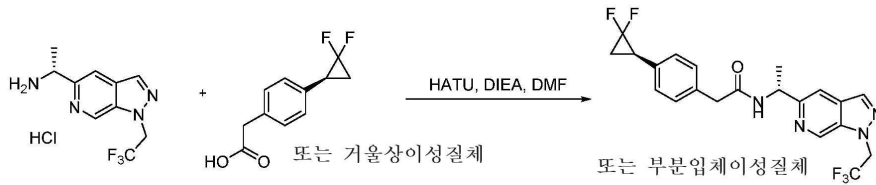
[0793] 톨루엔(50 mL) 중 1-브로모-4-에테닐벤젠(2.50 mL), 트리메틸(브로모디플루오로메틸)실란(4.46 mL) 및 테트라부틸암모늄 브로마이드(0.178 mL)의 용액을 110°C에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 잔류물로 농축시키고, 잔류물을 실리카 겔 상에서 크로마토그래피(PE:EA = 1:0 내지 50:1)로 정제하여 라세미 1-브로모-4-(2,2-디플루오로사이클로프로필)벤젠(4.2 g)을 무색 오일로서 수득하였다. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.50 - 7.43 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 7.10 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 2.78 - 2.61 (m, 1H), 1.92 - 1.74 (m, 1H), 1.66 - 1.56 (m, 1H).

[0794] 단계 2. 에틸 2-(4-(2,2-디플루오로사이클로프로필)페닐)아세테이트



[0795]

[0796] 메시틸렌(10 mL) 중 1-브로모-4-(2,2-디플루오로사이클로프로필)벤젠(4 g), 1-에틸 3-포타슘 프로판디오에이트(4.38 g), 알릴팔라듐 클로라이드 이량체(0.13 g), BINAP(0.64 g) 및 DMAP(2.10 g)의 용액을 N₂로 채웠다. 혼합물을 140°C에서 1시간 동안 교반한 다음, 120°C에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 농축시켜 잔류물을 제공



P1

[0805]

[0806]

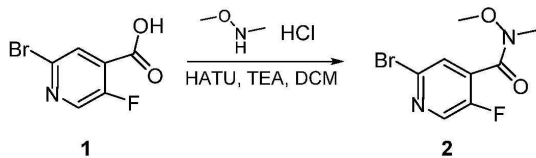
DMF(5 mL) 중 2-[4-(2,2-디플루오로사이클로프로필)페닐]아세트산 거울상이성질체 P1(100 mg), (*R*)-1-[1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-*c*]피리딘-5-일]에탄-1-아민 하이드로클로라이드(138.1 mg), HATU(197.1 mg) 및 DIEA(0.23 mL)의 용액을 25°C에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 물로 희석하고 DCM으로 추출하였다. 합한 유기 추출물을 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 분취-HPLC(컬럼: YMC-Actus Triart C18 250*21mm; 이동상: H₂O(0.1% FA)와 함께 55% 내지 95% MeCN; 유량: 20 mL/분; 파장: 220 nm/254 nm)로 정제하여 2-(4-((*R* 또는 *S*)-2,2-디플루오로사이클로프로필)페닐)-*N*-((*R*)-1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-*c*]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드(50.7 mg, 백색 고체)를 수득하였다. LCMS ESI (*m/z*): 439 (*M+H*)⁺; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.88 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.58 (s, 1H), 7.25 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.20 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 6.72 (s, 1H), 5.38 - 5.20 (m, 1H), 5.14 - 4.95 (m, 2H), 3.58 (s, 2H), 2.86 - 2.62 (m, 1H), 1.95 - 1.76 (m, 1H), 1.70 - 1.58 (m, 1H), 1.49 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H). ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -70.80, -125.92, -142.30.

[0807]

실시예 32. (*R*)-2-(4-이소프로필페닐)-*N*-(1-(3-메틸-1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-*c*]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드

[0808]

2-브로모-5-플루오로-*N*-메톡시-*N*-메틸이소니코틴아미드의 합성



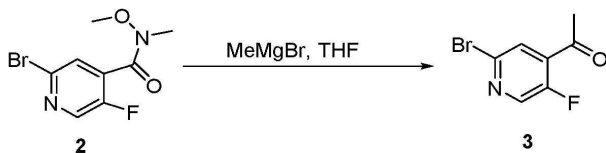
[0809]

[0810]

DCM(400 mL) 중 2-브로모-5-플루오로이소니코틴산(10 g)의 용액에 HATU(22.47 g), TEA(18.9 mL) 및 *N*,*O*-디메틸 하이드록실아민 하이드로클로라이드(4.88 g)를 첨가하였다. 반응물을 질소 대기 하에 20°C에서 16시간 동안 교반하였다. 용매를 감압 하에 증발시켜 잔류물을 제공하였다. 잔류물을 EA(500 mL)에 용해시키고, 물(500 mL)에 이어 염수(500 mL)로 2회 세척하였다. 유기 층을 분리하고, Na₂SO₄로 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 수득하고, 이를 Biotage(PE와 함께 0% 내지 15% EA)를 통해 정제하여 2-브로모-5-플루오로-*N*-메톡시-*N*-메틸이소니코틴아미드(10.3 g)로서 황색 오일로서 수득하였다: LCMS ESI (*m/z*): 262.9 (*M+H*)⁺.

[0811]

1-(2-브로모-5-플루오로피리딘-4-일)에탄-1-온의 합성

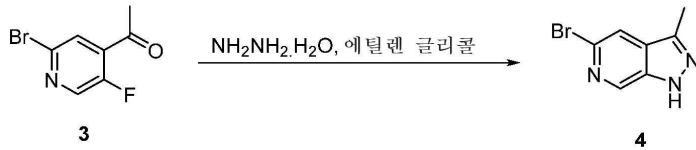


[0812]

[0813]

2-브로모-5-플루오로-*N*-메톡시-*N*-메틸이소니코틴아미드(10.3 g)를 THF(200 mL)에 현탁시키고 0°C에서 5분 동안 교반하였다. 메틸마그네슘 브로마이드(19.58 mL, 에테르 중 3.0 M)를 질소 대기 하에 반응 혼합물에 천천히 첨가하고, 반응물을 20°C에서 16시간 동안 교반하였다. 반응물을 포화 암모늄 클로라이드로 퀘칭시켰다. 2개의 상을 분리하고, 수성 상을 에틸 아세테이트로 추출하였다. 합한 유기 상을 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 Biotage(PE와 함께 0% 내지 10% EA)를 통해 정제하여 1-(2-브로모-5-플루오로피리딘-4-일)에탄-1-온(8.3 g)을 무색 오일로서 수득하였다. LCMS ESI (*m/z*): 218.0 (*M+H*)⁺.

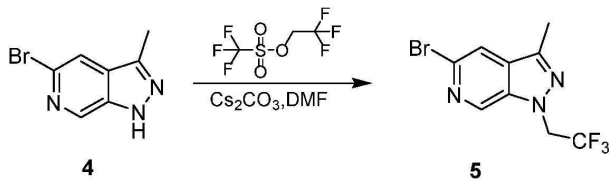
[0814] 5-브로모-3-메틸-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘의 합성



[0815]

[0816] 에틸렌 글리콜(50 mL) 중 1-(2-브로모-5-플루오로피리딘-4-일)에탄-1-온(8.3 g)의 용액에 하이드라진 수화물(4.793 mL)을 첨가하고, 반응물을 질소 대기 하에 120°C에서 72시간 동안 교반하였다. 완료시, 반응물을 EA(200 mL)로 희석하고, 생성된 혼합물을 물(2 L) 및 염수(500 mL)로 2회 세척하였다. 유기 층을 분리하고, Na₂SO₄로 건조시키고, 여과하고, 증발시켜 잔류물을 제공하고, 이를 Biotage(PE와 함께 0% 내지 20% EA)를 통해 정제하여 5-브로모-3-메틸-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘(2.7 g)을 백색 고체로서 수득하였다. LCMS ESI (m/z): 212 (M+H)⁺; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8.80 (d, J = 0.9 Hz, 1H), 7.80 (d, J = 0.9 Hz, 1H), 2.60 (s, 3H).

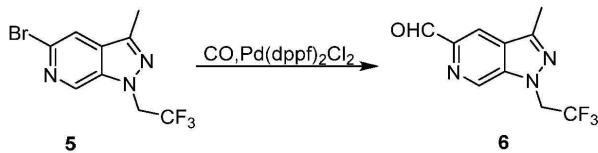
[0817] 5-브로모-3-메틸-1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘의 합성



[0818]

[0819] 무수 DMF(26 mL) 중 5-브로모-3-메틸-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘(5.30 g)의 용액에 2,2,2-트리플루오로에틸 트리플루오로메탄설포네이트(4.3 mL) 및 Cs₂CO₃(9.82 g)을 첨가하였다. 반응물을 질소 대기 하에 25°C에서 16시간 동안 교반하였다. 완료시, 반응 혼합물을 H₂O에 붓고 EA로 3회 추출하였다. 합한 유기 층을 염수로 세척하고, Na₂SO₄로 건조시키고, 여과하고, 진공에서 증발시켰다. 잔류물을 Biotage(PE와 함께 0% 내지 10% EA; 80 g Cartridge 컬럼)를 통해 정제하여 5-브로모-3-메틸-1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘(5.72 g)을 백색 고체로서 수득하였다. LCMS ESI (m/z): 294 (M+H)⁺; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.69 (s, 1H), 7.79 (d, J = 0.9 Hz, 1H), 5.02 - 4.87 (m, 2H), 2.57 (s, 3H). ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -70.91 (s).

[0820] 3-메틸-1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-카르보알데히드의 합성

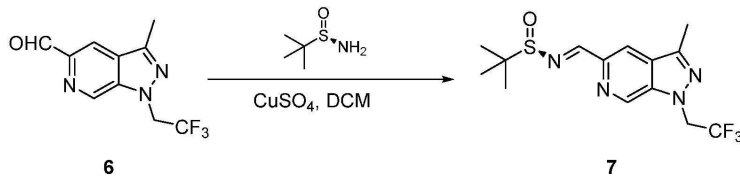


[0821]

[0822] 무수 DMF(60 mL) 중 5-브로모-3-메틸-1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘(2 g)의 용액에 Na₂CO₃(1.082 g), Pd(dppf)₂Cl₂(498 mg) 및 Et₃SiH(2.2 mL)를 첨가하였다. 반응물을 N₂로 채우고, CO(7 bar) 대기 하에 100°C에서 16시간 동안 교반하였다. 완료 후, 물을 반응물에 첨가하였다. 반응 혼합물을 에틸 아세테이트로 추출하였다. 합한 유기 추출물을 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 흑색 오일을 제공하고, 이를 Biotage(PE와 함께 0% 내지 20% EA; 40 g Cartridge 컬럼)를 통해 정제하였다. 분획을 수집하고 증발시켜 3-메틸-1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-카르보알데히드(1.2 g)를 황색 고체로서 수득하였다. LCMS ESI (m/z): 244 (M+H)⁺; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 10.24 (s, 1H), 9.04 (s, 1H), 8.37 (d, J = 0.6 Hz, 1H), 5.10 - 4.98 (m, 2H), 2.66 (s, 3H). ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -70.80

(s).

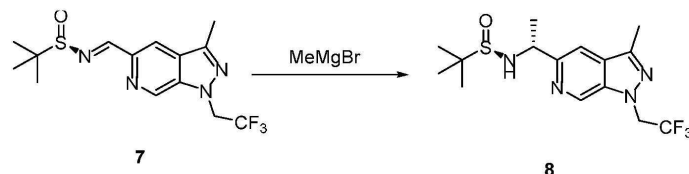
[0823] (*R,E*)-2-메틸-N-((3-메틸-1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)메틸렌)프로판-2-설피나미드의 합성



[0824]

[0825] 무수 DCM(15 mL) 중 3-메틸-1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-카르보알데히드(1.2 g)의 용액에 CuSO₄(2.36 g) 및 (*R*)-2-메틸프로판-2-설피나미드(0.78 g)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 용액을 셀라이트의 패드를 통해 여과하고 여액을 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 컬럼으로 정제하여 (*R,E*)-2-메틸-N-((3-메틸-1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)메틸렌)프로판-2-설피나미드(1.5 g)를 수득하였다. LCMS ESI (m/z): 347 (M+H)⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.02 (s, 1H), 8.85 (s, 1H), 8.31 (d, J = 1.1 Hz, 1H), 5.07 - 4.95 (m, 2H), 2.66 (s, 3H), 1.31 (s, 9H).

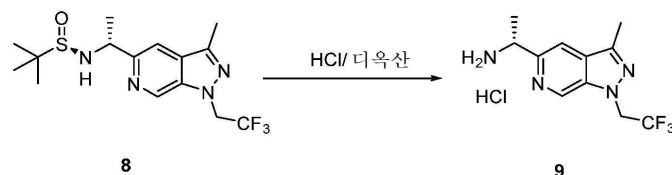
[0826] (*R*)-2-메틸-N-((*R*)-1-(3-메틸-1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)프로판-2-설피나미드의 합성



[0827]

[0828] 무수 THF(17 mL) 중 (*R,E*)-2-메틸-N-((3-메틸-1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)메틸렌)프로판-2-설피나미드(1.6 g, 4.62 mmol)의 용액에 메틸마그네슘 브로마이드(7.699 mL, 에테르 중 3.0 M)를 질소 하에 -78°C에서 적가하였다. 반응물을 -78°C에서 2시간 동안 교반하였다. 이후, 반응 용액을 수성 NH₄Cl로 쉐칭시켰다. 2개의 상을 분리하고, 수성 상을 EA로 추출하였다. 합한 유기 층을 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공에서 농축시켰다. 이후, 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 (*R*)-2-메틸-N-((*R*)-1-(3-메틸-1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)프로판-2-설피나미드(1.5 g, 4.139 mmol)를 백색 고체로서 수득하였다. LCMS ESI (m/z): 363 (M+H)⁺

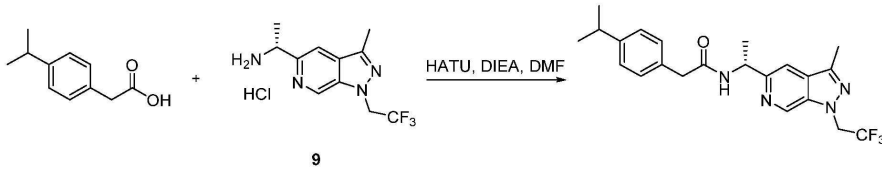
[0829] (*R*)-1-(3-메틸-1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드의 합성



[0830]

[0831] 디옥산(4.0 mL) 중 (*R*)-2-메틸-N-[(*R*)-1-(3-메틸-1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸]프로판-2-설피나미드(1.0 g, 2.76 mmol)의 용액에 4 N HCl-디옥산(2.0 mL)을 첨가하고, 반응물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 이후, 혼합물을 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 다음 단계에 직접 사용하였다. LCMS ESI (m/z): 259 (M+H)⁺.

[0832] (*R*)-2-(4-이소프로필페닐)-N-(1-(3-메틸-1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드의 합성



[0833]

[0834]

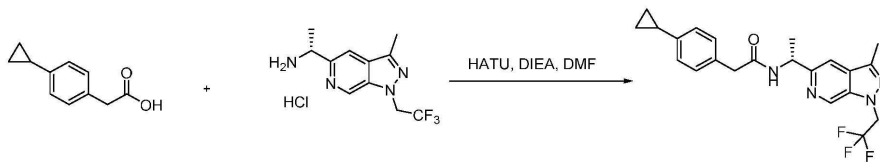
무수 DMF(1.5 mL) 중 (R)-1-(3-메틸-1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드(238 mg)의 용액에 DIEA(0.6 mL)를 첨가하여 용액 A를 제공하였다. DMF(1 mL) 중 2-(4-이소프로필페닐)아세트산(126.4 mg)의 용액에 HATU(296.5 mg)를 첨가하고 실온에서 15분 동안 교반하여 용액 B를 제공하였다. 용액 A를 용액 B에 첨가하고 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 반응물을 EA 및 물로 희석하였다. 2개의 상을 분리하고, 유기 층을 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공에서 농축시켰다. 잔류물을 분취-HPLC(컬럼: AZZOTA C18 30*250mm*10um; 이동상: H₂O(1% FA)와 함께 25% 내지 95% MeCN; 유량: 15 mL/분; 파장: 220 nm/254 nm) 및 SFC(컬럼: ChiralPak IG, 250×21.2mm I.D., 5 μm; 이동상: CO₂의 경우 A 및 MeOH+0.1%NH₃H₂O의 경우 B; 구배: B 40%; 파장: 220nm)로 정제하여 (R)-2-(4-이소프로필페닐)-N-(1-(3-메틸-1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드를 백색 고체(100.2 mg)로서 수득하였다. LCMS ESI (m/z): 419.5 (M+H)⁺; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.78 (s, 1H), 7.47 (s, 1H), 7.19 (s, 4H), 6.58 (s, 1H), 5.34 - 5.20 (m, 1H), 5.01 - 4.87 (m, 2H), 3.55 (d, J = 1.8 Hz, 2H), 2.95 - 2.85 (m, 1H), 2.56 (s, 3H), 1.48 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 1.25 (d, J = 6.9 Hz, 6H); ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -70.92.

[0835]

실시예 33. (R)-2-(4-사이클로프로필페닐)-N-(1-(3-메틸-1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드

[0836]

(R)-2-(4-사이클로프로필페닐)-N-(1-(3-메틸-1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드의 합성



[0837]

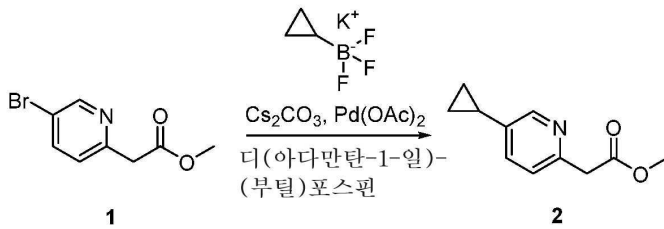
[0838]

무수 DMF(1.5 mL) 중 (R)-1-[3-메틸-1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일]에탄-1-아민 하이드로클로라이드(242 mg)의 용액에 DIEA(0.6 mL)를 첨가하여 용액 A를 제공하였다. DMF(1.0 mL) 중 2-(4-사이클로프로필페닐)아세트산(111.58 mg)의 용액에 HATU(264.83 mg)를 첨가하고 실온에서 15분 동안 교반하여 용액 B를 제공하였다. 용액 A를 용액 B에 첨가하고 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 반응물을 EA 및 물로 희석하였다. 유기 층을 수성 NaCl로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공에서 농축시켰다. 잔류물을 분취-HPLC(컬럼: YMC-Actus Triart C18 250*21mm; 이동상: H₂O(0.1% NH₃H₂O)와 함께 40% 내지 90% MeCN; 유량: 15 mL/분; 파장: 220 nm/254 nm) 및 SFC(컬럼: ChiralPak IG, 250×21.2mm I.D., 5 μm; 이동상: CO₂의 경우 A 및 MeOH+0.1%NH₃H₂O의 경우 B; 구배: B 45%; 유량: 50mL/분; 파장: 220nm)로 정제하여 (R)-2-(4-사이클로프로필페닐)-N-(1-(3-메틸-1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드를 백색 고체(86.7 mg)로서 수득하였다. LCMS ESI (m/z): 417.5 (M+H)⁺; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.78 (s, 1H), 7.44 (d, J = 0.9 Hz, 1H), 7.15 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 7.04 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 6.52 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 5.31 - 5.22 (m, 1H), 5.00 - 4.87 (m, 2H), 3.54 (d, J = 2.4 Hz, 2H), 2.55 (s, 3H), 1.93 - 1.84 (m, 1H), 1.46 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 1.00 - 0.92 (m, 2H), 0.72 - 0.64 (m, 2H); ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -70.92 (s).

[0839]

실시예 34. (R)-2-(5-사이클로프로필피리딘-2-일)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드

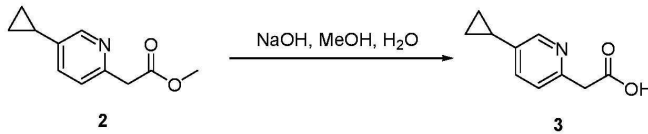
[0840] 메틸 2-(5-사이클로프로필피리딘-2-일)아세테이트의 합성



[0841]

[0842] 톨루엔-물(10:1, 16.5 mL) 중 메틸 2-(5-브로모피리딘-2-일)아세테이트(1 g)의 용액에 포타슘 사이클로프로필트리플루오로보레이트(1.29 g), Cs₂CO₃(4.25 g), Pd(OAc)₂(0.20 g) 및 디(아다만탄-1-일)(부틸)포스핀(0.31 g)을 첨가하였다. 반응물을 N₂로 채우고 110°C에서 밤새 교반하였다. 반응물을 EA 및 물로 희석하였다. 2개의 상을 분리하고, 유기 층을 포화 NaCl로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고 진공에서 농축시켰다. 생성된 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 메틸 2-(5-사이클로프로필피리딘-2-일)아세테이트(582 mg)를 오일로서 수득하였다. LCMS ESI (m/z): 192 (M+H)⁺.

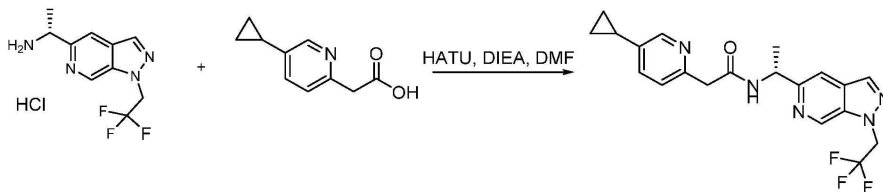
[0843] 2-(5-사이클로프로필피리딘-2-일)아세트산의 합성



[0844]

[0845] MeOH-H₂O(2:1, 9.5 mL) 중 메틸 2-(5-사이클로프로필피리딘-2-일)아세테이트(582 mg)의 용액에 NaOH(183 mg)를 첨가하였다. 반응물을 실온에서 3시간 동안 교반하였다. 이후, MeOH를 감압 하에 제거하고, 병욕에서 냉각시키면서 수층의 pH를 2 M HCl을 사용하여 5로 조정하였다. 에틸 아세테이트를 산성 물에 나중에 첨가하고, 생성된 침전물을 여과에 의해 수집하였다. 이후, 수층을 DCM-MeOH(10:1)로 추출하고, 합한 유기 층을 진공에서 농축시켰다. 잔류물 및 침전물 둘 모두를 합하여 2-(5-사이클로프로필피리딘-2-일)아세트산(354 mg)을 백색 고체로서 수득하였다. LCMS ESI (m/z): 178 (M+H)⁺; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8.64 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 8.05 - 8.00 (m, 1H), 7.73 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 4.06 (s, 2H), 2.18 - 2.08 (m, 1H), 1.15 - 1.08 (m, 2H), 0.93 - 0.85 (m, 2H).

[0846] (R)-2-(5-사이클로프로필피리딘-2-일)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드의 합성



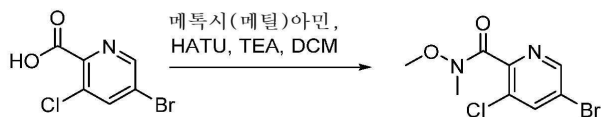
[0847]

[0848] 무수 DMF(1.5 mL) 중 (R)-1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드(308 mg)의 용액에 DIEA(1 mL)를 첨가하여 용액 A를 제공하였다. DMF(1 mL) 중 2-(5-사이클로프로필피리딘-2-일)아세트산(150 mg)의 용액에 HATU(405.76 mg)를 첨가하고 실온에서 5분 교반하여 용액 B를 제공하였다. 용액 A를 용액 B에 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 이후, 반응물을 EA 및 물로 희석하였다. 유기 층을 수성 NaCl로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공에서 농축시켰다. 잔류물을 분취-HPLC(컬럼: YMC-Actus Triart C18 250*21mm; 이동상: H₂O(0.1% FA)와 함께 10% 내지 90% MeCN; 유량: 15 mL/분; 파장: 220 nm/254 nm)로 정제하여 (R)-2-(5-사이클로프로필피리딘-2-일)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드를 백색 고체(135.4mg)로서 수득하였다. LCMS ESI (m/z): 404.4 (M+H)⁺; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.94 (s, 1H), 8.36 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 8.09 (s,

1H), 7.82 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 7.60 (s, 1H), 7.52 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 7.40 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 5.32 - 5.18 (m, 1H), 5.11 - 4.98 (m, 2H), 3.87 (d, J = 2.3 Hz, 2H), 2.00 - 1.90 (m, 1H), 1.53 (d, J = 6.9 Hz, 3H), 1.17 - 1.06 (m, 2H), 0.81 - 0.72 (m, 2H); ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -70.81 (s).

[0849] **실시예 35. (R)-2-(5-클로로-6-(1,1-디플루오로에틸)피리딘-3-일)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드**

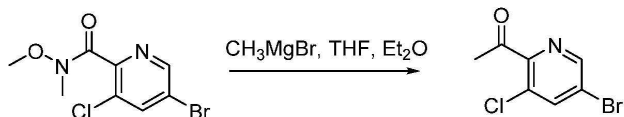
[0850] 5-브로모-3-클로로-N-메톡시-N-메틸피롤린아미드의 합성



[0851]

[0852] DCM(10 mL) 중 5-브로모-3-클로로피리딘-2-카르복실산(4.76 g)의 용액에 HATU(9.94 g), 메톡시(메틸)아민(3.396 mL) 및 TEA(8.4 mL)를 첨가하였다. 반응물을 2시간 동안 실온에서 교반하였다. 이후, 반응물을 DCM 및 물로 희석하고, 2개의 상을 분리하였다. 유기 상을 포화 NaCl로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공에서 농축시켰다. 잔류물을 석유 에테르 중 에틸 아세테이트(15%)로 용리시키며 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피를 사용하여 정제하여 5-브로모-3-클로로-N-메톡시-N-메틸피롤린아미드(5.11 g)를 백색 고체로서 수득하였다. LCMS ESI (m/z): 281 (M+H)⁺.

[0853] 1-(5-브로모-3-클로로피리딘-2-일)에탄-1-온의 합성



[0854]

[0855] THF(65 mL) 중 5-브로모-3-클로로-N-메톡시-N-메틸피롤린아미드(5.48 g)의 용액에 N₂ 하에 -78°C에서 메틸마그네슘 브로마이드(32.6 mL, Et₂O 중 3.0 M)를 첨가하였다. 반응물을 -78°C에서 2시간 동안 교반하였다. 완료시, 반응물을 DCM 및 물로 희석하였다. 2개의 상을 분리하고, 수성 상을 DCM(30 mL x 3)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하였다. 잔류물을 석유 에테르 중 에틸 아세테이트(6%)로 용리시키며 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 1-(5-브로모-3-클로로피리딘-2-일)에탄-1-온을 백색 고체(602 mg)로서 수득하였다. LCMS ESI (m/z): 234 (M+H)⁺; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.59 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 7.98 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 2.67 (s, 3H).

[0856] 5-브로모-3-클로로-2-(1,1-디플루오로에틸)피리딘의 합성

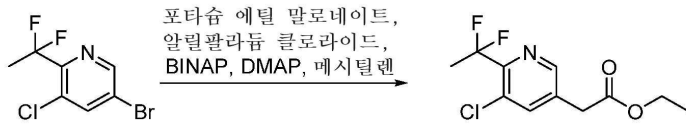


[0857]

[0858] 1,2-디클로로에탄(40 mL) 중 1-(5-브로모-3-클로로피리딘-2-일)에탄-1-온(2 g)의 용액에 DAST(11.27 mL)를 첨가하였다. 혼합물을 밀봉된 튜브에서 80°C에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 포화 소듐 바이카르보네이트로 켄칭하고 DCM으로 추출하였다. 합한 유기 층을 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 실리카 겔 상에서 크로마토그래피(PE:EA = 20:1)로 정제하여 5-브로모-3-클로로-2-(1,1-디플루오로에틸)피리딘(1.0 g)을 황색 오일로서 수득하였다.

[0859] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.55 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.98 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 2.06 (t, J = 18.8 Hz, 3H).

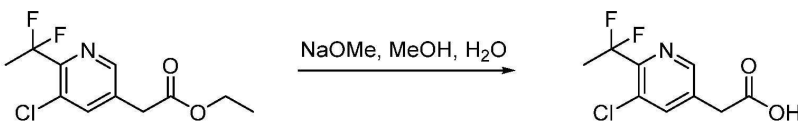
[0860] 에틸 2-(5-클로로-6-(1,1-디플루오로에틸)피리딘-3-일)아세테이트의 합성



[0861]

[0862] 메시틸렌(10 mL) 중 5-브로모-3-클로로-2-(1,1-디플루오로에틸)피리딘(200 mg), 포타슘 에틸 말로네이트(199.1 mg), 알릴팔라듐 클로라이드 이량체(34.24 mg), BINAP(97.11 mg) 및 DMAP(95.27 mg)의 용액을 N₂로 채우고 140 °C에서 1시간 동안 교반하였다. 이후, 혼합물을 120 °C에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 실리카 겔 상에서 크로마토그래피(PE:EA=10:1)로 정제하여 에틸 2-[5-클로로-6-(1,1-디플루오로에틸)피리딘-3-일]아세테이트(50 mg)를 황색 오일로서 수득하였다. LCMS ESI (m/z): 264 (M+H)⁺.

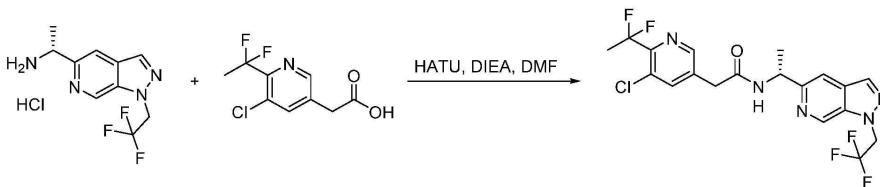
[0863] 단계 5. 2-(5-클로로-6-(1,1-디플루오로에틸)피리딘-3-일)아세트산의 합성



[0864]

[0865] MeOH(1.0 mL) 중 에틸 2-[5-클로로-6-(1,1-디플루오로에틸)피리딘-3-일]아세테이트(50 mg)의 용액에 NaOH(H₂O 중 1 M, 1.0 mL)를 첨가하였다. 혼합물을 25 °C에서 12시간 동안 교반하였다. 이후, 혼합물을 농축시키고, 물로 희석하고, EtOAc로 추출하였다. 수성 층의 pH를 1 N HCl로 3으로 조정하고 DCM으로 추출하였다. 합한 유기 층을 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 2-[5-클로로-6-(1,1-디플루오로에틸)피리딘-3-일]아세트산(25 mg)을 백색 고체로서 수득하였다. LCMS ESI (m/z): 234 (M-H)⁻.

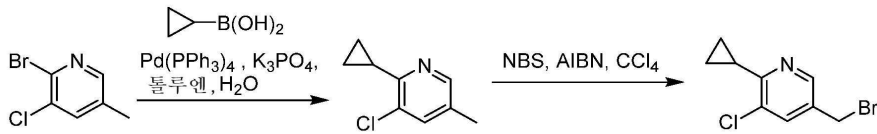
[0866] 단계 6. (R)-2-(5-클로로-6-(1,1-디플루오로에틸)피리딘-3-일)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드의 합성



[0867]

[0868] DMF(1.0 mL) 중 2-[5-클로로-6-(1,1-디플루오로에틸)피리딘-3-일]아세트산(80 mg), (1R)-1-[1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일]에탄-1-아민 하이드로클로라이드(107.80 mg), HATU(142.0 mg) 및 DIEA(0.168 mL)의 용액을 25 °C에서 2시간 동안 교반하였다. 반응물을 물로 희석하고 DCM으로 추출하였다. 합한 유기 층을 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하였다. 잔류물을 분취-HPLC(컬럼: YMC-Actus Triart C18 250*20mm; 이동상: H₂O(0.1% FA)와 함께 30% 내지 95% MeCN; 유량: 15 mL/분; 파장: 220 nm/254 nm)로 정제하여 (R)-2-(5-클로로-6-(1,1-디플루오로에틸)피리딘-3-일)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드(82.3 mg)를 백색 고체로서 수득하였다. LCMS ESI (m/z): 462 (M+H)⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.97 (s, 1H), 8.40 (s, 1H), 8.17 (s, 1H), 7.80 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 7.67 (s, 1H), 7.02 (d, J = 14.4 Hz, 1H), 5.38 - 5.24 (m, 1H), 5.19 - 5.00 (m, 2H), 3.61 (s, 2H), 2.07 (t, J = 18.8 Hz, 3H), 1.57 (d, J = 6.8 Hz, 3H). ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -70.73, -89.61.

[0869] 실시예 36. (R)-2-(5-클로로-6-사이클로프로필피리딘-3-일)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드



[0870]

[0871]

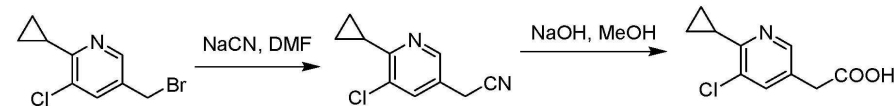
단계 1: 3-클로로-2-사이클로프로필-5-메틸피리딘. 톨루엔(80 mL)/H₂O(8 mL) 중 2-브로모-3-클로로-5-메틸피리딘(4.2 g), 사이클로프로필보론산(1.92 g), Pd(PPh₃)₄(2.35 g) 및 K₃PO₄(12.95 g)의 용액을 N₂ 하에 110°C에서 12시간 동안 교반하였다. 반응이 완료되었음을 LCMS로 모니터링하였다. 혼합물을 진공 하에 농축시켜 잔류물을 제공하고, 잔류물을 실리카 겔 상에서 컬럼 크로마토그래피(PE:EA = 10:1)로 정제하여 3-클로로-2-사이클로프로필-5-메틸피리딘(1.4 g)을 무색 오일로서 수득하였다. LCMS ESI (m/z): 168 (M+H)⁺.

[0872]

단계 2: 5-(브로모메틸)-3-클로로-2-사이클로프로필피리딘. 사염화탄소(15 mL) 중 3-클로로-2-사이클로프로필-5-메틸피리딘(960 mg), NBS(1.12 g) 및 AIBN(0.042 mL)의 용액을 N₂ 하에 80°C에서 12시간 동안 교반하였다. 반응물을 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하였다. 잔류물을 실리카 겔 상에서 컬럼 크로마토그래피(PE:EA = 30:1)로 정제하여 5-(브로모메틸)-3-클로로-2-사이클로프로필피리딘(700 mg)을 무색 오일로서 수득하였다. LCMS ESI (m/z): 246 (M+H)⁺.

[0873]

[0874]



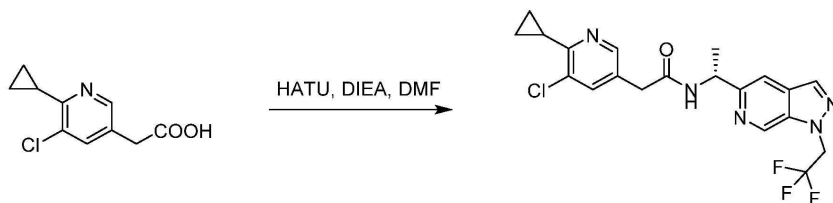
단계 3: 2-(5-(브로모메틸)-3-클로로-2-사이클로프로필피리딘-3-일)아세트나이트릴. DMF(5 mL) 중 5-(브로모메틸)-3-클로로-2-사이클로프로필피리딘(600 mg, 2.43 mmol) 및 NaCN(239 mg)의 용액을 25°C에서 12시간 동안 교반하였다. 반응이 완료되었음을 LCMS로 모니터링하였다. 혼합물을 물로 희석하고 DCM으로 추출하였다. 혼합물을 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 2-(5-(브로모메틸)-3-클로로-2-사이클로프로필피리딘-3-일)아세트나이트릴(380 mg)을 황색 오일로서 수득하였다. LCMS ESI (m/z): 193 (M+H)⁺.

[0875]

단계 4: 2-(5-(브로모메틸)-3-클로로-2-사이클로프로필피리딘-3-일)아세트산. MeOH(2 mL) 중 2-(5-(브로모메틸)-3-클로로-2-사이클로프로필피리딘-3-일)아세트나이트릴(380 mg)의 용액에 NaOH(10 mL, 20.0 mmol, 2 N)를 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 12시간 동안 교반하였고, LCMS에 의해 반응은 완료되었다. 이후, 반응물을 EtOAc로 추출하였다. 수성 층을 1 N HCl 용액으로 pH = 3으로 조정하고 동결건조시켜 백색 고체를 제공하였다. 백색 고체를 MeOH/DCM(10:1)에 용해시키고, 여과하고, 농축시켜 2-(5-(브로모메틸)-3-클로로-2-사이클로프로필피리딘-3-일)아세트산(150 mg)을 백색 고체로서 수득하였다. LCMS ESI (m/z): 210 (M-H)⁻.

[0876]

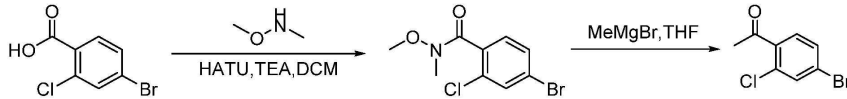
[0877]



단계 5: (R)-2-(5-(브로모메틸)-3-클로로-2-사이클로프로필피리딘-3-일)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드. DMF(5 mL) 중 2-(5-(브로모메틸)-3-클로로-2-사이클로프로필피리딘-3-일)아세트산(150 mg), (R)-1-[1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일]에탄-1-아민 하이드로클로라이드(258.89 mg), HATU(296 mg) 및 DIEA(0.35 mL)의 용액을 25°C에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 물로 희석하고 DCM으로 추출하였다. 유기 층을 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하였다. 잔류물을 분취-HPLC(컬럼: YMC-Actus Triart C18 250*21mm; 이동상: H₂O(0.1% FA)와 함께 20% 내지 95% MeCN; 유량: 15 mL/분; 파장: 220 nm/254 nm)로 정제하여 (R)-2-(5-(브로모메틸)-3-클로로-2-사이클로프로필피리딘-3-일)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드(203 mg)를 백색 고체로서 수득하였다. LCMS ESI (m/z): 438 (M+H)⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.97 (s, 1H), 8.22 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 8.15 (s, 1H), 7.64 (s, 1H),

7.61 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.03 - 6.89 (m, 1H), 5.36 - 5.21 (m, 1H), 5.16 - 5.01 (m, 2H), 3.51 (s, 2H), 2.56 - 2.42 (m, 1H), 1.54 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 1.12 - 1.07 (m, 2H), 1.06 - 1.01 (m, 2H). ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -70.73.

[0878] **실시예 37. (R)-2-(3-클로로-4-(1,1-디플루오로에틸)페닐)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드**



[0879]

[0880]

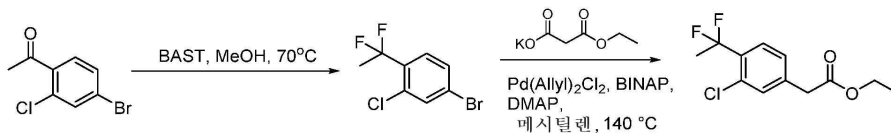
단계 1: 4-브로모-2-클로로-N-메톡시-N-메틸벤즈아미드. DCM(25 mL) 중 4-브로모-2-클로로벤조산(2.0 g)의 용액에 HATU(4.20 g), 메톡시(메틸)아민 하이드로클로라이드(4.54 g), 및 TEA(3.5 mL)를 첨가하였다. 이후, 반응물을 실온에서 밤새 교반하고, 반응이 완료되었음을 LCMS로 모니터링하였다. 반응물을 DCM 및 물로 희석하고, 유기 층을 분리하고, 포화 NaCl 용액으로 세척하고, 진공에서 농축시켰다. 잔류물을 석유 에테르 중 25% 에틸 아세테이트로 용리시키며 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 4-브로모-2-클로로-N-메톡시-N-메틸벤즈아미드(2.209 g)를 담황색 오일로서 수득하였다. LCMS ESI (m/z): 279 [M+H]⁺.

[0881]

단계 2: 1-(4-브로모-2-클로로페닐)에탄-1-온. THF(10 mL) 중 4-브로모-2-클로로-N-메톡시-N-메틸벤즈아미드(1.07 g)의 용액에 MeMgBr(6.4 mL, Et₂O 중 3.0 M)을 첨가하였다. 반응물을 -78°C에서 2시간 동안 교반한 다음, 실온에서 밤새 교반하였다. 반응물을 DCM 및 물로 희석하고, 2개의 상을 분리하였다. 수성 상을 DCM(30 mL x 3)으로 추가로 추출하였다. 합한 유기 상을 무수 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 실리카 겔 상에서 컬럼 크로마토그래피(PE:EA = 10:1)로 정제하여 1-(4-브로모-2-클로로페닐)에탄-1-온을 담황색 고체(820 mg)로서 수득하였다. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.61 (s, 1H), 7.50 - 7.44 (m, 2H), 2.64 (s, 3H). ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -87.65.

[0882]

[0883]

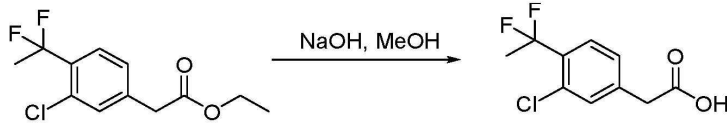


단계 3: 4-브로모-2-클로로-1-(1,1-디플루오로에틸)벤젠. BAST(2.6 mL) 중 1-(4-브로모-2-클로로페닐)에탄-1-온(2.2 g)의 용액에 메탄올 2 방울을 첨가하였다. 첨가가 완료되면, 반응 혼합물을 질소 대기 하에 두고 밤새 70°C로 가열하였다. 반응 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 50 ml의 물로 채웠었다. 생성된 혼합물을 50 ml의 에테르로 2회 추출하였다. 합한 에테르 상을 물로 2회, 수성 소듐 바이카르보네이트로 2회, 10% 수성 시트르산으로 1회, 염수로 1회 세척한 다음, 마그네슘 설페이트 상에서 건조시켰다. 용매를 감압 하에 제거하고 실리카 겔 상에서 컬럼 크로마토그래피(PE 중 2% EA)로 정제하여 4-브로모-2-클로로-1-(1,1-디플루오로에틸)벤젠(1.71 g)을 무색 오일로서 수득하였다. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.62 (d, J = 4.0Hz, 1H), 7.50 - 7.43 (m, 2H), 2.02 (t, J = 18.4 Hz, 3H). ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -87.65.

[0884]

단계 4: 에틸 2-(3-클로로-4-(1,1-디플루오로에틸)페닐)아세테이트. 메시틸렌(2 mL) 중 4-브로모-2-클로로-1-(1,1-디플루오로에틸)벤젠(1.5 g)의 용액에 디알릴팔라듐 디클로라이드(1.56 mg), BINAP(0.22 g), DMAP(0.72 g) 및 에틸 포타슘 말로네이트(1.50 g)를 첨가하였다. 반응물을 N₂로 채우고 120°C에서 밤새 교반하였다. 반응물을 EA 및 물로 희석하고, 2개의 상을 분리하고, 수성 상을 DCM(30 mL x 3)으로 추출하였다. 합한 유기 상을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피(PE:EA = 20:1)로 정제하여 에틸 2-(3-클로로-4-(1,1-디플루오로에틸)페닐)아세테이트(590 mg, 2.246 mmol)를 담황색 오일로서 수득하였다. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.56 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.38 (s, 1H), 7.24 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 4.17 (q, J = 20.0 Hz, 2H), 3.61 (s, 2H), 2.03 (t, J = 36.0 Hz, 3H), 1.27 (t, J = 16.0 Hz,

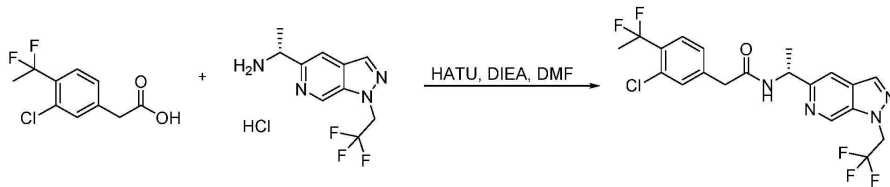
3H). ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -87.45.



[0885]

[0886]

단계 5. 2-(3-클로로-4-(1,1-디플루오로에틸)페닐)아세트산. 25 mL 둥근 바닥 플라스크에 에틸 2-(3-클로로-4-(1,1-디플루오로에틸)페닐)아세테이트(590 mg), 1 M 수성 NaOH(10 mL) 및 MeOH(10 mL)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 반응이 완료되었음을 LCMS로 모니터링하였다. 이후, 물(50 mL)을 첨가하고, 수성 층을 EA로 세척하였다. 수성 층을 1 M 수성 HCl을 사용하여 pH < 3으로 산성화하고, 혼합물을 EA로 추출하였다. 합한 유기 상을 포화 NaCl로 세척하고, Na₂SO₄로 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 2-(3-클로로-4-(1,1-디플루오로에틸)페닐)아세트산(465 mg)을 녹색-황색 고체로서 수득하였다. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.58 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.39 (s, 1H), 7.23 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 3.67 (s, 2H), 2.03 (t, J = 36.0 Hz, 3H). ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -87.53. LCMS ESI (m/z): 233(M-H)⁺.



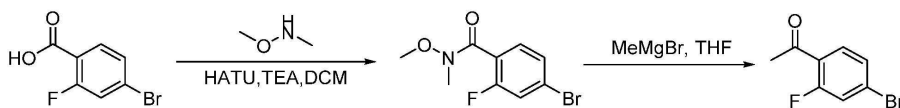
[0887]

[0888]

단계 6. (R)-2-(3-클로로-4-(1,1-디플루오로에틸)페닐)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드. 2 mL DMF 중 2-(3-클로로-4-(1,1-디플루오로에틸)페닐)아세트산(120 mg) 및 HATU(292 mg)의 용액을 실온에서 15분 동안 교반하였다(용액 A). 다른 용기에 (R)-1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드(186 mg) 및 DMF(2.0 mL)를 첨가하였다. DIEA(0.566 mL)를 습식 pH 페이퍼에 의해 용액의 pH가 7 초과일 때까지 첨가하였다(용액 B). 용액 B를 용액 A에 첨가하고, 반응물을 1시간 동안 교반하였고, 이 시간에 LCMS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 반응물을 EA 및 물로 희석하고, 2개의 상을 분리하고, 수성 상을 EA(10 mL x 2)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 무수 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 분취-HPLC(컬럼: AZZOTA C18 30*250mm*10um; 이동상: H₂O(0.1% FA)와 함께 35% 내지 95% MeCN; 유량: 20 mL/분; 파장: 220 nm/254 nm)로 정제하여 (R)-2-(3-클로로-4-(1,1-디플루오로에틸)페닐)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드(130 mg)를 백색 고체로서 수득하였다. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.93 (s, 1H), 8.14 (s, 1H), 7.62 (s, 1H), 7.55 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.36 (s, 1H), 7.24 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.85 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 5.32-5.25 (m, 1H), 5.10-5.03 (m, 2H), 3.57 (s, 2H), 2.02 (t, J = 16.0 Hz, 3H), 1.53 (d, J = 8.0 Hz, 3H). ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -70.76, -87.39. LC/MS ESI (m/z): 461[M+H]⁺.

[0889]

실시예 38. (R)-2-(4-(1,1-디플루오로에틸)-3-플루오로페닐)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드



[0890]

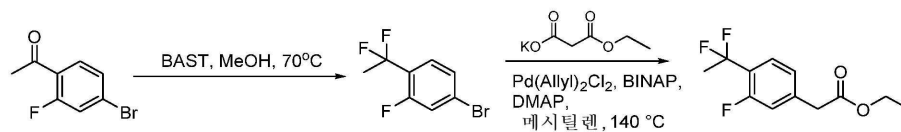
[0891]

4-브로모-2-플루오로-N-메톡시-N-메틸벤즈아미드. DCM(15 mL) 중 4-브로모-2-플루오로벤조산(1.0 g)의 용액에 HATU(2.26 g), 메톡시(메틸)아민 하이드로클로라이드(4.54 g) 및 TEA(1.9 mL)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반한 다음, DCM 및 물로 희석하였다. 유기 층을 분리하고, 포화 수성 NaCl 용액으로 세척하고, 진공에서 농축시켰다. 잔류물을 석유 에테르 중 17% 에틸 아세테이트로 용리시키며 실리카 겔 컬럼 크로마토그

래피로 정제하여 표제 화합물 4-브로모-2-플루오로-N-메톡시-N-메틸벤즈아미드(1.166 g)를 황색 오일로서 수득하였다. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.37-7.29 (m, 3H), 3.55 (s, 3H), 3.34 (s, 3H). ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -110.95. LCMS ESI (m/z): 262 (M+H)⁺.

[0892]

1-(4-브로모-2-플루오로페닐)에탄-1-온. THF(10 mL) 중 4-브로모-2-클로로-N-메톡시-N-메틸벤즈아미드(1.116 g)의 용액에 MeMgBr(7.1 mL, Et₂O 중 3.0 M)을 첨가하였다. 반응물을 -78℃에서 2시간 동안 교반한 다음, 실온에서 밤새 교반하였다. 반응이 완료되었음을 LCMS로 모니터링하였다. 반응물을 DCM 및 물로 희석하고, 2개의 상을 분리하고, 수성 상을 DCM(30 mL x 3)으로 추출하였다. 합한 유기 상을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피(PE:EA = 10:1)로 정제하여 1-(4-브로모-2-플루오로페닐)에탄-1-온(667 mg)을 담황색 고체로서 수득하였다. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.77 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 7.40-7.34 (m, 2H), 2.63 (d, J = 4.0 Hz, 3H). ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -107.01 (s).



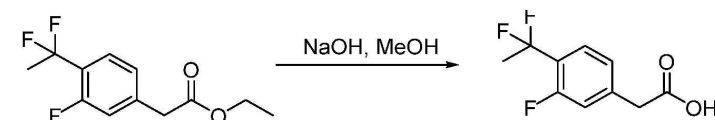
[0893]

[0894]

4-브로모-1-(1,1-디플루오로에틸)-2-플루오로벤젠의 합성. BAST(0.8 mL) 중 1-(4-브로모-2-플루오로페닐)에탄-1-온(667 mg)의 용액에 메탄올 2 방울을 첨가하였다. 첨가가 완료되면, 반응 혼합물을 질소 대기 하에 두고 밤새 70℃로 가열하였다. 반응 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 10 ml의 물로 켄칭시켰다. 생성된 혼합물을 20 ml의 에테르로 2회 추출하였다. 합한 에테르 상을 물로 2회, 수성 소듐 바이카르보네이트로 2회, 10% 수성 시트르산으로 1회, 염수로 1회 세척한 다음, 마그네슘 설페이트 상에서 건조시켰다. 용매를 감압 하에 제거하고, 겔 실리카 컬럼(PE 중 3% EA)으로 정제하여 4-브로모-1-(1,1-디플루오로에틸)-2-플루오로벤젠(294 mg)을 무색 오일로서 수득하였다. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.44-7.40 (m, 1H), 7.36-7.31 (m, 2H), 2.02-1.93 (m, 3H). ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -87.13, -112.27.

[0895]

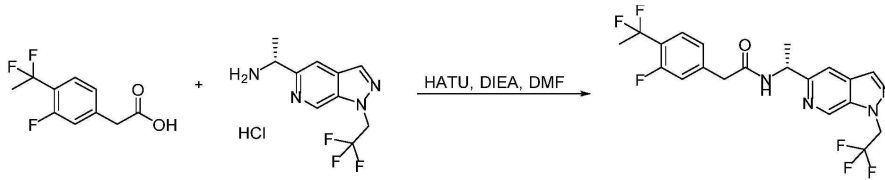
에틸 2-(4-(1,1-디플루오로에틸)-3-플루오로페닐)아세테이트. 메시틸렌(5 mL) 중 4-브로모-1-(1,1-디플루오로에틸)-2-플루오로벤젠(290 mg)의 용액에 BINAP(45 mg), 1-에틸 3-포타슘 프로판디오에이트(310 mg), DMAP(148 mg, 1.21 mmol) 및 디알릴팔라듐 디클로라이드(1.6 mg)를 첨가하였다. 반응물을 N₂로 채우고 120℃에서 밤새 교반하였다. 반응이 완료되었음을 LCMS로 모니터링하였다. 반응물을 EA 및 물로 희석하고, 2개의 상을 분리하고, 수성 상을 DCM(10 mL x 3)으로 추출하였다. 합한 유기 상을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피(석유 에테르 중 4% 에틸 아세테이트)로 정제하여 에틸 2-(4-(1,1-디플루오로에틸)-3-플루오로페닐)아세테이트(121 mg)를 담황색 오일로서 수득하였다. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.451-7.47 (m, 1H), 7.11-1.07 (m, 2H), 4.17 (q, J = 8.0 Hz, 2H), 3.63 (s, 2H), 2.03-1.94 (m, 3H), 1.27 (t, J = 8.0 Hz, 3H). ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -86.88, -114.99.



[0896]

[0897]

2-(4-(1,1-디플루오로에틸)-3-플루오로페닐)아세트산. 25 mL 둥근 바닥 플라스크에 에틸 2-(4-(1,1-디플루오로에틸)-3-플루오로페닐)아세테이트(121 mg), 1 M 수성 NaOH(3 mL) 및 MeOH(3 mL)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 1시간 동안 실온에서 교반하였다. 이후, 물(10 mL)을 첨가하고, 수성 층을 EA로 세척하였다. 수성 층을 1 M 수성 HCl을 사용하여 pH < 3으로 산성화하고, 혼합물을 EA로 추출하였다. 합한 유기 상을 포화 NaCl로 세척하고, Na₂SO₄로 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 생성물 2-(4-(1,1-디플루오로에틸)-3-플루오로페닐)아세트산(100 mg)을 황색 고체로서 수득하였다. LCMS ESI (m/z): 217(M-H)⁺.



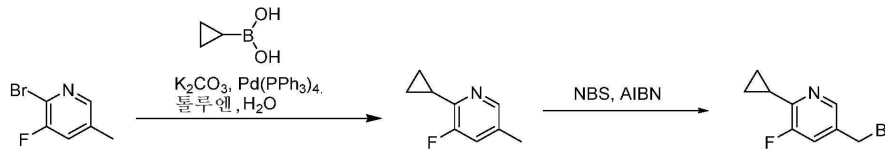
[0898]

[0899]

(R)-2-(4-(1,1-디플루오로에틸)-3-플루오로페닐)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드. 2 mL DMF 중 2-(4-(1,1-디플루오로에틸)-3-플루오로페닐)아세트산(100 mg) 및 HATU(261 mg)의 용액을 실온에서 15분 동안 교반하였다(용액 A). DIEA(0.46 mL)를 2 mL DMF 중 (R)-1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드(167 mg)에 첨가하였고, 용액의 pH는 습식 pH 페이퍼에 의해 7 초과였다(용액 B). 용액 B를 용액 A에 첨가하고, 반응물을 실온에서 1시간 동안 교반하였고, 이 시간에 LCMS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 반응물을 EA 및 물로 희석하였다. 2개의 상을 분리하고, 수성 상을 EA(10 mL x 2)로 추출하였다. 합한 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 분취-HPLC(컬럼: AZZOTA C18 30*250mm*10um; 이동상: H₂O(0.1% FA)와 함께 30% 내지 95% MeOH; 유량: 20 mL/분; 파장: 220 nm/254 nm)로 정제하여 (R)-2-(4-(1,1-디플루오로에틸)-3-플루오로페닐)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드(59 mg)를 백색 고체로서 수득하였다. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.91 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.60 (s, 1H), 7.48 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 7.09 (t, J = 8.0 Hz, 2H), 6.83 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 5.31-5.24 (m, 1H), 5.09-5.03 (m, 2H), 3.59 (s, 2H), 1.98 (t, J = 16.0 Hz, 3H), 1.51 (d, J = 4.0 Hz, 3H). ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -70.78, -86.83, -114.72. LC/MS ESI (m/z): 445 [M+H]⁺.

[0900]

실시예 39. (R)-2-(6-사이클로프로필-5-플루오로피리딘-3-일)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드



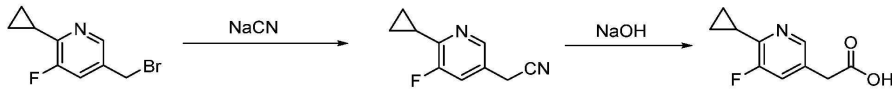
[0901]

[0902]

2-사이클로프로필-3-플루오로-5-메틸피리딘. 톨루엔:H₂O(50 mL, 10:1) 중 2-브로모-3-플루오로-5-메틸피리딘(3.75 g)의 용액에 K₃PO₄(12.57 g), 사이클로프로필보론산(2.54 g) 및 Pd(PPh₃)₄(2.28 g)를 첨가하였다. 반응물을 N₂ 하에 110°C에서 밤새 교반하고, 반응물을 EA 및 물로 희석하였다. 유기 층을 분리하고, 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 진공에서 농축시켰다. 이후, 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 2-사이클로프로필-3-플루오로-5-메틸피리딘(2.2 g)을 무색 오일로서 수득하였다: LCMS ESI (m/z): 152 (M+H)⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.06 (s, 1H), 7.13 -7.06 (m, 1H), 2.30 - 2.24 (m, 4H), 1.12 -0.92 (m, 4H). ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -131.54 (s).

[0903]

5-(브로모메틸)-2-사이클로프로필-3-플루오로피리딘. CCl₄(55 mL) 중 2-사이클로프로필-3-플루오로-5-메틸피리딘(2.2 g)의 용액에 NBS(3.63 g) 및 AIBN(0.22 mL)을 첨가하고, 반응물을 질소 하에 80°C에서 밤새 교반하였다. 반응물을 DCM 및 물로 희석하고, 유기 층을 분리하고, 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 30°C에서 진공에서 농축시켰다. 반응이 완료되었음을 LCMS로 모니터링하였다. 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 5-(브로모메틸)-2-사이클로프로필-3-플루오로피리딘(897 mg)을 보라색 오일로서 수득하였다. LCMS ESI (m/z): 230.0 (M+H)⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.23 (s, 1H), 7.36 -7.29 (m, 1H), 4.43 (s, 2H), 2.36 - 2.29 (m, 1H), 1.16 - 1.00 (m, 4H). ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -129.72 (s).



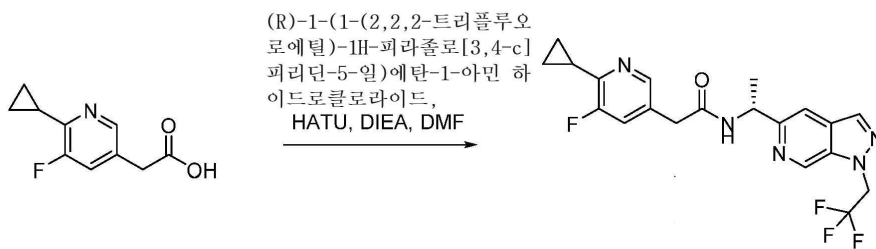
[0904]

[0905]

2-(6-사이클로프로필-5-플루오로피리딘-3-일)아세트니트릴. DMF(5 mL) 중 5-(브로모메틸)-2-사이클로프로필-3-플루오로피리딘(897 mg)의 용액에 NaCN(385 mg)을 첨가하고, 반응물을 실온에서 30분 동안 교반하였다. 반응이 완료되었음을 LCMS로 모니터링하였다. 이후, 반응물을 DCM 및 물로 희석하고, 유기 층을 분리하고, 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 진공에서 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 2-(6-사이클로프로필-5-플루오로피리딘-3-일)아세트니트릴(513 mg)을 황색 오일로서 수득하였다: LCMS ESI (m/z): 177 (M+H)⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.23 - 8.14 (m, 1H), 7.36 - 7.28 (m, 1H), 3.73 (s, 2H), 2.40 - 2.25 (m, 1H), 1.15 - 1.09 (m, 2H), 1.09 - 1.01 (m, 2H). ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -128.87 (s).

[0906]

2-(6-사이클로프로필-5-플루오로피리딘-3-일)아세트산. 2-(6-사이클로프로필-5-플루오로피리딘-3-일)아세트니트릴(589 mg)을 2 M NaOH(5 mL)에 용해시키고 100°C에서 1시간 동안 교반하였다. 반응 용액을 2 M HCl로 pH = 1로 산성화하고 EA(50 mL x 3)로 추출하였다. 유기 층을 농축시켜 2-(6-사이클로프로필-5-플루오로피리딘-3-일)아세트산을 황색 고체(553 mg)로서 수득하고, 추가 정제 없이 다음 단계에 사용하였다. LCMS ESI (m/z): 196 (M+H)⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 12.53 (s, 1H), 8.15 (s, 1H), 7.56 - 7.48 (m, 1H), 3.63 (s, 2H), 2.32 - 2.21 (m, 1H), 1.04 - 0.93 (m, 4H). ¹⁹F NMR (377 MHz, DMSO) δ -131.95 (s).



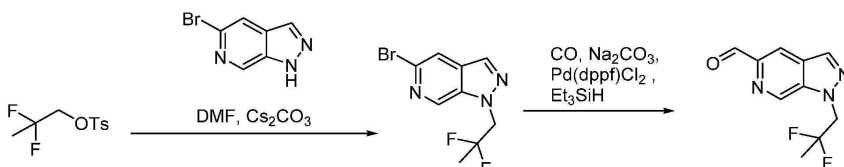
[0907]

[0908]

(R)-2-(6-사이클로프로필-5-플루오로피리딘-3-일)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드. 무수 DMF(1.5 mL) 중 (R)-1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드(206 mg)의 용액에 DIEA(1 mL)를 첨가하여 용액 A를 제공하였다. 무수 DMF(1.5 mL) 중 2-(6-사이클로프로필-5-플루오로피리딘-3-일)아세트산(110 mg)의 용액에 HATU(236 mg)를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 15분 동안 교반하여 용액 B를 제공하였다. 용액 A를 용액 B에 첨가하고, 반응물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 이후, 반응물을 EA 및 물로 희석하고, 유기 층을 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 진공 하에 농축시켰다. 잔류물을 분취-HPLC(컬럼: AZZOTA C18 30*250mm*10um; 이동상: H₂O(0.1% FA)와 함께 20% 내지 95% MeCN; 유량: 20 mL/분; 파장: 220 nm/254 nm)로 정제하여 (R)-2-(6-사이클로프로필-5-플루오로피리딘-3-일)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드(145 mg)를 백색 고체로서 수득하였다. LCMS ESI (m/z): 422 (M+H)⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.90 (s, 1H), 8.11 (d, J = 6.0 Hz, 2H), 7.56 (s, 1H), 7.30 - 7.27 (m, 1H), 6.74 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 5.30 - 5.23 (m, 1H), 5.08 - 5.02 (m, 2H), 3.52 (s, 2H), 2.31 - 2.27 (m, 1H), 1.49 (d, J = 6.4Hz, 3H), 1.12 - 0.97 (m, 4H). ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -70.79 (s), -130.20 (s).

[0909]

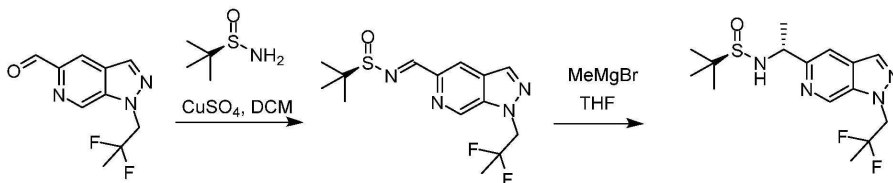
실시예 40. (R)-N-(1-(1-(2,2-디플루오로프로필)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)-2-(4-(트리플루오로메틸)페닐)아세트아미드



[0910]

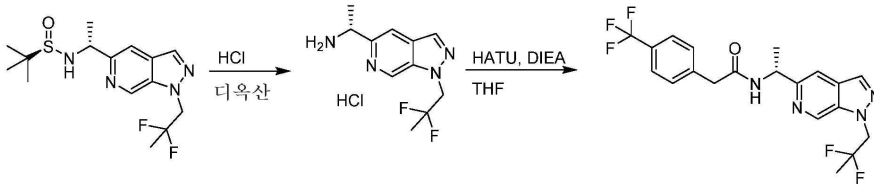
[0911] 5-브로모-1-(2,2-디플루오로프로필)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘. DMF(30 mL) 중 2,2-디플루오로프로필 4-메틸벤젠설포네이트(3.0 g)의 용액에 5-브로모-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘(2.19 g) 및 Cs₂CO₃(3.61 g)을 첨가하였다. 반응물을 질소 하에 90°C에서 밤새 교반하였다. 이후, 반응물을 EA 및 물로 희석하고, 유기 층을 분리하고, 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 진공에서 농축시켰다. 이후, 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 5-브로모-1-(2,2-디플루오로프로필)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘(1.2 g)을 백색 고체로서 수득하였다. LCMS ESI (m/z): 276 (M+H)⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.79 (s, 1H), 8.05 (s, 1H), 7.84 (d, J = 1.0 Hz, 1H), 4.79 (t, J = 12.2 Hz, 2H), 1.63 (t, J = 18.8 Hz, 3H). ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -93.76 (s).

[0912] 1-(2,2-디플루오로프로필)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-카르보알데히드. 무수 DMF(50 mL) 중 5-브로모-1-(2,2-디플루오로프로필)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘(1.3 g)의 용액에 Na₂CO₃(0.75 g), Pd(dppf)Cl₂(0.34 g) 및 Et₃SiH(1.10 g)을 첨가하였다. 이후, 반응물을 CO(5 bar) 하에 100°C에서 밤새 교반하였다. 반응물을 EA 및 물로 희석하고, 유기 층을 분리하고, 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 진공에서 농축시켰다. 이후, 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 1-(2,2-디플루오로프로필)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-카르보알데히드(828 mg)를 황색 고체로서 수득하였다. LCMS ESI (m/z): 226 (M+H)⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 10.23 (s, 1H), 9.13 (s, 1H), 8.41 (d, J = 1.2 Hz, 1H), 8.29 (s, 1H), 4.88 (t, J = 12.2 Hz, 2H), 1.67 (t, J = 18.8 Hz, 3H). ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -93.83 (s).



[0913] (R,E)-N-((1-(2,2-디플루오로프로필)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)메틸렌)-2-메틸프로판-2-설피나미드. 무수 DCM(15 mL) 중 1-(2,2-디플루오로프로필)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-카르보알데히드(1.04 g)의 용액에 CuSO₄(2.21 g) 및 (R)-2-메틸프로판-2-설피나미드(0.73 g)를 첨가하였다. 이후, 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반하고, 용액을 셀라이트의 패드를 통해 여과하고, 여액을 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 컬럼으로 정제하여 (R,E)-N-((1-(2,2-디플루오로프로필)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)메틸렌)-2-메틸프로판-2-설피나미드(1.4 g)를 백색 고체로서 수득하였다. LCMS ESI (m/z): 329 (M+H)⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.12 (s, 1H), 8.84 (s, 1H), 8.36 (d, J = 1.0 Hz, 1H), 8.23 (s, 1H), 4.86 (t, J = 12.2 Hz, 2H), 1.65 (t, J = 18.8 Hz, 3H), 1.31 (s, 9H). ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -93.82 (s).

[0915] (R)-N-((R)-1-(1-(2,2-디플루오로프로필)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)-2-메틸프로판-2-설피나미드. 무수 THF(20 mL) 중 (R,E)-N-((1-(2,2-디플루오로프로필)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)메틸렌)-2-메틸프로판-2-설피나미드(1.4 g)의 용액에 질소 하에 -78°C에서 MeMgBr(에테르 중 3.0 M, 7.11 mL)을 적가하였다. 이후, 반응물을 -78°C에서 2시간 동안 교반한 다음, 반응 용액을 포화 암모늄 클로라이드로 키펀칭하고 EA로 추출하였다. 유기 층을 분리하고, 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 진공에서 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 (R)-N-((R)-1-(1-(2,2-디플루오로프로필)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)-2-메틸프로판-2-설피나미드(1.1 g)를 황색 오일로서 수득하였다. LCMS ESI (m/z): 264 (M+H)⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.97 (s, 1H), 8.06 (d, J = 0.8 Hz, 1H), 7.62 (d, J = 1.0 Hz, 1H), 4.79 (t, J = 12.0 Hz, 2H), 4.72 - 4.66 (m, 1H), 1.65 - 1.58 (m, 6H), 1.25 (s, 9H). ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -93.55 (d, J = 5.6 Hz).

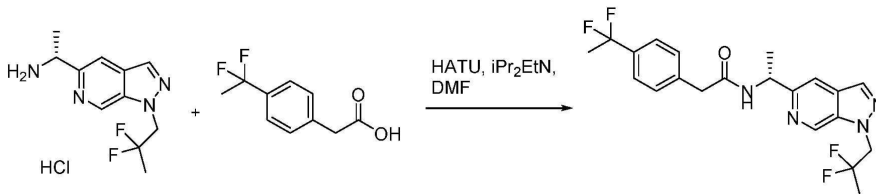


[0916]

[0917] (R)-1-(1-(2,2-디플루오로프로필)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드. 디옥산(6 mL) 중 (R)-N-((R)-1-(1-(2,2-디플루오로프로필)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)-2-메틸프로판-2-설피나미드(1.1 g)의 용액에 HCl-디옥산(3 mL, 4 N)을 첨가하고, 반응물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 이후, 혼합물을 농축시키고, 잔류물을 다음 단계에 직접 사용하였다. LCMS ESI (m/z): 241 (M+H)⁺.

[0918] (R)-N-(1-(1-(2,2-디플루오로프로필)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)-2-(4-(트리플루오로메틸)페닐)아세트아미드. 무수 DMF 중 (R)-1-(1-(2,2-디플루오로프로필)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드(264 mg)의 용액에 DIEA(655 mg)를 첨가하여 용액 A를 제공하였다. 무수 DMF 중 2-(4-(트리플루오로메틸)페닐)아세트산(173 mg)의 용액에 HATU(354 mg)를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 15분 동안 교반하여 용액 B를 제공하였다. 이후, 용액 A를 용액 B에 첨가하고, 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 반응물을 EA 및 물로 희석하고, 유기 층을 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 진공에서 농축시켰다. 잔류물을 분취-HPLC(컬럼: YMC-Actus Triart C18 150*20mm*5um; 이동상: H₂O(0.1%NH₃H₂O)와 함께 30% 내지 95% MeCN; 유량: 25 mL/분; 파장: 220 nm/254 nm)로 정제하여 (R)-N-(1-(1-(2,2-디플루오로프로필)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)-2-(4-(트리플루오로메틸)페닐)아세트아미드(188 mg)를 백색 고체로서 수득하였다. LCMS ESI (m/z): 427 (M+H)⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9.15 (s, 1H), 8.67 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 8.22 (s, 1H), 7.68 - 7.60 (m, 3H), 7.49 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 5.19 - 5.00 (m, 3H), 3.62 (s, 2H), 1.68 (t, J = 19.2 Hz, 3H), 1.44 (d, J = 7.2 Hz, 3H). ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -62.53 (s), -93.63 (s).

[0919] **실시예 41. (R)-2-(4-(1,1-디플루오로에틸)페닐)-N-(1-(1-(2,2-디플루오로프로필)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드**

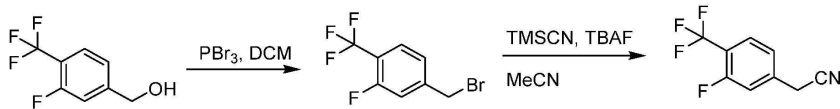


[0920]

[0921] 무수 DMF 중 (R)-1-(1-(2,2-디플루오로프로필)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드(359 mg)의 용액에 DIEA(0.63 mL)를 첨가하여 용액 A를 제공하였다. 무수 DMF(3 mL) 중 2-(4-(1,1-디플루오로에틸)페닐)아세트산(230 mg)의 용액에 HATU(481 mg)를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 15분 동안 교반하여 용액 B를 제공하였다. 이후, 용액 A를 용액 B에 첨가하고, 반응물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 반응물을 EA 및 물로 희석하고, 유기 층을 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 진공에서 농축시켰다. 잔류물을 분취-HPLC(컬럼: AZZOTA C18 GEMINI 250*20mm 10um; 이동상: H₂O(0.1% NH₃H₂O)와 함께 20% 내지 95% MeCN; 유량: 15 mL/분; 파장: 220 nm/254 nm)로 정제하여 (R)-2-(4-(1,1-디플루오로에틸)페닐)-N-(1-(1-(2,2-디플루오로프로필)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드(207 mg)를 백색 고체로서 수득하였다. LCMS ESI (m/z): 423 (M+H)⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.89 (s, 1H), 8.04 (s, 1H), 7.51-7.46 (m, 3H), 7.33 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 6.69 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 5.29 - 5.22 (m, 1H), 4.79 (t, J = 12.0 Hz, 2H), 3.60 (s, 2H), 1.91 (t, J = 18.4 Hz, 3H), 1.62-1.57 (m, 3H), 1.47 (d, J = 6.8 Hz, 3H). ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -87.38 (s), -93.61 (s).

[0922] **실시예 42. (R)-2-(3-플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로**

[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드



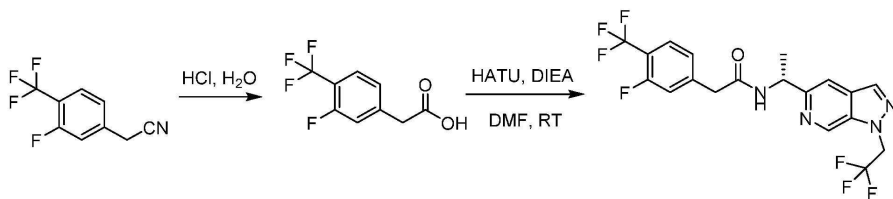
[0923]

[0924]

4-(브로모메틸)-2-플루오로-1-(트리플루오로메틸)벤젠. DCM(10 mL) 중 (3-플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐)메탄올(1 g)의 용액에 PBr₃(1 mL)를 0°C에서 첨가하고, 반응물을 실온에서 30분 동안 교반하였다. 반응물을 EA 및 물로 희석하였다. 유기 층을 분리하고, 염수로 세척하고, 진공 하에 농축시켰다. 이후, 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 4-(브로모메틸)-2-플루오로-1-(트리플루오로메틸)벤젠(542 mg)을 무색 오일로서 수득하였다. LCMS ESI (m/z): MS 신호 없음. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.58 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 7.26 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 4.45 (s, 2H). ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -61.43, -113.43.

[0925]

2-(3-플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐)아세트니트릴의 합성. 무수 MeCN(5 mL) 중 4-(브로모메틸)-2-플루오로-1-(트리플루오로메틸)벤젠(542 mg) 및 TMSCN(0.32 mL)의 용액에 TBAF(2.5 mL, THF 중 1 M)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 18시간 동안 교반한 다음, DCM 및 물로 희석하였다. 유기 층을 분리하고, 염수로 세척하고, 진공에서 농축시켰다. 이후, 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 2-(3-플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐)아세트니트릴(262 mg)을 무색 오일로서 수득하였다. LCMS ESI (m/z): MS 신호 없음. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7.85 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 7.53 (d, J = 11.8 Hz, 1H), 7.44 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 4.22 (s, 2H). ¹⁹F NMR (377 MHz, DMSO) δ -59.99, -115.24.



[0926]

[0927]

2-(3-플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐)아세트산. 2-(3-플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐)아세트니트릴(262 mg)을 농축 염화수소(4.0 mL)에 용해시키고 100°C에서 1시간 동안 교반하였다. 반응 용액을 물로 희석하고 EA로 추출하였다. 유기 층을 분리하고 진공에서 농축시켜 2-(3-플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐)아세트산을 무색 오일(149 mg)로서 제공하고, 이를 추가 정제 없이 다음 단계에 사용하였다. LCMS ESI (m/z): 443 (2M-H)⁻. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7.78 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 7.50 (d, J = 12.2 Hz, 1H), 7.38 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 3.81 (s, 2H).

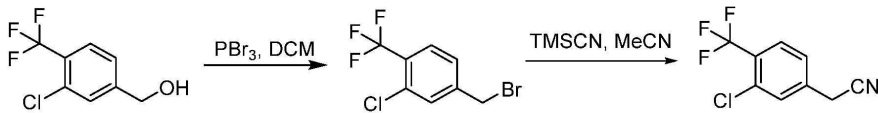
[0928]

(R)-2-(3-플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드. 무수 DMF 중 (R)-1-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아민 하이드로클로라이드(196 mg)의 용액에 DIEA(0.53 mL)를 첨가하여 용액 A를 제공하였다. 무수 DMF 중 2-(3-플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐)아세트산(119 mg)의 용액에 HATU(224 mg)를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 15분 동안 교반하여 용액 B를 제공하였다. 이후, 용액 A를 용액 B에 첨가하고, 반응물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 반응물을 EA 및 물로 희석하고, 유기 층을 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 진공에서 농축시켰다. 이후, 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피 및 분취-HPLC(컬럼: AZZOTA C18 30*250mm*10um; 이동상: H₂O(1% FA)와 함께 25% 내지 95% MeCN; 유량: 28 mL/분; 파장: 220 nm/254 nm)로 정제하여 (R)-2-(3-플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드(119 mg)를 백색 고체로서 수득하였다. LCMS ESI (m/z): 449 (M+H)⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9.25 (s, 1H), 8.71 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 8.31 (s, 1H), 7.72 - 7.68 (m, 2H), 7.40 - 7.29 (m, 2H), 5.66 - 5.59 (m, 2H), 5.10 - 5.07 (m, 1H), 3.64 (s, 2H), 1.45 (d, J = 6.8 Hz, 3H). ¹⁹F NMR (377 MHz, DMSO) δ -59.72, -69.80, -116.73.

[0929]

실시예 43. (R)-2-(3-클로로-4-(트리플루오로메틸)페닐)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-

c] 피리딘-5-일)에틸)아세트아미드



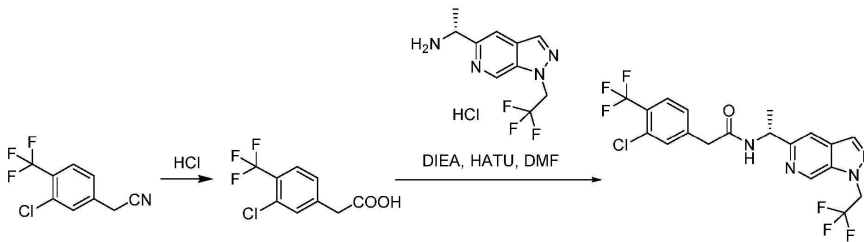
[0930]

[0931]

4-(브로모메틸)-2-클로로-1-(트리플루오로메틸)벤젠. DCM(4 mL) 중 [3-플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐]메탄올(1 g)의 용액에 PBr₃(0.9 mL)를 0℃에서 첨가하고, 반응물을 실온에서 30분 동안 교반하였다. 반응물을 EA 및 물로 희석하고, 유기 층을 분리하고, 포화 염수로 세척하고, 진공에서 농축시켰다. 이후, 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 4-(브로모메틸)-2-클로로-1-(트리플루오로메틸)벤젠을 무색 오일(690 mg)로서 수득하였다. LCMS ESI (m/z): MS 신호 없음. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7.89 - 7.82 (m, 2H), 7.64 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 4.77 (s, 2H). ¹⁹F NMR (377 MHz, DMSO-d₆) δ -61.16 (s).

[0932]

2-(3-클로로-4-(트리플루오로메틸)페닐)아세트니트릴의 합성. 4-(브로모메틸)-2-클로로-1-(트리플루오로메틸)벤젠(700 mg) 및 TMSCN(0.384 mL)을 무수 MeCN(5 mL)에 용해시키고 실온에서 30분 동안 교반하였다. 이후, TBAF(3 mL, THF 중 1 M)를 첨가하고, 반응물을 실온에서 3시간 동안 교반하였다. 반응물을 DCM 및 물로 희석하고, 유기 층을 분리하고, 염수로 세척하고, 진공 하에 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 2-(3-클로로-4-(트리플루오로메틸)페닐)아세트니트릴(292 mg)을 무색 오일로서 수득하였다. LCMS ESI (m/z): 218 (M-H)⁻. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7.92 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.57 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 4.21 (s, 2H). ¹⁹F NMR (377 MHz, DMSO-d₆) δ -61.17 (s).



[0933]

[0934]

2-(3-클로로-4-(트리플루오로메틸)페닐)아세트산. 2-(3-클로로-4-(트리플루오로메틸)페닐)아세트니트릴(290 mg)을 농축 염산(2.5 mL)에 용해시키고 100℃에서 1시간 동안 교반하였다. 반응 용액을 물로 희석하고, EA로 추출하고, 유기 층을 분리하고, 진공 하에 농축시켜 2-(3-클로로-4-(트리플루오로메틸)페닐)아세트산을 추가 정제 없이 무색 오일(250 mg)로서 수득하였다. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 12.46 (s, 1H), 7.81 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.66 (s, 1H), 7.46 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 3.75 (s, 2H).

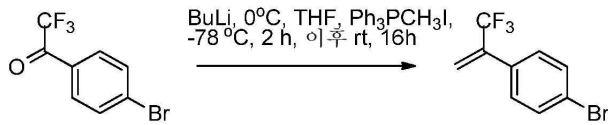
[0935]

(R)-2-(3-클로로-4-(트리플루오로메틸)페닐)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드. 무수 DMF 중 (R)-1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸-1-아민 하이드로클로라이드(353 mg)의 용액에 DIEA(0.96 mL)를 첨가하여 용액 A를 제공하였다. 무수 DMF 중 2-(3-클로로-4-(트리플루오로메틸)페닐)아세트산(230 mg)의 용액에 HATU(403 mg)를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 15분 동안 교반하여 용액 B를 제공하였다. 이후, 용액 A를 용액 B에 첨가하고, 반응물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 반응물을 EA 및 물로 희석하고, 유기 층을 분리하고, 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 진공에서 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피(컬럼: AZZOTA C18 GEMINI 250*20mm 10um; 이동상: H₂O(0.1% FA)와 함께 20% 내지 95% MeCN; 유량: 15 mL/분; 파장: 220 nm/254 nm)로 정제하여 (R)-2-(3-클로로-4-(트리플루오로메틸)페닐)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드(347 mg)를 백색 고체로서 수득하였다. LCMS ESI (m/z): 465 (M+H)⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.90 (s, 1H), 8.11 (s, 1H), 7.63 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.58 (s, 1H), 7.44 (s, 1H), 7.29 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 6.81 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 5.31 - 5.23 (m, 1H), 5.08 - 5.02 (m, 2H), 3.59 (s, 2H), 1.51 (d, J = 6.8 Hz, 3H). ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -62.46 (s), -70.79 (s).

[0936]

실시예 44. (R)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)-2-(4-(1-(트리플루오

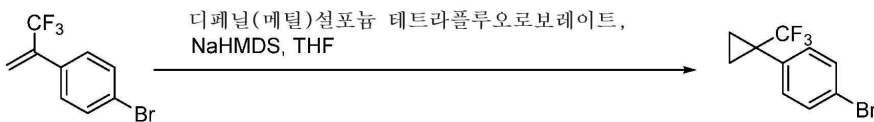
로메틸)사이클로프로필)페닐)아세트아미드



[0937]

[0938]

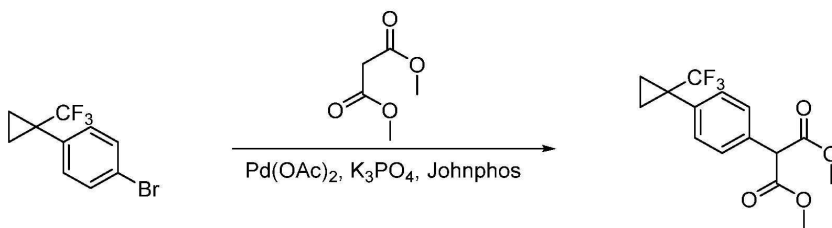
1-브로모-4-(3,3,3-트리플루오로프로프-1-엔-2-일)벤젠의 합성. 메틸 트리페닐포스포늄 요오드 $\text{Ph}_3\text{PCH}_3\text{I}$ (15.2 g, 0.04 mol)를 갖는 화염 건조된 플라스크에 아르곤 대기 하에 THF (60 mL)를 첨가하였다. 생성된 현탁액을 0°C로 냉각시키고 n-BuLi (15.6 mL, 2.5 N)를 적가하였다. 혼합물을 0°C에서 10분 동안 교반한 다음, -78°C로 냉각시켰다. THF (10 mL) 중 1-(4-브로모페닐)-2,2,2-트리플루오로에탄-1-온 (8.2 g, 0.03 mol)을 첨가하고, 혼합물을 -78°C에서 30분 동안 교반한 다음, 실온에서 밤새 교반하였다. 이를 포화 NH_4Cl 로 켄칭하고 PE (300 mL)로 추출하였다. 유기 층을 포화 NaCl로 세척하고, 무수 Na_2SO_4 로 건조시키고, 여과하고, 여액을 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 상에서 컬럼 크로마토그래피 (PE:EA = 10:1)로 정제하여 1-브로모-4-(3,3,3-트리플루오로프로프-1-엔-2-일)벤젠을 무색 오일 (6.1 g, 74%)로서 수득하였다. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): 7.53-7.50 (m, 2H), 7.31 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 5.97 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H), 5.77-5.76 (m, 1H) ppm. ^{19}F NMR (376.48 MHz, CDCl_3): -64.9 ppm.



[0939]

[0940]

1-브로모-4-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)벤젠. 무수 테트라하이드로푸란 (40 mL) 중 1-브로모-4-(3,3,3-트리플루오로프로프-1-엔-2-일)벤젠 (2.2 g) 및 메틸디페닐설포늄 테트라플루오로보레이트 (3.3 g)를 함유하는 오븐 건조된 100 mL 용기에 질소 하에 0°C에서 THF (7.0 mL) 중 소듐 비스(트리메틸실릴)아미드 2 M을 첨가하였다. 반응 혼합물을 0°C에서 10분 동안 교반한 다음, 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 용액에 2.5 mL의 메탄올을 첨가하고, 미정제 혼합물을 진공에서 농축시켰다. 잔류물을 PE (100 mL)에 용해시키고, 물 (30 mL x 2) 및 염수로 세척하였다. 합한 유기 층을 수집하고 진공 하에 농축시켰다. 미정제 잔류물을 실리카 겔 상에서 자동화 플래쉬 크로마토그래피 (PE100%)로 정제하여 1-브로모-4-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)벤젠을 무색 오일 (1.4 g)로서 수득하였다. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): 7.49-7.44 (m, 2H), 7.34-7.32 (m, 2H), 1.42-1.33 (m, 2H), 1.02-0.95 (m, 2H). ^{19}F NMR (376.48 MHz, CDCl_3): -70.2 ppm.

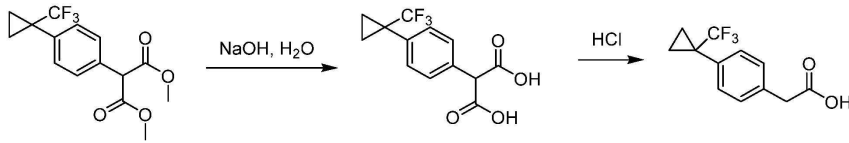


[0941]

[0942]

디메틸 2-(4-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)페닐)말로네이트. PhMe (50 mL) 중 디에틸말로네이트 (0.77 g) 및 1-브로모-4-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)벤젠 (1.4 g)을 함유하는 100 mL 둥근 바닥 플라스크에 K_3PO_4 (3.4 g), $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (40 mg) 및 JohnPhos (CAS# 224311-51-7, 90 mg)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 N_2 하에 125°C에서 4.0시간 동안 교반하고 LCMS로 모니터링하였다. 반응 완료 후, 미정제 혼합물을 여과하고 진공에서 농축시켰다. 잔류물을 EA 중 100% PE 내지 50% PE로 용리시키며 실리카 겔 상에서 자동화 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 디메틸 2-(4-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)페닐)말로네이트를 백색 고체 (693 mg)로서 수득하였다. LCMS ESI (m/z): 317 ($\text{M}+\text{H}$)⁺. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): 7.45 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.37 (d, $J =$

8.0 Hz, 2H), 4.65 (s, 1H), 3.75 (s, 6H), 1.36-1.33 (m, 2H), 1.02 (m, 2H). ¹⁹F NMR (376.48 MHz, CDCl₃): -70.0 ppm.



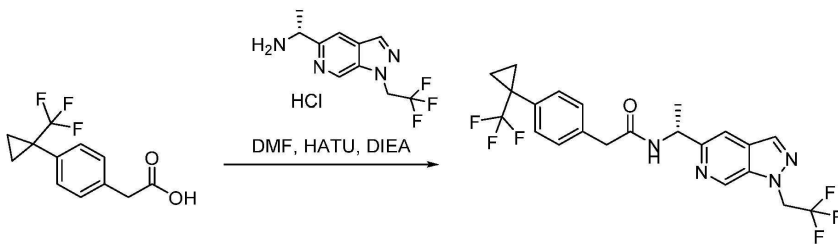
[0943]

[0944]

2-(4-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)페닐)말론산. 톨루엔(10 mL) 중 디메틸 2-(4-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)페닐)말로네이트(540 mg)의 용액에 8 mL의 32% NaOH를 첨가하였다. 혼합물을 100℃에서 24시간 동안 교반하였다. 실온으로 냉각시킨 후, 수성 층을 톨루엔으로 세척하고, 2 N HCl로 pH = 1로 조정하였다. 수성 층을 EA로 추출하고 염수로 세척하였다. 합한 유기 층을 농축시켜 황색 고체를 제공하고, 이를 추가 정제 없이(450 mg) 다음 단계에 사용하였다. LCMS ESI (m/z): 287 (M-H)⁺;

[0945]

2-(4-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)페닐)아세트산. 톨루엔(6 mL) 및 6 N HCl(6 mL) 중 2-(4-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)페닐)말론산(400 mg)의 혼합물을 100℃에서 16시간 동안 교반하였다. 유기 층을 수집하고 포화 염수로 세척하고 진공 하에 농축시켜 2-(4-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)페닐)아세트산을 황색 고체(250 mg)로서 제공하고, 이를 추가 정제 없이 다음 단계에 사용하였다. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): 7.41 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.27 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 3.60 (s, 2H), 1.34-1.31 (m, 2H), 1.06-1.03 (m, 2H) ppm. ¹⁹F NMR (376.48 MHz, CD₃OD): -71.5 ppm.



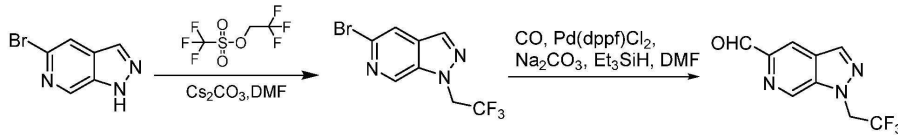
[0946]

[0947]

(R)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)-2-(4-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)페닐)아세트아미드. 무수 DMF(2.0 mL) 중 (R)-1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드(272 mg)의 용액에 DIEA(0.85 mL)를 첨가하여 용액 A를 제공하였다. DMF(1.5 mL) 중 2-(4-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)페닐)아세트산(209 mg)의 혼합물에 HATU(358 mg)를 첨가하고, 반응물을 실온에서 15분 동안 교반하여 용액 B를 제공하였다. 용액 A를 용액 B에 첨가하고, 반응물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 이후, 반응물을 EA 및 물로 희석하고, 유기 층을 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 진공에서 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 컬럼(컬럼: AZZOTA C18 GEMINI 250*20mm 10um; 이동상: H₂O(0.1% FA)와 함께 20% 내지 95% MeCN; 유량: 15 mL/분; 파장: 220 nm/254 nm)으로 정제하여 (R)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)-2-(4-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)페닐)아세트아미드(126 mg)를 백색 고체로서 수득하였다: LCMS ESI (m/z): 471 (M+H)⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.84 (s, 1H), 8.11 (s, 1H), 7.57 (s, 1H), 7.41 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.24 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 6.71 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 5.27- 5.24 (m, 1H), 5.07- 5.01 (m, 2H), 3.58 (s, 2H), 1.49 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 1.38 -1.31 (m, 2H), 1.01 (s, 2H). ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -70.11 (s), -70.82 (s).

[0948]

실시예 45. (R)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)프로필)-2-(4-(트리플루오로메틸)페닐)아세트아미드



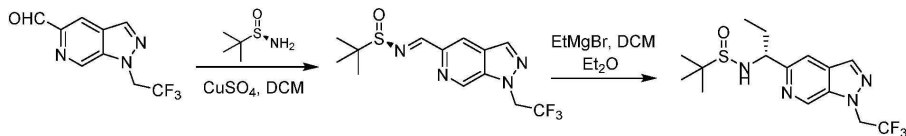
[0949]

[0950]

5-브로모-1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘. DMF(50 mL) 중 5-브로모-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘(10 g)의 용액에 2,2,2-트리플루오로에틸 트리플루오로메탄설포네이트(8.7 mL) 및 Cs₂CO₃(19.7 g)를 첨가하였다. 반응물을 실온에서 밤새 교반한 다음, 반응물을 EA 및 물로 희석하였다. 유기 층을 분리하고, 포화수성 NaCl 용액으로 세척하고, 진공에서 농축시켰다. 잔류물을 석유 에테르 중 40% 에틸 아세테이트로 용리시키며 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 표제 화합물 5-브로모-1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘(7.5 g)을 백색 고체로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 280 [M+H]⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.78 (s, 1H), 8.11 (s, 1H), 7.87 (s, 1H), 5.05 (q, J = 8.2 Hz, 2H). ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -70.79 (s).

[0951]

1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-카르보알데히드. DMF(28 mL) 중 5-브로모-1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘(5 g)의 용액에 Na₂CO₃(2.84 g), Pd(dppf)Cl₂(0.52 g) 및 Et₃SiH(5.8 mL)를 첨가하였다. 이후, 반응물을 일산화탄소 하에 80°C에서 3시간 동안 교반하였다. 반응물을 EA 및 물로 희석하고, 유기 층을 분리하고, 염수로 세척하고, 진공에서 농축시켰다. 이후, 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-카르보알데히드(2.34 g)를 백색 고체로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 230 [M+H]⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 10.24 (s, 1H), 9.13 (s, 1H), 8.43 (s, 1H), 8.34 (s, 1H), 5.15 (q, J = 8.2 Hz, 2H). ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -70.72 (s).



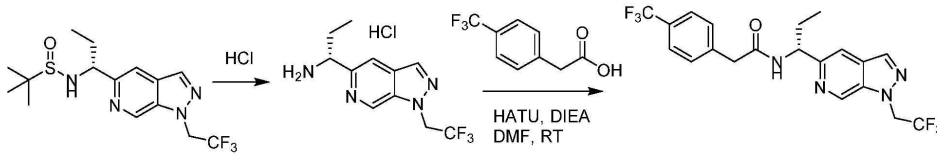
[0952]

[0953]

(R,E)-2-메틸-N-((1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)메틸렌)프로판-2-설피나미드. DCM(15 mL) 중 1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-카르보알데히드(2.39 g)의 용액에 (R)-2-메틸프로판-2-설피나미드(1.64 g) 및 CuSO₄(4.16 g)를 첨가하였다. 이후, 반응물을 30°C에서 18시간 동안 교반하고, 혼합물을 셀라이트를 통해 여과하였다. 유기 층을 진공에서 농축시키고 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 (R,E)-2-메틸-N-((1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)메틸렌)프로판-2-설피나미드(3.23 g)를 백색 고체로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 333 [M+H]⁺.

[0954]

(R)-1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)프로판-1-아민. DCM(10.0 mL) 중 (R,E)-2-메틸-N-((1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)메틸렌)프로판-2-설피나미드(600 mg)의 용액에 -45°C에서 EtMgBr(0.72 mL, 에테르 중 3 mol/L)을 적가하였다. 반응 혼합물을 -45°C에서 30분 동안 교반한 다음, 물로 쉐킷하였다. 층을 분리하고, 유기 층을 진공 하에 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 상에서 컬럼 크로마토그래피(CH₂Cl₂ 중 0-10% MeOH)로 정제하여 2-메틸-N-((R)-1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)프로판-2-설피나미드(350 mg)를 오일로서 수득하였다. LCMS ESI (m/z): 363 [M+H]⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.95 (s, 1H), 8.10 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 7.57 (t, J = 16.0 Hz, 1H), 5.08 - 4.94 (m, 2H), 4.51 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 4.38 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 1.96 - 1.87 (m, 2H), 1.26 (s, 9H), 0.91 (t, J = 8.0 Hz, 3H).



[0955]

[0956]

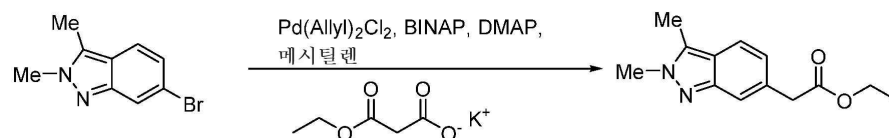
(*R*)-1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-*c*]피리딘-5-일)프로판-1-아민. 디옥산(5 mL) 중 2-메틸-N-((*R*)-1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-*c*]피리딘-5-일)프로필)프로판-2-설피아미드(300 mg)의 용액에 HCl(1 mL, 디옥산 중 4 N)을 첨가하였다. 혼합물을 2시간 동안 실온에서 교반하였다. LCMS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 반응 혼합물을 얼음물로 켄칭하고 EA로 2회 추출하였다. 합한 추출물을 농축시켜 (*R*)-1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-*c*]피리딘-5-일)프로판-1-아민(200 mg)을 오일로서 수득하였다. LCMS ESI (*m/z*): 259 [M+H]⁺.

[0957]

(*R*)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-*c*]피리딘-5-일)프로필)-2-(4-(트리플루오로메틸)페닐)아세트아미드. DMF(3.0 mL) 중 2-[4-(트리플루오로메틸)페닐]아세트산(186 mg)의 용액에 HATU(347 mg) 및 N,N-디이소프로필에틸아민(0.41 mL)을 첨가하였다. 용액을 실온에서 10분 동안 교반한 후 (*R*)-1-[1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-*c*]피리딘-5-일]프로판-1-아민(214 mg)을 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 밤새 교반하고, 반응물을 물(5 mL)로 희석하고 EA(10 mL x 2)로 추출하였다. 합한 유기 상을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 미정제 생성물을 제공하고, 이를 분취-HPLC(컬럼: AZZOTA C18 GEMINI 250*20mm 10um; 이동상: H₂O(0.1% FA)와 함께 30% 내지 95% MeCN; 유량: 15 mL/분; 파장: 205 nm/254 nm)로 정제하여 (*R*)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-*c*]피리딘-5-일)프로필)-2-(4-(트리플루오로메틸)페닐)아세트아미드(114 mg)를 백색 고체로서 수득하였다. LC/MS ESI (*m/z*): 445 [M+H]⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.88 (s, 1H), 8.11 (s, 1H), 7.59 - 7.55 (m, 3H), 7.40 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 6.68 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 5.05 - 5.03 (m, 3H), 3.63 (s, 2H), 2.42 - 1.65 (m, 2H), 0.81 (d, J = 8.0 Hz, 3H). ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -62.54, -70.80.

[0958]

실시예 46. (*R*)-2-(2,3-디메틸-2H-인다졸-6-일)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-*c*]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드



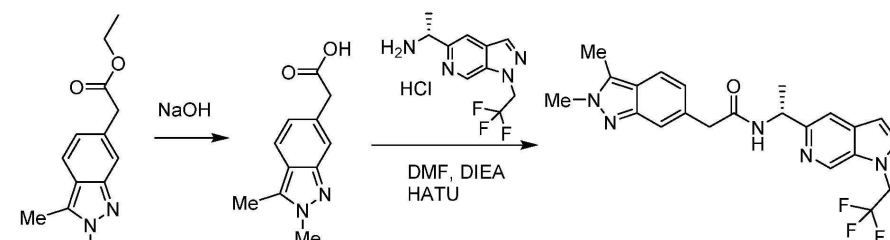
[0959]

[0960]

에틸 2-(2,3-디메틸-2H-인다졸-6-일)아세테이트. 메시틸렌(6 mL) 중 6-브로모-2,3-디메틸-2H-인다졸(500 mg)의 용액에 BINAP(84 mg), 포타슘 3-에톡시-3-옥소프로파노에이트(570 mg), DMAP(273 mg) 및 알릴팔라듐(II) 클로라이드(17 mg)를 첨가하였다. 반응물을 하루 동안 140°C에서 교반하고 밤새 120°C에서 교반하였다. 용매를 감압 하에 제거하고, 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 에틸 2-(2,3-디메틸-2H-인다졸-6-일)아세테이트(240 mg)를 황색 고체로서 수득하였다. LCMS ESI (*m/z*): 233.2 (M+H)⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.49 (d, J = 11.2 Hz, 2H), 6.97 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 4.19 - 4.11 (m, 2H), 4.08 (s, 3H), 3.69 (s, 2H), 2.59 (s, 3H), 1.24 (t, J = 7.1 Hz, 3H).

[0961]

[0962]



2-(2,3-디메틸-2H-인다졸-6-일)아세트산. EtOH(2 mL) 중 에틸 2-(2,3-디메틸-2H-인다졸-6-일)아세테이트(120

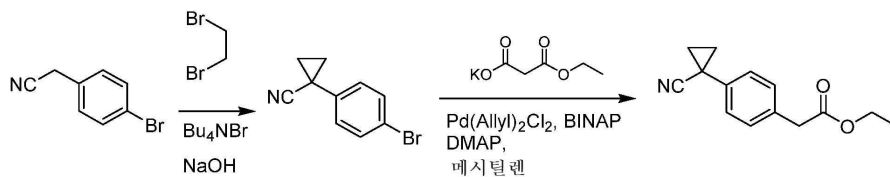
mg)의 용액에 2 M NaOH(1 mL)를 첨가하고, 반응물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 반응물을 물(0.5 mL) 및 EA로 희석하였다. 수성 상을 2 M HCl로 pH = 1로 조정하고, EA로 추출하였다. 생성물은 수성 상에 용해된 것으로 밝혀졌다. 수성 상을 분리하고 진공에서 농축시켜 2-(2,3-디메틸-2H-인다졸-6-일)아세트산 및 NaCl을 미정제 백색 고체(174 mg)로서 제공하고, 이를 정제 없이 다음 단계에 사용하였다. LCMS ESI (m/z): 205.2 (M+H)⁺.

[0963]

(R)-2-(2,3-디메틸-2H-인다졸-6-일)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드. 무수 DMF 중 (R)-1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드(310 mg)의 용액에 DIEA(0.845 mL)를 첨가하여 용액 A를 제공하였다. 무수 DMF 중 미정제 2-(2,3-디메틸-2H-인다졸-6-일)아세트산(174 mg)의 용액에 HATU(356 mg)를 첨가하고, 반응물을 실온에서 15분 동안 교반하여 용액 B를 제공하였다. 용액 A를 용액 B에 첨가하고, 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 반응물을 EA 및 물로 희석하고, 유기 층을 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 진공에서 농축시켰다. 잔류물을 분취-HPLC(컬럼: YMC-Actus Triart C18 250*21mm; 이동상: H₂O(0.1% FA)와 함께 20% 내지 95% MeCN; 유량: 15 mL/분; 파장: 220 nm/254 nm)로 정제하여 (R)-2-(2,3-디메틸-2H-인다졸-6-일)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드(117 mg)를 백색 고체로서 수득하였다. LCMS ESI (m/z): 431.3 (M+H)⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 9.22 (s, 1H), 8.53 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 8.24 (s, 1H), 7.63 (s, 1H), 7.53 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.34 (s, 1H), 6.89 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 5.64 - 5.57 (m, 2H), 5.10 - 5.06 (m, 1H), 4.01 (s, 3H), 3.53 (s, 2H), 2.57 (s, 3H), 1.43 (d, J = 7.2 Hz, 3H). ¹⁹F NMR (377 MHz, DMSO-d₆) δ -69.77 (s).

[0964]

실시예 47. (R)-2-(4-(1-시아노사이클로프로필)페닐)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드



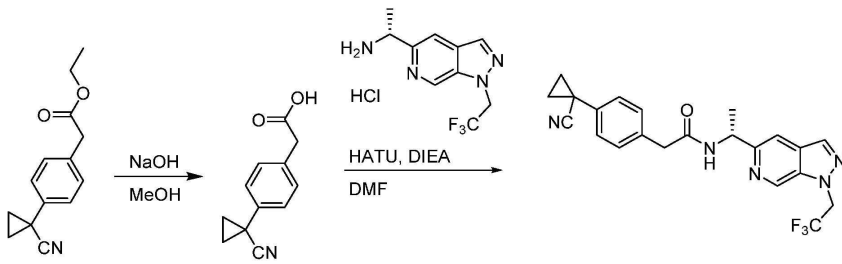
[0965]

[0966]

1-(4-브로모페닐)사이클로프로판-1-카르보니트릴. 톨루엔(20 mL) 중 1,2-디브로모에탄(1.24 mL) 및 2-(4-브로모페닐)아세트니트릴(2 g)의 용액을 함유하는 250 mL 둥근 바닥 플라스크에 실온에서 50% 수성 NaOH(20 mL) 및 테트라부틸암모늄 브로마이드(0.63 mL)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 격렬하게 교반한 다음, 반응물을 450 mL의 얼음물에 부었다. 생성된 혼합물을 EA(130 mL x 3)로 추출하였다. 합한 유기 층을 물(150 mL x 2) 및 염수(150 mL)로 세척하고, 최종적으로 무수 Na₂SO₄ 상에서 건조시켰다. 용매를 진공 하에 제거하고, 잔류물을 실리카 겔 플래쉬 크로마토그래피(PE:EA = 5:1)로 정제하여 1-(4-브로모페닐)사이클로프로판-1-카르보니트릴을 황색 오일(1.5 g)로서 수득하였다. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.48 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.16 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 1.74 (q, J = 5.2 Hz, 2H), 1.38 (q, J = 5.2 Hz, 2H).

[0967]

에틸 2-(4-(1-시아노사이클로프로필)페닐)아세테이트. 메시틸렌(10 mL) 중 1-(4-브로모페닐)사이클로프로판-1-카르보니트릴(500 mg)의 용액에 디알릴팔라듐 디클로라이드(1.56 mg), BINAP(95 mg), DMAP(311.58 mg) 및 에틸 포타슘 말로네이트(651 mg)를 첨가하였다. 반응물을 N₂로 채우고 120°C에서 밤새 교반하였다. 반응물을 EA 및 물로 희석하고, 2개의 상을 분리하였다. 수성 상을 DCM(10 mL x 3)으로 추출하고, 합한 유기 상을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하였다. 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피(PE:EA = 5:1)로 정제하여 에틸 2-(4-(1-시아노사이클로프로필)페닐)아세테이트(200 mg)를 황색 오일로서 수득하였다. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.32-7.23 (m, 4H), 4.15 (q, J = 7.2 Hz, 2H), 3.60 (s, 2H), 1.71 (q, J = 5.2 Hz, 2H), 1.39 (q, J = 5.2 Hz, 2H), 1.25 (t, J = 7.2 Hz, 3H).



[0968]

[0969]

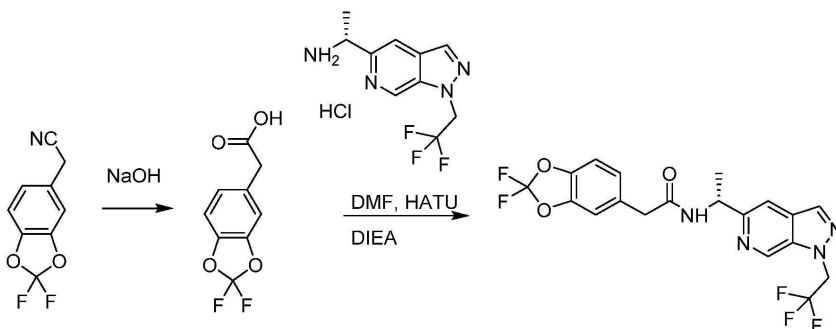
2-(4-(1-시아노사이클로프로필)페닐)아세트산. 25 mL 둥근바닥 플라스크에 에틸 2-(4-(1-시아노사이클로프로필)페닐)아세테이트(330 mg), 2 M 수성 NaOH(2.0 mL) 및 MeOH(2.0 mL)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 1시간 동안 실온에서 교반하였다. 이후, 물(20 mL)을 첨가하고, 수성 층을 EA로 세척하였다. 수성 층을 1 M 수성 HCl을 사용하여 pH < 3으로 산성화하고, 혼합물을 EA로 추출하였다. 합한 유기 상을 포화 NaCl로 세척하고, Na₂SO₄로 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 2-(4-(1-시아노사이클로프로필)페닐)아세트산을 미정제 백색 고체(280 mg)로서 제공하고, 이를 정제 없이 다음 단계에 사용하였다.

[0970]

(R)-2-(4-(1-시아노사이클로프로필)페닐)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드. 4 mL DMF 중 2-(4-(1-시아노사이클로프로필)페닐)아세트산(200 mg) 및 HATU(567 mg)의 용액을 실온에서 15분 동안 교반하여 용액 A를 제공하였다. DIEA(1.0 mL)를 2 mL DMF 중 (R)-1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드(362 mg)에 용액의 pH가 습식 pH 페이퍼에 의해 7 초과일 때까지 첨가하였다(용액 B). 용액 B를 용액 A에 첨가하고, 반응물을 실온에서 1시간 동안 교반하였고, 이 시간에 LCMS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 반응 혼합물을 EA 및 물로 희석하였다. 2개의 상을 분리하고, 수성 상을 EA(10 mL x 2)로 추출하였다. 합한 유기 상을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하였다. 잔류물을 분취-HPLC(컬럼: AZZOTA C18 30*250mm*10um; 이동상: H₂O(0.1% FA)와 함께 25% 내지 95% MeCN; 유량: 30 mL/분; 파장: 220 nm/254 nm)로 정제하여 (R)-2-(4-(1-시아노사이클로프로필)페닐)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드(256 mg)를 백색 고체로서 수득하였다. LCMS ESI (m/z): 428 (M+H)⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.93 (s, 1H), 8.14 (s, 1H), 7.62 (s, 1H), 7.30-7.22 (m, 4H), 6.80 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 5.29-5.25 (m, 1H), 5.07 (q, J = 8.0 Hz, 2H), 3.57 (s, 2H), 1.73-1.70 (m, 2H), 1.51 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 1.43-1.34 (m, 2H). ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -70.76 ppm.

[0971]

실시예 48. (R)-2-(2,2-디플루오로벤조[d][1,3]디옥솔-5-일)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드



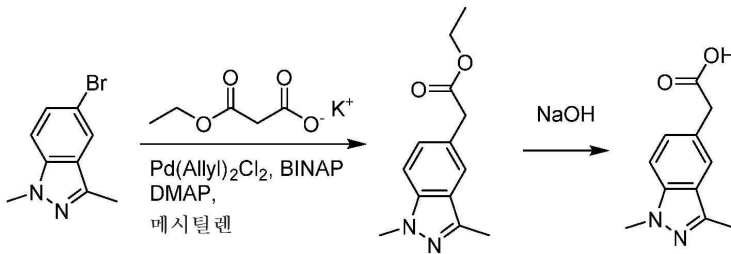
[0972]

[0973]

2-(2,2-디플루오로벤조[d][1,3]디옥솔-5-일)아세트산. 25 mL 둥근 바닥 플라스크에 2-(2,2-디플루오로벤조[d][1,3]디옥솔-5-일)아세트아미드(200 mg), 6 M 수성 NaOH(2.0 mL) 및 EtOH(2.0 mL)를 첨가하고, 혼합물을 80 °C에서 밤새 교반하였다. 반응물을 실온으로 냉각시키고, 에탄올을 진공 하에 증발시켰다. 물(20 mL)을 첨가하고, 수성 층을 EA로 세척하였다. 수성 층을 1 M 수성 HCl을 사용하여 pH < 3으로 산성화하고, 혼합물을 EA로 추출하였다. 합한 유기 상을 포화 NaCl로 세척하고, Na₂SO₄로 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 2-(2,2-디플루오로벤조[d][1,3]디옥솔-5-일)아세트산(200 mg, 미정제)을 제공하고, 이를 다음 단계에 직접 사용하였다.

[0974] (R)-2-(2,2-디플루오로벤조[d][1,3]디옥솔-5-일)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드. DMF(5.0 mL) 중 2-(2,2-디플루오로벤조[d][1,3]디옥솔-5-일)아세트산(200 mg) 및 HATU(528 mg)의 용액을 실온에서 15분 동안 교반하였다. (R)-1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드(337 mg) 및 DIEA(0.92 mL)를 첨가하였다. 반응물을 1시간 동안 교반하였고, LC/MS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 반응물을 EA 및 물로 희석하였다. 2개의 상을 분리하고, 수성 상을 EA(10 mL x 3)로 추출하였다. 합한 유기 상을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 분취-HPLC(컬럼: AZZOTA C18 30*250mm*10um; 이동상: H₂O(0.1% FA)와 함께 30% 내지 95% MeCN; 유량: 30 mL/분; 파장: 220 nm/254 nm)로 정제하여 (R)-2-(2,2-디플루오로벤조[d][1,3]디옥솔-5-일)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드(263 mg)를 백색 고체로서 수득하였다. LCMS ESI (m/z): 443 (M+H)⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.92 (s, 1H), 8.13 (s, 1H), 7.61 (s, 1H), 7.02-6.96 (m, 3H), 6.82 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 5.31-5.24 (m, 1H), 5.06 (q, J = 8.0 Hz, 2H), 3.56 (s, 2H), 1.51 (d, J = 8.0 Hz, 3H). ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -49.97 ppm, -70.78 ppm.

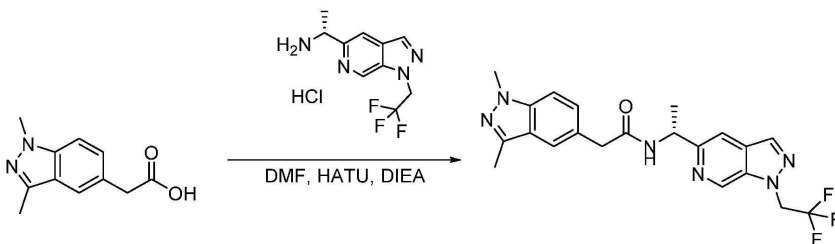
[0975] **실시예 49. (R)-2-(1,3-디메틸-1H-인다졸-5-일)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c] 피리딘-5-일)에틸)아세트아미드**



[0976] .

[0977] 에틸 2-(1,3-디메틸-1H-인다졸-5-일)아세테이트. 메시틸렌(5 mL) 중 5-브로모-1,3-디메틸-1H-인다졸(500 mg)의 용액에 BINAP(84 mg), 포타슘 3-에톡시-3-옥소프로파노에이트(572 mg), DMAP(274 mg) 및 알릴팔라듐(II) 클로라이드(16 mg)를 첨가하였다. 반응물을 하루 동안 140°C에서 교반하고 질소 하에 밤새 120°C에서 교반하였다. 반응물을 진공에서 농축시키고, 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 표제 화합물 에틸 2-(1,3-디메틸-1H-인다졸-5-일)아세테이트(342 mg)를 무색 오일로서 수득하였다: LCMS ESI (m/z): 233.2 (M+H)⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.53 (s, 1H), 7.33 - 7.26 (m, 2H), 4.21 - 4.08 (m, 2H), 3.98 (s, 3H), 3.72 (s, 2H), 2.55 (s, 3H), 1.26 (t, J = 7.2 Hz, 3H).

[0978] 2-(1,3-디메틸-1H-인다졸-5-일)아세트산. EtOH(4.0 mL) 중 에틸 2-(1,3-디메틸-1H-인다졸-5-일)아세테이트(385 mg)의 용액에 2 M NaOH(2 mL)를 첨가하고, 반응물을 100°C에서 1시간 동안 교반하였다. 반응물을 물(0.5 mL)로 희석하고 EA로 세척하였다. 수상을 2 M HCl로 pH = 1로 조정하고, EA로 추출하고, 생성된 유기 상을 진공에서 농축시켜 2-(1,3-디메틸-1H-인다졸-5-일)아세트산을 백색 고체(320 mg)로서 수득하였다. LCMS ESI (m/z): 205.2 (M+H)⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7.47 (s, 1H), 7.41 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.20 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.58 (s, 2H), 2.38 (s, 3H).

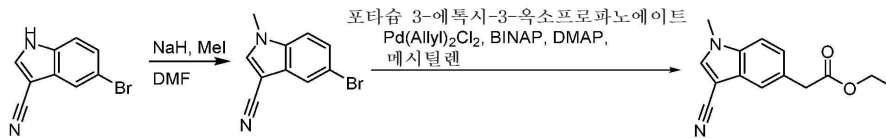


[0979] .

[0980] (R)-2-(1,3-디메틸-1H-인다졸-5-일)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드. 무수 DMF 중 (R)-1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드(232 mg)의 용액에 DIEA(0.63 mL)를 첨가하여 용액 A를 제공하였다. 무수 DMF 중 2-(1,3-디메틸-1H-인다졸-5-일)아세트산(130 mg)의 용액에 HATU(266 mg)를 첨가하고, 반응물을 실온에서 15분 동안 교반하

여 용액 B를 제공하였다. 용액 A를 용액 B에 첨가하고 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 반응물을 EA 및 물로 희석하였다. 유기 층을 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 진공에서 농축시켰다. 이후, 잔류물을 분취-HPLC(컬럼: AZZOTA C18 GEMINI 250*20mm 10um; 이동상: H₂O(0.1% NH₃H₂O)와 함께 15% 내지 80% MeCN; 유량: 15 mL/분; 파장: 220 nm/254 nm)로 정제하여 (R)-2-(1,3-디메틸-1H-인다졸-5-일)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드(109 mg)를 백색 고체로서 수득하였다. LCMS ESI (m/z): 431.5 (M+H)⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.82 (s, 1H), 8.08 (s, 1H), 7.53 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.29 (d, J = 2.4 Hz, 2H), 6.59 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 5.30 - 5.27 (m, 1H), 5.05 - 4.99 (m, 2H), 4.00 (s, 3H), 3.69 (s, 2H), 2.54 (s, 3H), 1.45 (d, J = 6.8 Hz, 3H). ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -70.81 (s).

[0981] **실시예 50. (R)-2-(3-시아노-1-메틸-1H-인돌-5-일)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드**

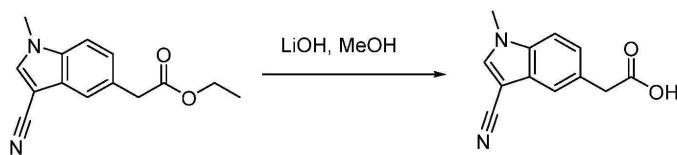


[0982]

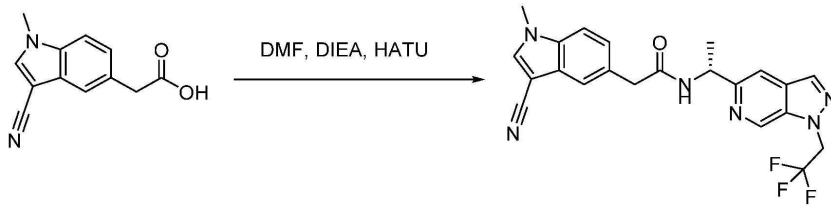
[0983] 5-브로모-1-메틸-1H-인돌-3-카르보니트릴. DMF(8 mL) 중 5-브로모-1H-인돌-3-카르보니트릴(500 mg)의 용액에 NaH(273 mg, 광유 중 60%)를 0℃에서 첨가하고, 반응물을 동일한 온도에서 30분 동안 교반하였다. 이후, 아이오도메탄(0.2 mL)을 반응물에 첨가하고, 반응물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 반응물을 물로 켄칭하고 EA로 추출하였다. 유기 층을 분리하고, 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 진공에서 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 5-브로모-1-메틸-1H-인돌-3-카르보니트릴(507 mg)을 백색 고체로서 수득하였다. LCMS ESI (m/z): 235.3 (M+H)⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8.23 (s, 1H), 7.74 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 7.57 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.48 - 7.35 (m, 1H), 3.80 (s, 3H).

[0984] 에틸 2-(3-시아노-1-메틸-1H-인돌-5-일)아세테이트. 메시틸렌(10 mL) 중 5-브로모-1-메틸-1H-인돌-3-카르보니트릴(507 mg)의 용액에 BINAP(81 mg), 포타슘 3-에톡시-3-옥소프로파노에이트(554 mg), DMAP(265 mg) 및 알릴팔라듐(II) 클로라이드(15.6 mg)를 첨가하고, 반응물을 질소 하에 하루 동안 140℃에서 교반하고 밤새 120℃에서 교반하였다. 반응물을 진공에서 농축시키고, 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 에틸 2-(3-시아노-1-메틸-1H-인돌-5-일)아세테이트(270 mg)를 무색 오일로서 수득하였다. LCMS ESI (m/z): 243.4 (M+H)⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.65 (s, 1H), 7.54 (s, 1H), 7.35 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.32 - 7.27 (m, 1H), 4.16 (q, J = 7.2 Hz, 2H), 3.84 (s, 3H), 3.74 (s, 2H), 1.26 (t, J = 7.2 Hz, 3H).

[0985]



[0986] 2-(3-시아노-1-메틸-1H-인돌-5-일)아세트산. MeOH:THF:H₂O(1:1:1, 9 mL) 중 에틸 2-(3-시아노-1-메틸-1H-인돌-5-일)아세테이트(270 mg)의 용액에 수성 LiOH(234 mg)을 첨가하고, 반응물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 반응물을 물(0.5 mL)로 희석하고 EA로 세척하였다. 수상을 분리하고, 2 M HCl로 pH를 1로 조정하고, EA로 추출하였다. 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고 진공에서 농축시켜 2-(3-시아노-1-메틸-1H-인돌-5-일)아세트산(246 mg)을 희색 고체로서 수득하였다. LCMS ESI (m/z): 215.4 (M+H)⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8.14 (s, 1H), 7.53 - 7.43 (m, 2H), 7.17 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 3.78 (s, 3H), 3.63 (s, 2H).



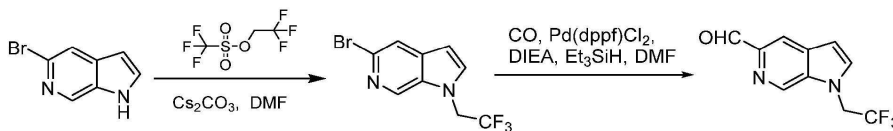
[0987]

[0988]

(*R*)-2-(3-시아노-1-메틸-1H-인돌-5-일)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피롤로[3,4-*c*]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드. 무수 DMF 중 (*R*)-1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피롤로[3,4-*c*]피리딘-5-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드(204 mg)의 용액에 DIEA(0.56 mL)를 첨가하여 용액 A를 제공하였다. DMF 중 2-(3-시아노-1-메틸-1H-인돌-5-일)아세트산(120 mg)의 용액에 HATU(234 mg)를 첨가하고 실온에서 15분 동안 교반하여 용액 B를 제공하였다. 용액 A를 용액 B에 첨가하고 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 반응물을 EA 및 물로 희석하였다. 유기 층을 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 진공에서 농축시켰다. 잔류물을 분취-HPLC(AZZOTA C18 GEMINI 250*20mm 10um; 이동상: H₂O(0.1% NH₃H₂O)와 함께 15% 내지 75% MeCN; 유량: 15 mL/분; 파장: 220 nm/254 nm) 및 SFC(컬럼: ChiralPak IA, 250x21.3mm I.D., 5 μm; 이동상: CO₂의 경우 A 및 MeOH+0.1% NH₃H₂O의 경우 B; 구배: B 35%; 유량: 45 mL/분; 파장: 220 nm)로 정제하여 (*R*)-2-(3-시아노-1-메틸-1H-인돌-5-일)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피롤로[3,4-*c*]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드(142 mg)를 백색 고체로서 수득하였다. LCMS ESI (*m/z*): 441.5 (*M*+H)⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.93 (s, 1H), 8.08 (s, 1H), 7.61 (s, 1H), 7.57-7.55 (m, 2H), 7.35 -7.30 (m, 1H), 7.30 (d, *J* = 8.4 Hz 1H), 6.65 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 5.34 - 5.22 (m, 1H), 5.14 - 4.97 (m, 2H), 3.85 (s, 3H), 3.71 (s, 2H), 1.46 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H). ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -70.81 (s).

[0989]

실시예 51. (*R*)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피롤로[2,3-*c*]피리딘-5-일)에틸)-2-(4-(트리플루오로메틸)페닐)아세트아미드



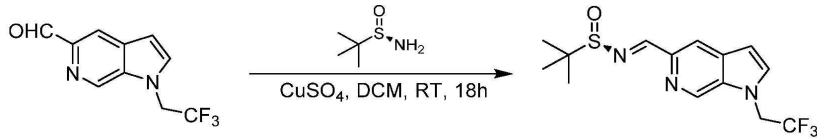
[0990]

[0991]

5-브로모-1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피롤로[2,3-*c*]피리딘. DCM(10.0 mL) 중 5-브로모-1H-피롤로[2,3-*c*]피리딘(1.50 g)의 용액에 2,2,2-트리플루오로에틸 트리플루오로메탄설퍼네이트(1.21 mL) 및 Cs₂CO₃(2.98 g)를 첨가하고, 반응물을 실온에서 밤새 교반하였다. 반응물을 EA 및 물로 희석하였다. 유기 층을 분리하고, 염수로 세척하고, 진공에서 농축시켰다. 잔류물을 석유 에테르 중 40% 에틸 아세테이트로 용리시키며 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 5-브로모-1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피롤로[2,3-*c*]피리딘(2.00 g) 백색 고체로서 수득하였다. LCMS ESI (*m/z*): 279 [*M*+H]⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.74 (s, 1H), 7.76 (s, 1H), 7.65 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H), 6.57 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H), 5.29 (q, *J* = 8.0 Hz, 2H). ¹⁹F NMR (377 MHz, DMSO-*d*₆) δ -70.45 (s).

[0992]

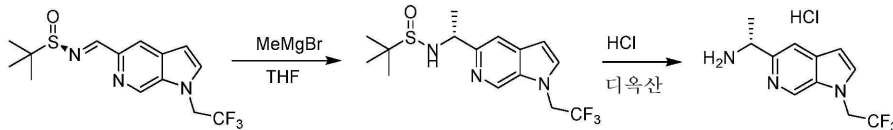
1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피롤로[2,3-*c*]피리딘-5-카르보알데히드. DMF(15 mL) 중 5-브로모-1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피롤로[2,3-*c*]피리딘(800 mg)의 용액에 트리에틸실란(0.69 mL), 1,1'-비스(디페닐포스피노)페로센 팔라듐(II)디클로라이드(210 mg), 및 DIEA(0.95 mL)를 CO 대기 하에 첨가하고, 반응물을 100°C에서 밤새 교반하였다. 반응물을 EA 및 물로 희석하였다. 유기 층을 분리하고, 포화 수성 NaCl 용액으로 세척하고, 진공에서 농축시켰다. 잔류물을 석유 에테르 중 20% 에틸 아세테이트로 용리시키며 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피롤로[2,3-*c*]피리딘-5-카르보알데히드(400 mg)를 백색 고체로서 수득하였다.



[0993]

[0994]

(*R,E*)-2-메틸-N-((1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피롤로[2,3-*c*]피리딘-5-일)메틸렌)프로판-2-설피아미드. DCM(5.0 mL) 중 1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피롤로[2,3-*c*]피리딘-5-카르브알데히드(400 mg)의 용액에 CuSO₄(839 mg) 및 2-메틸프로판-2-설피아미드(276 mg)를 첨가하고, 반응물을 실온에서 밤새 교반하였다. 반응물을 EA 및 물로 희석하였다. 유기 층을 분리하고, 포화 염수 용액으로 세척하고, 진공에서 농축시켰다. 잔류물을 석유 에테르 중 40% 에틸 아세테이트로 용리시키며 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하였다. 유기 층을 수집하고, 진공에서 농축시키고, 건조시켜 (*R,E*)-2-메틸-N-((1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피롤로[2,3-*c*]피리딘-5-일)메틸렌)프로판-2-설피아미드(440 mg)를 백색 고체로서 수득하였다. LCMS ESI (*m/z*): 332 [M+H]⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.10 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 8.52 (s, 1H), 8.32 (s, 1H), 7.70 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H), 6.77 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H), 5.39-5.37 (m, 2H), 1.14 (s, 9H). ¹⁹F NMR (377 MHz, DMSO-*d*₆) δ -70.39 ppm.



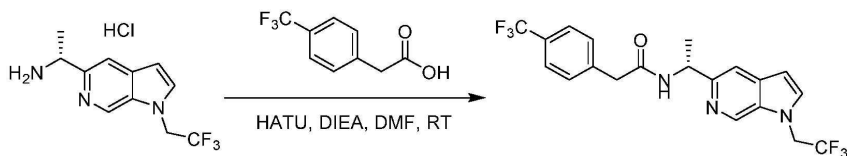
[0995]

[0996]

2-메틸-N-((*R*)-1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피롤로[2,3-*c*]피리딘-5-일)에틸)프로판-2-설피아미드. THF(10.0 mL) 중 (*R,E*)-2-메틸-N-((1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피롤로[2,3-*c*]피리딘-5-일)메틸렌)프로판-2-설피아미드(400 mg)의 용액에 -45°C에서 MeMgBr(0.400 mL, 에테르 중 3 M)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 -78°C에서 30분 동안 교반한 다음, 물로 희석하였다. 층을 분리하고, 유기 층을 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 상에서 컬럼 크로마토그래피(DCM 중 0-10% MeOH)로 정제하여 2-메틸-N-((*R*)-1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피롤로[2,3-*c*]피리딘-5-일)에틸)프로판-2-설피아미드(320 mg)를 무색 오일로서 수득하였다. LCMS ESI (*m/z*): 348 [M+H]⁺.

[0997]

(*R*)-1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피롤로[2,3-*c*]피리딘-5-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드. 디옥산(2.00 mL) 중 2-메틸-N-((*R*)-1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피롤로[2,3-*c*]피리딘-5-일)에틸)프로판-2-설피아미드(320 mg)의 용액에 디옥산(1.00 mL) 중 4 N HCl을 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였고, LCMS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 반응 혼합물을 얼음물로 켄칭하고 EA로 2회 추출하였다. 합한 추출물을 농축시켜 (*R*)-1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피롤로[2,3-*c*]피리딘-5-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드(220 mg)를 백색 고체로서 수득하였다. LCMS ESI (*m/z*): 244 [M+H]⁺.



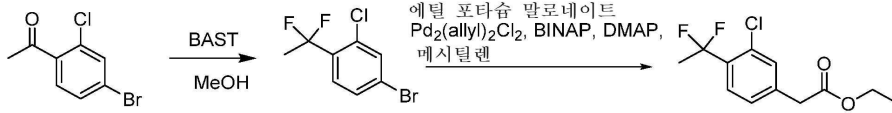
[0998]

[0999]

(*R*)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피롤로[2,3-*c*]피리딘-5-일)에틸)-2-(4-(트리플루오로메틸)페닐)아세트아미드. DMF(5 mL) 중 2-(4-(트리플루오로메틸)페닐)아세트산(227 mg)의 용액에 HATU(422 mg) 및 DIEA(358 mg)를 첨가하였다. 용액을 실온에서 10분 동안 교반한 후 (*R*)-1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피롤로[2,3-*c*]피리딘-5-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드(225 mg)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였고, LCMS는 원하는 MS가 검출되었음을 나타내었다. 반응물을 물(5 mL)로 희석하고 EA(10 mL x 2)로 추출하였다. 합한 유기 상을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고 증발시켰다. 잔류물을 분취-HPLC(컬럼: YMC TA C18 250*21.2mm 5um; 이동상: H₂O(0.1% FA)와 함께 5% 내지 95% MeCN; 유량: 20 mL/분; 파장: 205 nm/254 nm)로 정제하여 (*R*)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피롤로[2,3-*c*]피리딘-5-일)에틸)-2-(4-(트리플루오로메틸)페

닐)아세트아미드(200 mg)를 백색 고체로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 430 [M+H]⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.70 (s, 1H), 7.56 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.51 (s, 1H), 7.41 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.39-7.29 (m, 2H), 6.67-6.58 (m, 1H), 5.25-5.21 (m, 1H), 4.74 (q, J = 8.0 Hz, 2H), 3.63 (s, 2H), 1.51 (d, J = 8.0 Hz, 3H). ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -62.52, -71.50.

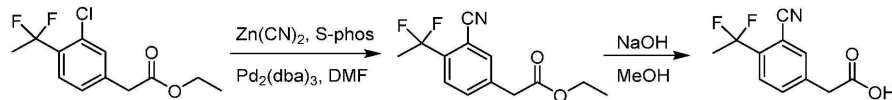
[1000] **실시예 52. (R)-2-(3-시아노-4-(1,1-디플루오로에틸)페닐)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드**



[1001]

[1002] 4-브로모-2-클로로-1-(1,1-디플루오로에틸)벤젠의 합성. BAST(15 mL) 중 1-(4-브로모-2-클로로페닐)에탄-1-온(4 g)의 용액에 MeOH(0.3 mL)을 첨가하였다. 혼합물을 마이크로파 튜브에서 70℃에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 NaHCO₃ 용액으로 켄칭하고 DCM으로 추출하였다. 유기 층을 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하였다. 잔류물을 실리카 겔 상에서 크로마토그래피(100%PE)로 정제하여 4-브로모-2-클로로-1-(1,1-디플루오로에틸)벤젠(3.5 g)을 무색 오일로서 수득하였다. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.61 (s, 1H), 7.53 - 7.41 (m, 2H), 2.01 (t, J = 18.4 Hz, 3H). ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -87.64 ppm.

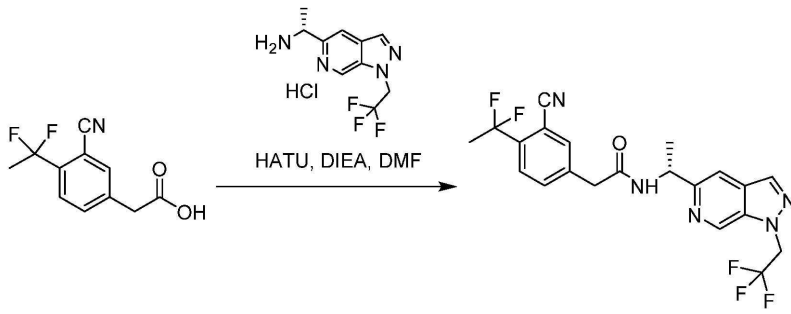
[1003] 에틸 2-(3-클로로-4-(1,1-디플루오로에틸)페닐)아세테이트의 합성. 메시틸렌(40 mL) 중 4-브로모-2-클로로-1-(1,1-디플루오로에틸)벤젠(3.5 g), 포타슘 3-에톡시-3-옥소프로파노에이트(3.50 g), Pd₂(알릴)₂Cl₂(0.10 g), BINAP(0.51 g) 및 DMAP(1.67 g)의 용액을 140℃에서 1시간 동안 교반하였다. 이후, 혼합물을 120℃에서 12시간 동안 교반하고, 혼합물을 농축시켜 잔류물을 제공하였다. 잔류물을 실리카 겔 상에서 컬럼 크로마토그래피(PE:EA = 10:1)로 정제하여 에틸 2-(3-클로로-4-(1,1-디플루오로에틸)페닐)아세테이트(1.8 g)를 무색 오일로서 수득하였다. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.56 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.38 (s, 1H), 7.24 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 4.17 (q, J = 7.2 Hz, 2H), 3.61 (s, 2H), 2.03 (t, J = 18.4 Hz, 3H), 1.27 (t, J = 7.2 Hz, 3H).



[1004]

[1005] 에틸 2-(3-시아노-4-(1,1-디플루오로에틸)페닐)아세테이트의 합성. DMF(2.0 mL) 중 에틸 2-(3-클로로-4-(1,1-디플루오로에틸)페닐)아세테이트(1.0 g), Zn(CN)₂(1.02 g), S-Phos(0.32 g) 및 Pd₂(dba)₃(0.36 g)의 용액을 마이크로파에서 30분 동안 150℃에서 교반하였다. 혼합물을 농축시키고, 실리카 겔 상에서 컬럼 크로마토그래피(PE:EA = 10:1)로 정제하여 에틸 2-(3-시아노-4-(1,1-디플루오로에틸)페닐)아세테이트(400 mg, 1.579)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1006] 2-(3-시아노-4-(1,1-디플루오로에틸)페닐)아세트산의 합성. MeOH(2.0 mL) 중 에틸 2-(3-시아노-4-(1,1-디플루오로에틸)페닐)아세테이트(400 mg)의 용액에 1 M NaOH(3 mL)를 첨가하고, 혼합물을 25℃에서 12시간 동안 교반하였다. MeOH를 진공 하에 제거하고, 수성 잔류물을 EA로 세척하였다. 수성 상을 1 N HCl 용액으로 pH = 4로 조정하고 EA로 추출하였다. 유기 층을 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 2-(3-시아노-4-(1,1-디플루오로에틸)페닐)아세트산(50 mg)을 무색 오일로서 제공하였고, 이를 추가 정제 없이 다음 단계에 사용하였다. LCMS ESI (m/z): 449 (2M-H)⁻.



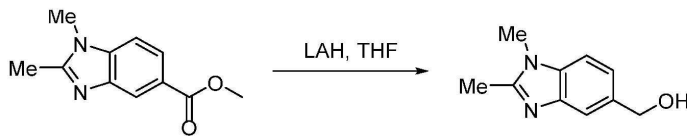
[1007]

[1008]

(*R*)-2-(3-시아노-4-(1,1-디플루오로에틸)페닐)-*N*-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1*H*-피라졸로[3,4-*c*]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드의 합성. DMF(2.0 mL) 중 2-(3-시아노-4-(1,1-디플루오로에틸)페닐)아세트산(50 mg) 및 HATU(110 mg)의 용액을 25°C에서 10분 동안 교반하였다. (*R*)-1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1*H*-피라졸로[3,4-*c*]피리딘-5-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드(70.5 mg) 및 DIEA(0.110 mL)를 혼합물에 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 2시간 동안 교반하고, 혼합물을 물로 희석하고 EA로 추출하였다. 유기 층을 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하였다. 잔류물을 분취-HPLC(YMC-Actus Triart C18 150*20mm*5um; 이동상: H₂O(0.1% FA)와 함께 30% 내지 95% MeCN)로 정제하여 (*R*)-2-(3-시아노-4-(1,1-디플루오로에틸)페닐)-*N*-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1*H*-피라졸로[3,4-*c*]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드(57.4 mg)를 백색 고체로서 수득하였다. LCMS ESI (*m/z*): 452 (*M*+H)⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.94 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.67 (s, 1H), 7.64 - 7.57 (m, 3H), 6.86 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 5.31 - 5.22 (m, 1H), 5.07 (q, *J* = 8.4 Hz, 2H), 3.62 (s, 2H), 2.04 (t, *J* = 18.4 Hz, 3H), 1.53 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H). ¹⁹F NMR (400 MHz, CDCl₃) δ -70.78, -87.16 ppm.

[1009]

실시예 53. (*R*)-2-(1,2-디메틸-1*H*-벤조[d]이미다졸-5-일)-*N*-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1*H*-피라졸로[3,4-*c*]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드

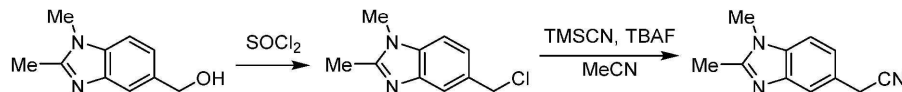


[1010]

[1011]

(1,2-디메틸-1*H*-벤조[d]이미다졸-5-일)메탄올. THF(40 mL) 중 메틸 1,2-디메틸-1*H*-1,3-벤조디아졸-5-카르복실레이트(1.0 g)의 용액에 4.90 mL의 1 M 리튬 알루미늄 하이드라이드를 0°C에서 첨가하였다. 2시간 후, 소듐 설페이트 10수화물 및 시트르산을 반응물에 첨가하여 과량의 리튬 알루미늄 하이드라이드를 파괴하였다. 1시간 후, 메탄올(25 ml)을 첨가하고 미세 현탁액을 여과하였다. 여액을 감압 하에 증발시켜 갈색 고체를 제공하였다. EA(50 ml)를 첨가하고 현탁액을 초음파 조에서 처리하였다. 고체를 여과하고 이 절차를 2회 반복하였다. 황색 여액을 감압 하에 증발시켜 미정제 (1,2-디메틸-1*H*-1,3-벤조디아졸-5-일)메탄올(700 mg)을 백색 고체로서 수득하였다. LC/MS ESI (*m/z*):177 [*M*+H]⁺.

[1012]



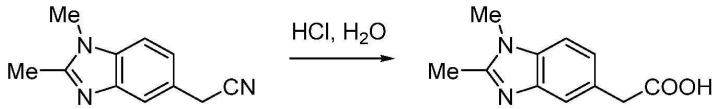
[1013]

5-(클로로메틸)-1,2-디메틸-1*H*-벤조[d]이미다졸. SOCl₂(5.0 mL) 중 (1,2-디메틸-1*H*-1,3-벤조디아졸-5-일)메탄올(700 mg)의 용액을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 농축 건조시켜 미정제 생성물을 황색 오일로서 수득하고, 이를 추가 정제 없이 다음 단계에 사용하였다. LC/MS ESI (*m/z*): 195 [*M*+H]⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.86 (s, 1H), 7.55 (s, 2H), 4.67 (s, 2H), 3.84 (s, 3H), 3.07 (s, 3H).

[1014]

2-(1,2-디메틸-1*H*-벤조[d]이미다졸-5-일)아세트니트릴. CH₃CN(2.0 mL) 중 5-(클로로메틸)-1,2-디메틸-1*H*-1,3-벤조디아졸(230 mg)의 용액에 THF 중 1 M TBAF 1.4 mL 및 TMSCN(0.18 mL)을 첨가하였다. 생성된 용액을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. TLC 및 LCMS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 반응 혼합물을 얼음물로 킨칭한 다음

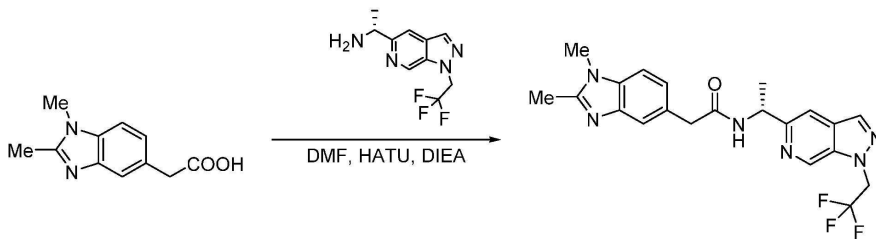
EA로 2회 추출하였다. 합한 추출물을 농축시키고, 잔류물을 실리카 겔 상에서 컬럼 크로마토그래피(DCM/MeOH = 10/1)로 정제하여 2-(1,2-디메틸-1H-벤조[d]이미다졸-5-일)아세트니트릴(170 mg)을 무색 오일로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 186 [M+H]⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.60 (s, 1H), 7.29 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.22 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 3.86 (s, 2H), 3.74 (s, 3H), 2.62 (s, 3H).



[1015]

[1016]

2-(1,2-디메틸-1H-벤조[d]이미다졸-5-일)아세트산. 농축 HCl(0.5 mL) 중 2-(1,2-디메틸-1H-1,3-벤조디아졸-5-일)아세트니트릴(100 mg)의 용액을 LC/MS에 의해 반응이 완료될 때까지 90°C에서 2시간 동안 교반하였다. 이후, 혼합물을 농축 건조시켜 미정제 2-(1,2-디메틸-1H-벤조[d]이미다졸-5-일)아세트산을 오일로서 제공하고, 이를 추가 정제 없이 다음 단계에 사용하였다. LC/MS ESI (m/z):205 [M+H]⁺.



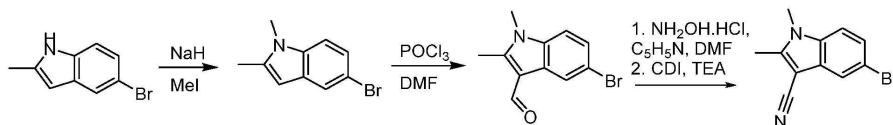
[1017]

[1018]

(R)-2-(1,2-디메틸-1H-벤조[d]이미다졸-5-일)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드. DMF(2.0 mL) 중 2-(1,2-디메틸-1H-1,3-벤조디아졸-5-일)아세트산(80 mg) 및 HATU(193 mg)의 용액에 DIEA(152 mg)를 첨가하였다. 용액을 실온에서 10분 동안 교반한 후 (R)-1-[1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일]에탄-1-아민 하이드로클로라이드(124 mg)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 16시간 동안 교반하고, LCMS로 원하는 질량을 검출하였다. 반응물을 물(5 mL)로 희석하고 EA(10 mL x 2)로 추출하였다. 합한 유기 상을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 분취-HPLC(컬럼: YMC-Actus Triart C18 250*21mm; 이동상: H₂O(0.1% NH₃H₂O)와 함께 20% 내지 95% MeCN; 유량: 15 mL/분; 파장: 220 nm/254 nm)로 정제하여 (R)-2-(1,2-디메틸-1H-벤조[d]이미다졸-5-일)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드를 백색 고체(77.5 mg)로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 431 [M+H]⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.88 (s, 1H), 8.07 (s, 1H), 7.60 (s, 1H), 7.52 (s, 1H), 7.30-7.21 (m, 2H), 6.55 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 5.30-5.23 (m, 1H), 5.06 - 5.03 (m, 2H), 3.76 (s, 3H), 3.71 (d, J = 4.0 Hz, 2H), 2.67 (s, 3H), 1.42 (d, J = 8.0 Hz, 3H). ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -70.80 (s).

[1019]

실시예 54. (R)-2-(3-시아노-1,2-디메틸-1H-인돌-5-일)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드



[1020]

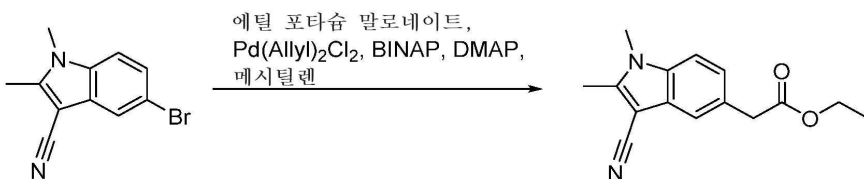
[1021]

5-브로모-1,2-디메틸-1H-인돌. DMF(15 mL) 중 5-브로모-2-메틸-1H-인돌(3.0 g)의 용액에 NaH(광유 중 60% 현탁액, 1.71 g)를 0°C에서 첨가하였다. 혼합물을 0°C에서 30분 동안 교반한 후 아이오도메탄(3.04 g)을 첨가하였다. 반응물을 실온으로 가온시키고 밤새 교반하였다. 이후, 반응물을 H₂O로 켄칭하고 Et₂O(3 x 40 mL)로 추출하였다. 합한 유기 층을 H₂O(50 mL)로 세척한 다음, Na₂SO₄ 상에서 건조시켰다. 미정제 물질을 실리카 겔 상에서 컬럼(PE:EA = 5:1)으로 정제하여 5-브로모-1,2-디메틸-1H-인돌(3.142 g)을 황색 고체로서 수득하였다. ¹H

NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.61 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H), 7.23-7.17 (m, 1H), 7.09 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 6.17 (s, 1H), 3.62 (s, 3H), 2.40 (s, 3H). LC/MS ESI (m/z): 224 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

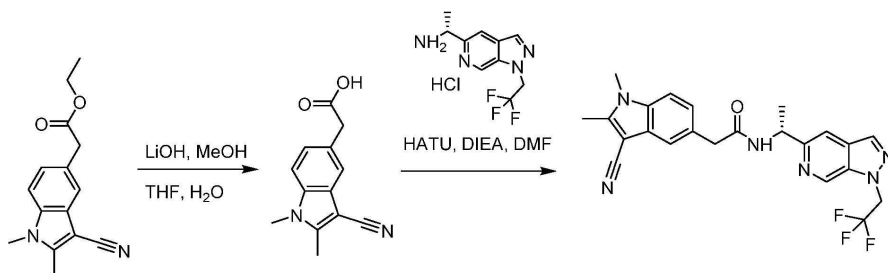
[1022] 5-브로모-1,2-디메틸-1H-인돌-3-카르브알데히드. POCl_3 (1.66 mL)를 DMF(5 mL)에 0°C에서 첨가하고 30분 동안 교반하였다. 이후, DMF(5 mL) 중 5-브로모-1,2-디메틸-1H-인돌(2 g)을 빙수조에서 냉각시키면서 상기 혼합물에 첨가하였다. 이후, 반응물을 50°C에서 밤새 교반하였다. 반응물을 실온으로 냉각시키고, 얼음물에 부었다. 수성 NaOH(2 M)를 혼합물에 첨가하여 pH를 9로 조정 한 다음, 에틸 아세테이트로 추출하였다. 유기 층을 물로 세척하고 Na_2SO_4 상에서 건조시켰다. 감압 하에 농축시켜 미정제 5-브로모-1,2-디메틸-1H-인돌-3-카르브알데히드(2.17 g, 미정제)를 황색 고체로서 제공하고, 이를 추가 정제 없이 다음 단계에 사용하였다. LC/MS ESI (m/z): 252 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[1023] 5-브로모-1,2-디메틸-1H-인돌-3-카르보니트릴. DMF(10 mL) 중 5-브로모-1,2-디메틸-1H-인돌-3-카르브알데히드(2.17 g, 미정제)의 용액에 피리딘(0.84 mL) 및 $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$ (712 mg)을 첨가하고, 반응물을 60°C에서 30분 동안 교반하였다. LCMS 및 TLC는 반응이 완료되었음을 나타내었고, 이후 혼합물을 0°C로 냉각시켰다. CDI(4.2 g) 및 TEA(1.44 mL)를 순차적으로 첨가하였다. 반응물을 60°C에서 밤새 교반 한 다음, EA 및 물로 희석하였다. 유기 층을 분리하고, 포화 수성 NaCl로 세척하고, 진공에서 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피(PE 중 23% EA)로 정제하여 5-브로모-1,2-디메틸-1H-인돌-3-카르보니트릴(1.57 g)을 황색 고체로서 수득하였다. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.71 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H), 7.29 (dd, $J = 8.8, 1.8$ Hz, 1H), 7.11 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 3.63 (s, 3H), 2.51 (s, 3H). LC/MS ESI (m/z): 249 $[\text{M}+\text{H}]^+$.



[1024]

[1025] 에틸 2-(3-시아노-1,2-디메틸-1H-인돌-5-일)아세테이트. 메시틸렌(15 mL) 중 5-브로모-1,2-디메틸-1H-인돌-3-카르보니트릴(1.57 g)의 용액에 디알릴팔라듐 디클로라이드(0.10 g), BINAP(0.24 g), DMAP(0.72 g) 및 에틸 포타슘 말로네이트(1.61 g)를 첨가하였다. 반응물을 N_2 로 채우고 120°C에서 밤새 교반하였다. 반응물을 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피(PE:EA = 5:1)로 정제하여 에틸 2-(3-시아노-1,2-디메틸-1H-인돌-5-일)아세테이트(884 mg)를 백색 고체로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 257 $[\text{M}+\text{H}]^+$.



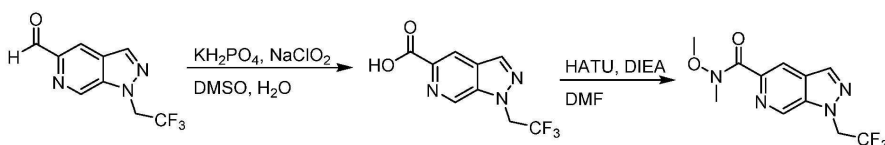
[1026]

[1027] 2-(3-시아노-1,2-디메틸-1H-인돌-5-일)아세트산. MeOH(3 mL) 및 THF(3 mL) 중 에틸 2-(3-시아노-1,2-디메틸-1H-인돌-5-일)아세테이트(884 mg)의 용액에 H_2O (3 mL) 중 LiOH(724 mg)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반 한 다음, 물(15 mL)을 첨가하고, 수성 층을 EA로 세척하였다. 수성 층을 1 M 수성 HCl로 pH < 3으로 산성화시키고, 혼합물을 EA로 추출하고, 이로부터 함한 유기 상을 포화 NaCl로 세척하고, Na_2SO_4 로 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 미정제 2-(3-시아노-1,2-디메틸-1H-인돌-5-일)아세트산(530 mg)을 백색 고체로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 229 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[1028] (R)-2-(3-시아노-1,2-디메틸-1H-인돌-5-일)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드. 2 mL DMF 중 미정제 2-(3-시아노-1,2-디메틸-1H-인돌-5-일)아세트산(200 mg) 및

HATU(500 mg)의 용액을 실온에서 15분 동안 교반하였다(용액 A). DIEA(0.87 mL)를 2 mL DMF 중 (R)-1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드(319 mg)에 용액의 pH가 습식 pH 페이퍼에 의해 7 초과일 때까지 첨가하였다(용액 B). 용액 B를 용액 A에 첨가하고, 반응물을 실온에서 1시간 동안 교반하였고, 이 시간에 LCMS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 반응물을 EA 및 물로 희석하였다. 2개의 상을 분리하고, 수성 상을 EA(10 mL x 2)로 추출하였다. 합한 유기층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공에서 농축시켰다. 잔류물을 분취-HPLC(컬럼: AZZOTA C18 30*250mm*10um; 이동상: H₂O(0.1%FA)와 함께 20% 내지 95% MeCN; 유량: 30 mL/분; 파장: 220 nm/254 nm)로 정제하여 (R)-2-(3-시아노-1,2-디메틸-1H-인돌-5-일)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸)아세트아미드(63.3 mg)를 백색 고체로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 455 [M+H]⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.97 (s, 1H), 8.11 (s, 1H), 7.59 (s, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.30-7.27 (m, 1H), 7.20 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.72 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 5.35-5.25 (m, 1H), 5.16-4.99 (m, 2H), 3.71 (s, 3H), 3.69 (d, J = 3.2 Hz, 2H), 2.59 (s, 3H), 1.48 (d, J = 6.8 Hz, 3H). ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₂) δ -70.78 (s).

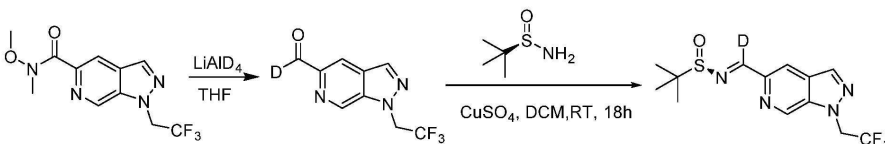
[1029] **실시예 55. (R)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸-1-d)-2-(4-(트리플루오로메틸)페닐)아세트아미드**



[1030]

[1031] 1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-카르복실산. DMSO(20 mL) 중 1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-카르복실산(1.8 g)의 용액에 H₂O(10 mL) 중 KH₂PO₄(1.4 mL)의 용액 및 H₂O(10 mL) 중 소듐 클로라이드(2.13 g)의 용액을 첨가하였다. 혼합물을 25℃에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 1 N NaOH 용액으로 희석하고 EA로 추출하였다. 이후, 수성 상을 1 N HCl로 pH = 4로 조정하고 EA로 추출하였다. 유기 층을 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-카르복실산 (2.2 g, 미정제)을 황색 고체로서 수득하였다. LCMS ESI (m/z): 246 (M+H)⁺.

[1032] N-메톡시-N-메틸-1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-카르복사미드. DMF(20 mL) 중 1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-카르복실산(2.2 g), N,O-디메틸하이드록실아민 하이드로클로라이드(0.96 g), HATU(4.43 g) 및 TEA(3.8 mL)의 용액을 25℃에서 12시간 동안 교반하였다. 반응물을 물로 희석하고 EA로 추출하였다. 유기 층을 건조시키고, 여과하고, 농축시키고, 잔류물을 실리카 겔 상에서 컬럼 크로마토그래피(DCM:MeOH = 20:1)로 정제하여 N-메톡시-N-메틸-1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-카르복사미드(2 g)를 황색 고체로서 수득하였다. LCMS ESI (m/z): 289 (M+H)⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.01 (s, 1H), 8.24 (s, 1H), 8.19 (s, 1H), 5.12 (q, J = 8.4 Hz, 2H), 3.78 (s, 3H), 3.46 (s, 3H).



[1033]

[1034] 1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-카르복사미드-d. THF(30 mL) 중 N-메톡시-N-메틸-1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-카르복사미드(2000 mg)의 용액에 LiAlD₄(437 mg)를 첨가하였다. 혼합물을 25℃에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 물 및 2 N NaOH 수용액으로 쉐킷하고, EA로 추출하였다. 유기 층을 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하였다. 잔류물을 실리카 겔 상에서 컬럼 크로마토그래피(DCM:MeOH = 20:1)로 정제하여 1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-카르복사미드-d(820 mg)을 백색 고체로서 수득하였다. LCMS ESI (m/z): 231 (M+H)⁺

[1035]

(*R,E*)-2-메틸-N-((1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)메틸렌-d)프로판-2-설피나미드. DCM(10 mL) 중 1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-카르보알데히드-d(820 mg)의 용액에 (*R,E*)-2-메틸프로판-2-설피나미드(561 mg) 및 구리(II) 설페이트 5수화물(209 mg)을 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하였다. 잔류물을 실리카 겔 상에서 컬럼 크로마토그래피(DCM:MeOH = 20:1)로 정제하여 (*R,E*)-2-메틸-N-((1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)메틸렌-d)프로판-2-설피나미드(740 mg)를 황색 고체로서 수득하였다. LCMS ESI (m/z): 234 (M+H)⁺



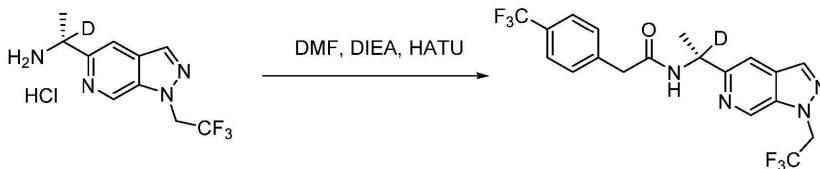
[1036]

[1037]

2-메틸-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸-1-d)프로판-2-설피나미드. THF(15 mL) 중 (*R,E*)-2-메틸-N-((1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)메틸렌-d)프로판-2-설피나미드(640 mg)의 용액에 -78°C에서 메틸마그네슘 브로마이드(3.200 mL, Et₂O 중 3.0 M)를 첨가하였다. 혼합물을 -78°C에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 NH₄Cl 수용액으로 쉐킷하고 EA로 추출하였다. 유기 층을 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 황색 고체를 수득하였다. 황색 고체를 실리카 겔 상에서 컬럼 크로마토그래피(DCM:MeOH = 20:1)로 정제하여 2-메틸-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸-1-d)프로판-2-설피나미드(380 mg)를 백색 고체로서 수득하였다. LCMS ESI (m/z): 350 (M+H)⁺.

[1038]

(*R*)-1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드. 디옥산(2 mL) 중 2-메틸-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸-1-d)프로판-2-설피나미드(280 mg)의 용액에 HCl/디옥산(2 mL, 디옥산 중 4 M)을 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 농축시켜 (*R*)-1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드(300 mg, 미정제)를 백색 고체로서 수득하였다. LCMS ESI (m/z): 246 (M+H)⁺



[1039]

[1040]

(*R*)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸-1-d)-2-(4-(트리플루오로메틸)페닐)아세트아미드. DMF(5 mL) 중 1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에탄-1-d-1-아민 하이드로클로라이드(300 mg) 및 2-[4-(트리플루오로메틸)페닐]아세트산(300 mg)의 용액에 HATU(558 mg) 및 DIEA(0.6 mL)를 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 3시간 동안 교반하였다. 반응물을 물로 희석하고 EA로 추출하였다. 유기 층을 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하였다. 잔류물을 분취-HPLC(YMC-Actus Triart C18 150*20mm*5um; 이동상: H₂O(0.1% FA)와 함께 30% 내지 95% MeCN; 유량: 25 mL/분; 파장: 205 nm/254 nm)로 정제하여 (*R*)-N-(1-(1-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1H-피라졸로[3,4-c]피리딘-5-일)에틸-1-d)-2-(4-(트리플루오로메틸)페닐)아세트아미드(241.8 mg)를 백색 고체로서 수득하였다. LCMS ESI (m/z): 432 (M+H)⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.88 (s, 1H), 8.11 (s, 1H), 7.61 - 7.56 (m, 3H), 7.41 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 6.69 (s, 1H), 5.05 (q, J = 8.4 Hz, 2H), 3.64 (s, 2H), 1.48 (s, 3H). ¹⁹F NMR (377 MHz, CDCl₃) δ -62.54, -70.81 ppm.

[1041]

실시예 56. 2-(4-이소프로필페닐)-N-[(1R)-1-(5-(2,2,2-트리플루오로에톡시)피리딘-2-일)에틸]아세트아미드

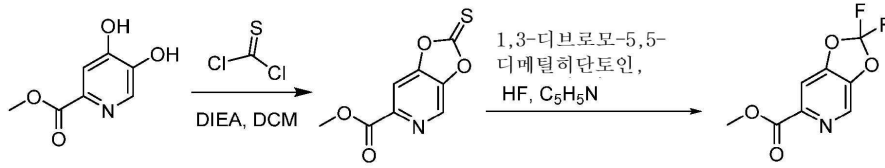
[1042]

표제 화합물을 미국 특허 번호 7,875,636의 실시예 16에 따라 합성하였다.

[1043]

실시예 57. (R)-N-(1-(2,2-디플루오로-[1,3]디옥솔로[4,5-c]피리딘-6-일)에틸)-2-(4-이소프로필페닐)아세트아미드

트



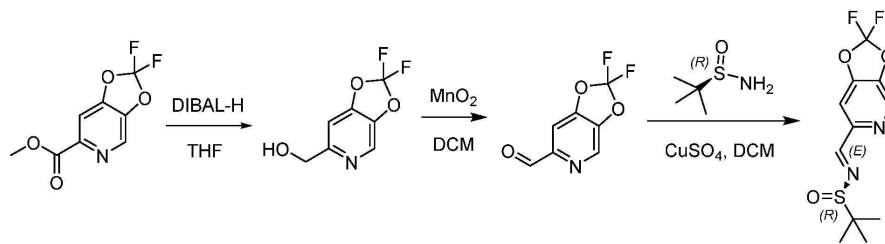
[1044]

[1045]

메틸 2-티옥소-[1,3]디옥솔로[4,5-c]피리딘-6-카르복실레이트의 합성. DCM(15 mL) 중 메틸 4,5-디하이드록시피리딘-2-카르복실레이트(1.0 g) 및 DIEA(1.95 mL)의 용액에 티오포스겐(0.90 mL)을 0°C에서 첨가하고, 혼합물을 25°C에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 농축시켜 갈색 오일을 제공하고, 이를 실리카 겔 상에서 컬럼 크로마토그래피(PE:EA = 5:1)로 정제하여 메틸 2-티옥소-[1,3]디옥솔로[4,5-c]피리딘-6-카르복실레이트(1.0 g)를 백색 고체로서 수득하였다.

[1046]

메틸 2,2-디플루오로-[1,3]디옥솔로[4,5-c]피리딘-6-카르복실레이트의 합성. DCM(30 mL) 중 2-티옥소-[1,3]디옥솔로[4,5-c]피리딘-6-카르복실레이트(1.0 g)의 용액에 플루오르화수소-피리딘(70% HF)(3.0 mL)에 이어 1,3-디브로모-5,5-디메틸히다ント인(4.1 g)을 -78°C에서 첨가하였다. 혼합물을 -78°C에서 20분 동안 교반한 다음, 냉각조를 얼음-NaCl로 교체하고, 혼합물을 -10°C에서 1시간 동안 교반하였다. pH가 중성이 될 때까지 혼합물을 50% NaOH 용액(10 mL)으로 켄칭하였다. 이후, Na₂S₂O₃(10% 용액, 20 mL)를 첨가하고, 혼합물을 DCM(20 mL x 3)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 황색 오일을 수득하였다. 황색 오일을 실리카 겔 상에서 컬럼 크로마토그래피(PE:EA = 5:1)로 정제하여 메틸 2,2-디플루오로-2H-[1,3]디옥솔로[4,5-c]피리딘-6-카르복실레이트(850 mg)을 백색 고체로서 수득하였다.



[1047]

[1048]

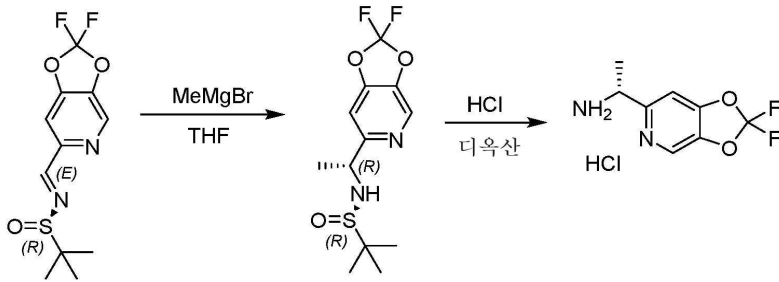
(2,2-디플루오로-[1,3]디옥솔로[4,5-c]피리딘-6-일)메탄올의 합성. THF(10 mL) 중 메틸 2,2-디플루오로-2H-[1,3]디옥솔로[4,5-c]피리딘-6-카르복실레이트(480 mg)의 용액에 디소부틸알루미늄 하이드라이드(6.6 mL, 1 M)를 0°C에서 첨가하였다. 혼합물을 0°C에서 2시간 동안 교반하고, 혼합물을 포화 수성 암모늄 클로라이드(5 mL)로 켄칭하고 DCM(5 mL x 3)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 미정제 {2,2-디플루오로-2H-[1,3]디옥솔로[4,5-c]피리딘-6-일}메탄올(230 mg)을 무색 오일로서 제공하고, 이를 추가 정제 없이 다음 단계에 사용하였다.

[1049]

2,2-디플루오로-[1,3]디옥솔로[4,5-c]피리딘-6-카르브알데히드의 합성. DCM(5.0 mL) 중 {2,2-디플루오로-2H-[1,3]디옥솔로[4,5-c]피리딘-6-일}메탄올(230 mg)의 용액에 망간 옥사이드(106 mg)를 첨가하고, 혼합물을 25°C에서 12시간 동안 교반하였다. 이후, 혼합물을 여과하고, 여액을 농축시켜 미정제 2,2-디플루오로-[1,3]디옥솔로[4,5-c]피리딘-6-카르브알데히드를 제공하고, 이를 추가 정제 없이 다음 단계에 사용하였다.

[1050]

(R,E)-N-((2,2-디플루오로-[1,3]디옥솔로[4,5-c]피리딘-6-일)메틸렌)-2-메틸프로판-2-설피나미드의 합성. DCM(10 mL) 중 2,2-디플루오로-2H-[1,3]디옥솔로[4,5-c]피리딘-6-카르브알데히드(250 mg)의 용액에 CuSO₄(640 mg) 및 (R)-2-메틸프로판-2-설피나미드(210 mg)를 첨가하였다. 반응물을 25°C에서 36시간 동안 교반하고, 혼합물을 여과하고, 여액을 농축시켜 갈색 오일을 제공하였다. 갈색 오일을 실리카 겔 상에서 컬럼 크로마토그래피(PE:EA = 5:1)로 정제하여 (R,E)-N-((2,2-디플루오로-[1,3]디옥솔로[4,5-c]피리딘-6-일)메틸렌)-2-메틸프로판-2-설피나미드(240 mg)를 백색 고체로서 수득하였다.



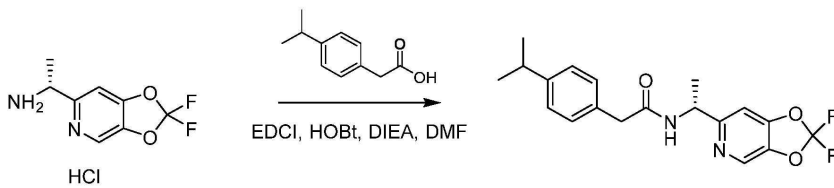
[1051]

[1052]

(*R*)-*N*-((*R*)-1-(2,2-디플루오로-[1,3]디옥솔로[4,5-*c*]피리딘-6-일)에틸)-2-메틸프로판-2-설펜아미드의 합성. THF(5 mL) 중 (*R,E*)-*N*-((2,2-디플루오로-[1,3]디옥솔로[4,5-*c*]피리딘-6-일)메틸렌)-2-메틸프로판-2-설펜아미드(240 mg)의 용액에 -78°C에서 메틸마그네슘 브로마이드(1.1 mL, THF 중 3 M)를 첨가하였다. 혼합물을 -78°C에서 1시간 동안 교반하고, 혼합물을 포화 수성 암모늄 클로라이드(5 mL)로 켄칭하고, EtOAc(10 mL x 2)로 추출하였다. 유기 층을 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 황색 오일을 수득하였다. 황색 오일을 실리카 겔 상에서 컬럼 크로마토그래피(PE:EA = 5:1 내지 1:1)로 정제하여 (*R*)-*N*-((*R*)-1-(2,2-디플루오로-[1,3]디옥솔로[4,5-*c*]피리딘-6-일)에틸)-2-메틸프로판-2-설펜아미드(190 mg)를 백색 고체로서 수득하였다.

[1053]

(*R*)-1-(2,2-디플루오로-[1,3]디옥솔로[4,5-*c*]피리딘-6-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드의 합성. 디옥산(1.0 mL) 중 (*R*)-*N*-((*R*)-1-(2,2-디플루오로-[1,3]디옥솔로[4,5-*c*]피리딘-6-일)에틸)-2-메틸프로판-2-설펜아미드(100 mg)의 용액에 HCl/디옥산(4 N, 1 mL)을 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 1시간 동안 교반하고, 혼합물을 농축시켜 (*R*)-1-(2,2-디플루오로-[1,3]디옥솔로[4,5-*c*]피리딘-6-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드(70 mg, 미정제)를 백색 고체로서 수득하였다.



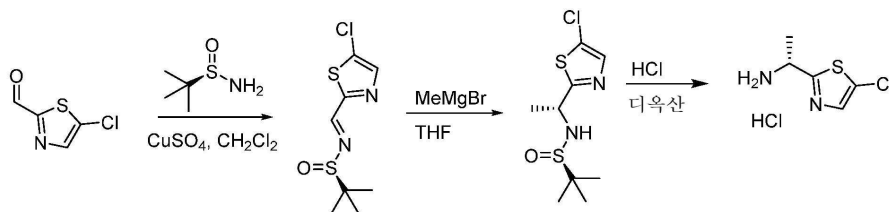
[1054]

[1055]

(*R*)-*N*-((1-(2,2-디플루오로-[1,3]디옥솔로[4,5-*c*]피리딘-6-일)에틸)-2-(4-이소프로필페닐)아세트아미드. DMF(5.0 mL) 중 (*R*)-1-(2,2-디플루오로-[1,3]디옥솔로[4,5-*c*]피리딘-6-일)에탄-1-아민 하이드로클로라이드(70 mg)의 용액에 2-[4-(프로판-2-일)페닐]아세트산(67.9 mg), EDCI HCl(79.6 mg), HOBT(56.1 mg) 및 DIEA(0.23 mL)를 첨가하였다. 반응물을 25°C에서 3시간 동안 교반하고, 혼합물을 물로 희석하고 EtOAc로 추출하였다. 유기 층을 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 황색 오일을 수득하였다. 황색 오일을 분취-HPLC[YMC-Actus Triart C180250*21mm; 이동상: H₂O(0.1%FA)와 함께 30% 내지 95% MeCN]로 정제하여 (*R*)-*N*-((1-(2,2-디플루오로-[1,3]디옥솔로[4,5-*c*]피리딘-6-일)에틸)-2-(4-이소프로필페닐)아세트아미드(51.6 mg)를 백색 고체로서 수득하였다. LCMS ESI (m/z): 363 (M+H)⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.18 (s, 1H), 7.24 - 7.15 (m, 4H), 6.98 (s, 1H), 6.53 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 5.18 - 4.97 (m, 1H), 3.56 (s, 2H), 2.98 - 2.80 (m, 1H), 1.40 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 1.26 (s, 3H), 1.24 (s, 3H).

[1056]

실시예 58. (*R*)-*N*-((1-(5-클로로티아졸-2-일)에틸)-2-(6-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)피리딘-3-일)아세트아미드



[1057]

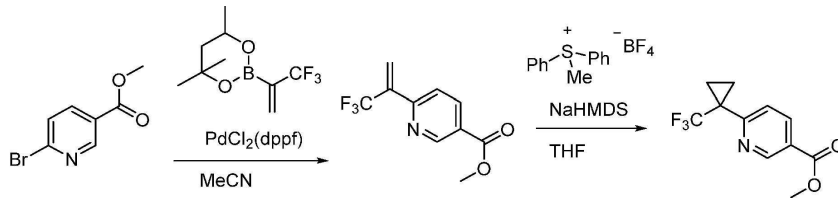
[1058]

(*R,E*)-*N*-((5-클로로티아졸-2-일)메틸렌)-2-메틸프로판-2-설펜아미드의 합성. CH₂Cl₂(3.0 mL) 중 5-클로로-1,3-티아졸-2-카르보알데히드(160 mg)의 용액에 (*R*)-2-메틸프로판-2-설펜아미드(131 mg) 및 CuSO₄(865 mg)를 실

온에서 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였고, LCMS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 반응 혼합물을 얼음물로 켄칭한 다음, EtOAc로 2회 추출하였다. 합한 추출물을 농축시키고, 잔류물을 실리카 겔 상에서 컬럼 크로마토그래피(PE:EA = 3:1)로 정제하여 (R,E)-N-((5-클로로티아졸-2-일)메틸렌)-2-메틸프로판-2-설피나미드(246 mg)를 황색 고체로서 수득하였다.

[1059] (R)-N-((R)-1-(5-클로로티아졸-2-일)에틸)-2-메틸프로판-2-설피나미드의 합성. THF(5.0 mL) 중 (R,E)-N-((5-클로로티아졸-2-일)메틸렌)-2-메틸프로판-2-설피나미드(246 mg)의 용액에 메틸마그네슘 브로마이드(0.98 mL, THF 중 2.5 mol/L)를 -78°C에서 N₂ 하에 첨가하였다. 혼합물을 -78°C에서 1시간 동안 교반하였고, LCMS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 반응 혼합물을 얼음물로 켄칭한 다음, EtOAc로 2회 추출하였다. 합한 추출물을 농축시키고 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피(PE:EA = 1:1)로 정제하여 (R)-N-((R)-1-(5-클로로티아졸-2-일)에틸)-2-메틸프로판-2-설피나미드(220 mg)를 황색 오일로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 267 [M+H]⁺.

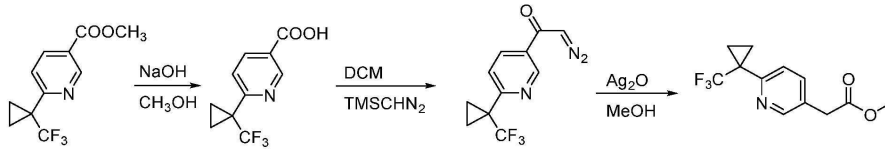
[1060] (R)-1-(5-클로로티아졸-2-일)에탄아민 하이드로클로라이드의 합성. 디옥산(5.0 mL) 중 (R)-N-((R)-1-(5-클로로티아졸-2-일)에틸)-2-메틸프로판-2-설피나미드(220 mg)의 용액에 디옥산 중 HCl(0.82 mL, 4 M)을 실온에서 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였고, LCMS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 용매를 제거하여 미정제 (R)-1-(5-클로로티아졸-2-일)에탄아민 하이드로클로라이드(117 mg)를 황색 오일로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 163 [M+H]⁺.



[1061]

[1062] 메틸 6-(3,3,3-트리플루오로프로프-1-엔-2-일)니코티네이트의 합성. 아세트니트릴(104 mL) 중 메틸 6-브로모니코티네이트(5.47 g), 4,4,6-트리메틸-2-(3,3,3-트리플루오로프로프-1-엔-2-일)-1,3,2-디옥사보리란(7.87 g), Pd(dppf)Cl₂(1.85 g), K₂CO₃(26.8 mL의 물 중 2 M)의 혼합물을 N₂로 채우고 80°C에서 90분 동안 가열하였다. 반응 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 물과 에틸 아세테이트 사이에서 분배시켰다. 2개의 상을 분리하고, 수성 상을 DCM(10 mL x 3)으로 추출하였다. 합한 유기 상을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제거하고, 이를 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피(0-20% 에틸 아세테이트/PE)로 정제하여 메틸 6-(3,3,3-트리플루오로프로프-1-엔-2-일)니코티네이트를 무색 오일(3.0 g)로서 수득하였다: LC/MS ESI (m/z): 232 [M+H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 9.22 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 8.75-8.74 (m, 1H), 8.34-8.31 (m, 1H), 8.25 (d, J = 1.2 Hz, 1H), 7.58 (d, J = 11.6 Hz, 1H), 3.97 (s, 3H); ¹⁹F NMR (376.48 MHz, CDCl₃): -63.98 ppm.

[1063] 메틸 6-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)니코티네이트의 합성. 무수 테트라하이드로푸란(30 mL) 중 메틸 6-(3,3,3-트리플루오로프로프-1-엔-2-일)니코티네이트(2.47 g) 및 메틸디페닐설포늄 테트라플루오로보레이트(4.0 g)의 현탁액에 4.27 mL NaHMDS(THF 중 2 M)를 질소 하에 0°C에서 첨가하였다. 반응 혼합물을 0°C에서 10분 동안 교반한 다음, 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 이후, 메탄올(0.25 mL)을 첨가하여 반응을 켄칭시켰다. 미정제 혼합물을 진공에서 농축시키고 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피(PE 중 10% EA)로 정제하여 메틸 6-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)니코티네이트를 백색 고체(345 mg)로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 246[M+H]⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 9.09 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 8.26-8.23 (m, 1H), 7.64 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 3.95 (s, 3H), 1.54-1.53 (m, 2H), 1.50-1.49 (m, 2H) ppm. ¹⁹F NMR (376.48 MHz, CDCl₃): δ -67 ppm.



[1064]

[1065]

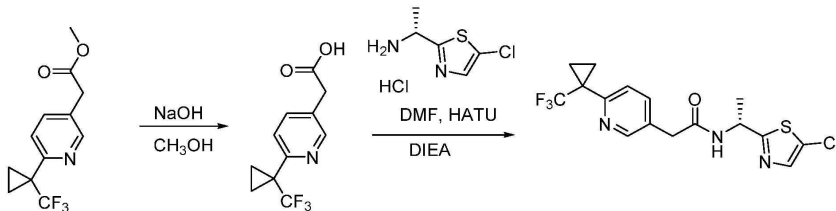
6-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)니코틴산의 합성. MeOH(20 mL) 중 메틸 6-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)니코티네이트(345 mg)의 용액에 4.0 mL의 2.0 M NaOH를 첨가하였다. 혼합물을 65°C에서 2시간 동안 교반하였고, TLC는 출발 물질의 총 소비를 나타내었다. MeOH를 진공 하에 제거하고 반응물의 pH를 1 N HCl을 사용하여 2-3으로 조정하였다. 반응물을 EA(50 mL)로 추출하였다. EA 추출물을 염수로 세척하고, 무수 Na₂SO₄로 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 미정제 6-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)니코틴산(300 mg)을 백색 고체로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 232 [M+H]⁺.

[1066]

2-디아조-1-(6-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)피리딘-3-일)에타논의 합성. DCM(10 mL) 중 6-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)니코틴산(300 mg)을 0°C로 냉각시켰다. 옥살리 클로라이드(1.1 mL) 및 DMF(2 방울)를 첨가하고 생성된 용액을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 진공 하에 농축시키고, 잔류물을 DCM(10 mL)에 재용해시키고, 0°C로 냉각시켰다. (디아조메틸)트리메틸실란(1.28 mL, hexan 중 2 M 용액) 및 TEA(0.33 mL)를 천천히 첨가하고, 생성된 용액을 5°C에서 12시간 동안 유지하였다. 이후, 반응물을 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켜 약 600 mg의 2-디아조-1-(6-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)피리딘-3-일)에타논을 갈색 잔류물로서 제공하고, 이를 다음 단계에 직접 사용하였다. LC/MS ESI (m/z): 256 [M+H]⁺.

[1067]

메틸 2-(6-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)피리딘-3-일)아세테이트의 합성. 메탄올(20 mL) 중 2-디아조-1-(6-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)피리딘-3-일)에타논(600 mg, 미정제)의 혼합물에 Ag₂O(175 mg)를 첨가하였다. 반응물을 65°C에서 2시간 동안 교반하였고, TLC는 미량 생성물의 형성을 나타내었다. 추가의 Ag₂O(142 mg)를 첨가하고, 혼합물을 65°C에서 추가로 2시간 동안 교반하였다. 반응물을 진공 하에 농축시키고, 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피(PE 중 10% EA-20% EA)로 정제하여 100 mg 메틸 2-(6-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)피리딘-3-일)아세테이트를 황색 오일로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 260 [M+H]⁺.



[1068]

[1069]

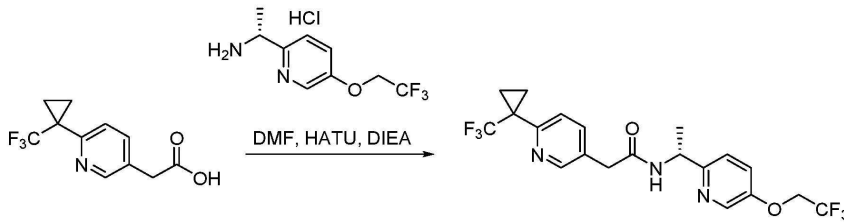
2-(6-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)피리딘-3-일)아세트산의 합성. MeOH(10 mL) 중 메틸 2-(6-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)피리딘-3-일)아세테이트(100 mg)의 용액에 2.0 mL의 2.0 M NaOH를 첨가하였다. 혼합물을 65°C에서 2시간 동안 교반한 후, 휘발성 물질의 일부를 감압 하에 제거하고, 반응물의 pH를 1 N HCl에 의해 2-3으로 조정하였다. 이후, 혼합물을 EA(50 mL x 3)로 추출하고, 합한 유기 상을 염수로 세척하고, 무수 Na₂SO₄로 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 미정제 2-(6-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)피리딘-3-일)아세트산(50 mg)을 백색 고체로서 제공하고, 이를 추가 정제 없이 다음 단계에 사용하였다. LC/MS ESI (m/z): 246 [M+H]⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8.43 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 7.78-7.75 (m, 1H), 7.59-7.56 (m, 1H), 3.69 (s, 2H), 1.43-1.40 (m, 2H), 1.32-1.29 (m, 2H) ppm. ¹⁹F NMR (CDCl₃, -376.48): δ -69.78 ppm.

[1070]

(R)-N-(1-(5-클로로티아졸-2-일)에틸)-2-(6-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)피리딘-3-일)아세트아미드의 합성. DMF(1.0 mL) 중 2-(6-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)피리딘-3-일)아세트산(50 mg)의 혼합물에 HATU(85 mg)를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 5분 동안 교반하였다(용액 A). 다른 플라스크에 (R)-1-(5-클로로티아졸-2-일)에탄아민이 DMF에 용해되고 pH가 약 8이 될 때까지 DIEA를 첨가하였다(용액 B). 용액 B를 용액 A에 첨가하고, 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 이후, EA(50 mL) 및 H₂O(30 mL)를 첨가하고, 2개의 상을

분리하였다. 수성 상을 DCM(10 mL x 3)으로 추가로 추출하고, 합한 유기 상을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 제공하고, 이를 분취-HPLC(컬럼: Xbudge prep C18 250*19mm 5um OBD; 이동상: H₂O(0.1%NH₄OH)와 함께 10% 내지 55% MeCN; 유량: 20 mL/분; 파장: 205 nm/254 nm) 및 SFC(컬럼: 이동상: CO₂의 경우 A 및 MeOH+0.1% NH₃H₂O의 경우 B; 구배: B 40%; 유량: 50 mL/분; 파장: 220 nm)로 정제하여 25 mg (R)-N-(1-(5-클로로티아졸-2-일)에틸)-2-(6-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)피리딘-3-일)아세트아미드를 백색 고체로서 수득하였다. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8.43 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.65-7.63 (m, 1H), 7.55-7.53 (m, 1H), 7.46 (s, 1H), 6.24-6.23 (m, 1H), 5.32-5.25 (m, 1H), 3.57 (s, 2H), 1.56 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 1.43-1.41 (m, 2H), 1.40-1.39 (m, 2H) ppm. ¹⁹F NMR (376.48, CDCl₃): δ -67.8 ppm.

[1071] **실시예 59. (R)-N-(1-(5-(2,2,2-트리플루오로에톡시)피리딘-2-일)에틸)-2-(6-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)피리딘-3-일)아세트아미드**



[1072]

[1073] DMF(1.5 mL) 중 2-(6-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)피리딘-3-일)아세트산(40 mg)의 혼합물에 HATU(68 mg)를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 5분 동안 교반하였다(용액 A). DMF(0.5 mL) 중 (R)-1-(5-(2,2,2-트리플루오로에톡시)피리딘-2-일)에탄아민 하이드로클로라이드(49 mg)에 (R)-1-(5-(2,2,2-트리플루오로에톡시)피리딘-2-일)에탄아민이 DMF에 용해되고 pH가 약 8이 될 때까지 DIEA를 첨가하였다(용액 B). 용액 B를 용액 A에 첨가하고, 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. EA(50 mL) 및 H₂O(40 mL)를 첨가하고, 유기 층을 포화 NaCl로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 분취-HPLC(컬럼: Xbudge prep C18 250*19mm 5um OBD; 이동상: H₂O(0.1%FA)와 함께 10% 내지 55% MeCN; 유량: 20 mL/분; 파장: 205 nm/254 nm)로 정제하여 (R)-N-(1-(5-(2,2,2-트리플루오로에톡시)피리딘-2-일)에틸)-2-(6-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)피리딘-3-일)아세트아미드를 황색 고체(23.3 mg)로서 수득하였다. LC/MS ESI (m/z): 448 [M+H]⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8.43 (d, J =2.0 Hz, 1H), 8.23 (d, J = 2.8 Hz, 1H), 7.65 - 7.62 (m, 1H), 7.52-7.50 (m, 1H), 7.25 - 7.18 (m, 2H), 6.87 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 5.13 - 5.06 (m, 1H), 4.38 (q, J = 8.0 Hz, 2H), 3.55 (s, 2H), 1.43-1.38 (m, 5H), 1.36-1.35 (m, 2H) ppm. ¹⁹F NMR (376.48, CDCl₃): δ -67.7ppm, -73.9 ppm.

[1074] **실시예 60. T-타입 칼슘 채널 길항제에 대한 시험관내 패치 클램프 데이터**

[1075] 패치 클램프 검정을 Charles River에서 수행하였다. HEK293 세포를 10% 소 태아 혈청, 100 U/mL 페니실린 G 소 닭, 100 µg/mL 스트렙토마이신 섀페이트 및 500 µg/mL G418이 보충된 Dulbecco의 변형된 이글 배지/영양 혼합물 F-12(D-MEM/F-12)에서 배양하였다. 시험 전에, 배양 접시의 세포를 Hank의 균형 염 용액으로 2회 세척하고, accutaseTM로 처리하고, 배양 배지(20 mL 중 약 20 x 10⁶ 개 세포)에 재현탁시켰다. 현탁액 중의 세포를 가습된 95% 공기: 5% CO₂ 대기에서 37°C로 설정된 조직 배양 인큐베이터에서 10분 동안 회복시켰다. SyncroPatch 384PE 시스템(SP384PE)에서 사용 직전에, 세포를 세포외 완충제(HB-PS)에서 2회 세척하여 배양 배지를 제거하고 20 mL의 HB-PS에 재현탁시켰다. 세포외 완충제를 Nanion 384-웰 패치 클램프(NPC-384, 4xM) 칩(웰 당 60 µL)의 웰에 로딩하였다. 이후, 세포 현탁액을 칩의 웰(웰 당 20 µL)에 피펫팅하였다. 전체-세포 구성의 확립 후, SP384PE 시스템에서 패치 클램프 증폭기를 사용하여 막 전류를 기록하였다.

[1076] 본 개시의 예시적인 화합물은 패치 클램프 검정에서 T-타입 칼슘 채널의 억제를 나타내었다.

[1077] **표 4. Ca_v3.2 활성**

실시예	Ca_v3.2 IC₅₀ (μM)
1	0.522
2	6.450
3	>10
4	>10
5	1.218
6	7.841
7	0.110
8	0.126
9	0.044
10	>10
11	2.422

실시예	Ca_v3.2 IC₅₀ (μM)
12	0.647
13	0.710
14	0.085
15	0.163
16	1.272
17	0.292
18	0.343
19	0.132
20	1.050
21	0.637
22	0.194

[1078]

실시에	Cav3.2 IC ₅₀ (μM)
23	4.019
24	0.333
25	2.593
26	7.030
27	0.861
28	0.089
29	0.533
30	0.475
31	0.505
32	9.42
33	8.27
34	>10
35	2.13
36	0.873
37	0.084
38	0.123
39	0.519
40	0.827
41	0.727

실시에	Cav3.2 IC ₅₀ (μM)
42	0.394
43	0.214
44	0.071
45	0.113
46	0.806
47	0.220
48	0.260
49	0.352
50	0.850
51	0.411
52	0.389
53	0.919
54	0.529
55	0.335
56	0.037
57	0.868
58	4.9
59	0.097

[1079]

[1080] **실시에 61. T-타입 칼슘 채널 길항제는 Miro1을 감소시킨다**

[1081] 화합물 투여 후 Miro1 감소의 측정은 문헌[Hsieh C-H, Li L, Vanhauwaert R, Nguyen KT, Davis MD, Bu G, *et al.* Miro1 Marks Parkinson's Disease Subset and Miro1 Reducer Rescues Neuron Loss in Parkinson's Models. *Cell Metab.* 2019; 1131-1140]에 기술된 웨스턴 블롯 방법에 따라 수행되었다.

[1082] 베니디핀 (1,4-디하이드로-2,6-디메틸-4-(3-니트로페닐)-3,5-피리딘-디카르복실산 메틸 1-(페닐메틸)-3-피페리디닐 에스테르); MK-8998 ((R)-2-(4-이소프로필페닐)-N-(1-(5-(2,2,2-트리플루오로에톡시)피리딘-2-일)에틸)아세트아미드); ABT-639 (5-[(8aR)-3,4,6,7,8,8a-헥사하이드로-1H-피롤로[1,2-a]피라진-2-카르보닐]-4-클로로-2-플루오로-N-(2-플루오로페닐)벤젠설포나미드); ACT-709478 (N-(1-((5-시아노피리딘-2-일)메틸)-1H-피라졸-3-일)-2-(4-(1-(트리플루오로메틸)사이클로프로필)페닐)아세트아미드), 및 조니사미드 (1,2-벤즈이속사졸-3-메탄설포나미드)를 포함하는 여러 공지된 화합물을 Miro1 감소 능력에 대해 시험하였다. 결과는 하기에 제시되어 있다.

[1083] 표 5. 칼슘 채널 길항제의 Miro1 저하 효과

화합물	Ca 채널 선택성	Miro1 저하
베니디핀	T-/L-/N-타입	YES
MK-8998	T-타입	YES
ABT-639	T-타입	YES
ACT-709478	T-타입	YES
조니사미드	T-타입	YES
니모디핀	L-타입	NO
이스라디핀	L-타입	NO
니페디핀	L-타입	NO
펠로디핀	L-타입	NO
오메가-코노톡신	N-타입	NO
레베티라세탐	N-타입	NO
가바펜틴	N-타입	NO
니카르디핀	N-타입	NO
실니디핀	L-/N-타입	NO
라모트리겐	L-/N-/P-타입	NO

[1084]

[1085] T-타입 칼슘 채널 활성을 갖는 화합물은 Miro1의 감소를 입증하였다.

[1086] **실시예 62. Miro1을 감소시키는 예시적인 화합물**

[1087] a) *Miro1* 섬유모세포 검정

[1088] 섬유모세포 핵린지 및 *Miro1* 웨스턴 블롯: 인간 파킨슨병(PD) 환자로부터 피부 섬유모세포를 획득하였다. CCCP를 40 μM로 24시간 동안 섬유모세포에 적용한 후 세포를 0.25 mM PMSF 및 프로테아제 억제제와 함께 RIPA 용해 완충제에 용해시켰다. 용해물을 4°C에서 10분 동안 17,000 x g에서 원심분리하여 제거하고, 상청액을 웨스턴 블롯팅을 위해 SDS-PAGE에서 진행시켰다. 전기영동 후, 니트로셀룰로스 막(Bio-Rad)을 습식 전달에 사용하였다. 전달된 막을 먼저 5% 무지방 우유 및 0.1% tween-20을 함유하는 포스페이트-완충된 염수(PBS)에서 1시간 동안 차단한 후, 하기 1차 항체와 함께 차단 완충제에서 4°C에서 밤새 인큐베이션하였다: 1:1,000의 토끼 항-Miro1(HPA010687, Sigma-Aldrich), 1:5,000의 마우스 항-ATP5β(AB14730, Abcam), 1:3,000의 마우스 항-β-액틴(A00702, Genscript), 또는 1:1,000의 토끼 항-VDAC(4661S, Cell Signaling Technology). West Dura ECL 시약(GE Healthcare)을 1:5-10,000의 HRP-컨쥬게이션된 염소 항-마우스 또는 항-토끼, 항-마우스 IgG(Jackson ImmunoResearch Laboratories)와 함께 ECL 면역블롯팅에 사용하였다. 막을 UltraCruz 오토라디오그래피 필름(Santa Cruz Biotechnology)에 노출시키고 Konica Minolta SRX-101A 현상액에서 현상하였다.

[1089] *Miro1* 수준을 감소시킬 수 있는 T-타입 칼슘 채널 길항제를 상기 PD 섬유모세포 검정에서 시험하였다. 다음은 용량-의존적 *Miro1* 감소를 입증하였다.

[1090] 표 6. 섬유모세포에서 Miro1 감소

화합물	섬유모세포 IC ₅₀ (nM)
베니디핀	2565
ABT-639	5408
ACT-709478	3932
MK-8998	693

[1091]

[1092] *b) Miro1 뉴런 검정*

[1093] 뉴런 챌린지 및 미토콘드리아 웨스턴 블롯: iPSC-유래 뉴런 세포를 균질화하고, 회전시키고, "세포질 분획" 상청액 및 "미토콘드리아 분획" 펠렛으로 분리한다. 샘플은 이후 웨스턴 블롯팅을 위해 SDS-PAGE에서 진행된다.

[1094] **실시예 63. 베니디핀을 이용한 생체내 Miro1 감소**

[1095] 파킨슨병(PD) 파리 모델을 문헌[Hsieh C-H, Li L, Vanhauwaert R, Nguyen KT, Davis MD, Bu G, et al. Miro1 Marks Parkinson's Disease Subset and Miro1 Reducer Rescues Neuron Loss in Parkinson's Models. Cell Metab. 2019; 1131-1140]에 기술된 대로 사용하였다. 평균 성능 지수(PI)(음성 주지성)를 평가하였다. 간략하게, 성충 파리를 변형된 25 ml 상승 튜브의 베이스에 부드럽게 탭핑하고, 이들의 상승 진행을 45초 후에 기록하였다. 3개의 파리 집단을 평가하고, 각 집단에 대해 파리를 실험 당 3회 검사하였다. 기록된 값을 사용하여 평균 PI를 계산하였다.

[1096] PD 파리에 칼슘 채널 차단제를 공급하면 로코모션(Locomotion) 결핍이 구제된다. 베니디핀을 PD 파리 모델(돌연변이 SNCA 파리)에서 시험하고 파리의 로코모션에 대해 시험하였다. 10일 동안 사료 중 2.5 μM 베니디핀은 로코모터 저하를 유의하게 개선시켰는데, 이는 PD 메커니즘에 Miro1 및 칼슘이 관여함을 시사한다(도 1).

[1097] **실시예 64. 환자-유래 샘플에서 Miro1 감소**

[1098] 탈분극 후 환자-유래 세포로부터 Miro1을 제거하지 못하는 것은 파킨슨병의 위험과 관련이 있다. 본원의 데이터는 파킨슨병의 전증상 단계를 검출하기 위한 Miro1의 잠재적인 용도를 뒷받침한다.

[1099] *물질 및 방법*

[1100] iPSC는 국립 신경학적 장애 및 뇌졸중 (NINDS) 인간 및 세포 저장소 또는 파킨슨병 진행 마커 계획(PPMI) 연구소로부터 MTA 하에 입수되었으며, 이는 iPSC를 기탁하고, 연구 프로토콜을 승인하고, 공여자로부터 동의를 보장하는 다수의 기관과 협력 관계에 있다.

[1101] *세포 배양 및 웨스턴 블롯팅*

[1102] 유도된 만능 줄기 세포를 mTeSR Plus Kit(05825, Stemcell Technologies)에서 배양하고, 가습된 대기의 37°C, 5% CO2 인큐베이터에서 유지시켰다. 배지를 1-2일마다 새로 교체하고 4-6일마다 분할하였다. CCCP(C2759, Sigma-Aldrich)를 매번 신선한 디메틸 설폭사이드(DMSO)에서 40 mM로 제조하고 신선한 배양 배지(1:1000 희석)에서 40 mM로 6시간 동안 적용하였다. 후속하여 세포를 프로테아제 억제제 카테일(539134, Calbiochem)과 함께 NP40 세포 용해 완충제(FNN0021, ThermoFisher Scientific)에서 용해시켰다. 세포 파편을 4°C에서 10분 동안 17,000 g로 원심분리하여 제거하였다. 세포 용해물을 2X Laemmli 완충제(4% SDS, 20% 글리세롤, 120 mM Tris-HCl, 0.02% 브로모페놀 블루, 700 mM 2-머캅토에탄올)와 1:1로 혼합하고, SDS-PAGE에 로딩되기 전에 5분 동안 비등시켰다. 10% 폴리아크릴아미드 겔(아크릴아미드:비스-아크릴아미드 = 29:1) 및 Tris-Glycine-SDS 완충제(24.8 mM Tris, 192 mM 글리신, 0.1% SDS)를 전기영동에 사용하였다. 전기영동 후, 니트로셀룰로스 막(1620115, Bio-Rad)을 Bjerrum Schafer-Nielsen 완충제[48 mM Tris, 39 mM 글리신, 20% 메탄올(v/v), pH 9.2]와 함께 반-건조 전달에 사용하였다. 전달된 막을 먼저 4°C에서 5% 무지방 우유 및 0.1% tween-20을 함유하는 포스페이트-완충된 염수에서 밤새 차단한 후, 하기 1차 항체와 함께 차단 완충제에서 4°C에서 밤새 인큐베이션하였다: 1:1,000의 마우스 항-Miro1(WH0055288M1, Sigma-Aldrich), 1:1,000의 마우스 항-ATP5b(AB14730, AbCam), 또는 1:1-3,000의 토끼 항-GAPDH(5174S, Cell Signaling Technology). HRP-컨쥬게이션된 염소 항-마우스(115-035-003, Jackson ImmunoResearch) 또는 염소 항-토끼(111-035-144, Jackson ImmunoResearch)

Laboratories)를 1:10-20,000으로 사용하였다. Pierce ECL 웨스턴 블롯팅 기질(32109, ThermoScientific)을 ECL 면역블롯팅에 사용하였다. Bio-Rad ChemiDoc XRS 시스템을 사용하여 막을 스캔하였다. 실험을 3회 이상 반복하였다. 세포 계대 수는 표현형에 영향을 미치지 않는 12-17의 범위 내에 있었다.

[1103] 웨스턴 블롯팅 데이터의 정량화

[1104] 모든 실험은 맹검 형식으로 수행되었다. 단백질 밴드의 강도는 ImageJ(ver. 1.48V, NIH)에 의해 측정되었다. 각 밴드의 강도는 동일한 블롯으로부터 로딩 대조군 GAPDH의 강도로 정규화되었고, 동일한 실험으로부터 "DMSO 처리된 Healthy-1"의 분획으로 표현되었고; 이 대조군은 모든 독립적인 실험에 포함되었다. Miro1의 비율은 CCCP로 처리된 Miro1 강도의 평균을 동일한 대상체의 DMSO를 사용한 Miro1의 평균으로 나누어 계산되었고, 히트 맵으로 가져왔다. 동일한 대상체 내에서 정규화된 Miro1 밴드 강도를 비교하기 위해 스튜던트 T Test를 수행하였다("DMSO 사용" 대 "CCCP 사용"). CCCP 후 유의한 Miro1 상향조절을 나타낸 대상체와 함께 P 값 > 0.05인 대상체의 수, 또는 CCCP 후 Miro1 감소에 대해 P < 0.05인 대상체의 수를 각각 계수하고, 도 2C의 Fisher Exact Test에 사용하였다. n = 3-55개의 독립적인 실험.

[1105] 다분산 회귀 또는 Anova를 사용하여 Miro1 비율에 영향을 미치기 위한 다중 변수 간의 상호작용을 결정하고, 도 3, 4에서 선형 핏에 의해 P 값을 계산하였다. 분석 동안, 혼야 척도 및 간이 정신 상태 검사는 상호작용을 나타내는 것으로 검출되었다. 다변수 회귀 문제에서 개별 변수와 반응 변수 사이의 관계를 판독하는 것을 돕기 위해 부분 회귀 플롯이 후속적으로 생성되었다. 회귀 문제의 각 개별 변수에 대해 하나씩(혼야 척도, 간이 정신 상태 검사, 발병 연령) 7개의 부분 회귀 플롯, 이들의 상호작용 항, 및 절편이 생성되었다. 상호작용 항에 대한 모든 부분 회귀 플롯 중에서, 선형 핏을 갖는 혼야 척도 및 정신 건강 상태 검사의 플롯은 유의성을 나타내었다(P = 0.012). 이 플롯 및 추가의 대표적인 부분 회귀 플롯은 도 5에 도시되어 있다.

[1106] 효소-결합 면역흡착 검정

[1107] 모든 실험은 맹검 시험으로 수행되었다. DMSO 중 40 mM CCCP 또는 동일한 부피의 DMSO 단독을 6시간 동안 iPSC에 적용한 다음, 세포를 프로테아제 억제제 각테일(539134, Calbiochem)과 함께 NP40 세포 용해 완충제(FNNO021, ThermoFisher Scientific)에서 용해시켰다. 세포 파편을 4°C에서 10분 동안 17,000 g로 원심분리하여 제거하였다. Rhot1 ELISA 키트(EKL54911, Biomatik)를 제조업체의 지침에 따라 사용하였다. 특이성 및 안정성은 Biomatik에 의해 검증되었다. 동적 검출 범위, 감도(검출 하한-LLOD), 및 정밀도(검정간 및 검정내)는 Biomatik 및 당사 둘 모두에 의해 결정되었고(도 2E-2G), 결과는 비슷하였다. 간략하게, 상기로부터 제조된 50 ml의 세포 용해물, 또는 표준의 연속 희석액(0-40 ng/ml)을 첨가하고 37°C에서 2시간 동안 인큐베이션하였다. 이후, 각 웰을 100 ml의 검출 시약 A와 함께 37°C에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 다음으로, 플레이트를 세척하고, 각 웰을 100 ml의 검출 시약 B와 함께 37°C에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 플레이트를 다시 세척하고, 90 ml의 기질 용액을 37°C에서 15-25분 동안 각 웰에 첨가하였다. 비색 반응을 50 ml의 정지 용액에 의해 중단시키고, 마이크로플레이트 판독기(Infinite 200 Pro, Tecan)에 의해 450 nm에서 흡광도를 판독하였다. 표준 곡선을 생성하기 위한 실험이 각 플레이트에 포함되었고 대표적인 표준 플롯이 도면에 도시되어 있다. 각 데이터 포인트는 매번 2회의 기술적 반복을 갖는 3 내지 4개의 독립적인 실험이었다. 동일한 대상체 내에서 Miro1 신호를 비교하기 위해 스튜던트 T Test를 수행하였다(DMSO 대 CCCP). 로딩 대조군, GAPDH는 각 실험에서 웨스턴 블롯팅에 의해 검출되었고, 각 세포주에 대한 "DMSO"와 "CCCP" 사이에 로딩에는 유의한 차이가 없었다.

[1108] 통계

[1109] 본 실시예 전반에 걸쳐, 데이터 포인트의 분포는 달리 언급되지 않는 한 박스-위스커(box-whisker) 또는 도트-플롯(dot-plot)으로 표현되었다. Prism, Excel, 또는 Python의 statsmodels 패키지를 사용하여 통계적 분석을 수행하였다. 모든 실험에 대해, 3 내지 55개의 독립적인 실험을 수행하였다. 실험 반복의 수(n)는 도면 범례에서 확인할 수 있다. 제외된 데이터는 없었다. 모든 도면에 대해 *P < 0.05, **P < 0.01, 및 ***P < 0.001.

[1110] 결과

[1111] 사용된 방법은 문헌[Hsieh, C. H., Li, L., Vanhauwaert, R., Nguyen, K. T., Davis, M. D., Bu, G., et al. (2019). *Cell Metab.* 30, 1131-1140]에 기재되어 있다. iPSC를 배양하고, 미토콘드리아 언커플러인 CCCP를 적용하여 미토콘드리아 막 전위를 탈분극시켰다. CCCP 처리 6시간 후 건강한 대조군에서, Miro1은 웨스턴 블롯팅에 의해 검출된 바와 같이 유의하게 분해되었다(도 2A, 2B); 이 시점은 다수의 미토콘드리아 마커가 분해되었을 때 미토파지가 완료되기 전이었다. 이 방법을 PPMI 및 NINDS 인간 및 세포 저장소로부터 획득된 총 87개의 iPSC 라인에 적용하였다. 이 코호트는 9명의 야생형 대조군(8명의 건강한 대상체 및 1명의 교정된 야생형), 다른 신

경학적 장애에 대한 징후가 없는 SNCA, LRRK2, 또는 GBA에 돌연변이를 갖는 30명의 PD 환자, 42명의 무증상 유전 보인자("Risk"로 명명됨), 및 PD로 진단되지 않았으나 후각저하증 또는 RBD와 같은 전구 증상을 나타내는 6명의 개인(각각 "Risk-Hyposmia" 및 "Risk-RBD"로 명명됨)을 포함하였다. 57명의 개인이 양성 가족력을 가졌다. 실험은 맹검 방식으로 수행되었다. 세포 계대 수는 표현형에 영향을 미치지 않는 12-17의 범위 내에 있었다. 특히, CCCP 처리 6시간 후에 Miro1을 분해하는 통합 손상은 25개 PD(83.3%) 및 36개 Risk(유전 보인자) 라인(85.7%; 도 2)에서 명백하였다.

[1112] 대조적으로, Miro1은 모든 단일 대조군 대상체에서 탈분극 후 효율적으로 제거되었다(0%; 도 2C). 이러한 표현형은 각 개인의 Miro1 비율("CCCP 사용"을 "DMSO 사용"으로 나눈 Miro1 강도)을 히트 맵으로 가져올 때 명확하게 입증되었다. PD 및 발생 위험이 있는 대상체의 대부분은 높은 Miro1 비율을 나타낸 반면, 모든 건강한 대상체는 낮은 Miro1 비율을 나타내었다(도 2D). iPSC에서 Miro1 표현형의 빈도는 건강한 대상체보다 환자 및 비-발현 보인자에서 유의하게 더 높았다(도 2C). LRRK2 돌연변이 및 후각저하증 둘 모두에 대해 양성인 개인은 유의하게 더 높은 비율의 Miro1 표현형을 가졌다(도 2C).

[1113] 웨스턴 블롯팅으로부터의 결과는 또한 대안적인 방법으로 분석되었다: 효소-결합 면역흡착 검정(ELISA; 도 2E-G). 도 2D에 사용된 7개의 세포주를 조사하였다. 각각의 개별 라인에 대해, 미토콘드리아 탈분극에 대한 Miro1 반응의 ELISA 결과는 웨스턴 블롯팅으로부터의 결과와 일치하였고(도 2D, 2H), 이는 iPSC에서 Miro1을 검출하기 위한 두 방법의 견고성을 입증하였다. 환자의 세포에서 Miro1을 측정하는 두 가지 방법은 임상 실험에 유용할 수 있다. Miro1 비율("CCCP 사용"을 "DMSO 사용"으로 나눈 Miro1 강도)은 또한 PD 및 유전적 위험과 유의하게 상관관계가 있었지만(도 3A), 연령(샘플링 시) 또는 성별과는 관련이 없었다(도 3B-3D). Miro1 비율에 영향을 미치는 연령, 성별, 및 유전적 배경 사이에는 상호작용이 없었다(도 3B-3D). 종합하면, 이러한 관찰은 미토콘드리아 탈분극 후 Miro1을 제거하지 못하는 것이 발생 위험이 있는 개인의 코호트에서 일반적인 세포 결함이었음을 보여주었다.

[1114] 전체 결과의 단면 분석을 수행하였다. 총 PD 환자에서 Miro1 결함의 빈도를 iPSC를 사용한 이 코호트와 섬유모세포를 사용한 이전 코호트 간에 비교하였고(Hsieh, C. H., Li, L., Vanhauwaert, R., Nguyen, K. T., Davis, M. D., Bu, G., et al. (2019). *Cell Metab.* 30, 1131-1140), 대체로 일치하는 것으로 나타났다(iPSC에서 83.3%, 섬유모세포에서 94%). 이후 특정 서브그룹에서의 빈도를 조사하였다(샘플 크기 ≥ 5 ; 도 3A, 4A). Miro1 결함의 비율은 섬유모세포를 사용한 이전 코호트에서보다 iPSC를 사용한 이 코호트에서 LRRK2 또는 GBA에 돌연변이를 갖는 PD 환자에서 약간 더 낮았다(LRRK2 및 GBA에 대해 각각 iPSC: 83.3 및 93.3%; 섬유모세포: 100 및 100%). PD 환자 및 동일한 유전자에 돌연변이를 보유하는 무증상 유전 보인자의 iPSC에서 Miro1 표현형의 발생을 비교하였다. 특히, LRRK2 또는 GBA에 돌연변이를 갖는 비발현 유전 보인자는 동일한 유전자에 돌연변이를 갖는 증상이 있는 환자와 유사한 Miro1 결함의 비율을 나타내었다(LRRK2 및 GBA에 대해 각각 보인자: 86.4 및 83.3%; PD: 83.3 및 93.3%). 마지막으로, 이 PD 코호트의 샘플 크기가 크다는 점을 고려하여(건강한 대상체 12명 및 PD 환자 71명), 섬유모세포의 웨스턴 블롯팅 데이터를 사용하여 Miro1 표현형에 영향을 미치는 PD 환자의 유전적 배경, 인구통계 및 임상적 발현 사이에 상호작용이 있는지 여부를 조사하였다. 연령, 성별, 통합 PD 평가 척도, 혼야 척도, 및 간이 정신 상태 검사를 포함하는 각각의 개별 변수만으로는 Miro1 비율에 영향을 미치지 않았지만, 혼야 척도와 간이 정신 상태 검사 사이에는 유의한 상호작용이 있었고(도 4B-4D, 5), 이는 Miro1 비율이 인지 장애와 조합된 PD 진행에 반응할 수 있음을 시사한다.

[1115] **실시예 65. 전두측두엽 치매 대상체로부터의 세포에서 Miro1 부족의 구제**

[1116] 실시예 15의 화합물은 전두측두엽 치매(FTD)가 발생할 위험이 있는 P301L tau 공여자에서 Miro1 부족을 구제하였다. 방법: 전두측두엽 치매(FTD)에 대한 고침투성 위험 인자인 MAPT/Tau 유전자의 병원성 P301L 돌연변이의 무증상 위험 보인자로부터 섬유모세포를 얻었다. NINDS 라인 ID: ND32956, 47세 백인 남성으로부터 수집. 섬유모세포를 96-웰 검정 플레이트에 시딩하였다. 24시간 후, 세포를 비히클(DMSO) 또는 실시예 15 화합물의 용량-반응으로 전처리하였다. 6시간의 전처리 후, 세포를 14시간 동안 미토콘드리아 스트레스인자 FCCP로 켈린지하였다. 14시간의 켈린지 후, 세포를 파라포름알데히드에 고정시키고, 표준 면역세포화학 프로토콜에 따라 특정 항체를 사용하여 Miro1에 대해 염색하였다. Yokogawa CQ1 공초점 고해상도 영상화 플랫폼에서 이미지를 획득하고 Miro1 항체로부터의 신호를 정량화하였다. 평균 Miro1 신호 강도를 약 400개 세포/조건으로부터 정량화하였다.

[1117] 실시예 64에 예시된 방법과 유사하게, Miro1 비율은 처리되지 않은 섬유모세포로부터 측정된 대조군 Miro1 수준과 비교하여 FCCP로 섬유모세포의 처리 후 Miro1 수준에 기반하여 계산될 수 있다. 약 1의 Miro1 비율이 P301L tau 공여자 섬유모세포에서 측정되었고, 이는 FCCP에 반응하여 섬유모세포에서 관찰된 Miro1 감소가 부족함을

입증한다. 대조적으로, 건강한 공여자 섬유모세포에서 약 0.3의 Miro1 비율이 측정되었고, 이는 FCCP에 반응하여 건강한 섬유모세포에서 Miro1 감소를 입증한다.

[1118] Miro1 비율과 관련하여, 실시예 15로 처리함으로써 P301L tau 공여자 섬유모세포를 용량-의존적 방식으로 건강한 공여자 표현형으로 전환시켰다. 실시예 15의 화합물은 FCCP에 반응하여 P301L tau 공여자 섬유모세포에서 Miro1 감소 부족을 완전히 구제하였고, IC₅₀ = 584 nM이다. 이러한 결과는 실시예 15와 같은 본 개시의 화합물이 FTD와 같은 무증상 Miro1-관련 장애를 치료하는데 사용될 수 있음을 시사한다.

[1119] **실시예 66. 칼슘 채널 길항제의 시험관내 안정성**

[1120] 본 개시의 칼슘 채널 길항제의 시험관내 간 마이크로솜 안정성을 결정하였다. 이러한 방법은 당 분야에 공지되어 있다. 문헌[Knights, KM et al. Current Protocols in Pharmacology 2016, 74: 7.8.1-7.8.24; Hill, JR. Current Protocols in Pharmacology 2004, 7: 7.8] 참조.

[1121] **실시예 67. 칼슘 채널 길항제의 생체내 약동학**

[1122] **래트 실험**

[1123] 6 내지 8주령의 금식 수컷 Sprague-Dawley 래트에 본 개시의 칼슘 채널 길항제를 투여하여 생체내 약동학을 평가하였다. 각각의 화합물을 5%DMAC + 5%솔루톨 HS15 + 90%염수에서 제형화하여 투여용 용액을 수득하였다. 래트에게 발등 정맥(N=3)을 통해 1 mg/kg(1 mL/kg)을 정맥내(IV) 투여하거나 경구 위관영양법(N=3)을 통해 10 mg/kg(10 mL/kg)을 경구(PO) 투여하였다.

[1124] 혈액 수집: 동물을 수동으로 구속하고, 대략 200 µL의 혈액/시점을 정맥을 통해 미리 냉각된 EDTA-K2 튜브에 수집하고 습식 얼음 위에 놓았다. 혈액 샘플을 4°C(2000 g, 5분)에서 원심분리하여 샘플 수집 후 15분 이내에 혈장을 수득하였다. 혈장 샘플을 분석까지 대략 -70°C에서 저장하였다.

[1125] 예시적인 예에서, IV 또는 PO 투여 후 래트 혈액에서 발견된 실시예 15의 화합물의 평균 농도는 하기 표에 제시된 바와 같았다.

[1126] **표 7. 수컷 Sprague-Dawley 래트에서 실시예 15의 24시간 시간 경과**

샘플링 시간 (hr)	1 mg/kg IV 투여 후 평균	10 mg/kg PO 투여 후 평균
	(ng/mL) 실시예 15	(ng/mL) 실시예 15
0.25	890	4107
0.5	764	4510
1	621	4710
2	423	5443
4	193	4067
8	26.3	1239
12	4.42	329
24	BQL	2.49

(BQL = 정량 수준 미만)

[1127] 실시예 15 화합물은 미국 특허 번호 7,875,636의 실시예 16과 비교하여 약 2배 더 높은 반감기(t_{1/2})와 함께 더 높은 AUC 및 C_{max}를 나타내었다.

[1129] **개**

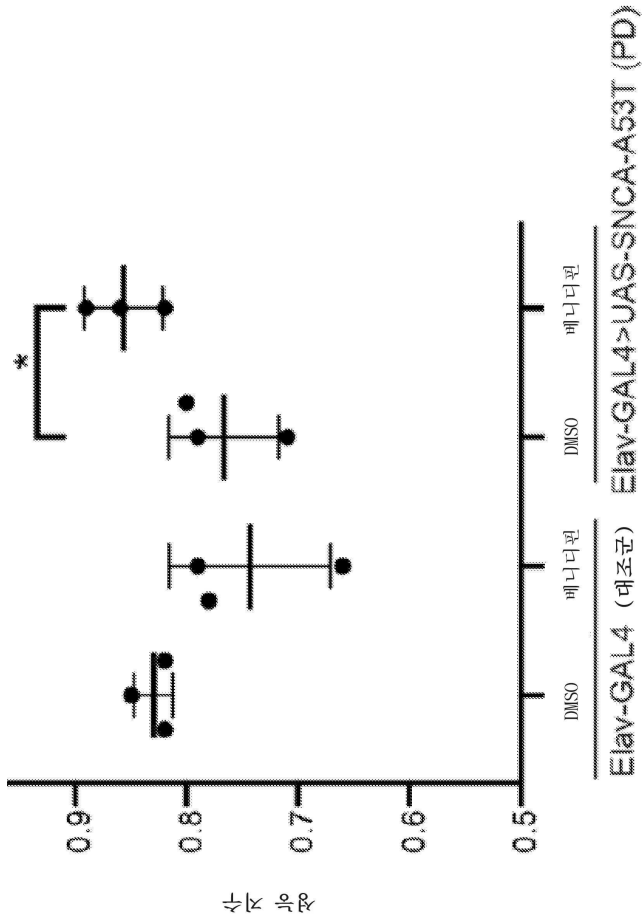
[1130] 본 개시의 특정 칼슘 채널 길항제를 평가하기 위해 개에서 생체내 실험을 수행하였다. 예를 들어, 실시예 15는 1 mg/kg IV 및 3 mg/kg PO로 성체 수컷 비-나이브 비글 개(N=6), 8-10 kg에서 평가되었다. IV 그룹의 경우 개에게 사료 및 물에 대한 자유로운 접근을 제공하였고, PO 그룹의 경우 밤새 금식시키고, 투여 4시간 후에 급식하였다. IV 그룹에 실시예 15를 두부 정맥 주사를 통해 투여하였다. PO 그룹에 경구 위관영양법에 의해 3 mg/kg

의 실시예 15를 투여하였다. 사용 전에 5% 디메틸아세트아미드, 5% 솔루톨 HS 15, 90% 염수에서 1 mg/mL의 투여 제형을 제조하였다.

- [1131] 혈액 수집: 동물을 수동으로 구속하고, 대략 0.5 mL 혈액/시점을 두부 정맥을 통해 미리 냉각된 EDTA-K₂ 튜브에 수집하였다. 4°C에서 원심분리될 때까지 혈액 샘플을 습식 얼음 위에서 냉각시켜 샘플 수집 15분 이내에 혈장을 수득하였다. 허용되는 C_{max}(> 1 g/L) 및 경구 생체이용률(F > 50%)을 실시예 15에 대해 관찰하였다.
- [1132] **실시예 68. 칼슘 채널 길항제의 뇌 침투**
- [1133] 6 내지 8주령의 수컷 C57BL/6 마우스에 2개의 실험(시점 당 N=3)에서 1 mg/kg IV 또는 10 mg/kg PO의 실시예 15를 1회 투여한 다음, 화합물 농도를 24시간까지 다양한 시점에 측정하였다. 사용 전에 5% 디메틸아세트아미드, 5% 솔루톨 HS 15, 90% 염수 용액에서 0.2 mg/mL(IV) 또는 1 mg/mL(PO)의 실시예 15의 투여 용액을 제조하였다. 화합물을 꼬리 정맥 주사에 의해 IV 투여하거나 경구 위관영양법에 의해 PO 투여하였다.
- [1134] 혈액 수집: 동물을 지정된 시점에 수동으로 구속하고, 약 110 µL의 혈액 샘플을 안면 정맥을 통해 K₂EDTA 튜브에 수집하였다. 혈액 샘플을 얼음 위에 놓고 2000 g로 5분 동안 원심분리하여 15분 이내에 혈장 샘플을 수득하였다.
- [1135] 뇌 수집: 혈액 수집 후, 동물을 CO₂를 통해 안락사시켰다. 전체 뇌를 수집하고, 차가운 염수로 행구고, 여과지 상에서 건조시키고, 칭량하고, 드라이아이스에 넣어 급속 동결시켰다.
- [1136] 마우스 혈장/뇌 PK 및 상대 마우스 혈장 및 뇌 균질액 결합을 사용하여 실시예 15의 뇌 침투율을 계산하였다. 실시예 15는 IV 및 PO 실험 둘 모두에서 측정 가능한 뇌 침투를 나타내었다. 예를 들어, 투여 4시간 후에: 실시예 15 뇌 농도 >100 ng/mL(IV); 실시예 15 뇌 농도 >1000 ng/mL(PO).
- [1137] 전술한 본 발명은 이해의 명료함을 위해 예시 및 실시예에 의해 일부 상세히 기재되었으나, 당업자는 첨부된 청구항의 범위 내에서 특정한 변화 및 변형이 실시될 수 있음을 인지할 것이다. 또한, 본원에 제공된 각각의 참고 문헌은 각각의 참고 문헌이 참조로서 개별적으로 포함된 것과 동일한 정도로 그 전체가 참조로 포함된다. 본 출원과 본원에 제공된 참고 문헌 사이에 상충되는 부분이 있는 경우, 본 출원이 우선한다.

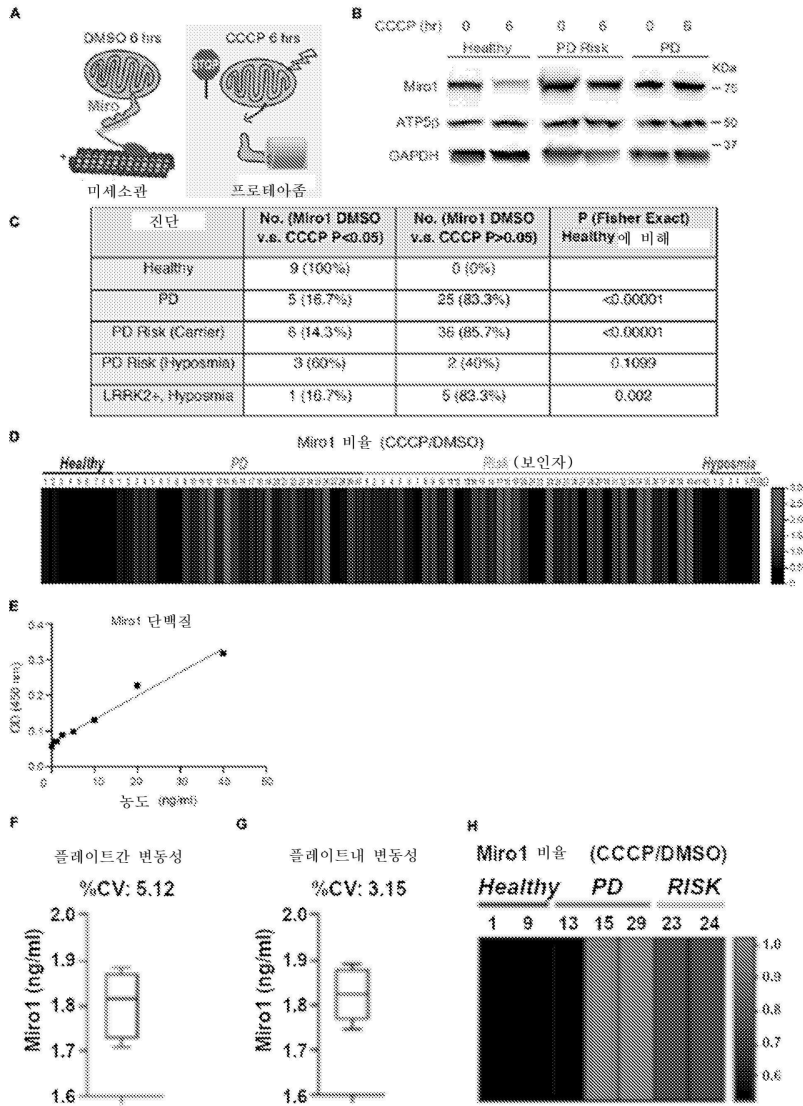
도면

도면1

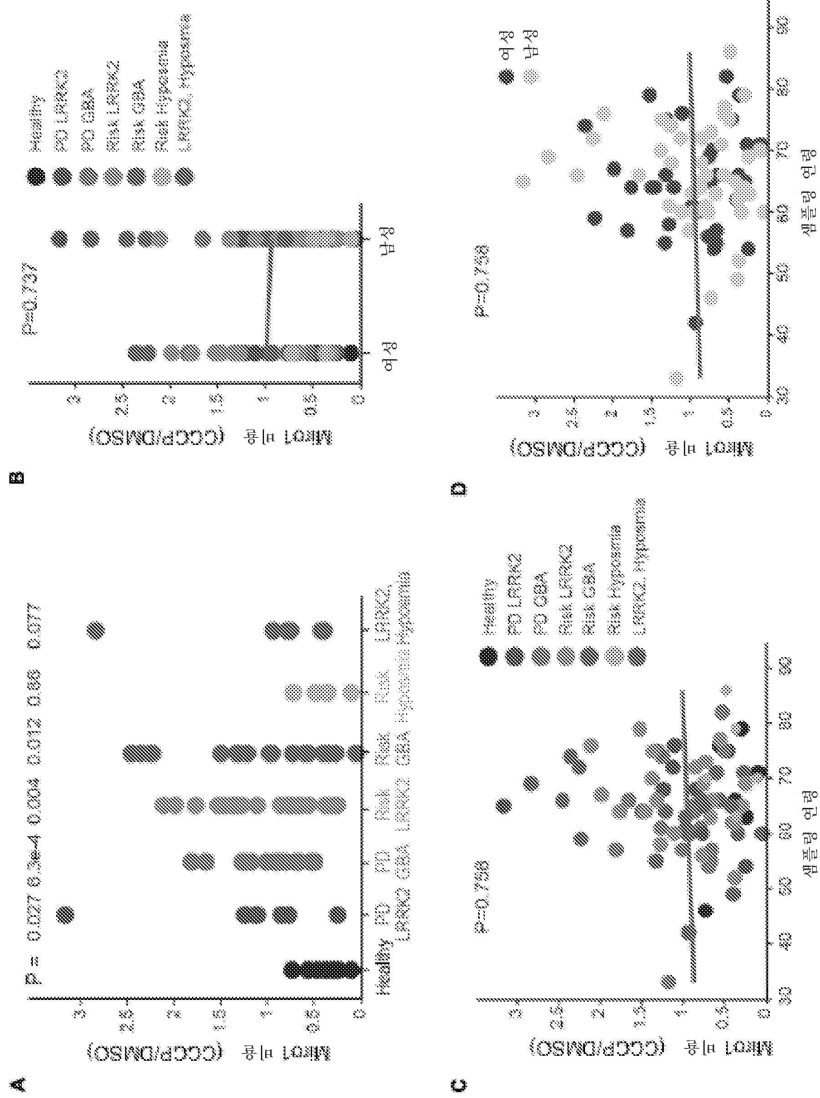


상승 검정, 10일, n>15 퍼리의 3개 그룹, 그룹 당 3회 반복 평균

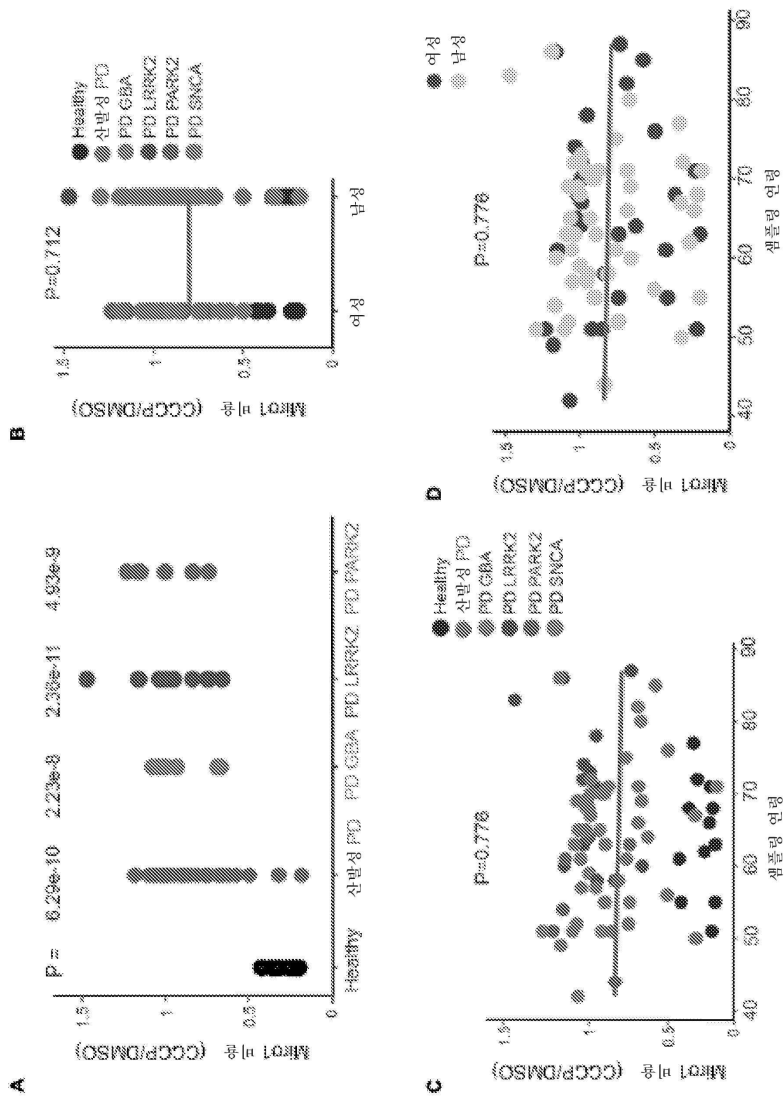
도면2



도면3



도면4



도면5

